

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-531493

(P2023-531493A)

(43)公表日 令和5年7月24日(2023.7.24)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード(参考)	
C 1 2 N	15/24 (2006.01)	C 1 2 N	15/24	Z N A	4 C 0 8 4
C 0 7 K	14/54 (2006.01)	C 0 7 K	14/54		4 C 0 8 5
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28		4 H 0 4 5
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13		
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z	
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求
		(全188頁) 最終頁に続く			

(21)出願番号	特願2022-578995(P2022-578995)	(71)出願人	500049716
(86)(22)出願日	令和3年6月25日(2021.6.25)		アムジェン・インコーポレーテッド
(85)翻訳文提出日	令和5年2月20日(2023.2.20)		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 1
(86)国際出願番号	PCT/US2021/039191		3 2 0 , サウザンド オークス , ワン ア
(87)国際公開番号	WO2021/263167		ムジェン センター ドライブ
(87)国際公開日	令和3年12月30日(2021.12.30)	(74)代理人	110001173
(31)優先権主張番号	63/199,218		弁理士法人川口国際特許事務所
(32)優先日	令和2年12月14日(2020.12.14)	(72)発明者	スー , ハイリン
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 1
(31)優先権主張番号	63/045,041		3 2 0 - 1 7 9 9、サウザンド・オーク
(32)優先日	令和2年6月26日(2020.6.26)		ス、メール・ストップ・2 8 - 5 - エイ
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		、ワン・アムジェン・センター・ドライ
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(72)発明者	フォルツ , イアン
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 I L - 1 0 突然変異タンパク質及びその融合タンパク質

(57)【要約】

本開示は、概して、モノマーとして安定した I L - 1 0 の突然変異タンパク質と、 T R E M - 1 に結合する抗原結合タンパク質と、 I L - 1 0 突然変異タンパク質及び抗原結合部分、例えば抗 T R E M - 1 抗体を含む抗原結合タンパク質と、その組成物とに関する。本開示は、この組成物を用いて、炎症性腸疾患又は潰瘍性大腸炎などの炎症性疾患を治療する方法も提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 2 に記載されるアミノ酸配列と少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列を含むヒトインターロイキン - 10 (IL - 10) 突然変異タンパク質であって、ヘリックスループ AB、ヘリックスループ CD、ヘリックスループ DE、ヘリックス A、ヘリックス B、ヘリックス C、ヘリックス D、ヘリックス E 及び / 又はヘリックス F における突然変異から選択される少なくとも 1 つの突然変異を有するヒトインターロイキン - 10 (IL - 10) 突然変異タンパク質。

【請求項 2】

前記突然変異は、ヘリックス D とヘリックス E との間の 6 個のアミノ酸の付加を任意選択的に含む、配列番号 2 の R 2 7 L、K 3 4 D、D 4 1 G、L 4 6 K、Q 3 8 E、Q 3 8 R、Q 3 8 D、K 1 3 8 L、K 1 3 8 D、I 8 7 A、H 1 4 Q、F 1 5 Y、M 2 2 V、K 4 9 T、K 4 9 S、F 5 6 Y、K 5 7 N、Y 5 9 T、L 6 0 Q、Q 6 3 E、Q 6 3 L、E 6 7 C、Q 7 0 E、Q 7 0 K、M 7 7 R、M 7 7 V、Q 7 9 R、Q 7 9 C、D 8 4 R、A 8 9 P、H 9 0 E、H 9 0 Q、S 9 3 E、S 9 3 Q、T 1 0 0 R、L 1 0 3 E、H 1 0 9 D、R 1 1 0 P、R 1 1 0 Q、L 1 1 2 V、E 1 1 5 K、N 1 1 6 D、A 1 2 7 M、K 1 3 0 Q、I 1 3 6 C、Y 1 3 7 C、M 1 5 4 V、M 1 5 6 C、K 1 5 7 N 又は N 1 6 0 D の 1 つ以上である、請求項 2 に記載の IL - 10 突然変異タンパク質。

【請求項 3】

配列番号 3 ~ 10 又は配列番号 2 1 3 8、2 1 4 0、2 1 4 2、2 1 4 4、2 1 4 6、2 1 4 8、2 1 5 0、2 1 5 2、2 1 5 4、2 1 5 6、2 1 5 8、2 1 6 0、2 1 6 2、2 1 6 4、2 1 6 6、2 1 6 8、2 1 7 0、2 1 7 2、2 1 7 4、2 1 7 6、2 1 7 8、2 1 8 0、2 1 8 2、2 3 6 0、2 3 6 2、2 3 6 4、2 3 6 6、2 3 6 8、2 3 7 0、2 3 7 2、2 3 7 4、2 3 7 6、2 3 7 8、2 3 8 0、2 3 8 2、2 3 8 4、2 3 8 6、2 3 8 8、2 3 9 0、2 3 9 2、2 3 9 4、2 3 9 6、2 3 9 8、2 4 0 0、2 4 0 2、2 4 0 4、2 4 0 6、2 4 0 8、2 4 1 0、2 4 1 2、2 4 1 4、2 4 1 6、2 4 1 8、2 4 2 0、2 4 2 2、2 4 2 4、2 4 2 6、2 4 2 8、2 4 3 0、2 4 3 2、2 4 3 4、2 4 3 6、2 4 3 8、2 4 4 0、2 4 4 2、2 4 4 4、2 4 4 6、2 4 4 8、2 4 5 0、2 4 5 2、2 4 5 4、2 4 5 6、2 4 5 8、2 4 6 0、2 4 6 2、2 4 6 4、2 4 6 6、2 4 6 8、2 4 7 0、2 4 7 2、2 4 7 4、2 4 7 6、2 4 7 8、2 4 8 0、2 4 8 2、2 4 8 4、2 4 8 6、2 4 8 8、2 4 9 0、2 4 9 2、2 4 9 4、2 4 9 6、2 5 0 0、2 5 0 2、2 5 0 4、2 5 0 6、2 5 0 8、2 5 1 0、2 5 1 2、2 5 1 4、2 5 1 6、2 5 1 8、2 5 2 0、2 5 2 2、2 5 2 4、2 5 2 6、2 5 2 8、2 5 3 0、2 5 3 2、2 5 3 4、2 5 3 6、2 5 3 8、2 5 4 0 若しくは 2 7 7 7 ~ 2 7 9 1 のいずれか 1 つに記載されるアミノ酸配列を有する、請求項 1 又は 2 に記載の IL - 10 突然変異タンパク質。

【請求項 4】

請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の IL - 10 突然変異タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子。

【請求項 5】

単離された抗原結合タンパク質であって、
 a . 抗体又は抗体フラグメントであり；
 b . 配列番号 20 に記載されるアミノ酸配列を有するヒト T R E M - 1 に結合し；
 c . 軽鎖可変ドメインであって、
 i . 配列番号 30、50、70、90、110、130、150、170、190、210、230、250、270、290 及び 2190 から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1；
 i i . 配列番号 31、51、71、91、111、131、151、171、191、211、231、251、271、291 及び 2191 から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2；

10

20

30

40

50

i i i . 配列番号 3 2、5 2、7 2、9 2、1 1 2、1 3 2、1 5 2、1 7 2、1 9 2、2 1 2、2 3 2、2 5 2、2 7 2、2 9 2 及び 2 1 9 2 から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3

を含む軽鎖可変ドメインを含み；及び

d . 重鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号 3 6、5 6、7 6、9 6、1 1 6、1 3 6、1 5 6、1 7 6、1 9 6、2 1 6、2 3 6、2 5 6、2 7 6、2 9 6 及び 2 1 9 6 から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1；

i i . 配列番号 3 7、5 7、7 7、9 7、1 1 7、1 3 7、1 5 7、1 7 7、1 9 7、2 1 7、2 3 7、2 5 7、2 7 7、2 9 7 及び 2 1 9 7 から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2；及び

i i i . 配列番号 3 8、5 8、7 8、9 8、1 1 8、1 3 8、1 5 8、1 7 8、1 9 8、2 1 8、2 3 8、2 5 8、2 7 8、2 9 8 及び 2 1 9 8 から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3

を含む重鎖可変ドメインを含む、単離された抗原結合タンパク質。

【請求項 6】

i) 配列番号 3 0 (L C D R 1)、配列番号 3 1 (L C D R 2)、配列番号 3 2 (L C D R 3)、配列番号 3 6 (H C D R 1)、配列番号 3 7 (H C D R 2) 及び配列番号 3 8 (H C D R 3)；

i i) 配列番号 5 0 (L C D R 1)、配列番号 5 1 (L C D R 2)、配列番号 5 2 (L C D R 3)、配列番号 5 6 (H C D R 1)、配列番号 5 7 (H C D R 2) 及び配列番号 5 8 (H C D R 3)；

i i i) 配列番号 7 0 (L C D R 1)、配列番号 7 1 (L C D R 2)、配列番号 7 2 (L C D R 3)、配列番号 7 6 (H C D R 1)、配列番号 7 7 (H C D R 2) 及び配列番号 7 8 (H C D R 3)；

i v) 配列番号 9 0 (L C D R 1)、配列番号 9 1 (L C D R 2)、配列番号 9 2 (L C D R 3)、配列番号 9 6 (H C D R 1)、配列番号 9 7 (H C D R 2) 及び配列番号 9 8 (H C D R 3)；

v) 配列番号 1 1 0 (L C D R 1)、配列番号 1 1 1 (L C D R 2)、配列番号 1 1 2 (L C D R 3)、配列番号 1 1 6 (H C D R 1)、配列番号 1 1 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 1 8 (H C D R 3)；

v i) 配列番号 1 3 0 (L C D R 1)、配列番号 1 3 1 (L C D R 2)、配列番号 1 3 2 (L C D R 3)、配列番号 1 3 6 (H C D R 1)、配列番号 1 3 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 3 8 (H C D R 3)；

v i i) 配列番号 1 5 0 (L C D R 1)、配列番号 1 5 1 (L C D R 2)、配列番号 1 5 2 (L C D R 3)、配列番号 1 5 6 (H C D R 1)、配列番号 1 5 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 5 8 (H C D R 3)；

v i i i) 配列番号 1 7 0 (L C D R 1)、配列番号 1 7 1 (L C D R 2)、配列番号 1 7 2 (L C D R 3)、配列番号 1 7 6 (H C D R 1)、配列番号 1 7 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 7 8 (H C D R 3)；

i x) 配列番号 1 9 0 (L C D R 1)、配列番号 1 9 1 (L C D R 2)、配列番号 1 9 2 (L C D R 3)、配列番号 1 9 6 (H C D R 1)、配列番号 1 9 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 9 8 (H C D R 3)；

x) 配列番号 2 1 0 (L C D R 1)、配列番号 2 1 1 (L C D R 2)、配列番号 2 1 2 (L C D R 3)、配列番号 2 1 6 (H C D R 1)、配列番号 2 1 7 (H C D R 2) 及び配列番号 2 1 8 (H C D R 3)；

x i) 配列番号 2 3 0 (L C D R 1)、配列番号 2 3 1 (L C D R 2)、配列番号 2 3 2 (L C D R 3)、配列番号 2 3 6 (H C D R 1)、配列番号 2 3 7 (H C D R 2) 及び配列番号 2 3 8 (H C D R 3)；

x i i) 配列番号 2 5 0 (L C D R 1)、配列番号 2 5 1 (L C D R 2)、配列番号 2

10

20

30

40

50

52 (LCDR3)、配列番号256 (HCDR1)、配列番号257 (HCDR2) 及び配列番号258 (HCDR3) ;

xiii) 配列番号270 (LCDR1)、配列番号271 (LCDR2)、配列番号272 (LCDR3)、配列番号276 (HCDR1)、配列番号277 (HCDR2) 及び配列番号278 (HCDR3) ;

xiv) 配列番号290 (LCDR1)、配列番号291 (LCDR2)、配列番号292 (LCDR3)、配列番号296 (HCDR1)、配列番号297 (HCDR2) 及び配列番号298 (HCDR3) ; 又は

xv) 配列番号2190 (LCDR1)、配列番号2191 (LCDR2)、配列番号2192 (LCDR3)、配列番号2196 (HCDR1)、配列番号2197 (HCDR2) 及び配列番号2198 (HCDR3)

から選択されるCDRアミノ酸配列の組を含む、請求項5に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項7】

a. 軽鎖可変ドメインであって、

i. 配列番号41、61、81、101、121、141、161、181、201、221、241、261、281、301及び2185から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一である配列 ;

ii. 配列番号41、61、81、101、121、141、161、181、201、221、241、261、281、301及び2185から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列 ; 又は

iii. 配列番号39、59、79、99、119、139、159、179、199、219、239、259、279、299及び2183から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン ; 及び

b. 重鎖可変ドメインであって、

i. 配列番号42、62、82、102、122、142、162、182、202、222、242、262、282、302及び2186から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一である配列 ;

ii. 配列番号42、62、82、102、122、142、162、182、202、222、242、262、282、302及び2186から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列 ; 又は

iii. 配列番号40、60、80、100、120、140、160、180、200、220、240、260、280、300及び2184から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン

を含む、請求項5又は6に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項8】

i) 配列番号41に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも90%同一であるアミノ酸配列及び配列番号42に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも90%同一であるアミノ酸配列 ;

ii) 配列番号61に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも90%同一であるアミノ酸配列及び配列番号62に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも90%同一であるアミノ酸配列 ;

iii) 配列番号81に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも90%同一であるアミノ酸配列及び配列番号82に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも90%同一であるアミノ酸配列 ;

iv) 配列番号101に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも90%同一であるアミノ酸配列及び配列番号102に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも90%同一で

10

20

30

40

50

あるアミノ酸配列；

v) 配列番号 1 2 1 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 1 2 2 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

v i) 配列番号 1 4 1 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 1 4 2 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

v i i) 配列番号 1 6 1 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 1 6 2 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

v i i i) 配列番号 1 8 1 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 1 8 2 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

i x) 配列番号 2 0 1 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 2 0 2 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

x) 配列番号 2 2 1 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 2 2 2 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

x i) 配列番号 2 4 1 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 2 4 2 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

x i i) 配列番号 2 6 1 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 2 6 2 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

x i i i) 配列番号 2 8 1 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 2 8 2 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

x i v) 配列番号 3 0 1 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 3 0 2 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；又は

x v) 配列番号 2 1 8 5 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 2 1 8 6 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列

を含む、請求項 5 ~ 7 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 9】

請求項 5 ~ 8 のいずれか一項に記載の重鎖、請求項 5 ~ 8 のいずれか一項に記載の軽鎖又は両方をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子。

【請求項 10】

抗原結合部分及び 1 つ又は 2 つの I L - 1 0 部分を含む抗原結合タンパク質であって、

a . 前記抗原結合部分は、抗体又は抗体フラグメントであり、

b . 各 I L - 1 0 部分は、独立して、1 価又は 2 価であり、

c . 各 I L - 1 0 部分は、独立して、配列番号 2 と 90% 同一である配列を有する 1 つ以上のヒト I L - 1 0 突然変異タンパク質から選択され、

d . 少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、前記抗原結合部分に共有結合される、抗原結合タンパク質。

【請求項 11】

(a) 式 A - L - M 又は M - L - A を有するポリペプチド配列であって、

i) A は、配列番号 2 0 に記載される T R E M - 1 タンパク質に結合する I g G 抗体の免疫グロブリン重鎖であり、

10

20

30

40

50

i i) L は、4 ~ 20 個のアミノ酸を含むリンカーペプチドであり、及び

i i i) M は、配列番号 2 に記載される wt IL - 10 と少なくとも 90 % の配列同一性を有する IL - 10 の突然変異タンパク質である、ポリペプチド配列；及び

(b) 配列番号 20 に記載される TREM - 1 タンパク質に結合する Ig G 抗体の免疫グロブリン軽鎖

を含む抗原結合タンパク質であって、

(a) の前記免疫グロブリン重鎖及び (b) の前記免疫グロブリン軽鎖は、TREM - 1 に結合する Ig G 抗体部分を形成し、前記タンパク質は、(a) の前記ポリペプチドの 1 つ又は 2 つの分子及び (b) の前記軽鎖の 1 つ又は 2 つの分子を含み、任意選択的に、(a) の 1 つのみのポリペプチドは、M 部分を含む、抗原結合タンパク質。

10

【請求項 1 2】

a . 各 IL - 10 部分は、配列番号 2 に記載されるアミノ酸配列と少なくとも 90 % 同一であるアミノ酸配列を含み、及び

b . 各 IL - 10 部分は、独立して、ヘリックスループ AB、ヘリックスループ CD、ヘリックスループ DE、ヘリックス A、ヘリックス B、ヘリックス C、ヘリックス D、ヘリックス E 及び / 又はヘリックス F における突然変異から選択される少なくとも 1 つの突然変異を含む、請求項 10 又は 11 に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 1 3】

各 IL - 10 部分は、独立して、

i) 配列番号 2 の残基 N10、H14、F15、P20、M22、L23、R24、R27、D28、K34、T35、Q38、M39、K40、D41、Q42、L43、D44、N45、L46、L47、L48、K49、F56、K57、Y59、L60、Q63、E67、Q70、M77、Q79、N82、Q83、D84、P85、D86、I87、A89、H90、S93、T100、L103、H109、R110、L112、E115、N116、A127、K130、I136、Y137、K138、S141、E142、D144、I145、E151、M154、M156、K157 若しくは N160 の 1 つ以上における突然変異又はヘリックス D とヘリックス E との間の 4 ~ 8 個のアミノ酸の付加；及び / 又は

20

i i) ヘリックス D とヘリックス E との間の 6 個のアミノ酸の付加を任意選択的に含む、配列番号 2 の N10Q、N10I、N10K、R27L、K34D、D41G、L46K、Q38E、Q38R、Q38D、K138L、K138D、I87A、H14Q、F15Y、M22V、K49T、K49S、F56Y、K57N、Y59T、L60Q、Q63E、Q63L、E67C、Q70E、Q70K、M77R、M77V、Q79R、Q79C、D84R、A89P、H90E、H90Q、S93E、S93Q、T100R、L103E、H109D、R110P、R110Q、L112V、E115K、N116D、N110Q、A127M、K130Q、I136C、Y137C、M154V、M156C、K157N 又は N160D からなる群から選択される 1 つ以上の突然変異を含む、請求項 10 ~ 12 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

30

【請求項 1 4】

前記 IL - 10 部分は、配列番号 3 ~ 10 又は配列番号 2138、2140、2142、2144、2146、2148、2150、2152、2154、2156、2158、2160、2162、2164、2166、2168、2170、2172、2174、2176、2178、2180、2182、2360、2362、2364、2366、2368、2370、2372、2374、2376、2378、2380、2382、2384、2386、2388、2390、2392、2394、2396、2398、2400、2402、2404、2406、2408、2410、2412、2414、2416、2418、2420、2422、2424、2426、2428、2430、2432、2434、2436、2438、2440、2442、2444、2446、2448、2450、2452、2454、2456、2458、2460、2462、2464、2466、2468、2470、2472、2474、2476、2478

40

50

、 2480、2482、2484、2486、2488、2490、2492、2494
 、 2496、2500、2502、2504、2506、2508、2510、2512
 、 2514、2516、2518、2520、2522、2524、2526、2528
 、 2530、2532、2534、2536、2538、2540若しくは2777～2
 791のいずれか1つに記載されるアミノ酸配列を有する、請求項10～13のいずれか
 一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項15】

配列番号863、865、867、869、871、873、875、877、879
 、 881、883、885、887、889、891、893、895、897、899 10
 、 901、903、905、907、909、911、913、915、917、919
 、 921、923、925、927、929、931、933、935、937、939
 、 941、943、945、947、949、951、953、955、957、959
 、 961、963、965、967、969、971、973、975、977、979
 、 981、983、985、987、989、991、993、995、997、999
 、 1001、1003、1005、1007、1009、1011、1013、1015
 、 1017、1019、1021、1023、1025、1027、1029、1031
 、 1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047
 、 1049、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063
 、 1065、1067、1069、1071、1073、1075、1077、1079
 、 1081、1083及び1085のいずれか1つに記載される重鎖アミノ酸配列を有す 20
 る、請求項10～14のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項16】

配列番号864、866、868、870、872、874、876、878、880
 、 882、884、886、888、890、892、894、896、898、900
 、 902、904、906、908、910、912、914、916、918、920
 、 922、924、926、928、930、932、934、936、938、940
 、 942、944、946、948、950、952、954、956、958、960
 、 962、964、966、968、970、972、974、976、978、980
 、 982、984、986、988、990、992、994、996、998、100
 0、1002、1004、1006、1008、1010、1012、1014、101 30
 6、1018、1020、1022、1024、1026、1028、1030、103
 2、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、104
 8、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、106
 4、1066、1068、1070、1072、1074、1076、1078、108
 0、1082、1084及び1086のいずれか1つに記載される軽鎖アミノ酸配列を有
 する、請求項10～15のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項17】

配列番号863、865、867、869、871、873、875、877、879
 、 881、883、885、887、889、891、893、895、897、899 40
 、 901、903、905、907、909、911、913、915、917、919
 、 921、923、925、927、929、931、933、935、937、939
 、 941、943、945、947、949、951、953、955、957、959
 、 961、963、965、967、969、971、973、975、977、979
 、 981、983、985、987、989、991、993、995、997、999
 、 1001、1003、1005、1007、1009、1011、1013、1015
 、 1017、1019、1021、1023、1025、1027、1029、1031
 、 1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047
 、 1049、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063
 、 1065、1067、1069、1071、1073、1075、1077、1079
 、 1081、1083及び1085のいずれか1つに記載される重鎖アミノ酸配列並びに 50

配列番号 864、866、868、870、872、874、876、878、880、
 882、884、886、888、890、892、894、896、898、900、
 902、904、906、908、910、912、914、916、918、920、
 922、924、926、928、930、932、934、936、938、940、
 942、944、946、948、950、952、954、956、958、960、
 962、964、966、968、970、972、974、976、978、980、
 982、984、986、988、990、992、994、996、998、1000
 、1002、1004、1006、1008、1010、1012、1014、1016
 、1018、1020、1022、1024、1026、1028、1030、1032
 、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、1048 10
 、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064
 、1066、1068、1070、1072、1074、1076、1078、1080
 、1082、1084及び1086に記載される対応する軽鎖アミノ酸配列を有する、請
 求項10～16のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項18】

配列番号 1883、1885、1887、1889、1891、1893、1895、
 1897、1899、1901、1903、1905、1907、1909、1911、
 1913、1915、1917、1919、1921、1923、1925、1927、
 1929、1931、1933、1935、1937、1939、1941、1943、
 1945、1947、1949、1951、1953、1955、1957、1959、 20
 1961、1963、1965、1967、1969、1971、1973、1975、
 1977、1979、1981、1983、1985、1987、1989、1991、
 1993、1995、1997、1999、2001、2003、2005及び2007
 のいずれか1つに記載される重鎖アミノ酸配列を有する、請求項10～14のいずれか一
 項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項19】

配列番号 2543、2544、2545、2546、2547、2548、2549、
 2550、2551、2552、2553、2554、2555、2556、2557、
 2558、2559、2560、2561、2562、2563、2564、2565、
 2566、2567、2568、2569、2570、2571、2572、2573、 30
 2574、2575、2576、2577、2578、2579、2580、2581、
 2582、2583、2584、2585、2586、2587、2588、2589、
 2590、2591、2592、2593、2594、2595、2596、2597、
 2598、2599、2600、2601、2602、2603、2604、2605の
 いずれか1つに記載される軽鎖アミノ酸配列を有する、請求項10～14又は18のい
 ずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項20】

配列番号 1883、1885、1887、1889、1891、1893、1895、
 1897、1899、1901、1903、1905、1907、1909、1911、
 1913、1915、1917、1919、1921、1923、1925、1927、 40
 1929、1931、1933、1935、1937、1939、1941、1943、
 1945、1947、1949、1951、1953、1955、1957、1959、
 1961、1963、1965、1967、1969、1971、1973、1975、
 1977、1979、1981、1983、1985、1987、1989、1991、
 1993、1995、1997、1999、2001、2003、2005及び2007
 のいずれか1つに記載される重鎖アミノ酸配列並びに配列番号2543、2544、25
 45、2546、2547、2548、2549、2550、2551、2552、25
 53、2554、2555、2556、2557、2558、2559、2560、25
 61、2562、2563、2564、2565、2566、2567、2568、25
 69、2570、2571、2572、2573、2574、2575、2576、25 50

77、2578、2579、2580、2581、2582、2583、2584、2585、2586、2587、2588、2589、2590、2591、2592、2593、2594、2595、2596、2597、2598、2599、2600、2601、2602、2603、2604、2605に記載される対応する軽鎖アミノ酸配列を有する、請求項10～14又は18若しくは19のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項21】

配列番号2011、2013、2015、2017、2019、2021、2026、2025、2027、2029、2031、2033、2035、2037、2039、2041、2043、2045、2047、2049、2051、2053、2055、2057、2059、2061、2063、2065、2067、2069、2071、2073、2075、2077、2079、2081、2083、2085、2087、2089、2091、2093、2095、2097、2099、2101、2103、2105、2107、2109、2111、2113、2115、2117、2119、2121、2123、2125、2127、2129、2131、2133及び2135のいずれか1つに記載される重鎖アミノ酸配列を有する、請求項10～14のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

10

【請求項22】

配列番号2233、2235、2237、2239、2241、2243、2245、2247、2249、2251、2253、2255、2257、2259、2261、2263、2265、2267、2269、2271、2273、2275、2277、2279、2281、2283、2285、2287、2289、2291、2293、2295、2297、2299、2301、2303、2305、2307、2309、2311、2313、2315、2317、2319、2321、2323、2325、2327、2329、2331、2333、2335、2337、2339、2341、2343、2345、2347、2349、2351、2353、2355及び2357のいずれか1つに記載される軽鎖アミノ酸配列を有する、請求項10～14又は21のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

20

【請求項23】

配列番号2011、2013、2015、2017、2019、2021、2026、2025、2027、2029、2031、2033、2035、2037、2039、2041、2043、2045、2047、2049、2051、2053、2055、2057、2059、2061、2063、2065、2067、2069、2071、2073、2075、2077、2079、2081、2083、2085、2087、2089、2091、2093、2095、2097、2099、2101、2103、2105、2107、2109、2111、2113、2115、2117、2119、2121、2123、2125、2127、2129、2131、2133及び2135のいずれか1つに記載される重鎖アミノ酸配列並びに配列番号2233、2235、2237、2239、2241、2243、2245、2247、2249、2251、2253、2255、2257、2259、2261、2263、2265、2267、2269、2271、2273、2275、2277、2279、2281、2283、2285、2287、2289、2291、2293、2295、2297、2299、2301、2303、2305、2307、2309、2311、2313、2315、2317、2319、2321、2323、2325、2327、2329、2331、2333、2335、2337、2339、2341、2343、2345、2347、2349、2351、2353、2355及び2357に記載される対応する軽鎖アミノ酸配列を有する、請求項10～14又は21若しくは22のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

30

40

【請求項24】

前記抗原結合部分は、

50

a. 軽鎖可変ドメインであって、
 i. 配列番号 30、50、70、90、110、130、150、170、190、210、230、250、270、290 及び 2190 から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR1 配列；
 ii. 配列番号 31、51、71、91、111、131、151、171、191、211、231、251、271、291 及び 2190 から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR2 配列；
 iii. 配列番号 32、52、72、92、112、132、152、172、192、212、232、252、272、292 及び 2192 から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR3 配列
 を含む軽鎖可変ドメイン；及び
 b. 重鎖可変ドメインであって、
 i. 配列番号 36、56、76、96、116、136、156、176、196、216、236、256、276、296 及び 2196 から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 CDR1 配列；
 ii. 配列番号 37、57、77、97、117、137、157、177、197、217、237、257、277、297 及び 2197 から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 CDR2 配列；及び
 iii. 配列番号 38、58、78、98、118、138、158、178、198、218、238、258、278、298 及び 2198 から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 CDR3 配列
 を含む重鎖可変ドメイン
 を含む抗 TREM-1 抗原結合部分である、請求項 10 ~ 23 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

10

20

【請求項 25】

前記抗原結合部分は、

i) 配列番号 30 (LCDR1)、配列番号 31 (LCDR2)、配列番号 32 (LCDR3)、配列番号 36 (HCDR1)、配列番号 37 (HCDR2) 及び配列番号 38 (HCDR3)；
 ii) 配列番号 50 (LCDR1)、配列番号 51 (LCDR2)、配列番号 52 (LCDR3)、配列番号 56 (HCDR1)、配列番号 57 (HCDR2) 及び配列番号 58 (HCDR3)；
 iii) 配列番号 70 (LCDR1)、配列番号 71 (LCDR2)、配列番号 72 (LCDR3)、配列番号 76 (HCDR1)、配列番号 77 (HCDR2) 及び配列番号 78 (HCDR3)；
 iv) 配列番号 90 (LCDR1)、配列番号 91 (LCDR2)、配列番号 92 (LCDR3)、配列番号 96 (HCDR1)、配列番号 97 (HCDR2) 及び配列番号 98 (HCDR3)；
 v) 配列番号 110 (LCDR1)、配列番号 111 (LCDR2)、配列番号 112 (LCDR3)、配列番号 116 (HCDR1)、配列番号 117 (HCDR2) 及び配列番号 118 (HCDR3)；
 vi) 配列番号 130 (LCDR1)、配列番号 131 (LCDR2)、配列番号 132 (LCDR3)、配列番号 136 (HCDR1)、配列番号 137 (HCDR2) 及び配列番号 138 (HCDR3)；
 vii) 配列番号 150 (LCDR1)、配列番号 151 (LCDR2)、配列番号 152 (LCDR3)、配列番号 156 (HCDR1)、配列番号 157 (HCDR2) 及び配列番号 158 (HCDR3)；
 viii) 配列番号 170 (LCDR1)、配列番号 171 (LCDR2)、配列番号 172 (LCDR3)、配列番号 176 (HCDR1)、配列番号 177 (HCDR2) 及び配列番号 178 (HCDR3)；

30

40

50

i x) 配列番号 190 (LCDR1)、配列番号 191 (LCDR2)、配列番号 192 (LCDR3)、配列番号 196 (HCDR1)、配列番号 197 (HCDR2) 及び配列番号 198 (HCDR3) ;

x) 配列番号 210 (LCDR1)、配列番号 211 (LCDR2)、配列番号 212 (LCDR3)、配列番号 216 (HCDR1)、配列番号 217 (HCDR2) 及び配列番号 218 (HCDR3) ;

x i) 配列番号 230 (LCDR1)、配列番号 231 (LCDR2)、配列番号 232 (LCDR3)、配列番号 236 (HCDR1)、配列番号 237 (HCDR2) 及び配列番号 238 (HCDR3) ;

x i i) 配列番号 250 (LCDR1)、配列番号 251 (LCDR2)、配列番号 252 (LCDR3)、配列番号 256 (HCDR1)、配列番号 257 (HCDR2) 及び配列番号 258 (HCDR3) ;

x i i i) 配列番号 270 (LCDR1)、配列番号 271 (LCDR2)、配列番号 272 (LCDR3)、配列番号 276 (HCDR1)、配列番号 277 (HCDR2) 及び配列番号 278 (HCDR3) ;

x i v) 配列番号 290 (LCDR1)、配列番号 291 (LCDR2)、配列番号 292 (LCDR3)、配列番号 296 (HCDR1)、配列番号 297 (HCDR2) 及び配列番号 298 (HCDR3) ; 又は

x v) 配列番号 2190 (LCDR1)、配列番号 2191 (LCDR2)、配列番号 2192 (LCDR3)、配列番号 2196 (HCDR1)、配列番号 2197 (HCDR2) 及び配列番号 2198 (HCDR3)

から選択されるCDRアミノ酸配列の組を含む抗TREM-1抗原結合部分である、請求項10~24のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項26】

前記抗TREM-1抗原結合部分は、

a. 軽鎖可変ドメインであって、

i. 配列番号41、61、81、101、121、141、161、181、201、221、241、261、281、301及び2185から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一である配列；

i i. 配列番号41、61、81、101、121、141、161、181、201、221、241、261、281、301及び2185から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列；

i i i. 配列番号39、59、79、99、119、139、159、179、199、219、239、259、279、299及び2183から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン；及び

b. 重鎖可変ドメインであって、

i. 配列番号42、62、82、102、122、142、162、182、202、222、242、262、282、302及び2186から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一である配列；

i i. 配列番号42、62、82、102、122、142、162、182、202、222、242、262、282、302及び2186から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列；

i i i. 配列番号40、60、80、100、120、140、160、180、200、220、240、260、280、300及び2184から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン

を含む、請求項10~25のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

10

20

30

40

50

【請求項 27】

前記抗原結合部分は、

i) 配列番号 41 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 42 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

ii) 配列番号 61 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 62 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

iii) 配列番号 81 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 82 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

iv) 配列番号 101 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 102 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

v) 配列番号 121 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 122 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

vi) 配列番号 141 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 142 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

vii) 配列番号 161 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 162 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

viii) 配列番号 181 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 182 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

ix) 配列番号 201 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 202 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

x) 配列番号 221 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 222 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

xi) 配列番号 241 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 242 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

xii) 配列番号 261 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 262 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

xiii) 配列番号 281 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 282 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；

xiv) 配列番号 301 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 302 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列；又は

xv) 配列番号 2185 に記載される軽鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列及び配列番号 2186 に記載される重鎖可変ドメインと少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列

を含む抗 T R E M - 1 抗原結合部分である、請求項 10 ~ 26 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 28】

10

20

30

40

50

a . 2つの軽鎖及び2つの重鎖を含み、

b . 各重鎖は、前記重鎖のC末端に結合されたIL - 10部分を含み；

c . 各重鎖IL - 10部分抗原結合タンパク質は、配列番号863、865、867、869、871、873、875、877、879、881、883、885、887、889、891、893、895、897、899、901、903、905、907、909、911、913、915、917、919、921、923、925、927、929、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1007、1009、1011、1013、1015、1017、1019、1021、1023、1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、1049、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1073、1075、1077、1079、1081、1083及び1085から選択される配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含み；及び

d . 各軽鎖IL - 10部分は、配列番号864、866、868、870、872、874、876、878、880、882、884、886、888、890、892、894、896、898、900、902、904、906、908、910、912、914、916、918、920、922、924、926、928、930、932、934、936、938、940、942、944、946、948、950、952、954、956、958、960、962、964、966、968、970、972、974、976、978、980、982、984、986、988、990、992、994、996、998、1000、1002、1004、1006、1008、1010、1012、1014、1016、1018、1020、1022、1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、1048、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1072、1074、1076、1078、1080、1082、1084及び1086から選択される配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む、請求項24～27のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項29】

配列番号2137、2139、2141、2143、2145、2147、2149、2151、2153、2155、2157、2159、2161、2163、2165、2167、2169、2171、2173、2175、2177、2179、2181、2359、2361、2363、2365、2367、2369、2371、2373、2375、2377、2379、2381、2383、2385、2387、2389、2391、2393、2395、2397、2399、2401、2403、2405、2407、2409、2411、2143、2415、2417、2419、2421、2423、2425、2427、2429、2431、2433、2435、2437、2439、2441、2443、2445、2447、2449、2451、2453、2455、2457、2459、2461、2463、2465、2467、2469、2471、2473、2475、2477、2479、2481、2483、2485、2487、2489、2491、2493、2495、2497、2498、2499、2501、2503、2505、2507、2509、2511、2513、2515、2517、2519、2521、2523、2525、2527、2529、2531、2533、2535、2537、2539及び2726～2776からなる群から選択される重鎖IL - 10部分アミノ酸配列を有する、請求項10～14又は24～27のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項30】

10

20

30

40

50

配列番号 2727 ~ 2732 からなる群から選択される重鎖 I L - 10 部分アミノ酸配列を有する、請求項 10 ~ 14 又は 24 ~ 28 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 31】

配列番号 2727 又は 2728 の重鎖アミノ酸配列及び配列番号 976 又は配列番号 2554 に記載される軽鎖アミノ酸配列を含む、請求項 30 に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 32】

配列番号 2729、2730、2731 又は 2732 の重鎖アミノ酸配列及び配列番号 992 又は配列番号 2555 に記載される軽鎖アミノ酸配列を含む、請求項 30 に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 33】

抗原結合部分及び 1 つ又は 2 つの I L - 10 部分を含む抗原結合タンパク質であって、
 a . 前記抗原結合部分は、抗体又は抗体フラグメントであり；
 b . 各 I L - 10 部分は、独立して、1 価又は 2 価であり；
 c . 各 I L - 10 部分は、独立して、配列番号 2 と 90 % 同一である配列を有する 1 つ以上のヒト I L - 10 突然変異タンパク質から選択され；
 d . 少なくとも 1 つの I L - 10 部分は、前記抗原結合部分に共有結合され、及び / 又は

e . 前記抗原結合部分は、ヒト T R E M - 1 タンパク質への結合について、請求項 24 ~ 27 のいずれか一項に記載の抗原結合部分と競合する、抗原結合タンパク質。

【請求項 34】

請求項 10 ~ 33 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質の重鎖領域、請求項 10 ~ 33 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質の軽鎖領域又は両方をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子。

【請求項 35】

炎症性疾患の治療を、それを必要とする対象において行う方法であって、
 i) 請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の I L - 10 突然変異タンパク質；
 i i) 請求項 5 ~ 8 のいずれか一項に記載の抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質；又は
 i i i) 請求項 10 ~ 33 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質
 を投与することを含む方法。

【請求項 36】

前記炎症性疾患は、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、クローン病、過敏性腸症候群、関節リウマチ、乾癬、乾癬性関節炎及びサイトカイン放出症候群 (C R S) からなる群から選択される、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 37】

炎症性疾患を治療するのに使用するための組成物であって、
 i) 請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の I L - 10 突然変異タンパク質；
 i i) 請求項 5 ~ 8 のいずれか一項に記載の抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質；又は
 i i i) 請求項 10 ~ 33 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質
 を含む組成物。

【請求項 38】

炎症性疾患を治療するための薬剤の調製における、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の I L - 10 突然変異タンパク質を含む組成物の使用。

【請求項 39】

炎症性疾患を治療するための薬剤の調製における組成物の使用であって、前記組成物は、
 i) 請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の I L - 10 突然変異タンパク質；
 i i) 請求項 5 ~ 8 のいずれか一項に記載の抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質；又は
 i i i) 請求項 10 ~ 33 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質
 を含む、使用。

10

20

30

40

50

【請求項 40】

炎症性疾患を治療するための薬剤の調製における、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の抗 I L - 1 0 突然変異タンパク質との組合せにおける、請求項 5～8 又は 10～33 のいずれか一項に記載の抗 T R E M - 1 抗体又は抗原結合フラグメントを含む組成物の使用。

【請求項 41】

単離された抗原結合タンパク質であって、

- a . 抗体又は抗体フラグメントであり；
- b . 配列番号 20 に記載されるアミノ酸配列を有するヒト T R E M - 1 に結合し；
- c . 軽鎖可変ドメインであって、

10

i . アミノ酸配列 X₁ A S Q S X₂ X₃ X₄ N L A (配列番号 2199) (ここで、 X₁ は、 R 又は Q であり、 X₂ は、 V 又は I であり、 X₃ は、 N 又は S であり、 X₄ は、 S 、 H 、 I 、 V 又は A である) を含む軽鎖 C D R 1 ；

i i . アミノ酸配列 G A X₁ X₂ R A T (配列番号 2200) (ここで、 X₁ は、 S 又は Y であり、 X₂ は、 T 又は I である) を含む軽鎖 C D R 2 ；及び

i i i . アミノ酸配列 Q X₁ X₂ X₃ X₄ X₅ X₆ P X₇ T (配列番号 2201) (ここで、 X₁ は、 Q 、 H 又は E であり、 X₂ は、 F 又は Y であり、 X₃ は、 K 、 Y 又は I であり、 X₄ は、 N 、 T 、 L 、 I 又は M であり； X₅ は、 W 、 F 、 H 又は Y であり、 X₆ は、非存在又は P であり； X₇ は、 W 、 N 、 Y 、 H 又は L である) を含む軽鎖 C D R 3 を含む軽鎖可変ドメインを含み；及び

20

d . 重鎖可変ドメインであって、

i . アミノ酸配列 X₁ X₂ X₃ M X₄ (配列番号 2202) (ここで、 X₁ は、 A 、 R 、 T 又は S であり、 X₂ は、 Y 又は N であり、 X₃ は、 A 又は W であり、 X₄ は、 S 又は N である) を含む重鎖 C D R 1 ；

i i . アミノ酸配列 X₁ X₂ X₃ X₄ X₅ X₆ X₇ X₈ X₉ Y Y X₁₀ X₁₁ X₁₂ V K G (配列番号 2205) (ここで、 X₁ は、 T 、 E 又は S であり、 X₂ は、非存在であるか、又は M 、 V 若しくは I であり、 X₃ は、 S 、 R 又は K であり、 X₄ は、 G 又は Q であり、 X₅ は、 S 、 D 又は H であり、 X₆ は、 G 、 S 、 L 又は A であり、 X₇ は、 S 、 G 又は R であり、 X₈ は、 T 、 S 、 P 又は E であり、 X₉ は、 T 又は I であり、 X₁₀ は、 A 又は V であり、 X₁₁ は、 D 又は E であり、 X₁₂ は、 S 又は A である) を含む重鎖 C D R 2 ；及び

30

i i i . アミノ酸配列 X₁ X₂ X₃ X₄ X₅ X₆ X₇ F X₈ Y Y X₉ (配列番号 2203) (ここで、 X₁ は、 V 、 E 、 A 又は G であり、 X₂ は、 A 、 F 、 Y 又は G であり、 X₃ は、 G 、 S 、 Y 又は W であり、 X₄ は、 S 又は R であり、 X₅ は、非存在であるか又は N であり、 X₆ は、 F 、 S 、 Y 又は非存在であり、 X₇ は、 L 若しくは F 又は非存在であり、 X₈ は、 D 又は E であり、 X₉ は、 Y 、 H 又は S である) を含む重鎖 C D R 3 を含む重鎖可変ドメインを含む、単離された抗原結合タンパク質。

【請求項 42】

a . 軽鎖可変ドメインであって、

i . アミノ酸配列 R A S Q S V N S N L A (配列番号 2212) を含む軽鎖 C D R 1 ；

40

i i . アミノ酸配列 G A S T R A T (配列番号 2219) を含む軽鎖 C D R 2 ；

i i i . アミノ酸配列 Q Q F K N W P P T (配列番号 2222) を含む軽鎖 C D R 3 を含む軽鎖可変ドメイン；及び

b . 重鎖可変ドメインであって、

i . アミノ酸配列 A Y A M S (配列番号 2227) を含む重鎖 C D R 1 ；

i i . アミノ酸配列 T S G S G S T T Y Y A D S V K G (配列番号 2230) を含む重鎖 C D R 2 ；及び

i i i . アミノ酸配列 V A G S N F L F D Y (配列番号 2670) を含む重鎖 C D R 3 を含む重鎖可変ドメイン

を含む、請求項 41 に記載の単離された抗原結合タンパク質。

50

【請求項 4 3】

単離された抗原結合タンパク質であって、

- a . 抗体又は抗体フラグメントであり；
- b . 配列番号 2 0 に記載されるアミノ酸配列を有するヒト T R E M - 1 に結合し；
- c . 軽鎖可変ドメインであって、

- i . アミノ酸配列 Q A S X₁ D I X₂ X₃ X₄ L N (配列番号 2 2 0 4) (ここで、 X₁ は、 R 又は Q であり、 X₂ は、 R、 S、 N 又は F であり、 X₃ は、 K 又は N であり、 X₄ は、 H、 Y 又は D である) を含む軽鎖 C D R 1 ；

- i i . アミノ酸配列 X₁ X₂ X₃ X₄ L E T (配列番号 2 2 0 6) (ここで、 X₁ は、 D、 G 又は H であり、 X₂ は、 A、 V 又は T であり、 X₃ は、 S、 A 又は Y であり、 X₄ は、 T 又は N である) を含む軽鎖 C D R 2 ；

- i i i . アミノ酸配列 Q X₁ Y X₃ X₄ X₅ P X₆ T (配列番号 2 2 0 7) (ここで、 X₁ は、 Q 又は H であり、 X₂ は、 D、 A 又は G であり、 X₃ は、 N 又は K であり； X₄ は、 L 又は I であり、 X₅ は、 I 又は L である) を含む軽鎖 C D R 3

を含む軽鎖可変ドメインを含み；及び

- d . 重鎖可変ドメインであって、

- i . アミノ酸配列 X₁ Y D I N (配列番号 2 2 0 8) (ここで、 X₁ は、 R 又は S である) を含む重鎖 C D R 1 ；

- i i . アミノ酸配列 X₁ X₂ N P X₃ X₄ G X₅ X₆ G X₇ X₈ X₉ X₁₀ F X₁₁ X₁₂ (配列番号 2 2 0 9) (ここで、 X₁ は、 W 又は R であり、 X₂ は、 M 又は L であり、 X₃ は、 N、 Q 又は K であり、 X₄ は、 S、 A 又は R であり、 X₅ は、 N 又は Q であり、 X₆ は、 S、 A 又は T であり、 X₇ は、 S、 Q 又は Y であり、 X₈ は、 V 又は T であり、 X₉ は、 Q 又は K であり、 X₁₀ は、 K 又は N であり、 X₁₁ は、 R 又は Q であり、 X₁₂ は、 G 又は D である) を含む重鎖 C D R 2 ；及び

- i i i . アミノ酸配列 X₁ X₂ X₃ X₄ X₅ X₆ X₇ X₈ X₉ X₁₀ X₁₁ X₁₂ F X₁₃ X₁₄ (配列番号 2 2 1 0) (ここで、 X₁ は、 G、 L 又は R であり、 X₂ は、 G、 I 又は R であり、 X₃ は、 Y、 R、 I、 G 又は A であり、 X₄ は、 T、 S、 Y 又は V であり、 X₅ は、 S 又は Y であり、 X₆ は、 S、 A、 I 又は R であり、 X₇ は、 W、 A 又は S であり、 X₈ は、非存在であるか又は S であり、 X₉ は、非存在であるか、又は F、 W 若しくは Y であり、 X₁₀ は、 R、 S、 H、 K 又は E であり、 X₁₁ は、 W、 H、 Y 又は F であり、 X₁₂ は、 Y、 V、 A 又は S であり、 X₁₃ は、 D 又は Q であり、 X₁₄ は、 L、 Y、 I 又は H である) を含む重鎖 C D R 3

を含む重鎖可変ドメインを含む、単離された抗原結合タンパク質。

【請求項 4 4】

- a . 軽鎖可変ドメインであって、

- i . アミノ酸配列 Q A S Q D I R K H L N (配列番号 2 2 1 3) を含む軽鎖 C D R 1 ；

- i i . アミノ酸配列 D A S N L E T (配列番号 2 2 2 0) を含む軽鎖 C D R 2 ；及び

- i i i . アミノ酸配列 Q H Y D N L P I T (配列番号 2 2 2 3) を含む軽鎖 C D R 3

を含む軽鎖可変ドメイン；及び

- b . 重鎖可変ドメインであって、

- i . アミノ酸配列 R Y D I N (配列番号 2 2 2 8) を含む重鎖 C D R 1 ；

- i i . アミノ酸配列 W M N P N S G N S S V Q K F R G (配列番号 2 2 3 1) を含む重鎖 C D R 2 ；及び

- i i i . アミノ酸配列 G G Y T S S W R W Y F D L (配列番号 2 6 7 1) 又は G G Y T S S W S R W Y F D L (配列番号 2 6 7 2) を含む重鎖 C D R 3

を含む重鎖可変ドメイン

を含む、請求項 4 3 に記載の抗原結合タンパク質。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

10

20

30

40

50

関連出願の相互参照

本出願は、2020年6月26日に提出された米国仮特許出願第63/045,041号明細書及び2020年12月14日に提出された米国仮特許出願第63/199,218号明細書の優先権の利益を主張するものであり、これらの仮特許出願は、全体が参照により本明細書に援用される。

【0002】

本開示は、炎症性腸疾患などの炎症性疾患の治療のための、インターロイキン-10の突然変異タンパク質並びにIL-10及び抗原結合部分、例えば抗TREM-1又は抗PD-1抗体を含む抗原結合タンパク質に関する。

【0003】

電子的に提出された資料の参照による援用

本開示の一部である配列表は、テキストファイルとして本明細書と同時に提出される。配列表を含むテキストファイルの名称は、「55384__SeqListing.txt」であり、これは、2021年6月22日に作成され、5,726,194バイトのサイズである。配列表の内容は、全体が参照により本明細書に援用される。

【背景技術】

【0004】

インターロイキン-10(IL-10)は、様々な免疫調節プロセスに参与する重要なサイトカインである(Ouyang and O'Garra, Immunity, 50(4): 871-891, 2019を参照されたい)。特に、それは、免疫系細胞型に応じて免疫抑制又は免疫刺激作用のいずれかを有する。IL-10は、単球及び組織マクロファージにおける炎症性サイトカイン、MHCII、CD86及びICAMの上方制御を抑制する。IL-10は、Treg細胞抑制活性を促進することも報告されている。しかしながら、IL-10は、CD8+ T細胞活性化及びB細胞活性化も刺激する。IL-10と炎症性腸疾患(IBD)との強い遺伝的関連がある。IL-10、IL-10R1又はIL-10R2ホモ接合機能喪失突然変異を有する患者は、乳児重症IBDを発症した(Kotlarz, Gastroenterology, 2012; Glocker, NEM, 2009)。IL10 rs3024505は、GWASにおいてIBDと関連していることも報告されており、RAF 0.16、OR 1.46、p値 10^{-42} を有する(Jostins L, 2012)。PEG化IL-10は、おそらく用量制限毒性のため、クローン病の研究において低い有効性を示した(Schreiber et al., Gastroenterology 119: 1461, 2000)。骨髓細胞内でIL-10R1ノックアウトを有するマウスを用いた過去の研究は、骨髓細胞におけるIL-10の抗炎症活性が大腸炎発症を制御するのに重要であることを示した(Zigmond et al., Immunity, 40(5): 720-33, 2014)。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】Ouyang and O'Garra, Immunity, 50(4): 871-891, 2019

【非特許文献2】Kotlarz, Gastroenterology, 2012; Glocker, NEM, 2009

【非特許文献3】Schreiber et al., Gastroenterology 119: 1461, 2000

【非特許文献4】Zigmond et al., Immunity, 40(5): 720-33, 2014

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0006】

本開示は、モノマーとして安定した、炎症性疾患の治療に有用なIL-10の突然変異

10

20

30

40

50

タンパク質を提供する。IL-10 突然変異タンパク質は、単球及びマクロファージにおけるIL-10 抑制活性を保持/回復し、CD8+ T細胞及びB細胞のIL-10 刺激を減少させると考えられる。本開示は、炎症性疾患の治療に有用である、TREM-1 に対する抗体も提供する。さらなる態様において、本開示は、炎症性疾患を治療するのに有用である、IL-10 突然変異タンパク質及び抗原結合部分、例えば抗TREM-1 又は抗PD-1 抗体を含む抗原結合タンパク質を提供する。

【0007】

配列番号2に記載されるアミノ酸配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含むヒトインターロイキン-10 (IL-10) 突然変異タンパク質が本明細書において提供され、ここで、前記IL-10 突然変異タンパク質は、ヘリックスループAB、ヘリックスループCD、ヘリックスループDE、ヘリックスA、ヘリックスB、ヘリックスC、ヘリックスD、ヘリックスE及び/又はヘリックスFにおける突然変異から選択される少なくとも1つの突然変異を有する。様々な実施形態において、本開示のIL-10 突然変異タンパク質は、ヘリックスA、ヘリックスF又はヘリックスループABにおける少なくとも1つの突然変異を含む。様々な実施形態において、IL-10 突然変異タンパク質は、配列番号2に記載されるアミノ酸配列と少なくとも95%同一である。様々な実施形態において、IL-10 突然変異タンパク質アミノ酸配列は、配列番号2に記載されるアミノ酸配列と96%、97%、98%又は99%同一である。

10

【0008】

様々な実施形態において、IL-10 突然変異タンパク質は、配列番号2の残基N10、H14、F15、P20、M22、L23、R24、R27、D28、K34、T35、Q38、M39、K40、D41、Q42、L43、D44、N45、L46、L47、L48、K49、F56、K57、Y59、L60、Q63、E67、Q70、M77、Q79、N82、Q83、D84、P85、D86、I87、A89、H90、S93、T100、L103、H109、R110、L112、E115、N116、A127、K130、I136、Y137、K138、S141、E142、D144、I145、E151、M154、M156、K157若しくはN160の1つ以上における突然変異及び/又はヘリックスDとヘリックスEとの間の4~8個のアミノ酸の付加を含む。様々な実施形態において、突然変異は、ヘリックスDとヘリックスEとの間の6個のアミノ酸の付加を任意選択的に含む、配列番号2のR27L、K34D、D41G、L46K、Q38E、Q38R、Q38D、K138L、K138D又はI87Aである。様々な実施形態において、突然変異は、ヘリックスDとヘリックスEとの間の4~8個のアミノ酸を任意選択的に含む、配列番号2のN10Q、N10I、N10K、R27L、K34D、D41G、L46K、Q38E、Q38R、Q38D、K138L、K138D、I87A、H14Q、F15Y、M22V、K49T、K49S、F56Y、K57N、Y59T、L60Q、Q63E、Q63L、E67C、Q70E、Q70K、M77R、M77V、Q79R、Q79C、D84R、A89P、H90E、H90Q、S93E、S93Q、T100R、L103E、H109D、R110P、R110Q、L112V、E115K、N116D、N116Q、A127M、K130Q、I136C、Y137C、M154V、M156C、K157N又はN160Dである。様々な実施形態において、IL-10 突然変異タンパク質は、表16又は表17又は表21及び本明細書における本開示に記載されるIL-10 突然変異の組合せを包含する。様々な実施形態において、ヘリックスDとヘリックスEとの間のアミノ酸は、GGGSGG (配列番号2676) である。様々な実施形態において、特定のIL-10 突然変異タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号3~10及び配列番号2138、2140、2142、2144、2146、2148、2150、2152、2154、2156、2158、2160、2162、2164、2166、2168、2170、2172、2174、2176、2178、2180、2182、2360、2362、2364、2366、2368、2370、2372、2374、2376、2378、2380、2382、2384、2386、2388、2390、2392、2394、2396、2398、2400、2402、24

20

30

40

50

04、2406、2408、2410、2412、2414、2416、2418、2420、2422、2424、2426、2428、2430、2432、2434、2436、2438、2440、2442、2444、2446、2448、2450、2452、2454、2456、2458、2460、2462、2464、2466、2468、2470、2472、2474、2476、2478、2480、2482、2484、2486、2488、2490、2492、2494、2496、2500、2502、2504、2506、2508、2510、2512、2514、2516、2518、2520、2522、2524、2526、2528、2530、2532、2534、2536、2540及び2777~2791に記載される。

【0009】

10

様々な実施形態において、本開示は、配列番号3~10又は配列番号2138、2140、2142、2144、2146、2148、2150、2152、2154、2156、2158、2160、2162、2164、2166、2168、2170、2172、2174、2176、2178、2180、2182、2360、2362、2364、2366、2368、2370、2372、2374、2376、2378、2380、2382、2384、2386、2388、2390、2392、2394、2396、2398、2400、2402、2404、2406、2408、2410、2412、2414、2416、2418、2420、2422、2424、2426、2428、2430、2432、2434、2436、2438、2440、2442、2444、2446、2448、2450、2452、2454、2456、2458、2460、2462、2464、2466、2468、2470、2472、2474、2476、2478、2480、2482、2484、2486、2488、2490、2492、2494、2496、2500、2502、2504、2506、2508、2510、2512、2514、2516、2518、2520、2522、2524、2526、2528、2530、2532、2534、2536、2538又は2540及び2777~2791に記載されるアミノ酸配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含むヒトインターロイキン-10(IL-10)突然変異タンパク質を提供する。様々な実施形態において、突然変異タンパク質は、本明細書に記載される突然変異タンパク質配列と少なくとも95%、96%、97%、98%又は99%同一であるアミノ酸配列を含む。

20

30

【0010】

様々な実施形態において、IL-10突然変異タンパク質は、野生型(wt)IL-10と比較して、骨髄細胞内のTNF- α 産生の抑制を低下させ、CD8⁺T細胞刺激のレベルを低下させ、且つ/又はB細胞刺激のレベルを低下させる。様々な実施形態において、抗TREM-1/IL-10突然変異タンパク質抗原結合タンパク質は、骨髄細胞内のTNF- α 産生を抑制する。様々な実施形態において、抗TREM-1/IL-10突然変異タンパク質抗原結合タンパク質は、CD8⁺T細胞及びB細胞活性化を低下させながら、骨髄細胞内のTNF- α 産生を抑制する。

【0011】

様々な実施形態において、IL-10突然変異タンパク質は、抗原結合タンパク質を、骨髄細胞、B細胞又はT細胞に標的化する結合部分に融合される。様々な実施形態において、タンパク質は、骨髄細胞、CD8⁺T細胞、CD4⁺T細胞又はB細胞における細胞表面タンパク質に結合する。

40

【0012】

様々な実施形態において、IL-10突然変異タンパク質は、半減期延長部分をさらに含む。様々な実施形態において、半減期延長部分は、Fcドメインである。様々な実施形態において、半減期延長部分は、ポリエチレングリコール(PEG)などである。

【0013】

様々な実施形態において、突然変異タンパク質は、二量体である。様々な実施形態において、突然変異タンパク質二量体は、2つの異なる突然変異タンパク質モノマーを含む。

50

様々な実施形態において、突然変異タンパク質二量体は、同じ突然変異タンパク質モノマーを含む。

【0014】

本明細書に記載されるIL-10突然変異タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子がさらに提供される。様々な実施形態において、IL-10突然変異タンパク質のポリヌクレオチド配列は、配列番号11~18に記載される。

【0015】

本開示は、発現制御配列に動作可能に連結されたIL-10突然変異タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子を含む発現ベクターも想定している。

【0016】

IL-10突然変異タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む核酸又はベクターを含む組み換え宿主細胞が本明細書において提供される。様々な実施形態において、宿主細胞は、哺乳動物細胞である。様々な実施形態において、宿主細胞は、CHO細胞である。宿主細胞を使用して、IL-10突然変異タンパク質を生成する方法であって、宿主細胞を培養し、IL-10突然変異タンパク質を回収することを含む方法及び本方法によって生成されるIL-10突然変異タンパク質も、本明細書において提供される。

【0017】

本開示は、本明細書に記載されるIL-10突然変異タンパク質及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物も提供する。医薬組成物は、滅菌医薬組成物であり得ると考えられる。

【0018】

別の態様において、本開示は、単離された抗原結合タンパク質であって、

a. 抗体又は抗体フラグメントであり；

b. 配列番号20に記載されるアミノ酸配列を有する、骨髓細胞1上で発現されるヒトトリガー受容体(TREM-1)に結合し；

c. 軽鎖可変ドメインであって、

i. 配列番号30、50、70、90、110、130、150、170、190、210、230、250、270、290及び2190から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1；

ii. 配列番号31、51、71、91、111、131、151、171、191、211、231、251、271、291及び2191から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2；

iii. 配列番号32、52、72、92、112、132、152、172、192、212、232、252、272、292及び2192から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3

を含む軽鎖可変ドメインを含み；及び

d. 重鎖可変ドメインであって、

i. 配列番号36、56、76、96、116、136、156、176、196、216、236、256、276、296及び2196から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR1；

ii. 配列番号37、57、77、97、117、137、157、177、197、217、237、257、277、297及び2197から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR2；及び

iii. 配列番号38、58、78、98、118、138、158、178、198、218、238、258、278、298及び2198から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR3

を含む重鎖可変ドメインを含む、単離された抗原結合タンパク質を提供する。

【0019】

様々な実施形態において、

a. 軽鎖CDR1配列は、配列番号30、50、70、110、150、170又は2

10

20

30

40

50

90に記載され；
 b．軽鎖CDR2配列は、配列番号31、51、71、111、151、171又は291に記載され；
 c．軽鎖CDR3配列は、配列番号32、52、72、112、152、172又は292に記載され、
 d．重鎖CDR1配列は、配列番号36、56、76、116、156、176又は296に記載され；
 e．重鎖CDR2配列は、配列番号37、57、77、117、157、177又は297に記載され；
 f．重鎖CDR3配列は、配列番号38、58、78、118、158、178又は298に記載される。

【0020】

様々な実施形態において、

- a．軽鎖CDR1配列は、配列番号50又は110に記載され；
- b．軽鎖CDR2配列は、配列番号51又は111に記載され；
- c．軽鎖CDR3配列は、配列番号52又は112に記載され；
- d．重鎖CDR1配列は、配列番号56又は116に記載され；
- e．重鎖CDR2配列は、配列番号57又は117に記載され；
- f．重鎖CDR3配列は、配列番号58又は118に記載される。

【0021】

本明細書に開示されるTREM-1抗体重鎖及び軽鎖CDR及び/又は可変領域配列のコンセンサス配列も考えられる。例えば、様々な実施形態において、TREM-1抗体は、

X_1 ASQS $X_2X_3X_4$ NLA（配列番号2199）（ここで、 X_1 は、R又はQであり、 X_2 は、V又はIであり、 X_3 は、N又はSであり、 X_4 は、S、H、I、V又はAである）；

QAS X_1 DI $X_2X_3X_4$ LN（配列番号2204）（ここで、 X_1 は、R又はQであり、 X_2 は、R、S、N又はFであり、 X_3 は、K又はNであり、 X_4 は、H、Y又はDである）；

RASQSVNSNLA（配列番号2212）；

QASQDIRKHLN（配列番号2213）；

RASQDISSNLN（配列番号2214）；

QASQDIHLN（配列番号2215）；

RASQGIRKWL A（配列番号2216）

RASQSVNSNLA（配列番号2217）及び

SGDKLGERVS（配列番号2218）

からなる群から選択されるLCDR1アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する配列を含む抗原結合ドメインを含む。

【0022】

様々な実施形態において、TREM-1抗体は、

GAX X_1X_2 RAT（配列番号2200）（ここで、 X_1 は、S又はYであり、 X_2 は、T又はIである）；

$X_1X_2X_3X_4$ LET（配列番号2206）（ここで、 X_1 は、D、G又はHであり、 X_2 は、A、V又はTであり、 X_3 は、S、A又はYであり、 X_4 は、T又はNである）；

GASTRAT（配列番号2219）；

DASNLET（配列番号2220）；及び

AASRLQS（配列番号2221）

からなる群から選択されるLCDR2アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する配列を含む抗原結合ドメインを含む。

【0023】

様々な実施形態において、TREM-1抗体は、

QX₁X₂X₃X₄X₅X₆PX₇T (配列番号2201) (ここで、X₁は、Q、H又はEであり、X₂は、F又はYであり、X₃は、K、Y又はIであり、X₄は、N、T、L、I又はMであり；X₅は、W、F、H又はYであり、X₆は、非存在又はPであり；X₇は、W、N、Y、H又はLである)；

QX₁YX₃X₄X₅PX₆T (配列番号2207) (ここで、X₁は、Q又はHであり、X₂は、D、A又はGであり、X₃は、N又はKであり；X₄は、L又はIであり、X₅は、I又はLである)；

QQFKNWPPT (配列番号2222)；

QHYDNLPIIT (配列番号2223)；

LQAHGF PWT (配列番号2224)；

QQYDNLPLT (配列番号2225) 及び

QFWPPWT (配列番号2226)

からなる群から選択されるLCDR3アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する配列を含む抗原結合ドメインを含む。

【0024】

様々な実施形態において、TREM-1抗体は、

X₁X₂X₃MX₄ (配列番号2202) (ここで、X₁は、A、R、T又はSであり、X₂は、Y又はNであり、X₃は、A又はWであり、X₄は、S又はNである)；

X₁YDIN (配列番号2208) (ここで、X₁は、R又はSである)；GYX₁H (配列番号2723) (ここで、X₁は、M又はIである)；

AYAMS (配列番号2227)；

RYDIN (配列番号2228)；及び

SYWMS (配列番号2229)

からなる群から選択されるHCDR1アミノ酸配列を含む重鎖可変領域を有する配列を含む抗原結合ドメインを含む。

【0025】

様々な実施形態において、TREM-1抗体は、

X₁X₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉YYX₁₀X₁₁X₁₂VKG (配列番号2205) (ここで、X₁は、T、E又はSであり、X₂は、非存在であるか、又はM、V若しくはIであり、X₃は、S、R又はKであり、X₄は、G又はQであり、X₅は、S、D又はHであり、X₆は、G、S、L又はAであり、X₇は、S、G又はRであり、X₈は、T、S、P又はEであり、X₉は、T又はIであり、X₁₀は、A又はVであり、X₁₁は、D又はEであり、X₁₂は、S又はAである)；

X₁X₂NPX₃X₄GX₅X₆GX₇X₈X₉X₁₀FX₁₁X₁₂ (配列番号2209) (ここで、X₁は、W又はRであり、X₂は、M又はLであり、X₃は、N、Q又はKであり、X₄は、S、A又はRであり、X₅は、N又はQであり、X₆は、S、A又はTであり、X₇は、S、Q又はYであり、X₈は、V又はTであり、X₉は、Q又はKであり、X₁₀は、K又はNであり、X₁₁は、R又はQであり、X₁₂は、G又はDである)；

TSGSGSTTYADSVKG (配列番号2230)；

WMNPNSGNS SVQKFRG (配列番号2231)；

NIKQDGSE EYVDSVKG (配列番号2232)；及び

TSGSGTTYADSVKG (配列番号2669)

からなる群から選択されるHCDR2アミノ酸配列を含む重鎖可変領域を有する配列を含む抗原結合ドメインを含む。

【0026】

様々な実施形態において、TREM-1抗体は、

X₁X₂X₃X₄X₅X₆X₇FX₈YYX₉ (配列番号2203) (ここで、X₁は、

V、E、A又はGであり、X₂は、A、F、Y又はGであり、X₃は、G、S、Y又はWであり、X₄は、S又はRであり、X₅は、非存在であるか又はNであり、X₆は、F、S、Y又は非存在であり、X₇は、L若しくはF又は非存在であり、X₈は、D又はEであり、X₉は、Y、H又はSである)；

X₁X₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂FX₁₃X₁₄(配列番号2210)(ここで、X₁は、G、L又はRであり、X₂は、G、I又はRであり、X₃は、Y、R、I、G又はAであり、X₄は、T、S、Y又はVであり、X₅は、S又はYであり、X₆は、S、A、I又はRであり、X₇は、W、A又はSであり、X₈は、非存在であるか又はSであり、X₉は、非存在であるか、又はF、W若しくはYであり、X₁₀は、R、S、H、K又はEであり、X₁₁は、W、H、Y又はFであり、X₁₂は、Y、V

、A又はSであり、X₁₃は、D又はQであり、X₁₄は、L、Y、I又はHである)；

VAGSNFLFDY(配列番号2670)；

GGYTS SWRWYFDL(配列番号2671)；

GGYTS SWSRWYFDL(配列番号2672)；及び

DYGD SFDY(配列番号2673)

からなる群から選択されるHCDR3アミノ酸配列を含む重鎖可変領域を有する配列を含む抗原結合ドメインを含む。

【0027】

様々な実施形態において、単離された抗原結合タンパク質であって、

a. 抗体又は抗体フラグメントであり；

b. 配列番号20に記載されるアミノ酸配列を有するヒトTREM-1に結合し；

c. 軽鎖可変ドメインであって、

i. アミノ酸配列X₁ASQSX₂X₃X₄NLA(配列番号2199)(ここで、X₁は、R又はQであり、X₂は、V又はIであり、X₃は、N又はSであり、X₄は、S、H、I、V又はAである)を含む軽鎖CDR1；

ii. アミノ酸配列GAX₁X₂RAT(配列番号2200)(ここで、X₁は、S又はYであり、X₂は、T又はIである)を含む軽鎖CDR2；及び

iii. アミノ酸配列QX₁X₂X₃X₄X₅X₆PX₇T(配列番号2201)(ここで、X₁は、Q、H又はEであり、X₂は、F又はYであり、X₃は、K、Y又はIであり、X₄は、N、T、L、I又はMであり；X₅は、W、F、H又はYであり、X₆は、非存在又はPであり；X₇は、W、N、Y、H又はLである)を含む軽鎖CDR3を含む軽鎖可変ドメインを含み；及び

d. 重鎖可変ドメインであって、

i. アミノ酸配列X₁X₂X₃MX₄(配列番号2202)(ここで、X₁は、A、R、T又はSであり、X₂は、Y又はNであり、X₃は、A又はWであり、X₄は、S又はNである)を含む重鎖CDR1；

ii. アミノ酸配列X₁X₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉YYX₁₀X₁₁X₁₂VKG(配列番号2205)(ここで、X₁は、T、E又はSであり、X₂は、非存在であるか、又はM、V若しくはIであり、X₃は、S、R又はKであり、X₄は、G又はQであり、X₅は、S、D又はHであり、X₆は、G、S、L又はAであり、X₇は、S、G又はRであり、X₈は、T、S、P又はEであり、X₉は、T又はIであり、X₁₀は、A又はVであり、X₁₁は、D又はEであり、X₁₂は、S又はAである)を含む重鎖CDR2；及び

iii. アミノ酸配列X₁X₂X₃X₄X₅X₆X₇FX₈YYX₉(配列番号2203)(ここで、X₁は、V、E、A又はGであり、X₂は、A、F、Y又はGであり、X₃は、G、S、Y又はWであり、X₄は、S又はRであり、X₅は、非存在であるか又はNであり、X₆は、F、S、Y又は非存在であり、X₇は、L若しくはF又は非存在であり、X₈は、D又はEであり、X₉は、Y、H又はSである)を含む重鎖CDR3

を含む重鎖可変ドメイン

を含む、単離された抗原結合タンパク質が本明細書において提供される。

20

30

40

50

【0028】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、

- a. 軽鎖可変ドメインであって、
 - i. アミノ酸配列 R A S Q S V N S N L A (配列番号 2 2 1 2) を含む軽鎖 C D R 1 ;
 - ii. アミノ酸配列 G A S T R A T (配列番号 2 2 1 9) を含む軽鎖 C D R 2 ;
 - iii. アミノ酸配列 Q Q F K N W P P T (配列番号 2 2 2 2) を含む軽鎖 C D R 3
- を含む軽鎖可変ドメイン; 及び
- b. 重鎖可変ドメインであって、
 - i. アミノ酸配列 A Y A M S (配列番号 2 2 2 7) を含む重鎖 C D R 1 ;
 - ii. アミノ酸配列 T S G S G S T T Y Y A D S V K G (配列番号 2 2 3 0) を含む重鎖 C D R 2 ; 及び
 - iii. アミノ酸配列 V A G S N F L F D Y (配列番号 2 6 7 0) を含む重鎖 C D R 3
- を含む重鎖可変ドメインを含む。

