

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-534468
(P2024-534468A)

(43)公表日 令和6年9月20日(2024.9.20)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	14/54 (2006.01)	C 0 7 K	14/54		4 B 0 6 4
C 1 2 N	15/24 (2006.01)	C 1 2 N	15/24	Z N A	4 B 0 6 5
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00		4 C 0 7 6
C 0 7 K	16/18 (2006.01)	C 0 7 K	16/18		4 C 0 8 4
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z	4 C 0 8 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全294頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-517044(P2024-517044)			(71)出願人	524101010
(86)(22)出願日	令和4年9月16日(2022.9.16)			ピカラ セラピューティクス インコーポレーテッド	
(85)翻訳文提出日	令和6年5月13日(2024.5.13)			アメリカ合衆国 0 2 1 1 6 マサチューセッツ州, ボストン, スイート 7 0 3 , ハンティントン アベニュー 1 1 6	
(86)国際出願番号	PCT/US2022/043762			(74)代理人	110002572
(87)国際公開番号	WO2023/043978			弁理士法人平木国際特許事務所	
(87)国際公開日	令和5年3月23日(2023.3.23)			(72)発明者	バトナーゲル, ジャヤ
(31)優先権主張番号	63/245,523			インド国 4 1 1 0 6 0 マハーラーシュトラ, プネー, ピハインド コリンティアンズ クラブ, ムハンマド ワディー, アンドリ マーグ, ニャッティ エートス, ユーコン 5 0 4	
(32)優先日	令和3年9月17日(2021.9.17)			(72)発明者	ゴスワミ, アルビンド ヴィタル
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)			最終頁に続く	
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,最終頁に続く			最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 C A I X 標的化 I L - 1 2 融合タンパク質およびそれらの使用方法

(57)【要約】

本明細書では、I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドと I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドおよびそれらを含む組成物（例えば、医薬組成物）；ならびに I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドおよび I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドおよび組成物を作製する方法が提供される。さらに本明細書では、I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド（例えば、本明細書に記載される I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド）および／または I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド（例えば、本明細書に記載される I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド）を含む融合タンパク質（例えば、抗体融合タンパク質）が提供される。本明細書に提供される I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド、I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド、および融合タンパク質は、医薬組成物および疾患（例えば、癌）を治療する方法において有用である。

【選択図】 図 9

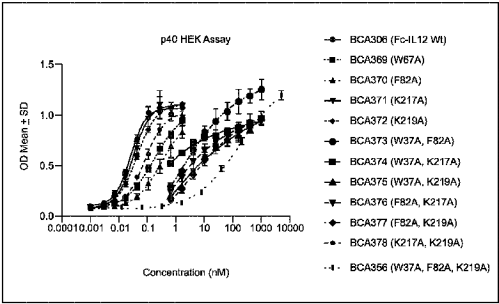


FIG. 9

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(a) 配列番号 33 のアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% 同一であり；かつ (b) アミノ酸位置 (i) W37、F82、および K219；(ii) W37、F82、および K217；(iii) K106、K217、および K219；(iv) W37 および F82；(v) W37 および K217；(vi) W37 および K219；(vii) W37 および K106；(viii) F82 および K106；(xiv) F82 および K217；(xv) F82 および K219；(xvi) K217 および K219；(xvii) K106 および K217；または (xviii) K106 および K219、(配列番号 32 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) のそれぞれにおけるアミノ酸置換を含む、またはそれからなるアミノ酸配列を含む、ヒトインターロイキン 12 p40 (hIL-12 p40) ポリペプチド。

10

【請求項 2】

以下のアミノ酸置換 (i) W37A、F82A、および K219A；(ii) W37A、F82A、および K217A；(iii) K106A、K217A、および K219A；(iv) W37A および F82A；(v) W37A および K217A；(vi) W37A および K219A；(vii) W37A および K106A；(viii) F82A および K106A；(xiv) F82A および K217A；(xv) F82A および K219A；(xvi) K217A および K219A；(xvii) K106A および K217A；または (xviii) K106A および K219A (配列番号 32 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) のそれぞれを含む、またはそれからなる、請求項 1 に記載の hIL-12 p40 ポリペプチド。

20

【請求項 3】

アミノ酸位置 W37、F82、および K219、(配列番号 32 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) のそれぞれにおけるアミノ酸置換を含む、またはそれからなる、請求項 1 または 2 に記載の hIL-12 p40 ポリペプチド。

【請求項 4】

以下のアミノ酸置換 W37A、F82A、および K219A (配列番号 32 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) のそれぞれを含む、またはそれからなる、請求項 1

30

【請求項 5】

hIL-12 p40 ポリペプチドのアミノ酸配列が、表 5 に示されるいずれか 1 つのポリペプチドのアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換 (配列番号 33 のアミノ酸配列に対するアミノ酸置換) のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、hIL-12 p40 ポリペプチドのアミノ酸配列は、表 5 に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である、請求項 1～4 のいずれか一項に記載の hIL-12 p40 ポリペプチド。

40

【請求項 6】

hIL-12 p40 ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号 38～65 のいずれか 1 つのアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換 (配列番号 33 のアミノ酸配列に対するアミノ酸置換) のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、hIL-12 p40 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 38～65 のいずれか 1 つに示されるアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の hIL-12 p40 ポリペプチド。

【請求項 7】

50

h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号 3 8 ~ 5 1 のいずれか 1 つのアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換（配列番号 3 3 のアミノ酸配列に対するアミノ酸置換）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 3 8 ~ 5 1 のいずれか 1 つに示されるアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % 同一である、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド。

【請求項 8】

h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号 5 2 ~ 6 5 のいずれか 1 つのアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換（配列番号 3 3 のアミノ酸配列に対するアミノ酸置換）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 5 2 ~ 6 5 のいずれか 1 つに示されるアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % 同一である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド。

【請求項 9】

h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号 3 8 または 5 2 のアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換（配列番号 3 3 のアミノ酸配列に対するアミノ酸置換）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 3 8 または 5 2 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % 同一である、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド。

【請求項 1 0】

h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号 3 8 のアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換（配列番号 3 3 のアミノ酸配列に対するアミノ酸置換）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 3 8 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % 同一である、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド。

【請求項 1 1】

h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号 3 8 のアミノ酸配列と 1 0 0 % 同一である、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド。

【請求項 1 2】

h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドが h I L - 1 2 受容体（h I L - 1 2 R）と特異的に結合する、請求項 1 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド。

【請求項 1 3】

h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞のリン酸化 S T A T 4（p S T A T 4）レベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質（例えば、配列番号 3 3））により媒介される p S T A T 4 の増加よりも低い増加を媒介する、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド。

【請求項 1 4】

h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞のリン酸化 S T A T 4（p S T A T 4）レベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質（例えば、配列番号 3

10

20

30

40

50

3)) により媒介される p S T A T 4 の増加よりも約 0.5 ~ 1000 倍、0.5 ~ 100 倍、0.5 ~ 10 倍、0.5 ~ 5 倍、0.5 ~ 2 倍、1 ~ 1000 倍、1 ~ 100 倍、1 ~ 10 倍、1 ~ 5 倍、1 ~ 2 倍、10 ~ 1000 倍、または 100 ~ 1000 倍低い増加を媒介する、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の h I L - 12 p 40 ポリペプチド。

【請求項 15】

h I L - 12 p 35 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 12 p 40 タンパク質は、表面に h I L - 12 R を発現することにより産生されるインターフェロン γ (I F N - γ) のレベルにおいて、適切な対照 (例えば、参照 h I L - 12 p 40 タンパク質 (例えば、配列番号 33)) の存在下で産生される I F N - γ のレベルの増加よりも低い増加を媒介する、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の h I L - 12 p 40 ポリペプチド。

10

【請求項 16】

h I L - 12 p 35 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 12 p 40 タンパク質は、表面に h I L - 12 R を発現する細胞により産生される I F N - γ のレベルにおいて、適切な対照 (例えば、参照 h I L - 12 p 40 タンパク質 (例えば、配列番号 33)) の存在下で産生される I F N - γ のレベルの増加よりも約 0.5 ~ 1000 倍、0.5 ~ 100 倍、0.5 ~ 10 倍、0.5 ~ 5 倍、0.5 ~ 2 倍、1 ~ 1000 倍、1 ~ 100 倍、1 ~ 10 倍、1 ~ 5 倍、1 ~ 2 倍、10 ~ 1000 倍、または 100 ~ 1000 倍低い増加を媒介する、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の h I L - 12 p 40 ポリペプチド。

20

【請求項 17】

(a) 配列番号 31 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % 同一であり；かつ (b) 以下のアミノ酸位置 E 60、F 61、P 63、K 150、F 188、Y 189 A (配列番号 30 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) の 1 以上にアミノ酸改変 (例えば、置換、付加、欠失 (例えば、置換)) を含む、またはそれからなるアミノ酸配列を含む、ヒトインターロイキン 12 p 35 (h I L - 12 p 35) ポリペプチド。

【請求項 18】

以下のアミノ酸位置 (i) F 188；(ii) Y 189；(iii) F 188 および Y 189；または (iv) E 60、F 61、P 63、K 150、および F 188 (配列番号 30 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) のそれぞれにアミノ酸改変 (例えば、置換、付加、欠失 (例えば、置換)) を含む、またはそれからなる、請求項 17 に記載の h I L - 12 p 35 ポリペプチド。

30

【請求項 19】

以下のアミノ酸置換：E 60 K、F 61 H、P 63 S、K 150 H、F 188 P、F 188 A、および／または Y 189 A (配列番号 30 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) のうち 1 以上を含む、またはそれからなる、請求項 17 または 18 に記載の h I L - 12 p 35 ポリペプチド。

【請求項 20】

h I L - 12 p 35 ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号 111 ~ 114 のいずれか 1 つのアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換 (配列番号 31 のアミノ酸配列に対する) のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、h I L - 12 p 35 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 111 ~ 114 のいずれか 1 つに示されるアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である、請求項 17 ~ 19 のいずれか一項に記載の h I L - 12 p 35 ポリペプチド。

40

【請求項 21】

以下のアミノ酸置換：(i) F 188 A；(ii) Y 189 A；(iii) F 188 A

50

および Y 1 8 9 A ; または (i v) E 6 0 K 、 F 6 1 H 、 P 6 3 S 、 K 1 5 0 H 、 および F 1 8 8 P (配列番号 3 0 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) のそれぞれを含む、またはそれからなる、請求項 1 7 ~ 2 0 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド。

【請求項 2 2】

h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列が、アミノ酸 A 5 5 ~ K 9 2 、 N 5 0 ~ K 9 2 、 M 5 1 ~ K 9 2 、 L 5 2 ~ K 9 2 、 Q 5 3 ~ K 9 2 、 K 5 4 ~ K 9 2 、 N 5 0 ~ N 9 3 、 M 5 1 ~ N 9 3 、 L 5 2 ~ N 9 3 、 Q 5 3 ~ N 9 3 、 K 5 4 ~ N 9 3 、 N 5 0 ~ E 9 4 、 M 5 1 ~ E 9 4 、 L 5 2 ~ E 9 4 、 Q 5 3 ~ E 9 4 、 K 5 4 ~ E 9 4 、 N 5 0 ~ S 9 5 、 M 5 1 ~ S 9 5 、 L 5 2 ~ S 9 5 、 Q 5 3 ~ S 9 5 、 K 5 4 ~ S 9 5 、 N 5 0 ~ C 9 6 、 M 5 1 ~ C 9 6 、 L 5 2 ~ C 9 6 、 Q 5 3 ~ C 9 6 、 K 5 4 ~ C 9 6 、 N 5 0 ~ L 9 7 、 M 5 1 ~ L 9 7 、 L 5 2 ~ L 9 7 、 Q 5 3 ~ L 9 7 、 K 5 4 ~ L 9 7 、 N 5 0 ~ P 8 7 、 M 5 1 ~ P 8 7 、 L 5 2 ~ P 8 7 、 Q 5 3 ~ P 8 7 、 K 5 4 ~ P 8 7 、 N 5 0 ~ L 8 8 、 M 5 1 ~ L 8 8 、 L 5 2 ~ L 8 8 、 Q 5 3 ~ L 8 8 、 K 5 4 ~ L 8 8 、 N 5 0 ~ E 8 9 、 M 5 1 ~ E 8 9 、 L 5 2 ~ E 8 9 、 Q 5 3 ~ E 8 9 、 K 5 4 ~ E 8 9 、 N 5 0 ~ L 9 0 、 M 5 1 ~ L 9 0 、 L 5 2 ~ L 9 0 、 Q 5 3 ~ L 9 0 、 K 5 4 ~ L 9 0 、 N 5 0 ~ T 9 1 、 M 5 1 ~ T 9 1 、 L 5 2 ~ T 9 1 、 Q 5 3 ~ T 9 1 、 K 5 4 ~ T 9 1 、 R 5 6 ~ K 9 2 、 Q 5 7 ~ K 9 2 、 T 5 8 ~ K 9 2 、 L 5 9 ~ K 9 2 、 E 6 0 ~ K 9 2 A 5 5 ~ N 9 3 、 R 5 6 ~ N 9 3 、 Q 5 7 ~ N 9 3 、 T 5 8 ~ N 9 3 、 L 5 9 ~ N 9 3 、 E 6 0 ~ N 9 3 、 A 5 5 ~ E 9 4 、 R 5 6 ~ E 9 4 、 Q 5 7 ~ E 9 4 、 T 5 8 ~ E 9 4 、 L 5 9 ~ E 9 4 、 E 6 0 ~ E 9 4 、 A 5 5 ~ S 9 5 、 R 5 6 ~ S 9 5 、 Q 5 7 ~ S 9 5 、 T 5 8 ~ S 9 5 、 L 5 9 ~ S 9 5 、 E 6 0 ~ S 9 5 、 A 5 5 ~ C 9 6 、 R 5 6 ~ C 9 6 、 Q 5 7 ~ C 9 6 、 T 5 8 ~ C 9 6 、 L 5 9 ~ C 9 6 、 E 6 0 ~ C 9 6 、 A 5 5 ~ L 9 7 、 R 5 6 ~ L 9 7 、 Q 5 7 ~ L 9 7 、 T 5 8 ~ L 9 7 、 L 5 9 ~ L 9 7 、 E 6 0 ~ L 9 7 、 A 5 5 ~ P 8 7 、 R 5 6 ~ P 8 7 、 Q 5 7 ~ P 8 7 、 T 5 8 ~ P 8 7 、 L 5 9 ~ P 8 7 、 E 6 0 ~ P 8 7 、 A 5 5 ~ L 8 8 、 R 5 6 ~ L 8 8 、 Q 5 7 ~ L 8 8 、 T 5 8 ~ L 8 8 、 L 5 9 ~ L 8 8 、 E 6 0 ~ L 8 8 、 A 5 5 ~ E 8 9 、 R 5 6 ~ E 8 9 、 Q 5 7 ~ E 8 9 、 T 5 8 ~ E 8 9 、 L 5 9 ~ E 8 9 、 E 6 0 ~ E 8 9 、 A 5 5 ~ L 9 0 、 R 5 6 ~ L 9 0 、 Q 5 7 ~ L 9 0 、 T 5 8 ~ L 9 0 、 L 5 9 ~ L 9 0 、 E 6 0 ~ L 9 0 、 A 5 5 ~ T 9 1 、 R 5 6 ~ T 9 1 、 Q 5 7 ~ T 9 1 、 T 5 8 ~ T 9 1 、 L 5 9 ~ T 9 1 、または E 6 0 ~ T 9 1 (配列番号 3 0 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) の欠失を含み、またはそれからなり、かつアミノ酸 A 5 5 ~ K 9 2 、 N 5 0 ~ K 9 2 、 M 5 1 ~ K 9 2 、 L 5 2 ~ K 9 2 、 Q 5 3 ~ K 9 2 、 K 5 4 ~ K 9 2 、 N 5 0 ~ N 9 3 、 M 5 1 ~ N 9 3 、 L 5 2 ~ N 9 3 、 Q 5 3 ~ N 9 3 、 K 5 4 ~ N 9 3 、 N 5 0 ~ E 9 4 、 M 5 1 ~ E 9 4 、 L 5 2 ~ E 9 4 、 Q 5 3 ~ E 9 4 、 K 5 4 ~ E 9 4 、 N 5 0 ~ S 9 5 、 M 5 1 ~ S 9 5 、 L 5 2 ~ S 9 5 、 Q 5 3 ~ S 9 5 、 K 5 4 ~ S 9 5 、 N 5 0 ~ C 9 6 、 M 5 1 ~ C 9 6 、 L 5 2 ~ C 9 6 、 Q 5 3 ~ C 9 6 、 K 5 4 ~ C 9 6 、 N 5 0 ~ L 9 7 、 M 5 1 ~ L 9 7 、 L 5 2 ~ L 9 7 、 Q 5 3 ~ L 9 7 、 K 5 4 ~ L 9 7 、 N 5 0 ~ P 8 7 、 M 5 1 ~ P 8 7 、 L 5 2 ~ P 8 7 、 Q 5 3 ~ P 8 7 、 K 5 4 ~ P 8 7 、 N 5 0 ~ L 8 8 、 M 5 1 ~ L 8 8 、 L 5 2 ~ L 8 8 、 Q 5 3 ~ L 8 8 、 K 5 4 ~ L 8 8 、 N 5 0 ~ E 8 9 、 M 5 1 ~ E 8 9 、 L 5 2 ~ E 8 9 、 Q 5 3 ~ E 8 9 、 K 5 4 ~ E 8 9 、 N 5 0 ~ L 9 0 、 M 5 1 ~ L 9 0 、 L 5 2 ~ L 9 0 、 Q 5 3 ~ L 9 0 、 K 5 4 ~ L 9 0 、 N 5 0 ~ T 9 1 、 M 5 1 ~ T 9 1 、 L 5 2 ~ T 9 1 、 Q 5 3 ~ T 9 1 、 K 5 4 ~ T 9 1 、 R 5 6 ~ K 9 2 、 Q 5 7 ~ K 9 2 、 T 5 8 ~ K 9 2 、 L 5 9 ~ K 9 2 、 E 6 0 ~ K 9 2 A 5 5 ~ N 9 3 、 R 5 6 ~ N 9 3 、 Q 5 7 ~ N 9 3 、 T 5 8 ~ N 9 3 、 L 5 9 ~ N 9 3 、 E 6 0 ~ N 9 3 、 A 5 5 ~ E 9 4 、 R 5 6 ~ E 9 4 、 Q 5 7 ~ E 9 4 、 T 5 8 ~ E 9 4 、 L 5 9 ~ E 9 4 、 E 6 0 ~ E 9 4 、 A 5 5 ~ S 9 5 、 R 5 6 ~ S 9 5 、 Q 5 7 ~ S 9 5 、 T 5 8 ~ S 9 5 、 L 5 9 ~ S 9 5 、 E 6 0 ~ S 9 5 、 A 5 5 ~ C 9 6 、 R 5 6 ~ C 9 6 、 Q 5 7 ~ C 9 6 、 T 5 8 ~ C 9 6 、 L 5 9 ~ C 9 6 、 E 6 0 ~ C 9 6 、 A 5 5 ~ L 9 7 、 R 5 6 ~ L 9 7 、 Q 5 7 ~ L 9 7 、 T 5 8 ~ L 9 7 、 L 5 9 ~ L 9 7 、 E 6 0 ~ L 9 7 、 A 5 5 ~ P 8 7 、 R 5 6 ~ P 8 7 、 Q 5 7 ~ P

10

20

30

40

50

87、T58～P87、L59～P87、E60～P87、A55～L88、R56～L88、Q57～L88、T58～L88、L59～L88、E60～L88、A55～E89、R56～E89、Q57～E89、T58～E89、L59～E89、E60～E89、A55～L90、R56～L90、Q57～L90、T58～L90、L59～L90、E60～L90、A55～T91、R56～T91、Q57～T91、T58～T91、L59～T91、またはE60～T91の欠失以外では、前記ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号31のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一である、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド。

【請求項23】

h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列が、アミノ酸A55-K92（配列番号30のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）の欠失を含み、またはそれからなり、かつアミノ酸A55-K92の欠失以外では、前記ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号31のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一である、請求項22に記載のh I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド。

【請求項24】

h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号110のアミノ酸配列に示されるアミノ酸欠失（配列番号31のアミノ酸配列に対する）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸欠失のセット以外では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号110に示されるアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である、請求項21～23のいずれか一項に記載のh I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド。

【請求項25】

h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドに作動可能に連結された請求項1～16のいずれか一項に記載のh I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドを含む、一本鎖h I L - 1 2 (s c h I L - 1 2) ポリペプチド。

【請求項26】

h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列が、表6に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である、請求項25に記載のs c h I L - 1 2。

【請求項27】

h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号31または110～114のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である、請求項25～26のいずれか一項に記載のs c h - I L 1 2 ポリペプチド。

【請求項28】

h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドが請求項17～24のいずれか一項に記載のh I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドである、請求項25～27のいずれか一項に記載のs c h I L - 1 2 ポリペプチド。

【請求項29】

h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドに作動可能に連結された請求項17～24のいずれか一項に記載のh I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドを含む、s c h I L - 1 2 ポリペプチド。

【請求項30】

h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列が、表10に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同

10

20

30

40

50

一である、請求項 29 に記載の s c h I L - 12。

【請求項 31】

h I L - 12 p 40 ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号 38 ~ 51 または 90 ~ 109 のいずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である、請求項 29 ~ 30 のいずれか一項に記載の s c h I L 12 ポリペプチド。

【請求項 32】

h I L - 12 p 40 ポリペプチドが請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の h I L - 12 p 40 ポリペプチドである、請求項 29 ~ 31 のいずれか一項に記載の s c h I L - 12 ポリペプチド。

【請求項 33】

h I L - 12 p 40 ポリペプチドが、ペプチドリinker を介して h I L - 12 p 35 ポリペプチドに作動可能に連結されている、請求項 17 ~ 32 のいずれか一項に記載の s c h I L - 12 ポリペプチド。

【請求項 34】

ポリペプチドが、N 末端から C 末端に向かって、h I L - 12 p 40 ポリペプチド、ペプチドリinker、および h I L - 12 p 35 ポリペプチドを含む、請求項 17 ~ 33 のいずれか一項に記載の s c h I L - 12 ポリペプチド。

【請求項 35】

ポリペプチド、が N 末端から C 末端に向かって、h I L - 12 p 35 ポリペプチド、ペプチドリinker、および h I L - 12 p 40 ポリペプチドを含む、請求項 17 ~ 33 のいずれか一項に記載の s c h I L - 12 ポリペプチド。

【請求項 36】

- a. 請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の h I L - 12 p 40 ポリペプチド、
- b. h I L - 12 p 35 ポリペプチド；および
- c. 異種部分

を含む、融合タンパク質。

【請求項 37】

- a. h I L - 12 p 40 ポリペプチド；
- b. 請求項 17 ~ 24 のいずれか一項に記載の h I L - 12 p 35 ポリペプチド；および
- c. 異種部分

を含む、融合タンパク質。

【請求項 38】

h I L - 12 p 35 ポリペプチドのアミノ酸配列が、表 6 に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である、請求項 36 ~ 37 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 39】

h I L - 12 p 35 ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号 31 または 110 ~ 114 のいずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である、請求項 36 ~ 38 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 40】

h I L - 12 p 35 ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号 31 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である、請求項 36 ~ 39 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 4 1】

h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列が、表 1 0 に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % 同一である、請求項 3 6 ~ 4 0 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 4 2】

h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号 3 3 または 3 8 ~ 5 1 または 9 0 ~ 1 0 9 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列を少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % 同一である、請求項 3 6 ~ 4 1 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

10

【請求項 4 3】

h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号 3 3 または 3 8 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % 同一である、請求項 3 6 ~ 4 2 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 4 4】

h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドおよび h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドが s c h I L - 1 2 ポリペプチドとして作動可能に連結されている、請求項 3 6 ~ 4 3 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

20

【請求項 4 5】

h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドがペプチドリンカーを介して h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドに作動可能に連結されている、請求項 4 4 に記載の融合タンパク質。

【請求項 4 6】

ポリペプチドが、N 末端から C 末端に向かって、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド、ペプチドリンカー、および h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドを含む、請求項 4 4 または 4 5 に記載の融合タンパク質。

【請求項 4 7】

ポリペプチドが、N 末端から C 末端に向かって、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド、ペプチドリンカー、および h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドを含む、請求項 4 4 または 4 5 に記載の融合タンパク質。

30

【請求項 4 8】

融合タンパク質が、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞のリン酸化 S T A T 4 (p S T A T 4) レベルにおいて、適切な対照 (例えば、参照 h I L - 1 2 融合タンパク質 (例えば、配列番号 3 7 1、3 7 2、3 8 3)) により媒介される p S T A T 4 の増加よりも低い増加を媒介する、請求項 3 6 ~ 4 7 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 4 9】

融合タンパク質が、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞のリン酸化 S T A T 4 (p S T A T 4) レベルにおいて、適切な対照 (例えば、参照 h I L - 1 2 融合タンパク質 (例えば、配列番号 3 7 1、3 7 2、3 8 3)) により媒介される p S T A T 4 の増加よりも約 0 . 5 ~ 1 0 0 0 倍、0 . 5 ~ 1 0 0 倍、0 . 5 ~ 1 0 倍、0 . 5 ~ 5 倍、0 . 5 ~ 2 倍、1 ~ 1 0 0 0 倍、1 ~ 1 0 0 倍、1 ~ 1 0 倍、1 ~ 5 倍、1 ~ 2 倍、1 0 ~ 1 0 0 0 倍、または 1 0 0 ~ 1 0 0 0 倍低い増加を媒介する、請求項 3 6 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

40

【請求項 5 0】

融合タンパク質が、表面に h I L - 1 2 R を発現することにより産生されるインターフェロン γ (I F N - γ) のレベルにおいて、適切な対照 (例えば、参照 h I L - 1 2 融合タンパク質 (例えば、配列番号 3 7 1、3 7 2、3 8 3)) の存在下で産生される I F N - γ のレベルの増加よりも低い増加を媒介する、請求項 3 6 ~ 4 9 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

50

【請求項 5 1】

融合タンパク質が、表面に h I L - 1 2 R を発現することにより産生される I F N - γ のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 融合タンパク質（例えば、配列番号 3 7 1、3 7 2、3 8 3））の存在下で産生される I F N - γ のレベルの増加よりも約 0.5 ～ 1 0 0 0 倍、0.5 ～ 1 0 0 倍、0.5 ～ 1 0 倍、0.5 ～ 5 倍、0.5 ～ 2 倍、1 ～ 1 0 0 0 倍、1 ～ 1 0 0 倍、1 ～ 1 0 倍、1 ～ 5 倍、1 ～ 2 倍、1 0 ～ 1 0 0 0 倍、または 1 0 0 ～ 1 0 0 0 倍低い増加を媒介する、請求項 3 6 ～ 5 0 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 5 2】

異種部分が抗体（もしくはその抗原結合ドメイン）および／または 1 以上の F c 領域を含む、またはそれらからなる、請求項 3 6 ～ 5 1 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

10

【請求項 5 3】

異種部分が抗体（またはその抗原結合ドメイン）を含む、またはそれらからなる、請求項 3 6 ～ 5 2 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 5 4】

異種部分が全長抗体、s c F v、(s c F v)₂、s c F v - F c、F a b、F a b'、F (a b')₂、F a b - F c、シングルドメイン抗体（例えば、V H H）、またはシングルドメイン抗体 - F c（例えば、V H H - F c）を含む、またはそれらからなる、請求項 3 6 ～ 5 3 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

20

【請求項 5 5】

抗体（またはその抗原結合ドメイン）が、3 つの V H 相補性決定領域（V H C D R）：V H C D R 1、V H C D R 2、および V H C D R 3 を含む第 1 の可変重鎖領域（V H）；ならびに 3 つの V L C D R：V L C D R 1、V L C D R 2、および V L C D R 3 を含む第 1 の可変軽鎖領域（V L）を含む、請求項 5 4 に記載の融合タンパク質。

【請求項 5 6】

異種部分が全長抗体を含む、またはそれらからなる、請求項 3 6 ～ 5 5 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 5 7】

前記抗体（またはその抗原結合ドメイン）がヒト腫瘍関連抗原（h T A A）と特異的に結合する、請求項 3 6 ～ 5 6 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

30

【請求項 5 8】

前記抗体（またはその抗原結合ドメイン）がヒト炭酸脱水酵素 I X（h C A I X）と特異的に結合する、請求項 3 6 ～ 5 7 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 5 9】

V H C D R 1、V H C D R 2、V H C D R 3、V L C D R 1、V L C D R 2、および V L C D R 3 のアミノ酸配列がそれぞれ、表 1 7 に示される抗体の V H C D R 1、V H C D R 2、V H C D R 3、V L C D R 1、V L C D R 2、および V L C D R 3 のアミノ酸配列を含む、またはそれらからなる、請求項 3 6 ～ 5 8 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

40

【請求項 6 0】

V H C D R 1 のアミノ酸配列が、配列番号 2 3 7 のアミノ酸配列、または 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号 2 3 7 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2 のアミノ酸配列が、配列番号 2 3 8 のアミノ酸配列、または 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号 2 3 8 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3 のアミノ酸配列が、配列番号 2 3 9 のアミノ酸配列、または 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号 2 3 9 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1 のアミノ酸配列が、配列番号 2 4 0 のアミノ酸配列、または 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミ

50

ノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号 240 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 のアミノ酸配列が、配列番号 241 のアミノ酸配列または 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号 242 のアミノ酸配列を含み；かつ V L C D R 3 のアミノ酸配列が、配列番号 243 のアミノ酸配列、または 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号 243 のアミノ酸配列を含む、請求項 55～59 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 61】

V H のアミノ酸配列が、表 17 に示されるいずれかの V H ポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一であり；かつ V L のアミノ酸配列が、表 17 に示されるいずれかの V L ポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項 55～60 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

10

【請求項 62】

V H のアミノ酸配列が、配列番号 7、246、256、264、274、または 284 のいずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一であるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ V L のアミノ酸配列が、配列番号 12、247、257、265、275、または 285 のいずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項 55～61 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

20

【請求項 63】

V H のアミノ酸配列が、配列番号 7 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一であるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ V L のアミノ酸配列が、配列番号 12 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項 55～62 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

30

【請求項 64】

V H のアミノ酸配列が、配列番号 7 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一であるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ V L のアミノ酸配列が、配列番号 15 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項 55～63 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

40

【請求項 65】

C H 2 領域および C H 3 領域を含む第 1 の F c 領域；ならびに C H 2 領域および C H 3 領域を含む第 2 の F c 領域を含む、請求項 36～64 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 66】

(a) 第 1 の F c 領域が C H 2 領域および C H 3 領域を含み；かつ第 2 の F c 領域が C H 2 領域および C H 3 領域を含むか；または (b) 第 1 の F c 領域がヒンジ領域、C H 2 領域、および C H 3 領域を含み；かつ第 2 の F c 領域がヒンジ領域、C H 2 領域、および

50

C H 3 領域を含む、請求項 6 5 に記載の融合タンパク質。

【請求項 6 7】

第 1 の F c 領域および第 2 の F c 領域がそれぞれ、h I g G l もしくは h I g G 4 F c 領域、またはその機能的変異体である、請求項 6 5 または 6 6 に記載の融合タンパク質。

【請求項 6 8】

第 1 の F c 領域および第 2 の F c 領域が全長抗体の一部である、請求項 6 5 ～ 6 7 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 6 9】

第 1 の F c 領域の C H 3 領域および第 2 の F c 領域の C H 3 領域がそれぞれ、第 1 の F c 領域と第 2 の F c 領域のヘテロ二量体形成を促進する少なくとも 1 つのアミノ酸改変を含む、請求項 6 5 ～ 6 8 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

10

【請求項 7 0】

第 1 の F c 領域がアミノ酸位置 T 3 6 6、L 3 6 8、および Y 4 0 7 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む、請求項 6 5 ～ 6 9 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 7 1】

第 1 の F c 領域が以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、および Y 4 0 7 V (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む、請求項 6 5 ～ 7 0 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 7 2】

第 1 の F c 領域がアミノ酸位置 Y 3 4 9 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む、請求項 6 5 ～ 7 1 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

20

【請求項 7 3】

第 1 の F c 領域が以下のアミノ酸置換 Y 3 4 9 C (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む、請求項 6 5 ～ 7 2 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 7 4】

第 1 の F c 領域がアミノ酸位置 T 3 6 6、L 3 6 8、Y 4 0 7、および Y 3 4 9 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む、請求項 6 5 ～ 7 3 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

30

【請求項 7 5】

第 1 の F c 領域が以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V、および Y 3 4 9 C (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む、請求項 6 5 ～ 7 4 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 7 6】

第 2 の F c 領域がアミノ酸位置 T 3 6 6 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む、請求項 6 5 ～ 7 5 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 7 7】

第 2 の F c 領域が以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 W (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む、請求項 6 5 ～ 7 6 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

40

【請求項 7 8】

第 2 の F c 領域がアミノ酸位置 S 3 5 4 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む、請求項 6 5 ～ 7 7 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 7 9】

第 2 の F c 領域が以下のアミノ酸置換 S 3 5 4 C (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む、請求項 6 5 ～ 7 8 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 8 0】

第 2 の F c 領域がアミノ酸位置 T 3 6 6 および S 3 5 4 (K a b a t の E U インデック

50

スによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む、請求項 65～79 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 81】

第 2 の F c 領域が以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 W および S 3 5 4 C (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む、請求項 65～80 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 82】

第 1 の F c 領域が以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V、および Y 3 4 9 C を含み、かつ第 2 の F c 領域が以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 W および S 3 5 4 C (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む、請求項 65～81 のい
10

【請求項 83】

第 2 の F c 領域がアミノ酸位置 T 3 6 6、L 3 6 8、および Y 4 0 7 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む、請求項 65～69 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 84】

第 2 の F c 領域が以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、および Y 4 0 7 V (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む、請求項 65～69 または 83
20

【請求項 85】

第 2 の F c 領域がアミノ酸位置 Y 3 4 9 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む、請求項 65～69 または 83～84 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 86】

第 2 の F c 領域が以下のアミノ酸置換 Y 3 4 9 C (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む、請求項 65～69 または 83～85 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 87】

第 2 の F c 領域がアミノ酸位置 T 3 6 6、L 3 6 8、Y 4 0 7、および Y 3 4 9 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む、請求項 65～6
30

【請求項 88】

第 2 の F c 領域が以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V、および Y 3 4 9 C (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む、請求項 65～6
9 または 83～87 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 89】

第 1 の F c 領域がアミノ酸位置 T 3 6 6 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む、請求項 65～69 または 83～88 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 90】

第 1 の F c 領域が以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 W (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む、請求項 65～69 または 83～89 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。
40

【請求項 91】

第 1 の F c 領域がアミノ酸位置 S 3 5 4 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む、請求項 65～69 または 83～90 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 92】

第 1 の F c 領域が以下のアミノ酸置換 S 3 5 4 C (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む、請求項 65～69 または 83～91 のいずれか一項に記載の融
50

合タンパク質。

【請求項 9 3】

第 1 の F c 領域がアミノ酸位置 T 3 6 6 および S 3 5 4 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む、請求項 6 5 ~ 6 9 または 8 3 ~ 9 2 いずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 9 4】

第 1 の F c 領域が以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 W および S 3 5 4 C (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む、請求項 6 5 ~ 6 9 または 8 3 ~ 9 3 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 9 5】

第 2 の F c 領域が以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V、および Y 3 4 9 C を含み、かつ第 1 の F c 領域が以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 W および S 3 5 4 C (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む、請求項 6 5 ~ 6 9 または 8 3 ~ 9 4 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 9 6】

第 1 の F c 領域および第 2 の F c 領域がそれぞれ、少なくとも 1 つのアミノ酸改変 (例えば、置換、欠失、付加) を含まない参照 F c 領域に比べて F c 領域のエフェクター機能を低下または消失させる少なくとも 1 つのアミノ酸改変 (例えば、置換、欠失、付加) を含む、請求項 6 5 ~ 9 5 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 9 7】

少なくとも 1 つのエフェクター機能が、抗体依存性細胞傷害性 (A D C C)、抗体依存性細胞貪食 (A D C P)、もしくは補体依存性細胞傷害性 (C D C) を誘導するか、F c 受容体 (例えば、F c γ 受容体) と結合するか、またはそれらの任意の組合せである F c 領域の能力を含む、請求項 6 5 ~ 9 6 のいずれか一項に記載の融合。

【請求項 9 8】

第 1 の F c 領域および第 2 の F c 領域がそれぞれ、アミノ酸位置 L 2 3 4、L 2 3 5、および / または P 3 2 9 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) のうち 1 つ、2 つ、または 3 つにアミノ酸置換を含む、請求項 6 5 ~ 9 7 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 9 9】

第 1 の F c 領域および第 2 の F c 領域がそれぞれ、以下のアミノ酸置換: L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、および / または P 3 2 9 G もしくは P 3 2 9 A (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) のうち 1 つ、2 つ、または 3 つを含む、請求項 6 5 ~ 9 8 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 1 0 0】

第 1 の F c 領域および第 2 の F c 領域がそれぞれ、L 2 3 4 A および L 2 3 5 A アミノ酸置換 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む、請求項 6 5 ~ 9 9 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 1 0 1】

第 1 の F c 領域および第 2 の F c 領域がそれぞれ、L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、および P 3 2 9 A アミノ酸置換 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む、請求項 6 5 ~ 1 0 0 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 1 0 2】

第 1 の F c 領域および第 2 の F c 領域がそれぞれ、L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、および P 3 2 9 G アミノ酸置換 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む、請求項 6 5 ~ 1 0 1 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 1 0 3】

h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドの N 末端が第 1 の F c 領域の C 末端に作動可能に連結され; かつ h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドの N 末端が第 2 の F c 領域の C 末端に作動可能に連結されている、請求項 6 5 ~ 1 0 2 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

10

20

30

40

50

【請求項 104】

h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドが第 1 のペプチドリンカーを介して第 1 の F c 領域に作動可能に連結され；かつ h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドが第 2 のペプチドリンカーを介して第 2 の F c 領域に作動可能に連結されている、請求項 65 ～ 103 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 105】

第 1 のペプチドリンカーのアミノ酸配列が表 18 に示されるペプチドリンカーのアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第 2 のペプチドリンカーのアミノ酸配列が表 18 に示されるペプチドリンカーのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項 104 に記載の融合タンパク質。

10

【請求項 106】

第 1 のペプチドリンカーのアミノ酸配列が配列番号 66 ～ 81、88 ～ 303、または 369 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第 2 のペプチドリンカーのアミノ酸配列が配列番号 66 ～ 81、288 ～ 303、または 369 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項 104 または 105 に記載の融合タンパク質。

【請求項 107】

第 1 のペプチドリンカーのアミノ酸配列が配列番号 72 のアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第 2 のペプチドリンカーのアミノ酸配列が配列番号 72 のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項 104 ～ 106 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

20

【請求項 108】

h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドの N 末端が第 1 の F c 領域の C 末端に作動可能に連結され；かつ h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドの N 末端が第 2 の F c 領域の C 末端に作動可能に連結されている、請求項 65 ～ 107 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 109】

h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドが第 1 のペプチドリンカーを介して第 2 の F c 領域に作動可能に連結され；かつ h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドが第 2 のペプチドリンカーを介して第 1 の F c 領域に作動可能に連結されている、請求項 108 に記載の融合タンパク質。

30

【請求項 110】

第 1 のペプチドリンカーのアミノ酸配列が表 18 に示されるペプチドリンカーのアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第 2 のペプチドリンカーのアミノ酸配列が表 18 に示されるペプチドリンカーのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項 109 に記載の融合タンパク質。

【請求項 111】

第 1 のペプチドリンカーのアミノ酸配列が配列番号 66 ～ 81、288 ～ 303、または 369 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第 2 のペプチドリンカーのアミノ酸配列が配列番号 66 ～ 81、288 ～ 303、または 369 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項 108 ～ 110 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

40

【請求項 112】

第 1 のペプチドリンカーのアミノ酸配列が配列番号 72 のアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第 2 のペプチドリンカーのアミノ酸配列が配列番号 72 のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項 108 ～ 111 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 113】

h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドおよび h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドが s c h I L - 1 2 ポリペプチドとして作動可能に連結され、かつ s c h I L - 1 2 ポリペプチドの N 末端が第 1 の F c 領域の C 末端または第 2 の F c 領域の C 末端に作動可能に連結されてい

50

る、請求項 108～112 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 114】

s c h I L - 12 ポリペプチドが第 1 のペプチドリンカーを介して第 1 の F c 領域または第 2 の F c 領域に作動可能に連結されている、請求項 113 に記載の融合タンパク質。

【請求項 115】

第 1 のペプチドリンカーのアミノ酸配列が表 18 に示されるペプチドリンカーのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項 114 に記載の融合タンパク質。

【請求項 116】

第 1 のペプチドリンカーのアミノ酸配列が配列番号 66～81、288～303、または 369 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項 114 または 115 に記載の融合タンパク質。

10

【請求項 117】

第 1 のペプチドのアミノ酸配列が配列番号 72 のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項 114～116 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 118】

a. h T A A に特異的に結合する全長抗体であって、

i. N 末端から C 末端に向かって、軽鎖可変領域 (V L) 領域および軽鎖定常領域 (C L) 領域を含む第 1 の軽鎖；

i i. N 末端から C 末端に向かって、重鎖可変領域 (V H) 領域、C H 1 領域、ヒンジ領域、C H 2 領域、および C H 3 領域を含む第 1 の重鎖；

i i i. N 末端から C 末端に向かって、V H 領域、C H 1 領域、ヒンジ領域、C H 2 領域、および C H 3 領域を含む第 2 の重鎖；

i v. N 末端から C 末端に向かって、V L 領域および V H 領域を含む第 2 の軽鎖を含み、

第 1 の軽鎖と第 1 の重鎖は会合して第 1 の抗原結合ドメインを形成し；

第 2 の軽鎖と第 2 の重鎖は会合して第 2 の抗原結合ドメインを形成し；かつ

第 1 の重鎖と第 2 の重鎖は会合して二量体を形成する、

全長抗体；

b. 請求項 1～16 のいずれか一項に記載の h I L - 12 p 40 ポリペプチド；

c. h I L - 12 p 35 ポリペプチド；

を含み；

全長抗体の第 1 の重鎖の C H 3 領域は、1 以上のアミノ酸改変を含まない参照 C H 3 領域（例えば、野生型 C H 3 領域、例えば、配列番号 122）のアミノ酸配列に対して 1 以上のアミノ酸改変（例えば、置換）を含み；

全長抗体の第 2 の重鎖の C H 3 領域は、1 以上のアミノ酸改変を含まない参照 C H 3 領域（例えば、野生型 C H 3 領域、例えば、配列番号 122）のアミノ酸配列に対して 1 以上のアミノ酸改変（例えば、置換）を含み；

全長抗体の第 1 の重鎖の C H 3 領域における 1 以上のアミノ酸改変は、全長抗体の第 2 の重鎖の C H 3 領域における 1 以上のアミノ酸改変とは異なり；

全長抗体の第 1 の重鎖の C H 3 領域における 1 以上のアミノ酸改変と全長抗体の第 2 の重鎖の C H 3 領域における 1 以上のアミノ酸改変は、全長抗体の第 1 の重鎖と第 2 の重鎖のヘテロ二量体形成を促進し；

h I L - 12 p 40 ポリペプチドの N 末端は、第 1 のペプチドリンカーを介して第 1 の重鎖の C H 3 領域の C 末端に作動可能に連結され；かつ

h I L - 12 p 35 ポリペプチドの N 末端は、第 2 のペプチドリンカーを介して第 2 の重鎖の C H 3 領域の C 末端に作動可能に連結されている、融合タンパク質。

40

【請求項 119】

h I L - 12 p 40 ポリペプチドが、(a) 配列番号 33 のアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、

50

95%、96%、97%、98%、または99%同一であり；かつ（b）アミノ酸位置W37、F82、およびK219（配列番号32のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）のそれぞれにおけるアミノ酸置換を含む、またはそれらからなるアミノ酸配列を含む、請求項118に記載の融合タンパク質。

【請求項120】

h I L - 1 2 p 4 0ポリペプチドのアミノ酸配列が、以下のアミノ酸置換W37A、F82A、およびK219A、（配列番号32のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）のそれぞれを含む、またはそれらからなる、請求項118または119に記載の融合タンパク質。

【請求項121】

h I L - 1 2 p 4 0ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号38のアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換（配列番号33のアミノ酸配列に対するアミノ酸置換）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、h I L - 1 2 p 4 0ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号38に示されるアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である、請求項118～120のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項122】

h I L - 1 2 p 4 0ポリペプチドのアミノ酸配列が配列番号38のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項118～121のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項123】

h I L - 1 2 p 3 5ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号31または110～114のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である、請求項118～122のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項124】

第1のペプチドリンカーのアミノ酸配列が配列番号72のアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第2のペプチドリンカーのアミノ酸配列が配列番号72のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項118～123のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項125】

第1の抗原結合ドメインがh C A I Xと特異的に結合し、かつ第2の抗原結合ドメインもh C A I Xと特異的に結合する、請求項118～124のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項126】

V H C D R 1のアミノ酸配列が、配列番号237のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号237のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2のアミノ酸配列が、配列番号238のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号238のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3のアミノ酸配列が、配列番号239のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号239のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1のアミノ酸配列が、配列番号240のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号240のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2のアミノ酸配列が、配列番号241のアミノ酸配列または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号242のアミノ酸配列を含み；かつV L C D R 3のアミノ酸配列が、配列番号243のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号243のアミノ酸配列を含む、請求項118～125のいずれか一項に

10

20

30

40

50

記載の融合タンパク質。

【請求項 1 2 7】

VHのアミノ酸配列が、配列番号7のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつVLのアミノ酸配列が、配列番号12のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項118～126のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 1 2 8】

VHのアミノ酸配列が、配列番号7のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつVLのアミノ酸配列が、配列番号15のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項118～127のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 1 2 9】

第1の重鎖および第2の重鎖がそれぞれ、少なくとも1つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加）を含まない参照Fc領域に比べてFc領域のエフェクター機能を低下または消失させる少なくとも1つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加）を含む、請求項118～128のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 1 3 0】

少なくとも1つのエフェクター機能がADCC、ADCP、もしくはCDCを誘導するか、Fc受容体と結合するか、またはそれらの任意の組合せである能力を含む、請求項129に記載の融合。

【請求項 1 3 1】

a. N末端からC末端に向かって、VL領域およびCL領域を含む第1の軽鎖を含む第1のポリペプチド；

b. N末端からC末端に向かって：(i) N末端からC末端に向かって、VH領域、CH1領域、ヒンジ領域、CH2領域、およびCH3領域を含む第1の重鎖；(ii) 第1のペプチドリンカー、および(iii) 請求項1～14のいずれか一項に記載のhIL-12p40ポリペプチドを含む第2のポリペプチド；

c. N末端からC末端に向かって：(i) N末端からC末端に向かって、VH領域、CH1領域、ヒンジ領域、CH2領域、およびCH3領域を含む第2の重鎖、(ii) 第2のペプチドリンカー；および(iii) hIL-12p35ポリペプチドを含む第3のポリペプチド；ならびに

d. N末端からC末端に向かって、VL領域およびCL領域を含む第2の軽鎖を含む第4のポリペプチド

を含み、

第1の軽鎖のVLと第1の重鎖のVHは、会合して、第1のhTAAと特異的に結合する第1の抗原結合ドメインを形成し；

第1の重鎖のCH3領域は、1以上のアミノ酸改変を含まない参照CH3領域（例えば、野生型CH3領域、例えば、配列番号122）のアミノ酸配列に対して1以上のアミノ酸改変（例えば、置換）を含み；

第2の重鎖のCH3領域は、1以上のアミノ酸改変を含まない参照CH3領域（例えば、野生型CH3領域、例えば、配列番号122）のアミノ酸配列に対して1以上のアミノ酸改変（例えば、置換）を含み；

全長抗体の第1の重鎖のCH3領域における1以上のアミノ酸改変は、全長抗体の第2の重鎖のCH3領域における1以上のアミノ酸改変とは異なり；

全長抗体の第1の重鎖のCH3領域における1以上のアミノ酸改変と全長抗体の第2の重鎖のCH3領域における1以上のアミノ酸改変は、全長抗体の第1の重鎖と第2の重鎖のヘテロ二量体形成を促進する、融合タンパク質。

【請求項132】

h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドが、(a) 配列番号33のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であり；かつ(b) アミノ酸位置W37、F82、およびK219（配列番号32のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）のそれぞれにアミノ酸置換を含む、またはそれらからなるアミノ酸配列を含む、請求項131に記載の融合タンパク質。

10

【請求項133】

h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列が以下のアミノ酸置換W37A、F82A、およびK219A（配列番号32のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）のそれぞれを含む、またはそれらからなる、請求項131または132に記載の融合タンパク質。

【請求項134】

h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号38のアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換（配列番号33のアミノ酸配列に対するアミノ酸置換）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号38に示されるアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である、請求項131～133のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

20

【請求項135】

h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列が配列番号38のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項131～134のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項136】

h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号31または110～114のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である、請求項131～135のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

30

【請求項137】

第1のペプチドリンカーのアミノ酸配列が配列番号72のアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第2のペプチドリンカーのアミノ酸配列が配列番号72のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項131～136のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項138】

全長抗体がh C A I Xと特異的に結合する、請求項131～137のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

40

【請求項139】

V H C D R 1のアミノ酸配列が、配列番号237のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号237のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2のアミノ酸配列が、配列番号238のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号238のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3のアミノ酸配列が、配列番号239のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号239のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1のアミノ酸配列が、配列番号240のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミ

50

ノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号 240 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 のアミノ酸配列が、配列番号 241 のアミノ酸配列または 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号 242 のアミノ酸配列を含み；かつ V L C D R 3 のアミノ酸配列が、配列番号 243 のアミノ酸配列、または 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号 243 のアミノ酸配列を含む、請求項 131～138 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 140】

V H のアミノ酸配列が、配列番号 7 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一であるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ V L のアミノ酸配列が、配列番号 12 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項 131～139 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

10

【請求項 141】

V H のアミノ酸配列が、配列番号 7 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一であるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ V L のアミノ酸配列が、配列番号 15 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、請求項 131～140 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

20

【請求項 142】

第 1 の重鎖および第 2 の重鎖がそれぞれ、少なくとも 1 つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加）を含まない参照 F c 領域に比べて F c 領域のエフェクター機能を低下または消失させる少なくとも 1 つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加）を含む、請求項 131～141 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 143】

少なくとも 1 つのエフェクター機能が、A D C C、A D C P、もしくは C D C を誘導するか、F c 受容体と結合するか、またはそれらの任意の組合せである能力を含む、請求項 142 に記載の融合。

30

【請求項 144】

h C A I X と特異的に結合し、かつ、V H および V L を含み、V H のアミノ酸配列が、配列番号 3～9 のいずれか 1 つに示されるアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一であり；かつ V L のアミノ酸配列が、配列番号 10～17 のいずれか 1 つに示されるアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である抗体（またはその抗原結合ドメイン）。

40

【請求項 145】

V H のアミノ酸配列が、配列番号 7 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一であり；かつ V L のアミノ酸配列が、配列番号 15 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である、請求項 144 に記載の抗体。

【請求項 146】

請求項 1～16 のいずれか一項に記載の h I L - 12 p 40 ポリペプチド、請求項 17～24 のいずれか一項に記載の h I L - 12 p 35 ポリペプチド、請求項 25～35 のい

50

いずれか一項に記載の s c h I L - 1 2 ポリペプチド、請求項 3 6 ~ 1 4 3 のいずれか一項に記載の融合タンパク質（もしくはその 1 以上のポリペプチド）、または請求項 1 4 4 ~ 1 4 5 のいずれか一項に記載の抗体（もしくはその 1 以上のポリペプチド）をコードするポリヌクレオチド。

【請求項 1 4 7】

ポリヌクレオチドが R N A（例えば、m R N A）または D N A である、請求項 1 4 6 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 4 8】

ポリヌクレオチドのコドンが最適化されている、請求項 1 4 6 または 1 4 7 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 4 9】

請求項 1 4 6 ~ 1 4 8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドを含む発現ベクター。

【請求項 1 5 0】

発現ベクターがウイルスベクターまたはプラスミドである、請求項 1 4 9 に記載の発現ベクター。

【請求項 1 5 1】

請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド、請求項 1 7 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド、請求項 2 5 ~ 3 5 のいずれか一項に記載の s c h I L - 1 2 ポリペプチド、請求項 3 6 ~ 1 4 3 のいずれか一項に記載の融合タンパク質（もしくはその 1 以上のポリペプチド）、請求項 1 4 4 ~ 1 4 5 のいずれか一項に記載の抗体（もしくはその 1 以上のポリペプチド）、請求項 1 4 6 ~ 1 4 8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド、または請求項 1 4 9 ~ 1 5 0 のいずれか一項に記載の発現ベクターを含む宿主細胞。

【請求項 1 5 2】

請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド、請求項 1 7 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド、請求項 2 5 ~ 3 5 のいずれか一項に記載の s c h I L - 1 2 ポリペプチド、請求項 3 6 ~ 1 4 3 のいずれか一項に記載の融合タンパク質（もしくはその 1 以上のポリペプチド）、請求項 1 4 4 ~ 1 4 5 のいずれか一項に記載の抗体（もしくはその 1 以上のポリペプチド）、請求項 1 4 6 ~ 1 4 8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド、または請求項 1 4 9 ~ 1 5 0 のいずれか一項に記載の発現ベクターを含む担体。

【請求項 1 5 3】

担体が脂質ナノ粒子、リボソーム、リボプレックス、またはナノリボソームである、請求項 1 5 2 に記載の担体。

【請求項 1 5 4】

請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド、請求項 1 7 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド、請求項 2 5 ~ 3 5 のいずれか一項に記載の s c h I L - 1 2 ポリペプチド、請求項 3 6 ~ 1 4 3 のいずれか一項に記載の融合タンパク質（もしくはその 1 以上のポリペプチド）、請求項 1 4 4 ~ 1 4 5 のいずれか一項に記載の抗体（もしくはその 1 以上のポリペプチド）、請求項 1 4 6 ~ 1 4 8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド、請求項 1 4 9 ~ 1 5 0 のいずれか一項に記載の発現ベクター、請求項 1 5 1 に記載の宿主細胞、または請求項 1 5 2 ~ 1 5 3 のいずれか一項に記載の担体、および薬学上許容される賦形剤を含む医薬組成物。

【請求項 1 5 5】

請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド、請求項 1 7 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド、請求項 2 5 ~ 3 5 のいずれか一項に記載の s c h I L - 1 2 ポリペプチド、請求項 3 6 ~ 1 4 3 のいずれか一項に記載の融合タンパク質（もしくはその 1 以上のポリペプチド）、請求項 1 4 4 ~ 1 4 5 のいずれか一項に記載の抗体（もしくはその 1 以上のポリペプチド）、請求項 1 4 6 ~ 1 4 8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド、請求項 1 4 9 ~ 1 5 0 のいずれか一項に

10

20

30

40

50

記載の発現ベクター、請求項 1 5 1 に記載の宿主細胞、請求項 1 5 2 ～ 1 5 3 のいずれか一項に記載の担体、または請求項 1 5 4 に記載の医薬組成物を含むキット。

【請求項 1 5 6】

請求項 1 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド、請求項 1 7 ～ 2 4 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド、請求項 2 5 ～ 3 5 のいずれか一項に記載の s c h I L - 1 2 ポリペプチド、請求項 3 6 ～ 1 4 3 のいずれか一項に記載の融合タンパク質（もしくはその 1 以上のポリペプチド）、または請求項 1 3 1 ～ 1 3 2 のいずれか一項に記載の抗体（もしくはそのポリペプチド）を作製する方法であって、

a. i n v i t r o または e x v i v o 細胞の集団に請求項 1 4 6 ～ 1 4 8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドまたは請求項 1 4 9 ～ 1 5 0 のいずれか一項に記載の発現ベクターを導入すること；

b. 前記細胞集団を、前記細胞集団が多重特異性タンパク質を発現するのに十分な条件下で培養すること；ならびに

c. 任意選択により、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド、s c h I L - 1 2 ポリペプチド、または融合タンパク質（もしくはその 1 以上のポリペプチド）を単離および／または精製することを含む、方法。

【請求項 1 5 7】

対象にポリペプチド、融合タンパク質、抗体、ポリヌクレオチド、発現ベクター、宿主細胞、担体、または医薬組成物を送達する方法であって、前記対象に、請求項 1 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド、請求項 1 7 ～ 2 4 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド、請求項 2 5 ～ 3 5 のいずれか一項に記載の s c h I L - 1 2 ポリペプチド、請求項 3 6 ～ 1 4 3 のいずれか一項に記載の融合タンパク質（もしくはその 1 以上のポリペプチド）、請求項 1 4 4 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載の抗体（もしくはその 1 以上のポリペプチド）、請求項 1 4 6 ～ 1 4 8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド、請求項 1 4 9 ～ 1 5 0 のいずれか一項に記載の発現ベクター、請求項 1 5 1 に記載の宿主細胞、請求項 1 5 2 ～ 1 5 3 のいずれか一項に記載の担体、または請求項 1 5 4 に記載の医薬組成物を、前記対象に h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド、s c h I L - 1 2 ポリペプチド、融合タンパク質、ポリヌクレオチド、発現ベクター、宿主細胞、担体、または医薬組成物を、送達するのに十分な量および時間で投与することを含む、方法。

【請求項 1 5 8】

対象において T 細胞または N K 細胞のエフェクター機能を刺激する方法であって、前記対象に請求項 1 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド、請求項 1 7 ～ 2 4 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド、請求項 2 5 ～ 3 5 のいずれか一項に記載の s c h I L - 1 2 ポリペプチド、請求項 3 6 ～ 1 4 3 のいずれか一項に記載の融合タンパク質（もしくはその 1 以上のポリペプチド）、請求項 1 4 4 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載の抗体（もしくはその 1 以上のポリペプチド）、請求項 1 4 6 ～ 1 4 8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド、請求項 1 4 9 ～ 1 5 0 のいずれか一項に記載の発現ベクター、請求項 1 5 1 に記載の宿主細胞、請求項 1 5 2 ～ 1 5 3 のいずれか一項に記載の担体、または請求項 1 5 4 に記載の医薬組成物を、前記対象において T 細胞または N K 細胞のエフェクター機能を刺激するのに十分な量および時間で投与することを含む、方法。

【請求項 1 5 9】

対象において癌を予防または治療する方法であって、それを必要とする対象に請求項 1 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド、請求項 1 7 ～ 2 4 のいずれか一項に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド、請求項 2 5 ～ 3 5 のいずれか一項に記載の s c h I L - 1 2 ポリペプチド、請求項 3 6 ～ 1 4 3 のいずれか一項に記載の融合タンパク質（もしくはその 1 以上のポリペプチド）、請求項 1 4 4 ～ 1 4 5 のいずれか

一項に記載の抗体（もしくはその１以上のポリペプチド）、請求項１４６～１４８のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド、請求項１４９～１５０のいずれか一項に記載の発現ベクター、請求項１５１に記載の宿主細胞、請求項１５２～１５３のいずれか一項に記載の担体、または請求項１５４に記載の医薬組成物を、前記対象において癌を予防または治療するのに十分な量および時間で投与することを含む、方法。

【請求項１６０】

癌が固形腫瘍である、請求項１５９に記載の方法。

【請求項１６１】

癌が肺癌、中枢神経系癌（例えば、脳癌または脊髄癌、例えば、星状細胞腫、膠芽腫）、乳癌、大腸癌、結腸癌、直腸癌、食道癌、腎臓癌、肝臓癌、卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、胃癌、皮膚癌、膀胱癌、子宮癌、脳癌、子宮内膜癌、口唇癌、口腔癌、中皮腫、肉腫、甲状腺癌、胸腺癌、腎癌、肛門癌、頭部癌、頸部癌、または頭頸部癌である、請求項１５９または１６０に記載の方法。

10

【請求項１６２】

癌が腎癌（例えば、腎細胞癌）、膀胱癌、大腸癌、小腸癌、食道／食道胃接合部（GEJ）癌、中枢神経系癌（例えば、脳もしくは脊髄癌、例えば、膠芽腫）、子宮頸癌、胃癌、肺癌（例えば、小細胞肺癌）、または消化管癌である、請求項１５９～１６１のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１６３】

対象において癌（例えば、固形癌）の細胞におけるCAIX発現を判定する方法であって、

20

a. 対象からサンプルを得ること、前記サンプルは癌細胞を含まない（または実質的な数の癌細胞を含まない）；および

b. 前記サンプル中の可溶性CAIX（またはそのフラグメントもしくは変異体）の有無を判定すること；
を含む、方法。

【請求項１６４】

CAIXを発現する癌細胞を含む癌（例えば、固形癌）を有する対象を診断する方法であって、

a. 対象からサンプルを得ること、前記サンプルは癌細胞を含まない（または実質的な数の癌細胞を含まない）；

30

b. 前記サンプル中の可溶性CAIX（またはそのフラグメントもしくは変異体）の有無を判定すること；および

c. 可溶性CAIXが前記サンプル中に存在することが決定された場合に、前記対象を、CAIXを発現する癌細胞を含む癌（例えば、固形癌）を有するとして診断すること；
を含む、方法。

【請求項１６５】

対象において癌（例えば、固形癌）を治療する方法であって、

a. 対象からのサンプルにおいて可溶性CAIXの存在を判定した検査結果を受け取ること、前記サンプルは癌細胞を含まない（または実質的な数の癌細胞を含まない）；

40

b. 前記対象を、CAIXを発現する癌細胞を含む癌（例えば、固形癌）を有するとして診断すること；および

c. それを必要とする対象に、請求項１～１６のいずれか一項に記載のhIL-12p40ポリペプチド、請求項１７～２４のいずれか一項に記載のhIL-12p35ポリペプチド、請求項２５～３５のいずれか一項に記載のsc hIL-12ポリペプチド、請求項３６～１４３のいずれか一項に記載の融合タンパク質（もしくはその１以上のポリペプチド）、請求項１４４～１４５のいずれか一項に記載の抗体（もしくはその１以上のポリペプチド）、請求項１４６～１４８のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド、請求項１４９～１５０のいずれか一項に記載の発現ベクター、請求項１５１に記載の宿主細胞、請求項１５２～１５３のいずれか一項に記載の担体、または請求項１５４に記載の医薬組成

50

物を、前記対象において癌（例えば、固形癌）を治療するのに十分な量および時間で投与すること；

を含む、方法。

【請求項 1 6 6】

サンプルが血液、血清、または血漿である、請求項 1 6 3 ～ 1 6 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 6 7】

対象がヒトである、請求項 1 6 3 ～ 1 6 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 6 8】

癌が（例えば、固形癌）である、請求項 1 6 3 ～ 1 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 1 6 9】

固形癌が腎癌（例えば、腎細胞癌）、膀胱癌、大腸癌、小腸癌、食道／食道胃接合部（GEJ）癌、中枢神経系癌（例えば、脳もしくは脊髄癌、例えば、膠芽腫）、子宮頸癌、胃癌、肺癌（例えば、小細胞肺癌）、または消化管癌である、請求項 1 6 3 ～ 1 6 8 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願の相互参照

本願は、2021年9月17日に出願された米国仮出願第63／245,523号の優先権および利益を主張するものであり、その全内容は参照により本明細書の一部として援用される。

20

【0 0 0 2】

1. 分野

本開示は、IL-12 p40 変異体、IL-12 p35 変異体、IL-12 融合タンパク質、およびそれらの使用方法に関する。本開示はさらに、IL-12 を細胞表面に標的タンパク質（例えば、hCAIX）を発現する細胞に標的化する多重特異性 IL-12 融合タンパク質、およびそれらを使用する方法に関する。

【背景技術】

【0 0 0 3】

30

2. 背景

ヒト IL-12（hIL-12）は、αサブユニットであるヒト IL-12 p35（hIL-12 p35）とβサブユニットであるヒト IL-12 p40（hIL-12 p40）から構成される多面的分泌サイトカインである。天然 hIL-12 p35 と hIL-12 p40 サブユニットは、ジスルフィド結合を介して連結されて生理活性 hIL-12-p70 サイトカインを形成する。hIL-12 は、とりわけ、炎症誘発性であり、hIL-12 受容体（hIL-12 R）との結合を介してその機能を媒介する。高親和性 hIL-12 R は、hIL-12 R β1 サブユニットと hIL-12 R β2 サブユニットを含むヘテロ二量体である。hIL-12 R は、ナチュラルキラー（NK）細胞、T細胞、および B細胞を含む様々な免疫細胞において構成的または誘導的に発現される。hIL-12 が例えば、活性化された T細胞、NK細胞、および樹状細胞上で発現された hIL-12 R に結合すると、TYK2、JAK2、および STAT シグナル伝達経路が活性化される。hIL-12 の主要な役割の1つは、T細胞および NK細胞の活性化であり、これにより INF-γ、の産生増殖、および細胞傷害能が増す。

40

【発明の概要】

【0 0 0 4】

3. 概要

本明細書では、とりわけ、IL-12 p40 変異体および IL-12 p35 ポリペプチドおよびそれをコードポリヌクレオチド；IL-12 融合タンパク質およびコンジュゲート；製造方法；医薬組成物；ならびに例えば、疾患（例えば、癌）を治療する方法を含む

50

使用方法が提供される。

【0005】

一態様において、本明細書では、(a) 配列番号33のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であり；かつ(b) アミノ酸位置(i) W37、F82、およびK219；(ii) W37、F82、およびK217；(iii) K106、K217、およびK219；(iv) W37およびF82；(v) W37およびK217；(vi) W37およびK219；(vii) W37およびK106；(viii) F82およびK106；(xiv) F82およびK217；(xv) F82およびK219；(xvi) K217およびK219；(xvii) K106およびK217；または(xviii) K106およびK219、(配列番号32のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング)のそれぞれにおけるアミノ酸置換を含む、またはそれらそれからなるアミノ酸配列を含む、ヒトインターロイキン12p40(hIL-12p40)ポリペプチドが提供される。

10

【0006】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドは、以下のアミノ酸置換(i) W37A、F82A、およびK219A；(ii) W37A、F82A、およびK217A；(iii) K106A、K217A、およびK219A；(iv) W37AおよびF82A；(v) W37AおよびK217A；(vi) W37AおよびK219A；(vii) W37AおよびK106A；(viii) F82AおよびK106A；(xiv) F82AおよびK217A；(xv) F82AおよびK219A；(xvi) K217AおよびK219A；(xvii) K106AおよびK217A；または(xviii) K106AおよびK219A(配列番号32のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング)のそれぞれを含む、またはそれらそれからなる。

20

【0007】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドは、アミノ酸位置W37、F82、およびK219、(配列番号32のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング)のそれぞれにおけるアミノ酸置換を含む、またはそれらそれからなる。

【0008】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドは、以下のアミノ酸置換W37A、F82A、およびK219A(配列番号32のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング)のそれぞれを含む、またはそれらそれからなる。

30

【0009】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドのアミノ酸配列は、表5に示されるいずれか1つのポリペプチドのアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換(配列番号33のアミノ酸配列に対するアミノ酸置換)のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、hIL-12p40ポリペプチドのアミノ酸配列は、表5に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

40

【0010】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号38~65のいずれか1つのアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換(配列番号33のアミノ酸配列に対するアミノ酸置換)のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、hIL-12p40ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号38~65のいずれか1つに示されるアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

【0011】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番

50

号 38～51 のいずれか 1 つのアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換（配列番号 33 のアミノ酸配列に対するアミノ酸置換）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 38～51 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。

【0012】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 52～65 のいずれか 1 つのアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換（配列番号 33 のアミノ酸配列に対するアミノ酸置換）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 52～65 のいずれか 1 つに示されるアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。

10

【0013】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号 38 または 52 のアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換（配列番号 33 のアミノ酸配列に対するアミノ酸置換）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 38 または 52 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。

20

【0014】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 38 のアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換（配列番号 33 のアミノ酸配列に対するアミノ酸置換）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 38 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。

30

【0015】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 38 のアミノ酸配列と 100 % 同一である。

【0016】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドは、h I L - 1 2 受容体（h I L - 1 2 R）と特異的に結合する。

【0017】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞のリン酸化 S T A T 4（p S T A T 4）レベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質（例えば、配列番号 33））により媒介される p S T A T 4 の増加よりも低い増加を媒介する。

40

【0018】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞のリン酸化 S T A T 4（p S T A T 4）レベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質（例えば、配列番号 33））により媒介される p S T A T 4 の増加よりも約 0.5～1000 倍、0.5～100 倍、0.5～10 倍、0.5～5 倍、0.5～2 倍、1～1000 倍、1～100 倍、1～10 倍、1～5 倍、1～2 倍、10～1000 倍、または 100～1000 倍低い増加を媒介する。

50

【0019】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現することにより産生されるインターフェロン γ (I F N - γ) のレベルにおいて、適切な対照 (例えば、参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質 (例えば、配列番号 3 3)) の存在下で産生される I F N - γ のレベルの増加よりも低い増加を媒介する。

【0020】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞により産生される I F N - γ のレベルにおいて、適切な対照 (例えば、参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質 (例えば、配列番号 3 3)) の存在下で産生される I F N - γ のレベルの増加よりも約 0.5 ~ 1000 倍、0.5 ~ 100 倍、0.5 ~ 10 倍、0.5 ~ 5 倍、0.5 ~ 2 倍、1 ~ 1000 倍、1 ~ 100 倍、1 ~ 10 倍、1 ~ 5 倍、1 ~ 2 倍、10 ~ 1000 倍、または 100 ~ 1000 倍低い増加を媒介する。

10

【0021】

一態様において、本明細書では、(a) 配列番号 31 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % 同一であり；かつ (b) 以下のアミノ酸位置 E 60、F 61、P 63、K 150、F 188、Y 189 A (配列番号 30 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) の 1 以上にアミノ酸改変 (例えば、置換、付加、欠失 (例えば、置換)) を含む、またはそれらそれからなるアミノ酸配列を含む、ヒトインターロイキン 12 p 35 (h I L - 1 2 p 3 5) ポリペプチドが提供される。

20

【0022】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドは、以下のアミノ酸位置 (i) F 188；(ii) Y 189；(iii) F 188 および Y 189；または (iv) E 60、F 61、P 63、K 150、および F 188 (配列番号 30 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) のそれぞれにアミノ酸改変 (例えば、置換、付加、欠失 (例えば、置換)) を含む、またはそれらそれからなる。

【0023】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドは、下のアミノ酸置換：E 60 K、F 61 H、P 63 S、K 150 H、F 188 P、F 188 A、および／または Y 189 A (配列番号 30 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) のうち 1 以上を含む、またはそれらそれからなる。

30

【0024】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号 111 ~ 114 のいずれか 1 つのアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換 (配列番号 31 のアミノ酸配列に対する) のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 111 ~ 114 のいずれか 1 つに示されるアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。

40

【0025】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドは、以下のアミノ酸置換：(i) F 188 A；(ii) Y 189 A；(iii) F 188 A および Y 189 A；または (iv) E 60 K、F 61 H、P 63 S、K 150 H、および F 188 P (配列番号 30 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) のそれぞれを含む、またはそれからなる。

【0026】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列が、アミノ酸 A 55 ~ K 92、N 50 ~ K 92

50

、M51～K92、L52～K92、Q53～K92、K54～K92、N50～N93
、M51～N93、L52～N93、Q53～N93、K54～N93、N50～E94
、M51～E94、L52～E94、Q53～E94、K54～E94、N50～S95
、M51～S95、L52～S95、Q53～S95、K54～S95、N50～C96
、M51～C96、L52～C96、Q53～C96、K54～C96、N50～L97
、M51～L97、L52～L97、Q53～L97、K54～L97、N50～P87
、M51～P87、L52～P87、Q53～P87、K54～P87、N50～L88
、M51～L88、L52～L88、Q53～L88、K54～L88、N50～E89
、M51～E89、L52～E89、Q53～E89、K54～E89、N50～L90
、M51～L90、L52～L90、Q53～L90、K54～L90、N50～T91
、M51～T91、L52～T91、Q53～T91、K54～T91、R56～K9
2、Q57～K92、T58～K92、L59～K92、E60～K92 A55～N9
3、R56～N93、Q57～N93、T58～N93、L59～N93、E60～N9
3、A55～E94、R56～E94、Q57～E94、T58～E94、L59～E9
4、E60～E94、A55～S95、R56～S95、Q57～S95、T58～S9
5、L59～S95、E60～S95、A55～C96、R56～C96、Q57～C9
6、T58～C96、L59～C96、E60～C96、A55～L97、R56～L9
7、Q57～L97、T58～L97、L59～L97、E60～L97、A55～P8
7、R56～P87、Q57～P87、T58～P87、L59～P87、E60～P8
7、A55～L88、R56～L88、Q57～L88、T58～L88、L59～L8
8、E60～L88、A55～E89、R56～E89、Q57～E89、T58～E8
9、L59～E89、E60～E89、A55～L90、R56～L90、Q57～L9
0、T58～L90、L59～L90、E60～L90、A55～T91、R56～T9
1、Q57～T91、T58～T91、L59～T91、またはE60～T91（配列番
号30のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）の欠失を含み、またはそれからな
り、かつアミノ酸A55～K92、N50～K92、M51～K92、L52～K92、
Q53～K92、K54～K92、N50～N93、M51～N93、L52～N93、
Q53～N93、K54～N93、N50～E94、M51～E94、L52～E94、
Q53～E94、K54～E94、N50～S95、M51～S95、L52～S95、
Q53～S95、K54～S95、N50～C96、M51～C96、L52～C96、
Q53～C96、K54～C96、N50～L97、M51～L97、L52～L97、
Q53～L97、K54～L97、N50～P87、M51～P87、L52～P87、
Q53～P87、K54～P87、N50～L88、M51～L88、L52～L88、
Q53～L88、K54～L88、N50～E89、M51～E89、L52～E89、
Q53～E89、K54～E89、N50～L90、M51～L90、L52～L90、
Q53～L90、K54～L90、N50～T91、M51～T91、L52～T91、
Q53～T91、K54～T91、R56～K92、Q57～K92、T58～K92、
L59～K92、E60～K92 A55～N93、R56～N93、Q57～N93、
T58～N93、L59～N93、E60～N93、A55～E94、R56～E94、
Q57～E94、T58～E94、L59～E94、E60～E94、A55～S95、
R56～S95、Q57～S95、T58～S95、L59～S95、E60～S95、
A55～C96、R56～C96、Q57～C96、T58～C96、L59～C96、
E60～C96、A55～L97、R56～L97、Q57～L97、T58～L97、
L59～L97、E60～L97、A55～P87、R56～P87、Q57～P87、
T58～P87、L59～P87、E60～P87、A55～L88、R56～L88、
Q57～L88、T58～L88、L59～L88、E60～L88、A55～E89、
R56～E89、Q57～E89、T58～E89、L59～E89、E60～E89、
A55～L90、R56～L90、Q57～L90、T58～L90、L59～L90、
E60～L90、A55～T91、R56～T91、Q57～T91、T58～T91、
L59～T91、またはE60～T91の欠失以外では、前記ポリペプチドのアミノ酸配

10

20

30

40

50

列は、配列番号 31 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % 同一である。

【0027】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、アミノ酸 A 5 5 - K 9 2（配列番号 30 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）の欠失を含み、またはそれからなり、かつアミノ酸 A 5 5 - K 9 2 の欠失以外では、前記ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 31 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % 同一である。

10

【0028】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号 110 のいずれか 1 つのアミノ酸配列に示されるアミノ酸欠失（配列番号 31 のアミノ酸配列に対する）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸欠失のセット以外では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 110 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。

【0029】

一態様において、本明細書では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドに作動可能に連結された本明細書に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドを含む一本鎖 h I L - 1 2（s c h I L - 1 2）ポリペプチドが提供される。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、表 6 に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 31 または 110 ~ 114 のいずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドは、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドである。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドは、ペプチドリンカーを介して h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドに作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、N 末端から C 末端に向かって、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド、ペプチドリンカー、および h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、N 末端から C 末端に向かって、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド、ペプチドリンカー、および h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドを含む。

20

30

【0030】

一態様において、本明細書では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドに作動可能に連結された本明細書に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドを含む s c h I L - 1 2 ポリペプチドが提供される。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、表 10 に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 38 ~ 51 または 90 ~ 109 のいずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドは、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドである。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドは、ペプチドリンカーを介して h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドに作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、N

