

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和1年8月22日(2019.8.22)

【公表番号】特表2018-532372(P2018-532372A)

【公表日】平成30年11月8日(2018.11.8)

【年通号数】公開・登録公報2018-043

【出願番号】特願2018-501349(P2018-501349)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/12 (2006.01)  
 C 0 7 K 19/00 (2006.01)  
 C 0 7 K 16/00 (2006.01)  
 C 1 2 P 21/08 (2006.01)  
 C 0 7 K 14/47 (2006.01)  
 C 1 2 P 21/02 (2006.01)  
 C 1 2 Q 1/02 (2006.01)  
 C 1 2 N 1/15 (2006.01)  
 C 1 2 N 1/19 (2006.01)  
 C 1 2 N 1/21 (2006.01)  
 C 1 2 N 5/10 (2006.01)  
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)  
 A 6 1 P 31/00 (2006.01)  
 A 6 1 P 37/06 (2006.01)  
 A 6 1 K 38/16 (2006.01)  
 A 6 1 K 47/64 (2017.01)  
 A 6 1 P 43/00 (2006.01)  
 A 6 1 P 37/04 (2006.01)  
 A 6 1 K 47/60 (2017.01)  
 A 6 1 K 47/61 (2017.01)  
 A 6 1 K 47/68 (2017.01)  
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)  
 A 6 1 K 49/00 (2006.01)  
 A 6 1 K 51/08 (2006.01)  
 G 0 1 N 33/68 (2006.01)  
 A 6 1 K 31/585 (2006.01)  
 A 6 1 K 33/24 (2019.01)  
 G 0 1 N 21/41 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/12 Z N A  
 C 0 7 K 19/00  
 C 0 7 K 16/00  
 C 1 2 P 21/08  
 C 0 7 K 14/47  
 C 1 2 P 21/02 A  
 C 1 2 Q 1/02  
 C 1 2 N 1/15  
 C 1 2 N 1/19  
 C 1 2 N 1/21  
 C 1 2 N 5/10  
 A 6 1 P 35/00

A 6 1 P	31/00		
A 6 1 P	37/06		
A 6 1 K	38/16		
A 6 1 K	47/64		
A 6 1 P	43/00	1 1 1	
A 6 1 P	37/04		
A 6 1 P	43/00	1 0 7	
A 6 1 K	47/60		
A 6 1 K	47/61		
A 6 1 K	47/68		
A 6 1 K	39/395		D
A 6 1 K	39/395		N
A 6 1 K	39/395		C
A 6 1 K	39/395		L
A 6 1 K	49/00		
A 6 1 K	51/08	2 0 0	
A 6 1 P	43/00	1 0 5	
G 0 1 N	33/68		
A 6 1 K	31/585		
A 6 1 K	33/24		
G 0 1 N	21/41	1 0 1	

## 【手続補正書】

【提出日】令和1年7月12日(2019.7.12)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

検出可能な親和性でLAG-3に結合する能力を有する、リポカリンムテイン。

【請求項2】

$K_d$ を尺度として約500nM以下、約160nM以下、約30nM以下、または約1nM以下の親和性でLAG-3に結合する能力を有する、請求項1記載のリポカリンムテイン。

【請求項3】

ヒト涙液リポカリンの直鎖ポリペプチド配列 (SEQ ID NO:1) の配列位置14、25~34、36、48、52~53、55~58、60~61、66、79、85~86、101、104~106、108、110~112、114、121、140および153に少なくとも1つの変異アミノ酸残基を含む、請求項1または2記載のリポカリンムテイン。

【請求項4】

前記ムテインのアミノ酸配列が、成熟ヒト涙液リポカリンの直鎖ポリペプチド配列 (SEQ ID NO:1) との比較において、以下の変異アミノ酸残基のうち少なくとも1つを含む、請求項1~3のいずれか一項記載のリポカリンムテイン: Ser 14 Pro; Asp 25 Ser; Arg 26 Ser、Phe、Gly、Ala、AspまたはGlu; Glu 27 Asp、ValまたはThr; Phe 28 CysまたはAsp; Pro 29 Phe、LeuまたはTrp; Glu 30 Trp、AsnまたはTyr; Met 31 Ile、Val、Asp、LeuまたはTyr; Asn 32 Asp、Glu、Tyr、Trp、Val、ThrまたはMet; Leu 33 Asp、GluまたはPro; Glu 34 Val、TrpまたはHis; Val 36 Ala; Asn 48 Asp; Lys 52 Glu、Ser、ArgまたはAsn; Val 53 Ala; Met 55 AlaまたはVal; Leu 56 Asp、GlnまたはAsn; Ile 57 Leu; Ser 58 Phe、TrpまたはAsp; Arg 60 PheまたはGlu; Cys 61 Trp、Pro、L

