

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7481342号
(P7481342)

(45)発行日 令和6年5月10日(2024.5.10)

(24)登録日 令和6年4月30日(2024.4.30)

(51)国際特許分類		F I	
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62 Z
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00 Z N A
C 0 7 K	14/52 (2006.01)	C 0 7 K	14/52
C 0 7 K	14/55 (2006.01)	C 0 7 K	14/55
C 0 7 K	14/705 (2006.01)	C 0 7 K	14/705
請求項の数 35 (全159頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2021-531836(P2021-531836)	(73)特許権者	518310628
(86)(22)出願日	令和1年12月18日(2019.12.18)		キュー バイオファーマ, インコーポレ
(65)公表番号	特表2022-515331(P2022-515331 A)		イテッド
(43)公表日	令和4年2月18日(2022.2.18)		アメリカ合衆国 0 2 1 3 5 マサチュー
(86)国際出願番号	PCT/US2019/067280		セッツ州 ボストン ゲスト ストリート
(87)国際公開番号	WO2020/132138	(74)代理人	4 0
(87)国際公開日	令和2年6月25日(2020.6.25)		100102978
審査請求日	令和4年12月15日(2022.12.15)		弁理士 清水 初志
(31)優先権主張番号	62/782,205	(74)代理人	100160923
(32)優先日	平成30年12月19日(2018.12.19)		弁理士 山口 裕孝
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100119507
(31)優先権主張番号	62/814,707		弁理士 刑部 俊
(32)優先日	平成31年3月6日(2019.3.6)	(74)代理人	100142929
最終頁に続く		(74)代理人	弁理士 井上 隆一
			100148699
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 多量体T細胞調節ポリペプチド及びその使用方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

- a) 以下：
- i) がん関連ペプチドエピトープであって、前記ペプチドエピトープが8アミノ酸から16アミノ酸の長さを有する、がん関連ペプチドエピトープと、
- i i) β 2-ミクログロブリン (β 2 M) ポリペプチドと、
- i i i) 前記がん関連ペプチドエピトープと前記β 2 Mポリペプチドとの間に配置された、C y sを含むリンカーと
- を含む、第1のポリペプチド、及び
- b) 以下：
- i) M H CクラスI重鎖ポリペプチドと、
- i i) 少なくとも1つの活性化免疫調節ポリペプチドと、
- i i i) 免疫グロブリン (I g) F cポリペプチドと
- を含む、第2のポリペプチド、
- を含む、少なくとも1つのヘテロ二量体
- を含む、T細胞調節多量体ポリペプチドであって、
- 前記少なくとも1つのヘテロ二量体が、少なくとも第1のジスルフィド結合および第2のジスルフィド結合を含み、前記第1のジスルフィド結合が、(i) 前記ペプチドエピトープと前記β 2 Mポリペプチドとの間の、C y sを含むリンカー内のC y s残基と、(i i) 前記M H CクラスI重鎖ポリペプチド内のC y s残基との間で形成され、かつ前記第

2 のジスルフィド結合が、前記 β 2 M ポリペプチド内の C y s 残基と前記 M H C クラス I 重鎖ポリペプチド内の C y s 残基との間に形成され、かつ

前記 T 細胞調節多量体ポリペプチドが、1 つ以上の追加のリンカーを含み、かつ前記 1 つ以上のリンカーが、1 つ以上の以下の成分の間に配置され、

- i) 前記 M H C クラス I 重鎖ポリペプチドと前記 I g F c ポリペプチド、
 - i i) 活性化免疫調節ポリペプチドと前記 M H C クラス I ポリペプチド、
 - i i i) I g F c ポリペプチドと活性化免疫調節ポリペプチド、及び
 - i v) 前記 T 細胞調節多量体ポリペプチドが 2 つ以上の活性化免疫調節ポリペプチドを含む場合、前記活性化免疫調節ポリペプチドの間、かつ
- 前記ペプチドエピトープが、ヒトパピローマウイルス (H P V) 抗原、 α フェトタンパク質 (A F P) 抗原、及びウィルムス腫瘍-1 (W T 1) 抗原のペプチドエピトープ以外である、T 細胞調節多量体ポリペプチド。

10

【請求項 2】

- a) 前記第 1 のポリペプチドが、N 末端から C 末端の順に、
 - i) 前記ペプチドエピトープ、
 - i i) 前記 C y s を含むリンカー、及び
 - i i i) 前記 β 2 -ミクログロブリンポリペプチド
- を含み、かつ

- b) 前記第 2 のポリペプチドが、N 末端から C 末端の順に、
 - i) 少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチド、
 - i i) 前記 M H C クラス I 重鎖ポリペプチド、及び
 - i i i) I g F c ポリペプチド
- を含み、

20

前記第 2 のポリペプチドの 1 つ以上の成分の間に 1 つ以上の独立に選択されるリンカーを含む、

請求項 1 に記載の T 細胞調節多量体ポリペプチド。

【請求項 3】

- a) 前記第 1 のポリペプチドが、N 末端から C 末端の順に、
 - i) 前記ペプチドエピトープ、
 - i i) 前記 C y s を含むリンカー、及び
 - i i i) 前記 β 2 -ミクログロブリンポリペプチド
- を含み、かつ

- b) 前記第 2 のポリペプチドが、N 末端から C 末端の順に、
 - i) 前記 M H C クラス I 重鎖ポリペプチド
 - i i) I g F c ポリペプチド、及び
 - i i i) 少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチド
- を含み、

30

前記第 2 のポリペプチドの 1 つ以上の成分の間に 1 つ以上の独立に選択されるリンカーを含む、

請求項 2 に記載の T 細胞調節多量体ポリペプチド。

40

【請求項 4】

前記少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチドが、サイトカイン、4-1 B B L ポリペプチド、I C O S - L ポリペプチド、O X - 4 0 L ポリペプチド、C D 8 0 ポリペプチド、C D 8 6 ポリペプチド、C D 4 0 ポリペプチド、C D 7 0 ポリペプチド、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の T 細胞調節多量体ポリペプチド。

【請求項 5】

前記少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチドが I L - 2 ポリペプチドである、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の T 細胞調節多量体ポリペプチド。

【請求項 6】

50

前記免疫調節ポリペプチドが、IL-2受容体に対し、野生型IL-2ポリペプチドの前記IL-2受容体に対する親和性に比べて低い親和性を示す、バリエーション型IL-2ポリペプチドである、請求項5に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【請求項7】

前記バリエーション型IL-2ポリペプチドが、H16及びF42におけるアミノ酸置換を含み、前記アミノ酸ナンバリングがSEQ ID NO: 15に記載のアミノ酸配列に基づく、請求項6に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【請求項8】

前記バリエーション型IL-2ポリペプチドが、H16A置換及びF42A置換を含み、前記アミノ酸ナンバリングがSEQ ID NO: 15に記載のアミノ酸配列に基づく、請求項7に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

10

【請求項9】

前記多量体ポリペプチドが少なくとも2つの免疫調節ポリペプチドを含み、前記免疫調節ポリペプチドのうちの少なくとも2つが同じであり、前記2つ以上の免疫調節ポリペプチドがタンデムに存在する、請求項1～8のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【請求項10】

前記IgFcポリペプチドが、SEQ ID NO: 457～460のいずれか1つに記載のアミノ酸配列に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有する、請求項1～9のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

20

【請求項11】

前記第1のジスルフィド結合が、(i)前記ペプチドエピトープと前記β2Mポリペプチドとの間のリンカーに存在するCysと、(ii)前記MHCクラスI重鎖ポリペプチド内のY84C置換を介して導入されたCys残基であって、前記アミノ酸ナンバリングが、SEQ ID NO: 298に記載のアミノ酸配列に基づく、Cys残基との間にある、請求項1～10のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【請求項12】

前記第2のジスルフィド結合が、(i)R12C置換を介して前記β2Mポリペプチドに導入されたCys残基であって、前記アミノ酸ナンバリングがSEQ ID NO: 314に記載のアミノ酸配列に基づく、Cys残基と、(ii)A236C置換を介して前記MHCクラスI重鎖ポリペプチドに導入されたCys残基であって、前記アミノ酸ナンバリングがSEQ ID NO: 298に記載のアミノ酸配列に基づく、Cys残基との間にある、請求項1～11のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

30

【請求項13】

前記ペプチドエピトープと前記第1のMHCとの間の前記リンカーが、GCGGS (G4S)_n (SEQ ID NO: 315)であり、nが、1、2、3、4、5、6、7、8、または9である、請求項1～12のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【請求項14】

前記MHCクラスI重鎖ポリペプチドが、

40

a) SEQ ID NO: 198～206に記載の、HLA-A*0101、HLA-A*0201、HLA-A*0301、HLA-A*1101、HLA-A*2301、HLA-A*2402、HLA-A*2407、HLA-A*3303、もしくはHLA-A*3401アミノ酸配列に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有する、アミノ酸配列、または

b) SEQ ID NO: 207～213に記載の、HLA-B*0702、HLA-B*0801、HLA-B*1502、HLA-B*3802、HLA-B*4001、HLA-B*4601、もしくはHLA-B*5301アミノ酸配列に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有する、アミノ酸配列、または

c) SEQ ID NO: 214～222に記載の、HLA-C*0102、HLA-C

50

*0303、HLA-C*0304、HLA-C*0401、HLA-C*0602、HLA-C*0701、HLA-C*0702、HLA-C*0801、もしくはHLA-C*1502に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有する、アミノ酸配列を含む、

請求項1～13のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【請求項15】

前記MHCクラスI重鎖ポリペプチドが、SEQ ID NO:341、344、および346のそれぞれに記載の、HLA-A*0201、HLA-A*1101、またはHLA-A*2402アミノ酸配列に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項14に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

10

【請求項16】

前記MHCクラスI重鎖ポリペプチドが、SEQ ID NO:38に記載の、HLA-Eアミノ酸配列に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項1～13のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【請求項17】

前記T細胞調節多量体ポリペプチドが、タンデムに存在する2つの活性化免疫調節ポリペプチドを含み、かつ前記活性化免疫調節ポリペプチドのそれぞれが、SEQ ID NO:188に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むバリエーション型IL-2ポリペプチドであり、ここで、X₁がAlaでありかつX₂がAlaである、またはX₁がThrでありかつX₂がAlaであり、

20

前記MHCクラスI重鎖ポリペプチドが、SEQ ID NO:341、SEQ ID NO:346、SEQ ID NO:344、またはSEQ ID NO:38に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を含み、

前記IgFcポリペプチドが、SEQ ID NO:460に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有し、かつ

前記第1のジスルフィド結合が、(i)前記ペプチドエピトープと前記β2Mポリペプチドとの間のリンカー内のCys残基と、(ii)前記MHCクラスI重鎖ポリペプチド内の84位のCys残基との間で形成され、かつ前記第2のジスルフィド結合が、前記β2Mポリペプチドの12位のCys残基と前記MHCクラスI重鎖ポリペプチドの236位のCys残基との間に形成される、

30

請求項1～16のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【請求項18】

前記T細胞調節多量体ポリペプチドが、タンデムに存在する2つの活性化免疫調節ポリペプチドを含み、かつ前記活性化免疫調節ポリペプチドのそれぞれが、SEQ ID NO:188に記載のアミノ酸配列を有するバリエーション型IL-2ポリペプチドであり、ここで、X₁がAlaでありかつX₂がAlaであり、

前記ペプチドエピトープと前記β2Mポリペプチドとの間のリンカーが、SEQ ID NO:316またはSEQ ID NO:317に記載のアミノ酸配列を有し、

前記MHCクラスI重鎖ポリペプチドが、SEQ ID NO:341、SEQ ID NO:346、またはSEQ ID NO:344に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも98%のアミノ酸配列同一性を含み、かつ

40

前記IgFcポリペプチドが、SEQ ID NO:460に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも98%のアミノ酸配列同一性を有する、

請求項17に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【請求項19】

前記ペプチドエピトープが、メラノーマ関連抗原(MAGE)、NY-ESO-1、MUC1、メソテリン、Rasポリペプチド、p53ポリペプチド、MART1、サバイビンポリペプチド、前立腺特異的膜抗原(PSMA)、および前立腺特異的抗原(PSA)ポリペプチドから選択される抗原のペプチドである、請求項1～18のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

50

【請求項 20】

第1及び第2のヘテロ二量体を含む二量体である、T細胞調節多量体ポリペプチドであって、ヘテロ二量体のそれぞれは請求項1～19のいずれか一項に記載されたものであり、かつ前記第1及び第2のヘテロ二量体が、前記第1のヘテロ二量体の前記IgFcポリペプチドを前記第2のヘテロ二量体の前記IgFcポリペプチドに結合する1つ以上のジスルフィド結合によって共有結合している、T細胞調節多量体ポリペプチド。

【請求項 21】

請求項1～20のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチドを含む、医薬組成物。

【請求項 22】

個体においてがんを治療する方法における使用のための、請求項1～20のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチドを含む、医薬組成物。

【請求項 23】

個体においてがんを治療する方法における使用のための、請求項1～20のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチドを含む、医薬組成物であって、

前記個体はまた、治療有効量の免疫チェックポイント阻害剤で治療されている、
医薬組成物。

【請求項 24】

請求項1～20のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチドの第1及び第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、1つ以上の核酸。

【請求項 25】

遺伝子組換え宿主細胞のインビトロ組成物であって、前記宿主細胞が、請求項1～20のいずれか一項に記載の第1及び第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む1つ以上の核酸を含む、組成物。

【請求項 26】

請求項25に記載の遺伝子組換え宿主細胞のインビトロ組成物を、該遺伝子組換え宿主細胞がT細胞調節多量体ポリペプチドを作製するような条件下で培養することを含む、T細胞調節多量体ポリペプチドを作製する方法。

【請求項 27】

個体から得られるT細胞の混合集団における、ペプチドエпитープに結合する標的T細胞の存在を検出する方法であって、
前記方法が、

a) 前記T細胞の混合集団を、請求項1～20のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチドにインビトロで接触させること、及び

b) 前記接触に応答したT細胞の活性化及び／または増殖を検出すること
を含み、

活性化及び／または増殖したT細胞が、前記標的T細胞が存在することを示す、
前記方法。

【請求項 28】

前記2つ以上の免疫調節ポリペプチドがリンカーにより結合されている、請求項9に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【請求項 29】

前記IgFcポリペプチドが、SEQ ID NO: 460に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも98%のアミノ酸配列同一性を有する、請求項10に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【請求項 30】

前記ペプチドエピトープと前記β2Mポリペプチドとの間の前記リンカーが、SEQ ID NO: 316またはSEQ ID NO: 317に記載のアミノ酸配列を有する、請求項13に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【請求項 31】

10

20

30

40

50

前記免疫チェックポイント阻害剤が、PD-1に対して特異的な抗体である、請求項23に記載の医薬組成物。

【請求項32】

前記免疫チェックポイント阻害剤が、PD-L1に対して特異的な抗体である、請求項23に記載の医薬組成物。

【請求項33】

前記免疫チェックポイント阻害剤が、LAG3に対して特異的な抗体である、請求項23に記載の医薬組成物。

【請求項34】

前記免疫チェックポイント阻害剤が、TIGITに対して特異的な抗体である、請求項23に記載の医薬組成物。

【請求項35】

前記免疫チェックポイント阻害剤が、CTLA4に対して特異的な抗体である、請求項23に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

相互参照

本出願は、2018年12月19日に出願された米国仮特許出願第62/782,205号、及び2019年3月6日に出願された米国仮特許出願第62/814,707号の利益を主張し、これらの出願はその全体が参照により本明細書に援用される。

【背景技術】

【0002】

序文

適応免疫応答は、主要組織適合遺伝子複合体(MHC、ヒトにおいてはヒト白血球抗原(HLA)複合体とも呼ばれる)による、T細胞の表面上に存在するT細胞受容体(TCR)の、抗原提示細胞(APC)の表面上に非共有提示された低分子ペプチド抗原との結合によって行われる。この結合は免疫系の標的化機構を表し、T細胞調節(活性化または抑制)とエフェクター機能に必要な分子相互作用である。エピトープ特異的な細胞標的化に続き、標的化T細胞は、APC上に存在する共刺激タンパク質の、T細胞上の対応共刺激タンパク質との結合により活性化される。エピトープ/TCR結合と、APC共刺激タンパク質のT細胞共刺激タンパク質との結合の両方のシグナルは、T細胞の特異性及び活性化または抑制を駆動するのに必要とされる。TCRは任意のエピトープに特異的であるが、共刺激タンパク質はエピトープ特異的ではなく、その代わりに、全てのT細胞上または多くのT細胞サブセット上に概ね発現している。

【発明の概要】

【0003】

概要

本開示は、免疫調節ポリペプチド、クラスI HLAポリペプチド(クラスI HLA重鎖ポリペプチド及びβ2ミクログロブリンポリペプチド)、及びT細胞受容体にエピトープを提示するペプチドを含む、T細胞調節多量体ポリペプチド(TMMP)を提供する。TMMPは、T細胞の活性を調節するのに、及び個体における免疫応答を調節するのに有用である。

[本発明1001]

a) 以下:

i) ペプチドエピトープであって、前記ペプチドが少なくとも4アミノ酸の長さを有する、ペプチドエピトープと、

ii) 第1の主要組織適合遺伝子複合体(MHC)ポリペプチドとを含む、第1のポリペプチド、

b) 第2のMHCポリペプチドを含む、第2のポリペプチド、及び

10

20

30

40

50

c) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含む、少なくとも1つのヘテロ二量体を含む、T細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1002]

前記少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドのうちの少なくとも1つが、同種共免疫調節ポリペプチドに対して、対応する野生型免疫調節ポリペプチドの前記同種共免疫調節ポリペプチドに対する親和性に比べて低い親和性を示す、バリエーション型免疫調節ポリペプチドであり、

前記エピトープが、T細胞上のT細胞受容体(TCR)に少なくとも 10^{-7} Mの親和性で結合し、それにより、

i) 前記T細胞調節多量体ポリペプチドが、第1のT細胞に対して、前記T細胞調節多量体ポリペプチドが第2のT細胞に結合する親和性に比べて少なくとも25%高い親和性で結合し、

前記第1のT細胞がその表面に、前記同種共免疫調節ポリペプチドと、少なくとも 10^{-7} Mの親和性で前記エピトープに結合するTCRとを発現し、

前記第2のT細胞がその表面に、前記同種共免疫調節ポリペプチドを発現するが、少なくとも 10^{-7} Mの親和性で前記エピトープに結合するTCRをその表面に発現せず、及び/または

ii) 同種共免疫調節ポリペプチドに対する、野生型免疫調節ポリペプチドを含む対照T細胞調節多量体ポリペプチドの結合親和性と、前記同種共免疫調節ポリペプチドに対する、前記野生型免疫調節ポリペプチドのバリエーション型を含む前記T細胞調節多量体ポリペプチドの前記結合親和性との比が、バイオレイヤー干渉法によって測定した際に、1.5:1~ 10^6 :1の範囲にある、

本発明1001のT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1003]

a) 前記T細胞調節多量体ポリペプチドが、前記第1のT細胞に対し、前記第2のT細胞に結合する親和性に比べて、少なくとも50%、少なくとも2倍、少なくとも5倍、または少なくとも10倍高い親和性で結合し、及び/または

b) 前記バリエーション型免疫調節ポリペプチドが、約 10^{-4} M~約 10^{-7} M、約 10^{-4} M~約 10^{-6} M、約 10^{-4} M~約 10^{-5} Mの親和性で前記共免疫調節ポリペプチドに結合し、及び/または

c) 同種共免疫調節ポリペプチドに対する、野生型免疫調節ポリペプチドを含む対照T細胞調節多量体ポリペプチドの前記結合親和性と、前記同種共免疫調節ポリペプチドに対する、前記野生型免疫調節ポリペプチドのバリエーション型を含む前記T細胞調節多量体ポリペプチドの前記結合親和性との比が、バイオレイヤー干渉法によって測定した際に、少なくとも10:1、少なくとも50:1、少なくとも 10^2 :1、または少なくとも 10^3 :1である、

本発明1002のT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1004]

a1) 前記第1のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、

i) 前記ペプチドエピトープ、

ii) 前記第1のMHCポリペプチド、及び

iii) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含み、かつ

b1) 前記第2のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、

i) 前記第2のMHCポリペプチド、及び

ii) 免疫グロブリン(Ig)Fcポリペプチドを含むか;または

a2) 前記第1のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、

i) 前記ペプチドエピトープ、及び

10

20

30

40

50

- i i) 前記第1のMHCポリペプチド
を含み、かつ
b 2) 前記第2のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、
i) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチド、
i i) 前記第2のMHCポリペプチド、及び
i i i) Ig Fcポリペプチド
を含むか；または
a 3) 前記第1のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、
i) 前記ペプチドエピトープ、及び
i i) 前記第1のMHCポリペプチド 10
を含み、かつ
b 3) 前記第2のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、
i) 前記第2のMHCポリペプチド、及び
i i) Ig Fcポリペプチド、及び
i i i) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチド
を含むか；または
a 4) 前記第1のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、
i) 前記ペプチドエピトープ、及び
i i) 前記第1のMHCポリペプチド 20
を含み、かつ
b 4) 前記第2のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、
i) 前記第2のMHCポリペプチド、及び
i i) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチド
を含むか；または
a 5) 前記第1のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、
i) 前記ペプチドエピトープ、及び
i i) 前記第1のMHCポリペプチド
を含み、かつ
b 5) 前記第2のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、
i) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチド、及び 30
i i) 前記第2のMHCポリペプチド
を含むか；または
a 6) 前記第1のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、
i) 前記ペプチドエピトープ、
i i) 前記第1のMHCポリペプチド、及び
i i i) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチド
を含み、かつ
b 6) 前記第2のポリペプチドが、
i) 前記第2のMHCポリペプチド
を含む、 40
- 本発明1001～1003のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。
[本発明1005]
a) 前記第1のMHCポリペプチドがβ2-ミクログロブリンポリペプチドであり、かつ
前記第2のMHCポリペプチドがMHCクラスI重鎖ポリペプチドであるか、または
b) 前記第1のMHCポリペプチドがMHCクラスI重鎖ポリペプチドであり、かつ前記
第2のMHCポリペプチドがβ2-ミクログロブリンポリペプチドである、
本発明1001～1004のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。
[本発明1006]
a) 前記第1のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、
i) 前記ペプチドエピトープ、及び 50

i i) 前記β2-ミクログロブリンポリペプチド

を含み、かつ

b) 前記第2のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、

i) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチド、

i i) 前記MHCクラスI重鎖ポリペプチド、及び

i i i) Ig Fcポリペプチド

を含む、

本発明1005のT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1007]

a) 前記第1のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、

i) 前記ペプチドエピトープ、及び

i i) 前記β2-ミクログロブリンポリペプチド

を含み、かつ

b) 前記第2のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、

i) 前記MHCクラスI重鎖ポリペプチド、及び

i i) Ig Fcポリペプチド、及び

i i i) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチド

を含む、

本発明1005のT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1008]

前記少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドが、サイトカイン、4-1BB Lポリペプチド、ICOS-Lポリペプチド、OX-40 Lポリペプチド、CD80ポリペプチド、CD86ポリペプチド、CD40ポリペプチド、CD70ポリペプチド、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、本発明1001~1007のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1009]

前記少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドがIL-2ポリペプチドである、本発明1001~1008のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1010]

前記多量体ポリペプチドが少なくとも2つの免疫調節ポリペプチドを含み、前記免疫調節ポリペプチドのうちの少なくとも2つが同じであり、任意選択的に、前記2つ以上の免疫調節ポリペプチドがタンデムに存在する、本発明1001~1009のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1011]

前記免疫調節ポリペプチドが、IL-2受容体に対し、野生型IL-2ポリペプチドの前記IL-2受容体に対する親和性に比べて低い親和性を示す、バリエーション型IL-2ポリペプチドである、本発明1001~1010のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1012]

前記バリエーション型IL-2ポリペプチドが、i) H16A置換及びF42A置換、またはi i) H16T置換及びF42A置換を含む、本発明1011のT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1013]

前記第1のポリペプチド及び前記第2のポリペプチドが互いに共有結合し、任意選択的に、前記共有結合がジスルフィド結合を介する、本発明1001~1012のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1014]

前記第1のMHCポリペプチド、または前記エピトープと前記第1のMHCポリペプチドとの間のリンカーが、第1のCys残基を提供するためのアミノ酸置換を含み、

前記第2のMHCポリペプチドが、第2のCys残基を提供するためのアミノ酸置換を含み、

前記ジスルフィド結合が、前記第1のCys残基と前記第2のCys残基との間にある、

10

20

30

40

50

本発明1001～1013のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1015]

i) 前記ペプチドエピトープと、 β 2Mポリペプチドである前記第1のMHCクラスIポリペプチドとの間のリンカーに存在するCysと、
ii) MHCクラスI重鎖ポリペプチドである前記第2のMHCクラスIポリペプチドにY84C置換を介して導入されるCys残基との間に、ジスルフィド結合を含む、本発明1001～1014のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1016]

i) β 2Mポリペプチドである前記第1のMHCクラスIポリペプチドにR12C置換を介して導入されるCys残基と、
ii) MHCクラスI重鎖ポリペプチドである前記第2のMHCクラスIポリペプチドにA236C置換を介して導入されるCys残基との間に、ジスルフィド結合を含む、本発明1001～1014のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1017]

i) 前記ペプチドエピトープと、 β 2Mポリペプチドである前記第1のMHCクラスIポリペプチドとの間のリンカーに存在するCysと、
ii) MHCクラスI重鎖ポリペプチドである前記第2のMHCクラスIポリペプチドにY84C置換を介して導入されるCys残基との間に、第1のジスルフィド結合を含み、

i) 前記 β 2MポリペプチドにR12C置換を介して導入されるCys残基と、
ii) 前記MHCクラスI重鎖ポリペプチドにA236C置換を介して導入されるCys残基との間に、第2のジスルフィド結合を含む、

本発明1001～1014のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1018]

前記ペプチドエピトープと前記第1のMHCとの間の前記リンカーが、GCGGS (G4S)_n (SEQ ID NO:315)であり、nが、1、2、3、4、5、6、7、8、または9である、本発明1015または本発明1017のT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1019]

前記ペプチドエピトープが、約4アミノ酸～約25アミノ酸の長さを有する、本発明1001～1018のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1020]

前記ペプチドエピトープが、ヒトパピローマウイルス (HPV) 抗原、 α フェトタンパク質 (AFP) 抗原、及びウィルムス腫瘍-1 (WT1) 抗原のペプチドエピトープ以外である、本発明1001～1019のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1021]

前記第1または第2のMHCポリペプチドが、

a) 図11Aに示す、HLA-A*0101、HLA-A*0201、HLA-A*0201、HLA-A*1101、HLA-A*2301、HLA-A*2402、HLA-A*2407、HLA-A*3303、もしくはHLA-A*3401アミノ酸配列に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有する、アミノ酸配列、または

b) 図12Aに示す、HLA-B*0702、HLA-B*0801、HLA-B*1502、HLA-B*3802、HLA-B*4001、HLA-B*4601、もしくはHLA-B*5301アミノ酸配列に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有する、アミノ酸配列、または

c) 図13Aに示す、HLA-C*0102、HLA-C*0303、HLA-C*0304、HLA-C*0401、HLA-C*0602、HLA-C*0701、HLA-C*0702、HLA-C*0801、もしくはHLA-C*1502に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有する、アミノ酸配列、または

10

20

30

40

50

を有する、アミノ酸配列を含む、

本発明1001～1020のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1022]

前記第1のMHCポリペプチドが β 2Mポリペプチドであり、前記第2のMHCポリペプチドが、HLA-A*2402ポリペプチドに対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1001～1020のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1023]

前記第1のMHCポリペプチドが β 2Mポリペプチドであり、前記第2のMHCポリペプチドが、HLA-A*0201ポリペプチドに対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1001～1020のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1024]

前記多量体ポリペプチドが、第1及び第2のヘテロ二量体を含み、前記第1及び第2のヘテロ二量体が、前記第1及び第2のヘテロ二量体のIgFcポリペプチド間の1つ以上のジスルフィド結合によって共有結合している、本発明1001～1023のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1025]

本発明1001～1024のいずれかの第1または第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、核酸。

[本発明1026]

本発明1025の核酸を含む、発現ベクター。

[本発明1027]

ペプチドエпитープに特異的なT細胞の活性を選択的に調節する方法であって、前記方法が、前記T細胞を、本発明1001～1024のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチドに接触させることを含み、前記接触が、前記エпитープ特異的T細胞の活性を選択的に調節する、前記方法。

[本発明1028]

がんを有する患者を治療する方法であって、本発明1001～1024のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチドを含む有効量の医薬組成物を前記患者に投与することを含む、前記方法。

[本発明1029]

1つ以上のチェックポイント阻害剤を前記個体に投与することをさらに含む、本発明1028の方法。

[本発明1030]

前記チェックポイント阻害剤が、CD27、CD28、CD40、CD122、CD96、CD73、CD47、OX40、GITR、CSF1R、JAK、PI3K δ 、PI3K γ 、TAM、アルギナーゼ、CD137、ICOS、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、LAG3、TIM3、VISTA、CD96、TIGIT、CD122、PD-1、PD-L1、及びPD-L2からなる群から選択されるポリペプチドに結合する抗体である、本発明1029の方法。

[本発明1031]

前記チェックポイント阻害剤が、PD-1、PD-L1、またはCTLA4に特異的な抗体である、本発明1030の方法。

[本発明1032]

前記1つ以上のチェックポイント阻害剤が、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、ピジリズマブ、AMP-224、MPDL3280A、MDX-1105、MED-4736、アレルマブ、イピリムマブ、トレメリムマブ、ピジリズマブ、IMP321、MGA271、BMS-986

10

20

30

40

50

016、リリルマブ、ウレルマブ、PF-05082566、IPH2101、MED-6469、CP-870、893、モガムリズマブ、バルリルマブ、アベルマブ、ガリキシマブ、AMP-514、AUNP12、インドキシモド、NLG-919、INCB024360、KN035、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、本発明1029の方法。

[本発明1033]

個体における免疫応答を調節する方法であって、
前記方法が、本発明1001~1024のいずれかの有効量のT細胞調節多量体ポリペプチドを前記個体に投与することを含み、
前記投与がエпитープ特異的T細胞応答及びエпитープ非特異的T細胞応答を誘導し、
前記エпитープ特異的T細胞応答と前記エпитープ非特異的T細胞応答との比が少なくとも2:1である、
前記方法。

10

[本発明1034]

標的T細胞へ免疫調節ポリペプチドを選択的に送達する方法であって、
前記方法が、T細胞の混合集団を、本発明1001~1024のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチドに接触させることを含み、
前記T細胞の混合集団が、前記標的T細胞及び非標的T細胞を含み、
前記標的T細胞が、前記T細胞調節多量体ポリペプチド内に存在する前記エпитープに特異的であり、
前記接触が、前記T細胞調節多量体ポリペプチド内に存在する前記1つ以上の免疫調節ポリペプチドを、前記標的T細胞に送達する、
前記方法。

20

[本発明1035]

個体から得られるT細胞の混合集団における、ペプチドエпитープに結合する標的T細胞の存在を検出する方法であって、
前記方法が、
a) 前記T細胞の混合集団を、ペプチドエпитープを含む本発明1001~1024のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチドにインビトロで接触させること、及び
b) 前記接触に応答したT細胞の活性化及び／または増殖を検出すること
を含み、
活性化及び／または増殖したT細胞が、前記標的T細胞が存在することを示す、
前記方法。

30

【図面の簡単な説明】

【0004】

【図1-1】本開示の様々なTMMPの概略図である。

【図1-2】図1-1の説明を参照。

【図2-1】本開示の様々なジスルフィド結合TMMPの概略図である。

【図2-2】図2-1の説明を参照。

【図3-1】免疫グロブリンFcポリペプチドのアミノ酸配列を示す。A~Gの配列を、それぞれ、SEQ ID NO: 449~460に示す。

40

【図3-2】図3-1の説明を参照。

【図3-3】図3-1の説明を参照。

【図3-4】図3-1の説明を参照。

【図4】ヒト(Homo sapiens) (NP_004039.1; SEQ ID NO: 19)、チンパンジー(Pan troglodytes) (NP_001009066.1; SEQ ID NO: 19)、アカゲザル(Macaca mulatta) (NP_001040602.1; SEQ ID NO: 20)、ウシ(Bos taurus) (NP_776318.1; SEQ ID NO: 21)及びマウス(Mus musculus) (NP_033865.2; SEQ ID NO: 22)由来のβ-2ミクログロブリン(β2M)前駆体(すなわち、リーダー配列を含む)の複数のアミノ酸配列ア

50

ラインメントを示す。アミノ酸 1～20 はシグナルペプチドである。

【図 5-1】対立遺伝子 A*0101 (SEQ ID NO: 23)、A*1101 (SEQ ID NO: 24)、A*2402 (SEQ ID NO: 25) 及び A*3303 (SEQ ID NO: 26) の全長ヒト HLA 重鎖 (A)、対立遺伝子 B*0702 の全長ヒト HLA 重鎖 (SEQ ID NO: 27) (B)、ならびに全長ヒト HLA-C 重鎖 (SEQ ID NO: 28) (C) のアミノ酸配列を示す。

【図 5-2】図 5-1 の説明を参照。

【図 6-1】リーダー配列、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを除いた、11 種の成熟 MHC クラス I 重鎖アミノ酸配列のアラインメントを示す。上から順に、SEQ ID NO: 41～51 である。

【図 6-2】図 6-1 の説明を参照。

【図 7A-1】HLA-A 重鎖アミノ酸配列 (それぞれ、SEQ ID NO: 198～206) のアラインメントを示す。

【図 7A-2】図 7A-1 の説明を参照。

【図 7B】HLA-A 重鎖のコンセンサス配列 (SEQ ID NO: 29) を示す。

【図 8A-1】HLA-B 重鎖アミノ酸配列 (それぞれ、SEQ ID NO: 207～213) のアラインメントを示す。

【図 8A-2】図 8A-1 の説明を参照。

【図 8B】HLA-B 重鎖のコンセンサス配列 (SEQ ID NO: 30) を示す。

【図 9A-1】HLA-C 重鎖アミノ酸配列 (それぞれ、SEQ ID NO: 214～222) のアラインメントを示す。

【図 9A-2】図 9A-1 の説明を参照。

【図 9B】HLA-C 重鎖のコンセンサス配列 (SEQ ID NO: 31) を示す。

【図 10】HLA-E、HLA-F、及び HLA-G 重鎖のそれぞれについてのコンセンサスアミノ酸配列 (それぞれ、SEQ ID NO: 32～34) を示す。可変アミノ酸 (aa) の位置を、連続番号を付した「X」残基として示す。アミノ酸 84、139、及び 236 の位置には二重下線を引いている。

【図 11】HLA-A (SEQ ID NO: 35)、HLA-B (SEQ ID NO: 36)、HLA-C (SEQ ID NO: 37)、HLA-E (SEQ ID NO: 38)、HLA-F (SEQ ID NO: 39)、及び HLA-G (SEQ ID NO: 40) のコンセンサスアミノ酸配列のアラインメントを示す。

【図 12-1】本開示の多重ジスルフィド結合 TMMP の概略図を示す。

【図 12-2】図 12-1 の説明を参照。

【図 13-1】本開示のジスルフィド結合 TMMP の構成の例の概略図を示す。

【図 13-2】図 13-1 の説明を参照。

【図 14】本開示の TMMP における免疫調節ポリペプチドの位置の例の概略図を示す。

【発明を実施するための形態】

【0005】

定義

用語「ポリヌクレオチド」及び「核酸」は、本明細書において同じ意味で用いられ、任意の長さを有するヌクレオチドのポリマー形態 (リボヌクレオチドまたはデオキシリボヌクレオチドのいずれか) のことを意味する。それゆえ、この用語は、一本鎖、二本鎖、もしくは多本鎖の DNA もしくは RNA、ゲノム DNA、cDNA、DNA-RNA ハイブリッド、または、プリン塩基及びピリミジン塩基、もしくは、その他の天然ヌクレオチド塩基、化学的に修飾したヌクレオチド塩基もしくは生化学的に修飾したヌクレオチド塩基、非天然ヌクレオチド塩基、もしくは誘導体化されたヌクレオチド塩基を含むポリマー、を含むがこれらに限定されない。

【0006】

用語「ペプチド」、「ポリペプチド」及び「タンパク質」は、本明細書において同じ意味で用いられ、任意の長さを有するアミノ酸のポリマー形態のことを意味し、コード及び

10

20

30

40

50

非コードアミノ酸、化学的にもしくは生化学的に修飾もしくは誘導体化されたアミノ酸、及び、修飾ペプチド主鎖を有するポリペプチドを含んでいてもよい。

【0007】

ポリヌクレオチドまたはポリペプチドは、別のポリヌクレオチドまたはポリペプチドに対する特定のパーセント「配列同一性」を有し、そのことは、アラインして2つの配列を比較する際に、塩基またはアミノ酸のパーセンテージが同一であり、同一の相対位置にあることを意味する。配列同一性については多数の異なる方法を用いて測定することができる。配列同一性を測定するために、様々な簡便な方法、及び、world wide webにおいて、ncbi.nlm.nih.gov/BLAST、ebi.ac.uk/Tools/msa/tcoffee/、ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/、mafft.cbrc.jp/alignment/software/を含むサイトで利用可能なコンピュータプログラム（例えば、BLAST、T-COFFEE、MUSCLE、MAFFTなど）を使用して配列をアラインしてもよい。例えば、Altschul et al. (1990), J. Mol. Biol. 215:403-10を参照されたい。

【0008】

用語「保存的アミノ酸置換」とは、類似した側鎖を有するアミノ酸残基のタンパク質における互換性のことを意味する。例えば、脂肪族側鎖を有するアミノ酸の基は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、及びイソロイシンから構成され、脂肪族ヒドロキシル側鎖を有するアミノ酸の基はセリン及びスレオニンから構成され、アミド含有側鎖を有するアミノ酸の基はアスパラギン及びグルタミンから構成され、芳香族側鎖を有するアミノ酸の基は、フェニルアラニン、チロシン、及びトリプトファンから構成され、塩基性側鎖を有するアミノ酸の基は、リジン、アルギニン、及びヒスチジンから構成され、酸性側鎖を有するアミノ酸の基はグルタミン酸及びアスパラギン酸から構成され、硫黄含有側鎖を有するアミノ酸の基はシステイン及びメチオニンから構成される。例示的な保存的アミノ酸置換基は、バリンーロイシンーイソロイシン、フェニルアラニンーチロシン、リジンーアルギニン、アラニンーバリンーグリシン、及びアスパラギンーグルタミンである。

【0009】

本明細書で使用する場合、用語「免疫学的シナプス」または「免疫シナプス」とは一般に、適応免疫応答の2つの相互作用する免疫細胞間の自然境界面（例えば、抗原提示細胞（APC）または標的細胞と、エフェクター細胞（例えば、リンパ球）、エフェクターT細胞、ナチュラルキラー細胞などの間の境界面を含む）のことを意味する。APCとT細胞の間の免疫学的シナプスは通常、例えば、Bromley et al., Annu Rev Immunol. 2001; 19:375-96（その開示全体は参照により本明細書に組み込まれる）に記載されているように、T細胞抗原受容体と主要組織適合遺伝子複合体分子の相互作用によって開始される。

【0010】

「T細胞」は、CD3を発現する全てのタイプの免疫細胞を含み、例えば、ヘルパーT細胞（CD4⁺細胞）、細胞傷害性T細胞（CD8⁺細胞）、T抑制細胞（Treg）、及びNK-T細胞を含む。

【0011】

本明細書で使用する場合、用語「免疫調節ポリペプチド」（「共刺激ポリペプチド」とも呼ばれる）としては、T細胞上の同種共免疫調節ポリペプチドに特異的に結合し、それにより、例えば、TCR/CD3複合体がペプチド結合主要組織適合遺伝子複合体（MHC）ポリペプチドと結合することによりもたらされた一次シグナルに加えて、増殖、活性化、分化などを含むがこれらに限定されないT細胞応答を介在するシグナルをもたらす、抗原提示細胞（APC）（例えば、樹状細胞、B細胞など）上のポリペプチドが挙げられる。免疫調節ポリペプチドとしては、CD7、B7-1（CD80）、B7-2（CD86）、PD-L1、PD-L2、4-1BBL、OX40L、Fasリガンド（FasL）、誘導性共刺激リガンド（ICOS-L）、細胞間接着分子（ICAM）、CD30L

、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、MICB、HVEM、リンホトキシンβ受容体、3/ TR6、ILT3、ILT4、HVEM、Tollリガンド受容体に結合するアゴニストまたは抗体、及び、B7-H3に特異的に結合するリガンドを挙げることができるがこれらに限定されない。

【0012】

上に記載したように、「免疫調節ポリペプチド」（本明細書ではまた「MOD」と呼ぶ）は、T細胞上の同種共免疫調節ポリペプチドに特異的に結合する。

【0013】

本開示のTMMPの「免疫調節ドメイン」（「MOD」）は、標的T細胞上に存在し得る同種共免疫調節ポリペプチドに結合する。

【0014】

本発明で使用する場合、「非相同」とは、天然の核酸またはタンパク質それぞれには見られない、ヌクレオチドまたはポリペプチドのことを意味する。

【0015】

本明細書で使用する場合、「組換え」とは、特定の核酸（DNAまたはRNA）が、天然系に存在する内在性核酸と識別することが可能な構造コードまたは非コード配列を有する構築物をもたらすクローニング工程、制限工程、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）工程及び／またはライゲーション工程の様々な組み合わせによる生成物であることを意味する。ポリペプチドをコードするDNA配列を、cDNAフラグメントまたは一続きの合成オリゴヌクレオチドからアセンブルして、細胞内または無細胞転写及び翻訳系内に含まれる組換え転写単位が発現可能な合成核酸を得てもよい。

【0016】

用語「組換え発現ベクター」または「DNA構築物」は本明細書において同じ意味で用いられ、ベクターと少なくとも1つのインサートを含むDNA分子のことを意味する。組換え発現ベクターは通常、インサート（複数可）を発現及び／または増殖させることを目的として、または、その他の組換えヌクレオチド配列を構築するために、作製される。インサート（複数可）は、プロモーター配列に機能的に連結してもしなくてもよく、DNA調節配列に機能的に連結してもしなくてもよい。

【0017】

本発明で使用する場合、用語「親和性」とは、2つの物質（例えば、抗体及び抗原）の可逆結合における平衡定数のことを意味し、また解離定数（ K_D ）で表される。親和性は、無関係なアミノ酸配列に対する抗体親和性の、少なくとも1倍超、少なくとも2倍超、少なくとも3倍超、少なくとも4倍超、少なくとも5倍超、少なくとも6倍超、少なくとも7倍超、少なくとも8倍超、少なくとも9倍超、少なくとも10倍超、少なくとも20倍超、少なくとも30倍超、少なくとも40倍超、少なくとも50倍超、少なくとも60倍超、少なくとも70倍超、少なくとも80倍超、少なくとも90倍超、少なくとも100倍超、もしくは、少なくとも1,000倍超、またはそれ以上であってもよい。標的タンパク質に対する抗体の親和性は、例えば、約100ナノモル（nM）～約0.1nM、約100nM～約1ピコモル（pM）、もしくは、約100nM～約1フェムトモル（fM）、またはそれ以上であってもよい。本明細書で使用する場合、用語「結合力」とは、希釈後における、2つ以上の物質の複合体の解離に対する抵抗力のことを意味する。用語「免疫反応性」及び「優先的に結合する」は、抗体及び／または抗原結合フラグメントに関し、本明細書において同じ意味で用いられる。

【0018】

本明細書で使用する場合（例えば、TMMPのT細胞上のポリペプチド（例えば、T細胞受容体）への結合に関して）、用語「結合」とは、2つの分子間の非共有結合相互作用のことを意味する。非共有結合とは、例えば、塩橋及び水素橋などの相互作用を含む、静電結合、疎水結合、イオン結合及び／または水素結合の相互作用による、2つの分子間の直接会合のことを意味する。非共有結合相互作用は通常、 10^{-6} M未満、 10^{-7} M未満、 10^{-8} M未満、 10^{-9} M未満、 10^{-10} M未満、 10^{-11} M未満、 10^{-12} M未

10

20

30

40

50

満、 10^{-13} M未満、 10^{-14} M未満、または、 10^{-15} M未満の解離定数 (K_D) を特徴とする。「親和性」とは非共有結合の強度のことを意味し、高い結合親和性は低い K_D と相関している。「特異的結合」とは通常、少なくとも約 10^{-7} M以上、例えば、 5×10^{-7} M、 10^{-8} M、 5×10^{-8} M、 10^{-9} M、及び、それより高い親和性を有する結合のことを意味する。「非特異的結合」とは通常、約 10^{-7} M未満の親和性を有する結合（例えば、 10^{-6} M、 10^{-5} M、 10^{-4} Mの親和性を有する結合）（例えば、リガンドの指定結合部位または受容体以外の部分へのリガンドの結合）のことを意味する。しかしながら、一部の文脈、例えば、TCRとペプチド/MHC複合体の間の結合において、「特異的結合」は、 $1 \mu\text{M} \sim 100 \mu\text{M}$ 、または、 $100 \mu\text{M} \sim 1\text{mM}$ の範囲内であってもよい。本明細書で使用する場合、「共有結合 (covalent binding)」または「共有結合 (covalent bond)」とは、2つの異なる分子間に1つ以上の共有化学結合が形成されることを意味する。

【0019】

本発明で使用する場合、用語「治療」、「治療すること」などは通常、所望の薬理学的効果及び／または生理学的効果を得ることを意味する。その効果は、疾患またはその症状を完全にまたは部分的に予防するという観点において予防的であり得、及び／または、疾患及び／またはその疾患に起因する副作用の部分的または完全な治癒という観点において治療的であり得る。本発明で使用する場合、「治療」は、哺乳動物における疾患または症状の任意の治療を包含し、(a) その疾患または症状にかかりやすいが、まだそれを有すると診断されていない対象における疾患または症状の発症を予防すること、(b) その疾患または症状を抑制すること、すなわち、その発症を阻止すること、及び／または、(c) その疾患を軽減すること、すなわち、その疾患を退行させること、を含む。疾患または障害の発症前、その間、またはその後に、治療薬を投与してもよい。進行中の疾患の治療（治療は患者の望ましくない臨床症状を安定化または抑制する）には特に利点がある。このような治療は、望ましくは、罹患組織の機能が完全に喪失される前に実施される。本治療薬は、望ましくは、疾患の症候期中に、場合によっては、疾患の症候期後に投与される。

