(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-522949
(P2024-522949A)
(43)公表日　令和6年6月24日(2024.6.24)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
C12N 15/62 (2006.01)		C12N	15/62	ZZNA　4B065
C12N 5/10 (2006.01)		C12N	5/10	4C076
C12N 1/21 (2006.01)		C12N	1/21	4C084
C12N 1/19 (2006.01)		C12N	1/19	4C085
C12N 1/15 (2006.01)		C12N	1/15	4C087

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全310頁）　最終頁に続く

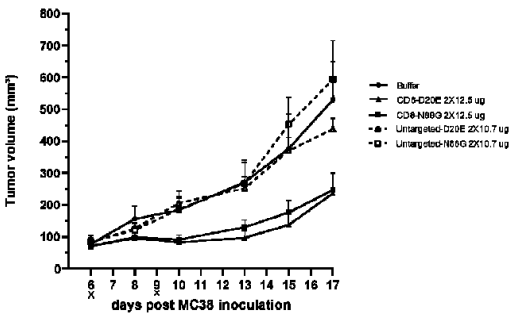
(21)出願番号　特願2023-563256(P2023-563256)
(86)(22)出願日　令和4年4月16日(2022.4.16)
(85)翻訳文提出日　令和5年12月18日(2023.12.18)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/025143
(87)国際公開番号　WO2022/221746
(87)国際公開日　令和4年10月20日(2022.10.20)
(31)優先権主張番号　63/297,330
(32)優先日　令和4年1月7日(2022.1.7)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/175,827
(32)優先日　令和3年4月16日(2021.4.16)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA
最終頁に続く

(71)出願人　519287378
オリオンズ バイオサイエンス インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 ０２４５１ マサチューセッツ州 ウォルサム、ウィンター ストリート ９５０
(71)出願人　519287389
オリオンズ バイオサイエンス ビーブイ
ベルギー王国 Ｂ－９０５２ ヘント、テフノロギーパルク ９４
(74)代理人　110001519
弁理士法人太陽国際特許事務所
(72)発明者　クレイ、ニコライ
アメリカ合衆国 ０２４５１ マサチューセッツ州、ウォルサム ウィンター スト
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ＩＬ－２系構築物

(57)【要約】
本発明は、一部には、インターロイキン２またはその変異体を含む、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質またはキメラタンパク質複合体、及び治療薬としてのそれらの使用に関する。

FIG. 57



【特許請求の範囲】
【請求項１】
（ａ）改変ＩＬ－２シグナル伝達因子であって、配列番号１を有する野生型シグナル伝達因子と比較して、前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子の、安全性を向上させ、且つＩＬ－２Ｒαβγ及び／またはＩＬ－２Ｒβ及び／またはＩＬ－２Ｒγ及び／またはＩＬ－２Ｒαに対する親和性または生物活性を低減する、前記野生型ＩＬ－２シグナル伝達因子に対する１つ以上の変異または改変を有する、前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子と、
（ｂ）目的の抗原または受容体に特異的に結合する認識ドメインを含む１種以上の標的化部分と
を含み、
前記改変ＩＬ－２と前記１種以上の標的化部分が、任意選択で１種以上のリンカーを介して連結され、
前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子が、
（ｉ）Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｆ、Ｄ２０Ｇ、Ｄ２０Ｈ、Ｄ２０Ｉ、Ｄ２０Ｋ、Ｄ２０Ｌ、及びＤ２０Ｖから選択される変異、または
（ｉｉ）Ｎ８８Ｇ、Ｎ８８Ｅ、Ｎ８８Ｋ、Ｎ８８Ｑ、及びＮ８８Ｖから選択される変異、または
（ｉｉｉ）Ｑ１２６Ｇ、Ｑ１２６Ａ、Ｑ１２６Ｅ、Ｑ１２６Ｆ、Ｑ１２６Ｈ、Ｑ１２６Ｉ、Ｑ１２６Ｋ、Ｑ１２６Ｌ、Ｑ１２６Ｎ、Ｑ１２６Ｐ、Ｑ１２６Ｒ、Ｑ１２６Ｓ、Ｑ１２６Ｔ、Ｑ１２６Ｖ、Ｑ１２６Ｗ、及びＱ１２６Ｙから選択される変異、または
（ｉｖ）（ｉ）及び（ｉｉｉ）から選択される変異もしくは（ｉｉ）及び（ｉｉｉ）から選択される変異、または
（ｖ）Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、
Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｅ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｆ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｇ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｈ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｉ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｋ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｌ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｎ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｓ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｔ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｖ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ａ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｄ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｅ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｈ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｉ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｋ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｑ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｒ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｔ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｖ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ、
Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ、
Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、

Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｙ／Ｅ６２Ａ／Ｃ１２５Ａ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｅ６２Ａ、
Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｌ７２Ｇ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｅ６２Ａ／Ｃ１２５Ａ、
Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｌ７２Ｇ／Ｃ１２５Ａ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｇ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｉ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｙ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｇ／Ｃ１２５Ａ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｉ／Ｃ１２５Ａ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｙ／Ｃ１２５Ａ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ、及び
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ
から選択される１つ以上の変異
を含む、キメラタンパク質あるいはタンパク質複合体。

【請求項２】
前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子がグリコシル化変異をさらに含み、前記変異が前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子のグリコシル化を減少させるもしくは排除する、請求項１に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項３】
前記グリコシル化変異がＴ３置換であり、前記変異がＴ３Ａ、Ｔ３Ｆ、Ｔ３Ｈ、Ｔ３Ｌ、Ｔ３Ｖ、及びＴ３Ｙの１種である、請求項２に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項４】
前記グリコシル化変異が、前記改変ＩＬ－２の最初の３、４、５、６、７、もしくは８残基の欠失である、請求項２に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項５】
（ａ）改変ＩＬ－２シグナル伝達因子であって、配列番号１を有する野生型シグナル伝達因子と比較して、前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子の、安全性を向上させ、且つＩＬ－２Ｒαβγ及び／またはＩＬ－２Ｒβ及び／またはＩＬ－２Ｒγ及び／またはＩＬ－２Ｒαに対する親和性または生物活性を低減する、前記野生型ＩＬ－２シグナル伝達因子に対する１つ以上の変異または改変を有する、前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子と、
（ｂ）目的の抗原または受容体に特異的に結合する認識ドメインを含む１種以上の標的化部分と
を含み、
前記改変ＩＬ－２と前記１種以上の標的化部分が、任意選択で１種以上のリンカーを介して連結され、
前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子がグリコシル化変異を含み、前記変異が前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子のグリコシル化を減少させるまたは排除する、キメラタンパク質あるいはタンパク質複合体。

【請求項６】
前記グリコシル化変異がＴ３置換であり、任意選択で前記変異が、Ｔ３Ａ、Ｔ３Ｆ、Ｔ３Ｈ、Ｔ３Ｌ、Ｔ３Ｖ、及びＴ３Ｙの１種である、請求項５に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項７】
前記グリコシル化変異が、前記改変ＩＬ－２の最初の３、４、５、６、７、もしくは８残基の欠失である、請求項５に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項８】
（ａ）改変ＩＬ－２シグナル伝達因子であって、配列番号２を有するネオロイキンシグ

ナル伝達因子と比較して、前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子の、安全性を向上させ、且つＩＬ－２Ｒαβγ及び／またはＩＬ－２Ｒβ及び／またはＩＬ－２Ｒγ及び／またはＩＬ－２Ｒαに対する親和性または生物活性を低減する、前記ネオロイキンシグナル伝達因子に対する１つ以上の変異または改変を有する、前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子と、

（ｂ）目的の抗原または受容体に特異的に結合する認識ドメインを含む１種以上の標的化部分と

を含み、

前記改変ＩＬ－２と前記１種以上の標的化部分が、任意選択で１つ以上のリンカーを介して連結され、

前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子が、Ｄ１５及びＮ４０から選択される位置に１つ以上の変異を含み、任意選択で前記変異が、Ｄ１５Ｔ、Ｄ１５Ｈ、Ｎ４０Ｉ、Ｎ４０Ｇ、及びＮ４０Ｒから選択される、キメラタンパク質あるいはタンパク質複合体。

【請求項９】

前記改変ＩＬ－２が、ＩＬ－２受容体鎖に対する親和性を低減する１つ以上の変異を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項１０】

前記改変ＩＬ－２がＩＬ－２Ｒαβγに対する親和性の低下を示す、請求項１～９のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項１１】

前記改変ＩＬ－２が、ＩＬ－２Ｒβ、ＩＬ－２Ｒγ、もしくはそれらの組み合わせに対する親和性の低下を示す、請求項１～９のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項１２】

前記改変ＩＬ－２が、ＩＬ－２Ｒα、ＩＬ－２Ｒβ、ＩＬ－２Ｒγ、もしくはそれらの組み合わせに対する親和性の低下を示す、請求項１～９のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項１３】

前記改変ＩＬ－２がＩＬ－２Ｒα及びＩＬ－２Ｒβに対する親和性の低下を示し、任意選択で前記改変ＩＬ－２が、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ、及びＲ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａから選択される１つ以上の変異を含むか、または

前記改変ＩＬ－２がＩＬ－２Ｒα及びＩＬ－２Ｒγに対する親和性の低下を示し、任意選択で前記改変ＩＬ－２が、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｇ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｉ、及びＲ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｙから選択される１つ以上の変異を含むか、または

前記改変ＩＬ－２がＩＬ－２Ｒβに対する親和性の低下を示し、任意選択で前記改変ＩＬ－２が、Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｆ、Ｄ２０Ｇ、Ｄ２０Ｈ、Ｄ２０Ｉ、Ｄ２０Ｋ、Ｄ２０Ｌ、Ｄ２０Ｖ、Ｎ８８Ｇ、Ｎ８８Ｅ、Ｎ８８Ｋ、Ｎ８８Ｑ、Ｎ８８Ｖ、Ｄ２０Ｅ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｆ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｉ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｌ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｎ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｓ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｄ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｅ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｉ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｑ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｒ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｔ／Ｃ１２５Ａ、及びＮ８８Ｖ／Ｃ１２５Ａから選択される１つ以上の変異を含むか、または

前記改変ＩＬ－２がＩＬ－２Ｒγに対する親和性の低下を示し任意選択で前記改変ＩＬ－２が、Ｑ１２６Ａ、Ｑ１２６Ｅ、Ｑ１２６Ｆ、Ｑ１２６Ｇ、Ｑ１２６Ｈ、Ｑ１２６Ｉ、

Ｑ１２６Ｋ、Ｑ１２６Ｌ、Ｑ１２６Ｎ、Ｑ１２６Ｐ、Ｑ１２６Ｒ、Ｑ１２６Ｓ、Ｑ１２６Ｔ、Ｑ１２６Ｖ、Ｑ１２６Ｗ、及びＱ１２６Ｙ、もしくはそれらの組み合わせから選択される１つ以上の変異を含む、
請求項１０に記載のキメラタンパク質あるいはタンパク質複合体。
【請求項１４】
前記改変ＩＬ－２がＩＬ－２Ｒβγに対する親和性の低下を示し、任意選択で前記改変ＩＬ－２が、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｄ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｅ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｆ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｇ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｈ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｉ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｋ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｌ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｍ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｎ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｐ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｒ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｓ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｔ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｖ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｗ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｙ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｄ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｅ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｆ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｇ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｈ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｉ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｋ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｌ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｍ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｎ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｐ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｒ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｓ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｔ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｖ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｗ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｙ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ａ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｄ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｅ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｆ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｇ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｈ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｉ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｋ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｌ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｍ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｎ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｐ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｒ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｓ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｔ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｖ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｗ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｙ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ａ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｄ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｅ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｆ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｇ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｈ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｉ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｋ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｌ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｍ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｎ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｐ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｒ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｓ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｔ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｖ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｗ、及びＮ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｙから選択される１つ以上の変異を含む、請求項１～９のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。
【請求項１５】
前記ＩＬ－２シグナル伝達因子における前記１つ以上の変異が、１種以上の標的化部分への結合によって、親和性もしくは生物活性を回復可能に低減する、請求項１～１４のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。
【請求項１６】
前記１種以上の標的化部分が、腫瘍細胞、内皮細胞、上皮細胞、間葉細胞、腫瘍間質もしくは間質細胞、及び／またはＥＣＭに対する指向性を有する、先行請求項のいずれか１項に記載のキメラタンパク質あるいはタンパク質複合体。
【請求項１７】
前記１種以上の標的化部分が、免疫細胞及び／または臓器細胞及び／または組織細胞に対する指向性を有する、先行請求項のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。
【請求項１８】
前記免疫細胞が、Ｔ細胞、Ｔｒｅｇ、細胞傷害性Ｔリンパ球、ヘルパーＴ細胞、Ｂ細胞、樹状細胞、抗腫瘍もしくは腫瘍関連マクロファージ（例えば、Ｍ１もしくは Ｍ２マクロファージ）、好中球、骨髄性抑制性細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、及びナチュラルキラーＴ（ＮＫＴ）細胞から選択され、任意選択で、前記免疫細胞がＴ細胞であり、且つ前記標的化部分がＣＤ８を標的化しているか、または任意選択で、前記免疫細胞がＴｒｅｇであり、且つ前記標的化部分がＣＴＬＡ４を標的化しているか、または任意選択で、前記免疫細胞がＮＫ細胞であり、且つ前記標的化部分がＮＫｐ４６である、請求項１７に記載のキメラタンパク質あるいはタンパク質複合体。
【請求項１９】

前記標的化部分が、完全長抗体、単一ドメイン抗体、組換えの重鎖のみの抗体（ＶＨＨ）、一本鎖抗体（ｓｃＦｖ）、サメ重鎖のみの抗体（ＶＮＡＲ）、マイクロプロテイン（例えばシステインノットプロテイン、ノッチン）、ダルピン、アンチカリン、アドネクチン、アプタマー、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）2、ペプチド模倣分子、受容体の天然リガンド、もしくは合成分子である認識ドメインを含む、先行請求項のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項２０】

前記認識ドメインが単一ドメイン抗体である、先行請求項のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項２１】

前記認識ドメインがＶＨＨもしくはヒト化ＶＨＨである、先行請求項のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項２２】

前記認識ドメインが前記目的の抗原もしくは受容体を機能的に調節する、先行請求項のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項２３】

前記認識ドメインが前記目的の抗原または受容体に結合するが、前記抗原または受容体を機能的に調節しない、先行請求項のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項２４】

２種以上の標的化部分を含む、先行請求項のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項２５】

前記標的化部分が以下の標的、すなわち、ＣＤ８、ＣＴＬＡ４、ＣＤ３、ＣＤ４、ＤＮＡＭ－１、Ｎｒｐ１（ニューロフィリン）、ＴＮＦＲ１、ＴＮＦＲ２、ＧＩＴＲ、ＩＣＯＳ、ＣＤ２０、ＣＤ７０、Ｃｌｅｃ９ａ、ＮＫｐ４６、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＳＩＲＰ１α、ＦＡＰ、ＸＣＲ１、テネイシン、もしくはＥＣＭタンパク質の１種以上に結合する、先行請求項のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項２６】

１種以上の追加の改変シグナル伝達因子をさらに含む、先行請求項のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項２７】

前記キメラタンパク質が、２種のシグナル伝達因子及び１種の標的化部分、もしくは２種の標的化部分及び１種のシグナル伝達因子、もしくは２種のシグナル伝達因子及び２種の標的化部分を含む、先行請求項のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項２８】

前記キメラタンパク質が、３種のシグナル伝達因子もしくは３種の標的化部分もしくは３種のシグナル伝達因子及び３種の標的化部分を含む、先行請求項のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項２９】

前記追加の改変シグナル伝達因子が、未変異のシグナル伝達因子に比較して、受容体に対する親和性もしくは活性を低減する１つ以上の変異を含む、請求項２６に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項３０】

前記１つ以上の変異によって活性の減弱が可能になる、請求項２９に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項３１】

アゴニストもしくはアンタゴニスト活性が減弱化された、請求項３０に記載のキメラタ

ンパク質またはタンパク質複合体。
【請求項３２】
前記キメラタンパク質が、がん、感染症、免疫障害、自己免疫疾患、心血管疾患、創傷、虚血関連疾患、神経変性疾患、及び／または代謝性疾患の１種以上を有する患者における使用に好適である、先行請求項のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。
【請求項３３】
先行請求項のいずれか１項に記載の１種以上のキメラタンパク質またはタンパク質複合体をコードする組換え核酸組成物。
【請求項３４】
請求項３３に記載の組換え核酸を含む宿主細胞。
【請求項３５】
がんの治療方法であって、有効量の請求項１～３２のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体を、それを必要とする患者に投与することを含む、前記方法。
【請求項３６】
前記がんが、基底細胞癌；胆管癌；膀胱癌；骨癌；脳及び中枢神経系の癌；乳癌；腹膜の癌；子宮頸癌；絨毛癌；結腸直腸癌；結合組織癌；消化器系の癌；子宮内膜癌；食道癌；眼癌；頭頸部の癌；胃癌（消化器癌を含む）；膠芽腫；肝癌；肝細胞癌；上皮内腫瘍；腎臓癌または腎癌；喉頭がん；白血病；肝臓癌；肺癌（例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、及び肺扁平上皮癌）；黒色腫；骨髄腫；神経芽細胞腫；口腔癌（口唇、舌、口腔、及び咽頭）；卵巣癌；膵臓癌；前立腺癌；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫；直腸癌；呼吸器系の癌；唾液腺癌；肉腫（例えば、カポジ肉腫）；皮膚癌；扁平上皮癌；胃癌；精巣癌；甲状腺癌；子宮癌または子宮内膜癌；泌尿器系の癌；外陰癌；ホジキンリンパ腫及び非ホジキンリンパ腫、ならびにＢ細胞リンパ腫（低悪性度／ろ胞性非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）を含む）を含むリンパ腫；小リンパ球（ＳＬ）ＮＨＬ；中等度／ろ胞性ＮＨＬ；中等度びまん性ＮＨＬ；高悪性度免疫芽球性ＮＨＬ；高悪性度リンパ芽球性ＮＨＬ；高悪性度小型非切れ込み核細胞性ＮＨＬ；かさばり病変ＮＨＬ；マントル細胞リンパ腫；ＡＩＤＳ関連リンパ腫；ワルデンストレームマクログロブリン血症；慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）；急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）；有毛細胞白血病；慢性骨髄芽球性白血病；ならびに他の癌腫及び肉腫；及び移植後リンパ増殖性障害（ＰＴＬＤ）、ならびに母斑症、浮腫（例えば脳腫瘍に関連する浮腫）、及びＭｅｉｇ症候群に関連する異常な血管増殖の１種以上から選択される、請求項３５に記載の方法。
【請求項３７】
薬剤の製造における、請求項１～３２のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体の使用。
【請求項３８】
がんもしくは自己免疫疾患の治療を必要とする対象における前記治療における、請求項１～３１のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体の使用。
【請求項３９】
（ａ）改変ＩＬ－２シグナル伝達因子であって、配列番号１を有する野生型シグナル伝達因子と比較して、前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子の、安全性を向上させ、且つＩＬ－２Ｒαβγ及び／またはＩＬ－２Ｒβ及び／またはＩＬ－２Ｒγ及び／またはＩＬ－２Ｒαに対する親和性または生物活性を低減する、前記野生型ＩＬ－２シグナル伝達因子に対する１つ以上の変異または改変を有する、前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子と、
（ｂ）目的の抗原または受容体に特異的に結合する認識ドメインを含む１種以上の標的化部分と
（ｃ）Ｆｃドメインであって、前記Ｆｃドメインの１つ以上のエフェクター機能を低減するもしくは排除する、前記Ｆｃドメイン中のＦｃ鎖対形成を促進する、及び／または前記Ｆｃドメイン中のヒンジ領域を安定化させる１つ以上の変異を任意選択で有する、前記

ＦｃドメインとＦｃドメインと
を含み、
前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子が、
（ｉ）Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｆ、Ｄ２０Ｇ、Ｄ２０Ｈ、Ｄ２０Ｉ、Ｄ２０Ｋ、Ｄ２０Ｌ、及びＤ２０Ｖから選択される変異、または
（ｉｉ）Ｎ８８Ｇ、Ｎ８８Ｅ、Ｎ８８Ｋ、Ｎ８８Ｑ、及びＮ８８Ｖから選択される変異、または
（ｉｉｉ）Ｑ１２６Ｇ、Ｑ１２６Ａ、Ｑ１２６Ｅ、Ｑ１２６Ｆ、Ｑ１２６Ｈ、Ｑ１２６Ｉ、Ｑ１２６Ｋ、Ｑ１２６Ｌ、Ｑ１２６Ｎ、Ｑ１２６Ｐ、Ｑ１２６Ｒ、Ｑ１２６Ｓ、Ｑ１２６Ｔ、Ｑ１２６Ｖ、Ｑ１２６Ｗ、及びＱ１２６Ｙから選択される変異、または
（ｉｖ）（ｉ）及び（ｉｉｉ）から選択される変異もしくは（ｉｉ）及び（ｉｉｉ）から選択される変異、または
（ｖ）Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、
Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｅ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｆ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｇ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｈ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｉ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｋ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｌ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｎ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｓ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｔ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｖ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ａ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｄ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｅ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｈ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｉ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｋ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｑ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｒ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｔ／Ｃ１２５Ａ、
Ｎ８８Ｖ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ、
Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、
Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ、
Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｙ／Ｅ６２Ａ／Ｃ１２５Ａ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｅ６２Ａ、
Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｌ７２Ｇ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｅ６２Ａ／Ｃ１２５Ａ、
Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｌ７２Ｇ／Ｃ１２５Ａ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｇ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｉ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｙ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｇ／Ｃ１２５Ａ、

Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｉ／Ｃ１２５Ａ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｙ／Ｃ１２５Ａ、
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ、及び
Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ
から選択される１つ以上の変異
を含む、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項４０】
前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子がグリコシル化変異をさらに含み、前記変異が前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子のグリコシル化を減少させるまたは排除する、請求項３９に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項４１】
前記グリコシル化変異がＴ３置換であり、前記変異がＴ３Ａ、Ｔ３Ｆ、Ｔ３Ｈ、Ｔ３Ｌ、Ｔ３Ｖ、及びＴ３Ｙの１種である、請求項４０に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項４２】
前記グリコシル化変異が、前記改変ＩＬ－２の最初の３、４、５、６、７、または８残基の欠失である、請求項４０に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項４３】
（ａ）改変ＩＬ－２シグナル伝達因子であって、配列番号１を有する野生型シグナル伝達因子と比較して、前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子の、安全性を向上させ、且つＩＬ－２Ｒαβγ及び／またはＩＬ－２Ｒβ及び／またはＩＬ－２Ｒγ及び／またはＩＬ－２Ｒαに対する親和性または生物活性を低減する、前記野生型ＩＬ－２シグナル伝達因子に対する１つ以上の変異または改変を有する、前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子と、
（ｂ）目的の抗原または受容体に特異的に結合する認識ドメインを含む１種以上の標的化部分と、
（ｃ）Ｆｃドメインであって、前記Ｆｃドメインの１つ以上のエフェクター機能を低減するもしくは排除する、前記Ｆｃドメイン中のＦｃ鎖対形成を促進する、及び／または前記Ｆｃドメイン中のヒンジ領域を安定化させる１つ以上の変異を任意選択で有する、前記Ｆｃドメインと
を含み、
前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子がグリコシル化変異を含み、前記変異が前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子のグリコシル化を減少させるまたは排除する、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項４４】
前記グリコシル化変異がＴ３置換であり、任意選択で前記変異が、Ｔ３Ａ、Ｔ３Ｆ、Ｔ３Ｈ、Ｔ３Ｌ、Ｔ３Ｖ、及びＴ３Ｙの１種である、請求項４３に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項４５】
前記グリコシル化変異が、前記改変ＩＬ－２の最初の３、４、５、６、７、または８残基の欠失である、請求項４３に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項４６】
（ａ）改変ＩＬ－２シグナル伝達因子であって、配列番号２を有するネオロイキンシグナル伝達因子と比較して、前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子の、安全性を向上させ、且つＩＬ－２Ｒαβγ及び／またはＩＬ－２Ｒβ及び／またはＩＬ－２Ｒγ及び／またはＩＬ－２Ｒαに対する親和性または生物活性を低減する、前記ネオロイキンシグナル伝達因子に対する１つ以上の変異または改変を有する、前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子と、
（ｂ）目的の抗原または受容体に特異的に結合する認識ドメインを含む１種以上の標的化部分と
を含み、
前記改変ＩＬ－２と前記１種以上の標的化部分が、任意選択で１つ以上のリンカーを介

して連結され、
前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子が、Ｄ１５及びＮ４０から選択される位置に１つ以上の変異を含み、任意選択で前記変異が、Ｄ１５Ｔ、Ｄ１５Ｈ、Ｎ４０Ｉ、Ｎ４０Ｇ、及びＮ４０Ｒから選択される、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項４７】
前記改変ＩＬ－２が、ＩＬ－２受容体鎖に対する親和性を低減する１つ以上の変異を含む、請求項３９～４６のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項４８】
前記改変ＩＬ－２がＩＬ－２Ｒαβγに対する親和性の低下を示す、請求項３９～４７のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項４９】
前記改変ＩＬ－２が、ＩＬ－２Ｒβ、ＩＬ－２Ｒγ、またはそれらの組み合わせに対する親和性の低下を示す、請求項３９～４７のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項５０】
前記改変ＩＬ－２が、ＩＬ－２Ｒα、ＩＬ－２Ｒβ、ＩＬ－２Ｒγ、またはそれらの組み合わせに対する親和性の低下を示す、請求項３９～４７のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項５１】
前記改変ＩＬ－２がＩＬ－２Ｒα及びＩＬ－２Ｒβに対する親和性の低下を示し、任意選択で前記改変ＩＬ－２が、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ、及びＲ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａから選択される１つ以上の変異を含むか、または
前記改変ＩＬ－２がＩＬ－２Ｒα及びＩＬ－２Ｒγに対する親和性の低下を示し、任意選択で前記改変ＩＬ－２が、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｇ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｉ、及びＲ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｙから選択される１つ以上の変異を含むか、または
前記改変ＩＬ－２がＩＬ－２Ｒβに対する親和性の低下を示し、任意選択で前記改変ＩＬ－２が、Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｆ、Ｄ２０Ｇ、Ｄ２０Ｈ、Ｄ２０Ｉ、Ｄ２０Ｋ、Ｄ２０Ｌ、Ｄ２０Ｖ、Ｎ８８Ｇ、Ｎ８８Ｅ、Ｎ８８Ｋ、Ｎ８８Ｑ、Ｎ８８Ｖ、Ｄ２０Ｅ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｆ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｉ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｌ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｎ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｓ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｄ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｅ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｉ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｑ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｒ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｔ／Ｃ１２５Ａ、及びＮ８８Ｖ／Ｃ１２５Ａから選択される１つ以上の変異を含むか、または
前記改変ＩＬ－２がＩＬ－２Ｒγに対する親和性の低下を示し、任意選択で前記改変ＩＬ－２が、Ｑ１２６Ａ、Ｑ１２６Ｅ、Ｑ１２６Ｆ、Ｑ１２６Ｇ、Ｑ１２６Ｈ、Ｑ１２６Ｉ、Ｑ１２６Ｋ、Ｑ１２６Ｌ、Ｑ１２６Ｎ、Ｑ１２６Ｐ、Ｑ１２６Ｒ、Ｑ１２６Ｓ、Ｑ１２６Ｔ、Ｑ１２６Ｖ、Ｑ１２６Ｗ、及びＱ１２６Ｙ、もしくはそれらの組み合わせから選択される１つ以上の変異を含む、
請求項４８に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項５２】
前記改変ＩＬ－２がＩＬ－２Ｒβγに対する親和性の低下を示し、任意選択で前記改変ＩＬ－２が、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｄ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｅ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｆ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｇ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｈ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２

６Ｉ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｋ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｌ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｍ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｎ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｐ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｒ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｓ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｔ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｖ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｗ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｙ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｄ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｅ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｆ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｇ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｈ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｉ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｋ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｌ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｍ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｎ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｐ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｒ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｓ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｔ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｖ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｗ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｙ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ａ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｄ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｅ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｆ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｇ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｈ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｉ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｋ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｌ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｍ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｎ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｐ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｒ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｓ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｔ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｖ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｗ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｙ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ａ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｄ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｅ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｆ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｇ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｈ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｉ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｋ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｌ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｍ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｎ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｐ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｒ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｓ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｔ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｖ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｗ、及びＮ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｙから選択される１つ以上の変異を含む、請求項３９～４７のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。

【請求項５３】

前記ＩＬ－２シグナル伝達因子における前記１つ以上の変異が、１種以上の標的化部分への結合によって、または前記Ｆｃ系キメラタンパク質複合体への包含時に、親和性または生物活性を回復可能に低減する、請求項３９～５２のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。

【請求項５４】

前記１種以上の標的化部分が、腫瘍細胞、内皮細胞、上皮細胞、間葉細胞、腫瘍間質もしくは間質細胞、及び／またはＥＣＭに対する指向性を有する、請求項３９～５３のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。

【請求項５５】

前記１種以上の標的化部分が、免疫細胞及び／または臓器細胞及び／または組織細胞に対する指向性を有する、請求項３９～５４のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。

【請求項５６】

前記免疫細胞が、Ｔ細胞、Ｂ細胞、樹状細胞、マクロファージ、好中球、肥満細胞、単球、赤血球、骨髄系細胞、骨髄系由来抑制細胞、ＮＫＴ細胞、及びＮＫ細胞、またはそれらの誘導体から選択され、任意選択で、前記免疫細胞がＴ細胞であり、且つ前記標的化部分がＣＤ８を標的化しているか、または任意選択で、前記免疫細胞がＴｒｅｇであり、且つ前記標的化部分がＣＴＬＡ４を標的化しているか、または任意選択で、前記免疫細胞がＮＫ細胞であり、且つ前記標的化部分がＮＫｐ４６である、請求項５５に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。

【請求項５７】

前記標的化部分が、完全長抗体、単一ドメイン抗体、組換えの重鎖のみの抗体（ＶＨＨ）、一本鎖抗体（ｓｃＦｖ）、サメ重鎖のみの抗体（ＶＮＡＲ）、マイクロプロテイン（例えばシステインノットプロテイン、ノッチン）、ダルピン、アンチカリン、アドネクチン、アプタマー、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、ペプチド模倣分子、受容体の天然リガンド、または合成分子である認識ドメインを含む、請求項３９～５６のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。

【請求項５８】

前記認識ドメインが単一ドメイン抗体である、請求項３９～５７のいずれか１項に記載

のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項５９】
前記認識ドメインがＶ$_{HH}$またはヒト化Ｖ$_{HH}$である、請求項３９～５８のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項６０】
前記認識ドメインが前記目的の抗原または受容体を機能的に調節する、請求項３９～５９のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項６１】
前記認識ドメインが前記目的の抗原もしくは受容体に結合するが、前記抗原または受容体を機能的に調節しない、請求項３９～６０のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項６２】
２種以上の標的化部分を含む、請求項３９～６１のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項６３】
前記標的化部分が以下の標的、すなわち、ＣＤ８、ＣＴＬＡ４、ＣＤ３、ＣＤ４、ＤＮＡＭ－１、Ｎｒｐ１（ニューロフィリン）、ＴＮＦＲ１、ＴＮＦＲ２、ＧＩＴＲ、ＩＣＯＳ、ＣＤ２０、ＣＤ７０、Ｃｌｅｃ９ａ、ＮＫｐ４６、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＳＩＲＰ１α、ＦＡＰ、ＸＣＲ１、テネイシン、またはＥＣＭタンパク質の１種以上に結合する、請求項３９～６２のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項６４】
１種以上の追加の改変シグナル伝達因子をさらに含む、請求項３９～６３のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項６５】
前記キメラタンパク質が、２種のシグナル伝達因子または２種の標的化部分または２種のシグナル伝達因子及び２種の標的化部分を含む、請求項３９～６４のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項６６】
前記キメラタンパク質が、３種のシグナル伝達因子または３種の標的化部分または３種のシグナル伝達因子及び３種の標的化部分を含む、請求項３９～６５のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項６７】
前記追加の改変シグナル伝達因子が、未変異のシグナル伝達因子に比較して、受容体に対する親和性または活性を低減する１つ以上の変異を含む、請求項６４に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項６８】
前記１つ以上の変異によって活性の減弱が可能になる、請求項６７に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項６９】
アゴニストまたはアンタゴニスト活性が減弱化された、請求項６８に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項７０】
前記キメラタンパク質が、がん、感染症、免疫障害、自己免疫疾患、心血管疾患、創傷、虚血関連疾患、神経変性疾患、及び／または代謝性疾患の１種以上を有する患者における使用に好適である、請求項３９～６９のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項７１】
請求項３９～７０のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体、またはそれらの構成ポリペプチドをコードする組換え核酸組成物。
【請求項７２】

請求項７１に記載の組換え核酸を含む宿主細胞。
【請求項７３】
がんの治療方法であって、有効量の、（ｉ）請求項３９～６９のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体をそれを必要とする患者に、（ｉｉ）請求項７１に記載の組換え核酸をそれを必要とする患者に、または（ｉｉｉ）請求項７２に記載の宿主細胞をそれを必要とする患者に投与することを含む、前記方法。
【請求項７４】
前記がんが、基底細胞癌；胆管癌；膀胱癌；骨癌；脳及び中枢神経系の癌；乳癌；腹膜の癌；子宮頸癌；絨毛癌；結腸直腸癌；結合組織癌；消化器系の癌；子宮内膜癌；食道癌；眼癌；頭頸部の癌；胃癌（消化器癌を含む）；膠芽腫；肝癌；肝細胞癌；上皮内腫瘍；腎臓癌または腎癌；喉頭がん；白血病；肝臓癌；肺癌（例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、及び肺扁平上皮癌）；黒色腫；骨髄腫；神経芽細胞腫；口腔癌（口唇、舌、口腔、及び咽頭）；卵巣癌；膵臓癌；前立腺癌；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫；直腸癌；呼吸器系の癌；唾液腺癌；肉腫（例えば、カポジ肉腫）；皮膚癌；扁平上皮癌；胃癌；精巣癌；甲状腺癌；子宮癌または子宮内膜癌；泌尿器系の癌；外陰癌；ホジキンリンパ腫及び非ホジキンリンパ腫、ならびにＢ細胞リンパ腫（低悪性度／ろ胞性非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）を含む）を含むリンパ腫；小リンパ球（ＳＬ）ＮＨＬ；中等度／ろ胞性ＮＨＬ；中等度びまん性ＮＨＬ；高悪性度免疫芽球性ＮＨＬ；高悪性度リンパ芽球性ＮＨＬ；高悪性度小型非切れ込み核細胞性ＮＨＬ；かさばり病変ＮＨＬ；マントル細胞リンパ腫；ＡＩＤＳ関連リンパ腫；ワルデンストレームマクログロブリン血症；慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）；急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）；有毛細胞白血病；慢性骨髄芽球性白血病；ならびに他の癌腫及び肉腫；及び移植後リンパ増殖性障害（ＰＴＬＤ）、ならびに母斑症、浮腫（例えば脳腫瘍に関連する浮腫）、及びＭｅｉｇ症候群に関連する異常な血管増殖の１種以上から選択される、請求項７３に記載の方法。
【請求項７５】
薬剤の製造における、請求項３９～７０のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体の使用。
【請求項７６】
がんまたは自己免疫疾患の治療を必要とする対象における前記治療における、請求項３９～６９のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体の使用。
【請求項７７】
前記Ｆｃドメインが、ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＭ、またはＩｇＥ由来である、請求項３９～７０のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項７８】
前記ＩｇＧが、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、またはＩｇＧ４から選択される、請求項７７に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項７９】
前記Ｆｃドメインが、ヒトＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＭ、またはＩｇＥ由来である、請求項３９～７０のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項８０】
前記ヒトＩｇＧが、ヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、またはＩｇＧ４から選択される、請求項７９に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項８１】
前記Ｆｃ鎖対形成が、イオン対形成及び／またはノブ・イン・ホール対形成により促進される、請求項３９～７０及び７７～８０のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項８２】
前記Ｆｃドメインに対する前記１つ以上の変異により、前記Ｆｃドメイン中のＦｃ鎖間のイオン対形成が生じる、請求項３９～７０及び７７～８１のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。

【請求項８３】
前記Ｆｃドメインに対する前記１つ以上の変異により、前記Ｆｃドメイン中のノブ・イン・ホール対形成が生じる、請求項３９～７０及び７７～８２のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項８４】
前記Ｆｃドメインに対する前記１つ以上の変異により、前記Ｆｃドメインのエフェクター機能が低減または排除される、請求項３９～７０及び７７～８３のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項８５】
前記Ｆｃ系キメラタンパク質複合体がヘテロ二量体であり、且つ、いずれの標的化部分とシグナル伝達因子に関しても互いに、またはいずれの複数の標的化部分に関しても互いに、またはいずれの複数のシグナル伝達因子関しても互いに、ｔｒａｎｓ配置（ｏｒｉｅｎｔａｔｉｏｎ）／配置（ｃｏｎｆｉｇｕｒａｔｉｏｎ）を有する、請求項３９～７０または７７～８４のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項８６】
前記Ｆｃ系キメラタンパク質複合体がヘテロ二量体であり、且つ、いずれの標的化部分とシグナル伝達因子に関しても互いに、またはいずれの複数の標的化部分に関しても互いに、またはいずれの複数のシグナル伝達因子関しても互いに、ｃｉｓ配置（ｏｒｉｅｎｔａｔｉｏｎ）を有する、請求項３９～７０及び７７～８５のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項８７】
前記Ｆｃが、ヒトＩｇＧ１中にＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、及びＫ３２２Ｑ置換（ＥＵナンバリングに準拠）を含む、請求項３９～７０及び７７～８６のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項８８】
前記Ｆｃが、ヒトＩｇＧ１であり、且つ任意選択で、Ｌ２３４、Ｌ２３５、Ｋ３２２、Ｄ２６５、Ｐ３２９、及びＰ３３１（ＥＵナンバリングに準拠）の１つ以上の変異を含む、請求項３９～７０及び７７～８７のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項８９】
前記Ｆｃ系キメラタンパク質複合体が、図１Ａ～Ｆ、２Ａ～Ｈ、３Ａ～Ｈ、４Ａ～Ｄ、５Ａ～Ｆ、６Ａ～Ｊ、７Ａ～Ｄ、８Ａ～Ｆ、９Ａ～Ｊ、１０Ａ～Ｆ、１１Ａ～Ｌ、１２Ａ～Ｌ、１３Ａ～Ｆ、１４Ａ～Ｌ、１５Ａ～Ｌ、１６Ａ～Ｊ、１７Ａ～Ｊ、１８Ａ～Ｆ、及び１９Ａ～Ｆ、３１、及び３２のいずれか１つの配置（ｏｒｉｅｎｔａｔｉｏｎ）／配置（ｃｏｎｆｉｇｕｒａｔｉｏｎ）を有する、請求項３９～７０及び７７～８８のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項９０】
配列番号２９２、２９３、２９４、２９９、３０１、３１０、３１１、３１２、３１５、３１６、３１９、３２０、３２５、３２８、３３２、３３３、及び３３５のいずれか１つと、少なくとも９０％、または少なくとも９５％、または少なくとも９６％、または少なくとも９７％、または少なくとも９８％、または少なくとも９９％の同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む、請求項３９～７０及び７７～８９のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項９１】
前記キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体が、配列番号２９０～４４９、４７８～４９５、もしくは５０１～５３１のいずれか１つと、少なくとも９０％、または少なくとも９５％、または少なくとも９６％、または少なくとも９７％、または少なくとも９８％、または少なくとも９９％の同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む、請求項１～３２のいずれか１項に記載のキメラタンパク質、あるいは請求項３９～７０または７７～８９のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。

【請求項９２】
（ａ）改変ＩＬ－２シグナル伝達因子であって、配列番号１を有する野生型シグナル伝達因子と比較して、前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子の、安全性を向上させ、且つＩＬ－２Ｒβに対する親和性もしくは生物活性を低減する、前記野生型ＩＬ－２シグナル伝達因子に対する単一の変異を有する、前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子と、
（ｂ）目的の抗原もしくは受容体に特異的に結合する認識ドメインを含む１種以上の標的化部分と
を含み、
前記改変ＩＬ－２と前記１種以上の標的化部分が、任意選択で１種以上のリンカーを介して連結され、
前記単一の変異が、Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｆ、Ｄ２０Ｇ、Ｄ２０Ｈ、Ｄ２０Ｉ、Ｄ２０Ｋ、Ｄ２０Ｌ、Ｄ２０Ｎ、Ｄ２０Ｖ、Ｎ８８Ｇ、Ｎ８８Ｅ、Ｎ８８Ｉ、Ｎ８８Ｋ、Ｎ８８Ｑ、Ｎ８８Ｒ、及びＮ８８Ｖから選択され、
前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子が、ＩＬ－２Ｒαに対する親和性もしくは生物活性を低減する変異を含まない、
キメラタンパク質またはタンパク質複合体。
【請求項９３】
前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子がグリコシル化変異をさらに含み、前記変異が前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子のグリコシル化を減少させるもしくは排除する、請求項９２に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。
【請求項９４】
前記グリコシル化変異がＴ３置換であり、前記変異がＴ３Ａ、Ｔ３Ｆ、Ｔ３Ｈ、Ｔ３Ｌ、Ｔ３Ｖ、及びＴ３Ｙの１種である、請求項９３に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。
【請求項９５】
前記グリコシル化変異が、前記改変ＩＬ－２の最初の３、４、５、６、７、もしくは８残基の欠失である、請求項９３に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。
【請求項９６】
前記ＩＬ－２シグナル伝達因子における前記１つ以上の変異が、１種以上の標的化部分への結合によって、親和性もしくは生物活性を回復可能に低減する、請求項９２～９５のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。
【請求項９７】
前記１種以上の標的化部分が、腫瘍細胞、内皮細胞、上皮細胞、間葉細胞、腫瘍間質もしくは間質細胞、及び／またはＥＣＭに対する指向性を有する、請求項９２～９６のいずれか１項に記載のキメラタンパク質あるいはタンパク質複合体。
【請求項９８】
前記１種以上の標的化部分が、免疫細胞及び／または臓器細胞及び／または組織細胞に対する指向性を有する、請求項９２～９７のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。
【請求項９９】
前記免疫細胞が、Ｔ細胞、Ｔｒｅｇ、細胞傷害性Ｔリンパ球、ヘルパーＴ細胞、Ｂ細胞、樹状細胞、抗腫瘍もしくは腫瘍関連マクロファージ（例えば、Ｍ１もしくは Ｍ２マクロファージ）、好中球、骨髄性抑制性細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、及びナチュラルキラーＴ（ＮＫＴ）細胞から選択され、任意選択で、前記免疫細胞がＴ細胞であり、且つ前記標的化部分がＣＤ８を標的化しているか、または任意選択で、前記免疫細胞がＴｒｅｇであり、且つ前記標的化部分がＣＴＬＡ４を標的化しているか、または任意選択で、前記免疫細胞がＮＫ細胞であり、且つ前記標的化部分がＮＫｐ４６である、請求項９８に記載のキメラタンパク質あるいはタンパク質複合体。
【請求項１００】
前記標的化部分が、完全長抗体、単一ドメイン抗体、組換えの重鎖のみの抗体（ＶＨＨ

）、一本鎖抗体（ｓｃＦｖ）、サメ重鎖のみの抗体（ＶＮＡＲ）、マイクロプロテイン（例えばシステインノットプロテイン、ノッチン）、ダルピン、アンチカリン、アドネクチン、アプタマー、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、ペプチド模倣分子、受容体の天然リガンド、もしくは合成分子である認識ドメインを含む、請求項９２～９９のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項１０１】

前記認識ドメインが単一ドメイン抗体である、請求項９２～１００のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項１０２】

前記認識ドメインがＶＨＨもしくはヒト化ＶＨＨである、請求項９２～１０１のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項１０３】

前記認識ドメインが前記目的の抗原もしくは受容体を機能的に調節する、請求項９２～１０２のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項１０４】

前記認識ドメインが前記目的の抗原または受容体に結合するが、前記抗原または受容体を機能的に調節しない、請求項９２～１０３のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項１０５】

２種以上の標的化部分を含む、請求項９２～１０４のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項１０６】

前記標的化部分が以下の標的、すなわち、ＣＤ８、ＣＴＬＡ４、ＣＤ３、ＣＤ４、ＤＮＡＭ－１、Ｎｒｐ１（ニューロフィリン）、ＴＮＦＲ１、ＴＮＦＲ２、ＧＩＴＲ、ＩＣＯＳ、ＣＤ２０、ＣＤ７０、Ｃｌｅｃ９ａ、ＮＫｐ４６、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＳＩＲＰ１α、ＦＡＰ、ＸＣＲ１、テネイシン、もしくはＥＣＭタンパク質の１種以上に結合する、請求項９２～１０５のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項１０７】

１種以上の追加の改変シグナル伝達因子をさらに含む、請求項９２～１０６のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項１０８】

前記キメラタンパク質が、２種のシグナル伝達因子及び１種の標的化部分、もしくは２種の標的化部分及び１種のシグナル伝達因子、もしくは２種のシグナル伝達因子及び２種の標的化部分を含む、請求項９２～１０７のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項１０９】

前記キメラタンパク質が、３種のシグナル伝達因子もしくは３種の標的化部分もしくは３種のシグナル伝達因子及び３種の標的化部分を含む、請求項９２～１０８のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項１１０】

前記追加の改変シグナル伝達因子が、未変異のシグナル伝達因子に比較して、受容体に対する親和性もしくは活性を低減する１つ以上の変異を含む、請求項１０７に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項１１１】

前記１つ以上の変異によって活性の減弱が可能になる、請求項１１０に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項１１２】

アゴニストもしくはアンタゴニスト活性が減弱化された、請求項１１１に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。

【請求項１１３】
前記キメラタンパク質が、がん、感染症、免疫障害、自己免疫疾患、心血管疾患、創傷、虚血関連疾患、神経変性疾患、及び／または代謝性疾患の１種以上を有する患者における使用に好適である、請求項９２～１１２のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体。
【請求項１１４】
請求項９２～１１２のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体の１種以上をコードする組換え核酸組成物。
【請求項１１５】
請求項１１４に記載の組換え核酸を含む宿主細胞。
【請求項１１６】
がんの治療方法であって、有効量の、請求項９２～１１２のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体を、それを必要とする患者に投与することを含む、前記方法。
【請求項１１７】
前記がんが、基底細胞癌；胆管癌；膀胱癌；骨癌；脳及び中枢神経系の癌；乳癌；腹膜の癌；子宮頸癌；絨毛癌；結腸直腸癌；結合組織癌；消化器系の癌；子宮内膜癌；食道癌；眼癌；頭頸部の癌；胃癌（消化器癌を含む）；膠芽腫；肝癌；肝細胞癌；上皮内腫瘍；腎臓癌または腎癌；喉頭がん；白血病；肝臓癌；肺癌（例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、及び肺扁平上皮癌）；黒色腫；骨髄腫；神経芽細胞腫；口腔癌（口唇、舌、口腔、及び咽頭）；卵巣癌；膵臓癌；前立腺癌；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫；直腸癌；呼吸器系の癌；唾液腺癌；肉腫（例えば、カポジ肉腫）；皮膚癌；扁平上皮癌；胃癌；精巣癌；甲状腺癌；子宮癌または子宮内膜癌；泌尿器系の癌；外陰癌；ホジキンリンパ腫及び非ホジキンリンパ腫、ならびにＢ細胞リンパ腫（低悪性度／ろ胞性非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）を含む）を含むリンパ腫；小リンパ球（ＳＬ）ＮＨＬ；中等度／ろ胞性ＮＨＬ；中等度びまん性ＮＨＬ；高悪性度免疫芽球性ＮＨＬ；高悪性度リンパ芽球性ＮＨＬ；高悪性度小型非切れ込み核細胞性ＮＨＬ；かさばり病変ＮＨＬ；マントル細胞リンパ腫；ＡＩＤＳ関連リンパ腫；ワルデンストレームマクログロブリン血症；慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）；急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）；有毛細胞白血病；慢性骨髄芽球性白血病；ならびに他の癌腫及び肉腫；及び移植後リンパ増殖性障害（ＰＴＬＤ）、ならびに母斑症、浮腫（例えば脳腫瘍に関連する浮腫）、及びＭｅｉｇ症候群に関連する異常な血管増殖の１種以上から選択される、請求項１１６に記載の方法。
【請求項１１８】
薬剤の製造における、請求項９２～１１２のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体の使用。
【請求項１１９】
がんもしくは自己免疫疾患の治療を必要とする対象における前記治療における、請求項９２～１１２のいずれか１項に記載のキメラタンパク質またはタンパク質複合体の使用。
【請求項１２０】
（ａ）改変ＩＬ－２シグナル伝達因子であって、配列番号１を有する野生型シグナル伝達因子と比較して、前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子の、安全性を向上させ、且つＩＬ－２Ｒβに対する親和性または生物活性を低減する、前記野生型ＩＬ－２シグナル伝達因子に対する単一の変異を有する、前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子と、
（ｂ）目的の抗原または受容体に特異的に結合する認識ドメインを含む１種以上の標的化部分と
（ｃ）Ｆｃドメインであって、前記Ｆｃドメインの１つ以上のエフェクター機能を低減するもしくは排除する、前記Ｆｃドメイン中のＦｃ鎖対形成を促進する、及び／または前記Ｆｃドメイン中のヒンジ領域を安定化させる１つ以上の変異を任意選択で有する、前記Ｆｃドメインと
を含み、

前記単一の変異が、Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｆ、Ｄ２０Ｇ、Ｄ２０Ｈ、Ｄ２０Ｉ、Ｄ２０Ｋ、Ｄ２０Ｌ、Ｄ２０Ｎ、Ｄ２０Ｖ、Ｎ８８Ｇ、Ｎ８８Ｅ、Ｎ８８Ｉ、Ｎ８８Ｋ、Ｎ８８Ｑ、Ｎ８８Ｒ、及びＮ８８Ｖから選択され、
前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子が、ＩＬ－２Ｒαに対する親和性もしくは生物活性を低減する変異を含まない、
Ｆｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１２１】
前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子がグリコシル化変異をさらに含み、前記変異が前記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子のグリコシル化を減少させるまたは排除する、請求項１２０に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１２２】
前記グリコシル化変異がＴ３置換であり、前記変異がＴ３Ａ、Ｔ３Ｆ、Ｔ３Ｈ、Ｔ３Ｌ、Ｔ３Ｖ、及びＴ３Ｙの１種である、請求項１２１に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１２３】
前記グリコシル化変異が、前記改変ＩＬ－２の最初の３、４、５、６、７、または８残基の欠失である、請求項１２１に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１２４】
前記ＩＬ－２シグナル伝達因子における前記１つ以上の変異が、１種以上の標的化部分への結合によって、または前記Ｆｃ系キメラタンパク質複合体への包含時に、親和性もしくは生物活性を回復可能に低減する、請求項１２０～１２３のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１２５】
前記１種以上の標的化部分が、腫瘍細胞、内皮細胞、上皮細胞、間葉細胞、腫瘍間質もしくは間質細胞、及び／またはＥＣＭに対する指向性を有する、請求項１２０～１２４のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１２６】
前記１種以上の標的化部分が、免疫細胞及び／または臓器細胞及び／または組織細胞に対する指向性を有する、請求項１２０～１２５のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１２７】
前記免疫細胞が、Ｔ細胞、Ｂ細胞、樹状細胞、マクロファージ、好中球、肥満細胞、単球、赤血球、骨髄系細胞、骨髄系由来抑制細胞、ＮＫＴ細胞、及びＮＫ細胞、またはそれらの誘導体から選択され、任意選択で、前記免疫細胞がＴ細胞であり、且つ前記標的化部分がＣＤ８を標的化しているか、または任意選択で、前記免疫細胞がＴｒｅｇであり、且つ前記標的化部分がＣＴＬＡ４を標的化しているか、または任意選択で、前記免疫細胞がＮＫ細胞であり、且つ前記標的化部分がＮＫｐ４６である、請求項１２６に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１２８】
前記標的化部分が、完全長抗体、単一ドメイン抗体、組換えの重鎖のみの抗体（ＶＨＨ）、一本鎖抗体（ｓｃＦｖ）、サメ重鎖のみの抗体（ＶＮＡＲ）、マイクロプロテイン（例えばシステインノットプロテイン、ノッチン）、ダルピン、アンチカリン、アドネクチン、アプタマー、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、ペプチド模倣分子、受容体の天然リガンド、もしくは合成分子である認識ドメインを含む、請求項１２０～１２７のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１２９】
前記認識ドメインが単一ドメイン抗体である、請求項１２０～１２８のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１３０】
前記認識ドメインがV_{HH}もしくはヒト化V_{HH}である、請求項１２０～１２９のいず

れか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１３１】
前記認識ドメインが前記目的の抗原もしくは受容体を機能的に調節する、請求項１２０～１３０のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１３２】
前記認識ドメインが前記目的の抗原または受容体に結合するが、前記抗原または受容体を機能的に調節しない、請求項１２０～１３１のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１３３】
２種以上の標的化部分を含む、請求項１２０～１３２のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１３４】
前記標的化部分が以下の標的、すなわち、ＣＤ８、ＣＴＬＡ４、ＣＤ３、ＣＤ４、ＤＮＡＭ－１、Ｎｒｐ１（ニューロフィリン）、ＴＮＦＲ１、ＴＮＦＲ２、ＧＩＴＲ、ＩＣＯＳ、ＣＤ２０、ＣＤ７０、Ｃｌｅｃ９ａ、ＮＫｐ４６、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＳＩＲＰ１α、ＦＡＰ、ＸＣＲ１、テネイシン、もしくはＥＣＭタンパク質の１種以上に結合する、請求項１２０～１３３のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１３５】
１種以上の追加の改変シグナル伝達因子をさらに含む、請求項１２０～１３４のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１３６】
前記キメラタンパク質が、２種のシグナル伝達因子、もしくは２種の標的化部分、もしくは２種のシグナル伝達因子及び２種の標的化部分を含む、請求項１２０～１３５のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１３７】
前記キメラタンパク質が、３種のシグナル伝達因子もしくは３種の標的化部分もしくは３種のシグナル伝達因子及び３種の標的化部分を含む、請求項１２０～１３６のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１３８】
前記追加の改変シグナル伝達因子が、未変異のシグナル伝達因子に比較して、受容体に対する親和性もしくは活性を低減する１つ以上の変異を含む、請求項１３５に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１３９】
前記１つ以上の変異によって活性の減弱が可能になる、請求項１３８に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１４０】
アゴニストもしくはアンタゴニスト活性が減弱化された、請求項１３９に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１４１】
前記キメラタンパク質が、がん、感染症、免疫障害、自己免疫疾患、心血管疾患、創傷、虚血関連疾患、神経変性疾患、及び／または代謝性疾患の１種以上を有する患者における使用に好適である、請求項１２０～１４０のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１４２】
請求項１２０～１４０のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体の１種以上、またはそれらの構成ポリペプチドをコードする組換え核酸組成物。
【請求項１４３】
請求項１４２に記載の組換え核酸を含む宿主細胞。
【請求項１４４】

がんの治療方法であって、有効量の、（ｉ）請求項１２０～１４０のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体をそれを必要とする患者に、（ｉｉ）請求項１４２に記載の組換え核酸をそれを必要とする患者に、または（ｉｉｉ）請求項１４３に記載の宿主細胞をそれを必要とする患者に投与することを含む、前記方法。

【請求項１４５】

前記がんが、基底細胞癌；胆管癌；膀胱癌；骨癌；脳及び中枢神経系の癌；乳癌；腹膜の癌；子宮頸癌；絨毛癌；結腸直腸癌；結合組織癌；消化器系の癌；子宮内膜癌；食道癌；眼癌；頭頸部の癌；胃癌（消化器癌を含む）；膠芽腫；肝癌；肝細胞癌；上皮内腫瘍；腎臓癌または腎癌；喉頭がん；白血病；肝臓癌；肺癌（例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、及び肺扁平上皮癌）；黒色腫；骨髄腫；神経芽細胞腫；口腔癌（口唇、舌、口腔、及び咽頭）；卵巣癌；膵臓癌；前立腺癌；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫；直腸癌；呼吸器系の癌；唾液腺癌；肉腫（例えば、カポジ肉腫）；皮膚癌；扁平上皮癌；胃癌；精巣癌；甲状腺癌；子宮癌または子宮内膜癌；泌尿器系の癌；外陰癌；ホジキンリンパ腫及び非ホジキンリンパ腫、ならびにＢ細胞リンパ腫（低悪性度／ろ胞性非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）を含む）を含むリンパ腫；小リンパ球（ＳＬ）ＮＨＬ；中等度／ろ胞性ＮＨＬ；中等度びまん性ＮＨＬ；高悪性度免疫芽球性ＮＨＬ；高悪性度リンパ芽球性ＮＨＬ；高悪性度小型非切れ込み核細胞性ＮＨＬ；かさばり病変ＮＨＬ；マントル細胞リンパ腫；ＡＩＤＳ関連リンパ腫；ワルデンストレームマクログロブリン血症；慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）；急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）；有毛細胞白血病；慢性骨髄芽球性白血病；ならびに他の癌腫及び肉腫；及び移植後リンパ増殖性障害（ＰＴＬＤ）、ならびに母斑症、浮腫（例えば脳腫瘍に関連する浮腫）、及びＭｅｉｇ症候群に関連する異常な血管増殖の１種以上から選択される、請求項１４４に記載の方法。

【請求項１４６】

薬剤の製造における、請求項１２０～１４０のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体の使用。

【請求項１４７】

がんまたは自己免疫疾患の治療を必要とする対象における前記治療における、請求項１２０～１４０のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体の使用。

【請求項１４８】

前記Ｆｃドメインが、ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＭ、またはＩｇＥ由来である、請求項１２０～１４０のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。

【請求項１４９】

前記ＩｇＧが、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、またはＩｇＧ４から選択される、請求項１４８に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。

【請求項１５０】

前記Ｆｃドメインが、ヒトＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＭ、またはＩｇＥ由来である、請求項１２０～１４０のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。

【請求項１５１】

前記ヒトＩｇＧが、ヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、またはＩｇＧ４から選択される、請求項１５０に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。

【請求項１５２】

前記Ｆｃ鎖対形成が、イオン対形成及び／またはノブ・イン・ホール対形成により促進される、請求項１２０～１４０及び１４８～１５１のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。

【請求項１５３】

前記Ｆｃドメインに対する前記１つ以上の変異により、前記Ｆｃドメイン中のＦｃ鎖間のイオン対形成が生じる、請求項１２０～１４０及び１４８～１５２のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。

【請求項１５４】

前記Ｆｃドメインに対する前記１つ以上の変異により、前記Ｆｃドメイン中のノブ・イ

ン・ホール対形成が生じる、請求項１２０～１４０及び１４８～１５３のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１５５】
前記Ｆｃドメインに対する前記１つ以上の変異により、前記Ｆｃドメインのエフェクター機能が低減または排除される、請求項１２０～１４０及び１４８～１５４のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１５６】
前記Ｆｃ系キメラタンパク質複合体がヘテロ二量体であり、且つ、いずれの標的化部分とシグナル伝達因子に関しても互いに、またはいずれの複数の標的化部分に関しても互いに、またはいずれの複数のシグナル伝達因子関しても互いに、ｔｒａｎｓ配置（ｏｒｉｅｎｔａｔｉｏｎ）／配置（ｃｏｎｆｉｇｕｒａｔｉｏｎ）を有する、請求項１２０～１４０及び１４８～１５５のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１５７】
前記Ｆｃ系キメラタンパク質複合体がヘテロ二量体であり、且つ、いずれの標的化部分とシグナル伝達因子に関しても互いに、またはいずれの複数の標的化部分に関しても互いに、またはいずれの複数のシグナル伝達因子関しても互いに、ｃｉｓ配置（ｏｒｉｅｎｔａｔｉｏｎ）を有する、請求項１２０～１４０及び１４８～１５６のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１５８】
前記Ｆｃが、ヒトＩｇＧ１中にＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、及びＫ３２２Ｑ置換（ＥＵナンバリングに準拠）を含む、請求項１２０～１４０及び１４８～１５７のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１５９】
前記Ｆｃが、ヒトＩｇＧ１であり、且つ任意選択で、Ｌ２３４、Ｌ２３５、Ｋ３２２、Ｄ２６５、Ｐ３２９、及びＰ３３１（ＥＵナンバリングに準拠）の１つ以上の変異を含む、請求項１２０～１４０及び１４８～１５８のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１６０】
前記Ｆｃ系キメラタンパク質複合体が、図１Ａ～Ｆ、２Ａ～Ｈ、３Ａ～Ｈ、４Ａ～Ｄ、５Ａ～Ｆ、６Ａ～Ｊ、７Ａ～Ｄ、８Ａ～Ｆ、９Ａ～Ｊ、１０Ａ～Ｆ、１１Ａ～Ｌ、１２Ａ～Ｌ、１３Ａ～Ｆ、１４Ａ～Ｌ、１５Ａ～Ｌ、１６Ａ～Ｊ、１７Ａ～Ｊ、１８Ａ～Ｆ、及び１９Ａ～Ｆ、３１、及び３２のいずれか１つの配置（ｏｒｉｅｎｔａｔｉｏｎ）／配置（ｃｏｎｆｉｇｕｒａｔｉｏｎ）を有する、請求項１２０～１４０及び１４８～１５９のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１６１】
配列番号２９２、２９３、２９４、２９９、３０１、３１０、３１１、３１２、３１５、３１６、３１９、３２０、３２５、３２８、３３２、３３３、及び３３５のいずれか１つと、少なくとも９０％、または少なくとも９５％、または少なくとも９６％、または少なくとも９７％、または少なくとも９８％、または少なくとも９９％の同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む、請求項１２０～１４０及び１４８～１６０のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【請求項１６２】
前記キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体が、配列番号２９０～４４９、４７８～４９５、もしくは５０１～５３１のいずれか１つと、少なくとも９０％、または少なくとも９５％、または少なくとも９６％、または少なくとも９７％、または少なくとも９８％、または少なくとも９９％の同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む、請求項９２～１２２のいずれか１項に記載のキメラタンパク質、あるいは請求項１２０～１４０または１４８～１６０のいずれか１項に記載のＦｃ系キメラタンパク質複合体。
【発明の詳細な説明】

【技術分野】
【０００１】
本発明は、一部は、インターロイキン２（ＩＬ－２）もしくはその変異体を含むキメラタンパク質、またはキメラタンパク質複合体（Ｆｃ系キメラタンパク質複合体を含む）、及びそれらの治療薬としての使用に関する。
【０００２】
関連出願の相互参照
本出願は、２０２１年４月１６日出願の米国仮特許出願第６３／１７５，８２７号及び２０２２年１月７日出願の第６３／２９７，３３０号の優先権を主張し、上記出願の全ての内容の全体が本明細書に援用される。
【０００３】
配列表
本明細書と共に電子的に提出されたテキストファイルの内容は、それらの全体が本明細書に援用される。配列表のコンピュータ可読形式コピー（ファイル名：ＯＲＮ－０８０ＰＣ＿ＳＴ２５、作成日：２０２２年４月１４日、ファイルサイズ：１，１５１，３１５バイト）。
【背景技術】
【０００４】
インターロイキン２（ＩＬ－２）はサイトカインファミリーに属し、該ファミリーに属する各サイトカインは４アルファヘリックスバンドルを有する。ＩＬ－２は、２または３本のポリペプチド鎖、すなわち、アルファ及び／またはベータ鎖ならびにガンマ鎖からなる複合体であるＩＬ－２受容体を介してシグナル伝達する。
【０００５】
ＩＬ－２は、高用量レジメンによるがん治療用に認可されている。ＩＬ－２で治療される例示的ながんとしては、腎細胞（腎臓）癌及び黒色腫（皮膚癌の１種）が挙げられる。
【０００６】
ＩＬ－２は、アルファ受容体ポリペプチド鎖（ＩＬ－２Ｒα、ＣＤ２５）及び／またはベータ受容体ポリペプチド鎖（ＩＬ－２Ｒβ、ＣＤ１２２）、ならびに共通のガンマ受容体ポリペプチド鎖（γｃ、ＣＤ１３２）を含む受容体－シグナル伝達複合体を介して免疫細胞の増殖及び活性化を刺激するが、その効果は多面的であり、且つ文脈に依存する。高用量では、ＩＬ－２はヘテロ二量体ＩＬ－２Ｒβγ受容体に結合し、それにより、腫瘍を死滅させるＣＤ８$^{+}$エフェクター、メモリーＴ細胞、及びＮＫ細胞を望ましく増大させる。ＩＬ－２はまた、そのヘテロ三量体受容体ＩＬ－２Ｒαβγにより大きな親和性で結合し、それにより、高い構成レベルのＩＬ－２Ｒαを発現する免疫抑制性ＣＤ４$^{+}$　ＣＤ２５$^{+}$制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）を増大させる。Ｔｒｅｇの増大は、がん免疫療法に対するＩＬ－２の望ましくない影響を意味する。さらに、内皮細胞上のＩＬ－２Ｒαβγの活性化により、血管漏出症候群（ＶＬＳ）が生じる可能性がある。
【０００７】
逆に、ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の刺激は、自己反応性ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞を抑制するためにＩＬ－２によるＴｒｅｇの刺激が望ましい自己免疫疾患治療におけるＩＬ－２の望ましくない影響を意味する。ＩＬ－２療法では、複数の細胞型に対するその全体的、多面的な影響に起因して、血管漏出症候群（ＶＬＳ）を含む重大な副作用及び全身毒性が悩みであり、これによってその治療上の潜在能力の活用が制限されている。
【０００８】
受容体選択的なＩＬ－２の構築物が作製されている（例えば、ＩＬ－２Ｒα及びＩＬ－２Ｒβとの相互作用を欠失または減弱させた構築物）。しかし、これらの構築物には依然として副作用及び毒性の問題がある。それらの問題のいくつかは、用量を低減する（例えば、半減期を延長することにより）ことで改善されるが、用量の低減だけでは細胞選択性の問題は解決しない。したがって、ＩＬ－２Ｒβγ標的化（例えば、がんの治療におけるＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の活性化、がんの治療におけるヘルパーＴ細胞の活性化、及びがんの治療

におけるＮＫ細胞の活性化のための）ならびにＩＬ－２Ｒαβγ標的化（例えば、自己免疫疾患におけるＴｒｅｇ刺激のための）に使用するための、細胞に対する副作用（非特異的効果）が低減され、全身毒性のより低いＩＬ－２系薬剤が依然として必要とされている。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００９】

従って、標的に対する選択性、薬物動態学的特性及び治療特性が改善され、且つ毒性プロファイルがごく僅かである、安全で効果的なＩＬ－２系治療薬が依然として必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【００１０】

従って、いくつかの態様において、本発明は、シグナル伝達因子としての改変ＩＬ－２を含む、キメラタンパク質及びＦｃ系キメラタンパク質複合体を含むキメラタンパク質複合体に関する。いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、配列番号１のアミノ酸配列を有する改変野生型ＩＬ－２である。いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、配列番号２のアミノ酸配列を有する改変ネオロイキンである。

【００１１】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、（ｉ）Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｆ、Ｄ２０Ｇ、Ｄ２０Ｈ、Ｄ２０Ｉ、Ｄ２０Ｋ、Ｄ２０Ｌ、及びＤ２０Ｖから選択される変異；または（ｉｉ）Ｎ８８Ｇ、Ｎ８８Ｅ、Ｎ８８Ｋ、Ｎ８８Ｑ、及びＮ８８Ｖから選択される変異；または（ｉｉｉ）Ｑ１２６Ｇ、Ｑ１２６Ａ、Ｑ１２６Ｅ、Ｑ１２６Ｆ、Ｑ１２６Ｈ、Ｑ１２６Ｉ、Ｑ１２６Ｋ、Ｑ１２６Ｌ、Ｑ１２６Ｎ、Ｑ１２６Ｐ、Ｑ１２６Ｒ、Ｑ１２６Ｓ、Ｑ１２６Ｔ、Ｑ１２６Ｖ、Ｑ１２６Ｗ、及びＱ１２６から選択される変異；または（ｉｖ）（ｉ）及び（ｉｉｉ）から選択される変異もしくは（ｉｉ）及び（ｉｉｉ）から選択される変異；または（ｖ）Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｆ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｉ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｌ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｎ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｓ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｄ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｅ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｉ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｑ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｒ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｖ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｙ／Ｅ６２Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｅ６２Ａ、Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｌ７２Ｇ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｅ６２Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｌ７２Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｇ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｉ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｙ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｉ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｙ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ、及びＲ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａから選択される１つ以上の変異を含む。

【００１２】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、配列番号１に対して、Ｒ３８、Ｆ４２、Ｅ６２、Ｃ１２５、Ｙ４５、Ｌ７２、Ｄ２０、Ｎ８８、及びＱ１２６から選択される、１つ以上のアミノ酸残基における変異を含む。かかる実施形態において、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、配列番号１に対して、Ｒ３８Ａ、Ｆ４２Ｋ、Ｆ４２Ｙ、Ｅ６２Ａ、Ｃ１２５Ａ、Ｙ４５Ａ、Ｌ７２Ｇ、Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｆ、Ｄ２０Ｇ、Ｄ２０Ｈ、Ｄ２０Ｉ、Ｄ２０Ｋ、Ｄ２０Ｌ、Ｄ２０Ｎ、Ｄ２０Ｖ、Ｎ８８Ｇ、Ｎ８８Ｅ、Ｎ８８Ｉ、Ｎ８８Ｋ、Ｎ８８Ｑ、Ｎ８８Ｒ、Ｎ８８Ｖ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｙ／Ｅ６２

Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｌ７２Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｓ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｄ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｑ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｑ１２６Ａ、Ｑ１２６Ｅ、Ｑ１２６Ｆ、Ｑ１２６Ｇ、Ｑ１２６Ｈ、Ｑ１２６Ｉ、Ｑ１２６Ｋ、Ｑ１２６Ｌ、Ｑ１２６Ｎ、Ｑ１２６Ｐ、Ｑ１２６Ｒ、Ｑ１２６Ｓ、Ｑ１２６Ｔ、Ｑ１２６Ｖ、Ｑ１２６Ｗ、及びＱ１２６Ｙから選択される、１つ以上の変異を含む。

【００１３】

種々の実施形態において、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、配列番号１に対して、Ｄ２０Ｖ、Ｄ２０Ｅ、Ｎ８８Ｇ、Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｓ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｄ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｑ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｑ１２６Ａ、Ｑ１２６Ｅ、Ｑ１２６Ｆ、Ｑ１２６Ｇ、Ｑ１２６Ｈ、Ｑ１２６Ｉ、Ｑ１２６Ｋ、Ｑ１２６Ｌ、Ｑ１２６Ｎ、Ｑ１２６Ｐ、Ｑ１２６Ｒ、Ｑ１２６Ｓ、Ｑ１２６Ｔ、Ｑ１２６Ｖ、Ｑ１２６Ｗ及びＱ１２６Ｙから選択される１つ以上の変異を含む。

【００１４】

特定の実施形態において、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、配列番号１に対して、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｙ／Ｅ６２Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｌ７２Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｓ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｄ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｑ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、及びＲ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａから選択される１つ以上の変異を含む。

【００１５】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、配列番号２のアミノ酸配列を含む改変ネオロイキンである。かかる実施形態において、配列番号２を含む上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、アミノ酸残基Ｄ１５及び／またはＮ４０に１つ以上の変異を有する。例えば、いくつかの実施形態において、配列番号２を含む上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、Ｄ１５Ｔ、Ｄ１５Ｈ、Ｎ４０Ｉ、Ｎ４０Ｇ、またはＮ４０Ｒを含む。

【００１６】

いくつかの実施形態において、上記１つ以上の変異または改変は、例えば野生型ＩＬ－２に比較して、上記改変ＩＬ－２の安全性プロファイルを向上させる。いくつかの実施形態において、上記１つ以上の変異または改変は、例えば野生型ＩＬ－２に比較して、上記改変ＩＬ－２の生物活性を低減する。例えば、上記１つ以上の変異または改変は、標的受容体に対する上記改変ＩＬ－２の親和性を低減する場合がある。いくつかの実施形態において、上記標的受容体は、ＩＬ－２Ｒα、ＩＬ－２Ｒβ、及びＩＬ－２Ｒγサブユニットから構成されるヘテロ三量体受容体ＩＬ－２Ｒαβγである。いくつかの実施形態において、上記標的受容体は、ＩＬ－２Ｒβ及びＩＬ－２Ｒγサブユニットから構成されるヘテロ二量体受容体ＩＬ－２Ｒβγである。いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２

は、ＩＬ－２Ｒαサブユニットに対するその親和性を低減する１つ以上の変異または改変を含む。別の実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒβに対するその親和性を低減する１つ以上の変異または改変を含む。さらに別の実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒγに対するその親和性を低減する１つ以上の変異または改変を含む。ある実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒα、ＩＬ－２Ｒβ、及びＩＬ－２Ｒγの任意の組み合わせに対するその親和性を低減する１つ以上の変異あるいは改変（例えば、ＩＬ－２Ｒα、ＩＬ－２Ｒβ、及びＩＬ－２Ｒγに対する、もしくはＩＬ－２Ｒα及びＩＬ－２Ｒβに対する、もしくはＩＬ－２Ｒγ及びＩＬ－２Ｒβに対する、またはＩＬ－２Ｒα及びＩＬ－２Ｒγに対する上記改変ＩＬ－２の親和性を低減する１つ以上の変異あるいは改変）を含む。

【００１７】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒα及びＩＬ－２Ｒβに対する親和性及び／または活性の低下を示し、任意選択で、上記改変ＩＬ－２は、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ、及びＲ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａから選択される１つ以上の変異を含む。

【００１８】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒα及びＩＬ－２Ｒγに対する親和性及び／または活性の低下を示し、任意選択で、上記改変ＩＬ－２は、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｇ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｉ、及びＲ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｙから選択される１つ以上の変異を含む。

【００１９】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒβに対する親和性及び／または活性の低下を示し、任意選択で、上記改変ＩＬ－２は、Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｆ、Ｄ２０Ｇ、Ｄ２０Ｈ、Ｄ２０Ｉ、Ｄ２０Ｋ、Ｄ２０Ｌ、Ｄ２０Ｖ、Ｎ８８Ｇ、Ｎ８８Ｅ、Ｎ８８Ｋ、Ｎ８８Ｑ、Ｎ８８Ｖ、Ｄ２０Ｅ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｆ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｉ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｌ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｎ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｓ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｄ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｅ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｉ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｑ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｒ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｔ／Ｃ１２５Ａ、及びＮ８８Ｖ／Ｃ１２５Ａから選択される１つ以上の変異を含む。

【００２０】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒγに対する親和性及び／または活性の低下を示し、任意選択で、上記改変ＩＬ－２は、Ｑ１２６Ａ、Ｑ１２６Ｅ、Ｑ１２６Ｆ、Ｑ１２６Ｇ、Ｑ１２６Ｈ、Ｑ１２６Ｉ、Ｑ１２６Ｋ、Ｑ１２６Ｌ、Ｑ１２６Ｎ、Ｑ１２６Ｐ、Ｑ１２６Ｒ、Ｑ１２６Ｓ、Ｑ１２６Ｔ、Ｑ１２６Ｖ、Ｑ１２６Ｗ、及びＱ１２６Ｙから選択される１つ以上の変異を含む。

【００２１】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒβγに対する親和性及び／または活性の低下を示し、任意選択で、上記改変ＩＬ－２は、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｄ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｅ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｆ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｇ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｈ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｉ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｋ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｌ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｍ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｎ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｐ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｒ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｓ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｔ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｖ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｗ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｙ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｄ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｅ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｆ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２

６Ｇ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｈ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｉ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｋ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｌ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｍ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｎ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｐ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｒ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｓ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｔ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｖ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｗ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｙ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ａ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｄ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｅ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｆ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｇ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｈ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｉ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｋ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｌ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｍ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｎ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｐ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｒ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｓ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｔ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｖ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｗ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｙ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ａ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｄ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｅ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｆ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｇ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｈ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｉ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｋ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｌ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｍ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｎ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｐ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｒ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｓ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｔ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｖ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｗ、及びＮ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｙから選択される１つ以上の変異を含む。さらなる実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒβγに対する親和性及び／または活性の低下を示し、且つ活性化ＣＤ８細胞に対する選択性の増加を示す。

【００２２】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒβに対する親和性及び／または活性の低下を示し、且つ、Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｆ、Ｄ２０Ｇ、Ｄ２０Ｈ、Ｄ２０Ｉ、Ｄ２０Ｋ、Ｄ２０Ｌ、Ｄ２０Ｎ、Ｄ２０Ｖ、Ｎ８８Ｇ、Ｎ８８Ｅ、Ｎ８８Ｉ、Ｎ８８Ｋ、Ｎ８８Ｑ、Ｎ８８Ｒ、Ｎ８８Ｖ、Ｄ２０Ｅ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｆ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｉ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｌ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｎ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｓ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｄ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｑ／Ｃ１２５Ａ、及びＮ８８Ｔ／Ｃ１２５Ａから選択される、配列番号１を有する野生型シグナル伝達因子に対する単一の変異を含み、ＩＬ－２Ｒαサブユニット（ＩＬ－２Ｒα）に対する親和性または生物活性を低減する変異を含まない。さらなる実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒβに対する親和性及び／または活性の低下を示し、且つ活性化ＣＤ８細胞に対する選択性の増加及びＴｒｅｇに対する選択性の低下を示す。

【００２３】

いくつかの実施形態において、上記標的受容体は、ＩＬ－２Ｒα、ＩＬ－２Ｒβ、及びＩＬ－２Ｒγサブユニットから構成されるヘテロ三量体受容体ＩＬ－２Ｒαβγである。いくつかの実施形態において、上記標的受容体は、ＩＬ－２Ｒβ及びＩＬ－２Ｒγサブユニットから構成されるヘテロ二量体受容体ＩＬ－２Ｒβγである。

【００２４】

いくつかの実施形態において、上記ＩＬ－２は、１つ以上の変異あるいは改変、すなわち、ＩＬ－２Ｒα鎖に対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減または排除する１つ以上の変異または改変；及び／またはα鎖をもたないＩＬ－２Ｒに対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変を有する。いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する、且つ／または上記改変ＩＬ－２を減弱させる上記変異もしくは改変は、上記改変ＩＬ－２に連結した標的化部分を介して、標的細胞または治療作用部位において回復可能である。

【００２５】

いくつかの実施形態において上記ＩＬ－２は、１つ以上の変異または改変、すなわち、α鎖をもたないＩＬ－２Ｒに対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変、及び／または上記改変ＩＬ－２のα鎖を含むＩＬ－２Ｒに対する活性もしく親和性を低減する１つ以上の変異または改変を有しており、かかる変異または改変は、減弱化変異であって、標的化部分を介して、標的もしくは治療作用部位（例えば、細胞もしくは細胞外マトリクス）における／上記標的もしくは部位への近接が誘導さ

れることによって、上記減弱化変異に基づく活性または親和性が回復可能である、上記減弱化変異である。

【００２６】

種々の実施形態において、本発明は、キメラタンパク質、キメラタンパク質複合体、またはグリコシル化変異を含む改変ＩＬ－２シグナル伝達因子を含む、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体を企図する。いくつかの実施形態において、上記グリコシル化変異は、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子のグリコシル化を減少させるまたは排除する。いくつかの実施形態において、上記グリコシル化変異はＴ３置換であり、上記変異は、Ｔ３Ａ、Ｔ３Ｆ、Ｔ３Ｈ、Ｔ３Ｌ、Ｔ３Ｖ、及びＴ３Ｙの１種である。いくつかの実施形態において、上記グリコシル化変異は、上記改変ＩＬ－２の最初の３、４、５、６、７、または８残基の欠失である。

【００２７】

いくつかの実施形態において、上記キメラタンパク質は、１種以上の追加のシグナル伝達因子、例えば、限定はされないが、インターフェロン、インターロイキン、及び腫瘍壊死因子を含み、それらは改変されていてもよい。

【００２８】

いくつかの実施形態において、上記キメラタンパク質は、弱められたまたは減弱された活性の回復を可能にする、本明細書に記載の１種以上の標的化部分を含む（例えばＩＬ－２上に）。いくつかの実施形態において、上記キメラタンパク質は、目的の標的（例えば抗原、受容体）に特異的に結合する認識ドメイン（例えば、単一ドメイン抗体を含めた種々の抗体形式を含む、但しこれらに限定されない抗原認識ドメイン）を有する、１種以上の標的化部分を含む。種々の実施形態において、上記標的化部分は、Ｔ細胞、Ｔｒｅｇ、細胞傷害性Ｔリンパ球、ヘルパーＴ細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、ナチュラルキラーＴ（ＮＫＴ）細胞、抗腫瘍もしくは腫瘍関連マクロファージ（例えば、Ｍ１もしくはＭ１マクロファージ）、Ｂ細胞、及び樹状細胞を含んでいてもよい、但しこれらに限定されない、１種以上の免疫細胞上に存在する、目的の標的（例えば抗原、受容体）に特異的に結合する認識ドメインを有する。いくつかの実施形態において、上記免疫細胞はＴ細胞であり、上記標的化部分はＣＤ８を標的とする。実施形態において、上記免疫細胞はＴｒｅｇであり、上記標的化部分はＣＴＬＡ４を標的とする。実施形態において、上記免疫細胞はＮＫ細胞であり、上記標的化部分はＮＫｐ４６である。

【００２９】

いくつかの実施形態において、上記認識ドメインは目的の標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合し、１種以上の免疫細胞を効果的にリクルートする。いくつかの実施形態において、上記目的の標的（例えば抗原、受容体）は、１種以上の腫瘍細胞上に存在する場合がある。いくつかの実施形態において、本キメラタンパク質は、免疫細胞、例えば腫瘍細胞を殺滅及び／または抑制することができる免疫細胞を、作用部位（非限定的な例として、腫瘍微小環境など）にリクルートする場合がある。いくつかの実施形態において、上記認識ドメインは、目的の正常組織中に存在する目的の標的に結合する。いくつかの実施形態において、本キメラタンパク質は、標的細胞に結合して、本キメラタンパク質を目的の組織細胞に局在化するように仕向ける場合がある一方で、第２の異なる細胞型（例えば、免疫細胞）に結合して、上記改変ＩＬ－２によって媒介される組織局在化した生物学的効果を付与することも可能である。いくつかの実施形態において、上記認識ドメインは、非細胞構造の一部である目的の標的（例えば抗原、受容体）に特異的に結合する。

【００３０】

種々の実施形態において、本技術のキメラタンパク質は、非標的化改変ＩＬ－２と比較して、細胞標的選択性、安全性、及び／または治療活性及び／または薬物動態プロファイル（例えば、血清半減期の増加）が改善される。

【００３１】

いくつかの実施形態において、本技術のキメラタンパク質は一本鎖ポリペプチドである。

【００３２】
いくつかの実施形態において、本技術のキメラタンパク質は、２つ以上のポリペプチド鎖を含むタンパク質複合体である。いくつかの実施形態において、上記標的化部分（複数可）及びシグナル伝達因子（複数可）（例えば、改変ＩＬ－２）は、上記タンパク質複合体中の同一のポリペプチド鎖上に存在する。いくつかの実施形態において、上記標的化部分（複数可）及びシグナル伝達因子（複数可）（例えば、改変ＩＬ－２）は、上記タンパク質複合体中の異なるポリペプチド鎖上に存在する。
【００３３】
種々の実施形態において、本キメラタンパク質は、がん、感染症、免疫障害、自己免疫疾患、心血管疾患、創傷、虚血関連疾患、神経変性疾患、代謝性疾患、ならびに他の多くの疾患及び障害などのさまざまな疾患または障害の治療の用途があり、本発明はさまざまな治療方法を包含する。
【００３４】
別の態様において、本発明は、シグナル伝達因子としての改変ＩＬ－２を含むＦｃ系キメラタンパク質複合体に関する。いくつかの実施形態において、本発明のＦｃ系キメラタンパク質複合体は、配列番号２９１～２９６、２９８～３３５のいずれか１つと少なくとも９０％、または少なくとも９５％、または少なくとも９６％、または少なくとも９７％、または少なくとも９８％、または少なくとも９９％の同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。特定の実施形態において、本発明のＦｃ系キメラタンパク質複合体は、配列番号２９２、２９３、２９４、２９９、３０１、３１０、３１１、３１２、３１５、３１６、３１９、３２０、３２５、３２８、３３２、３３３、及び３３５のいずれか１つと少なくとも９０％、または少なくとも９５％、または少なくとも９６％、または少なくとも９７％、または少なくとも９８％、または少なくとも９９％の同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。
【００３５】
いくつかの実施形態において、本発明は、配列番号２９０～４４９、４７８～４９５、もしくは５０１～５３１のいずれか１つと、少なくとも９０％、または少なくとも９５％、または少なくとも９６％、または少なくとも９７％、または少なくとも９８％、または少なくとも９９％の同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを含むキメラタンパク質あるいはＦｃ系キメラタンパク質複合体に関する。
【００３６】
図１Ａ～Ｆ、２Ａ～Ｈ、３Ａ～Ｈ、４Ａ～Ｄ、５Ａ～Ｆ、６Ａ～Ｊ、７Ａ～Ｄ、８Ａ～Ｆ、９Ａ～Ｊ、１０Ａ～Ｆ、１１Ａ～Ｌ、１２Ａ～Ｌ、１３Ａ～Ｆ、１４Ａ～Ｌ、１５Ａ～Ｌ、１６Ａ～Ｊ、１７Ａ～Ｊ、１８Ａ～Ｆ、及び１９Ａ～Ｆは、本発明のＦｃ系キメラタンパク質複合体のさまざまな非限定的且つ例示的な概略図を示す。いくつかの実施形態では、それぞれの概略図は、本発明の組成物である。図において該当する場合、「ＴＭ」は本明細書に記載の「標的化部分」を指し、「ＳＡ」は、本明細書に記載の「シグナル伝達因子」を指し、
【００３７】
【化１】

【００３８】
は、本明細書に記載の任意選択の「リンカー」であり、２つの平行な長い長方形は、例えば、本明細書に記載の、ＩｇＧ１由来、ＩｇＧ２由来、またはＩｇＧ４由来の、且つ任意選択で、同じく本明細書に記載の、エフェクターノックアウト変異及び／または安定化変

異を有するヒトＦｃドメインであり、また、一方が突出部を有し、他方が陥凹部を有する２つの平行な長い長方形は、例えば、本明細書に記載の、ノブ・イン・ホール変異及び／またはイオン対（ａ／ｋ／ａ荷電対、イオン結合、または荷電残基対）変異を有し、且つ任意選択で、同じく本明細書に記載の、エフェクターノックアウト変異及び／または安定化変異を有する、本明細書に記載の、ＩｇＧ１由来、ＩｇＧ２由来、またはＩｇＧ４由来のヒトＦｃドメインである。少なくとも１つのシグナル伝達因子が、ＩＬ－２もしくは改変ＩＬ－２、またはネオロイキンもしくは改変ネオロイキンである。

【図面の簡単な説明】

【００３９】

【図１Ａ】ホモ二量体２鎖複合体の例を示す。この図は、上記ホモ二量体２鎖複合体の構造の例を示す。

【図１Ｂ】ホモ二量体２鎖複合体の例を示す。この図は、上記ホモ二量体２鎖複合体の構造の例を示す。

【図１Ｃ】ホモ二量体２鎖複合体の例を示す。この図は、上記ホモ二量体２鎖複合体の構造の例を示す。

【図１Ｄ】ホモ二量体２鎖複合体の例を示す。この図は、上記ホモ二量体２鎖複合体の構造の例を示す。

【図１Ｅ】ホモ二量体２鎖複合体の例を示す。この図は、上記ホモ二量体２鎖複合体の構造の例を示す。

【図１Ｆ】ホモ二量体２鎖複合体の例を示す。この図は、上記ホモ二量体２鎖複合体の構造の例を示す。

【図２Ａ】２種の標的化部分（ＴＭ）（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有するホモ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。

【図２Ｂ】２種の標的化部分（ＴＭ）（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有するホモ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。

【図２Ｃ】２種の標的化部分（ＴＭ）（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有するホモ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。

【図２Ｄ】２種の標的化部分（ＴＭ）（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有するホモ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。

【図２Ｅ】２種の標的化部分（ＴＭ）（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有するホモ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。

【図２Ｆ】２種の標的化部分（ＴＭ）（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有するホモ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。

【図２Ｇ】２種の標的化部分（ＴＭ）（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有するホモ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックス中に示す構築物は、ＴＭ１とＴＭ２の間またはＴＭ１とＦｃの間にシグナル伝達因子（ＳＡ）を有する。

【図２Ｈ】２種の標的化部分（ＴＭ）（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有するホモ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックス中に示す構築物は、ＴＭ１とＴＭ２の間またはＴＭ１とＦｃの間にシグナル伝達因子（ＳＡ）を有する。

【図３Ａ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように

、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有するホモ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図３Ｂ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有するホモ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図３Ｃ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有するホモ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図３Ｄ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有するホモ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図３Ｅ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有するホモ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図３Ｆ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有するホモ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図３Ｇ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有するホモ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックス中に示す構築物は、Ｆｃと、ＳＡ１及び／またはＳＡ２、Ｆｃ鎖のＮ末端もしくはＣ末端との間にＴＭを有する。
【図３Ｈ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有するホモ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックス中に示す構築物は、Ｆｃと、ＳＡ１及び／またはＳＡ２、Ｆｃ鎖のＮ末端もしくはＣ末端との間にＴＭを有する。
【図４Ａ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上のＴＭ及びＦｃのホール鎖上のＳＡを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図４Ｂ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上のＴＭ及びＦｃのホール鎖上のＳＡを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図４Ｃ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上のＴＭ及びＦｃのホール鎖上のＳＡを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図４Ｄ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上のＴＭ及びＦｃのホール鎖上のＳＡを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図５Ａ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖を有し、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上の両方のＴＭ及びＦｃのホール鎖上のＳＡを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図５Ｂ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上の両方のＴＭ及びＦｃのホール鎖上のＳＡを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図５Ｃ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上の両方のＴＭ及びＦｃのホール鎖上のＳＡを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。

【図５Ｄ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上の両方のＴＭ及びＦｃのホール鎖上のＳＡを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図５Ｅ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上の両方のＴＭ及びＦｃのホール鎖上のＳＡを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図５Ｆ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上の両方のＴＭ及びＦｃのホール鎖上のＳＡを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図６Ａ】Ｆｃのノブ鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置（ｏｒｉｅｎｔａｔｉｏｎ）／配置（ｃｏｎｆｉｇｕｒａｔｉｏｎ）では、１種のＳＡはノブ鎖上にあり、１種のＳＡはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図６Ｂ】Ｆｃのノブ鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置（ｏｒｉｅｎｔａｔｉｏｎ）／配置（ｃｏｎｆｉｇｕｒａｔｉｏｎ）では、１種のＳＡはノブ鎖上にあり、１種のＳＡはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図６Ｃ】Ｆｃのノブ鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置（ｏｒｉｅｎｔａｔｉｏｎ）／配置（ｃｏｎｆｉｇｕｒａｔｉｏｎ）では、１種のＳＡはノブ鎖上にあり、１種のＳＡはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図６Ｄ】Ｆｃのノブ鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置（ｏｒｉｅｎｔａｔｉｏｎ）／配置（ｃｏｎｆｉｇｕｒａｔｉｏｎ）では、１種のＳＡはノブ鎖上にあり、１種のＳＡはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図６Ｅ】Ｆｃのノブ鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置（ｏｒｉｅｎｔａｔｉｏｎ）／配置（ｃｏｎｆｉｇｕｒａｔｉｏｎ）では、１種のＳＡはノブ鎖上にあり、１種のＳＡはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図６Ｆ】Ｆｃのノブ鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置（ｏｒｉｅｎｔａｔｉｏｎ）／配置（ｃｏｎｆｉｇｕｒａｔｉｏｎ）では、１種のＳＡはノブ鎖上にあり、１種のＳＡはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能であ

る。
【図６Ｇ】Ｆｃのノブ鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置（ｏｒｉｅｎｔａｔｉｏｎ）／配置（ｃｏｎｆｉｇｕｒａｔｉｏｎ）では、１種のＳＡはノブ鎖上にあり、１種のＳＡはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図６Ｈ】Ｆｃのノブ鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置（ｏｒｉｅｎｔａｔｉｏｎ）／配置（ｃｏｎｆｉｇｕｒａｔｉｏｎ）では、１種のＳＡはノブ鎖上にあり、１種のＳＡはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図６Ｉ】Ｆｃのノブ鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置（ｏｒｉｅｎｔａｔｉｏｎ）／配置（ｃｏｎｆｉｇｕｒａｔｉｏｎ）では、１種のＳＡはノブ鎖上にあり、１種のＳＡはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図６Ｊ】Ｆｃのノブ鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置（ｏｒｉｅｎｔａｔｉｏｎ）／配置（ｃｏｎｆｉｇｕｒａｔｉｏｎ）では、１種のＳＡはノブ鎖上にあり、１種のＳＡはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図７Ａ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上のＳＡ及びＦｃのホール鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図７Ｂ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上のＳＡ及びＦｃのホール鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図７Ｃ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上のＳＡ及びＦｃのホール鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図７Ｄ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上のＳＡ及びＦｃのホール鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図８Ａ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖を有し、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上のＳＡ及び共にＦｃのホール鎖上のＴＭを有し、２種の標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図８Ｂ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上のＳＡ及び共にＦｃのホール鎖上のＴＭを有し、２種の標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図８Ｃ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上のＳＡ及び共にＦｃのホール鎖上のＴＭを有し、２種の標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図８Ｄ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上のＳＡ及び共にＦｃのホール鎖上のＴＭを有し、２種の標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載の

ように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。

【図８Ｅ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上のＳＡ及び共にＦｃのホール鎖上のＴＭを有し、２種の標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。

【図８Ｆ】分離したＴＭ及びＳＡ鎖、すなわち、Ｆｃのノブ鎖上のＳＡ及び共にＦｃのホール鎖上のＴＭを有し、２種の標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。

【図９Ａ】Ｆｃのホール鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置／配置では、１種のＳＡはノブ鎖上に存在し、１種のＳＡはホール鎖上に存在する。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。

【図９Ｂ】Ｆｃのホール鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置／配置では、１種のＳＡはノブ鎖上に存在し、１種のＳＡはホール鎖上に存在する。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。

【図９Ｃ】Ｆｃのホール鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置／配置では、１種のＳＡはノブ鎖上に存在し、１種のＳＡはホール鎖上に存在する。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。

【図９Ｄ】Ｆｃのホール鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置／配置では、１種のＳＡはノブ鎖上に存在し、１種のＳＡはホール鎖上に存在する。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。

【図９Ｅ】Ｆｃのホール鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置／配置では、１種のＳＡはノブ鎖上に存在し、１種のＳＡはホール鎖上に存在する。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。

【図９Ｆ】Ｆｃのホール鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置／配置では、１種のＳＡはノブ鎖上に存在し、１種のＳＡはホール鎖上に存在する。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。

【図９Ｇ】Ｆｃのホール鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置／配置では、１種のＳＡはノブ鎖上に存在し、１種のＳＡはホール鎖上に存在する。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。

【図９Ｈ】Ｆｃのホール鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）

を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置／配置では、１種のＳＡはノブ鎖上に存在し、１種のＳＡはホール鎖上に存在する。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図９Ｉ】Ｆｃのホール鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置／配置では、１種のＳＡはノブ鎖上に存在し、１種のＳＡはホール鎖上に存在する。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図９Ｊ】Ｆｃのホール鎖上のＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。これらの配置／配置では、１種のＳＡはノブ鎖上に存在し、１種のＳＡはホール鎖上に存在する。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１０Ａ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図１０Ｂ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図１０Ｃ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図１０Ｄ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図１０Ｅ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図１０Ｆ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図１１Ａ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１１Ｂ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１１Ｃ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１１Ｄ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１１Ｅ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。

【図１１Ｆ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１１Ｇ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１１Ｈ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１１Ｉ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１１Ｊ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１１Ｋ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１１Ｌ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１２Ａ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１２Ｂ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１２Ｃ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１２Ｄ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複

合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１２Ｅ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１２Ｆ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１２Ｇ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１２Ｈ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１２Ｉ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１２Ｊ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１２Ｋ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１２Ｌ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのノブ鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１３Ａ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図１３Ｂ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図１３Ｃ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図１３Ｄ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図１３Ｅ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図１３Ｆ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡ、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図１４Ａ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。

【図１４Ｂ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１４Ｃ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１４Ｄ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１４Ｅ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１４Ｆ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１４Ｇ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１４Ｈ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１４Ｉ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１４Ｊ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１４Ｋ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。

【図１４Ｌ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２の位置は交換可能である。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１５Ａ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１５Ｂ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１５Ｃ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１５Ｄ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１５Ｅ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１５Ｆ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１５Ｇ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１５Ｈ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。
【図１５Ｉ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。

【図１５Ｊ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。

【図１５Ｋ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。

【図１５Ｌ】同一鎖上のＴＭ及びＳＡを有し、すなわち、共にＦｃのホール鎖上のＳＡ及びＴＭを有し、２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合がある）を有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＳＡ１及びＳＡ２の位置は交換可能である。

【図１６Ａ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つノブＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。

【図１６Ｂ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つノブＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。

【図１６Ｃ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つノブＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。

【図１６Ｄ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つノブＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。

【図１６Ｅ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つノブＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。

【図１６Ｆ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つノブＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。

【図１６Ｇ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つノブＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。

【図１６Ｈ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つノブＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。

【図１６Ｉ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つノブＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及

びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１６Ｊ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つノブＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１７Ａ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つホールＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１７Ｂ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つホールＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１７Ｃ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つホールＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１７Ｄ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つホールＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１７Ｅ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つホールＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１７Ｆ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つホールＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１７Ｇ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つホールＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１７Ｈ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つホールＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１７Ｉ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つホールＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１７Ｊ】２つの標的化部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くの標的化部分が存在する場合もある）を有し、且つホールＦｃ上のＳＡ及び各鎖上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、ＴＭ１及びＴＭ２は同一であってもよい。
【図１８Ａ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有し、且つ分離したＳＡ及びＴＭ鎖、すなわち、ノブＦｃ上のＳＡ及びホールＦｃ上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。
【図１８Ｂ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のよう

に、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有し、且つ分離したＳＡ及びＴＭ鎖、すなわち、ノブＦｃ上のＳＡ及びホールＦｃ上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。

【図１８Ｃ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有し、且つ分離したＳＡ及びＴＭ鎖、すなわち、ノブＦｃ上のＳＡ及びホールＦｃ上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。

【図１８Ｄ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有し、且つ分離したＳＡ及びＴＭ鎖、すなわち、ノブＦｃ上のＳＡ及びホールＦｃ上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。

【図１８Ｅ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有し、且つ分離したＳＡ及びＴＭ鎖、すなわち、ノブＦｃ上のＳＡ及びホールＦｃ上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。

【図１８Ｆ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有し、且つ分離したＳＡ及びＴＭ鎖、すなわち、ノブＦｃ上のＳＡ及びホールＦｃ上のＴＭを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。

【図１９Ａ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有し、且つ分離したＳＡ及びＴＭ鎖、すなわち、ノブＦｃ上のＴＭ及びホールＦｃ上のＳＡを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。

【図１９Ｂ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有し、且つ分離したＳＡ及びＴＭ鎖、すなわち、ノブＦｃ上のＴＭ及びホールＦｃ上のＳＡを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。

【図１９Ｃ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有し、且つ分離したＳＡ及びＴＭ鎖、すなわち、ノブＦｃ上のＴＭ及びホールＦｃ上のＳＡを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。

【図１９Ｄ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有し、且つ分離したＳＡ及びＴＭ鎖、すなわち、ノブＦｃ上のＴＭ及びホールＦｃ上のＳＡを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。

【図１９Ｅ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有し、且つ分離したＳＡ及びＴＭ鎖、すなわち、ノブＦｃ上のＴＭ及びホールＦｃ上のＳＡを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。

【図１９Ｆ】２種のシグナル伝達因子（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達因子が存在する場合もある）を有し、且つ分離したＳＡ及びＴＭ鎖、すなわち、ノブＦｃ上のＴＭ及びホールＦｃ上のＳＡを有する、ヘテロ二量体２鎖複合体の例を示す。

【図２０】ＰＢＭＣリンパ球集団におけるＩＬ－２及びＦｃ－ＩＬ－２によって駆動されるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。

【図２１Ａ】リンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対するＣＤ２５ノックアウト変異及びＣＤ８標的化の効果を示す。

【図２１Ｂ】リンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対するＣＤ２５ノックアウト変異及びＣＤ８標的化の効果を示す。

【図２１Ｃ】リンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対するＣＤ２５ノックアウト変

異及びＣＤ８標的化の効果を示す。
【図２１Ｄ】リンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対するＣＤ２５ノックアウト変異及びＣＤ８標的化の効果を示す。
【図２１Ｅ】リンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対するＣＤ２５ノックアウト変異及びＣＤ８標的化の効果を示す。
【図２１Ｆ】リンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対するＣＤ２５ノックアウト変異及びＣＤ８標的化の効果を示す。
【図２１Ｇ】リンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対するＣＤ２５ノックアウト変異及びＣＤ８標的化の効果を示す。
【図２２Ａ】バイオレイヤー干渉法における、ＩＬ－２及びＦｃ－ＩＬ－２融合タンパク質のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図２２Ｂ】バイオレイヤー干渉法における、ＩＬ－２及びＦｃ－ＩＬ－２融合タンパク質のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図２２Ｃ】バイオレイヤー干渉法における、ＩＬ－２及びＦｃ－ＩＬ－２融合タンパク質のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図２２Ｄ】バイオレイヤー干渉法における、ＩＬ－２及びＦｃ－ＩＬ－２融合タンパク質のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図２２Ｅ】バイオレイヤー干渉法における、ＩＬ－２及びＦｃ－ＩＬ－２融合タンパク質のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図２２Ｆ】バイオレイヤー干渉法における、ＩＬ－２及びＦｃ－ＩＬ－２融合タンパク質のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図２２Ｇ】バイオレイヤー干渉法における、ＩＬ－２及びＦｃ－ＩＬ－２融合タンパク質のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図２３Ａ】ＣＤ８$^+$、ＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^-$、及びＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^+$　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＤ２０変異体のスクリーニングを示す。
【図２３Ｂ】ＣＤ８$^+$、ＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^-$、及びＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^+$　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＤ２０変異体のスクリーニングを示す。
【図２３Ｃ】ＣＤ８$^+$、ＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^-$、及びＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^+$　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＤ２０変異体のスクリーニングを示す。
【図２３Ｄ】ＣＤ８$^+$、ＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^-$、及びＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^+$　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＤ２０変異体のスクリーニングを示す。
【図２３Ｅ】ＣＤ８$^+$、ＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^-$、及びＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^+$　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＤ２０変異体のスクリーニングを示す。
【図２３Ｆ】ＣＤ８$^+$、ＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^-$、及びＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^+$　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＤ２０変異体のスクリーニングを示す。
【図２３Ｇ】ＣＤ８$^+$、ＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^-$、及びＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^+$　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＤ２０変異体のスクリーニングを示す。
【図２３Ｈ】ＣＤ８$^+$、ＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^-$、及びＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^+$　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＤ２０変異体のスクリーニングを示す。
【図２３Ｉ】ＣＤ８$^+$、ＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^-$、及びＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^+$　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＤ２０変異体のスクリーニングを示す。
【図２３Ｊ】ＣＤ８$^+$、ＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^-$、及びＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^+$　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＤ２０変異体のスクリーニングを示す。
【図２３Ｋ】ＣＤ８$^+$、ＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^-$、及びＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^+$　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＤ２０変異体のスクリーニングを示す。
【図２３Ｌ】ＣＤ８$^+$、ＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^-$、及びＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^+$　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＤ２０変異体のスクリーニングを示す。
【図２３Ｍ】ＣＤ８$^+$、ＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^-$、及びＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^+$　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＤ２０変異体のスクリーニングを示す。
【図２３Ｎ】ＣＤ８$^+$、ＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^-$、及びＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^+$　ＰＭＢＣにおけ

るｐＳＴＡＴ４に対するＤ２０変異体のスクリーニングを示す。
【図２３Ｏ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＤ２０変異体のスクリーニングを示す。
【図２３Ｐ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＤ２０変異体のスクリーニングを示す。
【図２３Ｑ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＤ２０変異体のスクリーニングを示す。
【図２３Ｒ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＤ２０変異体のスクリーニングを示す。
【図２４Ａ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＮ８８変異体のスクリーニングを示す。
【図２４Ｂ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＮ８８変異体のスクリーニングを示す。
【図２４Ｃ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＮ８８変異体のスクリーニングを示す。
【図２４Ｄ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＮ８８変異体のスクリーニングを示す。
【図２４Ｅ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＮ８８変異体のスクリーニングを示す。
【図２４Ｆ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＮ８８変異体のスクリーニングを示す。
【図２４Ｇ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＮ８８変異体のスクリーニングを示す。
【図２４Ｈ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＮ８８変異体のスクリーニングを示す。
【図２４Ｉ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＮ８８変異体のスクリーニングを示す。
【図２４Ｊ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＮ８８変異体のスクリーニングを示す。
【図２４Ｋ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＮ８８変異体のスクリーニングを示す。
【図２４Ｌ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＮ８８変異体のスクリーニングを示す。
【図２４Ｍ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＮ８８変異体のスクリーニングを示す。
【図２４Ｎ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＮ８８変異体のスクリーニングを示す。
【図２４Ｏ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＮ８８変異体のスクリーニングを示す。
【図２４Ｐ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＮ８８変異体のスクリーニングを示す。
【図２４Ｑ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＮ８８変異体のスクリーニングを示す。
【図２４Ｒ】ＣＤ８＋、ＣＤ４＋ＣＤ２５－、及びＣＤ４＋ＣＤ２５＋　ＰＭＢＣにおけるｐＳＴＡＴ４に対するＮ８８変異体のスクリーニングを示す。
【図２５Ａ】ＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対するベータ変異（ここではＮ８８Ｇ）及びＣＤ８標的化の効果を示す。
【図２５Ｂ】ＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対するベータ変異（ここではＮ８８Ｇ）及びＣＤ８標的化の効果を示す。
【図２５Ｃ】ＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対するベータ変異（ここでは

Ｎ８８Ｇ）及びＣＤ８標的化の効果を示す。
【図２５Ｄ】ＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対するベータ変異（ここではＮ８８Ｇ）及びＣＤ８標的化の効果を示す。
【図２６Ａ】ＰＭＢＣ集団におけるＣＤ２５及びＩＬ－２Ｒβ変異の種々の組み合わせ及びそれらのｐＳＴＡＴ５に対する効果を示す。
【図２６Ｂ】ＰＭＢＣ集団におけるＣＤ２５及びＩＬ－２Ｒβ変異の種々の組み合わせ及びそれらのｐＳＴＡＴ５に対する効果を示す。
【図２６Ｃ】ＰＭＢＣ集団におけるＣＤ２５及びＩＬ－２Ｒβ変異の種々の組み合わせ及びそれらのｐＳＴＡＴ５に対する効果を示す。
【図２６Ｄ】ＰＭＢＣ集団におけるＣＤ２５及びＩＬ－２Ｒβ変異の種々の組み合わせ及びそれらのｐＳＴＡＴ５に対する効果を示す。
【図２６Ｅ】ＰＭＢＣ集団におけるＣＤ２５及びＩＬ－２Ｒβ変異の種々の組み合わせ及びそれらのｐＳＴＡＴ５に対する効果を示す。
【図２６Ｆ】ＰＭＢＣ集団におけるＣＤ２５及びＩＬ－２Ｒβ変異の種々の組み合わせ及びそれらのｐＳＴＡＴ５に対する効果を示す。
【図２６Ｇ】ＰＭＢＣ集団におけるＣＤ２５及びＩＬ－２Ｒβ変異の種々の組み合わせ及びそれらのｐＳＴＡＴ５に対する効果を示す。
【図２６Ｈ】ＰＭＢＣ集団におけるＣＤ２５及びＩＬ－２Ｒβ変異の種々の組み合わせ及びそれらのｐＳＴＡＴ５に対する効果を示す。
【図２６Ｉ】ＰＭＢＣ集団におけるＣＤ２５及びＩＬ－２Ｒβ変異の種々の組み合わせ及びそれらのｐＳＴＡＴ５に対する効果を示す。
【図２６Ｊ】ＰＭＢＣ集団におけるＣＤ２５及びＩＬ－２Ｒβ変異の種々の組み合わせ及びそれらのｐＳＴＡＴ５に対する効果を示す。
【図２７Ａ】ＦＡＣＳにおけるＨＥＫ－Ｂｌｕｅ　ＩＬ－２細胞へのＣＤ２５　ｓｃＦｖＦｃ融合の結合を示す。
【図２７Ｂ】ＦＡＣＳにおけるＨＥＫ－Ｂｌｕｅ　ＩＬ－１細胞へのＣＤ２５　ｓｃＦｖＦｃ融合の結合を示す。
【図２８】ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ　ＩＬ－２細胞における野生型ＩＬ－２シグナル伝達に対するＣＤ２５　ｓｃＦｖ　Ｆｃ融合物の効果を示す。
【図２９Ａ】特定のＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対する、ＣＤ２５変異またはベータ変異を有するＡＬＮ２変異体のＣＤ２５による標的化の効果を示す。
【図２９Ｂ】特定のＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対する、ＣＤ２５変異またはベータ変異を有するＡＬＮ２変異体のＣＤ２５による標的化の効果を示す。
【図２９Ｃ】特定のＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対する、ＣＤ２５変異またはベータ変異を有するＡＬＮ２変異体のＣＤ２５による標的化の効果を示す。
【図２９Ｄ】特定のＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対する、ＣＤ２５変異またはベータ変異を有するＡＬＮ２変異体のＣＤ２５による標的化の効果を示す。
【図２９Ｅ】特定のＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対する、ＣＤ２５変異またはベータ変異を有するＡＬＮ２変異体のＣＤ２５による標的化の効果を示す。
【図２９Ｆ】特定のＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対する、ＣＤ２５変異またはベータ変異を有するＡＬＮ２変異体のＣＤ２５による標的化の効果を示す。
【図２９Ｇ】特定のＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対する、ＣＤ２５変異またはベータ変異を有するＡＬＮ２変異体のＣＤ２５による標的化の効果を示す。
【図２９Ｈ】特定のＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対する、ＣＤ２５変異またはベータ変異を有するＡＬＮ２変異体のＣＤ２５による標的化の効果を示す。
【図２９Ｉ】特定のＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対する、ＣＤ２５変異またはベータ変異を有するＡＬＮ２変異体のＣＤ２５による標的化の効果を示す。
【図２９Ｊ】特定のＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対する、ＣＤ２５変異またはベータ変異を有するＡＬＮ２変異体のＣＤ２５による標的化の効果を示す。
【図２９Ｋ】特定のＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対する、ＣＤ２５変異

またはベータ変異を有するＡＬＮ２変異体のＣＤ２５による標的化の効果を示す。
【図２９Ｌ】特定のＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対する、ＣＤ２５変異またはベータ変異を有するＡＬＮ２変異体のＣＤ２５による標的化の効果を示す。
【図２９Ｍ】特定のＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に対する、ＣＤ２５変異またはベータ変異を有するＡＬＮ２変異体のＣＤ２５による標的化の効果を示す。
【図３０Ａ】ＩＬ－２及びＦｃ－ＩＬ－２模倣／ネオロイキン変異体によるＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３０Ｂ】ＩＬ－２及びＦｃ－ＩＬ－２模倣／ネオロイキン変異体によるＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３０Ｃ】ＩＬ－２及びＦｃ－ＩＬ－２模倣／ネオロイキン変異体によるＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３０Ｄ】ＩＬ－２及びＦｃ－ＩＬ－２模倣／ネオロイキン変異体によるＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３０Ｅ】ＩＬ－２及びＦｃ－ＩＬ－２模倣／ネオロイキン変異体によるＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３０Ｆ】ＩＬ－２及びＦｃ－ＩＬ－２模倣／ネオロイキン変異体によるＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３０Ｇ】ＩＬ－２及びＦｃ－ＩＬ－２模倣／ネオロイキン変異体によるＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３０Ｈ】ＩＬ－２及びＦｃ－ＩＬ－２模倣／ネオロイキン変異体によるＰＢＭＣ分集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３１】種々の二価の（ＶＨＨ１及びＶＨＨ２が同一である場合）または二重特異性の（ＶＨＨ１及びＶＨＨ２が異なる標的化ドメインを表す場合）ノブ・イン・ホールＡＬＮ２の構成を示す。
【図３２】種々のＡＬＮ２の構成を示す。
【図３３Ａ】一価の対照物と比較した、二価の及び二重特異性のＣＤ８　ＶＨＨ標的化ＡＬＮ２によるＳＴＡＴ５リン酸化のＳＴＡＴ５の比較を示す。
【図３３Ｂ】一価の対照物と比較した、二価の及び二重特異性のＣＤ８　ＶＨＨ標的化ＡＬＮ２によるＳＴＡＴ５リン酸化のＳＴＡＴ５の比較を示す。
【図３３Ｃ】一価の対照物と比較した、二価の及び二重特異性のＣＤ８　ＶＨＨ標的化ＡＬＮ２によるＳＴＡＴ５リン酸化のＳＴＡＴ５の比較を示す。
【図３３Ｄ】一価の対照物と比較した、二価の及び二重特異性のＣＤ８　ＶＨＨ標的化ＡＬＮ２によるＳＴＡＴ５リン酸化のＳＴＡＴ５の比較を示す。
【図３３Ｅ】一価の対照物と比較した、二価の及び二重特異性のＣＤ８　ＶＨＨ標的化ＡＬＮ２によるＳＴＡＴ５リン酸化のＳＴＡＴ５の比較を示す。
【図３３Ｆ】一価の対照物と比較した、二価の及び二重特異性のＣＤ８　ＶＨＨ標的化ＡＬＮ２によるＳＴＡＴ５リン酸化のＳＴＡＴ５の比較を示す。
【図３３Ｇ】一価の対照物と比較した、二価の及び二重特異性のＣＤ８　ＶＨＨ標的化ＬＮ２によるＳＴＡＴ５リン酸化のＳＴＡＴ５の比較を示す。
【図３４Ａ】ＣＤ８＋及びＴｒｅｇ　ＰＢＭＣ分集団における種々の構成のＡＬＮ２によるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３４Ｂ】ＣＤ８＋及びＴｒｅｇ　ＰＢＭＣ分集団における種々の構成のＡＬＮ２によるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３４Ｃ】ＣＤ８＋及びＴｒｅｇ　ＰＢＭＣ分集団における種々の構成のＡＬＮ２によるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３４Ｄ】ＣＤ８＋及びＴｒｅｇ　ＰＢＭＣ分集団における種々の構成のＡＬＮ２によるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３４Ｅ】ＣＤ８＋及びＴｒｅｇ　ＰＢＭＣ分集団における種々の構成のＡＬＮ２によるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３５Ａ】単一ペプチドＡＬＮ２が、Ｔｒｅｇ　ＰＢＭＣ分集団と比較して、ＣＤ８＋

においてｐＳＴＡＴ５を誘導したことを示す。
【図３５Ｂ】単一ペプチドＡＬＮ２が、Ｔｒｅｇ　ＰＢＭＣ分集団と比較して、ＣＤ８＋においてｐＳＴＡＴ５を誘導したことを示す。
【図３５Ｃ】単一ペプチドＡＬＮ２が、Ｔｒｅｇ　ＰＢＭＣ分集団と比較して、ＣＤ８＋においてｐＳＴＡＴ５を誘導したことを示す。
【図３５Ｄ】単一ペプチドＡＬＮ２が、Ｔｒｅｇ　ＰＢＭＣ分集団と比較して、ＣＤ８＋においてｐＳＴＡＴ５を誘導したことを示す。
【図３６Ａ】ＣＤ　ＶＨＨ－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＴ３　Ｏ－グリコシル化変異体によるＣＤ８＋及びＣＤ８－　ＰＢＭＣリンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３６Ｂ】ＣＤ　ＶＨＨ－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＴ３　Ｏ－グリコシル化変異体によるＣＤ８＋及びＣＤ８－　ＰＢＭＣリンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３６Ｃ】ＣＤ　ＶＨＨ－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＴ３　Ｏ－グリコシル化変異体によるＣＤ８＋及びＣＤ８－　ＰＢＭＣリンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３６Ｄ】ＣＤ　ＶＨＨ－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＴ３　Ｏ－グリコシル化変異体によるＣＤ８＋及びＣＤ８－　ＰＢＭＣリンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３６Ｅ】ＣＤ　ＶＨＨ－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＴ３　Ｏ－グリコシル化変異体によるＣＤ８＋及びＣＤ８－　ＰＢＭＣリンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３６Ｆ】ＣＤ　ＶＨＨ－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＴ３　Ｏ－グリコシル化変異体によるＣＤ８＋及びＣＤ８－　ＰＢＭＣリンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３６Ｇ】ＣＤ　ＶＨＨ－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＴ３　Ｏ－グリコシル化変異体によるＣＤ８＋及びＣＤ８－　ＰＢＭＣリンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３６Ｈ】ＣＤ　ＶＨＨ－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＴ３　Ｏ－グリコシル化変異体によるＣＤ８＋及びＣＤ８－　ＰＢＭＣリンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３６Ｉ】ＣＤ　ＶＨＨ－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＴ３　Ｏ－グリコシル化変異体によるＣＤ８＋及びＣＤ８－　ＰＢＭＣリンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３６Ｊ】ＣＤ　ＶＨＨ－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＴ３　Ｏ－グリコシル化変異体によるＣＤ８＋及びＣＤ８－　ＰＢＭＣリンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３６Ｋ】ＣＤ　ＶＨＨ－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＴ３　Ｏ－グリコシル化変異体によるＣＤ８＋及びＣＤ８－　ＰＢＭＣリンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３６Ｌ】ＣＤ　ＶＨＨ－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＴ３　Ｏ－グリコシル化変異体によるＣＤ８＋及びＣＤ８－　ＰＢＭＣリンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３６Ｍ】ＣＤ　ＶＨＨ－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＴ３　Ｏ－グリコシル化変異体によるＣＤ８＋及びＣＤ８－　ＰＢＭＣリンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３７Ａ】ＣＤ８＋及びＴｒｅｇ初代マウス脾細胞におけるマウスＣＤ８標的化アルファ：ベータＡＬＮ２変異体によるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３７Ｂ】ＣＤ８＋及びＴｒｅｇ初代マウス脾細胞におけるマウスＣＤ８標的化アルファ：ベータＡＬＮ２変異体によるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３７Ｃ】ＣＤ８＋及びＴｒｅｇ初代マウス脾細胞におけるマウスＣＤ８標的化アルファ：ベータＡＬＮ２変異体によるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３７Ｄ】ＣＤ８＋及びＴｒｅｇ初代マウス脾細胞におけるマウスＣＤ８標的化アルファ：ベータＡＬＮ２変異体によるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図３８】結腸癌ＭＣ３８及びＣＴ２６の同系マウスモデルにおける、緩衝液、Ｆｃ－ＡＬＮ２、またはＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２で処置した動物の腫瘍増殖（単位：mm^3）を示す。
【図３９】上記ＭＣ３８及びＣＴ２６のマウスモデルにおける、ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２及び抗ＰＤ－１による共処置の効果を示す。
【図４０Ａ】ＣＤ８陽性ＰＢＭＣにおけるＣＤ８標的化Ｆｃガンマ共通Ｑ１２６変異体によるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図４０Ｂ】ＣＤ８陽性ＰＢＭＣにおけるＣＤ８標的化Ｆｃガンマ共通Ｑ１２６変異体によるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。

【図４０Ｃ】ＣＤ８陽性ＰＢＭＣにおけるＣＤ８標的化Ｆｃガンマ共通Ｑ１２６変異体によるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図４０Ｄ】ＣＤ８陽性ＰＢＭＣにおけるＣＤ８標的化Ｆｃガンマ共通Ｑ１２６変異体によるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図４１Ａ】融合タンパク質である、ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＱ１２６変異体の、ＢＬＩ中のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図４１Ｂ】融合タンパク質である、ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＱ１２６変異体の、ＢＬＩ中のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図４１Ｃ】融合タンパク質である、ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＱ１２６変異体の、ＢＬＩ中のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図４１Ｄ】融合タンパク質である、ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＱ１２６変異体の、ＢＬＩ中のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図４１Ｅ】融合タンパク質である、ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＱ１２６変異体の、ＢＬＩ中のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図４１Ｆ】融合タンパク質である、ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＱ１２６変異体の、ＢＬＩ中のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図４１Ｇ】融合タンパク質である、ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＱ１２６変異体の、ＢＬＩ中のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図４１Ｈ】融合タンパク質である、ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＱ１２６変異体の、ＢＬＩ中のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図４１Ｉ】融合タンパク質である、ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＱ１２６変異体の、ＢＬＩ中のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図４１Ｊ】融合タンパク質である、ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＱ１２６変異体の、ＢＬＩ中のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図４１Ｋ】融合タンパク質である、ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＱ１２６変異体の、ＢＬＩ中のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図４１Ｌ】融合タンパク質である、ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＱ１２６変異体の、ＢＬＩ中のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図４１Ｍ】融合タンパク質である、ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＱ１２６変異体の、ＢＬＩ中のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図４１Ｎ】融合タンパク質である、ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＱ１２６変異体の、ＢＬＩ中のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図４１Ｏ】融合タンパク質である、ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＱ１２６変異体の、ＢＬＩ中のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図４１Ｐ】融合タンパク質である、ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＱ１２６変異体の、ＢＬＩ中のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図４１Ｑ】融合タンパク質である、ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＱ１２６変異体の、ＢＬＩ中のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図４１Ｒ】融合タンパク質である、ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＱ１２６変異体の、ＢＬＩ中のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図４１Ｓ】融合タンパク質である、ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２及びそのＱ１２６変異体の、ＢＬＩ中のビオチン化ＣＤ２５への結合のセンサーグラムを示す。
【図４２Ａ】３種の異なるドナーのＣＤ８＋及びＴｒｅｇ　ＰＢＭＣ分集団におけるアルファ：ガンマ変異体によるｐＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図４２Ｂ】３種の異なるドナーのＣＤ８＋及びＴｒｅｇ　ＰＢＭＣ分集団におけるアルファ：ガンマ変異体によるｐＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図４２Ｃ】３種の異なるドナーのＣＤ８＋及びＴｒｅｇ　ＰＢＭＣ分集団におけるアルファ：ガンマ変異体によるｐＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図４２Ｄ】３種の異なるドナーのＣＤ８＋及びＴｒｅｇ　ＰＢＭＣ分集団におけるアルファ：ガンマ変異体によるｐＳＴＡＴ５リン酸化を示す。

【図４３Ａ】「Ｒｅｓｔｉｎｇ」の状態のもしくはＴｒａｎｓＡｃｔで活性化したＣＤ８＋またはＴｒｅｇ　ＰＢＭＣ分集団の、ベータ：ガンマＡＬＮ２によるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図４３Ｂ】「Ｒｅｓｔｉｎｇ」の状態のもしくはＴｒａｎｓＡｃｔで活性化したＣＤ８＋またはＴｒｅｇ　ＰＢＭＣ分集団の、ベータ：ガンマＡＬＮ２によるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図４３Ｃ】「Ｒｅｓｔｉｎｇ」の状態のもしくはＴｒａｎｓＡｃｔで活性化したＣＤ８＋またはＴｒｅｇ　ＰＢＭＣ分集団の、ベータ：ガンマＡＬＮ２によるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図４３Ｄ】「Ｒｅｓｔｉｎｇ」の状態のもしくはＴｒａｎｓＡｃｔで活性化したＣＤ８＋またはＴｒｅｇ　ＰＢＭＣ分集団の、ベータ：ガンマＡＬＮ２によるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図４４】単回投与の１日後のＴ細胞活性化に対するＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２（１２．５μｇ）、Ｆｃ－ＡＬＮ２（１０．７μｇ）、またはＦｃ－ＩＬ－２（１０．７μｇ）の効果を示す。
【図４５】２回の投与の７日後のＴ細胞活性化に対する、抗ＰＤ－１抗体での共治療を伴う場合と伴わない場合の、ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２（１２．５μｇ）、Ｆｃ－ＡＬＮ２（１０．７μｇ）、またはＦｃ－ＩＬ－２（１０．７μｇ）の効果を示す。
【図４６】単回投与の７日後のＴ細胞活性化に対する、ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２（２５μｇ）、Ｆｃ－ＡＬＮ２（２１．４μｇ）、またはＦｃ－ＩＬ－２（２１．４μｇ）の効果を示す。
【図４７】Ａ２０マウスモデルにおける野生型Ｆｃ－ＩＬ－２と比較した、１２．５μｇのＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２及び抗ＰＤ－１抗体の３回の注射の効果を示す。
【図４８】Ｂ１６Ｆ１０マウスモデルにおける等モルのＦｃ－ＡＬＮ２治療と比較した、１２．５μｇのＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２の３回投与の効果を示す。
【図４９】Ｐａｎｃ０２マウスモデルにおける等モルのＦｃ－ＡＬＮ２治療と比較した、１２．５μｇのＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２の２回の注射の効果を示す。
【図５０】野生型ＩＬ－２、ＰＤ－Ｌ１標的化ＡＬＮ２、及び非標的化ＡＬＮ２を比較した、マウス脾細胞（一重項集団）におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図５１】ＭＣ３８のマウスモデルにおける等モルのＦｃ－ＡＬＮ２治療と比較した、１２．５μｇのＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２及び抗ＰＤ－１抗体の３回投与の効果を示す。
【図５２】ＭＣ３８マウスモデルにおける、抗ＰＤ－１抗体での共治療を伴わないもしくは伴う、１２．５μｇのＴＮＣＡ１－Ｆｃ－ＡＬＮ２の３回投与または等価用量の非標的化ＡＬＮ２の効果を示す。
【図５３】非標的化ＩＬ－２もしくは野生型ＩＬ－２と比較した、ＣＤ８及びＮＫ初代マウス脾細胞における、マウスＣＤ８、またはＮＫｐ４６、または二重特異性標的化アルファ：ベータＡＬＮ２変異体によるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。
【図５４】３種のＰＢＭＣドナーにおける、ＡＬＮ２変異体Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｄ２０Ｅ（上）及びＲ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ（下）によるＣＤ２５（左）ならびにＰＤ－１（右）の上方制御を示す。データは平均値±平均値の標準誤差（ＳＥＭ）としてプロットされている。
【図５５】１回の治療（５μｇ）の４５分後のヒト免疫系（ＨＩＳ）マウスにおけるヒトＴ細胞活性化に対するｈＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２の効果を示す。
【図５６】種々の機能欠失型ベータ変異を有するマウスＣＤ８標的化ＡＬＮ２変異体または非標的化ＡＬＮ２変異体による、初代マウス脾細胞におけるＣＤ２５上方制御を示す。
【図５７】ＭＣ３８のマウスモデルにおける、１２．５μｇのＮ８８ＧベースもしくはＤ２０ＥベースのＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２または等モルの非標的化ＡＬＮ２による６日目及び９日目の治療の効果を示す。
【図５８】種々の機能欠失型ガンマ変異を有するＡＬＮ２変異体による初代マウス脾細胞におけるＳＴＡＴ５リン酸化を示す。

【図５９】ＭＣ３８のマウスモデルにおける、１２．５または４．１７μｇのＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２α：ガンマ変異の組み合わせの３回投与の、非標的化Ｆｃ－ＡＬＮの等モル投与と比較した効果を示す。
【図６０】ＭＣ３８のマウスモデルにおける、４．１７または１．４μｇのＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２ベータ：ガンマ変異の組み合わせの３回投与の、非標的化Ｆｃ－ＡＬＮの等モル投与と比較した効果を示す。
【図６１】ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ　ＣＤ８細胞対ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ　ＮＫｐ４６細胞におけるＤ２０　ＡＬＮ２変異体のシグナル伝達を示す。
【図６２】ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ　ＣＤ８細胞対ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ　ＮＫｐ４６細胞におけるＮ８８　ＡＬＮ２変異体のシグナル伝達を示す。
【発明を実施するための形態】
【００４０】
本技術は、一部には、改変ＩＬ－２を含む、標的化キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体を含むタンパク質複合体が、有益な治療特性及び副作用の低下を示すという発見に基づいている。例えば、本技術のキメラタンパク質は、高活性であり且つ／または長時間作用が継続する一方で、誘発される副作用は最小限である。本技術は、上記キメラタンパク質を含む医薬組成物及び種々の疾患の治療におけるそれらの使用を提供する。
【００４１】
いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２を有するキメラタンパク質またはタンパク質複合体は、ＣＤ８$^+$Ｔ細胞、Ｔｈｅｌｐ細胞、またはＮＫ細胞の活性化を減弱化するのに有利に働く可能性があり（上記細胞は抗腫瘍効果を提供することができ）、上記細胞は、主としてＩＬ－２受容体β及びγを発現させ、上記キメラタンパク質またはタンパク質複合体はＴ$_{regs}$には不利に働く可能性があり（Ｔ$_{regs}$は腫瘍促進効果である免疫抑制効果を提供することができ）、Ｔ$_{regs}$はＩＬ－２受容体α、β、及びγを有する。さらに、いくつかの実施形態において、ＩＬ－２Ｒαよりも ＩＬ－２Ｒβ及び／またはＩＬ－２Ｒγが優先されることにより、肺水腫及び／または血管漏出症候群（ＶＬＳ）などのＩＬ－２の副作用が回避される。また、ＩＬ－２系キメラは、例えば、当該改変ＩＬ－２がＩＬ－２Ｒβ及び／またはＩＬ－２Ｒγにおいて拮抗性（例えば、天然の拮抗活性、または１つ以上の変異の結果である拮抗活性、例えば、ＷＯ２０１５／００７５２０（その内容の全体が本明細書に援用される）を参照のこと）である場合には、疾患（例えば、自己免疫疾患）の治療に有用である。例えば、本構築物は、ＣＤ８$^+$Ｔ細胞の抑制を減弱化するのに有利に働く可能性があり（したがって免疫応答を弱める可能性があり）、ＣＤ８$^+$Ｔ細胞はＩＬ－２受容体β及びγを有し、本構築物は、ＩＬ－２受容体α、β、及びγを有するＴ$_{reg}$には不利に働く可能性がある。あるいは、いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２を有するキメラは、Ｔ$_{reg}$のアゴニストとしての活性化に有利に働き、したがって免疫抑制に有利に働き、ＣＤ８$^+$Ｔ細胞の活性化には不利に働く。例えば、これらの構築物は、疾患または免疫抑制が利点となるであろう疾患、例えば自己免疫疾患の治療における用途を有する。
【００４２】
いくつかの実施形態において、上記キメラタンパク質は、ＣＤ８$^+$Ｔ細胞に対する指向性をもつ本明細書に記載の標的化部分、ならびにＩＬ－２Ｒβ及び／またはＩＬ－２Ｒγに対する親和性及び／または活性が低下した、及び／またはＩＬ－２Ｒαに対する親和性及び／または活性が実質的に低下したまたは排除された改変ＩＬ－２を有する。いくつかの実施形態において、これらの構築物は、標的化されたＣＤ８$^+$Ｔ細胞に対する活性を有し、Ｔ$_{reg}$細胞に対しては一般に不活性である（または実質的に活性が低い）。いくつかの実施形態において、かかる構築物は、野生型ＩＬ－２と比較して免疫刺激効果が増大する（理論に拘束されることを望むものではないが、例えば、Ｔｒｅｇを刺激しないことによって）その一方で、野生型ＩＬ－２及び、ＩＬ－２Ｒβγを優先的に標的とはするが、それが、本発明に記載されるような細胞選択的な、標的化された、及び条件付きの形態

ではない形態で行われる改変ＩＬ－２タンパク質構築物に伴う、全身性の副作用及び／または毒性を排除または低減する。

【００４３】

いくつかの実施形態において、本発明は、配列番号２９０～４４９、４７８～４９５、もしくは５０１～５３１のいずれか１つと、少なくとも９０％、または少なくとも９５％、または少なくとも９６％、または少なくとも９７％、または少なくとも９８％、または少なくとも９９％の同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを含むキメラタンパク質あるいはＦｃ系キメラタンパク質複合体に関する。さらなる実施形態において、上記キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体は、例１～２５の１つ以上で構築されたアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。

【００４４】

改変ＩＬ－２

一態様において、本技術は、改変ＩＬ－２を含むキメラタンパク質を提供する。種々の実施形態において、本技術のキメラタンパク質は、シグナル伝達因子として改変ＩＬ－２を含む。種々の実施形態において、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、上記改変ＩＬ－２の機能性誘導体、類似体、前駆体、アイソフォーム、スプライシング変異体、またはフラグメントを包含する。いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、野生型ＩＬ－２のアミノ酸配列である配列番号１に対する変異及び／または改変を含む。いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、その標的受容体に対する結合親和性低下している。

【００４５】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子の、ＩＬ－２Ｒα及び／またはＩＬ－２Ｒβ及び／またはＩＬ－２Ｒγに対する親和性及び／または活性は低下している。いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２の、ＩＬ－２Ｒβ及び／またはＩＬ－２Ｒγに対する親和性及び／または活性は低下している。いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２のＩＬ－２Ｒαに対する親和性及び／または活性は、実質的に低下しているかまたは排除されている。かかる実施形態は、例えば、上記改変ＩＬ－２がＩＬ－２Ｒβγにおいて拮抗性である場合には、がんの治療に関連性がある可能性がある。

【００４６】

実施形態において、上記ＩＬ－２は、該ＩＬ－２を、α鎖を有するＩＬ－２Ｒから遠ざけるように偏らせる１つ以上の変異または改変と、βγ鎖のみを有するＩＬ－２Ｒにおいて回復可能な形態で上記ＩＬ－２の活性または親和性を低減する１つ以上の減弱化変異とを有する。

【００４７】

実施形態において、上記ＩＬ－２は、該ＩＬ－２を、βγ鎖のみを有するＩＬ－２Ｒから遠ざけるように偏らせる１つ以上の変異または改変と、α鎖を有するＩＬ－２Ｒにおいて回復可能な形態で上記ＩＬ－２の活性または親和性を低減する減弱化変異とを有する。

【００４８】

実施形態において、上記ＩＬ－２は、１つ以上の変異または改変、すなわち、ＩＬ－２Ｒα鎖に対する当該ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減するまた排除する１つ以上の変異または改変、及び／またはＩＬ－２Ｒβγ複合体に対する当該ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減するもしくは排除する１つ以上の変異または改変を有する。いくつかの実施形態において、ＩＬ－２Ｒα鎖に対する当該ＩＬ－２の活性または親和性の低下は、本明細書に開示される標的化部分を介して、標的（例えば、細胞）における／上記標的への近接が誘導されることによって回復可能である。いくつかの実施形態において、ＩＬ－２Ｒα鎖に対する上記改変ＩＬ－２の活性または親和性を排除する変異または改変は、標的化部分を介して、標的（例えば、細胞）における／上記標的への近接が誘導されることによって回復可能ではない。いくつかの実施形態において、ＩＬ－２Ｒβγ複合体に対する上記改変ＩＬ－２の活性または親和性の低下は、本明細書に開示される標的化部分を介して

、標的（例えば、細胞）における／上記標的への近接が誘導されることによって回復可能である。いくつかの実施形態において、ＩＬ－２Ｒα鎖及びＩＬ－２Ｒβγ複合体に対する上記改変ＩＬ－２の活性または親和性を低減する１つ以上の変異は、それぞれ、本明細書に開示される標的化部分を介して、標的（例えば、細胞）における／上記標的への近接が誘導されることによって、共に回復可能である。

【００４９】

実施形態において、上記ＩＬ－２は、１つ以上の変異または改変、すなわち、ＩＬ－２Ｒα鎖に対する当該ＩＬ－２の活性もしくは親和性を実質的に排除する１つ以上の変異または改変、及び／またはα鎖をもたないＩＬ－２Ｒに対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変を有し、かかる活性または親和性の低下は、標的化部分を介して、標的（例えば、細胞）における／上記標的への近接が誘導されることによって回復可能であり、且つかかるＩＬ－２は、上記標的化部分にとっての標的を発現しない細胞上のＩＬ－２Ｒにおいては実質的に不活性であり、または、上記標的化部分にとっての標的を発現する細胞に接触させる場合には、野生型ＩＬ－２と比較して、アルファ鎖を含むＩＬ－２Ｒにおいて実質的に不活性である一方、α鎖をもたないＩＬ－２Ｒ及び／または上記標的化部分にとっての標的を発現する細胞では活性である。実施形態において、変異もしくは改変に基づく活性または親和性は、異なる変異もしくは改変に基づく活性または親和性と比較して、約１／３、または約１／５、または１／１０、または１／３０、または１／１００、または１／３００、または１／５００、または１／１０００に低下する。

【００５０】

実施形態において、上記ＩＬ－２は、１つ以上の変異または改変、すなわち、ＩＬ－２Ｒαβγに対する当該ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変、及び／またはＩＬ－２Ｒαに対する当該改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変を有し、かかる活性または親和性の低下は、標的化部分を介して、標的（例えば、細胞）における／上記標的への近接が誘導されることによって回復可能である。