euまたはTrp; Ala 66 Asn; Ala 79 Glu; Val 85 Ala; Ala 86 Asp; Cys 101 SerまたはPhe; Glu 104 Tyr; Leu 105 CysまたはGly; His 106 Ala、Glu、Thr、Tyr、GlnまたはVal; Lys 108 Tyr、Phe、ThrまたはTrp; Val 110 GlyまたはAla; Arg 111 Pro; Gly 112 MetまたはThr; Lys 114 TrpまたはAla; Lys 121 Thr; Ser 140 Gly; およびCys 153 Ser。

【請求項 5】

ヒトLAG-3ともカニクイザルLAG-3 (SEQ ID NO:2) とも交差反応する、請求項1~4のいずれか一項記載のリポカリンムテイン。

【請求項 6】

$K_d$ を尺度として約160nM以下の親和性でカニクイザルLAG-3 (SEQ ID NO:2) に結合する能力を有する、請求項1~5のいずれか一項記載のリポカリンムテイン。

【請求項 7】

主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) クラスIIへのヒトLAG-3の結合を妨害する能力を有する、請求項1~6のいずれか一項記載のリポカリンムテイン。

【請求項 8】

前記ムテインのアミノ酸配列が、以下の変異アミノ酸残基の組のうちの1つを含む、請求項1~7のいずれか一項記載のリポカリンムテイン:

- (a) Arg 26 → Ser; Glu 27 → Asp; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Phe; Glu 30 → Trp; Met 31 → Ile; Asn 32 → Glu; Leu 33 → Glu; Glu 34 → Trp; Leu 56 → Asp; Ser 58 → Phe; Arg 60 → Phe; Cys 61 → Trp; Cys 101 → Ser; Leu 105 → Cys; His 106 → Ala; Lys 108 → Phe; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Cys 153 → Ser;
- (b) Ser 14 → Pro; Asp 25 → Ser; Arg 26 → Gly; Phe 28 → Asp; Asn 32 → Thr; Lys 52 → Asn; Met 55 → Ala; Ser 58 → Asp; Ala 66 → Asn; Ala 79 → Glu; Ala 86 → Asp; Cys 101 → Phe; Leu 105 → Gly; Lys 108 → Thr; Val 110 → Ala; Gly 112 → Thr; Lys 114 → Ala; Lys 121 → Thr;
- (c) Arg 26 → Phe; Glu 27 → Val; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Leu; Glu 30 → Tyr; Met 31 → Asp; Asn 32 → Val; Leu 33 → Pro; Leu 56 → Gln; Ser 58 → Trp; Arg 60 → Glu; Cys 61 → Leu; Cys 101 → Ser; Glu 104 → Tyr; Leu 105 → Cys; His 106 → Val; Lys 108 → Tyr; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Cys 153 → Ser;
- (d) Arg 26 → Glu; Glu 27 → Thr; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Trp; Glu 30 → Trp; Met 31 → Tyr; Asn 32 → Val; Leu 33 → Asp; Glu 34 → His; Leu 56 → Asn; Ile 57 → Leu; Ser 58 → Trp; Arg 60 → Phe; Cys 61 → Trp; Cys 101 → Ser; Leu 105 → Cys; His 106 → Gln; Lys 108 → Trp; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Cys 153 → Ser;