【0020】

用語「個体」、「対象」、「宿主」及び「患者」は本明細書において同じ意味で用いられ、診断、処置または治療が望まれる任意の哺乳動物対象のことを意味する。哺乳動物としては、例えば、ヒト、非ヒト霊長類、げっ歯類（例えば、ラット、マウス）、ウサギ目（例えば、ウサギ）、有蹄類（例えば、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマ、ヤギなど）などが挙げられる。

【0021】

本発明をさらに説明する前に、本発明が記載する特定の実施形態に限定されることはなく、それゆえ当然変化し得るということを理解されたい。本明細書で用いる専門用語は、特定の実施形態を説明するためだけのものであり、本発明の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ限定されることから、限定することを意図するものではないということを理解されたい。

【0022】

数値の範囲を提供する場合、その範囲の上限と下限との間にある各介在値（文脈上明確に指示しない限り、下限値の単位の10分の1まで）、及び、その明示範囲内の任意のその他明示値または介在値が本発明に包含されることを理解されたい。これら狭めた範囲の上限値及び下限値は、その狭めた範囲内に独立して含まれていてもよく、また、明示範囲内において特に除外した任意の値に従い、本発明に包含される。明示範囲がそれら上限値及び下限値のうちの1つまたは両方を含む場合、それら包含される上限値及び下限値のいずれかまたは両方を除外する範囲もまた本発明に包含される。

【0023】

別途定義しない限り、本明細書で使用する全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者が一般に理解する意味と同一の意味を有する。本明細書に記載の方法及び物質と同様または同等の任意の方法及び物質を、本発明の実施または試験において

使用することもできるが、好ましい方法及び物質については以下で説明する。本明細書で言及する全ての刊行物は、それら刊行物が引用する内容と関連させて本方法及び／または物質を開示及び説明するために、参照により本明細書に組み込まれる。

【0024】

本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用される単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」、及び「その(the)」は、文脈上明確に指示しない限り、複数の指示対象を含むことに留意すべきである。それゆえ、例えば、「T細胞調節多量体ポリペプチド」への言及は、複数のそのようなポリペプチドを含み、「免疫調節ポリペプチド」への言及は、1つ以上の免疫調節ポリペプチド及び当業者に周知のその同等物などへの言及を含む。さらに、特許請求の範囲が任意の要素を除外するように作成されてもよいということに留意されたい。したがって、この記述は、クレーム要素の列挙と関連させて、「単に」、「のみ」などの排他的な用語の使用、または、「否定的な」限定の使用が、先行詞として機能することを意図するものである。

10

【0025】

分かりやすく、個々の実施形態との関係において記載した本発明における特定の特徴を、さらに、単一の実施形態内において組み合わせて提供してもよいということを理解されたい。逆の言い方をすれば、簡潔とするため、単一の実施形態との関係において記載した本発明における様々な特徴を、さらに、別々に、または、任意の好適な副組み合わせで提供してもよい。本発明に属する実施形態の全ての組み合わせは、本発明により明示的に包含され、全ての組み合わせが個別にかつ明確に開示されるかのように本明細書において開示される。加えて、様々な実施形態及びそれらの要素における全ての副組み合わせもまた、本発明により明示的に包含され、全てのこのような副組み合わせが個別にかつ明確に本明細書において開示されるかのように、本明細書において開示される。

20

【0026】

本明細書に記載する刊行物は、単に本願の出願日前にそれらの開示を提供したに過ぎない。本明細書におけるいずれの内容も、本発明が、先行発明によりこのような刊行物に先行する権利を持たないことを認めるものとして解釈されるべきではない。さらに、提供した刊行物の日付は実際の刊行日とは異なる場合があり、個別に確認する必要がある場合がある。

【0027】

詳細な説明

本開示は、免疫調節ポリペプチドを含み、かつエピトープ提示ペプチドを含むT細胞調節多量体ポリペプチドを提供する。TMMPは、T細胞の活性化を調節するのに、また個体における免疫応答を調節するのに有用である。

30

【0028】

T細胞調節多量体ポリペプチド

本開示は、a) 第1のポリペプチドと、b) 第2のポリペプチドとを含む、T細胞調節多量体ポリペプチド(TMMP)を提供し、TMMPは、エピトープと、第1の主要組織適合遺伝子複合体(MHC)ポリペプチドと、第2のMHCポリペプチドと、1つ以上の免疫調節ポリペプチドと、任意選択的に、免疫グロブリン(Ig)Fcポリペプチドまたは非Igスキファールドと、を含む。本開示はTMMPを提供し、TMMPは、a) 第1のMHCポリペプチドを含む第1のポリペプチドと、b) 第2のMHCポリペプチドを含む第2のポリペプチドと、を含む、ヘテロ二量体であり、第1のポリペプチドまたは第2のポリペプチドはエピトープ(例えば、エピトープを提示するペプチド)を含み、第1のポリペプチド及び／または第2のポリペプチドは、同一であるかまたは異なってもよい1つ以上の免疫調節ポリペプチドと、任意選択的に、IgFcポリペプチドまたは非Igスキファールドと、を含む。本開示のTMMPはまた、本明細書において、「本開示の多量体ポリペプチド」または「synTac」と呼ばれる。一部の例では、本開示のTMMP内に存在するペプチドエピトープはがん関連ペプチドである。一部の例では、本開示のTMMPに存在するペプチドエピトープは、感染症関連ペプチド(例えば、ウイ

40

50

ルスにコードされたペプチド) である。

【0029】

本開示は、a) i) ペプチドエピトープと i i) 第1のMHCポリペプチドを含む第1のポリペプチドと、b) 第2のMHCポリペプチドを含む第2のポリペプチドと、c) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドと、を含むヘテロ二量体ポリペプチドを含むTMMPを提供し、第1及び／または第2のポリペプチドは、少なくとも1つ（すなわち、1つ以上）の免疫調節ポリペプチドを含む。任意選択的に、第1または第2のポリペプチドは、IgFcポリペプチドまたは非Igスキファールドを含む。1つ以上の免疫調節ポリペプチドのうちの少なくとも1つは、同種共免疫調節ポリペプチドに対する対応する野生型免疫調節ポリペプチドの親和性と比較して、同種共免疫調節ポリペプチドに対し低い親和性を示す、バリエーション型免疫調節ポリペプチドである。本開示のTMMP内に存在するエピトープは、T細胞上のT細胞受容体(TCR)に少なくとも100μM（例えば、少なくとも10μM、少なくとも1μM、少なくとも100nM、少なくとも10nM、または、少なくとも1nM）の親和性で結合する。本開示のTMMPは、TMMPが第2のT細胞に結合する親和性よりも少なくとも25%高い親和性で第1のT細胞に結合し、第1のT細胞はその表面上に、同種共免疫調節ポリペプチドと、エピトープに少なくとも100μMの親和性で結合するTCRとを発現し、第2のT細胞はその表面上に、同種共免疫調節ポリペプチドを発現するが、その表面上に、エピトープに少なくとも100μM（例えば、少なくとも10μM、少なくとも1μM、少なくとも100nM、少なくとも10nM、または、少なくとも1nM）の親和性で結合するTCRを発現しない。一部の例では、本開示のTMMP内に存在するペプチドエピトープはがん関連ペプチドである。一部の例では、本開示のTMMPに存在するペプチドエピトープは、感染症関連ペプチド（例えば、ウイルスにコードされたペプチド）である。

【0030】

本開示はTMMPを提供し、TMMPは、

A) ヘテロ二量体であって、a) 第1のMHCポリペプチドを含む第1のポリペプチドと、b) 第2のMHCポリペプチドを含む第2のポリペプチドと、を含む、ヘテロ二量体（第1のポリペプチドまたは第2のポリペプチドはエピトープ（例えば、T細胞によって認識されるエピトープを含むペプチド）を含み、第1のポリペプチド及び／または第2のポリペプチドは、同一であるかまたは異なってもよい1つ以上の免疫調節ポリペプチドを含み、1つ以上の免疫調節ポリペプチドのうちの少なくとも1つは、野生型免疫調節ポリペプチドまたは野生型免疫調節ポリペプチドのバリエーション型であってもよく、バリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する野生型免疫調節ポリペプチドのアミノ酸配列と比較して、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20のアミノ酸置換を含み、第1のポリペプチドまたは第2のポリペプチドは任意選択的に、IgFcポリペプチドまたは非Igスキファールドを含む）、

B) ヘテロ二量体であって、a) 第1のMHCポリペプチドを含む第1のポリペプチドと、b) 第2のMHCポリペプチドを含む第2のポリペプチドと、を含む、ヘテロ二量体（第1のポリペプチドまたは第2のポリペプチドはエピトープを含み、第1のポリペプチド及び／または第2のポリペプチドは、同一であるかまたは異なってもよい1つ以上の免疫調節ポリペプチドを含み、

1つ以上の免疫調節ポリペプチドのうちの少なくとも1つは、野生型免疫調節ポリペプチドのバリエーション型であり、バリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する野生型免疫調節ポリペプチドのアミノ酸配列と比較して、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20のアミノ酸置換を含み、

1つ以上の免疫調節ドメインのうちの少なくとも1つは、同種共免疫調節ポリペプチドに対する対応する野生型免疫調節ポリペプチドの親和性と比較して、同種共免疫調節ポリペプチドに対し低い親和性を示す、バリエーション型免疫調節ポリペプチドであり、エピトー

プは、T細胞上のTCRに少なくとも 10^{-7} Mの親和性で結合し、その結果、i) TMMPポリペプチドは、TMMPが第2のT細胞に結合する親和性よりも少なくとも25%高い親和性で第1のT細胞に結合し、第1のT細胞はその表面上に、同種共免疫調節ポリペプチドと、エピトープに少なくとも 10^{-7} Mの親和性で結合するTCRとを発現し、第2のT細胞はその表面上に、同種共免疫調節ポリペプチドを発現するが、その表面上に、エピトープに少なくとも 10^{-7} Mの親和性で結合するTCRを発現せず、及び／または、ii) 同種共免疫調節ポリペプチドに対する対照TMMP（対照は野生型免疫調節ポリペプチドを含む）の結合親和性と、同種共免疫調節ポリペプチドに対する野生型免疫調節ポリペプチドのバリエーション型を含むTMMPの結合親和性との比は、バイオレイヤー干渉法で測定した際に、 $1.5:1 \sim 10^6:1$ の範囲内であり、バリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する野生型免疫調節ポリペプチドのアミノ酸配列と比較して、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20のアミノ酸置換を含み、

10

第1のポリペプチドまたは第2のポリペプチドは任意選択的に、IgFcポリペプチドまたは非Igスキファールドを含む）、または、

C) ヘテロ二量体であって、a) 第1のポリペプチドであって、N末端からC末端の順に、i) エピトープと、ii) 第1のMHCポリペプチドを含む第1のポリペプチドと、b) 第2のポリペプチドであって、N末端からC末端の順に、i) 第2のMHCポリペプチドと、ii) 任意選択的に、免疫グロブリン(Ig)Fcポリペプチドまたは非Igスキファールドを含む第2のポリペプチドと、を含む、ヘテロ二量体(TMMPは、同一であるかまたは異なっているもよい1つ以上の免疫調節ドメインを含み、1つ以上の免疫調節ドメインのうちの少なくとも1つは、A) 第1のポリペプチドのC末端にある、B) 第2のポリペプチドのN末端にある、C) 第2のポリペプチドのC末端にある、または、D) 第1のポリペプチドのC末端及び第2のポリペプチドのN末端にあり、1つ以上の免疫調節ドメインのうちの少なくとも1つは、野生型免疫調節ポリペプチドまたは野生型免疫調節ポリペプチドのバリエーション型であってもよく、バリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する野生型免疫調節ポリペプチドのアミノ酸配列と比較して、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20のアミノ酸置換を含み、

20

任意選択的に、1つ以上の免疫調節ドメインのうちの少なくとも1つは、同種共免疫調節ポリペプチドに対する対応する野生型免疫調節ポリペプチドの親和性と比較して、同種共免疫調節ポリペプチドに対し低い親和性を示す、バリエーション型免疫調節ポリペプチドであり、エピトープは、T細胞上のTCRに少なくとも 10^{-7} Mの親和性で結合し、その結果、i) TMMPは、TMMPが第2のT細胞に結合する親和性よりも少なくとも25%高い親和性で第1のT細胞に結合し、第1のT細胞はその表面上に、同種共免疫調節ポリペプチドと、エピトープに少なくとも 10^{-7} Mの親和性で結合するTCRとを発現し、第2のT細胞はその表面上に、同種共免疫調節ポリペプチドを発現するが、その表面上に、エピトープに少なくとも 10^{-7} Mの親和性で結合するTCRを発現せず、及び／または、ii) 同種共免疫調節ポリペプチドに対する対照TMMP（対照は野生型免疫調節ポリペプチドを含む）の結合親和性と、同種共免疫調節ポリペプチドに対する野生型免疫調節ポリペプチドのバリエーション型を含むTMMPの結合親和性との比は、バイオレイヤー干渉法で測定した際に、 $1.5:1 \sim 10^6:1$ の範囲内であり、バリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する野生型免疫調節ポリペプチドのアミノ酸配列と比較して、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20のアミノ酸置換を含む。一部の例では、本開示のTMMP内に存在するペプチドエピトープはがん関連ペプチドである。一部の例では、本開示のTMMPに存在するペプチドエピトープは、感染症関連ペプチド（例えば、ウイルスにコードされたペプチド）である。

30

40

【0031】

本開示は、a) 第1のポリペプチドであって、N末端からC末端の順に、i) エピトー

50

ブと、i i) 第1のMHCポリペプチドを含む第1のポリペプチドと、b) 第2のポリペプチドであって、N末端からC末端の順に、i) 第2のMHCポリペプチドと、i i) 任意選択的に、Ig Fcポリペプチドまたは非Igスキファールドを含む第2のポリペプチドと、を含む、TMMP、を提供する。本開示のTMMPは1つ以上の免疫調節ポリペプチドを含み、1つ以上の免疫調節ポリペプチドのうちの少なくとも1つは、A) 第1のポリペプチドのC末端にある、B) 第2のポリペプチドのN末端にある、C) 第2のポリペプチドのC末端にある、または、D) 第1のポリペプチドのC末端及び第2のポリペプチドのN末端にある。1つ以上の免疫調節ポリペプチドのうちの少なくとも1つは、同種共免疫調節ポリペプチドに対する対応する野生型免疫調節ポリペプチドの親和性と比較して、同種共免疫調節ポリペプチドに対し低い親和性を示す、バリエーション型免疫調節ポリペプチドである。本開示のTMMP内に存在するエピトープは、T細胞上のT細胞受容体(TCR)に少なくとも $100\mu\text{M}$ (例えば、少なくとも $10\mu\text{M}$ 、少なくとも $1\mu\text{M}$ 、少なくとも 100nM 、少なくとも 10nM 、または、少なくとも 1nM)の親和性で結合する。本開示のTMMPは、TMMPが第2のT細胞に結合する親和性よりも少なくとも25%高い親和性で第1のT細胞に結合し、第1のT細胞はその表面上に、同種共免疫調節ポリペプチドと、エピトープに少なくとも $100\mu\text{M}$ の親和性で結合するTCRとを発現し、第2のT細胞はその表面上に、同種共免疫調節ポリペプチドを発現するが、その表面上に、エピトープに少なくとも $100\mu\text{M}$ (例えば、少なくとも $10\mu\text{M}$ 、少なくとも $1\mu\text{M}$ 、少なくとも 100nM 、少なくとも 10nM 、または、少なくとも 1nM)の親和性で結合するTCRを発現しない。

10

20

【0032】

一部の例では、本開示のTMMP内に存在するエピトープは、約 10^{-4}M ~約 $5\times 10^{-4}\text{M}$ 、約 $5\times 10^{-4}\text{M}$ ~約 10^{-5}M 、約 10^{-5}M ~約 $5\times 10^{-5}\text{M}$ 、約 $5\times 10^{-5}\text{M}$ ~約 10^{-6}M 、約 10^{-6}M ~約 $5\times 10^{-6}\text{M}$ 、約 $5\times 10^{-6}\text{M}$ ~約 10^{-7}M 、約 10^{-7}M ~約 $5\times 10^{-7}\text{M}$ 、約 $5\times 10^{-7}\text{M}$ ~約 10^{-8}M 、または、約 10^{-8}M ~約 10^{-9}M の親和性で、T細胞上のTCRに結合する。別の様式で表すと、一部の例では、本開示のTMMP内に存在するエピトープは、約 1nM ~約 5nM 、約 5nM ~約 10nM 、約 10nM ~約 50nM 、約 50nM ~約 100nM 、約 $0.1\mu\text{M}$ ~約 $0.5\mu\text{M}$ 、約 $0.5\mu\text{M}$ ~約 $1\mu\text{M}$ 、約 $1\mu\text{M}$ ~約 $5\mu\text{M}$ 、約 $5\mu\text{M}$ ~約 $10\mu\text{M}$ 、約 $10\mu\text{M}$ ~約 $25\mu\text{M}$ 、約 $25\mu\text{M}$ ~約 $50\mu\text{M}$ 、約 $50\mu\text{M}$ ~約 $75\mu\text{M}$ 、約 $75\mu\text{M}$ ~約 $100\mu\text{M}$ の親和性で、T細胞上のTCRに結合する。

30

【0033】

本開示のTMMP内に存在する免疫調節ポリペプチドは、同種共免疫調節ポリペプチドに対する対応する野生型免疫調節ポリペプチドの親和性よりも少なくとも10%低い、少なくとも15%低い、少なくとも20%低い、少なくとも25%低い、少なくとも30%低い、少なくとも35%低い、少なくとも40%低い、少なくとも45%低い、少なくとも50%低い、少なくとも55%低い、少なくとも60%低い、少なくとも65%低い、少なくとも70%低い、少なくとも75%低い、少なくとも80%低い、少なくとも85%低い、少なくとも90%低い、少なくとも95%低い、または、95%超低い親和性で、その同種共免疫調節ポリペプチドに結合する。

40

【0034】

一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、同種共免疫調節ポリペプチドに対して 1nM ~ 100nM 、または、 100nM ~ $100\mu\text{M}$ の結合親和性を有する。例えば、一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、同種共免疫調節ポリペプチドに対して約 100nM ~ 150nM 、約 150nM ~約 200nM 、約 200nM ~約 250nM 、約 250nM ~約 300nM 、約 300nM ~約 350nM 、約 350nM ~約 400nM 、約 400nM ~約 500nM 、約 500nM ~約 600nM 、約 600nM ~約 700nM 、約 700nM ~約 800nM 、約 800nM ~約 900nM 、約 900nM ~約 $1\mu\text{M}$ 、約 $1\mu\text{M}$ ~約 $5\mu\text{M}$ 、約 $5\mu\text{M}$ ~約 $10\mu\text{M}$ 、約 $10\mu\text{M}$ ~約 $15\mu\text{M}$ 、約 $15\mu\text{M}$ ~約 20

50

μM 、約 $20\mu\text{M}$ ～約 $25\mu\text{M}$ 、約 $25\mu\text{M}$ ～約 $50\mu\text{M}$ 、約 $50\mu\text{M}$ ～約 $75\mu\text{M}$ 、または、約 $75\mu\text{M}$ ～約 $100\mu\text{M}$ の結合親和性を有する。一部の例では、本開示の TMM P 内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、同種共免疫調節ポリペプチドに対する約 1nM ～約 5nM 、約 5nM ～約 10nM 、約 10nM ～約 50nM 、約 50nM ～約 100nM の結合親和性を有する。

【0035】

免疫調節ポリペプチドの同種共免疫調節ポリペプチドに対する免疫調節ポリペプチドの低い親和性と、TCR に対するエピトープの親和性を組み合わせることにより、本開示の TMM P の向上した選択性がもたらされる。例えば、本開示の TMM P は、i) TMM P 内に存在するエピトープ以外のエピトープに特異的な TCR と ii) TMM P 内に存在する免疫調節ポリペプチドに結合する共免疫調節ポリペプチドとを提示する第 2 の T 細胞への結合性と比較して、i) TMM P 内に存在するエピトープに特異的な TCR と ii) TMM P 内に存在する免疫調節ポリペプチドに結合する共免疫調節ポリペプチドとの両方を提示する第 1 の T 細胞に選択的に結合する。例えば、本開示の TMM P は、本開示の TMM P が第 2 の T 細胞に結合する親和性よりも少なくとも 10% 、少なくとも 15% 、少なくとも 20% 、少なくとも 25% 、少なくとも 30% 、少なくとも 40% 、少なくとも 50% 、少なくとも 60% 、少なくとも 70% 、少なくとも 80% 、少なくとも 90% 、少なくとも 2 倍、少なくとも 2.5 倍、少なくとも 5 倍、少なくとも 10 倍、少なくとも 15 倍、少なくとも 20 倍、少なくとも 25 倍、少なくとも 50 倍、少なくとも 100 倍、または、100 倍超高い親和性で第 1 の T 細胞に結合する。

【0036】

一部の例では、本開示の TMM P は、それを必要とする個体に投与する際に、エピトープ特異的 T 細胞応答とエピトープ非特異的 T 細胞応答の両方を誘導する。言い換えると、一部の例では、本開示の TMM P は、それを必要とする個体に投与する際に、i) TMM P 内に存在するエピトープに特異的な TCR と ii) TMM P 内に存在する免疫調節ポリペプチドに結合する共免疫調節ポリペプチドとの両方を提示する第 1 の T 細胞の活性化を調節することによって、エピトープ特異的 T 細胞応答を誘導し、i) TMM P 内に存在するエピトープ以外のエピトープに特異的な TCR と ii) TMM P 内に存在する免疫調節ポリペプチドに結合する共免疫調節ポリペプチドとを提示する第 2 の T 細胞の活性化を調節することによって、エピトープ非特異的 T 細胞応答を誘導する。エピトープ特異的 T 細胞応答とエピトープ非特異的 T 細胞応答との比は、少なくとも $2:1$ 、少なくとも $5:1$ 、少なくとも $10:1$ 、少なくとも $15:1$ 、少なくとも $20:1$ 、少なくとも $25:1$ 、少なくとも $50:1$ 、または、少なくとも $100:1$ である。エピトープ特異的 T 細胞応答とエピトープ非特異的 T 細胞応答との比は、約 $2:1$ ～約 $5:1$ 、約 $5:1$ ～約 $10:1$ 、約 $10:1$ ～約 $15:1$ 、約 $15:1$ ～約 $20:1$ 、約 $20:1$ ～約 $25:1$ 、約 $25:1$ ～約 $50:1$ 、もしくは、約 $50:1$ ～約 $100:1$ 、または、 $100:1$ 超である。T 細胞の「活性化を調節すること」としては、i) 細胞傷害性（例えば、 $\text{CD}8^+$ ）T 細胞を活性化させること、ii) 細胞傷害性（例えば、 $\text{CD}8^+$ ）T 細胞の細胞傷害活性を誘導すること、iii) 細胞傷害性（例えば、 $\text{CD}8^+$ ）T 細胞による細胞毒（例えば、パーフォリン、グランザイム、グラニュライシン）の産生及び放出を誘導すること、iv) 自己反応性 T 細胞の活性化を抑制すること、などのうちの 1 つ以上を挙げることができる。

【0037】

免疫調節ポリペプチドの同種共免疫調節ポリペプチドに対する免疫調節ポリペプチドの低い親和性と、TCR に対するエピトープの親和性を組み合わせることにより、本開示の TMM P の向上した選択性がもたらされる。それゆえ、例えば、本開示の TMM P は、i) TMM P 内に存在するエピトープ以外のエピトープに特異的な TCR と ii) TMM P 内に存在する免疫調節ポリペプチドに結合する共免疫調節ポリペプチドを提示する第 2 の T 細胞に本開示の TMM P が結合する結合力よりも高い結合力で、i) TMM P 内に存在するエピトープに特異的な TCR と ii) TMM P 内に存在する免疫調節ポリペプチドに

結合する共免疫調節ポリペプチドの両方を提示する第1のT細胞に結合する。

【0038】

免疫調節ポリペプチドとその同種共免疫調節ポリペプチドの間の結合親和性は、精製免疫調節ポリペプチド及び精製同種共免疫調節ポリペプチドを使用したバイオレイヤー干渉法 (BLI) により測定することができる。TMMPとその同種共免疫調節ポリペプチドの間の結合親和性は、精製TMMP及び同種共免疫調節ポリペプチドを使用したBLIにより測定することができる。BLI法は当業者に周知である。例えば、Lad et al. (2015) J. Biomol. Screen. 20 (4) : 498-507; 及びS hah and Duncan (2014) J. Vis. Exp. 18 : e51383を参照されたい。

【0039】

BLIアッセイは、Octet RED 96 (Pal ForteBio) 装置または類似装置を使用して以下のように実施することができる。TMMP (例えば、本開示のTMMP、対照TMMP (対照TMMPは野生型免疫調節ポリペプチドを含む)) を不溶性支持体 (「バイオセンサー」) 上に固定する。固定TMMPは「標的」である。固定化は、捕捉抗体を不溶性支持体上に固定することにより行うことができ、捕捉抗体はTMMPを固定する。例えば、固定化は、抗Fc (例えば、抗ヒトIgG Fc) 抗体を不溶性支持体上に固定することにより行うことができ、固定抗Fc抗体はTMMPに結合してTMMPを固定する (TMMPはIgFcポリペプチドを含む)。数種類の異なる濃度の共免疫調節ポリペプチドを固定TMMPに加えて、装置の応答を記録する。アッセイは、25 mM HEPES pH 6.8、5%ポリ (エチレングリコール) 6000、50mM KCl、0.1%ウシ血清アルブミン、及び0.02% Tween 20非イオン性界面活性剤を含む液体培地中で実施する。共免疫調節ポリペプチドの固定TMMPへの結合は30°Cで実施する。結合親和性のための陽性対照として、抗MHCクラスIモノクローナル抗体を使用してもよい。例えば、7 nMの K_D を有する抗HLAクラスIモノクローナル抗体W6/32 (American Type Culture Collection No. HB-95; Parham et al. (1979) J. Immunol. 123 : 342) を使用してもよい。標準曲線は、抗MHCクラスIモノクローナル抗体の系列希釈液を使用して作成してもよい。共免疫調節ポリペプチド、すなわち、抗MHCクラスI mAbは「検体」である。BLIでは、2つの表面、i) 固定ポリペプチド (「標的」) 及びii) 内部基準レイヤーから反射した白色光の干渉縞を解析する。バイオセンサーチップに結合した分子 (「検体」、例えば、共免疫調節ポリペプチド、抗HLA抗体) の数が変化すると、干渉縞のシフトが生じるが、干渉縞のこのシフトをリアルタイムで測定してもよい。標的/検体相互作用の親和性を記述する2つの動力学用語は結合速度定数 (k_a) 及び解離定数 (k_d) である。これら2つの比率 (k_d/a) により親和性定数 (K_D) が求められる。

【0040】

BLIアッセイはマルチウェルプレートを用いて実施する。アッセイをランするために、Octet Data Acquisitionソフトウェアを用いて、プレートレイアウトを定義し、アッセイ工程を定義し、バイオセンサーを割り当てる。バイオセンサーアセンブリを水和する。水和バイオセンサーアセンブリ及びアッセイプレートをOctet装置上で10分間平衡させる。データが得られると、得られたデータをOctet Data Analysisソフトウェアにロードする。リファレンスサブトラクション、y軸アライメント、工程間補正、及びSavitzky-Golayフィルタリングの方法を指定することにより、Processingウィンドウでデータを処理する。解析用工程 (結合及び解離) を指定し、カーブフィッティングモデル (1:1)、フィッティング法 (大域)、及び目的のウィンドウ (秒) を選択することにより、Analysisウィンドウでデータを解析する。フィッティングの質を評価する。3倍の範囲内である場合、それぞれのデータ記録の K_D 値 (検体濃度) を平均してもよい。 K_D 誤差値は親和性定数値の1桁以内でなければならない、 R^2 値は0.95超でなければならない。例えば、Ab

10

20

30

40

50

d i c h e e t a l . (2 0 0 8) J . A n a l . B i o c h e m . 3 7 7 : 2 0 9 を参照されたい。

【 0 0 4 1 】

本明細書において特に明記しない限り、同種共免疫調節ポリペプチドに対する本開示の T M M P の親和性、または、同種共免疫調節ポリペプチドに対する対照 T M M P (対照 T M M P は野生型免疫調節ポリペプチドを含む) の親和性について、上記の B L I を用いて測定する。

【 0 0 4 2 】

一部の例では、i) 同種共免疫調節ポリペプチドに対する対照 T M M P (対照は野生型免疫調節ポリペプチドを含む) の結合親和性と、i i) 同種共免疫調節ポリペプチドに対する野生型免疫調節ポリペプチドのバリエーション型を含む本開示の T M M P の結合親和性との比は、B L I (上記) で測定した際に、少なくとも 1 . 5 : 1、少なくとも 2 : 1、少なくとも 5 : 1、少なくとも 1 0 : 1、少なくとも 1 5 : 1、少なくとも 2 0 : 1、少なくとも 2 5 : 1、少なくとも 5 0 : 1、少なくとも 1 0 0 : 1、少なくとも 5 0 0 : 1、少なくとも $1 0^2$: 1、少なくとも $5 \times 1 0^2$: 1、少なくとも $1 0^3$: 1、少なくとも $5 \times 1 0^3$: 1、少なくとも $1 0^4$: 1、少なくとも $1 0^5$: 1、または少なくとも $1 0^6$: 1 である。一部の例では、i) 同種共免疫調節ポリペプチドに対する対照 T M M P (対照は野生型免疫調節ポリペプチドを含む) の結合親和性と、i i) 同種共免疫調節ポリペプチドに対する野生型免疫調節ポリペプチドのバリエーション型を含む本開示の T M M P の結合親和性との比は、B L I で測定した際に、1 . 5 : 1 ~ $1 0^6$: 1、例えば、1 . 5 : 1 ~ 1 0 : 1、1 0 : 1 ~ 5 0 : 1、5 0 : 1 ~ $1 0^2$: 1、 $1 0^2$: 1 ~ $1 0^3$: 1、 $1 0^3$: 1 ~ $1 0^4$: 1、 $1 0^4$: 1 ~ $1 0^5$: 1、または、 $1 0^5$: 1 ~ $1 0^6$: 1 の範囲である。

【 0 0 4 3 】

1 つの例では、免疫調節ポリペプチドとして、対照 T M M P が野生型 I L - 2 ポリペプチドを含み、本開示の T M M P がバリエーション型 I L - 2 ポリペプチド (野生型 I L - 2 ポリペプチドのアミノ酸配列と比較して 1 ~ 1 0 のアミノ酸置換を含む) を含み、i) I L - 2 受容体 (すなわち、同種共免疫調節ポリペプチド) に対する対照 T M M P の結合親和性と、i i) I L - 2 受容体に対する本開示の T M M P の結合親和性との比は、B L I で測定した際に、少なくとも 1 . 5 : 1、少なくとも 2 : 1、少なくとも 5 : 1、少なくとも 1 0 : 1、少なくとも 1 5 : 1、少なくとも 2 0 : 1、少なくとも 2 5 : 1、少なくとも 5 0 : 1、少なくとも 1 0 0 : 1、少なくとも 5 0 0 : 1、少なくとも $1 0^2$: 1、少なくとも $5 \times 1 0^2$: 1、少なくとも $1 0^3$: 1、少なくとも $5 \times 1 0^3$: 1、少なくとも $1 0^4$: 1、少なくとも $1 0^5$: 1、または、少なくとも $1 0^6$: 1 である。一部の例では、免疫調節ポリペプチドとして、対照 T M M P が野生型 I L - 2 ポリペプチドを含み、本開示の T M M P がバリエーション型 I L - 2 ポリペプチド (野生型 I L - 2 ポリペプチドのアミノ酸配列と比較して 1 ~ 1 0 のアミノ酸置換を含む) を含み、i) I L - 2 受容体 (すなわち、同種共免疫調節ポリペプチド) に対する対照 T M M P の結合親和性と、i i) I L - 2 受容体に対する本開示の T M M P の結合親和性との比は、B L I で測定した際に、1 . 5 : 1 ~ $1 0^6$: 1、例えば、1 . 5 : 1 ~ 1 0 : 1、1 0 : 1 ~ 5 0 : 1、5 0 : 1 ~ $1 0^2$: 1、 $1 0^2$: 1 ~ $1 0^3$: 1、 $1 0^3$: 1 ~ $1 0^4$: 1、 $1 0^4$: 1 ~ $1 0^5$: 1、または、 $1 0^5$: 1 ~ $1 0^6$: 1 の範囲である。

【 0 0 4 4 】

別の例では、免疫調節ポリペプチドとして、対照 T M M P が野生型 P D - L 1 ポリペプチドを含み、本開示の T M M P がバリエーション型 P D - L 1 ポリペプチド (野生型 P D - L 1 ポリペプチドのアミノ酸配列と比較して 1 ~ 1 0 のアミノ酸置換を含む) を含み、i) P D - 1 ポリペプチド (すなわち、同種共免疫調節ポリペプチド) に対する対照 T M M P の結合親和性と、i i) P D - 1 ポリペプチドに対する本開示の T M M P の結合親和性との比は、B L I で測定した際に、少なくとも 1 . 5 : 1、少なくとも 2 : 1、少なくとも 5 : 1、少なくとも 1 0 : 1、少なくとも 1 5 : 1、少なくとも 2 0 : 1、少なくとも 2

5 : 1、少なくとも50 : 1、少なくとも100 : 1、少なくとも500 : 1、少なくとも 10^2 : 1、少なくとも 5×10^2 : 1、少なくとも 10^3 : 1、少なくとも 5×10^3 : 1、少なくとも 10^4 : 1、少なくとも 10^5 : 1、または、少なくとも 10^6 : 1である。

【0045】

別の例では、免疫調節ポリペプチドとして、対照TMMPが野生型CD80ポリペプチドを含み、本開示のTMMPがバリエーション型CD80ポリペプチド（野生型CD80ポリペプチドのアミノ酸配列と比較して1～10のアミノ酸置換を含む）を含み、i) CTLA4ポリペプチド（すなわち、同種共免疫調節ポリペプチド）に対する対照TMMPの結合親和性と、ii) CTLA4ポリペプチドに対する本開示のTMMPの結合親和性との比は、BLIで測定した際に、少なくとも1.5 : 1、少なくとも2 : 1、少なくとも5 : 1、少なくとも10 : 1、少なくとも15 : 1、少なくとも20 : 1、少なくとも25 : 1、少なくとも50 : 1、少なくとも100 : 1、少なくとも500 : 1、少なくとも 10^2 : 1、少なくとも 5×10^2 : 1、少なくとも 10^3 : 1、少なくとも 5×10^3 : 1、少なくとも 10^4 : 1、少なくとも 10^5 : 1、または、少なくとも 10^6 : 1である。

【0046】

別の例では、免疫調節ポリペプチドとして、対照TMMPが野生型CD80ポリペプチドを含み、本開示のTMMPがバリエーション型CD80ポリペプチド（野生型CD80ポリペプチドのアミノ酸配列と比較して1～10のアミノ酸置換を含む）を含み、i) CD28ポリペプチド（すなわち、同種共免疫調節ポリペプチド）に対する対照TMMPの結合親和性と、ii) CD28ポリペプチドに対する本開示のTMMPの結合親和性との比は、BLIで測定した際に、少なくとも1.5 : 1、少なくとも2 : 1、少なくとも5 : 1、少なくとも10 : 1、少なくとも15 : 1、少なくとも20 : 1、少なくとも25 : 1、少なくとも50 : 1、少なくとも100 : 1、少なくとも500 : 1、少なくとも 10^2 : 1、少なくとも 5×10^2 : 1、少なくとも 10^3 : 1、少なくとも 5×10^3 : 1、少なくとも 10^4 : 1、少なくとも 10^5 : 1、または、少なくとも 10^6 : 1である。

【0047】

別の例では、免疫調節ポリペプチドとして、対照TMMPが野生型4-1BBポリペプチドを含み、本開示のTMMPがバリエーション型4-1BBポリペプチド（野生型4-1BBポリペプチドのアミノ酸配列と比較して1～10のアミノ酸置換を含む）を含み、i) 4-1BBポリペプチド（すなわち、同種共免疫調節ポリペプチド）に対する対照TMMPの結合親和性と、ii) 4-1BBポリペプチドに対する本開示のTMMPの結合親和性との比は、BLIで測定した際に、少なくとも1.5 : 1、少なくとも2 : 1、少なくとも5 : 1、少なくとも10 : 1、少なくとも15 : 1、少なくとも20 : 1、少なくとも25 : 1、少なくとも50 : 1、少なくとも100 : 1、少なくとも500 : 1、少なくとも 10^2 : 1、少なくとも 5×10^2 : 1、少なくとも 10^3 : 1、少なくとも 5×10^3 : 1、少なくとも 10^4 : 1、少なくとも 10^5 : 1、または、少なくとも 10^6 : 1である。

【0048】

別の例では、免疫調節ポリペプチドとして、対照TMMPが野生型CD86ポリペプチドを含み、本開示のTMMPがバリエーション型CD86ポリペプチド（野生型CD86ポリペプチドのアミノ酸配列と比較して1～10のアミノ酸置換を含む）を含み、i) CD28ポリペプチド（すなわち、同種共免疫調節ポリペプチド）に対する対照TMMPの結合親和性と、ii) CD28ポリペプチドに対する本開示のTMMPの結合親和性との比は、BLIで測定した際に、少なくとも1.5 : 1、少なくとも2 : 1、少なくとも5 : 1、少なくとも10 : 1、少なくとも15 : 1、少なくとも20 : 1、少なくとも25 : 1、少なくとも50 : 1、少なくとも100 : 1、少なくとも500 : 1、少なくとも 10^2 : 1、少なくとも 5×10^2 : 1、少なくとも 10^3 : 1、少なくとも 5×10^3 : 1、少なくとも 10^4 : 1、少なくとも 10^5 : 1、または、少なくとも 10^6 : 1である。

【0049】

標的T細胞に対する本開示のTMMPの結合親和性は、以下の方法、A) i) 親野生型免疫調節ポリペプチドに結合する同種共免疫調節ポリペプチドと ii) エピトープに結合するT細胞受容体をその表面上に発現する標的T細胞に、本開示のTMMPを接触させて(TMMPはエピトープタグを含み、その結果、TMMPは標的T細胞に結合する)、B) エピトープタグに結合する蛍光標識結合因子(例えば、蛍光標識抗体)に標的T細胞結合TMMPを接触させて、TMMP/標的T細胞/結合因子複合体を作製して、C) フローサイトメトリーを使用してTMMP/標的T細胞/結合因子複合体の平均蛍光強度(MFI)を測定することにより、測定してもよい。エピトープタグは、例えば、FLAGタグ、ヘマグルチニンタグ、c-mycタグ、ポリ(ヒスチジン)タグなどであってもよい。TMMPライブラリメンバーの濃度範囲にわたり測定されたMFIにより親和性の指標がもたらされる。TMMPライブラリメンバーの濃度範囲にわたり測定されたMFIによりTMMPの半数効果濃度(EC₅₀)がもたらされる。一部の例では、標的T細胞に対する本開示のTMMPのEC₅₀はnM範囲であり、対照T細胞(対照T細胞はその表面上に、i) 親野生型免疫調節ポリペプチドに結合する同種共免疫調節ポリペプチドと ii) TMMP内に存在するエピトープに結合しないT細胞受容体を発現する)に対するTMMPのEC₅₀はμM範囲である。一部の例では、対照T細胞に対する本開示のTMMPのEC₅₀と、標的T細胞に対するTMMPのEC₅₀との比は、少なくとも1.5:1、少なくとも2:1、少なくとも5:1、少なくとも10:1、少なくとも15:1、少なくとも20:1、少なくとも25:1、少なくとも50:1、少なくとも100:1、少なくとも500:1、少なくとも10²:1、少なくとも5×10²:1、少なくとも10³:1、少なくとも5×10³:1、少なくとも10⁴:1、少なくとも10⁵:1、または、少なくとも10⁶:1である。対照T細胞に対する本開示のTMMPのEC₅₀と、標的T細胞に対するTMMPのEC₅₀との比は、TMMPの選択性の発現である。

【0050】

一部の例では、直前の段落に記載したとおりに測定すると、本開示のTMMPは、i) 親野生型免疫調節ポリペプチドに結合する同種共免疫調節ポリペプチドと ii) TMMPライブラリメンバー内に存在するエピトープ以外のエピトープに結合するT細胞受容体とを含む対照T細胞へのTMMPライブラリメンバーの結合と比較して、標的T細胞への選択的結合を示す。

【0051】

二量体化TMMP

本開示のTMMPを二量体化してもよいが、それはすなわち、本開示は、本開示のTMMPの二量体を含む多量体ポリペプチドを提供するということである。それゆえ、本開示は、TMMPであって、A) 第1のヘテロ二量体と、B) 第2のヘテロ二量体と、を含み、A) 第1のヘテロ二量体は、a) 第1のポリペプチドと、b) 第2のポリペプチドと、を含み、a) 第1のポリペプチドは、i) ペプチドエピトープと ii) 第1の主要組織適合遺伝子複合体(MHC)ポリペプチドを含み、b) 第2のポリペプチドは、i) 第2のMHCポリペプチドを含み(第1のヘテロ二量体は1つ以上の免疫調節ポリペプチドを含む)、B) 第2のヘテロ二量体は、a) 第1のポリペプチドと、b) 第2のポリペプチドと、を含み、a) 第1のポリペプチドは、i) ペプチドエピトープと ii) 第1のMHCポリペプチドを含み、b) 第2のポリペプチドは、i) 第2のMHCポリペプチドを含む(第2のヘテロ二量体は1つ以上の免疫調節ポリペプチドを含む)(第1のヘテロ二量体と第2のヘテロ二量体は互いに共有結合している)、TMMPを提供する。一部の例では、2つのTMMPは、アミノ酸配列において互いに同一である。一部の例では、第1のヘテロ二量体と第2のヘテロ二量体は、第1のヘテロ二量体の第2のポリペプチドのC末端領域及び第2のヘテロ二量体の第2のポリペプチドのC末端領域を介して、互いに共有結合している。一部の例では、第1のヘテロ二量体と第2のヘテロ二量体は、第1のヘテロ二量体の第2のポリペプチドのC末端アミノ酸及び第2のヘテロ二量体の第2のポリペプチドのC末端領域を介して、互いに共有結合しており、例えば、一部の例では、第1のヘ

テロ二量体の第2のポリペプチドのC末端アミノ酸と、第2のヘテロ二量体の第2のポリペプチドのC末端領域は、直接またはリンカーを介してのいずれかで、互いに結合している。リンカーはペプチドリinkerであってもよい。ペプチドリinkerは、1アミノ酸～200アミノ酸（例えば、1アミノ酸（aa）～5aa、5aa～10aa、10aa～25aa、25aa～50aa、50aa～100aa、100aa～150aa、または、150aa～200aa）の長さを有していてもよい。一部の例では、第1のヘテロ二量体のペプチドエピトープ及び第2のヘテロ二量体のペプチドエピトープは、同一のアミノ酸配列を含む。一部の例では、第1及び第2のヘテロ二量体の第1のMHCポリペプチドは、MHCクラスIβ2-ミクログロブリンであり、第1及び第2のヘテロ二量体の第2のMHCポリペプチドは、MHCクラスI重鎖である。一部の例では、第1のヘテロ二量体の免疫調節ポリペプチド及び第2のヘテロ二量体の免疫調節ポリペプチドは、同一のアミノ酸配列を含む。一部の例では、第1のヘテロ二量体の免疫調節ポリペプチド及び第2のヘテロ二量体の免疫調節ポリペプチドは、対応する親野生型免疫調節ポリペプチドと比較して1～10のアミノ酸置換を含むバリエーション型免疫調節ポリペプチドであり、1～10のアミノ酸置換により、バリエーション型免疫調節ポリペプチドの同種共免疫調節ポリペプチドへの低い結合親和性がもたらされる。一部の例では、第1のヘテロ二量体の免疫調節ポリペプチドと第2のヘテロ二量体の免疫調節ポリペプチドは、それぞれ独立して、IL-2、4-1BBL、PD-L1、CD80、CD86、ICOS-L、OX-40L、FasL、JAG1（CD339）、TGFβ、CD70、及びICAMからなる群から選択される。好適なMHCポリペプチド、免疫調節ポリペプチド、及びペプチドエピトープの例については、以下に記載する。

【0052】

MHCポリペプチド

上に記載したように、本開示のTMMPはMHCポリペプチドを含む。本開示の目的において、用語「主要組織適合遺伝子複合体（MHC）ポリペプチド」とは、ヒトMHC（ヒト白血球抗原（HLA）とも呼ばれる）ポリペプチド、げっ歯類（例えば、マウス、ラットなど）MHCポリペプチド、及び、その他の哺乳動物種（例えば、ウサギ目、非ヒト霊長類、イヌ科動物、ネコ科動物、有蹄類（例えば、ウマ、ウシ、ヒツジ、ヤギなど））のMHCポリペプチドを含む、様々な種類のMHCポリペプチドを含むことを意味する。用語「MHCポリペプチド」とは、クラスI MHCポリペプチド（例えば、β-2ミクログロブリン及びMHCクラスI重鎖）を含むことを意味する。