【００５１】

実施形態において、上記ＩＬ－２は、１つ以上の変異または改変、すなわち、ＩＬ－２Ｒαβγに対する当該ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変、及び／またはＩＬ－２Ｒβγに対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変を有し、かかる活性または親和性の低下は、標的化部分を介して、標的（例えば、細胞）における／上記標的への近接が誘導されることによって回復可能であり、且つかかるＩＬ－２は、上記標的化部分にとっての標的を発現しない細胞上のＩＬ－２Ｒにおいては実質的に不活性であり、または、上記標的化部分にとっての標的を発現する細胞に接触させる場合には、野生型ＩＬ－２と比較して、アルファ鎖を含むＩＬ－２Ｒにおいて実質的に不活性である一方、ＩＬ－２Ｒβγ及び／または上記標的化部分にとっての標的を発現する細胞では活性である。

【００５２】

実施形態において、上記ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒβγ（且つＩＬ－２Ｒαβγではない）において選択的な（例えば、偏った及び／または強く優先的な）作用を有するが、ＩＬ－２Ｒβγにおける活性は、上記ＩＬ－２を全身使用に対して安全なものとするためのさらなる変異または改変によって減弱化される（例えば、上記ＩＬ－２は、主として治療作用部位においてＩＬ－２Ｒβγにおいて活性であり、上記ＩＬ－２は上記標的化部分を介して上記治療作用部位に対して指向性をもつ）。

【００５３】

実施形態において、上記ＩＬ－２は、ＮＫ細胞及び／またはＣＤ８＋細胞においては選択的な（例えば、偏った及び／または強く優先的な）作用を、Ｔｒｅｇ細胞においては実質的に選択的ではない作用を有し、上記ＮＫ細胞及び／またはＣＤ８＋細胞における選択的な（例えば、偏った及び／または強く優先的な）作用は、全身性副作用を低減または排

除するための標的化によって制御される。例えば、本キメラタンパク質は、いくつかの実施形態において、免疫刺激効果を有する細胞に対する指向性を有するだけでなく、所望の治療部位にＩＬ－２の作用を集中させる制御可能な形態においても、指向性を有する。本明細書に記載されるように、かかるキメラタンパク質は、実施形態において、抗がん作用のための免疫系の安全な刺激における用途を有する。

【００５４】

いくつかの実施形態において、上記ＩＬ－２は、１つ以上の変異または改変、すなわち、α鎖をもたないＩＬ－２Ｒに対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変、ならびに／またはα鎖を含むＩＬ－２Ｒに対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変を有し、かかる変異または改変は、減弱化変異であって、標的化部分を介して、標的（例えば、細胞）における／上記標的への近接が誘導されることによって、上記減弱化変異に基づく活性または親和性が回復可能である、上記減弱化変異である。

【００５５】

実施形態において、上記ＩＬ－２は、１つ以上の変異または改変、すなわち、α鎖をもたないＩＬ－２Ｒに対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変、及び／またはα鎖を含むＩＬ－２Ｒに対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変を有し、かかる活性または親和性の低下は、標的化部分を介して、標的（例えば、細胞）における／上記標的への近接が誘導されることによって回復可能であり、且つかかるＩＬ－２は、上記標的化部分にとっての標的を発現しない細胞上のＩＬ－２Ｒにおいては実質的に不活性であり、または、上記標的化部分にとっての標的を発現する細胞に接触させる場合には、野生型ＩＬ－２と比較して、α鎖をもたないＩＬ－２Ｒにおいて実質的に不活性である一方、α鎖を含むＩＬ－２Ｒにおいては実質的に不活性である一方、α鎖を含むＩＬ－２Ｒ及び／または上記標的化部分にとっての標的を発現する細胞では活性である。

【００５６】

いくつかの実施形態において、上記ＩＬ－２は、１つ以上の変異または改変、すなわち、ＩＬ－２Ｒβγに対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変、及び／またはＩＬ－２Ｒαに対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変を有し、かかる変異または改変は、減弱化変異であって、標的化部分を介して、標的（例えば、細胞）における／上記標的への近接が誘導されることによって、上記減弱化変異に基づく活性または親和性が回復可能である上記減弱化変異である。

【００５７】

いくつかの実施形態において、上記ＩＬ－２は、１つ以上の変異または改変、すなわち、ＩＬ－２Ｒβγに対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変、及び／またはＩＬ－２Ｒαβγに対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変を有し、かかる活性または親和性の低下は、標的化部分を介して、標的（例えば、細胞）における／上記標的への近接が誘導されることによって回復可能である。

【００５８】

いくつかの実施形態において、上記ＩＬ－２は、１つ以上の変異または改変、すなわち、ＩＬ－２Ｒβγに対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変、及び／またはＩＬ－２Ｒαβγに対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変を有し、かかる活性または親和性の低下は、標的化部分を介して、標的（例えば、細胞）における／上記標的への近接が誘導されることによって回復可能であり、且つかかるＩＬ－２は、上記標的化部分にとっての標的を発現しない細胞上のＩＬ－２Ｒにおいては実質的に不活性であり、または、上記標的化部分にとっての標的を発現する細胞に接触させる場合には、野生型ＩＬ－２と比較して、ＩＬ－２Ｒβγにおいて実質的に不活性である一方、α鎖を含むＩＬ－２Ｒにおいては実質

的に不活性である一方、ＩＬ－２Ｒαβγ及び／または上記標的化部分にとっての標的を発現する細胞では活性である。

【００５９】

実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒαβγ（且つＩＬ－２Ｒαβγではない）において選択的な（例えば、偏った及び／または強く優先的な）作用を有するが、ＩＬ－２Ｒαβγにおける活性は、上記ＩＬ－２を全身使用に対して安全なものとするためのさらなる変異または改変によって減弱化される（例えば、上記ＩＬ－２は、主として治療作用部位においてＩＬ－２Ｒαβγにおいて活性であり、上記ＩＬ－２は上記標的化部分を介して上記治療作用部位に対して指向性をもつ）。

【００６０】

いくつかの実施形態において、上記ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒβγ鎖に対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性及びＩＬ－２Ｒα鎖に対する正常な活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変を有し、上記ＩＬ－２Ｒβγ鎖に対する上記改変ＩＬ－２の活性または親和性の低下は、標的化部分を介して、標的（例えば、細胞）における／上記標的への近接が誘導されることによって回復可能である。

【００６１】

実施形態において、上記ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒαに対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性及びＩＬ－２Ｒβγ鎖に対する正常な活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変を有し、上記ＩＬ－２Ｒα鎖に対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性の低下は、標的化部分を介して、標的（例えば、細胞）における／上記標的への近接が誘導されることによって回復可能である。

【００６２】

いくつかの実施形態において、上記ＩＬ－２は、１つ以上の変異または改変、すなわち、ＩＬ－２Ｒα鎖に対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を排除する１つ以上の変異または改変、及び／またはＩＬ－２Ｒβγ鎖に対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変を有し、上記ＩＬ－２Ｒβγ鎖に対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性の低下は、標的化部分（例えば、ＣＤ８、ＣＤ３、またはＰＤ－１標的化部分）を介して、標的（例えば、細胞）における／上記標的への近接が誘導されることによって回復可能であり、Ｔ細胞媒介免疫応答（例えば、ＣＤ８　Ｔ細胞媒介免疫応答）の媒介に有用である。

【００６３】

いくつかの実施形態において、上記ＩＬ－２は、１つ以上の変異または改変、すなわち、ＩＬ－２Ｒα鎖に対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変、及び／またはＩＬ－２Ｒβγ鎖に対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変を有し、上記ＩＬ－２Ｒα及び／または上記ＩＬ－２Ｒβγ鎖に対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは、標的化部分（例えば、ＣＤ８、ＣＤ３、またはＰＤ－１標的化部分）を介して、標的（例えば、細胞）における／上記標的への近接が誘導されることによって回復可能であり、Ｔ細胞媒介免疫応答（例えば、ＣＤ８　Ｔ細胞媒介免疫応答）の媒介に有用である。

【００６４】

いくつかの実施形態において、上記ＩＬ－２は、１つ以上の変異または改変、すなわち、ＩＬ－２Ｒα鎖に対する上記改変ＩＬ－２の活性も敷くは親和性を低減する１つ以上の変異または改変、及び／またはＩＬ－２Ｒβγ鎖に対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変を有し、上記ＩＬ－２Ｒα鎖及び／またはＩＬ－２Ｒβγ鎖に対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性の低下は、標的化部分を介して、標的（例えば、細胞）における／上記標的への近接が誘導されることによって回復可能であり、Ｔｒｅｇ応答の媒介に有用である。

【００６５】

いくつかの実施形態において、上記ＩＬ－２は、１つ以上の変異または改変、すなわち、ＩＬ－２Ｒα鎖に対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を排除する１つ以上の

変異または改変、及び／またはＩＬ－２Ｒβγ鎖に対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変を有し、上記ＩＬ－２Ｒβγ鎖に対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性の低下は、標的化部分を介して、標的（例えば、細胞）における／上記標的への近接が誘導されることによって回復可能であり、Ｔｒｅｇ応答の媒介に有用である。

【００６６】

いくつかの実施形態において、上記ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒβγ鎖に対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性及びＩＬ－２Ｒα鎖に対する正常な活性もしくは親和性を低減する１つ以上の変異または改変を有し、上記ＩＬ－２Ｒβγ鎖に対する上記改変ＩＬ－２の活性もしくは親和性の低下は、標的化部分を介して、標的（例えば、細胞）における／上記標的への近接が誘導されることによって回復可能であり、Ｔｒｅｇ応答の媒介に有用である。

【００６７】

実施形態において、上記ＩＬ－２は、Ｔｒｅｇ細胞においては選択的な（例えば、偏った及び／または強く優先的な）作用を、ＮＫ細胞及び／またはＣＤ８＋細胞においては実質的に選択的ではない作用を有し、上記Ｔｒｅｇ細胞における選択的な（例えば、偏った及び／または強く優先的な）作用は、全身性副作用を低減または排除するための標的化によって制御される。例えば、本キメラタンパク質は、いくつかの実施形態において、免疫刺激効果を有する細胞に対する指向性を有するだけでなく、所望の治療部位にＩＬ－２の作用を集中させる制御可能な形態においても、指向性を有する。本明細書に記載されるように、かかるキメラタンパク質は、実施形態において、抗自己免疫作用のための免疫系の安全な刺激における用途を有する。

【００６８】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、改変野生型ＩＬ－２である。野生型ＩＬ－２は以下のアミノ酸配列：

ＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＶＬＮＬＡＱＳＫＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＮＩＮＶＩＶＬＥＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＣＱＳＩＩＳＴＬＴ（配列番号１）

を有する。

【００６９】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、（ｉ）Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｆ、Ｄ２０Ｇ、Ｄ２０Ｈ、Ｄ２０Ｉ、Ｄ２０Ｋ、Ｄ２０Ｌ、及びＤ２０Ｖから選択される変異；または（ｉｉ）Ｎ８８Ｇ、Ｎ８８Ｅ、Ｎ８８Ｋ、Ｎ８８Ｑ、及びＮ８８Ｖから選択される変異；または（ｉｉｉ）Ｑ１２６Ｇ、Ｑ１２６Ａ、Ｑ１２６Ｅ、Ｑ１２６Ｆ、Ｑ１２６Ｈ、Ｑ１２６Ｉ、Ｑ１２６Ｋ、Ｑ１２６Ｌ、Ｑ１２６Ｎ、Ｑ１２６Ｐ、Ｑ１２６Ｒ、Ｑ１２６Ｓ、Ｑ１２６Ｔ、Ｑ１２６Ｖ、Ｑ１２６Ｗ、及びＱ１２６Ｙから選択される変異；または（ｉｖ）（ｉ）及び（ｉｉｉ）から選択される変異、もしくは（ｉｉ）及び（ｉｉｉ）から選択される変異；または（ｖ）Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｆ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｉ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｌ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｎ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｓ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｄ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｅ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｉ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｑ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｒ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｖ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｙ／Ｅ６２Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｅ６２Ａ、Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｌ７２Ｇ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｅ６２Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｌ７２Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２

Ｋ／Ｎ８８Ｇ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｇ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｉ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｙ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｉ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｙ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ、及びＲ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａから選択される１つ以上の変異を含む。

【００７０】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、配列番号１に対して、Ｒ３８、Ｆ４２、Ｅ６２、Ｃ１２５、Ｙ４５、Ｌ７２、Ｄ２０、Ｎ８８、及びＱ１２６から選択されるアミノ酸残基における１つ以上の変異を含む。かかる実施形態において、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、配列番号１に対して、Ｒ３８Ａ、Ｆ４２Ｋ、Ｆ４２Ｙ、Ｅ６２Ａ、Ｃ１２５Ａ、Ｙ４５Ａ、Ｌ７２Ｇ、Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｆ、Ｄ２０Ｇ、Ｄ２０Ｈ、Ｄ２０Ｉ、Ｄ２０Ｋ、Ｄ２０Ｌ、Ｄ２０Ｎ、Ｄ２０Ｖ、Ｎ８８Ｇ、Ｎ８８Ｅ、Ｎ８８Ｉ、Ｎ８８Ｋ、Ｎ８８Ｑ、Ｎ８８Ｒ、Ｎ８８Ｖ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｙ／Ｅ６２Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｌ７２Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｓ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｄ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｑ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｑ１２６Ａ、Ｑ１２６Ｅ、Ｑ１２６Ｆ、Ｑ１２６Ｇ、Ｑ１２６Ｈ、Ｑ１２６Ｉ、Ｑ１２６Ｋ、Ｑ１２６Ｌ、Ｑ１２６Ｎ、Ｑ１２６Ｐ、Ｑ１２６Ｒ、Ｑ１２６Ｓ、Ｑ１２６Ｔ、Ｑ１２６Ｖ、Ｑ１２６Ｗ、及びＱ１２６Ｙから選択される１つ以上の変異を含む。

【００７１】

種々の実施形態において、改変されたＩＬ－２シグナル伝達因子は、配列番号１に対して、Ｄ２０Ｖ、Ｄ２０Ｅ、Ｎ８８Ｇ、Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｓ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｄ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｑ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｑ１２６Ａ、Ｑ１２６Ｅ、Ｑ１２６Ｆ、Ｑ１２６Ｇ、Ｑ１２６Ｈ、Ｑ１２６Ｉ、Ｑ１２６Ｋ、Ｑ１２６Ｌ、Ｑ１２６Ｎ、Ｑ１２６Ｐ、Ｑ１２６Ｒ、Ｑ１２６Ｓ、Ｑ１２６Ｔ、Ｑ１２６Ｖ、Ｑ１２６Ｗ、及びＱ１２６Ｙから選択される１つ以上の変異を含む。

【００７２】

特定の実施形態において、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、配列番号１に対して、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｙ／Ｅ６２Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｆ４２Ｙ／Ｙ４５Ａ／Ｌ７２Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｓ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｄ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｑ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、及びＲ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａから選択される１つ以上の変異を含む。

【００７３】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、表８に列挙されるものから選択される１つ以上の変異の組み合わせを含む。

【００７４】

理論に拘束されることを望むものではないが、改変ＩＬ－２因子では、野生型ＩＬ－２と比較して、高親和性のＩＬ－２受容体（すなわち、ＩＬ－２Ｒαβγ）に対する親和性が低下し、中程度の親和性のＩＬ－２受容体（すなわち、ＩＬ－２Ｒβγ）に対する親和性が維持されると考えられる。

【００７５】

理論に拘束されることを望むものではないが、これらの改変ＩＬ－２因子では、野生型ＩＬ－２と比較して、ＩＬ－２受容体（例えば、ＩＬ－２Ｒβγ）に対する親和性が低下していることが、さらに考えられる。

【００７６】

いくつかの実施形態において、Ｒ３８、Ｆ４２、Ｙ４５、及び／またはＥ６２に変異を有する上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、ＣＤ８＋　Ｔ細胞及びＮＫ細胞を含むエフェクター細胞の増殖を誘導する能力があるが、Ｔｒｅｇ細胞及び／または内皮細胞の増殖を誘導する能力はない。いくつかの実施形態において、Ｒ３８、Ｆ４２、Ｙ４５、及び／またはＥ６２における変異を有する改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、野生型ＩＬ－２因子よりも毒性が低い。ＩＬ－２Ｒαに対する親和性及び／または活性が実質的に低下した改変ＩＬ－２因子を含むキメラタンパク質は、例えば腫瘍学における用途を有する。

【００７７】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２因子は、アミノ酸残基Ｄ２０に変異を有する。例えば、上記改変ＩＬ－２因子は、Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｇ、Ｄ２０Ｓ、Ｄ２０Ｔ、またはＤ２０Ｖを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、Ｄ２０に変異を有する上記改変ＩＬ－２因子は、野生型ＩＬ－２因子と比較して毒性が低下している。いくつかの実施形態において、上記Ｄ２０における変異は、内皮細胞への結合及びその活性化を阻害することによって、毒性を低下させる。

【００７８】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２因子は、アミノ酸Ｃ１２５に変異を有する。例えば、上記改変ＩＬ－２因子は変異Ｃ１２５Ａを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、Ｃ１２５に変異を有する改変変ＩＬ－２因子は、かかる改変ＩＬ－２因子の産生にとって最適である。いくつかの実施形態において、Ｃ１２５における変異は、不対システイン残基を除去することによって、かかる改変ＩＬ－２因子の安定性を助長する。かかる実施形態において、上記改変ＩＬ－２因子では、例えばＣａｒｍｅｎａｔｅ　ｅｔ　ａｌ．（２０１３）Ｔｈｅ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，１９０：６２３０－６２３８（その開示の全体が本明細書に援用される）に開示されるように、ＩＬ－２Ｒαに対する親和性及び／または活性を実質的に低下させることができる。

【００７９】

他の実施形態において、上記改変ＩＬ－２因子では、例えばＷＯ２０１６／０２５３８５（その開示の全体が本明細書に援用される）に記載されるように、ＩＬ－２Ｒβに対する親和性及び／または活性を実質的に低減することができる。かかる実施形態において、上記改変ＩＬ－２因子は、Ｔｒｅｇ細胞の増殖を誘導することができるが、ＣＤ８＋　Ｔ細胞及びＮＫ細胞などのエフェクター細胞の増殖を誘導することはできない。ＩＬ－２Ｒβに対する親和性及び／または活性が実質的に低下した改変ＩＬ－２因子を含むキメラタンパク質は、例えば、自己免疫疾患の治療の用途がある可能性がある。いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２因子はアミノ酸残基Ｎ８８に変異を含んでいてもよい。例えば、上記改変ＩＬ－２因子は、Ｎ８８Ａ、Ｎ８８Ｄ、Ｎ８８Ｇ、Ｎ８８Ｈ、Ｎ８８Ｑ、またはＮ８８Ｔを含んでいてもよい。

【００８０】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、配列番号１のＮ末端にＡｌａの欠失を含む。いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２因子は、配列番号１の１２５位システインのセリンまたはアラニンへの置換を含む。いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２因子は、配列番号１の、Ｎ末端にＡｌａの欠失を、且つ

１２５位にのセリンまたはアラニンへの置換を含む。

【００８１】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒα及びＩＬ－２Ｒβに対する親和性及び／または活性の低下を示し、任意選択で、上記改変ＩＬ－２は、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ、Ｄ２０Ｅ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ、及びＲ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｅ６２Ａ／Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａから選択される１つ以上の変異を含む。

【００８２】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒα及びＩＬ－２Ｒγに対する親和性及び／または活性の低下を示し、任意選択で、上記改変ＩＬ－２は、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｇ、Ｒ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｉ、及びＲ３８Ａ／Ｆ４２Ｋ／Ｑ１２６Ｙから選択される１つ以上の変異を含む。

【００８３】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒβに対する親和性及び／または活性の低下を示し、任意選択で、上記改変ＩＬ－２は、Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｆ、Ｄ２０Ｇ、Ｄ２０Ｈ、Ｄ２０Ｉ、Ｄ２０Ｋ、Ｄ２０Ｌ、Ｄ２０Ｖ、Ｎ８８Ｇ、Ｎ８８Ｅ、Ｎ８８Ｋ、Ｎ８８Ｑ、Ｎ８８Ｖ、Ｄ２０Ｅ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｆ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｉ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｌ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｎ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｓ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｔ／Ｃ１２５Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ａ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｄ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｇ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｅ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｈ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｉ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｋ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｑ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｒ／Ｃ１２５Ａ、Ｎ８８Ｔ／Ｃ１２５Ａ、及びＮ８８Ｖ／Ｃ１２５Ａから選択される１つ以上の変異を含む。

【００８４】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒβに対する親和性及び／または活性の低下を示し、任意選択で、上記改変ＩＬ－２は、Ｑ１２６Ａ、Ｑ１２６Ｅ、Ｑ１２６Ｆ、Ｑ１２６Ｇ、Ｑ１２６Ｈ、Ｑ１２６Ｉ、Ｑ１２６Ｋ、Ｑ１２６Ｌ、Ｑ１２６Ｎ、Ｑ１２６Ｐ、Ｑ１２６Ｒ、Ｑ１２６Ｓ、Ｑ１２６Ｔ、Ｑ１２６Ｖ、Ｑ１２６Ｗ、及びＱ１２６Ｙから選択される１つ以上の変異を含む。

【００８５】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒβγに対する親和性及び／または活性の低下を示し、任意選択で、上記改変ＩＬ－２は、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ａ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｄ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｅ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｆ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｇ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｈ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｉ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｋ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｌ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｍ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｎ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｐ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｒ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｓ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｔ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｖ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｗ、Ｄ２０Ｅ／Ｑ１２６Ｙ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ａ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｄ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｅ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｆ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｇ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｈ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｉ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｋ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｌ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｍ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｎ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｐ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｒ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｓ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｔ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｖ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｗ、Ｄ２０Ｖ／Ｑ１２６Ｙ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ａ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｄ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｅ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｆ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｇ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｈ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｉ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｋ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｌ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｍ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｎ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｐ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｒ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｓ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｔ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｖ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｗ、Ｎ８８Ａ／Ｑ１２６Ｙ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ａ、Ｎ８８Ｇ／

Ｑ１２６Ｄ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｅ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｆ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｇ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｈ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｉ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｋ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｌ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｍ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｎ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｐ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｒ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｓ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｔ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｖ、Ｎ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｗ、及びＮ８８Ｇ／Ｑ１２６Ｙから選択される１つ以上の変異を含む。さらなる実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、ＩＬ－２Ｒβγに対する親和性及び／または活性の低下を示し、且つ活性化ＣＤ８細胞に対する選択性の増加を示す。

【００８６】

ネオロイキン

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は改変ネオロイキンであり、該改変ネオロイキンはアミノ酸配列：

ＰＫＫＫＩＱＬＨＡＥＨＡＬＹＤＡＬＭＩＬＮＩＶＫＴＮＳＰＰＡＥＥＫＬＥＤＹＡＦＮＦＥＬＩＬＥＥＩＡＲＬＦＥＳＧＤＱＫＤＥＡＥＫＡＫＲＭＫＥＷＭＫＲＩＫＴＴＡＳＥＤＥＱＥＥＭＡＮＡＩＩＴＩＬＱＳＷＩＦＳ（配列番号２）

を含む。

【００８７】

かかる実施形態において、配列番号２を含む上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、アミノ酸残基Ｄ１５及び／またはＮ４０に１つ以上の変異を有する。例えば、いくつかの実施形態において、配列番号２を含む上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、Ｄ１５Ｔ、Ｄ１５Ｈ、Ｎ４０Ｉ、Ｎ４０Ｇ、またはＮ４０Ｒを含む。

【００８８】

いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、配列番号１もしくは２と、少なくとも約６０％、または少なくとも約６１％、または少なくとも約６２％、または少なくとも約６３％、または少なくとも約６４％、または少なくとも約６５％、または少なくとも約６６％、または少なくとも約６７％、または少なくとも約６８％、または少なくとも約６９％、または少なくとも約７０％、または少なくとも約７１％、または少なくとも約７２％、または少なくとも約７３％、または少なくとも約７４％、または少なくとも約７５％、または少なくとも約７６％、または少なくとも約７７％、または少なくとも約７８％、または少なくとも約７９％、または少なくとも約８０％、または少なくとも約８１％、または少なくとも約８２％、または少なくとも約８３％、または少なくとも約８４％、または少なくとも約８５％、または少なくとも約８６％、または少なくとも約８７％、または少なくとも約８８％、または少なくとも約８９％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性（例えば、約６０％、または約６１％、または約６２％、または約６３％、または約６４％、または約６５％、または約６６％、または約６７％、または約６８％、または約６９％、または約７０％、または約７１％、または約７２％、または約７３％、または約７４％、または約７５％、または約７６％、または約７７％、または約７８％、または約７９％、または約８０％、または約８１％、または約８２％、または約８３％、または約８４％、または約８５％、または約８６％、または約８７％、または約８８％、または約８９％、または約９０％、または約９１％、または約９２％、または約９３％、または約９４％、または約９５％、または約９６％、または約９７％、または約９８％、または約９９％の配列同一性）を有するアミノ酸配列を含む。

【００８９】

種々の実施形態において、上記改変ＩＬ－２は１つ以上の変異を有するように改変されている。いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、１つ以上の変異及び１つ以上の改変（例えば、グリコシル化）を有するように改変されている。ＩＬ－２は、３位（Ｔ３）にスレオニンＯ－グリコシル化部位を含む。例えば、いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、Ｔ３　Ｏ－グリコシル化変異を含み、上記変異

は、Ｔ３Ａ、Ｔ３Ｆ、Ｔ３Ｈ、Ｔ３Ｌ、Ｔ３Ｖ、及びＴ３Ｙの１種である。いくつかの実施形態において、上記改変ＩＬ－２シグナル伝達因子は、Ｔ３　Ｏ－グリコシル化欠失変異を含み、上記改変ＩＬ－２配列の最初の３、４、５、６、７、または８残基が欠失している。

【００９０】

いくつかの実施形態では、１つ以上のアミノ酸変異は、置換、挿入、欠失、及び切り詰めから独立に選択され得る。

【００９１】

いくつかの実施形態では、アミノ酸変異は、アミノ酸置換であり、保存的及び／または非保存的置換を含み得る。

【００９２】

「保存的置換」は、例えば、関与するアミノ酸残基の極性、電荷、サイズ、溶解度、疎水性、親水性、及び／または両親媒特性における類似性に基づいて行われ得る。２０種の天然アミノ酸は、次の６つの標準的アミノ酸グループに分類できる：（１）疎水性：Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ；（２）中性親水性：Ｃｙｓ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ；Ａｓｎ、Ｇｌｎ；（３）酸性：Ａｓｐ、Ｇｌｕ；（４）塩基性：Ｈｉｓ、Ｌｙｓ、Ａｒｇ；（５）鎖配向に影響を与える残基：Ｇｌｙ、Ｐｒｏ；ａｎｄ（６）芳香族：Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ。

【００９３】

本明細書で使用される場合、「保存的置換」は、あるアミノ酸の、上記６つの標準的アミノ酸グループの同じグループ内に記載の別のアミノ酸による交換として定義される。例えば、ＡｓｐのＧｌｕによる交換は、そのように改変されたポリペプチド中で１個の負電荷を保持する。さらに、グリシン及びプロリンは、それらのαヘリックスを破壊する能力に基づいて相互に置換され得る。

【００９４】

本明細書で使用される場合、「非保存的置換」は、あるアミノ酸の、上記６つの標準的アミノ酸グループ（１）～（６）の異なるグループに記載の別のアミノ酸による交換として定義される。

【００９５】

種々の実施形態では、置換はまた、非古典的アミノ酸（例えば、セレノシステイン、ピロールリジン、Ｎ－ホルミルメチオニンβ－アラニン、ＧＡＢＡ及びδ－アミノレブリン酸、４－アミノ安息香酸（ＰＡＢＡ）、共通アミノ酸のＤ－異性体、２，４－ジアミノ酪酸、α－アミノイソ酪酸、４－アミノ酪酸、Ａｂｕ、２－アミノ酪酸、γ－Ａｂｕ、ε－Ａｈｘ、６－アミノヘキサン酸、Ａｉｂ、２－アミノイソ酪酸、３－アミノプロピオン酸、オルニチン、ノルロイシン、ノルバリン、ヒドロキシプロリン、サルコシン、シトルリン、ホモシトルリン、システイン酸、ｔ－ブチルグリシン、ｔ－ブチルアラニン、フェニルグリシン、シクロヘキシルアラニン、β－アラニン、フルオロアミノ酸、βメチルアミノ酸などのデザイナーアミノ酸、Ｃ　α－メチルアミノ酸、Ｎ　α－メチルアミノ酸、及び一般的にアミノ酸類似体）も含む。

【００９６】

いくつかの実施形態では、変異は、上記改変ＩＬ－２が、非変異型ＩＬ－２、例えば、野生型のＩＬ－２（例えば、配列番号１）に比べて、低減された結合親和性、低減された内因性活性、及び低減された特定の生物活性の１種以上などの１種以上の減弱化された活性を有することを可能にする。例えば、非変異型、例えば、野生型のＩＬ－２（例えば、配列番号１）に比べて、低減された結合親和性、低減された内因性活性、及び低減した特定の生物活性などの１種以上の減弱化された活性は、ＩＬ－２Ｒαβγなどの受容体に対するものであり得る。結果として、種々の実施形態では、変異は、改変ＩＬ－２が、非変異型ＩＬ－２、例えば、野生型のＩＬ－２に比べて、低減された全身毒性、低減された副作用、及び低減されたオフターゲット効果を有することを可能にする。

【００９７】

いくつかの実施形態では、上記改変ＩＬ－２は、ＩＦＮＡＲなどの治療もしくは標的受容体に対するその結合親和性または活性を低減する１つ以上の変異を有するように改変される。いくつかの実施形態では、上記改変ＩＬ－２により与えられる活性は、治療もしくは標的受容体に対するアゴニズム（例えば、治療の部位での細胞効果の活性化）または治療もしくは標的受容体に対するアゴニズム（例えば、治療の部位での細胞効果の活性化の低減または排除）である。例えば、上記改変ＩＬ－２は、治療または標的受容体を活性化し得る。このような実施形態では、変異は、治療または標的受容体に対し低減された活性化作用を有する上記改変ＩＬ－２をもたらす。

【００９８】

いくつかの実施形態では、治療もしくは標的受容体に対する低減された親和性または活性は、標的化部分との結合により回復可能である。他の実施形態では、治療もしくは標的受容体に対する低減された親和性または活性は、標的化部分との結合によって実質的に回復可能にはならない。種々の実施形態では、本技術のキメラタンパク質は、上記改変ＩＬ－２が治療もしくは標的受容体に対する結合親和性または活性を弱める変異を有するという理由で、オフターゲット効果を低減させる。種々の実施形態では、これは、例えば、野生型ＩＬ－２で観察される副作用を低減する。種々の実施形態では、上記改変ＩＬ－２は、治療作用部位へ向かう途上では実質的に不活性であり、特異的に標的細胞型に対しその効果を実質的に有し、これは望ましくない副作用を大きく低減する。

【００９９】

種々の実施形態では、改変ＩＬ－２は、該改変ＩＬ－２が、１つ以上の治療受容体に対する減弱化されたまたは低減された親和性、例えば、結合（例えば、K_D）及び／または活性化（例えば、K_A及び／またはEC_{50}として測定可能な）を有するようにさせる、１つ以上の変異を有する。種々の実施形態では、治療受容体に対する低減された親和性は、治療受容体からの活性及び／またはシグナル伝達の減弱化を可能にする。

【０１００】

種々の実施形態では、改変ＩＬ－２は、野生型ＩＬ－２に比較して、治療もしくは標的受容体（例えば、ＩＬ－２Ｒαβγもしくは ＩＬ－２Ｒβγまたはそれらのサブユニット ＩＬ－２Ｒα、ＩＬ－２Ｒβ、及び／または ＩＬ－２Ｒγのいずれか１つ）に対する約１％、または約３％、約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、約９５％、または約１０％～２０％、約２０％～４０％、約５０％、約４０％～６０％、約６０％～８０％、約８０％～１００％の親和性を有する。いくつかの実施形態では、結合親和性は、野生型ＩＬ－２に比べて、少なくとも約２倍低い、約３倍低い、約４倍低い、約５倍低い、約６倍低い、約７倍低い、約８倍低い、約９倍低い、少なくとも約１０倍低い、少なくとも約１５倍低い、少なくとも約２０倍低い、少なくとも約２５倍低い、少なくとも約３０倍低い、少なくとも約３５倍低い、少なくとも約４０倍低い、少なくとも約４５倍低い、少なくとも約５０倍低い、少なくとも約１００倍低い、少なくとも約１５０倍低い、または約１０～５０倍低い、約５０～１００倍低い、約１００～１５０倍低い、約１５０～２００倍低い、または２００倍超低い。

【０１０１】

受容体結合活性は、当該技術分野において公知の方法を使用して測定され得る。例えば、親和性及び／または結合活性は、スキャッチャードプロット分析及び結合データのコンピューターフィッティング（例えば、Ｓｃａｔｃｈａｒｄ，Ｔｈｅ ａｔｔｒａｃｔｉｏｎｓ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｆｏｒ ｓｍａｌｌ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ ａｎｄ ｉｏｎｓ．Ａｎｎ ＮＹ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ５１：６６０－６７２，１９４９）またはＢｒｅｃｈｔ ｅｔ ａｌ．Ｂｉｏｓｅｎｓ Ｂｉｏｅｌｅｃｔｒｏｎ １９９３；８：３８７－３９２により記載のように、フロースルー条件下で反射型干渉分光法により評価され得る。これらの文献の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態において、受容体結合活性は、バイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）によって測定される。

【０１０２】
いくつかの実施形態では、治療もしくは標的受容体に対し減弱化された活性、治療もしくは標的受容体に対し弱められた親和性は、治療作用部位で抗原に対する高い親和性を有する標的化部分（例えば、本明細書に記載の抗体または抗体フォーマット）との結合により回復可能である。標的化は、標的化部分に改変ＩＬ－２を結合することにより実現される。ある実施形態では、改変ＩＬ－２は、そのアミノ末端を介して標的化部分に結合される。別の実施形態では、改変ＩＬ－２は、そのカルボキシ末端を介して標的化部分に結合される。このように、本発明のキメラタンパク質は、いくつかの実施形態では、治療または標的受容体の位置で局在化された、オンターゲットの、及び制御された治療作用を提供する。

【０１０３】
種々の実施形態において、治療または標的受容体における改変ＩＬ－２の活性は、標的化部分との結合によって増大し、治療活性部位（例えば本明細書に記載の抗体または抗体フォーマット）での抗原における高い親和性を有する。上記標的化は、上記改変ＩＬ－２を標的化部分に連結することによって実施される。ある実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、そのアミノ末端を介して標的化部分に連結される。別の実施形態において、上記改変ＩＬ－２は、そのカルボキシ末端を介して標的化部分に連結される。このようにして、本キメラタンパク質は、いくつかの実施形態において、治療または標的受容体において局所化された、狙い通りの、且つ制御された治療作用を提供する。

【０１０４】
インターロイキンまたはその変異体を含む治療薬
実施形態において、本発明は、以下の標的、すなわち、ＣＤ８、ＣＴＬＡ４、ＣＤ３、ＣＤ４、ＤＮＡＭ－１、Ｎｒｐ１（ニューロフィリン）、ＴＮＦＲ１、ＴＮＦＲ２、ＧＩＴＲ、ＩＣＯＳ、ＣＤ２０、ＣＤ７０、Ｃｌｅｃ９ａ、ＮＫｐ４６、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＳＩＲＰ１α、ＦＡＰ、ＸＣＲ１、テネイシン、及びＥＣＭタンパク質の１種以上に結合する、１種以上の標的化部分を含むキメラタンパク質またはタンパク質複合体を提供する

【０１０５】
標的化部分の細胞リクルートメント
種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、目的の標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する認識ドメインを有する１種以上の標的化部分をさらに含む。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、１０個以上の標的化部分を含み得る。例示的実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、２個以上の標的化部分を含み得る。このような実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、２個の異なる細胞（例えば、シナプスを作るために）または同じ細胞（例えば、より高濃度のシグナル伝達因子効果を得るために）を標的にできる。

【０１０６】
いくつかの実施形態では、目的の標的（例えば、抗原、受容体）は、免疫細胞及び／または器官細胞、及び／または組織細胞に対する指向性を有する。

【０１０７】
種々の実施形態では、目標の標的（例えば、抗原、受容体）は、１つ以上の免疫細胞上で認めることができ、免疫細胞は、限定されないが、Ｔ細胞、細胞傷害性Ｔリンパ球、ヘルパーＴ細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、ナチュラルキラーＴ（ＮＫＴ）細胞、抗腫瘍または腫瘍関連マクロファージ（例えば、Ｍ１またはＭ２マクロファージ）、Ｂ細胞、Ｂｒｅｇ細胞、樹状細胞、またはこれらのサブセットを含み得る。いくつかの実施形態では、認識ドメインは、目的の標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合し、直接または間接的に１つ以上の免疫細胞を効果的にリクルートする。いくつかの実施形態では、

目的の標的（例えば、抗原、受容体）は、１つ以上の腫瘍細胞上で見つけられ得る。いくつかの実施形態では、目的の標的（例えば、抗原、受容体）は、腫瘍の新生血管中に存在する場合がある。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、例えば、いくつかの実施形態では、治療部位（例えば、１つ以上の疾患細胞または治療効果を得るために調節されるべき細胞を有する部位）に、直接または間接的に免疫細胞をリクルートし得る。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、免疫細胞、例えば、腫瘍細胞を死滅させる及び／または抑制できる免疫細胞を、作用部位（非限定的例であるが、腫瘍微小環境など）に直接的にまたは間接的にリクルートし得る。

【０１０８】

種々の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、非細胞構造の一部である標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する認識ドメインを有する標的化部分を有する。いくつかの実施形態では、抗原または受容体は、無傷の細胞または細胞構造の不可欠な構成要素ではない。いくつかの実施形態では、抗原または受容体は、細胞外の抗原または受容体である。いくつかの実施形態では、標的は、非タンパク質性の非細胞マーカーであり、これらは、限定されないが、例えば、壊死腫瘍細胞から放出されたＤＮＡ、などのＤＮＡまたはＲＮＡを含む、核酸またはコレステロールなどの細胞外沈着物を含む。

【０１０９】

いくつかの実施形態では、目的の標的（例えば、抗原、受容体）は、ストローマもしくは細胞外マトリックス（ＥＣＭ）の非細胞成分またはそれと関連するマーカーの一部である。本明細書で使用される場合、ストローマは、組織または器官の連結及び支持フレームワークを指す。ストローマは、細胞外マトリックス（ＥＣＭ）及び細胞外分子と共に線維芽細胞／筋線維芽細胞／膠細胞、上皮、脂肪、免疫、血管、平滑筋、及び免疫細胞などの細胞の寄せ集めを含み得る。種々の実施形態では、目的の標的（例えば、抗原、受容体）は、細胞外マトリックス及び細胞外分子などのストローマの非細胞成分の一部である。本明細書で使用される場合、ＥＣＭは、全ての組織及び器官内に存在する非細胞成分を指す。ＥＣＭは、限定されないが、タンパク質、糖タンパク質、プロテオグリカン、及び多糖類を含む生化学的に別々の成分の多数の集まりからなる。これらのＥＣＭ成分は通常、隣接する細胞により産生され、エキソサイトーシスによりＥＣＭ中に分泌される。分泌されると、ＥＣＭ成分は多くの場合、集合して、巨大分子の複合体ネットワークを形成する。種々の実施形態では、キメラタンパク質または本発明のＦｃ系キメラタンパク質などのキメラタンパク質複合体は、ＥＣＭの任意の成分上に位置する標的（例えば、抗原または受容体または非タンパク質分子）を認識する標的化部分を含む。ＥＣＭの成分の例としては、限定されないが、プロテオグリカン、非プロテオグリカン多糖類、繊維及び他のＥＣＭタンパク質またはＥＣＭ非タンパク質、例えば、多糖類及び／または脂質、またはＥＣＭ関連分子（例えば、タンパク質または非タンパク質、例えば、多糖類、核酸及び／または脂質）が挙げられる。

【０１１０】

いくつかの実施形態では、標的化部分は、ＥＣＭプロテオグリカン上の標的（例えば、抗原、受容体）を認識する。プロテオグリカンはグリコシル化タンパク質である。塩基性プロテオグリカン単位は、１つ以上の共有結合グリコサミノグリカン（ＧＡＧ）鎖を有するコアタンパク質を含む。プロテオグリカンは、正電荷のナトリウムイオン（Ｎａ＋）を引き付ける正味負電荷を有し、これは、浸透を介して水を引き付け、ＥＣＭ及び常在性細胞を水和した状態に保持する。プロテオグリカンはまた、成長因子を捕捉し、ＥＣＭ内に貯蔵し得る。本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体により標的とされ得るプロテオグリカンの例としては、ヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸、及びケラタン硫酸が挙げられるが、これらに限定されない。ある実施形態では、標的化部分は、ヒアルロン酸などの非プロテオグリカン多糖類上の標的（

例えば、抗原、受容体）を認識する。

【０１１１】

いくつかの実施形態では、標的化部分は、ＥＣＭ繊維上の標的（例えば、抗原、受容体）を認識する。ＥＣＭ繊維は、コラーゲン繊維及びエラスチン繊維を含む。いくつかの実施形態では、標的化部分は、コラーゲンまたはコラーゲン繊維上の１つ以上のエピトープを認識する。コラーゲンは、ＥＣＭ中で最も豊富なタンパク質である。コラーゲンはＥＣＭ中に線維性タンパク質として存在し、常在性細胞に対し構造支持を与える。１つまたは複数の実施形態では、標的化部分は、限定されないが、線維性コラーゲン（Ｉ、ＩＩ、ＩＩＩ、Ｖ、ＸＩ型）、ＦＡＣＩＴコラーゲン（ＩＸ、ＸＩＩ、ＸＩＶ型）、短鎖コラーゲン（ＶＩＩＩ、Ｘ型）、基底膜コラーゲン（ＩＶ型）、及び／またはＶＩ、ＶＩＩ、またはＸＩＩＩ型コラーゲンを含む、ＥＣＭ内に存在する様々な種類のコラーゲンを認識し、これに結合する。エラスチン繊維は、組織に弾性を与え、組織が必要に応じ伸縮し、その後、元の状態に戻ることを可能にする。いくつかの実施形態では、標的化部分は、エラスチンまたはエラスチン繊維上の１つ以上のエピトープを認識する。

【０１１２】

いくつかの実施形態では、標的化部分は、限定されないが、テネイシン、フィブロネクチン、フィブリン、ラミニン、またはナイドジェン／エンタクチンを含む、１種以上のＥＣＭタンパク質を認識する。

【０１１３】

ある実施形態では、標的化部分は、テネイシンを認識し、これに結合する。テネイシン（ＴＮ）ファミリーの糖タンパク質は、少なくとも４種のメンバー：テネイシン－Ｃ、テネイシン－Ｒ、テネイシン－Ｘ、及びテネイシン－Ｗを含む。テネイシンタンパク質の一次構造は、同じ連続配列中に順序づけられたいくつかの共通のモチーフ：アミノ末端７個の反復、上皮増殖因子（ＥＧＦ）様反復、フィブロネクチンＩＩＩ型ドメイン反復、及びカルボキシル末端フィブリノーゲン様球状ドメインを含む。それぞれのタンパク質メンバーは、ＥＧＦ様及びフィブロネクチンＩＩＩ型反復の数及び性質における典型的な変動に関連付けられる。アイソフォーム変異体はまた、特にテネイシン－Ｃに対して存在する。２７種を超えるテネイシン－Ｃのスプライス変異体及び／またはアイソフォームが知られている。特定の実施形態では、標的化部分は、テネイシン－ＣＡ１を認識し、これに結合する。同様に、テネイシン－Ｒはまた、種々のスプライス変異体及びアイソフォームを有する。テネイシン－Ｒは通常、二量体または三量体として存在する。テネイシン－Ｘは、テネイシンファミリーの最大メンバーであり、三量体として存在することが知られている。テネイシン－Ｗは、三量体として存在する。いくつかの実施形態では、標的化部分は、テネイシンタンパク質上の１つ以上のエピトープを認識する。いくつかの実施形態では、標的化部分は、モノマー及び／または二量体及び／または三量体及び／またはヘキサマー型のテネイシンタンパク質を認識する。

【０１１４】

ある実施形態では、標的化部分は、フィブロネクチンを認識し、これに結合する。フィブロネクチンは、細胞をＥＣＭ中のコラーゲン繊維と連結し、細胞がＥＣＭ中を移動することを可能とする糖タンパク質である。インテグリンに結合時には、フィブロネクチンは折り畳みをほどいて機能的二量体を形成する。いくつかの実施形態では、標的化部分は、モノマー及び／または二量体型のフィブロネクチンを認識する。いくつかの実施形態では、標的化部分は、フィブロネクチン上の１つ以上のエピトープを認識する。例示的実施形態では、標的化部分は、フィブロネクチン細胞外ドメインＡ（ＥＤＡ）またはフィブロネクチン細胞外ドメインＢ（ＥＤＢ）を認識する。ＥＤＡレベルの上昇は、乾癬、関節リウマチ、糖尿病、及び癌を含む種々の疾患及び障害に関連する。いくつかの実施形態では、標的化部分は、ＥＤＡアイソフォームを含むフィブロネクチンを認識し、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体を癌細胞を含む疾患細胞に指向させるのに使用し得る。いくつかの実施形態では、標的化部分は、ＥＤＢアイソフォームを含むフィブロネクチンを認識する。種々の実施形態では、このような標的

化部分は、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体を腫瘍新生血管を含む腫瘍細胞に指向させるのに使用し得る。

【０１１５】

ある実施形態では、標的化部分は、フィブリンを認識し、これに結合する。フィブリンは、ＥＣＭのマトリックスネットワーク中に見つかることが多い、もう１種のタンパク質物質である。フィブリンは、フィブリノーゲンに対するプロテアーゼトロンビンの作用により形成され、これにより、フィブリンを重合させる。いくつかの実施形態では、標的化部分は、フィブリン上の１つ以上のエピトープを認識する。いくつかの実施形態では、標的化部分は、モノマーならびに重合型のフィブリンを認識する。

【０１１６】

ある実施形態では、標的化部分は、ラミニンを認識し、これに結合する。ラミニンは、基底膜の主要成分であり、細胞及び器官のためのタンパク質ネットワーク基盤である。ラミニンは、α鎖、β鎖、及びγ鎖を含むヘテロ三量体タンパク質である。いくつかの実施形態では、標的化部分は、ラミニン上の１つ以上のエピトープを認識する。いくつかの実施形態では、標的化部分は、モノマー、二量体ならびに三量体型のラミニンを認識する。

【０１１７】

ある実施形態では、標的化部分は、ナイドジェンまたはエンタクチンを認識し、これらに結合する。ナイドジェン／エンタクチンは、高度に保存された硫酸化糖タンパク質ファミリーである。それらは基底膜の主要構造的成分をなし、ラミニンと、基底膜中のコラーゲンＩＶネットワークを連結するように機能する。このファミリーのメンバーは、ナイドジェン－１及びナイドジェン－２を含む。種々の実施形態では、標的化部分は、ナイドジェン－１及び／またはナイドジェン－２上のエピトープを認識する。

【０１１８】

種々の実施形態では、標的化部分は、本明細書に記載のいずれかの標的上に存在するエピトープを認識する抗原認識ドメインを含む。ある実施形態では、抗原認識ドメインは、タンパク質上に存在する１つ以上の線形エピトープを認識する。本明細書で使用される場合、線形エピトープは、タンパク質上に存在するアミノ酸の任意の連続配列を指す。別の実施形態では、抗原認識ドメインは、タンパク質上に存在する１つ以上の立体構造エピトープを認識する。本明細書で使用される場合、立体構造エピトープは、抗原認識ドメインにより認識され得る特徴及び／または形状及び／または三次構造を備えた３次元表面を形成する１つ以上のアミノ酸の部分（これは不連続であってよい）を指す。

【０１１９】

種々の実施形態では、標的化部分は、本明細書に記載のいずれかの標的の完全長型及び／または成熟型及び／またはアイソフォーム及び／またはスプライス変異体及び／またはフラグメント及び／または任意の他の天然または合成の類似体、変異体、または変異体に結合し得る。種々の実施形態では、標的化部分は、モノマー、二量体、三量体、テトラマー、ヘテロ二量体、多量体及び会合型を含む、本明細書に記載の任意の型のタンパク質に結合し得る。種々の実施形態では、標的化部分は、グリコシル化及び／またはリン酸化型などの、本明細書に記載の任意の翻訳後修飾型のタンパク質に結合し得る。

【０１２０】

種々の実施形態では、標的化部分は、ＤＮＡなどの細胞外分子を認識する抗原認識ドメインを含む。いくつかの実施形態では、標的化部分は、ＤＮＡを認識する抗原認識ドメインを含む。ある実施形態では、ＤＮＡは、壊死細胞またはアポトーシス腫瘍細胞または他の疾患細胞から細胞外間隙中に脱落する。

【０１２１】

種々の実施形態では、標的化部分は、アテローム斑と関連する１種以上の非細胞構造を認識する抗原認識ドメインを含む。２つのタイプのアテローム斑が知られている。線維－脂質（線維－脂肪）斑（ｆｉｂｒｏ－ｌｉｐｉｄ（ｆｉｂｒｏ－ｆａｔｔｙ）ｐｌａｑｕｅ）は、動脈の内膜の下の脂質を取り込んだ（ｌｉｐｉｄ－ｌａｄｅｎ）細胞の蓄積を特徴とする。内皮の下には、アテローム性のプラークコアを覆う繊維状キャップが存在する

。コアは、増大した組織コレステロール及びコレステロールエステル含量を有する脂質を取り込んだ細胞（マクロファージ及び平滑筋細胞）、フィブリン、プロテオグリカン、コラーゲン、エラスチン、ならびに壊死細胞片を含む。進行型プラークでは、プラークの中心コアは通常、細胞外のコレステロール沈着物（死細胞から放出）を含み、これは、空の針状間隙を有するコレステロール結晶の領域を形成する。プラークの周辺部には、より若い泡沫状細胞及び毛細血管がある。繊維状プラークはまた、動脈壁内の内膜下にも局在し、壁の肥厚化及び増殖、及び時には、筋層の若干の萎縮を伴う内腔の飛び飛びに局在化した狭小化をもたらす。繊維状プラークは、コラーゲン繊維（エオシン好性）、カルシウムの沈殿物（ヘマトキシリン好性）及び脂質を取り込んだ細胞を含む。いくつかの実施形態では、標的化部分は、フィブリン、プロテオグリカン、コラーゲン、エラスチン、壊死細胞片、及びカルシウムまたは他の鉱物沈着物または沈殿物などのこれらのプラークの１種以上の非細胞成分を認識し、これに結合する。いくつかの実施形態では、壊死細胞片は、核酸、例えば、死細胞から放出される　ＤＮＡまたはＲＮＡである。

【０１２２】

種々の実施形態では、標的化部分は、神経変性疾患と関連する脳プラーク中で見つかる１種以上の非細胞構造を認識する抗原認識ドメインを含む。いくつかの実施形態では、標的化部分は、アルツハイマー病の患者の脳中で見つかるアミロイド斑中に局在する１種以上の非細胞構造を認識し、これに結合する。例えば、標的化部分は、ペプチドアミロイドベータを認識し、これに結合する。ペプチドアミロイドベータは、アミロイド斑の主要な成分である。いくつかの実施形態では、標的化部分は、ハンチントン病の患者で見つかる脳プラーク中にある１種以上の非細胞構造を認識し、これに結合する。種々の実施形態では、標的化部分は、レヴィー小体認知症及び封入体筋炎などの他の神経変性疾患または筋骨格疾病と関連するプラークで見つかる１種以上の非細胞構造を認識し、これに結合する。

【０１２３】

いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、非細胞構造に結合する２個以上の標的化部分を有し得る。いくつかの実施形態では、２個の標的化部分が存在し、１個は細胞を標的にし、一方、もう１個は非細胞構造を標的にする。種々の実施形態では、標的化部分は、疾患細胞及び／またはエフェクター細胞などの細胞を直接にまたは間接的にリクルートできる。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、腫瘍の免疫攻撃に有利なように免疫細胞を関与させ、免疫細胞のバランスを変化させることができ、またはその方法での用途が見つかる。例えば、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、臨床的に重要な部位の免疫細胞の比率を腫瘍を死滅させる及び／または抑制することができる細胞（例えば、Ｔ細胞、細胞傷害性Ｔリンパ球、ヘルパーＴ細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、ナチュラルキラーナチュラルキラーＴ（ＮＫＴ）細胞、抗腫瘍マクロファージ（例えば、Ｍ１マクロファージ）、Ｂ細胞、樹状細胞またはこれらのサブセット）に有利なように、及び腫瘍を保護する細胞（例えば、骨髄由来サプレッサー細胞（ＭＤＳＣ）、制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）；腫瘍関連好中球（ＴＡＮ）、Ｍ２マクロファージ、腫瘍関連マクロファージ（ＴＡＭ）、またはこれらのサブセット）に不利なように変化させることができる。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、エフェクターＴ細胞の制御性Ｔ細胞に対する比率を高めることができる。

【０１２４】

例えば、いくつかの実施形態では、認識ドメインは、Ｔ細胞に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、認識ドメインは、直接または間接的にＴ細胞をリクルートする。ある実施形態では、認識ドメインは、エフェクターＴ細胞に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、認識ドメインは、エフェクターＴ細胞　を、例えば、いくつかの実施形態では、治療部位（例えば、１つ以上の疾患細胞

または治療効果を得るために調節されるべき細胞を有する部位）に直接または間接的にリクルートする。エフェクターＴ細胞の例としては、細胞傷害性Ｔ細胞（例えば、αβＴＣＲ、ＣＤ３$^{+}$、ＣＤ８$^{+}$、ＣＤ４５ＲＯ$^{+}$）；ＣＤ４$^{+}$エフェクターＴ細胞（例えば、αβＴＣＲ、ＣＤ３$^{+}$、ＣＤ４$^{+}$、ＣＣＲ７$^{+}$、ＣＤ６２Ｌｈｉ、ＩＬ－７Ｒ／ＣＤ１２７$^{+}$）；ＣＤ８$^{+}$　エフェクターＴ細胞（例えば、αβＴＣＲ、ＣＤ３$^{+}$、ＣＤ８$^{+}$、ＣＣＲ７$^{+}$、ＣＤ６２Ｌｈｉ、ＩＬ－７Ｒ／ＣＤ１２７$^{+}$）；エフェクターメモリーＴ細胞（例えば、ＣＤ６２Ｌｌｏｗ、ＣＤ４４$^{+}$、ＴＣＲ、ＣＤ３$^{+}$、ＩＬ－７Ｒ／ＣＤ１２７$^{+}$、ＩＬ－１５Ｒ$^{+}$、ＣＣＲ７ｌｏｗ）；セントラルメモリーＴ細胞（例えば、ＣＣＲ７$^{+}$、ＣＤ６２Ｌ$^{+}$、ＣＤ２７$^{+}$；またはＣＣＲ７ｈｉ、ＣＤ４４$^{+}$、ＣＤ６２Ｌｈｉ、ＴＣＲ、ＣＤ３$^{+}$、ＩＬ－７Ｒ／ＣＤ１２７$^{+}$、ＩＬ－１５Ｒ$^{+}$）；ＣＤ６２Ｌ$^{+}$　エフェクターＴ細胞；早期エフェクターメモリーＴ細胞（ＣＤ２７$^{+}$　ＣＤ６２Ｌ$^{-}$）及び後期エフェクターメモリーＴ細胞（ＣＤ２７$^{-}$　ＣＤ６２Ｌ$^{-}$）（それぞれ、ＴｅｍＥ及びＴｅｍＬ）を含むＣＤ８$^{+}$　エフェクターメモリーＴ細胞（ＴＥＭ）；ＣＤ１２７（$^{+}$）ＣＤ２５（ｌｏｗ／－）エフェクターＴ細胞；ＣＤ１２７（$^{-}$）ＣＤ２５（$^{-}$）エフェクターＴ細胞；ＣＤ８$^{+}$　幹細胞メモリーエフェクター細胞（ＴＳＣＭ）（例えば、ＣＤ４４（ｌｏｗ）ＣＤ６２Ｌ（ｈｉｇｈ）ＣＤ１２２（ｈｉｇｈ）ｓｃａ（$^{+}$））；ＴＨ１エフェクターＴ細胞（例えば、ＣＸＣＲ３$^{+}$、ＣＸＣＲ６$^{+}$及びＣＣＲ５$^{+}$；またはαβＴＣＲ、ＣＤ３$^{+}$、ＣＤ４$^{+}$、ＩＬ－１２Ｒ$^{+}$、ＩＦＮγＲ$^{+}$、ＣＸＣＲ３$^{+}$）、ＴＨ２エフェクターＴ細胞（例えば、ＣＣＲ３$^{+}$、ＣＣＲ４$^{+}$及びＣＣＲ８$^{+}$；またはαβＴＣＲ、ＣＤ３$^{+}$、ＣＤ４$^{+}$、ＩＬ－４Ｒ$^{+}$、ＩＬ－３３Ｒ$^{+}$、ＣＣＲ４$^{+}$、ＩＬ－１７ＲＢ$^{+}$、ＣＲＴＨ２$^{+}$）；ＴＨ９エフェクターＴ細胞（例えば、αβＴＣＲ、ＣＤ３＋、ＣＤ４＋）；ＴＨ１７エフェクターＴ細胞（例えば、αβＴＣＲ、ＣＤ３$^{+}$、ＣＤ４$^{+}$、ＩＬ－２３Ｒ$^{+}$、ＣＣＲ６$^{+}$、ＩＬ－１Ｒ$^{+}$）；ＣＤ４$^{+}$ＣＤ４５ＲＯ$^{+}$ＣＣＲ７$^{+}$　エフェクターＴ細胞、ＩＣＯＳ$^{+}$　エフェクターＴ細胞；ＣＤ４$^{+}$ＣＤ４５ＲＯ$^{+}$ＣＣＲ７（$^{-}$）エフェクターＴ細胞；及びＩＬ－２、ＩＬ－４及び／またはＩＦＮ－γを分泌するエフェクターＴ細胞が挙げられる。

【０１２５】

目的とするＴ細胞抗原の例としては、例えば、下記が挙げられる（該当する場合には、細胞外ドメインも含む）：ＣＤ８、ＣＤ３、ＳＬＡＭＦ４、ＩＬ－２Ｒα、４－１ＢＢ／ＴＮＦＲＳＦ９、ＩＬ－２Ｒβ、ＡＬＣＡＭ、Ｂ７－１、ＩＬ－４Ｒ、Ｂ７－Ｈ３、ＢＬＡＭＥ／ＳＬＡＭＦＳ、ＣＥＡＣＡＭ１、ＩＬ－６Ｒ、ＣＣＲ３、ＩＬ－７Ｒα、ＣＣＲ４、ＣＸＣＲｌ／ＩＬＳＲＡ、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＩＬ－１０Ｒα、ＣＣＲ７、ＩＬ－１０Ｒβ、ＣＣＲＳ、ＩＬ－１２Ｒβ１、ＣＣＲ９、ＩＬ－１２Ｒβ２、ＣＤ２、ＩＬ－１３Ｒα１、ＩＬ－１３、ＣＤ３、ＣＤ４、ＩＬＴ２／ＣＤＳ５ｊ、ＩＬＴ３／ＣＤＳ５ｋ、ＩＬＴ４／ＣＤＳ５ｄ、ＩＬＴ５／ＣＤＳ５ａ、ｌｕｔｅｇｒｉｎ　α４／ＣＤ４９ｄ、ＣＤＳ、インテグリンαＥ／ＣＤ１０３、ＣＤ６、インテグリンαＭ／ＣＤ１１ｂ、ＣＤＳ、インテグリンαＸ／ＣＤ１１ｃ、インテグリンβ２／ＣＤｌＳ、ＫＩＲ／ＣＤ１５Ｓ、ＣＤ２７／ＴＮＦＲＳＦ７、ＫＩＲ２ＤＬ１、ＣＤ２Ｓ、ＫＩＲ２ＤＬ３、ＣＤ３０／ＴＮＦＲＳＦＳ、ＫＩＲ２ＤＬ４／ＣＤ１５Ｓｄ、ＣＤ３１／ＰＥＣＡＭ－１、ＫＩＲ２ＤＳ４、ＣＤ４０リガンド／ＴＮＦＳＦ５、ＬＡＧ－３、ＣＤ４３、ＬＡＩＲ１、ＣＤ４５、ＬＡＩＲ２、ＣＤＳ３、ロイコトリエンＢ４－Ｒ１、ＣＤＳ４／ＳＬＡＭＦ５、ＮＣＡＭ－Ｌ１、ＣＤ９４、ＮＫＧ２Ａ、ＣＤ９７、ＮＫＧ２Ｃ、ＣＤ２２９／ＳＬＡＭＦ３、ＮＫＧ２Ｄ、ＣＤ２Ｆ－１０／ＳＬＡＭＦ９、ＮＴ－４、ＣＤ６９、ＮＴＢ－Ａ／ＳＬＡＭＦ６、共通γ鎖／ＩＬ－２Ｒγ、オステオポンチン、ＣＲＡＣＣ／ＳＬＡＭＦ７、ＰＤ－１、ＣＲＴＡＭ、ＰＳＧＬ－１、ＣＴＬＡ－４、ＲＡＮＫ／ＴＮＦＲＳＦ１１Ａ、ＣＸ３ＣＲ１、ＣＸ３ＣＬ１、Ｌ－セレクチン、ＣＸＣＲ３、ＳＩＲＰβ１、ＣＸＣＲ４、ＳＬＡＭ、ＣＸＣＲ６、ＴＣＣＲ／ＷＳＸ－１、ＤＮＡＭ－１、サイモポエチン、ＥＭＭＰＲＩＮ／ＣＤ１４７、ＴＩＭ－１、ＥｐｈＢ６、ＴＩＭ－２、Ｆａｓ／ＴＮＦＲＳＦ６、ＴＩＭ－３、Ｆａｓリガンド／ＴＮＦＳＦ６、ＴＩＭ－４、ＦｃγＲＩＩＩ／ＣＤ１６、ＴＩＭ－６、ＴＮＦＲ１／ＴＮＦＲＳＦ１Ａ、グラニュライシン、ＴＮＦＲＩＩＩ

／ＴＮＦＲＳＦ１Ｂ、ＴＲＡＩＬＲｌ／ＴＮＦＲＳＦ１０Ａ、ＩＣＡＭ－１／ＣＤ５４、ＴＲＡＩＬＲ２／ＴＮＦＲＳＦ１０Ｂ、ＩＣＡＭ－２／ＣＤ１０２、ＴＲＡＩＬＲ３／ＴＮＦＲＳＦ１０Ｃ、ＩＦＮ－γＲ１、ＴＲＡＩＬＲ４／ＴＮＦＲＳＦ１０Ｄ、ＩＦＮ－γＲ２、ＴＳＬＰ、ＩＬ－１Ｒ１及びＴＳＬＰＲ。種々の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の標的化部分は、１種以上のこれらの例示Ｔ細胞抗原を結合する。

【０１２６】

非限定的例であるが、種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、Ｔ細胞上で発現されるチェックポイントマーカー、例えば、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＤ２８、ＣＴＬＡ４、ＩＣＯＳ、ＢＴＬＡ、ＫＩＲ、ＬＡＧ３、ＣＤ１３７、ＯＸ４０、Ｃｄ２７、ＣＤ４０Ｌ、ＴＩＭ３、及びＡ２ａＲの１個または複数に対する指向性を有する標的化部分を含む。

【０１２７】

例えば、いくつかの実施形態では、認識ドメインは、Ｂ細胞に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、認識ドメインは、Ｂ細胞を、例えば、いくつかの実施形態では、治療部位（例えば、１つ以上の疾患細胞または治療効果を得るために調節されるべき細胞を有する部位）に直接または間接的にリクルートする。目的のＢ細胞抗原の例としては、例えば、ＣＤ１０、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２１、ＣＤ２２、ＣＤ２３、ＣＤ２４、ＣＤ３７、ＣＤ３８、ＣＤ３９、ＣＤ４０、ＣＤ７０、ＣＤ７２、ＣＤ７３、ＣＤ７４、ＣＤｗ７５、ＣＤｗ７６、ＣＤ７７、ＣＤ７８、ＣＤ７９ａ／ｂ、ＣＤ８０、ＣＤ８１、ＣＤ８２、ＣＤ８３、ＣＤ８４、ＣＤ８５、ＣＤ８６、ＣＤ８９、ＣＤ９８、ＣＤ１２６、ＣＤ１２７、ＣＤｗ１３０、ＣＤ１３８、ＣＤｗ１５０、ＣＳ１、及びＢ細胞成熟抗原（ＢＣＭＡ）が挙げられる。種々の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の標的化部分は、１種以上のこれらの例示Ｂ細胞抗原を結合する。

【０１２８】

さらに、例えば、いくつかの実施形態では、認識ドメインは、ナチュラルキラー細胞に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、認識ドメインは、ナチュラルキラー細胞を、例えば、いくつかの実施形態では、治療部位（例えば、１つ以上の疾患細胞または治療効果を得るために調節されるべき細胞を有する部位）に直接または間接的にリクルートする。目的のナチュラルキラー細胞抗原の例としては、例えば、ＴＩＧＩＴ、２Ｂ４／ＳＬＡＭＦ４、ＫＩＲ２ＤＳ４、ＣＤ１５５／ＰＶＲ、ＫＩＲ３ＤＬ１、ＣＤ９４、ＬＭＩＲ１／ＣＤ３００Ａ、ＣＤ６９、ＬＭＩＲ２／ＣＤ３００ｃ、ＣＲＡＣＣ／ＳＬＡＭＦ７、ＬＭＩＲ３／ＣＤ３００ＬＦ、ＤＮＡＭ－１、ＬＭＩＲ５／ＣＤ３００ＬＢ、Ｆｃ－イプシロンＲＩＩ、ＬＭＩＲ６／ＣＤ３００ＬＥ、Ｆｃ－γＲｌ／ＣＤ６４、ＭＩＣＡ、Ｆｃ－γＲＩＩＢ／ＣＤ３２ｂ、ＭＩＣＢ、Ｆｃ－γＲＩＩＣ／ＣＤ３２ｃ、ＭＵＬＴ－１、Ｆｃ－γＲＩＩＡ／ＣＤ３２ａ、Ｎｅｃｔｉｎ－２／ＣＤ１１２、Ｆｃ－γＲＩＩＩ／ＣＤ１６、ＮＫＧ２Ａ、ＦｃＲＨ１／ＩＲＴＡ５、ＮＫＧ２Ｃ、ＦｃＲＨ２／ＩＲＴＡ４、ＮＫＧ２Ｄ、ＦｃＲＨ４／ＩＲＴＡ１、ＮＫｐ３０、ＦｃＲＨ５／ＩＲＴＡ２、ＮＫｐ４４、Ｆｃ－受容体様３／ＣＤ１６－２、ＮＫｐ４６／ＮＣＲ１、ＮＫｐ８０／ＫＬＲＦ１、ＮＴＢ－Ａ／ＳＬＡＭＦ６、Ｒａｅ－１、Ｒａｅ－１α、Ｒａｅ－１β、Ｒａｅ－１δ、Ｈ６０、Ｒａｅ－１ε、ＩＬＴ２／ＣＤ８５ｊ、Ｒａｅ－１γ、ＩＬＴ３／ＣＤ８５ｋ、ＴＲＥＭ－１、ＩＬＴ４／ＣＤ８５ｄ、ＴＲＥＭ－２、ＩＬＴ５／ＣＤ８５ａ、ＴＲＥＭ－３、ＫＩＲ／ＣＤ１５８、ＴＲＥＭＬ１／ＴＬＴ－１、ＫＩＲ２ＤＬ１、ＵＬＢＰ－１、ＫＩＲ２ＤＬ３、ＵＬＢＰ－２、ＫＩＲ２ＤＬ４／ＣＤ１５８ｄ及びＵＬＢＰ－３が挙げられる。種々の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の標的化部分は、１種以上のこれらの例示ＮＫ細胞抗原を結合する。

【０１２９】

また、いくつかの実施形態では、認識ドメインは、マクロファージ／単球に関連する標

的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、認識ドメインは、マクロファージ／単球を、例えば、いくつかの実施形態では、治療部位（例えば、１つ以上の疾患細胞または治療効果を得るために調節されるべき細胞を有する部位）に直接または間接的にリクルートする。目的のマクロファージ／単球抗原の例としては、例えば、ＳＩＲＰ１ａ、Ｂ７－１／ＣＤ８０、ＩＬＴ４／ＣＤ８５ｄ、Ｂ７－Ｈ１、ＩＬＴ５／ＣＤ８５ａ、共通β鎖、インテグリンα４／ＣＤ４９ｄ、ＢＬＡＭＥ／ＳＬＡＭＦ８、インテグリンαＸ／ＣＤｌｌｃ、ＣＣＬ６／Ｃ１０、インテグリンβ２／ＣＤ１８、ＣＤ１５５／ＰＶＲ、インテグリンβ３／ＣＤ６１、ＣＤ３１／ＰＥＣＡＭ－１、Ｌａｔｅｘｉｎ、ＣＤ３６／ＳＲ－Ｂ３、ロイコトリエンＢ４Ｒ１、ＣＤ４０／ＴＮＦＲＳＦ５、ＬＩＭＰＩＩＩＳＲ－Ｂ２、ＣＤ４３、ＬＭＩＲ１／ＣＤ３００Ａ、ＣＤ４５、ＬＭＩＲ２／ＣＤ３００ｃ、ＣＤ６８、ＬＭＩＲ３／ＣＤ３００ＬＦ、ＣＤ８４／ＳＬＡＭＦ５、ＬＭＩＲ５／ＣＤ３００ＬＢ、ＣＤ９７、ＬＭＩＲ６／ＣＤ３００ＬＥ、ＣＤ１６３、ＬＲＰ－１、ＣＤ２Ｆ－１０／ＳＬＡＭＦ９、ＭＡＲＣＯ、ＣＲＡＣＣ／ＳＬＡＭＦ７、ＭＤ－１、ＥＣＦ－Ｌ、ＭＤ－２、ＥＭＭＰＲＩＮ／ＣＤ１４７、ＭＧＬ２、エンドグリン／ＣＤ１０５、オステオアクチビン／ＧＰＮＭＢ、Ｆｃ－γＲＩ／ＣＤ６４、オステオポンチン、Ｆｃ－γＲＩＩＢ／ＣＤ３２ｂ、ＰＤ－Ｌ２、Ｆｃ－γＲＩＩＣ／ＣＤ３２ｃ、Ｓｉｇｌｅｃ－３／ＣＤ３３、Ｆｃ－γＲＩＩＡ／ＣＤ３２ａ、ＳＩＧＮＲ１／ＣＤ２０９、Ｆｃ－γＲＩＩＩ／ＣＤ１６、ＳＬＡＭ、ＧＭ－ＣＳＦＲα、ＴＣＣＲ／ＷＳＸ－１、ＩＣＡＭ－２／ＣＤ１０２、ＴＬＲ３、ＩＦＮ－γＲｌ、ＴＬＲ４、ＩＦＮ－γＲ２、ＴＲＥＭ－ｌ、ＩＬ－ｌ　ＲＩＩ、ＴＲＥＭ－２、ＩＬＴ２／ＣＤ８５ｊ、ＴＲＥＭ－３、ＩＬＴ３／ＣＤ８５ｋ、ＴＲＥＭＬ１／ＴＬＴ－１、２Ｂ４／ＳＬＡＭＦ４、ＩＬ－１０Ｒα、ＡＬＣＡＭ、ＩＬ－１０Ｒβ、アミノペプチダーゼＮ／ＡＮＰＥＰ、ＩＬＴ２／ＣＤ８５ｊ、共通β鎖、ＩＬＴ３／ＣＤ８５ｋ、ＣｌｑＲ１／ＣＤ９３、ＩＬＴ４／ＣＤ８５ｄ、ＣＣＲ１、ＩＬＴ５／ＣＤ８５ａ、ＣＣＲ２、インテグリンα４／ＣＤ４９ｄ、ＣＣＲ５、インテグリンαＭ／ＣＤｌｌｂ、ＣＣＲ８、インテグリンαＸ／ＣＤｌｌｃ、ＣＤ１５５／ＰＶＲ、インテグリンβ２／ＣＤ１８、ＣＤ１４、インテグリンβ３／ＣＤ６１、ＣＤ３６／ＳＲ－Ｂ３、ＬＡＩＲ１、ＣＤ４３、ＬＡＩＲ２、ＣＤ４５、ロイコトリエンＢ４－Ｒ１、ＣＤ６８、ＬＩＭＰＩＩＩＳＲ－Ｂ２、ＣＤ８４／ＳＬＡＭＦ５、ＬＭＩＲ１／ＣＤ３００Ａ、ＣＤ９７、ＬＭＩＲ２／ＣＤ３００ｃ、ＬＭＩＲ３／ＣＤ３００ＬＦ、凝固因子ＩＩＩ／組織因子、ＬＭＩＲ５／ＣＤ３００ＬＢ、ＣＸ３ＣＲ１、ＣＸ３ＣＬ１、ＬＭＩＲ６／ＣＤ３００ＬＥ、ＣＸＣＲ４、ＬＲＰ－１、ＣＸＣＲ６、Ｍ－ＣＳＦＲ、ＤＥＰ－１／ＣＤ１４８、ＭＤ－１、ＤＮＡＭ－１、ＭＤ－２、ＥＭＭＰＲＩＮ／ＣＤ１４７、ＭＭＲ、エンドグリン／ＣＤ１０５、ＮＣＡＭ－Ｌ１、Ｆｃ－γＲＩ／ＣＤ６４、ＰＳＧＬ－１、Ｆｃ－γＲＩＩＩＣＤ１６、ＲＰ１０５、Ｇ－ＣＳＦＲ、Ｌ－セレクチン、ＧＭ－ＣＳＦＲα、シグレック－３／ＣＤ３３、ＨＶＥＭ／ＴＮＦＲＳＦ１４、ＳＬＡＭ、ＩＣＡＭ－１／ＣＤ５４、ＴＣＣＲ／ＷＳＸ－１、ＩＣＡＭ－２／ＣＤ１０２、ＴＲＥＭ－ｌ、ＩＬ－６Ｒ、ＴＲＥＭ－２、ＣＸＣＲｌ／ＩＬ－８ＲＡ、ＴＲＥＭ－３及びＴＲＥＭＬｌ／ＴＬＴ－１が挙げられる。種々の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の標的化部分は、１種以上のこれらの例示マクロファージ／単球抗原を結合する。

【０１３０】

また、いくつかの実施形態では、認識ドメインは、樹状細胞に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、認識ドメインは、樹状細胞を、例えば、いくつかの実施形態では、治療部位（例えば、１つ以上の疾患細胞または治療効果を得るために調節されるべき細胞を有する部位）に直接または間接的にリクルートする。目的の樹状細胞抗原の例としては、例えば、ＣＬＥＣ９Ａ、ＸＣＲ１、ＲＡＮＫ、ＣＤ３６／ＳＲＢ３、ＬＯＸ－１／ＳＲ－Ｅ１、ＣＤ６８、ＭＡＲＣＯ、ＣＤ１６３、ＳＲ－Ａ１／ＭＳＲ、ＣＤ５Ｌ、ＳＲＥＣ－１、ＣＬ－Ｐｌ／ＣＯＬＥＣ１２、ＳＲＥＣ－ＩＩ、ＬＩＭＰＩＩＩＳＲＢ２、ＲＰ１０５、ＴＬＲ４、ＴＬＲ１、ＴＬＲ５、ＴＬＲ２、ＴＬＲ６、ＴＬＲ３、ＴＬＲ９、４－ＩＢＢリガンド／ＴＮＦＳＦ９、ＩＬ－１２／

ＩＬ－２３ｐ４０、４－Ａｍｉｎｏ－１、８－ナフタルイミド、ＩＬＴ２／ＣＤ８５ｊ、ＣＣＬ２１／６Ｃｋｉｎｅ、ＩＬＴ３／ＣＤ８５ｋ、８－ｏｘｏ－ｄＧ、ＩＬＴ４／ＣＤ８５ｄ、８Ｄ６Ａ、ＩＬＴ５／ＣＤ８５ａ、Ａ２Ｂ５、ｌｕｔｅｇｒｉｎα４／ＣＤ４９ｄ、Ａａｇ、インテグリンβ２／ＣＤ１８、ＡＭＩＣＡ、Ｌａｎｇｅｒｉｎ、Ｂ７－２／ＣＤ８６、ロイコトリエンＢ４Ｒｌ、Ｂ７－Ｈ３、ＬＭＩＲ１／ＣＤ３００Ａ、ＢＬＡＭＥ／ＳＬＡＭＦ８、ＬＭＩＲ２／ＣＤ３００ｃ、ＣｌｑＲ１／ＣＤ９３、ＬＭＩＲ３／ＣＤ３００ＬＦ、ＣＣＲ６、ＬＭＩＲ５／ＣＤ３００ＬＢＣＣＲ７、ＬＭＩＲ６／ＣＤ３００ＬＥ、ＣＤ４０／ＴＮＦＲＳＦ５、ＭＡＧ／Ｓｉｇｌｅｃ－４－ａ、ＣＤ４３、ＭＣＡＭ、ＣＤ４５、ＭＤ－１、ＣＤ６８、ＭＤ－２、ＣＤ８３、ＭＤＬ－１／ＣＬＥＣ５Ａ、ＣＤ８４／ＳＬＡＭＦ５、ＭＭＲ、ＣＤ９７、ＮＣＡＭＬｌ、ＣＤ２Ｆ－１０／ＳＬＡＭＦ９、オステオアクチビンＧＰＮＭＢ、Ｃｈｅｒｎ２３、ＰＤ－Ｌ２、ＣＬＥＣ－１、ＲＰ１０５、ＣＬＥＣ－２、ＣＬＥＣ－８、シグレック－２／ＣＤ２２、ＣＲＡＣＣ／ＳＬＡＭＦ７、シグレック－３／ＣＤ３３、ＤＣ－ＳＩＧＮ、シグレック－５、ＤＣ－ＳＩＧＮＲ／ＣＤ２９９、シグレック－６、ＤＣＡＲ、シグレック－７、ＤＣＩＲ／ＣＬＥＣ４Ａ、シグレック－９、ＤＥＣ－２０５、シグレック－１０、Ｄｅｃｔｉｎ－１／ＣＬＥＣ７Ａ、シグレック－Ｆ、Ｄｅｃｔｉｎ－２／ＣＬＥＣ６Ａ、ＳＩＧＮＲ１／ＣＤ２０９、ＤＥＰ－１／ＣＤ１４８、ＳＩＧＮＲ４、ＤＬＥＣ／ＣＬＥＣ４Ｃ、ＳＬＡＭ、ＥＭＭＰＲＩＮ／ＣＤ１４７、ＴＣＣＲ／ＷＳＸ－１、Ｆｃ－γＲ１／ＣＤ６４、ＴＬＲ３、Ｆｃ－γＲＩＩＢ／ＣＤ３２ｂ、ＴＲＥＭ－１、Ｆｃ－γＲＩＩＣ／ＣＤ３２ｃ、ＴＲＥＭ－２、Ｆｃ－γＲＩＩＡ／ＣＤ３２ａ、ＴＲＥＭ－３、Ｆｃ－γＲＩＩＩ／ＣＤ１６、ＴＲＥＭＬ１／ＴＬＴ－１、ＩＣＡＭ－２／ＣＤ１０２、及びバニロイドＲ１が挙げられる。種々の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の標的化部分は、１種以上のこれらの例示ＤＣ抗原を結合する。

【０１３１】

いくつかの実施形態では、認識ドメインは、限定されないが、巨核球、血小板、赤血球、マスト細胞、好塩基球、好中球、骨髄細胞、単球、好酸球、またはこれらのサブセットから選択される免疫細胞上の標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、認識ドメインは、巨核球、血小板、赤血球、マスト細胞、好塩基球、好中球、骨髄細胞、単球、好酸球、またはこれらのサブセットを、例えば、いくつかの実施形態では、直接または間接的に、治療部位（例えば、１つ以上の疾患細胞または治療効果を得るために調節されるべき細胞を有する部位）に局在化させる。いくつかの実施形態では、前記免疫細胞は、Ｔ細胞、Ｂ細胞、樹状細胞、マクロファージ、好中球、マスト細胞、単球、赤血球、骨髄細胞、骨髄由来サプレッサー細胞、ＮＫＴ細胞、及びＮＫ細胞、またはこれらの誘導体から選択される。いくつかの実施形態において、上記免疫細胞はＴ細胞であり、上記標的化部分はＣＤ８を標的とする。いくつかの実施形態において、上記免疫細胞はＴｒｅｇであり、上記標的化部分はＣＴＬＡ４を標的とする。いくつかの実施形態において、上記免疫細胞はＮＫ細胞であり、上記標的化部分はＮＫｐ４６である。

【０１３２】

いくつかの実施形態では、認識ドメインは、巨核球及び／または血小板に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。目的の巨核球及び／または血小板抗原の例としては、例えば、ＧＰＩＩｂ／ＩＩＩａ、ＧＰＩｂ、ｖＷＦ、ＰＦ４、及びＴＳＰが挙げられる。種々の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の標的化部分は、１種以上のこれらの例示巨核球及び／または血小板抗原を結合する。

【０１３３】

いくつかの実施形態では、認識ドメインは、赤血球に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。目的の赤血球抗原の例としては、例えば、ＣＤ３４、ＣＤ３６、ＣＤ３８、ＣＤ４１ａ（血小板糖タンパク質ＩＩｂ／ＩＩＩａ）、ＣＤ４１ｂ（ＧＰＩＩｂ）、ＣＤ７１（トランスフェリン受容体）、ＣＤ１０５、グリコホリンＡ、グリコホリンＣ、ｃ－ｋｉｔ、ＨＬＡ－ＤＲ、Ｈ２（ＭＨＣ－ＩＩ）、及びＲｈ抗原が挙げられ

る。種々の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の標的化部分は、１種以上のこれらの例示赤血球抗原を結合する。

【０１３４】

いくつかの実施形態では、認識ドメインは、マスト細胞に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。目的のマスト細胞抗原の例としては、例えば、ＳＣＦＲ／ＣＤ１１７、Ｆｃ$_{\varepsilon}$ＲＩ、ＣＤ２、ＣＤ２５、ＣＤ３５、ＣＤ８８、ＣＤ２０３ｃ、Ｃ５Ｒ１、ＣＭＡｌ、ＦＣＥＲｌＡ、ＦＣＥＲ２、ＴＰＳＡＢｌが挙げられる。種々の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の標的化部分は、１種以上のこれらのマスト細胞抗原を結合する。

【０１３５】

いくつかの実施形態では、認識ドメインは、好塩基球に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。目的の好塩基球抗原の例としては、例えば、Ｆｃ$_{\varepsilon}$ＲＩ、ＣＤ２０３ｃ、ＣＤ１２３、ＣＤ１３、ＣＤ１０７ａ、ＣＤ１０７ｂ、及びＣＤ１６４が挙げられる。種々の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の標的化部分は、１種以上のこれらの好塩基球抗原を結合する。

【０１３６】

いくつかの実施形態では、認識ドメインは、好中球に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。目的の好中球抗原の例としては、例えば、７Ｄ５、ＣＤ１０／ＣＡＬＬＡ、ＣＤ１３、ＣＤ１６（ＦｃＲＩＩＩ）、ＣＤ１８タンパク質（ＬＦＡ－１、ＣＲ３、及びｐ１５０、９５）、ＣＤ４５、ＣＤ６７、及びＣＤ１７７が挙げられる。種々の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の標的化部分は、１種以上のこれらの好中球抗原を結合する。

【０１３７】

いくつかの実施形態では、認識ドメインは、好酸球に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。目的の好酸球抗原の例としては、例えば、ＣＤ３５、ＣＤ４４及びＣＤ６９が挙げられる。種々の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の標的化部分は、１種以上のこれらの好酸球抗原を結合する。

【０１３８】

種々の実施形態では、認識ドメインは、当業者に公知の任意の適切な標的、抗原、受容体または細胞表面マーカーに特異的に結合し得る。いくつかの実施形態では、抗原または細胞表面マーカーは、組織特異的マーカーである。組織特異的マーカーの例としては、ＡＣＥ、ＣＤ１４、ＣＤ３４、ＣＤＨ５、ＥＮＧ、ＩＣＡＭ２、ＭＣＡＭ、ＮＯＳ３、ＰＥＣＡＭｌ、ＰＲＯＣＲ、ＳＥＬＥ、ＳＥＬＰ、ＴＥＫ、ＴＨＢＤ、ＶＣＡＭｌ、ＶＷＦなどの内皮細胞表面マーカー；ＡＣＴＡ２、ＭＹＨｌＯ、ＭＹＨｌ １、ＭＹＨ９、ＭＹＯＣＤなどの平滑筋細胞表面マーカー；ＡＬＣＡＭ、ＣＤ３４、ＣＯＬｌＡｌ、ＣＯＬ１Ａ２、ＣＯＬ３Ａ１、ＦＡＰ、ＰＨ－４などの線維芽細胞（間質）細胞表面マーカー；ＣＤｌＤ、Ｋ６ＩＲＳ２、ＫＲＴｌＯ、ＫＲＴ１３、ＫＲＴ１７、ＫＲＴ１８、ＫＲＴ１９、ＫＲＴ４、ＫＲＴ５、ＫＲＴ８、ＭＵＣｌ、ＴＡＣＳＴＤｌなどの上皮細胞表面マーカー；ＣＤ１３、ＴＦＮＡ、アルファーｖベーター３（$\alpha_V\beta_3$）、Ｅ－セレクチンなどの新生血管マーカー；及びＡＤＩＰＯＱ、ＦＡＢＰ４、及びＲＥＴＮなどの脂肪細胞表面マーカーが挙げられるが、これらに限定されない。種々の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の標的化部分は、１種以上のこれらの抗原を結合する。種々の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の標的化部分は、１つ以上のこれらの抗原を有する細胞を結合する。

【０１３９】

いくつかの実施形態では、認識ドメインは、腫瘍細胞に関連する標的（例えば、抗原、

受容体）に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、認識ドメインは、直接または間接的に腫瘍細胞をリクルートする。例えば、いくつかの実施形態では、腫瘍細胞の直接または間接的リクルートメントは、腫瘍細胞を死滅させることができる及び／または抑制できる１つ以上のエフェクター細胞（例えば、本明細書に記載の免疫細胞）に対するものである。

【０１４０】

腫瘍細胞、または癌細胞は、身体の器官及びシステムの正常な機能動作を妨害する、細胞または組織の無制御な増殖及び／または細胞生存の異常な増大及び／またはアポトーシスの抑制の異常な増大を指す。例えば、腫瘍細胞には、良性及び悪性の癌、ポリープ、過形成、ならびに休眠腫瘍または微小転移が含まれる。腫瘍細胞の例としては、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳及び中枢神経系癌、乳癌、腹膜の癌、子宮頸癌、絨毛癌、結腸及び直腸癌、結合組織癌、消化器系の癌、子宮内膜癌、食道癌、眼癌、頭頸部の癌、胃癌（胃腸癌を含む）、神経膠芽腫、肝癌、ヘパトーマ、上皮内腫瘍、腎臓癌または腎臓癌（ｋｉｄｎｅｙ　ｏｒ　ｒｅｎａｌ　ｃａｎｃｅｒ）、喉頭癌、白血病、肝臓癌、肺癌（例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、及び肺扁平上皮癌）、黒色腫、骨髄腫、神経芽腫、口腔癌（唇、舌状、舌、口内、及び咽頭）、卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、直腸癌、呼吸器系癌、唾液腺癌腫、肉腫、皮膚癌、扁平上皮細胞癌、胃癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮または子宮内膜癌、泌尿器系の癌、外陰癌、ホジキンリンパ腫及び非ホジキンリンパ腫、ならびにＢ細胞リンパ腫を含むリンパ腫（低悪性度／ろ胞性非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）を含む）、小リンパ球性（ＳＬ）ＮＨＬ、中悪性度／ろ胞性ＮＨＬ、中悪性度びまん性ＮＨＬ、高悪性度免疫芽細胞ＮＨＬ、高悪性度リンパ芽球性ＮＨＬ、高悪性度小型非切れ込み核細胞性ＮＨＬ、巨大腫瘤病変ＮＨＬ、マントル細胞リンパ腫、エイズ関連リンパ腫、及びワルデンシュトレームマクログロブリン血症、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）、毛様細胞性白血病、慢性骨髄芽球性白血病、ならびに他の癌腫及び肉腫、及び移植後リンパ増殖性疾患（ＰＴＬＤ）、ならびに母斑症に関連する異常血管増殖、浮腫（例えば、脳腫瘍に関連するもの）、及びメグズ症候群の細胞が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１４１】

腫瘍細胞または癌細胞としては、癌腫、例えば、種々のサブタイプ（例えば、腺癌、基底細胞癌、扁平上皮細胞癌、及び移行性上皮癌を含む）、肉腫（例えば、骨及び軟組織を含む）、白血病（例えば、急性骨髄性、急性リンパ芽球性、慢性骨髄性、慢性リンパ球性、及びヘアリー細胞を含む）、リンパ腫及び骨髄腫（例えば、ホジキン及び非ホジキンリンパ腫、軽鎖型、非分泌型ＭＧＵＳ、及び形質細胞腫を含む）、及び中枢神経系癌（例えば、脳腫瘍（例えば、神経膠腫（例えば、星状細胞腫、乏突起細胞腫及び上衣腫）、髄膜腫、下垂体腺腫、及び神経腫）、及び脊髄腫瘍（例えば、髄膜腫及び神経線維腫））も挙げられるが、これらに限定されない。

【０１４２】

腫瘍抗原の例としては、ＭＡＲＴ－１／Ｍｅｌａｎ－Ａ、ｇｐ１００、ジペプチジルペプチダーゼＩＶ（ＤＰＰＩＶ）、アデノシンデアミナーゼ結合タンパク質（ＡＤＡｂｐ）、シクロフィリンｂ、結腸直腸関連性抗原（ＣＲＣ）－００１７－１Ａ／ＧＡ７３３、癌胎児抗原（ＣＥＡ）及びその免疫原性エピトープＣＡＰ－１及びＣＡＰ－２、ｅｔｖ６、ａｍｌ１、前立腺特異抗原（ＰＳＡ）及びその免疫原性エピトープＰＳＡ－１、ＰＳＡ－２、及びＰＳＡ－３、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）、Ｔ細胞受容体／ＣＤ３－ゼータ鎖、ＭＡＧＥファミリーの腫瘍抗原（例えば、ＭＡＧＥ－Ａ１、ＭＡＧＥ－Ａ２、ＭＡＧＥ－Ａ３、ＭＡＧＥ－Ａ４、ＭＡＧＥ－Ａ５、ＭＡＧＥ－Ａ６、ＭＡＧＥ－Ａ７、ＭＡＧＥ－Ａ８、ＭＡＧＥ－Ａ９、ＭＡＧＥ－Ａ１０、ＭＡＧＥ－Ａ１１、ＭＡＧＥ－Ａ１２、ＭＡＧＥ－Ｘｐ２（ＭＡＧＥ－Ｂ２）、ＭＡＧＥ－Ｘｐ３（ＭＡＧＥ－Ｂ３）、ＭＡＧＥ－Ｘｐ４（ＭＡＧＥ－Ｂ４）、ＭＡＧＥ－Ｃ１、ＭＡＧＥ－Ｃ２、ＭＡＧＥ－Ｃ３、ＭＡＧＥ－Ｃ４、ＭＡＧＥ－Ｃ５）、ＧＡＧＥファミリーの腫瘍抗原（例えば、ＧＡＧＥ－１、ＧＡＧＥ－２、ＧＡＧＥ－３、ＧＡＧＥ－４、ＧＡＧＥ－５、ＧＡＧＥ－６、ＧＡＧＥ

－７、ＧＡＧＥ－８、ＧＡＧＥ－９）、ＢＡＧＥ、ＲＡＧＥ、ＬＡＧＥ－１、ＮＡＧ、ＧｎＴ－Ｖ、ＭＵＭ－１、ＣＤＫ４、チロシナーゼ、ｐ５３、ＭＵＣファミリー、ＨＥＲ２／ｎｅｕ、ｐ２１ｒａｓ、ＲＣＡＳ１、α－フェトプロテイン、Ｅ－カドヘリン、α－カテニン、β－カテニン及びγ－カテニン、ｐ１２０ｃｔｎ、ｇｐ１００　Ｐｍｅｌ１１７、ＰＲＡＭＥ、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ｃｄｃ２７、大腸腺腫症タンパク質（ＡＰＣ）、フォドリン、コネキシン３７、Ｉｇ－イディオタイプ、ｐ１５、ｇｐ７５、ＧＭ２及びＧＤ２ガングリオシド、ヒトパピローマウイルスタンパク質などのウイルス産物、Ｓｍａｄファミリーの腫瘍抗原、ｌｍｐ－１、ＮＡ、ＥＢＶ－コード化核内抗原（ＥＢＮＡ）－１、脳グリコーゲンホスホリラーゼ、ＳＳＸ－１、ＳＳＸ－２（ＨＯＭ－ＭＥＬ－４０）、ＳＳＸ－１、ＳＳＸ－４、ＳＳＸ－５、ＳＣＰ－１　ＣＴ－７、ｃ－ｅｒｂＢ－２、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ３０、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ４７、ＣＳ１、ＣＤ３８、ＡＳＧＰＲ、ＣＤ５６、ＣＤ７０、ＣＤ７４、ＣＤ１３８、ＡＧＳ１６、ＭＵＣ１、ＧＰＮＭＢ、Ｅｐ－ＣＡＭ、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＰＭＳＡ、及びＢＣＭＡ（ＴＮＦＲＳＦ１７）が挙げられるが、これらに限定されない。種々の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の標的化部分は、１種以上のこれらの腫瘍抗原を結合する。ある実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＨＥＲ２に結合する。別の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＰＤ－Ｌ２に結合する。

【０１４３】

いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、Ｔ細胞、Ｂ細胞、樹状細胞、好中球、骨髄由来抑制細胞、マクロファージ、ＮＫ細胞、またはこれらのサブセットから選択される免疫細胞に対する１種以上の標的化部分（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、腫瘍細胞に対する１種以上の標的化部分、を有する。一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子と共に、Ｔ細胞（限定されないが、エフェクターＴ細胞を含む）に対する指向性をもつ標的化部分を有する。一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子と共に、Ｂ細胞に対する指向性を有する標的化部分を有する。一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子と共に、樹状細胞に対する指向性をもつ標的化部分を有する。一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子と共に、マクロファージに対する指向性をもつ標的化部分を有する。一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子と共に、ＮＫ細胞に対する指向性をもつ標的化部分を有する。

【０１４４】

非限定的例であるが、種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、例えば、ＣＤ８、ＳＬＡＭＦ４、ＩＬ－２Ｒα、４－１ＢＢ／ＴＮＦＲＳＦ９、ＩＬ－２Ｒβ、ＡＬＣＡＭ、Ｂ７－１、ＩＬ－４Ｒ、Ｂ７－Ｈ３、ＢＬＡＭＥ／ＳＬＡＭＦＳ、ＣＥＡＣＡＭ１、ＩＬ－６Ｒ、ＣＣＲ３、ＩＬ－７Ｒα、ＣＣＲ４、ＣＸＣＲｌ／ＩＬＳＲＡ、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＩＬ－１０Ｒα、ＣＣＲ７、ＩＬ－１０Ｒβ、ＣＣＲＳ、ＩＬ－１２Ｒβ１、ＣＣＲ９、ＩＬ－１２Ｒβ２、ＣＤ２、ＩＬ－１３Ｒα１、ＩＬ－１３、ＣＤ３、ＣＤ４、ＩＬＴ２／ＣＤＳ５ｊ、ＩＬＴ３／ＣＤＳ５ｋ、ＩＬＴ４／ＣＤＳ５ｄ、ＩＬＴ５／ＣＤＳ５ａ、ｌｕｔｅｇｒｉｎ　α４／ＣＤ４９ｄ、ＣＤＳ、インテグリンαＥ／ＣＤ１０３、ＣＤ６、インテグリンαＭ／ＣＤ１１ｂ、ＣＤＳ、インテグリンαＸ／ＣＤ１１ｃ、インテグリンβ２／Ｃ

ＤｌＳ、ＫＩＲ／ＣＤ１５Ｓ、ＣＤ２７／ＴＮＦＲＳＦ７、ＫＩＲ２ＤＬ１、ＣＤ２Ｓ、ＫＩＲ２ＤＬ３、ＣＤ３０／ＴＮＦＲＳＦＳ、ＫＩＲ２ＤＬ４／ＣＤ１５Ｓｄ、ＣＤ３１／ＰＥＣＡＭ－１、ＫＩＲ２ＤＳ４、ＣＤ４０リガンド／ＴＮＦＳＦ５、ＬＡＧ－３、ＣＤ４３、ＬＡＩＲ１、ＣＤ４５、ＬＡＩＲ２、ＣＤＳ３、ロイコトリエンＢ４－Ｒ１、ＣＤＳ４／ＳＬＡＭＦ５、ＮＣＡＭ－Ｌ１、ＣＤ９４、ＮＫＧ２Ａ、ＣＤ９７、ＮＫＧ２Ｃ、ＣＤ２２９／ＳＬＡＭＦ３、ＮＫＧ２Ｄ、ＣＤ２Ｆ－１０／ＳＬＡＭＦ９、ＮＴ－４、ＣＤ６９、ＮＴＢ－Ａ／ＳＬＡＭＦ６、共通γ鎖／ＩＬ－２Ｒγ、オステオポンチン、ＣＲＡＣＣ／ＳＬＡＭＦ７、ＰＤ－１、ＣＲＴＡＭ、ＰＳＧＬ－１、ＣＴＬＡ－４、ＲＡＮＫ／ＴＮＦＲＳＦ１１Ａ、ＣＸ３ＣＲ１、ＣＸ３ＣＬ１、Ｌ－セレクチン、ＣＸＣＲ３、ＳＩＲＰβ１、ＣＸＣＲ４、ＳＬＡＭ、ＣＸＣＲ６、ＴＣＣＲ／ＷＳＸ－１、ＤＮＡＭ－１、サイモポエチン、ＥＭＭＰＲＩＮ／ＣＤ１４７、ＴＩＭ－１、ＥｐｈＢ６、ＴＩＭ－２、Ｆａｓ／ＴＮＦＲＳＦ６、ＴＩＭ－３、Ｆａｓリガンド／ＴＮＦＳＦ６、ＴＩＭ－４、ＦｃγＲＩＩＩ／ＣＤ１６、ＴＩＭ－６、ＴＮＦＲ１／ＴＮＦＲＳＦ１Ａ、グラニュライシン、ＴＮＦＲＩＩＩ／ＴＮＦＲＳＦ１Ｂ、ＴＲＡＩＬＲｌ／ＴＮＦＲＳＦ１０Ａ、ＩＣＡＭ－１／ＣＤ５４、ＴＲＡＩＬＲ２／ＴＮＦＲＳＦ１０Ｂ、ＩＣＡＭ－２／ＣＤ１０２、ＴＲＡＩＬＲ３／ＴＮＦＲＳＦ１０Ｃ、ＩＦＮ－γＲ１、ＴＲＡＩＬＲ４／ＴＮＦＲＳＦ１０Ｄ、ＩＦＮ－γＲ２、ＴＳＬＰ、ＩＬ－１Ｒ１、またはＴＳＬＰＲへの標的化により媒介される、Ｔ細胞に対する指向性をもつ標的化部分を有する。

【０１４５】

非限定的例であるが、種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子と共に、Ｔ細胞上に発現したチェックポイントマーカー、例えば、ＰＤ－１、ＣＤ２８、ＣＴＬＡ４、ＩＣＯＳ、ＢＴＬＡ、ＫＩＲ、ＬＡＧ３、ＣＤ１３７、ＯＸ４０、ＣＤ２７、ＣＤ４０Ｌ、ＴＩＭ３、及びＡ２ａＲの内の１個または複数に対する指向性をもつ標的化部分を有する。

【０１４６】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＰＤ－１に対する１種以上の標的化部分を有する。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＰＤ－１ポリペプチドを選択的に結合する、１種以上の標的化部分を有する。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＰＤ－１ポリペプチドを選択的に結合する、抗体、抗体の誘導体もしくはフォーマット、ペプチドもしくはポリペプチド、または融合タンパク質の１種以上を含む。

【０１４７】

ある実施形態では、標的化部分は、抗ＰＤ－１抗体ペムブロリズマブ（別名ＭＫ－３４７５、キイトルーダ）、またはそのフラグメントを含む。ペムブロリズマブ及びその他のヒト化抗ＰＤ－１抗体は、Ｈａｍｉｄ，ｅｔ ａｌ．（２０１３）Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ ３６９（２）：１３４－４４，ＵＳ ８，３５４，５０９、及び国際公開第２００９／１１４３３５号に開示されている。これらの全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するためのペムブロリズマブまたはその抗原結合フラグメントは、配列番号７のアミノ酸配列を含む重鎖及び／または配列番号８のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０１４８】

ある実施形態では、標的化部分は、抗ＰＤ－１抗体、ニボルバム（別名ＢＭＳ－９３６５５８、ＭＤＸ－１１０６、ＯＮＯ－４５３８、オプジーボ）、またはそのフラグメントを含む。ＰＤ－１に特異的に結合するニボルバム（クローン５Ｃ４）及びその他のヒトモノクローナル抗体は、米国特許第８，００８，４４９号及び国際公開第２００６／１２１１６８号に開示されている。これらの特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれ

る。例示的実施形態では、ニボルバムまたはその抗原結合フラグメントは、配列番号９のアミノ酸配列を含む重鎖及び／または配列番号１０のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０１４９】

ある実施形態では、標的化部分は、抗ＰＤ－１抗体ピディリズマブ（別名ＣＴ－０１１、ｈＢＡＴまたはｈＢＡＴ－１）、またはそのフラグメントを含む。ピディリズマブ及びその他のヒト化抗ＰＤ－Ｉモノクローナル抗体は、米国特許出願公開第２００８／００２５９８０号及び国際公開第２００９／１０１６１１号に開示されている。これらの特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための抗ＰＤ－１抗体またはその抗原結合フラグメントは、米国特許出願公開第２００８／００２５９８０の配列番号１５～１８：米国特許出願公開第２００８／００２５９８０の配列番号１５（配列番号１１）；米国特許出願公開第２００８／００２５９８０号の配列番号１６（配列番号１２）；米国特許出願公開第２００８／００２５９８０号の配列番号１７（配列番号１３）；米国特許出願公開第２００８／００２５９８０号の配列番号１８（配列番号１４）から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；及び／または米国特許出願公開第２００８／００２５９８０号の配列番号２０～２４：米国特許出願公開第２００８／００２５９８０号の配列番号２０（配列番号１５）；米国特許出願公開第２００８／００２５９８０号の配列番号２１（配列番号１６）；米国特許出願公開第２００８号／００２５９８０の配列番号２２（配列番号１７）；米国特許出願公開第２００８／００２５９８０号の配列番号２３（配列番号１８）及び米国特許出願公開第２００８／００２５９８０号の配列番号２４（配列番号１９）から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【０１５０】

ある実施形態では、標的化部分は、米国特許出願公開第２００８／００２５９８０号の配列番号１８（配列番号１４）を含む軽鎖及び米国特許出願公開第２００８／００２５９８０号の配列番号２２（配列番号１７）を含む重鎖を含む。

【０１５１】

ある実施形態では、標的化部分は、ＡＭＰ－５１４（別名ＭＥＤＩ－０６８０）を含む。

【０１５２】

ある実施形態では、標的化部分は、ｐｄ－ｌ２－Ｆｃ融合タンパク質ＡＭＰ－２２４を含み、これは、国際公開第２０１０／０２７８２７号及び同第２０１１／０６６３４２号に開示されている。これらの特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。このような実施形態では、標的化部分は、国際公開第２０１０／０２７８２７号の配列番号４（配列番号２０）を含む標的化ドメイン及び／または国際公開第２０１０／０２７８２７号の配列番号８３（配列番号２１）を含むＢ７－ＤＣ融合タンパク質を含み得る。

【０１５３】

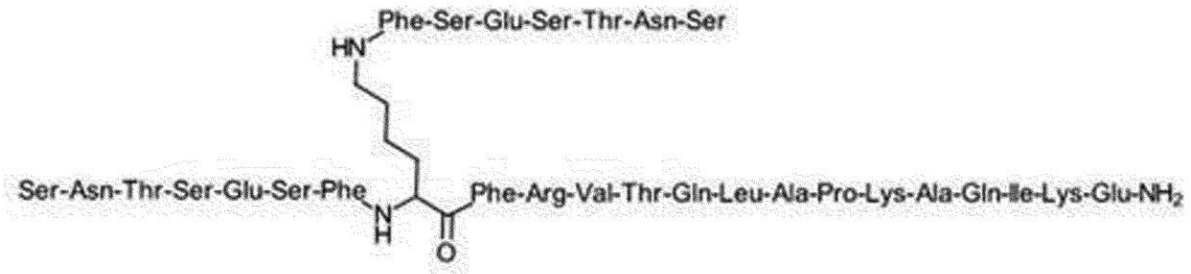
ある実施形態において、上記標的化部分は、ＷＯ２０１９／１９１５１９に記載されるように、ＰＤ－Ｌ１－Ｆｃ融合タンパク質及び／またはＰＤ－１－Ｆｃ融合タンパク質を含む。

【０１５４】

ある実施形態では、標的化部分は、ペプチドＡＵＮＰ１２または米国特許出願公開第２０１１／０３１８３７３号または米国特許第８，９０７，０５３号に開示のいずれかの他のペプチドを含む。例えば、標的化部分は、ＡＵＮＰ１２（すなわち、米国特許出願公開第２０１１／０３１８３７３号の化合物８または配列番号４９）を含み得、これは、下記配列：

【０１５５】

【化２】



または：　SNTSESF-NH
　　SNTSESFKFRVTQLAPKAQIKE-NH2　　配列番号２２

【０１５６】
ある実施形態では、米国特許出願公開第２０１４／００４４７３８号に開示のように、標的化部分は、抗ＰＤ－１抗体１Ｅ３またはそのフラグメントを含む。この特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための１Ｅ３またはその抗原結合フラグメントは、配列番号２３のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または配列番号２４のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１５７】
ある実施形態では、米国特許出願公開第２０１４／００４４７３８号に開示のように、標的化部分は、抗ＰＤ－１抗体１Ｅ８またはそのフラグメントを含む。この特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための１Ｅ８またはその抗原結合フラグメントは、配列番号２５のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または配列番号２６のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１５８】
ある実施形態では、米国特許出願公開第２０１４／００４４７３８号に開示のように、標的化部分は、抗ＰＤ－１抗体１Ｈ３またはそのフラグメントを含む。この特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための１Ｈ３またはその抗原結合フラグメントは、配列番号２７のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または配列番号２８のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１５９】
ある実施形態では、標的化部分は、例えば、米国特許第８，９０７，０６５号及び国際公開第２００８／０７１４４７号に開示のように、ＰＤ－１に対する指向性を有するＶＨＨを含む。これらの特許の全開示は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、ＰＤ－１に対するＶＨＨは、米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号３４７～３５１（米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号３４７（配列番号２９）；米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号３４８（配列番号３０）；米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号３４９（配列番号３１）；米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号３５０（配列番号３２）；または米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号３５１（配列番号３３））を含む。

【０１６０】
ある実施形態では、標的化部分は、米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号及び国際公開第２０１０／０３６９５９号に開示のように、抗ＰＤ－１抗体またはそのフラ

グメントのいずれか１種を含み、これらの特許の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための抗体またはその抗原結合フラグメントは、米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号２５～２９（米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号２５（配列番号３４）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号２６（配列番号３５）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号２７（配列番号３６）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号２８（配列番号３７）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号２９（配列番号３８））から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖；及び／または米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号３０～３３（米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号３０（配列番号３９）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号３１（配列番号４０）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号３２（配列番号４１）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号３３（配列番号４２））から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０１６１】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＴＳＲ－０４２（Ｔｅｓａｒｏ，Ｉｎｃ．）、ＲＥＧＮ２８１０（Ｒｅｇｅｎｅｒｏｎ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ，Ｉｎｃ．）、ＰＤＲ００１（Ｎｏｖａｒｔｉｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）、及びＢＧＢ－Ａ３１７（ＢｅｉＧｅｎｅ　Ｌｔｄ．）から選択される、ＰＤ－１に対する指向性を有する１種以上の抗体、またはその抗体フラグメントを含む。

【０１６２】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＰＤ－Ｌ１に対する１種以上の標的化部分を有する。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＰＤ－Ｌ１ポリペプチドを選択的に結合する１種以上の標的化部分を有する。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＰＤ－Ｌ１ポリペプチドを選択的に結合する、抗体、抗体の誘導体もしくはフォーマット、ペプチドもしくはポリペプチド、または融合タンパク質の１種以上を含む。

【０１６３】

ある実施形態では、標的化部分は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体ＭＥＤＩ４７３６（別名デュルバルマブ）、またはそのフラグメントを含む。ＭＥＤＩ４７３６は、ＰＤ－Ｌ１に対し選択的であり、ＰＤ－Ｌ１のＰＤ－１及びＣＤ８０受容体に対する結合を阻止する。本明細書で提供される方法で使用するためのＭＥＤＩ４７３６及びその抗原結合フラグメントは、重鎖及び軽鎖または重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む。ＭＥＤＩ４７３６の配列は、国際公開第２０１６／０６２７２号に開示され、この特許の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するためのＭＥＤＩ４７３６またはその抗原結合フラグメントは、配列番号４３のアミノ酸配列を含む重鎖；及び／または配列番号４４のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０１６４】

例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するためのＭＥＤＩ４７３６またはその抗原結合フラグメントは、国際公開第２０１６／０６２７２号の配列番号４（配列番号４５）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または国際公開第２０１６／０６２７２号の配列番号３（配列番号４６）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１６５】

ある実施形態では、標的化部分は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体アテゾリズマブ（別名ＭＰＤＬ３２８０Ａ、ＲＧ７４４６）、またはそのフラグメントを含む。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するためのアテゾリズマブまたはその抗原結合フラグメントは、配列番号４７のアミノ酸配列を含む重鎖；及び／または配列番号４８のアミノ酸配列

を含む軽鎖を含む。

【０１６６】

ある実施形態では、標的化部分は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体アベルマブ（別名ＭＳＢ００１０７１８Ｃ）、またはそのフラグメントを含む。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するためのアテゾリズマブまたはその抗原結合フラグメントは、配列番号４９のアミノ酸配列を含む重鎖；及び／または配列番号５０のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０１６７】

ある実施形態では、標的化部分は、米国特許出願公開第２０１３／０３０９２５０号及び国際公開第２００７／００５８７４号に開示のように、抗ＰＤ－Ｌ１抗体ＢＭＳ－９３６５５９（別名１２Ａ４、ＭＤＸ－１１０５）、またはそのフラグメントを含む。これら特許の全開示は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するためのＢＭＳ－９３６５５９またはその抗原結合フラグメントは、（配列番号５１）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または（配列番号５２）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１６８】

ある実施形態では、標的化部分は、米国特許出願公開第２０１３／０３０９２５０号及び国際公開第２００７／００５８７４号に開示のように、抗ＰＤ－Ｌ１抗体３Ｇ１０、またはそのフラグメントを含む。これら特許の全開示は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法での使用のための３Ｇ１０またはその抗原結合フラグメントは、（配列番号５３）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または（配列番号５４）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１６９】

ある実施形態では、標的化部分は、米国特許出願公開第２０１３／０３０９２５０号及び国際公開第２００７／００５８７４号に開示のように、抗ＰＤ－Ｌ１抗体１０Ａ５、またはそのフラグメントを含む。これら特許の全開示は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための１０Ａ５またはその抗原結合フラグメントは、（配列番号５５）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または（配列番号５６）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１７０】

ある実施形態では、標的化部分は、米国特許出願公開第２０１３／０３０９２５０号及び国際公開第２００７／００５８７４号に開示のように、抗ＰＤ－Ｌ１抗体５Ｆ８、またはそのフラグメントを含む。これら特許の全開示は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための５Ｆ８またはその抗原結合フラグメントは、（配列番号５７）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または（配列番号５８）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１７１】

ある実施形態では、標的化部分は、米国特許出願公開第２０１３／０３０９２５０号及び国際公開第２００７／００５８７４号に開示のように、抗ＰＤ－Ｌ１抗体１０Ｈ１０、またはそのフラグメントを含む。これら特許の全開示は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための１０Ｈ１０またはその抗原結合フラグメントは、（配列番号５９）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または（配列番号６０）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１７２】

ある実施形態では、米国特許出願公開第２０１３／０３０９２５０号及び国際公開第２００７／００５８７４号に開示のように、標的化部分は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体１Ｂ１２、またはそのフラグメントを含む。これら特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための１Ｂ１２またはその抗原結合フラグメントは、（配列番号６１）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または（配列番号６２）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１７３】
ある実施形態では、米国特許出願公開第２０１３／０３０９２５０号及び国際公開第２００７／００５８７４号に開示のように、標的化部分は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体７Ｈ１、またはそのフラグメントを含む。これら特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法での使用のための７Ｈ１またはその抗原結合フラグメントは、（配列番号６３）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または（配列番号６４）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。
【０１７４】
ある実施形態では、米国特許出願公開第２０１３／０３０９２５０号及び国際公開第２００７／００５８７４号に開示のように、標的化部分は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体１１Ｅ６、またはそのフラグメントを含む。これら特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための１１Ｅ６またはその抗原結合フラグメントは、（配列番号６５）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または（配列番号６６）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。
【０１７５】
ある実施形態では、標的化部分は、米国特許出願公開第２０１３／０３０９２５０号及び国際公開第２００７／００５８７４号に開示のように、抗ＰＤ－Ｌ１抗体１２Ｂ７、またはそのフラグメントを含む。これら特許の全開示は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための１２Ｂ７またはその抗原結合フラグメントは、（配列番号６７）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または（配列番号６８）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。
【０１７６】
ある実施形態では、標的化部分は、米国特許出願公開第２０１３／０３０９２５０号及び国際公開第２００７／００５８７４号に開示のように、抗ＰＤ－Ｌ１抗体１３Ｇ４、またはそのフラグメントを含む。これら特許の全開示は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための１３Ｇ４またはその抗原結合フラグメントは、（配列番号６９）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または（配列番号７０）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。
【０１７７】
ある実施形態では、米国特許出願公開第２０１４／００４４７３８号に開示のように、標的化部分は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体１Ｅ１２またはそのフラグメントを含む。この特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための１Ｅ１２またはその抗原結合フラグメントは、（配列番号７１）アミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または（配列番号７２）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。
【０１７８】
ある実施形態では、米国特許出願公開第２０１４／００４４７３８号に開示のように、標的化部分は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体１Ｆ４またはそのフラグメントを含む。この特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。本明細書で提供される方法で使用するための１Ｆ４またはその抗原結合フラグメントは、（配列番号７３）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または（配列番号７４）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。
【０１７９】
ある実施形態では、米国特許出願公開第２０１４／００４４７３８号に開示のように、標的化部分は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体２Ｇ１１またはそのフラグメントを含む。この特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための２Ｇ１１またはその抗原結合フラグメントは（配列番号７５）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または（配列番号７６）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。
【０１８０】
ある実施形態では、標的化部分は、米国特許出願公開第２０１４／００４４７３８号に

開示のように、抗ＰＤ－Ｌ１抗体３Ｂ６、またはそのフラグメントを含む。この特許の全開示は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための３Ｂ６またはその抗原結合フラグメントは、（配列番号７７）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または（配列番号７８）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１８１】

ある実施形態では、標的化部分は、米国特許出願公開第２０１４／００４４７３８号及び国際公開第２０１２／１４５４９３号に開示のように、抗ＰＤ－Ｌ１抗体３Ｄ１０、またはそのフラグメントを含む。これらの特許の全開示は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための３Ｄ１０またはその抗原結合フラグメントは、（配列番号７９）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または（配列番号８０）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１８２】

ある実施形態では、標的化部分は、米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号及び国際公開第２０１０／０３６９５９号に開示のいずれか１種の抗ＰＤ－Ｌ１抗体を含む。これらの特許の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための抗体またはその抗原結合フラグメントは、米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号３４～３８（米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号３４（配列番号８１）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号３５（配列番号８２）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号３６（配列番号８３）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号３７（配列番号８４）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号３８（配列番号８５））から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖；及び／または米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号３９～４２（米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号３９（配列番号８６）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号４０（配列番号８７）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号４１（配列番号８８）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号４２（配列番号８９））から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０１８３】

ある実施形態では、国際公開第２０１１／０６６３８９号、米国特許第８，７７９，１０８号、及び米国特許出願公開第２０１４／０３５６３５３号に開示のように、標的化部分は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体２．７Ａ４またはそのフラグメントを含む。これらの特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための２．７Ａ４またはその抗原結合フラグメントは、国際公開第２０１１／０６６３８９号の配列番号２（配列番号９０）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または国際公開第２０１１／０６６３８９号の配列番号７（配列番号９１）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１８４】

ある実施形態では、国際公開第２０１１／０６６３８９号、米国特許第８，７７９，１０８号、及び米国特許出願公開第２０１４／０３５６３５３号に開示のように、標的化部分は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体２．９Ｄ１０またはそのフラグメントを含む。これらの特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための２．９Ｄ１０またはその抗原結合フラグメントは、国際公開第２０１１／０６６３８９号の配列番号１２（配列番号９２）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または国際公開第２０１１／０６６３８９号の配列番号１７（配列番号９３）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１８５】

ある実施形態では、国際公開第２０１１／０６６３８９号、米国特許第８，７７９，１０８号、及び米国特許出願公開第２０１４／０３５６３５３号に開示のように、標的化部

分は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体２．１４Ｈ９またはそのフラグメントを含む。これらの特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための２．１４Ｈ９またはその抗原結合フラグメントは、国際公開第２０１１／０６６３８９号の配列番号２２（配列番号９４）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または国際公開第２０１１／０６６３８９号の配列番号２７（配列番号９５）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１８６】

ある実施形態では、国際公開第２０１１／０６６３８９号、米国特許第８，７７９，１０８号、及び米国特許出願公開第２０１４／０３５６３５３号に開示のように、標的化部分は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体２．２０Ａ８またはそのフラグメントを含む。これらの特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための２．２０Ａ８またはその抗原結合フラグメントは、国際公開第２０１１／０６６３８９号の配列番号３２（配列番号９６）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または国際公開第２０１１／０６６３８９号の配列番号３７（配列番号９７）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１８７】

ある実施形態では、国際公開第２０１１／０６６３８９号、米国特許第８，７７９，１０８号、及び米国特許出願公開第２０１４／０３５６３５３号に開示のように、標的化部分は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体３．１５Ｇ８またはそのフラグメントを含む。これらの特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための３．１５Ｇ８またはその抗原結合フラグメントは、国際公開第２０１１／０６６３８９号の配列番号４２（配列番号９８）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または国際公開第２０１１／０６６３８９号の配列番号４７（配列番号９９）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１８８】

ある実施形態では、国際公開第２０１１／０６６３８９号、米国特許第８，７７９，１０８号、及び米国特許出願公開第２０１４／０３５６３５３号に開示のように、標的化部分は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体３．１８Ｇ１またはそのフラグメントを含む。これらの特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための３．１８Ｇ１またはその抗原結合フラグメントは、国際公開第２０１１／０６６３８９号の配列番号５２（配列番号１００）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または国際公開第２０１１／０６６３８９号の配列番号５７（配列番号１０１）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１８９】

ある実施形態では、国際公開第２０１１／０６６３８９号、米国特許第８，７７９，１０８号、及び米国特許出願公開第２０１４／０３５６３５３号に開示のように、標的化部分は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体２．７Ａ４ＯＰＴまたはそのフラグメントを含む。これらの特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための２．７Ａ４ＯＰＴまたはその抗原結合フラグメントは、国際公開第２０１１／０６６３８９号の配列番号６２（配列番号１０２）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または国際公開第２０１１／０６６３８９号の配列番号６７（配列番号１０３）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１９０】

ある実施形態では、国際公開第２０１１／０６６３８９号、米国特許第８，７７９，１０８号、及び米国特許出願公開第２０１４／０３５６３５３号に開示のように、標的化部分は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体２．１４Ｈ９ＯＰＴまたはそのフラグメントを含む。これらの特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための２．１４Ｈ９ＯＰＴまたはその抗原結合フラグメントは、国際公開第２０１１／０６６３８９号の配列番号７２（配列番号１０４）のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または国際公開第２０１１／０６６３８９号の配列番号７７

（配列番号１０５）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。
【０１９１】
ある実施形態では、標的化部分は、国際公開第２０１６／０６１１４２号に開示されるいずれか１種の抗ＰＤ－Ｌ１抗体を含む。この特許の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための抗体またはその抗原結合フラグメントは、国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号１８、３０、３８、４６、５０、５４、６２、７０、及び７８（国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号１８（配列番号１０６）；国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号３０（配列番号１０７）；国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号３８（配列番号１０８）；国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号４６（配列番号１０９）；国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号５０（配列番号１１０）；国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号５４（配列番号１１１）；国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号６２（配列番号１１２）；国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号７０（配列番号１１３）及び国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号７８（配列番号１１４））から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖；及び／または、国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号２２、２６、３４、４２、５８、６６、７４、８２、及び８６（国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号２２（配列番号１１５）；国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号２６（配列番号１１６）；国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号３４（配列番号１１７）；国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号４２（配列番号１１８）；国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号５８（配列番号１１９）；国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号６６（配列番号１２０）；国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号７４（配列番号１２１）；国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号８２（配列番号１２２）及び国際公開第２０１６／０６１１４２号の配列番号８６（配列番号１２３））から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。
【０１９２】
ある実施形態では、標的化部分は、国際公開第２０１６／０２２６３０号に開示されるいずれか１種の抗ＰＤ－Ｌ１抗体を含む。この特許の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための抗体またはその抗原結合フラグメントは、国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３８、４２、及び４６（国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号２（配列番号１２４）；国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号６（配列番号１２５）；国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号１０（配列番号１２６）；国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号１４（配列番号１２７）；国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号１８（配列番号１２８）；国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号２２（配列番号１２９）；国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号２６（配列番号１３０）；国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号３０（配列番号１３１）；国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号３４（配列番号１３２）；国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号３８（配列番号１３３）；国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号４２（配列番号１３４）；及び国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号４６（配列番号１３５））から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖；及び／または、国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３６、４０、４４、及び４８（国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号４（配列番号１３６）；国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号８（配列番号１３７）；国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号１２（配列番号１３８）；国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号１６（配列番号１３９）；国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号２０（配列番号１４０）；国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号２４（配列番号１４１）；国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号２８（配列番号１４２）；国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号３２（配列番号１４３）；国際公開第２

０１６／０２２６３０号の配列番号３６（配列番号１４４）；国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号４０（配列番号１４５）；国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号４４（配列番号１４６）；及び国際公開第２０１６／０２２６３０号の配列番号４８（配列番号１４７））から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０１９３】

ある実施形態では、標的化部分は、国際公開第２０１５／１１２９００号に開示されるいずれか１種の抗ＰＤ－Ｌ１抗体を含む。この特許の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための抗体またはその抗原結合フラグメントは、国際公開第２０１５／１１２９００号の配列番号３８、５０、８２、及び８６（国際公開第２０１５／１１２９００号の配列番号３８（配列番号１４８）；国際公開第２０１５／１１２９００号の配列番号５０（配列番号１４９）；国際公開第２０１５／１１２９００号の配列番号８２（配列番号１５０）；及び国際公開第２０１５／１１２９００号の配列番号８６（配列番号１５１））から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖；及び／または国際公開第２０１５／１１２９００号の配列番号４２、４６、５４、５８、６２、６６、７０、７４、及び７８（国際公開第２０１５／１１２９００号の配列番号４２（配列番号１５２）；国際公開第２０１５／１１２９００号の配列番号４６（配列番号１５３）；国際公開第２０１５／１１２９００号の配列番号５４（配列番号１５４）；国際公開第２０１５／１１２９００号の配列番号５８（配列番号１５５）；国際公開第２０１５／１１２９００号の配列番号６２（配列番号１５６）；国際公開第２０１５／１１２９００号の配列番号６６（配列番号１５７）；国際公開第２０１５／１１２９００号の配列番号７０（配列番号１５８）；国際公開第２０１５／１１２９００号の配列番号７４（配列番号１５９）；及び国際公開第２０１５／１１２９００号の配列番号７８（配列番号１６０））から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０１９４】

ある実施形態では、標的化部分は、国際公開第２０１０／０７７６３４号及び米国特許第８，２１７，１４９号に開示されるいずれか１種の抗ＰＤ－Ｌ１抗体を含む。これらの特許の全開示は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための抗ＰＤ－Ｌ１またはその抗原結合フラグメントは、国際公開第２０１０／０７７６３４号の配列番号２０（配列番号１６１）のアミノ酸配列を含む重鎖領域；及び／または国際公開第２０１０／０７７６３４号の配列番号２１（配列番号１６２）のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１９５】

ある実施形態では、標的化部分は、米国特許出願公開第２０１２００３９９０６号に開示されているように、ＣＮＣＭ受託番号ＣＮＣＭ　Ｉ－４１２２、ＣＮＣＭ　Ｉ－４０８０及びＣＮＣＭ　Ｉ－４０８１により入手可能なハイブリドーマから得ることができるいずれか１種の抗ＰＤ－Ｌ１抗体を含む。これらの特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０１９６】

ある実施形態では、標的化部分は、例えば、米国特許第８，９０７，０６５号及び国際公開第２００８／０７１４４７号に開示のように、ＰＤ－Ｌ１抗体に対する指向性を有するＶＨＨを含む。これらの特許の全開示は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、ＰＤ－Ｌ１に対するＶＨＨは、米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号３９４～３９９（米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号３９４（配列番号１６３）；米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号３９５（配列番号１６４）；米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号３９６（配列番号１６５）；米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号３９７（配列番号１６６）；米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号３９８（配列番号１６７）；米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号３９９（配列番号１６８））を含む。

【０１９７】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体

などのキメラタンパク質複合体は、ＰＤ－Ｌ２に対する１種以上の標的化部分を有する。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＰＤ－Ｌ２ポリペプチドを選択的に結合する、１種以上の標的化部分を有する。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＰＤ－Ｌ２ポリペプチドを選択的に結合する、抗体、抗体の誘導体もしくはフォーマット、ペプチドもしくはポリペプチド、または融合タンパク質の１種以上を含む。

【０１９８】

ある実施形態では、標的化部分は、例えば、米国特許第８，９０７，０６５号及び国際公開第２００８／０７１４４７号に開示のように、ＰＤ－Ｌ２に対する指向性を有するＶＨＨを含む。これらの特許の全開示は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、ＰＤ－Ｌ２に対するＶＨＨは、米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号４４９～４５５（米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号４４９（配列番号１６９）；米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号４５０（配列番号１７０）；米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号４５１（配列番号１７１）；米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号４５２（配列番号１７２）；米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号４５３（配列番号１７３）；米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号４５４（配列番号１７４）；及び米国特許第８，９０７，０６５号の配列番号４５５（配列番号１７５））を含む。

【０１９９】

ある実施形態では、標的化部分は、米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号及び国際公開第２０１０／０３６９５９号に開示のいずれか１種の抗ＰＤ－Ｌ２抗体を含む。これらの特許の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための抗体またはその抗原結合フラグメントは、米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号４３～４７（米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号４３（配列番号１７６）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号４４（配列番号１７７）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号４５（配列番号１７８）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号４６（配列番号１７９）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号４７（配列番号１８０））から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖；及び／または米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号４８～５１（米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号４８（配列番号１８１）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号４９（配列番号１８２）；米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号５０（配列番号１８３）；及び米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号の配列番号５１（配列番号１８４））から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０２００】

種々の実施形態では、本発明の標的化部分は、本明細書で開示の配列のいずれかに少なくとも約６０％、少なくとも約６１％、少なくとも約６２％、少なくとも約６３％、少なくとも約６４％、少なくとも約６５％、少なくとも約６６％、少なくとも約６７％、少なくとも約６８％、少なくとも約６９％、少なくとも約７０％、少なくとも約７１％、少なくとも約７２％、少なくとも約７３％、少なくとも約７４％、少なくとも約７５％、少なくとも約７６％、少なくとも約７７％、少なくとも約７８％、少なくとも約７９％、少なくとも約８０％、少なくとも約８１％、少なくとも約８２％、少なくとも約８３％、少なくとも約８４％、少なくとも約８５％、少なくとも約８６％、少なくとも約８７％、少なくとも約８８％、少なくとも約８９％、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、少なくとも約９９％、または１００％同一（例えば、本明細書で開示の配列のいずれかと約６０％、または約６１％、または約６２％、または約６３％、または約６４％、または約６５％、または約６６％

、または約６７％、または約６８％、または約６９％、または約７０％、または約７１％、または約７２％、または約７３％、または約７４％、または約７５％、または約７６％、または約７７％、または約７８％、または約７９％、または約８０％、または約８１％、または約８２％、または約８３％、または約８４％、または約８５％、または約８６％、または約８７％、または約８８％、または約８９％、または約９０％、または約９１％、または約９２％、または約９３％、または約９４％、または約９５％、または約９６％、または約９７％、または約９８％、約９９％または約１００％の配列同一性）である、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、及び／またはＰＤ－Ｌ２を標的とする配列を含み得る。

【０２０１】

種々の実施形態では、本発明の標的化部分は、本明細書で開示のＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、及び／またはＰＤ－Ｌ２を標的とする重鎖、軽鎖、重鎖可変領域、軽鎖可変領域、相補性決定領域（ＣＤＲ）、及びフレームワーク領域配列のいずれの組み合わせを含み得る。

【０２０２】

ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１及び／またはＰＤ－Ｌ２を選択的に結合するまたは標的にする追加の抗体、抗体誘導体もしくはフォーマット、ペプチドもしくはポリペプチドまたは融合タンパク質は、国際公開第２０１１／０６６３８９号、米国特許出願公開第２００８／００２５９８０号、米国特許出願公開第２０１３／００３４５５９号、米国特許第８，７７９，１０８号、米国特許出願公開第２０１４／０３５６３５３号、米国特許第８，６０９，０８９号、米国特許出願公開第２０１０／０２８３３０号、米国特許出願公開第２０１２／０１１４６４９号、国際公開第２０１０／０２７８２７号、国際公開第２０１１／０６６３４２号、米国特許第８，９０７，０６５号、国際公開第２０１６／０６２７２２号、国際公開第２００９／１０１６１１号、国際公開第２０１０／０２７８２７号、国際公開第２０１１／０６６３４２号、国際公開第２００７／００５８７４号、国際公開第２００１／０１４５５６号、米国特許出願公開第２０１１／０２７１３５８号、国際公開第２０１０／０３６９５９号、国際公開第２０１０／０７７６３４号、米国特許第８，２１７，１４９号、米国特許出願公開第２０１２／００３９９０６号、国際公開第２０１２／１４５４９３号、米国特許出願公開第２０１１／０３１８３７３号、米国特許第８，７７９，１０８号、米国特許出願公開第２０１４／００４４７３８号、国際公開第２００９／０８９１４９号、国際公開第２００７／００５８７号、国際公開第２０１６／０６１１４２号、国際公開第２０１６／０２２６３号、国際公開第２０１０／０７７６３４号、及び国際公開第２０１５／１１２９００号で開示されている。これらの特許の全開示は参照により本明細書に組み込まれる。

【０２０３】

一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、例えば、ＣＤ８に対する標的化により媒介される、Ｔ細胞に対する指向性をもつ標的化部分を有する。ある実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、Ｔ細胞上のＣＤ８に対する指向性をもつ標的化部分を有する。

【０２０４】

ある実施形態において、ＣＤ８に対する指向性を有する上記標的化部分は、アミノ酸配列：

ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＥＤＹＡＩＧＷＦＲＱＡＰＧＫＧＲＥＧＶＡＣＩＲＩＦＤＲＨＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＳＤＮＳＫＮＴＶＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＴＹＹＣＡＡＧＳＦＦＧＣＴＲＰＥＧＤＭＤＹＦＧＱＧＴＬＶＱＶＱＳＡ（配列番号４５４）

を含むＶＨＨを含む。

【０２０５】

ある実施形態において、上記ＣＤ８に対する指向性を有する上記標的化部分は、アミノ酸配列：

ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＤＤＹＶＩＧＷＦＲＱＡＰＧＫＧＲＥＧＶＡＣＩＲＩＦＤＲＨＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＳＤＮＳＫＮＴＶＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＴＹＹＣＡＡＧＳＦＦＧＣＴＲＰＥＧＤＭＤＹＦＧＱＧＴＬＶＱＶＱＳＡ（配列番号４５５）
を含むＶＨＨを含む。

【０２０６】

ある実施形態において、上記ＣＤ８に対する指向性を有する上記標的化部分は、アミノ酸配列：ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＤＤＹＡＩＧＷＦＲＱＡＰＧＫＧＲＥＧＶＡＣＩＲＩＦＤＲＨＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＳＤＮＳＫＮＴＶＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＴＹＹＣＡＡＧＳＦＷＧＣＴＲＰＥＧＤＭＤＹＦＧＱＧＴＬＶＱＶＱＳＡ（配列番号４５６）
を含むＶＨＨを含む。

【０２０７】

種々の実施形態において、本発明の標的化部分は、本明細書に開示のいずれかの配列に対して、少なくとも約６０％、少なくとも約６１％、少なくとも約６２％、少なくとも約６３％、少なくとも約６４％、少なくとも約６５％、少なくとも約６６％、少なくとも約６７％、少なくとも約６８％、少なくとも約６９％、少なくとも約７０％、少なくとも約７１％、少なくとも約７２％、少なくとも約７３％、少なくとも約７４％、少なくとも約７５％、少なくとも約７６％、少なくとも約７７％、少なくとも約７８％、少なくとも約７９％、少なくとも約８０％、少なくとも約８１％、少なくとも約８２％、少なくとも約８３％、少なくとも約８４％、少なくとも約８５％、少なくとも約８６％、少なくとも約８７％、少なくとも約８８％、少なくとも約８９％、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または約９９％、または１００％同一である（例えば、本明細書に開示のいずれかの配列との、例えば約６０％、または約６１％、または約６２％、または約６３％、または約６４％、または約６５％、または約６６％、または約６７％、または約６８％、または約６９％、または約７０％、または約７１％、または約７２％、または約７３％、または約７４％、またはまたは約７５％、または約７６％、または約７７％、または約７８％、または約７９％、または約８０％、または約８１％、または約８２％、または約８３％、または約８４％、または約８５％、または約８６％、または約８７％、または約８８％、または約８９％、または約９０％、または約９１％、または約９２％、または約９３％、またはまたは約９４％、または約９５％、または約９６％、または約９７％、または約９８％、または約９９％、または約１００％の配列同一性）、ＣＤ８を標的とする配列を含んでいてもよい。

【０２０８】

一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、例えば、ＣＤ４に対する標的化により媒介される、Ｔ細胞に対する指向性をもつ標的化部分を有する。ある実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、Ｔ細胞上のＣＤ４に対する指向性をもつ標的化部分を有する。

【０２０９】

一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、例えば、ＣＤ３、ＣＸＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ９、ＣＤ７０、ＣＤ１０３、または１種以上の免疫チェックポイントマーカーに対する標的化により媒介される、Ｔ細胞に対する指向性をもつ標的化部分を有する。ある実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、Ｔ細胞上のＣＤ３に対する指向性をもつ標的化部分及び腫瘍細胞上のＰＤ－Ｌ１またはＰＤ－Ｌ２に対する指向性をもつ第２の標的化部分を有する。

【０２１０】
いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、Ｔ細胞上で発現されるＣＤ３に対する１種以上の標的化部分を有する。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＣＤ３ポリペプチドを選択的に結合する１種以上の標的化部分を有する。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＣＤ３ポリペプチドを選択的に結合する、抗体、抗体の誘導体もしくはフォーマット、ペプチドもしくはポリペプチド、または融合タンパク質の１種以上を含む。

【０２１１】
ある実施形態では、標的化部分は、抗ＣＤ３抗体ムロモナブ－ＣＤ３（別名Ｏｒｔｈｏｃｌｏｎｅ　ＯＫＴ３）、またはそのフラグメントを含む。ムロモナブ－ＣＤ３は、米国特許第４，３６１，５４９号及びＷｉｌｄｅ　ｅｔ　ａｌ．（１９９６）５１：８６５－８９４で開示されている。これらの文献の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するためのムロモナブ－ＣＤ３またはその抗原結合フラグメントは、（配列番号１８５）のアミノ酸配列を含む重鎖；及び／または（配列番号１８６）のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０２１２】
ある実施形態では、標的化部分は、抗ＣＤ３抗体オテリキシズマブ、またはそのフラグメントを含む。オテリキシズマブは、米国特許出願公開第２０１６０００９１６号及びＣｈａｔｅｎｏｕｄ　ｅｔ　ａｌ．（２０１２）９：３７２－３８１で開示されている。これらの文献の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するためのオテリキシズマブまたはその抗原結合フラグメントは、配列番号１８７のアミノ酸配列を含む重鎖；及び／または配列番号１８８のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０２１３】
ある実施形態では、標的化部分は、抗ＣＤ３抗体テプリズマブ（別名ＭＧＡ０３１及びｈＯＫＴ３γ１（Ａｌａ－Ａｌａ））、またはそのフラグメントを含む。テプリズマブは、Ｃｈａｔｅｎｏｕｄ　ｅｔ　ａｌ．（２０１２）９：３７２－３８１で開示されている。この文献の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するためのテプリズマブまたはその抗原結合フラグメントは、配列番号１８９のアミノ酸配列を含む重鎖；及び／または配列番号１９０のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０２１４】
ある実施形態では、標的化部分は、抗ＣＤ３抗体ビジリズマブ（別名Ｎｕｖｉｏｎ（登録商標）；ＨｕＭ２９１）、またはそのフラグメントを含む。ビジリズマブは、米国特許第５，８３４，５９７号及び国際公開第２００４０５２３９７号及びＣｏｌｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔａｔｉｏｎ（１９９９）６８：５６３－５７１で開示されている。これらの文献の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するためのビジリズマブまたはその抗原結合フラグメントは、配列番号１９１のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または配列番号１９２のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０２１５】
ある実施形態では、標的化部分は、抗ＣＤ３抗体フォラルマブ（別名ＮＩ－０４０１）、またはそのフラグメントを含む。種々の実施形態では、標的化部分は、米国特許出願公開第２０１４／０１９３３９９号、米国特許第７，７２８，１１４号、米国特許出願公開第２０１０／０１８３５５４号及び米国特許第８，５５１，４７８号で開示される抗ＣＤ３抗体のいずれか１種を含む。これらの特許の全開示は参照により本明細書に組み込まれる。