- (e) Arg 26 → Ser; Glu 27 → Asp; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Phe; Glu 30 → Trp; Met 31 → Ile; Asn 32 → Asp; Leu 33 → Asp; Glu 34 → Val; Leu 56 → Asp; Ser 58 → Phe; Arg 60 → Phe; Cys 61 → Trp; Cys 101 → Ser; Leu 105 → Cys; His 106 → Ala; Lys 108 → Tyr; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Cys 153 → Ser;
- (f) Arg 26 → Ser; Glu 27 → Asp; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Phe; Glu 30 → Trp; Met 31 → Ile; Asn 32 → Asp; Leu 33 → Glu; Glu 34 → Val; Leu 56 → Asp; Ser 58 → Phe; Arg 60 → Phe; Cys 61 → Trp; Cys 101 → Ser; Leu 105 → Cys; His 106 → Ala; Lys 108 → Tyr; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Cys 153 → Ser;
- (g) Arg 26 → Ser; Glu 27 → Asp; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Phe; Glu 30 → Trp; Met 31 → Ile; Asn 32 → Glu; Leu 33 → Glu; Glu 34 → Trp; Val 36 → Ala; Asn 48 → Asp; Leu 56 → Asp; Ser 58 → Phe; Arg 60 → Phe; Cys 61 → Trp; Val 85 → Ala; Cys 101 → Ser; Leu 105 → Cys; His 106 → Ala; Lys 108 → Phe; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Ser 140 → Gly; Cys 153 → Ser;
- (h) Arg 26 → Ser; Glu 27 → Asp; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Phe; Glu 30 → Trp; Met 31 → Ile; Asn 32 → Asp; Leu 33 → Glu; Glu 34 → Val; Leu 56 → Asp; Ser 58 → Phe; Arg 60 → Phe; Cys 61 → Trp; Cys 101 → Ser; Leu 105 → Cys; His 106 → Glu; Lys 108 → Phe; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Cys 153 → Ser;
- (i) Arg 26 → Ser; Glu 27 → Asp; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Phe; Glu 30 → Trp; Met 31 → Ile; Asn 32 → Glu; Leu 33 → Glu; Glu 34 → Trp; Val 36 → Ala; Lys 52 → Glu; Val 53 → Ala; Leu 56 → Asp; Ser 58 → Phe; Arg 60 → Phe; Cys 61 → Trp; Cys 101 → Ser; Leu 105 → Cys; His 106 → Ala; Lys 108 → Phe; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Cys 153 → Ser;
- (j) Arg 26 → Ser; Glu 27 → Asp; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Phe; Glu 30 → Trp; Met 31 → Val; Asn 32 → Asp; Leu 33 → Glu; Glu 34 → Val; Leu 56 → Asp; Ser 58 → Phe; Arg 60 → Phe; Cys 61 → Trp; Cys 101 → Ser; Leu 105 → Cys; His 106 → Ala; Lys 108 → Phe; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Cys 153 → Ser;
- (k) Ser 14 → Pro; Asp 25 → Ser; Arg 26 → Gly; Phe 28 → Asp; Met 31 → Leu; Asn 32 → Trp; Lys 52 → Ser; Met 55 → Ala; Ser 58 → Asp; Ala 66 → Asn; Ala 79 → Glu; Ala 86 → Asp; Cys 101 → Phe; Leu 105 → Gly; His 106 → Tyr; Lys 108 → Thr; Val 110 → Gly; Gly 112 → Met; Lys 114 → Ala; Lys 121 → Thr;

(l) Ser 14 → Pro; Asp 25 → Ser; Arg 26 → Ala; Phe 28 → Asp; Met 31 → Leu; Asn 32 → Val; Lys 52 → Ser; Met 55 → Ala; Ser 58 → Asp; Ala 66 → Asn; Ala 79 → Glu; Ala 86 → Asp; Cys 101 → Phe; Leu 105 → Gly; Lys 108 → Thr; Val 110 → Ala; Gly 112 → Thr; Lys 114 → Ala; Lys 121 → Thr;

(m) Ser 14 → Pro; Asp 25 → Ser; Arg 26 → Asp; Phe 28 → Asp; Asn 32 → Thr; Lys 52 → Ser; Met 55 → Ala; Ser 58 → Asp; Ala 66 → Asn; Ala 79 → Glu; Ala 86 → Asp; Cys 101 → Phe; Leu 105 → Gly; His 106 → Gln; Lys 108 → Thr; Val 110 → Gly; Gly 112 → Met; Lys 114 → Ala; Lys 121 → Thr;

(n) Ser 14 → Pro; Asp 25 → Ser; Arg 26 → Glu; Phe 28 → Asp; Asn 32 → Thr; Lys 52 → Ser; Met 55 → Ala; Ser 58 → Asp; Ala 66 → Asn; Ala 79 → Glu; Ala 86 → Asp; Cys 101 → Phe; Leu 105 → Gly; Lys 108 → Thr; Val 110 → Gly; Gly 112 → Met; Lys 114 → Ala; Lys 121 → Thr;

