(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-519158
(P2025-519158A)
(43)公表日　令和7年6月24日(2025.6.24)

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）	
C07K	*14/55*	*(2006.01)*	C07K	14/55	ZNA	4B064	
C07K	*16/00*	*(2006.01)*	C07K	16/00		4B065	
C07K	*19/00*	*(2006.01)*	C07K	19/00		4C076	
C12N	*15/26*	*(2006.01)*	C12N	15/26		4C084	
C12N	*15/62*	*(2006.01)*	C12N	15/62	Z	4H045	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全119頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-569781(P2024-569781)
(86)(22)出願日　令和5年5月26日(2023.5.26)
(85)翻訳文提出日　令和7年1月21日(2025.1.21)
(86)国際出願番号　PCT/US2023/067532
(87)国際公開番号　WO2023/230594
(87)国際公開日　令和5年11月30日(2023.11.30)
(31)優先権主張番号　63/346,593
(32)優先日　令和4年5月27日(2022.5.27)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/349,078
(32)優先日　令和4年6月4日(2022.6.4)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/355,375
最終頁に続く

(71)出願人　597160510
リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド
ＲＥＧＥＮＥＲＯＮ　ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬＳ，　ＩＮＣ．
アメリカ合衆国１０５９１－６７０７ニューヨーク州タリータウン、オールド・ソー・ミル・リバー・ロード７７７番
(74)代理人　100105957
弁理士　恩田 誠
(74)代理人　100068755
弁理士　恩田 博宣
(74)代理人　100142907
弁理士　本田 淳
(74)代理人　100152489
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　インターロイキン－２プロタンパク質及びその使用

(57)【要約】
本開示は、例えば、腫瘍部位で、プロテアーゼの作用時にＩＬ２Ｒα部分がＩＬ２部分から解除されるように構成された、ＩＬ２Ｒα部分でマスキングされているＩＬ２部分及びプロテアーゼ切断可能リンカーを含む、ＩＬ２プロタンパク質を提供する。ＩＬ２プロタンパク質は、任意選択で、標的化部分、例えば、腫瘍関連抗原を認識し、プロタンパク質を腫瘍部位に指向する標的化部分を更に含む。本開示は更に、ＩＬ２プロタンパク質を含む薬学的組成物、及び療法におけるＩＬ２プロタンパク質の使用方法、並びにＩＬ２プロタンパク質をコードする核酸、ＩＬ２プロタンパク質を発現する組換え細胞、及びＩＬ２プロタンパク質を産生する方法を提供する。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＩＬ２プロタンパク質であって、
（ａ）Ｎ末端からＣ末端の順序で、
（ｉ）第１の標的化部分又はその構成要素、
（ｉｉ）第１のＦｃドメイン、
（ｉｉｉ）任意選択の第１の非切断可能リンカー（ＮＣＬ）、
（ｉｖ）第１のＩＬ２Ｒα部分、
（ｖ）第１のプロテアーゼ切断可能リンカー（ＰＣＬ）、及び
（ｖｉ）第１のＩＬ２部分を含む、第１のポリペプチド鎖と、
（ｂ）Ｎ末端からＣ末端の順序で、
（ｉ）第２の標的化部分又はその構成要素、
（ｉｉ）前記第１のＦｃドメインと会合してＦｃ領域を形成することができる第２のＦｃドメイン、
（ｉｉｉ）任意選択の第２の非切断可能リンカー（ＮＣＬ）、
（ｉｖ）第２のＩＬ２Ｒα部分、
（ｖ）第２のプロテアーゼ切断可能リンカー（ＰＣＬ）、及び
（ｖｉ）第２のＩＬ２部分を含む、第２のポリペプチド鎖と、を含む、ＩＬ２プロタンパク質。
【請求項２】
前記ＩＬ２部分が、成熟ヒトＩＬ２に対して少なくとも約９０％又は少なくとも約９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項１に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項３】
前記ＩＬ２部分が、成熟ヒトＩＬ２と比較してＮ末端アラニン欠失を有するアミノ酸配列を含む、請求項１又は２に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項４】
前記ＩＬ２部分が、（ａ）野生型ＩＬ２と比較してＮ８８位でのアミノ酸置換であって、任意選択で、前記アミノ酸置換がＮ８８Ｄである、アミノ酸置換、及び／又は（ｂ）野生型ＩＬ２と比較してアミノ酸置換Ｃ１２５Ｓ、Ｃ１２５Ａ、若しくはＣ１２５Ｖを有するアミノ酸配列を有するアミノ酸配列を含む、請求項１～３のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項５】
前記ＩＬ２Ｒα部分が、ヒトＩＬ２ＲαのＩＬ２結合部分に対して少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、少なくとも約９９％、又は１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる、請求項１～４のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項６】
前記ＩＬ２Ｒα部分が、（ａ）ＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～１８６、（ｂ）ＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～２４０、及び／又は（ｃ）ヒトＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～２７２に対して少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、又は少なくとも９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項５に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項７】
前記第１のＰＣＬ及び／又は第２のＰＣＬが、（ａ）表Ａに記載の任意のプロテアーゼによって切断可能な基質配列を含み、（ｂ）表Ｂに記載の準安定状態配列から選択される１つ以上の基質配列を含み、（ｃ）表Ｃに記載の準安定状態配列から選択される１つ以上のスペーサー配列を含み、かつ／あるいは（ｄ）表Ｄに記載のＰＣＬ配列のうちのいずれかのアミノ酸配列、又は最大５つのアミノ酸置換を有するそのバリアント、例えば、１つのアミノ酸置換、２つのアミノ酸置換、３つのアミノ酸置換、４つのアミノ酸置換、若しくは５つのアミノ酸置換を有するそのバリアントを含む、請求項１～６のいずれか一項に

記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項８】
前記第１のＮＣＬ及び／又は第２のＮＣＬが、表Ｅに記載のＮＣＬ配列のうちのいずれかのアミノ酸配列、又は最大５つのアミノ酸置換を有するそのバリアント、例えば、１つのアミノ酸置換、２つのアミノ酸置換、３つのアミノ酸置換、４つのアミノ酸置換、若しくは５つのアミノ酸置換を有するそのバリアントを含む、請求項１～７のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項９】
前記第１及び第２の非切断可能リンカーが、（ａ）５～２５アミノ酸若しくは７～２０アミノ酸長の範囲であるか、又は（ｂ）少なくとも５アミノ酸若しくは少なくとも７アミノ酸長である、請求項１～７のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項１０】
前記第１及び第２のプロテアーゼ切断可能リンカーが、２０アミノ酸～８０アミノ酸、又は２０～６０アミノ酸長の範囲である、請求項１～９のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項１１】
前記第１のＦｃドメイン及び／又は前記第２のＦｃドメインが、ヒンジドメインを含む、請求項１～１０のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項１２】
前記第１の標的化部分及び／又は前記第２の標的化部分が、Ｆａｂである、請求項１～１１のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項１３】
前記第１の標的化部分及び／又は前記第２の標的化部分が、ｓｃＦｖである、請求項１～１１のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項１４】
前記第１の標的化部分及び／又は第２の標的化部分が、セクション６．７で特定される任意の標的分子に結合することができる、請求項１～１３のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項１５】
前記第１の標的化部分及び／又は第２の標的化部分が、ＥＣＭ抗原に結合することができ、前記ＥＣＭ抗原が、任意選択で、シンデカン、ヘパラナーゼ、インテグリン、オステオポンチン、リンク、カドヘリン、ラミニン、ラミニンＥＧＦ型、レクチン、フィブロネクチン、ノッチ、ネクチン（例えば、ネクチン－４）、テネイシン、コラーゲン（例えば、コラーゲンＸ型）、及びマトリキシンから選択される、請求項１～１４のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項１６】
前記第１の標的化部分及び／又は第２の標的化部分が、腫瘍又はウイルスリンパ球の細胞表面分子に結合することができる、請求項１～１４のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項１７】
抗原が、Ｔ細胞共刺激タンパク質であり、前記Ｔ細胞共刺激タンパク質が、任意選択で、ＣＤ２７、ＣＤ２８、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＯＸ４０、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＩＣＯＳ、リンパ球機能関連抗原－１（ＬＦＡ－１）、ＣＤ２、ＣＤ７、ＬＩＧＨＴ、ＮＫＧ２Ｃ、及びＢ７－Ｈ３から選択される、請求項１６に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項１８】
前記第１の標的化部分及び／又は第２の標的化部分が、チェックポイント阻害剤に結合することができ、前記チェックポイント阻害剤が、任意選択で、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ１、ＰＤＬ１、ＰＤＬ２、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＨＶＥＭ、ＴＩＭ３、ＧＡＬ９、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＫＩＲ、２Ｂ４、ＣＤ１６０、ＣＧＥＮ－１５０４９、ＣＨＫ１、及びＣＨＫ２から選択される、請求項１～１４のいずれか一項に記載のＩＬ２プロ

タンパク質。
【請求項１９】
前記第１の標的化部分及び／又は第２の標的化部分が、腫瘍関連抗原（「ＴＡＡ」）に結合することができ、前記腫瘍関連抗原（「ＴＡＡ」）が、任意選択で、ＡＦＰ、ＡＬＫ、ＢＡＧＥタンパク質、ＢＩＲＣ５（サバイビン）、ＢＩＲＣ７、β－カテニン、ｂｃｒ－ａｂｌ、ＢＲＣＡ１、ＢＯＲＩＳ、ＣＡ９、炭酸脱水酵素ＩＸ、カスパーゼ－８、ＣＡＬＲ、ＣＥＡＣＡＭ５（がん胎児性抗原又はＣＥＡとしても既知）、ＣＣＲ５、ＣＤ１９、ＣＤ２０（ＭＳ４Ａ１）、ＣＤ２２、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤＫ４、ＣＥＡ、ＣＴＬＡ４、サイクリン－Ｂ１、ＣＹＰ１Ｂ１、ＥＧＦＲ、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＥｒｂＢ２／Ｈｅｒ２、ＥｒｂＢ３、ＥｒｂＢ４、ＥＴＶ６－ＡＭＬ、ＥｐＣＡＭ、ＥｐｈＡ２、Ｆｒａ－１、ＦＯＬＲ１、ＧＡＧＥタンパク質（例えば、ＧＡＧＥ－１又は－２）、ＧＤ２、ＧＤ３、ＧｌｏｂｏＨ、グリピカン－３、ＧＭ３、ｇｐ１００、Ｈｅｒ２、ＨＬＡ／Ｂ－ｒａｆ、ＨＬＡ／ｋ－ｒａｓ、ＨＬＡ／ＭＡＧＥ－Ａ３、ｈＴＥＲＴ、ＬＭＰ２、ＭＡＧＥタンパク質（例えば、ＭＡＧＥ－１、－２、－３、－４、－６、及び－１２）、ＭＡＲＴ－１、メソセリン、ＭＬ－ＩＡＰ、Ｍｕｃ１、Ｍｕｃ２、Ｍｕｃ３、Ｍｕｃ４、Ｍｕｃ５、Ｍｕｃ１６（ＣＡ－１２５）、ＭＵＭ１、ＮＡ１７、ＮＹ－ＢＲ１、ＮＹ－ＢＲ６２、ＮＹ－ＢＲ８５、ＮＹ－ＥＳＯ１、ＯＸ４０、ｐ１５、ｐ５３、ＰＡＰ、ＰＡＸ３、ＰＡＸ５、ＰＣＴＡ－１、ＰＬＡＣ１、ＰＲＬＲ、ＰＲＡＭＥ、ＰＳＭＡ（ＦＯＬＨ１）、ＲＡＧＥタンパク質、Ｒａｓ、ＲＧＳ５、Ｒｈｏ、ＳＡＲＴ－１、ＳＡＲＴ－３、ＳＴＥＡＰ１、ＳＴＥＡＰ２、ＴＡＧ－７２、ＴＧＦ－β、ＴＭＰＲＳＳ２、トンプソン－ヌーベル抗原（Ｔｎ）、ＴＲＰ－１、ＴＲＰ－２、チロシナーゼ、及びウロプラキン－３から選択される、請求項１～１４のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項２０】
前記Ｆｃ領域が、ホモ二量体である、請求項１～１９のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項２１】
前記Ｆｃ領域が、ヘテロ二量体である、請求項１～１９のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項２２】
図１Ａに描写される構成を有する、請求項１～２１のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項２３】
ＩＬ２プロタンパク質であって、前記ＩＬ２プロタンパク質が、任意選択で、請求項１～２２のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質であり、前記ＩＬ２プロタンパク質が、
（ａ）Ｎ末端からＣ末端の順序で、
（ｉ）配列番号３４６、３４７、３４８、３４９、３５０、及び３５１のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対して少なくとも約９５％の配列同一性を有する第１のアミノ酸配列、
（ｉｉ）非切断可能リンカー配列を含むか、又はそれからなる第２のアミノ酸配列、
（ｉｉｉ）配列番号３、４、及び５のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対して少なくとも約９５％の配列同一性を有する第３のアミノ酸配列、
（ｉｖ）表Ｂ又は表Ｄに記載の１つ以上のアミノ酸配列を含む第４のアミノ酸配列、及び
（ｖ）配列番号２のアミノ酸配列に対して少なくとも約９５％の配列同一性を有する第５のアミノ酸配列を含む、第１のポリペプチド鎖と、
（ｂ）Ｎ末端からＣ末端の順序で、
（ｉ）配列番号３４６、３４７、３４８、３４９、３５０、及び３５１のうちのいずれか１つに対して少なくとも約９５％の配列同一性を有する第６のアミノ酸配列、
（ｉｉ）非切断可能リンカー配列を含むか、又はそれからなる第７のアミノ酸配列、

（ｉｉｉ）配列番号３、４、及び５のうちのいずれか１つに対して少なくとも約９５％の配列同一性を有する第８のアミノ酸配列、
（ｉｖ）表Ｂ又は表Ｄに記載の１つ以上のアミノ酸配列を含む第９のアミノ酸配列、及び
（ｖ）配列番号２のアミノ酸配列に対して少なくとも約９５％の配列同一性を有する第１０のアミノ酸配列を含む、第２のポリペプチド鎖と、を含む、ＩＬ２プロタンパク質。
【請求項２４】
前記第１のポリペプチドが、前記第１のアミノ酸配列のＮ末端に、配列番号３５２、３５３、３５４、及び３５５のうちのいずれか１つに対して少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、又は１００％の配列同一性を有する第１１のアミノ酸配列を含む、請求項２３に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項２５】
前記第２のポリペプチドが、前記第１のアミノ酸配列のＮ末端に、配列番号３５２、３５３、３５４、及び３５５のうちのいずれか１つに対して少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、又は１００％の配列同一性を有する第１２のアミノ酸配列を含む、請求項２３又は２４に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項２６】
前記第１のアミノ酸配列が、配列番号３４６、３４７、３４８、３４９、３５０、及び３５１のうちのいずれか１つに対して少なくとも約９８％又は１００％の配列同一性を有する、請求項２３～２５のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項２７】
前記第１のアミノ酸配列が、３５０アミノ酸長以下又は３３０アミノ酸長以下である、請求項２３～２６のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項２８】
前記第６のアミノ酸配列が、配列番号３４６、３４７、３４８、３４９、３５０、及び３５１のうちのいずれか１つに対して少なくとも約９８％又は１００％の配列同一性を有する、請求項２３～２７のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項２９】
前記第６のアミノ酸配列が、３５０アミノ酸長以下又は３３０アミノ酸長以下である、請求項２３～２８のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項３０】
前記第２のアミノ酸配列が、表Ｅに記載のアミノ酸配列である、請求項２３～２９のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項３１】
前記第２のアミノ酸配列が、２５アミノ酸長以下、１５アミノ酸長以下、又は６アミノ酸長以下である、請求項２３～３０のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項３２】
前記第７のアミノ酸配列が、表Ｅに記載のアミノ酸配列である、請求項２３～３１のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項３３】
前記第７のアミノ酸配列が、２５アミノ酸長以下、１５アミノ酸長以下、又は６アミノ酸長以下である、請求項２３～３２のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項３４】
前記第３のアミノ酸配列が、配列番号３、４、及び５のうちのいずれか１つに対して少なくとも約９８％又は１００％の配列同一性を有する、請求項２３～３３のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項３５】
前記第８のアミノ酸配列が、配列番号３、４、及び５のうちのいずれか１つに対して少なくとも約９８％又は１００％の配列同一性を有する、請求項２３～３４のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。

【請求項３６】
前記第４のアミノ酸配列が、（ａ）表Ｂに記載の１つ以上のアミノ酸配列、又は（ｂ）表Ｄに記載のアミノ酸配列を含む、請求項２３～３５のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項３７】
前記第９のアミノ酸配列が、（ａ）表Ｂに記載の１つ以上のアミノ酸配列、又は（ｂ）表Ｄに記載のアミノ酸配列を含む、請求項２３～３６のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項３８】
前記第５のアミノ酸配列が、配列番号２に対して少なくとも約９８％又は１００％の配列同一性を有する、請求項２３～３７のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項３９】
前記第１０のアミノ酸配列が、配列番号２に対して少なくとも約９８％又は１００％の配列同一性を有する、請求項２３～３８のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項４０】
前記第１のポリペプチド鎖が、前記第１のアミノ酸配列のＣ末端に追加の配列を欠いている、請求項２３～３９のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項４１】
前記第１のポリペプチド鎖が、（ａ）前記第１のアミノ酸配列と前記第２のアミノ酸配列との間に追加の配列を欠き、（ｂ）前記第２のアミノ酸配列と前記第３のアミノ酸配列との間に追加の配列を欠き、（ｃ）前記第３のアミノ酸配列と前記第４のアミノ酸配列との間に追加の配列を欠き、かつ／又は（ｄ）前記第４のアミノ酸配列と前記第５のアミノ酸配列との間に追加の配列を欠いている、請求項２３～４０のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項４２】
前記第２のポリペプチド鎖が、前記第６のアミノ酸配列のＣ末端に追加の配列を欠いている、請求項２３～４１のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項４３】
前記第２のポリペプチド鎖が、（ａ）前記第６のアミノ酸配列と前記第７のアミノ酸配列との間に追加の配列を欠き、（ｂ）前記第７のアミノ酸配列と前記第８のアミノ酸配列との間に追加の配列を欠き、（ｃ）前記第８のアミノ酸配列と前記第９のアミノ酸配列との間に追加の配列を欠き、かつ／又は（ｄ）前記第９のアミノ酸配列と前記第１０のアミノ酸配列との間に追加の配列を欠いている、請求項２３～４２のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【請求項４４】
請求項１～４３のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質をコードする、核酸又は複数の核酸。
【請求項４５】
請求項１～４３のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質又は請求項４４に記載の核酸（複数可）を発現するように操作された、宿主細胞。
【請求項４６】
請求項１～４３のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質を産生する方法であって、請求項４５に記載の宿主細胞を培養することと、それによって発現された前記ＩＬ２プロタンパク質を回収することと、を含む、方法。
【請求項４７】
請求項１～４３のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質と、賦形剤と、を含む、薬学的組成物。
【請求項４８】
がんを治療する方法であって、それを必要とする対象に、請求項１～４３のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質又は請求項４７に記載の薬学的組成物を投与することを

含む、方法。
【請求項４９】
ＩＬ２タンパク質の局所的送達方法、がん組織において選択的に活性化されるＩＬ２タンパク質でがんを治療する方法、低減された全身曝露及び／又は低減された全身毒性を伴うＩＬ２療法を対象に施す方法、がん組織への活性化されたＩＬ２タンパク質の標的化された送達方法、又は標的組織における免疫応答を局所的に誘導する方法であって、前記方法が、請求項１～４３のいずれか一項に記載のＩＬ２プロタンパク質（又は前記ＩＬ２プロタンパク質及び賦形剤を含む薬学的組成物）を対象に投与することを含み、前記ＩＬ２プロタンパク質が、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーであって、各々が、前記ＩＬ２タンパク質が局所的に送達される組織（例えば、がん組織）によって発現される１つ以上のプロテアーゼに対する１つ以上の基質を含む、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーを有する、方法。
【請求項５０】
前記投与が、非局所的である、請求項４８又は４９に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
１．関連出願の相互参照
本出願は、２０２２年５月２７日に出願された米国仮出願第６３／３４６，５９３号、２０２２年６月４日に出願された米国仮出願第６３／３４９，０７８号、２０２２年６月２４日に出願された米国仮出願第６３／３５５，３７５号、２０２２年１２月１２日に出願された米国仮出願第６３／３８６，９９９号、及び２０２３年５月１１日に出願された米国仮出願第６３／５０１，４３４号の優先権利益を主張し、それらの各々の内容は、それらの全体がそれらの参照により本明細書に組み込まれる。
【０００２】
２．配列表
本出願は、電子的に提出されている配列表を含み、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。２０２３年５月９日に作成された当該コピーは、ＲＧＮ－０２１ＷＯ＿ＳＬ．ｘｍｌという名称であり、サイズは３１６，７２１バイトである。
【背景技術】
【０００３】
３．背景
インターロイキン２（ＩＬ－２又はＩＬ２）は、主にＣＤ４＋ヘルパーＴ細胞によって産生される多能性サイトカインである。それは、Ｔ細胞の増殖及び分化を刺激し、細胞毒性Ｔリンパ球（ＣＴＬ）の生成、並びに末梢血リンパ球の細胞毒性細胞及びリンホカイン活性化キラー（ＬＡＫ）細胞への分化を誘導し、Ｔ細胞によるサイトカイン及び細胞溶解性分子の発現を促進し、Ｂ細胞の増殖及び分化並びにＢ細胞による免疫グロブリンの合成を容易にし、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞の生成、増殖、及び活性化を刺激する（非特許文献１及び非特許文献２を参照されたい）。
【０００４】
その多面的な効果のために、ＩＬ２は腫瘍の成長を阻害するのに最適ではない。抗腫瘍剤としてのＩＬ２の使用は、腫瘍応答に必要な用量に伴う重篤な毒性により制限されてきた。Ｐｒｏｌｅｕｋｉｎ（登録商標）（Ｐｒｏｍｅｔｈｅｕｓ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆ．によって販売されている）は、転移性黒色腫及び転移性腎がんの治療に承認されているＩＬ２の組換え型であるが、その副作用は非常に重度であるため、その使用は集中治療を受けることができる病院設定においてのみ推奨される。高用量のＩＬ２治療を受けている患者は、集中的な監視及び入院患者の管理が必要である、重度の心血管、肺、腎臓、肝臓、胃腸、神経、皮膚、血液、及び全身の有害事象を頻繁に経験する。ＩＬ２療法の主な副作用は血管漏出症候群（ＶＬＳ）であり、これは、肺及び肝臓に間質液の蓄積を引き起こし、肺水腫及び肝臓の損傷をもたらす。ＩＬ２の中

止以外にＶＬＳの治療はない。低用量のＩＬ２レジメンは、ＶＬＳを回避するために患者で試験されているが、治療結果が最適ではない。ＩＬ２誘発性肺水腫は、低から中間レベルの機能的高親和性ＩＬ２受容体を発現する肺内皮細胞へのＩＬ２の直接結合に起因することが示されている（非特許文献３）。

【０００５】

ＩＬ２がん療法の毒性を低減することを目的として、様々なＩＬ２バリアント及びプロドラッグが生成されている。しかしながら、驚くべきことに、そのような分子は、がん療法に対する治療指標が低いことが発見されている。例えば、ＰＥＧ化ＩＬ２プロドラッグのベムペガルデスロイキン（ｂｅｍｐｅｇａｌｄｅｓｌｅｕｋｉｎ）は、第３相臨床研究において、黒色腫患者におけるＰＤ１チェックポイント阻害剤の治療有効性の改善に失敗した（非特許文献４）。

【０００６】

したがって、当技術分野において、治療効果及び安全性プロファイルが改善された新規のＩＬ２療法が必要である。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【０００７】

【非特許文献１】Ｗａｌｄｍａｎｎ，２００９，Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ ６：５９５－６０１

【非特許文献２】Ｍａｌｅｋ，２００８，Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ ２６：４５３－７９

【非特許文献３】Ｋｒｉｅｇ ｅｔ ａｌ．，２０１０，Ｐｒｏｃ Ｎａｔ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ １０７：１１９０６－１１

【非特許文献４】Ｍｕｌｌａｒｄ，２０２２，Ｎａｔｕｒｅ Ｒｅｖｉｅｗｓ Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ ２１：３２７（ｄｏｉ：ｈｔｔｐｓ：／／ｄｏｉ．ｏｒｇ／１０．１０３８／ｄ４１５７３－０２２－００６９－３）

【発明の概要】

【０００８】

４．概要

本開示は、プロテアーゼ、例えば、腫瘍環境で発現されるプロテアーゼによって活性化されるＩＬ２プロタンパク質に関する。

【０００９】

ＩＬ２プロタンパク質は、プロテアーゼによる切断後にマスクが解除されるように構成された、ＩＬ２Ｒα部分によってマスキングされているＩＬ２部分を含む。ＩＬ２プロタンパク質は、好ましくは、ＩＬ２プロタンパク質を特定の組織又は細胞型に指向する標的化部分を更に含む。

【００１０】

ある特定の実施形態では、本開示のＩＬ２プロタンパク質は、２つのポリペプチド鎖を含み、各々は、Ｎ末端からＣ末端へ、Ｆｃドメイン、任意選択のリンカー（存在する場合には、好ましくは、非切断可能リンカー）、ＩＬ２Ｒα部分、プロテアーゼ切断可能リンカー、及びＩＬ２部分を含む。ＩＬ２プロタンパク質は、例えば、一方又は両方のＦｃドメインのＮ末端に、標的化部分（又はその構成要素、例えば、Ｆａｂの１つの鎖）を更に含み得る。標的化部分は、例えば、腫瘍表面上に存在する標的分子（例えば、腫瘍関連抗原）又は腫瘍微小環境における他の構成要素（例えば、細胞外マトリックス（「ＥＣＭ」）又は腫瘍リンパ球）に結合し得る抗原結合部位（「ＡＢＳ」）を含む。

【００１１】

本開示のＩＬ２プロタンパク質において使用され得る例示的なＩＬ２部分は、セクション６．３に記載されている。

本開示のＩＬ２プロタンパク質において使用され得る例示的なＩＬ２Ｒα部分は、セクション６．４に記載されている。

【００１２】
本開示のＩＬ２プロタンパク質において使用され得るプロテアーゼ切断可能リンカーは、セクション６．５に記載されている。
本開示のＩＬ２プロタンパク質において使用され得る非切断可能リンカーは、セクション６．６に記載されている。
【００１３】
本開示のＩＬ２プロタンパク質において使用され得る標的化部分は、セクション６．７に記載され、標的化部分のフォーマットは、セクション６．８に開示される。
本開示のＩＬ２プロタンパク質に組み込まれ得るＦｃドメインは、セクション６．９に記載されている。
【００１４】
本開示の例示的なＩＬ２プロタンパク質は、セクション６．２及び番号付き実施形態１～１５７に記載されている。
本開示は更に、本開示のＩＬ２プロタンパク質をコードする核酸を提供する。ＩＬ２プロタンパク質をコードする核酸は、単一の核酸（例えば、ＩＬ２プロタンパク質の全てのポリペプチド鎖をコードするベクター）又は複数の核酸（例えば、ＩＬ２プロタンパク質の異なるポリペプチド鎖をコードする２つ以上のベクター）であり得る。本開示は更に、本開示の核酸及びＩＬ２プロタンパク質を発現するように操作された宿主細胞及び細胞株を提供する。本開示は更に、本開示のＩＬ２プロタンパク質を産生する方法を提供する。例示的な核酸、宿主細胞、及び細胞株、並びにＩＬ２プロタンパク質を産生する方法は、以下のセクション６．１０、並びに特定の実施形態１５８～１６０に記載されている。
【００１５】
本開示は更に、本開示のＩＬ２プロタンパク質を含む薬学的組成物を提供する。例示的な薬学的組成物は、セクション６．１１及び番号付き実施形態１６１に記載されている。
例えば、がんを治療するために、本開示のＩＬ２プロタンパク質及び薬学的組成物を使用する方法が、本明細書で更に提供される。例示的な方法は、セクション６．１２及び番号付き実施形態１６２～２００に記載されている。
【００１６】
５．図面の簡単な説明
【図面の簡単な説明】
【００１７】
【図１Ａ】両方のポリペプチド鎖が、標的化部分－Ｆｃドメイン－リンカー－ＩＬ２Ｒα部分－切断可能リンカー－ＩＬ２部分フォーマットを含む、本開示の例示的な標的化されたＩＬ２プロタンパク質の図である。図１Ａの標的化部分はＦａｂとして示されているが、標的化部分は、他のフォーマット、例えば、ｓｃＦｖ又はセクション６．８に記載の他のフォーマットであり得る。図１Ａ－１及び１Ａ－２は、それぞれ、切断可能基質のいずれかの側にスペーサー（それぞれ、Ｂ１、Ｂ２及びＤ１、Ｄ２）を含む、リンカーＢ及びＤの一実施形態の拡大図を示す。基質及びスペーサー配列の数は、例示のみを目的としており、プロテアーゼ切断可能リンカーは、典型的には、セクション６．５に詳述されるように、複数の基質及びスペーサー配列を有することが予想される。
【図１Ａ－１】同上。
【図１Ａ－２】同上。
【図１Ｂ】図１Ａによる例示的な標的化されたＩＬ２プロタンパク質の活性化の機序を示す。
【図２】標的化部分－ＩＬ２Ｒα部分－リンカー－ＩＬ２部分フォーマットにおけるいくつかのプロテアーゼ切断可能リンカーの組換えプロテアーゼ消化のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析からのゲルの画像。
【図３】標的化部分－ＩＬ２Ｒα部分－リンカー－ＩＬ２部分フォーマットにおけるいくつかのプロテアーゼ切断可能リンカーの組換えプロテアーゼ消化のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析からのゲルの画像。

【図４Ａ】ＣＤ２０標的化されたＩＬ２プロタンパク質に関する。ＣＤ２０－ＩＬ２Ｒα－ＰＣＬ－ＩＬ２からのＩＬ２のプロテアーゼ媒介切断が、ＹＴ／ＳＴＡＴ５　ｌｕｃ／ＣＬ４ルシフェラーゼアッセイにおける活性の改善をもたらすことを示す。
【図４Ｂ】ＣＤ２０標的化されたＩＬ２プロタンパク質に関する。ＩＬ２受容体と係合するＩＬ２の図である。
【図４Ｃ】ＣＤ２０標的化されたＩＬ２プロタンパク質に関する。ＩＬ２受容体と係合しないＩＬ２プロタンパク質の図である。
【図５Ａ】プロテアーゼ切断可能リンカーを有する腫瘍標的化されたＩＬ２Ｒα－ＩＬ２のインビボ有効性を示す。
【図５Ｂ】同上。
【図５Ｃ】同上。
【図５Ｄ】同上。
【図５Ｅ】同上。
【図５Ｆ】同上。
【図５Ｇ】同上。
【図５Ｈ】同上。
【図５Ｉ】同上。
【図５Ｊ】同上。
【図５Ｋ】同上。
【図５Ｌ】同上。
【図５Ｍ】同上。
【図５Ｎ】同上。
【図６Ａ】インビボでのプロテアーゼ切断可能リンカーの安定性を示す。
【図６Ｂ】同上。
【図７】ＭＣ３８／ｈＣＤ２０モデルにおけるプロテアーゼ切断可能リンカーを有するＩＬ２プロタンパク質の抗腫瘍効果における腫瘍標的化の寄与を決定するための研究設計を示す。
【図８】図７の研究設計に従った治療後の腫瘍体積の変化を示す。
【図９Ａ】切断可能リンカーを有するＣＤ２０標的化されたＩＬ２Ｒα－ＩＬ２タンパク質が、ＭＣ３８／ｈＣＤ２０マウスモデルにおいて、切断可能リンカーを有する非標的化のＩＬ２Ｒα－ＩＬ２タンパク質及び非切断可能Ｇ４Ｓリンカー（配列番号１）を有するＣＤ２０標的化されたＩＬ２Ｒα－ＩＬ２タンパク質と比較して、顕著に良好な抗腫瘍有効性及び無腫瘍生存を示したことを示す。
【図９Ｂ】同上。
【図９Ｃ】同上。
【図９Ｄ】同上。
【図９Ｅ】同上。
【図９Ｆ】同上。
【図９Ｇ】同上。
【発明を実施するための形態】
【００１８】
６．詳細な説明
６．１．定義
本明細書で使用される場合、以下の用語は、以下の意味を有することを意図している。
【００１９】
ＡＢＤ鎖、標的化部分鎖：それら内の標的化部分及び抗原結合部位（ＡＢＤ）は、２つ以上のポリペプチド鎖の会合（例えば、Ｆａｂ又はＦｖの場合）を介して、１つ（例えば、ｓｃＦｖ又はｓｃＦａｂの場合）のポリペプチド鎖又は形態として存在し得る。本明細書で使用される場合、「ＡＢＤ鎖」及び「標的化部分鎖」という用語は、単一のポリペプチド鎖上に存在するＡＢＤ又は標的化部分の全部又は一部分を指す。「ＡＢＤ鎖」又は「

標的化部分鎖」という用語の使用は、便宜上及び説明的な目的のみを意図しており、特定の構成又は産生方法を意味するものではない。更に、ＩＬ２プロタンパク質を説明する場合のＡＢＤ又は標的化部分への言及は、別段文脈が指示しない限り、ＡＢＤ鎖又は標的化部分鎖を包含する。したがって、Ｆｃドメインが標的化部分に作動可能に連結されているＩＬ２プロタンパク質を説明する場合、Ｆｃドメインは、ペプチド結合を介して、例えば、（１）Ｆａｂ若しくはＦｖの第１のＡＢＤ又は標的化部分鎖（第２の会合したＡＢＤ又は標的化部分鎖上のＦａｂ又はＦｖの他の構成要素と）、又は（２）ｓｃＦｖ若しくはｓｃＦａｂを含むＡＢＤ又は標的化部分鎖に、直接的又は間接的に（例えば、リンカーを介して）供給結合され得る。

【００２０】

約、およそ：「約」、「およそ」などの用語は、明細書全体を通して数値の前に使用され、（例えば、端数、測定精度及び／又は精度の変動、タイミングなどを考慮するために）数値が必ずしも正確ではないことを示す。Ｘがある数値である、「約Ｘ」又は「およそＸ」の開示は、「Ｘ」の開示でもあることを理解されたい。したがって、例えば、ある配列が別の配列に対して「約Ｘ％の配列同一性」を有する実施形態の開示は、その配列が他の配列に対して「Ｘ％の配列同一性」を有する実施形態の開示でもある。

【００２１】

活性化する、活性化：「活性化」、「活性化」などの用語は、本開示のＩＬ２プロタンパク質と併せて、ＩＬ２Ｒα部分からのＩＬ２部分の脱マスキング又は解除をもたらす、プロテアーゼ切断可能リンカーのプロテアーゼ媒介酵素的切断を指す。

【００２２】

及び、又は：別段に示されない限り、接続詞「又は」は、選択肢における特徴の選択（Ａの選択はＢから相互に排他的である、Ａ又はＢ）と、結合した特徴の選択（Ａ及びＢの両方が選択される、Ａ又はＢ）の両方を包含する、ブール論理演算子としてのその正しい意味で使用されることが意図される。本文のいくつかの箇所では、「及び／又は」という用語は同じ目的で使用され、「又は」が相互に排他的な選択肢を参照して使用されることを意味すると解釈されるべきではない。

【００２３】

抗体：本明細書で使用される「抗体」という用語は、抗原に非共有結合的に、可逆的に、及び特異的に結合することができる免疫グロブリンファミリーのポリペプチド（又はポリペプチドのセット）を指す。例えば、ＩｇＧ型の天然に存在する「抗体」は、ジスルフィド結合によって相互接続された少なくとも２つの重（Ｈ）鎖及び２つの軽（Ｌ）鎖を含む四量体である。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書でＶＨと略される）及び重鎖定常領域から構成される。重鎖定常領域は、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３の３つのドメインで構成される。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書でＶＬと略される）及び軽鎖定常領域から構成される。軽鎖定常領域は、１つのドメインから構成される（本明細書でＣＬと略される）。ＶＨ及びＶＬ領域は、フレームワーク領域（ＦＲ）と呼ばれる、より保存された領域が点在する、相補性決定領域（ＣＤＲ）と呼ばれる超可変性の領域に更に細分され得る。各ＶＨ及びＶＬは、３つのＣＤＲ及び４つのＦＲで構成され、アミノ末端からカルボキシ末端に以下の順序で配置される：ＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３、ＦＲ４。重鎖及び軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）及び古典的補体系の第１の構成要素（Ｃｌｑ）を含む、宿主組織又は因子に対する免疫グロブリンの結合を媒介し得る。「抗体」という用語は、モノクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、ラクダ化抗体、キメラ抗体、二重特異性又は多重特異性抗体、及び抗イディオタイプ（抗ｉｄ）抗体を含むが、これらに限定されない。抗体は、任意のアイソタイプ／クラス（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡ、及びＩｇＹ）、又はサブクラス（例えば、ｌｇＧ１、ｌｇＧ２、ｌｇＧ３、ｌｇＧ４、ｌｇＡ１、及びｌｇＡ２）のものであり得る。軽鎖及び重鎖の両方は、構造的及び機能的な相同性の領域に分けられる。「定常」及び「可変」という用語が、機能的に使用される。この点で、軽（ＶＬ）及び重（ＶＨ）鎖部分の

両方の可変ドメインが、抗原認識及び特異性を決定することが理解されるであろう。逆に、軽鎖（ＣＬ）及び重鎖（ＣＨ１、ＣＨ２、又はＣＨ３）の定常ドメインは、分泌、胎盤通過移動、Ｆｃ受容体結合、補体結合などの重要な生物学的特性を付与する。慣例により、定常領域ドメインの番号付けは、抗体の抗原結合ドメイン又はアミノ末端からより遠くなるにつれて増加する。Ｎ末端は可変領域であり、Ｃ末端は定常領域であり、ＣＨ３及びＣＬドメインは、それぞれ天然抗体の重鎖及び軽鎖のカルボキシ末端を表す。便宜上、及び別段文脈が指示しない限り、抗体への言及はまた、抗体断片、並びに非天然の抗原結合ドメイン及び／又は非天然構成を有する抗原結合ドメインを含む操作された抗体も指す。

【００２４】

抗原結合ドメイン：本明細書で使用される「抗原結合ドメイン」又は「ＡＢＤ」という用語は、抗原に非共有的、可逆的、及び特異的に結合する能力を有する抗体又は抗体断片の部分（例えば、標的化部分）を指す。ＡＢＤを含み得る抗体断片の例としては、一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、Ｆａｂ断片、ＶＬドメイン、ＶＨドメイン、ＣＬドメイン、及びＣＨ１ドメインからなる一価断片、Ｆ（ａｂ’）２断片、ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された２つのＦａｂ断片を含む二価断片、ＶＨドメイン及びＣＨ１ドメインからなるＦｄ断片、抗体の単一アームのＶＬドメイン及びＶＨドメインからなるＦｖ断片、ＶＨドメインからなるｄＡｂ断片（Ｗａｒｄ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｎａｔｕｒｅ ３４１：５４４－５４６）、並びに単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）が挙げられるが、これらに限定されない。したがって、「抗体断片」という用語は、抗体のタンパク質分解断片（例えば、Ｆａｂ断片及びＦ（ａｂ）$_2$断片）、並びに抗体の１つ以上の部分（例えば、ｓｃＦｖ）を含む操作されたタンパク質の両方を包含する。抗原結合断片はまた、単一ドメイン抗体、マキシボディ、ミニボディ、イントラボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ｖ－ＮＡＲ、及びビス－ｓｃＦｖに組み込むことができる（例えば、Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ ａｎｄ Ｈｕｄｓｏｎ，２００５，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ２３：１１２６－１１３６を参照されたい）。

【００２５】

会合した：ＩＬ２プロタンパク質の文脈における「会合した」という用語は、２つ以上のポリペプチド鎖間の機能的関係を指す。特に、「会合した」という用語は、機能的ＩＬ２プロタンパク質を産生するために、例えば、分子相互作用を介して非共有結合的に、又は１つ以上のジスルフィド架橋若しくは化学的架橋を介して共有結合的に、２つ以上のポリペプチドが互いに会合していることを意味する。本開示のＩＬ２プロタンパク質に存在し得る会合の例としては、Ｆｃ領域を形成するＦｃドメイン間の会合（セクション６．９に記載のホモ二量体又はヘテロ二量体）、Ｆａｂ又はＦｖにおけるＶＨ領域とＶＬ領域との間の会合、及びＦａｂにおけるＣＨ１とＣＬとの間の会合が挙げられる（がこれらに限定されない）。

【００２６】

がん：「がん」という用語は、異常な細胞の制御されない（かつ多くの場合急速な）成長を特徴とする疾患を指す。がん細胞は、局所的に、又は血流及びリンパ系を介して体の他の部分に広がる可能性がある。様々ながんの例が本明細書に記載されており、乳がん、前立腺がん、卵巣がん、子宮頸部がん、皮膚がん、膵臓がん、結腸直腸がん、腎がん、肝臓がん、脳がん、副腎腺がん、自律性神経節がん、胆道がん、骨がん、子宮内膜がん、眼がん、ファロピウス管がん、生殖管がん、大腸がん、髄膜のがん、食道がん、腹膜がん、下垂体がん、陰茎がん、胎盤がん、胸膜がん、唾液腺がん、小腸がん、胃がん、精巣がん、胸腺がん、甲状腺がん、上気道消化管がん、尿路がん、膣がん、外陰がん、リンパ腫、白血病、肺がんなど、例えば、前述のタイプのうちのいずれかのＴＡＡ陽性がんが挙げられるが、これらに限定されない。

【００２７】

相補性決定領域：「相補性決定領域」又は「ＣＤＲ」という用語は、本明細書で使用される場合、抗原特異性及び結合親和性を付与する抗体可変領域内のアミノ酸の配列を指す。例えば、概して、各重鎖可変領域には３つのＣＤＲ（ＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、及