【０２１６】

例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための抗ＣＤ３抗体またはその抗原結合フラグメントは、米国特許第７，７２８，１１４号の配列番号２及び６（米国特許第７，７２８，１１４号の配列番号２（配列番号１９３）及びの米国特許第７，７２８，１１４号の配列番号６（配列番号１９４））のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び／または米国特許第７，７２８，１１４号の配列番号４及び８（米国特許第７，７２８，１１４号の配列番号４（配列番号１９５）及び米国特許第７，７２８，１１４号の配列番号８（配列番号１９６））のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０２１７】

ある実施形態では、標的化部分は、米国特許第７，７２８，１１４号の配列番号２のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；及び米国特許第７，７２８，１１４号の配列番号４のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。ある実施形態では、標的化部分は、米国特許出願公開第２０１６／０１６８２４７号で開示される抗ＣＤ３抗体のいずれか１種を含む。この特許の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための抗体またはその抗原結合フラグメントは、米国特許出願公開第２０１６／０１６８２４７号の配列番号６～９（米国特許出願公開第２０１６／０１６８２４７号の配列番号６（配列番号１９７）；米国特許出願公開第２０１６／０１６８２４７号の配列番号７（配列番号１９８）；米国特許出願公開第２０１６／０１６８２４７号の配列番号８（配列番号１９９）；米国特許出願公開第２０１６／０１６８２４７号の配列番号９（配列番号２００））から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖；及び／または米国特許出願公開第２０１６／０１６８２４７号の配列番号１０～１２（米国特許出願公開第２０１６／０１６８２４７号の配列番号１０（配列番号２０１）；米国特許出願公開第２０１６／０１６８２４７号の配列番号１１（配列番号２０２）；米国特許出願公開第２０１６／０１６８２４７号の配列番号１２（配列番号２０３））から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０２１８】

ある実施形態では、標的化部分は、米国特許出願公開第２０１５／０１７５６９９号で開示される抗ＣＤ３抗体のいずれか１種を含む。この特許の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための抗体またはその抗原結合フラグメントは、米国特許出願公開第２０１５／０１７５６９９号の配列番号９（配列番号２０４）から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖；及び／または米国特許出願公開第２０１５／０１７５６９９号の配列番号１０（配列番号２０５）から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０２１９】

ある実施形態では、標的化部分は、米国特許第８，７８４，８２１号で開示される抗ＣＤ３抗体のいずれか１種を含む。この特許の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための抗体またはその抗原結合フラグメントは、米国特許第８，７８４，８２１号の配列番号２、１８、３４、５０、６６、８２、９８及び１１４（米国特許第８，７８４，８２１号の配列番号２（配列番号２０６）；米国特許第８，７８４，８２１号の配列番号１８（配列番号２０７）；米国特許第８，７８４，８２１号の配列番号３４（配列番号２０８）；米国特許第８，７８４，８２１号の配列番号５０（配列番号２０９）；米国特許第８，７８４，８２１号の配列番号６６（配列番号２１０）；米国特許第８，７８４，８２１号の配列番号８２（配列番号２１１）；米国特許第８，７８４，８２１号の配列番号９８（配列番号２１２）；及び米国特許第８，７８４，８２１号の配列番号１１４（配列番号２１３））から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖；及び／または米国特許第８，７８４，８２１号の配列番号１０、２６、４２、５８、７４、９０、１０６及び１２２（米国特許第８，７８４，８２１号の配列番号１０（配列番号２１４）；米国特許第８，７８４，８２１号の配列番号２６（配列番号２１５）；米国特許第８，７８４，８２１号の配列番号４２（配列番号２１６）；米国特許第８，７８４，８２１号の配列番号５８（配列番号２１７）；米国特許第８，７８４，８２１号の配列番号７４（配列番号２１８）；米国特許第８，７８４，８２１号

の配列番号９０（配列番号２１９）；米国特許第８，７８４，８２１号の配列番号１０６（配列番号２２０）；及び米国特許第８，７８４，８２１号の配列番号１２２（配列番号２２１））から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０２２０】

ある実施形態では、標的化部分は、米国特許出願公開第２０１５／０１１８２５２号で開示される抗ＣＤ３結合構築物のいずれか１種を含む。この特許の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための抗体またはその抗原結合フラグメントは、米国特許出願公開第２０１５／０１１８２５２号の配列番号６及び８６（米国特許出願公開第２０１５／０１１８２５２号の配列番号６（配列番号２２２）及び米国特許出願公開第２０１５／０１１８２５２号の配列番号８６（配列番号２２３））から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖；及び／または米国特許出願公開第２０１５／０１７５６９９号の配列番号３（米国特許出願公開第２０１５／０１１８２５２号の配列番号３（配列番号２２４））から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０２２１】

ある実施形態では、標的化部分は、米国特許出願公開第２０１６／００３９９３４号で開示される抗ＣＤ３結合タンパク質のいずれか１種を含む。この特許の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための抗体またはその抗原結合フラグメントは、米国特許出願公開第２０１６／００３９９３４号の配列番号６～９（米国特許出願公開第２０１６／００３９９３４号の配列番号６（配列番号２２５）；米国特許出願公開第２０１６／００３９９３４号の配列番号７（配列番号２２６）；米国特許出願公開第２０１６／００３９９３４号の配列番号８（配列番号２２７）；及び米国特許出願公開第２０１６／００３９９３４号の配列番号９（配列番号２２８））から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖；及び／または米国特許出願公開第２０１６／００３９９３４号の配列番号１～４（米国特許出願公開第２０１６／００３９９３４号の配列番号１（配列番号２２９）；米国特許出願公開第２０１６／００３９９３４号の配列番号２（配列番号２３０）；米国特許出願公開第２０１６／００３９９３４号の配列番号３（配列番号２３１）；及び米国特許出願公開第２０１６／００３９９３４号の配列番号４（配列番号２３２））から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０２２２】

種々の実施形態では、本発明の標的化部分は、本明細書で開示の配列のいずれかに少なくとも約６０％、少なくとも約６１％、少なくとも約６２％、少なくとも約６３％、少なくとも約６４％、少なくとも約６５％、少なくとも約６６％、少なくとも約６７％、少なくとも約６８％、少なくとも約６９％、少なくとも約７０％、少なくとも約７１％、少なくとも約７２％、少なくとも約７３％、少なくとも約７４％、少なくとも約７５％、少なくとも約７６％、少なくとも約７７％、少なくとも約７８％、少なくとも約７９％、少なくとも約８０％、少なくとも約８１％、少なくとも約８２％、少なくとも約８３％、少なくとも約８４％、少なくとも約８５％、少なくとも約８６％、少なくとも約８７％、少なくとも約８８％、少なくとも約８９％、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、少なくとも約９９％、または１００％同一（例えば、本明細書で開示の配列のいずれかと約６０％、または約６１％、または約６２％、または約６３％、または約６４％、または約６５％、または約６６％、または約６７％、または約６８％、または約６９％、または約７０％、または約７１％、または約７２％、または約７３％、または約７４％、または約７５％、または約７６％、または約７７％、または約７８％、または約７９％、または約８０％、または約８１％、または約８２％、または約８３％、または約８４％、または約８５％、または約８６％、または約８７％、または約８８％、または約８９％、または約９０％、または約９１％、または約９２％、または約９３％、または約９４％、または約９５％、または約９６％、または約９７％、または約９８％、約９９％または約１００％の配列同一性）である、

ＣＤ３を標的とする配列を含み得る。

【０２２３】

種々の実施形態では、本発明の標的化部分は、本明細書で開示のＣＤ３を標的とする重鎖、軽鎖、重鎖可変領域、軽鎖可変領域、相補性決定領域（ＣＤＲ）、及びフレームワーク領域配列のいずれかの組み合わせを含み得る。種々の実施形態では、本発明の標的化部分は、限定されないが、Ｘ３５－３、ＶＩＴ３、ＢＭＡ０３０（ＢＷ２６４／５６）、ＣＬＢ－Ｔ３／３、ＣＲＩＳ７、ＹＴＨ１２．５、Ｆｌ　１１－４０９、ＣＬＢ－Ｔ３．４．２、ＴＲ－６６、ＷＴ３２、ＳＰｖ－Ｔ３ｂ、１１Ｄ８、ＸＩＩＩ－１４１、ＸＩＩＩ－４６、ＸＩＩＩ－８７、１２Ｆ６、Ｔ３／ＲＷ２－８Ｃ８、Ｔ３／ＲＷ２－４Ｂ６、ＯＫＴ３Ｄ、Ｍ－Ｔ３０１、ＳＭＣ２、ＷＴ３１及びＦ１０１．０１を含むＣＤ３特異的抗体の、重鎖、軽鎖、重鎖可変領域、軽鎖可変領域、相補性決定領域（ＣＤＲ）、及びフレームワーク領域配列のいずれかを含み得る。これらのＣＤ３特異的抗体は、当該技術分野において周知であり、特に、Ｔｕｎｎａｃｌｉｆｆｅ（１９８９），Ｉｎｔ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１，５４６－５５０に記載されている。この文献の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２２４】

選択的にＣＤ３を結合または標的とする追加の抗体、抗体誘導体またはフォーマット、ペプチドまたはポリペプチド、または融合タンパク質は、米国特許出願公開第２０１６／０００００９１６号、米国特許第４，３６１，５４９号、同第５，８３４，５９７号、同第６，４９１，９１６号、同第６，４０６，６９６号、同第６，１４３，２９７号、同第６，７５０，３２５号及び国際公開第２００４／０５２３９７号で開示されている。これらの特許の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２２５】

一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変１Ｌ－２）と共に、例えば、ＰＤ－１に対する標的化により媒介される、Ｔ細胞に対する指向性をもつ標的化部分を有する。

【０２２６】

非限定的例であるが、種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、例えば、ＣＤ１０、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２１、ＣＤ２２、ＣＤ２３、ＣＤ２４、ＣＤ３７、ＣＤ３８、ＣＤ３９、ＣＤ４０、ＣＤ７０、ＣＤ７２、ＣＤ７３、ＣＤ７４、ＣＤｗ７５、ＣＤｗ７６、ＣＤ７７、ＣＤ７８、ＣＤ７９ａ／ｂ、ＣＤ８０、ＣＤ８１、ＣＤ８２、ＣＤ８３、ＣＤ８４、ＣＤ８５、ＣＤ８６、ＣＤ８９、ＣＤ９８、ＣＤ１２６、ＣＤ１２７、ＣＤｗ１３０、ＣＤ１３８、またはＣＤｗ１５０への標的化により媒介される、Ｂ細胞に対する指向性をもつ標的化部分を有する。ある実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＣＤ２０に対する指向性をもつ標的化部分を有する。

【０２２７】

一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、例えば、ＣＤ１９、ＣＤ２０またはＣＤ７０に対する標的化により媒介される、Ｂ細胞に対する指向性をもつ標的化部分を有する。

【０２２８】

一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、例えば、ＣＤ２０に対する標的化により媒介される、Ｂ細胞に対する指向性をもつ標的化部分を有する。ある実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、Ｂ細胞上のＣＤ２

０に対する指向性をもつ標的化部分及び腫瘍細胞上のＰＤ－Ｌ１またはＰＤ－Ｌ２に対する指向性をもつ第２の標的化部分を有する。例えば、いくつかの実施形態では、ＣＤ２０標的化部分は、配列：
ＱＶＱＬＱＥＳＧＧＧＬＡＱＡＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＲＴＦＳＭＧＷＦＲＱＡＰＧＫＥＲＥＦＶＡＡＩＴＹＳＧＧＳＰＹＹＡＳＳＶＲＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＴＶＹＬＱＭＮＳＬＫＰＥＤＴＡＶＹＹＣＡＡＮＰＴＹＧＳＤＷＮＡＥＮＷＧＱＧＴＱＶＴＶＳＳ（配列番号２８８）
を有する組換え型の重鎖のみの抗体（ＶＨＨ）である。

【０２２９】

非限定的例であるが、種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、例えば、２Ｂ４／ＳＬＡＭＦ４、ＫＩＲ２ＤＳ４、ＣＤ１５５／ＰＶＲ、ＫＩＲ３ＤＬ１、ＣＤ９４、ＬＭＩＲ１／ＣＤ３００Ａ、ＣＤ６９、ＬＭＩＲ２／ＣＤ３００ｃ、ＣＲＡＣＣ／ＳＬＡＭＦ７、ＬＭＩＲ３／ＣＤ３００ＬＦ、ＤＮＡＭ－１、ＬＭＩＲ５／ＣＤ３００ＬＢ、Ｆｃ－イプシロンＲＩＩ、ＬＭＩＲ６／ＣＤ３００ＬＥ、Ｆｃ－γＲｌ／ＣＤ６４、ＭＩＣＡ、Ｆｃ－γＲＩＩＢ／ＣＤ３２ｂ、ＭＩＣＢ、Ｆｃ－γＲＩＩＣ／ＣＤ３２ｃ、ＭＵＬＴ－１、Ｆｃ－γＲＩＩＡ／ＣＤ３２ａ、Ｎｅｃｔｉｎ－２／ＣＤ１１２、Ｆｃ－γＲＩＩＩ／ＣＤ１６、ＮＫＧ２Ａ、ＦｃＲＨ１／ＩＲＴＡ５、ＮＫＧ２Ｃ、ＦｃＲＨ２／ＩＲＴＡ４、ＮＫＧ２Ｄ、ＦｃＲＨ４／ＩＲＴＡ１、ＮＫｐ３０、ＦｃＲＨ５／ＩＲＴＡ２、ＮＫｐ４４、Ｆｃ－受容体様３／ＣＤ１６－２、ＮＫｐ４６／ＮＣＲ１、ＮＫｐ８０／ＫＬＲＦ１、ＮＴＢ－Ａ／ＳＬＡＭＦ６、Ｒａｅ－１、Ｒａｅ－１α、Ｒａｅ－１β、Ｒａｅ－１δ、Ｈ６０、Ｒａｅ－１ε、ＩＬＴ２／ＣＤ８５ｊ、Ｒａｅ－１γ、ＩＬＴ３／ＣＤ８５ｋ、ＴＲＥＭ－１、ＩＬＴ４／ＣＤ８５ｄ、ＴＲＥＭ－２、ＩＬＴ５／ＣＤ８５ａ、ＴＲＥＭ－３、ＫＩＲ／ＣＤ１５８、ＴＲＥＭＬ１／ＴＬＴ－１、ＫＩＲ２ＤＬ１、ＵＬＢＰ－１、ＫＩＲ２ＤＬ３、ＵＬＢＰ－２、ＫＩＲ２ＤＬ４／ＣＤ１５８ｄまたはＵＬＢＰ－３への標的化により媒介される、ＮＫ細胞に対する指向性をもつ標的化部分を有する。

【０２３０】

一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、例えば、Ｋｉｒ１α、ＤＮＡＭ－１またはＣＤ６４への標的化により媒介される、ＮＫ細胞に対する指向性をもつ標的化部分を有する。

【０２３１】

一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、例えば、ＴＩＧＩＴまたはＫＩＲ１への標的化により媒介される、ＮＫ細胞に対する指向性をもつ標的化部分を有する。ある実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＮＫ細胞上のＴＩＧＩＴに対する指向性をもつ標的化部分及び腫瘍細胞上のＰＤ－Ｌ１またはＰＤ－Ｌ２に対する第２の標的化部分を有する。

【０２３２】

非限定的例であるが、種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、例えば、ＣＬＥＣ９Ａ、ＸＣＲ１、ＲＡＮＫ、ＣＤ３６／ＳＲＢ３、ＬＯＸ－１／ＳＲ－Ｅ１、ＣＤ６８、ＭＡＲＣＯ、ＣＤ１６３、ＳＲ－Ａ１／ＭＳＲ、ＣＤ５Ｌ、ＳＲＥＣ－１、ＣＬ－Ｐｌ／ＣＯＬＥＣ１２、ＳＲＥＣ－ＩＩ、ＬＩＭＰＩＩＩＳＲＢ２、ＲＰ１０５、ＴＬＲ４、ＴＬＲ１、ＴＬＲ５、ＴＬＲ２、ＴＬＲ６、ＴＬＲ３、ＴＬＲ９、４－ＩＢＢリガンド／ＴＮＦＳＦ９、ＩＬ－１２／ＩＬ－２３ｐ４０、４－Ａｍｉｎｏ－１、８－ナフタルイミド、ＩＬＴ２／ＣＤ８５ｊ、ＣＣＬ２１／６Ｃｋｉｎｅ、ＩＬＴ３／ＣＤ８５ｋ、８－ｏｘｏ－ｄＧ、ＩＬＴ４

／ＣＤ８５ｄ、８Ｄ６Ａ、ＩＬＴ５／ＣＤ８５ａ、Ａ２Ｂ５、ｌｕｔｅｇｒｉｎ α４／ＣＤ４９ｄ、Ａａｇ、インテグリンβ２／ＣＤ１８、ＡＭＩＣＡ、Ｌａｎｇｅｒｉｎ、Ｂ７－２／ＣＤ８６、ロイコトリエンＢ４ Ｒｌ、Ｂ７－Ｈ３、ＬＭＩＲ１／ＣＤ３００Ａ、ＢＬＡＭＥ／ＳＬＡＭＦ８、ＬＭＩＲ２／ＣＤ３００ｃ、ＣｌｑＲ１／ＣＤ９３、ＬＭＩＲ３／ＣＤ３００ＬＦ、ＣＣＲ６、ＬＭＩＲ５／ＣＤ３００ＬＢＣＣＲ７、ＬＭＩＲ６／ＣＤ３００ＬＥ、ＣＤ４０／ＴＮＦＲＳＦ５、ＭＡＧ／Ｓｉｇｌｅｃ－４－ａ、ＣＤ４３、ＭＣＡＭ、ＣＤ４５、ＭＤ－１、ＣＤ６８、ＭＤ－２、ＣＤ８３、ＭＤＬ－１／ＣＬＥＣ５Ａ、ＣＤ８４／ＳＬＡＭＦ５、ＭＭＲ、ＣＤ９７、ＮＣＡＭＬｌ、ＣＤ２Ｆ－１０／ＳＬＡＭＦ９、Ｏｓｔｅｏａｃｔｉｖｉｎ ＧＰＮＭＢ、Ｃｈｅｒｎ２３、ＰＤ－Ｌ２、ＣＬＥＣ－１、ＲＰ１０５、ＣＬＥＣ－２、シグレック－２／ＣＤ２２、ＣＲＡＣＣ／ＳＬＡＭＦ７、シグレック－３／ＣＤ３３、ＤＣ－ＳＩＧＮ、シグレック－５、ＤＣ－ＳＩＧＮＲ／ＣＤ２９９、シグレック－６、ＤＣＡＲ、シグレック－７、ＤＣＩＲ／ＣＬＥＣ４Ａ、シグレック－９、ＤＥＣ－２０５、シグレック－１０、Ｄｅｃｔｉｎ－１／ＣＬＥＣ７Ａ、シグレック－Ｆ、Ｄｅｃｔｉｎ－２／ＣＬＥＣ６Ａ、ＳＩＧＮＲ１／ＣＤ２０９、ＤＥＰ－１／ＣＤ１４８、ＳＩＧＮＲ４、ＤＬＥＣ、ＳＬＡＭ、ＥＭＭＰＲＩＮ／ＣＤ１４７、ＴＣＣＲ／ＷＳＸ－１、Ｆｃ－γＲ１／ＣＤ６４、ＴＬＲ３、Ｆｃ－γＲＩＩＢ／ＣＤ３２ｂ、ＴＲＥＭ－１、Ｆｃ－γＲＩＩＣ／ＣＤ３２ｃ、ＴＲＥＭ－２、Ｆｃ－γＲＩＩＡ／ＣＤ３２ａ、ＴＲＥＭ－３、Ｆｃ－γＲＩＩＩ／ＣＤ１６、ＴＲＥＭＬ１／ＴＬＴ－１、ＩＣＡＭ－２／ＣＤ１０２、またはバニロイドＲ１への標的化により媒介される樹状細胞に対する指向性をもつ標的化部分を有する。

【０２３３】

一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、例えば、ＣＬＥＣ－９Ａ、ＤＣ－ＳＩＧＮ、ＣＤ６４、ＣＬＥＣ－４Ａ、またはＤＥＣ２０５への標的化により媒介される、樹状細胞に対する指向性をもつ標的化部分を有する。ある実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、樹状細胞上のＣｌｅｃ９Ａに対する指向性をもつ標的化部分及び腫瘍細胞上のＰＤ－Ｌ１またはＰＤ－Ｌ２に対する第２の標的化部分を有する。

【０２３４】

一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、例えば、Ｃｌｅｃ９Ａへの標的化により媒介される、樹状細胞に対する指向性をもつ標的化部分を有する。ある実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、樹状細胞上のＣｌｅｃ９Ａに対する指向性をもつ標的化部分及び腫瘍細胞上のＰＤ－Ｌ１またはＰＤ－Ｌ２に対する指向性をもつ第２の標的化部分を有する。

【０２３５】

一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、例えば、ＸＣＲ１への標的化により媒介される、樹状細胞に対する指向性をもつ標的化部分を有する。ある実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、樹状細胞上のＸＣＲ１に対する指向性をもつ標的化部分及び腫瘍細胞上のＰＤ－Ｌ１またはＰＤ－Ｌ２に対する指向性をもつ第２の標的化部分を有する。

【０２３６】

一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、例えば、ＲＡＮＫへの標的化により媒介される、樹状細胞に対する指向性をもつ標的化部分を有する。ある実施形態では、本発明のキメラタンパク質また

はＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、樹状細胞上のＲＡＮＫに対する指向性をもつ標的化部分及び腫瘍細胞上のＰＤ－Ｌ１またはＰＤ－Ｌ２に対する指向性をもつ第２の標的化部分を有する。

【０２３７】

非限定的例であるが、種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、例えば、ＳＩＲＰ１ａ、Ｂ７－１／ＣＤ８０、ＩＬＴ４／ＣＤ８５ｄ、Ｂ７－Ｈ１、ＩＬＴ５／ＣＤ８５ａ、共通β鎖、インテグリンα４／ＣＤ４９ｄ、ＢＬＡＭＥ／ＳＬＡＭＦ８、インテグリンαＸ／ＣＤｌｌｃ、ＣＣＬ６／Ｃ１０、インテグリンβ２／ＣＤ１８、ＣＤ１５５／ＰＶＲ、インテグリンβ３／ＣＤ６１、ＣＤ３１／ＰＥＣＡＭ－１、Ｌａｔｅｘｉｎ、ＣＤ３６／ＳＲ－Ｂ３、ロイコトリエンＢ４Ｒ１、ＣＤ４０／ＴＮＦＲＳＦ５、ＬＩＭＰＩＩＩＳＲ－Ｂ２、ＣＤ４３、ＬＭＩＲ１／ＣＤ３００Ａ、ＣＤ４５、ＬＭＩＲ２／ＣＤ３００ｃ、ＣＤ６８、ＬＭＩＲ３／ＣＤ３００ＬＦ、ＣＤ８４／ＳＬＡＭＦ５、ＬＭＩＲ５／ＣＤ３００ＬＢ、ＣＤ９７、ＬＭＩＲ６／ＣＤ３００ＬＥ、ＣＤ１６３、ＬＲＰ－１、ＣＤ２Ｆ－１０／ＳＬＡＭＦ９、ＭＡＲＣＯ、ＣＲＡＣＣ／ＳＬＡＭＦ７、ＭＤ－１、ＥＣＦ－Ｌ、ＭＤ－２、ＥＭＭＰＲＩＮ／ＣＤ１４７、ＭＧＬ２、エンドグリン／ＣＤ１０５、オステオアクチビン／ＧＰＮＭＢ、Ｆｃ－γＲＩ／ＣＤ６４、オステオポンチン、Ｆｃ－γＲＩＩＢ／ＣＤ３２ｂ、ＰＤ－Ｌ２、Ｆｃ－γＲＩＩＣ／ＣＤ３２ｃ、Ｓｉｇｌｅｃ－３／ＣＤ３３、Ｆｃ－γＲＩＩＡ／ＣＤ３２ａ、ＳＩＧＮＲ１／ＣＤ２０９、Ｆｃ－γＲＩＩＩ／ＣＤ１６、ＳＬＡＭ、ＧＭ－ＣＳＦＲα、ＴＣＣＲ／ＷＳＸ－１、ＩＣＡＭ－２／ＣＤ１０２、ＴＬＲ３、ＩＦＮ－γＲｌ、ＴＬＲ４、ＩＦＮ－γＲ２、ＴＲＥＭ－ｌ、ＩＬ－ｌＲＩＩ、ＴＲＥＭ－２、ＩＬＴ２／ＣＤ８５ｊ、ＴＲＥＭ－３、ＩＬＴ３／ＣＤ８５ｋ、ＴＲＥＭＬ１／ＴＬＴ－１、２Ｂ４／ＳＬＡＭＦ４、ＩＬ－１０Ｒα、ＡＬＣＡＭ、ＩＬ－１０Ｒβ、アミノペプチダーゼＮ／ＡＮＰＥＰ、ＩＬＴ２／ＣＤ８５ｊ、共通β鎖、ＩＬＴ３／ＣＤ８５ｋ、ＣｌｑＲ１／ＣＤ９３、ＩＬＴ４／ＣＤ８５ｄ、ＣＣＲ１、ＩＬＴ５／ＣＤ８５ａ、ＣＣＲ２、ＣＤ２０６、インテグリンα４／ＣＤ４９ｄ、ＣＣＲ５、インテグリンαＭ／ＣＤｌｌｂ、ＣＣＲ８、インテグリンαＸ／ＣＤｌｌｃ、ＣＤ１５５／ＰＶＲ、インテグリンβ２／ＣＤ１８、ＣＤ１４、インテグリンβ３／ＣＤ６１、ＣＤ３６／ＳＲ－Ｂ３、ＬＡＩＲ１、ＣＤ４３、ＬＡＩＲ２、ＣＤ４５、ロイコトリエンＢ４－Ｒ１、ＣＤ６８、ＬＩＭＰＩＩＩＳＲ－Ｂ２、ＣＤ８４／ＳＬＡＭＦ５、ＬＭＩＲ１／ＣＤ３００Ａ、ＣＤ９７、ＬＭＩＲ２／ＣＤ３００ｃ、ＣＤ１６３、ＬＭＩＲ３／ＣＤ３００ＬＦ、凝固因子ＩＩＩ／組織因子、ＬＭＩＲ５／ＣＤ３００ＬＢ、ＣＸ３ＣＲ１、ＣＸ３ＣＬ１、ＬＭＩＲ６／ＣＤ３００ＬＥ、ＣＸＣＲ４、ＬＲＰ－１、ＣＸＣＲ６、Ｍ－ＣＳＦＲ、ＤＥＰ－１／ＣＤ１４８、ＭＤ－１、ＤＮＡＭ－１、ＭＤ－２、ＥＭＭＰＲＩＮ／ＣＤ１４７、ＭＭＲ、エンドグリン／ＣＤ１０５、ＮＣＡＭ－Ｌ１、Ｆｃ－γＲＩ／ＣＤ６４、ＰＳＧＬ－１、Ｆｃ－γＲＩＩＩＣＤ１６、ＲＰ１０５、Ｇ－ＣＳＦＲ、Ｌ－セレクチン、ＧＭ－ＣＳＦＲα、シグレック－３／ＣＤ３３、ＨＶＥＭ／ＴＮＦＲＳＦ１４、ＳＬＡＭ、ＩＣＡＭ－１／ＣＤ５４、ＴＣＣＲ／ＷＳＸ－１、ＩＣＡＭ－２／ＣＤ１０２、ＴＲＥＭ－１、－６Ｒ、ＴＲＥＭ－２、ＣＸＣＲｌ／ＩＬ－８ＲＡ、ＴＲＥＭ－３、またはＴＲＥＭＬ１／ＴＬＴ－１への標的化により媒介される単球／マクロファージに対する指向性をもつ標的化部分を有する。

【０２３８】

一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、例えば、Ｂ７－Ｈ１、ＣＤ３１／ＰＥＣＡＭ－１、ＣＤ１６３、ＣＣＲ２、またはマクロファージマンノース受容体ＣＤ２０６への標的化により媒介される、単球／マクロファージに対する指向性をもつ標的化部分を有する。

【０２３９】

一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体など

のキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、例えば、ＳＩＲＰ１ａへの標的化により媒介される、単球／マクロファージに対する指向性をもつ標的化部分を有する。ある実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、マクロファージ上のＳＩＲＰ１ａに対する指向性をもつ標的化部分及び腫瘍細胞上のＰＤ－Ｌ１またはＰＤ－Ｌ２に対する指向性をもつ第２の標的化部分を有する。

【０２４０】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、チェックポイントマーカー、例えば、ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１またはＰＤ－Ｌ２、ＣＤ２８／ＣＤ８０またはＣＤ８６、ＣＴＬＡ４／ＣＤ８０またはＣＤ８６、ＩＣＯＳ／ＩＣＯＳＬまたはＢ７ＲＰ１、ＢＴＬＡ／ＨＶＥＭ、ＫＩＲ、ＬＡＧ３、ＣＤ１３７／ＣＤ１３７Ｌ、ＯＸ４０／ＯＸ４０Ｌ、ＣＤ２７、ＣＤ４０Ｌ、ＴＩＭ３／Ｇａｌ９、ＣＤ４７、ＣＤ７０、及びＡ２ａＲの１種以上に対する指向性をもつ１種以上の標的化部分を有する。

【０２４１】

いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、同一のまたは異なる免疫細胞に対する指向性をもつ１種以上の標的化部分を含む。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）と共に、Ｔ細胞、Ｂ細胞、樹状細胞、マクロファージ、ＮＫ細胞、またはこれらのサブセットから選択される免疫細胞に対する指向性をもつ１種以上の標的化部分を有する。

【０２４２】

一実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、腫瘍細胞に対する指向性を有する標的化部分を含む。かかる実施形態において、上記標的化部分は、本明細書に記載のいずれかの腫瘍抗原に結合することができる。

【０２４３】

いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、脂肪細胞（例えば、白色脂肪細胞、褐色脂肪細胞）、肝臓脂質細胞、肝臓細胞、腎臓細胞（例えば、腎臓壁細胞、腎臓唾液腺、乳腺など）、導管細胞（精嚢、前立腺などの）、腸管刷子縁細胞（微絨毛を有する）、外分泌腺線条導管細胞、胆嚢上皮細胞、小遠心路非線毛細胞、精巣上体主部細胞、精巣上体基底細胞、内皮細胞、エナメル芽上皮細胞（歯のエナメル質分泌）、耳の前庭系の半月面上皮細胞（プロテオグリカン分泌）、コルチ器官歯間上皮細胞（有毛細胞を覆う蓋膜分泌）、疎性結合組織線維芽細胞、角膜線維芽細胞（角膜実質細胞）、腱線維芽細胞、骨髄網状組織線維芽細胞、非上皮性線維芽細胞、周皮細胞、椎間板の髄核細胞、セメント芽細胞（ｃｅｍｅｎｔｏｂｌａｓｔ）／セメント芽細胞（ｃｅｍｅｎｔｏｃｙｔｅ）（歯根骨様イワン細胞分泌）、象牙芽細胞／オドントサイト（ｏｄｏｎｔｏｃｙｔｅ）（歯象牙質分泌）、ガラス軟骨細胞、繊維軟骨細胞、弾性軟骨細胞、骨芽細胞／骨細胞、骨前駆体細胞（骨芽細胞の幹細胞）、眼の硝子体の硝子体細胞、耳の外リンパ腔の星状細胞、肝臓星状細胞（Ｉｔｏ細胞）、膵臓星状細胞、骨格筋細胞、衛星細胞、心筋細胞、平滑筋細胞、虹彩の筋上皮細胞、外分泌腺の筋上皮細胞、外分泌物分泌性上皮細胞（例えば、唾液腺細胞、乳腺細胞、涙腺細胞、汗腺細胞、皮脂腺細胞、前立腺細胞、胃腺細胞、膵腺房細胞、肺細胞）、ホルモン分泌細胞（例えば、下垂体細胞、神経分泌細胞、腸管及び気道細胞、甲状腺細胞、副甲状腺細胞、副腎細胞、精巣のライディッヒ細胞、膵島細胞）、角質化上皮細胞、湿性層化バリア上皮細胞、神経細胞（例えば、感覚変換器細胞、自律神経ニューロン細胞、感覚器官及び周辺神経支持細胞、及び中枢神経系ニューロン、ならびに介在ニューロン、主細胞、星状膠細胞、乏突起膠細胞、及び上衣細胞などのグリア細胞）から選択される１つ

以上の細胞上に見出されるものを含む目的の標的（例えば、抗原、受容体）に結合する認識ドメインを有する１種以上の標的化部分を含む。

【０２４４】

標的化部分フォーマット

いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の標的化部分は、抗体またはその誘導体などの、特異的結合ができるタンパク質系物質である。ある実施形態では、標的化部分は、抗体を含む。種々の実施形態では、抗体は、２つの重鎖及び２つの軽鎖を含む、完全長多量体タンパク質である。それぞれの重鎖は、１個の可変領域（例えば、V_H）及び少なくとも３つの定常領域（例えば、CH_1、CH_2及びCH_3）を含み、それぞれの軽鎖は、１個の可変領域（V_L）及び１個の定常領域（C_L）を含む。可変領域は、抗体の特異性を決定する。それぞれの可変領域は、４個の比較的保存されたフレームワーク領域（ＦＲ）により隣接される、相補性決定領域（ＣＤＲ）としても知られる、３個の高頻度可変領域を含む。３個のＣＤＲは、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３と呼ばれ、抗体の結合特異性に寄与する。いくつかの実施形態では、抗体は、キメラ抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト化抗体である。

【０２４５】

いくつかの実施形態では、上記標的化部分は、抗体誘導体またはフォーマットを含む。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の標的化部分は、単一ドメイン抗体、組み換え型の重鎖のみで構成される抗体（重鎖抗体）（ＶＨＨ）、一本鎖抗体（ｓｃＦｖ）、サメの重鎖のみで構成される抗体（ＶＮＡＲ）、マイクロプロテイン（システインノットプロテイン、ノッチン）、ダルピン；テトラネクチン；アフィボディ；トランスボディ；アンチカリン；アドネクチン；アフィリン；ミクロボディ；ペプチドアプタマー；ａｌｔｅｒａｓｅ；プラスチック抗体；フィロマー；ストラドボディ；マキシボディ；エビボディ；フィノマー；アルマジロリピートタンパク質（ａｒｍａｄｉｌｌｏ　ｒｅｐｅａｔ　ｐｒｏｔｅｉｎ）；クニッツドメイン、アビマー、ア三量体、プロボディ、イムノボディ、トリオマブ、トロイボディ、ペプボディ、ワクシボディ、ユニボディ；アフィマー、デュオボディ、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、ペプチド模倣分子、または合成分子である。これらは、その全内容が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第７，４１７，１３０号、米国特許出願公開第２００４／１３２０９４号、米国特許第５，８３１，０１２号、米国特許出願公開第２００４／０２３３３４号、米国特許第７，２５０，２９７号、米国特許第６，８１８，４１８号、米国特許出願公開第２００４／２０９２４３号、米国特許第７，８３８，６２９号、米国特許第７，１８６，５２４号、米国特許第６，００４，７４６号、米国特許第５，４７５，０９６号、米国特許出願公開第２００４／１４６９３８号、米国特許出願公開第２００４／１５７２０９号、米国特許第６，９９４，９８２号、米国特許第６，７９４，１４４号、米国特許出願公開第２０１０／２３９６３３号、米国特許第７，８０３，９０７号、米国特許出願公開第２０１０／１１９４４６号、及び／または米国特許第７，１６６，６９７号に記載されている。Ｓｔｏｒｚ　ＭＡｂｓ．２０１１　Ｍａｙ－Ｊｕｎ；３（３）：３１０－３１７も参照されたい。

【０２４６】

一実施形態では、標的化部分は、例えば、ラクダ類、サメなどのＶＨＨ抗体を産生する生物由来のＶＨＨ、または設計されたＶＨＨなどの単一ドメイン抗体を含む。ＶＨＨは、天然起源の重鎖抗体の特有の構造及び機能特性を含む、抗体由来の治療用タンパク質である。ＶＨＨ技術は、軽鎖を欠くラクダ類由来の完全に機能的な抗体をベースにしている。これらの重鎖抗体は、単一可変ドメイン（ＶＨＨ）及び２つの定常ドメイン（ＣＨ２及びＣＨ３）を含む。ＶＨＨは、ＮＡＮＯＢＯＤＹまたはＮＡＮＯＢＯＤＩＥＳの登録商標で市販されている。

【０２４７】

ある実施形態では、標的化部分は、ＶＨＨを含む。いくつかの実施形態では、ＶＨＨは

、ヒト化ＶＨＨまたはラクダ化ＶＨＨである。
【０２４８】
いくつかの実施形態では、ＶＨＨは、完全ヒトV_Hドメイン、例えば、ヒューマボディ（Ｃｒｅｓｃｅｎｄｏ Ｂｉｏｌｏｇｉｃｓ，Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ，ＵＫ）を含む。いくつかの実施形態では、完全ヒトＶＨドメイン、例えば、ヒューマボディは、一価、二価、または三価である。いくつかの実施形態では、完全ヒトＶＨドメイン、例えば、ヒューマボディは、単一特異性、二重特異性、または三重特異性などの単一特異性または多重特異性である。例示完全ヒトV_Hドメイン、例えば、ヒューマボディは、例えば、国際公開第２０１６／１１３５５５号及び国際公開第２０１６／１１３５５７号に記載されている。これらの全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。
【０２４９】
種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の標的化部分は、細胞受容体のための天然リガンドなどの細胞受容体に特異的に結合できるタンパク質系物質である。種々の実施形態では、細胞受容体は、１つ以上の免疫細胞上に見つけることができ、免疫細胞としては、限定されないが、Ｔ細胞、細胞傷害性Ｔリンパ球、ヘルパーＴ細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、ナチュラルキラーＴ（ＮＫＴ）細胞、抗腫瘍マクロファージ（例えば、Ｍ１マクロファージ）、Ｂ細胞、樹状細胞、またはこれらのサブセットを含め得る。いくつかの実施形態では、細胞受容体は、巨核球、血小板、赤血球、マスト細胞、好塩基球、好中球、好酸球、またはこれらのサブセット上に認められる。
【０２５０】
いくつかの実施形態では、標的化部分はケモカインなどの天然リガンドである。本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体中に含め得るケモカインの例としては、限定されないが、ＣＣＬ１、ＣＣＬ２、ＣＣＬ４、ＣＣＬ５、ＣＣＬ６、ＣＣＬ７、ＣＣＬ８、ＣＣＬ９、ＣＣＬ１０、ＣＣＬ１１、ＣＣＬ１２、ＣＣＬ１３、ＣＣＬ１４、ＣＣＬ１５、ＣＣＬ１６、ＣＬ１７、ＣＣＬ１８、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２０、ＣＣＬ２１、ＣＣＬ２２、ＣＣＬ２３、ＣＣＬ２４、ＣＬＬ２５、ＣＣＬ２６、ＣＣＬ２７、ＣＸＣＬ１、ＣＸＣＬ２、ＣＸＣＬ３、ＣＸＣＬ４、ＣＸＣＬ５、ＣＸＣＬ６、ＣＸＣＬ７、ＣＸＣＬ８、ＣＸＣＬ９、ＣＸＣＬ１０、ＣＸＣＬ１１、ＣＸＣＬ１２、ＣＸＣＬ１３、ＣＸＣＬ１４、ＣＸＣＬ１５、ＣＸＣＬ１６、ＣＸＣＬ１７、ＸＣＬ１、ＸＣＬ２、ＣＸ３ＣＬ１、ＨＣＣ－４、及びＬＤＧＦ－ＰＢＰが挙げられる。例示的実施形態では、標的化部分は、樹状細胞受容体ＸＣＲ１を認識し、結合するケモカインであるＸＣＬ１であり得る。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ８を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ１である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ２またはＣＣＲ９を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ２である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ１、ＣＣＲ５、またはＣＣＲ９を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ３である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ１またはＣＣＲ５またはＣＣＲ９を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ４である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ１またはＣＣＲ３またはＣＣＲ４またはＣＣＲ５を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ５である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ１を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ６である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ２またはＣＣＲ９を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ７である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ１またはＣＣＲ２またはＣＣＲ２ＢまたはＣＣＲ５またはＣＣＲ９を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ８である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ１を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ９である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ１を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ１０である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ２またはＣＣＲ３またはＣＣＲ５またはＣＣＲ９を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ１１である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ２またはＣＣＲ３またはＣＣＲ５またはＣＣＲ９を認識し、結合するケモカインであ

るＣＣＬ１３である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ１またはＣＣＲ９を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ１４である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ１またはＣＣＲ３を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ１５である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、またはＣＣＲ５、またはＣＣＲ８を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ１６である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ４を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ１７である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ７を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ１９である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ６を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ２０である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ７を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ２１である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ４を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ２２である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ１を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ２３である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ３を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ２４である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ９を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ２５である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ３を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ２６である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ１０を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ２７である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＣＲ３またはＣＣＲ１０を認識し、結合するケモカインであるＣＣＬ２８である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＸＣＲ１またはＣＸＣＲ２を認識し、結合するケモカインであるＣＸＣＬ１である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＸＣＲ２を認識し、結合するケモカインであるＣＸＣＬ２である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＸＣＲ２を認識し、結合するケモカインであるＣＸＣＬ３である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＸＣＲ３Ｂを認識し、結合するケモカインであるＣＸＣＬ４である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＸＣＲ２を認識し、結合するケモカインであるＣＸＣＬ５である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＸＣＲ１またはＣＸＣＲ２を認識し、結合するケモカインであるＣＸＣＬ６である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＸＣＲ１またはＣＸＣＲ２を認識し、結合するケモカインであるＣＸＣＬ８である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＸＣＲ３を認識し、結合するケモカインであるＣＸＣＬ９である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＸＣＲ３を認識し、結合するケモカインであるＣＸＣＬ１０である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＸＣＲ３またはＣＸＣＲ７を認識し、結合するケモカインであるＣＸＣＬ１１である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＸＣＲ４またはＣＸＣＲ７を認識し、結合するケモカインであるＣＸＣＬ１２である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＸＣＲ５を認識し、結合するケモカインであるＣＸＣＬ１３である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＸＣＲ６を認識し、結合するケモカインであるＣＸＣＬ１６である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＸＣＲ２を認識し、結合するケモカインであるＬＤＧＦ－ＰＢＰである。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＸＣＲ１を認識し、結合するケモカインであるＸＣＬ２である。別の例示的実施形態では、標的化部分は、ＣＸ３ＣＲ１を認識し、それに結合するケモカインであるＣＸ３ＣＬ１である。

【０２５１】

いくつかの実施形態では、標的化部分は、ＦＭＳ様チロシンキナーゼ３リガンド（Ｆｌｔ３Ｌ）またはその切り詰められた領域（例えば、Ｆｌｔ３を結合できる領域）などの天然リガンドである。いくつかの実施形態では、標的化部分は、Ｆｌｔ３Ｌの細胞外ドメインである。いくつかの実施形態では、標的化部分は、Ｆｌｔ３Ｌドメインを含み、Ｆｌｔ３Ｌドメインは、単鎖二量体であり、任意選択で、１個のＦｌｔ３Ｌドメインは１つ以上のリンカーを介して他のＦｌｔ３Ｌドメインに連結され、リンカーは、フレキシブルリンカーである。いくつかの実施形態では、本発明の標的化部分は、Ｆｌｔ３Ｌドメインを含み、Ｆｌｔ３Ｌドメインは、単鎖二量体及びＦｃドメインであり、Ｆｃドメインは任意選択で、Ｆｃドメインの１つ以上のエフェクター機能を低減または排除する、Ｆｃドメイン

中のＦｃ鎖対形成を促進する、及び／またはＦｃドメイン中のヒンジ領域を安定化する、１つ以上の変異を有する。いくつかの実施形態では、標的化部分は、ＣＤ２０を認識する。いくつかの実施形態では、標的化部分は、ＰＤ－Ｌ１を認識する。いくつかの実施形態では、標的化部分は、Ｃｌｅｃ９Ａを認識する。

【０２５２】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、種々の組み合わせの標的化部分を含む。例示的実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、２個の標的化部分を含み得、両方の標的化部分は、抗体またはその誘導体である。別の例示的実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、２個の標的化部分を含み得、両方の標的化部分は、細胞受容体のための天然リガンドである。さらなる例示的実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、２個の標的化部分を含み得、標的化部分の１個は、抗体またはこれらの誘導体であり、もう１個は、細胞受容体のための天然リガンドである。

【０２５３】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の認識ドメインは、目的の標的（例えば、抗原、受容体）を機能的に調節する（非限定例であるが、部分的にまたは完全に中和する）、例えば、抗原が有する生物学的作用を実質的に抑制、低減、または中和する。例えば、種々の認識ドメインは、例えば、腫瘍を有する患者の免疫系を積極的に抑制する、または抑制する能力を有する１種以上の腫瘍抗原に対する指向性を有していてもよい。例えば、いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、免疫抑制シグナル（例えば、チェックポイント阻害剤）、例えば、ＴＩＭ－３、ＢＴＬＡ、ＰＤ－１、ＣＴＬＡ－４、Ｂ７－Ｈ４、ＧＩＴＲ、ｇａｌｅｃｔｉｎ－９、ＨＶＥＭ、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤ２４４、ＣＤ１６０、ＴＩＧＩＴ、ＳＩＲＰα、ＩＣＯＳ、ＣＤ１７２ａ、及びＴＭＩＧＤ２の１種以上を機能的に調節する。例えば、いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、免疫抑制シグナルの伝達、非限定的例であるが、ＰＤ－１とＰＤ－Ｌ１またはＰＤ－Ｌ２との結合、及び／またはＣＴＬＡ－４とＡＰ２Ｍ１、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＳＨＰ－２、及びＰＰＰ２Ｒ５Ａの１種以上との結合、を妨害、遮断、低減、及び／または抑制するように、遺伝子改変される。

【０２５４】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の認識ドメインは、目的の標的（例えば、抗原、受容体）を結合するが、機能的に調節せず、例えば、認識ドメインは、結合抗体であるか、または結合抗体に類似である。例えば、種々の実施形態では、認識ドメインは、抗原または受容体を標的とするのみであり、抗原または受容体が有する生物学的作用を実質的に阻害、低減または機能的に調節しない。例えば、いくつかの上記の抗体フォーマット（例えば、完全抗体に比較して）は、アクセスが困難なエピトープを標的とする能力を有し、より広範囲の特異的結合場面を提供する。種々の実施形態では、認識ドメインは、その生物活性にとって重要な抗原または受容体部位（例えば、抗原の活性部位）から物理的に離れたエピトープに結合する。

【０２５５】

かかる非中和結合は、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体が直接的にまたは間接的に活性免疫細胞をエフェクター抗原を介して必要な部位にリクルートするために用いられる方法を含む、本発明の種々の実施形態で使用される。例えば、種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、腫瘍を縮小させるまたは

排除する方法において、腫瘍細胞にＣＤ８を介して細胞傷害性Ｔ細胞を直接的または間接的にリクルートするために使われ得る（例えば、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、抗ＣＤ８認識ドメイン及び腫瘍抗原に対する認識ドメインを含み得る）。このような実施形態では、直接的または間接的にＣＤ８発現細胞傷害性Ｔ細胞をリクルートするが、ＣＤ８活性を機能的に調節しないのが望ましい。これに対して、これらの実施形態では、ＣＤ８シグナル伝達は、腫瘍を低減させるまたは排除する作用の重要な部分である。さらなる例として、種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、Ｃｌｅｃ９Ａを介して、樹状細胞（ＤＣ）を直接的または間接的にリクルートするために使われる（例えば、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、抗Ｃｌｅｃ９Ａ認識ドメイン及び腫瘍抗原に対する認識ドメインを含み得る）。このような実施形態では、直接的または間接的にＣｌｅｃ９Ａ発現細胞ＤＣをリクルートするが、Ｃｌｅｃ９Ａ活性を機能的に調節しないのが望ましい。これに対して、これらの実施形態では、Ｃｌｅｃ９Ａシグナル伝達は、腫瘍を低減させるまたは排除する作用の重要な部分である。

【０２５６】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の認識ドメインは、例えば、樹状細胞上のＸＣＲ１に結合する。例えば、認識ドメインは、いくつかの実施形態では、ＸＣＬ１の全部もしくは一部または非中和性の抗ＸＣＲ１物質を含む。

【０２５７】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の認識ドメインは、免疫調節抗原（例えば、免疫刺激性抗原または免疫抑制性抗原）に結合する。種々の実施形態では、免疫調節抗原は、４－１ＢＢ、ＯＸ－４０、ＨＶＥＭ、ＧＩＴＲ、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＩＣＯＳリガンド；ＯＸ－４０リガンド、ＬＩＧＨＴ（ＣＤ２５８）、ＧＩＴＲリガンド、ＣＤ７０、Ｂ７－１、Ｂ７－２、ＣＤ３０リガンド、ＣＤ４０リガンド、ＩＣＯＳ、ＩＣＯＳリガンド、ＣＤ１３７リガンド及びＴＬ１Ａの１種以上である。種々の実施形態では、免疫刺激抗原は、腫瘍細胞上で発現される。種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の認識ドメインは、このような免疫刺激抗原を結合するが、機能的に調節せず、従って、これらの抗原を発現している細胞のリクルートを、潜在的な腫瘍低減または排除能力の低減または損失なしに可能にする。

【０２５８】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の認識ドメインは、中和活性を有する２個の認識ドメインを含む、または非中和（例えば、結合）活性を有する２個の認識ドメイン、または中和活性を有する１個の認識ドメイン及び非中和（例えば、結合）活性を有する１個の認識ドメインを含む、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体に関連し得る。

【０２５９】

Ｆｃドメイン

フラグメント結晶化可能ドメイン（Ｆｃドメイン）は、免疫系、例えば、Ｂリンパ球、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、マクロファージ、好中球、好酸球、好塩基球、及びマスト細胞に関与する細胞の細胞表面上に位置するＦｃ受容体と相互作用する抗体のテール領域である。ＩｇＧ、ＩｇＡ及びＩｇＤ抗体アイソタイプでは、Ｆｃドメインは、抗体の２個の重鎖の第２及び第３の定常ドメイン由来の、２個の同一のタンパク質フラグメントで構成される。ＩｇＭ及びＩｇＥ抗体アイソタイプでは、Ｆｃドメインは、各ポリペプチド鎖中の３個の重鎖定常ドメイン（C_Hドメイン２～４）を含む。

【０２６０】

いくつかの実施形態では、本技術のＦｃ系キメラタンパク質複合体は、ＦｃドメインをＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＭ、またはＩｇＥから選択される。いくつかの実施形態では、ＦｃドメインはＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、またはＩｇＧ４から選択される。

【０２６１】

いくつかの実施形態では、ＦｃドメインはヒトＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＭ、またはＩｇＥから選択される。いくつかの実施形態では、ＦｃドメインはヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、またはＩｇＧ４から選択される。

【０２６２】

いくつかの実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体のＦｃドメインはＩｇＧのＣＨ２及びＣＨ３領域を含む。一部の実施形態では、ＩｇＧはヒトＩｇＧである。いくつかの実施形態では、ヒトＩｇＧは、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、またはＩｇＧ４から選択される。

【０２６３】

いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、１つ以上の変異を含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインに対する変異は、Ｆｃドメインのエフェクター機能を低減または排除する。いくつかの実施形態では、変異Ｆｃドメインは、標的受容体に対する低減された親和性または結合を有する。例えば、いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインに対する変異は、ＦｃγＲへのＦｃドメインの結合を低減または排除する。いくつかの実施形態では、ＦｃγＲは、ＦｃγＲＩ；ＦｃγＲＩＩａ、１３１Ｒ／Ｒ；ＦｃγＲＩＩａ，１３１Ｈ／Ｈ、ＦｃγＲＩＩｂ；及びＦｃγＲＩＩＩから選択される、いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインに対する変異は、例えば、Ｃ１ｑなどの相補体タンパク質への結合を低減または排除する。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインに対する変異は、ＦｃγＲ及び例えば、Ｃ１ｑなどの相補体タンパク質の両方への結合を低減または排除する。

【０２６４】

いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、ＬＡＬＡ変異を含み、Ｆｃドメインのエフェクター機能を低減または排除する。例えば、いくつかの実施形態では、ＬＡＬＡ変異は、ヒトＩｇＧ（例えば、ＩｇＧ１）中にＬ２３４Ａ及びＬ２３５Ａ置換を含む（ナンバリングは、ＥＵ規則（ＰＮＡＳ，Ｅｄｅｌｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９６９；６３（１）７８－８５））に準拠して、ヒトＩｇＧ１に対しよく使われるＣＨ２残基のナンバリングを基準にする）。

【０２６５】

いくつかの実施形態では、ヒトＩｇＧのＦｃドメインは、位置４６に変異を含み、Ｆｃドメインのエフェクター機能を低減または排除する。例えば、いくつかの実施形態では、変異は、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３４Ｆ、Ｌ２３５Ａ、Ｌ２３５Ｅ、Ｌ２３５Ｑ、Ｋ３２２Ａ、Ｋ３２２Ｑ、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ｇ、Ｐ３２９Ａ、Ｐ３３１Ｇ、及びＰ３３１Ｓから選択される。

【０２６６】

いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、ＦＡＬＡ変異を含み、Ｆｃドメインのエフェクター機能を低減または排除する。例えば、いくつかの実施形態では、ＦＡＬＡ変異は、ヒトＩｇＧ４中のＦ２３４Ａ及びＬ２３５Ａ置換を含む。

【０２６７】

いくつかの実施形態では、ヒトＩｇＧ４のＦｃドメインは、Ｆ２３４、Ｌ２３５、Ｋ３２２、Ｄ２６５、及びＰ３２９の内の１つ以上の位置で変異を含み、Ｆｃドメインのエフェクター機能を低減または排除する。例えば、いくつかの実施形態では、変異は、Ｆ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｌ２３５Ｅ、Ｌ２３５Ｑ、Ｋ３２２Ａ、Ｋ３２２Ｑ、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ｇ、及びＰ３２９Ａから選択される。

【０２６８】

いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインに対する変異は、Ｆｃドメインのヒンジ領域を安定化する。例えば、いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、ヒトＩｇＧのＳ２２８

の位置に変異を含み、ヒンジ領域を安定化する。いくつかの実施形態では、変異はＳ２２８Ｐである。

【０２６９】

いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインに対する変異は、Ｆｃドメインの鎖対形成を促進する。いくつかの実施形態では、鎖対形成は、イオン対形成（ａ／ｋ／ａ荷電対、イオン結合、または荷電残基対）により促進される。

【０２７０】

いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、イオン対形成を促進するために、次のもう１個のＩｇＧのアミノ酸残基の位置に変異を含む：Ｄ３５６、Ｅ３５７、Ｌ３６８、Ｋ３７０、Ｋ３９２、Ｄ３９９、及びＫ４０９。

【０２７１】

例えば、いくつかの実施形態では、ヒトＩｇＧ　Ｆｃドメインは、イオン対形成を促進するために、表１中の変異の組み合わせの１個を含む。

【０２７２】

【表１】

表１	
片方のＦｃ鎖上の置換	もう一方のＦｃ鎖上の置換
D356K D399K	K392D K409D
E357R L368R	K370D K409D
E357R L368K	K370D K409D
E357R D399K	K370D K409D
E357R	K370D
L368R D399K	K392D K409D
L368K D399K	K392D K409D
L368R D399K	K409D
L368K D399K	K409D
L368R	K409D
L368K	K409D
K370D K409D	E357R D399K
K370D K409D	E357R L368R
K370D K409D	E357R L368K
K370D K409D	E357R D399K
K370D K409D	E357R L368R
K370D K409D	E357R L368K
K370D	E357R
K370D	E357R
K392D K409D	D356K D399K
K392D K409D	L368R D399K
K392D K409D	L368K D399K
K392D K409D	D399K
D399K	K392D K409D
D399K	K409D
K409D	L368R
K409D	L368K
K409D	L368R D399K
K409D	L368K D399K
K409D	L368R
K409D	L368K
K409D	L368R D399K
K409D	L368K D399K
K409D	D399K

【０２７３】

いくつかの実施形態では、鎖対形成は、ノブ・イン・ホール変異により促進される。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、１つ以上の変異を含み、Ｆｃドメイン中のノブ・イン・ホール相互作用を可能にする。いくつかの実施形態では、第１のＦｃ鎖は、「ノブ」を発現するように改変され、第２のＦｃ鎖は、相補的「ホール」を発現するように改変される。例えば、いくつかの実施形態では、ヒトＩｇＧ　Ｆｃドメインは、表２の変異を含み、ノブ・イン・ホール相互作用を可能にする。

【０２７４】

【表２】

表２	
片方のＦｃ鎖上の置換	もう一方のＦｃ鎖上の置換
T366Y	Y407T
T366Y/F405A	T394W/Y407T
T366W	Y407A
T366W	Y407V
T366Y	Y407A
T366Y	Y407V
T366Y	Y407T

【０２７５】
いくつかの実施形態では、本技術のＦｃ系キメラタンパク質複合体中のＦｃドメインは、上記で開示の変異の任意の組み合わせを含む。例えば、いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、イオン対形成及び／またはノブ・イン・ホール相互作用を促進する変異を含む。例えば、いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、次の特性の内の１個または複数を有する変異を含む：イオン対形成を促進する、ノブ・イン・ホール相互作用を誘導する、Ｆｃドメインのエフェクター機能を低減または排除する、及びＦｃ安定化（例えば、ヒンジ）をもたらす。
【０２７６】
例えば、いくつかの実施形態では、ヒトＩｇＧ　Ｆｃドメインは、表３に開示の変異を含み、それらはＦｃドメイン中のイオン対形成を促進し、及び／またはノブ・イン・ホール相互作用を促進する。
【０２７７】

【表３－１】

表３	
片方のＦｃ鎖上の置換	もう一方のＦｃ鎖上の置換
T366W K370D	E357R Y407A
T366W K370D	E357R Y407V
T366W K409D	L368R Y407A
T366W K409D	L368R Y407V
T366W K409D	L368K Y407A
T366W K409D	L368K Y407V
T366W K409D	L368R D399K Y407A
T366W K409D	L368R D399K Y407V
T366W K409D	L368K D399K Y407A
T366W K409D	L368K D399K Y407V
T366W K409D	D399K Y407A
T366W K409D	D399K Y407V
T366W K392D K409D	D399K Y407A
T366W K392D K409D	D399K Y407V
T366W K392D K409D	D356K D399K Y407A
T366W K392D K409D	D356K D399K Y407V
T366W K370D K409D	E357R D399K Y407A
T366W K370D K409D	E357R D399K Y407V
T366W K370D K409D	E357R L368R Y407A
T366W K370D K409D	E357R L368R Y407V
T366W K370D K409D	E357R L368K Y407A
T366W K370D K409D	E357R L368K Y407V
T366W K392D K409D	L368R D399K Y407A
T366W K392D K409D	L368R D399K Y407V
T366W K392D K409D	L368K D399K Y407A
T366W K392D K409D	L368K D399K Y407V
E357R T366W	K370D Y407A
E357R T366W	K370D Y407V
T366W L368R	Y407A K409D
T366W L368R	Y407V K409D
T366W L368K	Y407A K409D
T366W L368K	Y407V K409D

【０２７８】

【表３－２】

T366W L368R D399K	Y407A K409D
T366W L368R D399K	Y407V K409D
T366W L368K D399K	Y407A K409D
T366W L368K D399K	Y407V K409D
T366W D399K	Y407A K409D
T366W D399K	Y407V K409D
1366W D399K	K392D Y407A K409D
T366W D399K	K392D Y407V K409D
T366W D356K D399K	K392D Y407A K409D
T366W D356K D399K	K392D Y407V K409D
E357R T366W D399K	K370D Y407A K409D
E357R T366W D399K	K370D Y407V K409D
E357R T366W L368R	K370D Y407A K409D
E357R T366W L368R	K370D Y407V K409D
E357R T366W L368K	K370D Y407A K409D
E357R T366W L368K	K370D Y407V K409D
T366W L368R D399K	K392D Y407A K409D
T366W L368R D399K	K392D Y407V K409D
T366W L368K D399K	K392D Y407A K409D

【０２７９】

例えば、いくつかの実施形態では、ヒトＩｇＧ　Ｆｃドメインは、表４に開示の変異を含み、それらはＦｃドメインのイオン対形成を促進し、及び／またはノブ・イン・ホール相互作用を促進し、またはこれらの組み合わせを促進する。いくつかの実施形態では、表４の「鎖１」及び「鎖２」は、入れ替え可能である（例えば、鎖１はＹ４０７Ｔを有することができ、鎖２はＴ３６６Ｙを有することができる）。

【０２８０】

【表４－１】

表４			
鎖１変異	鎖２変異	文献	IgG
T366Y	Y407T	Ridgway *et al.*, 1996 Protein Engineering, Design and Selection, Volume 9, Issue 7, 1 July 1996, Pages 617－62	IgG1
T366Y/F405A	T394W/Y407T	Ridgway *et al.*, 1996 Protein Engineering, Design and Selection, Volume 9, Issue 7, 1 July 1996, Pages 617－62	IgG1
T366W	Y407A	Atwell *et al.*, 1997 JMB Volume 270, Issue 1, 4 July 1997, Pages 26－35	IgG1
T366W	T366S/L368V/Y407A	Atwell *et al.*, 1997 JMB Volume 270, Issue 1, 4 July 1997, Pages 26－35	IgG1
T366W	L368A/Y407A	Atwell *et al.*, 1997 JMB Volume 270, Issue 1, 4 July 1997, Pages 26－35	IgG1
T366W	T366S/L368A/Y407A	Atwell *e t al.*, 1997 JMB Volume 270, Issue 1, 4 July 1997, Pages 26－35	IgG1
T366W	T366S/L368G/Y407V	Atwell *et al.*, 1997 JMB Volume 270, Issue 1, 4 July 1997, Pages 26－35	IgG1
T366W/D399C	T366S/L368A/K392C/Y407V	Merchant *et al.*, 1998 Nature Biotechnology volume 16, pages 677－681 (1998)	IgG1
T366W/K392C	T366S/L368A/D399C/Y407V	Merchant *et al.*, 1998 Nature Biotechnology volume 16, pages 677－681 (1998)	IgG1
S354C/T366W	Y349C/T366S/L368A/Y407V	Merchant *et al.*, 1998 Nature Biotechnology volume 16, pages 677－681 (1998)	IgG1

【０２８１】

【表４－２】

Y349C/T366W	S354C/T366S/L368A/Y407V	Merchant *et al.*, 1998 Nature Biotechnology volume 16, pages 677－681 (1998)	IgG1
E356C/T366W	Y349C/T366S/L368A/Y407V	Merchant *et al.*, 1998 Nature Biotechnology volume 16, pages 677－681 (1998)	IgG1
Y349C/T366W	E356C/T366S/L368A/Y407V	Merchant *et al.*, 1998 Nature Biotechnology volume 16, pages 677－681 (1998)	IgG1
E357C/T366W	Y349C/T366S/L368A/Y407V	Merchant *et al.*, 1998 Nature Biotechnology volume 16, pages 677－681 (1998)	IgG1
Y349C/T366W	E357C/T366S/L368A/Y407V	Merchant *et al.*, 1998 Nature Biotechnology volume 16, pages 677－681 (1998)	IgG1
D339R	K409E	Gunasekaran *et al.*, 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637－19646.	IgG1
D339K	K409E	Gunasekaran *et al.*, 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637－19646.	IgG1
D339R	K409D	Gunasekaran *et al.*, 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637－19646.	IgG1
D339K	K409D	Gunasekaran *et al.*, 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637－19646.	IgG1

【０２８２】

【表４－３】

D339K	K360D/K409E	Gunasekaran *et al.*, 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637－19646.	IgG1
D339K	K392D/K409E	Gunasekaran *et al.*, 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637－19646.	IgG1
D339K/E356K	K392D/K409E	Gunasekaran *et al.*, 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637－19646.	IgG1
D339K/E357K	K392D/K409E	Gunasekaran *et al.*, 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637－19646.	IgG1
D339K/E356K	K409E/K439D	Gunasekaran *et al.*, 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637－19646.	IgG1
D339K/E357K	K370D/K409E	Gunasekaran *et al.*, 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637－19646.	IgG1
D339K/E356K/E357K	K370D/K392D/K409E	Gunasekaran *et al.*, 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637－19646.	IgG1
S364H/F405A	Y349T/T394F	Moore *et al.*, 2011 mAbs, 3:6, 546－557	IgG1
S364H/T394F	Y349T/F405A	Moore *et al.*, 2011 mAbs, 3:6, 546－557	IgG1
D221R/P228R/K409R	D221E/P228E/L368E	Strop *et al.*, 2012 JMB Volume 420, Issue 3, 13 July 2012, Pages 204－219	IgG1
C223R/E225R/P228R/K409R	C223E/P228E/L368E	Strop *et al.*, 2012 JMB Volume 420, Issue 3, 13 July 2012, Pages 204－219	IgG2

【０２８３】

【表４－４】

F405L	K409R	Labrijn *et al.*, 2013 PNAS March 26, 2013. 110 (13) 5145－5150	IgG1
F405A/Y407V	T394W	Von Kreudenstein *et al.*, 2013 mAbs Volume 5, 2013 － Issue 5, pp.644－654	IgG1
F405A/Y407V	T366I/T394W	Von Kreudenstein *et al.*, 2013 mAbs Volume 5, 2013 － Issue 5, pp.644－654	IgG1
F405A/Y407V	T366L/T394W	Von Kreudenstein *et al.*, 2013 mAbs Volume 5, 2013 － Issue 5, pp.644－654	IgG1
F405A/Y407V	T366L/K392M/T394W	Von Kreudenstein *et al.*, 2013 mAbs Volume 5, 2013 － Issue 5, pp.644－654	IgG1
L351Y/F405A/Y407V	T366L/K392M/T394W	Von Kreudenstein *et al.*, 2013 mAbs Volume 5, 2013 － Issue 5, pp.644－654	IgG1
T350V/L351Y/F405A/Y407V	T350V/T366L/K392M/T394W	Von Kreudenstein *et al.*, 2013 mAbs Volume 5, 2013 － Issue 5, pp.644－654	IgG1
T350V/L351Y/F405A/Y407V	T350V/T366L/K392L/T394W	Von Kreudenstein *et al.*, 2013 mAbs Volume 5, 2013 － Issue 5, pp.644－654	IgG1
K409W	D339V/F405T	Choi *et al.*, 2013 PNAS January 2, 2013. 110 (1) 270－275	IgG1
K360E	Q347R	Choi *et al.*, 2013 PNAS January 2, 2013. 110 (1) 270－275	IgG1

【０２８４】

【表４－５】

K360E/K409W	D339V/Q347R/F405T	Choi *et al.*, 2013 PNAS January 2, 2013. 110 (1) 270－275	IgG1
Y349C/K360E/K409W	D339V/Q347R/S354C/F405T	Choi *et al.*, 2013 PNAS January 2, 2013. 110 (1) 270－275	IgG1
K392A/K409D	E356K/D399K	Leaver－Fey *et al.*, 2016 Structure Volume 24, Issue 4, 5 April 2016, Pages 641－651	IgG1
T366W	T366S/L358A/Y407A	Leaver－Fey *et al.*, 2016 Structure Volume 24, Issue 4, 5 April 2016, Pages 641－651	IgG1
D339M/Y407A	T336V/K409V	Leaver－Fey *et al.*, 2016 Structure Volume 24, Issue 4, 5 April 2016, Pages 641－651	IgG1
D339M/K360D/Y407A	T336V/E345R/Q347R/K409V	Leaver－Fey *et al.*, 2016 Structure Volume 24, Issue 4, 5 April 2016, Pages 641－651	IgG1
Y349S/T366V/K370Y/K409V	E357D/S364Q/Y407A	Leaver－Fey *et al.*, 2016 Structure Volume 24, Issue 4, 5 April 2016, Pages 641－651	IgG1
Y349S/T366M/K370Y/K409V	E356G/E357D/S364Q/Y407A	Leaver－Fey *et al.*, 2016 Structure Volume 24, Issue 4, 5 April 2016, Pages 641－651	IgG1
Y349S/T366M/K370Y/K409V	E357D/S364R/Y407A	Leaver－Fey *et al.*, 2016 Structure Volume 24, Issue 4, 5 April 2016, Pages 641－651	IgG1
及び米国特許出願公開第20150284475A1号の表1－3中に記載の任意の組み合わせ			

【０２８５】

例えば、いくつかの実施形態では、ヒトＩｇＧ　Ｆｃドメインは、表５に開示の変異を含み、Ｆｃドメイン中のＦｃγＲ及び／または補体結合を低減または排除する。いくつかの実施形態では、表５の変異は両鎖中に存在する。

【０２８６】

【表５－１】

表５		
鎖１変異	文献	IgG
L234A/L235A	Alegre *et al.*, 1994 Transplantation 57:1537－1543	IgG1
F234A/L235A	Alegre *et al.*, 1994 Transplantation 57:1537－1543	IgG4
L235E	Morgan *et al.*, 1995 Immunology.1995 Oct；86(2):319－324.	IgG1
L235E	Morgan *et al.*, 1995 Immunology.1995 Oct；86(2):319－324.	IgG4
L235A	Morgan *et al.*, 1995 Immunology.1995 Oct；86(2):319－324.	IgG1
G237A	Morgan *et al.*, 1995 Immunology.1995 Oct；86(2):319－324.	IgG1
N297H	Tao and Morrison, J. Immunol.1989；143:2595－2601	IgG1
N297Q	Tao and Morrison, J. Immunol.1989；143:2595－2601	IgG1
N297K	Tao and Morrison, J. Immunol.1989；143:2595－2601	IgG3
N297Q	Tao and Morrison, J. Immunol.1989；143:2595－2601	IgG3
D265A	Idusogie *et al.*, 2000 J Immunol April 15, 2000, 164 (8) 4178－4184	IgG1
D270A, V, K	Idusogie *et al.*, 2000 J Immunol April 15, 2000, 164 (8) 4178－4184	IgG1

【０２８７】

【表５－２】

K322A, L, M, D, E	Idusogie *et al.*, 2000 J Immunol April 15, 2000, 164 (8) 4178－4184	IgG1
P329A, X	Idusogie *et al.*, 2000 J Immunol April 15, 2000, 164 (8) 4178－4184	IgG1
P331A, S, G, X	Idusogie *et al.*, 2000 J Immunol April 15, 2000, 164 (8) 4178－4184	IgG1
D265A	Idusogie *et al.*, 2000 J Immunol April 15, 2000, 164 (8) 4178－4184	IgG1
L234A	Hezareh *et al.*, 2001 J. Virol.December 2001 vol. 75 no. 24 12161－12168	IgG1
L234A/L235A	Hezareh *et al.*, 2001 J. Virol.December 2001 vol. 75 no. 24 12161－12168	IgG1
L234F/L235E/P331S	Oganesyan *et al.*, 2008 Acta Cryst.(2008).D64, 700－704	IgG1
H268Q/V309L/A330S/P331S	An *et al.*, 2009 mAbs Volume 1, 2009 － Issue 6, pp. 572－579	IgG1
G236R/L328R	Moore *et al.*, 2011 mAbs Volume 3, 2011 － Issue 6, pp. 546－557	IgG1
N297G	Couch *et al.*, 2013 Sci.Transl.Med., 5 (2013) 183ra57, 1－12	IgG1
N297G/D265A	Couch *et al.*, 2013 Sci.Transl.Med., 5 (2013) 183ra57, 1－12	IgG1
V234A/G237A/P328S/H268A/V309L/A330S/P331S	Vafa *et al.*, 2014 Methods Volume 65, Issue 1, 1 January 2014, Pages 114－126	IgG2
L234A/L235A/P329G	Lo *et al.*, 2016 The Journal of Biological Chemistry 292, 3900－3908	IgG1

【０２８８】

【表５－３】

N297D	Schlothauer *et al.*, 2016 Protein Engineering, Design and Selection, Volume 29, Issue 10, 1 October 2016, Pages 457－466	IgG1
S228P/L235E	Schlothauer *et al.*, 2016 Protein Engineering, Design and Selection, Volume 29, Issue 10, 1 October 2016, Pages 457－466	IgG4
S228P/L235E/P329G	Schlothauer *et al.*, 2016 Protein Engineering, Design and Selection, Volume 29, Issue 10, 1 October 2016, Pages 457－466	IgG4
L234F/L235A/K322Q	Borrok *et al.*, 2017 J Pharm Sci April 2017 Volume 106, Issue 4, Pages 1008－1017	IgG1
L234F/L235Q/P331G	Borrok *et al.*, 2017 J Pharm Sci April 2017 Volume 106, Issue 4, Pages 1008－1017	IgG1
L234F/L235Q/K322Q	Borrok *et al.*, 2017 J Pharm Sci April 2017 Volume 106, Issue 4, Pages 1008－1017	IgG1
L234A/L235A/G237A/P328S/H268A/A330S/P331S	Tam *et al.*, 2017 Open Access Antibodies 2017, 6(3), 12 ; doi:10.3390/antib6030012	IgG1
S228P/F234A/L235A	Tam *et al.*, 2017 Open Access Antibodies 2017, 6(3), 12 ; doi:10.3390/antib6030012	IgG4
S228P/F234A/L235A/G237A/P238S	Tam *et al.*, 2017 Open Access Antibodies 2017, 6(3), 12 ; doi:10.3390/antib6030012	IgG4
S228P/F234A/L235A/G236/G237A/P238S	Tam *et al.*, 2017 Open Access Antibodies 2017, 6(3), 12 ; doi:10.3390/antib6030012	IgG4

【０２８９】
いくつかの実施形態では、本技術のＦｃ系キメラタンパク質複合体中のＦｃドメインは、ホモ二量体であり、すなわち、キメラタンパク質複合体中のＦｃ領域は、２個の同一のタンパク質フラグメントを含む。
【０２９０】
いくつかの実施形態では、本技術のＦｃ系キメラタンパク質複合体中のＦｃドメインは、ヘテロ二量体であり、すなわち、Ｆｃドメインは、２個の同一でないタンパク質フラグメントを含む。
【０２９１】
いくつかの実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃドメインは、本明細書に記載のイオン対形成及び／またはノブ・イン・ホール変異を用いて改変される。いくつかの実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、ｔｒａｎｓ配置／構造を有する。ｔｒａ

ｎｓ配置／構造では、標的化部分及びシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２は、いくつかの実施形態では、本発明のＦｃ系キメラタンパク質複合体中の同じポリペプチド鎖上には認められない。

【０２９２】

いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは野性型ヒトＩｇＧ１のコアヒンジ領域を含むかまたはその領域で始まり、この領域は、配列Ｃｙｓ－Ｐｒｏ－Ｐｒｏ－Ｃｙｓ（配列番号２７６）を含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはまた、上部ヒンジ、またはその一部（例えば、ＤＫＴＨＴＣＰＰＣ（配列番号４５１）（国際公開第２００９０５３３６８号参照）、ＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣ（配列番号４５２）、またはＥＰＫＳＳＤＫＴＨＴＣＰＰＣ（配列番号４５３）（Ｌｏ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ ｖｏｌ．１１ ｎｏ．６ ｐｐ．４９５－５００，１９９８参照））を含む。

【０２９３】

Ｆｃ系キメラタンパク質複合体

本技術のＦｃ系キメラタンパク質複合体は、少なくとも１個の本明細書で開示のＦｃドメイン、少なくとも１種の本明細書で開示のシグナル伝達因子（ＳＡ）、例えばＩＬ－２、及び少なくとも１種の本明細書で開示の標的化部分（ＴＭ）を含む。

【０２９４】

本発明のＦｃ系キメラタンパク質複合体は、それぞれがＦｃドメインを含む２つの融合タンパク質を包含し得ることは理解されている。

【０２９５】

いくつかの実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、ヘテロ二量体である。いくつかの実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、ｔｒａｎｓ配置／構造を有する。いくつかの実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、ｃｉｓ配置／構造を有する。

【０２９６】

いくつかの実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃドメインは、本明細書に記載のイオン対形成及び／またはノブ・イン・ホール変異を用いて改変される。いくつかの実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、ｔｒａｎｓ配置を有する。

【０２９７】

ｔｒａｎｓ配置では、標的化部分及びシグナル伝達因子は、いくつかの実施形態では、本発明のＦｃ系キメラタンパク質複合体中の同じポリペプチド鎖上には認められない。ｔｒａｎｓ配置では、標的化部分及びシグナル伝達因子は、いくつかの実施形態では、本発明のＦｃ系キメラタンパク質複合体中の別々のポリペプチド鎖上に認められる。ｃｉｓ配置では、標的化部分及びシグナル伝達因子は、いくつかの実施形態では、本発明のＦｃ系キメラタンパク質複合体中の同じポリペプチド鎖上に認められる。

【０２９８】

２個以上の標的化部分が本明細書に記載のヘテロ二量体タンパク質複合体中に存在するいくつかの実施形態では、１個の標的化部分は、ｔｒａｎｓ配置（シグナル伝達因子に対し）で存在し、一方、別の標的化部分はｃｉｓ配置（シグナル伝達因子に対し）で存在し得る。いくつかの実施形態では、シグナル伝達因子及び標的化部分は、Ｆｃドメインの同じ末端／側（Ｎ末端またはＣ末端）上に存在する。いくつかの実施形態では、シグナル伝達因子及び標的化部分は、Ｆｃドメインの異なる側／末端（Ｎ末端またはＣ末端）上に存在する。

【０２９９】

本明細書に記載のヘテロ二量体タンパク質複合体中に２個以上の標的化部分が存在するいくつかの実施形態では、標的化部分は、ヘテロ二量体タンパク質複合体中の同じＦｃ鎖上または２個の異なるＦｃ鎖上に認められ得る（後者の場合には、標的化部分は、それらが異なるＦｃ鎖上に存在するので、相互に対しｔｒａｎｓになるはずである）。２個以上の標的化部分が同じＦｃ鎖上に存在するいくつかの実施形態では、標的化部分は、Ｆｃ鎖

の同じまたは異なる側／末端上に存在し得る（Ｎ末端または／Ｃ末端）。

【０３００】

本明細書に記載のヘテロ二量体タンパク質複合体中に２個以上の標的化部分が存在するいくつかの実施形態では、標的化部分は、ヘテロ二量体タンパク質複合体中の同じＦｃ鎖上または２個の異なるＦｃ鎖上に認められる（後者の場合には、標的化部分は、それらが異なるＦｃ鎖上に存在するので、相互に対しｔｒａｎｓになるはずである）。２種以上のシグナル伝達因子が同じＦｃ鎖上に存在するいくつかの実施形態では、シグナル伝達因子は、Ｆｃ鎖の同じまたは異なる側／末端上に存在し得る（Ｎ末端または／Ｃ末端）。

【０３０１】

２種以上のシグナル伝達因子が本明細書に記載のヘテロ二量体タンパク質複合体中に存在するいくつかの実施形態では、１種のシグナル伝達因子は、ｔｒａｎｓ配置（標的化部分に対し）で存在し、一方、別のシグナル伝達因子はｃｉｓ配置（標的化部分に対し）で存在し得る。

【０３０２】

いくつかの実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、単一ポリペプチド上にシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２、及び標的化部分を含まない。

【０３０３】

いくつかの実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質は、Ｆｃを欠くキメラタンパク質またはヘテロ二量体複合体ではないキメラタンパク質に比べて改善されたインビボ半減期を有する。いくつかの実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質は、Ｆｃを欠くキメラタンパク質またはヘテロ二量体複合体ではないキメラタンパク質に比べて改善された溶解度、安定性及びその他の薬理学的特性を有する。

【０３０４】

ヘテロ二量体Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、２個の異なるポリペプチドから構成される。本明細書に記載のいくつかの実施形態では、標的化ドメインは、シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２とは異なるポリペプチド上に存在し、従って、１個のみの標的化ドメインコピー、及び同様に１種のみのシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２を含むタンパク質を作製できる（これは、望ましい特性との起こり得る干渉を制御できる）。さらに、いくつかの実施形態では、１個の標的化ドメイン（例えば、ＶＨＨ）のみにより、細胞表面上の抗原の架橋（これは、望ましくない効果を誘発する場合があり得る）を回避できる。さらに、いくつかの実施形態では、１個のシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２は、分子の「密集」、及び標的化ドメインに依存して、エフェクター機能のアビディティ媒介誘導または回復との起こり得る干渉を緩和し得る。さらに、いくつかの実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、２個の標的化部分を有することができ、これらは、２個の異なるポリペプチド上に配置できる。例えば、いくつかの実施形態では、両方の標的化部分（例えば、ＶＨＨ）のＣ末端をマスクして、潜在的自己抗体または既存の抗体（例えば、ＶＨＨ自己抗体または既存の抗体）を回避できる。さらに、いくつかの実施形態では、例えば、シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２（例えば、野生型シグナル伝達因子、例えば、野生型ＩＬ－２）とは異なるポリペプチド上に標的化ドメインを有するヘテロ二量体Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、２つの細胞型（例えば、腫瘍細胞及び免疫細胞）の「架橋」を優先し得る。さらに、いくつかの実施形態では、ヘテロ二量体Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、それぞれ、異なるポリペプチド上に２つのシグナル伝達因子を有し、より複雑なエフェクター反応を可能にする。

【０３０５】

さらに、いくつかの実施形態では、例えば、シグナル伝達物、例えば、ＩＬ－２とは異なるポリペプチド上に標的化ドメインを有し、標的化部分及びシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２の組み合わせの多様性を有するヘテロ二量体Ｆｃ系キメラタンパク質複合体が、実用的な方法で提供される。例えば、いくつかの実施形態では、本明細書に記載のいずれかの標的化部分を有するポリペプチドは、「既製品として」本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子を有するポリペプチドと組み合わせて、単一Ｆｃ系キメラタンパク質

複合体中の標的化部分及びシグナル伝達因子の種々の組み合わせの迅速な生成を可能にする。

【０３０６】

いくつかの実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、１つ以上のリンカーを含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、Ｆｃドメイン、シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２及び標的化部分を連結するリンカーを含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２及び標的化部分をそれぞれ連結する（または２個以上の標的化部分の場合、シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２を標的化部分の１個に連結する）リンカーを含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、各シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２をＦｃドメインに連結するリンカーを含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、各標的化部分をＦｃドメインに連結するリンカーを含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、標的化部分を別の標的化部分に連結するリンカーを含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体はシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２を別のシグナル伝達因子に連結するリンカーを含む。

【０３０７】

いくつかの実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、２個以上の標的化部分を含む。このような実施形態では、標的化部分は、同じ標的化部分であっても、異なる標的化部分であってもよい。

【０３０８】

いくつかの実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、２個以上のシグナル伝達因子を含む。このような実施形態では、シグナル伝達因子は、同じ標的化部分であっても、異なる標的化部分であってもよい。

【０３０９】

例えば、いくつかの実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、Ｆｃドメイン、少なくとも２種のシグナル伝達因子（ＳＡ）、及び少なくとも２個の標的化部分（ＴＭ）を含み、Ｆｃドメイン、シグナル伝達因子、及び標的化部分は、本明細書で開示のＦｃドメイン、シグナル伝達因子、及び標的化部分のいずれかから選択される。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはホモ二量体である。

【０３１０】

種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図１Ａ～Ｆのいずれかの概略図の形式を取る。

【０３１１】

種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図２Ａ～Ｈのいずれかの概略図の形式を取る。

【０３１２】

種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図３Ａ～Ｈのいずれかの概略図の形式を取る。

【０３１３】

種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図４Ａ～Ｄのいずれかの概略図の形式を取る。

【０３１４】

種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図５Ａ～Ｆのいずれかの概略図の形式を取る。

【０３１５】

種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図６Ａ～Ｊのいずれかの概略図の形式を取る。

【０３１６】

種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図７Ａ～Ｄのいずれかの概略図の形式を取る。

【０３１７】
種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図８Ａ～Ｆのいずれかの概略図の形式を取る。
【０３１８】
種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図９Ａ～Ｊのいずれかの概略図の形式を取る。
【０３１９】
種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図１０Ａ～Ｆのいずれかの概略図の形式を取る。
【０３２０】
種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図１１Ａ～Ｌのいずれかの概略図の形式を取る。
【０３２１】
種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図１２Ａ～Ｌのいずれかの概略図の形式を取る。
【０３２２】
種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図１３Ａ～Ｆのいずれかの概略図の形式を取る。
【０３２３】
種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図１４Ａ～Ｌのいずれかの概略図の形式を取る。
【０３２４】
種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図１５Ａ～Ｌのいずれかの概略図の形式を取る。
【０３２５】
種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図１６Ａ～Ｊのいずれかの概略図の形式を取る。
【０３２６】
種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図１７Ａ～Ｊのいずれかの概略図の形式を取る。
【０３２７】
種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図１８Ａ～Ｆのいずれかの概略図の形式を取る。
【０３２８】
種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図１９Ａ～Ｆのいずれかの概略図の形式を取る。
【０３２９】
種々の実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、図２０Ａ～Ｅのいずれかの概略図の形式を取る。
【０３３０】
種々の実施形態において、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は図３１の概略図の形態をとる。
【０３３１】
種々の実施形態において、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は図３２の概略図の形態をとる。
【０３３２】
いくつかの実施形態において、本発明は、表７の変異体の１種以上及び／または表７で「ＡＬＮ２変異体」の列内に列挙される１種以上の構築物を含むＦｃ系キメラタンパク質複合体を企図する。
【０３３３】

いくつかの実施形態では、シグナル伝達因子は標的化部分に連結され、標的化部分は同じ末端上でＦｃドメインに連結される（図１Ａ～Ｆ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはホモ二量体である。

【０３３４】

いくつかの実施形態では、シグナル伝達因子及び標的化部分はＦｃドメインに連結され、標的化部分及びシグナル伝達因子は同じ末端上で連結される（図１Ａ～Ｆ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはホモ二量体である。

【０３３５】

いくつかの実施形態では、標的化部分はシグナル伝達因子に連結され、シグナル伝達因子は同じ末端上でＦｃドメインに連結される（図１Ａ～Ｆ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはホモ二量体である。

【０３３６】

いくつかの実施形態では、ホモ二量体Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、２個以上の標的化部分を含む。いくつかの実施形態では、４個の標的化部分及び２種のシグナル伝達因子が存在し、標的化部分はＦｃドメインに連結され、シグナル伝達因子は同じ末端上で標的化部分に連結される（図２Ａ～Ｈ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはホモ二量体である。４個の標的化部分及び２種のシグナル伝達因子が存在するいくつかの実施形態では、２個の標的化部分はＦｃドメインに連結され、２個の標的化部分はシグナル伝達因子に連結され、これらは、同じ末端上でＦｃドメインに連結される（図２Ａ～Ｈ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはホモ二量体である。４個の標的化部分及び２種のシグナル伝達因子が存在するいくつかの実施形態では、２個の標的化部分は相互に連結され、各対からの１個の標的化部分は同じ末端上でＦｃドメインに連結され、シグナル伝達因子は同じ末端上でＦｃドメインに連結される（図２Ａ～Ｈ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはホモ二量体である。４個の標的化部分及び２種のシグナル伝達因子が存在するいくつかの実施形態では、２個の標的化部分は相互に連結され、各対からの１個の標的化部分はシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２に連結され、この対の他の標的化部分はＦｃドメインに連結され、Ｆｃドメインに連結される標的化部分は同じ末端上で連結される（図２Ａ～Ｈ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはホモ二量体である。

【０３３７】

いくつかの実施形態では、ホモ二量体Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、２個以上のシグナル伝達因子を含む。４種のシグナル伝達因子及び２種のシグナル伝達因子が存在するいくつかの実施形態では、２種のシグナル伝達因子は相互に連結され、対からの１種のシグナル伝達因子は同じ末端上でＦｃドメインに連結され、標的化部分は同じ末端上でＦｃドメインに連結される（図３Ａ～Ｈ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはホモ二量体である。４種のシグナル伝達因子及び２個のシグナル伝達因子が存在するいくつかの実施形態では、２種のシグナル伝達因子は同じ末端上でＦｃドメインに連結され、２種のシグナル伝達因子はそれぞれ標的化部分に連結され、標的化部分は同じ末端上でＦｃドメインに連結される（図３Ａ～Ｈ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはホモ二量体である。４種のシグナル伝達因子及び２個のシグナル伝達因子が存在するいくつかの実施形態では、２種のシグナル伝達因子は相互に連結され、対の１種のシグナル伝達因子は標的化部分に連結され、標的化部分は同じ末端上でＦｃドメインに連結される（図３Ａ～Ｈ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはホモ二量体である。

【０３３８】

例えば、いくつかの実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、Ｆｃドメインを含み、Ｆｃドメインはイオン対形成変異及び／またはノブ・イン・ホール変異、少なくとも１種のシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２、及び少なくとも１個の標的化部分を含み、イオン対形成モチーフ及び／またはノブ・イン・ホールモチーフ、シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２、及び標的化部分は、本明細書で開示のいずれかのイオン対形成モチーフ及び／またはノブ・イン・ホールモチーフ、シグナル伝達因子、及び標的化部分から選

択される。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはヘテロ二量体である。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、そのエフェクター機能を低減または排除する変異を含む。

【０３３９】

いくつかの実施形態では、シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２は標的化部分に連結され、これは、Ｆｃドメインに連結される（図１０Ａ～Ｆ及び１３Ａ～Ｆ参照）。いくつかの実施形態では、標的化部分は、シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２に連結され、これは、Ｆｃドメインに連結される（図１０Ａ～Ｆ及び１３Ａ～Ｆ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはヘテロ二量体である。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、そのエフェクター機能を低減または排除する変異を含む。

【０３４０】

いくつかの実施形態では、シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２及び標的化部分は、Ｆｃドメインに連結される（図４Ａ～Ｄ、７Ａ～Ｄ、１０Ａ～Ｆ、及び１３Ａ～Ｆ参照）。いくつかの実施形態では、標的化部分及びシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２は、同じ末端上で異なるＦｃ鎖に連結される（図４Ａ～Ｄ及び７Ａ～Ｄ参照）。いくつかの実施形態では、標的化部分及びシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２は、異なる末端上の異なるＦｃ鎖に連結される（図４Ａ～Ｄ及び７Ａ～Ｄ参照）。いくつかの実施形態では、標的化部分及びシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２は、同じＦｃ鎖に連結される（図１０Ａ～Ｆ及び１３Ａ～Ｆ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはヘテロ二量体である。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、そのエフェクター機能を低減または排除する変異を含む。

【０３４１】

１種のシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２及び２個の標的化部分が存在するいくつかの実施形態では、シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２はＦｃドメインに連結され、２個の標的化部分は、１）Ｆｃドメインに連結された１個の標的化部分を用いて相互に連結され得るか、または２）それぞれＦｃドメインに連結され得る（図５Ａ～Ｆ、８Ａ～Ｆ、１１Ａ～Ｌ、１４Ａ～Ｌ、１６Ａ～Ｊ、及び１７Ａ～Ｊ参照）。いくつかの実施形態では、標的化部分は１個のＦｃ鎖に連結され、シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２はもう一方のＦｃ鎖に連結される（図５Ａ～Ｆ及び８Ａ～Ｆ参照）。いくつかの実施形態では、対を形成した標的化部分及びシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２は、同じＦｃ鎖に連結される（図１１Ａ～Ｌ及び１４Ａ～Ｌ参照）。いくつかの実施形態では、標的化部分はＦｃドメインに連結され、もう一方の標的化部分はシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２に連結され、対を形成した標的化部分は、Ｆｃドメインに連結される（図１１Ａ～Ｌ及び１４Ａ～Ｌ、１６Ａ～Ｊ、及び１７Ａ～Ｊ参照）。いくつかの実施形態では、対形成しない標的化部分及び対形成した標的化部分は、同じＦｃ鎖に連結される（図１１Ａ～Ｌ及び１４Ａ～Ｌ参照）。いくつかの実施形態では、対形成しない標的化部分及び対形成した標的化部分は、異なるＦｃ鎖に連結される（図１６Ａ～Ｊ及び１７Ａ～Ｊ参照）。いくつかの実施形態では、対形成しない標的化部分及び対形成した標的化部分は、同じ末端上で連結される（図１６Ａ～Ｊ及び１７Ａ～Ｊ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはヘテロ二量体である。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、そのエフェクター機能を低減または排除する変異を含む。

【０３４２】

１種のシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２及び２個の標的化部分が存在するいくつかの実施形態では、標的化部分はシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２に連結され、これは、Ｆｃドメイン連結され、対形成しない標的化部分はＦｃドメインに連結される（図１１Ａ～Ｌ及び１４Ａ～Ｌ、１６Ａ～Ｊ、及び１７Ａ～Ｊ参照）。いくつかの実施形態では、対形成したシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２及び対形成しない標的化部分は、同じＦｃ鎖に連結される（図１１Ａ～Ｌ及び１４Ａ～Ｌ参照）。いくつかの実施形態では、対形成したシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２及び対形成した標的化部分は、異なるＦｃ鎖に連結される（図１６Ａ～Ｊ及び１７Ａ～Ｊ参照）。いくつかの実施形態では、対形成したシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２及び対形成しない標的化部分は、同じ末端上で連

結される（図１６Ａ～Ｊ及び１７Ａ～Ｊ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはヘテロ二量体である。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、そのエフェクター機能を低減または排除する変異を含む。

【０３４３】

１種のシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２及び２個の標的化部分が存在するいくつかの実施形態では、標的化部分は一緒に連結され、シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２は対形成した標的化部分の１個に連結され、シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２に連結されない標的化部分はＦｃドメインに連結される（図１１Ａ～Ｌ及び１４Ａ～Ｌ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはヘテロ二量体である。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、そのエフェクター機能を低減または排除する変異を含む。

【０３４４】

１種のシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２及び２個の標的化部分が存在するいくつかの実施形態では、標的化部分は一緒に連結され、シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２は対形成した標的化部分の１個に連結され、シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２はＦｃドメインに連結される（図１１Ａ～Ｌ及び１４Ａ～Ｌ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはヘテロ二量体である。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、そのエフェクター機能を低減または排除する変異を含む。

【０３４５】

１種のシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２及び２個の標的化部分が存在するいくつかの実施形態では、標的化部分は両方ともシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２に連結され、標的化部分の１個は、Ｆｃドメインに連結される（図１１Ａ～Ｌ及び１４Ａ～Ｌ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはヘテロ二量体である。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、そのエフェクター機能を低減または排除する変異を含む。

【０３４６】

１種のシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２及び２個の標的化部分が存在するいくつかの実施形態では、標的化部分及びシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２はＦｃドメインに連結される（図１６Ａ～Ｊ及び１７Ａ～Ｊ参照）。いくつかの実施形態では、標的化部分は、末端上で連結される（図１６Ａ～Ｊ及び１７Ａ～Ｊ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはヘテロ二量体である。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、そのエフェクター機能を低減または排除する変異を含む。

【０３４７】

２種のシグナル伝達因子及び１個の標的化部分が存在するいくつかの実施形態では、シグナル伝達因子は同じ末端上でＦｃドメインに連結され、標的化部分はＦｃドメインに連結される（図６Ａ～Ｊ及び９Ａ～Ｊ参照）。いくつかの実施形態では、シグナル伝達因子は、同じＦｃ鎖上でＦｃドメインに連結され、標的化部分は、もう一方のＦｃ鎖上で連結される（図１８Ａ～Ｆ及び１９Ａ～Ｆ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはヘテロ二量体である。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、そのエフェクター機能を低減または排除する変異を含む。

【０３４８】

２種のシグナル伝達因子及び１個の標的化部分が存在するいくつかの実施形態では、シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２は標的化部分に連結され、これは、Ｆｃドメインに連結され、もう一方のシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２はＦｃドメインに連結される（図６Ａ～Ｊ及び９Ａ～Ｊ、１２Ａ～Ｌ、及び１５Ａ～Ｌ参照）。いくつかの実施形態では、標的化部分及び対形成しないシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２は、異なるＦｃ鎖に連結される（図６Ａ～Ｊ及び９Ａ～Ｊ参照）。いくつかの実施形態では、標的化部分及び対形成しないシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２は、同じ末端上で異なるＦｃ鎖に連結される（図６Ａ～Ｊ及び９Ａ～Ｊ参照）。いくつかの実施形態では、標的化部分及び対形成しないシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２は、異なる末端上で異なるＦｃ鎖に連結される（図６Ａ～Ｊ及び９Ａ～Ｊ参照）。いくつかの実施形態では、標的化部分及び対形成しないシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２は、同じＦｃ鎖に連結される（図１２Ａ～Ｌ

及び１５Ａ～Ｌ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはヘテロ二量体である。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、そのエフェクター機能を低減または排除する変異を含む。

【０３４９】

２種のシグナル伝達因子及び１個の標的化部分が存在するいくつかの実施形態では、標的化部分はシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２に連結され、これは、Ｆｃドメインに連結され、もう一方のシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２はＦｃドメインに連結される（図６Ａ～Ｊ及び９Ａ～Ｊ参照）。いくつかの実施形態では、対形成したシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２及び対形成しないシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２は、異なるＦｃ鎖に連結される（図６Ａ～Ｊ及び９Ａ～Ｊ参照）。いくつかの実施形態では、対形成したシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２及び対形成しないシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２は、同じ末端上の異なるＦｃ鎖に連結される（図６Ａ～Ｊ及び９Ａ～Ｊ参照）。いくつかの実施形態では、対形成したシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２及び対形成しないシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２は、異なる末端上の異なるＦｃ鎖に連結される（図６Ａ～Ｊ及び９Ａ～Ｊ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはヘテロ二量体である。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、そのエフェクター機能を低減または排除する変異を含む。

【０３５０】

２種のシグナル伝達因子及び１個の標的化部分が存在するいくつかの実施形態では、シグナル伝達因子は一緒に連結され、標的化部分は対形成したシグナル伝達因子の１種に連結され、標的化部分はＦｃドメインに連結される（図１２Ａ～Ｌ及び１５Ａ～Ｌ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはヘテロ二量体である。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、そのエフェクター機能を低減または排除する変異を含む。

【０３５１】

２種のシグナル伝達因子及び１個の標的化部分が存在するいくつかの実施形態では、シグナル伝達因子は一緒に連結され、シグナル伝達因子の１種はＦｃドメインに連結され、標的化部分はＦｃドメインに連結される（図１２Ａ～Ｌ及び１５Ａ～Ｌ、１８Ａ～Ｆ、及び１９Ａ～Ｆ参照）。いくつかの実施形態では、対形成したシグナル伝達因子及び標的化部分は、同じＦｃ鎖に連結される（図１２Ａ～Ｌ及び１５Ａ～Ｌ参照）。いくつかの実施形態では、対形成したシグナル伝達因子及び標的化部分は、異なるＦｃ鎖に連結される（図１８Ａ～Ｆ及び１９Ａ～Ｆ参照）。いくつかの実施形態では、対形成したシグナル伝達因子及びシグナル伝達因子は、同じ末端上で異なるＦｃ鎖に連結される（図１８Ａ～Ｆ及び１９Ａ～Ｆ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはヘテロ二量体である。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、そのエフェクター機能を低減または排除する変異を含む。

【０３５２】

２種のシグナル伝達因子及び１個の標的化部分が存在するいくつかの実施形態では、シグナル伝達因子は両方とも標的化部分に連結され、シグナル伝達因子の１種はＦｃドメインに連結される（図１２Ａ～Ｌ及び１５Ａ～Ｌ参照）。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインはヘテロ二量体である。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、そのエフェクター機能を低減または排除する変異を含む。

【０３５３】

２種のシグナル伝達因子及び１個の標的化部分が存在するいくつかの実施形態では、シグナル伝達因子は一緒に連結され、シグナル伝達因子の１種は標的化部分に連結され、もう一方のシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２はＦｃドメインに連結される（図１２Ａ～Ｌ及び１５Ａ～Ｌ参照）。

【０３５４】

２種のシグナル伝達因子及び１個の標的化部分が存在するいくつかの実施形態では、各シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２はＦｃドメインに連結され、標的化部分はシグナル伝達因子の１種に連結される（図１２Ａ～Ｌ及び１５Ａ～Ｌ参照）。いくつかの実施形態

では、シグナル伝達因子は、同じＦｃ鎖に連結される（図１２Ａ～Ｌ及び１５Ａ～Ｌ参照）。

【０３５５】

いくつかの実施形態では、標的化部分またはシグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２は、ＣＨ２及びＣＨ３ドメインの片方または両方、及び任意選択でヒンジ領域を含む、Ｆｃドメインに連結される。例えば、単一ヌクレオチド配列としてＦｃドメインに連結された標的化部分、シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２、またはこれらの組み合わせをコードするベクターを用いて、このようなポリペプチドを作製できる。

【０３５６】

いくつかの実施形態において、上記Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、配列番号２９１～２９６、２９８～３３５、３４０～３４５、３４７～３５９、３６１～３６８、３７１～３７５、３７７～４４９のいずれか１つと少なくとも９０％、または少なくとも９５％、または少なくとも９６％、または少なくとも９７％、または少なくとも９８％、または少なくとも９９％の同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。

【０３５７】

いくつかの実施形態では、上記Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、配列番号２９１～２９６、２９８～３３５のいずれか１つと少なくとも９５％、または少なくとも９８％、または少なくとも９９％の同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、上記Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、配列番号２９１～２９６、２９８～３３５から選択されるアミノ酸配列及びそのアミノ酸配列に対して１０個未満の変異を有するポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、上記Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、配列番号２９１～２９６、２９８～３３５から選択されるアミノ酸配列及びそのアミノ酸配列に対し５個未満の変異を有するポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、上記Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、配列番号２９１～２９６、２９８～３３５から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。特定の実施形態において、上記Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、配列番号２９２、２９３、２９４、２９９、３０１、３１０、３１１、３１２、３１５、３１６、３１９、３２０、３２５、３２８、３３２、３３３、及び３３５のいずれかと少なくとも９５％。または少なくとも９８％、または少なくとも９９の同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。特定の実施形態において、上記Ｆｃ系キメラタンパク質複合体は、配列番号２９２、２９３、２９４、２９９、３０１、３１０、３１１、３１２、３１５、３１６、３１９、３２０、３２５、３２８、３３２、３３３、及び３３５から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。

【０３５８】

追加のシグナル伝達因子

一態様では、本発明は、本明細書に記載の改変ＩＬ－２に加えて、１種以上のシグナル伝達因子（例えば、免疫調節薬）を含むキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体を提供する。例示的実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載の改変ＩＬ－２に加えて、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、１０個のまたはそれより多いシグナル伝達因子を含み得る。種々の実施形態では、追加のシグナル伝達因子は、その１つ以上の受容体に対する低減された親和性または活性を有するように改変され、これはキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の活性（アゴニズムまたはアンタゴニズムを含む）の減弱化を可能にし、及び／または非特異的シグナル伝達または望ましくない隔離を防止する。

【０３５９】

種々の実施形態では、追加のシグナル伝達因子は、野生型の形態ではアンタゴニストであり、そのアンタゴニスト活性を弱める１つ以上の変異を有する。種々の実施形態では、追加のシグナル伝達因子は、１つ以上の変異に起因してアンタゴニストであり、例えば、アゴニストシグナル伝達因子はアンタゴニストシグナル伝達因子に変換され、このような

変換されたシグナル伝達因子は、場合により、そのアンタゴニスト活性を弱める１つ以上の変異も有する（例えば、ＷＯ２０１５／００７５２０号に記載のように。この特許の全内容は参照により本明細書に組み込まれる）。

【０３６０】

種々の実施形態では、追加のシグナル伝達因子は、サイトカイン、増殖因子、及びホルモンの改変型から選択される。このようなサイトカイン、増殖因子、及びホルモンの例としては、限定されないが、リンホカイン、モノカイン、ヒト成長ホルモン、Ｎ－メチオニルヒト成長ホルモン、及びウシ成長ホルモンなどの従来のポリペプチドホルモン；副甲状腺ホルモン；チロキシン；インスリン；プロインスリン；レラキシン；プロリラキシン；卵胞刺激ホルモン（ＦＳＨ）、甲状腺刺激ホルモン（ＴＳＨ）、及び黄体形成ホルモン（ＬＨ）などのタンパク質ホルモン；肝臓増殖因子；繊維芽細胞増殖因子；プロラクチン；胎盤性ラクトゲン；腫瘍壊死因子α及び腫瘍壊死因子β；ミュラー管抑制因子；マウスゴナドトロピン関連ペプチド；インヒビン；アクチビン；血管内皮細胞増殖因子；インテグリン；トロンボポエチン（ＴＰＯ）；ＮＧＦαなどの神経成長因子；血小板増殖因子；形質転換増殖因子（ＴＧＦ）例えば、ＴＧＦα及びＴＧＦβ；インスリン様増殖因子－Ｉ及びＩＩ；骨誘導因子；例えば、インターフェロンα、インターフェロンβ及びインターフェロンγ（及びインターフェロンＩ、ＩＩ及びＩＩＩ型）などのインターフェロン；コロニー刺激因子（ＣＳＦ）例えば、マクロファージ－ＣＳＦ（Ｍ－ＣＳＦ）、顆粒球－マクロファージ－ＣＳＦ（ＧＭ－ＣＳＦ）；及び顆粒球－ＣＳＦ（Ｇ－ＣＳＦ）；インターロイキン（ＩＬｓ）例えば、ＩＬ－１β、ＩＬ－１α、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２、ＩＬ－１３、ＩＬ－１５、及びＩＬ－１８などのインターロイキン；例えば、ＴＮＦ－αまたはＴＮＦβなどの腫瘍壊死因子；ならびにその他のポリペプチド因子、例えば、ＬＩＦ及びキットリガンド（ＫＬ）が挙げられる。本明細書で使用される場合、サイトカイン、増殖因子、及びホルモンは、天然起源または組換え細菌、真核生物または哺乳動物細胞培養システムからの生成物及び天然配列サイトカインの生物学的に活性な等価物を含む。

【０３６１】

いくつかの実施形態では、追加のシグナル伝達因子は、限定されないが、ＴＧＦ－α及びＴＧＦβなどの形質転換増殖因子（ＴＧＦ）、上皮増殖因子（ＥＧＦ）、インスリン様増殖因子－Ｉ及びＩＩなどのインスリン様増殖因子、繊維芽細胞増殖因子（ＦＧＦ）、ヘレグリン、血小板由来増殖因子（ＰＤＧＦ）、血管内皮細胞増殖因子（ＶＥＧＦ）から選択される増殖因子の改変型である。

【０３６２】

ある実施形態では、増殖因子質は、改変型の繊維芽細胞増殖因子（ＦＧＦ）である。ＦＧＦの例としては、限定されないが、ＦＧＦ１、ＦＧＦ２、ＦＧＦ３、ＦＧＦ４、ＦＧＦ５、ＦＧＦ６、ＦＧＦ７、ＦＧＦ８、ＦＧＦ９、ＦＧＦ１０、ＦＧＦ１１、ＦＧＦ１２、ＦＧＦ１３、ＦＧＦ１４、マウスＦＧＦ１５、ＦＧＦ１６、ＦＧＦ１７、ＦＧＦ１８、ＦＧＦ１９、ＦＧＦ２０、ＦＧＦ２１、ＦＧＦ２２、及びＦＧＦ２３が挙げられる。

【０３６３】

ある実施形態では、増殖因子質は、改変型の血管内皮細胞増殖因子（ＶＥＧＦ）である。ＶＥＧＦの例は、限定されないが、ＶＥＧＦ－Ａ、ＶＥＧＦ－Ｂ、ＶＥＧＦ－Ｃ、ＶＥＧＦ－Ｄ、ならびにＰＧＦ及びこれらのアイソフォームを含み、$VEGF_{121}$、$VEGF_{121}b$、$VEGF_{145}$、$VEGF_{165}$、$VEGF_{165}b$、$VEGF_{189}$、及び$VEGF_{206}$などの種々のＶＥＧＦ－Ａのアイソフォームを含む。

【０３６４】

ある実施形態では、増殖因子は、改変型の形質転換増殖因子（ＴＧＦ）である。ＴＧＦの例は、限定されないが、ＴＧＦ－α及びＴＧＦ－βならびにそのサブタイプを含まれ、ＴＧＦβ１、ＴＧＦβ２、及びＴＧＦβ３を含むＴＧＦ－βの種々のサブタイプを含む。

【０３６５】

いくつかの実施形態では、追加のシグナル伝達因子は、限定されないが、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、ゴナドトロピン放出ホルモン、アンドロゲン、エストロゲン、甲状腺刺激ホルモン、ろ胞刺激ホルモン、黄体形成ホルモン、プロラクチン、成長ホルモン、副腎皮質刺激ホルモン、抗利尿ホルモン、オキシトシン、チロトロピン放出ホルモン、成長ホルモン放出ホルモン、副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン、ソマトスタチン、ドーパミン、メラトニン、チロキシン、カルシトニン、副甲状腺ホルモン、グルココルチコイド、ミネラルコルチコイド、アドレナリン、ノルアドレナリン、プロゲステロン、インスリン、グルカゴン、アミリン、カルシトリオール、カルシフェロール、心房性ナトリウム利尿ペプチド、ガストリン、セクレチン、コレシストキニン、神経ペプチドＹ、グレリン、ＰＹＹ３－３６、インスリン様増殖因子（ＩＧＦ）、レプチン、トロンボポエチン、エリスロポエチン（ＥＰＯ）、及びアンジオテンシノーゲンから選択されるホルモンの改変型である。

【０３６６】

いくつかの実施形態では、追加のシグナル伝達因子は、免疫調節薬、例えば、インターロイキン、インターフェロン、及び腫瘍壊死因子の１種以上である。

【０３６７】

いくつかの実施形態では、追加のシグナル伝達因子は、インターロイキンであり、例えば、ＩＬ－１β、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２、ＩＬ－１３、ＩＬ－１４、ＩＬ－１５、ＩＬ－１６、ＩＬ－１７、ＩＬ－１８、ＩＬ－１９、ＩＬ－２０、ＩＬ－２１、ＩＬ－２２、ＩＬ－２３、ＩＬ－２４、ＩＬ－２５、ＩＬ－２６、ＩＬ－２７、ＩＬ－２８、ＩＬ－２９、ＩＬ－３０、ＩＬ－３１、ＩＬ－３２、ＩＬ－３３、ＩＬ－３５、ＩＬ－３６またはそのフラグメント、変異体、類似体、またはファミリーメンバーを含む。インターロイキンは、リンパ球、単球、及びマクロファージにより合成される多機能サイトカイン群である。公知の機能は、免疫細胞（例えば、ヘルパーＴ細胞、Ｂ細胞、好酸球、及びリンパ球）の増殖の刺激、好中球及びＴリンパ球の遊走作用、及び／またはインターフェロンの阻害を含む。インターロイキン活性は、当該技術分野において公知のアッセイを使用して測定できる（Ｍａｔｔｈｅｗｓ ｅｔ ａｌ．，ｉｎ Ｌｙｍｐｈｏｋｉｎｅｓ ａｎｄ Ｉｎｔｅｒｆｅｒｏｎｓ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ，Ｃｌｅｍｅｎｓ ｅｔ ａｌ．，ｅｄｓ，ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ，Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ，Ｄ．Ｃ．１９８７，ｐｐ．２２１－２２５；ａｎｄ Ｏｒｅｎｃｏｌｅ ＆ Ｄｉｎａｒｅｌｌｏ（１９８９）Ｃｙｔｏｋｉｎｅ １，１４－２０）。

【０３６８】

いくつかの実施形態では、シグナル伝達因子は、インターフェロンＩ、ＩＩ、及びＩＩＩ型などの改変型のインターフェロンである。インターフェロンの例としては、例えば、インターフェロンα－１、２、４、５、６、７、８、１０、１３、１４、１６、１７、及び２１、インターフェロンβ及びインターフェロンγ、インターフェロンκ、インターフェロンε、及びインターフェロンτが挙げられる。

【０３６９】

いくつかの実施形態では、追加のシグナル伝達因子は、Ｉ型インターフェロンである。いくつかの実施形態では、Ｉ型インターフェロンは、ＩＦＮα２、ＩＦＮα１、ＩＦＮ－β、ＩＦＮγ、コンセンサスＩＦＮ、ＩＦＮ－ε、ＩＦＮ－κ、ＩＦＮ－τ、ＩＦＮ－δ、及びＩＦＮ－νから選択される。

【０３７０】

いくつかの実施形態では、追加のシグナル伝達因子は、腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）の改変型またはＴＮＦファミリーのタンパク質であり、限定されないが、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＬＴβ、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ２７Ｌ、ＣＤ３０Ｌ、ＦＡＳＬ、４－１ＢＢＬ、ＯＸ４０Ｌ、及びＴＲＡＩＬを含む。

【０３７１】

種々の実施形態では、追加のシグナル伝達因子は、１つ以上の変異を有する改変型（例

えば、変異型）のシグナル伝達因子である。種々の実施形態では、変異は、改変シグナル伝達因子が、非改変型または非変異型、すなわち、野生型形態のシグナル伝達因子に比べて（例えば、野生型形態と改変された（例えば、変異の）形態の同じシグナル伝達因子を比較して）、低減された結合親和性、低減された内在性活性、及び低減された特定の生物活性の１種以上などの１種以上の減弱化された活性を有することを可能にする。種々の実施形態では、変異は、改変シグナル伝達因子が、非改変型または非変異型シグナル伝達因子、すなわち、非変異型ＩＬ－２に比較して、低減された結合親和性、低減された内因性活性、及び低減された特定の生物活性の１種以上などの１種以上の減弱化された活性を有することを可能にする。いくつかの実施形態では、結合または親和性を弱めるまたは低減する変異は、結合または活性を実質的に低減または排除する変異を含む。いくつかの実施形態では、結合または親和性を弱めるまたは低減する変異は、結合または活性を実質的に低減または排除する変異とは異なる。結果として、種々の実施形態では、変異は、シグナル伝達因子が、非変異型、すなわち、野生型シグナル伝達因子に比べて（例えば、野生型形態と改変された（例えば、変異した）型の同じシグナル伝達因子を比較して）、より安全であること、例えば、低減された全身毒性、低減された副作用、及び低減されたオフターゲット効果を有することを可能にする。種々の実施形態では、変異は、シグナル伝達因子が、非変異型シグナル伝達因子、例えば、ＩＬ－２の非変異型配列に比べて、より安全であること、例えば、低減された全身毒性、低減された副作用、及び低減されたオフターゲット効果を有することを可能にする。

【０３７２】

種々の実施形態では、追加のシグナル伝達因子は、１つ以上のその受容体に対する結合親和性または活性を低減する１つ以上の変異を有するように改変される。いくつかの実施形態では、シグナル伝達因子は、受容体に対する結合親和性または活性を実質的に低減または排除する１つ以上の変異を有するように改変される。いくつかの実施形態では、野生型シグナル伝達因子により与えられる活性は、受容体に対するアゴニズム（例えば、治療の部位での細胞効果の活性化）である。例えば、野生型シグナル伝達因子は、その受容体を活性化し得る。このような実施形態では、変異は、受容体に対する活性化作用を低減または排除するように改変されたシグナル伝達因子をもたらす。例えば、変異は、標的細胞に低減された活性化シグナルを送るように改変されたシグナル伝達因子をもたらし得る、または活性化シグナルが排除され得る。いくつかの実施形態では、野生型シグナル伝達因子により与えられる作用は、受容体に対するアンタゴニズム（例えば、治療の部位での細胞効果の遮断または抑制）である。例えば、野生型シグナル伝達因子は、受容体をアンタゴナイズするまたは阻害し得る。これらの実施形態では、変異は、受容体に対するアンタゴナイズ活性を低減または排除するように改変されたシグナル伝達因子をもたらす。例えば、変異は、標的細胞に低減された阻害シグナルを送るように改変されたシグナル伝達因子をもたらし得る、または阻害シグナルが排除され得る。種々の実施形態では、シグナル伝達因子は、１つ以上の変異に起因してアンタゴニストであり、例えば、アゴニストシグナル伝達因子はアンタゴニストシグナル伝達因子に変換され（例えば、国際公開第２０１５／００７５２０号に記載のように。この特許の全内容は参照により本明細書に組み込まれる）、このような変換されたシグナル伝達因子は、場合により、１つ以上のその受容体に対し、その結合親和性または活性を低減する、またはその１つ以上の受容体に対し結合親和性または活性を低減または排除する１つ以上の変異も有する。

【０３７３】

いくつかの実施形態では、受容体に対し低減された親和性または活性は、１種以上の標的化部分の結合により、または本明細書で開示のＦｃ系キメラタンパク質複合体への包含時に、誘導可能または回復可能である。他の実施形態では、受容体に対し低減された親和性または活性は、１種以上の標的化部分の作用により、または本明細書で開示のＦｃ系キメラタンパク質複合体への包含時に、十分に誘導可能または回復可能ではない。

【０３７４】

種々の実施形態では、追加のシグナル伝達因子は、標的細胞に対し活性である。理由は

、標的化部分（単一または複数）が、実質的な活性化に必要とされる欠損した／不十分な結合（例えば、限定されないが、及び／または結合力）を補償するためである。種々の実施形態では、改変シグナル伝達因子は、治療作用部位へ向かう途上では実質的に不活性であり、特異的に標的とされる細胞型に対してその効果を実質的に有し、これにより望ましくない副作用を大きく低減する。

【０３７５】

いくつかの実施形態では、追加のシグナル伝達因子は、１個の受容体（すなわち、治療受容体）に対する結合または親和性を弱めるまたは低減させる１つ以上の変異及び第２の受容体に対する結合または活性を実質的に低減または排除する１つ以上の変異を含み得る。このような実施形態では、これらの変異は、同じまたは異なる位置にあってよい（すなわち、同じ変異または複数の変異）。いくつかの実施形態では、１個の受容体に対し結合及び／または活性を低減する変異（単一または複数）は、別の受容体に対し実質的に低減または排除する変異（単一または複数）とは異なる。いくつかの実施形態では、１個の受容体に対し結合及び／または活性を低減する変異（単一または複数）は、別の受容体に対し実質的に低減または排除する変異（単一または複数）と同じである。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、治療受容体に対し結合及び／または活性を弱め、したがってより制御されたオンターゲット治療効果（例えば、野生型シグナル伝達因子に比較して）を可能にする変異及び、別の受容体に対する結合及び／または活性を実質的に低減または排除ししたがって副作用を低減する（例えば、野生型シグナル伝達因子に比べて）変異の両方を有する改変シグナル伝達因子を有する。

【０３７６】

いくつかの実施形態では、結合または活性の実質的な低減または排除は、標的化部分により、または本明細書で開示のＦｃ系キメラタンパク質複合体への包含時に、十分に誘導できないまたは回復できない。いくつかの実施形態では、結合または活性の実質的な低減または排除は、標的化部分により、または本明細書で開示のＦｃ系キメラタンパク質複合体への包含時に、誘導または回復可能である。種々の実施形態では、第２の受容体に対する結合または活性の実質的な低減または排除は、他の受容体により媒介される有害作用も防止し得る。あるいは、または加えて、その他の受容体に対する結合または活性の実質的な低減または排除は、治療キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体を治療作用部位から離して隔離するのを低減するまたは無くするので、治療効果を改善させる。例えば、いくつかの実施形態では、これは、他の受容体での損失を補償するための高用量のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の必要性を無くする。このような投与量を低減する能力は、さらに副作用の可能性を低くする。

【０３７７】

種々の実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、１つ以上のその受容体に対し、シグナル伝達因子に、親和性、例えば、結合（例えば、ＫＤ）及び／または活性化（例えば、改変シグナル伝達因子がその受容体のアゴニストである場合、例えば、ＫＡ及び／またはＥＣ５０として測定可能である）及び／または阻害（例えば、改変シグナル伝達因子がその受容体のアンタゴニストである場合、例えば、ＫＩ及び／またはＩＣ５０として測定可能である）を低減、実質的に低減、または排除する１つ以上の変異を含む。種々の実施形態では、シグナル伝達因子の受容体に対する低減された親和性は、活性の減弱化（アゴニズムまたはアンタゴニズムを含む）を可能にする。このような実施形態では、改変シグナル伝達因子は、野生型シグナル伝達因子に比較して、受容体に対する約１％、または約３％、約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、約９５％、または約１０％～２０％、約２０％～４０％、約５０％、約４０％～６０％、約６０％～８０％、約８０％～１００％の親和性を有する。いくつかの実施形態では、結合親和性は、野生型シグナル伝達因子に比べて、少なくとも約２倍低い

、約３倍低い、約４倍低い、約５倍低い、約６倍低い、約７倍低い、約８倍低い、約９倍低い、少なくとも約１０倍低い、少なくとも約１５倍低い、少なくとも約２０倍低い、少なくとも約２５倍低い、少なくとも約３０倍低い、少なくとも約３５倍低い、少なくとも約４０倍低い、少なくとも約４５倍低い、少なくとも約５０倍低い、少なくとも約１００倍低い、少なくとも約１５０倍低い、または約１０～５０倍低い、約５０～１００倍低い、約１００～１５０倍低い、約１５０～２００倍低い、または２００倍超低い（限定するものではないが、非変異型ＩＬ－２に対する比較を含む）。

【０３７８】

キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体が１個の受容体に対し結合を低減し、第２の受容体に対し結合を実質的に低減または排除する変異を有するいくつかの実施形態では、１個の受容体に対する改変シグナル伝達因子の結合親和性の減弱または低減は、その他の受容体に対する親和性の実質的低減または排除より小さい。いくつかの実施形態では、１個の受容体に対する改変シグナル伝達因子の結合親和性の減弱または低減は、他の受容体に対する親和性の実質的　低減または排除よりも、約１％、または約３％、約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、または約９５％だけ小さい。種々の実施形態では、実質的な低減または排除は、減弱または低減よりも大きい結合親和性及び／または活性の低減を指す。

【０３７９】

種々の実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、例えば、野生型シグナル伝達因子に比べて、シグナル伝達因子の内因性活性を、約７５％、または約７０％、または約６０％、または約５０％、または約４０％、または約３０％、または約２５％、または約２０％、または約１０％、または約５％、または約３％、または約１％に低減する１つ以上の変異を含む（限定するものではないが、非変異型ＩＬ－２に対する比較を含む）。

【０３８０】

種々の実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、シグナル伝達因子は、サイトカイン、成長因子、及びホルモンのいずれか１種の受容体に対する低減された親和性及び／または活性を有するようにさせる１つ以上の変異を含む。

【０３８１】

いくつかの実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、シグナル伝達因子が、その受容体に対する標的化部分の結合親和性より低い、その受容体に対する低減された親和性を有するようにさせる１つ以上の変異を含む。いくつかの実施形態では、この結合親和性の差異は、同じ細胞上のシグナル伝達因子／受容体と標的化部分／受容体との間に存在する。いくつかの実施形態では、この結合親和性の差異は、シグナル伝達因子、例えば、変異シグナル伝達因子が、局在化されたオンターゲット効果を有し、かつ野生型シグナル伝達因子で観察される副作用の根底にあるオフターゲット効果を最小化するのを可能にする。いくつかの実施形態では、この結合親和性は、少なくとも約２倍、または少なくとも約５倍、または少なくとも約１０倍、または少なくとも約１５倍低い、または少なくとも約２５倍、または少なくとも約５０倍低い、または少なくとも約１００倍、または少なくとも約１５０倍低い。

【０３８２】

受容体結合活性は、当該技術分野において公知の方法を使用して測定され得る。例えば、親和性及び／または結合活性は、スキャッチャードプロット分析及び結合データのコンピューターフィッティング（例えば、Ｓｃａｔｃｈａｒｄ，１９４９）またはＢｒｅｃｈｔら（１９９３）により記載のように、フロースルー条件下で反射型干渉分光法により評価し得る。これらの文献の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態において、受容体結合活性は、バイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）によって測定される。

【０３８３】

本明細書に記載の野生型シグナル伝達因子のアミノ酸配列は、当該技術分野において、周知である。したがって、種々の実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、本明細書に記載のシグナル伝達因子の公知の野生型アミノ酸配列との少なくとも約６０％、または少なくとも約６１％、または少なくとも約６２％、または少なくとも約６３％、または少なくとも約６４％、または少なくとも約６５％、または少なくとも約６６％、または少なくとも約６７％、または少なくとも約６８％、または少なくとも約６９％、または少なくとも約７０％、または少なくとも約７１％、または少なくとも約７２％、または少なくとも約７３％、または少なくとも約７４％、または少なくとも約７５％、または少なくとも約７６％、または少なくとも約７７％、または少なくとも約７８％、または少なくとも約７９％、または少なくとも約８０％、または少なくとも約８１％、または少なくとも約８２％、または少なくとも約８３％、または少なくとも約８４％、または少なくとも約８５％、または少なくとも約８６％、または少なくとも約８７％、または少なくとも約８８％、または少なくとも約８９％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性（例えば、約６０％、または約６１％、または約６２％、または約６３％、または約６４％、または約６５％、または約６６％、または約６７％、または約６８％、または約６９％、または約７０％、または約７１％、または約７２％、または約７３％、または約７４％、または約７５％、または約７６％、または約７７％、または約７８％、または約７９％、または約８０％、または約８１％、または約８２％、または約８３％、または約８４％、または約８５％、または約８６％、または約８７％、または約８８％、または約８９％、または約９０％、または約９１％、または約９２％、または約９３％、または約９４％、または約９５％、または約９６％、または約９７％、または約９８％、または約９９％の配列同一性）を有するアミノ酸配列を含む。

【０３８４】

種々の実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、本明細書で開示の配列のいずれかとの少なくとも約６０％、または少なくとも約６１％、または少なくとも約６２％、または少なくとも約６３％、または少なくとも約６４％、または少なくとも約６５％、または少なくとも約６６％、または少なくとも約６７％、または少なくとも約６８％、または少なくとも約６９％、または少なくとも約７０％、または少なくとも約７１％、または少なくとも約７２％、または少なくとも約７３％、または少なくとも約７４％、または少なくとも約７５％、または少なくとも約７６％、または少なくとも約７７％、または少なくとも約７８％、または少なくとも約７９％、または少なくとも約８０％、または少なくとも約８１％、または少なくとも約８２％、または少なくとも約８３％、または少なくとも約８４％、または少なくとも約８５％、または少なくとも約８６％、または少なくとも約８７％、または少なくとも約８８％、または少なくとも約８９％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９１％、または少なくとも約９２％、または少なくとも約９３％、または少なくとも約９４％、または少なくとも約９５％、または少なくとも約９６％、または少なくとも約９７％、または少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性（例えば、約６０％、または約６１％、または約６２％、または約６３％、または約６４％、または約６５％、または約６６％、または約６７％、または約６８％、または約６９％、または約７０％、または約７１％、または約７２％、または約７３％、または約７４％、または約７５％、または約７６％、または約７７％、または約７８％、または約７９％、または約８０％、または約８１％、または約８２％、または約８３％、または約８４％、または約８５％、または約８６％、または約８７％、または約８８％、または約８９％、または約９０％、または約９１％、または約９２％、または約９３％、または約９４％、または約９５％、または約９６％、または約９７％、または約９８％、または約９９％の配列同一性）を有するアミノ酸配列を含む。

【０３８５】

種々の実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、１つ以上のアミノ酸変異を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、１つ以上のアミノ酸変異は、置換、挿入、欠失、及び切り詰めから独立に選択され得る。

【０３８６】

いくつかの実施形態では、アミノ酸変異は、アミノ酸置換であり、本明細書に記載のように、保存的置換及び／または非保存的置換を含み得る。

【０３８７】

本明細書に記載のように、追加の改変シグナル伝達因子は、１つ以上の受容体に対し親和性及び／または活性に影響を与える変異を有する。種々の実施形態では、治療受容体、例えば、それにより目的の治療効果が媒介される（例えば、アゴニズムまたはアンタゴニズム）受容体に対する低減された親和性及び／または活性が存在する。種々の実施形態では、改変シグナル伝達因子は、受容体、例えば、それにより目的の治療効果が媒介されない（例えば、結合の混乱状態の結果として）受容体に対する親和性及び／または活性が実質的に低減または排除される変異を有する。改変シグナル伝達因子の受容体、例えば、本明細書に記載のサイトカイン、成長因子、及びホルモンの１個の受容体は、当技術分野において公知である。

【０３８８】

受容体に対し低減された親和性及び／または活性（例えば、アゴニスト活性）をもたらす変異の例は、国際公開第２０１３／１０７７９１号（例えば、インターフェロンに関して）、国際公開第２０１５／００７５４２号（例えば、インターロイキンに関して）、及び国際公開第２０１５／００７９０３号（例えば、ＴＮＦに関して）で見出され、これらのそれぞれの全内容は参照により本明細書に組み込まれる。治療受容体に対する親和性及び／または活性（例えば、アンタゴニスト活性）を低減する変異の例は、国際公開第２０１５／００７５２０号で見出され、この全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０３８９】

いくつかの実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、シグナル伝達因子のＩ型サイトカイン受容体、ＩＩ型サイトカイン受容体、ケモカイン受容体、腫瘍壊死因子受容体（ＴＮＦＲ）スーパーファミリーの受容体、ＴＧＦβ受容体、免疫グロブリン（Ｉｇ）スーパーファミリーの受容体、及び／またはチロシンキナーゼスーパーファミリーの受容体に対する親和性及び／または活性を低減させる１つ以上の変異を含む。

【０３９０】

種々の実施形態では、追加のシグナル伝達因子に対する受容体は、Ｉ型サイトカイン受容体である。Ｉ型サイトカイン受容体は当技術分野において公知であり、限定されないが、ＩＬ－２（ベータサブユニット）、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－９、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２、ＧＭ－ＣＳＦ、Ｇ－ＣＳＦ、ＬＩＦ、ＣＮＴＦに対する受容体、及びトロンボポエチン（ＴＰＯ）、プロラクチン、及び成長ホルモンに対する受容体も含む。例示Ｉ型サイトカイン受容体としては、限定されないが、ＧＭ－ＣＳＦ受容体、Ｇ－ＣＳＦ受容体、ＬＩＦ受容体、ＣＮＴＦ受容体、ＴＰＯ受容体、及びＩ型ＩＬ受容体が挙げられる。

【０３９１】

種々の実施形態では、追加のシグナル伝達因子に対する受容体は、ＩＩ型サイトカイン受容体である。ＩＩ型サイトカイン受容体は、異種のサブユニットからなる多量体受容体であり、主にインターフェロンに対する受容体である。この受容体ファミリーには、限定されないが、インターフェロンα、インターフェロンβ及びインターフェロンγ、ＩＬ－１０、ＩＬ－２２、及び組織因子に対する受容体が含まれる。例示ＩＩ型サイトカイン受容体としては、限定されないが、ＩＦＮα受容体（例えば、ＩＦＮＡＲ１及びＩＦＮＡＲ２）、ＩＦＮβ受容体、ＩＦＮγ受容体（例えば、ＩＦＮＧＲ１及びＩＦＮＧＲ２）、及びＩＩ型ＩＬ受容体が挙げられる。

【０３９２】

種々の実施形態では、追加のシグナル伝達因子に対する受容体は、Ｇタンパク質共役受

容体である。ケモカイン受容体は、７回膜貫通型構造を有し、シグナル伝達のためにＧタンパク質に結合されるＧタンパク質共役受容体である。ケモカイン受容体としては、限定されないが、ＣＣケモカイン受容体、ＣＸＣケモカイン受容体、ＣＸ３Ｃケモカイン受容体、及びＸＣケモカイン受容体（ＸＣＲ１）が挙げられる。ケモカイン受容体の例としては、限定されないが、ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＣＲ９、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ３Ｂ、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５、ＣＳＣＲ６、ＣＸＣＲ７、ＸＣＲ１、及びＣＸ３ＣＲ１が挙げられる。

【０３９３】

種々の実施形態では、追加のシグナル伝達因子に対する受容体は、ＴＮＦＲファミリーメンバーである。腫瘍壊死因子受容体（ＴＮＦＲ）ファミリーメンバーは、細長い分子を作成するＣＸＸＣＸＸＣのコアモチーフを取り囲む３つのジスルフィド結合から形成されるシステインリッチドメイン（ＣＲＤ）を共有する。腫瘍壊死因子受容体ファミリーの例としては、下記が挙げられる：ＣＤ１２０ａ（ＴＮＦＲＳＦ１Ａ）、ＣＤ１２０ｂ（ＴＮＦＲＳＦ１Ｂ）、リンホトキシンベータ受容体（ＬＴＢＲ、ＴＮＦＲＳＦ３）、ＣＤ１３４（ＴＮＦＲＳＦ４）、ＣＤ４０（ＣＤ４０、ＴＮＦＲＳＦ５）、ＦＡＳ（ＦＡＳ、ＴＮＦＲＳＦ６）、ＴＮＦＲＳＦ６Ｂ（ＴＮＦＲＳＦ６Ｂ）、ＣＤ２７（ＣＤ２７、ＴＮＦＲＳＦ７）、ＣＤ３０（ＴＮＦＲＳＦ８）、ＣＤ１３７（ＴＮＦＲＳＦ９）、ＴＮＦＲＳＦ１０Ａ（ＴＮＦＲＳＦ１０Ａ）、ＴＮＦＲＳＦ１０Ｂ（ＴＮＦＲＳＦ１０Ｂ）、ＴＮＦＲＳＦ１０Ｃ（ＴＮＦＲＳＦ１０Ｃ）、ＴＮＦＲＳＦ１０Ｄ（ＴＮＦＲＳＦ１０Ｄ）、ＲＡＮＫ（ＴＮＦＲＳＦ１１Ａ）、破骨細胞分化抑制因子（ＴＮＦＲＳＦ１１Ｂ）、ＴＮＦＲＳＦ１２Ａ（ＴＮＦＲＳＦ１２Ａ）、ＴＮＦＲＳＦ１３Ｂ（ＴＮＦＲＳＦ１３Ｂ）、ＴＮＦＲＳＦ１３Ｃ（ＴＮＦＲＳＦ１３Ｃ）、ＴＮＦＲＳＦ１４（ＴＮＦＲＳＦ１４）、神経成長因子受容体（ＮＧＦＲ、ＴＮＦＲＳＦ１６）、ＴＮＦＲＳＦ１７（ＴＮＦＲＳＦ１７）、ＴＮＦＲＳＦ１８（ＴＮＦＲＳＦ１８）、ＴＮＦＲＳＦ１９（ＴＮＦＲＳＦ１９）、ＴＮＦＲＳＦ２１（ＴＮＦＲＳＦ２１）、及びＴＮＦＲＳＦ２５（ＴＮＦＲＳＦ２５）。

【０３９４】

種々の実施形態では、追加のシグナル伝達因子に対する受容体は、ＴＧＦβ受容体である。ＴＧＦβ受容体は、１回膜貫通型セリン／トレオニンキナーゼ受容体である。ＴＧＦβ受容体には、限定されないが、ＴＧＦＢＲ１、ＴＧＦＢＲ２、及びＴＧＦＢＲ３が挙げられる。

【０３９５】

種々の実施形態では、追加のシグナル伝達因子に対する受容体は、Ｉｇスーパーファミリー受容体である。免疫グロブリン（Ｉｇ）スーパーファミリーの受容体は、免疫グロブリンとの構造的相同性を共有する。Ｉｇスーパーファミリーの受容体としては、限定されないが、インターロイキン－１受容体、ＣＳＦ－１Ｒ、ＰＤＧＦＲ（例えば、ＰＤＧＦＲＡ及びＰＤＧＦＲＢ）、及びＳＣＦＲが挙げられる。

【０３９６】

種々の実施形態では、追加のシグナル伝達因子に対する受容体は、チロシンキナーゼスーパーファミリー受容体である。チロシンキナーゼチロシンキナーゼスーパーファミリーの受容体は、当該技術分野において周知である。２０のサブファミリーに分類される約５８個の受容体チロシンキナーゼ（ＲＴＫ）が存在する。チロシンキナーゼスーパーファミリーの受容体としては、限定されないが、ＦＧＦ受容体及びそれらの種々のアイソフォーム、例えば、ＦＧＦＲ１、ＦＧＦＲ２、ＦＧＦＲ３、ＦＧＦＲ４、及びＦＧＦＲ５が挙げられる。

【０３９７】

ある実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、インターフェロンαである。このような実施形態では、改変ＩＦＮα因子は、ＩＦＮα／β受容体（ＩＦＮＡＲ）、すなわち、ＩＦＮＡＲ１及び／またはＩＦＮＡＲ２鎖に対する低減された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変ＩＦＮα因子は、ＩＦＮα／β受容体（ＩＦ

ＮＡＲ）、すなわち、ＩＦＮＡＲ１及び／またはＩＦＮＡＲ２鎖に対し、実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。

【０３９８】

変異型のインターフェロンαは、当業者に公知である。ある例示的実施形態では、改変シグナル伝達因子は、配列番号２３３のアミノ酸配列を有するアレル型ＩＦＮα２ａである。

【０３９９】

ある例示的実施形態では、改変シグナル伝達因子は、配列番号２３４のアミノ酸配列（これはアミノ酸位置２３でＩＦＮα２ａとは異なる）を有するアレル型ＩＦＮα２ｂである。

【０４００】

いくつかの実施形態では、上記ＩＦＮα２変異体（ＩＦＮα２ａまたはＩＦＮα２ｂ）は、位置１４４～１５４、例えば、アミノ酸位置１４５、１４８、１４９及び／または１５３で、１つ以上のアミノ酸の変異が導入されている。いくつかの実施形態では、ＩＦＮα２変異体は、Ａ１４５Ｇ、Ｌ１５３Ａ、Ｒ１４９Ａ、及びＭ１４８Ａから選択される１つ以上の変異を含む。このような変異体は、例えば、国際公開第２０１３／１０７７９１号及びＰｉｅｈｌｅｒら、（２０００）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ，２７５：４０４２５－３３に記載されている。これらの文献の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。