40

50

末端からC末端に向かって、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド、ペプチドリンカー、および h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、N末端からC末端に向かって、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド、ペプチドリンカー、および h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドを含む。

【0031】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド（例えば、変異体 h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド）、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド；および異種部分を含む融合タンパク質が提供される。

【0032】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、表 6 に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。

【0033】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 31 または 110 ~ 114 のいずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 31 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、表 10 に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 33 または 38 ~ 51 または 90 ~ 109 のいずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 33 または 38 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。

【0034】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドおよび h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドは、s c h I L - 1 2 ポリペプチドとして作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドは、ペプチドリンカーを介して h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドに作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、N末端からC末端に向かって、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド、ペプチドリンカー、および h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、N末端からC末端に向かって、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド、ペプチドリンカー、および h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドを含む。

【0035】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、融合タンパク質が、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞のリン酸化 S T A T 4 (p S T A T 4) レベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 融合タンパク質（例えば、配列番号 371、372、383））により媒介される p S T A T 4 の増加よりも低い増加を媒介する。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞のリン酸化 S T A T 4 (p S T A T 4) レベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 融合タンパク質（例えば、配列番号 371、372、383））により媒介される p S T A T 4 の増加よりも約 0.5 ~ 1000 倍、0.5 ~ 100 倍、0.5 ~ 10 倍、0.5 ~ 5 倍、0.5

10

20

30

40

50

～2倍、1～1000倍、1～100倍、1～10倍、1～5倍、1～2倍、10～1000倍、または100～1000倍低い増加を媒介する。いくつかの実施形態では、融合タンパク質が、表面にhIL-12Rを発現することにより産生されるインターフェロン γ (IFN- γ) のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照hIL-12融合タンパク質（例えば、配列番号371、372、383））の存在下で産生されるIFN- γ のレベルの増加よりも低い増加を媒介する。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、表面にhIL-12Rを発現することにより産生されるIFN- γ のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照hIL-12融合タンパク質（例えば、配列番号371、372、383））の存在下で産生されるIFN- γ のレベルの増加よりも約0.5～1000倍、0.5～100倍、0.5～10倍、0.5～5倍、0.5～2倍、1～1000倍、1～100倍、1～10倍、1～5倍、1～2倍、10～1000倍、または100～1000倍低い増加を媒介する。

10

【0036】

いくつかの実施形態では、異種部分は、抗体（もしくはその抗原結合ドメイン）および／または1以上のFc領域を含む、またはそれらそれからなる。いくつかの実施形態では、異種部分は、抗体（またはその抗原結合ドメイン）を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、異種部分は、全長抗体、scFv、(scFv)₂、scFv-Fc、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fab-Fc、シングルドメイン抗体（例えば、VHH）、またはシングルドメイン抗体-Fc（例えば、VHH-Fcを含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、抗体（またはその抗原結合ドメイン）は、3つのVH相補性決定領域（VH CDR）：VH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3を含む第1の可変重鎖領域（VH）；ならびに3つのVL CDR：VL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3を含む第1の可変軽鎖領域（VL）を含む。いくつかの実施形態では、異種部分は、全長抗体を含む、またはそれからなる。

20

【0037】

いくつかの実施形態では、抗体（またはその抗原結合ドメイン）とは、ヒト腫瘍関連抗原（hTAA）と特異的に結合する。

【0038】

いくつかの実施形態では、抗体（またはその抗原結合ドメイン）は、ヒト炭酸脱水酵素IX（hCAIX）と特異的に結合する。

30

【0039】

いくつかの実施形態では、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ、表17に示される抗体のVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3のアミノ酸配列を含む、またはそれらそれからなる。

【0040】

いくつかの実施形態では、VH CDR1のアミノ酸配列が、配列番号237のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号237のアミノ酸配列を含み；VH CDR2のアミノ酸配列が、配列番号238のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号238のアミノ酸配列を含み；VH CDR3のアミノ酸配列が、配列番号239のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号239のアミノ酸配列を含み；VL CDR1のアミノ酸配列が、配列番号240のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号240のアミノ酸配列を含み；VL CDR2のアミノ酸配列が、配列番号241のアミノ酸配列または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号242のアミノ酸配列を含み；かつVL CDR3のアミノ酸配列が、配列番号243のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号243のアミノ酸配列を含む。

40

50

【0041】

いくつかの実施形態では、VHのアミノ酸配列は、表17に示されるいずれかのVHポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつVLのアミノ酸配列が、表17に示されるいずれかのVLポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【0042】

いくつかの実施形態では、VHのアミノ酸配列は、配列番号7、246、256、264、274、または284のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつVLのアミノ酸配列が、配列番号12、247、257、265、275、または285のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【0043】

いくつかの実施形態では、VHのアミノ酸配列は、配列番号7のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつVLのアミノ酸配列が、配列番号12のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【0044】

いくつかの実施形態では、VHのアミノ酸配列は、配列番号7のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつVLのアミノ酸配列が、配列番号15のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【0045】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、CH2領域およびCH3領域を含む第1のFc領域；ならびにCH2領域およびCH3領域を含む第2のFc領域を含む。いくつかの実施形態では、(a)第1のFc領域がCH2領域およびCH3領域を含み；かつ第2のFc領域がCH2領域およびCH3領域を含むか；または(b)第1のFc領域がヒンジ領域、CH2領域、およびCH3領域を含み；かつ第2のFc領域がヒンジ領域、CH2領域、およびCH3領域を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、hIgG1もしくはhIgG4 Fc領域、またはその機能的変異体である。いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域は、全長抗体の一部である。

【0046】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のCH3領域および第2のFc領域のCH3領域はそれぞれ、第1のFc領域と第2のFc領域のヘテロ二量体形成を促進する少なくとも1つのアミノ酸改変を含む。

【0047】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域は、アミノ酸位置T366、L368、およびY407 (KabatのEUインデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む

10

20

30

40

50

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、少なくとも1つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加）を含まない参照Fc領域に比べてFc領域のエフェクター機能を低下または消失させる少なくとも1つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加）を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのエフェクター機能は、抗体依存性細胞傷害性（ADCC）、抗体依存性細胞貪食（ADCP）、もしくは補体依存性細胞傷害性（CDC）を誘導するか、Fc受容体（例えば、Fcγ受容体）と結合するか、またはそれらの任意の組合せであるFc領域の能力を含む。

【0050】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、アミノ酸位置L234、L235、および／またはP329（KabattのEUインデックスによるナンバリング）のうち1つ、2つ、または3つにアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、以下のアミノ酸置換：L234A、L235A、および／またはP329GもしくはP329A（KabattのEUインデックスによるナンバリング）のうち1つ、2つ、または3つを含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、L234AおよびL235Aアミノ酸置換（KabattのEUインデックスによるナンバリング）を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域は、L234A、L235A、およびP329Aアミノ酸置換（KabattのEUインデックスによるナンバリング）を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、L234A、L235A、およびP329Gアミノ酸置換（KabattのEUインデックスによるナンバリング）を含む。

【0051】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドのN末端は、第1のFc領域のC末端に作動可能に連結され；かつhIL-12p35ポリペプチドのN末端は、第2のFc領域のC末端に作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドは、第1のペプチドリンカーを介して第1のFc領域に作動可能に連結され；かつhIL-12p40ポリペプチドは、第2のペプチドリンカーを介して第2のFc領域に作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、第1のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、表18に示されるペプチドリンカーのアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第2のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、表18に示されるペプチドリンカーのアミノ酸配列を含み、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、第1のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号66～81、88～303、または369のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第2のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号66～81、288～303、または369のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、第1のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号72のアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第2のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号72のアミノ酸配列を含み、またはそれからなる。

【0052】

いくつかの実施形態では、hIL-12p35ポリペプチドのN末端は、第1のFc領域のC末端に作動可能に連結され；かつhIL-12p40ポリペプチドのN末端は、第2のFc領域のC末端に作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドは、第1のペプチドリンカーを介して第2のFc領域に作動可能に連結され；かつhIL-12p40ポリペプチドは、第2のペプチドリンカーを介して第1のFc領域に作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、第1のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、表18に示されるペプチドリンカーのアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第2のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、表18に示されるペプチドリンカーのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、第1のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号66～81、288～303、または369のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第2のペ

チドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号 66～81、288～303、または 369 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、第 1 のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号 72 のアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第 2 のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号 72 のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【0053】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドおよび h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドは、s c h I L - 1 2 ポリペプチドとして作動可能に連結され、かつ s c h I L - 1 2 ポリペプチドの N 末端は、第 1 の F c 領域の C 末端または第 2 の F c 領域の C 末端に作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、s c h I L - 1 2 ポリペプチドは、第 1 のペプチドリンカーを介して第 1 の F c 領域または第 2 の F c 領域に作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、第 1 のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、表 18 に示されるペプチドリンカーのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、第 1 のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号 66～81、288～303、または 369 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、第 1 のペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 72 のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

10

【0054】

一態様において、本明細書では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド；本明細書に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド（例えば、変異体 h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド）；および異種部分を含む融合タンパク質が提供される。

20

【0055】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、表 6 に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。

【0056】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 31 または 110～114 のいずれか 1 つアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 31 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、表 10 に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 33 または 38～51 または 90～109 のいずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 33 または 38 のアミノ酸配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である。

30

40

【0057】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドおよび h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドは、s c h I L - 1 2 ポリペプチドとして作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドは、ペプチドリンカーを介して h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドに作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、

50

ポリペプチドは、N末端からC末端に向かって、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド、ペプチドリンカー、および h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、N末端からC末端に向かって、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド、ペプチドリンカー、および h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドを含む。

【0058】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞のリン酸化 S T A T 4 (p S T A T 4) レベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 融合タンパク質（例えば、配列番号 3 7 1、3 7 2、3 8 3））により媒介される p S T A T 4 の増加よりも低い増加を媒介する。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞のリン酸化 S T A T 4 (p S T A T 4) レベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 融合タンパク質（例えば、配列番号 3 7 1、3 7 2、3 8 3））により媒介される p S T A T 4 の増加よりも約 0.5 ~ 1000 倍、0.5 ~ 100 倍、0.5 ~ 10 倍、0.5 ~ 5 倍、0.5 ~ 2 倍、1 ~ 1000 倍、1 ~ 100 倍、1 ~ 10 倍、1 ~ 5 倍、1 ~ 2 倍、10 ~ 1000 倍、または 100 ~ 1000 倍低い増加を媒介する。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現することにより産生されるインターフェロン γ (I F N - γ) のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 融合タンパク質（例えば、配列番号 3 7 1、3 7 2、3 8 3））の存在下で産生される I F N - γ のレベルの増加よりも低い増加を媒介する。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現することにより産生される I F N - γ のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 融合タンパク質（例えば、配列番号 3 7 1、3 7 2、3 8 3））の存在下で産生される I F N - γ のレベルの増加よりも約 0.5 ~ 1000 倍、0.5 ~ 100 倍、0.5 ~ 10 倍、0.5 ~ 5 倍、0.5 ~ 2 倍、1 ~ 1000 倍、1 ~ 100 倍、1 ~ 10 倍、1 ~ 5 倍、1 ~ 2 倍、10 ~ 1000 倍、または 100 ~ 1000 倍低い増加を媒介する。

【0059】

いくつかの実施形態では、異種部分は、抗体（もしくはその抗原結合ドメイン）および／または 1 以上の F c 領域を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、異種部分は、抗体（またはその抗原結合ドメイン）を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、異種部分は、全長抗体、s c F v、(s c F v)₂、s c F v - F c、F a b、F a b'、F (a b')₂、F a b - F c、シングルドメイン抗体（例えば、V H H）、またはシングルドメイン抗体 - F c（例えば、V H H - F c）を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、抗体（またはその抗原結合ドメイン）は、3つの V H 相補性決定領域（V H C D R）：V H C D R 1、V H C D R 2、および V H C D R 3 を含む第 1 の可変重鎖領域（V H）；ならびに 3つの V L C D R：V L C D R 1、V L C D R 2、および V L C D R 3 を含む第 1 の可変軽鎖領域（V L）を含む。いくつかの実施形態では、異種部分は、全長抗体を含む、またはそれからなる。

【0060】

いくつかの実施形態では、抗体（またはその抗原結合ドメイン）は、ヒト腫瘍関連抗原（h T A A）と特異的に結合する。

【0061】

いくつかの実施形態では、抗体（またはその抗原結合ドメイン）は、ヒト炭酸脱水酵素 I X (h C A I X) と特異的に結合する。

【0062】

いくつかの実施形態では、V H C D R 1、V H C D R 2、V H C D R 3、V L C D R 1、V L C D R 2、および V L C D R 3 のアミノ酸配列はそれぞれ、表 17 に示される抗体の V H C D R 1、V H C D R 2、V H C D R 3、V L C D R 1、V L C D R 2、および V L C D R 3 のアミノ酸配列を含む、またはそれらからなる。

【0063】

いくつかの実施形態では、V H C D R 1 のアミノ酸配列は、配列番号 2 3 7 のアミノ

酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号237のアミノ酸配列を含み；VH CDR2のアミノ酸配列は、配列番号238のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号238のアミノ酸配列を含み；VH CDR3のアミノ酸配列は、配列番号239のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号239のアミノ酸配列を含み；VL CDR1のアミノ酸配列は、配列番号240のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号240のアミノ酸配列を含み；VL CDR2のアミノ酸配列は、配列番号241のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号242のアミノ酸配列を含み；かつVL CDR3のアミノ酸配列は、配列番号243のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号243のアミノ酸配列を含む。

10

【0064】

いくつかの実施形態では、VHのアミノ酸配列は、表17に示されるいずれかのVHポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつVLのアミノ酸配列は、表17に示されるいずれかのVLポリペプチドのアミノ酸配列と、少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

20

【0065】

いくつかの実施形態では、VHのアミノ酸配列は、配列番号7、246、256、264、274、または284のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつVLのアミノ酸配列は、配列番号12、247、257、265、275、または285のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

30

【0066】

いくつかの実施形態では、VHのアミノ酸配列は、配列番号7のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつVLのアミノ酸配列は、配列番号12のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【0067】

いくつかの実施形態では、VHのアミノ酸配列は、配列番号7のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつVLのアミノ酸配列は、配列番号15のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

40

【0068】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、CH2領域およびCH3領域を含む第1のFc領域；およびCH2領域およびCH3領域を含む第2のFc領域を含む。いくつかの実施形態では、(a)第1のFc領域がCH2領域およびCH3領域を含み；かつ第2

50

の F c 領域が C H 2 領域および C H 3 領域を含むか；または (b) 第 1 の F c 領域がヒンジ領域、C H 2 領域、および C H 3 領域を含み；かつ第 2 の F c 領域がヒンジ領域、C H 2 領域、および C H 3 領域を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域および第 2 の F c 領域はそれぞれ、h I g G l または h I g G 4 F c 領域、またはその機能的変異体である。いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域および第 2 の F c 領域は、全長抗体の一部である。

【0069】

いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域の C H 3 領域および第 2 の F c 領域の C H 3 領域はそれぞれ、第 1 の F c 領域と第 2 の F c 領域のヘテロ二量体形成を促進する少なくとも 1 つのアミノ酸改変を含む。

【0070】

いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域は、アミノ酸位置 T 3 6 6、L 3 6 8、および Y 4 0 7 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域は、以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、および Y 4 0 7 V (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域は、アミノ酸位置 Y 3 4 9 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域は、以下のアミノ酸置換 Y 3 4 9 C (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域は、アミノ酸位置 T 3 6 6、L 3 6 8、Y 4 0 7、および Y 3 4 9 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域は、以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V、および Y 3 4 9 C (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む。いくつかの実施形態では、第 2 の F c 領域は、アミノ酸位置 T 3 6 6 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、第 2 の F c 領域は、以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 W (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む。いくつかの実施形態では、第 2 の F c 領域は、アミノ酸位置 S 3 5 4 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、第 2 の F c 領域は、以下のアミノ酸置換 S 3 5 4 C (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む。いくつかの実施形態では、第 2 の F c 領域は、アミノ酸位置 T 3 6 6 および S 3 5 4 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、第 2 の F c 領域は、以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 W および S 3 5 4 C (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域は、以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V、および Y 3 4 9 C を含み、かつ第 2 の F c 領域は、以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 W および S 3 5 4 C (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む。

【0071】

いくつかの実施形態では、第 2 の F c 領域は、アミノ酸位置 T 3 6 6、L 3 6 8、および Y 4 0 7 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、第 2 の F c 領域は、以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、および Y 4 0 7 V (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む。いくつかの実施形態では、第 2 の F c 領域は、アミノ酸位置 Y 3 4 9 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、第 2 の F c 領域は、以下のアミノ酸置換 Y 3 4 9 C (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む。いくつかの実施形態では、第 2 の F c 領域は、アミノ酸位置 T 3 6 6、L 3 6 8、Y 4 0 7、および Y 3 4 9 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、第 2 の F c 領域は、以下のアミノ酸置換 T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V、および Y 3 4 9 C (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域は、アミノ酸位置 T 3 6 6 (K a b a t の E U インデックスによるナンバリング) にアミ

10

20

30

40

50

ノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域は、以下のアミノ酸置換T366W（KabattのEUインデックスによるナンバリング）を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域は、アミノ酸位置S354（KabattのEUインデックスによるナンバリング）にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域は、以下のアミノ酸置換S354C（KabattのEUインデックスによるナンバリング）を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域は、アミノ酸位置T366およびS354（KabattのEUインデックスによるナンバリング）にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域は、以下のアミノ酸置換T366WおよびS354C（KabattのEUインデックスによるナンバリング）を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域は、以下のアミノ酸置換T366S、L368A、Y407V、およびY349Cを含み、かつ第1のFc領域は、以下のアミノ酸置換T366WおよびS354C（KabattのEUインデックスによるナンバリング）を含む。

10

【0072】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、少なくとも1つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加）を含まない参照Fc領域に比べてFc領域のエフェクター機能を低下または消失させる少なくとも1つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加）を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのエフェクター機能は、抗体依存性細胞傷害性（ADCC）、抗体依存性細胞貪食（ADCP）、もしくは補体依存性細胞傷害性（CDC）を誘導するか、Fc受容体（例えば、Fcγ受容体）と結合するか、またはそれらの任意の組合せであるFc領域の能力を含む。

20

【0073】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、アミノ酸位置L234、L235、および／またはP329（KabattのEUインデックスによるナンバリング）のうち1つ、2つ、または3つにアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、以下のアミノ酸置換：L234A、L235A、および／またはP329GまたはP329A（KabattのEUインデックスによるナンバリング）のうち1つ、2つ、または3つを含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、L234AおよびL235Aアミノ酸置換（KabattのEUインデックスによるナンバリング）を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、L234A、L235A、およびP329Aアミノ酸置換（KabattのEUインデックスによるナンバリング）を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、L234A、L235A、およびP329Gアミノ酸置換（KabattのEUインデックスによるナンバリング）を含む。

30

【0074】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドのN末端は、第1のFc領域のC末端に作動可能に連結され；かつhIL-12p35ポリペプチドのN末端は、第2のFc領域のC末端に作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドは、第1のペプチドリンカーを介して第1のFc領域に作動可能に連結され；かつhIL-12p40ポリペプチドは、第2のペプチドリンカーを介して第2のFc領域に作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、第1のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、表18に示されるペプチドリンカーのアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第2のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、表18に示されるペプチドリンカーのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、第1のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号66～81、88～303、または369のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第2のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号66～81、288～303、または369のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、第1のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号72のアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第2のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号72のアミノ酸配列

40

50

を含む、またはそれからなる。

【0075】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのN末端は、第1のF c 領域のC末端に作動可能に連結され；かつh I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのN末端は、第2のF c 領域のC末端に作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドは、第1のペプチドリンカーを介して第2のF c 領域に作動可能に連結され；かつh I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドは、第2のペプチドリンカーを介して第1のF c 領域に作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、第1のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、表18に示されるペプチドリンカーのアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第2のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、表18に示されるペプチドリンカーのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、第1のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号66～81、288～303、または369のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第2のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号66～81、288～303、または369のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、第1のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号72のアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第2のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号72のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

10

【0076】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドおよびh I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドは、s c h I L - 1 2 ポリペプチドとして作動可能に連結され、かつs c h I L - 1 2 ポリペプチドのN末端は、第1のF c 領域のC末端または第2のF c 領域のC末端に作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、s c h I L - 1 2 ポリペプチドは、第1のペプチドリンカーを介して第1のF c 領域または第2のF c 領域に作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、第1のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、表18に示されるペプチドリンカーのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、第1のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号66～81、288～303、または369のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、第1のペプチドのアミノ酸配列は、配列番号72のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

20

30

【0077】

一態様において、本明細書では、h T A Aと特異的に結合する全長抗体であって、N末端からC末端に向かって、軽鎖可変領域（V L）領域および軽鎖定常領域（C L）領域を含む第1の軽鎖；N末端からC末端に向かって、重鎖可変領域（V H）領域、C H 1 領域、ヒンジ領域、C H 2 領域、およびC H 3 領域を含む第1の重鎖；N末端からC末端に向かって、V H 領域、C H 1 領域、ヒンジ領域、C H 2 領域、およびC H 3 領域を含む第2の重鎖；N末端からC末端に向かって、V L 領域およびV H 領域を含む第2の軽鎖を含み；第1の軽鎖と第1の重鎖は会合して第1の抗原結合ドメインを形成し；第2の軽鎖と第2の重鎖は会合して第2の抗原結合ドメインを形成し；かつ第1の重鎖と第2の重鎖は会合して二量体を形成する全長抗体；本明細書に記載のh I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド（例えば、変異体h I L - 1 2 p 4 0）、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドを含み；全長抗体の第1の重鎖のC H 3 領域は、1以上のアミノ酸改変を含まない参照C H 3 領域（例えば、野生型C H 3 領域、例えば、配列番号122）のアミノ酸配列に対して1以上のアミノ酸改変（例えば、置換）を含み；全長抗体の第2の重鎖のC H 3 領域は、1以上のアミノ酸改変を含まない参照C H 3 領域（例えば、野生型C H 3 領域、例えば、配列番号122）のアミノ酸配列に対して1以上のアミノ酸改変（例えば、置換）を含み；全長抗体の第1の重鎖のC H 3 領域の1以上のアミノ酸改変は、全長抗体の第2の重鎖のC H 3 領域における1以上のアミノ酸改変とは異なり；全長抗体の第1の重鎖のC H 3 領域における1以上のアミノ酸改変と全長抗体の第2の重鎖のC H 3 領域における1以上のアミノ酸改変は、全長抗体の第1の重鎖と第2の重鎖のヘテロ二量体形成を促進し；h I L - 1 2 p

40

50

40 ポリペプチドのN末端は、第1のペプチドリンカーを介して第1の重鎖のCH₃領域のC末端に作動可能に連結され；かつhIL-12p35ポリペプチドのN末端は、第2のペプチドリンカーを介して第2の重鎖のCH₃領域のC末端に作動可能に連結されている、融合タンパク質が提供される。

【0078】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドは、(a)配列番号33のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であり；かつ(b)アミノ酸位置W37、F82、およびK219、(配列番号32のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング)のそれぞれにアミノ酸置換を含む、またはそれらからなるアミノ酸配列を含む。

10

【0079】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドのアミノ酸配列は、以下のアミノ酸置換W37A、F82A、およびK219A、(配列番号32のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング)のそれぞれを含む、またはそれらからなる。

【0080】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号38のアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換(配列番号33のアミノ酸配列に対するアミノ酸置換)のセットを含み、またはそれらからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、hIL-12p40ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号38に示されるアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

20

【0081】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号38のアミノ酸配列を含む、またはそれらからなる。

【0082】

いくつかの実施形態では、hIL-12p35ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号31または110~114のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

30

【0083】

いくつかの実施形態では、第1のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号72のアミノ酸配列を含み、またはそれらからなり；かつ第2のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号72のアミノ酸配列を含む、またはそれらからなる。

【0084】

いくつかの実施形態では、第1の抗原結合ドメインは、hCAIXと特異的に結合し、かつ第2の抗原結合ドメインは、hCAIXと特異的に結合する。

【0085】

いくつかの実施形態では、VH CDR1のアミノ酸配列は、配列番号237のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変(例えば、置換、欠失、付加など)を伴う配列番号237のアミノ酸配列を含み；VH CDR2のアミノ酸配列は、配列番号238のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変(例えば、置換、欠失、付加など)を伴う配列番号238のアミノ酸配列を含み；VH CDR3のアミノ酸配列は、配列番号239のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変(例えば、置換、欠失、付加など)を伴う配列番号239のアミノ酸配列を含み；VL CDR1のアミノ酸配列は、配列番号240のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変(例えば、置換、欠失、付加など)を伴う配列番号240のアミノ酸配列を含み；VL CDR2のアミノ酸配列は、配列番号241のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変(例えば、置換、欠失、付加など)を伴う配列番号241のアミノ酸配列を含み；

40

50

ど)を伴う配列番号242のアミノ酸配列を含み;かつVL CDR3のアミノ酸配列は、配列番号243のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変(例えば、置換、欠失、付加など)を伴う配列番号243のアミノ酸配列を含む。

【0086】

いくつかの実施形態では、VHのアミノ酸配列は、配列番号7のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり;かつVLのアミノ酸配列は、配列番号12のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

10

【0087】

いくつかの実施形態では、VHのアミノ酸配列は、配列番号7のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり;かつVLのアミノ酸配列は、配列番号15のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【0088】

いくつかの実施形態では、第1の重鎖および第2の重鎖はそれぞれ、少なくとも1つのアミノ酸改変(例えば、置換、欠失、付加)を含まない参照Fc領域に比べてFc領域のエフェクター機能を低下または消失させる少なくとも1つのアミノ酸改変(例えば、置換、欠失、付加)を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのエフェクター機能は、ADCC、ADCP、もしくはCDCを誘導するか、Fc受容体と結合するか、またはそれらの任意の組合せである能力を含む。

20

【0089】

一態様において、本明細書では、N末端からC末端に向かって、VL領域およびCL領域を含む第1の軽鎖を含む第1のポリペプチド;N末端からC末端に向かって:(i)N末端からC末端に向かって、VH領域、CH1領域、ヒンジ領域、CH2領域、およびCH3領域を含む第1の重鎖;(ii)第1のペプチドリンカー、および(iii)本明細書に記載のhIL-12p40ポリペプチド(例えば、変異体hIL-12p40)を含む第2のポリペプチド;N末端からC末端に向かって:(i)N末端からC末端に向かって、VH領域、CH1領域、ヒンジ領域、CH2領域、およびCH3領域を含む第2の重鎖、(ii)第2のペプチドリンカー;および(iii)hIL-12p35ポリペプチドを含む第3のポリペプチド;ならびにN末端からC末端に向かって、VL領域およびCL領域を含む第2の軽鎖を含む第4のポリペプチドを含み;第1の軽鎖のVLおよび第1の重鎖のVHは、会合して、第1のhTAAと特異的に結合する第1の抗原結合ドメインを形成し;第1の重鎖のCH3領域は、1以上のアミノ酸改変を含まない参照CH3領域(例えば、野生型CH3領域、例えば、配列番号122)のアミノ酸配列に対して1以上のアミノ酸改変(例えば、置換)を含み;第2の重鎖のCH3領域は、1以上のアミノ酸改変を含まない参照CH3領域(例えば、野生型CH3領域、例えば、配列番号122)のアミノ酸配列に対して1以上のアミノ酸改変(例えば、置換)を含み;全長抗体の第1の重鎖のCH3領域における1以上のアミノ酸改変は、全長抗体の第2の重鎖のCH3領域における1以上のアミノ酸改変とは異なり;全長抗体の第1の重鎖のCH3領域における1以上のアミノ酸改変および全長抗体の第2の重鎖のCH3領域における1以上のアミノ酸改変は全長抗体の第1の重鎖と第2の重鎖のヘテロ二量体形成を促進する融合タンパク質が提供される。

30

40

【0090】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドは、配列番号33のアミノ

50

酸配列と (a) 少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% 同一であり；かつ (b) アミノ酸位置 W37、F82、および K219 (配列番号 32 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) のそれぞれにアミノ酸置換を含む、またはそれからなるアミノ酸配列を含む。

【0091】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40 ポリペプチドのアミノ酸配列は、以下のアミノ酸置換 W37A、F82A、および K219A (配列番号 32 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) のそれぞれを含む、またはそれらからなる。

【0092】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 38 のアミノ酸配列 (配列番号 33 のアミノ酸配列に対するアミノ酸置換) に示されるアミノ酸置換のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、hIL-12p40 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 38 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。

【0093】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 38 のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【0094】

いくつかの実施形態では、hIL-12p35 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 31 または 110~114 のいずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。

【0095】

いくつかの実施形態では、第 1 のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号 72 のアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつ第 2 のペプチドリンカーのアミノ酸配列は、配列番号 72 のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【0096】

いくつかの実施形態では、全長抗体は、hCAIX と特異的に結合する。

【0097】

いくつかの実施形態では、VH CDR1 のアミノ酸配列は、配列番号 237 のアミノ酸配列、または 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸改変 (例えば、置換、欠失、付加など) を伴う配列番号 237 のアミノ酸配列を含み；VH CDR2 のアミノ酸配列は、配列番号 238 のアミノ酸配列、または 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸改変 (例えば、置換、欠失、付加など) を伴う配列番号 238 のアミノ酸配列を含み；VH CDR3 のアミノ酸配列は、配列番号 239 のアミノ酸配列、または 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸改変 (例えば、置換、欠失、付加など) を伴う配列番号 239 のアミノ酸配列を含み；VL CDR1 のアミノ酸配列は、配列番号 240 のアミノ酸配列、または 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸改変 (例えば、置換、欠失、付加など) を伴う配列番号 240 のアミノ酸配列を含み；VL CDR2 のアミノ酸配列は、配列番号 241 のアミノ酸配列、または 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸改変 (例えば、置換、欠失、付加など) を伴う配列番号 242 のアミノ酸配列を含み；かつ VL CDR3 のアミノ酸配列は、配列番号 243 のアミノ酸配列、または 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのアミノ酸改変 (例えば、置換、欠失、付加など) を伴う配列番号 243 のアミノ酸配列を含む。

【0098】

いくつかの実施形態では、VH のアミノ酸配列は、配列番号 7 のアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であるアミノ酸配列

10

20

30

40

50

を含み、またはそれからなり；かつV Lのアミノ酸配列は、配列番号1 2のアミノ酸配列と少なくとも8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または1 0 0 %同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【0 0 9 9】

いくつかの実施形態では、V Hのアミノ酸配列は、配列番号7のアミノ酸配列と少なくとも8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または1 0 0 %同一であるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり；かつV Lのアミノ酸配列は、配列番号1 5のアミノ酸配列と少なくとも8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または1 0 0 %同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

10

【0 1 0 0】

いくつかの実施形態では、第1の重鎖および第2の重鎖はそれぞれ、少なくとも1つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加）を含まない参照F c領域に比べてF c領域のエフェクター機能を低下または消失させる少なくとも1つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加）を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのエフェクター機能は、A D C C、A D C P、もしくはC D Cを誘導するか、F c受容体と結合するか、またはそれらの任意の組合せである能力を含む。

【0 1 0 1】

20

一態様において、本明細書では、h C A I Xと特異的に結合し、かつV HおよびV Lを含み、V Hのアミノ酸配列は、配列番号3～9のいずれか1つに示されるアミノ酸配列と少なくとも8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または1 0 0 %同一であり；かつV Lのアミノ酸配列は、配列番号1 0～1 7のいずれか1つに示されるアミノ酸配列と少なくとも8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または1 0 0 %同一である抗体（またはその抗原結合ドメイン）が提供される。

【0 1 0 2】

いくつかの実施形態では、V Hのアミノ酸配列は、配列番号7に示されるアミノ酸配列と少なくとも8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または1 0 0 %同一であり；かつV Lのアミノ酸配列は、配列番号1 5に示されるアミノ酸配列と少なくとも8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または1 0 0 %同一である。

30

【0 1 0 3】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載のh I L - 1 2 p 4 0ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、本明細書に記載のh I L - 1 2 p 3 5ポリペプチド、本明細書に記載のs c h I L - 1 2ポリペプチド、本明細書に記載の融合タンパク質（もしくはその1以上のポリペプチド）、または本明細書に記載の抗体（もしくはその1以上のポリペプチド）が提供される。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、R N A（例えば、m R N A）またはD N Aである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、コドンが最適化されている。

40

【0 1 0 4】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載のポリヌクレオチドを含む発現ベクターが提供される。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、ウイルスベクターまたはプラスミドである。

【0 1 0 5】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載のh I L - 1 2 p 4 0ポリペプチド、本明細書に記載のh I L - 1 2 p 3 5ポリペプチド、本明細書に記載のs c h I L - 1 2

50

ポリペプチド、本明細書に記載の融合タンパク質（もしくはその1以上のポリペプチド）、本明細書に記載の抗体（もしくはその1以上のポリペプチド）、本明細書に記載のポリヌクレオチド、または本明細書に記載の発現ベクターを含む宿主細胞が提供される。

【0106】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載のh I L-1 2 p 4 0ポリペプチド、本明細書に記載のh I L-1 2 p 3 5ポリペプチド、本明細書に記載のs c h I L-1 2ポリペプチド、本明細書に記載の融合タンパク質（もしくはその1以上のポリペプチド）、本明細書に記載の抗体（もしくはその1以上のポリペプチド）、本明細書に記載のポリヌクレオチド、または本明細書に記載の発現ベクターを含む担体が提供される。いくつかの実施形態では、担体は、脂質ナノ粒子、リボソーム、リボプレックス、またはナノリボソームである。

10

【0107】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載のh I L-1 2 p 4 0ポリペプチド、本明細書に記載のh I L-1 2 p 3 5ポリペプチド、本明細書に記載のs c h I L-1 2ポリペプチド、本明細書に記載の融合タンパク質（もしくはその1以上のポリペプチド）、本明細書に記載の抗体（もしくはその1以上のポリペプチド）、本明細書に記載のポリヌクレオチド、または本明細書に記載の発現ベクター、本明細書に記載の宿主細胞、または本明細書に記載の担体、および薬学上許容される賦形剤を含む医薬組成物が提供される。

【0108】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載のh I L-1 2 p 4 0ポリペプチド、本明細書に記載のh I L-1 2 p 3 5ポリペプチド、本明細書に記載のs c h I L-1 2ポリペプチド、本明細書に記載の融合タンパク質（もしくはその1以上のポリペプチド）、本明細書に記載の抗体（もしくはその1以上のポリペプチド）、本明細書に記載のポリヌクレオチド、または本明細書に記載の発現ベクター、本明細書に記載の宿主細胞、本明細書に記載の担体、または本明細書に記載の医薬組成物を含むキットが提供される。

20

【0109】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載のh I L-1 2 p 4 0ポリペプチド、本明細書に記載のh I L-1 2 p 3 5ポリペプチド、本明細書に記載のs c h I L-1 2ポリペプチド、本明細書に記載の融合タンパク質（もしくはその1以上のポリペプチド）、本明細書に記載の抗体（もしくはその1以上のポリペプチド）を作製する方法であって、i n v i t r oまたはe x v i v o細胞の集団に本明細書に記載のポリヌクレオチドまたは本明細書に記載の発現ベクターを導入すること、前記細胞集団を前記細胞集団が多重特異性タンパク質を発現するのに十分な条件下で培養すること、ならびに任意選択により、h I L-1 2 p 4 0ポリペプチド、h I L-1 2 p 3 5ポリペプチド、s c h I L-1 2ポリペプチド、または融合タンパク質（もしくはその1以上のポリペプチド）を単離および／または精製することを含む方法が提供される。

30

【0110】

一態様において、本明細書では、ポリペプチド、融合タンパク質、抗体、ポリヌクレオチド、発現ベクター、宿主細胞、担体、または医薬組成物を対象に送達する方法であって、本明細書に記載のh I L-1 2 p 4 0ポリペプチド、本明細書に記載のh I L-1 2 p 3 5ポリペプチド、本明細書に記載のs c h I L-1 2ポリペプチド、本明細書に記載の融合タンパク質（もしくはその1以上のポリペプチド）、本明細書に記載の抗体（もしくはその1以上のポリペプチド）、本明細書に記載のポリヌクレオチド、または本明細書に記載の発現ベクター、本明細書に記載の宿主細胞、本明細書に記載の担体、または本明細書に記載の医薬組成物を対象に、h I L-1 2 p 4 0ポリペプチド、h I L-1 2 p 3 5ポリペプチド、s c h I L-1 2ポリペプチド、融合タンパク質、ポリヌクレオチド、発現ベクター、宿主細胞、担体、または医薬組成物を対象に送達するのに十分な量および時間で投与することを含む方法が提供される。

40

【0111】

50

対象においてT細胞またはNK細胞のエフェクター機能を刺激する方法であって、本明細書に記載のh I L - 1 2 p 4 0ポリペプチド、本明細書に記載のh I L - 1 2 p 3 5ポリペプチド、本明細書に記載のs c h I L - 1 2ポリペプチド、本明細書に記載の融合タンパク質（もしくはその1以上のポリペプチド）、本明細書に記載の抗体（もしくはその1以上のポリペプチド）、本明細書に記載のポリヌクレオチド、または本明細書に記載の発現ベクター、本明細書に記載の宿主細胞、本明細書に記載の担体、または本明細書に記載の医薬組成物を対象に、対象におけるT細胞またはNK細胞のエフェクター機能を刺激するのに十分な量および時間で投与することを含む方法。

【0112】

対象において癌を予防または治療する方法であって、本明細書に記載のh I L - 1 2 p 4 0ポリペプチド、本明細書に記載のh I L - 1 2 p 3 5ポリペプチド、本明細書に記載のs c h I L - 1 2ポリペプチド、本明細書に記載の融合タンパク質（もしくはその1以上のポリペプチド）、本明細書に記載の抗体（もしくはその1以上のポリペプチド）、本明細書に記載のポリヌクレオチド、または本明細書に記載の発現ベクター、本明細書に記載の宿主細胞、本明細書に記載の担体、または本明細書に記載の医薬組成物を、それを必要とする対象に、対象において癌を予防または治療するのに十分な量および時間で投与することを含む方法。

【0113】

いくつかの実施形態では、癌は、固形腫瘍である。いくつかの実施形態では、癌は、肺癌、中枢神経系癌（例えば、脳癌または脊髄癌、例えば、星状細胞腫、膠芽腫）、乳癌、大腸癌、結腸癌、直腸癌、食道癌、腎臓癌、肝臓癌、卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、胃癌、皮膚癌、膀胱癌、子宮癌、脳癌、子宮内膜癌、口唇癌、口腔癌、中皮腫、肉腫、甲状腺癌、胸腺癌、腎癌、肛門癌、頭部癌、頸部癌、または頭頸部癌である。

【0114】

いくつかの実施形態では、癌は、腎癌（例えば、腎細胞癌）、膀胱癌、大腸癌、小腸癌、食道／食道胃接合部（G E J）癌、中枢神経系癌（例えば、脳もしくは脊髄癌、例えば、膠芽腫）、子宮頸癌、胃癌、肺癌（例えば、小細胞肺癌）、または消化管癌である。

【0115】

一態様において、本明細書では、対象の癌（例えば、固形癌）細胞においてC A I Xの発現を決定する方法であって、対象からサンプルを得ること、前記サンプルは癌細胞を含まない（または実質的な数の癌細胞を含まない）、および前記サンプル中の可溶性C A I X（またはそのフラグメントもしくは変異体）の有無を判定することを含む方法が提供される。

【0116】

いくつかの実施形態では、サンプルは、血液、血清、または血漿である。いくつかの実施形態では、対象はヒトである。

【0117】

いくつかの実施形態では、癌は、（例えば、固形癌）である。いくつかの実施形態では、固形癌は、腎癌（例えば、腎細胞癌）、膀胱癌、大腸癌、小腸癌、食道／食道胃接合部（G E J）癌、中枢神経系癌（例えば、脳もしくは脊髄癌、例えば、膠芽腫）、子宮頸癌、胃癌、肺癌（例えば、小細胞肺癌）、または消化管癌である。

【0118】

一態様において、本明細書では、C A I Xを発現する癌細胞を含む癌（例えば、固形癌）を有する対象を診断する方法であって、対象からサンプルを得ること、前記サンプルは癌細胞を含まない（または実質的な数の癌細胞を含まない）、前記サンプル中の可溶性C A I X（またはそのフラグメントもしくは変異体）の有無を判定すること、および可溶性C A I Xが前記サンプル中に存在することが決定された場合に、前記対象を、C A I Xを発現する癌細胞を含む癌（例えば、固形癌）を有するとして診断することを含む方法が提供される。

【0119】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、サンプルは、血液、血清、または血漿である。いくつかの実施形態では、対象はヒトである。

【0120】

いくつかの実施形態では、癌は、（例えば、固形癌）である。いくつかの実施形態では、固形癌は、腎癌（例えば、腎細胞癌）、膀胱癌、大腸癌、小腸癌、食道／食道胃接合部（GEJ）癌、中枢神経系癌（例えば、脳もしくは脊髄癌、例えば、膠芽腫）、子宮頸癌、胃癌、肺癌（例えば、小細胞肺癌）、または消化管癌である。

【0121】

一態様において、本明細書では、対象において癌（例えば、固形癌）を治療する方法であって、対象からのサンプルにおいて可溶性CAIXの存在を判定した検査結果を受け取ること、前記サンプルは癌細胞を含まない（または実質的な数の癌細胞を含まない）、前記対象を、CAIXを発現する癌細胞を含む癌（例えば、固形癌）を有するとして診断すること、およびそれを必要とする対象に、本明細書に記載のhIL-12p40ポリペプチド、本明細書に記載のhIL-12p35ポリペプチド、本明細書に記載のscIL-12ポリペプチド、本明細書に記載の融合タンパク質（もしくはその1以上のポリペプチド）、本明細書に記載の抗体（もしくはその1以上のポリペプチド）、本明細書に記載のポリヌクレオチド、または本明細書に記載の発現ベクター、本明細書に記載の宿主細胞、本明細書に記載の担体、または本明細書に記載の医薬組成物を、対象において癌（例えば、固形癌）を治療するのに十分な量および時間で投与することを含む方法が提供される。

10

20

【0122】

いくつかの実施形態では、サンプルは、血液、血清、または血漿である。いくつかの実施形態では、対象はヒトである。

【0123】

いくつかの実施形態では、癌は、（例えば、固形癌）である。いくつかの実施形態では、固形癌は、腎癌（例えば、腎細胞癌）、膀胱癌、大腸癌、小腸癌、食道／食道胃接合部（GEJ）癌、中枢神経系癌（例えば、脳もしくは脊髄癌、例えば、膠芽腫）、子宮頸癌、胃癌、肺癌（例えば、小細胞肺癌）、または消化管癌である。

4. 図面の簡単な説明

【図面の簡単な説明】

30

【0124】

【図1】図1は、本明細書に記載の例示的抗体（例えば、抗CAIX抗体）IL-12融合タンパク質の説明図である。示される特定の実施形態では、融合タンパク質は、全長抗体の第2のFc領域のC末端に作動可能に連結された全長抗体、およびIL-12p40（例えば、本明細書に記載のIL-12p40ポリペプチド）の第1のFc領域のC末端に作動可能に連結された全長抗体、IL-12p35（例えば、本明細書に記載のIL-12p35ポリペプチド）を含む。示される特定の実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はヘテロ二量体であり、各Fc領域は、第1のFc領域と第2のFc領域のヘテロ二量体形成を促進する少なくとも1つのアミノ酸改変（例えば、置換）を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、1以上のFcエフェクター機能（例えば、抗体依存性細胞媒介細胞傷害性（ADCC）、抗体依存性細胞貪食（ADCP）、補体依存性細胞傷害性（CDC）、Fc受容体結合）を消失または低下させる1以上のアミノ酸改変（例えば、置換）を含む。

40

【図2】図2は、本明細書に記載の例示的抗体（例えば、抗CAIX抗体）IL-12融合タンパク質の説明図である。示される特定の実施形態では、融合タンパク質は、全長抗体の第1のFc領域のC末端に作動可能に連結された全長抗体およびscIL-12（例えば、本明細書に記載のscIL-12ポリペプチド）を含む。示される特定の実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はヘテロ二量体であり、各Fc領域は、第1のFc領域と第2のFc領域のヘテロ二量体形成を促進する少なくとも1つのアミノ酸改変（例えば、置換）を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc

50

領域はそれぞれ、1以上のFcエフェクター機能（例えば、ADCC、ADCP、CDC、Fc受容体結合）を消失または低下させる1以上のアミノ酸改変（例えば、置換）を含む。

【図3】図3は、本明細書に記載の例示的抗体（例えば、抗CAIX抗体）IL-12融合タンパク質の説明図である。示される特定の実施形態では、融合タンパク質は、2つのscFv（1つのscFvは、第1のFc領域のN末端に作動可能に連結され、かつ第2のscFvは、第2のFc領域のN末端に作動可能に連結されている）；第1のFc領域のC末端に作動可能に連結されたIL-12p35（例えば、本明細書に記載のIL-12p35ポリペプチド）；および第2のFc領域のC末端に作動可能に連結されたIL-12p40（例えば、本明細書に記載のIL-12p40ポリペプチド）を含む。示される特定の実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はヘテロ二量体であり、各Fc領域は、第1のFc領域と第2のFc領域のヘテロ二量体形成を促進する少なくとも1つのアミノ酸改変（例えば、置換）を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、1以上のFcエフェクター機能（例えば、ADCC、ADCP、CDC、Fc受容体結合）を消失または低下させる1以上のアミノ酸改変（例えば、置換）を含む。

10

【図4】図4は、本明細書に記載の例示的抗体（例えば、抗CAIX抗体）IL-12融合タンパク質の説明図である。示される特定の実施形態では、融合タンパク質は、2つのscFv（1つのscFvは、第1のFcのN末端に作動可能に連結され、かつ第2のscFvは、第2のFc領域のN末端に作動可能に連結されている）；および第1の第2のFc領域または第2のFc領域のいずれかのC末端に作動可能に連結されたscIL-12（例えば、本明細書に記載のscIL-12ポリペプチド）を含む。示される特定の実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はヘテロ二量体であり、各Fc領域は、第1のFc領域と第2のFc領域のヘテロ二量体形成を促進する少なくとも1つのアミノ酸改変（例えば、置換）を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、1以上のFcエフェクター機能（例えば、ADCC、ADCP、CDC、Fc受容体結合）を消失または低下させる1以上のアミノ酸改変（例えば、置換）を含む。

20

【図5】図5は、本明細書に記載の例示的抗体（例えば、抗CAIX抗体）IL-12融合タンパク質の説明図である。示される特定の実施形態では、融合タンパク質は、全長抗体の第1または第2のFc領域の一方のC末端に作動可能に連結された全長抗体およびIL-12p35（例えば、本明細書に記載のIL-12p35ポリペプチド）を含む。示される特定の実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はヘテロ二量体であり、各Fc領域は、第1のFc領域と第2のFc領域のヘテロ二量体形成を促進する少なくとも1つのアミノ酸改変（例えば、置換）を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、1以上のFcエフェクター機能（例えば、ADCC、ADCP、CDC、Fc受容体結合）を消失または低下させる1以上のアミノ酸改変（例えば、置換）を含む。

30

【図6】図6は、本明細書に記載の例示的抗体（例えば、抗CAIX抗体）IL-12融合タンパク質の説明図である。示される特定の実施形態では、融合タンパク質は、コイルドメイン（例えば、本明細書に記載のコイルドメイン）を介して第1のFc領域に作動可能に連結された第1のDARTと第2のFc領域（例えば、本明細書に記載のコイルドメイン）に作動可能に連結された第2のDART；第1のFc領域のC末端に作動可能に連結されたIL-12p35（例えば、本明細書に記載のIL-12p35ポリペプチド）；および第2のFc領域のC末端に作動可能に連結されたIL-12p40（例えば、本明細書に記載のIL-12p40ポリペプチド）を含む。いくつかの実施形態では、非天然ジスルフィド結合は、第1および第2のDARTの重鎖に導入されている。示される特定の実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はヘテロ二量体であり、各Fc領域は、第1のFc領域と第2のFc領域のヘテロ二量体形成を促進する少なくとも1つのアミノ酸改変（例えば、置換）を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域およ

40

50

び第2のFc領域はそれぞれ、1以上のFcエフェクター機能（例えば、ADCC、ADCP、CDC、Fc受容体結合）を消失または低下させる1以上のアミノ酸改変（例えば、置換）を含む。

【図7】図7は、本明細書に記載の例示的抗体（例えば、抗CAIX抗体）IL-12融合タンパク質の説明図である。示される特定の実施形態では、融合タンパク質は、第1のFc領域のN末端に作動可能にタンデムで連結された2つのscFv；および第2のFc領域のN末端に作動可能に連結されたscIL-12（例えば、本明細書に記載のscIL-12ポリペプチド）を含む。示される特定の実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はヘテロ二量体であり、各Fc領域は、第1のFc領域と第2のFc領域のヘテロ二量体形成を促進する少なくとも1つのアミノ酸改変（例えば、置換）を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、1以上のFcエフェクター機能（例えば、ADCC、ADCP、CDC、Fc受容体結合）を消失または低下させる1以上のアミノ酸改変（例えば、置換）を含む。

10

【図8】図8は、本明細書に記載の例示的抗体（例えば、抗CAIX抗体）IL-12融合タンパク質の説明図である。示される特定の実施形態では、融合タンパク質は、第1のFc領域のN末端に作動可能にタンデムで連結された2つのscFv；および第2のFc領域のN末端に作動可能に連結されたシングルドメイン抗体に作動可能に連結されたscIL-12（例えば、本明細書に記載のscIL-12ポリペプチド）を含む。示される特定の実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はヘテロ二量体であり、各Fc領域は、第1のFc領域と第2のFc領域のヘテロ二量体形成を促進する少なくとも1つのアミノ酸改変（例えば、置換）を含む。いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、1以上のFcエフェクター機能（例えば、ADCC、ADCP、CDC、Fc受容体結合）を消失または低下させる1以上のアミノ酸改変（例えば、置換）を含む。

20

【図9】図9は、示された濃度の示された構築物で処理されたHEK-Blue細胞からのpSTAT4シグナル伝達（SEAP産生によって測定）を示す線グラフである。データは4-PLモデルにより解析し、光学密度の平均±SDとして表した。

【図10A】図10Aは、示された濃度の示された構築物の存在下で活性化T細胞により放出されたIFN-γのレベルを示す線グラフである。データは4-PLモデルによりプロットし、各データ点は、1回の実験からの3反復値の平均（平均±SD）である。

30

【図10B】図10Bは、示された濃度の示された構築物の存在下で活性化T細胞により放出されたIFN-γのレベルを示す線グラフである。データは4-PLモデルによりプロットし、各データ点は、1回の実験からの3反復値の平均（平均±SD）である。

【図10C】図10Cは、示された濃度の示された構築物の存在下で活性化T細胞により放出されたIFN-γのレベルを示す線グラフである。データは4-PLモデルによりプロットし、各データ点は、1回の実験からの3反復値の平均（平均±SD）である。

【図10D】図10Dは、示された濃度の示された構築物の存在下で活性化T細胞により放出されたIFN-γのレベルを示す線グラフである。データは4-PLモデルによりプロットし、各データ点は、1回の実験からの3反復値の平均（平均±SD）である。

【図10E】図10Eは、示された濃度の示された構築物の存在下で活性化T細胞により放出されたIFN-γのレベルを示す線グラフである。データは4-PLモデルによりプロットし、各データ点は、1回の実験からの3反復値の平均（平均±SD）である。

40

【図10F】図10Fは、示された濃度の示された構築物の存在下で活性化T細胞により放出されたIFN-γのレベルを示す線グラフである。データは4-PLモデルによりプロットし、各データ点は、1回の実験からの3反復値の平均（平均±SD）である。

【図11A】図11Aは、示された濃度の示された構築物の存在下で、濃縮されたhIL-2プライミングNK細胞により放出されたIFN-γのレベルを示す線グラフである。データは4-PLモデルによりプロットし、各データ点は、1回の実験からの3反復値の平均（平均±SD）である。

【図11B】図11Bは、示された濃度の示された構築物の存在下で、濃縮されたhIL

50

ー2プライミングNK細胞により放出されたIFN- γ のレベルを示す線グラフである。データは4-PLモデルによりプロットし、各データ点は、1回の実験からの3反復値の平均（平均 $\pm$ SD）である。

【図11C】図11Cは、示された濃度の示された構築物の存在下で、濃縮されたhIL-2プライミングNK細胞により放出されたIFN- γ のレベルを示す線グラフである。データは4-PLモデルによりプロットし、各データ点は、1回の実験からの3反復値の平均（平均 $\pm$ SD）である。

【図11D】図11Dは、示された濃度の示された構築物の存在下で、濃縮されたhIL-2プライミングNK細胞により放出されたIFN- γ のレベルを示す線グラフである。データは4-PLモデルによりプロットし、各データ点は、1回の実験からの3反復値の平均（平均 $\pm$ SD）である。

10

【図11E】図11Eは、示された濃度の示された構築物の存在下で、濃縮されたhIL-2プライミングNK細胞により放出されたIFN- γ のレベルを示す線グラフである。データは4-PLモデルによりプロットし、各データ点は、1回の実験からの3反復値の平均（平均 $\pm$ SD）である。

【図11F】図11Fは、示された濃度の示された構築物の存在下で、濃縮されたhIL-2プライミングNK細胞により放出されたIFN- γ のレベルを示す線グラフである。データは4-PLモデルによりプロットし、各データ点は、1回の実験からの3反復値の平均（平均 $\pm$ SD）である。

【図12】図12は、示された濃度の示された構築物とともに培養したHEK-Blue細胞からのin vitroにおけるhIL-12Rシグナル伝達のレベル（SEAP産生により測定）を示す線グラフである。報告されている値（平均 $\pm$ SD）は、3回の独立した反復の平均である。

20

【図13】図13は、示された濃度の示された構築物とともに培養したPHA刺激ヒトPBMC（hPBMC）によりin vitroで産生されたIFN- γ のレベルを示す線グラフである。各データ点は、3反復の値の平均（平均 $\pm$ SD）であり、この線グラフは、3回の独立した実験の代表的なデータである。

【図14】図14は、示された濃度の示された構築物とともに培養したIL-2プライミングNK細胞によりin vitroで産生されたIFN- γ のレベルを示す線グラフである。各データ点は、3反復の値の平均（平均 $\pm$ SD）であり、この線グラフは、3回の独立した実験の代表的なデータである。

30

【図15】図15は、示された濃度の示された構築物とともに培養した抗CD3および抗CD28刺激hPBMCを用い、ゲートで選択したCD8+T細胞によりin vitroで発現されたpSTAT4のレベルを示す線グラフである。各点は、単一のウェルからのデータであり、この線グラフは、3回の独立した実験の代表的なデータである。

【図16】図16は、示された濃度の示された構築物のそれぞれで処理したSEB刺激hPBMCによるCAIX発現SNU16腫瘍細胞の殺傷率を示す線グラフである。各データ点は、単一のウェルからの値であり、この線グラフは、2回の独立した実験の代表的なデータである。

【図17A】図17Aは、示された濃度の示された構築物のそれぞれで処理したSEB刺激hPBMCによるグランザイムB放出を示す棒グラフである。

40

【図17B】図17Bは、示された濃度の示された構築物のそれぞれで処理したSEB刺激hPBMCによるIFN- γ 放出を示す棒グラフである。

【図17C】図17Cは、示された濃度の示された構築物のそれぞれで処理したSEB刺激hPBMCによるTNF- α 放出を示す棒グラフである。

【図17D】図17Dは、示された濃度の示された構築物のそれぞれで処理したSEB刺激hPBMCによるIL-10放出を示す棒グラフである。

【図17E】図17Eは、示された濃度の示された構築物のそれぞれで処理したSEB刺激hPBMCによるMIP-3 α 放出を示す棒グラフである。

【図17F】図17Fは、示された濃度の示された構築物のそれぞれで処理したSEB刺

50

激 h P B M C による C D 4 0 - L 放出を示す棒グラフである。

【図 1 7 G】図 1 7 G は、示された濃度の示された構築物のそれぞれで処理した S E B 刺激 h P B M C による F l t 3 - L 放出を示す棒グラフである。

【図 1 7 H】図 1 7 H は、示された濃度の示された構築物のそれぞれで処理した S E B 刺激 h P B M C による G M C S F 放出を示す棒グラフである。図 1 7 A ~ 1 7 H では、各棒は単一のウェルからの値であり、線グラフは 2 4、7 2 および 1 2 0 時間の時点で評価した実験の代表的なデータである。

【図 1 8】図 1 8 は、N K 細胞による H C T 1 1 6 C A I X 発現スフェロイドに対する示された各構築物の細胞傷害性を示す箱ひげ図である。細胞傷害性データは、4 回の独立した実験で 3 ドナーから得られたデータをプールしたものである。統計分析は、一元 A N O V A、クラスカル・ウォリス検定を用いて行い、全ての群を互いに比較した (* p 値 < 0. 0 5、** < 0. 0 1 を有意とみなす)。

10

【図 1 9】図 1 9 は、トランスフェクト A 5 4 9 細胞による e G F P - C A I X の発現を示すドットプロット (左) およびヒストグラム (右) である。

【図 2 0】図 2 0 は、C A I X - e G F P 融合タンパク質発現 A 4 5 9 スフェロイドの明視野画像および蛍光画像 (画像は C y t a t i o n 5 から取得)。

【図 2 1 A】図 2 1 A は、示された構築物で処理した単一の C A I X - e G F P 融合タンパク質発現 A 4 5 9 スフェロイドの強度密度を示す棒グラフである。各棒は単一のスフェロイドからの値であり、この棒グラフは、2 回の独立した実験の代表的なデータである。

【図 2 1 B】図 2 1 B は、C A I X - e G F P 融合タンパク質発現 A 5 4 9 モデルにおいて示された各構築物により誘導された細胞傷害性を示す棒グラフである。細胞傷害性は、I g G で処理したスフェロイドを生存率 1 0 0 % として計算した。各棒は単一のスフェロイドからの値であり、この棒グラフは、2 回の独立した実験の代表的なデータである。

20

【図 2 2】図 2 2 は、示された構築物で処置したマウス (n = 6) の H C T 1 1 6 - C A I X 腫瘍の腫瘍成長プロファイルを示す線グラフである。x 軸の矢印は投与日を示す。

【図 2 3】図 2 3 は、示された構築物で処置した h I L - 1 2 および h I L - 1 2 受容体遺伝子ノックイントランスジェニックマウス (n = 6) における、ヒト C A I X を発現する B 1 6 F 1 0 同種移植片の腫瘍成長プロファイルを示す線グラフである。x 軸の矢印は投与日を示す。

【図 2 4 A】図 2 4 A は、示された正常組織または癌組織における C A I X 発現を示す免疫組織化学画像を示す。上のパネル：正常な膀胱 (a)、結腸 (b)、子宮頸 (c)、腎臓 (d)、および脳 (e) における C A I X 発現 (倍率 1 0 倍)。下のパネル：種々の癌種における不均質な C A I X 発現の代表的画像：低発現 (f、j、n、r、v)、中等度発現 (g、k、o、s、w)、高発現 (h、l、p、t、x) (倍率 1 0 倍)。明細胞癌 (f、g、h、i)、膀胱癌 (j、k、l、m)、小腸癌 (n、o、p、q)、大腸癌 (r、s、t、u)、および胃癌 (v、w、x、y) のにおける不均質な C A I X 発現の代表的画像。パネル h、l、p、t、x にそれぞれ示される対応する腫瘍種の腫瘍細胞 (i、m、q、u、y；倍率 3 0 倍) における C A I X の膜染色。

30

【図 2 4 B】図 2 4 B は、各癌種 (Y 軸) に関して、C A I X 高 (2 0 1 ~ 3 0 0)、C A I X 中等度 (1 0 1 ~ 2 0 0)、C A I X 低 (1 ~ 1 0 0)、および C A I X 不在 (0) の H スコアカテゴリー (X 軸) に相当する症例のパーセンテージを示す棒グラフである。B C (E R +)：乳癌 (E R +)；B L C：膀胱癌；B C (H e r 2 +)：乳癌 (H e r 2 +)；C C：子宮頸癌；C R C：大腸癌；D L B L C：びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫；E n C：子宮内膜癌；E s C：食道 / G E J 癌；G B M：膠芽腫；G C：胃癌；G I S T：消化管間質腫瘍；H C C：肝細胞癌；H N C：頭頸部癌；M E L：黒色腫；N H L：非ホジキンリンパ腫；N S C L C：非小細胞肺癌；O C：卵巣癌；P C：膵臓癌；P r C：前立腺癌；R C C：腎細胞癌；S A R C：肉腫；S B C：小腸癌；S C L C：小細胞肺癌；T C：甲状腺癌；T N B C：トリプルネガティブ乳癌。

40

【図 2 5 A】図 2 5 A は、ヘマトキシリン・エオジン染色腫瘍組織コアにおける低 (1 ~ 1 9 9；左のパネル)、中等度 (2 0 0 ~ 4 9 9、中央のパネル) および高 ($\geq 5 0 0$ 、

50

右のパネル) リンパ球浸潤を示す代表的な顕微鏡画像を示す。赤い矢印の先：腫瘍細胞；緑の矢印の先：リンパ球。

【図 2 5 B】図 2 5 B は、各腫瘍種 (Y 軸) に関する、リンパ球浸潤の高、中等度、低および不在に相当する症例のパーセンテージ (X 軸) を示す棒グラフである。BC (ER+)：乳癌 (ER+)；BLC：膀胱癌；BC (Her2+)：乳癌 (Her2+)；CC：子宮頸癌；CRC：大腸癌；DLBLC：びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫；EnC：子宮内膜癌；EsC：食道／GEJ 癌；GBM：膠芽腫；GC：胃癌；GIST：消化管間質腫瘍；HCC：肝細胞癌；HNC：頭頸部癌；MEL：黒色腫；NSCLC：非小細胞肺癌；OC：卵巣癌；PC：膵臓癌；PrC：前立腺癌；RCC：腎細胞癌；SARC：肉腫；SBC：小腸癌；SCLC：小細胞肺癌；TC：甲状腺癌；TNBC：トリプルネガティブ乳癌。

10

【図 2 5 C】図 2 5 C は、CAIX 発現腫瘍 (平均 Hスコア、Y 軸) におけるリンパ球浸潤 [平均スコア (0～3)、X 軸] の密度を示すグラフである。BC (ER+)：乳癌 (ER+)；BC (Her2+)：乳癌 (Her2+)；BLC：膀胱癌；CC：子宮頸癌；CRC：大腸癌；DLBLC：びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫；EnC：子宮内膜癌；EsC：食道／GEJ 癌；GBM：膠芽腫；GC：胃癌；GIST：消化管間質腫瘍；HCC：肝細胞癌；HNC：頭頸部癌；MEL：黒色腫；NSCLC：非小細胞肺癌；OC：卵巣癌；PC：膵臓癌；PrC：前立腺癌；RCC：腎細胞癌；SARC：肉腫；SBC：小腸癌；SCLC：小細胞肺癌；TC：甲状腺癌；TNBC：トリプルネガティブ乳癌。

20

【図 2 6 A】図 2 6 A は、大腸腺癌組織に対する単細胞 RNA シークエンシングにより同定された種々の細胞種 (合計 10468 細胞) のパーセンテージを示す円グラフである。

【図 2 6 B】図 2 6 B は、大腸腺癌の種々の細胞種のクラスター化およびこれらの細胞クラスターにおける CA9、IL12RB1、および IL12RB2 の発現を示す t 分布型確率的近傍埋め込み (t-distributed stochastic neighbor embedding) (t-SNE) プロットである。

【図 2 6 C】図 2 6 C は、大腸腺癌組織に対する単細胞 RNA シークエンシング分析により特定された細胞種 (X 軸) における CA9、IL12RB1、および IL12RB2 遺伝子発現 (Y 軸) を示す棒グラフである。

【図 2 6 D】図 2 6 D は、種々の遺伝子組合せ (X 軸) における CA9、IL12RB1、および IL12RB2 を発現する細胞種のパーセンテージ (Y 軸) を示す棒グラフである。

30

【図 2 7】図 2 7 は、示された濃度の示された構築物で処理した HEK-Blue 細胞からの pSTAT4 シグナル伝達 (SEAP 産生により測定) を示す線グラフである。データは 4-PL モデルにより解析し、学密度の平均 $\pm$ SD として表した。BCA307.16 は、保存液濃度の制限のために 100 nM 濃度で試験できなかった。

【図 2 8 A】図 2 8 A は、示された濃度の示された hIL-12 構築物の存在下で、活性化 T 細胞により放出された IFN- γ のレベルを示す線グラフである。データは 4-PL モデルによりプロットし、各点は、1 回の実験からの 3 反復の値の平均 (平均 $\pm$ SD) である。

40

【図 2 8 B】図 2 8 B は、示された濃度の示された hIL-12 構築物の存在下で、活性化 T 細胞により放出された IFN- γ のレベルを示す線グラフである。データは 4-PL モデルによりプロットし、各点は、1 回の実験からの 3 反復の値の平均 (平均 $\pm$ SD) である。

【図 2 8 C】図 2 8 C は、示された濃度の示された hIL-12 構築物の存在下で、活性化 T 細胞により放出された IFN- γ のレベルを示す線グラフである。データは 4-PL モデルによりプロットし、各点は、1 回の実験からの 3 反復の値の平均 (平均 $\pm$ SD) である。

【図 2 9 A】図 2 9 A は、示された濃度の示された構築物の存在下で、濃縮された hIL-2 プライミング NK 細胞により放出された IFN- γ のレベルを示す線グラフである。

50

データは 4-P L モデルによりプロットし、各データ点は、1 回の実験からの 3 反復値の平均（平均 ± S D）である。

【図 2 9 B】図 2 9 B は、示された濃度の示された構築物の存在下で、濃縮された h I L - 2 プライミング N K 細胞により放出された I F N - γ のレベルを示す線グラフである。データは 4-P L モデルによりプロットし、各データ点は、1 回の実験からの 3 反復値の平均（平均 ± S D）である。

【図 2 9 C】図 2 9 C は、示された濃度の示された構築物の存在下で、濃縮された h I L - 2 プライミング N K 細胞により放出された I F N - γ のレベルを示す線グラフである。データは 4-P L モデルによりプロットし、各データ点は、1 回の実験からの 3 反復値の平均（平均 ± S D）である。

【図 3 0】図 3 0 は、癌患者（n = 8 6）における、腫瘍組織において免疫組織化学的 H スコア（X 軸）として定量された細胞 C A I X と E L I S A により定量された腫瘍適合血漿中の可溶性 C A I X（p g / m L）（Y 軸）との間のピアソンの相関係数分析を示すドットプロットである。

【発明を実施するための形態】

【0 1 2 5】

5. 詳細な説明

h I L - 1 2 は癌の治療のための治療薬として評価されているが、臨床的な成功は限定されていることが示されている。治療効果を達成するには、h I L - 1 2 を比較的高レベルで投与しなければならず、非常に強力であり、重篤で耐え難い副作用が発生している。特に、全身投与した場合、h I L - 1 2 は、血流中で、h I L - 1 2 R（例えば、T 細胞、例えば、C D 8 + T 細胞）を発現する免疫細胞の活性化を引き起こし、h I L - 1 2 に基づく療法に関連する重篤な副作用の原因となり得る全身性の炎症性応答を生じるおそれがある。本発明者らは、とりわけ、免疫細胞（例えば、T 細胞および N K 細胞）の活性化を介して腫瘍細胞の殺傷を媒介する能力を維持しつつ効力の低減を示す改良型の h I L - 1 2（例えば、h I L - 1 2 p 4 0、h I L - 1 2 p 3 5）タンパク質を作出した。よって、本明細書に記載の新規な h I L - 1 2 タンパク質およびそれを含有する融合タンパク質（例えば、抗 C A I X 融合タンパク質）は、疾患（例えば、癌）の治療のための優れた候補である。従って、本開示は、疾患（例えば、癌）の治療のための医薬組成物において使用するための、とりわけ、h I L - 1 2 タンパク質およびそれを含有する融合タンパク質（例えば、抗 C A I X 融合タンパク質）を提供する。

【0 1 2 6】

5. 1 定義

本明細書で使用される各節の見出しは、構成を目的としたものに過ぎず、記載された主題を限定するものとして解釈されるべきではない。

【0 1 2 7】

別段の定義がない限り、本明細書で使用される全ての技術用語および科学用語は、特許請求される主題が属する技術分野の当業者に一般に理解されているものと同じ意味を有する。前述の一般的な説明および以下の詳細な説明は、例示的かつ説明的なものに過ぎず、特許請求されるいずれの主題も制限するものではないと理解されるべきである。

【0 1 2 8】

本願において、単数の使用は、別段のことが明示されない限り、複数を含む。例えば、本明細書および添付の特許請求の範囲で使用する場合、単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」および「その(the)」は、文脈が別段のことを明示しない限り、複数の指示対象を含む。さらに、「を包含する(including)」という用語ならびに他の形態(“include,” “includes,” および “included”)の使用は、非限定的である。

【0 1 2 9】

本明細書において「を含む(comprising)」という言葉で態様が記載されている場合には、「からなる(consisting of)」および「から本質的になる(consisting essentially of)」という用語で記載されている他の類似の態様もまた提供されると理解さ

れる。

【0130】

「および／または」という用語は、本明細書で使用する場合、2つの指定された特徴または構成要素のそれぞれについて、他方の有無にかかわらず具体的に開示されているとみなされる。従って、「および／または」という用語は、本明細書において「Aおよび／またはB」などの語句で使用される場合、「AおよびB」、「AまたはB」、「A（単独）」、および「B（単独）」を含むことが意図される。同様に、「および／または」という用語は、「A、B、および／またはC」などの語句で使用される場合、以下の態様のそれぞれを包含することが意図される：A、B、およびC；A、B、またはC；AまたはC；AまたはB；BまたはC；AおよびC；AおよびB；BおよびC；A（単独）；B（単独）；およびC（単独）。

10

【0131】

本明細書に記載されるように、濃度範囲、パーセンテージ範囲、比率範囲または整数範囲は、特に断りがない限り、記載された範囲内の任意の整数の値、および該当する場合にはその分数（整数の10分の1および100分の1など）を含むと理解される。

【0132】

「約」または「から本質的になる」という用語は、当業者によって決定される、特定の値または組成について許容可能な誤差範囲内にある値または組成を指し、これは、値または組成がどのように測定または決定されるか、すなわち測定システムの限界に部分的に依存する。本願および特許請求の範囲に特定の値または組成が提供されている場合、特に断りがない限り、「約」または「から本質的になる」の意味は、その特定の値または組成について許容される誤差範囲内であると仮定されるべきである。

20

【0133】

特に断りのない限りまたは文脈から明らかでない限り、本明細書における「第1および第2」、または「(a)および(b)」または「(i)および(ii)」に類似する用語の使用は、順序または方向を示すものではなく、組成物または方法の複数の成分を特定するために使用される。当業者であれば、これらの用語が順序または方向を示すことを意図する場合には文脈から明らかとなる。

【0134】

タンパク質および／またはポリペプチドが本明細書に記載される場合、そのタンパク質またはポリペプチドをコードするポリヌクレオチド（例えば、RNA（例えば、mRNA）またはDNAポリヌクレオチド）もまた本明細書に提供されると理解される。

30

【0135】

タンパク質、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、細胞、発現ベクターなどが本明細書に記載される場合、そのタンパク質、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、細胞、発現ベクターなどの単離された形態も本明細書に提供されると理解される。

【0136】

タンパク質、ポリペプチド、ポリヌクレオチドなどが本明細書に記載される場合、そのタンパク質、ポリペプチド、ポリヌクレオチドなどの組換え形態も本明細書に提供されると理解される。

40

【0137】

ポリペプチドまたはポリペプチドのセットが本明細書に記載され場合、そのポリペプチドまたはポリペプチドのセットがそれらの三次元構造（すなわち、三次構造または四次構造）に折りたたまれたものを含むタンパク質も本明細書に提供される、またはその逆であると理解される。

【0138】

本明細書で使用する場合、「投与する」という用語は、当業者に公知の様々な方法および送達系のいずれかをを用いた、対象への薬剤、例えば、治療薬（または対象の体内で代謝されてもしくは変化して *in vitro* で治療薬を生産する治療薬の前駆体）の物理的導入を指す。投与は、例えば、1回、複数回、および／または1回以上の延長期間にわた

50

って行うことができる。

【0139】

本明細書で使用する場合、「抗体依存性細胞媒介細胞傷害性」または「ADCC」という用語は、免疫エフェクター細胞（例えば、NK細胞）による、抗体（またはFc領域含有ポリペプチドもしくはタンパク質）（例えば、本明細書に記載のIg Fc含有融合タンパク質またはポリペプチド）被覆標的細胞の溶解を導く免疫機構を指す。本明細書で使用する場合、「ADCCの低下」などの用語は、上記で定義されるADCCの機構により、標的細胞を取り囲む媒体中で、所与の時間、所与の濃度の抗体（またはIg Fc領域含有ポリペプチドもしくはタンパク質）（例えば、本明細書に記載のFc領域含有融合タンパク質またはポリペプチド）で溶解される標的細胞の数の減少、および／あるいは上記で定義されるADCCの機構により、所与の時間で所与の数の標的細胞の溶解を達成するのに必要な、標的細胞を取り囲む媒体中の抗体（またはFc領域含有ポリペプチドもしくはタンパク質）（例えば、本明細書に記載のFc含有融合タンパク質またはポリペプチド）の濃度の増加を指す。ADCCの低下は、同じ標準的な生産、精製、製剤化および保存方法（当業者に公知）を用いて同じタイプの宿主細胞により産生されるが、操作されていない（例えば、ADCCの低下を媒介する1以上のアミノ酸改変、例えば、アミノ酸置換を含まない）同じ抗体（またはFc領域含有ポリペプチドもしくはタンパク質）（例えば、本明細書に記載のFc含有融合タンパク質またはポリペプチド）により媒介されるADCCに比べてのものである。例えば、Fc領域にADCCを最低させるアミノ酸置換を含む抗体（またはFc領域含有ポリペプチドもしくはタンパク質）（例えば、本明細書に記載のFc含有融合タンパク質またはポリペプチド）により媒介されるADCCの低下は、Fc領域に前記アミノ酸置換を有さない同じ抗体（またはFc領域含有ポリペプチドもしくはタンパク質）（例えば、本明細書に記載のFc含有融合タンパク質またはポリペプチド）により媒介されるADCCに比べてのものである。

【0140】

本明細書で使用する場合、「親和性」という用語は、あるタンパク質（例えば、抗体）と別のタンパク質（例えば、抗原）との結合の強度を指す。タンパク質の親和性は、 $[抗体] \times [抗原] / [抗体-抗原]$ として定義される解離定数 K_d により測定され、 $[抗体-抗原]$ は、抗体-抗原複合体のモル濃度であり、 $[抗体]$ は、非結合抗体のモル濃度であり、 $[リガンド]$ は、非結合抗原のモル濃度である。親和性定数 K_a は、 $1 / K_d$ で定義される。親和性を測定する標準的な方法は、当業者に公知である。親和性を測定する例示的方法は、本明細書に記載されている。例えば、節5.2.2、5.2.3.参照。

【0141】

本明細書で使用する場合、「抗体 (antibody/antibodies)」という用語は最も広義で使用され、限定されるものではないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性（例えば、二重特異性、三重特異性）抗体、および所望の抗原結合活性を示す限り抗体フラグメント（すなわち、抗原結合フラグメントまたは変異体）を含む、様々な免疫グロブリン (Ig)（例えば、ヒトIg (hIg)）構造を包含する。よって、抗体という用語は、例えば、全長抗体；全長抗体の抗原結合フラグメント；抗体のCDR、VH領域、および／またはVL領域を含む分子；ならびに抗体様足場（例えば、フィブロネクチン）を含む。抗体の例としては、限定されるものではないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、単一特異性抗体、多重特異性抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、ラクダ科抗体、イントラボディ、アフイボディ、ダイアボディ、トリボディ、ヘテロコンジュゲート抗体、抗体-薬物複合体、シングルドメイン抗体（例えばVHH、(VHH)₂）、一本鎖抗体、一本鎖Fv (scFv；(scFv)₂)、Fabフラグメント（例えば、Fab、一本鎖Fab (scFab)、F(ab')₂フラグメント、ジスルフィド結合Fv (sdFv)、Fc融合物（例えば、Fab-Fc、scFv-Fc、VHH-Fc、(scFv)₂-Fc、(VHH)₂-Fc）、ならびに上記のいずれかの抗原結合フラグメント、および上記のいずれかを含むコンジュゲートまたは融合タンパク質が挙げられる。抗体は、Igアイソタイプ（例えば、IgG、IgE、IgM、Ig