びＣＤＲ－　Ｈ３）があり、各軽鎖可変領域には３つのＣＤＲ（ＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、及びＣＤＲ－Ｌ３）がある。所与のＣＤＲの正確なアミノ酸配列境界は、Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．１９９１，“Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，”５ｔｈ　Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ（「Ｋａｂａｔ」番号付けスキーム）、Ａｌ－Ｌａｚｉｋａｎｉ　ｅｔ　ａｌ．，１９９７，ＪＭＢ　２７３：９２７－９４８（「Ｃｈｏｔｈｉａ」番号付けスキーム）、及びＩｍＭｕｎｏＧｅｎＴｉｃｓ（ＩＭＧＴ）番号付け（Ｌｅｆｒａｎｃ，１９９９，Ｔｈｅ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｓｔ　７：１３２－１３６、Ｌｅｆｒａｎｃ　ｅｔ　ａｌ．，２００３，Ｄｅｖ．Ｃｏｍｐ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２７：５５－７７（ＩＭＧＴ番号付けスキーム）によって記載されるものを含む、いくつかの周知のスキームのうちのいずれかを使用して決定され得る。例えば、古典的な形式では、Ｋａｂａｔ下で、重鎖可変ドメイン（ＶＨ）中のＣＤＲアミノ酸残基は、３１～３５（ＣＤＲ－Ｈ１）、５０～６５（ＣＤＲ－Ｈ２）、及び９５～１０２（ＣＤＲ－Ｈ３）に番号付けされ、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）中のＣＤＲアミノ酸残基は、２４～３４（ＣＤＲ－Ｌ１）、５０～５６（ＣＤＲ－Ｌ２）、及び８９～９７（ＣＤＲ－Ｌ３）に番号付けされる。Ｃｈｏｔｈｉａ下では、ＶＨ中のＣＤＲアミノ酸は、２６～３２（ＣＤＲ－Ｈ１）、５２～５６（ＣＤＲ－Ｈ２）、及び９５～１０２（ＣＤＲ－Ｈ３）に番号付けされ、ＶＬ中のアミノ酸残基は、２６～３２（ＣＤＲ－Ｌ１）、５０～５２（ＣＤＲ－Ｌ２）、及び９１～９６（ＣＤＲ－Ｌ３）に番号付けされる。Ｋａｂａｔ及びＣｈｏｔｈｉａの両方のＣＤＲ定義を組み合わせることにより、ＣＤＲは、ヒトＶＨ中のアミノ酸残基２６～３５（ＣＤＲ－Ｈ１）、５０～６５（ＣＤＲ－Ｈ２）、及び９５～１０２（ＣＤＲ－Ｈ３）、並びにヒトＶＬ中のアミノ酸残基２４～３４（ＣＤＲ－Ｌ１）、５０～５６（ＣＤＲ－Ｌ２）、及び８９～９７（ＣＤＲ－Ｌ３）からなる。ＩＭＧＴ下で、ＶＨ中のＣＤＲアミノ酸残基は、およそ２６～３５（ＣＤＲ－Ｈ１）、５１～５７（ＣＤＲ－Ｈ２）、及び９３～１０２（ＣＤＲ－Ｈ３）に番号付けされ、ＶＬ中のＣＤＲアミノ酸残基は、およそ２７～３２（ＣＤＲ－Ｌ１）、５０～５２（ＣＤＲ－Ｌ２）、及び８９～９７（ＣＤＲ－Ｌ３）に番号付けされる（「Ｋａｂａｔ」による番号付け）。ＩＭＧＴ下では、抗体のＣＤＲ領域は、プログラムＩＭＧＴ／ＤｏｍａｉｎＧａｐ　Ａｌｉｇｎを使用して決定され得る。

【００２８】

エフェクター機能：「エフェクター機能」という用語は、通常、エフェクター分子の結合によって媒介される、抗原結合ドメイン以外の抗体のドメインを介した結合によって媒介される抗体分子の活性を指す。エフェクター機能は、例えば、補体のＣ１構成要素の抗体への結合によって媒介される、補体媒介性エフェクター機能を含む。補体の活性化は、細胞病原体のオプソニン化及び溶解に重要である。補体の活性化は、炎症応答も刺激し、自己免疫過敏症にも関与し得る。エフェクター機能はまた、Ｆｃ受容体（ＦｃＲ）媒介エフェクター機能を含み、これは、Ｆｃ受容体（ＦｃＲ）への抗体の定常ドメインの結合時に誘発され得る。細胞表面上のＦｃ受容体への抗体の結合は、抗体コーティング粒子の飲み込み及び破壊、免疫複合体の除去、キラー細胞による抗体コーティング標的細胞の溶解（抗体依存性細胞媒介性細胞傷害、又はＡＤＣＣと呼ばれる）、炎症性メディエーターの解除、胎盤移入、及び免疫グロブリン産生の制御を含む、多数の重要で多様な生物学的応答を誘発する。抗体のエフェクター機能は、Ｆｃ受容体又は補体構成要素などのエフェクター分子に対する抗体の親和性を変化させる、例えば、増強又は低減させることによって変化され得る。結合親和性は、概して、エフェクター分子結合部位を改変することによって変化し、この場合、目的の部位を位置付けし、部位の少なくとも一部を好適な方法で改変することが適切である。また、エフェクター分子に対する抗体上の結合部位の変化は、全体的な結合親和性を顕著に変化させる必要はないが、非生産的結合におけるように、エフェクター機構を無効にする相互作用の形状を変化させ得ることも想定される。エフェクター機能は、エフェクター分子結合に直接関与しないが、他の方法でエフェクター機能の性能に関与する部位を改変することによっても改変され得ることが更に想定される。

【００２９】
エピトープ：エピトープ、又は抗原決定基は、本明細書に記載される抗体又は他の抗原結合部分によって認識される抗原の一部分である。エピトープは、線状又は立体構造的であり得る。
【００３０】
Ｆａｂ：「Ｆａｂ」という用語は、一対のポリペプチド鎖を指し、第１のポリペプチド鎖は、第１の定常ドメイン（本明細書ではＣ１と称される）（典型的にはそのＮ末端に）作動可能に連結された抗体の可変重（ＶＨ）ドメインを含み、第２のポリペプチド鎖は、第１の定常ドメインと対合することができる第２の定常ドメイン（本明細書ではＣ２と称される）（典型的にはそのＮ末端に）作動可能に連結された抗体Ｎ末端の可変軽（ＶＬ）ドメインを含む。天然抗体では、ＶＨは、重鎖の第１の定常ドメイン（ＣＨ１）のＮ末端にあり、ＶＬは、軽鎖の定常ドメイン（ＣＬ）のＮ末端にある。本開示のＦａｂは、天然配向に従って配置することができるか、又は正しいＶＨ及びＶＬの対合を促進するドメイン置換若しくはスワップを含むことができる。例えば、ヘテロ二量体分子における正しい改変Ｆａｂ－鎖対合を促進するために、ＦａｂにおけるＣＨ１及びＣＬドメイン対をＣＨ３ドメイン対に置き換えることが可能である。ＣＨ１をＶＬに付着させ、ＣＬをＶＨに付着させるように、ＣＨ１及びＣＬを逆にすることも可能であり、一般に、Ｃｒｏｓｓｍａｂとして既知の構成である。「Ｆａｂ」という用語は、一本鎖Ｆａｂを包含する。
【００３１】
Ｆｃドメイン及びＦｃ領域：「Ｆｃドメイン」という用語は、別の重鎖の対応する部分と対合する重鎖の部分を指す。「Ｆｃ領域」という用語は、２つの重鎖Ｆｃドメインの会合によって形成されたものの領域を指す。Ｆｃ領域内の２つのＦｃドメインは、互いに同一又は異なってもよい。天然抗体では、Ｆｃドメインは、典型的には、同一であるが、一方又は両方のＦｃドメインは、例えば、ノブインホール相互作用を介して、ヘテロ二量体化を可能にするように改変され得る。
【００３２】
Ｆｖ：「Ｆｖ」という用語は、完全な標的認識及び結合部位を含む免疫グロブリンから誘導可能な最小抗体断片を指す。この領域は、密接な非共有性会合での１つの重鎖可変ドメイン及び１つの軽鎖可変ドメインの二量体（ＶＨ－ＶＬ二量体）からなる。この構成では、各可変ドメインの３つのＣＤＲが相互作用して、ＶＨ－ＶＬ二量体の表面上の標的結合部位を画定する。多くの場合、６つのＣＤＲは、抗体に標的結合特異性を付与する。しかしながら、いくつかの例では、単一の可変ドメイン（又は標的に対して特異的な３つのＣＤＲのみを含むＦｖの半分）であっても、標的を認識し、それに結合する能力を有する場合がある。本明細書におけるＶＨ－ＶＬ二量体への言及は、任意の特定の構成を伝達することを意図するものではない。単一のポリペプチド鎖（例えば、ｓｃＦｖ）上に存在する場合、ＶＨ及び、ＶＬのＮ末端又はＣ末端である。
【００３３】
半抗体：「半抗体」という用語は、少なくとも１つのＦｃドメインを含み、例えば、ジスルフィド架橋又は分子相互作用を介して、Ｆｃドメインを含む別の分子と会合することができる分子を指す。半抗体は、１つのポリペプチド鎖又は２つ以上のポリペプチド鎖（例えば、Ｆａｂの２つのポリペプチド鎖）から構成され得る。半抗体の例は、抗体（例えば、ＩｇＧ抗体）の重鎖及び軽鎖を含む分子である。半抗体の別の例は、ＶＬドメイン及びＣＬドメインを含む第１のポリペプチド、並びにＶＨドメイン、ＣＨ１ドメイン、ヒンジドメイン、ＣＨ２ドメイン、及びＣＨ３ドメインを含む第２のポリペプチドを含む分子であり、当該ＶＬドメイン及びＶＨドメインは、ＡＢＤを形成する。半抗体の更に別の例は、ｓｃＦｖドメイン、ＣＨ２ドメイン、及びＣＨ３ドメインを含むポリペプチドである。本開示のＩＬ２プロタンパク質は、典型的には、２つの半抗体を含み、各々が、Ｆｃドメイン、ＦｃドメインのＣ末端のＩＬ２Ｒα部分、ＩＬ２Ｒα部分のＣ末端のプロテアーゼ切断可能リンカー、及びプロテアーゼ切断可能リンカーのＣ末端のＩＬ２部分を含む。ＩＬ２プロタンパク質における一方又は両方の半抗体は、例えば、ＦｃドメインのＮ末端

に標的化部分を更に含み得る。

【００３４】

「半抗体」という用語は、説明的な目的のみを意図しており、特定の構成又は産生方法を意味するものではない。「第１の」半抗体、「第２の」半抗体、「左の」半抗体、「右の」半抗体などとしての半抗体の記載は、単に便宜上及び説明的な目的のためである。

【００３５】

宿主細胞又は組換え宿主細胞：「宿主細胞」又は「組換え宿主細胞」という用語は、例えば、異種核酸の導入を介して遺伝子操作された細胞を指す。そのような用語が、特定の対象細胞のみならず、そのような細胞の子孫も指すよう意図されていることを理解されたい。変異又は環境影響のいずれかによりある特定の改変が後世で生じ得るため、そのような子孫は、実際には親細胞と同一ではない場合があるが、依然として本明細書で使用される「宿主細胞」という用語の範囲内に含まれる。宿主細胞は、異種核酸を、例えば、染色体外異種発現ベクター上に一時的に、又は、例えば、異種核酸を宿主細胞ゲノムに組み込むことによって安定的に、保有し得る。本開示のＩＬ２プロタンパク質を発現する目的で、宿主細胞は、サル腎臓細胞（ＣＯＳ、例えば、ＣＯＳ－１、ＣＯＳ－７）、ＨＥＫ２９３、ベビーハムスター腎臓（ＢＨＫ、例えば、ＢＨＫ２１）、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）、ＮＳＯ、ＰｅｒＣ６、ＢＳＣ－１、ヒト肝細胞がん細胞（例えば、ＨｅｐＧ２）、ＳＰ２／０、ＨｅＬａ、Ｍａｄｉｎ－Ｄａｒｂｙウシ腎臓（ＭＤＢＫ）、骨髄腫及びリンパ腫細胞、又はそれらの誘導体及び／若しくは操作されたバリアントなどの哺乳類起源の又は哺乳類様特性の細胞株が好ましい。操作されたバリアントには、例えば、元の細胞株よりも高い密度で成長する誘導体及び／又はグリカンプロファイル改変誘導体及び／又は部位特異的組み込み部位誘導体が含まれる。

【００３６】

リンカー：本明細書で使用される「リンカー」という用語は、プロテアーゼ切断可能リンカー又は非切断可能リンカーを指す。

非切断可能リンカー：非切断可能リンカーは、そのアミノ酸配列が、特定の配列モチーフ、例えば、セクション６．５．２に記載の基質を認識し、切断する、プロテアーゼ、例えば、セクション６．５．１に記載のプロテアーゼの基質配列を欠いているペプチドを指す。

【００３７】

作動可能に連結された：「作動可能に連結された」という用語は、２つ以上のペプチド若しくはポリペプチドドメイン又は核酸（例えば、ＤＮＡ）セグメント間の機能的関係を指す。融合タンパク質又は他のポリペプチドの文脈において、「作動可能に連結された」という用語は、機能的ポリペプチドを産生するために２つ以上のアミノ酸セグメントが連結されていることを意味する。例えば、本開示のＩＬ２プロタンパク質の文脈では、別個の構成要素（例えば、Ｆｃドメイン及びＩＬ２Ｒα部分）は、直接又はペプチドリンカー配列を介して作動可能に連結され得る。本開示のＩＬ２プロタンパク質の半抗体などの融合タンパク質をコードする核酸の文脈では、「作動可能に連結された」とは、２つの核酸が、その２つの核酸によってコードされるアミノ酸配列がインフレームのままであるように、結合されていることを意味する。転写調節の文脈では、この用語は、転写調節配列の転写される配列に対する機能的関係を指す。例えば、プロモーター又はエンハンサー配列は、それが、適切な宿主細胞又は他の発現系におけるコード配列の転写を刺激又は調節する場合、コード配列に作動可能に連結される。

【００３８】

ポリペプチド、ペプチド、及びタンパク質：「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「タンパク質」という用語は、アミノ酸残基のポリマーを指すために本明細書で互換的に使用される。

【００３９】

プロタンパク質：「プロタンパク質」は、不活性であり、プロテアーゼによるタンパク質分解によって活性化され得るタンパク質前駆体である。したがって、プロタンパク質は

「プロテアーゼ活性化可能」である。

【００４０】

プロテアーゼ：本明細書で使用される「プロテアーゼ」という用語は、ペプチド結合の加水分解を触媒する任意の酵素を指す。概して、本開示で有用なプロテアーゼ、例えば、セクション６．５．１に記載のプロテアーゼは、特定の配列モチーフ、例えば、セクション６．５．２に記載の基質を認識し、切断する。好ましくは、プロテアーゼは、正常組織と比較して、がん組織においてより高いレベルで発現される。

【００４１】

プロテアーゼ切断可能リンカー：本明細書で使用される場合、「プロテアーゼ切断可能リンカー」又は「ＰＣＬ」という用語は、そのアミノ酸配列が１つ以上のプロテアーゼに対する１つ以上（例えば、２、３個以上）の基質配列を含むペプチドを指す。例示的なプロテアーゼ切断可能リンカーは、セクション６．５に記載されており、例示的なプロテアーゼ切断可能リンカー配列は、セクション６．５．４に開示されている。

【００４２】

認識する：本明細書で使用される「認識する」という用語は、そのエピトープを見つけ、そのエピトープと相互作用する（例えば、結合する）抗体又は抗体断片（例えば、標的化部分）を指す。

【００４３】

一本鎖Ｆａｂ又はｓｃＦａｂ：本明細書で使用される「一本鎖Ｆａｂ」又は「ｓｃＦａｂ」という用語は、ＶＨドメイン、ＣＨ１ドメイン、ＶＬドメイン、ＣＬドメイン、及びリンカーを含むＡＢＤを指す。いくつかの実施形態では、前述のドメイン及びリンカーは、Ｎ末端からＣ末端への配向で、以下の順序のうちの１つで配置される：（ａ）ＶＨ－ＣＨ１－リンカー－ＶＬ－ＣＬ、（ｂ）ＶＬ－ＣＬ－リンカー－ＶＨ－ＣＨ１、（ｃ）ＶＨ－ＣＬ－リンカー－ＶＬ－ＣＨ１、又は（ｄ）ＶＬ－ＣＨ１－リンカー－ＶＨ－ＣＬ。リンカーは、好適には、少なくとも３０個のアミノ酸、好ましくは、３２～５０個のアミノ酸の非切断可能リンカーである。一本鎖Ｆａｂ断片は、典型的には、ＣＬドメインとＣＨ１ドメインとの間の天然ジスルフィド結合を介して安定化される。加えて、これらの一本鎖Ｆａｂ分子は、システイン残基の挿入（例えば、Ｋａｂａｔ番号付けによるＶＨドメインの４４位及びＶＬドメインの１００位）を介した鎖間ジスルフィド結合の生成によって更に安定化され得る。

【００４４】

一本鎖Ｆｖ又はｓｃＦｖ：本明細書で使用される「一本鎖Ｆｖ」又は「ｓｃＦｖ」という用語は、抗体のＶＨドメイン及びＶＬドメインを含むＡＢＤを指し、これらのドメインは、単一ポリペプチド鎖に存在する。好ましくは、Ｆｖポリペプチドは、ＶＨドメインとＶＬドメインとの間に、ｓｃＦｖが抗原結合のために所望の構造を形成することを可能にするポリペプチドリンカーを更に含む。ｓｃＦｖの概説については、Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ　Ｔｈｅ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ　ｏｆ　Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，ｖｏｌ．１１３，Ｒｏｓｅｎｂｕｒｇ　ａｎｄ　Ｍｏｏｒｅ　ｅｄｓ．（１９９４），Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，ｐｐ．２６９－３１５を参照されたい。ＶＨ及びＶＬ及び、典型的には、リンカー、例えば、表Ｅに記載のリンカーによって分離される、Ｎ末端からＣ末端の順序のＶＨ－ＶＬ又はＶＬ－ＶＨで配置される。

【００４５】

スペーサー：本明細書で使用される場合、「スペーサー」という用語は、そのアミノ酸配列がプロテアーゼに対する基質ではない、基質を含むリンカーに組み込まれた、ペプチドを指す。スペーサーを使用して、分子、例えばＡＢＤ内の他のドメインから基質を分離することができる。いくつかの態様では、スペーサー内の残基は、Ｎ末端アミノ酸の切断を防止するために、アミノペプチダーゼ及び／又はエキソペプチダーゼの作用を最小限に抑える。

【００４６】

特異的に（又は選択的に）結合：抗原又はエピトープに「特異的に（又は選択的に）結合する」という用語は、タンパク質及び他の分子の不均一な集団における同族抗原又はエピトープの存在を決定する結合反応を指す。結合反応は、抗体又は抗体断片によって媒介され得るが、必ずしもそうである必要はない。「特異的に結合する」という用語は、異種間反応性を排除しない。例えば、１つの種からの抗原に「特異的に結合する」抗原結合ドメイン（例えば、抗体の抗原結合断片）はまた、１つ以上の他の種においてその抗原にもまた「特異的に結合する」してもよい。したがって、そのような異種間反応性自体は、「特異的」結合剤としての抗原結合ドメインの分類を変更しない。ある特定の実施形態では、ヒト抗原に特異的に結合する本開示の抗原結合ドメインは、１つ以上の非ヒト哺乳類種、例えば、霊長類種（Ｍａｃａｃａ ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ、Ｍａｃａｃａ ｍｕｌａｔｔａ、及びＭａｃａｃａ ｎｅｍｅｓｔｒｉｎａのうちの１つ以上を含むが、これらに限定されない）、又はげっ歯類種、例えば、Ｍｕｓ ｍｕｓｃｕｌｕｓと交差種反応性を有する。

【００４７】

対象：「対象」という用語は、ヒト及び非ヒト動物が含まれる。非ヒト動物には、全ての脊椎動物、例えば、哺乳類及び非哺乳類（非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ニワトリ、両生類、及び爬虫類など）が含まれる。好ましい実施形態では、対象は、ヒトである。

【００４８】

基質：「基質」という用語は、プロテアーゼが作用し、その中でプロテアーゼがペプチド結合を切断するペプチド配列を指す。

標的分子：本明細書で使用される「標的分子」という用語は、本開示のＩＬ２プロタンパク質の標的化部位によって特異的に結合し得る、細胞表面上又は細胞外マトリックスにおいて発現される任意の生体分子（例えば、タンパク質、炭水化物、脂質、又はそれらの組み合わせ）を指す。

【００４９】

標的化部分：本明細書で使用される「標的化部分」という用語は、本開示のＩＬ２プロタンパク質が局在化される部位で、例えば、腫瘍細胞又は腫瘍微小環境におけるリンパ球上で、細胞表面又は細胞外マトリックス分子に結合し得る任意の分子又はその結合部分（例えば、免疫グロブリン又は抗原結合断片）を指す。いくつかの実施形態では、標的化部分は、ＴＡＡに結合する。他の実施形態では、標的化部分は、ＴＣＡに結合する。標的化部分はまた、ＩＬ２プロタンパク質を特定の部位に局在化させることに加えて、機能的活性を有し得る。例えば、ＰＤ１などのチェックポイント阻害剤に結合する標的化部分はまた、例えば、ＰＤ１シグナル伝達を阻害することにより、抗腫瘍活性を示すか、又はＩＬ２による抗腫瘍活性を増強し得る。

【００５０】

Ｔ細胞抗原、ＴＣＡ：「Ｔ細胞抗原」又は「ＴＣＡ」という用語は、Ｔリンパ球の表面上に発現され、特定の部位への薬剤の優先的な標的化に有用である分子（典型的には、タンパク質、炭水化物、脂質、又はそれらの組み合わせ）を指す。いくつかの実施形態では、部位は、がん組織であり、かつ／又はＴ細胞抗原は、腫瘍反応性リンパ球抗原、腫瘍若しくはウイルスリンパ球の細胞表面分子、又はＴリンパ球上に発現されるチェックポイント阻害剤である。

【００５１】

腫瘍：「腫瘍」という用語は、本明細書では「がん」という用語と互換的に使用され、例えば、両方の用語は、固形及び液性、例えば、びまん性又は循環性腫瘍を包含する。本明細書で使用される場合、「がん」又は「腫瘍」という用語は、前がん性並びに悪性のがん及び腫瘍を含む。

【００５２】

腫瘍関連抗原、ＴＡＡ：「腫瘍関連抗原」又は「ＴＡＡ」という用語は、がん細胞の表面上で、完全に又は断片（例えば、ＭＨＣ／ペプチド）としてのいずれかで発現され、が

ん細胞への薬剤の優先的な標的化に有用である分子（典型的には、タンパク質、炭水化物、脂質、又はそれらの組み合わせ）を指す。いくつかの実施形態では、ＴＡＡは、正常細胞及びがん細胞の両方によって発現されるマーカー、例えば、系譜マーカーである。いくつかの実施形態では、ＴＡＡは、正常細胞と比較してがん細胞において過剰発現される、例えば、正常細胞と比較して１倍過剰発現、２倍過剰発現、３倍過剰発現、又はそれ以上過剰発現される細胞表面分子である。いくつかの実施形態では、ＴＡＡは、がん細胞において不適切に合成される細胞表面分子、例えば、正常細胞上で発現される分子と比較して、欠失、付加、又は変異を含む分子である。いくつかの実施形態では、ＴＡＡは、がん細胞の細胞表面上でのみ、完全に又は断片（例えば、ＭＨＣ／ペプチド）として発現され、正常細胞の表面上で合成又は発現されない。したがって、「ＴＡＡ」という用語は、がん細胞に特異的な抗原を包含し、当技術分野では腫瘍特異的抗原（「ＴＳＡ」）として既知であることもある。

【００５３】

治療する、治療、治療すること：本明細書で使用される場合、「治療する」、「治療」、及び「治療すること」という用語は、本開示の１つ以上のＩＬ２プロタンパク質の投与に起因する増殖性障害の進行、重症度、及び／又は期間の短縮若しくは改善、あるいは増殖性障害の１つ以上の症状（好ましくは、１つ以上の識別可能な症状）の改善を指す。特定の実施形態では、「治療する」、「治療」、及び「治療すること」という用語は、腫瘍の成長などの増殖性障害の少なくとも１つの測定可能な物理的パラメータの改善を指し、必ずしも患者によって識別可能ではない。他の実施形態では、「治療する」、「治療」、及び「治療すること」という用語は、例えば、識別可能な症状の安定化による物理的、例えば、物理的パラメータの安定化よる生理学的のいずれか、又は両方の増殖性障害の進行の阻害を指す。他の実施形態では、「治療する」、「治療」、及び「治療すること」という用語は、腫瘍サイズ又はがん性細胞数の低下又は安定化を指す。

【００５４】

ユニバーサル軽鎖、ＵＬＣ：本明細書で使用される「ユニバーサル軽鎖」又は「ＵＬＣ」という用語は、重鎖可変領域（ＶＬ）上よりも多くと対合することができる軽鎖可変領域（ＶＬ）を指す。標的化部分の文脈で、「ユニバーサル軽鎖」又は「ＵＬＣ」という用語は、標的化部分の重鎖領域と対合することができ、他の重鎖領域と対合することもできる軽鎖ポリペプチドを指す。ＵＬＣはまた、定常ドメイン、例えば、抗体のＣＬドメインを含み得る。ユニバーサル軽鎖は、「共通の軽鎖」としても既知である。

【００５５】

ＶＨ：「ＶＨ」という用語は、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、ｄｓＦｖ、又はＦａｂの重鎖を含む、抗体の免疫グロブリン重鎖の可変領域を指す。

ＶＬ：「ＶＬ」という用語は、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、ｄｓＦｖ、又はＦａｂの軽鎖を含む、免疫グロブリン軽鎖の可変領域を指す。

【００５６】

６．２．ＩＬ２プロタンパク質

本開示は、ＩＬ２部分と、ＩＬ２Ｒα部分と、ＩＬ２ＲαがＩＬ２部分の活性を減少又は遮断するように配置されたプロテアーゼ切断可能リンカーと、を含むＩＬ２プロタンパク質に関する。ＩＬ２プロタンパク質は、プロテアーゼ、例えば、腫瘍環境において過剰発現されるプロテアーゼに遭遇すると、プロテアーゼ切断可能リンカーが切断され、ＩＬ２が解除され、腫瘍細胞に対する細胞傷害性Ｔ細胞活性を刺激するように構成される。典型的には、本開示のＩＬ２プロタンパク質は、二量体であり、Ｆｃ領域を形成するために会合する２つのＦｃドメインを含み、そのＣ末端に、ＩＬ２Ｒα部分、プロテアーゼ切断可能リンカー、及びＩＬ２部分がＮ末端からＣ末端の順序で配置される。ＩＬ２プロタンパク質は、ＦｃドメインとＩＬ２Ｒα部分との間に、リンカー、好ましくは非切断可能リンカーを更に含み得る。

【００５７】

したがって、本開示のＩＬ２プロタンパク質は、概して、（ａ）Ｆｃ領域を形成するた

めに会合することができる第１のＦｃドメイン及び第２のＦｃドメインと、（ｂ）任意選択でリンカー、好ましくは非切断可能リンカーが先行する、ＦｃドメインのＣ末端の２つのＩＬ２Ｒα部分と、（ｃ）ＩＬ２Ｒα部分のＣ末端の２つのプロテアーゼ切断可能リンカーと、（ｄ）プロテアーゼ切断可能リンカーのＣ末端の２つのＩＬ２部分と、を含む。ＩＬ２プロタンパク質におけるＩＬ２部分は、ＩＬ２Ｒα部分によるマスキングのおかげで不活性な形態であるが、例えば、腫瘍環境において、プロテアーゼ切断可能リンカーのプロテアーゼ切断後に解除される。好適なＩＬ２部分の例は、セクション６．３に記載され、好適なＩＬ２Ｒα部分の例は、セクション６．４に記載され、好適なプロテアーゼ切断可能リンカーの例は、セクション６．５に記載される。

【００５８】

概して、本開示のＩＬ２プロタンパク質は、複数のリンカーを含む。好ましくは、その切断がＩＬ２部分を解除するプロテアーゼ切断可能リンカー以外の残りのリンカーは、非切断可能である。非切断可能リンカーの例は、セクション６．６に記載されている。

【００５９】

ＩＬ２プロタンパク質は、１つ以上の標的化部分を更に含み得、いくつかの実施形態では、ＦｃドメインのＮ末端に２つの標的化部分を含み得る。標的化部分の例は、６．７に記載され、好適な標的化部分のフォーマットは、セクション６．８に記載される。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、それらのＮ末端にヒンジドメインを含む。ヒンジ配列の有無にかかわらず、好適なＦｃドメインは、セクション６．９に記載されている。

【００６０】

例示的なＩＬ２プロタンパク質を図１Ａに描写する。ＩＬ２プロタンパク質は、

ａ）別個のポリペプチド鎖上のＦａｂの軽鎖と会合して、一緒に第１の標的化部分を形成する、Ｆａｂの重鎖、続いて、ヒンジドメインを含むＦｃドメイン、続いて、好ましくは非切断可能リンカーであるリンカー（「リンカーＡ」）、続いて、ＩＬ２Ｒα部分、続いて、プロテアーゼ切断可能リンカー（「リンカーＢ」）、続いて、ＩＬ２部分を含む、第１のポリペプチド鎖と、

ｂ）別個のポリペプチド鎖上のＦａｂの軽鎖と会合して、一緒に第２の標的化部分を形成する、Ｆａｂの重鎖、続いて、ヒンジドメインを含むＦｃドメイン、続いて、好ましくは非切断可能リンカーであるリンカー（「リンカーＣ」）、続いて、ＩＬ２Ｒα部分、続いて、プロテアーゼ切断可能リンカー（「リンカーＤ」）、続いて、ＩＬ２部分を含む、第２のポリペプチド鎖と、を含む。

【００６１】

６．３．ＩＬ２部分

本開示のＩＬ２プロタンパク質のＩＬ２部分は、野生型又はバリアントＩＬ２部分を含む。

【００６２】

真核細胞では、ヒトＩＬ２は、１５３個のアミノ酸の前駆体ポリペプチドとして合成され、そこから２０個のアミノ酸が除去されて、成熟分泌型ＩＬ２が生成される（Ｔａｎｉｇｕｃｈｉ　ｅｔ　ａｌ．，１９８３，Ｎａｔｕｒｅ　３０２（５９０６）：３０５－１０）。成熟ヒトＩＬ２は、以下のアミノ酸配列を有する：

ＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＶＬＮＬＡＱＳＫＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＮＩＮＶＩＶＬＥＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＣＱＳＩＩＳＴＬＴ（配列番号２）

いくつかの実施形態では、本開示のＩＬ２部分は、ＣＤ１２２指向されていない、例えば、ＩＬ２部分は、ＩＬ２Ｒαと比較して、ＩＬ２部分をＩＬ２Ｒβに優先的に結合させるアミノ酸置換をＩＬ２部分に有しない。

【００６３】

いくつかの実施形態では、本開示のＩＬ２部分は、ＣＤ２５指向されており、例えば、ＩＬ２部分は、ＩＬ２Ｒβと比較して、ＩＬ２部分をＩＬ２Ｒαに優先的に結合させる１

つ以上のアミノ酸置換をＩＬ２部分に有する。
【００６４】
ある特定の実施形態では、本開示のＩＬ２プロタンパク質は、ＩＬ２Ｒβへの結合を低減させる１つ以上のアミノ酸置換をＩＬ２部分に有する。例えば、いくつかの実施形態では、ＩＬ２部分は、野生型ヒトＩＬ２と比較して、ヒトＩＬ２Ｒβへの結合が最大５０倍（及びいくつかの実施形態では、最大１００倍）～１，０００倍減弱化され得る。
【００６５】
ＩＬ２Ｒβへの結合が低減したＩＬ２部分は、ＩＬ２Ｒαに対するその親和性を保持するか、又はＩＬ２Ｒαへの結合が低減し得る。例えば、いくつかの実施形態では、ＩＬ２部分は、野生型ヒトＩＬ２と比較して、ヒトｆｆαへの結合が最大５０倍減弱化され得る。
【００６６】
有用なＩＬ２バリアントの他の特徴には、腫瘍においてＩＬ２Ｒα保有ＣＤ８＋Ｔ細胞の増殖を誘導する能力、腫瘍におけるＩＬ２Ｒα保有ＣＤ８＋Ｔ細胞においてＩＬ２シグナル伝達を誘導する能力、及び治療指数の改善が含まれ得る。
【００６７】
一実施形態では、ＩＬ２部分は、ＩＬ２Ｒβに対する親和性を低減させ、ＩＬ２Ｒαに対する親和性を維持する１つ以上のアミノ酸置換を含む。例示的なアミノ酸置換は、Ｎ８８Ｄである。ＩＬ２のＩＬ２Ｒβに対する親和性を低減又は消失させる他のアミノ酸置換は、Ｄ２０Ｔ、Ｎ８８Ｒ、Ｎ８８Ｄ、又はＱ１２６Ｄである（例えば、米国特許公開第２００７／００３６７５２号を参照されたい）。
【００６８】
一実施形態では、ＩＬ２部分は、ＩＬ２Ｒαに対する親和性を低減させ、ＩＬ２Ｒβに対する親和性を維持するか、又は親和性をより低い程度に低減させ、ＣＤ１２２指向性ＩＬ２部分をもたらす１つ以上のアミノ酸置換を含む。例示的なＣＤ１２２指向性ＩＬ２部分は、Ｈ１６Ａ及びＦ４２Ａ置換の両方を含むものである。したがって、いくつかの実施形態では、ＩＬ２部分は、以下に示すように、Ｈ１６Ａ及びＦ４２Ａ置換を有するヒトＩＬ２のアミノ酸配列を含む：
ＳＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＡＬＬＬＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲＭＬＴＡＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＶＬＮＬＡＱＳＫＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＮＩＮＶＩＶＬＥＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＣＱＳＩＩＳＴＬＴ（配列番号１２４）
ある特定の実施形態では、ＩＬ２部分は、ヒトＩＬ２の残基３に対応する位置でＩＬ２のＯ－グリコシル化部位を排除するアミノ酸置換を含む。Ｔ３での例示的なアミノ酸置換は、Ｔ３Ａ、Ｔ３Ｇ、Ｔ３Ｑ、Ｔ３Ｅ、Ｔ３Ｎ、Ｔ３Ｄ、Ｔ３Ｒ、Ｔ３Ｋ、及びＴ３Ｐである。特定の実施形態では、置換はＴ３Ａである。
【００６９】
ＩＬ２部分は、好ましくは、本質的に完全長のＩＬ２分子、例えば、ヒトＩＬ２分子である。ある特定の実施形態では、ＩＬ２部分は、ヒトＩＬ－２分子である。
米国特許第４，５１８，５８４号に記載されるように、Ｃ１２５を、Ｓ、Ｖ、又はＡに置き換えて、タンパク質凝集を低減することができる。
【００７０】
そこに記載されるように、ＩＬ２のＮ末端アラニン残基を削除して、ｄｅｓ－Ａ１　ＩＬ２をもたらすこともできる。
更に、ＩＬ２部分は、米国特許第５，２０６，３４４号に記載されるように、メチオニン１０４の、アラニンなどの中性アミノ酸による置換を含み得る。
【００７１】
したがって、本開示のＩＬ２部分は、ＩＬ２のその受容体への結合を改変する他のバリエーションに加えて、ｄｅｓ－Ａ１　Ｍ１０４Ａ　ＩＬ２、ｄｅｓ－Ａ１　Ｍ１０４Ａ　Ｃ１２５Ｓ　ＩＬ２、Ｍ１０４Ａ　ＩＬ２、Ｍ１０４Ａ　Ｃ１２５Ａ　ＩＬ２、ｄｅｓ－

Ａ１　Ｍ１０４Ａ　Ｃ１２５Ａ　ＩＬ２、又はＭ１０４Ａ　Ｃ１２５Ｓ　ＩＬ２から選択されるアミノ酸欠失及び／又は置換を有することができる。これら及び他の変異体は、米国特許第５，１１６，９４３号及びＷｅｉｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，１９８９，Ｅｕｒ　Ｊ　Ｂｉｏｃｈｅｍ　１８０：２９５－３００に見出すことができる。

【００７２】

様々な態様では、前述のＩＬ２部分のいずれかは、成熟ヒトＩＬ２に対して少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、少なくとも約９９％、又は１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【００７３】

６．４．ＩＬ２Ｒα部分

本開示のＩＬ２プロタンパク質は、ＩＬ２ＲαのＩＬ２結合ドメイン、例えば、ＩＬ２Ｒαの細胞外ドメインを含むか、又はそれからなるＩＬ２Ｒα部分を含む。成熟ヒトＩＬ２Ｒα細胞外ドメイン（ヒトＩＬ２ＲαのアミノＡ２２～２７２に対応する）の配列は、以下のとおりである。

【００７４】

【化１】

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys
Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr
Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln Val Ala Val Ala Gly
Cys Val Phe Leu Leu Ile Ser Val Leu Leu Leu Ser Gly Leu Thr Trp
Gln Arg Arg Gln Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile（配列番号３）

【００７５】

ヒトＩＬ２Ｒα細胞外ドメインのＩＬ２結合部分（ヒトＩＬ２ＲαのアミノＡ２２～１８６に対応する２つの「ｓｕｓｈｉ」ドメインを含む）の配列は、以下のとおりである。

【００７６】

【化２】

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
Leu Ile Cys Thr Gly（配列番号４）

【００７７】

ヒトＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～２４０に対応する、ヒトＩＬ２Ｒα細胞外ドメインの代替的なＩＬ２結合部分の配列は、以下のとおりである。

【００７８】

【化３】

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys
Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly
Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp
Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr
Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu
Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys
Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr
Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln（配列番号５）

【００７９】

ＩＬ２Ｒα部分は、好ましくは、上記の配列のうちのいずれか、すなわち、ＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～１８６、ＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～２４０、若しくはＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～２７２、又はその任意のＩＬ２結合部分のうちのいずれか１つに対して、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、少なくとも約９９％、又は１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【００８０】

ある特定の態様では、ＩＬ２Ｒα部分は、ヒトＩＬ２ＲαのＩＬ２結合部分に対して、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、少なくとも約９９％、又は１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又はそれからなり得、任意選択で、結合部分は、ヒトＩＬ２Ｒαの細胞外ドメインの（ａ）少なくとも１６０個のアミノ酸、少なくとも１６１個のアミノ酸、少なくとも１６２個のアミノ酸、少なくとも１６４個のアミノ酸、若しくは少なくとも１６５個のアミノ酸、及び／又は（ｂ）最大２５１、最大２４０、最大２３０、最大２２０、最

大２１０、最大２００、最大１９０、最大１８０、若しくは最大１７０個のアミノ酸のアミノ酸配列を有する。特定の実施形態では、ヒトＩＬ２Ｒαの部分は、前文の（ａ）及び（ｂ）のうちのいずれか１つ、例えば、ヒトＩＬ２Ｒα由来の少なくとも１６０個及び最大１８０個のアミノ酸、ヒトＩＬ２Ｒα由来の少なくとも１６２個及び最大２００個のアミノ酸、ヒトＩＬ２Ｒα由来の少なくとも１６０個及び最大２２０個のアミノ酸、ヒトＩＬ２Ｒα由来の少なくとも１６４個及び最大１９０個のアミノ酸などによって結合される。

【００８１】

いくつかの実施形態では、ＩＬ２Ｒα部分は、ＩＬ２Ｒαのアミノ酸残基１８６のＣ末端に追加の最大５つのアミノ酸、最大１０個のアミノ酸、最大１５個のアミノ酸、最大２０個のアミノ酸、最大３０個のアミノ酸、又は最大４０個のアミノ酸を有するか、又は有しない、アミノ酸２２～１８６に対して少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、少なくとも約９９％、若しくは１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。

【００８２】

ある特定の実施形態では、ＩＬ２Ｒα部分は、例えば、アミノ酸Ｎ４９、アミノ酸Ｎ６８、アミノ酸Ｔ７４、アミノ酸Ｔ８５、アミノ酸Ｔ１９７、アミノ酸Ｔ２０３、アミノ酸Ｔ２０８、及びアミノ酸Ｔ２１６のうちの１つ以上での置換によって、天然ＩＬ２Ｒαの細胞外ドメインと比較して、少なくとも１つ少ないＯ－グリコシル化及び／又はＮ－グリコシル化を有する。いくつかの実施形態では、１つ以上の置換は、アスパラギンから、アラニン、スレオニン、セリン、アルギニン、アスパラギン酸、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、トリプトファン、チロシン、及びバリンからなる群から選択されるアミノ酸への置換である。いくつかの実施形態では、１つ以上の置換は、スレオニンから、アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、トリプトファン、チロシン、及びバリンからなる群から選択されるアミノ酸への置換である。いくつかの実施形態では、１つ以上の置換は、アミノ酸Ｓ５０（例えば、Ｓ５０Ｐ）、アミノ酸Ｓ５１（例えば、Ｓ５１Ｒ、Ｓ５１Ｎ、Ｓ５１Ｄ、Ｓ５１Ｃ、Ｓ５１Ｑ、Ｓ５１Ｅ、Ｓ５１Ｇ、Ｓ５１Ｈ、Ｓ５１Ｉ、Ｓ５１Ｌ、Ｓ５１Ｋ、Ｓ５１Ｍ、Ｓ５１Ｆ、Ｓ５１Ｐ、Ｓ５１Ｗ、Ｓ５１Ｙ、又はＳ５１Ｖ）、アミノ酸Ｔ６９（例えば、Ｔ６９Ｐ）、アミノ酸Ｔ７０（例えば、Ｔ７０Ｒ、Ｔ７０Ｎ、Ｔ７０Ｄ、Ｔ７０Ｃ、Ｔ７０Ｑ、Ｔ７０Ｅ、Ｔ７０Ｇ、Ｔ７０Ｈ、Ｔ７０Ｉ、Ｔ７０Ｌ、Ｔ７０Ｋ、Ｔ７０Ｍ、Ｔ７０Ｆ、Ｔ７０Ｐ、Ｔ７０Ｗ、Ｔ７０Ｙ、又はＴ７０Ｖ、アミノ酸Ｃ１９２（例えば、Ｃ１９２Ｒ、Ｃ１９２Ｎ、Ｃ１９２Ｄ、Ｃ１９２Ｑ、Ｃ１９２Ｅ、Ｃ１９２Ｇ、Ｃ１９２Ｈ、Ｃ１９２Ｉ、Ｃ１９２Ｌ、Ｃ１９２Ｋ、Ｃ１９２Ｍ、Ｃ１９２Ｆ、Ｃ１９２Ｐ、Ｃ１９２Ｗ、Ｃ１９２Ｙ、又はＣ１９２Ｖ）、又はそれらの任意の組み合わせである。

【００８３】

６．５．プロテアーゼ切断可能リンカー

本開示のＩＬ２プロタンパク質は、典型的には、ＩＬ２Ｒα部分とＩＬ２部分との間に位置する、プロテアーゼに対する１つ以上の基質を有し、その切断が活性化ＩＬ２をもたらすリンカーを含む。

【００８４】

プロテアーゼ切断可能リンカーは、２０アミノ酸～８０アミノ酸以上の範囲であり得、ある特定の態様では、プロテアーゼ切断可能リンカーは、２０アミノ酸～６０アミノ酸、２０アミノ酸～４０アミノ酸、３０アミノ酸～５０アミノ酸、２０アミノ酸～８０アミノ酸、又は３０アミノ酸～７０アミノ酸長の範囲である。