【0053】

一部の例では、第1のMHCポリペプチドはMHCクラスIβ2M（β2M）ポリペプチドであり、第2のMHCポリペプチドはMHCクラスI重鎖（H鎖）（「MHC-H」）である。他の例では、第1のMHCポリペプチドはMHCクラスI重鎖ポリペプチドであり、第2のMHCポリペプチドはβ2Mポリペプチドである。一部の例では、β2M鎖とMHC-H鎖の両方がヒト由来であり、すなわち、MHC-H鎖はHLA重鎖またはそのバリエーションである。特に明記しない限り、本開示のTMMPは、MHCクラスI重鎖の膜固定ドメイン（膜貫通領域）、または結果として生じるTMMPを、それを発現する細胞（例えば、哺乳動物細胞などの真核細胞）に固定するのに十分なMHCクラスI重鎖の一部を含まない。一部の例では、本開示のTMMPに存在するMHCクラスI重鎖は、天然のMHCクラスI重鎖に関連するシグナルペプチド、膜貫通ドメイン、または細胞内ドメイン（細胞質尾部）を含まない。したがって、例えば、一部の例では、本開示のTMMPに存在するMHCクラスI重鎖は、MHCクラスI重鎖のα1、α2、及びα3ドメインのみを含む。一部の例では、本開示のTMMPに存在するMHCクラスI重鎖は、約270アミノ酸（aa）～約290aaの長さを有する。一部の例では、本開示のTMMPに存在するMHCクラスI重鎖は、270aa、271aa、272aa、273aa、274aa、275aa、276aa、277aa、278aa、279aa、280aa、281aa、282aa、283aa、284aa、285aa、286aa、287aa、288aa、289aa、または290aaの長さを有する。

【0054】

一部の例では、TMMPのMHCポリペプチドはヒトMHCポリペプチドであり、ヒトMHCポリペプチドはまた、「ヒト白血球抗原」(「HLA」)ポリペプチドとも呼ばれる。一部の例では、TMMPのMHCポリペプチドは、クラスIIHLAポリペプチド、例えば、 β 2-ミクログロブリンポリペプチド、または、クラスIIHLA重鎖ポリペプチドである。クラスIIHLA重鎖ポリペプチドとしては、HLA-A重鎖ポリペプチド、HLA-B重鎖ポリペプチド、HLA-C重鎖ポリペプチド、HLA-E重鎖ポリペプチド、HLA-F重鎖ポリペプチド、及びHLA-G重鎖ポリペプチドが挙げられる。

【0055】

MHCクラスI重鎖

一部の例では、本開示のTMMPに存在するMHCクラスI重鎖ポリペプチドは、図7～13に示すヒトHLA重鎖ポリペプチドのいずれかのアミノ酸配列の全部または一部(例えば、50、75、100、150、200、または250個の連続アミノ酸)に対して、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、MHCクラスI重鎖は、270aa、271aa、272aa、273aa、274aa、275aa、276aa、277aa、278aa、279aa、280aa、281aa、282aa、283aa、284aa、285aa、286aa、287aa、288aa、289aa、または290aaの長さを有する。一部の例では、本開示のTMMPに存在するMHCクラスI重鎖ポリペプチドは、図7～13に示すアミノ酸配列のいずれか1つの、1～30、1～5、5～10、10～15、15～20、20～25、または25～30個のアミノ酸の挿入、欠失、及び/または置換を含む(重鎖コンセンサス配列において可変であると示されるそれらの位置に加えて)。一部の例では、MHCクラスI重鎖は、膜貫通ドメインまたは細胞質ドメインを含まない。一例として、本開示のTMMPのMHCクラスI重鎖ポリペプチドは、図5A、5B、及び5Cのいずれか1つに示すヒトHLA-A重鎖ポリペプチドの、アミノ酸25～300(リーダー配列、膜貫通配列及び細胞質配列の全て、または実質的に全てを欠いている)またはアミノ酸25～365(リーダーを欠いている)に対して、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み得る。

【0056】

図5A、5B及び5Cは、ヒト白血球抗原(HLA)クラスI重鎖ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する。シグナル配列であるアミノ酸1～24を、太字で示し、下線を引いている。図5Aのエントリー：3A.1は、HLA-A重鎖(HLA-A*01:01:01:01またはA*0101)(NCBI登録番号NP_001229687.1)であり、SEQ ID NO:23;エントリー3A.2は、HLA-A*1101SEQ ID NO:24由来であり、エントリー3A.3は、HLA-A*2402SEQ ID NO:25由来であり、エントリー3A.4は、HLA-A*3303SEQ ID NO:26由来である。図5Bは、配列HLA-B*07:02:01(HLA-B*0702)NCBI GenBank登録番号NP_005505.2(GenBank登録番号AUV50118.1も参照のこと)を提供する。図5Cは、配列HLA-C*0701(GenBank登録番号NP_001229971.1)(HLA-C*07:01:01:01またはHLA-Cw*070101、HLA-Cw*07、GenBank登録番号CA078194.1を参照のこと)を提供する。

【0057】

図6は、11種の成熟MHCクラスI重鎖アミノ酸配列(それらのリーダー配列または膜貫通ドメインまたは細胞内ドメインを含まない)のアライメントを示している。アラインした配列は、ヒトHLA-A、HLA-B、及びHLA-C、マウスH2Kタンパク質配列、HLA-Aの3種のバリエーション型(バリエーション型1、バリエーション型2C、及びバリ

10

20

30

40

50

アント型 2 C P)、ならびに、3 種のヒト H L A - A バリエーション型 (H L A - A * 1 1 0 1、H L A - A * 2 4 0 2、及び H L A - A * 3 3 0 3) である。アライメント内に示しているものは、M H C H 鎖 - β 2 M 複合体を安定化させるジスルフィド結合を形成するために、システイン残基が導入され得る (例えば、置換によって) 位置 (成熟タンパク質の 8 4 及び 1 3 9) である。さらにアライメント内に示しているものは、 β 2 M と鎖間ジスルフィド結合を形成可能 (例えば、a a 1 2 において) なシステイン残基で置換され得る 2 3 6 位 (成熟ポリペプチドの) である。それらの位置のそれぞれの上に矢印を示し、残基を太字にしている。アライメント内に示す 7 番目の H L A - A 配列 (バリエーション型 2 c) は、8 4 位、1 3 9 位及び 2 3 6 位において C 残基で置換されたバリエーション型 2 の配列を示している。残基 8 4、1 3 9 及び 2 3 6 の両側に隣接するボックスは、(i) 任意の天然アミノ酸、または (i i) プロリンもしくはグリシンを除く任意の天然アミノ酸から独立して選択される 1 ~ 5 つのアミノ酸で置換され得、a a c 1 (「アミノ酸クラスター 1」)、a a c 2 (「アミノ酸クラスター 2」)、a a c 3 (「アミノ酸クラスター 3」)、a a c 4 (「アミノ酸クラスター 4」)、a a c 5 (「アミノ酸クラスター 5」)、及び a a c 6 (「アミノ酸クラスター 6」) で示される、6 セットの 5 残基の片側における 5 アミノ酸のグループを示している。

【0058】

図 6 に関して、一部の例では、i) a a c 1 (アミノ酸クラスター 1) は、アミノ酸配列 G T L R G (S E Q I D N O : 2 8 7)、または、1 つまたは 2 つのアミノ酸が欠失したまたはその他の天然アミノ酸で置換されている (例えば、L が I、V、A または F で置換されている) 配列であってもよく、i i) a a c 2 (アミノ酸クラスター 2) は、アミノ酸配列 Y N Q S E (S E Q I D N O : 2 8 8)、または、1 つまたは 2 つのアミノ酸が欠失したまたはその他の天然アミノ酸で置換されている (例えば、N が Q で置換されている、Q が N で置換されている、及び / または、E が D で置換されている) 配列であってもよく、i i i) a a c 3 (アミノ酸クラスター 3) は、アミノ酸配列 T A A D M (S E Q I D N O : 2 8 9)、または、1 つまたは 2 つのアミノ酸が欠失したまたはその他の天然アミノ酸で置換されている (例えば、T が S で置換されている、A が G で置換されている、D が E で置換されている、及び / または、M が L、V または I で置換されている) 配列であってもよく、i v) a a c 4 (アミノ酸クラスター 4) は、アミノ酸配列 A Q T T K (S E Q I D N O : 2 9 0)、または、1 つまたは 2 つのアミノ酸が欠失したまたはその他の天然アミノ酸で置換されている (例えば、A が G で置換されている、Q が N で置換されている、T が S で置換されている、及び / または、K が R または Q で置換されている) 配列であってもよく、v) a a c 5 (アミノ酸クラスター 5) は、アミノ酸配列 V E T R P (S E Q I D N O : 2 9 1)、または、1 つまたは 2 つのアミノ酸が欠失したまたはその他の天然アミノ酸で置換されている (例えば、V が I または L で置換されている、E が D で置換されている、T が S で置換されている、及び / または、R が K で置換されている) 配列であってもよく、及び / または、v i) a a c 6 (アミノ酸クラスター 6) は、アミノ酸配列 G D G T F (S E Q I D N O : 2 9 2)、または、1 つまたは 2 つのアミノ酸が欠失したまたはその他の天然アミノ酸で置換されている (例えば、D が E で置換されている、T が S で置換されている、または、F が L、W または Y で置換されている) 配列であってもよい。

【0059】

図 7 ~ 9 は、成熟 H L A クラス I 重鎖アミノ酸配列 (リーダー配列または膜貫通ドメインまたは細胞内ドメインを含まない) のアライメントを示す。図 7 A のアラインされたアミノ酸配列は、以下の対立遺伝子の H L A - A クラス I 重鎖である: A * 0 1 0 1、A * 0 2 0 1、A * 0 3 0 1、A * 1 1 0 1、A * 2 3 0 1、A * 2 4 0 2、A * 2 4 0 7、A * 3 3 0 3、及び A * 3 4 0 1。図 8 A のアラインされたアミノ酸配列は、以下の対立遺伝子の H L A - B クラス I 重鎖である: B * 0 7 0 2、B * 0 8 0 1、B * 1 5 0 2、B * 3 8 0 2、B * 4 0 0 1、B * 4 6 0 1、及び B * 5 3 0 1。図 9 A のアラインされたアミノ酸配列は、以下の対立遺伝子の H L A - C クラス I 重鎖である: C * 0 1 0 2、C * 0

303、C*0304、C*0401、C*0602、C*0701、C*0801、及びC*1502。アライメントには、HLA鎖-β2M複合体を安定化するためのジスルフィド結合を形成するためにシステイン残基が（例えば、置換によって）導入され得る位置（成熟タンパク質の84及び139）を示している。アライメントには、位置236（成熟ポリペプチドの）も示しており、これは、β2Mと鎖間ジスルフィド結合を形成することができるシステイン残基によって置換され得る（例えば、aa12で）。残基84、139、及び236に隣接するボックスは、aac1（「アミノ酸クラスター1」の場合）、aac2（「アミノ酸クラスター2」の場合）、aac3（「アミノ酸クラスター3」の場合）、aac4（「アミノ酸クラスター4」の場合）、aac5（「アミノ酸クラスター5」の場合）、及びaac6（「アミノ酸クラスター6」の場合）で示される5残基の6つのセットのいずれかの側にある5つのアミノ酸群を示しており、これらは、（i）天然アミノ酸または（ii）プロリンもしくはグリシンを除く天然アミノ酸から独立して選択される1～5個のアミノ酸によって置換してもよい。

【0060】

図7A、8A、及び9Aは、それぞれ、成熟HLA-A、HLA-B、及びHLA-CクラスI重鎖のアミノ酸配列のアライメントを示す。配列は、成熟タンパク質の細胞外部分を示す（リーダー配列または膜貫通ドメインまたは細胞内ドメインを含まない）。図6に記載のように、aa残基84、139、及び236の位置、ならびに（i）任意の天然アミノ酸または（ii）プロリンもしくはグリシンを除く天然アミノ酸から独立して選択される1～5個のアミノ酸によって置換され得るそれらの隣接残基（aac1～aac6）も示している。図7B、8B、及び9Bは、それぞれ、図7A、8A、及び9Aに示すHLA-A、HLA-B、及びHLA-C配列のコンセンサスアミノ酸配列を示す。コンセンサス配列では、可変アミノ酸位置を、連番の「X」残基として示し、アミノ酸84、139、及び236の位置に二重下線を引いている。

【0061】

図7Aに関して、一部の例では、i）aac1（アミノ酸クラスター1）は、アミノ酸配列GTLRG（SEQ ID NO：287）またはその配列から1つもしくは2つのアミノ酸を欠失させるか、もしくは他の天然アミノ酸に置換した（例えば、LをI、V、AまたはFに置換した）配列であってもよく、ii）aac2（アミノ酸クラスター2）は、アミノ酸配列YNQSE（SEQ ID NO：288）またはその配列から1つもしくは2つのアミノ酸を欠失させるか、もしくは他の天然アミノ酸に置換した（例えば、NをQに置換、QをNに置換、及び／またはEをDに置換した）配列であってもよく、iii）aac3（アミノ酸クラスター3）は、アミノ酸配列TAADM（SEQ ID NO：289）またはその配列から1つもしくは2つのアミノ酸を欠失させるか、もしくは他の天然アミノ酸に置換した（例えば、TをSに置換、AをGに置換、DをEに置換、及び／またはMをL、V、またはIに置換した）配列であってもよく、iv）aac4（アミノ酸クラスター4）は、アミノ酸配列AQTTK（SEQ ID NO：290）またはその配列から1つもしくは2つのアミノ酸を欠失させるか、もしくは他の天然アミノ酸に置換した（例えば、AをGに置換、QをNに置換、TをSに置換、及び／またはKをRまたはQに置換した）配列であってもよく、v）aac5（アミノ酸クラスター5）は、アミノ酸配列VETRP（SEQ ID NO：291）またはその配列から1つもしくは2つのアミノ酸を欠失させるか、もしくは他の天然アミノ酸に置換した（例えば、VをIまたはLに置換、EをDに置換、TをSに置換、及び／またはRをKに置換した）配列であってもよく、及び／またはvi）aac6（アミノ酸クラスター6）は、アミノ酸配列GDGTF（SEQ ID NO：292）またはその配列から1つもしくは2つのアミノ酸を欠失させるか、もしくは他の天然アミノ酸に置換した（例えば、DをEに置換、TをSに置換、またはFをL、W、もしくはYに置換した）配列であってもよい。

【0062】

図8Aに関して、一部の例では、i）aac1（アミノ酸クラスター1）は、アミノ酸配列RNLRG（SEQ ID NO：293）またはその配列から1つもしくは2つのア

ミノ酸を欠失させるか、もしくは他の天然アミノ酸に置換した（例えば、NをTまたはIに置換、及び／またはLをAに置換、及び／または第2のRをLに置換、及び／またはGをRに置換した）配列であってもよく、i i) a a c 2（アミノ酸クラスター2）は、アミノ酸配列Y N Q S E（S E Q I D N O：2 8 8）またはその配列から1つもしくは2つのアミノ酸を欠失させるか、もしくは他の天然アミノ酸に置換した（例えば、NをQに置換、QをNに置換、及び／またはEをDに置換した）配列であってもよく、i i i) a a c 3（アミノ酸クラスター3）は、アミノ酸配列T A A D T（S E Q I D N O：2 9 4）またはその配列から1つもしくは2つのアミノ酸を欠失させるか、もしくは他の天然アミノ酸に置換した（例えば、第1のTをSに置換、及び／またはAをGに置換、及び／またはDをEに置換、及び／または第2のTをSに置換した）配列であってもよく、i v) a a c 4（アミノ酸クラスター4）は、アミノ酸配列A Q I T Q（S E Q I D N O：2 9 5）またはその配列から1つもしくは2つのアミノ酸を欠失させるか、もしくは他の天然アミノ酸に置換した（例えば、AをGに置換、及び／または第1のQをNに置換、及び／またはIをLまたはVに置換、及び／またはTをSに置換、及び／または第2のQをNに置換した）配列であってもよく、v) a a c 5（アミノ酸クラスター5）は、アミノ酸配列V E T R P（S E Q I D N O：2 9 1）またはその配列から1つもしくは2つのアミノ酸を欠失させるか、もしくは他の天然アミノ酸に置換した（例えば、VをIまたはLに置換、EをDに置換、TをSに置換、及び／またはRをKに置換した）配列であってもよく、及び／またはv i) a a c 6（アミノ酸クラスター6）は、アミノ酸配列G D R T F（S E Q I D N O：2 9 6）またはその配列から1つもしくは2つのアミノ酸を欠失させるか、もしくは他の天然アミノ酸に置換した（例えば、DをEに置換、及び／またはTをSに置換、及び／またはRをKまたはHに置換、及び／またはFをL、W、またはYに置換した）配列であってもよい。

【0063】

図9Aに関して、一部の例では：i) a a c 1（アミノ酸クラスター1）は、アミノ酸配列R N L R G（S E Q I D N O：2 9 3）またはその配列から1つもしくは2つのアミノ酸を欠失させるか、もしくは他の天然アミノ酸に置換した（例えば、NをKに置換、及び／またはLをAまたはIに置換、及び／またはRをHに置換、及び／またはGをTまたはSに置換した）配列であってもよく、i i) a a c 2（アミノ酸クラスター2）は、アミノ酸配列Y N Q S E（S E Q I D N O：2 8 8）またはその配列から1つもしくは2つのアミノ酸を欠失させるか、もしくは他の天然アミノ酸に置換した（例えば、NをQに置換、QをNに置換、及び／またはEをDに置換した）配列であってもよく、i i i) a a c 3（アミノ酸クラスター3）は、アミノ酸配列T A A D T（S E Q I D N O：2 9 4）またはその配列から1つもしくは2つのアミノ酸を欠失させるか、もしくは他の天然アミノ酸に置換した（例えば、第1のTをSに置換、及び／またはAをGに置換、及び／またはDをEに置換、及び／または第2のTをSに置換した）配列であってもよく、i v) a a c 4（アミノ酸クラスター4）は、アミノ酸配列A Q I T Q（S E Q I D N O：2 9 5）またはその配列から1つもしくは2つのアミノ酸を欠失させるか、もしくは他の天然アミノ酸に置換した（例えば、AをGに置換、及び／または第1のQをNに置換、及び／またはIをLに置換、及び／または第2のQをNまたはKに置換した）配列であってもよく、v) a a c 5（アミノ酸クラスター5）は、アミノ酸配列V E T R P（S E Q I D N O：2 9 1）またはその配列から1つもしくは2つのアミノ酸を欠失させるか、もしくは他の天然アミノ酸に置換した（例えば、VをIまたはLに置換、EをDに置換、TをSに置換、及び／またはRをKまたはHに置換した）配列であってもよく、及び／またはv i) a a c 6（アミノ酸クラスター6）は、アミノ酸配列G D G T F（S E Q I D N O：2 9 2）またはその配列から1つもしくは2つのアミノ酸を欠失させるか、もしくは他の天然アミノ酸に置換した（例えば、DをEに置換、及び／またはTをSに置換、及び／またはFをL、W、またはYに置換した）配列であってもよい。

【0064】

H L A - A

一部の例では、本開示の T M M P は、H L A - A 重鎖ポリペプチドを含む。本開示の T M M P に組み込まれ得る H L A - A 重鎖ペプチド配列またはその一部として、限定されないが、対立遺伝子 A * 0 1 0 1、A * 0 2 0 1、A * 0 3 0 1、A * 1 1 0 1、A * 2 3 0 1、A * 2 4 0 2、A * 2 4 0 7、A * 3 3 0 3、及び A * 3 4 0 1 が挙げられ、これらを、図 7 A において、リーダー配列、膜貫通配列及び細胞質配列の全て、または実質的に全てを含めずにアラインしている。これらの対立遺伝子のいずれも、8 4 位、1 3 9 位及び／または 2 3 6 位（図 7 A に示す）の 1 か所以上で、以下から選択される突然変異を含んでいてもよい：8 4 位でのチロシンからアラニン（Y 8 4 A）、8 4 位でのチロシンからシステイン（Y 8 4 C）、1 3 9 位でのアラニンからシステイン（A 1 3 9 C）、及び 2 3 6 位でのアラニンからシステインへの置換（A 2 3 6 C）。さらに、H L A - A 対立遺伝子の配列の全部または一部（例えば、5 0、7 5、1 0 0、1 5 0、2 0 0、または 2 5 0 連続アミノ酸）に対して、少なくとも 7 5 %（例えば、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %）または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有する H L A - A 配列もまた、使用してよい（例えば、それは、1 ~ 2 5、1 ~ 5、5 ~ 1 0、1 0 ~ 1 5、1 5 ~ 2 0、2 0 ~ 2 5、または 2 5 ~ 3 0 アミノ酸の挿入、欠失、及び／または置換を含み得る）。

【 0 0 6 5 】

一部の例では、本開示の T M M P は、以下の H L A - A コンセンサスアミノ酸配列、
 GSHSMRYFX1TSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQX2MEPRAPWIE
 QEGPEYWDX3X4TX5X6X7KAX8SQX9X10X11X12LX13X14X15X16X17YYNQSEX18GSHTX1
9QX20MX21GCDVGX22DX23RFLRGYX24QX25AYDGKDYIALX26EDLRSWTAADMAAQX27T
 X28X29KWEX30X31X32EAEQX33RX34YLX35GX36CVX37X38LRRYLENGKETLQRTDX39PK
 THMTHHX40X41SDHEATLRCWALX42FYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGTGFK
 WAX43VVVPSGX44EQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEX45 (SEQ ID NO:29)

（X 1 は、F、Y、S、または T であり、X 2 は、K または R であり、X 3 は、Q、G、E、または R であり、X 4 は、N または E であり、X 5 は、R または G であり、X 6 は、N または K であり、X 7 は、M または V であり、X 8 は、H または Q であり、X 9 は、T または I であり、X 1 0 は、D または H であり、X 1 1 は、A、V、または E であり、X 1 2 は、N または D であり、X 1 3 は、G または R であり、X 1 4 は、T または I であり、X 1 5 は、L または A であり、X 1 6 は、R または L であり、X 1 7 は、G または R であり、X 1 8 は、A または D であり、X 1 9 は、I、L、または V であり、X 2 0 は、I、R、または M であり、X 2 1 は、F または Y であり、X 2 2 は、S または P であり、X 2 3 は、W または G であり、X 2 4 は、R、H、または Q であり、X 2 5 は、D または Y であり、X 2 6 は、N または K であり、X 2 7 は、T または I であり、X 2 8 は、K または Q であり、X 2 9 は、R または H であり、X 3 0 は、A または T であり、X 3 1 は、A または V であり、X 3 2 は、H または R であり、X 3 3 は、R、L、Q、または W であり、X 3 4 は、V または A であり、X 3 5 は、D または E であり、X 3 6 は、R または T であり、X 3 7 は、D または E であり、X 3 8 は、W または G であり、X 3 9 は、P または A であり、X 4 0 は、P または A であり、X 4 1 は、V または I であり、X 4 2 は、S または G であり、X 4 3 は、A または S であり、X 4 4 は、Q または E であり、及び X 4 5 は、P または L である）を含む H L A - A 重鎖ポリペプチドを含む。

【 0 0 6 6 】

一例として、T M M P の M H C クラス I 重鎖ポリペプチドは、以下のヒト H L A - A 重鎖アミノ酸配列、

10

20

30

40

50

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGET
RKVKAHSQTHRVDLGLTRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKD YIA
LKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPK
THMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPAGDGT FQKWA AVV
VPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLR WEP (SEQ ID NO:297)

に対して、少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、
少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% のアミノ酸
配列同一性を有するアミノ酸配列を含み得る。

【0067】

一部の例では、本開示の T M M P に含めるのに適した H L A - A 重鎖ポリペプチドは、
以下のアミノ酸配列を有する：

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGET
RKVKAHSQTHRVDLGLTRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKD YIA
LKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPK
THMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPAGDGT FQKWA AVV
VPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLR WEP (SEQ ID NO:297)

。この H L A - A 重鎖ポリペプチドは、「H L A - A * 0 2 0 1」または単に「H L A -
A 0 2」とも呼ばれる。一部の例では、C 末端 P r o は本開示の T M M P に含まれない。
例えば、一部の例では、本開示の T M M P に含めるのに適した H L A - A 0 2 ポリペプチ
ドは、以下のアミノ酸配列を有する：

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGET
RKVKAHSQTHRVDLGLTRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKD YIA
LKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPK
THMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPAGDGT FQKWA AVV
VPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLR WE (SEQ ID NO:461)

。

【0068】

H L A - A (Y 8 4 A 、 A 2 3 6 C)

一部の例では、M H C クラス I 重鎖ポリペプチドは Y 8 4 A 置換及び A 2 3 6 C 置換を
含む。例えば、一部の例では、M H C クラス I 重鎖ポリペプチドは、以下のヒト H L A -
A 重鎖 (Y 8 4 A 、 A 2 3 6 C) アミノ酸配列、

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGET
RKVKAHSQTHRVDLGLTRG A YNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKD YIA
LKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPK
THMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRP C GDGT FQKWA AVV
VPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLR WEP (SEQ ID NO:298)

(アミノ酸 8 4 は A l a であり、アミノ酸 2 3 6 は C y s である) に対して、少なくとも
75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、
少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% のアミノ酸配列同一性を有するア
ミノ酸配列を含む。一部の例では、C y s - 2 3 6 は、R 1 2 C 置換を含むバリエーション型
β 2 M ポリペプチドの C y s - 1 2 と鎖間ジスルフィド結合を形成する。

【0069】

一部の例では、本開示の T M M P に含めるのに適した H L A - A 重鎖ポリペプチドは、以下のアミノ酸配列を含む H L A - A 0 2 (Y 8 4 A 、 A 2 3 6 C) ポリペプチドである：
GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGET
RKVKAHSQTHRVDLGLTRG A YNQSEAGSHTVQRM YGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKDYIA
LKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPK
THMTHHAVSDHEATLRCWALS FYP AEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRP C G D G T F Q K W A A V V
VPSGQEQR Y T C H V Q H E G L P K P L T L R W E P (SEQ ID NO:298)

。

10

【 0 0 7 0 】

一部の例では、本開示の T M M P に含めるのに適した H L A - A 重鎖ポリペプチドは、以下のアミノ酸配列を含む H L A - A 0 2 (Y 8 4 A 、 A 2 3 6 C) ポリペプチドである：
GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGET
RKVKAHSQTHRVDLGLTRG A YNQSEAGSHTVQRM YGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKDYIA
LKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPK
THMTHHAVSDHEATLRCWALS FYP AEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRP C G D G T F Q K W A A V V
VPSGQEQR Y T C H V Q H E G L P K P L T L R W E (SEQ ID NO:462)

20

。

【 0 0 7 1 】

H L A - A (Y 8 4 C 、 A 1 3 9 C)

一部の例では、M H C クラス I 重鎖ポリペプチドは Y 8 4 C 置換及び A 1 3 9 C 置換を含む。例えば、一部の例では、M H C クラス I 重鎖ポリペプチドは、以下のヒト H L A - A 重鎖 (Y 8 4 C 、 A 1 3 9 C) アミノ酸配列、
GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGET
RKVKAHSQTHRVDLGLTRG C YNQSEAGSHTVQRM YGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKDYIA
LKEDLRSWTAADM C A Q T T K H K W E A A H V A E Q L R A Y L E G T C V E W L R R Y L E N G K E T L Q R T D A P K
THMTHHAVSDHEATLRCWALS FYP AEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRP A G D G T F Q K W A A V V
VPSGQEQR Y T C H V Q H E G L P K P L T L R W E P (SEQ ID NO:299)

30

(アミノ酸 8 4 は C y s であり、アミノ酸 1 3 9 は C y s である) に対して、少なくとも 7 5 % 、少なくとも 8 0 % 、少なくとも 8 5 % 、少なくとも 9 0 % 、少なくとも 9 5 % 、少なくとも 9 8 % 、少なくとも 9 9 % 、または、1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、C y s - 8 4 は、C y s - 1 3 9 と鎖内ジスルフィド結合を形成する。

【 0 0 7 2 】

H L A - A 1 1 (H L A - A * 1 1 0 1)

1 つの非限定例として、T M M P の M H C クラス I 重鎖ポリペプチドは、以下のヒト H L A - A 1 1 重鎖アミノ酸配列、
GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDQE
TRNVKAQSQTDRVDLGLTRGYYNQSE DGSHTIQIM YGCDVGP DGRFLRGYRQDAYDGKDYIA
LNEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHAAEQRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDPPKT
HMTHHPISDHEATLRCWALGFYP AEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRP A G D G T F Q K W A A V V V
PSGEEQR Y T C H V Q H E G L P K P L T L R W E (SEQ ID NO:300)

40

に対して、少なくとも 7 5 % 、少なくとも 8 0 % 、少なくとも 8 5 % 、少なくとも 9 0 %

50

、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み得る。このようなMHCクラスI重鎖は、アジア系の個人の集団を含むアジア人集団において顕著であり得る。

【0073】

HLA-A11 (Y84A、A236C)

1つの非限定例として、一部の例では、MHCクラスI重鎖ポリペプチドは、Y84A置換とA236C置換を含むHLA-A11対立遺伝子である。例えば、一部の例では、MHCクラスI重鎖ポリペプチドは、以下のヒトHLA-A A11重鎖 (Y84A、A236C) アミノ酸配列、

GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFIAVGYYDDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDQE
TRNVKAQSQTDRVDLGLTLRGAYNQSEDGSHTIQIMYGCDVGPDGRFLRGYRQDAYDGKDYIA
LNEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHAAEQRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDPPKT
HMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGTGFKWA AVVV
PSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:301)

10

(アミノ酸84はAlaであり、アミノ酸236はCysである) に対して、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、Cys-236は、R12C置換を含むバリエーション型β2MポリペプチドのCys-12と鎖間ジスルフィド結合を形成する。

20

【0074】

HLA-A24 (HLA-A*2402)

1つの非限定例として、本開示のTMMPのMHCクラスI重鎖ポリペプチドは、以下のヒトHLA-A24重鎖アミノ酸配列、

GSHSMRYFSTSVSRPGRGEPRFIAVGYYDDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDEET
GKVKAHSQTDRENLRALRYYNQSEAGSHTLQMMFGCDVGS DGRFLRGYHQYAYDGKDYIAL
KEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHVAEQRAYLEGTCVDGLRRYLENGKETLQRTDPPKT
HMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGTGFKWA AVVV
PSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEPSSQPTVPIVGIIAGLVLLGAVITGAVVA AVMWRRNSS
DRKGGSYSQAASSDSAQGS DVS L TACKV (SEQ ID NO:302)

30

に対して、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み得る。このようなMHCクラスI重鎖は、アジア系の個人の集団を含むアジア人集団において顕著であり得る。一部の例では、アミノ酸84はAlaである。一部の例では、アミノ酸84はCysである。一部の例では、アミノ酸236はCysである。一部の例では、アミノ酸84はAlaであり、アミノ酸236はCysである。一部の例では、アミノ酸84はCysであり、アミノ酸236はCysである。

40

【0075】

HLA-A33 (HLA-A*3303)

1つの非限定例として、本開示のTMMPのMHCクラスI重鎖ポリペプチドは、以下のヒトHLA-A33重鎖アミノ酸配列、

50

GSHSMRYFTTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDRN
TRNVKAHSQIDRVLDGLTRGYYNQSEAGSHTIQMMYGCDVGS DGRFLRGYQQDAYDGKDYIA
LNEDLRSWTAADMAAQITQRKWEAARVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDPPKT
HMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPAGDGTQKQWASVVV
PSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEPSQPTIPVGHAGLVLFAGAVVA A VRWRKSSD
RKGGSYSQAASSDSAQGS DMSLTACKV (SEQ ID NO:303)

に対して、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、
少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%のアミノ酸
配列同一性を有するアミノ酸配列を含み得る。このようなMHCクラスI重鎖は、アジア
系の個人の集団を含むアジア人集団において顕著であり得る。一部の例では、アミノ酸8
4はAlaである。一部の例では、アミノ酸84はCysである。一部の例では、アミノ
酸236はCysである。一部の例では、アミノ酸84はAlaであり、アミノ酸236
はCysである。一部の例では、アミノ酸84はCysであり、アミノ酸236はCys
である。

【0076】

H LA-B

一部の例では、本開示のTMMPは、H LA-B重鎖ポリペプチドを含む。本開示のT
MMPに組み込まれ得るH LA-B重鎖ペプチド配列またはその一部として、限定されな
いが、対立遺伝子：B*0702、B*0801、B*1502、B*3802、B*40
01、B*4601、及びB*5301が挙げられ、これらを、図8Aにおいて、リーダ
ー配列、膜貫通配列及び細胞質配列の全て、または実質的に全てを含めずにアラインして
いる。これらの対立遺伝子のいずれも、84位、139位及び／または236位（図8A
に示す）の1か所以上で、以下から選択される突然変異を含んでいてもよい：84位での
チロシンからアラニン（Y84A）、84位でのチロシンからシステイン（Y84C）、
139位でのアラニンからシステイン（A139C）、及び236位でのアラニンからシ
ステインへの置換（A236C）。さらに、H LA-B対立遺伝子の配列の全部または一
部（例えば、50、75、100、150、200、または250連続アミノ酸）に対し
て、少なくとも75%（例えば、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90
%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%）または100%のアミノ
酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むH LA-Bポリペプチドもまた使用してよい（
例えば、それは、1～25、1～5、5～10、10～15、15～20、20～25、
または25～30アミノ酸の挿入、欠失、及び／または置換を含み得る）。

【0077】

一部の例では、本開示のTMMPは、以下のH LA-Bコンセンサスアミノ酸配列、
GSHSMRYFX1TX2X3SRPGRGEPRFX4VGYVDDTX5FVRFSDAX6SPRX7X8PR

APWIEQEGPEYWDRX9TQX10X11KTX12X13TQX14YX15X16NLX17X18X19X20YYNQSEAGS
HX21X22QX23MYGCDLGP DGRLLRGHDQSA YDGKDYIALNEDLX24SWTAADTAAQIX25QRK
X26EAARX27AEQX28RX29YLEGX30CVEWLRRYLENGKX31X32LX33RADPPKTHVTHHPX34
SDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPAGDRTFQKWAAVVVPSGEEQR
YTCHVQHEGLPKPLTLRWEPSQPTIPVGHAGLVLFAGAVVA A VRWRKSSD (SEQ ID NO:30)

(X1は、H、Y、またはDであり、X2は、AまたはSであり、X3は、MまたはVで
あり、X4は、A、S、またはTであり、X5は、QまたはLであり、X6は、Aまたは
Tであり、X7は、E、M、K、またはTであり、X8は、AまたはTであり、X9は、
EまたはNであり、X10は、IまたはKであり、X11は、Y、F、S、またはCであ

り、X 1 2 は、N または Q であり、X 1 3 は、A または T であり、X 1 4 は、D または Y であり、X 1 5 は、E または V であり、X 1 6 は、S または N であり、X 1 7 は、T、N、または I であり、X 1 8 は、A または L であり、X 1 9 は、L または R であり、X 2 0 は、R または G であり、X 2 1 は、T または I であり、X 2 2 は、L または I であり、X 2 3 は、R または S であり、X 2 4 は、R または S であり、X 2 5 は、S または T であり、X 2 6 は、L または W であり、X 2 7 は、E または V であり、X 2 8 は、R、D、L、または W であり、X 2 9 は、A または T であり、X 3 0 は、L、E、または T であり、X 3 1 は、E または D であり、X 3 2 は、K または T であり、X 3 3 は、E または Q であり、X 3 4 は、I または V である) を含む H L A - B 重鎖ポリペプチドを含む。

【0078】

一例として、本開示の T M M P の M H C クラス I 重鎖ポリペプチドは、以下のヒト H L A - B 重鎖アミノ酸配列、
GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPFISVGYVDDTQFVRFSDAASPREEPRAPWIEQEGPEYWDRNT
QIYKAQAQTDRESLRNLRGYYNQSEAGSHTLQSMYGCDVGPDGRLLRGHDQYAYDGKDYIAL
NEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGECEVWLRRLRYLENGKDKLERADPPKTH
VTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDRTFQKWAADVVP
GEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO:304)

に対して、少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み得る。

【0079】

H L A - B (Y 8 4 A 、 A 2 3 6 C)

1 つの非限定例として、一部の例では、M H C クラス I 重鎖ポリペプチドは、Y 8 4 A 置換と A 2 3 6 C 置換を含む H L A - B ポリペプチドである。例えば、一部の例では、M H C クラス I 重鎖ポリペプチドは、以下のヒト H L A - B 重鎖 (Y 8 4 A 、 A 2 3 6 C) アミノ酸配列、
GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPFISVGYVDDTQFVRFSDAASPREEPRAPWIEQEGPEYWDRNT
QIYKAQAQTDRESLRNLRGAYNQSEAGSHTLQSMYGCDVGPDGRLLRGHDQYAYDGKDYIAL
NEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGECEVWLRRLRYLENGKDKLERADPPKTH
VTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPCGDRTFQKWAADVVP
GEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO:305)

(アミノ酸 8 4 は A l a であり、アミノ酸 2 3 6 は C y s である) に対して、少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、C y s - 2 3 6 は、R 1 2 C 置換を含むバリエーション型 β 2 M ポリペプチドの C y s - 1 2 と鎖間ジスルフィド結合を形成する。

【0080】

H L A - B (Y 8 4 C 、 A 1 3 9 C)

一部の例では、M H C クラス I 重鎖ポリペプチドは Y 8 4 C 置換及び A 1 3 9 C 置換を含む。例えば、一部の例では、M H C クラス I 重鎖ポリペプチドは、以下のヒト H L A - B 重鎖 (Y 8 4 C 、 A 1 3 9 C) アミノ酸配列、

10

20

30

40

50

GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPFRFISVGYVDDTQFVRFDSDAASPREEPRAPWIEQEGPEYWDRNT
QIYKAQAQTDRESLRNLRGCYNQSEAGSHTLQSMYGCDVGPDGRLLRGHDQYAYDGKDYIAL
NEDLRSWTAADTCAQITQRKWEAAAREAEQRRAYLEGECEWLRRYLENGKDKLERADPPKTH
VTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDRTFQKWAAVVVP
GEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:306)

(アミノ酸 84 は C y s であり、アミノ酸 139 は C y s である) に対して、少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、C y s - 84 は、C y s - 139 と鎖内ジスルフィド結合を形成する。

【0081】

H L A - B * 0 7 0 2

一例として、一部の例では、本開示の T M M P に存在する M H C クラス I 重鎖ポリペプチドは、図 8 A の H L A - B * 0 7 0 2 (S E Q I D N O : 2 0 7) のアミノ酸配列、またはその配列の全部もしくは一部 (例えば、50、75、100、150、200、または 250 連続アミノ酸) に対して、少なくとも 75% (例えば、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%) もしくは 100% のアミノ酸配列同一性を有する配列 (例えば、それは、1~25、1~5、5~10、10~15、15~20、20~25、または 25~30 アミノ酸の挿入、欠失、及び/または置換を含み得る) を含む。一部の例では、本開示の T M M P の H L A - B 重鎖ポリペプチドが、図 6 において H L A - B とラベル付けされた配列、または図 8 A において「B * 0 7 0 2」とラベル付けされた配列に対して 100% 未満の同一性を有する場合、それは、84 位、139 位及び/または 236 位のうちの 1 つ以上で、以下から選択される突然変異を含んでもよい: 84 位でのチロシンからアラニンへの置換 (Y 8 4 A)、84 位 (Y 8 4 C) でのチロシンからシステインへの置換、139 位でのアラニンからシステイン (A 1 3 9 C)、及び 236 位でのアラニンからシステインへの置換 (A 2 3 6 C)。一部の例では、本開示の T M M P の H L A - B 重鎖ポリペプチドは、Y 8 4 A 及び A 2 3 6 C 置換を含む。場合によっては、本開示の T M M P の H L A - B * 0 7 0 2 重鎖ポリペプチドは、Y 8 4 C 及び A 1 3 9 C 置換を含む。一部の例では、本開示の T M M P の H L A - B 重鎖ポリペプチドは、Y 8 4 C、A 1 3 9 C、及び A 2 3 6 C 置換を含む。

【0082】

H L A - C

一部の例では、本開示の T M M P は、H L A - C 重鎖ポリペプチドを含む。本開示の T M M P に組み込まれ得る H L A - C 重鎖ポリペプチドまたはその一部として、限定されないが、対立遺伝子: C * 0 1 0 2、C * 0 3 0 3、C * 0 3 0 4、C * 0 4 0 1、C * 0 6 0 2、C * 0 7 0 1、C * 0 8 0 1、及び C * 1 5 0 2 が挙げられ、図 9 A におけるリーダー配列、膜貫通配列及び細胞質配列の全て、または実質的に全てを含めずにアラインしている。これらの対立遺伝子のいずれも、84 位、139 位及び/または 236 位 (図 9 A に示される) の 1 つ以上で、以下から選択される突然変異を含んでもよい: 84 位でのチロシンからアラニンへの置換 (Y 8 4 A)、84 位でのチロシンからシステインへの置換 (Y 8 4 C)、139 位でのアラニンからシステインへの置換 (A 1 3 9 C)、236 位でのアラニンからシステインへの置換 (A 2 3 6 C)。さらに、H L A - C 対立遺伝子の配列の全部または一部 (例えば、50、75、100、150、200、または 250 連続アミノ酸) に対して、少なくとも 75% (例えば、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%) または 100% のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む H L A - C ポリペプチドもまた、使用してよい (例えば、それは、1~25、1~5、5~10、10~15、

15～20、20～25、または25～30アミノ酸の挿入、欠失、及び／または置換を含み得る)。

【0083】

一部の例では、本開示のTMMPは、以下のHLA-Cコンセンサスアミノ酸配列、
X1SHSMX2YFX3TAVSX4PGRGEPX5FIX6VGYVDDTQFVX7FDSDAASPRGEPX8
8PWVEQEGPEYWDRETQX9YKRQAQX10DRVX11LRX12LRGYYNQSEX13X14SHX15X16QX1
7X18GCDX19GPDGRLLRGX20X21QX22AYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKX23EA
ARX24AEQX25RAYLEGX26CVEWLRRYLX27NGKX28TLQRAEX29PKTHVTHHPX30SDHEAT
LRCWALGFYPAEITLTWQX31DGEDQTQDTELVETRPAGDGTFQKWA AVX32VPSGX33EQRYT
CHX34QHEGLX35EPLTLX36WX37P (SEQ ID NO:31)

10

(X1は、CまたはGであり、X2は、RまたはKであり、X3は、F、Y、S、またはDであり、X4は、RまたはWであり、X5は、HまたはRであり、X6は、AまたはSであり、X7は、QまたはRであり、X8は、AまたはEであり、X9は、NまたはKであり、X10は、TまたはAであり、X11は、SまたはNであり、X12は、NまたはKであり、X13は、AまたはDであり、X14は、GまたはRであり、X15は、TまたはIであり、X16は、LまたはIであり、X17は、WまたはRであり、X18は、C、Y、F、またはSであり、X19は、LまたはVであり、X20は、YまたはHであり、X21は、DまたはNであり、X22は、Y、F、S、またはLであり、X23は、LまたはWであり、X24は、E、A、またはTであり、X25は、R、L、またはWであり、X26は、LまたはTであり、X27は、EまたはKであり、X28は、EまたはKであり、X29は、HまたはPであり、X30は、RまたはVであり、X31は、WまたはRであり、X32は、VまたはMであり、X33は、EまたはQであり、X34は、MまたはVであり、X35は、PまたはQであり、X36は、RまたはSであり、X37は、PまたはGである)を含むHLA-C重鎖ポリペプチドを含む。

20

【0084】

一例として、本開示のTMMPのMHCクラスI重鎖ポリペプチドは、以下のヒトHLA-C重鎖アミノ酸配列、
CSHSMRYFDTAVSRPGRGEPFRFISVGYVDDTQFVRFDSDAASPRGEPRAPWVEQEGPEYWDRE
TQNYKRQAQADRVSLRNLRGYYNQSEDGSHTLQRMYGCDLGPDGRLLRGYDQSA YDGKDYI
ALNEDLRSWTAADTAAQITQRKLEAARAAEQRLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRAEPPKT
HVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGTFQKWA AVV
PSGQEQRYTCHMQHEGLQEPLTLSEWP (SEQ ID NO:307)

30

に対して、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み得る。

40

【0085】

HLA-C (Y84A、A236C)

1つの非限定例として、一部の例では、MHCクラスI重鎖ポリペプチドは、Y84A置換とA236C置換を含むHLA-Cポリペプチドである。例えば、一部の例では、MHCクラスI重鎖ポリペプチドは、以下のヒトHLA-C重鎖(Y84A、A236C)アミノ酸配列、

50

CSHSMRYFDTA VSRPGRGEP RFISVGYVDDTQFVRFDSDAASPRGEP RAPWVEQEGPEYWDRE
TQNYKRQAQADRVSLRNLRGAYNQSE DGSHTLQRMYGCDLGP DGRLLRGYDQSA YDGKDYI
ALNEDLRSWTAADTAAQITQRKLEAARAAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRAEPPKT
HVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVV
PSGQEQRYTCHMQHEGLQEPLTSLWEP (SEQ ID NO:308)

(アミノ酸 84 は A l a であり、アミノ酸 236 は C y s である) に対して、少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、C y s - 236 は、R 12 C 置換を含むバリエーション型 β 2 M ポリペプチドの C y s - 12 と鎖間ジスルフィド結合を形成する。

【0086】

H L A - C (Y 84 C、A 139 C)

一部の例では、MHC クラス I 重鎖ポリペプチドは Y 84 C 置換及び A 139 C 置換を含む。例えば、一部の例では、MHC クラス I 重鎖ポリペプチドは、以下のヒト H L A - C 重鎖 (Y 84 C、A 139 C) アミノ酸配列、
CSHSMRYFDTA VSRPGRGEP RFISVGYVDDTQFVRFDSDAASPRGEP RAPWVEQEGPEYWDRE
TQNYKRQAQADRVSLRNLRGCYNQSE DGSHTLQRMYGCDLGP DGRLLRGYDQSA YDGKDYI
ALNEDLRSWTAADTCAQITQRKLEAARAAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRAEPPKT
HVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGT FQKWAAVVV
PSGQEQRYTCHMQHEGLQEPLTSLWEP (SEQ ID NO:397)

(アミノ酸 84 は C y s であり、アミノ酸 139 は C y s である) に対して、少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、C y s - 84 は、C y s - 139 と鎖内ジスルフィド結合を形成する。