D、もしくはIgA)のものであってもよく、Igのいずれのクラス(例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁もしくはIgA₂)、またはいずれのサブクラス(例えば、IgG_{2a}もしくはIgG_{2b})であってよい。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体は、IgG抗体、またはその(例えば、ヒトIgG₁もしくはIgG₄)またはサブクラスである。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト、ヒト化、またはキメラIgG₁またはIgG₄モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗体という用語は、モノクローナル抗体集団またはポリクローナル抗体集団を指す。本明細書に記載の抗体は、当技術分野で公知の任意の標準的な方法によって生産することができ、例えば、宿主細胞における組換え生産、例えば、節5.4;または合成生産がある。

【0142】

10

「抗体様足場(antibody-like-scaffolds)」は当技術分野で公知であり、例えば、フィブロネクチンおよび設計アンキリンリピートタンパク質(DARPin)は、抗原結合ドメインの代替足場として使用されている、例えば、Gebauer and Skerra, Engineered protein scaffolds as next-generation antibody therapeutics. Curr Opin Chem Biol 13:245-255 (2009)およびStumpp et al., Darpins: A new generation of protein therapeutics. Drug Discovery Today 13: 695-701 (2008)参照、これらのそれぞれの全内容は目的を問わず参照により本明細書の一部として援用される。例示的抗体様足場タンパク質としては、限定されるものではないが、リポカリン(アンチカリン)、プロテインA由来分子、例えば、プロテインAのZドメイン(アフィボディ)、Aドメイン(アビマー/マキシボディ)、血清トランスフェリン(トランスボディ);設計アンキリンリピートタンパク質(DARPin)、VNARフラグメント、フィブロネクチン(AdNectin)、C型レクチンドメイン(テトラネクチン);新規抗原受容体β-ラクターゼの可変ドメイン(VNARフラグメント)、ヒトγ-クリスタリンまたはユビキチン(アフィリン分子);ヒトプロテアーゼ阻害剤のクニッツ型ドメイン、ノッティンファミリー由来タンパク質などのマイクロボディ、ペプチドアプタマーおよびフィブロネクチン(アドネクチン)が挙げられる。

20

【0143】

「抗原結合ドメイン」という用語は、抗原に特異的に結合し得るポリペプチドもしくはタンパク質、またはポリペプチドもしくはタンパク質の一部を指す。例示的抗原結合ドメインとしては、限定されるものではないが、シングルドメイン抗体(例えばVHH、(VHH)₂)、一本鎖Fv(例えば、scFv;(scFv)₂)、Fabフラグメント(例えば、Fab、一本鎖Fab(scFab)、F(ab')₂)、およびジスルフィド結合Fv(sdFv)が挙げられる。抗原結合ドメインは、より大きなポリペプチドまたはタンパク質、例えば、全長抗体、Fc融合物の一部であってもよい。いくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、全長抗体の一部である。いくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、Fc領域に作動可能に連結されている。抗原結合ドメインが標的タンパク質またはポリペプチドの使用に関して言及される場合、「抗原」という用語は、標的タンパク質または抗原の名称に置き換えることができる。例えば、hCAIXと特異的に結合する抗原結合ドメインは、本明細書では「hCAIX結合ドメイン」とも呼ばれる。

30

【0144】

「癌」および「腫瘍」という用語は、本明細書では互換的に使用され、体内の異常な細胞の制御を欠いた増殖を特徴とする様々な疾患の広範な群を指す。無秩序な細胞分裂および増殖の結果として悪性腫瘍が形成され、これは隣接組織に浸潤することができ、また、例えばリンパ系または血流を介して身体の遠隔部位に転移する可能性がある。

40

【0145】

本明細書で使用する場合、「CDR」または「相補性決定領域」という用語は、重鎖ポリペプチドおよび軽鎖ポリペプチドの両方の可変領域内に見られる不連続な抗原結合部位を指す。これらの特定の領域は、Kabat et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977)およびKabat et al., Sequences of protein of immunological interest. (1991)によって記載されており、それぞれの全内容は目的を問わず本明細書の一部

50

として援用される。特に断りのない限り、「CDR」という用語は、Kabat et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977)およびKabat et al., Sequences of protein of immunological interest. (1991)により定義されたCDRである。

【0146】

「CH1」および「CH1領域」という用語は、本明細書では互換的に使用され、免疫グロブリン重鎖の第1の定常領域を指す。例示的参照h I g G 1 CH1領域のアミノ酸配列は配列番号119に示され；例示的参照h I g G 4 CH1領域のアミノ酸配列は配列番号132に示される。

【0147】

「CH2」および「CH2領域」という用語は、本明細書では互換的に使用され、免疫グロブリン重鎖の第2の定常領域を指す。例示的参照h I g G 1 CH2領域のアミノ酸配列は配列番号121に示され；例示的参照h I g G 4 CH2領域のアミノ酸配列は配列番号134に示される。

【0148】

「CH3」および「CH3領域」という用語は、本明細書では互換的に使用され、免疫グロブリン重鎖の第3の定常領域を指す。例示的参照h I g G 1 CH3領域のアミノ酸配列は配列番号122に示され；例示的参照h I g G 4 CH3領域のアミノ酸配列は配列番号135に示される。

【0149】

「定常領域」および「定常ドメイン」という用語は、本明細書では互換的に使用され、抗体の抗原への結合には直接関与しないが、I g F c受容体（例えば、F c γ受容体）との相互作用などの様々なエフェクター機能を示し得る、全長抗体の軽鎖および／または重鎖のカルボキシル末端部分を指す。I g分子の定常領域は一般に、I g可変ドメインよりも保存性の高いアミノ酸配列を有する。

【0150】

本明細書で使用する場合、ポリヌクレオチドに関して「に由来する」という用語は、参照ポリヌクレオチド（例えば、天然ポリヌクレオチド）またはそのフラグメントに対して少なくとも70%（例えば、少なくとも85%）の配列同一性を有するポリヌクレオチドを指す。ポリペプチドまたはタンパク質に関して「に由来する」という用語は、参照ポリペプチドまたはタンパク質（例えば、天然に存在するポリペプチドまたはタンパク質）のアミノ酸配列に対して少なくとも70%（例えば、少なくとも85%）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドまたはタンパク質を指す。「に由来する」という用語は、本明細書で使用する場合、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはタンパク質を得るための特定の工程または方法を表すものではない。例えば、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはタンパク質は、組換え生産または化学的合成が可能である。

【0151】

本明細書で使用する場合、「診断」という用語は、疾患（例えば、癌、例えば、CAIXを発現する癌細胞を含む癌）の存在、不在、重症度、または治療経過の決定を指す。「診断」という用語は、初期決定ならびに初期決定後の二次決定（例えば、経過観察）を包含する。

【0152】

本明細書で使用する場合、「疾患」という用語は、生理学的機能を損なういずれの異常な状態も指す。この用語は、病因の性質に関係なく、生理学的機能が損なわれているいずれの障害、病気(illness)、異常、病理、病気(sickness)、病態、または症候群を包含するために広く使用される。

【0153】

「ヒンジ」または「ヒンジ領域」という用語は、本明細書では互換的に使用され、免疫グロブリン重鎖のヒンジ領域を指す。例示的参照h I g G 1ヒンジ領域のアミノ酸配列は配列番号120に示され；例示的参照h I g G 4ヒンジ領域のアミノ酸配列は配列番号133に示される。

【0154】

「DNA」および「ポリデオキシリボヌクレオチド」という用語は、本明細書では互換的に使用され、ホスホジエステル結合を介して重合された複数のデオキシリボヌクレオチドを含む高分子を指す。デオキシリボヌクレオチドは、糖がデオキシリボースであるヌクレオチドである。

【0155】

「エフェクター機能」という用語は、抗体に関して使用する場合、抗体のFc領域に帰することができる生物学的活性を指し、従って、抗体のアイソタイプによって異なる。抗体のエフェクター機能としては、限定されるものではないが、抗体依存性細胞媒介細胞傷害性(ADCC)、抗体依存性細胞貪食(ADCP)、補体依存性細胞傷害性(CDC)、Fc受容体結合(例えば、FcγRI、FcγRIIa、FcγRIIc、FcγRIIa、および／またはFcγRIIIb(例えば、FcγRI、FcγIIa、および／またはFcγIIIa))、ならびにC1q結合が挙げられる。

【0156】

本明細書で使用する場合、「EUNANBARINGシステム」という用語は、Edelman, G.M. et al., Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969)およびKabat et al, Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health and Human Services, 第5版, 1991(それぞれの全内容は目的を問わず本明細書の一部として援用される)に記載されているような抗体の定常領域のEUNANBARING規則を指す。

【0157】

本明細書で使用する場合、「Fab」という用語は、N末端からC末端に向かって、VH領域およびCH1領域を含むFab重鎖；ならびにN末端からC末端に向かって、VL領域およびCL領域を含む軽鎖を含む抗原結合ドメインを指し；Fab重鎖と軽鎖は会合して抗原結合ドメインを形成している。

【0158】

「Fab-Fc」という用語は、本明細書で使用する場合、Fc領域に作動可能に連結されたFabを含む抗体を指す。例えば、全長抗体は、第1のFc領域に作動可能に連結された第1のFabおよび第2のFc領域に作動可能に連結された第2のFabを含む。

【0159】

本明細書で使用する場合、「Fc領域」という用語は、N末端からC末端に向かって、CH3領域に作動可能に連結された少なくともCH2領域を含むhIg重鎖のC末端領域を指す。いくつかの実施形態では、Fc領域は、CH2領域のN末端に作動可能に連結されたIgヒンジ領域またはIgヒンジ領域の少なくとも一部を含む。いくつかの実施形態では、Fc領域は、参照Fc領域に対して操作されている(例えば、1以上のアミノ酸改変を含む)、例えば、節5.3.2.1参照。操作されたFc領域を有するタンパク質のさらなる例は、Saunders 2019 (K. O. Saunders, "Conceptual Approaches to Modulating Antibody Effector Functions and Circulation Half-Life," 2019, Frontiers in Immunology, V. 10, Art. 1296, pp. 1-20、その全内容は目的を問わず本明細書の一部として援用される)において、見出すことができる。

【0160】

本明細書で使用する場合、「Fc改変融合タンパク質またはポリペプチド」という用語は、Fc領域を含み、Fc領域は改変されている(例えば、1以上のアミノ酸改変(例えば、1以上のアミノ酸置換、欠失、または付加)を含む)、融合ポリペプチドまたはタンパク質を指す。

【0161】

本明細書で使用する場合、Fc領域などに関して「第1の」および「第2の」という用語は、各タイプの部位が複数存在する場合に区別する便宜のために使用される。これらの用語の使用は、明示的に記載されない限り、融合タンパク質における特定の順序または配向を付与することを意図しない。

【0162】

本明細書で使用する場合、「フレームワーク領域」または「FR領域」という用語は、抗体の可変領域の一部であるがCDRの一部ではない（例えば、CDRのKabat定義を使用）アミノ酸残基を指す。

【0163】

本明細書で使用する場合、「全長抗体」という用語は、天然抗体の構造と実質的に同様の構造（i）N末端からC末端に向かって、軽鎖可変領域（VL）領域および軽鎖定常領域（CL）領域を含む第1のIg軽鎖；（ii）N末端からC末端に向かって、重鎖可変領域（VH）領域、CH1領域、ヒンジ領域、CH2領域、およびCH3領域を含む第1のIg重鎖；（iii）N末端からC末端に向かって、VH領域、CH1領域、ヒンジ領域、CH2領域、およびCH3領域を含む第2のIg重鎖；（iv）N末端からC末端に向かって、VL領域およびVH領域を含む第2のIg軽鎖を有し；前記第1の軽鎖と前記第1の重鎖は会合して第1の抗原結合ドメインを形成し；前記第2の軽鎖と前記第2の重鎖は会合して第2の抗原結合ドメインを形成し；かつ前記第1の重鎖と前記第2の重鎖は会合して二量体を形成する抗体を指す。いくつかの実施形態では、2つの重鎖は、実質的に同一のアミノ酸配列を含み；かつ2つの軽鎖は、実質的に同一のアミノ酸配列を含む。2つの重鎖のアミノ酸配列は異なってもよく、例えば、2つの重鎖のヘテロ二量体形成を促進する1以上のアミノ酸改変を含み得る。いくつかの実施形態では、2つの重鎖は、適切な重鎖（例えば、本明細書に記載の通り）のヘテロ二量体形成を促進する1以上のアミノ酸改変以外は実質的に同一のアミノ酸配列を含み；かつ2つの軽鎖は、実質的に同一のアミノ酸配列を含む。抗体鎖は、実質的に同一であり得るが、それらがリジン残基のC末端切断、択一的グリコシル化パターンなどの翻訳後修飾のために異なる場合には完全に同一ではない。全長抗体の鎖のいずれか1つのアミノ酸配列は、参照（例えば、野生型抗体配列）に対して1以上のアミノ酸改変を含み得る。

【0164】

「機能的変異体」という用語は、ポリペプチドまたはタンパク質に関して本明細書で使用する場合、参照ポリペプチドまたはタンパク質のアミノ酸配列に比べて少なくとも1つ、15%以下、12%以下、10%以下、8%以下のアミノ酸変動（例えば、置換、欠失、付加）を含むポリペプチドまたはタンパク質を指し、ポリペプチドまたはタンパク質は、参照ポリペプチドまたはタンパク質の少なくとも1つの特定の機能を保持する。参照ポリペプチドまたはタンパク質（例えば、野生型）の全ての機能がタンパク質の機能的変異体によって保持される必要はない。いくつかの場合、1以上の機能が選択的に低下または消失される。いくつかの実施形態では、参照ポリペプチドまたはタンパク質は、野生型タンパク質である。例えば、hIL-12p40ポリペプチドまたはタンパク質の機能的変異体は、参照hIL-12p40タンパク質（例えば、野生型）に比べて、hIL-12Rと特異的に結合する能力を保持するアミノ酸置換を含むhIL-12p40タンパク質を指し得る。

【0165】

「機能的フラグメント」という用語は、ポリペプチドまたはタンパク質に関して本明細書で使用する場合、少なくとも1つの特定の機能を保持する参照ポリペプチドまたはタンパク質のフラグメントを指す。参照ポリペプチドまたはタンパク質の全ての機能がポリペプチドまたはタンパク質の機能的フラグメントによって保持される必要はない。いくつかの場合、1以上の機能が選択的に低下または消失される。いくつかの実施形態では、参照ポリペプチドまたはタンパク質は野生型タンパク質である。例えば、hIL-12p40の機能的フラグメントは、IL-12Rと特異的に結合する能力を保持する、hIL-12p40のフラグメントを指し得る。

【0166】

本明細書で使用する場合、「融合」およびその文法的に等価な用語は、第1のポリペプチドに由来する少なくとも1つのポリペプチドと第2のポリペプチドに由来する別のポリペプチドの作動可能な連結を指し、第1のポリペプチドと第2のポリペプチドは異なる。融合という用語は、ペプチド結合を介した少なくとも2つのポリペプチドの直接的連結と

リンカー（例えば、ペプチドリンカー）を介した間接的連結の両方を包含する。

【0167】

本明細書で使用する場合、「融合ポリペプチド」または「融合タンパク質」およびその文法的に等価な用語は、第2のポリペプチドに由来する別のポリペプチドに作動可能に連結された、第1のポリペプチドに由来する少なくとも1つのポリペプチドを含むポリペプチドまたはタンパク質を指し、第1のポリペプチドと第2のポリペプチドは異なる。融合ポリペプチドまたはタンパク質の少なくとも2つのポリペプチドは、ペプチド結合を介して直接的に作動可能に連結されていてもよいし、またはリンカー（例えば、ペプチドリンカー）を介して間接的に作動可能に連結されていてもよい。よって、例えば、融合ポリペプチドという用語は、ポリペプチドAがペプチド結合を介してポリペプチドBに直接的に作動可能に連結されている実施形態（ポリペプチドA－ポリペプチドB）とポリペプチドAがペプチドリンカーを介してポリペプチドBに作動可能に連結されている実施形態（ポリペプチドA－ペプチドリンカー－ポリペプチドB）を包含する。

10

【0168】

本明細書で使用する場合、「重鎖」という用語は、一般にN末端からC末端に向かって、重鎖可変領域（VH）、CH1領域、ヒンジ領域、CH2領域、およびCH3領域を含む免疫グロブリン（例えば、ヒトIg）の部分を指す。重鎖の定常領域（すなわち、CH1領域、ヒンジ領域、CH2領域、およびCH3領域）は、定常ドメインのアミノ酸配列に基づき、例えば、ヒトアルファ（ α ）、デルタ（ δ ）、イプシロン（ ϵ ）、ガンマ（ γ ）、およびミュー（ μ ）などのいずれの異なるアイソタイプであってもよく、これによりそれぞれhIgA、hIgD、IgE、hIgG、およびhIgMクラスのヒト抗体が得られ、例えば、hIgG₁、hIgG₂、hIgG₃、およびhIgG₄などのhIgGのサブクラスが含まれる。本明細書で使用する場合、ヒト抗体に関して使用される場合、「重鎖」という用語は、定常ドメインのアミノ酸配列に基づき、例えば、アルファ（ α ）、デルタ（ δ ）、イプシロン（ ϵ ）、ガンマ（ γ ）、およびミュー（ μ ）などのいずれの異なるタイプも指すことができ、これによりそれぞれヒトIgA、IgD、IgE、IgG、およびIgMクラスの抗体が得られ、例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃、およびIgG₄などのヒトIgGのサブクラスが含まれる。

20

【0169】

本明細書で使用する場合、「半減期延長部分」という用語は、ポリペプチドまたはタンパク質（対象ポリペプチドまたはタンパク質）にコンジュゲートされた、またはそうでなければ作動可能に連結された（例えば、融合された）場合に、対象（例えば、ヒト対象）に投与された際にin vitroにおける対象ポリペプチドまたはタンパク質の半減期を延長する部分（例えば、小分子、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、炭水化物、脂質、合成ポリマー（例えば、PEGポリマー）など）を指す。ポリペプチドまたはタンパク質の薬物動態特性は、当技術分野で公知のin vitroモデルを利用して評価することができる。

30

【0170】

本明細書で使用する場合、「半減期延長ポリペプチド」または「半減期延長タンパク質」という用語は、別のポリペプチド（対象ポリペプチドまたはタンパク質）に作動可能に連結された場合に、対象（例えば、ヒト対象）投与された際にin vitroにおける対象ポリペプチドの半減期を延長するポリペプチドを指す。ポリペプチドまたはタンパク質の薬物動態特性は、当技術分野で公知のin vitroモデルを利用して評価することができる。

40

【0171】

本明細書で使用する場合、「異種」という用語は、第2の要素に対して第1の要素を表すために使用する場合、第1の要素と第2の要素が、記載されているような本来の配置で存在しないことを意味する。例えば、「異種部分」を含むポリペプチドは、本来そのポリペプチドに連結されていない部分（例えば、小分子、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、炭水化物、脂質、合成ポリマー（例えば、PEGポリマー）など）に連結されたポリペ

50

チドを意味する。例えば、異種部分の限定されない例は、異種ポリペプチド（本明細書に定義される通り）。

【0172】

従って、本明細書では、「異種シグナルペプチド」という用語は、本来対象ポリペプチドまたはタンパク質に作動可能に連結されていないシグナルペプチドを指す。例えば、h I L - 1 2 p 4 0 に作動可能に連結されたヒト I L - 2 (h I L - 2) 由来のシグナルペプチドを含むポリペプチドに関して、h I L - 2 シグナルペプチドは、異種シグナルペプチドを構成する。

【0173】

本明細書で使用する場合、「同種シグナルペプチド」という用語は、本来対象ポリペプチドまたはタンパク質に作動可能に連結されているシグナルペプチドを指す。例えば、h I L - 2 に作動可能に連結されたヒト I L - 2 由来のシグナルペプチドを含むポリペプチドに関して、h I L - 2 シグナルペプチドは、同種シグナルペプチドを構成する。

【0174】

「ヒト炭酸脱水酵素 I X」または「C A I X」という用語は、消化管の酸分泌を促進するヒト炭酸脱水酵素膜貫通二量体金属酵素を指す。C A I X はまた、当技術分野では「炭酸脱水酵素 I X」、「炭酸脱水酵素 9」、「C A 9」および「C A - I X」とも呼ばれる。例示的参照としての成熟 h C A I X タンパク質のアミノ酸配列は、Un i p r o t 受託番号 Q 1 6 7 9 0 として見出すことができ、本明細書では配列番号 1 に示される。

【0175】

本明細書で使用する場合、「ヒト腫瘍関連抗原」または「h T A A」という用語は、ヒト癌細胞への本明細書に記載の多重特異性タンパク質の動員を可能とするヒト癌細胞の表面に発現されるタンパク質を指す。いくつかの実施形態では、腫瘍関連抗原は、正常細胞と癌細胞の両方によって発現される。いくつかの実施形態では、腫瘍関連抗原は、正常細胞に比べて癌細胞で過剰発現され、例えば、正常細胞の 1 倍を超える発現、2 倍の過剰発現、3 倍の過剰発現またはそれを超える発現である。いくつかの実施形態では、腫瘍関連抗原は、癌細胞により不適当に合成され、例えば、正常細胞により発現されるタンパク質に比べてアミノ酸改変（例えば、アミノ酸欠失、付加、および／または置換）を含むタンパク質である。いくつかの実施形態では、腫瘍関連抗原は、癌細胞によってのみ発現され、正常細胞によっては検出可能なレベルでは発現されない。腫瘍関連タンパク質を同定および確認するための方法は、当業者に公知であり、文献に記載されている（例えば、B o r n s t e i n, A A P S J. (2015), vol. 17(3), p. 525-534; H o n g e t a l., B M C S y s t B i o l. (2018), vol. 12 (Suppl 2), p.17 参照）。

【0176】

「ヒトインターロイキン 1 2」または「h I L - 1 2」という用語は、ヒト I L - 1 2 タンパク質またはポリペプチドを指す。

【0177】

「インターロイキン 1 2」および「I L - 1 2」という用語は、本明細書では互換的に使用され、I L - 1 2 p 3 5 サブユニットと I L - 1 2 p 4 0 サブユニットを含む機能的 I L - 1 2 タンパク質複合体を意味することおよび包含することが意図される。いくつかの実施形態では、I L - 1 2 p 3 5 サブユニットと I L - 1 2 p 4 0 サブユニットは、単一のポリペプチド鎖、例えば、一本鎖 I L - 1 2 (s c I L - 1 2)（例えば、本明細書に記載の s c I L - 1 2）に作動可能の連結されている。いくつかの実施形態では、I L - 1 2 p 3 5 サブユニットと I L - 1 2 p 4 0 サブユニットは、単一のポリペプチド鎖として作動可能に連結されず、2 つの別のポリペプチドによってコードされている。

【0178】

「一本鎖 I L - 1 2」および「s c I L - 1 2」という用語は、本明細書では互換的に使用され、直接的にまたはペプチドリンカーを介して間接的に I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドに融合された I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドを発現するように操作された形態の I L - 1 2 を指し、従って、I L - 1 2 p 4 0 / I L - 1 2 p 3 5 分子は、単一のポリペプチ

10

20

30

40

50

ド鎖（すなわち、融合ポリペプチド）として産生される。s c I L-1 2 は、直接的にまたはペプチドリンカーを介して間接的に s c I L-1 2 のカルボキシル末端（「C 末端」）部分としての I L-1 2 p 3 5 ポリペプチドに融合されたアミノ末端（「N 末端」）部分としての I L-1 2 p 4 0 ポリペプチドで始まる単一のポリペプチドが産生されるようないずれかの順序で構成することができる。この構成は、ペプチドリンカーが利用される場合、「I L-1 2 p 4 0-リンカー-I L-1 2 p 3 5」という略記によって表せる。逆に、s c I L-1 2 構築物において、I L-1 2 p 3 5 ポリペプチドはまた、s c I L-1 2 の C 末端部分としての I L-1 2 p 4 0 に直接的またはペプチドリンカーを介して融合された N 末端部分であり得る。この構成は、ペプチドリンカーが利用される場合、「I L-1 2 p 3 5-リンカー-I L-1 2 p 4 0」という略記によって表せる。

10

【0179】

「h I L-1 2 p 3 5」という用語は、本明細書で使用する場合、ヘテロ二量体 I L-1 2 タンパク質のヒト α サブユニットを指す。例示的参照 I L-1 2 p 3 5 のアミノ酸配列は、Uniprot 受託番号 P 2 9 4 5 9 として見出すことができ、本明細書では配列番号 3 0 に示される。本開示の目的では、本明細書に記載の h I L-1 2 p 3 5 ポリペプチドの全てのアミノ酸（および例えば、アミノ酸置換）のナンバリングは、天然シグナルペプチドを含む未成熟型の h I L-1 2 p 3 5（すなわち配列番号 3 0）のアミノ酸配列に対して提示されている。本明細書に記載されるように、配列番号 3 0 のアミノ酸 1 ~ 2 2 は天然シグナルペプチドであり、これが i n v i v o で切断されて成熟タンパク質（配列番号 3 1）が形成される。アミノ酸ナンバリングを指定するための未成熟型の h I L-1 2 p 3 5 の使用は、一貫性を目的とするに過ぎず、このナンバリングを利用する実施形態の範囲を h I L-1 2 p 3 5 のシグナルペプチドを含むポリペプチドに限定するものではない。例えば、Y 1 8 9 A アミノ酸置換を伴う配列番号 3 1 のアミノ酸配列（成熟型の h I L-1 2 p 3 5）を含むと本明細書に記載される h I L-1 2 p 3 5 ポリペプチドは、アミノ酸位置 Y 1 8 9 のナンバリングが未成熟型のタンパク質に基づいているが、h I L-1 2 p 3 5 のシグナルペプチドを必要としない。当技術分野では、変異体および融合タンパク質を生産するために成熟型のタンパク質を利用することが一般的である。当業者ならば、未成熟型の h I L-1 2 p 3 5 に対するアミノ酸ナンバリングに基づいて成熟型の h I L-1 2 p 3 5（配列番号 3 1）内のアミノ酸位置を容易に決定することができる。上記に示すように、未成熟型の h I L-1 2 p 3 5 タンパク質のアミノ酸 1 ~ 2 2 はシグナル配列である。従って、成熟型の h I L-1 2 p 3 5 タンパク質内の特定のアミノ酸のアミノ酸位置は、未成熟型の h I L-1 2 p 3 5 に対して指定された特定のアミノ酸のアミノ酸位置から、2 2 を引くことによって決定することができる。例えば、アミノ酸位置 Y 1 8 9（配列番号 3 0 に対してナンバリング）は、成熟型のタンパク質（配列番号 3 2）のアミノ酸位置 Y 1 6 7 に相当することになる。

20

30

【0180】

「h I L-1 2 p 4 0」という用語は、本明細書で使用する場合、ヘテロ二量体 I L-1 2 タンパク質のヒト β サブユニットを指す。例示的参照 I L-1 2 p 4 0 のアミノ酸配列は、Uniprot 受託番号 P 2 9 4 6 0 として見出すことができ、本明細書では配列番号 3 2 に示される。本開示の目的では、本明細書に記載の h I L-1 2 p 4 0 ポリペプチドの全てのアミノ酸（および例えば、アミノ酸置換）のナンバリングは、天然シグナルペプチドを含む未成熟型の h I L-1 2 p 4 0（すなわち配列番号 3 2）のアミノ酸配列に対して提示されている。本明細書に記載されるように、配列番号 3 2 のアミノ酸 1 ~ 2 2 は天然シグナルペプチドであり、これが i n v i v o で切断されて成熟タンパク質（配列番号 3 3）が形成される。アミノ酸ナンバリングを指定するための未成熟型の h I L-1 2 p 4 0 の使用は、一貫性を目的とするに過ぎず、このナンバリングを利用する実施形態の範囲を h I L-1 2 p 4 0 のシグナルペプチドを含むポリペプチドに限定するものではない。例えば、W 3 7 A アミノ酸置換を伴う配列番号 3 3 のアミノ酸配列（成熟型の h I L-1 2 p 4 0）を含むと本明細書に記載される h I L-1 2 p 4 0 ポリペプチドは、アミノ酸位置 W 3 7 のナンバリングが未成熟型のタンパク質に基づいているが、h I L

40

50

ー 1 2 のシグナルペプチドを必要としない。当技術分野では、変異体および融合タンパク質を生産するために成熟型のタンパク質を利用することが一般的である。当業者ならば、未成熟型の h I L - 1 2 p 4 0 に対するアミノ酸ナンバリングに基づいて成熟型の h I L - 1 2 p 4 0 (配列番号 3 3) 内のアミノ酸位置を容易に決定することができる。上記に示すように、未成熟型の h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質のアミノ酸 1 ~ 2 2 はシグナル配列である。従って、成熟型の h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質内の特定のアミノ酸のアミノ酸位置は、未成熟型の h I L - 1 2 p 4 0 に対して指定された特定のアミノ酸のアミノ酸位置から、2 2 を引くことによって決定することができる。例えば、アミノ酸位置 W 3 7 (配列番号 3 2 に対してナンバリング) は、成熟型のタンパク質 (配列番号 3 3) のアミノ酸位置 W 1 5 に相当することになる。

10

【0181】

本明細書で使用する場合、ポリペプチド、タンパク質、またはポリヌクレオチドに関して「単離された」という用語は、他の細胞成分または自然状態で会合している他の夾雑物を実質的に含まないポリペプチド、タンパク質、またはポリヌクレオチドを指す。

【0182】

本明細書で使用する場合、「K a b a t ナンバリングシステム」という用語は、抗体の可変領域に対する K a b a t ナンバリング規則を指す。例えば、Kabat et al, Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health and Services, 第 5 版, 1991 参照、その全内容は目的を問わず本明細書の一部として援用される。特に断りのない限り、抗体の可変領域のナンバリングは、K a b a t ナンバリングシステムに表される。

20

【0183】

本明細書で使用する場合、「リンカー」という用語は、2 つの要素 (例えばポリペプチドまたはタンパク質ドメイン) 間の連結を指す。リンカーは、共有結合またはペプチドリリンカーであり得る。「結合」という用語は、化学結合 (例えば、アミド結合、ジスルフィド結合、または化学反応 (例えば、化学コンジュゲーション) から生じる任意の種の結合) を指す。「ペプチドリリンカー」という用語は、2 つのポリペプチドまたはタンパク質ドメインを連結するために使用可能なアミノ酸またはポリペプチドを指す。いくつかの実施形態では、ペプチドリリンカーは、2 つのポリペプチドまたはタンパク質ドメイン間に空間および／またはフレキシビリティを提供するために使用され得る。

30

【0184】

本明細書で使用する場合、「軽鎖」という用語は、N 末端から C 末端に向かって、軽鎖可変領域 (V L)、作動可能に連結された軽鎖定常領域 (C L) を含む免疫グロブリン (例えば、ヒト免疫グロブリン) の一部を指す。C L は、C L のアミノ酸配列に基づいて例えば、カッパ (κ) またはガンマ (λ) などの任意の異なるタイプであり得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の多重特異性タンパク質は、1 以上の軽鎖を含む。

【0185】

本明細書で使用する場合、「メッセンジャー RNA」または「mRNA」という用語は、少なくとも 1 つのペプチドまたはタンパク質をコードし、in vitro、in vitro、in situ または ex vivo で翻訳されて、コードされているペプチドまたはタンパク質を産生することができるいずれの RNA も指す。

40

【0186】

本明細書で使用する場合、ポリヌクレオチドに関して「改変」という用語は、参照ポリヌクレオチド比べてヌクレオチドの少なくとも 1 つの置換、変更、逆位、付加、または欠失 (例えば、1 以上のアミノ酸置換) を含むポリヌクレオチドを指す。改変は、非天然ヌクレオチド残基の包含を含み得る。本明細書で使用する場合、アミノ酸配列に関して「改変」という用語は、参照アミノ酸配列に比べてアミノ酸残基の少なくとも 1 つの置換、変更、逆位、付加、または欠失を含むアミノ酸配列を指す。改変は、非天然アミノ酸残基の包含を含み得る。天然アミノ酸誘導体は、2 つのアミノ酸配列の同一性パーセントを決定する目的では改変アミノ酸とはみなされない。例えば、グルタミン酸アミノ酸残基のピロ

50

グルタミン酸アミノ酸残基への天然に存在する改変は、2つのアミノ酸配列の同一性パーセントを決定する目的ではアミノ酸改変とはみなされない。さらに、例えば、グルタミン酸アミノ酸残基のピログルタミン酸アミノ酸残基への天然に存在する改変は、本明細書で定義されるようなアミノ酸「改変」とはみなされない。

【0187】

「第1のFc領域と第2のFc領域のヘテロ二量体形成を促進する改変」（または類似の表現）は、Fc領域を含むポリペプチドと同一のポリペプチドとの会合によるホモ二量体の形成を低下させるまたは妨げるFc領域のペプチド骨格または翻訳後修飾の操作である。本明細書中で使用する場合の会合を促進する改変は、特に、会合が望まれる2つのFc領域（すなわち、第1のFc領域と第2のFc領域）のそれぞれになされる別の改変を含み、それらの改変は、2つのFc領域の会合を促進するように互いに相補的である。例えば、会合を促進する改変は、それらの会合をそれぞれ立体的にまたは静電的に有利にするように、Fc領域の一方または両方の構造または電荷を変更し得る。従って、ヘテロ二量化は、第1のFc領域を含むポリペプチドと第2のFc領域を含むポリペプチドとの間で起こり、これらのポリペプチドは、Fc領域のそれぞれに融合されたさらなる成分（例えば、抗原結合ドメイン）が同じでないという意味で非同一であり得る。いくつかの実施形態では、会合を促進する改変は、Fc領域におけるアミノ酸変異、特に、アミノ酸置換を含む。特定の実施形態では、会合を促進する改変は、第1のFc領域と第2のFc領域のそれぞれにおける別のアミノ酸変異、特に、1以上のアミノ酸置換を含む。例えば、節5.3.2.2参照。

【0188】

本明細書で使用する場合、「部分」という用語は、一般に、本明細書に記載のポリペプチドまたはタンパク質に作動可能に連結することができるいずれのマクロ分子またはミクロ分子も表すために使用される。例示的部分としては、限定されるものではないが、小分子、ポリペプチド、ポリヌクレオチド（例えば、DNA、RNA）、糖質、脂質、合成ポリマー（例えば、PEGポリマー）が挙げられる。

【0189】

本明細書で使用する場合、「作動可能に連結される」という用語は、2つの部分（例えば、2つのポリペプチドまたは2つのポリヌクレオチド）の機能的関係における連結を指す。例えば、あるポリペプチドと別のポリペプチドが、両ポリペプチドが機能的であるようにフレーム内で（直接的にまたはペプチドリンカーを介して間接的に）連結されている場合（例えば、本明細書に記載の融合タンパク質またはポリペプチド）に、そのポリペプチドはその別のポリペプチドに作動可能に連結されている。または例えば、転写調節ポリヌクレオチド、例えば、プロモーター、エンハンサー、または他の発現制御要素は、それがあるタンパク質をコードするポリヌクレオチドの転写に影響を与える場合、そのタンパク質をコードするポリヌクレオチドに作動可能に連結されている。「作動可能に連結される」という用語はまた、ある部分と例えば、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドのコンジュゲーション（例えば、PEGポリマーとタンパク質またはポリペプチドのコンジュゲーション）も指し得る。

【0190】

2配列（例えば、ペプチドまたはタンパク質（アミノ酸配列）またはポリヌクレオチド（核酸配列））間の「同一性パーセント」の決定は、数学的アルゴリズムを使用して達成され得る。2配列の比較に利用される数学的アルゴリズムの具体的な非限定例は、Karlin S & Altschul SF (1993) PNAS 90: 5873-5877のように改変されたKarlin S & Altschul SF (1990) PNAS 87: 2264-2268のアルゴリズムであり、これらはそれぞれ参照によりその全体が本明細書の一部として援用される。このようなアルゴリズムは、その全体が参照により本明細書の一部として援用されるAltschul SF et al., (1990) J Mol Biol 215: 403のNBLASTおよびXBLASTのプログラムに組み込まれている。BLASTヌクレオチド検索は、本明細書に記載の核酸分子に相同なヌクレオチド配列を得るために、例えば、スコア=100、ワードレングス=12に設定されたNBL

A S Tヌクレオチドプログラムパラメータを用いて実行することができる。B L A S Tタンパク質検索は、本明細書に記載のタンパク質分子に相同なアミノ酸配列を得るために、例えばスコア50、ワードレングス=3に設定されたX B L A S Tプログラムパラメータを用いて実行することができる。比較目的のためにギャップ挿入アラインメントを得るために、その全体が参照により本明細書の一部として援用されるAltschul S F et al., (1997) Nuc Acids Res 25: 3389-3402に記載されているように、ギャップ挿入B L A S Tを利用することができる。あるいは、P S I B L A S Tを使用して、分子間の遠い関係を検出する反復検索を実行することもできる（同書）。B L A S T、G a p p e d B L A S T、およびP S I B l a s tプログラムを利用する場合、それぞれのプログラム（例えば、X B L A S TおよびN B L A S Tの）のデフォルトパラメータが使用される（例えば、worldwide web, ncbi.nlm.nih.govのNational Center for Biotechnology Information (NCBI)を参照）。配列の比較のために利用される数学的アルゴリズムの別の具体的な非限定例として、その全体が参照により本明細書の一部として援用されるMyers and Miller, 1988, CABIOS 4:11-17のアルゴリズムがある。このようなアルゴリズムは、G C G配列アライメントソフトウェアパッケージの一部であるA L I G Nプログラム（バージョン2.0）に組み込まれている。アミノ酸配列を比較するためにA L I G Nプログラムを利用する場合、P A M 1 2 0重み付け残基表、ギャップレングスペナルティ12、およびギャップペナルティ4が使用され得る。2配列間の同一性パーセントは、ギャップを許容してもしなくても、上記のものと同様の技術を用いて決定することができる。同一性パーセントの計算では、通常、完全一致のみがカウントされる。

10

20

【0191】

本明細書で使用する場合、「医薬組成物」という用語は、動物、例えば、ヒト対象への投与に適切であって、治療薬および薬学上許容される担体または希釈剤を含む組成物を意味する。「薬学上許容される担体または希釈剤」とは、過度の毒性、刺激作用、アレルギー反応、または他の問題または合併症なく、妥当な治療ベネフィット／リスク比に見合っ

【0192】

「ポリヌクレオチド」および「核酸分子」という用語は、本明細書では互換的に使用され、DNAまたはRNAのポリマーを指す。核酸分子は一本鎖または二本鎖であり得；天然、非天然、または変更されたヌクレオチドを含み；天然、非天然、または変更されたヌクレオチド間結合、例えば、非改変核酸分子のヌクレオチド間に見られるホスホジエステルの代わりにホスホロアミデート結合またはホスホロチオエート結合を含む。核酸分子としては、限定されるものではないが、限定されるものではないが、組換え手段、例えば、通常のクローニング技術およびポリメラーゼ連鎖反応を用いた組換えライブラリーまたは細胞ゲノムからの核酸分子のクローニングなど、ならびに合成手段を含む当技術分野で利用可能な任意の手段によって得られる全ての核酸分子が含まれる。当業者は、特に断りのない限り、本願に示される核酸配列は、代表的なDNA配列においてチミジン（T）を示すが、配列がRNA（例えば、mRNA）を表す場合、チミジン（T）はウラシル（U）に置換されることを理解するであろう。従って、特定の配列識別番号で識別されるDNAによってコードされるRNAポリヌクレオチドはいずれも、DNA配列の各チミジン（T）がウラシル（U）で置換されている、DNAによってコードされる対応するRNA（例えば、mRNA）配列も含み得る。

30

40

【0193】

本明細書で使用する場合、「ポリペプチド」という用語は、ペプチド結合により連結された少なくとも2つ（例えば、少なくとも5つ）のアミノ酸のポリマーを指す。「ポリペプチド」という用語は、特定の長さのアミノ酸のポリマー鎖を表すものではない。当技術分野では、より短いアミノ酸のポリマー（例えば、約2～50アミノ酸）をペプチドと呼び、より長いアミノ酸のポリマー（例えば、約50アミノ酸を超える）をポリペプチドと

50

呼ぶのが一般的である。しかしながら、「ペプチド」および「ポリペプチド」という用語は、本明細書において互換的に使用される。

【0194】

本明細書で使用する場合、「タンパク質」という用語は、ポリペプチドまたは1セット（すなわち、少なくとも2つ）のポリペプチドを指す。タンパク質がポリペプチドのセットを含む実施形態では、そのポリペプチドのセットが会合して機能的単位（すなわち、4次構造）を形成する。いくつかの実施形態では、ポリペプチドまたはポリペプチドのセットは、三次元構造（すなわち、3次または4次構造）に折りたたまれる。本明細書でポリペプチドまたはポリペプチドセットが企図される場合、三次元構造（すなわち、3次または4次構造）に折りたたまれたポリペプチドまたはポリペプチドセットを含むタンパク質もまた本明細書で提供され、逆もそうであると理解されるべきである。

10

【0195】

「予防的」処置とは、病態を発症するリスクを低減する目的で、疾患の徴候を示さない、または初期の徴候のみを示す対象に投与される処置である。

【0196】

「RNA」および「ポリリボヌクレオチド」という用語は、本明細書では互換的に使用され、ホスホジエステル結合を介して重合された複数のリボヌクレオチドを含む高分子を指す。リボヌクレオチドは、糖がリボースであるヌクレオチドである。RNAは、改変されたヌクレオチドを含んでもよく；天然、非天然、または変更されたヌクレオチド間結合、例えば、非改変核酸分子のヌクレオチド間に見られるホスホジエステルの代わりにホスホロアミデート結合またはホスホロチオエート結合を含む。

20

【0197】

本明細書で使用する場合、「サンプル」という用語は、対象から得られる様々な生物検体を包含する。例示的サンプルタイプとしては、例えば、血液および生物起源のその他の液体サンプル（限定されるものではないが、全血、末梢血単核細胞（PBM C）、血清、血漿、尿、唾液、羊水、糞便、滑液などを含む）、鼻咽頭スワブ、固形組織サンプル、例えば、生検（またはそれらに由来する細胞およびそれらの後代）、組織培養物（またはそれらに由来する細胞およびそれらの後代）、および細胞培養物（またはそれらに由来する細胞およびそれらの後代）が含まれる。この用語にはまた、対象から取得した後の、遠心分離、濾過、洗浄、沈殿、透析、クロマトグラフィー、溶解、試薬処理、特定の細胞集団の濃縮、冷蔵、凍結、染色などの何らかの方法で操作されたサンプルも含まれる。

30

【0198】

「s c F v」または「一本鎖可変フラグメント」という用語は、ペプチドリンカーを介してV L領域に作動可能に連結されたV H領域を含む抗体を指し、V H領域とV L領域は会合して抗原に特異的に結合する（例えば、抗原結合ドメインを形成する）。いくつかの実施形態では、s c F vは、N末端からC末端に向かって、V H領域、ペプチドリンカー、およびV L領域を含む。いくつかの実施形態では、s c F vは、N末端からC末端に向かって、V L領域、ペプチドリンカー、およびV H領域を含む。

【0199】

「(s c F v)₂」という用語は、本明細書で使用する場合、第2のs c F vに（例えば、ペプチドリンカーを介して）作動可能に連結された第1のs c F vを含む抗体を指す。第1のs c F vおよび第2のs c F vは、同じまたは異なる抗原に特異的に結合し得る。いくつかの実施形態では、第1のs c F vおよび第2のs c F vは、ペプチドリンカーを介して作動可能に連結された。

40

【0200】

「s c F v - F c」という用語は、本明細書で使用する場合、F c領域に（例えば、ペプチドリンカーを介して）作動可能に連結されたs c F vを含む抗体を指す。いくつかの実施形態では、s c F vは、第1のF c領域および第2のF c領域を含むタンパク質の第1のF c領域にのみ作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、第1のs c F vは、第1のF c領域に作動可能に連結され、第2のs c F vは、第1のF c領域および

50

第2のFc領域を含むタンパク質の第2のFc領域に作動可能に連結されている。

【0201】

「(scFv)₂-Fc」という用語は、本明細書で使用する場合、Fc領域に（例えば、ペプチドリンカーを介して）作動可能に連結された(scFv)₂を指す。いくつかの実施形態では、(scFv)₂は、第1のFc領域および第2のFc領域を含むタンパク質の第1のFc領域にのみ作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、第1の(scFv)₂は、第1のFc領域に作動可能に連結され、第2の(scFv)₂は、第1のFc領域および第2のFc領域を含むタンパク質の第2のFc領域に作動可能に連結されている。

【0202】

本明細書で使用する場合、「シングルドメイン抗体」または「sdAb」という用語は、単一の単量体可変抗体ドメインを有する抗体を指す。sdAbは、特定の抗原と特異的に結合し得る。VHH（本明細書に定義される通り）は、sdAbの一例である。

【0203】

本明細書で使用する場合、「シグナルペプチド」または「シグナル配列」という用語は、特定のオルガネラ、細胞コンパートメントへのタンパク質の輸送もしくは局在、または細胞外輸送を命令することができる配列（例えば、アミノ酸配列）を指す。この用語は、シグナル配列ペプチドおよびシグナルペプチドをコードする核酸配列の両方を包含する。よって、核酸に関してシグナルペプチドという場合には、シグナルペプチドをコードする核酸配列を指す。

【0204】

本明細書で使用する場合、「特異的に結合する」という用語は、他のアミノ酸配列と比較して、第1のタンパク質（例えば、リガンド）と第2のタンパク質（例えば、リガンドの同族受容体）の間の優先的相互作用、すなわち、有意に高い結合親和性を指す。ゆえに、第1のタンパク質またはポリペプチドが第2のタンパク質またはポリペプチドに「特異的に結合する」という場合には、第1のタンパク質またはポリペプチドが第2のタンパク質またはポリペプチドのエピトープと特異的に結合することが理解される。「エピトープ」という用語は、第1のタンパク質またはポリペプチドが特異的に認識する、第2のタンパク質またはポリペプチドの部分の部分を指す。特異的に結合するという用語は、異なる種の同じエピトープと交差反応する分子を含む。例えば、ヒトCAIXと特異的に結合する抗体は、別の種（例えば、カニクイザル、マウスなど）のCAIXと交差反応する可能性があるが、本明細書では、なおヒトCAIXと特異的に結合するとみなされる。

【0205】

本明細書で使用する場合、「対象」という用語は、ヒトまたは他の動物などの任意の動物を包含する。いくつかの実施形態では、対象は、脊椎動物（例えば、哺乳動物、鳥類、魚類、爬虫類、または両生類）である。いくつかの実施形態では、対象はヒトである。いくつかの実施形態では、方法の対象は非ヒト哺乳動物である。いくつかの実施形態では、対象は、非ヒト霊長類（例えば、サル、無尾猿）、有蹄類（例えば、畜牛、バッファロー、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ラクダ、ラマ、アルパカ、シカ、ウマ、ロバ）、肉食動物（例えば、イヌ、ネコ）、齧歯類（例えば、ラット、マウス）、またはウサギ目（例えば、ウサギ）などの非ヒト哺乳動物である。いくつかの実施形態では、対象は、鳥類分類群キジ目（例えば、ニワトリ、シチメンチョウ、キジ、ウズラ）、カモ目（例えば、アヒル、ガチョウ）、古顎類（例えば、ダチョウ、エミュー）、ハト目（例えば、ドハト、ハト）、またはオウム目（例えば、オウム）のメンバーなどの鳥類である。

【0206】

本明細書で使用する場合、「治療薬の治療上有効な量」という用語は、単独でまたは別の治療薬と組み合わせて使用される場合、対象を疾患の発症から保護するか、または疾患もしくは感染症の症状の重症度の軽減、疾患もしくは感染症の症状のない頻度および期間の増加、または疾患もしくは感染症の罹患による障害もしくは無能力の予防によって証明される疾患の退縮を促進する治療薬の任意の量を指す。疾患退縮を促進する治療薬の能力

10

20

30

40

50

は、臨床試験中のヒト対象、ヒトにおける有効性を予測する動物モデル系、または *in vitro* アッセイにおける薬剤の活性のアッセイなど、当業者に公知の様々な方法を用いて評価することができる。

【0207】

本明細書で使用する場合、「治療 (treat/treating/treatment)」という用語は、疾患および／もしくはそれに関連する症状を軽減もしくは改善すること、または所望の薬理学的効果および／もしくは生理学的効果を得ることを指す。排除するものではないが、疾患の治療は、疾患またはそれに関連する症状が完全に除去されることを必要としないことが理解されよう。いくつかの実施形態では、効果は治療的であり、すなわち、限定されるものではないが、効果は、疾患および／または疾患に起因する有害な症状を部分的にまた

10

【0208】

本明細書で使用する場合、「可変領域」という用語は、抗体の一部分、一般的には軽鎖または重鎖の一部を指し、通常、成熟重鎖ではアミノ末端 110～120 アミノ酸または 110～125 アミノ酸程度、成熟軽鎖では 90～115 アミノ酸程度であり、これらは抗体間で配列が広範囲に異なり、特定の抗体の特定の抗原に対する結合および特異性において使用される。配列の変動は相補性決定領域 (CDR) と呼ばれる領域に集中し、一方、可変ドメインのより保存性の高い領域はフレームワーク領域 (FR) と呼ばれる。特定の機序または理論に縛られることを望むものではないが、軽鎖と重鎖の CDR が主に抗原と抗体の相互作用と特異性を担うと考えられている。特定の実施形態では、可変領域はヒト可変領域である。特定の実施形態では、可変領域は、齧歯類またはマウス CDR およびヒトフレームワーク領域 (FR) を含む。特定の実施形態では、可変領域は、霊長類 (例えば、非ヒト霊長類) の可変領域である。特定の実施形態では、可変領域は、齧歯類またはマウス CDR および霊長類 (例えば、非ヒト霊長類) フレームワーク領域 (FR) を含む。

20

【0209】

「VL」および「VL 領域」という用語は、免疫グロブリン軽鎖可変領域を指して互換的に使用される。VL 領域は、抗体、例えば、scFv、Fab、全長抗体に組み込むことができる。例えば、scFv は、ペプチドリンカーを介して VH 領域に作動可能に連結された VL 領域を含む。

30

【0210】

「VH」および「VH 領域」という用語は、免疫グロブリン重鎖可変領域を指して互換的に使用される。VH 領域は、抗体、例えば、scFv、Fab、全長抗体に組み込むことができる。例えば、scFv は、ペプチドリンカーを介して VL 領域に作動可能に連結された VH 領域を含む。

【0211】

「VHH」という用語は、本明細書で使用する場合、単一の単量体重鎖可変抗体ドメイン (VH) を有するシングルドメイン抗体 (sdAb) タイプを指す。このような抗体は、天然に軽鎖を欠くラクダ科哺乳動物 (例えば、ラクダ、ラマ) に見出すことができるか、もしくはそれから生産することができるか、または合成生産することができる。

40

【0212】

「(VHH)₂」という用語は、本明細書で使用する場合、第 2 の VHH に (例えば、ペプチドリンカーを介して) 作動可能に連結された第 1 の VHH を含む抗体を指す。第 1 の VHH と第 2 の VHH は、同じまたは異なる抗原に特異的に結合し得る。いくつかの実施形態では、第 1 の VHH と第 2 の VHH はペプチドリンカーにより作動可能に連結されている。

【0213】

50

「VHH-Fc」という用語は、本明細書で使用する場合、Fc領域に（例えば、ペプチドリンカーを介して）作動可能に連結されたVHHを含む抗体を指す。いくつかの実施形態では、VHHは、第1のFc領域および第2のFc領域を含むタンパク質の第1のFc領域にのみ作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、第1のVHHは、第1のFc領域に作動可能に連結され、第2のVHHは、第1のFc領域および第2のFc領域を含むタンパク質の第2のFc領域に作動可能に連結されている。

【0214】

「(VHH)₂-Fc」という用語は、本明細書で使用する場合、Fc領域に（例えば、ペプチドリンカーを介して）作動可能に連結された(VHH)₂を指す。いくつかの実施形態では、(VHH)₂は、第1のFc領域および第2のFc領域を含むタンパク質の第1のFc領域にのみ作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、第1の(VHH)₂は、第1の領域に作動可能に連結され、第2の(VHH)₂は、第1のFc領域および第2のFc領域を含むタンパク質の第2のFcドメインに作動可能に連結されている。

10

【0215】

5.1.1 ヒト化抗CAIX抗体

ヒトCAIX (hCAIX) は、消化管の酸分泌を促進する、細胞外活性部位を有する膜貫通二量体金属酵素であり、ヒトに見られる14の炭酸脱水酵素アイソフォームのうちの1つである。例示的成熟（配列番号1）参照hCAIXポリペプチドおよび未成熟（配列番号2）参照hCAIXポリペプチドのアミノ酸配列は、表1に示される。配列番号2のN末端アミノ酸1〜37（下線）はシグナルペプチドを表す。

20

【0216】

【表1】

表1 代表的なhCAIXポリペプチドのアミノ酸配列

説明	配列番号	アミノ酸配列
hCAIX 成熟（シグナル配列なし） 太字：細胞外ドメイン UniProt ID: Q16790	1	QRLPRMQEDSPLGGGSSGEDDPLGEEDLPSEEDSPREEDPPG EEDLPGEEDLPGEEDLPVEVKPKSEEEGSLKLEDLPTVEAPGD PQEPQNNNAHRDKEGDDQSHWRYGGDPPWPRVSPACAGRFQSP VDIRPQLAAFCPALRPLELLGFQLPPLPELRLRNNGHSVQLT LPPGLEMALGPGREYRALQLHLHWGAAGRPGSEHTVEGHRFP AEIHVVHLSTAFARVDEALGRPGGLAVLAALFEEGPEENSAY EQLLSRLEEIAEEGSETQVPGLDISALLPSDFSRYFQYEGSL TTPPCAQGVITVFNQTVMLSAKQLHTLSDTLWGPGDSRLQL NFRATQPLNGRVIEASFPAGVDSSPRAAEPVQLNSCLAAGDI LALVFGLLFAVTSVAFLVQMRRQHRRGTKGGVSYPRAEVAET GA
hCAIX 未成熟（下線：シグナル配列） 太字：細胞外ドメイン UniProt ID: Q16790	2	MAPLCPSPWLPLLIPAPAPGLTVQLLSLLLLVPHVQRLPR MQEDSPLGGGSSGEDDPLGEEDLPSEEDSPREEDPPGEEDLP GEEDLPGEEDLPVEVKPKSEEEGSLKLEDLPTVEAPGDPQEPQ NNAHRDKEGDDQSHWRYGGDPPWPRVSPACAGRFQSPVDIRP QLAAFCPALRPLELLGFQLPPLPELRLRNNGHSVQLTLPPGL EMALGPGREYRALQLHLHWGAAGRPGSEHTVEGHRFP AEIHV VHLSTAFARVDEALGRPGGLAVLAALFEEGPEENSAYEQLLS RLEEIAEEGSETQVPGLDISALLPSDFSRYFQYEGSLTTPPC AQGVITVFNQTVMLSAKQLHTLSDTLWGPGDSRLQLNFRAT QPLNGRVIEASFPAGVDSSPRAAEPVQLNSCLAAGDILALVF GLLFAVTSVAFLVQMRRQHRRGTKGGVSYPRAEVAETGA

30

40

【0217】

一態様において、本明細書では、hCAIXと特異的に結合する抗体（およびそれらの機能的フラグメントおよび変異体（例えば、それらの抗原結合ドメイン））が提供され、このような抗体もまた本明細書では抗CAIX抗体と呼ばれる。

50

【 0 2 1 8 】
例示的抗 h C A I X 抗体の V H および V L 領域のアミノ酸配列を表 2 に示す。
【 0 2 1 9 】
【 表 2 】

表2 代表的な抗hCAIXのVHポリペプチド及びVLポリペプチドのアミノ酸配列

説明	アミノ酸配列	配列番号
VH		
HC1	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYYMSWVRQAPGKGLEWVSA INSDGGITYYLDTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHR SGYFSMDYWGQGTTTVTVSS	3
HC2	LVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPGKGLEWVSA INSDGGITYYLDTVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHR SGYFSMDYWGQGTLVTVSS	4
HC3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWVRQAPGKGLEWVAA INSDGGITYYLDTVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHR SGYFSMDYWGQGTLVTVSS	5

10

20

30

40

50

HC4	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWVRQAPGKGLEWVSAINSDG GITYYLDTVKGRFTISRDDSKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCARHRSGYFSMDYWG QGTTVTVSS	6
HC5	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSA INSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHR SGYFSMDYWGQGTSTVTVSS	7
HC5 変異体 3	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSA INSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHR SGYFSMDYWGQGTSTVTVSS	7
HC5 変異体 27	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSA INSDGAITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHR SGYFSMDYWGQGTSTVTVSS	8
HC5 変異体 29	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAVSGFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSA INSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHR SGYFSMDYWGQGTSTVTVSS	9
HC5 変異体 36	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAVSGFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSA INSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHR SGYFSMDYWGQGTSTVTVSS	9
HC5 変異体 74	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSA INSDGAITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHR SGYFSMDYWGQGTSTVTVSS	8
VL		
LC1	DIVMTQSPATLSLSPGDRATLSCKASQNVVSAVAWYQQKPGQAPRLLIYS ASNRYTGIPARFSGSGSGTDFTLTITSSLSQSEDFAVYYCQQYSNYPWTFGG GTKVEIK	10
LC2	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVVSAVAWYQQKPGQAPRLLVYS ASNRYTGIPDRFSGSGSGTEFTLTITSSLSQSEDFAVYYCQQYSNYPWTFGQ GTKLEIK	11
LC3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYS ASNRYTGIPARFSGSGSGTEFTLTITSSLSQSEDFAAYYCQQYSNYPWTFGG GTKVEIK	12
LC4	DIQMTQSPFSLASVGDRTVITCKASQNVVSAVAWYQQKPGKAPKLLIYS ASNRYTGVP SRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYFCQQYSNYPWTFGG GTKLEIK	13
LC5	AIQLTQSQRFSLASVGDRTVITCRASQNVVSALAWYQQKPGQSPKLLIYS ASNRYTGVP SRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFADFFCQQYSNYPWTFGG GTKLEIK	14
LC3 変異体 3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYS ASNRYTGIPARFSGSGSGTEFTLTITSSLSQSEDFAAYYCQQYRNYPWTFGG GTKVEIK	15
LC3 変異体 27	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYS ASNRYTGIPARFSGSGSGTEFTLTITSSLSQSEDFAAYYCQQYRNYPWTFGG GTKVEIK	15
LC3 変異体 29	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYS ASNRYTGIPARFSGSGSGTEFTLTITSSLSQSEDFAAYYCQQYRNYPWTFGG GTKVEIK	15
LC3 変異体 36	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVVSAVGWYQQKPGQSPRLLIYS ASNRYTGIPARFSGSGSGTEFTLTITSSLSQSEDFAAYYCQQYSNYPWTFGG GTKVEIK	16

10

20

30

40

LC3 変異体 74	EIVMTQSPATLSVSPGERVTLCKASQNVVSAVGWYQQKPGQSPRLLIYS ASNRYTGIPARFSGSGSGTEFTLTITSSLSQSEDFAAYYCQQYNNYPWTFGG GTKVEIK	17
---------------	--	----

【0220】

いくつかの実施形態では、抗hCAIX抗体（またはその機能的フラグメントもしくは変異体）は、VHおよびVLを含む。

【0221】

50

いくつかの実施形態では、V Hのアミノ酸配列は、表2に示されるいずれかのV Hポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつV Lのアミノ酸配列は、表2に示されるいずれかのV Lポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

【0222】

いくつかの実施形態では、V Hのアミノ酸配列は、表2に示されるいずれかのV Hポリペプチドのアミノ酸配列を含み；かつV Lのアミノ酸配列は、表2に示されるいずれかのV Lポリペプチドのアミノ酸配列を含む。

10

【0223】

いくつかの実施形態では、V Hのアミノ酸配列は、配列番号3～9のいずれか1つに示されるアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつV Lのアミノ酸配列は、配列番号10～17のいずれか1つに示されるアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

【0224】

20

いくつかの実施形態では、V Hのアミノ酸配列は、配列番号3に示されるアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつV Lのアミノ酸配列は、配列番号10に示されるアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。いくつかの実施形態では、V Hのアミノ酸配列は、配列番号3に示されるアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつV Lのアミノ酸配列は、配列番号11に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。いくつかの実施形態では、V Hのアミノ酸配列は、配列番号3に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつV Lのアミノ酸配列は、配列番号12に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。いくつかの実施形態では、V Hのアミノ酸配列は、配列番号3に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつV Lのアミノ酸配列は、配列番号13に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。いくつかの実施形態では、V Hのアミノ酸配列は、配列番号3に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつV Lのアミノ酸配列は、配列番号14に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。いくつかの実施形態では、V Hのアミノ酸配列は、配列番号3に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%

30

40

50

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

【 0 2 2 7 】

50

【 0 2 2 8 】

50

【 0 2 2 9 】

【 0 2 3 0 】

いくつかの実施形態では、VHのアミノ酸配列は、配列番号9に示されるアミノ酸と少

50

なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり；かつ V L のアミノ酸配列は、配列番号 10 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。いくつかの実施形態では、V H のアミノ酸配列は、配列番号 9 に示されるアミノ酸と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり；かつ V L のアミノ酸配列は、配列番号 11 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。いくつかの実施形態では、V H のアミノ酸配列は、配列番号 9 に示されるアミノ酸と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり；かつ V L のアミノ酸配列は、配列番号 12 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。いくつかの実施形態では、V H のアミノ酸配列は、配列番号 9 に示されるアミノ酸と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり；かつ V L のアミノ酸配列は、配列番号 13 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。いくつかの実施形態では、V H のアミノ酸配列は、配列番号 9 に示されるアミノ酸と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり；かつ V L のアミノ酸配列は、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。いくつかの実施形態では、V H のアミノ酸配列は、配列番号 9 に示されるアミノ酸と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり；かつ V L のアミノ酸配列は、配列番号 15 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。いくつかの実施形態では、V H のアミノ酸配列は、配列番号 9 に示されるアミノ酸と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり；かつ V L のアミノ酸配列は、配列番号 16 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。いくつかの実施形態では、V H のアミノ酸配列は、配列番号 9 に示されるアミノ酸と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり；かつ V L のアミノ酸配列は、配列番号 17 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。

10

20

30

40

【0231】

例示的抗 h C A I X 抗体の V H および V L 領域のヌクレオチド配列を表 3 に示す。

【0232】

50

【表 3】

表3 代表的な抗CAIXのVHポリペプチド及びVLポリペプチドの核酸配列

説明	核酸配列	配列番号
VH		
HC1	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGAGGAGGCCTTGTGCAACCTGGAGGCAG CCTGAAGCTGAGCTGTGCTGCCTCTGGCTTCACCTTCAGCAACTACTACA TGAGCTGGGTGAGACAAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCTGCC ATCAACTCTGATGGAGGCATCACCTACTACCTGGACACAGTGAAGGGCAG ATTCACCATCAGCAGAGATAATAGCAAAAACACCCTGTACCTGCAGATGA ACAGCCTGAGAGCTGAGGACACAGCTGTGTACTACTGTGCTAGACACAGA TCTGGCTACTTCAGCATGGACTACTGGGGCCAAGGCACCACAGTGACTGT GAGCTCT	18
HC2	CTGGTGCAACTGGTAGAATCTGGAGGAGGCCTTGTGAAACCTGGAGGCAG CCTGAGACTGAGCTGTGCTGCCTCTGGCTTCACCTTCAGCAACTACTACA TGAGCTGGATCAGACAAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCTGCC ATCAACTCTGATGGAGGCATCACCTACTACCTGGACACAGTGAAGGGCAG ATTCACCATCAGCAGAGATAATGCCAAAAACAGCCTGTACCTGCAGATGA ACAGCCTGAGAGCTGAGGACACAGCTGTGTACTACTGTGCTAGACACAGA TCTGGCTACTTCAGCATGGACTACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGT GAGCTCT	19
HC3	GAGGTGCAACTGGTAGAATCTGGAGGAGGCCTTGTGCAGCCTGGAGGCAG CCTGAGACTGAGCTGTGCTGCCTCTGGCTTCACCTTCAGCAACTACTACA TGAGCTGGGTGAGACAAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGGCTGCC ATCAACTCTGATGGAGGCATCACCTACTACCTGGACACAGTGAAGGGCAG ATTCACCATCAGCAGAGATAATGCCAAAAACAGCCTGTACCTGCAGATGA ACAGCCTGAGAGCTGAGGACACAGCTGTGTACTACTGTGCTAGACACAGA TCTGGCTACTTCAGCATGGACTACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGT GAGCTCT	20
HC4	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGAGGAGGCCTTGTGCAACCTGGAGGCAG CCTGAGACTGAGCTGTGCTGCCTCTGGCTTCACCTTCAGCAACTACTACA TGAGCTGGGTGAGACAAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCTGCC ATCAACTCTGATGGAGGCATCACCTACTACCTGGACACAGTGAAGGGCAG ATTCACCATCAGCAGAGATGACAGCAAAAACACCCTGTACCTGCAGATGA GCAGCCTGAGAGCTGAGGACACAGCTGTGTACTACTGTGCTAGACACAGA TCTGGCTACTTCAGCATGGACTACTGGGGCCAAGGCACCACAGTGACTGT GAGCTCT	21
HC5	GAGGTCAGACTGGTAGAATCTGGAGGAGGCCTTGTGAAACCTGGAGGCAG CCTGAGACTGAGCTGTGCTGCCTCTGGCTTCACCTTCAGCAACTACTACA TGAGCTGGATCAGACAAGCCCCCTGAGAAGAGACTGGAGCTGGTGTCTGCC ATCAACTCTGATGGAGGCATCACCTACTACCTGGACACAGTGAAGGGCAG ATTCACCATCAGCAGAGATAATGCCAAAAACAGCCTGTACCTGCAGATGA ACAGCCTGAGAGCTGAGGACACAGCCCTGTTCTACTGTGCTAGACACAGA TCTGGCTACTTCAGCATGGACTACTGGGGCCAAGGCACCTCTGTGACTGT GAGCTCT	22
HC5 コドン 最適化	GAAGTCCGTCTGGTCGAGAGCGGGGGGGCCTGGTGAAGCCTGGCGGCAG CCTGAGGCTGTCTTGCGCCGCTTCCGGCTTCACCTTTTCTAACTACTATA TGTCCTGGATCAGACAGGCCCCAGAGAAGAGGCTGGAGCTGGTGTCCGCC ATCAACTCTGACGGCGGCATCACATACTATCTGGATAACGTGAAGGGCAG ATTCACAATCTCTCGCGATAACGCCAAGAAGTCCCTGTACCTCCAGATGA ACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCTCTGTTCTATTGCGCTAGGCACCGG	23

10

20

30

40

	TCCGGCTACTTTAGCATGGATTATTGGGGCCAGGGCACCTCCGTCACAGT GTCCAGC	
VL		
LC1	GACATTGTGATGACACAGTCTCCTGCCACCCTGAGCCTGAGCCCTGGAGA CAGAGCTACCCTGAGCTGCAAGGCTTCTCAGAATGTGGTGTCTGCTGTGG CCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGACAAGCCCCTAGACTGCTGATCTACTCT GCTAGCAACAGATACTGGAATCCCTGCTAGATTCTCTGGCTCTGGCTC TGGCACAGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAGGACTTTG CTGTGTACTACTGTCAGCAGTACAGCAACTACCCTTGGACCTTTGGAGGA GGCACCAAGGTGGAGATCAAG	24
LC2	GAGATTGTGATGACACAGTCTCCTGCCACCCTGTCTGTGAGCCCTGGAGA GAGAGCTACCCTGAGCTGCAAGGCTTCTCAGAATGTGGTGTCTGCTGTGG CCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGACAAGCCCCTAGACTGCTGGTGTACTCT GCTAGCAACAGATACTGGAATCCCTGACAGATTCTCTGGCTCTGGCTC TGGCACAGAGTTTACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAGGACTTTG CTGTGTACTACTGTCAGCAGTACAGCAACTACCCTTGGACCTTTGGACAA GGCACCAAGGTGGAGATCAAG	25
LC3	GAGATTGTGATGACACAGTCTCCTGCCACCCTGTCTGTGAGCCCTGGAGA GAGAGCTACCCTGAGCTGCAAGGCTTCTCAGAATGTGGTGTCTGCTGTGG CCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGACAGAGCCCCTAGACTGCTGATCTACTCT GCTAGCAACAGATACTGGAATCCCTGCTAGATTCTCTGGCTCTGGCTC TGGCACAGAGTTTACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAGGACTTTG CTGCCTACTACTGTCAGCAGTACAGCAACTACCCTTGGACCTTTGGAGGA GGCACCAAGGTGGAGATCAAG	26
LC3 コドン 最適化	GAAATTGTGATGACTCAGAGCCCCGCAACTCTGAGCGTGTCTCCCGGCGA GAGAGCCACCCTGTCTTGCAAGGCTTCCCAGAACGTGGTGTCTGCCGTGG CTTGGTATCAGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGGCTGCTGATCTACTCC GCCAGCAATAGGTATACCGGCATCCCTGCTCGGTTCTCTGGCTCCGGCAG CGGCACAGAGTTTACCCTGACCATCTCCTCCCTCCAGAGCGAGGACTTCG CCGCTTACTATTGCCAGCAGTACTCTAACTATCCTTGGACCTTTGGCGGC GGCACAAAGGTGGAGATCAAG	27
LC4	GACATTGAGATGACACAGTCTCCTTTGAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGAGA CAGAGTGACCATCACCTGCAAGGCTTCTCAGAATGTGGTGTCTGCTGTGG CCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACTCT GCTAGCAACAGATACTGGAGTGCCTAGCAGATTCTCTGGCTCTGGCTC TGGCACAGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTTG CCACCTACTTCTGTGTCAGCAGTACAGCAACTACCCTTGGACCTTTGGAGGA GGCACCAAGGTGGAGATCAAG	28
LC5	GCCATTGAGCTGACACAGTCTCAGAGATTCTGTCTGCCTCTGTGGGAGA CAGAGTGACCATCACCTGCAGAGCTTCTCAGAATGTGGTGTCTGCTCTGG CCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGACAGAGCCCCTAAGCTGCTGATCTACTCT GCTAGCAACAGATACTGGAGTGCCTAGCAGATTCTCTGGCTCTGGCTC TGGCACAGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTTG CTGACTTCTTCTGTGTCAGCAGTACAGCAACTACCCTTGGACCTTTGGAGGA GGCACCAAGGTGGAGATCAAG	29

10

20

30

40

【0233】

いくつかの実施形態では、VHのヌクレオチド配列は、表3に示されるいずれかのVHのヌクレオチド配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるヌクレオチド配列を含み；かつVLのヌクレオチド配列は、表3に示されるいずれかのVLのヌクレオチド配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるヌクレオチド配列を含む。

【0234】

50

10

20

30

40

50

【 0 2 4 1 】

10

20

30

40

50

50

50

50

50

50

50

50

50

50

いくつかの実施形態では、VHのヌクレオチド配列は、配列番号20に示されるヌクレ

10

20

30

40

50

【 0 2 5 2 】

【 0 2 5 3 】

【 0 2 5 4 】

【 0 2 5 5 】

いくつかの実施形態では、VHのヌクレオチド配列は、配列番号21に示されるヌクレオチド配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、9

10

20

30

40

50

【 0 2 6 2 】
いくつかの実施形態では、V H のヌクレオチド配列は、配列番号 2 2 に示されるヌクレオチド配列と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % 同一

10

20

30

40

50

50

50

50

50

50

50

50

50

50

いくつかの実施形態では、VHのヌクレオチド配列は、配列番号23に示されるヌクレオチド配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつVLのヌクレオチド配列は、配列番号27に示されるヌクレオチド配列と少

なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。

【0270】

いくつかの実施形態では、VH のヌクレオチド配列は、配列番号 23 に示されるヌクレオチド配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり；かつ VL のヌクレオチド配列は、配列番号 28 に示されるヌクレオチド配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。

【0271】

いくつかの実施形態では、VH のヌクレオチド配列は、配列番号 23 に示されるヌクレオチド配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり；かつ VL のヌクレオチド配列は、配列番号 29 に示されるヌクレオチド配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。

【0272】

5.2 hIL-12 タンパク質およびポリペプチド

hIL-12 は、 α サブユニット、hIL-12p35、および β サブユニット、hIL-12p40 から構成される多面的分泌サイトカインである。天然の hIL-12p35 サブユニットと hIL-12p40 サブユニットは、ジスルフィド結合を介して連結されて生理活性 hIL-12-p70 サイトカインを形成している。例えば、その全内容が目的を問わず参照により本明細書の一部として援用される Sun, Lin et al. “Interleukin 12 (IL-12) family cytokines: Role in immune pathogenesis and treatment of CNS autoimmune disease,” Cytokine, 75(2): 249-55 (2015) (以下、「Sun 2015」と呼ぶ)参照。hIL-12 は、とりわけ、炎症誘発性であり、hIL-12 受容体 (hIL-12R) への結合を介してその機能を媒介する。高親和性 hIL-12R は、hIL-12R β 1 サブユニットおよび hIL-12R β 2 サブユニットを含むヘテロ二量体である。hIL-12R は、NK 細胞、T 細胞、および B 細胞を含む様々な免疫細胞において構成的または誘導的に発現される。hIL-12 が例えば、活性化された T 細胞、NK 細胞、および DC 上で発現された hIL-12R に結合すると、TYK2、JAK2、および STAT 経路が活性化される。STAT ファミリーの転写因子の中でも、STAT4 は、hIL-12 により惹起される細胞応答の最も特異的なメディエーターであると考えられている。例えば、Sun 2015 参照。

【0273】

参照未成熟 hIL-12p35 ポリペプチドおよび成熟 hIL-12p35 ポリペプチドのアミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 30 および 31 に示される。参照未成熟 hIL-12p40 ポリペプチドおよび成熟 hIL-12p40 ポリペプチドのアミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 32 および 33 に示される。参照未成熟 hIL-12R β 1 (hIL-12R β 1) ポリペプチドおよび成熟 hIL-12R β 1 ポリペプチドのアミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 34 および 35 に示される。参照未成熟 hIL-12R β 2 (hIL-12R β 2) ポリペプチドおよび成熟 hIL-12R β 2 ポリペプチドのアミノ酸配列はそれぞれ、配列番号 36 および 37 に示される。本明細書では表 4 参照。

【0274】

10

20

30

40

50

【表 4】

表4参照hIL-12p35、hIL-12p40、hIL-12Rβ1及びhIL-12Rβ2ポリペプチドのアミノ酸配列

説明	アミノ酸配列	配列番号
hIL-12p35 (未成熟-下線:シグナル配列) UniProt ID: P29459	MCPARSLLLVATLVLLDHL ~~SL~~ ARNLPVATPDPGMF ~~PCL~~ HHSQN LLRAVS ~~NMLQ~~ KARQTLEFY ~~PCT~~ SEEIDHEDITKDKTSTVEACL PLELT ~~KNESCL~~ NSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYE DLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNF NSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHA ~~FR~~ IRAVTIDRVMSY LNAS	30
hIL-12p35 (成熟-シグナル配列なし) UniProt ID: P29459	RNLPVATPDPGMF ~~PCL~~ HHSQNLLRAVS ~~NMLQ~~ KARQTLEFY ~~PCT~~ SEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELT ~~KNESCL~~ NSRETSFITNG SCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKR QIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIK LCILLHA ~~FR~~ IRAVTIDRVMSYLNAS	31
hIL-12p40 (未成熟-下線:シグナル配列) UniProt ID: P29460	MCHQQLVISWFS ~~LVFL~~ ASPLVAIWELKKDVYVVELDWYPDAG EMVVLTCDTPEEDGITWTL ~~DQS~~ SEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTCHKGGEVL ~~SHS~~ LLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNK ~~TFL~~ RCEAKNYSGRFTCW ~~WLT~~ TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLP ~~IEVM~~ DAV HKLKYENYTSSFFIRD ~~II~~ KPDPPKNLQ ~~LKPL~~ KNSRQVEVSWEY PDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICR KNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS	32
hIL-12p40 (成熟-シグナル配列なし) UniProt ID: P29460	IWELKKDVYVVELDWYPDAGEMVVLTCDTPEEDGITWTL ~~DQS~~ SEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVL ~~SHS~~ LLLLHKKE DGIWSTDILKDQKEPKNK ~~TFL~~ RCEAKNYSGRFTCW ~~WLT~~ TTISTD LTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVECQ EDSACPAAEESLP ~~IEVM~~ DAVHKLKYENYTSSFFIRD ~~II~~ KPD PKNLQ ~~LKPL~~ KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGK SKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWA SVPCS	33
hIL-12Rβ1 (未成熟-下線:シグナル配列) UniProt ID: P42701	MEPLVTWV ~~VPL~~ LLFL ~~FL~~ LSRQGAACRTSECCFQDPPYPDADSGS ASGPRDLRCYRISSDRYEC ~~SWQ~~ YEGPTAGVSHFLRCC ~~LSS~~ GRC CYFAAGSATRLQFSDQAGVSVLYTVTLWVESW ~~ARNQ~~ TEKSPEV TLQLYNSVKYE ~~PL~~ GD ~~IKV~~ SKLAGQLRMEWETPDNQVGA ~~EVQ~~ F RHRT ~~PSS~~ PWKLGD ~~CGP~~ QDDDTESCLC ~~PLEM~~ NAQE ~~FQ~~ LRRRQL GSQGS ~~SW~~ SKWSSPVCVPENPPQPV ~~RF~~ SVEQLGQDGRRLTL KEQPTQLELPEGCQGLAPGTEVTYRLQLHMLSC ~~PC~~ KAKATRTL HLGKMPYLSGAAYNVA ~~VI~~ SSNQFGPLNQTWHIPADTHTEPVA LNISVGTNGTTMYWPARAQSM ~~TY~~ CIEWQPVGQDGG ~~LAT~~ CSLTA PQDPDPAGMATYSWSRESGAMGQEKCYITIFASAHPEK ~~LT~~ LW STVLSTYHFGGNASAA ~~GT~~ PHHVS ~~VKN~~ HS ~~LDS~~ VSVDWAPSL ~~ST~~ CPGVLKEYVVR ~~CR~~ DEDSKQVSEHPVQPTETQVTL ~~SGL~~ LAGVAY TVQVRADTAWLRGVWSQPQ ~~RF~~ SIEVQVSDWLIFFASLGS ~~FL~~ SI LLVGV ~~LG~~ YLGLNRAARHLCPPLTPCASSAIEFPGGKETWQWI NPVDFQEEASLQEALV ~~VEM~~ SWDKGERTEPLEKTELPEGAPELA LDTELSLEDGDRCKAKM	34