【００８５】

プロテアーゼ切断可能リンカーは、１つ以上のプロテアーゼ、例えば、セクション６．

５．１に記載のプロテアーゼのうちの１つ以上に対する１つ以上の基質配列を含む。１つ以上の基質配列、例えば、セクション６．５．２に記載の基質配列のうちの１つ以上は、典型的には、１つ以上のスペーサー配列、例えば、セクション６．５．３に記載のスペーサー配列に隣接している。各プロテアーゼ切断可能リンカーは、１、２、３個以上の基質配列を含み得る。スペーサー配列は、隣接していてもよく、重複していてもよく、又はスペーサー配列によって分離されていてもよい。好ましくは、プロテアーゼ切断可能リンカーのＣ末端及びＮ末端は、スペーサー配列を含む。

【００８６】

例示的なプロテアーゼ切断可能リンカー配列は、セクション６．５．４に記載される。

６．５．１．プロテアーゼ

基質配列がプロテアーゼ切断可能リンカーに組み込まれ得る例示的なプロテアーゼを以下の表Ａに記載する。

【００８７】

【表１－１】

表A 基質切断のための例示的なプロテアーゼ		
ADAMS、ADAMTS、*例えば*	カスパーゼ、*例えば*、	MMP24
ADAM8	カスパーゼ 1	MMP26
ADAM9	カスパーゼ 2	MMP27
ADAM10	カスパーゼ 3	
ADAM12	カスパーゼ 4	
ADAM15	カスパーゼ 5	
ADAM17/TACE	カスパーゼ 6	
ADAMDEC1	カスパーゼ 7	
ADAMTS1	カスパーゼ 8	システインプロテアーゼ、*例えば*、
ADAMTS4	カスパーゼ 9	クルジパイン
ADAMTS5	カスパーゼ 10	レグマイン
	カスパーゼ 14	オツパイン-2
アスパラギン酸プロテアーゼ、*例えば*、		
BACE	システインカテプシン、*例えば*、	KLK、*例えば*、
レニン	カテプシン B	KLK4
	カテプシン C	KLK5
アスパラギン酸カテプシン、*例えば*、	カテプシン K	KLK6
カテプシン D	カテプシン L	KLK7
カテプシン E	カテプシン S	KLK8
	カテプシン V/L2	KLK10
NS3/4A	カテプシン X/Z/P	KLK11
PACE4		KLK13
プラスミン	MMP、*例えば*、	KLK14
PSA	MMP1	
tPA	MMP2	メタロプロテアーゼ、*例えば*、
トロンビン	MMP3	メプリン
トリプターゼ		ネプリリシン
uPA	MMP7	PSMA
	MMP8	BMP-1
II型膜貫通セリンプロテアーゼ(TTSP)、*例えば*、	MMP9	
	MMP10	
DESC1	MMP11	セリンプロテアーゼ、*例えば*、
DPP-4	MMP12	活性化タンパク質C
FAP	MMP13	カテプシン A

【００８８】

【表１－２】

表A 基質切断のための例示的なプロテアーゼ		
ヘプシン	MMP14	カテプシンG
マトリプターゼ-2	MMP15	キマーゼ
MT/SP1/マトリプターゼ	MMP16	凝固因子プロテアーゼ
	MMP17	(*例えば*、FVIIa、FIXa、FXa、FXIa、FXIIa)
TMPRSS2	MMP19	ヒト好中球エラスターゼ
TMPRSS3	MMP20	ラクトフェリン
TMPRSS4	MMP23	

【００８９】

特定の実施形態では、プロテアーゼは、マトリックスメタロプロテアーゼ（ＭＭＰ）－２、ＭＭＰ－９、レグマンアスパラギニルエンドペプチダーゼ、トロンビン、線維芽細胞活性化プロテアーゼ（ＦＡＰ）、ＭＭＰ－１、ＭＭＰ－３、ＭＭＰ－７、ＭＭＰ－８、ＭＭＰ－１２、ＭＭＰ－１３、ＭＭＰ－１４、膜１型マトリックスメタロプロテアーゼ（ＭＴ１－ＭＭＰ）、プラスミン、膜貫通プロテアーゼ、セリン（ＴＭＰＲＳＳ－３／４）、カテプシンＡ、カテプシンＢ、カテプシンＤ、カテプシンＥ、カテプシンＦ、カテプシンＨ、カテプシンＫ、カテプシンＬ、カテプシンＬ２、カテプシンＯ、カテプシンＳ、カスパーゼ１、カスパーゼ２、カスパーゼ３、カスパーゼ４、カスパーゼ５、カスパーゼ６、カスパーゼ７、カスパーゼ８、カスパーゼ９、カスパーゼ１０、カスパーゼ１１、カスパーゼ１２、カスパーゼ１３、カスパーゼ１４、ヒト好中球エラスターゼ、ウロキナーゼ／ウロキナーゼ型プラスミノーゲン活性化因子（ｕＰＡ）、ディスインテグリン及びメタロプロテアーゼ（ＡＤＡＭ）１０、ＡＤＡＭ１２、ＡＤＡＭ１７、トロンボスポンジンモチーフを有するＡＤＡＭ（ＡＤＡＭＴＳ）、ＡＤＡＭＴＳ５、ベータセレクターゼ（ＢＡＣＥ）、グランザイムＡ、グランザイムＢ、グアニジノベンゾアターゼ、ヘプシン、マトリプターゼ、マトリプターゼ２、メプリン、ネプリージン、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）、腫瘍壊死因子変換酵素（ＴＡＣＥ）、カリクレイン関連ペプチダーゼ（ＫＬＫ）３、ＫＬＫ５、ＫＬＫ７、ＫＬＫ１１、Ｃ型肝炎ウイルスのＮＳ３／４プロテアーゼ（ＨＣＶ－ＮＳ３／４）、組織プラスミノーゲン活性化因子（ｔＰＡ）、カルパイン、カルパイン２、グルタメートカルボキシペプチダーゼＩＩ、血漿カリクレイン、ＡＭＳＨ様プロテアーゼ、ＡＭＳＨ、γセクレターゼ構成要素、抗プラスミン切断酵素（ＡＰＣＥ）、デシシン１、アポトーシス関連システインペプチダーゼ、又はＮ－アセチル化アルファ結合酸性ジペプチダーゼ様１である。

【００９０】

６．５．２．基質

腫瘍プロテアーゼによって切断可能であり、プロテアーゼ切断可能リンカーに組み込まれ得る例示的な基質配列を以下の表Ｂに記載する。

【００９１】

【表２－１】

表 B
プロテアーゼ切断可能リンカーのための基質配列

基質配列	表記	切断プロテアーゼ
$(DE)_8$RPLALWRS$(DR)_8$(配列番号 6)	SU1	MMP7
AARGPAIH(配列番号 7)	SU2	
AAYHLVSQ(配列番号 8)	SU3	コラゲナーゼ
AGLGISST(配列番号 9)	SU4	コラゲナーゼ
AGLGVVER(配列番号 10)	SU5	コラゲナーゼ
ALAL(配列番号 11)	SU6	リソソーム酵素
ALFFSSPP(配列番号 12)	SU7	
ALFKSSFP(配列番号 13)	SU8	
ALLLALL(配列番号 14)	SU9	TOP
AQFVLTEG(配列番号 15)	SU10	コラゲナーゼ
AQNLLGMV(配列番号 16)	SU11	
AVGLLAPP(配列番号 17)	SU12	セリンプロテアーゼ
DAFK(配列番号 18)	SU13	ウロキナーゼプラスミノーゲン活性化因子(uPA)
DEVD(配列番号 19)	SU14	カスパーゼ-3
DEVDP(配列番号 20)	SU15	カスパーゼ-3
DPRSFL(配列番号 21)	SU16	トロンビン
DVAQFVLT(配列番号 22)	SU17	コラゲナーゼ
DVLK(配列番号 23)	SU18	プラスミン
DWLYWPGI(配列番号 24)	SU19	
EDDDDKA(配列番号 25)	SU20	エンテロキナーゼ
EP(Cit)G(Hof)YL(配列番号 26)	SU21	MMP2、MMP9、MMP14
EPQALAMS(配列番号 27)	SU22	コラゲナーゼ
ESLPVVAV(配列番号 28)	SU23	コラゲナーゼ
ESPAYYTA(配列番号 29)	SU24	MMP
F(Pip)RS	SU25	トロンビン
FK	SU26	リソソーム酵素
FPRPLGITGL(配列番号 30)	SU27	
FRLLDWQW(配列番号 31)	SU28	
GFLG(配列番号 32)	SU29	リソソーム酵素
GGAANLVRGG(配列番号 33)	SU30	MMP11
GGGRR(配列番号 34)	SU31	ウロキナーゼプラスミノーゲン活性化因子(uPA)
GGPRGLPG(配列番号 35)	SU32	カテプシン K
GGQPSGMWGW(配列番号 36)	SU33	
GGSIDGR(配列番号 37)	SU34	因子 Xa
GGWHTGRN(配列番号 38)	SU35	
GIAGQ(配列番号 39)	SU36	コラゲナーゼ
GKAFRR(配列番号 40)	SU37	カリクレイン 2

【００９２】

【表２－２】

表 B
プロテアーゼ切断可能リンカーのための基質配列

基質配列	表記	切断プロテアーゼ
GPAGLYAQ(配列番号 41)	SU38	
GPAGMKGL(配列番号 42)	SU39	
GPEGLRVG(配列番号 43)	SU40	コラゲナーゼ
GPLGIAGI(配列番号 44)	SU41	コラゲナーゼ
GPLGVRG(配列番号 45)	SU42	
GPQGIAGQ(配列番号 46)	SU43	コラゲナーゼ
GPQGLLGA(配列番号 47)	SU44	コラゲナーゼ
GPRSFG(配列番号 48)	SU45	
GPRSFGL(配列番号 49)	SU46	
GPSHLVLT(配列番号 50)	SU47	
GVSQNYPIVG(配列番号 51)	SU48	HIV プロテアーゼ
GVVQASCRLA(配列番号 52)	SU49	CMV プロテアーゼ
GWEHDG(配列番号 53)	SU50	インターロイキン 1β 変換酵素
HSSKLQ(配列番号 54)	SU51	前立腺特異的抗原
HSSKLQEDA(配列番号 55)	SU52	前立腺特異的抗原
HSSKLQL(配列番号 56)	SU53	前立腺特異的抗原
HTGRSGAL(配列番号 57)	SU54	
IDGR(配列番号 58)	SU55	因子 Xa
IEGR(配列番号 59)	SU56	因子 Xa
ILPRSPAF(配列番号 60)	SU57	
IPVSLRSG(配列番号 61)	SU58	MMP
ISSGL(配列番号 62)	SU59	MMP
ISSGLL(配列番号 63)	SU60	MMP
ISSGLLS(配列番号 64)	SU61	MMP
ISSGLLSS(配列番号 65)	SU62	MMP
ISSGLSS(配列番号 66)	SU63	MMP
KGSGDVEG(配列番号 67)	SU64	カスパーゼ-3
KQEQNPGST(配列番号 68)	SU65	FAP
KRALGLPG(配列番号 69)	SU66	MMP7
LAAPLGLL(配列番号 70)	SU67	
LAPLGLQRR(配列番号 71)	SU68	
LAQKLKSS(配列番号 72)	SU69	
LAQRLRSS(配列番号 73)	SU70	
LEATA(配列番号 74)	SU71	MMP9
LKAAPRWA(配列番号 75)	SU72	
LLAPSHRA(配列番号 76)	SU73	
LPGGLSPW(配列番号 77)	SU74	
LSGRSANI(配列番号 78)	SU75	セリンプロテアーゼ

【００９３】

【表２－３】

表 B
プロテアーゼ切断可能リンカーのための基質配列

基質配列	表記	切断プロテアーゼ
LSGRSANP(配列番号 79)	SU76	セリンプロテアーゼ
LSGRSDDH(配列番号 80)	SU77	セリンプロテアーゼ
LSGRSDIH(配列番号 81)	SU78	セリンプロテアーゼ
LSGRSDNH(配列番号 82)	SU79	セリンプロテアーゼ
LSGRSDNI(配列番号 83)	SU80	セリンプロテアーゼ
LSGRSDNP(配列番号 84)	SU81	セリンプロテアーゼ
LSGRSDQG(配列番号 85)	SU82	セリンプロテアーゼ
LSGRSDQH(配列番号 86)	SU83	セリンプロテアーゼ
LSGRSDTH(配列番号 87)	SU84	セリンプロテアーゼ
LSGRSDYH(配列番号 88)	SU85	セリンプロテアーゼ
LSGRSGNH(配列番号 89)	SU86	セリンプロテアーゼ
LVLASSSFGY(配列番号 90)	SU87	単純ヘルペスウイルスプロテアーゼ
MDAFLESS(配列番号 91)	SU88	コラゲナーゼ
MGLFSEAG(配列番号 92)	SU89	
MIAPVAYR(配列番号 93)	SU90	
MVLGRSLL(配列番号 94)	SU91	
NLL	SU92	カテプシン B
NTLSGRSENHSG(配列番号 95)	SU93	
NTLSGRSGNHGS(配列番号 96)	SU94	
PAGLWLDP(配列番号 97)	SU95	
PGGPAGIG(配列番号 98)	SU96	
PIC(Et)FF(配列番号 99)	SU97	カテプシン D
PLGC(me)AG(配列番号 100)	SU98	MMP
PLGL(配列番号 101)	SU99	
PLGLAG(配列番号 102)	SU100	MMP
PLGLAX(配列番号 103)	SU101	MMP
PLGLWA(配列番号 104)	SU102	MMP
PLGLWSQ(配列番号 105)	SU103	MMP
PLTGRSGG(配列番号 106)	SU104	
PMAKK(配列番号 107)	SU105	
PPRSFL(配列番号 108)	SU106	トロンビン
PR(S/T)(L/I)(S/T)	SU107	MMP9
PRFRIIGG(配列番号 109)	SU108	プラスミン
PVGYTSSL(配列番号 110)	SU109	
PVQPIGPQ(配列番号 111)	SU110	コラゲナーゼ
QALAMSAI(配列番号 112)	SU111	コラゲナーゼ
QGRAITFI(配列番号 113)	SU112	

【００９４】

【表２－４】

表B プロテアーゼ切断可能リンカーのための基質配列		
基質配列	表記	切断プロテアーゼ
QNQALRMA(配列番号 114)	SU113	
RGPA(配列番号 115)	SU114	
RGPAFNPM(配列番号 116)	SU115	
RGPATPIM(配列番号 117)	SU116	
RKSSIIIRMRDVVL(配列番号 118)	SU117	プラスミン
RLQLKAC(配列番号 119)	SU118	MMP
RLQLKL(配列番号 120)	SU119	MMP
RMHLRSLG(配列番号 121)	SU120	
RPSPMWAY(配列番号 122)	SU121	
RQARVVNG(配列番号 123)	SU122	マトリパーゼ
SAGFSLPA(配列番号 125)	SU123	
SAPAVESE(配列番号 126)	SU124	コラゲナーゼ
SARGPSRW(配列番号 127)	SU125	
SGEPAYYTA(配列番号 128)	SU126	
SGGPLGVR(配列番号 129)	SU127	
SGRIGFLRTA(配列番号 130)	SU128	MMP14
SGRSA(配列番号 131)	SU129	ウロキナーゼプラスミノーゲン活性化因子(uPA)
SGRSANPRG(配列番号 132)	SU130	
SMLRSMPL(配列番号 133)	SU131	
SPLPLRVP(配列番号 134)	SU132	
SPLTGRSG(配列番号 135)	SU133	
SPRSIMLA(配列番号 136)	SU134	
SSRGPAYL(配列番号 137)	SU135	
SSRHRRALD(配列番号 138)	SU136	プラスミン
SSSFDKGKYKKGDDA(配列番号 139)	SU137	プラスミン
SSSFDKGKYKRGDDA(配列番号 140)	SU138	プラスミン
STFPFGMF(配列番号 141)	SU139	
TARGPSFK(配列番号 142)	SU140	
TGRGPSWV(配列番号 143)	SU141	
TSGRSANP(配列番号 144)	SU142	
TSTSGRSANPRG(配列番号 145)	SU143	
VAGRSMRP(配列番号 146)	SU144	
VAQFVLTE(配列番号 147)	SU145	コラゲナーゼ
VHMPLGFLGP(配列番号 148)	SU146	
VPLSLYSG(配列番号 149)	SU147	MMP9
VVPEGRRS(配列番号 150)	SU148	
WATPRPMR(配列番号 151)	SU149	

【００９５】

【表２－５】

表B プロテアーゼ切断可能リンカーのための基質配列		
基質配列	表記	切断プロテアーゼ
YGAGLGVV(配列番号 152)	SU150	コラゲナーゼ
HPVGLLAR(配列番号 261)	SU151	

【００９６】

６．５．３．スペーサー

プロテアーゼ切断可能リンカーに組み込まれ得る例示的なスペーサー配列を以下の表Ｃに記載する。表Ｃに記載のスペーサー配列に加えて、セクション６．６に記載の非切断可能リンカー配列のうちのいずれか、例えば、表Ｅに記載の非切断可能リンカー配列、又はその部分は、スペーサー配列として使用され得る。

【００９７】

【表３－１】

表C
プロテアーゼ切断可能リンカーのためのスペーサー配列

スペーサー配列	表記
$(GGGGS)_n$(配列番号 153)	SP1
$(GGGS)_n$(配列番号 154)	SP2
$(GGS)_n$	SP3
$(GS)_n$	SP4
$(GSGGS)_n$(配列番号 155)	SP5
GGGGSGGGGS(配列番号 156)	SP6
GGGGSGGGGSGGGGS(配列番号 157)	SP7
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS(配列番号 158)	SP8
GGGKSGGGKSGGGKS(配列番号 159)	SP9
GGGKSGGKGSGKGGS(配列番号 160)	SP10
GGGS(配列番号 161)	SP11
GGGSG(配列番号 162)	SP12
GGKGSGGKGSGGKGS(配列番号 163)	SP13
GGSGGGGSGGGGS(配列番号 164)	SP14
GGSGGS(配列番号 165)	SP15
GGSGGSGGSGS(配列番号 166)	SP16
GSGGG(配列番号 167)	SP17
GSGSG(配列番号 168)	SP18
GSS	SP19
GSSG(配列番号 169)	SP20
GSSGGSGGSG(配列番号 170)	SP21
GSSGGSGGSGG(配列番号 171)	SP22
GSSGGSGGSGGS(配列番号 172)	SP23
GSSGGSGGSGGSG(配列番号 173)	SP24
GSSGGSGGSGGSGGGS(配列番号 174)	SP25
GSSGGSGGSGS(配列番号 175)	SP26
GSSGT(配列番号 176)	SP27
GSSSG(配列番号 177)	SP28
QGQSGQ(配列番号 178)	SP29
QGQSGQG(配列番号 179)	SP30
QGQSGS(配列番号 180)	SP31
QSGQ(配列番号 181)	SP32
QSGQG(配列番号 182)	SP33

【００９８】

【表３－２】

表C
プロテアーゼ切断可能リンカーのためのスペーサー配列

スペーサー配列	表記
QSGS(配列番号 183)	SP34
SGQ	SP35
SGQG(配列番号 184)	SP36
SGS	SP37
$(G)_n$	SP38

【００９９】
いくつかの実施形態では、上記の表Ｃで使用されるように、ｎは、１～１０の整数、例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０である。
６．５．４．例示的なプロテアーゼ切断可能リンカー
１つ以上の基質配列及びスペーサー配列を含む例示的なプロテアーゼ切断可能リンカーを以下の表Ｄに記載する。
【０１００】

【表４－１】

表 D
プロテアーゼ切断可能リンカー配列

リンカー配列	表記	切断プロテアーゼ(複数可)
GGGISSGLLSGRSDNHGGGISSGLLSGRSDNHGGS(配列番号 185)	PCL1	
GGGISSGLLSGRSDNHGGGISSGLLSGRSDNHGGS GGGISSGLLSGRSDNHGGGISSGLLSGRSDNHGGS(配列番号 186)	PCL2	
GGSGGSIPVSLRSGGGISSGLLSGRSDNHGGSGGS(配列番号 187)	PCL3	
GGSGGSVPLSLYSGGGISSGLLSGRSDNHGGSGGS(配列番号 188)	PCL4	
GGSHPVGLLARGGGHPVGLLARGGGHPVGLLARGS(配列番号 189)	PCL5	
GGSHPVGLLARGGGHPVGLLARGGSGRSAGGSGRSA(配列番号 190)	PCL6	
AVGLLAPPGGLSGRSANI(配列番号 191)	PCL7	ADAM17_2、FAPa_1、CTSL1_1
AVGLLAPPGGLSGRSANP(配列番号 192)	PCL8	FAPa_1、ADAM17_2、CTSL1_1
AVGLLAPPGGLSGRSDDH(配列番号 193)	PCL9	MMP14_1、MMP14_1、MMP14_1
AVGLLAPPGGLSGRSDIH(配列番号 194)	PCL10	MMP14_1、MMP14_1、MMP14_1
AVGLLAPPGGLSGRSDNH(配列番号 195)	PCL11	MMP14_1、MMP14_1
AVGLLAPPGGLSGRSDNI(配列番号 196)	PCL12	MMP14_1、CTSL1_1、ADAM17_2
AVGLLAPPGGLSGRSDNP(配列番号 197)	PCL13	CTSL1_1、ADAM17_2、FAPa_1
AVGLLAPPGGLSGRSDQH(配列番号 198)	PCL14	
AVGLLAPPGGLSGRSDTH(配列番号 199)	PCL15	FAPa_1、CTSL1_1、ADAM17_2
AVGLLAPPGGLSGRSDYH(配列番号 200)	PCL16	
AVGLLAPPGGTSTSGRSANPRG(配列番号 201)	PCL17	
AVGLLAPPSGRSANPRG(配列番号 202)	PCL18	
AVGLLAPPTSGRSANPRG(配列番号 203)	PCL19	

【０１０１】

【表４－２】

表 D プロテアーゼ切断可能リンカー配列		
リンカー配列	表記	切断プロテアーゼ(複数可)
GGALFKSSFPGPAGLYAQPLAQKLKSSGGK(配列番号 204)	PCL20	CTSL1_1、MMP14_1、ADAM17_2
GGGGSGGGGSGGGGSFVGGTGGGGSGGGGSGGS(配列番号 205)	PCL21	
GGGGSGGGGSGGGGSISSGLLSGRSDNHGGSGGS(配列番号 206)	PCL22	
GGGGSGGGGSGGGGSVPLSLYSGGGSGGSGGSGS(配列番号 207)	PCL23	
GGGGSGGGGSGPLGLWSQGGGGSGGGGSGGGGSGG(配列番号 208)	PCL24	
GGGGSGGGGSKKAAPGGGGSGGGGSGGGGSGGS(配列番号 209)	PCL25	
GGGGSGGGGSKKAAPVNGGGGGSGGGGSGGGGS(配列番号 210)	PCL26	
GGGGSGGGGSPMAKKGGGGSGGGGSGGGGSGGS(配列番号 211)	PCL27	
GGGGSGGGGSPMAKKVNGGGGGSGGGGSGGGGS(配列番号 212)	PCL28	
GGGGSGGGGSQARAKGGGGSGGGGSGGGGSGGS(配列番号 213)	PCL29	
GGGGSGGGGSQARAKVNGGGGGSGGGGSGGGGS(配列番号 214)	PCL30	
GGGGSGGGGSRQARVVNGGGGGSGGGGSGGGGS(配列番号 215)	PCL31	
GGGGSGGGGSRQARVVNGGGGGSVPLSLYSGGGGGSGGGGS(配列番号 216)	PCL32	
GGGGSGGGGSRQARVVNSVPLSLYSGGGGGSGGGGS(配列番号 217)	PCL33	
GGGGSGGGGSVHMPLGFLGPGGGGSGGGGSGGS(配列番号 218)	PCL34	
GGGGSVHMPLGFLGPGRSRGSFPGGGGS(配列番号 219)	PCL35	
GGGGSVHMPLGFLGPPMAKKGGGGSGGGGSGGS(配列番号 220)	PCL36	
GGGGSVHMPLGFLGPRQARVVNGGGGSGGGGS(配列番号 221)	PCL37	
GGGGSVHMPLGFLGPRQARVVNGGGGSGGGGSGG(配列番号 222)	PCL38	
GGPLAQKLKSSALFKSSFPGPAGLYAQGGR(配列番号 223)	PCL39	ADAM17_2、CTSL1_1、MMP14_1

【０１０２】

【表４－３】

表D プロテアーゼ切断可能リンカー配列		
リンカー配列	表記	切断プロテアーゼ(複数可)
GLSGRSDNHGGAVGLLAPP(配列番号224)	PCL40	
GLSGRSDNHGGVHMPLGFLGP(配列番号225)	PCL41	
ISSGLLSGRSANI(配列番号226)	PCL42	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSANP(配列番号227)	PCL43	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSANPRG(配列番号228)	PCL44	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSDDH(配列番号229)	PCL45	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSDIH(配列番号230)	PCL46	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSDNH(配列番号231)	PCL47	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSDNI(配列番号232)	PCL48	CTSL1_1、MMP14_1
ISSGLLSGRSDNP(配列番号233)	PCL49	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSDQH(配列番号234)	PCL50	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSDTH(配列番号235)	PCL51	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSDYH(配列番号236)	PCL52	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSGRSGNH(配列番号237)	PCL53	MMP、セリンプロテアーゼ
ISSGLLSSGGSGGSLSGRSDNH(配列番号238)	PCL54	
ISSGLLSSGGSGGSLSGRSGNH(配列番号239)	PCL55	
KGGPGGPAGIGPLAQRLRSSALFKSSFPGR(配列番号240)	PCL56	FAPa_1、ADAM17_1、CTSL1_1
KSGPGGPAGIGALFFSSPPLAQKLKSSGGR(配列番号241)	PCL57	FAPa_1、CTSL1_2、ADAM17_2
LSGRSDNHGGAVGLLAPP(配列番号242)	PCL58	
LSGRSDNHGGSGGSISSGLLSS(配列番号243)	PCL59	
LSGRSDNHGGSGGSQNQALRMA(配列番号244)	PCL60	
LSGRSDNHGGVHMPLGFLGP(配列番号245)	PCL61	
LSGRSGNHGGSGGSISSGLLSS(配列番号246)	PCL62	
LSGRSGNHGGSGGSQNQALRMA(配列番号247)	PCL63	
QNQALRMAGGSGGSLSGRSDNH(配列番号248)	PCL64	
QNQALRMAGGSGGSLSGRSGNH(配列番号249)	PCL65	

【０１０３】

【表４－４】

表 D
プロテアーゼ切断可能リンカー配列

リンカー配列	表記	切断プロテアーゼ(複数可)
RGGALFKSSFPLAQKLKSSGPAGLYAQGGK(配列番号 250)	PCL66	CTSL1_1、ADAM17_2、MMP14_1
RGGGPAGLYAQPLAQKLKSSALFKSSFPGG(配列番号 251)	PCL67	MMP14_1、ADAM17_2、CTSL1_1
SGGFPRSGGSFNPRTFGSKRKRRGSRGGGG(配列番号 252)	PCL68	トロンビン、因子 Xa、ヘプシン
SGPLAQKLKSSGPAGLYAQALFKSSFPGSK(配列番号 253)	PCL69	ADAM17_2、MMP14_1、CTSL1_1
TSTSGRSANPRGGGAVGLLAPP(配列番号 254)	PCL70	
TSTSGRSANPRGGGVHMPLGFLGP(配列番号 255)	PCL71	
VHMPLGFLGPGGLSGRSDNH(配列番号 256)	PCL72	
VHMPLGFLGPGGTSTSGRSANPRG(配列番号 257)	PCL73	
SGRSAGGGSGRSAGGGSGRSA(配列番号 258)	PCL74	uPA
HPVGLLARGGGHPVGLLARGGGSGRSAGGGSGRSA(配列番号 259)	PCL75	MPA(MMP-2 及び uPA)
GPLGVRGK(配列番号 260)	PCL76	MMP-2
HPVGLLAR(配列番号 261)	PCL77	MMP-2
GPQGIAGQ(配列番号 46)	PCL78	MMP-2、MMP-9、及びある程度まで MT1-MMP
VPMSMRGG(配列番号 262)	PCL79	MMP-9 及び MMP-2
IPVSLRSG(配列番号 61)	PCL80	MMP-2、及びある程度まで MMP-9 又は MMP-7
RPFSMIMG(配列番号 263)	PCL81	MMP-9 及び MMP-7、ある程度まで MMP-3
VPLSLTMG(配列番号 264)	PCL82	MMP-7、ある程度まで MMP-9、MMP-2、MPT-1-MMP
VPLSLYSG(配列番号 149)	PCL83	MMP-2、MMP-9、MMP-7
IPESLRAG(配列番号 265)	PCL84	MMP-2、MMP-7、MMP-9、ある程度まで MPT-1-MMP
GGGISSGLLSGRSDNHGGGS(配列番号 338)	PCL85	
GGGHPVGLLARGGGS(配列番号 339)	PCL86	

【０１０４】

【表４－５】

表D
プロテアーゼ切断可能リンカー配列

リンカー配列	表記	切断プロテアーゼ(複数可)
GGGSGGGSGGGGISSGLLSGRSDNHGGGSGGGSGGS(配列番号340)	PCL87	
GGGGISSGLLSGRSDNHGGGISSGLLSGRSDNHGGS(配列番号341)	PCL88	
GGGSGGSIPVSLRSGGGISSGLLSGRSDNHGGSGGS(配列番号342)	PCL89	
GGGSGGSVPLSLYSGGGISSGLLSGRSDNHGGSGGS(配列番号343)	PCL90	
GGGSHPVGLLARGGGHPVGLLARGGGHPVGLLARGS(配列番号344)	PCL91	
GGGSHPVGLLARGGGHPVGLLARGGSGRSAGGSGRS(配列番号345)	PCL92	
GISSGLLSGRSDNHG(配列番号354)	PCL93	
GGGSISSGLLSGRSDNHGGGS(配列番号355)	PCL94	

【０１０５】
ある特定の態様では、プロテアーゼ切断可能リンカーは、表Ｄに記載の配列と比較して最大５、最大４、最大３、最大２、又は最大１個のアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含む。したがって、いくつかの実施形態では、プロテアーゼ切断可能リンカーは、表Ｄに記載の配列と比較して１～５個のアミノ酸置換を有する表Ｄの任意のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる。

【０１０６】
６．６．非切断可能リンカー
ある特定の態様では、本開示は、ＩＬ２プロタンパク質の２つ以上の構成要素がペプチドリンカーによって互いに接続されているＩＬ２プロタンパク質を提供する。限定ではなく例として、リンカーを使用して、Ｆｃドメイン及びＩＬ２Ｒα部分、又は標的化部分内の異なるドメイン（例えば、ｓｃＦｖにおけるＶＨ及びＶＬドメイン）を接続することができる。

【０１０７】
好ましくは、その切断がＩＬ２の活性化をもたらすプロテアーゼ切断可能リンカー以外のＩＬ２プロタンパク質における全てのリンカーは、非切断可能リンカー（ＮＣＬ）である。

【０１０８】
非切断可能リンカーは、２アミノ酸～６０アミノ酸以上の範囲であり得、ある特定の態様では、非切断可能リンカーは、３アミノ酸～５０アミノ酸、４～３０アミノ酸、５～２５アミノ酸、１０～２５アミノ酸、１０アミノ酸～６０アミノ酸、１２アミノ酸～２０アミノ酸、２０アミノ酸～５０アミノ酸、又は２５アミノ酸～３５アミノ酸長の範囲である。

【０１０９】
特定の態様では、非切断可能リンカーは、少なくとも５アミノ酸、少なくとも６アミノ酸、又は少なくとも７アミノ酸長であり、任意選択で、最大３０アミノ酸、最大４０アミノ酸、最大５０アミノ酸、又は最大６０アミノ酸長である。

【０１１０】
前述のいくつかの実施形態では、非切断可能リンカーは、５アミノ酸～５０アミノ酸長の範囲であり、例えば、５～５０、５～４５、５～４０、５～３５、５～３０、５～２５、又は５～２０アミノ酸長の範囲である。前述の他の実施形態では、非切断可能リンカーは、６アミノ酸～５０アミノ酸長の範囲であり、例えば、６～５０、６～４５、６～４０、６～３５、６～３０、６～２５、又は６～２０アミノ酸長の範囲である。前述の更に他の実施形態では、非切断可能リンカーは、７アミノ酸～５０アミノ酸長の範囲であり、例えば、７～５０、７～４５、７～４０、７～３５、７～３０、７～２５、又は７～２０アミノ酸長の範囲である。

【０１１１】
荷電（例えば、荷電親水性リンカー）及び／又は柔軟なリンカーが特に好ましい。
本開示のＩＬ２プロタンパク質に使用され得る柔軟なリンカーの例としては、Ｃｈｅｎｅｔ ａｌ．，２０１３，Ａｄｖ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖ Ｒｅｖ．６５（１０）：１３５７－１３６９及びＫｌｅｉｎ ｅｔ ａｌ．，２０１４，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，Ｄｅｓｉｇｎ＆Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ ２７（１０）：３２５－３３０に開示されるものが挙げられる。特に有用な柔軟な非切断可能リンカーは、グリシン及びセリンの繰り返し、例えば、G_nS（配列番号２６６）若しくはSG_n（配列番号２６７）のモノマー若しくはマルチマーであるか、又はこれらを含み、ｎは、１～１０の整数、例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０である。一実施形態では、非切断可能リンカーは、G_4S（配列番号１）の繰り返し、例えば、$(GGGGS)_n$（配列番号１５３）のモノマー若しくはマルチマーであるか、又はそれを含む。

【０１１２】
ポリグリシン非切断可能リンカーは、本開示のＩＬ２プロタンパク質において好適に使用され得る。いくつかの実施形態では、ペプチド非切断可能リンカーは、２つの連続したグリシン（２Ｇｌｙ）、３つの連続したグリシン（３Ｇｌｙ）、４つの連続したグリシン（４Ｇｌｙ）（配列番号２６８）、５つの連続したグリシン（５Ｇｌｙ）（配列番号２６９）、６つの連続したグリシン（６Ｇｌｙ）（配列番号２７０）、７つの連続したグリシン（７Ｇｌｙ）（配列番号２７１）、８つの連続したグリシン（８Ｇｌｙ）（配列番号２７２）又は９つの連続したグリシン（９Ｇｌｙ）（配列番号２７３）を含む。

【０１１３】
例示的な非切断可能リンカー配列を以下の表Ｅに記載する。

【０１１４】

【表５－１】

表E 非切断可能リンカー配列	
リンカー配列	表記
GGGGSLALGPGGGGGSLALGPGGGGGSLALGPGGS(配列番号274)	NCL1
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS(配列番号275)	NCL2
$(GGGGS)_n$(配列番号153)	NCL3
$(GGGS)_n$(配列番号154)	NCL4
$(GGS)_n$	NCL5
$(GS)_n$	NCL6
$(GSGGS)_n$(配列番号155)	NCL7
ADAAP(配列番号276)	NCL8
ADAAPTVSIFP(配列番号277)	NCL9
ADAAPTVSIFPP(配列番号278)	NCL10
AKTTAP(配列番号279)	NCL11
AKTTAPSVYPLAP(配列番号280)	NCL12
AKTTPKLEEGEFSEARV(配列番号281)	NCL13
AKTTPKLGG(配列番号282)	NCL14
AKTTPP(配列番号283)	NCL15
AKTTPPSVTPLAP(配列番号284)	NCL16
ASTKGP(配列番号285)	NCL17
ASTKGPSVFPLAPASTKGPSVFPLAP(配列番号286)	NCL18
EGKSSGSGSESKST(配列番号287)	NCL19
GEGESGEGESGEGES(配列番号288)	NCL20
GEGESGEGESGEGESGEGES(配列番号289)	NCL21
GEGGSGEGGSGEGGS(配列番号290)	NCL22
GENKVEYAPALMALS(配列番号291)	NCL23
GGEGSGGEGSGGEGS(配列番号292)	NCL24
GGGESGGEGSGEGGS(配列番号293)	NCL25
GGGESGGGESGGGES(配列番号294)	NCL26
GGGGSGGGGS(配列番号156)	NCL27
GGGGSGGGGSGGGGS(配列番号157)	NCL28
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS(配列番号158)	NCL29
GGGKSGGGKSGGGKS(配列番号159)	NCL30
GGGKSGGKGSGKGGS(配列番号160)	NCL31
GGGS(配列番号161)	NCL32
GGGSG(配列番号162)	NCL33
GGKGSGGKGSGGKGS(配列番号163)	NCL34

【０１１５】

【表５－２】

表E 非切断可能リンカー配列	
リンカー配列	表記
GGS	NCL35
GGSG(配列番号 295)	NCL36
GGSGG(配列番号 296)	NCL37
GGSGG(配列番号 296)	NCL38
GGSGGGGSG(配列番号 297)	NCL39
GGSGGGGSGGGGS(配列番号 164)	NCL40
GHEAAAVMQVQYPAS(配列番号 298)	NCL41
GKGGSGKGGSGKGGS(配列番号 299)	NCL42
GKGKSGKGKSGKGKS(配列番号 300)	NCL43
GKGKSGKGKSGKGKSGKGKS(配列番号 301)	NCL44
GKPGSGKPGSGKPGS(配列番号 302)	NCL45
GKPGSGKPGSGKPGSGKPSGS(配列番号 303)	NCL46
GPAKELTPLKEAKVS(配列番号 304)	NCL47
GSAGSAAGSGEF(配列番号 305)	NCL48
GSGGG(配列番号 167)	NCL49
GSGSG(配列番号 168)	NCL50
GSS	NCL51
GSSG(配列番号 169)	NCL52
GSSGGSGGSG(配列番号 170)	NCL53
GSSGGSGGSGG(配列番号 171)	NCL54
GSSGGSGGSGGS(配列番号 172)	NCL55
GSSGGSGGSGGSG(配列番号 173)	NCL56
GSSGGSGGSGGSGGGS(配列番号 174)	NCL57
GSSGGSGGSGS(配列番号 175)	NCL58
GSSGT(配列番号 176)	NCL59
GSSSG(配列番号 177)	NCL60
GSTSGSGKPGSGEGSTKG(配列番号 306)	NCL61
GTAAAGAGAAGGAAAGAAG(配列番号 307)	NCL62
GTSGSSGSGSGGSGSGGGG(配列番号 308)	NCL63
IRPRAIGGSKPRVA(配列番号 309)	NCL64
KESGSVSSEQLAQFRSLD(配列番号 310)	NCL65
KTTPKLEEGEFSEAR(配列番号 311)	NCL66
PRGASKSGSASQTGSAPGS(配列番号 312)	NCL67
QPKAAP(配列番号 313)	NCL68

【０１１６】

【表５－３】

表E
非切断可能リンカー配列

リンカー配列	表記
QPKAAPSVTLFPP(配列番号 314)	NCL69
RADAAAA(G4S)$_4$(配列番号 315)	NCL70
RADAAAAGGPGS(配列番号 316)	NCL71
RADAAP(配列番号 317)	NCL72
RADAAPTVS(配列番号 318)	NCL73
SAKTTP(配列番号 319)	NCL74
SAKTTPKLEEGEFSEARV(配列番号 320)	NCL75
SAKTTPKLGG(配列番号 321)	NCL76
STAGDTHLGGEDFD(配列番号 322)	NCL77
TVAAP(配列番号 323)	NCL78
TVAAPSVFIFPP(配列番号 324)	NCL79
TVAAPSVFIFPPTVAAPSVFIFPP(配列番号 325)	NCL80

【０１１７】
ある特定の態様では、本開示のＩＬ２プロタンパク質は、Ｎ末端からＣ末端の配向で、標的化部分（又は標的化部分鎖）、ヒンジドメイン及びＣＨ２ドメイン、並びにＣＨ３ドメインを含むポリペプチド鎖を含み得る。したがって、ヒンジドメインは、標的化部分をＣＨ２ドメインと接続し、一種のリンカーを構成すると言うこうことができる。例示的なヒンジドメインは、セクション６．９．３に記載されている。
【０１１８】
６．７．標的化部分
本開示のＩＬ２プロタンパク質に標的化部分を組み込むことにより、腫瘍微小環境への高濃度のＩＬ２の送達が可能になり、同時に全身曝露が低減され、マスキングされていないＩＬ２を用いて得られるよりも副作用が少ない。
【０１１９】
特定の部位又は組織に存在するか、又はＩＬ２プロタンパク質を駆動することができる任意のタイプの標的分子が、本開示のＩＬ２プロタンパク質によって標的化され得ることが予想される。いくつかの実施形態では、ＩＬ２プロタンパク質は、例えば、腫瘍組織に対する局所免疫応答を誘導することによって、がんを治療することを意図している。したがって、標的化分子は、任意の局所腫瘍及び関連する標的分子であり得る。本開示のＩＬ２プロタンパク質の標的化部分によって認識される標的分子は、概して、例えば、活性化されたＴ細胞の表面上、腫瘍細胞の表面上、ウイルス感染細胞の表面上、他の罹患細胞の表面上、血清中遊離状態で、細胞外マトリックス（ＥＣＭ）中、又は標的部位に存在する免疫細胞、例えば、腫瘍反応性リンパ球に見出される。
【０１２０】
様々な態様では、標的化部分は、細胞外マトリックス（「ＥＣＭ」）抗原、腫瘍反応性リンパ球抗原、腫瘍若しくはウイルスリンパ球の細胞表面分子、Ｔ細胞抗原（「ＴＣＡ」）、チェックポイント阻害剤、又は腫瘍関連抗原（「ＴＡＡ」）に結合し得る。当業者は、標的分子の前述のカテゴリが相互に排他的ではなく、したがって、所与の標的分子が標的分子の前述のカテゴリのうちの複数に分類され得ることを認識するであろう。例えば、いくつかの分子は、ＴＡＡ及びＥＣＭタンパク質の両方とみなされ得、他の分子は、ＴＣＡ及びチェックポイント阻害剤の両方とみなされ得る。

【０１２１】
標的とされ得るがんの例示的なタイプとしては、急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病、胆道がん、Ｂ細胞白血病、Ｂ細胞リンパ腫、胆道がん、骨がん、脳がん、乳がん、トリプルネガティブ乳がん、子宮頸がん、バーキットリンパ腫、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、結腸直腸がん、子宮内膜がん、食道がん、胆嚢がん、胃がん、消化管がん、神経膠腫、有毛細胞性白血病、頭頸部がん、ホジキンリンパ腫、肝臓がん、肺がん、甲状腺髄様がん、黒色腫、多発性骨髄腫、卵巣がん、非ホジキンリンパ腫、膵臓がん、前立腺がん、肺路がん、腎がん、肉腫、皮膚がん、精巣がん、尿路上皮がん、及び他の膀胱がんが挙げられる。しかしながら、当業者は、ＴＡＡ及び腫瘍微小環境に関連する他の標的分子が、実質的に任意のタイプのがんについて既知であることを認識するであろう。

【０１２２】
ＥＣＭ抗原の非限定的な例としては、シンデカン、ヘパラナーゼ、インテグリン、オステオポンチン、リンク、カドヘリン、ラミニン、ラミニンＥＧＦ型、レクチン、フィブロネクチン、ノッチ、ネクチン（例えば、ネクチン－４）、テネイシン、コラーゲン（例えば、コラーゲンＸ型）、及びマトリキシンが挙げられる。