(o) Ser 14 → Pro; Asp 25 → Ser; Arg 26 → Gly; Phe 28 → Asp; Asn 32 → Met; Lys 52 → Arg; Met 55 → Val; Ser 58 → Asp; Ala 66 → Asn; Ala 79 → Glu; Ala 86 → Asp; Cys 101 → Phe; Leu 105 → Gly; His 106 → Gln; Lys 108 → Thr; Val 110 → Gly; Gly 112 → Met; Lys 114 → Ala; Lys 121 → Thr; または

(p) Arg 26 → Phe; Glu 27 → Val; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Leu; Glu 30 → Asn; Met 31 → Asp; Asn 32 → Tyr; Leu 33 → Pro; Leu 56 → Gln; Ser 58 → Trp; Arg 60 → Glu; Cys 61 → Pro; Cys 101 → Ser; Glu 104 → Tyr; Leu 105 → Cys; His 106 → Thr; Lys 108 → Tyr; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Cys 153 → Ser

。

【請求項 9】

SEQ ID NO:7~22からなる群またはそれらのフラグメントもしくは変異体からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項1~8のいずれか一項記載のリポカリンムテイン

。

【請求項 10】

SEQ ID NO:7~22からなる群より選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも85%の配列同一性を有する、請求項1~9のいずれか一項記載のリポカリンムテイン。

【請求項 11】

有機分子、酵素標識、放射性標識、着色標識、蛍光標識、発色標識、発光標識、ハプテン、ジゴキシゲニン、ビオチン、細胞増殖抑制作用物質、毒素、金属錯体、金属、およびコロイド金からなる群より選択される化合物にコンジュゲートされている、請求項1~10のいずれか一項記載のリポカリンムテイン。

【請求項 12】

N末および/またはC末において、抗体、抗体フラグメント、タンパク質、タンパク質ドメイン、ペプチド、またはリポカリンムテインからなる群より選択される融合パートナーに融合されている、請求項1~11のいずれか一項記載のリポカリンムテイン。

【請求項 13】

ポリエチレングリコール分子、ヒドロキシエチルデンブロン、免疫グロブリンのFc部分、免疫グロブリンのC<sub>H</sub>3ドメイン、免疫グロブリンのC<sub>H</sub>4ドメイン、アルブミン結合ペプチド、およびアルブミン結合タンパク質からなる群より選択される、ムテインの血清中半減期

を延ばす化合物にコンジュゲートされている、請求項1~12のいずれか一項記載のリボカリンムテイン。

【請求項14】

請求項1~13のいずれか一項記載のリボカリンムテインをコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子。

【請求項15】

請求項14記載の核酸分子を含有する宿主細胞。

【請求項16】

ムテインまたはそのフラグメントをコードする核酸から出発してムテインが生産される、請求項1~13のいずれか一項記載のリボカリンムテインを生産する方法。

【請求項17】

LAG-3に結合するまたはLAG-3を検出するのに使用するための、請求項1~13のいずれか一項記載の1つまたは複数のリボカリンムテイン。

【請求項18】

対象における免疫応答を刺激するのに使用するための、請求項1~13のいずれか一項記載の1つまたは複数のリボカリンムテイン。

【請求項19】

対象におけるTリンパ球増殖を誘発するのに使用するための、請求項1~13のいずれか一項記載の1つまたは複数のリボカリンムテイン。

【請求項20】

MHCクラスIIへのヒトLAG-3の結合を妨害するのに使用するための、請求項1~13のいずれか一項記載の1つまたは複数のリボカリンムテイン。

【請求項21】

請求項1~13のいずれか一項記載のリボカリンムテインと薬学的に許容される賦形剤とを含む、薬学的組成物。

【請求項22】

治療作用物質に連結された請求項1~13のいずれか一項記載のリボカリンムテインまたはそのフラグメントを含む、イムノコンジュゲートまたは融合タンパク質。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0030

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0030】

「試料」は、任意の対象から採取された生物学的試料と定義される。生物学的試料には、血液、血清、尿、糞便、精液、または組織が含まれるが、それらに限定されるわけではない。

[本発明1001]