10

20

30

40

hIL-12Rβ1 (成熟-シグナル配列なし) UniProt ID: P42701	CRTSECCFQDPYPDADSGSASGPRDLRCYRISSDRYECSWQY EGPTAGVSHFLRCCLSSGRCCYFAAGSATRLQFSDQAGVSVLY TVTLWVESWARNQTEKSPEVTLQLYNSVKYEPPLGDIKVSCLA GQLRMEWETPDNQVGAEVQFRHRTSPSPWKLGDGCGPQDDDTES CLCPLEMNVAQEFQLRRRQLGSQGSWSKWSSPVCVPPENPPQ PQVRFVSVEQLGQDGRRLTLKEQPTQLELPEGCQGLAPGTEVT YRLQLHMLSCPKAKATRTLHLGKMPYLSGAAYNVAVISSNQF GPGLNQTHIPADTHTEPVALNISVGTNGTTMYWPARAQSMY CIEWQPVGQDGLLATCSLTAPQDPDPAGMATYSWSRESGAMGQ EKCYITIFASAHPEKLTWSTVLSTYHFGGNASAAGTPHHVS VKNHSLDSVSDWAPSLSTCPGVLKEYVVRCDKQVSEH PVQPTETQVTLGSLRAGVAYTVQVRADTAWLRGVWSQPQRF SI EVQVSDWLIFFASLGSFSLILLVGVGLGVLGNRAARHLCPPLP TPCASSAIEFPGGKETWQWINPVDFQEEASLQEALVVEMSWDK GERTEPLEKTELPEGAPELALDTELSLEDGDRCKAKM	35
hIL-12Rβ2 (未成熟-下線:シグナル配列) UniProt ID: Q99665	MAHTFRGCSLAFMFIITWLLIKAKIDACKRGDVTVKPSHVILL GSTVNITCSLKPRQGCFFHYSRRNKLILYKFDRRINFHHGHS LN SQVTGLPLGTTLTFVCKLACINSDEIQICGAEIFVGVVAPEQPQN LSCIQKGEQGTVACTWERGRDTHLYTEYTLQLSGPKNLTWQKQ CKDIYCDYLDGFINLTPESPESNFTAKVTAVNSLGSSSSLPST FTFLDIVRPLPPWDIRIKFQKASVSRCTLYWRDEGLVLLNRLR YRPSNRLWNMVNTKAKGRHDLDLKPFTEYEFQISSKLHLY KGSWDWSESLRAQTPEEPTGM LDVWYMKRHIDYSRQQISLF WKNLSVSEARGKILHYQVTLQELTGKAMTQNITGHTSWTTVI PRTGNWAVAVSAANSKGSSLPTRINIMNLCEAGLLAPRQVSAN SEGMDNILVTWQPPRKDPSAVQYVVEWRELHPGGDTQVPLNW LRSRPYNVSALISENIKSICYEIRVYALSGDQGGCSSILGNS KHKAPLSGPHINAITEEKGSILISWNSIPVQEQMGCLLHYRIY WKERDSNSQPQLCEIPYRVSONSHPINSLQPRVTYVLWMTALT AAGESSHGNEREFCLQGANWMAFVAPSICIAIMVGIFSTHY FQKQVFVLLAALRPQWCSREIPDPANSTCAKKYPIAEKQTQLP LDRLLIDWPTPEDPEPLVISEVLHQVTPVFRHPPCSNWPQREK GIQGHQASEKDMMHSASSPPPPRALQAESRQLVDLYKVLESRG SDPKPENPACPWTVLPAGDLPTHGYPNIDDLPSHEAPLAD SLEELEPQHISLSVFPSSSLHPLTFSCGDKLTLDQLKMRCDSL ML	36
hIL-12Rβ2 (成熟-シグナル配列なし) UniProt ID: Q99665	KIDACKRGDVTVKPSHVILLGSTVNITCSLKPRQGCFFHYSRRN KLILYKFDRRINFHHGHS LNSQVTGLPLGTTLTFVCKLACINS D EIQICGAEIFVGVVAPEQPQNLSICIQKGEQGTVACTWERGRDTH LYTEYTLQLSGPKNLTWQKQCKDIYCDYLDGFINLTPESPESN FTAKVTAVNSLGSSSSLPSTFTFLDIVRPLPPWDIRIKFQKAS VSRCTLYWRDEGLVLLNRLRYRPSNRLWNMVNTKAKGRHDL LDLKPFTYEFQISSKLHLYKGSWDWSESLRAQTPEEPTGM LDVWYMKRHIDYSRQQISLFWKNLSVSEARGKILHYQVTLQEL TGKAMTQNITGHTSWTTVIPRTGNWAVAVSAANSKGSSLPTR INIMNLCEAGLLAPRQVSANSEGMDNILVTWQPPRKDPSAVQY YVVEWRELHPGGDTQVPLNWLRSPYNVSALISENIKSICYE IRVYALSGDQGGCSSILGNSKHKAPLSGPHINAITEEKGSILI SWNSIPVQEQMGCLLHYRIYKERDSNSQPQLCEIPYRVSONS HPINSLQPRVTYVLWMTALTAAGESSHGNEREFCLQGANWMA	37

	FVAPSICIAIMVGIFSTHYFQKQVFVLLAALRPQWCSREIPD PANSTCAKKYPIAEKQTQLPLDRLLIDWPTPEDPEPLVISEVL HQVTPVFRHPPCSNWPQREKGIQGHQASEKDMMHSASSPPPPR ALQAESRQLVDLYKVLESRGSDPKPENPACPWTVLPAGDLPTH DGYLPSNIDDLPSHEAPLADSLEELEPQHISLSVFPSSSLHPL TFSCGDKLTLDQLKMRCDSLML	
--	--	--

【 0 2 7 5 】

5 . 2 . 1 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質およびポリペプチド

一態様において、本明細書では、参照 h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド（例えば、配列番号 3 3）に比べて活性が減弱された h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドが提供される。本明細書に記載されるように、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドはいずれも単離型および／または組換え型であり得る。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドは、h I L - 1 2 R に特異的と結合する。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドは、h I L - 1 2 R β 1 と特異的に結合する（節 5 . 2 . 3 も参照）。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドは、h I L - 1 2 R β 2 と特異的に結合する（節 5 . 2 . 2 も参照）。

【0276】

上記に示されるように、本開示の目的では、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドの全てのアミノ酸（および例えば、アミノ酸置換）のナンバリングは、未成熟型の h I L - 1 2 p 4 0 天然シグナルペプチドを含む（すなわち配列番号 3 2）のアミノ酸配列に対して示される。アミノ酸番号（例えば、W 3 7）を指定するための未成熟型の h I L - 1 2 p 4 0 の使用は、一貫性を目的とするに過ぎず、このナンバリング法を利用する実施形態の範囲を h I L - 1 2 p 4 0 のシグナルペプチドを含むポリペプチドに限定するものではない。例えば、W 3 7 A アミノ酸置換を伴う配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む本明細書に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドは、アミノ酸位置 W 3 7 のナンバリングは未成熟型のタンパク質に基づくが、h I L - 1 2 p 4 0 のシグナルペプチドを必要としない。当技術分野では、変異体および融合タンパク質を生産するために成熟型のタンパク質を利用することが一般的である。

【0277】

当業者ならば、未成熟型の h I L - 1 2 p 4 0 に対するアミノ酸ナンバリングに基づいて成熟型の h I L - 1 2 p 4 0（配列番号 3 3）内のアミノ酸位置を容易に決定することができる。上記に示すように、未成熟型の h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質のアミノ酸 1 ~ 2 2 はシグナル配列である（下線）。従って、成熟型の h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質内の特定のアミノ酸のアミノ酸位置は、未成熟型の h I L - 1 2 p 4 0 に対して指定された特定のアミノ酸のアミノ酸位置から、2 2 を引くことによって決定することができる。例えば、アミノ酸位置 W 3 7（配列番号 3 2 に対してナンバリング）は、成熟型のタンパク質（配列番号 3 3）のアミノ酸位置 W 1 5 に相当することになる。

【0278】

一態様において、本明細書では、（a）配列番号 3 3 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % 同一であり；かつ（b）アミノ酸位置（i）W 3 7、F 8 2、および K 2 1 9；（i i）W 3 7、F 8 2、および K 2 1 7；（i i i）K 1 0 6、K 2 1 7、および K 2 1 9；（i v）W 3 7 および F 8 2；（v）W 3 7 および K 2 1 7；（v i）W 3 7 および K 2 1 9；（v i i）W 3 7 および K 1 0 6；（v i i i）F 8 2 および K 1 0 6；（x i v）F 8 2 および K 2 1 7；（x v）F 8 2 および K 2 1 9；（x v i）K 2 1 7 および K 2 1 9；（x v i i）K 1 0 6 および K 2 1 7；または（x v i i i）K 1 0 6 および K 2 1 9（配列番号 3 2 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）のそれぞれにアミノ酸改変（例えば、置換、付加、欠失（例えば、置換））を含む、またはそれからなるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドが提供される。

【0279】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドは、（a）配列番号 3 3 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % 同一であり；かつ（b）アミノ酸位置（i）W 3 7、F 8 2、および K 2 1 9；（i i）W 3 7、F 8 2、および K 2 1 7；（i i i）K 1 0 6、K 2 1 7、および K 2 1 9；（i v）W 3 7 および F 8 2；（v）W 3 7 および K 2 1 7；（v i）W 3 7 および K 2 1 9；（v i i）W 3 7 および K 1 0 6；（v i i i）F 8 2 および K 1 0 6；（x i v）F 8 2 および

K 2 1 7 ; (x v) F 8 2 および K 2 1 9 ; (x v i) K 2 1 7 および K 2 1 9 ; (x v i i) K 1 0 6 および K 2 1 7 ; または (x v i i i) K 1 0 6 および K 2 1 9 (配列番号 3 2 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) のそれぞれにアミノ酸置換を含む、またはそれからなるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換のそれぞれは、天然アミノ酸残基のアラニンでの置換である。

【 0 2 8 0 】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドは、(a) 配列番号 3 3 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % 同一であり；かつ (b) 以下のアミノ酸置換 s (i) W 3 7 A、F 8 2 A、および K 2 1 9 A ; (i i) W 3 7 A、F 8 2 A、および K 2 1 7 A ; (i i i) K 1 0 6 A、K 2 1 7 A、および K 2 1 9 A ; (i v) W 3 7 A および F 8 2 A ; (v) W 3 7 A および K 2 1 7 A ; (v i) W 3 7 A および K 2 1 9 A ; (v i i) W 3 7 A および K 1 0 6 A ; (v i i i) F 8 2 A および K 1 0 6 A ; (x i v) F 8 2 A および K 2 1 7 A ; (x v) F 8 2 A および K 2 1 9 A ; (x v i) K 2 1 7 A および K 2 1 9 A ; (x v i i) K 1 0 6 A および K 2 1 7 A ; または (x v i i i) K 1 0 6 A および K 2 1 9 A (配列番号 3 2 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) のそれぞれを含む、またはそれからなるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

10

【 0 2 8 1 】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドは、(a) 配列番号 3 3 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % 同一であり；かつ (b) アミノ酸位置 (i) W 3 7、F 8 2、および K 2 1 9 (配列番号 3 2 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) のそれぞれにアミノ酸改変 (例えば、置換) を含む、またはそれからなるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

20

【 0 2 8 2 】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドは、(a) 配列番号 3 3 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % 同一であり；かつ (b) 以下のアミノ酸置換 s (i) W 3 7 A、F 8 2 A、および K 2 1 9 A (配列番号 3 2 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) のそれぞれを含む、またはそれからなるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

30

【 0 2 8 3 】

本明細書に記載の例示的 h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列を表 5 に示す。

【 0 2 8 4 】

40

50

【表 5】

表5 代表的なhIL-12p40ポリペプチドのアミノ酸配列

説明	配列番号	アミノ酸配列
hIL-12p40 変異体 O (成熟-シグナル配列なし) (W37A/F82A/K219A)	38	IWELKKDVYVVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNYSGRFTCWLL TTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLAYENYTSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 N (成熟-シグナル配列なし) (W37A/F82A/K217A)	39	IWELKKDVYVVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNYSGRFTCWLL TTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHALKYENYTSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 P (成熟-シグナル配列なし) (K106A/K217A/K219A)	40	IWELKKDVYVVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNYSGRFTCWLL TTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHALAYENYTSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 T (成熟-シグナル配列なし) (W37A/F82A)	41	IWELKKDVYVVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNYSGRFTCWLL TTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLYENYTSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 U	42	IWELKKDVYVVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNYSGRFTCWLL

10

20

30

40

50

(成熟-シグナル配列なし) (W37A/K217A)		TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHALKYENYTSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 V (成熟-シグナル配列なし) (W37A/K219A)	43	IWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLAYENYTSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 W (成熟-シグナル配列なし) (W37A/K106A)	44	IWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 X (成熟-シグナル配列なし) (F82A/K106A)	45	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 Y (成熟-シグナル配列なし) (F82A/K217A)	46	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHALKYENYTSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 Z (成熟-シグナル配列なし) (F82A/K219A)	47	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLAYENYTSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 AA (成熟-シグナル配列なし) (K217A/K219A)	48	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHALAYENYTSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY

10

20

30

40

		FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 BB (成熟-シグナル配列なし) (K106A/K217A)	49	IWELKKDVYVVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWLL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHALKYENYTSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 CC (成熟-シグナル配列なし) (K106A/K219A)	50	IWELKKDVYVVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWLL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLAYENYTSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 H (成熟-シグナル配列なし) (K217+L218 substituted with I)	51	IWELKKDVYVVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWLL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKE YEYSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHIKYENYTSSFF IRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYF SLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRA QDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 O (未成熟-下線:シグナル 配列) (W37A/F82A/K219A)	52	MCHQQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVVELDAYPDA PGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEA GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFRLCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEES LPIEVMVDAVHKLAYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 N (未成熟-下線:シグナル 配列) (W37A/F82A/K217A)	53	MCHQQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVVELDAYPDA PGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEA GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFRLCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEES LPIEVMVDAVHALKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 P (未成熟-下線:シグナル 配列) (K106A/K217A/K219 A)	54	MCHQQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVVELDWYPD PGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHAKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFRLCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEES LPIEVMVDAVHALAYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS

10

20

30

40

hIL-12p40 変異体 T (未成熟-下線:シグナル 配列) (W37A/F82A)	55	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVVELDAYPDA PGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEA GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEES LPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKDD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 U (未成熟-下線:シグナル 配列) (W37A/K217A)	56	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVVELDAYPDA PGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEES LPIEVMDAVHALKYENYTSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKDD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 V (未成熟-下線:シグナル 配列) (W37A/K219A)	57	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVVELDAYPDA PGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEES LPIEVMDAVHKLAYENYTSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKDD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 W (未成熟-下線:シグナル 配列) (W37A/K106A)	58	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVVELDAYPDA PGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHAKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEES LPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKDD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 X (未成熟-下線:シグナル 配列) (F82A/K106A)	59	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVVELDWYPDA PGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEA GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHAKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEES LPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKDD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 Y (未成熟-下線:シグナル 配列) (F82A/K217A)	60	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVVELDWYPDA PGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEA GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEES LPIEVMDAVHALKYENYTSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKDD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 Z	61	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVVELDWYPDA PGEMVVLTCDDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEA GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEP

10

20

30

40

(未成熟-下線:シグナル配列) (F82A/K219A)		KNKTFRLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEES LPIEVMVDAVHKLAYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS	
hIL-12p40 変異体 AA (未成熟-下線:シグナル配列) (K217A/K219A)	62	MCHQQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDQVYVVELDWYDPA PGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFRLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEES LPIEVMVDAVHALAYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS	10
hIL-12p40 変異体 BB (未成熟-下線:シグナル配列) (K106A/K217A)	63	MCHQQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDQVYVVELDWYDPA PGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLLHAKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFRLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEES LPIEVMVDAVHALKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS	20
hIL-12p40 変異体 CC (未成熟-下線:シグナル配列) (K106A/K219A)	64	MCHQQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDQVYVVELDWYDPA PGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLLHAKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFRLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEES LPIEVMVDAVHKLAYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS	
hIL-12p40 変異体 H (未成熟-下線:シグナル配列) (K217+L218 Iで置換)	65	MCHQQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDQVYVVELDWYDPA PGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEP KNKTFRLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSD PQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEES LPIEVMVDAVHIKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLK NSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDR VFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS	30

【 0 2 8 5 】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドのアミノ酸配列は、表5に示されるポリペプチドのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号38～65のいずれか1つに示されるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号38に示されるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【 0 2 8 6 】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドのアミノ酸配列は、表5に示されるいずれか1つのポリペプチドのアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換（配列番号33のアミノ酸配列に対する）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、hIL-12p40ポリペプチドのアミノ酸配列は、表5に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

10

20

30

40

50

【0287】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 3 8 ~ 6 5 のいずれか 1 つのアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換（配列番号 3 3 のアミノ酸配列に対する）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 3 8 ~ 6 5 のいずれか 1 つに示されるアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % 同一である。

【0288】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 3 8 のアミノ酸配列に示されるアミノ酸置換（配列番号 3 3 のアミノ酸配列に対する）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸置換のセット以外では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 3 8 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % 同一である。

【0289】

5. 2. 2 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質およびポリペプチドの効力および親和性

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞の S T A T 4 のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質（例えば、配列番号 3 3））により媒介される S T A T 4 の増加よりも低い増加を媒介する。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞のリン酸化 S T A T 4（p S T A T 4）のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質（例えば、配列番号 3 3））により媒介される p S T A T 4 の増加よりも低い増加を媒介する。

【0290】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞のリン酸化 S T A T 4（p S T A T 4）のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質（例えば、配列番号 3 3））により媒介される p S T A T 4 の増加よりも約 0. 5 倍、1 倍、2 倍、5 倍、1 0 倍、1 0 0 倍、または 1 0 0 0 倍低い増加を媒介する。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞のリン酸化 S T A T 4（p S T A T 4）のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質（例えば、配列番号 3 3））により媒介される p S T A T 4 の増加よりも少なくとも約 0. 5 倍、1 倍、2 倍、5 倍、1 0 倍、1 0 0 倍、または 1 0 0 0 倍低い増加を媒介する。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞のリン酸化 S T A T 4（p S T A T 4）のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質（例えば、配列番号 3 3））により媒介される p S T A T 4 の増加よりも約 0. 5 ~ 1 0 0 0 倍、0. 5 ~ 1 0 0 倍、0. 5 ~ 1 0 倍、0. 5 ~ 5 倍、0. 5 ~ 2 倍、1 ~ 1 0 0 0 倍、1 ~ 1 0 0 倍、1 ~ 1 0 倍、1 ~ 5 倍、1 ~ 2 倍、1 0 ~ 1 0 0 0 倍、または 1 0 0 ~ 1 0 0 0 倍低い増加を媒介する。

【0291】

本明細書に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドの E C 5 0 を測定するために適切なアッセイは標準的であり、当業者に周知である。例えば、E C 5 0 は、用量反応曲線を作成し、特定の機能アッセイ（例えば、S T A T 4 シグナル伝達、S T A T 4 リン酸化、S T A T 4 誘導性の S E A P 発現（例えば、実施例 4 参照））で活性を誘導する際の種々の濃度の h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質またはポリペプチドの効果を調べることによって決定することができる。節 6. 4 は、h I L - 1 2 H E K B l u e リポーター細胞株（I

10

20

30

40

50

n v i v o G e n # h k b - I L 1 2) を利用して、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドまたはタンパク質（本明細書に記載の h I L - 1 2 融合タンパク質を含む）の E C 5 0 を決定する例示的方法を記載している。h I L - 1 2 H E K B l u e リポーター細胞株は、h I L - 1 2 R β 1 サブユニットと h I L - 1 2 R β 2 サブユニット、ヒト S T A T 4、および S T A T 4 誘導性 S E A P（分泌型胚性アルカリ性ホスファターゼ）リポーターを発現する。それにより、タンパク質の h I L - 1 2 R への結合が J A K 2 / S T A T 4 シグナル伝達と続いての S E A P の産生を惹起し、これを当技術分野で公知の標準的な方法を用いて定量することができる。さらに例えば、リン酸化 S T A T 4 のレベルを、h I L - 1 2 R を発現する細胞を 1 種類以上の濃度の本明細書に記載の h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質またはポリペプチドと接触させ、細胞を溶解し、リン酸化 S T A T 4 のレベルを、例えば、E L I S A、ウエスタンブロット、F R E T に基づくアッセイまたは化学発光アッセイ（例えば、E L I S A に基づくアッセイ）により評価することによって評価することができる。細胞系アッセイの細胞は、h I L - 1 2 R および／もしくはヒト S T A T 4 を組換え発現する H E K 2 9 3 細胞；または h I L - 1 2 R およびヒト S T A T 4 を天然に発現する細胞などの細胞であり得る。

10

20

30

40

50

【0292】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現することにより産生されるインターフェロン γ (I F N - γ) のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質（例えば、配列番号 3 3））の存在下で産生される I F N - γ のレベルの増加よりも低い増加を媒介する。

【0293】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞により産生される I F N - γ のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質（例えば、参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質（例えば、配列番号 3 3））の存在下で産生される I F N - γ のレベルの増加よりも 0.5 倍、1 倍、2 倍、5 倍、10 倍、100 倍、または 1000 倍低い増加を媒介する。

【0294】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞により産生される I F N - γ のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質（例えば、配列番号 3 3））の存在下で産生される I F N - γ のレベルの増加よりも少なくとも約 0.5 倍、1 倍、2 倍、5 倍、10 倍、100 倍、または 1000 倍低い増加を媒介する。

【0295】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞により産生される I F N - γ のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質（例えば、配列番号 3 3））の存在下で産生される I F N - γ のレベルの増加よりも約 0.5 ~ 1000 倍、0.5 ~ 100 倍、0.5 ~ 10 倍、0.5 ~ 5 倍、0.5 ~ 2 倍、1 ~ 1000 倍、1 ~ 100 倍、1 ~ 10 倍、1 ~ 5 倍、1 ~ 2 倍、10 ~ 1000 倍、または 100 ~ 1000 倍低い増加を媒介する。

【0296】

培養細胞から産生されたタンパク質（例えば、I F N - γ ）のレベルを測定するための適切なアッセイは標準的であり、当業者に公知である。例えば、I F N - γ のレベルは、酵素結合免疫吸着アッセイ（E L I S A）を用いて決定することができる（例えば、実施例 5 参照）。節 6.5 は、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質または参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質で処理した培養細胞から産生された I F N - γ のレベルを決定する例示的方法を記載している。

【0297】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質は、参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質（例えば、参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質（例えば、配列番号 3 3））よりも低い親和性で I L - 1 2 R β 1 に結合する。結合親和性は、当技術分野で公知の標準的なアッセイによって測定することができる。例えば、結合親和性は、当技術分野で公知の一般的な方法である表面プラズモン共鳴（S P R）（例えば、B I A c o r e（登録商標）に基づくアッセイ）によって測定することができる（例えば、Wilson, Science 295:2103, 2002; Wolff et al., Cancer Res. 55:2560, 1993; および米国特許第 5, 283, 173 号、同第 5, 468, 614 号参照、これらのそれぞれの全内容は目的を問わず参照により本明細書の一部として援用される）。S P R は、分子が表面に結合したり、表面から解離したりする際の、センサー表面における分子濃度の変化を測定する。S P R シグナルの変化は、表面近傍の質量濃度変化に正比例し、それにより 2 分子（例えばタンパク質）間の結合動態を測定することができる。複合体の解離定数は、バッファがチップ上を通過する際の時間に対する屈折率の変化をモニタリングすることによって決定することができる。

10

【0298】

あるタンパク質と別のタンパク質との結合（例えば、本明細書に記載のタンパク質と h I L - 1 2 R β 1 との結合）を測定するための他の適切なアッセイとしては、例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ（E L I S A）およびラジオイムノアッセイ（R I A）などのイムノアッセイ、または蛍光、U V 吸収、円偏光二色性、または核磁気共鳴（N M R）を介してタンパク質の分光学的または光学的特性の変化をモニタリングすることによる結合の決定が含まれる。他の例示的アッセイとしては、限定されるものではないが、ウエスタンブロット、分析的超遠心分離、分光法、フローサイトメトリー、シーケンシングおよびタンパク質の結合の検出のための他の方法が挙げられる。

20

【0299】

5. 2. 3 h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質およびポリペプチド

一態様において、本明細書では、参照 h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド（例えば、配列番号 3 1）に比べて活性が減弱された h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドが提供される。本明細書に記載されるように、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドはいずれも単離型および／または組換え型であり得る。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドは、h I L - 1 2 R と特異的に結合する。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドは、h I L - 1 2 R β 1 と特異的に結合する（節 5. 2. 3 も参照）。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドは、h I L - 1 2 R β 2 と特異的に結合する（節 5. 2. 3 も参照）。

30

【0300】

上記で示されるように、本開示の目的では、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドの全てのアミノ酸（および例えば、アミノ酸置換）のナンバリングは、天然シグナルペプチドを含む未成熟型の h I L - 1 2 p 3 5（すなわち配列番号 3 0）のアミノ酸配列に対して示される。アミノ酸番号（例えば、Y 1 8 9）を指定するための未成熟型の h I L - 1 2 p 3 5 の使用は、一貫性を目的とするに過ぎず、このナンバリング法を利用する実施形態の範囲を h I L - 1 2 p 3 5 のシグナルペプチドを含むポリペプチドに限定するものではない。例えば、Y 1 8 9 A アミノ酸置換を伴う配列番号 3 1 のアミノ酸配列を含む本明細書に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドは、アミノ酸位置 Y 1 8 9 のナンバリングは未成熟型のタンパク質に基づくが、h I L - 1 2 p 3 5 のシグナルペプチドを必要としない。当技術分野では、変異体および融合タンパク質を生産するために成熟型のタンパク質を利用することが一般的である。

40

【0301】

当業者ならば、未成熟型の h I L - 1 2 p 3 5 に対するアミノ酸ナンバリングに基づいて成熟型の h I L - 1 2 p 3 5（配列番号 3 1）内のアミノ酸位置を容易に決定することができる。上記に示すように、未成熟型の h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質のアミノ酸 1 ~

50

22はシグナル配列である。従って、成熟型のh I L-12 p 35タンパク質内の特定のアミノ酸のアミノ酸位置は、未成熟型のh I L-12 p 35に対して指定された特定のアミノ酸のアミノ酸位置から、22を引くことによって決定することができる。例えば、アミノ酸位置Y 189（配列番号30に対してナンバリング）は、成熟型のタンパク質（配列番号31）のアミノ酸位置Y 167に相当することになる。

【0302】

いくつかの実施形態では、h I L-12 p 35ポリペプチドのアミノ酸配列は、（a）配列番号31のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であり；かつ（b）以下のアミノ酸位置E 60、F 61、P 63、K 150、F 188、Y 189 A（配列番号30のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）のうち1以上にアミノ酸改変（例えば、置換、付加、欠失（例えば、置換））を含む、またはそれからなるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

10

【0303】

いくつかの実施形態では、h I L-12 p 35ポリペプチドのアミノ酸配列は、（a）配列番号31のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であり；かつ（b）以下のアミノ酸位置（i）F 188；（ii）Y 189；（iii）F 188およびY 189；または（iv）E 60、F 61、P 63、K 150、およびF 188（配列番号30のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）のそれぞれにアミノ酸改変（例えば、置換、付加、欠失（例えば、置換））を含む、またはそれからなるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

20

【0304】

いくつかの実施形態では、h I L-12 p 35ポリペプチドのアミノ酸配列は、（a）配列番号31のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であり；かつ（b）以下のアミノ酸置換：E 60 K、F 61 H、P 63 S、K 150 H、F 188 P、F 188 A、および／またはY 189 A（配列番号30のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）のうち1以上を含む、またはそれからなるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

30

【0305】

いくつかの実施形態では、h I L-12 p 35ポリペプチドのアミノ酸配列は、（a）配列番号31のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であり；かつ（b）以下のアミノ酸置換：（i）F 188 A；（ii）Y 189 A；（iii）F 188 AおよびY 189 A；または（iv）E 60 K、F 61 H、P 63 S、K 150 H、およびF 188 P（配列番号30のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）のそれぞれを含む、またはそれからなるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【0306】

いくつかの実施形態では、h I L-12 p 35ポリペプチドのアミノ酸配列は、アミノ酸配列を含み、またはそれからなり（a）配列番号31のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であり；かつ（b）アミノ酸A 55～K 92、N 50～K 92、M 51～K 92、L 52～K 92、Q 53～K 92、K 54～K 92、N 50～N 93、M 51～N 93、L 52～N 93、Q 53～N 93、K 54～N 93、N 50～E 94、M 51～E 94、L 52～E 94、Q 53～E 94、K 54～E 94、N 50～S 95、M 51～S 95、L 52～S 95、Q 53～S 95、K 54～S 95、N 50～C 96、M 51～C 96、L 52～C 96、Q 53～C 96、K 54～C 96、N 50～L 97、M 51～L 97、L 52～L 97、Q 53～L 97、K 54～L

40

50

97、N50～P87、M51～P87、L52～P87、Q53～P87、K54～P87、N50～L88、M51～L88、L52～L88、Q53～L88、K54～L88、N50～E89、M51～E89、L52～E89、Q53～E89、K54～E89、N50～L90、M51～L90、L52～L90、Q53～L90、K54～L90、N50～T91、M51～T91、L52～T91、Q53～T91、K54～T91、R56～K92、Q57～K92、T58～K92、L59～K92、E60～K92、A55～N93、R56～N93、Q57～N93、T58～N93、L59～N93、E60～N93、A55～E94、R56～E94、Q57～E94、T58～E94、L59～E94、E60～E94、A55～S95、R56～S95、Q57～S95、T58～S95、L59～S95、E60～S95、A55～C96、R56～C96、Q57～C96、T58～C96、L59～C96、E60～C96、A55～L97、R56～L97、Q57～L97、T58～L97、L59～L97、E60～L97、A55～P87、R56～P87、Q57～P87、T58～P87、L59～P87、E60～P87、A55～L88、R56～L88、Q57～L88、T58～L88、L59～L88、E60～L88、A55～E89、R56～E89、Q57～E89、T58～E89、L59～E89、E60～E89、A55～L90、R56～L90、Q57～L90、T58～L90、L59～L90、E60～L90、A55～T91、R56～T91、Q57～T91、T58～T91、L59～T91、またはE60～T91（配列番号30のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）の欠失を含む、またはそれからなる。

10

20

【0307】

いくつかの実施形態では、hIL-12p35ポリペプチドのアミノ酸配列は、（a）配列番号31のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であり；かつ（b）アミノ酸A55～K92（配列番号30のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）の欠失を含む、またはそれからなるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【0308】

いくつかの実施形態では、hIL-12p35ポリペプチドのアミノ酸配列は、アミノ酸A55～K92、N50～K92、M51～K92、L52～K92、Q53～K92、K54～K92、N50～N93、M51～N93、L52～N93、Q53～N93、K54～N93、N50～E94、M51～E94、L52～E94、Q53～E94、K54～E94、N50～S95、M51～S95、L52～S95、Q53～S95、K54～S95、N50～C96、M51～C96、L52～C96、Q53～C96、K54～C96、N50～L97、M51～L97、L52～L97、Q53～L97、K54～L97、N50～P87、M51～P87、L52～P87、Q53～P87、K54～P87、N50～L88、M51～L88、L52～L88、Q53～L88、K54～L88、N50～E89、M51～E89、L52～E89、Q53～E89、K54～E89、N50～L90、M51～L90、L52～L90、Q53～L90、K54～L90、N50～T91、M51～T91、L52～T91、Q53～T91、K54～T91、R56～K92、Q57～K92、T58～K92、L59～K92、E60～K92、A55～N93、R56～N93、Q57～N93、T58～N93、L59～N93、E60～N93、A55～E94、R56～E94、Q57～E94、T58～E94、L59～E94、E60～E94、A55～S95、R56～S95、Q57～S95、T58～S95、L59～S95、E60～S95、A55～C96、R56～C96、Q57～C96、T58～C96、L59～C96、E60～C96、A55～L97、R56～L97、Q57～L97、T58～L97、L59～L97、E60～L97、A55～P87、R56～P87、Q57～P87、T58～P87、L59～P87、E60～P87、A55～L88、R56～L88、Q57～L88、T58～L88、L59～L88、E60～L88、A55～E89、R56～E89

30

40

50

、Q 5 7 ～ E 8 9、T 5 8 ～ E 8 9、L 5 9 ～ E 8 9、E 6 0 ～ E 8 9、A 5 5 ～ L 9 0
、R 5 6 ～ L 9 0、Q 5 7 ～ L 9 0、T 5 8 ～ L 9 0、L 5 9 ～ L 9 0、E 6 0 ～ L 9 0
、A 5 5 ～ T 9 1、R 5 6 ～ T 9 1、Q 5 7 ～ T 9 1、T 5 8 ～ T 9 1、L 5 9 ～ T 9 1
、または E 6 0 ～ T 9 1（配列番号 3 0 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）
の欠失を含み、またはそれからなり、かつアミノ酸 A 5 5 ～ K 9 2、N 5 0 ～ K 9 2、M
5 1 ～ K 9 2、L 5 2 ～ K 9 2、Q 5 3 ～ K 9 2、K 5 4 ～ K 9 2、N 5 0 ～ N 9 3、M
5 1 ～ N 9 3、L 5 2 ～ N 9 3、Q 5 3 ～ N 9 3、K 5 4 ～ N 9 3、N 5 0 ～ E 9 4、M
5 1 ～ E 9 4、L 5 2 ～ E 9 4、Q 5 3 ～ E 9 4、K 5 4 ～ E 9 4、N 5 0 ～ S 9 5、M
5 1 ～ S 9 5、L 5 2 ～ S 9 5、Q 5 3 ～ S 9 5、K 5 4 ～ S 9 5、N 5 0 ～ C 9 6、M
5 1 ～ C 9 6、L 5 2 ～ C 9 6、Q 5 3 ～ C 9 6、K 5 4 ～ C 9 6、N 5 0 ～ L 9 7、M
5 1 ～ L 9 7、L 5 2 ～ L 9 7、Q 5 3 ～ L 9 7、K 5 4 ～ L 9 7、N 5 0 ～ P 8 7、M
5 1 ～ P 8 7、L 5 2 ～ P 8 7、Q 5 3 ～ P 8 7、K 5 4 ～ P 8 7、N 5 0 ～ L 8 8、M
5 1 ～ L 8 8、L 5 2 ～ L 8 8、Q 5 3 ～ L 8 8、K 5 4 ～ L 8 8、N 5 0 ～ E 8 9、M
5 1 ～ E 8 9、L 5 2 ～ E 8 9、Q 5 3 ～ E 8 9、K 5 4 ～ E 8 9、N 5 0 ～ L 9 0、M
5 1 ～ L 9 0、L 5 2 ～ L 9 0、Q 5 3 ～ L 9 0、K 5 4 ～ L 9 0、N 5 0 ～ T 9 1、M
5 1 ～ T 9 1、L 5 2 ～ T 9 1、Q 5 3 ～ T 9 1、K 5 4 ～ T 9 1、R 5 6 ～ K 9 2、Q
5 7 ～ K 9 2、T 5 8 ～ K 9 2、L 5 9 ～ K 9 2、E 6 0 ～ K 9 2、A 5 5 ～ N 9 3、R
5 6 ～ N 9 3、Q 5 7 ～ N 9 3、T 5 8 ～ N 9 3、L 5 9 ～ N 9 3、E 6 0 ～ N 9 3、A
5 5 ～ E 9 4、R 5 6 ～ E 9 4、Q 5 7 ～ E 9 4、T 5 8 ～ E 9 4、L 5 9 ～ E 9 4、E
6 0 ～ E 9 4、A 5 5 ～ S 9 5、R 5 6 ～ S 9 5、Q 5 7 ～ S 9 5、T 5 8 ～ S 9 5、L
5 9 ～ S 9 5、E 6 0 ～ S 9 5、A 5 5 ～ C 9 6、R 5 6 ～ C 9 6、Q 5 7 ～ C 9 6、T
5 8 ～ C 9 6、L 5 9 ～ C 9 6、E 6 0 ～ C 9 6、A 5 5 ～ L 9 7、R 5 6 ～ L 9 7、Q
5 7 ～ L 9 7、T 5 8 ～ L 9 7、L 5 9 ～ L 9 7、E 6 0 ～ L 9 7、A 5 5 ～ P 8 7、R
5 6 ～ P 8 7、Q 5 7 ～ P 8 7、T 5 8 ～ P 8 7、L 5 9 ～ P 8 7、E 6 0 ～ P 8 7、A
5 5 ～ L 8 8、R 5 6 ～ L 8 8、Q 5 7 ～ L 8 8、T 5 8 ～ L 8 8、L 5 9 ～ L 8 8、E
6 0 ～ L 8 8、A 5 5 ～ E 8 9、R 5 6 ～ E 8 9、Q 5 7 ～ E 8 9、T 5 8 ～ E 8 9、L
5 9 ～ E 8 9、E 6 0 ～ E 8 9、A 5 5 ～ L 9 0、R 5 6 ～ L 9 0、Q 5 7 ～ L 9 0、T
5 8 ～ L 9 0、L 5 9 ～ L 9 0、E 6 0 ～ L 9 0、A 5 5 ～ T 9 1、R 5 6 ～ T 9 1、Q
5 7 ～ T 9 1、T 5 8 ～ T 9 1、L 5 9 ～ T 9 1、または E 6 0 ～ T 9 1 の欠失以外には
、ポリペプチドのアミノ酸は、配列番号 3 1 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、8 6 %
、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %
、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % 同一である。

10

20

30

【0309】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、アミノ
酸 A 5 5 ～ K 9 2（配列番号 3 0 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）の欠失
を含み、またはそれからなり、アミノ酸 A 5 5 ～ K 9 2 の欠失意外には、ポリペプチドの
アミノ酸配列は、配列番号 3 1 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8
8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9
8 %、または 9 9 % 同一である。

【0310】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、アミノ
酸位置 E 6 0、F 6 1、P 6 3、K 1 5 0、F 1 8 8、または Y 1 8 9（配列番号 3 0 に
示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）のうち 1 以上にアミノ酸改変（例
えば、置換、付加、または欠失）を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では
、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、以下のアミノ酸位置 E 6 0、F 6
1、P 6 3、K 1 5 0、F 1 8 8、または Y 1 8 9（配列番号 3 0 に示されるアミノ酸配
列に対するアミノ酸ナンバリング）の 1、2、3、4、5、6、または 7 つにアミノ酸改
変（例えば、置換、付加、または欠失）を含む、またはそれからなる。

【0311】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、アミノ

40

50

酸位置 E 6 0、F 6 1、P 6 3、K 1 5 0、および F 1 8 8（配列番号 3 0 に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）の 1 以上にアミノ酸改変（例えば、置換、付加、または欠失）を含む、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、アミノ酸位置 F 1 8 8 および Y 1 8 9（配列番号 3 0 に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）のうち 1 以上にアミノ酸改変（例えば、置換、付加、または欠失）を含む、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、アミノ酸位置 F 1 8 8（配列番号 3 0 に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）にアミノ酸改変（例えば、置換、付加、または欠失）を含む、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、アミノ酸位置 Y 1 8 9 A（配列番号 3 0 に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）にアミノ酸改変（例えば、置換、付加、または欠失）を含む、またはそれらからなる。

10

【0312】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、以下のアミノ酸置換：E 6 0 K、F 6 1 H、P 6 3 S、K 1 5 0 H、F 1 8 8 P、F 1 8 8 A、または Y 1 8 9 A（配列番号 3 0 に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）のうち 1 以上を含む、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、以下のアミノ酸置換：E 6 0 K、F 6 1 H、P 6 3 S、K 1 5 0 H、および F 1 8 8 P（配列番号 3 0 に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）を含む、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、以下のアミノ酸置換：F 1 8 8 A および Y 1 8 9 A（配列番号 3 0 に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）を含む、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、以下のアミノ酸置換 F 1 8 8 A（配列番号 3 0 に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）を含む、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、以下のアミノ酸置換 Y 1 8 9 A（配列番号 3 0 に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）を含む、またはそれらからなる。

20

【0313】

いくつかの実施形態では、h I L 1 2 - p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、アミノ酸残基 5 0 ~ 9 5、5 0 ~ 9 4、5 0 ~ 9 3、5 0 ~ 9 2、5 0 ~ 9 1、5 0 ~ 9 0、5 0 ~ 8 9、5 1 ~ 9 5、5 1 ~ 9 4、5 1 ~ 9 3、5 1 ~ 9 2、5 1 ~ 9 1、5 1 ~ 9 0、5 1 ~ 8 9、5 2 ~ 9 5、5 2 ~ 9 4、5 2 ~ 9 3、5 2 ~ 9 2、5 2 ~ 9 1、5 2 ~ 9 0、5 2 ~ 8 9、5 3 ~ 9 5、5 3 ~ 9 4、5 3 ~ 9 3、5 3 ~ 9 2、5 3 ~ 9 1、5 3 ~ 9 0、5 3 ~ 8 9、5 4 ~ 9 5、5 4 ~ 9 4、5 4 ~ 9 3、5 4 ~ 9 2、5 4 ~ 9 1、5 4 ~ 9 0、5 4 ~ 8 9、5 5 ~ 9 5、5 5 ~ 9 4、5 5 ~ 9 3、5 5 ~ 9 2、5 5 ~ 9 1、5 5 ~ 9 0、または 5 5 ~ 8 9（配列番号 3 0 に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）の欠失を含む。いくつかの実施形態では、h I L 1 2 - p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、アミノ酸残基 A 5 5 ~ K 9 2（配列番号 3 0 に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）の欠失を含む。

30

40

【0314】

例示的 h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列を表 6 に示す。

【0315】

50

【表 6】

表6 代表的なhIL-12p35ポリペプチドのアミノ酸配列

説明	アミノ酸配列	配列番号
hIL-12p35 - 変異体 A (ΔA55-K92)	RNLVPVATPDPGMFPC LHHSQNLLRAVSNMLQKNESCLNSRETSE ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIIYEDLKMYQVEFKTMNAKLMD PKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPPQKSSLEEDFYKTK IKLCIL LHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	110
hIL-12p35 - 変異体 B (E60K, F61H, P63S, K150H, F188P)	RNLVPVATPDPGMFPC LHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLKHYSCTS EEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSEFITNGSC LASRKTSFMMALCLSSIIYEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPHRQIF LDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPPQKSSLEEDPYKTKIKLCIL LHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	111
hIL-12p35 - 変異体 C (F188A, Y189A)	RNLVPVATPDPGMFPC LHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTS EEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSEFITNGSC LASRKTSFMMALCLSSIIYEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIF LDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPPQKSSLEEDAAKTKIKLCIL LHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	112
hIL-12p35 - 変異体 D (F188A)	RNLVPVATPDPGMFPC LHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTS EEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSEFITNGSC LASRKTSFMMALCLSSIIYEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIF LDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPPQKSSLEEDDAYKTKIKLCIL LHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	113
hIL-12p35 - 変異体 E (Y189A)	RNLVPVATPDPGMFPC LHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTS EEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSEFITNGSC LASRKTSFMMALCLSSIIYEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIF LDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPPQKSSLEEDFAKTKIKLCIL LHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	114

10

20

【0316】

いくつかの実施形態では、hIL-12p35ポリペプチドのアミノ酸配列は、表6に示されるポリペプチドのいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む。

30

【0317】

いくつかの実施形態では、hIL-12p35ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号31または110～114のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む。

【0318】

いくつかの実施形態では、hIL-12p35ポリペプチドのアミノ酸配列は、表6に示されるいずれか1つのポリペプチドのアミノ酸配列に示されるアミノ酸改変（例えば、置換、欠失）（配列番号31のアミノ酸配列に対する）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸改変（例えば、置換、欠失）のセット以外では、hIL-12p35ポリペプチドのアミノ酸配列は、表6に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

40

【0319】

いくつかの実施形態では、hIL-12p35ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号110～114のいずれか1つのアミノ酸配列に示されるアミノ酸改変（例えば、置換、欠失）（配列番号31のアミノ酸配列に対する）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸改変（例えば、置換、欠失）のセット以外では、hIL-12p35ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号110～114のいずれか1つに示されるアミ

50

ノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

【0320】

5. 2. 4 h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質およびポリペプチドの効力および親和性

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質は、表面にh I L - 1 2 Rを発現する細胞のS T A T 4のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質（例えば、配列番号31））により媒介されるS T A T 4の増加よりも低い増加を媒介する。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質は、表面にh I L - 1 2 Rを発現する細胞のリン酸化S T A T 4（p S T A T 4）のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質（例えば、配列番号30））により媒介されるp S T A T 4の増加よりも低い増加を媒介する。

10

【0321】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質は、表面にh I L - 1 2 Rを発現する細胞のリン酸化S T A T 4（p S T A T 4）のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質（例えば、配列番号30））により媒介されるp S T A T 4の増加よりも約0.5倍、1倍、2倍、5倍、10倍、100倍、または1000倍低い増加を媒介する。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質は、表面にh I L - 1 2 Rを発現する細胞のリン酸化S T A T 4（p S T A T 4）のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質（例えば、配列番号30））により媒介されるp S T A T 4の増加よりも少なくとも約0.5倍、1倍、2倍、5倍、10倍、100倍、または1000倍低い増加を媒介する。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質は、表面にh I L - 1 2 Rを発現する細胞のリン酸化S T A T 4（p S T A T 4）のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質（例えば、配列番号30））により媒介されるp S T A T 4の増加よりも約0.5～1000倍、0.5～100倍、0.5～10倍、0.5～5倍、0.5～2倍、1～1000倍、1～100倍、1～10倍、1～5倍、1～2倍、10～1000倍、または100～1000倍低い増加を媒介する。

20

30

【0322】

本明細書に記載のh I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのE C 5 0を測定するために適切なアッセイは標準的であり、当業者に周知である。例えば、E C 5 0は、用量反応曲線を作成し、特定の機能アッセイ（例えば、S T A T 4シグナル伝達、S T A T 4リン酸化、S T A T 4誘導性のS E A P発現（例えば、実施例21参照））で活性を誘導する際の種々の濃度のh I L - 1 2 p 3 5 タンパク質またはポリペプチドの効果を調べることによって決定することができる。節6. 4は、h I L - 1 2 H E K B l u e リポーター細胞株（I n v i v o G e n # h k b - I L 1 2）を利用して、本明細書に記載のh I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドまたはタンパク質（本明細書に記載のh I L - 1 2 融合タンパク質を含む）のE C 5 0を決定する例示的方法を記載している。h I L - 1 2 H E K B l u e リポーター細胞株は、h I L - 1 2 R β 1サブユニットとh I L - 1 2 R β 2サブユニット、ヒトS T A T 4、およびS T A T 4誘導性S E A P（分泌型胚性アルカリ性ホスファターゼ）リポーターを発現する。それにより、タンパク質のh I L - 1 2 Rへの結合がJ A K 2 / S T A T 4シグナル伝達と続いてのS E A Pの産生を惹起し、これを当技術分野で公知の標準的な方法を用いて定量することができる。さらに例えば、リン酸化S T A T 4のレベルを、h I L - 1 2 Rを発現する細胞を1種類以上の濃度の本明細書に記載のh I L - 1 2 p 3 5 タンパク質またはポリペプチドと接触させ、細胞を溶解し、リン酸化S T A T 4のレベルを、例えば、E L I S A、ウエスタンブロット、F R E Tに基づくアッセイまたは化学発光アッセイ（例えば、E L I S Aに基づくアッセイ）により評価するこ

40

50

とによって評価することができる。細胞系アッセイの細胞は、h I L - 1 2 R および／もしくはヒト S T A T 4 を組換え発現する H E K 2 9 3 細胞；または h I L - 1 2 R およびヒト S T A T 4 を天然に発現する細胞などの細胞であり得る。

【0323】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現することにより産生されるインターフェロン γ (I F N - γ) のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質（例えば、配列番号 3 0 ））の存在下で産生される I F N - γ のレベルの増加よりも低い増加を媒介する。

【0324】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞により産生される I F N - γ のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質（例えば、参照 h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質（例えば、配列番号 3 0 ））の存在下で産生される I F N - γ のレベルの増加よりも 0 . 5 倍、1 倍、2 倍、5 倍、1 0 倍、1 0 0 倍、または 1 0 0 0 倍低い増加を媒介する。

【0325】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞により産生される I F N - γ のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質（例えば、配列番号 3 3 ））の存在下で産生される I F N - γ のレベルの増加よりも少なくとも約 0 . 5 倍、1 倍、2 倍、5 倍、1 0 倍、1 0 0 倍、または 1 0 0 0 倍低い増加を媒介する。

【0326】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質と組み合わせた場合、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞により産生される I F N - γ のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質（例えば、配列番号 3 0 ））の存在下で産生される I F N - γ のレベルの増加よりも約 0 . 5 ~ 1 0 0 0 倍、0 . 5 ~ 1 0 0 倍、0 . 5 ~ 1 0 倍、0 . 5 ~ 5 倍、0 . 5 ~ 2 倍、1 ~ 1 0 0 0 倍、1 ~ 1 0 0 倍、1 ~ 1 0 倍、1 ~ 5 倍、1 ~ 2 倍、1 0 ~ 1 0 0 0 倍、または 1 0 0 ~ 1 0 0 0 倍低い増加を媒介する。

【0327】

培養細胞から産生されたタンパク質（例えば、I F N - γ ）のレベルを測定するための適切なアッセイは標準的であり、当業者に公知である。例えば、I F N - γ のレベルは、酵素結合免疫吸着アッセイ（E L I S A ）を用いて決定することができる（例えば、実施例 2 2 ~ 2 3 参照）。節 6 . 5 は、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質または参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質で処理した培養細胞から産生された I F N - γ のレベルを決定する例示的方法を記載している。

【0328】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質は、参照 h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質（例えば、参照 h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質（例えば、配列番号 3 0 ））よりも低い親和性で I L - 1 2 R β 1 に結合する。結合親和性は、当技術分野で公知の標準的なアッセイによって測定することができる、例えば、節 5 . 2 . 2 参照。

【0329】

5 . 2 . 5 h I L - 1 2 一本鎖ポリペプチドおよびタンパク質

一態様において、本明細書では、本明細書の節 5 . 2 . 1 に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドおよび／または本明細書の 5 . 2 . 3 に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドを含む s c h I L - 1 2 ポリペプチドが提供される。s c h I L - 1 2 ポリペプチドが本明細書の節 5 . 2 . 1 に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドを含むいくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドは。本明細書の節 5 . 3 . 1 . 2 に記載の

10

20

30

40

50

h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドである。s c h I L - 1 2 ポリペプチドが本明細書の節 5 . 2 . 1 に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドを含むいくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドは、本明細書の節 5 . 2 . 3 に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドである。

【0330】

s c h I L - 1 2 ポリペプチドが本明細書の節 5 . 2 . 3 に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドを含むいくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドは、本明細書の節 5 . 2 . 1 に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドである。s c h I L - 1 2 ポリペプチドが本明細書の節 5 . 2 . 3 に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドを含むいくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドは、本明細書の節 5 . 3 . 1 . 1 に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドである。

10

【0331】

いくつかの実施形態では、s c h I L - 1 2 は、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドに直接融合された h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、s c h I L - 1 2 ポリペプチドは、N 末端から C 末端に向かって、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド、任意選択のペプチドリンカー、および h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、s c h I L - 1 2 ポリペプチドは、N 末端から C 末端に向かって、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド、任意選択のペプチドリンカー、および h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドを含む。

【0332】

いくつかの実施形態では、s c h I L - 1 2 ポリペプチドは、ペプチド結合を介して直接作動可能に連結された h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、s c h I L - 1 2 ポリペプチドは、ペプチドリンカーを介して h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドに間接的に融合された h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、s c h I L - 1 2 ポリペプチドは、N 末端から C 末端に向かって、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチド、ペプチドリンカー、および h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、s c h I L - 1 2 ポリペプチドは、N 末端から C 末端に向かって、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチド、ペプチドリンカー、および h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドを含む。

20

【0333】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドおよび h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドは、ペプチドリンカーを介して作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、s c h I L - 1 2 が h I L - 1 2 受容体と結合できるように h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドと h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドが会合可能な十分な長さである。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、約 5 ~ 3 0、5 ~ 2 5、5 ~ 2 0、5 ~ 1 5、1 0 ~ 3 0、1 0 ~ 2 5、1 0 ~ 2 0、または 1 0 ~ 1 5 アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、グリシン (G) およびセリン (S) アミノ酸残基を含む、またはそれらからなる。

30

【0334】

s c h I L - 1 2 ポリペプチドにおいて使用するため (s c h I L - 1 2 ポリペプチドの h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドと h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドを作動可能に連結するため) の例示的リンカーのアミノ酸配列を表 7 に示す。

40

【0335】

50

【表 7】

表7 代表的なペプチドリンカーのアミノ酸配列

説明	アミノ酸配列	配列番号
リンカー A	GGGS	66
リンカー B	GGGSGGGS	67
リンカー C	GGGSGGGS GGGS	68
リンカー D	GGGSGGGS GGGS GGGS	69
リンカー E	GGGGS	70
リンカー F	GGGSGGGS	71
リンカー G	GGGSGGGS GGGS	72
リンカー H	GGGSGGGS GGGS GGGS	73
リンカー I	GGGGGGS	74
リンカー J	GGGGGGGS	75
リンカー K	GGGGGGGS GGGS GGGS	76
リンカー L	GGGGGGGS GGGS GGGS GGGS	77
リンカー M	SGGGG	78
リンカー N	SGGGGSGGGG	79
リンカー O	SGGGGSGGGGSGGGG	80
リンカー P	SGGGGSGGGGSGGGGSGGGG	81
リンカー EE	GGGGGGS	369

【0336】

いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーのアミノ酸配列は、表7に示されるいずれかのペプチドリンカーのアミノ酸配列；または1、2、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、もしくは付加）を含む表7に示されるいずれかのペプチドリンカーのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、配列番号66～81もしくは369のいずれか1つのアミノ酸配列、または1、2、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、もしくは付加）を有する配列番号66～81もしくは369のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、配列番号72のいずれか1つのアミノ酸配列、または1、2、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、もしくは付加）を有する配列番号72のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、配列番号369のいずれか1つのアミノ酸配列、または1、2、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、もしくは付加）を有する配列番号369のいずれか1つアミノ酸配列を含む。

【0337】

5.2.6 シグナルペプチド

いくつかの実施形態では、hIL-12p40および／またはhIL-12p35ポリペプチドは、hIL-12p40および／またはhIL-12p35ポリペプチドのN末端に作動可能に連結された同種または異種シグナルペプチドを含む。

【0338】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドは、配列番号38～65のいずれか1つに示されるアミノ酸配列を含み、かつ前記ポリペプチドのN末端に作動可能に連結された同種シグナルペプチドを含む。いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドは、配列番号38～65のいずれか1つに示されるアミノ酸配列を含み、かつ前記ポリペプチドのN末端に作動可能に連結された異種シグナルペプチドを含む。いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドは、配列番号38に示されるアミノ酸配列を含み、かつ前記ポリペプチドのN末端に作動可能に連結された同種シグナルペプチドを含む。いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドは、配列番号38に示されるアミノ酸配列を含み、かつ前記ポリペプチドのN末端に作動可能に連結された異種シグナルペプチドを含む。

【0339】

いくつかの実施形態では、hIL-12p35ポリペプチドは、配列番号110～114のいずれか1つに示されるアミノ酸配列を含み、かつ前記ポリペプチドのN末端に作動可能に連結された同種シグナルペプチドを含む。いくつかの実施形態では、hIL-12p35ポリペプチドは、配列番号110～114のいずれか1つに示されるアミノ酸配列を含み、かつ前記ポリペプチドのN末端に作動可能に連結された異種シグナルペプチドを含む。いくつかの実施形態では、hIL-12p35ポリペプチドは、配列番号110に示されるアミノ酸配列を含み、かつ前記ポリペプチドのN末端に作動可能に連結された同種シグナルペプチドを含む。いくつかの実施形態では、hIL-12p35ポリペプチドは、配列番号110に示されるアミノ酸配列を含み、前記ポリペプチドのN末端に作動可能に連結された異種シグナルペプチドを含む。

10

【0340】

慣用されるシグナルペプチドは当技術分野で公知であり、例えば、ヒトインターロイキン2（hIL-2）、ヒトオノコスタチンM（hOSM）、ヒトキモトリプシノーゲン（hCTRB1）、ヒトトリプシノーゲン2（hTRY2）、およびヒトインスリン（hINS）の天然シグナルペプチドがある。当業者ならば、当技術分野で公知の～標準的な方法論を用いて適当なシグナルペプチドを決定することができる。例示的シグナルペプチドのアミノ酸配列を、hIL-12p40の天然シグナル配列とともに表8に示す。

【0341】

【表8】

表8 代表的なシグナル配列のアミノ酸配列

20

説明	アミノ酸配列	配列番号
hIL-12p40	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVA	82
hIL-12p35	MCPARSLLLVATLVLLDHLSLA	394
hIL-2	MYRMQLLSICIALSLALVTNS	83
hOSM	MGVLLTQRTLTLVSLVLAALLFSPMASM	84
hCTRB1	MASLWLLSCFSLVGAAFG	85
hTRY2	MNLLLILTFVAAAVA	86
hINS	MALWMRLPLLLALLALWGPDPA	87

【0342】

いくつかの実施形態では、シグナルペプチドのアミノ酸配列は、表8に示されるシグナルペプチドのいずれか1つのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、シグナルペプチドのアミノ酸配列は、表8に示されるシグナルペプチドのいずれか1つのアミノ酸配列を含み、またはそれからなり、さらに1以上15%未満（12%未満、10%未満、8%未満）のアミノ酸改変（例えば、アミノ酸置換、欠失、または付加）を含む。いくつかの実施形態では、シグナルペプチドのアミノ酸配列は、1、2、または3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加）を含む、表8に示されるシグナルペプチドのいずれか1つのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

30

【0343】

いくつかの実施形態では、シグナルペプチドのアミノ酸配列は、配列番号82～87または394のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、シグナルペプチドのアミノ酸配列は、配列番号82～87または394のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、またはそれからなり、さらに1以上15%未満（12%未満、10%未満、8%未満）、アミノ酸改変（例えば、アミノ酸置換、欠失、または付加）を含む。いくつかの実施形態では、シグナルペプチドのアミノ酸配列は、1、2、または3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加）を含む配列番号82～87または394のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

40

【0344】

5.3 hIL-12融合タンパク質およびコンジュゲート

一態様において、本明細書では、hIL-12および異種部分（例えば、抗体（例えば

50

、全長抗体）、Fc領域など）を含む融合タンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、抗体およびhIL-12を含む（例えば、節5.3.3参照）。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、Fc領域およびhIL-12を含む（例えば、節5.3.2参照）。

【0345】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、半減期延長部分を含む。例示的半減期延長部分としては、限定されるものではないが、ヒト免疫グロブリン（hIg）、hIgのフラグメント、hIg定常領域、hIg定常領域のフラグメント、Fc領域、ヒトトランスフェリン、ヒト血清アルブミン（HSA）、HSA結合タンパク質またはペプチド、およびポリエチレングリコール（PEG）（およびそのポリマー）が挙げられる。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、半減期延長ポリペプチドを含む。例示的半減期延長ポリペプチドとしては、限定されるものではないが、hIg、hIgのフラグメント、1以上のhIg重鎖定常領域、hIg定常領域のフラグメント、hIg Fc領域、ヒトトランスフェリン、ヒト血清アルブミン（HSA）、およびHSA結合タンパク質またはペプチドが挙げられる。半減期延長部分に融合またはコンジュゲートされたhIL-12ポリペプチドまたは半減期延長部分は、当技術分野で公知の標準的な*in vitro*法を利用して、それらの薬物動態特性を評価することができる。

【0346】

5.3.1 hIL-12タンパク質およびポリペプチド

上記に示されるように、本明細書に記載の融合タンパク質は、hIL-12タンパク質を含む。いくつかの実施形態では、hIL-12タンパク質の少なくとも1つのサブユニット（例えば、hIL-12 p40またはhIL-12 p35）のアミノ酸配列は、天然サブユニット（例えば、hIL-12 p40またはhIL-12 p35）のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、hIL-12タンパク質のhIL-12 p35サブユニットのアミノ酸配列は、天然hIL-12 p35タンパク質（例えば、配列番号31）のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、hIL-12タンパク質のIL-12 p40のアミノ酸配列は、天然hIL-12 p40タンパク質（例えば、配列番号33）のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【0347】

いくつかの実施形態では、hIL-12タンパク質のhIL-12 p40のアミノ酸配列は、参照hIL-12 p40タンパク質（例えば、天然hIL-12 p40タンパク質、例えば、配列番号33）のアミノ酸配列に対して少なくとも1つのアミノ酸改変を含む。いくつかの実施形態では、hIL-12タンパク質のhIL-12 p35サブユニットのアミノ酸配列は、参照hIL-12 p35タンパク質（例えば、天然hIL-12 p35タンパク質、例えば、配列番号31）のアミノ酸配列に対して少なくとも1つのアミノ酸改変を含む。いくつかの実施形態では、hIL-12タンパク質のhIL-12 p40サブユニットのアミノ酸配列は、参照hIL-12 p40タンパク質（例えば、天然hIL-12 p40タンパク質、例えば、配列番号33）のアミノ酸配列に対して少なくとも1つのアミノ酸改変を含み；かつhIL-12タンパク質のhIL-12 p35サブユニットのアミノ酸配列は、参照hIL-12 p35タンパク質（例えば、天然hIL-12 p35タンパク質、例えば、配列番号31）のアミノ酸配列に対して少なくとも1つのアミノ酸改変を含む。

【0348】

いくつかの実施形態では、hIL-12タンパク質のhIL-12 p35サブユニットのアミノ酸配列は、天然hIL-12 p35タンパク質のアミノ酸配列を含み、またはそれからなり、かつhIL-12タンパク質のhIL-12 p40サブユニットのアミノ酸配列は、参照hIL-12 p40タンパク質（例えば、天然hIL-12 p40タンパク質、例えば、配列番号31）のアミノ酸配列に対して少なくとも1つのアミノ酸改変を含む。いくつかの実施形態では、hIL-12タンパク質のhIL-12 p40サブユニッ

トのアミノ酸配列は、天然 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質のアミノ酸配列を含み、またはそれからなり、h I L - 1 2 タンパク質の h I L - 1 2 p 3 5 サブユニットのアミノ酸配列は、参照 h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質（例えば、天然 h I L - 1 2 p 3 5、例えば、配列番号 3 1）のアミノ酸配列に対して少なくとも 1 つのアミノ酸改変を含む。

【 0 3 4 9 】

5 . 3 . 1 . 1 h I L - 1 2 p 4 0 サブユニット

上記に示されるように、本明細書に記載の融合タンパク質およびポリペプチドは、h I L - 1 2 p 4 0 サブユニットを含む h I L - 1 2 タンパク質を含む。

【 0 3 5 0 】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 タンパク質の I L - 1 2 p 4 0 のアミノ酸配列は、天然 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質（例えば、配列番号 3 3）のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 タンパク質の I L - 1 2 p 4 0 のアミノ酸配列は、配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 タンパク質の h I L - 1 2 p 4 0 サブユニットのアミノ酸配列は、参照 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質（例えば、天然 h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質、例えば、配列番号 3 3）のアミノ酸配列に対して少なくとも 1 つのアミノ酸改変を含む。

【 0 3 5 1 】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 サブユニットは、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドである、例えば、節 5 . 2（例えば、節 5 . 2 . 1、5 . 2 . 2、5 . 2 . 5、および 5 . 2 . 6）参照。節 5 . 2（例えば、節 5 . 2 . 1、5 . 2 . 2、5 . 2 . 5、および 5 . 2 . 6）の全開示は、参照による本節 5 . 3 . 1 . 1 の一部として援用される。h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドおよび節 5 . 2 に示される実施形態はいずれも、本明細書に記載の融合タンパク質（例えば、抗体（例えば、抗 C A I X 抗体）融合タンパク質）に組み込むことができる。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 サブユニットは、節 5 . 2（例えば、節 5 . 2 . 1、5 . 2 . 2、5 . 2 . 5、および 5 . 2 . 6）に記載の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドである。

【 0 3 5 2 】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドは、（a）配列番号 3 3 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % 同一であり；かつ（b）アミノ酸位置（i）K 2 8 0、K 2 8 2、R 2 8 3、K 2 8 5、K 2 8 6、および R 2 8 8；（i i）E 8 1、K 1 2 1、および K 2 8 6；（i i i）S 2 0 5、L 2 0 6、P 2 0 7、I 2 0 8、E 2 0 9、および V 2 1 0；（i v）S 2 0 5、L 2 0 6、P 2 0 7、I 2 0 8、E 2 0 9、および V 2 1 0；（v）S 2 0 5、L 2 0 6、P 2 0 7、I 2 0 8、E 2 0 9、および V 2 1 0；（v i）K 2 1 7、L 2 1 8、K 2 1 9、Y 2 2 0、および E 2 2 1；（v i i）E 8 1 および F 8 2；（v i i i）E 8 1、F 8 2、および K 1 0 6；（x i v）E 8 1、F 8 2、K 1 0 6、および K 2 1 7；（x v）P 3 9、D 4 0、E 8 1、および F 8 2；（x v i）W 3 7、F 8 2、および K 2 1 7；（x v i i）W 3 7、F 8 2、および K 2 1 9；または（x v i i i）K 1 0 6、K 2 1 7、および K 2 1 9；（x x i x）W 3 7、F 8 2、K 1 0 6、および K 2 1 9；（x x x）H 2 1 6、K 2 1 7、および K 2 1 9；（x x x i）P 2 0 7；W 3 7 および F 8 2；（x x x i i）W 3 7 および K 2 1 7；（x x x i i i）W 3 7 および K 2 1 9；（x x x i v）W 3 7 および K 1 0 6；（x x x v）F 8 2 および K 1 0 6；（x x x v i）F 8 2 および K 2 1 7；（x x x v i i）F 8 2 および K 2 1 9；（x x x v i i i）K 2 1 7 および K 2 1 9；（x x x i x）K 1 0 6 および K 2 1 7；（x l）K 1 0 6 および K 2 1 9；（x l i）W 3 7；（x l i i）F 8 2；（x l i i i）K 1 0 6；（x l i v）K 2 1 7；または（x l v）K 2 1 9（配列番号 3 2 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）のそれぞれにアミノ酸置換を含む、またはそれからなるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

10

20

30

40

50

【0353】

いくつかの実施形態では、h I L-12 p 40 ポリペプチドは、(a) 配列番号 33 のアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% 同一であり；かつ (b) 以下のアミノ酸置換：(i) K 280 A、K 282 A、R 283 A、K 285 A、K 286 A、および R 288 A；(ii) E 81 K、K 121 E、および K 286 E；(iii) S 205 I、L 184 E、P 207 S、I 208 I、E 209 K、および V 210 S；(iv) S 205 I、L 206 V、P 207 S、I 208 I、E 209 K、V 210 I；(v) S 205 I、L 206 Q、P 207 S、I 208 I、E 209 K、V 210 G；(vi) K 217 S、L 218 I、K 219 T、Y 220 S、E 221 A；(vii) E 81 A および F 82 A；(viii) E 81 A、F 82 A、K 106 A；(xix) E 81 A、F 82 A、K 106 A、および K 217 A；(xv) P 39 A、D 40 A、E 81 A、および F 82 A；(xvi) W 37 A、F 82 A、および K 217 A；(xvii) W 37 A、F 82 A、および K 219 A；(xviii) K 106 A、K 217 A、および K 219 A；(xxix) W 37 A、F 82 A、K 106 A、および K 219 A；(xxx) H 216 A、K 217 A、および K 219 A；(xxxi) P 207 S、W 37 A および F 82 A；(xxxii) W 37 および K 217 A；(xxxiii) W 37 A および K 219 A；(xxxiv) W 37 A および K 106 A；(xxxv) F 82 A および K 106 A；(xxxvi) F 82 A および K 217 A；(xxxvii) F 82 A および K 219 A；(xxxviii) K 217 A および K 219 A；(xxxix) K 106 A および K 217 A；(xl) K 106 A および K 219 A；(xli) W 37 A；(xlii) F 82 A；(xliii) K 106 A；(xliv) K 217 A；または (xlv) K 219 A；(配列番号 32 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) を含む、またはそれからなるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

10

20

【0354】

いくつかの実施形態では、h I L-12 p 40 ポリペプチドは、配列番号 33 のアミノ酸配列を含み、さらにアミノ酸残基 23~127、(配列番号 32 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) の欠失を含む。

【0355】

いくつかの実施形態では、h I L-12 p 40 ポリペプチドは、配列番号 33 のアミノ酸配列を含み、さらにアミノ酸残基 208~328 の欠失と、以下のアミノ酸位置 S 205、L 206、P 207、(配列番号 32 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) のそれぞれにアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、h I L-12 p 40 ポリペプチドは、配列番号 33 のアミノ酸配列を含み、さらにアミノ酸残基 208~328 の欠失と、以下のアミノ酸置換 S 205 I、L 206 E、P 207 S (配列番号 32 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) を含む。

30

【0356】

いくつかの実施形態では、h I L-12 p 40 ポリペプチドは、配列番号 33 のアミノ酸配列を含み、さらにアミノ酸 K 217 および L 218 (配列番号 32 のアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング) の I による置換を含む。

40

【0357】

いくつかの実施形態では、h I L-12 p 40 ポリペプチドは、改変ヘパリン結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、h I L-12 p 40 ポリペプチドは、h I L-12 p 40 ポリペプチドのヘパリン化合物と結合する能力を、ヘパリン結合ドメインの改変を含まない参照 h I L-12 p 40 ポリペプチドに比べて破壊、阻害、または低減する改変ヘパリン結合を含む。いくつかの実施形態では、h I L-12 p 40 ポリペプチドは、改変ヘパリン結合ドメインを含み、ヘパリン結合ドメインに改変を含まない参照 h I L-12 p 40 ポリペプチドのものと実質的に同じ、高い、または低い免疫刺激活性を示す。いくつかの実施形態では、h I L-12 p 40 ポリペプチドは、改変ヘパリン結合ドメインを含み、ヘパリン結合ドメインに改変を含まない参照 h I L-12 p 40 ポリペプチド

50

のものと実質的に同じ免疫刺激性活性を示す。

【0358】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドの非改変ヘパリン結合ドメインは、以下の配列番号88のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、改変ヘパリン結合ドメインは、配列番号89のアミノ酸配列を含む、またはから本質的になる、またはそれからなる。

【0359】

hIL-12p40参照ヘパリン結合ドメインおよびその変異体のアミノ酸配列を表9に示す。

【0360】

【表9】

表9 hIL-12p40ヘパリン結合ドメイン及びその変異体

説明	アミノ酸配列		配列番号
非改変ヘパリン結合ドメイン (参照)	VQVQGKSKREKK		88
改変ヘパリン結合ドメイン	VX1X2QX3K*X4X5X6X7K*X8	X1はRまたはQ、 X2はV、AまたはI、 X3はGまたはR*、 X4はS、NまたはK*、 X5はK*、NまたはE、 X6はRまたはK、 X7はE、MまたはT、および X8はK*またはEであり、 ここで、「*」を付与したアミノ酸残基の1以上は、A、G、I、L、M、F、PおよびVからなる群から選択される非極性アミノ酸残基に置換される。	89

【0361】

いくつかの実施形態では、配列番号89において「*」で指定された1以上のアミノ酸残基はアラニンである。いくつかの実施形態では、配列番号89において「*」で指定されたアミノ酸残基のそれぞれはアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸残基X3はアラニンである。

【0362】

改変ヘパリン結合ドメインを有する例示的hIL-12p40ポリペプチドはUS8617557に記載され、その全内容は目的を問わず参照により本明細書の一部として援用される。

【0363】

本明細書に記載の融合タンパク質に組み込むことができる例示的hIL-12p40ポリペプチドのアミノ酸配列を表10に示す。

【0364】

10

20

30

40

50

【表 10】

表10 代表的なhIL-12p40ポリペプチドのアミノ酸配列

説明	配列番号	アミノ酸配列
hIL-12p40 (成熟-シグナル配列なし)	33	表4参照
hIL-12p40 変異体 A (K280A, K282A, R283A, K285A, K286A, R288A)	90	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSA CPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGASAAEAA DAVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 B (Δ23-127)	91	FLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCG AATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMVDAV HKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYP DTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKN ASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 C (Δ208-328; S205I, L206E, P207S)	92	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSA CPAAEEIES
hIL-12p40 変異体 D (E81K, K121E, K286E)	93	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSA CPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKE DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 E (S205I, L206E, P207S, I208I, E209K, V210S)	94	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSA CPAAEEIESIKSMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS

10

20

30

40

50

hIL-12p40 変異体 F (S205I, L206V, P207S, I208I, E209K, V210I)	95	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEEIVSIKIMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDI IKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 G (S205I, L206Q, P207S, I208I, E209K, V210G)	96	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEEIQSIKGMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDI IKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 H (成熟-シグナル配列なし) (K217+L218 Iで置換)	51	表5参照
hIL-12p40 変異体 I (K217S, L218I, K219T, Y220S, E221A)	97	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLP I EVMVDAVHSITSANYTSSFFIRDI IKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 J (E81A, F82A)	98	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKAAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDI IKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 K (E81A, F82A, K106A)	99	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKAAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHAKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDI IKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 L (E81A, F82A, K106A, K217A)	100	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKAAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHAKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLP I EVMVDAVHALKYENYTSSFFIRDI IKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 M	101	IWELKKDVYVVELDWYAAAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKAAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG

10

20

30

40

(P39A, D40A, E81A, F82A)		IWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSA CPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFF I RDI IKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 N (W37A/F82A/K217A)	39	表5参照
hIL-12p40 変異体 O (W37A/F82A/K219A)	38	表5参照
hIL-12p40 変異体 P (K106A/K217A/K219A)	40	表5参照
hIL-12p40 変異体 Q (W37A, F82A, K106A, K219A)	102	IWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHAKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSA CPAAEESLP I EVMVDAVHKLAYENYTSSFF I RDI IKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 R (H216A, K217A, K219A)	103	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSA CPAAEESLP I EVMVDAVAALAYENYTSSFF I RDI IKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 S (P207S)	104	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSA CPAAEESLSI EVMVDAVHKLKYENYTSSFF I RDI IKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 T (W37A/F82A)	41	表5参照
hIL-12p40 変異体 U (W37A/K217A)	42	表5参照
hIL-12p40 変異体 V (W37A/K219A)	43	表5参照
hIL-12p40 変異体 W (W37A/K106A)	44	表5参照
hIL-12p40 変異体 X	45	表5参照