【0029】

様々な実施形態において、本開示は、単離された抗原結合タンパク質であって、

- a. 抗体又は抗体フラグメントであり;
 - b. 配列番号 2 0 に記載されるアミノ酸配列を有するヒト T R E M - 1 に結合し;
 - c. 軽鎖可変ドメインであって、
 - i. アミノ酸配列 Q A S X₁ D I X₂ X₃ X₄ L N (配列番号 2 2 0 4) (ここで、X₁ は、R 又は Q であり、X₂ は、R、S、N 又は F であり、X₃ は、K 又は N であり、X₄ は、H、Y 又は D である) を含む軽鎖 C D R 1 ;
 - ii. アミノ酸配列 X₁ X₂ X₃ X₄ L E T (配列番号 2 2 0 6) (ここで、X₁ は、D、G 又は H であり、X₂ は、A、V 又は T であり、X₃ は、S、A 又は Y であり、X₄ は、T 又は N である) を含む軽鎖 C D R 2 ;
 - iii. アミノ酸配列 Q X₁ Y X₃ X₄ X₅ P X₆ T (配列番号 2 2 0 7) (ここで、X₁ は、Q 又は H であり、X₂ は、D、A 又は G であり、X₃ は、N 又は K であり; X₄ は、L 又は I であり、X₅ は、I 又は L である) を含む軽鎖 C D R 3
- を含む軽鎖可変ドメインを含み; 及び
- d. 重鎖可変ドメインであって、
 - i. アミノ酸配列 X₁ Y D I N (配列番号 2 2 0 8) (ここで、X₁ は、R 又は S である) を含む重鎖 C D R 1 ;
 - ii. アミノ酸配列 X₁ X₂ N P X₃ X₄ G X₅ X₆ G X₇ X₈ X₉ X₁₀ F X₁₁ X₁₂ (配列番号 2 2 0 9) (ここで、X₁ は、W 又は R であり、X₂ は、M 又は L であり、X₃ は、N、Q 又は K であり、X₄ は、S、A 又は R であり、X₅ は、N 又は Q であり、X₆ は、S、A 又は T であり、X₇ は、S、Q 又は Y であり、X₈ は、V 又は T であり、X₉ は、Q 又は K であり、X₁₀ は、K 又は N であり、X₁₁ は、R 又は Q であり、X₁₂ は、G 又は D である) を含む重鎖 C D R 2 ; 及び
 - iii. アミノ酸配列 X₁ X₂ X₃ X₄ X₅ X₆ X₇ X₈ X₉ X₁₀ X₁₁ X₁₂ F X₁₃ X₁₄ (配列番号 2 2 1 0) (ここで、X₁ は、G、L 又は R であり、X₂ は、G、I 又は R であり、X₃ は、Y、R、I、G 又は A であり、X₄ は、T、S、Y 又は V であり、X₅ は、S 又は Y であり、X₆ は、S、A、I 又は R であり、X₇ は、W、A 又は S であり、X₈ は、非存在であるか又は S であり、X₉ は、非存在であるか、又は F、W 若しくは Y であり、X₁₀ は、R、S、H、K 又は E であり、X₁₁ は、W、H、Y 又は F であり、X₁₂ は、Y、V、A 又は S であり、X₁₃ は、D 又は Q であり、X₁₄ は、L、Y、I 又は H である) を含む重鎖 C D R 3
- を含む重鎖可変ドメインを含む、単離された抗原結合タンパク質を提供する。

【0030】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、

- a. 軽鎖可変ドメインであって、

i . アミノ酸配列 Q A S Q D I R K H L N (配列番号 2 2 1 3) を含む軽鎖 C D R 1 ;
 i i . アミノ酸配列 D A S N L E T (配列番号 2 2 2 0) を含む軽鎖 C D R 2 ; 及び
 i i i . アミノ酸配列 Q H Y D N L P I T (配列番号 2 2 2 3) を含む軽鎖 C D R 3
 を含む軽鎖可変ドメイン ; 及び
 b . 重鎖可変ドメインであって、
 i . アミノ酸配列 R Y D I N (配列番号 2 2 2 8) を含む重鎖 C D R 1 ;
 i i . アミノ酸配列 W M N P N S G N S S V Q K F R G (配列番号 2 2 3 1) を含む重
 鎖 C D R 2 ; 及び
 i i i . アミノ酸配列 G G Y T S S W R W Y F D L (配列番号 2 6 7 1) 又は G G Y T
 S S W S R W Y F D L (配列番号 2 6 7 2) を含む重鎖 C D R 3
 を含む重鎖可変ドメイン
 を含む。

10

【 0 0 3 1 】

様々な実施形態において、本開示は、単離された抗原結合タンパク質であって、

a . 抗体又は抗体フラグメントであり ;
 b . 配列番号 2 0 に記載されるアミノ酸配列を有する、骨髄細胞 1 上で発現されるヒト
 トリガー受容体 (T R E M - 1) に結合し ;
 c . 以下から選択される C D R 配列の組 :
 i) 配列番号 3 0 (L C D R 1)、配列番号 3 1 (L C D R 2)、配列番号 3 2 (L C
 D R 3)、配列番号 3 6 (H C D R 1)、配列番号 3 7 (H C D R 2) 及び配列番号 3 8
 (H C D R 3) ;
 i i) 配列番号 5 0 (L C D R 1)、配列番号 5 1 (L C D R 2)、配列番号 5 2 (L
 C D R 3)、配列番号 5 6 (H C D R 1)、配列番号 5 7 (H C D R 2) 及び配列番号 5
 8 (H C D R 3) ;
 i i i) 配列番号 7 0 (L C D R 1)、配列番号 7 1 (L C D R 2)、配列番号 7 2 (L
 C D R 3)、配列番号 7 6 (H C D R 1)、配列番号 7 7 (H C D R 2) 及び配列番号
 7 8 (H C D R 3) ;
 i v) 配列番号 9 0 (L C D R 1)、配列番号 9 1 (L C D R 2)、配列番号 9 2 (L
 C D R 3)、配列番号 9 6 (H C D R 1)、配列番号 9 7 (H C D R 2) 及び配列番号 9
 8 (H C D R 3) ;
 v) 配列番号 1 1 0 (L C D R 1)、配列番号 1 1 1 (L C D R 2)、配列番号 1 1 2
 (L C D R 3)、配列番号 1 1 6 (H C D R 1)、配列番号 1 1 7 (H C D R 2) 及び配
 列番号 1 1 8 (H C D R 3) ;
 v i) 配列番号 1 3 0 (L C D R 1)、配列番号 1 3 1 (L C D R 2)、配列番号 1 3
 2 (L C D R 3)、配列番号 1 3 6 (H C D R 1)、配列番号 1 3 7 (H C D R 2) 及び
 配列番号 1 3 8 (H C D R 3) ;
 v i i) 配列番号 1 5 0 (L C D R 1)、配列番号 1 5 1 (L C D R 2)、配列番号 1
 5 2 (L C D R 3)、配列番号 1 5 6 (H C D R 1)、配列番号 1 5 7 (H C D R 2) 及
 び配列番号 1 5 8 (H C D R 3) ;
 v i i i) 配列番号 1 7 0 (L C D R 1)、配列番号 1 7 1 (L C D R 2)、配列番号
 1 7 2 (L C D R 3)、配列番号 1 7 6 (H C D R 1)、配列番号 1 7 7 (H C D R 2)
 及び配列番号 1 7 8 (H C D R 3) ;
 i x) 配列番号 1 9 0 (L C D R 1)、配列番号 1 9 1 (L C D R 2)、配列番号 1 9
 2 (L C D R 3)、配列番号 1 9 6 (H C D R 1)、配列番号 1 9 7 (H C D R 2) 及び
 配列番号 1 9 8 (H C D R 3) ;
 x) 配列番号 2 1 0 (L C D R 1)、配列番号 2 1 1 (L C D R 2)、配列番号 2 1 2
 (L C D R 3)、配列番号 2 1 6 (H C D R 1)、配列番号 2 1 7 (H C D R 2) 及び配
 列番号 2 1 8 (H C D R 3) ;
 x i) 配列番号 2 3 0 (L C D R 1)、配列番号 2 3 1 (L C D R 2)、配列番号 2 3
 2 (L C D R 3)、配列番号 2 3 6 (H C D R 1)、配列番号 2 3 7 (H C D R 2) 及び

20

30

40

50

配列番号 238 (HCDR3) ;

xii) 配列番号 250 (LCDR1)、配列番号 251 (LCDR2)、配列番号 252 (LCDR3)、配列番号 256 (HCDR1)、配列番号 257 (HCDR2) 及び配列番号 258 (HCDR3) ;

xiii) 配列番号 270 (LCDR1)、配列番号 271 (LCDR2)、配列番号 272 (LCDR3)、配列番号 276 (HCDR1)、配列番号 277 (HCDR2) 及び配列番号 278 (HCDR3) ;

xiv) 配列番号 290 (LCDR1)、配列番号 291 (LCDR2)、配列番号 292 (LCDR3)、配列番号 296 (HCDR1)、配列番号 297 (HCDR2) 及び配列番号 298 (HCDR3) ; 又は

xv) 配列番号 2190 (LCDR1)、配列番号 2191 (LCDR2)、配列番号 2192 (LCDR3)、配列番号 2196 (HCDR1)、配列番号 2197 (HCDR2) 及び配列番号 2198 (HCDR3)

を含む、単離された抗原結合タンパク質を提供する。

【0032】

様々な実施形態において、抗 TREM-1 抗原結合タンパク質は、

i) 配列番号 30 (LCDR1)、配列番号 31 (LCDR2)、配列番号 32 (LCDR3)、配列番号 36 (HCDR1)、配列番号 37 (HCDR2) 及び配列番号 38 (HCDR3) ;

ii) 配列番号 50 (LCDR1)、配列番号 51 (LCDR2)、配列番号 52 (LCDR3)、配列番号 56 (HCDR1)、配列番号 57 (HCDR2) 及び配列番号 58 (HCDR3) ;

iii) 配列番号 70 (LCDR1)、配列番号 71 (LCDR2)、配列番号 72 (LCDR3)、配列番号 76 (HCDR1)、配列番号 77 (HCDR2) 及び配列番号 78 (HCDR3) ;

iv) 配列番号 110 (LCDR1)、配列番号 111 (LCDR2)、配列番号 112 (LCDR3)、配列番号 116 (HCDR1)、配列番号 117 (HCDR2) 及び配列番号 118 (HCDR3) ;

v) 配列番号 150 (LCDR1)、配列番号 151 (LCDR2)、配列番号 152 (LCDR3)、配列番号 156 (HCDR1)、配列番号 157 (HCDR2) 及び配列番号 158 (HCDR3) ;

vi) 配列番号 170 (LCDR1)、配列番号 171 (LCDR2)、配列番号 172 (LCDR3)、配列番号 176 (HCDR1)、配列番号 177 (HCDR2) 及び配列番号 178 (HCDR3) ; 又は

vii) 配列番号 290 (LCDR1)、配列番号 291 (LCDR2)、配列番号 292 (LCDR3)、配列番号 296 (HCDR1)、配列番号 297 (HCDR2) 及び配列番号 298 (HCDR3)

から選択される CDR 配列の組を含む。

【0033】

様々な実施形態において、抗 TREM-1 抗原結合タンパク質は、配列番号 50 (LCDR1)、配列番号 51 (LCDR2)、配列番号 52 (LCDR3)、配列番号 56 (HCDR1)、配列番号 57 (HCDR2) 及び配列番号 58 (HCDR3) ; 又は配列番号 110 (LCDR1)、配列番号 111 (LCDR2)、配列番号 112 (LCDR3)、配列番号 116 (HCDR1)、配列番号 117 (HCDR2) 及び配列番号 118 (HCDR3) から選択される CDR 配列の組を含む。

【0034】

様々な実施形態において、抗 TREM-1 抗原結合タンパク質又は抗原結合タンパク質の抗 TREM1 抗原結合部分は、

a. 軽鎖可変ドメインであって、

i. 配列番号 41、61、81、101、121、141、161、181、201、

10

20

30

40

50

221、241、261、281、301及び2185から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一である配列；

i i . 配列番号39、59、79、99、119、139、159、179、199、219、239、259、279、299及び2183から選択される核酸配列と少なくとも80%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列；

i i i . 配列番号39、59、79、99、119、139、159、179、199、219、239、259、279、299及び2183から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン；及び

10

b . 重鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号42、62、82、102、122、142、162、182、202、222、242、262、282、302及び2186から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一である配列；

i i . 配列番号40、60、80、100、120、140、160、180、200、220、240、260、280、300及び2184から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列；

i i i . 配列番号40、60、80、100、120、140、160、180、200、220、240、260、280、300及び2184から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

20

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【0035】

様々な実施形態において、抗TREM-1抗原結合タンパク質又は抗原結合タンパク質の抗TREM1抗原結合部分は、

a . 軽鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号41、61、81、121、161、181及び301から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一である配列；

i i . 配列番号39、59、79、119、159、179及び299から選択される核酸配列と少なくとも80%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列；

30

i i i . 配列番号39、59、79、119、159、179及び299から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン；及び

b . 重鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号42、62、82、122、162、182及び302から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一である配列；

i i . 配列番号40、60、80、120、160、180及び300から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列；

40

i i i . 配列番号40、60、80、120、160、180及び300から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【0036】

様々な実施形態において、抗TREM-1抗原結合タンパク質又は抗原結合タンパク質の抗TREM1抗原結合部分は、

50

a . 軽鎖可変ドメインであって、
 i . 配列番号 6 1 及び 1 2 1 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 8 0 % 同一である配列；
 i i . 配列番号 5 9 及び 1 1 9 から選択される核酸配列と少なくとも 8 0 % 同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列；
 i i i . 配列番号 5 9 及び 1 1 9 から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列
 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン；及び

b . 重鎖可変ドメインであって、
 i . 配列番号 6 2 及び 1 2 2 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 8 0 % 同一である配列；
 i i . 配列番号 6 0 及び 1 2 0 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 8 0 % 同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列；
 i i i . 配列番号 6 0 及び 1 2 0 から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列
 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン
 を含む。

【 0 0 3 7 】

様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質又は抗原結合タンパク質の抗 T R E M 1 抗原結合部分は、

i) 配列番号 4 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 4 2 に記載される重鎖可変ドメイン；
 i i) 配列番号 6 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 6 2 に記載される重鎖可変ドメイン；
 i i i) 配列番号 8 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 8 2 に記載される重鎖可変ドメイン；
 i v) 配列番号 1 0 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 0 2 に記載される重鎖可変ドメイン；
 v) 配列番号 1 2 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 2 2 に記載される重鎖可変ドメイン；
 v i) 配列番号 1 6 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 6 2 に記載される重鎖可変ドメイン；
 v i i) 配列番号 1 8 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 8 2 に記載される重鎖可変ドメイン；
 v i i i) 配列番号 2 0 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 2 0 2 に記載される重鎖可変ドメイン；
 x) 配列番号 2 2 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 2 2 2 に記載される重鎖可変ドメイン；
 x i) 配列番号 2 4 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 2 4 2 に記載される重鎖可変ドメイン；
 x i i) 配列番号 2 6 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 2 6 2 に記載される重鎖可変ドメイン；
 x i i i) 配列番号 2 8 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 2 8 2 に記載される重鎖可変ドメイン；
 x i v) 配列番号 3 0 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 3 0 2 に記載される重鎖可変ドメイン；又は
 x v) 配列番号 2 1 8 5 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 2 1 8 6 に記載される重鎖可変ドメイン

を含む。

【 0 0 3 8 】

様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質又は抗原結合タンパク質の抗 T R E M 1 抗原結合部分は、

i) 配列番号 4 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 4 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

i i) 配列番号 6 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 6 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

i i i) 配列番号 8 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 8 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

i v) 配列番号 1 2 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 2 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

v) 配列番号 1 6 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 6 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

v i) 配列番号 1 8 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 8 2 に記載される重鎖可変ドメイン；又は

v i i) 配列番号 3 0 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 3 0 2 に記載される重鎖可変ドメイン

を含む。

【 0 0 3 9 】

様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質又は抗原結合タンパク質の抗 T R E M 1 抗原結合部分は、配列番号 6 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 6 2 に記載される重鎖可変ドメイン；又は配列番号 1 2 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 2 2 に記載される重鎖可変ドメインを含む。

【 0 0 4 0 】

様々な実施形態において、アミノ酸配列は、配列番号 4 2、6 2、8 2、1 0 2、1 2 2、1 4 2、1 6 2、1 8 2、2 0 2、2 2 2、2 4 2、2 6 2、2 8 2、3 0 2 及び 2 1 8 6 並びに配列番号 4 1、6 1、8 1、1 0 1、1 2 1、1 4 1、1 6 1、1 8 1、2 0 1、2 2 1、2 4 1、2 6 1、2 8 1、3 0 1 及び 2 1 8 5 と 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % 又は 9 9 % 同一であり得る。

【 0 0 4 1 】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号 4 2、6 2、8 2、1 0 2、1 2 2、1 4 2、1 6 2、1 8 2、2 0 2、2 2 2、2 4 2、2 6 2、2 8 2、3 0 2 及び 2 1 8 6 から選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号 4 1、6 1、8 1、1 0 1、1 2 1、1 4 1、1 6 1、1 8 1、2 0 1、2 2 1、2 4 1、2 6 1、2 8 1、3 0 1 及び 2 1 8 5 に記載される軽鎖可変領域アミノ酸配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 4 2 】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号 4 2、6 2、8 2、1 2 2、1 6 2、1 8 2 及び 3 0 2 から選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号 4 1、6 1、8 1、1 2 1、1 6 1、1 8 1 及び 3 0 1 から選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 4 3 】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号 6 2 及び 1 2 2 から選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号 6 1 及び 1 2 1 から選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【 0 0 4 4 】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質の1つ以上の重鎖フレームワークアミノ酸は、別のヒト抗体アミノ酸配列からの対応するアミノ酸で置換される。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質の1つ以上の軽鎖フレームワークアミノ酸は、別のヒト抗体アミノ酸配列からの対応するアミノ酸で置換される。

【 0 0 4 5 】

ある場合には、本明細書に開示される配列は、組み換え産生に有用なN末端シグナル配列を含有し得る。シグナル配列を欠く抗TREM-1抗体又は抗原結合タンパク質の配列が本明細書において想定される。例示的なシグナル配列としては、MDMRVPAQLLGLLLWLRGARC(配列番号2674);MAWALLLLTLLTQTGSWASYLEL(配列番号2675)及びこのようなシグナル配列をコードする核酸が挙げられる。

10

【 0 0 4 6 】

様々な実施形態において、抗TREM-1抗原結合タンパク質は、前記軽鎖可変領域に結合されたヒト軽鎖定常領域をさらに含む。

【 0 0 4 7 】

様々な実施形態において、重鎖定常領域は、IgG、IgM、IgA、IgD、IgEの重鎖定常領域、そのフラグメント、それらの組合せ及び1~10個の重鎖フレームワークアミノ酸は、別のヒト抗体アミノ酸配列からの対応するアミノ酸で置換されるそれらの修飾から選択される。

20

【 0 0 4 8 】

様々な実施形態において、本明細書に記載される抗TREM-1抗原結合タンパク質は、TREM-1へのTREM-1リガンドの結合を阻害する。

【 0 0 4 9 】

配列番号20の配列を有するヒトTREM-1タンパク質への結合について、本明細書に記載される抗TREM-1抗原結合タンパク質と競合する抗原結合タンパク質も想定される。

【 0 0 5 0 】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、組み換え抗体、Fab、F(ab')₂、Fab₂、1価IgG、scFv、scFv-Fc、IgG1抗体、IgG2抗体、IgG3抗体及びIgG4抗体からなる群から選択される。様々な実施形態において、抗TREM-1抗原結合タンパク質は、IgG2抗体である。様々な実施形態において、抗TREM-1抗原結合タンパク質は、IgG1抗体である。様々な実施形態において、IgG1抗体は、IgG1z又はIgG1z-SEFL2抗体である。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、1価IgGである。

30

【 0 0 5 1 】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、ヒト抗体である。

【 0 0 5 2 】

本明細書に記載される抗TREM-1抗原結合タンパク質の重鎖をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子、本明細書に記載される抗TREM-1抗原結合タンパク質の軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子並びに本明細書に記載される抗TREM-1抗原結合タンパク質の重鎖及び軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子も提供される。

40

【 0 0 5 3 】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号40、60、80、100、120、140、160、180、200、220、240、260、280及び300及び2184から選択される重鎖可変領域ポリヌクレオチド配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号39、59、79、99、119、139、159、179、199、219、239

50

、 2 5 9、 2 7 9、 2 9 9 及び 2 1 8 3 に記載される軽鎖可変領域ポリヌクレオチド配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 5 4 】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号 4 0、 6 0、 8 0、 1 2 0、 1 6 0、 1 8 0 及び 3 0 0 から選択される重鎖可変領域ポリヌクレオチド配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号 3 9、 5 9、 7 9、 1 1 9、 1 5 9、 1 7 9 及び 2 9 9 から選択される軽鎖可変領域ポリヌクレオチド配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 5 5 】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号 6 0 及び 1 2 0 から選択される重鎖可変領域ポリヌクレオチド配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号 5 9 及び 1 1 9 から選択される軽鎖可変領域ポリヌクレオチド配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。

10

【 0 0 5 6 】

発現制御配列に動作可能に連結された本明細書に記載される抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質重鎖及び / 又は軽鎖の核酸分子を含む発現ベクターがさらに想定される。

【 0 0 5 7 】

本開示は、本明細書に記載される抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質又は抗体の重鎖をコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子 ; 又は本明細書に記載される抗 T R E M - 1 抗体の軽鎖をコードする核酸分子 ; 又は本明細書に記載される抗 T R E M - 1 抗体の重鎖及び軽鎖核酸分子をコードする核酸分子 ; 又は本明細書に記載される抗 T R E M - 1 抗体の重鎖及び / 又は軽鎖をコードする核酸分子を含むベクターを含む組み換え宿主細胞を提供する。様々な実施形態において、宿主細胞は、哺乳動物細胞である。様々な実施形態において、宿主細胞は、C H O 細胞である。

20

【 0 0 5 8 】

宿主細胞を使用して、抗原結合タンパク質を生成する方法であって、宿主細胞を培養し、前記抗原結合タンパク質を回収することを含む方法及び本方法によって生成される抗原結合タンパク質がさらに提供される。

【 0 0 5 9 】

本明細書に記載される抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質及び薬学的に許容される担体を含む滅菌医薬組成物も提供される。

30

【 0 0 6 0 】

抗原結合部分及び 1 つ又は 2 つの I L - 1 0 部分を含む抗原結合タンパク質であって、
 a . 抗原結合部分は、抗体又は抗体フラグメントであり、
 b . 各 I L - 1 0 部分は、独立して、1 価又は 2 価であり、
 c . 各 I L - 1 0 部分は、独立して、配列番号 2 と 9 0 % 同一である配列を有する 1 つ以上のヒト I L - 1 0 突然変異タンパク質から選択され、
 d . 少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、抗原結合部分に共有結合される、抗原結合タンパク質がさらに想定される。

40

【 0 0 6 1 】

様々な実施形態において、少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、抗原結合部分の C 末端に融合される。様々な実施形態において、少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、抗原結合部分の N 末端に融合される。様々な実施形態において、少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、抗原結合部分の N 及び C 末端に融合される。様々な実施形態において、I L - 1 0 部分は、抗原結合部分における内部部位において融合される。様々な実施形態において、少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、抗原結合部分の重鎖及び / 又は軽鎖に融合される。様々な実施形態において、重鎖及び / 又は軽鎖は、修飾又は操作された重鎖又は軽鎖である。

【 0 0 6 2 】

50

(a) 式 A - L - M 又は M - L - A を有するポリペプチド配列であって、

i) A は、配列番号 20 に記載される T R E M - 1 タンパク質に結合する I g G 抗体の免疫グロブリン重鎖であり、

i i) L は、4 ~ 20 個のアミノ酸を含むリンカーペプチドであり、及び

i i i) M は、配列番号 2 に記載される w t I L - 10 と少なくとも 90 % の配列同一性を有する I L - 10 の突然変異タンパク質である、ポリペプチド配列；及び

(b) 配列番号 20 に記載される T R E M - 1 タンパク質に結合する I g G 抗体の免疫グロブリン軽鎖

を含む抗原結合タンパク質であって、

(a) の免疫グロブリン重鎖及び (b) の免疫グロブリン軽鎖は、T R E M - 1 に結合する I g G 抗体部分を形成し、タンパク質は、(a) のポリペプチドの 1 つ又は 2 つの分子及び (b) の軽鎖の 1 つ又は 2 つの分子を含み、任意選択的に、(a) の 1 つのみのポリペプチドは、M 部分を含む、抗原結合タンパク質も提供される。

10

【0063】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、w t I L - 10 と比較して、骨髄細胞内の T N F - 産生の抑制を低下させ、C D 8 + T 細胞刺激のレベルを低下させ、且つ / 又は B 細胞刺激のレベルを低下させる。

【0064】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、

a . 抗原結合部分は、抗体であり、

b . I L - 10 部分は、抗体の各重鎖に融合される。

20

【0065】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、各 I L - 10 部分は、モノマーである。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、2 つの異なる突然変異タンパク質モノマーを含む。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、同じ突然変異タンパク質モノマーの 2 つを含む。

【0066】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、各 I L - 10 部分は、配列番号 2 に記載されるアミノ酸配列と少なくとも 90 % 同一であるアミノ酸配列を含み、及び各 I L - 10 部分は、独立して、ヘリックスループ A B、ヘリックスループ C D、ヘリックスループ D E、ヘリックス A、ヘリックス B、ヘリックス C、ヘリックス D、ヘリックス E 及び / 又はヘリックス F における突然変異から選択される少なくとも 1 つの突然変異を含む。

30

【0067】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、少なくとも 1 つの I L - 10 部分は、ヘリックス A における少なくとも 1 つの突然変異を含む。抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、少なくとも 1 つの I L - 10 部分は、ヘリックス F における少なくとも 1 つの突然変異を含む。抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、少なくとも 1 つの I L - 10 部分は、ヘリックスループ A B における少なくとも 1 つの突然変異を含む。

【0068】

様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 / I L - 10 突然変異タンパク質抗原結合タンパク質は、例えば w t I L - 10 と比較して、ヒト対象における C D 8 + T 細胞刺激及び / 又は B 細胞刺激を欠いている。

40

【0069】

様々な実施形態において、I L - 10 突然変異タンパク質は、w t I L - 10 と比較して、骨髄細胞内の T N F - 産生の抑制を低下させ、C D 8 + T 細胞刺激のレベルを低下させ、且つ / 又は B 細胞刺激のレベルを低下させる。

【0070】

様々な実施形態において、I L - 10 突然変異タンパク質抗原結合タンパク質、例えば抗 T R E M - 1 / I L - 10 突然変異タンパク質抗原結合タンパク質は、骨髄細胞内の T N F - 産生を抑制する。様々な実施形態において、I L - 10 突然変異タンパク質抗原

50

結合タンパク質、例えば抗 T R E M - 1 / I L - 1 0 突然変異タンパク質抗原結合タンパク質は、骨髄細胞内の T N F - 産生を抑制するが、C D 8 + T細胞及びB細胞活性化を依然として欠いている。

【 0 0 7 1 】

様々な実施形態において、C D 8 + 細胞及び / 又は B 細胞における細胞表面タンパク質に対する抗原結合パートナーに融合された I L - 1 0 突然変異タンパク質を有する抗原結合タンパク質は、ヒト対象における C D 8 + T細胞刺激のレベル及び / 又は B 細胞刺激のレベルを高める。

【 0 0 7 2 】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、各 I L - 1 0 突然変異タンパク質は、独立して、配列番号 2 の残基 N 1 0、H 1 4、F 1 5、P 2 0、M 2 2、L 2 3、R 2 4、R 2 7、D 2 8、K 3 4、T 3 5、Q 3 8、M 3 9、K 4 0、D 4 1、Q 4 2、L 4 3、D 4 4、N 4 5、L 4 6、L 4 7、L 4 8、K 4 9、F 5 6、K 5 7、Y 5 9、L 6 0、Q 6 3、E 6 7、Q 7 0、M 7 7、Q 7 9、N 8 2、Q 8 3、D 8 4、P 8 5、D 8 6、I 8 7、A 8 9、H 9 0、S 9 3、T 1 0 0、L 1 0 3、H 1 0 9、R 1 1 0、L 1 1 2、E 1 1 5、N 1 1 6、A 1 2 7、K 1 3 0、I 1 3 6、Y 1 3 7、K 1 3 8、S 1 4 1、E 1 4 2、D 1 4 4、I 1 4 5、E 1 5 1、M 1 5 4、M 1 5 6、K 1 5 7、N 1 6 0 の 1 つ以上における突然変異及び / 又はヘリックス D とヘリックス E との間の 4 ~ 8 個のアミノ酸の付加を含む。

10

【 0 0 7 3 】

様々な実施形態において、各 I L - 1 0 突然変異タンパク質は、独立して、ヘリックス D とヘリックス E との間のアミノ酸の付加を任意選択的に含む、配列番号 2 の R 2 7 L、K 3 4 D、D 4 1 G、L 4 6 K、Q 3 8 E、Q 3 8 R、Q 3 8 D、K 1 3 8 L、K 1 3 8 D 又は I 8 7 A からなる群から選択される 1 つ以上の突然変異を含む。様々な実施形態において、各 I L - 1 0 突然変異タンパク質は、独立して、ヘリックス D とヘリックス E との間のアミノ酸の付加を任意選択的に含む、配列番号 2 の N 1 0 Q、N 1 0 I、N 1 0 K、R 2 7 L、K 3 4 D、D 4 1 G、L 4 6 K、Q 3 8 E、Q 3 8 R、Q 3 8 D、K 1 3 8 L、K 1 3 8 D、I 8 7 A、H 1 4 Q、F 1 5 Y、M 2 2 V、K 4 9 T、K 4 9 S、F 5 6 Y、K 5 7 N、Y 5 9 T、L 6 0 Q、Q 6 3 E、Q 6 3 L、E 6 7 C、Q 7 0 E、Q 7 0 K、M 7 7 R、M 7 7 V、Q 7 9 R、Q 7 9 C、D 8 4 R、A 8 9 P、H 9 0 E、H 9 0 Q、S 9 3 E、S 9 3 Q、T 1 0 0 R、L 1 0 3 E、H 1 0 9 D、R 1 1 0 P、R 1 1 0 Q、L 1 1 2 V、E 1 1 5 K、N 1 1 6 D、N 1 1 6 Q、A 1 2 7 M、K 1 3 0 Q、I 1 3 6 C、Y 1 3 7 C、M 1 5 4 V、M 1 5 6 C、K 1 5 7 N 又は N 1 6 0 D からなる群から選択される 1 つ以上の突然変異を含む。

20

30

【 0 0 7 4 】

様々な実施形態において、各 I L - 1 0 突然変異タンパク質は、独立して、ヘリックス D とヘリックス E との間の 6 個のアミノ酸の付加を任意選択的に含む、配列番号 2 の R 2 7 L、K 3 4 D、D 4 1 G、L 4 6 K、Q 3 8 E、Q 3 8 R、Q 3 8 D、K 1 3 8 L、K 1 3 8 D 又は I 8 7 A からなる群から選択される 1 つ以上の突然変異を含む。様々な実施形態において、ヘリックス D とヘリックス E との間のアミノ酸は、G G G S G G (配列番号 2 6 7 6) である。様々な実施形態において、各 I L - 1 0 突然変異タンパク質は、独立して、ヘリックス D とヘリックス E との間の 6 個のアミノ酸の付加を任意選択的に含む、配列番号 2 の N 1 0 Q、N 1 0 I、N 1 0 K、R 2 7 L、K 3 4 D、D 4 1 G、L 4 6 K、Q 3 8 E、Q 3 8 R、Q 3 8 D、K 1 3 8 L、K 1 3 8 D、I 8 7 A、H 1 4 Q、F 1 5 Y、M 2 2 V、K 4 9 T、K 4 9 S、F 5 6 Y、K 5 7 N、Y 5 9 T、L 6 0 Q、Q 6 3 E、Q 6 3 L、E 6 7 C、Q 7 0 E、Q 7 0 K、M 7 7 R、M 7 7 V、Q 7 9 R、Q 7 9 C、D 8 4 R、A 8 9 P、H 9 0 E、H 9 0 Q、S 9 3 E、S 9 3 Q、T 1 0 0 R、L 1 0 3 E、H 1 0 9 D、R 1 1 0 P、R 1 1 0 Q、L 1 1 2 V、E 1 1 5 K、N 1 1 6 D、N 1 1 6 Q、A 1 2 7 M、K 1 3 0 Q、I 1 3 6 C、Y 1 3 7 C、M 1 5 4 V、M 1 5 6 C、K 1 5 7 N 又は N 1 6 0 D からなる群から選択される 1 つ以上の突然変異を含む

40

50

。様々な実施形態において、ヘリックスDとヘリックスEとの間のアミノ酸は、GGGS GG（配列番号2676）である。

【0075】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、各IL-10突然変異タンパク質は、配列番号2に記載されるアミノ酸配列と少なくとも95%同一である。様々な実施形態において、IL-10突然変異タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号3~10に記載される。様々な実施形態において、IL-10突然変異タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号3~10並びに配列番号2138、2140、2142、2144、2146、2148、2150、2152、2154、2156、2158、2160、2162、2164、2166、2168、2170、2172、2174、2176、2178、2180、2182、2360、2362、2364、2366、2368、2370、2372、2374、2376、2378、2380、2382、2384、2386、2388、2390、2392、2394、2396、2398、2400、2402、2404、2406、2408、2410、2412、2414、2416、2418、2420、2422、2424、2426、2428、2430、2432、2434、2436、2438、2440、2442、2444、2446、2448、2450、2452、2454、2456、2458、2460、2462、2464、2466、2468、2470、2472、2474、2476、2478、2480、2482、2484、2486、2488、2490、2492、2494、2496、2500、2502、2504、2506、2508、2510、2512、2514、2516、2518、2520、2522、2524、2526、2528、2530、2532、2534、2536、2538、2540及び2777~2791に記載される。

10

20

【0076】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、抗原結合部分の少なくとも1つのC末端に融合された少なくとも1つのリンカーを含み、IL-10部分は、各リンカーのC末端に共有結合される。様々な実施形態において、リンカーは、4~18アミノ酸長である。様々な実施形態において、リンカーは、6アミノ酸長である。様々な実施形態において、リンカーは、三量体、四量体、五量体、六量体、七量体又は八量体ペプチドである。様々な実施形態において、リンカーは、GS残基を含む。

【0077】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、「埋め込まれた」IL-10突然変異タンパク質を含む。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、以下を含む：(a)抗TREM1結合部分のFab部分、(b)TREM1結合部分のFab部分のC末端に融合された少なくとも1つのG4リンカー、(c)IL-10部分が各リンカーのC末端に共有結合され；別のG4リンカーがIL10部分のC末端に融合され；Fc領域がこの第2のG4リンカーのC末端に共有結合される。想定されるさらなるリンカーは、詳細な説明においてさらに説明される。

30

【0078】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質における抗原結合部分は、抗原結合タンパク質の抗体部分の前記重鎖可変領域に結合されたヒト重鎖定常領域をさらに含む。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、抗原結合タンパク質の抗体部分の前記軽鎖可変領域に結合されたヒト軽鎖定常領域をさらに含む。

40

【0079】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合部分は、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、組み換え抗体、Fab、F(ab')₂、Fab₂、1価IgG、scFv、scFv-Fc、IgG1抗体、IgG2抗体、IgG3抗体及びIgG4抗体からなる群から選択される。様々な実施形態において、抗原結合部分は、IgGである。様々な実施形態において、抗原結合部分は、IgG2抗体である。様々な実施形態において、抗原結合部分は、IgG1抗体である。抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗体は、IgG1z又はIgG1z-SEFL2抗体である。様

50

々な実施形態において、抗原結合部分は、1価IgGである。様々な実施形態において、抗原結合部分の重鎖定常領域は、IgG、IgM、IgA、IgD、IgEの重鎖定常領域、そのフラグメント、それらの組合せ及び1~10個の重鎖フレームワークアミノ酸は、別のヒト抗体定常領域からの対応するアミノ酸で置換されたそれらの修飾から選択される。

【0080】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合部分は、配列番号22に記載されるアミノ酸配列を有するヒトPD-1に結合する。様々な実施形態において、抗原結合部分は、配列番号20に記載されるアミノ酸配列を有するヒトTREM-1に結合する。様々な実施形態において、抗原結合部分は、少なくとも 10^{-8} Mの結合親和性でヒトTREM-1に結合する。様々な実施形態において、抗原結合部分は、少なくとも 10^{-8} M~ 10^{-15} M又は 10^{-8} M~ 10^{-12} M又は 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M、 10^{-12} M、 10^{-13} M、 10^{-14} M又は 10^{-15} Mの結合親和性でその抗原に結合する。

10

【0081】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗TREM-1抗原結合部分は、

a. 軽鎖可変ドメインであって、

i. 配列番号30、50、70、90、110、130、150、170、190、210、230、250、270、290及び2190から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1；

20

ii. 配列番号31、51、71、91、111、131、151、171、191、211、231、251、271、291及び2191から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2配列；

iii. 配列番号32、52、72、92、112、132、152、172、192、212、232、252、272、292及び2192から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3配列

を含む軽鎖可変ドメイン；及び

b. 重鎖可変ドメインであって、

i. 配列番号36、56、76、96、116、136、156、176、196、216、236、256、276、296及び2196から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR1；

30

ii. 配列番号37、57、77、97、117、137、157、177、197、217、237、257、277、297及び2197から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR2配列；及び

iii. 配列番号38、58、78、98、118、138、158、178、198、218、238、258、278、298及び2198から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR3配列

を含む重鎖可変ドメイン

を含む。

【0082】

40

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗TREM-1抗原結合部分は、以下を含む：

a. 軽鎖CDR1配列は、配列番号30、50、70、110、150、170又は290に記載され；

b. 軽鎖CDR2配列は、配列番号31、51、71、111、151、171又は291に記載され；

c. 軽鎖CDR3配列は、配列番号32、52、72、112、152、172又は292に記載され、

d. 重鎖CDR1配列は、配列番号36、56、76、116、156、176又は296に記載され；

50

e. 重鎖 C D R 2 配列は、配列番号 3 7、5 7、7 7、1 1 7、1 5 7、1 7 7 又は 2 9 7 に記載され；

f. 重鎖 C D R 3 配列は、配列番号 3 8、5 8、7 8、1 1 8、1 5 8、1 7 8 又は 2 9 8 に記載される。

【 0 0 8 3 】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 抗原結合部分は、以下を含む：

a. 軽鎖 C D R 1 配列は、配列番号 5 0 又は 1 1 0 に記載され；

b. 軽鎖 C D R 2 配列は、配列番号 5 1 又は 1 1 1 に記載され；

c. 軽鎖 C D R 3 配列は、配列番号 5 2 又は 1 1 2 に記載され；

d. 重鎖 C D R 1 配列は、配列番号 5 6 又は 1 1 6 に記載され；

e. 重鎖 C D R 2 配列は、配列番号 5 7 又は 1 1 7 に記載され；

f. 重鎖 C D R 3 配列は、配列番号 5 8 又は 1 1 8 に記載される。

10

【 0 0 8 4 】

様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質又は抗原結合タンパク質の抗 T R E M 1 抗原結合部分は、

i) 配列番号 3 0 (L C D R 1)、配列番号 3 1 (L C D R 2)、配列番号 3 2 (L C D R 3)、配列番号 3 6 (H C D R 1)、配列番号 3 7 (H C D R 2) 及び配列番号 3 8 (H C D R 3)；

i i) 配列番号 5 0 (L C D R 1)、配列番号 5 1 (L C D R 2)、配列番号 5 2 (L C D R 3)、配列番号 5 6 (H C D R 1)、配列番号 5 7 (H C D R 2) 及び配列番号 5 8 (H C D R 3)；

20

i i i) 配列番号 7 0 (L C D R 1)、配列番号 7 1 (L C D R 2)、配列番号 7 2 (L C D R 3)、配列番号 7 6 (H C D R 1)、配列番号 7 7 (H C D R 2) 及び配列番号 7 8 (H C D R 3)；

i v) 配列番号 9 0 (L C D R 1)、配列番号 9 1 (L C D R 2)、配列番号 9 2 (L C D R 3)、配列番号 9 6 (H C D R 1)、配列番号 9 7 (H C D R 2) 及び配列番号 9 8 (H C D R 3)；

v) 配列番号 1 1 0 (L C D R 1)、配列番号 1 1 1 (L C D R 2)、配列番号 1 1 2 (L C D R 3)、配列番号 1 1 6 (H C D R 1)、配列番号 1 1 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 1 8 (H C D R 3)；

30

v i) 配列番号 1 3 0 (L C D R 1)、配列番号 1 3 1 (L C D R 2)、配列番号 1 3 2 (L C D R 3)、配列番号 1 3 6 (H C D R 1)、配列番号 1 3 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 3 8 (H C D R 3)；

v i i) 配列番号 1 5 0 (L C D R 1)、配列番号 1 5 1 (L C D R 2)、配列番号 1 5 2 (L C D R 3)、配列番号 1 5 6 (H C D R 1)、配列番号 1 5 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 5 8 (H C D R 3)；

v i i i) 配列番号 1 7 0 (L C D R 1)、配列番号 1 7 1 (L C D R 2)、配列番号 1 7 2 (L C D R 3)、配列番号 1 7 6 (H C D R 1)、配列番号 1 7 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 7 8 (H C D R 3)；

40

i x) 配列番号 1 9 0 (L C D R 1)、配列番号 1 9 1 (L C D R 2)、配列番号 1 9 2 (L C D R 3)、配列番号 1 9 6 (H C D R 1)、配列番号 1 9 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 9 8 (H C D R 3)；

x) 配列番号 2 1 0 (L C D R 1)、配列番号 2 1 1 (L C D R 2)、配列番号 2 1 2 (L C D R 3)、配列番号 2 1 6 (H C D R 1)、配列番号 2 1 7 (H C D R 2) 及び配列番号 2 1 8 (H C D R 3)；

x i) 配列番号 2 3 0 (L C D R 1)、配列番号 2 3 1 (L C D R 2)、配列番号 2 3 2 (L C D R 3)、配列番号 2 3 6 (H C D R 1)、配列番号 2 3 7 (H C D R 2) 及び配列番号 2 3 8 (H C D R 3)；

x i i) 配列番号 2 5 0 (L C D R 1)、配列番号 2 5 1 (L C D R 2)、配列番号 2

50

5 2 (L C D R 3)、配列番号 2 5 6 (H C D R 1)、配列番号 2 5 7 (H C D R 2) 及び配列番号 2 5 8 (H C D R 3)；

x i i i) 配列番号 2 7 0 (L C D R 1)、配列番号 2 7 1 (L C D R 2)、配列番号 2 7 2 (L C D R 3)、配列番号 2 7 6 (H C D R 1)、配列番号 2 7 7 (H C D R 2) 及び配列番号 2 7 8 (H C D R 3)；

x i v) 配列番号 2 9 0 (L C D R 1)、配列番号 2 9 1 (L C D R 2)、配列番号 2 9 2 (L C D R 3)、配列番号 2 9 6 (H C D R 1)、配列番号 2 9 7 (H C D R 2) 及び配列番号 2 9 8 (H C D R 3)；及び

x v) 配列番号 2 1 9 0 (L C D R 1)、配列番号 2 1 9 1 (L C D R 2)、配列番号 2 1 9 2 (L C D R 3)、配列番号 2 1 9 6 (H C D R 1)、配列番号 2 1 9 7 (H C D R 2) 及び配列番号 2 1 9 8 (H C D R 3)

から選択される C D R 配列の組を含む。

【 0 0 8 5 】

様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質又は抗原結合タンパク質の抗 T R E M 1 抗原結合部分は、

i) 配列番号 3 0 (L C D R 1)、配列番号 3 1 (L C D R 2)、配列番号 3 2 (L C D R 3)、配列番号 3 6 (H C D R 1)、配列番号 3 7 (H C D R 2) 及び配列番号 3 8 (H C D R 3)；

i i) 配列番号 5 0 (L C D R 1)、配列番号 5 1 (L C D R 2)、配列番号 5 2 (L C D R 3)、配列番号 5 6 (H C D R 1)、配列番号 5 7 (H C D R 2) 及び配列番号 5 8 (H C D R 3)；

i i i) 配列番号 7 0 (L C D R 1)、配列番号 7 1 (L C D R 2)、配列番号 7 2 (L C D R 3)、配列番号 7 6 (H C D R 1)、配列番号 7 7 (H C D R 2) 及び配列番号 7 8 (H C D R 3)；

i v) 配列番号 1 1 0 (L C D R 1)、配列番号 1 1 1 (L C D R 2)、配列番号 1 1 2 (L C D R 3)、配列番号 1 1 6 (H C D R 1)、配列番号 1 1 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 1 8 (H C D R 3)；

v) 配列番号 1 5 0 (L C D R 1)、配列番号 1 5 1 (L C D R 2)、配列番号 1 5 2 (L C D R 3)、配列番号 1 5 6 (H C D R 1)、配列番号 1 5 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 5 8 (H C D R 3)；

v i) 配列番号 1 7 0 (L C D R 1)、配列番号 1 7 1 (L C D R 2)、配列番号 1 7 2 (L C D R 3)、配列番号 1 7 6 (H C D R 1)、配列番号 1 7 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 7 8 (H C D R 3)；及び

v i i) 配列番号 2 9 0 (L C D R 1)、配列番号 2 9 1 (L C D R 2)、配列番号 2 9 2 (L C D R 3)、配列番号 2 9 6 (H C D R 1)、配列番号 2 9 7 (H C D R 2) 及び配列番号 2 9 8 (H C D R 3)

から選択される C D R 配列の組を含む。

【 0 0 8 6 】

様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質又は抗原結合タンパク質の抗 T R E M 1 抗原結合部分は、配列番号 5 0 (L C D R 1)、配列番号 5 1 (L C D R 2)、配列番号 5 2 (L C D R 3)、配列番号 5 6 (H C D R 1)、配列番号 5 7 (H C D R 2) 及び配列番号 5 8 (H C D R 3)；及び配列番号 1 5 0 (L C D R 1)、配列番号 1 5 1 (L C D R 2)、配列番号 1 5 2 (L C D R 3)、配列番号 1 5 6 (H C D R 1)、配列番号 1 5 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 5 8 (H C D R 3) から選択される C D R 配列の組を含む。

【 0 0 8 7 】

様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質又は抗原結合タンパク質の抗 T R E M 1 抗原結合部分は、

a . 軽鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号 4 1、6 1、8 1、1 0 1、1 2 1、1 4 1、1 6 1、1 8 1、2 0 1、

10

20

30

40

50

221、241、261、281、301及び2185から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一である配列；

i i . 配列番号39、59、79、99、119、139、159、179、199、219、239、259、279、299及び2183から選択される核酸配列と少なくとも80%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列；

i i i . 配列番号39、59、79、99、119、139、159、179、199、219、239、259、279、299及び2183から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン；及び

10

b . 重鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号42、62、82、102、122、142、162、182、202、222、242、262、282、302及び2186から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一である配列；

i i . 配列番号40、60、80、100、120、140、160、180、200、220、240、260、280、300及び2184から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列；

i i i . 配列番号40、60、80、100、120、140、160、180、200、220、240、260、280、300及び2184から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

20

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【0088】

様々な実施形態において、抗TREM-1抗原結合タンパク質又は抗原結合タンパク質の抗TREM1抗原結合部分は、

a . 軽鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号41、61、81、121、161、181及び301から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一である配列；

i i . 配列番号39、59、79、119、159、179及び299から選択される核酸配列と少なくとも80%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列；

30

i i i . 配列番号39、59、79、119、159、179及び299から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン；及び

b . 重鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号42、62、82、122、162、182及び302から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一である配列；

i i . 配列番号40、60、80、120、160、180及び300から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列；

40

i i i . 配列番号40、60、80、120、160、180及び300から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【0089】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗TREM-1抗原結合部分は、

a . 軽鎖可変ドメインであって、

50

i . 配列番号 6 1 及び 1 2 1 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 8 0 % 同一である配列 ;

i i . 配列番号 5 9 及び 1 1 9 から選択される核酸配列と少なくとも 8 0 % 同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列 ;

i i i . 配列番号 5 9 及び 1 1 9 から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン ; 及び

b . 重鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号 6 2 及び 1 2 2 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 8 0 % 同一である配列 ;

i i . 配列番号 6 0 及び 1 2 0 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 8 0 % 同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列 ;

i i i . 配列番号 6 0 及び 1 2 0 から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【 0 0 9 0 】

様々な実施形態において、アミノ酸配列は、配列番号 4 1、6 1、8 1、1 0 1、1 2 1、1 4 1、1 6 1、1 8 1、2 0 1、2 2 1、2 4 1、2 6 1、2 8 1、3 0 1 及び 2 1 8 5 及び配列番号 4 2、6 2、8 2、1 0 2、1 2 2、1 4 2、1 6 2、1 8 2、2 0 2、2 2 2、2 4 2、2 6 2、2 8 2、3 0 2 及び 2 1 8 6 と 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % 又は 9 9 % 同一であり得る。

【 0 0 9 1 】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合部分は、配列番号 4 2、6 2、8 2、1 0 2、1 2 2、1 4 2、1 6 2、1 8 2、2 0 2、2 2 2、2 4 2、2 6 2、2 8 2、3 0 2 及び 2 1 8 6 から選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 9 2 】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合部分は、配列番号 4 1、6 1、8 1、1 0 1、1 2 1、1 4 1、1 6 1、1 8 1、2 0 1、2 2 1、2 4 1、2 6 1、2 8 1、3 0 1 及び 2 1 8 5 から選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 9 3 】

様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質又は抗原結合タンパク質の抗 T R E M 1 抗原結合部分は、

i) 配列番号 4 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 4 2 に記載される重鎖可変ドメイン ;

i i) 配列番号 6 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 6 2 に記載される重鎖可変ドメイン ;

i i i) 配列番号 8 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 8 2 に記載される重鎖可変ドメイン ;

i v) 配列番号 1 0 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 0 2 に記載される重鎖可変ドメイン ;

v) 配列番号 1 2 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 2 2 に記載される重鎖可変ドメイン ;

v i) 配列番号 1 4 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 4 2 に記載される重鎖可変ドメイン ;

10

20

30

40

50

v i i) 配列番号 1 6 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 6 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

v i i i) 配列番号 1 8 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 8 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

i x) 配列番号 2 0 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 2 0 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

x) 配列番号 2 2 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 2 2 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

x i) 配列番号 2 4 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 2 4 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

x i i) 配列番号 2 6 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 2 6 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

x i i i) 配列番号 2 8 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 2 8 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

x i v) 配列番号 3 0 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 3 0 2 に記載される重鎖可変ドメイン；又は

x v) 配列番号 2 1 8 5 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 2 1 8 6 に記載される重鎖可変ドメインを含む。

【 0 0 9 4 】

様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質又は抗原結合タンパク質の抗 T R E M 1 抗原結合部分は、

i) 配列番号 4 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 4 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

i i) 配列番号 6 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 6 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

i i i) 配列番号 8 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 8 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

i v) 配列番号 1 2 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 2 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

v) 配列番号 1 6 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 6 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

v i) 配列番号 1 8 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 8 2 に記載される重鎖可変ドメイン；又は

v i i) 配列番号 3 0 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 3 0 2 に記載される重鎖可変ドメインを含む。

【 0 0 9 5 】

様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質又は抗原結合タンパク質の抗 T R E M 1 抗原結合部分は、配列番号 6 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 6 2 に記載される重鎖可変ドメイン；又は配列番号 1 2 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 2 2 に記載される重鎖可変ドメインを含む。

【 0 0 9 6 】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号 8 6 4、8 6 6、8 6 8、8 7 0、8 7 2、8 7 4、8 7 6、8 7 8、8 8 0、8 8 2、8 8 4、8 8 6、8 8 8、8 9 0、8 9 2、8 9 4、8 9 6、8 9 8、9 0 0、9 0 2、9 0 4、9 0 6、9 0 8、9 1 0、9 1 2、9 1 4、9 1 6、9 1 8、9 2 0、9 2 2、9 2 4、9 2 6、9 2 8、9 3 0、9 3 2、9 3 4、9 3 6、9 3 8、9 4 0、9 4 2、9 4 4、9 4 6、9 4 8、9 5 0、9 5 2、9 5 4、9 5 6、9 5 8、9 6 0、9 6 2、9 6 4、9 6 6、9 6 8、9 7 0、9 7 2、9 7 4、9 7 6、9 7 8、9 8 0、9 8 2、9 8 4、9 8 6、9 8 8、

10

20

30

40

50

990、992、994、996、998、1000、1002、1004、1006、1008、1010、1012、1014、1016、1018、1020、1022、1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、1048、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1072、1074、1076、1078、1080、1082、1084及び1086のいずれか1つに記載される軽鎖アミノ酸配列を有する。

【0097】

様々な実施形態において、TREM-1抗体又は抗原結合タンパク質は、配列番号2543、2544、2545、2546、2547、2548、2549、2550、2551、2552、2553、2554、2555、2556、2557、2558、2559、2560、2561、2562、2563、2564、2565、2566、2567、2568、2569、2570、2571、2572、2573、2574、2575、2576、2577、2578、2579、2580、2581、2582、2583、2584、2585、2586、2587、2588、2589、2590、2591、2592、2593、2594、2595、2596、2597、2598、2599、2600、2601、2602、2603、2604、2605のいずれか1つに記載される軽鎖アミノ酸配列を有する。

10

【0098】

様々な実施形態において、TREM-1抗体又は抗原結合タンパク質は、配列番号2233、2235、2237、2239、2241、2243、2245、2247、2249、2251、2253、2255、2257、2259、2261、2263、2265、2267、2269、2271、2273、2275、2277、2279、2281、2283、2285、2287、2289、2291、2293、2295、2297、2299、2301、2303、2305、2307、2309、2311、2313、2315、2317、2319、2321、2323、2325、2327、2329、2331、2333、2335、2337、2339、2341、2343、2345、2347、2349、2351、2353、2355及び2357のいずれか1つに記載される軽鎖アミノ酸配列を有する。

20

【0099】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号863、865、867、869、871、873、875、877、879、881、883、885、887、889、891、893、895、897、899、901、903、905、907、909、911、913、915、917、919、921、923、925、927、929、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1007、1009、1011、1013、1015、1017、1019、1021、1023、1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、1049、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1073、1075、1077、1079、1081、1083及び1085のいずれか1つに記載される重鎖アミノ酸配列を有する。

30

40

【0100】

様々な実施形態において、TREM-1抗体又は抗原結合タンパク質は、配列番号1883、1885、1887、1889、1891、1893、1895、1897、1899、1901、1903、1905、1907、1909、1911、1913、1915、1917、1919、1921、1923、1925、1927、1929、1931、1933、1935、1937、1939、1941、1943、1945、19

50

47、1949、1951、1953、1955、1957、1959、1961、1963、1965、1967、1969、1971、1973、1975、1977、1979、1981、1983、1985、1987、1989、1991、1993、1995、1997、1999、2001、2003、2005及び2007のいずれか1つに記載される重鎖アミノ酸配列を有する。

【0101】

様々な実施形態において、TREM-1抗体又は抗原結合タンパク質は、配列番号2011、2013、2015、2017、2019、2021、2026、2025、2027、2029、2031、2033、2035、2037、2039、2041、2043、2045、2047、2049、2051、2053、2055、2057、2059、2061、2063、2065、2067、2069、2071、2073、2075、2077、2079、2081、2083、2085、2087、2089、2091、2093、2095、2097、2099、2101、2103、2105、2107、2109、2111、2113、2115、2117、2119、2121、2123、2125、2127、2129、2131、2133及び2135のいずれか1つに記載される重鎖アミノ酸配列を有する。

10

【0102】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号2726～2776のいずれか1つに記載される重鎖アミノ酸配列を有する。

【0103】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号863、865、867、869、871、873、875、877、879、881、883、885、887、889、891、893、895、897、899、901、903、905、907、909、911、913、915、917、919、921、923、925、927、929、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1007、1009、1011、1013、1015、1017、1019、1021、1023、1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、1049、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1073、1075、1077、1079、1081、1083及び1085のいずれか1つに記載される重鎖アミノ酸配列並びに配列番号864、866、868、870、872、874、876、878、880、882、884、886、888、890、892、894、896、898、900、902、904、906、908、910、912、914、916、918、920、922、924、926、928、930、932、934、936、938、940、942、944、946、948、950、952、954、956、958、960、962、964、966、968、970、972、974、976、978、980、982、984、986、988、990、992、994、996、998、1000、1002、1004、1006、1008、1010、1012、1014、1016、1018、1020、1022、1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、1048、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1072、1074、1076、1078、1080、1082、1084及び1086に記載される対応する軽鎖アミノ酸配列を有する。

30

40

【0104】

様々な実施形態において、TREM-1抗体又は抗原結合タンパク質は、配列番号1883、1885、1887、1889、1891、1893、1895、1897、18

50

99、1901、1903、1905、1907、1909、1911、1913、1915、1917、1919、1921、1923、1925、1927、1929、1931、1933、1935、1937、1939、1941、1943、1945、1947、1949、1951、1953、1955、1957、1959、1961、1963、1965、1967、1969、1971、1973、1975、1977、1979、1981、1983、1985、1987、1989、1991、1993、1995、1997、1999、2001、2003、2005及び2007のいずれか1つに記載される重鎖アミノ酸配列並びに配列番号2543、2544、2545、2546、2547、2548、2549、2550、2551、2552、2553、2554、2555、2556、2557、2558、2559、2560、2561、2562、2563、2564、2565、2566、2567、2568、2569、2570、2571、2572、2573、2574、2575、2576、2577、2578、2579、2580、2581、2582、2583、2584、2585、2586、2587、2588、2589、2590、2591、2592、2593、2594、2595、2596、2597、2598、2599、2600、2601、2602、2603、2604及び2605に記載される対応する軽鎖アミノ酸配列を有する。

【0105】

様々な実施形態において、TREM-1抗体又は抗原結合タンパク質は、配列番号2011、2013、2015、2017、2019、2021、2026、2025、2027、2029、2031、2033、2035、2037、2039、2041、2043、2045、2047、2049、2051、2053、2055、2057、2059、2061、2063、2065、2067、2069、2071、2073、2075、2077、2079、2081、2083、2085、2087、2089、2091、2093、2095、2097、2099、2101、2103、2105、2107、2109、2111、2113、2115、2117、2119、2121、2123、2125、2127、2129、2131、2133及び2135のいずれか1つに記載される重鎖アミノ酸配列並びに配列番号2233、2235、2237、2239、2241、2243、2245、2247、2249、2251、2253、2255、2257、2259、2261、2263、2265、2267、2269、2271、2273、2275、2277、2279、2281、2283、2285、2287、2289、2291、2293、2295、2297、2299、2301、2303、2305、2307、2309、2311、2313、2315、2317、2319、2321、2323、2325、2327、2329、2331、2333、2335、2337、2339、2341、2343、2345、2347、2349、2351、2353、2355及び2357に記載される対応する軽鎖アミノ酸配列を有する。

【0106】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、表10、表11、表13A若しくは表13Bに記載される重鎖及び軽鎖対を有するか、又は表16、表17若しくは表22に記載される重鎖抗原結合タンパク質を用いる。

【0107】

特定の抗原結合タンパク質重鎖及び軽鎖の核酸配列は、配列番号303～526(2価)及び配列番号527～862(1価)に記載される。TREM-1変異体抗体重鎖可変領域の核酸配列は、配列番号1884、1886、1888、1890、1892、1894、1896、1898、1900、1902、1904、1906、1908、1910、1912、1914、1916、1918、1920、1922、1924、1926、1928、1930、1932、1934、1936、1938、1940、1942、1944、1946、1948、1950、1952、1954、1956、1958、1960、1962、1964、1966、1968、1970、1972、1974、1976、1978、1980、1982、1984、1986、1988、1990、1992、1994、1996、1998、2000、2002、2004、200

06及び2008に記載され、配列番号2012、2014、2016、2018、2020、2022、2024、2026、2028、2030、2032、2034、2036、2038、2040、2042、2044、2046、2048、2050、2052、2054、2056、2058、2060、2062、2064、2066、2068、2070、2072、2074、2076、2078、2080、2082、2084、2086、2088、2090、2092、2094、2096、2098、2100、2102、2104、2106、2108、2110、2112、2114、2116、2118、2120、2122、2124、2126、2128、2130、2132、2134及び2136にも記載され；TREM-1変異体抗体軽鎖可変領域ヌクレオチド配列は、配列番号2606、2607、2608、2609、2610、2611、2612、2613、2614、2615、2616、2617、2618、2619、2620、2621、2622、2623、2624、2625、2626、2627、2628、2629、2630、2631、2632、2633、2634、2635、2636、2637、2638、2639、2640、2641、2642、2643、2644、2645、2646、2647、2648、2649、2650、2651、2652、2653、2654、2655、2656、2657、2658、2659、2660、2661、2662、2663、2664、2665、2666、2667、2668に記載され、配列番号2234、2236、2238、2240、2242、2244、2246、2248、2250、2252、2254、2256、2258、2260、2262、2264、2266、2268、2270、2272、2274、2276、2278、2280、2282、2284、2286、2288、2290、2292、2294、2296、2298、2300、2302、2304、2306、2308、2310、2312、2314、2316、2318、2320、2322、2324、2326、2328、2330、2332、2334、2336、2338、2340、2342、2344、2346、2348、2350、2352、2354、2356及び2358に記載される。

【0108】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合タンパク質の1つ以上の重鎖フレームワークアミノ酸は、別のヒト抗体アミノ酸配列からの対応するアミノ酸で置換される。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質の1つ以上の軽鎖フレームワークアミノ酸は、別のヒト抗体アミノ酸配列からの対応するアミノ酸で置換される。

【0109】

様々な実施形態において、抗TREM-1抗原結合タンパク質は、前記軽鎖可変領域に結合されたヒト軽鎖定常領域をさらに含む。

【0110】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、2つの軽鎖及び2つの重鎖を含み、各重鎖は、重鎖のC末端に結合されたIL-10部分を含み；各重鎖IL-10部分抗原結合タンパク質は、配列番号863、865、867、869、871、873、875、877、879、881、883、885、887、889、891、893、895、897、899、901、903、905、907、909、911、913、915、917、919、921、923、925、927、929、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1007、1009、1011、1013、1015、1017、1019、1021、1023、1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、1049、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1073、1075、1077、1079、1081、1083及び1085から選択され

る配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含み；及び各軽鎖は、配列番号864、866、868、870、872、874、876、878、880、882、884、886、888、890、892、894、896、898、900、902、904、906、908、910、912、914、916、918、920、922、924、926、928、930、932、934、936、938、940、942、944、946、948、950、952、954、956、958、960、962、964、966、968、970、972、974、976、978、980、982、984、986、988、990、992、994、996、998、1000、1002、1004、1006、1008、1010、1012、1014、1016、1018、1020、1022、1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、1048、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1072、1074、1076、1078、1080、1082、1084及び1086から選択される配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む。

10

【0111】

様々な実施形態において、TREM-1抗体重鎖及び/又は軽鎖可変領域の変位体が本明細書において提供される。TREM-1抗体重鎖可変領域変異体配列は、配列番号1883、1885、1887、1889、1891、1893、1895、1897、1899、1901、1903、1905、1907、1909、1911、1913、1915、1917、1919、1921、1923、1925、1927、1929、1931、1933、1935、1937、1939、1941、1943、1945、1947、1949、1951、1953、1955、1957、1959、1961、1963、1965、1967、1969、1971、1973、1975、1977、1979、1981、1983、1985、1987、1989、1991、1993、1995、1997、1999、2001、2003、2005、2007、2011、2013、2015、2017、2019、2021、2026、2025、2027、2029、2031、2033、2035、2037、2039、2041、2043、2045、2047、2049、2051、2053、2055、2057、2059、2061、2063、2065、2067、2069、2071、2073、2075、2077、2079、2081、2083、2085、2087、2089、2091、2093、2095、2097、2099、2101、2103、2105、2107、2109、2111、2113、2115、2117、2119、2121、2123、2125、2127、2129、2131、2133、2135、2726～2776及び表10、表11、表13A、表13B及び表22に記載される。

20

30

【0112】

TREM-1抗体軽鎖可変領域変異体配列は、配列番号2543、2544、2545、2546、2547、2548、2549、2550、2551、2552、2553、2554、2555、2556、2557、2558、2559、2560、2561、2562、2563、2564、2565、2566、2567、2568、2569、2570、2571、2572、2573、2574、2575、2576、2577、2578、2579、2580、2581、2582、2583、2584、2585、2586、2587、2588、2589、2590、2591、2592、2593、2594、2595、2596、2597、2598、2599、2600、2601、2602、2603、2604、2605、2233、2235、2237、2239、2241、2243、2245、2247、2249、2251、2253、2255、2257、2259、2261、2263、2265、2267、2269、2271、2273、2275、2277、2279、2281、2283、2285、2287、2289、2291、2293、2295、2297、2299、2301、2303、2305、2307、2309、2311、2313、2315、2317、2319

40

50

、 2 3 2 1、 2 3 2 3、 2 3 2 5、 2 3 2 7、 2 3 2 9、 2 3 3 1、 2 3 3 3、 2 3 3 5
 、 2 3 3 7、 2 3 3 9、 2 3 4 1、 2 3 4 3、 2 3 4 5、 2 3 4 7、 2 3 4 9、 2 3 5 1
 、 2 3 5 3、 2 3 5 5、 2 3 5 7、 表 1 0 及び表 1 1 に記載される。T R E M - 1 - I L
 - 1 0 抗原結合タンパク質は、本明細書に開示される T R E M - 1 抗体変異体重鎖及び/
 又は軽鎖配列を含むと考えられる。

【 0 1 1 3 】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、1 価であり得る。様々な実施形態に
 おいて、重鎖 I L - 1 0 部分抗原結合タンパク質は、配列番号 1 0 8 7、1 0 9 0、1 0
 9 3、1 0 9 6、1 1 0 5、1 1 0 8、1 1 1 1、1 1 1 4、1 1 1 7、1 1 2 3、1 1
 2 6、1 1 2 9、1 1 3 2、1 1 3 8、1 1 4 1、1 1 4 7、1 1 5 0、1 1 5 3、1 1
 5 6、1 1 5 9、1 1 6 2、1 1 6 5、1 1 6 8、1 1 7 1、1 1 7 4、1 1 7 7、1 1
 8 0、1 1 8 3、1 1 8 6、1 1 8 9、1 1 9 2、1 1 9 5、1 1 9 8、1 2 0 1、1 2
 0 4、1 2 0 7、1 2 1 0、1 2 1 3、1 2 1 6、1 2 1 9、1 2 2 2、1 2 2 5、1 2
 2 8、1 2 3 1、1 2 3 7、1 2 4 0、1 2 4 3、1 2 4 6、1 2 5 2、1 2 5 5、1 2
 5 8、1 2 6 1、1 2 6 4、1 2 6 7、1 2 7 0、1 2 7 3、1 2 7 6、1 2 7 9、1 2
 8 5、1 2 8 8、1 2 9 4、1 2 9 7、1 3 0 0、1 3 0 3、1 3 0 9、1 3 1 2、1 3
 1 5、1 3 1 8、1 3 2 1、1 3 2 4、1 3 3 3、1 3 3 6、1 3 4 2、1 3 4 5、1 3
 4 8、1 3 5 1、1 3 5 4、1 3 5 7、1 3 6 0、1 3 6 3、1 3 6 6、1 3 6 9、1 3
 7 2、1 3 7 5、1 3 7 8、1 3 8 1、1 3 8 4、1 3 8 7、1 3 9 0、1 3 9 3、1 3
 9 6、1 3 9 9、1 4 0 2、1 4 0 8、1 4 1 1、1 4 1 4、1 4 1 7 及び 1 4 2 0 から
 選択される配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。様々な実施形態にお
 いて、軽鎖は、配列番号 1 0 8 8、1 0 9 1、1 0 9 4、1 0 9 7、1 1 0 6、1 1 0 9
 、 1 1 1 2、1 1 1 5、1 1 1 8、1 1 2 4、1 1 2 7、1 1 3 0、1 1 3 3、1 1 3 9
 、 1 1 4 2、1 1 4 8、1 1 5 1、1 1 5 4、1 1 5 7、1 1 6 0、1 1 6 3、1 1 6 6
 、 1 1 6 9、1 1 7 2、1 1 7 5、1 1 7 8、1 1 8 1、1 1 8 4、1 1 8 7、1 1 9 0
 、 1 1 9 3、1 1 9 6、1 1 9 9、1 2 0 2、1 2 0 5、1 2 0 8、1 2 1 1、1 2 1 4
 、 1 2 1 7、1 2 2 0、1 2 2 3、1 2 2 6、1 2 2 9、1 2 3 2、1 2 3 8、1 2 4 1
 、 1 2 4 4、1 2 4 7、1 2 5 3、1 2 5 6、1 2 5 9、1 2 6 2、1 2 6 5、1 2 6 8
 、 1 2 7 1、1 2 7 4、1 2 7 7、1 2 8 0、1 2 8 6、1 2 8 9、1 2 9 5、1 2 9 8
 、 1 3 0 1、1 3 0 4、1 3 1 0、1 3 1 3、1 3 1 6、1 3 1 9、1 3 2 2、1 3 2 5
 、 1 3 3 4、1 3 3 7、1 3 4 3、1 3 4 6、1 3 4 9、1 3 5 2、1 3 5 5、1 3 5 8
 、 1 3 6 1、1 3 6 4、1 3 6 7、1 3 7 0、1 3 7 3、1 3 7 6、1 3 7 9、1 3 8 2
 、 1 3 8 5、1 3 8 8、1 3 9 1、1 3 9 4、1 3 9 7、1 4 0 0、1 4 0 3、1 4 0 9
 、 1 4 1 2、1 4 1 5、1 4 1 8 及び 1 4 2 1 から選択される配列と少なくとも 9 0 % 同
 一であるアミノ酸配列を含む。様々な実施形態において、1 価抗原結合タンパク質は、例
 えば、配列番号 1 0 8 9、1 0 9 2、1 0 9 5、1 0 9 8、1 1 0 7、1 1 1 0、1 1 1
 3、1 1 1 6、1 1 1 9、1 1 2 5、1 1 2 8、1 1 3 1、1 1 3 4、1 1 4 0、1 1 4
 3、1 1 4 9、1 1 5 2、1 1 5 5、1 1 5 8、1 1 6 1、1 1 6 4、1 1 6 7、1 1 7
 0、1 1 7 3、1 1 7 6、1 1 7 9、1 1 8 2、1 1 8 5、1 1 8 8、1 1 9 1、1 1 9
 4、1 1 9 7、1 2 0 0、1 2 0 3、1 2 0 6、1 2 0 9、1 2 1 2、1 2 1 5、1 2 1
 8、1 2 2 1、1 2 2 4、1 2 2 7、1 2 3 0、1 2 3 3、1 2 3 9、1 2 4 2、1 2 4
 5、1 2 4 8、1 2 5 4、1 2 5 7、1 2 6 0、1 2 6 3、1 2 6 6、1 2 6 9、1 2 7
 2、1 2 7 5、1 2 7 8、1 2 8 1、1 2 8 7、1 2 9 0、1 2 9 6、1 2 9 9、1 3 0
 2、1 3 0 5、1 3 1 1、1 3 1 4、1 3 1 7、1 3 2 0、1 3 2 3、1 3 2 6、1 3 3
 5、1 3 3 8、1 3 4 4、1 3 4 7、1 3 5 0、1 3 5 3、1 3 5 6、1 3 5 9、1 3 6
 2、1 3 6 5、1 3 6 8、1 3 7 1、1 3 7 4、1 3 7 7、1 3 8 0、1 3 8 3、1 3 8
 6、1 3 8 9、1 3 9 2、1 3 9 5、1 3 9 8、1 4 0 1、1 4 0 4、1 4 1 0、1 4 1
 3、1 4 1 6、1 4 1 9 及び 1 4 2 2 に記載される F c 領域をさらに含む。1 価抗原結合
 タンパク質及び F c 領域は、表 1 3 B に記載されるように、組み立てられるか又は一致さ
 れ得る。

10

20

30

40

50

【0114】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、1つ又は2つの軽鎖及び1つは2つの重鎖を含み、各重鎖は、重鎖のC末端に結合されたIL-10部分を含み；各重鎖IL-10部分抗原結合タンパク質は、配列番号2137、2139、2141、2143、2145、2147、2149、2151、2153、2155、2157、2159、2161、2163、2165、2167、2169、2171、2173、2175、2177、2179、2181、2359、2361、2363、2365、2367、2369、2371、2373、2375、2377、2379、2381、2383、2385、2387、2389、2391、2393、2395、2397、2399、2401、2403、2405、2407、2409、2411、2143、2415、2417、2419、2421、2423、2425、2427、2429、2431、2433、2435、2437、2439、2441、2443、2445、2447、2449、2451、2453、2455、2457、2459、2461、2463、2465、2467、2469、2471、2473、2475、2477、2479、2481、2483、2485、2487、2489、2491、2493、2495、2497、2498、2499、2501、2503、2505、2507、2509、2511、2513、2515、2517、2519、2521、2523、2525、2527、2529、2531、2533、2535、2537、2539及び2726～2776から選択される配列並びに表16又は表17又は表21又は表22に記載されるような配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む。