【０４０１】

いくつかの実施形態では、ＩＦＮα２変異体は、ＩＦＮＡＲ１に対する低減された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、国際公開第２０１０／０３０６７１号に記載のように、ＩＦＮα２変異体は、Ｆ６４Ａ、Ｎ６５Ａ、Ｔ６９Ａ、Ｌ８０Ａ、Ｙ８５Ａ、及びＹ８９Ａから選択される１つ以上の変異を含む。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０４０２】

いくつかの実施形態では、国際公開第２００８／１２４０８６号に記載のように、ＩＦＮα２変異体は、Ｋ１３３Ａ、Ｒ１４４Ａ、Ｒ１４９Ａ、及びＬ１５３Ａから選択される１つ以上の変異を含む。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０４０３】

いくつかの実施形態では、国際公開第２０１５／００７５２０号及び国際公開第２０１０／０３０６７１号に記載のように、ＩＦＮα２変異体は、Ｒ１２０Ｅ及びＲ１２０Ｅ／Ｋ１２１Ｅから選択される１つ以上の変異を含む。これらの特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。このような実施形態では、前記ＩＦＮα２変異体は、野生型ＩＦＮα活性２をアンタゴナイズする。このような実施形態では、上記変異体ＩＦＮα２は、ＩＦＮＡＲ１に対する低減された親和性及び／または活性を有するが、ＩＦＮＲ２に対する活性は保持される。

【０４０４】

いくつかの実施形態では、ヒトＩＦＮα２変異体は、（１）Ｒ１２０Ｅ及びＲ１２０Ｅ／Ｋ１２１Ｅから選択される１つ以上の変異（理論に束縛されることを望むものではないが、これらはアンタゴニスト効果を作り出す）、及び（２）Ｋ１３３Ａ、Ｒ１４４Ａ、Ｒ１４９Ａ、及びＬ１５３Ａから選択される１つ以上の変異（理論に束縛されることを望むものではないが、これらは、例えば、ＩＦＮＡＲ２に対する減弱化効果を可能とする）を含む。ある実施形態では、ヒトＩＦＮα２変異体は、Ｒ１２０Ｅ及びＬ１５３Ａを含む。

【０４０５】

いくつかの実施形態では、ヒトＩＦＮα２変異体は、国際公開第２０１３／０５９８８５号に開示のように、Ｌ１５Ａ、Ａ１９Ｗ、Ｒ２２Ａ、Ｒ２３Ａ、Ｌ２６Ａ、Ｆ２７Ａ、Ｌ３０Ａ、Ｌ３０Ｖ、Ｋ３１Ａ、Ｄ３２Ａ、Ｒ３３Ｋ、Ｒ３３Ａ、Ｒ３３Ｑ、Ｈ３４Ａ、Ｄ３５Ａ、Ｑ４０Ａ、Ｄ１１４Ｒ、Ｌ１１７Ａ、Ｒ１２０Ａ、Ｒ１２５Ａ、Ｋ１３４Ａ、Ｒ１４４Ａ、Ａ１４５Ｇ、Ａ１４５Ｍ、Ｍ１４８Ａ、Ｒ１４９Ａ、Ｓ１５２Ａ、Ｌ１５３Ａ、及びＮ１５６Ａから選択される１つ以上の変異を含み、この特許の全内容は参照によ

り本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、国際公開第２０１３／０５９８８５号で開示のように、ヒトＩＦＮα２変異体は、変異Ｈ５７Ｙ、Ｅ５８Ｎ、Ｑ６１Ｓ、及び／またはＬ３０Ａを含む。いくつかの実施形態では、国際公開第２０１３／０５９８８５号で開示のように、ヒトＩＦＮα２変異体は、変異Ｈ５７Ｙ、Ｅ５８Ｎ、Ｑ６１Ｓ、及び／またはＲ３３Ａを含む。いくつかの実施形態では、国際公開第２０１３／０５９８８５号で開示のように、ヒトＩＦＮα２変異体は、変異Ｈ５７Ｙ、Ｅ５８Ｎ、Ｑ６１Ｓ、及び／またはＭ１４８Ａを含む。いくつかの実施形態では、国際公開第２０１３／０５９８８５号で開示のように、ヒトＩＦＮα２変異体は、変異Ｈ５７Ｙ、Ｅ５８Ｎ、Ｑ６１Ｓ、及び／またはＬ１５３Ａを含む。いくつかの実施形態では、国際公開第２０１３／０５９８８５号で開示のように、ヒトＩＦＮα２変異体は、変異Ｎ６５Ａ、Ｌ８０Ａ、Ｙ８５Ａ、及び／またはＹ８９Ａを含む。いくつかの実施形態では、国際公開第２０１３／０５９８８５号で開示のように、ヒトＩＦＮα２変異体は、変異Ｎ６５Ａ、Ｌ８０Ａ、Ｙ８５Ａ、Ｙ８９Ａ及び／またはＤ１１４Ａを含む。いくつかの実施形態では、ヒトＩＦＮα２変異体は、Ｒ１４４Ｘ１、Ａ１４５Ｘ２、及びＲ３３Ａから選択される１つ以上の変異を含み、Ｘ１は、Ａ、Ｓ、Ｔ、Ｙ、Ｌ、及びＩから選択され、Ｘ２は、Ｇ、Ｈ、Ｙ、Ｋ、及びＤから選択される。いくつかの実施形態では、ヒトＩＦＮα２は、配列番号２３３または２３４のアミノ酸配列を基準にしてＲ３３Ａ、Ｔ１０６$Ｘ_3$、Ｒ１２０Ｅ、Ｒ１４４$Ｘ_1$、Ａ１４５$Ｘ_2$、Ｍ１４８Ａ、Ｒ１４９Ａ、及びＬ１５３Ａから選択される１つ以上の変異を含み、$Ｘ_1$は、Ａ、Ｓ、Ｔ、Ｙ、Ｌ、及びＩから選択され、$Ｘ_2$は、Ｇ、Ｈ、Ｙ、Ｋ、及びＤから選択され、かつ$Ｘ_3$は、Ａ及びＥから選択される。

【０４０６】

いくつかの実施形態において、追加の改変シグナル伝達因子はＩＦＮα１である。かかる実施形態では、改変ＩＦＮα１シグナル伝達因子はまた、ＩＦＮ－α／β受容体（ＩＦＮＡＲ）、すなわち、ＩＦＮＡＲ１及び／またはＩＦＮＡＲ２鎖に対する親和性及び／または活性を低減する。いくつかの実施形態において、上記改変ＩＦＮα１因子は、ＩＦＮ－α／β受容体（ＩＦＮＡＲ）、すなわち、ＩＦＮＡＲ１及び／またはＩＦＮＡＲ２鎖に対する親和性ならび」に／または活性を実質的に低減あるいは排除する。

【０４０７】

いくつかの実施形態において、追加の改変ＩＦＮα１シグナル伝達因子は、配列番号４５０に対して、位置Ｌ１５、Ａ１９、Ｒ２３、Ｓ２５、Ｌ３０、Ｄ３２、Ｒ３３、Ｈ３４、Ｑ４０、Ｄ１１５、Ｌ１１８、Ｋ１２１、Ｒ１２６、Ｅ１３３、Ｋ１３４、Ｋ１３５、Ｒ１４５、Ａ１４６、Ｍ１４９、Ｒ１５０、Ｓ１５３、Ｌ１５及びＮ１５７位における１つ以上のアミノ酸に変異を有するように改変される。上記変異は、任意選択で疎水性変異であってもよく、例えば、アラニン、バリン、ロイシン、及びイソロイシンから選択されてもよい。いくつかの実施形態において、ＩＦＮα１インターフェロンは、配列番号４５０に対して、Ｌ１５Ａ、Ａ１９Ｗ、Ｒ２３Ａ、Ｓ２５Ａ、Ｌ３０Ａ、Ｌ３０Ｖ、Ｄ３２Ａ、Ｒ３３Ｋ、Ｒ３３Ａ、Ｒ３３Ｑ、Ｈ３４Ａ、Ｑ４０Ａ、Ｄ１１５Ｒ、Ｌ１１８Ａ、Ｋ１２１Ａ、Ｋ１２１Ｅ、Ｒ１２６Ａ、Ｒ１２６Ｅ、Ｅ１３３Ａ、Ｋ１３４Ａ、Ｋ１３５Ａ、Ｒ１４５Ａ、Ｒ１４５Ｄ、Ｒ１４５Ｅ、Ｒ１４５Ｇ、Ｒ１４５Ｈ、Ｒ１４５Ｉ、Ｒ１４５Ｋ、Ｒ１４５Ｌ、Ｒ１４５Ｎ、Ｒ１４５Ｑ、Ｒ１４５Ｓ、Ｒ１４５Ｔ、Ｒ１４５Ｖ、Ｒ１４５Ｙ、Ａ１４６Ｄ、Ａ１４６Ｅ、Ａ１４６Ｇ、Ａ１４６Ｈ、Ａ１４６Ｉ、Ａ１４６Ｋ、Ａ１４６Ｌ、Ａ１４６Ｍ、Ａ１４６Ｎ、Ａ１４６Ｑ、Ａ１４６Ｒ、Ａ１４６Ｓ、Ａ１４６Ｔ、Ａ１４６Ｖ、Ａ１４６Ｙ、Ｍ１４９Ａ、Ｍ１４９Ｖ、Ｒ１５０Ａ、Ｓ１５３Ａ、Ｌ１５４Ａ、及びＮ１５７Ａから選択される１つ以上の変異を有するように改変される。いくつかの実施形態において、上記ＩＦＮα１変異体は、配列番号４５０に対して、Ｌ３０Ａ／Ｈ５８Ｙ／Ｅ５９Ｎ／Ｑ６２Ｓ、Ｒ３３Ａ／Ｈ５８Ｙ／Ｅ５９Ｎ／Ｑ６２Ｓ、Ｍ１４９Ａ／Ｈ５８Ｙ／Ｅ５９Ｎ／Ｑ６２Ｓ、Ｌ１５４Ａ／Ｈ５８Ｙ／Ｅ５９Ｎ／Ｑ６２Ｓ、Ｒ１４５Ａ／Ｈ５８Ｙ／Ｅ５９Ｎ／Ｑ６２Ｓ、Ｄ１１５Ａ／Ｒ１２１Ａ、Ｌ１１８Ａ／Ｒ１２１Ａ、Ｌ１１８Ａ／Ｒ１２１Ａ／Ｋ１２２Ａ、Ｒ１２１Ａ／Ｋ１２２Ａ、及びＲ１２１Ｅ／Ｋ１２２Ｅから選択される１つ以上の多重変異を含む。

【０４０８】
ある実施形態では、上記追加の改変ＩＦＮα１シグナル伝達因子、またはその変異体は、配列番号４５０に対して、アミノ酸位置Ｃ１、Ｃ２９、Ｃ８６、Ｃ９９、またはＣ１３９に１つ以上の変異を有するように改変される。この点に関して、Ｂｅｉｌｈａｒｚ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｉｎｔｅｒｆｅｒｏｎ ｒｅｓｅａｒｃｈ ６．６（１９８６）：６７７－６８５（上記文献はその全体が本明細書に援用される）は、本発明の改変ＩＦＮα１に導入するのに使用することができるＩＦＮα１の種々の変異を記載している。上記Ｃ８６位における変異は、例えば、Ｃ８６ＳまたはＣ８６ＡまたはＣ８６Ｙであってもよい。これらのＩＦＮα１のＣ８６変異体は、還元型システインに基づく凝集変異体（ｒｅｄｕｃｅｄ ｃｙｓｔｅｉｎｅ－ｂａｓｅｄ ａｇｇｒｅｇａｔｉｏｎ ｍｕｔａｎｔｓ）と呼ばれる。いくつかの実施形態において、上記ＩＦＮα１変異体は、配列番号に対して、Ｃ１、Ｃ８６、及びＣ９９位における変異を含む。

【０４０９】
ある実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、インターフェロンβである。このような実施形態では、改変インターフェロンβ因子はまた、ＩＦＮα／β受容体（ＩＦＮＡＲ）、すなわち、ＩＦＮＡＲ１及び／またはＩＦＮＡＲ２鎖に対する低減された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変ＩＦＮβ因子は、ＩＦＮα／β受容体（ＩＦＮＡＲ）、すなわち、ＩＦＮＡＲ１及び／またはＩＦＮＡＲ２鎖に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。

【０４１０】
ある例示的実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子はＩＦＮβである。種々の実施形態では、ＩＦＮβは、官能性誘導体、類似体、前駆物質、アイソフォーム、スプライス変異体、またはＩＦＮβのフラグメントを包含する。種々の実施形態では、ＩＦＮβは、任意の種由来のＩＦＮβを包含する。ある実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、改変型のマウスＩＦＮβを含む。別の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、改変型のヒトＩＦＮβを含む。ヒトＩＦＮβは、１６６個のアミノ酸残基を含む約２２ｋＤａの分子量を有するポリペプチドである。ヒトＩＦＮβのアミノ酸配列は、配列番号２７７である。

【０４１１】
いくつかの実施形態では、ヒトＩＦＮβは、ヒトＩＦＮβのグリコシル化型であるＩＦＮβ１ａである。いくつかの実施形態では、ＩＦＮβは、Ｍｅｔ－１欠失及びＣｙｓ－１７のＳｅｒへの変異を有する非グリコシル化型のヒトＩＦＮβであるＩＦＮβ１ｂである。

【０４１２】
種々の実施形態では、改変ＩＦＮβは、ＩＦＮＡＲのＩＦＮＡＲ１サブユニットに対するその結合または親和性を低減する１つ以上の変異を有する。一実施形態では、改変ＩＦＮβは、ＩＦＮＡＲ１に対する低減された親和性及び／または活性を有する。種々の実施形態では、改変ＩＦＮβは、ヒトＩＦＮβであり、位置Ｆ６７、Ｒ７１、Ｌ８８、Ｙ９２、Ｉ９５、Ｎ９６、Ｋ１２３、及びＲ１２４に１つ以上の変異を有する。いくつかの実施形態では、１つ以上の変異は、Ｆ６７Ｇ、Ｆ６７Ｓ、Ｒ７１Ａ、Ｌ８８Ｇ、Ｌ８８Ｓ、Ｙ９２Ｇ、Ｙ９２Ｓ、Ｉ９５Ａ、Ｎ９６Ｇ、Ｋ１２３Ｇ、及びＲ１２４Ｇから選択される置換である。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｆ６７Ｇ変異を含む。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｋ１２３Ｇ変異を含む。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｆ６７Ｇ及びＲ７１Ａ変異を含む。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｌ８８Ｇ及びＹ９２Ｇ変異を含む。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｙ９２Ｇ、Ｉ９５Ａ、及びＮ９６Ｇ変異を含む。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｋ１２３Ｇ及びＲ１２４Ｇ変異を含む。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｆ６７Ｇ、Ｌ８８Ｇ、及びＹ９２Ｇ変異を含む。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｆ６７Ｓ、Ｌ８８Ｓ、及びＹ９２Ｓ変異を含む。

【０４１３】

いくつかの実施形態では、改変ＩＦＮβは、ＩＦＮＡＲのＩＦＮＡＲ２サブユニットに対するその結合または親和性を低減する１つ以上の変異を有する。一実施形態では、改変ＩＦＮβは、ＩＦＮＡＲ２に対する低減された親和性及び／または活性を有する。種々の実施形態では、改変ＩＦＮβは、ヒトＩＦＮβであり、位置Ｗ２２、Ｒ２７、Ｌ３２、Ｒ３５、Ｖ１４８、Ｌ１５１、Ｒ１５２、及びＹ１５５に１つ以上の変異を有する。いくつかの実施形態では、１つ以上の変異は、Ｗ２２Ｇ、Ｒ２７Ｇ、Ｌ３２Ａ、Ｌ３２Ｇ、Ｒ３５Ａ、Ｒ３５Ｇ、Ｖ１４８Ｇ、Ｌ１５１Ｇ、Ｒ１５２Ａ、Ｒ１５２Ｇ、及びＹ１５５Ｇから選択される置換である。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｗ２２Ｇ変異を含む。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｌ３２Ａ変異を含む。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｌ３２Ｇ変異を含む。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｒ３５Ａ変異を含む。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｒ３５Ｇ変異を含む。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｖ１４８Ｇ変異を含む。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｒ１５２Ａ変異を含む。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｒ１５２Ｇ変異を含む。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｙ１５５Ｇ変異を含む。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｗ２２Ｇ及びＲ２７Ｇ変異を含む。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｌ３２Ａ及びＲ３５Ａ変異を含む。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｌ１５１Ｇ及びＲ１５２Ａ変異を含む。ある実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ｖ１４８Ｇ及びＲ１５２Ａ変異を含む。

【０４１４】

いくつかの実施形態では、改変ＩＦＮβは、１つ以上の次の変異を有する：Ｒ３５Ａ、Ｒ３５Ｔ、Ｅ４２Ｋ、Ｍ６２Ｉ、Ｇ７８Ｓ、Ａ１４１Ｙ、Ａ１４２Ｔ、Ｅ１４９Ｋ、及びＲ１５２Ｈ。いくつかの実施形態では、改変ＩＦＮβは、１つ以上の次の変異を有する：Ｃ１７ＳまたはＣ１７Ａと組み合わせた、Ｒ３５Ａ、Ｒ３５Ｔ、Ｅ４２Ｋ、Ｍ６２Ｉ、Ｇ７８Ｓ、Ａ１４１Ｙ、Ａ１４２Ｔ、Ｅ１４９Ｋ、及びＲ１５２Ｈ。

【０４１５】

いくつかの実施形態では、改変ＩＦＮβは、１つ以上の次の変異を有する：本明細書に記載の他のＩＦＮβ変異と組み合わせた、Ｒ３５Ａ、Ｒ３５Ｔ、Ｅ４２Ｋ、Ｍ６２Ｉ、Ｇ７８Ｓ、Ａ１４１Ｙ、Ａ１４２Ｔ、Ｅ１４９Ｋ、及びＲ１５２Ｈ。

【０４１６】

ヒトＩＦＮβの結晶構造は、公知であり、Ｋａｒｐｕｓａｓ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９８）ＰＮＡＳ，９４（２２）：１１８１３－１１８１８に記載されている。特に、ヒトＩＦＮβの構造は、５つのαヘリックス（すなわち、Ａ、Ｂ、Ｃ、Ｄ、及びＥ）及びこれらのヘリックスを連結する４つのループ領域（すなわち、ＡＢ、ＢＣ、ＣＤ、及びＤＥループ）を含むことが示された。種々の実施形態では、改変ＩＦＮβは、Ａ、Ｂ、Ｃ、Ｄ、Ｅヘリックス及び／またはＡＢ、ＢＣ、ＣＤ、及びＤＥループ中に、ＩＦＮＡＲなどの治療受容体に対するその結合親和性または活性を低減させる１つ以上の変異を有する。変異の例は、国際公開第２０００／０２３１１４号及び米国特許出願公開第２０１５／００１１７３２号に記載されている。これらの全内容は参照により本明細書に組み込まれる。例示的実施形態では、改変ＩＦＮβは、アミノ酸位置１５、１６、１８、１９、２２、及び／または２３にアラニン置換を含むヒトＩＦＮβである。例示的実施形態では、改変ＩＦＮβは、アミノ酸位置２８～３０、３２、及び３３にアラニン置換を含むヒトＩＦＮβである。例示的実施形態では、改変ＩＦＮβは、アミノ酸位置３６、３７、３９、及び４２にアラニン置換を含むヒトＩＦＮβである。例示的実施形態では、改変ＩＦＮβは、アミノ酸位置６４及び６７にアラニン置換を含み、位置６８にセリン置換を含むヒトＩＦＮβである。例示的実施形態では、改変ＩＦＮβは、アミノ酸位置７１～７３にアラニン置換を含むヒトＩＦＮβである。例示的実施形態では、改変ＩＦＮβは、アミノ酸位置９２、９６、９９、及び１００にアラニン置換を含むヒトＩＦＮβである。例示的実施形態では、改変ＩＦＮβは、アミノ酸位置１２８、１３０、１３１、及び１３４にアラニン置換を含むヒトＩＦＮβである。例示的実施形態では、改変ＩＦＮβは、アミノ酸位置１４９、１５３、１５６、及び１５９にアラニン置換を含むヒトＩＦＮβである。いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｗ２２に変異を含み、変異は、グリ

シン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。

【０４１７】

いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｒ２７に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。

【０４１８】

いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｗ２２に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基であり、さらにＲ２７に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。

【０４１９】

いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｌ３２に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。

【０４２０】

いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｒ３５に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。

【０４２１】

いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｌ３２に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基であり、さらにＲ３５に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。

【０４２２】

いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｆ６７に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。

【０４２３】

いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｒ７１に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。

【０４２４】

いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｆ６７に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基であり、さらにＲ７１に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。

【０４２５】

いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｌ８８に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。

【０４２６】

いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｙ９２に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。

【０４２７】
いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｆ６７に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基であり、及びＬ８８に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基であり、及びＹ９２に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。
【０４２８】
いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｌ８８に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基であり、さらにＹ９２に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。
【０４２９】
いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｉ９５に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基であり、さらにＹ９２に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。
【０４３０】
いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｎ９６に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基であり、さらにＹ９２に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。
【０４３１】
いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｙ９２に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基であり、及びＩ９５に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基であり、及びＮ９６に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。
【０４３２】
いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｋ１２３に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。
【０４３３】
いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｒ１２４に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。
【０４３４】
いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｋ１２３に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基であり、さらにＲ１２４に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性

残基である。
【０４３５】
いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｌ１５１に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。
【０４３６】
いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｒ１５２に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。
【０４３７】
いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｌ１５１に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基であり、さらにＲ１５２に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。
【０４３８】
いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｖ１４８に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、及びメチオニン（Ｍ）から選択される脂肪族疎水性残基である。
【０４３９】
いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｖ１４８に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基であり、さらにＲ１５２に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。
【０４４０】
いくつかの実施形態では、変異体ＩＦＮβは、配列番号２７７を含み、Ｙ１５５に変異を含み、変異は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）から選択される脂肪族疎水性残基である。
【０４４１】
いくつかの実施形態では、本発明は、（ａ）配列番号２７７のアミノ酸配列を有し、Ｗ２２位に変異を有し、上記変異が脂肪族疎水性残基及び本明細書で開示の改変ＩＬ－２もしく改変ＩＬ－２変異体である改変ＩＦＮβと；（ｂ）１種以上の標的化部分とを含む、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体であって、上記標的化部分が、目的の抗原もしく受容体に特異的に結合する認識ドメインを含み、上記改変ＩＦＮβ及び上記１種以上の標的化部分が、任意選択で１つ以上のリンカーを介して結合されている、上記キメラタンパク質またはキメラタンパク質複合体に関する。種々の実施形態では、上記Ｗ２２位の変異は、Ｇ、Ａ、Ｌ、Ｉ、Ｍ、及びＶから選択される脂肪族疎水性残基である。種々の実施形態では、上記Ｗ２２位の変異はＧである。
【０４４２】
追加のＩＦＮβ変異体の例は、国際出願第ＰＣＴ／ＥＰ２０１７／０６１５４４号で提供される。この全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。
【０４４３】
いくつかの実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、インターフェロンγである。このような実施形態では、改変インターフェロンγ因子は、インターフェロンガンマ受容体（ＩＦＮＧＲ）、すなわち、ＩＦＮＧＲ１及び／またはＩＦＮＧＲ２鎖に対し、低減された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変インターフェロンγ因子は、インターフェロンガンマ受容体（ＩＦＮＧＲ）、すなわち、ＩＦＮＧＲ１及び／またはＩＦＮＧＲ２鎖に対し、実質的に低減または排除された親和性及び／または活

性を有する。

【０４４４】

いくつかの実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、コンセンサスインターフェロンである。コンセンサスインターフェロンは、いくつかのヒト非アレルＩＦＮαサブタイプの配列を走査し、それぞれ対応する位置で最も高頻度に観察されるアミノ酸を割り当てることにより、生成される。コンセンサスインターフェロンは、１６６個のアミノ酸の内の２０個でＩＦＮα２ｂとは異なり（８８％相同性）、ＩＦＮβとの比較は、３０％を超えるアミノ酸位置で同一性を示す。種々の実施形態では、コンセンサスインターフェロンは、次の配列番号２７８のアミノ酸配列を含む。

【０４４５】

いくつかの実施形態では、コンセンサスインターフェロンは、配列番号２７９のアミノ酸配列を含み、これは、配列番号２７８のアミノ酸配列とは、１個のアミノ酸だけ異なり、すなわち、配列番号２７９は、配列番号２７８の最初のメチオニン残基を欠いている：

【０４４６】

種々の実施形態では、コンセンサスインターフェロンは、改変型のコンセンサスインターフェロン、すなわち、コンセンサスインターフェロン変異体をシグナル伝達因子として含む。種々の実施形態では、コンセンサスインターフェロン変異体は、機能性誘導体、類似体、前駆物質、アイソフォーム、スプライス変異体、またはコンセンサスインターフェロンのフラグメントを包含する。

【０４４７】

ある実施形態では、コンセンサスインターフェロン変異体は、米国特許第４，６９５，６２３号、同第４，８９７，４７１号、同第５，５４１，２９３号、及び同第８，４９６，９２１号で開示されているコンセンサスインターフェロン変異体から選択される。これらの文献の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。例えば、コンセンサスインターフェロン変異体は、米国特許第４，６９５，６２３号、同第４，８９７，４７１号、及び同第５，５４１，２９３号で開示のような、ＩＦＮ－ＣＯＮ$_2$またはＩＦＮ－ＣＯＮ$_3$のアミノ酸配列を含み得る。ある実施形態では、コンセンサスインターフェロン変異体は、ＩＦＮ－ＣＯＮ$_2$のアミノ酸配列、配列番号２８０を含む。

【０４４８】

ある実施形態では、コンセンサスインターフェロン変異体は、ＩＦＮ－ＣＯＮ$_3$のアミノ酸配列、配列番号２８１を含む。

【０４４９】

ある実施形態では、コンセンサスインターフェロン変異体は、米国特許第８，４９６，９２１号で開示の変異体のいずれか１つのアミノ酸配列を含む。例えば、コンセンサス変異体は、配列番号２８２のアミノ酸配列を含み得る。

【０４５０】

別の実施形態では、コンセンサスインターフェロン変異体は、配列番号２８３のアミノ酸配列を含み得る。

【０４５１】

いくつかの実施形態では、コンセンサスインターフェロン変異体は、ペグ化され得、すなわち、ＰＥＧ部分を含む。ある実施形態では、コンセンサスインターフェロン変異体は、配列番号２８３のＳ１５６Ｃの位置で結合されたＰＥＧ部分を含み得る。

【０４５２】

いくつかの実施形態では、改変インターフェロンは、ヒトＩＦＮα２ａの変異体であり、Ｇｌｕ－Ｇｌｕ－Ｐｈｅ－Ｇｌｙ－Ａｓｎ－Ｇｌｎ（配列番号２８４）の配列の位置４１の近傍へのＡｓｐの挿入によりＧｌｕ－Ｇｌｕ－Ｐｈｅ－Ａｓｐ－Ｇｌｙ－Ａｓｎ－Ｇｌｎ（配列番号２８５）が得られ（これはＩＦＮα２ａ配列に対する配列の再番号割当をもたらす）、次の変異Ａｒｇ２３Ｌｙｓ、Ｌｅｕ２６Ｐｒｏ、Ｇｌｕ５３Ｇｌｎ、Ｔｈｒ５４Ａｌａ、Ｐｒｏ５６Ｓｅｒ、Ａｓｐ８６Ｇｌｕ、Ｉｌｅ１０４Ｔｈｒ、Ｇｌｙ１０６Ｇｌｕ、Ｔｈｒ１１０Ｇｌｕ、Ｌｙｓ１１７Ａｓｎ、Ａｒｇ１２５Ｌｙｓ、及びＬｙｓ１

３６Ｔｈｒを有する。コンセンサスインターフェロンについて記載する本明細書の全ての実施形態は、同様に、この遺伝子改変インターフェロンに該当する。

【０４５３】

いくつかの実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、血管内皮細胞増殖因子（ＶＥＧＦ）である。ＶＥＧＦは、生理学的であるが病的でもある血管新生において重要な役割を果たし、血管透過性を調節し、ＶＥＧＦ受容体を発現する細胞に対して成長因子として作用できる、強力な成長因子である。さらなる機能には、特に、マクロファージ系統及び内皮細胞の細胞遊走の刺激が含まれる。少なくとも３個の受容体（ＶＥＧＦＲ１、ＶＥＧＦＲ２及びＶＥＧＦＲ３）に加えて、ＶＥＧＦ成長因子ファミリーのいくつかのメンバーが存在する。ＶＥＧＦファミリーのメンバーは、２種以上のＶＥＧＦＲタイプに結合及びこれを活性化できる。例えば、ＶＥＧＦ－Ａは、ＶＥＧＦＲ１及びＶＥＧＦＲ２を結合し、一方、ＶＥＧＦ－Ｃは、ＶＥＧＦＲ２及びＶＥＧＦＲ３を結合できる。ＶＥＧＦＲ１及びＶＥＧＦＲ２活性化は、血管新生を調節し、ＶＥＧＦＲ３活性化は、リンパ脈管新生に関与する。大部分の血管新生促進シグナルは、ＶＥＧＦＲ２の活性化から生成される。ＶＥＧＦＲ１活性化は、血管新生の負の役割と関連する可能性があることが報告された。ＶＥＧＦＲ１シグナル伝達は、腫瘍の骨髄由来ＶＥＧＦＲ１陽性細胞を介したインビボ進行にも重要である（骨中の転移前微小環境の形成の一因となる）ことも報告された。治療抗体に向けられた／治療抗体を中和するＶＥＧＦ－Ａをベースにしたいくつかの治療法が、主に、血管新生に依存する種々のヒト腫瘍の治療での使用のために開発されてきた。しかし、これらは、副作用がないわけではない。これは、これらが一般的な非細胞／組織特異的ＶＥＧＦ／ＶＥＧＦＲ相互作用阻害剤として作用することを考慮すると驚くべきことではない。従って、特定の標的細胞（例えば、腫瘍血管系内皮細胞）に対するＶＥＧＦ（例えば、ＶＥＧＦ－Ａ）／ＶＥＧＦＲ２阻害を制限することが望ましいであろう。

【０４５４】

いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦは、ＶＥＧＦ－Ａ、ＶＥＧＦ－Ｂ、ＶＥＧＦ－Ｃ、ＶＥＧＦ－Ｄ、またはＶＥＧＦ－Ｅ及び$VEGF_{121}$、$VEGF_{121}b$、$VEGF_{145}$、$VEGF_{165}$、$VEGF_{165}b$、$VEGF_{189}$、及び$VEGF_{206}$などの種々のＶＥＧＦ－Ａのアイソフォームを含むこれらのアイソフォームである。いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＶＥＧＦＲ－１（Ｆｌｔ－１）及び／またはＶＥＧＦＲ－２（ＫＤＲ／Ｆｌｋ－１）に対する低減された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＶＥＧＦＲ－１（Ｆｌｔ－１）及び／またはＶＥＧＦＲ－２（ＫＤＲ／Ｆｌｋ－１）に対する低減または排除された親和性及び／または活性を有する。ある実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＶＥＧＦＲ－２（ＫＤＲ／Ｆｌｋ－１）に対する低減された親和性及び／または活性を有し、及び／またはＶＥＧＦＲ－１（Ｆｌｔ－１）に対する低減または排除された親和性及び／または活性を有する。このような実施形態は、例えば、創傷治癒方法または虚血関連疾患の治療で使用される（理論に束縛されることを意図するものではないが、内皮細胞機能及び血管新生に対するＶＥＧＦＲ２の効果により媒介されて）。種々の実施形態では、癌及び炎症促進性活性と関連するＶＥＧＦＲ－１（Ｆｌｔ－１）への結合が回避される。種々の実施形態では、ＶＥＧＦＲ－１（Ｆｌｔ－１）は、デコイ受容体として機能し、そのため、この受容体に対する親和性を実質的に低減または排除し、治療薬の隔離を回避する。ある実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＶＥＧＦＲ－１（Ｆｌｔ－１）に対する低減または排除された親和性及び／または活性を有し、及び／またはＶＥＧＦＲ－２（ＫＤＲ／Ｆｌｋ－１）に対する低減または排除された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦは、ＶＥＧＦ－ＣまたはＶＥＧＦ－Ｄである。このような実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＶＥＧＦＲ３に対する低減された親和性及び／または活性を有する。あるいは、改変シグナル伝達因子は、ＶＥＧＦＲ３に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。

【０４５５】

血管新生促進治療法はまた、種々の疾患（例えば、虚血性心疾患、出血など）において

重要であり、ＶＥＧＦベース治療薬を含む。ＶＥＧＦＲ２の活性化は血管新生促進性である（内皮細胞上で作用する）。ＶＥＧＦＲ１は、炎症細胞（例えば、マクロファージを含む）の遊走の刺激を生じ、血管過多透過性に関連する炎症をもたらし得る。ＶＥＧＦＲ１の活性化はまた、腫瘍微小環境形成に関連する骨髄を活性化できる。従って、ＶＥＧＦＲ２活性化に対し選択性があるＶＥＧＦベース治療薬は、この場合には望ましいであろう。さらに、例えば、内皮細胞を特異的に標的とする細胞が望ましいであろう。

【０４５６】

いくつかの実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、ＶＥＧＦＲ２に対する低減された親和性及び／または活性（例えば、アンタゴニスト活性）を有し、及び／またはＶＥＧＦＲ１に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。腫瘍内皮細胞マーカー（例えば、ＰＳＭＡなど）に結合する標的化部分を介して腫瘍血管系内皮細胞を標的にする場合、このような構築物は、このようなマーカー陽性細胞上に対し特異的にＶＥＧＦＲ２活性化を阻害するが、標的細胞へ向かう途上及び標的細胞上では（活性が排除された場合）ＶＥＧＦＲ１を活性化せず、従って、例えば、炎症反応の誘導を無くする。これは、ＶＥＧＦ－Ａ中和療法に比べて、多くの腫瘍型に対するより選択的で安全な抗血管新生薬療法を提供することになろう。

【０４５７】

いくつかの実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、ＶＥＧＦＲ２に対する低減された親和性及び／または活性（例えば、アゴニスト活性）を有し、及び／またはＶＥＧＦＲ１に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。血管内皮細胞への標的化により、いくつかの実施形態では、このような構築物は、ＶＥＧＦＲ１が関連する炎症反応誘導を生じることなく、血管新生を促進する。従って、このような構築物は、ＶＥＧＦＲ２ならびにＶＥＧＦＲ１の全身性活性化に起因する副作用の実質的に低減されたリスクを有する標的化血管新生促進効果を有するであろう。

【０４５８】

ある例示的実施形態では、改変シグナル伝達因子は、配列番号２３５のアミノ酸を有するＶＥＧＦ$_{165}$である。

【０４５９】

別の例示的実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、配列番号２３６のアミノ酸配列を有するＶＥＧＦ$_{165}$ｂである。

【０４６０】

これらの実施形態では、改変シグナル伝達因子は、アミノ酸Ｉ８３での変異を有する（例えば、Ｉ８３での置換変異、例えば、Ｉ８３Ｋ、Ｉ８３Ｒ、またはＩ８３Ｈ）。理論に束縛されることを意図するものではないが、このような変異は、低減された受容体結合親和性を生じ得ると考えられている。例えば、米国特許第９，０７８，８６０号を参照されたい。この全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０４６１】

ある実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子はＴＮＦαである。ＴＮＦは、細胞増殖、分化、アポトーシス、腫瘍形成、ウイルス複製、自己免疫、免疫細胞機能及び輸送、炎症、ならびに敗血性ショックの調節を含む、多くの多様な機能を有する多面的サイトカインである。それは、標的細胞：ＴＮＦＲ１（ｐ５５）及びＴＮＦＲ２（ｐ７５）上の２つの別々の膜受容体に結合する。ＴＮＦＲ１は非常に広範な発現パターンを示すが、ＴＮＦＲ２はリンパ球、Ｔｒｅｇ、内皮細胞、特定のニューロン、ミクログリア、心筋細胞及び間葉系幹細胞の特定の集団上で選択的に発現される。受容体活性化に応答して、全く別々の生物学的経路が活性化されるが、若干の重なり合いも存在する。一般原則として、理論に束縛されることを望むものではないが、ＴＮＦＲ１シグナル伝達はアポトーシス（細胞死）の誘導に関連し、ＴＮＦＲ２シグナル伝達は細胞生存シグナルの活性化に関連する（例えば、ＮＦκＢ経路の活性化）。ＴＮＦの投与は、全身的毒性であり、これは主にＴＮＦＲ１の関与のためである。しかし、ＴＮＦＲ２の活性化もまた、ＴＮＦＲ１と同様に、多様な作用に関連し、ＴＮＦ系治療薬の開発においては、ＴＮＦ標的化及び活性に対す

る制御が重要であることに留意されたい。

【０４６２】

いくつかの実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、ＴＮＦＲ１及び／またはＴＮＦＲ２に対する低減された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＴＮＦＲ１及び／またはＴＮＦＲ２に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。ＴＮＦＲ１はほとんどの組織で発現され、かつ細胞死シグナル伝達に関与するが、対照的に、ＴＮＦＲ２は細胞生存シグナルに関与する。したがって、癌の治療法に関する実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＴＮＦＲ１に対する低減された親和性及び／または活性を有し、及び／またはＴＮＦＲ２に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。これらの実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、アポトーシスが望ましい細胞、例えば、腫瘍細胞または腫瘍血管内皮細胞を標的にし得る。例えば、神経変性障害の治療のためのニューロン新生における、細胞生存を促進する方法に関する実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＴＮＦＲ２に対する低減された親和性及び／または活性及び／またはＴＮＦＲ１に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。言い方を変えれば、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、いくつかの実施形態では、死シグナルまたは生存シグナルのどちらかを優先できる改変ＴＮＦα因子を含む。

【０４６３】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＴＮＦＲ１に対する低減された親和性及び／または活性を有し、及び／またはＴＮＦＲ２に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する改変ＴＮＦを有する。このようなキメラは、いくつかの実施形態では、野生型ＴＮＦ及び／またはＴＮＦＲ１に対する低減された親和性及び／または活性をもたらす変異のみを有するキメラに比べて、より強力なアポトーシスの誘導因子である。このようなキメラは、いくつかの実施形態では、腫瘍細胞死または腫瘍血管内皮細胞死の誘導に使用される（例えば、癌の治療において）。また、いくつかの実施形態では、これらのキメラは、例えば、ＴＮＦＲ２を介してＴｒｅｇ細胞の活性化を回避または低減し、したがってインビボでのＴＮＦＲ１介在性抗腫瘍活性をさらに裏付ける。

【０４６４】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＴＮＦＲ２に対する低減された親和性及び／または活性を有し、及び／またはＴＮＦＲ１に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する改変ＴＮＦを有する。このようなキメラは、いくつかの実施形態では、いくつかの細胞型での細胞生存のより強力な活性化因子であり、これは種々の疾患における具体的治療目的であり得、限定されないが、ニューロン新生の刺激を含む。さらに、ＴＮＦＲ２選択キメラはまた、自己免疫疾患（例えば、クローン病、糖尿病、ＭＳ、大腸炎など、及び本明細書に記載の多くの他の疾患）の治療において有用である。いくつかの実施形態では、キメラは自己反応性Ｔ細胞を標的にする。いくつかの実施形態では、キメラは、Ｔｒｅｇ細胞活性化及び細胞傷害性Ｔ細胞の間接的抑制を促進する。

【０４６５】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質は、例えば、ＴＮＦＲ２の活性化及び／またはＴＮＦＲ１の回避により（例えば、ＴＮＦＲ２に対する低減された親和性及び／または活性を有し、及び／またはＴＮＦＲ１に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する改変ＴＮＦにより）自己反応性Ｔ細胞の死をもたらす。理論に束縛されることを望むものではないが、これらの自己反応性Ｔ細胞は、例えば、ＮＦκＢ経路活性／シグナル伝達の変化により、変更されたアポトーシス／生存シグナルを有する。

【０４６６】

いくつかの実施形態では、ＴＮＦＲ２ベースキメラは、種々の自己免疫疾患、特に、心

臓疾患、脱髄性及び神経変性障害、及び感染症を含む疾患に対する追加の治療用途を有する。

【０４６７】

ある実施形態では、野生型ＴＮＦαは、配列番号２３７のアミノ酸配列を有する。

【０４６８】

このような実施形態では、改変ＴＮＦα因子は、１つまたは複数のアミノ酸位置２９、３１、３２、８４、８５、８６、８７、８８、８９、１４５、１４６及び１４７に変異を有し、これが、低減された受容体結合親和性を有する改変ＴＮＦαをもたらす。例えば、米国特許第７，９９３，６３６号を参照されたい。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０４６９】

いくつかの実施形態では、全内容が参照により本明細書に組み込まれる、国際公開第２０１５／００７９０３号に記載のように、改変ヒトＴＮＦα部分は、１つまたは複数のアミノ酸位置Ｒ３２、Ｎ３４、Ｑ６７、Ｈ７３、Ｌ７５、Ｔ７７、Ｓ８６、Ｙ８７、Ｖ９１、Ｉ９７、Ｔ１０５、Ｐ１０６、Ａ１０９、Ｐ１１３、Ｙ１１５、Ｅ１２７、Ｎ１３７、Ｄ１４３、及びＡ１４５に変異を有する（ジェンバンク受入番号ＢＡＧ７０３０６、バージョンＢＡＧ７０３０６．１　ＧＩ：１９７６９２６８５、ヒトＴＮＦ配列に従ってナンバリング）。いくつかの実施形態では、改変ヒトＴＮＦα部分は、Ｒ３２Ｇ、Ｎ３４Ｇ、Ｑ６７Ｇ、Ｈ７３Ｇ、Ｌ７５Ｇ、Ｌ７５Ａ、Ｌ７５Ｓ、Ｔ７７Ａ、Ｓ８６Ｇ、Ｙ８７Ｑ、Ｙ８７Ｌ、Ｙ８７Ａ、Ｙ８７Ｆ、Ｖ９１Ｇ、Ｖ９１Ａ、Ｉ９７Ａ、Ｉ９７Ｑ、Ｉ９７Ｓ、Ｔ１０５Ｇ、Ｐ１０６Ｇ、Ａ１０９Ｙ、Ｐ１１３Ｇ、Ｙ１１５Ｇ、Ｙ１１５Ａ、Ｅ１２７Ｇ、Ｎ１３７Ｇ、Ｄ１４３Ｎ、Ａ１４５Ｇ及びＡ１４５Ｔから選択される置換変異を有する。ある実施形態では、ヒトＴＮＦα部分は、Ｙ８７Ｑ、Ｙ８７Ｌ、Ｙ８７Ａ、及びＹ８７Ｆから選択される変異を有する。別の実施形態では、ヒトＴＮＦα部分は、Ｉ９７Ａ、Ｉ９７Ｑ、及びＩ９７Ｓから選択される変異を有する。さらなる実施形態では、ヒトＴＮＦα部分は、Ｙ１１５Ａ及びＹ１１５Ｇから選択される変異を有する。

【０４７０】

いくつかの実施形態では、国際公開第２００８／１２４０８６号に記載のように、改変ＴＮＦα因子は、Ｎ３９Ｙ、Ｓ１４７Ｙ、及びＹ８７Ｈから選択される１つ以上の変異を含む。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０４７１】

ある実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、ＴＮＦβである。ＴＮＦβは、ＬＴβ（ＬＴα１β２）と、ホモ三量体またはヘテロ三量体を形成できる。いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＴＮＦＲ１及び／またはＴＮＦＲ２及び／またはヘルペスウイルス侵入メディエーター（ＨＥＶＭ）及び／またはＬＴβＲに対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。

【０４７２】

ある実施形態では、野生型ＴＮＦβは、配列番号２３８のアミノ酸配列を有する。

【０４７３】

このような実施形態では、改変ＴＮＦβ因子は、１つまたは複数のアミノ酸位置１０６～１１３に変異を含み得、これが、ＴＮＦＲ２に対する低減された受容体結合親和性を有する改変ＴＮＦβをもたらす。ある実施形態では、改変シグナル伝達因子は、アミノ酸位置１０６～１１３に１つ以上の置換変異を有する。例示的実施形態では、置換変異は、Ｑ１０７Ｅ、Ｑ１０７Ｄ、Ｓ１０６Ｅ、Ｓ１０６Ｄ、Ｑ１０７Ｒ、Ｑ１０７Ｎ、Ｑ１０７Ｅ／Ｓ１０６Ｅ、Ｑ１０７Ｅ／Ｓ１０６Ｄ、Ｑ１０７Ｄ／Ｓ１０６Ｅ、及びＱ１０７Ｄ／Ｓ１０６Ｄから選択される。別の実施形態では、改変シグナル伝達因子は、位置１０６～１１３に、約１～約３個のアミノ酸の挿入を有する。

【０４７４】

いくつかの実施形態では、国際公開第２０１５／００７９０３号に記載のように、追加の改変因子は、ＴＮＦファミリーメンバー（例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ）であり、これ

は、単鎖三量体型であり得る。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０４７５】

いくつかの実施形態では、改変因子は、ＴＮＦファミリーメンバー（例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ）であり、これは、ＴＮＦＲ１に対し、低減された親和性及び／または活性、すなわちアンタゴニスト活性（例えば、天然のアンタゴニスト活性または１つ以上の変異の結果としてのアンタゴニスト活性、例えば、その全内容が参照により本明細書に組み込まれる、国際公開第２０１５／００７５２０号を参照）を有する。これらの実施形態では、改変因子は、ＴＮＦファミリーメンバー（例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ）であり、これもまた、場合により、ＴＮＦＲ２に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変因子は、ＴＮＦファミリーメンバー（例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ）であり、これは、ＴＮＦＲ２に対し、低減された親和性及び／または活性、すなわちアンタゴニスト活性（例えば、天然のアンタゴニスト活性または１つ以上の変異の結果としてのアンタゴニスト活性、例えば、国際公開第２０１５／００７５２０号を参照。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる）を有する。これらの実施形態では、改変因子は、ＴＮＦファミリーメンバー（例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ）であり、これも同様に、場合により、ＴＮＦＲ１に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。このような実施形態の構築物は、例えば、細胞特異的な様式でＴＮＦ応答を抑制する方法において使用される。いくつかの実施形態では、アンタゴニストＴＮＦファミリーメンバー（例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ）は、国際公開第２０１５／００７９０３号に記載のように、単鎖三量体型である。

【０４７６】

ある実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、ＴＲＡＩＬである。いくつかの実施形態では、改変ＴＲＡＩＬ因子は、ＤＲ４（ＴＲＡＩＬ－ＲＩ）及び／またはＤＲ５（ＴＲＡＩＬ－ＲＩＩ）及び／またはＤｃＲ１及び／またはＤｃＲ２に対して、低減された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変ＴＲＡＩＬ因子は、ＤＲ４（ＴＲＡＩＬ－ＲＩ）及び／またはＤＲ５（ＴＲＡＩＬ－ＲＩＩ）及び／またはＤｃＲ１及び／またはＤｃＲ２に対して、低減された親和性及び／または活性を有する。

【０４７７】

ある実施形態では、野生型ＴＲＡＩＬは、配列番号２３９のアミノ酸配列を有する。

【０４７８】

このような実施形態では、改変ＴＲＡＩＬ因子は、アミノ酸位置Ｔ１２７～Ｒ１３２、Ｅ１４４～Ｒ１４９、Ｅ１５５～Ｈ１６１、Ｙ１８９～Ｙ２０９、Ｔ２１４～１２２０、Ｋ２２４～Ａ２２６、Ｗ２３１、Ｅ２３６～Ｌ２３９、Ｅ２４９～Ｋ２５１、Ｔ２６１～Ｈ２６４及びＨ２７０～Ｅ２７１に変異を含み得る（ジェンバンク受入番号ＮＰ＿００３８０１、バージョン１０ＮＰ＿００３８０１．１、ＧＩ：４５０７５９３、ヒト配列に基づいてナンバリング；上記参照）。

【０４７９】

ある実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、ＴＧＦαである。このような実施形態では、改変ＴＧＦα因子は、上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）に対する低減された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変ＴＧＦα因子は、上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。

【０４８０】

ある実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、ＴＧＦβである。このような実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＴＧＦＢＲ１及び／またはＴＧＦＢＲ２に対する低減された親和性を有する。いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＴＧＦＢＲ１及び／またはＴＧＦＢＲ２に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達因子は、場合により、ＴＧＦＢＲ３に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有し、これは

、理論に束縛されることを意図するものではないが、ＴＧＦβ受容体に対するリガンドのリザーバーとして作用し得る。いくつかの実施形態では、ＴＧＦβは、ＴＧＦＢＲ２よりもＴＧＦＢＲ１またはＴＧＦＢＲ１よりもＴＧＦＢＲ２を選択する。同様に、理論に束縛されることを望むものではないが、ＬＡＰは、ＴＧＦβ受容体に対するリガンドのリザーバーとして作用し得る。いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＴＧＦＢＲ１及び／またはＴＧＦＢＲ２に対する低減された親和性及び／または活性及び／または潜在関連ペプチド（ＬＡＰ）に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、このようなキメラは、カムラチ・エンゲルマン病、または不適切なＴＧＦβシグナル伝達に関連する他の疾患において使用される。

【０４８１】

いくつかの実施形態では、追加の改変因子は、ＴＧＦファミリーメンバー（例えば、ＴＧＦα、ＴＧＦβ）であり、これは、ＴＧＦＢＲ１、ＴＧＦＢＲ２、ＴＧＦＢＲ３の内の１種以上に対し、低減された親和性及び／または活性、すなわち、アンタゴニスト活性（例えば、天然のアンタゴニスト活性または１つ以上の変異の結果であるアンタゴニスト活性、例えば、国際公開第２０１５／００７５２０号を参照。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる）を有する。これらの実施形態では、改変因子は、ＴＧＦファミリーメンバー（例えば、ＴＧＦα、ＴＧＦβ）であり、これも同様に、場合により、ＴＧＦＢＲ１、ＴＧＦＢＲ２、ＴＧＦＢＲ３の内の１種以上に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。

【０４８２】

いくつかの実施形態では、追加の改変型因子は、ＴＧＦファミリーメンバー（例えば、ＴＧＦα、ＴＧＦβ）であり、これは、ＴＧＦＢＲ１及び／またはＴＧＦＢＲ２に対して、低減された親和性及び／または活性、すなわち、アンタゴニスト活性（例えば、天然のアンタゴニスト活性または１つ以上の変異の結果であるアンタゴニスト活性、例えば、国際公開第２０１５／００７５２０号を参照。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる）を有する。これらの実施形態では、改変因子は、ＴＧＦファミリーメンバー（例えば、ＴＧＦα、ＴＧＦβ）であり、これも同様に、場合により、ＴＧＦＢＲ３に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。

【０４８３】

ある実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－１である。ある実施形態では、改変シグナル伝達因子はＩＬ－１αまたはＩＬ－１βである。いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－１Ｒ１及び／またはＩＬ－１ＲＡｃＰに対する低減された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－１Ｒ１及び／またはＩＬ－１ＲＡｃＰに対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－１Ｒ２に対する低減された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－１Ｒ２に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、本改変型ＩＬ－１因子は、ＩＬ－１Ｒ２に対する相互作用を回避し、したがって、治療薬に対するデコイ及び／またはシンクとしてのその機能を実質的に低減する。

【０４８４】

ある実施形態では、野生型ＩＬ－１βは、配列番号２４０のアミノ酸配列を有する。

【０４８５】

ＩＬ－１βは、炎症促進性のサイトカインであり、重要な免疫系制御因子である。それは、ＣＤ４　Ｔ細胞応答の強力な活性化因子であり、Ｔｈ１７細胞の比率を高め、ＩＦＮγ及びＩＬ－４産生細胞の増殖を増大させる。ＩＬ－１βはまた、$CD8^+$　Ｔ細胞の強力な制御因子であり、抗原特異的$CD8^+$　Ｔ細胞増殖、分化、周辺部への移動及び記憶を強化する。ＩＬ－１β受容体には、ＩＬ－１Ｒ１及びＩＬ－１Ｒ２が含まれる。ＩＬ－１Ｒ１への結合及びＩＬ－１Ｒ１を介したシグナル伝達は、ＩＬ－１βが多くのその生物学的（及び病理学的）作用を媒介する機序を構成する。ＩＬ－１Ｒ２は、デコイ受容体と

して機能できることにより、ＩＬ－１Ｒ１を介した相互作用及びシグナル伝達を行うためのＩＬ－１βの利用可能性を減らす。

【０４８６】

いくつかの実施形態では、改変ＩＬ－１βは、ＩＬ－１Ｒ１に対する低減された親和性及び／または活性（例えば、アゴニスト活性）を有する。いくつかの実施形態では、改変ＩＬ－１βは、ＩＬ－１Ｒ２に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。このような実施形態では、誘導可能または回復可能なＩＬ－１β／ＩＬ－１Ｒ１シグナル伝達ならびにＩＬ－Ｒ２に対する治療用キメラの損失の防止及びその結果としての必要なＩＬ－１投与量の削減（例えば、野生型またはＩＬＲ１に対する減弱化変異のみを有するキメラに比べて）がもたらされる。このような構築物は、例えば、免疫系を刺激して抗癌応答を開始することを含む、例えば、癌を治療する方法で使用される。

【０４８７】

いくつかの実施形態では、改変ＩＬ－１βは、ＩＬ－１Ｒ１に対し、低減された親和性及び／または活性（例えば、アンタゴニスト活性、例えば、天然のアンタゴニスト活性または１つ以上の変異の結果としてのアンタゴニスト活性、例えば、国際公開第２０１５／００７５２０号を参照。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる）を有する。いくつかの実施形態では、改変ＩＬ－１βは、ＩＬ－１Ｒ２に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。このような実施形態では、ＩＬ－１β／ＩＬ－１Ｒ１シグナル伝達は誘導可能または回復可能ではなく、また、ＩＬ－Ｒ２に対する治療用キメラの損失の防止及びその結果としての必要なＩＬ－１β投与量の削減（例えば、野生型またはＩＬ－Ｒ１に対する減弱化変異のみを有するキメラに比べて）がもたらされる。このような構築物は、例えば、免疫系を抑制することを含む、例えば、自己免疫疾患を治療する方法で使用される。

【０４８８】

このような実施形態では、改変シグナル伝達因子は、アミノ酸５２～５４の欠失を有し、これは、Ｉ型ＩＬ－１Ｒに対して、低減された結合親和性及び低減された生物活性を有する改変ヒトＩＬ－１βが産生する。例えば、国際公開第１９９４／０００４９１号を参照されたい。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、改変ヒトＩＬ－１βは、Ａ１１７Ｇ／Ｐ１１８Ｇ、Ｒ１２０Ｘ、Ｌ１２２Ａ、Ｔ１２５Ｇ／Ｌ１２６Ｇ、Ｒ１２７Ｇ、Ｑ１３０Ｘ、Ｑ１３１Ｇ、Ｋ１３２Ａ、Ｓ１３７Ｇ／Ｑ１３８Ｙ、Ｌ１４５Ｇ、Ｈ１４６Ｘ、Ｌ１４５Ａ／Ｌ１４７Ａ、Ｑ１４８Ｘ、Ｑ１４８Ｇ／Ｑ１５０Ｇ、Ｑ１５０Ｇ／Ｄ１５１Ａ、Ｍ１５２Ｇ、Ｆ１６２Ａ、Ｆ１６２Ａ／Ｑ１６４Ｅ、Ｆ１６６Ａ、Ｑ１６４Ｅ／Ｅ１６７Ｋ、Ｎ１６９Ｇ／Ｄ１７０Ｇ、Ｉ１７２Ａ、Ｖ１７４Ａ、Ｋ２０８Ｅ、Ｋ２０９Ｘ、Ｋ２０９Ａ／Ｋ２１０Ａ、Ｋ２１９Ｘ、Ｅ２２１Ｘ、Ｅ２２１Ｓ／Ｎ２２４Ａ、Ｎ２２４Ｓ／Ｋ２２５Ｓ、Ｅ２４４Ｋ、Ｎ２４５Ｑから選択される１つ以上の置換変異（Ｘはアミノ酸の任意の変化、例えば、非保存的変化であり得る）を有し、これらは、例えば、全内容が参照により本明細書に組み込まれる、国際公開第２０１５／００７５４２号及び国際公開第２０１５／００７５３６号に記載のように、ＩＬ－１Ｒに対し低減された結合を示す（ジェンバンク受入番号ＮＰ＿０００５６７、バージョンＮＰ－０００５６７．１、Ｇｌ：１０８３５１４５、ヒトＩＬ－１β配列に基づいてナンバリング）。いくつかの実施形態では、改変ヒトＩＬ－１βは、Ｒ１２０Ａ、Ｒ１２０Ｇ、Ｑ１３０Ａ、Ｑ１３０Ｗ、Ｈ１４６Ａ、Ｈ１４６Ｇ、Ｈ１４６Ｅ、Ｈ１４６Ｎ、Ｈ１４６Ｒ、Ｑ１４８Ｅ、Ｑ１４８Ｇ、Ｑ１４８Ｌ、Ｋ２０９Ａ、Ｋ２０９Ｄ、Ｋ２１９Ｓ、Ｋ２１９Ｑ、Ｅ２２１Ｓ及びＥ２２１Ｋから選択される１つ以上の変異を有し得る。ある実施形態では、改変ヒトＩＬ－１βは、変異Ｑ１３１Ｇ及びＱ１４８Ｇを含む。ある実施形態では、改変ヒトＩＬ－１βは、変異Ｑ１４８Ｇ及びＫ２０８Ｅを含む。ある実施形態では、改変ヒトＩＬ－１βは、変異Ｒ１２０Ｇ及びＱ１３１Ｇを含む。ある実施形態では、改変ヒトＩＬ－１βは、変異Ｒ１２０Ｇ及びＨ１４６Ｇを含む。ある実施形態では、改変ヒトＩＬ－１βは、変異Ｒ１２０Ｇ及びＫ２０８Ｅを含む。ある実施形態では、改変ヒトＩＬ－１βは、変異Ｒ１２０Ｇ、Ｆ１６２Ａ、及びＱ１６４Ｅを含む。

【０４８９】
ある実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－３である。いくつかの実施形態では、改変型シグナル伝達因子は、ＩＬ－３受容体に対する低減された親和性及び／または活性を有し、ＩＬ－３受容体は共通のベータ（ベータｃまたはＣＤ１３１）サブユニットと対になった特有のアルファ鎖を有するヘテロ二量体である。いくつかの実施形態では、改変型シグナル伝達因子は、ＩＬ－３受容体に対して実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有し、ＩＬ－３受容体は共通のベータ（ベータｃまたはＣＤ１３１）サブユニットと対になった特有のアルファ鎖を有するヘテロ二量体である。
【０４９０】
ある実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－４である。このような実施形態では、改変シグナル伝達因子は、１型及び／または２型ＩＬ－４受容体に対する低減された親和性及び／または活性を有する。このような実施形態では、改変シグナル伝達因子は、１型及び／または２型ＩＬ－４受容体に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。１型ＩＬ－４受容体は、共通のγ鎖を有するＩＬ－４Ｒαサブユニットから構成され、ＩＬ－４を特異的に結合する。２型ＩＬ－４受容体は、ＩＬ－１３Ｒα１として知られる異なるサブユニットに結合したＩＬ－４Ｒαサブユニットを含む。いくつかの実施形態では、改変型シグナル伝達因子は、２型ＩＬ－４受容体に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。
【０４９１】
ある実施形態では、野生型ＩＬ－４は、配列番号２４２のアミノ酸配列を有する。
【０４９２】
このような実施形態では、改変ＩＬ－４因子は、アミノ酸Ｒ１２１（Ｒ１２１Ａ、Ｒ１２１Ｄ、Ｒ１２１Ｅ、Ｒ１２１Ｆ、Ｒ１２１Ｈ、Ｒ１２１Ｉ、Ｒ１２１Ｋ、Ｒ１２１Ｎ、Ｒ１２１Ｐ、Ｒ１２１Ｔ、Ｒ１２１Ｗ）、Ｅ１２２（Ｅ１２２Ｆ）、Ｙ１２４（Ｙ１２４Ａ、Ｙ１２４Ｑ、Ｙ１２４Ｒ、Ｙ１２４Ｓ、Ｙ１２４Ｔ）及びＳ１２５（Ｓ１２５Ａ）に１つ以上の変異を有する。理論に束縛されることを望むものではないが、これらの改変ＩＬ－４因子は、Ｉ型受容体により媒介される活性を維持するが、その他の受容体により媒介される生物活性を顕著に低減すると考えられる。例えば、米国特許第６，４３３，１５７号を参照されたい。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。
【０４９３】
ある実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－６である。ＩＬ－６は、リガンド結合ＩＬ－６Ｒ鎖（ＣＤ１２６）及びシグナル伝達成分ｇｐ１３０を含む細胞表面Ｉ型サイトカイン受容体複合体を介して信号を伝達する。ＩＬ－６はまた、可溶性型のＩＬ－６Ｒ（ｓＩＬ－６Ｒ）にも結合し得、これは、ＩＬ－６Ｒの細胞外の部分である。ｓＩＬ－６Ｒ／ＩＬ－６複合体は、神経突起の成長及びニューロンの生存に関与し、したがって、再ミエリン化による神経再生に重要であり得る。したがって、いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－６Ｒ／ｇｐ１３０及び／またはｓＩＬ－６Ｒに対する低減された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変型シグナル伝達因子は、ＩＬ－６Ｒ／ｇｐ１３０及び／またはｓＩＬ－６Ｒに対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。
【０４９４】
ある実施形態では、野生型ＩＬ－６は、配列番号２４３のアミノ酸配列を有する。
【０４９５】
このような実施形態では、改変シグナル伝達因子は、アミノ酸５８、１６０、１６３、１７１または１７７に１つ以上の変異を有する。理論に束縛されることを望むものではないが、これらの改変ＩＬ－６因子は、ＩＬ－６Ｒαに対し低減された結合親和性及び低減された生物活性を示すと考えられている。例えば、国際公開第９７／１０３３８号を参照されたい。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。
【０４９６】
ある実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－１０である。このような実

施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－１０受容体１及びＩＬ－１０受容体２に対する低減された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変型シグナル伝達因子は、ＩＬ－１０受容体１及びＩＬ－１０受容体２に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。

【０４９７】

ある実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－１１である。このような実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－１１Ｒα及び／またはＩＬ－１１Ｒβ及び／またはｇｐ１３０に対する低減された親和性及び／または活性を有する。このような実施形態では、改変シグナル型伝達因子は、ＩＬ－１１Ｒα及び／またはＩＬ－１１Ｒβ及び／またはｇｐ１３０に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。

【０４９８】

ある実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－１２である。このような実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－１２Ｒβ１及び／またはＩＬ－１２Ｒβ２に対する低減された親和性及び／または活性を有する。このような実施形態では、改変型シグナル伝達因子は、ＩＬ－１２Ｒβ１及び／またはＩＬ－１２Ｒβ２に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。

【０４９９】

ある実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－１３である。このような実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－４受容体（ＩＬ－４Ｒα）及びＩＬ－１３Ｒα１に対する低減された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変型シグナル伝達因子は、ＩＬ－４受容体（ＩＬ－４Ｒα）またはＩＬ－１３Ｒα１に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。

【０５００】

ある実施形態では、野生型ＩＬ－１３は、配列番号２４４のアミノ酸配列を有する。

【０５０１】

このような実施形態では、改変ＩＬ－１３因子は、アミノ酸１３、１６、１７、６６、６９、９９、１０２、１０４、１０５、１０６、１０７、１０８、１０９、１１２、１１３及び１１４に１つ以上の変異を有する。理論に束縛されることを望むものではないが、これらの改変ＩＬ－１３因子は、低減された生物活性を示すと考えられている。例えば、国際公開第２００２／０１８４２２号を参照されたい。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０５０２】

ある実施形態では、シグナル伝達因子は、野生型または改変ＩＬ－１５である。いくつかの実施形態では、改変ＩＬ－１５は、インターロイキン１５受容体に対する低減された親和性及び／または活性を有する。

【０５０３】

ある実施形態では、野生型ＩＬ－１５はアミノ酸配列：
ＮＷＶＮＶＩＳＤＬＫＫＩＥＤＬＩＱＳＭＨＩＤＡＴＬＹＴＥＳＤＶＨＰＳＣＫＶＴＡＭＫＣＦＬＬＥＬＱＶＩＳＨＥＳＧＤＴＤＩＨＤＴＶＥＮＬＩＩＬＡＮＮＩＬＳＳＮＧＮＩＴＥＳＧＣＫＥＣＥＥＬＥＥＫＮＩＫＥＦＬＱＳＦＶＨＩＶＱＭＦＩＮＴＳ（配列番号２９２）
を有する。

【０５０４】

このような実施形態では、改変ＩＬ－１５因子は、配列番号２９２を基準にして、アミノ酸Ｓ７、Ｄ８、Ｋ１０、Ｋ１１、Ｅ４６、Ｌ４７、Ｖ４９、Ｉ５０、Ｄ６１、Ｎ６５、Ｌ６６、Ｉ６７、Ｉ６８、Ｌ６９、Ｎ７２、Ｑ１０８で１つ以上の変異を有する。

【０５０５】

ある実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－１８である。いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－１８Ｒα及び／またはＩＬ－１８Ｒβに対

する低減された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－１８Ｒα及び／またはＩＬ－１８Ｒβに対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変型シグナル伝達因子は、シグナル伝達に必要なＴＩＲドメインを欠くＩＬ－１８ＲαのアイソフォームであるＩＬ－１８Ｒα　ＩＩ型に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。

【０５０６】

ある実施形態では、野生型ＩＬ－１８は、配列番号２４５のアミノ酸配列を有する。

【０５０７】

このような実施形態では、全内容が参照により本明細書に組み込まれる、国際公開第２０１５／００７５４２号に記載のように、改変ＩＬ－１８因子は、Ｙ３７～Ｋ４４、Ｒ４９～Ｑ５４、Ｄ５９～Ｒ６３、Ｅ６７～Ｃ７４、Ｒ８０、Ｍ８７～Ａ９７、Ｎ１２７～Ｋ１２９、Ｑ１３９～Ｍ１４９、Ｋ１６５～Ｋ１７１、Ｒ１８３及びＱ１９０～Ｎ１９１から選択されるアミノ酸またはアミノ酸領域に１つ以上の変異を含み得る（ジェンバンク受入番号ＡＡＶ３８６９７、バージョンＡＡＶ３８６９７．１、Ｇｌ：５４６９６６５０、ヒＩＬ－１８配列に基づいてナンバリング）。

【０５０８】

ある実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、ＩＬ－３３である。このような実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＳＴ２受容体１及びＩＬ－１ＲＡｃＰに対する低減された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変型シグナル伝達因子は、ＳＴ２受容体及びＩＬ－１ＲＡｃＰに対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。

【０５０９】

ある実施形態では、野生型ＩＬ－３３は、配列番号２４６のアミノ酸配列を有する。

【０５１０】

このような実施形態では、全内容が参照により本明細書に組み込まれる、国際公開第２０１５／００７５４２号に記載のように、改変ＩＬ－３３因子は、Ｉ１１３～Ｙ１２２、Ｓ１２７～Ｅ１３９、Ｅ１４４～Ｄ１５７、Ｙ１６３～Ｍ１８３、Ｅ２００、Ｑ２１５、Ｌ２２０～Ｃ２２７及びＴ２６０～Ｅ２６９から選択されるアミノ酸またはアミノ酸領域に１つ以上の変異を含み得る（ジェンバンク受入番号ＮＰ＿２５４２７４、バージョン２５４２７４．１、Ｇｌ：１５５５９２０９、ヒト配列に基づいてナンバリング）。

【０５１１】

ある実施形態では、改変シグナル伝達因子は、上皮増殖因子（ＥＧＦ）である。ＥＧＦは、効力の高い成長因子のファミリーである。メンバーは、ＥＧＦ、ＨＢ－ＥＧＦ、及びＴＧＦα、アンフィレギュリン、ニューレグリン、エピレギュリン、ベータセルリンなどの他のものを含む。ＥＧＦファミリー受容体は、ＥＧＦＲ（ＥｒｂＢ１）、ＥｒｂＢ２、ＥｒｂＢ３及びＥｒｂＢ４を含む。これらは、ホモ二量体及び／またはヘテロ二量体受容体サブタイプとして機能し得る。異なるＥＧＦファミリーメンバーは、種々の受容体サブタイプに対して、他と異なる選択性を示す。例えば、ＥＧＦは、ＥｒｂＢ１／ＥｒｂＢ１、ＥｒｂＢ１／ＥｒｂＢ２、ＥｒｂＢ４／ＥｒｂＢ２及びいくつかの他のヘテロ二量体サブタイプと結合する。ＨＢ－ＥＧＦは、類似のパターンを有するが、ＥｒｂＢ４／４と結合する。ＥＧＦ（ＥＧＦ様）増殖因子シグナル伝達の正または負方向への調節は、大きな治療上の観点から関心がもたれている。例えば、ＥＧＦＲシグナル伝達の阻害は、ＥＧＦＲシグナル伝達が主要な成長促進シグナルを構成する種々の癌の治療で関心がもたれている。あるいは、ＥＧＦＲシグナル伝達の刺激は、例えば、創傷治癒（急性及び慢性）、口腔粘膜炎（限定されないが、放射線療法を含む種々の癌療法の主要な副作用）における治療上の観点から関心がもたれている。

【０５１２】

いくつかの実施形態では、追加の改変型シグナル伝達因子は、ＥｒｂＢ１、ＥｒｂＢ２、ＥｒｂＢ３、及び／またはＥｒｂＢ４に対する低減された親和性及び／または活性を有

する。このような実施形態は、例えば、創傷の治療方法で使用される。いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＥｒｂＢ１、ＥｒｂＢ２、ＥｒｂＢ３、及びＥｒｂＢ４の内の１種以上に結合し、その受容体の活性をアンタゴナイズする。このような実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＥｒｂＢ１、ＥｒｂＢ２、ＥｒｂＢ３、及び／またはＥｒｂＢ４に対する低減された親和性及び／または活性を有し、これにより、その受容体の活性が減弱化される方式でアンタゴナイズされる。このような実施形態は、例えば、癌の治療で使用される。ある実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＥｒｂＢ１に対する低減された親和性及び／または活性を有する。ＥｒｂＢ１は、キナーゼ阻害剤の治療標的であるが－大抵の場合、副作用があり、その理由は、それらがあまり選択的でないためである（例えば、ゲフィチニブ、エルロチニブ、アファチニブ、ブリガチニブ及びイコチニブ）。いくつかの実施形態では、減弱化された拮抗的ＥｒｂＢ１シグナル伝達は、ＥＧＦの受容体を標的とする他の因子より、オンターゲットであり、少ない副作用を有する。

【０５１３】

いくつかの実施形態では、追加の改変型シグナル伝達因子は、ＥｒｂＢ１に対し、低減された親和性及び／または活性（例えば、アンタゴニスト活性、例えば、天然のアンタゴニスト活性または１つ以上の変異の結果としてのアンタゴニスト活性、例えば、国際公開第２０１５／００７５２０号を参照。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる）及び／またはＥｒｂＢ４またはそれが相互作用し得る他のサブタイプに対し実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。標的化部分を介した特異的標的化により、ＥｒｂＢ１／ＥｒｂＢ１受容体活性化の細胞選択的抑制（アンタゴニズム、例えば、天然のアンタゴニスト活性または１つ以上の変異の結果としてのアンタゴニスト活性、例えば、国際公開第２０１５／００７５２０号を参照。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる）が達成されるであろう－阻害関連副作用に関連する可能性のある他の受容体サブタイプを関与させずに。従って、身体中の全ての細胞型のＥＧＦＲ活性を阻害するＥＧＦＲキナーゼ阻害剤と対照的に、このような構築物は、副作用の低減された細胞選択的（例えば、受容体の増幅、過剰発現などよる活性化ＥＧＦＲシグナル伝達を有する腫瘍細胞）抗ＥＧＦＲ（ＥｒｂＢ１）薬物作用を提供するであろう。

【０５１４】

いくつかの実施形態では、追加の改変シグナル伝達因子は、ＥｒｂＢ４及び／またはそれが相互作用する他のサブタイプに対する低減された親和性及び／または活性（例えば、アゴニスト活性）を有する。標的化部分を介した特定の標的細胞に対する標的化により、ＥｒｂＢ１シグナル伝達の選択的活性化が達成される（例えば、上皮細胞）。このような構築物は、いくつかの実施形態では、副作用が低減された創傷の治療（創傷治癒の促進）、特に慢性状態の治療及び治療薬局所投与以外の適用（例えば、全身性創傷治癒）のために使用される。

【０５１５】

ある実施形態では、改変シグナル伝達因子は、インスリンまたはインスリン類似体である。いくつかの実施形態では、改変インスリンまたはインスリン類似体は、インスリン受容体及び／またはＩＧＦ１またはＩＧＦ２受容体に対する低減された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変インスリンまたはインスリン類似体は、インスリン受容体及び／またはＩＧＦ１またはＩＧＦ２受容体に対する低減または排除された親和性及び／または活性を有する。インスリン受容体に対する弱められた応答は、糖尿病、肥満症、代謝障害などの制御を可能とし、同時に、ＩＧＦ１またはＩＧＦ２受容体から離れた方向に向けることにより、癌促進性作用を回避する。

【０５１６】

ある実施形態では、改変シグナル伝達因子は、インスリン様増殖因子－Ｉまたはインスリン様増殖因子－ＩＩ（ＩＧＦ１またはＩＧＦ２）である。ある実施形態では、改変シグナル伝達因子はＩＧＦ１である。このような実施形態では、改変シグナル伝達因子は、インスリン受容体及び／またはＩＧＦ１受容体に対する低減された親和性及び／または活性を有する。ある実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＩＧＦ１受容体に結合し、受容

体の活性をアンタゴナイズする。このような実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＩＧＦ１受容体に対する低減された親和性及び／または活性を有し、これにより、受容体の活性が減弱化される方式でアンタゴナイズされることを可能にする。いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＩＧＦ１受容体に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＩＧＦ２受容体に対する低減された親和性及び／または活性を有し、これにより、受容体の活性が減弱化される方式でアンタゴナイズされることを可能にする。ある実施形態では、改変シグナル伝達因子は、インスリン受容体に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有し、したがって、インスリンシグナル伝達を妨げない。種々の実施形態では、これは、がん治療に適用される。種々の実施形態では、本因子は、ＩＲアイソフォームＡががん治療に対し耐性を生じるのを防止し得る。

【０５１７】

ある実施形態では、改変シグナル伝達因子は、ＥＰＯである。種々の実施形態では、改変ＥＰＯ因子は、野生型ＥＰＯまたは本明細書に記載の他のＥＰＯ系因子に比べて、ＥＰＯ受容体（ＥＰＯＲ）及び／またはエフリン受容体（ＥｐｈＲ）に対する低減された親和性及び／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変ＥＰＯ因子は、ＥＰＯ受容体（ＥＰＯＲ）及び／またはＥｐｈ受容体（ＥｐｈＲ）に対する実質的に低減または排除された親和性及び／または活性を有する。ＥＰＯ受容体の例としては、限定されないが、ＥＰＯＲホモ二量体またはＥＰＯＲ／ＣＤ１３１ヘテロ二量体が挙げられる。また、ベータ共通受容体（βｃＲ）もＥＰＯ受容体に含まれる。Ｅｐｈ受容体の実例としては、限定されないが、ＥＰＨＡ１、ＥＰＨＡ２、ＥＰＨＡ３、ＥＰＨＡ４、ＥＰＨＡ５、ＥＰＨＡ６、ＥＰＨＡ７、ＥＰＨＡ８、ＥＰＨＡ９、ＥＰＨＡ１０、ＥＰＨＢ１、ＥＰＨＢ２、ＥＰＨＢ３、ＥＰＨＢ４、ＥＰＨＢ５、及びＥＰＨＢ６が挙げられる。いくつかの実施形態では、改変ＥＰＯタンパク質は、ＥＰＯタンパク質に、１つ以上の異なるＥＰＯ受容体またはＥｐｈ受容体（例えば、限定されないが、ＥＰＯＲ－ＥＰＨＢ４、ＥＰＯＲ－βｃＲ－ＥＰＯＲを含むヘテロ二量体、ヘテロ三量体など）を含む受容体に対する低減された親和性をもたせる１つ以上の変異を含む。また、限定されないが、ＮＥＰＯＲを含む、ＥＰ特許公報第２４９２３５５号の受容体も提供される（この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる）。

【０５１８】

ある実施形態では、ヒトＥＰＯは、配列番号２４７のアミノ酸配列を有する（最初の２７個のアミノ酸はシグナルペプチドである）。

【０５１９】

いくつかの実施形態では、ヒトＥＰＯタンパク質は、ＥＰＯの成熟型であり（シグナルペプチドは切断されている）、これは、配列番号２４８の配列を有する１６６個のアミノ酸残基の糖タンパク質である。

【０５２０】

ヒトＥＰＯタンパク質の構造は、ヘリックスＡ、Ｂ、Ｃ及びＤを含む４ヘリックス束を含むことが予測されている。種々の実施形態では、改変ＥＰＯは、生物活性のために重要なＥＰＯタンパク質の４つの領域、すなわち、アミノ酸残基１０～２０，４４～５１、９６～１０８、及び１４２～１５６に位置する１つ以上の変異を含む。いくつかの実施形態では、１つ以上の変異は、残基１１～１５、４４～５１、１００～１０８、及び１４７～１５１に位置する。これらの残基は、ヘリックスＡ（Ｖａｌ１１、Ａｒｇ１４、及びＴｙｒ１５）、ヘリックスＣ（Ｓｅｒ１００、Ａｒｇ１０３、Ｓｅｒ１０４、及びＬｅｕ１０８）、ヘリックスＤ（Ａｓｎ１４７、Ａｒｇ１５０、Ｇｌｙ１５１、及びＬｅｕ１５５）、及びＡ／Ｂ接続ループ（残基４２～５１）に局在化されている。いくつかの実施形態では、改変ＥＰＯタンパク質は、アミノ酸４１～５２の残基ならびにアミノ酸１４７、１５０、１５１、及び１５５の残基中に変異を含む。理論に束縛されることを望むものではないが、これらの残基の変異は、受容体結合及びインビトロ生物活性の両方に実質的な影響を有すると考えられている。いくつかの実施形態では、改変ＥＰＯタンパク質は、残基１

１、１４、１５、１００、１０３、１０４、及び１０８に変異を含む。理論に束縛されることを望むものではないが、これらの残基の変異は、受容体結合活性に対し中程度の影響を有し、インビトロ生物活性に対し遙かに大きい影響を有すると考えられている。置換の例としては、限定されないが、Ｖａｌ１１Ｓｅｒ、Ａｒｇ１４Ａｌａ、Ａｒｇ１４Ｇｌｎ、Ｔｙｒ１５Ｉｌｅ、Ｐｒｏ４２Ａｓｎ、Ｔｈｒ４４Ｉｌｅ、Ｌｙｓ４５Ａｓｐ、Ｖａｌ４６Ａｌａ、Ｔｙｒ５１Ｐｈｅ、Ｓｅｒ１００Ｇｌｕ、Ｓｅｒ１００Ｔｈｒ、Ａｒｇ１０３Ａｌａ、Ｓｅｒ１０４Ｉｌｅ、Ｓｅｒ１０４Ａｌａ、Ｌｅｕ１０８Ｌｙｓ、Ａｓｎ１４７Ｌｙｓ、Ａｒｇ１５０Ａｌａ、Ｇｌｙ１５１Ａｌａ、及びＬｅｕ１５５Ａｌａの１つまたは複数が挙げられる。

【０５２１】

いくつかの実施形態では、改変ＥＰＯタンパク質は、生物活性に影響を与え、結合には影響を与えない変異、例えば、Ｅｌｉｏｔ，ｅｔ ａｌ．Ｍａｐｐｉｎｇ ｏｆ ｔｈｅ Ａｃｔｉｖｅ Ｓｉｔｅ ｏｆ Ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ Ｈｕｍａｎ Ｅｒｙｔｈｒｏｐｏｉｅｔｉｎ Ｊａｎｕａｒｙ １５，１９９７；Ｂｌｏｏｄ：８９（２）に記載のものを含む。この文献の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０５２２】

いくつかの実施形態では、改変ＥＰＯタンパク質は、受容体接触に関与するＥＰＯタンパク質の表面残基を含む１つ以上の変異を含む。理論に束縛されることを望むものではないが、これらの表面残基の変異は、タンパク質フォールディングの影響が少ない可能性があり、そのため、一部の生物活性を保持すると考えられている。変異導入され得る表面残基の例としては、限定されないが、残基１４７及び１５０が挙げられる。例示的実施形態では、変異は、Ｎ１４７Ａ、Ｎ１４７Ｋ、Ｒ１５０Ａ及びＲ１５０Ｅの１個または複数を含む置換である。

【０５２３】

いくつかの実施形態では、改変ＥＰＯタンパク質は、残基Ｎ５９、Ｅ６２、Ｌ６７及びＬ７０で１つ以上の変異、及びジスルフィド結合形成に影響を与える１つ以上の変異を含む。理論に束縛されることを望むものではないが、これらの改変は、フォールディングに影響を与える、及び／または埋没した位置にあることが予測され、従って、生物活性に間接的に影響を与えると考えられている。

【０５２４】

ある実施形態では、改変ＥＰＯタンパク質は、受容体結合が大きく低減されるＫ２０Ｅ置換を含む。例えば、Ｅｌｌｉｏｔｔ，ｅｔ ａｌ．，（１９９７）Ｂｌｏｏｄ，８９：４９３－５０２を参照されたい。この文献の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０５２５】

本発明のキメラＥＰＯタンパク質に組み込み得る追加のＥＰＯ変異は、例えば、Ｅｌｌｉｏｔｔ，ｅｔ ａｌ．，（１９９７）Ｂｌｏｏｄ，８９：４９３－５０２及びＴａｙｌｏｒ ｅｔ ａｌ．，（２０１０）ＰＥＤＳ，２３（４）：２５１－２６０に開示されている。これらの文献の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０５２６】

種々の実施形態では、シグナル伝達因子は、毒素または毒性酵素である。いくつかの実施形態では、毒素または毒性酵素は、植物及び細菌から誘導される。毒素または毒性酵素の例としては、ジフテリア毒素、シュードモナス毒素、炭疽病毒素、リシン及びサポリンなどのリボソーム不活化タンパク質（ＲＩＰ）、モデシン、アブリン、ゲロニン、及びヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質が挙げられるが、これらに限定されない。追加の毒素は、Ｍａｔｈｅｗ ｅｔ ａｌ．，（２００９）Ｃａｎｃｅｒ Ｓｃｉ １００（８）：１３５９－６５、に開示のものを含む。この文献の全開示は、参照により本明細書に組み込まれる。このような実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、細胞型特異的に細胞死を誘導するのに利用し得る。このような実施形態では、毒素は改変されて、例えば、変異導入されて、本明細書

で他のシグナル伝達因子に関し記載のように、効果を弱めるために、毒素の親和性及び／または活性を低減させ得る。

【０５２７】

リンカー及び官能基

いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、任意選択で、１つ以上のリンカーを含む。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、標的化部分とシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）を連結するリンカーを含む。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、を含むリンカーを含むシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）を含む。いくつかの実施形態では、上記リンカーは、本明細書に記載の種々の官能基、残基、または部分をキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体に連結するのに利用し得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、結合領域及び結合タンパク質の安定性、配向、結合、中和、及び／または排出特性に影響を与えない、またはそれらを低下させない単一アミノ酸または複数のアミノ酸である。種々の実施形態では、リンカーは、ペプチド、タンパク質、糖、または核酸から選択される。

【０５２８】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のリンカーのいずれかに単一ヌクレオチド配列として連結された本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体をコードするベクターが、提供され、このようなキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体を調製するために使用され得る。いくつかの実施形態では、Ｆｃ系キメラタンパク質複合体の置換物は、ベクター中のヌクレオチド配列として発現される。

【０５２９】

いくつかの実施形態では、リンカーの長さは、標的化部分とシグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）のそれらの受容体への効果的結合を可能にする。例えば、いくつかの実施形態では、リンカーの長さは、標的化部分とシグナル伝達因子の１個の、同じ細胞上の受容体への効果的結合を可能にする。

【０５３０】

いくつかの実施形態では、リンカーの長さは、少なくとも、同じ細胞上の１個の標的化部分及びシグナル伝達因子の受容体への結合部位の間の最短距離に等しい。いくつかの実施形態では、リンカーの長さは、同じ細胞上の１個の標的化部分及びシグナル伝達因子の受容体への結合部位の間の最短距離の、少なくとも２倍、または３倍、または４倍、または５倍、または１０倍、または２０倍、または２５倍、または５０倍、または１００倍である、または、それを超える。

【０５３１】

本明細書に記載されるように、リンカーの長さは、標的化部分とシグナル伝達因子の１個の、同じ細胞上の受容体への効果的結合を可能にし、結合は、逐次であり、例えば、標的化部分／受容体結合がシグナル伝達因子／受容体結合に先行する。

【０５３２】

いくつかの実施形態では、単一キメラ中に２個のリンカーが存在し、それぞれが、シグナル伝達因子を標的化部分に連結する。種々の実施形態では、リンカーは、いずれかの細胞の調節を妨害し得る立体障害なしに疾患細胞及びエフェクター細胞を有する部位の形成を可能にする長さを有する。

【０５３３】

本発明は、種々のリンカー配列の使用を意図する。種々の実施形態では、リンカーは、天然のマルチドメインタンパク質から誘導され得るか、または、例えば、Ｃｈｉｃｈｉｌｉ ｅｔ ａｌ．，（２０１３），Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉ．２２（２）：１５３－１６７；Ｃｈｅｎ ｅｔ ａｌ．，（２０１３），Ａｄｖ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖ Ｒｅｖ．

６５（１０）：１３５７－１３６９に記載されている経験的リンカーである。これらの文献の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、リンカーは、リンカー設計データベース及びＣｈｅｎ ｅｔ ａｌ．，（２０１３），Ａｄｖ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖ Ｒｅｖ．６５（１０）：１３５７－１３６９ ａｎｄ Ｃｒａｓｔｏ ｅｔ ａｌ．，（２０００），Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．１３（５）：３０９－３１２に記載のものなどのコンピュータープログラムを用いて設計し得る。種々の実施形態では、リンカーは機能性であり得る。例えば、限定されないが、リンカーは、フォールディング及び／または安定性を改善するように、発現を改善するように、薬物動態学を改善するように、及び／または本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の生物活性を改善するように機能し得る。

【０５３４】

いくつかの実施形態では、リンカーはポリペプチドである。いくつかの実施形態では、リンカーは約１００アミノ酸長未満である。例えば、リンカーは、約１００、約９５、約９０、約８５、約８０、約７５、約７０、約６５、約６０、約５５、約５０、約４５、約４０、約３５、約３０、約２５、約２０、約１９、約１８、約１７、約１６、約１５、約１４、約１３、約１２、約１１、約１０、約９、約８、約７、約６、約５、約４、約３、または約２アミノ酸長未満であり得る。いくつかの実施形態では、リンカーはポリペプチドである。いくつかの実施形態では、リンカーは約１００アミノ酸長超である。例えば、リンカーは、約１００、約９５、約９０、約８５、約８０、約７５、約７０、約６５、約６０、約５５、約５０、約４５、約４０、約３５、約３０、約２５、約２０、約１９、約１８、約１７、約１６、約１５、約１４、約１３、約１２、約１１、約１０、約９、約８、約７、約６、約５、約４、約３、または約２アミノ酸長さ超であり得る。いくつかの実施形態では、リンカーはフレキシブルである。別の実施形態では、リンカーは剛性である。

【０５３５】

２個以上の標的化部分を有するキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体に関するいくつかの実施形態では、あるリンカーは２個の標的化部分を相互に連結し、このリンカーは短い長さを有し、また、あるリンカーは標的化部分とシグナル伝達因子を連結し、このリンカーは２個の標的化部分を連結するリンカーより長い。例えば、２個の標的化部分を連結するリンカーと、標的化部分とシグナル伝達因子とを連結するリンカーとの間のアミノ酸長さの差異は、約１００、約９５、約９０、約８５、約８０、約７５、約７０、約６５、約６０、約５５、約５０、約４５、約４０、約３５、約３０、約２５、約２０、約１９、約１８、約１７、約１６、約１５、約１４、約１３、約１２、約１１、約１０、約９、約８、約７、約６、約５、約４、約３、または約２アミノ酸長であり得る。

【０５３６】

種々の実施形態では、リンカーは、グリシン及びセリン残基から実質的に構成される（例えば、約３０％、または約４０％、または約５０％、または約６０％、または約７０％、または約８０％、または約９０％、または約９５％、または約９７％のグリシンとセリン）。例えば、いくつかの実施形態では、リンカーは（Gly_4Ser）$_n$（式中、ｎは、約１～約８、例えば、１、２、３、４、５、６、７、または８（それぞれ、配列番号２４９～２５６））である。例えば、ある実施形態では、上記リンカーは（Gly_3Ser）$_n$（式中、ｎは約１～約８、例えば、１、２、３、４、５、６、７、または８（それぞれ、配列番号４５７～４６４））である。ある実施形態では、リンカー配列は、ＧＧＳＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号２５７）である。追加のリンカーの例としては、限定されないが、次記配列を有するリンカーが挙げられる：ＬＥ、ＧＧＧＧＳ（配列番号２４９）、（ＧＧＧＧＳ）$_n$（ｎ＝１～４）（配列番号２４９～２５２）、（$Gly)_8$（配列番号２５８）、（$Gly)_6$（配列番号２５９）、（ＥＡＡＡＫ）$_n$（ｎ＝１～３）（配列番号２６０～２６２）、Ａ（ＥＡＡＡＫ）$_n$Ａ（ｎ＝２～５）（配列番号２６３～２６６）、ＡＥＡＡＡＫＥＡＡＡＫＡ（配列番号２６３）、Ａ（ＥＡＡＡＫ）$_4$ＡＬＥＡ

（ＥＡＡＡＫ）$_4$Ａ（配列番号２６７）、ＰＡＰＡＰ（配列番号２６８）、ＫＥＳＧＳＶＳＳＥＱＬＡＱＦＲＳＬＤ（配列番号２６９）、ＥＧＫＳＳＧＳＧＳＥＳＫＳＴ（配列番号２７０）、ＧＳＡＧＳＡＡＧＳＧＥＦ（配列番号２７１）、及び（ＸＰ）$_n$、Ｘは、任意のアミノ酸、例えば、Ａｌａ、Ｌｙｓ、またはＧｌｕを示す。種々の実施形態では、リンカーはＧＧＳである。

【０５３７】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ＧＧＧＳＥ（配列番号２７２）、ＧＳＥＳＧ（配列番号２７３）、ＧＳＥＧＳ（配列番号２７４）、ＧＥＧＧＳＧＥＧＳＳＧＥＧＳＳＳＥＧＧＧＳＥＧＧＧＳＥＧＧＧＳＥＧＧＳ（配列番号２７５）、及び４個のアミノ酸間隔毎にランダムに配置されたＧ、Ｓ、及びＥのリンカー、の１種以上である。

【０５３８】

いくつかの実施形態では、リンカーは、抗体（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、及びＩｇＥ、サブクラス（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、及びＩｇＧ４、及びＩｇＡ１及びＩｇＡ２）を含む）のヒンジ部である。種々の実施形態では、リンカーは、抗体（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、及びＩｇＥ、サブクラス（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、及びＩｇＧ４、及びＩｇＡ１及びＩｇＡ２）を含む）のヒンジ部である。ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、及びＩｇＥクラス抗体で見つかるヒンジ部は、フレキシブルスペーサーとして機能し、Ｆａｂ部が空間中で自由に動くことを可能にする。定常領域と対照的に、ヒンジドメインは、構造上多様であり、免疫グロブリンクラス及びサブクラス中の配列及び長さの両方で変動する。例えば、ヒンジ部の長さ及び可撓性は、ＩｇＧサブクラス内で変動する。ＩｇＧ１のヒンジ部は、アミノ酸２１６～２３１を包含し、それが自由にフレキシブルであるために、Ｆａｂフラグメントは、それらの対称軸の周りで回転でき、最初の２つの重鎖間ジスルフィド架橋を中心とする球内で移動できる。ＩｇＧ２は、ＩｇＧ１より短いヒンジを有し、１２個のアミノ酸残基と４個のジスルフィド架橋を有する。ＩｇＧ２のヒンジ部は、グリシン残基を欠き、比較的短く、また、追加の重鎖間ジスルフィド架橋により安定化された剛性ポリプロリン二重らせん体を含む。これらの特性は、ＩｇＧ２分子の可撓性を制限する。ＩｇＧ３は、６２個のアミノ酸を含む（２１個のプロリンと１１個のシステインを含む）その特有の延長されたヒンジ部（ＩｇＧ１ヒンジの約４倍の長さ）により、他のサブクラスとは異なり、柔軟性を欠くポリプロリン二重らせん体を形成する。ＩｇＧ３では、Ｆａｂフラグメントは、Ｆｃフラグメントから比較的遠くに離れており、より大きな可撓性を分子に与える。ＩｇＧ３の伸びたヒンジは、他のサブクラスに比べて、そのより高分子量の原因でもある。ＩｇＧ４のヒンジ部は、ＩｇＧ１より短く、その可撓性は、ＩｇＧ１とＩｇＧ２との中間である。ヒンジ部の可撓性は、次の順に低下すると報告されている：ＩｇＧ３＞ＩｇＧ１＞ＩｇＧ４＞ＩｇＧ２。

【０５３９】

結晶学的調査によれば、免疫グロブリンヒンジ部は、機能的に次の３つの領域にさらに細分できる：上部ヒンジ部、コア部、及び下部ヒンジ部。Ｓｈｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９９２　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｒｅｖｉｅｗｓ　１３０：８７を参照されたい。上部ヒンジ部は、C_{H1}のカルボキシル末端から運動を制限するヒンジ中の最初の残基、通常は２つの重鎖間の鎖間ジスルフィド結合を形成する最初のシステイン残基のアミノ酸を含む。上部ヒンジ部の長さは、抗体のセグメントの可撓性と相関する。コアヒンジ部は重鎖間ジスルフィド架橋を含み、下部ヒンジ部はC_{H2}ドメインのアミノ末端に繋がり、かつC_{H2}中の残基を含む（同上文献）。野性型ヒトＩｇＧ１のコアヒンジ部は、配列Ｃｙｓ－Ｐｒｏ－Ｐｒｏ－Ｃｙｓ（配列番号２７６）を含み、これは、ジスルフィド結合形成により二量体化されると、環状オクタペプチドを生成し、これが旋回軸として機能することにより、可撓性を付与すると考えられている。種々の実施形態では、本発明のリンカーは、任意の抗体（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、及びＩｇＥ、サブクラス（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、及びＩｇＧ４、及びＩｇＡ１及びＩｇＡ２）を含む）の１、または２、または３個の上部ヒンジ部、コア部及び下部ヒンジ部を含む。ヒンジ部はまた、１つまたは複数のグリコシル化部位も含み得、これは、多くの構造上異なるタイプ

の炭水化物付着部位を含む。例えば、ＩｇＡ１は、ヒンジ部の１７アミノ酸セグメント内に５つのグリコシル化部位を含み、腸内プロテアーゼに対するヒンジ部ポリペプチドの耐性を付与し、これは、分泌性免疫グロブリンにとって、有利な性質であると考えられる。種々の実施形態では、本発明のリンカーは、１つまたは複数のグリコシル化部位を含む。種々の実施形態では、リンカーは、ヒトＩｇＧ４抗体のヒンジ－ＣＨ２－ＣＨ３ドメインである。

【０５４０】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ＰＥＧなどの合成リンカーである。

【０５４１】

種々の実施形態では、リンカーは、機能性であり得る。例えば、限定されないが、リンカーは、フォールディング及び／または安定性を改善するように、発現を改善するように、薬物動態学を改善するように、及び／または本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の生物活性を改善するように機能し得る。別の例では、リンカーは、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体を特定の細胞型または部位に対する指向性を有するように機能し得る。

【０５４２】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、１つ以上の官能基、残基、または部分を含み得る。種々の実施形態では、１つ以上の官能基、残基、または部分は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達因子または標的化部分に結合されるか、または遺伝的に融合される。いくつかの実施形態では、このような官能基、残基または部分は、１つまたは複数の望ましい特性または官能基を本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体に付与する。このような官能基及びそれらをキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体に導入する技術の例は、当技術分野において公知であり、例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，１６ｔｈ ｅｄ．，Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．，Ｅａｓｔｏｎ，Ｐａ．（１９８０）を参照されたい。

【０５４３】

種々の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体のそれぞれは、別の物質と複合化及び／または融合して、半減期を延長するか、または別の方法で薬力学的及び薬物動態学的特性を改善し得る。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＰＥＧ、ＸＴＥＮ（例えば、ｒＰＥＧとして）、ポリシアル酸（ＰＯＬＹＸＥＮ）、アルブミン（例えば、ヒト血清アルブミンまたはＨＡＳ）、エラスチン様タンパク質（ＥＬＰ）、ＰＡＳ、ＨＡＰ、ＧＬＫ、ＣＴＰ、トランスフェリンなどの１種以上と融合または複合化され得る。種々の実施形態では、それぞれ個々のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＢｉｏＤｒｕｇｓ（２０１５）２９：２１５－２３９に記載の１種以上の物質に融合される。この文献の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。

【０５４４】

いくつかの実施形態では、官能基、残基、または部分は、好適な薬学的に許容可能なポリマー、例えばポリ（エチレングリコール）（ＰＥＧ）またはその誘導体（例えば、メトキシポリ（エチレングリコール）またはｍＰＥＧ）を含む。いくつかの実施形態では、ＰＥＧ部分の結合は、半減期を伸ばし、及び／またはキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の免疫原性を低減する。例えば、抗体及び抗体フラグメント（限定されないが、ＶＨＨなどの単一ドメイン抗体を含む）に対し当該技術分野で用いられるペグ化などの任意の好適な形態のペグ化が通常用いられる；例えば、Ｃｈａｐｍａｎ，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．，５４，５３１－５４５（２００２）；Ｖｅｒｏｎｅｓｅ及びＨａｒｒｉｓによる、Ａｄｖ．Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖ．Ｒｅ

ｖ．５４，４５３－４５６（２００３），Ｈａｒｒｉｓ及びＣｈｅｓｓによる、Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｄｒｕｇ．Ｄｉｓｃｏｖ．，２，（２００３）ならびに国際公開第０４／０６０９６５号を参照されたい。これらの文献の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。タンパク質のペグ化のための種々の試薬も、例えば、Ｎｅｋｔａｒ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，ＵＳＡから市販されている。いくつかの実施形態では、特に、システイン残基を介した部位特異的なペグ化が使用される（例えば、Ｙａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，１６，１０，７６１－７７０（２００３）を参照されたい。この文献の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる）。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＰＥＧの結合のための１つ以上のシステイン残基を適切に導入するように改変されるか、またはＰＥＧの結合のための１つ以上のシステイン残基を含むアミノ酸配列が、当該技術分野において公知の技術を使用してキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体のアミノ末端及び／またはカルボキシ末端に融合され得る。

【０５４５】

いくつかの実施形態では、官能基、残基、または部分は、Ｎ結合型またはＯ結合型グリコシル化を含む。いくつかの実施形態では、Ｎ結合型またはＯ結合型グリコシル化は、翻訳時修飾及び／または翻訳後修飾の一部として導入される。

【０５４６】

いくつかの実施形態では、官能基、残基、または部分は、１つまたは複数の検出可能なラベルまたはその他のシグナル生成基または部分を含む。好適なラベル及びそれらの結合、使用及び検出のための技術は、当技術分野において公知であり、限定されないが、蛍光標識（例えば、フルオレセイン、イソチオシアネート、ローダミン、フィコエリトリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、ｏ－フタルアルデヒド、ならびにフルオレサミン及び蛍光金属、例えば、Ｅｕまたはランタニド系列の他の金属）、リン光標識、化学発光ラベルまたは生物発光ラベル（例えば、ルミノール、イソルミノール、セロマティックアクリジニウム・エステル、イミダゾール、アクリジニウム塩、オキサレートエステル、ジオキセタンまたはＧＦＰ及びその類似体）、放射性同位体、金属、金属キレートもしくは金属カチオンまたはインビボ、インビトロまたはインサイツ診断及び画像処理での使用に特に適している他の金属もしくは金属カチオン、ならびに発色団及び酵素（例えば、リンゴ酸脱水素酵素、ブドウ球菌ヌクレアーゼ、デルターＶ－ステロイドイソメラーゼ、酵母アルコール脱水素酵素、アルファグリセロリン酸脱水素酵素、トリオースリン酸イソメラーゼ、ビオチンアビジンペルオキシダーゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、アスパラギナーゼ、グルコースオキシダーゼ、ベータガラクトシダーゼ、リボヌクレアーゼ、ウレアーゼ、カタラーゼ、グルコース－ＶＩ－リン酸脱水素酵素、グルコアミラーゼ及びアセチルコリンエステラーゼ）を含む。他の好適なラベルとしては、ＮＭＲまたはＥＳＲ分光法を用いて検出できる部分が挙げられる。このように標識した本発明のＶＨＨ及びポリペプチドは、特定の標識の選択により、例えば、インビトロ、インビボまたはインサイツアッセイ（これ自体ＥＬＩＳＡ、ＲＩＡ及びＥＩＡ及びその他の「サンドイッチ法」などとして知られるイムノアッセイ）ならびにインビボ診断及び画像処理の目的に使用し得る。

【０５４７】

いくつかの実施形態では、官能基、残基、または部分は、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体に結合または遺伝的に融合されたタグを含む。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、単一タグまたは複数タグを含み得る。例えば、タグは、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体のその標的または腫瘍抗原などのいずれか他の目的抗原に対する結合を阻害または妨害しない、ペプチド、糖、またはＤＮＡ分子である。種々の実施形態では、タグは、少なくとも約：３～５アミノ酸長、５～８アミノ酸長、８～１２アミノ酸長、１２～１５

アミノ酸長、または１５～２０アミノ酸長である。タグの例は、例えば、米国特許出願公開第２０１３／００５８９６２号に記載されている。いくつかの実施形態では、タグは、グルタチオン－Ｓ－トランスフェラーゼ（ＧＳＴ）及びヒスチジン（Ｈｉｓ）タグなどの親和性タグである。ある実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ヒスチジンタグを含む。

【０５４８】

いくつかの実施形態では、官能基、残基、または部分は、例えば、１種の金属または金属カチオンをキレートするためのキレート化基を含む。好適なキレート化基は、例えば、限定されないが、ジエチレントリアミン五酢酸（ＤＴＰＡ）またはエチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）を含む。

【０５４９】

いくつかの実施形態では、官能基、残基、または部分は、ビオチン－（ストレプト）アビジン結合対などの、特異的結合対の片方の部分である官能基を含む。このような官能基を使って、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体を、結合対のもう一方の半分に結合された別のタンパク質、ポリペプチドまたは化学化合物に、すなわち、結合対の形成を介して、連結し得る。例えば、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体をビオチンに複合化させ、アビジンまたはストレプトアビジンに複合化させた別のタンパク質、ポリペプチド、化合物または担体に連結し得る。例えば、検出可能なシグナル生成因子がアビジンまたはストレプトアビジンに複合化されている診断システムにおいて、このような結合キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体を、例えば、レポーターとして用い得る。例えば、このような結合対を使用して、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体を、医薬品目的に好適な担体を含む、担体に結合し得る。１つの非限定的例は、Ｃａｏ ａｎｄ Ｓｕｒｅｓｈ，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｄｒｕｇ Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ，８，４，２５７（２０００）に記載されたリポソーム製剤である。また、このような結合対を使用して、治療活性薬剤を、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体に連結し得る。

【０５５０】

キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の産生

本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の産生方法が本明細書に記載される。例えば、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体をコードするＤＮＡ配列（例えば、シグナル伝達因子（例えば、改変ＩＬ－２）及び標的化部分及びリンカーをコードするＤＮＡ配列）は、当該技術分野において公知の方法を使用して化学的に合成できる。合成ＤＮＡ配列は、例えば、発現制御配列を含む他の適切なヌクレオチド配列に連結し、目的のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体をコードする遺伝子発現構築物を産生することができる。したがって、種々の実施形態では、本発明は、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体をコードするヌクレオチド配列を含む単離核酸を提供する。

【０５５１】

本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体をコードする核酸は、発現ベクター中に組み込まれ（連結され）てよく、このベクターは、遺伝子導入、形質転換、または形質導入技術により宿主細胞中に導入できる。例えば、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体をコードする核酸は、レトロウイルス形質導入により宿主細胞中に導入できる。宿主細胞の例は、大腸菌細胞、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、ヒト胎児腎臓２９３（ＨＥＫ２９３）細胞、ヒーラ細胞、仔ハムスター腎（ＢＨＫ）細胞、サル腎培養細胞（ＣＯＳ）、またはヒト肝細胞癌細胞（例えば、Ｈｅｐ Ｇ２）、昆虫Ｓｆ

９細胞、及び骨髄腫細胞である。形質転換宿主細胞は、宿主細胞に、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体をコードする遺伝子を発現させるのを可能にする条件下で増殖させることができる。したがって、種々の実施形態では、本発明は、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体をコードする核酸を含む発現ベクターを提供する。種々の実施形態では、本発明は、このような発現ベクターを含む宿主細胞をさらに提供する。

【０５５２】

特定の発現及び精製条件は、用いた発現系に応じて変化する。例えば、遺伝子が大腸菌中で発現される場合、遺伝子は最初に、操作された遺伝子を細菌プロモーター、例えば、ＴｒｐまたはＴａｃ、及び原核生物シグナル配列の下流に配置することにより発現ベクター中に挿入される。別の例では、操作された遺伝子が真核生物宿主細胞、例えば、ＣＨＯ細胞中で発現される場合、遺伝子は最初に、例えば、好適な真核生物プロモーター、分泌シグナル、転写促進因子、及び種々のイントロンを含む発現ベクター中に挿入される。遺伝子構築物は、遺伝子導入、形質転換、または形質導入技術を用いて宿主細胞中に導入できる。

【０５５３】

本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、タンパク質の発現を許容する条件下で、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体をコードする発現ベクターを遺伝子導入した宿主細胞を増殖させることにより産生できる。発現後、タンパク質を収集し、例えば、グルタチオン－Ｓ－トランスフェラーゼ（ＧＳＴ）及びヒスチジンタグなどの親和性タグまたはクロマトグラフィーにより、当該技術分野において周知の技術を用いて精製できる。

【０５５４】

したがって、種々の実施形態では、本発明は、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体をコードする核酸を提供する。種々の実施形態では、本発明は、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体をコードする核酸を含む宿主細胞を提供する。

【０５５５】

種々の実施形態では、ＩＬ－２、その変異体、あるいは上記ＩＬ－２もしくはその変異体を含む、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、インビボで、例えば患者において発現されてもよい。例えば、種々の実施形態では、ＩＬ－２、その変異体、あるいは上記ＩＬ－２もしくはその変異体を含む、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、上記ＩＬ－２もしくはその変異体、あるいはＩＬ－２もしくはその変異体を含むキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体をコードする核酸の形で投与されてもよい。種々の実施形態では、上記核酸はＤＮＡまたはＲＮＡである。いくつかの実施形態では、上記ＩＦＮα１、その変異体、あるいは上記ＩＬ－２もしくはその変異体を含むキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、改変ｍＲＮＡ、すなわち、１種以上の改変ヌクレオチドを含むｍＲＮＡによってコードされる。いくつかの実施形態では、上記改変ｍＲＮＡは、米国特許第８，２７８，０３６号（上記特許の内容の全体が本明細書に援用される）に記載される１種以上の改変を含む。いくつかの実施形態では、上記改は、ｍ５Ｃ、ｍ５Ｕ、ｍ６Ａ、ｓ２Ｕ、Ψ、及び２’－Ｏ－メチル－Ｕの１種以上を含む。いくつかの実施形態では、本発明は、１種以上の本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体をコードする改変ｍＲＮＡの投与に関する。いくつかの実施形態では、本発明は、改変ｍＲＮＡを含む遺伝子治療ベクターに関する。いくつかの実施形態では、本発明は、改変ｍＲＮＡを含む遺伝子治療方法に関する。種々の実施形態では、上記核酸は、腫瘍溶解性ウイルス、例えば、アデノウイルス、レオウイルス、はしか、単

純ヘルペス、ニューカッスル病ウイルスまたはワクシニアの形態である。

【０５５６】

種々の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＶＨＨである標的化部分を含む。種々の実施形態では、ＶＨＨは、特定の生物源または特定の産生法に限定されない。例えば、ＶＨＨは通常、次記により得ることができる：（１）天然の重鎖抗体のV_HHドメインを単離することにより；（２）天然のV_HHドメインをコードするヌクレオチド配列の発現により；（３）天然のV_HHドメインの「ヒト化」により、またはこのようなヒト化V_HHドメインをコードする核酸の発現により；（４）ヒト由来などの哺乳動物種由来などの任意の動物種由来の天然のＶＨドメインの「ラクダ化」、またはこのようなラクダ化ＶＨドメインをコードする核酸の発現により；（５）当該技術分野に記載の「ドメイン抗体」または「Ｄａｂ」の「ラクダ化」により、またはこのようなラクダ化ＶＨドメインをコードする核酸の発現により；（６）当該技術分野において公知のタンパク質、ポリペプチドまたはその他のアミノ酸配列のための合成または半合成技術を用いることにより；（７）当該技術分野において公知の核酸合成技術を用いてＶＨＨをコードする核酸を調製し、続けて、こうして得られた拡散を発現させることにより；及び／または（８）前述の１種以上の任意の組み合わせにより。

【０５５７】

ある実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、目的の標的に対する天然の重鎖抗体のV_HHドメインに対応するＶＨＨを含む。いくつかの実施形態では、このようなV_HH配列は通常、ラクダ科の動物種を目的の標的（例えば、ＸＣＲ１、Ｃｌｅｃ９ａ、ＣＤ８、ＳＩＲＰ１α、ＦＡＰなど）に基づく分子で適切に免疫化する（すなわち、目的の標的に対する免疫応答を生じさせる、及び／または目的の標的に対する重鎖抗体を産生させるように）ことにより、ラクダ科の動物から好適な生物試料（例えば、血液試料、またはＢ細胞の任意の試料）を得ることにより、及び任意の好適な公知の技術を用いて、試料から出発して、目的の標的に対するV_HH配列を生成することにより、生成または得ることができる。いくつかの実施形態では、目的の標的に対する天然のV_HHドメインは、ラクダ科の動物V_HH配列の未処理ライブラリーから、例えば、当技術分野で公知の１種以上のスクリーニング技術を使って、目的の標的、またはその少なくとも１個の部分、フラグメント、抗原決定基またはエピトープを用いてこのようなライブラリーをスクリーニングすることにより、得ることができる。このようなライブラリー及び技術は、例えば、国際公開第９９／３７６８１号、国際公開第０１／９０１９０号、国際公開第０３／０２５０２０号、及び国際公開第０３／０３５６９４号に記載されている。これらの特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、例えば、国際公開第００／４３５０７号に記載のランダム変異誘発及び／またはＣＤＲシャッフリングなどの技術により未処理V_HHライブラリーから得られたV_HHライブラリーなどの未処理V_HHライブラリー由来の改善された合成または半合成ライブラリーを使用し得る。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、目的の標的に対するV_HH配列を得る別の技術は、重鎖抗体を発現できる遺伝子導入哺乳動物を適切に免疫化し（すなわち、目的の標的に対する免疫応答を生じさせる、及び／または目的の標的に対する重鎖抗体を産生させるように免疫化し）、遺伝子導入哺乳動物から好適な生物試料（例えば、血液試料、またはＢ細胞の任意の試料）を得て、その後、任意の好適な公知の技術を用いて、試料から出発して、ＸＣＲ１に対するV_HH配列を生成することを含む。例えば、このために、国際公開第０２／０８５９４５号及び国際公開第０４／０４９７９４号（これらの特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる）に記載の重鎖抗体発現マウス及びさらなる方法及び技術を使用できる。

【０５５８】

ある実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、「ヒト化」、すなわち、天然のＶＨＨ配列（及び特に、フレーム

ワーク配列中の）のアミノ酸配列の１つ以上のアミノ酸残基を、ヒトの従来の４鎖抗体由来のＶＨドメイン中の対応する位置（単一または複数）にある１つ以上のアミノ酸残基で置換しているＶＨＨを含む。これは、当該技術分野において公知のヒト化技術を使用して実施できる。いくつかの実施形態では、可能なヒト化置換またはヒト化置換の組み合わせは、当該技術分野において公知の方法、例えば、ＶＨＨの配列と天然のヒトＶＨドメインの配列との間の比較により決定し得る。いくつかの実施形態では、ヒト化置換は、得られたヒト化ＶＨＨが置換後の時点でも有利な機能特性を保持しているように選択される。通常、ヒト化の結果として、本発明のＶＨＨは、より「ヒト様」になり得るが、対応する天然のＶ$_{H}$Ｈドメインと比較して、低減された免疫原性などの好ましい特性を依然として保持している。種々の実施形態では、本発明のヒト化ＶＨＨは、当該技術分野において公知の任意の好適な方法で得ることができ、したがって、出発材料として天然のＶ$_{H}$Ｈドメインを含むポリペプチドを用いて得たポリペプチドに厳密に限定されない。

【０５５９】

ある実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、「ラクダ化」、すなわち、従来の４鎖抗体由来の天然のＶＨドメインのアミノ酸配列の１つ以上のアミノ酸残基を、ラクダ科の動物の重鎖抗体のＶＨＨドメイン中の対応する位置（単一または複数）にある１つ以上のアミノ酸残基で置換しているＶ$_{H}$Ｈを含む。いくつかの実施形態では、このような「ラクダ化」置換は、ＶＨ－ＶＬインターフェースを形成する及び／または、そこに存在するアミノ酸位置に、及び／またはいわゆるラクダ科の顕著な特徴残基（例えば、国際公開第９４／０４６７８号を参照されたい。この特許の全内容は参照により本明細書に組み込まれる）の位置に挿入されるいくつかの実施形態では、ラクダ化ＶＨＨを生成するまたは設計するための出発材料または出発点として用いられるＶＨ配列は、哺乳動物由来のＶＨ配列、例えば、ＶＨ３配列などの、ヒトのＶＨ配列である。種々の実施形態では、ラクダ化ＶＨＨは、当該技術分野において公知の任意の好適な方法で得ることができ（すなわち、上記（１）～（８）で示したような）、したがって、出発材料として天然のＶＨドメインを含むポリペプチドを用いて得たポリペプチドに厳密に限定されない。

【０５６０】

種々の実施形態では、「ヒト化」及び「ラクダ化」の両方は、天然のＶ$_{H}$ＨドメインまたはＶＨドメインをコードするヌクレオチド配列をそれぞれ用意し、次に、当該技術分野において公知の方法で、ヌクレオチド配列中の１つ以上のコドンを新規ヌクレオチド配列がそれぞれ「ヒト化」または「ラクダ化」ＶＨＨをコードするような方法で変更することにより実施することができる。この核酸は、その後、本発明の目的のＶＨＨを得るように、当該技術分野において公知の方法で発現させることができる。あるいは、天然のＶ$_{H}$ＨドメインまたはＶＨドメインそれぞれのアミノ酸配列に基づいて、目的の本発明のヒト化またはラクダ化ＶＨＨのそれぞれのアミノ酸配列を設計し、その後、当該技術分野において公知のペプチド合成技術を用いて、新規に合成できる。また、天然のＶ$_{H}$ＨドメインまたはＶＨドメインそれぞれのアミノ酸配列またはヌクレオチド配列に基づいて、目的のヒト化またはラクダ化ＶＨＨのそれぞれをコードするヌクレオチド配列を設計し、次に当該技術分野において公知の核酸合成技術を用いて新規に合成でき、その後、こうして得られた核酸を、本発明の目的のＶＨＨが得られるように、当該技術分野において公知の方法で発現させることができる。天然のＶＨ配列またはＶ$_{H}$Ｈ配列から出発して、本発明のＶＨＨ及び／またはそれをコードする核酸を得るその他の好適な方法及び技術は、当技術分野において公知であり、例えば、１つまたは複数の天然のＶＨ配列（１つまたは複数のＦＲ配列及び／またはＣＤＲ配列など）の１つ以上の部分、１つまたは複数の天然のＶ$_{H}$Ｈ配列（１つまたは複数のＦＲ配列またはＣＤＲ配列など）の１つ以上の部分、及び／または１つまたは複数の合成または半合成配列を、本発明のＶＨＨまたはそれをコードするヌクレオチド配列もしくは核酸を得るように、好適な方法で組み合わせることを含み得る。

【０５６１】

薬学的に許容可能な塩及び賦形剤

本明細書に記載のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、充分に塩基性の官能基を有することができ、これは無機もしくは有機酸またはカルボキシル基と反応することができ、またこれは、無機または有機塩基と反応することができ、薬学的に許容可能な塩を形成することができる。薬学的に許容可能な酸付加塩は、当該技術分野でよく知られているように、薬学的に許容可能な酸から形成される。このような塩には、例えば、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅ，６６，２－１９（１９７７）及びＴｈｅ Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓａｌｔｓ；Ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ，Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ，ａｎｄ Ｕｓｅ．Ｐ．Ｈ．Ｓｔａｈｌ ａｎｄ Ｃ．Ｇ．Ｗｅｒｍｕｔｈ（ｅｄｓ．），Ｖｅｒｌａｇ，Ｚｕｒｉｃｈ（Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）２００２、に挙げられた薬学的に許容可能な塩を含む。これらの文献は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０５６２】

薬学的に許容可能な塩としては、非限定的例であるが、硫酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、塩化物、臭化物、ヨウ化物、硝酸塩、重硫酸塩、ホスフェート、酸性リン酸塩、イソニコチン酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、酸性クエン酸塩、酒石酸塩、オレイン酸塩、タンニン酸塩、パントテン酸塩、酒石酸水素塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、ゲンチシン酸塩、フマル酸塩、グルコン酸塩、グルカロン酸塩、サッカリン酸塩、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、ｐ－トルエンスルホン酸塩、樟脳スルホン酸塩、パモ酸塩、フェニル酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、アクリル酸塩、クロロ安息香酸塩、ジニトロ安息香酸塩、ヒドロキシ安息香酸塩、メトキシ安息香酸塩、メチル安息香酸塩、ｏ－アセトキシ安息香酸塩、ナフタレン－２－安息香酸塩、イソ酪酸塩、フェニル酪酸塩、α－ヒドロキシ酪酸塩、ブチン－１，４－ジカルボキシレート、ヘキシン－１，４－ジカルボキシレート、カプリン酸塩、カプリル酸塩、ケイ皮酸塩、グリコール酸塩、ヘプタン酸塩、ヒプル酸塩、リンゴ酸塩、ヒドロキシマレイン酸塩、マロン酸塩、マンデル酸塩、メシル酸塩、ニコチン酸塩、フタル酸塩、テラフタル酸塩、プロピオール酸塩、プロピオン酸塩、フェニルプロピオン酸塩、セバシン酸塩、スベリン酸塩、ｐ－ブロモベンゼンスルホン酸塩、クロロベンゼンスルホン酸塩、エチルスルホン酸塩、２－ヒドロキシエチルスルホン酸塩、メチルスルホン酸塩、ナフタレン－１－スルホン酸塩、ナフタレン－２－スルホン酸塩、ナフタレン－１，５－スルホン酸塩、キシレンスルホン酸塩、及び酒石酸塩が挙げられる。

【０５６３】

「薬学的に許容可能な塩」という用語はまた、カルボン酸官能基などの酸性官能基、及び塩基を有する本発明の組成物の塩を指す。適切な塩基としては、限定されないが、ナトリウム、カリウム、及びリチウムなどのアルカリ金属の水酸化物；カルシウム及びマグネシウムなどのアルカリ土類金属の水酸化物；アルミニウム及び亜鉛などのその他の金属の水酸化物；アンモニア、及び非置換またはヒドロキシ置換のモノー、ジ－、またはトリーアルキルアミン、ジシクロヘキシルアミンなどの有機アミン；トリブチルアミン；ピリジン；Ｎ－メチル、Ｎ－エチルアミン；ジエチルアミン；トリエチルアミン；モノー、ビス－、またはトリス－（２－ヒドロキシエチル）アミン、２－ヒドロキシ－ｔｅｒｔ－ブチルアミン、またはトリス－（ヒドロキシメチル）メチルアミンなどのモノー、ビス－、またはトリス－（２－ＯＨ－低級アルキルアミン）、Ｎ，Ｎ－ジメチル－Ｎ－（２－ヒドロキシエチル）アミンまたはトリ（２－ヒドロキシエチル）アミンなどのＮ，Ｎ－ジ－低級アルキル－Ｎ－（ヒドロキシル－低級アルキル）－アミン；Ｎ－メチル－Ｄ－グルカミン；及びアルギニン、リシンなどのアミノ酸などが挙げられる。

【０５６４】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物は、薬学的に許容可能な塩の形態である。

【０５６５】

医薬組成物及び製剤

種々の実施形態では、本発明は、本明細書に記載のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体及び薬学的に許容可能な担体または賦形剤を含む医薬組成物に関する。本明細書に記載のいずれの医薬組成物も、薬学的に許容可能な担体またはビヒクルを含む組成物の成分として、対象に投与することができる。このような組成物は、適切な投与用の形態を与えるように、適切な量の薬学的に許容可能な賦形剤を任意に含み得る。

【０５６６】

種々の実施形態では、医薬賦形剤は、ピーナッツオイル、大豆油、ミネラルオイル、ゴマ油などの石油、動物、植物、または人工起源のものを含む、水及び油などの液体であり得る。医薬賦形剤は、例えば、食塩水、アカシアゴム、ゼラチン、デンプンペースト、滑石、ケラチン、コロイド状シリカ、尿素なであってよい。さらに、助剤、安定化剤、増粘化剤、潤滑剤、及び着色料を使用することができる。一実施形態では、薬学的に許容可能な賦形剤は、対象に投与される場合、無菌である。本明細書に記載のいずれかの薬剤が静脈内に投与される場合、水は有用な賦形剤である。生理食塩水及び水性デキストロースならびにグリセリン溶液はまた、液体賦形剤として、特に注射可能溶液に用いることができる。適切な医薬賦形剤としては、デンプン、グルコース、ラクトース、ショ糖、ゼラチン、麦芽、米、小麦粉、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、グリセリンモノステアレート、滑石、塩化ナトリウム、乾燥脱脂乳、グリセリン、プロピレン、グリコール、水、エタノールなども挙げられる。本明細書に記載のいずれの薬剤も、必要に応じ、少量の湿潤剤もしくは乳化剤、またはｐＨ緩衝剤を含んでよい。適切な医薬賦形剤のそのほかの例は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ １４４７－１６７６（Ａｌｆｏｎｓｏ Ｒ．Ｇｅｎｎａｒｏ ｅｄｓ．，１９ｔｈ ｅｄ．１９９５）に記載されている。この文献は参照により本明細書に組み込まれる。

【０５６７】

本発明は、種々の製剤中に記載医薬組成物（及び／または追加の治療薬）を含む。本明細書に記載のいずれの本発明の医薬組成物（及び／または追加の治療薬）も、液剤、懸濁剤、乳濁液、点滴剤、錠剤、丸薬、ペレット、カプセル剤、液体含有カプセル剤、ゼラチンカプセル剤、散剤、徐放製剤、坐剤、乳剤、エアロゾル、噴霧剤、懸濁剤、凍結乾燥散剤、凍結懸濁剤、乾燥散剤、または使用に適するその他の任意の形態をとることができる。一実施形態では、組成物はカプセルの形態である。別の実施形態では、組成物は錠剤の形態である。さらに別の実施形態では、医薬組成物は、軟質ゲルカプセルの形態に処方される。さらなる実施形態では、医薬組成物は、ゼラチンカプセルの形態に処方される。さらに別の実施形態では、医薬組成物は、液剤として処方される。

【０５６８】

必要に応じて、本発明の医薬組成物（及び／または追加の薬剤）は、可溶化剤も含み得る。また、薬剤は当技術分野において公知の適切なビヒクルまたは送達装置を使って送達することができる。本明細書で概要を述べた併用療法剤は、単一の送達ビヒクルまたは送達担体で同時送達できる。

【０５６９】

本発明の医薬組成物（及び／または追加の薬剤）を含む製剤は単位剤形として好都合に提供でき、薬学の分野でよく知られたいずれかの方法により調製され得る。このような方法は通常、治療薬を担体と混合するステップを含み、担体は１種以上の補助成分を構成する。通常、製剤は、治療薬と、液体担体、微粉化固相担体、または両方とを均一に、完全に混合すること、その後、必要に応じ、生成物を所望の製剤の剤形に成形すること（例えば、湿式または乾式造粒、散剤ブレンド、など、それに続く、当該技術分野で公知の従来の方法を使って錠剤化すること）により調製される。

【０５７０】

種々の実施形態では、本明細書に記載のいずれの医薬組成物（及び／または追加の薬剤）も、本明細書に記載の投与方法に適合された組成物として、ルーチン手順に従って処方

される。

【０５７１】

投与経路は、例えば、経口、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外、舌下、鼻腔内、脳内、膣内、経皮、直腸内、吸入、または局所を含む。投与は局所的または全身性であり得る。いくつかの実施形態では、投与は、経口により行われる。別の実施形態では、投与は非経口の注射による。投与方法は、開業医の自由裁量に任すことができ、一部には、病状の部位に依存する。大抵の場合、投与は本明細書に記載のいずれかの薬剤の血流中への放出をもたらす。

【０５７２】

一実施形態では、本明細書に記載のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、経口投与に適合された組成物として、常法に従って処方される。経口送達用の組成物は、錠剤、トローチ剤、水性または油性懸濁剤、粒剤、散剤、乳剤、カプセル剤、シロップ剤、またはエリキシル剤の形態であってよい。経口投与される組成物は、薬学的に口当たりの良い製剤を提供するために、１種以上の薬剤、例えば、ラクトース、アスパルテームまたはサッカリンなどの甘味料、ペパーミント、冬緑油またはチェリー油などの調味料、着色料及び保存剤を含み得る。さらに、錠剤または丸薬形態では、組成物をコートして、消化管での崩壊及び吸収を遅らせることにより長期間にわたり持続作用を可能とすることができる。本明細書に記載のいずれかの浸透活性駆動性キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体を取り囲む選択的透過性膜も、経口投与組成物として好適である。これらの後者のプラットフォームでは、カプセルの周りの環境からの液体が運搬化合物により吸収され、この化合物は膨潤し、開口部を介して薬剤または薬剤組成物を追い出す。これらの送達プラットフォームは、即時放出製剤の急上昇プロファイルとは対照的に、基本的に０次の送達プロファイルを提供することができる。グリセロールモノステアレートまたはグリセロールステアレートなどの時間遅延物質も使用することができる。経口組成物は、標準的な賦形剤、例えば、マンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、ナトリウムサッカリン、セルロース、及び炭酸マグネシウムを含んでよい。一実施形態は、賦形剤は医薬品グレードである。活性化合物に加えて、懸濁剤は、例えば、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビトール及びソルビタンエステル、微結晶セルロース、アルミニウムメタヒドロオキシド、ベントナイト、寒天、トラガント、など、及びこれらの混合物などの沈殿防止剤を含んでよい。

【０５７３】

非経口投与（例えば、静脈内、筋肉内、腹腔内、皮下及び関節内注射及び注入）に好適な剤形は、例えば、液剤、懸濁剤、分散剤、乳剤、などを含む。それらは、無菌の固相組成物（例えば、凍結乾燥組成物）の形態で製造されてよく、これは、使用直前に、無菌の注入可能媒体中に溶解または懸濁され得る。それらは、例えば、当該技術分野において、公知の懸濁剤または分散剤を含み得る。非経口的投与に好適な製剤成分としては、注射用の水、食塩水溶液、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール、またはその他の合成溶媒などの無菌希釈剤、ベンジルアルコールまたはメチルパラベンなどの抗菌剤、アスコルビン酸もしくは亜硫酸水素ナトリウムなどの酸化防止剤、ＥＤＴＡなどのキレート化剤、アセテート、シトレート、またはホスフェートなどの緩衝剤、及び塩化ナトリウムまたはデキストロースなどの浸透圧調節剤が挙げられる。

【０５７４】

静脈内投与の場合、好適な担体としては、生理食塩水、静菌性水、クレモフォアＥＬＴＭ（ＢＡＳＦ，Ｐａｒｓｉｐｐａｎｙ，ＮＪ）またはリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）が挙げられる。担体は、製造及び貯蔵条件下で安定でなければならず、微生物に対し保護されなければならない。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、及び液体ポリエチレングリコール）、及びこれらの好適な混合物を含む、溶媒または分散媒であってよい。

【０５７５】

本明細書にて提供される組成物は、単独でまたは他の好適な成分と組み合わせて、吸入により投与されるエーロゾル製剤（すなわち、「噴霧化」製剤）を作製することができる。エーロゾル製剤は、ジクロロジフルオロメタン、プロパン、窒素などの許容され得る加圧化噴射剤中に入れることができる。

【０５７６】

本明細書に記載のいずれの本発明の医薬組成物（及び／または追加の薬剤）も、当業者に公知の制御放出によりまたは徐放手段または送達装置により投与可能である。例としては、米国特許第３，８４５，７７０号；同第３，９１６，８９９号；同第３，５３６，８０９号；同第３，５９８，１２３号；同第４，００８，７１９号、同第５，６７４，５３３号、同第５，０５９，５９５号、同第５，５９１，７６７号、同第５，１２０，５４８号、同第５，０７３，５４３号、同第５，６３９，４７６号、同第５，３５４，５５６号、及び同第５，７３３，５５６号に記載のものが挙げられるが、これらに限定されない。これらの特許のそれぞれは参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。このような剤形は、例えば、ヒドロプロピルセルロース、ヒドロプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、その他のポリマーマトリクス、ゲル、浸透膜、浸透系、多層被膜、微粒子、リポソーム、マイクロスフェア、またはこれらの組み合わせを用いて、１種以上の有効成分の制御放出または徐放を可能にするために有用であり、様々な割合での所望の放出プロファイルを提供することができる。本明細書に記載されたものを含む当業者に公知の適切な制御放出または徐放製剤は、本明細書に記載の薬剤の有効成分と共に使用する上で容易に選択することができる。本発明はこのように、限定されないが、制御放出または徐放に適合された錠剤、カプセル、ジェルカプセル及びカプレットなどの経口投与に好適な単位剤形を提供する。

【０５７７】

有効成分の制御放出または徐放は、限定されないが、ｐＨ変化、温度変化、適切な波長の光による刺激、酵素の濃度もしくは利用可能性、水の濃度または利用可能性、または他の生理学的条件または化合物を含む、種々の条件により刺激できる。

【０５７８】

別の実施形態では、徐放系を、治療される標的領域の近傍に配置でき、したがって全身用量の一部のみを必要とする（例えば、Ｇｏｏｄｓｏｎ，ｉｎ Ｍｅｄｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｏｆ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ，ｓｕｐｒａ，ｖｏｌ．２，ｐｐ．１１５－１３８（１９８４）を参照）。Ｌａｎｇｅｒ，１９９０，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４９：１５２７－１５３３、中の概説で考察されている他の放出制御系を使用し得る。

【０５７９】

医薬製剤は好ましくは無菌である。無菌化は、例えば、無菌ろ過膜でろ過することにより達成される。組成物が凍結乾燥される場合、凍結乾燥及び再構成の前またはその後でフィルター滅菌を行うことができる。

【０５８０】

投与及び用量

本発明により投与されるキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の実際の用量は、特定の剤形及び投与方法に応じて変わるであろうということは理解されよう。キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の作用を変更する可能性がある多くの要因。当業者であれば、例えば、体重、性別、食事、投与時期、投与経路、排出速度、対象の状態、薬剤の組み合わせ、遺伝的素因、及び反応感度）を考慮に入れることができる。投与は、最大耐量の範囲内で連続的にまたは１つ以上の別個の投与量で実施できる。当業者であれば、所与の一連の条件に対する最適投与速度を、従来の用量投与試験を使用して確認することができる。

【０５８１】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体など

のキメラタンパク質複合体の好適な投与量は、約０．０１μｇ／ｋｇ～約１００ｍｇ／ｋｇの対象の体重、約０．０１μｇ／ｋｇ～約１０ｍｇ／ｋｇの対象の体重、または約０．０１μｇ／ｋｇ～約１ｍｇ／ｋｇの対象の体重の範囲であり、例えば、約０．０１μｇ／ｋｇ、約０．０２μｇ／ｋｇ、約０．０３μｇ／ｋｇ、約０．０４μｇ／ｋｇ、約０．０５μｇ／ｋｇ、約０．０６μｇ／ｋｇ、約０．０７μｇ／ｋｇ、約０．０８μｇ／ｋｇ、約０．０９μｇ／ｋｇ、約０．１ｍｇ／ｋｇ、約０．２ｍｇ／ｋｇ、約０．３ｍｇ／ｋｇ、約０．４ｍｇ／ｋｇ、約０．５ｍｇ／ｋｇ、約０．６ｍｇ／ｋｇ、約０．７ｍｇ／ｋｇ、約０．８ｍｇ／ｋｇ、約０．９ｍｇ／ｋｇ、約１ｍｇ／ｋｇ、約１．１ｍｇ／ｋｇ、約１．２ｍｇ／ｋｇ、約１．３ｍｇ／ｋｇ、約１．４ｍｇ／ｋｇ、約１．５ｍｇ／ｋｇ、約１．６ｍｇ／ｋｇ、約１．７ｍｇ／ｋｇ、約１．８ｍｇ／ｋｇ、１．９ｍｇ／ｋｇ、約２ｍｇ／ｋｇ、約３ｍｇ／ｋｇ、約４ｍｇ／ｋｇ、約５ｍｇ／ｋｇ、約６ｍｇ／ｋｇ、約７ｍｇ／ｋｇ、約８ｍｇ／ｋｇ、約９ｍｇ／ｋｇ、約１０ｍｇ／ｋｇ体重、または約１００ｍｇ／ｋｇ体重（これらの間の全ての値及び範囲を含む）である。

【０５８２】

キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の個々の用量は、例えば、単位剤形（例えば、錠剤、カプセル、または液体製剤）あたり、約１μｇ～約１００ｍｇ、約１μｇ～約９０ｍｇ、約１μｇ～約８０ｍｇ、約１μｇ～約７０ｍｇ、約１μｇ～約６０ｍｇ、約１μｇ～約５０ｍｇ、約１μｇ～約４０ｍｇ、約１μｇ～約３０ｍｇ、約１μｇ～約２０ｍｇ、約１μｇ～約１０ｍｇ、約１μｇ～約５ｍｇ、約１μｇ～約３ｍｇ、約１μｇ～約１ｍｇ、または約１μｇ～約５０μｇを含む単位剤形として投与できる。例えば、単位剤形は、約１μｇ、約２μｇ、約３μｇ、約４μｇ、約５μｇ、約６μｇ、約７μｇ、約８μｇ、約９μｇ、約１０μｇ、約１１μｇ、約１２μｇ、約１３μｇ、約１４μｇ、約１５μｇ、約１６μｇ、約１７μｇ、約１８μｇ、約１９μｇ、約２０μｇ、約２１μｇ、約２２μｇ、約２３μｇ、約２４μｇ、約２５μｇ、約２６μｇ、約２７μｇ、約２８μｇ、約２９、約３０μｇ、約３５μｇ、約４０μｇ、約４５μｇ、約５０μｇ、約６０μｇ、約７０μｇ、約８０μｇ、約９０μｇ、約０．１ｍｇ、約０．２ｍｇ、約０．３ｍｇ、約０．４ｍｇ、約０．５ｍｇ、約０．６ｍｇ、約０．７ｍｇ、約０．８ｍｇ、約０．９ｍｇ、約１ｍｇ、約２ｍｇ、約３ｍｇ、約４ｍｇ、約５ｍｇ、約６ｍｇ、約７ｍｇ、約８ｍｇ、約９ｍｇ、約１０ｍｇ、約１５ｍｇ、約２０ｍｇ、約２５ｍｇ、約３０ｍｇ、約３５ｍｇ、約４０ｍｇ、約４５ｍｇ、約５０ｍｇ、約５５ｍｇ、約６０ｍｇ、約６５ｍｇ、約７０ｍｇ、約７５ｍｇ、約８０ｍｇ、約８５ｍｇ、約９０ｍｇ、約９５ｍｇ、または約１００ｍｇ（これらの間の全ての値及び範囲を含む）であり得る。

【０５８３】

一実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、毎日約１μｇ～約１００ｍｇ、毎日約１μｇ～約９０ｍｇ、毎日約１μｇ～約８０ｍｇ、毎日約１μｇ～約７０ｍｇ、毎日約１μｇ～約６０ｍｇ、毎日約１μｇ～約５０ｍｇ、毎日約１μｇ～約４０ｍｇ、毎日約１μｇ～約３０ｍｇ、毎日約１μｇ～約２０ｍｇ、毎日約０１μｇ～約１０ｍｇ、毎日約１μｇ～約５ｍｇ、毎日約１μｇ～約３ｍｇ、または毎日約１μｇ～約１ｍｇの量で投与される。種々の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、約１μｇ、約２μｇ、約３μｇ、約４μｇ、約５μｇ、約６μｇ、約７μｇ、約８μｇ、約９μｇ、約１０μｇ、約１１μｇ、約１２μｇ、約１３μｇ、約１４μｇ、約１５μｇ、約１６μｇ、約１７μｇ、約１８μｇ、約１９μｇ、約２０μｇ、約２１μｇ、約２２μｇ、約２３μｇ、約２４μｇ、約２５μｇ、約２６μｇ、約２７μｇ、約２８μｇ、約２９、約３０μｇ、約３５μｇ、約４０μｇ、約４５μｇ、約５０μｇ、約６０μｇ、約７０μｇ、約８０μｇ、約９０μｇ、約０．１ｍｇ、約０．２ｍｇ、約０．３ｍｇ、約０．４ｍｇ、約０．５ｍｇ、約０．６ｍｇ、約０．７ｍｇ、約０．８ｍｇ、約０．９ｍｇ、約１ｍｇ、約２ｍｇ、約３ｍｇ、約４ｍｇ、約５ｍｇ、約６ｍｇ、約７ｍｇ、約８ｍｇ、約９ｍｇ、約１０ｍｇ、約１５ｍｇ、約２０ｍｇ、約２５ｍｇ、約３０ｍｇ、約３５ｍｇ