10

20

30

40

50

(F82A/K106A)		
hIL-12p40 変異体 Y (F82A/K217A)	46	表5参照
hIL-12p40 変異体 Z (F82A/K219A)	47	表5参照
hIL-12p40 変異体 AA (K217A/K219A)	48	表5参照
hIL-12p40 変異体 BB (K106A/K217A)	49	表5参照
hIL-12p40 変異体 CC (K106A/K219A)	50	表5参照
hIL-12p40 変異体 DD (W37A)	105	IWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLPIEVMMDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 EE (F82A)	106	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLPIEVMMDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 FF (K106A)	107	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHAKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLPIEVMMDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 GG (K217A)	108	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLPIEVMMDAVHALKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS
hIL-12p40 変異体 HH (K219A)	109	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSS EVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSA CPAAEESLPIEVMMDAVHKLAYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQ LKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS

10

20

30

40

【0365】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドのアミノ酸配列は、表10に示されるポリペプチドのいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む。

【0366】

いくつかの実施形態では、hIL-12p40ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号38～51または90～109のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、9

50

6 %、97 %、98 %、99 %、または100 % 同一であるアミノ酸配列を含む。

【0367】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、表10に示されるいずれか1つのポリペプチドアミノ酸配列に示されるアミノ酸改変（例えば、置換、欠失）（配列番号33のアミノ酸配列に対する）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸改変（例えば、置換、欠失）のセット以外では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、表10に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または100 % 同一である。

【0368】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号38～51または90～109のいずれか1つに示されるアミノ酸配列に示されるアミノ酸改変（例えば、置換、欠失）（配列番号33のアミノ酸配列に対する）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸改変（例えば、置換、欠失）のセット以外では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号38～51または90～109のいずれか1つに示されるアミノ酸配列と少なくとも85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または100 % 同一である。

【0369】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号38に示されるアミノ酸配列に示されるアミノ酸改変（例えば、置換、欠失）（配列番号33のアミノ酸配列に対する）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸改変（例えば、置換、欠失）のセット以外では、h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号38に示されるアミノ酸と少なくとも85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または100 % 同一である。

【0370】

5.3.1.2 h I L - 1 2 p 3 5 サブユニット

上記に示されるように、本明細書に記載の融合タンパク質およびポリペプチドは、h I L - 1 2 p 3 5 サブユニットを含むh I L - 1 2 タンパク質を含む。

【0371】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 タンパク質のh I L - 1 2 p 3 5 サブユニットのアミノ酸配列は、天然h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質（例えば、配列番号31）のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 タンパク質のh I L - 1 2 p 3 5 サブユニットのアミノ酸配列は、参照h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質（例えば、天然h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質、例えば、配列番号31）のアミノ酸配列に対して少なくとも1つのアミノ酸改変を含む。

【0372】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 サブユニットは、本明細書に記載のh I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドである、例えば、節5.2（例えば、節節5.2.3、5.2.4、5.2.5、および5.2.6）参照。節5.2（例えば、節節5.2.3、5.2.4、5.2.5、および5.2.6）の全開示は、参照により本節5.3.1.2の一部として援用される。h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドおよび節5.2（例えば、節節5.2.3、5.2.4、5.2.5、および5.2.6）に示される実施形態はいずれも、本明細書に記載の融合タンパク質（例えば、抗体（例えば、抗C A I X抗体）融合タンパク質）に組み込むことができる。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 サブユニットは、節5.2（例えば、節節5.2.3、5.2.4、5.2.5、および5.2.6）に記載のh I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドである。

【0373】

いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸改変は、h I L - 1 2 Rに対する

10

20

30

40

50

h I L - 1 2 p 3 5 サブユニットの結合親和性を低下させる。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸改変は、h I L - 1 2 R β 1 に対する h I L - 1 2 p 3 5 サブユニットの結合親和性を低下させる。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸改変は、h I L - 1 2 R β 2 に対する h I L - 1 2 p 3 5 サブユニットの結合親和性を低下させる。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸改変は、h I L - 1 2 R β 1 および h I L - 1 2 R β 1 に対する h I L - 1 2 p 3 5 サブユニットの結合親和性を低下させる。

【0374】

上記で示されるように、本開示の目的では、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドの全てのアミノ酸（および例えば、アミノ酸置換）のナンバリングは、天然シグナルペプチドを含む未成熟型の h I L - 1 2 p 3 5（すなわち配列番号30）のアミノ酸配列に対して示される。アミノ酸番号（例えば、Y 1 8 9）を指定するための未成熟型の h I L - 1 2 p 3 5 の使用は、一貫性を目的とするに過ぎず、このナンバリング法を利用する実施形態の範囲を h I L - 1 2 p 3 5 のシグナルペプチドを含むポリペプチドに限定するものではない。例えば、Y 1 8 9 A アミノ酸置換を伴う配列番号31のアミノ酸配列を含む本明細書に記載の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドは、アミノ酸位置 Y 1 8 9 のナンバリングは未成熟型のタンパク質に基づくが、h I L - 1 2 p 3 5 のシグナルペプチドを必要としない。当技術分野では、変異体および融合タンパク質を生産するために成熟型のタンパク質を利用することが一般的である。

【0375】

当業者ならば、未成熟型の h I L - 1 2 p 3 5 に対するアミノ酸ナンバリングに基づいて成熟型の h I L - 1 2 p 3 5（配列番号31）内のアミノ酸位置を容易に決定することができる。上記に示すように、未成熟型の h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質のアミノ酸1～22はシグナル配列である。従って、成熟型の h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質内の特定のアミノ酸のアミノ酸位置は、未成熟型の h I L - 1 2 p 3 5 に対して指定された特定のアミノ酸のアミノ酸位置から、22を引くことによって決定することができる。例えば、アミノ酸位置 Y 1 8 9（配列番号30に対してナンバリング）は、成熟型のタンパク質（配列番号31）のアミノ酸位置 Y 1 6 7 に相当することになる。

【0376】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、アミノ酸位置 E 6 0、F 6 1、P 6 3、K 1 5 0、F 1 8 8、または Y 1 8 9（配列番号30に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）のうち1以上にアミノ酸改変（例えば、置換、付加、または欠失）を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、以下のアミノ酸位置 E 6 0、F 6 1、P 6 3、K 1 5 0、F 1 8 8、または Y 1 8 9（配列番号30に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）のうち1、2、3、4、5、6、または7つにアミノ酸改変（例えば、置換、付加、または欠失）を含む、またはそれからなる。

【0377】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、アミノ酸位置 E 6 0、F 6 1、P 6 3、K 1 5 0、および F 1 8 8（配列番号30に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）のうち1以上にアミノ酸改変（例えば、置換、付加、または欠失）を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、アミノ酸位置 F 1 8 8 および Y 1 8 9（配列番号30に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）のうち1以上にアミノ酸改変（例えば、置換、付加、または欠失）を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、アミノ酸位置 F 1 8 8（配列番号30に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）にアミノ酸改変（例えば、置換、付加、または欠失）を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドのアミノ酸配列は、アミノ酸位置 Y 1 8 9 A（配列番号30に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）にアミノ酸改変（例

えば、置換、付加、または欠失)を含む、またはそれからなる。

【0378】

いくつかの実施形態では、h I L-12 p 35ポリペプチドのアミノ酸配列は、以下のアミノ酸置換：E 60 K、F 61 H、P 63 S、K 150 H、F 188 P、F 188 A、またはY 189 A（配列番号30に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）のうち1以上を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、h I L-12 p 35ポリペプチドのアミノ酸配列は、以下のアミノ酸置換：E 60 K、F 61 H、P 63 S、K 150 H、およびF 188 P（配列番号30に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、h I L-12 p 35ポリペプチドのアミノ酸配列は、以下のアミノ酸置換：F 188 AおよびY 189 A（配列番号30に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、h I L-12 p 35ポリペプチドのアミノ酸配列は、以下のアミノ酸置換Y 189 A（配列番号30に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）を含む、またはそれからなる。

10

【0379】

いくつかの実施形態では、h I L 12-p 35ポリペプチドのアミノ酸配列は、アミノ酸残基50~95、50~94、50~93、50~92、50~91、50~90、50~89、51~95、51~94、51~93、51~92、51~91、51~90、51~89、52~95、52~94、52~93、52~92、52~91、52~90、52~89、53~95、53~94、53~93、53~92、53~91、53~90、53~89、54~95、54~94、54~93、54~92、54~91、54~90、54~89、55~95、55~94、55~93、55~92、55~91、55~90、または55~89（配列番号30に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）の欠失を含む。いくつかの実施形態では、h I L 12-p 35ポリペプチドのアミノ酸配列は、アミノ酸残基A 55~K 92（配列番号30に示されるアミノ酸配列に対するアミノ酸ナンバリング）の欠失を含む。

20

【0380】

いくつかの実施形態では、h I L-12 p 35ポリペプチドのアミノ酸配列は、表6に示されるポリペプチドのいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む。

30

【0381】

いくつかの実施形態では、h I L-12 p 35ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号31または110~114のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む。

【0382】

いくつかの実施形態では、h I L-12 p 35ポリペプチドのアミノ酸配列は、表6に示されるいずれか1つのポリペプチドのアミノ酸配列に示されるアミノ酸改変（例えば、置換、欠失）（配列番号31のアミノ酸配列に対する）のセットを含み、またはそれからなり；かつ前記アミノ酸改変（例えば、置換、欠失）のセット以外では、h I L-12 p 35ポリペプチドのアミノ酸配列は、表6に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

40

【0383】

いくつかの実施形態では、h I L-12 p 35ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号110~114のいずれか1つのアミノ酸配列に示されるアミノ酸改変（例えば、置換

50

、欠失) (配列番号 31 のアミノ酸配列に対する) のセットを含み、またはそれからなり; かつ前記アミノ酸改変 (例えば、置換、欠失) のセット以外では、h I L-12 p 35 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 110~114 のいずれか 1 つに示されるアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。

【0384】

5.3.1.3 s c h I L-12 ポリペプチド

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の融合タンパク質の h I L-12 は、単一のポリペプチド鎖 (本明細書では s c h I L-12 と呼ぶ) の形態である。s c h I L-12 ポリペプチドは、本明細書に記載の任意の h I L-12 p 40 ポリペプチド (例えば、節 5.2 (例えば、節 5.2.1) および節 5.3.1.1 参照); ならびに本明細書に記載の任意の h I L-12 p 35 ポリペプチド (例えば、節 5.2 (例えば、節 5.2.3) および節 5.3.1.2 参照) を含み得る。s c h I L-12 ポリペプチドは、本明細書の節 5.2.5 に記載の s c h I L-12 ポリペプチドを含み得る。

10

【0385】

いくつかの実施形態では、h I L-12 p 40 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 38~51 または 90~109 のいずれか 1 つに示されるアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。いくつかの実施形態では、h I L-12 p 35 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 31 または 110~114 のいずれか 1 つに示されるアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。

20

【0386】

いくつかの実施形態では、s c h I L-12 は、h I L-12 p 40 ポリペプチドに直接融合された h I L-12 p 35 ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、s c h I L-12 ポリペプチドは、N 末端から C 末端に向かって、h I L-12 p 35 ポリペプチド、任意選択のペプチドリンカー、および h I L-12 p 40 ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、s c h I L-12 ポリペプチドは、N 末端から C 末端に向かって、h I L-12 p 40 ポリペプチド、任意選択のペプチドリンカー、および h I L-12 p 35 ポリペプチドを含む。

30

【0387】

いくつかの実施形態では、s c h I L-12 ポリペプチドは、ペプチド結合を介して直接作動可能に連結された h I L-12 p 35 ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、s c h I L-12 ポリペプチドは、ペプチドリンカーを介して h I L-12 p 40 ポリペプチドに間接的に融合された h I L-12 p 35 ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、s c h I L-12 ポリペプチドは、N 末端から C 末端に向かって、h I L-12 p 35 ポリペプチド、ペプチドリンカー、および h I L-12 p 40 ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、s c h I L-12 ポリペプチドは、N 末端から C 末端に向かって、h I L-12 p 40 ポリペプチド、ペプチドリンカー、および h I L-12 p 35 ポリペプチドを含む。

40

【0388】

s c h I L-12 ポリペプチドにおいて使用するため (h I L-12 p 35 ポリペプチドと h I L-12 p 40 ポリペプチドを作動可能に連結するため) の例示的リンカーのアミノ酸配列を表 11 に示す。

【0389】

いくつかの実施形態では、h I L-12 p 40 ポリペプチドと h I L-12 p 35 ポリペプチドは、ペプチドリンカーを介して作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、s c h I L-12 が h I L-12 受容体と結合できるように

50

h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドと h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドが会合可能な十分な長さである。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、約 5 ～ 3 0、5 ～ 2 5、5 ～ 2 0、5 ～ 1 5、1 0 ～ 3 0、1 0 ～ 2 5、1 0 ～ 2 0、または 1 0 ～ 1 5 アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、グリシン (G) およびセリン (S) アミノ酸残基を含む、またはそれらからなる。

【0390】

いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、配列番号 6 6 ～ 8 1 のいずれか 1 つのアミノ酸配列、または 1、2、もしくは 3 つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、または付加）を伴う配列番号 6 6 ～ 8 1 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、配列番号 7 2 のいずれか 1 つのアミノ酸配列、または 1、2、もしくは 3 つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、または付加）を伴う配列番号 7 2 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む。

【0391】

例示的 s c h I L - 1 2 ポリペプチドのアミノ酸配列を表 1 1 に示す。

【0392】

【表 1 1】

表11 代表的なヒトscIL-12ポリペプチドのアミノ酸配列

説明	配列番号	アミノ酸配列
野生型hIL-12p35- リンカー-野生型 hIL-12p40	115	RNLPVATPDPGMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTCTSEE IDHEDI TKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASR KTSFMMALCLSSIIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNM AVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRA VTIDRVMSYLNASGGGGSGGGSGGGGSIWELKKDVYVVELDWYPD APGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCE AKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAE RVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYT SSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFS LTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYS SSWSEWASVPCS

10

20

30

40

50

野生型hIL-12p40- リンカー-野生型 hIL-12p35	116	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWST DILKDQKEPKNKTLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSR GSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEESL PIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQV EVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATV ICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCSGGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDPGMFPC LHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTSEEI DHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRK TSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAV TIDRVMSYLNAS	10
野生型hIL-12p35- リンカー-hIL- 12p40 変異体O	117	RNLPVATPDPGMFPC LHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTSEE IDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASR KTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNML AVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRA VTIDRVMSYLNASGGGGSGGGGSGGGGSIWELKKDVYVVELDAYPD APGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTLRCE AKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAE RVRGDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLAYENYT SSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFS LTFQVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSS SSWSEWASVPCS	20
hIL-12p40変異体 O-リンカー-野生型 hIL-12p35	118	IWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWST DILKDQKEPKNKTLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSR GSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEESL PIEVMVDAVHKLAYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQV EVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATV ICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCSGGGGSGGGGSGGGGSR RNLPVATPDPGMFPC LHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTSEE IDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASR KTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNML AVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRA VTIDRVMSYLNAS	30

【0393】

いくつかの実施形態では、s c h I L - 1 2 ポリペプチドのアミノ酸配列は、表 1 1 に示されるポリペプチドのいずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % 同一である。

【0394】

いくつかの実施形態では、s c h I L - 1 2 ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号 1 1 5 ~ 1 1 8 のいずれか 1 つに示されるアミノ酸と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % 同一である。

【0395】

5. 3. 1. 4 h I L - 1 2 融合タンパク質およびポリペプチドの効力および親和性

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 融合タンパク質は、表面に h I L - 1 2 R を発現する細胞の S T A T 4 のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照 h I L - 1 2 融合タンパク質（例えば、配列番号 3 7 1、3 7 2、3 8 3））により媒介される S T A T 4

10

20

30

40

50

の増加に比べて低い増加を媒介する。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 融合タンパク質は、表面にh I L - 1 2 Rを発現する細胞のリン酸化S T A T 4 (p S T A T 4) のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照h I L - 1 2 融合タンパク質（例えば、配列番号3 7 1、3 7 2、3 8 3））により媒介されるp S T A T 4の増加よりも低い増加を媒介する。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 融合タンパク質は、表面にh I L - 1 2 Rを発現する細胞のリン酸化S T A T 4 (p S T A T 4) のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照h I L - 1 2 融合タンパク質（例えば、配列番号3 7 1、3 7 2、3 8 3））により媒介されるp S T A T 4の増加よりも約0.5倍、1倍、2倍、5倍、10倍、100倍、または1000倍低い増加を媒介する。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 融合タンパク質は、表面にh I L - 1 2 Rを発現する細胞のリン酸化S T A T 4 (p S T A T 4) のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照h I L - 1 2 融合タンパク質（例えば、配列番号3 7 1、3 7 2、3 8 3））により媒介されるp S T A T 4の増加よりも約0.5～1000倍、0.5～100倍、0.5～10倍、0.5～5倍、0.5～2倍、1～1000倍、1～100倍、1～10倍、1～5倍、1～2倍、10～1000倍、または100～1000倍低い増加を媒介する。本明細書に記載のh I L - 1 2 融合タンパク質のE C 5 0を測定するために適切なアッセイは標準的であり、とりわけ節5.2.3に記載されているように、当業者に周知である。

10

20

【0396】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 融合タンパク質は、表面にh I L - 1 2 Rを発現することにより産生されるインターフェロン γ (I F N - γ) のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照h I L - 1 2 融合タンパク質（例えば、配列番号3 7 1、3 7 2、3 8 3））の存在下で産生されるI F N - γ のレベルの増加よりも低い増加を媒介する。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 融合タンパク質は、表面にh I L - 1 2 Rを発現することにより産生されるI F N - γ のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照h I L - 1 2 融合タンパク質（例えば、配列番号3 7 1、3 7 2、3 8 3））の存在下で産生されるI F N - γ のレベルの増加よりも0.5倍、1倍、2倍、5倍、10倍、100倍、または1000倍低い増加を媒介する。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 融合タンパク質は、表面にh I L - 1 2 Rを発現することにより産生されるI F N - γ のレベルにおいて、適切な対照（例えば、参照h I L - 1 2 融合タンパク質（例えば、配列番号3 7 1、3 7 2、3 8 3））の存在下で産生されるI F N - γ のレベルの増加よりも約0.5～1000倍、0.5～100倍、0.5～10倍、0.5～5倍、0.5～2倍、1～1000倍、1～100倍、1～10倍、1～5倍、1～2倍、10～1000倍、または100～1000倍低い増加を媒介する。培養細胞から産生されたタンパク質（例えば、I F N - γ ）のレベルを測定するために適切なアッセイは標準的であり、とりわけ節5.2.3に記載されているように、当業者に周知である。

30

40

【0397】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 融合タンパク質は、参照h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質（例えば、参照h I L - 1 2 融合タンパク質（例えば、配列番号3 7 1、3 7 2、3 8 3））よりも低い親和性でh I L - 1 2 R β 1に結合する。結合親和性は、とりわけ節5.2.25.2.3に記載されるように、当技術分野で公知の標準的なアッセイ

50

によって測定することができる。

【0398】

5.3.2 Ig 融合タンパク質およびポリペプチド

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、1以上のhIg重鎖定常領域（例えば、CH1領域、ヒンジ領域、CH2領域、CH3領域、Fc領域）を含む。いくつかの実施形態では、1以上のhIg重鎖定常領域は、抗体（例えば、全長抗体）の一部である（例えば、節5.3.3参照）。いくつかの実施形態では、hIgは、ヒトIgG（hIgG）である。いくつかの実施形態では、hIgGは、hIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4である。いくつかの実施形態では、hIgGは、IgG1またはIgG4である。いくつかの実施形態では、hIgGはhIgG1である。いくつかの実施形態では、hIgGはhIgG4である。

10

【0399】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、Fc領域を含む。いくつかの実施形態では、Fc領域は、抗体の一部である。いくつかの実施形態では、Fc領域は、全長抗体の一部である。いくつかの実施形態では、Fc領域は、CH2領域およびCH3領域を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、Fc領域は、ヒンジ領域、CH2領域、およびCH3領域の少なくとも一部を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、Fc領域は、hIgG CH2領域およびhIgG CH3領域の少なくとも一部を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、Fc領域は、hIgGヒンジ領域、hIgG CH2領域、およびhIgG CH3領域の少なくとも一部を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、Fc領域は、hIgG1 CH2領域およびhIgG1 CH3領域を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、Fc領域は、hIgG1ヒンジ領域、hIgG1 CH2領域、およびhIgG1 CH3領域の少なくとも一部を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、Fc領域は、hIgG4 CH2領域およびhIgG4 CH3領域を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、Fc領域は、hIgG4ヒンジ領域、hIgG4 CH2領域、およびhIgG4 CH3領域の少なくとも一部を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、Fc領域は、hIgG4ヒンジ領域、hIgG4 CH2領域、およびhIgG4 CH3領域を含む、またはそれからなる。

20

30

【0400】

本明細書に記載の実施形態（例えば、本明細書に記載のhIL-12融合タンパク質（例えば、本明細書に記載の抗CAIX抗体（例えば、全長抗体）hIL-12融合タンパク質）のうち1以上（またはその1以上のポリペプチド））に組み込むことができる例示的参照hIgG1およびhIgG4重鎖定常領域および軽鎖定常領域のアミノ酸配列を表12に示す。

40

【0401】

【表 1 2】

表12 代表的なhlgの重鎖定常領域及び軽鎖定常領域のアミノ酸配列

説明	アミノ酸配列	配列番号
hIgG1 CH1 領域	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKVKV	119
hIgG1 ヒンジ領域	EPKSCDKTHTCP	120
hIgG1 CH2 領域	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK	121
hIgG1 CH3 領域 C末端リジンあり	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSC VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	122
hIgG1 CH3 領域 C末端リジンなし	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSC VMHEALHNHYTQKSLSLSPG	123
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 C末端リジンあり	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD	124

10

20

30

40

50

	SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLS LSPGK	
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 C末端リジンなし	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLS LSPG	125
hIgG1 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 C末端リジンあり	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQK SLSLSPGK	126
hIgG1 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 C末端リジンなし	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQK SLSLSPG	127
hIgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 C末端リジンあり	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVME ALHNHYTQKSLSLSPGK	128
hIgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 C末端リジンなし	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVME ALHNHYTQKSLSLSPG	129
hIgG1 CH1+ ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 C末端リジンあり	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	130
hIgG1 CH1 + ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 C末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG	131
hIgG4 CH1 領域	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVD HKPSNTKVDKRV	132

10

20

30

40

50

hIgG4 ヒンジ領域	ESKYGPPCPSCP	133
hIgG4 CH2 領域	APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAK	134
hIgG4 CH3 領域 C末端リジンあり	GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLGLG	135
hIgG4 CH3 領域 C末端リジンなし	GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLGLG	136
hIgG4 CH2 領域 + CH3 領域 C末端リジンあり	APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGL GK	137
hIgG4 CH2 領域 + CH3 領域 C末端リジンなし	APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGL G	138
hIgG4 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 C末端リジンあり	PCPSCPAPPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP VLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSLGLG	139
hIgG4 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 C末端リジンなし	PCPSCPAPPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP VLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSLGLG	140
hIgG4 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 C末端リジンあり	ESKYGPPCPSCPAPPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLGLG	141
hIgG4 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 C末端リジンなし	ESKYGPPCPSCPAPPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLGLG	142
hIgG4 CH1 + ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTITYTCNV DKHPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPPEFLGGPSVFLFPPKPKD	143

10

20

30

40

50

C末端リジンあり	TLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVTLHQLDNLGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK	
hIgG4 CH1 + ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 C末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNV HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVTLHQLDNLGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG	144
Ig軽鎖κ定常領域(κCL)	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	145
Ig軽鎖κ定常領域(λCL)	GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWK ADGSPVKAGVETTKPSKQSNKNKYAASSYLSTPEQWKSHRYS CQVTHEGSTVEKTVAPTECS	146

10

【0402】

20

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、1以上のhIg定常領域を含む。いくつかの実施形態では、1以上のhIg定常領域のアミノ酸配列は、表12に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【0403】

いくつかの実施形態では、1以上のhIg定常領域のアミノ酸配列は、表12に示されるポリペプチドのアミノ酸配列を含み、またはそれからなり、さらに1以上15%未満（12%未満、10%未満、8%未満）のアミノ酸変動（例えば、アミノ酸置換、欠失、または付加）を含む。いくつかの実施形態では、1以上のhIg定常領域のアミノ酸配列は、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれを超えるアミノ酸改変（例えば、アミノ酸置換、欠失、または付加）を含む、またはそれからなる、表12に示されるポリペプチドのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、1以上のhIg定常領域のアミノ酸配列は、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれを超えるアミノ酸改変（例えば、アミノ酸置換、欠失、または付加）を含む、またはそれからなる、表12に示されるポリペプチドのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、1以上のhIg定常領域のアミノ酸配列は、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれより大きな数以下のアミノ酸改変（例えば、アミノ酸置換、欠失、または付加）を含む、またはそれからなる、表12に示されるポリペプチドのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

30

40

【0404】

いくつかの実施形態では、1以上のhIg定常領域アミノ酸配列のアミノ酸配列は、表12に示されるポリペプチドを含み、またはそれからなり、さらに1以上15%未満（12%未満、10%未満、8%未満）のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、1以上のhIg定常領域のアミノ酸配列は、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれを超えるアミノ酸置換を含む、またはそれからなる、表12に示されるポリペプチドのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、1以上のhIg定常領域のアミノ酸配列は、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれを超えるアミノ酸置換を含む、またはそれからなる、表12に示されるポリペプチドのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、

50

1以上のh I g定常領域アミノ酸配列のアミノ酸配列は、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれを超える数以下のアミノ酸置換を含む、またはそれからなる、表12に示されるポリペプチドを含む、またはそれからなる。

【0405】

いくつかの実施形態では、1以上のh I g定常領域のアミノ酸配列は、配列番号119～146のいずれか1つ（例えば、配列番号124～131または137～144のいずれか1つ）に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【0406】

いくつかの実施形態では、1以上のh I g定常領域のアミノ酸配列は、配列番号119～146のいずれか1つ（例えば、配列番号124～131または137～144のいずれか1つ）に示されるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり、さらに1以上15%未満（12%未満、10%未満、8%未満）のアミノ酸改変（例えば、アミノ酸置換、欠失、または付加）を含む。いくつかの実施形態では、1以上のh I g定常領域のアミノ酸配列は、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれを超えるアミノ酸改変（例えば、アミノ酸置換、欠失、または付加）を含む、またはそれらからなる、配列番号119～146のいずれか1つ（例えば、配列番号124～131または137～144のいずれか1つ）に示されるアミノ酸配列を含む、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、1以上のh I g定常領域のアミノ酸配列は、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10のアミノ酸改変（例えば、アミノ酸置換、欠失、または付加）を含む、またはそれらからなる、配列番号119～146のいずれか1つ（例えば、配列番号124～131または137～144のいずれか1つ）に示されるアミノ酸配列を含む、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、1以上のh I g定常領域のアミノ酸配列は、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10以下のアミノ酸改変（例えば、アミノ酸置換、欠失、または付加）を含む、またはそれらからなる、配列番号119～146のいずれか1つ（例えば、配列番号124～131または137～144のいずれか1つ）に示されるアミノ酸配列を含む、またはそれらからなる。

【0407】

いくつかの実施形態では、1以上のh I g定常領域のアミノ酸配列は、配列番号119～146のいずれか1つ（例えば、配列番号124～131または137～144のいずれか1つ）に示されるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり、さらに1以上15%未満（12%未満、10%未満、8%未満）のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、1以上のh I g定常領域のアミノ酸配列は、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれを超えるアミノ酸置換を含む、またはそれらからなる、配列番号119～146のいずれか1つ（例えば、配列番号124～131または137～144のいずれか1つ）に示されるアミノ酸配列を含む、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、1以上のh I g定常領域のアミノ酸配列は、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10のアミノ酸置換を含む、またはそれらからなる、配列番号119～146のいずれか1つ（例えば、配列番号124～131または137～144のいずれか1つ）に示されるアミノ酸配列を含む、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、1以上のh I g定常領域のアミノ酸配列は、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10以下のアミノ酸置換を含む、またはそれらからなる、配列番号119～146のいずれか1つ（例えば、配列番号124～131または137～144のいずれか1つ）に示されるアミノ酸配列を含む、またはそれらからなる。

【0408】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、配列番号145～146のいずれか1つに示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

10

20

30

40

50

【0409】

5.3.2.1 Ig エフェクター機能

本明細書に記載されるように、いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、Fc 領域を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の融合タンパク質またはポリペプチドのFc 領域は、参照（例えば、野生型）Fc 領域に比べて1以上のFc エフェクター機能の低下を示す。例示的Fc エフェクター機能としては、限定されるものではないが、抗体依存性細胞傷害性（ADCC）、抗体依存性細胞貪食（ADCP）、補体依存性細胞傷害性（CDC）、および1以上のヒトFc 受容体（例えば、Fcγ 受容体（例えば、FcγRI、FcγRIIa、FcγRIIc、FcγRIIIa、および／またはFcγRIIIb（例えば、FcγRI、FcγIIa、および／またはFcγIIIIa）））に対する結合親和性が挙げられる。

10

【0410】

当技術分野で公知の標準的な *in vitro* および／または *in vitro* アッセイは、ADCC、CDC、ADCP、Fc 受容体（例えば、Fcγ 受容体）結合親和性、およびC1q 結合親和性のうちいずれか1以上を含むFc エフェクター機能を評価するために行うことができる。

【0411】

例えば、ADCC 活性は、当技術分野で公知の標準的な（放射性及び非放射性的の）方法（例えば、WO2006/082515、WO2012/130831を参照）を利用して評価することができ、これらのそれぞれの全内容は目的を問わず参照により本明細書の一部として援用される。例えば、ADCC 活性は、クロム-5 (^{51}Cr) アッセイを用いて評価することができる。簡単に述べると、CD20を発現する標的細胞に ^{51}Cr を予め担持させ、NK細胞を培養物に加え、細胞培養上清中の放射活性を評価する（NK細胞による標的細胞の溶解を示す）。また、標的細胞にカルセイン-AM、CFSE、BCECF、またはランタニド蛍光色素（ユーロピウム）などの蛍光色素を予め担持させる同様の非放射性アッセイを利用することもできる。例えば、全内容が目的を問わず参照により本明細書の一部として援用されるParekh, Bhavin S et al. “Development and validation of an antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity-reporter gene assay.” mAbs vol. 4,3 (2012): 310-8. Doi:10.4161/mabs.19873参照。例示的な市販の非放射性アッセイとしては、例えば、フローサイトメトリー用のACTI（商標）非放射性細胞傷害性（Cell Technology, Inc. マウンテンビュー、カリフォルニア州；およびCytotoxic 96（登録商標）非放射性細胞傷害性アッセイ（Promega、マディソン、ウィスコンシン州）が挙げられる。本明細書に記載の融合タンパク質のADCC 活性を評価するために使用できる *in vitro* アッセイのさらなる非限定的な例としては、US5500362；US5821337；Hellstrom, I., et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83 (1986) 7059-7063；Hellstrom, I., et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82 (1985) 1499-1502；およびBruggemann, M., et al., J. Exp. Med. 166 (1987) 1351-1361に記載されているものが挙げられ、これらのそれぞれの全内容は参照により本明細書の一部として援用される。その代わりに、またはそれに加えて、本明細書に記載の融合タンパク質のADCC 活性は、*in vitro*、例えば、全内容が目的を問わず参照により本明細書の一部として援用されるClynes, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95 (1998) 652-656に開示されているものなどの動物モデルで評価することができる。

20

30

40

【0412】

C1q 結合アッセイは、本明細書に記載のhIg 融合タンパク質またはポリペプチドの、C1qと結合し（または参照融合タンパク質よりも低い親和性で結合し）、ゆえにCDC 活性を欠く（または低い）能力を評価するために利用できる。本明細書に記載のhIg 融合タンパク質またはポリペプチドのC1qへの結合は、例えば、平衡法（例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）もしくはラジオイムノアッセイ（RIA））、または速度論的方法（例えば、表面プラズモン共鳴（SPR）分析）、ならびに間接的結合ア

50

ッセイ、競合的阻害アッセイ、蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）、ゲル電気泳動、およびクロマトグラフィー（例えば、ゲル濾過）などの他の方法を含む、Fc-C1qの相互作用を決定するために当技術分野で公知の様々なin vitroアッセイ（例えば、生化学または免疫学に基づくアッセイ）によって決定することができる。これらの、またその他の方法は、調べる成分の1以上に標識を利用してよく、かつ／または限定されるものではないが発色、蛍光、発光、または同位体標識を含む様々な検出方法を採用してもよい。結合親和性および速度論の詳細な説明は、例えば、Paul, W. E.編, Fundamental Immunology, 第4版, Lippincott-Raven, Philadelphia (1999)に見出すことができ、その全内容は参照により本明細書の一部として援用される。例えば、WO 2006/029879およびWO 2005/100402に記載されるようなC1qおよびC3c結合ELISを参照、これらのそれぞれの全内容は目的を問わず参照により本明細書の一部として援用される。さらなるCDC活性アッセイとしては、例えば、Gazzano-Santoro, et al., J. Immunol. Methods 202 (1996) 163; Cragg, M. S., et al., Blood 101 (2003) 1045-1052;およびCragg, M. S., and Glennie, M. J., Blood 103 (2004) 2738-2743に記載されているものが挙げられ、これらのそれぞれの全内容は目的を問わず参照により本明細書の一部として援用される。

10

【0413】

ADCP活性は、当技術分野で公知のin vitroまたはin vitro法、ならびに市販のアッセイによっても測定することができる（例えば、van de Donk NW, Moreau P, Plesner T, et al. “Clinical efficacy and management of monoclonal antibodies targeting CD38 and SLAMF7 in multiple myeloma,” Blood, 127(6):681 - 695 (2016)参照、これらのそれぞれの全内容は目的を問わず参照により本明細書の一部として援用される）。例えば、新鮮なヒト末梢血単核球（PBMC）を単離し、単球を分離し、標準的な手順を用いて培養してマクロファージに分化させる、初代細胞に基づくADCPアッセイを使用することができる。マクロファージは蛍光標識され、CD20および本明細書に記載の融合タンパク質を発現する蛍光標識標的細胞を含む培養物に添加される。貪食事象は、FACSスクリーニングおよび／または顕微鏡を用いて解析することができる。エフェクター細胞株（例えば、人工T細胞株、例えばTHP-1）としてFcγRIIa（CD32a）を安定に発現する人工細胞株を用い、初代細胞の必要性をなくした、上記アッセイの改良レポーターバージョンも使用できる。例示的ADCPアッセイは、例えば、Ackerman, M. E. et al. A robust, high-throughput assay to determine the phagocytic activity of clinical antibody samples. J. Immunol. Methods 366, 8-19 (2011);およびMcAndrew, E. G. et al. Determining the phagocytic activity of clinical antibody samples. J. Vis. Exp. 3588 (2011). Doi:10.3791/3588に記載されており、これらのそれぞれの全内容は参照により本明細書の一部として援用される。

20

30

【0414】

本明細書に記載のhIg融合タンパク質またはポリペプチドのFc受容体への結合は、Fc-Fc受容体相互作用、すなわちFc領域とFc受容体との特異的結合を決定するために当技術分野で公知の様々なin vitroアッセイ（例えば、生化学または免疫化学に基づくアッセイ）によって決定することができる。一般的なアッセイとしては、平衡法（例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）もしくはラジオイムノアッセイ（RIA））、または速度論的方法（例えば、表面プラズモン共鳴（SPR）分析）、および間接的結合アッセイ、競合的阻害アッセイ、蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）、ゲル電気泳動、およびクロマトグラフィー（例えば、ゲル濾過）などの他の方法が挙げられる。これらの、またその他の方法は、調べる成分の1以上に標識を利用してよく、かつ／または限定されるものではないが発色、蛍光、発光、または同位体標識を含む様々な検出方法を採用してもよい。結合親和性および速度論の詳細な説明は、例えば、Paul, W. E.編, Fundamental Immunology, 第4版, Lippincott-Raven, Philadelphia (1999)に見出すことができ、その全内容は目的を問わず参照により本明細書の一部として援

40

50

用される。

【0415】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）のFc領域は、参照Fc領域（例えば、野生型Fc領域、例えば、配列番号124～131のいずれか1つ）のアミノ酸配列に対して改変されている（例えば、1以上のアミノ酸改変（例えば、1以上のアミノ酸置換、欠失、付加など）を含む）（本明細書では「改変Fc領域」と呼ばれる）。いくつかの実施形態では、1以上のアミノ酸改変（例えば、1以上のアミノ酸置換、欠失、付加など）は、改変（例えば、1以上の改変（例えば、1以上のアミノ酸置換、欠失、付加など））を含まない参照Fcに比べて1以上のFcエフェクター機能を低下または無効にする。

10

【0416】

いくつかの実施形態では、改変Fc領域を含む融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）は、Fc領域改変（例えば、1以上のアミノ酸改変（例えば、1以上のアミノ酸置換、欠失、または付加））を含まない参照融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）に比べてADCCが検出できないか、またはADCCの低下を示す。いくつかの実施形態では、改変Fc領域を含む融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）は、Fc領域改変（例えば、1以上のアミノ酸改変（例えば、1以上のアミノ酸置換、欠失、または付加））を含まない参照融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）に比べてCDCが検出できないか、またはCDCの低下を示す。いくつかの実施形態では、改変Fc領域を含む融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）は、Fc領域改変（例えば、1以上の改変（例えば、1以上のアミノ酸置換、欠失、または付加））を含まない参照融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）に比べてADCPが検出できないか、またはADCPの低下を示す。いくつかの実施形態では、改変Fc領域を含む融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）は、Fc領域改変（例えば、1以上の改変（例えば、1以上のアミノ酸置換、欠失、または付加））を含まない参照融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）に比べて、1以上のヒトFc受容体（例えば、Fcγ受容体（例えば、FcγRI、FcγRIIa、FcγRIIc、FcγRIIIa、および／またはFcγRIIIb（例えば、FcγRI、FcγIIa、および／またはFcγIIIa）））に対する特異的親和性が低いか、または検出できない。いくつかの実施形態では、改変Fc領域を含む融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）は、Fc領域改変（例えば、1以上の改変（例えば、1以上のアミノ酸置換、欠失、または付加））を含まない参照融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）に比べてFcγRI、FcγIIa、および／またはFcγIIIaに対する特異的親和性が低いか、または検出できない。いくつかの実施形態では、改変Fcを含む融合タンパク質（もしくはそのポリペプチド）またはポリペプチドは、Fc改変（例えば、1以上の改変（例えば、1以上のアミノ酸置換、欠失、または付加））を含まない参照融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）に比べてFcγRIに対する特異的親和性が低いか、または検出できない。いくつかの実施形態では、改変Fc領域を含む融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）は、Fc領域改変（例えば、1以上の改変（例えば、1以上のアミノ酸置換、欠失、または付加））を含まない参照融合タンパク質（もしくはそのポリペプチド）またはポリペプチドに比べてFcγIIIaに対する特異的親和性が低いか、または検出できない。いくつかの実施形態では、改変Fc領域を含む融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）は、Fc領域改変（例えば、1以上の改変（例えば、1以上のアミノ酸置換、欠失、または付加））を含まない参照融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）に比べてC1qに対する特異的親和性が低いか、または検出できない。

20

30

40

50

【0417】

いくつかの実施形態では、Fc領域を含む融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）は、ADCCが検出できない。いくつかの実施形態では、Fc領域を含む融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）は、CDCが検出できない。いくつかの実施形態では、Fc領域を含む融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）は、ADCPが検出できない。いくつかの実施形態では、Fc領域を含む融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）は、1以上のヒトFc受容体（例えば、Fcγ受容体（例えば、FcγRI、FcγRIIa、FcγRIIc、FcγRIIIa、および／またはFcγRIIIb（例えば、FcγRI、FcγIIa、および／またはFcγIIIa）））に対する特異的結合親和性が検出できない。いくつかの実施形態では、Fc領域を含む融合タンパク質（もしくはその1以上のポリペプチド）は、FcγRI、FcγIIa、および／または、に対する特異的結合親和性が検出できない。いくつかの実施形態では、Fcを含む融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）は、FcγRIに対する特異的結合親和性が検出できない。いくつかの実施形態では、Fcを含む融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）は、FcγIIaに対する特異的結合親和性が検出できない。いくつかの実施形態では、Fc領域を含む融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）は、FcγIIIaに対する特異的結合親和性が検出できない。いくつかの実施形態では、Fc領域を含む融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）は、C1qに対する特異的結合親和性が検出できない。

10

【0418】

20

1以上のFcエフェクター機能を低下させるまたは無効にするアミノ酸置換は、当技術分野で公知である。例えば、全内容が目的を問わず参照により本明細書の一部として援用されるSaunders Kevin, “Conceptual Approaches to Modulating Antibody Effector Functions and Circulation Half-Life,” *Frontiers in Immunology*, v10 (June 7, 2019) DOI=10.3389/fimmu.2019.01296参照、より詳しくは、例えば、Saundersの表3参照。

【0419】

いくつかの実施形態では、改変Fcは、1以上のアミノ酸改変（例えば、1以上のアミノ酸置換）を含むhIgG1 Fc領域を含む。いくつかの実施形態では、hIgG1 Fc領域は、アミノ酸位置L234、L235、および／またはP329（KabattによるEUN numbering）にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、hIgG1 Fc領域は、以下のアミノ酸置換L234Aおよび／またはL235A（KabattによるEUN numbering）を含む。いくつかの実施形態では、hIgG1 Fc領域は、以下のアミノ酸置換L234A、L235A、およびP329G（KabattによるEUN numbering）を含む。いくつかの実施形態では、hIgG1 Fc領域は、以下のアミノ酸置換L234A、L235A、およびP329A（KabattによるEUN numbering）を含む。

30

【0420】

いくつかの実施形態では、改変Fc領域は、1以上のアミノ酸改変（例えば、1以上のアミノ酸置換）を含むhIgG4 Fc領域を含む。いくつかの実施形態では、hIgG4 Fc領域は、アミノ酸位置S228、F234、および／またはL235（KabattによるEUN numbering）にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、hIgG4 Fc領域は、以下のアミノ酸置換S228P、F234A、および／またはL235A（KabattによるEUN numbering）を含む。いくつかの実施形態では、hIgG4 Fc領域は、以下のアミノ酸置換S228P、F234A、および／またはL235E（KabattによるEUN numbering）を含む。いくつかの実施形態では、hIgG4 Fcは、以下のアミノ酸置換S228Pおよび／またはL235E（KabattによるEUN numbering）を含む。

40

【0421】

2つ以上のエフェクター機能の低下を示すことが当技術分野で公知の例示的改変Fc領

50

域のアミノ酸配列を表 13 に示す。

【 0 4 2 2 】

【 表 1 3 】

表13 代表的な改変Fc領域のアミノ酸配列

説明	アミノ酸配列	配列 番号
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A C末端リジンあり	PCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	147
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A C末端リジンなし	PCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG	148
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A/P329A C末端リジンあり	PCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	149
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A/P329A C末端リジンなし	PCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG	150
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A/P329G C末端リジンあり	PCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	151
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A/P329G	PCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY	152

10

20

30

40

50

C末端リジンなし	KTPPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG	
hlgG1 部分ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTPPVLDSDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	153
C末端リジンあり		
hlgG1 部分ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTPPVLDSDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG	154
C末端リジンなし		
hlgG1 部分ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A/P329A	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTPPVLDSDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	155
C末端リジンあり		
hlgG1 部分ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A/P329A	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTPPVLDSDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG	156
C末端リジンなし		
hlgG1 部分ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A/P329G	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTPPVLDSDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	157
C末端リジンあり		
hlgG1 部分ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A/P329G	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTPPVLDSDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG	158
C末端リジンなし		
hlgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFOSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	159
C末端リジンあり		

10

20

30

40

50

hlgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A C末端リジンなし	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG	160
hlgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A/P329A C末端リジンあり	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	161
hlgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A/P329A C末端リジンなし	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG	162
hlgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A/P329G C末端リジンあり	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	163
hlgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A/P329G C末端リジンなし	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG	164
hlgG4 CH2 領域 + CH3 領域 S228P/F234A/L235A C末端リジンあり	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSLGK	165
hlgG4 CH2 領域 + CH3 領域 S228P/F234A/L235A C末端リジンなし	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSLG	166
hlgG4 部分ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 S228P/F234A/L235A C末端リジンあり	PCPSCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSLGK	167

10

20

30

40

50

hIgG4 部分ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 S228P/F234A/L235A C末端リジンなし	PCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLGLG	168	
hIgG4 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 S228P/F234A/L235A C末端リジンあり	ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK	169	10
hIgG4 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 S228P/F234A/L235A C末端リジンなし	ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG	170	
hIgG4 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 (改変) S228P/F234A/L235A C末端リジンあり	AESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK	171	20
hIgG4 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 (改変) S228P/F234A/L235A C末端リジンなし	AESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG	172	30

【 0 4 2 3 】

いくつかの実施形態では、h I g G 1 F c 領域のアミノ酸配列は、位置 L 2 3 4 のアミノ酸アラニンおよび／または位置 L 2 3 5 のアミノ酸アラニン（K a b a t による E U ナンバリング）を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、h I g G 1 F c 領域のアミノ酸配列は、位置 L 2 3 4 のアミノ酸アラニンおよび位置 L 2 3 5 のアミノ酸アラニン（K a b a t による E U ナンバリング）を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、h I g G 1 F c 領域のアミノ酸配列は、位置 P 3 2 9 のアミノ酸アラニンまたはグリシン（K a b a t による E U ナンバリング）を含む、またはそれからなる。

【 0 4 2 4 】

いくつかの実施形態では、h I g G 1 F c 領域のアミノ酸配列は、位置 L 2 3 4 のアミノ酸アラニン；位置 L 2 3 5 のアミノ酸アラニン；および位置 P 3 2 9 のアミノ酸アラニンまたはグリシン（K a b a t による E U ナンバリング）を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、h I g G 1 F c 領域のアミノ酸配列は、位置 L 2 3 4 のアミノ酸アラニン；位置 L 2 3 5 のアミノ酸アラニン；および位置 P 3 2 9 のアミノ酸アラニン（K a b a t による E U ナンバリング）を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、h I g G 1 F c 領域のアミノ酸配列は、位置 L 2 3 4 のアミノ酸アラニン；位置 L 2 3 5 のアミノ酸アラニン；および位置 P 3 2 9 のアミノ酸グリシン（K a b a

10

20

30

40

50

tによるE Uナンバリング)を含む、またはそれからなる。

【0425】

いくつかの実施形態では、h I g G 1 F c領域のアミノ酸配列は、位置L 2 3 4のアミノ酸アラニン、位置L 2 3 5のアミノ酸アラニン、および／または位置P 3 2 9のアミノ酸アラニンもしくはグリシン(K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、またはそれからなり；かつ表13に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、h I g G 1 F c領域のアミノ酸配列は、位置L 2 3 4のアミノ酸アラニンおよび／または位置L 2 3 5のアミノ酸アラニン(K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、またはそれからなり；かつ表13に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、h I g G 1 F c領域のアミノ酸配列は、位置L 2 3 4のアミノ酸アラニンおよび位置L 2 3 5のアミノ酸アラニン(K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、またはそれからなり；かつ表13に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、h I g G 1 F c領域のアミノ酸配列は、位置L 2 3 4のアミノ酸アラニン、位置L 2 3 5のアミノ酸アラニン、および位置P 3 2 9のアミノ酸アラニンまたはグリシン(K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、またはそれからなり；かつ表13に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、h I g G 1 F c領域のアミノ酸配列は、位置L 2 3 4のアミノ酸アラニン、位置L 2 3 5のアミノ酸アラニン、および位置P 3 2 9のアミノ酸グリシン(K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、またはそれからなり；かつ表13に示されるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む。

【0426】

いくつかの実施形態では、h I g G 1 F c領域のアミノ酸配列は、位置L 2 3 4のアミノ酸アラニン、位置L 2 3 5のアミノ酸アラニン、および／または位置P 3 2 9のアミノ酸アラニンもしくはグリシン(K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、またはそれからなり；かつ配列番号147~163のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、h I g G 1 F c領域のアミノ酸配列は、位置L 2 3 4のアミノ酸アラニンおよび／または位置L 2 3 5のアミノ酸アラニン(K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、またはそれからなり；かつ配列番号147~163のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、h I g G 1 F c領域のアミノ酸配列は、位置L 2 3 4のアミノ酸アラニンおよび位置L 2 3 5のアミノ酸アラニン

(K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、またはそれからなり；かつ配列番号1 4 7～1 6 3のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または1 0 0 %同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、h I g G 1 F c領域のアミノ酸配列は、位置L 2 3 4のアミノ酸アラニン、位置L 2 3 5のアミノ酸アラニン、および位置P 3 2 9のアミノ酸アラニンまたはグリシン (K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、またはそれからなり；かつ配列番号1 4 7～1 6 3のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または1 0 0 %同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、h I g G 1 F c領域のアミノ酸配列は、位置L 2 3 4のアミノ酸アラニン、位置L 2 3 5のアミノ酸アラニン、および位置P 3 2 9のアミノ酸アラニン (K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、またはそれからなり；かつ配列番号1 4 7～1 6 3のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または1 0 0 %同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、h I g G 1 F c領域のアミノ酸配列は、位置L 2 3 4のアミノ酸アラニン、位置L 2 3 5のアミノ酸アラニン、および位置P 3 2 9のアミノ酸グリシン (K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、またはそれからなり；かつ配列番号1 4 7～1 6 3のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または1 0 0 %同一であるアミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【0 4 2 7】

5 . 3 . 2 . 2 ヘテロ二量体形成の促進

本明細書に記載されるように、いくつかの実施形態では、融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）は、第1のF c領域および第2のF c領域を含む。本明細書に記載されるように、いくつかの実施形態では、異種部分は、第1のF c領域および第2のF c領域を含む。いくつかの実施形態では、第1のI g F c領域および第2のI g F c領域はそれぞれ、ヘテロ二量体形成を促進するために互いに対して1以上のアミノ酸改変を含む。I g（例えば、I g G）から誘導されるヘテロ二量体形式は、当技術分野で公知の方法、例えば、強制的重鎖ヘテロ二量体形成によって作出され得る強制的重鎖ヘテロ二量体形成は、当技術分野で公知の方法、例えば、ノブ・イン・ホール(knob-in-hole)、または鎖交換操作ドメイン(strand exchange engineered domains) (S E E D)を用いて得ることができる、例えば、全内容が目的を問わず参照により本明細書の一部として援用されるJi-Hee et al., "Immunoglobulin Fc Heterodimer Platform Technology: From Design to Applications in Therapeutic Antibodies and Proteins" *Frontiers in Immunology*, v7(article 394) (2016) DOI=10.3389/fimmu.2016.00394 (hereinafter "Ji-Hee 2016")参照。

【0 4 2 8】

いくつかの実施形態では、第1のI g F c領域と第2のI g F c領域の界面は、例えば、非改変界面、例えば、天然界面と比較して、ヘテロ二量体形成を増大させるように、例えば、アミノ酸置換の導入などで改変される。例えば、第1のI g F c領域と第2のI g F c領域の二量体形成は、例えば、非改変界面と比較して、ホモ多量体に対するヘテロ多量体の比が大きくなるように、第1のF c領域と第2のF c領域のI g F c界面に、対をなす凸-凹（「ノブ・イン・ホール」）、静電相互作用、または鎖交換のうちの1以上を提供することにより増強され得る。

【0 4 2 9】

ノブ・イン・ホールアミノ酸対合改変は当技術分野で公知であり、例えば、U S 5 7 3 1 1 1 6 ; U S 7 4 7 6 7 2 4 ; Ji-Hee 2016; and Ridgway, J. "'Knobs-into-holes' engineering of antibody CH3 domains for heavy chain heterodimerization" et al. *Prot. Engineering* 9(7): 617-621 (1996)に記載されており、こ

これらのそれぞれの全内容は参照により本明細書の一部として援用される。一般に、ノブ・イン・ホールは、1) ヘテロ二量体形成を促進するために、第1および第2の対象 Ig Fc 領域の一方または両方の CH3 ドメインに1以上のアミノ酸置換を導入すること；および2) ヘテロ二量体形成を促進する条件下で改変 Ig Fc 領域を組み合わせることを含む。「ノブ」は一般に、親 Ig Fc 領域内の小さなアミノ酸をより大きなアミノ酸で置換すること（例えば、T366YまたはT366W）によって作出され；「ホール」は、親 Ig Fc 領域内のより大きな残基をより小さなアミノ酸で置換すること（例えば、Y407T、T366S、L368A、またはY407V）によって作出される。例示的なノブ・イン・ホール変異には、「ノブ」Ig Fc 領域におけるS354C、T366W、および「ホール」Ig Fc 領域におけるY349C、T366S、L368A、Y407Vが含まれる。任意の1以上の実施形態に組み込むことができる他の例示的なノブ・イン・ホール変異としては、さらなる例示的な任意の安定化 Ig Fc システイン変異とともに表14に示される。

10

【0430】

【表14】

表14 代表的なノブ・イン・ホール改変と安定化システイン改変

アミノ酸の位置 (Kabat による EU ナンバリング)	ノブ Ig Fc アミノ酸置換	ホール Ig Fc アミノ酸置換
ノブ・イン・ホールアミノ酸改変		
T366	T366W	T366S
L368	-	L368A
Y407	-	Y407V
安定化システインアミノ酸置換		
S354	S354C	-
Y349	-	Y349C

20

【0431】

ヘテロ二量体形成を促進することが当技術分野で公知の例示的 Fc 領域のアミノ酸配列を表15に示す。

30

【0432】

40

50

【表 15】

表15 改変 ヘテロ二量体Fc領域の代表的な対のアミノ酸配列

説明	アミノ酸配列	配列番号
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W C末端リジンあり	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	173
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W C末端リジンなし	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG	174
hIgG1 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W C末端リジンあり	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	175

10

20

30

40

50

hIgG1 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W C末端リジンなし	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG	176
hIgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W C末端リジンあり	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	177
hIgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W C末端リジンなし	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG	178
hIgG1 CH1+ ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W C末端リジンあり	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	179
hIgG1 CH1 + ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W C末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	180
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C C末端リジンあり	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRD ELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	181
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRD ELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG	182

10

20

30

40

50

C末端リジンなし		
hIgG1 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C C末端リジンあり	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP CRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	183
hIgG1 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C C末端リジンなし	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP CRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG	184
hIgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C C末端リジンあり	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	185
hIgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C C末端リジンなし	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG	186
hIgG1 CH1+ ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C C末端リジンあり	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	187
hIgG1 CH1 + ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C C末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	188
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD	189

10

20

30

40

ホール T366S/L368A/Y407V C末端リジンあり	ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	
hlgG1 CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V C末端リジンなし	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG	190
hlgG1 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V C末端リジンあり	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	191
hlgG1 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V C末端リジンなし	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG	192
hlgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V C末端リジンあり	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	193
hlgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V C末端リジンなし	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG	194
hlgG1 CH1+ ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK	195

10

20

30

40

50

ホール T366S/L368A/Y407V C末端リジンあり	PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
hIgG1 CH1 + ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V C末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNS GALTSGLVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	196
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C C末端リジンあり	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	197
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C C末端リジンなし	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG	198
hIgG1 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C C末端リジンあり	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPP SRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	199
hIgG1 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C C末端リジンなし	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPP SRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG	200

10

20

30

40

50

hIgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C C末端リジンあり	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	201
hIgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C C末端リジンなし	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG	202
hIgG1 CH1+ ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C C末端リジンあり	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVCTLPSPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	203
hIgG1 CH1 + ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C C末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVCTLPSPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	204

10

20

30

【0433】

本明細書に記載されるように、いくつかの実施形態では、融合タンパク質（またはその1以上のポリペプチド）は、第1のFc領域および第2のFc領域を含む。

【0434】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、アミノ酸置換T366W KabatによるEUナンバリング）を含み；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、以下のアミノ酸置換：T366S、L368A、およびY407V（KabatによるEUナンバリング）のそれぞれを含み；それぞれ例示的参照Fc領域（例えば、表12に示される参照Fc領域）のアミノ酸配列に対するものである。いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列(the amino acid sequence of the first h)は、アミノ酸置換S354C（KabatによるEUナンバリング）をさらに含み；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、アミノ酸置換Y349C（KabatによるEUナンバリング）を含み；それぞれ例示的参照Fc領域（例えば、表12に示される参照Fc領域）のアミノ酸配列に対するものである。

40

50

【0435】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、以下のアミノ酸置換：T366WおよびS354C（KabataによるEUNanバリング）のそれぞれを含み；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、以下のアミノ酸置換：T366S、L368A、Y407V、およびY349C（KabataによるEUNanバリング）のそれぞれを含み；それぞれ例示的参照Fc領域（例えば、表12に示される参照Fc領域）のアミノ酸配列に対するものである。

【0436】

いくつかの実施形態では、第2のFc領域のアミノ酸配列は、アミノ酸置換T366W（KabataによるEUNanバリング）を含み；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、以下のアミノ酸置換：T366S、L368A、およびY407V（KabataによるEUNanバリング）のそれぞれを含み；それぞれ例示的参照Fc領域（例えば、表12に示される参照Fc領域）のアミノ酸配列に対するものである。いくつかの実施形態では、第2のFc領域のアミノ酸配列は、アミノ酸置換S354C（KabataによるEUNanバリング）をさらに含み；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、アミノ酸置換Y349C（KabataによるEUNanバリング）を含み；それぞれ例示的参照Fc領域（例えば、表12に示される参照Fc領域）のアミノ酸配列に対するものである。

【0437】

いくつかの実施形態では、第2のFc領域のアミノ酸配列は、以下のアミノ酸置換：T366WおよびS354C（KabataによるEUNanバリング）のそれぞれを含み；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、以下のアミノ酸置換：T366S、L368A、Y407V、およびY349C（KabataによるEUNanバリング）のそれぞれを含み；それぞれ例示的参照Fc領域（例えば、表12に示される参照Fc領域）のアミノ酸配列に対するものである。

【0438】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン（KabataによるEUNanバリング）を含み；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、および位置Y407にアミノ酸バリン（KabataによるEUNanバリング）を含む。

【0439】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファンおよび位置S354にアミノ酸システイン（KabataによるEUNanバリング）を含み；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、位置Y407にアミノ酸バリン、および位置Y349にアミノ酸システイン（KabataによるEUNanバリング）を含む。

【0440】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366（KabataによるEUNanバリング）にアミノ酸トリプトファンを含み、かつ配列番号173～180のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、および位置Y407にアミノ酸バリン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号189～196のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

【0441】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファンおよび位置S354にアミノ酸システイン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号182～188のいずれか1つに示されるアミノ酸と少な

くとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり；かつ第 2 の F c 領域のアミノ酸配列は、位置 T 3 6 6 にアミノ酸セリン、位置 L 3 6 8 にアミノ酸アラニン、位置 Y 4 0 7 にアミノ酸バリン、および位置 Y 3 4 9 にアミノ酸システイン（K a b a t による E U ナンバリング）を含み、かつ配列番号 1 9 7 ~ 2 0 4 . のいずれか 1 つに示されるアミノ酸と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。

【0442】

いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域のアミノ酸配列は、位置 T 3 6 6（K a b a t による E U ナンバリング）にアミノ酸トリプトファンを含み、かつ配列番号 1 7 3 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり；かつ第 2 の F c 領域のアミノ酸配列は、位置 T 3 6 6 にアミノ酸セリン、位置 L 3 6 8 にアミノ酸アラニン、および位置 Y 4 0 7 にアミノ酸バリン（K a b a t による E U ナンバリング）を含み、かつ配列番号 1 8 9 に示されるアミノ酸と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。

【0443】

いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域のアミノ酸配列は、位置 T 3 6 6（K a b a t による E U ナンバリング）にアミノ酸トリプトファンを含み、かつ配列番号 1 7 4 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり；かつ第 2 の F c 領域のアミノ酸配列は、位置 T 3 6 6 にアミノ酸セリン、位置 L 3 6 8 にアミノ酸アラニン、および位置 Y 4 0 7 にアミノ酸バリン（K a b a t による E U ナンバリング）を含み、かつ配列番号 1 9 0 に示されるアミノ酸と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。

【0444】

いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域のアミノ酸配列は、位置 T 3 6 6（K a b a t による E U ナンバリング）にアミノ酸トリプトファンを含み、かつ配列番号 1 7 5 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり；かつ第 2 の F c 領域のアミノ酸配列は、位置 T 3 6 6 にアミノ酸セリン、位置 L 3 6 8 にアミノ酸アラニン、および位置 Y 4 0 7 にアミノ酸バリン（K a b a t による E U ナンバリング）を含み、かつ配列番号 1 9 1 に示されるアミノ酸と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。

【0445】

いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域のアミノ酸配列は、位置 T 3 6 6（K a b a t による E U ナンバリング）に W アミノ酸を含み、かつ配列番号 1 7 6 に示されるアミノ酸配列と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり；かつ第 2 の F c 領域のアミノ酸配列は、位置 T 3 6 6 のアミノ酸セリン、位置 L 3 6 8 のアミノ酸アラニン、および位置 Y 4 0 7 のアミノ酸バリン（K a b a t による E U ナンバリング）を含み、配列番号 1 9 2 に示されるアミノ酸と少なくとも 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である。

【0446】

いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域のアミノ酸配列は、位置 T 3 6 6（K a b a

10

20

30

40

50

tによるE Uナンバリング) にアミノ酸トリプトファンを含み、かつ配列番号177に示されるアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、および位置Y407にアミノ酸バリン(K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、配列番号193に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

【0447】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン(K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、配列番号178に示されるアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、および位置Y407にアミノ酸バリン(K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、配列番号194に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

【0448】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン(K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、かつ配列番号179に示されるアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、および位置Y407にアミノ酸バリン(K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、かつ配列番号195に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

【0449】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン(K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、かつ配列番号180に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、および位置Y407にアミノ酸バリン(K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、かつ配列番号196に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

【0450】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファンおよび位置S354にアミノ酸システイン(K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、かつ配列番号181に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、位置Y407にアミノ酸バリン、および位置Y349にアミノ酸システイン(K a b a tによるE Uナンバリング)を含み、かつ配列番号197に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

【0451】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファンおよび位置S354にアミノ酸システイン（KabatatによるEUナンバリング）を含み、かつ配列番号182に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、位置Y407にアミノ酸バリン、および位置Y349にアミノ酸システイン（KabatatによるEUナンバリング）を含み、かつ配列番号198に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

10

【0452】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファンおよび位置S354にアミノ酸システイン（KabatatによるEUナンバリング）を含み、かつ配列番号183に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、位置Y407にアミノ酸バリン、および位置Y349にアミノ酸システイン（KabatatによるEUナンバリング）を含み、かつ配列番号199に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

20

【0453】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファンおよび位置S354にアミノ酸システイン（KabatatによるEUナンバリング）を含み、かつ配列番号184に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、位置Y407にアミノ酸バリン、および位置Y349にアミノ酸システイン（KabatatによるEUナンバリング）を含み、かつ配列番号200に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

30

【0454】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファンおよび位置S354にアミノ酸システイン（KabatatによるEUナンバリング）を含み、かつ配列番号185に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、位置Y407にアミノ酸バリン、および位置Y349にアミノ酸システイン（KabatatによるEUナンバリング）を含み、かつ配列番号201に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

40

【0455】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファンおよび位置S354にアミノ酸システイン（KabatatによるEUナンバリング）を含み、かつ配列番号186に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、位置Y407

50

にアミノ酸バリン、および位置 Y 3 4 9 にアミノ酸システイン（K a b a t による E U ナンバリング）を含み、かつ配列番号 2 0 2 に示されるアミノ酸と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % 同一である。

【0456】

いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域のアミノ酸配列は、位置 T 3 6 6 にアミノ酸トリプトファンおよび位置 S 3 5 4 にアミノ酸システイン（K a b a t による E U ナンバリング）を含み、かつ配列番号 1 8 7 に示されるアミノ酸と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % 同一であり；かつ第 2 の F c 領域のアミノ酸配列は、位置 T 3 6 6 にアミノ酸セリン、位置 L 3 6 8 にアミノ酸アラニン、位置 Y 4 0 7 にアミノ酸バリン、および位置 Y 3 4 9 にアミノ酸システイン（K a b a t による E U ナンバリング）を含みかつ配列番号 2 0 3 に示されるアミノ酸と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % 同一である。

【0457】

いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域のアミノ酸配列は、位置 T 3 6 6 のアミノ酸トリプトファンおよび位置 S 3 5 4 のアミノ酸システイン（K a b a t による E U ナンバリング）を含み、かつ配列番号 1 8 8 に示されるアミノ酸と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % 同一であり；かつ第 2 の F c 領域のアミノ酸配列は、位置 T 3 6 6 にアミノ酸セリン、位置 L 3 6 8 にアミノ酸アラニン、位置 Y 4 0 7 にアミノ酸バリン、および位置 Y 3 4 9 にアミノ酸システイン（K a b a t による E U ナンバリング）を含み、かつ配列番号 2 0 4 に示されるアミノ酸と少なくとも 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % 同一である。

【0458】

5. 3. 2. 3 例示的改変 F c 領域

本明細書に記載されるように、いくつかの実施形態では、融合タンパク質（またはその 1 以上のポリペプチド）は、第 1 の F c 領域および第 2 の F c 領域を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域および第 2 の F c 領域はそれぞれ、本明細書に記載の複数のアミノ酸改変、例えば、1 以上の F c エフェクター機能（例えば、抗体依存性細胞傷害性（A D C C）、抗体依存性細胞貪食（A D C P）、補体依存性細胞傷害性（C D C）、および 1 以上のヒト F c 受容体（例えば、F c γ 受容体（例えば、F c γ R I、F c γ R I I a、F c γ R I I c、F c γ R I I I a、および／または F c γ R I I I b（例えば、F c γ R I、F c γ I I a、および／または F c γ I I I a）））に対する結合親和性を低下させる、または無効にする 1 以上のアミノ酸改変（例えば、節 5. 3. 2. 1 参照）；ならびに第 1 の F c 領域と第 2 の F c 領域のヘテロ二量体形成を促進する 1 以上のアミノ酸改変（例えば、節 5. 3. 2. 2 参照）を含む。

【0459】

いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域および第 2 の F c 領域はそれぞれ、1 以上の F c エフェクター機能（例えば、抗体依存性細胞傷害性（A D C C）、抗体依存性細胞貪食（A D C P）、補体依存性細胞傷害性（C D C）、および 1 以上のヒト F c 受容体（例えば、F c γ 受容体（例えば、F c γ R I、F c γ R I I a、F c γ R I I c、F c γ R I I I a、および／または F c γ R I I I b（例えば、F c γ R I、F c γ I I a、および／または F c γ I I I a）））に対する結合親和性を低下させる、または無効にする 1 以上のアミノ酸改変（例えば、節 5. 3. 2. 1 参照）；ならびに第 1 の F c 領域と第 2 の F c 領域のヘテロ二量体形成を促進する 1 以上のアミノ酸改変（例えば、節 5. 3. 2. 2 参照）を含む。

【0460】

例示的改変Fc領域のアミノ酸配列を表16に示す。
【0461】

【表16】

表16 代表的な改変Fc領域のアミノ酸配列

説明	アミノ酸配列	配列 番号
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C L234A/L235A/P329A C末端リジンあり	PCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRD ELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	205
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域	PCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRD	206

10

20

30

40

50

ノブ T366W/S354C L234A/L235A/P329A C末端リジンなし	ELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLS LSPG	
hIgG1 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C L234A/L235A/P329A C末端リジンあり	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP CRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	207
hIgG1 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C L234A/L235A/P329A C末端リジンなし	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP CRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQK SLSLSPG	208
hIgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C L234A/L235A/P329A C末端リジンあり	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	209
hIgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C L234A/L235A/P329A C末端リジンなし	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG	210
hIgG1 CH1+ ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C L234A/L235A/P329A C末端リジンあり	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	211
hIgG1 CH1 + ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK	212

10

20

30

40

50

ノブ T366W/S354C L234A/L235A/P329A C末端リジンなし	PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG	
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A C末端リジンあり	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLS LSPGK	213
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A C末端リジンなし	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLS LSPG	214
hIgG1 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A C末端リジンあり	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPP SRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQK SLSLSPGK	215
hIgG1 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A C末端リジンなし	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPP SRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQK SLSLSPG	216
hIgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP	217

10

20

30

40

50

ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A C末端リジンあり	ENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	
hIgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A C末端リジンなし	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPSPSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG	218
hIgG1 CH1+ ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A C末端リジンあり	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPI EKTISKAKGQPREPQVCTLPSPSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	219
hIgG1 CH1 + ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A/P329A ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A C末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPI EKTISKAKGQPREPQVCTLPSPSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	220
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C L234A/L235A/P329A C末端リジンあり	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRD ELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVL SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	221
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRD ELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVL	222

10

20

30

40

50

L234A/L235A/P329A C末端リジンなし	SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG	
hIgG1 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C L234A/L235A/P329A C末端リジンあり	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP CRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSOGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	223
hIgG1 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C L234A/L235A/P329A C末端リジンなし	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP CRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSOGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG	224
hIgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C L234A/L235A/P329A C末端リジンあり	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	225
hIgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C L234A/L235A/P329A C末端リジンなし	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG	226
hIgG1 CH1+ ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ノブ T366W/S354C L234A/L235A/P329A C末端リジンあり	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSOSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	227
hIgG1 CH1 + ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT	228

10

20

30

40

50

ノブ T366W/S354C L234A/L235A/P329A C末端リジンなし	KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSLKLTVDKSRWQ QGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG	
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A C末端リジンあり	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFFLVSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLS LSPGK	229
hIgG1 CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A C末端リジンなし	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFFLVSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLS LSPG	230
hIgG1 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A C末端リジンあり	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPP SRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFFLVSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQK SLSLSPGK	231
hIgG1 部分ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A C末端リジンなし	TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPP SRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFFLVSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQK SLSLSPG	232
hIgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFFLVSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVME ALHNHYTQKSLSLSPGK	233

10

20

30

40

50

ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A		
C末端リジンあり		
hIgG1 ヒンジ領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A C末端リジンなし	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPSPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG	234
hIgG1 CH1+ ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A C末端リジンあり	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPI EKTISKAKGQPREPQVCTLPSPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	235
hIgG1 CH1 + ヒンジ 領域 + CH2 領域 + CH3 領域 L234A/L235A/P329A ホール T366S/L368A/Y407V/Y 349C L234A/L235A/P329A C末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPI EKTISKAKGQPREPQVCTLPSPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	236

10

20

30

40

50

【 0 4 6 2 】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸残基トリプトファン、位置S354にアミノ酸残基システイン、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン（KabattによるEUNアンバリング）を含み、かつ配列番号205～212のいずれか1つに示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、および位置Y407にアミノ酸バリン、位置Y349にアミノ酸残基システイン、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン（KabattによるEUNアンバリング）を含み、かつ配列番号213～220のいずれか1つに示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91

%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

【0463】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン、位置S354にシステインアミノ酸残基、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号221～228のいずれか1つに示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、位置Y407にアミノ酸バリン、および位置Y349にアミノ酸システイン、位置Y349にアミノ酸残基システイン、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン（KabataによるEUNanバリング）を含み、配列番号229～236のいずれか1つに示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

10

【0464】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン、位置S354にシステインアミノ酸残基、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号205に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、および位置Y407にアミノ酸バリン、位置Y349にアミノ酸残基システイン、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号213に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

20

30

【0465】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン、位置S354にシステインアミノ酸残基、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号206に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、および位置Y407にアミノ酸バリン、位置Y349にアミノ酸残基システイン、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号214に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

40

【0466】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン、位置S354にシステインアミノ酸残基、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号207に示されるア

50

ミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、および位置Y407にアミノ酸バリン、位置Y349にアミノ酸残基システイン、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号215に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

【0467】

10

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン、位置S354にシステインアミノ酸残基、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号208に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置Y349にアミノ酸残基システイン、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン、位置L368にアミノ酸アラニン、および位置Y407にアミノ酸バリン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号216に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

20

【0468】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン、位置S354にシステインアミノ酸残基、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号209に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、および位置Y407にアミノ酸バリン、位置Y349にアミノ酸残基システイン、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号217に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

30

【0469】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン、位置S354にシステインアミノ酸残基、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号210に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、および位置Y407にアミノ酸バリン、位置Y349にアミノ酸残基システイン、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号218に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97

40

50

%、98%、99%、または100%同一である。

【0470】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン、位置S354にシステインアミノ酸残基、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号211に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、および位置Y407にアミノ酸バリン、位置Y349にアミノ酸残基システイン、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号219に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

10

【0471】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン、位置S354にシステインアミノ酸残基、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号212に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、および位置Y407にアミノ酸バリン、位置Y349にアミノ酸残基システイン、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基アラニン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号220に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

20

【0472】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン、位置S354にシステインアミノ酸残基、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸グリシン残基（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号221に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、位置Y349にアミノ酸残基システイン、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基グリシン、位置Y407にアミノ酸バリン、および位置Y349にアミノ酸システイン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号229に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

30

40

【0473】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン、位置S354にシステインアミノ酸残基、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基グリシン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号222に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であ

50

り；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、位置Y407にアミノ酸バリン、位置Y349にアミノ酸残基システイン、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基グリシン、および位置Y349にアミノ酸システイン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号230に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

【0474】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン、位置S354にシステインアミノ酸残基、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基グリシン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号223に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、位置Y407にアミノ酸バリン、位置Y349にアミノ酸残基システイン、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基グリシン、および位置Y349にアミノ酸システイン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号231に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

【0475】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン、位置S354にシステインアミノ酸残基、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸グリシン残基（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号224に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、位置Y407にアミノ酸バリン、および位置Y349にアミノ酸システイン、位置Y349にアミノ酸残基システイン、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基グリシン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号232に示されるアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

【0476】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン、位置S354にシステインアミノ酸残基、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基グリシン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号225に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、位置Y407にアミノ酸バリン、および位置Y349にアミノ酸システイン、位置Y349にアミノ酸残基システイン、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基グリシン（KabataによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号233に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

【0477】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン、位置S354にシステインアミノ酸残基、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基グリシン（KabattによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号226に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、位置Y407にアミノ酸バリン、および位置Y349にアミノ酸システイン、位置Y349にアミノ酸残基システイン、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基グリシン残基（KabattによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号234に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

10

【0478】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン、位置S354にシステインアミノ酸残基、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基グリシン（KabattによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号227に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、位置Y407にアミノ酸バリン、および位置Y349にアミノ酸システイン、位置Y349にアミノ酸残基システイン、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基G（KabattによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号235に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

20

【0479】

いくつかの実施形態では、第1のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸トリプトファン、位置S354にシステインアミノ酸残基、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基グリシン（KabattによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号228に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつ第2のFc領域のアミノ酸配列は、位置T366にアミノ酸セリン、位置L368にアミノ酸アラニン、位置Y407にアミノ酸バリン、および位置Y349にアミノ酸システイン、位置Y349にアミノ酸残基システイン、位置L234にアミノ酸残基アラニン、位置L235にアミノ酸残基アラニン、および位置P329にアミノ酸残基グリシン（KabattによるEUNanバリング）を含み、かつ配列番号236に示されるアミノ酸と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

30

40

【0480】

5.3.3 抗体融合タンパク質

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、抗体（またはその抗原結合ドメイン）（例えば、全長抗体）を含む。融合タンパク質の抗体成分は、hIL-12タンパク質またはポリペプチドを、例えば、特定の細胞表面タンパク質を発現する特定の細胞種にさらに標的化する働きをし得る。例示的抗体としては、限定されるものではないが、全長抗体（またはその抗原結合ドメイン）、scFv、(scFv)₂、Fab、シングルドメイン抗体（例えば、VHH）、scFv-Fc、Fab-Fc、シングルドメイン抗体-Fc

50

(例えば、VHH-Fc)、二重親和性再標的化抗体(DART)、ミニボディ、およびダイアボディが挙げられる。

【0481】

抗体は、本明細書の例えば節5.3.2に記載される任意のIg領域を含み得る。いくつかの実施形態では、抗体は、節5.3.2に記載の1以上のIg領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、節5.3.2に記載の1以上のFc領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、節5.3.2に記載の1以上のIg領域を含む全長抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、節5.3.2に記載の1以上のFc領域を含む全長抗体である。