【0115】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号2137、2139、2141、2143、2145、2147、2149、2151、2153、2155、2157、2159、2161、2163、2165、2167、2169、2171、2173、2175、2177、2179、2181、2359、2361、2363、2365、2367、2369、2371、2373、2375、2377、2379、2381、2383、2385、2387、2389、2391、2393、2395、2397、2399、2401、2403、2405、2407、2409、2411、2143、2415、2417、2419、2421、2423、2425、2427、2429、2431、2433、2435、2437、2439、2441、2443、2445、2447、2449、2451、2453、2455、2457、2459、2461、2463、2465、2467、2469、2471、2473、2475、2477、2479、2481、2483、2485、2487、2489、2491、2493、2495、2497、2498、2499、2501、2503、2505、2507、2509、2511、2513、2515、2517、2519、2521、2523、2525、2527、2529、2531、2533、2535、2537及び2539から選択されるアミノ酸配列を含む。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質の重鎖部分は、対応する軽鎖クローン、例えば抗体61B12（配列番号105、ただしシグナル配列を欠くもの、又は配列番号2552、TREM1__61B12.001__huIgGzSEFL2軽鎖、又は配列番号1042、1044、1046、1048、1052、1054）、又は配列番号2233～2358、表10又は表11に記載されるものと対形成する。

【0116】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号2726～2776のいずれか1つに記載される配列と少なくとも90%同一である重鎖アミノ酸配列を有する。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号2726～2776のいずれか1つに記載される重鎖アミノ酸配列を有する。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号2727～2732のいずれか1つに記載される重鎖アミノ酸配列を有する。様々な実施形態において、重鎖は、対応する軽鎖クローン、例えばクローン63F8.001について配列番号976又は配列番号2554（ただし、シグナル配列を欠く

）及び 6 4 D 7 . 0 0 1 について配列番号 9 9 2 又は配列番号 2 5 5 5（ただし、シグナル配列を欠く）と対形成する。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号 2 7 2 7 若しくは 2 7 2 8 の重鎖アミノ酸配列及び配列番号 9 7 6 若しくは配列番号 2 5 5 4 に記載される軽鎖アミノ酸配列又は本明細書に記載されるクローン 6 3 F 8 若しくは 6 3 F 8 . 0 0 1 について他の軽鎖配列を含む。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号 2 7 2 9、2 7 3 0、2 7 3 1 若しくは 2 7 3 2 の重鎖アミノ酸配列及び配列番号 9 9 2 若しくは配列番号 2 5 5 5 に記載される軽鎖アミノ酸配列又は本明細書に記載される 6 4 D 7 若しくは 6 4 D 7 . 0 0 1 について他の軽鎖配列を含む。

【 0 1 1 7 】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合部分は、T R E M - 1 への T R E M - 1 リガンドの結合を阻害する。 10

【 0 1 1 8 】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、抗原結合部分及び 1 つ又は 2 つの I L - 1 0 突然変異タンパク質部分を含み、ここで、

a . 抗原結合部分は、抗体又は抗体フラグメントであり、
b . 各 I L - 1 0 部分は、独立して、1 価又は 2 価であり、
c . 各 I L - 1 0 部分は、独立して、配列番号 2 と 9 0 % 同一である配列を有する 1 つ以上のヒト I L - 1 0 突然変異タンパク質から選択され、

d . 少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、抗原結合部分に共有結合され、
e . 抗原結合部分は、ヒト T R E M - 1 タンパク質への結合について、本明細書に記載される抗 T R E M - 1 抗原結合部分と競合する。 20

【 0 1 1 9 】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合部分は、ヒト抗体である。

【 0 1 2 0 】

本明細書に記載される抗原結合タンパク質の重鎖領域をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子、本明細書に記載される抗原結合タンパク質の軽鎖領域をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子及び抗原結合タンパク質の重鎖領域をコードするヌクレオチド配列を含み、本明細書に記載される抗原結合タンパク質の軽鎖領域をコードするヌクレオチド配列をさらに含む単離された核酸分子も提供される。

【 0 1 2 1 】

本開示は、核酸分子又は発現制御配列に動作可能に連結された本明細書に記載される抗原結合タンパク質をコードする分子を含む 1 つ又は複数の発現ベクターを提供する。 30

【 0 1 2 2 】

本明細書に記載される抗原結合タンパク質を含む核酸分子又は前記核酸を含むベクターを含む組み換え宿主細胞も想定される。様々な実施形態において、宿主細胞は、哺乳動物細胞である。様々な実施形態において、宿主細胞は、C H O 細胞である。本開示は、本明細書に記載される宿主細胞を使用して、抗原結合タンパク質を生成する方法であって、宿主細胞を培養し、前記抗体を回収することを含む方法を提供し、本方法によって生成される抗原結合タンパク質を提供する。

【 0 1 2 3 】

本開示は、本明細書に記載される抗原結合タンパク質及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物を想定している。本開示の I L - 1 0 突然変異タンパク質を含む医薬組成物も提供される。本開示の抗 T R E M - 1 抗体又は抗体フラグメントを含む医薬組成物がさらに提供される。医薬組成物が滅菌医薬組成物であると考えられる。 40

【 0 1 2 4 】

一態様において、本開示は、炎症性疾患の治療を、それを必要とする対象において行う方法であって、本明細書に記載される I L - 1 0 突然変異タンパク質又は I L - 1 0 突然変異タンパク質を含む組成物を投与することを含む方法を提供する。

【 0 1 2 5 】

関連する態様において、本開示は、炎症性疾患の治療を、それを必要とする対象におい 50

て行う方法であって、本明細書に記載される抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質又は本明細書に記載される抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質を含む組成物を投与することを含む方法を提供する。様々な実施形態において、本方法は、抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質と組み合わせて、本明細書に記載される抗 I L - 1 0 突然変異タンパク質を投与することを含む。様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質及び I L - 1 0 突然変異タンパク質は、同じ組成物中で又は異なる組成物中で投与される。

【 0 1 2 6 】

炎症性疾患の治療を、それを必要とする対象において行う方法であって、本明細書に記載される抗原結合タンパク質又は本明細書に記載される抗原結合タンパク質を含む組成物を投与することを含む方法も提供される。様々な実施形態において、炎症性疾患の治療を、それを必要とする対象において行う方法であって、本明細書に記載される抗 T R E M - 1 / I L - 1 0 突然変異タンパク質抗原結合タンパク質又は前記抗原結合タンパク質を含む組成物を投与することを含む方法が提供される。

10

【 0 1 2 7 】

様々な実施形態において、炎症性疾患は、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、クローン病、過敏性腸症候群、関節リウマチ、乾癬、乾癬性関節炎又はサイトカイン放出症候群 (C R S) からなる群から選択される。一実施形態において、炎症性疾患は、炎症性腸疾患である。一実施形態において、炎症性疾患は、潰瘍性大腸炎である。一実施形態において、炎症性疾患は、クローン病である。一実施形態において、炎症性疾患は、過敏性腸症候群である。一実施形態において、炎症性疾患は、関節リウマチである。一実施形態において、炎症性疾患は、乾癬である。一実施形態において、炎症性疾患は、乾癬性関節炎である。一実施形態において、炎症性疾患は、サイトカイン放出症候群である。

20

【 0 1 2 8 】

様々な実施形態において、I L - 1 0 突然変異タンパク質による治療は、w t I L - 1 0 と比較して、骨髄細胞内の T N F - 産生の抑制を低下させ、C D 8 + T 細胞刺激のレベルを低下させ、且つ / 又は B 細胞刺激のレベルを低下させる。様々な実施形態において、I L - 1 0 突然変異タンパク質抗原結合タンパク質、例えば抗 T R E M - 1 / I L - 1 0 突然変異タンパク質抗原結合タンパク質による治療は、骨髄細胞内の T N F - 産生を抑制する。様々な実施形態において、I L - 1 0 突然変異タンパク質抗原結合タンパク質、例えば抗 T R E M - 1 / I L - 1 0 突然変異タンパク質抗原結合タンパク質による治療は、C D 8 + T 細胞及び B 細胞活性化を低下させながら、骨髄細胞内の T N F - 産生を抑制する。様々な実施形態において、治療は、対象における C D 8 + T 細胞刺激及び / 又は B 細胞刺激を伴わずに、骨髄細胞内の T N F - 産生を阻害する。様々な実施形態において、治療は、対象における T N F - のレベルを低下させる。

30

【 0 1 2 9 】

様々な実施形態において、治療は、静脈内に又は皮下に投与される。様々な実施形態において、治療は、1 週間に 1 回、2 週間に 1 回、3 週間に 1 回、4 週間に 1 回、月 1 回、3 か月に 1 回又は 6 か月に 1 回投与される。

【 0 1 3 0 】

様々な実施形態において、本方法は、1 つ又は 2 つのさらなる治療剤を投与することを含む。様々な実施形態において、さらなる治療剤は、コルチコステロイド、N S A I D s、鎮痛薬、免疫抑制剤、抗炎症薬、T N F 阻害剤、I L - 1 2 / I L - 2 3 阻害剤、I L - 1 7 及び I F N - から選択される。

40

【 0 1 3 1 】

本開示は、炎症性疾患を治療するのに使用するための、本明細書に記載される I L - 1 0 突然変異タンパク質を含む組成物も提供する。特定の実施形態において、本開示は、炎症性疾患を治療するための薬剤の調製における、本明細書に記載される I L - 1 0 突然変異タンパク質を含む組成物の使用を提供する。

【 0 1 3 2 】

炎症性疾患を治療するのに使用するための、本明細書に記載される抗 T R E M - 1 抗体

50

又は抗原結合フラグメントを含む組成物がさらに想定される。特定の実施形態において、本開示は、炎症性疾患を治療するための薬剤の調製における、本明細書に記載される抗 T R E M - 1 抗体又はその抗原結合フラグメントを含む組成物の使用を提供する。

【 0 1 3 3 】

炎症性疾患を治療するのに使用するための、本明細書に記載される抗 I L - 1 0 突然変異タンパク質と組み合わせた本明細書に記載される抗 T R E M - 1 抗体又は抗原結合フラグメントを含む組成物も想定される。様々な実施形態において、本開示は、炎症性疾患を治療するための薬剤の調製における、本明細書に記載される抗 I L - 1 0 突然変異タンパク質と組み合わせた本明細書に記載される抗 T R E M - 1 抗体又は抗原結合フラグメントを含む組成物の使用を提供する。

10

【 0 1 3 4 】

炎症性疾患を治療するのに使用するための、本明細書に記載される抗原結合タンパク質、例えば抗 T R E M - 1 / I L - 1 0 突然変異タンパク質抗原結合タンパク質を含む組成物も想定される。炎症性疾患を治療するための薬剤の調製における、本明細書に記載される抗原結合タンパク質、例えば抗 T R E M - 1 / I L - 1 0 突然変異タンパク質抗原結合タンパク質を含む組成物の使用がさらに想定される。

【 0 1 3 5 】

様々な実施形態において、炎症性疾患は、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、クローン病、過敏性腸症候群、関節リウマチ、乾癬、乾癬性関節炎又はサイトカイン放出症候群 (C R S) である。一実施形態において、炎症性疾患は、潰瘍性大腸炎である。一実施形態において、炎症性疾患は、クローン病である。一実施形態において、炎症性疾患は、過敏性腸症候群である。一実施形態において、炎症性疾患は、関節リウマチである。一実施形態において、炎症性疾患は、乾癬である。一実施形態において、炎症性疾患は、乾癬性関節炎である。一実施形態において、炎症性疾患は、サイトカイン放出症候群である。

20

【 0 1 3 6 】

本明細書に記載される各特徴若しくは実施形態又は組合せは、本発明の態様のいずれかの非限定的な、例示的な例であり、したがって、本明細書に記載される任意の他の特徴若しくは実施形態又は組合せと組み合わせることが可能であると意図されることが理解される。例えば、特徴が「一実施形態」、「ある実施形態」、「特定の実施形態」、「さらなる実施形態」、「特定の例示的な実施形態」及び/又は「他の実施形態」などの用語を用いて記載される場合、これらのタイプの実施形態のそれぞれは、あらゆる可能な組合せを列挙する必要なく、本明細書に記載される任意の他の特徴又は特徴の組合せと組み合わせることが意図される特徴の非限定的な例である。このような特徴又は特徴の組合せは、本発明の態様のいずれかに適用される。範囲内に含まれる値の例が開示される場合、これらの例のいずれも、範囲の可能な端点として考えられ、このような端点の間のあらゆる数値が想定され、上端点及び下端点のあらゆる組合せが想定される。

30

【 0 1 3 7 】

本明細書における見出しは、読者の便宜のためのものであり、限定的であることは意図されていない。本発明のさらなる態様、実施形態及び変形形態は、詳細な説明及び/又は図面及び/又は特許請求の範囲から明らかになるであろう。

40

【 図面の簡単な説明 】

【 0 1 3 8 】

【 図 1 A 】 2 価及び 1 価抗 T R E M 1 m A b / I L - 1 0 突然変異タンパク質抗原結合タンパク質の例示的な概略図を示す。

【 図 1 B 】 2 価及び 1 価抗 T R E M 1 m A b / I L - 1 0 突然変異タンパク質抗原結合タンパク質の例示的な概略図を示す。

【 図 1 C 】 2 価及び 1 価抗 T R E M 1 m A b / I L - 1 0 突然変異タンパク質抗原結合タンパク質の例示的な概略図を示す。

【 図 1 D 】 抗原結合タンパク質への I L - 1 0 突然変異タンパク質の結合の位置を示す。

【 図 2 】 2 価及び 1 価 T R E M - 1 結合が両方とも単球活性化の I L - 1 0 突然変異タン

50

パク質抑制を有意に促進したことを示す。

【図3A】抗TREM-1 mAb / IL-10突然変異タンパク質抗原結合タンパク質がCD8+ T細胞(図3A)及びB細胞(図3B)活性化を刺激しなかったことを示す。

【図3B】抗TREM-1 mAb / IL-10突然変異タンパク質抗原結合タンパク質がCD8+ T細胞(図3A)及びB細胞(図3B)活性化を刺激しなかったことを示す。

【図4A】TREM-1結合が様々な融合タンパク質構築物についての単球活性化のIL-10突然変異タンパク質抑制を有意に促進したことを示す。

【図4B】TREM-1結合が様々な融合タンパク質構築物についての単球活性化のIL-10突然変異タンパク質抑制を有意に促進したことを示す。

【図4C】TREM-1結合が様々な融合タンパク質構築物についての単球活性化のIL-10突然変異タンパク質抑制を有意に促進したことを示す。 10

【図4D】TREM-1結合が様々な融合タンパク質構築物についての単球活性化のIL-10突然変異タンパク質抑制を有意に促進したことを示す。

【図4E】TREM-1結合が様々な融合タンパク質構築物についての単球活性化のIL-10突然変異タンパク質抑制を有意に促進したことを示す。

【図4F】TREM-1結合が様々な融合タンパク質構築物についての単球活性化のIL-10突然変異タンパク質抑制を有意に促進したことを示す。

【図4G】TREM-1結合が様々な融合タンパク質構築物についての単球活性化のIL-10突然変異タンパク質抑制を有意に促進したことを示す。

【図4H】TREM-1結合が様々な融合タンパク質構築物についての単球活性化のIL-10突然変異タンパク質抑制を有意に促進したことを示す。 20

【図5A】TNFレベルによって実証される際の、ヒト(図5A)又はマウス(図5B)単球におけるIL-10突然変異タンパク質効力が、抗体又はIL-10突然変異タンパク質単独と比較して、融合タンパク質のTREM-1結合によって改善されることを示す。

【図5B】TNFレベルによって実証される際の、ヒト(図5A)又はマウス(図5B)単球におけるIL-10突然変異タンパク質効力が、抗体又はIL-10突然変異タンパク質単独と比較して、融合タンパク質のTREM-1結合によって改善されることを示す。

【図6A】TNF放出によって測定した際の、ヒト(図6C~6D)又はカニクイザル(図6A~6B)PBMCにおける抗ヒトTREM-1抗体によるリガンド(PGLYRP1/PGN)媒介性TREM-1シグナル伝達の阻害を示す。 30

【図6B】TNF放出によって測定した際の、ヒト(図6C~6D)又はカニクイザル(図6A~6B)PBMCにおける抗ヒトTREM-1抗体によるリガンド(PGLYRP1/PGN)媒介性TREM-1シグナル伝達の阻害を示す。

【図6C】TNF放出によって測定した際の、ヒト(図6C~6D)又はカニクイザル(図6A~6B)PBMCにおける抗ヒトTREM-1抗体によるリガンド(PGLYRP1/PGN)媒介性TREM-1シグナル伝達の阻害を示す。

【図6D】TNF放出によって測定した際の、ヒト(図6C~6D)又はカニクイザル(図6A~6B)PBMCにおける抗ヒトTREM-1抗体によるリガンド(PGLYRP1/PGN)媒介性TREM-1シグナル伝達の阻害を示す。 40

【図7】脾臓チロシンナーゼ(pSYK)のリン酸化によって測定した際の、ヒトTREM-1/DAP12を過剰発現する細胞株におけるリガンド(PGLYRP1/PGN)媒介性シグナル伝達の抗ヒトTREM-1 Fabによる阻害を示す。

【発明を実施するための形態】

【0139】

本開示は、IL-10突然変異タンパク質及びIL-10突然変異タンパク質を含む抗原結合タンパク質を提供する。本開示に係る抗原結合タンパク質/融合タンパク質は、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎又は関節リウマチなどの炎症性疾患を治療するのに有用である、免疫細胞に対する改善された標的化並びに細胞活性及びサイトカイン応答 50

の調節を示す。したがって、骨髄細胞における I L - 1 0 阻害活性の標的化は、副作用を引き起こさずに、炎症性腸疾患 (I B D) のための有効な治療を提供し得る。本明細書において想定される I L - 1 0 突然変異タンパク質抗原結合タンパク質は、 I L - 1 0 突然変異タンパク質を炎症細胞に標的化し得る抗原結合部分を含む。好適な抗原結合部分は、抗 T R E M - 1 抗体及び抗 P D - 1 抗体を含む。

【 0 1 4 0 】

定義

「ポリペプチド結合剤」又は「抗原結合タンパク質」という用語は、抗原、例えば標的又はそのシグナル伝達パートナーに特異的に結合することが可能であるか、又は測定可能な結合親和性で抗原に結合することが可能であるポリペプチドを指す。ポリペプチド結合剤の例としては、他のペプチド部分又は非ペプチド性部分に任意選択的にコンジュゲートされた、抗体、ペプチド、ポリペプチド及びペプチドが挙げられる。ポリペプチド結合剤が結合し得る抗原は、抗体応答を引き起こすことが可能であるか、又は非特異的結合より高い検出可能な結合親和性でポリペプチド結合剤に結合することが可能である任意のタンパク質又は非タンパク質分子を含む。調節ポリペプチド結合剤が結合する抗原は、標的、標的のシグナル伝達パートナー及び/又は標的及びそのシグナル伝達パートナーを含む複合体を含み得る。本明細書において想定される抗原結合タンパク質は、別のポリペプチドの一部、例えば融合タンパク質の一部としての異種部分をさらに含み得る。この場合、抗原結合タンパク質は、抗原結合部分又はそのフラグメントに融合された、それに連結された、それと連続した、抗体又はその抗原結合フラグメントなどの I L - 1 0 突然変異タンパク質及び抗原結合部分を含み得る。

10

20

【 0 1 4 1 】

「抗体」という用語は、最も広い意味で使用され、完全に組み立てられた抗体、四量体抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体 (例えば、二重特異性抗体)、抗原に結合し得る抗体フラグメント (例えば、F a b '、F ' (a b) 2、F v、一本鎖抗体、ダイアボディ) 及びそれらが所望の生物学的活性を示す限り上記のものを含む組み換えペプチドを含む。「免疫グロブリン」又は「四量体抗体」は、可変領域及び定常領域をそれぞれ含む、2つの重鎖及び2つの軽鎖からなる四量体糖タンパク質である。抗原結合部分は、組み換え D N A 技術又は無傷の抗体に酵素的若しくは化学的切断によって生成され得る。抗体フラグメント又は抗原結合部分としては、特に、F a b、F a b '、F (a b ') 2、F v、ドメイン抗体 (d A b)、相補性決定領域 (C D R) フラグメント、C D R 移植抗体、一本鎖抗体 (s c F v)、一本鎖抗体フラグメント、キメラ抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ミニボディ、線状抗体; キレート化組み換え抗体、トリボディ若しくはバイボディ、イントラボディ、ナノボディ、小型モジュラー免疫医薬品 (S M I P)、抗原結合ドメイン免疫グロブリン融合タンパク質、ラクダ化抗体、V H H 含有抗体又はそれらの変異体若しくは誘導體及び抗体が所望の生物学的活性を保持する限り、1、2、3、4、5又は6つの C D R 配列など、ポリペプチドに結合する特異的抗原を与えるのに十分な免疫グロブリンの少なくとも一部を含有するポリペプチドが挙げられる。

30

【 0 1 4 2 】

本明細書において使用される際の「1価 I g G」という用語は、単一の抗原結合フラグメント (F a b) が、F c 内の C_H3 ドメインにおける突然変異によってヘテロ二量体化するように操作された完全な定常ドメインフラグメント (F c) に融合された I g G を指す。1価 I g G は、「ワンアームド」抗体としても知られている。

40

【 0 1 4 3 】

「モノクローナル抗体」は、実質的に均質な抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち、集団を構成する個々の抗体は、少量で存在し得る天然に発生する可能な突然変異を除いて同一である。

【 0 1 4 4 】

本明細書において使用される際の「抗体変異体」は、天然抗体可変領域ドメインの可変

50

領域に少なくとも1つのアミノ酸置換、欠失又は挿入を含む抗体ポリペプチド配列を指す。変異体は、非修飾抗体に実質的に相同又は実質的に同一であり得る。

【0145】

「単離された」抗体は、その天然環境の構成要素から同定、分離及び除去されたものである。その天然環境の汚染物質構成要素は、抗体の診断又は治療的使用を妨げ得る材料であり、酵素、ホルモン及び他のタンパク質又は非タンパク質溶質を含み得る。好ましい実施形態において、抗体は、(1)ローリー法によって決定される際に95重量%超の抗体、最も好ましくは、99重量%超まで、(2)スピニングカップシーケネーター (spinning cup sequenator) の使用により、N末端又は内部アミノ酸配列の少なくとも15残基を得るのに十分な程度まで、又は(3)クマシーブルー若しくは好ましくは銀染色又はHPLC方法を用いて、還元又は非還元条件下でのSDS-PAGEによって均質になるまで精製される。単離された抗体は、抗体の天然環境の少なくとも1つの構成要素が存在しないため、組み換え細胞内のインサイチュの抗体を含む。しかしながら、通常、単離された抗体は、少なくとも1つの精製工程によって調製される。

10

【0146】

本明細書において使用される際の「重鎖可変領域」は、前記抗体重鎖可変ドメインの少なくとも1つの相補性決定領域(CDR)を含む、抗体分子の領域を指す。重鎖可変領域は、前記抗体重鎖の1、2又は3つのCDRを含有し得る。

【0147】

本明細書において使用される際の「軽鎖可変領域」は、前記抗体軽鎖可変ドメインの少なくとも1つの相補性決定領域(CDR)を含む、抗体分子の領域を指す。軽鎖可変領域は、前記抗体軽鎖の1、2又は3つのCDRを含有し得、これは、抗体に依存して又は軽鎖のいずれかであり得る。

20

【0148】

本明細書において使用される際、「特異的に結合する」が「抗原特異的」であるか、抗原標的「に対して特異的」であるか、又は抗原と「免疫反応性」である抗体は、同様の配列の他の抗原より高い親和性で抗原に結合する本発明の抗体又はポリペプチド結合剤を指す。一態様において、本発明の抗原結合タンパク質又はそのフラグメント、変異体若しくは誘導体は、他の、すなわち非ヒト種の同様の抗原へのその結合親和性と比較してより高い親和性でヒト抗原に結合するが、標的のオルソログを認識し、結合するポリペプチド結合剤は、本発明の範囲内にある。

30

【0149】

「エピトープ」という用語は、抗原結合領域の1つ以上で選択的結合剤によって認識され、結合されることが可能な任意の分子のその部分を指す。エピトープは、通常、アミノ酸又は炭水化物側鎖などの分子の化学的に活性な表面群からなり、特定の三次元構造特性並びに特定の電荷特性を有する。本明細書において使用される際のエピトープは、連続的又は非連続的であり得る。

【0150】

本発明のポリペプチド結合剤及びポリペプチドに関連して使用される場合の「誘導体」という用語は、ユビキチン化、治療薬又は診断薬へのコンジュゲーション、標識(例えば、放射性核種又は様々な酵素を用いて)、PEG化(ポリエチレングリコールを用いた誘導体化)などの共有結合ポリマー結合及びヒトタンパク質において通常起こらない、オルニチンなどのアミノ酸の化学合成による挿入又は置換などの技術によって化学修飾されたポリペプチドを指す。誘導体は、本発明の非誘導体化分子の結合特性を保持する。

40

【0151】

本明細書において使用される際の「リンカー」は、2つのポリペプチドを連結するペプチドを指す。リンカーは、1~80アミノ酸長であり得る。ある実施形態において、リンカーは、2~40、3~40、3~30又は3~20アミノ酸長であり得る。ある実施形態において、リンカーは、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4又は3アミノ酸長のペプチドであり得る。他の実施形態において、

50

リンカーは、3～25、3～18、5～20、6～18又は10～20アミノ酸長であり得る。他の実施形態において、リンカーは、約、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29又は30アミノ酸長であり得る。多くの場合、リンカーは、遊離システイン残基を欠き（すなわち及びしたがってジスルフィド結合に関与しない）、また、N-グリコシル化部位を含まない（すなわちAsn-Xxx-Ser/Thr、ここで、Xは、プロリンを除いた任意のアミノ酸であり得る）。特定の実施形態において、配列G3SG2（配列番号2676）又はG4S（配列番号2725）を有するペプチドは、抗TREM-1抗原結合タンパク質及びIL-10突然変異タンパク質の間のリンカーである。他の好適なリンカーの例としては、他にも多数あるが特に、G2、G3、G3S（配列番号2705）、G3P（配列番号2706）、G3Q（配列番号2707）及びG5（配列番号2705）が挙げられる。上記のリンカー中の各頭文字は、アミノ酸の従来の一文字コードを指し、各数字は、リンカー中のアミノ酸のタンデムリピートの数を指す。例えば、「G3SG2（配列番号2676）」は、配列Gly-Gly-Gly-Ser-Gly-Gly（配列番号2676）を有するリンカーを指す。「G4S」は、配列Gly-Gly-Gly-Gly-Ser（配列番号2725）を有するリンカーを指す。

10

【0152】

疾患を治療するのに使用される薬物の「治療有効量」は、疾患の重症度を低下させ、疾患若しくはその治療に関連する1つ以上の症状の重症度を低下させるか、又は病態の治療後に一定の頻度で起こり得るより深刻な症状若しくはより深刻な疾患の発生を遅らせ得る量である。

20

【0153】

本明細書において言及される任意の疾患の「治療」は、疾患の少なくとも1つの症状の緩和、疾患の重症度の低下又はある場合には疾患に伴い得るか若しくは少なくとも1つの他の疾患を引き起こし得るより深刻な症状への疾患の進行の遅延若しくは防止を包含する。治療は、疾患が全治されることを意味する必要はない。有用な治療剤は、疾患の重症度を低下させ、疾患若しくはその治療に関連する1つ以上の症状の重症度を低下させるか、又は病態の治療後に一定の頻度で起こり得るより深刻な症状若しくはより深刻な疾患の発生を遅らせることのみを必要とする。例えば、疾患が炎症性腸疾患であった場合、治療として使用される治療剤は、腸における炎症の個別の部位の数又は罹患した腸の全範囲を減少させ得る。それは、疼痛及び/又は腫れを軽減し、下痢、便秘若しくは嘔吐などの症状を軽減し、且つ/又は腸の穿孔を防止し得る。

30

【0154】

「対象」は、哺乳動物及び非哺乳動物を包含する。哺乳動物の例としては、限定はされないが、哺乳動物の種類任意のメンバー：ヒト、非ヒト霊長類、例えばチンパンジー及び他の類人猿及びサル種；家畜、例えばウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ブタ；家養動物、例えばウサギ、イヌ及びネコ；げっ歯類、例えばラット、マウス及びモルモットを含む実験動物などが挙げられる。非哺乳動物の例としては、限定はされないが、鳥類、魚類などが挙げられる。この用語は、特定の年齢又は性別を示さない。

40

【0155】

本明細書において使用される際の「骨髄細胞」は、骨髄細胞系列の血液前駆細胞に由来する免疫細胞の部分群を指し、顆粒球、単球、マクロファージ、樹状細胞（DC）を含む。骨髄細胞は、多くの場合、食細胞及び抗原提示細胞（APC）機能を有する、防御免疫における重要な機能を果たす。例えば、de Kleer et al., Front. Immunol., 5:423, 2014を参照されたい。

【0156】

インターロイキン-10

インターロイキン-10（IL-10）は、様々な免疫調節プロセスに関与する炎症性サイトカインである。IL-10は、2つのIL-10受容体-1（IL10R1）及び

50

2つのIL-10受容体-2(IL-10R2)タンパク質からなる受容体複合体を通してシグナルを送る。IL-10の生物学的に活性な形態は、IL-10R1/IL-10R2に結合し、Jak1/Tyk2及びStat3経路を通してシグナルを送るホモ二量体である。IL-10は、IL-10R2と比較して、IL-10R1に対するより高い親和性を有する。IL-10は、18アミノ酸シグナルペプチドを含む178-アミノ酸タンパク質として発現される。IL-10ホモ二量体二次構造は、各ドメイン中の6つのヘリックス、A、B、C、D、E及びFヘリックスを含むヘリクスターンヘリックスドメインスワップを示す。ヒトIL-10のヌクレオチド及びアミノ酸配列は、それぞれ配列番号1及び配列番号2に記載される。配列番号2は、シグナル配列を欠く成熟ヒトIL-10を指す。

10

【0157】

ヒトIL-10(hIL-10)及びエプスタインバーウイルスIL-10(vIL-10)は、約83%の配列同一性及び同様の二次構造を共有する。vIL-10は、炎症性サイトカイン産生を抑制し、マクロファージにおけるMHC II発現を阻害し、T細胞増殖を防止する。vIL-10は、胸腺細胞及び肥満細胞増殖を共刺激せず、B細胞MHCクラスII発現を誘導せず、細胞表面IL-10R1に対するより低い親和性を有する。Ala87(ヒト中のIle)は、vIL-10の低下した免疫刺激活性に關与する重要な残基である。

【0158】

ヒトIL-10及びカニクイザル中のIL-10(カニクイザルIL-10)は、約96%の配列同一性を共有する一方、ヒト及びカニクイザルIL-10R1は、約93%の配列同一性を共有する。ヒト及びカニクイザルIL-10R1の間の結合界面において4アミノ酸差がある。I45T及びE46Gは、IL-10のABループと相互作用するループ上にあるが、相互作用は、主に、主鎖である。A189T及びS192Tは、ヘリックスAと相互作用するがIL-10との直接の相互作用を有さないループ上にある。IL-10において、ヒト及びカニクイザルIL-10についてのIL-10R1結合界面の近くに2アミノ酸差があり、ヒトにおけるN21及びL46は、両方とも、IL-10/IL-10R1相互作用表面に隣接する。

20

【0159】

過去の研究は、骨髄細胞のIL-10阻害が炎症性腸疾患(IBD)の治療のために十分であることを示した。しかしながら、IL-10の臨床的有効性は、用量制限毒性によって妨げられた。この問題を回避するために、全身性の有害な副作用を最小限に抑えるが、IBDの治療のために免疫抑制特性を依然として保持するために低下した活性を有するように設計されたIL-10の突然変異タンパク質が本明細書において提供される。弱められた活性を有するIL-10突然変異タンパク質による治療は、サイトカインの免疫刺激作用のいくらかを緩和し得る。好ましい免疫抑制効果の可能な低下に対処するために、IL-10突然変異タンパク質は、単球、制御性T細胞及びCD4+ T細胞における局所濃度を増加させるために標的部分(例えば、抗体)に融合される。

30

【0160】

IL-10の突然変異タンパク質は、ヘリックスA、ヘリックスF及びABループにおいてIL-10R1と相互作用する部位Ia並びにヘリックスA、ヘリックスF、ABループ、ヘリックスB、ヘリックスC、CDループ及びヘリックスEにおいてIL-10R1と相互作用する部位Ibを含む、IL-10タンパク質の異なるセクションにおいて標的化された。突然変異タンパク質は、以下の残基の1つ以上における変化を含む：部位Ia(ヘリックスA)、K34、T35、Q38；部位Ia(ヘリックスF)、I136、Y137、K138、S141、E142、D144、I145；部位Ib(ヘリックスA)、H14、F15、M22、P20、L23、R24、R27、D28；部位Ib(F)、E151、M154、M156、K157、N160；部位Ia(ABループ)、M39、K40、D41、Q42、L43、D44、N45、L46、L47、L48、K49；ヘリックスB、F56、K57、Y59；ヘリックスC、L60、E67、Q7

40

50

0、M77、M79；CDループ、N82、Q83、D84、P85、D86、I87；ヘリックスD、A89、H90、S93、T100、L103、H109、R110、L112、E115、N116；又はヘリックスE、A127、K130。

【0161】

特定のIL-10突然変異タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号3～10及び配列番号2138、2140、2142、2144、2146、2148、2150、2152、2154、2156、2158、2160、2162、2164、2166、2168、2170、2172、2174、2176、2178、2180、2182、2360、2362、2364、2366、2368、2370、2372、2374、2376、2378、2380、2382、2384、2386、2388、2390、2392、2394、2396、2398、2400、2402、2404、2406、2408、2410、2412、2414、2416、2418、2420、2422、2424、2426、2428、2430、2432、2434、2436、2438、2440、2442、2444、2446、2448、2450、2452、2454、2456、2458、2460、2462、2464、2466、2468、2470、2472、2474、2476、2478、2480、2482、2484、2486、2488、2490、2492、2494、2496、2500、2502、2504、2506、2508、2510、2512、2514、2516、2518、2520、2522、2524、2526、2528、2530、2532、2534、2536、2538、2540及び2777～2791並びに表1、表16、表17及び表21に記載される。

【0162】

本明細書に記載されるIL-10突然変異タンパク質及び抗原結合タンパク質は、当技術分野において公知の方法により、結合親和性についてスクリーニングされ得る。例えば、ゲルシフトアッセイ、ウエスタンブロット、放射性標識競合アッセイ、クロマトグラフィーによる共分画 (co-fractionation)、共沈、架橋、ELISA、表面プラズモン共鳴 (SPR)、KinExAなどが使用され得、これらは、例えば、全体が参照により本明細書に援用される、Current Protocols in Molecular Biology (1999) John Wiley & Sons, NYに記載される。

【0163】

本開示のIL-10突然変異タンパク質は、好ましくは、wt IL-10活性と比較して、低下した効力を有する。様々な実施形態において、IL-10突然変異タンパク質は、wt IL-10と比較して、約10倍～約5000倍低下した効力を有する。様々な実施形態において、IL-10突然変異タンパク質は、約10倍～1000倍低い効力、約50倍～500倍低い効力、約100倍～500倍又はそれ以上低下した効力を有する。様々な実施形態において、効力は、LPS刺激アッセイにおいて測定される。ある実施形態において、アッセイ読み取りは、単球/骨髄細胞内のLPS誘導性TNF産生である。

【0164】

抗原結合タンパク質及び抗体

免疫グロブリン可変ドメインは、3つの超可変領域又はCDRによって結合された比較的保存されたフレームワーク領域 (FR) の同じ一般構造を呈する。N末端からC末端へと、軽鎖及び重鎖は両方とも、ドメインFR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及びFR4を含む。各ドメインへのアミノ酸の割り当ては、Kabata Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 and 1991)) 又はChothia & Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917, 1987; Chothia et al., Nature 342:878-883, 1989の定義に従う。

【0165】

抗体の超可変領域は、抗原結合に關与する抗体のCDRアミノ酸残基を指す。超可変領域は、CDRからのアミノ酸残基[例えば、Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)によって記載されるような、軽鎖可変ドメイン中の残基24~34(L1)、50~56(L2)及び89~97(L3)並びに重鎖可変ドメイン中の31~35(H1)、50~65(H2)及び95~102(H3)]及び/又は超可変ループ(例えば、[Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917(1987)]によって記載されるような、軽鎖可変ドメイン中の残基26~32(L1)、50~52(L2)及び91~96(L3)並びに重鎖可変ドメイン中の26~32(H1)、53~55(H2)及び96~101(H3)からの残基を含む。CDRは、ImmunoGenetics(IMG T)番号付け(Lefranc, M.-P., the Immunologist, 7, 132-136(1999); Lefranc, M.-P. et al., Dev. Comp. Immunol., 27, 55-77(2003)に従っても同定及び番号付けされており、これは、軽鎖及び重鎖可変ドメインにおけるCDR位置を以下のように記載している: CDR1、およそ残基27~38; CDR2、およそ残基56~65; 及びCDR3、およそ残基105~116(生殖細胞系列)又は残基105~117(再配列)。一実施形態において、CDRは、本明細書に開示されるものとほぼ同様の長さの抗体重鎖又は軽鎖の、軽鎖可変ドメイン中のおよそ残基26~31(L1)、49~51(L2)及び88~98(L3)並びに重鎖可変ドメイン中のおよそ残基26~33(H1)、51~58(H2)及び97~110(H3)に位置すると考えられる。しかしながら、当業者は、特定の抗体の配列が同定される場合、CDR残基の実際の位置が、上記の予想される残基と異なり得ることを理解する。本明細書に開示されるCDRは、Kabata方法(Kabata and Wu, 1991)に従って定義され、Amgen参照番号付けに従って番号付けされる。Amgen参照番号付けは、Honegger and Plueckthun(J. Mol. Biol. 309(3):657-70, 2001)に記載される抗体可変領域のためのHonegger and Plueckthun番号付けシステムに基づく、構造に基づいた番号付けシステムである。様々な実施形態において、操作IgG1抗体が想定される。様々な実施形態において、抗体は、本明細書に記載されるIgG1z又はIgG1z-SEFL2抗体である。

10

20

30

【0166】

フレームワーク領域(又はFR)残基は、超可変領域残基以外の可変ドメイン残基である。

【0167】

後述されるように、本明細書において想定される、本明細書に記載されるモノクローナル、ヒト、ヒト化及び他の抗体を含む抗体は、典型的に、組み換え的に又は遺伝子コードをインビトロ若しくはインビボで操作する他の方法によって生成され、したがって、必ずしも、自然界に見られる特定の抗体を反映する必要はない。

40

【0168】

様々な実施形態において、IL-10又はIL-10突然変異タンパク質が特定の細胞型に指向されるように、抗原結合タンパク質は、細胞表面タンパク質に特異的に結合する。対象とするこのような細胞型としては、骨髄細胞、CD8+ T細胞、CD4+ T細胞及びB細胞が挙げられる。抗原結合タンパク質は、骨髄細胞へのIL-10部分の指向のためにTREM-1に; CD8+ T細胞についてPD1、CD8、LAG3、NKG2D、NKG7又は他のCD8+ T細胞表面タンパク質に特異的に結合し; CD4+ T細胞についてCD4又は他のCD4+ T細胞表面タンパク質、例えばCD30、OX40、41BB、ICOSに結合し; B細胞についてCD20、CD19又は他のB細胞表面タンパク質、例えばBAFFRに結合し得る。

50

【0169】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、免疫チェックポイント調節において役割を果たす細胞表面タンパク質に特異的に結合する。このような免疫チェックポイント調節剤としては、PD-1、CTLA4、CD28、CD80、CD86などが挙げられる。

【0170】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、他の器官又は組織におけるより特定の組織又は器官（例えば、腸若しくは肺）においてより高度に発現される細胞表面タンパク質に特異的に結合する。このような組織又は器官特異的細胞表面タンパク質としては、腸におけるMAdCAM1、肺における界面活性剤又はRAGEが挙げられる。このような抗原結合タンパク質とのIL-10突然変異タンパク質の融合タンパク質は、IBD、喘息及び慢性閉塞性肺疾患（COPD）などの炎症性疾患を治療するのに有用である。

10

【0171】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、無癌細胞内より腫瘍/癌性細胞においてより高度に発現される細胞表面タンパク質に特異的に結合する。このような腫瘍/癌特異的抗原としては、BCMA、CD19、CD20、CD22、CD70、CD123、CEA、CDH3、CLDN6、CLL1、CS1、DCAF4L2、FLT3、GABRP、MAGEB2、MART-1、MSLN、MUC1（例えば、MUC1-C）、MUC12、MUC13、MUC16、mutFGFR3、PRSS21、PSMA、RNF43、STEAP1、STEAP2、TM4SF5、PD-1、CTLA4、EGFR、VEGF、OX40又はFcRL5が挙げられる。

20

【0172】

抗TREM-1抗原結合タンパク質

TREM-1シグナル伝達を特性評価するための過去の研究は、受容体のリガンド活性化を模倣するのにTREM-1のアゴニスト抗体を用いた（Tessarz et al., Immunol Lett 116(2):111-6, 2008; Vandestienne et al., J Clin Invest 131(2):e142468, 2021）。デコイペプチドも、TREM-1活性を調節するために試みられた（例えば、国際特許公開番号国際公開第2014037565号パンフレットを参照されたい）。

30

【0173】

本開示は、標的特異的抗体をコードするアミノ酸分子の使用を包含する。本明細書に記載される抗TREM-1抗原結合タンパク質は、ヒトTREM-1及びそのリガンドの相互作用を異なって調節する。

【0174】

ある実施形態において、配列番号42、62、82、102、122、142、162、182、202、222、242、262、282、302及び2186に記載される重鎖可変領域と少なくとも約65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%若しくはそれ以上同一であるアミノ酸配列及び/又は配列番号41、61、81、101、121、141、161、181、201、221、241、261、281、301及び2185に記載される軽鎖可変領域と少なくとも約65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%又はそれ以上同一であるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む抗原結合タンパク質が提供され、抗体は、HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2又はLCDR3の少なくとも1、2、3、4、5つ又は全てをさらに含む。ある実施形態において、軽鎖可変領域との同一性パーセンテージを有するアミノ酸配列は、軽鎖CDRの1、2又は3つを含み得る。他の実施形態において、重鎖可変領域との同一性パーセンテージを有するアミノ酸配列は、重鎖CDRの1

40

50

、 2 又は 3 つを含み得る。

【 0 1 7 5 】

別の実施形態において、上に記載される抗体配列の重鎖可変領域又は C D R 中の 3 つ全ての H C D R : 配列番号 3 6、5 6、7 6、9 6、1 1 6、1 3 6、1 5 6、1 7 6、1 9 6、2 1 6、2 3 6、2 5 6、2 7 6、2 9 6 及び 2 1 9 6 に記載される重鎖 C D R 1 配列 ; 配列番号 3 7、5 7、7 7、9 7、1 1 7、1 3 7、1 5 7、1 7 7、1 9 7、2 1 7、2 3 7、2 5 7、2 7 7、2 9 7 及び 2 1 9 7 に記載される重鎖 C D R 2 配列 ; 並びに配列番号 3 8、5 8、7 8、9 8、1 1 8、1 3 8、1 5 8、1 7 8、1 9 8、2 1 8、2 3 8、2 5 8、2 7 8、2 9 8 及び 2 1 9 8 に記載される重鎖 C D R 3 配列と、少なくとも約 6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % 又はそれ以上同一であるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む抗原結合タンパク質が提供される。

10

【 0 1 7 6 】

関連する実施形態において、上に記載される抗体配列の軽鎖可変領域又は C D R 中の 3 つ全ての L C D R : 配列番号 3 0、5 0、7 0、9 0、1 1 0、1 3 0、1 5 0、1 7 0、1 9 0、2 1 0、2 3 0、2 5 0、2 7 0、2 9 0 及び 2 1 9 0 に記載される軽鎖 C D R 1 配列 ; 配列番号 3 1、5 1、7 1、9 1、1 1 1、1 3 1、1 5 1、1 7 1、1 9 1、2 1 1、2 3 1、2 5 1、2 7 1、2 9 1 及び 2 1 9 1 に記載される軽鎖 C D R 2 配列 ; 並びに配列番号 3 2、5 2、7 2、9 2、1 1 2、1 3 2、1 5 2、1 7 2、1 9 2、2 1 2、2 3 2、2 5 2、2 7 2、2 9 2 及び 2 1 9 2 に記載される軽鎖 C D R 3 配列と、少なくとも約 6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % 又はそれ以上同一であるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む抗原結合タンパク質が提供される。

20

【 0 1 7 7 】

本開示の抗体は、抗体の C D R 領域中の 1 つ又は 2 つ以上のアミノ酸置換、例えば非保存的又は保存的置換を有し得ると考えられる。本明細書に開示される T R E M - 1 抗体重鎖及び軽鎖 C D R 及び / 又は可変領域配列のコンセンサス配列も考えられる。例えば、T R E M - 1 抗体又は抗原結合タンパク質 / 融合タンパク質は、以下の配列を含み得る。様々な実施形態において、T R E M - 1 抗体は、X₁ A S Q S X₂ X₃ X₄ N L A (配列番号 2 1 9 9) (ここで、X₁ は、R 又は Q であり、X₂ は、V 又は I であり、X₃ は、N 又は S であり、X₄ は、S、H、I、V 又は A である) ; Q A S X₁ D I X₂ X₃ X₄ L N (配列番号 2 2 0 4) (ここで、X₁ は、R 又は Q であり、X₂ は、R、S、N 又は F であり、X₃ は、K 又は N であり、X₄ は、H、Y 又は D である) ; R A S Q S V N S N L A (配列番号 2 2 1 2) ; Q A S Q D I R K H L N (配列番号 2 2 1 3) ; R A S Q D I S S N L N (配列番号 2 2 1 4) ; Q A S Q D I H L N (配列番号 2 2 1 5) ; R A S Q G I R K W L A (配列番号 2 2 1 6) 又は R A S Q S V N S N L A (配列番号 2 2 1 7) 及び S G D K L G E R V S (配列番号 2 2 1 8) からなる群から選択される L C D R 1 アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する配列を含む抗原結合ドメインを含む。

30

40

【 0 1 7 8 】

様々な実施形態において、T R E M - 1 抗体は、G A X₁ X₂ R A T (配列番号 2 2 0 0) (ここで、X₁ は、S 又は Y であり、X₂ は、T 又は I である) ; アミノ酸配列 X₁ X₂ X₃ X₄ L E T (配列番号 2 2 0 6) (ここで、X₁ は、D、G 又は H であり、X₂ は、A、V 又は T であり、X₃ は、S、A 又は Y であり、X₄ は、T 又は N である) ; G A S T R A T (配列番号 2 2 1 9) ; D A S N L E T (配列番号 2 2 2 0) ; 及び A A S R L Q S (配列番号 2 2 2 1) からなる群から選択される L C D R 2 アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する配列を含む抗原結合ドメインを含む。

【 0 1 7 9 】

様々な実施形態において、T R E M - 1 抗体は、Q X₁ X₂ X₃ X₄ X₅ X₆ P X₇ T

50

(配列番号 2201) (ここで、 X_1 は、Q、H 又は E であり、 X_2 は、F 又は Y であり、 X_3 は、K、Y 又は I であり、 X_4 は、N、T、L、I 又は M であり； X_5 は、W、F、H 又は Y であり、 X_6 は、非存在又は P であり； X_7 は、W、N、Y、H 又は L である)； $QX_1YX_3X_4X_5PX_6T$ (配列番号 2207) (ここで、 X_1 は、Q 又は H であり、 X_2 は、D、A 又は G であり、 X_3 は、N 又は K であり； X_4 は、L 又は I であり、 X_5 は、I 又は L である)； $QQFKNWPPT$ (配列番号 2222)； $QHYDNLPIIT$ (配列番号 2223)； $LQAHGF PWT$ (配列番号 2224)； $QQYDNLPLT$ (配列番号 2225) 及び $QFWPPWT$ (配列番号 2226) からなる群から選択される L C D R 3 アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する配列を含む抗原結合ドメインを含む。

10

【0180】

様々な実施形態において、TREM-1 抗体は、 $X_1X_2X_3MX_4$ (配列番号 2202) (ここで、 X_1 は、A、R、T 又は S であり、 X_2 は、Y 又は N であり、 X_3 は、A 又は W であり、 X_4 は、S 又は N である)；a 配列 X_1YDIN (配列番号 2208) (ここで、 X_1 は、R 又は S である)； GYX_1H (配列番号 2723) (ここで、 X_1 は、M 又は I である)； $AYAMS$ (配列番号 2227)； $RYDIN$ (配列番号 2228)；及び $SYWMS$ (配列番号 2229) からなる群から選択される H C D R 1 アミノ酸配列を含む重鎖可変領域を有する配列を含む抗原結合ドメインを含む。

【0181】

様々な実施形態において、TREM-1 抗体は、 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9YYX_{10}X_{11}X_{12}VKG$ (配列番号 2205) (ここで、 X_1 は、T、E 又は S であり、 X_2 は、非存在であるか、又は M、V 若しくは I であり、 X_3 は、S、R 又は K であり、 X_4 は、G 又は Q であり、 X_5 は、S、D 又は H であり、 X_6 は、G、S、L 又は A であり、 X_7 は、S、G 又は R であり、 X_8 は、T、S、P 又は E であり、 X_9 は、T 又は I であり、 X_{10} は、A 又は V であり、 X_{11} は、D 又は E であり、 X_{12} は、S 又は A である)； $X_1X_2NXP_3X_4GX_5X_6GX_7X_8X_9X_{10}FX_{11}X_{12}$ (配列番号 2209) (ここで、 X_1 は、W 又は R であり、 X_2 は、M 又は L であり、 X_3 は、N、Q 又は K であり、 X_4 は、S、A 又は R であり、 X_5 は、N 又は Q であり、 X_6 は、S、A 又は T であり、 X_7 は、S、Q 又は Y であり、 X_8 は、V 又は T であり、 X_9 は、Q 又は K であり、 X_{10} は、K 又は N であり、 X_{11} は、R 又は Q であり、 X_{12} は、G 又は D である)； $TS G S G S T T Y Y A D S V K G$ (配列番号 2230)； $WMNPNSGNSSVQKFRG$ (配列番号 2231)； $NIKQDGSE E Y Y V D S V K G$ (配列番号 2232)；及び $TS G S G T Y Y A D S V K G$ (配列番号 2669) からなる群から選択される H C D R 2 アミノ酸配列を含む重鎖可変領域を有する配列を含む抗原結合ドメインを含む。

20

30

【0182】

様々な実施形態において、TREM-1 抗体は、 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7FX_8YX_9$ (配列番号 2203) (ここで、 X_1 は、V、E、A 又は G であり、 X_2 は、A、F、Y 又は G であり、 X_3 は、G、S、Y 又は W であり、 X_4 は、S 又は R であり、 X_5 は、非存在であるか又は N であり、 X_6 は、F、S、Y 又は非存在であり、 X_7 は、L 若しくは F 又は非存在であり、 X_8 は、D 又は E であり、 X_9 は、Y、H 又は S である)； $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}FX_{13}X_{14}$ (配列番号 2210) (ここで、 X_1 は、G、L 又は R であり、 X_2 は、G、I 又は R であり、 X_3 は、Y、R、I、G 又は A であり、 X_4 は、T、S、Y 又は V であり、 X_5 は、S 又は Y であり、 X_6 は、S、A、I 又は R であり、 X_7 は、W、A 又は S であり、 X_8 は、非存在であるか又は S であり、 X_9 は、非存在であるか、又は F、W 若しくは Y であり、 X_{10} は、R、S、H、K 又は E であり、 X_{11} は、W、H、Y 又は F であり、 X_{12} は、Y、V、A 又は S であり、 X_{13} は、D 又は Q であり、 X_{14} は、L、Y、I 又は H である)； $VAGSNFLFDY$ (配列番号 2670)； $GGYTSSWRWYFDL$ (配列番号 2671)； $GGYTSSWSRWYFDL$ (配列番号 2672)；及び $DYGD SFDY$ (配

40

50

列番号 2673) からなる群から選択される HCDR3 アミノ酸配列を含む重鎖可変領域を有する配列を含む抗原結合ドメインを含む。

【0183】

様々な実施形態において、抗 TREM-1 抗原結合タンパク質又は抗原結合タンパク質の抗 TREM1 抗原結合部分は、

i) 配列番号 30 (LCDR1)、配列番号 31 (LCDR2)、配列番号 32 (LCDR3)、配列番号 36 (HCDR1)、配列番号 37 (HCDR2) 及び配列番号 38 (HCDR3) ;

ii) 配列番号 50 (LCDR1)、配列番号 51 (LCDR2)、配列番号 52 (LCDR3)、配列番号 56 (HCDR1)、配列番号 57 (HCDR2) 及び配列番号 58 (HCDR3) ;

iii) 配列番号 70 (LCDR1)、配列番号 71 (LCDR2)、配列番号 72 (LCDR3)、配列番号 76 (HCDR1)、配列番号 77 (HCDR2) 及び配列番号 78 (HCDR3) ;

iv) 配列番号 90 (LCDR1)、配列番号 91 (LCDR2)、配列番号 92 (LCDR3)、配列番号 96 (HCDR1)、配列番号 97 (HCDR2) 及び配列番号 98 (HCDR3) ;

v) 配列番号 110 (LCDR1)、配列番号 111 (LCDR2)、配列番号 112 (LCDR3)、配列番号 116 (HCDR1)、配列番号 117 (HCDR2) 及び配列番号 118 (HCDR3) ;

vi) 配列番号 130 (LCDR1)、配列番号 131 (LCDR2)、配列番号 132 (LCDR3)、配列番号 136 (HCDR1)、配列番号 137 (HCDR2) 及び配列番号 138 (HCDR3) ;

vii) 配列番号 150 (LCDR1)、配列番号 151 (LCDR2)、配列番号 152 (LCDR3)、配列番号 156 (HCDR1)、配列番号 157 (HCDR2) 及び配列番号 158 (HCDR3) ;

viii) 配列番号 170 (LCDR1)、配列番号 171 (LCDR2)、配列番号 172 (LCDR3)、配列番号 176 (HCDR1)、配列番号 177 (HCDR2) 及び配列番号 178 (HCDR3) ;

ix) 配列番号 190 (LCDR1)、配列番号 191 (LCDR2)、配列番号 192 (LCDR3)、配列番号 196 (HCDR1)、配列番号 197 (HCDR2) 及び配列番号 198 (HCDR3) ;

x) 配列番号 210 (LCDR1)、配列番号 211 (LCDR2)、配列番号 212 (LCDR3)、配列番号 216 (HCDR1)、配列番号 217 (HCDR2) 及び配列番号 218 (HCDR3) ;

xi) 配列番号 230 (LCDR1)、配列番号 231 (LCDR2)、配列番号 232 (LCDR3)、配列番号 236 (HCDR1)、配列番号 237 (HCDR2) 及び配列番号 238 (HCDR3) ;

xii) 配列番号 250 (LCDR1)、配列番号 251 (LCDR2)、配列番号 252 (LCDR3)、配列番号 256 (HCDR1)、配列番号 257 (HCDR2) 及び配列番号 258 (HCDR3) ;

xiii) 配列番号 270 (LCDR1)、配列番号 271 (LCDR2)、配列番号 272 (LCDR3)、配列番号 276 (HCDR1)、配列番号 277 (HCDR2) 及び配列番号 278 (HCDR3) ;

xiv) 配列番号 290 (LCDR1)、配列番号 291 (LCDR2)、配列番号 292 (LCDR3)、配列番号 296 (HCDR1)、配列番号 297 (HCDR2) 及び配列番号 298 (HCDR3) ; 及び

xv) 配列番号 2190 (LCDR1)、配列番号 2191 (LCDR2)、配列番号 2192 (LCDR3)、配列番号 2196 (HCDR1)、配列番号 2197 (HCDR2) 及び配列番号 2198 (HCDR3)

10

20

30

40

50

から選択される C D R 配列の組を含む。

【 0 1 8 4 】

様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質又は抗原結合タンパク質の抗 T R E M 1 抗原結合部分は、

i) 配列番号 3 0 (L C D R 1)、配列番号 3 1 (L C D R 2)、配列番号 3 2 (L C D R 3)、配列番号 3 6 (H C D R 1)、配列番号 3 7 (H C D R 2) 及び配列番号 3 8 (H C D R 3) ;

i i) 配列番号 5 0 (L C D R 1)、配列番号 5 1 (L C D R 2)、配列番号 5 2 (L C D R 3)、配列番号 5 6 (H C D R 1)、配列番号 5 7 (H C D R 2) 及び配列番号 5 8 (H C D R 3) ;

i i i) 配列番号 7 0 (L C D R 1)、配列番号 7 1 (L C D R 2)、配列番号 7 2 (L C D R 3)、配列番号 7 6 (H C D R 1)、配列番号 7 7 (H C D R 2) 及び配列番号 7 8 (H C D R 3) ;

i v) 配列番号 1 1 0 (L C D R 1)、配列番号 1 1 1 (L C D R 2)、配列番号 1 1 2 (L C D R 3)、配列番号 1 1 6 (H C D R 1)、配列番号 1 1 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 1 8 (H C D R 3) ;

v) 配列番号 1 5 0 (L C D R 1)、配列番号 1 5 1 (L C D R 2)、配列番号 1 5 2 (L C D R 3)、配列番号 1 5 6 (H C D R 1)、配列番号 1 5 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 5 8 (H C D R 3) ;

v i) 配列番号 1 7 0 (L C D R 1)、配列番号 1 7 1 (L C D R 2)、配列番号 1 7 2 (L C D R 3)、配列番号 1 7 6 (H C D R 1)、配列番号 1 7 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 7 8 (H C D R 3) ; 及び

v i i) 配列番号 2 9 0 (L C D R 1)、配列番号 2 9 1 (L C D R 2)、配列番号 2 9 2 (L C D R 3)、配列番号 2 9 6 (H C D R 1)、配列番号 2 9 7 (H C D R 2) 及び配列番号 2 9 8 (H C D R 3)

から選択される C D R 配列の組を含む。

【 0 1 8 5 】

様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質又は抗原結合タンパク質の抗 T R E M 1 抗原結合部分は、軽鎖配列番号 5 0 (L C D R 1)、配列番号 5 1 (L C D R 2)、配列番号 5 2 (L C D R 3)、配列番号 5 6 (H C D R 1)、配列番号 5 7 (H C D R 2) 及び配列番号 5 8 (H C D R 3) ; 並びに重鎖配列番号 1 1 0 (L C D R 1)、配列番号 1 1 1 (L C D R 2)、配列番号 1 1 2 (L C D R 3)、配列番号 1 1 6 (H C D R 1)、配列番号 1 1 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 1 8 (H C D R 3) から選択される C D R 配列の組を含む。

【 0 1 8 6 】

関連する実施形態において、フレームワークの残基が改変される。改変され得る重鎖フレームワーク領域は、重鎖 C D R 残基を囲む、H - F R 1、H - F R 2、H - F R 3 及び H - F R 4 と示される領域内にあり、改変され得る軽鎖フレームワーク領域の残基は、軽鎖 C D R 残基を囲む、L - F R 1、L - F R 2、L - F R 3 及び L - F R 4 と示される領域内にある。フレームワーク領域内のアミノ酸は、例えば、ヒトフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークにおいて同定される任意の好適なアミノ酸で置換され得る。フレームワーク領域が改変され得るが、本明細書に記載される抗原結合タンパク質又は抗体は、親抗体の C D R、L C D R 1 ~ 3 及び / 又は H C D R - 3 を保持するとさらに考えられる。

【 0 1 8 7 】

抗体フラグメントは、無傷の完全長抗体、好ましくは、無傷の抗体の抗原結合又は可変領域の一部を含む。抗体フラグメントの例としては、F a b、F a b'、F (a b') 2、F c a b 及び F v フラグメント ; ダイアボディ ; 線形抗体 ; 一本鎖抗体分子 (例えば、s c F v) ; 二重特異性、三重特異性などの多重特異性抗体フラグメント、抗体 (例えば、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ) ; ミニボディ ; キレート化組み換え抗体 ;

10

20

30

40

50

トリボディ又はバイボディ；イントラボディ；ナノボディ；結合ドメイン免疫グロブリン融合タンパク質；ラクダ化抗体；VHH含有抗体；及び抗体フラグメントから形成される他のポリペプチドが挙げられる。例えば、Holliger & Hudson, 2005 Nat. Biotech. 23: 1126-36；Eyer & Hruska, Veterinarni Medicina 57: 439-513, 2012を参照されたい。

【0188】

本開示の抗原結合化合物は、好ましくは、表面プラズモン共鳴又はKinexAによって測定した際の、TREM-1に対する 10^{-8} 、 10^{-9} 、 10^{-10} 、 10^{-11} 、 10^{-12} 、 10^{-13} 、 10^{-14} 、 10^{-15} M又はそれ以下の結合親和性を保持する。本開示の抗原結合化合物は、 10^{-9} ~ 10^{-12} 、又は 10^{-10} ~ 10^{-13} 、又は 10^{-10} ~ 10^{-15} MからのTREM-1に対する結合親和性を有する。SPRアッセイは、標準的な方法を用いて、例えば25（例えば、室温）で行われる。

【0189】

様々な実施形態において、抗体は、IgG1抗体である。特定の実施形態において、抗体は、IgG1z抗体である。

【0190】

配列番号26、46、66、86、106、126、146、166、186、206、226、246、266、286及び2186に記載される重鎖アミノ酸配列；並びに配列番号25、45、65、85、105、125、145、165、185、205、225、245、265、285及び2185に記載される対応する軽鎖アミノ酸配列を有する、TREM-1に結合する完全長抗体の例が提供される。

【0191】

IL-10を含む抗原結合タンパク質

免疫細胞の垂集団を標的とする、IL-10突然変異タンパク質及び抗体又は他の結合タンパク質の間の抗原結合タンパク質が本明細書においてさらに想定される。例示的な抗体又は抗原結合タンパク質は、TREM-1を標的とするか、又はチェックポイント阻害剤、例えばPD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA4を標的とする抗体又は結合タンパク質、TNFを標的とする抗体若しくは結合タンパク質又はIL-12/IL-23を標的とする抗体若しくは結合タンパク質を含む。

【0192】

チェックポイント阻害剤に対する抗体としては、限定はされないが、PD-1抗体、例えばペムプロリズマブ（KEYTRUDA（登録商標）、Merck Sharp & Dohme Corp.）、ニボルマブ（Opdivo（登録商標）、Bristol-Myers Squibb）及び米国特許第8,735,553号明細書；同第8,617,546号明細書；同第8,008,449号明細書；同第8,741,295号明細書；同第8,552,154号明細書；同第8,354,509号明細書；同第8,779,105号明細書；同第7,563,869号明細書；同第8,287,856号明細書；同第8,927,697号明細書；同第8,088,905号明細書；同第7,595,048号明細書；同第8,168,179号明細書；同第6,808,710号明細書；同第7,943,743号明細書；同第8,246,955号明細書；及び同第8,217,149号明細書及び国際特許公開国際公開第2019/140196号パンフレットに記載されるPD-1に対する抗体；抗CTLA-4抗体、例えばイピリムマブ（YERVOY（登録商標））及びトレメリムマブ並びに抗PD-L1抗体、例えばデュルバルマブが挙げられる。

【0193】

IL-10突然変異タンパク質/抗TREM-1抗体抗原結合タンパク質の例示的な配列は、配列番号863、865、867、869、871、873、875、877、879、881、883、885、887、889、891、893、895、897、899、901、903、905、907、909、911、913、915、917、919、921、923、925、927、929、931、933、935、937、9

39、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1007、1009、1011、1013、1015、1017、1019、1021、1023、1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、1049、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1073、1075、1077、1079、1081、1083及び1085及び配列番号864、866、868、870、872、874、876、878、880、882、884、886、888、890、892、894、896、898、900、902、904、906、908、910、912、914、916、918、920、922、924、926、928、930、932、934、936、938、940、942、944、946、948、950、952、954、956、958、960、962、964、966、968、970、972、974、976、978、980、982、984、986、988、990、992、994、996、998、1000、1002、1004、1006、1008、1010、1012、1014、1016、1018、1020、1022、1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、1048、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1072、1074、1076、1078、1080、1082、1084及び1086に記載される。さらなるTREM-1重鎖IL10抗原結合タンパク質は、配列番号2137、2139、2141、2143、2145、2147、2149、2151、2153、2155、2157、2159、2161、2163、2165、2167、2169、2171、2173、2175、2177、2179、2181、2359、2361、2363、2365、2367、2369、2371、2373、2375、2377、2379、2381、2383、2385、2387、2389、2391、2393、2395、2397、2399、2401、2403、2405、2407、2409、2411、2143、2415、2417、2419、2421、2423、2425、2427、2429、2431、2433、2435、2437、2439、2441、2443、2445、2447、2449、2451、2453、2455、2457、2459、2461、2463、2465、2467、2469、2471、2473、2475、2477、2479、2481、2483、2485、2487、2489、2491、2493、2495、2497、2498、2499、2501、2503、2505、2507、2509、2511、2513、2515、2517、2519、2521、2523、2525、2527、2529、2531、2533、2535、2537、2539及び2726～2776に記載される。

【0194】

1価抗TREM-1抗体抗原結合タンパク質の例は、アミノ酸配列番号1087～1422及び表13Bに記載される。

【0195】

配列番号303～862に記載されるIL-10突然変異タンパク質及び抗TREM-1抗体、並びに配列番号2012、2014、2016、2018、2020、2022、2024、2026、2028、2030、2032、2034、2036、2038、2040、2042、2044、2046、2048、2050、2052、2054、2056、2058、2060、2062、2064、2066、2068、2070、2072、2074、2076、2078、2080、2082、2084、2086、2088、2090、2092、2094、2096、2098、2100、2102、2104、2106、2108、2110、2112、2114、2116、2118、2120、2122、2124、2126、2128、2130、2132、2134

及び 2 1 3 6 に記載される T R E M - 1 変異体抗体重鎖可変領域並びに配列番号 2 2 3 4、2 2 3 6、2 2 3 8、2 2 4 0、2 2 4 2、2 2 4 4、2 2 4 6、2 2 4 8、2 2 5 0、2 2 5 2、2 2 5 4、2 2 5 6、2 2 5 8、2 2 6 0、2 2 6 2、2 2 6 4、2 2 6 6、2 2 6 8、2 2 7 0、2 2 7 2、2 2 7 4、2 2 7 6、2 2 7 8、2 2 8 0、2 2 8 2、2 2 8 4、2 2 8 6、2 2 8 8、2 2 9 0、2 2 9 2、2 2 9 4、2 2 9 6、2 2 9 8、2 3 0 0、2 3 0 2、2 3 0 4、2 3 0 6、2 3 0 8、2 3 1 0、2 3 1 2、2 3 1 4、2 3 1 6、2 3 1 8、2 3 2 0、2 3 2 2、2 3 2 4、2 3 2 6、2 3 2 8、2 3 3 0、2 3 3 2、2 3 3 4、2 3 3 6、2 3 3 8、2 3 4 0、2 3 4 2、2 3 4 4、2 3 4 6、2 3 4 8、2 3 5 0、2 3 5 2、2 3 5 4、2 3 5 6 及び 2 3 5 8 に記載される T R E M - 1 変異体抗体軽鎖可変領域を含む抗原結合タンパク質コードする核酸である。

10

【0196】

抗原結合部分及び1つ又は2つの I L - 1 0 部分を含む抗原結合タンパク質であって、a . 抗原結合部分は、抗体又は抗体フラグメントであり、b . 各 I L - 1 0 部分は、独立して、1 価又は 2 価であり、c . 各 I L - 1 0 部分は、独立して、配列番号 2 と 9 0 % 同一である配列を有する 1 つ以上のヒト I L - 1 0 突然変異タンパク質から選択され、d . 少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、抗原結合部分に共有結合される。様々な実施形態において、少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、抗原結合部分の C 末端に融合される、抗原結合タンパク質が本明細書において提供される。

【0197】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、a . 抗原結合部分は、抗体であり、b . I L - 1 0 部分は、抗体の各重鎖に融合される。

20

【0198】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、各 I L - 1 0 部分は、モノマーである。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、2 つの異なる突然変異タンパク質モノマーを含む。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、同じ突然変異タンパク質モノマーの 2 つを含む。

【0199】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質について：各 I L - 1 0 部分は、配列番号 2 に記載されるアミノ酸配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含み、及び各 I L - 1 0 部分は、独立して、ヘリックスループ A B、ヘリックスループ C D、ヘリックスループ D E、ヘリックス A、ヘリックス B、ヘリックス C、ヘリックス D、ヘリックス E 及び / 又はヘリックス F における突然変異から選択される少なくとも 1 つの突然変異を含む。

30

【0200】

様々な実施形態において、少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、ヘリックス A における少なくとも 1 つの突然変異を含む。様々な実施形態において、少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、ヘリックス F における少なくとも 1 つの突然変異を含む。様々な実施形態において、少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、ヘリックスループ A B における少なくとも 1 つの突然変異を含む。

【0201】

様々な実施形態において、I L - 1 0 突然変異タンパク質は、w t I L - 1 0 と比較して、骨髄細胞内の T N F - 産生の抑制を低下させ、C D 8 + T 細胞刺激のレベルを低下させ、且つ / 又は B 細胞刺激のレベルを低下させる。

40

【0202】

様々な実施形態において、I L - 1 0 突然変異タンパク質抗原結合タンパク質は、骨髄細胞内の T N F - 産生を抑制する。様々な実施形態において、I L - 1 0 突然変異タンパク質抗原結合タンパク質は、C D 8 + T 細胞及び B 細胞活性化を低下させながら、骨髄細胞内の T N F - 産生を抑制する。

【0203】

様々な実施形態において、治療は、対象における C D 8 + T 細胞刺激及び / 又は B 細

50

胞刺激を伴わずに、単球における TNF - 産生を阻害する。

【0204】

様々な実施形態において、各 IL - 10 突然変異タンパク質は、独立して、配列番号 2 の残基 N10、H14、F15、P20、M22、L23、R24、R27、D28、K34、T35、Q38、M39、K40、D41、Q42、L43、D44、N45、L46、L47、L48、K49、F56、K57、Y59、L60、Q3、E67、Q70、M77、Q79、N82、Q83、D84、P85、D86、I87、A89、H90、S93、T100、L103、H109、R110、L112、E115、N116、A127、K130、I136、Y137、K138、S141、E142、D144、I145、E151、M154、M156、K157、N160 の 1 つ以上における突然変異及び / 又はヘリックス D とヘリックス E との間の 4 ~ 8 個のアミノ酸の付加を含む。