、約４０ｍｇ、約４５ｍｇ、約５０ｍｇ、約５５ｍｇ、約６０ｍｇ、約６５ｍｇ、約７０ｍｇ、約７５ｍｇ、約８０ｍｇ、約８５ｍｇ、約９０ｍｇ、約９５ｍｇ、または約１００ｍｇ（これらの間の全ての値及び範囲を含む）の１日量で投与される。

【０５８４】

本発明の特定の実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体を含む医薬組成物は、例えば、１日２回以上（例えば、毎日約２回、約３回、約４回、約５回、約６回、約７回、約８回、約９回、または約１０回）、１日約１回、約１日おき、約３日おき、週約１回、２週毎に約１回、毎月約１回、２か月毎に約１回、３か月毎に約１回、６か月毎に約１回、または毎年約１回投与され得る。ある実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体を含む医薬組成物は、週約３回投与される。

【０５８５】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、長期間にわたり投与され得る。例えば、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のように、少なくとも約１週間、少なくとも約２週間、少なくとも約３週間、少なくとも約４週間、少なくとも約５週間、少なくとも約６週間、少なくとも約７週間、少なくとも約８週間、少なくとも約９週間、少なくとも約１０週間、少なくとも約１１週間、または少なくとも約１２週間にわたり投与され得る。例えば、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、１２週間、２４週間、３６週間または４８週間にわたり投与され得る。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、少なくとも約１か月間、少なくとも約２か月間、少なくとも約３か月間、少なくとも約４か月間、少なくとも約５か月間、少なくとも約６か月間、少なくとも約７か月間、少なくとも約８か月間、少なくとも約９か月間、少なくとも約１０か月間、少なくとも約１１か月間、または少なくとも約１２か月間にわたり投与される。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、少なくとも約１年間、少なくとも約２年間、少なくとも約３年間、少なくとも約４年間、または少なくとも約５年間にわたり投与され得る。

【０５８６】

併用療法及び追加の治療薬

種々の実施形態では、本発明の医薬組成物は、追加の治療薬と共に同時投与される。同時投与は、同時または順次であってよい。

【０５８７】

一実施形態では、追加の治療薬及び本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、対象に同時に投与される。本明細書で使用される場合、用語「同時に」は、追加の治療薬及びキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体が、約６０分以下、例えば、約３０分以下、約２０分以下、約１０分以下、約５分以下、または約１分以下の時間間隔で投与されることを意味する。追加の治療薬及びキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の投与は、単一製剤（例えば、追加の治療薬及びキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体を含む製剤）または別々の製剤（例えば、追加の治療薬を含む第１の製剤及びキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体を含む第２の製剤）の同時投与により行うことが可能である。

【０５８８】

同時投与は、それらの投与のタイミングが、追加の治療薬及びキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の薬理学的活性が時間経過と共に重なりあい、それにより組み合わされた治療効果が発揮されるような場合には、治療薬が同時に投与される必要はない。例えば、追加の治療薬及びキメラタンパク質または

Ｆｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、順次に投与できる。本明細書で使用される場合、用語「順次に」は、追加の治療薬及びキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体が、約６０分を超える時間間隔で投与されることを意味する。例えば、追加の治療薬とキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体との逐次投与の間の時間は、約６０分を超えて、約２時間を超えて、約５時間を超えて、約１０時間を超えて、約１日を超えて、約２日を超えて、約３日を超えて、約１週間を超えて間隔を開ける、約２週間を超えて間隔を開ける、または約１か月を越えて間隔を開けることができる。最適投与時間は、投与される追加の治療薬及びキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の代謝、排泄速度、及び／または薬力学的活性に依存するであろう。追加の治療薬またはキメラタンパク質もしくはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、最初に投与してよい。

【０５８９】

同時投与はまた、治療薬が同じ投与経路により対象に投与される必要はない。むしろ、それぞれの治療薬は、任意の適切な経路、例えば、非経口または経口（ｎｏｎ－ｐａｒｅｎｔｅｒａｌｌｙ）で投与できる。

【０５９０】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、別の治療薬と同時投与されると、相乗的に作用する。このような実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体及び追加の治療薬は、その治療薬が単剤療法で使用される場合に採用される用量よりも低い用量で投与され得る。

【０５９１】

いくつかの実施形態では、本発明は、追加の治療薬としての化学療法剤に関する。例えば、限定されないが、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体と化学療法剤とのこのような組み合わせは、本明細書の別の場所に記載のように、癌の治療に使用される。化学療法剤の例としては、アルキル化剤、例えば、チオテパ、ＣＹＴＯＸＡＮ（シクロホスファミド）、スルホン酸アルキル、例えば、ブスルファン、インプロスルファン及びピポスルファン、アジリジン、例えば、ベンゾドーパ，カルボコン、メツレドーパ、及びウレドーパ、エチレンイミン、メチラメラミン例えば、アルトレタミン、トリエチルエネメラミン、トリエチレンネフォスフォラミド、トリエチレンチオフォスフォラミド及び、トリメチロールメラミン、アセトゲニン（例えば、ブラタシン、ブラタチノン）、カントテシン（合成類似剤トポテカンを含む）、ブリオスタチン、カリスタチン（ｃａｌｌｙ　ｓｔａｔｉｎ）、ＣＣ－１０６５（アドゼレシン、カルゼルシン及びビゼレシン合成類似体を含む）、クリプトフィシン（例えば、クリプトフィシン１、クリプトフィシン８など）、ドラスタチン、デュオカルマイシン（合成類似薬ＫＷ－２１８９及びＣＢ１－ＴＭ１を含む）、エレウテロビン、パンクラチスタチン、サルコディクチン、スポンギスタチン、ナイトロジェンマスタード、例えば、クロラムブシル、クロルナファジン、クロロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、酸化メクロルエタミン塩酸塩、メルファラン、ノベンビチン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード、ニトロソウレア、例えば、カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン及びラニムスチン（ｒａｎｉｍｎｕｓｔｉｎｅ）、抗生物質、例えば、エンジイン抗生物質（カリチアマイシン、特にカリチアマイシンガンマＩＩとカリチアマイシンオメガＩＩ（Ａｇｎｅｗ，Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔｌ．Ｅｄ．Ｅｎｇｌ．，３３：１８３－１８６（１９９４）を参照）、ダイネマイシン、ダイネマイシンＡを含む、ビスフォスフォネート、例えば、クロドロネート、エスペラマイシン、ならびに、ネオカルジノスタチン発色団及び関連色素タンパク質エンジイン抗生物質発色団）、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、オースラマイシン、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン、カルミノマイシン（ｃａｍｉｎｏｍｙｃｉｎ）、カルジノフィリン、クロモマイシン（ｃｈ

ｒｏｍｏｍｙｃｉｎｉｓ）、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、６－ジアゾ－５－オキソ－Ｌ－ノルロイシン、アドリアマイシン（ドキソルビシン）（モルフォリノドキソルビシン、シアノモルフォリノドキソルビシン、２－ピロリノドキソルビシン及びデオキシドキソルビシンを含む）、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシン（例えば、マイトマイシンＣ）、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン、ピューロマイシン、クエラマイシン、ロドルビシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、チュベルシジン、ウベニメックス、ジノスタチン、ゾルビシン、代謝拮抗薬、例えば、メトトレキセ－ト及び５－フルオロウラシル（５－ＦＵ）、葉酸の類似体、例えば、デノプテリン、メトトレキセ－ト、プテロプテリン、トリメトレキサ－ト、プリン類似体、例えば、フルダラビン、６－メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン、ピリミジン類似体、例えば、アンシタビン、アザシチジン、６－アザウリジン、カルモフール、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジン、アンドロゲン、例えば、カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン、抗副腎物質、例えば、アミノグルテチミド（ｍｉｎｏｇｌｕｔｅｔｈｉｍｉｄｅ）、ミトタン、トリロスタン、葉酸補充液、例えば、フロリン酸（ｆｒｏｌｉｎｉｃ ａｃｉｄ）、アセグラトン、アルドホスファミドグリコシド、アミノレブリン酸、エニルウラシル、アムサクリン、ベストラブシル、ビサントレン、エダトラキセ－ト（ｅｄａｔｒａｘａｔｅ）、デメコルチン、ジアジクオン、エルフォルミチン（ｅｌｆｏｒｍｉｔｈｉｎｅ）、エリプチニウムアセテート、エポチロン、エトグルシド、ガリウムニトレート、ヒドロキシ尿素、レンチナン、ロニダミン（ｌｏｎｉｄａｉｎｉｎｅ）、メイタンシノイド、例えば、メイタンシン及びアンサマイトシン、ミトグアゾン、ミトキサントロン、モピダモール、ニトラエリン、ペントスタチン、フェナメット、ピラルビシン、ロソキサントロン、ポドフィリン酸、２－エチルヒドラジド、プロカルバジン、ＰＳＫ多糖複合体（ＪＨＳ Ｎａｔｕｒａｌ Ｐｒｏｄｕｃｔｓ，Ｅｕｇｅｎｅ，Ｏｒｅｇ．）、ラゾキサン、リゾキシン、シゾフィラン、スピロゲルマニウム、テヌアゾン酸、２，２’，２”－トリクロロトリエチルアミン、トリコテセン（例えば、Ｔ２毒、ベラクリンＡ、ロリジンＡ、及びアングイディン）、ウレタン、ビンデシン、ダカルバジン、マンノムスチン、ミトブロニトール、ミトラクトール、ピポブロマン、ガシトシン、アラビノシド（アラーＣ）、シクロホスファミド、チオテパ、タキソイド、例えば、タキソ－ルパクリタキセル（Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ，Ｐｒｉｎｃｅｔｏｎ，Ｎ．Ｊ．）、アブラキサンクレモフォアフリー、アルブミン処理ナノ粒子形成パクリタキセル（Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｐａｒｔｎｅｒｓ，Ｓｃｈａｕｍｂｅｒｇ，１１１．）、タキソテールドキセタキセル（Ｒｈｏｎｅ－Ｐｏｕｌｅｎｃ Ｒｏｒｅｒ，Ａｎｔｏｎｙ，Ｆｒａｎｃｅ）、クロランブシル、ジェムザール（ゲムシタビン）、６－チオグアニン、メルカプトプリン、メトトレキセ－ト、白金類似体、例えば、シスプラチン、オキサリプラチン及びカルボプラチン、ビンブラスチン、白金、エトポシド（ＶＰ－１６）、イホスファミド、ミトキサントロン、ビンクリスチン、ナベルビン（ビノレルビン）、ノバントロン、テニポシド、エダトレキセ－ト、ダウノマイシン、アミノプテリン、ゼローダ、イバンドロネート、イリノテカン（キャンプトサー，ＣＰＴ－１１）（イリノテカンと５－ＦＵ及びロイコボリンの治療法を含む）、トポイソメラーゼ阻害剤ＲＦＳ２０００、ヂルルオロメチルオルニチン（ＤＭＦＯ）、レチノイド、例えば、レチノイン酸、カペシタビン、コンブレタスタチン、ロイコボリン（ＬＶ）、オキサリプラチン、オキサリプラチン治療法（ＦＯＬＦＯＸ）を含む、ラパチニブ（Ｔｙｋｅｒｂ）、ＰＫＣ－α、Ｒａｆ、Ｈ－Ｒａｓ、ＥＧＦＲの阻害剤（例えば、エルロチニブ（Ｔａｒｃｅｖａ）及び細胞増殖を抑制するＶＥＧＦ－Ａならびに上述のいずれかの薬剤の薬学的に許容可能な塩、酸または誘導体、が挙げられるが、これらに限定されない。さらに、治療の方法は、放射線の使用をさらに含み得る。さらに、治療の方法は、光線力学的治療の使用をさらに含み得る。

【０５９２】

限定されないが、感染症適用を含む、いくつかの実施形態では、本発明は、追加の治療薬としての抗感染薬に関する。いくつかの実施形態では、抗感染薬は、抗ウイルス薬であり、これは、限定されないが、アバカビル、アシクロビル、アデホビル、アンプレナビル、アタザナビル、シドフォヴィル、ダルナビル、デラビルジン、ジダノシン、ドコサノール、エファビレンツ、エルビテグラビル、エムトリシタビン、エンフビルチド、エトラビリン、ファムシクロビル、及びホスカルネットを含む。いくつかの実施形態では、抗感染薬は抗菌剤であり、これは、限定されないが、セファロスポリン系抗生物質（セファレキシン、セフロキシム、セファドロキシル、セファゾリン、セファロチン、セファクロール、セファマンドール、セフォキシチン、セフプロジル、及びセフトビプロール）；フルオロキノロン系抗生物質（シプロ、レヴァキン、フロキシン、テクイン、アベロックス及びノルフロックス）；テトラサイクリン系抗生物質（テトラサイクリン、ミノサイクリン、オキシテトラサイクリン、及びドキシサイクリン）；ペニシリン系抗生物質（アモキシシリン、アンピシリン、ペニシリンＶ、ジクロキサシリン、カルベニシリン、バンコマイシン、及びメチシリン）；モノバクタム系抗生物質（アズトレオナム）；及びカルバペネム系抗生物質（エルタペネム、ドリペネム、イミペネム／シラスタチン、及びメロペネム）を含む。いくつかの実施形態では、抗感染薬は、抗マラリア薬（例えば、クロロキン、キニーネ、メフロキン、プリマキン、ドキシサイクリン、アーテメータ／ルメファントリン、アトバクオン／プログアニル及びスルファドキシン／ピリメタミン）、メトロニダゾール、チニダゾール、イベルメクチン、パモ酸ピランテル、及びアルベンダゾールを含む。

【０５９３】

例示的実施形態では、本発明は、追加の治療薬としての肝炎治療薬の使用に関する。種々の実施形態では、肝炎治療薬としては、限定されないが、イントロンＡなどのＩＦＮα またはペガシスまたはペグイントロンなどのペグ化ＩＦＮα、ボセプレビル、シメプレビル、ソホスブビル、シメプレビル、ダクラタスビル、レジパスビル／ソホスブビル（ハーボニー）、オムビタスビル／パリタプレビル／リトナビル（テクニヴィ）、オムビタスビル／パリタプレビル／リトナビル／ダサブビル（ヴィキラ・パック）、ラミブジン、アデホビル、エンテカビル、テルビブジン、エンテカビル、テノホビル、ベルパタスビル、エルバスビル、グラゾプレビル、ダサブビル、及びこれらの組み合わせが挙げられる。ある実施形態では、追加の治療薬は、ＩＦＮα（例えば、イントロンＡ）またはペグ化ＩＦＮα（例えば、ペガシスまたはペグイントロン）である。別の実施形態では、追加の治療薬は、リバビリンである。

【０５９４】

いくつかの実施形態では、本発明は、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体及び免疫抑制剤を用いる併用療法に関する。いくつかの実施形態では、本発明は、免疫抑制剤を用いる治療を受けている患者に対するＣｌｅｃ９Ａ結合物質の投与に関する。

【０５９５】

ある実施形態では、免疫抑制剤は、ＴＮＦである。例示的実施形態では、本明細書に記載のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＴＮＦと共投与されると、相乗的に作用する。例示的実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、腫瘍または癌の治療での使用において、ＴＮＦと共投与されると相乗的に作用する。例えば、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体とＴＮＦとの共投与は、相乗的に作用して、腫瘍または癌を低減または排除し得、または腫瘍または癌の増殖及び／または進行及び／または転移を遅らせ得る。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体とＴＮＦの組み合わせは、単剤療法の場合に単独で使用される薬剤に比べて、改善された安全性プロファイルを示し得る。このような実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体及びＴＮＦは、その治療薬が単剤療法で使用される場合に採用される用量よりも低い用量で投与され得る。

【０５９６】
いくつかの実施形態では、限定されないが、自己免疫適用を含む、追加の治療薬は、ステロイド性抗炎症剤または非ステロイド性抗炎症剤（ＮＳＡＩＤ）などの抗炎症剤である、免疫抑制剤である。ステロイド、特に副腎皮質ホルモン剤及びそれらの合成類似体は当該技術分野においてよく知られている。本発明で有用な副腎皮質ステロイドの例としては、ヒドロキシルトリアムシノロン、α－メチルデキサメタゾン、β－メチルβ－メタゾン、ベクロメタゾンジプロピオネート、β－メタゾンベンゾエート、β－メタゾンジプロピオネート、β－メタゾンバレレート、クロベタゾールバレレート、デソニド、デソキシメタゾン、デキサメタゾン、ジフロラソンジアセテート、ジフルコルトロンバレレート、フルアドレノロン、フルクロロロンアセトニド、フルメタゾンピバレート、フルオシノロンアセトニド、フルオシノニド、フルコルチンブチルエステル、フルオコルトロン、フルプレドニデン（フルプレドニリデン）アセテート、フルランドレノロン、ハルシノニド、ヒドロコルチゾンアセテート、ヒドロコルチゾンブチレート、メチルプレドニゾロン、トリアムシノロンアセトニド、コルチゾン、コルトドキソン、フルセトニド、フルドロコルチゾン、ジフルオロゾンジアセテート、フルラドレノロンアセトニド、メドリゾン、アムシナフェル、アムシナフィド、ベタメタゾン及びその残りのエステル、クロロプレドニソン、クロコルテロン、クレシノロン、ジクロリゾン、ジフルプレドネート、フルクロロニド、フルニソリド、フルオロメタロン、フルペロロン、フルプレドニソロン、ヒドロコルチゾン、メプレドニゾン、パラメタゾン、プレドニゾロン、プレドニゾン、ベクロメタゾンジプロピオネートが挙げられるが、これらに限定されない。本発明で使用してよい（ＮＳＡＩＤＳ）としては、限定されないが、サリチル酸、アセチルサリチル酸、サリチル酸メチル、グリコールサリチレート、サリチルアミド、ベンジル－２，５－ジアセトキシ安息香酸、イブプロフェン、スリンダク（ｆｕｌｉｎｄａｃ）、ナプロキセン、ケトプロフェン、エトフェナメート、フェニルブタゾン、及びインドメタシンが挙げられる。いくつかの実施形態では、免疫抑制剤は、アルキル化剤、代謝拮抗物質（例えば、アザチオプリン、メトトレキセ－ト）、細胞傷害性抗生物質、抗体（バシリキシマブ、ダクリズマブ、及びムロモナブ）、抗イムノフィリン剤（例えば、シクロスポリン、タクロリムス、シロリムス）、インターフェロン、オピオイド、ＴＮＦ結合タンパク質、ミコフェノレート、及び小分子生物学的製剤（例えば、フィンゴリモド、ミリオシン）などの細胞分裂阻害薬であってよい。追加の抗炎症剤は、例えば、米国特許第４，５３７，７７６号に記載され、この特許の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。

【０５９７】
いくつかの実施形態では、本発明は、追加の治療薬として肥満症を治療するために使用される種々の薬剤に関する。肥満症の治療に使用するための薬剤の例としては、限定されないが、オルリスタット（例えば、ＡＬＬ１、ゼニカル）、ロルカセリン（ｌｏｒａｃａｓｅｒｉｎ）（例えば、ＢＥＬＶＩＱ）、フェンテルミントピラメート（例えば、キューシミア）、シブトラミン（ｓｉｂｕｔｒａｍｍｅ）（例えば、ＲＥＤＵＣＴＩＬまたはＭＥＲＪＤＩＡ）、リモナバン（アコンプリア（ＡＣＯＭＰＬＬＡ））、エキセナチド（例えば、バイエッタ）、プラムリンチド（例えば、シムリン）、フェンテルミン、ベンズフェタミン、ジエチルプロピオン、フェンジメトラジン（ｐｈｅｎｄｉｍｅｔｒａｚｍｅ）、ブプロピオン、及びメトホルミンが挙げられる。食物中の特定の栄養素を吸収する身体の能力を妨げる薬剤は、追加の薬剤であり、例えば、オルリスタット（例えば、ＡＬＵ、ゼニカル）グルコマンナン、及びグアーガムである。食欲を抑える薬剤も追加の薬剤であり、例えば、カテコールアミンならびにこれらの誘導体（例えば、フェンテルミン（ｐｈｅｎｔｅｉｍｉｎｅ）及び他のアンフェタミン系薬物）、種々の抗うつ剤及び気分安定剤（例えば、ブプロピオン及びトピラマート）、食欲抑制薬（例えば、デキセドリン、ジゴキシン）である。身体の代謝を高める薬剤もまた、追加の薬剤である。

【０５９８】
いくつかの実施形態では、追加の治療薬は、食欲抑制薬、神経伝達因子再取り込み阻害剤、ドパミン作動薬、セロトニン作動薬、ＧＡＢＡ作動性シグナル伝達調節薬、抗けいれ

ん薬、抗うつ剤、モノアミンオキシダーゼ阻害剤、物質Ｐ（ＮＫ１）受容体アンタゴニスト、メラノコルチン受容体アゴニスト及びアンタゴニスト、リパーゼ阻害剤、脂肪吸収抑制剤、エネルギー摂取または代謝調節薬、カンナビノイド受容体調節薬、中毒治療剤、代謝症候群治療剤、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体（ＰＰＡＲ）調節薬；ジペプチジルペプチダーゼ４（ＤＰＰ－４）アンタゴニスト、心臓血管疾患治療剤、高トリグリセリド値治療剤、低ＨＤＬ治療剤、高コレステロール血症治療剤、及び高血圧治療剤から選択される。心臓血管疾患のためのいくつかの薬剤としては、スタチン系薬剤（例えば、ロバスタチン、アトルバスタチン、フルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチン及びプラバスタチン）及びオメガ－３薬剤（例えば、ロバザ、エパノバ（ＥＰＡＮＱＶＡ）、バシ－パ、エステル化オメガ３系、通常、魚油、オキアミ油、藻油）が挙げられる。いくつかの実施形態では、追加の薬剤は、アンフェタミン、ベンゾジアゼピン、スルホニル尿素（ｓｕｉｆｏｎｙｌ　ｕｒｅａ）、メグリチニド、チアゾリジンジオン、ビグアニド、β遮断薬、ＸＣＥ阻害剤、利尿薬、ニトレート、カルシウムチャネル遮断薬、フェンテルミン（ｐｈｅｎｌｅｒｍｉｎｅ）、シブトラミン、ロルカセリン（ｉｏｒｃａｓｅｒｉｎ）、セチリスタット、リモナバン、タラナバント、トピラメート、ガバペンチン、バルプロ酸、ビガバトリン、ブプロピオン、チアガビン、セルトラリン、フルオキセチン、トラゾドン、ゾニサミド、メチルフェニデート、バレニクリン、ナルトレキソン、ジエチルプロピオン、フェンジメトラジン、レパグリニド（ｒｃｐａｇｌｉｎｉ．ｄｅ）、ナテグリニド、グリメピリド、メトホルミン、ピオグリタゾン、ロシグリタゾン（ｒｏｓｉｇｌｉｌａｚｏｎｅ）から選択され得る。

【０５９９】

いくつかの実施形態では、本発明は、追加の治療薬として糖尿病を治療するために使用される薬剤に関する。抗糖尿病約の例としては、限定されないが、スルホニルウレア（例えば、ＤＹＭＥＬＯＲ（アセトヘキサミド））、ジアビネーゼ（クロルプロパミド）、オリナーゼ（トルブタミド）、及びトリナーゼ（トラザミド）、グルコトロール（グリピジド）、グルコトロールＸＬ（持続放出）、ダイアベータ（グリブリド）、ミクロナーゼ（グリブリド）、グリナーゼプレスタブ（グリブリド）、及びアマリール（グリメピリド））；ビグアニド（例えば、メトホルミン（グルコファージ、グルコファージＸＲ、リオメット、フォルタメット、及びグルメツア））；チアゾリジンジオン（例えば、アクトス（ピオグリタゾン）及びアバンディア（ロシグリタゾン）；アルファグルコシダーゼ阻害剤（例えば、プレコース（アカルボース）及びグリセット（ミグリトール）；メグリチニド（例えば、プランジン（レパグリニ）及びスターリックス（ナテグリニド））；ジペプチジルペプチダーゼＩＶ（ＤＰＰ－ＩＶ）阻害剤（例えば、ジャヌビア（シタグリプチン）、ネシーナ（アログリプチン）、オングリザ（サキサグリプチン）、及びトラゼンタ（リナグリプチン））；ナトリウム・グルコース共輸送体２（ＳＧＬＴ２）阻害剤（例えば、インヴォカナ（カナグリフロジン（ｃａｎａｇｌｉｆｏｚｉｎ））；及び合剤型ピル（例えば、グリブリド（スルホニルウレア）とメトホルミンを組み合わせたグルコバンス；グリピジド（スルホニルウレア）とメトホルミンを組み合わせたメタグリップ；及びメトホルミンとロシグリタゾン（アバンディア）の両方を１つのピルに入れて使用するアバンダメット、カザノ（アログリプチンとメトホルミン）、オセニ（アログリプチン＋ピオグリタゾン）、メトホルミン経口、アクトス経口、バイエッタ皮下、ジャヌビア経口、ウェルコール経口、ジャヌメット経口、グリピジド経口、グリメピリド経口、ルコファージ経口、ランタス皮下、グリブリド経口、オングリザ経口、アマリール経口、ランタスソロスター皮下、ビデュリオン皮下、レベミルフレックスペン皮下、アクトプラスメット経口、グルメツア経口、トラゼンタ経口、ブロモクリプチン経口、コンビグライゼＸＲ経口、インヴォカナ経口、プランジン経口、レベミル皮下、パーロデル経口、ピオグリタゾン経口、ノボログ皮下、ノボログフレックスペン皮下、ビクトーザ２－ＰＡＫ皮下、ヒューマログ皮下、スターリックス経口、フォルタメット経口、グルコバンス経口、ルコファージＸＲ経口、ノボログミックス７０－３０フレックスペン皮下、グリブリド－メトホルミン経口、アカルボース経口、シムリンペン６０皮下、グルコトロールＸＬ経口、ノボリンＲ注

射、グルコトロール経口、デュエタクト経口、シタグリプチン経口、シムリンペン１２０皮下、ヒューマログクイックペン皮下、ジャヌメットＸＲ経口、グリピジド－メトホルミン経口、シクロセット経口、ヒューマログミックス７５－２５皮下、ナテグリニド経口、ヒューマログミックス７５－２５クイックペン皮下、ヒューマリン７０／３０皮下、プレコース経口、アピドラ皮下、ヒューマリンＲ注射、Ｊｅｎｔａｄｕｅｔｏ経口、ビクトーザ３－Ｐａｋ皮下、ノボリン７０／３０皮下、ノボリンＮ皮下、インスリンデテミル皮下、微粒子化グリブリド経口、グリナーゼ経口、ヒューマリンＮ皮下、インスリングラルギン皮下、リオメット経口、ピオグリタゾン－メトホルミン経口、アピドラソロスター皮下、インスリンリスプロ皮下、グリセット経口、ヒューマリン７０／３０ＰＥＮ皮下、コレセベラム経口、シタグリプチン－メトホルミン経口、ダイアベータ経口、インスリン通常ヒト注射、ヒューマリンＮ　ＰＥＮ皮下、エキセナチド皮下、ヒューマログミックス５０－５０クイックペン皮下、リラグルチド皮下、カザノ経口、レパグリニ経口、クロルプロパミド経口、インスリンアスパルト皮下、ノボログミックス７０－３０皮下、ヒューマログミックス５０－５０皮下、サキサグリプチン経口、アクトプラスメットＸＲ経口、ミグリトール経口、ＮＰＨインスリンヒト組換え皮下、インスリンＮＰＨ及び通常ヒト皮下、トラザミド経口、ミフェプリストン経口、インスリンアスパルトプロタミン－インスリンアスパルト皮下、レパグリニ－メトホルミン経口、サキサグリプチン－メトホルミン経口、リナグリプチン－メトホルミン経口、ネシ－ナ経口、オセニ経口、トルブタミド経口、インスリンリスプロプロタミン及びリスプロ皮下、プラムリンチド皮下、インスリングルリジン皮下、ピオグリタゾン－グリメピリド経口、プランディメット経口、ノボログペンフィル皮下、リナグリプチン経口、エキセナチドマイクロスフェア皮下、ＫＯＲＬＹＭ経口、アログリプチン経口、アログリプチン－ピオグリタゾン経口、アログリプチン－メトホルミン経口、カナグリフロジン経口、リスプロ（ヒューマログ）；アスパルト（ノボログ）；グルリジン（アピドラ）；標準（ノボリンＲまたはヒューマリンＲ）；ＮＰＨ（ノボリンＮまたはヒューマリンＮ）；グラルギン（ランタス）；デテミル（レベミル）；ヒューマリンまたはノボリン７０／３０；及びノボログミックス７０／３０ヒューマログミックス７５／２５または５０／５０が挙げられる。

【０６００】

いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）Ｔ細胞療法と組み合わせて使用されると、相乗的に作用する。例示的実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、腫瘍または癌の治療において、ＣＡＲ　Ｔ細胞療法と組み合わせて使用されると相乗的に作用する。ある実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体薬剤は、血液系腫瘍の治療において、ＣＡＲ　Ｔ細胞療法と組み合わせて使用されると相乗的に作用する。ある実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、固形腫瘍の治療において、ＣＡＲ　Ｔ細胞療法と組み合わせて使用されると相乗的に作用する。例えば、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体及びＣＡＲ　Ｔ細胞の使用は、相乗的に作用して、腫瘍または癌を低減または排除し、または腫瘍または癌の増殖及び／または進行及び／または転移を遅らせ得る。種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＣＡＲ　Ｔ細胞分裂を誘導する。種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＣＡＲ　Ｔ細胞増殖を誘導する。種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＣＡＲ　Ｔ細胞のアネルギーを防止する。

【０６０１】

種々の実施形態では、ＣＡＲ　Ｔ細胞療法は、抗原（例えば、腫瘍抗原）、例えば、限定されないが、炭酸脱水酵素ＩＸ（ＣＡＩＸ）、５Ｔ４、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ３０、ＣＤ３３、ＣＤ３８、ＣＤ４７、ＣＳ１、ＣＤ１３８、Ｌｅｗｉｓ－Ｙ、Ｌ

１－ＣＡＭ、ＭＵＣ１６、ＲＯＲ－１、ＩＬ－１３Ｒα２、ｇｐ１００、前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）、Ｂ細胞成熟抗原（ＢＣＭＡ）、ヒトパピローマタイプ１６　Ｅ６（ＨＰＶ－１６　Ｅ６）、ＣＤ１７１、葉酸受容体アルファ（ＦＲα）、ＧＤ２、ヒト上皮成長因子受容体２（ＨＥＲ２）、メソテリン、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、線維芽細胞活性化タンパク質（ＦＡＰ）、癌胎児抗原（ＣＥＡ）、及び血管内皮細胞増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）、ならびに当該技術分野において周知のその他の腫瘍抗原を標的とするＣＡＲ　Ｔ細胞を含む。追加の腫瘍抗原の例としては、ＭＡＲＴ－１／Ｍｅｌａｎ－Ａ、ｇｐ１００、ジペプチジルペプチダーゼＩＶ（ＤＰＰＩＶ）、アデノシンデアミナーゼ結合タンパク質（ＡＤＡｂｐ）、シクロフィリンｂ、結腸直腸関連性抗原（ＣＲＣ）－００１７－１Ａ／ＧＡ７３３、癌胎児抗原（ＣＥＡ）及びその免疫原性エピトープＣＡＰ－１及びＣＡＰ－２、ｅｔｖ６、ａｍｌ１、前立腺特異抗原（ＰＳＡ）及びその免疫原性エピトープＰＳＡ－１、ＰＳＡ－２、及びＰＳＡ－３、Ｔ細胞受容体／ＣＤ３－ゼータ鎖、ＭＡＧＥファミリーの腫瘍抗原（例えば、ＭＡＧＥ－Ａ１、ＭＡＧＥ－Ａ２、ＭＡＧＥ－Ａ３、ＭＡＧＥ－Ａ４、ＭＡＧＥ－Ａ５、ＭＡＧＥ－Ａ６、ＭＡＧＥ－Ａ７、ＭＡＧＥ－Ａ８、ＭＡＧＥ－Ａ９、ＭＡＧＥ－Ａ１０、ＭＡＧＥ－Ａ１１、ＭＡＧＥ－Ａ１２、ＭＡＧＥ－Ｘｐ２（ＭＡＧＥ－Ｂ２）、ＭＡＧＥ－Ｘｐ３（ＭＡＧＥ－Ｂ３）、ＭＡＧＥ－Ｘｐ４（ＭＡＧＥ－Ｂ４）、ＭＡＧＥ－Ｃ１、ＭＡＧＥ－Ｃ２、ＭＡＧＥ－Ｃ３、ＭＡＧＥ－Ｃ４、ＭＡＧＥ－Ｃ５）、ＧＡＧＥファミリーの腫瘍抗原（例えば、ＧＡＧＥ－１、ＧＡＧＥ－２、ＧＡＧＥ－３、ＧＡＧＥ－４、ＧＡＧＥ－５、ＧＡＧＥ－６、ＧＡＧＥ－７、ＧＡＧＥ－８、ＧＡＧＥ－９）、ＢＡＧＥ、ＲＡＧＥ、ＬＡＧＥ－１、ＮＡＧ、ＧｎＴ－Ｖ、ＭＵＭ－１、ＣＤＫ４、チロシナーゼ、ｐ５３、ＭＵＣファミリー、ＨＥＲ２／ｎｅｕ、ｐ２１ｒａｓ、ＲＣＡＳ１、α－フェトプロテイン、Ｅ－カドヘリン、α－カテニン、β－カテニン及びγ－カテニン、ｐ１２０ｃｔｎ、ｇｐ１００　Ｐｍｅｌ１１７、ＰＲＡＭＥ、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ｃｄｃ２７、大腸腺腫症タンパク質（ＡＰＣ）、フォドリン、コネキシン３７、Ｉｇ－イディオタイプ、ｐ１５、ｇｐ７５、ＧＭ２及びＧＤ２ガングリオシド、ヒトパピローマウイルスタンパク質などのウイルス産物、Ｓｍａｄファミリーの腫瘍抗原、ｌｍｐ－１、ＮＡ、ＥＢＶ－コード化核内抗原（ＥＢＮＡ）－１、脳グリコーゲンホスホリラーゼ、ＳＳＸ－１、ＳＳＸ－２（ＨＯＭ－ＭＥＬ－４０）、ＳＳＸ－１、ＳＳＸ－４、ＳＳＸ－５、ＳＣＰ－１　ＣＴ－７、ｃ－ｅｒｂＢ－２、ＣＤ１９、ＣＤ３７、ＣＤ５６、ＣＤ７０、ＣＤ７４、ＣＤ１３８、ＡＧＳ１６、ＭＵＣ１、ＧＰＮＭＢ、Ｅｐ－ＣＡＭ、ＰＤ－Ｌ１、及びＰＤ－Ｌ２が挙げられるが、これらに限定されない。

【０６０２】

ＣＡＲ　Ｔ細胞療法の例としては、ＪＣＡＲ０１４（Ｊｕｎｏ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）、ＪＣＡＲ０１５（Ｊｕｎｏ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）、ＪＣＡＲ０１７（Ｊｕｎｏ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）、ＪＣＡＲ０１８（Ｊｕｎｏ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）、ＪＣＡＲ０２０（Ｊｕｎｏ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）、ＪＣＡＲ０２３（Ｊｕｎｏ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）、ＪＣＡＲ０２４（Ｊｕｎｏ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）、ＣＴＬ０１９（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ＫＴＥ－Ｃ１９（Ｋｉｔｅ　Ｐｈａｒｍａ）、ＢＰＸ－４０１（Ｂｅｌｌｉｃｕｍ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）、ＢＰＸ－５０１（Ｂｅｌｌｉｃｕｍ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）、ＢＰＸ－６０１（Ｂｅｌｌｉｃｕｍ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）、ｂｂ２１２１（Ｂｌｕｅｂｉｒｄ　Ｂｉｏ）、ＣＤ－１９　Ｓｌｅｅｐｉｎｇ　Ｂｅａｕｔｙ　ｃｅｌｌｓ（眠れる森の美女細胞）（Ｚｉｏｐｈａｒｍ　Ｏｎｃｏｌｏｇｙ）、ＵＣＡＲＴ１９（Ｃｅｌｌｅｃｔｉｓ）、ＵＣＡＲＴ１２３（Ｃｅｌｌｅｃｔｉｓ）、ＵＣＡＲＴ３８（Ｃｅｌｌｅｃｔｉｓ）、ＵＣＡＲＴＣＳ１（Ｃｅｌｌｅｃｔｉｓ）、ＯＸＢ－３０２（Ｏｘｆｏｒｄ　ＢｉｏＭｅｄｉｃａ、ＭＢ－１０１（Ｍｕｓｔａｎｇ　Ｂｉｏ）及びＩｎｎｏｖａｔｉｖｅ　Ｃｅｌｌｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓにより開発されたＣＡＲ　Ｔ細胞が挙げられるが、これらに限定されない。

【０６０３】

いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、限定されないが、３－インターフェロン、酢酸グラチラマー、Ｔ－インターフェロン、ＩＦＮβ２（米国特許出願公開第２００２／００２５３０４号）、スピロゲルマニウム（例えば、Ｎ－（３－ジメチルアミノプロピル－２－アザ－８，８－ジメチル－８－ゲルマスピロ［４：５］デカン、Ｎ－（３－ジメチルアミノプロピル－２－アザ－８，８－ジエチル－８－ゲルマスピロ［４：５］デカン、Ｎ－（３－ジメチルアミノプロピル－２－アザ－８，８－ジプロピル－８－ゲルマスピロ［４：５］デカン、及びＮ－（３－ジメチルアミノプロピル－２－アザ－８，８－ジブチル－８－ゲルマスピロ［４：５］デカン）、ビタミンＤ類似体（例えば、１，２５（ＯＨ）２Ｄ３、（例えば、米国特許第５，７１６，９４６号を参照））、プロスタグランジン（例えば、ラタノプロスト、ブリモニジン、ＰＧＥ１、ＰＧＥ２及びＰＧＥ３、例えば、米国特許出願公開第２００２／０００４５２５号を参照）、テトラサイクリンと誘導体（例えば、ミノサイクリン及びドキシサイクリン、例えば、米国特許出願公開第２００２／００２２６０８号を参照）、ＶＬＡ－４結合抗体（例えば、米国特許出願公開第２００９／０２０２５２７号を参照）、副腎皮質刺激ホルモン、副腎皮質ステロイド、プレドニゾン、メチルプレドニソン、２－クロロデオキシアデノシン、ミトキサントロン、スルファサラジン、メトトレキセート、アザチオプリン、シクロホスファミド、シクロスポリン、フマレート、抗ＣＤ２０抗体（例えば、リツキシマブ）、及び　チザニジン塩酸塩を含む多発性硬化症（ＭＳ）治療薬の１種以上と組み合わせてＭＳの治療方法で使用される。

【０６０４】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ＭＳの１種以上の症状または副作用を治療する１種以上の治療薬と組み合わせて使用される。このような薬剤としては、アマンタジン、バクロフェン、パパベリン、メクリジン、ヒドロキシジン、スルファメトキサゾール、シプロフロキサシン、ドクセート、ペモリン、ダントロレン、デスモプレシン、デキサメタゾン、トルテロジン、フェニトイン（ｐｈｅｎｙｌｏｉｎ）、オキシブチニン、ビサコジル、ベンラファキシン、アミトリプチリン、メテナミン、クロナゼパム、イソニアジド、バルデナフィル、ニトロフラントイン、車前子親水性粘漿薬、アルプロスタジル、ガバペンチン、ノルトリプチリン、パロキセチン、プロパンテリンブロミド、モダフィニル、フルオキセチン、フェナゾピリジン、メチルプレドニゾロン、カルバマゼピン、イミプラミン、ジアゼパム、シルデナフィル、ブプロピオン、及びセルトラリンが挙げられるが、これらに限定されない。

【０６０５】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、１種以上の本明細書に記載の疾患修飾性治療薬（ＤＭＴ）（例えば、表６の薬剤）と組み合わせて多発性硬化症の治療方法で使用される。いくつかの実施形態では、本発明は、１種以上の開示結合物質を含まない場合の、１つ以上の本明細書に記載のＤＭＴ（例えば、下表６に挙げた物質）と比べて、改善された治療効果を提供する。ある実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体と１種以上のＤＭＴの組み合わせは、相乗的治療効果をもたらす。

【０６０６】

疾患修飾性治療薬の例としては以下が挙げられるが、これらに限定はされない。

【０６０７】

【表６－１】

表６		
一般名	商標名／会社	頻度／送達経路／通常投与量
テリフルノミド	AUBAGIO (GENZYME)	毎日；丸薬の経口摂取；7 mgまたは14 mg
インターフェロンβ1a	AVONEX (BIOGEN IDEC)	週1回；筋肉内（筋肉中）注射；30 mcg
インターフェロンβ1b	BETASERON (BAYER HEALTHCARE PHARMACEUTICALS, INC.)	隔日；皮下（皮膚の下）注射；250 mcg
酢酸グラチラマー	COPAXONE (TEVA NEUROSCIENCE)	毎日；皮下（皮膚の下）注射；20 mg (20,000 mcg) または週3回；皮下（皮膚の下）注射；40 mg (40,000 mcg)
インターフェロンβ1b	EXTAVIA (NOVARTIS PHARMACEUTICALS CORP.)	隔日；皮下（皮膚の下）注射；250 mcg
フィンゴリモド	GILENYA (NOVARTIS PHARMACEUTICALS CORP.)	毎日；カプセル剤の経口摂取；0.5 mg
アレムツズマブ（抗CD52 モノクローナル抗体）	LEMTRADA (GENZYME)	5日間連続静脈内注入、その後、1年後に3日間連続静脈内注入（12 mg）
ミトキサントロン	NOVANTRONE (EMD SERONO)	医療施設で年4回IV注入。2～3年間で約8～12用量の生涯累積投与量許容限度 (140 mg/m2)
ペグ化インターフェロンβ1a	PLEGRIDY (BIOGEN IDEC)	14日毎；皮下（皮膚の下）注射；125 mcg
インターフェロンβ1a	REBIF (EMD SERONO, INC.)	週3回；皮下（皮膚の下）注射；44 mcg
ジメチルフマレート (BG－12)	TECFIDERA (BIOGEN IDEC)	1日2回；カプセル剤の経口摂取；1週間は120 mg、その後240 mg
ナタリズマブ（ヒト化モノクローナル抗体VLA－4アンタゴニスト）	TYSABRI (BIOGEN IDEC)	4週毎に登録注入施設でIV注入；300 mg
開発中の DMT		

【０６０８】

【表６－２】

表６		
一般名	商標名／会社	頻度／送達経路／通常投与量
アミロライド（酸感受性イオンチャネル－1、上皮型ナトリウムチャネル、Na+/H+ 交換輸送体を標的とする）	PAR PHARMACEUTICAL, PERRIGO COMPANY , SIGMAPHARM LABORATORIES	経口
ATX－MS－1467 (主要組織適合抗原クラスII、ミエリン塩基性タンパク質に対するT細胞応答を標的とする)	APITOPE / MERCK SERONO	皮内、皮下
BAF312 (スフィンゴシン1－ホスフェート (S1P) 受容体サブタイプS1P1及びS1P5、B細胞分布、T細胞分布を標的とする)	NOVARTIS PHARMA	経口
BGC20－0134 (炎症促進性及び抗炎症性サイトカインを標的とする)	BTG PLC	経口
BIIB033 (LINGO－1 (「ロイシンリッチ反復及び免疫グロブリン様ドメイン含有Nogo受容体相互作用タンパク質」)を標的とする)	BIOGEN	静脈内注入を第1相・第2相臨床試験で使用、皮下注射を第1相臨床試験で使用

【０６０９】

【表６－３】

表６		
一般名	商標名／会社	頻度／送達経路／通常投与量
クラドリビン（CD4+ T細胞、DNA合成及び修復、E－セレクチン細胞内接着性分子－1、炎症促進性サイトカイン、インターロイキン2及びインターロイキン2R、炎症促進性サイトカイン、インターロイキン8及びRANTESサイトカイン分泌単球及びリンパ球移動を標的とする）	MERCK SERONO	経口
シクロホスファミド（T細胞、特にCD4+ヘルパーT細胞、B細胞を標的とする）	BAXTER HEALTHCARE CORPORATION	経口、月1回の静注パルス療法
ダクリズマブ（CD25、T細胞の免疫調節物質を標的とするヒト化モノクローナル抗体）	BIOGEN IDEC/ABBVIE BIOTHERAPEUTICS	月1回のIM注射が計画されている

【０６１０】

【表６－４】

表６		
一般名	商標名／会社	頻度／送達経路／通常投与量
ダルファムプリジン（電位作動型カリウムチャネル、デジェネリン／上皮ナトリウムチャネル、サブユニットCavbeta3を含むL型カルシウムチャネルを標的とする）	ACORDA THERAPEUTICS / BIOGEN IDEC	12時間毎に1錠（持続放出）、10 mgを1日2回
ドロナビノール（カンナビノイド受容体CB1、カンナビノイド受容体CB2を標的とする）	ABBVIE INC.	経口
フィラテグラスト（α４β１インテグリンを標的とする）	GLAXOSMITHKLINE	経口
GNbAC1MSRV－Env (MS関連レトロウイルスのエンベロープタンパク質を標的とする)	GENEURO SA / SERVIER	静脈内注入
イデベノン（活性酸素種を標的とする）	SANTHERA PHARMACEUTICALS	PPMSに対する臨床試験での経口投与量は、2250 mg／日（750 mg用量、1日3回）
イミレクルーセルＴ（ミエリン特異的自己反応性Ｔ細胞を標的とする）	OPEXA THERAPEUTICS / MERCK SERONO	皮下に年5回投与（製造業者の情報による）
ラキニモド	TEVA	毎日、0.6 mgまたは1.2 mgの経口錠剤の摂取が計画されている

【０６１１】

【表６－５】

表６

一般名	商標名／会社	頻度／送達経路／通常投与量
マシチニブ（KIT（幹細胞因子、（c－KITとも呼ばれる））受容体を標的とし、加えて、その他のチロシンキナーゼ、マスト細胞を選択する）	AB SCIENCE	経口
MEDI－551（CD19（B細胞受容体複合体の一部でありB細胞活性化のための閾値の決定において機能するB細胞特異的抗原）、及びCD19を発現するがCD20は発現せず、大量の抗体を分泌するB細胞であるB細胞形質芽細胞を標的とする；形質芽細胞の枯渇は病原性自己抗体を含む自己免疫疾患に有用であり得る）	MEDIMMUNE	皮内、皮下
ミノサイクリン（T細胞、ミクログリア、白血球移動、マトリックスメタロプロテアーゼを標的とする）	VARIOUS	ペレット充填カプセル剤及び経口懸濁剤として経口利用可能

【０６１２】

【表６－６】

表６		
一般名	商標名／会社	頻度／送達経路／通常投与量
MIS416（自然免疫系、自然免疫系の病原体関連分子パターン認識受容体、自然免疫系の骨髄性細胞を標的とし、これは、SPMSで発生する調節解除された免疫系活性を再構築できると思われる）	INNATE IMMUNOTHERAPEUTICS	静脈内
ミコフェノール酸モフェチル（プリン合成を標的とする）	MANUFACTURED BY GENENTECH	経口
ナルトレキソン（オピオイド受容体、トール様受容体4を標的とする）	VARIOUS	「低用量ナルトレキソン」（または「LDN」）として経口剤形で低用量にて投与（3～4.5 mg／日）
オクレリズマブ及びオファツムマブ（CD20を標的とするヒト化モノクローナル抗体、B細胞の抑制）	ROCHE / GSK	IV輸注が計画されている
ONO－4641 (スフィンゴシン１－ホスフェート受容体を標的とする)	ONO PHARMACEUTICAL CO.	経口
フェニトイン（ナトリウムチャネルを標的とする）	PFIZER	静脈内、筋肉内、（あまり好ましくない選択肢）経口
ポネシモド	ACTELION	未決定

【０６１３】

【表６－７】

表６		
一般名	商標名／会社	頻度／送達経路／通常投与量
ラルテグラビル（レトロウイルスのインテグラーゼ、ヘルペスウイルスDNAパッケージングターミナーゼを標的とする）	MERCK	経口400 mg錠剤を毎日2回（製造業者の情報による）
RHB－104	REDHILL BIOPHARMA LIMITED	95 mgクラリスロマイシン、45 mgリファブチン、及び10 mgクロファジミン
リルゾール（グルタミン酸神経伝達、グルタミン酸取り込み及び放出、電位依存性ナトリウムチャネル、プロテインキナーゼCを標的とする）	COVIS PHARMA / SANOFI	経口

【０６１４】

いくつかの実施形態では、本発明は、輸血との併用療法に関する。例えば、本組成物は、輸血を補充し得る。いくつかの実施形態では、本発明は、鉄分補充保健薬との併用療法に関する。

【０６１５】

いくつかの実施形態では、本発明は、１種以上のＥＰＯ系薬剤との併用療法に関する。例えば、本組成物は、他のＥＰＯ系薬剤に対する補助剤として使用され得る。いくつかの実施形態では、本発明の組成物は、他のＥＰＯ系薬剤に対する維持療法として使用される。他のＥＰＯ系薬剤としては以下のもの：ダルベポエチン（ＡＲＡＮＥＳＰ）、エポセプト（ＬＵＰＩＮ　ＰＨＡＲＭＡ）、ナノカイン（ＮＡＮＯＧＥＮ　ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬ）、エポフィット（ＩＮＴＡＳ　ＰＨＡＲＭＡ）、エポジェン（ＡＭＧＥＮ）、エポジン、エプレックス、（ＪＡＮＳＳＥＮ－ＣＩＬＡＧ）、ビノクリット７（ＳＡＮＤＯＺ）、プロクリットを含むがこれらに限定されないエポエチンα；ネオレコルモン（ＨＯＦＦＭＡＮＮ－ＬＡ　ＲＯＣＨＥ）、レコルモン、メトキシポリエチレングリコール－エポエチンβ（ＭＩＲＣＥＲＡ、ＲＯＣＨＥ）を含むがこれらに限定されないエポエチンβ；ダイネポ（赤血球生成刺激タンパク質、ＳＨＩＲＥ　ＰＬＣ）を含むがこれに限定されないエポエチンδ；ＥＰＯＭＡＸを含むがこれに限定されないエポエチンω；サイラポ（ＳＴＡＤＡ）及びレタクリット（ＨＯＳＰＩＲＡ）を含むがこれらに限定されないエポエチンζ、及びエポセプト（ＬＵＰＩＮ　ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬＳ）、エポトラスト（ＰＡＮＡＣＥＡ　ＢＩＯＴＥＣ　ＬＴＤ）、エリプロセ－フ（ＢＩＯＣＯＮ　ＬＴＤ．）、レポイチン（ＳＥＲＵＭ　ＩＮＳＴＩＴＵＴＥ　ＯＦ　ＩＮＤＩＡ　ＬＩＭＩＴＥＤ）、ヴィントール（ＥＭＣＵＲＥ　ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬＳ）、エポフィット（ＩＮＴＡＳ　ＰＨＡＲＭＡ）、エリカイン（ＩＮＴＡＳ　ＢＩＯＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡ）、ウェポックス（ＷＯＣＫＨＡＲＤＴ　ＢＩＯＴＥＣＨ）、エスポゲン（ＬＧ

ＬＩＦＥ　ＳＣＩＥＮＣＥＳ）、レリポエチン（ＲＥＬＩＡＮＣＥ　ＬＩＦＥ　ＳＣＩＥＮＣＥＳ）、シャンポエチン（ＳＨＡＮＴＨＡ　ＢＩＯＴＥＣＨＮＩＣＳ　ＬＴＤ）、ジロップ（ＣＡＤＩＬＡ　ＨＥＡＬＴＨＣＡＲＥ　ＬＴＤ．）、エピアオ（ 遺伝子組み換えヒトエリスロポエチン（ＲＨＵＥＰＯ））（ＳＨＥＮＹＡＮＧ　ＳＵＮＳＨＩＮＥ　ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬ　ＣＯ．ＬＴＤ）、ＣＩＮＮＡＰＯＩＥＴＩＮ（ＣＩＮＮＡＧＥＮ）を含むがこれらに限定されない他のＥＰＯが挙げられる。

【０６１６】

いくつかの実施形態では、本発明は、１種以上の免疫調節薬、例えば、限定されないが、免疫チェックポイントを調節する物質を用いる併用療法に関する。種々の実施形態では、免疫調節薬は、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、及びＰＤ－Ｌ２の１種以上を標的とする。種々の実施形態では、免疫調節薬は、ＰＤ－１阻害剤である。種々の実施形態では、免疫調節薬は、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、及びＰＤ－Ｌ２の１種以上に特異的な抗体である。例えば、いくつかの実施形態では、免疫調節薬は、限定されないが、例えば、ニボルバム（ＯＮＯ－４５３８／ＢＭＳ－９３６５５８、ＭＤＸ１１０６、オプジーボ、ＢＲＩＳＴＯＬ　ＭＹＥＲＳ　ＳＱＵＩＢＢ）、ペムブロリズマブ（キイトルーダ、ＭＥＲＣＫ）、ピディリズマブ（ＣＴ－０１１，ＣＵＲＥ　ＴＥＣＨ）、ＭＫ－３４７５（ＭＥＲＣＫ）、ＢＭＳ９３６５５９（ＢＲＩＳＴＯＬ　ＭＹＥＲＳ　ＳＱＵＩＢＢ）、ＭＰＤＬ３２８ＯＡ（ＲＯＣＨＥ）などの抗体である。いくつかの実施形態では、免疫調節薬は、ＣＤ１３７またはＣＤ１３７Ｌの内の１個または複数を標的とする。種々の実施形態では、免疫調節薬は、ＣＤ１３７またはＣＤ１３７Ｌの１個または複数に特異的な抗体である。例えば、いくつかの実施形態では、免疫調節薬は、限定されないが、例えば、ウレルマブ（ＢＭＳ－６６３５１３及び抗４－１ＢＢ抗体としても知られる）などの抗体である。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、固形腫瘍及び／またはＢ細胞非ホジキンリンパ腫及び／または頭頸部癌及び／または多発性骨髄腫の治療のために、ウレルマブと組み合わされる（任意選択で、ニボルバム、リリルマブ、及びウレルマブの１種以上と組み合わされる）。いくつかの実施形態では、免疫調節薬は、ＣＴＬＡ－４、ＡＰ２Ｍ１、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＳＨＰ－２、及びＰＰＰ２Ｒ５Ａの１種以上を標的とする物質である。種々の実施形態では、免疫調節薬は、ＣＴＬＡ－４、ＡＰ２Ｍ１、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＳＨＰ－２、及びＰＰＰ２Ｒ５Ａの１種以上に特異的な抗体である。例えば、いくつかの実施形態では、免疫調節薬は、限定されないが、例えば、イピリムマブ（ＭＤＸ－０１０、ＭＤＸ－１０１、ヤーボイ、ＢＭＳ）及び／またはトレメリムマブ（Ｐｆｉｚｅｒ）などの抗体である。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、黒色腫、前立腺癌、及び肺癌の１種以上の治療のために、イピリムマブと組み合わされる（必要に応じ、バビツキシマブと組み合わされる）。種々の実施形態では、免疫調節薬は、ＣＤ２０を標的とする。種々の実施形態では、免疫調節薬は、ＣＤ２０に特異的な抗体である。例えば、いくつかの実施形態では、免疫調節薬は、限定されないが、オファツムマブ（ＧＥＮＭＡＢ）、オビヌツズマブ（ＧＡＺＹＶＡ）、ＡＭＥ－１３３ｖ（ＡＰＰＬＩＥＤ　ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ　ＥＶＯＬＵＴＩＯＮ）、オクレリズマブ（ＧＥＮＥＮＴＥＣＨ）、ＴＲＵ－０１５（ＴＲＵＢＩＯＮ／ＥＭＥＲＧＥＮＴ）、ベルツズマブ（ＩＭＭＵ－１０６）などの抗体である。

【０６１７】

いくつかの実施形態では、本発明は、国際公開第２０１３／１０７７９号、国際公開第２０１５／００７５３６号、国際公開第２０１５／００７５２０号、国際公開第２０１５／００７５４２号、及び国際公開第２０１５／００７９０３号に記載の１種以上のキメラ物質との併用療法に関する。これらの特許の内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０６１８】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、修飾されている誘導体、すなわち、共有

結合が組成物の活性を妨げないような任意のタイプの分子の組成物への共有結合により修飾されている誘導体を含む。例えば、限定するものではないが、誘導体は、特に、グリコシル化、脂質化、アセチル化、ペグ化、リン酸化、アミド化、公知の保護／ブロック基による誘導体化、タンパク質切断、細胞リガンドまたはその他のタンパク質への結合、などにより修飾されている組成物を含む。多くの化学修飾のいずれかを公知の技術、例えば、限定されないが、特異的化学切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝合成、などを使って行うことができる。

【０６１９】

さらにその他の実施形態では、本明細書に記載のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、例示的実施形態では、毒素、化学療法剤、放射性同位元素、及びアポトーシスまたは細胞死を引き起こす物質を含む細胞傷害薬をさらに含む。このような物質は、本明細書に記載の組成物に複合化され得る。

【０６２０】

本明細書に記載のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体をこのように翻訳後修飾して、化学リンカーなどのエフェクター部分、例えば、蛍光染料、酵素、基質、生物発光物質、放射性物質、及び化学発光部分などの検出可能な部分、または、例えば、ストレプトアビジン、アビジン、ビオチン、細胞毒、細胞傷害性薬、及び放射性物質などの機能的部分を付加し得る。

【０６２１】

細胞傷害薬の例としては、メトトレキセート、アミノプテリン、６－メルカプトプリン、６－チオグアニン、シタラビン、５－フルオロウラシルデカルバジン；アルキル化剤（例えば、メクロレタミン、チオテパ（ｔｈｉｏｅｐａ）、クロラムブシル、メルファラン、カルムスチン（ＢＳＮＵ）、マイトマイシンＣ、ロムスチン（ＣＣＮＵ）、１－メチルニトロソウレア、シクロホスファミド（ｃｙｃｌｏｔｈｏｓｐｈａｍｉｄｅ）、メクロレタミン、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンＣ、シス－ジクロロジアミン白金（ＩＩ）（ＤＤＰ）シスプラチン及びカルボプラチン（パラプラチン））；アントラサイクリン（ダウノルビシン（以前のダウノマイシン）及びドキソルビシン（アドリアマイシン）、デトルビシン、カルミノマイシン、イダルビシン、エピルビシン、ミトキサントロン及びビサントレンを含む）；抗生物質（ダクチノマイシン（アクチノマイシンＤ）、ブレオマイシン、カリチアマイシン、ミトラマイシン、及びアントラマイシン（ＡＭＣ）を含む）；有糸分裂阻害薬（ａｎｔｉｍｙｔｏｔｉｃ ａｇｅｎｔ）（例えば、ビンカアルカロイドビンカアルカロイド、ビンクリスチン及びビンブラスチン）が挙げられるが、これらに限定されない。その他の細胞傷害薬には、パクリタキセル（タキソール）、リシン、緑膿菌外毒素、ゲムシタビン、サイトカラシンＢ、グラミシジンＤ、臭化エチジウム、エメチン、エトポシド、テノポシド、コルヒチン、ジヒドロキシアントラシンジオン，１－デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、ピューロマイシン、プロカルバジン、ヒドロキシ尿素、アスパラギナーゼ、副腎皮質ステロイド、ミトタン（ｍｙｔｏｔａｎｅ）（Ｏ，Ｐ’－（ＤＤＤ））、インターフェロン、及びこれらの細胞傷害薬の混合物が挙げられる。

【０６２２】

さらなる細胞傷害薬としては、化学療法剤、例えば、カルボプラチン、シスプラチン、パクリタキセル、ゲムシタビン、カリチアマイシン、ドキソルビシン、５－フルオロウラシル、マイトマイシンＣ、アクチノマイシンＤ、シクロホスファミド、ビンクリスチン、ブレオマイシン、ＶＥＧＦアンタゴニスト、ＥＧＦＲアンタゴニスト、プラチン、タキソール、イリノテカン、５－フルオロウラシル、ゲムシタビン（ｇｅｍｃｙｔａｂｉｎｅ）、ロイコボリン、ステロイド類、シクロホスファミド、メルファラン、ビンカアルカロイド（例えば、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシン及びビノレルビン）、ムスチン、チロシンキナーゼ阻害剤、放射線療法、性ホルモン拮抗薬、選択的アンドロゲン受容体調節薬、選択的エストロゲン受容体調節薬、ＰＤＧＦアンタゴニスト、ＴＮＦアンタゴ

ニスト、ＩＬ－１アンタゴニスト、インターロイキン（例えば、ＩＬ－１２またはＩＬ－２）、ＩＬ－１２Ｒアンタゴニスト、毒素複合化モノクローナル抗体、腫瘍抗原特異的モノクローナル抗体、アービタックス、アバスチン、ペルツズマブ、抗ＣＤ２０抗体、リツキサン、オクレリズマブ、オファツムマブ、ＤＸＬ６２５、ハーセプチン（登録商標）、またはこれらの任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。リシン、ジフテリア毒素及びシュードモナス毒素などの植物及び細菌由来の毒性酵素は、治療薬（例えば、抗体）と複合体形成して、細胞型特異的殺作用剤を生成し得る（Ｙｏｕｌｅ，ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７７：５４８３（１９８０）；Ｇｉｌｌｉｌａｎｄ，ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７７：４５３９（１９８０）；Ｋｒｏｌｉｃｋ，ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７７：５４１９（１９８０））。

【０６２３】

他の細胞傷害薬としては、Ｇｏｌｄｅｎｂｅｒｇによる米国特許第６．６５３，１０４号に記載される細胞傷害性リボヌクレアーゼが挙げられる。本発明の実施形態はまた、放射性免疫複合体に関し、複合体形成剤を使用してまたは使用せずに、アルファまたはベータ粒子を放出する放射性核種がキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体に安定に結合される。このような放射性核種としては、例えば、リン－３２、スカンジウム－４７、銅－６７、ガリウム－６７、イットリウム－８８、イットリウム－９０、ヨウ素－１２５、ヨウ素－１３１、サマリウム－１５３、ルテチウム－１７７、レニウム－１８６またはレニウム－１８８などのβ放射体、及びアスタチン－２１１、鉛－２１２、ビスマス－２１２、ビスマス－２１３またはアクチニウム－２２５などのα放射体が挙げられる。

【０６２４】

検出可能な部分の例としては、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アセチルコリンエステラーゼ、アルカリフォスファターゼ、ベータガラクトシダーゼ及びルシフェラーゼが挙げられるが、これらに限定されない。蛍光材料のさらなる例としては、ローダミン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ウンベリフェロン、ジクロロトリアジニルアミン、フィコエリトリン及びダンシルクロリドが挙げられるが、これらに限定されない。化学発光部分のさらなる例としては、ルミノールが挙げられるが、これに限定されない。生物発光材料のさらなる例としては、ルシフェリン及びエクオリンが挙げられるが、これらに限定されない。放射性材料のさらなる例としては、ヨウ素－１２５、炭素－１４、硫黄－３５、トリチウム及びリン－３２が挙げられるが、これらに限定されない。

【０６２５】

治療方法

本明細書に記載の方法及び組成物は、限定されないが、癌、感染症、免疫異常、貧血、自己免疫疾患、心臓血管疾患、創傷、虚血関連疾患、神経変性疾患、代謝疾患、及び多くの他の疾患及び障害を含む、種々の疾患及び障害を治療する用途がある。

【０６２６】

さらに、本発明の物質は、限定されないが、癌、感染症、免疫異常、炎症性疾患または状態、及び自己免疫疾患を含む、種々の疾患及び障害の治療、または治療用の薬物の製造に使用し得る。

【０６２７】

いくつかの実施形態では、本発明は、慢性肉芽腫性疾患、大理石骨病、特発性肺線維症、フリードライヒ失調症、アトピー性皮膚炎、シャーガス病、癌、心不全、自己免疫疾患、鎌状赤血球症、地中海貧血症、失血、輸血反応、糖尿病、ビタミンＢ１２欠乏症、膠原病性脈管疾患、シュワックマン症候群、血小板減少性紫斑病、セリアック病、甲状腺機能低下症またはアジソン病などの内分泌欠損状態、クローン病、全身性エリテマトーデス、関節リウマチまたは若年性関節リウマチなどの自己免疫疾患、潰瘍性大腸炎、好酸球性筋膜炎、低免疫グロブリン血症、または胸腺腫／胸腺癌などの免疫異常、移植片対宿主病、前白血病状態、非血液学的症候群（例えば、ダウン、デュボヴィッツ、ゼッケル症候群）

、フェルティ症候群、溶血性尿毒症症候群、骨髄異形成症候群、夜間発作性血色素尿症、骨髄線維症、汎血球減少症、赤芽球ろう、シェーンライン－ヘノッホ紫斑病、マラリア、タンパク質欠乏、月経過多、全身性硬化症、肝硬変、代謝低下状態、及びうっ血性心不全の１種以上の治療、またはこれらの１種以上を有する患者の治療に関する。

【０６２８】

いくつかの実施形態では、本発明は、癌を治療する方法に関し、方法は、ｉ）それを必要としている患者にキメラタンパク質、キメラタンパク質複合体及び／またはＦｃ系キメラタンパク質複合体；ｉｉ）それを必要としている患者にキメラタンパク質、キメラタンパク質複合体及び／またはＦｃ系キメラタンパク質複合体をコードする組換え核酸；またはｉｉｉ）それを必要としている患者にキメラタンパク質、キメラタンパク質複合体及び／またはＦｃ系キメラタンパク質複合体をコードする組換え核酸を含む宿主細胞の有効量を投与することを含む。

【０６２９】

いくつかの実施形態では、本発明は、慢性肉芽腫性疾患、大理石骨病、特発性肺線維症、フリードライヒ失調症、アトピー性皮膚炎、シャーガス病、マイコバクテリア感染症、癌、強皮症、肝炎、Ｃ型肝炎、敗血性ショック、及び関節リウマチの１種以上の治療、またはこれらの１種以上を有する患者の治療に関する。

【０６３０】

いくつかの実施形態では、本発明は、癌の治療、または癌の患者に関する。本明細書で使用される場合、癌は、身体の器官及びシステムの正常な機能動作を妨害し得る任意の制御されない細胞増殖に関し、原発性及び転移性の腫瘍の両方を含む。元の位置から移動し、重要な器官に播種される原発性腫瘍または癌は、罹患した器官の機能劣化により対象の死を最終的にもたらす場合がある。転移は、原発腫瘍部位のものとは異なる癌細胞または一群の癌細胞であり、原発腫瘍から身体の他の部位への癌細胞の播種から生ずる。転移は、最終的に対象の死をもたらす場合がある。例えば、癌は、良性及び悪性の癌、ポリープ、過形成、ならびに休眠腫瘍または微小転移を含み得る。

【０６３１】

治療し得る癌の例としては、癌腫、例えば、種々のサブタイプ（例えば、腺癌、基底細胞癌、扁平上皮細胞癌、及び移行性上皮癌を含む）、肉腫（例えば、骨及び軟組織を含む）、白血病（例えば、急性骨髄性、急性リンパ芽球性、慢性骨髄性、慢性リンパ球性、及びヘアリー細胞を含む）、リンパ腫及び骨髄腫（例えば、ホジキン及び非ホジキンリンパ腫、軽鎖型、非分泌型ＭＧＵＳ、及び形質細胞腫を含む）、及び中枢神経系癌（例えば、脳腫瘍（例えば、神経膠腫（例えば、星状細胞腫、乏突起細胞腫及び上衣腫）、髄膜腫、下垂体腺腫、及び神経腫）、及び脊髄腫瘍（例えば、髄膜腫及び神経線維腫））が挙げられるが、これらに限定されない。

【０６３２】

治療され得る癌の例としては、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳及び中枢神経系癌、乳癌、腹膜の癌、子宮頸癌、絨毛癌、結腸及び直腸癌、結合組織癌、消化器系の癌、子宮内膜癌、食道癌、眼癌、頭頸部の癌、胃癌（胃腸癌を含む）、神経膠芽腫、肝癌、ヘパトーマ、上皮内腫瘍、腎臓癌または腎臓癌（ｋｉｄｎｅｙ　ｏｒ　ｒｅｎａｌ　ｃａｎｃｅｒ）、喉頭癌、白血病、肝臓癌、肺癌（例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、及び肺扁平上皮癌）、黒色腫、骨髄腫、神経芽腫、口腔癌（唇、舌状、舌、口内、及び咽頭）、卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、直腸癌、呼吸器系癌、唾液腺癌腫、肉腫（例えば、カポジ肉腫）；皮膚癌、扁平上皮細胞癌、胃癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮または子宮内膜癌、泌尿器系の癌、外陰癌、ホジキンリンパ腫及び非ホジキンリンパ腫、ならびにＢ細胞リンパ腫を含むリンパ腫（低悪性度／ろ胞性非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）を含む）、小リンパ球性（ＳＬ）ＮＨＬ、中悪性度／ろ胞性ＮＨＬ、中悪性度びまん性ＮＨＬ、高悪性度免疫芽細胞ＮＨＬ、高悪性度リンパ芽球性ＮＨＬ、高悪性度小型非切れ込み核細胞性ＮＨＬ、巨大腫瘤病変ＮＨＬ、マントル細胞リンパ腫、エイズ関連リンパ腫、及びワルデンシュトレームマクログロブリン血症、慢性リンパ性白血病（

ＣＬＬ）、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）、毛様細胞性白血病、慢性骨髄芽球性白血病、ならびに他の癌腫及び肉腫、及び移植後リンパ増殖性疾患（ＰＴＬＤ）、ならびに母斑症に関連する異常血管増殖、浮腫（例えば、脳腫瘍に関連するもの）、及びメグズ症候群が挙げられるが、これらに限定されない。ある実施形態では、本発明は、毛様細胞性白血病を含む白血病の治療に関する。別の実施形態では、本発明は、悪性黒色腫を含む黒色腫の治療に関する。さらなる実施形態では、本発明は、ＡＩＤＳ関連カポジ肉腫を含むカポジ肉腫の治療に関する。

【０６３３】

いくつかの実施形態では、本発明は、微生物感染症及び／または慢性感染症の治療、またはそれらの感染症を罹患している患者に関する。感染症の例としては、シャーガス病、ＨＩＶ／ＡＩＤＳ、結核、骨髄炎、Ｂ型肝炎、Ｃ型肝炎、エプスタイン・バールウイルスまたはパルボウイルス感染症、Ｔ細胞白血病ウイルス感染症、細菌過剰症候群、真菌または寄生虫感染症が挙げられるが、これらに限定されない。

【０６３４】

いくつかの実施形態では、本発明は、肝炎の治療に関する。治療され得る肝炎の例としては、限定されないが、Ａ型肝炎、Ｂ型肝炎、Ｃ型肝炎、Ｄ型肝炎、Ｅ型肝炎、自己免疫性肝炎、アルコール性肝炎、急性肝炎、及び慢性肝炎が挙げられる。

【０６３５】

例示的実施形態では、本発明は、慢性Ｃ型肝炎の治療に関する。ある実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、遺伝子型１（ｅ．ｇ．、１ａ、１ｂ）、遺伝子型２（例えば、２ａ、２ｂ、２ｃ及び２ｄ）、遺伝子型３（例えば、３ａ、３ｂ、３ｃ、３ｄ、３ｅ、及び３ｆ）、遺伝子型４（例えば、４ａ、４ｂ、４ｃ、４ｄ、４ｅ、４ｆ、４ｇ、４ｈ、４ｉ及び４ｊ）、遺伝子型５ａ、及び遺伝子型６ａを含むＣ型肝炎遺伝子型のいずれか１種に感染した患者を治療するために利用され得る。

【０６３６】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、標準治療抗ウイルス療法に対して応答性に乏しいまたは非応答性である患者、または他の方法では、標準治療のＣ型肝炎治療による治療が困難である患者を治療するために利用され得る。ある実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、リバビリンを用いるまたは用いないＩＬ－２療法に対して低応答性または非応答性である患者を治療するために利用され得る。ある実施形態では、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、ペグ化インターフェロンとリバビリンとの併用療法に低い応答または非応答性である患者を治療するために利用され得る。ある実施形態では、本発明は、以前のＩＬ－２療法に応答しなかったＣ型肝炎遺伝子型１またはいずれか他のＣ型肝炎遺伝子型に感染した患者の治療に関する。ある実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、高いベースラインウイルス量（例えば、８００，０００ＩＵ／ｍＬ）を有する患者を治療するために利用され得る。ある実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、進行型肝線維症及び／または肝硬変の患者を含む重度肝損傷がある患者を治療するために利用され得る。

【０６３７】

いくつかの実施形態では、本発明は、抗ウイルス療法を受けたことがない患者の治療に関する。他の実施形態では、本発明は、以前の抗ウイルス療法に応答しなかった患者の治療に関する。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、再発患者を治療するために使用され得る。

【０６３８】

いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複

合体などのキメラタンパク質複合体は、白人、アフリカ系アメリカ人、ヒスパニックの人及びアジア人を含む全ての民族の肝炎感染症の治療において効果的であり得る。ある実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、他の場合には、リバビリンを用いる、またはそれを用いないＩＬ－２療法に対し不十分な応答であるアフリカ系アメリカ人の治療において特に効果的であり得る。

【０６３９】

種々の実施形態では、本発明の標的化キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、例えば、非標的化ＩＦＮα１または非改変野生型ＩＬ－２または改変ＩＬ－２に比べて、安全性が改善されている。例示的な実施形態では、本キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の投与に伴う副作用は、標的化していない、ＩＬ－２または未改変の野生型ＩＬ－２、または改変ＩＬ－２の使用に伴う副作用のような、最小限の副作用（例えば、インフルエンザ様症状、筋肉痛、白血球減少症、血小板減少症、好中球減少症、うつ、及び体重減）である。

【０６４０】

いくつかの実施形態では、本発明の標的化キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、非標的化ＩＬ－２または非改変野生型ＩＬ－２または改変ＩＬ－２に比べて、治療作用の改善を示す。いくつかの実施形態では、本発明の標的化キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、非標的化ＩＬ－２または未改変の野生型ＩＬ－２または改変ＩＬ－２に比べて、薬物動態プロファイルの改善（例えば、より長い血清半減期及び安定性）を示す。

【０６４１】

理論に拘束されることを意図するものではないが、このような有利な安全性及び薬物動態学的及び治療プロファイルに起因して、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、高い投与量で及び／または長期間にわたり患者を治療するために使用され得る。例えば、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、慢性Ｃ型肝炎感染症に対する初回寛解導入療法のために高投与量で使用され得る。別の例では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、疾患再発を防ぐ長期維持療法のために使用され得る。

【０６４２】

種々の実施形態では、本発明の組成物は、炎症、急性炎症、慢性炎症、呼吸器疾患、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、敗血性ショック、関節リウマチ、炎症性腸疾患、炎症性骨盤疾患、痛み、眼の炎症性疾患、セリアック病、リー症候群、グリセロールキナーゼ欠損症、家族性好酸球増加症（ＦＥ）、常染色体劣性遺伝性脊髄小脳変性症、炎症性喉頭疾患、結核、慢性胆嚢炎、気管支拡張症、珪肺症及び他の塵肺症などの１種以上の炎症性疾患または状態を治療するまたは予防するために使用される。

【０６４３】

種々の実施形態では、本組成物は、多発性硬化症、糖尿病、ループス、セリアック病、クローン病、潰瘍性大腸炎、ギラン・バレー症候群、強皮症、グッドパスチャー症候群、ウェゲナー肉芽腫症、自己免疫性てんかん、ラスムッセン脳炎、原発性硬化性胆管炎、硬化性胆管炎、自己免疫性肝炎、アジソン病、橋本甲状腺炎、線維筋痛症、メニエール症候群（Ｍｅｎｉｅｒ’ｓ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、移植拒絶反応（例えば、移植片拒絶の防止）、悪性貧血、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、皮膚筋炎、シェーグレン症候群、紅斑性狼瘡、多発性硬化症、重症筋無力症、ライター症候群、グレーブス病、及びその他の自己免疫疾患などの１種以上の自己免疫疾患または状態の治療または予防に使用される。

【０６４４】

種々の実施形態では、本発明の組成物は、限定されないが、冠状動脈性心疾患（ＣＨＤ）、脳血管疾患（ＣＶＤ）、大動脈弁狭窄症、末梢血管疾患、アテローム性動脈硬化症、動脈硬化、心筋梗塞（心臓発作）、脳血管疾患（脳卒中）、一過性脳虚血発作（ＴＩＡ）、狭心症（安定及び不安定）、心房細動、不整脈、弁膜症（ｖａｖｕｌａｒ　ｄｉｓｅａｓｅ）、及び／またはうっ血性心不全を含む心臓及び脈管構造に影響を与える疾患または状態などの心臓血管疾患の治療、制御または予防のために使用される。

【０６４５】

種々の実施形態では、本発明の組成物は、１種以上の代謝関連障害の治療または予防のために使用される。種々の実施形態では、本発明は、１型及び２型糖尿病及び肥満症関連糖尿病を含む糖尿病の治療、制御または予防のために有用である。本発明の前記組成物及び方法は、限定されないが、糖尿病性腎症、高血糖症、耐糖能異常、インスリン抵抗性、肥満症、脂質異常、脂質異常症、高脂血症、高トリグリセリド血症、高コレステロール血症、低ＨＤＬレベル、高いＬＤＬレベル、アテローム性動脈硬化症及びその後遺症、血管再狭窄、過敏性腸症候群、クローン病及び潰瘍性大腸炎を含む炎症性腸疾患（ｉｎｆｌａｍｍａｔｏｒｙ　ｂｏｗｅｌ　ｄｉｓｅａｓｅ）、他の炎症状態、膵炎、腹部肥満症、神経変性疾患、網膜症、腫瘍状態、脂肪細胞腫瘍、脂肪肉腫などの脂肪細胞腫、前立腺癌及び胃、乳、膀胱及び結腸癌を含む他の癌、血管新生、アルツハイマー病、乾癬、高血圧、代謝症候群（例えば、３種以上の次の障害を有する人：腹部肥満症、高トリグリセリド血症、低ＨＤＬコレステロール、高血圧、及び高空腹時血糖値）、卵巣アンドロゲン過剰症（多嚢胞性卵巣症候群）、及びインスリン抵抗性が要素である睡眠時無呼吸などの他の障害を含む糖尿病関連障害の治療または予防のために有用である。本発明の組成物及び方法は、遺伝的または環境的、及び肥満症関連障害を含む肥満症の治療、制御、または予防のために有用である。本明細書の肥満症関連障害は、肥満症に関連する、それにより引き起こされる、またはそれに由来する。肥満症関連障害の例としては、肥満症、糖尿病、過食、過食症、及び大食症、高血圧、高血漿インスリン濃度及びインスリン抵抗性、脂質異常症、高脂血症；子宮内膜、乳、前立腺、腎臓及び結腸癌；変形性関節症、閉塞性睡眠時無呼吸、胆石、心臓疾患、心拍異常及び不整脈、心筋梗塞、うっ血性心不全、冠状動脈性心疾患、突然死、脳卒中、多嚢胞性卵巣疾患、頭蓋咽頭腫、プラダー・ウィリー症候群、フレーリッヒ症候群、ＧＨ欠乏、正常変異型低身長、ターナー症候群、及び総除脂肪体重のパーセンテージとして低下した代謝活性または安息時エネルギー消費の低下（例えば、急性リンパ性白血病の子供）を示す他の病的状態が挙げられる。肥満症関連障害のさらなる例は、代謝症候群、インスリン抵抗性症候群、生殖ホルモン異常；生殖障害、不妊症、男性の性腺機能低下症及び女性の多毛症などの性機能障害及び生殖機能障害；母体肥満症に関連する胎児欠陥；肥満症関連胃食道還流などの消化管運動障害、肥満低換気症候群（ピックウィック症候群）などの呼吸障害、息切れ、心血管障害、脈管構造の全身性炎症などの炎症、動脈硬化、高コレステロール血症、腰痛、胆嚢疾患、高尿酸血症、痛風、及び腎臓癌、及び増大した麻酔剤リスクである。本発明の組成物及び方法は、アルツハイマー病を治療するためにも有用である。

【０６４６】

種々の実施形態では、本発明の組成物は、特発性肺線維症（ＩＰＦ）、喘息、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、気管支拡張症、アレルギー性鼻炎、副鼻腔炎、肺血管収縮、炎症、アレルギー、呼吸障害、呼吸促迫症候群、嚢胞性線維症、肺高血圧症、肺血管収縮、肺気腫、ハンタウイルス肺症候群（ＨＰＳ）、レフレル症候群、グッドパスチャー症候群、胸膜炎、間質性肺炎、肺水腫、肺線維症、サルコイドーシス、呼吸器多核体ウイルス感染症に関連する合併症、及び他の呼吸器疾患などの１種以上の呼吸器疾患の治療または予防のために使用される。

【０６４７】

いくつかの実施形態では、本発明は、１種以上の神経変性疾患を治療または予防するために使用される。神経変性疾患の例としては、限定されないが、フリードライヒ失調症、多発性硬化症（限定されないが、良性多発性硬化症；再発寛解型多発性硬化症（ＲＲＭＳ

）；二次性進行型多発性硬化症（ＳＰＭＳ）；進行性再発型多発性硬化症（ＰＲＭＳ）；及び一次性進行型多発性硬化症（ＰＰＭＳ）を含む）、アルツハイマー病（限定されないが、早期発症型アルツハイマー病、遅発性アルツハイマー病、及び家族性アルツハイマー病（ＦＡＤ）を含む）、パーキンソン病及びパーキンソニズム（限定されないが、特発性パーキンソン病、脳血管性パーキンソニズム、薬剤誘発性パーキンソニズム、レヴィー小体型痴呆、遺伝性パーキンソン病、若年性パーキンソン病を含む）、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ、限定されないが、突発性ＡＬＳ、家族性ＡＬＳ、西太平洋ＡＬＳ、若年性ＡＬＳ、平山病（Ｈｉｒａｍａｙａ　ｄｉｓｅａｓｅ）を含む）が挙げられる。

【０６４８】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、創傷、例えば、非治癒創傷、潰瘍、火傷、または凍傷、慢性または急性創傷、開放創または閉鎖創、内部または外側創傷（外側創傷の例は、透過性及び非浸透性創傷である）などの治療で使用される。

【０６４９】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、非限定例として次に示す虚血の治療に使用される：急性冠症候群、急性肺傷害（ＡＬＩ）、急性心筋梗塞（ＡＭＩ）、急性呼吸窮迫症候群（ＡＲＤＳ）、動脈閉塞症、動脈硬化症、関節軟骨損傷、無菌性全身性炎症、アテローム動脈硬化性心血管疾患、自己免疫疾患、骨折、骨折、脳浮腫、脳低灌流、バージャー病、火傷、癌、心臓血管疾患、軟骨傷害、脳梗塞、脳虚血、脳卒中、脳血管疾患、化学療法誘導神経障害、慢性感染症、慢性腸間膜虚血、跛行、うっ血性心不全、結合組織損傷、挫傷、冠動脈疾患（ＣＡＤ）、重症虚血肢（ＣＬＩ）、クローン病、深部静脈血栓症、深創傷、遅延性潰瘍治癒、遅延性創傷治癒、糖尿病（Ｉ型とＩＩ型）、糖尿病性神経障害、糖尿病誘発虚血、播種性血管内凝固（ＤＩＣ）、塞栓性脳虚血、凍傷、移植片対宿主病、遺伝性出血性毛細血管拡張性虚血性血管疾患、高酸素傷害、低酸素、炎症、炎症性腸疾患、炎症性疾患、損傷腱、間欠性跛行、腸管虚血、虚血、虚血性脳疾患、虚血性心疾患、虚血性末梢血管疾患、虚血性胎盤、虚血性腎疾患、虚血性血管疾患、虚血再灌流障害、裂傷、左主冠状動脈疾患、虚血肢、下肢虚血、心筋梗塞、心筋虚血、臓器虚血、変形性関節症、骨粗鬆症、骨肉腫、パーキンソン病、末梢血行障害（ＰＡＤ）、末梢動脈疾患、末梢性虚血、末梢神経障害、末梢血管疾患、前癌、肺水腫、肺塞栓症、再構築障害、腎虚血、網膜虚血、網膜症、敗血症、皮膚潰瘍、臓器移植、脊髄損傷、脳卒中、軟骨下骨嚢胞、血栓症、血栓性脳虚血、組織虚血、一過性脳虚血発作（ＴＩＡ）、外傷性脳損傷、潰瘍性大腸炎、腎臓血管疾患、血管炎症性疾患、フォンヒッペル・リンダウ症候群、または組織もしくは臓器への創傷、に関連する虚血。

【０６５０】

種々の実施形態では、本発明は、慢性腎疾患（例えば、透析からの）及び／または抗癌剤（例えば、化学療法及び／またはＨＩＶ治療（例えば、ジドブジン（ＩＮＮ）またはアジドチミジン（ＡＺＴ））、炎症性腸疾患（例えば、クローン病及び潰瘍大腸炎）から生じた貧血、炎症状態（例えば、関節炎、ループス、ＩＢＤ）に関連する貧血、糖尿病、統合失調症、脳マラリアに関連する再生不良性貧血としての貧血、及びがん治療（化学療法及び／または放射線）に由来する脊髄形成異常症、及び種々の骨髄異形成症候群疾患（例えば、鎌状赤血球貧血、ヘモグロビンＳＣ疾患、ヘモグロビンＣ疾患、アルファ及びベータ地中海貧血症、早産後の新生児の貧血、及び同等の状態に由来する貧血を含む、１種以上の貧血の治療に関する。

【０６５１】

いくつかの実施形態では、本発明は、貧血の治療、または貧血の患者の治療、すなわち、赤血球の数及び／または赤血球中で認められるヘモグロビンの量が正常未満である状態の治療に関する。種々の実施形態では、貧血は、急性または慢性であり得る。例えば、本発明の貧血としては、限定されないが、鉄欠乏性貧血、腎性貧血、慢性疾患／炎症の貧血

、大球性胃酸欠乏性貧血、若年性悪性貧血及び先天性悪性貧血などの悪性貧血、癌関連貧血、抗癌関連貧血（例えば、化学療法関連貧血、放射線治療関連貧血）、赤芽球癆、過剰芽球を伴う難治性貧血、再生不良性貧血、Ｘ連鎖鉄芽球性貧血、溶血性貧血、鎌状赤血球貧血、ＥＳＡの機能不全産生に起因する貧血、骨髄異形成症候群、低色素性貧血、小球性貧血、鉄芽球性貧血、自己免疫性溶血性貧血、クーリー貧血、例えば、地中海貧血症、ダイアモンド・ブラックファン貧血、ファンコニ貧血及び薬剤誘発性免疫溶血性貧血が挙げられる。貧血は、低酸素症、慢性疲労、集中力欠如、青白い肌、低血圧、眩暈及び心不全を含む、重篤な症状を引き起こす場合がある。

【０６５２】

いくつかの実施形態では、本発明は、慢性腎不全由来の貧血の治療に関する。いくつかの実施形態では、本発明は、透析、血液透析、腹膜透析、血液ろ過法、血液ろ過透析、及び腎臓移植を含む腎代替療法の１種以上の使用に由来する貧血の治療に関する。

【０６５３】

いくつかの実施形態では、本発明は、透析を導入していない慢性腎疾患の患者の貧血の治療に関する。例えば、本発明は、ステージ１　ＣＫＤ、またはステージ２　ＣＫＤ、またはステージ３　ＣＫＤ、またはステージ４　ＣＫＤ、またはステージ５　ＣＫＤの患者に関する。いくつかの実施形態では、本発明の患者は、ステージ４　ＣＫＤ、またはステージ５　ＣＫＤである。いくつかの実施形態では、本発明の患者は、腎移植を受けている。いくつかの実施形態では、本発明は、急性腎損傷（ＡＫＩ）の患者の貧血の治療に関する。

【０６５４】

いくつかの実施形態では、貧血は、化学療法により誘発される。例えば、化学療法は、いずれかの骨髄抑制性化学療法であり得る。いくつかの実施形態では、化学療法剤は、レブラミド、サロミド、デキサメタゾン、アドリアマイシン及びドキシルの１種以上である。いくつかの実施形態では、化学療法剤は、シスプラチン（例えば、プラチノール）及びカルボプラチン（例えば、パラプラチン）を含む白金系薬物の１種以上である。いくつかの実施形態では、化学療法剤は、本明細書に記載の化学療法剤のいずれか１種である。いくつかの実施形態では、化学療法剤は、Ｇｒｏｏｐｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ　Ｎａｔｌ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｉｎｓｔ（１９９９）９１（１９）：１６１６－１６３４に記載のいずれかの薬剤である。この文献の内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、本発明の組成物及び方法は、後期癌患者（例えば、ステージＩＶ、またはステージＩＩＩ、またはステージＩＩ癌）の化学療法関連貧血の治療で使用される。いくつかの実施形態では、本発明の組成物及び方法は、投与集中化学療法または他の積極的化学療法計画を受けている癌患者の化学療法関連貧血の治療で使用される。

【０６５５】

いくつかの実施形態では、本発明は、白血病、リンパ腫、及び多発性骨髄腫などの血液系癌の１種以上を有する患者の貧血の治療に関する。このような癌は、骨髄に直接的に影響を与え得る。さらに、本発明は、骨または骨髄まで広がった転移性癌に関する。いくつかの実施形態では、本発明は、放射線療法を受けている患者の貧血の治療に関する。このような放射線療法は、骨髄に損傷を与え、その赤血球を作る能力を低下させる。さらなる実施形態では、本発明は、鉄、ビタミンＢ１２、及び葉酸の１種以上が低減または欠損している患者の貧血の治療に関する。さらなる実施形態では、本発明は、限定されないが、手術後の、または内部出血を生じさせる腫瘍由来を含む過剰出血のある患者の貧血の治療に関する。さらなる実施形態では、本発明は、慢性疾患の貧血を有する患者の貧血の治療に関する。

【０６５６】

いくつかの実施形態では、本発明の方法及び組成物は、赤血球産生を刺激する。いくつかの実施形態では、本発明の方法及び組成物は、骨髄中の細胞分化拘束性赤血球前駆細胞の細胞分裂及び分化を刺激する。

【０６５７】

本発明の特定の実施形態は、癌患者における化学療法剤誘導貧血の治療に特に有用である。いくつかの実施形態では、本発明の方法及び組成物は、癌患者の化学療法の完了後に、キメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の継続投与を可能にする。いくつかの実施形態では、本発明の方法及び組成物は、非癌患者に比べて、投与量の低減なしに、癌患者の治療を可能にする。いくつかの実施形態では、本発明の方法及び組成物は、化学療法を受けており治癒可能と考えられる癌患者の治療を可能にする。種々の実施形態では、癌患者は、血餅、最近の手術、長期間の床上安静または制限された活動性、及び化学療法剤による治療の１種以上の病歴を有する。

【０６５８】

キット

本発明はまた、本明細書に記載のいずれかの薬剤（例えば、種々の追加の治療薬を含む、または含まないキメラタンパク質またはＦｃ系キメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体）の投与のためのキットを提供する。キットは、本明細書に記載の少なくとも１種の本発明の医薬組成物を含む、材料または成分の集合体である。したがって、いくつかの実施形態では、キットは、本明細書に記載の少なくとも１種の医薬組成物を含む。

【０６５９】

キットを構成する成分の明確な性質は、その意図される目的に依存する。一実施形態では、キットは、ヒト対象を治療する目的のために構成される。

【０６６０】

使用説明書をキット中に含めてもよい。使用説明書は、通常、癌の治療などの望まれる結果を達成するために、キットの成分を使用する際に採用すべき技術を説明する明確な表現を含む。必要に応じ、キットは、他の有用な成分、例えば、希釈剤、緩衝剤、薬学的に許容可能な担体、シリンジ、カテーテル、塗布具、ピペット操作または測定用ツール、包帯材料または当業者なら容易に気付くような他の有用な備品一式も含む。

【０６６１】

キットに組込まれる材料及び成分は、それらの操作性及び有用性を維持する任意の便利で適切な方法で保管され開業医に提供され得る。例えば、成分は、室温、冷蔵温度、または凍結温度で提供できる。成分は通常、適切な梱包材料に収容される。種々の実施形態では、梱包材料は、よく知られた方法、好ましくは、無菌の、混入物のない環境を与える方法で構築される。梱包材料は、内容物及び／またはキットの目的及び／またはその成分を表示する外部ラベルを有してよい。

【０６６２】

定義

本出願を通じて、本発明のキメラタンパク質複合体は、用語「ＡｃＴａｌｅｕｋｉｎ－２」及び／または「ＡＬＮ２」によって示される。

【０６６３】

本明細書で使用される場合、「ａ」、「ａｎ」、または「ｔｈｅ」は、１つ（１種）または１つ（１種）を超える、を意味し得る。

【０６６４】

特に記載のない限り、または文脈から明らかでない限り、本明細書で使用される場合、「または（ｏｒ）」という用語は、「または（ｏｒ）」及び「及び（ａｎｄ）」の両方を含み、対象とする。

【０６６５】

さらに、参照数値表示に関連して使われる用語「約」は、参照数値表示±参照数値表示の最大で１０％、例えば、示した値の（±）１０％、９％、８％、７％、６％、５％、４％、３％、２％、１％、０．５％、０．１％、０．０５％、または０．０１％以内の値を意味する。例えば、用語の「約５０」は、４５から５５の範囲を対象とする。

【０６６６】

「有効量」という用語は、医学的使用に関連して使用される場合、目的の疾患の、測定

できる治療、予防、または発病速度の低下をもたらすのに効果的である量である。

【０６６７】

本明細書で使用される場合、物質または刺激の存在下で、このような調節の非存在下に比べて、活性及び／または効果の出力値がかなりの量、例えば、少なくとも約１０％、少なくとも約２０％、少なくとも約３０％、少なくとも約４０％、少なくとも約５０％、少なくとも約６０％、少なくとも約７０％、少なくとも約８０％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、またはそれを超えて、少なくとも最大約１００％（約１００％を含む）低減されるとき、何かが「低減されている」。当業者により理解されるように、いくつかの実施形態では、活性は低下し、かついくつかの下流の出力値は低下するが、他のものは増加し得る。

【０６６８】

逆に、物質または刺激の存在下で、このような物質または刺激の非存在下に比べて、活性及び／または効果の出力値がかなりの量、例えば、少なくとも約１０％、少なくとも約２０％、少なくとも約３０％、少なくとも約４０％、少なくとも約５０％、少なくとも約６０％、少なくとも約７０％、少なくとも約８０％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、またはそれを超えて、最大少なくとも約１００％（約１００％を含む）またはそれを超えて、少なくとも約２倍、少なくとも約３倍、少なくとも約４倍、少なくとも約５倍、少なくとも約６倍、少なくとも約７倍、少なくとも約８倍、少なくとも約９倍、少なくとも約１０倍、少なくとも約５０倍、少なくとも約１００倍増加する場合、活性は「高く」なる。

【０６６９】

本明細書において、参照される場合、全ての組成物に関するパーセンテージは、特に指定がない限り、総組成物の重量による。本明細書で使用する場合、「含む（ｉｎｃｌｕｄｅ）」という単語とその変形物は、非限定であることを意図し、それにより、リスト中の項目の記載は、この技術の組成物及び方法に有用である可能性を同様に有する他の類似項目の除外を意図するものではない。同様に、用語の「ｃａｎ」及び「ｍａｙ」及びその変形物は、非限定であることを意図し、それにより、ある実施形態が特定の要素または特徴を含むことが「できる（ｃａｎ）」または含んでも「よい（ｍａｙ）」という記載は、これらの要素または特徴を含まない本発明の技術のその他の実施形態を排除するものではない。

【０６７０】

ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ、ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ、またはｈａｖｉｎｇなどの用語の同義語としてのオープンエンド用語の「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」を本明細書で使用して本発明を記載及び請求するが、本発明、またはその実施形態は、「からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｏｆ）」または「から本質的になる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｅｓｓｅｎｔｉａｌｌｙ　ｏｆ）」などの代替用語を使って、代わりに記載することができる。

【０６７１】

本明細書で使用される場合、用語の「好ましい」及び「好ましくは」は、特定の状況下で、特定の利点をもたらす本技術の実施形態を指す。しかしながら、同じまたは他の環境下で、他の実施形態も好ましい場合がある。さらに、１つまたは複数の好ましい実施形態の記載は、他の実施形態が有用でないことを示すものではなく、また、本技術の範囲から他の実施形態を排除することを意図するものではない。

【０６７２】

治療効果の達成に必要な本明細書に記載の組成物の量は、特定目的のための従来の手順に従って経験的に決定されてよい。一般に、治療目的のために治療薬を投与する場合、治療薬は薬理学的有効量で投与される。「薬理学的有効量」、「薬理学的有効用量」、「治療有効量」、または「有効量」は、特に障害または疾患を治療するために、目的の生理的な効果を生み出すのに十分な量または目的の結果を達成することができる量を意味する。本明細書で使用される場合、有効量は、例えば、障害または疾患の症状の進展を遅らせる、障害または疾患の症状の経過を変える（例えば、疾患の症状の進展を遅らせる）、障害

または疾患の１つまたは複数の症状または発症を減らすまたはなくする、及び障害または疾患の症状を回復させるのに十分な量を含んでよい。治療効果はまた、改善が実現されるかどうかにかかわらず、根底にある疾患または障害の進行を止めるまたは遅らせることも含む。

【０６７３】

有効量、毒性、及び治療効果は、例えば、細胞培養または実験動物によりＬＤ５０（集団の約５０％に対する致死用量）及びＥＤ５０（集団の約５０％での治療的有効量）を測定するための標準的薬学的手順により決定できる。投与量は、用いられる剤形及び利用される投与経路に応じて変化し得る。毒性と治療効果との間の用量比率は、治療指数であり、比率ＬＤ５０／ＥＤ５０で表すことができる。いくつかの実施形態では、大きな治療指数を示す組成物及び方法が好ましい。治療有効量は、最初は、例えば、細胞培養アッセイを含むインビトロアッセイから推測することができる。また、用量は、細胞培養または適切な動物モデルで決定したＩＣ５０などの循環血漿中濃度範囲を達成するように動物モデルで処方することができる。記載の組成物の血漿中レベルは、例えば、高速液体クロマトグラフィーにより測定することができる。いずれかの特定の投与量の効果は、適切なバイオアッセイによりモニターすることができる。投与量は医師により決定されてよく、必要に応じて、観察された治療の効果に適合するように調節できる。

【０６７４】

特定の実施形態では、効果は、少なくとも約１０％、少なくとも約２０％、少なくとも約３０％、少なくとも約５０％、少なくとも約７０％、または少なくとも約９０％の定量可能な変化をもたらすであろう。いくつかの実施形態では、効果は、約１０％、約２０％、約３０％、約５０％、約７０％、またはさらに約９０％以上の定量化可能な変化をもたらすであろう。治療効果はまた、改善が実現されるかどうかにかかわらず、根底にある疾患または障害の進行を止めるまたは遅らせることも含む。

【０６７５】

本明細書で使用される場合、「治療方法」は、本明細書に記載の疾患もしくは障害の治療のための組成物及び／または本明細書に記載の疾患もしくは障害の治療のための薬剤の製造における使用（複数可）のための組成物に等しく適用可能である。以下の非限定的な実施例により、本発明をさらに説明する。

【実施例】

【０６７６】

以下の実施例の目的のために、及び本明細書全体を通して、本発明のキメラタンパク質またはタンパク質複合体は、用語「ＡｃＴａｌｅｕｋｉｎ－２」及び／または「ＡＬＮ２」で示す場合がある。

【０６７７】

例１：ＩＬ－２及びＦｃ－ＩＬ－２は末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）中でＳＴＡＴ５リン酸化を駆動する

この例は、如何にして、標的細胞のみが活性化され、負の作用または有害作用を有する細胞はもはや活性化されないように、インターロイキン－２（ＩＬ－２）を改変することができるかを説明する。この例では、ＣＤ８発現Ｔ細胞（例えば、細胞傷害性Ｔ細胞またはＣＴＬ）の抗腫瘍活性が増強された一方で、制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）の免疫抑制機能が制限された。細胞機能のこの脱共役は、一部には、これらの細胞においてＩＬ－２受容体（ＩＬ－２Ｒ）を使用することに基づいて実現することができる、すなわち、ＣＴＬにおけるシグナル伝達は、ＩＬ－２Ｒβ（ＣＤ１２２）鎖及びγ共通（γｃ；ＣＤ１３２）鎖から構成される中程度の親和性のＩＬ－２Ｒ複合体によって媒介される一方、Ｔｒｅｇｓにおいては、高親和性のＩＬ－２Ｒ複合体はＩＬ－２Ｒα（ＣＤ２５）鎖をさらにを含む。ＣＴＬ特異的ＩＬ－２活性の開発のための戦略には、（ｉ）ＣＤ８標的化、（ｉｉ）ＣＤ２５結合の排除、延いてはこの受容体のシグナル伝達における関与、及び（ｉｉｉ）（ＣＤ８）標的化時に回復することが可能な機能喪失型のベータ及びガンマ変異の選択が含まれる。

【０６７８】
まず、ＩＬ－２の活性に及ぼすＦｃ融合物の効果を調べた。この目的のために、サイトカインを、柔軟な２０＊ＧＧＳリンカーＣ末端を介してヘテロ二量体「ノブ・イン・ホール」ヒトＩｇＧ１　Ｆｃ骨格にクローニングした（ｐｃＤＮＡ３．４ベクター中）。Ｆｃ配列は、Ｌ２３４Ａ＿Ｌ２３５Ａ＿Ｋ３２２Ｑエフェクター変異と、「ホール」改変Ｙ３４９Ｃ＿Ｔ３６６Ｓ＿Ｌ３６８Ａ＿Ｙ４０７Ｖ（配列ｈＦｃ３中）または「ノブ」変異Ｓ３５４Ｃ＿Ｔ３６６Ｗ（配列ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ中）を含んでいた。安定性及び製造性の理由から、ＩＬ－２の１２５位の遊離システインをアラニンに変異させた（Ｃ１２５Ａ）。

【０６７９】
この「ノブ・イン・ホール」Ｆｃ－ＩＬ－２を製造するために、「ホール」プラスミドと「ノブ」プラスミドの両方の組み合わせを、ＥｘｐｉＣＨＯ細胞（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）に、製造元の指示に従ってトランスフェクトした。トランスフェクションの７日後に、組換えタンパク質をＰｒｏｔｅｉｎ　Ａ　Ｓｐｉｎ　Ｐｌａｔｅ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を使用して精製し、ＳＤＳ－ＰＡＧＥを用いて定量及び純度試験を行った。

【０６８０】
得られたＡｃＴａｌｅｕｋｉｎ－２（ＡＬＮ２）を、（ｉ）ＣＤ８陽性Ｔ細胞（ＣＤ８＋）、（ｉｉ）ＣＤ２５陰性の従来のＴ細胞（ＣＤ２５－　Ｔｃｏｎｖ）、（ｉｉｉ）ＣＤ２５陽性の従来のＴ細胞（ＣＤ２５＋　Ｔｃｏｎｖ）；または（ｉｖ）ＣＤ４＋ＣＤ２５＋ＦｏｘＰ３＋として定義される制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）におけるＳＴＡＴ５リン酸化に関して試験した。簡単に説明すると、健康なドナーのバフィーコート由来のＰＢＭＣを、Ｌｙｍｐｈｏｐｒｅｐ（ＳｔｅｍＣｅｌｌ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を使用した密度勾配遠心分離を使用して単離した。細胞を段階希釈した野生型組換えＩＬ－２またはＦｃ－ＩＬ－２により、３７℃で３０分間刺激した。遠心分離後に細胞をＬｙｓｅ／Ｆｉｘ　Ｂｕｆｆｅｒ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）中に再懸濁し、さらに３７℃で１０分間インキュベートした。細胞を洗浄し、ヒトＦｃＲ　Ｂｌｏｃｋｉｎｇ　Ｒｅａｇｅｎｔ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）と共にインキュベートし、抗ＣＤ２５及び抗ＣＤ８により、室温で３０分間染色した。次いで、細胞をＰｅｒｍ　Ｂｕｆｆｅｒ　ＩＩＩ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用し、４℃で３０分間浸透処理した。最後に細胞を抗ＣＤ３、抗ＣＤ４、抗ＦｏｘＰ３、及び抗ｐＳＴＡＴ５により１時間染色した。ＭＡＣＳＱｕａｎｔ　Ｘ装置（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）において試料に関するデータを取得し、ＦｌｏｗＬｏｇｉｃソフトウェア（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）を使用して解析を行った。

【０６８１】
図２０は、（ｉ）Ｔｒｅｇ細胞が他の細胞型と比較してＩＬ－２に対して大幅に感受性が高いこと、及び（ｉｉ）Ｆｃ融合物がすべての被験集団におけるシグナル伝達に影響を及ぼすことを示している。一例として、Ｆｃ－ＩＬ－２のＴｒｅｇに対する活性はＩＬ－２の活性と比較して±１／２０であり、上記融合物はＣＤ８陽性細胞に対してほとんど活性がない。

【０６８２】
例２：ＣＤ２５ノックアウトは全ての細胞型におけるＦｃ－ＩＬ－２シグナル伝達を低下させる
この例は、ＣＤ２５結合を低減すると報告されている５つの変異体の組み合わせ、すなわち、（ｉ）Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｙ＿Ｙ４５Ａ＿Ｅ６２Ａ；（ｉｉ）Ｆ４２Ｙ＿Ｙ４５Ａ＿Ｌ７２Ｇ、（ｉｉｉ）Ｆ４２Ｋ；（ｉｖ）Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ；及び（ｖ）Ｅ６１Ｑの、Ｆｃ－ＩＬ－２融合物の挙動に対する効果を調べた。

【０６８３】
これらの残基をｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ構築物において変異させた（後述の得られた配列を参照されたい）。これらのノブ構築物を、ｈＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５配列が２０＊ＧＧＳリンカーを介して上記ホール変異を有するＦｃに融合したホール融

合物ｈＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３と結合させ（下記の配列）、これによりＣＤ８標的化の効率の評価が可能になる。プラスミドの組み合わせをＥｘｐｉＣＨＯにトランスフェクトし、上記のように精製した。得られたタンパク質を、種々のリンパ球集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化について試験した（図２１Ａ～Ｇ）。データは、ＣＤ２５相互作用を低減する（例えば、Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ変異を介して）ことがすべての分集団におけるシグナル伝達に影響を及ぼすことを示しており、この効果はＣＤ２５の存在とは無関係である（図２１Ａ～Ｂ）。これは、ＣＤ２５変異がＣＤ２５結合に直接影響を与えるだけでなく、いくつかの立体構造上の影響もあることを示している可能性がある。ＣＤ２５ノックアウト変異体を、ＣＤ８　ＶＨＨを用いてＣＤ８発現細胞に対して標的化する場合には、これらの細胞におけるシグナル伝達の明確な増加がある一方、他の細胞型におけるシグナル伝達はほとんど変化しないままである（図２１Ｃ～Ｇ）。例外はＥ６１Ｑ変異の場合に見られ（図２１Ｇ）、このＥ６１Ｑ変異については、他の４種の変異体と比較して減弱がわずかに過ぎない。

【０６８４】

Ｏｃｔｅｔ　ＲＥＤ９６装置（ＦｏｒｔｅＢｉｏ）でのバイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）によっても、ＣＤ２５変異が実際にＣＤ２５への結合を低下させることが示された。簡単に説明すると、組換えＣＤ２５（Ａｃｒｏ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を、ＰｉｅｒｃｅＡｎｔｉｂｏｄｙ　Ｂｉｏｔｉｎｙｌａｔｉｏｎ　Ｋｉｔ　ｆｏｒ　ＩＰを使用してビオチン化し、Ｓｔｒｅｐｔａｖｉｄｉｎセンサーにロードした。７点の濃度の、野生型ＩＬ－２、Ｆｃ－ＩＬ－２、または変異したＣＤ２５結合部位（すべてＣＤ８標的化）を有するＦｃ－ＡＬＮ２の結合及び解離をモニターし、これらを使用して結合定数及び解離定数、延いては親和性を計算した（図２２Ａ～Ｇ）。Ｆｃへの融合は、ＩＬ－２のＣＤ２５への結合に影響を及ぼさないようであり、例１で観測された活性の低下は、ＩＬ－２Ｒβ鎖及び／またはＩＬ－２Ｒγ$_c$鎖への結合効率がより低いことに起因することを示唆している。一方、変異の組み合わせ、Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｙ＿Ｙ４５Ａ＿Ｅ６２Ａ；Ｆ４２Ｙ＿Ｙ４５Ａ＿Ｌ７２Ｇ；Ｆ４２Ｋ；及びＲ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋによって、検出可能なＣＤ２５への結合は完全に消失する（すなわち、特異的結合を測定することができなかった）。また、この場合、変異Ｅ６１Ｑの影響はわずかに過ぎず、このことで上述のより強力なＳＴＡＴ５リン酸化の説明がつく。

【０６８５】

結論として、ＣＤ２５ノックアウト変異はすべての細胞型においてＩＬ－２シグナル伝達を減少させ（ＣＤ２５発現とは独立に）、ＣＤ８標的化によってＣＤ８発現細胞におけるシグナル伝達は部分的に回復する。しかしながら、変異したＣＤ２５結合部位を有するかかるＡＬＮ２分子は、Ｔｒｅｇ細胞において、５０～２５０ｎｇ／ｍｌのＥＣ$_{50}$で、依然として明確にシグナル伝達を行う。

【０６８６】

例３：ＩＬ－２Ｒβ結合に関与する残基の変異を有する改変ＩＬ－２の特定

以前の実験では、ＣＤ２５結合部位の変異によってシグナル伝達が減弱化すること、及びＣＤ８標的化によって、少なくとも部分的に、このシグナル伝達の低下が回復することが示された。得られたＡＬＮ２変異体は、依然として超感受性Ｔｒｅｇ細胞においてＳＴＡＴ５リン酸化を誘導する能力を有していた。この後者のシグナル伝達（延いては、ＡＬＮ２活性のＣＤ８選択性）をさらに低減するために、ＩＬ－２Ｒβ結合に関与する残基の回復可能な（標的化時に）機能喪失型の変異の選択肢を検討した。

【０６８７】

候補の残基Ｄ２０及びＮ８８を、ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ構築物中で任意の他のアミノ酸（Ｃ及びＭを除く）に変異させた（後述の配列を参照されたい）。得られた構築物をＣＤ８－ｈＦｃ３と結合させ、ＥｘｐｉＣＨＯ中で発現させた。組換えタンパク質をＰｒｏｔｅｉｎ　Ａ　Ｓｐｉｎ　Ｐｌａｔｅ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を使用して上清から精製し、ＳＤＳ－ＰＡＧＥを用いて定量及び純度試験を行った。

【０６８８】

得られたＡＬＮ２変異体を、ＣＤ８$^{+}$、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{-}$、及びＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＰＢＭＣ集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に関して、以下のように試験した。すなわち、ＰＢＭＣをヒトＦｃＲ Ｂｌｏｃｋｉｎｇ Ｒｅａｇｅｎｔ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）でブロックし、ＣＤ４、ＣＤ８、及びＣＤ２５に特異的に蛍光標識された抗体で染色した。染色及び洗浄後に、細胞を表示した段階希釈ＡＬＮ２変異体により、３７℃で３０分間刺激した。次いで細胞をＬｙｓｅ／Ｆｉｘ Ｂｕｆｆｅｒ（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で固定化し、Ｐｅｒｍ Ｂｕｆｆｅｒ ＩＩＩ（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用し、製造元の指針に従って浸透処理した。ｐＳＴＡＴ５特異的抗体での終夜の染色後に、試料をＭＡＣＳＱｕａｎｔ Ｘ装置（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）において分析し、ＦｌｏｗＬｏｇｉｃソフトウェア（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）を使用して解析を行った。

【０６８９】

図２３Ａ～Ｒ（Ｄ２０変異体のスクリーニング）及び図２４Ａ～Ｒ（Ｎ８８変異体のスクリーニング）は、ほとんどの変異がｐＳＴＡＴ５の成績に劇的な影響を与えることを示している。ほとんどの活性を保持した（野生型と比較して）変異体は、Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｖ、Ｎ８８Ａ、Ｎ８８Ｇ（及び程度はより低いが、Ｄ２０Ｓ、Ｄ２０Ｔ、Ｎ８８Ｄ、Ｎ８８Ｑ、Ｎ８８Ｈ、及びＮ８８Ｔ）であり、ＥＣ$_{50}$値は３～１８ｎｇ／ｍｌであった。データはまた、ＩＬ－２Ｒβ部位の変異及びＣＤ８標的化があっても、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$集団において、明確なｐＳＴＡＴ５を１μｇ／ｍｌの濃度で検出することができ、高感度Ｔｒｅｇは上記集団の非常に小さい部分である。

【０６９０】

次に、ＳＴＡＴ５リン酸化に対するベータ変異（ここではＮ８８Ｇを例として）の効果を、ＣＤ８$^{+}$、ＣＤ２５$^{-}$ Ｔｃｏｎｖ、ＣＤ２５$^{+}$ Ｔｃｏｎｖ、及びＴｒｅｇ細胞において評価した。したがって、野生型ＩＬ－２またはＩＬ－２＿Ｎ８８Ｇ（いずれもＣ１２５Ａを有する）を、非標的化（ｈＦｃ３との組み合わせ）またはＣＤ８標的化（ＣＤ８ＶＨＨ－ｈＦｃ３との併用）ヘテロ二量体Ｆｃ融合タンパク質として発現させた。製造、精製、及びＰＢＭＣにおけるｐＳＴＡＴ５は例１に記載されるようにして実施した。図２５Ａ～Ｄに示す結果は、Ｎ８８変異がすべてのＰＢＭＣ集団におけるシグナル伝達を減少させること（図２５Ａ対図２５Ｃ）、及びＣＤ８標的化が抗原発現細胞におけるシグナル伝達を増加させる一方で、他の分集団におけるｐＳＴＡＴ５はほとんど影響を受けないままであること（図２５Ａ対図２５Ｂ、及び図２５Ｃ対図２５Ｄ）を明確に示している。

【０６９１】

例４：ＣＤ２５ノックアウト変異とベータ変異の組み合わせ

この例の目的は、ＣＤ２５ノックアウト変異（例えば、Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ）と最も高性能のＩＬ－２Ｒβ変異（例えば、Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｖ、Ｎ８８Ａ、及びＮ８８Ｇ）とを組み合わせることであった。得られた構築物（配列については後述を参照）をＣＤ８ ＶＨＨ－ｈＦｃ３パートナーと結合させ、例１に記載されるようにして、ＣＤ８$^{+}$、ＣＤ２５$^{-}$ Ｔｃｏｎｖ、ＣＤ２５$^{+}$ Ｔｃｏｎｖ、及びＴｒｅｇ細胞におけるＳＴＡＴ５リン酸化に関して試験した。図２６Ａ～Ｊ及びまとめた表７のデータは、以下、すなわち、

ｉ．ＣＤ２５ノックアウト（例えば、Ｒ３８Ａ＿Ｋ４２Ｋ）変異は、ＣＤ２５発現とは独立に全ての分集団におけるシグナル伝達に影響を及ぼす（図２６Ａ及び図２６Ｆ）こと、

ｉｉ．ＩＬ－２Ｒβ変異（例えば、Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｖ、Ｎ８８Ａ、Ｎ８８Ｇ）も、全ての分集団におけるシグナル伝達に影響を及ぼすこと、

ｉｉｉ．ＣＤ８陽性細胞では、ＣＤ２５変異を有する変異体またはＣＤ２５とベータ部位の変異の組み合わせを有する変異体に関するＥＣ$_{50}$値は同等であり、このことは、ＣＤ８標的化がベータ変異に起因するシグナル伝達の低下を補償することを示唆している（図２６Ｂ対図２６Ｇ、図２６Ｃ対図２６Ｈ、図２６Ｄ対図２６Ｉ、及び図２６Ｅ対図２６Ｊ）こと、

ｉｖ．効力は低下しているが、変異ＣＤ２５またはＩＬ－２Ｒβ結合部位を有するＡＬ

Ｎ２変異体は、Ｔｒｅｇ細胞において依然として明確にシグナル伝達を行う（図２６Ｂ、図２６Ｃ、図２６Ｄ、図２５Ｅ、及び図２６Ｆ）こと、

ｖ．超感受性Ｔｒｅｇ細胞におけるシグナル伝達をほぼ完全に消失させるためには、ＣＤ２５及びＩＬ－２Ｒβ変異の組み合わせが必要である（図２６Ｇ－Ｊ）こと、

ｖｉ．ＣＤ２５結合の低減と選択されたＩＬ－２Ｒβ変異とＣＤ８への標的化のこの組み合わせによって、最終的にＴｒｅｇｓ上でのＣＤ８$^{+}$に対する特異性が最大２０００倍となった（図２６Ｆ、図２６Ｇ、図２６Ｉ、及び図２６Ｊ）こと

を示している。

【０６９２】

【表７】

表７．図２６Ａ～Ｊに示した分図を参照した、ＣＤ２５及びＩＬ－２Ｒβの変異の組み合わせのＥＣ$_{50}$（単位：ｐＭ、必要に応じて外挿）及びＰＭＢＣ集団におけるｐＳＴＡＴ５に対するそれらの効果

分図	ALN2変異体	CD8+	CD25- Tconv	Treg	CD25+ Tconv	Tregに対するCD8+の比
A	CD8 VHH-hFc3 + hFc4-hIL-2_C125A	0,4057	5498	0,08581	10,92	0,21
B	CD8 VHH-hFc3 + hFc4-hIL-2_D20E_C125A	41,13	~	27,03	770,3	0,66
C	CD8 VHH-hFc3 + hFc4-hIL-2_D20V_C125A	49021	~	14980	293171	0,31
D	CD8 VHH-hFc3 + hFc4-hIL-2_N88A_C125A	134,5	~	114	2333	0,85
E	CD8 VHH-hFc3 + hFc4-hIL-2_N88G_C125A	237,5	~	135,2	4860	0,57
F	CD8 VHH-hFc3 + hFc4-hIL-2_R38A_F42K_C125A	1,041	~	1865	19248	1791,55
G	CD8 VHH-hFc3 + hFc4-hIL-2_R38A_F42K__D20E_C125A	57,56	~	55529	140458	964,72
H	CD8 VHH-hFc3 + hFc4-hIL-2_R38A_F42K_D20V_C125A	662,7	~	~	~	ND
I	CD8 VHH-hFc3 + hFc4-hIL-2_R38A_F42K__N88A_C125A	124,1	~	147584	~	1189,23
J	CD8 VHH-hFc3 + hFc4-hIL-2_R38A_F42K_N88G_C125A	333,8	~	241760	~	724,27

~：正確なＥＣ$_{50}$を測定できなかった

【０６９３】
結論として、Ｔｒｅｇ細胞は、ＣＤ８＋　Ｔ細胞と比較して、野生型ＩＬ－２に対して平均で１００，０００倍感受性が高い。ＣＤ８標的化変異、ＣＤ２５結合ノックアウト変異、及び選択された回復可能なＩＬ－２Ｒβ変異の組み合わせにより、ＣＤ８発現細胞の選択における特異性が１，０００倍であり、約０．１～１μｇ／ｍｌの濃度に等しい、１，０００ｐＭまで、または１０，０００ｐＭにおいてさえもＴｒｅｇ活性が検出不能なＡＬＮ２分子が得られた。注目すべきことに、ＩＬ－２Ｒａ変異のみを有するＩＬ－２分子は、すでに１０，０００ｐＭでＴｒｅｇの最大の活性化を示している（図２６Ａ～Ｊ）。
【０６９４】
例５：ＩＬ－２活性のＣＤ２５標的化
自己免疫疾患の文脈において、他の（ＩＬ－２）応答性細胞をそのままにして、（例えばＩＬ－２を介して）Ｔｒｅｇ細胞を特異的に活性化することが望ましい可能性があると考えられる。この例は、これらの細胞上で高発現しているＣＤ２５受容体を標的化する改変ＩＬ－２分子を用いてＴｒｅｇを活性化する可能性を探索したものであった。標的化ドメインとして、２種の非中和抗ＣＤ２５抗体（ＭＡ２５１及び７Ｇ７Ｂ６）のｓｃＦｖ変異体を選択した。この目的のために、ＶＨ及びＶＬ配列を３＊ＧＧＧＧＳリンカーを介して２方向（ＶＨ－ＶＬ及びＶＬ－ＶＨ）に融合し、エフェクター及びホール変異を有するｈＦｃ３配列に連結した（後述の配列を参照）。得られた構築物をｈＦｃ４発現プラスミドと結合させて（未武装ノブ・イン・ホールＦｃ構築物を生成させるために）、ＥｘｐｉＣＨＯ細胞中で産生させた。得られたタンパク質を上記のように精製し、（ｉ）ＣＤ２５発現細胞への結合、及び（ｉｉ）ＩＬ－２シグナル伝達の中和について最初に試験した。結合に関しては、１つのＨＥＫ由来の細胞株ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ－ＩＬ－２（機能性ＩＬ－２Ｒを発現；ＩｎｖｉｖｏＧｅｎ）及びＨＥＫ－Ｂｌｕｅ－ＩＬ－１（機能性ＩＬ－１Ｒを発現；ＩｎｖｉｖｏＧｅｎ）を、ＭＡ２５１及び７Ｇ７Ｂ６　ｓｃＦｖ未武装タンパク質の段階希釈液と共に４℃で２時間インキュベートした。結合を、ＦＡＣＳ中で蛍光標識抗ヒト抗体を使用して測定した。ＭＡＣＳＱｕａｎｔ　Ｘ装置（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）において試料に関するデータを取得し、ＦｌｏｗＬｏｇｉｃソフトウェア（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）を使用して解析を行った。図２７Ａ～Ｂ中データは、ＣＤ２５　ｓｃＦｖ標的化Ｆｃ融合体がＣＤ２５発現ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ－ＩＬ－２細胞にのみ結合し、関連するＨＥＫ－Ｂｌｕｅ－ＩＬ－１細胞には結合しないことを明確に示している。
【０６９５】
ＩＬ－２シグナル伝達に対する効果を、ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ　ＩＬ－２細胞において測定した。細胞を過剰（１０μｇ／ｍｌ）の未武装ＣＤ２５　ｓｃＦｖ　Ｆｃ融合物と共にまたは該融合物なしでプレインキュベートし、その後野生型ＩＬ－２の段階希釈液を添加した（図２８）。終夜刺激した後に、分泌されたホスファターゼの活性を、Ｐｈｏｓｐｈａ－Ｌｉｇｈｔ（商標）ＳＥＡＰ　Ｒｅｐｏｒｔｅｒ　Ｇｅｎｅ　Ａｓｓａｙ　Ｓｙｓｔｅｍ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を用いて測定し、その濃度の関数でプロットした（図２８）。この実験は、被験タンパク質のいずれもがＩＬ－２シグナル伝達を妨害しないことを示した。
【０６９６】
次に、ＣＤ２５標的化（ここでは、７Ｇ７Ｂ６　ｓｃＦｖ＿ＶＨ－ＶＬ標的化ドメインを使用）の、ＣＤ２５（ここでは、Ｆ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ）及びＩＬ２Ｒβ変異（ここでは、Ｎ８８Ａ及びＮ８８Ｇ）またはそれらの組み合わせ（Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ａ及びＲ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ）の生物学的活性の低下を回復させる能力を調べた。これらの変異を有するｈＦｃ４－ｈＩＬ－２構築物を、ＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３またはｈＦｃ３構築物と結合させて、ＥｘｐｉＣＨＯ細胞中で産生及び精製を行った。得られたＡＬＮ２変異体を、前述のようにして、ＣＤ２５$^{-}$　Ｔｃｏｎｖ、ＣＤ２５$^{+}$　Ｔｃｏｎｖ、及びＴｒｅｇ細胞におけるＳＴＡＴ５リン酸化について比較した。図２９Ａ～Ｎのデータは、以下、すなわち、

ｉ．ＣＤ２５標的化は、野生型Ｆｃ－ＩＬ－２シグナル伝達に対して明確な効果を及ぼさない（図２９Ｂ対図２９Ｃ）こと、
ｉｉ．ＣＤ２５またはＩＬ－２９Ｒβ変異は、すべての被験分集団におけるシグナル伝達に明らかに影響を及ぼす（図２９Ｃ対図２９Ｆ、図２９Ｈ、図２９Ｊ、図２９Ｌ、及び図２９Ｎ）こと、ＣＤ２５及びベータ変異の組み合わせ（Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ）は１００ｎＭの濃度までのＳＴＡＴ５リン酸化を完全に消失させる（図２９Ｎ）こと、
ｉｉｉ．ＣＤ２５標的化は、ＣＤ２５発現細胞におけるＣＤ２５及びＩＬ２Ｒβ　ＡＬＮ２変異体の両方の活性を明確に回復させる（図２９Ｅ対図２９Ｆ、及び図２９Ｇ対図２９Ｈ）こと、これにより、ＣＤ２５$^{+}$集団のみでシグナル伝達を行い、ＣＤ２５$^{-}$集団ＩＶではシグナル伝達を行わない変異体が得られること、
ｉｖ．組み合わされた変異（Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ａ及びＲ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ）の回復は、野生型Ｆｃ－ＩＬ－２融合物と比較した場合に部分的のみである（図２９Ｂ対図２９Ｋ及び図２９Ｂ対図２９Ｍ）こと
を示している。

【０６９７】

結論として、ＣＤ２５標的化（非中和抗ＣＤ２５抗体のｓｃＦｖフォーマットによってここで示される）により、ＣＤ２５発現細胞対ＣＤ２５陰性細胞におけるＣＤ２５及び／またはベータ変異によって引き起こされる機能喪失の特異的回復が可能になる。

【０６９８】

例６：ＩＬ－２模倣体（ネオロイキン）及びその変異体の標的化
ＩＬ－２の結晶構造に基づいて、ＣＤ２５結合部位をもたないが、ＩＬ－２Ｒβ及びγ_c受容体を介して効率的にシグナル伝達することが可能なＩＬ－２／ＩＬ－１５模倣体が新規に設計された（Ｓｉｌｖａ ｅｔ ａｌ．，“Ｄｅ ｎｏｖｏ ｄｅｓｉｇｎ ｏｆ ｐｏｔｅｎｔ ａｎｄ ｓｅｌｅｃｔｉｖｅ ｍｉｍｉｃｓ ｏｆ ＩＬ－２ ａｎｄ ＩＬ－１５，” Ｎａｔｕｒｅ，ｖｏｌ．５６５，ｐｐ．１８６－１９１，２０１９を参照のこと）。この１０１アミノ酸ＩＬ－２＿ｍｉｍｉｃは、ＩＬ－２Ｒα及びＩＬ－１５Ｒαとは独立に下流の細胞シグナル伝達（例えばＳＴＡＴ５リン酸化）を誘発し、黒色腫及び結腸癌のマウスモデルにおいてＩＬ－２よりも優れた治療活性を有する。

【０６９９】

本実施例では、このＩＬ－２＿ｍｉｍｉｃ配列を、エフェクター及びノブ変異を有するｈＩｇＧ１　Ｆｃの柔軟なリンカー２０＊ＧＧＳリンカーＣ末端を介して融合した（ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿ｍｉｍｉｃ；後述の配列を参照）。この構築物において、ＩＬ－２Ｒβ鎖への結合を減弱化を試みるために、残基Ｄ１５（ヒトＩＬ－２のＤ２０に相当）をＴまたはＨに変異させ、且つ残基Ｎ４０（ヒトＩＬ－２のＮ８８に相当）をＩ、Ｇ、及びＲに変異させた。得られた構築物（野生型または変異体）をＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３と結合させ、ＥｘｐｉＣＨＯ細胞中で産生を行った。得られたＩＬ－２＿ｍｉｍｉｃ（ネオロイキン）変異体を、例１に記載されるようにして、ＣＤ８$^{+}$、ＣＤ２５$^{-}$　Ｔｃｏｎｖ、ＣＤ２５$^{+}$　Ｔｃｏｎｖ、及びＴｒｅｇ細胞におけるＳＴＡＴ５リン酸化について試験した。

【０７００】

図３０Ａ～Ｈのデータは、以下、すなわち、
ｉ．異なる細胞集団は、野生型ＩＬ－２に対して以下の感受性、すなわち、ＣＤ８＋＜ＣＤ２５－Ｔ　ｃｏｎｖ＜ＣＤ２５＋　Ｔｃｏｎｖ＜＜＜Ｔｒｅｇ（図３０Ａ）を示したこと、
ｉｉ．非標的化ＩＬ－２＿ｍｉｍｉｃ　Ｆｃ変異体は、すべての被験ＰＢＭＣ分集団に対してほぼ同等の活性である（例えば、ＣＤ８＋；ＣＤ２５－　Ｔｃｏｎｖ；Ｔｒｅｇ；及びＣＤ２５＋　Ｔｃｏｎｖ細胞に関してそれぞれ、６．１ｐＭ；９．６ｐＭ；２．３ｐＭ；及び８．０ｐＭのＥＣ５０値）（図３０Ｂ）こと、
ｉｉｉ．野生型ＩＬ－２＿ｍｉｍｉｃのＣＤ８標的化は、ＣＤ８陽性細胞におけるシグナル伝達を増加させるが、他の細胞型では増加させず（図３０Ｃ）、選択性指数が約１０倍となること、

ｉｖ．変異Ｄ１５Ｔ、Ｄ１５Ｈ、Ｎ４０Ｉ、及びＮ４０Ｒは、ＣＤ８陰性細胞におけるＩＬ－２＿ｍｉｍｉｃシグナル伝達をほぼ完全に消失させたこと、非常に高濃度（１００ｎＭ）でのみ、これらの細胞でｐＳＴＡＴ５シグネチャが観察された（図３０Ｄ、３０Ｅ、３０Ｆ、及び３０Ｈ）こと、

ｖ．ＣＤ８標的化は、少なくとも部分的に、シグナル伝達の低下を回復させることができ、それにより、ＥＣ５０値が３８ｐＭ（Ｄ１５Ｔ）；１６９ｐＭ（Ｄ１５Ｈ）；５３ｐＭ（Ｎ４０Ｉ）；及び１２ｐＭ（Ｎ４０Ｒ）となり（図３０Ｄ、３０Ｅ、３０Ｆ及び３０Ｈ）、且つ図３０Ｃにおいて、選択性指数が標的の野生型ＩＬ－２模倣体と比較して１０～１００倍向上すること、

ｖｉ．Ｎ４０Ｇ変異に関する機能喪失は、ＣＤ８陽性細胞及びＣＤ８陰性細胞の両方で深刻さがより小さいが（図３０Ｇ）、図３０Ｃにおいて、選択性指数が標的の野生型ＩＬ－２模倣体と比較して１０～１００倍向上すること

を示す。

【０７０１】

結論として、ＣＤ８標的化及びＩＬ－２＿ｍｉｍｉｃの残基Ｄ１５及びＮ４０の変異は、ＣＤ８陰性細胞よりもＣＤ８陽性細胞におけるシグナル伝達に対する選択性を明確に増加させる。野生型ＩＬ－２＿ｍｉｍｉｃの標的化は、選択性をわずかに増加させるに過ぎない。

【０７０２】

・上記実施例１～６のアミノ酸配列：
・ｈＦｃ３（配列番号２９０）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ（配列番号２９１）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｙ＿Ｙ４５Ａ＿Ｅ６２Ａ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号２９２）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｆ４２Ｙ＿Ｙ４５Ａ＿Ｌ７２Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号２９３）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｆ４２Ｋ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号２９４）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号２９５）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｅ６１Ｑ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号２９６）
・ｈＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３　（配列番号２９７）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ａ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号２９８）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｅ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号２９９）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｆ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３００）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３０１）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｈ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３０２）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｉ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３０３）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｋ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３０４）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｌ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３０５）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｎ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３０６）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｐ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３０７）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｑ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３０８）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｒ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３０９）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｓ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３１０）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｔ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３１１）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｖ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３１２）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｗ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３１３）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｙ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３１４）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｎ８８Ａ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３１５）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｎ８８Ｄ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３１６）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｎ８８Ｅ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３１７）

・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｎ８８Ｆ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３１８）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３１９）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｎ８８Ｈ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３２０）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｎ８８Ｉ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３２１）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｎ８８Ｋ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３２２）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｎ８８Ｌ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３２３）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｎ８８Ｐ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３２４）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｎ８８Ｑ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３２５）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｎ８８Ｒ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３２６）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｎ８８Ｓ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３２７）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｎ８８Ｔ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３２８）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｎ８８Ｖ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３２９）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｎ８８Ｗ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３３０）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｎ８８Ｙ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３３１）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｅ＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３３２）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｖ＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３３３）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿　Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ａ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３３４）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３３５）
・ＭＡ２５１　ｓｃＦｖ＿ＶＨ－ＶＬ－ｈＦｃ３（配列番号３３６）
・ＭＡ２５１　ｓｃＦｖ＿ＶＬ－ＶＨ－ｈＦｃ３（配列番号３３７）
・７Ｇ７Ｂ６　ｓｃＦｖ＿ＶＨ－ＶＬ－ｈＦｃ３（配列番号３３８）
・７Ｇ７Ｂ６　ｓｃＦｖ＿ＶＬ－ＶＨ－ｈＦｃ３（配列番号３３９）
・ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿ｍｉｍｉｃ　（配列番号３４０）
・ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿ｍｉｍｉｃ＿Ｄ１５Ｔ（配列番号３４１）
・ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿ｍｉｍｉｃ＿Ｄ１５Ｈ（配列番号３４２）
・ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿ｍｉｍｉｃ＿Ｎ４０Ｉ（配列番号３４３）
・ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿ｍｉｍｉｃ＿Ｎ４０Ｇ（配列番号３４４）
・ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿ｍｉｍｉｃ＿Ｎ４０Ｒ（配列番号３４５）

【０７０３】

例７：ＩＬ－２におけるＴ３　Ｏ－グルブコシル化の除去

ＩＬ－２は、３位（Ｔ３）にスレオニンＯ－グリコシル化部位を含む。この例では、産生、製造性、及び生物学的活性の文脈において、この部位を除去する可能性を評価する。２つの戦略、すなわち、（ｉ）Ｔ３がＡ、Ｆ、Ｈ、Ｌ、Ｖ、またはＹに変異する部位特異的変異、または（ｉｉ）ＩＬ－２配列の最初の３、４、５、６、７、もしくは８残基を欠失させる欠失変異誘発技法を使用して。変異は、ＣＤ８標的化ＡＬＮ２フォーマットにおける標準的な変異誘発を使用して行われる。ＩＬ－２配列を、Ｌ２３４Ａ＿Ｌ２３５Ａ＿Ｋ３２２Ｑエフェクター及びＳ３５４Ｃ＿Ｔ３６６Ｗ「ノブ」変異を有するｈＩｇＧ１　Ｆｃ配列（ｈＦｃ４と呼ぶ）のＣ末端に（フレキシブル２０＊ＧＧＳリンカーを経由して）クローニングする。ＩＬ－２反応基（ｗａｒｈｅａｄ）は、以下の変異、すなわち、（ｉ）ＣＤ２５またはＩＬ－２Ｒαへの結合をブロックするＲ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ、（ｉｉ）回復可能な形態で減弱化し、次いでＩＬ－２Ｒβと相互作用するＮ８８Ｇ、及び（ｉｉｉ）遊離のシステイン残基を除去するＣ１２５Ａ（その結果優れた製造性が得られる）を含む。得られた構築物を、ＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５の融合物ならびにＬ２３４Ａ＿Ｌ２３５Ａ＿Ｋ３２２Ｑエフェクター及びＹ３４９Ｃ＿Ｔ３６６Ｓ＿Ｌ３６８Ａ＿Ｙ４０７Ｖ「ホール」変異を有するｈＩＧ１　Ｆｃ（ｈＦｃ３と呼ぶ）と結合させる。この「ノブ・イン・ホール」Ｆｃ－ＡＬＮ２を製造するには、「ホール」プラスミドと「ノブ」プラ

スミドの両方の組み合わせを、製造元の指示に従ってＥｘｐｉＣＨＯ細胞（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ）にトランスフェクトする。トランスフェクションの１週間後に、上清を回収し、遠心分離により細胞を除去する。組換えタンパク質を、タンパク質Ａ結合特性に基づいて（Ｈｉｔｒａｐ ＭａｂＳｅｌｅｃｔ ＳｕＲｅカラム、ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）、且つその後のサイズ排除クロマトグラフィー（Ｓｕｐｅｒｄｅｘ ２００ Ｉｎｃｒｅａｓｅ ＨｉＳｃａｌｅ １６／４０カラム、ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）により（いずれもＡｋｔａ Ｐｕｒｉｆｉｅｒ（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）で）精製する。濃度は分光光度計（ＮａｎｏＤｒｏｐ装置、Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）で測定し、純度はＳＤＳ－ＰＡＧＥで見積もる。