【0482】

いくつかの実施形態では、抗体(またはその抗原結合ドメイン)は、ヒト腫瘍関連抗原(hTAA)に特異的に結合する。例示的ヒト腫瘍関連抗原としては、限定されるものではないが、炭酸脱水酵素IX(CAIX)、線維芽細胞活性化タンパク質(FAP)、メソテリン(MSLN)、テネイシン-CのA1ドメイン(TNC A1)、テネイシン-CのA2ドメイン(TNC A2)、フィブロネクチンのエクストラドメインB(EDB)、黒色腫関連コンドロイチン硫酸プロテオグリカン(MCSP)、MART-1/Melan-A、gp100、ジペプチジルペプチダーゼIV(DPP IV)、アデノシンデアミナーゼ結合タンパク質(ADAbp)、シクロフィリンb、大腸関連抗原(CRC)-C017-1A/GA733、癌胎児性抗原(CEA)、ETV6、AML1、前立腺特異的抗原(PSA)、前立腺特異的膜抗原(PSMA)、MAGEファミリーの腫瘍抗原(例えば、MAGE-A1、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A5、MAGE-A6、MAGE-A7、MAGE-A8、MAGE-A9、MAGE-A10、MAGE-A11、MAGE-A12、MAGE-Xp2(MAGE-B2)、MAGE-Xp3(MAGE-B3)、MAGE-Xp4(MAGE-B4)、MAGE-C1、MAGE-C2、MAGE-C3、MAGE-C4、MAGE-C5)、GAGEファミリーの腫瘍抗原(例えば、GAGE-1、GAGE-2、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE-7、GAGE-8、GAGE-9)、BAGE、RAGE、LAGE-1、NAG、GnT-V、MUM-1、CDK4、チロシナーゼ、p53、MUCファミリー、p21ras、RCAS1、 α -フェトタンパク質、E-カドヘリン、 α -カテニン、 β -カテニンおよび γ -カテニン、p120ctn、gp100 Pmel117、PRAME、NY-ESO-1、cdc27、腺腫様多発結腸ポリープタンパク質(APC)、フォドリン、コネキシン37、Igイデオタイプ、p15、gp75、GM2およびGD2ガングリオシド、ヒトパピローマウイルスタンパク質などのウイルス産物、Smadファミリーの腫瘍抗原、Imp-1、P1A、EBVコード核抗原(EBNA)-1、脳グリコーゲンホスホリラーゼ、SSX-1、SSX-2(HOM-MEL-40)、SSX-1、SSX-4、SSX-5、SCP-1およびCT-7、c-erbB-2、Her2、EGFR、IGF-1R、CD23、CD30、CD33、CD40、IL-6R、MCSP、PDGFR β R、EpCAM、EGFR変異体III、CD19、ジシアロガングリオシドGD2、導管上皮ムチン、gp36、TAG-72、神経膠腫関連抗原、 β -ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン、 α -フェトタンパク質(AFP)、レクチン反応性AFP、チログロブリン、MN-CAIX、ヒトテロメラゼ逆転写酵素、RU1、RU2、腸管カルボキシエステラーゼ、mut hsp70-2、M-CSF、LAGA-1a、p53、プロステイン、前立腺癌腫瘍抗原-1(PCTA-1)、ELF2M、好中球エラスターゼ、エフリンB2、インスリン増殖因子(IGF1)-I、IGF-II、IGFI受容体、5T4、ROR1、Nkp30、NKG2D、膜貫通4ドメインA1(MS4A1; CD20); CD22(SIGLEC2); CD27(TNFRSF7); TNFRSF8(CD30); CD33(SIGLEC3); CD37; CD38; CD40(TNFRSF5)、CD44; CD47; CD48(SLAMF2); CD52; CD70(TNFSF7; CD27L); 5'-ヌクレオチダーゼエクト(NT5E; CD73)、エクトヌクレオシド三リン酸ジホ

10

20

30

40

50

スホヒドロラーゼ1 (CD39)、CD74; CD79B; CD80; CD86; インターロイキン3受容体サブユニットα (IL3RA)、プロミン1 (PROM1; CD133); TNFRSF9 (CD137); シンデカン1 (SDC1; CD138); CD200分子 (CD200); αフェトタンパク質 (AFP)、BAGコシャペロン6 (BAG6); MET癌原遺伝子、受容体チロシンキナーゼ (MET); KIT癌原遺伝子、受容体チロシンキナーゼ (KIT); C型レクチンドメインファミリー12メンバーA (CLEC12A; CD371); C型レクチンドメイン含有9A (CLEC9A; CD370); カドヘリン3 (CDH3); 炭酸脱水酵素6 (CA6); 炭酸脱水酵素9 (CA9); 癌胎児性抗原関連細胞接着分子3 (CEACAM3); 癌胎児性抗原関連細胞接着分子5 (CEACAM5); 癌胎児性抗原関連細胞接着分子6 (CEACAM6); 絨毛性ソマトマンモトロピンホルモン1 (CSH1); 血液凝固因子III、組織因子 (F3); コレクチンサブファミリーメンバー10 (COLEC10; CLL1); デルタ様カノニカルNotchリガンド3 (DLL3); エクトヌクレオチドピロホスファターゼ/ホスホジエステラーゼ3 (ENPP3); エフリンA1 (EFNA1); 上皮細胞増殖因子受容体 (EGFR; ERBB; HER1); EGFR変異体III (EGFRvIII); EPH受容体A2 (EPHA2); 上皮細胞接着分子 (EPCAM); erb-b2受容体チロシンキナーゼ2 (ERBB2; HER-2/neu); 線維芽細胞増殖因子受容体2 (FGFR2); 線維芽細胞増殖因子受容体3 (FGFR3); 葉酸ヒドロラーゼ1 (FOLH1); 葉酸受容体1 (FOLR1); GD2ガングリオシド; 糖タンパク質NMB (GPNMB; オステオアクチビン); グアニル酸シクラーゼ2C (GUCY2C); ヒト乳頭腫ウイルス (HPV) E6; HPV E7; 主要組織適合性遺伝子複合体 (MHC) クラスI提示ネオアンチゲン、主要組織適合性遺伝子複合体 (MHC) クラスI提示ネオアンチゲン、主要組織適合性遺伝子複合体クラスI、E (HLA-E); 主要組織適合性遺伝子複合体クラスI、F (HLA-F); 主要組織適合性遺伝子複合体クラスI、G (HLA-G); MHCクラスIポリペプチド関連配列A (MICA); MHCクラスIポリペプチド関連配列B (MICB); インテグリンサブユニットβ7 (ITGB7); 白血球免疫グロブリン様受容体B1 (ILRB1; ILT2); 白血球免疫グロブリン様受容体B2 (ILRB2; ILT4); LY6/PLAURドメイン含有3 (LYPD3); グリピカン3 (GPC3); KRAS癌原遺伝子、GTPase (KRAS); ムチン1 (MUC1) およびそのスプライス変異体 (例えば、MUC1/A、C、D、X、Y、ZおよびREPなど); ムチン16 (MUC16; CA125); ナチュラルキラー細胞細胞傷害性受容体3リガンド1 (NCR3LG1; B7-H6); ネクディン、MAGEファミリーメンバー (NDN); ネクチン細胞接着分子2 (NECTIN2); ネクチン細胞接着分子4 (NECTIN4); SLITおよびNTRK様ファミリーメンバー6 (SLITRK6); 前骨髄球性白血病 (PML); タンパク質チロシンキナーゼ7 (不活性型) (PTK7); ポリオウイルス受容体 (PVR) 細胞接着分子 (PVR); SLAMファミリーメンバー6 (SLAMF6); SLAMファミリーメンバー7 (SLAMF7); シアル酸結合Ig様レクチン7 (SIGLEC7); シアル酸結合Ig様レクチン9 (SIGLEC9); シアル酸結合Ig様レクチン10 (SIGLEC10); シグナル調節タンパク質α (SIRPA) 溶質キャリアファミリー34 (リン酸ナトリウム) メンバー2 (SLC34A2); 溶質キャリアファミリー39メンバー6 (SLC39A6); STEAPファミリーメンバー1 (STEAP1); 腫瘍形成性抑制2 (ST2); TNF受容体スーパーファミリーメンバー4 (TNFRSF4; OX40); TNFスーパーファミリーメンバー9 (TNFSF9; 4-1BB-L、CD137L); TNFRSF10A (DR4、TRAILR1); TNFRSF10B (DR5、TRAILR2); TNFRSF13B (BAFF); TNFRSF17 (BCMA); TNFRSF18 (GITR); トランスフェリン (TF); トランスフォーミング増殖因子β1 (TGFB1) およびそのアイソフォーム; 骨髄細胞に発現する誘発性受容体 (triggering receptor expressed on myeloid cells) 1 (TREM1); 骨髄細胞に発現する誘発性受容体2 (TREM2); tropho芽細胞糖タンパク質 (TPBG

10

20

30

40

50

）；トロフィニン（TRO）；腫瘍関連カルシウムシグナルトランスデューサー2（TACSTD2）；フコシルGM1；シアリルルイス接着分子（sLe）；およびルイスY抗原が挙げられる。

【0483】

いくつかの実施形態では、抗体（またはその抗原結合ドメイン）は、hCAIXと特異的に結合する。例示的抗CAIX抗体は、CDR、可変重鎖領域、可変軽鎖領域、重鎖、および軽鎖を含め、本明細書に記載されている、例えば、節5.3.3.1、表2、3、および17参照。いくつかの実施形態では、抗CAIX抗原結合ドメインは本明細書に記載されている。いくつかの実施形態では、利用される抗CAIX抗原結合ドメインは、節5.3.3.1、表2、3、および17に記載されているものである。

10

【0484】

5.3.3.1 CAIX結合ドメイン

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の融合タンパク質は、本明細書ではhCAIX結合ドメインまたは抗CAIXドメインとも呼ばれる、CAIXと特異的に結合する抗原結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、hCAIX結合ドメインは、Fab、Fab'、F(ab')₂、F(v)、scFv、(scFv)₂、scFv-Fc、(scFv)₂-Fc、シングルドメイン抗体(sdAb)、VHH、a(VHH)₂、VHH-Fc、または(VHH)₂-Fcを含む。いくつかの実施形態では、hCAIX結合ドメインは、全長抗体の一部である。いくつかの実施形態では、hCAIX結合ドメインは、Ig Fc融合の一部である（例えば、節5.3.2参照）。いくつかの実施形態では、hCAIX結合ドメインは、非抗体抗原結合分子、例えば、組換えフィブロネクチンドメインなどの抗原結合ドメインとして機能することは当技術分野で知られている代替足場である。

20

【0485】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、hCAIXに対して一価である。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、hCAIXに対して二価である。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、hCAIXに対して三価である。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、単一のhCAIXエピトープに対して単一特異性である。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は二重特異性である。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は二重特異性であり、融合タンパク質またはポリペプチドは第1のhCAIXエピトープと第2のhCAIXエピトープと特異的に結合し、第1のエピトープと第2のエピトープは異なる。いくつかの実施形態では、抗体は、CAIXの細胞外ドメインのエピトープ（例えば、配列番号1のアミノ酸1～193）と結合する。

30

【0486】

hCAIXと特異的に結合する抗体は当技術分野で公知である。例えば、WO2021000017A1、WO2020226612A1、WO2019204939A1、WO2018234463A1、WO2018157147A1、WO2016199097A1、US20180030147A1、WO2016100980A1、WO2014096163A1、WO2012027493A1、WO2011139375A1、WO2011032973A1、WO2008091798A1、WO2008103327A2、WO2007065027、WO2004002526A1、WO2003100029A2、US20090162382A1、US20050031623A1、US20080176258A1、WO2003048328A2、WO2002063010A2、Chang, DK et al. Human anti-CAIX antibodies mediate immune cell inhibition of renal cell carcinoma in vitro and in a humanized mouse model in vitro, Mol Cancer 14, 119 (2015); Ahlskog, J et al. Human monoclonal antibodies targeting carbonic anhydrase IX for the molecular imaging of hypoxic regions in solid tumours. Br J Cancer 101, 645-657 (2009); Oosterwijk-Wakka JC, Boerman OC, Mulders PF, Oosterwijk E. Application of monoclonal antibody G250 recognizing carbonic anhydrase

40

50

ase IX in renal cell carcinoma. Int J Mol Sci. 2013;14(6):11402-11423; De Luca R et al. (2019) A Novel Fully-Human Potency-Matched Dual Cytokine-Antibody Fusion Protein Targets Carbonic Anhydrase IX in Renal Cell Carcinomas. Front. Oncol. 9:1228; Heike M. Petrul et al. Therapeutic Mechanism and Efficacy of the Antibody-Drug Conjugate BAY 79-4620 Targeting Human Carbonic Anhydrase 9, Mol Cancer Ther; 11(2); 340-9 (2011)参照（これらのそれぞれの全内容は目的を問わず参照により本明細書の一部として援用される）。

【0487】

いくつかの実施形態では、抗CAIX抗体はギレンツキシマブである。ギレンツキシマブは、例えば、全内容が目的を問わず参照により本明細書の一部として援用されるWO2002063010A2に記載されている。いくつかの実施形態では、CAIX結合ドメインは、ギレンツキシマブと同じエピトープと特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト化型のギレンツキシマブである。いくつかの実施形態では、TCRV α 結合ドメインは。キメラ型のギレンツキシマブである。

【0488】

ギレンツキシマブを含む例示的マウス抗CAIX抗体のアミノ酸配列を表17に示す。CDRは、Kabattに従って定義される。

【0489】

10

20

30

40

50

【表 17】

表17 代表的な抗CAIX結合ドメインのアミノ酸配列

説明	領域	アミノ酸配列	配列番号
A	VH CDR1	NYYSMS	237
	VH CDR2	AINSDGGITYYLDTVKG	238
	VH CDR3	HRSGYFSMDY	239
	VL CDR1	KASQNVVSAVA	240
	VL CDR2	SASNRYT	241
	VL CDR3	QQYSNYPWT	242
	VH	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAP EKRLLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSS	7
	VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCASQNVVSAVAWYQQKPG QSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSED FAAYYCQQYSNYPWTFGGGTKVEIK	12
	HC (C末端 リジンあり)	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAP EKRLLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	243
	HC (C末端 リジンなし)	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAP EKRLLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	244
	LC	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCASQNVVSAVAWYQQKPG QSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSED	245

10

20

30

40

50

		FAAYYCQQYSNYPWTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	
B (ギ'レンツキシマフ)	VH CDR1	NYYS	237
	VH CDR2	AINSDGGITYYLDTVKG	238
	VH CDR3	HRSGYFSMDY	239
	VL CDR1	KASQNVVSAVA	240
	VL CDR2	SASNRYT	241
	VL CDR3	QQYSNYPWT	242
	VH	DVKLVESGGGLVKLGGSCLKLSCAASGFTFSNYYMSWVRQTP EKRLVLVAAINSDDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANTLYLQ MSSLKSEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSS	246
	VL	DIVMTQSQRFMSTTVGDRVSITCKASQNVVSAVAWYQQKPG QSPKLLIYSASNRYTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNMQSED LADFFCQQYSNYPWTFGGGKLEIKR	247
	HC	DVKLVESGGGLVKLGGSCLKLSCAASGFTFSNYYMSWVRQTP EKRLVLVAAINSDDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANTLYLQ MSSLKSEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	248
	LC	DIVMTQSQRFMSTTVGDRVSITCKASQNVVSAVAWYQQKPG QSPKLLIYSASNRYTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNMQSED LADFFCQQYSNYPWTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	249
C	VH CDR1	SHGMA	250
	VH CDR2	GISNTGRYTNYSAGVG	251
	VH CDR3	AAVNCVYGCPGSIDA	252
	VL CDR1	SGSSGSYG	253
	VL CDR2	YNDKRPS	254
	VL CDR3	GSADRSAGI	255
	VH	AVTLDEPGGGLQTPGGTSLVCKASGFDISSHGMAWVRQAP GKGLEIVAGISNTGRYTNYSAGVGRATISRDNQSTVRLQ LNDLRAEDAGTYFCARAAVNCVYGCPGSIDAWGLGTEV IVSS	256
	VL	ALTQPSVSVANLGETVEITCSGSSGSYGWYQQKSPGSAPVT VIYYNDKRPSDIPSRFSGSKSGSTGTLTITGVQAEDEAVYY CGSADRSAGIFGAGTTTLTVL	257
D	VH CDR1	GFTFTSCYIH	258
	VH CDR2	WIYPGNGNTKYNEIFKGR	259
	VH CDR3	GDTTANTMDY	260
	VL CDR1	RASGNIHNYLA	261

10

20

30

40

50

	VL CDR2	NTITLAD	262
	VL CDR3	QHFWIPFT	263
	VH	QVQLQQSGPELVKPGASVRISCKASGFTFTSCYIHWMKQRP GQGLEWIGWIYPGNGNTKYNEIFKGRATLTDDKSSSTAYMQ LSSLTSEDSAVYFCARGDTTANTMDYWGQGTSTVTS	264
	VL	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQG KSPQLLVYNTITLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLOPED FGSYQCQHFHWIPFTFGAGTKLELK	265
	HC	QVQLQQSGPELVKPGASVRISCKASGFTFTSCYIHWMKQRP GQGLEWIGWIYPGNGNTKYNEIFKGRATLTDDKSSSTAYMQ LSSLTSEDSAVYFCARGDTTANTMDYWGQGTSTVTSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	266
	LC	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQG KSPQLLVYNTITLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLOPED FGSYQCQHFWNIPFTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPV TKSFNRGEC	267
E	VH CDR1	GFTFTNTYAMY	268
	VH CDR2	RIRSKSNYYAIYYADSVKD	269
	VH CDR3	GWDWFAY	270
	VL CDR1	RSSQSLVHSNGNTYLH	271
	VL CDR2	KVSNRFS	272
	VL CDR3	SQNTHPPT	273
	VH	EVQLVESGGRLVQPKGSLKLSCAASGFTFTNTYAMYWIRQAP GKGLEWVARIRSKSNYYAIYYADSVKDRFTISRDDSQSMYLY LQMNNLKTEDTAMYCYVRGWDWFAYWGQGTPTVSA	274
	VL	DVVMQTPTPLSLPVSLGDAQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWY LQKPGQSPKLLIYKVSNNRFSGVPPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDLGVYFCSQNTHPPTFGGGTKLEIK	275
	HC	EVQLVESGGRLVQPKGSLKLSCAASGFTFTNTYAMYWIRQAP GKGLEWVARIRSKSNYYAIYYADSVKDRFTISRDDSQSMYLY LQMNNLKTEDTAMYCYVRGWDWFAYWGQGTPTVSAASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG	276
	LC	DVVMQTPTPLSLPVSLGDAQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWY LQKPGQSPKLLIYKVSNNRFSGVPPDRFSGSGSGTDFTLKISR	277

10

20

30

40

50

		VEAEDLGVIYFCSQNTHPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	
F	VH CDR1	GYTFTNYGMN	278
	VH CDR2	WINTYTGEPTYADDFKG	279
	VH CDR3	GGIATPTSY	280
	VL CDR1	KSSQSLDSDGKTYLN	281
	VL CDR2	LVSCLDS	282
	VL CDR3	CQGTHFPW	283
	VH	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNHWVQQAP GKGLKWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQ INNLKNEEDMATYFCARGGIATPTSYWGQGTTTLTVSS	284
	VL	DVVMQTPTLTLSVTIGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWL LQRPQGSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISR VEAEDLGVIYCCQGTHFPWTFGGGTKLEIK	285
	HC	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNHWVQQAP GKGLKWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQ INNLKNEEDMATYFCARGGIATPTSYWGQGTTTLTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQKSLSLSPG	286
	LC	DVVMQTPTLTLSVTIGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWL LQRPQGSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISR VEAEDLGVIYCCQGTHFPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	287

10

20

30

【0490】

いくつかの実施形態では、hCAIX結合ドメインは、VH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3を含むVHを含む。いくつかの実施形態では、HCAIX結合ドメインは、VL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3を含むVLを含む。いくつかの実施形態では、hCAIX結合ドメインは、VH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3を含むVH；VL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3を含むVLを含む。

【0491】

いくつかの実施形態では、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ、表17に示される抗体のVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

40

【0492】

いくつかの実施形態では、VH CDR1のアミノ酸配列は、配列番号237のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号237のアミノ酸配列を含み；VH CDR2のアミノ酸配列は、配列番号238のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号238のアミノ酸配列を含み；VH CDR3のアミノ酸配列は、配列番号239のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つの

50

【 0 4 9 3 】

【 0 4 9 4 】

【 0 4 9 5 】

いくつかの実施形態では、VH CDR1のアミノ酸配列は、配列番号268のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号268のアミノ酸配列を含み；VH CDR2のアミノ酸配列は、配列番号269のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号269のアミノ酸配列を含み；VH CDR3のアミノ酸配列は、配列番号270のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号270のアミノ酸配列を含み；VL CDR1のアミノ酸配列は、配列番号271のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加など）を伴う配列番号271のアミノ酸配列を含み；VL CDR2のアミノ酸配列は、配列番号272のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加な

ど)を伴う配列番号272のアミノ酸配列を含み;かつVL CDR3のアミノ酸配列は、配列番号273のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変(例えば、置換、欠失、付加など)を伴う配列番号273のアミノ酸配列を含む。

【0496】

いくつかの実施形態では、VH CDR1のアミノ酸配列は、配列番号278のアミノ酸配列、または配1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変(例えば、置換、欠失、付加など)を伴う配列番号278のアミノ酸配列を含み;VH CDR2のアミノ酸配列は、配列番号279のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変(例えば、置換、欠失、付加など)を伴う配列番号279のアミノ酸配列を含み;VH CDR3のアミノ酸配列は、配列番号280のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変(例えば、置換、欠失、付加など)を伴う配列番号280のアミノ酸配列を含み;VL CDR1のアミノ酸配列は、配列番号281のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変(例えば、置換、欠失、付加など)を伴う配列番号281のアミノ酸配列を含み;VL CDR2のアミノ酸配列は、配列番号282のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変(例えば、置換、欠失、付加など)を伴う配列番号282のアミノ酸配列を含み;かつVL CDR3のアミノ酸配列は、配列番号283のアミノ酸配列、または1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸改変(例えば、置換、欠失、付加など)を伴う配列番号283のアミノ酸配列を含む。

10

【0497】

いくつかの実施形態では、hCAIX結合ドメインは、VHおよびVLを含む。

20

【0498】

いくつかの実施形態では、VHのアミノ酸配列は、表17に示されるいずれかのVHポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり;かつVLのアミノ酸配列は、表17に示されるいずれかのVLポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【0499】

いくつかの実施形態では、VHのアミノ酸配列は、配列番号7、246、256、264、274、または284のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

30

【0500】

いくつかの実施形態では、VLのアミノ酸配列は、配列番号12、247、257、265、275、または285のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

40

【0501】

いくつかの実施形態では、VHのアミノ酸配列は、配列番号7のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含み、またはそれからなり;かつVLのアミノ酸配列は、配列番号12のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【0502】

50

いくつかの実施形態では、抗CAIX抗体は、配列番号246のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖；および配列番号247のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0503】

いくつかの実施形態では、抗CAIX抗体は、配列番号256のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖；および配列番号257のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

10

【0504】

いくつかの実施形態では、抗CAIX抗体は、配列番号264のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖；および配列番号265のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0505】

いくつかの実施形態では、抗CAIX抗体は、配列番号274のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖；および配列番号275のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

20

【0506】

いくつかの実施形態では、抗CAIX抗体は、配列番号284のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖；および配列番号285のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0507】

いくつかの実施形態では、hCAIX結合ドメインは、本明細書に記載のヒト化抗CAIX抗体のVH、VL、またはVHとVLを含む（例えば、節5.1.1、および表2参照）。節5.1.1の全内容は、参照によりこの節5.3.3.1の一部として援用される。

30

【0508】

例えば、いくつかの実施形態では、VHのアミノ酸配列は、配列番号7に示されるアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつVLのアミノ酸配列は、配列番号12に示されるアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

40

【0509】

例えば、いくつかの実施形態では、VHのアミノ酸配列は、配列番号7に示されるアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；かつVLのアミノ酸配列は、配列番号15に示されるアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である。

【0510】

5.3.4 リンカー

50

本明細書に記載の融合タンパク質の成分は、直接作動可能に連結させることができ（例えば、ペプチド結合を介して）または間接的に作動可能に連結させることもできる（例えば、ペプチドリンカーを介して）（例えば、h I L - 1 2 は、全長に直接または間接的に作動可能に連結させることができる）。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の融合タンパク質の成分（例えば、h I L - 1 2（またはそのサブユニット）とび抗体（例えば、全長抗体））は、ペプチド結合を介して直接作動可能に連結される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の融合タンパク質の成分（例えば、h I L - 1 2（またはそのサブユニット）と抗体（例えば、全長抗体））は、ペプチドリンカーを介して間接的に作動可能に連結される。

【0511】

いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、1つまたは任意の組合せの切断可能リンカー、非切断可能リンカー、フレキシブルリンカー、リジッドリンカー、ヘリカルリンカー、および／または非ヘリカルリンカーである。

【0512】

いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、約2～30、5～30、10～30、15～30、20～30、25～30、2～25、5～25、10～25、15～25、20～25、2～20、5～20、10～20、15～20、2～15、5～15、10～15、2～10、または5～10個またはおよそその個数のアミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、少なくとも約2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30のアミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、約2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30個のアミノ酸残基を含む、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、リンカーは、約2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30以下のアミノ酸残基を含む、またはそれらからなる。

【0513】

いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーのアミノ酸配列は、アミノ酸残基グリシン、セリン、またはグリシンとセリンの両方を含む、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーのアミノ酸配列は、アミノ酸残基グリシン、セリン、およびプロリンを含む、またはそれらからなる。

【0514】

いくつかの実施形態では、リンカーは、コイルドメインを含む、例えば、全内容が目的を問わず参照により本明細書の一部として援用されるUS9284375参照。いくつかの実施形態では、コイルドメインは、US9284375に開示されているものから選択される。いくつかの実施形態では、コイルドメインは、E-コイルドメインを含む。いくつかの実施形態では、E-コイルドメインは、配列番号302のアミノ酸配列、または1、20、もしくは3つのアミノ酸改変を含む配列番号302のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、コイルドメインは、K-コイルドメインである。いくつかの実施形態では、K-コイルドメインは、配列番号303のアミノ酸配列、1、2、もしくは3つのアミノ酸改変を含む配列番号303のアミノ酸配列を含む。

【0515】

本明細書に記載の実施形態（例えば、融合タンパク質およびポリペプチド）のうち1以上に組み込むことができる例示的ペプチドリンカーおよびコイルドメインのアミノ酸配列を表18に示す。

【0516】

10

20

30

40

50

【表 18】

表18 代表的なペプチドリンカーのアミノ酸配列

説明	アミノ酸配列	配列番号
リンカー A	GGGS	66
リンカー B	GGSGGGS	67
リンカー C	GGSGGGS	68
リンカー D	GGSGGGS	69
リンカー E	GGGS	70
リンカー F	GGGSGGGS	71
リンカー G	GGGSGGGS	72
リンカー H	GGGSGGGS	73
リンカー I	GGGGGGS	74
リンカー J	GGGGGGS	75
リンカー K	GGGGGGS	76
リンカー L	GGGGGGS	77
リンカー M	SGGGG	78
リンカー N	SGGGSGGGG	79
リンカー O	SGGGSGGGG	80
リンカー P	SGGGSGGGG	81
リンカー EE	GGGGGS	369
リンカー Q	LKGKKG	288
リンカー R	LKGKKG	289
リンカー S	LQVYYRM	290
リンカー T	LQVYYRMC	291
リンカー U	VEPKSCGGGS	292
リンカー V	VQVHYRM	293
リンカー W	YLYLRARV	294
リンカー X	FNRGECGGGS	295
リンカー Y	LEGEEG	296
リンカー Z	LEGEEGC	297
リンカー AA	LGEEG	298
リンカー BB	LGEEGC	299
リンカー CC	LGKKG	300
リンカー DD	LGKKG	301
「E-コイル」プラス電荷	EVAALEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK	302
「K-コイル」マイナス電荷	KVAALKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE	303

【0517】

いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーのアミノ酸配列は、表18に示されるリンカーのいずれか1つのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーのアミノ酸配列は、表18に示されるリンカーのいずれか1つのアミノ酸配列を含み、またはそれからなり、さらに1以上15%未満（12%未満、10%未満、8%未満）のアミノ酸改変（例えば、アミノ酸置換、欠失、または付加）を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーのアミノ酸配列は、1、2、または3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加）を含む表18に示されるリンカーのいずれか1つのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーのアミノ酸配列は、表18に示されるリンカーのいずれか1つのアミノ酸配列を含み、またはそれからなり、さらに1以上15%未満（12%未満、10%未満、8%未満）のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーのアミノ酸配列は、1、2、または3つのアミノ酸置換を含む表18に示されるリンカーのいずれか1つのア

ミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【0518】

いくつかの実施形態では、ペプチドリinkerのアミノ酸配列は、配列番号66～81または288～303のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、ペプチドリinkerのアミノ酸配列は、配列番号66～81または288～303のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、またはそれからなり、さらに1以上15%未満（12%未満、10%未満、8%未満）のアミノ酸改変（例えば、アミノ酸置換、欠失、または付加）を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドリinkerのアミノ酸配列は、1、2、または3つのアミノ酸改変（例えば、置換、欠失、付加）を含む配列番号66～81、288～303、または369のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、ペプチドリinkerのアミノ酸配列は、配列番号66～81、288～303、または369のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、またはそれからなり、さらに1以上15%未満（12%未満、10%未満、8%未満）のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドリinkerのアミノ酸配列は、1、2、または3つのアミノ酸置換を含む配列番号66～81、288～303、または369のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

10

【0519】

いくつかの実施形態では、ペプチドリinkerのアミノ酸配列は、配列番号72のアミノ酸配列を含み、またはそれからなり、さらに1以上15%未満（12%未満、10%未満、8%未満）のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドリinkerのアミノ酸配列は、配列番号72のアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、ペプチドリinkerのアミノ酸配列は、1、2、または3つのアミノ酸改変（例えば、置換、付加、欠失）を含む配列番号72のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。いくつかの実施形態では、ペプチドリinkerのアミノ酸配列は、1、2、または3つのアミノ酸置換を含む配列番号72のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

20

【0520】

5.3.5 構造および配向

本明細書に記載の融合タンパク質の成分は、融合タンパク質またはポリペプチドの各成分がその機能を媒介する能力を維持する限り、いずれの構成または順序で配置することもできる。例えば、hIL-12タンパク質は、hIL-12Rと結合する能力を維持する。例えば、融合タンパク質が抗体（例えば、抗hCAIX抗体）を含む実施形態では、その抗体は、その同族抗原（例えば、hCAIX）と結合する能力を維持する。

30

【0521】

5.3.6 例示的構造および配向

5.3.6.1 例示的全長抗体融合タンパク質

いくつかの実施形態では、異種部分は、(i) N末端からC末端に向かって、軽鎖可変領域(VL)領域および軽鎖定常領域(CL)領域を含む第1のIg軽鎖；(ii) N末端からC末端に向かって、重鎖可変領域(VH)領域、CH1領域、ヒンジ領域、CH2領域、およびCH3領域を含む第1のIg重鎖；(iii) N末端からC末端に向かって、VH領域、CH1領域、ヒンジ領域、CH2領域、およびCH3領域を含む第2のIg重鎖；(iv) N末端からC末端に向かって、VL領域およびVH領域を含む第2のIg軽鎖を含み；前記第1の軽鎖と前記第1の重鎖は会合して第1の抗原結合ドメインを形成し；前記第2の軽鎖と前記第2の重鎖は会合して第2の抗原結合ドメインを形成し；かつ前記第1の重鎖と前記第2の重鎖は会合して二量体を形成する、全長抗体（例えば、抗hCAIX全長抗体）である。

40

【0522】

いくつかの実施形態では、hIL-12タンパク質のhIL-12p35ポリペプチドのN末端は、全長抗体の第1のIg重鎖のCH3領域のC末端に作動可能に連結され、かつhIL-12タンパク質のhIL-12p40ポリペプチドのN末端は、全長抗体の第

50

2 の I g 重鎖の C H 3 領域の C 末端に作動可能に連結されている（例えば、図 1 参照）。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 タンパク質の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドの N 末端は、全長抗体の第 1 の I g 重鎖の C H 3 領域の C 末端にペプチド結合を介して直接作動可能に連結され、かつ h I L - 1 2 タンパク質の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドの N 末端は、全長抗体の第 2 の I g 重鎖の C H 3 領域の C 末端にペプチド結合を介して直接作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 タンパク質の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドの N 末端は、全長抗体の第 1 の I g 重鎖の C H 3 領域の C 末端にペプチドリンカーを介して間接的に作動可能に連結され、かつ h I L - 1 2 タンパク質の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドの N 末端は、全長抗体の第 2 の I g 重鎖の C H 3 領域の C 末端にペプチドリンカーを介して間接的に作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、（a）全長抗体の第 1 の I g 重鎖の C H 3 領域の C 末端は、ペプチドリンカーの N 末端に作動可能に連結され、ペプチドリンカーの C 末端は、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドの N 末端に作動可能に連結され；かつ（b）全長抗体の第 2 の I g 重鎖の C H 3 領域の C 末端は、ペプチドリンカーの N 末端に作動可能に連結され、ペプチドリンカーの C 末端は、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドの N 末端に作動可能に連結されている。例示的ペプチドリンカーは本明細書に記載されている、例えば、節 5 . 3 . 4、表 1 8、配列番号 6 6 ~ 8 1、2 8 8 ~ 3 0 3、または 3 6 9 参照。

10

【0523】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、a) N 末端から C 末端に向かって、第 1 の軽鎖可変領域（V L）、および第 1 の軽鎖定常領域（C L）を含む第 1 のポリペプチド；N 末端から C 末端に向かって、第 1 の重鎖可変領域（V H）、第 1 の重鎖定常領域（C H）、任意選択のペプチドリンカー（例えば、本明細書に記載のペプチドリンカー）、および h I L - 1 2 p 3 5 を含む第 2 のポリペプチド；N 末端から C 末端に向かって、第 2 の V H、第 2 の C H、任意選択のペプチドリンカー（例えば、本明細書に記載のペプチドリンカー）、および h I L - 1 2 p 4 0 を含む第 3 のポリペプチド；ならびに N 末端から C 末端に向かって、第 2 の V L および第 2 の C L を含む第 4 のポリペプチドを含み；第 1 のポリペプチドと第 2 のポリペプチドは会合して第 1 の抗原結合ドメイン（例えば、h C A I X と特異的に結合する）を形成し、かつ第 3 のポリペプチドと第 4 のポリペプチドは会合して、h C A I X と特異的に結合する第 2 の抗原結合ドメインを形成する、全長抗体（例えば、抗 h C A I X 全長抗体）を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の C H 領域は、N 末端から C 末端に向かって、C H 1 領域、ヒンジ領域、C H 2 領域、および C H 3 領域を含む。いくつかの実施形態では、第 2 の C H 領域は、N 末端から C 末端に向かって、C H 1 領域、ヒンジ領域、C H 2 領域、および C H 3 領域を含む。いくつかの実施形態では、第 1 のポリペプチドと第 2 のポリペプチドは、少なくとも 1 つのジスルフィド結合を介して連結されている。いくつかの実施形態では、第 2 のポリペプチドと第 3 のポリペプチドは、少なくとも 1 つのジスルフィド結合を介して連結されている。いくつかの実施形態では、第 3 のポリペプチドと第 4 のポリペプチドは、少なくとも 1 つのジスルフィド結合を介して連結されている。いくつかの実施形態では、第 1 の重鎖および第 2 の重鎖はそれぞれ、第 1 の重鎖と第 2 の重鎖のヘテロ二量体形成を促進する少なくとも 1 つのアミノ酸改変を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の重鎖の C H 3 ドメインおよび第 2 の重鎖の C H 3 ドメインはそれぞれ、第 1 の重鎖と第 2 の重鎖のヘテロ二量体形成を促進する少なくとも 1 つのアミノ酸改変を含む。

20

30

40

【0524】

いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 タンパク質は、全長抗体の第 1 の I g 重鎖または第 2 の I g 重鎖の C H 3 領域の C 末端が h s c I L - 1 2 ポリペプチドの N 末端に作動可能に連結されている s c h I L - 1 2 タンパク質（例えば、本明細書に記載の s c h I L - 1 2 タンパク質）である。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 タンパク質は、全長抗体の第 1 の I g 重鎖または第 2 の I g 重鎖の C H 3 領域の C 末端が h s c I L - 1 2 ポリペプチドの N 末端にペプチド結合を介して直接作動可能に連結されている s c h I L - 1 2 タンパク質（例えば、本明細書に記載の s c h I L - 1 2 タンパク質）である（例

50

えば、図 2 参照)。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 タンパク質は、全長抗体の第 1 の I g 重鎖または第 2 の I g 重鎖の C H 3 領域の C 末端が h s c I L - 1 2 ポリペプチドの N 末端にペプチドリンカーを介して間接的に作動可能に連結されている s c h I L - 1 2 タンパク質 (例えば、本明細書に記載の s c h I L - 1 2 タンパク質) である。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 タンパク質は、全長抗体の第 1 の I g 重鎖または第 2 の I g 重鎖の C H 3 領域の C 末端がペプチドリンカーの N 末端に直接作動可能に連結され、ペプチドリンカーの C 末端が h s c I L - 1 2 ポリペプチドの N 末端に直接作動可能に連結されている s c h I L - 1 2 タンパク質 (例えば、本明細書に記載の s c h I L - 1 2 タンパク質) である。例示的ペプチドリンカーは本明細書に記載されている、例えば、節 5 . 3 . 4、表 1 8、配列番号 6 6 ~ 8 1、2 8 8 ~ 3 0 3、または 3 6 9 参照。

10

【 0 5 2 5 】

いくつかの実施形態では、全長抗体 (例えば、抗 h C A I X 全長抗体) は、a) N 末端から C 末端に向かって、第 1 の軽鎖可変領域 (V L) および第 1 の軽鎖定常領域 (C L) を含む第 1 のポリペプチド; N 末端から C 末端に向かって、第 1 の重鎖可変領域 (V H)、第 1 の重鎖定常領域 (C H)、および s c I L - 1 2 を含む第 2 のポリペプチド; N 末端から C 末端に向かって、第 2 の V H および第 2 の C H を含む第 3 のポリペプチド; ならびに N 末端から C 末端に向かって、第 2 の V L および第 2 の C L を含む第 4 のポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、第 1 の C H 領域は、N 末端から C 末端に向かって、C H 1 ドメイン、ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む。いくつかの実施形態では、第 2 の C H 領域は、N 末端から C 末端に向かって、C H 1 ドメイン、ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む。いくつかの実施形態では、第 1 のポリペプチドと第 2 のポリペプチドは、少なくとも 1 つのジスルフィド結合を介して連結されている。いくつかの実施形態では、第 2 のポリペプチドと第 3 のポリペプチドは、少なくとも 1 つのジスルフィド結合を介して連結されている。いくつかの実施形態では、第 3 のポリペプチドと第 4 のポリペプチドは、少なくとも 1 つのジスルフィド結合を介して連結されている。いくつかの実施形態では、第 1 の C H と第 2 の C H はそれぞれ、第 1 の C H と第 2 の C H のヘテロ二量体形成を促進するアミノ酸改変を含む。

20

【 0 5 2 6 】

5 . 3 . 6 . 2 例示的 F c 融合タンパク質

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、第 1 の F c 領域および第 2 の F c 領域を含み、第 1 の F c 領域と第 2 の F c 領域は会合して二量体を形成する。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 タンパク質の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドの N 末端は、第 1 の F c 領域の C H 3 領域の C 末端に作動可能に連結され、かつ h I L - 1 2 タンパク質の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドの N 末端は、第 2 の F c 領域の C 末端の C H 3 領域に作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 タンパク質の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドの N 末端は、第 1 の F c 領域の C H 3 領域の C 末端にペプチド結合を介して直接作動可能に連結され、かつ h I L - 1 2 タンパク質の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドの N 末端は第 2 の F c 領域の C 末端の C H 3 領域にペプチド結合を介して作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、h I L - 1 2 タンパク質の h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドの N 末端は、第 1 の F c 領域の C H 3 領域の C 末端にペプチドリンカーを介して間接的に作動可能に連結され、かつ h I L - 1 2 タンパク質の h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドの N 末端は、第 2 の F c 領域の C 末端の C H 3 領域にペプチドリンカーを介して間接的に作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、(a) 第 1 の F c 領域の C H 3 領域の C 末端は、ペプチドリンカーの N 末端に作動可能に連結され、ペプチドリンカーの C 末端は、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドの N 末端に作動可能に連結され; かつ (b) 第 2 の F c 領域の C 末端の C H 3 領域は、ペプチドリンカーの N 末端に作動可能に連結され、ペプチドリンカーの C 末端は、h I L - 1 2 p 3 5 ポリペプチドの N 末端に作動可能に連結されている。例示的ペプチドリンカーは本明細書に記載されている、例えば、節 5 . 3 . 4、表 1 8、配列番号 6 6 ~ 8 1、2 8 8 ~ 3 0 3、または 3 6 9 参照。

30

40

50

【0527】

いくつかの実施形態では、h I L-12タンパク質は、第1のF c領域または第2のF c領域のC H 3領域のC末端がh s c I L-12ポリペプチドのN末端に作動可能に連結されているs c h I L-12タンパク質（例えば、本明細書に記載のs c h I L-12タンパク質）である。いくつかの実施形態では、h I L-12タンパク質は、第1のF c領域または第2のF c領域のC H 3領域のC末端がh s c I L-12ポリペプチドのN末端にペプチド結合を介して間接的に作動可能に連結されているs c h I L-12タンパク質（例えば、本明細書に記載のs c h I L-12タンパク質）である。いくつかの実施形態では、h I L-12タンパク質は、第1のF c領域または第2のF c領域のC H 3領域のC末端がh s c I L-12ポリペプチドのN末端にペプチドリンカーを介して間接的に作動可能に連結されているs c h I L-12タンパク質（例えば、本明細書に記載のs c h I L-12タンパク質）である。いくつかの実施形態では、h I L-12タンパク質は、第1のF c領域または第2のF c領域のC H 3領域のC末端がペプチドリンカーのN末端に直接作動可能に連結され、ペプチドリンカーのC末端がh s c I L-12ポリペプチドのN末端に直接作動可能に連結されているs c h I L-12タンパク質（例えば、本明細書に記載のs c h I L-12タンパク質）である。例示的ペプチドリンカーは本明細書に記載されている、例えば、節5.3.4、表18、配列番号66～81、288～303、または369参照。

10

【0528】

いくつかの実施形態では、h I L-12タンパク質のh I L-12 p 35ポリペプチドのC末端は、第1のF c領域のN末端に作動可能に連結され、かつh I L-12タンパク質のh I L-12 p 40ポリペプチドのC末端が第2のF c領域のN末端に作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、h I L-12タンパク質のh I L-12 p 35ポリペプチドのC末端は、第1のF c領域のN末端にペプチド結合を介して直接作動可能に連結され、かつh I L-12タンパク質のh I L-12 p 40ポリペプチドのC末端は、第2のF c領域のN末端にペプチド結合を介して直接作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、h I L-12タンパク質のh I L-12 p 35ポリペプチドのC末端は、第1のF c領域のN末端にペプチドリンカーを介して間接的に作動可能に連結され、かつh I L-12タンパク質のh I L-12 p 40ポリペプチドのC末端は、第2のF c領域のN末端にペプチドリンカーを介して間接的に作動可能に連結されている。いくつかの実施形態では、（a）第1のF c領域のN末端は、ペプチドリンカーのC末端に作動可能に連結され、ペプチドリンカーのN末端は、h I L-12 p 35ポリペプチドのC末端に作動可能に連結され；かつ（b）第2のF c領域のN末端は、ペプチドリンカーのC末端に作動可能に連結され、ペプチドリンカーのN末端は、h I L-12 p 35ポリペプチドのC末端に作動可能に連結されている。例示的ペプチドリンカーは本明細書に記載されている、例えば、節5.3.4、表18、配列番号66～81、288～303、または369参照。

20

30

【0529】

いくつかの実施形態では、h I L-12タンパク質は、第1のF c領域または第2のF c領域のN末端がh s c I L-12ポリペプチドのC末端に作動可能に連結されているs c h I L-12タンパク質（例えば、本明細書に記載のs c h I L-12タンパク質）である。いくつかの実施形態では、h I L-12タンパク質は、第1のF c領域または第2のF c領域のN末端がh s c I L-12ポリペプチドのC末端にペプチド結合を介して直接作動可能に連結されているs c h I L-12タンパク質（例えば、本明細書に記載のs c h I L-12タンパク質）である。いくつかの実施形態では、h I L-12タンパク質は、第1のF c領域または第2のF c領域のN末端がh s c I L-12ポリペプチドのC末端にペプチドリンカーを介して間接的に作動可能に連結されているs c h I L-12タンパク質（例えば、本明細書に記載のs c h I L-12タンパク質）である。いくつかの実施形態では、h I L-12タンパク質は、第1のF c領域または第2のF c領域のN末端がペプチドリンカーのC末端に直接作動可能に連結され、ペプチドリンカーのC末端が

40

50

h s c I L - 1 2 ポリペプチドの C 末端に直接作動可能に連結されている s c h I L - 1 2 タンパク質（例えば、本明細書に記載の s c h I L - 1 2 タンパク質）である。例示的ペプチドリンカーは本明細書に記載されている、例えば、節 5 . 3 . 4、表 1 8、配列番号 6 6 ~ 8 1、2 8 8 ~ 3 0 3、または 3 6 9 参照。

【 0 5 3 0 】

5 . 3 . 6 . 3 例示的 S c F v - F c 融合タンパク質

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、第 1 の F c 領域の N 末端に作動可能に連結された第 1 の s c F v ; および第 2 の F c 領域の N 末端に作動可能に連結された第 2 の s c F v を含み ; かつ h I L - 1 2 p 3 5 は、第 1 の F c 領域の C 末端に作動可能に連結され ; かつ I L - 1 2 p 4 0 は、第 2 の F c 領域の C 末端に作動可能に連結されている。例えば、図 3 参照。

10

【 0 5 3 1 】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、N 末端から C 末端に向かって、第 1 の s c F v、第 1 の F c 領域、任意選択の第 1 のペプチドリンカー、および I L - 1 2 p 3 5 を含む第 1 のポリペプチド ; ならびに N 末端から C 末端に向かって、第 2 の s c F v、第 2 の F c 領域、任意選択の第 2 のペプチドリンカー、および I L - 1 2 p 4 0 を含む第 2 のポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、第 1 のポリペプチドと第 2 のポリペプチドは、少なくとも 1 つのジスルフィド結合を介して連結されている。いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域と第 2 の F c 領域はそれぞれ、第 1 の F c 領域および第 2 の F c 領域のヘテロ二量体形成を促進するアミノ酸改変を含む。

20

【 0 5 3 2 】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、N 末端から C 末端に向かって、第 1 の s c F v、第 1 のペプチドリンカー、第 1 の F c 領域、第 2 のペプチドリンカー、および I L - 1 2 p 3 5 を含む第 1 のポリペプチド ; ならびに N 末端から C 末端に向かって、第 2 の s c F v、第 3 のペプチドリンカー、第 2 の F c 領域、第 4 のペプチドリンカー、および I L - 1 2 p 4 0 を含む第 2 のポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、第 1 のポリペプチドと第 2 のポリペプチドは、少なくとも 1 つのジスルフィド結合を介して連結されている。いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域および第 2 の F c 領域はそれぞれ、第 1 の F c 領域と第 2 の F c 領域のヘテロ二量体形成を促進するアミノ酸改変を含む。

30

【 0 5 3 3 】

5 . 3 . 6 . 4 例示的 D a r t F c 融合タンパク質

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、第 1 の F c 領域の N 末端に作動可能に連結された D A R T の第 1 のポリペプチド（すなわち、D A R T の第 1 の V H および V L を含むポリペプチド） ; ならびに第 2 の F c 領域の N 末端に作動可能に連結された D A R T の第 2 のポリペプチド（例えば、D A R T の第 2 の V H および V L を含むポリペプチド）を含み ; h I L - 1 2 p 3 5 は、第 1 の F c 領域の C 末端に作動可能に連結され ; かつ I L - 1 2 p 4 0 は、第 2 の F c 領域の C 末端に作動可能に連結されている。例えば、図 6 参照。

【 0 5 3 4 】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、N 末端から C 末端に向かって、D A R T の第 1 の V L と第 1 の V H、第 1 の F c 領域、および I L - 1 2 p 3 5 を含む第 1 のポリペプチド ; ならびに N 末端から C 末端に向かって、D A R T の第 2 の V L と第 2 の V H、第 2 の F c 領域、および I L - 1 2 p 4 0 を含む第 2 のポリペプチドを含み ; 第 1 の V L は第 2 の V H と会合して第 1 の抗原結合ドメインを形成し、かつ第 2 の V L は第 1 の V H と会合して第 2 の抗原結合ドメインを形成している。いくつかの実施形態では、第 1 のポリペプチドと第 2 のポリペプチドは、少なくとも 1 つのジスルフィド結合を介して連結されている。いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域および第 2 の F c 領域はそれぞれ、第 1 の F c 領域と第 2 の F c 領域のヘテロ二量体形成を促進するアミノ酸改変を含む。

40

【 0 5 3 5 】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、N 末端から C 末端に向かって、D A R T

50

の第1のVHと第1のVL、第1のFc領域、およびIL-12p35を含む第1のポリペプチド；ならびにN末端からC末端に向かって、DARTの第2のVHと第2のVL、第2のFc領域、およびIL-12p40を含む第2のポリペプチドを含み；第1のVLは第2のVHと会合して第1の抗原結合ドメインを形成し、かつ第2のVLは第1のVHと会合して第2の抗原結合ドメインを形成している。いくつかの実施形態では、第1のポリペプチドと第2のポリペプチドは、少なくとも1つのジスルフィド結合を介して連結されている。いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、第1のFc領域と第2のFc領域のヘテロ二量体形成を促進するアミノ酸改変を含む。

【0536】

5.3.6.5 例示的タンデムScFv scIL-12 Fc融合タンパク質

10

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、作動可能にタンデムで連結され、さらに第1のFc領域のN末端に作動可能に連結された2つのscFv抗原結合ドメイン；および第2のFc領域のN末端に作動可能に連結されたscIL-12を含む。例えば、図7参照。

【0537】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、N末端からC末端に向かって、第1のscFv、第2のscFv、および第1のFc領域を含む第1のポリペプチド；ならびにN末端からC末端に向かって、scIL-12、任意選択のペプチドリンカー、および第2のFc領域を含む第2のポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、第1のポリペプチドと第2のポリペプチドは、少なくとも1つのジスルフィド結合を介して連結されている。いくつかの実施形態では、第1のFc領域と第2のFc領域はそれぞれ、第1のFc領域と第2のFc領域のヘテロ二量体形成を促進するアミノ酸改変を含む。

20

【0538】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、N末端からC末端に向かって、第1のscFv、第1のペプチドリンカー、第2のscFv、第2のペプチドリンカー、および第1のFc領域を含む第1のポリペプチド；ならびにN末端からC末端に向かって、scIL-12、任意選択の第3のリンカー、および第2のFc領域を含む第2のポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、第1のポリペプチドと第2のポリペプチドは、少なくとも1つのジスルフィド結合を介して連結されている。いくつかの実施形態では、第1のFc領域と第2のFc領域はそれぞれ、第1のFc領域と第2のFc領域のヘテロ二量体形成を促進するアミノ酸改変を含む。

30

【0539】

5.3.6.6 例示的タンデムScFv sdAb scIL-12 Fc融合タンパク質

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、作動可能にタンデムで連結され、さらに第1のFc領域のN末端に作動可能に連結された2つのscFv抗原結合ドメイン；ならびに第2のFc領域に作動可能に連結された第1のシングルドメイン抗体(sdAb)、およびsdAbのN末端に作動可能に連結されたscIL-12を含む。例えば、図8参照。

【0540】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、N末端からC末端に向かって、第1のscFv、第2のscFv、および第1のFc領域を含む第1のポリペプチド；ならびにN末端からC末端に向かって、scIL-12、任意選択の第1のペプチドリンカー、シングルドメイン抗体、任意選択の第2のペプチドリンカー、および第2のFc領域を含む第2のポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、第1のポリペプチドと第2のポリペプチドは、少なくとも1つのジスルフィド結合を介して連結されている。いくつかの実施形態では、第1のFc領域および第2のFc領域はそれぞれ、第1のFc領域と第2のFc領域のヘテロ二量体形成を促進するアミノ酸改変を含む。

40

【0541】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、N末端からC末端に向かって、第1のscFv、第1のペプチドリンカー、第2のscFv、第2のペプチドリンカー、および第

50

1 の F c 領域を含む第 1 のポリペプチド；ならびに N 末端から C 末端に向かって、s c I L - 1 2、第 3 のペプチドリンカー、シングルドメイン抗体、第 4 のペプチドリンカー、および第 2 の F c 領域を含む第 2 のポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、第 1 のポリペプチドと第 2 のポリペプチドは、少なくとも 1 つのジスルフィド結合を介して連結されている。いくつかの実施形態では、第 1 の F c 領域および第 2 の F c 領域はそれぞれ、第 1 の F c 領域と第 2 の F c 領域のヘテロ二量体形成を促進するアミノ酸改変を含む。

【 0 5 4 2 】

5 . 3 . 7 例示的融合タンパク質およびポリペプチド

本明細書に記載の例示的抗 h C A I X h I L - 1 2 融合ポリペプチドおよびタンパク質のアミノ酸配列を表 2 0 に示す。表 2 0 に示される抗 h C A I X h I L - 1 2 融合ポリペプチドおよびタンパク質は例示に過ぎず、限定を意図するものではない。

【 0 5 4 3 】

表 2 0 に示される例示的抗 h C A I X h I L - 1 2 融合タンパク質の 1 以上に共通の軽鎖および重鎖領域のアミノ酸配列を表 1 9 に示す。

【 0 5 4 4 】

【表 1 9 】

表19 1以上の代表的な抗hCAIX hIL-12融合タンパク質およびポリペプチドに共通する軽鎖領域および重鎖領域のアミノ酸配列

説明	配列番号	アミノ酸配列
重鎖- ノブ IL-12p40	304	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSAIN SDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYF SMDYWGGTSTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYDPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQ VKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLR CEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRG DNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS

10

20

30

40

50

重鎖- ホール	305	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSAIN SDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYF SMDYWGGQTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDK SRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSRNLP VATPDPGMFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTFEYFCTSEEIDHEDITKDK TSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYED LKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSS LEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
重鎖- ホール	306	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSAIN SDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYF SMDYWGGQTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDK SRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
軽鎖	245	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSAS NRYTGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAAAYCQQYSNPWTFGGGTKV EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC

10

20

【 0 5 4 5 】

上記のように、本明細書に記載の例示的抗hCAIX hIL-12融合ポリペプチドおよびタンパク質のアミノ酸配列を表20に示す。表20に示される抗hCAIX hIL-12融合ポリペプチドおよびタンパク質は例示に過ぎず、限定を意図するものではない。

30

【 0 5 4 6 】

【 表 2 0 】

表20 代表的な抗hCAIX hIL-12融合タンパク質およびポリペプチドのアミノ酸配列

説明		配列 番号	アミノ酸配列
BCA316 (BCA351) 図1参照	重鎖 (HC) (ノブ)	304	表19参照
	IL-12p40		
	HC (ホール) IL-12p35	305	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGGQTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ

40

50

			QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNNMLQKARQTLEFY PCTSEEDIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMMLAVIDELMQALNFNSETVTPQKSSLEEDP YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	軽鎖 (LC)	245	表19参照
BCA307.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ) IL-12p40	304	表19参照
	重鎖 (ホール) IL-12p35 (変異体 A)	307	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMWSWIRQAPE KRLELVSAINDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNNMLQKNESCLNSR ETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMN AKLLMDPKRQIFLDQNMMLAVIDELMQALNFNSETVTPQKSSLE EPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	軽鎖	245	表19参照
	重鎖 (ノブ) IL-12p40	304	表19参照
BCA308.1 6 図1参照	重鎖 (ホール) IL-12p35 (変異体 B)	308	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMWSWIRQAPE KRLELVSAINDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNNMLQKARQTLKHY SCTSEEDIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPHRQIFLDQNMMLAVIDELMQALNFNSETVTPQKSSLEEDP YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	軽鎖	245	表19参照
	重鎖 (ノブ)	304	表19参照
	重鎖 (ノブ)	304	表19参照
BCA323.1 6	重鎖 (ノブ)	304	表19参照

10

20

30

40

50

図1参照	IL-12p40		
	重鎖 (ホール) IL-12p35 (変異体 C)	309	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINS DGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPPQKSSLEEPDA AKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	軽鎖	245	表19参照
BCA324.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ)	304	表19参照
	IL-12p40		
	重鎖 (ホール) IL-12p35 (変異体 D)	310	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINS DGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPPQKSSLEEPDA YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	軽鎖	245	表19参照
BCA325.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ)	304	表19参照
	IL-12p40		
	重鎖 (ホール) IL-12p35 (変異体 E)	311	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINS DGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR

10

20

30

40

50

			EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEDIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF AKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	軽鎖	245	表19参照
BCA309.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 A)	312	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYDPAGEMVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVEQCQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIR DI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGASAAEAADAVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA310.1 6: 図1参照	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 B)	313	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSFLRCEAKNYSGRFTCWWTITISTDLTFSVKSSRGSSDPQG VTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEESLP I E VMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQ VEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDK TSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS

10

20

30

40

50

	重鎖 (ホール)	305	表19参照
	IL-12p35 軽鎖	245	表19参照
BCA311.1 6: 図1参照	重鎖 (ノブ)	314	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYDPAGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVECQEDSACPAAEEIES
	重鎖 (ホール)	305	表19参照
	IL-12p35 軽鎖	245	表19参照
	重鎖 (ノブ)	315	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYDPAGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCHKGGEVLSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQEEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKEDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
BCA317: 図1参照	重鎖 (ホール)	305	表19参照
	IL-12p35 軽鎖	245	表19参照
	重鎖 (ノブ)	315	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYDPAGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCHKGGEVLSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQEEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKEDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS

10

20

30

40

50

BCA318.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 E)	316	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVEQEDSACPAAEEIESIKSMVDAVHKLKYENYTSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA319.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 F)	317	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVEQEDSACPAAEEIVSIKIMVDAVHKLKYENYTSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA320.1 6	重鎖 (ノブ)	318	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS

10

20

30

40

50

図1参照	IL-12p40 (変異体 G)		VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVECQEDSACPAAEEIQSIKGMVDAVHKLKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール)	305	表19参照
	IL-12p35		
	軽鎖	245	表19参照
BCA321.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 H)	319	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLP IEVMDAVHIKYENYTSSFFIRD I IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTF CVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY SSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール)	305	表19参照
	IL-12p35		
	軽鎖	245	表19参照
BCA322.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ)	320	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT
	IL-12p40 (変異体 I)		

10

20

30

40

50

			LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYDPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVEQCEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHSITSANYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール)	305	表19参照
	IL-12p35 軽鎖	245	表19参照
BCA326.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 J)	321	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYDPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKAAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVEQCEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール)	305	表19参照
	IL-12p35 軽鎖	245	表19参照
BCA327.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 K)	322	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD
	重鎖 (ホール)		
	IL-12p35 軽鎖		

10

20

30

40

50

			I AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKAAGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVEQCEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール)	305	表19参照
	IL-12p35 軽鎖	245	表19参照
BCA328.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ)	323	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD I AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKAAGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVEQCEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHALKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール)	305	表19参照
	IL-12p35 軽鎖	245	表19参照
BCA329.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ)	324	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD I AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYAAAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL
	重鎖 (ホール)		
	IL-12p40 (変異体 M)		

10

20

30

40

50

			DQSSEVLGSGKTLTIQVKAAGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYE YSVEQCQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA330.1 6(BCA37 6) 図1参照	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 N)	325	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYE YSVEQCQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHALKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA331.1 6 (BCA356) 図1参照	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 O)	326	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYE

10

20

30

40

50

			YSVECQEDSACPAAEESLP IEVMVDAVHKLAYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール)	305	表19参照
	IL-12p35 軽鎖	245	表19参照
BCA332.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ)	327	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLP IEVMVDAVHALAYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール)	305	表19参照
	IL-12p35 軽鎖	245	表19参照
BCA333.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ)	328	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLP IEVMVDAVHKLAYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT
	重鎖 (ノブ)		
	IL-12p40 (変異体 Q)		

10

20

30

40

50

			FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール)	305	表19参照
	IL-12p35 軽鎖	245	表19参照
BCA334.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 R)	329	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCCHKGEVLSSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWHLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVEQCQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVAALAYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール)	305	表19参照
	IL-12p35 軽鎖	245	表19参照
BCA335.1 6 (BCA373) 図1参照	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 変異体 T	330	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCCHKGEVLSSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWHLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVEQCQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール)	305	表19参照
	IL-12p35 軽鎖	245	表19参照

10

20

30

40

50

BCA336.1 6 (BCA374) 図1参照	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 変異体 U	331	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVEQCQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHALKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
BCA337.1 6 (BCA375) 図1参照	軽鎖	245	表19参照
	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 変異体 V	332	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVEQCQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLAYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照

10

20

30

40

50

BCA338.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 変異体 W	333	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA339.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 変異体 X	334	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA340.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 変異体 Y	335	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN

10

20

30

40

50

			TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLPIEMVDAVHALKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA341.1 6 (BCA377) 図1参照	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 変異体 Z	336	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLPIEMVDAVHKLAYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA342.1 6 (BCA378) 図1参照	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 変異体 AA	337	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQ
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照

10

20

30

40

50

			QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYE YSVEQCQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHALAYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA343.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 変異体 BB	338	VRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMWSWIRQAPEK RLELVSAINSDDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN LRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGG SIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL AKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYE YSVEQCQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHALKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY SSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA344.1 6 図1参照	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 変異体 CC	339	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYMWSWIRQAPE KRLELVSAINSDDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYE
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照

10

20

30

40

			YSVECQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLAYENYTSSFFIR D I I K P D P P K N L Q L K P L K N S R Q V E V S W E Y P D T W S T P H S Y F S L T F C V Q V Q G K S K R E K K D R V F T D K T S A T V I C R K N A S I S V R A Q D R Y Y S S S W S E W A S V P C S
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA345.1 6 (BCA369) 図1参照	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 変異体 DD	340	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINS DGGITYYLDTVKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIR D I I K P D P P K N L Q L K P L K N S R Q V E V S W E Y P D T W S T P H S Y F S L T F C V Q V Q G K S K R E K K D R V F T D K T S A T V I C R K N A S I S V R A Q D R Y Y S S S W S E W A S V P C S
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA346.1 6 (BCA370) 図1参照	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 変異体 EE	341	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINS DGGITYYLDTVKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVECQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIR D I I K P D P P K N L Q L K P L K N S R Q V E V S W E Y P D T W S T P H S Y F S L T F C V Q V Q G K S K R E K K D R V F T D K T S A T V I C R K N A S I S V R A Q D R Y Y S S S W S E W A S V P C S
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照

10

20

30

40

BCA347.1 6 図1参照	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 変異体 FF	342	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HAKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWHLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVEQCEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
BCA348.1 6 (BCA371) 図1参照	軽鎖	245	表19参照
	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 変異体 GG	343	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWHLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVEQCEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHALKYENYTSSFFIR DIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照

10

20

30

40

50

BCA349.1 6 (BCA372) 図1参照	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 変異体 HH	344	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHLLLL HKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVEQCQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLAYENYTSSFFIR DIIKPDPPKLNQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRY YSSSWSEWASVPCS
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA315 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12	345	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPC LHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWT TISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQC EDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPD PPKLNQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照

10

20

30

40

50

BCA307 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p35 変異体 A)	346	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSDYWGQGTSTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKNESCLNSR ETSFITNGSCLASRKTSMFALCLSSIEDLKMVQVEFKTMN AKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPPQKSSLE EPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGS IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWILDQ SSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTKHGGEVLSSHLLLLHK KEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTI STDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYS VEQEDSACPAAEESLP IEMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFC VQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYS SSWSEWASVPCS	10
	重鎖 (ホール)	306	表19参照	20
	軽鎖	245	表19参照	
BCA308 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p35 変異体 B)	347	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNANKSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSDYWGQGTSTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLKHY SCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSMFALCLSSIEDLKMVQVEFKTMNAKLL MDPHRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPPQKSSLEEDP YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWILDQSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTKHGGEVLSSHLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQ EDSACPAAEESLP IEMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS	30
				40

10

20

30

40

50

BCA323: 図2参照	重鎖 (ホール)	306	表19参照	10
	軽鎖	245	表19参照	
	重鎖 (ノブ)	348	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDA AKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYDPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFRLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVECQ EDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS	
	重鎖 (ホール)	306	表19参照	
	軽鎖	245	表19参照	
BCA324 図2参照	重鎖 (ノブ)	349	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDA YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYDPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFRLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVECQ EDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPD	30
	重鎖 (ホール)	306	表19参照	
	軽鎖	245	表19参照	
	重鎖 (ノブ)	349	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDA YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYDPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFRLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVECQ EDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPD	

10

20

30

40

50

			PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSWS EWASVPCS
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA325 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL- 12p35 変異体 E)	350	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF AKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQC EDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDI IKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSWS EWASVPCS
		306	表19参照
		245	表19参照
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
BCA309 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL- 12p40 変異体 A)	351	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDG
		306	表19参照
		245	表19参照
	重鎖 (ホール)	306	表19参照

10

20

30

40

			IWSTDILKDQKEPKNKTFRLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQC EDSACPAAEESLP IEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPD PPKNLQKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GASAAEAADAVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSWS EWASVPCS
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA310 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL- 12p40 変異体 B)	352	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGSGFLRC EAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEESLP IEVMVDA VHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQKPLKNSRQVEVSWE YPTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSWSSEWASVPCS
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA311 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL- 12p35 変異体 C)	353	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGSGIWE LKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照

10

20

30

40

			IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQC EDSACPAAEEIES
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA312 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL- 12p40 変異体 S)	354	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVTPQKSSLEEDPF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQC EDSACPAAEESLSIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA318 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL- 12p40 変異体 E)	355	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVTPQKSSLEEDPF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照

10

20

30

40

			IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQC EDSACPAAEEIESIKSMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPD PPKNLQKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA319 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL- 12p40 変異体 F)	356	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQC EDSACPAAEEIIVSIKIMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPD PPKNLQKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA320 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL- 12p40 変異体 G)	357	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照

10

20

30

40

50

			YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQ EDSACPAAEEIQSIKGMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA321 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL- 12p40 変異体 H)	358	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSE ITNGSCLASRKTSFMMALCLSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQ EDSACPAAEESLP IEVMVDAVHIKYENYTSSFFIRDIIKPD PKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS WASVPCS
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA322 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL- 12p40 変異体 I)	359	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNNMLQKARQTLEFY
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照

10

20

30

40

50

			PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMALVIDELMQALNFNSETVPOKSSLEEDPF YKTKIKLCILHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVECQ EDSACPAAEESLP I EVMVDAVHSITSANYTSSFFIRDIKPD PPKNLQKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA326 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL- 12p40 変異体 J)	360	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMALVIDELMQALNFNSETVPOKSSLEEDPF YKTKIKLCILHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKAAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVECQ EDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIKPD PPKNLQKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA327 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL- 12p40 変異体 A)	361	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGSTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照

10

20

30

40

50

			I AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPGMFPC LHHSQNLLRAVSNNMLQKARQTLEFY PCTSEEDIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKAAGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHAKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVECC EDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA328 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL- 12p40 変異体 L)	362	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD I AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPGMFPC LHHSQNLLRAVSNNMLQKARQTLEFY PCTSEEDIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSYIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKAAGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHAKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVECC EDSACPAAEESLPIEVMVDAVHALKYENYTSSFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA329 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL- 12p40 変異体 M)	363	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT

10

20

30

40

50

			LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVVFSCSVMHAEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GS RNLFPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPC TSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFIT NGSCLASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLLMD PKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYK TKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWELKK DVYVVELDWYAAAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLG SGKTLTIQVKAAGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGIW STDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCED SACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPP KNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQVK SKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEW ASVPCS
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA330 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL- 12p40 変異体 N)	364	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVVFSCSVMHAEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQC EDSACPAAEESLP I EVMVDAVHALKYENYTSSFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照

10

20

30

40

50

BCA331 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p40 変異体 O)	365	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKEAGDAGQYCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQC EDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLAYENYTSSFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA332 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p40 変異体 P)	366	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGTSVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSSHLLLLHAKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQC EDSACPAAEESLPIEVMVDAVHALAYENYTSSFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQ

10

20

30

40

50

			GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA333.1 6 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL- 12p40 変異体 Q)	367	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINS DGGITYYLDTVKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPC LHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDPF YKTKIKLCILLHA FRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGSIWEL KKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTC DTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVL SHSLLLLHAKEDG IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEEQ EDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLAYENYTSSFFIRDI IKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEY PDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照
BCA334 図2参照	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL- 12p40 変異体 R)	368	EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPE KRLELVSAINS DGGITYYLDTVKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPC LHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSF ITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDPF YKTKIKLCILLHA FRIRAVTIDRVMSYLNASGGGGGSIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTC DTPEEDGITWTLDQSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVL SHSLLLLHKKEDG
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照

10

20

30

40

			IWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEEQ EDSACPAAEESLPIEVMVDAVAALAYENYTSSFFIRDI IKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEY PDTWSTPHSYFSLTFCVQVQ GKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
	重鎖 (ホール)	306	表19参照
	軽鎖	245	表19参照

50

10

20

30

40

50

50

50

50

50

いくつかの実施形態では、抗CAIX抗体は、配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の軽鎖；配列番号304のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の重鎖；配列番号310の

【 0 5 5 2 】

【 0 5 5 3 】

【 0 5 5 4 】

【 0 5 5 5 】

【 0 5 5 6 】

10

20

20

30

30

40

40

50

いくつかの実施形態では、抗CAIX抗体は、配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の軽鎖；配列番号305のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の重鎖；配列番号319のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、

【 0 5 6 1 】

10

【 0 5 6 2 】

20

【 0 5 6 3 】

30

【 0 5 6 4 】

40

【 0 5 6 5 】

50

とも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一であるアミノ酸を含む第 1 の軽鎖；配列番号 305 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一であるアミノ酸を含む第 1 の重鎖；配列番号 324 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一であるアミノ酸を含む第 2 の重鎖；および配列番号 245 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一であるアミノ酸を含む第 2 の軽鎖を含む。

【 0 5 6 6 】

いくつかの実施形態では、抗CAIX抗体は、配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の軽鎖；配列番号305のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の重鎖；配列番号325のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第2の重鎖；および配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第2の軽鎖を含む。

【 0 5 6 7 】

いくつかの実施形態では、抗C A I X抗体は、配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の軽鎖；配列番号305のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の重鎖；配列番号326のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第2の重鎖；および配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第2の軽鎖を含む。

【 0 5 6 8 】

いくつかの実施形態では、抗CAIX抗体は、配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の軽鎖；配列番号305のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の重鎖；配列番号327のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第2の重鎖；および配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第2の軽鎖を含む。

【 0 5 6 9 】

いくつかの実施形態では、抗CAIX抗体は、配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の軽鎖；配列番号305のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の重鎖；配列番号328のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第2の重鎖；および

【 0 5 7 0 】

【 0 5 7 1 】

【 0 5 7 2 】

【 0 5 7 3 】

【 0 5 7 4 】

50

【 0 5 7 5 】

【 0 5 7 6 】

【 0 5 7 7 】

【 0 5 7 8 】

いくつかの実施形態では、抗CAIX抗体は、配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の軽鎖；配列番号305のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の重鎖；配列番号337のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第2の重鎖；および配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、

【 0 5 7 9 】

【 0 5 8 0 】

【 0 5 8 1 】

【 0 5 8 2 】

【 0 5 8 3 】

いくつかの実施形態では、抗CAIX抗体は、配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の軽鎖；配列番号305のアミノ酸配

%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の軽鎖；配列番号305のアミノ酸配

【 0 5 8 4 】

10

20

30

40

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、抗C A I X抗体は、配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の軽鎖；配列番号306のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の重鎖；配列番号355のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第2の重鎖；および配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第2の軽鎖を含む。

50

10

20

30

40

50

50

50

50

50

いくつかの実施形態では、抗CAIX抗体は、配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の軽鎖；配列番号306のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の重鎖；配列番号360の

【 0 6 0 2 】

10

20

30

40

50

50

いくつかの実施形態では、抗CAIX抗体は、配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の軽鎖；配列番号306のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の重鎖；配列番号365のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第2の重鎖；および配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第2の軽鎖を含む。

10

【0607】

いくつかの実施形態では、抗CAIX抗体は、配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の軽鎖；配列番号306のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の重鎖；配列番号366のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第2の重鎖；および配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第2の軽鎖を含む。

20

【0608】

いくつかの実施形態では、抗CAIX抗体は、配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の軽鎖；配列番号306のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の重鎖；配列番号367のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第2の重鎖；および配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第2の軽鎖を含む。

30

【0609】

いくつかの実施形態では、抗CAIX抗体は、配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の軽鎖；配列番号306のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第1の重鎖；配列番号368のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第2の重鎖；および配列番号245のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるアミノ酸を含む第2の軽鎖を含む。

40

【0610】

5, 4 ポリペプチドおよびタンパク質を作製する方法

本明細書に記載のhIL-12p40タンパク質、hIL-12p35タンパク質、schIL-12タンパク質、抗hCAIX抗体（またはそれらの任意の（例えば、1以上の）ポリペプチド）、およびhIL-12融合タンパク質（またはそれらの任意の（例えば、1以上の）ポリペプチド）は、当技術分野で公知の標準的な方法を用いて生産される。例えば、それぞれは、hIL-12p40タンパク質、hIL-12p35タンパク質

50

質、s c h-I L-1 2 タンパク質、抗 h C A I X 抗体（もしくはそれらの任意の（例えば、1 以上の）ポリペプチド）、または h I L-1 2 融合タンパク質（もしくはそれらの任意の（例えば、1 以上の））ポリペプチド）をコードする核酸発現ベクター（例えば、プラスミド、ウイルスベクター（例えば、バキュロウイルス発現ベクター））でトランスフェクトまたは形質導入された宿主細胞（例えば、昆虫細胞、哺乳動物細胞、細菌）における組換え技術によって生産され得る。このような一般的方法は、当技術分野の一般知識である。発現ベクターは一般に、プロモーター、エンハンサー、ポリアデニル化シグナルなど、目的のタンパク質またはポリペプチドをコードする核酸分子の発現をもたらす得る核酸配列を含む発現カセットを含む。当業者ならば、宿主細胞での核酸分子の発現を得るために様々なプロモーターおよびエンハンサー要素が使用可能であること分かるであろう。例えば、プロモーターは、構成型または調節型であり得、様々な供給源、例えば、ウイルス、原核生物または真核生物供給源から得ることができ、または人為的に設計することもできる。トランスフェクションまたは形質導入の後、目的のタンパク質またはポリペプチドをコードする発現ベクターを含有する宿主細胞を、抗原ペプチドまたはタンパク質をコードする核酸分子の発現を助ける条件下で培養する。培養培地は様々な供給業者から入手可能であり、目的のタンパク質またはポリペプチドを発現させるための宿主細胞に適切な培地を慣例的に選択することができる。宿主細胞は、接着培養または懸濁培養することができ、当業者ならば、選択された特定の宿主細胞に関して培養方法を最適化することができる。例えば、懸濁細胞は、例えばバイオリアクターにて、例えば、バッチ法または流加法で培養することができる。多くの哺乳動物細胞株が当技術分野で公知であり、限定されるものではないが、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、CHO 懸濁細胞（CHO-S）、HeLa 細胞、HEK293、ベビーハムスター腎臓（BHK）細胞、サル腎臓細胞（COS）、VERO、HepG2、Madin-Darby ウシ腎臓（MDBK）細胞、NOS、U2OS、A549、HT1080、CAD、P19、NIH3T3、L929、N2a、MCF-7、Y79、SO-Rb50、DUKX-X11、および J558L などの、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（ATCC）から入手可能な不死化細胞株が挙げられる。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、CHO または CHO-S 細胞で生産される。