【0205】

様々な実施形態において、各 IL - 10 突然変異タンパク質は、配列番号 2 に記載されるアミノ酸配列と少なくとも 95 % 同一である。様々な実施形態において、各 IL - 10 突然変異タンパク質は、独立して、ヘリックス D とヘリックス E との間のアミノ酸の付加を任意選択的に含む、配列番号 2 の R27L、K34D、D41G、L46K、Q38E、Q38R、Q38D、K138L、K138D 又は I87A からなる群から選択される 1 つ以上の突然変異を含む。様々な実施形態において、各 IL - 10 突然変異タンパク質は、独立して、ヘリックス D とヘリックス E との間のアミノ酸の付加を任意選択的に含む、N10Q、N10I、N10K、R27L、K34D、D41G、L46K、Q38E、Q38R、Q38D、K138L、K138D、I87A、H14Q、F15Y、M22V、K49T、K49S、F56Y、K57N、Y59T、L60Q、Q63E、Q63L、E67C、Q70E、Q70K、M77R、M77V、Q79R、Q79C、D84R、A89P、H90E、H90Q、S93E、S93Q、T100R、L103E、H109D、R110P、R110Q、L112V、E115K、N116D、N116Q、A127M、K130Q、I136C、Y137C、M154V、M156C、K157N 又は N160D からなる群から選択される 1 つ以上の突然変異を含む。様々な実施形態において、ヘリックス D とヘリックス E との間のアミノ酸は、GGGSGG (配列番号 2676) である。任意選択的に、IL - 10 突然変異タンパク質は、表 1、表 16、表 17 又は表 21 に記載される突然変異の組合せを有する。

【0206】

様々な実施形態において、各 IL - 10 突然変異タンパク質は、配列番号 2 に記載されるアミノ酸配列と少なくとも 95 % 同一である。様々な実施形態において、各 IL - 10 突然変異タンパク質は、独立して、ヘリックス D とヘリックス E との間の 6 個のアミノ酸の付加を任意選択的に含む、配列番号 2 の N10、R27L、K34D、D41G、L46K、Q38E、Q38R、Q38D、K138L、K138D 又は I87A からなる群から選択される 1 つ以上の突然変異を含む。様々な実施形態において、各 IL - 10 突然変異タンパク質は、独立して、ヘリックス D とヘリックス E との間の 6 個のアミノ酸の付加を任意選択的に含む、配列番号 2 の N10Q、N10I、N10K、R27L、K34D、D41G、L46K、Q38E、Q38R、Q38D、K138L、K138D、I87A、H14Q、F15Y、M22V、K49T、K49S、F56Y、K57N、Y59T、L60Q、Q63E、Q63L、E67C、Q70E、Q70K、M77R、M77V、Q79R、Q79C、D84R、A89P、H90E、H90Q、S93E、S93Q、T100R、L103E、H109D、R110P、R110Q、L112V、E115K、N116D、N116Q、A127M、K130Q、I136C、Y137C、M154V、M156C、K157N 又は N160D からなる群から選択される 1 つ以上の突然変異を含む。様々な実施形態において、ヘリックス D とヘリックス E との間のアミノ酸は、GGGSGG (配列番号 2676) である。様々な実施形態において、IL - 10 突然変異タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号 3 ~ 10 並びに配列番号 2138

、 2 1 4 0、 2 1 4 2、 2 1 4 4、 2 1 4 6、 2 1 4 8、 2 1 5 0、 2 1 5 2、 2 1 5 4
 、 2 1 5 6、 2 1 5 8、 2 1 6 0、 2 1 6 2、 2 1 6 4、 2 1 6 6、 2 1 6 8、 2 1 7 0
 、 2 1 7 2、 2 1 7 4、 2 1 7 6、 2 1 7 8、 2 1 8 0、 2 1 8 2、 2 3 6 0、 2 3 6 2
 、 2 3 6 4、 2 3 6 6、 2 3 6 8、 2 3 7 0、 2 3 7 2、 2 3 7 4、 2 3 7 6、 2 3 7 8
 、 2 3 8 0、 2 3 8 2、 2 3 8 4、 2 3 8 6、 2 3 8 8、 2 3 9 0、 2 3 9 2、 2 3 9 4
 、 2 3 9 6、 2 3 9 8、 2 4 0 0、 2 4 0 2、 2 4 0 4、 2 4 0 6、 2 4 0 8、 2 4 1 0
 、 2 4 1 2、 2 4 1 4、 2 4 1 6、 2 4 1 8、 2 4 2 0、 2 4 2 2、 2 4 2 4、 2 4 2 6
 、 2 4 2 8、 2 4 3 0、 2 4 3 2、 2 4 3 4、 2 4 3 6、 2 4 3 8、 2 4 4 0、 2 4 4 2
 、 2 4 4 4、 2 4 4 6、 2 4 4 8、 2 4 5 0、 2 4 5 2、 2 4 5 4、 2 4 5 6、 2 4 5 8
 、 2 4 6 0、 2 4 6 2、 2 4 6 4、 2 4 6 6、 2 4 6 8、 2 4 7 0、 2 4 7 2、 2 4 7 4 10
 、 2 4 7 6、 2 4 7 8、 2 4 8 0、 2 4 8 2、 2 4 8 4、 2 4 8 6、 2 4 8 8、 2 4 9 0
 、 2 4 9 2、 2 4 9 4、 2 4 9 6、 2 5 0 0、 2 5 0 2、 2 5 0 4、 2 5 0 6、 2 5 0 8
 、 2 5 1 0、 2 5 1 2、 2 5 1 4、 2 5 1 6、 2 5 1 8、 2 5 2 0、 2 5 2 2、 2 5 2 4
 、 2 5 2 6、 2 5 2 8、 2 5 3 0、 2 5 3 2、 2 5 3 4、 2 5 3 6、 2 5 4 0 及び 2 7 7
 7 ~ 2 7 9 1 に記載される。

【 0 2 0 7 】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、抗原結合部分の少なくとも1つのC末端に融合された少なくとも1つのリンカーを含み、IL-10突然変異タンパク質部分は、各リンカーのC末端に共有結合される。様々な実施形態において、リンカーは、4~18アミノ酸長である。様々な実施形態において、リンカーは、6アミノ酸長である。様々な実施形態において、リンカーは、三量体、四量体、五量体、六量体、七量体又は八量体ペプチドである。様々な実施形態において、リンカーは、GS残基を含む。使用のために想定されるさらなるリンカーが以下に説明される。 20

【 0 2 0 8 】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、抗原結合タンパク質の抗体部分の前記重鎖可変領域に結合されたヒト重鎖定常領域をさらに含む。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、抗原結合タンパク質の抗体部分の前記軽鎖可変領域に結合されたヒト軽鎖定常領域をさらに含む。

【 0 2 0 9 】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合部分は、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、組み換え抗体、Fab、F(ab')₂、Fab₂、1価IgG、scFv、scFv-Fc、IgG1抗体、IgG2抗体、IgG3抗体及びIgG4抗体からなる群から選択される。様々な実施形態において、抗原結合部分は、IgGである。様々な実施形態において、抗原結合部分は、IgG2抗体である。様々な実施形態において、抗原結合部分は、IgG1抗体である。様々な実施形態において、抗体は、IgG1z抗体である。様々な実施形態において、抗原結合部分は、1価IgGである。様々な実施形態において、抗原結合部分の重鎖定常領域は、IgG、IgM、IgA、IgD、IgEの重鎖定常領域、そのフラグメント、それらの組合せ及び1~10個の重鎖フレームワークアミノ酸は、別のヒト抗体定常領域からの対応するアミノ酸で置換されたそれらの修飾から選択される。 30 40

【 0 2 1 0 】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合部分は、配列番号22に記載されるアミノ酸配列を有するヒトPD-1に結合する。様々な実施形態において、抗原結合部分は、配列番号20に記載されるアミノ酸配列を有するヒトTREM-1に結合する。様々な実施形態において、抗原結合部分は、少なくとも10⁻⁸Mの結合親和性でヒトTREM-1に結合する。

【 0 2 1 1 】

様々な実施形態において、抗原結合部分は、10⁻⁸M~10⁻¹⁵M又は10⁻⁸M~10⁻¹²M又は10⁻⁸M、10⁻⁹M、10⁻¹⁰M、10⁻¹¹M、10⁻¹²M、10⁻¹³M、10⁻¹⁴M又は10⁻¹⁵Mの結合親和性でその抗原に結合する。 50

【0212】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗TREM-1抗原結合部分は、

a. 軽鎖可変ドメインであって、

i. 配列番号30、50、70、90、110、130、150、170、190、210、230、250、270、290及び2190から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1；

ii. 配列番号31、51、71、91、111、131、151、171、191、211、231、251、271、291及び2191から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2；

iii. 配列番号32、52、72、92、112、132、152、172、192、212、232、252、272、292及び2192から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3

を含む軽鎖可変ドメイン；及び

b. 重鎖可変ドメインであって、

i. 配列番号36、56、76、96、116、136、156、176、196、216、236、256、276、296及び2196から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR1；

ii. 配列番号37、57、77、97、117、137、157、177、197、217、237、257、277、297及び2197から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR2；及び

iii. 配列番号38、58、78、98、118、138、158、178、198、218、238、258、278、298及び2198から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR3

を含む重鎖可変ドメイン

を含む。

【0213】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、

a. 軽鎖CDR1配列は、配列番号30、50、70、110、150、170又は290に記載され；

b. 軽鎖CDR2配列は、配列番号31、51、71、111、151、171又は291に記載され；

c. 軽鎖CDR3配列は、配列番号32、52、72、112、152、172又は292に記載され、

d. 重鎖CDR1配列は、配列番号36、56、76、116、156、176又は296に記載され；

e. 重鎖CDR2配列は、配列番号37、57、77、117、157、177又は297に記載され；

f. 重鎖CDR3配列は、配列番号38、58、78、118、158、178又は298に記載される。

【0214】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、

a. 軽鎖CDR1配列は、配列番号50又は110に記載され；

b. 軽鎖CDR2配列は、配列番号51又は111に記載され；

c. 軽鎖CDR3配列は、配列番号52又は112に記載され；

d. 重鎖CDR1配列は、配列番号56又は116に記載され；

e. 重鎖CDR2配列は、配列番号57又は117に記載され；

f. 重鎖CDR3配列は、配列番号58又は118に記載される。

【0215】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、

i) 配列番号30(LCDR1)、配列番号31(LCDR2)、配列番号32(LC

10

20

30

40

50

DR3)、配列番号36(HCDR1)、配列番号37(HCDR2)及び配列番号38(HCDR3)；

ii)配列番号50(LCDR1)、配列番号51(LCDR2)、配列番号52(LCDR3)、配列番号56(HCDR1)、配列番号57(HCDR2)及び配列番号58(HCDR3)；

iii)配列番号70(LCDR1)、配列番号71(LCDR2)、配列番号72(LCDR3)、配列番号76(HCDR1)、配列番号77(HCDR2)及び配列番号78(HCDR3)；

iv)配列番号90(LCDR1)、配列番号91(LCDR2)、配列番号92(LCDR3)、配列番号96(HCDR1)、配列番号97(HCDR2)及び配列番号98(HCDR3)；

v)配列番号110(LCDR1)、配列番号111(LCDR2)、配列番号112(LCDR3)、配列番号116(HCDR1)、配列番号117(HCDR2)及び配列番号118(HCDR3)；

vi)配列番号130(LCDR1)、配列番号131(LCDR2)、配列番号132(LCDR3)、配列番号136(HCDR1)、配列番号137(HCDR2)及び配列番号138(HCDR3)；

vii)配列番号150(LCDR1)、配列番号151(LCDR2)、配列番号152(LCDR3)、配列番号156(HCDR1)、配列番号157(HCDR2)及び配列番号158(HCDR3)；

viii)配列番号170(LCDR1)、配列番号171(LCDR2)、配列番号172(LCDR3)、配列番号176(HCDR1)、配列番号177(HCDR2)及び配列番号178(HCDR3)；

ix)配列番号190(LCDR1)、配列番号191(LCDR2)、配列番号192(LCDR3)、配列番号196(HCDR1)、配列番号197(HCDR2)及び配列番号198(HCDR3)；

x)配列番号210(LCDR1)、配列番号211(LCDR2)、配列番号212(LCDR3)、配列番号216(HCDR1)、配列番号217(HCDR2)及び配列番号218(HCDR3)；

xi)配列番号230(LCDR1)、配列番号231(LCDR2)、配列番号232(LCDR3)、配列番号236(HCDR1)、配列番号237(HCDR2)及び配列番号238(HCDR3)；

xii)配列番号250(LCDR1)、配列番号251(LCDR2)、配列番号252(LCDR3)、配列番号256(HCDR1)、配列番号257(HCDR2)及び配列番号258(HCDR3)；

xiii)配列番号270(LCDR1)、配列番号271(LCDR2)、配列番号272(LCDR3)、配列番号276(HCDR1)、配列番号277(HCDR2)及び配列番号278(HCDR3)；

xiv)配列番号290(LCDR1)、配列番号291(LCDR2)、配列番号292(LCDR3)、配列番号296(HCDR1)、配列番号297(HCDR2)及び配列番号298(HCDR3)；及び

xv)配列番号2190(LCDR1)、配列番号2191(LCDR2)、配列番号2192(LCDR3)、配列番号2196(HCDR1)、配列番号2197(HCDR2)及び配列番号2198(HCDR3)

から選択されるCDR配列の組を含む。

【0216】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗TREM-1抗原結合部分は、

a. 軽鎖可変ドメインであって、

i. 配列番号41、61、81、101、121、141、161、181、201、221、241、261、281、301及び2185から選択されるアミノ酸配列と少

なくとも 80% 同一である配列；

i i . 配列番号 39、59、79、99、119、139、159、179、199、219、239、259、279、299 及び 2183 から選択される核酸配列と少なくとも 80% 同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列；

i i i . 配列番号 39、59、79、99、119、139、159、179、199、219、239、259、279、299 及び 2183 から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン；及び

b . 重鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号 42、62、82、102、122、142、162、182、202、222、242、262、282、302 及び 2186 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 80% 同一である配列；

i i . 配列番号 40、60、80、100、120、140、160、180、200、220、240、260、280、300 及び 2184 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 80% 同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列；及び

i i i . 配列番号 40、60、80、100、120、140、160、180、200、220、240、260、280、300 及び 2186 から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【0217】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 抗原結合部分は、

a . 軽鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号 41、61、81、121、161、181 及び 301 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 80% 同一である配列；

i i . 配列番号 39、59、79、119、159、179 及び 299 から選択される核酸配列と少なくとも 80% 同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列；

i i i . 配列番号 39、59、79、119、159、179 及び 299 から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン；及び

b . 重鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号 42、62、82、122、162、182 及び 302 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 80% 同一である配列；

i i . 配列番号 40、60、80、120、160、180 及び 300 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 80% 同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列；

i i i . 配列番号 40、60、80、120、160、180 及び 300 から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【0218】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 抗原結合部分は、

a . 軽鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号 61 及び 121 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 80% 同一である配列；

10

20

30

40

50

i i . 配列番号 59 及び 119 から選択される核酸配列と少なくとも 80% 同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列；

i i i . 配列番号 59 及び 119 から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン；及び

b . 重鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号 62 及び 122 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 80% 同一である配列；

i i . 配列番号 60 及び 120 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 80% 同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列； 10

i i i . 配列番号 60 及び 120 から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【0219】

様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質又は抗原結合タンパク質の抗 T R E M 1 抗原結合部分は、

i) 配列番号 41 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 42 に記載される重鎖可変ドメイン； 20

i i) 配列番号 61 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 62 に記載される重鎖可変ドメイン；

i i i) 配列番号 81 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 82 に記載される重鎖可変ドメイン；

i v) 配列番号 101 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 102 に記載される重鎖可変ドメイン；

v) 配列番号 121 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 122 に記載される重鎖可変ドメイン；

v i) 配列番号 141 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 142 に記載される重鎖可変ドメイン； 30

v i i) 配列番号 161 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 162 に記載される重鎖可変ドメイン；

v i i i) 配列番号 181 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 182 に記載される重鎖可変ドメイン；

i x) 配列番号 201 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 202 に記載される重鎖可変ドメイン；

x) 配列番号 221 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 222 に記載される重鎖可変ドメイン；

x i) 配列番号 241 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 242 に記載される重鎖可変ドメイン； 40

x i i) 配列番号 261 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 262 に記載される重鎖可変ドメイン；

x i i i) 配列番号 281 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 282 に記載される重鎖可変ドメイン；

x i v) 配列番号 301 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 302 に記載される重鎖可変ドメイン；又は

x v) 配列番号 2185 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 2186 に記載される重鎖可変ドメイン

を含む。

【0220】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、アミノ酸配列は、配列番号41、61、81、101、121、141、161、181、201、221、241、261、281、301及び2185及び配列番号42、62、82、102、122、142、162、182、202、222、242、262、282、302及び2186と80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であり得る。

【0221】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合部分は、配列番号42、62、82、102、122、142、162、182、202、222、242、262、282、302及び2186から選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む。

10

【0222】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合部分は、配列番号41、61、81、101、121、141、161、181、201、221、241、261、281、301及び2185から選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む。

【0223】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合部分は、配列番号42、62、82、122、142、162、182及び302から選択される配列と少なくとも90%同一である重鎖アミノ酸配列並びに配列番号41、61、81、121、141、161、181及び301から選択される配列と少なくとも90%同一である軽鎖アミノ酸配列を含む。

20

【0224】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合部分は、配列番号62及び122から選択される配列と少なくとも90%同一である重鎖アミノ酸配列並びに配列番号61及び121から選択される配列と少なくとも90%同一である軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0225】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号863、865、867、869、871、873、875、877、879、881、883、885、887、889、891、893、895、897、899、901、903、905、907、909、911、913、915、917、919、921、923、925、927、929、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1007、1009、1011、1013、1015、1017、1019、1021、1023、1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、1049、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1073、1075、1077、1079、1081、1083及び1085から選択される重鎖アミノ酸配列並びに配列番号864、866、868、870、872、874、876、878、880、882、884、886、888、890、892、894、896、898、900、902、904、906、908、910、912、914、916、918、920、922、924、926、928、930、932、934、936、938、940、942、944、946、948、950、952、954、956、958、960、962、964、966、968、970、972、974、976、978、980、982、984、986、988、990、992、994、996、998、1000、1002、1004、1006、1008、10

30

40

50

10、1012、1014、1016、1018、1020、1022、1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、1048、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1072、1074、1076、1078、1080、1082、1084及び1086から選択される軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0226】

様々な実施形態において、TREM-1抗体重鎖及び/又は軽鎖可変領域の変位体が本明細書において提供される。TREM-1抗体重鎖可変領域変異体配列は、配列番号1883、1885、1887、1889、1891、1893、1895、1897、1899、1901、1903、1905、1907、1909、1911、1913、1915、1917、1919、1921、1923、1925、1927、1929、1931、1933、1935、1937、1939、1941、1943、1945、1947、1949、1951、1953、1955、1957、1959、1961、1963、1965、1967、1969、1971、1973、1975、1977、1979、1981、1983、1985、1987、1989、1991、1993、1995、1997、1999、2001、2003、2005、2007、2011、2013、2015、2017、2019、2021、2026、2025、2027、2029、2031、2033、2035、2037、2039、2041、2043、2045、2047、2049、2051、2053、2055、2057、2059、2061、2063、2065、2067、2069、2071、2073、2075、2077、2079、2081、2083、2085、2087、2089、2091、2093、2095、2097、2099、2101、2103、2105、2107、2109、2111、2113、2115、2117、2119、2121、2123、2125、2127、2129、2131、2133、2135及び表10及び表11に記載され、TREM-1抗体軽鎖可変領域変異体配列は、配列番号2543、2544、2545、2546、2547、2548、2549、2550、2551、2552、2553、2554、2555、2556、2557、2558、2559、2560、2561、2562、2563、2564、2565、2566、2567、2568、2569、2570、2571、2572、2573、2574、2575、2576、2577、2578、2579、2580、2581、2582、2583、2584、2585、2586、2587、2588、2589、2590、2591、2592、2593、2594、2595、2596、2597、2598、2599、2600、2601、2602、2603、2604、2605、2233、2235、2237、2239、2241、2243、2245、2247、2249、2251、2253、2255、2257、2259、2261、2263、2265、2267、2269、2271、2273、2275、2277、2279、2281、2283、2285、2287、2289、2291、2293、2295、2297、2299、2301、2303、2305、2307、2309、2311、2313、2315、2317、2319、2321、2323、2325、2327、2329、2331、2333、2335、2337、2339、2341、2343、2345、2347、2349、2351、2353、2355、2357、表10及び表11に記載される。TREM-1-IL-10抗原結合タンパク質は、本明細書に開示されるTREM-1抗体変異体重鎖及び/又は軽鎖配列を含むと考えられる。

【0227】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合タンパク質の1つ以上の重鎖フレームワークアミノ酸は、別のヒト抗体アミノ酸配列からの対応するアミノ酸で置換される。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質の1つ以上の軽鎖フレームワークアミノ酸は、別のヒト抗体アミノ酸配列からの対応するアミノ酸で置換される。

【0228】

10

20

30

40

50

様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質は、前記軽鎖可変領域に結合されたヒト軽鎖定常領域をさらに含む。

【 0 2 2 9 】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、2つの軽鎖及び2つの重鎖を含み、各重鎖は、重鎖のC末端に結合されたIL-10部分を含み；各重鎖IL-10部分抗原結合タンパク質は、配列番号863、865、867、869、871、873、875、877、879、881、883、885、887、889、891、893、895、897、899、901、903、905、907、909、911、913、915、917、919、921、923、925、927、929、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1007、1009、1011、1013、1015、1017、1019、1021、1023、1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、1049、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1073、1075、1077、1079、1081、1083及び1085から選択される配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含み；及び各軽鎖は、配列番号864、866、868、870、872、874、876、878、880、882、884、886、888、890、892、894、896、898、900、902、904、906、908、910、912、914、916、918、920、922、924、926、928、930、932、934、936、938、940、942、944、946、948、950、952、954、956、958、960、962、964、966、968、970、972、974、976、978、980、982、984、986、988、990、992、994、996、998、1000、1002、1004、1006、1008、1010、1012、1014、1016、1018、1020、1022、1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、1048、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1072、1074、1076、1078、1080、1082、1084及び1086から選択される配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む。

10

20

30

【 0 2 3 0 】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、1価であり得る。様々な実施形態において、重鎖IL-10部分抗原結合タンパク質は、配列番号1087、1090、1093、1096、1105、1108、1111、1114、1117、1123、1126、1129、1132、1138、1141、1147、1150、1153、1156、1159、1162、1165、1168、1171、1174、1177、1180、1183、1186、1189、1192、1195、1198、1201、1204、1207、1210、1213、1216、1219、1222、1225、1228、1231、1237、1240、1243、1246、1252、1255、1258、1261、1264、1267、1270、1273、1276、1279、1285、1288、1294、1297、1300、1303、1309、1312、1315、1318、1321、1324、1333、1336、1342、1345、1348、1351、1354、1357、1360、1363、1366、1369、1372、1375、1378、1381、1384、1387、1390、1393、1396、1399、1402、1408、1411、1414、1417及び1420から選択される配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む。様々な実施形態において、軽鎖は、配列番号1088、1091、1094、1097、1106、1109

40

50

、 1 1 1 2、 1 1 1 5、 1 1 1 8、 1 1 2 4、 1 1 2 7、 1 1 3 0、 1 1 3 3、 1 1 3 9
 、 1 1 4 2、 1 1 4 8、 1 1 5 1、 1 1 5 4、 1 1 5 7、 1 1 6 0、 1 1 6 3、 1 1 6 6
 、 1 1 6 9、 1 1 7 2、 1 1 7 5、 1 1 7 8、 1 1 8 1、 1 1 8 4、 1 1 8 7、 1 1 9 0
 、 1 1 9 3、 1 1 9 6、 1 1 9 9、 1 2 0 2、 1 2 0 5、 1 2 0 8、 1 2 1 1、 1 2 1 4
 、 1 2 1 7、 1 2 2 0、 1 2 2 3、 1 2 2 6、 1 2 2 9、 1 2 3 2、 1 2 3 8、 1 2 4 1
 、 1 2 4 4、 1 2 4 7、 1 2 5 3、 1 2 5 6、 1 2 5 9、 1 2 6 2、 1 2 6 5、 1 2 6 8
 、 1 2 7 1、 1 2 7 4、 1 2 7 7、 1 2 8 0、 1 2 8 6、 1 2 8 9、 1 2 9 5、 1 2 9 8
 、 1 3 0 1、 1 3 0 4、 1 3 1 0、 1 3 1 3、 1 3 1 6、 1 3 1 9、 1 3 2 2、 1 3 2 5
 、 1 3 3 4、 1 3 3 7、 1 3 4 3、 1 3 4 6、 1 3 4 9、 1 3 5 2、 1 3 5 5、 1 3 5 8
 、 1 3 6 1、 1 3 6 4、 1 3 6 7、 1 3 7 0、 1 3 7 3、 1 3 7 6、 1 3 7 9、 1 3 8 2 10
 、 1 3 8 5、 1 3 8 8、 1 3 9 1、 1 3 9 4、 1 3 9 7、 1 4 0 0、 1 4 0 3、 1 4 0 9
 、 1 4 1 2、 1 4 1 5、 1 4 1 8 及び 1 4 2 1 から選択される配列と少なくとも 90% 同
 一であるアミノ酸配列を含む。様々な実施形態において、1価抗原結合タンパク質は、例
 えば、配列番号 1 0 8 9、 1 0 9 2、 1 0 9 5、 1 0 9 8、 1 1 0 7、 1 1 1 0、 1 1 1
 3、 1 1 1 6、 1 1 1 9、 1 1 2 5、 1 1 2 8、 1 1 3 1、 1 1 3 4、 1 1 4 0、 1 1 4
 3、 1 1 4 9、 1 1 5 2、 1 1 5 5、 1 1 5 8、 1 1 6 1、 1 1 6 4、 1 1 6 7、 1 1 7
 0、 1 1 7 3、 1 1 7 6、 1 1 7 9、 1 1 8 2、 1 1 8 5、 1 1 8 8、 1 1 9 1、 1 1 9
 4、 1 1 9 7、 1 2 0 0、 1 2 0 3、 1 2 0 6、 1 2 0 9、 1 2 1 2、 1 2 1 5、 1 2 1
 8、 1 2 2 1、 1 2 2 4、 1 2 2 7、 1 2 3 0、 1 2 3 3、 1 2 3 9、 1 2 4 2、 1 2 4
 5、 1 2 4 8、 1 2 5 4、 1 2 5 7、 1 2 6 0、 1 2 6 3、 1 2 6 6、 1 2 6 9、 1 2 7 20
 2、 1 2 7 5、 1 2 7 8、 1 2 8 1、 1 2 8 7、 1 2 9 0、 1 2 9 6、 1 2 9 9、 1 3 0
 2、 1 3 0 5、 1 3 1 1、 1 3 1 4、 1 3 1 7、 1 3 2 0、 1 3 2 3、 1 3 2 6、 1 3 3
 5、 1 3 3 8、 1 3 4 4、 1 3 4 7、 1 3 5 0、 1 3 5 3、 1 3 5 6、 1 3 5 9、 1 3 6
 2、 1 3 6 5、 1 3 6 8、 1 3 7 1、 1 3 7 4、 1 3 7 7、 1 3 8 0、 1 3 8 3、 1 3 8
 6、 1 3 8 9、 1 3 9 2、 1 3 9 5、 1 3 9 8、 1 4 0 1、 1 4 0 4、 1 4 1 0、 1 4 1
 3、 1 4 1 6、 1 4 1 9 及び 1 4 2 2 に記載されるような、Fc領域をさらに含む。

【 0 2 3 1 】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、2つの軽鎖及
 び2つの重鎖を含み、各重鎖は、重鎖のC末端に結合されたIL-10部分を含み；各重
 鎖IL-10部分抗原結合タンパク質は、配列番号 1 8 8 3、 1 8 8 5、 1 8 8 7、 1 8 30
 8 9、 1 8 9 1、 1 8 9 3、 1 8 9 5、 1 8 9 7、 1 8 9 9、 1 9 0 1、 1 9 0 3、 1 9
 0 5、 1 9 0 7、 1 9 0 9、 1 9 1 1、 1 9 1 3、 1 9 1 5、 1 9 1 7、 1 9 1 9、 1 9
 2 1、 1 9 2 3、 1 9 2 5、 1 9 2 7、 1 9 2 9、 1 9 3 1、 1 9 3 3、 1 9 3 5、 1 9
 3 7、 1 9 3 9、 1 9 4 1、 1 9 4 3、 1 9 4 5、 1 9 4 7、 1 9 4 9、 1 9 5 1、 1 9
 5 3、 1 9 5 5、 1 9 5 7、 1 9 5 9、 1 9 6 1、 1 9 6 3、 1 9 6 5、 1 9 6 7、 1 9
 6 9、 1 9 7 1、 1 9 7 3、 1 9 7 5、 1 9 7 7、 1 9 7 9、 1 9 8 1、 1 9 8 3、 1 9
 8 5、 1 9 8 7、 1 9 8 9、 1 9 9 1、 1 9 9 3、 1 9 9 5、 1 9 9 7、 1 9 9 9、 2 0
 0 1、 2 0 0 3、 2 0 0 5、 2 0 0 7、 2 0 1 1、 2 0 1 3、 2 0 1 5、 2 0 1 7、 2 0
 1 9、 2 0 2 1、 2 0 2 6、 2 0 2 5、 2 0 2 7、 2 0 2 9、 2 0 3 1、 2 0 3 3、 2 0
 3 5、 2 0 3 7、 2 0 3 9、 2 0 4 1、 2 0 4 3、 2 0 4 5、 2 0 4 7、 2 0 4 9、 2 0 40
 5 1、 2 0 5 3、 2 0 5 5、 2 0 5 7、 2 0 5 9、 2 0 6 1、 2 0 6 3、 2 0 6 5、 2 0
 6 7、 2 0 6 9、 2 0 7 1、 2 0 7 3、 2 0 7 5、 2 0 7 7、 2 0 7 9、 2 0 8 1、 2 0
 8 3、 2 0 8 5、 2 0 8 7、 2 0 8 9、 2 0 9 1、 2 0 9 3、 2 0 9 5、 2 0 9 7、 2 0
 9 9、 2 1 0 1、 2 1 0 3、 2 1 0 5、 2 1 0 7、 2 1 0 9、 2 1 1 1、 2 1 1 3、 2 1
 1 5、 2 1 1 7、 2 1 1 9、 2 1 2 1、 2 1 2 3、 2 1 2 5、 2 1 2 7、 2 1 2 9、 2 1
 3 1、 2 1 3 3、 2 1 3 5 から選択される配列並びに表 1 0、表 1 1、表 1 6 及び表 1 7
 に記載される配列と少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列を含み；各軽鎖は、配列番
 号 2 5 4 3、 2 5 4 4、 2 5 4 5、 2 5 4 6、 2 5 4 7、 2 5 4 8、 2 5 4 9、 2 5 5 0
 、 2 5 5 1、 2 5 5 2、 2 5 5 3、 2 5 5 4、 2 5 5 5、 2 5 5 6、 2 5 5 7、 2 5 5 8
 、 2 5 5 9、 2 5 6 0、 2 5 6 1、 2 5 6 2、 2 5 6 3、 2 5 6 4、 2 5 6 5、 2 5 6 6 50

、 2 5 6 7、 2 5 6 8、 2 5 6 9、 2 5 7 0、 2 5 7 1、 2 5 7 2、 2 5 7 3、 2 5 7 4
 、 2 5 7 5、 2 5 7 6、 2 5 7 7、 2 5 7 8、 2 5 7 9、 2 5 8 0、 2 5 8 1、 2 5 8 2
 、 2 5 8 3、 2 5 8 4、 2 5 8 5、 2 5 8 6、 2 5 8 7、 2 5 8 8、 2 5 8 9、 2 5 9 0
 、 2 5 9 1、 2 5 9 2、 2 5 9 3、 2 5 9 4、 2 5 9 5、 2 5 9 6、 2 5 9 7、 2 5 9 8
 、 2 5 9 9、 2 6 0 0、 2 6 0 1、 2 6 0 2、 2 6 0 3、 2 6 0 4、 2 6 0 5、 2 2 3 3
 、 2 2 3 5、 2 2 3 7、 2 2 3 9、 2 2 4 1、 2 2 4 3、 2 2 4 5、 2 2 4 7、 2 2 4 9
 、 2 2 5 1、 2 2 5 3、 2 2 5 5、 2 2 5 7、 2 2 5 9、 2 2 6 1、 2 2 6 3、 2 2 6 5
 、 2 2 6 7、 2 2 6 9、 2 2 7 1、 2 2 7 3、 2 2 7 5、 2 2 7 7、 2 2 7 9、 2 2 8 1
 、 2 2 8 3、 2 2 8 5、 2 2 8 7、 2 2 8 9、 2 2 9 1、 2 2 9 3、 2 2 9 5、 2 2 9 7
 、 2 2 9 9、 2 3 0 1、 2 3 0 3、 2 3 0 5、 2 3 0 7、 2 3 0 9、 2 3 1 1、 2 3 1 3
 、 2 3 1 5、 2 3 1 7、 2 3 1 9、 2 3 2 1、 2 3 2 3、 2 3 2 5、 2 3 2 7、 2 3 2 9
 、 2 3 3 1、 2 3 3 3、 2 3 3 5、 2 3 3 7、 2 3 3 9、 2 3 4 1、 2 3 4 3、 2 3 4 5
 、 2 3 4 7、 2 3 4 9、 2 3 5 1、 2 3 5 3、 2 3 5 5、 2 3 5 7 から選択される配列並
 びに表 1 0 及び表 1 1 に記載される配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含
 む。抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、 2 つの軽鎖
 及び 2 つの重鎖を含み、各重鎖は、重鎖の C 末端に結合された I L - 1 0 部分を含み；各
 重鎖 I L - 1 0 部分抗原結合タンパク質は、配列番号 1 8 8 3、 1 8 8 5、 1 8 8 7、 1
 8 8 9、 1 8 9 1、 1 8 9 3、 1 8 9 5、 1 8 9 7、 1 8 9 9、 1 9 0 1、 1 9 0 3、 1
 9 0 5、 1 9 0 7、 1 9 0 9、 1 9 1 1、 1 9 1 3、 1 9 1 5、 1 9 1 7、 1 9 1 9、 1
 9 2 1、 1 9 2 3、 1 9 2 5、 1 9 2 7、 1 9 2 9、 1 9 3 1、 1 9 3 3、 1 9 3 5、 1
 9 3 7、 1 9 3 9、 1 9 4 1、 1 9 4 3、 1 9 4 5、 1 9 4 7、 1 9 4 9、 1 9 5 1、 1
 9 5 3、 1 9 5 5、 1 9 5 7、 1 9 5 9、 1 9 6 1、 1 9 6 3、 1 9 6 5、 1 9 6 7、 1
 9 6 9、 1 9 7 1、 1 9 7 3、 1 9 7 5、 1 9 7 7、 1 9 7 9、 1 9 8 1、 1 9 8 3、 1
 9 8 5、 1 9 8 7、 1 9 8 9、 1 9 9 1、 1 9 9 3、 1 9 9 5、 1 9 9 7、 1 9 9 9、 2
 0 0 1、 2 0 0 3、 2 0 0 5 及び 2 0 0 7 から選択される配列と少なくとも 9 0 % 同一で
 あるアミノ酸配列を含み、各軽鎖は、配列番号 2 5 4 3、 2 5 4 4、 2 5 4 5、 2 5 4 6
 、 2 5 4 7、 2 5 4 8、 2 5 4 9、 2 5 5 0、 2 5 5 1、 2 5 5 2、 2 5 5 3、 2 5 5 4
 、 2 5 5 5、 2 5 5 6、 2 5 5 7、 2 5 5 8、 2 5 5 9、 2 5 6 0、 2 5 6 1、 2 5 6 2
 、 2 5 6 3、 2 5 6 4、 2 5 6 5、 2 5 6 6、 2 5 6 7、 2 5 6 8、 2 5 6 9、 2 5 7 0
 、 2 5 7 1、 2 5 7 2、 2 5 7 3、 2 5 7 4、 2 5 7 5、 2 5 7 6、 2 5 7 7、 2 5 7 8
 、 2 5 7 9、 2 5 8 0、 2 5 8 1、 2 5 8 2、 2 5 8 3、 2 5 8 4、 2 5 8 5、 2 5 8 6
 、 2 5 8 7、 2 5 8 8、 2 5 8 9、 2 5 9 0、 2 5 9 1、 2 5 9 2、 2 5 9 3、 2 5 9 4
 、 2 5 9 5、 2 5 9 6、 2 5 9 7、 2 5 9 8、 2 5 9 9、 2 6 0 0、 2 6 0 1、 2 6 0 2
 、 2 6 0 3、 2 6 0 4、 2 6 0 5 から選択される配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミ
 ノ酸配列を含む。

10

20

30

【 0 2 3 2 】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、 2 つの軽鎖及
 び 2 つの重鎖を含み、各重鎖は、重鎖の C 末端に結合された I L - 1 0 部分を含み；各重
 鎖 I L - 1 0 部分抗原結合タンパク質は、配列番号 2 0 1 1、 2 0 1 3、 2 0 1 5、 2 0
 1 7、 2 0 1 9、 2 0 2 1、 2 0 2 6、 2 0 2 5、 2 0 2 7、 2 0 2 9、 2 0 3 1、 2 0
 3 3、 2 0 3 5、 2 0 3 7、 2 0 3 9、 2 0 4 1、 2 0 4 3、 2 0 4 5、 2 0 4 7、 2 0
 4 9、 2 0 5 1、 2 0 5 3、 2 0 5 5、 2 0 5 7、 2 0 5 9、 2 0 6 1、 2 0 6 3、 2 0
 6 5、 2 0 6 7、 2 0 6 9、 2 0 7 1、 2 0 7 3、 2 0 7 5、 2 0 7 7、 2 0 7 9、 2 0
 8 1、 2 0 8 3、 2 0 8 5、 2 0 8 7、 2 0 8 9、 2 0 9 1、 2 0 9 3、 2 0 9 5、 2 0
 9 7、 2 0 9 9、 2 1 0 1、 2 1 0 3、 2 1 0 5、 2 1 0 7、 2 1 0 9、 2 1 1 1、 2 1
 1 3、 2 1 1 5、 2 1 1 7、 2 1 1 9、 2 1 2 1、 2 1 2 3、 2 1 2 5、 2 1 2 7、 2 1
 2 9、 2 1 3 1、 2 1 3 3 及び 2 1 3 5 から選択される配列と少なくとも 9 0 % 同一であ
 るアミノ酸配列を含み、各軽鎖は、配列番号 2 2 3 3、 2 2 3 5、 2 2 3 7、 2 2 3 9、
 2 2 4 1、 2 2 4 3、 2 2 4 5、 2 2 4 7、 2 2 4 9、 2 2 5 1、 2 2 5 3、 2 2 5 5、
 2 2 5 7、 2 2 5 9、 2 2 6 1、 2 2 6 3、 2 2 6 5、 2 2 6 7、 2 2 6 9、 2 2 7 1、

40

50

2 2 7 3、2 2 7 5、2 2 7 7、2 2 7 9、2 2 8 1、2 2 8 3、2 2 8 5、2 2 8 7、
2 2 8 9、2 2 9 1、2 2 9 3、2 2 9 5、2 2 9 7、2 2 9 9、2 3 0 1、2 3 0 3、
2 3 0 5、2 3 0 7、2 3 0 9、2 3 1 1、2 3 1 3、2 3 1 5、2 3 1 7、2 3 1 9、
2 3 2 1、2 3 2 3、2 3 2 5、2 3 2 7、2 3 2 9、2 3 3 1、2 3 3 3、2 3 3 5、
2 3 3 7、2 3 3 9、2 3 4 1、2 3 4 3、2 3 4 5、2 3 4 7、2 3 4 9、2 3 5 1、
2 3 5 3、2 3 5 5 及び 2 3 5 7 から選択される配列と少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列を含む。

【0233】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号 2 7 2 6 ~ 2 7 7 6 のいずれか 1 つに記載される配列と少なくとも 90% 同一である重鎖アミノ酸配列を含む。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号 2 7 2 6 ~ 2 7 7 6 のいずれか 1 つに記載される重鎖アミノ酸配列を含む。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号 2 7 2 7 ~ 2 7 3 2 からなる群から選択される重鎖 I L - 1 0 部分アミノ酸配列を有する。

10

【0234】

様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号 2 7 2 7 又は 2 7 2 8 の重鎖アミノ酸配列及び配列番号 9 7 6 又は配列番号 2 5 5 4 に記載される軽鎖アミノ酸配列又は他の 6 3 F 8 又は 6 3 F 8 . 0 0 1 軽鎖を含む。様々な実施形態において、抗原結合タンパク質は、配列番号 2 7 2 9、2 7 3 0、2 7 3 1 又は 2 7 3 2 の重鎖アミノ酸配列及び配列番号 9 9 2 又は配列番号 2 5 5 5 に記載される軽鎖アミノ酸配列又は他の 6 4 D 7 又は 6 4 D 7 . 0 0 1 軽鎖を含む。

20

【0235】

抗原結合タンパク質の様々な実施形態において、抗 T R E M - 1 抗原結合部分は、T R E M - 1 リガンドへの T R E M - 1 の結合を阻害する。

【0236】

様々な実施形態において、少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、抗原結合部分の N 末端に融合される。様々な実施形態において、少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、抗原結合部分の N 及び C 末端に融合される。様々な実施形態において、I L - 1 0 部分は、抗原結合部分における内部部位において融合され、例えば、I L - 1 0 部分は、重鎖の C H 1 ドメインとヒンジ領域との間又は参照により本明細書に援用される米国特許第 8, 0 0 8, 4 5 3 号明細書に記載される部位において融合される。様々な実施形態において、少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、抗原結合部分の重鎖及び / 又は軽鎖に融合される。様々な実施形態において、重鎖及び / 又は軽鎖は、修飾又は操作された重鎖又は軽鎖である。

30

【0237】

核酸分子

本開示は、I L - 1 0 突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質並びに本明細書に記載される抗原結合部分及び I L - 1 0 部分を含む抗原結合タンパク質をコードする単離核酸も提供し、これは、例えば、I L - 1 0 突然変異タンパク質配列、抗原結合タンパク質軽鎖、軽鎖可変領域、軽鎖定常領域、抗原結合タンパク質重鎖、重鎖可変領域、重鎖定常領域、リンカー、融合タンパク質並びにそれらのあらゆる構成要素及び組合せを含む。本発明の核酸は、本発明の核酸との、少なくとも 80%、より好ましくは、少なくとも約 90%、より好ましくは、少なくとも約 95%、最も好ましくは、少なくとも約 98% の同一性を有する核酸を含む。特定の配列に言及する際の「類似性パーセント」、「同一性パーセント」及び「相同性パーセント」という用語は、University of Wisconsin GCG (登録商標) ソフトウェアプログラムに記載されるように使用される。本開示の核酸は、相補的核酸も含む。ある場合には、配列は、アラインされた際に完全に相補的であるであろう (ミスマッチなし)。他の場合、配列中に最大で約 20% のミスマッチが存在し得る。本発明のある実施形態において、本開示の抗体の重鎖及び軽鎖の両方をコードする核酸が提供される。

40

【0238】

50

本開示の核酸は、プラスミド、コスミド、バクミド、ファージ、人工染色体（BAC、YAC）又はウイルスなどのベクターへとクローニングされ得、その中に別の遺伝子配列又は要素（DNA又はRNAのいずれか）が、結合された配列又は要素の複製をもたらすように挿入され得る。ある実施形態において、発現ベクターは、構成的に活性なプロモーターセグメント（限定はされないが、CMV、SV40、伸長因子若しくはLTR配列など）又は誘導性プロモーター配列、例えばステロイド誘導性pINDベクター（Invitrogen）を含有し、ここで、核酸の発現が調節され得る。本発明の発現ベクターは、調節配列、例えば内部リボソーム進入部位をさらに含み得る。発現ベクターは、例えば、トランスフェクションによって細胞中に導入され得る。

【0239】

以下の動作可能に連結された要素；転写プロモーター；本開示のIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質、抗体又は抗原結合フラグメント又は融合タンパク質の重鎖をコードする第1の核酸分子；本開示の抗原結合タンパク質、抗体又は抗原結合フラグメントの軽鎖をコードする第2の核酸分子；及び転写ターミネーターを含む発現ベクターも提供される。別の実施形態において、本開示は、以下の動作可能に連結された要素；第1の転写プロモーター；IL-10突然変異タンパク質、本開示の抗原結合タンパク質、抗体又は抗原結合フラグメントの重鎖又はその融合タンパク質をコードする第1の核酸分子；第1の転写ターミネーター；第2の転写プロモーター、任意選択的に本開示の抗原結合タンパク質、抗体又は抗原結合フラグメントの軽鎖をコードする第2の核酸分子；及び第2の転写ターミネーターを含む発現ベクターを提供する。

【0240】

分泌シグナルペプチド配列は、任意選択的に、対象とするコード配列に動作可能に連結された発現ベクターによってもコードされ得、それにより、発現されたポリペプチドが、必要に応じて、細胞からの対象とするポリペプチドのより容易な単離のために、組み換え宿主細胞によって分泌され得るようになってきている。例えば、ある実施形態において、シグナルペプチド配列は、本明細書に記載されるIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質、抗体若しくはその抗原結合フラグメント又は融合タンパク質ポリペプチド配列のいずれかのアミノ末端に付加/融合され得る。

【0241】

このようなベクターを含み、IL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質重鎖及び軽鎖又は抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質を発現する組み換え宿主細胞も提供される。組み換え宿主細胞は、原核細胞、例えば大腸菌（*E. coli*）細胞又は真核細胞、例えば哺乳動物細胞又は酵母細胞であり得る。酵母細胞としては、サッカロマイセス・セレビスエ（*Saccharomyces cerevisiae*）、シゾサッカロマイセス・ポンベ（*Schizosaccharomyces pombe*）及びピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）細胞が挙げられる。哺乳動物細胞としては、VERO、HeLa、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）、W138、ベビーハムスター腎臓（BHK）、COS-7、MDCK、ヒト胎児腎臓細胞株293、健常イヌ腎臓細胞株、健常ネコ腎臓細胞株、サル腎臓細胞、アフリカミドリザル腎臓細胞、COS細胞及び非腫瘍性マウス筋芽細胞G8細胞、線維芽細胞株、骨髓腫細胞株、マウスNIH/3T3細胞、LMTK31細胞、マウスセルトリ細胞、ヒト子宮頸癌細胞、バッファローラット肝細胞、ヒト肺細胞、ヒト肝細胞、マウス乳腺腫瘍細胞、TRI細胞、MRC5細胞及びFS4細胞が挙げられる。本開示の組み換えタンパク質産生細胞は、例えば、ツマジロクサヨトウ（*Spodoptera frugiperda*）細胞などの公知の任意の昆虫発現細胞株も含む。一実施形態において、細胞は、哺乳動物細胞である。特定の実施形態において、哺乳動物細胞は、CHO細胞である。

【0242】

タンパク質精製方法は、当技術分野において公知であり、細胞培養培地からの組み換えタンパク質の回収のために本明細書において用いられる。例えば、タンパク質及び抗体精製の方法は、当技術分野において公知であり、本開示の抗体の産生に用いられ得る。ある

10

20

30

40

50

実施形態において、タンパク質及び抗体精製のための方法は、ろ過、アフィニティーカラムクロマトグラフィー、カチオン交換クロマトグラフィー、アニオン交換クロマトグラフィー及び濃縮を含む。ろ過工程は、限外ろ過、任意選択的に限外ろ過及び透析ろ過を含み得る。ろ過は、好ましくは、少なくとも約5～50回、より好ましくは、10～30回、最も好ましくは、14～27回行われる。アフィニティーカラムクロマトグラフィー、例えばPROSEP（登録商標）アフィニティークロマトグラフィー（Millipore, Billerica, Mass.）を用いて行われ得る。様々な実施形態において、アフィニティークロマトグラフィー工程は、PROSEP（登録商標）-vAカラムクロマトグラフィーを含む。溶出液は、溶媒洗浄剤中で洗浄され得る。カチオン交換クロマトグラフィーは、例えば、SP-セファロースカチオン交換クロマトグラフィーを含み得る。アニオン交換クロマトグラフィーは、例えば、限定はされないが、Q-セファロースファストフローアニオン交換を含み得る。アニオン交換工程は、好ましくは、非結合性であり、それによりDNA及びBSAを含む汚染物質の除去を可能にする。抗体産物は、好ましくは、例えばPall DV 20 Nanofilterを用いて、ナノろ過される。抗体産物は、例えば、限外ろ過及び透析ろ過を用いて、濃縮され得る。本方法は、凝集体を除去するためのサイズ排除クロマトグラフィーの工程をさらに含み得る。

10

【0243】

様々な実施形態において、配列番号11～18に記載されるヌクレオチド配列は、本明細書におけるIL-10突然変異タンパク質又はそのフラグメント又はその変異体を発現するのに有用である。

20

【0244】

ある実施形態において、異なる核酸分子は、標的特異的抗体の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域をコードする。他の実施形態において、同じ核酸分子は、標的特異的抗体の重鎖及び軽鎖可変領域をコードする。一実施形態において、核酸は、本開示の標的特異的抗体並びに本明細書に記載される核酸によってコードされるポリペプチドのいずれかをコードする。

【0245】

ある実施形態において、核酸分子は、配列番号42、62、82、102、122、142、162、182、202、222、242、262、282、302及び2186に記載されるVHアミノ酸配列と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるVHアミノ酸配列をコードする。本開示の核酸分子は、本明細書に記載されるものなどの高度にストリンジェントな条件下で、配列番号42、62、82、102、122、142、162、182、202、222、242、262、282、302及び2186の重鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列にハイブリダイズするか、又は配列番号40、60、80、100、120、140、160、180、200、220、240、260、280、300及び2184のいずれか1つの重鎖可変領域核酸配列を有する核酸をさらに含む。

30

【0246】

ある実施形態において、核酸分子は、配列番号41、61、81、101、121、141、161、181、201、221、241、261、281、301及び2185に記載されるVLアミノ酸配列と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるVLアミノ酸配列をコードする。本開示の核酸分子は、本明細書に記載されるものなどの高度にストリンジェントな条件下で、配列番号41、61、81、101、121、141、161、181、201、221、241、261、281、301及び2185の軽鎖可変領域アミノ酸配列をコードする核酸配列にハイブリダイズするか、又は配列番号39、59、79、99、119、139、159、179、199、219、239、259、279、299及び2183のいずれか1つの軽鎖可変領域核酸配列を有する核酸をさらに含む。

40

【0247】

一態様において、本開示の核酸分子は、本明細書に記載される抗TREM-1抗原結合

50

タンパク質又はその部分のV Lアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む。関連する態様において、V Lアミノ酸配列は、コンセンサス配列である。ある実施形態において、核酸は、前記抗体の軽鎖C D Rのアミノ酸配列をコードする。ある実施形態において、前記部分は、L C D R 1 ~ C D R 3を含む連続部分である。関連する態様において、L C D R 1 ~ 3アミノ酸配列は、コンセンサス配列である。一実施形態において、前記部分は、任意選択的に、異なるヒト又はヒトコンセンサスフレームワークを伴い、及び任意選択的に集合的な3つのC D Rにおける1つ、又は最大で2つ、又は最大で3つの突然変異を伴い、軽鎖C D R 1、C D R 2又はC D R 3領域の少なくとも1つ、2つ又は3つを含む。

【0248】

10

一態様において、本開示の核酸分子は、本明細書に記載される抗T R E M - 1抗原結合タンパク質又はその部分のV Hアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む。関連する態様において、V Hアミノ酸配列は、コンセンサス配列である。ある実施形態において、核酸は、前記抗体の重鎖C D Rのアミノ酸配列をコードする。ある実施形態において、前記部分は、H C D R 1 ~ C D R 3を含む連続部分である。関連する態様において、H C D R 1 ~ 3アミノ酸配列は、コンセンサス配列である。一実施形態において、前記部分は、任意選択的に、異なるヒト又はヒトコンセンサスフレームワークを伴い、及び任意選択的に集合的な3つのC D Rにおける1つ、又は最大で2つ、又は最大で3つの突然変異を伴い、重鎖C D R 1、C D R 2又はC D R 3領域の少なくとも1つ、2つ又は3つを含む。

20

【0249】

特定の抗原結合タンパク質重鎖及び軽鎖の核酸配列は、配列番号303 ~ 526 (2価) 及び配列番号527 ~ 862 (1価) に記載される。T R E M - 1変異体抗体重鎖可変領域の核酸配列は、配列番号2012、2014、2016、2018、2020、2022、2024、2026、2028、2030、2032、2034、2036、2038、2040、2042、2044、2046、2048、2050、2052、2054、2056、2058、2060、2062、2064、2066、2068、2070、2072、2074、2076、2078、2080、2082、2084、2086、2088、2090、2092、2094、2096、2098、2100、2102、2104、2106、2108、2110、2112、2114、2116、2118、2120、2122、2124、2126、2128、2130、2132、2134及び2136に記載され、T R E M - 1変異体抗体軽鎖可変領域ヌクレオチド配列は、配列番号2234、2236、2238、2240、2242、2244、2246、2248、2250、2252、2254、2256、2258、2260、2262、2264、2266、2268、2270、2272、2274、2276、2278、2280、2282、2284、2286、2288、2290、2292、2294、2296、2298、2300、2302、2304、2306、2308、2310、2312、2314、2316、2318、2320、2322、2324、2326、2328、2330、2332、2334、2336、2338、2340、2342、2344、2346、2348、2350、2352、2354、2356及び2358に記載される。

30

40

【0250】

例示的な実施形態において、本開示の抗体は、それに由来するヒトカップ()又はヒトラムダ()軽鎖若しくはアミノ酸配列、又はそれに由来するヒト重鎖若しくは配列、又は一本鎖、二量体、四量体又は他の形態で重鎖及び軽鎖の両方を一緒に含む。

【0251】

リンカー

リンカー又はスペーサーは、共有結合又は非共有結合のいずれかによって2つの分子を結合するのに使用されるペプチド又は他の部分を含む。ペプチド部分は、安定性及びモノマー形態における適切なフォールディングのためにI L - 10配列の増加した間隔を提供

50

するために、IL-10 突然変異タンパク質ポリペプチド内で本明細書において想定される。ペプチド部分は、抗原結合タンパク質中の抗原結合部分とそれが融合される IL-10 モノマー/突然変異タンパク質との間の接続又はスペーサーを提供するよう、本開示の抗原結合タンパク質において使用するためにも本明細書において想定される。

【0252】

Fc 領域を IL-10 突然変異タンパク質に結合するペプチドリンカーは、本明細書に記載されるペプチドリンカーのいずれかであり得る。ある実施形態において、リンカーは、2~40、3~40、3~30 又は 3~20 アミノ酸長であり得る。様々な実施形態において、リンカーは、3~25、4~18、4~20、5~20、6~18 又は 10~20 アミノ酸長であり得る。様々な実施形態において、リンカーは、約、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 又は 30 アミノ酸長であり得る。様々な実施形態において、リンカーは、4~18 アミノ酸長である。特定の実施形態において、Fc 領域を IL-10 突然変異タンパク質に結合するペプチドリンカーは、少なくとも 4 アミノ酸、少なくとも 5 アミノ酸又は少なくとも 6 アミノ酸長である。他の実施形態において、Fc 領域をカルボキシル末端 Fab フラグメントに結合するペプチドリンカーは、少なくとも 8 アミノ酸長である。

10

【0253】

ある実施形態において、リンカーは、抗原結合タンパク質中の抗原結合部分の重鎖の C 末端に結合され得る。様々な実施形態において、リンカーは、三量体、四量体、五量体、六量体、七量体、八量体又は反復する三量体、四量体、五量体若しくは六量体である。例示的なリンカーとしては、Gly-Gly-Gly-Gly (配列番号 2677)、Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (配列番号 2705)、Gly-Gly-Gly-Pro (配列番号 2706)、Gly-Gly-Gly-Gln (配列番号 2707)、Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (配列番号 2708)、Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (配列番号 2725)、(Gly₃Ser)₂ (配列番号 2709)、(Gly₄Ser)₂ (配列番号 2710)、(Gly₃Ser)₃ (配列番号 2711)、(Gly₄Ser)₃ (配列番号 2712)、(Gly₃Ser)₄ (配列番号 2713)、(Gly₄Ser)₄ (配列番号 2714)、(Gly₃Ser)₅ (配列番号 2715)、(Gly₄Ser)₅ (配列番号 2716)、(Gly₃Ser)₆ (配列番号 2717)、(Gly₄Ser)₆ (配列番号 2718)、Gly-Ser-Gly-Ser-Ala-Thr-Gly-Gly-Ser-Gly-Ser-Ser-Ala-Ser-Ser-Gly-Ser-Gly-Ser-Ala-Thr-His-Leu (配列番号 2719)、Gly-Ser-Gly-Ser-Ala-Thr-Gly-Gly-Ser-Gly-Ser-Val-Ala-Ser-Ser-Gly-Ser-Gly-Ser-Ala-Thr-His-Leu (配列番号 2720)、Gly-Ser-Gly-Ser-Ala-Thr-Gly-Gly-Ser-Gly-Ser-Ser-Ala-Ser-Ser-Gly-Ser-Gly-Ser-Ala-Thr-His-Leu (配列番号 2721)、Gly-Ser-Gly-Ser-Ala-Thr-Gly-Gly-Ser-Gly-Ser-Gly-Ala-SeGGGr-Ser-Gly-Ser-Gly-Ser-Ala-Thr-Gly-Ser (配列番号 2722) 並びに実施例に記載されるリンカーが挙げられる。

20

30

40

【0254】

リンカー又はスペーサーペプチド部分は、安定性のために IL-10 突然変異タンパク質にも挿入される。例えば、4~8つのアミノ酸の配列は、野生型 IL-10 又は IL-10 突然変異タンパク質の DE ヘリックスループ内に付加され得る。様々な実施形態において、リンカーは、3、4、5、6、7 又は 8 アミノ酸長である。様々な実施形態において、リンカーは、6つのアミノ酸である。様々な実施形態において、リンカーは、配列 GGSGG (配列番号 2676) を有する。

【0255】

50

誘導体

好適な検出可能な分子は、本開示の I L - 1 0 突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質又は融合タンパク質に直接又は間接的に結合され得る。好適な検出可能分子は、放射性核種、酵素、基質、補因子、阻害剤、蛍光マーカー、化学発光マーカー、磁性粒子などを含む。検出可能又は細胞毒性分子の間接的な結合のために、検出可能又は細胞毒性分子は、補体 / 抗補体対のメンバーとコンジュゲートされ得、ここで、他のメンバーは、結合ポリペプチド又は抗体部分に結合される。これらの目的のために、ビオチン / ストレプトアビジンは、例示的な補体 / 抗補体対である。

【 0 2 5 6 】

本開示の I L - 1 0 突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質及び抗原結合部分及び I L - 1 0 部分を含む抗原結合タンパク質は、共有結合が、抗体がそのエピトープに結合するのを防がないように、例えば抗体への任意のタイプの分子の共有結合によって修飾される誘導体も含む。好適な誘導体の例としては、限定はされないが、フコシル化、グリコシル化、アセチル化、P E G 化、リン酸化又はアミド化された誘導体が挙げられる。本開示の I L - 1 0 突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質及び抗原結合部分及び I L - 1 0 部分及びその誘導体を含む抗原結合タンパク質自体は、公知の保護 / ブロッキング基、タンパク質分解的切断、細胞リガンド又は他のタンパク質への連結などによって誘導体化され得る。本開示のある実施形態において、I L - 1 0 突然変異タンパク質又は抗原結合タンパク質又は抗原結合部分及び I L - 1 0 部分を含む抗原結合タンパク質の少なくとも 1 つの重鎖は、P E G 化される。ある実施形態において、P E G 化は、N 結合されるか、又はアミノ酸（例えば、リジン）の側鎖によって連結される。

【 0 2 5 7 】

グリコシル化は、抗体、特に、I g G 1 抗体のエフェクター機能に寄与し得る。したがって、ある実施形態において、本開示の I L - 1 0 突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質又は抗原結合部分及び I L - 1 0 部分を含む抗原結合タンパク質は、結合タンパク質のグリコシル化のレベル又はタイプに影響を与える 1 つ以上のアミノ酸置換を含み得る。ポリペプチドのグリコシル化は、典型的に、N - 結合又は O - 結合される。N - 結合は、アスパラギン残基の側鎖への炭水化物部分の結合を指す。トリ - ペプチド配列アスパラギン - X - セリン及びアスパラギン - X - トレオニン（ここで、X は、プロリンを除く任意のアミノ酸である）は、アスパラギン側鎖への炭水化物部分の酵素的結合のための認識配列である。したがって、ポリペプチド中のこれらのトリ - ペプチド配列のいずれかの存在により、潜在的なグリコシル化部位が形成される。O - 結合されたグリコシル化は、ヒドロキシアミノ酸、最も一般的には、セリン又はトレオニンへの、糖 N - アセチルガラクトサミン、ガラクトース又はキシロースの 1 つの結合を指すが、5 - ヒドロキシプロリン又は 5 - ヒドロキシリシンも使用され得る。

【 0 2 5 8 】

特定の実施形態において、I L - 1 0 突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質及び本明細書に記載される抗原結合部分及び I L - 1 0 部分を含む抗原結合タンパク質のグリコシル化は、1 つ以上のグリコシル化部位を例えば結合タンパク質の F c 領域に付加することによって増加される。抗原結合タンパク質へのグリコシル化部位の付加は、上記のトリ - ペプチド配列の 1 つ以上を含有する（N - 結合されたグリコシル化部位の場合）ようにアミノ酸配列を改変することによって好都合に達成され得る。改変は、開始配列への 1 つ以上のセリン若しくはトレオニン残基の付加又は 1 つ以上のセリン若しくはトレオニン残基による置換によっても作製され得る（O - 結合されたグリコシル化部位の場合）。容易にするために、抗原結合タンパク質アミノ酸配列は、コドンが生成され、それが所望のアミノ酸へと翻訳されるように、特に、予め選択された塩基において標的ポリペプチドをコードする D N A を突然変異させることにより、D N A レベルにおける変化によって改変され得る。

【 0 2 5 9 】

本開示は、改善された A D C C 活性を示す、フコシル化を有さないか又はフコシル化が

低減された抗原結合タンパク質を含む、改変されたエフェクター活性をもたらす改変された炭水化物構造を有する、IL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質及び抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質の産生も包含する。フコシル化を低減するか又はなくするための様々な方法が当技術分野において公知である。例えば、ADCCエフェクター活性は、FcRIII受容体への抗体分子の結合によって媒介され、これは、CH2ドメインのN297残基におけるN-結合されたグリコシル化の炭水化物構造に依存することが示されている。非フコシル化抗体は、天然のフコシル化抗体より、増加された親和性でこの受容体に結合し、より効率的にFcRIII媒介性エフェクター機能を引き起こす。例えば、-1,6-フコシルトランスフェラーゼ酵素がノックアウトされたCHO細胞内の非フコシル化抗体の組み換え産生は、100倍増加されたADCC活性を有する抗体をもたらす(Yamane-Ohnuki et al., Biotechnol Bioeng. 87(5): 614-22, 2004を参照されたい)。同様の効果は、例えば、siRNA若しくはアンチセンスRNA処理により、フコシル化経路における-1,6-フコシルトランスフェラーゼ酵素又は他の酵素の活性を低下させること、酵素をノックアウトするように細胞株を操作すること、又は選択的グリコシル化阻害剤と共に培養することによって達成され得る(Rothman et al., Mol Immunol. 26(12): 1113-23, 1989を参照されたい)。いくつかの宿主細胞株、例えばLec13又はラットハイブリドーマYB2/0細胞株は、より低いフコシル化レベルを有する抗体を天然に産生する(Shields et al., J Biol Chem. 277(30): 26733-40, 2002及びShinkawa et al., J Biol Chem. 278(5): 3466-73, 2003を参照されたい)。例えばGnTIII酵素を過剰発現する細胞内の組み換え産生抗体による、分割された(bisected)炭水化物のレベルの増加がADCC活性を増加させることも分かっている(Umana et al., Nat Biotechnol. 17(2): 176-80, 1999を参照されたい)。

【0260】

他の実施形態において、IL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質及び本明細書に記載される抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質のグリコシル化は、例えば、結合タンパク質のFc領域から1つ以上のグリコシル化部位を除去することによって低減されるか又はなくされる。N-結合されたグリコシル化部位をなくするか又は改変するアミノ酸置換は、抗原結合タンパク質のN-結合されたグリコシル化を低減するか又はなくし得る。特定の実施形態において、本明細書に記載される二重特異性抗原結合タンパク質は、N297Q、N297A又はN297Gなど、N297位(EU番号付け)における突然変異を含む。特定の一実施形態において、本発明の二重特異性抗原結合タンパク質は、N297G突然変異を有するヒトIgG1抗体からのFc領域を含む。N297突然変異を含む分子の安定性を改善するために、分子のFc領域は、さらに操作され得る。例えば、ある実施形態において、Fc領域中の1つ以上のアミノ酸は、二量体状態におけるジスルフィド結合を促進するためにシステインで置換される。したがって、IgG1 Fc領域のV259、A287、R292、V302、L306、V323又はI332(EU番号付け)に対応する残基は、システインで置換され得る。一実施形態において、残基の特定の対は、それらが優先的に互いにジスルフィド結合を形成するように、システインで置換され、それによりジスルフィド結合スクランプリングを抑制又は防止する。特定の実施形態において、対としては、限定はされないが、A287C及びL306C、V259C及びL306C、R292C及びV302C並びにV323C及びI332Cが挙げられる。特定の実施形態において、本明細書に記載される二重特異性抗原結合タンパク質は、R292C及びV302Cに突然変異を有するヒトIgG1抗体からのFc領域を含む。このような実施形態において、Fc領域は、N297G突然変異も含み得る。

【0261】

血中半減期を増加させるための、本開示のIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タ

ンパク質及び抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質の修飾も、例えば、サルベージ受容体結合エピトープの組み込み又は付加によって（例えば、適切な領域の突然変異により、又はいずれかの末端又は途中でIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質及び抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質にその後融合されるペプチドタグ中にエピトープを組み込むことにより、例えばDNA又はペプチド合成により；例えば、国際公開第96/32478号パンフレットを参照されたい）又はPEG又は多糖ポリマーを含む他の水溶性ポリマーなどの分子を付加することにより望ましいことがある。サルベージ受容体結合エピトープは、好ましくは、Fc領域の1つ又は2つのループからのいずれか1つ以上のアミノ酸残基は、抗原結合タンパク質における類似の位置に移された領域を構成する。一実施形態において、Fc領域の1つ又は2つのループからの3つ以上の残基が移される。一実施形態において、エピトープは、Fc領域（例えば、IgG Fc領域）のCH2ドメインから取られ、IL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質及び抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質の、CH1、CH3若しくはVH領域又は2つ以上のこのような領域に移される。代わりに、エピトープは、Fc領域のCH2ドメインから取られ、抗原結合タンパク質のCL領域若しくはVL領域又は両方に移される。Fc変異体及びサルベージ受容体とのそれらの相互作用の説明については、国際出願国際公開第97/34631号パンフレット及び国際公開第96/32478号パンフレットを参照されたい。

10

【0262】

本開示のIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質及び抗原結合部分及びIL-10部分タンパク質を含む抗原結合タンパク質は、単一若しくは複数のアミノ酸置換、欠失、付加又はそれらの生物学的特性を保持する置換を有する変異体を含む。当業者は、単一若しくは複数のアミノ酸置換、欠失、付加又は置換を有する変異体を生成し得る。これらの変異体は、特に、(a) 1つ以上のアミノ酸残基が保存的又は非保存的アミノ酸で置換された変異体、(b) 1つ以上のアミノ酸がポリペプチドに付加されるか又はポリペプチドから欠失された変異体、(c) 1つ以上のアミノ酸が置換基を含む変異体、及び(d) ポリペプチドが、別のペプチド又はポリペプチド、例えば融合パートナー、タンパク質タグ又はポリペプチドに有用な特性を与え得る他の化学部分、例えば抗体のためのエピトープ、ポリヒスチジン配列、ビオチン部分などと融合された変異体を含み得る。本発明の抗体及び二重特異性抗体は、1つの種からのアミノ酸残基が、保存的又は非保存的位置のいずれかにおいて、別の種における対応する残基と置換された変異体を含み得る。別の実施形態において、非保存的位置におけるアミノ酸残基は、保存的又は非保存的残基で置換される。遺伝的（抑制、欠失、突然変異など）、化学的及び酵素的技術を含む、これらの変異体を得るための技術は、当業者に公知である。

20

30

【0263】

治療の方法

IL-10は、骨髄細胞からのTNF及びIL-23産生など、炎症性サイトカインを強力に阻害する。TNF及びIL-23は両方とも、炎症性腸疾患の治療のための有効な標的である。IL-10は、MHCII、CD86及びICAM1の誘導の阻害を含め、抗原提示細胞も抑制する。IL-10は、より高いEC50ではあるが、CD8+ T細胞及びB細胞を活性化し、臨床試験におけるIL-10の用量制限毒性に寄与する可能性も高い。rhIL-10は、低いPK(t1/2 = 2.5 ~ 4時間)を有し、臨床において細胞型選択性を達成することができなかった。高い用量のrhIL-10は、CD8+ T細胞及びB細胞を刺激する一方、低い用量は、不十分な組織及び骨髄細胞カバー率(coverage)を示す。骨髄細胞特異的IL-10R1 KOマウスは、IL-10 KOマウスと同様の大腸炎を発症し、これは、骨髄細胞のIL-10阻害が炎症性腸疾患(IBD)の治療に十分であることを示唆する(Zigmond et al., Immunity 40(5): 720-33, 2014)。したがって、抗TREM-1 mAb/IL10突然変異タンパク質二重特異性手法により、IL-10を骨髄細胞又は別の標的部分に標的化することにより、CD8+細胞及びB細胞における刺激活性を

40

50

伴わずに、骨髄細胞における十分な抗炎症活性を達成し得ると本明細書において仮説を立てられる。

【0264】

IL-10、IL-10R1又はIL-10R2ホモ接合機能喪失突然変異を有するヒト患者は、乳児重症IBDを発症した(Kotlarz et al., Gastroenterology, 143:347-355, 2012; Glocker, NEJM, 61(21):2033-45, 2009)。IL-10は、IBDに関連する遺伝的突然変異の1つである(GWAS遺伝子座、rs3024505 RAF 0.16又は1.46、p値 10^{-42} 、Jostins et al., Nature 491:119-124, 2012、deCODE rs3024505 IBD又は1.13、p値0.024)。

10

【0265】

骨髄細胞1において発現されるトリガー受容体は(TREM1、TREM-1)、好中球、単球及びマクロファージ細胞内で発現されるIgファミリーメンバーである。TREM-1阻害は、TREM-1 KOマウスが生存可能であり、DSS大腸炎及びT細胞移入大腸炎から防御されるため、IBD治療にとって望ましい場合がある(Weber, PLoS Pathog, 10(1):1003900, 2014)。TREM-1-Fc融合による治療は、マウスにおけるLPS接種後、生存及び低下されたTNF誘導を改善した(Bouchon, Nature, 410:1103-7, 2001)。TREM-1は、炎症IBD組織における増加した発現(Schenk et al., J Clin Invest. 117:3097-3106, 2007)、CX3CR1^{Cre}IL10R1^{f¹/f¹}マウスにおける結腸マクロファージにおける増加した発現(Zimond, Immunity, 40(5):720-33, 2014)を有し、DAP12に結合し、活性化時にSykリン酸化を誘導する。TREM-1は、骨髄細胞表面におけるその高い発現のため、IL-10抗原結合タンパク質における望ましい標的化パートナーとしての役割を果たすと本明細書で仮説を立てられる。

20

【0266】

PGLYRP1(ペプチドグリカン認識タンパク質1)は、TREM-1のためのリガンドとして最近報告されており(Read, J. Immunol. 194:1417-1421, 2015)、及び潜在的な他のリガンドは、依然として決定されていない。抗TREM-1抗体は、TREM-1アゴニストPGLYRP-1/ペプチドグリカンにより刺激されるIBD患者から単離された固有層細胞からの炎症性サイトカインの分泌を減少させることが報告された(Brynjolfsson et al., Inflamm Bowel Dis 22(8):1803-11, 2016)。