$K_d$ を尺度として約500nM以下の親和性でLAG-3に結合する能力を有する、リボカリンムテイン。

[本発明1002]

$K_d$ を尺度として約160nM以下の親和性でLAG-3に結合する能力を有する、本発明1001のリボカリンムテイン。

[本発明1003]

$K_d$ を尺度として約30nM以下の親和性でLAG-3に結合する能力を有する、本発明1001のリボカリンムテイン。

[本発明1004]

$K_d$ を尺度として約1nM以下の親和性でLAG-3に結合する能力を有する、本発明1001のリボカリンムテイン。

[本発明1005]

本質的に実施例5または実施例6に記載されるように、 $K_d$ 値が表面プラズモン共鳴分析によって決定される、本発明1001~1004のいずれかのリポカリンムテイン。

[本発明1006]

ヒト涙液リポカリンの直鎖ポリペプチド配列 (SEQ ID NO:1) の配列位置14、25~34、36、48、52~53、55~58、60~61、66、79、85~86、101、104~106、108、110~112、114、121、140および153に少なくとも1つの変異アミノ酸残基を含む、本発明1001~1005のいずれかのリポカリンムテイン。

[本発明1007]

前記ムテインのアミノ酸配列が、ヒト涙液リポカリンの直鎖ポリペプチド配列 (SEQ ID NO:1) との比較において、以下の変異アミノ酸残基のうち少なくとも1つを含む、本発明1006のリポカリンムテイン: Ser 14 Pro; Asp 25 Ser; Arg 26 Ser、Phe、Gly、Ala、AspまたはGlu; Glu 27 Asp、ValまたはThr; Phe 28 CysまたはAsp; Pro 29 Phe、LeuまたはTrp; Glu 30 Trp、AsnまたはTyr; Met 31 Ile、Val、Asp、LeuまたはTyr; Asn 32 Asp、Glu、Tyr、Trp、Val、ThrまたはMet; Leu 33 Asp、GluまたはPro; Glu 34 Val、TrpまたはHis; Val 36 Ala; Asn 48 Asp; Lys 52 Glu、Ser、ArgまたはAsn; Val 53 Ala; Met 55 AlaまたはVal; Leu 56 Asp、GlnまたはAsn; Ile 57 Leu; Ser 58 Phe、TrpまたはAsp; Arg 60 PheまたはGlu; Cys 61 Trp、Pro、LeuまたはTrp; Ala 66 Asn; Ala 79 Glu; Val 85 Ala; Ala 86 Asp; Cys 101 SerまたはPhe; Glu 104 Tyr; Leu 105 CysまたはGly; His 106 Ala、Glu、Thr、Tyr、GlnまたはVal; Lys 108 Tyr、Phe、ThrまたはTrp; Val 110 GlyまたはAla; Arg 111 Pro; Gly 112 MetまたはThr; Lys 114 TrpまたはAla; Lys 121 Thr; Ser 140 Gly; およびCys 153 Ser。

[本発明1008]

約109nM以下の $EC_{50}$ 値でLAG-3に結合する、本発明1001~1007のいずれかのリポカリンムテイン。

[本発明1009]

本質的に実施例8または実施例9に記載されるように、 $EC_{50}$ 値が蛍光活性化細胞選別によって測定される、本発明1008のリポカリンムテイン。

[本発明1010]

LAG-3がヒトLAG-3である、本発明1001~1009のいずれかのリポカリンムテイン。

[本発明1011]

ヒトLAG-3ともカニクイザルLAG-3 (SEQ ID NO:2) とも交差反応する、本発明1001~1010のいずれかのリポカリンムテイン。

[本発明1012]

$K_d$ を尺度として約160nM以下の親和性でカニクイザルLAG-3 (SEQ ID NO:2) に結合する能力を有する、本発明1001~1011のいずれかのリポカリンムテイン。

[本発明1013]

主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) クラスIIへのヒトLAG-3の結合を妨害する能力を有する、本発明1001~1112のいずれかのリポカリンムテイン。

[本発明1014]

本質的に実施例11に記載されるように、主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) クラスIIへのヒトLAG-3の結合を妨害する能力が蛍光活性化細胞選別によって分析される、本発明1013のリポカリンムテイン。

[本発明1015]

前記ムテインのアミノ酸配列が、以下のアミノ酸置換の組のうち1つを含む、本発明1001~1014のいずれかのリポカリンムテイン:

- (a) Arg 26 → Ser; Glu 27 → Asp; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Phe; Glu 30 → Trp; Met 31 → Ile; Asn 32 → Glu; Leu 33 → Glu; Glu 34 → Trp; Leu 56 → Asp; Ser 58 → Phe; Arg 60 → Phe; Cys 61 → Trp; Cys 101 → Ser; Leu 105 → Cys; His 106 → Ala; Lys 108 → Phe; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Cys 153 → Ser;
- (b) Ser 14 → Pro; Asp 25 → Ser; Arg 26 → Gly; Phe 28 → Asp; Asn 32 → Thr; Lys 52 → Asn; Met 55 → Ala; Ser 58 → Asp; Ala 66 → Asn; Ala 79 → Glu; Ala 86 → Asp; Cys 101 → Phe; Leu 105 → Gly; Lys 108 → Thr; Val 110 → Ala; Gly 112 → Thr; Lys 114 → Ala; Lys 121 → Thr;
- (c) Arg 26 → Phe; Glu 27 → Val; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Leu; Glu 30 → Tyr; Met 31 → Asp; Asn 32 → Val; Leu 33 → Pro; Leu 56 → Gln; Ser 58 → Trp; Arg 60 → Glu; Cys 61 → Leu; Cys 101 → Ser; Glu 104 → Tyr; Leu 105 → Cys; His 106 → Val; Lys 108 → Tyr; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Cys 153 → Ser;
- (d) Arg 26 → Glu; Glu 27 → Thr; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Trp; Glu 30 → Trp; Met 31 → Tyr; Asn 32 → Val; Leu 33 → Asp; Glu 34 → His; Leu 56 → Asn; Ile 57 → Leu; Ser 58 → Trp; Arg 60 → Phe; Cys 61 → Trp; Cys 101 → Ser; Leu 105 → Cys; His 106 → Gln; Lys 108 → Trp; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Cys 153 → Ser;

- (e) Arg 26 → Ser; Glu 27 → Asp; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Phe; Glu 30 → Trp; Met 31 → Ile; Asn 32 → Asp; Leu 33 → Asp; Glu 34 → Val; Leu 56 → Asp; Ser 58 → Phe; Arg 60 → Phe; Cys 61 → Trp; Cys 101 → Ser; Leu 105 → Cys; His 106 → Ala; Lys 108 → Tyr; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Cys 153 → Ser;
- (f) Arg 26 → Ser; Glu 27 → Asp; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Phe; Glu 30 → Trp; Met 31 → Ile; Asn 32 → Asp; Leu 33 → Glu; Glu 34 → Val; Leu 56 → Asp; Ser 58 → Phe; Arg 60 → Phe; Cys 61 → Trp; Cys 101 → Ser; Leu 105 → Cys; His 106 → Ala; Lys 108 → Tyr; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Cys 153 → Ser;
- (g) Arg 26 → Ser; Glu 27 → Asp; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Phe; Glu 30 → Trp; Met 31 → Ile; Asn 32 → Glu; Leu 33 → Glu; Glu 34 → Trp; Val 36 → Ala; Asn 48 → Asp; Leu 56 → Asp; Ser 58 → Phe; Arg 60 → Phe; Cys 61 → Trp; Val 85 → Ala; Cys 101 → Ser; Leu 105 → Cys; His 106 → Ala; Lys 108 → Phe; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Ser 140 → Gly; Cys 153 → Ser;
- (h) Arg 26 → Ser; Glu 27 → Asp; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Phe; Glu 30 → Trp; Met 31 → Ile; Asn 32 → Asp; Leu 33 → Glu; Glu 34 → Val; Leu 56 → Asp; Ser 58 → Phe; Arg 60 → Phe; Cys 61 → Trp; Cys 101 → Ser; Leu 105 → Cys; His 106 → Glu; Lys 108 → Phe; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Cys 153 → Ser;
- (i) Arg 26 → Ser; Glu 27 → Asp; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Phe; Glu 30 → Trp; Met 31 → Ile; Asn 32 → Glu; Leu 33 → Glu; Glu 34 → Trp; Val 36 → Ala; Lys 52 → Glu; Val 53 → Ala; Leu 56 → Asp; Ser 58 → Phe; Arg 60 → Phe; Cys 61 → Trp; Cys 101 → Ser; Leu 105 → Cys; His 106 → Ala; Lys 108 → Phe; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Cys 153 → Ser;
- (j) Arg 26 → Ser; Glu 27 → Asp; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Phe; Glu 30 → Trp; Met 31 → Val; Asn 32 → Asp; Leu 33 → Glu; Glu 34 → Val; Leu 56 → Asp; Ser 58 → Phe; Arg 60 → Phe; Cys 61 → Trp; Cys 101 → Ser; Leu 105 → Cys; His 106 → Ala; Lys 108 → Phe; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Cys 153 → Ser;
- (k) Ser 14 → Pro; Asp 25 → Ser; Arg 26 → Gly; Phe 28 → Asp; Met 31 → Leu; Asn 32 → Trp; Lys 52 → Ser; Met 55 → Ala; Ser 58 → Asp; Ala 66 → Asn; Ala 79 → Glu; Ala 86 → Asp; Cys 101 → Phe; Leu 105 → Gly; His 106 → Tyr; Lys 108 → Thr; Val 110 → Gly; Gly 112 → Met; Lys 114 → Ala; Lys 121 → Thr;