【０７０４】

得られたＡＬＮ２ Ｏ－グリコシル化変異体を、（ｉ）ＣＤ８陽性Ｔ細胞（ＣＤ８$^+$）；（ｉｉ）ＣＤ２５陰性の従来のＴ細胞（ＣＤ２５$^-$ Ｔｃｏｎｖ）；（ｉｉｉ）ＣＤ２５陽性の従来のＴ細胞（ＣＤ２５$^+$ Ｔｃｏｎｖ）；または（ｉｖ）ＣＤ４$^+$ＣＤ２５$^+$ＦｏｘＰ３$^+$として定義される制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）中でのＳＴＡＴ５リン酸化について試験する。簡単に説明すると、健康なドナーのバフィーコート由来のＰＢＭＣを、Ｌｙｍｐｈｏｐｒｅｐ（ＳｔｅｍＣｅｌｌ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を使用した密度勾配遠心分離を使用して単離する。細胞を段階希釈した野生型組換えＩＬ－２またはＦｃ－ＡＬＮ２により、３７℃で３０分間刺激する。遠心分離後に細胞をＬｙｓｅ／Ｆｉｘ Ｂｕｆｆｅｒ（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）中に再懸濁し、さらに３７℃で１０分間インキュベートする。細胞を洗浄し、ヒトＦｃＲ Ｂｌｏｃｋｉｎｇ Ｒｅａｇｅｎｔ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）と共にインキュベートし、抗ＣＤ２５及び抗ＣＤ８により、室温で３０分間染色する。次いで、細胞をＰｅｒｍ Ｂｕｆｆｅｒ ＩＩＩ（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用し、４℃で３０分間浸透処理する。最後に細胞を抗ＣＤ３、抗ＣＤ４、抗ＦｏｘＰ３、及び抗ｐＳＴＡＴ５により１時間染色する。ＭＡＣＳＱｕａｎｔ Ｘ装置（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）において試料に関するデータを取得し、ＦｌｏｗＬｏｇｉｃソフトウェア（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）を使用して解析を行う。

【０７０５】

上記Ｏ－グリコシル化ＡＬＮ２変異体の安定性を評価するために、精製タンパク質を１０ｍｇ／ｍｌまで濃縮し、５回の凍結（－２０℃）－融解サイクルに供する。各サイクル後に、試料を遠心分離し、タンパク質濃度をＮａｎｏｄｒｏｐ分光光度計で測定する。凍結－融解サイクルの前後に、試料を、Ａｋｔａ Ｐｕｒｉｆｉｅｒにおいて、サイズ排除クロマトグラフィー（Ｓｕｐｅｒｄｅｘ ２００ Ｉｎｃｒｅａｓｅ ＨｉＳｃａｌｅ １６／４０カラム、ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）によって分析する。

【０７０６】

この例では、以下のアミノ酸配列、すなわち、

・ｈＣＤ８ ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号３４６）

・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３４７）

・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｔ３Ａ＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３４８）

・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｔ３Ｆ＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３４９）

・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｔ３Ｈ＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３５０）

・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｔ３Ｌ＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３５１）

・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｔ３Ｖ＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３５２）

・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｔ３Ｙ＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列

番号３５３）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ＿ｄｅｌ３（配列番号３５４）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ＿ｄｅｌ４（配列番号３５５）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ＿ｄｅｌ５（配列番号３５６）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ＿ｄｅｌ６（配列番号３５７）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ＿ｄｅｌ７（配列番号３５８）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ＿ｄｅｌ８（配列番号３５９）
を使用する。

【０７０７】

例８：ＩＬ－２活性の二価標的化及びバイパラトピック標的化

この例では、ＣＤ８陽性細胞に対するＩＬ－２活性の標的化の効率を、１つまたは２つのＶＨＨによるフォーマットを使用して比較する。これらのＶＨＨは、同一であっても（二価構成を生じる）、または異なっていても（いわゆるバイパラトピックフォーマットを生じる）よい。ノブ・イン・ホールスキャフォールド上において、図３１に概説するように、ＶＨＨ及びＩＬ－２反応基を異なる構成でクローニングすることができる。

【０７０８】

具体的には、７種の異なるＣＤ８　ＶＨＨ、すなわち、１ＣＤＡ６５、２ＣＤＡ５、３ＣＤＡ１９、２ＣＤＡ４７、２ＣＤＡ６８、Ｒ２ＨＣＤ２６、及びＲ３ＨＣＤ１２９を、図３１に示す構成１を有するＡＬＮ２変異体をコードするベクターにクローニングする。例７に記載するように、上記ＩＬ－２反応基は、ＣＤ２５ノックアウト、回復可能なベータ減弱化、及び製造性を目的に、それぞれＲ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ、Ｎ８８Ｇ、及びＣ１２５Ａ変異を含む。得られたＡＬＮ２フォーマットは、以下のプラスミドの組み合わせ、すなわち、

・ｈＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５－ｈＦｃ３　＋　ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ
・ｈＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５－ｈＦｃ３　＋　ｈＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ
・ｈＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５－ｈＦｃ３　＋　ｈＣＤ８　ＶＨＨ　２ＣＤＡ５－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ
・ｈＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５－ｈＦｃ３　＋　ｈＣＤ８　ＶＨＨ　３ＣＤＡ１９－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ
・ｈＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５－ｈＦｃ３　＋　ｈＣＤ８　ＶＨＨ　２ＣＤＡ４７－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ
・ｈＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５－ｈＦｃ３　＋　ｈＣＤ８　ＶＨＨ　２ＣＤＡ６８－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ
・ｈＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５－ｈＦｃ３　＋　ｈＣＤ８　ＶＨＨ　Ｒ２ＨＣＤ２６－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ
・ｈＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５－ｈＦｃ３　＋　ｈＣＤ８　ＶＨＨ　Ｒ３ＨＣＤ１２９－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ
・ｈＦｃ３　＋　ｈＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ
・ｈＦｃ３　＋　ｈＣＤ８　ＶＨＨ　２ＣＤＡ５－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ
・ｈＦｃ３　＋　ｈＣＤ８　ＶＨＨ　３ＣＤＡ１９－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿

Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ
・ｈＦｃ３ ＋ ｈＣＤ８ ＶＨＨ ２ＣＤＡ４７－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ
・ｈＦｃ３ ＋ ｈＣＤ８ ＶＨＨ ２ＣＤＡ６８－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ
・ｈＦｃ３ ＋ ｈＣＤ８ ＶＨＨ Ｒ２ＨＣＤ２６－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ
・ｈＦｃ３ ＋ ｈＣＤ８ ＶＨＨ Ｒ３ＨＣＤ１２９－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ
・ｈＦｃ３ ＋ ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ
を用いて、ＥｘｐｉＣＨＯ細胞の一過性トランスフェクションによって産生する。

【０７０９】

得られたタンパク質を上清から精製し、ＣＤ８$^{+}$、ＣＤ２５$^{-}$ Ｔｃｏｎｖ、ＣＤ２５$^{+}$ Ｔｃｏｎｖ、及びＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＦｏｘＰ３$^{+}$ Ｔｒｅｇ細胞におけるＳＴＡＴ５リン酸化について、上述のようにして試験する。

【０７１０】

単一特異性の構築物が図３２の構成４を有する一方、ＶＨＨ １ＣＤＡ６５は図３２の構成１を有する構築物であり、単一特異性構築物として生成した。これは図３３Ａ～Ｇにおいて、１ＣＤＡ６５－Ｆｃ－ＡＬＮ２－ｂｉｓと称する。図３３Ａ～Ｇのデータは、ＣＤ８細胞に関する以下、すなわち、

ｉ．構築物１ＣＤＡ６５－Ｆｃ－ＡＬＮ２及び１ＣＤＡ６５－Ｆｃ－ＡＬＮ２－ｂｉｓは同様の効力を有すること、

ｉｉ．二価の１ＣＤＡ６５－１ＣＤＡ６５－Ｆｃ－ＡＬＮ２は、その一価の対応物である１ＣＤＡ６５－Ｆｃ－ＡＬＮ２または１ＣＤＡ６５－Ｆｃ－ＡＬＮ２－ｂｉｓと同様の活性を有すること、及び

ｉｉｉ．生物学的活性の増加は、バイパラトピック構成物の１ＣＤＡ６５－２ＣＤＡ５－Ｆｃ－ＡＬＮ２、１ＣＤＡ６５－２ＣＤＡ６８－Ｆｃ－ＡＬＮ２、及び１ＣＤＡ６５－Ｒ２ＨＣＤ２６－Ｆｃ－ＡＬＮ２で観測されること；注目すべきは、ＶＨＨ １ＣＤＡ６５と２ＣＤＡ４７７４は同一のエピトープビン（ｅｐｉｔｏｐｅ ｂｉｎ）に属する一方、ＶＨＨ ２ＣＤＡ５、３ＣＤＡ１９、２ＣＤＡ６８、及びＲ２ＨＣＤ２６は第２のビンに属することであること；ＶＨＨ Ｒ３ＨＣＤ１２９については、その親和性が低いことに起因して、エピトープビンは決定されいなかったが、驚くべきことに、異なるエピトープビンに由来する、２つの標的化ドメインを有するＡＬＮ２変異体は、単一特異性の対応物と比較して、平均で１０倍活性が高いこと
を示す。

【０７１１】

この例では、以下のアミノ酸配列、すなわち、
・ｈＣＤ８ ＶＨＨ １ＣＤＡ６５－ｈＦｃ３ （配列番号３６０）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３６１）
・ｈＣＤ８ ＶＨＨ １ＣＤＡ６５－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３６２）
・ｈＣＤ８ ＶＨＨ ２ＣＤＡ５－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３６３）
・ｈＣＤ８ ＶＨＨ ３ＣＤＡ１９－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３６４）
・ｈＣＤ８ ＶＨＨ ２ＣＤＡ４７－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３６５）
・ｈＣＤ８ ＶＨＨ ２ＣＤＡ６８－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３６６）

・ｈＣＤ８　ＶＨＨ　Ｒ２ＨＣＤ２６－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３６７）
・ｈＣＤ８　ＶＨＨ　Ｒ３ＨＣＤ１２９－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３６８）
・ｈＦｃ３（配列番号３６９）
を使用した。

【０７１２】

例９：上記に代わるＡＬＮ２構成物の評価

この例では、異なるＣＤ８標的化ＡＬＮ２構成物を比較する。具体的には、ＶＨＨ及び／またはＩＬ－２反応基を、ノブ・イン・ホールＦｃスキャフォールドのＮ末端もしくはＣ末端に、当該分子の同一のまたは反対側の部位でクローニングする。フォーマットは、タンデムでもしくは異なるＦｃ鎖上にクローニングされた１つまたは２つの反応基を有していてもよい。ＶＨＨ及び反応基を直列にクローニングしてもよく、またはＶＨＨを２つのＩＬ－２部分の間にクローニングしてもよい。可能なすべての構成を図３２に概略図で概説する。

【０７１３】

上述のようにして、以下のＡＬＮ２プラスミドの組み合わせ、すなわち、
・ｈＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５－ｈＦｃ３　＋　ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（図３２の構成１）
・ｈＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５－ｈＦｃ３　＋　ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（図３２の構成９）
・ｈＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５－ｈＦｃ３－　ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ　＋　ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（図３２の構成１３）
・ｈＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５－ｈＦｃ３　＋　ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ－　ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（図３２の構成２５）
・ｈＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５－ｈＦｃ３　＋　ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ－　ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ－ｈＦｃ４（図３２の構成２６）
をＥｘｐｉＣＨＯ細胞にトランスフェクトし、上清から精製し、ＣＤ８$^{+}$、ＣＤ２５$^{-}$　Ｔｃｏｎｖ、ＣＤ２５$^{+}$　Ｔｃｏｎｖ、及びＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＦｏｘＰ３$^{+}$　Ｔｒｅｇ細胞におけるｐＳＴＡＴ５リン酸化について試験し、且つ安定性についてスクリーニングする。

【０７１４】

さらに、図３４Ａ～Ｅのデータは、全ての被験変異体がＣＤ８＋において明確にｐＳＴＡＴ５を与えたが、Ｔｒｅｇ細胞においては与えなかったことを示し、それによりそれらの選択性を示している。

【０７１５】

この例では以下のアミノ酸配列、すなわち、
・ｈＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５－ｈＦｃ３（配列番号３７０）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３７１）
・ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ－ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３７２）
・ｈＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５－ｈＦｃ３－　ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３７３）
・ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ－　ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３７４）

・ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ－ ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ－ｈＦｃ４（配列番号３７５）
を使用する。
【０７１６】
実施例１０：ベータ変異とガンマ変異の組み合わせ
この例の目的は、ＩＬ－２Ｒβ結合部位（Ｎ８８Ａ、Ｎ８８Ｇ、Ｄ２０Ｅ、またはＤ２０Ｖ）における機能喪失変異と、ＩＬ－２Ｒ中のγ$_c$鎖との相互作用を妨げる変異とを組み合わせることの効果を評価することである。この後者の変異については、残基Ｑ１２６が重要であると特定されており、変異している。
【０７１７】
上記変異を表８にまとめる。
【０７１８】
【表８】

結合部位	変異
ベータ	D20E、D20V、N88A、及びN88G
ガンマ	Q126A、Q126D、Q126E、Q126F、Q126G、Q126H、Q126I、Q126K、Q126L、Q126M、Q126N、Q126P、Q126R、Q126S、Q126T、Q126V、Q126W、及びQ126Y
ベーターガンマ	D20E_Q126A、D20E_Q126D、D20E_Q126E、D20E_Q126F、D20E_Q126G、D20E_Q126H、D20E_Q126I、D20E_Q126K、D20E_Q126L、D20E_Q126M、D20E_Q126N、D20E_Q126P、D20E_Q126R、D20E_Q126S、D20E_Q126T、D20E_Q126V、D20E_Q126W、D20E_Q126Y、D20V_Q126A、D20V_Q126D、D20V_Q126E、D20V_Q126F、D20V_Q126G、D20V_Q126H、D20V_Q126I、D20V_Q126K、D20V_Q126L、D20V_Q126M、D20V_Q126N、D20V_Q126P、D20V_Q126R、D20V_Q126S、D20V_Q126T、D20V_Q126V、D20V_Q126W、D20V_Q126Y、N88A_Q126A、N88A_Q126D、N88A_Q126E、N88A_Q126F、N88A_Q126G、N88A_Q126H、N88A_Q126I、N88A_Q126K、N88A_Q126L、N88A_Q126M、N88A_Q126N、N88A_Q126P、N88A_Q126R、N88A_Q126S、N88A_Q126T、N88A_Q126V、N88A_Q126W、N88A_Q126Y、N88G_Q126A、N88G_Q126D、N88G_Q126E、N88G_Q126F、N88G_Q126G、N88G_Q126H、N88G_Q126I、N88G_Q126K、N88G_Q126L、N88G_Q126M、N88G_Q126N、N88G_Q126P、N88G_Q126R、N88G_Q126S、N88G_Q126T、N88G_Q126V、N88G_Q126W、及びN88G_Q126Y

【０７１９】
変異またはそれらの組み合わせは、ＣＤ８標的化ＡＬＮ２フォーマットにおける標準的な変異誘発技法を使用して行われる（上記の実施例に記載されるように）。ここで、上記ＩＬ－２反応基には、製造性の理由からＣ１２５Ａ変異のみが含まれる。得られたプラスミドをＣＤ８ ＶＨＨ－ｈＦｃ３プラスミドと組み合わせて、ＥｘｐｉＣＨＯ細胞における一過性トランスフェクションを行う。タンパク質を、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ａ Ｓｐｉｎ Ｐｌａｔｅ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を使用して精製し、ＳＤＳ－ＰＡＧＥを使用して定量及び純度試験する。
【０７２０】

得られたＡＬＮ２変異体を、ＣＤ８$^{+}$、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{-}$、及びＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＰＢＭＣ集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に関して、以下のように試験する。すなわち、ＰＢＭＣをヒトＦｃＲ Ｂｌｏｃｋｉｎｇ Ｒｅａｇｅｎｔ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）でブロックし、ＣＤ４、ＣＤ８、及びＣＤ２５に特異的に蛍光標識された抗体で染色する。染色及び洗浄後に、細胞を段階希釈ＩＬ－２またはＡＬＮ２変異体により、３７℃で３０分間刺激する。次いで細胞をＬｙｓｅ／Ｆｉｘ Ｂｕｆｆｅｒ（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で固定化し、Ｐｅｒｍ Ｂｕｆｆｅｒ ＩＩＩ（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用し、製造元の指針に従って浸透処理する。ｐＳＴＡＴ５特異的抗体での終夜の染色後に、試料をＭＡＣＳＱｕａｎｔ Ｘ装置（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）において分析し、ＦｌｏｗＬｏｇｉｃソフトウェア（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）を使用して解析を行う。

【０７２１】

この例では、以下のアミノ酸配列、すなわち、

・ｈＣＤ８ ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号３７６）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３７７）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ａ（配列番号３７８）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｄ（配列番号３７９）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｅ（配列番号３８０）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｆ（配列番号３８１）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｇ（配列番号３８２）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｈ（配列番号３８３）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｉ（配列番号３８４）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｋ（配列番号３８５）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｌ（配列番号３８６）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｍ（配列番号３８７）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｎ（配列番号３８８）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｐ（配列番号３８９）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｒ（配列番号３９０）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｓ（配列番号３９１）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｔ（配列番号３９２）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｖ（配列番号３９３）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｗ（配列番号３９４）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｙ（配列番号３９５）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｖ＿Ｑ１２６Ａ（配列番号３９６）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｖ＿Ｑ１２６Ｄ（配列番号３９７）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｖ＿Ｑ１２６Ｅ（配列番号３９８）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｖ＿Ｑ１２６Ｆ（配列番号３９９）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｖ＿Ｑ１２６Ｇ（配列番号４００）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｖ＿Ｑ１２６Ｈ（配列番号４０１）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｖ＿Ｑ１２６Ｉ（配列番号４０２）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｖ＿Ｑ１２６Ｋ（配列番号４０３）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｖ＿Ｑ１２６Ｌ（配列番号４０４）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｖ＿Ｑ１２６Ｍ（配列番号４０５）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｖ＿Ｑ１２６Ｎ（配列番号４０６）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｖ＿Ｑ１２６Ｐ（配列番号４０７）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｖ＿Ｑ１２６Ｒ（配列番号４０８）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｖ＿Ｑ１２６Ｓ（配列番号４０９）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｖ＿Ｑ１２６Ｔ（配列番号４１０）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｖ＿Ｑ１２６Ｖ（配列番号４１１）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｖ＿Ｑ１２６Ｗ（配列番号４１２）

・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｄ２０Ｖ＿Ｑ１２６Ｙ（配列番号４１３）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ａ＿Ｑ１２６Ａ（配列番号４１４）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ａ＿Ｑ１２６Ｄ（配列番号４１５）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ａ＿Ｑ１２６Ｅ（配列番号４１６）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ａ＿Ｑ１２６Ｆ（配列番号４１７）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ａ＿Ｑ１２６Ｇ（配列番号４１８）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ａ＿Ｑ１２６Ｈ（配列番号４１９）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ａ＿Ｑ１２６Ｉ（配列番号４２０）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ａ＿Ｑ１２６Ｋ（配列番号４２１）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ａ＿Ｑ１２６Ｌ（配列番号４２２）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ａ＿Ｑ１２６Ｍ（配列番号４２３）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ａ＿Ｑ１２６Ｎ（配列番号４２４）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ａ＿Ｑ１２６Ｐ（配列番号４２５）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ａ＿Ｑ１２６Ｒ（配列番号４２６）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ａ＿Ｑ１２６Ｓ（配列番号４２７）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ａ＿Ｑ１２６Ｔ（配列番号４２８）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ａ＿Ｑ１２６Ｖ（配列番号４２９）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ａ＿Ｑ１２６Ｗ（配列番号４３０）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ａ＿Ｑ１２６Ｙ（配列番号４３１）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ａ（配列番号４３２）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ｄ（配列番号４３３）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ｅ（配列番号４３４）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ｆ（配列番号４３５）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ｇ（配列番号４３６）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ｈ（配列番号４３７）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ｉ（配列番号４３８）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ｋ（配列番号４３９）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ｌ（配列番号４４０）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ｍ（配列番号４４１）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ｎ（配列番号４４２）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ｐ（配列番号４４３）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ｒ（配列番号４４４）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ｓ（配列番号４４５）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ｔ（配列番号４４６）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ｖ（配列番号４４７）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ｗ（配列番号４４８）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ｙ（配列番号４４９）

を使用する。

【０７２２】

例１１：単一ペプチドＡＬＮ２変異体

この例は、単一ペプチドＡＬＮ２変異体の効果を示す。ｎｏ－ａｌｐｈａ　ＩＬ－２変異体（変異Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ）を単一ペプチドＡ－Ｋｉｎｅフォーマットにクローニングした。この目的のために、ＣＤ８　ＶＨＨ　１ＣＤＡ６５及びＩＬ－２をコードする配列を、真核生物発現用のｐｃＤＮＡ３．４発現ベクター中に、柔軟な２０＊ＧＧＳリンカーを介して融合させた。Ｃ末端６＊Ｈｉｓタグを精製目的で付加した。Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｖ、Ｎ８８Ａ、及びＮ８８Ｇ変異体を標準的な変異誘発技法を用いて作製し、得られたプラスミドをＥｘｐｉＣＨＯ細胞（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）に、製造元の指針に従ってトランスフェクトした。トランスフェクションの１週間後に、上清を回収し、遠心分離により細胞を除去した。組換えタンパク質を、上記Ｈｉｓタグに基づいて（ＨｉｓＴｒａｐ　Ｅｘｃｅｌカラム；Ｃｙｔｉｖａ）、且つその後のサイズ排除クロマトグラフィー（Ｓｕ

ｐｅｒｄｅｘ ２００ Ｉｎｃｒｅａｓｅ ＨｉＳｃａｌｅ １６／４０カラム、Ｃｙｔｉｖａ）により、いずれもＡｋｔａ Ｐｕｒｉｆｉｅｒ（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）で精製した。濃度は分光光度計（ＮａｎｏＤｒｏｐ装置、Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）で測定し、純度はＳＤＳ－ＰＡＧＥで見積もった。

【０７２３】

得られたタンパク質を、上述のように、ＣＤ８＋対Ｔｒｅｇ細胞におけるＳＴＡＴ５リン酸化について試験した。図３５Ａ～Ｄに示すように、変異Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｄ２０Ｖを除く全てで、被験濃度範囲において、Ｔｒｅｇ細胞に対するよりもＣＤ８＋に対して、選択的なシグナル伝達が可能である。Ｎ８８変異体Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ａ（EC_{50}：０．１７ｎｇ／ｍｌ）またはＲ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ変異株（EC_{50}：０．０８ｎｇ／ｍｌ）は、ＣＤ３８＋細胞上で、Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｄ２０Ｅ変異体（EC_{50}：５．８ｎｇ／ｍｌ）よりも強力であるように思われる。

【０７２４】

この例では以下のアミノ酸配列、すなわち、

・ｈＣＤ８ ＶＨＨ－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｅ＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号４７８）

・ｈＣＤ８ ＶＨＨ－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｖ＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号４７９）

・ｈＣＤ８ ＶＨＨ－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ａ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号４８０）

・ｈＣＤ８ ＶＨＨ－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号４８１）

を使用した。

【０７２５】

例１２：ＩＬ－２反応基におけるＴ３ Ｏ－グルブコシル化部位の除去

ＩＬ－２は、３位（Ｔ３）にスレオニンＯ－グリコシル化部位を含む。この例では、産生、製造性、及び生物学的活性の文脈において、この部位を除去する可能性を評価する。２つの戦略、すなわち、（ｉ）Ｔ３がＡ、Ｆ、Ｈ、Ｌ、Ｖ、またはＹに変異する部位特異的変異、または（ｉｉ）ＩＬ－２配列の最初の３、４、５、６、７、もしくは８残基を欠失させる欠失変異誘発を用いる。変異は、ＣＤ８標的化ＡＬＮ２フォーマットにおける標準的な変異誘発技法を使用して行われた。ＩＬ－２配列を、Ｌ２３４Ａ＿Ｌ２３５Ａ＿Ｋ３２２Ｑエフェクター及びＳ３５４Ｃ＿Ｔ３６６Ｗ「ノブ」変異を有するｈＩｇＧ１ Ｆｃ配列（ｈＦｃ４と呼ぶ）のＣ末端に（フレキシブル２０＊ＧＧＳリンカーを経由して）クローニングした。ＩＬ－２反応基は、以下の変異、すなわち、（ｉ）ＣＤ２５またはＩＬ－２Ｒαへの結合をブロックするＲ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ、（ｉｉ）回復可能な形態で減弱化し、次いでＩＬ－２Ｒβと相互作用するＮ８８Ｇ、及び（ｉｉｉ）遊離のシステイン残基を除去するＣ１２５Ａ（その結果優れた製造性が得られる）を含む。得られた構築物を、ＣＤ８ ＶＨＨ １ＣＤＡ６５の融合物ならびにＬ２３４Ａ＿Ｌ２３５Ａ＿Ｋ３２２Ｑエフェクター及びＹ３４９Ｃ＿Ｔ３６６Ｓ＿Ｌ３６８Ａ＿Ｙ４０７Ｖ「ホール」変異を有するｈＩＧ１ Ｆｃ（ｈＦｃ３と呼ぶ）と結合させた。この「ノブ・イン・ホール」Ｆｃ－ＡＬＮ２を製造するために、「ホール」プラスミドと「ノブ」プラスミドの両方の組み合わせを、製造元の指示に従ってＥｘｐｉＣＨＯ細胞（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）にトランスフェクトした。トランスフェクションの１週間後に、上清を回収し、遠心分離により細胞を除去した。組換えタンパク質をＰｒｏｔｅｉｎ Ａ Ｓｐｉｎ Ｐｌａｔｅ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を使用して精製し、ＳＤＳ－ＰＡＧＥを用いて定量及び純度試験を行った。得られた変異体を、ＣＤ８陽性（$CD8^+$）、及びＣＤ８陰性（$CD8^-$）ＰＢＭＣ集団におけるＳＴＡＴ５リン酸化に関して、以下のように試験した。すなわち、ＰＢＭＣをヒトＦｃＲ Ｂｌｏｃｋｉｎｇ Ｒｅａｇｅｎｔ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）でブロックし、ＣＤ８に特異的に蛍光標識された抗体で染色した。染色及び洗浄後に、細胞を段階希釈ＣＤ８ ＶＨＨ－Ｆｃ－ＩＬ－２変異体により、３７℃で３０分間

刺激した。次いで細胞をＬｙｓｅ／Ｆｉｘ　Ｂｕｆｆｅｒ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で固定化し、Ｐｅｒｍ　Ｂｕｆｆｅｒ　ＩＩＩ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用し、製造元の指針に従って浸透処理した。ｐＳＴＡＴ５特異的抗体での終夜の染色後に、試料をＭＡＣＳＱｕａｎｔ　Ｘ装置（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）において分析し、ＦｌｏｗＬｏｇｉｃソフトウェア（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）を使用して解析を行った。

【０７２６】

図３６Ａ～Ｍのデータは、Ｔ３のＨ、Ｉ、Ｌ、Ｖ、Ｙ、もしくはＡへの置換、または最大７個のアミノ酸の欠失が、１～５ｎｇ／ｍｌの範囲で変化するＥＣ５０値により、ＣＤ８＋細胞に対して同等の活性を有することを示している。しかし、ＩＬ－２＿ｄｅｌ８変異体は、野生型ＩＬ－２と比較して活性が１／１０であった。対照的に、Ｔ３Ｆ（図示せず）変異は、もはや検出可能な活性を示さなかった。ＣＤ８－集団におけるシグナル伝達に対する効果は非常に類似していることが明らかになった。

【０７２７】

この例では以下のアミノ酸配列、すなわち、

・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ（配列番号４８２）
・ｈＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号４８３）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｔ３Ａ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号４８４）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｔ３Ｈ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号４８５）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｔ３Ｌ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号４８６）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｔ３Ｖ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号４８７）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｔ３Ｙ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号４８８）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿ｄｅｌ３（配列番号４８９）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿ｄｅｌ４（配列番号４９０）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿ｄｅｌ５（配列番号４９１）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿ｄｅｌ６（配列番号４９２）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿ｄｅｌ７（配列番号４９３）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ＿ｄｅｌ８（配列番号４９４）

を使用した。

【０７２８】

例１３：アルファ：ベータの組合せのインビボ評価

ヒトＩＬ－２はマウスＩＬ－２受容体に対して交差反応性であることから、マウス細胞に対するヒトアルファ：ベータＡＬＮ２変異体の活性を試験した。この目的のために、ヒトＣＤ８に特異的なＶＨＨ（１ＣＤＡ６５）を、エフェクター及び全変異を伴うＶＨＨ－Ｆｃ融合におけるマウスＣＤ８特異的ＶＨＨ　Ｒ２ＣＤＥ４７で置換した。得られた構築物（ｍＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３）を、Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋαノックアウト変異及び回復可能なベータ変異Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｖ、Ｎ８８Ａ、またはＮ８８Ｇの１種を有するＡＬＮ２反応基に融合したノブＦｃと結合させた。マウスＣＤ８標的化ＡＬＮ２変異体をＥｘｐｉＣＨＯ中で発現させ、上記のように精製した。最初に、これらの変異体を、初代マウス脾細胞におけるＳＴＡＴ５リン酸化について試験した。簡単に説明すると、Ｃ５７ＢＩ／６マウス由来の脾細胞（ＡＣＫ緩衝液で溶解したＲＢＣ）を細胞表面マーカー（生存率、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８α、ＣＤ８β）について染色し、種々のマウスＣＤ８標的化ＡＬＮ２変異体によりエクスビボで３０分間刺激した。１×ＴＦＰ　Ｆｉｘ／Ｐｅｒｍ　Ｂｕｆｆｅｒ（ＢＤ　Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ）を添加することにより刺激を停止し、４℃で５０分間インキュベートし、続いて１×ＴＦＰ　Ｐｅｒｍ／Ｗａｓｈ（ＢＤ　Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ）で２回の洗浄ステップを行った。細胞ペレットをＰｅｒｍ／Ｗａｓｈ　ＩＩＩ（Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ　Ｆａｃｔｏｒ　Ｐｈｏｓｐｈｏ　ｂｕｆｆｅｒセット、ＢＤ　Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ）中に再懸濁し、－２０℃で終夜インキュベートし、続いて細胞内ＦｏｘＰ５及びｐＳＴＡＴ５染色を行った。ＭＡＣＳＱｕａｎｔ　１６フローサイトメーターにおいて試料に関するデータを取得し、ＦｌｏｗＬｏｇｉｃ　８．４ソフトウ

ェア（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）により解析を行った。

【０７２９】

ＣＤ８＋細胞に対する、Ｄ２０Ｅ、Ｎ８８Ａ、またはＮ８８Ｇの組み合わせの活性は同等であった（ＥＣ$_{50}$値：３６～９４ｎｇ／ｍｌ）一方、Ｔｒｅｇ細胞では、これらの変異体のシグナル伝達は非常に高濃度の場合のみで観測された（図３７Ａ～Ｄ）。Ｄ２０Ｖ組み合わせ変異体は、両方の被験脾細胞分集団に対して不活性と思われる。これらのデータならびに予備的な産生及び安定性の観測に基づいて、マウスＣＤ８標的化ヒトＲ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ　ＩＬ－２変異体（この例のこれ以降では、ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２と呼ぶ）を使用して、さらにインビボ評価を行った。

【０７３０】

変異の組み合わせＲ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇを有するマウスＣＤ８標的化ＡＬＮ２変異体（ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２）の抗腫瘍効力を、２種の、結腸癌ＭＣ３８及びＣＴ２６の同系マウスモデル、において評価し、且つ非標的化ＡＬＮ２変異体（Ｆｃ－ＡＬＮ２）と比較した。簡単に説明すると、Ｃ５７ＢＩ／６Ｊマウス（雌、９週齢）に６Ｅ＋５のＭＣ３８細胞を、またはＢａｌｂ／ｃマウス（雌、９週齢）に６Ｅ＋５のＣＴ２６細胞を皮下注射（ｓ．ｃ．）した。７日後に腫瘍体積が２０～９０ｍｍ^3（ＭＣ３８）または４０～１２０ｍｍ^3（ＣＴ２６）に到達し、治療を開始した。すなわち、腫瘍接種後７日目及び１４日目に、マウスに、緩衝液、または等モル量の非標的化Ｆｃ－ＡＬＮ２（２１μｇ／マウス）、または標的化ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２（２５μｇ／マウス）のいずれかを静脈内（ｉ．ｖ．）投与した。

【０７３１】

腫瘍サイズ（平均値±ＳＥＭ；ｎ＝５（群あたり））を毎日測定し、図３８にプロットした。これらのデータは、緩衝液で処理した動物と比較して、非標的化ＡＬＮ２では有意な効果が得られなかった一方で、ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２は、両方のモデルにおいて、腫瘍増殖を明確且つ実質的に阻害したことを明確に示している。ＭＣ３８モデルでは、２１日目の時点で、ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２で治療した動物の１頭において、腫瘍が完全に消失した場合すらあった。

【０７３２】

並行実験において、ＭＣ３８のモデル及びＣＴ２６のモデルの両方で、チェックポイント阻害剤としてのＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２と抗ＰＤ－１抗体の併用作用を調べた。この目的のために、担癌Ｃ５７ＢＩ／６Ｊ（ＭＣ３８）またはＢａｌｂ／ｃマウス（ＣＴ２６）に、腫瘍接種後７、１０、１４、及び１７日目に、緩衝液またはＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２（１２．５μｇ／マウス）を静脈内投与した。この緩衝液またはＡＬＮ２治療薬に、上記治療薬の静脈内投与と同日に、腹腔内（ｉ．ｐ．）投与での抗ＰＤ－１抗体治療薬（２００μｇ／マウス）を追加した。図３９に平均値±ＳＥＭ（ｎ＝５（群あたり））としての腫瘍サイズ示す。各曲線の終端の数字は、実験終了時（２２日目）に腫瘍が完全に消失していたマウスの数を示す。ＭＣ３８のモデルにおいては、抗ＰＤ－１はそれ単独では効果がなく、ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２は単独では中程度の効果があった（５頭のマウス中２頭で腫瘍が完全に消失したことによる）が、併用により、すべての動物で完全な腫瘍退縮が得られた。ＣＴ２６のモデルでも同様の併用／追加の効果が観測された。すなわち、両方の単剤療法（ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２及び抗ＰＤ－１）は有意な効果を示さなかった一方、併用治療は腫瘍の増殖を遅延させ、１頭の動物での完全な根治さえも生じた。

【０７３３】

注目すべきことに、腫瘍が消失したＭＣ３８のマウスに、その後、最初のＭＣ３８腫瘍接種から５６日後に、もう一方の脇腹に再度接種を行ったところ、腫瘍が消失し且つ再度接種したマウスはすべて、２ヶ月後も腫瘍が絶無であった。一方、対照動物は腫瘍接種後１７～２１日で、安楽死を必要とする腫瘍（１５００ｍｍ^{3}に達する）を発症した。

【０７３４】

この例では以下のアミノ酸配列、すなわち、

・ｍＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号４９５）

・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｅ＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３３２）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｄ２０Ｖ＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３３３）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿　Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ａ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３３４）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３３５）
・ｈＦｃ３（配列番号３６９）
を使用した。

【０７３５】

例１４：ガンマ共通変異のスクリーニング

がんの文脈においては、ＩＬ－２によって細胞傷害性Ｔリンパ球（ＣＴＬ）を選択的に活性化し、同時にこれらの免疫応答を弱めるＴｒｅｇ細胞への影響を最小限に抑えることが望ましい場合がある。１つの治療戦略は、Ｔｒｅｇ細胞のＩＬ－２に対する過敏性の主な原因であるＩＬ－２Ｒα鎖にもはや結合しない、これらのいわゆるｎｏ－ａｌｐｈａ　ＩＬ－２変異体を使用することである。上述のように、ＣＤ８を標的化したｎｏ－ａｌｐｈａ　Ｆｃ変異体は、１～２ｎｇ／ｍｌのＥＣ$_{50}$でＴｒｅｇ細胞を活性化することができる。回復可能な（ＣＤ８標的化時に）ＩＬ－２Ｒベータ変異（Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｖ、Ｎ８８Ａ、またはＮ８８Ｇ）との組み合わせによって、Ｔｒｅｇ活性化がさらに減少し、ＣＤ８発現細胞に対する選択性が向上する（例４、図２６Ａ～Ｊを参照）。

【０７３６】

この例では、ガンマ共通受容体との相互作用部位の変異を、かかる変異がベータ変異とどの程度同等の有益な効果を有するかを評価するために評価した。Ａ－Ｋｉｎｅ変異の候補として可能性があるのは、ＩＬ－２とガンマ共通鎖との相互作用の中心である残基Ｑ１２６の置換である。したがって、この残基を、Ｆｃ４－ＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ鎖において、他の任意の（システインを除く）アミノ酸に変異させ、ＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３と結合させて、ＥｘｐｉＣＨＯにおいて産生させた。トランスフェクションの１週間後に、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ａ　Ｓｐｉｎ　Ｐｌａｔｅ　（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を使用して、上清からタンパク質を精製し、ＳＤＳ－ＰＡＧＥを用いて定量及び純度試験を行った。これらの変異の効果を、上述のようにして、ＣＤ８陽性ＰＢＭＣにおけるＳＴＡＴ５リン酸化に対して野生型ＩＬ－２（Ｃ１２５Ａ変異を有する）と比較した。これらの応答に基づいて、変異を４つのカテゴリー、すなわち、

ｉ．効果がない変異（活性が１／０～１／１０に低下）
ｉｉ．効果がわずかである変異（活性が１／１０～１／５０に低下）
ｉｉｉ．効果が中程度である変異（活性が１／５０～１／５００に低下）
ｉｖ．効果が強い変異（活性が１／５００未満に低下、または活性をほぼ完全に喪失（Ｑ１２６Ｄの場合））

に分類した（図４０Ａ～Ｄ）。

【０７３７】

続いて、Ｏｃｔｅｔセットアップを使用して、Ｑ１２６変異がＩＬ－２のＩＬ－２Ｒα鎖に対する相互作用／結合にどの程度影響するかを調べた。簡単に説明すると、ビオチン化ＣＤ２５（ＩＬ－２Ｒα）をストレプトアビジンセンサー上に負荷し、２点の濃度（５０及び１０ｎＭ）のＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３＋ｈＦｃ４－ＩＬ－２、またはそのＱ１２６変異体の結合及び解離をモニターし、これらを使用して結合定数及び解離定数、延いては親和性を計算した。図４１Ａ～Ｓのデータは、ほとんどの変異がこの相互作用に影響を及ぼさない、但し、変異Ｑ１２６Ｆ（より低い結合速度（ｏｎ－ｒａｔｅ）に起因して、親和性が１／１０に低下）及びＱ１２６Ｐの２つは例外であり、これらは結合をほぼ完全に消失させることを示している。後者は、プロリン置換によって、ＩＬ－２分子の他の部分に影響を与えている立体構造がシフトすることを示唆している。

【０７３８】
以下の表は、結合定数及び解離定数ならびに親和性も示している。
【０７３９】
【表９】

	KD (M)	ka (1/Ms)	kdis (1/s)
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A	3,23E-08	2,36E+05	7,64E-03
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A	2,61E-08	2,51E+05	6,56E-03
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A_Q126A	1,91E-08	4,74E+05	9,06E-03
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A_Q126A	1,50E-08	4,64E+05	6,95E-03
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A_Q126D	2,08E-08	3,45E+05	7,16E-03
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A_Q126E	1,35E-08	5,65E+05	7,61E-03
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A_Q126F	1,02E-07	4,41E+04	4,49E-03
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A_Q126G	2,20E-08	3,10E+05	6,82E-03
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A_Q126H	1,78E-08	4,10E+05	7,31E-03
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A_Q126I	2,68E-08	2,45E+05	6,55E-03
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A_Q126K	1,36E-08	5,28E+05	7,21E-03
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A_Q126L	3,19E-08	2,04E+05	6,49E-03
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A_Q126M	2,54E-08	2,93E+05	7,46E-03
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A_Q126N	1,60E-08	5,95E+05	9,52E-03
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A_Q126P	NA	NA	NA
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A_Q126R	1,26E-08	5,42E+05	6,82E-03
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A_Q126S	1,83E-08	4,82E+05	8,82E-03
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A_Q126T	1,90E-08	4,76E+05	9,03E-03
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A_Q126V	2,44E-08	3,29E+05	8,03E-03
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A_Q126W	5,38E-08	1,14E+05	6,10E-03
CD8 VHH-Fc-hIL-2_C125A_Q126Y	2,83E-08	2,88E+05	8,14E-03

【０７４０】
両方のデータセットに基づいて、上記のカテゴリーのそれぞれの１つの変異（わずかな効果：Ｑ１２６Ｙ、中程度の効果：Ｑ１２６Ｇ、及び強い効果：Ｑ１２６Ｉ）を保持し、以下の例においてさらに分析した。
【０７４１】
この例では以下のアミノ酸配列、すなわち、
・ｈＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３　（配列番号５０１）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ（配列番号５０２）
・ｈＦｃ４＿Ｃ１２５Ａ＿Ｑ１２６Ａ（配列番号５０３）
・ｈＦｃ４＿Ｃ１２５Ａ＿Ｑ１２６Ｄ（配列番号５０４）
・ｈＦｃ４＿Ｃ１２５Ａ＿Ｑ１２６Ｅ（配列番号５０５）

・ｈＦｃ４＿Ｃ１２５Ａ＿Ｑ１２６Ｆ（配列番号５０６）
・ｈＦｃ４＿Ｃ１２５Ａ＿Ｑ１２６Ｇ（配列番号５０７）
・ｈＦｃ４＿Ｃ１２５Ａ＿Ｑ１２６Ｈ（配列番号５０８）
・ｈＦｃ４＿Ｃ１２５Ａ＿Ｑ１２６Ｉ（配列番号５０９）
・ｈＦｃ４＿Ｃ１２５Ａ＿Ｑ１２６Ｋ（配列番号５１０）
・ｈＦｃ４＿Ｃ１２５Ａ＿Ｑ１２６Ｌ（配列番号５１１）
・ｈＦｃ４＿Ｃ１２５Ａ＿Ｑ１２６Ｍ（配列番号５１２）
・ｈＦｃ４＿Ｃ１２５Ａ＿Ｑ１２６Ｎ（配列番号５１３）
・ｈＦｃ４＿Ｃ１２５Ａ＿Ｑ１２６Ｐ（配列番号５１４）
・ｈＦｃ４＿Ｃ１２５Ａ＿Ｑ１２６Ｒ（配列番号５１５）
・ｈＦｃ４＿Ｃ１２５Ａ＿Ｑ１２６Ｓ（配列番号５１６）
・ｈＦｃ４＿Ｃ１２５Ａ＿Ｑ１２６Ｔ（配列番号５１７）
・ｈＦｃ４＿Ｃ１２５Ａ＿Ｑ１２６Ｖ（配列番号５１８）
・ｈＦｃ４＿Ｃ１２５Ａ＿Ｑ１２６Ｗ（配列番号５１９）
・ｈＦｃ４＿Ｃ１２５Ａ＿Ｑ１２６Ｙ（配列番号５２０）
を使用した。

【０７４２】

例１５：アルファ変異とガンマ変異の組み合わせ

アルファ：ベータの組み合わせと同様に、アルファ変異（Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ）を、ｄｅ　ＡＬＮ２反応基中の３つの選択されたガンマ変異（Ｑ１２６Ｇ、Ｑ１２６Ｉ、及びＱ１２６Ｙ）と組み合わせた。上述のように、得られた３種のＡＬＮ２を産生させ、精製し、３人の異なる健康なドナーのＣＤ８＋及びＴｒｅｇ　ＰＢＭＣサブセットにおけるＳＴＡＴ５リン酸化について試験した。図４２Ａ～Ｄの結果は、以下、すなわち、

・以前に観測されたように、ＴｒｅｇはＣＤ８＋細胞よりもＩＬ－２に対して４ｌｏｇ感度が高いこと
・対照的に、ＣＤ８＋細胞は、アルファ：ガンマ変異の組み合わせのいずれかを有するＡＬＮ２に対して、Ｔｒｅｇよりも約３ｌｏｇ感度が高いこと
・効果が強力なＱ１２６Ｉ変異との組み合わせにより、ＣＤ８＋細胞では明確なシグナル伝達が可能である一方、Ｔｒｅｇ細胞におけるＳＴＡＴ５リン酸化は、ほぼ１０μｇ／ｍＬまで存在しないこと

を示している。

【０７４３】

この例では以下のアミノ酸配列、すなわち、

・ｈＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３　（配列番号５２１）
・ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｑ１２６Ｇ（配列番号５２２）
・ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｑ１２６Ｉ（配列番号５２３）
・ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｑ１２６Ｙ（配列番号５２４）

を使用した。

【０７４４】

例１６：活性化ＣＤ８細胞に対する選択性のためのベータ変異とガンマ変異の組み合わせ

がんの治療におけるｎｏ－ａｌｐｈａ　ＩＬ－２変異体（上記参照）の使用の第１の主要な欠点は、これらの分子が、ＩＬ－２Ｒα鎖に結合するために内因的に発現されたＩＬ－２と競合することができないことである。実際、腫瘍環境において、主としてＣＤ４$^{+}$、但しＣＤ８$^{+}$も含む細胞の活性化によってＩＬ－２が分泌される。この「新たに分泌された」ＩＬ－２は、ＴｒｅｇのようなＩＬ－２Ｒα発現細胞を優先的に活性化し、その結果抗腫瘍応答が弱まることになる。第２の欠点は、活性化されたＣＴＬがＩＬ－２Ｒαレベルを上方制御したという事実をｎｏ－ａｌｐｈａ分子が利用することができず、ＩＬ－２ＲαがＩＬ－２Ｒ活性化の原動力であり続けることである。これら２つの概念に基づいて、ＩＬ－２反応基においてベータＡ－カイン変異（ここではＤ２０Ｅ）とガンマ共通Ａ

－カイン変異（ここではＱ１２６ＧまたはＱ１２６Ｙ）を組み合わせることの可能性を評価した。

【０７４５】

ＣＤ８＋細胞の活性化（延いてはＣＤ２５の上方制御）を模倣するために、健康なドナーの新たに単離したＰＢＭＣをＴｒａｎｓＡｃｔ（組換えヒト化ＣＤ３及びＣＤ２８アゴニストと結合させたナノマトリクス；Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）で２日間処理し、その後、機能的な読み取りデータとしてのＳＴＡＴ５リン酸化と共に、Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６ＧまたはＤ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｙ　ＡＬＮ２変異体で刺激した。図４３Ａ～Ｄから理解できることは、両方のβ：γ変異体が、ＣＤ８＋細胞と比較してＴｒｅｇ細胞においてより活性（約１０倍）である一方で、この感受性は活性化ＰＢＭＣにおいて完全に逆転するということである。ここでは、おそらくＩＬ－２Ｒαの上方制御に起因して、ＣＤ８＋細胞がβ：γ　ＡＬＮ２変異体に対して過敏になる。これらのデータは、これらのＡＬＮ２変異体が活性化ＣＤ８陽性細胞に対して選択的であることを示している。

【０７４６】

この例では以下のアミノ酸配列、すなわち、

・ｈＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号２９７）

・ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｇ（配列番号３８２）

・ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｄ２０Ｅ＿Ｑ１２６Ｙ（配列番号３９５）

・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ（配列番号４８２）

を使用した。

【０７４７】

例１７：ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２は、ＣＤ８陽性Ｔ細胞の活性化及び増殖に対して特異的であり、且つそれらに対して野生型ＦＣ－ＩＬ－２よりも優れている

Ｃ５７ＢＩ／６Ｊマウス（雌、９週齢）に６Ｅ＋５のＭＣ３８細胞を皮下（ｓ．ｃ．）注射した。７日後に治療を開始した。すなわち、マウスに（１）緩衝液、（２）標的化ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２（１２．５μｇ／マウス）、（３）等モル用量の非標的化Ｆｃ－ＡＬＮ２（１０．７μｇ／マウス）、または（４）等モル用量の野生型Ｆｃ－ＩＬ２（１０．７μｇ／マウス）のいずれかを静脈内投与した。１日後に、脾臓及び腫瘍を取り出し、ＣＤ８陽性Ｔ細胞またはＣＤ４陽性Ｔ細胞における、ＳＴＡＴ５リン酸化（ＩＬ－２受容体シグナル伝達を実証）、ならびに膜ＣＤ６９及びＣＤ２５発現（活性化を実証）の細胞内分析を行った。図４４にプロットした結果は、ＣＤ８陽性Ｔ細胞において、非標的化Ｆｃ－ＡＬＮ２は、ｐＳＴＡＴ５、ＣＤ６９、またはＣＤ２５を誘導しなかった一方、ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２構築物は、野生型Ｆｃ－ＡＬＮ２よりも非常に安定して且つ概して驚くほどさらに効率的に上記を誘導したことを示している。対照的に、野生型Ｆｃ－ＩＬ２は、ＣＤ４陽性及びＦｏｘＰ３陽性制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）及び他の（ＦｏｘＰ４陰性）ＣＤ４陽性Ｔ細胞において、非常に効率的にＳＴＡＴ５リン酸化を誘導した。重要なことは、ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２は、ｐＳＴＡＴ５のデータによって証明されるように、ＦｏｘＰ３陽性制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）に何らの影響も及ぼさず、またはこれらの細胞の活性化を低減すらした。

【０７４８】

Ｔ細胞増殖を評価するために、腫瘍接種後１４日後（治療開始から１週間後）、すなわち、７日目及び１０日目の２回の治療の後に、循環中（Ｖｅｔｓｃａｎ　ＨＭＳ、Ｚｏｅｔｉｓを使用）ならびに脾臓及び腫瘍中（フローサイトメトリーを使用）のリンパ球を計数した。図４５にプロットした結果は、血液中及び脾臓中の両方で、標的化ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２はリンパ球増殖を効率的に引き起こす唯一の治療薬であった（等モル量で注射した非標的化Ｆｃ－ＡＬＮ２及び野生型Ｆｃ－ＩＬ－２とは対照的に）ことを示している。腫瘍組織においては、野生型Ｆｃ－ＩＬ２がＣＤ８陽性Ｔ細胞数を増加させる能力を有していた。抗ＰＤ－１抗体治療薬を追加することにより、循環中及び腫瘍組織中におけるＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２に誘導されるリンパ球増殖がさらに増加したが、驚くべきことにＦｃ－ＩＬ２では増加しなかった。

【０７４９】
さらに、治療の３日後に採取した脾臓中では、２５μｇのＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２は、等モルの２１．７μｇの野生型Ｆｃ－ＩＬ２よりも大幅に良好に、ＣＤ８陽性Ｔ細胞中におけるＣＤ２５発現（延いては活性化）を増大させた（それぞれ７０％対２０％）一方、野生型Ｆｃ－ＩＬ２のみはＣＤ４陽性Ｔ細胞中におけるＣＤ２５発現を誘導した（図４６を参照）。
【０７５０】
この例では以下のアミノ酸配列、すなわち、
・ｍＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号４９５）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３３５）
・ｈＦｃ３（配列番号３６９）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｃ１２５Ａ（配列番号４８２）
を使用した。
【０７５１】
例１８：Ａ２０、Ｂ１６、及びＰａｎｃ０２腫瘍モデルにおけるＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２の効力
アルファ：ベータ変異の組み合わせＲ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇを有するマウスＣＤ８標的化ＡＬＮ２変異体（ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２）の抗腫瘍効力が、２種の、結腸癌ＭＣ３８及びＣＴ２６の同系マウスモデルにおいて、非常に好結果であったことを上記で示した。さらに、上記抗腫瘍効力を、他の３種の腫瘍、すなわち、リンパ腫Ａ２０、黒色腫Ｂ１６Ｆ１０、及び膵臓腺癌Ｐａｎｃ０２のモデルにおいて分析した。この実験に関しては、Ｂａｌｂ／ｃマウス（雌、９週齢）に６Ｅ＋５のＡ２０細胞を皮下（ｓ．ｃ．）接種し、１０日目に治療を開始するか、またはＣ５７ＢＩ／６Ｊ（雌、９週齢）に６Ｅ＋５のＢ１６Ｆ１０もしくはＰａｎｃ０２細胞を皮下接種し、６日目に治療を開始した。
【０７５２】
まず、Ａ２０担癌マウスを、腫瘍接種後１０、１４、及び１７日目に静脈内投与（ｉ．ｖ．）した、（１）緩衝液、（２）単剤療法剤としてのＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２標的（１２．５μｇ／マウス）、（３）標的化ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２（１２．５μｇ／マウス）と２００μｇ／マウスの抗ＰＤ－１抗体の併用、または（４）非標的化野生型Ｆｃ－ＩＬ２（等モルの１０．７μｇ／マウス）のいずれかによって治療した。腫瘍サイズ（平均値±ＳＥＭ；ｎ＝５（群あたり））を図４７にプロットした。図４７は、非標的化野生型Ｆｃ－ＩＬ－２及び標的化ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２の両方が腫瘍増殖を実質的に阻害したが、野生型Ｆｃ－ＩＬ－２で治療したマウスは全て２回目の治療後に死亡した（図４７において、「５／５＋」と表示されるか、または全ての動物が死亡した）。この結果は、ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２治療マウスとは対照的であり、Ｂａｌｂ／ｃマウスは野生型ＩＬ－２毒性副作用に対して極端な感受性をもつが、ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２に対しては極端な感受性をもたないことを実証している。実験の終了時に、５頭のＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２で治療した動物のうちの４頭は完全に腫瘍が消失していた。抗ＰＤ－１剤による追加の治療は、当初はＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２の効力を高めることができず、この群においても、５頭のマウスのうちの４頭は腫瘍が消失したが、この状況は、さらに２ヶ月追跡した後に変化があった。この後の時点で、６頭のマウス（２頭はＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２で治療した群から、４頭はＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２＋抗ＰＤ１剤で治療した群から）は引き続き腫瘍がなく、もう一方の脇腹にＡ２０腫瘍細胞を再度接種した。６頭のマウスはすべて腫瘍がない状態を維持して新たな腫瘍を発症せず、これは、同日に同一のＡ２０細胞を接種したナイーブマウスとは対照的であった。
【０７５３】
次に、Ｂ１６Ｆ１０担癌マウスを、腫瘍接種後６、９、及び１３日目に静脈内投与した、（１）緩衝液、（２）標的化ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２（１２．５μｇ／マウス）、または（３）非標的化Ｆｃ－ＡＬＮ２（等モルの１０．７μｇ／マウス）のいずれかによって

治療した。接種後１６日目における腫瘍サイズ（平均値±ＳＥＭ；ｎ＝４～５（群あたり））を図４８にプロットした。ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２は腫瘍増殖を実質的に減速させた一方、非標的化ＡＬＮ２は効果を示さなかった。

【０７５４】

最後に、Ｐａｎｃ０２担癌マウスを、腫瘍接種後６日目及び１３日目に静脈内投与した、（１）緩衝液、（２）標的化ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２（１２．５μｇ／マウス）、または（３）非標的化Ｆｃ－ＡＬＮ７（等モルの１０．７μｇ／マウス）のいずれかによって治療した。接種後１６日目における腫瘍サイズ（平均値±ＳＥＭ；ｎ＝５（群あたり））を図４９にプロットした。ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２は腫瘍増殖を実質的に減速させ、これは非標的化ＡＬＮ２では観測されなかった。

【０７５５】

この例では以下のアミノ酸配列、すなわち、

・ｍＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号４９５）

・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３３５）

・ｈＦｃ３（配列番号３６９）

を使用した。

【０７５６】

例１９：ＡＬＮ２の腫瘍標的化

この例では、ＰＤ－Ｌ１　ＶＨＨを使用した、腫瘍（または他の免疫細胞）に対するＡＬＮ２活性の標的化の可能性を評価した。ＰＤ－Ｌ１－Ｆｃ－ＡＬＮ２タンパク質を以下のプラスミドの組み合わせでＥｘｐｉＣＨＯ細胞をトランスフェクションすることによって作製し、上述のようにして精製した。

・ＰＤ－Ｌ１－Ｆｃ－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ：ｍＰＤ－Ｌ１　ＶＨＨ－ｈＦｃ３　＋　ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ

【０７５７】

ＰＤ－Ｌ１　ＡＬＮ２の効力及び特異性を、例１３に記載のようにしてＳＴＡＴ５リン酸化を分析することによって、マウス脾細胞上で検証した。図５０は、非標的化Ｆｃ－ＡＬＮ２は１０μｇ／ｍｌまでマウス脾細胞中でｐＳＴＡＴ５を誘導しない一方、ＰＤ－Ｌ１標的化により、ＷＴ　ＩＬ－２と同様のｐＳＴＡＴ５シグナルを誘導する能力を有するようになることを示している。

【０７５８】

ＰＤ－Ｌ１を発現する腫瘍であるＭＣ３８の腫瘍モデル上で効力を試験するために、ＰＤ－Ｌ１標的化ＡＬＮ２を選択した。Ｃ５７ＢＩ／６Ｊマウス（雌、９週齢）に６Ｅ＋５のＭＣ３８細胞を皮下注射した。６日後に、治療を開始した。すなわち、マウスに、（１）緩衝液、（２）標的化Ｆｃ－ＡＬＮ２（ＩＬ－２変異Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇを含む；１２．５μｇ／マウス）、または（３）非標的化Ｆｃ－ＡＬＮ２のいずれかを３回（６、９、及び１３日目）静脈内（ｉ．ｖ．）投与した。接種後１７日目における腫瘍サイズ（平均値±ＳＥＭ；ｎ＝４～６（群あたり））を図５１にプロットし、この図は、ＰＤ－Ｌ１標的化ＡＬＮ２のみによる特異的腫瘍増殖阻害を示す。

【０７５９】

さらに、がんの文脈において、細胞外腫瘍マトリクス（ＴｅｎａｓｃｉｎＣ－Ａ１特異的ＶＨＨに基づく）を標的とするＡＬＮ２を生成させた。このＴＮＣ－Ｆｃ－ＡＬＮ２タンパク質は、ＥｘｐｉＣＨＯ細胞の以下のプラスミドの組み合わせでのトランスフェクションによって作製し、上述のようにして精製した。

・ＴＮＣ－Ｆｃ－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ：ｍＴＮＣ　ＶＨＨ－ｈＦｃ３　＋　ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ

【０７６０】

ＭＣ３８の腫瘍モデル上で効力を試験するために、Ｃ５７ＢＩ／６Ｊマウス（雌、９週齢）に６Ｅ＋５のＭＣ３８細胞を皮下注射した。６日後に治療を開始した。すなわち、マ

ウスに、（１）緩衝液、（２）非標的化Ｆｃ－ＡＬＮ２、または（３）ＴＮＣＡ１標的化Ｆｃ－ＡＬＮ２（ＩＬ－２変異Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇを含む；１２．５μｇ／マウス）のいずれかを３回（６、９、及び１３日目）静脈内（ｉ．ｖ．）投与した。腫瘍サイズを週３回測定し、平均値±ＳＥＭ（ｎ＝４～６）を図５２にプロットした。記載がある場合、上記ＡＬＮ２治療薬に、上記静脈内治療薬と同日に腹腔内注射（ｉ．ｐ．）された抗ＰＤ－１抗体治療薬（２００μｇ／マウス）を補充した。理解することができようが、抗ＰＤ－１抗体治療薬との併用で、且つ非標的化Ｆｃ－ＡＬＮ２とは対照的に、ＴＮＣ標的化Ｆｃ－ＡＬＮ２治療薬は、腫瘍増殖を明確かつ実質的に阻害した。驚くべきことに、２１日目に、ＴＮＣ－Ｆｃ－ＡＬＮ２＋ＰＤ－Ｌ１治療群についてのみ、検出可能な腫瘍が存在しない多くのマウス、すなわち６頭の動物中３頭、が確認された。

【０７６１】

例２０：ＡＬＮ２の二重特異性標的化

ＦＡＰ標的化ＡＬＮ２、ＮＫｐ４６標的化ＡＬＮ２、及び以下の二重特異性ＡＬＮ２を、上述のようにして生成させ、ＥｘｐｉＣＨＯ上清から精製した。

・ＮＫｐ４６－Ｆｃ－ＡＬＮ２（ＮＫｐ４６　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（下記の配列）　＋　ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇの組み合わせ）。この構築物はＡＬＮ２の標的をＮＫ細胞とする。

・ＮＫｐ４６－ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２（ＮＫｐ４６　ＶＨＨ－ｈＦｃ３　＋　ＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇの組み合わせ；下記の配列）。この構築物はＡＬＮ２の標的をＮＫ細胞及びＣＤ８細胞の両方とする。

・ＦＡＰ－Ｆｃ－ＡＬＮ２（ＦＡＰ　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（下記の配列）　＋　ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇの組み合わせ）。この構築物は、ＡＬＮ２の標的を、ＦＡＰ特異的ＶＨＨを介した腫瘍またはがん関連線維芽細胞とする。

・ＦＡＰ－ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２（ＦＡＰ　ＶＨＨ－ｈＦｃ３　＋　ＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇの組み合わせ；下記の配列）。この構築物は、ＡＬＮ２の標的を、ＦＡＰ特異的ＶＨＨを介した腫瘍またはがん関連線維芽細胞、及びＣＤ８細胞とする。

【０７６２】

ＮＫｐ４６－ＣＤ８－ＡＬＮ２の効力及び特異性を、例１３に記載のようにして、ＳＴＡＴ５リン酸化を分析することにより、マウス脾細胞上で検証した。図５３は、非標的化Ｆｃ－ＡＬＮ２は、ＣＤ８細胞中では、１０μｇ／ｍｌまででｐＳＴＡＴ５を誘導せず、約５μｇ／ｍｌのＥＣ５０の推定値を有する（１０μｇ／ｍｌで到達しない最大シグナルとしての外挿データ）ＮＫ細胞中でほんのわずかに誘導することを示している。ＣＤ８細胞及びＮＫ細胞は、ＣＤ８またはＮＫｐ４６単一特異性ＡＬＮ２と少なくとも同様である、それぞれ約４６ｎｇ／ｍｌ（非標的化に対して＞２００倍のウィンドウ）及び２ｎｇ／ｍｌ（非標的化に対して約２５００倍のウィンドウ）のＥＣ５０を有する二重特異性構築物によって同時に刺激することができる。

【０７６３】

上記の実験に対する追加として、２種の二重特異性構築物を、上述のようにして生成させ、ＥｘｐｉＣＨＯ上清から精製した。

・ＣＤ８＿ＰＤ－１＿Ｆｃ－ＡＬＮ２（ＰＤ－１　ＶＨＨ－ｈＦｃ３　＋　ＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇの組み合わせ）。

・ＣＤ８＿ＰＤ－Ｌ１＿Ｆｃ－ＡＬＮ２（ＰＤ－Ｌ１　ＶＨＨ－ｈＦｃ３　＋　ＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇの組み合わせ）

【０７６４】

これらの構築物を、ＭＣ３８腫瘍を有するマウスにおけるそれらの抗腫瘍効果について評価する。これらのマウスを、腫瘍サイズが約１００～２００mm^3の場合には１回のｉ．ｖ．で治療し、または３～４日間隔で繰り返し治療し、腫瘍サイズを２～３日毎に評価する。

【０７６５】

この実験で使用した配列：
・ｍＮＫｐ４６　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号５２５）
・ｍＦＡＰ　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号５２６）
・ｍＰＤ－Ｌ１　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号５２７）
・ｍＴＮＣ　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号５２８）
・ｍＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号５２９）
・ｍＰＤ－１　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号５３０）

【０７６６】

例２１：Ｄ２０Ｅ及びＮ８８Ｇ　ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２変異体によるＣＤ８細胞の活性化

ＩＬ－２Ｒα鎖（Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ）の活性を排除する「ｎｏ－ａｌｐｈａ」変異と、回復可能な機能喪失型のベータ変異ｈＣＤ３８－Ｆｃ－ＡＬＮ２＿Ｎ８８ＧまたはｈＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２＿Ｄ２０Ｅの組み合わせを有するヒトＣＤ８標的化ＩＬ－２変異体を、ＦＡＣＳにおける活性化マーカーＣＤ２５（ＩＬ－２Ｒα鎖）及びＰＤ－１の細胞表面発現を分析することにより、それらの選択的活性化について評価した。発現を、３人のＰＢＭＣドナーにおいて５日後にモニターした。データ（３人のドナーの平均値）を図５４にプロットしたところ、これらの変異体のＣＤ８標的化によって、ＣＤ８陽性細胞対オフターゲット細胞におけるこれらのマーカーの選択的な上方制御（延いては活性化）が可能になることを明確に示している。

【０７６７】

また、ＭＤＡ－ＭＢ－２３１腫瘍を有するヒト免疫系を備えた免疫不全マウス（ＨＩＳマウス）において、同一のヒトＣＤ８標的化ＡＬＮ２分子がＣＤ８陽性Ｔリンパ球のみにおいて効率的且つ特異的にＳＴＡＴ５リン酸化を誘導した（注射の４５分後に分析）（図５５）。ヒト化ＨＩＳマウスを、ヒト臍帯血ＣＤ３４陽性幹細胞を有するＮＳＧ　２日齢の仔の照射及び肝内注射によって得て；上記担癌ＨＩＳマウスを６月齢時にｈＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２の静脈内注射に使用した。

【０７６８】

上記ヒトＣＤ８標的化変異体と同様に、「ｎｏ－ａｌｐｈａ」変異とベータ鎖の回復可能な機能喪失型変異Ｄ２０ＥまたはＮ８８Ｇ（以前の例で使用）の組み合わせを有する、以下のマウスＣＤ８標的化Ｆｃ－ＡＬＮ２変異体、すなわち、
・ｍＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｄ２０Ｅ：ｍＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３　＋　ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｄ２０Ｅ
・ｍＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ：ｍＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３　＋　ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ
を生成させた。

【０７６９】

上述のようにして変異体を発現させ且つ精製し、マウス脾細胞上で、６日後にＣＤ２５の細胞表面発現の上方制御を測定することによって、ＣＤ８陽性細胞の活性化に関して試験した（図５６）。Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｄ２０Ｅ及びＲ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ変異体の両方が、この活性化マーカーの発現を選択的且つ比較可能な形態で明確に増加させる、すなわち、ＣＤ８陽性細胞では明確な効果があるが、オフターゲット（ＣＤ８陰性）細胞では明確な効果を示さない。

【０７７０】

この例では以下のアミノ酸配列、すなわち、
・ｍＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号４９５）
・ｈＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号４８３）
・ｈＦｃ４－ｈＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ（配列番号３３５）
・ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｄ２０Ｅ（配列番号３３２）

を使用した。

【０７７１】

例２２：Ｄ２０Ｅ及びＮ８８Ｇ　ＣＤ８－ＡＬＮ２変異体の抗腫瘍効果

ＭＣ３８の腫瘍モデルにおける評価のために、Ｃ５７ＢＩ／６Ｊマウス（雌、９週齢）に６Ｅ＋５のＭＣ３８細胞を皮下注射した。６日後に治療を開始した。すなわち、マウスに、（１）緩衝液、（２）標的化ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２（１２．５μｇ／マウス）、または（３）等モル量の非標的化Ｆｃ－ＡＬＮ２（１０．７μｇ／マウス）のいずれかを６日目及び９日目に２回静脈内投与した。

・ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｄ２０Ｅ：ｍＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号４９５）　＋　ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｄ２０Ｅ（配列番号３３３）

・ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ：ｍＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号４９５）　＋　ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ（配列番号３３５）

・Ｆｃ－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ：ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号３６９）　＋　ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ（配列番号３３５）

・Ｆｃ－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ：ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号３６９）　＋　ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｄ２０Ｅ（配列番号３３２）

【０７７２】

腫瘍の大きさを週に３回測定し、平均成長曲線を図５７にプロットしたところ、Ｄ２０Ｅ系ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２は、両方の非標的化対応物による効果がない場合には、Ｎ８８Ｇ系ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２と少なくとも同程度に効率的であることを示している。

【０７７３】

例２３：ＭＣ３８の腫瘍モデルにおけるアルファ：ガンマＡＬＮ２のインビボ評価

この例では、回復可能な機能喪失型ガンマ変異と組み合わせた「ｎｏ－ａｌｐｈａ」変異の抗腫瘍効果を分析した。上述のようにして、以下の構築物を発現させ、精製し、且つ初代脾細胞におけるＳＴＡＴ５リン酸化について試験した。

・ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｑ１２６Ｇ：ｍＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号４９５）　＋　ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｑ１２６Ｇ（配列番号５２２）

・ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｑ１２６Ｉ：ｍＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号４９５）　＋　ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｑ１２６Ｉ（配列番号５２３）

・ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｑ１２６Ｙ：ｍＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号４９５）　＋　ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｑ１２６Ｙ（配列番号５２４）

【０７７４】

図５８のデータは、「ｎｏ－ａｌｐｈａ」変異とＱ１２６ＧまたはＱ１２６Ｙの組み合わせによって、同等の活性（それぞれ９０ｎｇ／ｍｌ及び１１０ｎｇ／ｍｌのＥＣ$_{50}$）及びＣＤ８陽性マウス細胞に対する選択性（Ｔｒｅｇ細胞においてｐＳＴＡＴ５をほとんど誘導しない）を有するＡＬＮ２変異体が得られたことを示している。Ｑ１２６Ｉ変異は、マウスの文脈においては、１０μｇ／ｍＬ以下の濃度では回復することができず、ほとんどすべての活性を失った変異体を生じる（これは、上述の例におけるヒトＰＢＭＣに対する影響とは対照的である）。変異体ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｑ１２６Ｇをその後インビボで評価した。

【０７７５】

インビボでの評価のために、Ｃ５７ＢＩ／６Ｊマウス（雌、９週齢）に６Ｅ＋５のＭＣ３８細胞を皮下注射した。６日後に治療を開始した。すなわち、マウスに（１）緩衝液、（２）ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２（１２．５μｇ／マウス）、（３）ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２（４．１７μｇ／マウス）、（４）等量の非標的化ＡＬＮ２（１２．５μｇ／マウス）

、または（４）等量の非標的化ＡＬＮ２（３．５７μｇ／マウス）を、６、９、及び１３日目に静脈内投与した。１７日目（すなわち最後の治療から４日後）における腫瘍サイズを、平均値±ＳＥＭ（ｎ＝７）として図５９にプロットした。図５９から明らかなように、アルファ：ガンマＡＬＮ２は、ＣＤ８標的化ＡＬＮ２の優れた効果により、用量依存的に腫瘍増殖を実質的に遅延させることが可能である。

【０７７６】

例２４：ベータ：ガンマの組み合わせのインビボ評価

上述のようにして、ＡＬＮ２変異体ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ－２＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ｇ（ｍＣＤ８　ＶＨＨ－ｈＦｃ３（配列番号４９５）　＋　ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｎ８８Ｇ＿Ｑ１２６Ｇ）をＥｘｐｉＣＨＯ中で発現させ、且つ上清から精製した。

・ｈＦｃ４－ＩＬ－２＿Ｒ３８Ａ＿Ｆ４２Ｋ＿Ｎ８８Ｇ＿Ｃ１２５Ａ＿Ｑ１２６Ｇ（配列番号５３１）

【０７７７】

インビボでの評価のために、Ｃ５７ＢＩ／６Ｊマウス（雌、９週齢）に６Ｅ＋５のＭＣ３８細胞を皮下注射した。６日後に治療を開始した。すなわち、マウスに（１）緩衝液、（２）ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２（４．１７μｇ／マウス）、（３）ＣＤ８－Ｆｃ－ＡＬＮ２（１．４μｇ／マウス）、（４）等量の非標的化ＡＬＮ２（３．５７μｇ／マウス）、または（４）等量の非標的化ＡＬＮ２（１．１９μｇ／マウス）を６、９、及び１３日目に投与した。１７日目（すなわち最後の治療から４日後）における腫瘍サイズを、平均値±ＳＥＭ（ｎ＝７）として図６０にプロットした。図６０から明らかなように、ベータ：ガンマＡＬＮ２は、ＣＤ８標的化ＡＬＮ２の優れた効果により、用量依存的に腫瘍増殖を実質的に遅延させることが可能である。

【０７７８】

例２５：ＩＬ－２Ｒα鎖を発現する細胞を特異的に標的化するＩＬ－２変異体のスクリーニング

上述の例においては、ベータ（Ｄ２０またはＮ８８）減弱化変異及びガンマ（Ｑ１２６）減弱化変異を組み合わせて、インタクトなＩＬ－２Ｒα結合部位を有するベータ：ガンマＡＬＮ２変異体を作製し、且つＣＤ８標的化を使用して、活性化ＣＤ８陽性細胞、例えばＴｒｅｇに対する選択性を向上させた。残念ながら、かかるＡＬＮ２変異体は発現が不十分であった。そこで、ベータ変異とガンマ変異の組み合わせに代わるものとして、例３において回復不能と思われたベータ変異（Ｄ２０及びＮ８８）を再度スクリーニングした。例３におけるベータ変異体の初期スクリーニングは、ＩＬ－２Ｒα発現に対して陰性である「休止」または非活性化ＣＤ８陽性ＰＢＭＣに対して実施した。この例では、上記Ｄ２０及びＮ８８変異体を、機能性三量体のアルファ：ベータ：ガンマＩＬ－２受容体を発現する細胞に対して再度スクリーニングを行った。この目的のために、ヒトＣＤ８（ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ　ＣＤ８）またはヒトＮＫｐ４６（ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ　ＮＫｐ４６）のいずれかを安定的に発現するＨＥＫ－Ｂｌｕｅ　ＩＬ－２細胞（ＩｎｖｉｖｏＧｅｎ）におけるシグナル伝達を分析した。Ｄ２０変異体（図６１）及びＮ８８変異体（図６２）のデータは、驚くべきことに、多くの変異体（例えば、Ｄ２０Ｆ、Ｄ２０Ｇ、Ｄ２０Ｈ、Ｄ２０Ｉ、Ｄ２０Ｋ、Ｄ２０Ｌ、Ｄ２０Ｎ、Ｎ８８Ｅ、Ｎ８８Ｉ、Ｎ８８Ｋ、Ｎ８８Ｑ、Ｎ８８Ｒ、及びＮ８８Ｖ）について、シグナル伝達の明確な減衰があり（ＣＤ８－Ｆｃ－ＩＬ２と比較して）、この活性の低下は、少なくとも部分的に、ＣＤ８標的化時に回復した（ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ　ＣＤ８細胞対ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ　ＮＫｐ４６細胞）一方で、機能性二量体のベータ：ガンマＩＬ－２受容体に対するスクリーニングでは、これらの変異体には上記は当て嵌まらなかった。

【０７７９】

等価物

本発明をその特定の実施形態と関連付けて説明してきたが、その実施形態はさらに修正が可能であり、本出願は、一般的に、本発明の原理に従った本発明の任意の変形、使用、または改変を包含することが意図され、本発明が属する技術分野内の公知のまたは常習的

な慣行の範囲に入る、及び本明細書に上述した且つ以下の添付の特許請求の範囲に入る本質的な特徴に該当し得るような、本開示からの乖離を含むものと理解されよう。

【０７８０】

当業者であれば、本明細書で具体的に記載された特定の実施形態に対する多数の等価物を、日常的な実験のみを用いて認識し、または確認することが可能であろう。かかる等価物は、添付の特許請求の範囲内に包含されることが意図される。

【０７８１】

援用

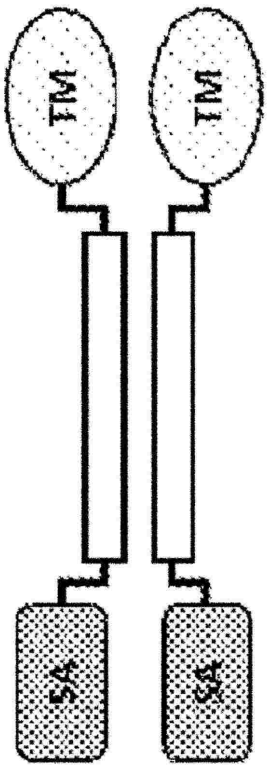
本明細書で引用される全ての特許及び刊行物は、本記述をもってそれらの全体が本明細書に援用される。本明細書において議論される刊行物は、単に本出願の出願日に先行してそれらが開示されているという理由で提示されている。本明細書中に記載の刊行物のいずれもが、先行発明との理由で、本発明がかかる刊行物に先行する権利がないことを容認すると解釈されるべきものではない。

【０７８２】

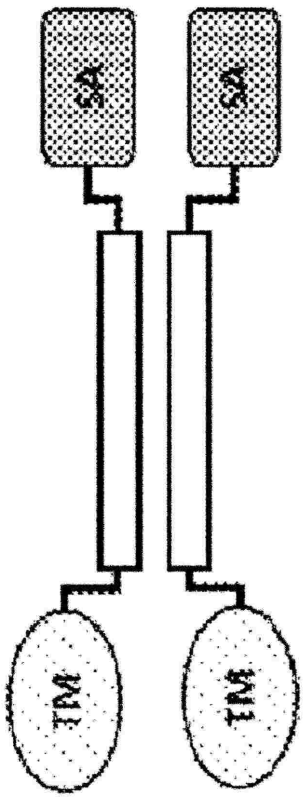
本明細書で使用される全ての見出しは、単に構成上の理由によるものであり、如何なる形態にせよ、本開示を限定することを意図するものではない。任意且つ個別の節の内容は、等しく全ての節に適用することができる。