【０１２３】
他の標的分子は、腫瘍又はウイルスリンパ球の細胞表面分子、例えば、ＣＤ２７、ＣＤ２８、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＯＸ４０、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＩＣＯＳ、リンパ球機能関連抗原－１（ＬＦＡ－１）、ＣＤ２、ＣＤ７、ＬＩＧＨＴ、ＮＫＧ２Ｃ、及びＢ７－Ｈ３などのＴ細胞共刺激タンパク質である。

【０１２４】
特定の実施形態では、標的分子は、チェックポイント阻害剤、例えば、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ１、ＰＤＬ１、ＰＤＬ２、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＨＶＥＭ、ＴＩＭ３、ＧＡＬ９、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＫＩＲ、２Ｂ４、ＣＤ１６０、ＣＧＥＮ－１５０４９、ＣＨＫ１、ＣＨＫ２である。特定の実施形態では、標的分子はＰＤ１である。他の実施形態では、標的分子はＬＡＧ３である。

【０１２５】
抗体及び抗原結合部分は、概して、特定の抗原決定基に結合し、ＩＬ２プロタンパク質を標的部位、例えば、抗原決定基を保有する特定の腫瘍細胞型又は腫瘍間質に指向することができる。特定の実施形態では、標的化部分は、腫瘍関連抗原（ＴＡＡ）を認識する。好ましくは、ＴＡＡは、ヒトＴＡＡである。抗原は、正常な細胞上に存在してもよく、又は存在しなくてもよい。ある特定の実施形態では、ＴＡＡは、正常細胞と比較して、腫瘍細胞上で優先的に発現又は上方調節される。他の実施形態では、ＴＡＡは、系譜マーカーである。例示的なＴＡＡとしては、線維芽細胞活性化タンパク質（ＦＡＰ）、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／メラン－Ａ、ｇｐ１００、ジペプチジルペプチダーゼＩＶ（ＤＰＰＩＶ）、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、結腸直腸関連抗原（ＣＲＣ）－Ｃ０１７－１Ａ／ＧＡ７３３、がん胎児性抗原（ＣＥＡ）及びその免疫原性エピトープＣＡＰ－１及びＣＡＰ－２、ｅｔｖ６、ａｍｌ１、前立腺特異的抗原（ＰＳＡ）及びその免疫原性エピトープＰＳＡ－１、ＰＳＡ－２、及びＰＳＡ－３、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）、Ｔ細胞受容体／ＣＤ３－ゼータ鎖、ＭＡＧＥ－腫瘍抗原ファミリー（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－腫瘍抗原ファミリー（例えば、ＧＡＧＥ－１、ＧＡＧＥ－２、ＧＡＧＥ－３、ＧＡＧＥ－４、ＧＡＧＥ－５、ＧＡＧＥ－６、Ｇ

ＡＧＥ－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、ＨＥＲ２／ｎｅｕ、ｐ２１ｒａｓ、ＲＣＡＳ１、α－フェトプロテイン、Ｅ－カドヘリン、α－カテニン、β－カテニン、及びγ－カテニン、ｐ１２０ｃｔｎ、ｇｐ１００　Ｐｍｅｌ１１７、ＰＲＡＭＥ、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ｃｄｃ２７、大腸腺腫症タンパク質（ＡＰＣ）、フォドリン、コネキシン３７、Ｉｇ－イディオタイプ、ｐ１５、ｇｐ７５、ＧＭ２、及び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、腫瘍抗原のＳｍａｄファミリー、Ｉｍｐ－１、Ｐ１Ａ、ＥＢＶコード化核抗原（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、及びＣＴ－７、ｃ－ｅｒｂＢ－２、Ｈｅｒ２、ＥＧＦＲ、ＩＧＦ－１Ｒ、ＣＤ２（Ｔ細胞表面抗原）、ＣＤ３（ＴＣＲに関連するヘテロマルチマー）、ＣＤ２２（Ｂ細胞受容体）、ＣＤ２３（低親和性ＩｇＥ受容体）、ＣＤ３０（サイトカイン受容体）、ＣＤ３３（骨髄細胞表面抗原）、ＣＤ４０（腫瘍壊死因子受容体）、ＩＬ－６Ｒ－（ＩＬ６受容体）、ＣＤ２０、ＭＣＳＰ、ＰＤＧＦβＲ（β－血小板由来成長因子受容体）、ＥｒｂＢ２上皮細胞接着分子（ＥｐＣＡＭ）、ＥＧＦＲバリアントＩＩＩ（ＥＧＦＲｖＩＩＩ）、ＣＤ１９、ジシアロガングリオシドＧＤ２、管上皮ムチン、ｇｐ３６、ＴＡＧ－７２、神経膠腫関連抗原、β－ヒト絨毛性ゴナドトロピン、アルファフェトプロテイン（ＡＦＰ）、レクチン反応性ＡＦＰ、サイログロブリン、ＭＮ－ＣＡ　ＩＸ、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、ＲＵ１、ＲＵ２（ＡＳ）、腸内カルボキシルエステラーゼ、ｍｕｔ　ｈｓｐ７０－２、Ｍ－ＣＳＦ、プロスターゼ（ｐｒｏｓｔａｓｅ）、プロスターゼ特異的抗原（ＰＳＡ）、ＰＡＰ、ＬＡＧＡ－１ａ、ｐ５３、プロステイン（ｐｒｏｓｔｅｉｎ）、ＰＳＭＡ、生存及びテロメラーゼ、前立腺がん腫瘍抗原－１（ＰＣＴＡ－１）、ＥＬＦ２Ｍ、好中球エラスターゼ、エフリンＢ２、インスリン成長因子（ＩＧＦ１）－Ｉ、ＩＧＦ－ＩＩ、ＩＧＦＩ受容体、５Ｔ４、ＲＯＲ１、Ｎｋｐ３０、ＮＫＧ２Ｄ、腫瘍間質抗原、フィブロネクチンのエクストラドメインＡ（ＥＤＡ）及びエクストラドメインＢ（ＥＤＢ）、並びにテネイシン－ＣのＡ１ドメイン（ＴｎＣ　Ａ１）が挙げられる。

【０１２６】

好適な標的化部分のフォーマットは、セクション６．８に記載される。標的化部分は、好ましくは、抗原結合部分、例えば、抗体又は抗体の抗原結合部分、例えば、セクション６．８．２に記載のｓｃＦｖ、又はセクション６．８．１に記載のＦａｂである。

【０１２７】

いくつかの実施形態では、標的化部分は、標的化部分が基づくことができる例示的な抗体又は抗体配列への言及とともに、以下の表Ｆに記載の例示的な標的分子を標的とする。

【０１２８】

【表６－１】

表 F 例示的な標的分子	
標的	抗体名及び/又は結合配列
1-92-LFA-3	Amevive(商標)(alefacept)
5T4	GEN1044
アクチビン受容体 II 型	ビマグルマブ VH:米国特許第 8,388,968B2 号の配列番号 107、109 VL:米国特許第 8,388,968B2 号の配列番号 93、95
B7-H3	オブリンダタマブ(MGD009)
B7-H3(CD276)	エノブリツズマブ(MGA271)
B7-H3(CD276)	MGC018
B7-H3(CD276)	MGA012
B7-H3(CD276)	8H9
B7-H3(CD276)	VH:US2021/0171641A1 の配列番号 21、26、又は 31 の重鎖の VH 配列。 VL:US2021/0171641A1 の配列番号 20、22、又は 30 の軽鎖の VL 配列。
B7-H3(CD276)	VH:US2019/0002563A1 の配列番号 21、29、又は 37 の重鎖の VH 配列。 VL:US2019/0002563A1 の配列番号 17、25、又は 33 の軽鎖の VL 配列。
B7-H3(CD276)	VH:米国特許第 10,640,563 号の配列番号 146、147、又は 148 の重鎖の VH 配列。 VL:米国特許第 10,640,563 号の配列番号 143、144,又は 145 の軽鎖の VL 配列。
BAFF/B リンパ球刺激因子	Benlysta(商標)(ベリムマブ)
BAFF/B リンパ球刺激因子	VH:米国特許第 7,138,501 号の配列番号 327 のアミノ酸 1~123 VL:米国特許第 7,138,501 号の配列番号 327 のアミノ酸 139~249。
BAFF/B リンパ球刺激因子	VH:米国特許第 7,605,236 号の配列番号 1321 のアミノ酸 1~126、 VL:米国特許第 7,605,236 号の配列番号 1049 のアミノ酸 143~251。
BAFF/B リンパ球刺激因子	ベリムマブ
BCMA	VH:US2021/0206865A1 の配列番号 126 の重鎖の VH 配列 VL:US2021/0206865A1 の配列番号 129 又は配列番号 132 の軽鎖の VL 配列
CA125	イゴブマブ
CA125	OvaRex(商標)(オレゴブマブ)
カドヘリン	米国公開第 2006/0039915 号に記載の抗体。
N-カドヘリン	米国公開第 2010/0278821 号の配列番号 10、17、又は 18 のアミノ酸配列に結合する抗体。

【０１２９】

【表６－２】

表 F
例示的な標的分子

標的	抗体名及び/又は結合配列
CD11a	Raptiva(商標)(エファリズマブ) Werther *et al.*,1996,The Journal of Immunology 157(11): 4986-4995 の配列。
CD19	Blincyto(商標)(ブリナツモマブ)
CD19	SGN-CD19A
CD20	Bexxar(商標)(トシツモマブ) VH:米国特許公開第 2017/0002060A1 号の配列番号 124 の重鎖の VH 配列 VL:米国特許公開第 2017/0002060A1 号の配列番号 125 の軽鎖の VL 配列
CD20	Zevalin(商標)(ブリツモマブチウキセタン) VH:米国特許第 5,736,137 号の配列番号 9 VL:米国特許第 5,736,137 号の配列番号 6
CD20	Rituxan(商標)(リツキシマブ) VH:米国特許第 5,736,137 号の配列番号 9 VL:米国特許第 5,736,137 号の配列番号 6
CD20	Ocrevus(商標)(オクレリズマブ)
CD20	オカラツズマブ
CD20	Arzerra(商標)(オファツムマブ) VH:米国特許第 8,529,902 号の配列番号 2 VL:米国特許第 8,529,902 号の配列番号 4
CD20	Gazyva(商標)(オビヌツズマブ)
CD20	VH:US2021/0206870A1 の配列番号 4 US2021/0206870A1 の配列番号 6 の VL
CD20	エプコリタマブ
CD22	ベリムマブ
CD22	エプラツズマブ
CD22	Besponsa(商標)(イノツズマブオゾガマイシン)
CD22	Lumoxiti(商標)(モキセツムマブパスドクス)
CD22	ピナツズマブベドチン
CD25	Zenapax(商標)(ダクリズマブ) VH:米国特許第 7,060,269 号の配列番号 9 VL:米国特許第 7,060,269 号の配列番号 10
CD30	Adcetris(商標)(ブレンツキシマブベドチン) VH:米国特許第 7,090,843 号の配列番号 2 VL:米国特許第 7,090,843 号の配列番号 10
CD33	Myelotarg(商標)(ゲムツズマブ) Man Sung,*et al.*,1993,Molecular immunology 30:1361-1367 の配列

【０１３０】

【表６－３】

表 F
例示的な標的分子

標的	抗体名及び/又は結合配列
CD33	リンツズマブ
CD38	Darzalex(商標)(ダラツムマブ)
CD40	ルカツムマブ
CD40	ダセツズマブ
CD40L	Hu5c8(ルプリズマブ)
CD44v6	ビバツズマブメルタンシン
CD52	Campath(商標)(アレムツズマブ) VH:米国特許公開第 2017/0002060A1 号の配列番号 1 VL:米国特許公開第 2017/0002060A1 号の配列番号 2
CD70	Blenrep(商標)(ボルセツズマブマフォドチン)
CD123	フロテツズマブ
CD221	Tepezza(商標)(テプロツムマブ)
CEA	Hybri-Ceaker(登録商標)(アルトモマブペンテテート)
CEA	Scintimun(商標)(ペシレソマブ)
CEA	CEA-CIDE(商標)(ラベツズマブ))
CEA	CEA-Scan(商標)(アルシツモマブ)
CEA	hMN-15 米国特許第 8,771,690B2 号の配列番号 4~6 の CDR-H1、CDR-H2、及び CDR-H3 配列 米国特許第 8,771,690B2 号の配列番号 1~3 の CDR-L1、CDR-L2、及び CDR-L3 配列
CEA	臨床試験 NCT02324257 からの RO6958688/RG7802 の CEA 結合部分
CEA	シビサタマブ
CEA	臨床試験 NCT01284231 及び NCT02291614 からの MEDI-565/MT110/AMG211 の CEA 結合部分 VH:PCT 公開第 WO2013/012414A1 号の配列番号 49 又は 51 VL:PCT 公開第 WO2013/012414A1 号の配列番号 48。
CEA	ラベツズマブ
CEA	アテゾリズマブ
CEA	シビサタマブ
CEA	MEDI-565(AMG211、MT111)
CEA	RO6958688
CEA	VH:WO2022/048883A1 に記載の配列番号 9 VL:WO2022/048883A1 に記載の配列番号 10
CLDN18.2	AMG910
コラーゲンアルファ-4 鎖	TRC093(MT293)

【０１３１】

【表６－４】

表F
例示的な標的分子

標的	抗体名及び/又は結合配列
コラーゲン	Liang,H.et al.A collagen-binding EGFR antibody fragment targeting tumors with a collagen-rich extracellular matrix.Sci.Rep.5,18205;doi: 10.1038/srep18205(2016)に記載のコラーゲン結合抗体断片。
コラーゲンI型	セツキシマブ(Erbitux)
コラーゲンX型	PCT公開第WO2019/020797の配列番号1又は2のアミノ酸配列。
コラーゲンX型	PCT公開第WO2014/180992号の配列番号1のアミノ酸配列。
コラーゲンX型	I.Girkontaite et al.,"Immunolocalization of type X collagen in normal fetal and adult osteoarthritic cartilage with monoclonal antibodies,"Matrix Biol 15,231-238(1996).に記載の抗体X34
コラーゲンX型	ThermoFisher Scientificからカタログ番号PA5-115039又はPA5-116871又はPA5-97603又はPA5-49198で販売されている抗体X53又は1H8又はARC0659又はJF0961コラーゲンXポリクローナル抗体。
コラーゲンX型	RDIからカタログ番号RDI-COLL10abrで販売されている抗体。
補体C5	Soliris(商標)(エクリズマブ) VH:米国特許第6,355,245号の配列番号10のアミノ酸1~122 VL:米国特許第6,355,245号の配列番号9のアミノ酸3~110
CTLA-4	Yervoy(商標)(イピリムマブ) VH:WO2001/014424A2の配列番号17 VL:WO2001/014424A2の配列番号7
CTLA-4	(トレメリムマブ)
CTLA-4	Orencia(商標)(アバタセプト)
DLL3	AMG757
EGFR	Erbitux(商標)(セツキシマブ) VH:米国特許第6,217,866号の配列番号11 VL:米国特許第6,217,866号の配列番号13
EGFR	Vectibix(商標)(パニツムマブ) VH:米国特許第6,235,883号の配列番号37 VL:米国特許第6,235,883号の配列番号38
EGFR	ザルツムマブ VH:WO2018/140831A2の配列番号64 VL:WO2018/140831A2の配列番号69
EGFR	マパツムマブ
EGFR	マツズマブ

【０１３２】

【表６－５】

表 F
例示的な標的分子

標的	抗体名及び/又は結合配列
EGFR	ニモツズマブ VH:WO2018/140831A2 の配列番号 51 VL:WO2018/140831A2 の配列番号 56
EGFR	ICR62
EGFR	mAb 528
EGFR	CH806
EGFRv3	AMG596
EGFRv3	AMG404
EGFR/CD64	MDX-447
EpCAM	Panorex(商標)(エドレコロマブ) VH:WO2018/140831A2 の配列番号 129 VL:WO2018/140831A2 の配列番号 134
EpCAM	アデカツムマブ VH:WO2018/140831A2 の配列番号 142 VL:WO2018/140831A2 の配列番号 147
EpCAM	ツコツズマブセルモロイキン
EpCAM	シタツズマブボガトックス
EpCAM	EP1629013 B1 VH:配列番号 80、84、88、92、又は 96 VL:配列番号 82、86、90、94、又は 98
EpCAM	G8.8 HC: 米国特許公開第 2020/0317806A1 号の配列番号 4 HL: 米国特許公開第 2020/0317806A1 号の配列番号 3
EpCAM	VH:WO2021/211510A2 の配列番号 17~22。 VL:WO2021/211510A2 の配列番号 15~16。
EpCAM	Removab(商標)(カツマクソマブ)
EpCAM	Vicineum(商標)(オポルツズマブモナトックス)
EpCAM	M701
RSV の F タンパク質	Synagic(商標)(パリビズマブ)
GD2	3F8
糖タンパク質受容体 IIb/IIIa	ReoPro(商標)(アビシキシマブ)
gpA33	MGD007
GPC3	ERY974
GUCY2C	PF-07062119
ヘパラナーゼ	米国特許公開第 2004/0170631 号に記載の HP130、HP 239、HP 108.264、HP 115.140、HP 152.197、HP 110.662、HP 144.141、HP 108.371、HP 135.108、HP 151.316、HP 117.372、HP 37/33、HP3/17、HP 201、若しくは HP 102、又は配列番号 1~11 のアミノ酸配列から選択される抗体。
Her2	Herceptin(商標)(トラスツズマブ)

【０１３３】

【表６－６】

表 F
例示的な標的分子

標的	抗体名及び/又は結合配列
Her2	アルデスロイキン(プロリューカイン(proleukine))
Her2	サルグラムスチム(リューカイン)
Her2	M802
Her2	ルニモタマブ(BTRC4017A、R07227780)
Her2	ISB1302
Her2-neu	Perjeta(商標)(ペルツズマブ) VH:WO2013/096812A2 の配列番号 16。 VL:WO2013/096812A2 の配列番号 15。
Her2-neu	Rexomun(商標)(エルツマキクソマブ)
IgE	Xolair(商標)(オマリズマブ)
IGFIR	(フィギツムマブ)
IL1β	Ilaris(商標)(カナキヌマブ) VH:米国特許第 7,446,175 号の配列番号 1。 VL:米国特許第 7,446,175 号の配列番号 2
IL12/IL23	Stelara(商標)(ウステキヌマブ)
IL1Ra	Antril(商標)、Kineret(商標)(アナキンラ)
IL2R	Simulect(商標)(バシリキシマブ) VH:米国特許第 6,383,487 号の配列番号 3 VL:米国特許第 6,383,487 号の配列番号 6
IL6	クラザキズマブ
IL6 受容体	Actemra(商標)(トシリズマブ) VH:米国特許第 7,479,543 号の配列番号 31 VL:米国特許第 7,479,543 号の配列番号 29
IL12/IL23 p40 サブユニット	Stelara(商標)(ウステキヌマブ) VH:米国特許第 6,902,734 号の配列番号 7 VL:米国特許第 6,902,734 号の配列番号 8
Integrinα4	Tysabri(商標)(ナタリズマブ) VH:米国特許第 5,840,299 号の配列番号 11~13 VL:米国特許第 5,840,299 号の配列番号 7~8
Integrinα4 β7	Entyvio(商標)(ベドリズマブ) HC: 米国特許公開第 2012/0282249 号の配列番号 2 LC: 米国特許公開第 2012/0282249 号の配列番号 4
Integrinα5 β1	VH:欧州特許第 1 755 659 号の配列番号 2。 VL:欧州特許第 1 755 659 号の配列番号 4。
Integrinβ1	VH:米国特許公開第 2022/0089744 号の配列番号 2、6、8、10、12、14、29~43、又は 91~100。 VL:、米国特許公開第 2022/0089744 号の配列番号 4、16、18、20、22、44~57、又は 107~116。
LAG-3	レラトリマブ(BMS-98016)

【０１３４】

【表６－７】

表F
例示的な標的分子

標的	抗体名及び/又は結合配列
LAG-3	Sym022
LAG-3	HLX26
LAG-3	TSR-033
LAG-3	ABL501
LAG-3	INCAGN02385
LAG-3	フィアンリマブ(REGN3767)
LAG-3	RO7247669
LAG-3	EMB-02
LAG-3	FS118
LAG-3	GSK2831781
LAG-3	IBI323
LAG-3	IBI110
LAG-3	LAG525
LAG-3	XmAb(登録商標)22841
LAG-3	LBL-007
LAG-3	VH:米国特許第9,902,772号の配列番号1、8、10、又は12。 VL:米国特許第9,902,772号の配列番号2、3、4、5、6、7、9、11、13又は14。
LAG-3	VH:米国特許公開第2021/0095026号の配列番号182 VL:米国特許公開第2021/0095026号の配列番号88
ラミニン	Sigma Aldrichからの Lam-89
メソセリン	アマツキシマブ
メソセリン	HPN536
MUC1	シバツズマブテトラキセタン
MUC1	Pankomab(商標)(ガチポツズマブ)
MUC1	フェムツムマブ
MUC1	カンツズマブラブタンシン
MUC16(CA125)	US2018/0118848A1からの以下の配列番号対のうちのいずれか1つのアミノ酸配列を有するVH及びVL配列を有する抗MUC16抗体:18/26、82/858、98/170
MUC17	AMG199
ネクチン-4	エンフォルツマブ(ASP7465、ASG-22CE、ASG-22ME) VH:PCT公開第WO2021/151984号の配列番号3 VL:PCT公開第WO2021/151984号の配列番号4
ネクチン-4	SBT290
ネクチン-4	VH:米国特許第11,274,160号の配列番号1。 VL:米国特許第11,274,160号の配列番号2。
NGF	(タネズマブ)

【０１３５】

【表６－８】

表 F
例示的な標的分子

標的	抗体名及び/又は結合配列
オステオポンチン	HC: PCT 公開第 WO2021/030209 号の配列番号 22 LC: PCT 公開第 WO2021/030209 号の配列番号 24
PD1	MDX-1106/BMS-936558(ニボルマブ)、WHO Drug Information,Vol.27,No.1,pages 68-69(2013)に記載の構造を有するヒト IgG4 mAb であり、その重鎖及び軽鎖配列は、米国公開第 2019/0270812A1 号の図 7 に開示される
PD1	MK-3475(ペムブロリズマブ)、WHO Drug Information,Vol.27,No.2,pages 161-162(2013)に記載の構造を有するヒト化 IgG4 mAb であり、その重鎖及び軽鎖配列は、米国公開第 2019/0270812A1 号の図 6 に開示される
PD1	REGN2810(米国公開第 2015/0203579 号に H4H7798N として開示される)
PD1	PCT 公開第 WO2015/112800A1 号の配列番号 2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、1 14/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/202、218/202、226/202、234/202、242/202、250/202、258/202、266/202、274/202、282/202、290/202、298/186、306/186、及び 314/186 を有する VH/VL 対を有する抗 PD1 抗体を含むが、これらに限定されない PCT 公開第 WO2015/112800A1 号の表 1~3 に開示される抗 PD1 抗体。
PD1	MEDI-0680(AMP-514)
PD1	PDR001
PD1	BGB-108
PD1	WO2008/156712 に記載の h409A11
PD1	WO2008/156712 に記載の h409A16
PD1	WO2008/156712 に記載の h409A17
PD1	米国特許第 7488802 号に記載の抗 PD1 抗体
PD1	米国特許第 7521051 号に記載の抗 PD1 抗体
PD1	米国特許第 8008449 号に記載の抗 PD1 抗体
PD1	米国特許第 8354509 号に記載の抗 PD1 抗体
PD1	米国特許第 8168757 号に記載の抗 PD1 抗体
PD1	PCT 公開第 WO2004/004771 号に記載の抗 PD1 抗体
PD1	PCT 公開第 WO2004/056875 号に記載の抗 PD1 抗体
PD1	PCT 公開第 WO2004/072286 号に記載の抗 PD1 抗体
PD1	米国公開第 2011/0271358 号に記載の抗 PD1 抗体
PDL1	デュルバルマブ(MEDI4736)
PDL1	アテゾリズマブ(Tecentriq、MPDL3280A))
PDL1	MDX 1105(BMS-936559)
PDL1	アベルマブ

【０１３６】

【表６－９】

表 F
例示的な標的分子

標的	抗体名及び/又は結合配列
PDL1	ZKAB001(ソカゾリマブ)
PDL1	TQB2450
PDL1	MEDI4736
PDL1	HLX20
PDL1	KN035
PDL1	LY3434172
PDL1	LY3300054
PDL1	LDP
PDL1	EMB-09
PDL1	ABL501
PDL1	INBRX-105
PDL1	SHR-1210
PDL1	STI-3031(IMC-001)
PDL1	MPDL3280A(RG7446)
PDL1	KN035
PDL1	BGB-A333
PDL1	HLX301
PDL1	Y101D
PDL1	ES101
PDL1	IBI322
PDL1	エンバホリマブ
PDL1	VH:米国特許第 11,168,144 号の配列番号 46、48、50、又は 52。 VL:米国特許第 11,168,144 号の配列番号 58、137、又は 12。
PDL1	VH:米国特許公開第 11,208,486 号の配列番号 23、124、126、127、128、130、140、又は 145。 VL:米国特許第 11,208,486 号の配列番号 24 又は 125。
ホスファチジルセリン	(バビツキシマブ)
PSCA	GEM3PSCA
PSMA	huJ591
PSMA	WO2017/023761A1 からの以下の配列番号対のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列を有する VH 及び VL 配列を有する抗 PSMA 抗体:2/1642、10/1642、18/1642、26/1642、34/1642、42/1642、50/1642、58/1642、66/1642、74/1642、82/1642、90/1642、98/1642、106/1642、1 14/1642、122/130、及び 138/146。

【０１３７】

【表６－１０】

表 F 例示的な標的分子	
標的	抗体名及び/又は結合配列
PSMA	以下のような抗体:WO2003/034903A2 に記載の PSMA 3.7、PSMA 3.8、PSMA 3.9、PSMA 3.11、PSMA 5.4、PSMA 7.1、PSMA 7.3、PSMA 10.3、PSMA 1.8.3、PSMA A3.1.3、PSMA A3.3.1、Abgenix 4.248.2、Abgenix 4.360.3、Abgenix 4.7.1、Abgenix 4.4.1、Abgenix 4.177.3、Abgenix 4.16.1、Abgenix 4.22.3、Abgenix 4.28.3、Abgenix 4.40.2、Abgenix 4.48.3、Abgenix 4.49.1、Abgenix 4.209.3、Abgemx 4.219.3、Abgenix 4.288.1、Abgenix 4.333.1、Abgemx 4.54.1、Abgenix 4.153.1、Abgenix 4.232.3、Abgenix 4.292.3、Abgenix 4.304.1、Abgenix 4.78.1、及び Abgenix 4.152.1 以下のようなハイブリドーマ細胞株:WO2003/034903A2 に記載の PSMA 3.7(PTA-3257)、PSMA 3.8、PSMA 3.9(PTA-3258)、PSMA 3.11(PTA-3269)、PSMA 5.4(PTA-3268)、PSMA 7.1(PTA-3292)、PSMA 7.3(PTA-3293)、PSMA 10.3(PTA-3247) 、PSMA 1.8.3(PTA-3906)、PSMA A3.1.3(PTA- 3904)、PSMA A3.3.1(PTA-3905)、Abgenix 4.248.2(PTA-4427)、Abgenix 4.360.3(PTA- 4428)、Abgenix 4.7.1(PTA-4429)、Abgenix 4.4.1(PTA-4556)、Abgenix 4.177.3(PTA-4557)、Abgenix 4.16.1(PTA-4357)、Abgenix 4.22.3(PTA-4358)、Abgenix 4.28.3(PTA-4359)、Abgenix 4.40.2(PTA-4360)、Abgenix 4.48.3(PTA-4361)、Abgenix 4.49.1(PTA-4362)、Abgenix 4.209.3(PTA-4365)、Abgenix 4.219.3(PTA-4366)、Abgenix 4.288.1(PTA-4367)、Abgenix 4.333.1(PTA-4368)、Abgenix 4.54.1(PTA-4363)、Abgenix 4.153.1(PTA-4388)、Abgenix 4.232.3(PTA-4389)、Abgenix 4.292.3(PTA-4390)、Abgenix 4.304.1(PTA-4391)、Abgenix 4.78.1(PTA-4652)、及び Abgemx 4.152.1(PTA-4653)。 WO2003/034903A2 に記載の配列番号 2~7 の VH WO2003/034903A2 に記載の配列番号 8~13 の VL

【０１３８】

【表６－１１】

表 F
例示的な標的分子

標的	抗体名及び/又は結合配列
PMSA	VH:WO2011/121110A1 に記載の配列番号 225、239、253、267、281、295、309、323、337、351、365、379、393、407、421、435、449、463、477、491、505、519、533、547、561、575、589、603、又は 617。 VL WO2011/121110A1 に記載の配列番号 230、244、258、272、286、300、314、328、342、356、370、384、398、412、426、440、454、468、482、496、510、524、538、552、566、580、594、608、又は 622。 VH 及び VL WO2011/121110A1 に記載の配列番号 235、249、263、277、291、305、319、333、347、361、375、389、403、417、431、445、459、473、487、501、515、529、543、557、571、585、599、613、又は 627。
PMSA	US2022/0119525A1 の配列番号 229~312 のうちのいずれか 1 つの VL アミノ酸配列、及び US2022/0119525A1 の配列番号 217 の VH を有する抗 PMSA 抗体。
PMSA	ES414
PMSA	BAY2010112(パソツキシズマブ)
PMSA	CCW702
PMSA	JNJ-63898081
PMSA	CC-1
PMSA	アカパタマブ
PSMA	HPN424
RAAG12	RAV12
RANKL	Prolia(商標)(デノスマブ) VH:米国特許公開第 2017/0002060 号の配列番号 51 VL:米国特許公開第 2017/0002060 号の配列番号 52
SLAMF7	Empliciti(商標)(エロツズマブ)
SSTR2	XmAb(登録商標)18087

【０１３９】

【表６－１２】

表 F
例示的な標的分子

標的	抗体名及び/又は結合配列
STEAP1	VHCDR1 US20210179731A1 に記載の配列番号 14、33、182、184、又は 185。 VHCDR2 US20210179731A1 に記載の配列番号 15、21、34、182、184、又は 185。 VHCDR3 US20210179731A1 に記載の配列番号 16 又は 35。 VH US20210179731A1 に記載の配列番号 182 又は 184。 VLCDR1 US20210179731A1 に記載の配列番号 11 又は 30。 VLCDR2 US20210179731A1 に記載の配列番号 12 又は 31。 VLCDR3 US20210179731A1 に記載の配列番号 13 又は 32。 VL US20210179731A1 に記載の配列番号 183 又は 186。
STEAP1	AMG509

【０１４０】

【表６－１３】

表 F
例示的な標的分子

標的	抗体名及び/又は結合配列
STEAP2	米国特許第 10,772,972B2 号の配列番号(1)4-6-8-12-14-16、(2)20-22-24-28-30-32、(3)36-38-40-44-46-48、(4)52-54-56-60-62-64、(5)68-70-72-60-62-64、(6)76-78-80-60-62-64、(7)84-86-88-60-62-64、(8)92-94-96-60-62-64、(9)100-102-104-60-62-64、(10)108-110-112-116-118-120、(11)124-126-128-132-134-136、(12)140-142-144-148-150-152、(13)156-158-160-164-166-168、(14)172-174-176-180-182-184、(15)188-190-192-196-198-200、(16)204-206-208-212-214-216、(17)220-222-224-228-230-232、(18)236-238-240-244-246-248、(19)252-254-256-260-262-264、(20)268-270-272-276-278-280、(21)284-286-288-292-294-296、(22)300-302-304-308-310-312、(23)316-318-320-324-326-328、(24)332-334-336-340-342-344、(25)348-350-352-356-358-360、(26)364-366-368-372-374-376、及び(27)380-382-384-388-390-392 から選択される CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、及び CDR-L3 配列を有する抗 STEAP2 抗体 (a)米国特許第 10,772,972B2 号の配列番号 2、18、34、50、66、74、82、90、98、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330、346、362、及び 378 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸を含む VH、並びに(b)米国特許第 10,772,972B2 号の配列番号 10、26、42、58、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322、338、354、370、及び 386 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む VL を有する抗 STEAP2 抗体。 米国特許第 10,772,972B2 号の配列番号の以下の対のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む VH/VL 対を有する抗 STEAP2 抗体:2/10、18/26、34/42、50/58、66/58、74/58、82/58、90/58、98/58、106/114、122/130、138/146、154/162、170/178、186/194、202/210、218/226、234/242、250/258、266/274、282/290、298/306、314/322、330/338、346/354、362/370、及び 378/386。
シンデカン-1(CD138)	Wijdenes et al.(1996)Br.J.Haematol.,94: 318-323 に記載の B-B4 抗体
シンデカン-4	欧州特許公開第 2 603 236 号に記載の配列番号 1 のアミノ酸 93 及び 121 のアミノ酸配列又は配列番号 2 のアミノ酸 92 及び 122 のアミノ酸配列。
TGFβ	GC1008
TNFR	Enbrel(商標)(エタネルセプト)

【０１４１】

【表６－１４】

表F
例示的な標的分子

標的	抗体名及び/又は結合配列
TNFα	Remicade(商標)(インフリキシマブ) VH:国際特許公開第 201/3087911A1 号の配列番号 2 VH:国際特許公開第 2013/ A1087911 号の配列番号 3
TNFα	Humira(商標)(アダリムマブ) VH:米国特許第 6,258,562 号の配列番号 4 VL:米国特許第 6,258,562 号の配列番号 3
TNFα	Cimzia(商標)(セルトリズマブペゴル) VH:米国特許第 7,012,135 号の配列番号 14 VL:米国特許第 7,012,135 号の配列番号 9
TNFα	Simponi(商標)(ゴリムマブ) VH:米国特許第 7,250,165 号の配列番号 7 VL:米国特許第 7,250,165 号の配列番号 8
VEGF	Avastin(商標)(ベバシズマブ) VH:米国特許第 7,060,269 号の配列番号 9 VL:米国特許第 7,060,269 号の配列番号 10
VEGF	Lucentis(商標)(ラニビズマブ) VH:米国特許第 9,914,770 号の配列番号 4 VL:米国特許第 9,914,770 号の配列番号 2

【０１４２】

いくつかの態様では、標的化部分は、標的分子への結合に対して表Ｆに記載の抗体と競合する。更なる態様では、標的化部分は、表Ｆに記載の抗体のＣＤＲ配列を有するＣＤＲを含む。いくつかの実施形態では、標的化部分は、表Ｆに記載の抗体の６つのＣＤＲ配列全てを含む。他の実施形態では、標的化部分は、少なくとも重鎖ＣＤＲ配列（ＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、ＣＤＲ－Ｈ３、及びユニバーサル軽鎖の軽鎖ＣＤＲ配列を含む。更なる態様では、標的化部分は、表Ｆに記載の抗体のＶＨのアミノ酸配列を含むＶＨを含む。いくつかの実施形態では、標的化部分は、表Ｆに記載の抗体のＶＬのアミノ酸配列を含むＶＬを更に含む。他の実施形態では、標的化部分は、ユニバーサル軽鎖ＶＬ配列を更に含む。

【０１４３】

いくつかの実施形態では、標的化部分は、リガンド－受容体結合の非遮断又は低遮断である。非遮断又は低遮断の抗ＰＤ１抗体の例としては、ＰＣＴ公開第ＷＯ２０１５／１１２８００Ａ１の配列番号２／１０、米国特許第１１，０３４，７６５号Ｂ２の遮断１６／１７、米国特許第１０，２９４，２９９Ｂ２号の配列番号１６４／１７８、１６５／１７９、１６６／１８０、１６７／１８１、１６８／１８２、１６９／１８３、１７０／１８４、１７１／１８５、１７２／１８６、１７３／１８７、１７４／１８８、１７５／１８９、１７６／１９０、及び１７７／１９０のＶＨ／ＶＬアミノ酸配列を有する抗体が挙げられる。非遮断又は低遮断抗ＬＡＧ３抗体の例としては、米国公開第２０２２／００５６１２６Ａ１号の配列番号２３／２４、３／４、及び１１／１２のＶＨ／ＶＬアミノ酸配列を有する抗体が挙げられる。

【０１４４】

ＩＬ２プロタンパク質によって標的化され得る追加の標的分子は、以下の表Ｉに開示され、例えば、Ｈａｆｅｅｚ　ｅｔ　ａｌ．，２０２０，Ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ　２５：４７

６４，ｄｏｉ：１０．３３９０／ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ２５２０４７６４、特に表１に開示される。Ｈａｆｅｅｚ　ｅｔ　ａｌ．の表１は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０１４５】

６．８．標的化部分のフォーマット

ある特定の態様では、本開示のＩＬ２プロタンパク質の標的化部分は、抗原決定基への特異的結合を保持する任意のタイプの抗体又はその断片であり得る。一実施形態では、抗原結合部分は、免疫グロブリン分子又はその断片、特にＩｇＧクラス免疫グロブリン分子、より特に、IgG_1又はIgG_4免疫グロブリン分子である。抗体断片としては、ＶＨ（又はV_H）断片、ＶＬ（又はV_L）断片、Ｆａｂ断片、$F(ab')_2$断片、ｓｃＦｖ断片、Ｆｖ断片、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、及びテトラボディが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１４６】

６．８．１．Ｆａｂ

Ｆａｂドメインは、伝統的に、パパインなどの酵素を使用した免疫グロブリン分子のタンパク質分解切断によって産生された。Ｆａｂドメインは、任意の好適な種由来の定常ドメイン配列及び可変領域配列を含むことができ、したがって、マウス、キメラ、ヒト、又はヒト化されたものであってよい。

【０１４７】

Ｆａｂドメインは、典型的には、ＶＨドメインに付着したＣＨ１ドメインを含み、これは、ＶＬドメインに付着したＣＬドメインと対合する。野生型免疫グロブリンにおいて、ＶＨドメインは、ＶＬドメインと対合してＦｖ領域を構成し、ＣＨ１ドメインは、ＣＬドメインと対合して結合部位を更に安定化する。２つの定常ドメイン間のジスルフィド結合は、Ｆａｂドメインを更に安定化することができる。

【０１４８】

本開示のＩＬ２プロタンパク質について、特に標的化部分の軽鎖が共通又はユニバーサル軽鎖ではない場合、Ｆａｂヘテロ二量体化戦略を使用して、同じ標的化部分に属するＦａｂドメインの正しい会合を可能にし、異なる標的化部分に属するＦａｂドメインの異常な対合を最小限に抑えることが有利である。例えば、以下の表Ｇに示されるＦａｂヘテロ二量体化戦略を使用することができる。

【０１４９】

【表７】

表 G-Fab ヘテロ二量体化戦略

戦略	VH	CH1	VL	CL	参考文献
CrossMabCH1-CL	WT	CL ドメイン	WT	CH1 ドメイン	Schaefer *et al.*,2011,Cancer Cell 2011;20:472-86;PMID:22014573.
直交性 Fab VHVRD1CH1CRD2-VLVRD1CλCRD2	39K、62E	H172A、F174G	1R、38D、(36F)	L135Y、S176W	Lewis *et al.*,2014,Nat Biotechnol 32:191-8
直交性 Fab VHVRD2CH1wt-VLVRD2Cλwt	39Y	WT	38R	WT	Lewis *et al.*,2014,Nat Biotechnol 32:191-8
TCR CαCβ	39K	TCR Cα	38D	TCR Cβ	Wu *et al.*,2015,MAbs 7:364-76
CR3	WT	T192E	WT	N137K、S114A	Golay *at al.*,2016,J Immunol 196:3199-211.
MUT4	WT	L143Q、S188V	WT	V133T、S176V	Golay *at al.*,2016,J Immunol 196:3199-211.
DuetMab	WT	F126C	WT	S121C	Mazor *et al.*,2015,MAbs 7:377-89;Mazor *et al.*,2015,MAbs 7:461-669.
ドメイン交換	WT	CH3+ノブ又はホール変異	WT	CH3+ホール又はノブ変異	Wozniak-Knopp *et al.*,2018,PLoSONE13(4):e0195442

【０１５０】

したがって、ある特定の実施形態では、Ｆａｂの２つのポリペプチド間の正しい会合は、例えば、ＷＯ２００９／０８０２５１に記載されるように、ＦａｂのＶＬドメイン及びＶＨドメインを互いに交換するか、又はＣＨ１ドメイン及びＣＬドメインを互いに交換することによって促進される。

【０１５１】

正しいＦａｂ対合はまた、ＦａｂのＣＨ１ドメインに１つ以上のアミノ酸改変及びＣＬドメインに１つ以上のアミノ酸改変を導入することによって、並びに／又はＶＨドメインに１つ以上のアミノ酸改変及びＶＬドメインに１つ以上のアミノ酸改変を導入することによって促進することができる。改変されるアミノ酸は、典型的には、Ｆａｂ構成要素が、他のＦａｂの構成要素よりもむしろ互いと優先的に対合するようにＶＨ：ＶＬ及びＣＨ１：ＣＬ界面の一部である。

【０１５２】

一実施形態では、１つ以上のアミノ酸改変は、残基のＫａｂａｔ番号付けによって示されるように、可変（ＶＨ、ＶＬ）及び定常（ＣＨ１、ＣＬ）ドメインの保存されたフレームワーク残基に限定される。Ａｌｍａｇｒｏ，２００８，Ｆｒｏｎｔｉｅｒｓ　Ｉｎ　Ｂ

ｉｏｓｃｉｅｎｃｅ　１３：１６１９－１６３３は、Ｋａｂａｔ、Ｃｈｏｔｈｉａ、及びＩＭＧＴの番号付けスキームに基づくフレームワーク残基の定義を提供する。

【０１５３】

一実施形態では、ＶＨドメイン及びＣＨ１ドメイン並びに／又はＶＬドメイン及びＣＬドメインにおいて導入される改変は、互いに相補的である。重鎖及び軽鎖界面における相補性は、立体接触及び疎水性接触、静電／電荷相互作用、又は様々な相互作用の組み合わせに基づいて達成され得る。タンパク質表面間の相補性は、ロック及びキー適合（ｌｏｃｋ　ａｎｄ　ｋｅｙ　ｆｉｔ）、ノブ・イントゥ・ホール（ｋｎｏｂ　ｉｎｔｏ　ｈｏｌｅ）、突起及び空洞（ｐｒｏｔｒｕｓｉｏｎ　ａｎｄ　ｃａｖｉｔｙ）、ドナー及びアクセプターなどの観点から、文献において広く記載されており、これらは全て、２つの相互作用する表面間の構造的及び化学的一致の性質を示唆している。

【０１５４】

一実施形態では、１つ以上の導入された改変は、Ｆａｂ構成要素の界面にわたって新しい水素結合を導入する。一実施形態では、１つ以上の導入された改変は、Ｆａｂ構成要素の界面にわたって新しい塩橋を導入する。例示的な置換は、ＷＯ２０１４／１５０９７３及びＷＯ２０１４／０８２１７９に記載されており、その内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０１５５】