- (l) Ser 14 → Pro; Asp 25 → Ser; Arg 26 → Ala; Phe 28 → Asp; Met 31 → Leu; Asn 32 → Val; Lys 52 → Ser; Met 55 → Ala; Ser 58 → Asp; Ala 66 → Asn; Ala 79 → Glu; Ala 86 → Asp; Cys 101 → Phe; Leu 105 → Gly; Lys 108 → Thr; Val 110 → Ala; Gly 112 → Thr; Lys 114 → Ala; Lys 121 → Thr;
- (m) Ser 14 → Pro; Asp 25 → Ser; Arg 26 → Asp; Phe 28 → Asp; Asn 32 → Thr; Lys 52 → Ser; Met 55 → Ala; Ser 58 → Asp; Ala 66 → Asn; Ala 79 → Glu; Ala 86 → Asp; Cys 101 → Phe; Leu 105 → Gly; His 106 → Gln; Lys 108 → Thr; Val 110 → Gly; Gly 112 → Met; Lys 114 → Ala; Lys 121 → Thr;
- (n) Ser 14 → Pro; Asp 25 → Ser; Arg 26 → Glu; Phe 28 → Asp; Asn 32 → Thr; Lys 52 → Ser; Met 55 → Ala; Ser 58 → Asp; Ala 66 → Asn; Ala 79 → Glu; Ala 86 → Asp; Cys 101 → Phe; Leu 105 → Gly; Lys 108 → Thr; Val 110 → Gly; Gly 112 → Met; Lys 114 → Ala; Lys 121 → Thr;
- (o) Ser 14 → Pro; Asp 25 → Ser; Arg 26 → Gly; Phe 28 → Asp; Asn 32 → Met; Lys 52 → Arg; Met 55 → Val; Ser 58 → Asp; Ala 66 → Asn; Ala 79 → Glu; Ala 86 → Asp; Cys 101 → Phe; Leu 105 → Gly; His 106 → Gln; Lys 108 → Thr; Val 110 → Gly; Gly 112 → Met; Lys 114 → Ala; Lys 121 → Thr; または
- (p) Arg 26 → Phe; Glu 27 → Val; Phe 28 → Cys; Pro 29 → Leu; Glu 30 → Asn; Met 31 → Asp; Asn 32 → Tyr; Leu 33 → Pro; Leu 56 → Gln; Ser 58 → Trp; Arg 60 → Glu; Cys 61 → Pro; Cys 101 → Ser; Glu 104 → Tyr; Leu 105 → Cys; His 106 → Thr; Lys 108 → Tyr; Arg 111 → Pro; Lys 114 → Trp; Cys 153 → Ser

。

[本発明1016]

SEQ ID NO:7~22からなる群またはそれらのフラグメントもしくは変異体からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、本発明1001~1015のいずれかのリポカリウムテイン。

[本発明1017]

SEQ ID NO:7~22からなる群より選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも85%の配列同一性を有する、本発明1001~1016のいずれかのリポカリウムテイン。

[本発明1018]