30

【0267】

IBDにおける治療の有効性の読み取りは、IL-10発現の調節におけるIL-10 IBDリスク変異体rs3024505を評価すること、IBD患者血清及び組織におけるIL-10レベルの不均一性を評価すること、及び疾患重症度との潜在的な相関、IBDリスク変異体について治療に対する応答を評価することを含む。

【0268】

有効性を決定するためのさらなる尺度は、骨髄細胞及びIBD組織における低下されたIL-10誘導性発現プロファイル、IBDサンプルにおけるIL-10抑制に供された骨髄細胞由来サイトカイン(例えばTNF、IL-23)の不均一性を分析すること、及びIBD炎症組織における単球の不均一性及び数並びにマクロファージの数を決定することを含む。IL-10突然変異タンパク質又は抗原結合タンパク質による本明細書における治療は、骨髄細胞活性の抑制を保持し、CD8⁺T細胞及びB細胞のIL-10活性化をなくすと考えられる。治療は、対象におけるTNF-及びIL-23などの炎症性サイトカインのレベルを低下させると考えられる。

40

【0269】

抗TREM-1抗原結合タンパク質又は抗TREM-1結合タンパク質を含む本開示の

50

抗原結合部分及び I L - 10 部分を含む抗原結合タンパク質による治療は、炎症細胞内の T R E M - 1 の発現を低下させると考えられる。

【0270】

クローン病は、口から肛門に至るまでの消化管のいずれかの部分の異常な炎症を含むが、ほとんどの患者において、異常な炎症は、回結腸、小腸及び結腸肛門直腸領域に局限している。典型的に、炎症は、不連続である。一般的な症状としては、腹痛、食欲不振、体重減少、発熱、下痢、右下腹部の膨満及び/又は圧痛、便秘、嘔吐及び肛門周囲の不快感及び分泌物 (d i s c h a r g e) が挙げられる。他の可能な症状としては、特に、末梢関節炎、発育遅滞、上強膜炎、アフタ性口内炎、結節性紅斑、壊疽性膿皮症、腎臓結石、尿希釈障害及びアルカリ化、吸収不良及び胆石が挙げられる。例えば、S t r o b e r e t a l . , M e d i c a l I m m u n o l o g y , 10 t h E d i t i o n , S e c t i o n I I I , C h . 35 (2001) ; M e r c k M a n u a l o f D i a g n o s i s a n d T h e r a p y , 17 t h E d i t i o n , S e c t i o n 3 , C h . 31 (1999) を参照されたい。クローン病の患者から単離されたマクロファージは、I L - 12、I F N 、T N F 及び他の炎症性サイトカインの量の増加をもたらす。

10

【0271】

潰瘍性大腸炎は、いくつかの点でクローン病と異なる。まず、潰瘍性大腸炎は、一般に、結腸に限定される一方、クローン病は、消化管全体にわたって起こり得る。第2に、潰瘍性大腸炎は、炎症が腸の壁又は消化管中の他の箇所を通して全体に浸透し得るクローン病と異なり、主に腸の表層のみの炎症を含む。最後に、潰瘍性大腸炎は、クローン病に特有の炎症の不連続の部位ではなく、典型的に、炎症の連続した領域を含む。クローン病と同様に、潰瘍性大腸炎は、主に都市地域で見られる。また、症例の家族集積性があるため、遺伝的要因が潰瘍性大腸炎において役割を果たす可能性が高い。自己抗体は、クローン病患者より多く潰瘍性大腸炎患者において観察される。自己抗体は、結腸上皮細胞成分に指向されることが多い。カタラーゼ、 - エノラーゼ及びラクトフェリンに対する特異性を有する抗好中球細胞質抗体が最もよく見られるものである。ある場合には、このような抗体は、結腸微生物と交差反応する。

20

【0272】

臨床試験において、クローン病活性は、クローン病活動性指数 (C D A I) を用いて採点されることが多い。C D A I は、(1) 1日当たりの液状便又は軟便の回数、(2) 1日当たりの腹痛の量の患者の評価、(3) 全般的な健康状態の患者の評価、(4) 関節炎、虹彩炎、ブドウ膜炎、結節性紅斑、壊疽性膿皮症、アフタ性口内炎、裂肛、瘻孔若しくは膿瘍、他の瘻孔又は発熱を含む他の症状の患者の報告、(5) ロモチル又は下痢のための他の鎮静剤を摂取している患者の報告、(6) 腹部腫瘤、(7) ヘマトクリット値、及び(8) 体重を含む8つの要因に基づく疾患活動性スコアを提供する。例えば、関連部分が参照により本明細書に援用される、B e s t e t a l . (1976) , G a s t r o e n t e r o l . 70 : 439 - 444 を参照されたい。

30

【0273】

潰瘍性大腸炎の症状は、可変である。それらは、下痢、テネスマス、腹部けいれん、粘血便、発熱及び直腸出血を含み得る。結腸が約6センチメートルを超えて拡張され、その筋緊張及び/又は穿孔を喪失し得る生命を脅かす可能性のある病態である中毒性巨大結腸も、起こり得る。潰瘍性大腸炎に伴い得る他の症状としては、末梢関節炎、強直性脊椎炎、仙腸骨炎、前部ブドウ膜炎、結節性紅斑、壊疽性膿皮症、上強膜炎、自己免疫性肝炎、原発性硬化性胆管炎、肝硬変並びに小児の成長遅延及び発育遅延が挙げられる。

40

【0274】

ある実施形態において、クローン病又は潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患 (I B D) に罹患している患者は、I L - 10 突然変異タンパク質、抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質又は他の抗原結合タンパク質又は本明細書に開示される I L - 10 を含む抗原結合タンパク質で、I B D の既存の療法による治療前、その後又はそれと同時に治療され得る。I

50

B Dの既存の治療としては、例えば、スルファサラジン、5 - アミノサリチル酸及びその誘導体（オルサラジン、パルサラジド及びメサラミンなど）、抗TNF抗体（インフリキシマブ、アダリムマブ、ゴリムマブ及びセルトリズマブベゴルを含む）、経口若しくは非経口投与用のコルチコステロイド（プレドニゾン、メチルプレドニゾロン、ブデソニド若しくはヒドロコルチゾンを含む）、副腎皮質刺激ホルモン、抗生物質（メトロニダゾール、シプロフロキサシン又はリファキシミンを含む）、アザチオプリン、6 -メルカプトプリン、メトトレキサート、シクロスポリン、タクロリムス及びサリドマイドが挙げられる。

【0275】

一実施形態において、本開示は、このような治療を必要とする哺乳動物における炎症性サイトカイン、例えばTNFの1つ以上を阻害する方法であって、治療有効量の、本開示のIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質若しくは抗体又は本明細書に記載される融合タンパク質を、このような治療を必要とする対象に投与することを含む方法を提供する。好ましい実施形態において、対象は、哺乳動物である。一実施形態において、対象は、ヒトである。本方法は、TNFの増加された発現又は活性によって特性評価される疾患を治療するのに使用され得る。本開示のIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質若しくは抗体又は本明細書に記載される抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質は、別の医薬品と共に、同じ製剤中で又は別々に投与され得る。

【0276】

関節リウマチ（RA）は、全身症状並びに関節に特に関連する症状を有する慢性疾患である。症状は、一般的に、痛みを伴う及び膨張した関節をもたらす滑膜炎及びリウマチ因子の正常より高いレベルなどの様々な検査所見の異常、抗シトルリン修飾タンパク質（抗CCP）抗体及びC-反応性タンパク（CRP）及び増加した赤血球沈降速度（ESR）を含む。あまり一般的ではない症状は、例えば、腱、靭帯、血管、心臓及び肺を含む様々な関節外症状を含む。疾患活性は、様々な指標を用いて測定されることが多い。例えば、Anderson et al. (2012), Arthritis Care & Res. 64 (5) : 640 - 647（このような指標を説明する部分が参照により本明細書に援用される）を参照されたい。このような採点指標に含まれる要素は、圧痛関節の数、膨張した関節の数、機能評価及びCRP、ESRなどの様々な検査所見を含む。

【0277】

ある実施形態において、RAに罹患している患者は、本明細書に記載されるIL-10突然変異タンパク質、抗TREM-1抗原結合又は他の抗原結合タンパク質又は本明細書に開示される抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質で、RAの現在の使用における薬物による治療前、その後又はそれと同時に治療され得る。関節リウマチ（RA）のために現在使用されている療法としては、特に、非ステロイド性抗炎症薬（NSAIDs）（アスピリン及びシクロオキシゲナーゼ-2（COX-2）阻害剤など）、疾患修飾抗炎症薬（メトトレキサート、レフルノミド及びスルファサラジンなどのDMARDs）、抗マラリア薬（ヒドロキシクロロキンなど）、シクロホスファミド、D-ニシラミン、アザチオプリン、金塩、腫瘍壊死因子阻害剤（エタネルセプト、インフリキシマブ、アダリムマブ、ゴリムマブ及びセルトリズマブベゴルなど）、リツキシマブなどのCD20阻害剤、アナキンラなどのIL-1アンタゴニスト、トシリズマブなどのIL-6阻害剤、ヤヌスキナーゼの阻害剤（トファシチニブなどのJAK）、アバタセプト及びコルチコステロイドが挙げられる。

【0278】

別個の組成物又は融合タンパク質のいずれかにおいて、IL-10突然変異タンパク質、IL-10突然変異タンパク質及び抗原結合タンパク質の組合せは、抗炎症薬としてIL-10の治療指数（TI）を増加させるとさらに考えられる。様々な実施形態において、IL-10突然変異タンパク質のTIは、単独で又は本開示の抗原結合タンパク質と組み合わせて投与される場合、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10倍又はそ

10

20

30

40

50

れ以上増加される。

【0279】

様々な実施形態において、IL-10突然変異タンパク質は、wt IL-10と比較して、骨髄細胞内のTNF- α 産生の抑制を低下させ、CD8+ T細胞刺激のレベルを低下させ、且つ/又はB細胞刺激のレベルを低下させる。様々な実施形態において、IL-10突然変異タンパク質抗原結合タンパク質は、骨髄細胞内のTNF- α 産生を抑制する。様々な実施形態において、IL-10突然変異タンパク質抗原結合タンパク質は、CD8+ T細胞及びB細胞活性化を低下させながら、骨髄細胞内のTNF- α 産生を抑制する。

【0280】

特定の実施形態において、TNF- α 抑制の測定は、単離されたPBMCを用いて行われる。PBMCは、対象(ヒト、マウス、ラット、カニクイザル、など)の血液から単離され、LPSで、インビトロで刺激され、刺激前及び後の異なる試験分子の存在下におけるTNF- α のレベルは、例えば、ELISA ALPHALISA又はMSD Vplex TNF- α 検出キットを用いて決定される。

【0281】

特定の実施形態において、CD8+ T細胞及び/又はB細胞活性化の測定は、全血アッセイを用いて行われる。全血は、対象から単離され、異なる試験分子の存在下においてインビトロで刺激され、CD8+ T細胞刺激のレベル又はB細胞活性化のレベルは、例えば、FACSアッセイによるサンプルにおけるpSTAT3レベルの検出によって決定される。

【0282】

投与及び投与量

本開示の方法は、IL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質又は本明細書に記載される抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質を含む医薬組成物を投与する工程を含む。特定の実施形態において、医薬組成物は、滅菌組成物である。

【0283】

所与の投与量での治療用組成物の量は、治療が投与される個体のサイズ並びに治療される疾患の特徴に応じて変化し得る。

【0284】

本開示は、本開示のIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質若しくは抗体又は本明細書に記載される抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質と、薬学的に許容される担体とを含む組成物を提供する。本開示のIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質若しくは抗体又は本明細書に記載される抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質を含む医薬組成物は、薬学的に有用な組成物を調製するための公知の方法に従って製剤化され得、それにより、治療用抗体は、薬学的に許容される担体との混合物中で組み合わされる。組成物は、その投与がレシピエント患者によって耐容され得る場合、「薬学的に許容される担体」を含むと記載される。滅菌リン酸緩衝生理食塩水は、薬学的に許容される担体の一例である。他の好適な担体が当業者に周知である。例えば、Getman), ed., Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th Edition, Mack Publishing Company (1995)を参照されたい。

【0285】

医薬品用途のために、本開示のポリペプチドは、従来の方法に従う非経口、特に、静脈内又は皮下送達のために製剤化される。静脈内投与は、ポラス注入法、制御放出により、例えばミニポンプ又は他の適切な技術を用いて又は1時間~数時間の典型的な期間にわたる注入によって行われ得る。一般に、医薬製剤は、生理食塩水、緩衝生理食塩水、水中5%のデキストロスなどの薬学的に許容される担体と組み合わせて、本開示のIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質若しくは抗体又は本明細書に記載される抗TRM-1部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質を含むであろう。製剤は、

10

20

30

40

50

1つ以上の賦形剤、防腐剤、可溶化剤、緩衝剤、バイアル表面におけるタンパク質損失を防ぐためのアルブミンなどを含み得る。このような組合せ療法を用いる場合、本開示のIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質若しくは抗体又は本明細書に記載される抗TREM-1部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質は、単一の製剤中で組み合わせられ得るか、又は別個の製剤中で投与され得る。製剤化の方法は、当技術分野において周知であり、例えば参照により本明細書に援用されるGennaro, ed., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton Pa. (1990)に開示される。治療用量は、一般に、1日当たり0.1~100mg/kg患者体重、好ましくは、1日当たり0.5~20mg/kgの範囲であり、正確な用量は、治療される病態の性質及び重症度、患者の性質などを考慮して、認められている標準に従って臨床医によって決定される。用量の決定は、当業者のレベルの範囲内である。より一般的に、抗体は、1週間又はそれ以下にわたって、多くの場合、1~3日間の期間にわたって投与されるであろう。一般に、投与される抗体の投与量は、患者の年齢、体重、身長、性別、全身病状及び以前の病歴などの要因に応じて変化するであろう。典型的に、約1pg/kg~10mg/kg(薬剤の量/患者の体重)の範囲である抗体の投与量をレシピエントに提供することが望ましいが、より少ない又はより多い投与量も状況に応じて投与され得る。

10

【0286】

対象への本開示のIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質若しくは抗体又は本明細書に記載される抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質の投与は、静脈内、動脈内、腹腔内、筋肉内、皮下、胸膜内、髄腔内、局所カテーテルを介したかん流によるか、又は直接の病巣内注射によって行われ得る。様々な実施形態において、投与は、静脈内又は皮下投与である。注射によってIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質又は抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質を投与する場合、投与は、持続注入又は単回若しくは複数回ボラス投与によって行われ得る。

20

【0287】

投与のさらなる経路は、経口、粘膜、肺及び経皮を含む。経口送達は、ポリエステルミクロスフェア、ゼインミクロスフェア、プロテノイドミクロスフェア、ポリシアノアクリレートミクロスフェア及び脂質ベース系に好適である(例えば、DiBase et al., "Oral Delivery of Microencapsulated Proteins", in Sanders et al., eds., Protein Delivery: Physical Systems, pp. 255-288, Plenum Press (1997)を参照されたい)。鼻腔内送達の実現可能性は、インスリン投与のような方法によって例示される(例えば、Hinchcliffe et al., Adv. Drug Deliv. Rev., 35:199 (1999)を参照されたい)。本発明の抗体を含む乾燥又は液体粒子は、乾燥粉末分散器、液体エアロゾル発生器又は噴霧器を用いて調製され、吸入され得る(例えば、Pettit et al., TIBTECH, 16:343 (1998); Patton et al., Adv. Drug Deliv. Rev., 35:235 (1999))。この手法は、エアロゾル化インスリンを肺に送達する携帯型電子式吸入器であるAERX(登録商標)糖尿病管理システムによって例示される。研究は、48,000kDaもの大きさのタンパク質が、低周波超音波を用いて治療濃度で皮膚にわたって送達されたことを示しており、これは、経皮投与の実現可能性を示す(Mitragotri et al., Science, 269:850 (1995))。

30

40

【0288】

治療の目的で、本開示のIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質若しくは抗体又は本明細書に記載される抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質と、薬学的に許容される担体とを含む組成物は、治療有効量で患者に投与される。本開示のIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質若しくは抗体又は本明細書に記載される抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質及び薬学的に許容さ

50

れる担体の組合せは、投与される量が生理学的に有意である場合、「治療有効量」で投与されると記載される。薬剤は、その存在がレシピエント患者の生理学の検出可能な変化をもたらす場合、生理学的に有意である。例えば、炎症を治療するのに使用される薬剤は、その存在が炎症反応を軽減する場合、生理学的に有意である。有効な治療は、様々な方法で評価され得る。一実施形態において、有効な治療は、炎症の軽減によって決定される。他の実施形態において、有効な治療は、炎症の阻害を特徴とする。さらに他の実施形態において、有効な療法は、体重増加、体力回復、疼痛の減少、良好な発育及びより良好な健康の患者からの主観的指標のような徴候を含む、患者の健康の向上によって測定される。

【0289】

所与の投与量でのIL-10突然変異タンパク質の量は、治療が投与される個体のサイズ並びに治療される疾患の特徴に応じて変化し得る。投与されるIL-10突然変異タンパク質の用量は、約0.05 mg/kg ~ 1 mg/kg又は約0.05 ~ 0.5 mg/kgの範囲である。様々な実施形態において、本明細書に記載されるTREM-1抗体と融合される場合のIL-10突然変異タンパク質は、約0.05 mg/kg、0.1 mg/kg、0.15 mg/kg、0.2 mg/kg、0.25 mg/kg、0.3 mg/kg、0.4 mg/kg、0.5 mg/kg、0.6 mg/kg、0.75 mg/kg若しくは1.0 mg/kgの用量であるか、又は投与される重量として示される場合、約1.0 µg ~ 50 µg若しくは約1.0 µg、3.0 µg、5.0 µg、7.5 µg、10 µgの用量である。

【0290】

例えば、抗TREM-1抗体配列を含む、抗原結合タンパク質又は抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質は、30 mg、40 mg、50 mg、60 mg、70 mg、80 mg、90 mg、100 mg、125 mg、150 mg、200 mg、250 mg、300 mg又はそれ以上の用量で投与されると考えられる。IL-10突然変異タンパク質又は抗原結合タンパク質は、30 mg/ml、40 mg/ml、50 mg/ml、60 mg/ml、70 mg/ml、80 mg/ml、90 mg/ml、100 mg/ml、125 mg/ml、150 mg/ml、200 mg/ml又は250 mg/mlの濃度で製剤化され得る。様々な実施形態において、例えば、抗TREM-1抗体配列を含む抗原結合タンパク質又は融合タンパク質は、約0.05 mg/kg、0.25 mg/kg、0.5 mg/kg、0.75 mg/kg、1.0 mg/kg、1.25 mg/kg、1.5 mg/kg、2.0 mg/kg、2.5 mg/kg、3.0 mg/kg、3.5 mg/kg、4.0 mg/kg、4.5 mg/kg又は5 mg/kgの用量で投与される。

【0291】

本明細書に記載される組成物は、週1回、週2回、2週間に1回、3週間に1回、4週間に1回、月1回、3か月に1回又は6か月に1回投与される。

【0292】

本開示のIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質若しくは抗体又は本明細書に記載される抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質を含む医薬組成物は、液体形態、エアロゾル又は固体形態で供給され得る。液体形態は、注射可能な溶液及び経口懸濁液によって例示される。例示的な固体形態としては、カプセル剤、錠剤及び制御放出形態が挙げられる。後者の形態は、ミニ浸透圧ポンプ及びインプラントによって例示される (Bremer et al., Pharm. Biotechnol., 10: 239 (1997); Ranade, "Implants in Drug Delivery", in Ranade et al., eds., Drug Delivery Systems, pp. 95 - 123, CRC Press (1995); Bremer et al., "Protein Delivery with Infusion Pumps", in Sanders et al., eds., Protein Delivery: Physical Systems, pp. 239 - 254, Plenum Press (1997); Yewey et al., "Delivery of Pro

teins from a Controlled Release Injectable Implant”, in Sanders et al., eds., Protein Delivery: Physical Systems, pp. 93 - 117, Plenum Press (1997)。

【0293】

製剤は、治療される特定の適応症に必要である場合、2つ以上の活性化合物、好ましくは、互いに悪影響を与えない補完的な活性を有するものも含有し得る。代わりに又は加えて、組成物は、例えば、細胞毒性剤、サイトカイン、化学療法剤又は増殖阻害剤など、その機能を強化する薬剤を含み得る。このような分子は、意図される目的のために有効な量で組み合わせて好適に存在する。

10

【0294】

一実施形態において、本開示のIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質若しくは抗体又は本明細書に記載される抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質は、組合せ療法で、すなわち他の薬剤、例えば自己免疫障害及び炎症性疾患などの病態又は障害を治療するのに有用な治療剤と組み合わせて投与される。これに関する「組み合わせて」という用語は、薬剤が同時に又は連続して、実質的に同時に投与されることを意味する。連続して投与される場合、第2の化合物の投与の開始時、2つの化合物の1つ目が治療の部位に有効濃度で依然として検出可能である。

【0295】

本開示の治療剤は、同じ製剤中で同時に投与され得ると考えられる。薬剤が別個の製剤中で投与され、同時に投与されるとさらに考えられ、同時には、薬剤が互いに30分以内に投与されることを意味する。第2の薬剤が同時に投与され得るとさらに考えられる。

20

【0296】

別の態様において、IL-10突然変異タンパク質は、抗原結合タンパク質組成物の投与前に投与される。事前投与は、他の薬剤による治療の1週間前から、他の薬剤の投与の30分前までの範囲内の薬剤の投与を指す。薬剤が別の組成物又は薬剤の投与後に投与されるとさらに考えられる。その後の投与は、抗体治療の30分後から抗体投与の1週間後まで、例えば30分後、1時間後、2時間後、4時間後、1日後、2日後の投与を表すことを意味する。第2のものがさらに考えられる。

【0297】

例えば、組合せ療法は、1つ以上のさらなる治療剤、例えば1つ以上のサイトカイン及び増殖因子阻害剤、免疫抑制剤、抗炎症薬、代謝阻害剤、酵素阻害剤及び/又は細胞毒性剤又は細胞増殖抑制剤と共配合及び/又は共投与される、本開示の1つ以上のIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質若しくは抗体又は本明細書に記載される抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質を含み得る。

30

【0298】

本開示のIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質若しくは抗体又は本明細書に記載される抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質と組み合わせて使用される治療剤は、炎症反応における様々な段階で阻害する薬剤を含む。一実施形態において、本開示のIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質若しくは抗体又は本明細書に記載される抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質は、他のサイトカイン又は増殖因子アンタゴニスト（例えば、可溶性受容体、ペプチド阻害剤、小分子、リガンド融合）；又は他の標的に結合する抗体又はその抗原結合フラグメント（例えば、他のサイトカイン又は増殖因子、それらの受容体又は他の細胞表面分子に結合する抗体）；及び抗炎症性サイトカイン又はそのアゴニストなどの1つ以上のさらなる薬剤と共配合及び/又は共投与され得る。本明細書に記載される抗体と組み合わせて使用され得る薬剤の非限定的な例としては、限定はされないが、1つ以上のインターロイキン（IL）又はそれらの受容体のアンタゴニスト、例えばIL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-12、IL-13、IL-15、IL-16、IL-17A-F、IL-18、IL-20、IL-21、IL-22、IL-23、IL-25、IL-

40

50

31、IL-32、IL-33のアンタゴニスト；サイトカイン若しくは増殖因子又はそれらの受容体のアンタゴニスト、例えばLT、EMAP-11、GM-CSF、FGF及びPDGFが挙げられる。本発明の抗体は、例えば、CD2、CD3、CD4、CD8、CD20などの細胞表面分子に対する抗体の阻害剤（例えば、CD20阻害剤リツキシマブ（RITUXAN（登録商標））、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD80（B7.1）、CD86（B7.2）、CD90若しくはそれらのリガンド（CD154（gp39若しくはCD40L）又はLFA-1/ICAM-1及びVLA-4/VCAM-1を含む）とも組み合わせられ得る（Yusuf-Makagiansaret al., Med. Res. Rev., 22: 146-167 (2002)）。組み合わせ使用され得る例示的なアンタゴニストとしては、IL-1、IL-6、IL-12、TNF、IL-15、IL-18、IL-20、IL-22、IL-23及びIL-31のアンタゴニストが挙げられる。

10

【0299】

他の実施形態において、1つ以上のIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質又は本開示の抗原結合部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質は、1つ以上の抗炎症薬、免疫抑制剤又は代謝若しくは酵素阻害剤と共配合及び/又は共投与され得る。本明細書に記載される抗体と組み合わせ使用され得る薬剤又は阻害剤の非限定的な例としては、限定はされないが、非ステロイド系抗炎症薬（NSAIDs）、例えばイブプロフェン、テニダップ、ナプロキセン、メロキシカム、ピロキシカム、ジクロフェナク及びインドメタシン；スルファサラジン；プレドニゾンなどのコルチコステロイド；サイトカイン抑制性抗炎症薬（CSAIDs）；ヌクレオチド生合成の阻害剤、例えばプリン生合成の阻害剤、葉酸アンタゴニスト（例えば、メトトレキサート（N-[4-[[[（2,4-ジアミノ-6-プテリジニル）メチル]メチルアミノ]ベンゾイル]-グルタミン酸）；及びピリミジン生合成の阻害剤、例えばジヒドロオロト酸デヒドロゲナーゼ（DHODH）阻害剤の1つ以上が挙げられる。本発明の1つ以上の抗体、例えば二重特異性抗体と組み合わせ使用するための好ましい治療剤としては、NSAIDs、CSAIDs、（DHODH）阻害剤（例えば、レフルノミド）及び葉酸アンタゴニスト（例えば、メトトレキサート）が挙げられる。

20

【0300】

さらなる阻害剤としては、コルチコステロイド（経口、吸入及び局所注入）；免疫抑制剤、例えばシクロスポリン、タクロリムス（FK-506）；及びmTOR阻害剤、例えばシロリムス（ラパマイシン - - RAPAMUNE（登録商標）又はラパマイシン誘導体、例えば可溶性ラパマイシン誘導体（例えば、エステルラパマイシン誘導体、例えばCCI-779）；IL-1などの炎症性サイトカインによるシグナル伝達を妨げる薬剤（例えば、IRAK、NIK、IKK、p38又はMAPキナーゼ阻害剤）；COX2阻害剤、例えばセレコキシブ、ロフェコキシブ及びその変異体；ホスホジエステラーゼ阻害剤、例えばR973401（ホスホジエステラーゼIV型阻害剤）；ホスホリパーゼ阻害剤、例えば細胞質ホスホリパーゼ2（cPLA2）の阻害剤（例えば、トリフルオロメチルケトン類似体）；血管内皮細胞増殖因子又は増殖因子受容体の阻害剤、例えばVEGF阻害剤及び/又はVEGF-R阻害剤；及び血管新生の阻害剤の1つ以上が挙げられる。本開示のIL-10突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質若しくは抗体又は本明細書に記載される抗TREM-1部分及びIL-10部分を含む抗原結合タンパク質と組み合わせ使用するための好ましい治療剤は、免疫抑制剤、例えばシクロスポリン、タクロリムス（FK-506）；mTOR阻害剤、例えばシロリムス（ラパマイシン）又はラパマイシン誘導体、例えば可溶性ラパマイシン誘導体（例えば、エステルラパマイシン誘導体、例えばCCI-779）；COX2阻害剤、例えばセレコキシブ及びその変異体；及びホスホリパーゼ阻害剤、例えば細胞質ホスホリパーゼ2（cPLA2）の阻害剤、例えばトリフルオロメチルケトン類似体である。

30

40

【0301】

キット

50

本開示は、任意選択的に、薬学的に許容される担体又は組成物中で、本開示の I L - 1 0 突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質若しくは抗体又は本明細書に記載される抗原結合部分及び I L - 1 0 部分を含む抗原結合タンパク質を含む 1 つ以上の容器を含むキットも想定している。本開示の I L - 1 0 突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質若しくは抗体又は本明細書に記載される抗原結合部分及び I L - 1 0 部分を含む抗原結合タンパク質は、単回若しくは複数回投与のための注射可能な溶液の形態において、単位用量として又は注射前に再構成される滅菌粉末として提供され得る。代わりに、このようなキットは、乾燥粉末分散器、液体エアロゾル発生器又は治療剤の投与のための噴霧器を含み得る。このようなキットは、適応症及び医薬組成物の使用に関する指示及び書面情報をさらに含み得る。

10

【0302】

任意選択的に、好適な使用説明書と共に、上記の I L - 1 0 突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質又は抗 T R E M - 1 部分及び I L - 1 0 部分を含む抗原結合タンパク質又は組成物のいずれかを含む、シリンジ、例えば使い捨て又はプレフィルドシリンジ、滅菌密封容器、例えばバイアル、ボトル、容器及び / 又はキット又はパッケージも想定される。

【0303】

さらなる実施形態において、本発明は、(a) 本開示の I L - 1 0 突然変異タンパク質、抗原結合タンパク質若しくは抗体又は本明細書に記載される抗 T R E M - 1 部分及び I L - 1 0 部分を含む抗原結合タンパク質を含む組成物；(b) 前記組成物を含む容器；及び (c) 前記容器に貼り付けられたラベル又は免疫関連疾患の治療における前記抗体の使用に言及する、前記容器に含まれる添付文書を含む製品又は単位用量形態を提供する。

20

【0304】

別の態様において、組成物又はキットは、さらなる有効成分を含み、これは、例えば、さらなる抗体又は抗炎症薬、細胞毒性剤又は本明細書に記載される他の薬剤であり得る。好ましくは、組成物は滅菌されている。

【実施例】

【0305】

実施例 1 - I L - 1 0 突然変異タンパク質の生成

野生型 I L - 1 0 と比較して I L - 1 0 R 1 / R 2 への異なる結合を示し、異なる免疫刺激活性を示す I L - 1 0 突然変異タンパク質は、免疫療法として有用であることが本明細書で仮説を立てられた。

30

【0306】

安定した I L - 1 0 モノマー、I L - 1 0 M 1 を、I L - 1 0 のループ D 及び E の間に 6 アミノ酸リンカー (G G G S G G) (配列番号 2 6 7 6) を挿入することによって作製した (J o s e p h s o n e t a l . , J . B i o l . C h e m , 2 7 5 : 1 3 5 5 2 - 1 3 5 5 7 , 2 0 0 0) 。 I L - 1 0 M 1 を、h I L - 1 0 / I L - 1 0 R 1 の構造へとモデル化した。h I L - 1 0 の 2 4 残基が結合界面に含まれ、2 つの相互作用表面、部位 I a - ヘリックス F 及び I L - 1 0 の A B ループ及び I L - 1 0 R 1 の L 2 - L 4 並びにヘリックス A の部位 I b - N 末端及び I L - 1 0 のヘリックス F の C 末端、I L - 1 0 R 1 の L 5 - L 6 がある。

40

【0307】

I L - 1 0 突然変異誘発アルゴリズムを、ウイルス I L - 1 0 (8 3 % の相同性) 及びカニクイザル (c y n o) I L - 1 0 の間の構造差に基づいて構築した。融合タンパク質において、例えば抗体に融合される場合、I L - 1 0 の適切なフォールディングを促進するために、I L - 1 0 M 1 を、突然変異タンパク質設計のための足場として使用して、最後の 2 つの - ヘリックスが N 末端球状ドメインへとフォールディングされ、官能性モノマーを形成するのを可能にする。後述される構造及び配列分析の組合せを使用して、突然変異のための潜在的な残基に焦点を当てることを促進した。突然変異タンパク質パネルのサイズを狭めるために、G 結合エネルギー計算を使用して、受容体界面に最も不安定

50

な影響を及ぼすであろう突然変異を決定した。

【0308】

アルゴリズムは、IL-10及びIL-10/IL-10R1の配列、突然変異及び公知の構造を用いて、界面に面する側鎖を有する残基に焦点を当て、部位Ibにおける突然変異多様性を最大にする。単一の点突然変異をスクリーニングしたが、Trp、Phe、Pro（例外を除いて）又はCys残基は、突然変異されていなかった。配列多様性は、結合表面上の残基のそれぞれにおいて少なくとも1つの突然変異を選択することによって最大にされた。

【0309】

さらなる手法は、不規則立体構造に有利に作用するように、ABループ中の各残基をGly又はProに突然変異させ、N末端及びC末端フレキシブルループへの切断を含む、CDループ中の保存的突然変異を選択し、エネルギー計算（すなわちG結合）を利用して、突然変異パネルを狭めることを含む。

【0310】

合計で235の突然変異を作製し、スクリーニングした。以下の残基における突然変異を、IL-10R1への結合について調べた：P20、L23、R24、R27、D28、K34、T35、Q38、M39、K40、D41、Q42、L43、D44、N45、L46、L47、L48、K49、N82、Q83、D84、P85、D86、I87、K138、S141、E142、D144、I145又はE151。N末端及びC末端切断も、それらがIL-10活性を改変した場合、パネルに含まれていた。突然変異体の番号付けは、配列番号2に基づき、これは、18アミノ酸シグナルペプチドを欠く野生型ヒトIL-10である。

【0311】

さらなる分析のために作製及び選択された突然変異は、以下を含む：ABループ、D41G、L46K；部位Ia、Q38E（ヘリックスA）、Q38R（ヘリックスA）、K34D（ヘリックスA）、K138L（ヘリックスF）、K138D（ヘリックスF）；部位Ib、R27L（ヘリックスA）。これらの突然変異タンパク質のそれぞれは、IL-10のヘリックスDとEとの間にGGGSGG（配列番号2676）リンカーも含んでいた。例示的な配列が表1に示される。

【0312】

10

20

30

40

50

【表 1】

表 1: IL-10 突然変異タンパク質配列

突然変異タンパク質	説明	配列	配列番号
ヒト IL-10	野生型(wt) IL-10 (シグナルペプチドなし)	SPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTF FQMKDQLDNLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYL EEVMPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCH RFLPCENKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKAMSEFDIFI NYIEAYMTMKIRN	2
IL-10 M1	ループ D 及び E の間の GGGSGG (配列番号 2676)リンカーを有する IL-10	SPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTF FQMKDQLDNLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYL EEVMPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCH RFLPCENGGGGSGGKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKA MSEFDIFINYIEAYMTMKIRN	2211
R27L	R27L を有する IL-10 M1	SPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLLDAFSRVKTF FQMKDQLDNLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYL EEVMPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCH RFLPCENGGGGSGGKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKA MSEFDIFINYIEAYMTMKIRN	3
K138L	K138L を有する IL-10 M1	SPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTF FQMKDQLDNLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYL EEVMPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCH RFLPCENGGGGSGGKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYLA MSEFDIFINYIEAYMTMKIRN	4
K138D	K138D を有する IL-10 M1	SPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTF FQMKDQLDNLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYL EEVMPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCH RFLPCENGGGGSGGKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYDA MSEFDIFINYIEAYMTMKIRN	5
D41G	D41G を有する IL-10 M1	SPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTF QMKDQLDNLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYL EEVMPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCH RFLPCENGGGGSGGKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKA MSEFDIFINYIEAYMTMKIRN	6
Q38R	Q38R を有する IL-10 M1	SPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTF RMKDQLDNLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYL EEVMPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCH RFLPCENGGGGSGGKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKA MSEFDIFINYIEAYMTMKIRN	7
L46K	L46K を有する IL-10 M1	SPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTF QMKDQLDNKLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYL EEVMPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCH RFLPCENGGGGSGGKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKA MSEFDIFINYIEAYMTMKIRN	8
K34D	K34D を有する IL-10 M1	SPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVDTFF QMKDQLDNLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYL EEVMPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCH RFLPCENGGGGSGGKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKA MSEFDIFINYIEAYMTMKIRN	9
Q38E	Q38E を有する IL-10 M1	SPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTF EMKDQLDNLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYL EEVMPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCH RFLPCENGGGGSGGKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKA MSEFDIFINYIEAYMTMKIRN	10

10

20

30

40

【0313】

突然変異分析に加えて、DとEヘリックスとの間に挿入される異なるサイズのリンカーを生成した。Rosetta Remodel (Huang et al., PLoS One, 2011; 6(8): e24109)を用いて、三量体、四量体、五量体及び六量体を含む、IL-10のヘリックス構造中の異なるアミノ酸の挿入時のタンパク質構造をモデル化した。GSリンカーがモデルにおいて高く採点された。モデル化されたリンカー配列が表2に記載される。

【0314】

50

【表 2】

表 2: IL-10 突然変異タンパク質のためのリンカー

GSG	NPG	GGGG (配列番号 2677)	RPTG (配列番号 2678)	SGSSG (配列番号 2679)	GATGK (配列番号 2680)
GSG	GGG	GGGG (配列番号 2677)	VPAR (配列番号 2681)	SSSSG (配列番号 2682)	SSSPG (配列番号 2683)
GSG	GGG	SSGG (配列番号 2684)	GKTG (配列番号 2685)	SSSSG (配列番号 2682)	GSGTG (配列番号 2686)
SGG	KGT	GGGG (配列番号 2677)	GGAG (配列番号 2687)	GSSSG (配列番号 2688)	RPKAT (配列番号 2689)
GSG	GNG	SGSG (配列番号 2690)	GGGG (配列番号 2677)	SSSSG (配列番号 2991)	GSSSG (配列番号 2688)
SGS	GNG	SGGG (配列番号 2692)	NAGG (配列番号 2693)	GSSSG (配列番号 2688)	KPGST (配列番号 2694)
GGG	RGS	SGGG (配列番号 2692)	RPSG (配列番号 2695)	SGSSG (配列番号 2696)	KGGKG (配列番号 2697)
SSG	SGG	GGSS (配列番号 2698)	KPTG (配列番号 2699)	GGGGS (配列番号 2725)	GGGSS (配列番号 2700)
GGG	TTS	GSSS (配列番号 2701)	GGGG (配列番号 2677)	GSSSG (配列番号 2688)	GKKAT (配列番号 2702)
GGG	KKG	GGSS (配列番号 2698)	RSSG (配列番号 2703)	SGSSG (配列番号 2696)	AKVGS (配列番号 2704)

10

20

【0315】

表 3 は、抗 TREM - 1 抗体 1 B 1 2 との選択された IL - 1 0 突然変異タンパク質及び IL - 1 0 突然変異タンパク質融合による、293 細胞内の LPS 誘導性 TNF の阻害を示す。融合分子の重鎖は、同定された配列を有し；それぞれの軽鎖配列は、抗体 1 B 1 2 のものである（配列番号 2185）。

30

【0316】

40

50

【表 3】

表 3: IL-10 突然変異タンパク質及び抗 TREM-1 抗体 1B12 による LPS 阻害

IL-10 変異体	FC-IL-10 突然変異 タンパク質 EC50 pM	WT IL-10 と 比較した 効力低下 倍率	1B12/IL-10 突然変異 タンパク質 EC50 pM	AB 1B12 HC との IL-10 融合 AA の 配列番号
Wt IL-10	0.84		NA	
R27L	1874	2231	285.8	2199
K138L	NA	NA	24.6	2201
K138D	NA	NA	54.4	2203
D41G	NA	NA	8.2	2205
Q38R	NA	NA	2.64	2207
L46K	1229	1463	2.24	2209
K34D	367	436	0.3329	2211
Q38E	112	133	0.063	2213
D144I	NA	NA	NA	2215
D144S	NA	NA	NA	2217
E142Q	NA	NA	NA	2219
IL10M1	NA	NA	NA	2221
TREM1- 1B12(v503KK)- huIL10(Q38E)	NA	NA	NA	2223
TREM1- 1B12_(v503DD)- huIL10(Q38E)	NA	NA	NA	2225
TREM1- 1B12_(v503KK)- huIL10M1	NA	NA	NA	2227
TREM1- 1B12_(v503DD)- huIL10M1	NA	NA	NA	2229
TREM1- 1B12_(C42S,S249G)	NA	NA	NA	2231

10

20

30

【0317】

IL-10 突然変異タンパク質の目的は、単球及びマクロファージにおける IL-10 抑制活性を保持/回復し、CD8+ T細胞及びB細胞のIL-10刺激を減少させることである。

40

【0318】

実施例 2 - 抗 TREM-1 抗体

IL-10 の半減期及び活性を延長するために、それを細胞表面標的部分に融合することが有益であると考えられた。高親和性抗 TREM-1 モノクローナル抗体を生成し、IL-10 を免疫細胞に標的化し、IL-10 の半減期を延長する能力について評価した。

【0319】

ヒト TREM-1 に対する完全ヒト抗体を、XENOMOUSE (登録商標) トランスジェニックマウスを免疫化することによって生成した。例えば、米国特許第 6, 114,

50

598号明細書；同第6,162,963号明細書；同第6,833,268号明細書；同第7,049,426号明細書；及び同第7,064,244号明細書を参照されたい。

【0320】

マウスを、ヒト及び/又はカニクイザルTREM1タンパク質、TREM1発現ベクター及び/又はTREM1発現CHO細胞で免疫化した。遺伝的免疫化のために、マウスを、製造業者の説明書(BioRad, Hercules, California)に従って、HELIOS(登録商標)Gene Gunシステムを用いて、8週間にわたって16回免疫化した。簡潔に述べると、ヒトTREM-1及びDAP12又はカニクイザルTREM-1及びDAP12のいずれかをコードする発現ベクターをプールし、2µgの総DNAを、1.6µmの金ビーズ(BioRad, Hercules, California)上に被覆し、剃毛したマウス腹部の表皮に送達した。可溶性タンパク質免疫化のために、マウスを、N末端細胞外ドメインを表すヒト又はカニクイザルTREM-1組み換えタンパク質で免疫化した。動物を、Alum及びCpG-ODN又はSigma Adjuvant Systemのいずれかでアジュバントされた組み換えタンパク質で、尾の付け根及び肩甲下領域に位置するマウスの背側正中線に沿って2つの箇所を送達される皮下注射を用いて、10~12週間にわたって14~17回免疫化した。最初の可溶性タンパク質免疫化は、10µgを送達し、その後の追加接種は5µgであった。細胞免疫化のために、マウスを、Alum及びCpG-ODNでアジュバントされたヒトTREM-1又はカニクイザルTREM-1のいずれかを一過性に発現する200~400万個のCHO-S細胞で免疫化した。動物を、尾の付け根における腹腔内及び皮下注射の間で交互に10週間にわたって合計で13回、週に1回又は2回免疫化した。動物を出血させ、TREM1特異的力価について評価するために4週間~10週間の範囲の免疫化試験中、様々な時点で血漿を採取した。TREM1特異的血漿力価を、一過性にトランスフェクトされた293T細胞を用いて、ACCURI(商標)フローサイトメーター(BD Biosciences)における肝細胞FACS分析によって監視した。ヒト及びカニクイザルTREM1に対する最も高い抗原特異的血漿力価を有する動物を殺処分し、ハイブリドーマ生成のために使用した(Kohler and Milstein, 1975)。

【0321】

ハイブリドーマ生成：好適な抗原特異的血清力価を示す動物を同定し、選択されたマウスからの脾臓及び/又は流入領域リンパ節を、各採取物からプールした。脾細胞及びリンパ球を、好適な培地中で粉碎するか、又はGENTLEMACS(商標)Dissociator(Miltenyi Biotec)半自動組織解離機器を用いることにより、リンパ系組織から解離させた。IgG発現B細胞を単離し、標準的な方法を用いて増殖させ、好適な細胞融合パートナーと融合した。ハイブリドーマ上清を、CELLINSIGHT(商標)によってHEK293細胞上で一過性に発現されるヒトTREM-1への結合について試験した。簡潔に述べると、HEK293細胞を、製造業者のプロトコルに従って、293Fectin(Invitrogen)を用いて、ヒトTREM-1及びDAP12又はモックベクター及びDAP12単独をコードする哺乳動物発現構築物を1:1の比率で一過性に共トランスフェクトした。翌日、トランスフェクトされたHEK293細胞の15,000個の細胞/ウェルを、等体積の使用されたハイブリドーマ培地試験サンプル及び15µg/mLの最終濃度の核染色Hoechst 33342(Pierce)と、384ウェルFMATプレート(Corning)中30µL/ウェルの総体積で、組み合わせた。室温で1時間のインキュベーション後、上清を、AQUAMAX(登録商標)プレートウォッシャーを用いて吸引し、ウェルを、50µL/ウェルのFACS緩衝液(PBS(Hyclone)、AquaMaxにおいて各サイクルで2%のFBS(Sigma))を用いて、2サイクルにわたって洗浄した。細胞を、5µg/mLのAlexa Fluor 488ヤギ抗ヒトIgG Fc(Jackson ImmunoResearch)二次抗体で染色し、Big Bearプレートシェーカーにおいて振とうし、室温で20分間インキュベートした。上清を、AQUAMAX(登録商標)プ

レートウォッシャーを用いて吸引し、ウェルを、50 μ L / ウェルのFACS緩衝液を用いて2サイクルにわたって再度洗浄し、30 μ LのFACS緩衝液を、マルチドロップ機器 (multidrop instrument) を用いて各ウェルに加えた。プレートを、Big Bear Plateシェーカーに設置して、細胞をウェル中に均等に分配し、次に、Cell Health Profiling Bio-Appを用いて、CELLINSIGHT (商標) CX7プラットフォームにおいて読み取った。

【0322】

一次スクリーニングにおいて同定されたTREM-1特異的抗体を、カニクイザルTREM-1との交差反応性並びにDAP12に対してではなくTREM-1に対する特異性について評価した。TREM-1ハイブリドーマ上清を、FACS (採取物1~6) 又はCELLINSIGHT (商標) (採取物8~9) により、HEK293細胞上で一過性に発現されるヒト又はカニクイザルTREM-1への結合について試験した。採取物1~6からのTREM1抗体について、HEK293細胞を、293Fectinを用いて、ヒトTREM-1及びDAP12、カニクイザルTREM-1及びDAP12又はモックベクター及びヒトDAP12をコードする哺乳動物発現構築物を1:1の比率で一過性に共トランスフェクトした。翌日、トランスフェクトされたHEK293細胞を、50,000個の細胞/ウェルで96ウェルFACSプレート中に移し、4で1時間にわたって、2.5 μ g/mLの最終濃度で、正規化されたハイブリドーマ上清と共にインキュベートした。次に、細胞を、遠心分離によってペレット化し、上清を、軽くはじくことによって除去し、ウェルを200 μ L / ウェルのFACS緩衝液で2回洗浄した。5 μ g/mLのALEXA FLUOR (登録商標) 647ヤギ抗ヒトIgG Fc (Jackson ImmunoResearch) 二次検出抗体及び2.5 μ g/mLの7-アミノアクチノマイシン-D (Sigma) 生存染色を、4で15分間にわたって細胞と共にインキュベートした。細胞を、遠心分離によってペレット化し、上清を、軽くはじくことによって除去し、ウェルを、200 μ L / ウェルのFACS緩衝液でもう1回洗浄した。ヒトTREM-1 - 又はカニクイザルTREM-1特異的結合を示すTREM-1ハイブリドーマ上清を、Intellicytオートサンプラーを備えたBD ACCURI (商標) C6フローサイトメーターにおいてFACSによって検出した。データを、非関連対照抗体結合を超える幾何平均 (geomean) (GM) 倍数として報告した。特定の抗TREM-1抗体についての結合の結果が表4に示される。

【0323】

10

20

30

40

50

【表 4】

表 4: ヒト/カニクイザル交差反応性及び特異性スクリーンにおける TREM1 抗体

抗体 ID	ヒト TREM1 GM 倍率	カニクイザル TREM1 GM 倍率
3E12	279.6	176.5
34D1	245.8	228.1
30H2	108.1	76.9
44A5	1634.6	2238.4
46H7	1907.9	2688.8
49A2	2218.0	2978.4
50A12	2421.0	2782.1
57C10	1667.8	2429.0
57F5	718.8	2338.9
61B12	1850.3	2093.4
61G5	2072.8	2160.6
63F8	1384.3	2372.3
64D7	1476.6	2151.3
66B8	1634.0	1517.9

10

20

30

【 0 3 2 4 】

高品質の TREM1 特異的結合及びヒト/カニクイザル交差反応性を示す TREM1 抗体を、リガンド PGLYRP1 が、HEK293 細胞上で一過性に発現されるヒト TREM1/DAP12 に結合するのを阻止するそれらの能力について評価した。簡潔に述べると、HEK293 細胞を、293 Fectin を用いて、ヒト TREM1 及び DAP12 又はモックベクター及びヒト DAP12 をコードする哺乳動物発現構築物を 1:1 の比率で一過性に共トランスフェクトした。翌日、トランスフェクトされた HEK293 細胞を、50,000 個の細胞/ウェルで 96 ウェル FACS プレート中に移し、4 で 1 時間にわたって、2.5 µg/mL の最終濃度で、正規化されたハイブリドーマ上清と共にインキュベートした。ヒト PGLYRP1-His (R&D Systems) を、PGN-ECndss (ペプチドグリカン、InvivoGen) と組み合わせて、室温で 15 分間インキュベートし、次に、7.5 µg/mL の PGLYRP1 及び 30 µg/mL の PGN の最終濃度でウェルに加えた。次に、プレートを振とうし、4 で 15 分間インキュベートした。次に、細胞を、遠心分離によってペレット化し、上清を、軽くはじくことによって除去し、ウェルを 200 µL の FACS 緩衝液で洗浄した。5 µg/mL の ALEXA FLUOR (登録商標) 647 ヒト抗 His 二次検出抗体及び 2.5 µg/mL の 7-アミノアクチノマイシン-D (Sigma) 生存染色を細胞に加え、振とうし、4

40

50

で15分間インキュベートした。細胞をFACS緩衝液で洗浄し、遠心分離によってペレット化し、上清を、軽くはじくことによって除去し、FACS緩衝液でもう1回洗浄した。次に、細胞を、IntelliCyt HYPERCYT（登録商標）オートサンプラーを備えたBD ACCURI（商標）C6フローサイトメーターにおいて実行した。合計で518のTREM1抗体が所望の特異的なPGLYRP1ブロッキング活性を示した。選択されたTREM-1モノクローナル抗体についての受容体-リガンド阻害が表5に要約される。

【0325】

【表5】

表5: 選択されたTREM1抗体についての受容体リガンド阻害

抗体 ID	受容体リガンド% 阻害
3E12	101%
34D1	101%
30H2	101%
44A5	100%
46H7	100%
49A2	100%
50A12	100%
57C10	100%
57F5	100%
61B12	87%
61G5	91%
63F8	93%
64D7	96%
66B8	85%

10

20

30

40

【0326】

制限抗原アッセイによるTREM-1抗体相対的親和性等級付け：FACSにおけるLUMAVIDIN（登録商標）ビーズ（Luminex）を用いた制限抗原アッセイにおける可溶性TREM-1に対するそれらの結合キネティクスにより、TREM1ハイブリドーマ上清を、パネル内で親和性等級付けした。簡潔に述べると、社内のビオチン化ヒトTREM-1-His抗原（b-huTREM-1-His）を、FACS緩衝液中で連続希釈し、等体積のLUMAVIDIN（登録商標）ビーズ（各抗原濃度について異なる独自にバーコード化されたビーズ）と組み合わせ、30ng/mLの最終的なb-huTREM-1-His抗原濃度から開始する5点2倍連続希釈系列をもたらした。抗原-

50

ビーズ混合物を、96ウェルFACSプレート中の3つのウェルにわたって平板培養し、次に、光から保護しながら、室温で30分間インキュベートした。次に、ビーズを、遠心分離によってペレット化し、上清を、軽くはじくことによって除去し、ウェルを200 μ L/ウェルのFACS緩衝液で2回洗浄した。次に、異なるビーズを再度懸濁させ、プールし、STABILGUARD(登録商標)Immunoassay Stabilizer(SurModics)中で希釈して、非特異的結合をブロックした。正規化されたTREM-1ハイブリドーマ上清を、0.5 μ Lのビーズ/ウェルへの5 μ g/mLの試験抗体の最終濃度で、FACSプレート中で等体積のビーズ混合物と組み合わせた。次に、プレートを振とうし、室温で約18時間にわたって一晩インキュベートした。次に、ビーズを、遠心分離によってペレット化し、上清を、軽くはじくことによって除去し、ウェルを200 μ L/ウェルのFACS緩衝液で2回洗浄した。ALEXA FLUOR(登録商標)488ヤギ抗ヒトIgG Fc二次検出抗体(Jackson ImmunoResearch)を、5 μ g/mLでプレートに加え、振とうし、光から保護しながら、室温で15分間インキュベートした。ビーズをFACS緩衝液で洗浄し、遠心分離によってペレット化し、上清を、軽くはじくことによって除去し、FACS緩衝液でもう1回洗浄した。次に、ビーズを再度懸濁させ、Intellicyt HYPERCYT(登録商標)オートサンプラーを備えたBD ACCURI(商標)C6フローサイトメーターにおいて実行した。

10

【0327】

対照IgG抗体サンプルより少なくとも2倍以上高いシグナルを示すTREM-1ハイブリドーマサンプルは、TREM-1特異的結合プロファイルを示していると思なされた。抗体結合シグナルは、抗体親和性と相関し；標的抗原TREM-1への抗体結合の程度は、測定された蛍光強度と相関し、したがって、パネルにわたって親和性の相对比较を可能にする。制限抗原スクリーンにおいてベンチマーク抗体1B2より良好な結合を有するTREM-1抗体を、軽鎖スクリーニング及びヒト/カニクイザル親和性ギャップ分析に進めた。表6は、機器シグナル検出の線形範囲内に含まれた代表的な抗原コーティング濃度を用いた、選択されたTREM-1抗体についての抗体結合データを示す。

20

【0328】

30

40

50

【表 6】

表 6: 制限された抗原結合アッセイにおける選択された TREM1 抗体の相対的親和性

抗体 ID	可溶性 TREM1 7.5 ng/mL (FACS Geomean)
3E12	121096
34D1	80444
30H2	91743
44A5	36759
46H7	37975
49A2	28315
50A12	14642
57C10	28498
57F5	25282
61B12	26854
61G5	24835
63F8	25759
64D7	24511
66B8	23784

10

20

30

【0329】

TREM1 相対的エピトープビニング/プロファイリング: TREM1 ハイブリドーマ上清を、パネルにおける様々な相対的な固有エピトープピンを決定するために、FACS における LUMAVIDIN (登録商標) ビーズ (Luminox) を用いて、エピトープビニングアッセイ (修正された抗体 - 抗体競合アッセイ) によって評価した。簡潔に述べると、一連の 15 の異なる独自にバーコード化された LUMAVIDIN (登録商標) ビーズをそれぞれ、100 ng/mL の最終濃度で、FACS 緩衝液中で希釈された等体積の社内のビオチン化ヒト TREM-1-His 抗原と組み合わせた。抗原 - ビーズ混合物を、96 ウェル FACS プレートにおいて 3 つのウェルにわたって平板培養し、次に、光から保護しながら、室温で 30 分間インキュベートした。次に、ビーズを、遠心分離によってペレット化し、上清を、軽くはじくことによって除去し、ウェルを 200 μ L / ウェルの FACS 緩衝液で 2 回洗浄した。制限抗原アッセイにおいて良好な結合を示した、多様な VDJ 再配列及び良好な定量を有する 15 の異なる TREM-1 抗体を、ビーズをプレコーティングするために参照抗体として選択した。これらの 15 の抗体を、FACS 緩衝液中で、5 μ g/mL の飽和濃度で調製し、光から保護しながら、室温で 1 時間にわたって、15 の異なる LUMAVIDIN (登録商標) ビーズと共にインキュベートした

40

50

。ビーズを、遠心分離によってペレット化し、上清を、軽くはじくことによって除去し、ウェルを200 μ L/ウェルのFACS緩衝液で3回洗浄した。次に、異なるビーズを再度懸濁させ、プールし、STABILGUARD（登録商標）Immunoassay Stabilizer（SurModics）中で希釈して、非特異的結合をブロックした。正規化されたTREM-1ハイブリドーマ上清（試験抗体）を、0.5 μ Lのビーズ/ウェルへの5 μ g/mLの試験抗体の最終濃度で、FACSプレート中で等体積のビーズ混合物と組み合わせた。次に、プレートを振とうし、光から保護しながら、室温で1時間インキュベートした。次に、ビーズを、遠心分離によってペレット化し、上清を、軽くはじくことによって除去し、ウェルを200 μ L/ウェルのFACS緩衝液で2回洗浄した。ALEXA FLUOR（登録商標）488ヤギ抗ヒトIgG Fc二次検出抗体（Jackson ImmunoResearch）を、5 μ g/mLでプレートに加え、振とうし、光から保護しながら、室温で15分間インキュベートした。ビーズをFACS緩衝液で洗浄し、遠心分離によってペレット化し、上清を、軽くはじくことによって除去し、FACS緩衝液でもう1回洗浄した。次に、ビーズを再度懸濁させ、IntelliCyt HYPERCYT（登録商標）オートサンプラーを備えたBD ACCURI（商標）C6フローサイトメーターにおいて実行した。

10

【0330】

参照抗体としてTREM-1抗原における同様のエピトープと競合する試験抗体は、結合を防止される一方、非競合抗体は、結合して、参照抗体と共に追加のシグナルを生成することができる。次に、全結合抗体が二次抗体により検出される。個々の試験抗体の抗体競合/結合プロファイルを決定するために、参照のみの抗体結合シグナルが各競合/結合反応についての参照プラス試験抗体シグナル（すなわち全参照抗体組にわたって）から差し引かれた。選択されたTREM-1抗体についての相対ピトーピングの要約が以下の表7に示される。

20

【0331】

【表7】

表7: 選択されたトップ TREM1 抗体についての相対的エピトープピン

抗体 ID	エピトープピン
3E12	B
34D1	ND
30H2	ND
44A5	A
46H7	A
49A2	A
50A12	A.1
57C10	A
57F5	A
61B12	A
61G5	A
63F8	A
64D7	A
66B8	A

30

40

【0332】

TREM1抗体ヒト/カニクイザル親和性ギャップ決定：制限抗原スクリーンにおいてベンチマーク抗体より良好な結合を同様に示した、固有のCDR3配列を有するTREM-1抗体を、ヒト及びカニクイザルTREM-1に対するそれらの親和性について分析し

50

た。結合親和性 K_D (M)、結合速度定数 k_a ($M^{-1} s^{-1}$) 及び解離速度定数 k_d (s^{-1}) を、OCTET (登録商標) HTX 機器 (Fortebio) を用いて、114 TREM-1 抗体のパネルにおいて決定した。簡潔に述べると、DMEMヌル培地中の $10 \mu g / mL$ に対して正規化された TREM-1 ハイブリドーマ上清を、 $1 \mu g / mL$ の最終的な試験濃度になるまで OCTET (登録商標) アッセイ緩衝液 ($10 mM$ のトリス、 0.1% の Triton X-100、 $150 mM$ の NaCl、 $1 mM$ の $CaCl_2$ 、 $0.1 mg / mL$ の BSA、 $pH 7.6$) 中で $1:10$ に希釈することによって調製した。アミン反応性第二世代 AR2G バイオセンサー (Molecular Devices) を、使用前に室温で最低 10 分間にわたって、 $200 \mu L$ のナノポア (nanopore) 水中でブレインキュベートした。次に、AR2G バイオセンサーを、ナノポア水中で $10 mM$ の NHS (N-ヒドロキシスルホスクシンイミド) (Fortebio) と予め混合された $20 mM$ の EDC (1-エチル-3-[3-ジメチルアミノプロピル]カルボジイミド塩酸塩) (Fortebio) の溶液中で 5 分間にわたって活性化した。社内で生成されたマウス抗ヒト Fc モノクローナル抗体を、5 分間にわたって $pH 5$ の $10 mM$ の酢酸ナトリウム緩衝液中で、 $10 \mu g / mL$ で AR2G バイオセンサーに結合し、5 分間にわたって $pH 8.5$ の $1 M$ のエタノールアミンでクエンチし、次に、それを用いて、溶液から抗体を捕捉した。TREM-1 試験抗体を、5 分間にわたってバイオセンサーに充填し、ベースライン測定を、1 分間にわたって取った。次に、組み換え可溶性ヒト TREM-1-His タンパク質を、 $450 nM \sim 1.85 nM$ 又は $150 nM \sim 0.62 nM$ の 6 点をカバーする 3 倍希釈系列で抗体充填されたバイオセンサーに結合した。抗体充填されたセンサーとの組み換えヒト TREM-1 の結合を、5 分間測定した後、OCTET (登録商標) 緩衝液中の解離を 10 分間測定した。次に、バイオセンサーを、 $pH 1.7$ の $10 mM$ のグリシンで再生し、5 分間にわたって同じセンサーにおいて同じ TREM-1 抗体を再充填し、同じ方法を用いて、カニクイザル TREM-1-His タンパク質の結合及び解離を測定した。データを、 $0 nM$ の分析物参照センサーを用いて参照した。動態解析を、Genedata Screener ソフトウェアにおいて質量移動と共に $1:1$ の Langmuir モデルを用いて行った。設計目標を満たし、ヒト及びカニクイザル TREM-1 の間で 10 倍未満の親和性の相違を示した TREM-1 抗体を同定し、それらの結合親和性が表 8 に示される。

10

20

30

40

50

【0333】

【表 8】

表 8: 10 倍未満のヒト及びカニクイザル TREM-1 親和性ギャップを有する TREM1 抗体

抗体 ID	ヒト TREM1 についての 結合親和性			カニクイザル TREM1 についての 結合親和性		
	K_D (M)	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (M)	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})
3E12	5.70E-10	4.62E+05	2.63E-04	1.80E-09	4.89E+05	8.82E-04
34D1	8.81E-10	2.33E+05	2.05E-04	4.97E-09	2.58E+05	1.28E-03
30H2	8.98E-10	3.26E+05	2.93E-04	5.70E-09	2.14E+05	1.22E-03
44A5	4.04E-10	4.51E+05	1.82E-04	2.02E-09	7.51E+05	1.52E-03
46H7	4.57E-10	7.37E+05	3.36E-04	9.93E-10	1.14E+06	1.13E-03
49A2	7.67E-10	3.73E+05	2.86E-04	1.87E-09	7.73E+05	1.44E-03
50A12	4.85E-09	5.19E+05	2.52E-03	6.42E-09	6.87E+05	4.41E-03
57C10	8.24E-10	3.04E+05	2.51E-04	1.28E-09	1.87E+05	2.40E-04
57F5	<2.81E-10*	6.27E+05	<1.76E-4*	<2.9E-10*	6.07E+05	<1.76E-4*
61B12	<5.57E-10*	3.16E+05	<1.76E-4*	1.27E-09	3.91E+05	4.95E-04
61G5	<2.85E-10*	6.18E+05	<1.76E-4*	1.31E-09	3.64E+05	4.76E-04
63F8	<2.20E-10*	7.99E+05	<1.76E-4*	8.56E-10	7.52E+05	6.44E-04
64D7	<2.50E-10*	7.05E+05	<1.76E-4*	6.80E-10	5.19E+05	3.53E-04
66B8	7.98E-09	1.71E+05	1.36E-03	1.64E-09	1.54E+05	2.53E-04

* <の記号は、10%未満の TREM1 が、割り当てられた 10 分の解離時間中に解離したことを示し、これは、 k_d が $<1.76E-4 s^{-1}$ であることを示す。< K_D (M) は、 $k_d < 1.76E-4 s^{-1}$ に基づいて計算される。

【0334】

抗体を、ヒト又はカニクイザル TREM-1 への結合、TREM2 への結合の欠如及び TREM-1 への PGLYRP1 の結合をブロックするそれらの能力に基づいて選択した。14 の抗体を、表 9 に記載されるように、さらなる試験のために選択した。

【0335】

10

20

30

40

50

【表 9】

表 9: 抗 TREM-1 抗体クローン

ID	Vh	Vlight	HCDR3	ヒト KD	カニクイザル KD
66B8	VH1 1-02/D6 6-6 RF1/JH5	VK1 L5/JK5	AGYSTSWKDWFDP (配列番号 38)	7.98E-09	1.64E-09
44A5	VH3 3-23/D6 6-6 RF1/JH4	VK3 L2/JK4	AYYSNYLFDY (配列番号 238)	4.04E-10	2.02E-09
46H7		VK3 L2/JK1	EFSSNSLFDY (配列番号 218)	4.57E-10	9.93E-10
57F5	VH3 3-23/D1 1-26 RF3/JH1	VK1 O12/JK4	EGGSNRYFHH (配列番号 138)	<2.81E-10	<2.9E-10
30H2		VK3 L2/JK1	VAGSNFFFDH (配列番号 258)	8.98E-10	5.70E-09
3E12	VH1 1-02/D1 1-1 RF1/JH4	VL3 3r/JL2	DQRKTTVTPFEY (配列番号 298)	5.70E-10	1.80E-09
61B12	VH1 1-08/D6 6-6 RF1/JH3	VK1 O18/JK4	GGISSSWHWAFDI (配列番号 118)	<5.57E-10	1.27E-09
63F8	VH1 1-08/D6 6-13 RF1/JH4	VK1 O18/JK4	GGRTSIWSFVFDY (配列番号 78)	<2.20E-10	8.56E-10
57C10	VH1 1-08/D6 6-13 RF1/JH2	VK1 O18/JK4	GGYTSARWYFDL (配列番号 158)	8.24E-10	1.28E-09
34D1	VH1 1-08/D3 3-22 RF2/JH2	VK1 O18/JK5	GGYTSSWRWYFDL (配列番号 278)	8.81E-10	4.97E-09
49A2	VH3 3-07/D1 1-1 RF1/JH1	VK3 L2/JK4	GGWRFES (配列番号 198)	7.67E-10	1.87E-09
61G5	VH1 1-08/D7 7-27 RF1/JH1	VK1 O18/JK5	LIGYSSAWKWSFQH (配列番号 98)	<2.85E-10	1.31E-09
64D7	VH1 1-08/D6 6-19 RF2/JH2	VK1 O18/JK4	RRAVYRSSWEYFDL (配列番号 58)	<2.50E-10	6.80E-10
50A12	VH3 3-07/D4 4-17 RF2/JH4	VK1 L5/JK1	DYGDSFDY (配列番号 178)	4.85E-09	6.42E-09

10

20

30

【 0 3 3 6 】

実施例 3 - 抗 TREM - 1 抗体の再フォーマット

Xenomouse (登録商標) キャンペーンからのリード抗 TREM - 1 抗体を、軽鎖の VL ドメインを CK ドメインに、軽鎖の VL ドメインを CL ドメインに、且つ VH ドメインを CH1 - CH2 - CH3 (221 ~ 447) 配列に融合することにより、IgG1z サブタイプの抗体フォーマットに変換した。この抗体アイソタイプの CH2 ドメインは、N297G 突然変異を組み込むことによって低下されたエフェクター機能のために及び操作ジスルフィド結合 (R292C、V302C) によって改善された熱安定性のために操作されており; この抗体アイソタイプは、IgG1z SEFL2 と示される。リード抗 TREM - 1 抗体は、「ホットスポット」又は分子の発現、精製、熱安定性、コロイド安定性、長期の貯蔵安定性、インビボ薬物動態及び/又は免疫原性に悪影響を与えることが計算的に予測されたか若しくは経験的に決定された残基を除去するようにさらに操作された。これらのホットスポットにおける様々なアミノ酸突然変異を、保存、共変動、化学的類似性、構造モデリングからの予測及び他の抗体操作キャンペーンからの予備知識に基づいて設計した。単一の突然変異及び突然変異の組合せの両方を含む、合理的に設計された操作抗体の小さいパネルを設計した。

40

50

【 0 3 3 7 】

ホットスポット操作された変異体の合理的に設計されたパネルのための組み換え発現構築物を、1) 抗体可変ドメインを含む合成DNAフラグメント、2) 必要な定常ドメイン(すなわちCK又はCL、CH1-CH2-CH3(118~447)を含む予めクローニングされた「部分ベクター」(R292C、N297G、V302C))、及び3) 哺乳動物発現ベクター骨格を組み立てるためにGolden Gateクローニングを用いて生成した。重鎖(HC)を、ピューロマイシン選択カセットによりベクター骨格へと組み立て、軽鎖(LC)を、ハイグロマイシン選択カセットによりベクター骨格へと組み立てた。HC及びLC発現ベクターを、Lipofectamine LTX(Gibco)を用いてCHO-K1細胞内で、1:1の比率で共トランスフェクトし、安定したプールを、細胞生存が>90%になるまで(Vi-CELL BLU、Beckman Coulter)、10ug/mLのピューロマイシン及び500ug/mLのハイグロマイシンの存在下で2~3日ごとに継代することによって生成した。安定したプールを、培養物のmL当たり2e6生存細胞で産生培地に播種し、6日間にわたって5%のCO₂で、36でインキュベートした。細胞上清を、遠心分離によって採取し、抗体を、AmMag(商標)プロテインA電磁ビーズ(GenScript)又はMAGセファロース(商標)Prisma(Cytiva)を用いて、磁性ビーズアフィニティークロマトグラフィーによって精製した。各変異体の同一性を、インタクト質量分析法によって確認した。各変異体について、馴化培地における発現力価を、プロテインAセンサーを用いてForteBio OCTET(登録商標)(Pall Life Sciences)によって測定した。プロテインAアフィニティークロマトグラフィー後に存在する高分子量(%HMW)材料のパーセントを、分析的サイズ排除クロマトグラフィーによって測定し、%標的タンパク質純度を、LabChip GXII(Perkin Elmer)を用いて、非還元性マイクロキャピラリー電気泳動(MCENR)によって測定した。このプロセスによって調製された変異体についてのデータが表10に示される。

10

20

【 0 3 3 8 】

【表10】

表 10: 合理的に設計されたホットスポット操作 TREM1 抗体のパネル

抗体 ID	重鎖 配列番号	軽鎖 配列番号	% HMW 材料	%目標 純度
TREM1_30H2.001_huIgGz SEFL2	1883	2543	1	100
TREM1_34D1.001_huIgGz SEFL2	1885	2544	3	99
TREM1_3E12.001_huIgGz SEFL2	1887	2545	4	95
TREM1_44A5.001_huIgGz SEFL2	1889	2546	1	100

30

40

【 0 3 3 9 】

50

【表 1 1】

抗体 ID	重鎖 配列番号	軽鎖 配列番号	% HMW 材料	%目標 純度
TREM1_46H7_huIgGz SEFL2	1891	2547	4	98
TREM1_49A2.001_huIgGz SEFL2	1893	2548	3	97
TREM1_50A12_huIgGz SEFL2	1895	2549	2	99
TREM1_57C10.001_huIgGz SEFL2	1897	2550	1	99
TREM1_57F5.001_huIgGz SEFL2	1899	2551	1	100
TREM1_61B12.001_huIgGz SEFL2	1901	2552	2	99
TREM1_61G5.001_huIgGz SEFL2	1903	2553	1	100
TREM1_63F8.001_huIgGz SEFL2	1905	2554	1	99
TREM1_64D7.001_huIgGz SEFL2	1907	2555	0	99
TREM1_66B8_huIgGz SEFL2	1909	2556	1	99
TREM1_34D1.001_huIgGz SEFL2	1911	2557	3	99
TREM1_44A5.001_huIgGz SEFL2	1913	2558	3	98
TREM1_50A12_huIgGz SEFL2	1915	2559	0	98
TREM1_57C10.001_huIgGz SEFL2	1917	2560	ND	ND
TREM1_61G5.001_huIgGz SEFL2	1919	2561	9	97
TREM1_64D7.001_huIgGz SEFL2	1921	2562	0	100
TREM1_66B8_huIgGz SEFL2	1923	2563	ND	ND
TREM1_57C10(VH:N83D_N87S, VL:S77R_C83S_F105Y_E148K)	1925	2564	ND	ND
TREM1_57C10(VH:N83D, VL:S77R_C83S_F105Y_E148K)	1927	2565	ND	ND
TREM1_66B8(VH:S81T_W115Y, VL:F7S)	1929	2566	2	99
TREM1_66B8(VH:S81T_W115H, VL:F7S)	1931	2567	0	93