【図面】

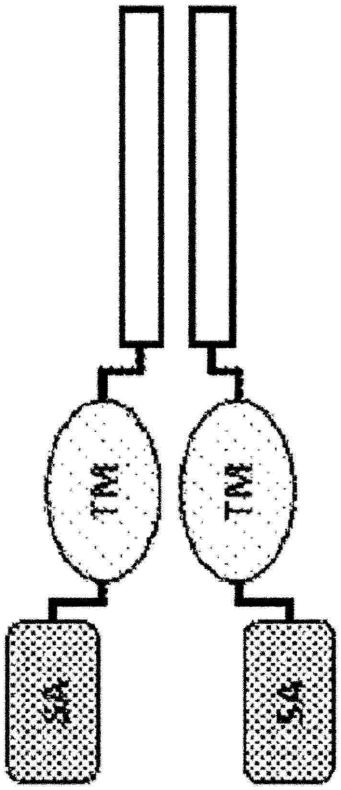
【図１Ａ】



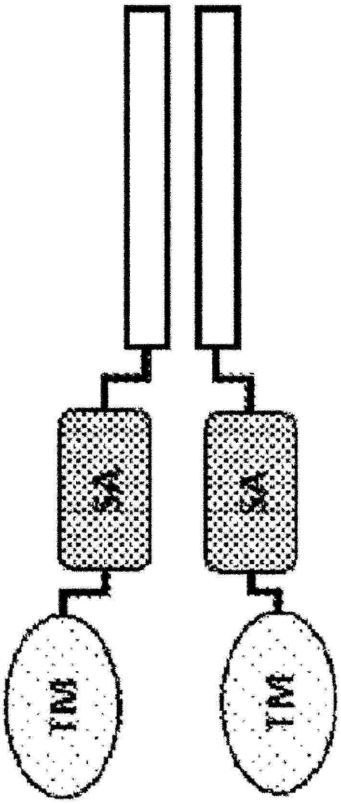
【図１Ｂ】



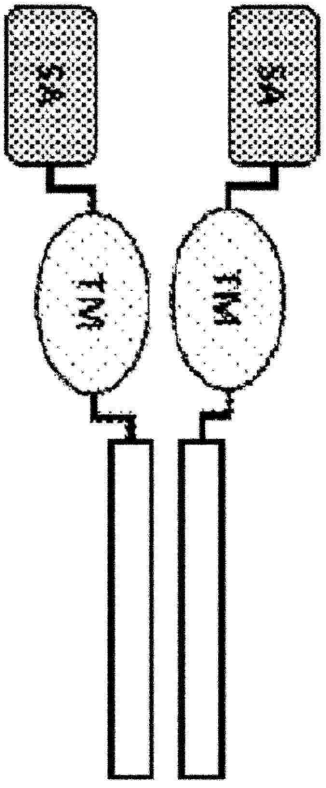
【図１Ｃ】



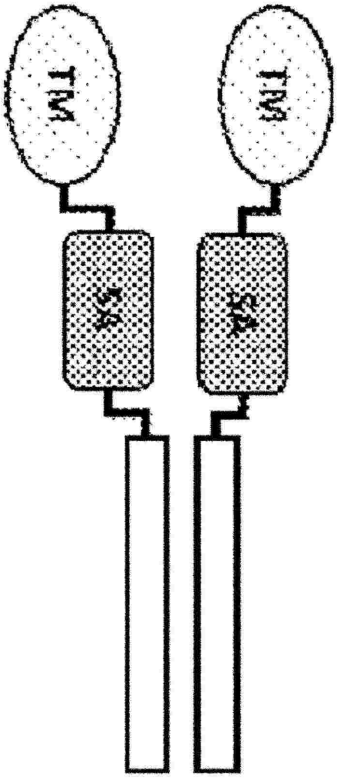
【図１Ｄ】



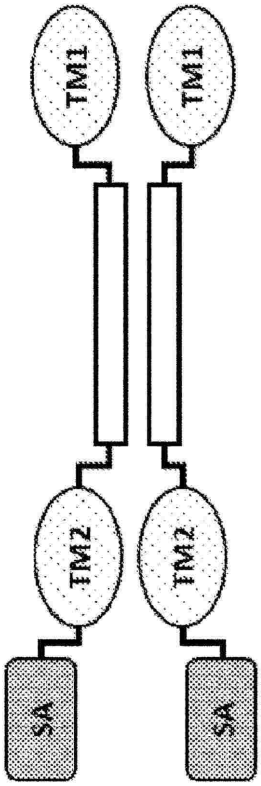
【図１Ｅ】



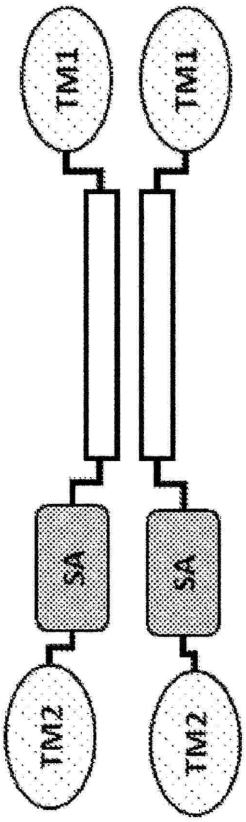
【図１Ｆ】



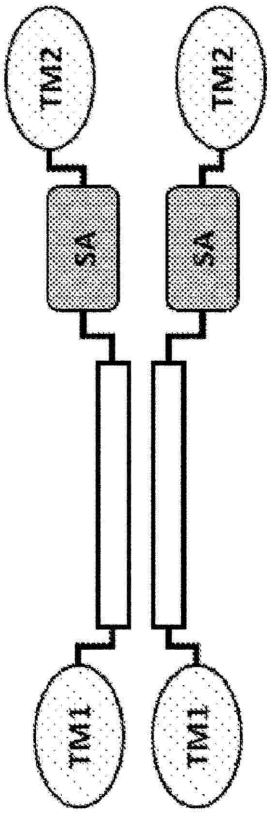
【図２Ａ】



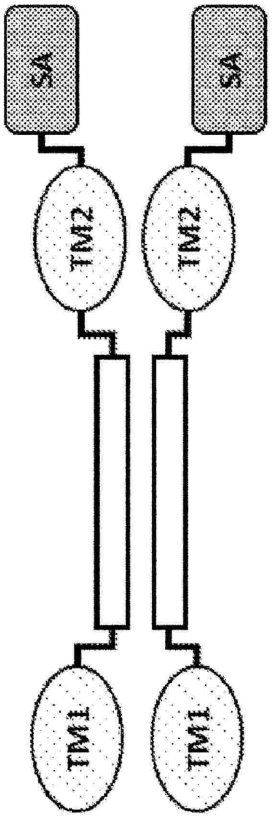
【図２Ｂ】



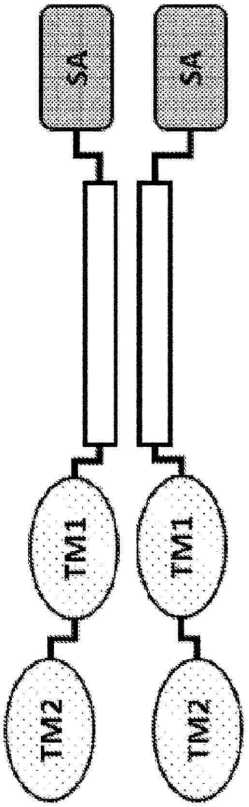
【図２Ｃ】



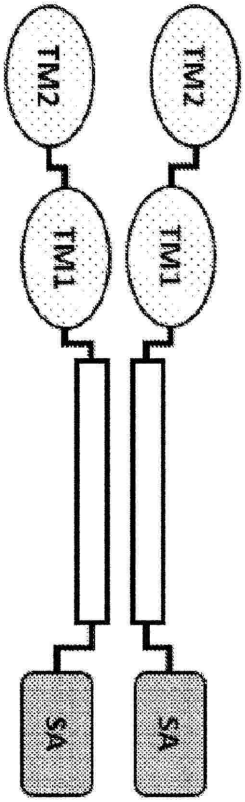
【図２Ｄ】



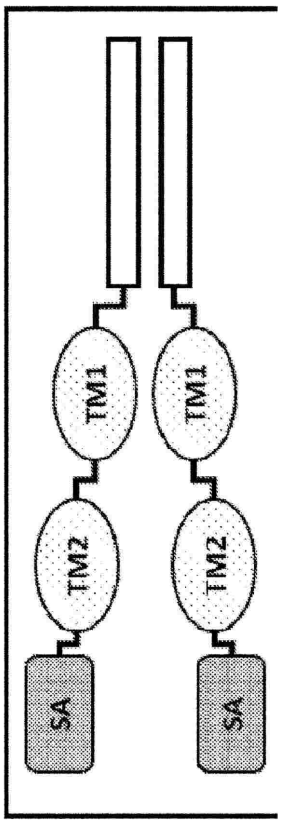
【図２Ｅ】



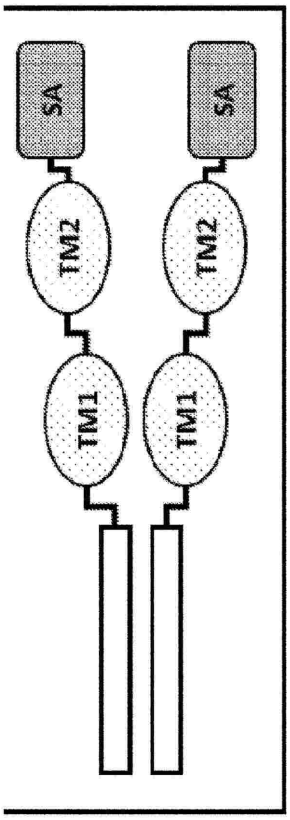
【図２Ｆ】



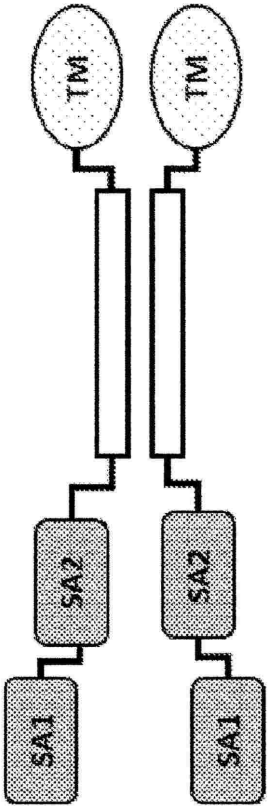
【図２Ｇ】



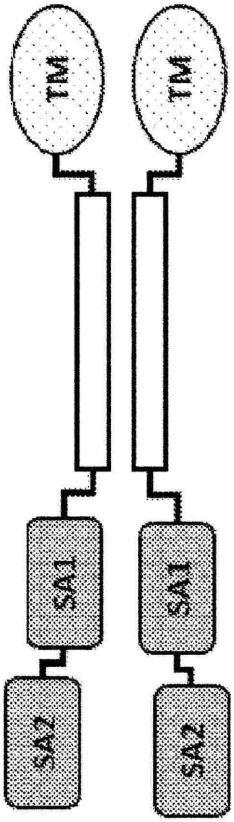
【図２Ｈ】



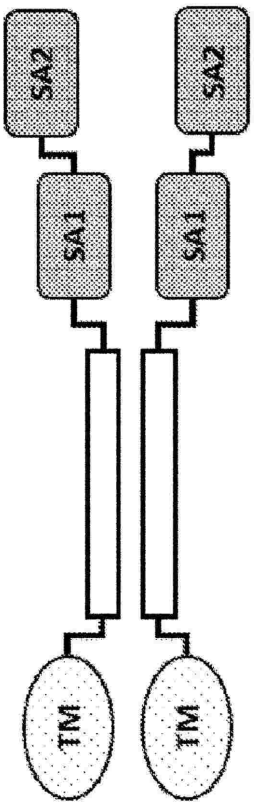
【図３Ａ】



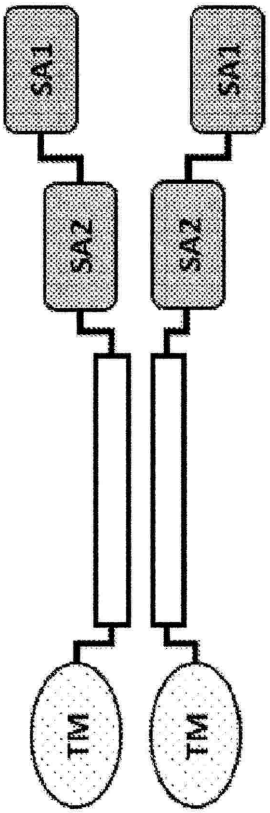
【図３Ｂ】



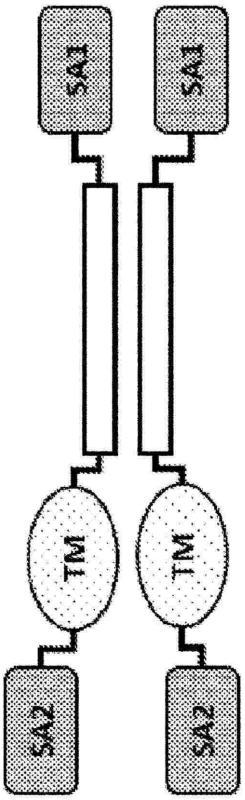
【図３Ｃ】



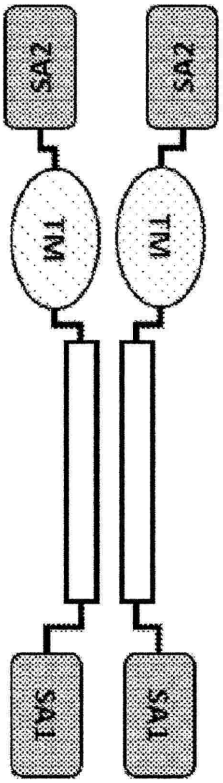
【図３Ｄ】



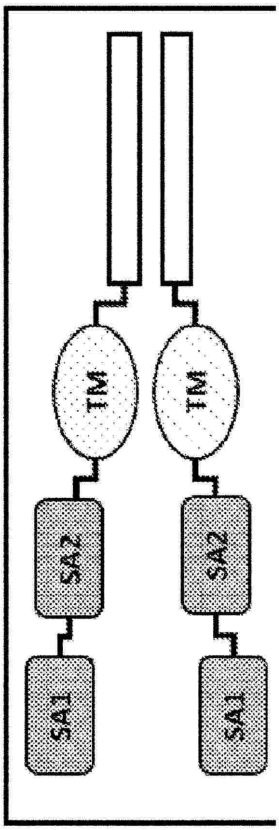
【図３Ｅ】



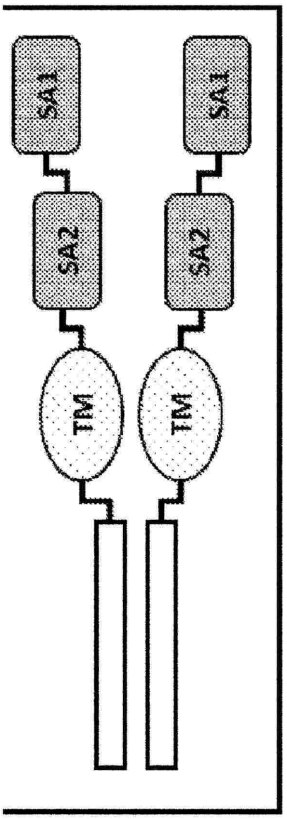
【図３Ｆ】



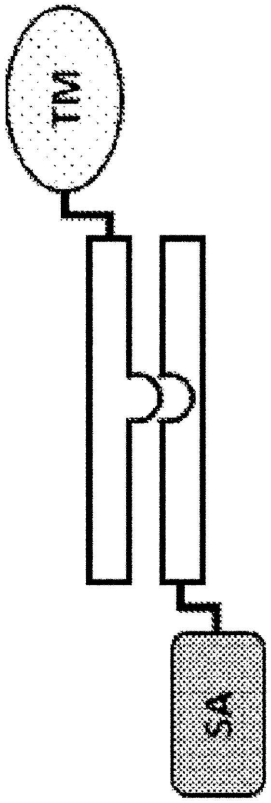
【図３Ｇ】



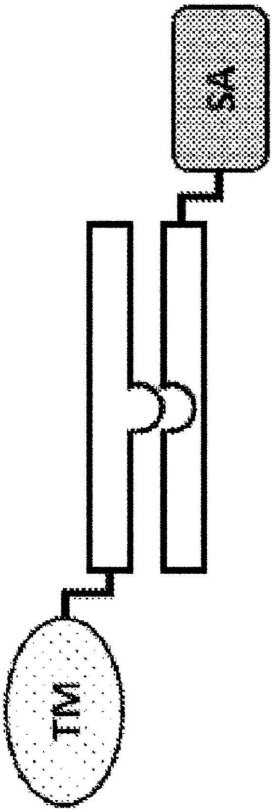
【図３Ｈ】



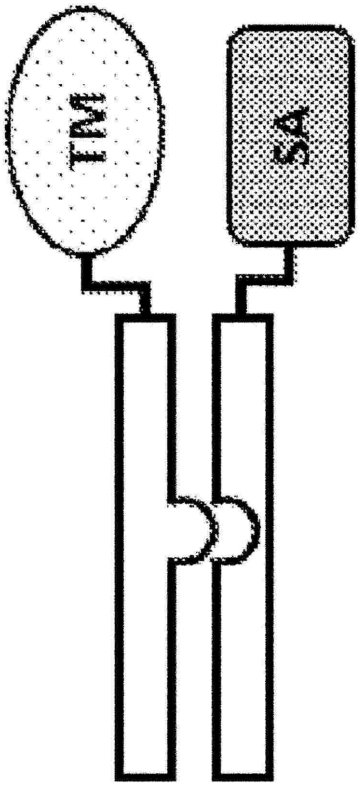
【図４Ａ】



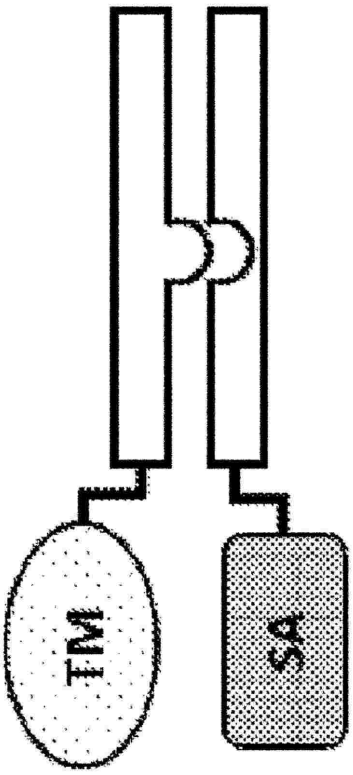
【図４Ｂ】



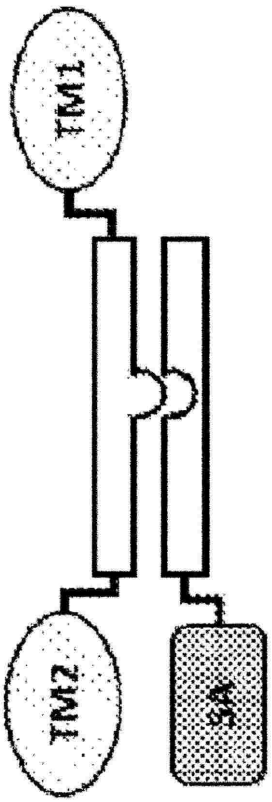
【図４Ｃ】



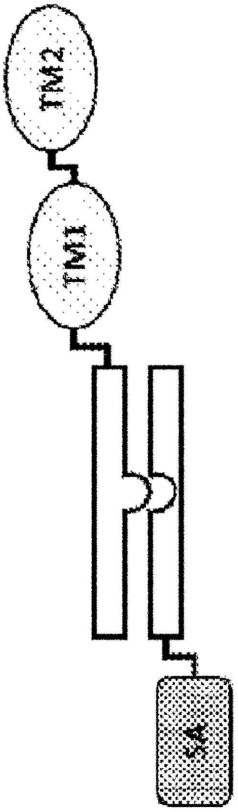
【図４Ｄ】



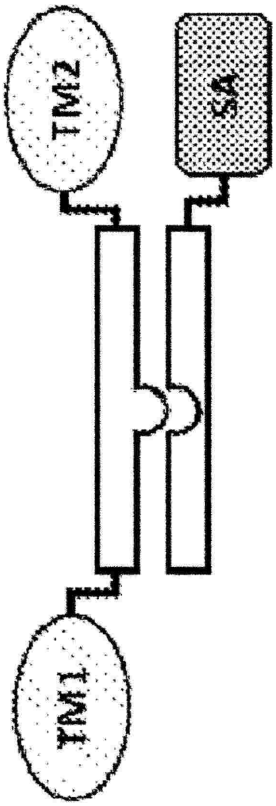
【図５Ａ】



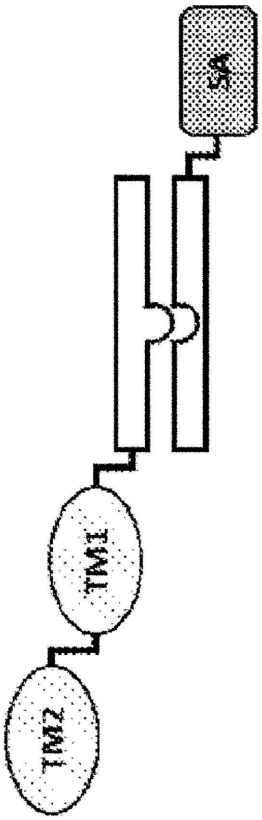
【図５Ｂ】



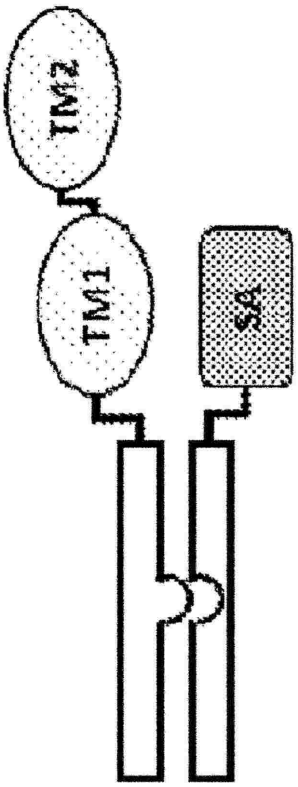
【図５Ｃ】



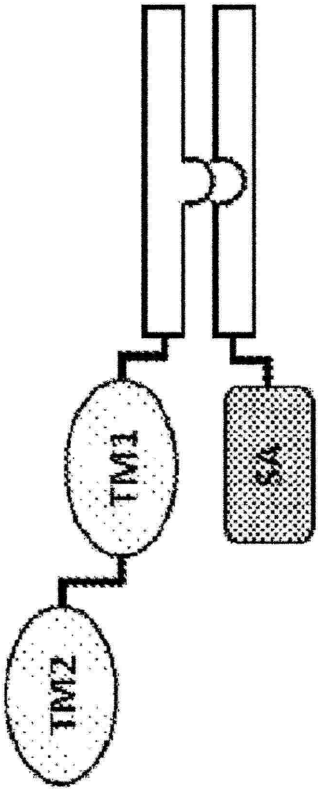
【図５Ｄ】



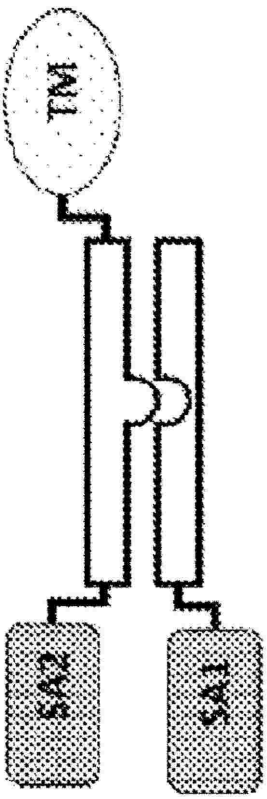
【図５Ｅ】



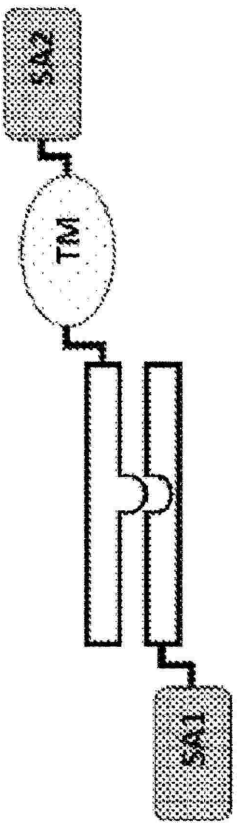
【図５Ｆ】



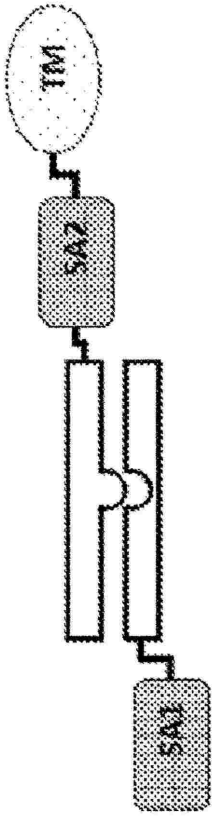
【図６Ａ】



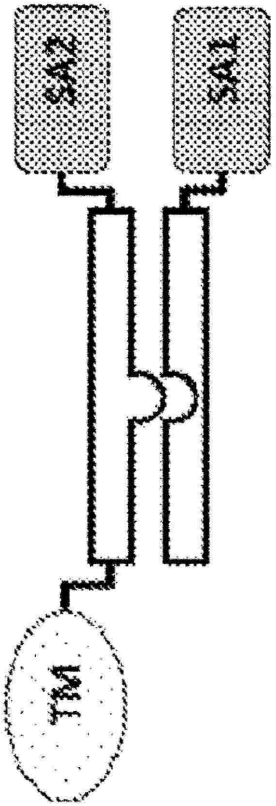
【図６Ｂ】



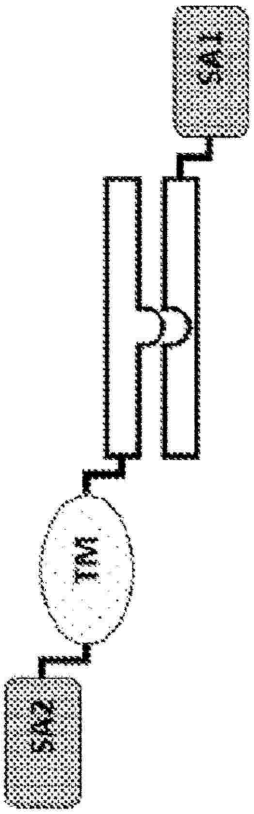
【図６Ｃ】



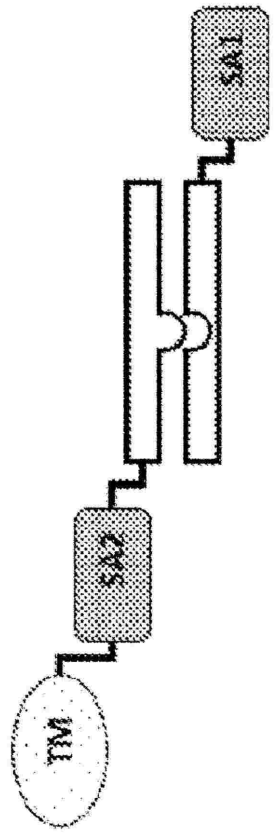
【図６Ｄ】



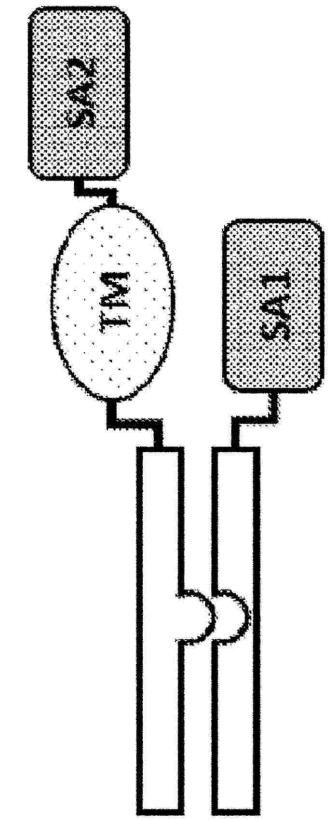
【図６Ｅ】



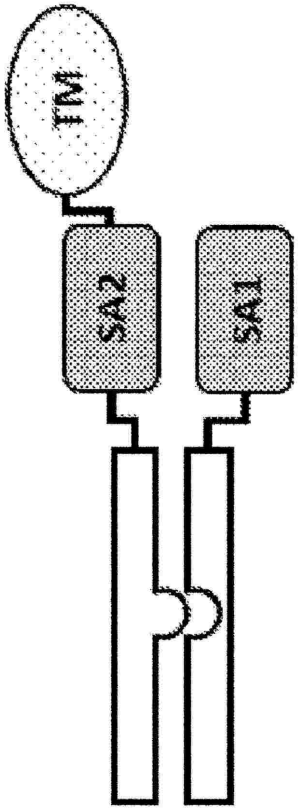
【図６Ｆ】



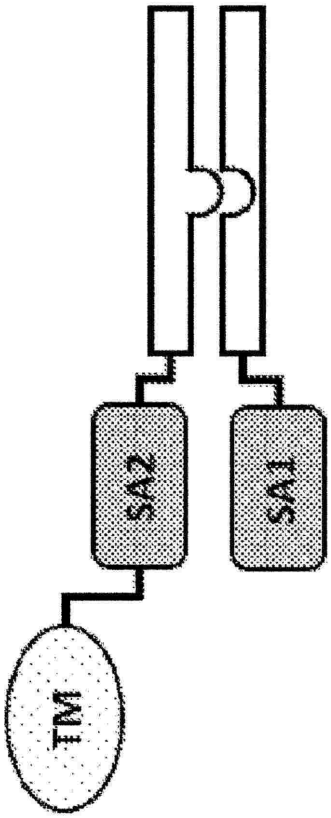
【図６Ｇ】



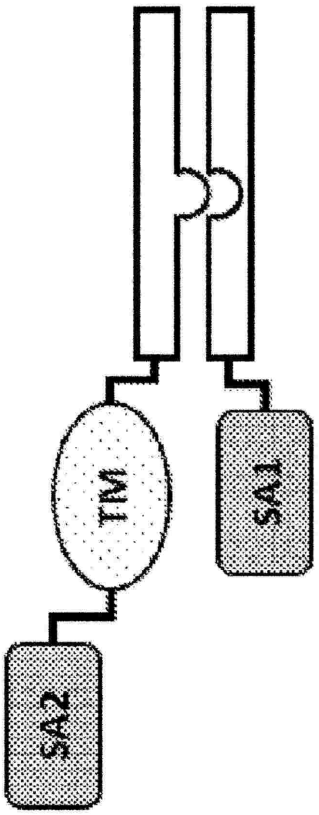
【図６Ｈ】



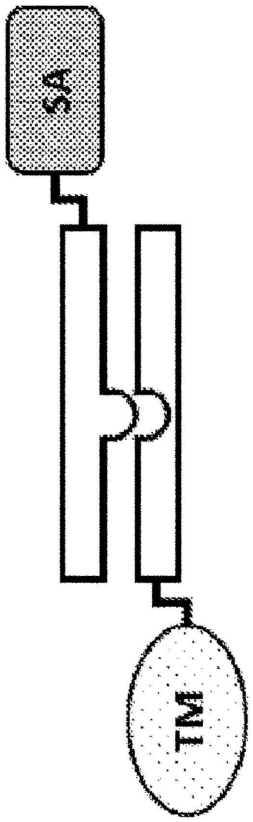
【図６Ｉ】



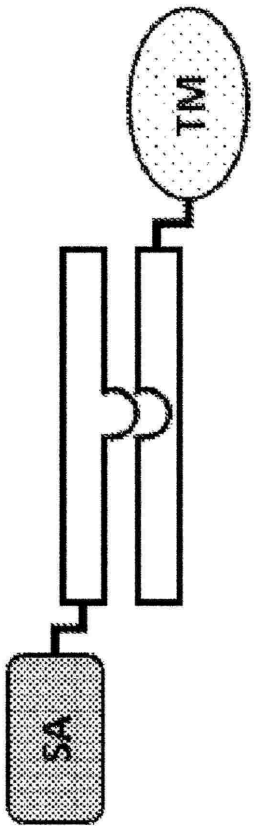
【図６Ｊ】



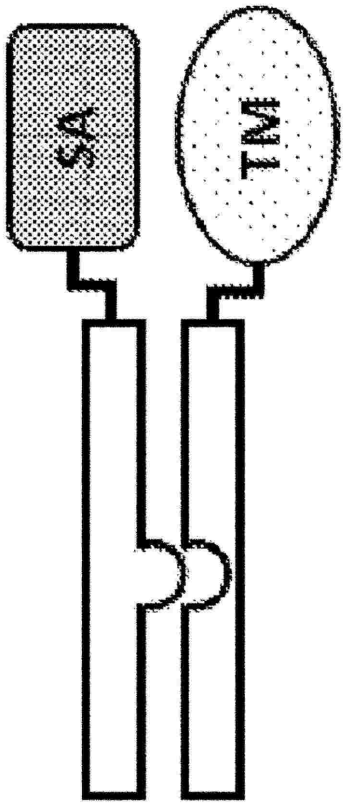
【図７Ａ】



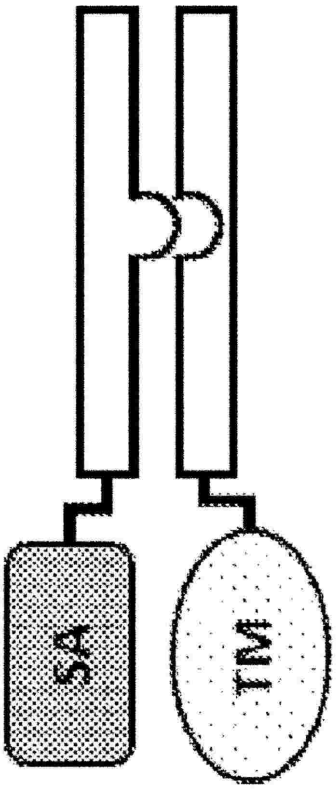
【図７Ｂ】



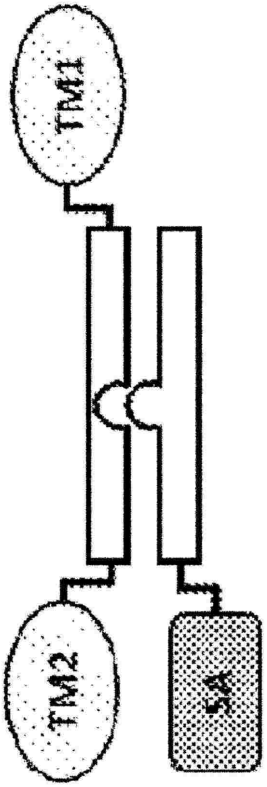
【図７Ｃ】



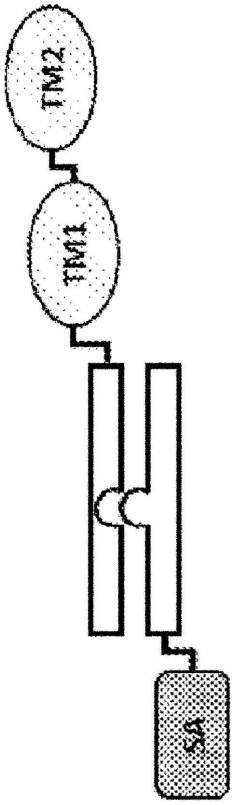
【図７Ｄ】



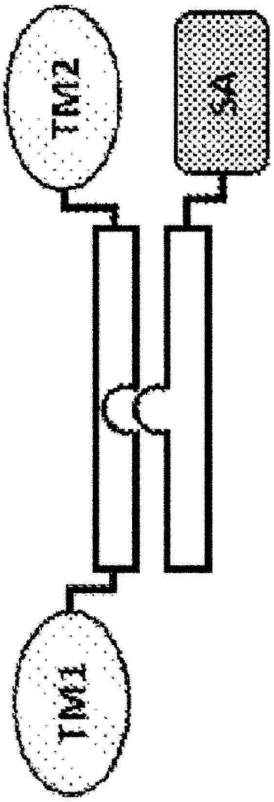
【図８Ａ】



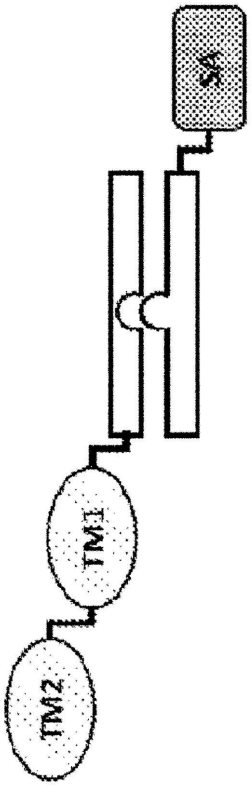
【図８Ｂ】



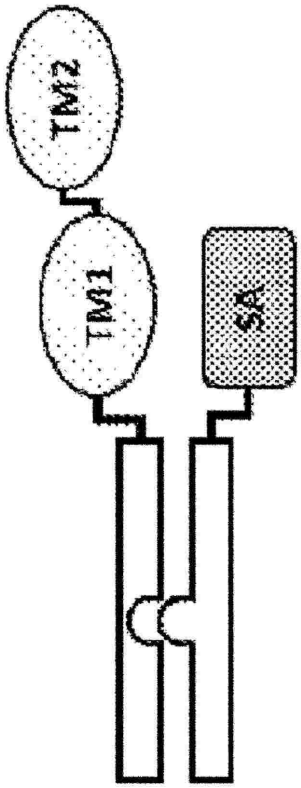
【図８Ｃ】



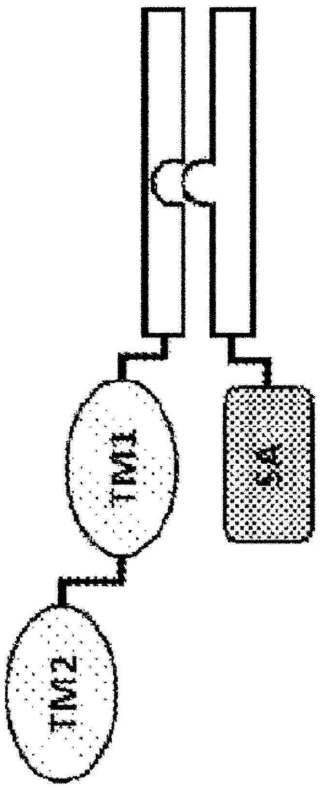
【図８Ｄ】



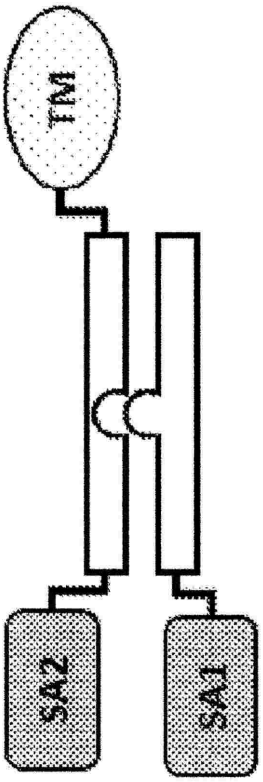
【図８Ｅ】



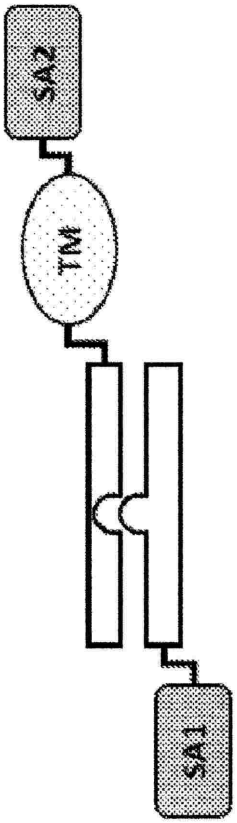
【図８Ｆ】



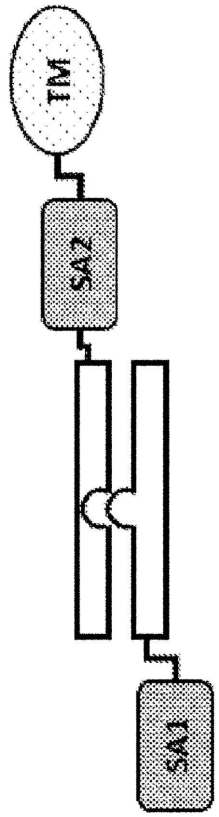
【図９Ａ】



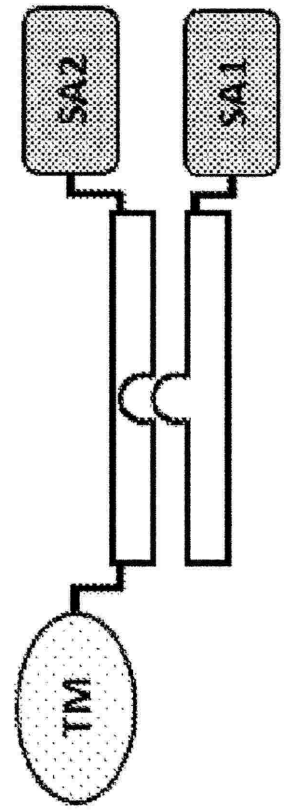
【図９Ｂ】



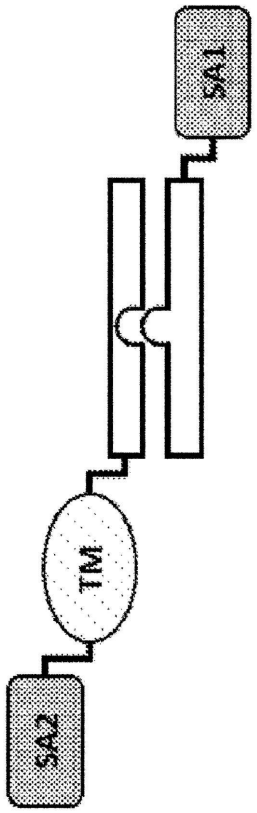
【図９Ｃ】



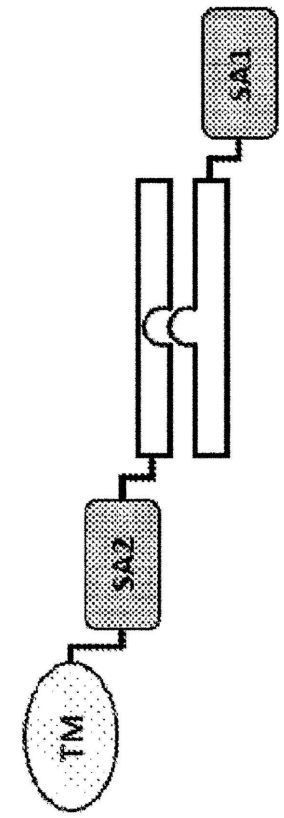
【図９Ｄ】



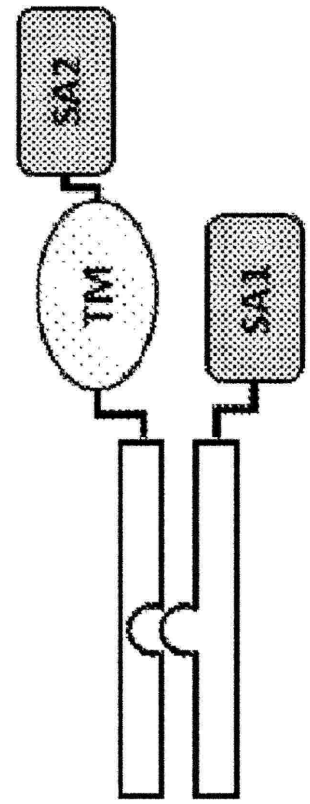
【図９Ｅ】



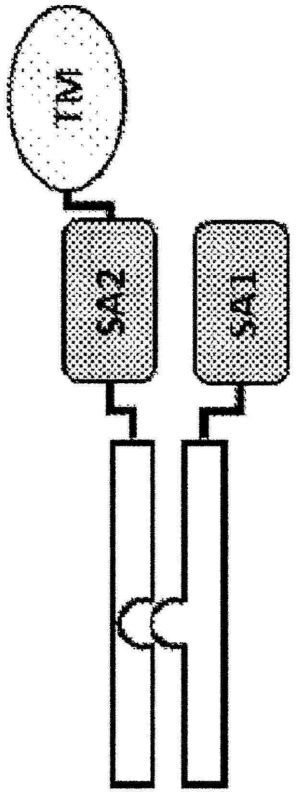
【図９Ｆ】



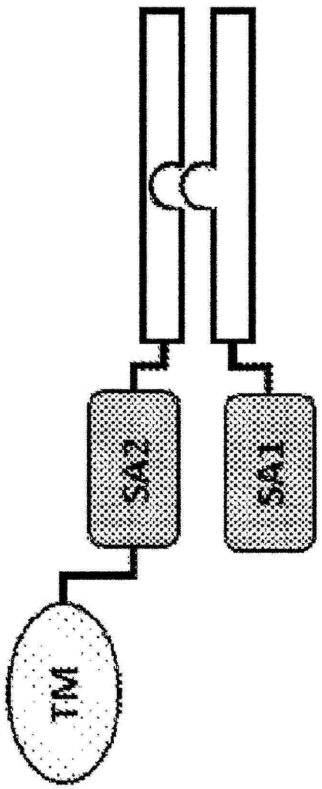
【図９Ｇ】



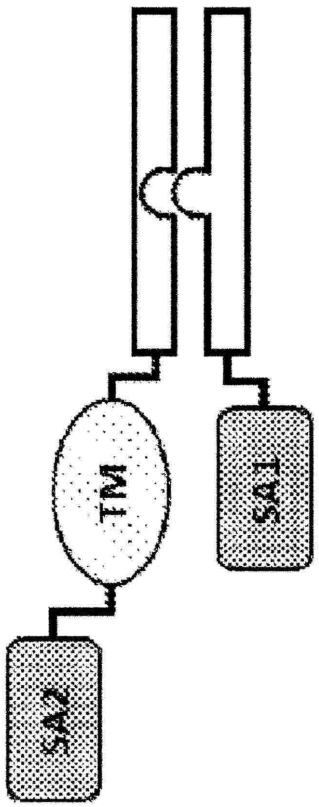
【図９Ｈ】



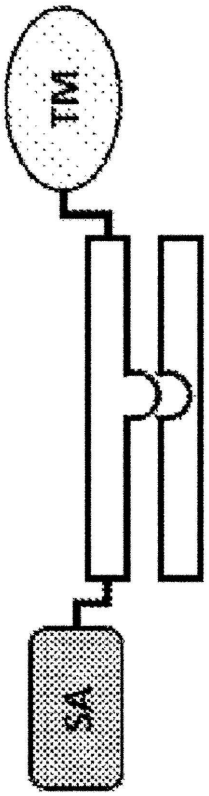
【図９Ｉ】



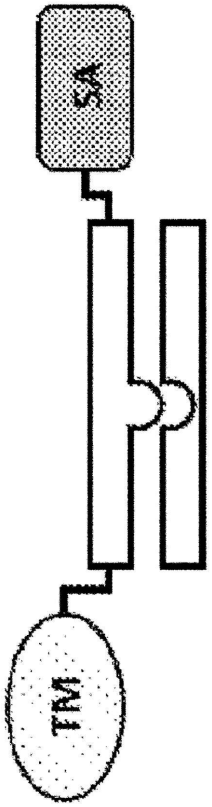
【図９Ｊ】



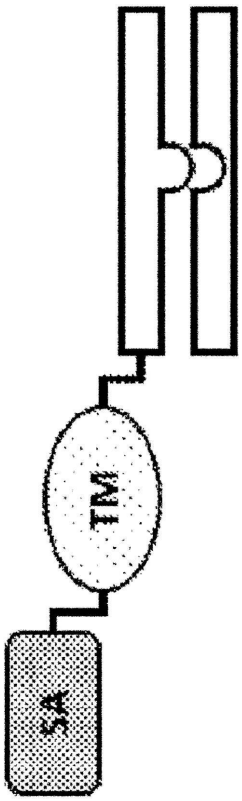
【図１０Ａ】



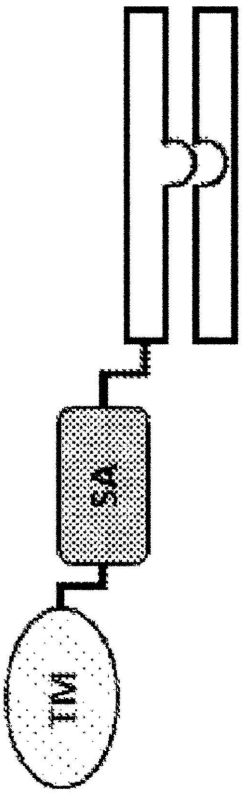
【図１０Ｂ】



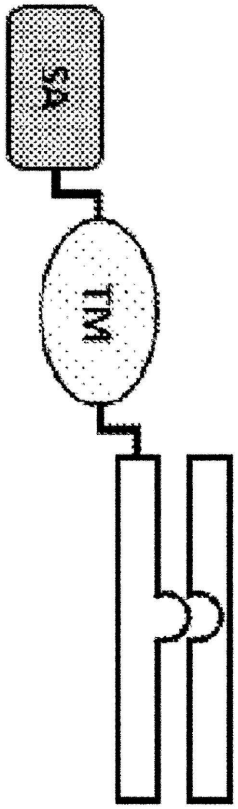
【図１０Ｃ】



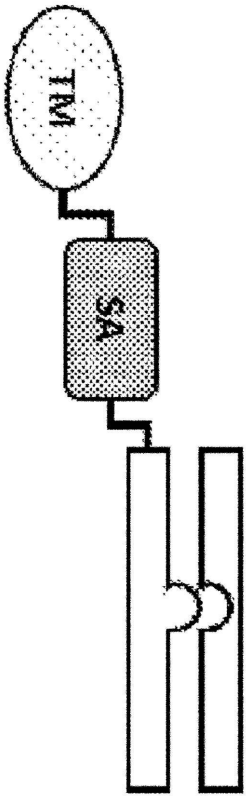
【図１０Ｄ】



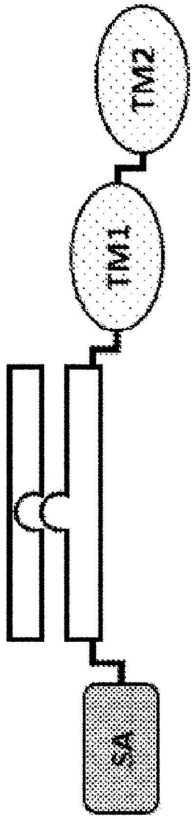
【図１０Ｅ】



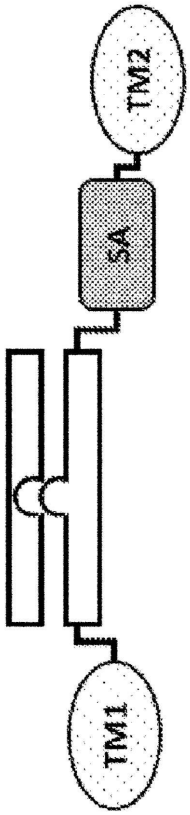
【図１０Ｆ】



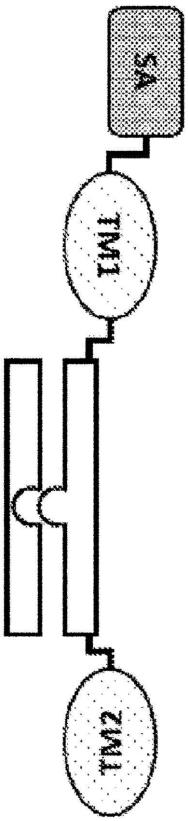
【図１１Ａ】



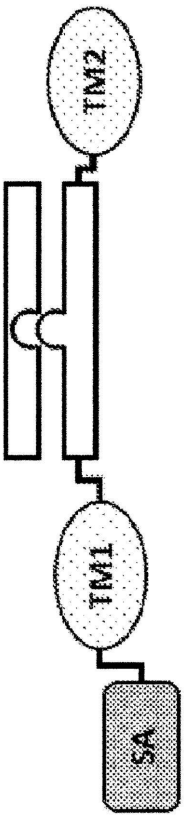
【図１１Ｂ】



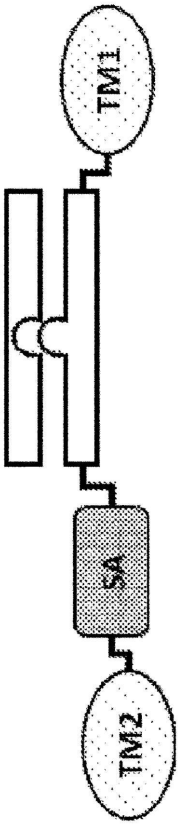
【図１１Ｃ】



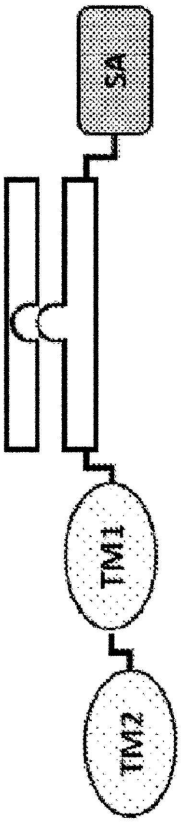
【図１１Ｄ】



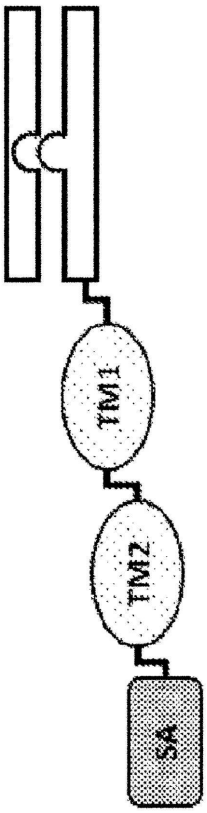
【図１１Ｅ】



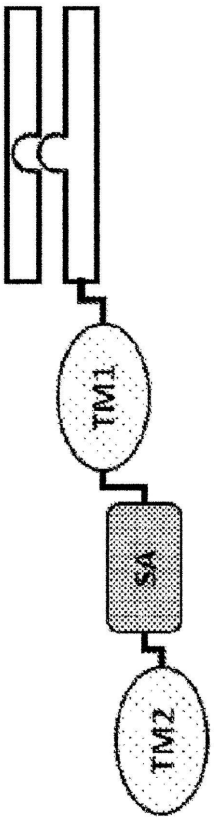
【図１１Ｆ】



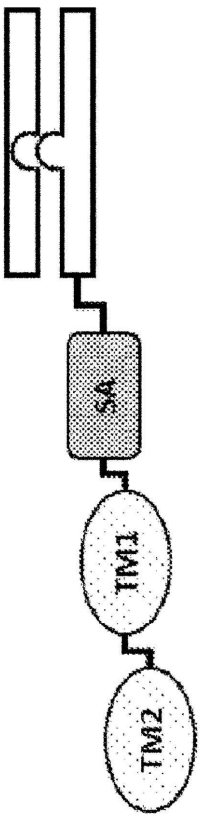
【図１１Ｇ】



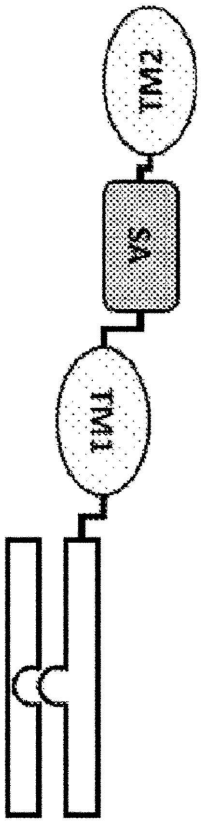
【図１１Ｈ】



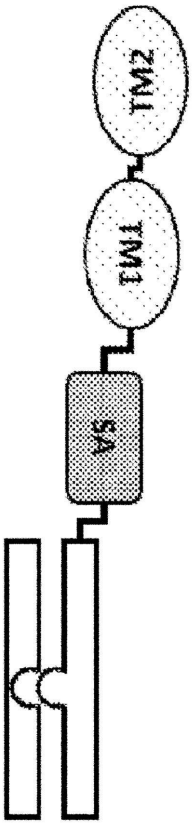
【図１１Ｉ】



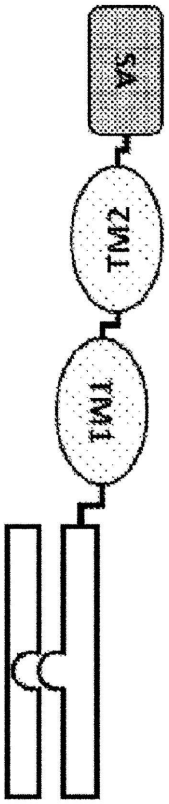
【図１１Ｊ】



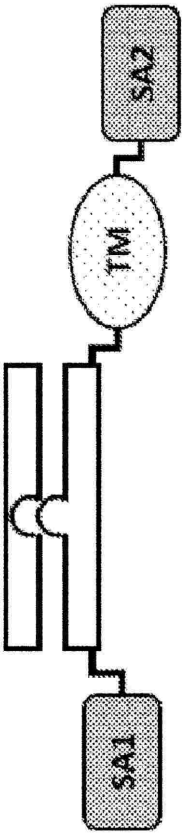
【図１１Ｋ】



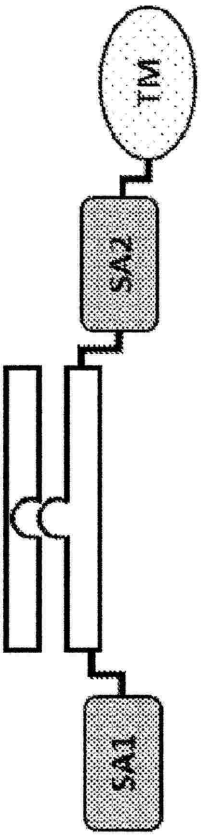
【図１１Ｌ】



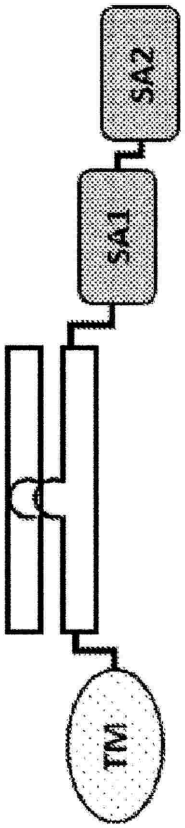
【図１２Ａ】



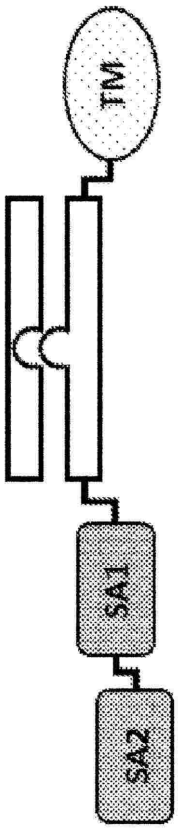
【図１２Ｂ】



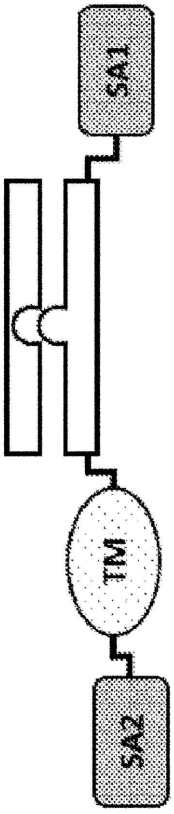
【図１２Ｃ】



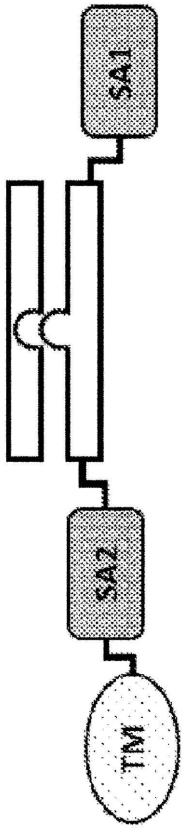
【図１２Ｄ】



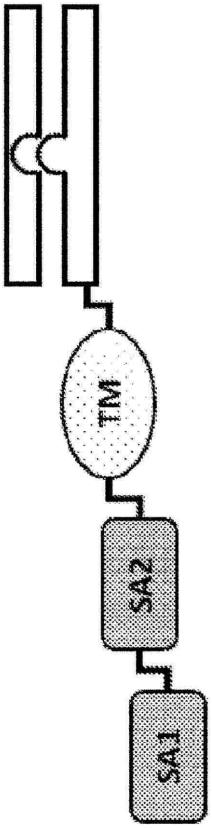
【図１２Ｅ】



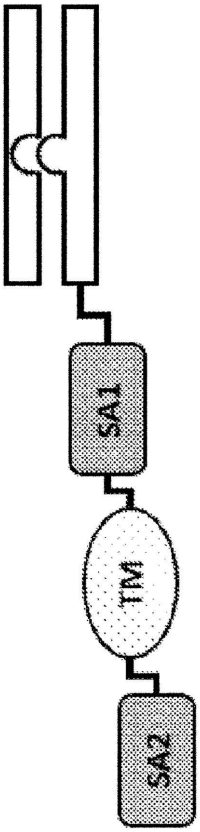
【図１２Ｆ】



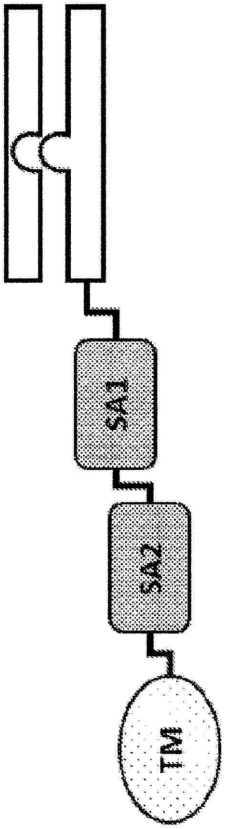
【図１２Ｇ】



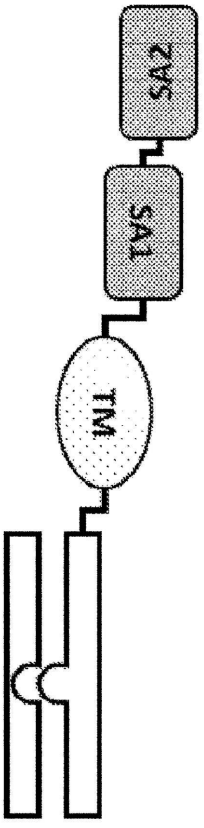
【図１２Ｈ】



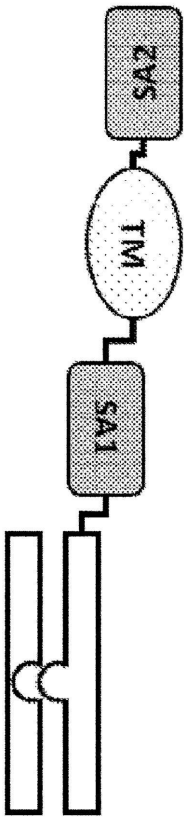
【図１２Ｉ】



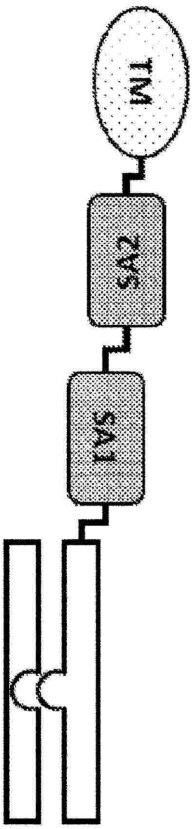
【図１２Ｊ】



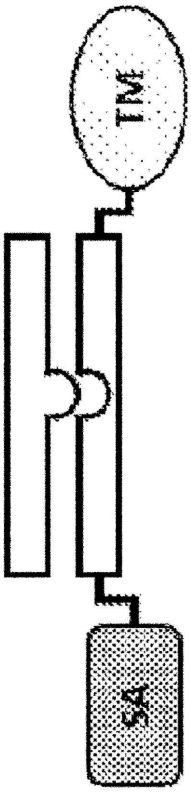
【図１２Ｋ】



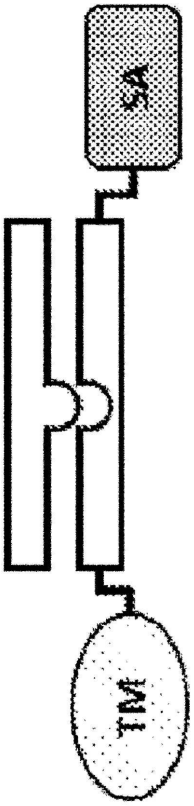
【図１２Ｌ】



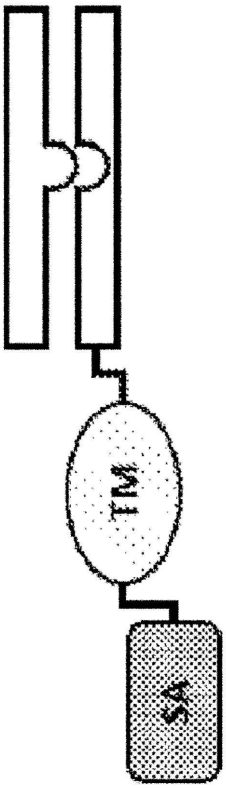
【図１３Ａ】



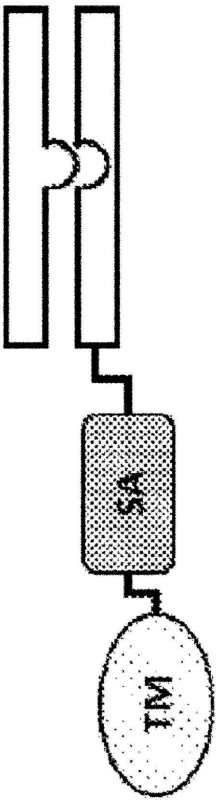
【図１３Ｂ】



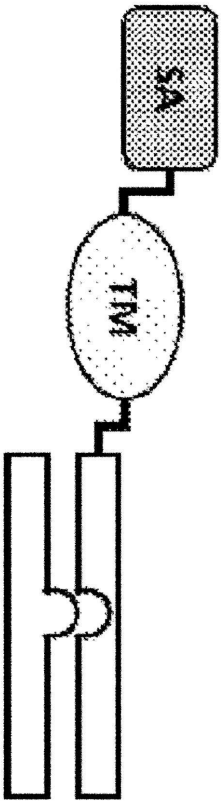
【図１３Ｃ】



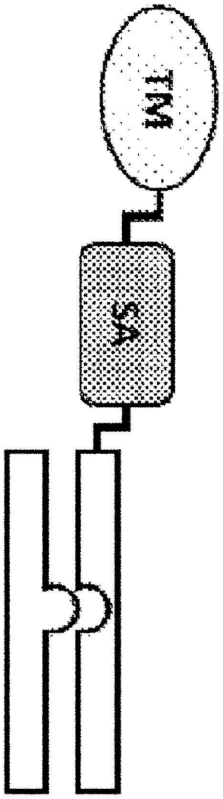
【図１３Ｄ】



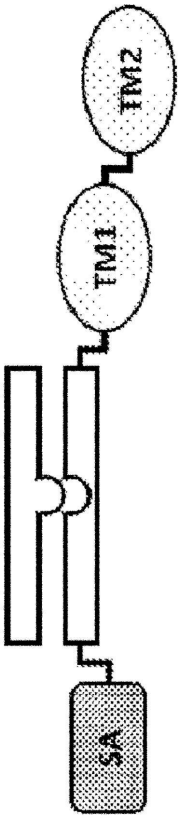
【図１３Ｅ】



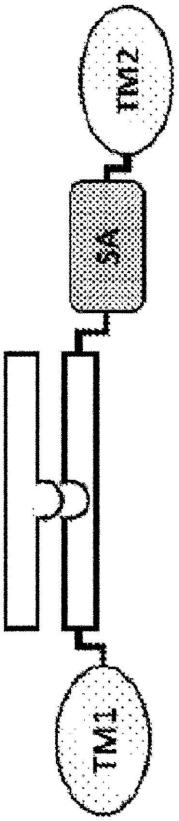
【図１３Ｆ】



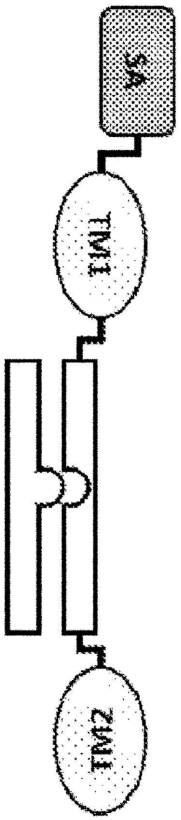
【図１４Ａ】



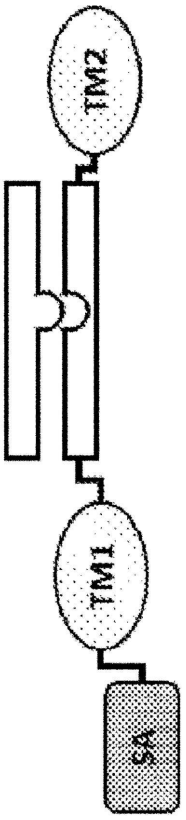
【図１４Ｂ】



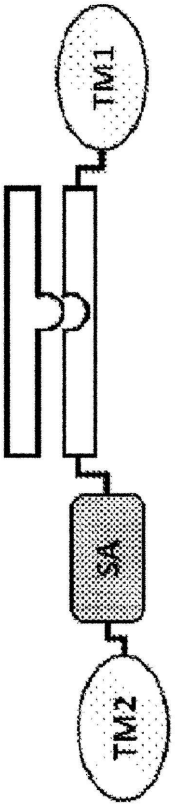
【図１４Ｃ】



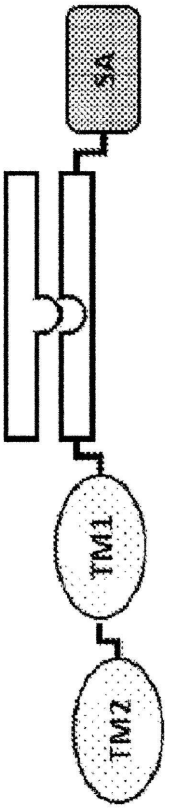
【図１４Ｄ】



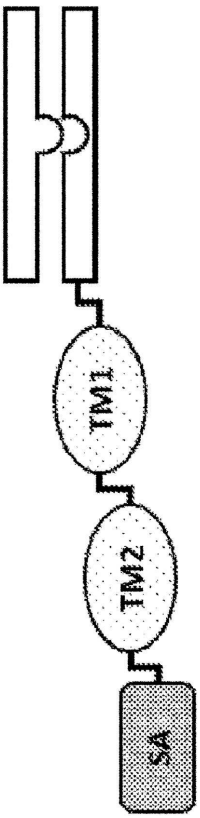
【図１４Ｅ】



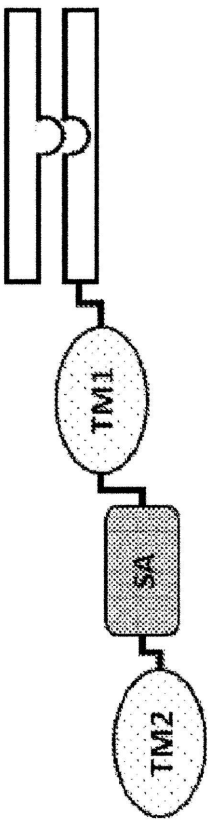
【図１４Ｆ】



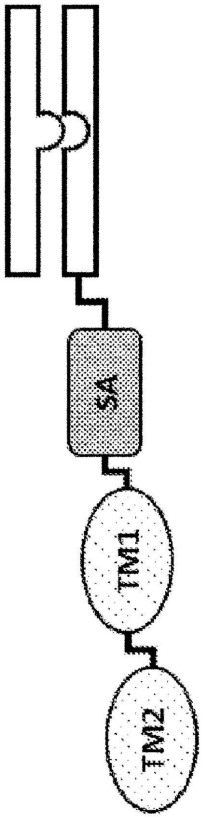
【図１４Ｇ】



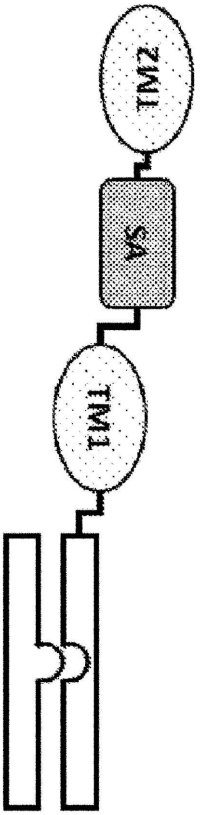
【図１４Ｈ】



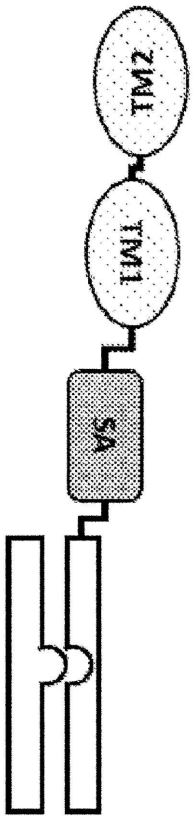
【図１４Ｉ】



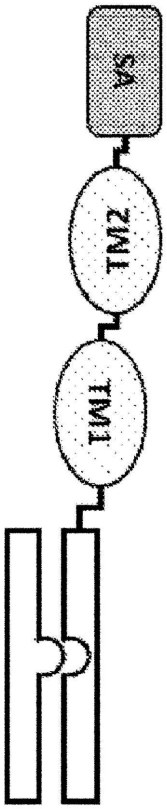
【図１４Ｊ】



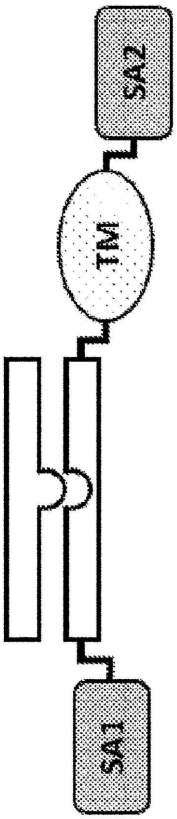
【図１４Ｋ】



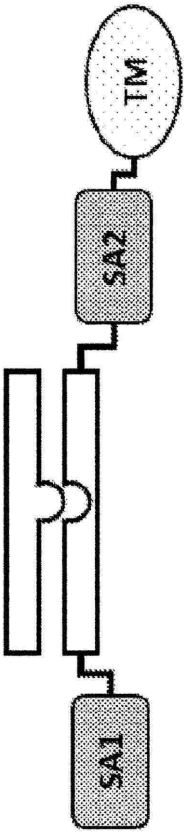
【図１４Ｌ】



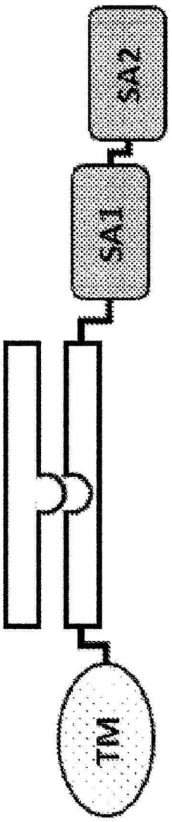
【図１５Ａ】



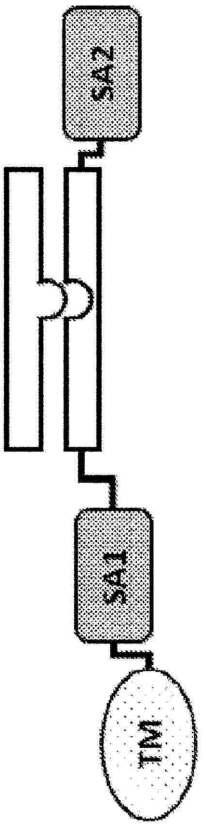
【図１５Ｂ】



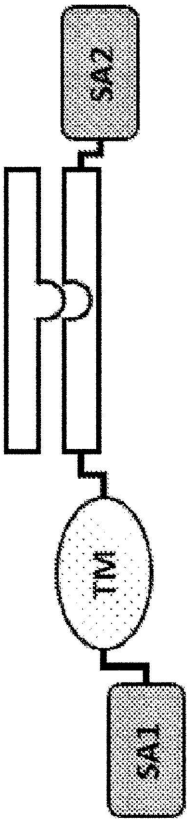
【図１５Ｃ】



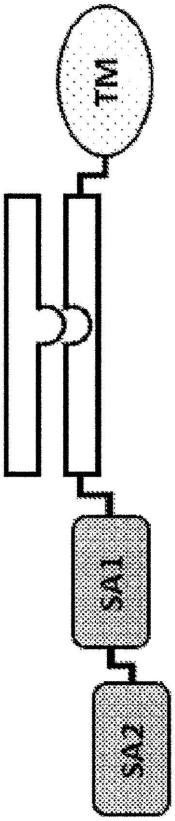
【図１５Ｄ】



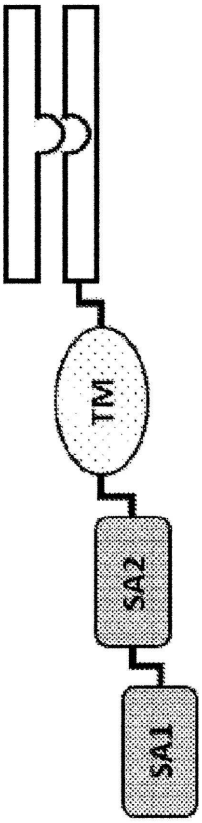
【図１５Ｅ】



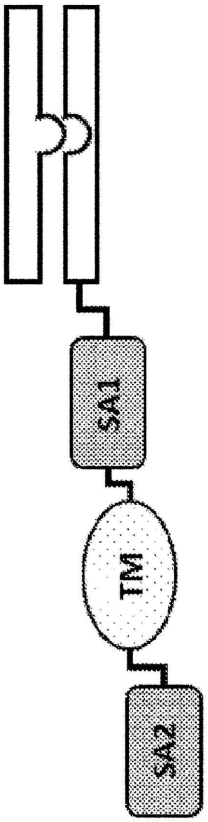
【図１５Ｆ】



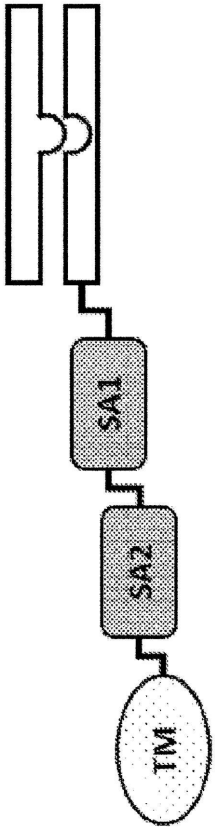
【図１５Ｇ】



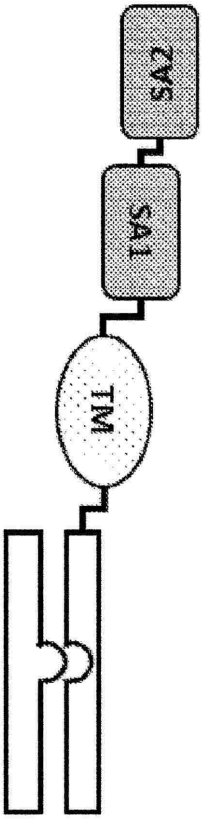
【図１５Ｈ】



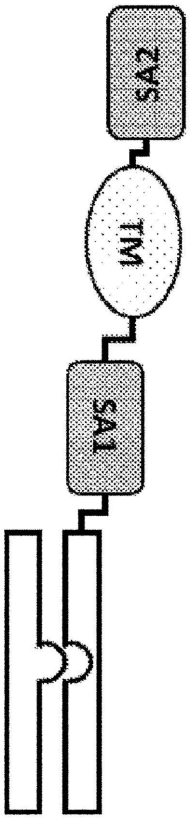
【図１５Ｉ】



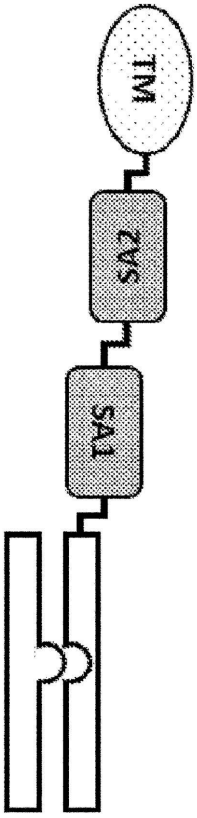
【図１５Ｊ】



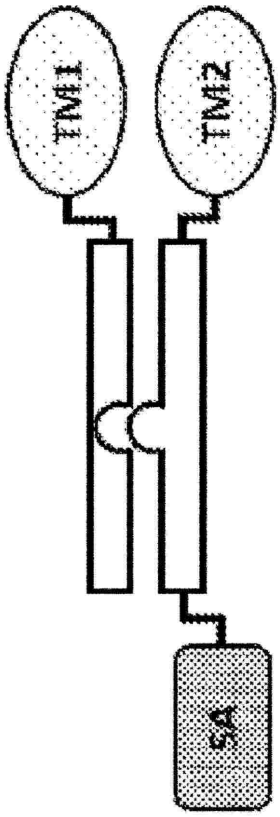
【図１５Ｋ】



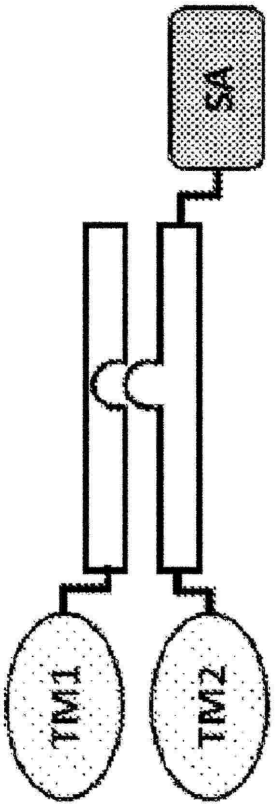
【図１５Ｌ】



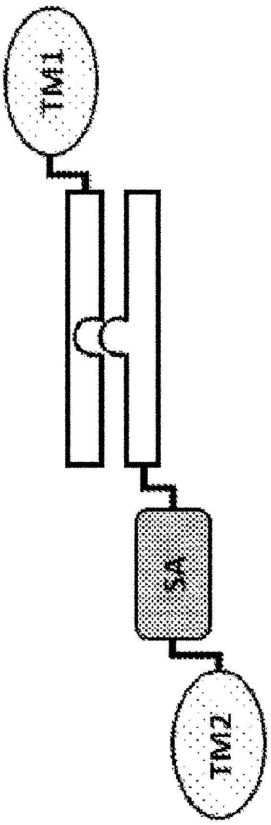
【図１６Ａ】



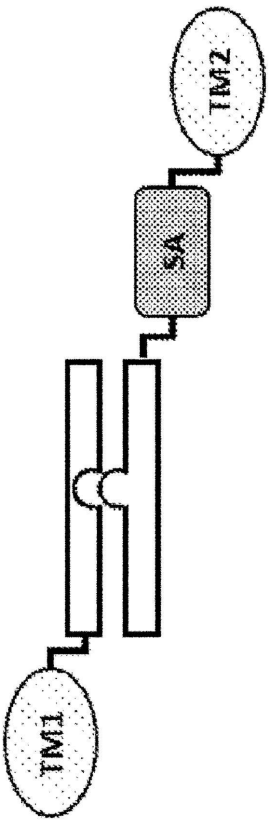
【図１６Ｂ】



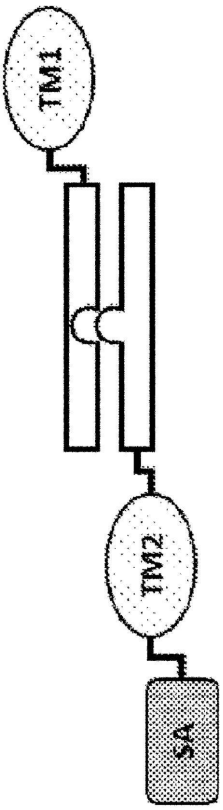
【図１６Ｃ】



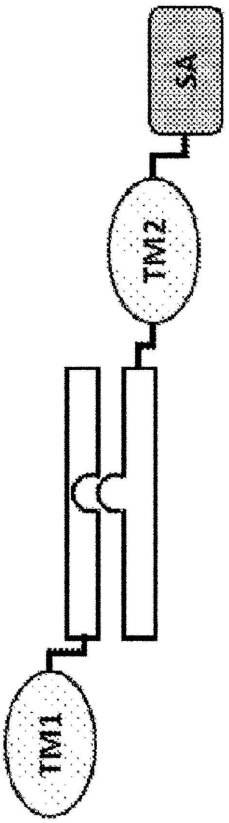
【図１６Ｄ】



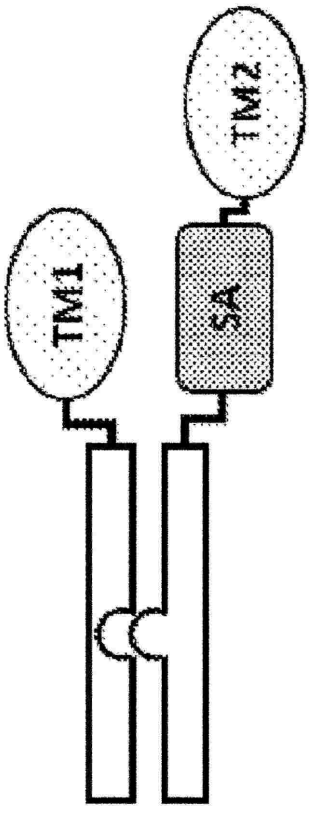
【図１６Ｅ】



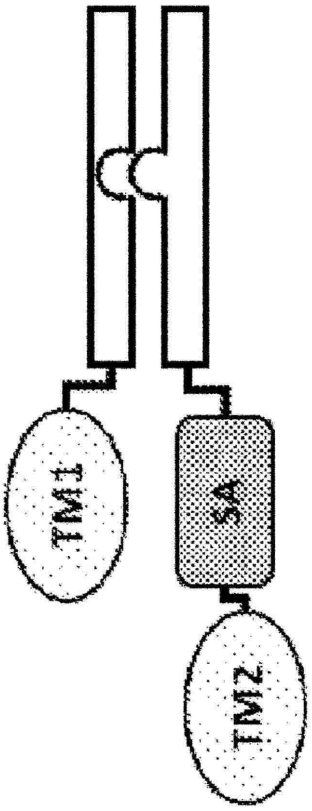
【図１６Ｆ】



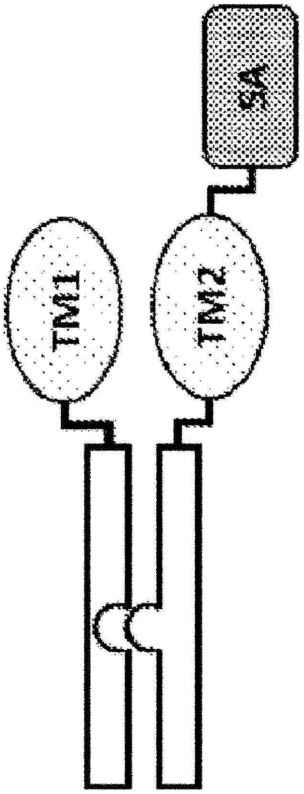
【図１６Ｇ】



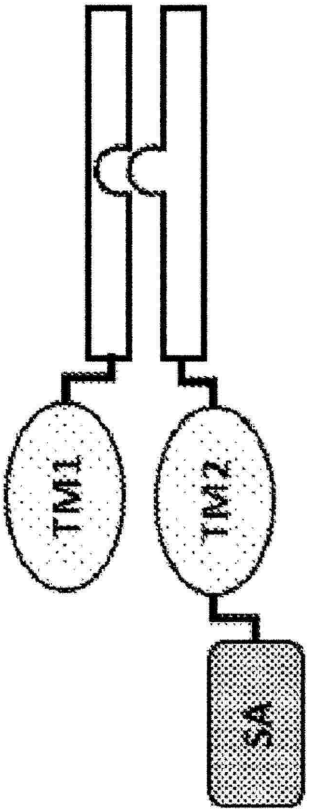
【図１６Ｈ】



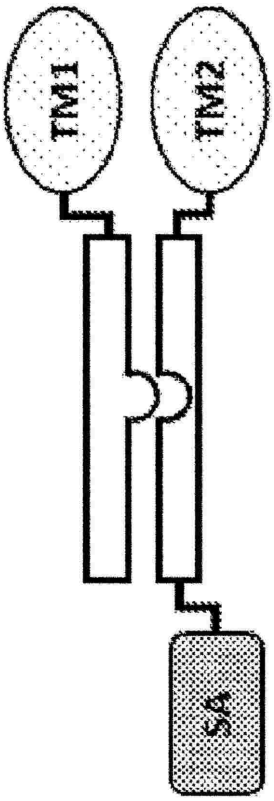
【図１６Ｉ】



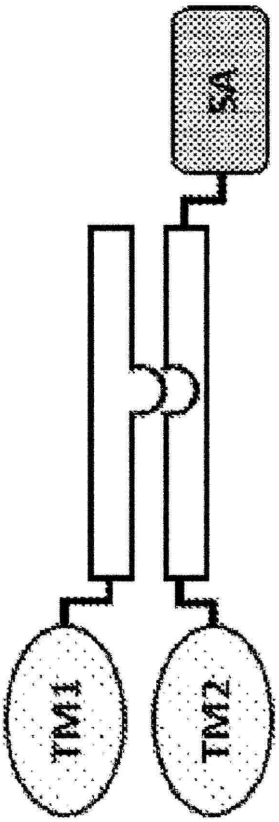
【図１６Ｊ】



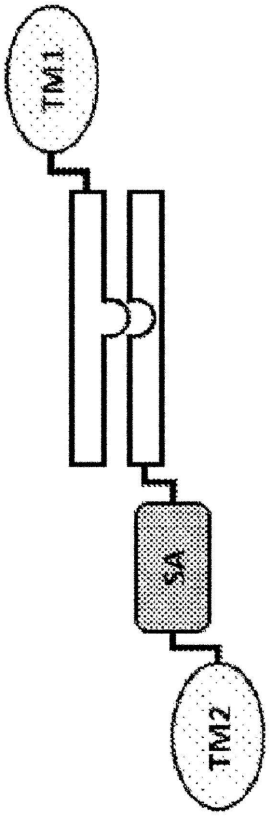
【図１７Ａ】



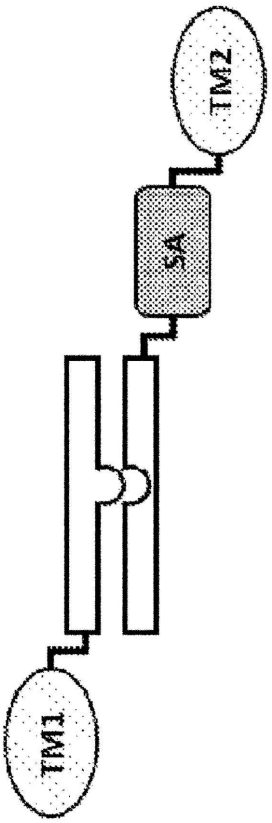
【図１７Ｂ】



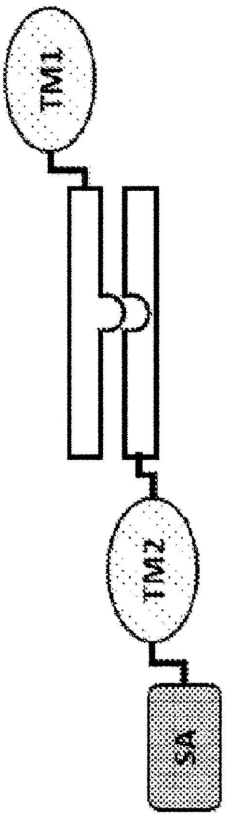
【図１７Ｃ】



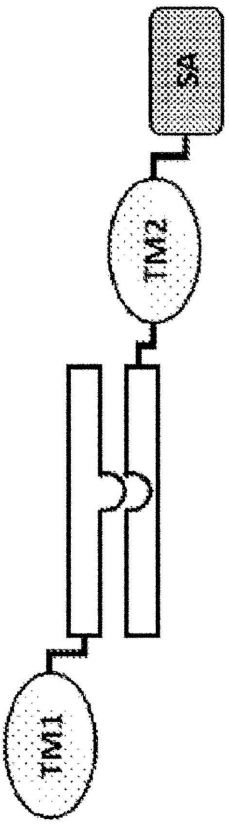
【図１７Ｄ】



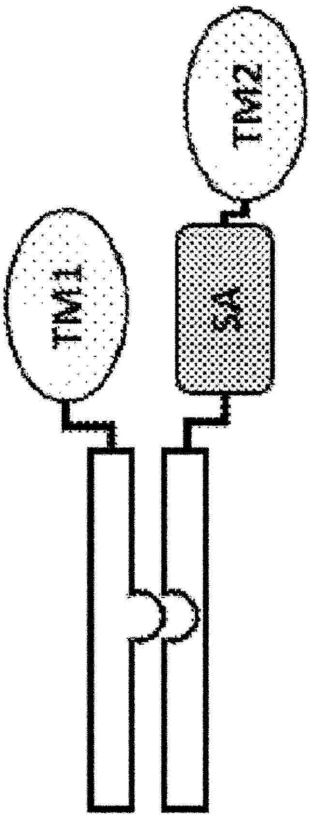
【図１７Ｅ】



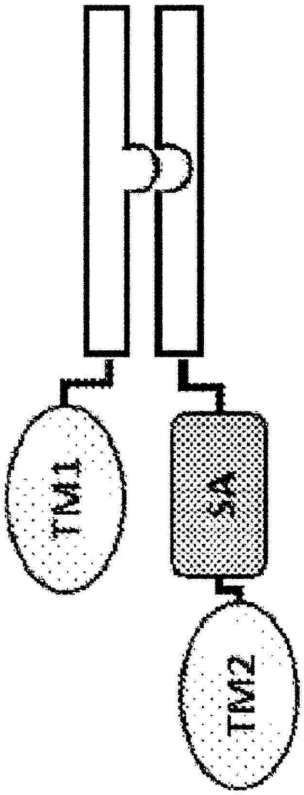
【図１７Ｆ】



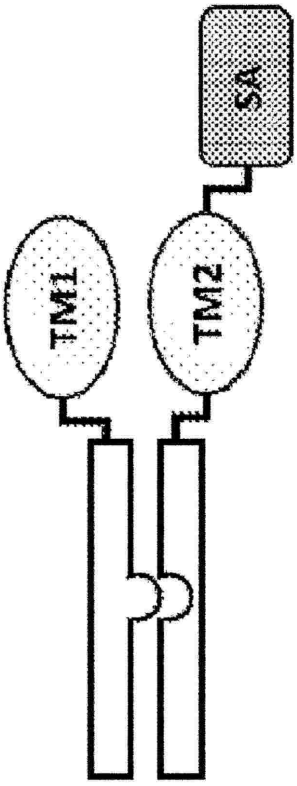
【図１７Ｇ】



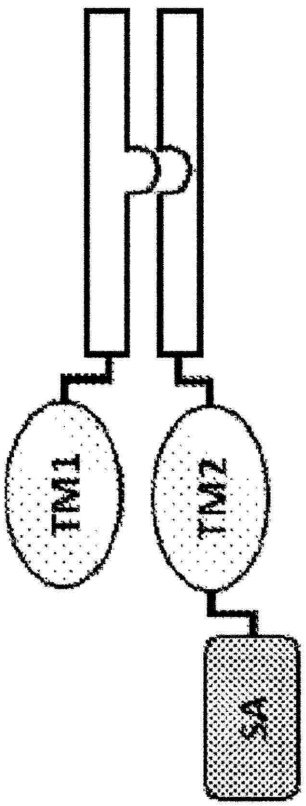
【図１７Ｈ】



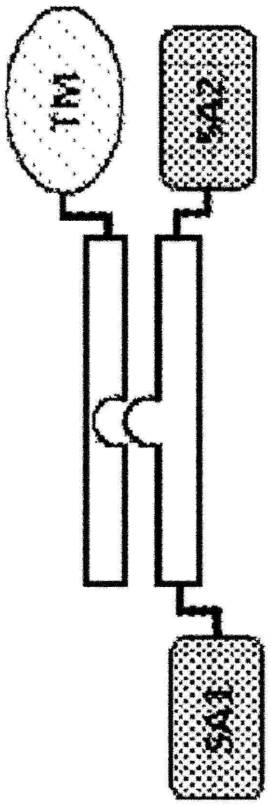
【図１７Ｉ】



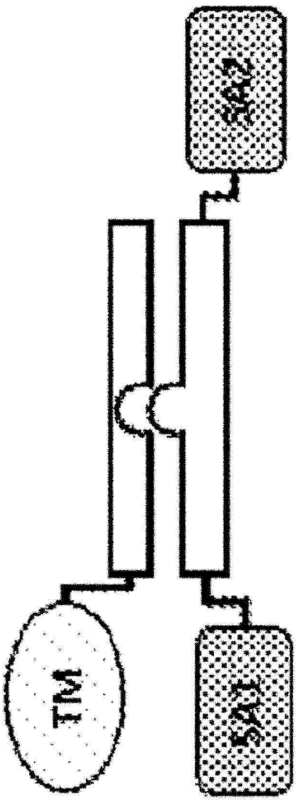
【図１７Ｊ】



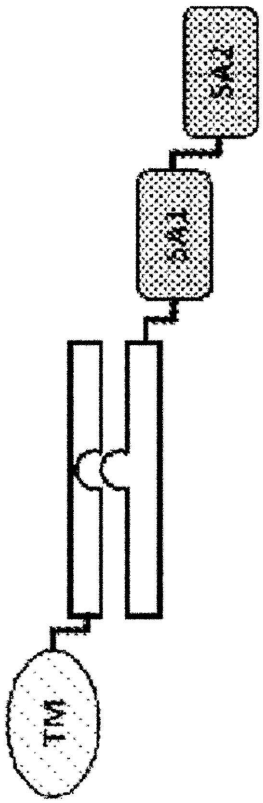
【図１８Ａ】



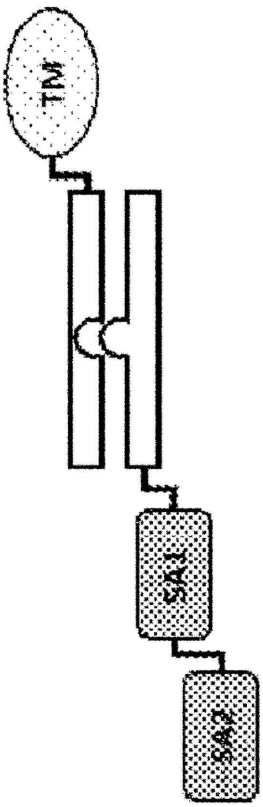
【図１８Ｂ】



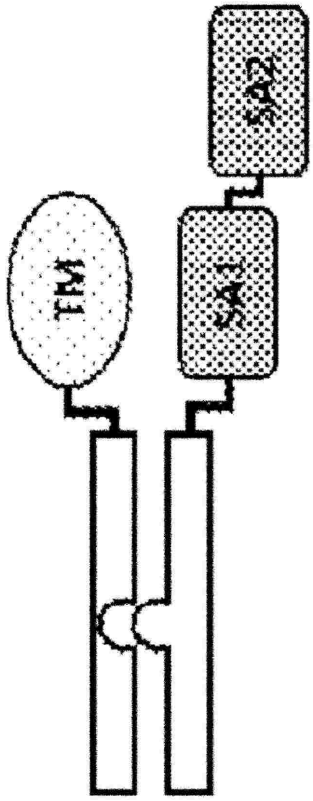
【図１８Ｃ】



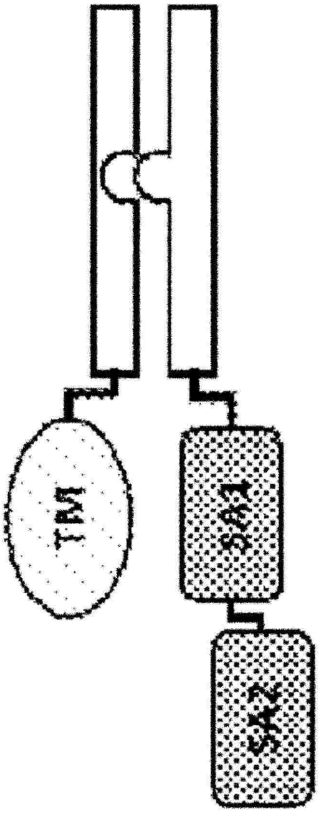
【図１８Ｄ】



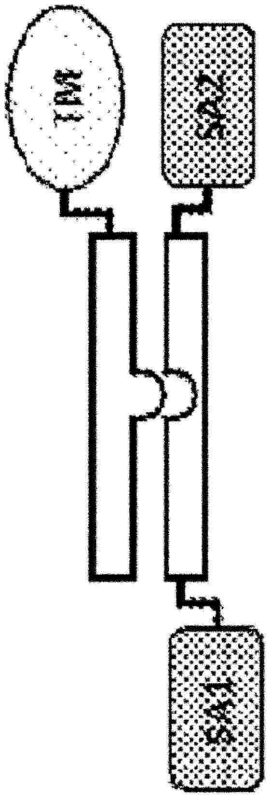
【図１８Ｅ】



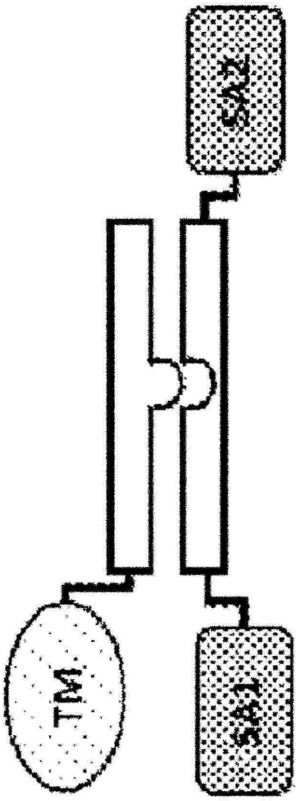
【図１８Ｆ】



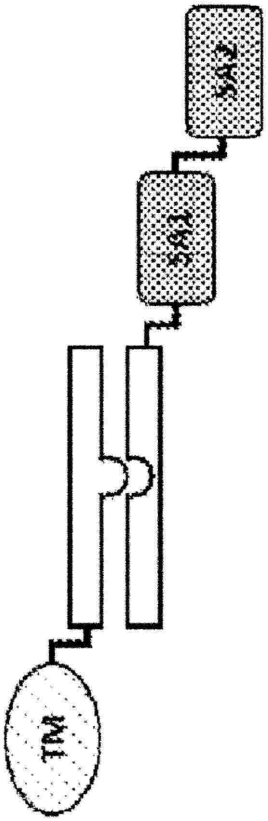
【図１９Ａ】



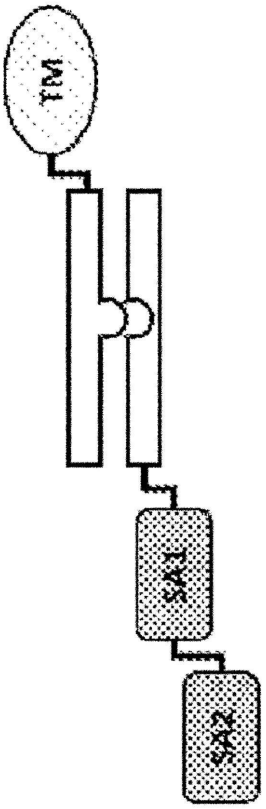
【図１９Ｂ】



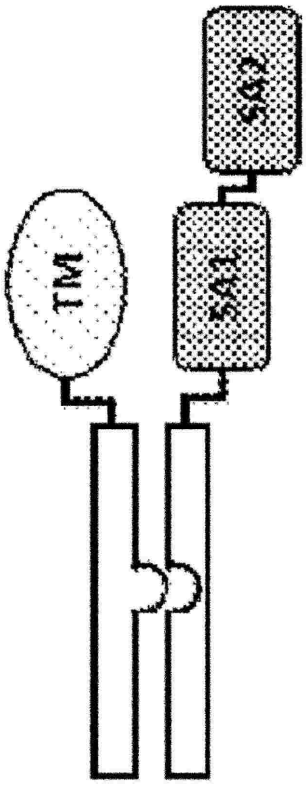
【図１９Ｃ】



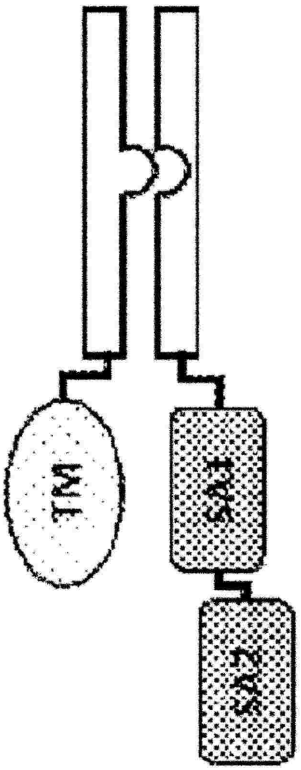
【図１９Ｄ】



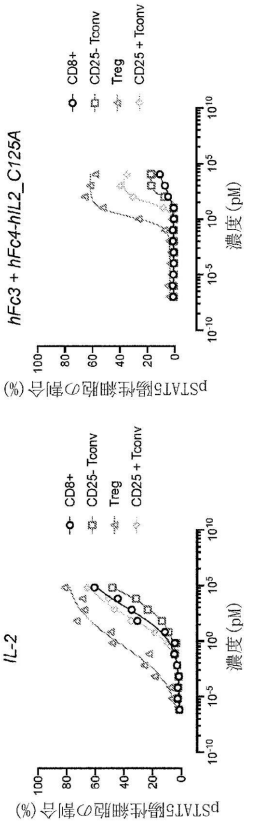
【図１９Ｅ】



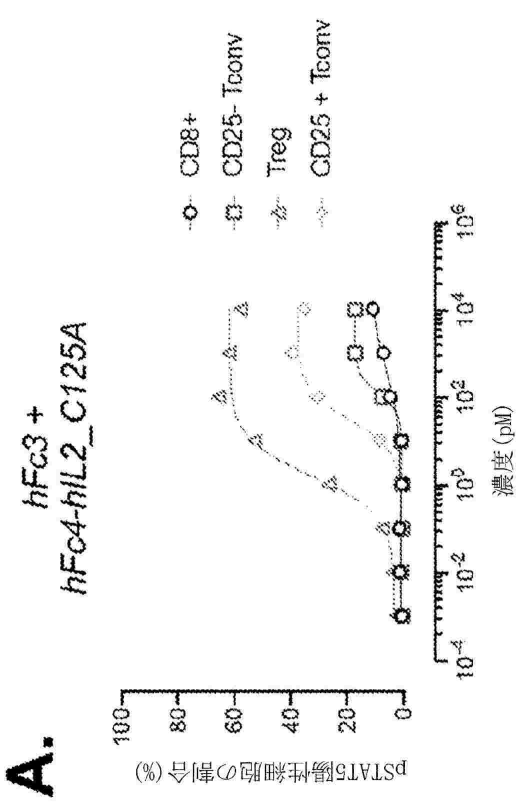
【図１９Ｆ】



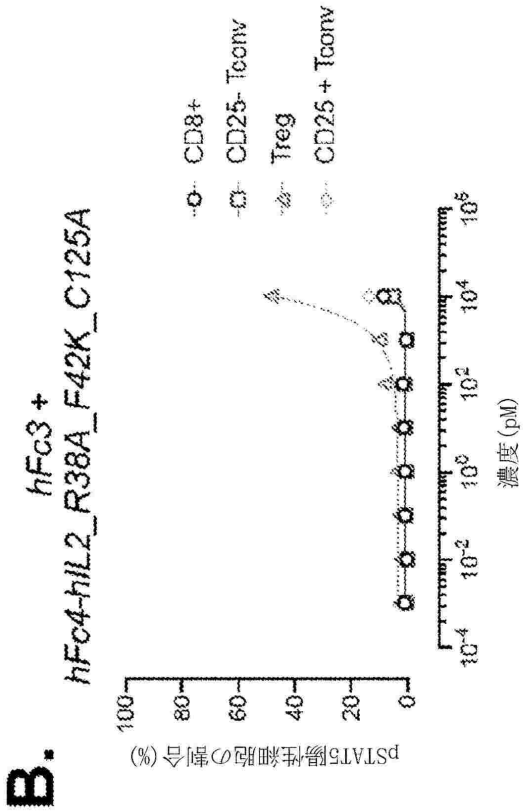
【図２０】



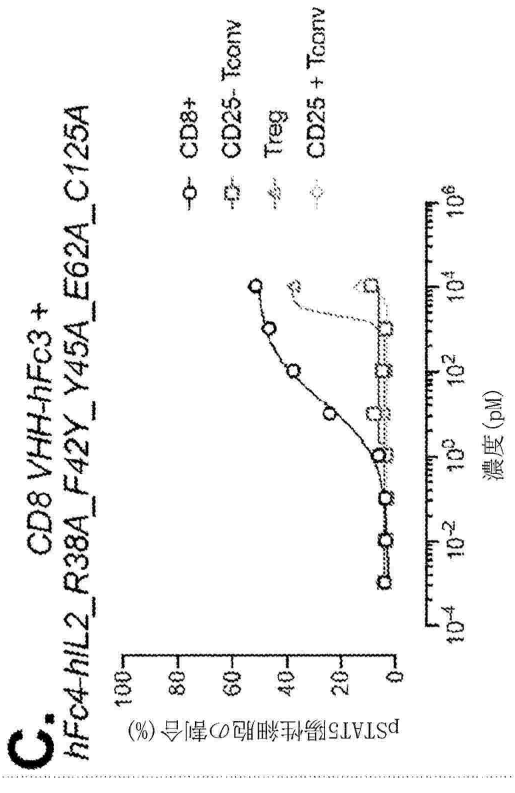
【図２１Ａ】



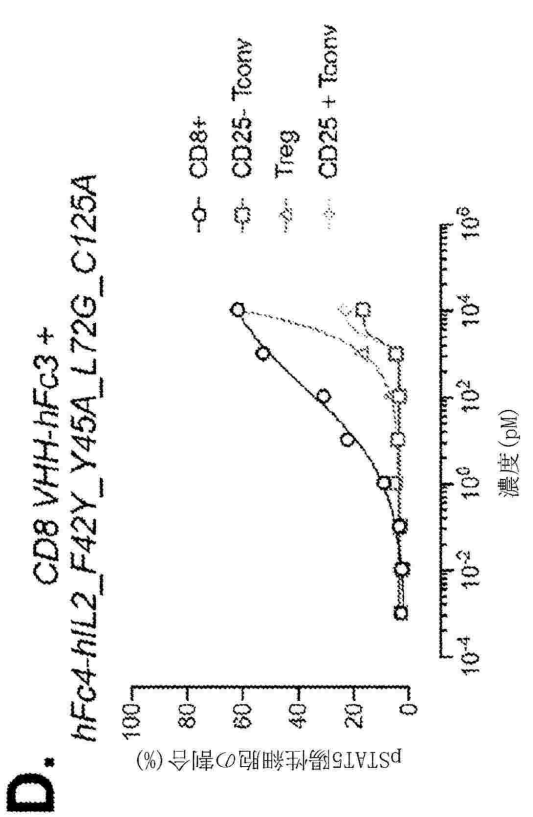
【図２１Ｂ】



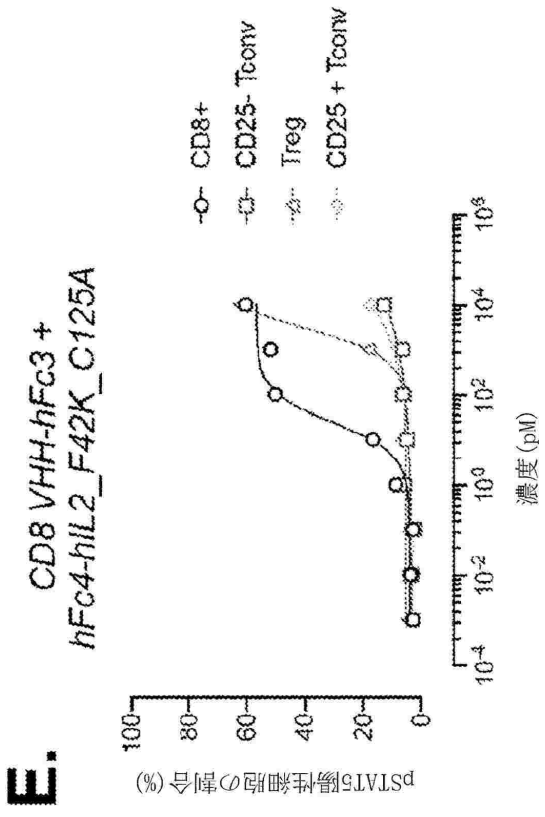
【図２１Ｃ】



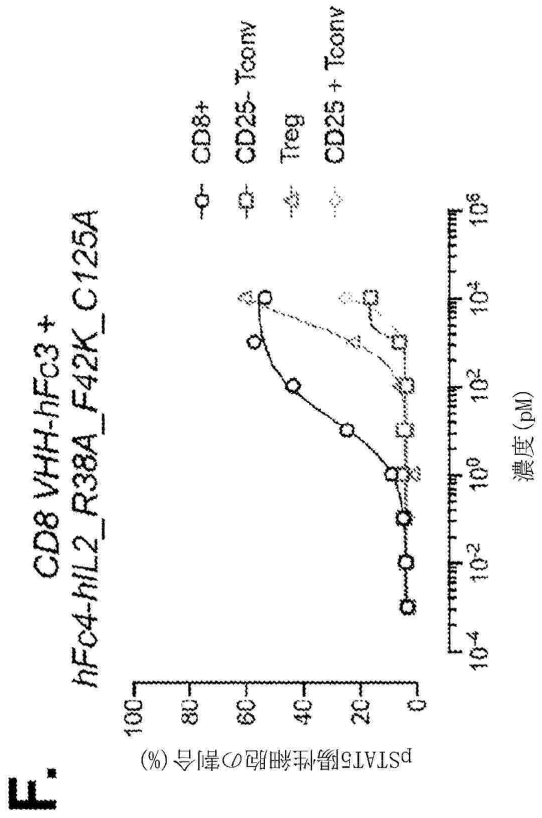
【図２１Ｄ】



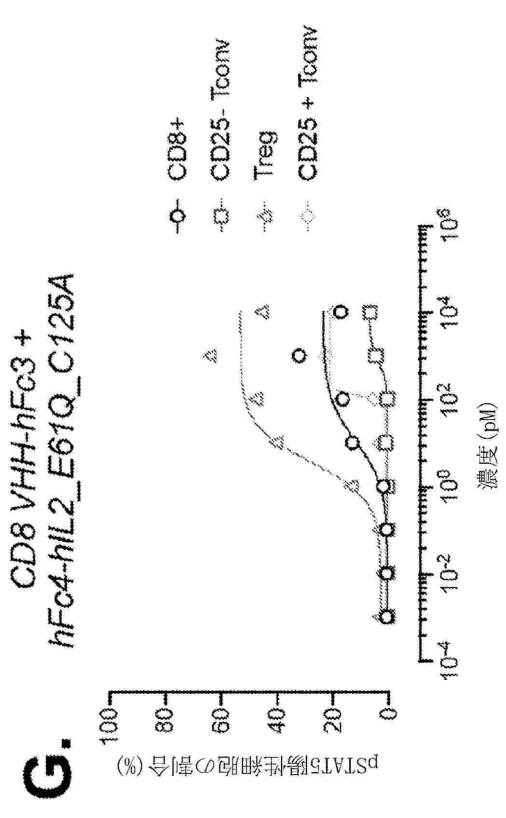
【図２１Ｅ】



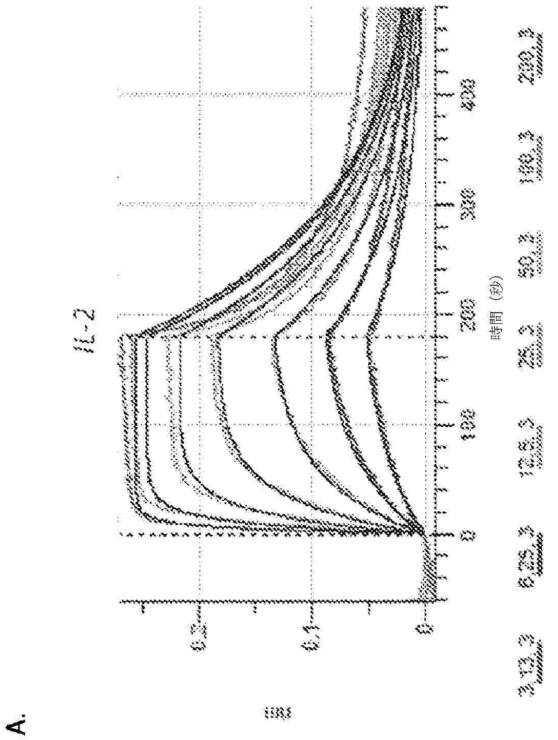
【図２１Ｆ】



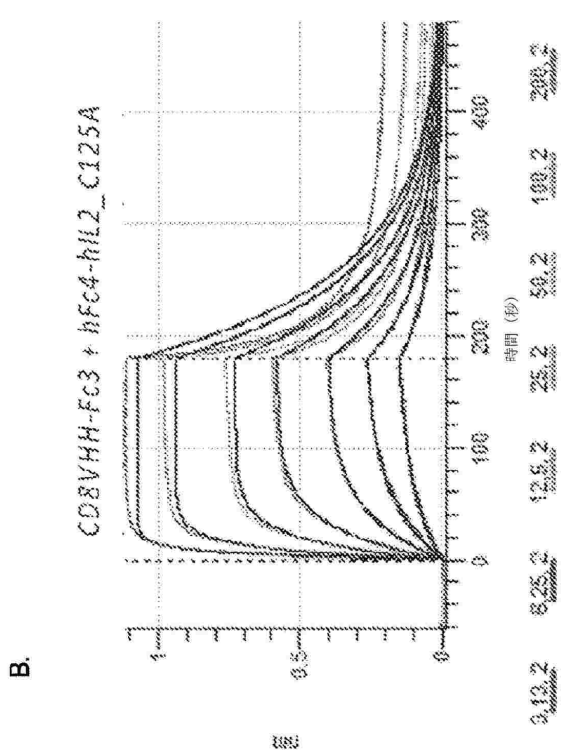
【図２１Ｇ】



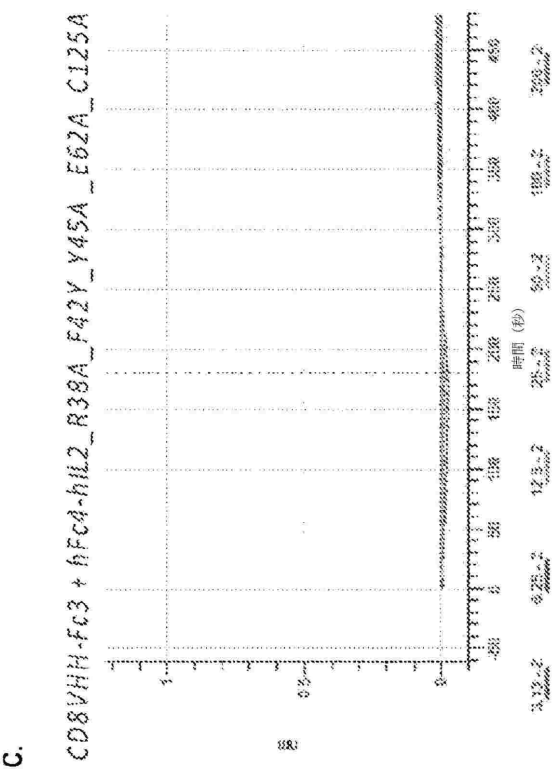
【図２２Ａ】



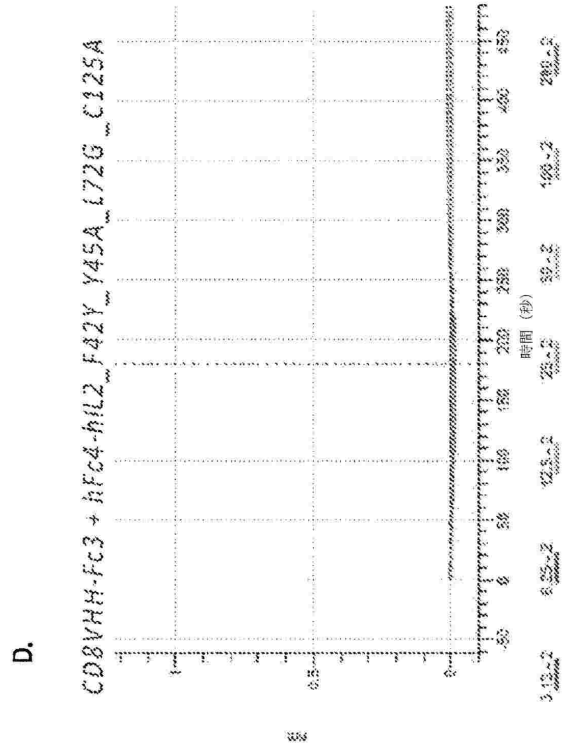
【図２２Ｂ】



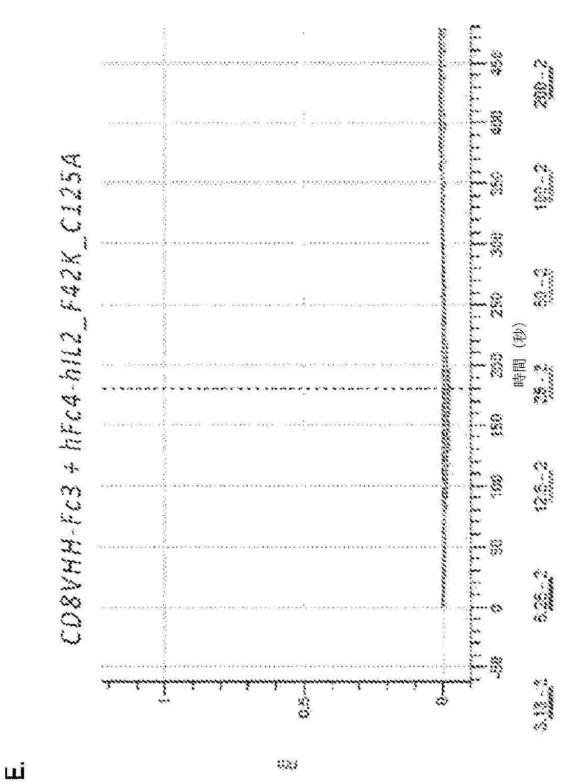
【図２２Ｃ】



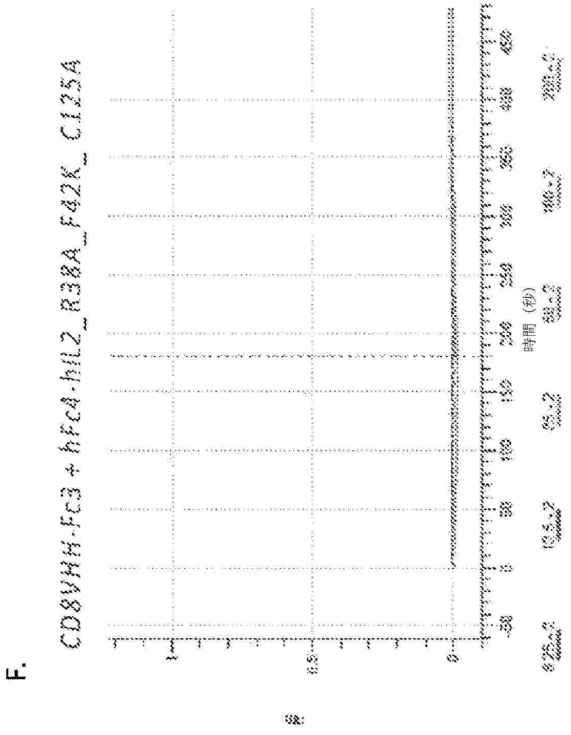
【図２２Ｄ】



【図２２Ｅ】

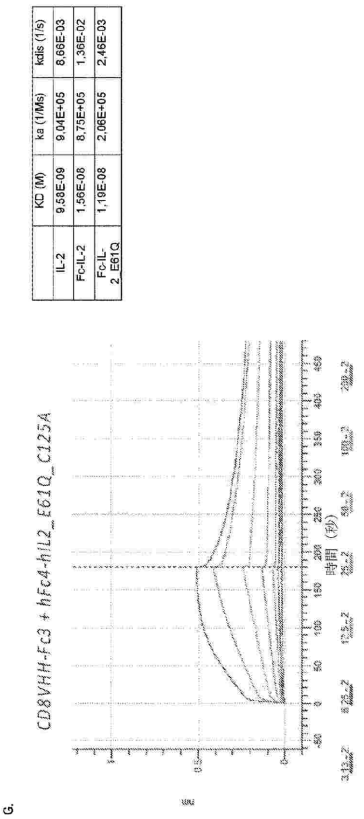


【図２２Ｆ】

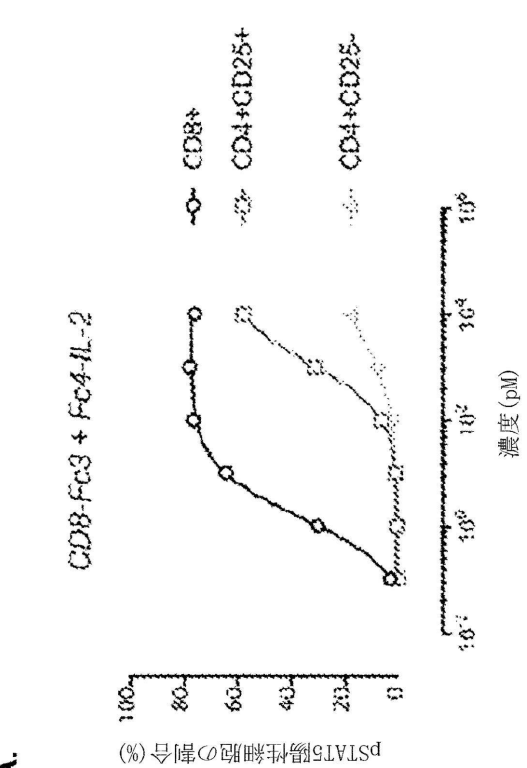


【図２２Ｇ】

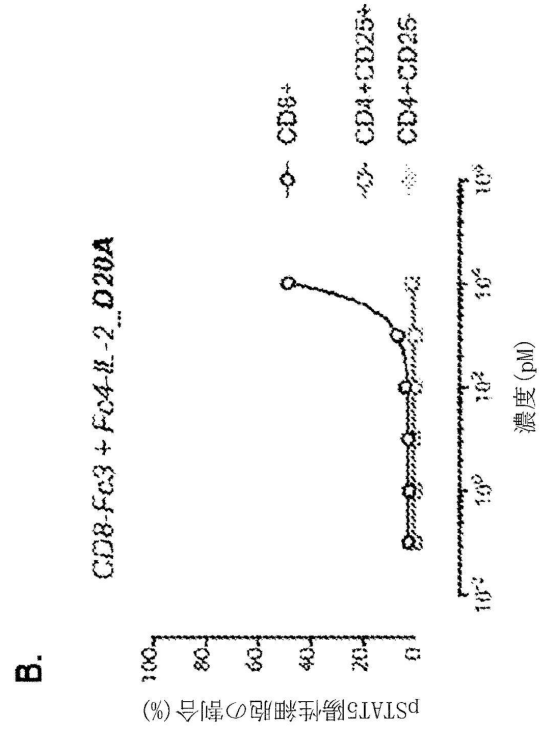
	KD (M)	ka (1/Ms)	kdis (1/s)
IL-2	9.58E-09	9.04E+05	8.66E-03
Fc-IL-2	1.56E-08	8.75E+05	1.36E-02
Fc-IL-2_E61Q	1.19E-08	2.06E+05	2.46E-03