有機分子、酵素標識、放射性標識、着色標識、蛍光標識、発色標識、発光標識、ハプテン、ジゴキシゲニン、ビオチン、細胞増殖抑制作用物質、毒素、金属錯体、金属、およびコロイド金からなる群より選択される化合物にコンジュゲートされている、本発明1001~1017のいずれかのリポカリウムテイン。

[本発明1019]

N末および/またはC末において、タンパク質、タンパク質ドメイン、またはペプチドである融合パートナーに融合されている、本発明1001~1018のいずれかのリポカリウムテイン。

[本発明1020]

N末および/またはC末において、抗体または抗体フラグメントである融合パートナーに融合されている、本発明1001~1019のいずれかのリポカリウムテイン。

[本発明1021]

ムテインの血清中半減期を延ばす化合物にコンジュゲートされている、本発明1001~10

20のいずれかのリポカリンムテイン。

[本発明1022]

血清中半減期を延ばす化合物が、ポリアルキレングリコール分子、ヒドロエチルデンプン (hydroethylstarch)、免疫グロブリンのFc部分、免疫グロブリンのC<sub>H</sub>3ドメイン、免疫グロブリンのC<sub>H</sub>4ドメイン、アルブミン結合ペプチド、およびアルブミン結合タンパク質からなる群より選択される、本発明1021のリポカリンムテイン。

[本発明1023]

ポリアルキレングリコールがポリエチレン (PEG) またはその活性化誘導体である、本発明1022のリポカリンムテイン。

[本発明1024]

本発明1001～1023のいずれかのリポカリンムテインをコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子。

[本発明1025]

本発明1024の核酸分子を含む発現ベクター。

[本発明1026]

本発明1024の核酸分子を含有する宿主細胞。

[本発明1027]

ムテインまたはそのフラグメントをコードする核酸から出発して遺伝子工学の方法を使ってムテインが生産される、本発明1001～1023のいずれかのリポカリンムテインを生産する方法。

[本発明1028]

本発明1001～1023のいずれかの1つもしくは複数のリポカリンムテインまたは該ムテインを含む1つもしくは複数の組成物を適用する工程を含む、対象中のLAG-3に結合する方法。

[本発明1029]

本発明1001～1023のいずれかの1つもしくは複数のリポカリンムテインまたは該ムテインを含む1つもしくは複数の組成物を投与する工程を含む、対象における免疫応答を刺激する方法。

[本発明1030]

本発明1001～1023のいずれかの1つもしくは複数のリポカリンムテインまたは該ムテインを含む1つもしくは複数の組成物を適用する工程を含む、対象におけるTリンパ球増殖を誘発する方法。

[本発明1031]

本発明1001～1023のいずれかの1つもしくは複数のリポカリンムテインまたは該ムテインを含む1つもしくは複数の組成物を適用する工程を含む、対象におけるMHCクラスIIへのヒトLAG-3の結合を妨害する方法。

[本発明1032]

本質的に実施例11に記載するようにFACS分析において測定した場合に、MHCクラスIIを発現する細胞へのヒトLAG-3の結合と競合する、本発明1001～1023のいずれかのリポカリンムテイン。

[本発明1033]

本発明1001～1023のいずれかのリポカリンムテインと薬学的に許容される賦形剤とを含む、薬学的組成物。

[本発明1034]

治療作用物質に連結された本発明1001～1023のいずれかのリポカリンムテインまたはそのフラグメントを含む、イムノコンジュゲートまたは融合タンパク質。

[本発明1035]

(a) ムテインを、LAG-3を含有すると疑われる試験試料と接触させることによって、ムテインとLAG-3との間に複合体を形成させる工程、および

(b) ムテインとLAG-3との間の複合体を適切なシグナルによって検出する工程を含む、

LAG-3の結合/検出のための、本発明1001～1023のいずれかのムテインの使用。

[本発明1036]

本発明1001～1023のいずれかのムテインを含む、診断または分析キット。

[本発明1037]

本発明1001～1023のいずれかのムテインとLAG-3との複合体の形成が可能な条件下で、生物学的試料をムテインと接触させる工程を含む、生物学的試料中のLAG-3の存在を検出する方法。

[本発明1038]

ムテインとLAG-3との複合体を検出する工程をさらに含む、本発明1037の方法。

[本発明1039]

生物学的試料がヒトから単離される、本発明1037または本発明1038の方法。

[本発明1040]

前記試料が体液を含む、本発明1037～1039のいずれかの方法。