10

20

30

40

【 0 3 4 0 】

50

【表 1 2】

抗体 ID	重鎖 配列番号	軽鎖 配列番号	% HMW 材料	%目標 純度
TREM1_66B8(VH:S81T_W115F, VL:F7S)	1933	2568	1	97
TREM1_66B8(VH:S81T, VL:F7S_Q48P)	1935	2569	ND	ND
TREM1_66B8(VH:S81T, VL:F7S)	1937	2570	ND	ND
TREM1_19337(VH:N83D, VL:E15V_Y89F)	1939	2571	1	100
TREM1_19337(VH:N83D, VL:E15V_E46Q)	1941	2572	1	98
TREM1_19337(VH:N83D, VL:E15V)	1943	2573	1	99
TREM1_61G5(VH:N83D_W116Y, VL:Q55L_I101F)	1945	2574	1	97
TREM1_61G5(VH:N83D_W116Y, VL:Q55L)	1947	2575	2	98
TREM1_61G5(VH:N83D_W116F, VL:Q55L_I101F)	1949	2576	2	97
TREM1_61G5(VH:N83D_W116F, VL:Q55L)	1951	2577	ND	ND
TREM1_61G5(VH:N83D_I86T_W116Y, VL:Q55L_I101F)	1953	2578	1	98
TREM1_61G5(VH:N83D_I86T, VL:Q55L_I101F)	1955	2579	1	100
TREM1_61G5(VH:N83D, VL:Q55L_I101F)	1957	2580	2	99
TREM1_61G5(VH:N83D, VL:Q55L)	1959	2581	2	99
TREM1_50A12(VH:F90Y_S135V),	1961	2582	0	98
TREM1_50A12(VH:F90Y_S135A),	1963	2583	0	84
TREM1_50A12(VH:F90Y_D112E),	1965	2584	0	99
TREM1_24B1(VH:T48P_N83D, VL:N20T_N53K_A88D_I101F)	1967	2585	0	97

10

20

30

40

【 0 3 4 1 】

50

【表 1 3】

抗体 ID	重鎖 配列番号	軽鎖 配列番号	% HMW 材料	%目標 純度
TREM1_24B1(VH:S68A_N83D, VL:N20T)	1969	2586	0	99
TREM1_24B1(VH:S65A_S68A_N83D, VL:N20T_N53K_A88D_I101F)	1971	2587	1	97
TREM1_24B1(VH:S65A_N83D, VL:N20T)	1973	2588	0	100
TREM1_24B1(VH:N83D_W134Y, VL:N20T_N53K_A88D_I101F)	1975	2589	0	99
TREM1_24B1(VH:N83D_W134H, VL:N20T_N53K_A88D_I101F)	1977	2590	1	98
TREM1_24B1(VH:N83D_W134F, VL:N20T_N53K_A88D_I101F)	1979	2591	0	97
TREM1_24B1(VH:N83D, VL:N20T_N53K_A88D_F91L_I101F)	1981	2592	0	97
TREM1_24B1(VH:N67Q_N83D, VL:N20T)	1983	2593	0	93
TREM1_24B1(VH:N61Q_N83D, VL:N20T)	1985	2594	0	98
TREM1_24B1(VH:N61Q_N67Q_N83D, VL:N20T_N53K_A88D_I101F)	1987	2595	1	98
TREM1_3E12(VH:W77R_T97R, VL:N40Q_C42S_L46Q_I53V_I90T)	1989	2596	ND	ND
TREM1_3E12(VH:W77R_T97R, VL:N40Q_C42S_I53V_I90T)	1991	2597	ND	ND
TREM1_3E12(VH:W77R_T97R, VL:C42G_L46Q_I53V_I90T)	1993	2598	ND	ND
TREM1_3E12(VH:W77R_T97R, VL:C42A_L46Q_I53V_I90T)	1995	2599	ND	ND

10

20

30

40

【 0 3 4 2 】

50

【表 1 4】

抗体 ID	重鎖 配列番号	軽鎖 配列番号	% HMW 材料	%目標 純度
TREM1_3E12(VH:W77R, VL:N40Q_C42S_I53V_I90T)	1997	2600	ND	ND
TREM1_44A5(VLI10T_V74I_G81S_S98P_ C109F_D146E_L147I)	1999	2601	4	99
TREM1_44A5(VLI10T_V74I_G81S_C108 F_W111Y_D146E_L147I)	2001	2602	3	99
TREM1_44A5(VLI10T_V74I_G81S_C108 F_W111F_D146E_L147I)	2003	2603	2	99
TREM1_44A5(VLI10T_V74I_G81S_C108 F_W111H_D146E_L147I)	2005	2604	3	99
TREM1_44A5(VLI10T_V74I_G81S_S98P_ C108F_W111Y_D146E_L147I)	2007	2605	5	98

10

20

【0343】

XENOMOUSE（登録商標）キャンペーンからの3つの抗TREM-1リード抗体（30H2（19330）、49A2（19333）及び46H7（19332））のサブセットも、TREM-1への保持された結合を有する改善された製造可能性のために酵母ディスプレイによって操作した。各抗体について、全ての6つのCDRにおける残基のあらゆる可能な隣接対は、縮重NNKコドンの使用によって全ての可能なアミノ酸へと同時に突然変異されたライブラリーを生成した。ライブラリーは、BJ5464の酵母誘導体の表面に提示され、ここで、Fdドメインが -凝集素のN末端に融合され、LCが酵母表面に融合されなかった。ディスプレイの効率を、ALEXA FLUOR（登録商標）647コンジュゲート抗Fab抗体の結合によって測定した。ライブラリーを、二次蛍光としてストレプトアビジンPEを用いて、ビオチンコンジュゲート組み換えTREM-1ECDへの高い結合について蛍光活性化細胞選別（FACS）を用いてソートした。ソートされた結合/ディスプレイ二重陽性プール及びディスプレイ陽性プール中に存在する可変ドメインを、フレームワーク1（FW1）及びHC及びLCのFW4ドメインに特異的なプライマーにより増幅し、2×300bpの実行のためにIllumina MiSeqにおいてNGS解析に供した。一般的な周波数解析によってデータを処理した後突然変異を選択し、ここで、陽性結合アミノ酸頻度の比率を、陽性ディスプレイアミノ酸頻度で除算し、次に、それを、親配列比に対して正規化する。濃縮値（enrichment value）が親配列以上であった配列は、有益である又は許容される多様性であると見なされ、親和性成熟後、さらなる合理的な抗体操作のために使用される。

30

40

【0344】

トップディスプレイ操作可変ドメインを、IgG1zSEFL2アイソタイプへと変換し、1)抗体可変ドメインを含む合成DNAフラグメント、2)必要な定常ドメイン（すなわちCK又はCL、CH1-CH2-CH3（118~447）を含む予めクローニ

50

ングされた「部分ベクター」(R292C、N297G、V302C))、及び3)哺乳動物発現ベクター骨格を組み立てるために、Golden Gateクローニングを用いてクローニングした。重鎖(HC)を、ピューロマイシン選択カセットによりベクター骨格へと組み立て、軽鎖(LC)を、ハイグロマイシン選択カセットによりベクター骨格へと組み立てた。HC及びLC発現ベクターを、Lipofectamine LTX(Gibco)を用いて、CHO-K1細胞内で、1:1の比率で共トランスフェクトし、安定したプールを、細胞生存が>90%になるまで(Vi-CELL BLU、Beckman Coulter)、10ug/mLのピューロマイシン及び500ug/mLのハイグロマイシンの存在下で2~3日ごとに継代することによって生成した。安定したプールを、培養物のmL当たり2e6生存細胞で産生培地に播種し、6日間にわたって5%のCO₂で、36でインキュベートした。抗体を、AMMAG(商標)プロテインA電磁ビーズ(GenScript)を用いて、磁性ビーズアフィニティークロマトグラフィーによって精製した。各分子の同一性を、インタクト質量分析法によって確認した。プロテインAアフィニティークロマトグラフィー後に存在する高分子量(%HMW)材料のパーセントを、分析的サイズ排除クロマトグラフィーによって測定し、%標的タンパク質純度を、LabChip GXII(Perkin Elmer)を用いて、非還元性マイクロキャピラリー電気泳動(MCENR)によって測定した。酵母ディスプレイホットスポット操作によって調製された変異体についてのデータが表11に示される。

10

【0345】

【表15】

20

表 11: 酵母ディスプレイホットスポット操作変異体 TREM1 抗体

抗体 ID	HC 配列 番号	LC 配列 番号	% HMW	% 目標 純度
TREM1_30H2(VH:E17G_T24A,VL:S39A_L141Q_Q144K)	2011	2233	21	99
TREM1_30H2(VH:E17G_T24A,VL:S39I_L141Q_Q144K)	2013	2235	22	85
TREM1_30H2(VH:E17G_T24A,VL:S39H_L141Q_Q144K)	2015	2237	21	99
TREM1_30H2(VH:E17G_T24A,VL:S39V_L141Q_Q144K)	2017	2239	20	87
TREM1_30H2(VH:E17G_T24A,VL:M11II_L141Q_Q144K)	2019	2241	38	99

30

【0346】

40

50

【表 1 6】

TREM1_30H2(VH:E17G_T24A,VL:M111L_L141Q_Q144K)	2021	2243	29	99
TREM1_30H2(VH:E17G_T24A,VL:W111F_L141Q_Q144K)	2026	2245	15	99
TREM1_30H2(VH:E17G_T24A,VL:W137Y_L141Q_Q144K)	2025	2247	17	99
TREM1_30H2(VH:E17G_T24A,VL:W137H_L141Q_Q144K)	2027	2249	17	99
TREM1_30H2(VH:E17G_T24A,VL:W137N_L141Q_Q144K)	2029	2251	17	99
TREM1_30H2(VH:V4L_E17G_T24A_A99E,VL:L141Q_Q144K)	2031	2253	3	99
TREM1_30H2(VH:V4L_E17G_T24A_A99E,VL:S39A_M111L_L141Q_Q144K)	2033	2255	15	95
TREM1_30H2(VH:V4L_E17G_T24A_A99E,VL:S39A_M111L_W137H_L141Q_Q144K)	2035	2257	3	98
TREM1_30H2(VH:V4L_E17G_T24A_A99E,VL:S39A_M111L_W137N_L141Q_Q144K)	2037	2259	3	97
TREM1_30H2(VH:V4L_E17G_T24A_A99E,VL:S39A_M110L_W111F_L141Q_Q144K)	2039	2261	3	97
TREM1_30H2(VH:V4L_E17G_T24A_A99E,VL:S39A_M110L_W111F_W137N_L141Q_Q144K)	2041	2263	2	96
TREM1_30H2(VH:V4L_E17G_T24A_A99E,VL:S39A_M110L_W111F_W137H_L141Q_Q144K)	2043	2265	3	98
TREM1_30H2(VH:V4L_E17G_T24A_A99E,VL:S39H_M111L_L141Q_Q144K)	2045	2267	12	99
TREM1_30H2(VH:V4L_E17G_T24A_A99E,VL:S39H_M111L_W137N_L141Q_Q144K)	2047	2269	3	98
TREM1_30H2(VH:V4L_E17G_T24A_A99E,VL:S39H_M111L_W137H_L141Q_Q144K)	2049	2271	2	98
TREM1_30H2(VH:V4L_E17G_T24A_A99E,VL:S39H_M110L_W111F_L141Q_Q144K)	2051	2273	3	98

10

20

30

40

【 0 3 4 7 】

50

【表 1 7】

TREM1_30H2(VH:V4L_E17G_T24A_A99E,VL:S39H_M110L_W111F_W137N_L141Q_Q144K)	2053	2275	3	98
TREM1_30H2(VH:V4L_E17G_T24A_A99E,VL:S39H_M110L_W111F_W137H_L141Q_Q144K)	2055	2277	4	98
TREM1_46H7(VL:R50Q)	2057	2279	4	99
TREM1_46H7(VL:S39A_R50Q)	2059	2281	4	99
TREM1_46H7(VL:S39I_R50Q)	2061	2283	4	98
TREM1_46H7(VL:S39H_R50Q)	2063	2285	3	99
TREM1_46H7(VL:S39V_R50Q)	2065	2287	4	99
TREM1_46H7(VL:R50Q_W111F)	2067	2289	4	99
TREM1_46H7(VL:R50Q_W137Y)	2069	2291	4	99
TREM1_46H7(VL:R50Q_W137H)	2071	2293	5	99
TREM1_46H7(VL:R50Q_W137N)	2073	2295	9	99
TREM1_46H7(VH:M12L,VL:R50Q)	2075	2297	4	99
TREM1_46H7(VH:M12L,VL:S39A_R50Q)	2077	2299	3	99
TREM1_46H7(VH:M12L,VL:S39A_R50Q_W111F)	2079	2301	4	99
TREM1_46H7(VH:M12L,VL:S39A_R50Q_W137Y)	2081	2303	0	0
TREM1_46H7(VH:M12L,VL:S39A_R50Q_W137H)	2083	2305	4	99
TREM1_46H7(VH:M12L,VL:S39A_R50Q_W111F_W137Y)	2085	2307	4	99
TREM1_46H7(VH:M12L,VL:S39A_R50Q_W111F_W137H)	2087	2309	4	99
TREM1_46H7(VH:M12L,VL:S39H_R50Q)	2089	2311	3	99
TREM1_46H7(VH:M12L,VL:S39H_R50Q_W111F)	2091	2313	3	99
TREM1_46H7(VH:M12L,VL:S39H_R50Q_W137N)	2093	2315	9	99
TREM1_46H7(VH:M12L,VL:S39H_R50Q_W137Y)	2095	2317	3	99

10

20

30

40

【 0 3 4 8 】

50

【表 1 8】

TREM1_46H7(VH:M12L,VL:S39H_R50Q_W111F_W137N)	2097	2319	6	99
TREM1_46H7(VH:M12L,VL:S39H_R50Q_W111F_W137Y)	2099	2321	3	99
TREM1_49A2(VH:M55V_A143T,VL:V78F_L139F)	2101	2323	16	99
TREM1_49A2(VH:M55V_A143T,VL:S48P_V78F_L139F)	2103	2325	16	99
TREM1_49A2(VH:M55V_A143T,VL:V78F_F91L_L139F)	2105	2327	14	99
TREM1_49A2(VH:M55V_M58I_A143T,VL:V78F_L139F)	2107	2329	21	98
TREM1_49A2(VH:M55V_A143T,VL:V78F_W135F_L139F)	2109	2331	21	99
TREM1_49A2(VH:M55V_D61H_A143T,VL:V78F_L139F)	2111	2333	4	99
TREM1_49A2(VH:M55V_G65A_A143T,VL:V78F_L139F)	2113	2335	10	99
TREM1_49A2(VH:M55V_G65L_A143T,VL:V78F_L139F)	2115	2337	6	99
TREM1_49A2(VH:M55V_D72E_A143T,VL:V78F_L139F)	2117	2339	15	99
TREM1_49A2(VH:M55V_M58I_G65A_S73A_A143T,VL:V78F_F91L_W135F_L139F)	2119	2341	16	99
TREM1_49A2(VH:M55V_S73A_A143T,VL:V78F_L139F)	2121	2343	22	98
TREM1_49A2(VH:M55V_M58I_G65A_S73A_A143T,VL:S48P_V78F_F91L_L139F)	2123	2345	16	99
TREM1_49A2(VH:M55V_M58I_G65A_S73A_A143T,VL:V78F_F91L_L139F)	2125	2347	22	99
TREM1_49A2(VH:M55V_M58I_G65A_D72E_A143T,VL:S48P_V78F_F91L_L139F)	2127	2349	15	99
TREM1_49A2(VH:M55V_M58I_G65A_D72E_A143T,VL:V78F_F91L_L139F)	2129	2351	16	99
TREM1_49A2(VH:M55V_M58I_G65A_D72E_A143T,VL:S48P_V78F_F91L_W135F_L139F)	2131	2353	21	99
TREM1_49A2(VH:M55V_M58I_G65A_D72E_A143T,VL:V78F_F91L_W135F_L139F)	2133	2355	21	98
TREM1_49A2(VL:L139F)	2135	2357	12	98

10

20

30

40

【 0 3 4 9 】

TREM-1/DAP12を発現するHEK293細胞内の2価及び1価抗TREM-1 mAbの比較を、p-Syk ALPHALISA (登録商標) (Perkin-Elmer)を用いて、細胞内のSykキナーゼのリン酸化レベルの分析によって行った。簡潔に述べると、ヒトTREM1及びDAP12を安定して発現するHEK293細胞を、37 / 5%のCO₂で10%の透析されたFBS (Gibco)、2 mMのGlutamax (Gibco)、2 mMのL-グルタミン (Sigma)、1%のペニシリン/ストレプトマイシン (Gibco) 及び0.1 mg/mLのゼオシン (zeocin) (Gibco) が補充されたDMEM/F12 Ham培地 (Corning) 中で培養し

50

た。実験の1日前に、細胞を、トリプシン - E D T Aを用いて剥離させ、5分間にわたって400 × gで遠心分離した。細胞ペレットを、5分間にわたる400 × gでの2回目の遠心分離前に完全培地中で再度懸濁させた。遠心分離後、細胞を、1 × 10⁶個の細胞/mLの濃度で、完全培地中で再度懸濁させ、100 μL / ウェル又は50,000個の細胞 / ウェルの最終体積でCELL BIND (登録商標) 96ウェル透明平底ポリスチレンプレート (Corning) に播種した。播種されたプレートを、18 ~ 24時間にわたって一晩、37 / 5%のCO₂でインキュベートした。実験の当日に、70 μLの培地を、各ウェルから取り出した。TREM1抗体を、アッセイ培地 (10%の熱不活性化FBSが補充されたDMEM / F12HAM培地) 中の4倍連続希釈で、最高最終濃度の3倍に希釈した。架橋試薬プロテインG (Sigma) を、アッセイ培地を用いて最終濃度の3倍で調製した。滴定されたTREM1抗体を、プロテインG又はアッセイ培地のいずれかと1対1で混合し、60 μLの各TREM1抗体 + / - 架橋試薬を、細胞を含む各ウェルに加えた。これらのプレートを、室温で1時間インキュベートしてから、全ての培地をウェルから除去し、次に、細胞を、25 μL / ウェルの溶解緩衝液 (M - Per哺乳動物タンパク質抽出試薬及び1 × Haltプロテアーゼ / ホスファターゼ阻害剤) を用いて溶解させた。細胞を、1時間にわたって氷上で溶解緩衝液と共にインキュベートしてから、5 μLの細胞溶解物を、1 × AlphaLISA (登録商標) Immunoassay Buffer (PerkinElmer) 中のAlphaLISA (登録商標) アクセプターカクテル (1 nMの抗pSyk、ウサギIgG (抗ホスホSyk (Tyr525 / 526) (クローンC87C1)) (Cell Signaling Technology)、1 nMのビオチン - 抗Syk、マウスIgG (クローン4D10) (BD Biosciences)、10 μg / mLの抗ウサギ - IgG AlphaLISA (登録商標) アクセプタービーズ (PerkinElmer) 及び1 × Halt阻害剤を含む384ウェル白色プレート (PerkinElmer) の各ウェルに移した。プレートを、2時間にわたって氷上でさらにインキュベートしてから、5 μLのAlphaLISA (登録商標) ドナーカクテル (1 × 免疫測定緩衝液中のストレプトアビジン - ドナービーズ (PerkinElmer)) を、40 μg / mLの最終濃度で加え、1時間にわたって暗所で、室温でインキュベートした。インキュベーション後、ホスホ - Syk (pSyk) シグナルを、ENVISION (登録商標) プレートリーダー (PerkinElmer) を用いて、FRET (蛍光共鳴エネルギー移動) によって検出した。結果を、サンプルpSykシグナル / 基底pSykシグナルの比率によって計算し、ここで、効力及び最大シグナルは、各抗体の変化の間で比較される。2価抗TREM - 1 mAb処理単独は、TREM - 1 / DAP12発現細胞内で弱いシグナルを誘導する。1価抗TREM - 1 mAbでは、pSykシグナルは観察されず、プロテインGによる架橋2価及び1価抗TREM - 1 mAbは、pSyk誘導をもたらす。

【0350】

抗体配列のクラディング及びアライメント：インプット抗体配列のVH及びVLDメインを抽出し、Honegger and Pluckthun (J Mol Biol . 309 (3) : 657 - 70, 2001) に基づいて構造に基づくIgG番号付けシステムにアラインした。距離行列を、非補正モデルを用いて複合複数配列アライメントから生成し、ここで、2つの配列間の距離は、VH及びVLDメインの両方における mismatchesの割合である。最後に、距離行列を用いて、UPGMA (算術平均を用いた非加重結合法) 方法によってツリーを構築し (Sokal and Michener, University of Kansas Science Bulletin . 38 : 1409 - 1438, 1958)、関連する配列を、0.2のブランチ走査制限 (branch traversal limit) に基づいてグループ分けした。アライメントを、アミノ酸の化学的類似性に基づいて手作業で精密化して、表12に示される配列をもたらす各クラッド群についてのコンセンサスCDR配列を生成した。

【0351】

【表 1 9】

表 12: TREM-1 抗原結合タンパク質のコンセンサス配列

アライメント 群	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HCDR1	HCDR2	HCDR3
群 I	X ₁ ASQSX ₂ X ₃ X ₄ NLA (配列番号 2199)	GAX ₁ X ₂ RA _T (配列番号 2200),	QX ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ PX ₇ T (配列番号 2201)	X ₁ X ₂ X ₃ MX ₄ (配列番号 2202)	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ YYX ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ VKKG (配列番号 2205)	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ YYX ₁₀ (配列番号 2203)
	RASQSVNS NLA (配列番号 2212) QASQDIHL N (配列番号 2215)	GASTRAT (配列番号 2219);	QQFKNWPP T (配列番号 2222);	AYAMS (配列番号 2227)	TSGSGSTT YYADSVK G (配列番号 2230)	VAGSNFLF DY (配列番号 2670).
群 II	RASQGIRK WLA (配列番号 2216)	AASRLQS (配列番号 2221)	LQAHGFP WT (配列番号 2224); QFWPPWT (配列番号 2226)	SYWMS (配列番号 2229)	NIKQDGSE EYYVDSVK G (配列番号 2232); TSGSGTYY ADSVKG (配列番号 2669)	DYGDSFDY (配列番号 2673)

10

20

30

【 0 3 5 2】

40

50

【表 2 0】

群 III	QASX ₁ DIX ₂ X ₃ X ₄ LN (配 列番号 2204)	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ L ET (配列番 号 2206)	QX ₁ YX ₃ X ₄ X ₅ PX ₆ T (配列 番号 2207)	X ₁ YDIN (配 列番号 2208)	X ₁ X ₂ NPX ₃ X ₄ GX ₅ X ₆ GX ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ FX ₁₁ X ₁ ₂ (配列番号 2209)	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ FX ₁₃ X ₁₄ (配 列番号 2210)
	QASQDIRK HLN (配列 番号 2213);	DASNLET (配列番号 2220);	QHYDNLPI T (配列番号 2223); QQYDNLPL T (配列番号 2225)	RYDIN (配 列番号 2228)	WMNPNSG NSSVQKFR G (配列番号 2231)	GGYTSSWR WYFDL (配 列番号 2671); GGYTSSWS RWYFDL (配列番号 2672)

10

20

【 0 3 5 3】

実施例 4 - I L - 1 0 突然変異タンパク質抗原結合タンパク質の生成

2 価及び 1 価抗 T R E M - 1 m A b / I L - 1 0 突然変異タンパク質治療的融合の生成及び選択、融合の P K / P D 並びにマウス 2 価及び 1 価抗 T R E M - 1 m A b / I L - 1 0 突然変異タンパク質による大腸炎モデルに対する効果が評価される。

【 0 3 5 4】

I L - 1 0 野生型、I L - 1 0 M 1 又は I L - 1 0 突然変異タンパク質を、抗 T R E M - 1 抗体 F c ドメインの C 末端に融合した。ほぼ全ての融合では、最終的な K 残基が抗体の F c 領域から除去される(「d e s K」と呼ばれる)。一例において、抗 T R E M - 1 抗体と I L - 1 0 変異体との間のリンカーは、G G G G S (G 4 S) (配列番号 2 7 2 5) であり、内部 I L - 1 0 リンカーは、G G G S G G (配列番号 2 6 7 6) (G 3 S G 2) である。

30

【 0 3 5 5】

抗 T R E M - 1 A b フラグメントとの I L - 1 0 突然変異タンパク質の対称融合の調製：抗体 - サイトカイン融合を、I L - 1 0 M 1 又は I L - 1 0 M 1 の操作変異体を、最終的な L y s 残基 (K 4 4 7 -) を除去し、抗体とサイトカインとの間の配列 G 4 S (配列番号 2 7 2 5) を有する 5 アミノ酸リンカーを付加した後、抗 T R E M - 1 I g G 1 z S E F L 2 抗体の重鎖の C 末端に融合することによって構築した。抗体 - サイトカイン組み換え発現構築物を、1) 抗体可変ドメインを含む合成 D N A フラグメント、2) リンカープラス設計されたサイトカインを含む合成 D N A フラグメント、3) 必要な定常ドメイン (すなわち C K 又は C L 及び C H 1 - C H 2 - C H 3 (1 1 8 ~ 4 4 6) を含む予めクローニングされた「部分ベクター」(R 2 9 2 C、N 2 9 7 G、V 3 0 2 C)、及び 4) 哺乳動物発現ベクター骨格を組み立てるために G o l d e n G a t e クローニングを用いて生成した。融合された重鎖 (H C) を、ピューロマイシン選択カセットによりベクター骨格へと組み立て、軽鎖 (L C) を、ハイグロマイシン選択カセットによりベクター骨格へと組み立てた。融合された H C 及び L C 発現ベクターを、L I P O F E C T A

40

50

MINE (登録商標) LTX (Gibco) を用いて、CHO-K1 細胞内で、1:1 の比率で共トランスフェクトし、安定したプールを、細胞生存が > 90% になるまで (Vireo-CELL BLU、Beckman Coulter)、10 µg/mL のピューロマイシン及び 500 µg/mL のハイグロマイシンの存在下で 2~3 日ごとに継代することによって生成した。安定したプールを、培養物の mL 当たり 2e6 生存細胞で産生培地に播種し、6 日間にわたって 5% の CO₂ で、36 でインキュベートした。細胞上清を、遠心分離によって採取し、抗体を、自動化された、3 カラム、タンデムクロマトグラフィープロセスを用いて精製した。

【0356】

抗 TREM-1 Ab フラグメントとの IL-10 突然変異タンパク質の非対称融合の調製：非対称 Fab-HeteroFc-サイトカイン融合 (aka 「1 価」抗体-サイトカイン融合) を、IL-10M1 又は IL-10M1 の操作変異体を、抗体重鎖の C 末端及び huFc (221~446) ドメインの C 末端の両方に融合することによって作製し、これらは両方とも、各鎖の CH3 ドメインに導入された逆帯電した突然変異 (「電荷対突然変異」) によって駆動される静電的ステアリング (electrostatic steering) によって優先的にヘテロ二量体化するようにさらに操作された。したがって、Fab-HeteroFc-サイトカイン融合は、1) 抗体 LC、2) 電荷対突然変異 E356K 及び D399K を有するようにさらに操作され、IL-10M1 又は IL-10M1 の変異体が、最終的な Lys 残基 (K447-) を除去し、抗体とサイトカインとの間に配列 Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (配列番号 2725) を有する 5 アミノ酸リンカーを付加した後、C 末端に融合された、IgG1z SEFL2 アイソタイプの抗体 HC、及び 3) 電荷対突然変異 K392D、K409D 及び K434D (以下の配列で下線を引かれている) を有するようにさらに操作され、IL-10M1 又は IL-10M1 の変異体が、最終的な Lys 残基 (K447-) を除去し、Fc とサイトカインとの間 (例えば IL-10 突然変異タンパク質、二重下線) に配列 Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (配列番号 2725) (下線なし、太字) を有する 5 アミノ酸リンカーを付加した後、C 末端に融合された、IgG1z SEFL2 アイソタイプの huFc (221~446) ドメインを含む 3 鎖タンパク質である：

【化 1】

DKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWEWSNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSVHHE
ALHNHYTQDSLSP**GGGGGS**SPGCGIQSENSCTHFPGNLPNMLRDLLDAFSRVKTFQMKDQLDNLK
ESLLEDFKGYLGCAALSEMIQFYLEEVMQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRLRRCHRFLPCENGGG
SGGKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKAMSEFDIFINYLEAYMTMKIRN

【0357】

細胞上清を、遠心分離によって採取し、抗体融合を、自動化された、3 カラム、タンデムクロマトグラフィープロセスを用いて精製した。抗体融合を、親和性捕捉し、直ぐに、緩衝液を、SEPHADEX (登録商標) G25 樹脂 (Cytiva) を用いたゲルろ過によって交換し、SUPERDEX (登録商標) 200 Increase 樹脂 (Cytiva) を用いたサイズ排除によってさらに精製した。各変異体の同一性を、インタクト質量分析法によって確認した。各変異体について、馴化培地における発現力価を、プロテイン A センサーを用いて ForteBio OCTET (登録商標) (Pall Life Sciences) によって測定した。サイズ排除クロマトグラフィ (SEC) 後に存在する高い分子量 (%HMW) 材料のパーセントを、分析的 SEC によって測定し、% 標的タンパク質純度を、LABCHIP (登録商標) GXII (Perkin Elmer

er)を用いて非還元性マイクロキャピラリー電気泳動によって測定した。凝集傾向及びモノマー安定性を、1及び2週間にわたって40 でサンプルにストレスをかけることによって評価した。次に、ストレス下及びT₀サンプルを、分析的SECによって分析して、ストレス後と比べた、T₀における凝集の増加(%HMW)及びモノマーの損失を定量した。選択された分子の結果が表13A及び13Bに示される。二重特異性機能活性を、LPS刺激されたPBMCにおけるTNF 産生の阻害によって測定した。

【0358】

【表21】

表 13A: TREM-1-IL-10 融合タンパク質の特性

クローン	%HMW	%目標 純度	重鎖 配列 番号	軽鎖 配列 番号
TREM1_30H2.001_G4S_huIL10[R27L]	73	45	863	864
TREM1_30H2.001_G4S_huIL10[K138L]	90	88	865	866
TREM1_30H2.001_G4S_huIL10[K138D]	64	48	867	868
TREM1_30H2.001_G4S_huIL10[D41G]	96	82	869	870
TREM1_30H2.001_G4S_huIL10[Q38R]	96	88	871	872
TREM1_30H2.001_G4S_huIL10[L46K]	97	91	873	874
TREM1_30H2.001_G4S_huIL10[K34D]	69	92	875	876
TREM1_30H2.001_G4S_huIL10[Q38E]	94	90	877	878
TREM1_44A5.001_G4S_huIL10[R27L]	70	59	879	880
TREM1_44A5.001_G4S_huIL10[K138L]	0	90	881	882

10

20

【0359】

30

40

50

【表 2 2】

クローン	%HMW	%目標 純度	重鎖 配列 番号	軽鎖 配列 番号
TREM1_44A5.001_G4S_huIL10[K138D]	69	63	883	884
TREM1_44A5.001_G4S_huIL10[D41G]	97	88	885	886
TREM1_44A5.001_G4S_huIL10[Q38R]	98	94	887	888
TREM1_44A5.001_G4S_huIL10[L46K]	98	92	889	890
TREM1_44A5.001_G4S_huIL10[K34D]	65	91	891	892
TREM1_44A5.001_G4S_huIL10[Q38E]	94	93	893	894
TREM1_46H7_G4S_huIL10[R27L]	71	49	895	896
TREM1_46H7_G4S_huIL10[K138L]	86	89	897	898
TREM1_46H7_G4S_huIL10[K138D]	74	50	899	900
TREM1_46H7_G4S_huIL10[D41G]	96	86	901	902
TREM1_46H7_G4S_huIL10[Q38R]	97	94	903	904
TREM1_46H7_G4S_huIL10[L46K]	97	91	905	906
TREM1_46H7_G4S_huIL10[K34D]	64	91	907	908
TREM1_46H7_G4S_huIL10[Q38E]	93	92	909	910
TREM1_49A2.001_G4S_huIL10[R27L]	82	50	911	912
TREM1_49A2.001_G4S_huIL10[K138L]	91	90	913	914
TREM1_49A2.001_G4S_huIL10[K138D]	73	42	915	916
TREM1_49A2.001_G4S_huIL10[D41G]			917	918
TREM1_49A2.001_G4S_huIL10[Q38R]	99	96	919	920
TREM1_49A2.001_G4S_huIL10[L46K]	98	96	921	922
TREM1_49A2.001_G4S_huIL10[K34D]	78	87	923	924
TREM1_49A2.001_G4S_huIL10[Q38E]	97	93	925	926
TREM1_50A12_G4S_huIL10[R27L]	92	72	927	928
TREM1_50A12_G4S_huIL10[K138L]	90	86	929	930
TREM1_50A12_G4S_huIL10[K138D]			931	932
TREM1_50A12_G4S_huIL10[D41G]	96	73	933	934
TREM1_50A12_G4S_huIL10[Q38R]	97	73	935	936
TREM1_50A12_G4S_huIL10[L46K]	98	64	937	938
TREM1_50A12_G4S_huIL10[K34D]	82	89	939	940
TREM1_50A12_G4S_huIL10[Q38E]			941	942
TREM1_57C10.001_G4S_huIL10[R27L]	75	51	943	944
TREM1_57C10.001_G4S_huIL10[K138L]	88	93	945	946
TREM1_57C10.001_G4S_huIL10[K138D]	65	52	947	948
TREM1_57C10.001_G4S_huIL10[D41G]	96	86	949	950
TREM1_57C10.001_G4S_huIL10[Q38R]	97	95	951	952
TREM1_57C10.001_G4S_huIL10[L46K]	98	94	953	954
TREM1_57C10_G4S_huIL10[K34D]			955	956
TREM1_57C10_G4S_huIL10[Q38E]			957	958
TREM1_61G5.001_G4S_huIL10[R27L]	78	62	959	960
TREM1_61G5.001_G4S_huIL10[K138L]	88	93	961	962
TREM1_61G5.001_G4S_huIL10[K138D]	63	57	963	964
TREM1_61G5.001_G4S_huIL10[D41G]	95	87	965	966

10

20

30

40

【 0 3 6 0 】

50

【表 2 3】

クローン	%HMW	%目標 純度	重鎖 配列 番号	軽鎖 配列 番号
TREM1_61G5.001_G4S_huIL10[Q38R]	96	97	967	968
TREM1_61G5.001_G4S_huIL10[L46K]	96	94	969	970
TREM1_61G5.001_G4S_huIL10[K34D]	72	96	971	972
TREM1_61G5.001_G4S_huIL10[Q38E]	92	93	973	974
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[R27L]	75	51	975	976
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[K138L]	89	90	977	978
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[K138D]	64	57	979	980
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[D41G]	96	85	981	982
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[Q38R]	97	95	983	984
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[L46K]	98	93	985	986
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[K34D]	70	85	987	988
TREM1_63F8_G4S_huIL10[Q38E]			989	990
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[R27L]	62	51	991	992
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[K138L]	93	94	993	994
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[K138D]	77	55	995	996
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[D41G]	98	91	997	998
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[Q38R]	99	98	999	1000
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[L46K]	98	96	1001	1002
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[K34D]	81	91	1003	1004
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[Q38E]	96	95	1005	1006
TREM1_66B8_G4S_huIL10[R27L]	80	59	1007	1008
TREM1_66B8_G4S_huIL10[K138L]	91	91	1009	1010
TREM1_66B8_G4S_huIL10[K138D]	70	63	1011	1012
TREM1_66B8_G4S_huIL10[D41G]	98	89	1013	1014
TREM1_66B8_G4S_huIL10[Q38R]	98	96	1015	1016
TREM1_66B8_G4S_huIL10[L46K]	99	95	1017	1018
TREM1_66B8_G4S_huIL10[K34D]	72	94	1019	1020
TREM1_66B8_G4S_huIL10[Q38E]	96	92	1021	1022
TREM1_3E12.001_G4S_huIL10[R27L]	66	68	1023	1024
TREM1_3E12.001_G4S_huIL10[K138L]	85	99	1025	1026
TREM1_3E12.001_G4S_huIL10[K138D]	57	68	1027	1028
TREM1_3E12.001_G4S_huIL10[D41G]	94	89	1029	1030
TREM1_3E12_G4S_huIL10[Q38R]			1031	1032
TREM1_3E12.001_G4S_huIL10[L46K]	97	98	1033	1034
TREM1_3E12.001_G4S_huIL10[K34D]	59	94	1035	1036
TREM1_3E12.001_G4S_huIL10[Q38E]	92	99	1037	1038
TREM1_61B12_G4S_huIL10[R27L]			1039	1040
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[K138L]	85	91	1041	1042
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[K138D]	58	53	1043	1044
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[D41G]	93	88	1045	1046
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38R]	95	94	1047	1048
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K]	97	92	1049	1050

10

20

30

40

【 0 3 6 1 】

50

【表 2 4】

クローン	%HMW	%目標 純度	重鎖 配列 番号	軽鎖 配列 番号
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[K34D]	65	91	1051	1052
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E]	93	92	1053	1054
TREM1_57F5.001_G4S_huIL10[R27L]	75	48	1055	1056
TREM1_57F5.001_G4S_huIL10[K138L]	89	86	1057	1058
TREM1_57F5.001_G4S_huIL10[K138D]	67	50	1059	1060
TREM1_57F5.001_G4S_huIL10[D41G]	94	76	1061	1062
TREM1_57F5.001_G4S_huIL10[Q38R]	95	83	1063	1064
TREM1_57F5.001_G4S_huIL10[L46K]	95	80	1065	1066
TREM1_57F5.001_G4S_huIL10[K34D]	65	85	1067	1068
TREM1_57F5.001_G4S_huIL10[Q38E]	93	82	1069	1070
TREM1_34D1.001_G4S_huIL10[R27L]	86	60	1071	1072
TREM1_34D1.001_G4S_huIL10[K138L]	92	96	1073	1074
TREM1_34D1.001_G4S_huIL10[K138D]	78	49	1075	1076
TREM1_34D1.001_G4S_huIL10[D41G]	98	95	1077	1078
TREM1_34D1.001_G4S_huIL10[Q38R]	98	98	1079	1080
TREM1_34D1.001_G4S_huIL10[L46K]	98	98	1081	1082
TREM1_34D1.001_G4S_huIL10[K34D]	82	92	1083	1084
TREM1_34D1.001_G4S_huIL10[Q38E]	96	96	1085	1086

10

20

【 0 3 6 2 】

【表 2 5】

表 13B: 示される Fc 配列を有する選択された融合タンパク質の特性

クローン	%HMW	% 目標 純度	重鎖 配列 番号	軽鎖 配列 番号	Fc 領域
TREM1_30H2.001_mono_G4S_huIL10[R27L]	70	29	1087	1088	1089
TREM1_30H2.001_mono_G4S_huIL10[K138L]	97	80	1090	1091	1092
TREM1_30H2.001_mono_G4S_huIL10[K138D]	79	37	1093	1094	1095
TREM1_30H2.001_mono_G4S_huIL10[D41G]	96	81	1096	1097	1098
TREM1_30H2.001_mono_G4S_huIL10[K34D]	67	63	1105	1106	1107
TREM1_30H2.001_mono_G4S_huIL10[Q38E]	94	88	1108	1109	1110
TREM1_44A5.001_mono_G4S_huIL10[R27L]	88	29	1111	1112	1113
TREM1_44A5.001_mono_G4S_huIL10[K138L]	92	82	1114	1115	1116
TREM1_44A5.001_mono_G4S_huIL10[K138D]	85	36	1117	1118	1119
TREM1_44A5.001_mono_G4S_huIL10[Q38R]	96	89	1123	1124	1125
TREM1_44A5.001_mono_G4S_huIL10[L46K]	97	87	1126	1127	1128
TREM1_44A5.001_mono_G4S_huIL10[K34D]	71	69	1129	1130	1131
TREM1_44A5.001_mono_G4S_huIL10[Q38E]	95	88	1132	1133	1134
TREM1_46H7_mono_G4S_huIL10[K138L]	89	82	1138	1139	1140
TREM1_46H7_mono_G4S_huIL10[K138D]	78	33	1141	1142	1143
TREM1_46H7_mono_G4S_huIL10[Q38R]	97	92	1147	1148	1149

30

40

【 0 3 6 3 】

50

【表 2 6】

クローン	%HMW	% 目標 純度	重鎖 配列 番号	軽鎖 配列 番号	Fc 領域
TREM1_46H7_mono_G4S_huL10[L46K]	98	86	1150	1151	1152
TREM1_46H7_mono_G4S_huL10[K34D]	66	65	1153	1154	1155
TREM1_46H7_mono_G4S_huL10[Q38E]	94	88	1156	1157	1158
TREM1_49A2.001_mono_G4S_huL10[R27L]	87	34	1159	1160	1161
TREM1_49A2.001_mono_G4S_huL10[K138L]	90	82	1162	1163	1164
TREM1_49A2.001_mono_G4S_huL10[K138D]	80	36	1165	1166	1167
TREM1_49A2.001_mono_G4S_huL10[D41G]	94	81	1168	1169	1170
TREM1_49A2.001_mono_G4S_huL10[Q38R]	97	90	1171	1172	1173
TREM1_49A2.001_mono_G4S_huL10[L46K]	96	86	1174	1175	1176
TREM1_49A2.001_mono_G4S_huL10[K34D]	63	66	1177	1178	1179
TREM1_49A2.001_mono_G4S_huL10[Q38E]	95	87	1180	1181	1182
TREM1_50A12_mono_G4S_huL10[R27L]	92	30	1183	1184	1185
TREM1_50A12_mono_G4S_huL10[K138L]	91	82	1186	1187	1188
TREM1_50A12_mono_G4S_huL10[K138D]	86	24	1189	1190	1191
TREM1_50A12_mono_G4S_huL10[D41G]	95	80	1192	1193	1194
TREM1_50A12_mono_G4S_huL10[Q38R]	96	92	1195	1196	1197
TREM1_50A12_mono_G4S_huL10[L46K]	96	89	1198	1199	1200
TREM1_50A12_mono_G4S_huL10[K34D]	69	82	1201	1202	1203
TREM1_50A12_mono_G4S_huL10[Q38E]	95	88	1204	1205	1206
TREM1_57C10.001_mono_G4S_huL10[R27L]	81	19	1207	1208	1209
TREM1_57C10.001_mono_G4S_huL10[K138L]	88	82	1210	1211	1212
TREM1_57C10.001_mono_G4S_huL10[K138D]	77	31	1213	1214	1215
TREM1_57C10.001_mono_G4S_huL10[D41G]	95	80	1216	1217	1218
TREM1_57C10.001_mono_G4S_huL10[Q38R]	96	91	1219	1220	1221
TREM1_57C10.001_mono_G4S_huL10[L46K]	97	87	1222	1223	1224
TREM1_57C10.001_mono_G4S_huL10[K34D]	67	57	1225	1226	1227
TREM1_57C10.001_mono_G4S_huL10[Q38E]	93	89	1228	1229	1230
TREM1_61G5.001_mono_G4S_huL10[R27L]	93	87	1231	1232	1233
TREM1_61G5.001_mono_G4S_huL10[K138D]	75	54	1237	1238	1239
TREM1_61G5.001_mono_G4S_huL10[D41G]	93	88	1240	1241	1242
TREM1_61G5.001_mono_G4S_huL10[Q38R]	92	87	1243	1244	1245
TREM1_61G5.001_mono_G4S_huL10[L46K]	0	0	1246	1247	1248
TREM1_61G5.001_mono_G4S_huL10[Q38E]	86	65	1252	1253	1254
TREM1_63F8.001_mono_G4S_huL10[R27L]	79	34	1255	1256	1257
TREM1_63F8.001_mono_G4S_huL10[K138L]	88	82	1258	1259	1260
TREM1_63F8.001_mono_G4S_huL10[K138D]	76	34	1261	1262	1263
TREM1_63F8.001_mono_G4S_huL10[D41G]	95	79	1264	1265	1266
TREM1_63F8.001_mono_G4S_huL10[Q38R]	96	89	1267	1268	1269
TREM1_63F8.001_mono_G4S_huL10[L46K]	97	86	1270	1271	1272
TREM1_63F8.001_mono_G4S_huL10[K34D]	0	0	1273	1274	1275
TREM1_63F8.001_mono_G4S_huL10[Q38E]	93	83	1276	1277	1278
TREM1_64D7.001_mono_G4S_huL10[R27L]	83	29	1279	1280	1281

10

20

30

40

【 0 3 6 4 】

50

【表 2 7】

クローン	%HMW	% 目標 純度	重鎖 配列 番号	軽鎖 配列 番号	Fc 領域
TREM1_64D7.001_mono_G4S_huIL10[K138D]	72	36	1285	1286	1287
TREM1_64D7.001_mono_G4S_huIL10[D41G]	97	82	1288	1289	1290
TREM1_64D7.001_mono_G4S_huIL10[L46K]	97	89	1294	1295	1296
TREM1_64D7.001_mono_G4S_huIL10[K34D]	0	0	1297	1298	1299
TREM1_64D7.001_mono_G4S_huIL10[Q38E]	0	0	1300	1301	1302
TREM1_66B8_mono_G4S_huIL10[R27L]	85	32	1303	1304	1305
TREM1_66B8_mono_G4S_huIL10[K138D]	0	0	1309	1310	1311
TREM1_66B8_mono_G4S_huIL10[D41G]	96	83	1312	1313	1314
TREM1_66B8_mono_G4S_huIL10[Q38R]	97	92	1315	1316	1317
TREM1_66B8_mono_G4S_huIL10[L46K]	97	91	1318	1319	1320
TREM1_66B8_mono_G4S_huIL10[K34D]	73	70	1321	1322	1323
TREM1_66B8_mono_G4S_huIL10[Q38E]	0	0	1324	1325	1326
TREM1_3E12.001_mono_G4S_huIL10[K138D]	77	32	1333	1334	1335
TREM1_3E12.001_mono_G4S_huIL10[D41G]	96	73	1336	1337	1338
TREM1_3E12.001_mono_G4S_huIL10[L46K]	97	82	1342	1343	1344
TREM1_3E12.001_mono_G4S_huIL10[K34D]	66	56	1345	1346	1347
TREM1_3E12.001_mono_G4S_huIL10[Q38E]	94	79	1348	1349	1350
TREM1_61B12.001_mono_G4S_huIL10[R27L]	78	33	1351	1352	1353
TREM1_61B12.001_mono_G4S_huIL10[K138L]	89	82	1354	1355	1356
TREM1_61B12.001_mono_G4S_huIL10[K138D]	81	34	1357	1358	1359
TREM1_61B12.001_mono_G4S_huIL10[D41G]	95	82	1360	1361	1362
TREM1_61B12.001_mono_G4S_huIL10[Q38R]	96	90	1363	1364	1365
TREM1_61B12.001_mono_G4S_huIL10[L46K]	97	88	1366	1367	1368
TREM1_61B12.001_mono_G4S_huIL10[K34D]	74	62	1369	1370	1371
TREM1_61B12.001_mono_G4S_huIL10[Q38E]	94	88	1372	1373	1374
TREM1_57F5.001_mono_G4S_huIL10[R27L]	79	36	1375	1376	1377
TREM1_57F5.001_mono_G4S_huIL10[K138L]	87	82	1378	1379	1380
TREM1_57F5.001_mono_G4S_huIL10[K138D]	80	33	1381	1382	1383
TREM1_57F5.001_mono_G4S_huIL10[D41G]	93	77	1384	1385	1386
TREM1_57F5.001_mono_G4S_huIL10[Q38R]	95	88	1387	1388	1389
TREM1_57F5.001_mono_G4S_huIL10[L46K]	96	82	1390	1391	1392
TREM1_57F5.001_mono_G4S_huIL10[K34D]	74	67	1393	1394	1395
TREM1_57F5.001_mono_G4S_huIL10[Q38E]	93	86	1396	1397	1398
TREM1_34D1.001_mono_G4S_huIL10[R27L]	87	35	1399	1400	1401
TREM1_34D1.001_mono_G4S_huIL10[K138L]	92	82	1402	1403	1404
TREM1_34D1.001_mono_G4S_huIL10[D41G]	97	82	1408	1409	1410
TREM1_34D1.001_mono_G4S_huIL10[Q38R]	95	93	1411	1412	1413
TREM1_34D1.001_mono_G4S_huIL10[L46K]	97	88	1414	1415	1416
TREM1_34D1.001_mono_G4S_huIL10[K34D]	80	54	1417	1418	1419
TREM1_34D1.001_mono_G4S_huIL10[Q38E]	95	90	1420	1421	1422

10

20

30

40

【0365】

第1、第2及び第3の融解転移（それぞれT_{m1}、T_{m2}、T_{m3}）を、表14に示されるように、分子の代表的なサブセットにおけるMicroCal（Malvern）を用いて、示差走査熱量測定（DSC）によって測定した。

【0366】

50

【表 28】

表 14: IL-10 突然変異タンパク質-抗 TREM-1 抗体融合タンパク質の融解転移

抗 TREM-1 MAB	IL-10 突然変異	TM1	TM2	TM3
61B12	L46K	77.8	80.8	87.6
61B12	Q38R	78.2	80.6	87.1
61B12	Q38E	77.9	80.7	87.9

10

【0367】

ブルー・オブ・コンセプト (PoC) 抗体 - サイトカイン分子を、2 価又は 1 価サイトカイン融合のいずれかを有するものとして生成した。C 末端 IL-10 M1 又は突然変異タンパク質 Q38E を、代表的な抗 TREM1 抗体 1B12 に融合した。これらの PoC 分子の形態の全てについて、抗体の C 末端における末端 Lys を除去し、Gly - Gly - Gly - Ser (配列番号 2725) の配列を付加して、サイトカインを抗体に連結した (上述されるように)。さらに、1 価サイトカインを有する PoC 分子の形態について、抗体の Fc 部分を、上述される同じ電荷対突然変異を有するように操作した。1 価サイトカインを、抗体の重鎖の陽性 (E356K 及び D399K) 又は陰性 (K392D、K409D 及び K434D) アームのいずれかに融合した。

20

【0368】

Fab 抗体 - サイトカイン及び PoC 抗体 - サイトカイン組み換え発現構築物を、1) 抗体可変ドメインを含む合成 DNA フラグメント、2) リンカープラス設計されたサイトカインを含む合成 DNA フラグメント、3) 必要な定常ドメイン (すなわち Cκ 又は Cλ、CH1 - CH2 - CH3 (118 - 446) を含む予めクローニングされた「部分ベクター」(R292C、N297G、V302C、E356K、D399K)、CH2 - CH3 (221 ~ 446) (R292C、N297G、V302C、K392D、K409D、K434D)、及び 4) 哺乳動物発現ベクター骨格を組み立てるために Golden Gate クローニングを用いて生成した。融合された HC 及び融合された Fc ドメインを、ピューロマイシン選択カセットによりベクター骨格へと組み立て、LC を、ハイグロマイシン選択カセットによりベクター骨格へと組み立てた。融合された HC、融合された Fc 及び LC 発現ベクターを、LIPOFECTAMINE (登録商標) LTX (Gibco) を用いて、CHO - K1 細胞内で、1 : 1 : 1 の比率で共トランスフェクトし、安定したプールを、細胞生存が > 90% になるまで (Vi-CELL BLU (登録商標)、Beckman Coulter)、10 µg/mL のピューロマイシン及び 500 µg/mL のハイグロマイシンの存在下で 2 ~ 3 日ごとに継代することによって生成した。安定したプールを、培養物の mL 当たり 2e6 生存細胞で産生培地に播種し、6 日間にわたって 5% の CO₂ で、36 でインキュベートした。

30

【0369】

細胞上清を、遠心分離によって採取し、抗体融合を、自動化された、3 カラム、タンデムクロマトグラフィープロセスを用いて精製した。Fab - HeteroFc - サイトカイン融合を、CAPTURE SELECT (商標) CH1 XL (ThermoFisher) を用いて親和性捕捉し、直ぐに、緩衝液を、SEPHADEX (登録商標) G25 樹脂 (Cytiva) を用いたゲルろ過によって交換し、SUPERDEX (登録商標) 200 Increase 樹脂 (Cytiva) を用いたサイズ排除によってさらに精製した。各変異体の同一性を、インタクト質量分析法によって確認した。各変異体について、馴化培地における発現力価を、プロテイン A センサーを用いて ForteBio OCTET (登録商標) (Pall Life Sciences) によって測定した。プロテイン A アフィニティークロマトグラフィー後に存在する高分子量 (% HMW) 材料のパーセントを、分析的サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) によって測定し、% 標的タ

40

50

ンパク質純度を、LABCHIP（登録商標）GXII（Perkin Elmer）を用いて非還元性マイクロキャピラリー電気泳動によって測定した。凝集傾向及びモノマー安定性を、1及び2週間にわたって40 でサンプルにストレスをかけることによって評価した。次に、ストレス下及びT0サンプルを、分析的SECによって分析して、T0と比べた、ストレス後の凝集の増加（%HMW）及びモノマーの喪失を定量した。二重特異性機能活性を、LPS刺激されたPBMCにおけるTNF 産生の阻害によって測定し、選択された分子についての結果が表15に示される。

【0370】

【表29】

表 15: 選択された二重特異性サイトカイン融合に関する機能アッセイデータ

ID	タンパク質タイプ	LPS-stim PBMC アッセイ EC50 (nM) n=1	LPS-stim PBMC アッセイ EC50 (nM) n=2	LPS-stim PBMC アッセイ EC50 (nM) n=3
21324	Fab-HeteroFc-サイトカイン融合	N/A	N/A	N/A
21330	Fab-HeteroFc-サイトカイン融合	2	2	2
21338	Fab-HeteroFc-サイトカイン融合	3	N/A	3
21369	Fab-HeteroFc-サイトカイン融合	4	3	4
21351	Fab-HeteroFc-サイトカイン融合	3	N/A	N/A
21358	Fab-HeteroFc-サイトカイン融合	5	N/A	N/A
21365	Fab-HeteroFc-サイトカイン融合	N/A	3	2
21374	Fab-HeteroFc-サイトカイン融合	N/A	N/A	2
21381	Fab-HeteroFc-サイトカイン融合	3	3	3
22437	Fab-HeteroFc-サイトカイン融合	N/A	2	4
21387	Fab-HeteroFc-サイトカイン融合	3	N/A	2
21392	Fab-HeteroFc-サイトカイン融合	5	5	N/A
21404	Fab-HeteroFc-サイトカイン融合	3	3	2
21225	抗体サイトカイン融合	4	3	3
21233	抗体サイトカイン融合	3	3	N/A
21241	抗体サイトカイン融合	2	2	3
21248	抗体サイトカイン融合	N/A	2	N/A
21255	抗体サイトカイン融合	N/A	2	N/A
21262	抗体サイトカイン融合	N/A	3	N/A
21268	抗体サイトカイン融合	N/A	N/A	2
21276	抗体サイトカイン融合	3	N/A	3
21283	抗体サイトカイン融合	4	3	N/A
21291	抗体サイトカイン融合	3	3	3
22424	抗体サイトカイン融合	N/A	N/A	N/A
21298	抗体サイトカイン融合	3	2	2
21306	抗体サイトカイン融合	5	N/A	5
21410	抗体サイトカイン融合	3	2	2

N/A—適切な用量曲線でない、1= >0.001~<0.01; 2= >0.01~<0.1; 3= >0.1~<1; 4= >1~<10、5= >10

【0371】

上述されるように調製され、IL-10突然変異タンパク質Q38Eに融合された1価

10

20

30

40

50

及び2価抗体を、単球活性化について試験した。簡潔に述べると、単球を、Miltenyi単球単離キットIIを用いて、凍結されたPBMCから単離した。精製された単球を、96丸形ウェルTC処理プレートにおいてウェル当たり 10^5 個の細胞で、完全培地中で平板培養した。示される試験タンパク質を、 11000 pM から 0.005 pM に1:5で連続希釈した。LPSを、 10 ng/mL の最終濃度で細胞に加えた。プレートを、 5.0% の CO_2 、 37°C で一晩インキュベートした。細胞上清中のTNFを、MSDVplexヒトTNF検出キットを用いて測定した。図2は、2価抗TREM-1が、1価抗TREM-1より効力が高く、2価IL-10突然変異タンパク質が、C末端において1価IL-10突然変異タンパク質より効力が高いことを示す。

【0372】

免疫細胞活性に対するIL-10、IL-10突然変異タンパク質及びIL-10/抗TREM-1抗原結合タンパク質の効果を、全血アッセイを用いて評価した。投薬治療を受けていない健康なドナーから得られた新鮮なヘパリン化ヒト全血を、96ウェル2.0mL深型ウェルプレートへと分割した。血液を含むプレートを、IL10試薬を加える前の少なくとも30分間にわたって 37°C に平衡化した。示される試験試薬を連続希釈し、全血に加えた。プレートを 37°C で30分間インキュベートした。次に、プレートを氷上に置き、10分間のインキュベーションのためにCD3(クローンUCHT-1)及びCD4(クローンRPA-T4)に対する染色抗体を加えた。次に、細胞を、 1.4 mL のBDfix/溶解緩衝液で処理し、20分間にわたって 37°C になるまでインキュベートした。溶解RBCが透明になるまで、細胞を、 2% のFCS/PBSで洗浄した。細胞を透過処理するために、 $200\text{ }\mu\text{L}$ の氷冷BDPerm緩衝液IIIを、各ウェルに加え、十分に混合した。5回洗浄した後、CD20(クローンH1)、CD14(クローンRM052)及びpSTAT3 pY705(クローン4/P-STAT3)を、細胞に加えた。光から保護するためにアルミニウム箔で覆われて、周囲温度で1時間にわたる、 $200\sim 300\text{ RPM}$ でプレートシェーカーにおけるインキュベーション後、非結合抗体を、 2% のFCS/PBSで2回洗浄することによって直ちに除去した。細胞を、 $200\text{ }\mu\text{L}$ の 2% のFCS/PBS洗浄緩衝液中で再度懸濁させ、BDLSRIIFローサイトメーターを用いて、FACS分析に供した。IL-10単独が $\text{CD}8^{++}$ T細胞及びB細胞増殖を誘導した一方、IL-10突然変異タンパク質又は抗TREM-1/IL-10突然変異タンパク質によって誘導される増加した $\text{CD}8^{+}$ T細胞及びB細胞活性化はなく、抗TREM-1 mAb/IL-10突然変異タンパク質は、細胞型特異的な標的化効果のブルーフ・オブ・コンセプトを実証した(図3)。

【0373】

ヒト単球からのLPS誘導性TNF産生の阻害を評価した。単球を、Miltenyi単球単離キットIIを用いて、凍結されたPBMCから単離した。精製された単球を、96丸形ウェルTC処理プレートにおいてウェル当たり 10^5 個の細胞で、完全培地中で平板培養した。様々なIL-10突然変異タンパク質を有する示される試験タンパク質を、 11000 pM から 0.005 pM に1:5で連続希釈した。LPSを、 10 ng/mL の最終濃度で細胞に加えた。プレートを、 5.0% の CO_2 、 37°C で一晩インキュベートした。細胞上清中のTNFを、MSDVplexヒトTNF検出キットを用いて測定した。図4A~4Hは、異なるIL-10突然変異タンパク質を有する抗原結合タンパク質が、IL-10突然変異タンパク質を単独で含む培養物と比較して、単球中の減少するTNFでより効力が高いことを実証し、これは、TREM-1結合が単球活性化のIL-10突然変異タンパク質抑制を有意に促進したことを示唆する。

【0374】

ヒト単球におけるLPS誘導性ヒトTNF産生の阻害を評価するために、単球を、Miltenyi単球単離キットIIを用いて、凍結されたPBMCから単離した。精製された単球を、96丸形ウェルTC処理プレートにおいてウェル当たり 10^5 個の細胞で、完全培地中で平板培養した。示される試験タンパク質を、 11000 pM から 0.005 pM に1:5で連続希釈した。LPSを、 10 ng/mL の最終濃度で細胞に加えた。プ

10

20

30

40

50

レート、5.0%のCO₂、37℃で一晩インキュベートした。細胞上清中のTNFを、MSD VplexヒトTNF 検出キットを用いて測定した。LPS誘導性マウスTNF 産生の阻害を評価するために、マウス骨髄を、C57BL/6マウスの大腿骨から単離した。細胞を、96丸形ウェルTC処理プレートへのウェル当たり10⁵個で、完全培地中で平板培養した。示される試験試薬を、11000pMから0.005pMに1:5で連続希釈した。LPSを、10ng/mLの最終濃度で細胞に加えた。プレートを、5.0%のCO₂、37℃で一晩インキュベートした。上清中のマウスTNF を、MSD VplexマウスTNF 検出キットを用いて測定した。

【0375】

図5は、TREM-1結合による、ヒト単球中のTNF の阻害に対するIL-10突然変異タンパク質効力の有意な改善があることを示す(図5A)。単球におけるTNF 阻害の改善は、TREM-1結合に依存するが、これは、マウスTREM-1との交差反応性の欠如により、マウス単球に対する効力がほとんどないためである(図5B)。

【0376】

これらの結果は、IL-10突然変異タンパク質及び免疫細胞標的部分、例えば抗TREM-1抗体を含む抗原結合タンパク質が、野生型IL-10と比較して、免疫細胞を異なって調節することが可能であることを実証する。抗原結合タンパク質は、骨髄細胞からのTNF 産生を有意に阻害する。抗原結合タンパク質は、CD8+ T細胞及びB細胞を刺激しない。IL-10突然変異タンパク質抗原結合タンパク質は、免疫細胞を刺激せずに炎症を抑制することができ、したがって、炎症性腸疾患を治療する際に治療効果を提供し得る。

【0377】

実施例5 - IL-10M1の安定性操作

偏りのない手法を用いたIL-10M1(配列番号2211)の酵母ディスプレイ安定性操作のために、IL-10M1の、エラープローンPCRベースのライブラリーが、GENEMORPH(登録商標)IIキットを用いて低い突然変異誘発条件下で生成され、酵母(IL10M1-EP Library)上に提示された。ライブラリーは、BJ5464の酵母誘導体の表面上に提示され、ここで、IL-10M1は、凝集素のN末端に融合された。ディスプレイの効率を、ALEXAFLOUR(登録商標)647コンジュゲート抗HA抗体の結合によって測定した。ライブラリーを、二次蛍光としてストレプトアビジンPEを用いて、ビオチンコンジュゲート組み換えIL-10R-Fcへの高い結合について蛍光活性化細胞選別(FACS)を用いてソートした。

【0378】

ストレス条件下で野生型IL-10M1より良好に機能した突然変異体を同定するために、様々なストレスを、このエラープローン酵母ライブラリーに加えた。タンパク質発現のためのストレスとして、酵母細胞のIL-10M1-EPライブラリーを、20又は30℃でIL-10M1突然変異体を提示するように誘導した。このストレスに対するより高い耐性を示す突然変異体を同定するために、IL-10R-Fcによく結合され、酵母表面上でよく提示された(HAエピトプタグによって評価された)変異体を、FACSによってソートした。これらの増加された結合剤プールからのIL-10M1配列を、最初のIL-10M1 EP Libraryプールと共に、IL-10M1コード配列の外部のプライマーによって増幅した。次に、アンプリコンを、Nexteraライブラリー調製キットを用いてプロセッシングし、2x300bpの実行のためにIllumina MiSeqにおけるNGS分析に供した。30℃誘導ストレス後に結合剤プール中で非常に増加又は減少された突然変異体配列を、組み換え的に作製されるように選択し、手法の予測力を評価するために、安定性について評価した(表15)。

【0379】

より良好にフォールディングされ得、タンパク質分解にあまり曝されない変異体を同定するために、制限されたタンパク質分解実験を行った。まず、IL-10M1エラープローンライブラリーを、20℃で誘導し、FACSソートして、非IL10R結合剤を除外

した。これにより、IL-10M1 EP結合剤ライブラリーが得られた。次に、IL-10M1 EP結合剤ライブラリーを、20 で誘導し、制限量のトリプシン、キモトリプシン及びサーモリシンに供した。これらのプロテアーゼに対するより高い耐性を示す突然変異体を同定するために、IL-10R-Fcに結合され、親IL-10M1分子より良好に酵母表面上に提示された変異体を、FACSによってソートし、上述されるNGSによって分析した。プロテアーゼ耐性プール中で非常に増加又は減少された突然変異体配列（例えば、タンパク質ストレスが増加した、温度ストレスが増加した、温度及びプロテアーゼストレスが増加した、プロテアーゼストレスが減少した又は温度ストレスが増加した）を、組み換え的に作製されるように選択し、手法の予測力を評価するために、安定性について評価した（表16）。

10

【0380】

20

30

40

50

【表 3 0】

表 16: 酵母ディスプレイ選択された安定性突然変異及び論理的根拠

TREM1_61B12_IL-10 融合クローン	配列番号	IL-10 突然変異タンパク質	配列番号
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[K130Q,K138D]	2137	huIL10[K130Q,K138D]	2138
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[K130Q] a	2139	huIL10[K130Q]	2140
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[K138D,K157N]	2141	huIL10[K138D,K157N]	2142
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[K138D,M154V]	2143	huIL10[K138D,M154V]	2144
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[K138D,N160D]	2145	huIL10[K138D,N160D]	2146
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[K138D,リンカー[G1A]]	2147	huIL10[K138D,リンカー[G1A]]	2148
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[K138D,リンカー[G1V]]	2149	huIL10[K138D,リンカー[G1V]]	2150
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[K138D,リンカー[G5A]]	2151	huIL10[K138D,リンカー[G5A]]	2152
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[K157N] b	2153	huIL10[K157N]	2154
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[M154V] a	2155	huIL10[M154V]	2156
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[N160D] a	2157	huIL10[N160D]	2158
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[リンカー[G1A]] a	2159	huIL10[リンカー[G1A]]	2160
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[リンカー[G1V]] e	2161	huIL10[リンカー[G1V]]	2162
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[リンカー[G5A]] b	2163	huIL10[リンカー[G5A]]	2164
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[A89P]b	2165	huIL10[A89P]b	2166
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[A89P,K138D]	2167	huIL10[A89P,K138D]	2168
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[E115K] a	2169	huIL10[E115K]	2170
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[E115K,K138D]	2171	huIL10[E115K,K138D]	2172
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[F56Y] b	2173	huIL10[F56Y]	2174
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[F56Y,K138D]	2175	huIL10[F56Y,K138D]	2176
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[H109D] a	2177	huIL10[H109D]	2178
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[H109D,K138D]	2179	huIL10[H109D,K138D]	2180
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[H14Q,L46K]	2181	huIL10[H14Q,L46K]	2182
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[H14Q,Q38E]	2359	huIL10[H14Q,Q38E]	2360
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[H14Q] a	2361	huIL10[H14Q]	2362
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[H14Q,K138D]	2363	huIL10[H14Q,K138D]	2364
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[K57N] b	2365	huIL10[K57N]	2366
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[K57N,K138D]	2367	huIL10[K57N,K138D]	2368
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L112V] d	2369	huIL10[L112V]	2370
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L112V,K138D]	2371	huIL10[L112V,K138D]	2372
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,A89P]	2373	huIL10[L46K,A89P]	2374
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,E115K]	2375	huIL10[L46K,E115K]	2376
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,F56Y]	2377	huIL10[L46K,F56Y]	2378
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,H109D]	2379	huIL10[L46K,H109D]	2380
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,K57N]	2381	huIL10[L46K,K57N]	2382
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,L112V]	2383	huIL10[L46K,L112V]	2384
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,L60Q]	2385	huIL10[L46K,L60Q]	2386

10

20

30

40

【 0 3 8 1】

50

【表 3 1】

TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,N116D]	2387	huIL10[L46K,N116D]	2388
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,Q63E]	2389	huIL10[L46K,Q63E]	2390
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,Q63L]	2391	huIL10[L46K,Q63L]	2392
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,Q70E]	2393	huIL10[L46K,Q70E]	2394
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,Q70K]	2395	huIL10[L46K,Q70K]	2396
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,R110P]	2397	huIL10[L46K,R110P]	2398
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,R110Q]	2399	huIL10[L46K,R110Q]	2400
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K]	2401	huIL10[L46K]	2402
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,リンカー-[G1V]]	2403	huIL10[L46K,リンカー-[G1V]]	2404
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,リンカー-[G5A]]	2405	huIL10[L46K,リンカー-[G5A]]	2406
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,K130Q]	2407	huIL10[L46K,K130Q]	2408
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,K157N]	2409	huIL10[L46K,K157N]	2410
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,M154V]	2411	huIL10[L46K,M154V]	2412
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,N160D]	2143	huIL10[L46K,N160D]	2414
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L60Q] c	2415	huIL10[L60Q]	2416
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L60Q,K138D]	2417	huIL10[L60Q,K138D]	2418
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[M22V,L46K]	2419	huIL10[M22V,L46K]	2420
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[M22V,Q38E]	2421	huIL10[M22V,Q38E]	2422
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[M22V] a	2423	huIL10[M22V]	2424
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[M22V,K138D]	2425	huIL10[M22V,K138D]	2426
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[N116D] b	2427	huIL10[N116D]	2428
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[N116D,K138D]	2429	huIL10[N116D,K138D]	2430
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,A89P]	2431	huIL10[Q38E,A89P]	2432
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,E115K]	2433	huIL10[Q38E,E115K]	2434
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,F56Y]	2435	huIL10[Q38E,F56Y]	2436
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,H109D]	2437	huIL10[Q38E,H109D]	2438
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,K57N]	2439	huIL10[Q38E,K57N]	2440
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,L112V]	2441	huIL10[Q38E,L112V]	2442
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,L60Q]	2443	huIL10[Q38E,L60Q]	2444
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,N116D]	2445	huIL10[Q38E,N116D]	2446
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,Q63E]	2447	huIL10[Q38E,Q63E]	2448
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,Q63L]	2449	huIL10[Q38E,Q63L]	2450
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,Q70E]	2451	huIL10[Q38E,Q70E]	2452
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,Q70K]	2453	huIL10[Q38E,Q70K]	2454
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,R110P]	2455	huIL10[Q38E,R110P]	2456
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,R110Q]	2457	huIL10[Q38E,R110Q]	2458
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,リンカー-[G5A]]	2459	huIL10[Q38E,リンカー-[G5A]]	2460
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,リンカー-[G1V]]	2461	huIL10[Q38E,リンカー-[G1V]]	2462
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,リンカー-[G1A]]	2463	huIL10[Q38E,リンカー-[G1A]]	2464
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,K130Q]	2465	huIL10[Q38E,K130Q]	2466
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,K157N]	2467	huIL10[Q38E,K157N]	2468
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38E,M154V]	2469	huIL10[Q38E,M154V]	2470
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q63E] c	2471	huIL10[Q63E]	2472
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q63E,K138D]	2473	huIL10[Q63E,K138D]	2474
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q63L,Q138L]	2475	huIL10[Q63L,Q138L]	2476
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q63L,K138D]	2477	huIL10[Q63L,K138D]	2478

10

20

30

40

【 0 3 8 2 】

50

【表 3 2】

TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q70E] a	2479	huIL10[Q70E]	2480
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q70E,K138D]	2481	huIL10[Q70E,K138D]	2482
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q70K] d	2483	huIL10[Q70K]	2484
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q70K,K138D]	2485	huIL10[Q70K,K138D]	2486
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[R110P] c	2487	huIL10[R110P]	2488
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[R110P,K138D]	2489	huIL10[R110P,K138D]	2490
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[R110Q] c	2491	huIL10[R110Q]	2492
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[K120D]	2493	huIL10[K120D]	2494
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q63L] d	2495	huIL10[Q63L]	2496

選択の論理的根拠: a、タンパク質ストレスが増加した; b、温度ストレスが増加した; c、温度及びプロテアーゼストレスが増加した; d、プロテアーゼストレスが減少した; e、温度ストレスが減少した