いくつかの実施形態では、Ｆａｂドメインは、ＣＨ１ドメインに１９２Ｅ置換、及びＣＬドメインに１１４Ａ及び１３７Ｋ置換を含み、これにより、ＣＨ１ドメインとＣＬドメインとの間に塩橋が導入される（例えば、Ｇｏｌａｙ　ｅｔ　ａｌ．，２０１６，Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　１９６：３１９９－２１１を参照されたい）。

【０１５６】

いくつかの実施形態では、Ｆａｂドメインは、ＣＨ１ドメイン内の１４３Ｑ及び１８８Ｖ置換、並びにＣＬドメイン内の１１３Ｔ及び１７６Ｖ置換を含み、これは、ＣＨ１ドメインとＣＬドメインとの間の疎水性及び極性接触領域を交換するのに役立つ（例えば、Ｇｏｌａｙ　ｅｔ　ａｌ．，２０１６，Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　１９６：３１９９－２１１を参照されたい）。

【０１５７】

いくつかの実施形態では、Ｆａｂドメインは、Ｆａｂドメインの正しいアセンブリを促進する直交性Ｆａｂ界面を導入するための、ＶＨ、ＣＨ１、ＶＬ、ＣＬドメインの一部又は全部における改変を含むことができる（Ｌｅｗｉｓ　ｅｔ　ａｌ．，２０１４　Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　３２：１９１－１９８）。実施形態では、３９Ｋ、６２Ｅの改変がＶＨドメインに導入され、Ｈ１７２Ａ、Ｆ１７４Ｇの改変がＣＨ１ドメインに導入され、１Ｒ、３８Ｄ、（３６Ｆ）の改変がＶＬドメインに導入され、Ｌ１３５Ｙ、Ｓ１７６Ｗの改変がＣＬドメインに導入される。別の実施形態では、３９Ｙ改変がＶＨドメインに導入され、３８Ｒ改変がＶＬドメインに導入される。

【０１５８】

Ｆａｂドメインはまた、天然のＣＨ１：ＣＬジスルフィド結合を、操作されたジスルフィド結合で置き換えるように改変することができ、それによって、Ｆａｂ構成要素の対合の効率を増加させる。例えば、操作されたジスルフィド結合は、ＣＨ１ドメインに１２６Ｃを導入し、ＣＬドメインに１２１Ｃを導入することによって導入することができる（例えば、Ｍａｚｏｒ　ｅｔ　ａｌ．，２０１５，ＭＡｂｓ　７：３７７－８９を参照されたい）。

【０１５９】

Ｆａｂドメインは、ＣＨ１ドメイン及びＣＬドメインを、正しいアセンブリを促進する代替ドメインで置き換えることによっても改変され得る。例えば、Ｗｕ　ｅｔ　ａｌ．，２０１５，ＭＡｂｓ　７：３６４－７６では、ＣＨ１ドメインをＴ細胞受容体の定常ドメインで置換し、ＣＬドメインをＴ細胞受容体のｂドメインで置換し、これらのドメイン置換を、ＶＬドメインに３８Ｄ改変を導入し、ＶＨドメインに３９Ｋ改変を導入することに

よって、ＶＬドメインとＶＨドメインとの間の追加の電荷－電荷相互作用と対合することについて記載している。

【０１６０】

正しいＶＨ－ＶＬ対合を促進するためのＦａｂヘテロ二量体化戦略の使用の代わりに、又はそれに加えて、共通の軽鎖（ユニバーサル軽鎖とも呼ばれる）のＶＬが、本開示のＩＬ２プロタンパク質における各固有のＡＢＤに使用され得る。様々な実施形態では、本明細書に記載されるように共通の軽鎖を使用することは、元の同族ＶＬを用いることと比較して、ＩＬ２プロタンパク質における不適切な種の数を低減する。様々な実施形態では、ＡＢＤのＶＬドメインは、共通の軽鎖を含む単一特異性抗体から特定される。様々な実施形態では、ＩＬ２プロタンパク質におけるＡＢＤのＶＨ領域は、限定されたヒト軽鎖レパートリー又はヒト重鎖と同族の単一ヒト軽鎖を発現するように予め操作されたマウスＢ細胞内にインビボで再配置されるヒト重鎖可変遺伝子セグメントを含み、目的の抗原での曝露に応答して、１つの、又は２つの可能なヒトＶＬのうちの１つと同族である複数のヒトＶＨを含む抗体レパートリーを生成し、抗体レパートリーは、目的の抗原に特異的である。共通の軽鎖は、再構成されたヒトＶκ１－３９Ｊκ５配列又は再構成されたヒトＶκ３－２０Ｊκ１配列に由来するものであり、体細胞変異型（例えば、親和性成熟型）を含む。例えば、米国特許第１０，４１２，９４０号を参照されたい。

【０１６１】

６．８．２．ｓｃＦｖ

一本鎖Ｆｖ又は「ｓｃＦｖ」抗体断片は、単一のポリペプチド鎖内の抗体のＶＨドメイン及びＶＬドメインを含み、一本鎖ポリペプチドとして発現することができ、それらが由来する無傷の抗体の特異性を保持する。一般に、ｓｃＦｖポリペプチドは、ＶＨドメインとＶＬドメインとの間に、ｓｃＦｖが標的結合のために所望の構造を形成することを可能にするポリペプチドリンカーを更に含む。ｓｃＦｖのＶＨ鎖及びＶＬ鎖を連結するのに好適なリンカーの例は、セクションｖで特定される非切断可能リンカーである。

【０１６２】

本明細書で使用される場合、指定されない限り、ｓｃＦｖは、例えば、ポリペプチドのＮ末端及びＣ末端に関して、いずれかの順序でＶＬ可変領域及びＶＨ可変領域を有してもよく、ｓｃＦｖは、ＶＬ－リンカー－ＶＨを含んでもよく、又はＶＨ－リンカー－ＶＬを含んでもよい。

【０１６３】

ｓｃＦｖは、マウス、ヒト、又はヒト化のＶＨ配列及びＶＬ配列などの任意の好適な種由来のＶＨ配列及びＶＬ配列を含むことができる。

ｓｃＦｖコード核酸を作製するために、ＶＨ及びＶＬコードＤＮＡ断片は、ＶＨ及びＶＬ配列が、柔軟なリンカーによって接合されたＶＬ及びＶＨ領域を有する連続した一本鎖タンパク質として発現され得るように、リンカーをコードする、例えば、セクション６．６に記載のリンカー（典型的にはアミノ酸グリシン及びセリン、例えば、アミノ酸配列（Ｇｌｙ４～Ｓｅｒ）３（配列番号１５７）を含む配列の繰り返し）のうちのいずれかをコードする別の断片に作動可能に連結される（例えば、Ｂｉｒｄ ｅｔ ａｌ．，１９８８，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３－４２６、Ｈｕｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９８８，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：５８７９－５８８３、ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ ｅｔ ａｌ．，１９９０，Ｎａｔｕｒｅ ３４８：５５２－５５４を参照されたい）。

【０１６４】

６．９．Ｆｃ領域

本開示のＩＬ２プロタンパク質は、典型的には、会合してＦｃ領域を形成する一対のＦｃドメインを含む。天然抗体では、Ｆｃ領域は、定常ドメインを形成するために、それらのＮ末端にヒンジ領域を含む。本開示全体を通して、別段指定されない限り、Ｆｃドメインへの言及は、そのＮ末端にヒンジドメインを有するＦｃドメインを包含する。

【０１６５】

Ｆｃドメインは、ＡＢＤ又はその構成要素に作動可能に連結された任意の好適な種に由来し得る。一実施形態では、Ｆｃドメインは、ヒトＦｃドメインに由来する。好ましい実施形態では、標的化部分又はその構成要素は、ＩｇＧ　Ｆｃ分子に融合される。標的化部位又はその構成要素は、ＩｇＧ　ＦｃドメインのＮ末端若しくはＣ末端、又は両方に融合され得る。

【０１６６】

Ｆｃドメインは、ＩｇＡ（サブクラスｌｇＡ１及びｌｇＡ２を含む）、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ（サブクラスｌｇＧ１、ｌｇＧ２、ｌｇＧ３、及びｌｇＧ４を含む）、及びＩｇＭを含む、任意の好適なクラスの抗体に由来し得る。一実施形態では、Ｆｃドメインは、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３又はＩｇＧ４に由来する。一実施形態では、Ｆｃドメインは、ｌｇＧ１に由来する。一実施形態では、Ｆｃドメインは、ｌｇＧ４に由来する。ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、及びＩｇＧ４由来のＦｃドメインの例示的な配列は、以下の表Ｙに提供される。

【０１６７】

【表８】

表Ｙ
Ｆｃ配列

Ｆｃ	配列	配列番号
hIgG1 Fc (UniprotKB P01857-1 のアミノ酸 99~330)	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	346
hIgG2 Fc (UniprotKB P01859-1 のアミノ酸 99~326)	ERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	347
hIgG3 Fc (UniprotKB P01860-1 のアミノ酸 99~377)	ELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKS CDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNIFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK	348
hIgG4 Fc (UniprotKB P01861-1 のアミノ酸 99~327)	ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	349

【０１６８】

いくつかの態様では、Ｆｃドメインは、配列番号３４６に対して少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、食べる少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、少なくとも約９９％、又は１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。Ｆｃドメインが、配列番号３４６に対して少なくとも９０％の配列同一性及び１００％未満の配列同一性（例えば、配列番号３４６に対して９０％～９９％の配列同一性）を含む場合、Ｆｃドメインはまた、本明細書に記載される１つ以上のアミノ酸置換、例えば、エフ

ェクター機能を低減する１つ以上の置換（例えば、セクション６．９．１に記載）、及び／又はＦｃヘテロ二量体化を促進する１つ以上の置換（例えば、セクション６．９．２に記載）を含み得る。

【０１６９】

いくつかの態様では、Ｆｃドメインは、配列番号３４７に対して少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、少なくとも約９９％、又は１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。Ｆｃドメインが、配列番号３４７に対して少なくとも９０％の配列同一性及び１００％未満の配列同一性（例えば、配列番号３４７に対して９０％～９９％の配列同一性）を含む場合、Ｆｃドメインはまた、本明細書に記載される１つ以上のアミノ酸置換、例えば、エフェクター機能を低減する１つ以上の置換（例えば、セクション６．９．１に記載）、及び／又はＦｃヘテロ二量体化を促進する１つ以上の置換（例えば、セクション６．９．２に記載）を含み得る。

【０１７０】

いくつかの態様では、Ｆｃドメインは、配列番号３４８に対して少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、食べる少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、少なくとも約９９％、又は１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。Ｆｃドメインが、配列番号３４８に対して少なくとも９０％の配列同一性及び１００％未満の配列同一性（例えば、配列番号３４８に対して９０％～９９％の配列同一性）を含む場合、Ｆｃドメインはまた、本明細書に記載される１つ以上のアミノ酸置換、例えば、エフェクター機能を低減する１つ以上の置換（例えば、セクション６．９．１に記載）、及び／又はＦｃヘテロ二量体化を促進する１つ以上の置換（例えば、セクション６．９．２に記載）を含み得る。

【０１７１】

いくつかの態様では、Ｆｃドメインは、配列番号３４９に対して少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、食べる少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、少なくとも約９９％、又は１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。Ｆｃドメインが、配列番号３４９に対して少なくとも９０％の配列同一性及び１００％未満の配列同一性（例えば、配列番号３４９に対して９０％～９９％の配列同一性）を含む場合、Ｆｃドメインはまた、本明細書に記載される１つ以上のアミノ酸置換、例えば、エフェクター機能を低減する１つ以上の置換（例えば、セクション６．９．１に記載）、及び／又はＦｃヘテロ二量体化を促進する１つ以上の置換（例えば、セクション６．９．２に記載）を含み得る。

【０１７２】

Ｆｃ領域内の２つのＦｃドメインは、互いに同一又は異なってもよい。天然抗体では、Ｆｃドメインは、典型的には、同一であるが、多重特異性結合分子、例えば、本開示のＩＬ２プロタンパク質及びその活性化によって産生されるＭＢＭを産生する目的で、Ｆｃドメインは、以下のセクション６．９．２に記載のヘテロ二量体化を可能にするために有利に異なり得る。

【０１７３】

天然抗体では、ＩｇＡ、ＩｇＤ、及びＩｇＧの重鎖Ｆｃドメインは、２つの重鎖定常ドメイン（ＣＨ２及びＣＨ３）から構成され、ＩｇＥ及びＩｇＭのドメインは、３つの重鎖定常ドメイン（ＣＨ２、ＣＨ３及びＣＨ４）から構成される。これらは二量体化して、Ｆｃ領域を作成する。

【０１７４】

本開示のＩＬ２プロタンパク質において、Ｆｃ領域、及び／又はそのうちのＦｃドメインは、１つ以上の異なるクラスの抗体、例えば、１、２、又は３個の異なるクラス由来の

重鎖定常ドメインを含み得る。

【０１７５】

一実施形態では、Ｆｃ領域は、ＩｇＧ１に由来するＣＨ２及びＣＨ３ドメインを含む。

一実施形態では、Ｆｃ領域は、ＩｇＧ２に由来するＣＨ２及びＣＨ３ドメインを含む。

一実施形態では、Ｆｃ領域は、ＩｇＧ３に由来するＣＨ２及びＣＨ３ドメインを含む。

【０１７６】

一実施形態では、Ｆｃ領域は、ＩｇＧ４に由来するＣＨ２及びＣＨ３ドメインを含む。

一実施形態では、Ｆｃ領域は、ＩｇＭ由来のＣＨ４ドメインを含む。ＩｇＭ　ＣＨ４ドメインは、典型的には、ＣＨ３ドメインのＣ末端に位置する。

【０１７７】

一実施形態では、Ｆｃ領域は、ＩｇＧに由来するＣＨ２及びＣＨ３ドメイン、並びにＩｇＭに由来するＣＨ４ドメインを含む。

本開示のＩＬ２プロタンパク質のためのＦｃ領域を産生する際の使用のための重鎖定常ドメインは、上述の天然に存在する定常ドメインのバリアントを含み得ることが理解されるであろう。そのようなバリアントは、野生型定常ドメインと比較して、１つ以上のアミノ酸変異を含み得る。一例では、本開示のＦｃ領域は、野生型定常ドメインとは配列が異なる少なくとも１つの定常ドメインを含む。バリアント定常ドメインは、野生型定常ドメインよりも長くても短くてもよいことが理解されるであろう。好ましくは、バリアント定常ドメインは、野生型定常ドメインと少なくとも６０％同一又は類似である。別の例では、バリアント定常ドメインは、少なくとも７０％同一又は類似である。別の例では、バリアント定常ドメインは、少なくとも８０％同一又は類似である。別の例では、バリアント定常ドメインは、少なくとも９０％同一又は類似である。別の例では、バリアント定常ドメインは、少なくとも９５％同一又は類似である。

【０１７８】

ＩｇＭ及びＩｇＡは、共通のＨ２Ｌ２抗体単位の共有結合性多量体としてヒトに天然に存在する。ＩｇＭは、Ｊ鎖が組み込まれている場合には五量体として存在し、Ｊ鎖を欠く場合には六量体として存在する。ＩｇＡは、モノマー及び二量体形態として存在する。ＩｇＭ及びＩｇＡの重鎖は、尾部として既知であるＣ末端定常ドメインへの１８アミノ酸の延長部分を有する。尾部は、ポリマー内の重鎖間にジスルフィド結合を形成するシステイン残基を含み、重合において重要な役割を果たしていると考えられる。尾部はまた、グリコシル化部位を含む。ある特定の実施形態では、本開示のＩＬ２プロタンパク質は、テールピースを含まない。

【０１７９】

本開示のＩＬ２プロタンパク質に組み込まれるＦｃドメインは、タンパク質の機能的特性を変化させる１つ以上の改変、例えば、ＦｃＲｎ若しくは白血球受容体などのＦｃ受容体への結合、補体への結合、改変されたジスルフィド結合構造、又は変化したグリコシル化パターンを含み得る。エフェクター機能を変化させる例示的なＦｃ改変は、セクション６．９．１に記載されている。

【０１８０】

Ｆｃドメインはまた、例えば、同一のＦｃドメインに対する非同一のＦｃドメインの優先的な対合である、ヘテロ二量体化を可能にすることによって、非対称ＩＬ２プロタンパク質の製造可能性を改善する改変を含むように改変され得る。ヘテロ二量体化は、配列が異なるＦｃドメインを含むＦｃ領域によって異なるポリペプチド構成要素が互いに接続されるＩＬ２プロタンパク質の産生を可能にする。ヘテロ二量体化戦略の例は、セクション６．９．２に例示される。

【０１８１】

上述の改変のうちのいずれかを任意の好適な方法で組み合わせて所望の機能的特性を達成し、かつ／又は他の改変と組み合わせてＩＬ２プロタンパク質の特性を改変することができることが理解されるであろう。

【０１８２】

６．９．１．エフェクター機能が変化したＦｃドメイン

いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、Ｆｃ受容体及び／又はエフェクター機能への結合を低減する１つ以上のアミノ酸置換を含む。

【０１８３】

特定の実施形態では、Ｆｃ受容体は、Ｆｃγ受容体である。一実施形態では、Ｆｃ受容体は、ヒトＦｃ受容体である。一実施形態では、Ｆｃ受容体は、活性化Ｆｃ受容体である。特定の実施形態では、Ｆｃ受容体は、活性化ヒトＦｃγ受容体、より具体的には、ヒトＦｃγＲＩＩＩａ、ＦｃγＲＩ又はＦｃγＲＩＩａ、最も具体的には、ヒトＦｃγＲＩＩＩａである。一実施形態では、エフェクター機能は、補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）、抗体依存性細胞食作用（ＡＤＣＰ）、及びサイトカイン分泌の群から選択される１つ以上である。特定の実施形態では、エフェクター機能は、ＡＤＣＣである。

【０１８４】

一実施形態では、Ｆｃドメイン（例えば、ＩＬ２プロタンパク質半抗体のＦｃドメイン）又はＦｃ領域（例えば、会合してＦｃ領域を形成することができるＩＬ２プロタンパク質の一方又は両方のＦｃドメイン）は、Ｅ２３３、Ｌ２３４、Ｌ２３５、Ｎ２９７、Ｐ３３１、及びＰ３２９（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）の群から選択される位置にアミノ酸置換を含む。より特定の実施形態では、Ｆｃドメイン又はＦｃ領域は、Ｌ２３４、Ｌ２３５及びＰ３２９（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）の群から選択される位置にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメイン又はＦｃ領域は、アミノ酸置換Ｌ２３４Ａ及びＬ２３５Ａ（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）を含む。そのような一実施形態では、Ｆｃドメイン又は領域は、ＩｇｄＦｃドメイン又は領域、特に、ヒトＩｇｄ　Ｆｃドメイン又は領域である。一実施形態では、Ｆｃドメイン又はＦｃ領域は、Ｐ３２９位にアミノ酸置換を含む。より特定の実施形態では、アミノ酸置換は、Ｐ３２９Ａ又はＰ３２９Ｇ、特にＰ３２９Ｇ（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）である。一実施形態では、Ｆｃドメイン又はＦｃ領域は、Ｐ３２９位にアミノ酸置換、及びＥ２３３、Ｌ２３４、Ｌ２３５、Ｎ２９７及びＰ３３１（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）から選択される位置に更なるアミノ酸置換を含む。より特定の実施形態では、更なるアミノ酸置換は、Ｅ２３３Ｐ、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｌ２３５Ｅ、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｄ又はＰ３３１Ｓである。特定の実施形態では、Ｆｃドメイン又はＦｃ領域は、Ｐ３２９位、Ｌ２３４位、及びＬ２３５位にアミノ酸置換を含む（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）。より特定の実施形態では、Ｆｃドメインは、アミノ酸変異Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ及びＰ３２９Ｇ（「Ｐ３２９Ｇ　ＬＡＬＡ」、「ＰＧＬＡＬＡ」又は「ＬＡＬＡＰＧ」）を含む。

【０１８５】

典型的には、同じ１つ以上のアミノ酸置換が、Ｆｃ領域の２つのＦｃドメインの各々に存在する。したがって、特定の実施形態では、Ｆｃ領域の各Ｆｃドメインは、アミノ酸置換Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、及びＰ３２９Ｇ（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックス番号付け）を含み、すなわち、Ｆｃ領域の第１及び第２のＦｃドメインの各々において、２３４位のロイシン残基がアラニン残基で置き換えられ（Ｌ２３４Ａ）、２３５位のロイシン残基がアラニン残基で置き換えられ（Ｌ２３５Ａ）、３２９位のプロリン残基がグリシン残基で置き換えられる（Ｐ３２９Ｇ）（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）。

【０１８６】

一実施形態では、Ｆｃドメインは、ＩｇＧ１　Ｆｃドメイン、特にヒトＩｇＧ１　Ｆｃドメインである。いくつかの実施形態では、ＩｇＧ１　Ｆｃドメインは、エフェクター機能を低減するＤ２６５Ａ、Ｎ２９７Ａ変異（ＥＵ番号付け）を含むバリアントＩｇＧ１である。

【０１８７】

別の実施形態では、Ｆｃドメインは、Ｆｃ受容体への結合が低減したＩｇＧ４　Ｆｃドメインである。Ｆｃ受容体への結合が低減した例示的なＩｇＧ４　Ｆｃドメインは、以下

の表Ｈから選択されるアミノ酸配列を含み得る。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、以下に示される配列の太字部分のみを含む：

【０１８８】

【表９－１】

表 H	
Fc ドメイン	**配列**
配列番号 332(WO2014/121087 の配列番号 1)	Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
配列番号 333(WO2014/121087 の配列番号 2)	Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

【０１８９】

【表９－２】

表 H	
Fc ドメイン	**配列**
配列番号 334(WO2014/121087 の配列番号 30)	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val **Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn** **Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys**

【０１９０】

【表９－３】

表H	
Fcドメイン	配列
配列番号335(WO2014/121087の配列番号31)	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val **Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys**

【０１９１】

【表９－４】

表 H	
Fc ドメイン	**配列**
配列番号 336(WO2014/121087 の配列番号 37)	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val **Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn** **Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys**

【０１９２】

【表９－５】

表H	
Fcドメイン	配列
配列番号337(WO2014/121087の配列番号38)	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val **Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn** **Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys**

【０１９３】

特定の実施形態では、低減されたエフェクター機能を有するＩｇＧ４は、ＷＯ２０１４／１２１０８７の配列番号３１のアミノ酸配列の太字部分を含み、本明細書ではＩｇＧ４ｓ又はｈＩｇＧ４ｓと呼ばれることもある。

【０１９４】

ヘテロ二量体Ｆｃ領域について、上述のバリアントＩｇＧ４　Ｆｃ配列の組み合わせ、例えば、ＷＯ２０１４／１２１０８７の配列番号３０のアミノ酸配列（又はその太字部分）を含むＦｃドメイン及びＷＯ２０１４／１２１０８７の配列番号３７のアミノ酸配列（又はその太字部分）を含むＦｃドメインを含むＦｃ領域、又はＷＯ２０１４／１２１０８７の配列番号３１のアミノ酸配列（又はその太字部分）を含むＦｃドメイン及びＷＯ２０１４／１２１０８７の配列番号３８のアミノ酸配列（又はその太字部分）を含むＦｃドメインを含むＦｃ領域、を組み込むことが可能である。

【０１９５】

６．９．２．Ｆｃヘテロ二量体化バリアント

ある特定のＩＬ２プロタンパク質は、天然免疫グロブリンとは異なり、非同一のＮ末端又はＣ末端領域に作動可能に連結されている、２つのＦｃドメイン間の二量体化を伴う。Ｆｃ領域を形成するための２つのＦｃドメインの不十分なヘテロ二量体化は、所望のヘテロ二量体分子の収量を増加させるための障害となる可能性があり、精製が課題となる。例えば、ＥＰ１８７０４５９Ａ１、米国特許第５，５８２，９９６号、米国特許第５，７３１，１６８号、米国特許第５，９１０，５７３号、米国特許第５，９３２，４４８号、米国特許第６，８３３，４４１号、米国特許第７，１８３，０７６号、米国特許出願公開第２００６／２０４４９３Ａ１号、及びＰＣＴ公開第ＷＯ２００９／０８９００４Ａ１号に

開示されるように、本開示のＩＬ２プロタンパク質に存在し得るＦｃドメインの二量体化の増強において、当技術分野で利用可能な様々なアプローチが使用され得る。

【０１９６】

いくつかの実施形態では、本開示は、Ｆｃヘテロ二量体を含むＩＬ２プロタンパク質、すなわち、異種、非同一のＦｃドメインを含むＦｃ領域を提供する。典型的には、Ｆｃヘテロ二量体中の各Ｆｃドメインは、抗体のＣＨ３ドメインを含む。ＣＨ３ドメインは、前述のセクションに記載されるように、任意のアイソタイプ、クラス、又はサブクラス、好ましくはＩｇＧ（ｌｇＧ１、ｌｇＧ２、ｌｇＧ３、及びｌｇＧ４）クラスの抗体の定常領域に由来する。

【０１９７】

ＣＨ３ドメインでの２つの異なる重鎖のヘテロ二量体化は、所望のＩＬ２プロタンパク質を生じさせるが、同一の重鎖のホモ二量体化は、所望のＩＬ２プロタンパク質の収率を低減させる。よって、好ましい実施形態では、本開示のＩＬ２プロタンパク質を形成するために会合するポリペプチドは、未改変のＦｃドメインに対してヘテロ二量体会合に有利な改変を有するＣＨ３ドメインを含む。

【０１９８】

特定の実施形態では、Ｆｃヘテロ二量体の形成を促進する当該改変は、Ｆｃドメインの一方に「ノブ」改変を含み、他方のＦｃドメインに「ホール」改変を含む、いわゆる「ノブ・イントゥ・ホール」又は「ノブ・イン・ホール」改変である。ノブ・イントゥ・ホール技術は、例えば、米国特許第５，７３１，１６８号、ＵＳ７，６９５，９３６、Ｒｉｄｇｗａｙ ｅｔ ａｌ．，１９９６，Ｐｒｏｔ Ｅｎｇ ９：６１７－６２１、及びＣａｒｔｅｒ，２００１，Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈ ２４８：７－１５に記載されている。一般に、この方法は、ヘテロ二量体形成を促進し、ホモ二量体形成を障害するために、突起を空洞内に配置することができるように、第１のポリペプチドの界面に突起（「ノブ」）及び第２のポリペプチドの界面に対応する空洞（「ホール」）を導入することを含む。突起は、第１のポリペプチドの界面からの小さいアミノ酸側鎖をより大きい側鎖（例えば、チロシン又はトリプトファン）で置き換えることによって構築される。突起と同じ又は類似のサイズの補償空洞は、大きいアミノ酸側鎖をより小さいアミノ酸側鎖（例えば、アラニン又はスレオニン）に置き換えることによって、第２のポリペプチドの界面に作製される。

【０１９９】

したがって、いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインの第１のサブユニットのＣＨ３ドメイン内のアミノ酸残基は、より大きい側鎖体積を有するアミノ酸残基で置き換えられ、それによって、第２のサブユニットのＣＨ３ドメイン内の空洞内に配置可能な第１のサブユニットのＣＨ３ドメイン内に突起を生じさせ、Ｆｃドメインの第２のサブユニットのＣＨ３ドメイン内のアミノ酸残基は、より小さい側鎖体積を有するアミノ酸残基で置き換えられ、それによって、第２のサブユニットのＣＨ３ドメイン内に空洞を生じさせ、その中に第１のサブユニットのＣＨ３ドメイン内の突起が配置可能である。好ましくは、より大きい側鎖体積を有する当該アミノ酸残基は、アルギニン（Ｒ）、フェニルアラニン（Ｆ）、チロシン（Ｙ）、及びトリプトファン（Ｗ）からなる群から選択される。好ましくは、より小さい側鎖体積を有する当該アミノ酸残基は、アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、スレオニン（Ｔ）、及びバリン（Ｖ）からなる群から選択される。突起及び空洞は、ポリペプチドをコードする核酸を変化させることによって、例えば、部位特異的変異誘発によって、又はペプチド合成によって作製することができる。例示的な置換は、Ｙ４７０Ｔである。

【０２００】

特定のそのような実施形態では、第１のＦｃドメインでは、３６６位のスレオニン残基がトリプトファン残基で置き換えられ（Ｔ３６６Ｗ）、Ｆｃドメインでは、４０７位のチロシン残基がバリン残基で置き換えられ（Ｙ４０７Ｖ）、任意選択で、３６６位のスレオニン残基がセリン残基で置き換えられ（Ｔ３６６Ｓ）、３６８位のロイシン残基がアラニ

ン残基で置き換えられる（Ｌ３６８Ａ）（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）。更なる実施形態では、第１のＦｃドメインでは、追加的に、３５４位のセリン残基がシステイン残基で置き換えられる（Ｓ３５４Ｃ）か、又は３５６位のグルタミン酸残基がシステイン残基で置き換えられる（Ｅ３５６Ｃ）（特に、３５４位のセリン残基がシステイン残基で置き換えられる）。第２のＦｃドメインでは、追加的に、３４９位のチロシン残基がシステイン残基で置き換えられる（Ｙ３４９Ｃ）（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）。特定の実施形態では、第１のＦｃドメインはアミノ酸置換Ｓ３５４Ｃ及びＴ３６６Ｗを含み、第２のＦｃドメインはアミノ酸置換Ｙ３４９Ｃ、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ及びＹ４０７Ｖ（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）を含む。

【０２０１】

いくつかの実施形態では、静電的ステアリング（ｅｌｅｃｔｒｏｓｔａｔｉｃ　ｓｔｅｅｒｉｎｇ）（例えば、Ｇｕｎａｓｅｋａｒａｎ　ｅｔ　ａｌ．，２０１０，Ｊ　Ｂｉｏｌ　Ｃｈｅｍ　２８５（２５）：１９６３７－４６に記載）を使用して、Ｆｃ領域の第１及び第２のＦｃドメインの会合を促進することができる。

【０２０２】

ヘテロ二量体化を促進するように改変されたＦｃドメインの使用の代替として、又はそれに加えて、Ｆｃドメインは、Ｆｃヘテロ二量体の選択を可能にする精製戦略を可能にするように改変され得る。そのような一実施形態では、１つのポリペプチドは、プロテインＡへのその結合を抑止する改変Ｆｃドメインを含み、したがって、ヘテロ二量体タンパク質をもたらす精製方法を可能にする。例えば、米国特許第８，５８６，７１３号を参照されたい。したがって、ＩＬ２プロタンパク質は、第１のＣＨ３ドメイン及び第２のＩｇ　ＣＨ３ドメインを含み、第１及び第２のＩｇ　ＣＨ３ドメインは、少なくとも１つのアミノ酸が互いに異なっており、少なくとも１つのアミノ酸の相違は、アミノ酸の相違を欠いている対応するＩＬ２プロタンパク質と比較して、プロテインＡへのＩＬ２プロタンパク質の結合を低減させる。一実施形態では、第１のＣＨ３ドメインはプロテインＡに結合し、第２のＣＨ３ドメインは、プロテインＡ結合を減少又は消失させる変異／改変、例えばＨ９５Ｒ改変（ＩＭＧＴ　エクソン番号付けによる、ＥＵ番号付けではＨ４３５Ｒ）を含む。第２のＣＨ３は更に、Ｙ９６Ｆ改変（ＩＭＧＴによる、ＥＵによればＹ４３６Ｆ）を含んでいてもよい。このクラスの改変は、本明細書において「スター」変異と称される。

【０２０３】

いくつかの実施形態では、Ｆｃは、ヘテロ二量体化を促進するための１つ以上の変異（例えば、ノブ及びホール変異）、並びに精製を促進するためのスター変異を含み得る。

６．９．３．ヒンジドメイン

本開示のＩＬ２プロタンパク質は、そのＮ末端にヒンジドメインを含むＦｃドメインを含み得る。ヒンジ領域は、天然のヒンジ領域又は改変されたヒンジ領域であり得る。ヒンジ領域は、典型的には、Ｆｃ領域のＮ末端に見出される。「ヒンジドメイン」という用語は、別段文脈が指示しない限り、単一又はモノマーのポリペプチド鎖の文脈では、モノマーヒンジドメインである天然に存在するか又は非天然のヒンジ配列を指し、二量体ポリペプチドの文脈では（例えば、２つのＦｃドメインの会合によって形成されるホモ二量体又はヘテロ二量体ＩＬ２プロタンパク質）、別個のポリペプチド鎖上に２つの会合されたヒンジ配列を含み得る。時として、２つの会合されたヒンジ配列は、「ヒンジ領域」と称される。

【０２０４】

天然のヒンジ領域は、通常、天然に存在する抗体におけるＦａｂドメインとＦｃドメインとの間に見出されるヒンジ領域である。改変されたヒンジ領域は、天然のヒンジ領域とは、長さ及び／又は組成が異なる任意のヒンジである。そのようなヒンジは、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、サメ、ブタ、ハムスター、ラクダ、ラマ、又はヤギのヒンジ領域などの他の種からのヒンジ領域を含むことができる。他の改変されたヒンジ領域は、重鎖Ｆｃドメイン又はＦｃ領域のものとは異なるクラス又はサブクラスの抗体に由来する完全なヒンジ領域を含み得る。あるいは、改変されたヒンジ領域は、天然ヒンジの一部又は繰り

返しユニットを含み得、繰り返しの各ユニットは、天然ヒンジ領域に由来する。更なる代替では、天然ヒンジ領域は、１つ以上のシステイン又は他の残基をセリン又はアラニンなどの中性残基に変換することによって、又は好適に配置された残基をシステイン残基に変換することによって変更され得る。そのような手段によって、ヒンジ領域内のシステイン残基の数を増加又は減少させることができる。他の改変されたヒンジ領域は、完全に合成であってもよく、長さ、システイン組成、及び柔軟性などの所望の特性を有するように設計されてもよい。

【０２０５】

いくつかの改変ヒンジ領域は、例えば、米国特許第５，６７７，４２５号、ＷＯ９９／１５５４９、ＷＯ２００５／００３１７０、ＷＯ２００５／００３１６９、ＷＯ２００５／００３１７０、ＷＯ９８／２５９７１、及びＷＯ２００５／００３１７１にすでに記載されており、これらは参照によって本明細書に組み込まれる。

【０２０６】

一実施形態では、本開示のＩＬ２プロタンパク質は、一方又は両方のＦｃドメインがそのＮ末端に無傷のヒンジドメインを有するＦｃ領域を含む。

様々な実施形態では、ヒンジ領域内の位置２３３～２３６は、Ｇ、Ｇ、Ｇ、及び空き；Ｇ、Ｇ、空き、及び空き；Ｇ、空き、空き、及び空き；又は全てが空きであり得、位置はＥＵ番号付けによって番号付けされている。

【０２０７】

いくつかの実施形態では、本開示のＩＬ２プロタンパク質は、同じアイソタイプ（例えば、ヒトＩｇＧ１又はヒトＩｇＧ４）の野生型ヒンジ領域に対して、Ｆｃγ受容体に対する結合親和性を低減する改変されたヒンジ領域を含む。

【０２０８】

一実施形態では、本開示のＩＬ２プロタンパク質は、各ＦｃドメインがそのＮ末端に無傷のヒンジドメインを有するＦｃ領域を含み、各Ｆｃドメイン及びヒンジドメインはｌｇＧ４に由来し、各ヒンジドメインは改変された配列ＣＰＰＣを含む。ヒトｌｇＧ４のコアヒンジ領域は、配列ＣＰＰＣを含むｌｇＧ１と比較して、配列ＣＰＳＣを含む。ｌｇＧ４配列に存在するセリン残基は、この領域における柔軟性の増加をもたらし、したがって、ある割合の分子は、ＩｇＧ分子内の他の重鎖に架橋して鎖間ジスルフィドを形成するのではなく、同じタンパク質鎖内にジスルフィド結合（鎖内ジスルフィド）を形成する。（Ａｎｇｅｌ　ｅｔ　ａｌ．，１９９３，Ｍｏｌ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　３０（１）：１０５－１０８）。セリン残基をプロリンに変更して、ｌｇＧ１と同じコア配列を得ることで、ｌｇＧ４ヒンジ領域内に鎖間ジスルフィドが完全な形成が可能になり、したがって、精製生成物中の不均一性が低減する。この変化したアイソタイプは、ｌｇＧ４Ｐと呼ばれる。

【０２０９】

６．９．３．１．キメラヒンジ配列

ヒンジドメインは、キメラヒンジドメインであり得る。

例えば、キメラヒンジは、ヒトＩｇＧ１、ヒトＩｇＧ２、又はヒトＩｇＧ４ヒンジ領域に由来する「下部ヒンジ」配列と組み合わせられたヒトＩｇＧ１、ヒトＩｇＧ２、又はヒトＩｇＧ４ヒンジ領域に由来する「上部ヒンジ」配列を含み得る。

【０２１０】

特定の実施形態では、キメラヒンジ領域は、アミノ酸配列ＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＰＶＡ（配列番号３２６）（ＷＯ２０１４／１２１０８７の配列番号８として以前に開示されており、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）又はＥＳＫＹＧＰＰＣＰＰＣＰＡＰＰＶＡ（配列番号３２７）（ＷＯ２０１４／１２１０８７の配列番号９として以前に開示されている）を含む。そのようなキメラヒンジ配列は、ＩｇＧ４　ＣＨ２領域に好適に連結することができる（例えば、ＩｇＧ４　Ｆｃドメイン、例えば、ヒト又はマウスＦｃドメインに組み込むことによって、これは例えば、セクション６．９．１に記載されるように、エフェクター機能を低減するようにＣＨ２及び／又はＣＨ３ドメインにおいて更に改変され得る）。

【０２１１】
６．９．３．２．エフェクター機能が低減したヒンジ配列
更なる実施形態では、ヒンジ領域は、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるＷＯ２０１６／１６１０１０Ａ２に記載されるように、エフェクター機能を低減するように改変することができる。様々な実施形態では、改変されたヒンジ領域の位置２３３～２３６は、Ｇ、Ｇ、Ｇ、及び空き；Ｇ、Ｇ、空き、及び空き；Ｇ、空き、空き、及び空き；又は全てが空きであり得、位置はＥＵ番号付けによって番号付けされている（ＷＯ２０１６１６１０１０Ａ２の図１に示される）。これらのセグメントは、ＧＧＧ－、ＧＧ－－、Ｇ－－－、又は－－－－として表すことができ、「－」は、空きの位置を表す。
【０２１２】
位置２３６は、カノニカルヒトＩｇＧ２では空きであるが、他のカノニカルヒトＩｇＧアイソタイプでは占有されている。位置２３３～２３５は、（ＷＯ２０１６１６１０１０Ａ２の図１に示されるように）４つのヒトアイソタイプ全てにおいて、Ｇ以外の残基によって占有される。
【０２１３】
位置２３３～２３６内のヒンジ改変は、Ｐによって占有される位置２２８と組み合わせることができる。位置２２８は、ヒトＩｇＧ１及びＩｇＧ２では本来Ｐによって占有されるが、ヒトＩｇＧ４ではＳによって、ヒトＩｇＧ３ではＲによって占有される。ＩｇＧ４抗体におけるＳ２２８Ｐ変異は、ＩｇＧ４抗体を安定化し、外因性抗体と内因性抗体との間の重鎖軽鎖対の交換を低減するのに有利である。好ましくは、２２６～２２９位は、それぞれ、Ｃ、Ｐ、Ｐ及びＣによって占有される。
【０２１４】
例示的なヒンジ領域は、中間（又はコア）及び下部ヒンジと称されることもある残基２２６－２３６を有し、ＧＧＧ－（２３３～２３６）、ＧＧ－－（２３３～２３６）、Ｇ－－－（２３３～２３６）及びＧなし（２３３－２３６）、と表記される改変されたヒンジ配列によって占有される。任意選択で、ヒンジドメインアミノ酸配列は、ＣＰＰＣＰＡＰＧＧＧ－ＧＰＳＶＦ（配列番号３２８）（ＷＯ２０１６１６１０１０Ａ２の配列番号１として以前に開示されている）、ＣＰＰＣＰＡＰＧＧ－－ＧＰＳＶＦ（配列番号３２９）（ＷＯ２０１６１６１０１０Ａ２の配列番号２として以前に開示されている）、ＣＰＰＣＰＡＰＧ－－－ＧＰＳＶＦ（配列番号３３０）（ＷＯ２０１６１６１０１０Ａ２の配列番号３として以前に開示されている）又はＣＰＰＣＰＡＰ－－－－ＧＰＳＶＦ（配列番号３３１）（ＷＯ２０１６１６１０１０Ａ２の配列番号４として以前に開示されている）を含む。
【０２１５】
上記の改変されたヒンジ領域は、典型的にはＣＨ２及びＣＨ３ドメインを含み、指定された領域に隣接する追加のヒンジセグメント（例えば、上部ヒンジ）を有し得る、重鎖定常領域に組み込むことができる。存在するそのような追加の定常領域セグメントは、典型的には同じアイソタイプ、好ましくはヒトアイソタイプのものであるが、異なるアイソタイプのハイブリッドであってもよい。そのような追加のヒト定常領域セグメントのアイソタイプは、好ましくはヒトＩｇＧ４であるが、ドメインが異なるアイソタイプであるヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、若しくはＩｇＧ３又はそのハイブリッドであってもよい。ヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、及びＩｇＧ４の例示的な配列は、ＷＯ２０１６１６１０１０Ａ２の図２～４に示されている。
【０２１６】
特定の実施形態では、改変されたヒンジ配列は、ＩｇＧ４　ＣＨ２領域に連結することができる（例えば、ＩｇＧ４　Ｆｃドメイン、例えば、ヒト又はマウスＦｃドメインに組み込むことによって、これは例えば、セクション６．９．１に記載されるように、エフェクター機能を低減するようにＣＨ２及び／又はＣＨ３ドメインにおいて更に改変され得る）。
【０２１７】

６．１０．核酸及び宿主細胞

別の態様では、本開示は、本開示のＩＬ２プロタンパク質をコードする核酸を提供する。いくつかの実施形態では、ＩＬ２プロタンパク質は、単一の核酸によってコードされる。他の実施形態では、ＩＬ２プロタンパク質は、複数の（例えば、２、３、４個以上の）核酸によってコードされ得る。

【０２１８】

単一の核酸は、単一のポリペプチド鎖を含むＩＬ２プロタンパク質、２つ以上のポリペプチド鎖を含むＩＬ２プロタンパク質、又は３つ以上のポリペプチド鎖を含むＩＬ２プロタンパク質の一部分をコードし得る（例えば、単一の核酸は、３、４個以上のポリペプチド鎖を含むＩＬ２プロタンパク質の２つのポリペプチド鎖、又は４つ以上のポリペプチド鎖を含むＩＬ２プロタンパク質の３つのポリペプチド鎖をコードし得る）。発現を別々に制御するために、２つ以上のポリペプチド鎖をコードするオープンリーディングフレームは、別々の転写調節エレメント（例えば、プロモーター及び／又はエンハンサー）の制御下におくことができる。２つ以上のポリペプチドをコードするオープンリーディングフレームは、同じ転写調節エレメントによって制御され、内部リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）配列によって分離され、別々のポリペプチドへの翻訳を可能にすることもできる。