【0087】

H L A - C * 0701

一部の例では、本開示の T M M P の M H C クラス I 重鎖ポリペプチドは、図 9 A の H L A - C * 0701 (図 6 において H L A - C とラベル付けされている) のアミノ酸配列、またはその配列の全部もしくは一部 (例えば、50、75、100、150、200、または 250 連続アミノ酸) に対して、少なくとも 75% (例えば、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%) もしくは 100% のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む (例えば、それは、1~25、1~5、5~10、10~15、15~20、20~25、または 25~30 アミノ酸の挿入、欠失、及び/または置換を含み得る)。一部の例では、本開示の T M M P の H L A - C 重鎖ポリペプチドが図 9 A における H L A - C * 0701 とラベル付けされた配列に対して 100% 未満の同一性を有する場合、それは、84 位、139 位及び/または 236 位の 1 つ以上で、以下から選択される突然変異を含んでいてもよい: 84 位でのチロシンからアラニンへの置換 (Y 84 A)、84 位でのチロシンからシステインへの置換 (Y 84 C)、139 位でのアラニンからシステイン (A 139 C)、236 位でのアラニンからシステインへの置換 (A 236 C)。一部の例では、本開示の T M M P の H L A - C 重鎖ポリペプチドは、Y 84 A 及び A 236 C 置換を含む。一部の例では、T 細胞 M M P の H L A - C * 0701 重鎖ポリペプチドまたはそのエピトープ複合体は、Y 84 C 及び A 139 C 置換を含む。一部の例では、本開示の T M M P の H L A - C 重鎖ポリペプチドは、Y 84 C、A 139 C、及び A 236 C 置換を含む。

【0088】

非古典的HLA-E、HLA-F、及びHLA-G MHCクラスI重鎖

一部の例では、本開示のTMMPは、非古典的MHCクラスI重鎖ポリペプチドを含む。非古典的HLA重鎖ポリペプチドまたはその一部のうち、本開示のTMMPに組み込まれ得るものとして、限定されないが、HLA-E、HLA-F、及びHLA-G対立遺伝子のものが挙げられる。HLA-E、HLA-F、及びHLA-G重鎖ポリペプチド（及びHLA-A、HLA-B、及びHLA-C対立遺伝子）のアミノ酸配列は、ワールドワイドウェブ hla.alleles.org/nomenclature/index.html、European Molecular Biology Laboratory (EMBL) の一部であるEuropean Bioinformatics Institute (www.ebi.ac.uk) 及びNational Center for Biotechnology Information (www.ncbi.nlm.nih.gov) に見出され得る。

10

【0089】

適切なHLA-E対立遺伝子の非限定的な例として、HLA-E*0101 (HLA-E*01:01:01:01)、HLA-E*01:03 (HLA-E*01:03:01:01)、HLA-E*01:04、HLA-E*01:05、HLA-E*01:06、HLA-E*01:07、HLA-E*01:09、及びHLA-E*01:10が挙げられるが、これらに限定されない。適切なHLA-F対立遺伝子の非限定的な例として、HLA-F*0101 (HLA-F*01:01:01:01)、HLA-F*01:02、HLA-F*01:03 (HLA-F*01:03:01:01)、HLA-F*01:04、HLA-F*01:05、及びHLA-F*01:06が挙げられるが、これらに限定されない。適切なHLA-G対立遺伝子の非限定的な例として、HLA-G*0101 (HLA-G*01:01:01:01)、HLA-G*01:02、HLA-G*01:03 (HLA-G*01:03:01:01)、HLA-G*01:04 (HLA-G*01:04:01:01)、HLA-G*01:06、HLA-G*01:07、HLA-G*01:08、HLA-G*01:09、HLA-G*01:10、HLA-G*01:11、HLA-G*01:12、HLA-G*01:14、HLA-G*01:15、HLA-G*01:16、HLA-G*01:17、HLA-G*01:18、HLA-G*01:19、HLA-G*01:20、及びHLA-G*01:22が挙げられるが、これらに限定されない。リーダー配列、膜貫通配列及び細胞質配列の全てまたは実質的に全てを含まないそれらのHLA-E、HLA-F及びHLA-G対立遺伝子のコンセンサス配列を図10に示し、図11において、上記のHLA-A、HLA-B及びHLA-C対立遺伝子のコンセンサス配列と共にアラインする。

20

30

【0090】

図1は、HLA-E、HLA-F、及びHLA-Gのそれぞれについてのコンセンサス配列を示し、可変aa位置を、連番の「X」残基として示し、aas84、139、及び236の位置に二重下線を引いている。

【0091】

図11は、図7～11に示すHLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F、及びHLA-Gのコンセンサスアミノ酸配列のアライメントを示す。各配列の可変残基を、連番を削除した「X」として記載する。図6に示すように、(i) 任意の天然アミノ酸または(ii) プロリンもしくはグリシンを除く任意の天然アミノ酸から独立して選択される1～5個のアミノ酸によって置換され得るそれらの隣接する5個のアミノ酸クラスターと共に示すaas84、139及び236の位置も示す。

40

【0092】

上記のHLA-E、HLA-F、及び／またはHLA-G対立遺伝子のいずれも、コンセンサス配列について図11に示すように、84位、139位、及び／または236位のうちの1つ以上で置換を含み得る。一部の例では、置換は以下から選択され得る：84位でのチロシンからアラニン (Y84A) もしくはシステイン (Y84C)、またはHLA-Fの場合はR84AもしくはR84C置換、139位のアラニンからシステイン (A1

50

39C)、またはHLA-Fの場合はV139C、及び236位でのアラニンからシステインへの置換(A236C)。さらに、図11に記載のコンセンサス配列のいずれかの全部または一部(例えば、50、75、100、150、200、または250連続アミノ酸)に対して、少なくとも75%(例えば、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%)または100%のアミノ酸配列同一性を有するHLA-E、HLA-F及び/またはHLA-G配列もまた、使用してよい(例えば、配列は、図中に記載の可変残基での変化に加えて、1~25、1~5、5~10、10~15、15~20、20~25、または25~30個のアミノ酸の挿入、欠失、及び/または置換を含み得る)。

【0093】

マウスH2K

一部の例では、本開示のTMMPに存在するMHCクラスI重鎖ポリペプチドは、マウスH2Kのアミノ酸配列(SEQ ID NO:45)(図6のマウスH2K)、またはその配列の全部もしくは一部(例えば、50、75、100、150、200、または250連続アミノ酸)に対して、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む(例えば、それは、1~25、1~5、5~10、10~15、15~20、20~25、または25~30アミノ酸の挿入、欠失、及び/または置換を含み得る)。一部の例では、本開示のTMMPのマウスH2K重鎖ポリペプチドが、図6においてマウスH2Kとラベル付けされた配列に対して100%未満の同一性を有する場合、それは、84位、139位及び/または236位のうちの1つ以上で、以下から選択される突然変異を含んでいてもよい: 84位でのチロシンからアラニン(Y84A)、84位でのチロシンからシステイン(Y84C)、139位でのアラニンからシステイン(A139C)、及び236位でのアラニンからシステインへの置換(A236C)。一部の例では、本開示のTMMPのマウスH2K重鎖ポリペプチドは、Y84A及びA236C置換を含む。一部の例では、本開示のTMMPのマウスH2K重鎖ポリペプチドは、Y84C及びA139C置換を含む。一部の例では、本開示のTMMPのマウスH2K重鎖ポリペプチドは、Y84C、A139C及びA236C置換を含む。

【0094】

組み合わせ例

以下の表1は、本開示のTMMPに組み込むことができるMHCクラスI重鎖配列修飾の様々な組み合わせを示す。

【0095】

10

20

30

40

50

【表 1】

シー エ ン ト リ ー	H L A 重鎖配列	配列同一性の範囲*	アミノ酸 8 4 位、 1 3 9 位及び／または 2 3 6 位での 特異的置換
1	HLA-A コンセンサス配列 (図 7B)	75%-99.8%, 80%-99.8%, 85%-99.8%, 90%-99.8%, 95%-99.8%, 98%-99.8%, もしくは99%-99.8%;または1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20,もしくは20-25 アミノ酸の 挿入、欠失及び／または置換 (可変残基はカウントせず)	置換なし; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A & A236C); (Y84C & A139C);または (Y84C, A139C & A236C)
2	A*0101, A*0201, A*0301, A*1101, A*2402, A*2301, A*2402, A*2407, A*3303,または A*3401 (図 7A)	75%-99.8%, 80%-99.8%, 85%-99.8%, 90%-99.8%, 95%-99.8%, 98%-99.8%, もしくは99%-99.8%;または1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20,もしくは20-25 アミノ酸の 挿入、欠失及び／または置換	置換なし; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A & A236C); (Y84C & A139C);または (Y84C, A139C & A236C)
3	HLA-B コンセンサス配列 (図 8B)	75%-99.8%, 80%-99.8%, 85%-99.8%, 90%-99.8%, 95%-99.8%, 98%-99.8%, もしくは99%-99.8%;または1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20,しくは20-25 アミノ酸の 挿入、欠失及び／または置換 (可変残基はカウントせず)	置換なし; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A & A236C); (Y84C & A139C);または (Y84C, A139C & A236C)
4	B*0702, B*0801, B*1502, B*3802, B*4001, B*4601, または B*5301 (図 8A)	75%-99.8%, 80%-99.8%, 85%-99.8%, 90%-99.8%, 95%-99.8%, 98%-99.8%, しくは99%-99.8%;または1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20,しくは20-25 アミノ酸の 挿入、欠失及び／または置換	置換なし; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A & A236C); (Y84C & A139C);または (Y84C, A139C & A236C)
5	HLA-C コンセンサス配列 (図 9B)	75%-99.8%, 80%-99.8%, 85%-99.8%, 90%-99.8%, 95%-99.8%, 98%-99.8%, しくは99%-99.8%;または1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20,しくは20-25 アミノ酸の 挿入、欠失及び／または置換 (可変残基はカウントせず)	置換なし; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A & A236C); (Y84C & A139C);または (Y84C, A139C & A236C)

10

20

30

40

50

ト ン H	H L A 重鎖配列	配列同一性の範囲*	アミノ酸 8 4 位、 1 3 9 位、及び／または 2 3 6 位での 特異的置換
6	C*0102, C*0303, C*0304, C*0401, C*0602, C*0701, C*0801,または C*1502 (図 9A)	75%-99.8%, 80%-99.8%, 85%-99.8%, 90%-99.8%, 95%-99.8%, 98%-99.8%, もしくは99%-99.8%;または1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20,もしくは20-25アミノ酸の 挿入、欠失及び／または置換	置換なし; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A & A236C); (Y84C & A139C);または (Y84C, A139C & A236C)
7	HLA-E, F, または G コンセンサス配列 (図 10)	75%-99.8%, 80%-99.8%, 85%-99.8%, 90%-99.8%, 95%-99.8%, 98%-99.8%, もしくは99%-99.8%;または1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20,もしくは20-25アミノ酸の 挿入、欠失及び／または置換 (可変残基はカウントせず)	置換なし; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A & A236C); (Y84C & A139C);または (Y84C, A139C & A236C)
8	マウス H2K (図 6)	75%-99.8%, 80%-99.8%, 85%-99.8%, 90%-99.8%, 95%-99.8%, 98%-99.8%, もしくは99%-99.8%;または1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20,もしくは20-25アミノ酸の 挿入、欠失及び／または置換	置換なし; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A & A236C); (Y84C & A139C);または (Y84C, A139C & A236C)

10

20

**配列同一性の範囲は、コンセンサス配列の可変残基をカウントしない図 6 ～ 11 に列挙した配列の対応する部分と比較した、T M M P に組み込む M H C - H ポリペプチド配列の配列同一性の許容範囲である。

【 0 0 9 6 】

β 2 ミクログロブリン

本開示の T M M P の β 2 -ミクログロブリン (β 2 M) ポリペプチドは、ヒト β 2 M ポリペプチド、非ヒト霊長類 β 2 M ポリペプチド、マウス β 2 M ポリペプチドなどであり得る。一部の例では、β 2 M ポリペプチドは、図 6 に記載の β 2 M アミノ酸配列に対して、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または、1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、β 2 M ポリペプチドは、図 4 に記載の β 2 M アミノ酸配列のアミノ酸 2 1 ～ 1 1 9 に対して、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または、1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

30

【 0 0 9 7 】

一部の例では、好適な β 2 M ポリペプチドは、以下のアミノ酸配列、
IQRTPKIQVY SCHPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE

40

HSDLSFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVTLSPQ KIVKWDRDM (SEQ ID NO:311)

を含み、H L A クラス I 重鎖ポリペプチドは、以下のアミノ酸配列、
GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYYDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQE

GPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDL(aa1){C}(aa2)AGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAY

DGKDYIALKEDLRSW(aa3){C}(aa4))HKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRLRYLENGKETLQR

TDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL(aa5)(C)(aa6)QKWAA

VVVPSGQEQRVTCHVQHEGLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO:309)

50

({C} で示すシステイン残基は、 $\alpha 1$ ヘリックスと $\alpha 2-1$ ヘリックスの間にジスルフィド結合を形成し、(C)残基は、12位の $\beta 2$ Mポリペプチドシステインとジスルフィド結合を形成する)を含む。上記の配列において、「aa1」は「アミノ酸クラスター1」であり、「aa2」は「アミノ酸クラスター2」であり、「aa3」は「アミノ酸クラスター3」であり、「aa4」は「アミノ酸クラスター4」であり、「aa5」は「アミノ酸クラスター5」であり、「aa6」は「アミノ酸クラスター6」であるが、例えば、図8を参照されたい。aa1、aa2、aa3、aa4、aa5、及びaa6のそれぞれの存在は、1~5アミノ酸残基であり、1~5アミノ酸残基となるように独立して選択され、それらアミノ酸残基は、i)任意の天然(例えば、コード)アミノ酸から独立して選択されるか、または、ii)プロリンはグリシンを除く任意の天然アミノ酸である。

10

【0098】

一部の例では、MHCポリペプチドは、参照MHCポリペプチド(参照MHCポリペプチドは野生型MHCポリペプチドであってもよい)と比較して単一のアミノ酸置換を含み、その単一のアミノ酸置換は、アミノ酸をシステイン(Cys)残基で置換する。このようなシステイン残基は、本開示のTMMPの第1のポリペプチドのMHCポリペプチド内に存在する場合、本開示のTMMPの第2のポリペプチド鎖内に存在するシステイン残基とジスルフィド結合を形成し得る。

【0099】

一部の例では、本開示のTMMPの第1のポリペプチド内の第1のMHCポリペプチド、及び／または、本開示のTMMPの第2のポリペプチド内の第2のMHCポリペプチドは、アミノ酸をシステインで置換するアミノ酸置換を含み、第1のMHCポリペプチド内の置換システインは、第2のMHCポリペプチド内のシステインとジスルフィド結合を形成し、第1のMHCポリペプチド内のシステインは、第2のMHCポリペプチド内の置換システインとジスルフィド結合を形成する、または、第1のMHCポリペプチド内の置換システインは、第2のMHCポリペプチド内の置換システインとジスルフィド結合を形成する。

20

【0100】

例えば、一部の例では、以下の、HLA $\beta 2$ -ミクロglobulin内の残基とHLAクラスI重鎖内の残基のペア、1) $\beta 2$ M残基12、HLAクラスI重鎖残基236、2) $\beta 2$ M残基12、HLAクラスI重鎖残基237、3) $\beta 2$ M残基8、HLAクラスI重鎖残基234、4) $\beta 2$ M残基10、HLAクラスI重鎖残基235、5) $\beta 2$ M残基24、HLAクラスI重鎖残基236、6) $\beta 2$ M残基28、HLAクラスI重鎖残基232、7) $\beta 2$ M残基98、HLAクラスI重鎖残基192、8) $\beta 2$ M残基99、HLAクラスI重鎖残基234、9) $\beta 2$ M残基3、HLAクラスI重鎖残基120、10) $\beta 2$ M残基31、HLAクラスI重鎖残基96、11) $\beta 2$ M残基53、HLAクラスI重鎖残基35、12) $\beta 2$ M残基60、HLAクラスI重鎖残基96、13) $\beta 2$ M残基60、HLAクラスI重鎖残基122、14) $\beta 2$ M残基63、HLAクラスI重鎖残基27、15) $\beta 2$ M残基Arg3、HLAクラスI重鎖残基Gly120、16) $\beta 2$ M残基His31、HLAクラスI重鎖残基Gln96、17) $\beta 2$ M残基Asp53、HLAクラスI重鎖残基Arg35、18) $\beta 2$ M残基Trp60、HLAクラスI重鎖残基Gln96、19) $\beta 2$ M残基Trp60、HLAクラスI重鎖残基Asp122、20) $\beta 2$ M残基Tyr63、HLAクラスI重鎖残基Tyr27、21) $\beta 2$ M残基Lys6、HLAクラスI重鎖残基Glu232、22) $\beta 2$ M残基Gln8、HLAクラスI重鎖残基Arg234、23) $\beta 2$ M残基Tyr10、HLAクラスI重鎖残基Pro235、24) $\beta 2$ M残基Ser11、HLAクラスI重鎖残基Gln242、25) $\beta 2$ M残基Asn24、HLAクラスI重鎖残基Ala236、26) $\beta 2$ M残基Ser28、HLAクラスI重鎖残基Glu232、27) $\beta 2$ M残基Asp98、HLAクラスI重鎖残基His192、及び、28) $\beta 2$ M残基Met99、HLAクラスI重鎖残基Arg234、の一方は、システインで置換される(残基番号は成熟ポリペプチドの番号である)。MHC/HLAクラスI重鎖のアミノ酸ナンバリングは、シグナルペプチドを含ま

30

40

50

ない成熟 MHC / HLA クラス I 重鎖を基準としている。例えば、一部の例では、成熟 HLA-A アミノ酸配列の残基 236 は Cys で置換されている。一部の例では、成熟 HLA-B アミノ酸配列の残基 236 は Cys で置換されている。一部の例では、成熟 HLA-C アミノ酸配列の残基 236 は Cys で置換されている。一部の例では、図 4 に記載のアミノ酸配列の残基 32 (成熟 β 2 M の Arg-12 に対応する) は Cys で置換されている。

【0101】

一部の例では、 β 2 M ポリペプチドは、アミノ酸配列、
IQRTPKIQVY

SRHPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE HSDLFSKDW SFYLLYYTEF
TPTEKDEYAC RVNHVTLSP KIVKWDRDM (SEQ ID NO:310)

10

を含む。一部の例では、 β 2 M ポリペプチドは、アミノ酸配列、
IQRTPKIQVY SCHPAENGKS NFLNCYVSGF

HPSDIEVDLLKNGERIEKVE HSDLFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVTLSP
KIVKWDRDM (SEQ ID NO:311)

を含む。

20

【0102】

一部の例では、HLA クラス I 重鎖ポリペプチドは、アミノ酸配列、
GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMPEPRAPWIEQEGPEYWDGET
RKVKAHSQTHRVDLGLTRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKD YIA
LKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPK
THMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPAGDGT FQKWA AVV
VPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLR WEP (SEQ ID NO:297)

を含む。

30

【0103】

一部の例では、HLA クラス I 重鎖ポリペプチドは、アミノ酸配列、
GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMPEPRAPWIEQEGPEYWDGET
RKVKAHSQTHRVDLGLTRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKD YIA
LKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPK
THMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPCGDGT FQKWA AVV
VPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLR WEP (SEQ ID NO:312)

を含む。

40

【0104】

一部の例では、HLA クラス I 重鎖ポリペプチドは、アミノ酸配列、
GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMPEPRAPWIEQEGPEYWDGET
RKVKAHSQTHRVDLGLTRGAYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKD YIA
LKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPK
THMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPCGDGT FQKWA AVV
VPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLR WE (SEQ ID NO:313)

を含む。

50

【0105】

一部の例では、β 2 Mポリペプチドは、以下のアミノ酸配列、
 IQRTPKIQVY SCHPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE
 HSDLSFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVTLSPQ KIVKWDRDM (SEQ ID NO:311)

を含み、本開示の T M M P の H L A クラス I 重鎖ポリペプチドは、以下のアミノ酸配列、
 GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQE
 GPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGLRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGS DWRFLRGYHQY
 AYDGKDYLKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRLRYLENGKE
 TLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFP AEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPC GGDGT
 FQKWA AVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO:312)

10

(下線を付した太字の C y s 残基は、T M M P 内において互いにジスルフィド結合を形成する)を含む。

【0106】

一部の例では、β 2 Mポリペプチドは、アミノ酸配列、
 IQRTPKIQVY SCHPAENGKS NFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDW SFYLL
 YYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSPQKIVKWDRDM (SEQ ID NO:314)

20

を含む。

【0107】

一部の例では、本開示の T M M P の第 1 のポリペプチドと第 2 のポリペプチドは、i) 第 1 のポリペプチド鎖内のペプチドエピトープと β 2 Mポリペプチドを連結するリンカー内に存在する C y s 残基及び i i) 第 2 のポリペプチド鎖内の M H C クラス I 重鎖内に存在する C y s 残基を介して、互いにジスルフィド結合している。一部の例では、M H C クラス I 重鎖内に存在する C y s 残基は、Y 8 4 C 置換として導入された C y s である。一部の例では、第 1 のポリペプチド鎖内のペプチドエピトープと β 2 Mポリペプチドを連結するリンカーは、G C G G S (G 4 S) n (S E Q I D N O : 3 1 5) (n は 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 または 9 である) である。例えば、一部の例では、リンカーはアミノ酸配列
 GCGGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:316)

30

を含む。別の例では、リンカーはアミノ酸配列
 GCGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:317)

を含む。ジスルフィド結合した本開示の T M M P の第 1 のポリペプチドと第 2 のポリペプチドの例については、図 2 A ~ 2 F において概略的に示している。

【0108】

多重ジスルフィド結合 T M M P

40

一部の例では、本開示の T M M P の第 1 のポリペプチドと第 2 のポリペプチドを、少なくとも 2 つのジスルフィド結合 (すなわち、2 つの鎖間ジスルフィド結合) によって互いに連結する。そのような多重ジスルフィド結合 T M M P の例を、図 1 2 A 及び 1 2 B ならびに図 1 3 A ~ 1 3 C に概略的に示す。さらに、本開示の T M M P が I g F c ポリペプチドを含む場合、ヘテロ二量体 T M M P を二量体化することができ、ジスルフィド結合が 2 つのヘテロ二量体 T M M P 内の I g F c ポリペプチドを連結する。そのような配置を、図 1 2 C 及び 1 2 D に概略的に示し、図中、ジスルフィド結合を破線で表す。特に明記しない限り、本節における多重ジスルフィド結合 T M M P P に記載する少なくとも 2 つのジスルフィド結合は、二量体化 T M M P の I g F c ポリペプチドを連結するジスルフィド結合を指すものではない。

50

【0109】

上記のように、一部の例では、本開示のTMMPの第1のポリペプチドと第2のポリペプチドを、少なくとも2つのジスルフィド結合（すなわち、2つの鎖間ジスルフィド結合）によって互いに連結する。例えば、一部の例では、本開示のTMMPの第1のポリペプチドと第2のポリペプチドを、2つの鎖間ジスルフィド結合によって互いに連結する。別の例として、一部の例では、本開示のTMMPの第1のポリペプチドと第2のポリペプチドを、3つの鎖間ジスルフィド結合によって互いに連結する。別の例として、一部の例では、本開示のTMMPの第1のポリペプチドと第2のポリペプチドを、4つの鎖間ジスルフィド結合によって互いに連結する。

【0110】

一部の例では、本開示のTMMPの第1のポリペプチド内のペプチドエピトープを、Cysを含むリンカーによって β 2Mポリペプチドに連結する場合、少なくとも2つのジスルフィド結合のうちの少なくとも1つは、リンカー内のCysを第2のポリペプチド内のMHCクラスI重鎖のCysに連結する。一部の例では、本開示のTMMPの第1のポリペプチド内のペプチドエピトープをリンカーによってMHCクラスI重鎖ポリペプチドに連結する場合、少なくとも2つのジスルフィド結合のうちの少なくとも1つは、リンカー内のCysを第2のポリペプチドに存在する β 2Mポリペプチド内のCysに連結する。

【0111】

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合TMMP（例えば、二重ジスルフィド結合TMMP）は、少なくとも2つのジスルフィド結合のうちの1つのみを含む対照TMMPに比べて高い安定性を示す。一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合TMMP（例えば、二重ジスルフィド結合TMMP）は、少なくとも2つのジスルフィド結合のうちの1つのみを含む対照TMMPに比べて、高いインビトロ安定性を示す。例えば、一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合TMMP（例えば、二重ジスルフィド結合TMMP）は、少なくとも2つのジスルフィド結合のうちの1つのみを含む対照TMMPに比べて、インビトロでの安定性が、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも50%、少なくとも2倍、少なくとも5倍、または少なくとも10倍高い。

【0112】

本開示の多重ジスルフィド結合TMMPが、少なくとも2つのジスルフィド結合のうちの1つのみを含む対照TMMPに比べて、高いインビトロ安定性を示すかどうかを、時間の経過と共に及び／または特定の条件下で及び／またはTMMPの精製中に、試料中に存在するジスルフィド結合ヘテロ二量体TMMPの量を測定することによって判定することができる。

【0113】

例えば、一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合TMMP（例えば、二重ジスルフィド結合TMMP）は、TMMPを37℃で一定期間（例えば、約1週間～約2週間、約2週間～約4週間、または約4週間～約2ヶ月間）保存した場合、少なくとも2つのジスルフィドのうちの1つのみを含む対照TMMPに比べて、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも50%、少なくとも2倍、少なくとも5倍、または少なくとも10倍高いインビトロ安定性を示す。例えば、一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合TMMP（例えば、二重ジスルフィド結合TMMP）を37℃で28日間、インビトロで保存した後に残存するジスルフィド結合ヘテロ二量体TMMPの量は、対照TMMP（多重ジスルフィド結合TMMPに存在する少なくとも2つのジスルフィド結合のうちの1つのみを含むTMMP）を37℃で28日間、インビトロで保存した後に残存するジスルフィド結合ヘテロ二量体TMMPの量に比べて、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも50%、少なくとも2倍、少なくとも5倍、または少なくとも10倍多い。

【0114】

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P は、少なくとも 2 つのジスルフィド結合のうちの 1 つのみを含む対照 T M M P に比べて、より高いインビボ安定性を示す。例えば、一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P は、少なくとも 2 つのジスルフィド結合のうちの 1 つのみを含む対照 T M M P に比べて、少なくとも 5 %、少なくとも 10 %、少なくとも 15 %、少なくとも 20 %、少なくとも 25 %、少なくとも 50 %、少なくとも 2 倍、少なくとも 5 倍、または少なくとも 10 倍高いインビボ安定性を示す。

【0115】

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P（例えば、二重ジスルフィド結合 T M M P）に 2 つのジスルフィド結合が存在することは、T M M P が少なくとも 2 つのジスルフィド結合のうちの 1 つのみを含む対照 T M M P である場合に生成されるジスルフィド結合ヘテロ二量体 T M M P の量に比べて、ジスルフィド結合ヘテロ二量体 T M M P の産生量を高める。例えば、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P（例えば、二重ジスルフィド結合 T M M P）を、哺乳動物細胞を液体細胞培養培地で培養するインビトロ細胞培養において、哺乳動物細胞内で産生することができる。T M M P は、細胞培養培地に分泌され得る。細胞を溶解して細胞溶解物を生成することができ、T M M P を細胞溶解物中に存在させることができる。T M M P は、細胞培養培地及び／または細胞溶解物から精製することができる。例えば、T M M P が I g G 1 F c ポリペプチドを含む場合、細胞培養培地及び／または細胞溶解物を、固定化したプロテイン A と接触させることができる（例えば、細胞培養培地及び／または細胞溶解物を、プロテイン A をビーズに固定化させたプロテイン A カラムにアプライすることができる）。細胞培養液及び／または細胞溶解物に存在する T M M P は、固定化されたプロテイン A に結合する。カラムを洗浄して未結合の物質を除去した後、結合した T M M P を溶出し、プロテイン A 溶出液を生成する。プロテイン A 溶出液中に存在するジスルフィド結合ヘテロ二量体 T M M P の量は、T M M P が多重ジスルフィド結合 T M M P（例えば、二重ジスルフィド結合 T M M P）に存在する少なくとも 2 つのジスルフィド結合のうちの 1 つのみを含む対照 T M M P である場合、プロテイン A 溶出液中に存在するジスルフィド結合ヘテロ二量体 T M M P の量に比べて、少なくとも 0.5 %、少なくとも 1 %、少なくとも 2 %、少なくとも 3 %、少なくとも 4 %、少なくとも 5 %、少なくとも 6 %、少なくとも 7 %、少なくとも 8 %、少なくとも 9 %、または少なくとも 10 % 高い。一部の例では、非凝集ジスルフィド結合ヘテロ二量体 T M M P である溶出液中の総 T M M P タンパク質の割合は、少なくとも 70 %、少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、または少なくとも 99 % である。プロテイン A 溶出液は、サイズ排除クロマトグラフィー（S E C）及び／または 1 つ以上の他の追加の精製工程に供することができる。

【0116】

一部の例では、本開示の T 細胞調節多量体ポリペプチドは、以下を含む少なくとも 1 つのヘテロ二量体を含む：a) i) ペプチドエピトープ（ペプチドは、少なくとも 4 アミノ酸の長さを有する（例えば、4 アミノ酸～25 アミノ酸、例えば、ペプチドは、4、5、6、7、8、9、10～15、15～20、または 20～25 アミノ酸の長さを有する））、及び i i) 第 1 の M H C ポリペプチドを含む第 1 のポリペプチド、b) 第 2 の M H C ポリペプチドを含む第 2 のポリペプチド、ならびに c) 少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチド（第 1 及び／または第 2 のポリペプチドが免疫調節ポリペプチドを含み、ヘテロ二量体が第 1 のポリペプチドと第 2 のポリペプチドとの間に少なくとも 2 つのジスルフィド結合（例えば、2 つのジスルフィド結合）を含む（例えば、ヘテロ二量体は、i) 第 1 のポリペプチドと第 2 のポリペプチドを連結する第 1 のジスルフィド結合、及び i i) 第 1 のポリペプチドと第 2 のポリペプチドを連結する第 2 のジスルフィド結合を含む））。別の言い方をすれば、第 1 のポリペプチドは、第 2 のポリペプチドの第 1 の C y s 残基とジスルフィド結合（第 1 のジスルフィド結合）を形成する第 1 の C y s 残基を含み、第 1 のポリペプチドは、第 2 のポリペプチドの第 2 の C y s 残基とジスルフィド結合（第 2 のジスルフィド結合）を形成する第 2 の C y s 残基を含む。

【0117】

一部の例では、本開示のTMMPは、a) N末端からC末端の順に、i) ペプチドエピトープ、ii) ペプチドリンカー、及びiii) β 2Mポリペプチドを含む第1のポリペプチド、ならびにb) MHCクラスI重鎖ポリペプチドを含む第2のポリペプチド（第1及び第2のポリペプチドの一方または両方が、少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含む）を含み、TMMPは、a) i) Cysペプチドエピトープと β 2Mポリペプチドの間のリンカーに存在するCysと、ii) MHCクラスI重鎖ポリペプチドに導入された第1のCysとの間の第1のジスルフィド結合、及びb) 第1のポリペプチドと第2のポリペプチドとの間の少なくとも第2のジスルフィド結合を含み、少なくとも第2のジスルフィド結合は、i) 第1のポリペプチド内の、リンカーに存在するCysに対してC末端のCysと、ii) 第2のポリペプチド内の、MHCクラスI重鎖ポリペプチドに導入された第1のCysに対してC末端のCysとの間に存在する。

10

【0118】

一部の例では、本開示のTMMPの第1または第2のポリペプチドにおける第1及び第2のジスルフィド結合形成Cys残基は、互いに約10アミノ酸～約200アミノ酸離れている。例えば、一部の例では、TMMPの第1または第2のポリペプチドにおける第1及び第2のジスルフィド結合形成Cys残基は、約10アミノ酸(aa)～約15aa、約15aa～約20aa、約20aa～約25aa、約25aa～約30aa、約30aa～約40aa、約40aa～約50aa、約50aa～約60aa、約60aa～約70aa、約70aa～約80aa、約80aa～約90aa、約90aa～約100aa、約100aa～約110aa、約110aa～約120aa、約120aa～約130aa、約130aa～約140aa、約140aa～約150aa、約150aa～約160aa、約160aa～約170aa、約170aa～約180aa、約180aa～約190aa、または約190aa～約200aaである。

20

【0119】

一例として、一部の例では、本開示のTMMPの第1のポリペプチドにおける第1及び第2のジスルフィド結合形成Cys残基は、互いに約10アミノ酸～約80アミノ酸残基離れている。例えば、一部の例では、第1のポリペプチドにおける第2のジスルフィド結合形成Cys残基は、第1のポリペプチドの第1のジスルフィド結合形成Cys残基に対して、約10アミノ酸～約80アミノ酸（例えば、約10アミノ酸(aa)～約15aa、約15aa～約20aa、約20aa～約25aa、約25aa～約30aa、約30aa～約40aa、約40aa～約50aa、約50aa～約60aa、約60aa～約70aa、または約70aa～約80aa）C末端側である。一部の例では、第1のポリペプチドにおける第2のジスルフィド結合形成Cys残基は、第1のポリペプチドの第1のジスルフィド結合形成Cys残基に対して、10aa、11aa、12aa、13aa、14aa、15aa、16aa、17aa、18aa、19aa、20aa、21aa、22aa、23aa、24aa、または25aa C末端側である。一部の例では、第1のポリペプチドの第2のジスルフィド結合形成Cys残基は、第1のポリペプチドの第1のジスルフィド結合形成Cys残基に対して15aa C末端側である。一部の例では、第1のポリペプチドの第2のジスルフィド結合形成Cys残基は、第1のポリペプチドの第1のジスルフィド結合形成Cys残基に対して20aa C末端側である。一部の例では、第1のポリペプチドの第2のジスルフィド結合形成Cys残基は、第1のポリペプチドの第1のジスルフィド結合形成Cys残基に対して25aa C末端側である。

30

40

【0120】

別の例として、一部の例では、本開示のTMMPの第2のポリペプチドにおける第1及び第2のジスルフィド結合形成Cys残基は、互いに約140アミノ酸～約160アミノ酸離れている。例えば、一部の例では、第2のポリペプチドの第2のジスルフィド結合形成Cys残基は、第2のポリペプチドの第1のジスルフィド結合形成Cys残基に対して約140アミノ酸～約160アミノ酸 C末端側である。一部の例では、第2のポリペプチドの第2のジスルフィド結合形成Cys残基は、第2のポリペプチドにおける第1のジ

50

スルフィド結合形成Cys残基に対して、140アミノ酸(aa)、141aa、142aa、143aa、144aa、145aa、146aa、147aa、148aa、149aa、150aa、151aa、152aa、153aa、154aa、155aa、156aa、157aa、158aa、159aa、または160aa C末端側である。

【0121】

本開示の多重ジスルフィド結合TMMP（例えば、二重ジスルフィド結合TMMP）には、例えば、a) i) ペプチドエピトープ（例えば、ペプチドがMHCポリペプチドと複合体を形成する場合、TCRが結合する4アミノ酸～約25アミノ酸のペプチド）と、i i) 第1のMHCポリペプチドとを含む第1のポリペプチド（第1のポリペプチドは、ペプチドと第1のMHCポリペプチドとの間にペプチドリinkerを含み、ペプチドリinkerはCys残基を含み、第1のMHCポリペプチドは、Cys残基を導入するアミノ酸置換を含むβ2Mポリペプチドを含む）、b) 及び第2のMHCポリペプチドを含む第2のポリペプチド（第2のMHCポリペプチドは、HLA-A*0201のアミノ酸付番に基づくY84C置換及びA236C置換（図7Aに示す）か、または別のクラスI重鎖対立遺伝子の対応する位置に置換を含むクラスI重鎖であり、TMMPは、ペプチドリinkerのCys残基とクラスI重鎖のアミノ酸84位または別のクラスI重鎖対立遺伝子の対応する位置のCys残基との間にジスルフィド結合を有し、TMMPは、β2Mポリペプチドに導入されたCys残基と、クラスI重鎖のアミノ酸236位または別のクラスI重鎖対立遺伝子の対応する位置のCysとの間にジスルフィド結合を有する）、ならびにc) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含ませることができ、第1及び／または第2のポリペプチドは、少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含む。例を、図12A及び図12Bに概略的に示す。

【0122】

一部の例では、ペプチドリinkerは、アミノ酸配列GCGGS (SEQ ID NO: 318) を含む。一部の例では、ペプチドリinkerは、アミノ酸配列GCGGS (GGGS) n (SEQ ID NO: 319) を含む、配列中、nは1～10の整数である。一部の例では、ペプチドリinkerは、アミノ酸配列GCGGS (GGGS) n (SEQ ID NO: 398) を含む、配列中、nは1である。一部の例では、ペプチドリinkerは、アミノ酸配列GCGGS (GGGS) n (SEQ ID NO: 320) を含む、配列中、nは2である。一部の例では、ペプチドリinkerは、アミノ酸配列GCGGS (GGGS) n (SEQ ID NO: 321) を含む、配列中、nは3である。一部の例では、ペプチドリinkerは、アミノ酸配列GCGGS (GGGS) n (SEQ ID NO: 322) を含む、配列中、nは4である。一部の例では、ペプチドリinkerは、アミノ酸配列GCGGS (GGGS) n (SEQ ID NO: 323) を含む、配列中、nは5である。一部の例では、ペプチドリinkerは、アミノ酸配列GCGGS (GGGS) n (SEQ ID NO: 324) を含む、配列中、nは6である。一部の例では、ペプチドリinkerは、アミノ酸配列GCGGS (GGGS) n (SEQ ID NO: 325) を含む、配列中、nは7である。一部の例では、ペプチドリinkerは、アミノ酸配列GCGGS (GGGS) n (SEQ ID NO: 326) を含む、配列中、nは8である。一部の例では、ペプチドリinkerは、アミノ酸配列GCGGS (GGGS) n (SEQ ID NO: 327) を含む、配列中、nは9である。一部の例では、ペプチドリinkerは、アミノ酸配列GCGGS (GGGS) n (SEQ ID NO: 328) を含む、配列中、nは10である。

【0123】

一部の例では、ペプチドリinkerは、アミノ酸配列CGGGS (SEQ ID NO: 329) を含む。一部の例では、ペプチドリinkerは、アミノ酸配列CGGGS (GGGS) n (SEQ ID NO: 330) を含む、配列中、nは、1～10の整数である。一部の例では、ペプチドリinkerは、アミノ酸配列CGGGS (GGGS) n (SEQ ID NO: 331) を含む、配列中、nは1である。一部の例では、ペプチドリinker

は、アミノ酸配列 $\text{CGGGG}(\text{GGGG})_n$ (SEQ ID NO: 332) を含み、配列中、 n は 2 である。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列 $\text{CGGGG}(\text{GGGG})_n$ (SEQ ID NO: 333) を含み、配列中、 n は 3 である。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列 $\text{CGGGG}(\text{GGGG})_n$ (SEQ ID NO: 334) を含み、配列中、 n は 4 である。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列 $\text{CGGGG}(\text{GGGG})_n$ (SEQ ID NO: 335) を含み、配列中、 n は 5 である。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列 $\text{CGGGG}(\text{GGGG})_n$ (SEQ ID NO: 336) を含み、配列中、 n は 6 である。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列 $\text{CGGGG}(\text{GGGG})_n$ (SEQ ID NO: 337) を含み、配列中、 n は 7 である。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列 $\text{CGGGG}(\text{GGGG})_n$ (SEQ ID NO: 338) を含み、配列中、 n は 8 である。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列 $\text{CGGGG}(\text{GGGG})_n$ (SEQ ID NO: 339) を含み、配列中、 n は 9 である。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列 $\text{CGGGG}(\text{GGGG})_n$ (SEQ ID NO: 340) を含み、配列中、 n は 10 である。

【0124】

以下は、HLA-A*0201 のアミノ酸付番 (図 7A に示す) に基づく Y84C 置換及び A236C 置換、または別のクラス I 重鎖対立遺伝子の対応する位置における置換を含む MHC クラス I 重鎖の非限定的な例である。

【0125】

HLA-A

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 TMMP (例えば、二重ジスルフィド結合 TMMP) は、a) i) ペプチド (例えば、ペプチドが MHC ポリペプチドと複合体を形成する場合、TCR が結合する 4 アミノ酸～約 25 アミノ酸のペプチド) と、ii) 第 1 の MHC ポリペプチドとを含む第 1 のポリペプチド (第 1 のポリペプチドは、ペプチドと第 1 の MHC ポリペプチドとの間にペプチドリンカーを含み、ペプチドリンカーは Cys 残基を含み、第 1 の MHC ポリペプチドは、Cys 残基を導入するアミノ酸置換を含む $\beta 2\text{M}$ ポリペプチドである)、及び b) 以下のアミノ酸配列:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGET
RKVKAHQSQTHRVDLGLTRGCYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKDYLIA
LKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRLYLENGKETLQRTDAPK
THMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWAADV
VPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLR WEP (SEQ ID NO:341)

に対して、少なくとも 60%、少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む HLA-A MHC クラス I 重鎖を含む第 2 のポリペプチド (アミノ酸 84 は Cys であり、アミノ酸 236 は Cys である)、及び c) 少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチドを含み、第 1 及び/または第 2 のポリペプチドは、少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチドを含む。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列 $\text{GCGGG}(\text{GGGG})_n$ (SEQ ID NO: 318) を含む。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列 $\text{GCGGG}(\text{GGGG})_n$ (SEQ ID NO: 319) を含み、配列中、 n は、1～10 の整数である。一部の例では、 $\beta 2\text{M}$ ポリペプチドは、R12C 置換を含む。例えば、 $\beta 2\text{M}$ ポリペプチドには、以下のアミノ酸配列:

IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDW SFYLL
YYTEFTPTKDEYACRVNHVTL SQPKIVKWDRDM (SEQ ID NO:314)

に対して、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含ませることができ、配

列中、アミノ酸 12 は C y s である。少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチドは、標的 T 細胞に対して活性化／刺激効果を与えるか、または標的 T 細胞に対して抑制／阻害効果を与えるポリペプチドであり得る。例えば、少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチドは、サイトカイン（例えば、I L 2 ポリペプチド、I L 7 ポリペプチド、I L 12 ポリペプチド、I L 15 ポリペプチド、I L 17 ポリペプチド、I L 21 ポリペプチド、I L 27 ポリペプチド、I L - 23 ポリペプチド、T G F β ポリペプチドなどであり、全てのファミリーメンバー、例えば、I L 17 A、I L - 17 B、I L - 17 C、I L - 17 D、I L - 17 E、I L - 17 F、I L - 17 E が含まれる）、4 - 1 B B L ポリペプチド、I C O S - L ポリペプチド、O X - 40 L ポリペプチド、C D 80 ポリペプチド、C D 86 ポリペプチド（C D 80 及び C D 86 はそれぞれ B 7 - 1 及び B 7 - 2 としても知られる）、C D 40 ポリペプチド、C D 70 ポリペプチド、J A G 1（C D 339）ポリペプチド、I C A M（C D 540 ポリペプチド、P D - L 1 ポリペプチド、F a s L ポリペプチド、P D - L 2 ポリペプチド、P D - 1 H（V I S T A）ポリペプチド、I C O S - L（C D 275）ポリペプチド、G I T R L ポリペプチド、H V E M ポリペプチド、C X C L 10 ポリペプチド、C X C L 9 ポリペプチド、C X C L 11 ポリペプチド、C X C L 13 ポリペプチド、及び C X 3 C L 1 ポリペプチド、ガレクチン - 9 ポリペプチド、C D 83 ポリペプチド、C D 30 L ポリペプチド、H L A - G ポリペプチド、M I C A ポリペプチド、M I C B ポリペプチド、H V E M（C D 270）ポリペプチド、リンホトキシン β 受容体ポリペプチド、3 / T R 6 ポリペプチド、I L T 3 ポリペプチド、I L T 4 ポリペプチド、C X C L 10 ポリペプチド、C X C L 9 ポリペプチド、C X C L 11 ポリペプチド、C X C L 13 ポリペプチド、または C X 3 C L 1 ポリペプチドであり得る。これらの免疫調節ポリペプチドは、野生型ポリペプチドまたは野生型ポリペプチドのバリエーション型であり得る。一部の例では、免疫調節ポリペプチドは、活性化（「刺激性」）免疫調節ポリペプチドであり、例えば、免疫調節ポリペプチドは、T 細胞に対して活性化／刺激効果を生じ得る。活性化免疫調節ポリペプチドの例として、例えば、C D 80、C D 86、4 - 1 B B L、O X 40 L、C D 70、I C O S - L、C D 40、I C A M（C D 54）、I L 2、I L 7、I L 12、I L 15、I L 17、I L 21、I L 27、I L 23、G I T R L、T G F β、及びリンホトキシン β 受容体が挙げられる。一部の例では、免疫調節ポリペプチドは、阻害（「抑制性」）免疫調節ポリペプチドであり、例えば、免疫調節ポリペプチドは、T 細胞に対して抑制／阻害効果を生じ得る。阻害免疫調節ポリペプチドの例として、例えば、P D - 1 H、P D - L 1、P D - L 2、T G F β、F a s L、H V E M、ガレクチン - 9、I L T 3、及び I L T 4 が挙げられる。T G F β ポリペプチドは、状況に応じて、活性化／刺激効果または抑制／阻害効果のいずれかを生成し得る。一部の例では、本明細書の他の場所に記載のように、少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチドは、親和性が低下したバリエーション型である。一部の例では、第 1 または第 2 のポリペプチドは、I g F c ポリペプチドを含む。

【0126】

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P（例えば、二重ジスルフィド結合 T M M P）は、H L A - A クラス I 重鎖ポリペプチドを含む。一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P（例えば、二重ジスルフィド結合 T M M P）に存在する H L A - A 重鎖ポリペプチドは、図 7 A に示す H L A - A * 0101、H L A - A * 0201、H L A - A * 0202、H L A - A * 1101、H L A - A * 2301、H L A - A * 2402、H L A - A * 2407、H L A - A * 3303、または H L A - A * 3401 のアミノ酸配列に対して、少なくとも 95 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、H L A - A 重鎖ポリペプチドは、Y 84 C 及び A 236 C 置換を含む。

【0127】

H L A - A * 0101（Y 84 C、A 236 C）

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P（例えば、二重ジスルフィド結合 T M M P）に存在する H L A - A 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - A * 0101（