10

【0383】

Rosetta 安定性操作：安定性操作も、コンピュータによる設計によって調査した。IL10M1 突然変異タンパク質の構造モデリングを、RosettaScripts 及び TalariS 2014 スコア関数を用いて行った。「fastrelax」プロトコルを用いて、骨格最小化及び回転異性体最適化の5つのサイクルは、PDB 1Y6K 結晶構造に由来するモノマー IL-10M1 モデルを、局所エネルギー最小値にした。緩和後、残基 21 ~ 161 を個別にスクリーニングし、20 の標準アミノ酸のそれぞれにコンピュータにより突然変異させた。この後、ペプチド骨格及び周囲の残基のための 50 の Monte Carlo ベースの疑似アニーリング工程が続いた。全ての選択された設計はまた、再度モデル化され、L46K 減衰突然変異のバックグラウンドにおいて採点されて、予測された挙動が影響されなかったことを確認した。表 17 は、抗体 61B12 の重鎖との IL10 突然変異タンパク質融合の配列番号を示し；それぞれにおける軽鎖は、抗体 61B12 中と同じである（配列番号 105、ただし、シグナル配列を欠く）。

20

【0384】

【表 3 3】

30

表 17: Rosetta 安定性クローン

Rosetta 安定性操作クローン	IL10 61B12 融合 AA 配列番号	IL10 突然変異 タンパク質 AA 配列番号
huIL10[L46K]_mono_G4S_TREM1_61B12.001	2497	8
huIL10[L46K]_bi_G4S_TREM1_61B12.001	2498	8
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[F15Y,L46K]	2499	2500
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[K40C,L46K,Y137C]	2501	2502
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,D84R]	2503	2504

40

【0385】

50

【表 3 4】

TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,E67C,V121C]	2505	2506
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,H90E]	2507	2508
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,H90Q]	2509	2510
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,K49S]	2511	2512
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,K49T]	2513	2514
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,K57C,M156C]	2515	2516
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,L103E]	2517	2518
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,M77R]	2519	2520
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,M77V]	2521	2522
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,Q79C,I136C]	2523	2524
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,Q79R]	2525	2526
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,S93E]	2527	2528
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,S93Q]	2529	2530
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,T100R]	2531	2532
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,Y59T]	2533	2534
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,A127M]	2535	2536
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K]_mono	2537	2538
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38C,L46K,S141C]	2539	2540

10

20

30

【0386】

改善された安定性及び表面特性を有する設計を選択するために、最終的なモデルを、Talaris 2014 スコア及び疎水性溶媒露出表面積 (hSASA) を用いて、互いに対して等級付けした。低いエネルギー及び減少した hSASA を有する 15 の得点の高い設計が実験評価のために最終的に選択された (表 18)。

40

【0387】

50

【表 3 5】

表 18: トップ 15 点突然変異の Rosetta エネルギースコア

突然変異	総スコア	hsasa_リスト
Y59T	-0.93	-52.55
M77R	-3.10	-51.16
M77V	-2.39	-53.92
D84R	-1.03	-44.39
H90E	-1.47	-38.28
H90Q	-0.69	-30.08
K49T	-0.83	-25.75
K49S	-0.63	-31.50
A127M	-0.65	-25.60
F15Y	-0.42	-23.10
S93E	-1.84	-19.97
S93Q	-1.25	-15.71
L103E	-0.87	-17.12
T100R	-1.19	-11.25
Q79R	-1.42	-10.33

10

20

【0388】

代替的な合理的設計手法は、IL10M1の強制的モノマー構造を安定させるためのジスルフィドの導入を調査した。この方法では、鑄型モデルにおける残基21~123を、残基124~165に対する近接性についてスクリーニングした。残基対を、システムにコンピュータにより突然変異させ、C原子が互いに6.5以内にある場合、ジスルフィドにさせた。これらの設計を、Talaris2014スコア及び非加重ジスルフィド潜在条件を用いて、互いに対して等級付けした。したがって、低いエネルギーを有する5つの架橋設計を、実験評価のために選択した(表19)。

【0389】

30

【表 3 6】

表 19. トップ 5 ジスルフィド突然変異の Rosetta エネルギースコア

突然変異	総スコア	dslf_fa13
Q97C-I136C	5.62	-0.43
K57C-M156C	5.64	1.53
K40C-Y137C	5.69	-0.56
Q38C-S141C	6.27	-0.38
E67C-V121C	6.37	-0.43

40

【0390】

二重特異性融合としての産生及び試験：増加した安定性のために設計された突然変異タンパク質変異体を、抗TREM1抗体61B2.001への2価C末端融合としてクローニングし、CHO細胞内で組み換え的に発現させ、実施例3に記載されるように精製した。各変異体の同一性を、インタクト質量分析法によって確認し、それぞれを、Slide-A-Lyzer(商標)G2DialysisCassettes、20KMWCO、3mL(ThermoFisher cat.#87735)を用いて、 10 ± 1 mg/mLになるまで濃縮した。馴化培地における発現力価を、プロテインAセンサーを用いてForteBioOCTET(登録商標)(PallLifeScienc

50

es)によって測定した。存在する高分子量(%HMW)材料のパーセントを、分析的サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)によって測定し、%標的タンパク質純度を、LABCHIP(登録商標)GXII(Perkin Elmer)を用いて非還元性マイクロキャピラリー電気泳動によって測定した。凝集傾向及びモノマー安定性を、2週間にわたって40でサンプルにストレスをかけることによって評価した。次に、ストレス下及びT0サンプルを、分析的SECによって分析して、T0と比べた、ストレス後の凝集の増加(%HMW)及びモノマーの損失を定量した。二重特異性機能活性を、分子のサブセットにおけるLPS刺激されたPBMCにおけるTNF産生の阻害によって測定し；選択された分子についての結果が表20に示される。

【0391】

10

【表37】

表 20: 抗 TREM1 抗体 61B2 に対する操作 IL-10M1 突然変異タンパク質の融合についての生成及び安定性データ

名称	力価 (mg/L)	最終 収量 (mg/L)	SEC pre- MP (%)	純度 MCE NR (%)	デルタ% HMW (2 wk 40C)	デルタ% 主ピーク (2 wk 40C)
huIL10[L46K]_mono_G4S_TREM1_61B12.001	140	NA	ND	ND	ND	ND
huIL10[L46K]_bi_G4S_TREM1_61B12.001	145	56	5.9	99.8	1.7	8.1
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[F15Y,L46K]	161	107	5.3	98.0	2.2	1.4
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[K40C,L46K,Y137C]	177	101	5.3	99.4	2.6	1.5
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,D84R]	198	NA	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,E67C,V121C]	147	NA	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,H90E]	171	121	6.6	98.8	1.8	0.6
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,H90Q]	158	38	5.5	99.2	1.3	0.5
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,K49S]	181	121	7.3	99.3	0.8	-0.4
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,K49T]	192	98	11.9	99.2	-2.9	-3.8
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,K57C,M156C]	155	115	5.4	99.1	1.9	1.2
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,L103E]	163	147	3.9	99.4	0.6	0.2
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,M77R]	198	NA	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,M77V]	182	99	5.4	99.6	5.2	3.5
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,Q79C,I136C]	182	97	5.2	99.1	1.4	0.9
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,Q79R]	167	111	7.1	97.2	0.6	-0.1
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,S93E]	183	123	6.4	99.1	1.8	1.0
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,S93Q]	162	80	6.4	99.5	1.0	0.4
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,T100R]	169	NA	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,Y59T]	163	100	5.5	99.4	0.1	0.0
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K,A127M]	190	114	5.1	99.0	1.9	1.2
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[L46K]_mono	163	67	2.7	66.7	1.1	0.7
TREM1_61B12.001_G4S_huIL10[Q38C,L46K,S141C]	167	81	5.1	100.0	1.2	0.7

20

30

40

【0392】

50

【表 3 8】

名称	力価 (mg/L)	最終 収量 (mg/L)	SEC pre- MP (%)	純度 MCE NR (%)	デルタ% HMW (2 wk 40C)	デルタ% 主ピーク (2 wk 40C)
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[K130Q,K138D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[K130Q]	164	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[K138D,K57N]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[K138D,M154V]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[K138D,N160D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[K138D,リンカー-[G1A]]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[K138D,リンカー-[G1V]]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[K138D,リンカー-[G5A]]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[K57N]	155	75	5.4	93.4	36.5	22.4
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[M154V]	173	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[N160D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[リンカー-[G1A]]	167	50	5.6	97.8	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[リンカー-[G1V]]	166	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[リンカー-[G5A]]	170	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[A89P]	163	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[A89P,K138D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[E115K]	121	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[E115K,K138D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[F56Y]	105	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[F56Y,K138D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[H109D]	139	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[H109D,K138D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[H14Q,L46K]	139	68	5.9	99.1	3.5	2.1
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[H14Q,Q38E]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[H14Q]	141	62	4.6	99.7	8.7	4.8
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[H14Q,K138D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[K57N]	155	75	5.4	93.4	36.5	22.4
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[K57N,K138D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L112V]	156	26	5.7	97.5	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L112V,K138D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,A89P]	167	80	7.1	96.7	3.3	1.8
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,E115K]	155	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,F56Y]	136	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,H109D]	163	70	4.1	98.0	2.9	2.0
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,K57N]	164	68	7.5	96.0	8.4	5.3
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,L112V]	157	63	7.1	99.3	7.5	#VALUE!
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,L60Q]	164	30	7.7	97.8	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,N116D]	163	59	4.6	99.0	3.8	2.7
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,Q63E]	159	47	3.9	98.2	ND	ND

10

20

30

40

【 0 3 9 3 】

50

【表 3 9】

名称	力価 (mg/L)	最終 収量 (mg/L)	SEC pre- MP (%)	純度 MCE NR (%)	デルタ% HMW (2 wk 40C)	デルタ% 主ピーク (2 wk 40C)
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,Q63L]	138	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,Q70E]	165	72	5.2	98.6	7.8	4.9
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,Q70K]	146	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,R110P]	157	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,R110Q]	154	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K]	172	53	6.0	99.8	3.3	2.5
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,リソカー[G1V]]	167	37	5.9	99.3	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,リソカー[G5A]]	171	80	6.1	97.5	4.1	1.8
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,K130Q]	167	95	6.5	98.1	6.1	3.4
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,K157N]	0	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,M154V]	174	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L46K,N160D]	170	55	5.1	97.9	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L60Q]	168	62	6.4	98.0	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[L60Q,K138D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[M22V,L46K]	168	73	6.3	96.3	4.8	19.6
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[M22V,Q38E]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[M22V]	170	56	5.3	98.1	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[M22V,K138D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[N116D]	159	61	4.8	97.7	12.1	7.4
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[N116D,K138D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,A89P]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,E115K]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,F56Y]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,H109D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,K57N]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,L112V]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,L60Q]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,N116D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,Q63E]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,Q63L]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,Q70E]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,Q70K]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,R110P]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,R110Q]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,リソカー[G5A]]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,リソカー[G1V]]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,リソカー[G1A]]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,K130Q]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,K157N]	ND	ND	ND	ND	ND	ND

10

20

30

40

【 0 3 9 4 】

50

【表 4 0】

名称	力価 (mg/L)	最終 収量 (mg/L)	SEC pre- MP (%)	純度 MCE NR (%)	デルタ% HMW (2 wk 40C)	デルタ% 主ピーク (2 wk 40C)
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q38E,M154V]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q63E]	173	94	3.9	95.6	11.7	7.1
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q63E,K138D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q63L,Q138L]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q63L,K138D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q70E]	168	90	4.7	97.6	27.2	17.2
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q70E,K138D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q70K]	153	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[Q70K,K138D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[R110P]	153	60	3.2	98.5	4.2	2.2
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[R110P,K138D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[R110Q]	152	91	3.6	96.7	8.4	5.1
TREM1_61B12.001_G4S_huL10[K120D]	ND	ND	ND	ND	ND	ND

10

【0395】

20

これらの結果は、安定性突然変異のサブセットが、精製中及び中程度に高い濃度（10 mg/mL）で40 のストレスの2週間後、抗TREM1抗体 - IL10M1融合 / 抗原結合タンパク質変異体の凝集の程度を減少させるのに成功したことを示す。

【0396】

最良の安定性突然変異を、位置N10、N116及び / 又はIL10M1の第1及び第2のドメイン間のGGSGGリンカー（以後、リンカー[G1]と呼ばれる）の第1の位置における脱アミド化ホットスポットを修正するように設計された突然変異と組み合わせた。新たなIL10M1変異体を、3つの異なる位置：N末端、C末端又はFabとFcとの間に埋め込まれて、抗TREM1抗体63F8.001及び64D7.001重鎖に2価で融合した。

30

【0397】

40

50

【表 4 1】

表 21. IL-10 突然変異タンパク質における脱アミド化ホットスポット

IL-10 突然変異タンパク質	配列番号
HUIL10[L46K,L103E,リンカー[G1A]]	2777
HUIL10[L46K,L103E,リンカー[G1V]]	2778
HUIL10[L46K,R110P,リンカー[G1A]]	2779
HUIL10[L46K,R110P]	2780
HUIL10[N101,L46K,L103E,リンカー[G1A]]	2781
HUIL10[N101,L46K,L103E,リンカー[G1V]]	2782
HUIL10[N101,L46K,L103E,R110P,リンカー[G1A]]	2783
HUIL10[N101,L46K,L103E]	2784
HUIL10[N101,L46K,R110P,リンカー[G1A]]	2785
HUIL10[N10K,L46K,L103E,リンカー[G1A]]	2786
HUIL10[N10Q,L46K,L103E,リンカー[G1A]]	2787
HUIL10[N10Q,L46K,L103E,リンカー[G1V]]	2788
HUIL10[N10Q,L46K,L103E,N116Q]	2789
HUIL10[N10Q,L46K,L103E]	2790
HUIL10[N10Q,L46K,R110P,リンカー[G1A]]	2791

10

20

【0398】

C末端IgG-サイトカイン融合を、CHO細胞内で発現させ、精製し、10mg/mLになるまで濃縮し、実施例4に記載されるようにアッセイした。

【0399】

N末端サイトカイン-IgG融合を、IL-10M1又はIL-10M1の操作変異体、続いて、配列GGGSGGGS(配列番号2676)を有する10アミノ酸リンカーを、抗TREM-1IgG1zSEFL2の重鎖のN末端に融合することによって構築した。抗体-サイトカイン組み換え発現構築物を、1)抗体可変ドメインを含む合成DNAフラグメント、2)設計されたサイトカインプラスリンカーを含む合成DNAフラグメント、3)必要な定常ドメインを含む予めクローニングされた「部分ベクター」、及び4)哺乳動物発現ベクター骨格を組み立てるためにGolden Gateクローニングを用いて生成した。融合された重鎖(HC)を、ピューロマイシン選択カセットによりベクター骨格へと組み立て、軽鎖(LC)を、ハイグロマイシン選択カセットによりベクター骨格へと組み立てた。構築物をCHO細胞内で発現させ、精製し、10mg/mLになるまで濃縮し、実施例4に記載されるようにアッセイした。

30

【0400】

埋め込まれたFab-サイトカイン-Fc分子を、IL-10M1又はIL10M1の操作変異体を、配列GGGG(配列番号2677)のリードリンカー及び後続のリンカーと共に、アミノ酸C282及びD283の間の抗TREM-1IgG1zSEFL2抗体のヒンジ領域(すなわちEPSKC-GGGG-IL10M1-GGGG-DKTHC(配列番号2724)中に融合することによって構築した。Fab-サイトカイン-Fc組み換え発現構築物を、1)抗体可変ドメインを含む合成DNAフラグメント、2)設計されたサイトカインプラスリンカーを含む合成DNAフラグメント、3)必要な定常ドメインを含む予めクローニングされた「部分ベクター」、及び4)哺乳動物発現ベクター骨格を組み立てるためにGolden Gateクローニングを用いて生成した。融合された重鎖(HC)を、ピューロマイシン選択カセットによりベクター骨格へと組み立て、軽鎖(LC)を、ハイグロマイシン選択カセットによりベクター骨格へと組み立てた。構築物をCHO細胞内で発現させ、精製し、10mg/mLになるまで濃縮し、実施例4に

40

50

記載されるようにアッセイした。

【 0 4 0 1 】

【 表 4 2 】

表 22: IL-10 突然変異タンパク質-TREM-1 抗体における脱アミド化ホットスポット

TREM1/ IL-10 融合クローン	融合位置	重鎖配列番号
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[N10Q,L46K,L103E,リンカー[G1V]]	C 末端	2726
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[N10Q,L46K,L103E,リンカー[G1A]]	C 末端	2727
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[N10K,L46K,L103E,リンカー[G1A]]	C 末端	2728
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[N10I,L46K,L103E,リンカー[G1A]]	C 末端	2729
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[N10Q,L46K,L103E,リンカー[G1A]]	C 末端	2730
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[N10Q,L46K,L103E,リンカー[G1V]]	C 末端	2731
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[N10K,L46K,L103E,リンカー[G1A]]	C 末端	2732
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[N10Q,L46K,R110P,リンカー[G1A]]	C 末端	2733
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[L46K,R110P,リンカー[G1A]]	C 末端	2734
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[N10I,L46K,L103E,R110P,リンカー[G1A]]	C 末端	2735
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[L46K,L103E,リンカー[G1V]]	C 末端	2736
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[N10I,L46K,R110P,リンカー[G1A]]	C 末端	2737
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[L46K,L103E,リンカー[G1A]]	C 末端	2738
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[N10I,L46K,L103E,R110P,リンカー[G1A]]	C 末端	2739
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[N10I,L46K,R110P,リンカー[G1A]]	C 末端	2740
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[N10Q,L46K,R110P,リンカー[G1A]]	C 末端	2741
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[L46K,L103E,リンカー[G1A]]	C 末端	2742
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[L46K,L103E,リンカー[G1V]]	C 末端	2743
huIL10[L46K,L103E,リンカー[G1A]]_2xG4S_TREM1_63F8.001	N 末端	2744
huIL10[L46K,L103E,リンカー[G1A]]_2xG4S_TREM1_64D7.001	N 末端	2745
huIL10[L46K,L103E,リンカー[G1V]]_2xG4S_TREM1_63F8.001	N 末端	2746
huIL10[L46K,L103E,リンカー[G1V]]_2xG4S_TREM1_64D7.001	N 末端	2747
huIL10[N10I,L46K,L103E,リンカー[G1A]]_2xG4S_TREM1_63F8.001	N 末端	2748
huIL10[N10I,L46K,L103E,リンカー[G1A]]_2xG4S_TREM1_64D7.001	N 末端	2749
huIL10[N10I,L46K,L103E,リンカー[G1V]]_2xG4S_TREM1_63F8.001	N 末端	2750
huIL10[N10I,L46K,L103E,リンカー[G1V]]_2xG4S_TREM1_64D7.001	N 末端	2751
huIL10[N10Q,L46K,L103E,リンカー[G1A]]_2xG4S_TREM1_63F8.001	N 末端	2752
huIL10[N10Q,L46K,L103E,リンカー[G1A]]_2xG4S_TREM1_64D7.001	N 末端	2753
huIL10[N10Q,L46K,L103E,リンカー[G1V]]_2xG4S_TREM1_63F8.001	N 末端	2754
huIL10[N10Q,L46K,L103E,リンカー[G1V]]_2xG4S_TREM1_64D7.001	N 末端	2755

10

20

30

40

【 0 4 0 2 】

50

【表 4 3】

TREM1_63F8.001_Fab_huIL10[L46K,L103E,リンカー[G1A]]_Fc	埋め込まれた	2756
TREM1_63F8.001_Fab_huIL10[L46K,L103E,リンカー[G1V]]_Fc	埋め込まれた	2757
TREM1_63F8.001_Fab_huIL10[N10I,L46K,L103E,リンカー[G1A]]_Fc	埋め込まれた	2758
TREM1_63F8.001_Fab_huIL10[N10I,L46K,L103E,リンカー[G1V]]_Fc	埋め込まれた	2759
TREM1_63F8.001_Fab_huIL10[N10Q,L46K,L103E,リンカー[G1A]]_Fc	埋め込まれた	2760
TREM1_63F8.001_Fab_huIL10[N10Q,L46K,L103E,リンカー[G1V]]_Fc	埋め込まれた	2761
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[L46K,R110P]	C 末端	2762
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[N10I,L46K,L103E,リンカー[G1A]]	C 末端	2763
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[N10I,L46K,L103E]	C 末端	2764
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[N10Q,L46K,L103E,N116Q]	C 末端	2765
TREM1_63F8.001_G4S_huIL10[N10Q,L46K,L103E]	C 末端	2766
TREM1_64D7.001_Fab_huIL10[L46K,L103E,リンカー[G1A]]_Fc	埋め込まれた	2767
TREM1_64D7.001_Fab_huIL10[L46K,L103E,リンカー[G1V]]_Fc	埋め込まれた	2768
TREM1_64D7.001_Fab_huIL10[N10I,L46K,L103E,リンカー[G1A]]_Fc	埋め込まれた	2769
TREM1_64D7.001_Fab_huIL10[N10I,L46K,L103E,リンカー[G1V]]_Fc	埋め込まれた	2770
TREM1_64D7.001_Fab_huIL10[N10Q,L46K,L103E,リンカー[G1A]]_Fc	埋め込まれた	2771
TREM1_64D7.001_Fab_huIL10[N10Q,L46K,L103E,リンカー[G1V]]_Fc	埋め込まれた	2772
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[L46K,R110P,リンカー[G1A]]	C 末端	2773
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[L46K,R110P]	C 末端	2774
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[N10I,L46K,L103E]	C 末端	2775
TREM1_64D7.001_G4S_huIL10[N10Q,L46K,L103E]	C 末端	2776

10

20

【0403】

表 2 2 中の重鎖を、それらのそれぞれの軽鎖パートナー、例えばクローン 6 3 F 8 . 0 0 1 について配列番号 9 7 6 又は配列番号 2 5 5 4 (ただし、シグナル配列 M D M R V P A Q L L G L L L L W L R G A R C (配列番号 2 6 7 4) を欠き、且つ 6 4 D 7 . 0 0 1 について配列番号 9 9 2 又は配列番号 2 5 5 5 (ただし、シグナル配列 M D M R V P A Q L L G L L L L W L R G A R C (配列番号 2 6 7 4) を欠く) と対形成させた。脱アミド化部位を固定し、中程度に高い濃度 (10 mg / mL) で、40 のストレスの 10 日後、低い凝集を保持した、I L - 1 0 M 1 突然変異のいくつかの組合せが同定された。

30

【0404】

40

50

【表 4 4】

表 23: 抗 TREM1 抗体 63F8 及び 64D7 に連結された操作 IL-10M1 突然変異タンパク質の抗原結合タンパク質についての生成及び安定性データ

名称	力価 (mg/L)	最終 収量 (mg/L)	SEC pre-MP (%)	SEC に よる % HMW	純度 MCE NR (%)	デルタ% HMW (2 wk 40C)	デルタ% 主ピーク (2 wk 40C)
TREM1_63F8.001_G4S_HUIL10[N10Q,L46K,L103E,リンカー[G1V]]	305	415	97	2.79	98	3.4	1.07
TREM1_63F8.001_G4S_HUIL10[N10Q,L46K,L103E,リンカー[G1A]]	325	430	96.8	2.94	97	3.4	0.96
TREM1_63F8.001_G4S_HUIL10[N10K,L46K,L103E,リンカー[G1A]]	303	405	96.3	3.32	97	3.8	1.32
TREM1_64D7.001_G4S_HUIL10[N10I,L46K,L103E,リンカー[G1A]]	315	339	99	0.89	98	7.2	0.75
TREM1_64D7.001_G4S_HUIL10[N10Q,L46K,L103E,リンカー[G1A]]	309	312	93.9	1.35	97	5	0.43
TREM1_64D7.001_G4S_HUIL10[N10Q,L46K,L103E,リンカー[G1V]]	331	318	98.6	1.33	97	10.2	0.51
TREM1_64D7.001_G4S_HUIL10[N10K,L46K,L103E,リンカー[G1A]]	285	295	97.6	2.17	96	11.1	0.66
TREM1_63F8.001_G4S_HUIL10[N10Q,L46K,R110P,リンカー[G1A]]	268	358	97.9	1.95	99	1.7	0.22
TREM1_63F8.001_G4S_HUIL10[L46K,R110P,リンカー[G1A]]	309	463	98	1.86	98	2.1	0.59
TREM1_63F8.001_G4S_HUIL10[N10I,L46K,L103E,R110P,リンカー[G1A]]	303	444	97.8	2.02	98	2.1	0.54
TREM1_63F8.001_G4S_HUIL10[L46K,L103E,リンカー[G1V]]	298	443	98.2	1.61	98	2.7	1.04
TREM1_63F8.001_G4S_HUIL10[N10I,L46K,R110P,リンカー[G1A]]	292	408	97.6	2.22	98	2.5	0.64
TREM1_63F8.001_G4S_HUIL10[L46K,L103E,リンカー[G1A]]	307	443	98.1	1.64	98	3.2	1.3
TREM1_64D7.001_G4S_HUIL10[N10I,L46K,L103E,R110P,リンカー[G1A]]	329	384	98.8	1.12	99	2.5	-0.1
TREM1_64D7.001_G4S_HUIL10[N10I,L46K,R110P,リンカー[G1A]]	356	377	98.6	1.39	98	3	0.04
TREM1_64D7.001_G4S_HUIL10[N10Q,L46K,R110P,リンカー[G1A]]	232	242	98.9	1.01	99	3.6	-0.03
TREM1_64D7.001_G4S_HUIL10[L46K,L103E,リンカー[G1A]]	341	370	98.6	1.26	98	9	0.33
TREM1_64D7.001_G4S_HUIL10[L46K,L103E,リンカー[G1V]]	321	363	98.6	1.26	98	9	0.4

10

20

30

【0 4 0 5】

ヒト TREM1 及びカニクイザル TREM1 に対する選択された融合タンパク質の親和性を、BIACORE (商標) 分析 (BIACORE (商標) T200、Sensor Chip: SCM5) によって測定した。BIACORE (商標) 条件は、サンプル: IL10 / TREM1 滴定のために 0.244 nM ~ 500 nM の範囲; 結合: 50 µl / 分で 3 分間; 解離: IL10 のために 15 分間及び 50 µl / 分で TREM1 のために 30 分間; 再生: 30 秒間にわたって 30 µl / 分 (2 回) で、10 mM のグリシン、pH 7.5 を含む。

【0 4 0 6】

親和性を、細胞安定にトランスフェクトされた Sf21 からの huIL10R タンパク質 # 274 及びヒト HEK293 細胞内で発現された huIL10R タンパク質 # 9100 に対して測定した。結果が表 24 に示される。

40

【0 4 0 7】

50

【表 4 5】

表 24: ヒト TREM-1、カンクイザル TREM-1 又は IL-10R のための選択された融合タンパク質の BIACORE™親和性分析の結果

サンプル	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	Rmax (RU)	χ^2 (RU ²)	リガンド	モデル
抗 huTREM1 61B12 G4S huIL10M1 Q38E IgG-タンパク質	4.78E+05	1.76E-02	3.68E-08	103.1	5.23	huIL10R 274	1:1 結合
抗 huTREM1 64D7 G4S huIL10M1 L46K IgG-タンパク質	2.92E+05	1.62E-02	5.55E-08	145.1	10	huIL10R 274	1:1 結合
抗 huTREM1 61B12 G4S huIL10M1 L46K IgG-タンパク質	3.42E+05	1.93E-02	5.63E-08	139.9	8.84	huIL10R 274	1:1 結合
抗 huTREM1 63F8 G4S huIL10M1 L46K IgG-タンパク質	3.21E+05	1.85E-02	5.78E-08	135.3	9.31	huIL10R 274	1:1 結合
抗 huTREM1 61B12 G4S huIL10M1 Q38E IgG-タンパク質	1.25E+05	2.09E-02	1.67E-07	103.5	1.83	huIL10R 9100	1:1 結合
抗 huTREM1 61B12 G4S huIL10M1 L46K IgG-タンパク質	8.23E+04	1.86E-02	2.25E-07	121.7	2.16	huIL10R 9100	1:1 結合
抗 huTREM1 64D7 G4S huIL10M1 L46K IgG-タンパク質	1.08E+05	2.61E-02	2.43E-07	124.1	2.35	huIL10R 9100	1:1 結合
抗 huTREM1 63F8 G4S huIL10M1 L46K IgG-タンパク質	1.30E+05	3.16E-02	2.43E-07	119.7	2.35	huIL10R 9100	1:1 結合

10

20

【 0 4 0 8 】

30

40

50

【表 4 6】

サンプル	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	Rmax (RU)	χ^2 (RU ²)	リガンド	モデル
抗 huTREM1 64D7 G4S huIL10M1 L46K IgG-タンパク質	3.18E+05	5.84E-05	1.84E-10	96.1	11	huTREM1 ECD	1:1 結合
抗 huTREM1 63F8 G4S huIL10M1 L46K IgG- タンパク質	3.66E+05	7.92E-05	2.17E-10	133.7	16.3	huTREM1 ECD	1:1 結合
抗 huTREM1 61B12 G4S huIL10M1 L46K IgG-タンパク質	1.69E+05	3.77E-05	2.23E-10	114.1	11.4	huTREM1 ECD	1:1 結合
抗 huTREM1 61B12 G4S huIL10M1 Q38E IgG-タンパク質	1.63E+05	3.73E-05	2.29E-10	89.3	5.2	huTREM1 ECD	1:1 結合
抗 huTREM1 64D7 G4S huIL10M1 L46K IgG-タンパク質	1.86E+05	1.59E-04	8.51E-10	91.8	8.02	cyTREM1 ECD	1:1 結合
抗 huTREM1 61B12 G4S huIL10M1 Q38E IgG-タンパク質	1.78E+05	2.03E-04	1.14E-09	90.1	4.91	cyTREM1 ECD	1:1 結合
抗 huTREM1 61B12 G4S huIL10M1 L46K IgG-タンパク質	1.78E+05	2.24E-04	1.25E-09	110.5	8.92	cyTREM1 ECD	1:1 結合
抗 huTREM1 63F8 G4S huIL10M1 L46K IgG- タンパク質	3.75E+05	5.26E-04	1.40E-09	133.6	10.6	cyTREM1 ECD	1:1 結合

10

20

30

【 0 4 0 9 】

HuTREM1及びカニクイザルTREM1は、選択された融合分子との堅い安定した結合を示す。試験される2 huIL10Rのうち、huIL10R 274は、バージョン9100と比較して、より強力な結合(10倍差)を示した。IL10R 274を、今後の試験のために選択した。

【 0 4 1 0 】

実施例6 - ヒト末梢血単核細胞(PBMC)におけるTREM-1抗体ブロッキングリガンド媒介性シグナル伝達の有効性

TREM-1抗体を、ヒトPBMCにおけるTREM-1受容体へのリガンド結合の阻害により、シグナル伝達をブロックする能力について試験した。凍結されたヒトPBMC(IQ Biosciences)を解凍し、洗浄し、完全細胞培養培地(RPMI/10%のFBS/2mMのGlutaMax/1mMのピルビン酸ナトリウム/44uMの-メルカプトエタノール/1xDNAse I)中で再度懸濁させた。PBMCを、100K/ウェルで96ウェル細胞培養プレートに播種し、37で少なくとも30分間にわたって平衡化させた。13の抗TREM-1抗体を、0.000017nM~3nMの範囲の最終的な抗体濃度を生成するために、RPMI/10%のFBS中で希釈した(3倍連続希釈)。より高い濃度の抗体を用いたこのアッセイの以前の反復において、シグナル伝達の任意の阻害を実証することができなかつたため、抗体57F5を、この分析から除外した。抗体を、TREM-1リガンドの付加前に30分間にわたってPBMCと共に

40

50

ブレインキュベートした。ペプチドグリカン (P G N) と複合体形成されたペプチドグリカン認識タンパク質 1 (P G L Y R P 1) は、いくつかの記載される T R E M - 1 リガンドの 1 つであり、 T R E M - 1 受容体とのその噛み合いが炎症性サイトカイン (例えば T N F) の産生を引き起こし、これらのアッセイにおいて使用された。タンパク質を複合体化するために、ヒト P G L Y R P 1 (R & D S y s t e m s) を、 1 . 2 5 : 2 の比率で、大腸菌 (E . c o l i) に由来する可溶性 P G N (I n v i v o G e n) と組み合わせ、 3 7 ° C で 4 5 分間インキュベートした。複合体化された P G L Y R P 1 / P G N を、 P B M C / 抗体に加え、 3 7 ° C で一晩インキュベートした。翌日、細胞培地を回収し、ヒト T N F α A l p h a l i s a 近接アッセイ (P e r k i n E l m e r) によって T N F α についてアッセイした。 6 1 5 n m における発光を、 E n v i s i o n 2 1 0 3 マルチラベルプレートリーダーにおいて測定した。 I C 5 0 値を、 G r a p h P a d P r i s m (v 8 . 4 . 3) を用いて計算し、以下の表 2 5 において 2 つの別個のアッセイのために提供した。

10

【 0 4 1 1 】

【表 4 7】

表 25. TNF α 放出によって測定した際のヒト PBMC におけるリガンド媒介性シグナル伝達の TREM-1 抗体阻害

抗体 ID	Ab IC50-ヒト PBMC (試験 1) pM	Ab IC50-ヒト PBMC (試験 2) pM
57C10	8.8	7.2
30H2	6.9	ND
61B12	8.0	ND
61G5	10.2	2.7
63F8	3.8	3.1
64D7	4.3	2.4
34D1	10.0	6.9
44A5	3.5	6.1
46H7	6.3	4.4
49A2	3.1	3.3
66B8	31.6	ND
50A12	3.3	3.6
57F5	nd	nd
3E12	阻害なし	nd

20

30

【 0 4 1 2 】

これらの結果は、 T R E M - 1 抗体がヒト T R E M - 1 に結合し、重要なことに、ヒト初代細胞 (P B M C) におけるリガンド誘導性 T R E M - 1 活性化の阻害を実証することを示す。

40

【 0 4 1 3 】

実施例 7 - カニクイザル末梢血単核細胞 (P B M C) における T R E M - 1 抗体ブロッキングリガンド媒介性シグナル伝達の有効性

T R E M - 1 抗体を、カニクイザル P B M C における T R E M - 1 受容体へのリガンド結合の阻害によってシグナル伝達をブロックすることについてアッセイした。凍結されたカニクイザル P B M C (I Q B i o s c i e n c e s) を解凍し、洗浄し、完全細胞培養培地 (R P M I / 1 0 % の F B S / 2 m M の G l u t a M a x / 1 m M のピルビン酸ナトリウム / 4 4 μ M の β -メルカプトエタノール / 1 \times D N A s e I) 中で再度懸濁さ

50

せた。PBMCを、100K/ウェルで96ウェル細胞培養プレートに播種し、37で少なくとも30分間にわたって平衡化させた。14の抗TREM-1抗体を、0.00017nM~30nMの範囲の最終的な抗体濃度を生成するために、RPMI/10%のFBS中で希釈した(3倍連続希釈)。抗体を、TREM-1リガンドの付加前に30分間にわたってPBMCと共にプレインキュベートした。ペプチドグリカン(PGN)と複合体形成されたペプチドグリカン認識タンパク質1(PGLYRP1)は、いくつかの記載されるTREM-1リガンドの1つであり、TREM-1受容体とのその噛み合いが炎症性サイトカイン(例えばTNF)の産生を引き起こし、このアッセイにおいて使用された。タンパク質を複合体化するために、カニクイザルPGLYRP1(Creative Biomart)を、1.25:2の比率で、大腸菌(E.coli)に由来する可溶性PGN(InvivoGen)と組み合わせて且つ37で45分間インキュベートした。複合体化されたPGLYRP1/PGNを、PBMC/抗体に加え、37で一晩インキュベートした。翌日、細胞培地を回収し、カニクイザルTNF AlphaLISA近接アッセイ(Perkin Elmer)によってTNFについてアッセイした。615nmにおける発光を、Envision 2103マルチラベルプレートリーダーにおいて測定した。IC50値を、GraphPad Prism(v8.4.3)を用いて計算し、表26において2つの別個のアッセイのために提供した。

10

【0414】

【表48】

20

表 26. TNF α 放出によって測定した際のカニクイザル PBMC におけるリガンド媒介性シグナル伝達の TREM-1 抗体阻害

抗体 ID	Ab IC50- カニクイザル PBMC (試験 1) pM	Ab IC50- カニクイザル PBMC (試験 2) pM
57C10	153.8	28.4
30H2	3768	阻害なし
61B12	46.9	17.4
61G5	阻害なし	2338
63F8	22.6	16.1
64D7	6939	780.5
34D1	100.1	16.2
44A5	57.9	9.1
46H7	95.1	9.7
49A2	731.5	265.7
66B8	113.9	23.2
50A12	2005	nd
57F5	阻害なし	nd
3E12	阻害なし	阻害なし

30

40

【0415】

これらの結果は、TREM-1抗体がカニクイザルTREM-1に結合し、重要なことに、カニクイザル初代細胞(PBMC)におけるリガンド誘導性TREM-1活性化を阻害することを示す。さらに、図6は、カニクイザル及びヒトPBMCの両方においてPGLYRP1/PGN媒介性TREM1シグナル伝達のTREM1抗体阻害を示す。

【0416】

50

実施例 8 - ヒト TREM - 1 / Dap12 - HEK293 過剰発現細胞株における TREM - 1 Fab プロッキング脾臓チロシンキナーゼ (SYK) リン酸化の有効性。

TREM - 1 Fab を、ヒト TREM - 1 / Dap12 を過剰発現する細胞株における TREM - 1 受容体へのリガンド結合の阻害によってシグナル伝達をブロックする能力についてアッセイし、IC50 を決定した。脾臓チロシンキナーゼ (SYK) のリン酸化は、TREM - 1 シグナル伝達カスケードの初期の工程であり、このアッセイにおいて、TREM - 1 シグナル伝達の尺度として使用される。12 kDa (Dap12) のヒト TREM - 1 及びその必須のアダプタータンパク質 DNA X 活性化タンパク質を過剰発現する HEK293 細胞を、完全培地 (DMEM / 10% の FBS) 中で 50 K / ウェルにおいて CellBIND プレート (Corning) に播種し、一晚結合させた。2 価 TREM - 1 抗体は、この系においてシグナル伝達を阻害することができなかったが、これは、これらの細胞内の多量の TREM - 1 受容体の技術的人工物及びそれらに架橋してリガンドとは無関係の受容体アゴニズムをもたらす 2 価抗体の能力に起因する可能性が高い。したがって、1 価 Fab を、このアッセイにおいて完全抗体の代用として使用した。14 の抗 TREM - 1 Fab を、0.00017 nM ~ 30 nM の範囲の最終的な抗体濃度を生成するために、完全培地中で希釈した (3 倍連続希釈)。Fab を、TREM - 1 リガンド複合体化ヒト PGLYRP1 (R&D Systems) 及び大腸菌 (E. coli) に由来する可溶性 PGN (InvivoGen) の付加前に 30 分間にわたって、TREM - 1 / Dap12 - HEK293s と共にプレインキュベートした。PGLYRP1 及び PGN を複合体化するために、タンパク質を、1:2 の比率で組み合わせて、37 度 45 分間インキュベートしてから、細胞 / Fab に加えた。1 時間の室温インキュベーション後、細胞を溶解させ、細胞溶解物中のリン酸化 SYK の量を、pSYK ALPHALISA (登録商標) SUREFIRE (登録商標) Ultra (商標) p-SYK (Tyr525 / 526) アッセイ (Perkin Elmer) を用いて測定した。615 nm における発光を、Envision 2103 マルチラベルプレートリーダーにおいて測定した。IC50 値は、GraphPad Prism (v8.4.3) を用いて計算され、表 27 に示されるように、2 つの別個のアッセイに提供される。

【0417】

10

20

30

40

50

【表 4 9】

表 27. SYK リン酸化によって測定した際のヒト TREM-1/DAP12 を過剰発現する細胞株におけるリガンド媒介性シグナル伝達の抗体阻害

Fab ID	Fab IC50-pSYK アッセイ(試験 1) pM	Fab IC50-pSYK アッセイ(試験 2) pM
57C10 Fab	273.4	582.9
30H2 Fab	467.2	374.5
61B12 Fab	112.0	568.8
61G5 Fab	387.0	186.4
63F8 Fab	45.2	38.0
64D7 Fab	229.1	70.0
34D1 Fab	313.8	309.2
44A5 Fab	188.9	325.0
46H7 Fab	43.3	116.9
49A2 Fab	1175	786.9
66B8 Fab	4662	nd
50A12 Fab	2850	nd
57F5 Fab	阻害なし	nd
3E12 Fab	阻害なし	nd

10

20

【0418】

図 7 は、抗 TREM1 Fab が TREM1 / DAP12 - HEK293 細胞における PGLYRP1 / PGN 媒介性 SYK リン酸化を阻害することを示すグラフである。

【0419】

本明細書におけるいずれかの単一の実施形態に対して、本明細書におけるいずれか 1 つ以上の他の実施形態からの 1 つ以上の要素が追加され得る。

30

【0420】

したがって、本発明は、開示される特定の実施形態に限定されず、添付の特許請求の範囲；上記の説明；以下の番号付けられた段落によって規定され、且つ/又は添付の図面に示される、本発明の趣旨及び範囲内にある全ての変更形態を包含することが意図されることが理解される。

【0421】

実施形態の例：

段落 1 . 配列番号 2 に記載されるアミノ酸配列と少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列を含むヒトインターロイキン - 10 (IL - 10) 突然変異タンパク質であって、ヘリックスループ AB、ヘリックスループ CD、ヘリックスループ DE、ヘリックス A、ヘリックス B、ヘリックス C、ヘリックス D、ヘリックス E 及び/又はヘリックス F における突然変異から選択される少なくとも 1 つの突然変異を有するヒトインターロイキン - 10 (IL - 10) 突然変異タンパク質。

40

【0422】

段落 2 . ヘリックス A における少なくとも 1 つの突然変異を含む、段落 1 に記載の IL - 10 突然変異タンパク質。

【0423】

段落 3 . ヘリックス F における少なくとも 1 つの突然変異を含む、段落 1 に記載の IL - 10 突然変異タンパク質。

50

【 0 4 2 4 】

段落 4 . ヘリックスループ A B における少なくとも 1 つの突然変異を含む、段落 1 に記載の I L - 1 0 突然変異タンパク質。

【 0 4 2 5 】

段落 5 . 配列番号 2 の残基 N 1 0、H 1 4、F 1 5、P 2 0、M 2 2、L 2 3、R 2 4、R 2 7、D 2 8、K 3 4、T 3 5、Q 3 8、M 3 9、K 4 0、D 4 1、Q 4 2、L 4 3、D 4 4、N 4 5、L 4 6、L 4 7、L 4 8、K 4 9、F 5 6、K 5 7、Y 5 9、L 6 0、Q 6 3、E 6 7、Q 7 0、M 7 7、Q 7 9、N 8 2、Q 8 3、D 8 4、P 8 5、D 8 6、I 8 7、A 8 9、H 9 0、S 9 3、T 1 0 0、L 1 0 3、H 1 0 9、R 1 1 0、L 1 1 2、E 1 1 5、N 1 1 6、A 1 2 7、K 1 3 0、I 1 3 6、Y 1 3 7、K 1 3 8、S 1 4 1、E 1 4 2、D 1 4 4、I 1 4 5、E 1 5 1、M 1 5 4、M 1 5 6、K 1 5 7 若しくは N 1 6 0 の 1 つ以上における突然変異又はヘリックス D とヘリックス E との間の 4 ~ 8 個のアミノ酸の付加を含む、段落 1 ~ 4 のいずれか 1 つに記載の I L - 1 0 突然変異タンパク質。

10

【 0 4 2 6 】

段落 6 . 配列番号 2 に記載されるアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一である、段落 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載の I L - 1 0 突然変異タンパク質。

【 0 4 2 7 】

段落 7 . 突然変異は、ヘリックス D とヘリックス E との間の 6 個のアミノ酸の付加を任意選択的に含む、配列番号 2 の N 1 0 Q、N 1 0 I、N 1 0 K、R 2 7 L、K 3 4 D、D 4 1 G、L 4 6 K、Q 3 8 E、Q 3 8 R、Q 3 8 D、K 1 3 8 L、K 1 3 8 D、I 8 7 A、H 1 4 Q、F 1 5 Y、M 2 2 V、K 4 9 T、K 4 9 S、F 5 6 Y、K 5 7 N、Y 5 9 T、L 6 0 Q、Q 6 3 E、Q 6 3 L、E 6 7 C、Q 7 0 E、Q 7 0 K、M 7 7 R、M 7 7 V、Q 7 9 R、Q 7 9 C、D 8 4 R、A 8 9 P、H 9 0 E、H 9 0 Q、S 9 3 E、S 9 3 Q、T 1 0 0 R、L 1 0 3 E、H 1 0 9 D、R 1 1 0 P、R 1 1 0 Q、L 1 1 2 V、E 1 1 5 K、N 1 1 6 D、N 1 1 6 Q、A 1 2 7 M、K 1 3 0 Q、I 1 3 6 C、Y 1 3 7 C、M 1 5 4 V、M 1 5 6 C、K 1 5 7 N 又は N 1 6 0 D の 1 つ以上である、段落 1 ~ 6 のいずれか 1 つに記載の I L - 1 0 突然変異タンパク質。

20

【 0 4 2 8 】

段落 8 . 単球における T N F - 産生の抑制を低下させ、C D 8 + T 細胞刺激のレベルを低下させ、且つ / 又はヒト対象における B 細胞刺激を低下させる、段落 1 ~ 7 のいずれか 1 つに記載の I L - 1 0 突然変異タンパク質。

30

【 0 4 2 9 】

段落 9 . ヘリックス D とヘリックス E との間のアミノ酸は、G G G S G G (配列番号 2 6 7 6) である、段落 5 ~ 7 のいずれか 1 つに記載の I L - 1 0 突然変異タンパク質。

【 0 4 3 0 】

段落 1 0 . 配列番号 3 ~ 1 0 又は配列番号 2 1 3 8、2 1 4 0、2 1 4 2、2 1 4 4、2 1 4 6、2 1 4 8、2 1 5 0、2 1 5 2、2 1 5 4、2 1 5 6、2 1 5 8、2 1 6 0、2 1 6 2、2 1 6 4、2 1 6 6、2 1 6 8、2 1 7 0、2 1 7 2、2 1 7 4、2 1 7 6、2 1 7 8、2 1 8 0、2 1 8 2、2 3 6 0、2 3 6 2、2 3 6 4、2 3 6 6、2 3 6 8、2 3 7 0、2 3 7 2、2 3 7 4、2 3 7 6、2 3 7 8、2 3 8 0、2 3 8 2、2 3 8 4、2 3 8 6、2 3 8 8、2 3 9 0、2 3 9 2、2 3 9 4、2 3 9 6、2 3 9 8、2 4 0 0、2 4 0 2、2 4 0 4、2 4 0 6、2 4 0 8、2 4 1 0、2 4 1 2、2 4 1 4、2 4 1 6、2 4 1 8、2 4 2 0、2 4 2 2、2 4 2 4、2 4 2 6、2 4 2 8、2 4 3 0、2 4 3 2、2 4 3 4、2 4 3 6、2 4 3 8、2 4 4 0、2 4 4 2、2 4 4 4、2 4 4 6、2 4 4 8、2 4 5 0、2 4 5 2、2 4 5 4、2 4 5 6、2 4 5 8、2 4 6 0、2 4 6 2、2 4 6 4、2 4 6 6、2 4 6 8、2 4 7 0、2 4 7 2、2 4 7 4、2 4 7 6、2 4 7 8、2 4 8 0、2 4 8 2、2 4 8 4、2 4 8 6、2 4 8 8、2 4 9 0、2 4 9 2、2 4 9 4、2 4 9 6、2 5 0 0、2 5 0 2、2 5 0 4、2 5 0 6、2 5 0 8、2 5 1 0、2 5 1 2、2 5 1 4、2 5 1 6、2 5 1 8、2 5 2 0、2 5 2 2、2 5 2 4、2 5 2 6、2 5 2 8、2 5 3 0、

40

50

2532、2534、2536、2538、2540及び2777～2791のいずれか1つに記載されるアミノ酸配列を有する、段落1～9のいずれか1つに記載のIL-10突然変異タンパク質。

【0431】

段落11．配列番号2に記載されるアミノ酸配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含むヒトインターロイキン-10(IL-10)突然変異タンパク質であって、配列番号2の残基N10、H14、F15、P20、M22、L23、R24、R27、D28、K34、T35、Q38、M39、K40、D41、Q42、L43、D44、N45、L46、L47、L48、K49、F56、K57、Y59、L60、Q63、E67、Q70、M77、Q79、N82、Q83、D84、P85、D86、I87、A89、H90、S93、T100、L103、H109、R110、L112、E115、N116、A127、K130、I136、Y137、K138、S141、E142、D144、I145、E151、M154、M156、K157又はN160の1つ以上における少なくとも1つの突然変異を有するヒトインターロイキン-10(IL-10)突然変異タンパク質。

10

【0432】

段落12．半減期延長部分をさらに含む、段落1～11のいずれか1つに記載のIL-10突然変異タンパク質。

【0433】

段落13．半減期延長部分は、Fcドメインである、段落12に記載のIL-10突然変異タンパク質。

20

【0434】

段落14．半減期延長部分は、ポリエチレングリコール(PEG)である、段落13に記載のIL-10突然変異タンパク質。

【0435】

段落15．二量体である、段落1～14のいずれか1つに記載のIL-10突然変異タンパク質。

【0436】

段落16．段落1～15のいずれか1つに記載のIL-10突然変異タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子。

30

【0437】

段落17．発現制御配列に動作可能に連結された段落16に記載の核酸分子を含む発現ベクター。

【0438】

段落18．段落16に記載の核酸又は段落17に記載のベクターを含む組み換え宿主細胞。

【0439】

段落19．哺乳動物細胞である、段落18に記載の宿主細胞。

【0440】

段落20．CHO細胞である、段落18又は19に記載の宿主細胞。

40

【0441】

段落21．段落18～20のいずれか1つに記載の宿主細胞を使用して、IL-10突然変異タンパク質を生成する方法であって、宿主細胞を培養し、IL-10突然変異タンパク質を回収することを含む方法。

【0442】

段落22．段落21に記載の方法によって生成されるIL-10突然変異タンパク質。

【0443】

段落23．段落1～15のいずれか1つに記載のIL-10突然変異タンパク質及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。

【0444】

50

段落 24 . 単離された抗原結合タンパク質であって、

a . 抗体又は抗体フラグメントであり；

b . 配列番号 20 に記載されるアミノ酸配列を有するヒト T R E M - 1 に結合し；

c . 軽鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号 30、50、70、90、110、130、150、170、190、210、230、250、270、290 及び 2190 から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1；

i i . 配列番号 31、51、71、91、111、131、151、171、191、211、231、251、271、291 及び 2191 から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2；

i i i . 配列番号 32、52、72、92、112、132、152、172、192、212、232、252、272、292 及び 2192 から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3

を含む軽鎖可変ドメインを含み；及び

d . 重鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号 36、56、76、96、116、136、156、176、196、216、236、256、276、296 及び 2196 から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1；

i i . 配列番号 37、57、77、97、117、137、157、177、197、217、237、257、277、297 及び 2197 から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2；及び

i i i . 配列番号 38、58、78、98、118、138、158、178、198、218、238、258、278、298 及び 2198 から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3

を含む重鎖可変ドメインを含む、単離された抗原結合タンパク質。

【0445】

段落 25 .

a . 軽鎖 C D R 1 配列は、配列番号 30、50、70、110、150、170 又は 290 に記載され；

b . 軽鎖 C D R 2 配列は、配列番号 31、51、71、111、151、171 又は 291 に記載され；

c . 軽鎖 C D R 3 配列は、配列番号 32、52、72、112、152、172 又は 292 に記載され；

d . 重鎖 C D R 1 配列は、配列番号 36、56、76、116、156、176 及び 296 に記載され；

e . 重鎖 C D R 2 配列は、配列番号 37、57、77、117、157、177 及び 297 に記載され；

f . 重鎖 C D R 3 配列は、配列番号 38、58、78、118、158 及び 298 に記載される、段落 24 に記載の抗原結合タンパク質。

【0446】

段落 26 .

a . 軽鎖 C D R 1 配列は、配列番号 50 又は 110 に記載され；

b . 軽鎖 C D R 2 配列は、配列番号 51 又は 111 に記載され；

c . 軽鎖 C D R 3 配列は、配列番号 52 又は 112 に記載され；

d . 重鎖 C D R 1 配列は、配列番号 56 又は 116 に記載され；

e . 重鎖 C D R 2 配列は、配列番号 57 又は 117 に記載され；

f . 重鎖 C D R 3 配列は、配列番号 58 又は 118 に記載される、段落 24 又は 25 に記載の抗原結合タンパク質。

【0447】

段落 27 .

10

20

30

40

50

i) 配列番号 30 (LCDR1)、配列番号 31 (LCDR2)、配列番号 32 (LCDR3)、配列番号 36 (HCDR1)、配列番号 37 (HCDR2) 及び配列番号 38 (HCDR3) ;

ii) 配列番号 50 (LCDR1)、配列番号 51 (LCDR2)、配列番号 52 (LCDR3)、配列番号 56 (HCDR1)、配列番号 57 (HCDR2) 及び配列番号 58 (HCDR3) ;

iii) 配列番号 70 (LCDR1)、配列番号 71 (LCDR2)、配列番号 72 (LCDR3)、配列番号 76 (HCDR1)、配列番号 77 (HCDR2) 及び配列番号 78 (HCDR3) ;

iv) 配列番号 90 (LCDR1)、配列番号 91 (LCDR2)、配列番号 92 (LCDR3)、配列番号 96 (HCDR1)、配列番号 97 (HCDR2) 及び配列番号 98 (HCDR3) ;

v) 配列番号 110 (LCDR1)、配列番号 111 (LCDR2)、配列番号 112 (LCDR3)、配列番号 116 (HCDR1)、配列番号 117 (HCDR2) 及び配列番号 118 (HCDR3) ;

vi) 配列番号 130 (LCDR1)、配列番号 131 (LCDR2)、配列番号 132 (LCDR3)、配列番号 136 (HCDR1)、配列番号 137 (HCDR2) 及び配列番号 138 (HCDR3) ;

vii) 配列番号 150 (LCDR1)、配列番号 151 (LCDR2)、配列番号 152 (LCDR3)、配列番号 156 (HCDR1)、配列番号 157 (HCDR2) 及び配列番号 158 (HCDR3) ;

viii) 配列番号 170 (LCDR1)、配列番号 171 (LCDR2)、配列番号 172 (LCDR3)、配列番号 176 (HCDR1)、配列番号 177 (HCDR2) 及び配列番号 178 (HCDR3) ;

ix) 配列番号 190 (LCDR1)、配列番号 191 (LCDR2)、配列番号 192 (LCDR3)、配列番号 196 (HCDR1)、配列番号 197 (HCDR2) 及び配列番号 198 (HCDR3) ;

x) 配列番号 210 (LCDR1)、配列番号 211 (LCDR2)、配列番号 212 (LCDR3)、配列番号 216 (HCDR1)、配列番号 217 (HCDR2) 及び配列番号 218 (HCDR3) ;

xi) 配列番号 230 (LCDR1)、配列番号 231 (LCDR2)、配列番号 232 (LCDR3)、配列番号 236 (HCDR1)、配列番号 237 (HCDR2) 及び配列番号 238 (HCDR3) ;

xii) 配列番号 250 (LCDR1)、配列番号 251 (LCDR2)、配列番号 252 (LCDR3)、配列番号 256 (HCDR1)、配列番号 257 (HCDR2) 及び配列番号 258 (HCDR3) ;

xiii) 配列番号 270 (LCDR1)、配列番号 271 (LCDR2)、配列番号 272 (LCDR3)、配列番号 276 (HCDR1)、配列番号 277 (HCDR2) 及び配列番号 278 (HCDR3) ;

xiv) 配列番号 290 (LCDR1)、配列番号 291 (LCDR2)、配列番号 292 (LCDR3)、配列番号 296 (HCDR1)、配列番号 297 (HCDR2) 及び配列番号 298 (HCDR3) ; 又は

xv) 配列番号 2190 (LCDR1)、配列番号 2191 (LCDR2)、配列番号 2192 (LCDR3)、配列番号 2196 (HCDR1)、配列番号 2197 (HCDR2) 及び配列番号 2198 (HCDR3)

から選択される CDR アミノ酸配列の組を含む、段落 24 ~ 26 に記載の抗原結合タンパク質。

【0448】

段落 28 .

i) 配列番号 30 (LCDR1)、配列番号 31 (LCDR2)、配列番号 32 (LC

D R 3)、配列番号 3 6 (H C D R 1)、配列番号 3 7 (H C D R 2) 及び配列番号 3 8 (H C D R 3) ;

i i) 配列番号 5 0 (L C D R 1)、配列番号 5 1 (L C D R 2)、配列番号 5 2 (L C D R 3)、配列番号 5 6 (H C D R 1)、配列番号 5 7 (H C D R 2) 及び配列番号 5 8 (H C D R 3) ;

i i i) 配列番号 7 0 (L C D R 1)、配列番号 7 1 (L C D R 2)、配列番号 7 2 (L C D R 3)、配列番号 7 6 (H C D R 1)、配列番号 7 7 (H C D R 2) 及び配列番号 7 8 (H C D R 3) ;

i v) 配列番号 1 1 0 (L C D R 1)、配列番号 1 1 1 (L C D R 2)、配列番号 1 1 2 (L C D R 3)、配列番号 1 1 6 (H C D R 1)、配列番号 1 1 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 1 8 (H C D R 3) ;

v) 配列番号 1 5 0 (L C D R 1)、配列番号 1 5 1 (L C D R 2)、配列番号 1 5 2 (L C D R 3)、配列番号 1 5 6 (H C D R 1)、配列番号 1 5 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 5 8 (H C D R 3) ;

v i) 配列番号 1 7 0 (L C D R 1)、配列番号 1 7 1 (L C D R 2)、配列番号 1 7 2 (L C D R 3)、配列番号 1 7 6 (H C D R 1)、配列番号 1 7 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 7 8 (H C D R 3) ; 又は

v i i) 配列番号 2 9 0 (L C D R 1)、配列番号 2 9 1 (L C D R 2)、配列番号 2 9 2 (L C D R 3)、配列番号 2 9 6 (H C D R 1)、配列番号 2 9 7 (H C D R 2) 及び配列番号 2 9 8 (H C D R 3)

から選択される C D R アミノ酸配列の組を含む、段落 2 4 ~ 2 7 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 4 4 9 】

段落 2 9 . 配列番号 5 0 (L C D R 1)、配列番号 5 1 (L C D R 2)、配列番号 5 2 (L C D R 3)、配列番号 5 6 (H C D R 1)、配列番号 5 7 (H C D R 2) 及び配列番号 5 8 (H C D R 3) ; 及び配列番号 1 1 0 (L C D R 1)、配列番号 1 1 1 (L C D R 2)、配列番号 1 1 2 (L C D R 3)、配列番号 1 1 6 (H C D R 1)、配列番号 1 1 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 1 8 (H C D R 3) から選択される C D R アミノ酸配列の組を含む、段落 2 4 ~ 2 8 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 4 5 0 】

段落 3 0 .

a . 軽鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号 4 1、6 1、8 1、1 0 1、1 2 1、1 4 1、1 6 1、1 8 1、2 0 1、2 2 1、2 4 1、2 6 1、2 8 1、3 0 1 及び 2 1 8 5 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 8 0 % 同一である配列 ;

i i . 配列番号 4 1、6 1、8 1、1 0 1、1 2 1、1 4 1、1 6 1、1 8 1、2 0 1、2 2 1、2 4 1、2 6 1、2 8 1、3 0 1 及び 2 1 8 5 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 8 0 % 同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列 ; 又は

i i i . 配列番号 3 9、5 9、7 9、9 9、1 1 9、1 3 9、1 5 9、1 7 9、1 9 9、2 1 9、2 3 9、2 5 9、2 7 9、2 9 9 及び 2 1 8 3 から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジेंटな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン ; 及び

b . 重鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号 4 2、6 2、8 2、1 0 2、1 2 2、1 4 2、1 6 2、1 8 2、2 0 2、2 2 2、2 4 2、2 6 2、2 8 2、3 0 2 及び 2 1 8 6 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 8 0 % 同一である配列 ;

i i . 配列番号 4 2、6 2、8 2、1 0 2、1 2 2、1 4 2、1 6 2、1 8 2、2 0 2、2 2 2、2 4 2、2 6 2、2 8 2、3 0 2 及び 2 1 8 6 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 8 0 % 同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列 ; 又は

10

20

30

40

50

i i i . 配列番号 40、60、80、100、120、140、160、180、200、220、240、260、280、300 及び 2184 から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む、段落 24 ~ 29 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0451】

段落 31 . 配列番号 42、62、82、102、122、142、162、182、202、222、242、262、282、302 及び 2186 からなる群から選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列を含む、段落 24 ~ 30 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0452】

段落 32 . 配列番号 42、62、82、122、162、182 及び 302 からなる群から選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列を含む、段落 24 ~ 31 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0453】

段落 33 . 配列番号 62 及び 122 からなる群から選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列を含む、段落 24 ~ 32 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0454】

段落 34 . 配列番号 41、61、81、101、121、141、161、181、201、221、241、261、281、301 及び 2185 からなる群から選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列と少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列を含む、段落 24 ~ 33 のいずれかに記載の抗原結合タンパク質。

【0455】

段落 35 . 配列番号 41、61、81、121、161、181 及び 301 からなる群から選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列と少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列を含む、段落 24 ~ 34 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0456】

段落 36 . 配列番号 61 及び 121 からなる群から選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列と少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列を含む、段落 24 ~ 35 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0457】

段落 37 .

i) 配列番号 41 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 42 に記載される重鎖可変ドメイン；

i i) 配列番号 61 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 62 に記載される重鎖可変ドメイン；

i i i) 配列番号 81 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 82 に記載される重鎖可変ドメイン；

i v) 配列番号 101 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 102 に記載される重鎖可変ドメイン；

v) 配列番号 121 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 122 に記載される重鎖可変ドメイン；

v i) 配列番号 141 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 142 に記載される重鎖可変ドメイン；

v i i) 配列番号 161 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 162 に記載される重鎖可変ドメイン；

v i i i) 配列番号 181 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 182 に記載される重鎖可変ドメイン；

i x) 配列番号 2 0 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 2 0 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

x) 配列番号 2 2 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 2 2 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

x i) 配列番号 2 4 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 2 4 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

x i i) 配列番号 2 6 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 2 6 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

x i i i) 配列番号 2 8 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 2 8 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

x i v) 配列番号 3 0 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 3 0 2 に記載される重鎖可変ドメイン；又は

x v) 配列番号 2 1 8 5 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 2 1 8 6 に記載される重鎖可変ドメイン

を含む、段落 2 4 ~ 3 6 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 4 5 8 】

段落 3 8 .

i) 配列番号 4 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 4 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

i i) 配列番号 6 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 6 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

i i i) 配列番号 8 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 8 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

i v) 配列番号 1 2 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 2 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

v) 配列番号 1 6 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 6 2 に記載される重鎖可変ドメイン；

v i) 配列番号 1 8 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 8 2 に記載される重鎖可変ドメイン；又は

v i i) 配列番号 3 0 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 3 0 2 に記載される重鎖可変ドメイン

を含む、段落 2 4 ~ 3 7 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 4 5 9 】

段落 3 9 . 配列番号 6 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 6 2 に記載される重鎖可変ドメイン；又は配列番号 1 2 1 に記載される軽鎖可変ドメイン及び配列番号 1 2 2 に記載される重鎖可変ドメインを含む、段落 2 4 ~ 3 8 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 4 6 0 】

段落 4 0 . 抗原結合タンパク質の 1 つ以上の重鎖フレームワークアミノ酸は、別のヒト抗体アミノ酸配列からの対応するアミノ酸で置換される、段落 2 4 ~ 3 9 のいずれかに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 4 6 1 】

段落 4 1 . 抗原結合タンパク質の 1 つ以上の軽鎖フレームワークアミノ酸は、別のヒト抗体アミノ酸配列からの対応するアミノ酸で置換される、段落 2 4 ~ 4 0 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 4 6 2 】

段落 4 2 . 重鎖は、I g G、I g M、I g A、I g D、I g E の重鎖定常領域から選択される定常領域そのフラグメント、それらの組合せ及び 1 ~ 1 0 個の重鎖フレームワークアミノ酸は、別のヒト抗体アミノ酸配列からの対応するアミノ酸で置換されるそれらの修飾を含む、段落 2 4 ~ 4 1 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

10

20

30

40

50

【 0 4 6 3 】

段落 4 3 . 配列番号 2 0 の配列を有するヒト T R E M - 1 への結合について、段落 2 4 ~ 4 2 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質と競合する抗原結合タンパク質。

【 0 4 6 4 】

段落 4 4 . ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、組み換え抗体、F a b、F (a b ') 2、F a b 2、1 価 I g G、s c F v、s c F v - F c、I g G 1 抗体、I g G 2 抗体、I g G 3 抗体及び I g G 4 抗体からなる群から選択される、段落 2 4 ~ 4 3 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 4 6 5 】

段落 4 5 . I g G 1 抗体である、段落 4 4 に記載の抗原結合タンパク質。

10

【 0 4 6 6 】

段落 4 6 . 1 価 I g G である、段落 4 4 又は 4 5 に記載の抗原結合タンパク質。

【 0 4 6 7 】

段落 4 7 . ヒト抗体である、段落 4 4 ~ 4 6 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 4 6 8 】

段落 4 8 . 配列番号 4 2、6 2、8 2、1 0 2、1 2 2、1 4 2、1 6 2、1 8 2、2 0 2、2 2 2、2 4 2、2 6 2、2 8 2、3 0 2 及び 2 1 8 6 から選択される配列と少なくとも 9 0 % 同一である重鎖アミノ酸配列並びに配列番号 4 1、6 1、8 1、1 0 1、1 2 1、1 4 1、1 6 1、1 8 1、2 0 1、2 2 1、2 4 1、2 6 1、2 8 1、3 0 1 及び 2 1 8 5 から選択される配列と少なくとも 9 0 % 同一である軽鎖アミノ酸配列を含む、段落 2 4 ~ 4 7 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

20

【 0 4 6 9 】

段落 4 9 . 配列番号 4 2、6 2、8 2、1 0 2、1 2 2、1 4 2、1 6 2、1 8 2、2 0 2、2 2 2、2 4 2、2 6 2、2 8 2、3 0 2 及び 2 1 8 6 から選択される重鎖アミノ酸並びに配列番号 4 1、6 1、8 1、1 0 1、1 2 1、1 4 1、1 6 1、1 8 1、2 0 1、2 2 1、2 4 1、2 6 1、2 8 1、3 0 1 及び 2 1 8 5 から選択される軽鎖アミノ酸配列を有する、段落 2 4 ~ 4 8 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 4 7 0 】

段落 5 0 . 配列番号 4 2、6 2、8 2、1 2 2、1 6 2、1 8 2 及び 3 0 2 から選択される重鎖アミノ酸を有する、段落 2 4 ~ 4 9 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

30

【 0 4 7 1 】

段落 5 1 . 配列番号 6 2 及び 1 2 2 から選択される重鎖アミノ酸を有する、段落 2 4 ~ 5 0 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 4 7 2 】

段落 5 2 . 配列番号 4 1、6 1、8 1、1 2 1、1 6 1、1 8 1 及び 3 0 1 から選択される軽鎖アミノ酸を有する、段落 2 4 ~ 5 1 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 4 7 3 】

段落 5 3 . 配列番号 6 1 及び 1 2 1 から選択される軽鎖アミノ酸を有する、段落 2 4 ~ 5 2 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

40

【 0 4 7 4 】

段落 5 4 . 段落 2 4 ~ 5 3 のいずれか 1 つに記載の重鎖をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子。

【 0 4 7 5 】

段落 5 5 . 段落 2 4 ~ 5 3 のいずれか 1 つに記載の軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子。

【 0 4 7 6 】

段落 5 6 . 段落 2 4 ~ 5 3 のいずれか 1 つに記載の軽鎖をコードするヌクレオチド配列

50

をさらに含む、段落 5 4 に記載の核酸分子。

【 0 4 7 7 】

段落 5 7 . 軽鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列は、配列番号 3 9、5 9、7 9、9 9、1 1 9、1 3 9、1 5 9、1 7 9、1 9 9、2 1 9、2 3 9、2 5 9、2 7 9、2 9 9 及び 2 1 8 3 に記載され、重鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列は、配列番号 4 0、6 0、8 0、1 0 0、1 2 0、1 4 0、1 6 0、1 8 0、2 0 0、2 2 0、2 4 0、2 6 0、2 8 0、3 0 0 及び 2 1 8 4 に記載される、段落 5 4 ~ 5 6 のいずれか 1 つに記載の核酸分子。

【 0 4 7 8 】

段落 5 8 . 発現制御配列に動作可能に連結された段落 5 4 ~ 5 7 のいずれか 1 つに記載の核酸分子を含む発現ベクター。 10

【 0 4 7 9 】

段落 5 9 . 段落 5 4 に記載の核酸分子；又は段落 5 5 に記載の核酸分子；又は段落 5 4 に記載の核酸分子及び段落 5 5 に記載の核酸分子；又は段落 5 6 若しくは 5 7 に記載の核酸分子；又は段落 5 8 に記載のベクターを含む組み換え宿主細胞。

【 0 4 8 0 】

段落 6 0 . 哺乳動物細胞である、段落 5 9 に記載の宿主細胞。

【 0 4 8 1 】

段落 6 1 . C H O 細胞である、段落 5 9 又は 6 0 に記載の宿主細胞。

【 0 4 8 2 】

段落 6 2 . 段落 5 9 ~ 6 1 のいずれかに記載の宿主細胞を使用して、抗原結合タンパク質を生成する方法であって、宿主細胞を培養し、前記抗原結合タンパク質を回収することを含む方法。 20

【 0 4 8 3 】

段落 6 3 . 段落 6 2 に記載の方法によって生成される抗原結合タンパク質。

【 0 4 8 4 】

段落 6 4 . 段落 2 4 ~ 5 3 のいずれか 1 つに記載の抗体及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。

【 0 4 8 5 】

段落 6 5 . 抗原結合部分及び 1 つ又は 2 つの I L - 1 0 部分を含む抗原結合タンパク質であって、 30

a . 抗原結合部分は、抗体又は抗体フラグメントであり、

b . 各 I L - 1 0 部分は、独立して、1 価又は 2 価であり、

c . 各 I L - 1 0 部分は、独立して、配列番号 1 と 9 0 % 同一である配列を有する 1 つ以上のヒト I L - 1 0 突然変異タンパク質から選択され、

d . 少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、抗原結合部分に共有結合される、抗原結合タンパク質。

【 0 4 8 6 】

段落 6 6 . 少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、抗原結合部分の C 末端に融合される、段落 6 5 に記載の抗原結合タンパク質。 40

【 0 4 8 7 】

段落 6 7 .