【０２１９】

いくつかの実施形態では、２つ以上のポリペプチド鎖を含むＩＬ２プロタンパク質は、２つ以上の核酸によってコードされる。ＩＬ２プロタンパク質をコードする核酸の数は、ＩＬ２プロタンパク質中のポリペプチド鎖の数以下（例えば、２つ以上のポリペプチド鎖が単一の核酸によってコードされる場合）であり得る。

【０２２０】

本開示の核酸は、ＤＮＡ又はＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）であり得る。

別の態様では、本開示は、本開示の核酸を含む宿主細胞及びベクターを提供する。核酸は、本明細書において以下により詳細に記載されるように、単一のベクター中に存在してもよく、又は同じ宿主細胞若しくは別個の宿主細胞中に存在する別個のベクター中に存在してもよい。

【０２２１】

６．１０．１．ベクター

本開示は、本明細書に記載されるＩＬ２プロタンパク質又はその構成要素、例えば、ＩＬ２プロタンパク質の半抗体のポリペプチド鎖のうちの１つ又は２つをコードするヌクレオチド配列を含むベクターを提供する。ベクターは、ウイルス、プラスミド、コスミド、ラムダファージ、又は酵母人工染色体（ＹＡＣ）を含むが、これらに限定されない。

【０２２２】

多数のベクター系が用いられ得る。例えば、ベクターの１つのクラスは、例えば、ウシパピローマウイルス、ポリオーマウイルス、アデノウイルス、ワクシニアウイルス、バキュロウイルス、レトロウイルス（ラウス肉腫ウイルス、ＭＭＴＶ若しくはＭＯＭＬＶ）、又はＳＶ４０ウイルスなどの動物ウイルスに由来するＤＮＡエレメントを利用する。別のクラスのベクターは、セムリキ森林ウイルス、東部ウマ脳炎ウイルス、及びフラビウイルスなどのＲＮＡウイルスに由来するＲＮＡエレメントを利用する。

【０２２３】

追加的に、ＤＮＡを染色体に安定的に組み込んだ細胞は、トランスフェクトされた宿主細胞の選択を可能にする１つ以上のマーカーを導入することによって選択することができる。マーカーは、例えば、栄養要求性宿主に対するプロトトロピー（ｐｒｏｔｏｔｒｏｐｙ）、殺生物剤耐性（例えば、抗生物質）、又は銅などの重金属に対する耐性などを提供し得る。選択可能なマーカー遺伝子は、発現されるＤＮＡ配列に直接連結されるか、又は共形質転換によって同じ細胞内に導入されるかのいずれかであり得る。ｍＲＮＡの最適な合成のために、追加のエレメントも必要とされ得る。これらのエレメントは、スプライスシグナル、並びに転写プロモーター、エンハンサー、及び終結シグナルを含み得る。

【０２２４】

発現ベクター又は構築物を含むＤＮＡ配列が発現のために調製されると、発現ベクターを適切な宿主細胞にトランスフェクトするか、又は導入することができる。これを達成するために、例えば、プロトプラスト融合、リン酸カルシウム沈殿、エレクトロポレーション、レトロウイルス形質導入、ウイルストランスフェクション、遺伝子銃、脂質ベースのトランスフェクション、又は他の従来の技法などの様々な技法が用いられ得る。得られたトランスフェクトされた細胞を培養し、発現されたポリペプチドを回収するための方法及び条件は、当業者に既知であり、本明細書に基づいて、用いられる特異的発現ベクター及び哺乳類宿主細胞に応じて変化又は最適化され得る。

【０２２５】

６．１０．２．細胞

本開示はまた、本開示の核酸を含む宿主細胞を提供する。

一実施形態では、宿主細胞は、本明細書に記載される１つ以上の核酸を含むように遺伝子操作される。

【０２２６】

一実施形態では、宿主細胞は、発現カセットを使用することによって遺伝子操作される。「発現カセット」という語句は、そのような配列と互換性のある宿主における遺伝子の発現に影響を与えることができるヌクレオチド配列を指す。そのようなカセットには、プロモーター、イントロンを有する又は有しないオープンリーディングフレーム、及び終結シグナルが含まれ得る。発現にもたらすのに必要な、又は役立つ追加の因子、例えば、誘導性プロモーターも使用されてもよい。

【０２２７】

本開示はまた、本明細書に記載されるベクターを含む宿主細胞を提供する。

細胞は、限定されないが、真核細胞、細菌細胞、昆虫細胞、又はヒト細胞であり得る。好適な真核細胞としては、Ｖｅｒｏ細胞、ＨｅＬａ細胞、ＣＯＳ細胞、ＣＨＯ細胞、ＨＥＫ２９３細胞、ＢＨＫ細胞、及びＭＤＣＫＩＩ細胞が挙げられるが、これらに限定されない。好適な昆虫細胞としては、限定されないが、Ｓｆ９細胞が挙げられる。

【０２２８】

６．１１．薬学的組成物

本開示のＩＬ２プロタンパク質は、ＩＬ２プロタンパク質並びに１つ以上の担体、賦形剤、及び／又は希釈剤を含む組成物の形態であり得る。組成物は、獣医学的使用又はヒトにおける薬学的使用などの特定の使用のために製剤化され得る。組成物の形態（例えば、乾燥粉末、液体製剤など）、並びに使用される賦形剤、希釈剤、及び／又は担体は、ＩＬ２プロタンパク質の意図される使用、及び治療的使用の場合は投与様式に依存する。

【０２２９】

治療用途の場合、組成物は、薬学的に許容される担体を含む滅菌の薬学的組成物の一部として供給され得る。この組成物は、（患者に投与する所望の方法に応じて）任意の好適な形態にあり得る。薬学的組成物は、経口、経皮、皮下、鼻腔内、静脈内、筋肉内、腫瘍内、髄腔内、局部、又は局所などの様々な経路によって患者に投与され得る。任意の所与の場合における投与のための最も好適な経路は、特定のＩＬ２プロタンパク質、対象、並びに疾患の性質及び重症度、並びに対象の身体状態に依存するであろう。典型的には、薬学的組成物は、静脈内又は皮下に投与されるであろう。

【０２３０】

薬学的組成物は、用量当たりの所定量の本開示のＩＬ２プロタンパク質を含有する単位剤形で便利に提示され得る。単位用量に含まれるＩＬ２プロタンパク質の量は、治療される疾患、及び当技術分野で周知の他の因子に依存するであろう。そのような単位投薬量は、単回投与に好適な量のＩＬ２プロタンパク質を含有する凍結乾燥された乾燥粉末の形態、又は液体の形態であり得る。乾燥粉末単位剤形は、シリンジ、好適な量の希釈剤、及び／又は投与に有用な他の構成要素とともにキットに包装され得る。液体形態の単位投薬量は、単回投与に好適な量のＩＬ２プロタンパク質が予め充填されたシリンジの形態で便利に供給され得る。

【０２３１】
薬学的組成物はまた、複数回投与に好適な量のＩＬ２プロタンパク質を含有することから大量に供給され得る。
薬学的組成物は、所望の純度を有するＩＬ２プロタンパク質を、当技術分野で典型的に用いられる任意選択の薬学的に許容される担体、賦形剤、又は安定剤（これらの全ては本明細書で「担体」と呼ばれる）、すなわち、緩衝剤、安定剤、防腐剤、等張化剤、非イオン性洗浄剤、抗酸化剤、及び他の種々の添加剤と混合することによって、凍結乾燥された製剤又は水溶液としての保存のために調製され得る。Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，１６ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ（Ｏｓｏｌ，ｅｄ．１９８０）を参照されたい。そのような添加剤は、用いられる投薬量及び濃度においてレシピエントに対して無毒であるべきである。
【０２３２】
緩衝剤は、生理学的条件に近い範囲でｐＨを維持するのに役立つ。それらは、多種多様な濃度で存在し得るが、典型的には、約２ｍＭ～約５０ｍＭの範囲の濃度で存在するであろう。本開示で使用するための好適な緩衝剤としては、有機酸及び無機酸の両方並びにその塩、例えば、クエン酸緩衝液（例えば、クエン酸一ナトリウム－クエン酸二ナトリウム混合物、クエン酸－クエン酸三ナトリウム混合物、クエン酸－クエン酸一ナトリウム混合物など）、コハク酸緩衝液（例えば、コハク酸－コハク酸一ナトリウム混合物、コハク酸－水酸化ナトリウム混合物、コハク酸－コハク酸二ナトリウム混合物など）、酒石酸緩衝液（例えば、酒石酸－酒石酸ナトリウム混合物、酒石酸－酒石酸カリウム混合物、酒石酸－水酸化ナトリウム混合物など）、フマル酸緩衝液（例えば、フマル酸－フマル酸一ナトリウム混合物、フマル酸二ナトリウム混合物、フマル酸一ナトリウム－フマル酸二ナトリウム混合物など）、グルコン酸緩衝液（例えば、グルコン酸－グリコン酸ナトリウム（ｓｏｄｉｕｍ ｇｌｙｃｏｎａｔｅ）混合物、グルコン酸－水酸化ナトリウム混合物、グルコン酸－グリコン酸カリウム（ｐｏｔａｓｓｉｕｍ ｇｌｙｃｏｎａｔｅ）混合物など）、シュウ酸緩衝液（例えば、シュウ酸－シュウ酸ナトリウム混合物、シュウ酸－水酸化ナトリウム混合物、シュウ酸－シュウ酸カリウム混合物など）、乳酸緩衝液（例えば、乳酸－乳酸ナトリウム混合物、乳酸－水酸化ナトリウム混合物、乳酸－乳酸カリウム混合物など）、及び酢酸緩衝液（例えば、酢酸－酢酸ナトリウム混合物、酢酸－水酸化ナトリウム混合物など）が挙げられる。追加的に、リン酸緩衝液、ヒスチジン緩衝液、及びトリメチルアミン塩（例えば、Ｔｒｉｓ）が使用され得る。
【０２３３】
保存剤は、微生物の成長を遅延させるために添加されてもよく、約０．２％～１％（ｗ／ｖ）の範囲の量で添加され得る。本開示で使用するのに好適な保存剤としては、フェノール、ベンジルアルコール、メタ－クレゾール、メチルパラベン、プロピルパラベン、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド、ベンザルコニウムハライド（ｂｅｎｚａｌｃｏｎｉｕｍ ｈａｌｉｄｅ）（例えば、塩化物、臭化物、及びヨウ化物）、塩化ヘキサメトニウム、及びアルキルパラベン（例えば、メチル又はプロピルパラベン）、カテコール、レゾルシノール、シクロヘキサノール、及び３－ペンタノールが挙げられる。時に「安定剤」として既知の等張化剤は、本開示の液体組成物の等張性を確保するために添加され得、多価糖アルコール、例えば、三価以上の糖アルコール（例えば、グリセリン、エリスリトール、アラビトール、キシリトール、ソルビトール、及びマンニトールなど）を含む。安定剤とは、機能において、増量剤から添加剤までの範囲であり得る幅広いカテゴリの賦形剤を指し、治療薬を可溶化するか、変性若しくは容器壁への付着を防ぐのに役立つ。典型的な安定剤は、多価糖アルコール（上で列挙した）、アミノ酸（例えば、アルギニン、リジン、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アラニン、オルニチン、Ｌ－ロイシン、２－フェニルアラニン、グルタミン酸、スレオニンなど）、有機糖又は糖アルコール（例えば、ラクトース、トレハロース、スタキオース、マンニトール、ソルビトール、キシリトール、リビトール、ミオイニシトール（ｍｙｏｉｎｉｓｉｔｏｌ）、ガラクチトール、グリセロールなど、イノシトールなどのシクリトールを含む）、

ポリエチレングリコール、アミノ酸ポリマー、含硫還元剤（例えば、尿素、グルタチオン、チオクト酸、チオグリコール酸ナトリウム、チオグリセロール、ａ－モノチオグリセロール、及びチオ硫酸ナトリウムなど）、低分子量ポリペプチド（例えば、１０残基以下のペプチド）、タンパク質（例えば、ヒト血清アルブミン、ウシ血清アルブミン、ゼラチン、又は免疫グロブリンなど）、親水性ポリマー（例えば、ポリビニルピロリドンなど）、単糖類（例えば、キシロース、マンノース、フルクトース、グルコースなど）、二糖類（例えば、ラクトース、マルトース、スクロース及びトレハロースなど）、三糖類（例えば、ラフィノースなど）、及び多糖類（例えば、デキストランなど）であり得る。安定剤は、ＩＬ２プロタンパク質の重量当たり０．５～１０重量％の範囲の量で存在し得る。

【０２３４】

非イオン性界面活性剤又は洗剤（「湿潤剤」としても既知）を添加して、糖タンパク質の可溶化を助けるとともに、撹拌誘導性凝集から糖タンパク質を保護することができ、これにより、タンパク質の変性を引き起こすことなく、製剤を負荷のかかる剪断面に曝露することも可能になる。好適な非イオン性界面活性剤としては、ポリソルベート（２０、８０など）、ポリオキサマー（ｐｏｌｙｏｘａｍｅｒ）（１８４、１８８など）、及びプルロニックポリオールが挙げられる。非イオン性界面活性剤は、約０．０５ｍｇ／ｍＬ～約１．０ｍｇ／ｍＬ（例えば、約０．０７ｍｇ／ｍＬ～約０．２ｍｇ／ｍＬ）の範囲で存在し得る。

【０２３５】

追加の種々の賦形剤としては、増量剤（例えば、デンプン）、キレート剤（例えば、ＥＤＴＡ）、抗酸化物質（例えば、アスコルビン酸、メチオニン、ビタミンＥ）、及び共溶媒が挙げられる。

【０２３６】

本開示のＩＬ２プロタンパク質は、例えば、１つ以上の薬学的に許容される賦形剤又は担体を含有する、ＩＬ２プロタンパク質を含む薬学的組成物として製剤化され得る。本開示のＩＬ２プロタンパク質を含む薬学的組成物又は滅菌組成物を調製するために、ＩＬ２プロタンパク質調製物を、１つ以上の薬学的に許容される賦形剤又は担体と組み合わせることができる。

【０２３７】

例えば、ＩＬ２プロタンパク質の製剤は、ＩＬ２プロタンパク質を、例えば、凍結乾燥粉末、スラリー、水溶液、ローション、又は懸濁液の形態で、生理学的に許容される担体、賦形剤、又は安定剤と混合することによって調製され得る（例えば、Ｈａｒｄｍａｎ ｅｔ ａｌ．，２００１，Ｇｏｏｄｍａｎ ａｎｄ Ｇｉｌｍａｎ’ｓ Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｉｃａｌ Ｂａｓｉｓ ｏｆ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，ＭｃＧｒａｗ－Ｈｉｌｌ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．；Ｇｅｎｎａｒｏ，２０００，Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ，Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ，Ｗｉｌｌｉａｍｓ，ａｎｄ Ｗｌｋｉｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．、Ａｖｉｓ，ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），１９９３，Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ：Ｇｅｎｅｒａｌ Ｍｅｄｉｃａｔｉｏｎｓ，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，ＮＹ、Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），１９９０，Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ：Ｔａｂｌｅｔｓ，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，ＮＹ、Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），１９９０，Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ：Ｄｉｓｐｅｒｓｅ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，ＮＹ、Ｗｅｉｎｅｒ ａｎｄ Ｋｏｔｋｏｓｋｉｅ，２０００，Ｅｘｃｉｐｉｅｎｔ Ｔｏｘｉｃｉｔｙ ａｎｄ Ｓａｆｅｔｙ，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．を参照されたい）。

【０２３８】

特定の対象の有効量は、治療される状態、対象の全体的な健康状態、方法の投与の経路及び用量、並びに副作用の重症度などの要因に応じて変動し得る（例えば、Ｍａｙｎａｒ

ｄ，ｅｔ ａｌ（１９９６）Ａ Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ ＳＯＰｓ ｆｏｒ Ｇｏｏｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｒａｃｔｉｃｅ，Ｉｎｔｅｒｐｈａｒｍ Ｐｒｅｓｓ，Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ，Ｆｌａ．； Ｄｅｎｔ（２００１）Ｇｏｏｄ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ ａｎｄ Ｇｏｏｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｒａｃｔｉｃｅ，Ｕｒｃｈ Ｐｕｂｌ．，Ｌｏｎｄｏｎ，ＵＫ）を参照されたい）。

【０２３９】

本開示の組成物は、当技術分野で既知の様々な方法のうちの１つ以上を使用して、１つ以上の投与経路を介して投与され得る。当業者には理解されるであろうが、投与経路及び／又は方式は、所望の結果に応じて異なるであろう。ＩＬ２プロタンパク質のために選択された投与経路には、例えば、注射又は注入による、静脈内、筋肉内、皮内、腹腔内、皮下、脊髄、又は他の一般的な投与経路が含まれる。一般的な投与は、通常、注射による、経腸及び局所投与以外の投与様式を表す場合があり、静脈内、筋肉内、動脈内、くも膜下腔内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内、硬膜外及び胸腔内注射及び注入を含むが、これらに限定されない。あるいは、本開示の組成物は、局所、上皮、又は粘膜の投与経路、例えば、鼻腔内、経口的、膣内、直腸的、舌下、又は局所的など非一般的な経路を介して投与され得る。一実施形態では、ＩＬ２プロタンパク質は、注入によって投与される。別の実施形態では、本開示のＩＬ２プロタンパク質は、皮下投与される。

【０２４０】

６．１２．治療適応症及び使用方法

本開示は、本開示のＩＬ２プロタンパク質を使用及び適用するための方法を提供する。

ある特定の態様では、本開示は、がんを治療する方法であって、それを必要とする対象に、本明細書に記載されるＩＬ２プロタンパク質又は薬学的組成物を投与することを含む、方法を提供する。いくつかの実施形態では、ＩＬ２部分を含む活性化されたＩＬ２タンパク質は、がん組織によって発現される１つ以上のプロテアーゼによるＩＬ２プロタンパク質中の１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーの切断によって産生される。したがって、ＩＬ２プロタンパク質は、がん組織において選択的に活性化される。

【０２４１】

いくつかの実施形態では、本開示は、がん組織において選択的に活性化されるＩＬ２タンパク質でがんを治療する方法であって、それを必要とする対象に、本明細書に記載されるＩＬ２プロタンパク質又は薬学的組成物を投与することを含み、ＩＬ２プロタンパク質が、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーであって、各々が、ＩＬ２タンパク質が意図されるがん組織によって発現される１つ以上のプロテアーゼに対する１つ以上の基質を含む、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーを有する、方法を提供する。したがって、ＩＬ２部分を含む活性化されたＩＬ２タンパク質は、がん組織における１つ以上のプロテアーゼによるＩＬ２プロタンパク質中の１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーの切断によって産生される。

【０２４２】

本開示は、ＩＬ２タンパク質の局所的送達方法であって、対象に本明細書に記載されるＩＬ２プロタンパク質又は薬学的組成物を投与することを含み、ＩＬ２プロタンパク質が、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーであって、各々が、ＩＬ２タンパク質が局所的に送達される組織によって発現される１つ以上のプロテアーゼに対する１つ以上の基質を含む、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーを有する、方法を更に提供する。本明細書で使用される場合、「局所的に送達される」という用語は、局所投与を必要とせず、むしろ、ＩＬ２プロタンパク質の活性構成要素が、任意選択で、組織によって発現される標的分子を認識する標的化部分を用いた目的の局所への標的化と併せて、意図された部位で活性なプロテアーゼによる、目的の局所でのタンパク質の活性化を指すことを示す。

【０２４３】

本開示は、低減された全身曝露及び／又は低減された全身毒性を伴うＩＬ２療法を対象に施す方法であって、対象に本明細書に記載されるＩＬ２プロタンパク質又は薬学的組成

物の形態のＩＬ２療法を施すことを含み、ＩＬ２タンパク質が、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーであって、各々が、ＩＬ２タンパク質がＩＬ２療法が望ましい、及び／又は意図される組織によって発現される１つ以上のプロテアーゼに対する１つ以上の基質を含む、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーを有する、方法を更に提供する。

【０２４４】

したがって、前述の方法は、ＩＬ２治療を意図した部位でＩＬ２プロタンパク質を優先的に活性化することによって、オフターゲット副作用を低減したＩＬ２療法を可能にする。

【０２４５】

前述の方法のいくつかの実施形態では、ＩＬ２プロタンパク質も標的化されており、治療のために意図された（例えば、組織によって）部位で発現される標的分子を認識する１つ以上の標的化部分を含む。

【０２４６】

したがって、本開示は、治療のために意図される部位、例えば、がん組織への活性化されたＩＬ２タンパク質の標的化された送達方法であって、対象に、本明細書に記載されるＩＬ２プロタンパク質又は薬学的組成物を投与することを含み、ＩＬ２が、局所で、又は治療のために意図される組織（例えば、がん組織）によって発現される標的分子を認識する１つ以上の標的化部分を含み、ＩＬ２が、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーであって、各々が、ＩＬ２タンパク質がＩＬ２療法が望ましい、及び／又は意図される組織によって発現される１つ以上のプロテアーゼに対する１つ以上の基質を含む、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーを有する、方法を提供する。

【０２４７】

本開示は、標的組織における免疫応答を局所的に誘導する方法であって、対象に、本明細書に記載されるＩＬ２プロタンパク質又は薬学的組成物を投与することを含み、本明細書に記載されるＩＬ２プロタンパク質又は薬学的組成物が、標的組織において発現される標的分子に結合することができる１つ以上の標的化部分と、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーであって、各々が、標的組織において発現される１つ以上のプロテアーゼに対する１つ以上の基質を含む、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーと、を有する、方法を更に提供する。そして、ＩＬ２部分を含む活性化されたＩＬ２タンパク質は、標的組織における１つ以上のプロテアーゼによるＩＬ２プロタンパク質中の１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーの切断によって産生され得る。そして、得られる活性化されたＩＬ２タンパク質は、標的組織における少なくとも１つの細胞型に対する免疫応答を誘導することができる。

【０２４８】

いくつかの実施形態では、投与は、組織に対して局所的ではない。例えば、標的組織ががん組織である場合、投与は全身性又は皮下投与であり得る。

本開示のＩＬ２プロタンパク質は、（腫瘍細胞上又は腫瘍微小環境、例えば、細胞外マトリックス又は腫瘍リンパ球におけるいずれかで）標的分子を発現する任意の増殖性障害（例えば、がん）の治療に使用され得る。特定の実施形態では、がんは、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、副腎皮質がん、肛門がん、虫垂がん、星状細胞腫、基底細胞がん、脳腫瘍、胆管がん、膀胱がん、骨がん、乳がん、気管支腫瘍、バーキットリンパ腫、原発不明のがん、心臓腫瘍、子宮頸がん、脊索腫、慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性骨髄増殖性腫瘍、結腸がん、結腸直腸がん、頭蓋咽頭腫、皮膚Ｔ細胞リンパ腫、腺管がん、胚芽腫、子宮内膜がん、上衣腫、食道がん、感覚神経芽腫、線維性組織球腫、ユーイング肉腫、眼がん、胚細胞腫瘍、胆嚢がん、胃がん、消化管カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍、妊娠性絨毛性疾患、神経膠腫、頭頸部がん、有毛細胞性白血病、肝細胞がん、組織球症、ホジキンリンパ腫、下咽頭がん、眼内黒色腫、膵島細胞腫瘍、カポジ肉腫、腎臓がん、ランゲルハンス細胞組織球症、喉頭がん、白血病、口唇及び口腔がん、肝臓がん、上皮内小葉がん、肺がん、リンパ腫、マクログロブリン血症、悪性線維性組織球腫、黒色腫、メルケル細胞がん、中皮腫

、潜在性原発性転移性扁平上皮頸部がん、ＮＵＴ遺伝子が関与する正中線がん、口腔がん、多発性内分泌腫瘍症候群、多発性骨髄腫、菌状息肉腫、骨髄異形成症候群、骨髄異形成／骨髄増殖性腫瘍、鼻腔及び副鼻腔がん、上咽頭がん、神経芽細胞腫、非ホジキンリンパ腫、非小細胞肺がん、中咽頭がん、骨肉腫、卵巣がん、膵臓がん、乳頭腫症、傍神経節腫、副甲状腺がん、陰茎がん、咽頭がん、褐色細胞腫、下垂体腫瘍、胸膜肺芽腫、原発性中枢神経系リンパ腫、前立腺がん、直腸がん、腎細胞がん、腎盂及び尿管がん、網膜芽細胞腫、ラブドイド腫瘍、唾液腺がん、セザリー症候群、皮膚がん、小細胞肺がん、小腸がん、軟部組織肉腫、脊髄腫瘍、胃がん、Ｔ細胞リンパ腫、奇形腫、精巣がん、咽頭がん、胸腺腫及び胸腺がん、甲状腺がん、尿道がん、子宮がん、膣がん、外陰がん、又はウィルムス腫瘍である。

【０２４９】

以下の表Ｉは、特定の標的分子を標的とするＩＬ２プロタンパク質が使用され得る例示的な適応症を示す。

【０２５０】

【表１０－１】

表 I
標的分子適応症の例

標的	代表的な適応症(複数可)
ADRB3	ユーイング肉腫
ALK	NSCLC、ALCL、IMT、神経芽細胞腫
B7H3	黒色腫、骨肉腫、白血病、乳がん、前立腺がん、卵巣がん、膵臓がん、結腸直腸がん
BCMA	多発性骨髄腫、白血病(*例えば*、急性リンパ芽球性白血病(「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」)、及び有毛細胞性白血病(「HCL」))、リンパ腫(*例えば*、ホジキンリンパ腫、びまん性大型 B 細胞リンパ腫(「DLBCL」)を含む非ホジキンリンパ腫)
カドヘリン 17	胃、膵臓、及び結腸直腸腺がん
CAIX	明細胞腎細胞がん、低酸素性固形腫瘍、頭頸部扁平上皮がん
CD123	白血病(*例えば*、ALL、CLL、AML、CML、HCL)、リンパ腫(*例えば*、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、*例えば*、DLBCL)、多発性骨髄腫。好ましい実施形態では、適応症は、AML である。
CD171	神経芽細胞腫、傍神経節腫
CD179a	B 細胞悪性腫瘍
CD19	白血病(*例えば*、ALL、CLL、AML、CML、HCL)、リンパ腫(*例えば*、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、*例えば*、DLBCL)、多発性骨髄腫。
CD20	白血病(*例えば*、ALL、CLL、AML、CML、HCL)、リンパ腫(*例えば*、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、*例えば*、DLBCL)、多発性骨髄腫。
CD22	白血病(*例えば*、ALL、CLL、AML、CML、HCL)、リンパ腫(*例えば*、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、*例えば*、DLBCL)、多発性;がん、肺がん
CD24	卵巣がん、乳がん、前立腺がん、膀胱がん、腎臓がん、非小細胞がん
CD30	未分化大細胞リンパ腫、胚芽腫、ホジキンリンパ腫
CD32b	B 細胞悪性腫瘍、胃、膵臓、食道、膠芽腫、乳房、結腸直腸
CD33	白血病(*例えば*、ALL、CLL、AML、CML、HCL)、リンパ腫(*例えば*、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、*例えば*、DLBCL)、多発性骨髄腫。好ましい実施形態では、適応症は、AML である。
CD38	白血病(*例えば*、ALL、CLL、AML、CML、HCL)、リンパ腫(*例えば*、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、*例えば*、DLBCL)、多発性骨髄腫
CD44v6	結腸がん、頭頸部小細胞がん
CD97	B 細胞悪性腫瘍、胃、膵臓、食道、膠芽腫、乳房、結腸直腸
CEA(CEACAM5)	結腸直腸がん、胃がん、膵臓がん、肺がん、乳がん、甲状腺髄様がん
CLDN6	卵巣がん、乳がん、肺がん
CLL-1	白血病(*例えば*、ALL、CLL、AML、CML、HCL)、リンパ腫(*例えば*、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、*例えば*、DLBCL)、多発性骨髄腫。好ましい実施形態では、適応症は、AML である。

【０２５１】

【表１０－２】

表 I
標的分子適応症の例

標的	代表的な適応症(複数可)
CS1(SLAMF7)	多発性骨髄腫
EGFR	肺の扁平上皮がん、肛門がん、膠芽腫、頭頸部の上皮腫瘍、結腸がん
EGFRvIII	膠芽腫
EPCAM	消化管がん、結腸直腸がん
EphA2	カポジ肉腫、膠芽腫、固形腫瘍、神経膠腫
エフリン B2	甲状腺がん、乳がん、悪性黒色腫
ERBB2(Her2/neu)	乳房、卵巣、胃がん、肺腺がん、非小細胞肺がん、子宮がん、子宮漿液性子宮内膜がん、唾液管がん
FAP	膵臓がん、結腸直腸がん、転移、上皮がん、軟部組織肉腫
FCRL5	多発性骨髄腫
FLT3	白血病(*例えば*、ALL、CLL、AML、CML、HCL)、リンパ腫(*例えば*、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、*例えば*、DLBCL)、多発性骨髄腫
葉酸受容体アルファ	卵巣がん、乳がん、腎臓がん、肺がん、結腸直腸がん、脳がん
葉酸受容体ベータ	卵巣がん
フコシル GM1	AML、骨髄腫
GD2	悪性黒色腫、神経芽細胞腫
GD3	黒色腫
GloboH	卵巣がん、胃がん、前立腺がん、肺がん、乳がん、及び膵臓がん
gp100	黒色腫
GPNMB	乳がん、頭頸部がん
GPR20	GIST
GPR64	ユーイング肉腫、前立腺、腎臓、及び肺の肉腫
GPRC5D	多発性骨髄腫
HAVCR1	腎がん
HER2	HER-2(+)胃食道接合部腺がん、HER-2 陽性胃腺がん、HER2 陽性乳がん
HER3	結腸がん及び胃がん
HMWMAA	黒色腫、膠芽腫、乳がん
IGF-I 受容体	乳がん、前立腺がん、肺がん
IL11Rα	乳頭甲状腺がん、骨肉腫、結腸直腸腺がん、リンパ球性白血病
IL13Rα2	腎細胞がん、前立腺がん、神経膠腫、頭頸部がん、星状細胞腫
KIT	骨髄性白血病、カポジ肉腫、赤白血病、消化管間質腫瘍
KLRG2	乳がん、肺がん、及び卵巣がん。
LewisY	扁平上皮肺がん、肺腺がん、卵巣がん、及び結腸直腸腺がん
LMP2	前立腺がん、ホジキンリンパ腫、上咽頭がん
LRP6	乳がん
LY6K	乳がん、肺がん、卵巣がん、及び子宮頸がん
LYPD8	結腸直腸がん及び胃がん

【０２５２】

【表１０－３】

表I
標的分子適応症の例

標的	代表的な適応症(複数可)
メソセリン	中皮腫、膵臓がん、卵巣がん、胃がん、肺がん、子宮内膜がん
MUC1	乳がん及び卵巣がん、肺がん、胃がん、膵臓がん、前立腺がん
NCAM	黒色腫、ウィルムス腫瘍、小細胞肺がん、神経芽細胞腫、骨髄腫、傍神経節腫、膵腺房細胞がん、骨髄性白血病
NY-BR-1	乳がん
o-アセチル GD2	神経芽細胞腫、黒色腫
OR51E2	前立腺がん
PANX3	骨肉腫
PLAC1	肝細胞がん
ポリシアル酸	小細胞肺がん
PDGFR-beta	骨髄単球性白血病、慢性骨髄性白血病、急性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病
PRSS21	結腸がん、精巣がん、卵巣がん
PSCA	前立腺がん、胃がん、及び膀胱がん
PSMA	前立腺がん
ROR1	転移性がん、慢性リンパ球性白血病、肺固形腫瘍、乳房、卵巣、結腸、膵臓、肉腫
SLC34A2	膀胱がん
SLC39A6	乳がん、食道がん
SLITRK6	乳がん、尿路上皮がん、肺がん
SSEA-4	乳がん、がん幹細胞、上皮性卵巣がん
STEAP1	前立腺がん
STEAP2	前立腺がん(去勢抵抗性前立腺がんを含む)、膀胱がん、子宮頸がん、肺がん、結腸がん、腎臓がん、乳がん、膵臓がん、胃がん、子宮がん、卵巣がん、好ましくは前立腺がん
TACSTD2	がん腫、*例えば*、非小細胞肺がん
TAG72	卵巣がん、乳がん、結腸がん、肺がん、膵臓がん、胃がん
TEM1/CD248	結腸直腸がん
TEM7R	結腸直腸がん
Tn	結腸直腸がん、乳がん、子宮頸がん、肺がん、胃がん
TSHR	甲状腺がん、多発性骨髄腫
チロシナーゼ	前立腺がん、黒色腫
UPK2	膀胱がん
VEGFR2	卵巣がん及び膵臓がん、腎細胞がん、結腸直腸がん、甲状腺髄様がん

【０２５３】

追加の標的分子及び対応する適応症は、例えば、Ｈａｆｅｅｚ　ｅｔ　ａｌ．，２０２０，Ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ　２５：４７６４，ｄｏｉ：１０．３３９０／ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ２５２０４７６４、特に表１に開示されている。表１はその全体が参照により組み込まれる。

【０２５４】

７．配列

本開示のある特定のＩＬ２プロタンパク質の配列は、以下の表Ｓに提供される。

【０２５５】

【表１１－１】

表 S
IL2 プロタンパク質構成要素配列の例

構成要素	配列	配列番号
hIgG1 Fc (UniprotKB P01857-1 のアミノ酸 99~330)	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	346
hIgG2 Fc (UniprotKB P01859-1 のアミノ酸 99~326)	ERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	347
hIgG3 Fc (UniprotKB P01860-1 のアミノ酸 99~377)	ELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK	348
hIgG4 Fc (UniprotKB P01861-1 のアミノ酸 99~327)	ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	349
hIgG4s Fc	ESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	350
hIgG1 PVA Fc	EPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	351
hIL2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	2

【０２５６】

【表１１－２】

表S
IL2プロタンパク質構成要素配列の例

構成要素	配列	配列番号
hIL2Rα細胞外ドメイン	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYML CTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQS PMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQG YRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQ ASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQVAVAGC VFLLISVLLLSGLTWQRRQRKSRRTI	3
hIL2Rαのアミノ酸22~186	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYML CTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQS PMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQG YRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTG	4
hIL2Rαのアミノ酸22~240	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYML CTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQS PMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQG YRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQ ASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQ	5
hIgG1 CH1(UniprotKB P01857-1のアミノ酸1~98)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKV	352
hIgG2 CH1(UniprotKB P01859-1のアミノ酸1~98)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNT KVDKTV	353
hIgG3 CH1(UniprotKB P01860-1のアミノ酸1~98)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNT KVDKRV	354
hIgG4 CH1(UniprotKB P01861-1のアミノ酸1~98)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNT KVDKRV	355

【０２５７】

８．番号付き実施形態

様々な特定の実施形態を例示し、記載してきたが、本開示（複数可）の趣旨及び範囲から逸脱することなく様々な変更が行われ得ることが理解されるであろう。本開示は、以下に記載される番号付き実施形態によって例示される。

【０２５８】

以下の番号付き実施形態では、標的化部分は、好ましくは、哺乳類標的分子に結合し、ＩＬ２及びＩＬ２Ｒα部分は、好ましくは、哺乳類ＩＬ２及びＩＬ２Ｒαに由来し、Ｆｃドメインは、好ましくは、哺乳類抗体に由来し、対象は、好ましくは、哺乳動物。より好ましくは、哺乳動物は、ヒトである。

【０２５９】

１．ＩＬ２プロタンパク質であって、

（ａ）第１のポリペプチド鎖であって、
（ｉ）第１のＦｃドメイン、
（ｉｉ）任意選択の第１の非切断可能リンカー（ＮＣＬ）、
（ｉｉｉ）第１のＩＬ２Ｒα部分、
（ｉｖ）第１のプロテアーゼ切断可能リンカー（ＰＣＬ）、及び
（ｖ）第１のＩＬ２部分を含む、第１のポリペプチド鎖と、
（ｂ）第２のポリペプチド鎖であって、
（ｉ）第１のＦｃドメインと会合してＦｃ領域を形成することができる第２のＦｃドメイン、
（ｉｉ）任意選択の第２の非切断可能リンカー（ＮＣＬ）、
（ｉｉｉ）第２のＩＬ２Ｒα部分、
（ｉｖ）第２のプロテアーゼ切断可能リンカー（ＰＣＬ）、及び
（ｖ）第２のＩＬ２部分を含む、第２のポリペプチド鎖と、を含む、ＩＬ２プロタンパク質。

【０２６０】

２．ＩＬ２部分が、成熟ヒトＩＬ２に対して少なくとも約９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態１に記載のＩＬ２プロタンパク質。

３．ＩＬ２部分が、成熟ヒトＩＬ２に対して約９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態１に記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０２６１】

４．ＩＬ２部分が、成熟ヒトＩＬ２と比較してＮ末端アラニン欠失を有するアミノ酸配列を含む、実施形態１～３のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

５．ＩＬ２部分が、野生型ＩＬ２と比較してＮ８８位でアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含み、任意選択で、アミノ酸置換がＮ８８Ｄである、実施形態１～４のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０２６２】

６．ＩＬ２部分が、野生型ＩＬ２と比較してアミノ酸置換Ｃ１２５Ｓ、Ｃ１２５Ａ、又はＣ１２５Ｖを有するアミノ酸配列を含む、実施形態１～５のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０２６３】

７．ＩＬ２Ｒα部分が、ヒトＩＬ２ＲαのＩＬ２結合部分に対して少なくとも約９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる、実施形態１～６のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０２６４】

８．ＩＬ２Ｒα部分が、ヒトＩＬ２ＲαのＩＬ２結合部分に対して少なくとも約９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる、実施形態１～６のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０２６５】

９．ＩＬ２Ｒα部分が、ヒトＩＬ２ＲαのＩＬ２結合部分に対して少なくとも約９７％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる、実施形態１～６のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０２６６】

１０．ＩＬ２Ｒα部分が、ヒトＩＬ２ＲαのＩＬ２結合部分に対して少なくとも約９８％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる、実施形態１～６のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０２６７】

１１．ＩＬ２Ｒα部分が、ヒトＩＬ２ＲαのＩＬ２結合部分に対して少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる、実施形態１～６のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０２６８】

１２．ＩＬ２Ｒα部分が、ヒトＩＬ２Ｒαの ＩＬ２結合部分に対して１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる、実施形態１～６のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０２６９】

１３．ＩＬ２Ｒα部分が、（ａ）ＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～１８６、（ｂ）ＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～２４０、及び／又は（ｃ）ヒトＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～２７２に対して少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態７～１２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０２７０】

１４．ＩＬ２Ｒα部分が、（ａ）ＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～１８６、（ｂ）ＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～２４０、及び／又は（ｃ）ヒトＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～２７２に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態７～１２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０２７１】

１５．ＩＬ２Ｒα部分が、（ａ）ＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～１８６、（ｂ）ＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～２４０、及び／又は（ｃ）ヒトＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～２７２に対して少なくとも９６％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態７～１２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０２７２】

１６．ＩＬ２Ｒα部分が、（ａ）ＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～１８６、（ｂ）ＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～２４０、及び／又は（ｃ）ヒトＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～２７２に対して少なくとも９７％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態７～１２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０２７３】

１７．ＩＬ２Ｒα部分が、（ａ）ＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～１８６、（ｂ）ＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～２４０、及び／又は（ｃ）ヒトＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～２７２に対して少なくとも９８％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態７～１２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０２７４】

１８．ＩＬ２Ｒα部分が、（ａ）ＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～１８６、（ｂ）ＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～２４０、及び／又は（ｃ）ヒトＩＬ２Ｒαのアミノ酸２２～２７２に対して少なくとも９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態７～１２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０２７５】

１９．第１のＰＣＬ及び／又は第２のＰＣＬが、表Ａに記載の任意のプロテアーゼによって切断可能な基質配列を含む、実施形態１～１８のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０２７６】

２０．第１のＰＣＬ及び／又は第２のＰＣＬが、表Ｂに記載の準安定状態配列から選択される１つ以上の基質配列を含む、実施形態１～１９のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０２７７】

２１．第１のＰＣＬ及び／又は第２のＰＣＬが、表Ｃに記載の準安定状態配列から選択される１つ以上のスペーサー配列を含む、実施形態１～２０のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０２７８】

２２．第１のＰＣＬ及び／又は第２のＰＣＬが、表Ｄに記載のＰＣＬ配列のうちのいずれかのアミノ酸配列、又は最大５つのアミノ酸置換を有するそのバリアント、例えば、１つのアミノ酸置換、２つのアミノ酸置換、３つのアミノ酸置換、４つのアミノ酸置換、若しくは５つのアミノ酸置換を有するそのバリアントを含む、実施形態１～２１のうちのい

ずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２７９】
２３．第１のＰＣＬ及び／又は第２のＰＣＬが、アミノ酸配列ＧＧＧＩＳＳＧＬＬＳＧＲＳＤＮＨＧＧＧＩＳＳＧＬＬＳＧＲＳＤＮＨＧＧＳ（配列番号１８５）を含むか、又はそれからなる、実施形態１～２２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２８０】
２４．第１のＰＣＬ及び／又は第２のＰＣＬが、アミノ酸配列ＧＧＧＩＳＳＧＬＬＳＧＲＳＤＮＨＧＧＧＩＳＳＧＬＬＳＧＲＳＤＮＨＧＧＳ　ＧＧＧＩＳＳＧＬＬＳＧＲＳＤＮＨＧＧＧＩＳＳＧＬＬＳＧＲＳＤＮＨＧＧＳ（配列番号１８６）を含むか、又はそれからなる、実施形態１～２２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２８１】
２５．第１のＰＣＬ及び／又は第２のＰＣＬが、アミノ酸配列ＧＧＳＧＧＳＩＰＶＳＬＲＳＧＧＧＩＳＳＧＬＬＳＧＲＳＤＮＨＧＧＳＧＧＳ（配列番号１８７）を含むか、又はそれからなる、実施形態１～２２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２８２】
２６．第１のＰＣＬ及び／又は第２のＰＣＬが、アミノ酸配列ＧＧＳＧＧＳＶＰＬＳＬＹＳＧＧＧＩＳＳＧＬＬＳＧＲＳＤＮＨＧＧＳＧＧＳ（配列番号１８８）を含むか、又はそれからなる、実施形態１～２２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２８３】
２７．第１のＰＣＬ及び／又は第２のＰＣＬが、アミノ酸配列ＧＧＳＨＰＶＧＬＬＡＲＧＧＧＨＰＶＧＬＬＡＲＧＧＧＨＰＶＧＬＬＡＲＧＳ（配列番号１８９）を含むか、又はそれからなる、実施形態１～２２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２８４】
２８．第１のＰＣＬ及び／又は第２のＰＣＬが、アミノ酸配列ＧＧＳＨＰＶＧＬＬＡＲＧＧＧＨＰＶＧＬＬＡＲＧＧＳＧＲＳＡＧＧＳＧＲＳＡ（配列番号１９０）を含むか、又はそれからなる、実施形態１～２２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２８５】
２９．第１のＮＣＬ及び／又は第２のＮＣＬが、表Ｅに記載のＮＣＬ配列のうちのいずれかのアミノ酸配列、又は最大５つのアミノ酸置換を有するそのバリアント、例えば、１つのアミノ酸置換、２つのアミノ酸置換、３つのアミノ酸置換、４つのアミノ酸置換、若しくは５つのアミノ酸置換を有するそのバリアントを含む、実施形態１～２８のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２８６】
３０．第１及び第２の非切断可能リンカーが、５～２５アミノ酸長の範囲である、実施形態１～２８のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
３１．第１及び第２の非切断可能リンカーが、７～２０アミノ酸長の範囲である、実施形態１～２８のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２８７】
３２．第１及び第２の非切断可能リンカーが、少なくとも５アミノ酸長である、実施形態１～２８のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
３３．第１及び第２の非切断可能リンカーが、少なくとも７アミノ酸長である、実施形態１～２８のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２８８】
３４．第１及び第２のプロテアーゼ切断可能リンカーが、２０アミノ酸～８０アミノ酸長の範囲である、実施形態１～３４のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２８９】
３５．第１及び第２のプロテアーゼ切断可能リンカーが、２０アミノ酸～６０アミノ酸長の範囲である、実施形態１～３４のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質