10

20

30

40

【0611】

生産されたタンパク質またはポリペプチドは、細胞培養物から、例えば、カラムクロマトグラフィーにより、フロー・フロースルーモードまたは結合・溶出モードで単離することができる。例としては、限定されるものではないが、イオン交換樹脂およびアフィニティー樹脂、例えば、レンチルレクチンセファロース、および混合モード陽イオン交換疎水性相互作用カラム（CEX-HIC）が挙げられる。タンパク質またはポリペプチドは、濃縮し、限外濾過によりバッファー交換することができ、限外濾過の保持液を適当なフィルター、例えば、0.22 μm フィルターで濾過することができる。例えば、Hacker, David (Ed.), *Recombinant Protein Expression in Mammalian Cells: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology)*, Humana Press (2018); および McPherson et al., “Development of a SARS Coronavirus Vaccine from Recombinant Spike Protein Plus Delta Inulin Adjuvant,” Chapter 4, in Sunil Thomas (ed.), *Vaccine Design: Methods and Protocols: Volume 1: Vaccines for Human Diseases, Methods in Molecular Biology*, Springer, New York, 2016 参照。また、米国特許第 5,762,939 号も参照。これらのそれぞれの全内容は目的を問わず参照により本明細書の一部として援用される。

【0612】

本明細書に記載の h I L-1 2 p 4 0 タンパク質、本明細書に記載の h I L-1 2 p 3 5 タンパク質、本明細書に記載の s c h-I L 1 2 タンパク質、本明細書に記載の抗 h C A I X 抗体（またはそれらの任意の（例えば、1 以上の）ポリペプチド）、および本明細書に記載の h I L-1 2 融合タンパク質（またはそれらの任意の（例えば、1 以上の）ポリペプチド）は合成生産することができる。

50

【0613】

本明細書に記載のh I L - 1 2 p 4 0タンパク質、本明細書に記載のh I L - 1 2 p 3 5タンパク質、s c h - I L 1 2タンパク質、本明細書に記載の抗h C A I X抗体（もしくはそれらの任意の（例えば、1以上の）ポリペプチド）、または本明細書に記載のh I L - 1 2融合タンパク質（もしくはそれらの任意の（例えば、1以上の）ポリペプチド）のアミノ酸配列は、エドマン分解とその後のH P L Cによるアミノ酸分析を反復して決定することができる。アミノ酸シーケンシングの他の方法も当技術分野で公知である。精製されると、そのタンパク質の機能性を、当技術分野で公知であり、本明細書に記載される標準的なアッセイ（例えば、イムノアッセイ、例えば、E L I S A、細胞系アッセイ）を用いて評価することができる、例えば、実施例4～15および21～23参照。例えば、本明細書に記載の抗体h I L - 1 2融合タンパク質の二機能性は、二機能性E L I S Aを用いて評価することができる。

10

【0614】

5.5 ポリヌクレオチド、ベクター、担体および宿主細胞

一態様において、本明細書では、本明細書に記載のh I L - 1 2 p 4 0タンパク質、本明細書に記載のh I L - 1 2 p 3 5タンパク質、本明細書に記載のs c h - I L 1 2タンパク質、本明細書に記載の抗h C A I X抗体（もしくはそれらの任意の（例えば、1以上の）ポリペプチド）、または本明細書に記載のh I L - 1 2融合タンパク質（もしくはそれらの任意の（例えば、1以上の）ポリペプチド）をコードするポリヌクレオチド（例えば、DNA、RNA）が提供される。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、D N AポリヌクレオチドまたはR N Aポリヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、m R N Aポリヌクレオチドである。

20

【0615】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドはコドンが最適化されている。コドンの最適化は、適切な折りたたみを確保するために標的および宿主生物におけるコドン頻度を一致させるため；核酸安定性を高めるためにグアノシン（G）および／もしくはシトシンI含量を偏らせるため；遺伝子構築もしくは発現を損なう可能性があるタンデムリピート）コドンもしくは一連の塩基を最小化するため；転写および翻訳制御領域をカスタマイズするため；タンパク質輸送配列を挿入もしくは除去するため；コードタンパク質の翻訳後修飾部位（例えば、グリコシル化部位）を除去／付加するため；タンパク質ドメインを付加、除去もしくはシャッフルするため；制限部位を挿入もしくは削除するため；リボソーム結合部位およびm R N A分解部位を改変するため；タンパク質の様々なドメインの適切な折りたたみを可能とするように翻訳速度を調整するため；またはポリヌクレオチド内の問題のある二次構造を減らすもしくは排除するために使用され得る。いくつかの実施形態では、コドンが最適化された核酸配列は、（参照核酸配列に比べて）上記のうち1以上を示す。いくつかの実施形態では、コドンが最適化された核酸配列は、参照核酸配列に比べて、i n v i t r o分解耐性の改善、i n v i t r o安定性の改善、二次構造の低減、および／またはi n v i t r o翻訳性の改善のうち1以上を示す。コドン最適化法、ツール、アルゴリズム、およびサービスは、当技術分野において公知であり、非限定的な例としては、Gene Art（Life Technologies）およびDNA 2.0（Menlo Park Calif.）のサービスが挙げられる。いくつかの実施形態では、オープンリーディングフレーム（ORF）配列は、最適化アルゴリズムを使用して最適化される。いくつかの実施形態では、核酸配列は、参照核酸配列と比較して、Gおよび／またはCヌクレオチドの数を最適化するように改変される。GおよびCヌクレオチドの数の増加は、アデノシン（T）またはチミジン（T）（またはウラシル（U））ヌクレオチドを含むコドンを、GまたはCヌクレオチドを含むコドンで置換することによって生成され得る。

30

40

【0616】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載のポリヌクレオチド（例えば、本明細書に記載のh I L - 1 2 p 4 0タンパク質、本明細書に記載のh I L - 1 2 p 3 5タンパ

50

ク質、本明細書に記載の s c h I L - 1 2 タンパク質をコードするポリヌクレオチド)、本明細書に記載の抗 h C A I X 抗体 (もしくはそれらの任意の (例えば、1 以上の) ポリペプチド)、または本明細書に記載の h I L - 1 2 融合タンパク質 (もしくはそれらの任意の (例えば、1 以上の) ポリペプチド)) を含むベクターが提供される。いくつかの実施形態では、ベクターは、ウイルスベクターである。いくつかの実施形態では、ベクターは、非ウイルスベクター (例えば、プラスミド) である。

【0617】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質、本明細書に記載の s c h I L - 1 2 タンパク質、本明細書に記載の抗 h C A I X 抗体 (もしくはそれらの任意の (例えば、1 以上の) ポリペプチド)、または本明細書に記載の h I L - 1 2 融合タンパク質 (もしくはそれらの (例えば、1 以上の) ポリペプチド)、本明細書に記載のポリヌクレオチド、または本明細書に記載のベクターを含む担体が提供される。担体としては、限定されるものではないが、脂質ナノ粒子 (L N P)、リポソーム、リポプレックス、またはナノリポソームなどの脂質に基づく担体が挙げられる。いくつかの実施形態では、担体は、L N P、例えば、本明細書に記載の L N P である。

10

【0618】

一態様において、本明細書では、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質、本明細書に記載の s c h I L - 1 2 タンパク質、本明細書に記載の抗 h C A I X 抗体 (もしくはそれらの任意の (例えば、1 以上の) ポリペプチド)、または本明細書に記載の h I L - 1 2 融合タンパク質 (もしくはそれらの任意の (例えば、1 以上の) ポリペプチド)、本明細書に記載のポリヌクレオチド、本明細書に記載のベクター、または本明細書に記載の担体を含む宿主細胞が提供される。

20

【0619】

5.6 医薬組成物

一態様において、本明細書では、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質、本明細書に記載の s c h I L - 1 2 タンパク質、本明細書に記載の抗 h C A I X 抗体 (もしくはそれらの任意の (例えば、1 以上の) ポリペプチド)、または本明細書に記載の h I L - 1 2 融合タンパク質 (もしくはそれらの任意の (例えば、1 以上の) ポリペプチド)、本明細書に記載のポリヌクレオチド、本明細書に記載のベクター、本明細書に記載の宿主細胞、または本明細書に記載の担体、および薬学上許容される賦形剤 (例えば、全内容が目的を問わず参照により本明細書の一部として援用される Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA 参照) を含む医薬組成物が提供される。

30

【0620】

一態様において、本明細書ではまた、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 4 0 タンパク質、本明細書に記載の h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質、本明細書に記載の s c h I L - 1 2 タンパク質、本明細書に記載の抗 h C A I X 抗体 (もしくはそれらの任意の (例えば、1 以上の) ポリペプチド)、または本明細書に記載の h I L - 1 2 融合タンパク質 (もしくはそれらの任意の (例えば、1 以上の) ポリペプチド)、本明細書に記載のポリヌクレオチド、本明細書に記載のベクター、本明細書に記載の宿主細胞、または本明細書に記載の担体を提供すること、およびそれを 1 以上の薬学上許容される賦形剤の添加により薬学上許容される組成物として製剤することを含む、本明細書に記載の医薬組成物の作製方法が提供される。

40

【0621】

許容される賦形剤 (例えば、担体および安定剤) は好ましくは、使用される用量および濃度ではレシピエントに非毒性であり、リン酸塩、クエン酸塩、もしくは他の有機酸などの緩衝剤; アスコルビン酸もしくはメチオニンを含む抗酸化剤; 保存剤 (例えば、塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム; 塩化ヘキサメトニウム; 塩化ベンザルコニウ

50

ム、塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチルもしくはベンジルアルコール；メチルもしくはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；もしくはm-クレゾール）；低分子量（約10残基未満の）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、もしくは免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、もしくはリシンなどのアミノ酸；グルコース、マンノース、もしくはデキストリンを含む単糖類、二糖類、もしくは他の炭水化物；EDTAなどのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロースもしくはソルビトールなどの糖類；ナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体（例えば、Zn-タンパク質錯体）；および／またはツィーン（商標）、ブルロニック（登録商標）もしくはポリエチレングリコール（PEG）などの非イオン性界面活性剤が挙げられる。

10

【0622】

医薬組成物は、対象へのいずれの投与経路向けにも製剤され得る。非限定的実施形態には、非経口投与、例えば、筋肉内、皮内、皮下、経皮、または粘膜投与、例えば、吸入、鼻腔内、経口投与が含まれる。一実施形態では、医薬組成物は、筋肉内、皮内、または皮下注射による投与向けに製剤される。一実施形態では、医薬組成物は、筋肉内注射による投与向けに製剤される。一実施形態では、医薬組成物は、皮内注射による投与向けに製剤される。一実施形態では、医薬組成物は、皮下注射による投与向けに製剤される。注射剤は、従来の形態で、溶液または懸濁液として調製することができる。注射剤は、1以上の賦形剤を含有し得る。例示的賦形剤としては、例えば、水、生理食塩水、デキストロース、グリセロールまたはエタノールが含まれる。さらに、所望により、投与される医薬組成物は、湿潤剤または乳化剤、pH緩衝剤、安定剤、溶解促進剤、または例えば、酢酸ナトリウム、モノラウリン酸ソルビタン、オレイン酸トリエタノールアミンもしくはシクロデキストリンなどの他のこのような薬剤といった、微量の非毒性補助物質も含み得る。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、単一用量で製剤される。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、多用量として製剤される。

20

【0623】

本明細書に記載の非経口製剤に使用される薬学上許容される賦形剤としては、例えば、水性ビヒクル、非水性ビヒクル、抗菌剤、等張化剤、緩衝剤、抗酸化剤、局所麻酔剤、懸濁化剤および分散剤、乳化剤、封鎖剤もしくはキレート化剤、または他の薬学上許容される物質が挙げられる。本明細書に記載の1以上の製剤に組み込むことができる水性ビヒクルの例としては、塩化ナトリウム注射液、リンゲル注射液、等張デキストロース注射液、滅菌水注射液、デキストロースまたは乳酸化リンゲル注射液が挙げられる。本明細書に記載の製剤の1以上に組み込むことができる非水性非経口ビヒクルとしては、植物由来の固定油、綿実油、トウモロコシ油、ゴマ油またはピーナッツ油が挙げられる。静菌濃度または静真菌濃度の抗微生物剤を、本明細書に記載の非経口製剤に添加し、多用量容器に包装することができ、これには、フェノールまたはクレゾール、メルカリル、ベンジルアルコール、クロロブタノール、p-ヒドロキシ安息香酸メチルおよびプロピルエステル、チメロサル、塩化ベンザルコニウムまたは塩化ベンゼトニウムが含まれる。本明細書に記載される1以上の製剤に組み込むことができる等張化剤には、塩化ナトリウムまたはデキストロースが含まれる。本明細書に記載される1以上の製剤に組み込むことができる緩衝剤としては、リン酸塩またはクエン酸塩が挙げられる。本明細書に記載される1以上の製剤に組み込むことができる抗酸化剤としては、重硫酸ナトリウムが挙げられる。本明細書に記載される1以上の製剤に組み込むことができる局所麻酔剤としては、塩酸プロカインが挙げられる。本明細書に記載される1以上の製剤に組み込むことができる懸濁化剤および分散剤としては、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロースまたはポリビニルピロリドンが挙げられる。本明細書に記載される1以上の製剤に組み込むことができる乳化剤としては、ポリソルベート80（ツィーン（登録商標）80）が挙げられる。本明細書に記載される1以上の製剤に組み込むことができる金属イオンの封鎖剤またはキレート剤は、EDTAである。本明細書に記載される1以上の製剤に

30

40

50

組み込むことができる医薬担体としてはまた、水混和性ビヒクルのためのエチルアルコール、ポリエチレングリコールもしくはプロピレングリコール；またはpH調整のための水酸化ナトリウム、塩酸、クエン酸もしくは乳酸も挙げられる。

【0624】

医薬組成物に採用される正確な用量は、投与経路、およびそれによって引き起こされる状態の重篤度にも依存し、当業者の判断および各対象の状況に応じて決定されるべきである。例えば、有効用量は、投与手段、標的部位、対象の生理学的状態（年齢、体重、および健康状態を含む）、投与される他の薬物、または治療が予防的か治療的かによっても異なり得る。治療用量は、安全性と有効性を最適化するために力価調整されることが好ましい。

【0625】

5.7 使用方法

本明細書では、本明細書に記載のhIL-12p40タンパク質、本明細書に記載のhIL-12p35タンパク質、本明細書に記載のschIL-12タンパク質、本明細書に記載の抗hCAIX抗体（またはそれらの任意の（例えば、1以上の）ポリペプチド）、本明細書に記載のhIL-12融合タンパク質（またはそれらの任意の（例えば、1以上の）ポリペプチド）、本明細書に記載のポリヌクレオチド、本明細書に記載のベクター、本明細書に記載の宿主細胞、本明細書に記載の担体、および本明細書に記載の医薬組成物を使用する様々な方法が提供される。いくつかの実施形態では、これらの方法は、本明細書に記載のhIL-12p40タンパク質、本明細書に記載のhIL-12p35タンパク質、本明細書に記載のschIL-12タンパク質、抗hCAIX抗体（もしくはそれらの任意の（例えば、1以上の）ポリペプチド）本明細書に記載の、hIL-12融合タンパク質（もしくはそれらの任意の（例えば、1以上の）ポリペプチド）本明細書に記載の、本明細書に記載のポリヌクレオチド、本明細書に記載のベクター、本明細書に記載の宿主細胞、本明細書に記載の担体、または本明細書に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む。例示的对象としては、哺乳動物、例えば、ヒト、非ヒト哺乳動物、例えば、非ヒト霊長類が挙げられる。いくつかの実施形態では、対象はヒトである。

【0626】

本明細書に記載の方法のいずれかに従って対象に投与される本明細書に記載のhIL-12p40タンパク質、本明細書に記載のhIL-12p35タンパク質、本明細書に記載のschIL-12タンパク質、本明細書に記載の抗hCAIX抗体（もしくはそれらの任意の（例えば、1以上の）ポリペプチド）、本明細書に記載のhIL-12融合タンパク質（もしくはそれらの任意の（例えば、1以上の））ポリペプチド）、本明細書に記載のポリヌクレオチド、本明細書に記載のベクター、本明細書に記載の宿主細胞、本明細書に記載の担体、または本明細書に記載の医薬組成物の用量は、投与経路、対象の年齢および体重、ならびにアジュバントのタイプ（存在する場合）を含む当業者に公知の標準的な技術に従って決定することができる。

【0627】

5.7.1 送達方法

一態様において、本明細書では、(i)本明細書に記載のhIL-12p40タンパク質、(ii)本明細書に記載のhIL-12p35タンパク質、(iii)本明細書に記載のschIL-12タンパク質、(iv)本明細書に記載の抗hCAIX抗体（もしくはその任意の（例えば、1以上の））ポリペプチド）、(v)本明細書に記載のhIL-12融合タンパク質（もしくはその任意の（例えば、1以上の））ポリペプチド）；(vi)本明細書に記載のポリヌクレオチド；(vii)本明細書に記載のベクター；(viii)本明細書に記載の宿主細胞；(ix)本明細書に記載の担体；または(x)本明細書に記載の医薬組成物を対象に送達する方法が提供され、その方法は、本明細書に記載のhIL-12p40タンパク質、本明細書に記載のhIL-12p35タンパク質、本明細書に記載の抗hCAIX抗体（もしくはその任意の（例えば、1以上の））ポリペプチド）、hIL-12融合タンパク質（もしくはその任意の（例えば、1以上の））ポリペ

10

20

30

40

50

プチド)、ポリヌクレオチド、ベクター、宿主細胞、担体、または医薬組成物を、本明細書に記載のh I L - 1 2 p 4 0タンパク質、本明細書に記載のh I L - 1 2 p 3 5タンパク質、本明細書に記載のs c h I L - 1 2タンパク質、本明細書に記載の抗h C A I X抗体(もしくはその任意の(例えば、1以上の))ポリペプチド)、h I L - 1 2融合タンパク質(もしくはその任意の(例えば、1以上の))ポリペプチド)、ポリヌクレオチド、ベクター、宿主細胞、担体、または医薬組成物を対象に送達するのに十分な量および時間で、対象に投与することを含む。

【0628】

5. 7. 2 T細胞またはNK細胞機能を刺激する方法

一態様において、本明細書では、対象においてT細胞またはNK細胞エフェクター機能を刺激する方法が提供され、その方法は、i) 本明細書に記載のh I L - 1 2 p 4 0タンパク質、(i i) 本明細書に記載のh I L - 1 2 p 3 5タンパク質、(i i i) 本明細書に記載のs c h I L - 1 2タンパク質、(i v) 本明細書に記載の抗h C A I X抗体(もしくはその任意の(例えば、1以上の))ポリペプチド)、(v) 本明細書に記載のh I L - 1 2融合タンパク質(もしくはその任意の(例えば、1以上の))ポリペプチド); (v i) 本明細書に記載のポリヌクレオチド; (v i i) 本明細書に記載のベクター; (v i i i) 本明細書に記載の宿主細胞; (i x) 本明細書に記載の担体; または(x) 本明細書に記載の医薬組成物を対象に、対象においてT細胞またはNK細胞エフェクター機能を刺激するのに十分な量および時間で投与することを含む。いくつかの実施形態では、エフェクター機能は、サイトカイン(例えば、I F N - γ)の分泌である。関連のあるエフェクター機能は、当技術分野で公知であり、本明細書に記載されている一般的方法によって評価することができ(例えば、節6参照)、例えば、I F N - γ の分泌の評価は、E L I S Aを用いて行うことができる、例えば、節6. 5および6. 6参照。

【0629】

5. 7. 3 癌を予防または治療する方法

一態様において、本明細書では、対象において癌を予防または治療する方法が提供され、その方法は、i) 本明細書に記載のh I L - 1 2 p 4 0タンパク質、(i i) 本明細書に記載のh I L - 1 2 p 3 5タンパク質、(i i i) 本明細書に記載のs c h I L - 1 2タンパク質、(i v) 本明細書に記載の抗h C A I X抗体(もしくはその任意の(例えば、1以上の))ポリペプチド)、(v) 本明細書に記載のh I L - 1 2融合タンパク質(もしくはその任意の(例えば、1以上の))ポリペプチド); (v i) 本明細書に記載のポリヌクレオチド; (v i i) 本明細書に記載のベクター; (v i i i) 本明細書に記載の宿主細胞; (i x) 本明細書に記載の担体; または(x) 本明細書に記載の医薬組成物を対象に、対象において癌を予防または治療するのに十分な量および時間で投与することを含む。

【0630】

一態様において、本明細書では、対象において癌を治療する方法が提供され、その方法は、対象からのサンプルで可溶性C A I Xの存在を決定した検査結果を受容すること、このサンプルは癌細胞を含有しない(または実質的な数の癌細胞を含有しない); 対象を、C A I Xを発現する癌細胞を含む癌を有するとして診断すること; およびi) 本明細書に記載のh I L - 1 2 p 4 0タンパク質、(i i) 本明細書に記載のh I L - 1 2 p 3 5タンパク質、(i i i) 本明細書に記載のs c h I L - 1 2タンパク質、(i v) 本明細書に記載の抗h C A I X抗体(もしくはその任意の(例えば、1以上の))ポリペプチド)、(v) 本明細書に記載のh I L - 1 2融合タンパク質(もしくはその任意の(例えば、1以上の))ポリペプチド); (v i) 本明細書に記載のポリヌクレオチド; (v i i) 本明細書に記載のベクター; (v i i i) 本明細書に記載の宿主細胞; (i x) 本明細書に記載の担体; または(x) 医薬組成物を対象に、対象において固形癌を治療するのに十分な量および時間で投与することを含む。

【0631】

いくつかの実施形態では、癌は転移性である。いくつかの実施形態では、癌は再発性で

ある。いくつかの実施形態では、癌は転移性かつ再発性である。いくつかの実施形態では、癌は、承認標準治療に不応性である。いくつかの実施形態では、癌は、少なくとも1つの承認標準治療に不応性である。いくつかの実施形態では、癌は、少なくとも全ての承認標準治療に不応性である。

【0632】

いくつかの実施形態では、癌は固形癌である。いくつかの実施形態では、癌は造血器悪性腫瘍である。いくつかの実施形態では、疾患は癌である。いくつかの実施形態では、癌は造血器悪性腫瘍である。例示的造血器悪性腫瘍としては、限定されるものではないが、白血病（例えば、急性リンパ球性白血病（ALL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性リンパ球性白血病（CLL）、慢性骨髄性白血病（CML））、リンパ腫（例えば、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫）、または骨髄腫（例えば、多発性骨髄腫）が挙げられる。

10

【0633】

いくつかの実施形態では、癌は、上皮起源の癌である。いくつかの実施形態では、癌は固形癌である。例示的固形腫瘍癌としては、限定されるものではないが、肺癌、中枢神経系癌（例えば、脳癌または脊髄癌、例えば、星状細胞腫、膠芽腫）、乳癌、大腸癌、結腸癌、直腸癌、食道癌、腎臓癌、肝臓癌、卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、胃癌、皮膚癌、膀胱癌、子宮癌、脳癌、子宮内膜癌、口唇癌、口腔癌、中皮腫、肉腫、甲状腺癌、胸腺癌、腎癌、肛門癌、頭部癌、頸部癌、および頭頸部癌が挙げられる。

20

【0634】

いくつかの実施形態では、癌は、腎細胞癌、小腸癌、大腸癌、膀胱癌、胃腺癌、非小細胞肺癌、食道癌、子宮頸癌、小細胞肺癌、頭頸部癌、黒色腫、膠芽腫、卵巣癌、肉腫、子宮内膜癌、消化管間質腫瘍、食道胃接合部癌、トリプルネガティブ乳癌、または膵臓腺癌である。

【0635】

いくつかの実施形態では、癌は、腎癌（例えば、腎細胞癌）、膀胱癌、大腸癌、小腸癌、食道／食道胃接合部（GEJ）癌、中枢神経系癌（例えば、脳もしくは脊髄癌、例えば、膠芽腫）、子宮頸癌、胃癌、肺癌（例えば、小細胞肺癌）、または消化管癌である。

【0636】

いくつかの実施形態では、癌細胞は、細胞表面にhCAIXを発現する。いくつかの実施形態では、癌は、細胞表面にhCAIXを発現することが特定されている。いくつかの実施形態では、癌細胞のサンプル（例えば、生検）は、サンプル中の細胞の少なくとも一部が細胞表面にhCAIXを発現することが判定されている。いくつかの実施形態では、この方法は、癌組織のサンプル（例えば、生検）中の癌細胞の少なくとも一部が細胞表面にhCAIXを発現することを特定することを含む。

30

【0637】

いくつかの実施形態では、本明細書開示される方法は、標準治療の代わりに使用される。特定の実施形態では、標準治療法は、本明細書開示される任意の方法と併用される。様々な種類の癌の標準治療法は当業者に周知である。例えば、米国の21の主要な癌センターの連合であるNational Comprehensive Cancer Network（NCCN）は、NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology（NCCN GUIDELINES（登録商標））を発行し、多様な癌に対する標準治療に関する詳細な最新情報を提供している。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される方法は、標準治療が奏功しなかった後に使用される。

40

【0638】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、1以上の予防薬または治療薬と組み合わせて（例えば、前、同時、または後に）投与される。いくつかの実施形態では、治療薬は抗癌剤である。いくつかの実施形態では、治療薬は化学療法薬である。これらの治療薬は、化合物、抗体、ポリペプチド、またはポリヌクレオチドの形態であり得る。

50

【0639】

5.7.4 診断方法

さらに、本明細書では、診断方法が提供される。本明細書に記載の方法（例えば、診断方法（例えば、節5.7.4参照）および治療方法（例えば、節5.7.3参照））のいくつかは、対象由来のサンプルを利用する。適切なサンプル源、サイズなどは、選択された方法における使用に従って当業者が決定することができる。例示的对象サンプルとしては、限定されるものではないが、血液、血漿、細胞、組織、唾液サンプル、および鼻腔スワブが挙げられる。他のサンプルとしては、限定されるものではないが、精液、痰、粘液、汗、尿、および糞便が挙げられる。いくつかの実施形態では、サンプルは、血液、血漿、または血清である。いくつかの実施形態では、サンプルは血液である。いくつかの実施形態では、サンプルは血漿である。いくつかの実施形態では、サンプルは血液である。いくつかの実施形態では、サンプルは、血液サンプルから処理された血漿である。

10

【0640】

一態様において、本明細書では、対象の固形癌の細胞におけるCAIXの発現を判定する方法が提供され、その方法は、対象からサンプルを得ること、前記サンプルは癌細胞を含まない（または実質的な数の癌細胞を含まない）、および前記サンプル中の可溶性CAIX（またはそのフラグメントまたは変異体）の有無を判定することを含む。

【0641】

一態様において、本明細書では、CAIXを発現する癌細胞を含む固形癌を有する対象を診断する方法であって、その方法は、対象からサンプルを得ること、前記サンプルは癌細胞を含まない（または実質的な数の癌細胞を含まない）、前記サンプル中の可溶性CAIX（またはそのフラグメントもしくは変異体）の有無を判定すること、および可溶性CAIXが前記サンプル中に存在することが決定された場合に、前記対象を、CAIXを発現する癌細胞を含む固形癌を有するとして診断することを含む。

20

方法が提供される。

【0642】

5.8 キット

一態様において、本明細書では、本明細書に記載のhIL-12p40タンパク質；本明細書に記載のhIL-12p35タンパク質；本明細書に記載のschIL-12タンパク質；本明細書に記載の抗hCAIX抗体（もしくはそれらの任意の（例えば、1以上の）ポリペプチド）；本明細書に記載のhIL-12融合タンパク質（もしくはそれらの任意の（例えば、1以上の）ポリペプチド）；本明細書に記載のポリヌクレオチド；本明細書に記載のベクター；本明細書に記載の宿主細胞；本明細書に記載の担体；または本明細書に記載の医薬組成物、本明細書に記載のポリヌクレオチド、本明細書に記載のベクター、本明細書に記載の宿主細胞、本明細書に記載の担体、または本明細書に記載の医薬組成物を含むキットが提供される。さらに、キットは、可溶化もしくは希釈用の液体ビヒクルおよび／または技術説明書を含み得る。キットの技術説明書は、投与および用量および対象群に関する情報を含み得る。

30

【0643】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のhIL-12p40タンパク質；本明細書に記載のhIL-12p35タンパク質；本明細書に記載のschIL-12タンパク質；本明細書に記載の抗hCAIX抗体（もしくはそれらの任意の（例えば、1以上の）ポリペプチド）；本明細書に記載のhIL-12融合タンパク質（もしくはそれらの任意の（例えば、1以上の）ポリペプチド）、本明細書に記載のポリヌクレオチド、本明細書に記載のベクター、本明細書に記載の宿主細胞、本明細書に記載の担体、または本明細書に記載の医薬組成物は、キットの別の部分に提供され、本明細書に記載の多重特異性タンパク質（もしくはそのポリペプチド）、本明細書に記載のポリヌクレオチド、本明細書に記載のベクター、本明細書に記載の宿主細胞、本明細書に記載の担体、または本明細書に記載の医薬組成物は任意選択により、凍結乾燥、噴霧乾燥、または噴霧凍結乾燥させる。キットはさらに、乾燥または凍結乾燥された本明細書に記載のhIL-12p40タンパク

40

50

質；本明細書に記載の h I L - 1 2 p 3 5 タンパク質；本明細書に記載の s c h I L - 1 2 タンパク質；本明細書に記載の抗 h C A I X 抗体（もしくはそれらの任意の（例えば、1 以上の）ポリペプチド）；本明細書に記載の h I L - 1 2 融合タンパク質（もしくはそれらの任意の（例えば、1 以上の）ポリペプチド）、本明細書に記載のポリヌクレオチド、本明細書に記載のベクター、本明細書に記載の宿主細胞、本明細書に記載の担体、または本明細書に記載の医薬組成物を可溶化するためのビヒクル（例えば、バッファー溶液）を部分として含み得る。

【0644】

いくつかの実施形態では、キットは、単一用量容器を含む。いくつかの実施形態では、キットは、多用量容器を含む。いくつかの実施形態では、キットは、投与デバイス（例えば、皮内注射用の注射器または筋肉内注射用のシリンジ）を含む。いくつかの実施形態では、キットは、別の容器にアジュバントを含む。

10

【0645】

本明細書に記載のキットはいずれも、本明細書に記載の方法のいずれに使用してもよい（例えば、節 5 . 7 参照）。

【実施例】

【0646】

この節（すなわち、第 6 節）の実施例は、例示のために示され、限定するものではない。

【0647】

20

6 . 1 実施例 1 . ヒト化抗 h C A I X 抗体の作出

マウス／ヒトキメラ抗体ギレンツキシマブの 5 つの異なるヒト化軽鎖可変領域（V L）と 5 つの異なるヒト化重鎖可変領域（V H）（表 2 1 参照）を、下記の方法に従って作出した。ギレンツキシマブ C D R 配列の「アクセプター」フレームワークと使用されるいくつかのヒトフレームワーク配列が同定された。結果として、ヒト化配列は非免疫原性であり、親抗体の C D R ループのカノニカル構造を含むと思われる。C D R ループコンフォメーションの最適な保持のために、I M G T および K a b a t を用いて C D R を特定した。

【0648】

重鎖および軽鎖のヒト化のために、B L A S T 検索アルゴリズムを用い、ヒト I g G および I g G κ 配列のデータベースを、それぞれマウス V H ドメインおよびマウス V L ドメインと比較するために検索した。候補ヒト可変ドメインを上位 2 0 0 の B L A S T 結果から選択した。フレームワークの相同性、重要なフレームワーク残基の維持、およびカノニカルループ構造の組合せに基づき、重鎖については最も近いヒト生殖細胞系列 I G H V 3 - 1 1、軽鎖については I G K V 1 D - 1 3 が選択された。

30

【0649】

ヒト化重鎖および軽鎖を、M H C クラス I I 結合エピトープ、F v グリコシル化モチーフ、および脱アミド化モチーフに関してスクリーニングした。次に、軽鎖および重鎖の組合せの全てを一過性発現させ、発現収率、抗原結合速度論、および安定性を含む様々なパラメーターに関して試験した。

【0650】

40

ヒト／マウスキメラ親抗体ギレンツキシマブ（およびその成分）のアミノ酸配列を表 2 1 に示す。

【0651】

50

【表 2 1】

表 21 親抗体ギレンツキシマブのアミノ酸配列

説明		配列番号
ギレンツキシマブ	VH CDR1	237
	VH CDR2	238
	VH CDR3	239
	VL CDR1	240
	VL CDR2	241
	VL CDR3	242
	VH	246
	VL	247
	重鎖	248
	軽鎖	249

10

【0 6 5 2】

作出されたヒト化抗 h C A I X 抗体の V H、重鎖、V L、および軽鎖のアミノ酸配列を上記表 2 に示す。

20

【0 6 5 3】

作出されたヒト化抗 h C A I X 抗体の V H、重鎖、V L、および軽鎖のヌクレオチド配列を上記表 3 に示す。

【0 6 5 4】

H C 5（配列番号 7）および L C 3（配列番号 1 5）を含むヒト化抗 h C A I X 抗体に対してさらに合理的親和性成熟プラットフォーム（RAMP）技術を用いた親和性成熟を行った。RAMP は、抗体の体細胞超変異空間を探索する「自然」ライブラリー設計を組み合わせ、各抗体に特異的な自然突然変異を生成する。抗体の結合能と安定性を向上させるために分子ドッキングと *in silico* 選択を用いた。この方法は、親和性と開発性のバランスをとるように設計された。

30

【0 6 5 5】

復帰突然変異は、抗体の C D R とフレームワーク領域の両方に組み込まれ、コンビナトリアル方式で統合され、これにより、最初のライブラリーは 9 5 の変異体の濃縮された「マイクロライブラリー」に絞り込まれ、それらを C H O 細胞で発現させ、完全な I g G 形式で特性評価し、親和性と開発性の属性に基づいてランク付けした。「自然」設計アプローチと開発性に関する本質的な配慮により、RAMP は親和性を向上させるだけでなく、例えば安定性、凝集、p I などの付加的な属性についても最適化するためにも使用でき、抗体の開発性プロファイルを全体的に向上させることができた。

【0 6 5 6】

作出された親和性成熟ヒト化抗 h C A I X 抗体の V H および重鎖領域のアミノ酸配列を表 2 2 に示す。

40

【0 6 5 7】

50

【表 2 2】

表 22 親和性成熟ヒト化抗体抗hCAIX の VH 領域および VL 領域のアミノ酸配列

説明	配列番号
VH	
HC5 変異体 3	7
HC5 変異体 27	8
HC5 変異体 29	9
HC5 変異体 36	9
HC5 変異体 74	8
VL	
LC3 変異体 3	15
LC3 変異体 27	15
LC3 変異体 29	15
LC3 変異体 36	16
LC3 変異体 74	17

10

【0658】

20

6.2 実施例 2. 抗hCAIX IL-12 融合タンパク質の作出

hCAIX 結合ドメインおよび hIL-12 (例えば、hIL-12 p35 および hIL-12 p40 または schIL-12) を含む融合タンパク質を下記のように作出した。

【0659】

BCA316 形式 (すなわち、抗CAIX 抗体の第1のFc 領域に融合されたIL-12 p35 および第2のFc 領域に融合されたIL-12 p40 (例えば、図2 および図4 参照)) を有する融合タンパク質は、以下の方法に従って作出した。簡単に述べれば、下記のように、3つの異なるポリペプチドをCHO 細胞で共発現させた。これらの各ポリペプチドはN 末端シグナルペプチドを含んでおり、このシグナルペプチドは切断されて成熟タンパク質鎖を形成し、細胞外培地への適切な分泌を確保する。これらの3つのポリペプチドは次の通りであった。

30

- ・1. ヒト化軽鎖 (LC3)。
- ・2. CH3 領域にノブ変異 (T366W) を含む第1のヒト化重鎖 (HC5)。重鎖のC 末端は、成熟IL-12 p40 ポリペプチドのN 末端に、ペプチドリinker (GGGGS)₃ (配列番号72) を介して作動可能に連結されている。hIL-12 p40 サブユニットは、翻訳を終結させるためにC 末端に終止コドンを含む。
- ・3. CH3 ドメインにホール変異セットを含む第2のヒト化重鎖 (HC5)。重鎖のC 末端は、成熟IL-12 p35 ポリペプチドのN 末端に、ペプチドリinker (GGGGS)₃ (配列番号7) を介して作動可能に連結されている。

40

【0660】

3つのポリペプチドのそれぞれをコードするポリヌクレオチドは、遺伝子発現を最大にするためにCHO 細胞での発現に関してコドンを最適化し、次に、適切な真核生物発現ベクターにクローニングした。ヒト化重鎖ノブポリペプチドおよびヒト化重鎖ホールポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを単一の遺伝子発現ベクターにクローニングし、ヒト化軽鎖ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを、異なる遺伝子発現ベクターに別途クローニングした。これらの2つのベクターを合わせてCHO 細胞に共トランスフェクトし、所望の抗CAIX hIL-12 融合タンパク質を作出した (標準的な方法を用いて培養上清から単離および精製した)。別の発現戦略で、3つ全てのポリヌクレオチドを単一の遺伝子発現ベクターにクローニングし、これを次にCHO 細胞にトランスフェクト

50

し、所望の抗CAIX hIL-12融合タンパク質を作出した（標準的な方法を用いて培養上清から単離および精製した）。

【0661】

BCA315形式を有する融合タンパク質（すなわち、schIL-12（例えば、図1および図3参照））を以下の方法に従って作出した。簡単に述べれば、3つの異なるポリペプチドを、下記のように*in vitro*においてCHO細胞で共発現させた。これらの3つのポリペプチドは次の通りであった。

- ・1. ヒト化軽鎖配列（LC3）。
- ・2. CH3領域にノブ変異（T366W）を有するヒト化重鎖配列（HC5）。重鎖のC末端は、成熟hIL-12 p35のN末端に、ペプチドリンカー（GGGGG₃）（配列番号7）を介して作動可能に連結されている。成熟hIL-12 p35ポリペプチドのC末端は、成熟hIL-12 p40ポリペプチドのN末端に、（i）短鎖ペプチドリンカー（GGGGGG₃）（配列番号369）または調査ペプチドリンカー（GGGGG₃）（配列番号7）のいずれかを介して作動可能に連結されている。
- ・3. CH3ドメインのホール変異セットを含むヒト化重鎖配列（HC5）。

【0662】

3つのポリペプチドのそれぞれをコードするポリヌクレオチドは、遺伝子発現を最大にするためにCHO細胞での発現に関してコドン最適化し、次に、適切な真核生物発現ベクターにクローニングした。ヒト化重鎖ノブポリペプチドおよびヒト化重鎖ホールポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを単一の遺伝子発現ベクターにクローニングし、ヒト化軽鎖ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを、異なる遺伝子発現ベクターに別途クローニングした。これらの2つのベクターを合わせてCHO細胞に共トランスフェクトし、所望の抗CAIX hIL-12融合タンパク質を作出した（標準的な方法を用いて培養上清から単離および精製した）。別の発現戦略で、3つ全てのポリヌクレオチドを単一の遺伝子発現ベクターにクローニングし、これを次にCHO細胞にトランスフェクトし、所望の抗CAIX hIL-12融合タンパク質を作出した（標準的な方法を用いて培養上清から単離および精製した）。

【0663】

作出された抗hCAIX hIL-12融合タンパク質のアミノ酸配列を表23に示す。

【0664】

10

20

30

40

50

【表 2 3】

表 23 生成された抗 hCAIX IL-12 融合タンパク質及びポリペプチドのアミノ酸配列

説明		配列番号
BCA316	重鎖 (HC) (ノブ) IL-12p40	304
	HC (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖 (LC)	245
BCA307.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40	304
	重鎖 (ホール) IL-12p35 (変異体 A)	307
	軽鎖	245
BCA308.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40	304
	重鎖 (ホール) IL-12p35 (変異体 B)	308
	軽鎖	245
BCA323.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40	304
	重鎖 (ホール) IL-12p35 (変異体 C)	309
	軽鎖	245
BCA324.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40	304
	重鎖 (ホール) IL-12p35 (変異体 D)	310
	軽鎖	245
BCA325.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40	304
	重鎖 (ホール) IL-12p35 (変異体 E)	311
	軽鎖	245
BCA309.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 A)	312
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA310.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 B)	313
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA311.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 C)	314
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA317	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 D)	315
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA318.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 E)	316
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA319.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 F)	317
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245

10

20

30

40

50

BCA320.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 G)	318
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA321.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 H)	319
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA322.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 I)	320
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA326.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 J)	321
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA327.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 K)	322
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA328.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 L)	323
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA329.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 M)	324
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA330.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 N)	325
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA331.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 O)	326
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA332.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 P)	327
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA333.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 Q)	328
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA334.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40 (変異体 R)	329
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA336.16	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 (変異体 U)	331
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245

10

20

30

40

50

BCA337.16	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 (変異体 V)	332
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA338.16	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 (変異体 W)	333
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA339.16	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 (変異体 X)	334
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA340.16	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 (変異体 Y)	335
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA341.16	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 (変異体 Z)	336
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA342.16	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 (変異体 AA)	337
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA343.16	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 (変異体 BB)	338
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA344.16	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 (変異体 CC)	339
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA345.16	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 (変異体 DD)	340
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA346.16	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 (変異体 EE)	341
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA347.16	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 (変異体 FF)	342
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA348.16	重鎖 (ノブ) hIL-12p40 (変異体 GG)	343
	重鎖 (ホール) IL-12p35	305
	軽鎖	245
BCA315	重鎖 (ノブ) scIL-12	345
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245

10

20

30

40

50

BCA307	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p35 変異体 A)	346
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA308	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p35 変異体 B)	347
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA323	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p35 変異体 C)	348
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA324	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p35 変異体 D)	349
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA325	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p35 変異体 E)	350
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA309	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p40 変異体 A)	351
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA310	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p40 変異体 B)	352
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA311	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p35 変異体 C)	353
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA312	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p40 変異体 S)	354
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA318	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p40 変異体 E)	355
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA319	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p40 変異体 F)	356
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA320	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p40 変異体 G)	357
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA321	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p40 変異体 H)	358
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245

10

20

30

40

50

BCA322	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p40 変異体 I)	359
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA326	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p40 変異体 J)	360
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA327	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p40 変異体 A)	361
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA328	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p40 変異体 L)	362
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA329	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p40 変異体 M)	363
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA330	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p40 変異体 N)	364
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA331	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p40 変異体 O)	365
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA332	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p40 変異体 P)	366
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA333.16	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p40 変異体 Q)	367
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245
BCA334	重鎖 (ノブ) scIL-12 (IL-12p40 変異体 R)	368
	重鎖 (ホール)	306
	軽鎖	245

10

20

30

40

50

【 0 6 6 5 】

6.3 実施例3. 抗hCAIX hIL-12p40変異体融合タンパク質の作出

以下の抗hCAIX hIL-12p40融合タンパク質を標準的な方法に従って作出した。簡単に述べれば、各融合タンパク質変異体の種々のポリペプチド配列のコードンを最適化してDNAポリヌクレオチド対応物を得、これを適切な哺乳動物発現プラスミドにクローニングした。個々のプラスミドをExp i-CHO-S細胞に、一過性に共トランスフェクトした。トランスフェクト細胞を、製造者のプロトコールに従って適当な補給をして7～10日間増殖させた。細胞培養の上清を採取し、プロテインAカラムおよびSECアフィニティーカラムを用いて融合タンパク質を精製した。精製したタンパク質を適切なバッファーで溶出させ、次に検量線作成濃度に希釈した。いくつかの実験では、組換えヒ

ト I L - 1 2 (r h I L - 1 2) (R & D s y s t e m s 1 0 0 1 8 - I L) 、 お よ
び非標的化 F c - h I L - 1 2 融合タンパク質 (配列番号 3 8 4 - 3 8 5) を含む参照構
築物も評価した。

【 0 6 6 6 】

表 2 4 は、作出された融合タンパク質の h I L - 1 2 ポリペプチドに含まれるアミノ酸
改変の説明を示す。

【 0 6 6 7 】

【 表 2 4 】

表 24 hIL-12p40 変異体及び対照のアミノ酸配列

説明	hIL-12p40 アミノ酸置換 (配列番号 32 のアミノ酸配列に対するナンバリング)	配列番号
BCA369	W37A	370-372
BCA370	F82A	371, 372, 373
BCA371	K217A	371, 372, 374
BCA372	K219A	371, 372, 375
BCA373	W37A, F82A	371, 372, 376
BCA374	W37A, K217A	371, 372, 377
BCA375	W37A, K219A	371, 372, 378
BCA376	F82A, K217A	371, 372, 379
BCA377	F82A, K219A	371, 372, 380
BCA378	K217A, K219A	371, 372, 381
BCA356	W37A/F82A/K219A	371, 372, 382
BCA351 (野生型 hIL-12)	なし	371, 372, 383

10

20

【 0 6 6 8 】

表 2 5 は、作出された各融合タンパク質のアミノ酸配列を示す。各ポリペプチド鎖のシ
グナル配列を下線で示す。

【 0 6 6 9 】

【 表 2 5 】

表25 変異体および対照のアミノ酸配列

説明		配列 番号	アミノ酸配列
BCA369 抗 hCAIX hIL-12	HC ノブ hIL-12p40	370	<u>MMSFVSLLLV</u> GILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP

30

40

50

BCA370 抗 hCAIX hIL-12	HC ホール hIL-12p35	371	IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSI WELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDSSE VLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQEDSAC PAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSFFIRDIIKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS	10
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLELVSAINS DGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDPGMFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSTFITNGSCL ASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	20
	HC ノブ hIL-12p40	373	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGT EFTLTISSLQSEDAAYYCQYRNYPWTFGGGTKEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC	30
			MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLELVSAINS DGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSI WELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDSSE VLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQEDSAC PAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSFFIRDIIKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS	40

	HC ホール hIL-12p35	371	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSDMYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDPMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCCTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVTPQKSSLEEDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGT EFTLTISLQSEDAAYYCQQYRNPWTFGGGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
BCA371 抗 hCAIX hIL-12	HC ノブ hIL-12p40	374	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSDMYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSI WELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDSSE VLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRGNKEYEYSVEQCEDSAC PAAEESLPIEVMVDAVHALKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKDD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS
	HC ホール hIL-12p35	371	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSDMYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSR

10

20

30

40

50

BCA372 抗 hCAIX hIL-12			NLPVATPDPGMFPC LHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVTPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	LC	372	MMSFVSLLL VGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGT EFTLTISLQSEDFAAYYCQYRNYPWTFGGGKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
	HC ノブ hIL-12p40	375	MMSFVSLLL VGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLVLSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSI WELKKDVVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDSSE VLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCQEDSAC PAAEESLP I EVMVDAVHKLAYENYTSFFIRDI IKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
	HCホール hIL-12p35	371	MMSFVSLLL VGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLVLSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDPGMFPC LHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVTPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	LC	372	MMSFVSLLL VGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGT EFTLTISLQSEDFAAYYCQYRNYPWTFGGGKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

BCA373 抗 hCAIX hIL-12	HC ノブ hIL-12p40	376	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSI WELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDSSE VLGSGKTLTIQVKEAGDAQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSAC PAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
	HC ホール hIL-12p35	371	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDPMFPCLLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLEFYPTCTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGT EFTLTIISSLQSEDFAAAYYCQQYRNYPWTFGGGKTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
BCA374 抗 hCAIX hIL-12	HC ノブ hIL-12p40	377	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSI

10

20

30

40

			WELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSE VLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSAC PAAEESLPIEVMVDAVHALKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS
	HCホール hIL-12p35	371	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLVSCAVSFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDPMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGGT EFTLTISSLSQSEDFAAYYCQQYRNYPWTFGGGTKEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
BCA375 抗 hCAIX hIL-12	HCノブ hIL-12p40	378	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSI WELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSE VLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSAC PAAEESLPIEVMVDAVHKLAYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS
	HCホール hIL-12p35	371	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT

10

20

30

40

BCA376 抗 hCAIX hIL-12	LC	372	VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDPMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNLMAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	10
			MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGGT EFTLTISSLQSEDAAYYCQQYRNPWTFGGGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC	
	HC ノブ hIL-12p40	379	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSI WELKKDVYVVELDWDYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDSSE VLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCEDSAC PAAEESLP I EVMVDAVHALKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKDD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS	20
			MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAPEKRLLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDPMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL	30
	HC ホール hIL-12p35	371		40

			DQNMLAVIDELMQALNFNSETVPOKSSLEEPDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGT EFTLTISLQSEDFAAYYCQQYRNYPWTFGGGKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
BCA377 抗 hCAIX hIL-12	HC ノブ hIL-12p40	380	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLVCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSI WELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEEDGITWTLQDQSE VLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWTITISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCQEDSAC PAAEESLP IEVMVDAVHKLAYENYTSFFIRDIKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS
	HC ホール hIL-12p35	371	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDPMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVPOKSSLEEPDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGT EFTLTISLQSEDFAAYYCQQYRNYPWTFGGGKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
BCA378	HC ノブ hIL-12p40	381	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT

10

20

30

40

抗 hCAIX hIL-12			SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSI WELKKD VYVVELDWDYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDSSE VLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCEDSAC PAAEESLP I EVMVDAVHALAYENYTSFFI RDI IKPDPKPNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPTDWTSPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKQD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS	10
	HCホール hIL-12p35	371	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLVLSAINDGGGITYYLDIVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDPMFPCLLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTFLEYPCTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNM LAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	20
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGGT EFTLTISSLQSEDFAAAYCQQYRNPWTFGGGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYAPREKAVQWQVDNALQSG NSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC	30
BCA356 抗 hCAIX hIL-12	HCノブ hIL-12p40	382	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLVLSAINDGGGITYYLDIVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSI WELKKD VYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDSSE VLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFS	40

BCA351 (野生型) 抗 hCAIX hIL-12			VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSAC PAAEESLP IEVMVDAVHKLAYENYTSSFFIRDI IKPDPPKLNQL KPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS	
	HC ホール hIL-12p35	371	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAEPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFPYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDPMGFCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSFMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRKQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDPYFKTIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	10
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGGT EFTLTISSLQSEDFAAAYCQQYRNYPWTFGGGTKEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC	20
	HC ノブ hIL-12p40	383	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAEPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSI WELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLQDQSE VLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSAC PAAEESLP IEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDI IKPDPPKLNQL KPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS	30
	HC ホール hIL-12p35	371	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMSWIRQAEPEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA	40

			KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTFLEFYPTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVPPQSSLEEPDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	10
	LC	372	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGGT EFTLTISLQSEDFAAAYCQQYRNYPWTFGGGKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC	
Fc-IL-12 (WT)	Fc- KNOB- リンカー 1- p40:	384	MMSFVSLLLVGILFHATQAEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGG GSIWELKKDVVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQ SSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKE DGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWTITISTDL TFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQCED SACPAAEESLPIEVMVDVAVHKLKYENYTSFFIRDI IKPDPPKN LQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKRE KKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS	20
	Fc-HOLE- リンカー 1- p35:	385	MMSFVSLLLVGILFHATQAEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGG GSRNLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTFLEFYPC TSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNG SCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQ IFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPPQSSLEEPDFYKTKIKLC ILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	

10

20

30

40

50

【0670】

表25のhIL-12p40変異体を含む各融合タンパク質の生物活性は、(1) HEK-IL-12リポーター細胞株におけるSTAT4シグナル伝達の活性化(2) PHA刺激hPBMCによるIFN- γ 放出;および(3) IL-2プライミングNK細胞によるIFN- γ 放出に関して評価した。各アッセイおよび結果はそれぞれ実施例4~7に詳しく記載する。

【0671】

6.4 実施例4. hIL-12p40変異体活性の評価-pSTAT4シグナル伝達
表25に示される各hIL-12p40変異体のhIL-12受容体を介したシグナル伝達を、HEK-Blue(商標)リポーターアッセイ(In vivo Gen(#hkb-IL12))を用いて評価した。簡単に述べれば、アッセイに使用したHEK-Blue(商標)IL-12細胞は、STAT4誘導性のSEAPリポーター遺伝子を発現する。HEK-Blue(商標)IL-12細胞の表面のIL-12RへのIL-12の結合はシグナル伝達カスケードを惹起して、STAT-4の活性化(およびリン酸化)をもた

らし、続いて、SEAPリポータータンパク質を産生する。HEK-BLue（商標）IL-12細胞の上清中のSEAPの検出は、QUANTI-BLue（商標）溶液を用いて容易に評価することができる。ここで、HEK-BLue細胞を、細胞培養プレートにて、様々な濃度の示された各hIL-12p40変異体とともに18～24時間インキュベートした。これらのプレートをQUANTI-BLue溶液の添加後に読み取った。hIL-12p40変異体のIL-12活性を図9に示し、野生型Fc-IL-12に対するIL-12活性の倍率減弱を表26に示す。

【0672】

【表26】

表 26 Fc-IL-12 対象に対する hIL-12p40 変異体の倍数減弱

説明	Std (EC50)	サンプル(EC50)	倍数減弱 (Fc-IL-12 対象に対して)
BCA371	0.021	0.035	2
BCA372	0.024	0.048	2
BCA378	0.022	0.102	5
BCA369	0.025	0.19	8
BCA370	0.022	0.401	18
BCA374	0.024	1.041	43
BCA373	0.021	4.344	207
BCA376	0.019	4.058	214
BCA375	0.024	7.662	319
BCA377	0.021	9.668	460
BCA356	0.018	131.4	7300

【0673】

図9および表26に示されるように、BCA356は、一重または二重hIL-12p40変異体と比較して比較的高い減弱率（7300倍）を示した。

【0674】

6.5 実施例5. hIL-12p40変異体活性の評価－PHA刺激PBMCによるIFN-γ放出

抗原提示細胞により分泌されたIL-12は、STAT4のリン酸化を介してIFN-γを誘導することにより活性化Tリンパ球のエフェクター機能を刺激して抗腫瘍免疫応答を増強する（例えば、Tugues, S et al. “New insights into IL-12-mediated tumor suppression.” Cell death and differentiation vol. 22,2 (2015): 237-46. doi:10.1038/cdd.2014.134）。各hIL-12p40変異体の存在下で刺激されたT細胞により放出されたIFN-γのレベルを評価した。簡単に述べれば、hPBMCを96ウェルプレートに10万細胞／ウェルで播種し、100μl容量にて一晚PHA（1μg／ml）で刺激した。翌日、漸増濃度の示されたhIL-12p40変異体とともに、PHAを同濃度で再び加えた。次に、細胞を37℃、5%CO₂インキュベーター内で約48時間インキュベートした。標準的なIFN-γ ELISAにより培養上清中のIFN-γを測定した（図10A～10F）。図10Aに示されるように、hIL-12p40変異体BCA356は、野生型IL-12（BCA351）および組換えヒトIL-12（rhIL-12）に比べてT細胞の活性化が著しく減弱されている。

【0675】

6.6 実施例6. hIL-12p40変異体活性の評価－hIL-2プライミングヒトNK細胞によるIFN-γ放出

IL-12は、IFN- γ を分泌するようにNK細胞を刺激し、それらの増殖および細胞溶解活性を増強する（例えば、Glassman, Caleb R et al. “Structural basis for IL-12 and IL-23 receptor sharing reveals a gateway for shaping actions on T versus NK cells.” Cell vol. 184,4 (2021): 983-999.e24. doi:10.1016/j.cell.2021.01.018参照）。NK細胞から放出されたIFN- γ のレベルを評価するために、hPBMCを10%HI-FBSおよび100IU/ml hIL-2を含有するRPMI 1640中で解凍した。一晚インキュベートした後、細胞を採取し、NK細胞を負の選択により濃縮した。NK細胞を、漸増濃度のhIL-12とともに50,000細胞/ウェルで播種し、37℃、5%CO₂で約48時間インキュベートした。IFN- γ を培養上清で標準的なIFN- γ ELISAにより測定した（図11A～11B）。図11Aに示されるように、hIL-12p40変異体BCA356は、野生型IL-12（BCA351）およびrhIL-12に比べてNK細胞の活性化が著しく減弱されている。

10

20

30

40

50

【0676】

6.7 実施例7. hIL-12p40変異体活性の概要

実施例3～7に示されるデータおよび表27に概要が示されるデータは、hIL-12p40変異体BCA356が野生型IL-12に比べて約7000倍減弱されていること（実施例4）およびNKの活性化が著しく減弱されていること（実施例6）およびT細胞の活性化が著しく減弱されていること（実施例5）を示す。しかしながら、一重または二重アミノ酸置換を含むhIL-12p40変異体は同様に減弱されていない（例えば、表27参照）。従って、hIL-12p40変異体BCA356のユニークな機能的属性は、3つの置換W37A、F82AおよびK219Aの全てのユニークな組合せによるものである。

【0677】

【表27】

表27 hIL-12p40変異体の機能分析の概要

		HEK-IL12 レポーターアッセイ	NK細胞による IFN γ の放出	PHA刺激PBMCによる IFN γ の放出
説明	アミノ酸置換	減弱	*減弱のレベル	
BCA371	K217A	2	+	+
BCA372	K219A	2	+	+
BCA378	K217A, K219A	5	++	+
BCA369	W37A	7.6	++	+
BCA370	F82A	18	++	+
BCA374	W37A, K217A	43	++	++
BCA373	W37A, F82A	207	++	++
BCA376	F82A, K217A	214	+++	++
BCA375	W37A, K219A	319	+++	++
BCA377	F82A, K219A	460	+++	+++
BCA356	W37A, F82A, K219A	7300	+++	+++

* 曲線のシフトに基づく定性的なランク付け。+、++、+++ は野生型hIL-12と比較して、それぞれ低度、中程度、高度な減弱であったことを示す。

【0678】

6.8 実施例8. 抗CAIX hIL-12変異体融合タンパク質はin vitroにおいて活性の減弱を示す

以下の抗hCAIX hIL-12融合タンパク質を標準的な方法に従って作出した。簡単に述べれば、各hIL-12p40変異体の種々のポリペプチド配列のコドン最適化してDNAポリヌクレオチド対応物を得、これを適切な哺乳動物発現プラスミドにクローニングした。個々のプラスミドをExp i-CHO-S細胞に、一過性に共トランスフェクトした。トランスフェクト細胞を、製造者のプロトコールに従って適当な補給をして7～10日間増殖させた。細胞培養の上清を採取し、プロテインAカラムおよびSECアフィニティークラムを用いてhIL-12p40タンパク質を精製した。精製したタンパク質を適切なバッファーで溶出させ、次に検量線作成濃度に希釈した。いくつかの実験では、組換えヒトIL-12 (rhIL-12) (R&D systems 10018-IL)を含む参照構築物も評価した。作出された各抗CAIX hIL-12融合タンパク質のアミノ酸配列を対照抗ジフテリア毒素(DT) hIL-12抗体融合物とともに表28に示す。各ポリペプチドのシグナル配列を下線で示す。

10

【0679】

【表28】

表28 抗hCAIX hIL-12融合タンパク質のアミノ酸配列

説明		アミノ酸配列	配列番号
BCA313	Fc ノブ-hIL-12p40	<u>MMSFVSLLLLVGILFHATQA</u> EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV	386

20

30

40

50

(Fc-IL-12)		HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGGSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSSEVLGSGKTLTIQVKKFGDAGQYTCCHKGGEVLSHSLLLHKKEDGIWSTDILKDQEEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKEDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCS		10
	Fc ホール-hIL-12p35	MMSFVSLLLVGILFHATQAEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGGSRNLPVATPDPGMFCLHHSQNLLRAVSNNMLQKARQTLEFYPC TSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	387	
BCA350 (ヒト化 抗CAIX)	抗CAIX HC ノブ	MMSFVSLLLVGILFHATQA EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPEKRLVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	388	20
	抗CAIX HC ホール	MMSFVSLLLVGILFHATQA EVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMSWIRQAPEKRLVSAINSDGGITYYLDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	389	30
	抗CAIX LC	MMSFVSLLLVGILFHATQA EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCAASQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGGT EFTLTISLQSEDFAAYYCQYRNPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPRQAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	372	40

BCA351 (野生型)	抗CAIX HC ノブ- hIL-12p40	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMYSWIRQAEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSI WELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDDQSE VLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTITSTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVECCQEDSAC PAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKDD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS	383
	抗CAIX HC ホール- hIL-12p35	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMYSWIRQAEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSR NLPVATPDPMFPCLLHHSQNLLRAVSNNMLQKARQTLFYPCTSE EIDHEDIKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSFMALCLSSIIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNM LAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	371
	抗CAIX LC	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGSGT EFTLTISLQSEDFAAAYCQYRNYPWTFGGGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC	372
BCA356	抗CAIX HC ノブ- hIL-12p40	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYMYSWIRQAEKRLELVSAINSDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSI	382

10

20

30

40

BCA380		WELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSE VLGSGKTLTIQVKEAGDAQYTCHKGGEVLSHSLLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFS VKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEQEDSAC PAAEESLPIEVMVDAVHKLAYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKRD RVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS		
	抗CAIX HCホール- hIL-12p35	MMSFVSLLLVGILFHATQAEVRLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSNYYMSWIRQAPEKRLELVSAINSDDGGITYYLDTVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALFYCARHRSGYFSMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGGSR NLPVATPDPMFPCPLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCL ASRKTSFMALCLSSIIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILL HAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	371	10
	抗CAIX LC	MMSFVSLLLVGILFHATQAEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKA SQNVVSAVAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGGT EFTLTISLQSEDFAAAYCQQYRNYPWTFGGGTKEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC	372	20
	抗DT HC ノブ-hIL- 12p40	MMSFVSLLLVGILFHATQAQVQLQQSGPGPAKPSQTLSTLCAIS GDSVSSDSAAWNIRQSPSRGLEWLGRYYRSTWYRDYAPSVKS RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARDKDSFESNGSLY TAKKMGFDPPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGG GGSGGGSGGGGSIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDT PEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVL SHSLLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNK EYEYSVEQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLYENYTSSFFI RDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLT FCVQVQGKSKREKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSS SWSEWASVPCS	390	30
	抗DT HC ホール-hIL- 12p35	MMSFVSLLLVGILFHATQAQVQLQQSGPGPAKPSQTLSTLCAIS GDSVSSDSAAWNIRQSPSRGLEWLGRYYRSTWYRDYAPSVKS RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARDKDSFESNGSLY	391	40

BCA382		TAKKMGFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LVSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGG GGSGGGGGGGGSRNLPVATPDPMFCLHHSQNLLRAVSNMLQ KARQTLEFYPTCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCL NSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTM NAKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPPQKSSLEE PDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	10
	抗DT LC	MMSFVSLLLVGILFHATQAETTLTQSPGTLSPGERATLSCRA SQSVRSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPERFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPITFGQGTRLEIKRTVAA PSVFIFFPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	392
	抗DT HC ノブ-hIL- 12p40	MMSFVSLLLVGILFHATQAQVQLQQSGPGPAKPSQTLSTCAIS GDSVSSDSAAWNWIQSPSRGLEWLGRITYRSTWYRDYAPSVKS RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARDKDSFESNGSLY TAKKMGFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGG GGSGGGGGGGGSIWELKKDVYVVELDAYPDAPGEMVVLTCDDTP EEDGITWTLDDQSSEVLGSGKTLTIQVKEAGDAGQYTCHKGGGEVL SHSLLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNK EYEYSVECQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLAYENYTSFFI RDI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTF CVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYS SWSEWASVPCS	393
	抗DT HC ホール-hIL- 12p35	MMSFVSLLLVGILFHATQAQVQLQQSGPGPAKPSQTLSTCAIS GDSVSSDSAAWNWIQSPSRGLEWLGRITYRSTWYRDYAPSVKS RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARDKDSFESNGSLY TAKKMGFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LVSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGG GGSGGGGGGGGSRNLPVATPDPMFCLHHSQNLLRAVSNMLQ KARQTLEFYPTCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCL	391

		NSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTM NAKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPPQKSSLEE PDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	
	抗DT LC	MMSFVSLLLVGILFHATQAETTLTQSPGTLSPGERATLSCRA SQSVRSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPERFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPITFGQGTRLEIKRTVAA PSVFIFFPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	392

【0680】

表28の各タンパク質の生物活性は、製造者の説明書に従って（InvivoGen）、HEK-BLue（商標）IL-12細胞s（InvivoGen（hkb-IL-12））は、ヒトIL-12受容体（hIL-12R）とSTAT4誘導性SEAPリポーター遺伝子を発現するhIL-12シグナル伝達経路とをコードするポリヌクレオチドで安定にトランスフェクトされたHEK細胞である。HEK-BLue（商標）IL-12細胞の表面のIL-12RへのIL-12の結合はシグナル伝達カスケードを惹起して、STAT4の活性化（およびリン酸化）をもたらし、続いてSEAPを産生する。HEK-BLue（商標）IL-12細胞の上清中のSEAPの検出は、QUANTIBLue（商標）溶液を用いて容易に行える。ここでは、およそ50,000のHEK-BLue（商標）IL-12細胞（InvivoGen（hkb-IL-12））を96ウェルプレートに播種し、一晚（37℃、5%CO₂）インキュベートし、次いで示された構築物で18～24時間処理した。IgG対照構築物は抗ジフテリア毒素抗体SEAPであり、製造者の説明書に従ってQUANTIBLue（商標）溶液を用い、各培養物の上清で検出した。

10

【0681】

図12に示されるように、BCA356 IL-12活性は、BCA351（野生型IL-12融合物）に比べておよそ7000倍減弱された。報告されている値は、3つの独立した実験の平均である。

20

【0682】

6.9 実施例9. 抗CAIX hIL-12変異体融合タンパク質は*in vitro*においてT細胞の活性化を媒介する

抗原提示細胞により分泌されたIL-12は、STAT4のリン酸化を介してIFN- γ を誘導することにより活性化Tリンパ球のエフェクター機能を刺激して抗腫瘍免疫応答を増強する（例えば、Tugues, S et al. “New insights into IL-12-mediated tumor suppression.” *Cell death and differentiation* vol. 22,2 (2015): 237-46. doi:10.1038/cdd.2014.134参照）。抗CAIX hIL-12融合タンパク質の存在下で刺激されたT細胞により放出されたIFN- γ のレベルを評価した。簡単に述べれば、hPBMCを96ウェルプレートに10万細胞／ウェルで播種し、100 μ l容量にて一晚PHA（1 μ g／ml）で刺激した。翌日、漸増濃度の示された構築物とともに、PHAを同濃度で再び加え、37℃、5%CO₂で約48時間インキュベートした。標準的なIFN- γ ELISAにより培養上清中のIFN- γ を測定した。図13に示されるように、抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA356の存在下では、活性化T細胞により放出されたIFN- γ のレベルは組換えhIL-12およびBCA351の存在下よりも低かった。

30

【0683】

hIL-12のその受容体複合体への結合は、核に転移してIFN- γ 遺伝子の転写を促進するSTAT4（pSTAT）のリン酸化を刺激する（例えば、Teng, Michele W L et al. “IL-12 and IL-23 cytokines: from discovery to targeted therapies for immune-mediated inflammatory diseases.” *Nature medicine* vol. 21,7 (2015): 719-29. doi:10.1038/nm.3895参照）。各抗CAIX IL-12融合タンパク質で処理した細胞におけるpSTAT4のレベルを評価した。簡単に述べると、hPBMCをプレートにコーティングした抗CD3抗体（2.5 μ g／ml）と可溶性抗CD28抗体（5 μ g／ml）で48時間活性化し、活性化後一晚休止させた。休止後、細胞を抗ヒトCD45RA、CD4、CD8、CD25抗体で30分間染色し、次いで、示された濃度のrhIL-12、BCA351、BCA356、またはBCA313とともに20分間インキュベートした。その後、細胞を固定し、透過処理を施し、抗pSTAT4抗体で染色した。図15に示した読み取り値は、pSTAT4発現CD45RA⁺CD8⁺CD25⁺細胞の頻度パーセントである。図15に示すように、BCA356の

40

50

存在下で活性化CD8⁺T細胞により発現されたpSTAT4のレベルは、組換えhIL-12またはBCA351の存在下よりも低かった。

【0684】

6.10 実施例10. 抗CAIX hIL-12変異体融合タンパク質は*in vitro*においてNK細胞の活性化を媒介する

IL-12は、IFN- γ を分泌するようにNK細胞を活性化し、それらの増殖および細胞溶解活性を増強する（例えば、Glassman, Caleb R et al. “Structural basis for IL-12 and IL-23 receptor sharing reveals a gateway for shaping actions on T versus NK cells.” *Cell* vol. 184,4 (2021): 983-999.e24. doi:10.1016/j.cell.2021.01.018参照）。各抗CAIX hIL-12融合タンパク質で処理したNK細胞から放出されたIFN- γ のレベルを評価した。簡単に述べれば、hPBMCを、10%HI-FBSおよび100IU/ml IL-2を含有するRPMI 1640中で培養した。一晚インキュベートした後（37℃、5%CO₂）、細胞を採取し、NK細胞を負の選択により濃縮した。NK細胞を、漸増濃度の示された構築物とともに、96ウェルプレートに50,000細胞/ウェルで播種した。細胞を37℃、5%CO₂で約48時間インキュベートした。IFN- γ のレベルは、培養上清で標準的なIFN- γ ELISAにより測定した。図14に示されるように、抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA356の存在下では、活性化T細胞により放出されたIFN- γ のレベルは、組換えhIL-12およびBCA351の存在下よりも低かった。

10

20

【0685】

6.11 実施例11. 抗CAIX hIL-12変異体融合タンパク質は*in vitro*において実質的な細胞傷害性とサイトカイン放出の低下を示す

抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA356によるリアルタイムの腫瘍殺傷を、胃癌SNU16細胞と活性化hPBMCを含む共培養アッセイを用いて評価した。簡単に述べれば、CAIXを過剰発現するSNU16癌細胞を、レンチウイルス形質導入を用いて、nuc light greenで標識した。標識されたSNU16細胞を50,000細胞/ウェルのhPBMCとともに、96ウェルプレートに5,000細胞/ウェルで、標的（T）：エフェクター（E）比を1：10として播種した。hPBMCを、漸増濃度の示された構築物とともに、0.5pg/mlのSEB（黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）腸毒素B）で活性化した。これらのプレートを37℃、5%CO₂のIncucyte S3（登録商標）（Essen BioScience）インキュベーターに入れ、5日間（120時間）画像を取得した。蛍光シグナルの増加は標的細胞の増殖に相当し、蛍光シグナルの低下は標的細胞の死滅に相当する。殺傷%は、{（抗体を伴う特定時点のシグナル強度/T+E+SEB）*100}として計算した。図16に示されるように、抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA356は、抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA351と同等の細胞傷害性を示し、抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA356によるT細胞の活性化の低下は腫瘍細胞殺傷活性に影響を及ぼさないことが示唆された。BCA356は、おそらくCA-IXの標的化のために、BCA313よりも細胞傷害性の向上を示した。

30

40

【0686】

さらに、活性化T細胞は、T細胞の輸送、活性化、および抗腫瘍免疫応答を助けるケモカインおよびサイトカインを分泌する。ヒトサイトカインルミネックスアッセイ（44プレックスキット）を用いて、示された構築物で処理した後24時間、72時間および120時間時点のサイトカイン産生を評価した。目的サイトカインの選択に使用した基準は、BCA351がヒトIgGの2倍かつ、BCA356が24時間時点でBCA351よりも $\geq 20\%$ 減少であった。24時間時点で選択されたサイトカイン/ケモカインを72時間および120時間に時点にわたって比較した。図17A~Hに示されるように、抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA356は、抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA351およびrhIL-12に比べて、限定されたグランザイム-B、IFN- γ 、TNF α 、IL-10、Flt3-L、GM-CSF、MIP-3、およびCD4

50

0-L放出を示した。

【0687】

6.12 実施例12. 抗CAIX hIL-12変異体融合タンパク質は*in vitro*においてNK細胞により媒介される標的細胞の細胞傷害性を示す

NK細胞に基づく腫瘍殺傷活性を増強する抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA356の能力を評価した。簡単に述べれば、HCT116結腸癌細胞をhCAIXでトランスフェクトし、超低接着96ウェルプレートに5,000細胞/ウェルで播種し、96時間3Dスフェロイドを形成させた。これらのスフェロイドを濃度20nMの示された構築物で処理し、1~2時間インキュベートし、その後、IL-2でプライミングし、濃縮したNK細胞を1:5のT:E比で加えた。略語G250は、抗hCAIX抗体ギレンツキシマブを示す。細胞(共培養)を24時間インキュベートし、腫瘍殺傷は、死細胞のプロテアーゼを測定するCytotox Glo(登録商標)試薬を用いて評価した。細胞傷害性は、hIgGに対する構築物の相対発光強度(RLU)の倍率変化として計算した。図18に示されるように、抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA356は、NK細胞により媒介されるhCAIXを過剰発現するHCT116細胞の殺傷を示したが、FcIL-12融合タンパク質BCA313は、おそらく構築物のCAIX標的化を欠くためにそれを媒介しなかった。BCA356は、IL-12vとの組合せのために、G250よりも優れた、NK細胞により媒介される標的細胞の殺傷を示した。

【0688】

6.13 実施例13. 抗CAIX hIL-12変異体融合タンパク質は肺癌モデルにおいて*in vitro*細胞傷害性を示す

A549肺癌モデルの細胞傷害性を媒介する抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA356の能力を評価した。簡単に述べれば、A549肺癌細胞を、eGFPおよびCAIX-eGFP融合タンパク質(CAIXのC末端に融合されたeGFP)をコードするプラスミドで安定にトランスフェクトした。eGFP-CAIXを発現する単細胞クローンをピューロマイシン耐性に基づいて選択し、フローサイトメトリーにより同定した。eGFP-CAIX発現を示す代表的なヒストグラムおよびドットプロットを図19に示す。

【0689】

上記で作出したA459 CAIX-eGFP発現細胞をU底96ウェルULAプレートに播種し、4日インキュベートしてスフェロイドを形成させた。4日目に、 α -CD3抗体および α -CD28抗体(1 μ g/ml一晚)で刺激したPBMC(T:E 1:10)と示された構築物をスフェロイド培養物に加え、72時間インキュベートした。その後、Cytation 5イメージャーを用いて明視野画像および蛍光画像を取得し、代表的画像を図20に示す。各群からの単一のeGFPスフェロイドを、Image Jソフトウェアを用いて定量し、データを図21A(A549細胞株eGFP強度密度)および図21B(細胞傷害性-IgGで処理したスフェロイドを生存率100%として計算)に示す。図21A~21Bに示されるように、抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA356(20nM)は、eGFP-CAIXを発現するA549スフェロイドモデルにおいて、BCA382(非標的化IgGにより減弱されたIL-12融合タンパク質)またはBCA313(非標的化Fcにより減弱されたIL-12融合タンパク質)に比べて比較的高い細胞傷害性を有する。

【0690】

6.14 実施例14. 抗CAIX hIL-12変異体融合タンパク質は結腸癌モデルにおいて限定された毒性で*in vivo*腫瘍成長を抑制する

結腸癌の治療における抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA356の有効性を、HCT116-hCAIX腫瘍モデルを用いて評価した。簡単に述べれば、およそ500万のhCAIXトランスフェクトHCT116細胞をNSGマウスに皮下注射した。腫瘍が触知可能となった際に、約1000万のhPBMCを各マウスに静脈内注射した。腫瘍が約100mm³になった際に、マウスを試験群と対照群に無作為化し、以下の構築

10

20

30

40

50

物：ビヒクル対照（リン酸緩衝生理食塩水（PBS））、BCA351（0.3mg/kg）、BCA356（3mg/kg）またはBCA313（1.69mg/kg、等モル用量）のうちの1つを週1回、腹腔内投与した。腫瘍体積、体重および臨床徴候を週2回測定した。値は各群6匹のマウスの平均±SEMとして表した（表29および図22）。

【0691】

【表29】

表 29 腫瘍生長阻害及びマウスの死亡

試験構築物	TGI(%) (平均±SD)	体重変化(%)	17 日目の死亡数
BCA351	30 ± 31	-20	2/6
BCA356	26 ± 21	-14	0/6
BCA313	16 ± 26	-13	0/6

10

【0692】

表29および図22に示されるように、抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA356は、抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA351（野生型hIL-12融合物）と同等の腫瘍成長阻害を示したが（それぞれ26%および30%）、非標的化Fc-IL-12（BCA313）は、BCA351またはBCA356に比べて低いTGI（16%）を示した。17日目にBCA351処置群では2匹のマウスが死亡したことが判明したが、BCA356またはBCA313処置群では、死亡したマウスはいなかった。従って、抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA356は、抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA351と同等の有効性があり、毒性は低い。GVHDの発症のために、試験は3種類の用量を超えて拡張できなかった。

20

【0693】

6.15 実施例15. 抗CAIX hIL-12変異体融合タンパク質は黒色腫モデルにおいて限定された毒性でin vivo腫瘍成長を抑制する

黒色腫の治療における抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA356の有効性を、B16F10発現ヒトCAIX同種移植片を有するhIL-12およびhIL-12受容体ノックイントランスジェニックマウスモデルで評価した。簡単に述べれば、約10万のhCAIX発現B16F10細胞をトランスジェニックマウス皮下注射した。腫瘍が約80mm³となった際に、マウスを試験群と対照群に無作為化し、等用量（0.5mg/kg）の以下の構築物：ビヒクル対照（PBS）、BCA356（1mg/kg）またはBCA313のうちの1つを腹腔内処置した。腫瘍体積、体重および臨床徴候を週2回測定した。値は各群6匹のマウスの平均±SEMとして表す（表30および図23）。