10

20

30

40

50

Y 8 4 C、A 2 3 6 C) アミノ酸配列：

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFSDAASQKMEPRAPWIEQE
GPEYWDQETRNMKAHSQTDRANLGTLRGCYNQSEDSHTIQIMYGCDVGPDRFLRGYRQDA
YDGKDYLALNEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAVHAAEQRRVYLEGRCVDGLRRYLENGKET
LQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYP AEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPCGDGTF
QKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:343)

に対して、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の
アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 84 は C y s であり、アミノ
酸 2 3 6 は C y s である。

10

【0128】**H L A - A * 0 2 0 1 (Y 8 4 C、A 2 3 6 C)**

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結
合 T M M P) に存在する H L A - A 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - A * 0 2 0 1 (

Y 8 4 C、A 2 3 6 C) アミノ酸配列：
GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFSDAASQRM EPRAPWIEQEGPEYWDGET
RKVKAHSQTHRVDLGT LRGCYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKDYLIA
LKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPK
THMTHHAVSDHEATLRCWALS FYP AEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPCGDGTFQKWA AVV
VPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:341)

20

に対して、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の
アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 84 は C y s であり、アミノ
酸 2 3 6 は C y s である。

【0129】**H L A - A * 0 2 0 2 (Y 8 4 C、A 2 3 6 C)**

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結
合 T M M P) に存在する H L A - A 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - A * 0 2 0 2 (

Y 8 4 C、A 2 3 6 C) アミノ酸配列：
GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFSDAASQRM EPRAPWIEQEGPEYWDGET
RKVKAHSQTHRVDLGT LRGCYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKDYLIA
LKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPK
THMTHHAVSDHEATLRCWALS FYP AEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPCGDGTFQKWA AVV
VPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:341)

30

に対して、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の
アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 84 は C y s であり、アミノ
酸 2 3 6 は C y s である。

40

【0130】**H L A - A * 1 1 0 1 (Y 8 4 C、A 2 3 6 C)**

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結
合 T M M P) に存在する H L A - A 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - A * 1 1 0 1 (

Y 8 4 C、A 2 3 6 C) アミノ酸配列：

50

GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFIAVGYYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDQE
TRNVKAQSQTDRVDLGTLRGCYNQSEDGSHTIQIMYGCDVGPDGRFLRGYRQDAYDGKDYIA
LNEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHAAEQRAYLEGRCVEWLRRLYLENGKETLQRTDPPK
THMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPGDGTQKWA AVV
VPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:344)

に対して、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の
アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 84 は C y s であり、アミノ
酸 236 は C y s である。

【0131】

H L A - A * 2 3 0 1 (Y 8 4 C、A 2 3 6 C)

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結
合 T M M P) に存在する H L A - A 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - A * 2 3 0 1 (
Y 8 4 C、A 2 3 6 C) アミノ酸配列：

GSHSMRYFSTSVSRPGRGEPRFIAVGYYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDEET
GKVKAHSQTDRENLRALRCYNQSEAGSHTLQMMFGCDVGS DGRFLRGYHQYAYDGKDYIAL
KEDLRSWTAADMAAQITQRKWEAARVAEQLRAYLEGTCVDGLRRYLENGKETLQRTDPPKTH
MTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPGDGTQKWA AVVVPS
GEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:345)

に対して、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の
アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 84 は C y s であり、アミノ
酸 236 は C y s である。

【0132】

H L A - A * 2 4 0 2 (Y 8 4 C、A 2 3 6 C)

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結
合 T M M P) に存在する H L A - A 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - A * 2 4 0 2 (
Y 8 4 C、A 2 3 6 C) アミノ酸配列：

GSHSMRYFSTSVSRPGRGEPRFIAVGYYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDEET
GKVKAHSQTDRENLRALRCYNQSEAGSHTLQMMFGCDVGS DGRFLRGYHQYAYDGKDYIAL
KEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHVAEQRAYLEGTCVDGLRRYLENGKETLQRTDPPKT
HMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPGDGTQKWA AVVV
PSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:346)

に対して、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の
アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 84 は C y s であり、アミノ
酸 236 は C y s である。

【0133】

H L A - A * 2 4 0 7 (Y 8 4 C、A 2 3 6 C)

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結
合 T M M P) に存在する H L A - A 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - A * 2 4 0 7 (
Y 8 4 C、A 2 3 6 C) アミノ酸配列：

10

20

30

40

50

GSHSMRYFSTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDEET
GKVKAQSQTDRENLRALRCYNQSEAGSHTLQMMFGCDVGS DGRFLRGYHQYAYDGKDYIAL
KEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHVAEQRAYLEGTCVDGLRRYLENGKETLQRTDPPKT
HMTTHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPGDGTGFKWA AVVV
PSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:347)

に対して、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の
アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 84 は C y s であり、アミノ
酸 236 は C y s である。

【0134】

H L A - A * 3 3 0 3 (Y 8 4 C、A 2 3 6 C)

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結
合 T M M P) に存在する H L A - A 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - A * 3 3 0 3 (
Y 8 4 C、A 2 3 6 C) アミノ酸配列：

GSHSMRYFTTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQE

GPEYWDRNTRNVKAHSQIDRVDLGTLRG CYNQSEAGSHTIQMMYGCDVGS DGRFLRGYQQD

AYDGKDYIALNEDLRSWTAADMAAQITQRKWEAA RVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKE

TLQRTDPPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALS FYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPGDGT

FQKWASVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:348)

に対して、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の
アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 84 は C y s であり、アミノ
酸 236 は C y s である。

【0135】

H L A - A * 3 4 0 1 (Y 8 4 C、A 2 3 6 C)

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結
合 T M M P) に存在する H L A - A 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - A * 3 4 0 1 (
Y 8 4 C、A 2 3 6 C) アミノ酸配列：

GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDRN

TRKVKAQSQTD RVDLGTLRG CYNQSE DGSHTIQRM YGCDVGP DGRFLRGYQQDAYDGKDYIA

LNEDLRSWTAADMAAQITQRKWETAHEAEQWRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPK

THMTHHAVSDHEATLRCWALS FYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPGDGTGFKWASVV

VPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:349)

に対して、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の
アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 84 は C y s であり、アミノ
酸 236 は C y s である。

【0136】

H L A - B

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結
合 T M M P) は、a) i) ペプチド (例えば、ペプチドが M H C ポリペプチドと複合体を
形成する場合、T C R が結合する 4 アミノ酸～約 25 アミノ酸のペプチド) と、i i) 第
1 の M H C ポリペプチドとを含む第 1 のポリペプチド (第 1 のポリペプチドは、ペプチド
と第 1 の M H C ポリペプチドとの間にペプチドリinkerを含み、ペプチドリinkerは C y
s 残基を含み、第 1 の M H C ポリペプチドは、C y s 残基を導入するアミノ酸置換を含む
β 2 M ポリペプチドである)、及び b) 以下のアミノ酸配列：

10

20

30

40

50

GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPFRFISVGYVDDTQFVRFDSDAASPREEPRAPWIEQEGPEYWRNT
 QIYKAQAQTDRESLRNLRG CYNQSEAGSHTLQSMY GCDVGP DGRLLRGHDQYAYDGKDYIAL
 NEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAAREAEQRRAYLEGECEWLRRYLENGKDKLERADPPKTH
 VTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPCGDRTFQKWA AVVVP
 GEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:350)

に対して、少なくとも 60%、少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 90%、
 少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% のアミノ酸
 配列同一性を有するアミノ酸配列を含む HLA-B MHC クラス I 重鎖を含む第 2 のポリ
 ペプチド（アミノ酸 84 が Cys であり、アミノ酸 236 は Cys である）、及び c)
 少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチドを含み、第 1 及び／または第 2 のポリペプチドは、
 少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチドを含む。一部の例では、ペプチドリンカーは、
 アミノ酸配列 GCGGS (SEQ ID NO:318) を含む。一部の例では、ペプチド
 リンカーは、アミノ酸配列 GCGGS (GGGS) n (SEQ ID NO:342) を
 含み、配列中、n は、1～10 の整数である。一部の例では、β2M ポリペプチドは、R
 12C 置換を含む。例えば、β2M ポリペプチドには、以下のアミノ酸配列：
 IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDW SFYLL
 YYTEFTPEKDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDM (SEQ ID NO:314)

に対して、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%
 、または 100% のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含ませることができ、ア
 ミノ酸 12 は Cys である。少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチドは、標的 T 細胞に対
 して活性化／刺激効果を与えるか、または標的 T 細胞に対して抑制／阻害効果を与えるポ
 リペプチドであり得る。例えば、少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチドは、サイトカイン
 （例えば、IL2 ポリペプチド、IL7 ポリペプチド、IL12 ポリペプチド、IL15
 ポリペプチド、IL17 ポリペプチド、IL21 ポリペプチド、IL27 ポリペプチド
 、IL-23 ポリペプチド、TGFBβ ポリペプチドなどであり、全てのファミリーメンバ
 ー、例えば、IL17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E、
 IL-17F、IL-17E が含まれる）、4-1BBL ポリペプチド、ICOS-L ポ
 リペプチド、OX40L ポリペプチド、CD80 ポリペプチド、CD86 ポリペプチド
 （CD80 及び CD86 は、それぞれ B7-1 及び B7-2 としても知られる）、CD4
 0 ポリペプチド、CD70 ポリペプチド、JAG1 (CD339) ポリペプチド、ICA
 M (CD540 ポリペプチド、PD-L1 ポリペプチド、FasL ポリペプチド、PD-
 L2 ポリペプチド、PD-1H (VISTA) ポリペプチド、ICOS-L (CD275
) ポリペプチド、GITRL ポリペプチド、HVEM ポリペプチド、CXCL10 ポリペ
 プチド、CXCL9 ポリペプチド、CXCL11 ポリペプチド、CXCL13 ポリペプチ
 ド、及び CX3CL1 ポリペプチド、ガレクチン-9 ポリペプチド、CD83 ポリペプチ
 ド、CD30L ポリペプチド、HLA-G ポリペプチド、MICA ポリペプチド、MIC
 B ポリペプチド、HVEM (CD270) ポリペプチド、リンホトキシンβ 受容体ポリペ
 プチド、3/TR6 ポリペプチド、ILT3 ポリペプチド、ILT4 ポリペプチド、CX
 CL10 ポリペプチド、CXCL9 ポリペプチド、CXCL11 ポリペプチド、CXCL
 13 ポリペプチド、または CX3CL1 ポリペプチドであり得る。これらの免疫調節ポリ
 ペプチドは、野生型ポリペプチドまたは野生型ポリペプチドのバリエーション型であり得る。
 一部の例では、免疫調節ポリペプチドは、活性化（「刺激性」）免疫調節ポリペプチドで
 あり、例えば、免疫調節ポリペプチドは、T 細胞に対して活性化／刺激効果を生成し得る。
 活性化免疫調節ポリペプチドの例として、例えば、CD80、CD86、4-1BBL
 、OX40L、CD70、ICOS-L、CD40、ICAM (CD54)、IL2、IL
 7、IL12、IL15、IL17、IL21、IL27、IL23、GITRL、T
 GFβ、及びリンホトキシンβ 受容体が挙げられる。一部の例では、免疫調節ポリペプチ

ドは、阻害（「抑制性」）免疫調節ポリペプチドであり、例えば、免疫調節ポリペプチドは、T細胞に対して抑制／阻害効果を生成し得る。阻害免疫調節ポリペプチドの例として、例えば、PD-1H、PD-L1、PD-L2、TGFβ、FasL、HVEM、ガレクチン-9、ILT3、及びILT4が挙げられる。TGFβポリペプチドは、状況に応じて、活性化／刺激効果または抑制／阻害効果のいずれかを生成し得る。

一部の例では、本明細書の他の場所に記載のように、少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドは、親和性が低下したバリエーション型である。一部の例では、第1または第2のポリペプチドは、IgFcポリペプチドを含む。

【0137】

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合TMMPは、HLA-BクラスI重鎖ポリペプチドを含む。一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合TMMP（例えば、二重ジスルフィド結合TMMP）に存在するHLA-B重鎖ポリペプチドは、図8Aに示すHLA-B*0702、HLA-B*0801、HLA-B*1502、HLA-B*3802、HLA-B*4001、HLA-B*4601、またはHLA-B*5301アミノ酸配列に対して、少なくとも95%、少なくとも98%、または少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、HLA-B重鎖ポリペプチドはY84C及びA236C置換を含む。

【0138】

HLA-B*0702（Y84C、A236C）

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合TMMP（例えば、二重ジスルフィド結合TMMP）に存在するHLA-B重鎖ポリペプチドは、以下のHLA-B*0702（Y84C、A236C）アミノ酸配列：

GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFISVG YVDDTQFVRFDSDAASPREEPRAPWIEQE

GPEYWDRNTQIYKAQAQTDRESLRNLRGCYNQSEAGSHTLQSMYGCDVGPDRLLRGHDQYA
YDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGECEVWLRRLRYLENGKDKL
ERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPCGDRTFQK
WAAVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:350)

に対して、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸84はCysであり、アミノ酸236はCysである。

【0139】

HLA-B*0801（Y84C、A236C）

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合TMMP（例えば、二重ジスルフィド結合TMMP）に存在するHLA-B重鎖ポリペプチドは、以下のHLA-B*0801（Y84C、A236C）アミノ酸配列：

GSHSMRYFDTAMSRPGRGEPRFISVG YVDDTQFVRFDSDAASPREEPRAPWIEQE

GPEYWDRNTQIFKTNTQTDRESLRNLRGCYNQSEAGSHTLQSMYGCDVGPDRLLRGHNQYA
YDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAARVAEQDRAYLEGTCVEWLRRLRYLENGKDTL
ERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPCGDRTFQK
WAAVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:351)

に対して、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸84はCysであり、アミノ酸236はCysである。

【0140】

HLA-B*1502（Y84C、A236C）

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合TMMP（例えば、二重ジスルフィド結

合 T M M P) に存在する H L A - B 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - B * 1 5 0 2 (Y 8 4 C、A 2 3 6 C) アミノ酸配列：

GSHSMRYFYTAMSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDS DAASPRMAPRAPWIEQ

EGPEYWDRNTQISK T N T Q T Y R E S L R N L R G C Y N Q S E A G S H I I Q R M Y G C D V G P D G R L L R G Y D Q S A
Y D G K D Y I A L N E D L S S W T A A D T A A Q I T Q R K W E A A R E A E Q L R A Y L E G L C V E W L R R Y L E N G K E T L
Q R A D P P K T H V T H H P I S D H E A T L R C W A L G F Y P A E I T L T W Q R D G E D Q T Q D T E L V E T R P C G D R T F Q
K W A A V V V P S G E E Q R Y T C H V Q H E G L P K P L T L R W E (S E Q I D N O : 3 5 2)

に対して、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の
アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 8 4 は C y s であり、アミノ
酸 2 3 6 は C y s である。

【 0 1 4 1 】

H L A - B * 3 8 0 2 (Y 8 4 C、A 2 3 6 C)

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結
合 T M M P) に存在する H L A - B 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - B * 3 8 0 2 (Y 8 4 C、A 2 3 6 C) アミノ酸配列：

GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFISVG YVDDTQFVRFDS DAASPREEPRAPWIEQE

GPEYWDRNTQICK T N T Q T Y R E N L R T A L R C Y N Q S E A G S H T L Q R M Y G C D V G P D G R L L R G H N Q F A
Y D G K D Y I A L N E D L S S W T A A D T A A Q I T Q R K W E A A R V A E Q L R T Y L E G T C V E W L R R Y L E N G K E T L
Q R A D P P K T H V T H H P I S D H E A T L R C W A L G F Y P A E I T L T W Q R D G E D Q T Q D T E L V E T R P C G D R T F Q
K W A A V V V P S G E E Q R Y T C H V Q H E G L P K P L T L R W E (S E Q I D N O : 3 5 3)

に対して、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の
アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 8 4 は C y s であり、アミノ
酸 2 3 6 は C y s である。

【 0 1 4 2 】

H L A - B * 4 0 0 1 (Y 8 4 C、A 2 3 4 6 C)

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結
合 T M M P) に存在する H L A - B 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - B * 4 0 0 1 (Y 8 4 C、A 2 3 6 C) アミノ酸配列：

GSHSMRYFHTAMSRPGRGEPRFITVG YVDDTLFVRFDS DATSPRKEPRAPWIEQE

GPEYWDRETQISK T N T Q T Y R E S L R N L R G C Y N Q S E A G S H T L Q R M Y G C D V G P D G R L L R G H N Q Y A
Y D G K D Y I A L N E D L R S W T A A D T A A Q I S Q R K L E A A R V A E Q L R A Y L E G E C V E W L R R Y L E N G K D K L
E R A D P P K T H V T H H P I S D H E A T L R C W A L G F Y P A E I T L T W Q R D G E D Q T Q D T E L V E T R P C G D R T F Q K
W A A V V V P S G E E Q R Y T C H V Q H E G L P K P L T L R W E (S E Q I D N O : 3 5 4)

に対して、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の
アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 8 4 は C y s であり、アミノ
酸 2 3 6 は C y s である。

【 0 1 4 3 】

H L A - B * 4 6 0 1 (Y 8 4 C、A 2 3 6 C)

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結
合 T M M P) に存在する H L A - B 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - B * 4 6 0 1 (Y 8 4 C、A 2 3 6 C) アミノ酸配列：

10

20

30

40

50

GSHSMRYFYTAMSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASPRMAPRAPWIEQ
EGPEYWDRETQKYKRQAQTDRVSLRNLRGCYNQSEAGSHTLQRMYGCDVGP DGRLLRGHDQ
SAYDGKDYIALNEDLSSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQWRAYLEGLC VEWLRRYLENGKE
TLQRADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYP AEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPCGDRTF
QKWAAVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:355)

に対して、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の
アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 84 は C y s であり、アミノ
酸 236 は C y s である。

【0144】

H L A - B * 5 3 0 1 (Y 8 4 C 、 A 2 3 6 C)

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結
合 T M M P) に存在する H L A - B 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - B * 5 3 0 1 (
Y 8 4 C 、 A 2 3 6 C) アミノ酸配列：

GSHSMRYFYTAMSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASPRTEPRAPWIEQE
GPEYWDRNTQIFKTNTQTYRENLRALRCYNQSEAGSHIIQRMYGCDLGP DGRLLRGHDQSAY
DGKDYIALNEDLSSWTAADTAAQITQRKWEAARVAEQLRAYLEGLC VEWLRRYLENGKETLQ
RADPPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYP AEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPCGDRTFQK
WAAVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:356)

に対して、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の
アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 84 は C y s であり、アミノ
酸 236 は C y s である。

【0145】

H L A - C

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結
合 T M M P) は、a) i) ペプチド (例えば、ペプチドが M H C ポリペプチドと複合体を
形成する場合、T C R が結合する 4 アミノ酸～約 25 アミノ酸のペプチド) と、i i) 第
1 の M H C ポリペプチドとを含む第 1 のポリペプチド (第 1 のポリペプチドは、ペプチド
と第 1 の M H C ポリペプチドとの間にペプチドリinker を含み、ペプチドリinker は C y
s 残基を含み、第 1 の M H C ポリペプチドは、C y s 残基を導入するアミノ酸置換を含む
β 2 M ポリペプチドである)、及び b) 以下のアミノ酸配列：

C SHSMRYFDTA VSRPGRGEPRFISVG YVDDTQFVRFDSDAASPRGEPRAPWVEQEGPEYWDRE
TQNYKRQAQADRVSLRNLRGCYNQSE DGSHTLQRMYGCDLGP DGRLLRGYDQSA YDYGKDYI
ALNEDLRSWTAADTAAQITQRKLEAARAAEQLRAYLEGTC VEWLRRYLENGKETLQRAEPPKT
HVTHHPLSDHEATLRCWALGFYP AEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPCGDGTFQKWAAVVV
PSGQEQRYTCHMQHEGLQEPLTSLWEP (SEQ ID NO:357)

に対して、少なくとも 60%、少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 90%
、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% のアミノ酸
配列同一性を有するアミノ酸配列を含む H L A - C M H C クラス I 重鎖を含む第 2 のポ
リペプチド (アミノ酸 84 が C y s であり、アミノ酸 236 は C y s である)、及び c)
少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチドを含み、第 1 及び／または第 2 のポリペプチドは
、少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチドを含む。一部の例では、ペプチドリinker は、
アミノ酸配列 G C G G S (S E Q I D N O : 3 1 8) を含む。一部の例では、ペプチドリinker は、
アミノ酸配列 G C G G S (G G G G S) n (S E Q I D N O : 3 4 2) を
含み、配列中、n は、1～10 の整数である。一部の例では、β 2 M ポリペプチドは、R

12C置換を含む。例えば、β2Mポリペプチドには、以下のアミノ酸配列：

IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSEFYLL

YYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDM (SEQ ID NO:314)

に対して、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含ませることができ、アミノ酸12はCysである。少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドは、標的T細胞に対して活性化／刺激効果を与えるか、または標的T細胞に対して抑制／阻害効果を与えるポリペプチドであり得る。例えば、少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドは、サイトカイン（例えば、IL2ポリペプチド、IL7ポリペプチド、IL12ポリペプチド、IL15ポリペプチド、IL17ポリペプチド、IL21ポリペプチド、IL27ポリペプチド、IL-23ポリペプチド、TGFβポリペプチドなどであり、全てのファミリーメンバー、例えば、IL17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E、IL-17F、IL-17Eが含まれる）、4-1BBLポリペプチド、ICOS-Lポリペプチド、OX40Lポリペプチド、CD80ポリペプチド、CD86ポリペプチド（CD80及びCD86は、それぞれB7-1及びB7-2としても知られる）、CD40ポリペプチド、CD70ポリペプチド、JAG1（CD339）ポリペプチド、ICAM（CD540ポリペプチド、PD-L1ポリペプチド、FasLポリペプチド、PD-L2ポリペプチド、PD-1H（VISTA）ポリペプチド、ICOS-L（CD275）ポリペプチド、GITRLポリペプチド、HVEMポリペプチド、CXCL10ポリペプチド、CXCL9ポリペプチド、CXCL11ポリペプチド、CXCL13ポリペプチド、及びCX3CL1ポリペプチド、ガレクチン-9ポリペプチド、CD83ポリペプチド、CD30Lポリペプチド、HLA-Gポリペプチド、MICAポリペプチド、MICBポリペプチド、HVEM（CD270）ポリペプチド、リンホトキシンβ受容体ポリペプチド、3/TR6ポリペプチド、ILT3ポリペプチド、ILT4ポリペプチド、CXCL10ポリペプチド、CXCL9ポリペプチド、CXCL11ポリペプチド、CXCL13ポリペプチド、またはCX3CL1ポリペプチドであり得る。これらの免疫調節ポリペプチドは、野生型ポリペプチドまたは野生型ポリペプチドのバリエーション型であり得る。一部の例では、免疫調節ポリペプチドは、活性化（「刺激性」）免疫調節ポリペプチドであり、例えば、免疫調節ポリペプチドは、T細胞に対して活性化／刺激効果を生成し得る。活性化免疫調節ポリペプチドの例として、例えば、CD80、CD86、4-1BBL、OX40L、CD70、ICOS-L、CD40、ICAM（CD54）、IL2、IL7、IL12、IL15、IL17、IL21、IL27、IL23、GITRL、TGFβ、及びリンホトキシンβ受容体が挙げられる。一部の例では、免疫調節ポリペプチドは、阻害（「抑制性」）免疫調節ポリペプチドであり、例えば、免疫調節ポリペプチドは、T細胞に対して抑制／阻害効果を生成し得る。阻害免疫調節ポリペプチドの例として、例えば、PD-1H、PD-L1、PD-L2、TGFβ、FasL、HVEM、ガレクチン-9、ILT3、及びILT4が挙げられる。TGFβポリペプチドは、状況に応じて、活性化／刺激効果または抑制／阻害効果のいずれかを生成し得る。一部の例では、本明細書の他の場所に記載のように、少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドは、親和性が低下したバリエーション型である。一部の例では、第1または第2のポリペプチドは、IgFcポリペプチドを含む。

【0146】

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合TMMP（例えば、二重ジスルフィド結合TMMP）は、HLA-CクラスI重鎖ポリペプチドを含む。一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合TMMP（例えば、二重ジスルフィド結合TMMP）に存在するHLA-C重鎖ポリペプチドは、図9Aに示すHLA-C*0102、HLA-C*0303、HLA-C*0304、HLA-C*0401、HLA-C*0602、HLA-C*0701、HLA-C*0702、HLA-C*0801、またはHLA-C*1502アミノ酸配列に対して、少なくとも95%、少なくとも98%、または少なくとも99%の

アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、H L A - C 重鎖ポリペプチドは、Y 8 4 C 及び A 2 3 6 C 置換を含む。

【0147】

H L A - C * 0 1 : 0 2 (Y 8 4 C 、 A 2 3 6 C)

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結合 T M M P) に存在する H L A - C 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - C * 0 1 : 0 2 (Y 8 4 C 、 A 2 3 6 C) アミノ酸配列：

CSHSMKYFFTSVSRPGRGEPFRFISVG YVDDTQFVRFDSDAASPRGEPRAPWVEQE

GPEYWDRETQKYKRQAQTDRVSLRNLRGCYNQSEAGSHTLQWMCGCDLGPDRLLRGYDQY

AYDGKD YIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGT C VEWLRRYLENGKET

LQRAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQTQDTEL VETRPCGDGTF

QKWA AVMVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWEP (SEQ ID NO:358)

10

に対して、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 8 4 は C y s であり、アミノ酸 2 3 6 は C y s である。

【0148】

H L A - C * 0 3 0 3 (Y 8 4 C 、 A 2 3 6 C)

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結合 T M M P) に存在する H L A - C 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - C * 0 3 : 0 3 (Y 8 4 C 、 A 2 3 6 C) アミノ酸配列：

GSHSMRYFYTA VSRPGRGEPHFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASPRGEPRAPWVEQ

EGPEYWDRETQKYKRQAQTDRVSLRNLRGCYNQSEARSHIQRMYGCDVGPDRLLRGYDQY

AYDGKD YIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQLRAYLEGLC VEWLRRYLKNGKET

LQRAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQTQDTEL VETRPCGDGTF

QKWA A V V V P S G E E Q R Y T C H V Q H E G L P E P L T L R W E P (SEQ ID NO:359)

20

に対して、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 8 4 は C y s であり、アミノ酸 2 3 6 は C y s である。

【0149】

H L A - C * 0 3 0 4 (Y 8 4 C 、 A 2 3 6 C)

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結合 T M M P) に存在する H L A - C 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - C * 0 3 : 0 4 (Y 8 4 C 、 A 2 3 6 C) アミノ酸配列：

GSHSMRYFYTA VSRPGRGEPHFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASPRGEPRAPWVEQ

EGPEYWDRETQKYKRQAQTDRVSLRNLRGCYNQSEAGSHIQRMYGCDVGPDRLLRGYDQY

AYDGKD YIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQLRAYLEGLC VEWLRRYLKNGKET

LQRAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQTQDTEL VETRPCGDGTF

QKWA A V V V P S G E E Q R Y T C H V Q H E G L P E P L T L R W E P (SEQ ID NO:360)

30

40

に対して、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 8 4 は C y s であり、アミノ酸 2 3 6 は C y s である。

【0150】

H L A - C * 0 4 0 1 (Y 8 4 C 、 A 2 3 6 C)

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結

50

合 T M M P) に存在する H L A - C 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - C * 0 4 : 0 1 (Y 8 4 C 、 A 2 3 6 C) アミノ酸配列：

GSHSMRYFSTSVSWPGRGEPRIA VGYVDDTQFVRFDSDAASPRGEPREPWVEQ
EGPEYWDRETQKYKRQAQADRVNLRKLRGCYNQSEDGSHTLQRMFGCDLGPDRLLRGYNQ
FAYDYGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGTCVEWLRRLRYLENGKE
TLQRAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQTQDTEL VETRPCGDGT
FQKWA A V V V P S G E E Q R Y T C H V Q H E G L P E P L T L R W K P (SEQ ID NO:361)

に対して、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 8 4 は C y s であり、アミノ酸 2 3 6 は C y s である。

【 0 1 5 1 】

H L A - C * 0 6 0 2 (Y 8 4 C 、 A 2 3 6 C)

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結合 T M M P) に存在する H L A - C 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - C * 0 6 : 0 2 (Y 8 4 C 、 A 2 3 6 C) アミノ酸配列：

CSHSMRYFDTAVSRPGRGEPRI S V G Y V D D T Q F V R F D S D A A S P R G E P R A P W V E Q
EGPEYWDRETQKYKRQAQADRVNLRKLRGCYNQSEDGSHTLQWMYGCDLGPDRLLRGYD
QSAYDYGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQWRAYLEGTCVEWLRRLRYLENG
KETLQRAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPCGD
GTFQKWA A V V V P S G E E Q R Y T C H V Q H E G L P E P L T L R W E P (SEQ ID NO:362)

に対して、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 8 4 は C y s であり、アミノ酸 2 3 6 は C y s である。

【 0 1 5 2 】

H L A - C * 0 7 0 1 (Y 8 4 C 、 A 2 3 6 C)

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結合 T M M P) に存在する H L A - C 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - C * 0 7 : 0 1 (Y 8 4 C 、 A 2 3 6 C) アミノ酸配列：

CSHSMRYFDTAVSRPGRGEPRI S V G Y V D D T Q F V R F D S D A A S P R G E P R A P W V E Q
EGPEYWDRETQNYKRQAQADRVSLRNLRGCYNQSEDGSHTLQRMYGCDLGPDRLLRGYDQ
SAYDYGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKLEAARAAEQRLAYLEGTCVEWLRRLRYLENGKE
TLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPCGDGT
FQKWA A V V V P S G Q E Q R Y T C H M Q H E G L Q E P L T L S W E P (SEQ ID NO:357)

に対して、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 8 4 は C y s であり、アミノ酸 2 3 6 は C y s である。

【 0 1 5 3 】

H L A - C * 0 7 0 2 (Y 8 4 C 、 A 2 3 6 C)

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結合 T M M P) に存在する H L A - C 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - C * 0 7 : 0 2 (Y 8 4 C 、 A 2 3 6 C) アミノ酸配列：

10

20

30

40

50

CSHSMRYFDTAVSRPGRGEPFISVGYVDDTQFVRFDSDAASPRGEPRAPWVEQ
EGPEYWDRETQKYKRQAQADRVSLRNLRGYCYNQSEDGSHTLQRMSCDLGPDGRLLRGYDQS
AYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKLEAARAAEQLRAYLEGTCVEWLRRLRYLENGKET
LQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPGDGT
QKWA AVVVPSGQE QRYTCHMQHEGLQEPLTSLWEP (SEQ ID NO:404)

に対して、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の
アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 84 は C y s であり、アミノ
酸 236 は C y s である。

【0154】

H L A - C * 0 8 0 1 (Y 8 4 C、A 2 3 6 C)

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結
合 T M M P) に存在する H L A - C 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - C * 0 8 : 0 1
(Y 8 4 C、A 2 3 6 C) アミノ酸配列:

CSHSMRYFYTA VSRPGRGEPFIAVG YVDDTQFVQFDSDAASPRGEPRAPWVEQ
EGPEYWDRETQKYKRQAQTDRVSLRNLRGYCYNQSEAGSHTLQRMYGCDLGPDRLLRGYNQ
FAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAARTAEQLRAYLEGTCVEWLRRLRYLENGKK
TLQRAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPGDGT
FQKWA AVVVPSGEE QRYTCHVQHEGLPEPLTLRWGP (SEQ ID NO:363)

に対して、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の
アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 84 は C y s であり、アミノ
酸 236 は C y s である。

【0155】

H L A - C * 1 5 0 2 (Y 8 4 C、A 2 3 6 C)

一部の例では、本開示の多重ジスルフィド結合 T M M P (例えば、二重ジスルフィド結
合 T M M P) に存在する H L A - C 重鎖ポリペプチドは、以下の H L A - C * 1 5 : 0 2
(Y 8 4 C、A 2 3 6 C) アミノ酸配列:

CSHSMRYFYTA VSRPGRGEPHFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASPRGEPRAPWVEQ
EGPEYWDRETQNYKRQAQTDRVNLRLKLRGCYNQSEAGSHIIQRMYGCDLGPDRLLRGHDQL
AYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQLRAYLEGTCVEWLRRLRYLENGKET
LQRAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPGDGT
QKWA AVVVPSGEE QRYTCHVQHEGLPEPLTLRWEP (SEQ ID NO:364)

に対して、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の
アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、アミノ酸 84 は C y s であり、アミノ
酸 236 は C y s である。

【0156】

スキャフォールドポリペプチド

T M M P には、F c ポリペプチドを含ませることができ、または別の好適なスキャフォ
ールドポリペプチドを含ませることができる。

【0157】

好適なスキャフォールドポリペプチドとしては、抗体ベーススキャフォールドポリペプ
チド及び非抗体ベーススキャフォールドが挙げられる。非抗体ベーススキャフォールドと
しては、例えば、アルブミン、X T E N (伸長組換え) ポリペプチド、トランスフェリン
、F c 受容体ポリペプチド、エラスチン様ポリペプチド (例えば、H a s s o u n e h
e t a l. (2012) Methods Enzymol. 502:215を参照のこと

10

20

30

40

50

。例えば、(Val-Pro-Gly-X-Gly, SEQ ID NO: 59) (式中、Xは、プロリン以外の任意のアミノ酸)のペントペプチド繰り返し単位を含むポリペプチド)、アルブミン結合ポリペプチド、シルク様ポリペプチド(例えば、Valuzzi et al. (2002) Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 357: 165を参照のこと)、シルク-エラスチン様ポリペプチド(SELPE、例えば、Megeed et al. (2002) Adv Drug Deliv Rev. 54: 1075を参照のこと)などが挙げられる。好適なXTENポリペプチドとしては、例えば、WO2009/023270、WO2010/091122、WO2007/103515、US2010/0189682、及びUS2009/0092582に開示されているXTENポリペプチドが挙げられるが、Schellenberger et al. (2009) Nat Biotechnol. 27: 1186もまた参照されたい。好適なアルブミンポリペプチドとしては、例えば、ヒト血清アルブミンが挙げられる。

10

【0158】

好適なスカフォールドポリペプチドは、一部の例では、半減期延長ポリペプチドである。それゆえ、一部の例では、好適なスカフォールドポリペプチドは、スカフォールドポリペプチドを欠く対照TMMPと比較して、TMMPのインビボ半減期(例えば、血清中半減期)を延長する。例えば、一部の例では、スカフォールドポリペプチドは、スカフォールドポリペプチドを欠く対照TMMPと比較して、TMMPのインビボ半減期(例えば、血清中半減期)を、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約50%、少なくとも約2倍、少なくとも約2.5倍、少なくとも約5倍、少なくとも約10倍、少なくとも約25倍、少なくとも約50倍、少なくとも約100倍、または、100倍超延長する。1つの例として、一部の例では、Fcポリペプチドは、Fcポリペプチドを欠く対照TMMPと比較して、TMMPのインビボ半減期(例えば、血清中半減期)を、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約50%、少なくとも約2倍、少なくとも約2.5倍、少なくとも約5倍、少なくとも約10倍、少なくとも約25倍、少なくとも約50倍、少なくとも約100倍、または、100倍超延長する。

20

【0159】

Fcポリペプチド

一部の例では、本開示のTMMPの第1及び/または第2のポリペプチド鎖はFcポリペプチドを含む。本開示のTMMPのFcポリペプチドは、ヒトIgG1 Fc、ヒトIgG2 Fc、ヒトIgG3 Fc、ヒトIgG4 Fcなどであってもよい。一部の例では、Fcポリペプチドは、図3A~図3Gに記載のFc領域のアミノ酸配列に対して、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または、100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、Fc領域は、図3Aに記載のヒトIgG1 Fcポリペプチドに対して、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または、100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、Fc領域は、図3Aに記載のヒトIgG1 Fcポリペプチドに対して、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または、100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、N77の置換を含み、例えば、FcポリペプチドはN77A置換を含む。一部の例では、Fcポリペプチドは、図3Aに記載のヒトIgG2 Fcポリペプチドに対して、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または、100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、例えば、Fcポリペプチドは、図3Aに記載のヒトIgG2 Fcポリペプチド

30

40

50

のアミノ酸 99～325 に対して、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または、100% のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、Fc ポリペプチドは、図 3 A に記載の ヒト Ig G3 Fc ポリペプチドに対して、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または、100% のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、Fc ポリペプチドは、図 3 A に記載の ヒト Ig G3 Fc ポリペプチドのアミノ酸 19～246 に対して、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または、100% のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、Fc ポリペプチドは、図 3 B に記載の ヒト Ig M Fc ポリペプチドに対して、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または、100% のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、Fc ポリペプチドは、図 3 B に記載の ヒト Ig M Fc ポリペプチドのアミノ酸 1～276 に対して、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または、100% のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、Fc ポリペプチドは、図 3 C に記載の ヒト Ig A Fc ポリペプチドに対して、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または、100% のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、Fc ポリペプチドは、図 3 C に記載の ヒト Ig A Fc ポリペプチドのアミノ酸 1～234 に対して、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または、100% のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0160】

一部の例では、Fc ポリペプチドは、図 3 C に示す ヒト Ig G4 Fc ポリペプチドに対して、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または 100% のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、Fc ポリペプチドは、図 3 C に示す ヒト Ig G4 Fc ポリペプチドのアミノ酸 100～327 に対して、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または 100% のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0161】

一部の例では、Ig G4 Fc ポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：
PPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS
RWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:365)

を含む。

【0162】

一部の例では、TMMP 内に存在する Fc ポリペプチドは、図 3 A に記載のアミノ酸配列 (ヒト Ig G1 Fc) を含む。一部の例では、TMMP 内に存在する Fc ポリペプチドは、アスパラギン以外のアミノ酸での N297 (図 3 A に示すアミノ酸配列の N77)

の置換を除く、図3Aに記載のアミノ酸配列（ヒトIgG1Fc）を含む。一部の例では、TMMP内に存在するFcポリペプチドは、図3Cに記載のアミノ酸配列（N297A置換（図3Aに示すアミノ酸配列のN77）を含むヒトIgG1Fc）を含む。一部の例では、TMMP内に存在するFcポリペプチドは、ロイシン以外のアミノ酸でのL234（図3Aに示すアミノ酸配列のL14）の置換を除く、図3Aに記載のアミノ酸配列（ヒトIgG1Fc）を含む。一部の例では、TMMP内に存在するFcポリペプチドは、ロイシン以外のアミノ酸でのL235（図3Aに示すアミノ酸配列のL15）の置換を除く、図3Aに記載のアミノ酸配列（ヒトIgG1Fc）を含む。

【0163】

一部の例では、TMMP内に存在するFcポリペプチドは、図3Eに記載のアミノ酸配列を含む。一部の例では、TMMP内に存在するFcポリペプチドは、図3Fに記載のアミノ酸配列を含む。一部の例では、TMMP内に存在するFcポリペプチドは、図3Gに記載のアミノ酸配列（図3Gに示すアミノ酸配列の14位及び15位に対応するL234A置換とL235A置換を含むヒトIgG1Fc）を含む。一部の例では、TMMP内に存在するFcポリペプチドは、プロリン以外のアミノ酸でのP331（図3Aに示すアミノ酸配列のP111）の置換を除く、図3Aに記載のアミノ酸配列（ヒトIgG1Fc）を含み、一部の例では、置換はP331S置換である。一部の例では、TMMP内に存在するFcポリペプチドは、ロイシン以外のアミノ酸でのL234とL235（図3Aに示すアミノ酸配列のL14及びL15）の置換を除く、図3Aに記載のアミノ酸配列（ヒトIgG1Fc）を含む。一部の例では、TMMP内に存在するFcポリペプチドは、ロイシン以外のアミノ酸でのL234とL235（図3Aに示すアミノ酸配列のL14及びL15）の置換、及び、プロリン以外のアミノ酸でのP331（図3Aに示すアミノ酸配列のP111）の置換を除く、図3Aに記載のアミノ酸配列（ヒトIgG1Fc）を含む。一部の例では、TMMP内に存在するFcポリペプチドは、図3Eに記載のアミノ酸配列（図3Eに示すアミノ酸配列のアミノ酸14位、15位、及び111位に対応するL234F置換、L235E置換とP331S置換を含むヒトIgG1Fc）を含む。一部の例では、TMMP内に存在するFcポリペプチドは、図3Gに示すように、L234A置換とL235A置換（図3Aに示すアミノ酸配列のL14及びL15のAlaへの置換）を含むIgG1Fcポリペプチドである。

【0164】

リンカー

本開示のTMMPは1つ以上のリンカーを含んでいてもよく、1つ以上のリンカーは、i) MHCクラスIポリペプチドとIgFcポリペプチドの間（このようなリンカーは本明細書では「L1」と呼ぶ）、ii) 免疫調節ポリペプチドとMHCクラスIポリペプチドの間（このようなリンカーは本明細書では「L2」と呼ぶ）、iii) 第1の免疫調節ポリペプチドと第2の免疫調節ポリペプチドの間（このようなリンカーは本明細書では「L3」と呼ぶ）、iv) ペプチド抗原（「エピトープ」）とMHCクラスIポリペプチドの間、v) MHCクラスIポリペプチドと二量体化ポリペプチド（例えば、二量体化ペアの第1または第2のメンバー）の間、及び、vi) 二量体化ポリペプチド（例えば、二量体化ペアの第1または第2のメンバー）とIgFcポリペプチドの間、のうちの1つ以上にある。

【0165】

好適なリンカー（「スペーサー」とも呼ばれる）は、容易に選択することができ、多数の好適な長さ、例えば、4アミノ酸～10アミノ酸、5アミノ酸～9アミノ酸、6アミノ酸～8アミノ酸、または、7アミノ酸～8アミノ酸を含む、1アミノ酸～25アミノ酸、3アミノ酸～20アミノ酸、2アミノ酸～15アミノ酸、3アミノ酸～12アミノ酸などのいずれかであってもよい。好適なリンカーは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または25アミノ酸長であってもよい。一部の例では、リンカーは、25アミノ酸～50アミノ酸の長さ、例えば、25～30、30～35、35～40、40～45

、または、45～50アミノ酸長を有する。

【0166】

例示的なリンカーとしては、グリシンポリマー (G_n)、グリシン-セリンポリマー (例えば、 $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ (SEQ ID NO: 366)、及び $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO: 367) を含み、 n は、少なくとも1の整数である)、グリシン-アラニンポリマー、アラニン-セリンポリマー、及び、当該技術分野において周知のその他フレキシブルリンカーが挙げられる。グリシンポリマー及びグリシン-セリンポリマーを使用してもよく、GlyとSerの両方は比較的自由であるため、構成要素間の中間テザーとして機能することができる。グリシンポリマーを使用してもよく、グリシンは、アラニンよりもさらに相当φ-ψ空間に接近し、より長い側鎖を有する残基と比べはるかに制限を受けない (Scheraga, Rev. Computational Chem. 11173-142 (1992) を参照されたい)。例示的なリンカーは、

GGSG (SEQ ID NO:368), GSGG

(SEQ ID NO:369), GSGSG (SEQ ID NO:370), GSGGG (SEQ ID NO:371), GGGSG (SEQ ID NO:372),

GSSSG (SEQ ID NO:373)

などを含むがこれらに限定されないアミノ酸配列を含んでいてもよい。例示的なリンカーとしては、例えば、 $Gly(Ser_4)_n$ (SEQ ID NO: 374) (n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10である) を挙げてもよい。一部の例では、リンカーは、アミノ酸配列 $(GSSSS)_n$ (SEQ ID NO: 375) (n は4である) を含む。一部の例では、リンカーは、アミノ酸配列 $(GSSSS)_n$ (SEQ ID NO: 376) (n は5である) を含む。一部の例では、リンカーは、アミノ酸配列 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO: 377) (n は1である) を含む。一部の例では、リンカーは、アミノ酸配列 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO: 378) (n は2である) を含む。一部の例では、リンカーは、アミノ酸配列 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO: 379) (n は3である) を含む。一部の例では、リンカーは、アミノ酸配列 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO: 380) (n は4である) を含む。一部の例では、リンカーは、アミノ酸配列 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO: 381) (n は5である) を含む。一部の例では、リンカーは、アミノ酸配列 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO: 382) (n は6である) を含む。一部の例では、リンカーは、アミノ酸配列 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO: 383) (n は7である) を含む。一部の例では、リンカーは、アミノ酸配列 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO: 384) (n は8である) を含む。一部の例では、リンカーは、アミノ酸配列 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO: 385) (n は9である) を含む。一部の例では、リンカーは、アミノ酸配列 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO: 386) (n は10である) を含む。一部の例では、リンカーはアミノ酸配列 AAAGG (SEQ ID NO: 387) を含む。

【0167】

一部の例では、本開示のTMMPの第1のポリペプチド内に存在するリンカーポリペプチドは、本開示のTMMPの第2のポリペプチド内に存在するシステイン残基とジスルフィド結合を形成し得るシステイン残基を含む。一部の例では、例えば、好適なリンカーは、アミノ酸配列

GCGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:317)

を含む。別の例では、好適なリンカーは、アミノ酸配列 $GCGGS(G_4S)_n$ (SEQ ID NO: 315) (n は、1、2、3、4、5、6、7、8、または9である) を含んでいてもよい。例えば、一部の例では、リンカーはアミノ酸配列 GCGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:316)

を含む。別の例では、リンカーはアミノ酸配列

GCGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:317)

を含む。

【0168】

エピトープ

本開示のTMMPは、様々なペプチドエピトープのいずれかを含む。TMMPは、MHC／ペプチド複合体（例えば、HLA／ペプチド複合体）内にある場合、T細胞に対するエピトープを提示するペプチドを含む。本開示のTMMPに存在し、MHC／ペプチド複合体（例えば、HLA／ペプチド複合体）内にある場合、T細胞に対するエピトープを提示するペプチドは、本明細書中では「ペプチドエピトープ」または単に「エピトープ」と呼ばれる。