(a) 式 A - L - M 又は M - L - A を有するポリペプチド配列であって、

i) A は、配列番号 2 0 に記載される T R E M - 1 タンパク質に結合する I g G 抗体の免疫グロブリン重鎖であり、

i i) L は、4 ~ 2 0 個のアミノ酸を含むリンカーペプチドであり、及び

i i i) M は、配列番号 2 に記載される w t I L - 1 0 と少なくとも 9 0 % の配列同一性を有する I L - 1 0 の突然変異タンパク質である、ポリペプチド配列；及び

(b) 配列番号 2 0 に記載される T R E M - 1 タンパク質に結合する I g G 抗体の免疫グロブリン軽鎖 50

を含む抗原結合タンパク質であって、

(a) の免疫グロブリン重鎖及び (b) の免疫グロブリン軽鎖は、 T R E M - 1 に結合する I g G 抗体部分を形成し、タンパク質は、 (a) のポリペプチドの 1 つ又は 2 つの分子及び (b) の軽鎖の 1 つ又は 2 つの分子を含み、任意選択的に、 (a) の 1 つのみのポリペプチドは、 M 部分を含む、抗原結合タンパク質。

【 0 4 8 8 】

段落 6 8 .

a . 抗原結合部分は、抗体であり、

b . I L - 1 0 部分は、抗体の各重鎖に融合される、段落 6 5 ~ 6 7 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

10

【 0 4 8 9 】

段落 6 9 . 各 I L - 1 0 部分は、モノマーである、段落 6 5 ~ 6 8 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 4 9 0 】

段落 7 0 .

a . 各 I L - 1 0 部分は、配列番号 2 に記載されるアミノ酸配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含み、及び

b . 各 I L - 1 0 部分は、独立して、ヘリックスループ A B、ヘリックスループ C D、ヘリックスループ D E、ヘリックス A、ヘリックス B、ヘリックス C、ヘリックス D、ヘリックス E 及び / 又はヘリックス F における突然変異から選択される少なくとも 1 つの突然変異を含む、段落 6 5 ~ 6 9 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

20

【 0 4 9 1 】

段落 7 1 . 少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、ヘリックス A における少なくとも 1 つの突然変異を含む、段落 7 0 に記載の抗原結合タンパク質。

【 0 4 9 2 】

段落 7 2 . 少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、ヘリックス F における少なくとも 1 つの突然変異を含む、段落 7 0 に記載の抗原結合タンパク質。

【 0 4 9 3 】

段落 7 3 . 少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、ヘリックスループ A B における少なくとも 1 つの突然変異を含む、段落 7 0 に記載の抗原結合タンパク質。

30

【 0 4 9 4 】

段落 7 4 . 骨髄細胞内の T N F - 産生を抑制する、段落 6 5 ~ 7 3 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 4 9 5 】

段落 7 5 . I L - 1 0 突然変異タンパク質抗原結合タンパク質は、骨髄細胞内の T N F - 産生を抑制するが、 C D 8 + T 細胞及び B 細胞活性化を依然として欠いている、段落 6 5 ~ 7 4 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 4 9 6 】

段落 7 6 . 各 I L - 1 0 部分は、独立して、配列番号 2 の残基 N 1 0、H 1 4、F 1 5、P 2 0、M 2 2、L 2 3、R 2 4、R 2 7、D 2 8、K 3 4、T 3 5、Q 3 8、M 3 9、K 4 0、D 4 1、Q 4 2、L 4 3、D 4 4、N 4 5、L 4 6、L 4 7、L 4 8、K 4 9、F 5 6、K 5 7、Y 5 9、L 6 0、Q 6 3、E 6 7、Q 7 0、M 7 7、Q 7 9、N 8 2、Q 8 3、D 8 4、P 8 5、D 8 6、I 8 7、A 8 9、H 9 0、S 9 3、T 1 0 0、L 1 0 3、H 1 0 9、R 1 1 0、L 1 1 2、E 1 1 5、N 1 1 6、A 1 2 7、K 1 3 0、I 1 3 6、Y 1 3 7、K 1 3 8、S 1 4 1、E 1 4 2、D 1 4 4、I 1 4 5、E 1 5 1、M 1 5 4、M 1 5 6、K 1 5 7 若しくは N 1 6 0 の 1 つ以上における突然変異又はヘリックス D とヘリックス E との間の 4 ~ 8 個のアミノ酸の付加を含む、段落 6 5 ~ 7 5 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

40

【 0 4 9 7 】

段落 7 7 . 各 I L - 1 0 部分は、配列番号 2 に記載されるアミノ酸配列と少なくとも 9

50

5%同一である、段落65～76のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質。

【0498】

段落78．各IL-10部分は、独立して、ヘリックスDとヘリックスEとの間の6個のアミノ酸の付加を任意選択的に含む、配列番号2のN10Q、N10I、N10K、R27L、K34D、D41G、L46K、Q38E、Q38R、Q38D、K138L、K138D、I87A、H14Q、F15Y、M22V、K49T、K49S、F56Y、K57N、Y59T、L60Q、Q63E、Q63L、E67C、Q70E、Q70K、M77R、M77V、Q79R、Q79C、D84R、A89P、H90E、H90Q、S93E、S93Q、T100R、L103E、H109D、R110P、R110Q、L112V、E115K、N116D、N116Q、A127M、K130Q、I136C、Y137C、M154V、M156C、K157N又はN160Dからなる群から選択される1つ以上の突然変異を含む、段落65～77のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質。

10

【0499】

段落79．ヘリックスDとヘリックスEとの間のアミノ酸は、GGGSGG（配列番号2676）である、段落76～78のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質。

【0500】

段落80．IL-10部分は、配列番号3～10又は配列番号2138、2140、2142、2144、2146、2148、2150、2152、2154、2156、2158、2160、2162、2164、2166、2168、2170、2172、2174、2176、2178、2180、2182、2360、2362、2364、2366、2368、2370、2372、2374、2376、2378、2380、2382、2384、2386、2388、2390、2392、2394、2396、2398、2400、2402、2404、2406、2408、2410、2412、2414、2416、2418、2420、2422、2424、2426、2428、2430、2432、2434、2436、2438、2440、2442、2444、2446、2448、2450、2452、2454、2456、2458、2460、2462、2464、2466、2468、2470、2472、2474、2476、2478、2480、2482、2484、2486、2488、2490、2492、2494、2496、2500、2502、2504、2506、2508、2510、2512、2514、2516、2518、2520、2522、2524、2526、2528、2530、2532、2534、2536、2538、2540及び2777～2791のいずれか1つに記載されるアミノ酸配列を有する、段落65～79のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質。

20

30

【0501】

段落81．

a．抗原結合部分の少なくとも1つのC末端に融合された少なくとも1つのリンカーを含み、

b．IL-10部分は、各リンカーのC末端に共有結合される、段落65～80のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質。

40

【0502】

段落82．リンカーは、4～18アミノ酸長である、段落81に記載の抗原結合タンパク質。

【0503】

段落83．リンカーは、6アミノ酸長である、段落81又は82に記載の抗原結合タンパク質。

【0504】

段落84．前記重鎖可変領域に結合されたヒト重鎖定常領域をさらに含む、段落65～83のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質。

【0505】

50

段落 85 . 前記軽鎖可変領域に結合されたヒト軽鎖定常領域をさらに含む、段落 65 ~ 84 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0506 】

段落 86 . 配列番号 863、865、867、869、871、873、875、877、879、881、883、885、887、889、891、893、895、897、899、901、903、905、907、909、911、913、915、917、919、921、923、925、927、929、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1007、1009、1011、1013、1015、1017、1019、1021、1023、1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、1049、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1073、1075、1077、1079、1081、1083 及び 1085 のいずれか 1 つに記載される重鎖アミノ酸配列を有する、段落 65 ~ 85 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0507 】

段落 87 . 配列番号 864、866、868、870、872、874、876、878、880、882、884、886、888、890、892、894、896、898、900、902、904、906、908、910、912、914、916、918、920、922、924、926、928、930、932、934、936、938、940、942、944、946、948、950、952、954、956、958、960、962、964、966、968、970、972、974、976、978、980、982、984、986、988、990、992、994、996、998、1000、1002、1004、1006、1008、1010、1012、1014、1016、1018、1020、1022、1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、1048、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1072、1074、1076、1078、1080、1082、1084 及び 1086 のいずれか 1 つに記載される軽鎖アミノ酸配列を有する、段落 65 ~ 86 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0508 】

段落 88 . 配列番号 863、865、867、869、871、873、875、877、879、881、883、885、887、889、891、893、895、897、899、901、903、905、907、909、911、913、915、917、919、921、923、925、927、929、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1007、1009、1011、1013、1015、1017、1019、1021、1023、1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、1049、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1073、1075、1077、1079、1081、1083 及び 1085 のいずれか 1 つに記載される重鎖アミノ酸配列並びに配列番号 864、866、868、870、872、874、876、878、880、882、884、886、888、890、892、894、896、898、900、902、904、906、908、910、912、914、916、918、920、922、924、926、928、930、932、934、936、938

、 940、942、944、946、948、950、952、954、956、958
 、 960、962、964、966、968、970、972、974、976、978
 、 980、982、984、986、988、990、992、994、996、998
 、 1000、1002、1004、1006、1008、1010、1012、1014
 、 1016、1018、1020、1022、1024、1026、1028、1030
 、 1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046
 、 1048、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062
 、 1064、1066、1068、1070、1072、1074、1076、1078
 、 1080、1082、1084及び1086に記載される対応する軽鎖アミノ酸配列を
 有する、段落65～87のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質。

10

【0509】

段落89．配列番号1883、1885、1887、1889、1891、1893、
 1895、1897、1899、1901、1903、1905、1907、1909、
 1911、1913、1915、1917、1919、1921、1923、1925、
 1927、1929、1931、1933、1935、1937、1939、1941、
 1943、1945、1947、1949、1951、1953、1955、1957、
 1959、1961、1963、1965、1967、1969、1971、1973、
 1975、1977、1979、1981、1983、1985、1987、1989、
 1991、1993、1995、1997、1999、2001、2003、2005及
 び2007のいずれか1つに記載される重鎖アミノ酸配列を有する、段落65～85のい
 ずれか1つに記載の抗原結合タンパク質。

20

【0510】

段落90．配列番号2543、2544、2545、2546、2547、2548、
 2549、2550、2551、2552、2553、2554、2555、2556、
 2557、2558、2559、2560、2561、2562、2563、2564、
 2565、2566、2567、2568、2569、2570、2571、2572、
 2573、2574、2575、2576、2577、2578、2579、2580、
 2581、2582、2583、2584、2585、2586、2587、2588、
 2589、2590、2591、2592、2593、2594、2595、2596、
 2597、2598、2599、2600、2601、2602、2603、2604及
 び2605のいずれか1つに記載される軽鎖アミノ酸配列を有する、段落65～85又は
 89のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質。

30

【0511】

段落91．配列番号1883、1885、1887、1889、1891、1893、
 1895、1897、1899、1901、1903、1905、1907、1909、
 1911、1913、1915、1917、1919、1921、1923、1925、
 1927、1929、1931、1933、1935、1937、1939、1941、
 1943、1945、1947、1949、1951、1953、1955、1957、
 1959、1961、1963、1965、1967、1969、1971、1973、
 1975、1977、1979、1981、1983、1985、1987、1989、
 1991、1993、1995、1997、1999、2001、2003、2005及
 び2007のいずれか1つに記載される重鎖アミノ酸配列並びに配列番号2543、25
 44、2545、2546、2547、2548、2549、2550、2551、25
 52、2553、2554、2555、2556、2557、2558、2559、25
 60、2561、2562、2563、2564、2565、2566、2567、25
 68、2569、2570、2571、2572、2573、2574、2575、25
 76、2577、2578、2579、2580、2581、2582、2583、25
 84、2585、2586、2587、2588、2589、2590、2591、25
 92、2593、2594、2595、2596、2597、2598、2599、26
 00、2601、2602、2603、2604及び2605に記載される対応する軽鎖

40

50

アミノ酸配列を有する、段落 65 ~ 85 又は 88 ~ 90 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0512】

段落 92 . 配列番号 2011、2013、2015、2017、2019、2021、2026、2025、2027、2029、2031、2033、2035、2037、2039、2041、2043、2045、2047、2049、2051、2053、2055、2057、2059、2061、2063、2065、2067、2069、2071、2073、2075、2077、2079、2081、2083、2085、2087、2089、2091、2093、2095、2097、2099、2101、2103、2105、2107、2109、2111、2113、2115、2117、2119、2121、2123、2125、2127、2129、2131、2133 及び 2135 のいずれか 1 つに記載される重鎖アミノ酸配列を有する、段落 65 ~ 85 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

10

【0513】

段落 93 . 配列番号 2233、2235、2237、2239、2241、2243、2245、2247、2249、2251、2253、2255、2257、2259、2261、2263、2265、2267、2269、2271、2273、2275、2277、2279、2281、2283、2285、2287、2289、2291、2293、2295、2297、2299、2301、2303、2305、2307、2309、2311、2313、2315、2317、2319、2321、2323、2325、2327、2329、2331、2333、2335、2337、2339、2341、2343、2345、2347、2349、2351、2353、2355 及び 2357 のいずれか 1 つに記載される軽鎖アミノ酸配列を有する、段落 65 ~ 85 又は 92 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

20

【0514】

段落 94 . 配列番号 2011、2013、2015、2017、2019、2021、2026、2025、2027、2029、2031、2033、2035、2037、2039、2041、2043、2045、2047、2049、2051、2053、2055、2057、2059、2061、2063、2065、2067、2069、2071、2073、2075、2077、2079、2081、2083、2085、2087、2089、2091、2093、2095、2097、2099、2101、2103、2105、2107、2109、2111、2113、2115、2117、2119、2121、2123、2125、2127、2129、2131、2133 及び 2135 のいずれか 1 つに記載される重鎖アミノ酸配列並びに配列番号 2233、2235、2237、2239、2241、2243、2245、2247、2249、2251、2253、2255、2257、2259、2261、2263、2265、2267、2269、2271、2273、2275、2277、2279、2281、2283、2285、2287、2289、2291、2293、2295、2297、2299、2301、2303、2305、2307、2309、2311、2313、2315、2317、2319、2321、2323、2325、2327、2329、2331、2333、2335、2337、2339、2341、2343、2345、2347、2349、2351、2353、2355 及び 2357 に記載される対応する軽鎖アミノ酸配列を有する、段落 65 ~ 85 又は 92 ~ 93 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

30

40

【0515】

段落 95 . 抗原結合部分は、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、組み換え抗体、Fab、F(ab')₂、Fab₂、1価IgG、scFv、scFv-Fc、IgG1抗体、IgG2抗体、IgG3抗体及びIgG4抗体からなる群から選択される、段落 65 ~ 84 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0516】

50

段落 96 . 抗原結合部分は、I g Gである、段落 65 ~ 95 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0517】

段落 97 . 抗原結合部分は、I g G 1 抗体である、段落 65 ~ 96 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0518】

段落 98 . 抗原結合部分は、1 価 I g G である、段落 65 ~ 97 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0519】

段落 99 . 抗原結合部分の重鎖定常領域は、I g G、I g M、I g A、I g D、I g E の重鎖定常領域、そのフラグメント、それらの組合せ及び 1 ~ 10 個の重鎖フレームワークアミノ酸は、別のヒト抗体定常領域からの対応するアミノ酸で置換されたそれらの修飾から選択される、段落 65 ~ 98 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。 10

【0520】

段落 100 . 抗原結合部分は、配列番号 22 に記載されるアミノ酸配列を有するヒト P D - 1 に結合する、段落 65 ~ 99 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0521】

段落 101 . 抗原結合部分は、配列番号 20 に記載されるアミノ酸配列を有するヒト T R E M - 1 に結合する、段落 65 ~ 99 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0522】

段落 102 . 抗原結合部分は、

a . 軽鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号 30、50、70、90、110、130、150、170、190、210、230、250、270、290 及び 2190 から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 配列；

i i . 配列番号 31、51、71、91、111、131、151、171、191、211、231、251、271、291 及び 2190 から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2 配列；

i i i . 配列番号 32、52、72、92、112、132、152、172、192、212、232、252、272、292 及び 2192 から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 配列 30

を含む軽鎖可変ドメイン；及び

b . 重鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号 36、56、76、96、116、136、156、176、196、216、236、256、276、296 及び 2196 から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1 配列；

i i . 配列番号 37、57、77、97、117、137、157、177、197、217、237、257、277、297 及び 2197 から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2 配列；及び

i i i . 配列番号 38、58、78、98、118、138、158、178、198、218、238、258、278、298 及び 2198 から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3 配列 40

を含む重鎖可変ドメイン

を含む抗 T R E M - 1 抗原結合部分である、段落 65 ~ 99 又は 101 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0523】

段落 103 .

a . 軽鎖 C D R 1 配列は、配列番号 30、50、70、110、150、170 又は 290 に記載され；

b . 軽鎖 C D R 2 配列は、配列番号 31、51、71、111、151、171 又は 2 50

9 1 に記載され；

c . 軽鎖 C D R 3 配列は、配列番号 3 2、5 2、7 2、1 1 2、1 5 2、1 7 2 又は 2 9 2 に記載され；

d . 重鎖 C D R 1 配列は、配列番号 3 6、5 6、7 6、1 1 6、1 5 6、1 7 6 及び 2 9 6 に記載され；

e . 重鎖 C D R 2 配列は、配列番号 3 7、5 7、7 7、1 1 7、1 5 7、1 7 7 及び 2 9 7 に記載され；

f . 重鎖 C D R 3 配列は、配列番号 3 8、5 8、7 8、1 1 8、1 5 8、1 7 8 及び 2 9 8 に記載される、段落 1 0 1 ~ 1 0 2 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 5 2 4 】

10

段落 1 0 4 .

a . 軽鎖 C D R 1 配列は、配列番号 5 0 及び 1 1 0 に記載され；

b . 軽鎖 C D R 2 配列は、配列番号 5 1 及び 1 1 1 に記載され；

c . 軽鎖 C D R 3 配列は、配列番号 5 2 及び 1 1 2 に記載され；

d . 重鎖 C D R 1 配列は、配列番号 5 6 及び 1 1 6 に記載され；

e . 重鎖 C D R 2 配列は、配列番号 5 7 及び 1 1 7 に記載され；

f . 重鎖 C D R 3 配列は、配列番号 5 8 及び 1 1 8 に記載される、段落 1 0 1 ~ 1 0 3 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 5 2 5 】

段落 1 0 5 . 抗原結合部分は、

20

i) 配列番号 3 0 (L C D R 1)、配列番号 3 1 (L C D R 2)、配列番号 3 2 (L C D R 3)、配列番号 3 6 (H C D R 1)、配列番号 3 7 (H C D R 2) 及び配列番号 3 8 (H C D R 3)；

i i) 配列番号 5 0 (L C D R 1)、配列番号 5 1 (L C D R 2)、配列番号 5 2 (L C D R 3)、配列番号 5 6 (H C D R 1)、配列番号 5 7 (H C D R 2) 及び配列番号 5 8 (H C D R 3)；

i i i) 配列番号 7 0 (L C D R 1)、配列番号 7 1 (L C D R 2)、配列番号 7 2 (L C D R 3)、配列番号 7 6 (H C D R 1)、配列番号 7 7 (H C D R 2) 及び配列番号 7 8 (H C D R 3)；

i v) 配列番号 9 0 (L C D R 1)、配列番号 9 1 (L C D R 2)、配列番号 9 2 (L C D R 3)、配列番号 9 6 (H C D R 1)、配列番号 9 7 (H C D R 2) 及び配列番号 9 8 (H C D R 3)；

30

v) 配列番号 1 1 0 (L C D R 1)、配列番号 1 1 1 (L C D R 2)、配列番号 1 1 2 (L C D R 3)、配列番号 1 1 6 (H C D R 1)、配列番号 1 1 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 1 8 (H C D R 3)；

v i) 配列番号 1 3 0 (L C D R 1)、配列番号 1 3 1 (L C D R 2)、配列番号 1 3 2 (L C D R 3)、配列番号 1 3 6 (H C D R 1)、配列番号 1 3 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 3 8 (H C D R 3)；

v i i) 配列番号 1 5 0 (L C D R 1)、配列番号 1 5 1 (L C D R 2)、配列番号 1 5 2 (L C D R 3)、配列番号 1 5 6 (H C D R 1)、配列番号 1 5 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 5 8 (H C D R 3)；

40

v i i i) 配列番号 1 7 0 (L C D R 1)、配列番号 1 7 1 (L C D R 2)、配列番号 1 7 2 (L C D R 3)、配列番号 1 7 6 (H C D R 1)、配列番号 1 7 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 7 8 (H C D R 3)；

i x) 配列番号 1 9 0 (L C D R 1)、配列番号 1 9 1 (L C D R 2)、配列番号 1 9 2 (L C D R 3)、配列番号 1 9 6 (H C D R 1)、配列番号 1 9 7 (H C D R 2) 及び配列番号 1 9 8 (H C D R 3)；

x) 配列番号 2 1 0 (L C D R 1)、配列番号 2 1 1 (L C D R 2)、配列番号 2 1 2 (L C D R 3)、配列番号 2 1 6 (H C D R 1)、配列番号 2 1 7 (H C D R 2) 及び配列番号 2 1 8 (H C D R 3)；

50

x i) 配列番号 230 (LCDR1)、配列番号 231 (LCDR2)、配列番号 232 (LCDR3)、配列番号 236 (HCDR1)、配列番号 237 (HCDR2) 及び配列番号 238 (HCDR3) ;

x ii) 配列番号 250 (LCDR1)、配列番号 251 (LCDR2)、配列番号 252 (LCDR3)、配列番号 256 (HCDR1)、配列番号 257 (HCDR2) 及び配列番号 258 (HCDR3) ;

x iii) 配列番号 270 (LCDR1)、配列番号 271 (LCDR2)、配列番号 272 (LCDR3)、配列番号 276 (HCDR1)、配列番号 277 (HCDR2) 及び配列番号 278 (HCDR3) ;

x iv) 配列番号 290 (LCDR1)、配列番号 291 (LCDR2)、配列番号 292 (LCDR3)、配列番号 296 (HCDR1)、配列番号 297 (HCDR2) 及び配列番号 298 (HCDR3) ; 又は

x v) 配列番号 2190 (LCDR1)、配列番号 2191 (LCDR2)、配列番号 2192 (LCDR3)、配列番号 2196 (HCDR1)、配列番号 2197 (HCDR2) 及び配列番号 2198 (HCDR3)

から選択される CDR アミノ酸配列の組を含む抗 TREM - 1 抗原結合部分である、段落 101 ~ 104 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0526】

段落 106 . 抗 TREM - 1 抗原結合部分は、

a . 軽鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号 41、61、81、101、121、141、161、181、201、221、241、261、281、301 及び 2185 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 80% 同一である配列 ;

ii . 配列番号 41、61、81、101、121、141、161、181、201、221、241、261、281、301 及び 2185 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 80% 同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列 ;

iii . 配列番号 39、59、79、99、119、139、159、179、199、219、239、259、279、299 及び 2183 から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン ; 及び

b . 重鎖可変ドメインであって、

i . 配列番号 42、62、82、102、122、142、162、182、202、222、242、262、282、302 及び 2186 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 80% 同一である配列 ;

ii . 配列番号 42、62、82、102、122、142、162、182、202、222、242、262、282、302 及び 2186 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 80% 同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる配列 ;

iii . 配列番号 40、60、80、100、120、140、160、180、200、220、240、260、280、300 及び 2184 から選択される核酸配列からなるポリヌクレオチドの補体に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる配列

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン

を含む、段落 101 ~ 105 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0527】

段落 107 . 抗 TREM - 1 抗原結合部分は、配列番号 42、62、82、102、122、142、162、182、202、222、242、262、282、302 及び 2186 から選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列を含む、段落 101 ~ 106 のいずれかに記載の抗原結合タンパク質。

【0528】

10

20

30

40

50

段落 108 . 抗 T R E M - 1 抗原結合部分は、配列番号 4 1、6 1、8 1、1 0 1、1 2 1、1 4 1、1 6 1、1 8 1、2 0 1、2 2 1、2 4 1、2 6 1、2 8 1、3 0 1 及び 2 1 8 5 から選択される配列と少なくとも 9 0 % 同一である軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む、段落 1 0 1 ~ 1 0 7 のいずれかに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 5 2 9 】

段落 1 0 9 . 抗 T R E M - 1 抗原結合部分の 1 つ以上の重鎖フレームワークアミノ酸は、別のヒト抗体アミノ酸配列からの対応するアミノ酸で置換される、段落 1 0 1 ~ 1 0 8 のいずれかから選択される抗原結合タンパク質。

【 0 5 3 0 】

段落 1 1 0 . 配列番号 4 2、6 2、8 2、1 2 2、1 6 2、1 8 2 及び 3 0 2 から選択される配列と少なくとも 9 0 % 同一である重鎖アミノ酸配列並びに配列番号 4 1、6 1、8 1、1 2 1、1 6 1、1 8 1 及び 3 0 1 から選択される配列と少なくとも 9 0 % 同一である軽鎖アミノ酸配列を含む、段落 1 0 1 ~ 1 0 9 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 5 3 1 】

段落 1 1 1 .

a . 2 つの軽鎖及び 2 つの重鎖を含み、

b . 各重鎖は、重鎖の C 末端に結合された I L - 1 0 部分を含み；

c . 各重鎖 I L - 1 0 部分抗原結合タンパク質は、配列番号 8 6 3、8 6 5、8 6 7、8 6 9、8 7 1、8 7 3、8 7 5、8 7 7、8 7 9、8 8 1、8 8 3、8 8 5、8 8 7、8 8 9、8 9 1、8 9 3、8 9 5、8 9 7、8 9 9、9 0 1、9 0 3、9 0 5、9 0 7、9 0 9、9 1 1、9 1 3、9 1 5、9 1 7、9 1 9、9 2 1、9 2 3、9 2 5、9 2 7、9 2 9、9 3 1、9 3 3、9 3 5、9 3 7、9 3 9、9 4 1、9 4 3、9 4 5、9 4 7、9 4 9、9 5 1、9 5 3、9 5 5、9 5 7、9 5 9、9 6 1、9 6 3、9 6 5、9 6 7、9 6 9、9 7 1、9 7 3、9 7 5、9 7 7、9 7 9、9 8 1、9 8 3、9 8 5、9 8 7、9 8 9、9 9 1、9 9 3、9 9 5、9 9 7、9 9 9、1 0 0 1、1 0 0 3、1 0 0 5、1 0 0 7、1 0 0 9、1 0 1 1、1 0 1 3、1 0 1 5、1 0 1 7、1 0 1 9、1 0 2 1、1 0 2 3、1 0 2 5、1 0 2 7、1 0 2 9、1 0 3 1、1 0 3 3、1 0 3 5、1 0 3 7、1 0 3 9、1 0 4 1、1 0 4 3、1 0 4 5、1 0 4 7、1 0 4 9、1 0 5 1、1 0 5 3、1 0 5 5、1 0 5 7、1 0 5 9、1 0 6 1、1 0 6 3、1 0 6 5、1 0 6 7、1 0 6 9、1 0 7 1、1 0 7 3、1 0 7 5、1 0 7 7、1 0 7 9、1 0 8 1、1 0 8 3 及び 1 0 8 5 から選択される配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含み；及び

d . 各軽鎖 I L - 1 0 部分は、配列番号 8 6 4、8 6 6、8 6 8、8 7 0、8 7 2、8 7 4、8 7 6、8 7 8、8 8 0、8 8 2、8 8 4、8 8 6、8 8 8、8 9 0、8 9 2、8 9 4、8 9 6、8 9 8、9 0 0、9 0 2、9 0 4、9 0 6、9 0 8、9 1 0、9 1 2、9 1 4、9 1 6、9 1 8、9 2 0、9 2 2、9 2 4、9 2 6、9 2 8、9 3 0、9 3 2、9 3 4、9 3 6、9 3 8、9 4 0、9 4 2、9 4 4、9 4 6、9 4 8、9 5 0、9 5 2、9 5 4、9 5 6、9 5 8、9 6 0、9 6 2、9 6 4、9 6 6、9 6 8、9 7 0、9 7 2、9 7 4、9 7 6、9 7 8、9 8 0、9 8 2、9 8 4、9 8 6、9 8 8、9 9 0、9 9 2、9 9 4、9 9 6、9 9 8、1 0 0 0、1 0 0 2、1 0 0 4、1 0 0 6、1 0 0 8、1 0 1 0、1 0 1 2、1 0 1 4、1 0 1 6、1 0 1 8、1 0 2 0、1 0 2 2、1 0 2 4、1 0 2 6、1 0 2 8、1 0 3 0、1 0 3 2、1 0 3 4、1 0 3 6、1 0 3 8、1 0 4 0、1 0 4 2、1 0 4 4、1 0 4 6、1 0 4 8、1 0 5 0、1 0 5 2、1 0 5 4、1 0 5 6、1 0 5 8、1 0 6 0、1 0 6 2、1 0 6 4、1 0 6 6、1 0 6 8、1 0 7 0、1 0 7 2、1 0 7 4、1 0 7 6、1 0 7 8、1 0 8 0、1 0 8 2、1 0 8 4 及び 1 0 8 6 から選択される配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む、段落 1 0 1 ~ 1 1 0 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 5 3 2 】

段落 1 1 2 . 配列番号 2 1 3 7、2 1 3 9、2 1 4 1、2 1 4 3、2 1 4 5、2 1 4 7、2 1 4 9、2 1 5 1、2 1 5 3、2 1 5 5、2 1 5 7、2 1 5 9、2 1 6 1、2 1 6 3

10

20

30

40

50

、 2 1 6 5、 2 1 6 7、 2 1 6 9、 2 1 7 1、 2 1 7 3、 2 1 7 5、 2 1 7 7、 2 1 7 9
 、 2 1 8 1、 2 3 5 9、 2 3 6 1、 2 3 6 3、 2 3 6 5、 2 3 6 7、 2 3 6 9、 2 3 7 1
 、 2 3 7 3、 2 3 7 5、 2 3 7 7、 2 3 7 9、 2 3 8 1、 2 3 8 3、 2 3 8 5、 2 3 8 7
 、 2 3 8 9、 2 3 9 1、 2 3 9 3、 2 3 9 5、 2 3 9 7、 2 3 9 9、 2 4 0 1、 2 4 0 3
 、 2 4 0 5、 2 4 0 7、 2 4 0 9、 2 4 1 1、 2 1 4 3、 2 4 1 5、 2 4 1 7、 2 4 1 9
 、 2 4 2 1、 2 4 2 3、 2 4 2 5、 2 4 2 7、 2 4 2 9、 2 4 3 1、 2 4 3 3、 2 4 3 5
 、 2 4 3 7、 2 4 3 9、 2 4 4 1、 2 4 4 3、 2 4 4 5、 2 4 4 7、 2 4 4 9、 2 4 5 1
 、 2 4 5 3、 2 4 5 5、 2 4 5 7、 2 4 5 9、 2 4 6 1、 2 4 6 3、 2 4 6 5、 2 4 6 7
 、 2 4 6 9、 2 4 7 1、 2 4 7 3、 2 4 7 5、 2 4 7 7、 2 4 7 9、 2 4 8 1、 2 4 8 3
 、 2 4 8 5、 2 4 8 7、 2 4 8 9、 2 4 9 1、 2 4 9 3、 2 4 9 5、 2 4 9 7、 2 4 9 8 10
 、 2 4 9 9、 2 5 0 1、 2 5 0 3、 2 5 0 5、 2 5 0 7、 2 5 0 9、 2 5 1 1、 2 5 1 3
 、 2 5 1 5、 2 5 1 7、 2 5 1 9、 2 5 2 1、 2 5 2 3、 2 5 2 5、 2 5 2 7、 2 5 2 9
 、 2 5 3 1、 2 5 3 3、 2 5 3 5、 2 5 3 7、 2 5 3 9 及び 2 7 2 6 ~ 2 7 7 6 からなる
 群から選択される重鎖 I L - 1 0 部分アミノ酸配列を有する、段落 1 0 1 ~ 1 1 1 のい
 ずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 5 3 3 】

段落 1 1 3 . 配列番号 2 7 2 7 ~ 2 7 3 2 からなる群から選択される重鎖 I L - 1 0 部
 分アミノ酸配列を有する、段落 1 0 1 ~ 1 1 1 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク
 質。

【 0 5 3 4 】

段落 1 1 4 . 配列番号 2 7 2 7 又は 2 7 2 8 の重鎖アミノ酸配列及び配列番号 9 7 6 又
 は配列番号 2 5 5 4 に記載される軽鎖アミノ酸配列を含む、段落 1 1 3 に記載の抗原結合
 タンパク質。

【 0 5 3 5 】

段落 1 1 5 . 配列番号 2 7 2 9、 2 7 3 0、 2 7 3 1 又は 2 7 3 2 の重鎖アミノ酸配列
 及び配列番号 9 9 2 又は配列番号 2 5 5 5 に記載される軽鎖アミノ酸配列を含む、段落 1
 1 3 に記載の抗原結合タンパク質。

【 0 5 3 6 】

段落 1 1 6 . 抗原結合部分は、T R E M - 1 への T R E M - 1 リガンドの結合を阻害す
 る、段落 1 0 1 ~ 1 1 5 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【 0 5 3 7 】

段落 1 1 7 . 抗原結合部分及び 1 つ又は 2 つの I L - 1 0 部分を含む抗原結合タンパク
 質であって、

- a . 抗原結合部分は、抗体又は抗体フラグメントであり；
- b . 各 I L - 1 0 部分は、独立して、1 価又は 2 価であり；
- c . 各 I L - 1 0 部分は、独立して、配列番号 2 と 9 0 % 同一である配列を有する 1 つ
 以上のヒト I L - 1 0 突然変異タンパク質から選択され；
- d . 少なくとも 1 つの I L - 1 0 部分は、抗原結合部分に共有結合され、及び / 又は
- e . 抗原結合部分は、ヒト T R E M - 1 タンパク質への結合について、段落 8 1 ~ 1 1
 6 のいずれか 1 つに記載の抗原結合部分と競合する、抗原結合タンパク質。

【 0 5 3 8 】

段落 1 1 8 . 抗原結合部分は、ヒト抗体である、段落 1 1 7 に記載の抗原結合タンパク
 質。

【 0 5 3 9 】

段落 1 1 9 . 段落 6 5 ~ 1 1 8 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質の重鎖領域
 をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子。

【 0 5 4 0 】

段落 1 2 0 . 段落 6 5 ~ 1 1 8 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質の軽鎖領域
 をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子。

【 0 5 4 1 】

段落 1 2 1 . 段落 6 5 ~ 1 1 8 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質の軽鎖領域をコードするヌクレオチド配列をさらに含む、段落 1 1 6 に記載の単離された核酸分子。

【 0 5 4 2 】

段落 1 2 2 . 発現制御配列に動作可能に連結された段落 1 1 9 ~ 1 2 1 のいずれか 1 つに記載の核酸分子を含む発現ベクター。

【 0 5 4 3 】

段落 1 2 3 . 段落 1 1 9 ~ 1 2 1 のいずれか 1 つに記載の核酸分子又は段落 1 2 2 に記載のベクターを含む組み換え宿主細胞。

【 0 5 4 4 】

段落 1 2 4 . 哺乳動物細胞である、段落 1 2 3 に記載の宿主細胞。

10

【 0 5 4 5 】

段落 1 2 5 . C H O 細胞である、段落 1 2 3 又は 1 2 4 に記載の宿主細胞。

【 0 5 4 6 】

段落 1 2 6 . 段落 1 2 3 ~ 1 2 5 のいずれかに記載の宿主細胞を使用して、抗原結合タンパク質を生成する方法であって、宿主細胞を培養し、前記抗体を回収することを含む方法。

【 0 5 4 7 】

段落 1 2 7 . 段落 1 2 6 に記載の方法によって生成される抗原結合タンパク質。

【 0 5 4 8 】

段落 1 2 8 . 段落 6 5 ~ 1 1 8 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。

20

【 0 5 4 9 】

段落 1 2 9 . 炎症性疾患の治療を、それを必要とする対象において行う方法であって、段落 1 ~ 1 5 のいずれか 1 つに記載の I L - 1 0 突然変異タンパク質又は段落 2 3 に記載の組成物を投与することを含む方法。

【 0 5 5 0 】

段落 1 3 0 . I L - 1 0 突然変異タンパク質は、w t I L - 1 0 と比較して、骨髄細胞内の T N F - 産生の抑制を低下させ、C D 8 + T 細胞刺激のレベルを低下させ、且つ / 又は B 細胞刺激のレベルを低下させる、段落 1 2 9 に記載の方法。

【 0 5 5 1 】

段落 1 3 1 . 炎症性疾患の治療を、それを必要とする対象において行う方法であって、段落 2 4 ~ 5 3 のいずれかに記載の抗 T R E M - 1 抗原結合タンパク質又は段落 6 4 に記載の組成物を投与することを含む方法。

30

【 0 5 5 2 】

段落 1 3 2 . 炎症性疾患の治療を、それを必要とする対象において行う方法であって、段落 6 5 ~ 1 1 8 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質又は段落 1 2 8 に記載の組成物を投与することを含む方法。

【 0 5 5 3 】

段落 1 3 3 . 炎症性疾患は、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、クローン病、過敏性腸症候群、関節リウマチ、乾癬、乾癬性関節炎及びサイトカイン放出症候群 (C R S) からなる群から選択される、段落 1 2 9 ~ 1 3 2 のいずれか 1 つに記載の方法。

40

【 0 5 5 4 】

段落 1 3 4 . 炎症性疾患は、炎症性腸疾患である、段落 1 3 3 に記載の方法。

【 0 5 5 5 】

段落 1 3 5 . 抗原結合タンパク質は、骨髄細胞内の T N F - 産生を抑制する、段落 1 3 2 ~ 1 3 4 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 5 5 6 】

段落 1 3 6 . 抗原結合タンパク質は、骨髄細胞内の T N F - 産生を抑制するが、C D 8 + T 細胞及び B 細胞活性化を依然として欠いている、段落 1 3 2 ~ 1 3 5 のいずれか 1 つに記載の方法。

50

【 0 5 5 7 】

段落 1 3 7 . 治療は、静脈内に又は皮下に投与される、段落 1 2 9 ~ 1 3 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 5 5 8 】

段落 1 3 8 . 治療は、週 1 回、2 週間に 1 回、3 週間に 1 回、4 週間に 1 回、月 1 回、3 か月に 1 回又は 6 か月に 1 回投与される、段落 1 2 9 ~ 1 3 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 5 5 9 】

段落 1 3 9 . 1 つ又は 2 つのさらなる治療剤を投与することをさらに含む、段落 1 2 9 ~ 1 3 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

10

【 0 5 6 0 】

段落 1 4 0 . さらなる治療剤は、コルチコステロイド、NSAIDs、鎮痛薬、免疫抑制剤、抗炎症薬、TNF 阻害剤、IL - 1 2 / IL - 2 3 阻害剤、IL - 1 7 及び IFN - から選択される、段落 1 3 9 に記載の方法。

【 0 5 6 1 】

段落 1 4 1 . 炎症性疾患を治療するのに使用するための、段落 1 ~ 1 5 のいずれか 1 つに記載の IL - 1 0 突然変異タンパク質を含む組成物。

【 0 5 6 2 】

段落 1 4 2 . 炎症性疾患を治療するための薬剤の調製における、段落 1 ~ 1 5 のいずれか 1 つに記載の IL - 1 0 突然変異タンパク質を含む組成物の使用。

20

【 0 5 6 3 】

段落 1 4 3 . 炎症性疾患を治療するのに使用するための、段落 2 4 ~ 5 3 のいずれか 1 つに記載の抗 TREM - 1 抗体又は抗原結合フラグメントを含む組成物。

【 0 5 6 4 】

段落 1 4 4 . 炎症性疾患を治療するための薬剤の調製における、段落 2 4 ~ 5 3 のいずれか 1 つに記載の抗 TREM - 1 抗体又はその抗原結合フラグメントを含む組成物の使用。

【 0 5 6 5 】

段落 1 4 5 . 炎症性疾患を治療するのに使用するための、段落 1 ~ 1 5 のいずれか 1 つに記載の抗 IL - 1 0 突然変異タンパク質との組合せにおける、段落 2 4 ~ 5 3 のいずれか 1 つに記載の抗 TREM - 1 抗体又は抗原結合フラグメントを含む組成物。

30

【 0 5 6 6 】

段落 1 4 6 . 炎症性疾患を治療するための薬剤の調製における、段落 1 ~ 1 5 のいずれか 1 つに記載の抗 IL - 1 0 突然変異タンパク質との組合せにおける、段落 2 4 ~ 5 3 のいずれか 1 つに記載の抗 TREM - 1 抗体又は抗原結合フラグメントを含む組成物の使用。

【 0 5 6 7 】

段落 1 4 7 . 炎症性疾患を治療するのに使用するための、段落 6 5 ~ 1 1 8 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質を含む組成物。

【 0 5 6 8 】

段落 1 4 8 . 炎症性疾患を治療するための薬剤の調製における、段落 6 5 ~ 1 1 8 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質を含む組成物の使用。

40

【 0 5 6 9 】

段落 1 4 9 .
 a . 抗 TREM - 1 抗原結合タンパク質、及び
 b . 段落 1 ~ 1 5 のいずれか 1 つに記載の IL - 1 0 突然変異タンパク質を含む医薬組成物。

【 0 5 7 0 】

段落 1 5 0 . 段落 2 4 ~ 5 3 のいずれかに記載の抗 TREM - 1 抗原結合タンパク質をさらに含む、段落 1 4 0 に記載の医薬組成物。

50

【0571】

段落151．炎症性疾患は、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、クローン病、過敏性腸症候群、関節リウマチ、乾癬、乾癬性関節炎及びサイトカイン放出症候群（CRS）からなる群から選択される、段落142、144、146又は148のいずれか1つに記載の使用。

【0572】

段落152．炎症性疾患は、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、クローン病、過敏性腸症候群、関節リウマチ、乾癬、乾癬性関節炎及びサイトカイン放出症候群（CRS）からなる群から選択される、段落141、143、145又は147のいずれか1つに記載の使用のための組成物。

【0573】

段落153．単離された抗原結合タンパク質であって、

a．抗体又は抗体フラグメントであり；

b．配列番号20に記載されるアミノ酸配列を有するヒトTREM-1に結合し；

c．軽鎖可変ドメインであって、

i．アミノ酸配列 $X_1ASQSX_2X_3X_4NLA$ （配列番号2199）（ここで、 X_1 は、R又はQであり、 X_2 は、V又はIであり、 X_3 は、N又はSであり、 X_4 は、S、H、I、V又はAである）を含む軽鎖CDR1；

ii．アミノ酸配列 GAX_1X_2RAT （配列番号2200）（ここで、 X_1 は、S又はYであり、 X_2 は、T又はIである）を含む軽鎖CDR2；及び

iii．アミノ酸配列 $QX_1X_2X_3X_4X_5X_6PX_7T$ （配列番号2201）（ここで、 X_1 は、Q、H又はEであり、 X_2 は、F又はYであり、 X_3 は、K、Y又はIであり、 X_4 は、N、T、L、I又はMであり； X_5 は、W、F、H又はYであり、 X_6 は、非存在又はPであり； X_7 は、W、N、Y、H又はLである）を含む軽鎖CDR3

を含む軽鎖可変ドメインを含み；及び

d．重鎖可変ドメインであって、

i．アミノ酸配列 $X_1X_2X_3MX_4$ （配列番号2202）（ここで、 X_1 は、A、R、T又はSであり、 X_2 は、Y又はNであり、 X_3 は、A又はWであり、 X_4 は、S又はNである）を含む重鎖CDR1；

ii．アミノ酸配列 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9YYX_{10}X_{11}X_{12}VK$
G（配列番号2205）（ここで、 X_1 は、T、E又はSであり、 X_2 は、非存在であるか、又はM、V若しくはIであり、 X_3 は、S、R又はKであり、 X_4 は、G又はQであり、 X_5 は、S、D又はHであり、 X_6 は、G、S、L又はAであり、 X_7 は、S、G又はRであり、 X_8 は、T、S、P又はEであり、 X_9 は、T又はIであり、 X_{10} は、A又はVであり、 X_{11} は、D又はEであり、 X_{12} は、S又はAである）を含む重鎖CDR2；及び

iii．アミノ酸配列 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7FX_8YYX_9$ （配列番号2203）（ここで、 X_1 は、V、E、A又はGであり、 X_2 は、A、F、Y又はGであり、 X_3 は、G、S、Y又はWであり、 X_4 は、S又はRであり、 X_5 は、非存在であるか又はNであり、 X_6 は、F、S、Y又は非存在であり、 X_7 は、L若しくはF又は非存在であり、 X_8 は、D又はEであり、 X_9 は、Y、H又はSである）を含む重鎖CDR3

を含む重鎖可変ドメインを含む、単離された抗原結合タンパク質。

【0574】

段落154．

a．軽鎖可変ドメインであって、

i．アミノ酸配列 $RASQSVNSNLA$ （配列番号2212）を含む軽鎖CDR1；

ii．アミノ酸配列 $GASTRAT$ （配列番号2219）を含む軽鎖CDR2；

iii．アミノ酸配列 $QQFKNWPPT$ （配列番号2222）を含む軽鎖CDR3

を含む軽鎖可変ドメイン；及び

b．重鎖可変ドメインであって、

10

20

30

40

50

i . アミノ酸配列 A Y A M S (配列番号 2 2 2 7) を含む重鎖 C D R 1 ;
 i i . アミノ酸配列 T S G S G S T T Y Y A D S V K G (配列番号 2 2 3 0) を含む重鎖 C D R 2 ; 及び
 i i i . アミノ酸配列 V A G S N F L F D Y (配列番号 2 6 7 0) を含む重鎖 C D R 3 を含む重鎖可変ドメインを含む、段落 1 5 3 に記載の単離された抗原結合タンパク質。

【 0 5 7 5 】

段落 1 5 5 . 単離された抗原結合タンパク質であって、

a . 抗体又は抗体フラグメントであり ;
 b . 配列番号 2 0 に記載されるアミノ酸配列を有するヒト T R E M - 1 に結合し ; 10
 c . 軽鎖可変ドメインであって、
 i . アミノ酸配列 Q A S X ₁ D I X ₂ X ₃ X ₄ L N (配列番号 2 2 0 4) (ここで、X ₁ は、R 又は Q であり、X ₂ は、R、S、N 又は F であり、X ₃ は、K 又は N であり、X ₄ は、H、Y 又は D である) を含む軽鎖 C D R 1 ;
 i i . アミノ酸配列 X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ L E T (配列番号 2 2 0 6) (ここで、X ₁ は、D、G 又は H であり、X ₂ は、A、V 又は T であり、X ₃ は、S、A 又は Y であり、X ₄ は、T 又は N である) を含む軽鎖 C D R 2 ;
 i i i . アミノ酸配列 Q X ₁ Y X ₃ X ₄ X ₅ P X ₆ T (配列番号 2 2 0 7) (ここで、X ₁ は、Q 又は H であり、X ₂ は、D、A 又は G であり、X ₃ は、N 又は K であり ; X ₄ は、L 又は I であり、X ₅ は、I 又は L である) を含む軽鎖 C D R 3 20
 を含む軽鎖可変ドメインを含み ; 及び
 d . 重鎖可変ドメインであって、
 i . アミノ酸配列 X ₁ Y D I N (配列番号 2 2 0 8) (ここで、X ₁ は、R 又は S である) を含む重鎖 C D R 1 ;
 i i . アミノ酸配列 X ₁ X ₂ N P X ₃ X ₄ G X ₅ X ₆ G X ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ F X ₁₁ X ₁₂ (配列番号 2 2 0 9) (ここで、X ₁ は、W 又は R であり、X ₂ は、M 又は L であり、X ₃ は、N、Q 又は K であり、X ₄ は、S、A 又は R であり、X ₅ は、N 又は Q であり、X ₆ は、S、A 又は T であり、X ₇ は、S、Q 又は Y であり、X ₈ は、V 又は T であり、X ₉ は、Q 又は K であり、X ₁₀ は、K 又は N であり、X ₁₁ は、R 又は Q であり、X ₁₂ は、G 又は D である) を含む重鎖 C D R 2 ; 及び 30
 i i i . アミノ酸配列 X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ F X ₁₃ X ₁₄ (配列番号 2 2 1 0) (ここで、X ₁ は、G、L 又は R であり、X ₂ は、G、I 又は R であり、X ₃ は、Y、R、I、G 又は A であり、X ₄ は、T、S、Y 又は V であり、X ₅ は、S 又は Y であり、X ₆ は、S、A、I 又は R であり、X ₇ は、W、A 又は S であり、X ₈ は、非存在であるか又は S であり、X ₉ は、非存在であるか、又は F、W 若しくは Y であり、X ₁₀ は、R、S、H、K 又は E であり、X ₁₁ は、W、H、Y 又は F であり、X ₁₂ は、Y、V、A 又は S であり、X ₁₃ は、D 又は Q であり、X ₁₄ は、L、Y、I 又は H である) を含む重鎖 C D R 3
 を含む重鎖可変ドメインを含む、単離された抗原結合タンパク質。

【 0 5 7 6 】

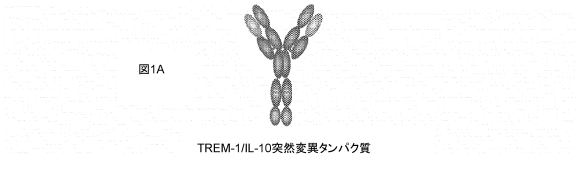
段落 1 5 6 .

a . 軽鎖可変ドメインであって、
 i . アミノ酸配列 Q A S Q D I R K H L N (配列番号 2 2 1 3) を含む軽鎖 C D R 1 ;
 i i . アミノ酸配列 D A S N L E T (配列番号 2 2 2 0) を含む軽鎖 C D R 2 ; 及び
 i i i . アミノ酸配列 Q H Y D N L P I T (配列番号 2 2 2 3) を含む軽鎖 C D R 3
 を含む軽鎖可変ドメイン ; 及び
 b . 重鎖可変ドメインであって、
 i . アミノ酸配列 R Y D I N (配列番号 2 2 2 8) を含む重鎖 C D R 1 ;
 i i . アミノ酸配列 W M N P N S G N S S V Q K F R G (配列番号 2 2 3 1) を含む重鎖 C D R 2 ; 及び 50

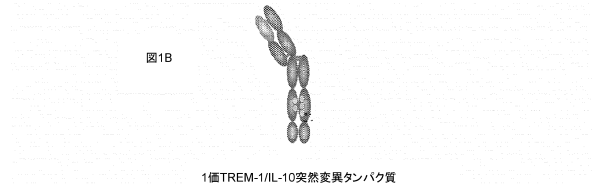
iii. アミノ酸配列 G G Y T S S W R W Y F D L (配列番号 2 6 7 1) 又は G G Y T S S W S R W Y F D L (配列番号 2 6 7 2) を含む重鎖 C D R 3 を含む重鎖可変ドメインを含む、段落 1 5 5 に記載の抗原結合タンパク質。

【図面】

【図 1 A】

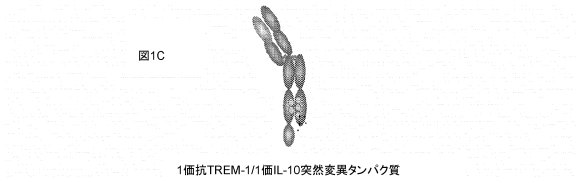


【図 1 B】

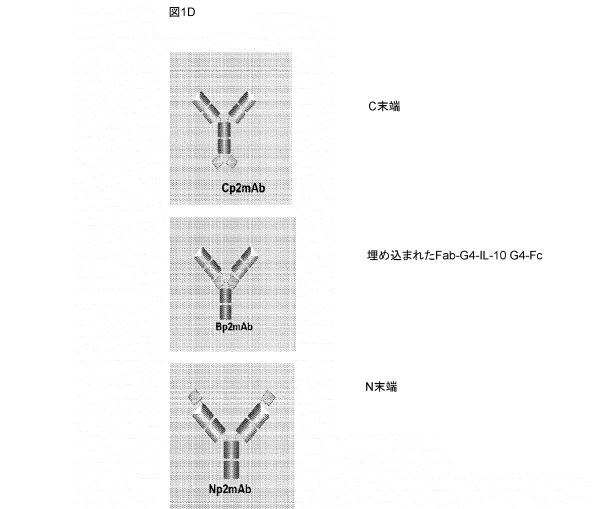


10

【図 1 C】

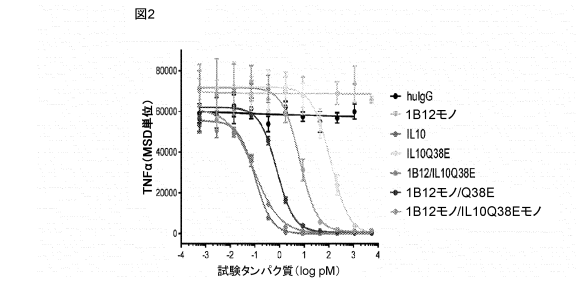


【図 1 D】

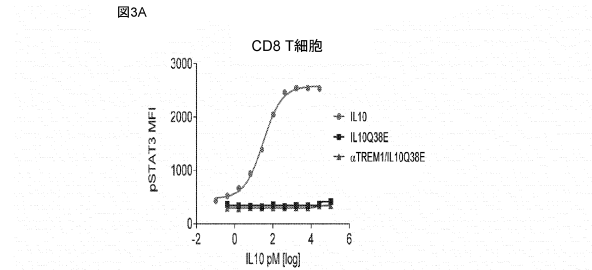


20

【図 2】



【図 3 A】

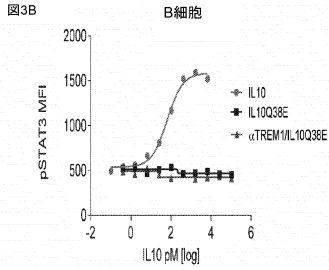


30

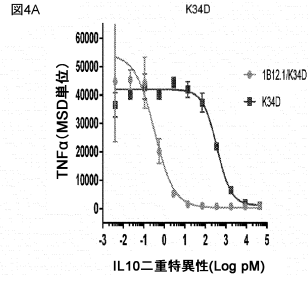
40

50

【 図 3 B 】

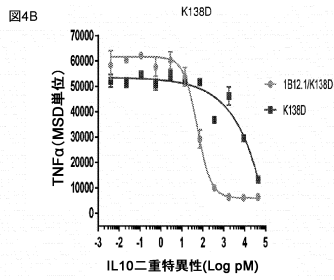


【 図 4 A 】

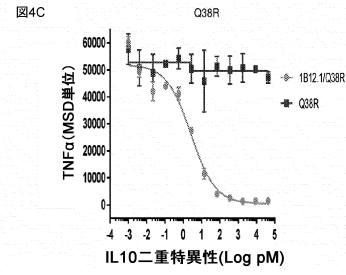


10

【 図 4 B 】

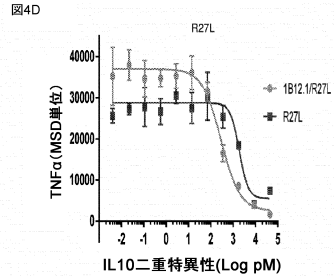


【 図 4 C 】

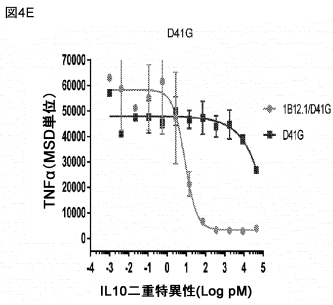


20

【 図 4 D 】



【 図 4 E 】

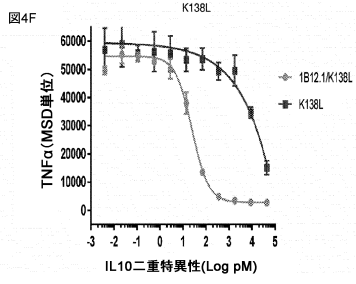


30

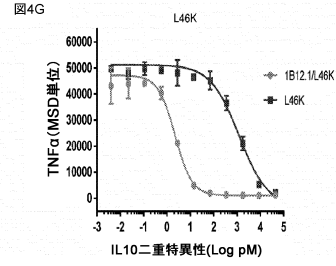
40

50

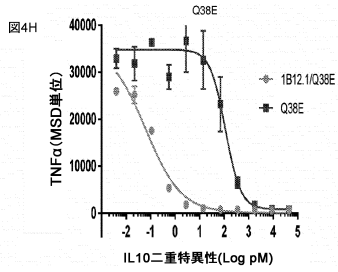
【 図 4 F 】



【 図 4 G 】

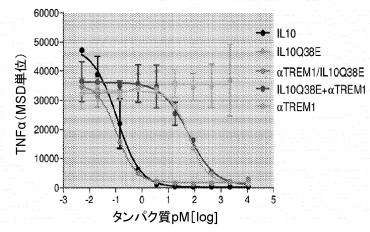


【 図 4 H 】



【 図 5 A 】

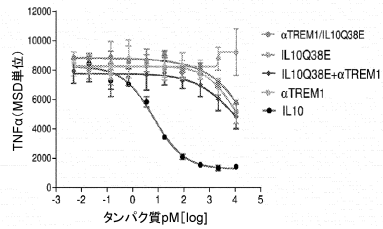
図5A. ヒト単球



10

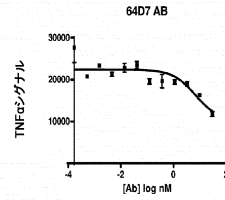
【 図 5 B 】

図5B. マウス単球



【 図 6 A 】

図6A



カニクイザルPBMC

20

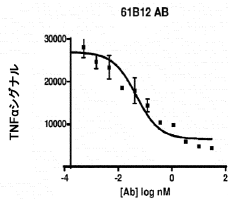
30

40

50

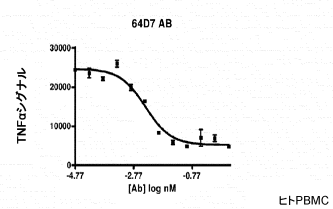
【 図 6 B 】

図6B



【 図 6 C 】

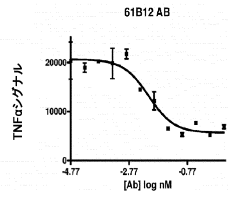
図6C



ヒトPBMC

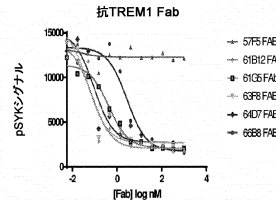
【 図 6 D 】

図6D



【 図 7 】

図7



10

【 配列表 】

2023531493000001.app

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/039191

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K14/54 A61K38/20
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 A61K
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, Sequence Search, BIOSIS, EMBASE, INSPEC, 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 A	US 2016/068583 A1 (VAN VLASSELAER PETER [US] ET AL) 10 March 2016 (2016-03-10) claims 1, 104, 108-109 see also the whole document and in particular paragraphs [0113], [0347], Table 1 and Fig.5. ----- -/--	1, 2, 4, 35-40 3

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"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
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 11 February 2022	Date of mailing of the international search report 25/02/2022
--	---

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

3

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2021/039191

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ZDANOV ALEXANDER: "Structural Features of the Interleukin-10 Family of Cytokines", CURRENT PHARMACEUTICAL DESIGN, vol. 10, no. 31, 1 December 2004 (2004-12-01), pages 3873-3884, XP55851067, NL ISSN: 1381-6128, DOI: 10.2174/1381612043382602 Retrieved from the Internet: URL:https://mc11.ncifcrf.gov/wlc_pubs/zdanov_04.pdf> see the whole document in particular Fig.1 and page 3878, left column. -----	1-4, 35-40
A	DATABASE UniProt [Online] 20 February 2014 (2014-02-20), "RecName: Full=Cytokine synthesis inhibitory factor (ECO:0000256 ARBA:ARBA00014947); AltName: Full=Interleukin-10 (ECO:0000256 ARBA:ARBA00016754);", XP002804479, retrieved from EBI accession no. UNIPROT:A0A6I9IZI6 Database accession no. A0A6I9IZI6 the whole document -----	1-4, 35-40
A	VAN DER LINDE K ET AL: "A functional interleukin-10 mutation in Dutch patients with Crohn's disease", DIGESTIVE AND LIVER DISEASE, W.B. SAUNDERS, GB, vol. 37, no. 5, 1 May 2005 (2005-05-01), pages 330-335, XP004849697, ISSN: 1590-8658, DOI: 10.1016/J.DLD.2004.12.009 the whole document -----	1-4, 35-40
A	US 2015/218244 A1 (EMRICH THOMAS [DE] ET AL) 6 August 2015 (2015-08-06) paragraphs [0014], [0015], [0084], [0085] -----	1-4, 35-40
A	US 2008/260820 A1 (BORRELLY GILLES [FR] ET AL) 23 October 2008 (2008-10-23) sequence 826 ----- -/--	1-4, 35-40

3

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

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/039191

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	<p>-& DATABASE Geneseq [Online]</p> <p>24 December 2008 (2008-12-24), "Human interleukin-10 mutein, SEQ ID 826.", XP002804480, retrieved from EBI accession no. GS_PROT:ATS35421 Database accession no. ATS35421 the whole document</p> <p>-----</p>	
A	<p>DE 198 51 675 A1 (BAYER AG [DE]) 11 May 2000 (2000-05-11) paragraph [0006]</p> <p>-----</p>	1-4, 35-40
A	<p>US 2016/235816 A1 (CHAVEZ RAYMOND A [US] ET AL) 18 August 2016 (2016-08-18) paragraphs [0016], [0054]</p> <p>-----</p>	1-4, 35-40
A	<p>US 2020/131264 A1 (PINCETIC ANDREW [US] ET AL) 30 April 2020 (2020-04-30) paragraphs [0175], [0470]; claims 136,156-158</p> <p>-----</p>	11-32, 34-40
A	<p>LAURA KELLY ERDMAN: "Host Inflammatory Pathways in Malaria Infection: Potential Therapeutic Targets and Biomarkers of Disease Severity", GRADUATE DEPARTMENT OF INSTITUTE OF MEDICAL SCIENCE, 1 November 2011 (2011-11-01), XP055164149, the whole document</p> <p>-----</p>	11-32, 34-40
A	<p>BOSCO MARIA CARLA ET AL: "Therapeutic Potential of Targeting TREM-1 in Inflammatory Diseases and Cancer", CURRENT PHARMACEUTICAL DESIGN, BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS LTD, NL /</p> <p>vol. 22, no. 41 1 January 2016 (2016-01-01), pages 6209-6233, XP009517926, ISSN: 1873-4286, DOI: 10.2174/1381612822666160826110539 Retrieved from the Internet: URL:http://eurekaselect.com/openurl/conten t.php?spage=6209&genre=article&volume=22&i ssue=41&issn=1381-6128 the whole document</p> <p>-----</p>	11-32, 34-40

10

20

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2021/039191

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. forming part of the international application as filed:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - on paper or in the form of an image file.
 - b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2021/039191

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

- 1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

- 2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

- 3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

- 1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

- 2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

- 3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
11-32, 34-40 (all partially)

- 4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims.; it is covered by claims Nos.:

30

40

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

50

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-4, 35-40(all partially)

A human interleukin-10 (IL-10) mutein comprising an amino acid sequence that is at least 90% identical to the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 2, wherein said IL-10 mutein has at least one mutation selected from a mutation in helical loop AB.

10

2. claims: 1-4, 35-40(all partially)

A human interleukin-10 (IL-10) mutein comprising an amino acid sequence that is at least 90% identical to the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 2, wherein said IL-10 mutein has at least one mutation selected from a mutation in helical loop CD.

20

3. claims: 1-4, 35-40(all partially)

A human interleukin-10 (IL-10) mutein comprising an amino acid sequence that is at least 90% identical to the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 2, wherein said IL-10 mutein has at least one mutation selected from a mutation in helical loop DE.

4. claims: 1-4, 35-40(all partially)

A human interleukin-10 (IL-10) mutein comprising an amino acid sequence that is at least 90% identical to the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 2, wherein said IL-10 mutein has at least one mutation selected from a mutation in helix A.

30

5. claims: 1-4, 35-40(all partially)

A human interleukin-10 (IL-10) mutein comprising an amino acid sequence that is at least 90% identical to the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 2, wherein said IL-10 mutein has at least one mutation selected from a mutation in helix B.

40

6. claims: 1-4, 35-40(all partially)

A human interleukin-10 (IL-10) mutein comprising an amino acid sequence that is at least 90% identical to the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 2, wherein said IL-10 mutein has at least one mutation selected from a mutation in helix C.

50

International Application No. PCT/US2021/039191

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

 7. claims: 1-4, 35-40(all partially)

A human interleukin-10 (IL-10) mutein comprising an amino acid sequence that is at least 90% identical to the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 2, wherein said IL-10 mutein has at least one mutation selected from a mutation in helix D.

 8. claims: 1-4, 35-40(all partially)

A human interleukin-10 (IL-10) mutein comprising an amino acid sequence that is at least 90% identical to the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 2, wherein said IL-10 mutein has at least one mutation selected from a mutation in helix E.

 9. claims: 1-4, 35-40(all partially)

A human interleukin-10 (IL-10) mutein comprising an amino acid sequence that is at least 90% identical to the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 2, wherein said IL-10 mutein has at least one mutation selected from a mutation in helix F.

 10. claims: 5-9(completely); 35-40(partially)

An isolated antigen binding protein, wherein the antigen binding protein: a. is an antibody or antibody fragment; b. binds to human TREM-1 having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 20; c. comprises a light chain variable domain, and d. comprises a heavy chain variable domain.

 11. claims: 10(completely); 12-32, 34-40(partially)

An antigen binding protein comprising an antigen-binding moiety and one or two IL-10 moieties wherein :a. the antigen-binding moiety is an antibody or antibody fragment, b. each IL-10 moiety is independently monovalent or bivalent, c. each IL-10 moiety is independently selected from one or more human IL-10 muteins having sequences that are 90% identical to SEQ ID NO: 2, and d. at least one IL-10 moiety is covalently bound to the antigen-binding moiety.

 12. claims: 11(completely); 12-32, 34-40(partially)

An antigen binding protein comprising: (a) a polypeptide sequence having the formula A-L-M or M-L-A, wherein i) A is an immunoglobulin heavy chain of an IgG antibody that binds

10

20

30

40

50

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

to a TREM-1 protein set out in SEQ ID NO: 20, ii) L is a linker peptide comprising from 4 to 20 amino acids and iii) M is a mutein of IL-10 having at least 90% sequence identity to wt IL-10 set out in SEQ ID NO: 2; and (b) an immunoglobulin light chain of an IgG antibody that binds TREM-1 protein set out in SEQ ID NO: 20, wherein the immunoglobulin heavy chain of (a) and the immunoglobulin light chain of (b) form an IgG antibody moiety that binds TREM-1, wherein the protein comprises one or two molecules of the polypeptide of (a) and one or two molecules of the light chain of (b), optionally wherein only 1 polypeptide of (a) comprises an M moiety.

10

13. claims: 33(completely); 34-40(partially)

An antigen binding protein comprising an antigen-binding moiety and one or two IL-10 moieties wherein: a. the antigen-binding moiety is an antibody or antibody fragment; b. each IL-10 moiety is independently monovalent or bivalent; c. each IL-10 moiety is independently selected from one or more human IL-10 muteins having sequences that are 90% identical to SEQ ID NO: 2; d. at least one IL-10 moiety is covalently bound to the antigen-binding moiety, and/or e. the antigen-binding moiety competes for binding to a human TREM-1 protein with the antigen binding moiety of any one of claims 24 to 27.

20

14. claims: 41-44

An isolated antigen binding protein, wherein the antigen binding protein: a. is an antibody or antibody fragment; b. binds to human TREM-1 having the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 20; c. comprises a light chain variable domain as defined in the claims and d. comprises a heavy chain variable domain as defined in the claims.

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2021/039191

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2016068583	A1	10-03-2016	AU 2014257123	A1 15-10-2015
			CA 2908208	A1 30-10-2014
			EP 2989240	A2 02-03-2016
			HK 1215595	A1 02-09-2016
			JP 2016526014	A 01-09-2016
			US 2016068583	A1 10-03-2016
			WO 2014176373	A2 30-10-2014

US 2015218244	A1	06-08-2015	AR 099288	A1 13-07-2016
			BR 112016016658	A2 23-01-2018
			CA 2935665	A1 13-08-2015
			CN 106061997	A 26-10-2016
			EP 3102594	A1 14-12-2016
			JP 2017506075	A 02-03-2017
			JP 2020089371	A 11-06-2020
			KR 20160117463	A 10-10-2016
			RU 2016135788	A 07-03-2018
			TW 201613954	A 16-04-2016
			US 2015218244	A1 06-08-2015
			WO 2015117930	A1 13-08-2015

US 2008260820	A1	23-10-2008	NONE	

DE 19851675	A1	11-05-2000	AU 2659900	A 29-05-2000
			DE 19851675	A1 11-05-2000
			WO 0027881	A2 18-05-2000

US 2016235816	A1	18-08-2016	CY 1120946	T1 11-12-2019
			DK 3021873	T3 17-12-2018
			DK 3369435	T3 25-11-2019
			EP 3021873	A1 25-05-2016
			EP 3369435	A1 05-09-2018
			ES 2700826	T3 19-02-2019
			ES 2760902	T3 18-05-2020
			HR P20181913	T1 11-01-2019
			HR P20192043	T1 07-02-2020
			HU E042463	T2 29-07-2019
			HU E046944	T2 30-03-2020
			JP 2016525522	A 25-08-2016
			JP 2020037562	A 12-03-2020
			LT 3021873	T 26-11-2018
			LT 3369435	T 10-01-2020
			PL 3021873	T3 31-01-2019
			PL 3369435	T3 30-04-2020
			PT 3021873	T 10-12-2018
			PT 3369435	T 05-12-2019
			SI 3021873	T1 31-12-2018
			SI 3369435	T1 31-03-2020
			US 2016235816	A1 18-08-2016
			US 2020093892	A1 26-03-2020
WO 2015009955	A1 22-01-2015			

US 2020131264	A1	30-04-2020	EP 3423493	A2 09-01-2019
			JP 2019514347	A 06-06-2019
			US 2020131264	A1 30-04-2020
			WO 2017152102	A2 08-09-2017

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

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00		
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00		
A 6 1 P	1/04 (2006.01)	A 6 1 P	1/04		
A 6 1 P	19/02 (2006.01)	A 6 1 P	19/02		
A 6 1 P	17/06 (2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	17/06		
A 6 1 K	38/20 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	38/20		
		A 6 1 K	39/395		D
		A 6 1 K	39/395		N

,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,D
K,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),O
A(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,B
B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD
,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,
LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,
RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,Z
W

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. TRITON

アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 1 3 2 0 - 1 7 9 9、サウザンド・オークス、メール・スト
ップ・2 8 - 5 - エイ、ワン・アムジエン・センター・ドライブ、アムジエン・インコーポレーテ
ッド気付

(72)発明者 モック, マリッサ

アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 1 3 2 0 - 1 7 9 9、サウザンド・オークス、メール・スト
ップ・2 8 - 5 - エイ、ワン・アムジエン・センター・ドライブ、アムジエン・インコーポレーテ
ッド気付

(72)発明者 ルナ, ビクター・ミッチ

アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 1 3 2 0 - 1 7 9 9、サウザンド・オークス、メール・スト
ップ・2 8 - 5 - エイ、ワン・アムジエン・センター・ドライブ、アムジエン・インコーポレーテ
ッド気付

(72)発明者 ジャン, ミン

アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 1 3 2 0 - 1 7 9 9、サウザンド・オークス、メール・スト
ップ・2 8 - 5 - エイ、ワン・アムジエン・センター・ドライブ、アムジエン・インコーポレーテ
ッド気付

(72)発明者 ワンバーグ, シャロン

アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 1 3 2 0 - 1 7 9 9、サウザンド・オークス、メール・スト
ップ・2 8 - 5 - エイ、ワン・アムジエン・センター・ドライブ、アムジエン・インコーポレーテ
ッド気付

(72)発明者 カンデア・タピア, ガムゼ・オズレム

アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 1 3 2 0 - 1 7 9 9、サウザンド・オークス、メール・スト
ップ・2 8 - 5 - エイ、ワン・アムジエン・センター・ドライブ、アムジエン・インコーポレーテ
ッド気付

(72)発明者 ライリー, ティモシー・ピー

アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 1 3 2 0 - 1 7 9 9、サウザンド・オークス、メール・スト
ップ・2 8 - 5 - エイ、ワン・アムジエン・センター・ドライブ、アムジエン・インコーポレーテ
ッド気付

F ターム (参考) 4C084 AA02 AA03 AA07 BA44 DA12 NA14 ZA68 ZA89 ZA96 ZB11

F ターム (参考)

ZB15 ZC41
4C085 AA13 AA14 DD62 EE01
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA42 DA02 DA76 EA20
FA74