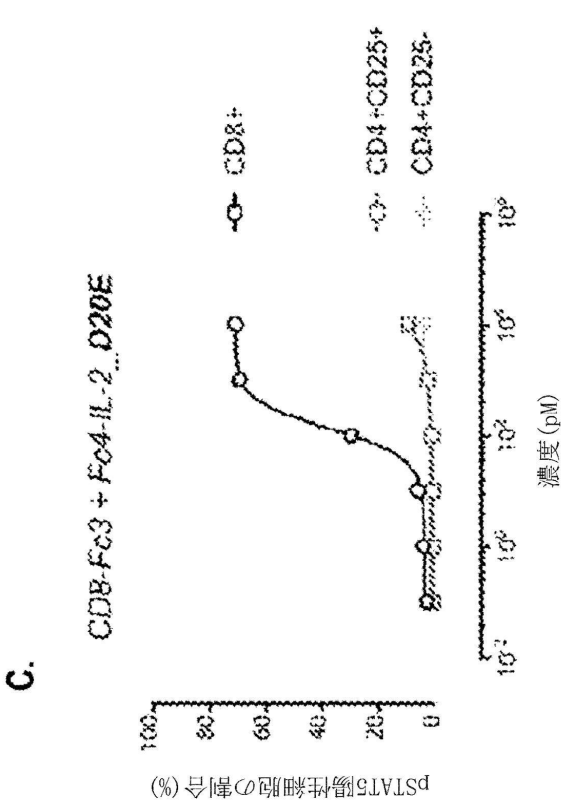
【図２３Ａ】



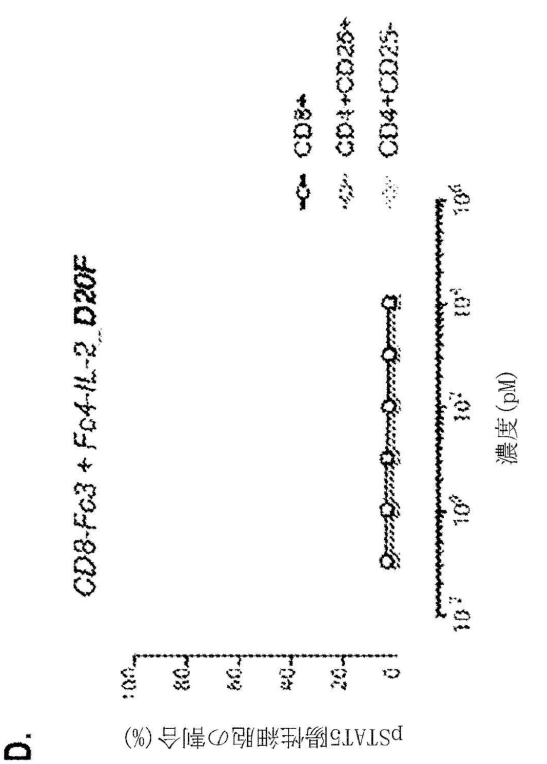
【図２３Ｂ】



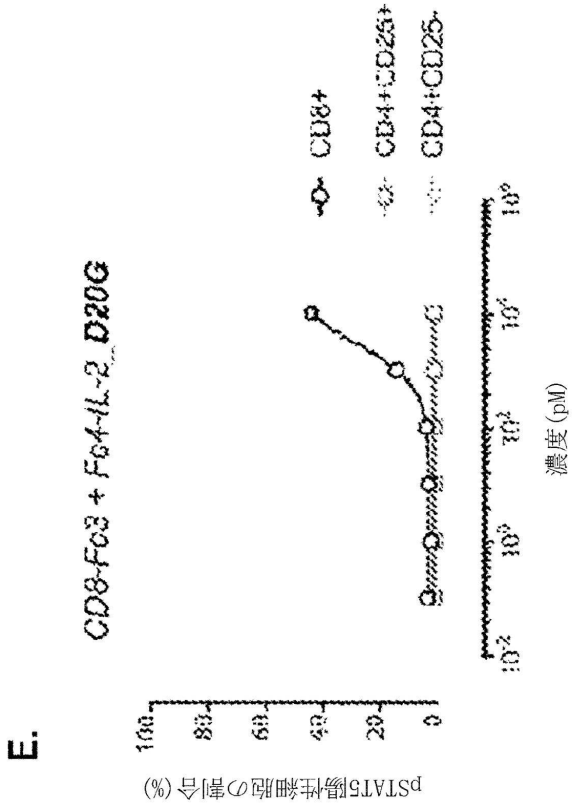
【図２３Ｃ】



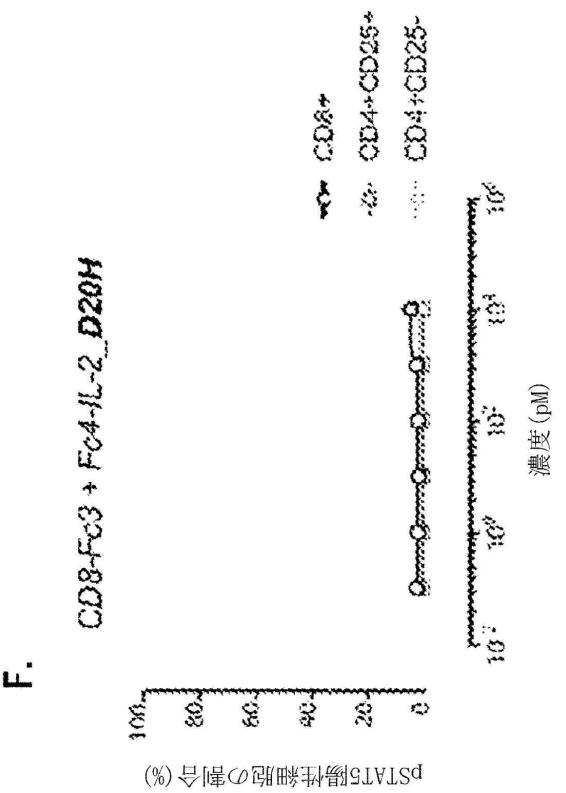
【図２３Ｄ】



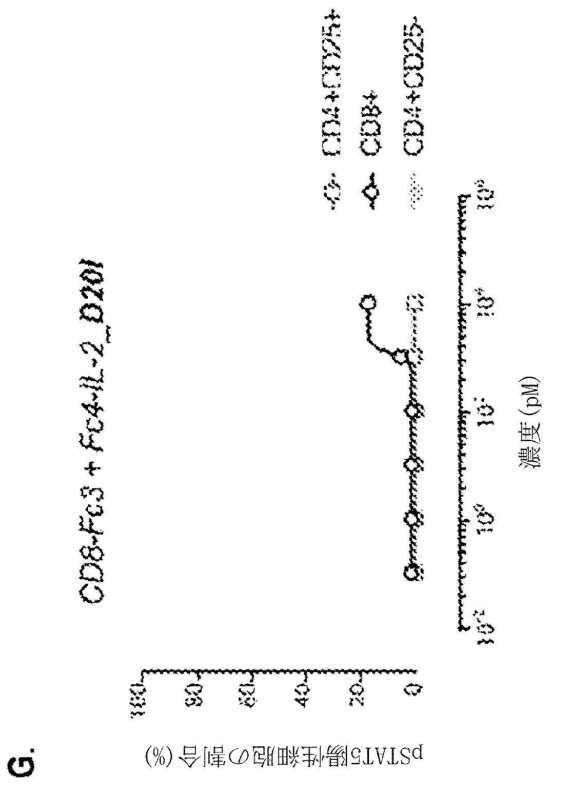
【図２３Ｅ】



【図２３Ｆ】

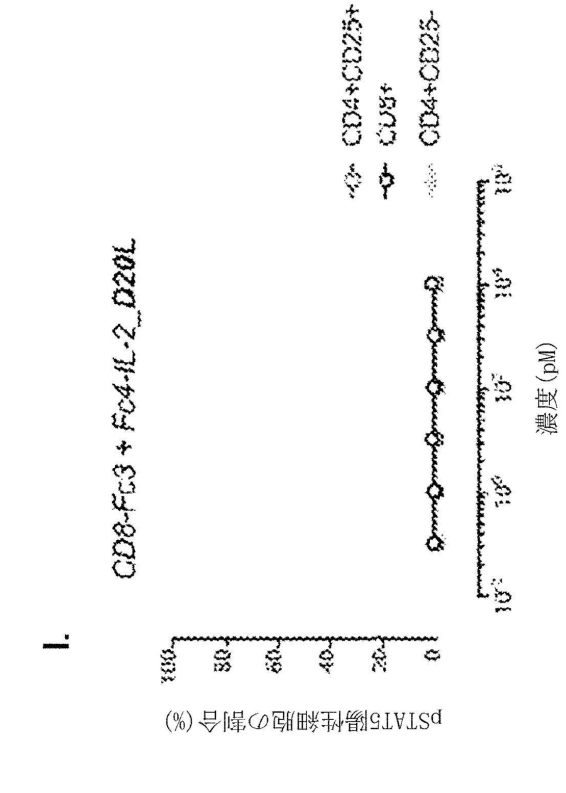


【図２３Ｇ】

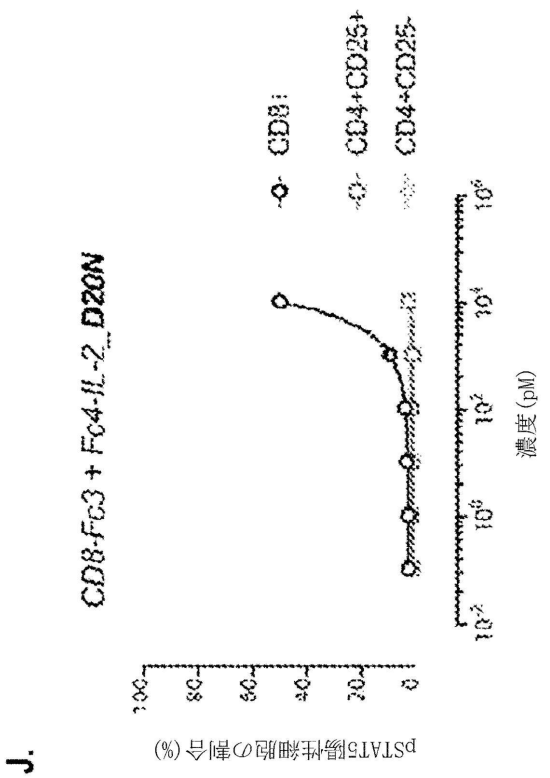


【図２３Ｈ】

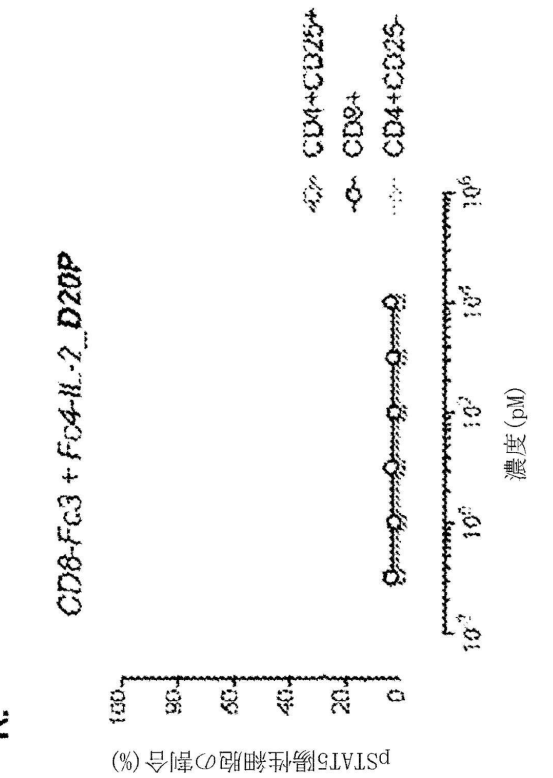
【図２３Ｉ】



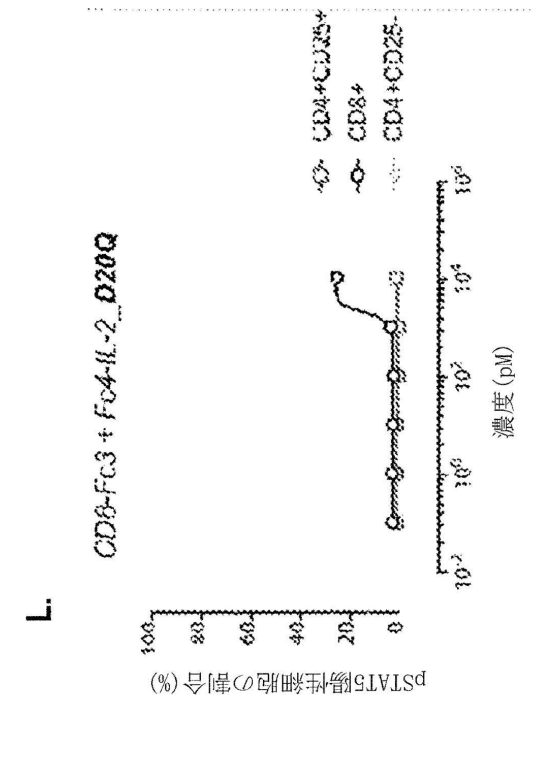
【図２３Ｊ】



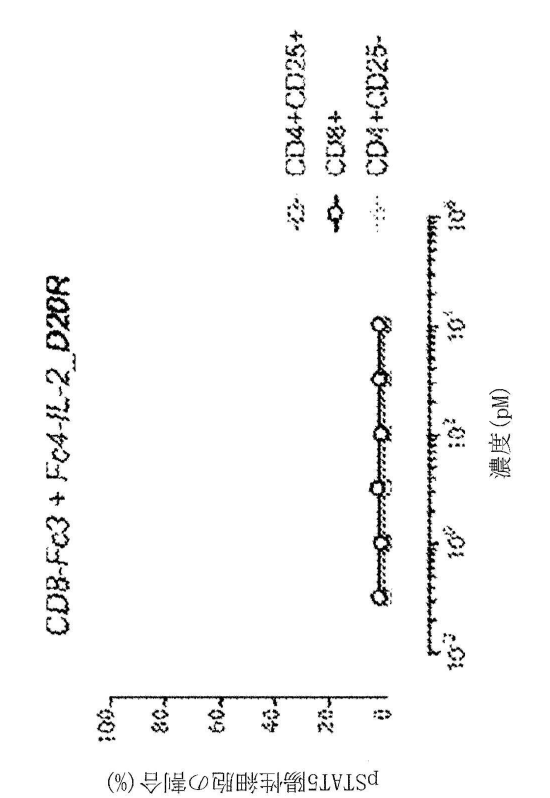
【図２３Ｋ】



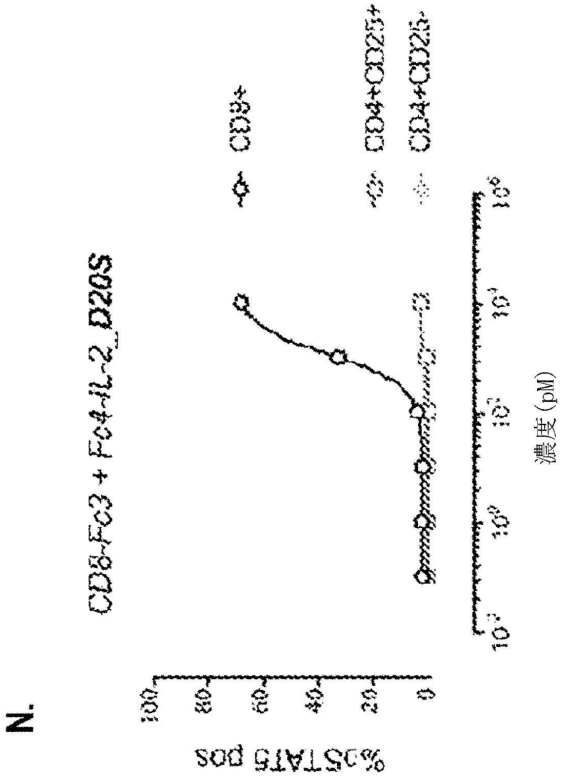
【図２３Ｌ】



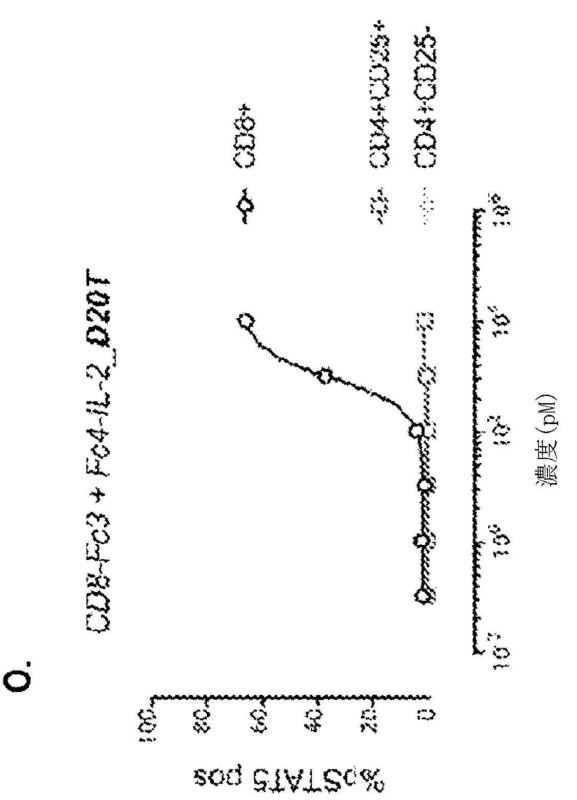
【図２３Ｍ】



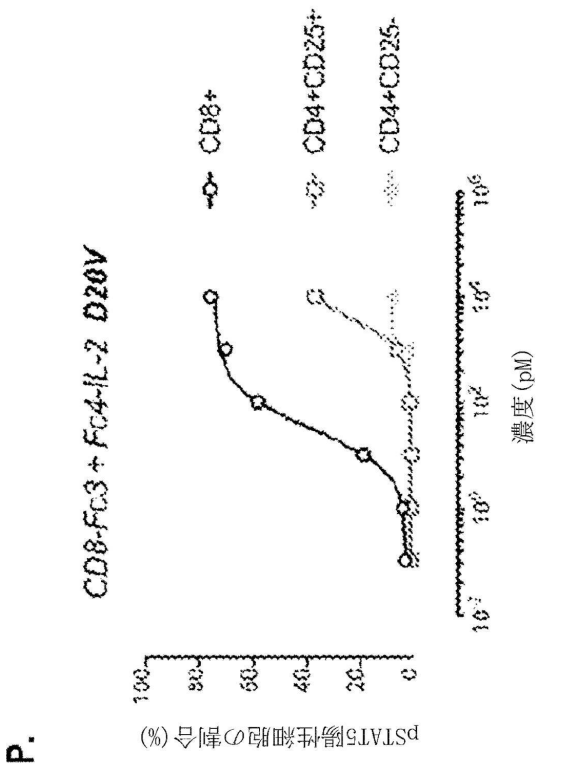
【図２３Ｎ】



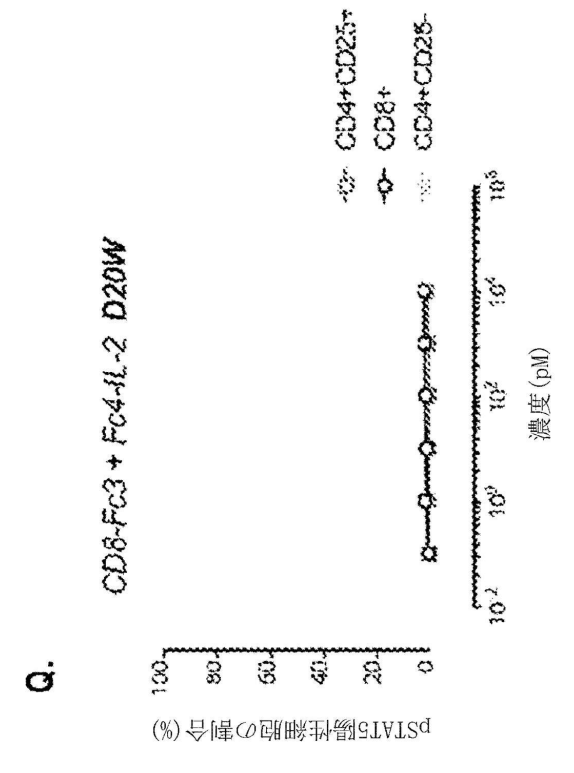
【図２３Ｏ】



【図２３Ｐ】

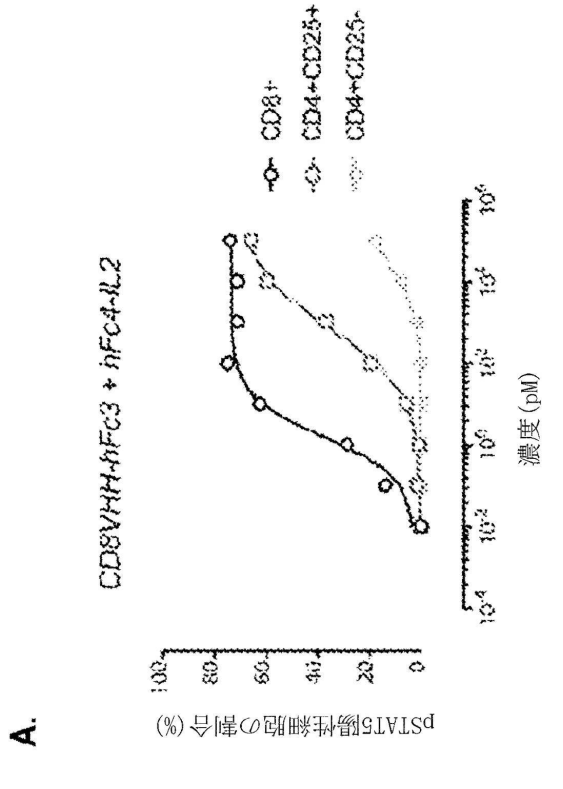


【図２３Ｑ】

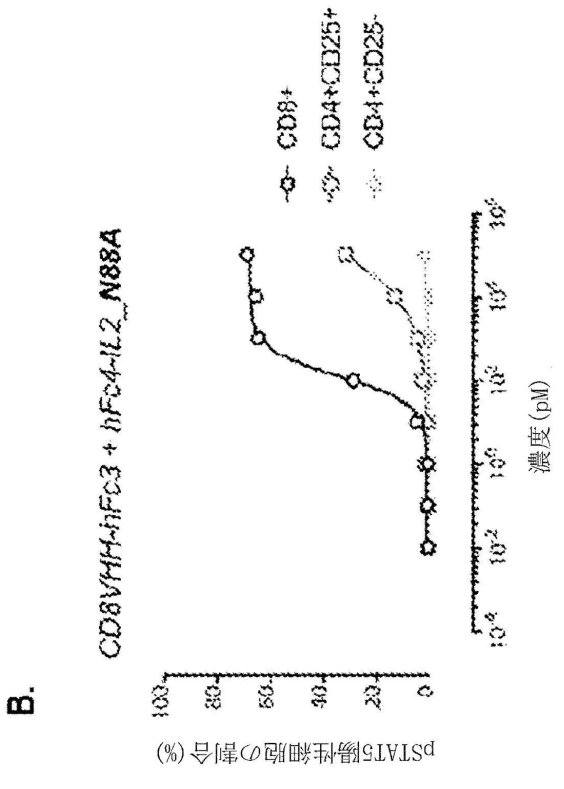


【図２３Ｒ】

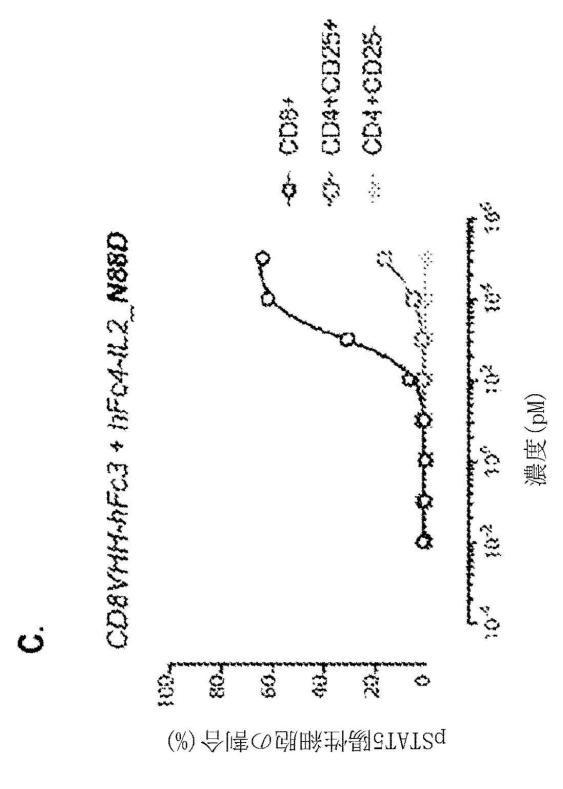
【図２４Ａ】



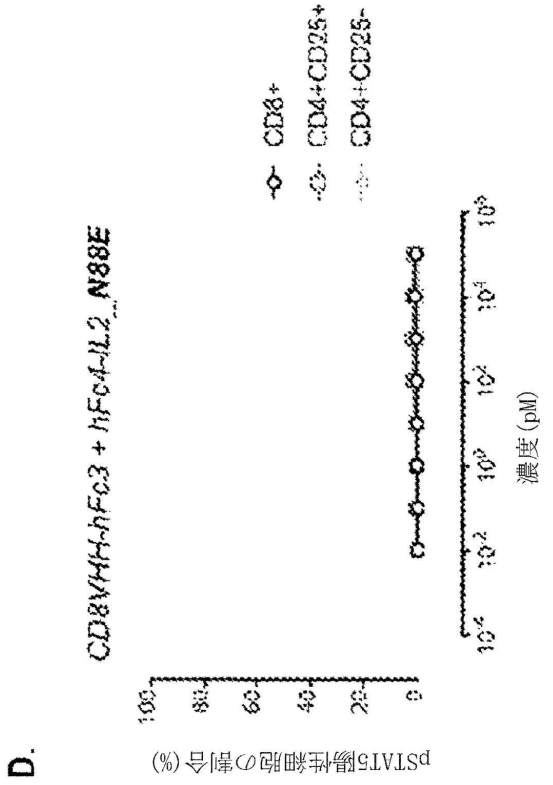
【図２４Ｂ】



【図２４Ｃ】

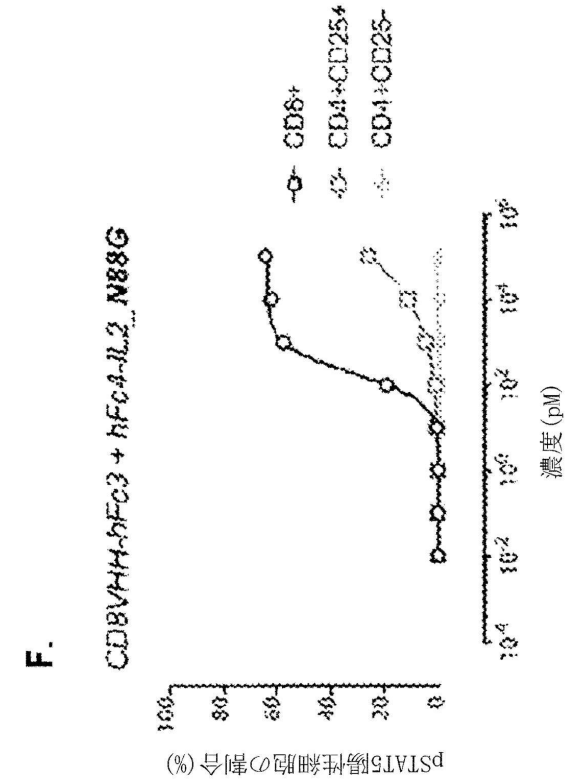


【図２４Ｄ】

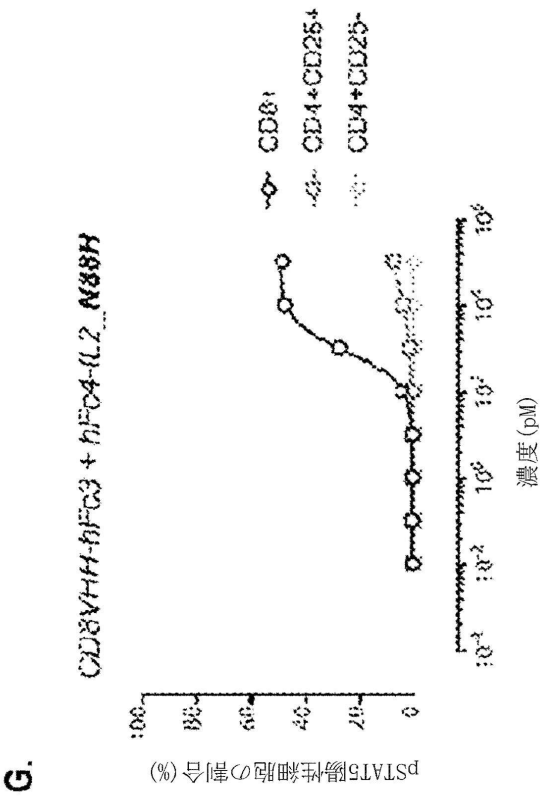


【図２４Ｅ】

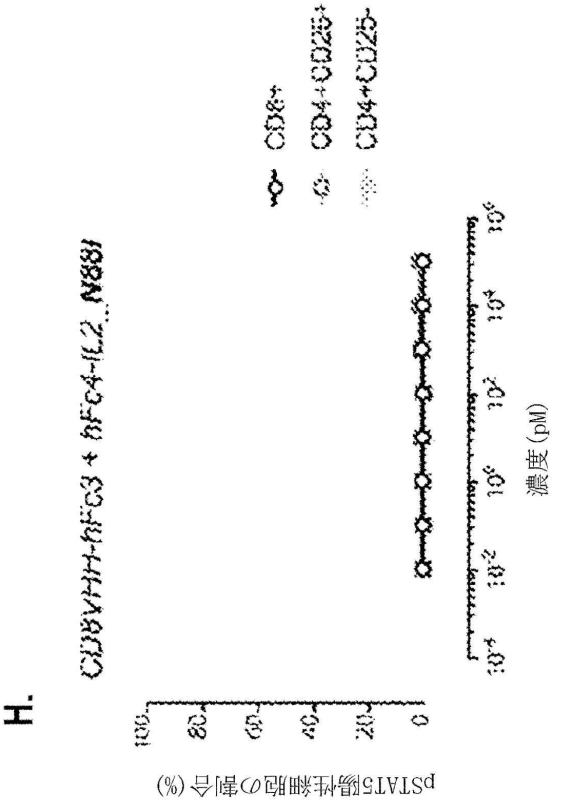
【図２４Ｆ】



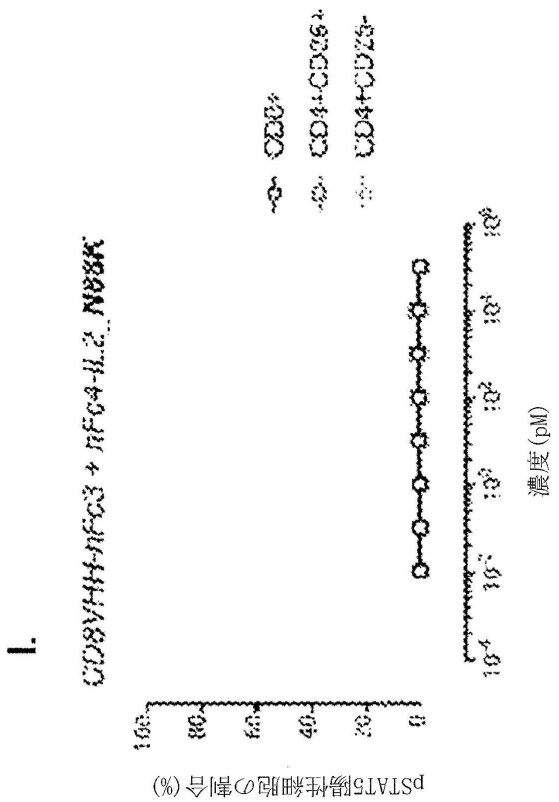
【図２４Ｇ】



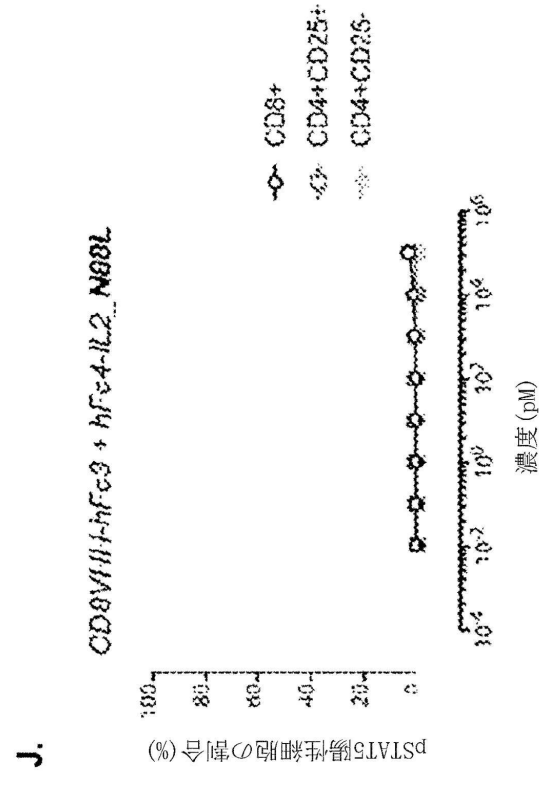
【図２４Ｈ】



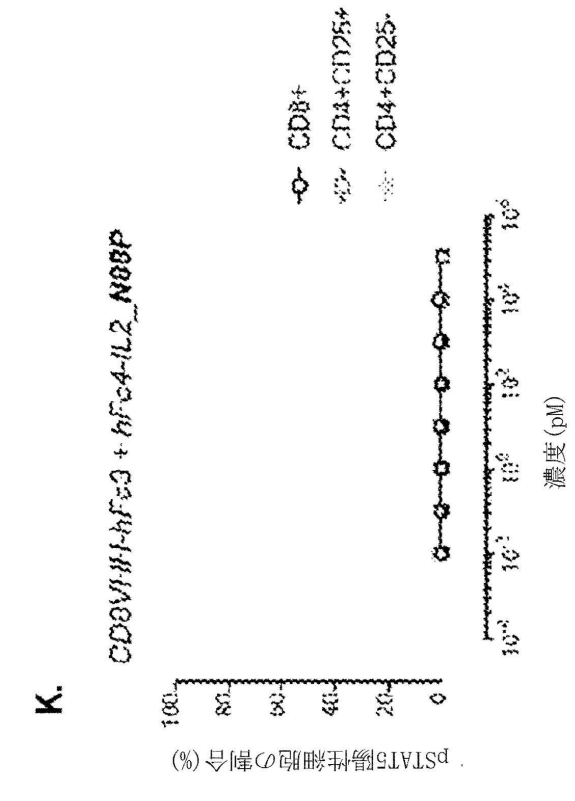
【図２４Ｉ】



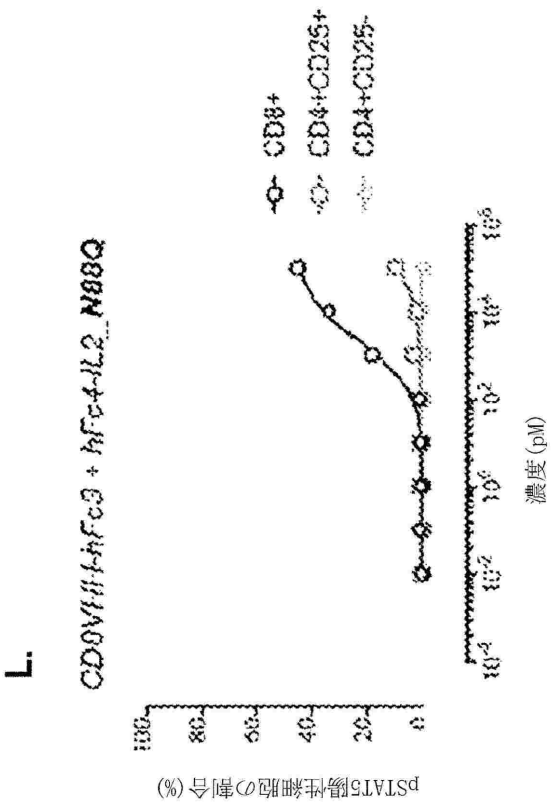
【図２４Ｊ】



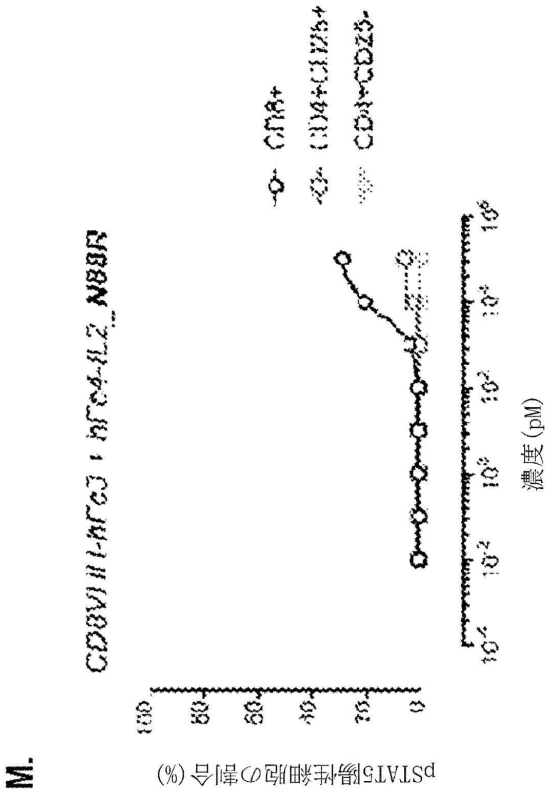
【図２４Ｋ】



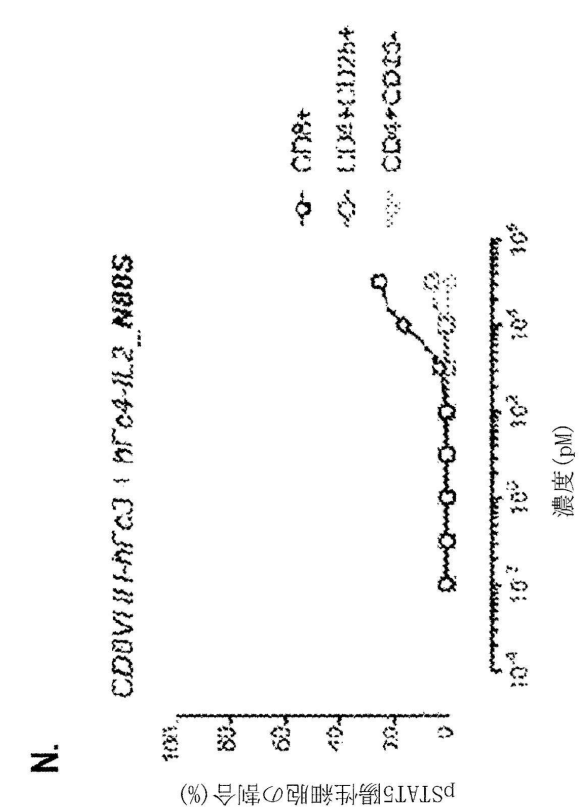
【図２４Ｌ】



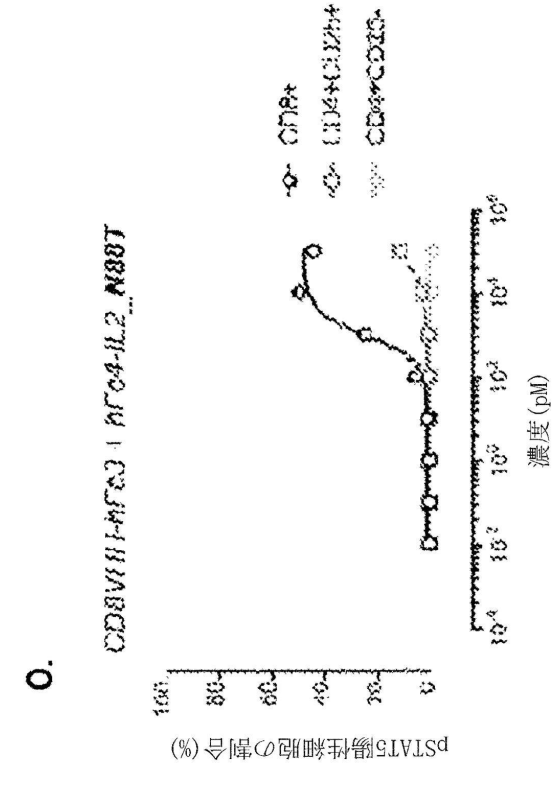
【図２４Ｍ】



【図２４Ｎ】

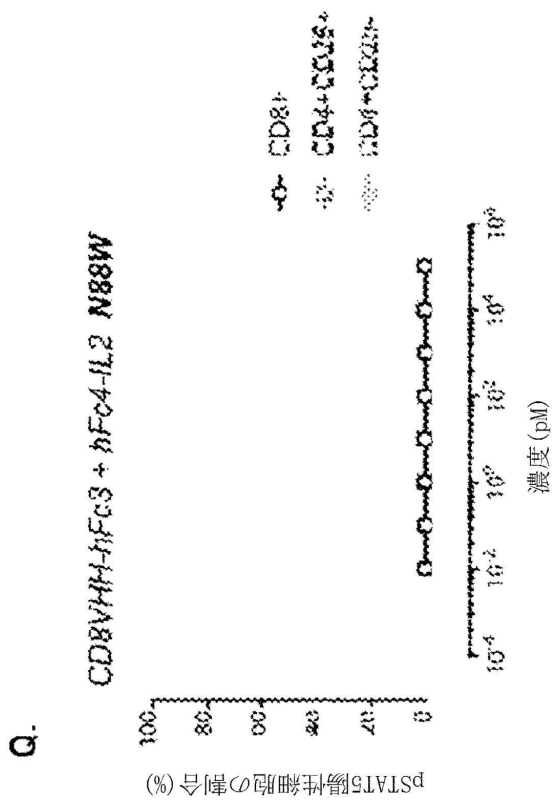


【図２４Ｏ】

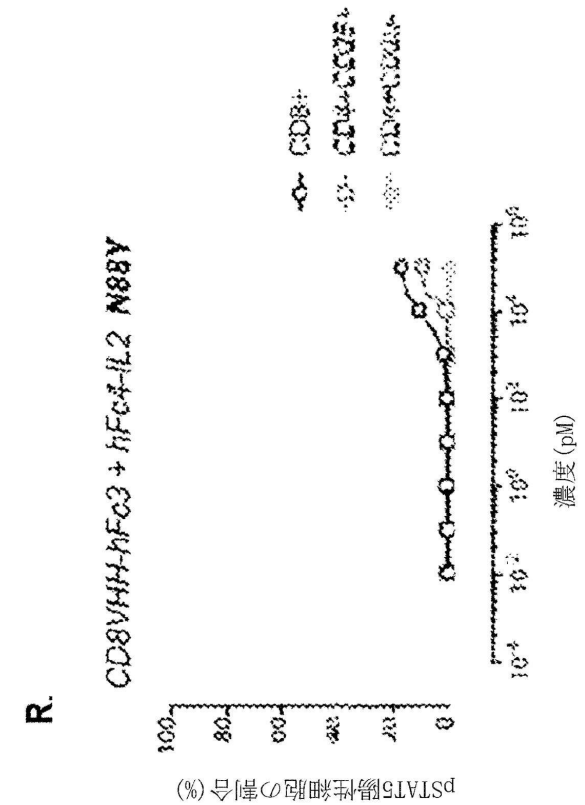


【図２４Ｐ】

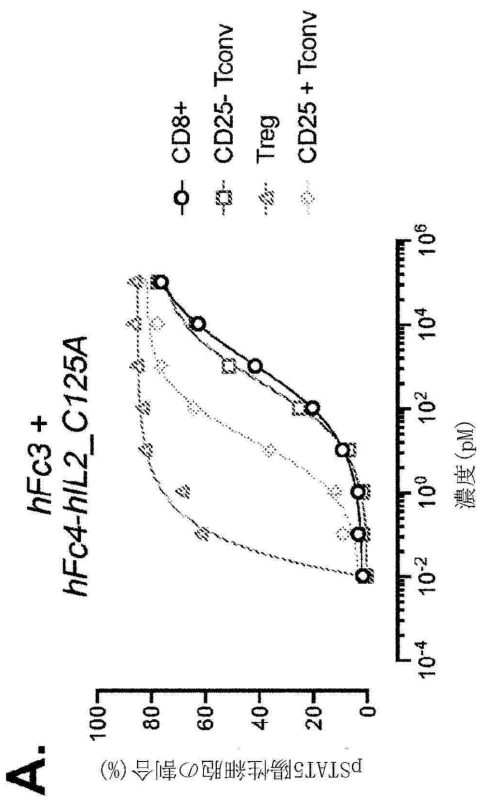
【図２４Ｑ】



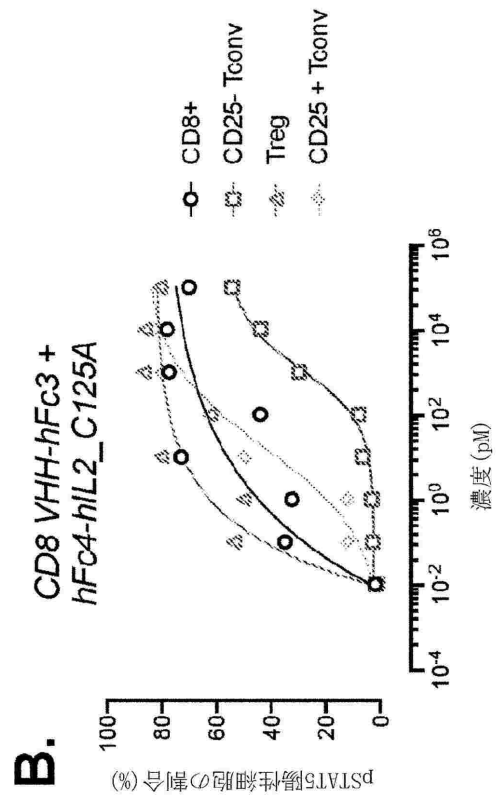
【図２４Ｒ】



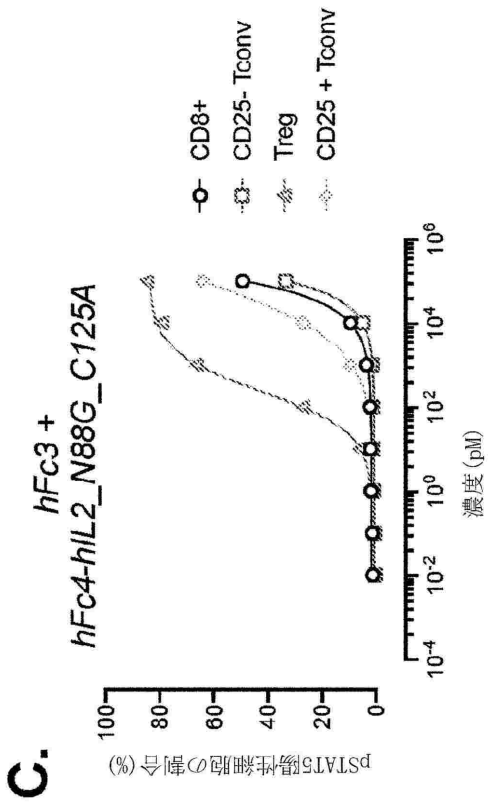
【図２５Ａ】



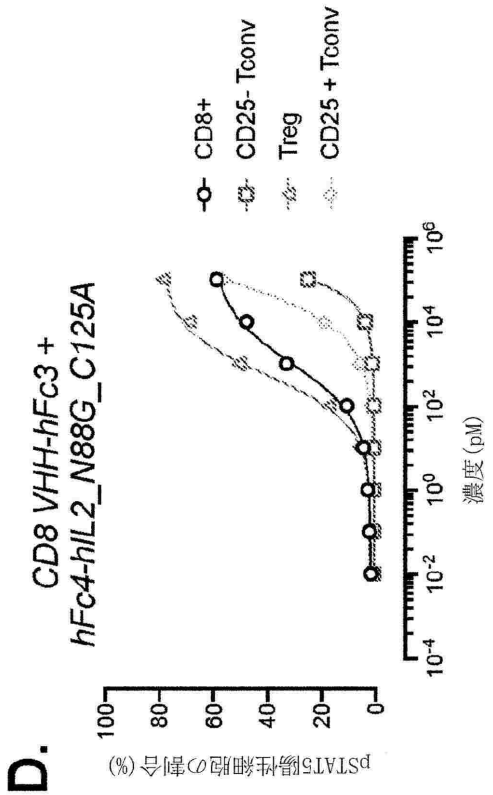
【図２５Ｂ】



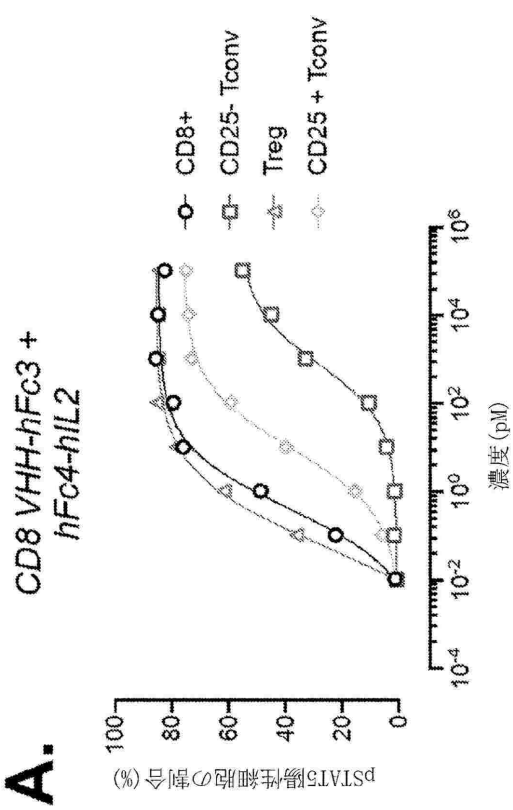
【図２５Ｃ】



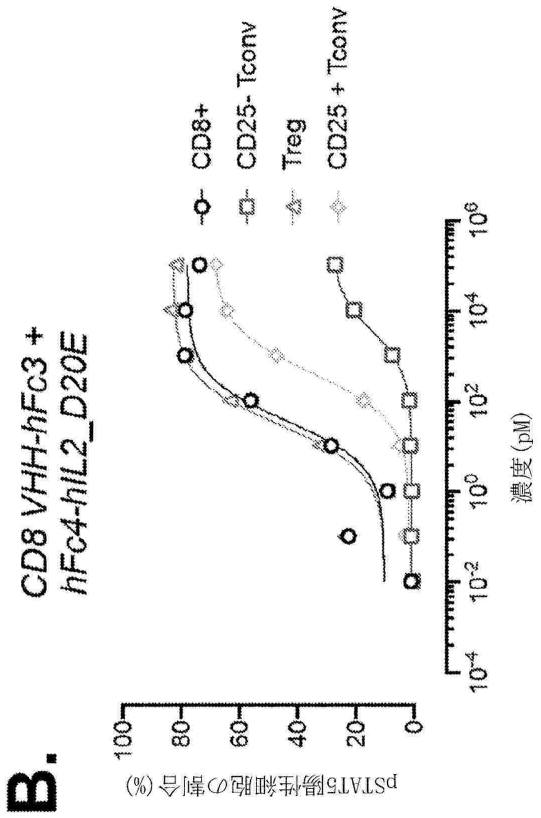
【図２５Ｄ】



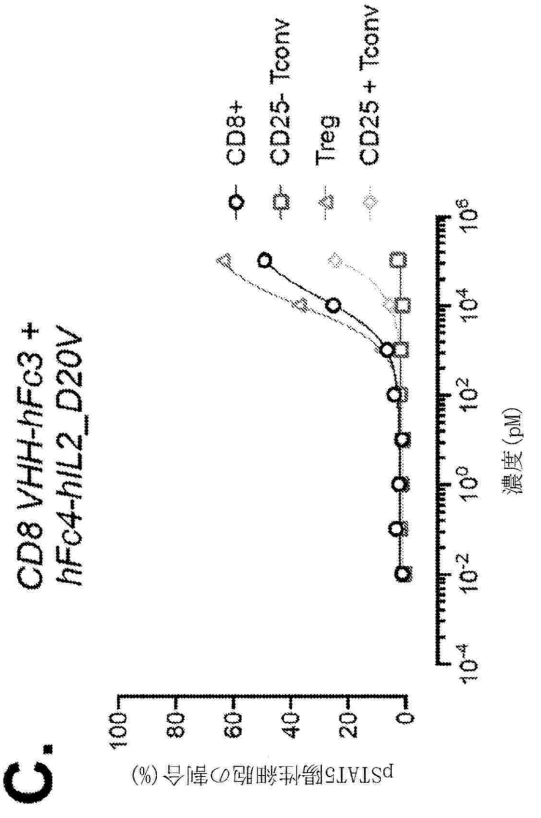
【図２６Ａ】



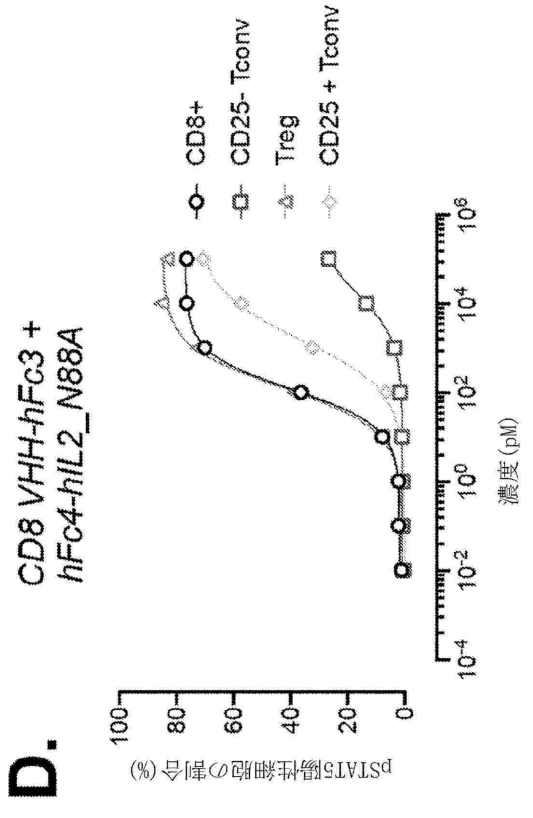
【図２６Ｂ】



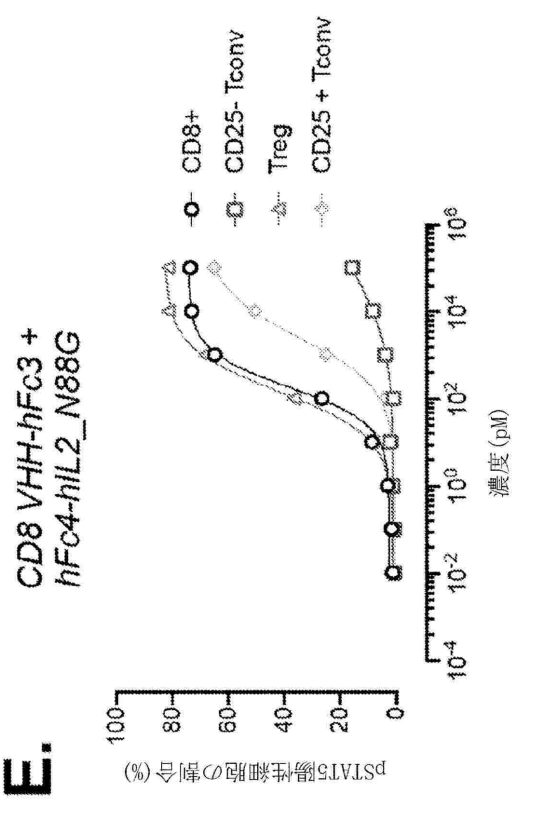
【図２６Ｃ】



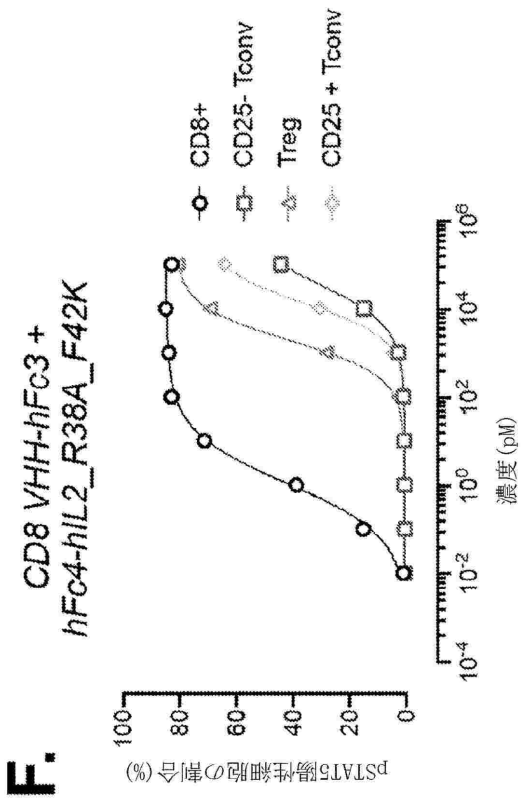
【図２６Ｄ】



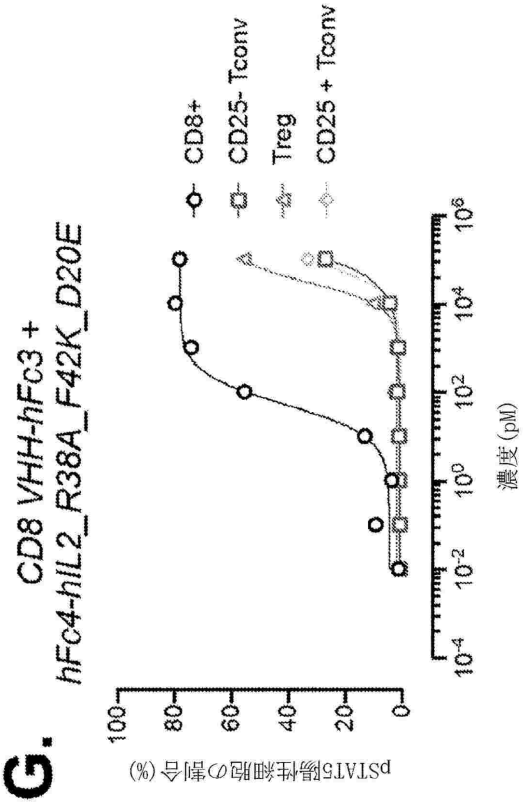
【図２６Ｅ】



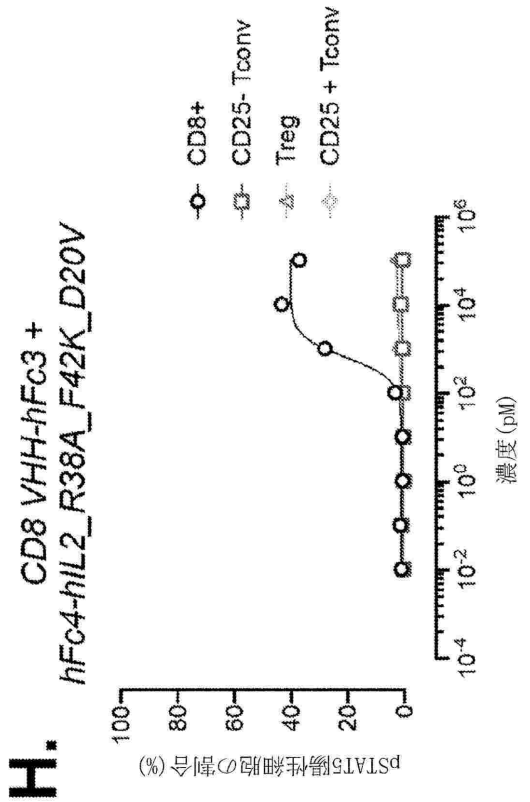
【図２６Ｆ】



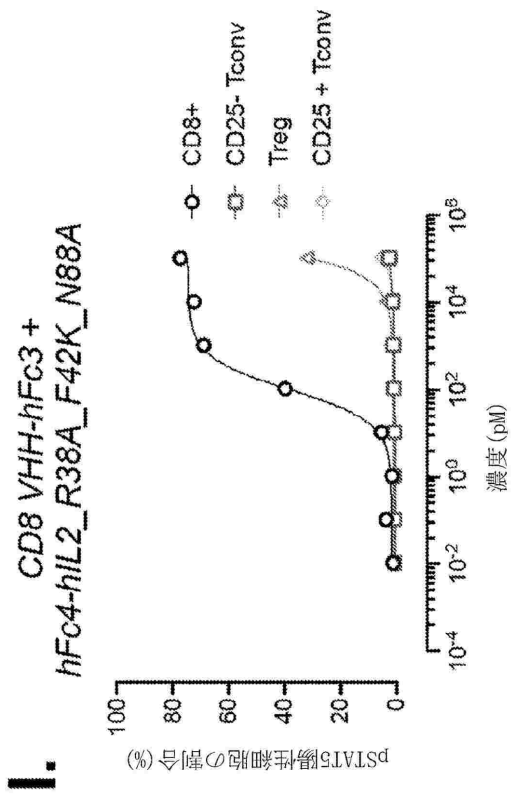
【図２６Ｇ】



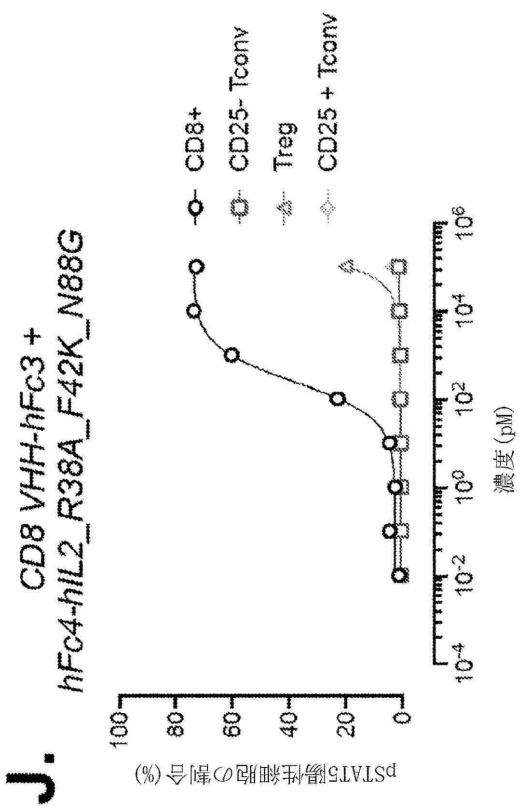
【図２６Ｈ】



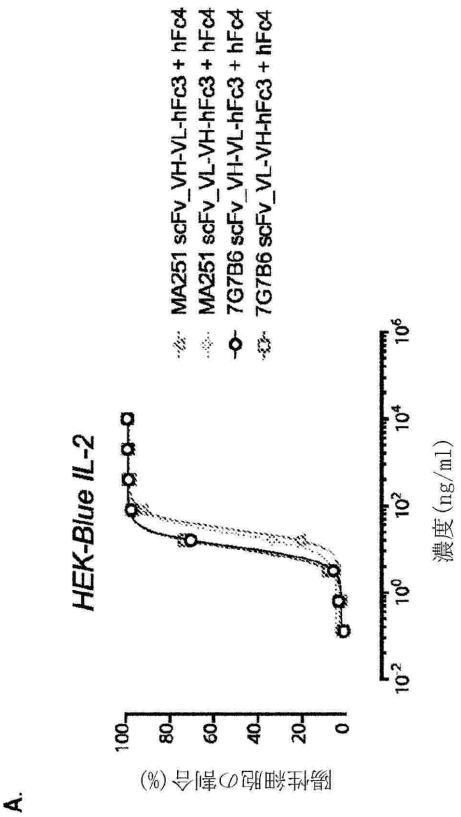
【図２６Ｉ】



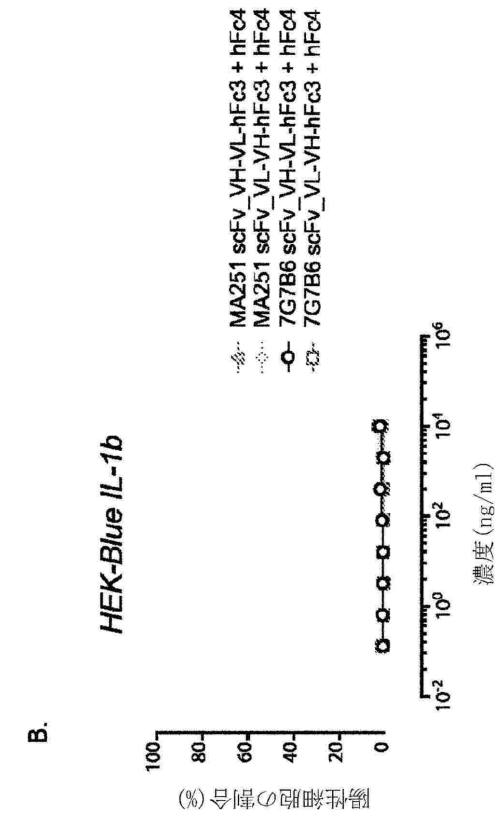
【図２６Ｊ】



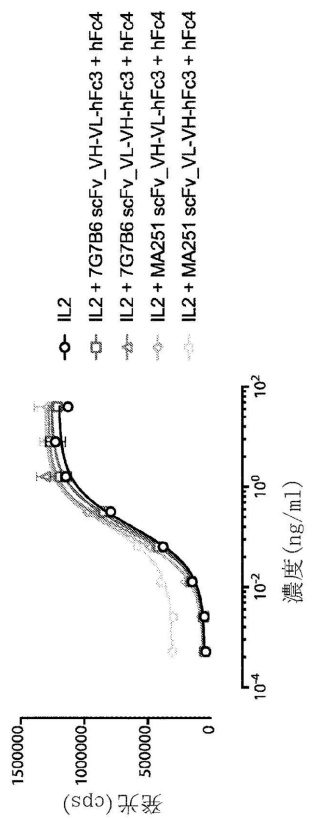
【図２７Ａ】



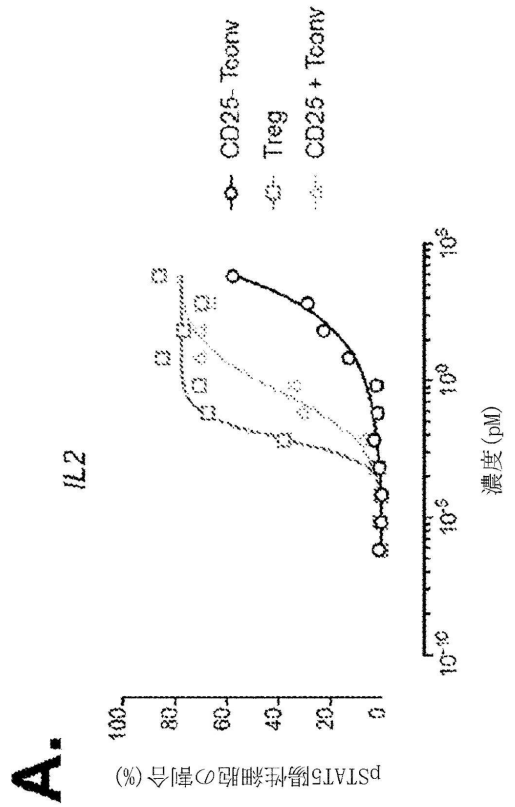
【図２７Ｂ】



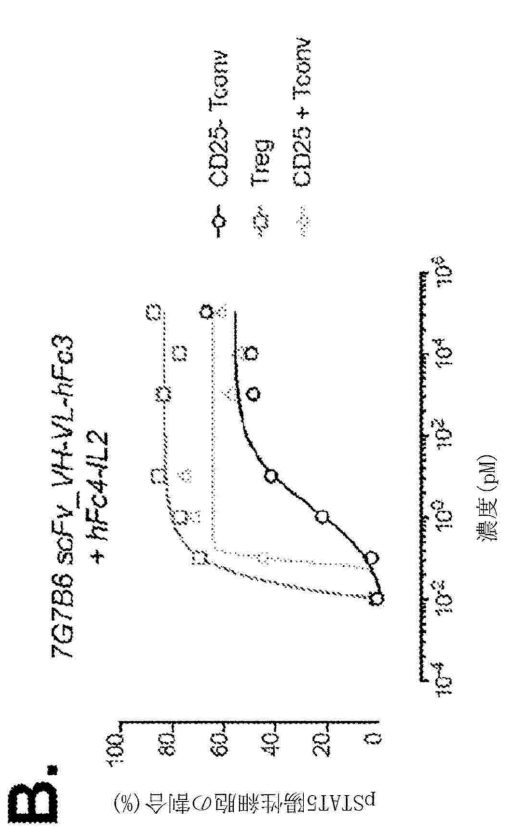
【図２８】



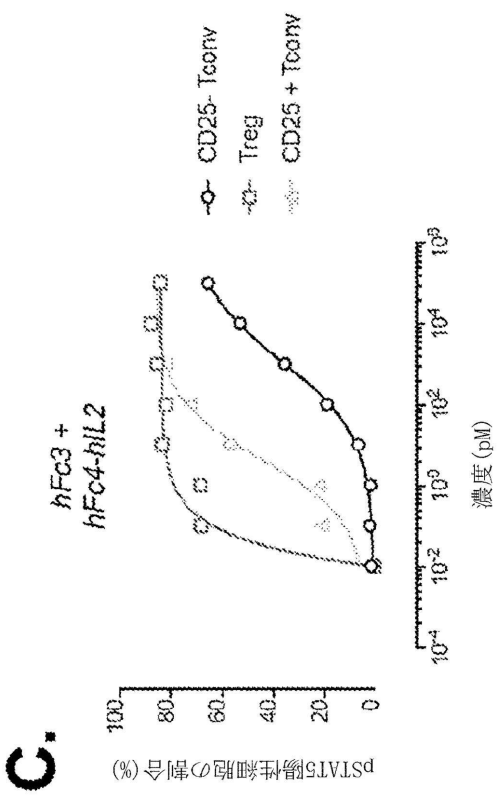
【図２９Ａ】



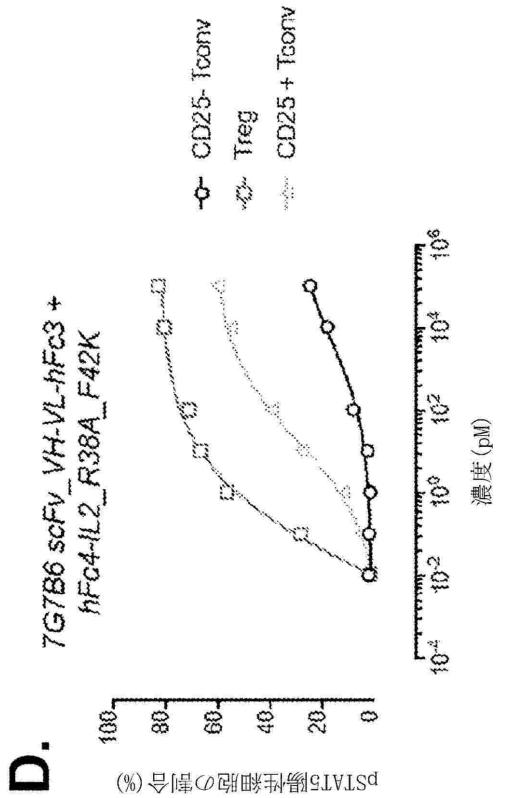
【図２９Ｂ】



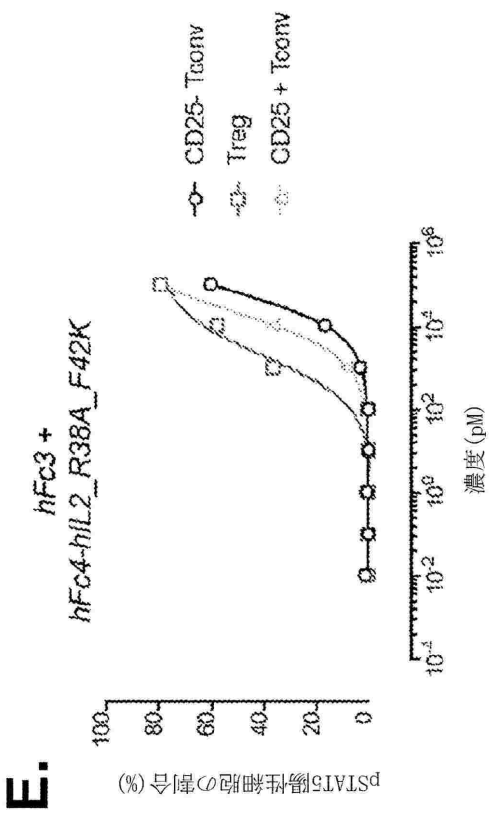
【図２９Ｃ】



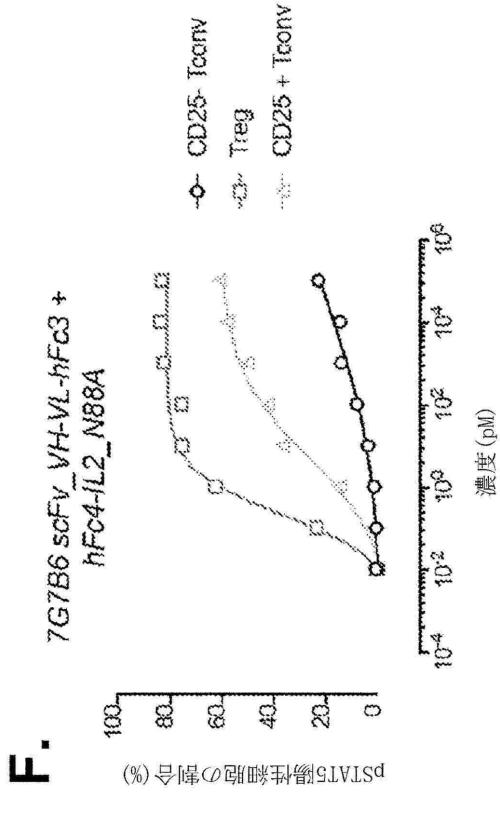
【図２９Ｄ】



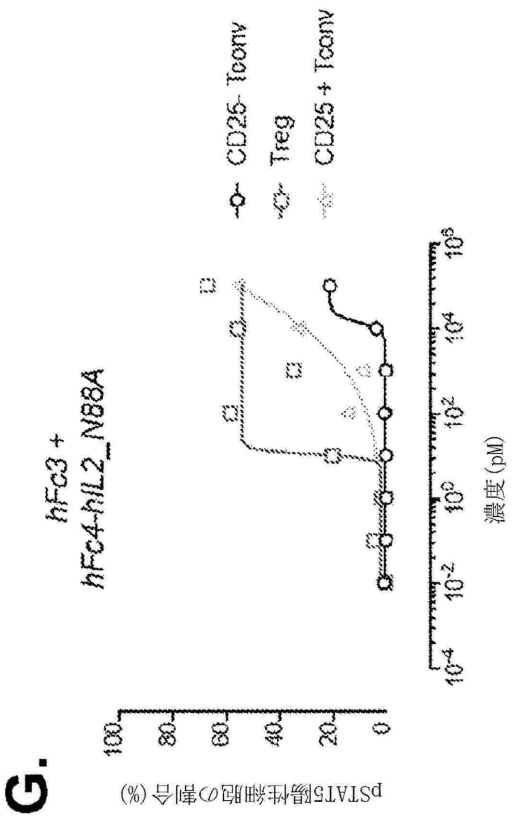
【図２９Ｅ】



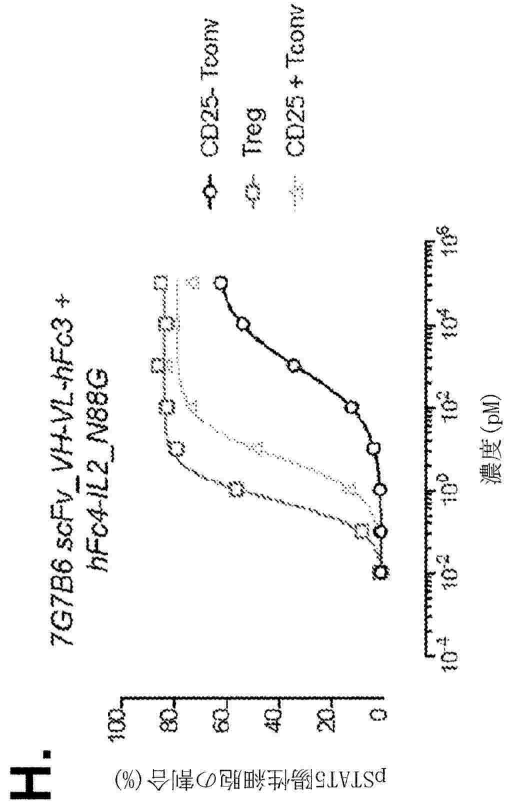
【図２９Ｆ】



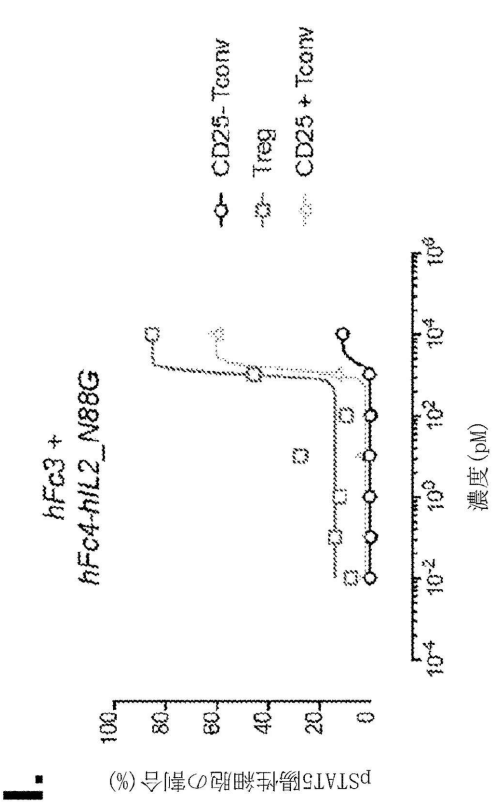
【図２９Ｇ】



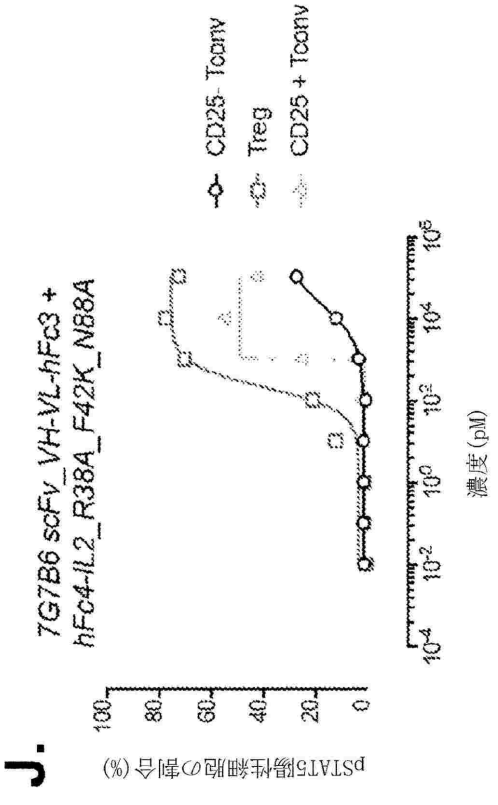
【図２９Ｈ】



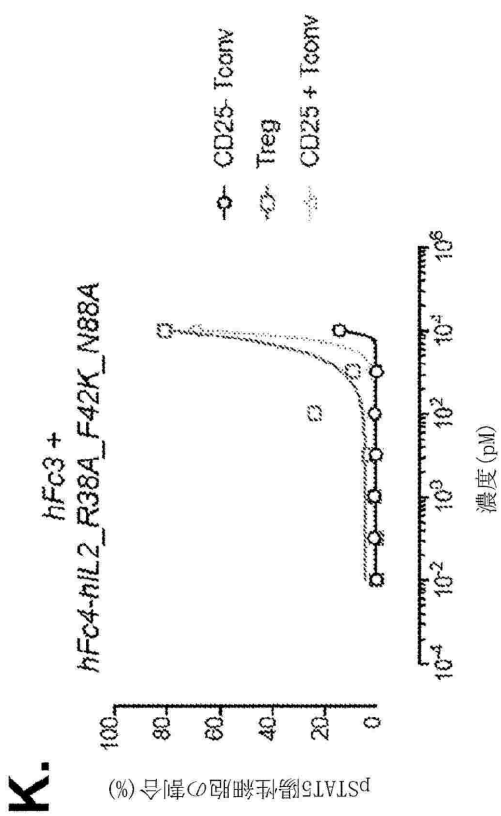
【図２９Ｉ】



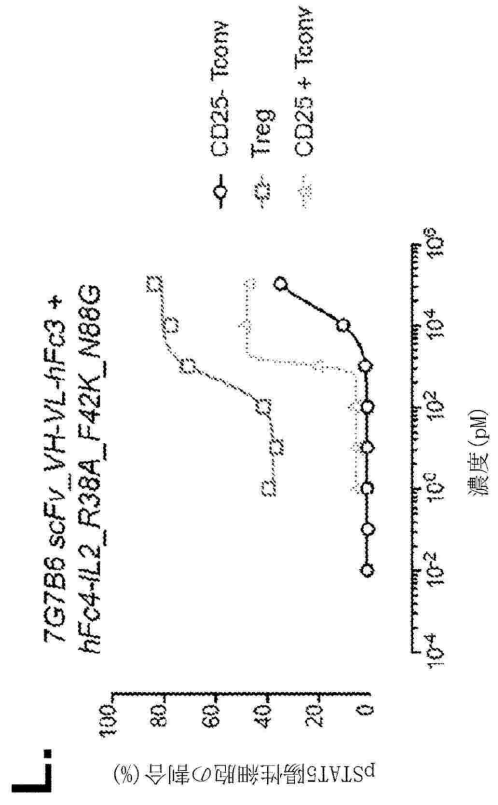
【図２９Ｊ】



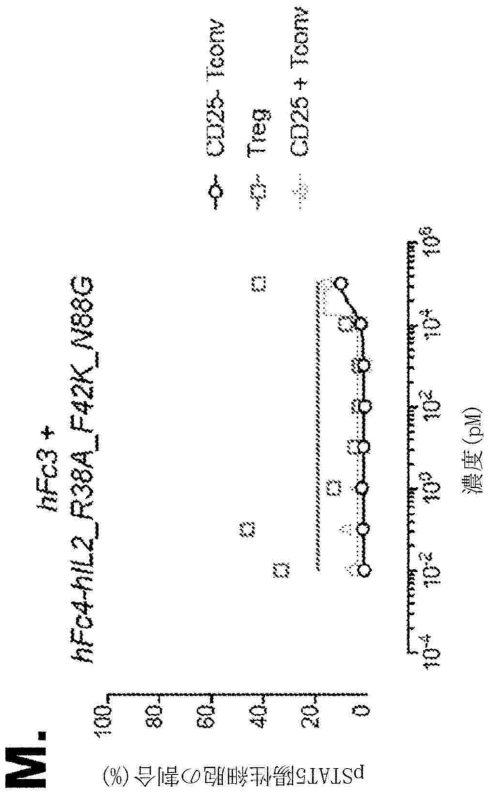
【図２９Ｋ】



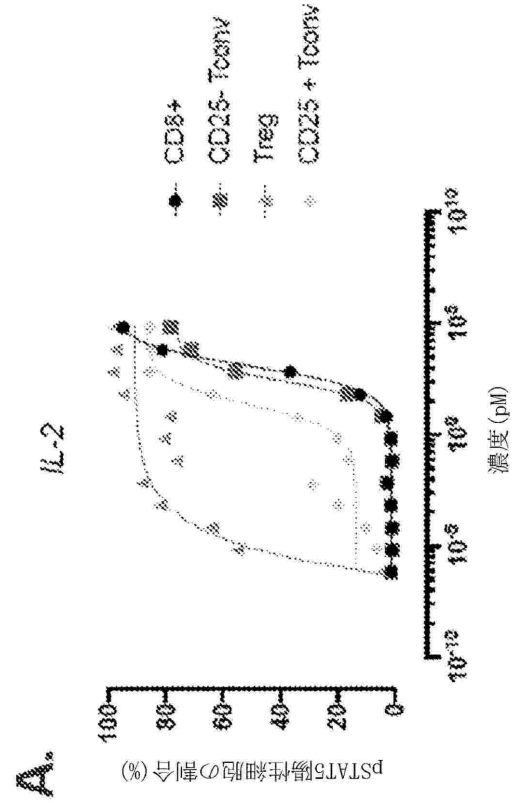
【図２９Ｌ】



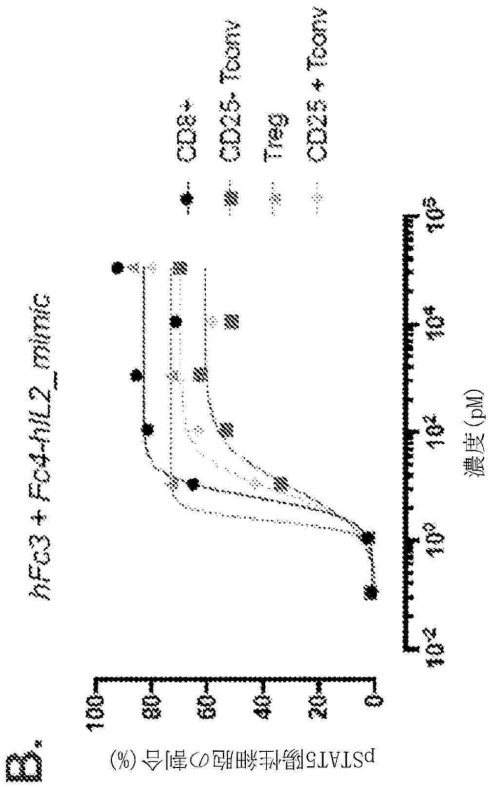
【図２９Ｍ】



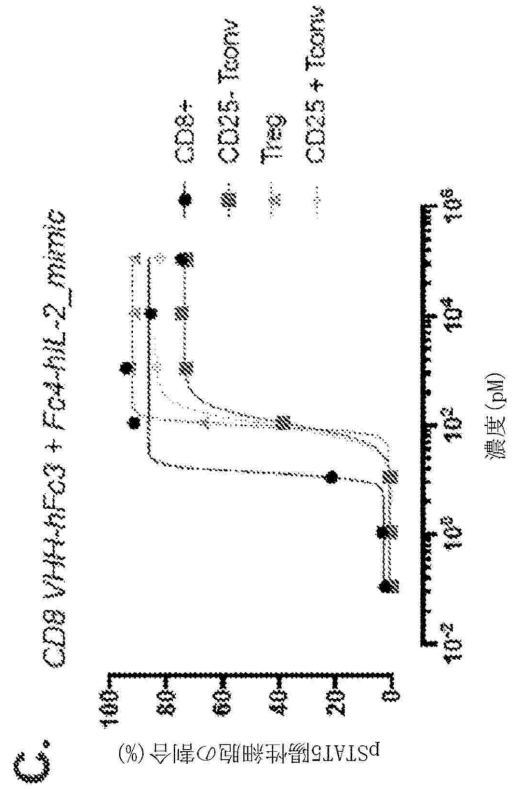
【図３０Ａ】



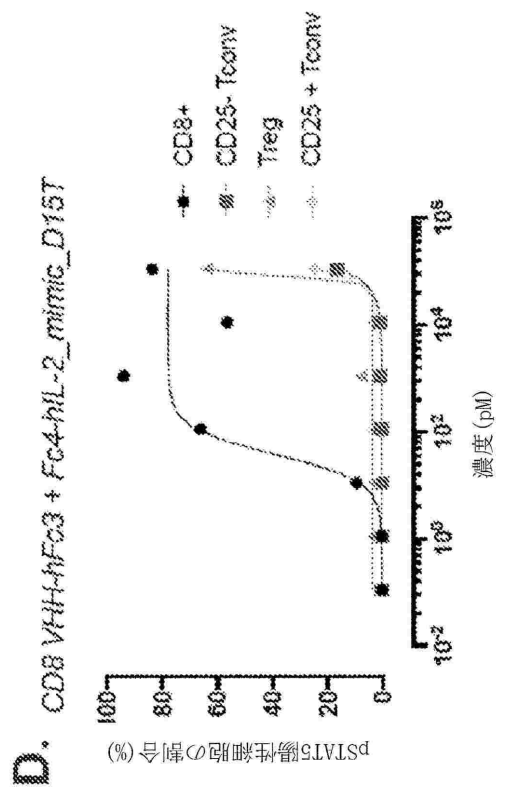
【図３０Ｂ】



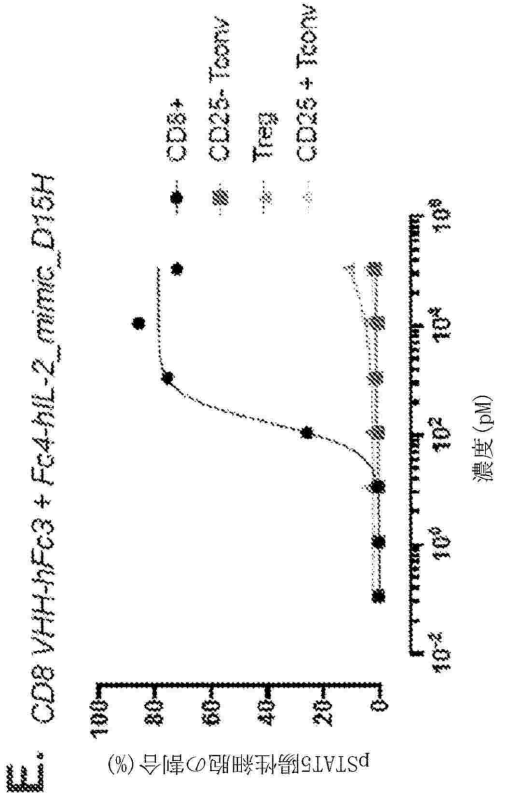
【図３０Ｃ】



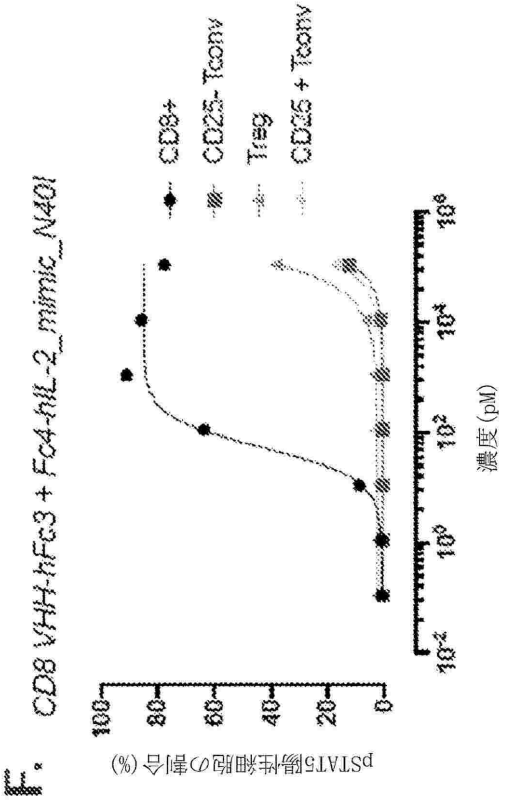
【図３０Ｄ】



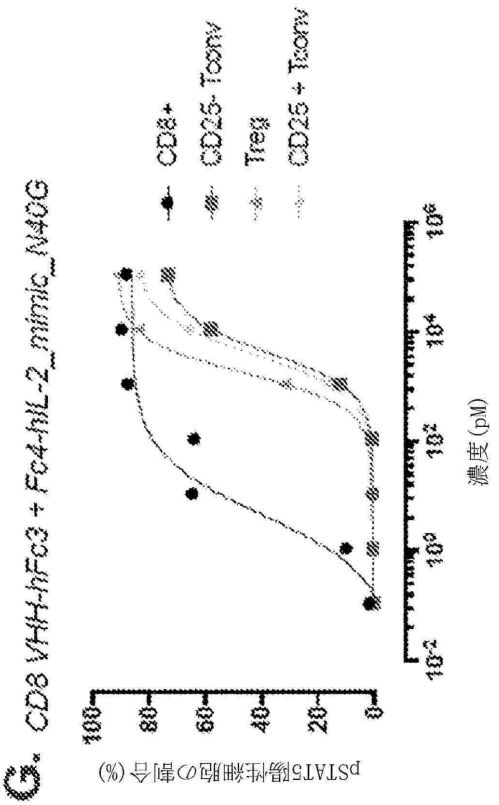
【図３０Ｅ】



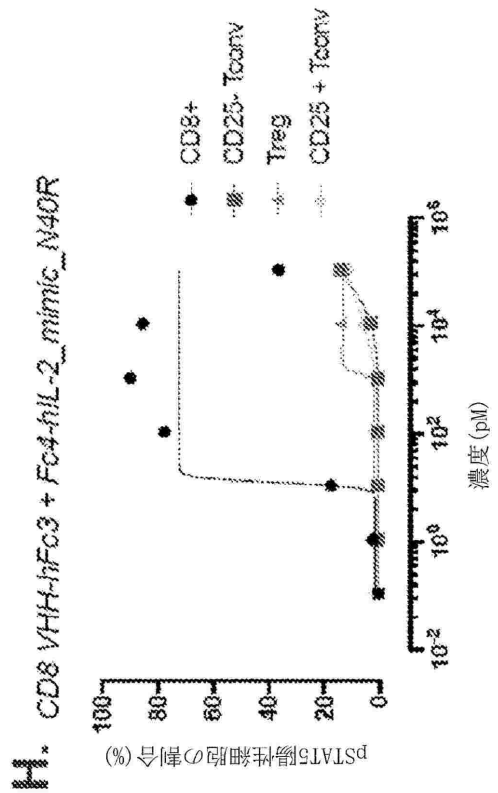
【図３０Ｆ】



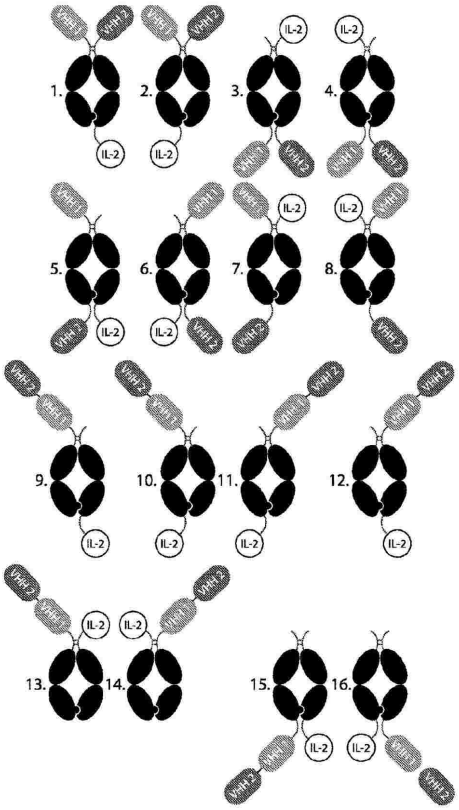
【図３０Ｇ】



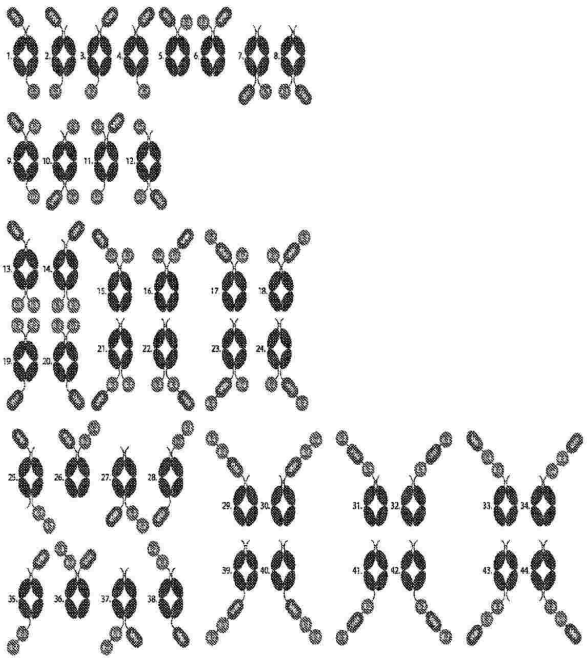
【図３０Ｈ】



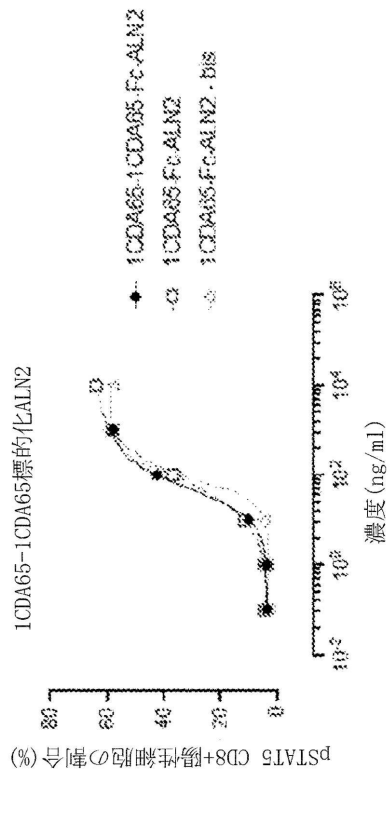
【図３１】



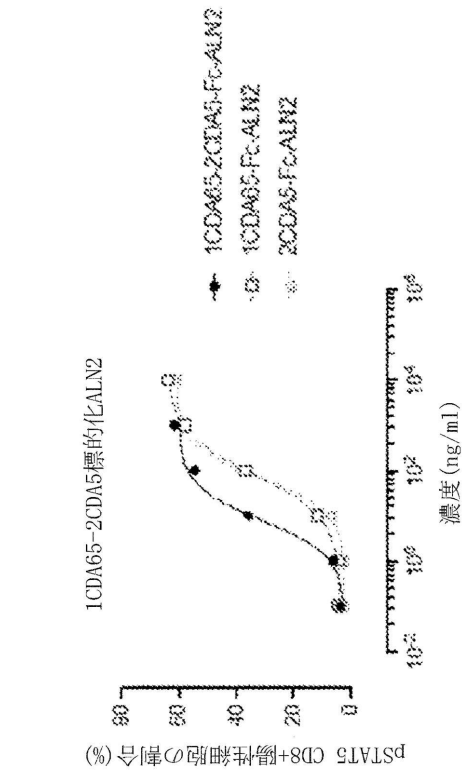
【図３２】



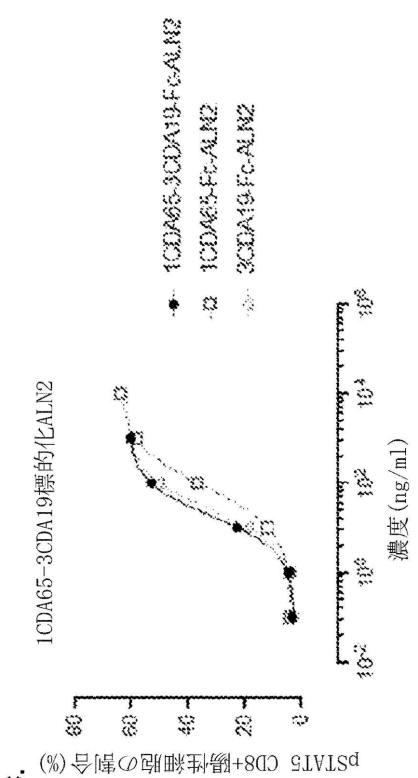
【図３３Ａ】



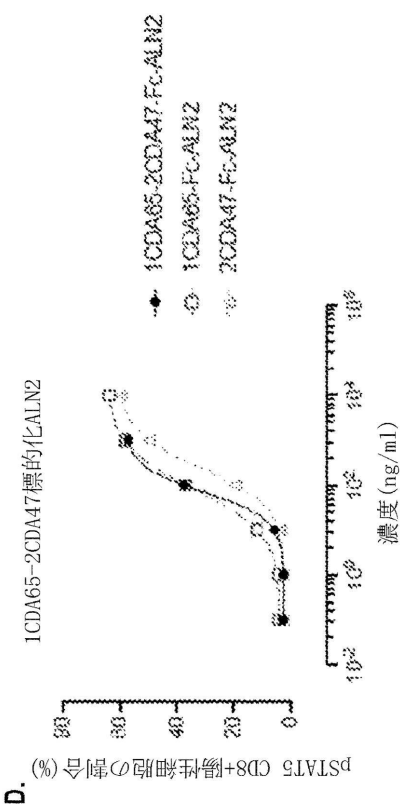
【図３３Ｂ】



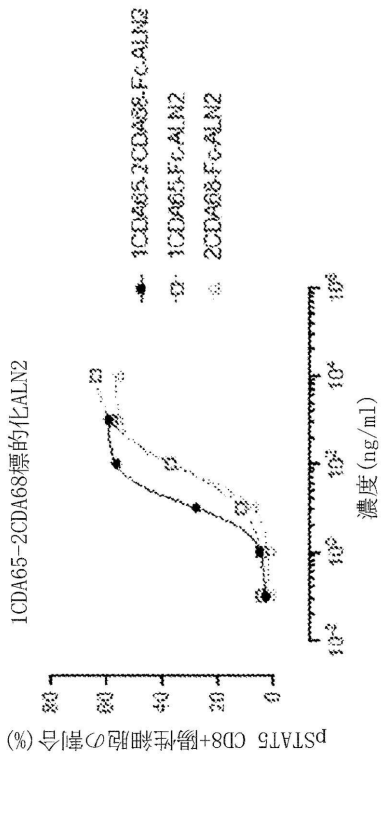
【図３３Ｃ】



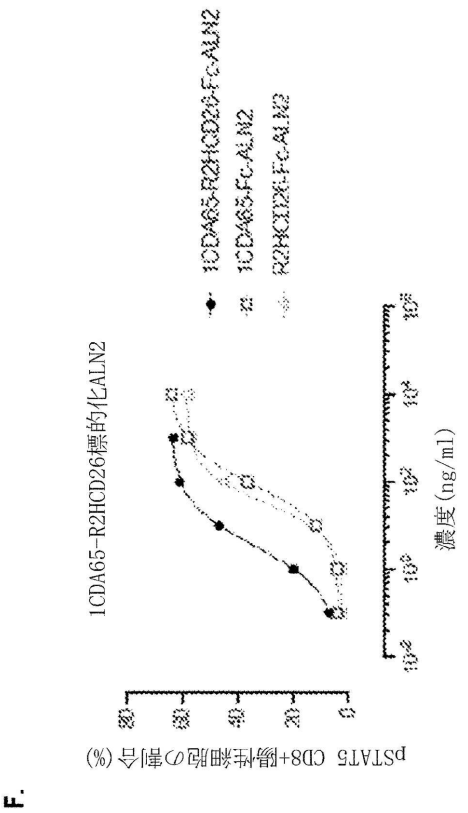
【図３３Ｄ】



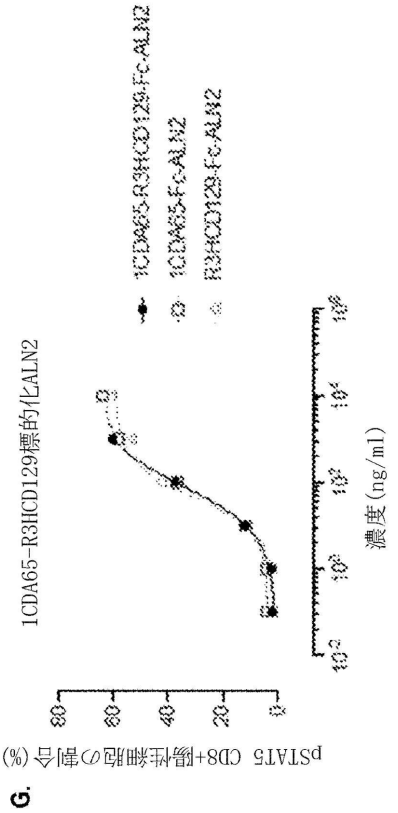
【図３３Ｅ】



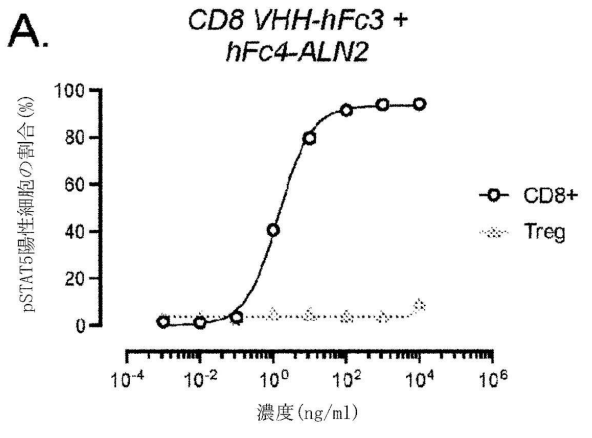
【図３３Ｆ】



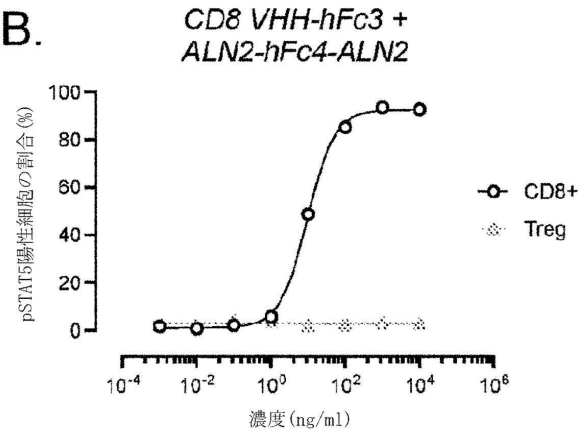
【図３３Ｇ】



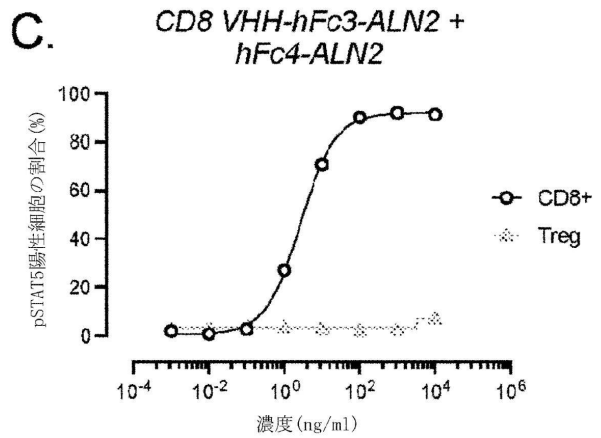
【図３４Ａ】



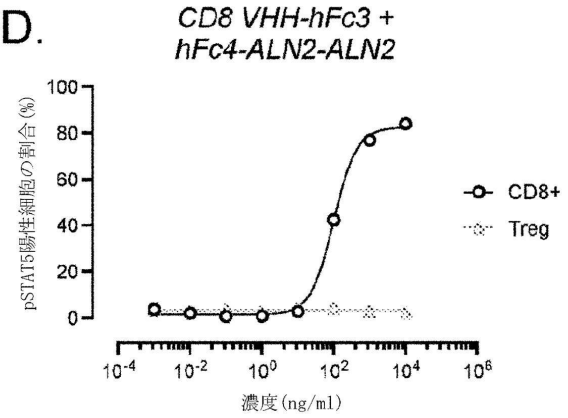
【図３４Ｂ】



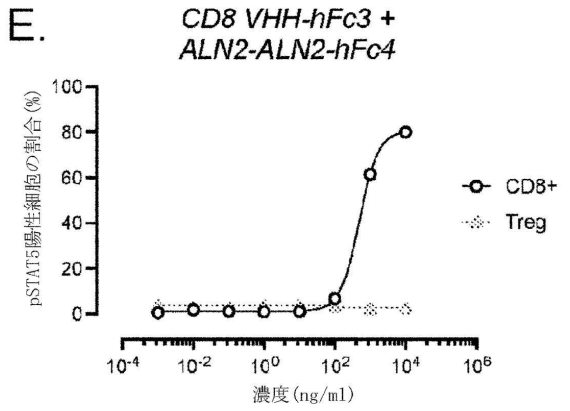
【図３４Ｃ】



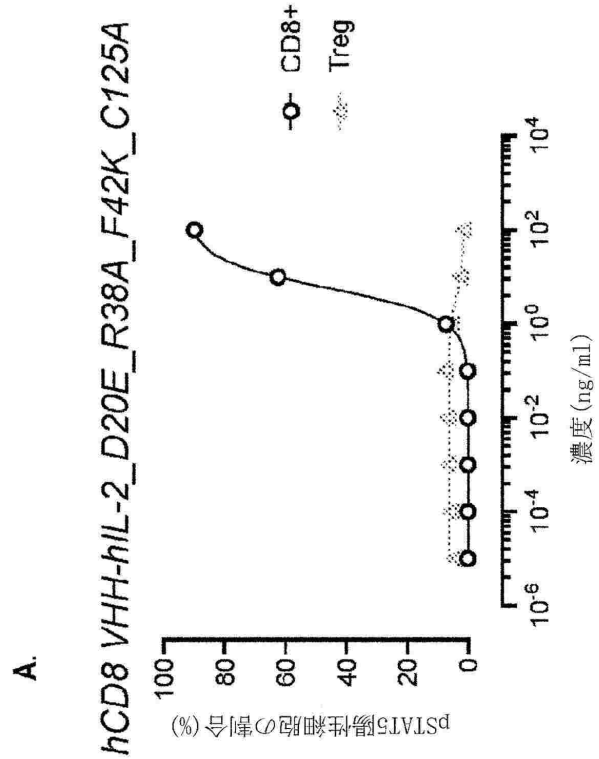
【図３４Ｄ】



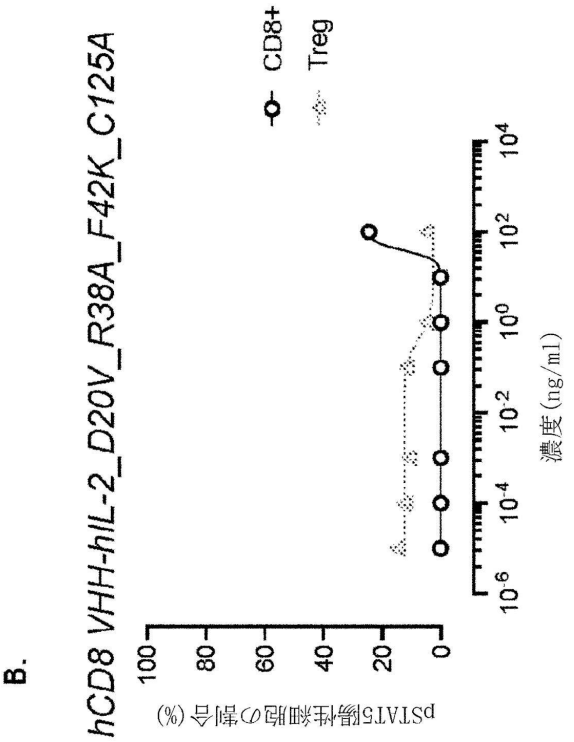
【図３４Ｅ】



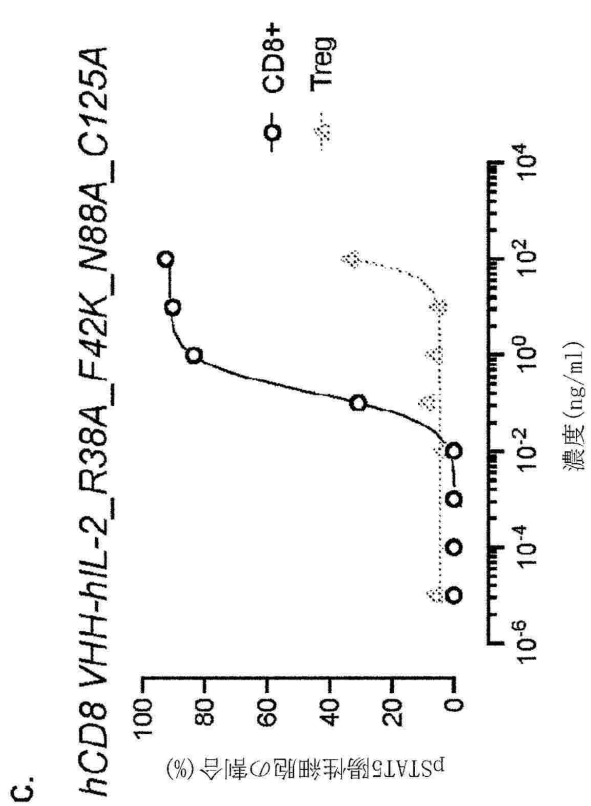
【図３５Ａ】



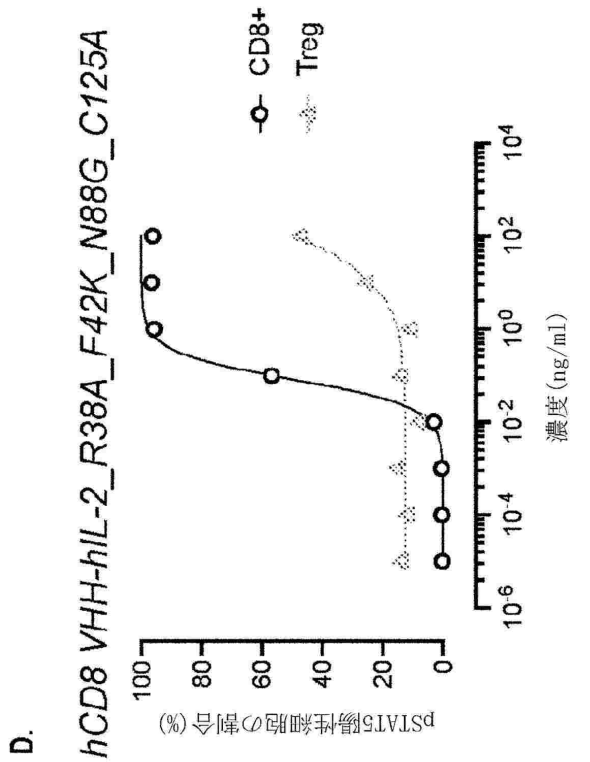
【図３５Ｂ】



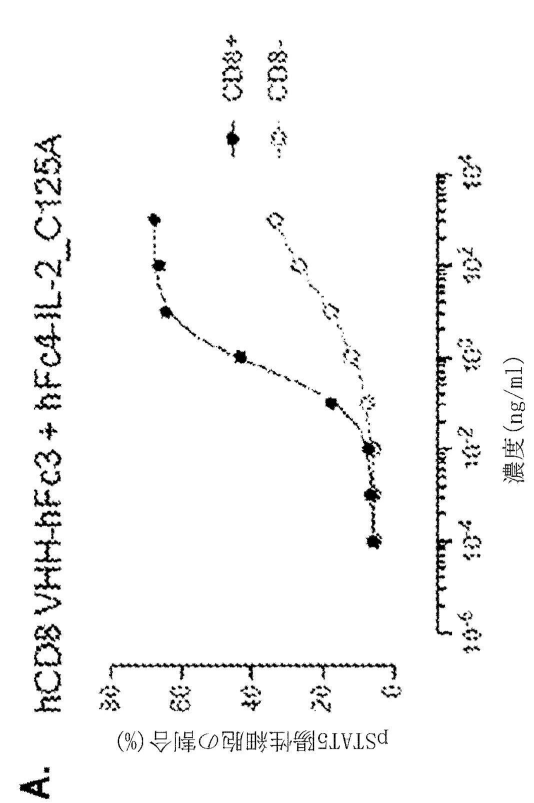
【図３５Ｃ】



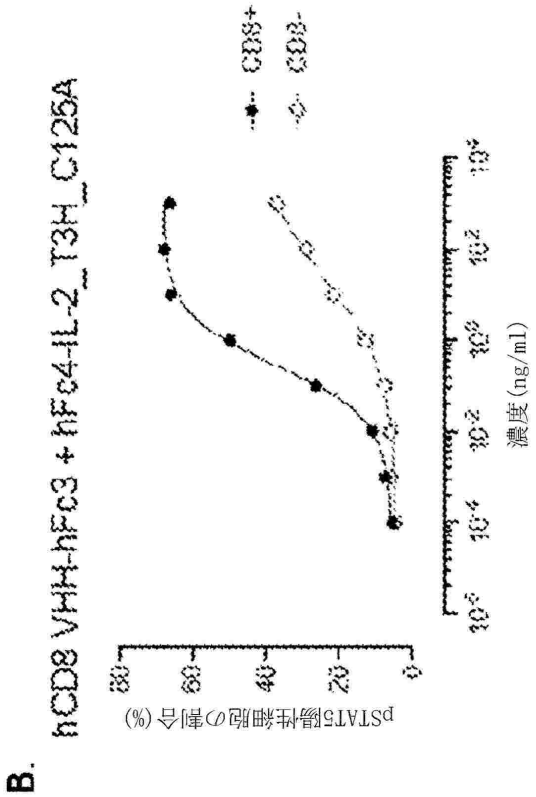
【図３５Ｄ】



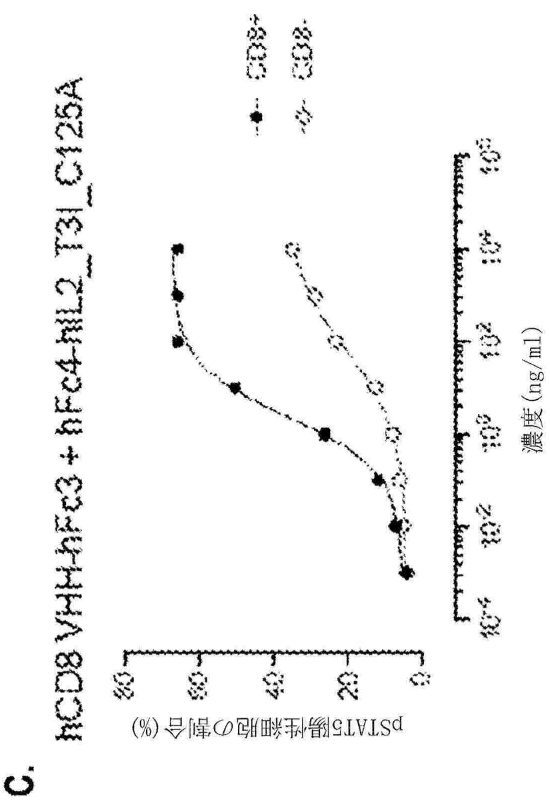
【図３６Ａ】



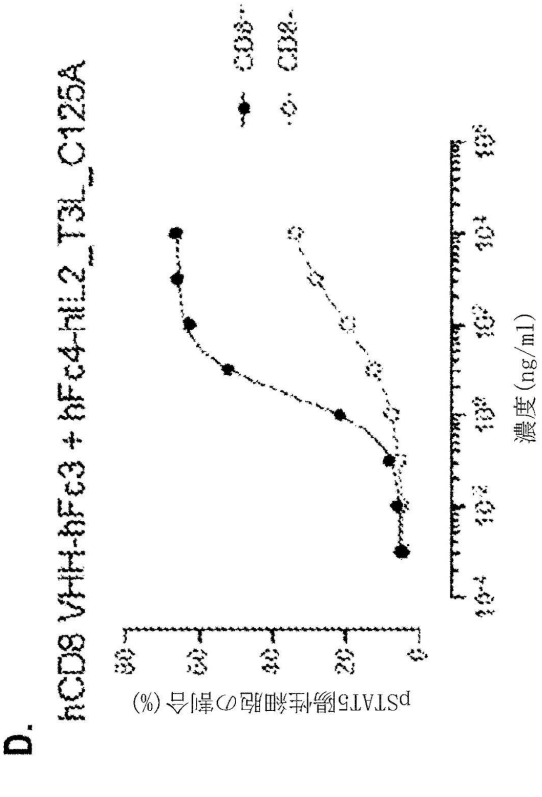
【図３６Ｂ】



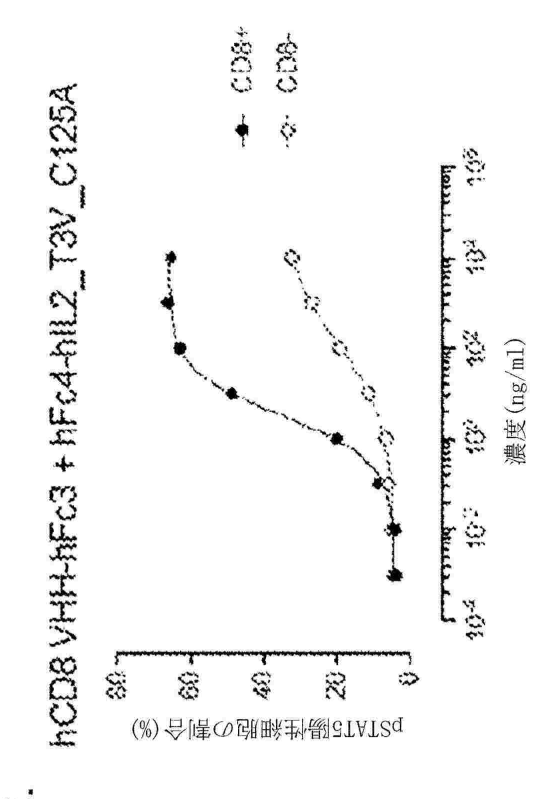
【図３６Ｃ】



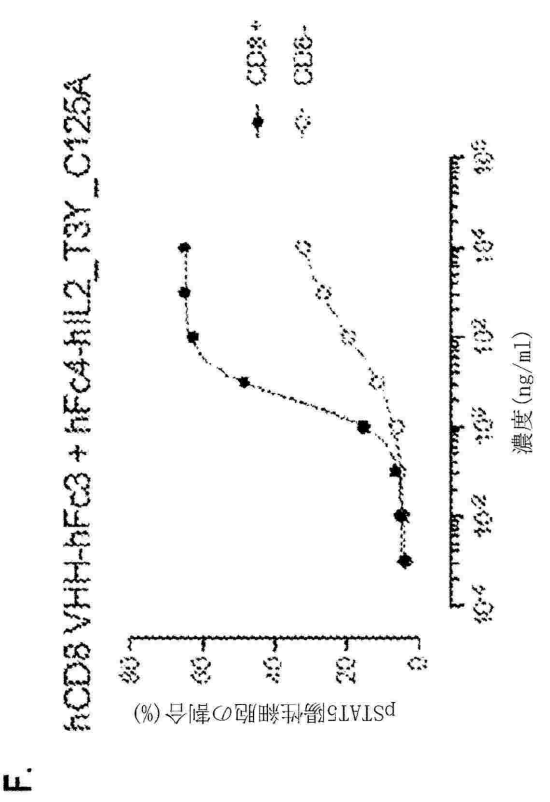
【図３６Ｄ】



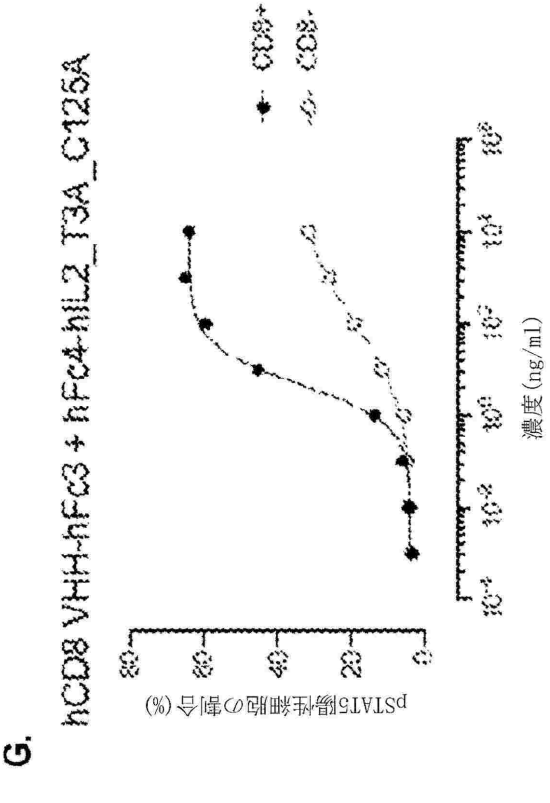
【図３６Ｅ】



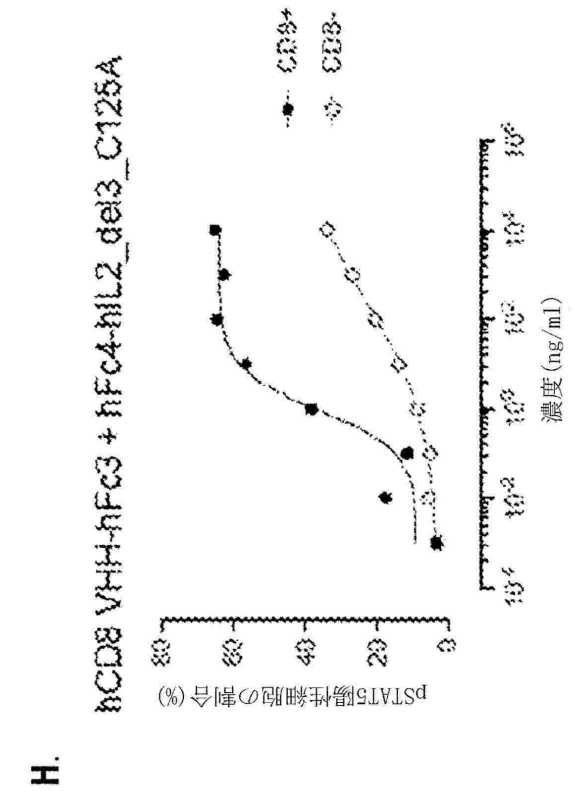
【図３６Ｆ】



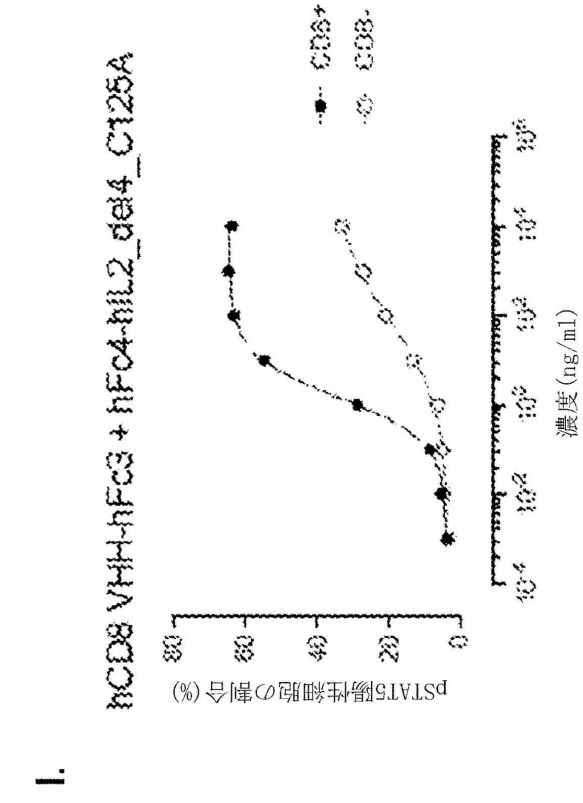
【図３６Ｇ】



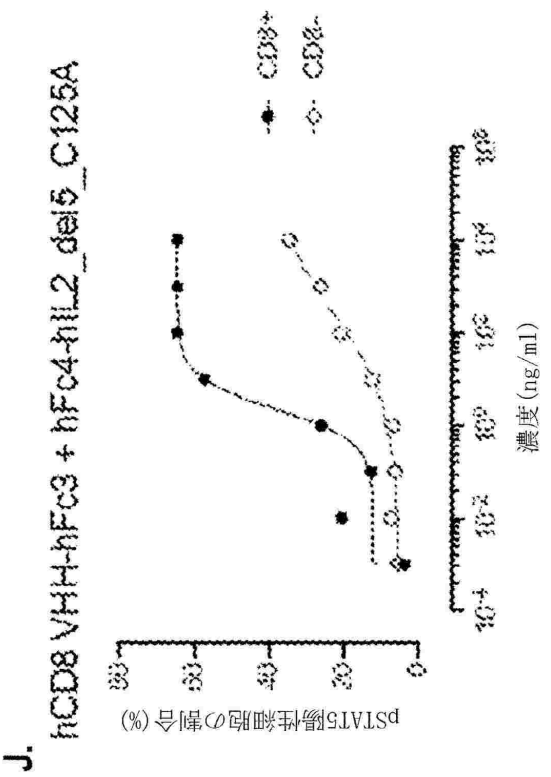
【図３６Ｈ】



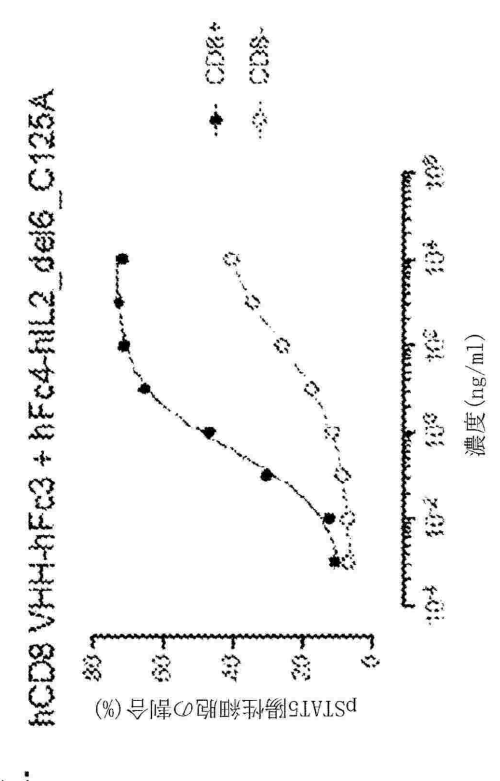
【図３６Ｉ】



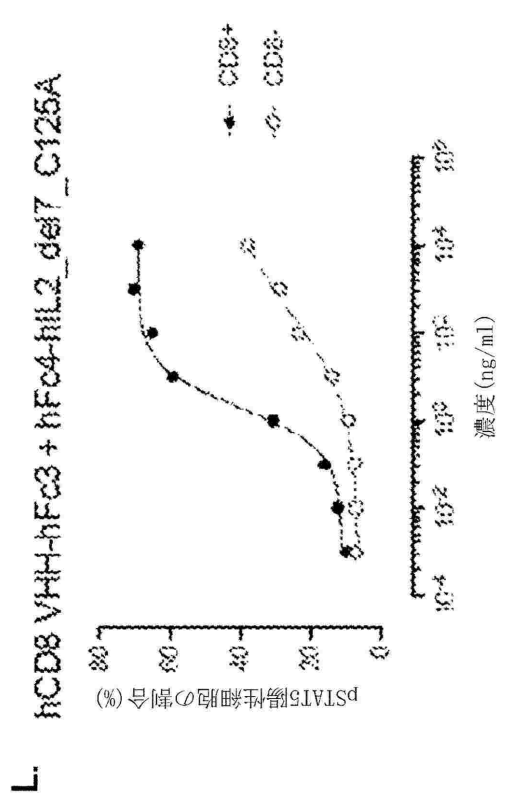
【図３６Ｊ】



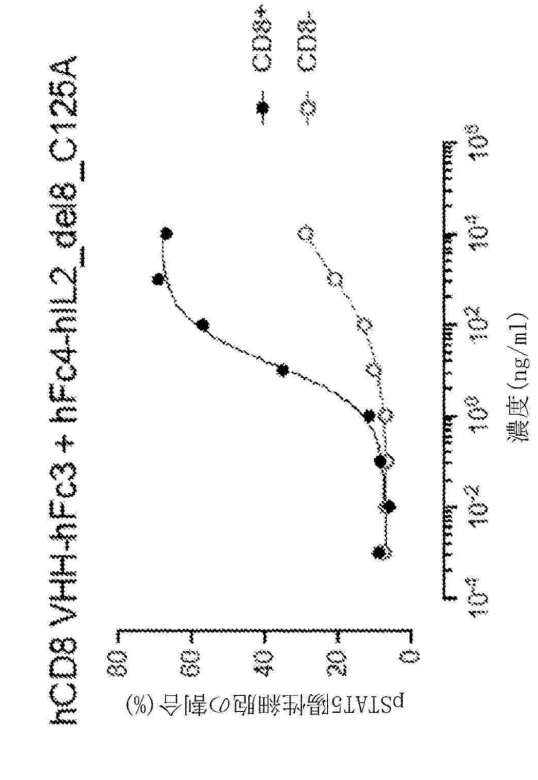
【図３６Ｋ】



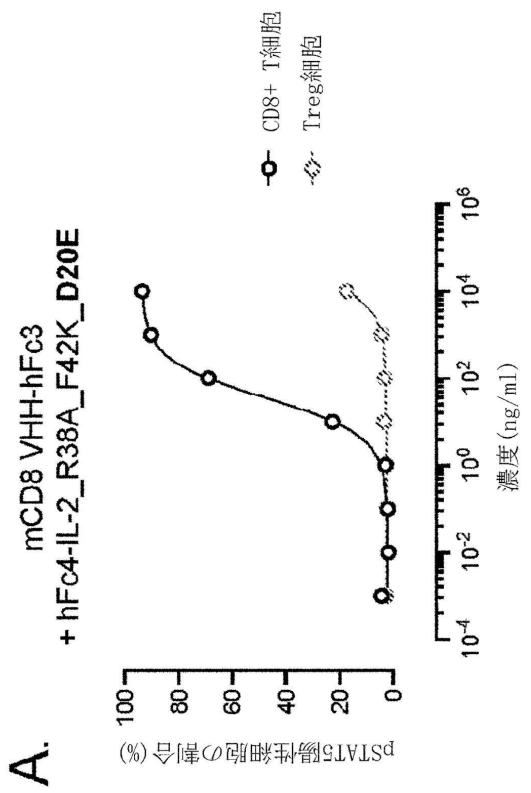
【図３６Ｌ】



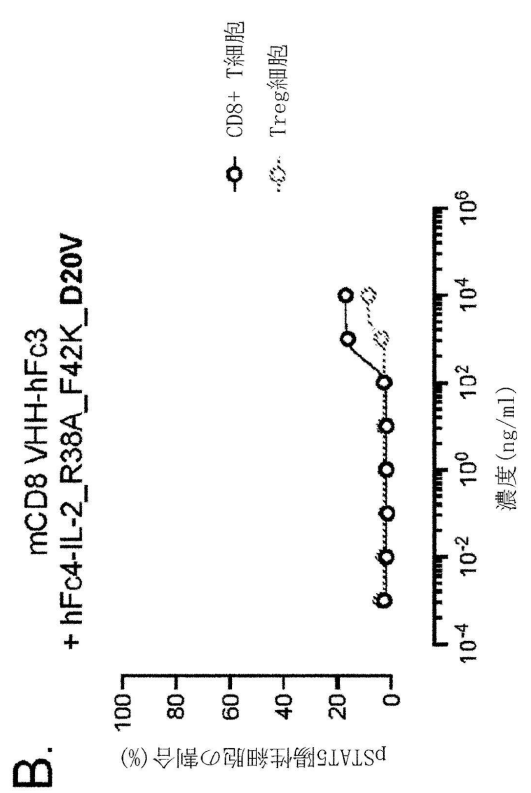
【図３６Ｍ】



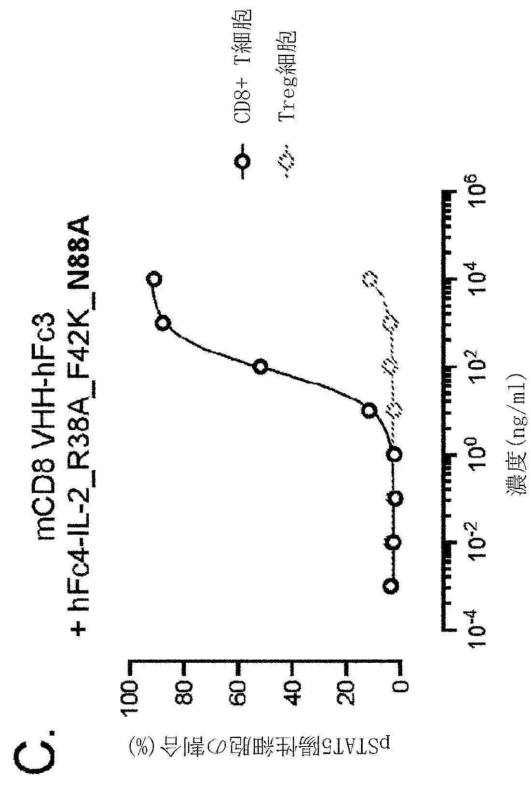
【図３７Ａ】



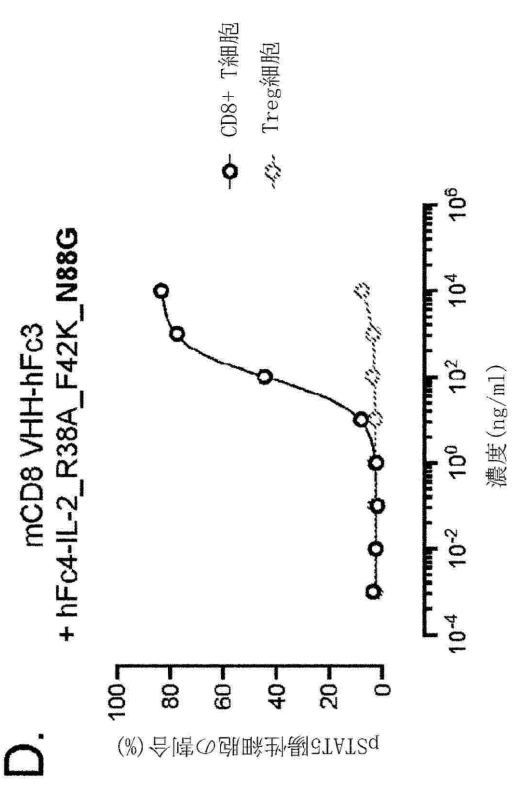
【図３７Ｂ】



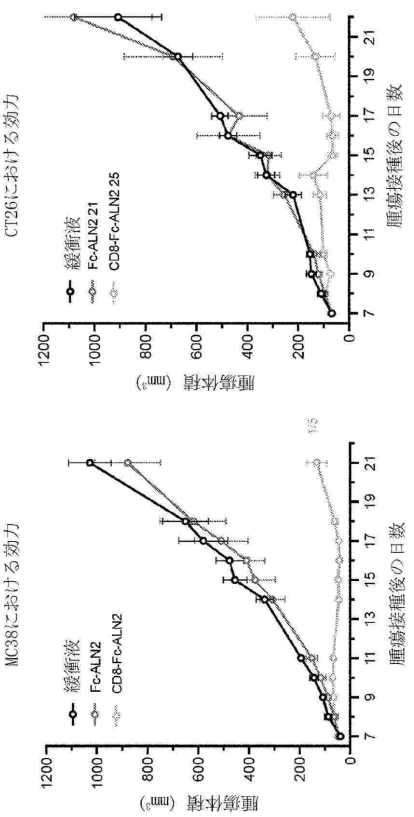
【図３７Ｃ】



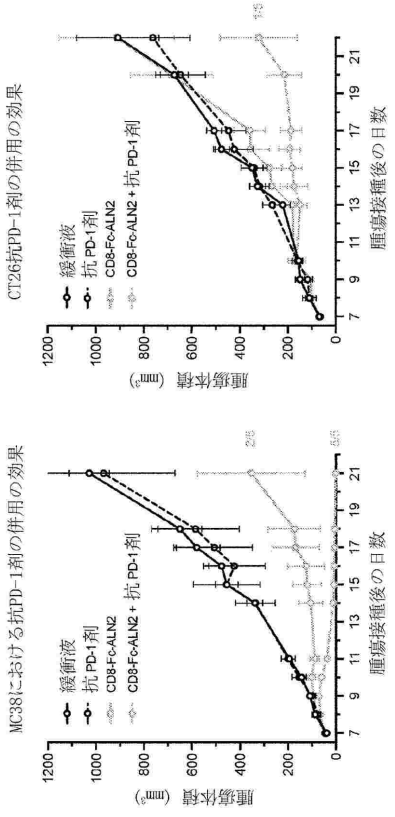
【図３７Ｄ】



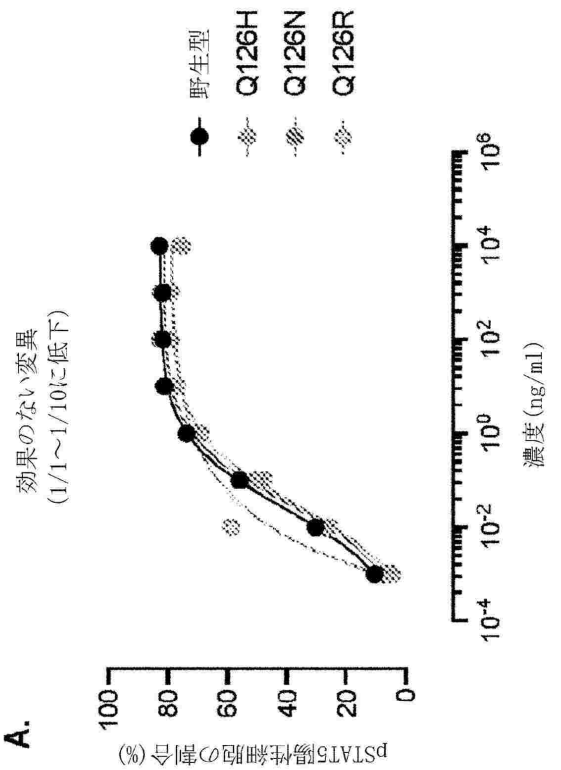
【図３８】



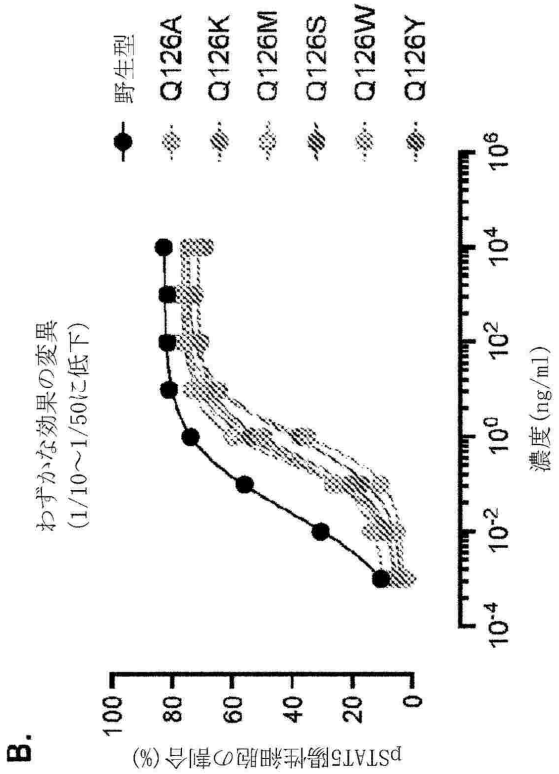
【図３９】



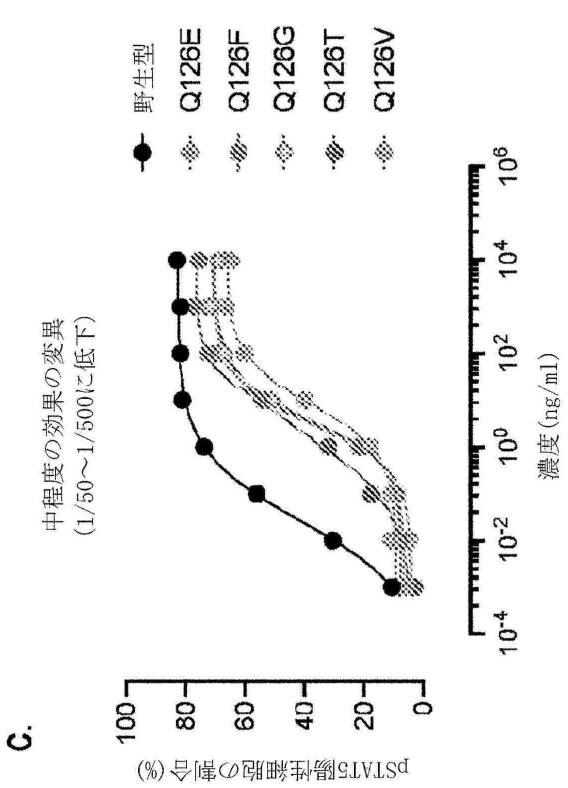
【図４０Ａ】



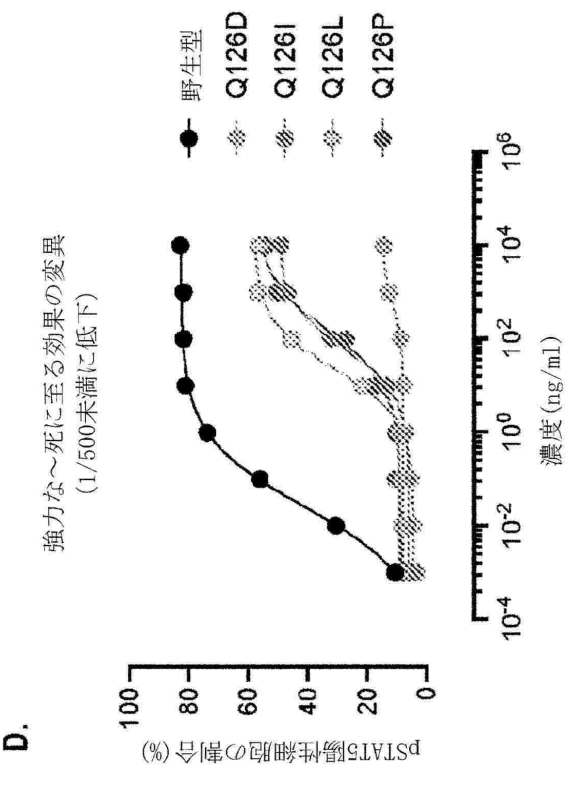
【図４０Ｂ】



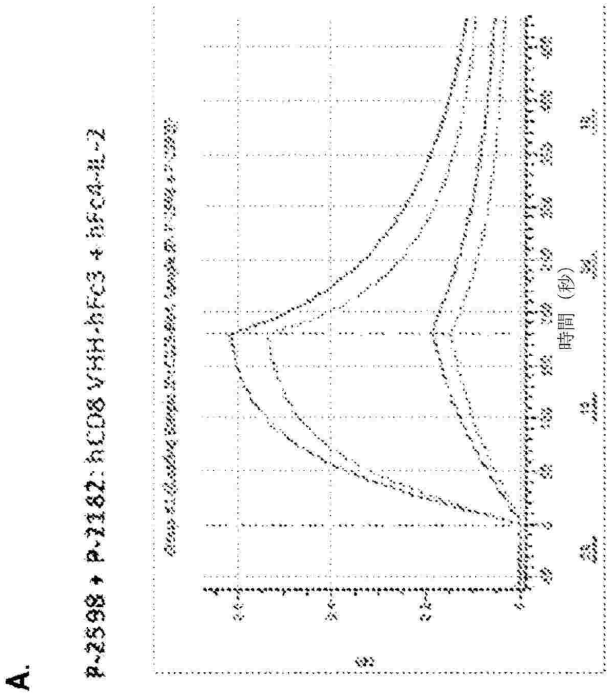
【図４０Ｃ】



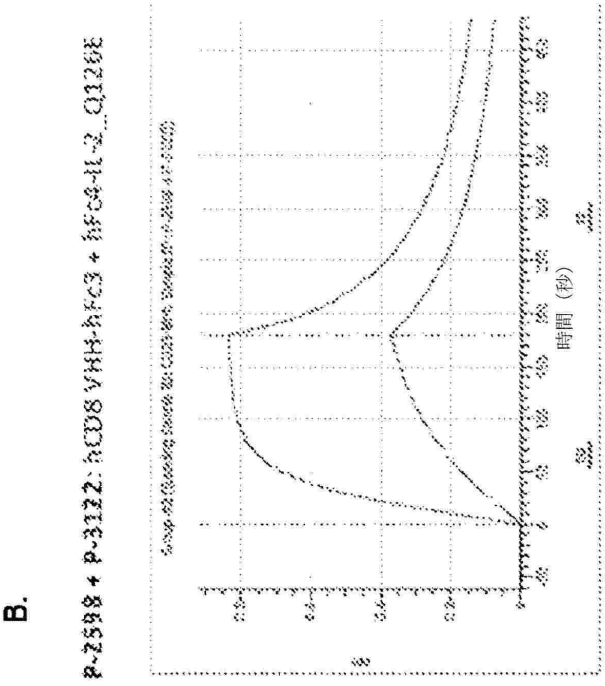
【図４０Ｄ】



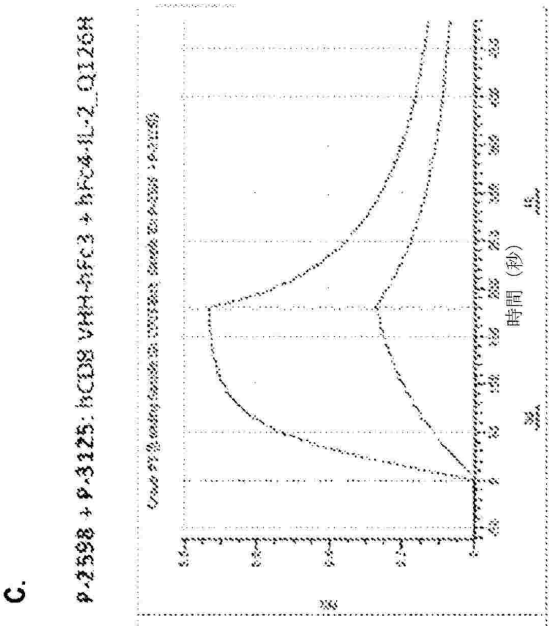
【図４１Ａ】



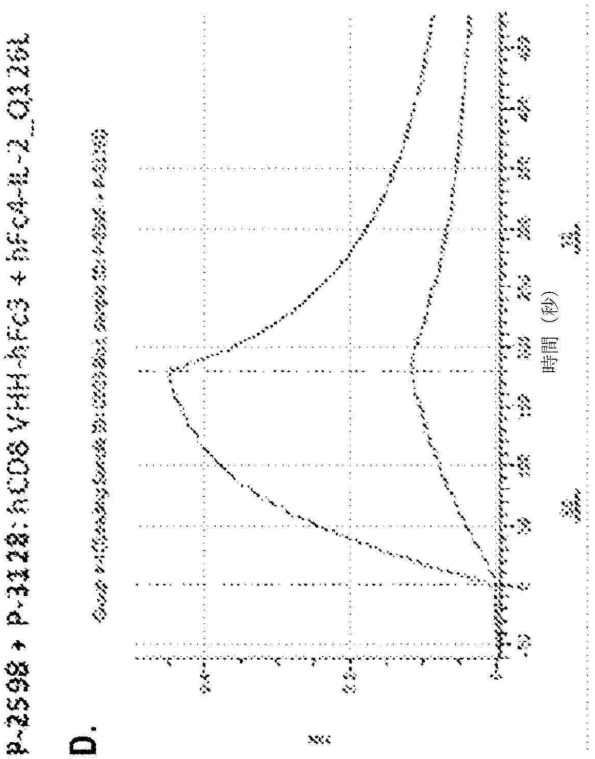
【図４１Ｂ】



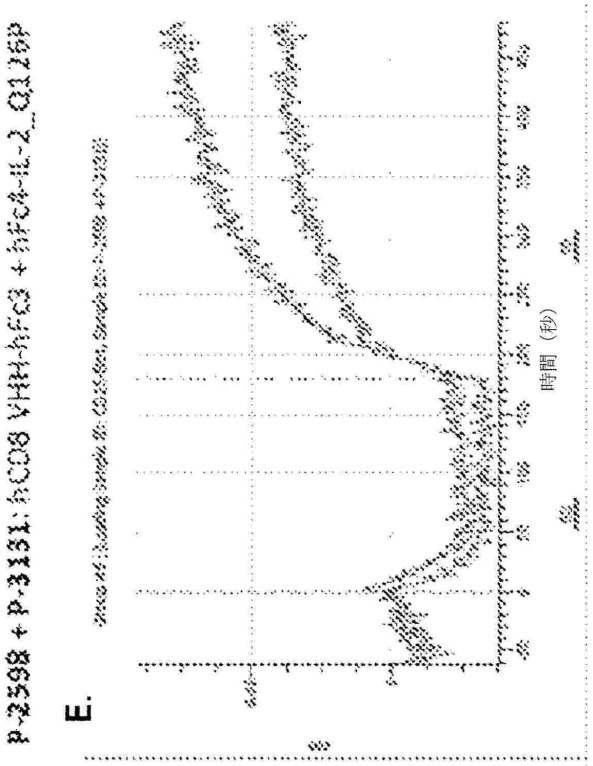
【図４１Ｃ】



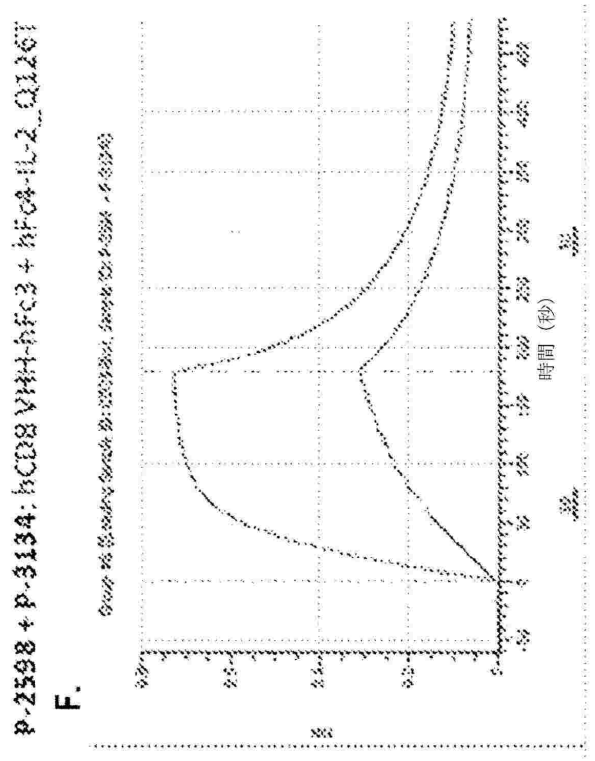
【図４１Ｄ】



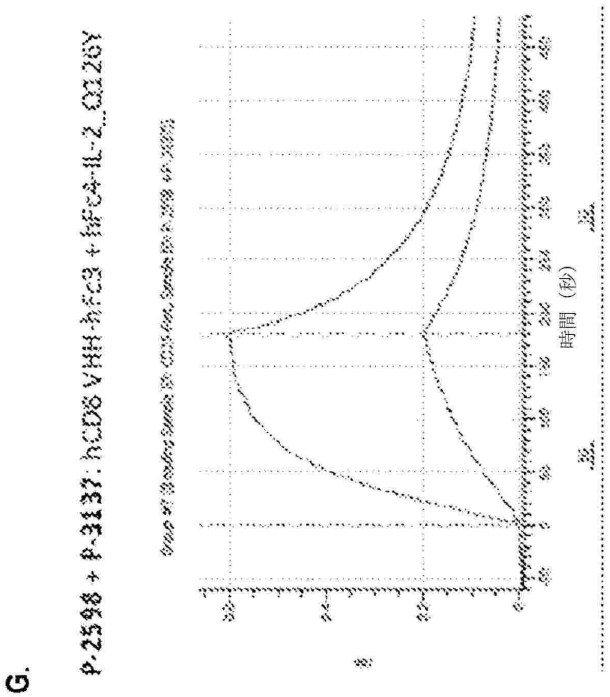
【図４１Ｅ】



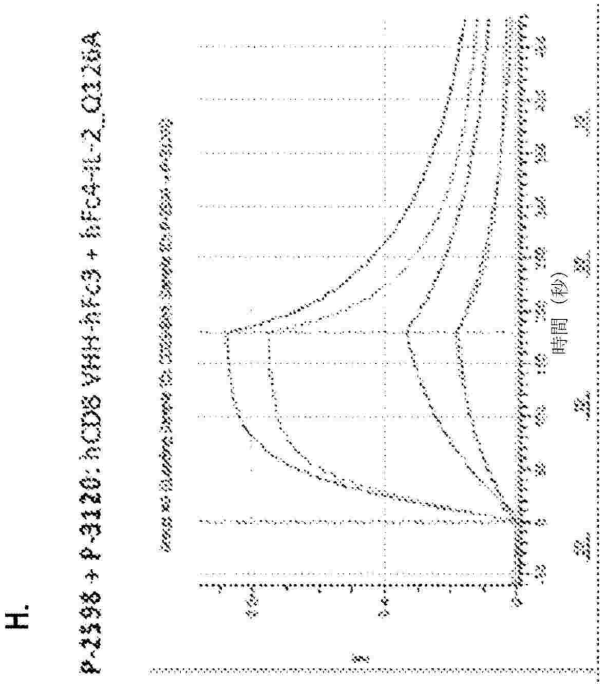
【図４１Ｆ】



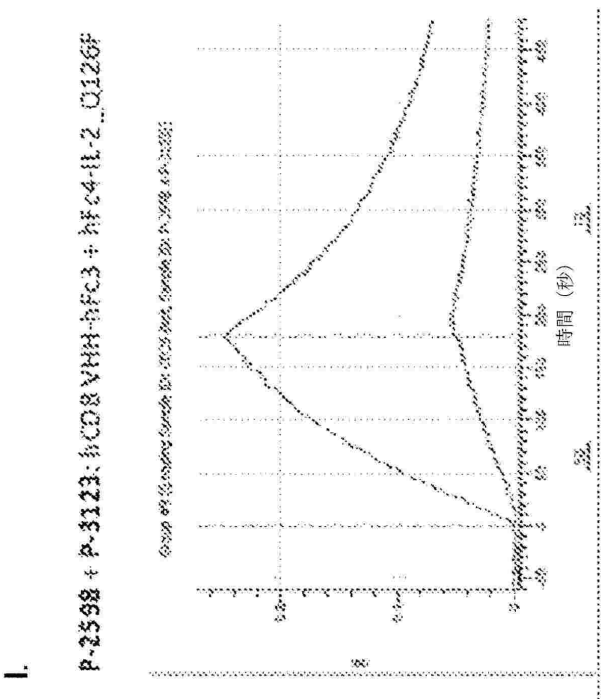
【図４１Ｇ】



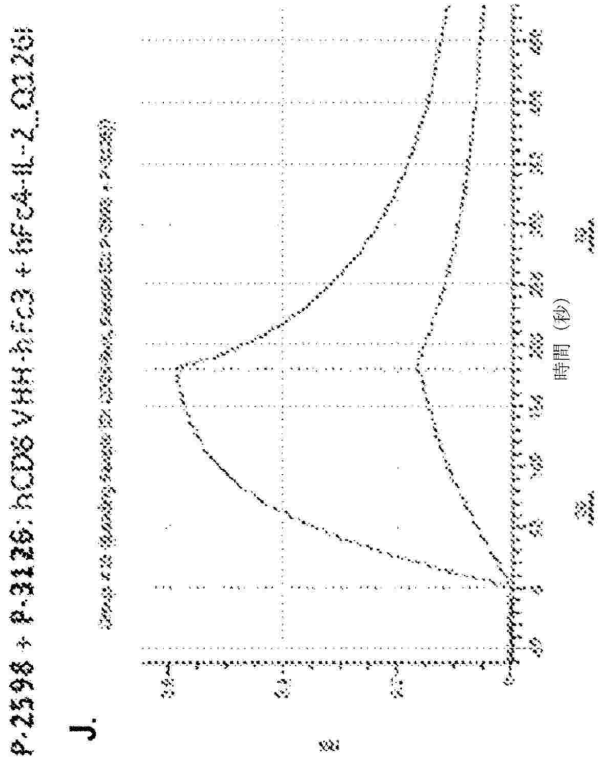
【図４１Ｈ】



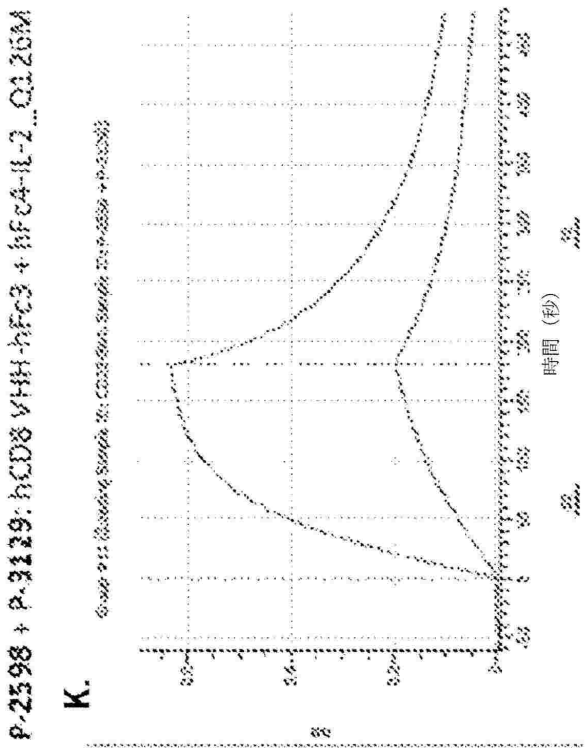
【図４１Ｉ】



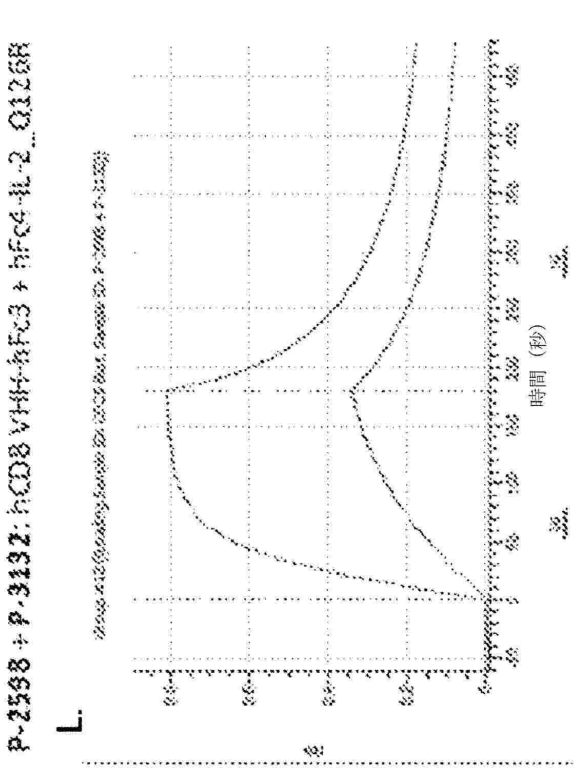
【図４１Ｊ】



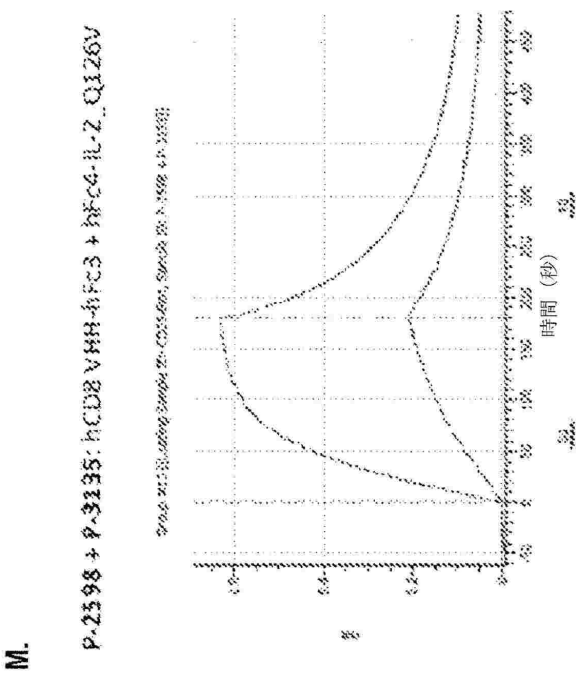
【図４１Ｋ】



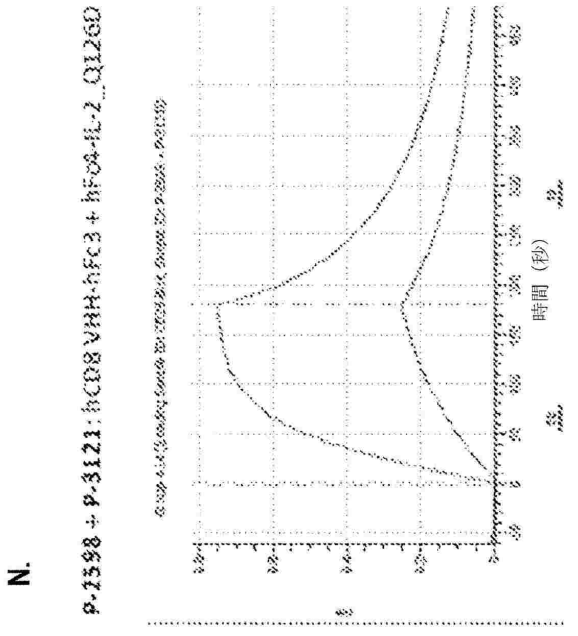
【図４１Ｌ】



【図４１Ｍ】

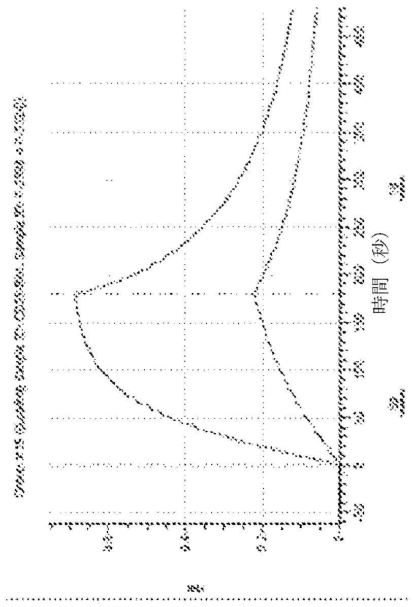


【図４１Ｎ】



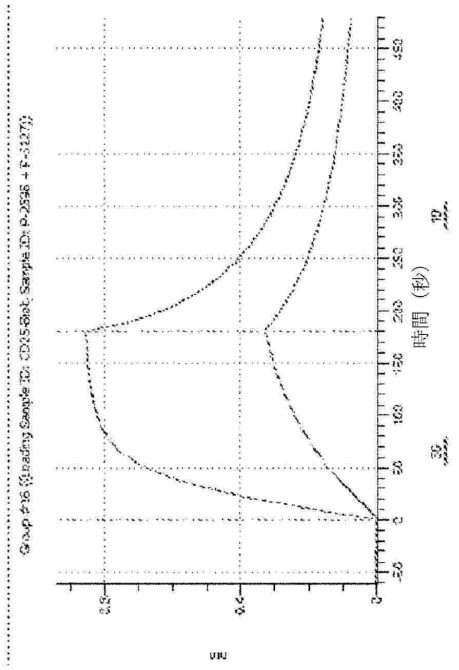
【図４１Ｏ】

O.



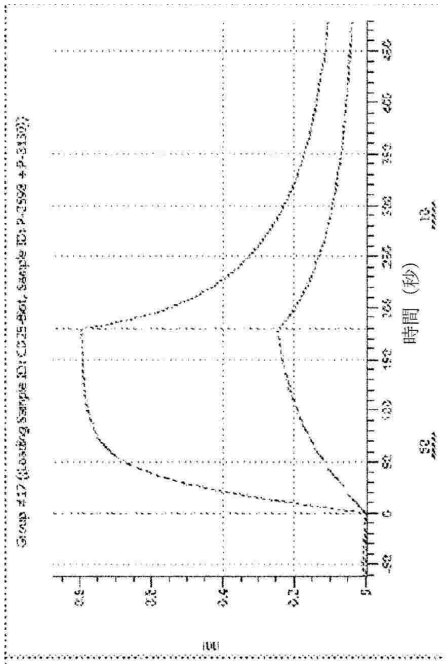
【図４１Ｐ】

P.



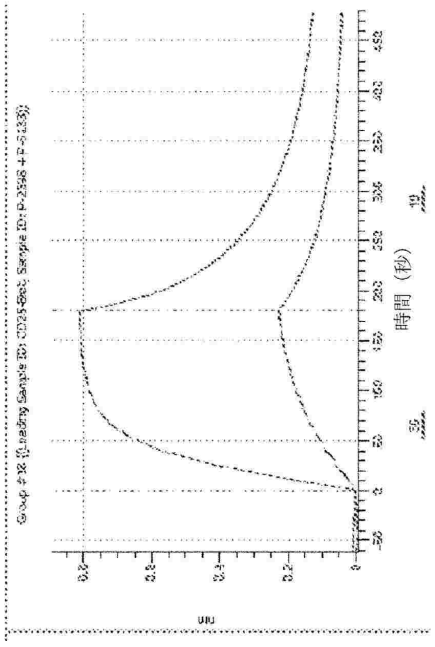
【図４１Ｑ】

Q.

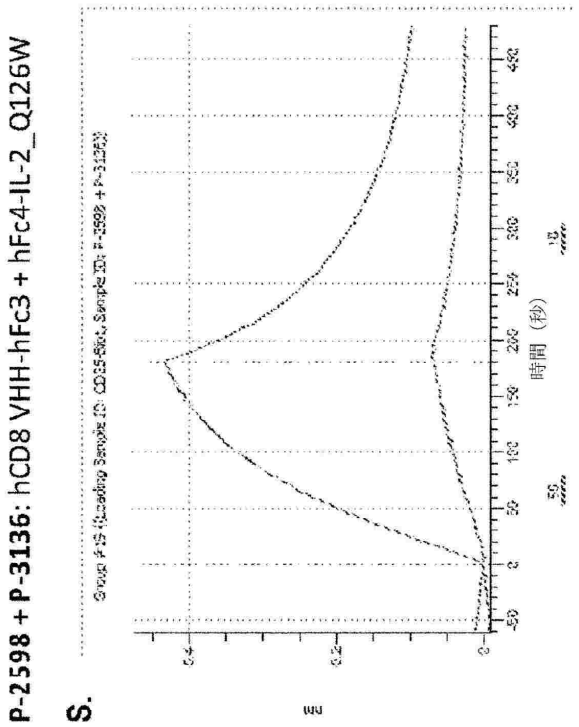


【図４１Ｒ】

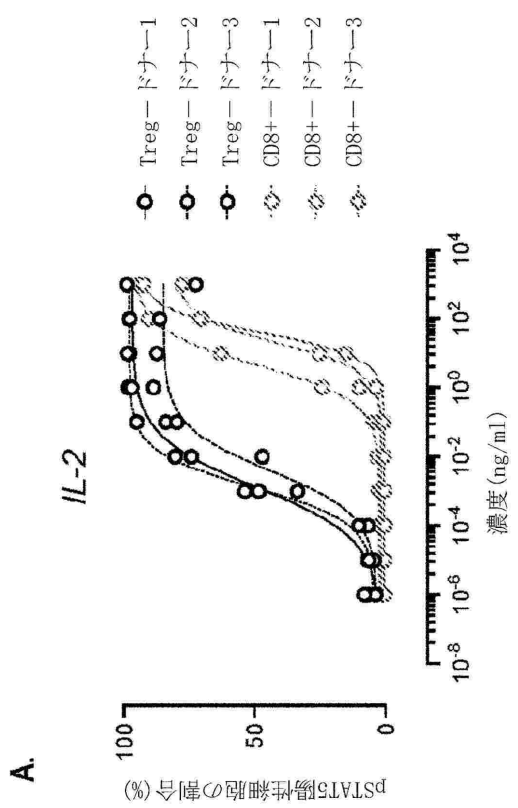
R.



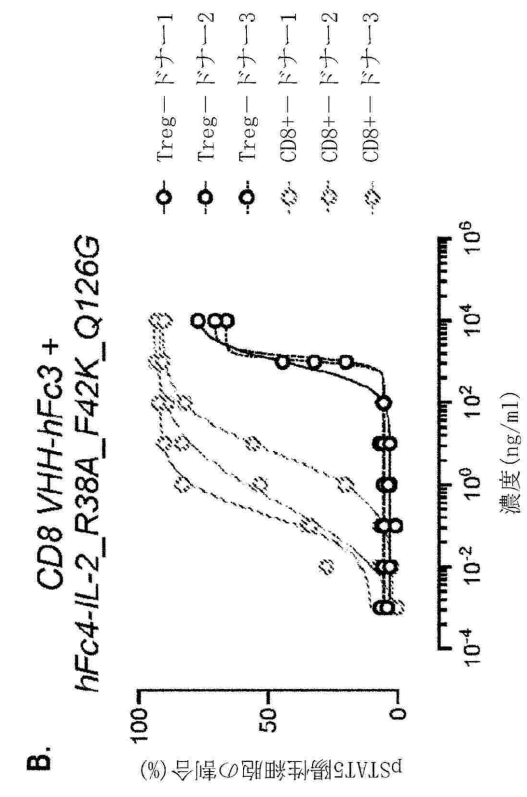
【図４１Ｓ】



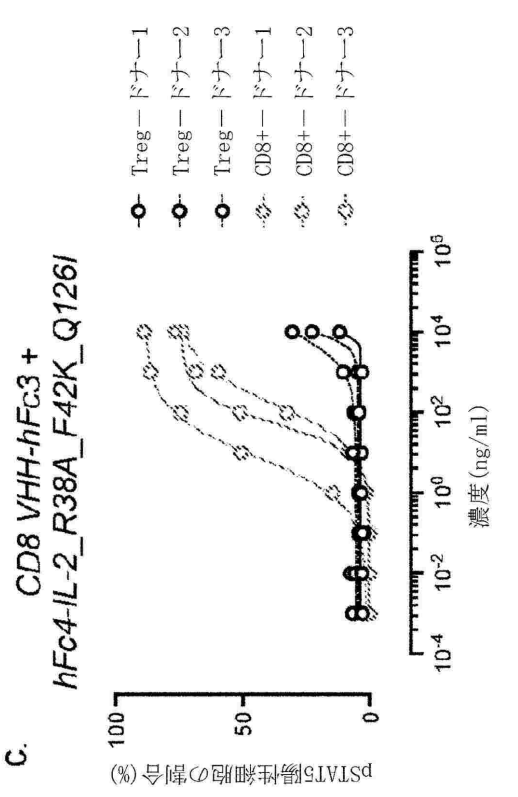
【図４２Ａ】



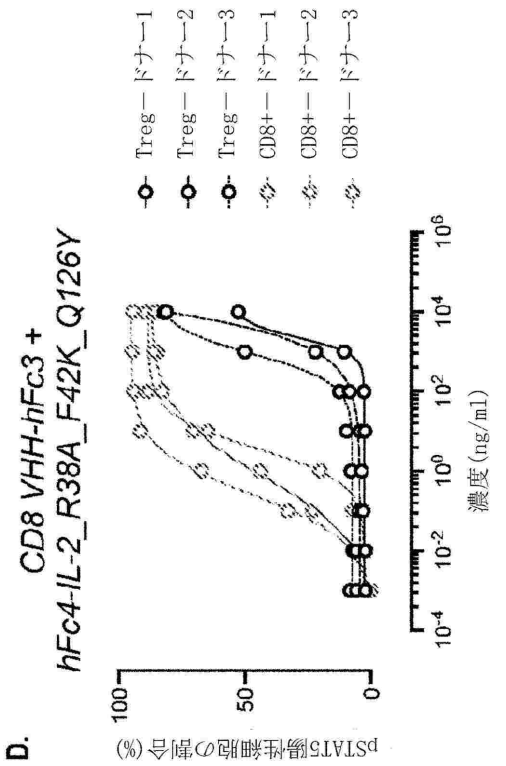
【図４２Ｂ】



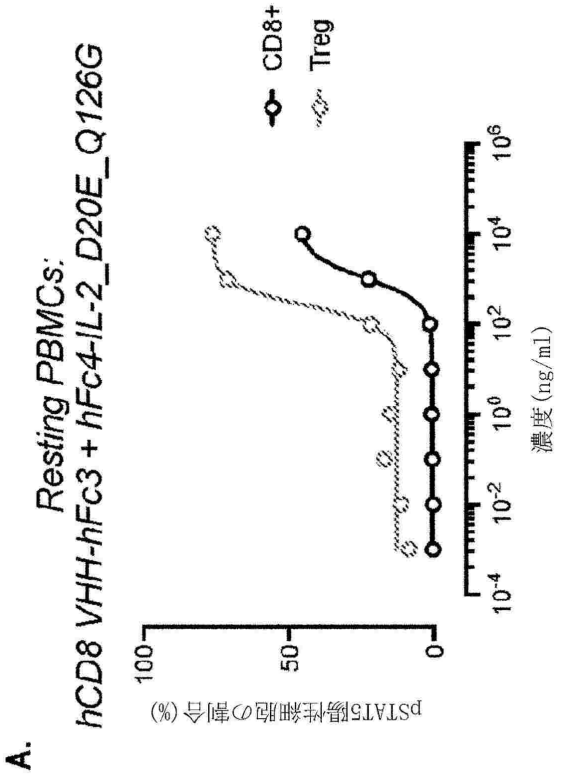
【図４２Ｃ】



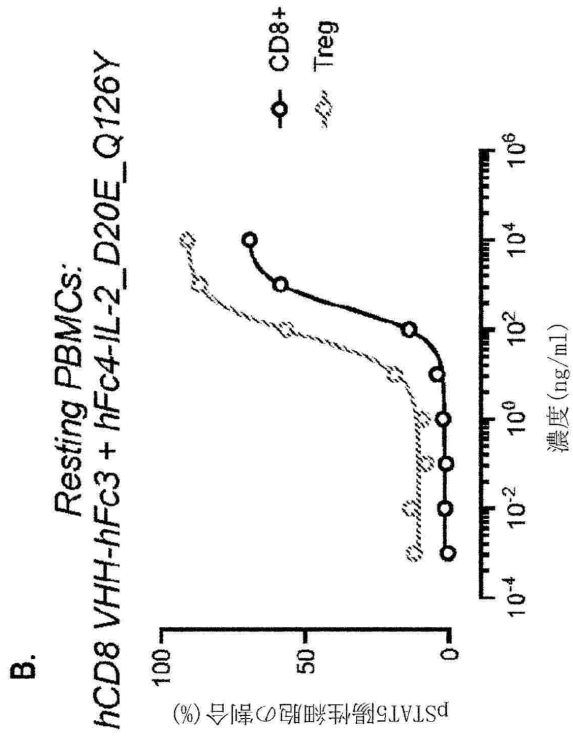
【図４２Ｄ】



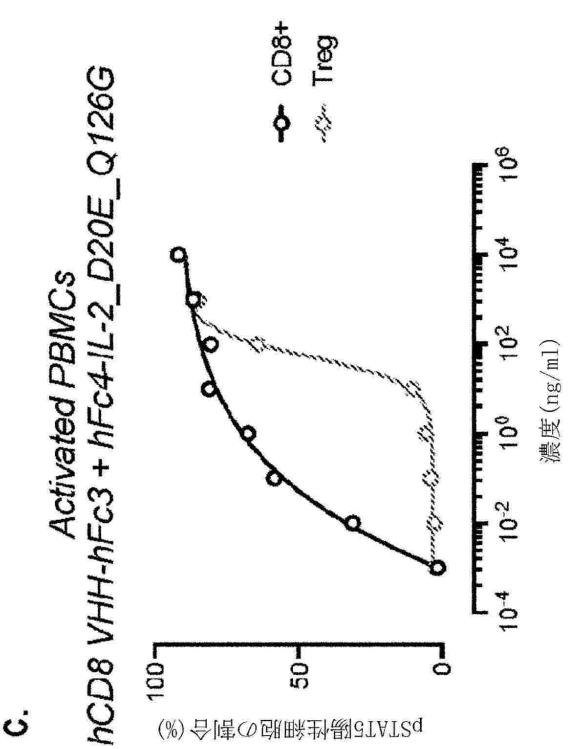
【図４３Ａ】



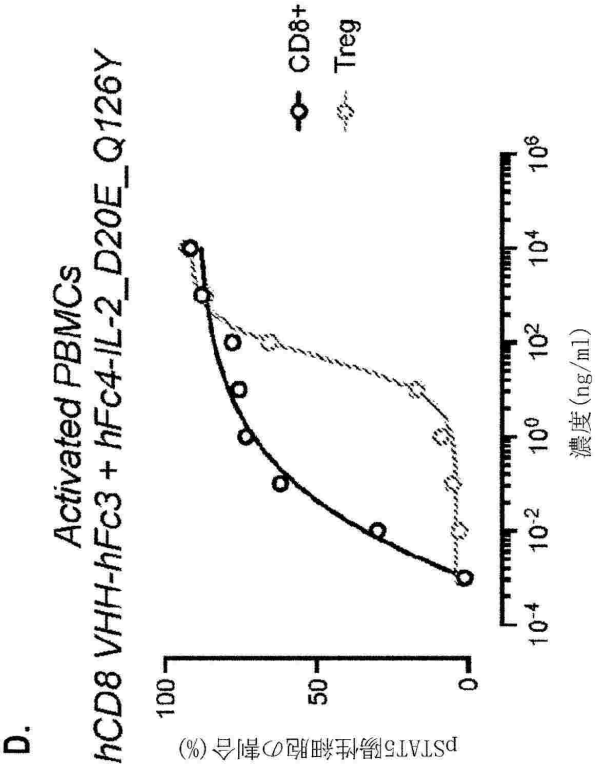
【図４３Ｂ】



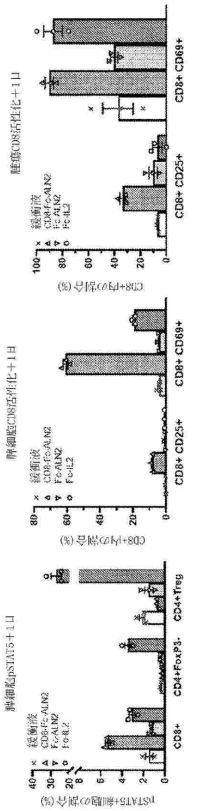
【図４３Ｃ】



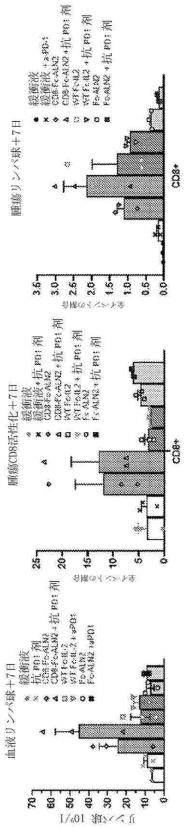
【図４３Ｄ】



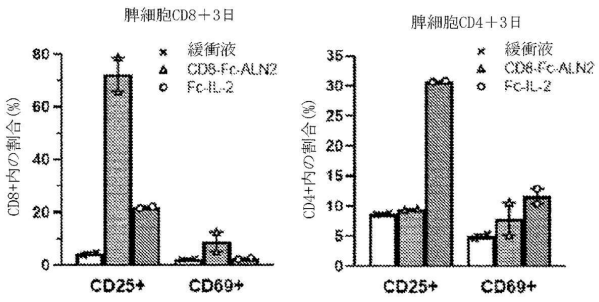
【図４４】



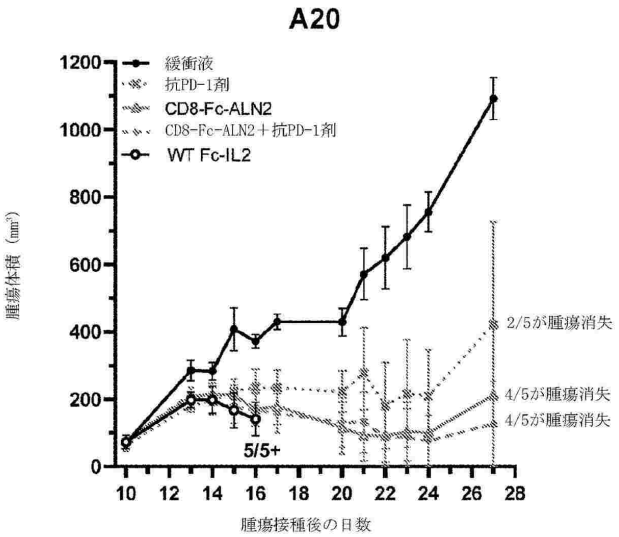
【図４５】



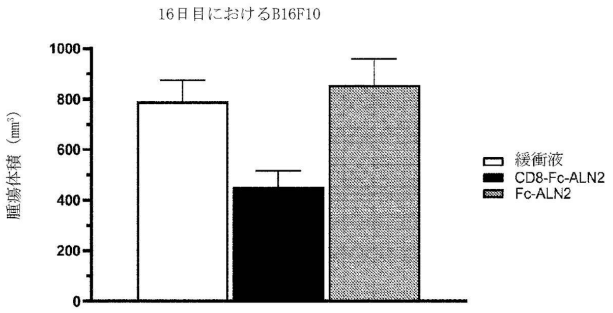
【図４６】



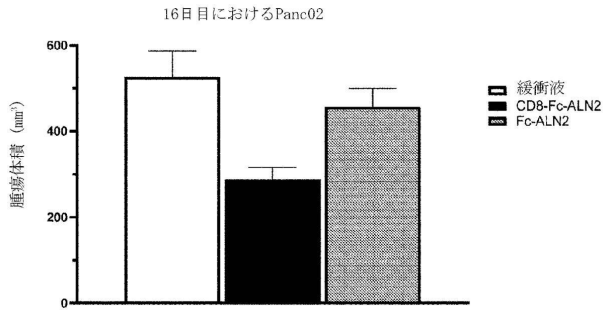
【図４７】



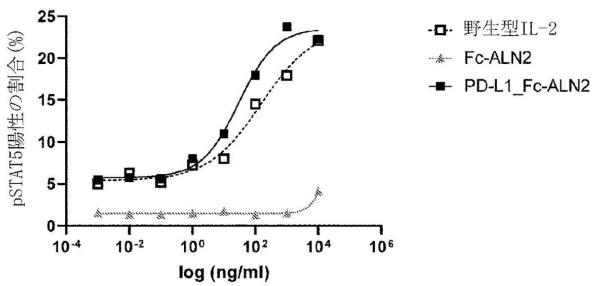
【図４８】



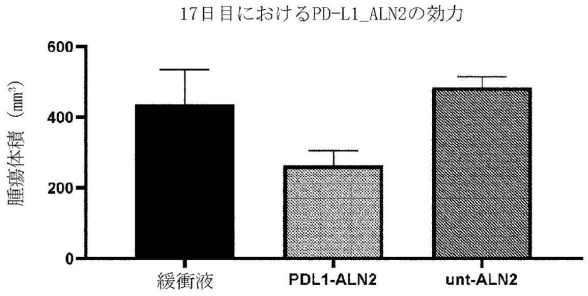
【図４９】



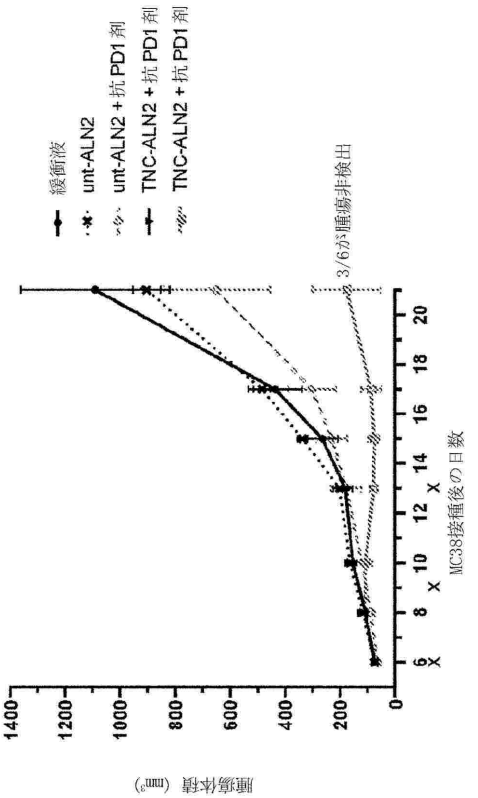
【図５０】



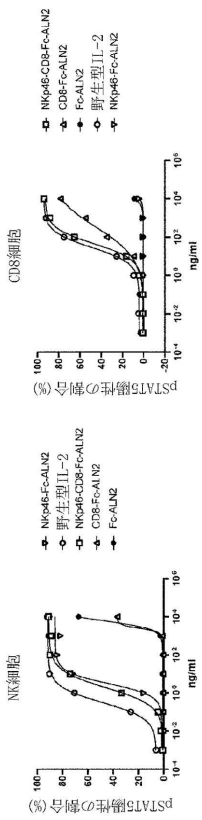
【図５１】



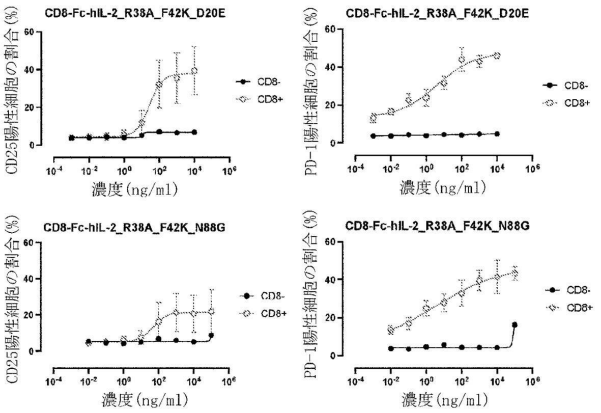
【図５２】



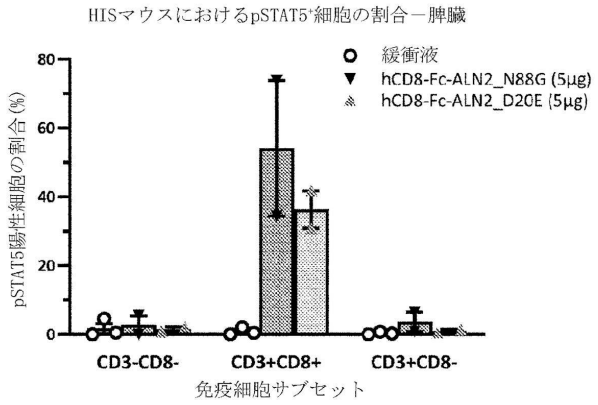
【図５３】



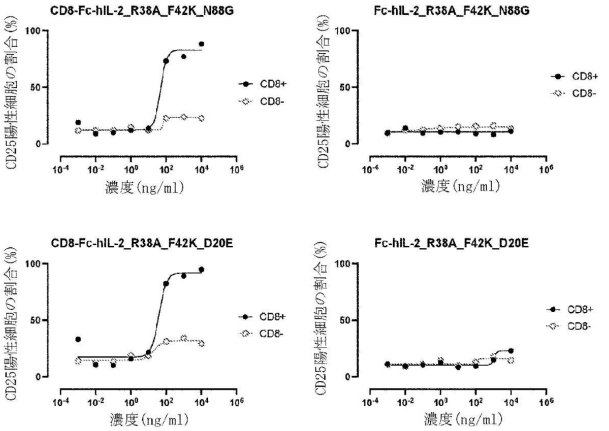
【図５４】



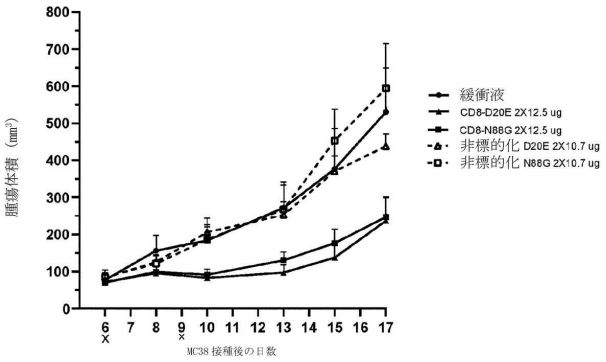
【図５５】



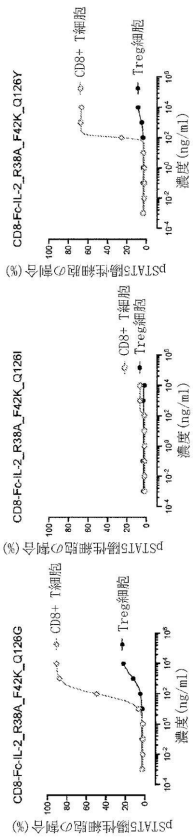
【図５６】



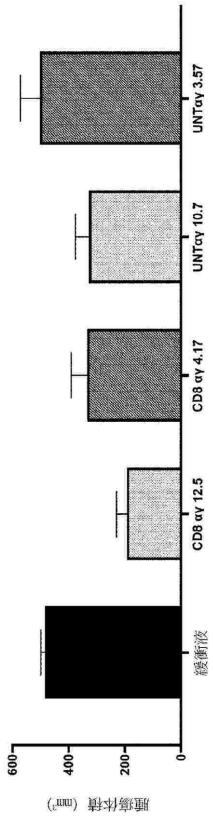
【図５７】



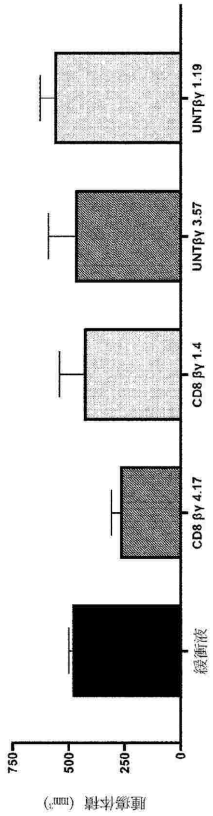
【図５８】



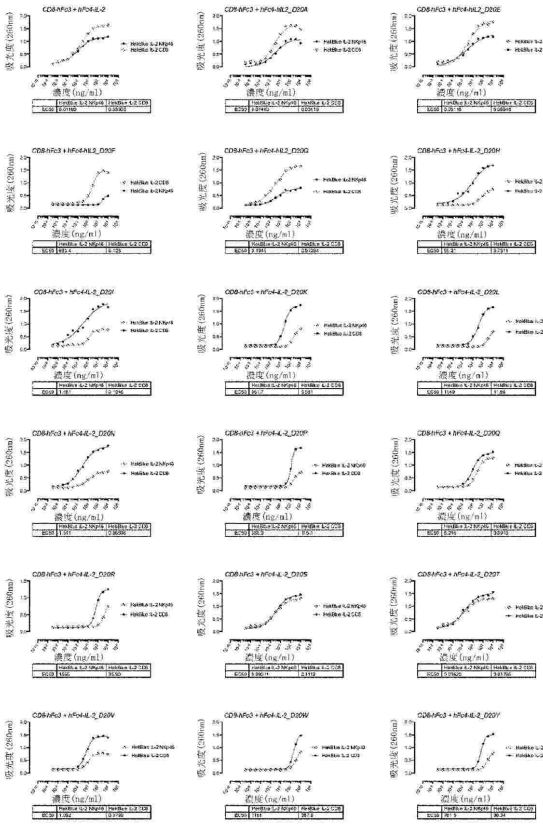
【図５９】



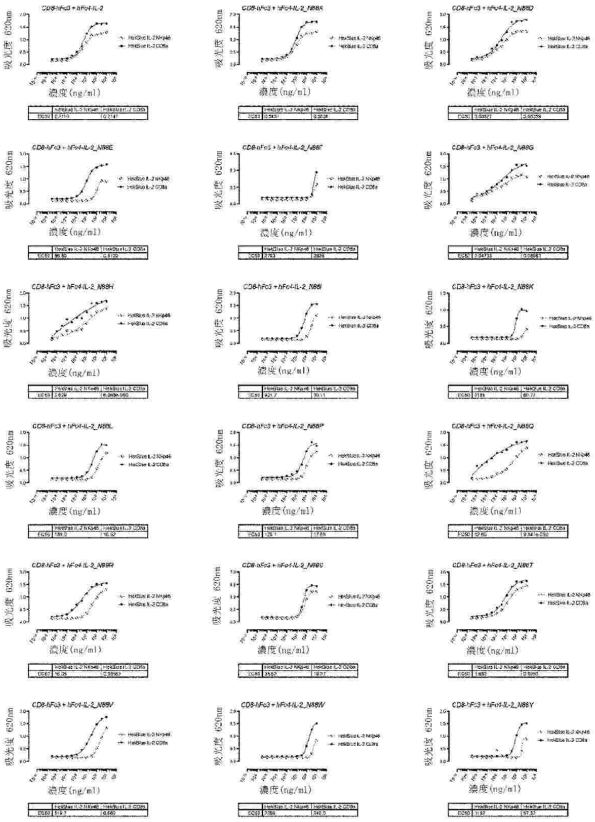
【図６０】



【図６１】



【図６２】



【配列表】
20245229490000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/025143

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - A61K 38/20; C07K 14/55 (2022.01)
CPC - A61K 38/2013; C07K 14/55; C07K 2319/30; C07K 2319/33 (2022.08)

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
see Search History document

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
see Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2021/0094996 A1 (PANDION THERAPEUTICS INC.) 01 April 2021 (01.04.2021) entire document	1, 39, 92, 96, 120, 124
A	US 2020/0024319 A1 (AMGEN INC.) 23 January 2020 (23.01.2020) entire document	1, 39, 92, 96, 120, 124
A	US 2019/0359672 A1 (BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY) 28 November 2019 (28.11.2019) entire document	1, 39, 92, 96, 120, 124
A	US 2021/0024631 A1 (ORIONIS BIOSCIENCES INC. et al) 28 January 2021 (28.01.2021) entire document	1, 39, 92, 96, 120, 124

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
26 August 2022	SEP 12 2022
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Talna Matos Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/025143

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 13*ter*.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 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.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:

SEQ ID NO: 1 was searched.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/025143

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.: 10-38, 48-91, 97-119, 125-162
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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 extra sheet(s).

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 additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1, 39, 92, 98, 120, 124

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.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/025143

Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees need to be paid.

Group I+: Claims 1-7, 39-45, 92-96, and 120-124 are drawn to chimeric proteins comprising a modified IL-2 signaling agent having one or more mutations or modifications relative to SEQ ID NO: 1, and Fc-based chimeric protein complexes thereof.

Group II: Claims 8, 9, 46, and 47 are drawn to chimeric proteins comprising a modified IL-2 signaling agent having one or more mutations or modifications relative to a neoleukin signaling agent having SEQ ID NO: 2.

The first invention of Group I+ is restricted to a modified IL-2 signaling agent comprising SEQ ID NO: 1 comprising one mutation selected to be D20E, chimeric proteins thereof, and Fc-based chimeric protein complexes thereof. It is believed that claims 1, 39, 92, 96, 120, and 124 read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they read on SEQ ID NO: 1 comprising one mutation selected to be D20E.

Applicant is invited to elect additional chimeric proteins comprising a modified IL-2 signaling agent comprising SEQ ID NO: 1 further comprising additional substitutions and their respective, corresponding, SEQ ID NOs to be searched by paying an additional fee for each set of election. An exemplary election would be a modified IL-2 signaling agent comprising SEQ ID NO: 1 comprising one mutation selected to be D20F, chimeric proteins thereof, and Fc-based chimeric protein complexes thereof. Additional chimeric proteins and their respective, corresponding, SEQ ID NOs will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that read on any additional elected inventions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined.

The inventions listed in Groups I+ and II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1, because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The Group I+ formulas do not share a significant structural element responsible for modified IL-2 signaling requiring the selection of alternative substitutions "wherein the modified IL-2 signaling agent comprises: (i) a mutation selected from D20E, D20F, D20G, D20H, D20I, D20K, D20L, and D20V; or (ii) a mutation selected from N88G, N88E, N88K, N88Q, and N88V; or (iii) a mutation selected from Q126G, Q126A, Q126E, Q126F, Q126H, Q126I, Q126K, Q126L, Q126N, Q126P, Q126R, Q126S, Q126T, Q126V, Q126W, and Q126Y; or (iv) a mutation selected from (i) and (iii) or a mutation selected from (ii) and (iii); or (v) one or more mutations selected from: R38A/F42K/N88G/C125A, F42K/C125A, D20E/C125A, D20F/C125A, D20G/C125A, D20H/C125A, D20I/C125A, D20K/C125A, D20L/C125A, D20N/C125A, D20S/C125A, D20T/C125A, D20V/C 1 25A, N88A/C125A, N88D/C125A, N88G/C125A, N88E/C125A, N88H/C125A, N881/C125A, N88K/C125A, N88Q/C125A, N88R/C125A, N88T/C125A, N88V/C125A, D20E/R38A/F42K, D20E/R38A/F42K/C 1 25A, D20V/R38A/F42K, D20V/R38A/F42K/C125A, R38A/F42Y/E62A/C125A, R38A/F42Y/Y45A/E62A, F42Y/Y45A/L72G, R38A/F42Y/Y45A/E62A/C125A, F42Y/Y45A/L72G/C125A, R38A/F42K/N88G, R38A/F42K/Q126G, R38A/F42K/Q1261, R38A/F42K/Q126Y, R38A/F42K/Q126G/C125A, R38A/F42K/Q 1261/C125A, R38A/F42K/Q126Y/C125A, R38A/F42K/E62A/N88G, and R38A/F42K/E62A/N88G/C125A."

The special technical features of Group I+, to chimeric proteins comprising a modified IL-2 signaling agent having one or more mutations or modifications relative to SEQ ID NO: 1, and Fc-based chimeric protein complexes thereof, are not present in Group II; and the special technical features of Group II, chimeric proteins comprising a modified IL-2 signaling agent having one or more mutations or modifications relative to a neoleukin signaling agent having SEQ ID NO: 2, are not present in Group I+.

Additionally, even if Groups I+ and II were considered to share the technical features of a chimeric protein or protein complex comprising: (a) a modified IL-2 signaling agent, wherein the modified IL-2 signaling agent has one or more mutations or modifications that confer improved safety and reduced affinity or bioactivity of the modified IL-2 signaling agent for IL-2Rαβγ and/or IL-2Rβ and/or IL-2Rγ and/or IL-2Rα, relative to the wild type IL-2 signaling agent; and (b) one or more targeting moieties, said targeting moieties comprising recognition domains which specifically bind to antigens or receptors of interest, wherein the modified IL-2 signaling agent comprises a glycosylation mutation, wherein the mutation decreases or eliminates glycosylation of the modified IL-2 signaling agent; and an Fc-based chimeric protein complex comprising: (a) a modified IL-2 signaling agent, wherein the modified IL-2 signaling agent has one or more mutations or modifications relative to a wild type signaling agent that confer improved safety and reduced affinity or bioactivity of the modified IL-2 signaling agent for IL-2Rαβγ and/or IL-2Rβ and/or IL-2Rγ and/or IL-2Rα, relative to the wild type IL-2 signaling agent; and (b) one or more targeting moieties, said targeting moieties comprising recognition domains which specifically bind to antigens or receptors of interest; and (c) a Fc domain, wherein the modified IL-2 signaling agent comprises a glycosylation mutation, wherein the mutation decreases or eliminates glycosylation of the modified IL-2 signaling agent, and wherein the modified IL-2 signaling agent does not comprise a mutation that confers reduced affinity or bioactivity for IL-2Rα; these shared technical features do not represent a contribution over the prior art.

Specifically, US 2021/0094996 A1 to Pandion Therapeutics Inc. discloses a chimeric protein or protein complex (IL-2 mutein fused with a Fc and with a targeting moiety are illustrated in FIG. 19, Para. [0250]) comprising: (a) a modified IL-2 signaling agent, wherein the modified IL-2 signaling agent has one or more mutations or modifications that confer improved safety and reduced affinity or bioactivity of the modified IL-2 signaling agent for IL-2Rαβγ and/or IL-2Rβ and/or IL-2Rγ and/or IL-2Rα, relative to the wild type IL-2 signaling agent (IL-2 mutein, Para. [0250]; IL-2 mutein molecule, as that term is used herein, refers to an IL2 variant that binds with high affinity to the CD25 (IL-2R alpha chain) and with low affinity to the other IL-2R signaling components CD122 (IL-2R beta) and CD132 (IL-2R gamma), Para. [0151]); and (b) one or more targeting moieties, said targeting moieties comprising recognition domains which specifically bind to antigens or receptors of interest (a targeting moiety are illustrated in FIG. 19, Para. [0250]; As described herein the IL-2 muteins can be part of a bi-specific molecule with a tethering moiety, such as a MAdCAM antibody that will target the IL-2 mutein to a MAdCAM expressing cell, Para. [0253]); wherein the modified IL-2 signaling agent comprises a glycosylation mutation, wherein the mutation decreases or eliminates glycosylation of the modified IL-2 signaling agent (the IL-2 mutein molecule comprises one or more substitutions selected from the group consisting of:... T3A, Para. [0225]); an Fc-based chimeric protein complex (IL-2 mutein fused with a Fc and with a targeting moiety are illustrated in FIG. 19, Para. [0250]) comprising: (a) a modified IL-2 signaling agent, wherein the modified IL-2 signaling agent has one or more mutations or modifications relative to a wild type signaling agent that confer improved safety and

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/025143

reduced affinity or bioactivity of the modified IL-2 signaling agent for IL-2Rαβγ and/or IL-2Rβ and/or IL-2Rγ and/or IL-2Rα, relative to the wild type IL-2 signaling agent (IL-2 mutein, Para. [0250]; IL-2 mutein molecule, as that term is used herein, refers to an IL2 variant that binds with high affinity to the CD25 (IL-2R alpha chain) and with low affinity to the other IL-2R signaling components CD122 (IL-2R beta) and CD132 (IL-2R gamma), Para. [0151]); and (b) one or more targeting moieties, said targeting moieties comprising recognition domains which specifically bind to antigens or receptors of interest (a targeting moiety are illustrated in FIG. 19, Para. [0250]; As described herein the IL-2 muteins can be part of a bi-specific molecule with a tethering moiety, such as a MAdCAM antibody that will target the IL-2 mutein to a MAdCAM expressing cell, Para. [0253]); and (c) a Fc domain (IL-2 mutein fused with a Fc and with a targeting moiety are illustrated in FIG. 19, Para. [0250]); wherein the modified IL-2 signaling agent comprises a glycosylation mutation, wherein the mutation decreases or eliminates glycosylation of the modified IL-2 signaling agent (the IL-2 mutein molecule comprises one or more substitutions selected from the group consisting of:... T3A, Para. [0225]); wherein the modified IL-2 signaling agent does not comprise a mutation that confers reduced affinity or bioactivity for IL-2Rα (IL-2 mutein, Para. [0250]; IL-2 mutein molecule, as that term is used herein, refers to an IL2 variant that binds with high affinity to the CD25 (IL-2R alpha chain) and with low affinity to the other IL-2R signaling components CD122 (IL-2R beta) and CD132 (IL-2R gamma), Para. [0151]).

The inventions listed in Groups I+ and II therefore lack unity under Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical features.

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
C07K 19/00 (2006.01)		C07K	19/00		4H045
C07K 14/55 (2006.01)		C07K	14/55		
A61K 38/20 (2006.01)		A61K	38/20		
A61P 3/00 (2006.01)		A61P	3/00		
A61P 9/00 (2006.01)		A61P	9/00		
A61P 9/10 (2006.01)		A61P	9/10		
A61P 17/02 (2006.01)		A61P	17/02		
A61P 31/00 (2006.01)		A61P	31/00		
A61P 35/00 (2006.01)		A61P	35/00		
A61P 35/02 (2006.01)		A61P	35/02		
A61P 37/02 (2006.01)		A61P	37/02		
A61P 25/00 (2006.01)		A61P	25/00		
A61K 47/68 (2017.01)		A61K	47/68		
A61K 39/395 (2006.01)		A61K	39/395	L	
A61K 48/00 (2006.01)		A61K	48/00		
A61K 35/12 (2015.01)		A61K	35/12		

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,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,JM,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,ZW

リート ９５０ オリオンズ バイオサイエンス インコーポレイテッド 内

(72)発明者 デプラ、エリク
ベルギー王国 ビー－９０５２ ヘント テクノロギーパーク ９４ オリオンズ バイオサイエンス ビーブイ 内

(72)発明者 ザベアウ、レナルト
ベルギー王国 ビー－９０５２ ヘント テクノロギーパーク ９４ オリオンズ バイオサイエンス ビーブイ 内

(72)発明者 カウウェルス、アンジェ
ベルギー王国 ビー－９０５２ ヘント テクノロギーパーク ９４ オリオンズ バイオサイエンス ビーブイ 内

Ｆターム（参考）
4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X AB01 BA02 CA24 CA44
4C076 AA95 BB11 CC07 CC21 CC27 CC31 CC41 EE59 FF70
4C084 AA02 AA07 AA13 BA01 BA08 BA21 BA23 BA44 CA53 DA14 NA07 NA14 ZA01 ZA36 ZA89 ZB07 ZB26 ZB27 ZC21
4C085 AA21 BB41 BB43 DD62 EE01
4C087 AA01 AA02 AA03 BB65 CA04 CA12 NA07 NA14 ZA01 ZA36 ZA89 ZB07 ZB26 ZB27 ZC21
4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 BA41 DA04 DA75 EA20 FA72 FA74