10

【0169】

本開示のTMMP内に存在するエピトープは、約4アミノ酸～約25アミノ酸の長さを有し得、例えば、エピトープは、4アミノ酸（aa）～10aa、10aa～15aa、15aa～20aa、または、20aa～25aaの長さを有し得る。例えば、本開示のTMMP内に存在するエピトープは、4アミノ酸（aa）、5aa、6aa、7aa、8aa、9aa、10aa、11aa、12aa、13aa、14aa、15aa、16aa、17aa、18aa、19aa、20aa、21aa、22aa、23aa、24aa、または25aaの長さを有し得る。一部の例では、本開示のTMMP内に存在するエピトープは、5アミノ酸～10アミノ酸、例えば、5aa、6aa、7aa、8aa、9aa、または10aaの長さを有する。

20

【0170】

本開示のTMMPに存在するエピトープは、T細胞によって特異的に結合されるペプチドであり、すなわち、このエピトープには、エピトープ特異的T細胞が特異的に結合する。エピトープ特異的T細胞は、参照アミノ酸配列を有するエピトープに結合するが、参照アミノ酸配列とは異なるエピトープには実質的に結合しない。例えば、エピトープ特異的T細胞は、参照アミノ酸配列を有するエピトープに結合し、参照アミノ酸配列とは異なるエピトープに対しては、結合する場合でも、 10^{-6} M未満、 10^{-5} M未満、または 10^{-4} M未満の親和性で結合する。エピトープ特異的T細胞は、特異的なエピトープに対しては、少なくとも 10^{-7} M、少なくとも 10^{-8} M、少なくとも 10^{-9} M、または少なくとも 10^{-10} Mの親和性で結合することができる。

30

【0171】

適切なエピトープには、がん関連抗原に存在するエピトープが含まれるが、これらに限定されない。がん関連抗原は当技術分野で公知であり；例えば、Cheever et al. (2009) Clin. Cancer Res. 15:5323を参照されたい。がん関連抗原として、 α -葉酸受容体；炭酸脱水酵素IX（CAIX）；CD19；CD20；CD22；CD30；CD33；CD44v7／8；がん胎児性抗原（CEA）；上皮糖タンパク質-2（EGP-2）；上皮糖タンパク質-40（EGP-40）；葉酸結合タンパク質（FBP）；胎児アセチルコリン受容体；ガングリオシド抗原GD2；Her2／neu；IL-13R- α 2； κ 軽鎖；LeY；L1細胞接着分子；メラノーマ関連抗原（MAGE）；MAGE-A1；メソテリン；MUC1；NKG2Dリガンド；がん胎児性抗原（h5T4）；前立腺幹細胞抗原（PSCA）；前立腺特異的膜抗原（PSMA）；腫瘍関連糖タンパク質-72（TAG-72）；血管内皮成長因子受容体-2（VEGF-R2）（例えば、Vigneron et al. (2013) Cancer Immunity 13:15；及びVigneron (2015) BioMed Res. Int'l Article ID 948501を参照されたい）；ならびに上皮成長因子受容体（EGFR）vIIIポリペプチド（例えば、Wong et al. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:2965；及びMiao et al. (2014) PLoS One 9:e94281を参照されたい）が挙げられるが、これらに限定されない。

40

50

【0172】

いくつかの場合では、適切なペプチドエピトープは、約4アミノ酸～約20アミノ酸（例えば、4アミノ酸（aa）、5aa、6aa、7aa、8aa、9aa、10aa、11aa、12aa、13aa、14aa、15aa、16aa、17aa、18aa、19aa、または20aa））のペプチド断片である。MUC1ポリペプチド、LMP2ポリペプチド、上皮成長因子受容体（EGFR）vIIIポリペプチド、HER-2/neuポリペプチド、メラノーマ抗原ファミリーA、3（MAGE A3）ポリペプチド、p53ポリペプチド、変異型p53ポリペプチド、NY-ESO-1ポリペプチド、葉酸ヒドロラーゼ（前立腺特異的膜抗原；PSMA）ポリペプチド、がん胚性抗原（CEA）ポリペプチド、T細胞が認識するメラノーマ抗原（melanA/MART1）ポリペプチド、Rasポリペプチド、gp100ポリペプチド、プロテイナーゼ3（PR1）ポリペプチド、bcr-ablポリペプチド、チロシナーゼポリペプチド、サバイビンポリペプチド、前立腺特異的抗原（PSA）ポリペプチド、hTERTポリペプチド、肉腫転座切断点ポリペプチド、滑膜肉腫X（SSX）切断点ポリペプチド、EphA2ポリペプチド、酸性ホスファターゼ、前立腺（PAP）ポリペプチド、メラノーマアポトーシス阻害（ML-IAP）ポリペプチド、上皮細胞接着分子（EPCAM）ポリペプチド、ERG（TMPRSS2 ETS融合）ポリペプチド、NA17ポリペプチド、ペアボックス-3（PAX3）ポリペプチド、未分化リンパ腫キナーゼ（ALK）ポリペプチド、アンドロゲン受容体ポリペプチド、サイクリンB1ポリペプチド、N-mycがん原遺伝子（MYCN）ポリペプチド、Rasホモログ遺伝子ファミリーメンバーC（RhoC）ポリペプチド、チロシナーゼ関連タンパク質-2（TRP-2）ポリペプチド、メソセリンポリペプチド、前立腺幹細胞抗原（PSCA）ポリペプチド、メラノーマ関連抗原-1（MAGE A1）ポリペプチド、チトクロームP4501B1（CYP1B1）ポリペプチド、胎盤特異的タンパク質1（PLAC1）ポリペプチド、BORISポリペプチド（CCC TC結合因子またはCTCFとしても知られる）、ETV6-AMLポリペプチド、乳癌抗原NY-BR-1ポリペプチド（アンキリンリピートドメイン含有タンパク質30Aとも呼ばれる）、Gタンパク質シグナル伝達調節（RGS5）ポリペプチド、T細胞が認識する扁平上皮癌抗原（SART3）ポリペプチド、炭酸脱水酵素IXポリペプチド、ペアボックス5（PAX5）ポリペプチド、OY-TES1（精巣抗原；アクロシン結合タンパク質としても知られる）ポリペプチド、精子タンパク質17ポリペプチド、リンパ球細胞特異的タンパク質-チロシンキナーゼ（LCK）ポリペプチド、高分子量メラノーマ関連抗原（HMW-MAA）、A-キナーゼアンカータンパク質-4（AKAP-4）、滑膜肉腫X切断点2（SSX2）ポリペプチド、X抗原ファミリーメンバー1（XAGE1）ポリペプチド、B7ホモログ3（B7H3；CD276としても知られる）ポリペプチド、レグマインポリペプチド（LGMN1；アスパラギニルエンドペプチダーゼとしても知られる）、Ig及びEGF相同性ドメインを有するチロシンキナーゼ-2（Tie-2；アンジオポイエチン-1受容体としても知られる）ポリペプチド、P抗原ファミリーメンバー4（PAGE4）ポリペプチド、血管内皮成長因子受容体2（VEGF2）ポリペプチド、MAD-CT-1ポリペプチド、線維芽細胞活性化タンパク質（FAP）ポリペプチド、血小板由来成長因子受容体β（PDGFβ）ポリペプチド、MAD-CT-2ポリペプチド、またはFos関連抗原-1（FOSL）ポリペプチド。一部の例では、ヒトパピローマウイルス（HPV）抗原が特異的に除外される。一部の例では、α-フェトプロテイン（AFP）抗原が特異的に除外される。一部の例では、ウィルムス腫瘍-1（WT1）抗原が特異的に除外される。

【0173】

がん関連抗原のアミノ酸配列は当技術分野で公知であり；例えば、MUC1（GenBank CAA56734）；LMP2（GenBank CAA47024）；EGFRvIII（GenBank NP_001333870）；HER-2/neu（GenBank AAI67147）；MAGE-A3（GenBank AAH11744）；p53（GenBank BAC16799）；NY-ESO-1（GenBank CA

10

20

30

40

50

A05908) ; PSMA (GenBank AAH25672) ; CEA (GenBank AAA51967) ; melan/MART1 (GenBank NP_005502) ; Ras (GenBank NP_001123914) ; gp100 (GenBank AAC60634) ; bcr-abl (GenBank AAB60388) ; チロシナーゼ (GenBank AAB60319) ; サバイピン (GenBank AAC51660) ; PSA (GenBank CAD54617) ; hTERT (GenBank BAC11010) ; SSX (GenBank NP_001265620) ; Eph2A (GenBank NP_004422) ; PAP (GenBank AAH16344) ; ML-IAP (GenBank AAH14475) ; EpCAM (GenBank NP_002345) ; ERG (TMPRSS2 ETS融合体) (GenBank ACA81385) ; PAX3 (GenBank AAI01301) ; ALK (GenBank NP_004295) ; アンドロゲン受容体 (GenBank NP_000035) ; サイクリンB1 (GenBank CAO99273) ; MYCN (GenBank NP_001280157) ; RhoC (GenBank AAH52808) ; TRP-2 (GenBank AAC60627) ; メソセリン (GenBank AAH09272) ; PSCA (GenBank AAH65183) ; MAGE A1 (GenBank NP_004979) ; CYP1B1 (GenBank AAM50512) ; PLAC1 (GenBank AAG22596) ; BORIS (GenBank NP_001255969) ; ETV6 (GenBank NP_001978) ; NY-BR1 (GenBank NP_443723) ; SART3 (GenBank NP_055521) ; 炭酸脱水酵素IX (GenBank EAW58359) ; PAX5 (GenBank NP_057953) ; OY-TES1 (GenBank NP_115878) ; 精子タンパク質17 (GenBank AAK20878) ; LCK (GenBank NP_001036236) ; HMW-MAA (GenBank NP_001888) ; AKAP-4 (GenBank NP_003877) ; SSX2 (GenBank CAA60111) ; XAGE1 (GenBank NP_001091073 ; XP_001125834 ; XP_001125856 ; 及びXP_001125872) ; B7H3 (GenBank NP_001019907 ; XP_947368 ; XP_950958 ; XP_950960 ; XP_950962 ; XP_950963 ; XP_950965 ; 及びXP_950967) ; LGMN1 (GenBank NP_001008530) ; TIE-2 (GenBank NP_000450) ; PAGE4 (GenBank NP_001305806) ; VEGFR2 (GenBank NP_002244) ; MAD-CT-1 (GenBank NP_005893 NP_056215) ; FAP (GenBank NP_004451) ; PDGFβ (GenBank NP_002600) ; MAD-CT-2 (GenBank NP_001138574) ; ならびにFOSL (GenBank NP_005429) を参照されたい。これらのポリペプチドは、例えば、Cheever et al. (2009) Clin. Cancer Res. 15:5323、及びその文献中で引用されている参考文献 ; Wagner et al. (2003) J. Cell. Sci. 116:1653 ; Matsui et al. (1990) Oncogene 5:249 ; Zhang et al. (1996) Nature 383:168でも検討されている。

【0174】

適切なエピトープには、感染症病原体に存在するエピトープ、例えば、ウイルスにコードされたポリペプチドによって提示されるエピトープが含まれるが、これらに限定されない。ウイルス感染症病原体の例として、例えば、アデノウイルス、アデノ関連ウイルス、アルファウイルス（トガウイルス）、東部ウマ脳炎ウイルス、東部ウマ脳脊髄炎ウイルス、ベネズエラウマ脳脊髄炎ワクチン株TC-83、西部ウマ脳脊髄炎ウイルス、アレナウイルス、リンパ球性脈絡膜炎ウイルス（非神経向性株）、タカリベウイルス群、ブニヤウイルス、ブニヤムウェラウイルス、リフトバレー熱ウイルスワクチン株MP-12、チクングニアウイルス、カリシウイルス、コロナウイルス、牛痘ウイルス、フラビウイルス（

10

20

30

40

50

トガウイルス)－B群 アルボウイルス、デングウイルス血清型1、2、3、及び4、黄熱病ウイルスワクチン株17D、A型、B型、C型、D型、及びE型肝炎ウイルス、サイトメガロウイルス、エプスタインバーウイルス、東部ウマ脳炎ウイルス、単純ヘルペス1型及び2型、帯状疱疹、ヒトヘルペスウイルス6型及び7型、C型肝炎ウイルス(HVC)、B型肝炎ウイルス(HBV)、インフルエンザウイルスA型、B型、及びC型、パポバウイルス、ニューカッスル病ウイルス、はしかウイルス、ムンプスウイルス、パラインフルエンザウイルス1型、2型、3型、及び4型、ポリオーマウイルス(JCウイルス、BKウイルス)、呼吸器合胞体ウイルス、ヒトパルボウイルス(B19)、コクサッキーウイルスA型及びB型、エコーウイルス、ポリオウイルス、ライノウイルス、痘瘡(小痘瘡ウイルス)、天然痘(大痘瘡ウイルス)、白痘レオウイルス、コルティウイルス、ヒトロタウイルス、オルビウイルス(コロラドダニ熱ウイルス)、狂犬病ウイルス、水疱性口内炎ウイルス、ルビウイルス(風疹)、セムリキ森林ウイルス、セントルイス脳炎ウイルス、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、ベネズエラウマ脳脊髄炎ウイルス、アレナウイルス(別名南米出血熱ウイルス)科フレキサル、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス(LCM)(神経向性株)、ハンタンウイルスを含むハンタウイルス、リフトバレー熱ウイルス、日本脳炎ウイルス、黄熱ウイルス、サル痘ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)1型及び2型、ヒトT細胞リンパ球向性ウイルス(HTLV)1型及び2型、サル免疫不全ウイルス(SIV)、水疱性口内炎ウイルス、グアナリトウイルス、ラッサウイルス、フニンウイルス、マチュポウイルス、サビア、クリミア－コンゴ出血熱ウイルス、エボラウイルス、マールブルグウイルス、中央ヨーロッパダニ媒介性脳炎、極東ダニ媒介性脳炎、ハンザロバ(Hanzalova)、ハイパ(Hypr)、クムリング(Kumlinge)、キャサヌール森林病、オムスク出血熱、及びロシア春夏脳炎ウイルスを含むダニ媒介性脳炎ウイルス群(フラビ)、サルヘルペスウイルス(ヘルペスBまたはサルBウイルス)、オナガザルヘルペスウイルス1(ヘルペスBウイルス)、ウマモルビリウイルス(ヘンドラ及びヘンドラ様ウイルス)、ニパウイルス、大痘瘡ウイルス(天然痘ウイルス)、小痘瘡ウイルス(痘瘡)、アフリカブタ熱ウイルス、アフリカ馬疫ウイルス、アカバネウイルス、トリインフルエンザウイルス(高病原性)、ブルータングウイルス、ラクダ痘ウイルス、ブタコレラウイルス、Cowdria ruminantium(心水病)、口蹄疫ウイルス、ヤギ痘ウイルス、日本脳炎ウイルス、ランピースキン病ウイルス、悪性カタル熱ウイルス、メナングルウイルス、ニューカッスル病ウイルス(VVND)、水疱性口内炎ウイルス(外来性)、ならびにジカウイルスが挙げられる。そのようなウイルスによってコードされる抗原は当技術分野で公知であり；本開示のTMMPでの使用に適したペプチドエピトープは、任意の既知のウイルス抗原由来ペプチドを含み得る。一部の例では、HPV抗原が特異的に除外される。一部の例では、HBV抗原が特異的に除外される。

【0175】

一部の例では、本開示のTMMPに存在するエピトープペプチドは、HLA-A、-B、-C、-E、-F、または-G対立遺伝子に特異的なエピトープを提示する。一実施形態では、TMMPに存在するエピトープペプチドは、HLA-A*0101、A*0201、A*0301、A*1101、A*2301、A*2402、A*2407、A*3303、及び／またはA*3401に制限されたエピトープを提示する。一実施形態では、TMMPに存在するエピトープペプチドは、HLA-B*0702、B*0801、B*1502、B*3802、B*4001、B*4601、及び／またはB*5301に制限されたエピトープを提示する。一実施形態では、TMMPに存在するエピトープペプチドは、C*0102、C*0303、C*0304、C*0401、C*0602、C*0701、C*702、C*0801、及び／またはC*1502に制限されたエピトープを提示する。

【0176】

HLA／ペプチド結合アッセイ

所与のペプチド(例えば、エピトープを含むペプチド)がクラスI HLA(HLA重鎖及びβ2Mポリペプチドを含む)に結合し、HLA複合体に結合する場合、TCRにエ

10

20

30

40

50

ピトープを効果的に提示できるかどうかを、多くの周知の方法のいずれかを使用して判定することができる。アッセイには、結合アッセイとT細胞活性化アッセイが含まれる。

【0177】

細胞ベースの結合アッセイ

一例として、細胞ベースのペプチド誘導安定化アッセイを使用して、ペプチド-HLAクラスI結合を判定することができる。このアッセイでは、目的のペプチドは、TAP欠損細胞、すなわち抗原ペプチド輸送体(TAP)機構が欠損しているために表面クラスI分子がほとんどない細胞に対して結合することができる。そのような細胞として、例えば、ヒトT2細胞株(T2(174×CEM.T2; American Type Culture Collection(ATCC) 番号CRL-1992)が挙げられる。Henderson et al. (1992) Science 255:1264。小胞体へのサイトゾルペプチドの効率的なTAP依存性輸送を伴わずに組み立てられたクラスI複合体は構造的に不安定であり、細胞表面で一時的にしか保持されない。しかしながら、T2細胞を、クラスIに結合可能な外来性ペプチドと共にインキュベートすると、表面ペプチド-HLAクラスI複合体は安定化され、例えば、汎抗クラスIモノクローナル抗体を用いたフローサイトメトリーによって検出することができる。ペプチドの添加による細胞表面でのペプチド-HLA複合体の安定化とその結果としての寿命の延長により、それらの同一性は確認される。例えば、汎HLAクラスI抗体に蛍光標識を含ませる場合、フローサイトメトリーを使用して分析を実施することができる。T2細胞を遺伝子改変して目的の対立遺伝子HLA H鎖を発現させることにより、HLA H鎖の様々な対立遺伝子型へのペプチドの結合を試験することができる。

10

20

【0178】

以下は、HLA A*0201へのペプチド結合を評価するためのT2アッセイの使用の非限定的な例である。T2細胞を細胞培養液で洗浄し、 10^6 細胞/mlに濃縮する。目的のペプチドを細胞培養培地中で調製し、段階的に希釈して、濃度を $200\mu\text{M}$ 、 $100\mu\text{M}$ 、 $20\mu\text{M}$ 及び $2\mu\text{M}$ とする。細胞を各ペプチド希釈液と1:1で混合して、最終容量を $200\mu\text{L}$ 、最終ペプチド濃度を $100\mu\text{M}$ 、 $50\mu\text{M}$ 、 $10\mu\text{M}$ 、及び $1\mu\text{M}$ とする。HLA A*0201結合ペプチドであるGILGFVFTL、及び非HLA A*0201制限ペプチドであるHPVGEADYF(HLA-B*3501)を、それぞれ陽性対照及び陰性対照として含める。細胞/ペプチド混合物を 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ で10分間保持し、次いで、室温で一晩インキュベートする。次いで、細胞を 37°C で2時間インキュベートし、蛍光標識した抗ヒトHLA抗体で染色する。細胞をリン酸緩衝生理食塩水で2回洗浄し、フローサイトメトリーを使用して分析する。抗HLA抗体染色の平均蛍光強度(MFI)を用いて、結合の強さを測定する。

30

【0179】

生化学的結合アッセイ

無細胞インビトロアッセイ系において、HLAポリペプチド($\beta 2\text{M}$ ポリペプチドと複合体を形成したHLA重鎖ポリペプチド)を、目的のペプチドへの結合について試験することができる。例えば、標識した(例えば、蛍光標識した)参照ペプチドを、HLAポリペプチド($\beta 2\text{M}$ ポリペプチドと複合体を形成したHLA重鎖ポリペプチド)に結合させて、HLA-参照ペプチド複合体を形成することができる。目的の被験ペプチドがHLA-参照ペプチド複合体の標識参照ペプチドを置換する能力を試験する。相対的結合親和性は、結合した参照ペプチドを置換するために必要な被験ペプチドの量として計算される。例えば、van der Burg et al. (1995) Human Immunol. 44:189を参照のこと。

40

【0180】

別の例として、目的のペプチドをHLA分子($\beta 2\text{M}$ ポリペプチドと複合体を形成したHLA重鎖)と共にインキュベートすることができ、HLA/ペプチド複合体の安定化をイムノアッセイ形式で測定することができる。HLA分子を安定化する目的のペプチドの能力を、既知のT細胞エピトープを提示する対照ペプチドの能力と比較する。安定化の検

50

出は、抗HLA抗体を使用して検出する天然立体配座のHLA／ペプチド複合体の有無に基づく。例えば、Westrop et al. (2009) J. Immunol. Methods 341:76; Steinitz et al. (2012) Blood 119:4073; 及び米国特許第9,205,144号を参照のこと。

【0181】

T細胞活性化アッセイ

所与のペプチドがクラスI HLA (HLA重鎖及びβ2Mポリペプチドを含む) に結合し、HLA複合体に結合する場合、TCRにエピトープを効果的に提示できるかどうかは、ペプチド-HLA複合体へのT細胞の応答を評価することによって判定することができる。測定することができるT細胞応答として、例えば、インターフェロンγ (IFNγ) 産生、細胞傷害活性などが挙げられる。

【0182】

ELISPOTアッセイ

好適なアッセイとして、例えば、酵素結合免疫スポット (ELISPOT) アッセイが挙げられる。このアッセイでは、CD8⁺T細胞によるIFNγの産生を、HLAクラスIと複合体を形成した目的のペプチドを提示する抗原提示細胞 (APC) で測定する。IFNγに対する抗体をマルチウェルプレートのウェルに固定化する。APCをウェルに添加し、目的のペプチドと共に一定時間インキュベートし、ペプチドをAPCの表面のHLAクラスIに結合させる。ペプチドに特異的なCD8⁺T細胞をウェルに加え、プレートを約24時間インキュベートする。次いでウェルを洗浄し、固定化した抗IFNγ抗体に結合したIFNγを、検出可能な標識抗IFNγ抗体を使用して検出する。比色分析を使用することができる。例えば、検出可能な標識抗IFNγ抗体は、ビオチン標識抗IFNγ抗体とすることができ、これを、例えば、アルカリホスファターゼを結合させたストレプトアビジンを使用して検出することができる。BCIP／NBT (5-ブromo-4-クロロ-3-インドリルホスフェート／ニトロブルーテトラゾリウム) 溶液を加えて、アッセイを進展させる。IFNγ分泌T細胞の存在が、色付きのスポットで識別される。陰性対照には、ペプチドと接触させないAPCを含ませる。様々なHLA H鎖対立遺伝子を発現するAPCを使用して、目的のペプチドが特定のHLA H鎖を含むHLAクラスI分子に効果的に結合するかどうかを判定することができる。

【0183】

細胞傷害性アッセイ

所与のペプチドが特定のHLAクラスI H鎖に結合し、H鎖を含むHLAクラスI複合体に結合した場合、TCRにエピトープを効果的に提示できるかどうかは、細胞傷害性アッセイを使用して判定することもできる。細胞傷害性アッセイは、標的細胞を細胞傷害性CD8⁺T細胞と共にインキュベーションすることを含む。標的細胞は、その表面に、目的のペプチドと、試験しようとするHLA H鎖を含むHLAクラスI分子とを含むペプチド／HLAクラスI複合体を提示する。標的細胞を、例えば、⁵¹Crで放射性標識することができる。標的細胞が細胞傷害性CD8⁺T細胞上のTCRにエピトープを効果的に提示し、それによってCD8⁺T細胞による標的細胞への細胞傷害活性を誘導するかどうかを、溶解した標的細胞からの⁵¹Crの放出を測定することによって判定する。特異的細胞傷害性は、ペプチド存在下での細胞傷害活性の量からペプチド非存在下での細胞傷害活性の量を引いたものとして計算することができる。

【0184】

ペプチド-HLA四量体による抗原特異的T細胞の検出

別の例として、ペプチド-HLA複合体の多量体 (例えば、四量体) を、蛍光または重金属タグで生成する。次いで、多量体を使用して、フローサイトメトリー (FACS) またはマスサイトメトリー (CyTOF) を介して特異的T細胞を同定し、定量化することができる。エピトープ特異的T細胞の検出は、ペプチド結合HLA分子が抗原特異的T細胞のサブセット上の特定のTCRに結合することができるという直接的なエビデンスを提供する。例えば、Klenerman et al. (2002) Nature Rev

ews Immunol. 2:263を参照のこと。

【0185】

免疫調節ポリペプチド

一部の例では、本開示のTMMPに存在する免疫調節ポリペプチドは、野生型免疫調節ポリペプチドである。他の例では、本開示のTMMPに存在する免疫調節ポリペプチドは、共免疫調節ポリペプチドに対する親和性が、対応する野生型の免疫調節ポリペプチドの共免疫調節ポリペプチドに対する親和性に比べて低下したバリエーション型免疫調節ポリペプチドである。共免疫調節ドメインに対し低い親和性を示す好適な免疫調節ドメインは、野生型免疫調節ドメインとの1アミノ酸(a a)~20 a aの差異を有し得る。例えば、一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する野生型免疫調節ポリペプチドとは、1 a a、2 a a、3 a a、4 a a、5 a a、6 a a、7 a a、8 a a、9 a a、または10 a a分、アミノ酸配列が異なる。別の例として、一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する野生型免疫調節ポリペプチドとは、11 a a、12 a a、13 a a、14 a a、15 a a、16 a a、17 a a、18 a a、19 a a、または20 a a分、アミノ酸配列が異なる。1つの例として、一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10のアミノ酸置換を含む。一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、単一のアミノ酸置換を含む。一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、2つのアミノ酸置換(例えば、2つ以下のアミノ酸置換)を含む。一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、3つのアミノ酸置換(例えば、3つ以下のアミノ酸置換)を含む。一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、4つのアミノ酸置換(例えば、4つ以下のアミノ酸置換)を含む。一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、5つのアミノ酸置換(例えば、5つ以下のアミノ酸置換)を含む。一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、6つのアミノ酸置換(例えば、6つ以下のアミノ酸置換)を含む。一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、7つのアミノ酸置換(例えば、7つ以下のアミノ酸置換)を含む。一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、8つのアミノ酸置換(例えば、8つ以下のアミノ酸置換)を含む。一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、9つのアミノ酸置換(例えば、9つ以下のアミノ酸置換)を含む。一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、10のアミノ酸置換(例えば、10以下のアミノ酸置換)を含む。

【0186】

一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、11のアミノ酸置換(例えば、11以下のアミノ酸置換)を含む。

【0187】

一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、12のアミノ酸置換

10

20

30

40

50

(例えば、12以下のアミノ酸置換)を含む。

【0188】

一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエント型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、13のアミノ酸置換(例えば、13以下のアミノ酸置換)を含む。

【0189】

一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエント型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、14のアミノ酸置換(例えば、14以下のアミノ酸置換)を含む。

【0190】

一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエント型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、15のアミノ酸置換(例えば、15以下のアミノ酸置換)を含む。

【0191】

一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエント型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、16のアミノ酸置換(例えば、16以下のアミノ酸置換)を含む。

【0192】

一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエント型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、17のアミノ酸置換(例えば、17以下のアミノ酸置換)を含む。

【0193】

一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエント型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、18のアミノ酸置換(例えば、18以下のアミノ酸置換)を含む。

【0194】

一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエント型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、19のアミノ酸置換(例えば、19以下のアミノ酸置換)を含む。

【0195】

一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエント型免疫調節ポリペプチドは、対応する参照(例えば、野生型)免疫調節ポリペプチドと比較して、20のアミノ酸置換(例えば、20以下のアミノ酸置換)を含む。

【0196】

上述したとおり、本開示のTMMP内に組み込むのに好適なバリエント型免疫調節ポリペプチドは、同種共免疫調節ポリペプチドに対する対応する野生型免疫調節ポリペプチドの親和性と比較して、同種共免疫調節ポリペプチドに対し低い親和性を示す。

【0197】

免疫調節ポリペプチドと同種共免疫調節ポリペプチドの例示的なペアとしては、

- a) 4-1BBL(免疫調節ポリペプチド)と4-1BB(同種共免疫調節ポリペプチド)、
- b) PD-L1(免疫調節ポリペプチド)とPD1(同種共免疫調節ポリペプチド)、
- c) IL-2(免疫調節ポリペプチド)とIL-2受容体(同種共免疫調節ポリペプチド)、
- d) CD80(免疫調節ポリペプチド)とCD86(同種共免疫調節ポリペプチド)、
- e) CD86(免疫調節ポリペプチド)とCD28(同種共免疫調節ポリペプチド)、
- f) OX40L(CD252)(免疫調節ポリペプチド)とOX40(CD134)(同種共免疫調節ポリペプチド)、
- g) Fasリガンド(免疫調節ポリペプチド)とFas(同種共免疫調節ポリペプチド)、

10

20

30

40

50

- h) ICOS-L (免疫調節ポリペプチド) と ICOS (同種共免疫調節ポリペプチド)、
i) ICAM (免疫調節ポリペプチド) と LFA-1 (同種共免疫調節ポリペプチド)、
j) CD30L (免疫調節ポリペプチド) と CD30 (同種共免疫調節ポリペプチド)、
k) CD40 (免疫調節ポリペプチド) と CD40L (同種共免疫調節ポリペプチド)、
l) CD83 (免疫調節ポリペプチド) と CD83L (同種共免疫調節ポリペプチド)、
m) HVEM (CD270) (免疫調節ポリペプチド) と CD160 (同種共免疫調節ポリペプチド)、
n) JAG1 (CD339) (免疫調節ポリペプチド) と Notch (同種共免疫調節ポリペプチド)、
o) JAG1 (免疫調節ポリペプチド) と CD46 (同種共免疫調節ポリペプチド)、
p) CD80 (免疫調節ポリペプチド) と CTLA4 (同種共免疫調節ポリペプチド)、
q) CD86 (免疫調節ポリペプチド) と CTLA4 (同種共免疫調節ポリペプチド)、
及び、
r) CD70 (免疫調節ポリペプチド) と CD27 (同種共免疫調節ポリペプチド)、
が挙げられるがこれらに限定されない。

【0198】

一部の例では、本開示の TMMP 内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、同種共免疫調節ポリペプチドに対する $100\text{ nM} \sim 100\text{ }\mu\text{M}$ の結合親和性を有する。例えば、一部の例では、本開示の TMMP 内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、同種共免疫調節ポリペプチドに対する約 $100\text{ nM} \sim 150\text{ nM}$ 、約 $150\text{ nM} \sim 200\text{ nM}$ 、約 $200\text{ nM} \sim 250\text{ nM}$ 、約 $250\text{ nM} \sim 300\text{ nM}$ 、約 $300\text{ nM} \sim 350\text{ nM}$ 、約 $350\text{ nM} \sim 400\text{ nM}$ 、約 $400\text{ nM} \sim 500\text{ nM}$ 、約 $500\text{ nM} \sim 600\text{ nM}$ 、約 $600\text{ nM} \sim 700\text{ nM}$ 、約 $700\text{ nM} \sim 800\text{ nM}$ 、約 $800\text{ nM} \sim 900\text{ nM}$ 、約 $900\text{ nM} \sim 1\text{ }\mu\text{M}$ 、約 $1\text{ }\mu\text{M} \sim 5\text{ }\mu\text{M}$ 、約 $5\text{ }\mu\text{M} \sim 10\text{ }\mu\text{M}$ 、約 $10\text{ }\mu\text{M} \sim 15\text{ }\mu\text{M}$ 、約 $15\text{ }\mu\text{M} \sim 20\text{ }\mu\text{M}$ 、約 $20\text{ }\mu\text{M} \sim 25\text{ }\mu\text{M}$ 、約 $25\text{ }\mu\text{M} \sim 50\text{ }\mu\text{M}$ 、約 $50\text{ }\mu\text{M} \sim 75\text{ }\mu\text{M}$ 、または、約 $75\text{ }\mu\text{M} \sim 100\text{ }\mu\text{M}$ の結合親和性を有する。

【0199】

本開示の TMMP 内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、同種共免疫調節ポリペプチドに対し低い親和性を示す。同様に、バリエーション型免疫調節ポリペプチドを含む本開示の TMMP は、同種共免疫調節ポリペプチドに対し低い親和性を示す。それゆえ、例えば、バリエーション型免疫調節ポリペプチドを含む本開示の TMMP は、同種共免疫調節ポリペプチドに対する $100\text{ nM} \sim 100\text{ }\mu\text{M}$ の結合親和性を有する。例えば、一部の例では、バリエーション型免疫調節ポリペプチドを含む本開示の TMMP は、同種共免疫調節ポリペプチドに対する約 $100\text{ nM} \sim 150\text{ nM}$ 、約 $150\text{ nM} \sim 200\text{ nM}$ 、約 $200\text{ nM} \sim 250\text{ nM}$ 、約 $250\text{ nM} \sim 300\text{ nM}$ 、約 $300\text{ nM} \sim 350\text{ nM}$ 、約 $350\text{ nM} \sim 400\text{ nM}$ 、約 $400\text{ nM} \sim 500\text{ nM}$ 、約 $500\text{ nM} \sim 600\text{ nM}$ 、約 $600\text{ nM} \sim 700\text{ nM}$ 、約 $700\text{ nM} \sim 800\text{ nM}$ 、約 $800\text{ nM} \sim 900\text{ nM}$ 、約 $900\text{ nM} \sim 1\text{ }\mu\text{M}$ 、約 $1\text{ }\mu\text{M} \sim 5\text{ }\mu\text{M}$ 、約 $5\text{ }\mu\text{M} \sim 10\text{ }\mu\text{M}$ 、約 $10\text{ }\mu\text{M} \sim 15\text{ }\mu\text{M}$ 、約 $15\text{ }\mu\text{M} \sim 20\text{ }\mu\text{M}$ 、約 $20\text{ }\mu\text{M} \sim 25\text{ }\mu\text{M}$ 、約 $25\text{ }\mu\text{M} \sim 50\text{ }\mu\text{M}$ 、約 $50\text{ }\mu\text{M} \sim 75\text{ }\mu\text{M}$ 、または、約 $75\text{ }\mu\text{M} \sim 100\text{ }\mu\text{M}$ の結合親和性を有する。

【0200】

図14に概略的に示すように、免疫調節ポリペプチド(すなわち、1つ以上の免疫調節ポリペプチド)を、本開示の TMMP の様々な位置のいずれかに存在させることができる。図14は、バリエーション型 IL-2 ポリペプチドの2つのコピーの位置を示すが、免疫調節ポリペプチドは、本明細書に記載のような、様々な免疫調節ポリペプチドのいずれかであり得る。図14に示すように、免疫調節ポリペプチドを、1) MHCクラスI重鎖のN末端、2) MHCクラスI重鎖のC末端かつ Ig Fc ポリペプチドのN末端、言い換え

10

20

30

40

50

れば、MHCクラスⅠ重鎖とIgFcポリペプチドの間、3) IgFcポリペプチドのC末端、4) ペプチドエピトープのN末端、または5) β2MポリペプチドのC末端とすることができる。

【0201】

PD-L1バリエーション型

1つの非限定例として、一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドはバリエーション型PD-L1ポリペプチドである。野生型PD-L1はPD1に結合する。

【0202】

野生型ヒトPD-L1ポリペプチドは、以下のアミノ酸配列、
MRIFAVFIFM TYWHLLNAFT VTPKDLVYV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME
DKNIIQFVHG EEDLKVQHSS YRQARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG
ADYKRITVKV NAPYNKINQR ILVDPVTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT
TTNSKREEKL FNVSTSLRIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEVIPGNI LNVSIIKICLT LSPST
(SEQ ID NO:1)

10

を含み得る。

【0203】

野生型ヒトPD-L1外部ドメインは、以下のアミノ酸配列、
FT VTPKDLVYV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME DKNIIQFVHG
EEDLKVQHSS YRQARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV
NAPYNKINQR ILVDPVTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL
FNVSTSLRIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEVIPGNI LNVSIIKI (SEQ ID NO:2)

20

を含み得る。

【0204】

野生型PD-1ポリペプチドは、以下のアミノ酸配列、
PGWFLDSPDR PWNPTTFSPA LLVVTEGDNA TFTCSFSNTS ESFVLNWYRM SPSNQTDKLA
AFPEDRSQPG QDCRFRVTQL PNGRDFHMSV VRARRNDSGT YLCGAISLAP KAQIKESLRA
ELRVTERRAE VPTAHPSPSP RPAGQFQTLV VGVVGGLLS LVLLVWVLAV ICSRAARGTI
GARRTGQPLK EDPSAVPVFS VDYGELDFQW REKTPEPPVP CVPEQTEYAT IVFPSGMGTS
SPARRGSADG PRSAQPLRPE DGHCSWPL (SEQ ID NO:3)

30

を含み得る。一部の例では、本開示のTMMPがバリエーション型PD-L1ポリペプチドを含む場合、「同種共免疫調節ポリペプチド」は、SEQ ID NO:3のアミノ酸配列を含むPD-1ポリペプチドである。

【0205】

一部の例では、バリエーション型PD-L1ポリペプチドは、SEQ ID NO:1またはSEQ ID NO:2に記載のアミノ酸配列を含むPD-L1ポリペプチドの結合親和性と比較して、PD-1（例えば、SEQ ID NO:3に記載のアミノ酸配列を含むPD-1ポリペプチド）に対し低い結合親和性を示す。例えば、一部の例では、本開示のバリエーション型PD-L1ポリペプチドは、SEQ ID NO:1またはSEQ ID NO:2に記載のアミノ酸配列を含むPD-L1ポリペプチドの結合親和性よりも少なくとも10%低い、少なくとも15%低い、少なくとも20%低い、少なくとも25%低い、少なくとも30%低い、少なくとも35%低い、少なくとも40%低い、少なくとも45%低い、少なくとも50%低い、少なくとも55%低い、少なくとも60%低い、少なくとも65%低い、少なくとも70%低い、少なくとも75%低い、少なくとも80%低い、少

40

50

なくとも85%低い、少なくとも90%低い、少なくとも95%低い、または、95%超低い親和性で、PD-1（例えば、SEQ ID NO: 3に記載のアミノ酸配列を含むPD-1ポリペプチド）に結合する。

【0206】

一部の例では、バリエーション型PD-L1ポリペプチドは、PD-1に対する1 nM~1 mMの結合親和性を有する。一部の例では、本開示のバリエーション型PD-L1ポリペプチドは、PD-1に対する100 nM~100 μMの結合親和性を有する。別の例として、一部の例では、バリエーション型PD-L1ポリペプチドは、PD1（例えば、SEQ ID NO: 3に記載のアミノ酸配列を含むPD1ポリペプチド）に対する約100 nM~150 nM、約150 nM~約200 nM、約200 nM~約250 nM、約250 nM~約300 nM、約300 nM~約350 nM、約350 nM~約400 nM、約400 nM~約500 nM、約500 nM~約600 nM、約600 nM~約700 nM、約700 nM~約800 nM、約800 nM~約900 nM、約900 nM~約1 μM、約1 μM~約5 μM、約5 μM~約10 μM、約10 μM~約15 μM、約15 μM~約20 μM、約20 μM~約25 μM、約25 μM~約50 μM、約50 μM~約75 μM、または、約75 μM~約100 μMの結合親和性を有する。

【0207】

一部の例では、バリエーション型PD-L1ポリペプチドは、SEQ ID NO: 1またはSEQ ID NO: 2に記載のPD-L1アミノ酸配列と比較して、単一のアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型PD-L1ポリペプチドは、SEQ ID NO: 1またはSEQ ID NO: 2に記載のPD-L1アミノ酸配列と比較して、2~10のアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型PD-L1ポリペプチドは、SEQ ID NO: 1またはSEQ ID NO: 2に記載のPD-L1アミノ酸配列と比較して、2つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型PD-L1ポリペプチドは、SEQ ID NO: 1またはSEQ ID NO: 2に記載のPD-L1アミノ酸配列と比較して、3つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型PD-L1ポリペプチドは、SEQ ID NO: 1またはSEQ ID NO: 2に記載のPD-L1アミノ酸配列と比較して、4つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型PD-L1ポリペプチドは、SEQ ID NO: 1またはSEQ ID NO: 2に記載のPD-L1アミノ酸配列と比較して、5つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型PD-L1ポリペプチドは、SEQ ID NO: 1またはSEQ ID NO: 2に記載のPD-L1アミノ酸配列と比較して、6つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型PD-L1ポリペプチドは、SEQ ID NO: 1またはSEQ ID NO: 2に記載のPD-L1アミノ酸配列と比較して、7つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型PD-L1ポリペプチドは、SEQ ID NO: 1またはSEQ ID NO: 2に記載のPD-L1アミノ酸配列と比較して、8つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型PD-L1ポリペプチドは、SEQ ID NO: 1またはSEQ ID NO: 2に記載のPD-L1アミノ酸配列と比較して、9つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型PD-L1ポリペプチドは、SEQ ID NO: 1またはSEQ ID NO: 2に記載のPD-L1アミノ酸配列と比較して、10のアミノ酸置換を有する。

【0208】

好適なPD-L1バリエーション型としては、以下のアミノ酸配列、
FT VTVPK~~X~~LYVV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME DKNIIQFVHG
EEDLKVQHSS YRQRARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV
NAPYNKINQR ILVDPVTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL
FNVSTILRIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEIVIPGNI LNVSIKI (SEQ ID NO: 52)

(XはAsp以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはAlaである。一部の

例では、XはA r gである）に対して、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドが挙げられる。

【0209】

好適なPD-L1バリエーション型としては、以下のアミノ酸配列、

FT VTVPKDLVYV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALXVYWEME DKNIIQFVHG

EEDLKVQHSS YRQRARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV

NAPYNKINQR ILVVDPTVSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL

FNVTSTLRIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEVIPGNI LNVSIKI (SEQ ID NO: 53)

10

(XはI l e以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA s pである) に対して、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドが挙げられる。

【0210】

好適なPD-L1バリエーション型としては、以下のアミノ酸配列、

FT VTVPKDLVYV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME DKNIIQFVHG

EXDLKVQHSS YRQRARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV

NAPYNKINQR ILVVDPTVSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL

FNVTSTLRIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEVIPGNI LNVSIKI (SEQ ID NO:54)

20

(XはG l u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA r gである) に対して、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドが挙げられる。

【0211】

CD80バリエーション型

一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドはバリエーション型CD80ポリペプチドである。野生型CD80はCD28に結合する。野生型CD80はまたCD86に結合する。

30

【0212】

ヒトCD80の外部ドメインの野生型アミノ酸配列は、以下、

VIHVTKEVKEVATLSC GHNVSVVEELA QTRIYWQKEK KMLVTMMMSGD

MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA

DFPTPSISDF EIPTSNIIRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV

SSKLDNFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:4)

であり得る。

【0213】

野生型CD28アミノ酸配列は、以下、

ILVKQSPMLV AYDNAVNLSC KYSYNLFSRE FRASLHKGLD SAVEVCVVYV NYSQQLQVYS

KTGFNC DGKL GNESVTFY LQ NLYVNQTDIY FCKIEVMYPP PYLDNEKSNG TIIHVKGKHL

CPSP LFPGPS KPFWVLVVVG GVLACYSL LV TVAFIIFWVR SKRSRL LHSD YMNMTPRRPG

PTRKHYQPYA PPRDFAAYRS (SEQ ID NO:5)

40

であり得る。一部の例では、本開示のTMMPがバリエーション型CD80ポリペプチドを含む場合、「同種共免疫調節ポリペプチド」は、SEQ ID NO:5のアミノ酸配列を含むCD28ポリペプチドである。

50

【0214】

野生型CD28アミノ酸配列は、以下、
MLRLLLALNL

FPSIQVTGNK ILVKQSPMLV AYDNAVNLSW KHLCPSPFLP GPSKPFWVLV VVGGLVACYS
LLVTVAFIHF WVRSKRSRLH HSDYMNMTTPR RPGPTRKHYQ PYAPPRDFAA YRS (SEQ ID
NO:6)

であり得る。

【0215】

野生型CD28アミノ酸配列は、以下、
MLRLLLALNL

FPSIQVTGKH LCPSPLFPGP SKPFWVLVVV GGLVACYSLL VTVAFIHFWV RSKRSRLHLS
DYMNMTTPRRP GPTRKHYQPY APPRDFAAYR S (SEQ ID NO:7)

であり得る。

【0216】

一部の例では、バリエーション型CD80ポリペプチドは、SEQ ID NO:4に記載の
アミノ酸配列を含むCD80ポリペプチドのCD28に対する結合親和性と比較して、C
D28に対し低い結合親和性を示す。例えば、一部の例では、バリエーション型CD80ポリ
ペプチドは、SEQ ID NO:4に記載のアミノ酸配列を含むCD80ポリペプチドの
CD28（例えば、SEQ ID NO:5、6または7のうちの1つに記載のアミノ酸配
列を含むCD28ポリペプチド）に対する結合親和性よりも少なくとも10%低い、少な
くとも15%低い、少なくとも20%低い、少なくとも25%低い、少なくとも30%低
い、少なくとも35%低い、少なくとも40%低い、少なくとも45%低い、少なくとも
50%低い、少なくとも55%低い、少なくとも60%低い、少なくとも65%低い、少
なくとも70%低い、少なくとも75%低い、少なくとも80%低い、少なくとも85%
低い、少なくとも90%低い、少なくとも95%低い、または、95%超低い親和性で、
CD28に結合する。

【0217】

一部の例では、バリエーション型CD80ポリペプチドは、CD28に対する100nM～
100μMの結合親和性を有する。別の例として、一部の例では、本開示のバリエーション型
CD80ポリペプチドは、CD28（例えば、SEQ ID NO:5、SEQ ID N
O:6、またはSEQ ID NO:7に記載のアミノ酸配列を含むCD28ポリペプチド
）に対する約100nM～150nM、約150nM～約200nM、約200nM～約
250nM、約250nM～約300nM、約300nM～約350nM、約350nM
～約400nM、約400nM～約500nM、約500nM～約600nM、約600
nM～約700nM、約700nM～約800nM、約800nM～約900nM、約9
00nM～約1μM、約1μM～約5μM、約5μM～約10μM、約10μM～約15
μM、約15μM～約20μM、約20μM～約25μM、約25μM～約50μM、約
50μM～約75μM、または、約75μM～約100μMの結合親和性を有する。