30

【0694】

【表30】

表 30 腫瘍生長阻害及びマウスの死亡

試験構築物	TGI(%) (平均±SD)	体重変化(%)	17 日目の死亡数
BCA356	55 ± 42	4	0/6
BCA313	11 ± 69	9	1/6

40

【0695】

表30および図23に示されるように、抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA356は、BCA313よりも有効性が高い傾向を示した（それぞれ55%および11%）。9日目にBCA313処置群で1匹のマウスが死亡したことが判明したが、BCA356処置群では死亡したマウスはいなかった。従って、トランスジェニックモデルにおいて、抗CAIX hIL-12融合タンパク質BCA356は有効性があり、かつ、安全である。

50

【0696】

6.16 実施例16. 正常組織および癌組織におけるCAIX発現

ヒト正常組織および癌組織におけるヒトCAIXの発現レベルを免疫組織化学により解析した。簡単に述べれば、複数の腫瘍組織種を含む腫瘍マイクロアレイ（TMA）上の4ミクロンのホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）腫瘍組織切片中のCAIXタンパク質発現は、Ventana Benchmark XTプラットフォームにて抗CAIX抗体[Genetex（TH22）]を用いる免疫組織化学（IHC）により評価した。各TMAから取得したデジタル画像を、CellProfiler（商標）を用いて分析し、各コアの腫瘍面積は病理医により関心領域（ROI）として注釈を付けられた。各コアのROIは、腫瘍細胞膜のCAIX染色強度を得るために調整された膜アルゴリズムを用いて分析した。デジタル閾値は、画素の染色を0+（陰性）、1+（弱い）、2+（中等度）、および3+（強い）に分けた。各カテゴリにおけるROI染色の割合を用いて、各コアの最終的なHスコアを、下式を用いて算出した：Hスコア = $(1 \times \% 1+) + (2 \times \% 2+) + (3 \times \% 3+)$ （最大Hスコア = 300）。

10

【0697】

図24Aおよび24Bに示されるように、免疫組織化学分析により、正常な膀胱、結腸、子宮頸部、腎臓および脳組織にCAIX発現がないこと（図24A上のパネル）；および種々の固形腫瘍種には膜性CAIX発現が存在すること（図24A下のパネル、図24B）が明らかになった。ある癌種について異なる患者を評価したところ、低い（Hスコア = 1～100）、中等度（101～200）、および高い（201～300）と分類される様々なCAIX発現が明らかである（図24B）。高いCAIX発現ケースは腎細胞癌、膀胱癌、大腸癌、小腸癌、食道／GEJ癌、膠芽腫、子宮頸癌、胃癌、非小細胞肺癌、および消化管間質腫瘍で見られる（図24A～24B）。CAIX発現は、ER+乳癌、非ホジキンリンパ腫、およびびまん性大細胞型B細胞リンパ腫には見られないことが示された（図24B）。

20

【0698】

6.17 実施例17. CAIX発現腫瘍におけるリンパ球浸潤

CAIX発現腫瘍におけるリンパ球浸潤のレベルを腫瘍組織コアのヘマトキシリンおよびエオジン（H&E）染色を用いて評価した。図25Aおよび25Bに示されるように、種々のH&E染色腫瘍組織コアで、不均一な密度のリンパ球浸潤[不在（0）、低（1～199）、中（200～499）および高（ ≥ 500 ）]が見られた（図25A～25B）。分析では、CAIX発現腫瘍のうち、腎細胞癌、膀胱癌、大腸癌、食道／GEJ癌、消化管間質腫瘍、膠芽腫、肉腫、小細胞肺癌、黒色腫、および卵巣癌では低密度のリンパ球浸潤が明らかになった（図25C）。さらに、小腸癌、胃癌、子宮頸癌、非小細胞肺癌、トリプルネガティブ乳癌、および頭頸部癌では中密度のリンパ球浸潤が見られた（図25C）。

30

【0699】

6.18 実施例18. 大腸腺癌におけるCA9、IL12RB1、およびIL12RB2の細胞特異的発現

ヒト癌組織におけるCA9、IL12RB1、およびIL12RB2を発現する細胞種を、公開されているヒト大腸腺癌組織の単細胞RNAシーケンシングデータを分析することにより評価した、全内容が目的を問わず参照により本明細書の一部として援用されるZhang, Lei et al. “Single-Cell Analyses Inform Mechanisms of Myeloid-Targeted Therapies in Colon Cancer.” Cell vol. 181,2 (2020): 442-459.e29. doi:10.1016/j.cell.2020.03.048参照。本明細書に示される代表例である図26A～26Dに示されるように、治療歴のない大腸腺癌患者（n = 10）からの10468細胞の単細胞RNAシーケンシング解析により、CD4+T細胞（30.02%）、CD8+T細胞（22.97%）、骨髄細胞（16.33%）、B細胞（9.47%）、自然リンパ系細胞（9.10%）、上皮細胞（8.22%）、悪性細胞（2.57%）、および線維芽細胞（1.32%）を含む8つの異なる細胞クラスターが同定された（図26

40

50

A および 26 B)。種々の細胞種のうち、悪性細胞では C A 9 発現が顕著に見られたが (32.7%)、全ての免疫細胞種ではその発現は無かった (図 26 B および 26 C)。C D 4 + (57.4%)、C D 8 + (55%) T 細胞、および自然リンパ系細胞 (53.3%) では、I L 1 2 R B 1 の広範囲の発現が見られた (図 26 B および 26 C)。C D 4 + (39%) および C D 8 + (33.5%) T 細胞では、I L 1 2 R B 2 発現が見られた (図 26 B および 26 C)。さらなる解析により、C D 4 + の 25.23% および C D 8 + T 細胞の 19.37% に I L 1 2 R B 1 および I L 1 2 R B 2 の共発現が存在したことが明らかになった (図 26 D)。

【0700】

さらに、胃腺癌、膠芽腫、頭頸部癌、肺癌、黒色腫、鼻咽頭癌腫、および卵巣癌患者の公開データベースからの単細胞 R N A シークエンシングデータの解析により、悪性上皮細胞で顕著な C A 9 発現が明らかになった。I L 1 2 R B 1 は複数の細胞種で構成的に発現されると判定され、T 細胞、N K 細胞、自然リンパ系細胞、および骨髄細胞での発現が顕著である。I L 1 2 R B 1 発現に比べ、I L 1 2 R B 2 発現は、より低パーセンテージの T 細胞および N K 細胞で見られた。腫瘍種の中で、C A I X、I L 1 2 R B 1 および I L 1 2 R B 2 転写産物を共発現する腫瘍細胞のパーセンテージは極めて低い。

【0701】

6.19 実施例 19. 概要 - 変異体 h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドを含む h I L - 1 2 タンパク質の減弱

表 3 1 は、実施例 4 ~ 1 8 に記載のアッセイのうち 1 以上によって評価した場合、本明細書に記載の種々の変異体 h I L - 1 2 p 4 0 ポリペプチドを含む h I L - 1 2 タンパク質の減弱の概要を示す。

【0702】

10

20

30

40

50

【表 3 1】

表 31 hIL-12p40 を含む hIL-12 タンパク質の減弱の概要

説明	HEK IL-12 レポーター アッセイ (EC50 の割合)	PBMC アッセイ (PHA-刺激) 16.9nM に おける減少(%)	NK cell 富化 アッセイ- 16.9nM に おける減少(%)	PSTAT(CD8) フローサイトメトリー 16.9nM に おける減少(%)	改変
BCA331.16 (BCA356)	7300.00 (+++)	70.16 (++++)	86.95 (++++)	91.07 (++++)	W37A, F82A, K219A
BCA327.16	9566.00 (+++)	69.34 (++++)	82.88 (++++)	88.19 (+++)	E81A, F82A, K106A
BCA310.16	22740.00 (+++++)	77.04 (+++++)	97.73 (+++++)	98.81 (+++++)	D1 ドメイン 欠失
BCA313 (陽性対照)	4996.00 (+++)	68.66 (++++)	70.16 (+++)	82.50 (+++)	E81K, K121E, K286E
BCA330.16	107.00 (+)	61.98 (+++)	40.98 (++)	NT	W37A, F82A, K217A
BCA329.16	4686.00 (+++)	54.17 (++)	73.31 (+++)	72.86 (++)	P39A, D40A, E81A, F82A
BCA321.16	6594.00 (+++)	74.35 (+++++)	93.45 (+++++)	93.87 (++++)	K217-L218～ 217I
BCA332.16	141.00 (+)	45.85 (+++++)	NT	NT	K106A, K217A, K219A
BCA326.16	374.00 (+)	34.31 (+)	-13.81 (減弱なし)	50.24 (+)	E81A, F82A

【0703】

最小減弱は「+」で示され、最大減弱は「+++++」で示され、NTは試験されなかったことを示す。

【0704】

hIL-12p40サブユニットにF82Aまたは／およびE81Aアミノ酸置換を含むhIL-12変異体は、hIL-12減弱の突然変異を駆動することを示唆しない。例えば、E81A／F82A(BCA326.16)は、最小の減弱であり、BCA329.16は中等度の減弱である。W37A、F82A、K219Aアミノ酸置換を含むhIL-12p40サブユニットを含むhIL-12タンパク質(BCA331.16(本明細書ではBCA356とも呼ばれる))は、W37A、F82A、K217Aアミノ酸置換を含有するもの(BCA330.16)よりも減弱され、予想されないことに、アミノ酸位置K219の重要な役割を示唆し、一方、E81A、F82A、K106Aの異なるクラスター(BCA327.16)は、(BCA331.16(本明細書ではBCA356とも呼ばれる))と同等である。

【0705】

6.20 実施例20. 変異体hIL-12p35タンパク質を含む抗CAIX融合タンパク質の作出

以下の抗hCAIX hIL-12融合タンパク質は、標準的な方法に従って作出した。簡単に述べれば、各hIL-12p35変異体の異なるポリペプチド配列のコドン用最

適化して適切な哺乳動物発現プラスミドにクローニングされたDNAポリヌクレオチド対応物を得た。各プラスミドを細胞株に一過性に共トランスフェクトした。トランスフェクト細胞を、製造者のプロトコールに従って適当な補給をして数日間増殖させた。細胞培養の上清を採取し、hIL-12p35タンパク質を精製した。

【0706】

表32は、作出された融合タンパク質のhIL-12ポリペプチドに含まれるアミノ酸改変の説明を示す。

【0707】

【表32】

表 32 hIL-12p35 変異体のアミノ酸配列

説明	hIL-12p35 アミノ酸置換 (配列番号 30 のアミノ酸配列に対するナンバリング)	配列番号
BCA325.16	Y189A	304, 311, 245
BCA324.16	F188A	304, 310, 245
BCA323.16	F188A/Y189A	304, 309, 245
BCA307.16	Δ 55-92	304, 307, 245
BCA308.16	E60K/F61H/P63S/K150H/F188P	304, 308, 245

【0708】

表33は、作出された各hIL-12p35変異体の説明とアミノ酸配列を示す。各ポリペプチド鎖のシグナル配列を下線で示す。

【0709】

10

20

30

40

50

【表 3 3】

表 33 抗 hCAIX hIL-12 融合タンパク質のアミノ酸配列

説明		配列番号
BCA325.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40	304
	重鎖 (ホール) IL-12p35 (変異体 E)	311
	軽鎖	245
BCA324.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40	304
	重鎖 (ホール) IL-12p35 (変異体 D)	310
	軽鎖	245
BCA323.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40	304
	重鎖 (ホール) IL-12p35 (変異体 C)	309
	軽鎖	245
BCA307.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40	304
	重鎖 (ホール) IL-12p35 (変異体 A)	307
	軽鎖	245
BCA308.16	重鎖 (ノブ) IL-12p40	304
	重鎖 (ホール) IL-12p35 (変異体 B)	308
	軽鎖	245

【0710】

6.21 実施例 21. hIL-12p35 変異体活性の評価 - pSTAT4 シグナル伝達

表 32 および 33 に示される各 hIL-12p35 変異体の hIL-12 受容体を介したシグナル伝達を、HEK-Blue (商標) リポーターアッセイ (InvivoGen (#hkb-IL12)) を用いて評価した。簡単に述べれば、アッセイに利用した HEK-Blue (商標) IL-12 細胞は、STAT4 誘導性 SEAP リポーター遺伝子を発現する。HEK-Blue (商標) IL-12 細胞の表面の IL-12R への IL-12 の結合は、シグナル伝達カスケードを惹起して STAT-4 の活性化 (およびリン酸化) をもたらし、続いて SEAP リポータータンパク質を産生する。HEK-Blue (商標) IL-12 細胞の上清中の SEAP の検出は、QUANT-Blue (商標) 溶液を用いて容易に評価することができる。ここで、HEK-Blue 細胞を、細胞培養プレートにて、様々な濃度の示された各 hIL-12p35 変異体とともに 18~24 時間インキュベートした。これらのプレートを QUANT-Blue 溶液の添加後に読み取った。hIL-12p35 変異体の IL-12 活性を図 27 に示し、野生型 Fc-IL-12 に対する IL-12 活性の倍率減弱を表 34 に示す。

【 0 7 1 1 】

【 表 3 4 】

表 34 Fc-IL-12 対照に対する hIL-12p35 変異体の倍数減弱

説明	*倍数減弱 (Fc-IL-12 対照に対する)
BCA307.16	>10,000*
BCA308.16	1.4
BCA323.16	15.4
BCA324.16	1.0
BCA325.16	4.5

10

* HEK アッセイでは試験した濃度では十分な IL-12 活性を得られなかったことから、BCA307.16 の IL-12 活性の倍数減弱は測定できなかった。

【 0 7 1 2 】

図 2 7 および表 3 4 に示されるように、各 h I L - 1 2 p 3 5 変異体は、1 0 , 0 0 0 倍を超える減弱を示した B C A 3 0 7 . 1 6 以外、1 倍 ~ 1 5 倍の範囲の h I L - 1 2 活性の減弱を示した。

【 0 7 1 3 】

20

6 . 2 2 実施例 2 2 . h I L - 1 2 p 3 5 変異体活性の評価 - P H A 刺激 P B M C による I F N - γ 放出

各 h I L - 1 2 p 3 5 変異体の存在下で刺激された T 細胞により放出された I F N - γ のレベルを評価した。簡単に述べれば、h P B M C を 9 6 ウェルプレートに 1 0 万細胞 / ウェルで播種し、1 0 0 μ l 容量にて一晚 P H A (1 μ g / m l) で刺激した。翌日、漸増濃度の示された h I L - 1 2 p 4 0 変異体とともに、P H A を同濃度で再び加えた。次に、細胞を 3 7 $^{\circ}$ C 、 5 % C O ₂ のインキュベーターで約 4 8 時間インキュベートした。標準的な I F N - γ E L I S A により培養上清中の I F N - γ を測定した (図 2 8 A ~ 2 8 C) 。図 2 8 A ~ 2 8 C に示されるように、B C A 3 2 5 . 1 6 、 B C A 3 2 3 . 1 6 および B C A 3 0 7 . 1 6 は、0 . 1 6 9 n M で減弱された I F N - γ 放出を示した (より高い濃度ではそうではなかった) 。 B C A 3 2 4 . 1 6 、 B C A 3 0 8 . 1 6 は、減弱された I F N - γ 放出を示さない。陽性対照として用いた B C A 3 5 6 は、I F N - γ 放出に最大の減弱を示した。

30

【 0 7 1 4 】

6 . 2 3 実施例 2 3 . h I L - 1 2 p 3 5 変異体活性の評価 - h I L - 2 プライミング ヒト NK 細胞による I F N - γ 放出

I L - 1 2 は、I F N - γ を分泌するように NK 細胞を刺激し、それらの増殖および細胞溶解活性を増強する (例えば、Glassman, Caleb R et al. " Structural basis for IL-12 and IL-23 receptor sharing reveals a gateway for shaping actions on T versus NK cells. " Cell vol. 184, 4 (2021): 983-999.e24. doi:10.1016/j.cell.2021.01.018 参照) 。 NK 細胞から放出された I F N - γ のレベルを評価するために、h P B M C を、1 0 % H I - F B S および 1 0 0 I U / m l h I L - 2 を含有する R P M I 1 6 4 0 中で解凍した。一晚インキュベートした後、細胞を採取し、負の選択により NK 細胞を濃縮した。NK 細胞を、漸増濃度の h I L - 1 2 とともに 5 0 , 0 0 0 細胞 / ウェルで播種し、3 7 $^{\circ}$ C 、 5 % C O ₂ で約 4 8 時間インキュベートした。標準的な I F N - γ E L I S A により培養上清中の I F N - γ を測定した (図 2 9 A ~ 2 9 C) 。図 2 9 A ~ 2 9 C に示されるように、B C A 3 0 7 . 1 6 は、1 6 . 9 5 n M で I F N - γ 放出に B C A 3 5 6 と同等の減弱を示し、B C A 3 2 5 . 1 6 、 B C A 3 2 3 . 1 6 、 B C A 3 2 4 . 1 6 および B C A 3 0 8 . 1 6 は、I F N - γ 放出の減弱を示さない。

40

50

【0715】

6.24 実施例24. hIL-12p35 変異体活性の概要

実施例19～22に示されるデータおよび表35にまとめられているデータは、HEK-IL-12リポーターアッセイにおいて、BCA307のhIL-12は、野生型hIL-12に比べて10000倍を超えて減弱されている。BCA307は、NK細胞に基づくアッセイにおいて、他のhIL-12p35変異体に比べて著しく減弱されている。

【0716】

【表35】

表 35 hIL-12p35 変異体の機能分析の概要

		HEK-IL12 レポーターアッセイ	NK 細胞による IFN γ の放出	PHA 刺激 PBMC による IFN γ の放出
説明	アミノ酸改変	減弱	*曲線のシフトに基づく減弱のレベル	
BCA307.16	Δ 55-92	+++	+++	+
BCA308.16	E60K/F61H/P63S/K150H/F188P	減弱なし	減弱なし	減弱なし
BCA323.16	F188A/Y189A	+	減弱なし	+
BCA324.16	F188A	減弱なし	減弱なし	減弱なし
BCA325.16	Y189A	減弱なし	減弱なし	+

* 曲線のシフトに基づく定性的なランク付け。+、++、+++ は野生型 hIL-12 と比較して、それぞれ低度、中程度、高度な減弱であったことを示す。

【0717】

6.25 実施例25. サロゲートバイオマーカーとしての可溶性CAIX

腫瘍におけるCAIX発現のサロゲートバイオマーカーとしての可溶性CAIXレベルの有用性を判定するために、腫瘍組織の細胞CAIX発現および腫瘍マッチ血漿の可溶性CAIXレベルをそれぞれ免疫組織化学（IHC）および酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）によって、胃癌、腎臓癌、大腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、および子宮内膜癌症例からのサンプルで判定した。図30に示されるように、全ての癌を合わせたもののピアソン相関係数分析で、細胞CAIXと可溶性CAIXの間には正の相関が見られた（ $r = 0.2086$ 、 $P = 0.0539$ ）。

【0718】

本発明は、本明細書に記載された特定の実施形態によって範囲を限定されるものではない。実際、記載されたものに加えて、本発明の様々な変更が、前述の説明および添付の図面から当業者には明らかとなるであろう。このような変更は、添付の特許請求の範囲に含まれることが意図される。

【0719】

本明細書で引用される全ての参考文献（例えば、刊行物または特許または特許出願）は、個々の参考文献（例えば、刊行物または特許または特許出願）が、目的を問わずその全体が参考により本明細書の一部として援用されることが具体的かつ個々に示されている場合と同程度に、目的を問わずその全体が参考により本明細書の一部として援用される。

【0720】

他の実施形態は、以下の特許請求の範囲内にある。

10

20

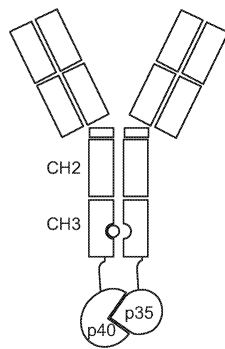
30

40

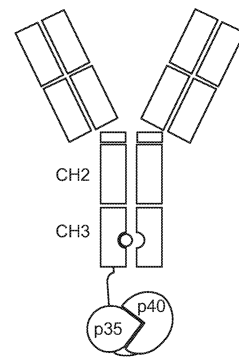
50

【図面】

【図 1】

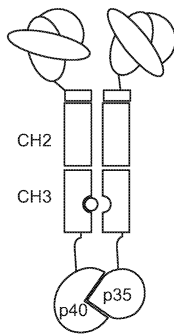


【図 2】

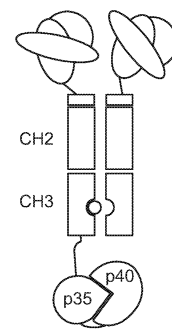


10

【図 3】

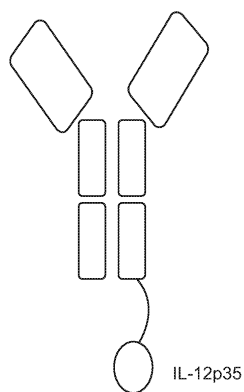


【図 4】

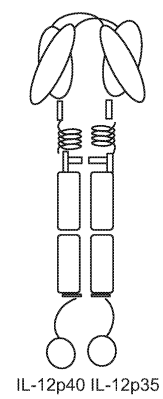


20

【図 5】



【図 6】

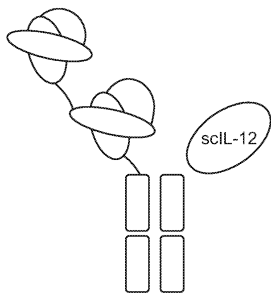


30

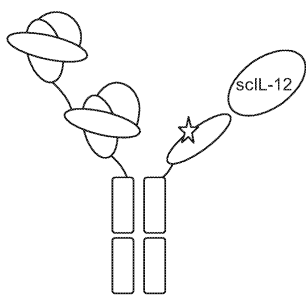
40

50

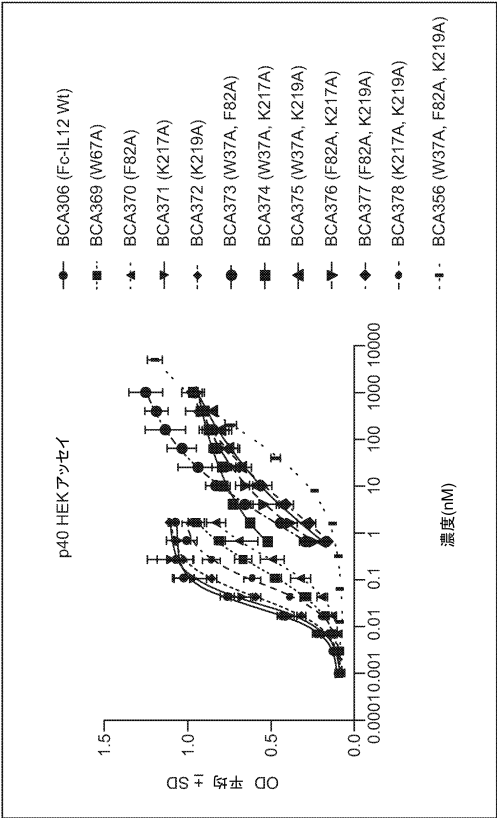
【図 7】



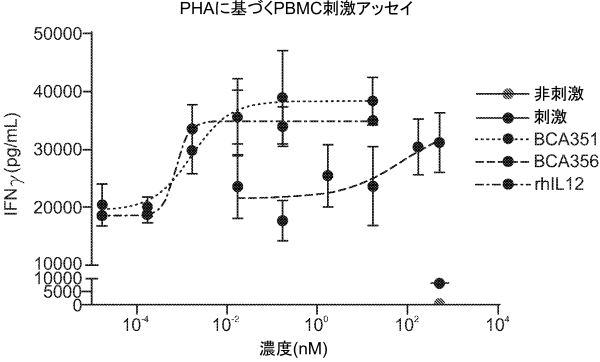
【図 8】



【図 9】



【図 10 A】



10

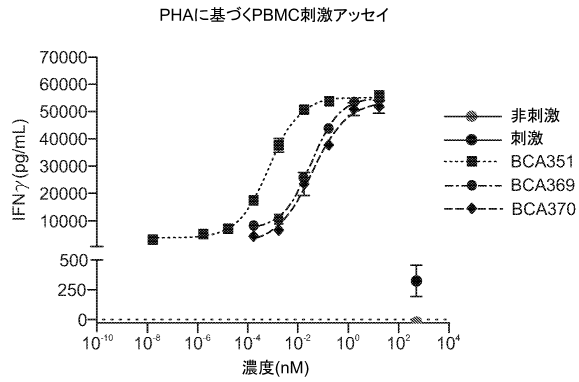
20

30

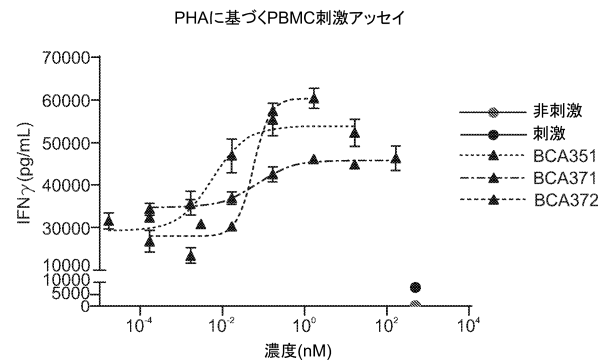
40

50

【図 10 B】

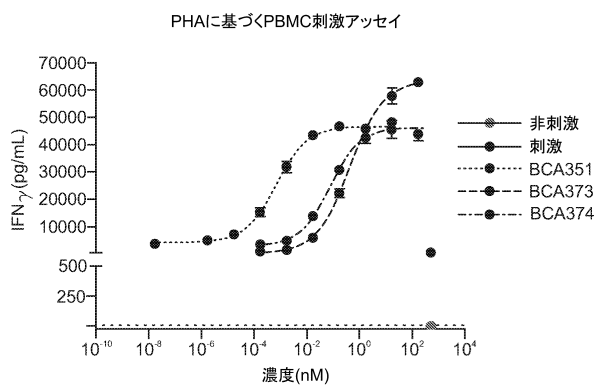


【図 10 C】

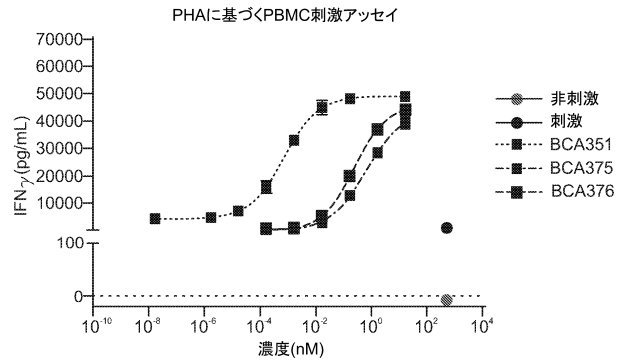


10

【図 10 D】

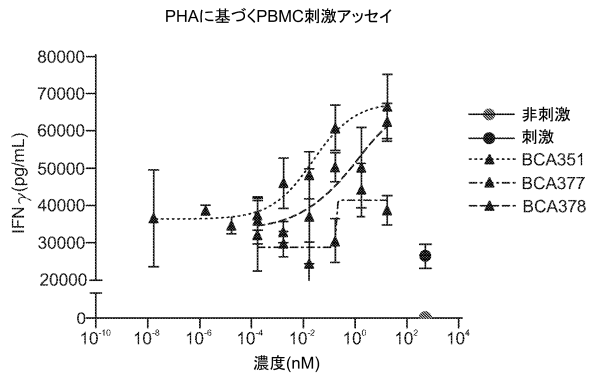


【図 10 E】

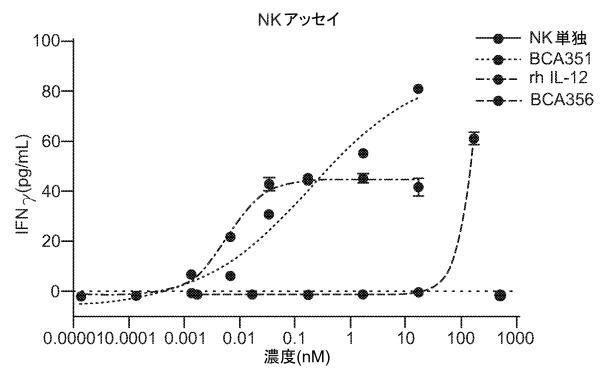


20

【図 10 F】



【図 11 A】

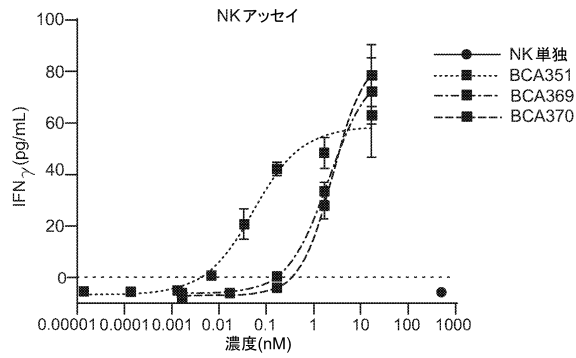


30

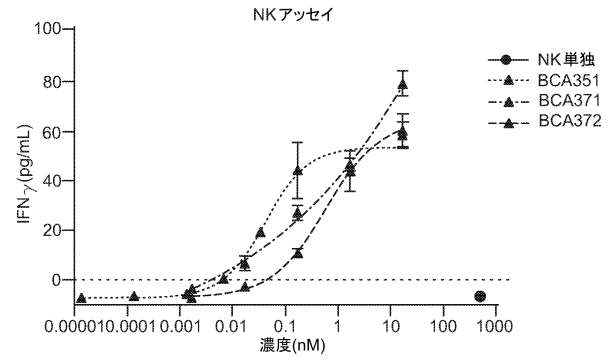
40

50

【図 1 1 B】

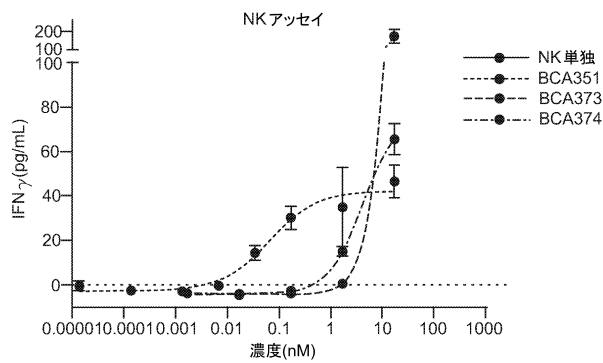


【図 1 1 C】

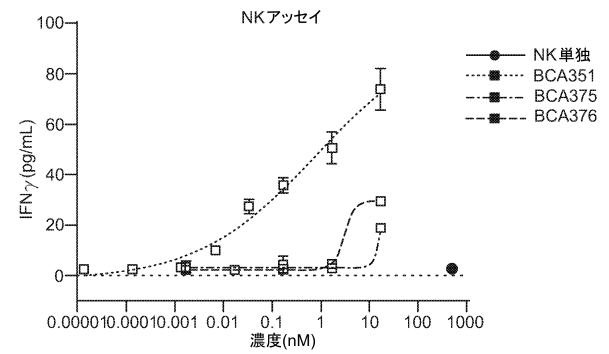


10

【図 1 1 D】

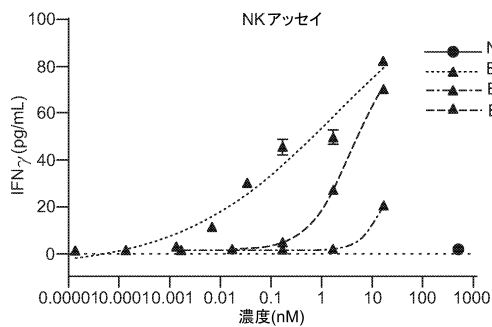


【図 1 1 E】

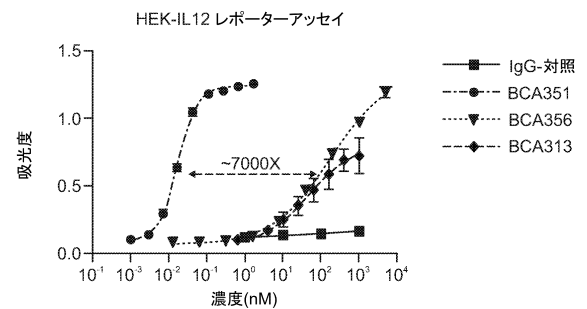


20

【図 1 1 F】



【図 1 2】

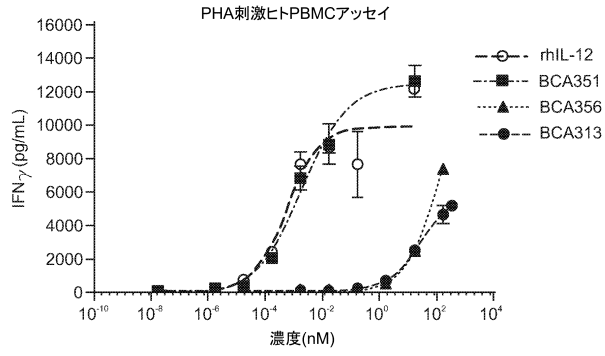


30

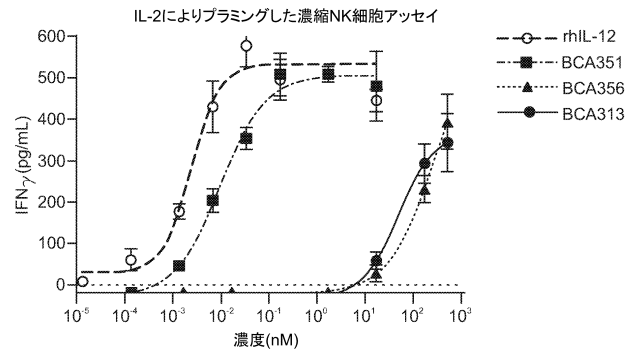
40

50

【図 1 3】

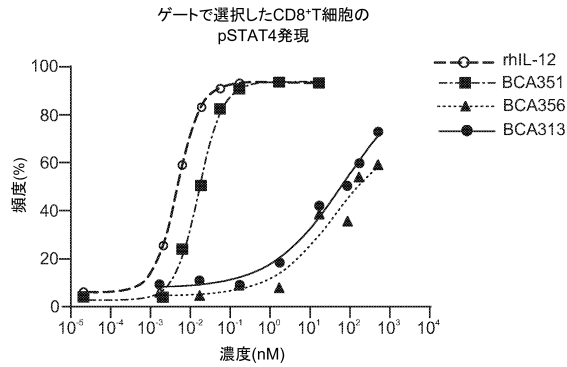


【図 1 4】

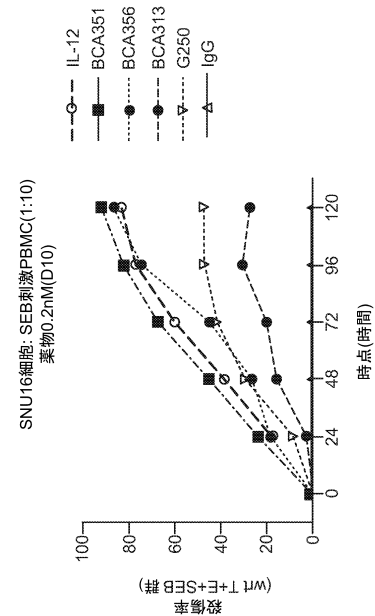


10

【図 1 5】

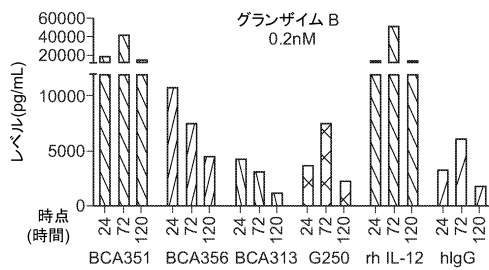


【図 1 6】

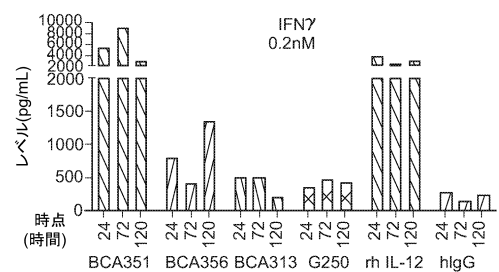


20

【図 1 7 A】



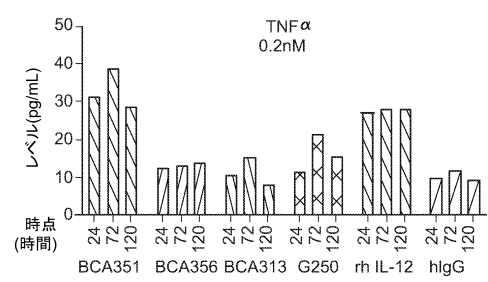
【図 1 7 B】



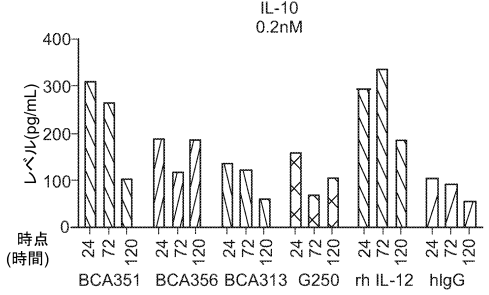
40

50

【図 1 7 C】

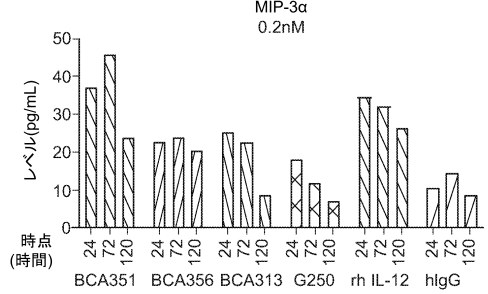


【図 1 7 D】

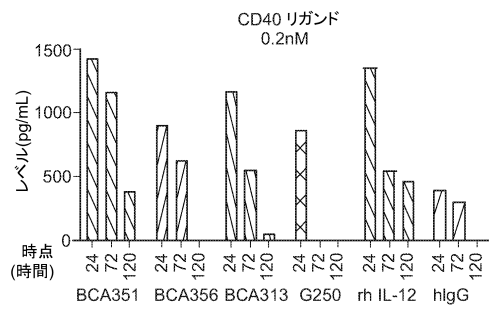


10

【図 1 7 E】

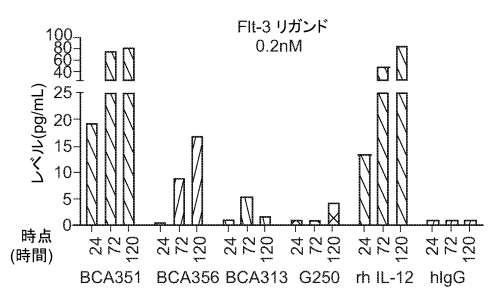


【図 1 7 F】

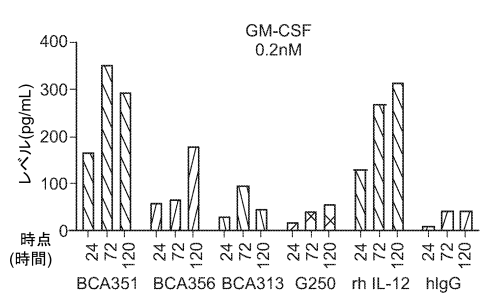


20

【図 1 7 G】



【図 1 7 H】

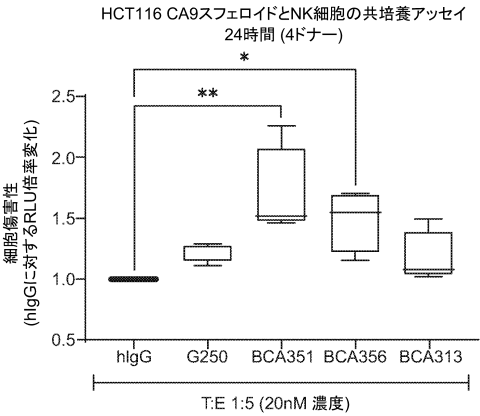


30

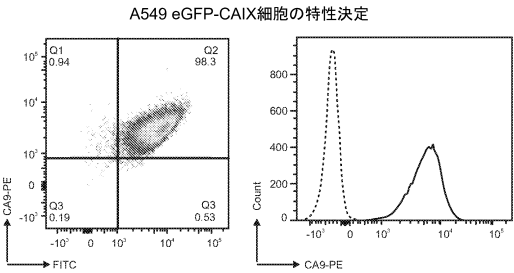
40

50

【図 1 8】

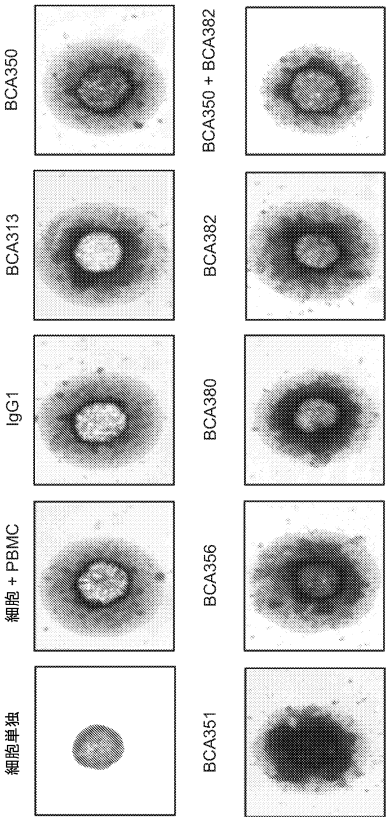


【図 1 9】

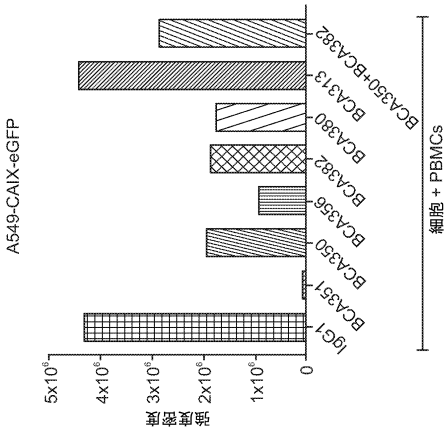


10

【図 2 0】



【図 2 1 A】



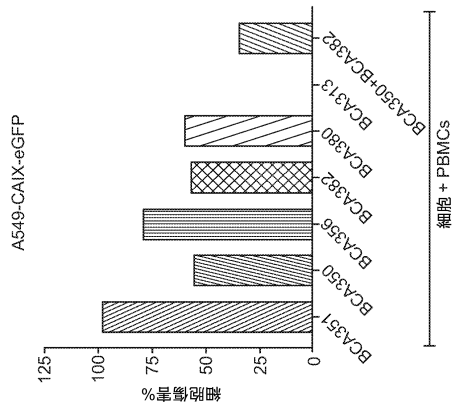
20

30

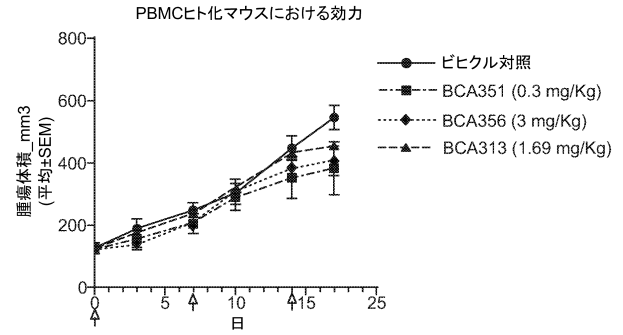
40

50

【図 2 1 B】

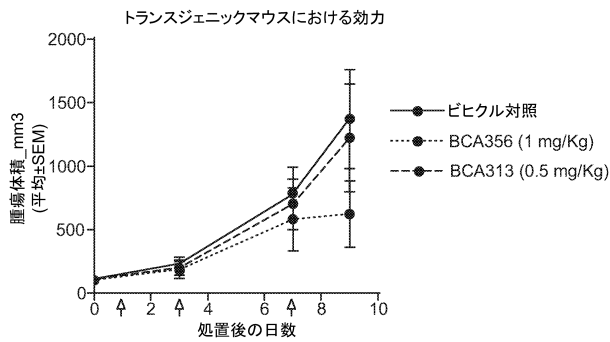


【図 2 2】

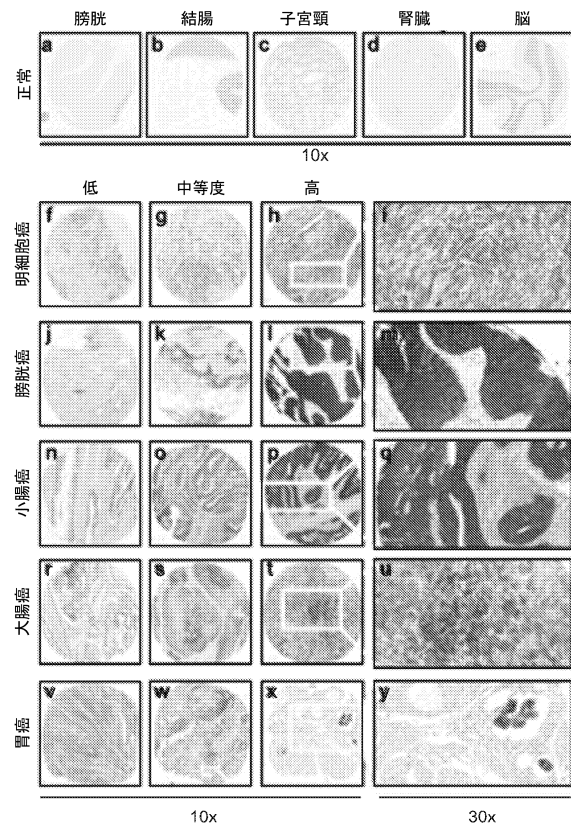


10

【図 2 3】



【図 2 4 A】



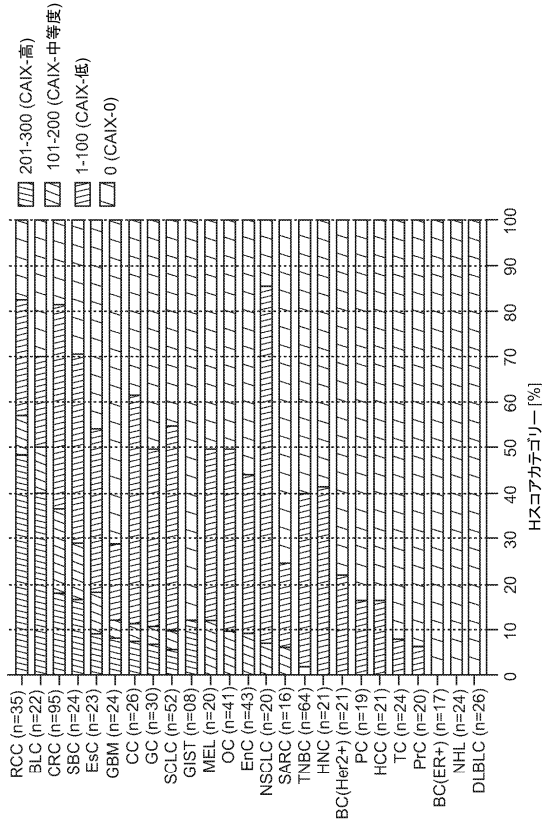
20

30

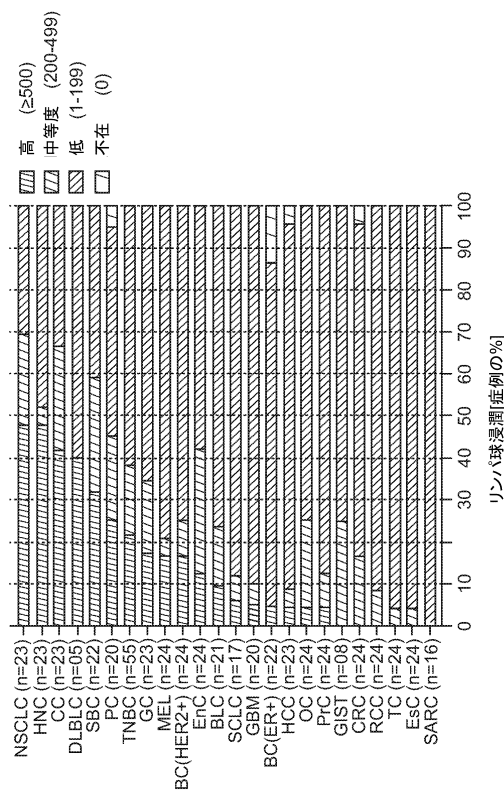
40

50

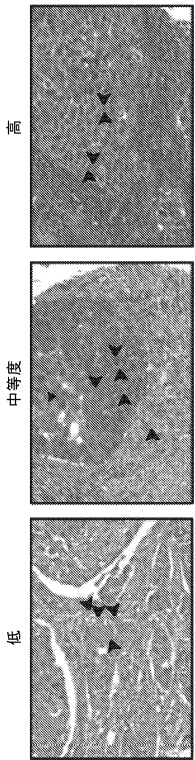
【図 2 4 B】



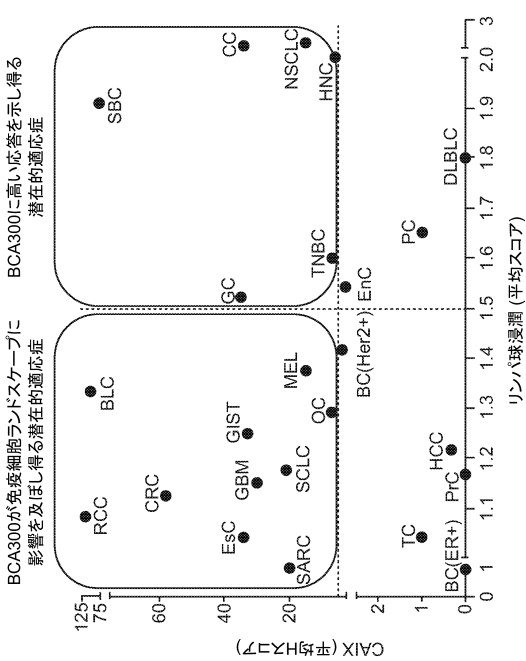
【図 2 5 B】



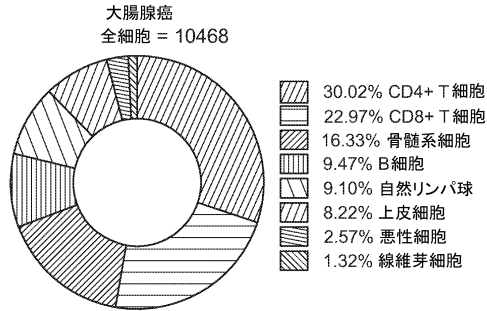
【図 2 5 A】



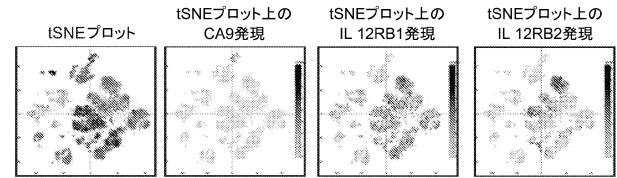
【図 2 5 C】



【図 26 A】

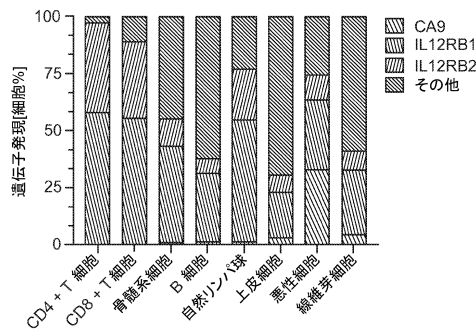


【図 26 B】

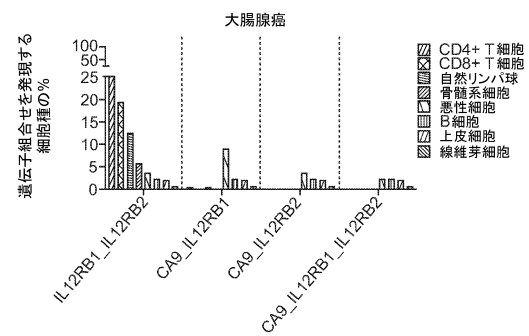


10

【図 26 C】

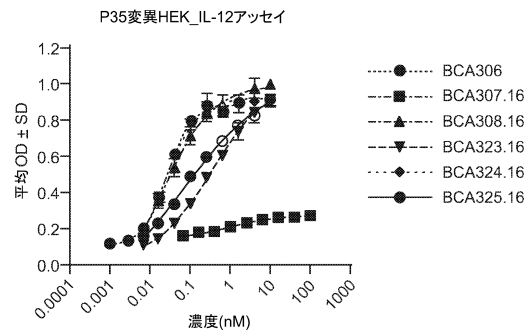


【図 26 D】

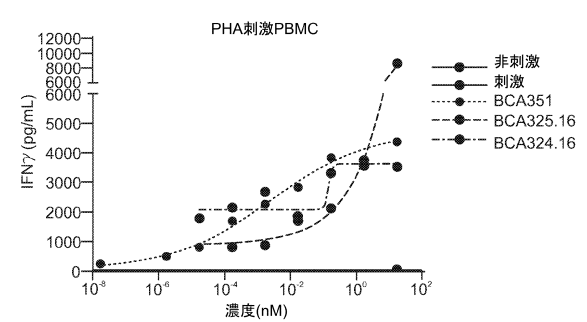


20

【図 27】



【図 28 A】

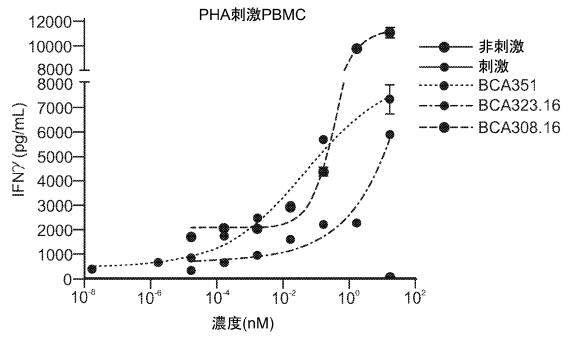


30

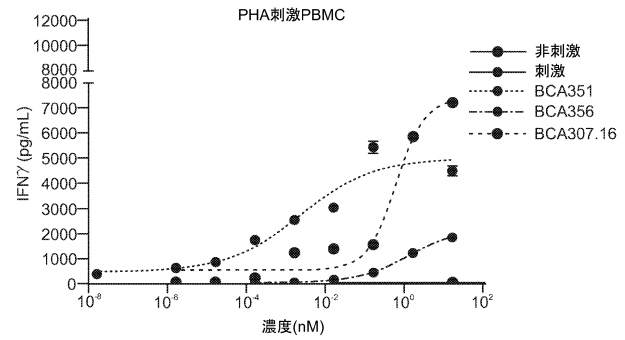
40

50

【図 28 B】

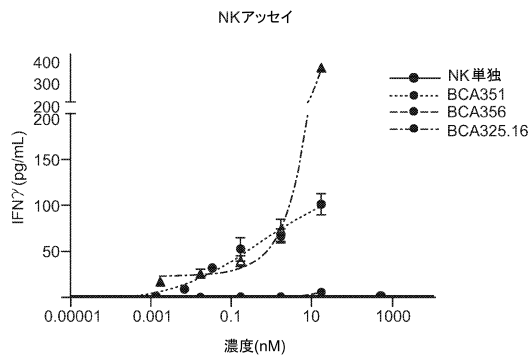


【図 28 C】

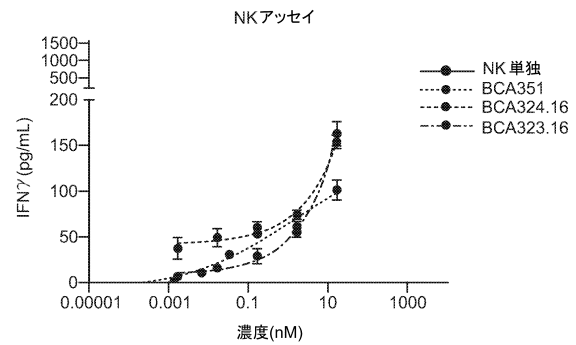


10

【図 29 A】

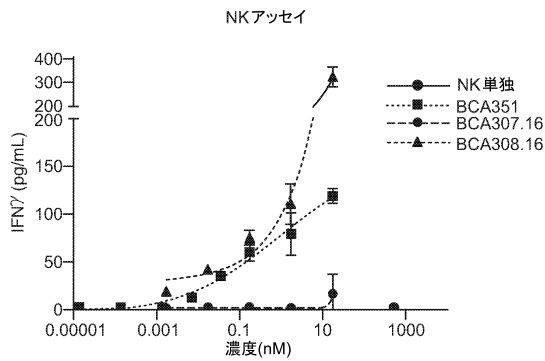


【図 29 B】

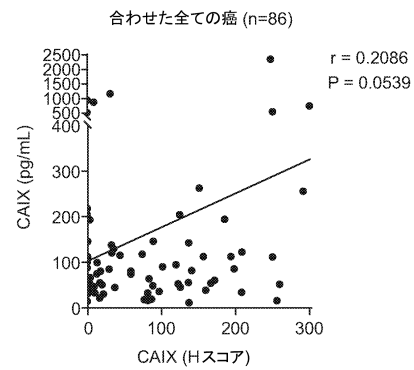


20

【図 29 C】



【図 30】



30

40

50

【配列表】

2024534468000001.xml

10

20

30

40

50

【手続補正書】

【提出日】 令和6年5月17日(2024.5.17)

【手続補正1】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0360

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【0360】

【表9】

表9 hIL-12p40ヘパリン結合ドメイン及びその変異体

説明	アミノ酸配列		配列番号
非改変ヘパリン結合ドメイン(参照)	VQVQGKSKREKK		88
改変ヘパリン結合ドメイン	VX1X2QX3K*X4X5X6X7K*X8	X1はRまたはQ、 X2はV、AまたはI、 X3はGまたはR*、 X4はS、NまたはK*、 X5はK*、NまたはE、 X6はRまたはK、 X7はE、MまたはT、および X8はK*またはEであり、 ここで、「*」を付与したアミノ酸残基 の1以上は、A、G、I、L、M、F、Pお よびVからなる群から選択される非 極性アミノ酸残基に置換される。	

【手続補正2】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0659

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【0659】

BCA316形式(すなわち、抗CAIX抗体の第1のFc領域に融合されたIL-12p35および第2のFc領域に融合されたIL-12p40(例えば、図2および図4参照))を有する融合タンパク質は、以下の方法に従って作出した。簡単に述べれば、下記のように、3つの異なるポリペプチドをCHO細胞で共発現させた。これらの各ポリペプチドはN末端シグナルペプチドを含んでおり、このシグナルペプチドは切断されて成熟タンパク質鎖を形成し、細胞外培地への適切な分泌を確保する。これらの3つのポリペプチドは次の通りであった。

- ・1. ヒト化軽鎖(LC3)。
- ・2. CH3領域にノブ変異(T366W)を含む第1のヒト化重鎖(HC5)。重鎖のC末端は、成熟IL-12p40ポリペプチドのN末端に、ペプチドリinker(GGGGS)₃(配列番号72)を介して作動可能に連結されている。hIL-12p40サブユニットは、翻訳を終結させるためにC末端に終止コドンを含む。
- ・3. CH3ドメインにホール変異セットを含む第2のヒト化重鎖(HC5)。重鎖のC末端は、成熟IL-12p35ポリペプチドのN末端に、ペプチドリinker(GGGGS)₃(配列番号72)を介して作動可能に連結されている。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0661

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0661】

BCA315形式を有する融合タンパク質（すなわち、schIL-12（例えば、図1および図3参照））を以下の方法に従って作出した。簡単に述べれば、3つの異なるポリペプチドを、下記のように*in vitro*においてCHO細胞で共発現させた。これらの3つのポリペプチドは次の通りであった。

- ・1. ヒト化軽鎖配列（LC3）。
- ・2. CH3領域にノブ変異（T366W）を有するヒト化重鎖配列（HC5）。重鎖のC末端は、成熟hIL-12p35のN末端に、ペプチドリンカー（GGGGS）₃（配列番号72）を介して作動可能に連結されている。成熟hIL-12p35ポリペプチドのC末端は、成熟hIL-12p40ポリペプチドのN末端に、（i）短鎖ペプチドリンカー（GGGGGS）（配列番号369）または調査ペプチドリンカー（GGGGS）₃（配列番号72）のいずれかを介して作動可能に連結されている。
- ・3. CH3ドメインのホール変異セットを含むヒト化重鎖配列（HC5）。

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US22/43762

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC - INV. C07K 14/54; A61K 38/20; C07K 14/715 (2023.01) ADD. C12N 15/10 (2023.01) CPC - INV. C07K 14/5434; A61K 38/208; C07K 14/7155 ADD. C12N 15/102		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document		
Electronic database consulted during the international search (name of database and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2021/0130430 A1 (WEREWOLF THERAPEUTICS INC.) 6 May 2021; paragraphs [0157], [0279]	1-3
A	(UNIPROT) P29460 IL12B_Human. Uniprot entry (online). 1 April 1993 (Retrieved on 17 March 2023). Retrieved from the Internet: [URL: https://www.uniprot.org/uniprotkb/P29460/entry]; pages 1-11; page 9	1-3
A	US 2013/0034518 A1 (WEBSTER, GD et al.) 7 February 2013; paragraphs [0009], [0011]	1-3
A	(GLASSMAN, CR et al.) Structural basis for IL-12 and IL-23 receptor sharing reveals a gateway for shaping actions on T versus NK cells. Cell. 18 February 2021, Vol. 184, No. 4; pages 983-1023; page 989, 1st column, 3rd paragraph and 2nd column, 1st paragraph; DOI: 10.1016/j.cell.2021.01.018	1-3
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 23 March 2023 (23.03.2023)		Date of mailing of the international search report JUL 19 2023
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Shane Thomas Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US22/43762

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

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

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US22/43762
Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)		
This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:		
1.	☐ Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:	10
2.	☐ Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:	
3.	☒ Claims Nos.: 4-16, 20-21, 24-143, 146-162, 165-169 because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).	20
Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)		
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows: -***Please See Supplemental Page-***		
1.	☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.	30
2.	☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.	
3.	☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:	
4.	☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: Groups I+: claims 1-3, and W37, F82, and K219 (hLL-12p40 amino acid substitutions).	40
Remark on Protest		
	☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.	
	☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.	
	☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US22/43782

-----Continued From Box No. III: Observations where unity of invention is lacking-----

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Groups I+: claims 1-3, and W37, F82, and K219 (hIL-12p40 amino acid substitutions) are directed towards a hIL-12p40 polypeptide.

Groups II+: claims 17-19, 22-23, and substitution (hIL-12p35 amino acid modification type), E60K (amino acid substitution) are directed towards a hIL-12p35 polypeptide.

Group III+: claims 144-145, 163-164, and SEQ ID NOs: 3 and 10 (anti-hCAIX antibody VH and VL amino acid sequences, respectively) are directed towards an anti-hCAIX antibody and methods associated therewith.

The inventions listed as Groups I+, II+, and III+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: the special technical features of Group I+ include an isolated recombinant membrane-bound prenyltransferase, not present in any of the other Groups; the special technical features of Group II+ include an isolated recombinant soluble aromatic prenyltransferase, not present in any of the other Groups; the special technical features of Group III+ include a fusion protein, not present in any of the other Groups.

Groups I+, II+, and III+ share the technical features including: amino acid sequence.

Groups I+ and II+ share the additional technical features including: hIL-12 polypeptide.

However, these shared technical features are previously disclosed by US 2021/0130430 A1 to Werewolf Therapeutics Inc. (hereinafter "Werewolf").

Werewolf discloses amino acid sequence (mutant IL-2 polypeptides comprising amino acid sequences with substitutions; paragraph [0125]); and hIL-12 polypeptide (recombinant human IL2; paragraph [0048]).

The hIL-12p40 polypeptide of Claims 1-2 (each in-part), 3 are believed to encompass the first named invention of Groups I+ and are the claims that will be searched without fee to the extent that they encompass W37, F82, and K219 (first exemplary hIL-12p40 amino acid substitutions). This first named invention of Group I+ has been selected to encompass the first species of each of the genera found in claims 1-2 based on the guidance set forth in section 10.54 of the PCT International Search and Preliminary Examination Guidelines.

Applicant is invited to elect additional amino acid substitutions to be searched. Additional amino acid substitutions will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the searchable claims that encompass any additionally elected amino acid substitutions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be W37, F82, and K217 (hIL-12p40 amino acid substitutions).

Groups I+ share the technical features including: a human Interleukin 12 p40 or hIL-12p40 polypeptide comprising an amino acid sequence a. at least 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91 %, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to the amino acid sequence of SEQ ID NO: 33; and b. comprising or consisting of an amino acid substitution amino acid positions, amino acid numbering relative to the amino acid sequence of SEQ ID NO: 32. These shared technical features are previously disclosed by Werewolf, as above, as further evidenced by the publication entitled "P29460 IL12B_Human" by Uniprot (hereinafter "Uniprot").

Werewolf discloses a human Interleukin 12 p40 or hIL-12p40 polypeptide comprising an amino acid sequence a. at least 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91 %, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to the amino acid sequence of SEQ ID NO: 33 (human IL12 p40 polypeptide comprising the amino acid sequence set forth in Uniprot accession number P29460 that comprises a sequence 100% identical to SEQ ID NO: 33 of the instant PCT application (at least 99% identical), as shown by the Uniprot evidentiary reference (328 aa-long human IL12B polypeptide sequence; page 9); paragraph [0279]); and b. comprising or consisting of an amino acid substitution amino acid positions, amino acid numbering relative to the amino acid sequence of SEQ ID NO: 32 (additional modifications in the amino acid sequence, such as conservative amino acid substitutions of the chimeric polypeptide comprising IL12 p40, which comprises the sequence set forth in Uniprot accession number P29460 that is 100% identical to SEQ ID NO: 32 of the instant PCT application (328 aa-long human IL12B polypeptide sequence; page 9), thereby indicating that the amino acid substitution positions would be numbered according to the amino acid numbering relative to the amino acid sequence of SEQ ID NO: 32; paragraphs [0157], [0279]).

The hIL-12p35 polypeptide of Claims 17 (in-part), 19 (in-part) are believed to encompass the first named invention of Groups II+ and are the claims that will be searched without fee to the extent that they encompass substitution (first exemplary hIL-12p35 amino acid modification type), E60K (first exemplary amino acid substitution). This first named invention of Group II+ has been selected to encompass the first species of each of the genera found in claims 17 and 19 based on the guidance set forth in section 10.54 of the PCT International Search and Preliminary Examination Guidelines.

Applicant is invited to elect additional amino acid modification type(s), amino acid substitution(s) to be searched. Additional amino acid modification type(s), amino acid substitution(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the searchable claims that encompass any additionally elected amino acid modification type(s), amino acid substitution(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. Exemplary elections would be deletion (hIL-12p35 amino acid modification type), A55-K92 (amino acid deletion).

Groups II+ share the technical features including: a human interleukin 12 p35 or hIL-12p35 polypeptide comprising an amino acid

-----Continued Within the Next Supplemental Box-----

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US22/43762

-Continued from previous Supplemental Box-

sequence a. at least 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91 %, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to the amino acid sequence of SEQ ID NO: 31; and b. comprising or consisting of an amino acid modification at one or more amino acid positions, amino acid numbering relative to the amino acid sequence of SEQ ID NO: 30. These shared technical features are previously disclosed by US 2020/0216509 A1 to Xencor, Inc. (hereinafter "Xencor").

Xencor discloses a human interleukin 12 p35 or hIL-12p35 polypeptide comprising an amino acid sequence a. at least 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91 %, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to the amino acid sequence of SEQ ID NO: 31; and b. comprising or consisting of an amino acid modification at one or more amino acid positions, amino acid numbering relative to the amino acid sequence of SEQ ID NO: 30 (IL-12p35 subunit has a polypeptide sequence of SEQ ID NO:1 that is 100% identical to SEQ ID NO: 30 of the instant PCT application, and comprises a sequence 100% identical to SEQ ID NO: 31 of the instant PCT application (at least 99% identical), thereby indicating that the amino acid substitution positions would be numbered according to the amino acid numbering relative to the amino acid sequence of SEQ ID NO: 30; paragraphs [0010], [0013]).

The anti-hCAIX antibody and methods of Claims 144 (in-part), 163-164 are believed to encompass the first named invention of Groups III+ and are the claims that will be searched without fee to the extent that they encompass SEQ ID NOS: 3 and 10 (first exemplary anti-hCAIX antibody VH and VL amino acid sequences, respectively). This first named invention of Group III+ has been selected to encompass the first species of each of the genus found in claim 144 based on the guidance set forth in section 10.54 of the PCT International Search and Preliminary Examination Guidelines.

Applicant is invited to elect additional VH and VL amino acid sequences to be searched. Additional VH and VL amino acid sequences will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the searchable claims that encompass any additionally elected VH and VL amino acid sequences. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. Exemplary elections would be SEQ ID NOS: 7 and 15 (anti-hCAIX antibody VH and VL amino acid sequences, respectively).

Groups III+ share the technical features including: an antibody or antigen binding domain thereof that specifically binds hCAIX and comprises a VH and VL, wherein the amino acid sequence of the VH is at least 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to an amino acid sequence; and the amino acid sequence of the VL is at least 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to an amino acid sequence; a method of determining the expression of CAIX in cells of a cancer, e.g., a solid cancer, in a subject, the method comprising: a. obtaining the sample from a subject, wherein the sample does not contain cancer cells or does not contain a substantial number of cancer cells, and b. determining the presence or absence of soluble CAIX or a fragment or variant thereof in the sample; a method of diagnosing a subject with a cancer, e.g., a solid cancer, comprising cancer cells expressing CAIX, the method comprising: a. obtaining the sample from a subject, wherein the sample does not contain cancer cells or does not contain a substantial number of cancer cells, b. determining the presence or absence of soluble CAIX or a fragment or variant thereof in the sample; and c. diagnosing the subject as having a cancer, e.g., a solid cancer, comprising cancer cells expressing CAIX, if soluble CAIX is determined to be present in the sample. These shared technical features are previously disclosed by US 2015/0266971 A1 to Pastorek, et al. (hereinafter "Pastorek").

Pastorek discloses an antibody or antigen binding domain thereof that specifically binds hCAIX and comprises a VH and VL, wherein the amino acid sequence of the VH is at least 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to an amino acid sequence; and the amino acid sequence of the VL is at least 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to an amino acid sequence (detecting soluble CA IX in human body fluids using CAIX-specific antibodies (an antibody that specifically binds hCAIX) that comprise VH and VL sequences; paragraphs [0053], [0439]); a method of determining the expression of CAIX in cells of a cancer, e.g., a solid cancer, in a subject, the method comprising: a. obtaining the sample from a subject, wherein the sample does not contain cancer cells or does not contain a substantial number of cancer cells, and b. determining the presence or absence of soluble CAIX or a fragment or variant thereof in the sample (detecting soluble CA IX protein in a vertebrate body fluid, such as urine (obtaining the sample from a subject, wherein the sample does not contain cancer cells or does not contain a substantial number of cancer cells), by contacting said sample with one or more antibodies which specifically bind to CAIX protein (determining the presence or absence of soluble CAIX or a fragment or variant thereof in the sample) for diagnosing cancer, such as bladder cancer in a subject; paragraphs [0025], [0055], [0056], [0454]); a method of diagnosing a subject with a cancer, e.g., a solid cancer, comprising cancer cells expressing CAIX, the method comprising: a. obtaining the sample from a subject, wherein the sample does not contain cancer cells or does not contain a substantial number of cancer cells, b. determining the presence or absence of soluble CAIX or a fragment or variant thereof in the sample; and c. diagnosing the subject as having a cancer, e.g., a solid cancer, comprising cancer cells expressing CAIX, if soluble CAIX is determined to be present in the sample (detecting soluble CA IX protein in a vertebrate body fluid, such as urine (obtaining the sample from a subject, wherein the sample does not contain cancer cells or does not contain a substantial number of cancer cells), by contacting said sample with one or more antibodies which specifically bind to CAIX protein (determining the presence or absence of soluble CAIX or a fragment or variant thereof in the sample) for diagnosing cancer, such as bladder cancer in a subject (diagnosing the subject as having a cancer comprising cancer cells expressing CAIX, if soluble CAIX is determined to be present in the sample); paragraphs [0025], [0055], [0056], [0454]).

Since none of the special technical features of the Groups I+, II+, and III+ inventions are found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the Werewolf, Xencor, and Pastorek references, unity of invention is lacking.

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 1 2 N 15/13 (2006.01)
 C 1 2 N 15/63 (2006.01)
 C 1 2 N 5/10 (2006.01)
 C 1 2 N 1/21 (2006.01)
 C 1 2 N 1/19 (2006.01)
 C 1 2 N 1/15 (2006.01)
 C 1 2 P 21/02 (2006.01)
 A 6 1 K 47/68 (2017.01)
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)
 A 6 1 P 37/04 (2006.01)
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 K 38/20 (2006.01)
 G 0 1 N 33/574 (2006.01)

C 1 2 N 15/13
 C 1 2 N 15/63 Z
 C 1 2 N 5/10
 C 1 2 N 1/21
 C 1 2 N 1/19
 C 1 2 N 1/15
 C 1 2 P 21/02 A
 A 6 1 K 47/68
 A 6 1 K 39/395 N
 A 6 1 K 39/395 D
 A 6 1 P 37/04
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 K 38/20
 G 0 1 N 33/574 A
 G 0 1 N 33/574 D

4 H 0 4 5

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

インド国 5 6 0 1 0 5 バンガロール, ジガニ, ラジャブラ ロード, ディーエルエフ メイデン
 ハイツ, エル 5 2

(72)発明者

トリブラナ, ハリシュ クマル

インド国 5 6 2 1 0 6 カルナータカ, バンガロール, エイカル タルク, チャンダブラ エイカル
 ロード, ヴイビーエイチシー アパートメント, ブロック ナンバー 1 4, フラット ナンバー 1 0 3

(72)発明者

ナイル, プラディップ

インド国 7 6 バンガロール, オフ バナーガッタ メイン ロード, エイキャ アパートメンツ,
 3 0 3

(72)発明者

サブバラマン, ラマクリシュナン メラルコード

インド国 5 6 0 0 3 5 バンガロール, サージャプール ロード, レインボー ドライブ レイアウ
 ト, 8ティーエイチ クロス, 4ティーエイチ メイン, 2 8 8

(72)発明者

クリシン, シヴ ラム

インド国 3 0 5 0 0 1 ラージャスターン, アジュメール, シヴィル ライン, ハーヴィラス シ
 ャーダ マーグ, アガーウォール コロニー, 'カムライタン', 1 1

(72)発明者

ボレディ, スリニバス レディ

インド国 5 6 0 1 0 0 カルナータカ, ベンガルール, エレクトロニック シティ フェーズ-1
 , ニーラドリ ロード, ピーエスアール クリッシュカマル, イー 5 2 6

(72)発明者

ナイル, レシュミ

インド国 5 6 0 1 0 5 ジガニ ホビル, エレクトロニック シティ フェーズ1, マラゴンダナハ
 リ, マヘンドラ エレナ5, シー 3 0 5

(72)発明者

ヴァーシュニー, アヴァニッシュ ケー.

アメリカ合衆国 0 1 8 8 6 マサチューセッツ州, ウェストフォード, ローウェル ロード 1 2 2

(72)発明者

タン, センゲーライ

アメリカ合衆国 0 1 7 7 6 マサチューセッツ州, サドベリー, ボストン ポスト ロード ユニッ
 ト 2 0 1 9 2

F ターム (参考)

4B064 AG01 AG03 AG26

4B065 AA90X AB01 BA02 CA24 CA44

4C076 AA95 CC27 CC41 EE59

4C084 AA01 AA02 BA44 DA12 NA13 NA14 ZB091 ZB261 ZC022

F ターム (参考) 4C085 AA13 BB11 BB41 BB42 BB43
 4H045 AA10 AA20 AA30 BA09 BA41 DA02 DA75 EA20 FA74