。
【０２９０】
３６．第１のＦｃドメイン及び／又は第２のＦｃドメインが、ヒンジドメインを含む、実施形態１～３５のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
３７．１つ以上の標的分子に結合する１つ以上の標的化部分を更に含む、実施形態１～３０のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２９１】
３８．第１の標的化部分及び／又は第２の標的化部分を含む、実施形態３７に記載のＩＬ２プロタンパク質。
３９．第１のＦｃドメインのＮ末端に第１の標的化部分又はその構成要素（例えば、ＦａｂのＶＨ）、及び／又は第２のＦｃドメインのＮ末端に第２の標的化部分又はその構成要素（例えば、ＦａｂのＶＨ）を含む、実施形態３８に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２９２】
４０．第１の標的化部分及び／又は第２の標的化部分が、Ｆａｂである、実施形態３７又は実施形態３９に記載のＩＬ２プロタンパク質。
４１．第１の標的化部分及び／又は第２の標的化部分が、ｓｃＦｖである、実施形態３７又は実施形態３９に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２９３】
４２．第１の標的化部分及び／又は第２の標的化部分が、細胞外マトリックス（「ＥＣＭ」）抗原、腫瘍反応性リンパ球抗原、腫瘍若しくはウイルスリンパ球の細胞表面分子、又はチェックポイント阻害剤、又は腫瘍関連抗原（「ＴＡＡ」）に結合することができる、実施形態３７～４１のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２９４】
４３．第１の標的化部分及び／又は第２の標的化部分が、セクション６．７で特定される任意の標的分子に結合することができる、実施形態３７～４２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２９５】
４４．第１の標的化部分及び／又は第２の標的化部分が、（ａ）表Ｆに記載の抗体の（ｉ）ＣＤＲ若しくは（ｉｉ）ＶＨ及びＶＬ配列を含むか、又は（ｂ）標的分子への結合に対して表Ｆに記載の抗体と競合する、実施形態３７～４３のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２９６】
４５．第１の標的化部分及び／又は第２の標的化部分が、ＥＣＭ抗原に結合することができ、ＥＣＭ抗原が、任意選択で、シンデカン、ヘパラナーゼ、インテグリン、オステオポンチン、リンク、カドヘリン、ラミニン、ラミニンＥＧＦ型、レクチン、フィブロネクチン、ノッチ、ネクチン（例えば、ネクチン－４）、テネイシン、コラーゲン（例えば、コラーゲンＸ型）、及びマトリキシンから選択される、実施形態３７～４３のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２９７】
４６．第１の標的化部分及び／又は第２の標的化部分が、ネクチン、例えば、ネクチン４に結合することができる、実施形態４５に記載のＩＬ２プロタンパク質。
４７．第１の標的化部分及び／又は第２の標的化部分が、コラーゲン、例えば、コラーゲンＸに結合することができる、実施形態４５に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２９８】
４８．第１の標的化部分及び／又は第２の標的化部分が、腫瘍又はウイルスリンパ球の細胞表面分子に結合することができる、実施形態３７～４３のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０２９９】
４９．抗原が、Ｔ細胞共刺激タンパク質である、実施形態４８に記載のＩＬ２プロタンパク質。

５０．Ｔ細胞共刺激タンパク質が、ＣＤ２７、ＣＤ２８、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＯＸ４０、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＩＣＯＳ、リンパ球機能関連抗原－１（ＬＦＡ－１）、ＣＤ２、ＣＤ７、ＬＩＧＨＴ、ＮＫＧ２Ｃ、及びＢ７－Ｈ３から選択される、実施形態４９に記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３００】

５１．Ｔ細胞共刺激タンパク質が、Ｂ７－Ｈ３である、実施形態５０に記載のＩＬ２プロタンパク質。

５２．第１の標的化部分及び／又は第２の標的化部分が、チェックポイント阻害剤に結合することができる、実施形態３７～４３のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３０１】

５３．チェックポイント阻害剤が、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ１、ＰＤＬ１、ＰＤＬ２、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＨＶＥＭ、ＴＩＭ３、ＧＡＬ９、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＫＩＲ、２Ｂ４、ＣＤ１６０、ＣＧＥＮ－１５０４９、ＣＨＫ１、又はＣＨＫ２である、実施形態５２に記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３０２】

５４．チェックポイント阻害剤が、ＰＤＬ１である、実施形態５３に記載のＩＬ２プロタンパク質。

５５．第１の標的化部分及び／又は第２の標的化部分が、腫瘍関連抗原（「ＴＡＡ」）に結合することができる、実施形態３７～４３のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３０３】

５６．第１の標的化部分及び／又は第２の標的化部分が、ＡＦＰ、ＡＬＫ、ＢＡＧＥタンパク質、ＢＩＲＣ５（サバイビン）、ＢＩＲＣ７、β－カテニン、ｂｒｃ－ａｂｌ、ＢＲＣＡ１、ＢＯＲＩＳ、ＣＡ９、炭酸脱水酵素ＩＸ、カスパーゼ－８、ＣＡＬＲ、ＣＥＡＣＡＭ５（がん胎児性抗原又はＣＥＡとしても既知）、ＣＣＲ５、ＣＤ１９、ＣＤ２０（ＭＳ４Ａ１）、ＣＤ２２、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤＫ４、ＣＥＡ、ＣＴＬＡ４、サイクリン－Ｂ１、ＣＹＰ１Ｂ１、ＥＧＦＲ、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＥｒｂＢ２／Ｈｅｒ２、ＥｒｂＢ３、ＥｒｂＢ４、ＥＴＶ６－ＡＭＬ、ＥｐＣＡＭ、ＥｐｈＡ２、Ｆｒａ－１、ＦＯＬＲ１、ＧＡＧＥタンパク質（例えば、ＧＡＧＥ－１又は－２）、ＧＤ２、ＧＤ３、ＧｌｏｂｏＨ、グリピカン－３、ＧＭ３、ｇｐ１００、Ｈｅｒ２、ＨＬＡ／Ｂ－ｒａｆ、ＨＬＡ／ｋ－ｒａｓ、ＨＬＡ／ＭＡＧＥ－Ａ３、ｈＴＥＲＴ、ＬＭＰ２、ＭＡＧＥタンパク質（例えば、ＭＡＧＥ－１、－２、－３、－４、－６、及び－１２）、ＭＡＲＴ－１、メソセリン、ＭＬ－ＩＡＰ、Ｍｕｃ１、Ｍｕｃ２、Ｍｕｃ３、Ｍｕｃ４、Ｍｕｃ５、Ｍｕｃ１６（ＣＡ－１２５）、ＭＵＭ１、ＮＡ１７、ＮＹ－ＢＲ１、ＮＹ－ＢＲ６２、ＮＹ－ＢＲ８５、ＮＹ－ＥＳＯ１、ＯＸ４０、ｐ１５、ｐ５３、ＰＡＰ、ＰＡＸ３、ＰＡＸ５、ＰＣＴＡ－１、ＰＬＡＣ１、ＰＲＬＲ、ＰＲＡＭＥ、ＰＳＭＡ（ＦＯＬＨ１）、ＲＡＧＥタンパク質、Ｒａｓ、ＲＧＳ５、Ｒｈｏ、ＳＡＲＴ－１、ＳＡＲＴ－３、ＳＴＥＡＰ１、ＳＴＥＡＰ２、ＴＡＧ－７２、ＴＧＦ－β、ＴＭＰＲＳＳ２、トンプソン－ヌーベル抗原（Ｔｎ）、ＴＲＰ－１、ＴＲＰ－２、チロシナーゼ、又はウロプラキン－３から選択される、実施形態５５に記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３０４】

５７．ＴＡＡが、ＥＧＦＲである、実施形態５６に記載のＩＬ２プロタンパク質。

５８．ＴＡＡが、ＨＥＲ２である、実施形態５６に記載のＩＬ２プロタンパク質。

５９．ＴＡＡが、ＥＰＣＡＭである、実施形態５６に記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３０５】

６０．ＴＡＡが、ＣＥＡＣＡＭ５である、実施形態５６に記載のＩＬ２プロタンパク質。

６１．ＴＡＡが、ＣＤ２０である、実施形態５６に記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３０６】

６２．Ｆｃ領域が、ホモ二量体である、実施形態１～６１のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
６３．Ｆｃ領域が、ヘテロ二量体である、実施形態１～６１のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３０７】
６４．
（ａ）Ｎ末端からＣ末端の配向で、
（ｉ）第１のＦｃドメイン、
（ｉｉ）任意選択で、第１の非切断可能リンカー、
（ｉｉｉ）第１のＩＬ２Ｒα部分、
（ｉｖ）第１のプロテアーゼ切断可能リンカー、及び
（ｖ）第１のＩＬ２部分を含む、第１のポリペプチド鎖と、
（ｂ）Ｎ末端からＣ末端の配向で、
（ｉ）第２のＦｃドメイン、
（ｉｉ）任意選択で、第２の非切断可能リンカー、
（ｉｉｉ）第２のＩＬ２Ｒα部分、
（ｉｖ）第２のプロテアーゼ切断可能リンカー、及び
（ｖ）第２のＩＬ２部分を含む、第２のポリペプチド鎖と、を含む、実施形態１～６３のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３０８】
６５．ＩＬ２プロタンパク質であって、ＩＬ２プロタンパク質が、任意選択で、実施形態１～６４のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質であり、ＩＬ２プロタンパク質が、
（ａ）Ｆｃ領域を形成するために会合することができる第１のＦｃドメイン及び第２のＦｃドメインと、
（ｂ）任意選択で、リンカー、任意選択で、非切断可能リンカーが先行する、ＦｃドメインのＣ末端の２つのＩＬ２Ｒα部分と、
（ｃ）ＩＬ２Ｒα部分のＣ末端の２つのプロテアーゼ切断可能リンカーと、
（ｄ）プロテアーゼ切断可能リンカーのＣ末端の２つのＩＬ２部分と、を含む、ＩＬ２プロタンパク質。
【０３０９】
６６．
（ａ）第１のポリペプチドが、第１のＦｃドメイン、任意選択で、続いて、第１の非切断可能リンカー、続いて、第１のＩＬ２Ｒα部分、続いて、第１のプロテアーゼ切断可能リンカー、続いて、第１のＩＬ２部分を含み、かつ
（ｂ）第２のポリペプチドが、第２のＦｃドメイン、任意選択で、続いて、第２の非切断可能リンカー、続いて、第２のＩＬ２Ｒα部分、続いて、第２のプロテアーゼ切断可能リンカー、続いて、第２のＩＬ２部分を含む、実施形態１～６４のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３１０】
６７．図１Ａに描写される構成を有する、実施形態１～６４のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
６８．ＩＬ２プロタンパク質であって、ＩＬ２プロタンパク質が、任意選択で、実施形態１～６４のうちのいずれか１つのＩＬ２プロタンパク質であり、ＩＬ２プロタンパク質が、
（ａ）Ｎ末端からＣ末端の順序で、
（ｉ）配列番号３４６、３４７、３４８、３４９、３５０、及び３５１のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対して少なくとも約９５％の配列同一性を有する第１のアミノ酸配列、
（ｉｉ）第１のアミノ酸配列を第３のアミノ酸配列に接続するための非切断可能リンカー

／非切断可能手段であって、任意選択で、リンカー／手段が、表Ｅに記載のアミノ酸配列を含む第２のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる、非切断可能リンカー／非切断可能手段、
（ｉｉｉ）配列番号３、４、及び５のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対して少なくとも約９５％の配列同一性を有する第３のアミノ酸配列、
（ｉｖ）表Ｂ又は表Ｄに記載の１つ以上のアミノ酸配列を含む第４のアミノ酸配列、及び
（ｖ）配列番号２のアミノ酸配列に対して少なくとも約９５％の配列同一性を有する第５のアミノ酸配列を含む、第１のポリペプチド鎖と、
（ｂ）Ｎ末端からＣ末端の順序で、
（ｉ）配列番号３４６、３４７、３４８、３４９、３５０、及び３５１のうちのいずれか１つに対して少なくとも約９５％の配列同一性を有する第６のアミノ酸配列、
（ｉｉ）第６のアミノ酸配列を第８のアミノ酸配列に接続するための非切断可能リンカー／非切断可能手段であって、任意選択で、リンカー／手段が、表Ｅに記載のアミノ酸配列を含む第７のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる、非切断可能リンカー／非切断可能手段、
（ｉｉｉ）配列番号３、４、及び５のうちのいずれか１つに対して少なくとも約９５％の配列同一性を有する第８のアミノ酸配列、
（ｉｖ）表Ｂ又は表Ｄに記載の１つ以上のアミノ酸配列を含む第９のアミノ酸配列、及び
（ｖ）配列番号２のアミノ酸配列に対して少なくとも約９５％の配列同一性を有する第１０のアミノ酸配列を含む、第２のポリペプチド鎖と、を含む、ＩＬ２プロタンパク質。

【０３１１】

６９．第１のポリペプチドが、第１のアミノ酸配列のＮ末端に、配列番号３５２、３５３、３５４、及び３５５のうちのいずれか１つに対して少なくとも約９５％の配列同一性を有する第１１のアミノ酸配列を含む、実施形態６８に記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３１２】

７０．第１１のアミノ酸配列が、配列番号３５２のアミノ酸配列である、実施形態６９に記載のＩＬ２プロタンパク質。

７１．第１１のアミノ酸配列が、配列番号３５３のアミノ酸配列である、実施形態６９に記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３１３】

７２．第１１のアミノ酸配列が、配列番号３５４のアミノ酸配列である、実施形態６９に記載のＩＬ２プロタンパク質。

７３．第１１のアミノ酸配列が、配列番号３５５のアミノ酸配列である、実施形態６９に記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３１４】

７４．第２のポリペプチドが、第１のアミノ酸配列のＮ末端に、配列番号３５２、３５３、３５４、及び３５５のうちのいずれか１つに対して少なくとも約９５％の配列同一性を有する第１２のアミノ酸配列を含む、実施形態６８～７３のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３１５】

７５．第１２のアミノ酸配列が、配列番号３５２のアミノ酸配列である、実施形態７４に記載のＩＬ２プロタンパク質。

７６．第１２のアミノ酸配列が、配列番号３５３のアミノ酸配列である、実施形態７４に記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３１６】

７７．第１２のアミノ酸配列が、配列番号３５４のアミノ酸配列である、実施形態７４に記載のＩＬ２プロタンパク質。

７８．第１２のアミノ酸配列が、配列番号３５５のアミノ酸配列である、実施形態７４に記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３１７】

７９．第１のアミノ酸配列が、配列番号３４６、３４７、３４８、３４９、３５０、及び３５１のうちのいずれか１つに対して少なくとも約９８％の配列同一性を有する、実施形態６８～７８のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３１８】

８０．第１のアミノ酸配列が、配列番号３４６、３４７、３４８、３４９、３５０、及び３５１のうちのいずれか１つのアミノ酸配列である、実施形態６８～７８のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３１９】

８１．第１のアミノ酸配列が、配列番号３５０のアミノ酸配列である、実施形態８０に記載のＩＬ２プロタンパク質。

８２．第１のアミノ酸配列が、配列番号３５１のアミノ酸配列である、実施形態８０に記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３２０】

８３．第１のアミノ酸配列が、３５０アミノ酸長以下である、実施形態６８～８２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

８４．第１のアミノ酸配列が、３３０アミノ酸長以下である、実施形態６８～８２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３２１】

８５．第６のアミノ酸配列が、配列番号３４６、３４７、３４８、３４９、３５０、及び３５１のうちのいずれか１つに対して少なくとも約９８％の配列同一性を有する、実施形態６８～８４のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３２２】

８６．第６のアミノ酸配列が、配列番号３４６、３４７、３４８、３４９、３５０、及び３５１のうちのいずれか１つのアミノ酸配列である、実施形態６８～８４のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３２３】

８７．第６のアミノ酸配列が、配列番号３５０のアミノ酸配列である、実施形態８６に記載のＩＬ２プロタンパク質。

８８．第６のアミノ酸配列が、配列番号３５１のアミノ酸配列である、実施形態８６に記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３２４】

８９．第６のアミノ酸配列が、３５０アミノ酸長以下である、実施形態６８～８８のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

９０．第６のアミノ酸配列が、３３０アミノ酸長以下である、実施形態６８～８８のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３２５】

９１．第２のアミノ酸配列が、表Ｅに記載のアミノ酸配列である、実施形態６８～９０のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

９２．第２のアミノ酸配列が、アミノ酸配列（ＧＧＧＧＳ）$_n$であり、ｎが１、２、３、４、又は５である、実施形態９１に記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３２６】

９３．第２のアミノ酸配列が、２５アミノ酸長以下である、実施形態６８～９２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

９４．第２のアミノ酸配列が、１５アミノ酸長以下である、実施形態６８～９２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３２７】

９５．第２のアミノ酸配列が、６アミノ酸長以下である、実施形態６８～９２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

９６．第７のアミノ酸配列が、表Ｅに記載のアミノ酸配列である、実施形態６８～９５のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３２８】
９７．第７のアミノ酸配列が、アミノ酸配列（ＧＧＧＧＳ）$_n$であり、ｎが１、２、３、４、又は５である、実施形態９６に記載のＩＬ２プロタンパク質。
９８．第７のアミノ酸配列が、２５アミノ酸長以下である、実施形態６８～９７のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３２９】
９９．第７のアミノ酸配列が、１５アミノ酸長以下である、実施形態６８～９７のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
１００．第７のアミノ酸配列が、６アミノ酸長以下である、実施形態６８～９７のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３３０】
１０１．第３のアミノ酸配列が、配列番号３、４、及び５のうちのいずれか１つに対して少なくとも約９８％の配列同一性を有する、実施形態６８～１００のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３３１】
１０２．第３のアミノ酸配列が、配列番号３、４、及び５のうちのいずれか１つのアミノ酸配列である、実施形態６８～１００のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３３２】
１０３．第３のアミノ酸配列が、配列番号３のアミノ酸配列である、実施形態１０２に記載のＩＬ２プロタンパク質。
１０４．第４のアミノ酸配列が、配列番号３のアミノ酸配列である、実施形態１０２に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３３３】
１０５．第５のアミノ酸配列が、配列番号３のアミノ酸配列である、実施形態１０２に記載のＩＬ２プロタンパク質。
１０６．第３のアミノ酸配列が、２５５アミノ酸長以下である、実施形態６８～１０５のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３３４】
１０７．第３のアミノ酸配列が、２２５アミノ酸長以下である、実施形態６８～１０５のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
１０８．第３のアミノ酸配列が、１７０アミノ酸長以下である、実施形態６８～１０５のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３３５】
１０９．第８のアミノ酸配列が、配列番号３、４、及び５のうちのいずれか１つに対して少なくとも約９８％の配列同一性を有する、実施形態６８～１０８のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３３６】
１１０．第８のアミノ酸配列が、配列番号３、４、及び５のうちのいずれか１つのアミノ酸配列である、実施形態６８～１０９のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３３７】
１１１．第８のアミノ酸配列が、配列番号３のアミノ酸配列である、実施形態１１０に記載のＩＬ２プロタンパク質。
１１２．第８のアミノ酸配列が、配列番号４のアミノ酸配列である、実施形態１１０に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３３８】
１１３．第８のアミノ酸配列が、配列番号５のアミノ酸配列である、実施形態１１０に記載のＩＬ２プロタンパク質。
１１４．第８のアミノ酸配列が、２５５アミノ酸長以下である、実施形態６８～１１３

のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３３９】
１１５．第８のアミノ酸配列が、２２５アミノ酸長以下である、実施形態６８～１１３のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
１１６．第８のアミノ酸配列が、１７０アミノ酸長以下である、実施形態６８～１１３のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３４０】
１１７．第４のアミノ酸配列が、表Ｂに記載の１つ以上のアミノ酸配列を含む、実施形態６８～１１６のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
１１８．第４のアミノ酸配列が、アミノ酸配列ＨＰＶＧＬＬＡＲ（配列番号２６１）を含む、実施形態１１７に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３４１】
１１９．第４のアミノ酸配列が、アミノ酸配列ＶＰＬＳＬＹＳＧ（配列番号１４９）を含む、実施形態１１７に記載のＩＬ２プロタンパク質。
１２０．第４のアミノ酸配列が、アミノ酸配列ＩＳＳＧＬＬＳ（配列番号６４）を含む、実施形態１１７に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３４２】
１２１．第４のアミノ酸配列が、アミノ酸配列ＰＬＧＬＷＳＱ（配列番号１０５）を含む、実施形態１１７に記載のＩＬ２プロタンパク質。
１２２．第４のアミノ酸配列が、表Ｄに記載のアミノ酸配列である、実施形態６８～１１６のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３４３】
１２３．第４のアミノ酸配列が、アミノ酸配列ＧＧＧＩＳＳＧＬＬＳＧＲＳＤＮＨＧＧＧＩＳＳＧＬＬＳＧＲＳＤＮＨＧＧＳ（配列番号１８５）である、実施形態１２２に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３４４】
１２４．第４のアミノ酸配列が、アミノ酸配列ＧＧＳＨＰＶＧＬＬＡＲＧＧＧＨＰＶＧＬＬＡＲＧＧＧＨＰＶＧＬＬＡＲＧＳ（配列番号１８９）である、実施形態１２２に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３４５】
１２５．第４のアミノ酸配列が、アミノ酸配列ＧＧＧＨＰＶＧＬＬＡＲＧＧＧＳ（配列番号３３９）である、実施形態１２２に記載のＩＬ２プロタンパク質。
１２６．第４のアミノ酸配列が、アミノ酸配列ＧＧＧＩＳＳＧＬＬＳＧＲＳＤＮＨＧＧＧＳ（配列番号３３８）である、実施形態１２２に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３４６】
１２７．第４のアミノ酸配列が、アミノ酸配列ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＶＰＬＳＬＹＳＧＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧＳ（配列番号２０７）である、実施形態１２２に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３４７】
１２８．第９のアミノ酸配列が、表Ｂに記載の１つ以上のアミノ酸配列を含む、実施形態６８～１２７のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
１２９．第９のアミノ酸配列が、アミノ酸配列ＨＰＶＧＬＬＡＲ（配列番号２６１）を含む、実施形態１２８に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３４８】
１３０．第９のアミノ酸配列が、アミノ酸配列ＶＰＬＳＬＹＳＧ（配列番号１４９）を含む、実施形態１２８に記載のＩＬ２プロタンパク質。
１３１．第９のアミノ酸配列が、アミノ酸配列ＩＳＳＧＬＬＳ（配列番号６４）を含む、実施形態１２８に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３４９】
１３２．第９のアミノ酸配列が、アミノ酸配列ＰＬＧＬＷＳＱ（配列番号１０５）を含

む、実施形態１２８に記載のＩＬ２プロタンパク質。
１３３．第９のアミノ酸配列が、表Ｄに記載のアミノ酸配列である、実施形態６８～１２７のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３５０】
１３４．第９のアミノ酸配列が、アミノ酸配列ＧＧＧＩＳＳＧＬＬＳＧＲＳＤＮＨＧＧＧＩＳＳＧＬＬＳＧＲＳＤＮＨＧＧＳ（配列番号１８５）である、実施形態１３３に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３５１】
１３５．第９のアミノ酸配列が、アミノ酸配列ＧＧＳＨＰＶＧＬＬＡＲＧＧＧＨＰＶＧＬＬＡＲＧＧＧＨＰＶＧＬＬＡＲＧＳ（配列番号１８９）である、実施形態１３３に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３５２】
１３６．第９のアミノ酸配列が、アミノ酸配列ＧＧＧＨＰＶＧＬＬＡＲＧＧＧＳ（配列番号３３９）である、実施形態１３３に記載のＩＬ２プロタンパク質。
１３７．第９のアミノ酸配列が、アミノ酸配列ＧＧＧＩＳＳＧＬＬＳＧＲＳＤＮＨＧＧＧＳ（配列番号３３８）である、実施形態１３に記載３のＩＬ２プロタンパク質。
【０３５３】
１３８．第９のアミノ酸配列が、アミノ酸配列ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＶＰＬＳＬＹＳＧＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧＳ（配列番号２０７）である、実施形態１３３に記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３５４】
１３９．第５のアミノ酸配列が、配列番号２に対して少なくとも約９８％の配列同一性を有する、実施形態６８～１３８のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
１４０．第５のアミノ酸配列が、配列番号２のアミノ酸配列である、実施形態６８～１３８のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３５５】
１４１．第５のアミノ酸配列が、１５０アミノ酸長以下である、実施形態６８～１４０のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
１４２．第５のアミノ酸配列が、１３５アミノ酸長以下である、実施形態６８～１４０のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３５６】
１４３．第１０のアミノ酸配列が、配列番号２に対して少なくとも約９８％の配列同一性を有する、実施形態６８～１４２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３５７】
１４４．第１０のアミノ酸配列が、配列番号２のアミノ酸配列である、実施形態６８～１４２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
１４５．第１０のアミノ酸配列が、１５０アミノ酸長以下である、実施形態６８～１４４のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３５８】
１４６．第１０のアミノ酸配列が、１３５アミノ酸長以下である、実施形態６８～１４４のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
１４７．第１のポリペプチド鎖が、第１のアミノ酸配列のＣ末端に追加の配列を欠いている、実施形態６８～１４６のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３５９】
１４８．第１のポリペプチド鎖が、第１のアミノ酸配列と第２のアミノ酸配列との間に追加の配列を欠いている、実施形態６８～１４７のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。
【０３６０】
１４９．第１のポリペプチド鎖が、第２のアミノ酸配列と第３のアミノ酸配列との間に

追加の配列を欠いている、実施形態６８～１４８のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３６１】

１５０．第１のポリペプチド鎖が、第３のアミノ酸配列と第４のアミノ酸配列との間に追加の配列を欠いている、実施形態６８～１４９のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３６２】

１５１．第１のポリペプチド鎖が、第４のアミノ酸配列と第５のアミノ酸配列との間に追加の配列を欠いている、実施形態６８～１５０のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３６３】

１５２．第２のポリペプチド鎖が、第６のアミノ酸配列のＣ末端に追加の配列を欠いている、実施形態６８～１５１のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

１５３．第２のポリペプチド鎖が、第６のアミノ酸配列と第７のアミノ酸配列との間に追加の配列を欠いている、実施形態６８～１５２のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３６４】

１５４．第２のポリペプチド鎖が、第７のアミノ酸配列と第８のアミノ酸配列との間に追加の配列を欠いている、実施形態６８～１５３のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３６５】

１５５．第２のポリペプチド鎖が、第８のアミノ酸配列と第９のアミノ酸配列との間に追加の配列を欠いている、実施形態６８～１５４のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３６６】

１５６．第２のポリペプチド鎖が、第９のアミノ酸配列と第１０のアミノ酸配列との間に追加の配列を欠いている、実施形態６８～１５５のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

【０３６７】

１５７．第１のポリペプチド及び第２のポリペプチドが、同一である、実施形態６８～１５６のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質。

１５８．実施形態１～１５７のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質をコードする、核酸又は複数の核酸。

【０３６８】

１５９．実施形態１～１５７のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質又は実施形態６４の核酸（複数可）を発現するように操作された、宿主細胞。

１６０．実施形態１～１５７のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質を産生する方法であって、実施形態１５９の宿主細胞を培養することと、それによって発現されたＩＬ２プロタンパク質を回収することと、を含む、方法。

【０３６９】

１６１．実施形態１～１５７のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質と、賦形剤と、を含む、薬学的組成物。

１６２．がんを治療する方法であって、それを必要とする対象に、実施形態１～１５７のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質又は実施形態１６１の薬学的組成物を投与することを含む、方法。

【０３７０】

１６３．ＩＬ２プロタンパク質が、標的分子に結合することができる少なくとも１つの標的化部分を含み、がんが、表Ｉに記載の標的分子、例えば、ＴＡＡ及び関連するがんの発現に関連する、実施形態１６２に記載の方法。

【０３７１】

１６４．ＩＬ２部分を含む活性化されたＩＬ２タンパク質が、がん組織によって発現される１つ以上のプロテアーゼによるＩＬ２プロタンパク質中の１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーの切断によって産生される、実施形態１６３に記載の方法。

【０３７２】

１６５．ＩＬ２タンパク質が、がん組織において選択的に活性化される、実施形態１６４に記載の方法。

１６６．ＩＬ２タンパク質の局所的送達方法であって、対象に、実施形態１～１５７のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質（又はＩＬ２プロタンパク質及び賦形剤を含む薬学的組成物）を投与することを含み、ＩＬ２タンパク質が、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーであって、各々が、ＩＬ２タンパク質が局所的に送達される組織によって発現される１つ以上のプロテアーゼに対する１つ以上の基質を含む、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーを有する、方法。

【０３７３】

１６７．ＩＬ２プロタンパク質が、組織によって発現される標的分子を認識する１つ以上の標的化部分を含む、実施形態１６６に記載の方法。

１６８．ＩＬ２プロタンパク質が、各々、組織によって発現される標的分子を認識する２つの標的化部分を含む、実施形態１６７に記載の方法。

【０３７４】

１６９．組織が、がん組織である、実施形態１６７又は実施形態１６８に記載の方法。

１７０．１つ以上の標的化部分が、細胞外マトリックス（「ＥＣＭ」）抗原、腫瘍反応性リンパ球抗原、腫瘍若しくはウイルスリンパ球の細胞表面分子、Ｔ細胞抗原（「ＴＣＡ」）、チェックポイント阻害剤、又は腫瘍関連抗原（「ＴＡＡ」）に結合することができる、実施形態１６９に記載の方法。

【０３７５】

１７１．ＩＬ２部分を含む活性化されたＩＬ２タンパク質が、組織における１つ以上のプロテアーゼによるＩＬ２プロタンパク質中の１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーの切断によって産生される、実施形態１６６～１７０のうちのいずれか１つに記載の方法。

【０３７６】

１７２．がん組織において選択的に活性化されるＩＬ２タンパク質でがんを治療する方法であって、それを必要とする対象に、実施形態１～１５７のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質（又はＩＬ２プロタンパク質及び賦形剤を含む薬学的組成物）を投与することを含み、ＩＬ２タンパク質が、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーであって、各々が、ＩＬ２タンパク質へのがん組織によって発現される１つ以上のプロテアーゼに対する１つ以上の基質を含む、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーを有する、方法。

【０３７７】

１７３．ＩＬ２プロタンパク質が、がん組織によって発現される標的分子を認識する１つ以上の標的化部分を含む、実施形態１７２に記載の方法。

１７４．ＩＬ２プロタンパク質が、各々、がん組織によって発現される標的分子を認識する２つの標的化部分を含む、実施形態１７３に記載の方法。

【０３７８】

１７５．１つ以上の標的化部分が、細胞外マトリックス（「ＥＣＭ」）抗原、腫瘍反応性リンパ球抗原、腫瘍若しくはウイルスリンパ球の細胞表面分子、Ｔ細胞抗原（「ＴＣＡ」）、チェックポイント阻害剤、又は腫瘍関連抗原（「ＴＡＡ」）に結合することができる、実施形態１７３又は実施形態１７４に記載の方法。

【０３７９】

１７６．ＩＬ２部分を含む活性化されたＩＬ２タンパク質が、がん組織における１つ以上のプロテアーゼによるＩＬ２プロタンパク質中の１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーの切断によって産生される、実施形態１７２～１７５のうちのいずれか１つに記載の

方法。
【０３８０】
１７７．低減された全身曝露及び／又は低減された全身毒性を伴うＩＬ２療法を対象に施す方法であって、対象に、実施形態１～１５７のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質（又はＩＬ２プロタンパク質及び賦形剤を含む薬学的組成物）の形態のＩＬ２療法を施すことを含み、ＩＬ２タンパク質が、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーであって、各々が、ＩＬ２療法が望ましい、及び／又は意図される組織によって発現される１つ以上のプロテアーゼに対する１つ以上の基質を含む、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーを有する、方法。
【０３８１】
１７８．ＩＬ２プロタンパク質が、組織によって発現される標的分子を認識する１つ以上の標的化部分を含む、実施形態１７７に記載の方法。
１７９．ＩＬ２プロタンパク質が、各々、組織によって発現される標的分子を認識する２つの標的化部分を含む、実施形態１７８に記載の方法。
【０３８２】
１８０．組織が、がん組織である、実施形態１７７～１７９のうちのいずれか１つに記載の方法。
１８１．１つ以上の標的化部分が、細胞外マトリックス（「ＥＣＭ」）抗原、腫瘍反応性リンパ球抗原、腫瘍若しくはウイルスリンパ球の細胞表面分子、Ｔ細胞抗原（「ＴＣＡ」）、チェックポイント阻害剤、又は腫瘍関連抗原（「ＴＡＡ」）に結合することができる、実施形態１８０に記載の方法。
【０３８３】
１８２．ＩＬ２部分を含む活性化されたＩＬ２タンパク質が、組織における１つ以上のプロテアーゼによるＩＬ２プロタンパク質中の１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーの切断によって産生される、実施形態１７７～１８１のうちのいずれか１つに記載の方法。
【０３８４】
１８３．がん組織において選択的に活性化されるＩＬ２タンパク質でがんを治療する方法であって、それを必要とする対象に、実施形態１～１５７のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質（又はＩＬ２プロタンパク質及び賦形剤を含む薬学的組成物）を投与することを含み、ＩＬ２タンパク質が、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーであって、各々が、がん組織によって発現される１つ以上のプロテアーゼに対する１つ以上の基質を含む、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーを有する、方法。
【０３８５】
１８４．ＩＬ２プロタンパク質が、がん組織によって発現される標的分子を認識する１つ以上の標的化部分を含む、実施形態１８３に記載の方法。
１８５．ＩＬ２プロタンパク質が、各々、がん組織によって発現される標的分子を認識する２つの標的化部分を含む、実施形態１８４に記載の方法。
【０３８６】
１８６．１つ以上の標的化部分が、細胞外マトリックス（「ＥＣＭ」）抗原、腫瘍反応性リンパ球抗原、腫瘍若しくはウイルスリンパ球の細胞表面分子、Ｔ細胞抗原（「ＴＣＡ」）、チェックポイント阻害剤、又は腫瘍関連抗原（「ＴＡＡ」）に結合することができる、実施形態１８４又は実施形態１８５に記載の方法。
【０３８７】
１８７．ＩＬ２部分を含む活性化されたＩＬ２タンパク質が、がん組織における１つ以上のプロテアーゼによるＩＬ２プロタンパク質中の１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーの切断によって産生される、実施形態１８３～１８６のうちのいずれか１つに記載の方法。
【０３８８】
１８８．がん組織への活性化されたＩＬ２タンパク質の標的化された送達方法であって

、対象に、実施形態１～１５７のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質（又はＩＬ２プロタンパク質及び賦形剤を含む薬学的組成物）を投与することを含み、ＩＬ２タンパク質が、
（ａ）がん組織によって発現される標的分子を認識する１つ以上の標的化部分を含み、かつ
（ｂ）１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーであって、各々が、ＩＬ２療法が望ましい、及び／又は意図される組織によって発現される１つ以上のプロテアーゼに対する１つ以上の基質を含む、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーを有する、方法。

【０３８９】

１８９．ＩＬ２プロタンパク質が、各々、がん組織によって発現される標的分子を認識する２つの標的化部分を含む、実施形態１８８に記載の方法。

１９０．１つ以上の標的化部分が、細胞外マトリックス（「ＥＣＭ」）抗原、腫瘍反応性リンパ球抗原、腫瘍若しくはウイルスリンパ球の細胞表面分子、Ｔ細胞抗原（「ＴＣＡ」）、チェックポイント阻害剤、又は腫瘍関連抗原（「ＴＡＡ」）に結合することができる、実施形態１８８又は実施形態１８９に記載の方法。

【０３９０】

１９１．ＩＬ２部分を含む活性化されたＩＬ２タンパク質が、がん組織における１つ以上のプロテアーゼによるＩＬ２プロタンパク質中の１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーの切断によって産生される、実施形態１８８～１９０のうちのいずれか１つに記載の方法。

【０３９１】

１９２．標的組織における免疫応答を局所的に誘導する方法であって、対象に、実施形態１～１５７のうちのいずれか１つに記載のＩＬ２プロタンパク質（又はＩＬ２プロタンパク質及び賦形剤を含む薬学的組成物）を投与することを含み、ＩＬ２タンパク質が、標的組織において発現される標的分子に結合することができる１つ以上の標的化部分と、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーであって、各々が、標的組織において発現される１つ以上のプロテアーゼに対する１つ以上の基質を含む、１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーと、を有する、方法。

【０３９２】

１９３．ＩＬ２プロタンパク質が、各々、標的組織において発現される標的分子を認識する２つの標的化部分を含む、実施形態１９２に記載の方法。

１９４．標的組織が、がん組織である、実施形態１９２又は実施形態９８に記載の方法。

【０３９３】

１９５．１つ以上の標的化部分が、細胞外マトリックス（「ＥＣＭ」）抗原、腫瘍反応性リンパ球抗原、腫瘍若しくはウイルスリンパ球の細胞表面分子、Ｔ細胞抗原（「ＴＣＡ」）、チェックポイント阻害剤、又は腫瘍関連抗原（「ＴＡＡ」）に結合することができる、実施形態１９２～１９４のうちのいずれか１つに記載の方法。

【０３９４】

１９６．ＩＬ２部分を含む活性化されたＩＬ２タンパク質が、標的組織における１つ以上のプロテアーゼによるＩＬ２プロタンパク質中の１つ以上のプロテアーゼ切断可能リンカーの切断によって産生される、実施形態１９２～１９５のうちのいずれか１つに記載の方法。

【０３９５】

１９７．ＩＬ２タンパク質が、標的組織における少なくとも１つの細胞型に対する免疫応答を誘導する、実施形態１９６に記載の方法。

１９８．投与が、非局所的である、実施形態１６２～１９７のうちのいずれか１つに記載の方法。

【０３９６】

１９９．投与が、全身的である、実施形態１９８に記載の方法。

２００．投与が、皮下である、実施形態１９８に記載の方法。

【実施例】

【０３９７】

８．１．実施例

８．１．１．実施例１：組換えプロテアーゼを使用したプロテアーゼ切断可能リンカーの消化

様々なＩＬ２プロタンパク質構築物を、標的化部分－ＩＬ２Ｒα部分－リンカー２－ＩＬ２部分のフォーマットで生成した。生成された構築物によってコードされるＩＬ２プロタンパク質の概要を、以下の表１に提供する。表１は、各ＩＬ２プロタンパク質の単一の半抗体を記載し、各ＩＬ２プロタンパク質は、２つの同一の半抗体を含む。

【０３９８】

【表１２】

表１
IL2プロタンパク質

番号	構造
1	Fab - Fc(IgG4s)-3xG4S-hIL2Rα(22-186)-5XG4S-hIL2
2	Fab - Fc(IgG4s)-3xG4S-hIL2Rα(22-186)-PCL(36AA)-hIL2
3	Fab - Fc(IgG4s)-3xG4S-hIL2Rα(22-186)-PCL(36AA)-hIL2
4	Fab - Fc(IgG4s)-3xG4S-hIL2Rα(22-186)-PCL(36AA)-hIL2
5	Fab - Fc(IgG4s)-3xG4S-hIL2Rα(22-186)-PCL(36AA)-hIL2
6	Fab - Fc(IgG4s)-3xG4S-hIL2Rα(22-186)-PCL(36AA)-hIL2
7	Fab - Fc(IgG4s)-3xG4S-hIL2Rα(22-186)-PCL(36AA)-hIL2

【０３９９】

実験構築物に関連する「標的化部分」という用語は、ＦｃドメインおよびＮ末端ＦａｂドメインならびにＦｃドメインのＣ末端の非切断可能リンカー（アミノ酸配列ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号１５７）を有する）を有する抗体の略称である。ＩＬ２Ｒα部分は、アミノ酸配列ＥＬＣＤＤＤＰＰＥＩＰＨＡＴＦＫＡＭＡＹＫＥＧＴＭＬＮＣＥＣＫＲＧＦＲＲＩＫＳＧＳＬＹＭＬＣＴＧＮＳＳＨＳＳＷＤＮＱＣＱＣＴＳＳＡＴＲＮＴＴＫＱＶＴＰＱＰＥＥＱＫＥＲＫＴＴＥＭＱＳＰＭＱＰＶＤＱＡＳＬＰＧＨＣＲＥＰＰＰＷＥＮＥＡＴＥＲＩＹＨＦＶＶＧＱＭＶＹＹＱＣＶＱＧＹＲＡＬＨＲＧＰＡＥＳＶＣＫＭＴＨＧＫＴＲＷＴＱＰＱＬＩＣＴＧ（配列番号４）を有する。ＩＬ２部分は、アミノ酸配列ＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＶＬＮＬＡＱＳＫＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＮＩＮＶＩＶＬＥＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＣＱＳＩＩＳＴＬＴ（配列番号２）を有する。様々な構築物には、ＩＬ２Ｒα部分とＩＬ２Ｒαとの間に、プロテアーゼ切断可能リンカーＰＣＬ１、ＰＣＬ２、ＰＣＬ３、ＰＣＬ４、ＰＣＬ５、及びＰＣＬ６、並びに非切断可能リンカーＮＣＬ１及びＮＣＬ２が含まれる。

【０４００】

標的化部分－ＩＬ２Ｒα部分－リンカー－ＩＬ２部分におけるいくつかのプロテアーゼ切断可能リンカーが、組換えプロテアーゼによる消化のためにアクセス可能であったかどうかを試験するために、上記の構築物を、ｕＰＡ、ＭＴ－ＳＰ１、ＭＭＰ２、及びＭＭＰ９（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓから購入）などの種々の組換えヒトプロテアーゼを使用して消化した。