【0218】

一部の例では、バリエーション型CD80ポリペプチドは、SEQ ID NO:4に記載の
CD80アミノ酸配列と比較して、単一のアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリア
ント型CD80ポリペプチドは、SEQ ID NO:4に記載のCD80アミノ酸配列と
比較して、2～10のアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD80ポリ
ペプチドは、SEQ ID NO:4に記載のCD80アミノ酸配列と比較して、2つのア
ミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD80ポリペプチドは、SEQ ID
NO:4に記載のCD80アミノ酸配列と比較して、3つのアミノ酸置換を有する。一部

の例では、バリエント型CD80ポリペプチドは、SEQ ID NO: 4に記載のCD80アミノ酸配列と比較して、4つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエント型CD80ポリペプチドは、SEQ ID NO: 4に記載のCD80アミノ酸配列と比較して、5つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエント型CD80ポリペプチドは、SEQ ID NO: 4に記載のCD80アミノ酸配列と比較して、6つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエント型CD80ポリペプチドは、SEQ ID NO: 4に記載のCD80アミノ酸配列と比較して、7つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエント型CD80ポリペプチドは、SEQ ID NO: 4に記載のCD80アミノ酸配列と比較して、8つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエント型CD80ポリペプチドは、SEQ ID NO: 4に記載のCD80アミノ酸配列と比較して、9つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエント型CD80ポリペプチドは、SEQ ID NO: 4に記載のCD80アミノ酸配列と比較して、10のアミノ酸置換を有する。

【0219】

好適なCD80バリエント型としては、以下のアミノ酸配列、
VIHVTKEVKEVATLSC GHXVSVEELA QTRIWQKEK KMVLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVVK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA
DFPTPSISDF EIPTSNIIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV
SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO: 55)

(XはA s n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
VIHVTKEVKEVATLSC GHNVSVVEELA QTRIWQKEK KMVLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITXNLS IVILALRPSD EGTYECVVVK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA
DFPTPSISDF EIPTSNIIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV
SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO: 56)

(XはA s n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
VIHVTKEVKEVATLSC GHNVSVVEELA QTRIWQKEK KMVLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS XVILALRPSD EGTYECVVVK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA
DFPTPSISDF EIPTSNIIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV
SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:57)

(XはI l e以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
VIHVTKEVKEVATLSC GHNVSVVEELA QTRIWQKEK KMVLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVVLXYEKDAFKREH LAEVTLSVKA
DFPTPSISDF EIPTSNIIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV
SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:58)

(XはL y s以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
VIHVTKEVKEVATLSC GHNVSVVEELA QTRIWQKEK KMVLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVVK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA
DFPTPSISDF EIPTSNIIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS XDPETELYAV
SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:60)

(XはG l n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、

VIHVTKEVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIYWQKEK KMLVTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA
DFPTPSISDF EIPTSNIIRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QXPETELYAV
SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:61)

(XはA s p以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
VIHVTKEVKEVATLSC GHNVSVEEXA QTRIYWQKEK KMLVTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA
DFPTPSISDF EIPTSNIIRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV
SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:62)

10

(XはL e u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
VIHVTKEVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIXWQKEK KMLVTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA
DFPTPSISDF EIPTSNIIRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV
SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:63)

20

(XはT y r以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
VIHVTKEVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIYWXKEK KMLVTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA
DFPTPSISDF EIPTSNIIRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV
SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:64)

(XはG l n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
VIHVTKEVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIYWQKEK KXVLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA
DFPTPSISDF EIPTSNIIRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV
SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:65)

30

(XはM e t以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
VIHVTKEVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIYWQKEK KMXLTMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA
DFPTPSISDF EIPTSNIIRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV
SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:66)

40

(XはV a l以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
VIHVTKEVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIYWQKEK KMLVTMMMSGD
MNXWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA
DFPTPSISDF EIPTSNIIRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV
SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:67)

(XはI l e以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、

50

VIHVTKEVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIWQKEK KMLTMMMSGD
MNIWPEXKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA
DFPTPSISDF EIPTSNIIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV
SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:68)

(XはT y r以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
VIHVTKEVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIWQKEK KMLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFXITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA
DFPTPSISDF EIPTSNIIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV
SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:69)

10

(XはA s p以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
VIHVTKEVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIWQKEK KMLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA
DXPTPSISDF EIPTSNIIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV
SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:70)

20

(XはP h e以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
VIHVTKEVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIWQKEK KMLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA
DFPTPSISDF EIPTSNIIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVX QDPETELYAV
SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:71)

(XはS e r以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、及び、
VIHVTKEVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIWQKEK KMLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA
DFPTXSISDF EIPTSNIIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV
SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:72)

30

(XはP r o以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)のうち
のいずれか1つに対して、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少
なくとも99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリ
ペプチドが挙げられる。

【0220】

CD86バリエーション型

40

一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドはバ
リエーション型CD86ポリペプチドである。野生型CD86はCD28に結合する。一部の
例では、本開示のTMMPがバリエーション型CD86ポリペプチドを含む場合、「同種共免
疫調節ポリペプチド」は、SEQ ID NO:5のアミノ酸配列を含むCD28ポリペ
プチドである。

【0221】

野生型ヒトCD86の全長外部ドメインのアミノ酸配列は、以下、

50

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSSELVVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYMNRTSFDSDSW
TLRLHNLQIKDKGLYQCIH~~H~~KKPTGMIRIHQMNSELSVLANFSQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGY
PEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFS
IELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:8)

であり得る。

【0222】

野生型ヒトCD86のIgVドメインのアミノ酸配列は、以下、

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSSELVVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYMNRTSFDSDSW
TLRLHNLQIKDKGLYQCIH~~H~~KKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:9)

10

であり得る。

【0223】

一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO:8またはSEQ ID NO:9に記載のアミノ酸配列を含むCD86ポリペプチドのCD28に対する結合親和性と比較して、CD28に対し低い結合親和性を示す。例えば、一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO:8またはSEQ ID NO:9に記載のアミノ酸配列を含むCD86ポリペプチドのCD28（例えば、SEQ ID NO:5、6または7のうちの1つに記載のアミノ酸配列を含むCD28ポリペプチド）に対する結合親和性よりも少なくとも10%低い、少なくとも15%低い、少なくとも20%低い、少なくとも25%低い、少なくとも30%低い、少なくとも35%低い、少なくとも40%低い、少なくとも45%低い、少なくとも50%低い、少なくとも55%低い、少なくとも60%低い、少なくとも65%低い、少なくとも70%低い、少なくとも75%低い、少なくとも80%低い、少なくとも85%低い、少なくとも90%低い、少なくとも95%低い、または、95%超低い親和性で、CD28に結合する。

20

【0224】

一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、CD28に対する100nM～100μMの結合親和性を有する。別の例として、一部の例では、本開示のバリエーション型CD86ポリペプチドは、CD28（例えば、SEQ ID NO:5、6または7のうちの1つに記載のアミノ酸配列を含むCD28ポリペプチド）に対する約100nM～150nM、約150nM～約200nM、約200nM～約250nM、約250nM～約300nM、約300nM～約350nM、約350nM～約400nM、約400nM～約500nM、約500nM～約600nM、約600nM～約700nM、約700nM～約800nM、約800nM～約900nM、約900nM～約1μM、約1μM～約5μM、約5μM～約10μM、約10μM～約15μM、約15μM～約20μM、約20μM～約25μM、約25μM～約50μM、約50μM～約75μM、または、約75μM～約100μMの結合親和性を有する。

30

【0225】

一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO:8に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、単一のアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO:8に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、2～10のアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO:8に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、2つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO:8に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、3つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO:8に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、4つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO:8に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、5つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは

40

50

、SEQ ID NO: 8に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、6つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO: 8に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、7つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO: 8に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、8つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO: 8に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、9つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO: 8に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、10のアミノ酸置換を有する。
【0226】

一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO: 9に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、単一のアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO: 9に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、2～10のアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO: 9に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、2つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO: 9に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、3つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO: 9に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、4つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO: 9に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、5つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO: 9に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、6つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO: 9に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、7つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO: 9に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、8つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO: 9に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、9つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型CD86ポリペプチドは、SEQ ID NO: 9に記載のCD86アミノ酸配列と比較して、10のアミノ酸置換を有する。
【0227】

好適なCD86バリエーション型としては、以下のアミノ酸配列、
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHISKYM
XRTSFSDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCI IHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYI
NLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSISSLSVSPDPVTSNMTIFCILETD
KTRLLSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:73)

(XはA s n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHISKYM
NRTSF~~X~~SDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCI IHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYI
NLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSISSLSVSPDPVTSNMTIFCILETD
KTRLLSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:74)

(XはA s p以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHISKYM
NRTSFSDSDS~~X~~TLRLHNLQIKDKGLYQCI IHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYI
NLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSISSLSVSPDPVTSNMTIFCILETD
KTRLLSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:75)

10

20

30

40

50

(XはT r p以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYM
NRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCI I H X K K P T G M I R I H Q M N S E L S V L A N F S Q P E I V P I S N I T E N V Y I
N L T C S S I H G Y P E P K M S V L L R T K N S T I E Y D G I M Q K S Q D N V T E L Y D V S I S L S V S F P D V T S N M T I F C I L E T D
K T R L L S S P F S I E L E D P Q P P P D H I P (SEQ ID NO:76)

(XはH i s以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYM
X R T S F D S D S W T L R L H N L Q I K D K G L Y Q C I I H H K K P T G M I R I H Q M N S E L S V L (SEQ ID NO:77)

10

(XはA s n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYM
N R T S F X S D S W T L R L H N L Q I K D K G L Y Q C I I H H K K P T G M I R I H Q M N S E L S V L (SEQ ID NO:78)

(XはA s p以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYM
N R T S F D S D S X T L R L H N L Q I K D K G L Y Q C I I H H K K P T G M I R I H Q M N S E L S V L (SEQ ID NO:79)

20

(XはT r p以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYM
N R T S F D S D S W T L R L H N L Q I K D K G L Y Q C I I H X K K P T G M I R I H Q M N S E L S V L (SEQ ID NO:80)

(XはH i s以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWDQENL X L N E V Y L G K E K F D S V H S K Y M
N R T S F D S D S W T L R L H N L Q I K D K G L Y Q C I I H H K K P T G M I R I H Q M N S E L S V L A N F S Q P E I V P I S N I T E N V Y I
N L T C S S I H G Y P E P K M S V L L R T K N S T I E Y D G I M Q K S Q D N V T E L Y D V S I S L S V S F P D V T S N M T I F C I L E T D
K T R L L S S P F S I E L E D P Q P P P D H I P (SEQ ID NO:81)

30

(XはV a l以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWDQENL X L N E V Y L G K E K F D S V H S K Y M
N R T S F D S D S W T L R L H N L Q I K D K G L Y Q C I I H H K K P T G M I R I H Q M N S E L S V L (SEQ ID NO:82)

(XはV a l以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWD X D Q E N L V L N E V Y L G K E K F D S V H S K Y M
N R T S F D S D S W T L R L H N L Q I K D K G L Y Q C I I H H K K P T G M I R I H Q M N S E L S V L A N F S Q P E I V P I S N I T E N V Y I
N L T C S S I H G Y P E P K M S V L L R T K N S T I E Y D G I M Q K S Q D N V T E L Y D V S I S L S V S F P D V T S N M T I F C I L E T D
K T R L L S S P F S I E L E D P Q P P P D H I P (SEQ ID NO:83)

40

(XはG l n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWD X D Q E N L V L N E V Y L G K E K F D S V H S K Y M
N R T S F D S D S W T L R L H N L Q I K D K G L Y Q C I I H H K K P T G M I R I H Q M N S E L S V L (SEQ ID NO:84)

(XはG l n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、

50

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVXWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYM
NRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYI
NLTCSIIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSISSLSVSFPDVTSNMTIFCILETD
KTRLSSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:85)

(XはP h e以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVXWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYM
NRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:86)

10

(XはP h e以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFXWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYM
NRTSFDSDSWTXRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYI
NLTCSIIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSISSLSVSFPDVTSNMTIFCILETD
KTRLSSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:87)

(XはL e u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFXWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYM
NRTSFDSDSWTXRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:88)

20

(XはL e u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFXWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKXM
NRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYI
NLTCSIIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSISSLSVSFPDVTSNMTIFCILETD
KTRLSSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:89)

(XはT y r以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFXWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKXM
NRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:90)

30

(XはT y r以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFXWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYM
XRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHXKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYI
NLTCSIIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSISSLSVSFPDVTSNMTIFCILETD
KTRLSSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:91)

40

(第1のXはA s n以外の任意のアミノ酸であり、第2のXはH i s以外の任意のアミノ酸である。一部の例では、第1のXと第2のXの両方はA l aである)、
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFXWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYM
XRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHXKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:92)

(第1のXはA s n以外の任意のアミノ酸であり、第2のXはH i s以外の任意のアミノ酸である。一部の例では、第1のXと第2のXの両方はA l aである)、

50

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYM
NRTSFX₁SDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHX₂KKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVY
INLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSISLSVSFPDVTSNMTIFCILET
DKTRLLSSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:93)

(X₁はA s p以外の任意のアミノ酸であり、X₂はH i s以外の任意のアミノ酸である。
一部の例では、X₁はA l aであり、X₂はA l aである)、

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYM
NRTSFX₁SDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHX₂KKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:94)

10

(第1のXはA s n以外の任意のアミノ酸であり、第2のXはH i s以外の任意のアミノ酸である。一部の例では、第1のXと第2のXの両方はA l aである)、

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYM
X₁RTSFX₂SDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHX₃KKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVY
INLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSISLSVSFPDVTSNMTIFCILE
TDKTRLLSSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:95)

20

(X₁はA s n以外の任意のアミノ酸であり、X₂はA s p以外の任意のアミノ酸であり、
X₃はH i s以外の任意のアミノ酸である。一部の例では、X₁はA l aであり、X₂はA l aであり、
X₃はA l aである)、及び、

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYM
X₁RTSFX₂SDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHX₃KKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:96)

(X₁はA s n以外の任意のアミノ酸であり、X₂はA s p以外の任意のアミノ酸であり、
X₃はH i s以外の任意のアミノ酸である。一部の例では、X₁はA l aであり、X₂はA l aであり、
X₃はA l aである)のうちのいずれか1つに対して、少なくとも90%、少なくとも95%、
少なくとも98%、少なくとも99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドが挙げられる。

30

【0228】

4-1BB Lバリエーション型

一部の例では、本開示のT M M P内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドはバリエーション型4-1BB Lポリペプチドである。野生型4-1BB Lは4-1BB (C D 137)に結合する。

【0229】

野生型4-1BB Lアミノ酸配列は、以下、
MEYASDASLD

40

PEAPWPPAPR ARACRVLPWA LVAGLLLLLL LAAACAVFLA CPWAVSGARA SPGSAASPRL
REGPELSPDD PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:10)

であり得る。

【0230】

50

一部の例では、バリエーション型 4-1 B B L ポリペプチドは、ヒト 4-1 B B L の腫瘍壊死因子 (TNF) 相同性ドメイン (THD) のバリエーション型である。

【0231】

ヒト 4-1 B B L の THD の野生型アミノ酸配列は、例えば、以下の SEQ ID NO: 11~13、

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNFAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:11)

10

、
D PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNFAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:12)

、
D PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNFAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPA (SEQ ID
NO:13)

20

のうちの 1 つであり得る。

【0232】

野生型 4-1 B B アミノ酸配列は、以下、
MGNSCYNIVA

TLLLVLNFER TRSLQDPCSN CPAGTFCDNN RNQICSPCPP NSFSSAGGQR TCDICRQCKG
VFRTRKECSS TSNAECDCTP GFHCLGAGCS MCEQDCKQGQ ELTKKGCKDC CFGTFNDQKR
GICRPWTNCS LDGKSVLVNG TKERDVVCGP SPADLSPGAS SVTPPAPARE PGHSPQIISF
FLALTSTALL FLLFFLTLRF SVVKGGRKKL LYIFKQPFMR PVQTTQEEDG CSCRFPEEEE
GGCEL (SEQ ID NO:14)

30

であり得る。一部の例では、本開示の TMMP がバリエーション型 4-1 B B L ポリペプチドを含む場合、「同種共免疫調節ポリペプチド」は、SEQ ID NO: 14 のアミノ酸配列を含む 4-1 B B ポリペプチドである。

40

【0233】

一部の例では、バリエーション型 4-1 B B L ポリペプチドは、SEQ ID NO: 10~13 のうちの 1 つに記載のアミノ酸配列を含む 4-1 B B L ポリペプチドの結合親和性と比較して、4-1 B B に対し低い結合親和性を示す。例えば、一部の例では、本開示のバリエーション型 4-1 B B L ポリペプチドは、同一条件下でアッセイする際、SEQ ID NO: 10~13 のうちの 1 つに記載のアミノ酸配列を含む 4-1 B B L ポリペプチドの 4-1 B B ポリペプチド (例えば、SEQ ID NO: 14 に記載のアミノ酸配列を含む 4-1 B B ポリペプチド) に対する結合親和性よりも少なくとも 10% 低い、少なくとも 15% 低い、少なくとも 20% 低い、少なくとも 25% 低い、少なくとも 30% 低い、少なくとも 35% 低い、少なくとも 40% 低い、少なくとも 45% 低い、少なくとも 50% 低

50

い、少なくとも55%低い、少なくとも60%低い、少なくとも65%低い、少なくとも70%低い、少なくとも75%低い、少なくとも80%低い、少なくとも85%低い、少なくとも90%低い、少なくとも95%低い、または、95%超低い結合親和性で、4-1BBに結合する。

【0234】

一部の例では、バリエーション型4-1BB Lポリペプチドは、4-1BBに対する100 nM～100 μMの結合親和性を有する。別の例として、一部の例では、バリエーション型4-1BB Lポリペプチドは、4-1BB（例えば、SEQ ID NO: 14に記載のアミノ酸配列を含む4-1BBポリペプチド）に対する約100 nM～150 nM、約150 nM～約200 nM、約200 nM～約250 nM、約250 nM～約300 nM、約300 nM～約350 nM、約350 nM～約400 nM、約400 nM～約500 nM、約500 nM～約600 nM、約600 nM～約700 nM、約700 nM～約800 nM、約800 nM～約900 nM、約900 nM～約1 μM、約1 μM～約5 μM、約5 μM～約10 μM、約10 μM～約15 μM、約15 μM～約20 μM、約20 μM～約25 μM、約25 μM～約50 μM、約50 μM～約75 μM、または、約75 μM～約100 μMの結合親和性を有する。

【0235】

一部の例では、バリエーション型4-1BB Lポリペプチドは、SEQ ID NO: 10～13のうちの1つに記載の4-1BB Lアミノ酸配列と比較して、単一のアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型4-1BB Lポリペプチドは、SEQ ID NO: 10～13のうちの1つに記載の4-1BB Lアミノ酸配列と比較して、2～10のアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型4-1BB Lポリペプチドは、SEQ ID NO: 10～13のうちの1つに記載の4-1BB Lアミノ酸配列と比較して、2つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型4-1BB Lポリペプチドは、SEQ ID NO: 10～13のうちの1つに記載の4-1BB Lアミノ酸配列と比較して、3つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型4-1BB Lポリペプチドは、SEQ ID NO: 10～13のうちの1つに記載の4-1BB Lアミノ酸配列と比較して、4つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型4-1BB Lポリペプチドは、SEQ ID NO: 10～13のうちの1つに記載の4-1BB Lアミノ酸配列と比較して、5つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型4-1BB Lポリペプチドは、SEQ ID NO: 10～13のうちの1つに記載の4-1BB Lアミノ酸配列と比較して、6つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型4-1BB Lポリペプチドは、SEQ ID NO: 10～13のうちの1つに記載の4-1BB Lアミノ酸配列と比較して、7つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型4-1BB Lポリペプチドは、SEQ ID NO: 10～13のうちの1つに記載の4-1BB Lアミノ酸配列と比較して、8つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型4-1BB Lポリペプチドは、SEQ ID NO: 10～13のうちの1つに記載の4-1BB Lアミノ酸配列と比較して、9つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型4-1BB Lポリペプチドは、SEQ ID NO: 10～13のうちの1つに記載の4-1BB Lアミノ酸配列と比較して、10のアミノ酸置換を有する。

【0236】

好適な4-1BB Lバリエーション型としては、以下のアミノ酸配列、
 PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYXEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
 EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
 PRSE (SEQ ID NO: 97)

(XはLys以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはAlaである)、

10

20

30

40

50

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWXLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO: 98)

(XはG l n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG XF AQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO: 99)

10

(XはM e t以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MXAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO: 100)

20

(XはP h e以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAXLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:101)

(XはG l n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQXV A QNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:102)

30

(XはL e u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLXAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:103)

40

(XはV a l以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAXNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:104)

(XはG l n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、

50

PAGLLDLRQG MFAQLVAQXV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:105)

(XはA s n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNX LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:106)

10

(XはV a l以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV XLLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:107)

20

(XはL e u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LXIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:108)

(XはL e u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLXDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:109)

30

(XはI l e以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIXGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:110)

40

(XはA s p以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDXPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:111)

(XはG l y以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、

50

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGXLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:112)

(XはP r o以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPXSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:113)

10

(XはL e u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPXWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:114)

20

(XはS e r以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPSXY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:115)

(XはT r p以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPSWX SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:116)

30

(XはT y r以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPSWY XDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:117)

40

(XはS e r以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPSWY SXPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:118)

(XはA s p以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、

50

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDXGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:119)

(XはP r o以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPXLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:120)

10

(XはG l y以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGXAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:121)

20

(XはL e u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAXVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:122)

(XはG l y以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGXSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:123)

30

(XはV a l以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVXL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:124)

40

(XはS e r以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSX TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:125)

(XはL e u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、

50

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL XGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:126)

(XはT h r 以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TXGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:127)

10

(XはG l y 以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGXGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:128)

20

(XはG l y 以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGXSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:129)

(XはL e u 以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLXYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:130)

30

(XはS e r 以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSXKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:131)

40

(XはT y r 以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKXDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:132)

(XはG l u 以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、

50

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEXT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:133)

(XはA s p以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDX
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:134)

10

(XはT h r以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
XELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:135)

20

(XはL y s以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KXLVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:136)

(XはG l u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVXFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:137)

30

(XはP h e以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFXQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:138)

40

(XはP h e以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFXLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:139)

(XはG l n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、

50

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQXELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:140)

(XはL e u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:141)

10

(XはG l u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:142)

20

(XはL e u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:143)

(XはA r g以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR XVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:144)

30

(XはA r g以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RXVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:145)

40

(XはV a l以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVXAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:146)

(XはV a l以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、

50

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAXEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:147)

(XはG l y以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGXGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:148)

10

(XはG l u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEXSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:149)

20

(XはG l y以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGXGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:150)

(XはS e r以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVXLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:151)

30

(XはA s p以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDXPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:152)

40

(XはL e u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLXPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:153)

(XはP r o以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、

50

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPAXS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:154)

(XはS e r以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASX
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:155)

10

(XはS e r以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
XARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:156)

20

(XはG l u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EAXNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:157)

(XはA r g以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARXSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:158)

30

(XはA s n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNXAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:159)

40

(XはS e r以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAXGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:160)

(XはP h e以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、

50

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ XRLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:161)

(XはG l n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT

KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ XRLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:162)

10

(XはA r g以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT

KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ R XGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:163)

20

(XはL e u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT

KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RL XVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:164)

(XはG l y以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT

KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLG XHHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:165)

30

(XはV a l以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT

KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLG VHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:166)

40

(XはH i s以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT

KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLG VHXHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:167)

(XはL e u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、

50

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLXTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:168)

(XはH i s 以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHXEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:169)

10

(XはT h r 以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTXA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:170)

20

(XはG l u 以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA XARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:171)

(XはA r g 以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RXAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:172)

30

(XはA r g 以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARXAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:173)

40

(XはH i s 以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAXQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:174)

(XはT r p 以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、

50

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQXTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:175)

(XはL e u以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLXQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:176)

10

(XはT h r以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTX GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:177)

20

(XはG l n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ XATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:178)

(XはG l y以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GAXVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:179)

30

(XはT h r以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、及び、
PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATXLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:180)

40

(XはV a l以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)のうち
のいずれか1つに対して、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少
なくとも99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリ
ペプチドが挙げられる。

【0237】

IL-2バリエーション型

一部の例では、本開示のTMMP内に存在するバリエーション型免疫調節ポリペプチドはバ
リエーション型IL-2ポリペプチドである。野生型IL-2は、IL-2受容体(IL-2
R)、すなわち、IL-2R α 、IL-2R β とIL-2R γ を含むヘテロ三量体ポリペ

50

プチドに結合する。

【0238】

野生型IL-2アミノ酸配列は、以下、

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD

LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLEELKPLEEVL NLAQSKNFHL

RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFCQSIIS TLT (SEQ ID

NO:15)

であってもよい。

【0239】

野生型IL-2は、細胞の表面上のIL-2受容体(IL-2R)に結合する。IL-2受容体は、一部の例では、 α 鎖(IL-2R α 、CD25とも呼ばれる)と、 β 鎖(IL-2R β 、CD122とも呼ばれる)と、 γ 鎖(IL-2R γ 、CD132とも呼ばれる)と、を含む、ヘテロ三量体ポリペプチドである。ヒトIL-2R α 、ヒトIL-2R β 、及び、ヒトIL-2R γ のアミノ酸配列は、以下、

ヒトIL-2R α ：

ELCDDDPPE IPHATFKAMA YKEGTMLNCE CKRGFRRIKS

GSLYMLCTGN SSHSSWDNQC QCTSSATRNT TKQVTPQPEE QKERKTTEMQ SPMQPVDQAS

LPGHCREPPP WENEATERIY HFVVGQMVYY QCVQGYRALH RGPESVCKM THGKTRWTQP

QLICTGEMET SQFPGEEKPQ ASPEGRPESE TSCLVTTTDF QIQTEMAATM ETSIFTTEYQ

VAVAGCVFLL ISVLLLSGLT WQRRQRKSRR TI (SEQ ID NO:16)

、

ヒトIL-2R β ：

VNG TSQFTCFYNS RANISCVWSQ DGALQDTSCQ

VHAWPDRRRW NQTCCELLPVS QASWACNLIL GAPDSQKLTT VDIVTLRVLC REGVRWRVMA

IQDFKPFENL RLMAPIQLQV VHVETHRCNI SWEISQASHY FERHLEFEAR TLSPGHTWEE

APLLTLKQKQ EWICLETLP DTQYEFQVRV KPLQGEFTTW SPWSQPLAFR TKPAALGKDT

IPWLGHLLVG LSGAFGFIL VYLLINCRNT GPWLKKVLKC NTPDPSKFFS QLSSEHGGDV

QKWLSPPFPS SSFSPGGLAP EISPLEVLER DKVTQLLLQQ DKVPEPASLS SNHSLTSCFT

NQGYFFFHLP DALEIEACQV YFTYDPYSEE DPDEGVAGAP TGSSPQPLQP LSGEDDAYCT

FPSRDDLLLF SPSLLGGPSP PSTAPGGSGA GEERMPPSLQ ERVPRDWDQP PLGPPTPGVP

DLVDFQPPPE LVLREAGEEV PDAGPREGVS FPWSRPPGQG EFRALNARLP LNTDAYLSLQ

ELQGQDPHTL V (SEQ ID NO:17)

、

ヒトIL-2R γ ：

10

20

30

40

50

LNTTILTP NGNEDTTADF FLTTMPTDSL SVSTLPLPEV
QCFVFNVEYM NCTWNSSSEP QPTNLTLYHW YKNSDNDKVQ KCSHYLFSEE ITSGCQLQKK
EIHL YQTFV V QLQDPREPRR QATQMLKLQN LVIPWAPENL TLHKLSLSQL ELNWNRRFLN
HCLEHLVQYR TDWDHSWTEQ SVDYRHKFSL PSVDGQKRYT FRVRSRNFNPL CGSAQHWSEW
SHPIHWGSNT SKENPFLFAL EAVVISVGSM GLIISLLCVY FWLERTMPRI PTLKNLEDLV
TEYHGNFSAW SGVSKGLAES LQPDYSERLC LVSEIPPKGG ALGEGPGASP CNQHSPYWAP
PCYTLKPET (SEQ ID NO:18)

10

であってもよい。

【0240】

一部の例では、本開示のTMM Pがバリエーション型IL-2ポリペプチドを含む場合、「同種共免疫調節ポリペプチド」は、SEQ ID NO:16、17及び18のアミノ酸配列を含むポリペプチドを含むIL-2 Rである。

【0241】

一部の例では、バリエーション型IL-2ポリペプチドは、SEQ ID NO:15に記載のアミノ酸配列を含むIL-2ポリペプチドの結合親和性と比較して、IL-2 Rに対し低い結合親和性を示す。例えば、一部の例では、バリエーション型IL-2ポリペプチドは、同一条件下でアッセイする際、SEQ ID NO:15に記載のアミノ酸配列を含むIL-2ポリペプチドのIL-2 R（例えば、SEQ ID NO:16～18に記載のアミノ酸配列を含むポリペプチドを含むIL-2 R）に対する結合親和性よりも少なくとも10%低い、少なくとも15%低い、少なくとも20%低い、少なくとも25%低い、少なくとも30%低い、少なくとも35%低い、少なくとも40%低い、少なくとも45%低い、少なくとも50%低い、少なくとも55%低い、少なくとも60%低い、少なくとも65%低い、少なくとも70%低い、少なくとも75%低い、少なくとも80%低い、少なくとも85%低い、少なくとも90%低い、少なくとも95%低い、または、95%超低い結合親和性で、IL-2 Rに結合する。

20

【0242】

一部の例では、バリエーション型IL-2ポリペプチドは、IL-2 Rに対する100 nM～100 μMの結合親和性を有する。別の例として、一部の例では、バリエーション型IL-2ポリペプチドは、IL-2 R（例えば、SEQ ID NO:16～18に記載のアミノ酸配列を含むポリペプチドを含むIL-2 R）に対する約100 nM～150 nM、約150 nM～約200 nM、約200 nM～約250 nM、約250 nM～約300 nM、約300 nM～約350 nM、約350 nM～約400 nM、約400 nM～約500 nM、約500 nM～約600 nM、約600 nM～約700 nM、約700 nM～約800 nM、約800 nM～約900 nM、約900 nM～約1 μM、約1 μM～約5 μM、約5 μM～約10 μM、約10 μM～約15 μM、約15 μM～約20 μM、約20 μM～約25 μM、約25 μM～約50 μM、約50 μM～約75 μM、または、約75 μM～約100 μMの結合親和性を有する。

30

【0243】

一部の例では、バリエーション型IL-2ポリペプチドは、SEQ ID NO:15に記載のIL-2アミノ酸配列と比較して、単一のアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型IL-2ポリペプチドは、SEQ ID NO:15に記載のIL-2アミノ酸配列と比較して、2～10のアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型IL-2ポリペプチドは、SEQ ID NO:15に記載のIL-2アミノ酸配列と比較して、2つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型IL-2ポリペプチドは、SEQ ID NO:15に記載のIL-2アミノ酸配列と比較して、3つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型IL-2ポリペプチドは、SEQ ID NO:15に記載のIL-2アミノ酸配列と比較して、4つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、

40

50

バリエーション型 I L - 2 ポリペプチドは、S E Q I D N O : 1 5 に記載の I L - 2 アミノ酸配列と比較して、5つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型 I L - 2 ポリペプチドは、S E Q I D N O : 1 5 に記載の I L - 2 アミノ酸配列と比較して、6つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型 I L - 2 ポリペプチドは、S E Q I D N O : 1 5 に記載の I L - 2 アミノ酸配列と比較して、7つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型 I L - 2 ポリペプチドは、S E Q I D N O : 1 5 に記載の I L - 2 アミノ酸配列と比較して、8つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型 I L - 2 ポリペプチドは、S E Q I D N O : 1 5 に記載の I L - 2 アミノ酸配列と比較して、9つのアミノ酸置換を有する。一部の例では、バリエーション型 I L - 2 ポリペプチドは、S E Q I D N O : 1 5 に記載の I L - 2 アミノ酸配列と比較して、10のアミノ酸置換を有する。

10

【 0 2 4 4 】

好適な I L - 2 バリエーション型としては、以下のアミノ酸配列、
APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:181)

(X は P h e 以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、X は A l a である。一部の例では、X は M e t である。一部の例では、X は P r o である。一部の例では、X は S e r である。一部の例では、X は T h r である。一部の例では、X は T r p である。一部の例では、X は T y r である。一部の例では、X は V a l である。一部の例では、X は H i s である) 、

20

APTSSSTKKT QLQLEHLLLDX LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:182)

(X は A s p 以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、X は A l a である) 、

APTSSSTKKT QLQLXHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:183)

30

(X は G l u 以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、X は A l a である) 、

APTSSSTKKT QLQLEXLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:184)

40

(X は H i s 以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、X は A l a である。一部の例では、X は T h r である。一部の例では、X は A s n である。一部の例では、X は C y s である。一部の例では、X は G l n である。一部の例では、X は M e t である。一部の例では、X は V a l である。一部の例では、X は T r p である) 、

APTSSSTKKT QLQLEXLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:185)

(X は H i s 以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、X は A l a である。一部の

50

例では、XはA r gである。一部の例では、XはA s nである。一部の例では、XはA s pである。一部の例では、XはC y sである。一部の例では、XはG l uである。一部の例では、XはG l nである。一部の例では、XはG l yである。一部の例では、XはI l eである。一部の例では、XはL y sである。一部の例では、XはL e uである。一部の例では、XはM e tである。一部の例では、XはP h eである。一部の例では、XはP r oである。一部の例では、XはS e rである。一部の例では、XはT h rである。一部の例では、XはT y rである。一部の例では、XはT r pである。一部の例では、XはV a lである）、

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFXMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:186)

10

(XはT y r以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCXSIIS TLT (SEQ ID NO:187)

(XはG l n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、XはA l aである)、

APTSSSTKKT QLQLEX₁LLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₂KFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:188)

20

(X₁はH i s以外の任意のアミノ酸であり、X₂はP h e以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、X₁はA l aである。一部の例では、X₂はA l aである。一部の例では、X₁はA l aであり、X₂はA l aである。一部の例では、X₁はT h rであり、X₂はA l aである)、

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX₁ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₂KFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:189)

30

(X₁はA s p以外の任意のアミノ酸であり、X₂はP h e以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、X₁はA l aである。一部の例では、X₂はA l aである。一部の例では、X₁はA l aであり、X₂はA l aである)、

APTSSSTKKT QLQLX₁HLLLX₂ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₃KFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:190)

40

(X₁はG l u以外の任意のアミノ酸であり、X₂はA s p以外の任意のアミノ酸であり、X₃はP h e以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、X₁はA l aである。一部の例では、X₂はA l aである。一部の例では、X₃はA l aである。一部の例では、X₁はA l aであり、X₂はA l aであり、X₃はA l aである)、

APTSSSTKKT QLQLEX₁LLLX₂ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₃KFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:191)

50

(X₁はH i s以外の任意のアミノ酸であり、X₂はA s p以外の任意のアミノ酸であり、X₃はP h e以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、X₁はA l aである。一部の例では、X₂はA l aである。一部の例では、X₃はA l aである。一部の例では、X₁はA l aであり、X₂はA l aであり、X₃はA l aである)、
APTSSSTKKT QLQLEHLLLX₁ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₂KFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCX₃SIIS TLT (SEQ ID NO:192)

(X₁はA s p以外の任意のアミノ酸であり、X₂はP h e以外の任意のアミノ酸であり、X₃はG l n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、X₁はA l aである。一部の例では、X₂はA l aである。一部の例では、X₃はA l aである。一部の例では、X₁はA l aであり、X₂はA l aであり、X₃はA l aである)、
APTSSSTKKT QLQLEHLLLX₁ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₂KFX₃MPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:193)

(X₁はA s p以外の任意のアミノ酸であり、X₂はP h e以外の任意のアミノ酸であり、X₃はT y r以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、X₁はA l aである。一部の例では、X₂はA l aである。一部の例では、X₃はA l aである。一部の例では、X₁はA l aであり、X₂はA l aであり、X₃はA l aである)、
APTSSSTKKT QLQLEX₁LLLX₂ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₃KFX₄MPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:194)

(X₁はH i s以外の任意のアミノ酸であり、X₂はA s p以外の任意のアミノ酸であり、X₃はP h e以外の任意のアミノ酸であり、X₄はT y r以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、X₁はA l aである。一部の例では、X₂はA l aである。一部の例では、X₃はA l aである。一部の例では、X₄はA l aである。一部の例では、X₁はA l aであり、X₂はA l aであり、X₃はA l aであり、X₄はA l aである)、
APTSSSTKKT QLQLEHLLLX₁ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₂KFX₃MPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCX₄SIIS TLT (SEQ ID NO:195)

(X₁はA s p以外の任意のアミノ酸であり、X₂はP h e以外の任意のアミノ酸であり、X₃はT y r以外の任意のアミノ酸であり、X₄はG l n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、X₁はA l aである。一部の例では、X₂はA l aである。一部の例では、X₃はA l aである。一部の例では、X₄はA l aである。一部の例では、X₁はA l aであり、X₂はA l aであり、X₃はA l aであり、X₄はA l aである)、
APTSSSTKKT QLQLEX₁LLLX₂ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₃KFX₄MPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCX₅SIIS TLT (SEQ ID NO:196)

(X₁はH i s以外の任意のアミノ酸であり、X₂はA s p以外の任意のアミノ酸であり、X₃はP h e以外の任意のアミノ酸であり、X₄はT y r以外の任意のアミノ酸であり、X₅はG l n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、X₁はA l aである。一

10

20

30

40

50

部の例では、X₂はA l aである。一部の例では、X₃はA l aである。一部の例では、X₄はA l aである。一部の例では、X₅はA l aである。一部の例では、X₁はA l aであり、X₂はA l aであり、X₃はA l aであり、X₄はA l aであり、X₅はA l aである）、及び、

APTSSSTKKT QLQLEX₁LLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML T₂KFYMPKKA

TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE

TATIVEFLNRWITFC₃SIIS TLT (SEQ ID NO:197)

(X₁はH i s以外の任意のアミノ酸であり、X₂はP h e以外の任意のアミノ酸であり、X₃はG l n以外の任意のアミノ酸である) (一部の例では、X₁はA l aである。一部の例では、X₂はA l aである。一部の例では、X₃はA l aである。一部の例では、X₁はA l aであり、X₂はA l aであり、X₃はA l aである)、
のうちのいずれか1つに対して、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドが挙げられる。

【0245】

さらなるポリペプチド

本開示のTMMPのポリペプチド鎖は、上記のポリペプチドに加えて、1つ以上のポリペプチドを含んでもよい。好適な別のポリペプチドは、エピトープタグと親和性ドメインを含む。1つ以上の別のポリペプチドは、TMMPのポリペプチド鎖のN末端、TMMPのポリペプチド鎖のC末端、または、TMMPのポリペプチド鎖の内部に含まれていてもよい。

【0246】

エピトープタグ

好適なエピトープタグとしては、ヘマグルチニン (HA、例えば、YPYDVPDYA (SEQ ID NO:271))、FLAG (例えば、DYKDDDDK (SEQ ID NO:272))、c-myc (例えば、EQKLISEEDL (SEQ ID NO:273))などが挙げられるがこれらに限定されない。

【0247】

親和性ドメイン

親和性ドメインは、結合パートナーと相互作用可能なペプチド配列、例えば、同定または精製に有用な、固体支持体上に固定されたペプチド配列などを含む。複数の連続単一アミノ酸 (例えば、ヒスチジンなど) をコードするDNA配列は、発現タンパク質に融合した場合、ニッケルセファロースなどのレジンカラムへの高親和性結合により、組換えタンパク質のワンステップ精製に使用され得る。例示的な親和性ドメインとしては、His5 (HHHHH) (SEQ ID NO:271)、HisX6 (HHHHHH) (SEQ ID NO:275)、C-myc (EQKLISEEDL) (SEQ ID NO:276)、Flag (DYKDDDDK) (SEQ ID NO:277)、StrepTag (WSHPQFEK) (SEQ ID NO:278)、ヘマグルチニン、例えば、HATag (YPYDVPDYA) (SEQ ID NO:279)、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST)、チオレドキシン、セルロース結合ドメイン、RYIRS (SEQ ID NO:280)、Phe-His-His-Thr (SEQ ID NO:281)、キチン結合ドメイン、Sペプチド、T7ペプチド、SH2ドメイン、C末端RNAタグ、

WEAAAREACCRECCARA (SEQ ID NO:282)

、金属結合ドメイン、例えば、亜鉛結合ドメインまたはカルシウム結合ドメイン (例えば、カルシウム結合タンパク質、例えば、カルモジュリン、トロポニンC、カルシニューリンB、ミオシン軽鎖、リカバリン、Sモジュリン、ピシニン、VILIP、ニューロカル

10

20

30

40

50

シン、ヒポカルシン、フリクエニン、カルトラクチン、カルパイン大サブユニット、S100タンパク質、パルブアルブミン、カルビンジンD9K、カルビンジンD28K、及びカルレチニンに由来する、カルシウム結合ドメインなど）、インテイン、ビオチン、ストレプトアビジン、MyoD、Id、ロイシンジッパー配列、及びマルトース結合タンパク質が挙げられる。

【0248】

薬物複合体

本開示のTMMPのポリペプチド鎖は、ポリペプチド鎖に結合（例えば、共有結合）した低分子薬物を含んでいてもよい。例えば、本開示のTMMPがFcポリペプチドを含む場合、そのFcポリペプチドは、共有結合した低分子薬物を含んでいてもよい。一部の例では、低分子薬物は、がん化学療法剤、例えば、細胞傷害薬である。本開示のTMMPのポリペプチド鎖は、ポリペプチド鎖に結合（例えば、共有結合）した細胞傷害薬を含んでいてもよい。例えば、本開示のTMMPがFcポリペプチドを含む場合、そのFcポリペプチドは、共有結合した細胞傷害薬を含んでいてもよい。細胞傷害薬はプロドラッグを含む。

【0249】

薬物（例えば、がん化学療法剤）は、直接または間接的に、本開示のTMMPのポリペプチド鎖に結合していてもよい。例えば、本開示のTMMPがFcポリペプチドを含む場合、薬物（例えば、がん化学療法剤）は、直接または間接的に、Fcポリペプチドに結合していてもよい。直接結合は、アミノ酸側鎖への直接結合を含んでいてもよい。間接的結合は、リンカーを介した結合であってもよい。薬物（例えば、がん化学療法剤）は、チオエーテル結合、アミド結合、カルバメート結合、ジスルフィド結合、またはエーテル結合を介して、本開示のTMMPのポリペプチド鎖（例えば、Fcポリペプチド）に結合していてもよい。

【0250】

リンカーとしては、開裂性リンカー及び非開裂性リンカーが挙げられる。一部の例では、リンカーはプロテアーゼ開裂性リンカーである。好適なリンカーとしては、例えば、ペプチド（例えば、2～10アミノ酸長、例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、または10アミノ酸長）、アルキル鎖、ポリ（エチレングリコール）、ジスルフィド基、チオエーテル基、酸に不安定な基、感光性基、ペプチダーゼに不安定な基、及び、エステラーゼに不安定な基が挙げられる。好適なリンカーの非限定例は、i) N-スクシンイミジル-[(N-マレイミドプロピオンアミド)-テトラエチレングリコール] エステル (NHSP-PEG4-マレイミド)、ii) N-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルジチオ) ブタノエート (SPDB)、N-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルジチオ) 2-スルホブタノエート (スルホ-SPDB)、N-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルジチオ) ペンタノエート (SPP)、N-スクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)-シクロヘキサン-1-カルボキシ-(6-アミドカプロエート) (LC-SMCC)、 κ -マレイミドウンデカン酸 N-スクシンイミジルエステル (KMUA)、 γ -マレイミド酪酸 N-スクシンイミジルエステル (GMB S)、 ϵ -マレイミドカプロン酸 N-ヒドロキシスクシンイミドエステル (EMCS)、m-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル (MBS)、N-(α -マレイミドアセトキシ)-スクシンイミドエステル (AMAS)、スクシンイミジル-6-(β -マレイミドプロピオンアミド) ヘキサノエート (SMPH)、N-スクシンイミジル-4-(p-マレイミドフェニル) ブチレート (SMPB)、N-(p-マレイミドフェニル) イソシアネート (PMP I)、N-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルチオ) ペンタノエート (SPP)、N-スクシンイミジル-(4-ヨード-アセチル) アミノベンゾエート (S IAB)、6-マレイミドカプロイル (MC)、マレイミドプロパノイル (MP)、p-アミノベンジルオキシカルボニル (PAB)、N-スクシンイミジル-4-(マレイミドメチル) シクロヘキサンカルボキシレート (SMCC)、N-スクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)-シクロヘキサン-1-カルボキシ-(6-アミドカプロエート) (SMCC)

10

20

30

40

50

の「長鎖」類似体（LC-SMCC）、3-マレイミドプロパン酸 N-スクシンイミジルエステル（BMP S）、N-スクシンイミジル ヨードアセテート（SIA）、N-スクシンイミジル プロモアセテート（SBA）、及び、N-スクシンイミジル 3-（プロモアセトアミド）プロピオネート（SBAP）である。

【0251】

文献に記載された、スクシンイミジル 4-（N-マレイミドメチル）-シクロヘキサン-1-カルボキシレート（SMCC）、スルホ-SMCC、マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル（MBS）、スルホ-MBS、またはスクシンイミジル-ヨードアセテートなどの架橋試薬で、ポリペプチド（例えば、Fcポリペプチド）を修飾して、1～10の反応性基を導入してもよい。次に、修飾Fcポリペプチドを、チオール含有細胞傷害薬と反応させて、複合体を作製する。