【０４０１】

簡潔に述べると、２μｇの各構築物（ＩＬ２ＲαとＩＬ２との間にＰＣＬ１、ＰＣＬ２、ＰＣＬ３、ＰＣＬ４、ＰＣＬ５、ＰＣＬ６、ＮＣＬ１及びＮＣＬ２を含む）を、製造業

者によって推奨されるアッセイ緩衝液中の５０ｎｇの組換えプロテアーゼの各々を用いて、又はそれらを用いずに、３７℃で２４時間消化した。消化後、ＳＤＳ試料ローディング緩衝液を各試料に添加し、ＳＤＳ　ＰＡＧＥ分析のためにＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　４～１２％のＴｒｉｓ－Ｇｌｙｃｉｎｅゲル上で実行した。各プロテアーゼについて、異なるアッセイ緩衝液を使用した：

（ａ）１００μｌのアッセイ緩衝液５０ｍＭのＴｒｉｓ、０．０１％（ｖ／ｖ）のＴｗｅｅｎ（登録商標）２０、ｐＨ８．５中に酵素を含まない

（ｂ）１００μｌのアッセイ緩衝液５０ｍＭのＴｒｉｓ、０．０１％（ｖ／ｖ）のＴｗｅｅｎ（登録商標）２０、ｐＨ８．５中の５０ｎｇのｕＰＡ酵素を用いて

（ｃ）１００μｌのアッセイ緩衝液５０ｍＭのＴｒｉｓ、５０ｍＭのＮａＣｌ、０．０１％（ｖ／ｖ）のＴｗｅｅｎ（登録商標）２０、ｐＨ９．０中の５０ｎｇのマトリプターゼ／ＳＴ１４酵素を用いて

（ｄ）１００μｌのアッセイ緩衝液５０ｍＭのＴｒｉｓ、１０ｍＭの$CaCl_2$、１５０ｍＭのＮａＣｌ、０．０５％（ｗ／ｖ）のＢｒｉｊ３５、ｐＨ７．５（ＴＣＮＢ）中の５０ｎｇのＡＰＭＡ活性化ＭＭＰ２酵素を用いて

（ｅ）１００μｌのアッセイ緩衝液５０ｍＭのＴｒｉｓ、１０ｍＭの$CaCl_2$、１５０ｍＭのＮａＣｌ、０．０５％のＢｒｉｊ３５（ｗ／ｖ）、ｐＨ７．５（ＴＣＮＢ）中の５０ｎｇのＡＰＭＡ活性化ＭＭＰ９酵素を用いて

バンドを可視化するために、ＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎからのＳｉｍｐｌｙＢｌｕｅ　Ｓｔａｉｎを使用してゲルを染色した。

【０４０２】

未消化の完全長構築物は、２２５ＫＤａで泳動する（図２及び３のレーン１）。両方のＩＬ２がリンカー配列で切断されている、正しく消化された標的化部分－ＩＬ２Ｒαは、約２００ＫＤａ（図２及び３のレーン２）で泳動し、両方のリンカー部位がプロテアーゼが切断するためにアクセス可能であることを示唆している。試験されたプロテアーゼ基質の大部分は、類似の基質配列要件を共有する複数のプロテアーゼによって切断されることができる。いくつかのプロテアーゼは、切断可能リンカー配列の外側に切断を示す。

【０４０３】

８．１．２．実施例２：ＹＴ／ＳＴＡＴ５　ｌｕｃルシフェラーゼアッセイにおけるプロテアーゼ解除ＩＬ２の活性

プロテアーゼ解除ＩＬ２が活性であるかどうかを試験するために、組換えプロテアーゼ消化切断可能リンカー構築物を、ＹＴ／ＳＴＡＴ５　ｌｕｃルシフェラーゼアッセイにおいて試験した。簡潔に述べると、２μｇのαＣＤ２０－ＩＬ２Ｒα－ＰＣＬ－ＩＬ２を、１００μｌのアッセイ緩衝液５０ｍＭのＴｒｉｓ、０．０１％（ｖ／ｖ）のＴｗｅｅｎ（登録商標）２０、ｐＨ８．５中の５０ｎｇのマトリプターゼ（Ｒ＆Ｄ、カタログ番号３９４６－ＳＥＢ－０１０）又はｕＰＡ（Ｒ＆Ｄ、カタログ番号１３１０－ＳＥ）で、３７Ｃで２４時間消化した。ＹＴ／ｐＧＬ４５２－ＳＴＡＴ５　ｌｕｃ／ＣＬ４／ｈＩＬ７Ｒａ細胞を、ＩＬ２（ＷＴ）－ｍｍｈ、αＣＤ２０－ＩＬ２Ｒα－Ｇ４Ｓ－ＩＬ２、及びＭＴ－ＳＰ１又はｕＰＡ消化及び未消化ＣＤ２０－ＩＬ２Ｒα－ＰＣＬ－ＩＬ２の滴定とともに３７Ｃ、５％CO_2で４～６時間インキュベートした。インキュベーション後、プレート及びＯｎｅ－Ｇｌｏｗシフェラーゼ基質を室温で平衡化した。ウェル当たり１００μｌのＯｎｅ－Ｇｌｏ基質を添加し、３～５分間インキュベートした。発光をＥｎｖｉｓｉｏｎで測定した。

【０４０４】

図４を参照すると、ＣＤ２０－ＩＬ２Ｒα－ＰＣＬ－ＩＬ２からのＩＬ２のプロテアーゼ媒介切断は、ＹＴ／ＳＴＡＴ５　ｌｕｃ／ＣＬ４ルシフェラーゼアッセイにおける活性の改善をもたらす。標的化部分－ＩＬ２Ｒα－ＩＬ２フォーマットのＩＬ２は、ＣＤ２０－ＩＬ２Ｒα－Ｇ４Ｓ－ＩＬ２によって示されるように、最小限のルシフェラーゼ活性を有する自己阻害トランス二量体フォーマットで存在する。解除時、ＭＴ－ＳＰ１又はｕＰＡ消化後、切断されたＩＬ２は、ＩＬ２（ＷＴ）－ｍｍｈと同様のＳＴＡＴ５　ｌｕｃ活

性を有し、プロテアーゼ切断されたＩＬ２が完全に生物活性であることを示唆している。

【０４０５】

８．１．３．実施例３：プロテアーゼ切断可能リンカーを有する腫瘍標的化されたＩＬ２Ｒα－ＩＬ２のインビボ有効性

図５Ａの概略図は、８～１０週齢の雌Ｃ５７ＢＬ／６マウス（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ）に、０．８５×10^6個のＭＣ３８／ｈＣＤ２０腫瘍細胞を右後脇腹の皮下に移植したことを示す。腫瘍サイズが約１１０mm^3に達したときにマウスを無作為化し、種々のタンパク質で腹腔内処置した。処置を２週間に１回、合計４用量で腹腔内に投与した。腫瘍はデジタルノギスを使用して週２回測定され、腫瘍のサイズは長さｘ幅^2／２として計算された。腫瘍サイズが２２５０mm^3に達するまで、又は任意の群の任意のマウスを潰瘍形成のために安楽死させる必要があるまで、測定を行った。体重の変化を、研究の過程にわたって監視した。観察を４２日目まで延長した。

【０４０６】

図５Ｂ～図５Ｎは、切断可能リンカーの有する、又は有しないＴＡＡ標的化されたＩＬ２Ｒα－ＩＬ２の抗腫瘍有効性を示す。切断可能リンカーを有するαＣＤ２０標的化された構築物は、ＭＣ３８／ｈＣＤ２０マウスモデルで試験された用量で非切断可能リンカーを有するＣＤ２０標的化された構築物と比較して、研究が終了するまで顕著に良好な抗腫瘍有効性及び無腫瘍生存を示した。エフェクターレスＦｃ及び非標的化のアイソタイプ群を有する二価αＣＤ２０は、腫瘍成長制御を示さなかった。図５Ｍ及び５Ｎに示されるように、処置されたマウスの群のいずれにおいても、体重の顕著な変化はなく、マウスは、処置時にいずれの体重減少も示さなかった。図５Ｄ～５Ｌは、研究において試験された全ての群についての個々の腫瘍曲線を示す。

【０４０７】

８．１．４．実施例４：インビボでのプロテアーゼ切断可能リンカーの安定性

図６Ａに示されるように、８～１０週齢の非腫瘍保有雌Ｃ５７ＢＬ／６マウス（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ）に、３つの異なる切断可能リンカー及び２つの非切断可能リンカー対照を有するαＣＤ２０－ＩＬ２Ｒα－リンカー－ＩＬ２タンパク質の単一の５ｍｐｋの皮下注射を投薬した（群当たりｎ＝２のマウス）。処置の１６時間、４０時間、及び６４時間後にマウスから血漿を収集し、ウエスタンブロット分析によって血清中の投薬されたタンパク質の安定性をチェックした（図６Ｂ）。１ｕｌの血清を、で対照として、未消化及び組換えプロテアーゼ消化されたＣＤ２０－ＩＬ２Ｒα－ＰＣＬ１－ＩＬ２とともに、４～１２％のＴｒｉｓ－Ｇｌｙｃｉｎｅゲル上で泳動し、続いてヤギ抗ヒトＩｇＧ－Ｆｃ特異的、ＨＲＰコンジュゲート（Ｓｉｇｍａ　Ａ０１７０－１ＭＬ）を検出として使用してウエスタンブロットを行った。非腫瘍保有マウスにおいて、短い３日間のインビボ安定性研究を行った。試験された３つの切断可能リンカーは、３日の経過にわたって血清中の異なる切断パターンを示した。αＣＤ２０－ＩＬ２Ｒα－ＰＣＬ２－ＩＬ２は、試験された３つの時点、１６時間、４０時間、及び６４時間で最も安定であった。ＣＤ２０－ＩＬ２Ｒα－ＰＣＬ４－ＩＬ２は中程度の安定性を示し、ＣＤ２０－ＩＬ２Ｒα－ＰＣＬ５－ＩＬ２は最も安定性が低く、１６時間の時点でも切断可能リンカーの消化及びＩＬ２の切断を示した。非切断可能対照は、予想どおり、ＩＬ２の最小限の切断を示した。未消化の完全長構築物は、２２５ＫＤａで泳動する（図６Ｂ、レーン１）。両方のＩＬ２がリンカー配列で切断された、完全に消化された標的化部分－ＩＬ２Ｒαは、約２００ＫＤａで泳動する（図６Ｂ、レーン２）。

【０４０８】

８．１．５．実施例５：αＣＤ２０－ＩＬ２Ｒα－切断可能リンカー－ＩＬ２の有効性に対する腫瘍標的化の寄与

図７は、１×10^6個のＭＣ３８／ｈＣＤ２０腫瘍細胞を右後脇腹の皮下に移植したＭＣ３８／ｈＣＤ２０モデル８～１０週齢の雌Ｃ５７ＢＬ／６マウス（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ）の移植及び治療プロトコールを示す。腫瘍サイズが約１１０mm^3に達したときにマウスを無作為化し、種々のタンパク質で腹腔内処置した。処置を週に１

回、合計２用量で腹腔内に投与した。腫瘍はデジタルノギスを使用して週２回測定され、腫瘍のサイズは長さｘ幅^2／２として計算された（図８）。腫瘍サイズが２２５０ｍｍ^{3}に達するまで、又は任意の群の任意のマウスを潰瘍形成のために安楽死させる必要があるまで、測定を行った。体重の変化を、研究の過程にわたって監視した。

【０４０９】

発明者らは、切断可能リンカーを有するＴＡＡ標的化されたＩＬ２Ｒα－ＩＬ２の抗腫瘍効果における腫瘍標的化の寄与を評価した。図９に示されるように、切断可能リンカーを有するＣＤ２０標的化されたＩＬ２Ｒα－ＩＬ２タンパク質は、ＭＣ３８／ｈＣＤ２０マウスモデルにおいて、切断可能リンカーを有する非標的化のＩＬ２Ｒα－ＩＬ２タンパク質及び非切断可能Ｇ４Ｓリンカーを有するＣＤ２０標的化されたＩＬ２Ｒα－ＩＬ２タンパク質と比較して、顕著に良好な抗腫瘍有効性及び無腫瘍生存を示した。エフェクターレスＦｃ及び非標的化のアイソタイプ群を有する二価αＣＤ２０は、腫瘍成長制御を示さなかった。処置されたマウスの群のいずれにおいても、体重の顕著な変化はなく、マウスは、処置時にいずれの体重減少も示さなかった。

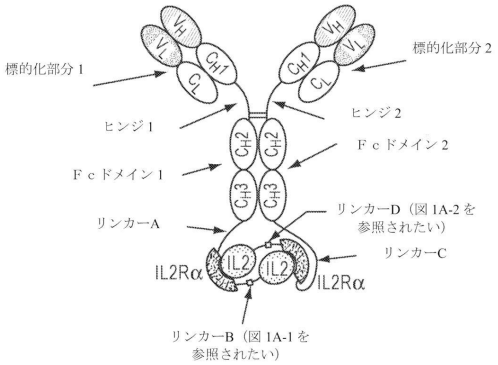
【０４１０】

９．参考文献の引用

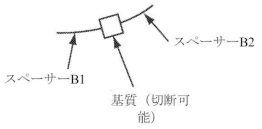
本出願で引用される全ての刊行物、特許、特許出願、及び他の文書は、各個々の刊行物、特許、特許出願、又は他の文書が、全ての目的のために参照により組み込まれることが個別に示されているのと同じ程度に、全ての目的のためにその全体が参照により本明細書に組み込まれる。本明細書に組み込まれる参照のうちの１つ以上の教示と本開示との間に矛盾がある場合には、本明細書の教示が意図される。

【図面】

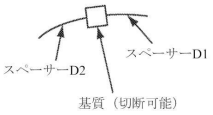
【図１Ａ】



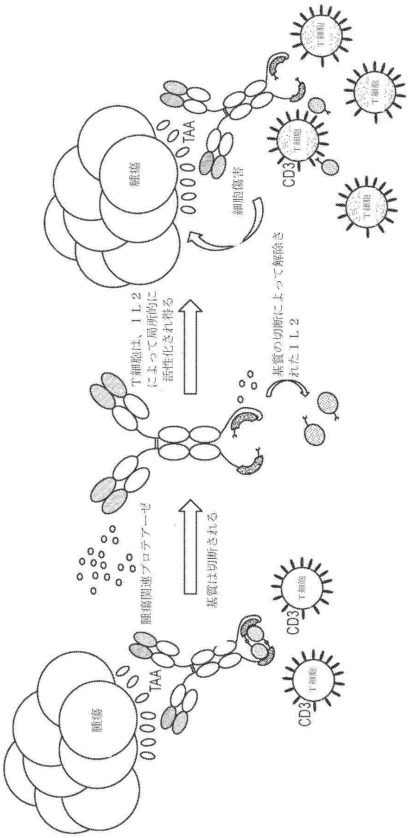
【図１Ａ－１】



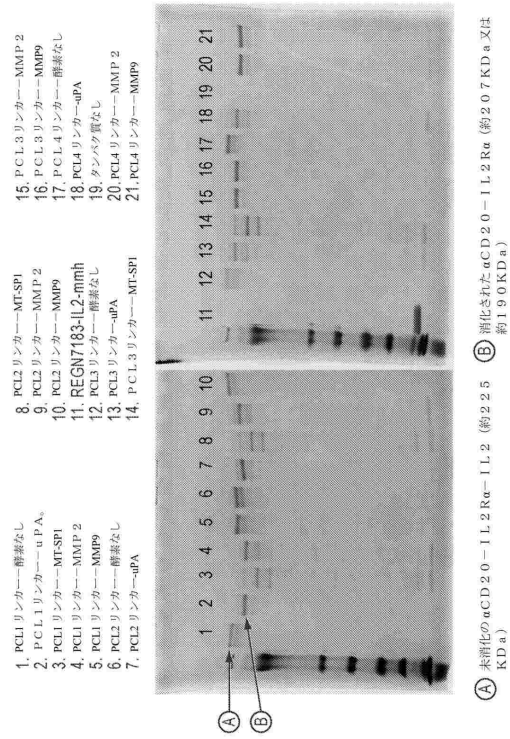
【図１Ａ－２】



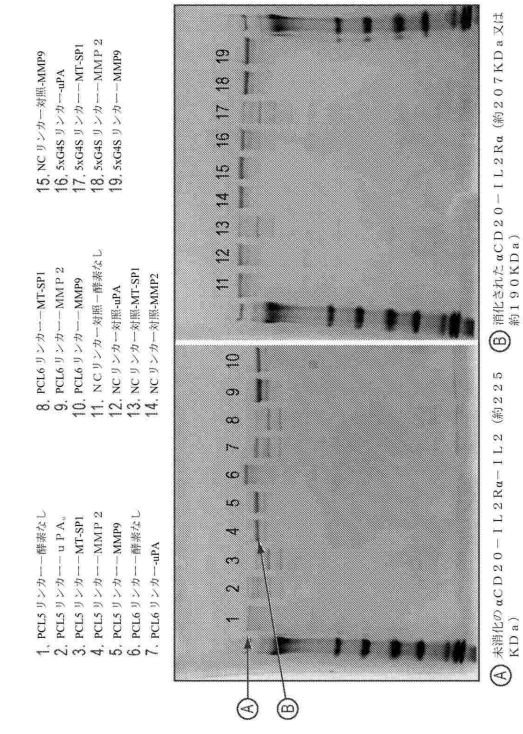
【図１Ｂ】



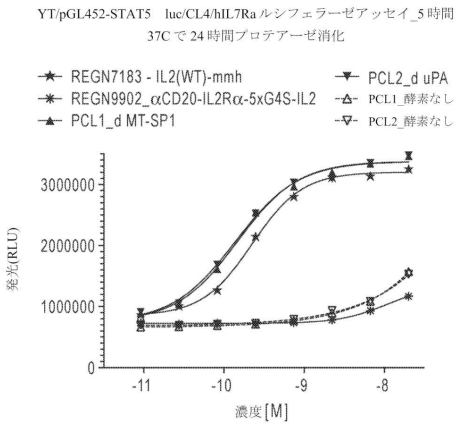
【図２】



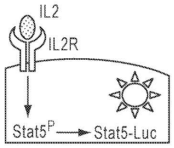
【図３】



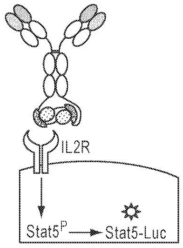
【図４Ａ】



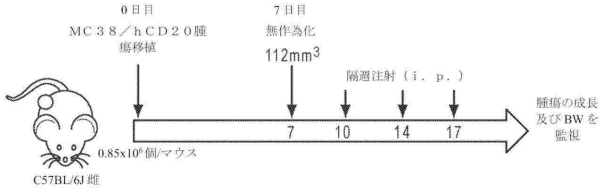
【図４Ｂ】



【図４Ｃ】

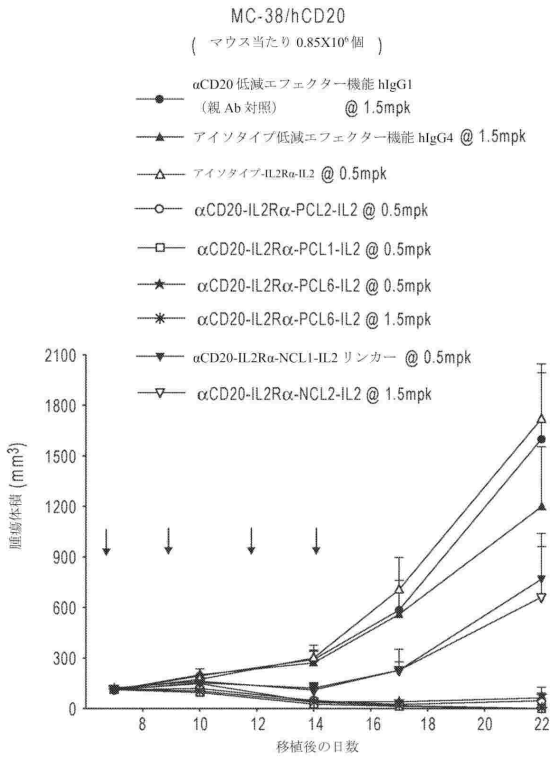


【図５Ａ】

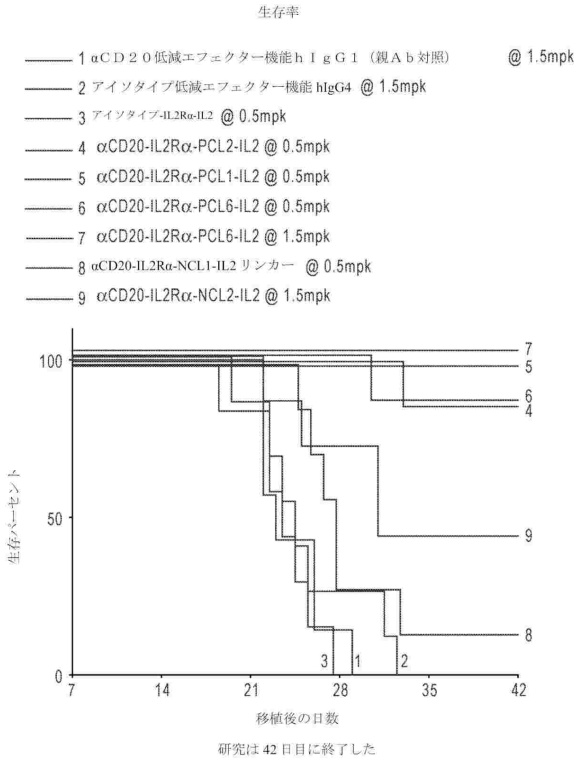


群番号	説明
1	REGN4576 (1.5mpk)
2	H4sH11810P2 (1.5mpk)
3	アイソタイプ-IL2Rα-IL2 (0.5mpk)
4	αCD20_PCL2_IL2 (0.5mpk)
5	αCD20_PCL4_IL2 (0.5mpk)
6	αCD20_PCL6_IL2 (0.5mpk)
7	αCD20_NCL1_IL2 (0.5mpk)
8	αCD20_PCL6_IL2 (1.5mpk)
9	αCD20_NCL2_IL2 (1.5mpk)

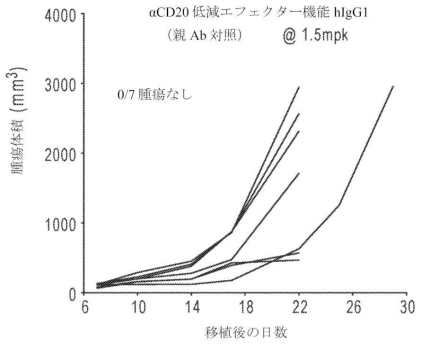
【図５Ｂ】



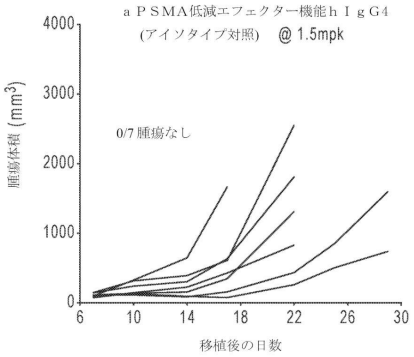
【図５Ｃ】



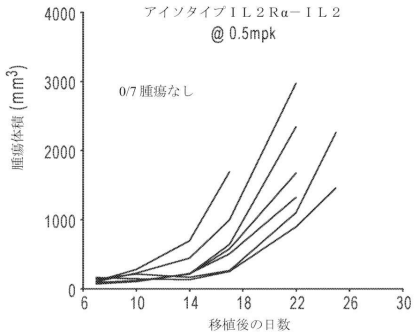
【図５Ｄ】



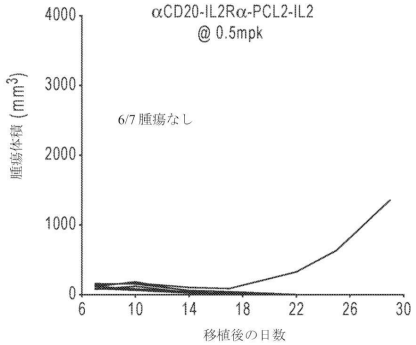
【図５Ｅ】



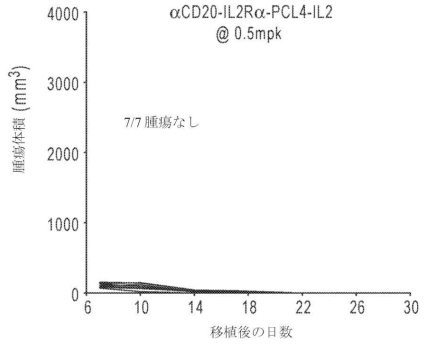
【図５Ｆ】



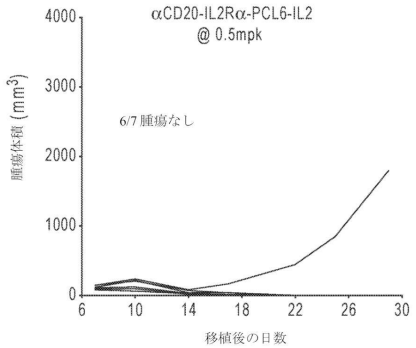
【図５Ｇ】



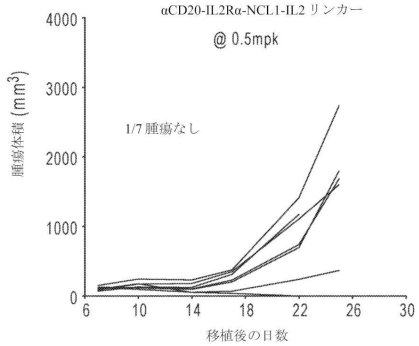
【図５Ｈ】



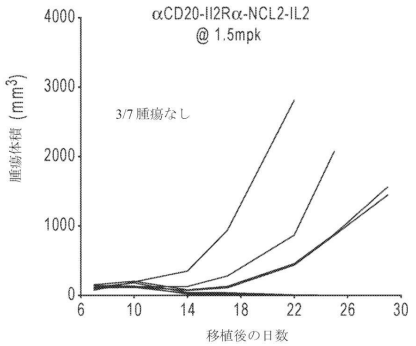
【図５Ｉ】



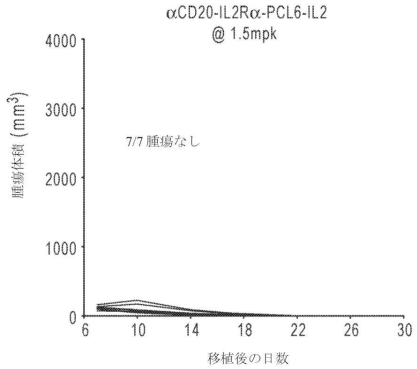
【図５Ｊ】



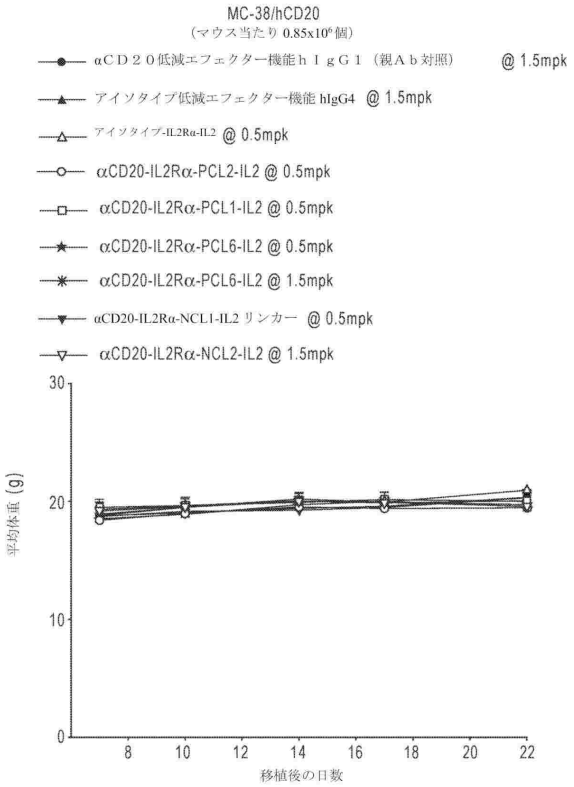
【図５Ｋ】



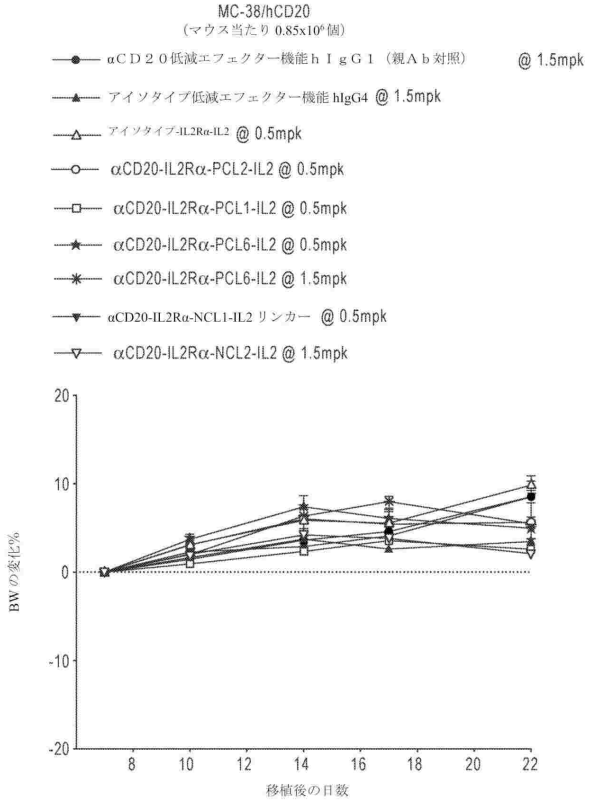
【図５Ｌ】



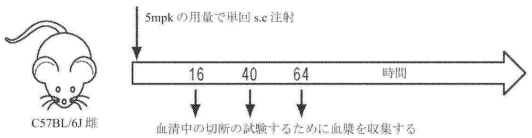
【図５Ｍ】



【図５Ｎ】

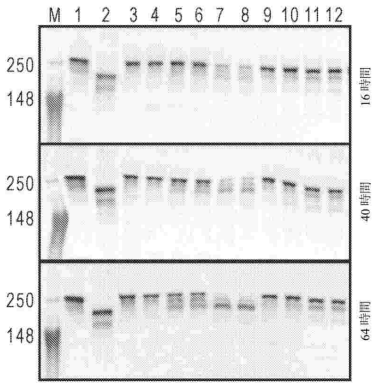


【図６Ａ】

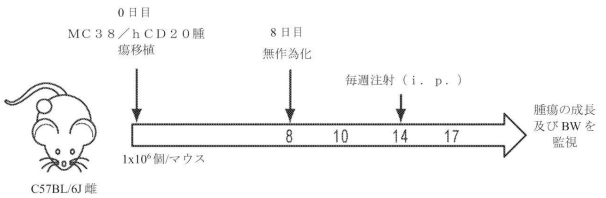


レーン	処置の詳細
M	ブループラス 2MW ラダーを参照
1	未消化の対照
2	消化された対照
3, 4	αCD20-IL2Rα-PCL2-IL2 @ 5mpk
5, 6	αCD20-IL2Rα-PCL4-IL2 @ 5mpk
7, 8	αCD20-IL2Rα-PCL5-IL2 @ 5mpk
9, 10	αCD20-IL2Rα-NCL2-IL2 リンカー @ 5mpk
11, 12	αCD20-IL2Rα-NCL2-IL2 リンカー @ 5mpk

【図６Ｂ】

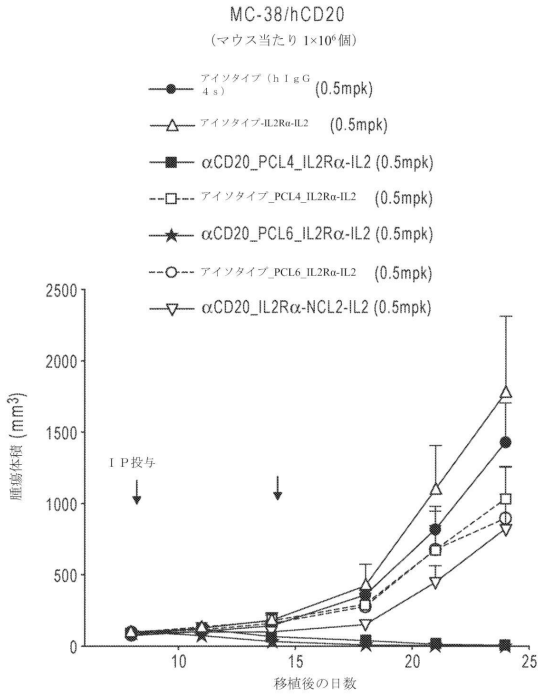


【図７】

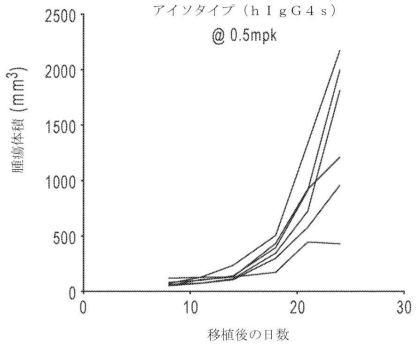


群番号	説明
1	H4sH11810P2 (1.5mpk)
2	アイソタイプ-IL2Rα-IL2 (0.5mpk)
4	αCD20_PCL4_IL2 (0.5mpk)
5	αCD20_PCL6_IL2 (0.5mpk)
6	αPSMA_PCL4_IL2 (0.5mpk)
7	αPSMA_PCL6_IL2 (0.5mpk)
8	αCD20_NCL2_IL2 (0.5mpk)

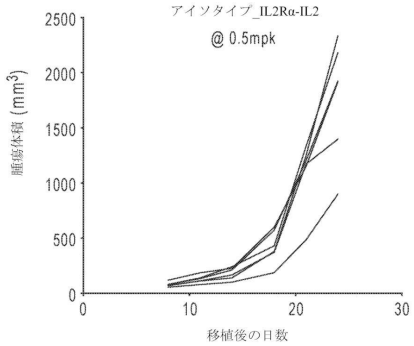
【図８】



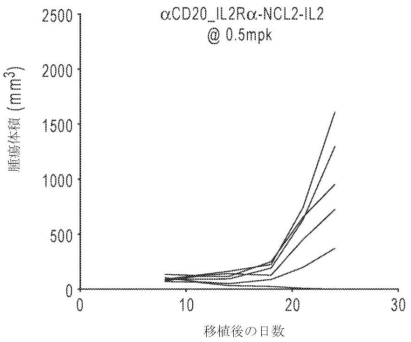
【図９Ａ】



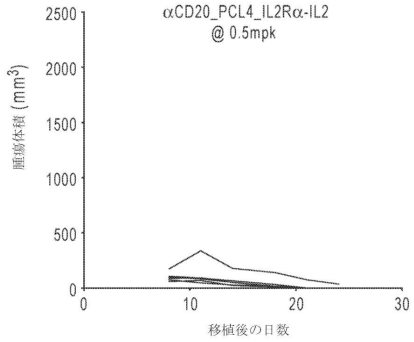
【図９Ｂ】



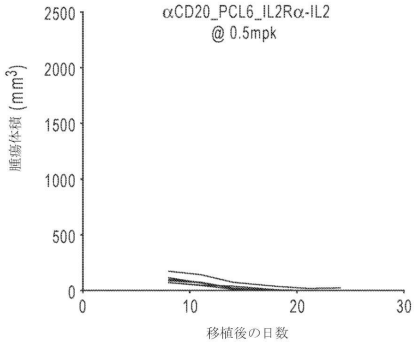
【図９Ｃ】



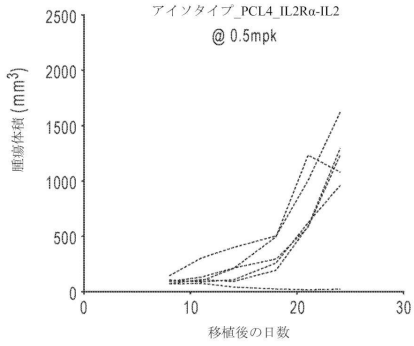
【図９Ｄ】



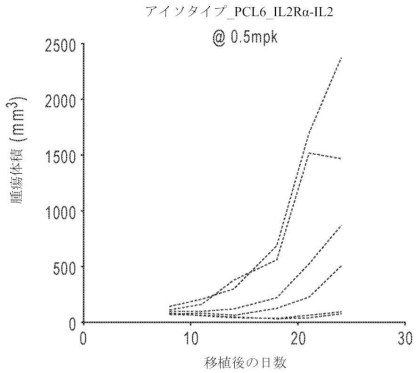
【図９Ｅ】



【図９Ｆ】



【図９Ｇ】



【配列表】
20255191580000001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/067532

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. [X] forming part of the international application as filed.

   b. [ ] furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.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:

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (1)) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/067532

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K14/55 C07K14/715
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, Sequence Search, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2021/011353 A1 (PROVIVA THERAPEUTICS HONG KONG LTD [CN]) 21 January 2021 (2021-01-21) the whole document	1-50
X	WO 2021/119516 A1 (CUGENE INC [US]) 17 June 2021 (2021-06-17) the whole document	1-50
X	WO 2019/246392 A1 (CUGENE INC [US]) 26 December 2019 (2019-12-26) the whole document	1-50
X	WO 2021/127487 A2 (REGENERON PHARMA [US]) 24 June 2021 (2021-06-24) the whole document	1-50

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
17 July 2023	25/07/2023

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Surdej, Patrick

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/067532

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JOHN PUSKAS ET AL: "Development of an attenuated interleukin-2 fusion protein that can be activated by tumour-expressed proteases", CANCER RESEARCH, WILEY-BLACKWELL PUBLISHING LTD, GB, vol. 133, no. 2, 23 March 2011 (2011-03-23), pages 206-220, XP071276205, ISSN: 0019-2805, DOI: 10.1111/J.1365-2567.2011.03428.X the whole document	1-50
A	XUE DIYUAN ET AL: "Next-generation cytokines for cancer immunotherapy", ANTIBODY THERAPEUTICS, vol. 4, no. 2, 1 April 2021 (2021-04-01), pages 123-133, XP055925224, DOI: 10.1093/abt/tbab014 the whole document	1-50

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2023/067532

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2021011353 A1	21-01-2021	AU 2020315282 A1	10-02-2022
		CA 3146156 A1	21-01-2021
		CN 114450297 A	06-05-2022
		EP 3997115 A1	18-05-2022
		JP 2022541002 A	21-09-2022
		KR 20220032569 A	15-03-2022
		US 2022324933 A1	13-10-2022
		WO 2021011353 A1	21-01-2021
WO 2021119516 A1	17-06-2021	AU 2020403148 A1	30-06-2022
		CA 3164353 A1	17-06-2021
		CN 115151279 A	04-10-2022
		EP 4072593 A1	19-10-2022
		JP 2023506454 A	16-02-2023
		KR 20220115611 A	17-08-2022
		US 2023093155 A1	23-03-2023
		WO 2021119516 A1	17-06-2021
WO 2019246392 A1	26-12-2019	AU 2019288484 A1	21-01-2021
		CA 3102823 A1	26-12-2019
		CN 112654633 A	13-04-2021
		EP 3810624 A1	28-04-2021
		JP 2021528493 A	21-10-2021
		KR 20210038548 A	07-04-2021
		US 2021139553 A1	13-05-2021
		WO 2019246392 A1	26-12-2019
WO 2021127487 A2	24-06-2021	AU 2020407233 A1	18-08-2022
		BR 112022012112 A2	06-09-2022
		CA 3164731 A1	24-06-2021
		CN 115023444 A	06-09-2022
		EP 4077397 A2	26-10-2022
		IL 293978 A	01-08-2022
		JP 2023510115 A	13-03-2023
		KR 20220116513 A	23-08-2022
		TW 202136316 A	01-10-2021
		TW 202136317 A	01-10-2021
		US 2021187027 A1	24-06-2021
		US 2021188934 A1	24-06-2021
		US 2022220182 A1	14-07-2022
		US 2022362395 A1	17-11-2022
		US 2023053563 A1	23-02-2023
		WO 2021127487 A2	24-06-2021
		WO 2021127495 A1	24-06-2021

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

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
C12N	*15/13*	*(2006.01)*	C12N	15/13		
C12N	*1/15*	*(2006.01)*	C12N	1/15		
C12N	*1/19*	*(2006.01)*	C12N	1/19		
C12N	*1/21*	*(2006.01)*	C12N	1/21		
C12N	*5/10*	*(2006.01)*	C12N	5/10		
C12P	*21/02*	*(2006.01)*	C12P	21/02	C	
A61P	*35/00*	*(2006.01)*	A61P	35/00		
A61K	*38/20*	*(2006.01)*	A61K	38/20		
A61K	*47/68*	*(2017.01)*	A61K	47/68		
A61K	*47/65*	*(2017.01)*	A61K	47/65		

(32)優先日　令和4年6月24日(2022.6.24)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/386,999
(32)優先日　令和4年12月12日(2022.12.12)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/501,434
(32)優先日　令和5年5月11日(2023.5.11)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,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,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,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,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．プルロニック
２．ＢＲＩＪ

弁理士　中村 美樹
(72)発明者　パテル、スプリヤ
アメリカ合衆国 １０５９１ ニューヨーク州 タリータウン オールド ソー ミル リバー ロード ７７７ リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド内
(72)発明者　チャン、トン
アメリカ合衆国 １０５９１ ニューヨーク州 タリータウン オールド ソー ミル リバー ロード ７７７ リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド内
(72)発明者　ウー、ジャシー
アメリカ合衆国 １０５９１ ニューヨーク州 タリータウン オールド ソー ミル リバー ロード ７７７ リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド内
(72)発明者　チャン、アーロン
アメリカ合衆国 １０５９１ ニューヨーク州 タリータウン オールド ソー ミル リバー ロード ７７７ リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド内
(72)発明者　スミス、エリック
アメリカ合衆国 １０５９１ ニューヨーク州 タリータウン オールド ソー ミル リバー ロード ７７７ リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド内

(72)発明者　リン、チャーヤン
アメリカ合衆国　１０５９１　ニューヨーク州　タリータウン　オールド　ソー　ミル　リバー　ロード　７７７　リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド内
(72)発明者　デイビス、サミュエル
アメリカ合衆国　１０５９１　ニューヨーク州　タリータウン　オールド　ソー　ミル　リバー　ロード　７７７　リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド内

Ｆターム（参考）　4B064　AG05 AG26 AG27 CA19 CC24 DA01
4B065　AA01X AA57X AA83X AA87X AA90X AA90Y AB01 AC14 BA02 BA30 CA24 CA25 CA44
4C076　AA95 CC27 EE41 EE59
4C084　AA02 AA03 BA44 DA14 NA13 ZB26
4H045　AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA04 DA75 EA20 FA74