10

【0252】

例えば、本開示のTMMPがFcポリペプチドを含む場合、そのFcポリペプチドを含むポリペプチド鎖は、式（A）-（L）-（C）（式中、（A）はFcポリペプチドを含むポリペプチド鎖であり、（L）は存在する場合リンカーであり、（C）は細胞傷害薬であり、（L）は存在する場合、（A）と（C）を連結させる）のポリペプチド鎖であってもよい。一部の例では、Fcポリペプチドを含むポリペプチド鎖は、2つ以上の細胞傷害薬（例えば、2、3、4、もしくは、5、または、5超の細胞傷害薬）を含んでいてもよい。

【0253】

好適な薬物としては、例えば、ラパマイシンが挙げられる。好適な薬物としては、例えば、全トランス型レチノイン酸（ATRA）などのレチノイド、ビタミンD3、ビタミンD3類似体などが挙げられる。上に記載したように、一部の例では、薬物は細胞傷害薬である。細胞傷害薬は当技術分野において周知である。好適な細胞傷害薬は、細胞の死をもたらす、細胞死を誘導する、または、何らかの方法で細胞生存能を低下させる、任意の化合物であってもよく、例えば、メイタンシノイド及びメイタンシノイド類似体、ベンゾジアゼピン、タキソイド、CC-1065及びCC-1065類似体、デュオカルマイシン及びデュオカルマイシン類似体、エンジン（カリケアミシンなど）、ドラスタチン及びドラスタチン類似体（アウリスタチンを含む）、トマイマイシン誘導體、レプトマイシン誘導體、メトトレキサート、シスプラチン、カルボプラチン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、ビンクリスチン、ビンブラスチン、メルファラン、マイトマイシンC、クロラムブシル、ならびに、モルホリノドキソルビシンが挙げられる。

20

30

【0254】

例えば、一部の例では、細胞傷害薬は、真核細胞内における微小管形成を阻害する化合物である。このような薬剤としては、例えば、メイタンシノイド、ベンゾジアゼピン、タキソイド、CC-1065、デュオカルマイシン、デュオカルマイシン類似体、カリケアミシン、ドラスタチン、ドラスタチン類似体、アウリスタチン、トマイマイシン、及びレプトマイシン、または、上記のうちのいずれか1つのプロドラッグが挙げられる。メイタンシノイド化合物としては、例えば、N（2'）-デアセチル-N（2'）-（3-メルカプト-1-オキソプロピル）-マイタンシン（DM1）、N（2'）-デアセチル-N（2'）-（4-メルカプト-1-オキソペンチル）-マイタンシン（DM3）、及び、N（2'）-デアセチル-N2-（4-メルカプト-4-メチル-1-オキソペンチル）-マイタンシン（DM4）が挙げられる。ベンゾジアゼピンとしては、例えば、インドリノベンゾジアゼピン及びオキサゾリジノベンゾジアゼピンが挙げられる。

40

【0255】

細胞傷害薬としては、タキソール、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、マイトマイシン、エトポシド、テニポシド、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、マイタンシンまたはその類似体もしくは誘導體、アウリスタチンまたはその機能性ペプチド類似体もしくは誘導體、ドラスタチン10もしくは15またはその類似体、イリノテ

50

カンまたはその類似体、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンD、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、カリケアミシンまたはその類似体もしくは誘導体、代謝拮抗薬、6メルカプトプリン、6チオグアニン、シタラビン、フルダラビン、5フルオロウラシル、ダカルバジン、ヒドロキシウレア、アスパラギナーゼ、ゲムシタビン、クラドリビン、アルキル化剤、白金誘導体、デュオカルマイシンA、デュオカルマイシンSA、ラケルマイシン(CC-1065)またはその類似体もしくは誘導体、抗生物質、ピロロ[2,1-c][1,4]-ベンゾジアゼピン(PDB)、ジフテリア毒素、リシン毒素、コレラ毒素、志賀様毒素、LT毒素、C3毒素、志賀毒素、百日咳毒素、破傷風毒素、大豆ボーマンバークプロテアーゼ阻害剤、シュードモナスエキソトキシン、アロリン、サポリン、モデシン、ゲラニン、アブリンA鎖、モデシンA鎖、 α サルシン、シナアブラギリ(*Aleurites fordii*)タンパク質、ジアンチンタンパク質、ヨウシュヤマゴボウ(*Phytolacca americana*)タンパク質、ツルレイシ阻害剤、クルシン、クロチン、サボンソウ阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン毒素、リボヌクレアーゼ(RNase)、DNase I、ブドウ球菌エンテロトキシンA、アメリカヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質、ジフテリア毒素、及びシュードモナスエンドトキシンが挙げられる。

【0256】

例示的なTMMP

本開示のTMMPは、a) i) ペプチドエピトープと、ii) 第1のMHCポリペプチドとを含む第1のポリペプチド、b) 第2のMHCポリペプチドを含む第2のポリペプチド、及びc) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含む、少なくとも1つのヘテロ二量体を含み、第1及び／または第2のポリペプチドは免疫調節ポリペプチドを含む。したがって、一部の例では、本開示のTMMPは、a) i) ペプチドエピトープと、ii) 第1のMHCポリペプチドと、iii) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドとを含む第1のポリペプチド、及びb) 第2のMHCポリペプチドを含む第2のポリペプチドを含む、少なくとも1つのヘテロ二量体を含む。他の例では、本開示のTMMPは、a) i) ペプチドエピトープと、ii) 第1のMHCポリペプチドとを含む第1のポリペプチド、b) i) 第2のMHCポリペプチドと、ii) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドとを含む第2のポリペプチドを含む、少なくとも1つのヘテロ二量体を含む。一部の例では、本開示のTMMPは、a) i) ペプチドエピトープと、ii) 第1のMHCポリペプチドと、iii) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドとを含む第1のポリペプチド、b) i) 第2のMHCポリペプチドと、ii) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドとを含む第2のポリペプチドを含む、少なくとも1つのヘテロ二量体を含む。一部の例では、少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドは野生型免疫調節ポリペプチドである。他の例では、少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドは、共免疫調節ポリペプチドと比較して、対応する野生型免疫調節ポリペプチドの共免疫調節ポリペプチドに対する親和性に比べて低い親和性を示す、バリエーション型免疫調節ポリペプチドである。一部の例では、本開示のTMMPは、2つの免疫調節ポリペプチドを含み、2つの免疫調節ポリペプチドは、同じアミノ酸配列を有する。一部の例では、本開示のTMMPに存在するペプチドエピトープは、がん関連ペプチドである。一部の例では、本開示のTMMPに存在するペプチドエピトープは、感染症関連ペプチド(例えば、ウイルスにコードされたペプチド)である。

【0257】

一部の例では、本開示のTMMPは、a) N末端からC末端の順に、i) ペプチドエピトープと、ii) 第1のMHCポリペプチドと、iii) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドとを含む第1のポリペプチド、b) N末端からC末端の順に、i) 第2のMHCポリペプチドと、ii) IgFcポリペプチドとを含む第2のポリペプチドを含む。一部の例では、第1のMHCポリペプチドは β 2Mポリペプチドであり、第2のMHCポリペプチドはHLA重鎖ポリペプチドである。一部の例では、HLA重鎖ポリペプチドはHLA-A24ポリペプチドである。一部の例では、HLA重鎖ポリペプチドはA236C

置換を有するHLA-A24ポリペプチドである。一部の例では、第1のポリペプチドは、N末端からC末端の順に、i) ペプチドエピトープと、ii) 第1のMHCポリペプチドと、iii) 2つの免疫調節ポリペプチドとを含み、2つの免疫調節ポリペプチドは、同じアミノ酸配列を有する。一部の例では、IgFcポリペプチドはヒトIgG1Fcポリペプチドである。一部の例では、IgFcポリペプチドは、L234A及びL235A置換を含むIgG1Fcポリペプチドである。一部の例では、第1及び第2のポリペプチドを、互いにジスルフィド結合させる。一部の例では、免疫調節ポリペプチドは、H16A及びF42A置換を含むバリエーション型IL-2ポリペプチドである。一部の例では、免疫調節ポリペプチドは、H16T及びF42A置換を含むバリエーション型IL-2ポリペプチドである。一部の例では、ペプチドリンカーを、i) 第2のMHCポリペプチドとIgFcポリペプチド、ii) エピトープと第1のMHCポリペプチド、iii) 第1のMHCポリペプチドと免疫調節ポリペプチド、さらに(TMMPが第1のポリペプチド鎖上に2つの免疫調節ポリペプチドを含む場合)iv) 2つの免疫調節ポリペプチドの間、のうちの1つ以上の間に存在させる。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列AAAGG(SEQ ID NO: 283)を含む。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列(GGGGS)n(SEQ ID NO: 284)を含み、nは、1~10の整数である(例えば、nは、2、3、または4である)。一部の例では、本開示のTMMPに存在するペプチドエピトープは、がん関連ペプチドである。一部の例では、本開示のTMMPに存在するペプチドエピトープは、感染症関連ペプチド(例えば、ウイルスにコードされたペプチド)である。

【0258】

一部の例では、本開示のTMMPは、a) N末端からC末端の順に、i) ペプチドエピトープと、ii) 第1のMHCポリペプチドとを含む第1のポリペプチド、及びb) N末端からC末端の順に、i) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドと、ii) 第2のMHCポリペプチドと、iii) IgFcポリペプチドとを含む第2のポリペプチドを含む。一部の例では、第1のMHCポリペプチドはβ2Mポリペプチドであり、第2のMHCポリペプチドはHLA重鎖ポリペプチドである。一部の例では、HLA重鎖ポリペプチドはHLA-A24ポリペプチドである。一部の例では、HLA重鎖ポリペプチドはA236C置換を有するHLA-A24ポリペプチドである。一部の例では、第2のポリペプチドは、N末端からC末端の順に、i) 2つの免疫調節ポリペプチド(2つの免疫調節ポリペプチドは、同じアミノ酸配列を有する)と、ii) 第2のMHCポリペプチドと、iii) IgFcポリペプチドを含む。一部の例では、IgFcポリペプチドはヒトIgG1Fcポリペプチドである。一部の例では、IgFcポリペプチドはL234A及びL235A置換を含むIgG1Fcポリペプチドである。一部の例では、第1及び第2のポリペプチドを、互いにジスルフィド結合させる。一部の例では、免疫調節ポリペプチドは、H16A及びF42A置換を含むバリエーション型IL-2ポリペプチドである。一部の例では、免疫調節ポリペプチドは、H16T及びF42A置換を含むバリエーション型IL-2ポリペプチドである。一部の例では、ペプチドリンカーを、i) 第2のMHCポリペプチドとIgFcポリペプチド、ii) エピトープと第1のMHCポリペプチド、iii) 第1のMHCポリペプチドと免疫調節ポリペプチド、さらに(TMMPが第2のポリペプチド鎖上に2つの免疫調節ポリペプチドを含む場合)iv) 2つの免疫調節ポリペプチドの間のうちの1つ以上の間に存在させる。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列AAAGG(SEQ ID NO: 283)を含む。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列(GGGGS)n(SEQ ID NO: 284)を含み、nは、1~10の整数である(例えば、nは、2、3、または4である)。一部の例では、本開示のTMMPに存在するペプチドエピトープは、がん関連ペプチドである。一部の例では、本開示のTMMPに存在するペプチドエピトープは、感染症関連ペプチド(例えば、ウイルスにコードされたペプチド)である。

【0259】

一部の例では、本開示のTMMPは、a) N末端からC末端の順に、i) ペプチドエピ

トープと、i i) 第1のMHCポリペプチドとを含む第1のポリペプチド、b) N末端からC末端の順に、i) 第2のMHCポリペプチドと、i i) Ig Fcポリペプチドと、i i i) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドとを含む第2のポリペプチドを含む。一部の例では、第1のMHCポリペプチドは β 2Mポリペプチドであり、第2のMHCポリペプチドはHLA重鎖ポリペプチドである。一部の例では、HLA重鎖ポリペプチドはHLA-A24ポリペプチドである。一部の例では、HLA重鎖ポリペプチドはA236C置換を有するHLA-A24ポリペプチドである。一部の例では、第2のポリペプチドは、N末端からC末端の順に、i) 第2のMHCポリペプチドと、i i) Ig Fcポリペプチドと、i i i) 2つの免疫調節ポリペプチドとを含み、2つの免疫調節ポリペプチドは、同じアミノ酸配列を有する。一部の例では、Ig FcポリペプチドはヒトIgG1Fcポリペプチドである。一部の例では、Ig Fcポリペプチドは、L234A及びL235A置換を含むIgG1Fcポリペプチドである。一部の例では、第1及び第2のポリペプチドを、互いにジスルフィド結合させる。一部の例では、免疫調節ポリペプチドは、H16A及びF42A置換を含むバリエーション型IL-2ポリペプチドである。一部の例では、免疫調節ポリペプチドは、H16T及びF42A置換を含むバリエーション型IL-2ポリペプチドである。一部の例では、ペプチドリンカーを、i) 第2のMHCポリペプチドとIg Fcポリペプチド、i i) エピトープと第1のMHCポリペプチド、i i i) Ig Fcポリペプチドと免疫調節ポリペプチド、さらに(TMMPが第2のポリペプチド鎖上に2つの免疫調節ポリペプチドを含む場合) i v) 2つの免疫調節ポリペプチドの間、のうちの1つ以上の間に存在させる。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列A A A G G (SEQ ID NO: 283)を含む。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列(G G G G S) n (SEQ ID NO: 284)を含み、nは、1~10の整数である(例えば、nは、2、3、または4である)。

【0260】

一部の例では、本開示のTMMPは、a) N末端からC末端の順に、i) ペプチドエピトープと、i i) 第1のMHCポリペプチドとを含む第1のポリペプチド、b) N末端からC末端の順に、i) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドと、i i) 第2のMHCポリペプチドと、i i i) Ig Fcポリペプチドとを含む第2のポリペプチドを含む。一部の例では、第1のMHCポリペプチドは β 2Mポリペプチドである。第2のMHCポリペプチドはHLA重鎖ポリペプチドである。一部の例では、HLA重鎖ポリペプチドはHLA-A24ポリペプチドである。一部の例では、HLA重鎖ポリペプチドはA236C置換を有するHLA-A24ポリペプチドである。一部の例では、Ig FcポリペプチドはヒトIgG1Fcポリペプチドである。一部の例では、Ig Fcポリペプチドは、L234A及びL235A置換を含むIgG1Fcポリペプチドである。一部の例では、第1及び第2のポリペプチドを、互いにジスルフィド結合させる。一部の例では、免疫調節ポリペプチドは、H16A及びF42A置換を含むバリエーション型IL-2ポリペプチドである。一部の例では、免疫調節ポリペプチドは、H16T及びF42A置換を含むバリエーション型IL-2ポリペプチドである。

【0261】

一部の例では、本開示のTMMPは、a) N末端からC末端の順に、i) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドと、i i) ペプチドエピトープと、i i i) 第1のMHCポリペプチドとを含む第1のポリペプチド、b) N末端からC末端の順に、i) 第2のMHCポリペプチドと、i i) Ig Fcポリペプチドとを含む第2のポリペプチドを含む。一部の例では、第1のMHCポリペプチドは β 2Mポリペプチドであり、第2のMHCポリペプチドはHLA重鎖ポリペプチドである。一部の例では、HLA重鎖ポリペプチドはHLA-A24ポリペプチドである。一部の例では、HLA重鎖ポリペプチドはA236C置換を有するHLA-A24ポリペプチドである。一部の例では、第1のポリペプチドは、N末端からC末端の順に、i) 2つの免疫調節ポリペプチド(2つの免疫調節ポリペプチドは、同じアミノ酸配列を有する)と、i i) ペプチドエピトープと、i i i) 第1のMHCポリペプチドとを含む。一部の例では、Ig FcポリペプチドはヒトIgG1Fc

10

20

30

40

50

c ポリペプチドである。一部の例では、I g F c ポリペプチドは、L 2 3 4 A 及び L 2 3 5 A 置換を含む I g G 1 F c ポリペプチドである。一部の例では、第 1 及び第 2 のポリペプチドを、互いにジスルフィド結合させる。一部の例では、免疫調節ポリペプチドは、H 1 6 A 及び F 4 2 A 置換を含むバリエーション型 I L - 2 ポリペプチドである。一部の例では、免疫調節ポリペプチドは、H 1 6 T 及び F 4 2 A 置換を含むバリエーション型 I L - 2 ポリペプチドである。一部の例では、ペプチドリンカーを、i) 第 2 の M H C ポリペプチドと I g F c ポリペプチド、i i) エピトープと第 1 の M H C ポリペプチド、i i i) 免疫調節ポリペプチドとエピトープ、さらに (T M M P が第 1 のポリペプチド鎖上に 2 つの免疫調節ポリペプチドを含む場合) i v) 2 つの免疫調節ポリペプチドの間、のうちの 1 つ以上の間に存在させる。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列 A A A G G (S E Q I D N O : 2 8 3) を含む。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列 (G G G G S) n (S E Q I D N O : 2 8 4) を含み、n は、1 ~ 1 0 の整数である (例えば、n は、2、3、または 4 である)。

【0262】

一部の例では、本開示の T M M P は、a) N 末端から C 末端の順に、i) ペプチドエピトープと、i i) 第 1 の M H C ポリペプチドとを含む第 1 のポリペプチド、b) N 末端から C 末端の順に、i) 第 2 の M H C ポリペプチドと、i i) 少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチドと、i i i) I g F c ポリペプチドとを含む第 2 のポリペプチドを含む。一部の例では、第 1 の M H C ポリペプチドは β 2 M ポリペプチドであり、第 2 の M H C ポリペプチドは H L A 重鎖ポリペプチドである。一部の例では、H L A 重鎖ポリペプチドは H L A - A 2 4 ポリペプチドである。一部の例では、H L A 重鎖ポリペプチドは A 2 3 6 C 置換を有する H L A - A 2 4 ポリペプチドである。一部の例では、第 2 のポリペプチドは、N 末端から C 末端の順に、i) 第 2 の M H C ポリペプチドと、i i) 2 つの免疫調節ポリペプチド (2 つの免疫調節ポリペプチドは、同じアミノ酸配列を有する) と、i i i) I g F c ポリペプチドとを含む。一部の例では、I g F c ポリペプチドはヒト I g G 1 F c ポリペプチドである。一部の例では、I g F c ポリペプチドは、L 2 3 4 A 及び L 2 3 5 A 置換を含む I g G 1 F c ポリペプチドである。一部の例では、第 1 及び第 2 のポリペプチドを、互いにジスルフィド結合させる。一部の例では、免疫調節ポリペプチドは、H 1 6 A 及び F 4 2 A 置換を含むバリエーション型 I L - 2 ポリペプチドである。一部の例では、免疫調節ポリペプチドは、H 1 6 T 及び F 4 2 A 置換を含むバリエーション型 I L - 2 ポリペプチドである。一部の例では、ペプチドリンカーを、i) 第 2 の M H C ポリペプチドと免疫調節ポリペプチド、i i) 免疫調節ポリペプチドと I g F c ポリペプチド、i i i) エピトープと第 1 の M H C ポリペプチド、i i i) 第 1 の M H C ポリペプチドと免疫調節ポリペプチド、さらに (T M M P が第 2 のポリペプチド鎖上に 2 つの免疫調節ポリペプチドを含む場合) i v) 2 つの免疫調節ポリペプチドの間、のうちの 1 つ以上の間に存在させる。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列 A A A G G (S E Q I D N O : 2 8 3) を含む。一部の例では、ペプチドリンカーは、アミノ酸配列 (G G G G S) n (S E Q I D N O : 2 8 4) を含み、n は、1 ~ 1 0 の整数である (例えば、n は、2、3、または 4 である)。

【0263】

上記のように、そして図 1 4 に概略的に示すように、免疫調節ポリペプチド (すなわち、1 つ以上の免疫調節ポリペプチド) を、本開示の T M M P に様々な位置のいずれかで存在させることができる。図 1 4 は、バリエーション型 I L - 2 ポリペプチドの 2 つのコピーの位置を示すが、免疫調節ポリペプチドは、本明細書に記載のように、様々な免疫調節ポリペプチドのいずれかであり得る。図 1 4 に示すように、免疫調節ポリペプチドを、1) M H C クラス I 重鎖の N 末端 (位置 1)、2) M H C クラス I 重鎖の C 末端及び I g F c ポリペプチドの N 末端、言い換えれば、M H C クラス I 重鎖と I g F c ポリペプチドの間 (位置 2)、3) I g F c ポリペプチドの C 末端 (位置 3)、4) ペプチドエピトープの N 末端 (位置 4)、または 5) β 2 M ポリペプチドの C 末端 (位置 5) とすることができる。「位置 1」は、クラス I M H C 重鎖と同じポリペプチド鎖上の、及びクラス I

MHC重鎖のN末端上の免疫調節ポリペプチドの位置を指し、例えば、その場合、TMM Pは、a) N末端からC末端の順に、i) ペプチドエピトープと、ii) β 2Mポリペプチドとを含む第1のポリペプチド、及びb) N末端からC末端の順に、i) 1つ以上の免疫調節ポリペプチドと、ii) クラスI MHC重鎖ポリペプチドとを含む第2のポリペプチドを含む。「位置2」は、クラスI MHC重鎖と同じポリペプチド鎖上の、クラスI MHC重鎖のC末端であるが、ポリペプチド鎖のC末端ではない免疫調節ポリペプチドの位置を指し、例えば、その場合、TMM Pは、a) N末端からC末端の順に、i) ペプチドエピトープと、ii) β 2Mポリペプチドとを含む第1のポリペプチド、及びb) N末端からC末端の順に、i) クラスI MHC重鎖ポリペプチドと、ii) 1つ以上の免疫調節ポリペプチドと、iii) Ig Fcポリペプチドとを含む第2のポリペプチドを含む。「位置3」は、クラスI MHC重鎖と同じポリペプチド鎖上の、及びポリペプチド鎖のC末端上の免疫調節ポリペプチドの位置を指し、例えば、その場合、TMM Pは、a) N末端からC末端の順に、i) ペプチドエピトープと、ii) β 2Mポリペプチドとを含む第1のポリペプチド、及びb) N末端からC末端の順に、i) クラスI MHC重鎖ポリペプチドと、ii) Ig Fcポリペプチドと、iii) 1つ以上の免疫調節ポリペプチドとを含む第2のポリペプチドを含む。「位置4」は、 β 2Mポリペプチドと同じポリペプチド鎖上の、ならびにペプチドエピトープ及び β 2MポリペプチドのN末端上の免疫調節ポリペプチドの位置を指し、例えば、その場合、TMM Pは、a) N末端からC末端の順に、i) 1つ以上の免疫調節ポリペプチドと、ii) ペプチドエピトープと、iii) β 2Mポリペプチドとを含む第1のポリペプチド、及びb) クラスI MHC重鎖ポリペプチドを含む第2のポリペプチド（例えば、N末端からC末端の順に、i) クラスI MHC重鎖ポリペプチドと、ii) Ig Fcポリペプチドを含む第2のポリペプチドを含む。「位置5」は、 β 2Mポリペプチドと同じポリペプチド鎖上の、及び β 2MポリペプチドのC末端（例えば、ポリペプチド鎖のC末端）上の免疫調節ポリペプチドの位置を指す。例えば、その場合、TMM Pは、a) N末端からC末端の順に、i) ペプチドエピトープと、ii) β 2Mポリペプチドと、iii) 1つ以上の免疫調節ポリペプチドとを含む第1のポリペプチド、及びb) クラスI MHC重鎖ポリペプチドを含む第2のポリペプチド（例えば、N末端からC末端の順に、i) クラスI MHC重鎖ポリペプチドと、ii) Ig Fcポリペプチドを含む第2のポリペプチドを含む。

【0264】

さらに、上記で論じたように、また、図13A～13Cに概略的に示すように、本開示のTMM Pの第1のポリペプチド鎖及び第2のポリペプチド鎖を、1つ以上のジスルフィド結合によって連結することができる。例えば、本開示のTMM Pに、a) R12C置換を有する β 2Mポリペプチドを含む第1のポリペプチド鎖、及びb) A236C置換を有するクラスI MHC重鎖ポリペプチドを含む第2のポリペプチド鎖を含ませることができ、それにより、第1のポリペプチド鎖の β 2Mポリペプチドの12位のCysと第2のポリペプチド鎖のクラスI MHC重鎖ポリペプチドの236位のCysとの間にジスルフィド結合を形成させる。別の例として、本開示のTMM Pに、a) N末端からC末端の順に、i) ペプチドエピトープと、ii) GCGG(G4S)_n配列を有するペプチドリンカー（nは、1、2、または3である）と、iii) β 2Mポリペプチドを含む第1のポリペプチド、及びb) Y84C置換を有するクラスI MHC重鎖ポリペプチドを含む第2のポリペプチドを含ませることができ、それにより、第1のポリペプチド鎖のペプチドリンカーのCysと第2のポリペプチド鎖のクラスI MHC重鎖ポリペプチドの84位のCysとの間にジスルフィド結合を形成させる。他の例では、本開示のTMM Pに、a) N末端からC末端の順に、i) ペプチドエピトープと、ii) GCGG(G4S)_n配列を有するペプチドリンカー（nは、1、2、または3である）と、iii) R12C置換を有する β 2Mポリペプチドを含む第1のポリペプチド、ならびにb) Y84C置換及びA236C置換を有するクラスI MHC重鎖ポリペプチドを含む第2のポリペプチドを含ませることができ、それにより、i) 第1のポリペプチド鎖のペプチドリンカーのCysと第2のポリペプチド鎖のクラスI MHC重鎖ポリペプチドの84位のCys

sとの間に第1のジスルフィド結合を形成させ、i i) 第1のポリペプチド鎖のβ 2 Mポリペプチドの12位のCysと第2のポリペプチド鎖のクラスI MHC重鎖ポリペプチドの236位のCysとの間に第2のジスルフィド結合を形成させる。簡略化のために、第1のジスルフィド結合を「G2C/Y84C」と呼び、第2のジスルフィド結合を「R12C/A236C」と呼ぶ。本開示のTMMPには、a) G2C/Y84Cジスルフィド結合を含め、R12C/A236Cジスルフィド結合を含めず、b) R12C/A236Cジスルフィド結合を含め、G2C/Y84Cジスルフィド結合を含めず、またはc) G2C/Y84Cジスルフィド結合及びR12C/A236Cジスルフィド結合を含めることができる。

【0265】

本開示のTMMPには、a) G2C/Y84Cジスルフィド結合を含め、R12C/A236Cジスルフィド結合を含めず、及びb) 位置1に少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含めることができる。本開示のTMMPには、a) G2C/Y84Cジスルフィド結合を含め、R12C/A236Cジスルフィド結合を含めず、及びb) 位置2に少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含めることができる。本開示のTMMPには、a) G2C/Y84Cジスルフィド結合を含め、R12C/A236Cジスルフィド結合を含めず、及びb) 位置3に少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含めることができる。本開示のTMMPには、a) G2C/Y84Cジスルフィド結合を含め、R12C/A236Cジスルフィド結合を含めず、及びb) 位置4に少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含めることができる。本開示のTMMPには、a) G2C/Y84Cジスルフィド結合を含め、R12C/A236Cジスルフィド結合を含めず、及びb) 位置5に少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含めることができる。

【0266】

本開示のTMMPには、a) R12C/A236Cジスルフィド結合を含め、G2C/Y84Cジスルフィド結合を含めず、位置1に少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含めることができる。本開示のTMMPには、a) R12C/A236Cジスルフィド結合を含め、G2C/Y84Cジスルフィド結合を含めず、位置2に少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含めることができる。本開示のTMMPには、a) R12C/A236Cジスルフィド結合を含め、G2C/Y84Cジスルフィド結合を含めず、位置3に少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含めることができる。本開示のTMMPには、a) R12C/A236Cジスルフィド結合を含め、G2C/Y84Cジスルフィド結合を含めず、位置4に少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含めることができる。本開示のTMMPには、a) R12C/A236Cジスルフィド結合を含め、G2C/Y84Cジスルフィド結合を含めず、位置5に少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含めることができる。

【0267】

本開示のTMMPには、a) G2C/Y84Cジスルフィド結合及びR12C/A236Cジスルフィド結合、ならびにb) 位置1に少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含めることができる。本開示のTMMPには、a) G2C/Y84Cジスルフィド結合及びR12C/A236Cジスルフィド結合、ならびにb) 位置2に少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含めることができる。本開示のTMMPには、a) G2C/Y84Cジスルフィド結合及びR12C/A236Cジスルフィド結合、ならびにb) 位置3に少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含めることができる。本開示のTMMPには、a) G2C/Y84Cジスルフィド結合及びR12C/A236Cジスルフィド結合、ならびにb) 位置4に少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含めることができる。本開示のTMMPには、a) G2C/Y84Cジスルフィド結合及びR12C/A236Cジスルフィド結合、ならびにb) 位置5に少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドを含めることができる。

【0268】

多量体T細胞調節ポリペプチドを作製するための方法

本開示は、同種共免疫調節ポリペプチドに対する対応する親野生型免疫調節ポリペプチドの親和性と比較して、同種共免疫調節ポリペプチドに対するより低い親和性を示す1つ以上のバリエーション型免疫調節ポリペプチドを含むTMMPを得るための方法を提供し、その方法は、A) 複数のメンバーを含むTMMPのライブラリを作製することと（それぞれのメンバーは、a) 第1のポリペプチドであって、i) エピトープとii) 第1の主要MHCポリペプチドとを含む第1のポリペプチドと、b) 第2のポリペプチドであって、i) 第2のMHCポリペプチドとii) 任意選択的に、IgFcポリペプチドまたは非Igスキファールドとを含む第2のポリペプチドと、を含み、それぞれのメンバーは、第1のポリペプチド上、第2のポリペプチド上、または、第1のポリペプチド上と第2のポリペプチド上の両方に、異なるバリエーション型免疫調節ポリペプチドを含む）、B) ライブラリのそれぞれのメンバーの同種共免疫調節ポリペプチドに対する親和性を測定することと、C) 同種共免疫調節ポリペプチドに対し低い親和性を示すメンバーを選択することと、を含む。一部の例では、親和性は、精製TMMPライブラリメンバー及び同種共免疫調節ポリペプチドを使用したバイオレイヤー干渉法(BLI)により測定される。BLI法は当業者に周知である。BLIアッセイについては上述したとおりである。例えば、Lad et al. (2015) J. Biomol. Screen. 20 (4): 498-507; 及び Shah and Duncan (2014) J. Vis. Exp. 18: e51383を参照されたい。

【0269】

本開示は、T細胞に対する選択的結合性を示すTMMPを得るための方法を提供し、その方法は、A) 複数のメンバーを含むTMMPのライブラリを作製することと（それぞれのメンバーは、a) 第1のポリペプチドであって、i) エピトープとii) 第1のMHCポリペプチドとを含む第1のポリペプチドと、b) 第2のポリペプチドであって、i) 第2のMHCポリペプチドとii) 任意選択的に、免疫グロブリン(Ig)Fcポリペプチドまたは非Igスキファールドとを含む第2のポリペプチドと、を含み、それぞれのメンバーは、第1のポリペプチド上、第2のポリペプチド上、または、第1のポリペプチド上と第2のポリペプチド上の両方に、異なるバリエーション型免疫調節ポリペプチドを含み、バリエーション型免疫調節ポリペプチドは、親野生型免疫調節ポリペプチドとは1アミノ酸〜10アミノ酸分、アミノ酸配列が異なる）、B) i) 親野生型免疫調節ポリペプチドに結合する同種共免疫調節ポリペプチドとii) エピトープに結合するT細胞受容体をその表面上に発現する標的T細胞に、TMMPライブラリメンバーを接触させることと（TMMPライブラリメンバーはエピトープタグを含み、その結果、TMMPライブラリメンバーは標的T細胞に結合する）、C) エピトープタグに結合する蛍光標識結合因子に、標的T細胞に結合したTMMPライブラリメンバーを接触させて、TMMPライブラリメンバー／標的T細胞／結合因子複合体を作製することと、D) フローサイトメトリーを使用してTMMPライブラリメンバー／標的T細胞／結合因子複合体の平均蛍光強度(MFI)を測定することと（TMMPライブラリメンバーの濃度範囲にわたり測定されたMFIにより、親和性と明らかな結合力の指標がもたらされる）、E) i) 親野生型免疫調節ポリペプチドに結合する同種共免疫調節ポリペプチドとii) TMMPライブラリメンバー内に存在するエピトープ以外のエピトープに結合するT細胞受容体とを含む対照T細胞へのTMMPライブラリメンバーの結合と比較して、標的T細胞に選択的に結合するTMMPライブラリメンバーを選択することと、を含む。一部の例では、標的T細胞に選択的に結合することが確認されたTMMPライブラリメンバーは、ライブラリから単離される。

【0270】

一部の例では、親野生型免疫調節ポリペプチドと同種免疫調節ポリペプチドのペアは、IL-2とIL-2受容体、4-1BBと4-1BB、PD-L1とPD-1、CD70とCD27、TGFBとTGFB受容体、

CD80とCD28、
CD86とCD28、
OX40LとOX40、
FasLとFas、
ICOS-LとICOS、
ICAMとLFA-1、
JAG1とNotch、
JAG1とCD46、
CD80とCTLA4、及び、
CD86とCTLA4

から選択される。

【0271】

本開示は、同種共免疫調節ポリペプチドに対する対応する親野生型免疫調節ポリペプチドの親和性と比較して、同種共免疫調節ポリペプチドに対し低い親和性を示す1つ以上のバリエーション型免疫調節ポリペプチドを含むTMMPを得るための方法を提供し、その方法は、複数のメンバーを含むTMMPのライブラリから、同種共免疫調節ポリペプチドに対し低い親和性を示すメンバーを選択すること（複数のメンバーは、a）第1のポリペプチドであって、i）エピトープとii）第1のMHCポリペプチドとを含む第1のポリペプチドと、b）第2のポリペプチドであって、i）第2のMHCポリペプチドとii）任意選択的に、IgFcポリペプチドまたは非Igスキファールドとを含む第2のポリペプチドと、を含み、ライブラリのメンバーは、第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、または、第1のポリペプチドと第2のポリペプチドの両方の内部に存在する複数のバリエーション型免疫調節ポリペプチドを含む）、を含む。一部の例では、選択行程は、バイオレイヤー干渉法を使用して、TMMPライブラリメンバーと同種共免疫調節ポリペプチドの間の結合親和性を測定することを含む。一部の例では、TMMPは上述したとおりである。

【0272】

一部の例では、方法は、a）i）親野生型免疫調節ポリペプチドに結合する同種共免疫調節ポリペプチドとii）エピトープに結合するT細胞受容体をその表面上に発現する標的T細胞に、選択TMMPライブラリメンバーを接触させることと（TMMPライブラリメンバーはエピトープタグを含み、その結果、TMMPライブラリメンバーは標的T細胞に結合する）、b）エピトープタグに結合する蛍光標識結合因子に、標的T細胞に結合した選択TMMPライブラリメンバーを接触させて、選択TMMPライブラリメンバー／標的T細胞／結合因子複合体を作製することと、c）フローサイトメトリーを使用して選択TMMPライブラリメンバー／標的T細胞／結合因子複合体の平均蛍光強度（MFI）を測定することと（選択TMMPライブラリメンバーの濃度範囲にわたり測定されたMFIにより、親和性と明らかな結合力の指標がもたらされる）、をさらに含む。標的T細胞に選択的に結合する選択TMMPライブラリメンバーは、i）親野生型免疫調節ポリペプチドに結合する同種共免疫調節ポリペプチドとii）TMMPライブラリメンバー内に存在するエピトープ以外のエピトープに結合するT細胞受容体を含む対照T細胞へのTMMPライブラリメンバーの結合と比較して、標的T細胞に選択的に結合することが確認される。一部の例では、結合因子は、エピトープタグに特異的な抗体である。一部の例では、バリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する親野生型免疫調節ポリペプチドと比較して、1～20のアミノ酸置換（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20のアミノ酸置換）を含む。一部の例では、TMMPは、2つのバリエーション型免疫調節ポリペプチドを含む。一部の例では、2つのバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、同一のアミノ酸配列を含む。一部の例では、第1のポリペプチドは、2つのバリエーション型免疫調節ポリペプチドのうちの1つを含み、第2のポリペプチドは、2つのバリエーション型免疫調節ポリペプチドのうちの2つ目を含む。一部の例では、2つのバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、TMMPの同一のポリペプチド鎖上にある。一部の例では、2つのバリエーション型免疫調節ポリペプチ

10

20

30

40

50

ドは、T M M P の第 1 のポリペプチド上にある。一部の例では、2 つのバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、T M M P の第 2 のポリペプチド上にある。

【0273】

一部の例では、方法は、選択 T M M P ライブラリメンバーをライブラリから単離することをさらに含む。一部の例では、方法は、選択 T M M P ライブラリメンバーをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供することをさらに含む。一部の例では、核酸は組換え発現ベクター内に存在する。一部の例では、ヌクレオチド配列は、真核細胞において機能的である転写制御エレメントに機能的に連結する。一部の例では、方法は、真核生物宿主細胞に核酸を導入し、液体培地内で細胞を培養して、細胞内でコードされた選択 T M M P ライブラリメンバーを合成することをさらに含む。一部の例では、方法は、細胞または細胞を含む液体培地から、合成した選択 T M M P ライブラリメンバーを単離することをさらに含む。一部の例では、選択 T M M P ライブラリメンバーは I g F c ポリペプチドを含む。一部の例では、方法は、薬物を I g F c ポリペプチドに複合体化することをさらに含む。一部の例では、薬物は、メイタンシノイド、ベンゾジアゼピン、タキソイド、CC-1065、デュオカルマイシン、デュオカルマイシン類似体、カリケアミシン、ドラスタチン、ドラスタチン類似体、アウリスタチン、トマイマイシン、及びレプトマイシン、または、上記のうちのいずれか 1 つのプロドラッグから選択される細胞傷害薬である。一部の例では、薬物はレチノイドである。一部の例では、親野生型免疫調節ポリペプチドと同種免疫調節ポリペプチドは、I L-2 と I L-2 受容体、4-1 B B L と 4-1 B B、P D-1 と P D-1、C D 7 0 と C D 2 7、T G F β と T G F β 受容体、C D 8 0 と C D 2 8、C D 8 6 と C D 2 8、O X 4 0 L と O X 4 0、F a s L と F a s、I C O S-L と I C O S、I C A M と L F A-1、J A G 1 と N o t c h、J A G 1 と C D 4 6、C D 8 0 と C T L A 4、及び、C D 8 6 と C T L A 4、から選択される。

【0274】

本開示は、同種共免疫調節ポリペプチドに対する対応する親野生型免疫調節ポリペプチドの親和性と比較して、同種共免疫調節ポリペプチドに対し低い親和性を示す 1 つ以上のバリエーション型免疫調節ポリペプチドを含む T M M P を得るための方法を提供し、その方法は、A) 複数のメンバーを含む T M M P のライブラリを提供することと（複数のメンバーは、a) 第 1 のポリペプチドであって、i) エピトープと i i) 第 1 の M H C ポリペプチドとを含む第 1 のポリペプチドと、b) 第 2 のポリペプチドであって、i) 第 2 の M H C ポリペプチドと i i) 任意選択的に、I g F c ポリペプチドまたは非 I g スキャフォールドとを含む第 2 のポリペプチドと、を含み、ライブラリのメンバーは、第 1 のポリペプチド、第 2 のポリペプチド、または、第 1 のポリペプチドと第 2 のポリペプチドの両方の内部に存在する複数のバリエーション型免疫調節ポリペプチドを含む）、B) 同種共免疫調節ポリペプチドに対し低い親和性を示すメンバーをライブラリから選択することと、を含む。一部の例では、選択行程は、バイオレイヤー干渉法を使用して、T M M P ライブラリメンバーと同種共免疫調節ポリペプチドの間の結合親和性を測定することを含む。一部の例では、T M M P は上述したとおりである。

【0275】

一部の例では、方法は、a) i) 親野生型免疫調節ポリペプチドに結合する同種共免疫調節ポリペプチドと i i) エピトープに結合する T 細胞受容体をその表面上に発現する標的 T 細胞に、選択 T M M P ライブラリメンバーを接触させることと（T M M P ライブラリメンバーはエピトープタグを含み、その結果、T M M P ライブラリメンバーは標的 T 細胞に結合する）、b) エピトープタグに結合する蛍光標識結合因子に、標的 T 細胞に結合した選択 T M M P ライブラリメンバーを接触させて、選択 T M M P ライブラリメンバー／標的 T 細胞／結合因子複合体を作製することと、c) フローサイトメトリーを使用して選択 T M M P ライブラリメンバー／標的 T 細胞／結合因子複合体の平均蛍光強度（M F I）を測定することと（選択 T M M P ライブラリメンバーの濃度範囲にわたり測定された M F I により、親和性と明らかな結合力の指標がもたらされる）、をさらに含む。標的 T 細胞に選択的に結合する選択 T M M P ライブラリメンバーは、i) 親野生型免疫調節ポリペプチ

ドに結合する同種共免疫調節ポリペプチドと i i) T M M P ライブラリメンバー内に存在するエピトープ以外のエピトープに結合する T 細胞受容体を含む対照 T 細胞への T M M P ライブラリメンバーの結合と比較して、標的 T 細胞に選択的に結合することが確認される。一部の例では、結合因子は、エピトープタグに特異的な抗体である。一部の例では、バリエーション型免疫調節ポリペプチドは、対応する親野生型免疫調節ポリペプチドと比較して、1 ~ 20 のアミノ酸置換（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20のアミノ酸置換）を含む。一部の例では、T M M P は、2つのバリエーション型免疫調節ポリペプチドを含む。一部の例では、2つのバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、同一のアミノ酸配列を含む。一部の例では、第1のポリペプチドは、2つのバリエーション型免疫調節ポリペプチドのうちの1つを含み、第2のポリペプチドは、2つのバリエーション型免疫調節ポリペプチドのうちの2つ目を含む。一部の例では、2つのバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、T M M P の同一のポリペプチド鎖上にある。一部の例では、2つのバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、T M M P の第1のポリペプチド上にある。一部の例では、2つのバリエーション型免疫調節ポリペプチドは、T M M P の第2のポリペプチド上にある。

【0276】

一部の例では、方法は、選択 T M M P ライブラリメンバーをライブラリから単離することをさらに含む。一部の例では、方法は、選択 T M M P ライブラリメンバーをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供することをさらに含む。一部の例では、核酸は組換え発現ベクター内に存在する。一部の例では、ヌクレオチド配列は、真核細胞において機能的である転写制御エレメントに機能的に連結する。一部の例では、方法は、真核生物宿主細胞に核酸を導入し、液体培地内で細胞を培養して、細胞内でコードされた選択 T M M P ライブラリメンバーを合成することをさらに含む。一部の例では、方法は、細胞または細胞を含む液体培地から、合成した選択 T M M P ライブラリメンバーを単離することをさらに含む。一部の例では、選択 T M M P ライブラリメンバーは I g F c ポリペプチドを含む。一部の例では、方法は、薬物を I g F c ポリペプチドに複合体化することをさらに含む。一部の例では、薬物は、メイタンシノイド、ベンゾジアゼピン、タキソイド、C C - 1065、デュオカルマイシン、デュオカルマイシン類似体、カリケアミシン、ドラスタチン、ドラスタチン類似体、アウリスタチン、トマイマイシン、及びレプトマイシン、または、上記のうちのいずれか1つのプロドラッグから選択される細胞傷害薬である。一部の例では、薬物はレチノイドである。一部の例では、親野生型免疫調節ポリペプチドと同種免疫調節ポリペプチドは、I L - 2 と I L - 2 受容体、4 - 1 B B L と 4 - 1 B B、P D - L 1 と P D - 1、T G F β と T G F β 受容体、C D 80 と C D 28、C D 86 と C D 28、O X 40 L と O X 40、F a s L と F a s、I C O S - L と I C O S、C D 70 と C D 27、I C A M と L F A - 1、J A G 1 と N o t c h、J A G 1 と C D 46、C D 80 と C T L A 4、及び、C D 86 と C T L A 4、から選択される。

【0277】

核酸

本開示は、本開示の T M M P をコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。本開示は、本開示の T M M P をコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。

【0278】

本開示は、本開示の T M M P をコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。一部の例では、本開示の T M M P の個々のポリペプチド鎖は、個々の核酸内でコードされる。一部の例では、本開示の T M M P の全てのポリペプチド鎖は、単一の核酸内でコードされる。一部の例では、第1の核酸は、本開示の T M M P の第1のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含み、第2の核酸は、本開示の T M M P の第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。一部の例では、単一の核酸は、本開示の T M M P の第1のポリペプチドと本開示の T M M P の第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。

【0279】

多量体ポリペプチドの個々のポリペプチド鎖をコードする個々の核酸

本開示は、本開示の T M M P をコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。上に記載したように、一部の例では、本開示の T M M P の個々のポリペプチド鎖は、個々の核酸内でコードされる。一部の例では、本開示の T M M P の個々のポリペプチド鎖をコードするヌクレオチド配列は、転写制御エレメント、例えば、プロモーター、例えば、真核細胞において機能的であるプロモーターなどに機能的に連結し、プロモーターは、構成的プロモーターまたは誘導性プロモーターであってもよい。

【0280】

本開示は、第1の核酸及び第2の核酸を提供し、第1の核酸は、本開示の T M M P の第1のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含み、第1のポリペプチドは、N末端からC末端の順に、a) エピトープ（例えば、T細胞エピトープ）と、b) 第1の M H C ポリペプチドと、c) 免疫調節ポリペプチドと（例えば、上に記載した低い親和性のバリエーション型）、を含み、第2の核酸は、本開示の T M M P の第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含み、第2のポリペプチドは、N末端からC末端の順に、a) 第2の M H C ポリペプチドと、b) I g F c ポリペプチドと、を含む。好適な T 細胞エピトープ、M H C ポリペプチド、免疫調節ポリペプチド、及び I g F c ポリペプチドについては上述したとおりである。一部の例では、第1のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列及び第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、転写制御エレメントに機能的に連結する。一部の例では、転写制御エレメントは、真核細胞において機能的であるプロモーターである。一部の例では、核酸は、個々の発現ベクター内に存在する。

【0281】

本開示は、第1の核酸及び第2の核酸を提供し、第1の核酸は、本開示の T M M P の第1のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含み、第1のポリペプチドは、N末端からC末端の順に、a) エピトープ（例えば、T細胞エピトープ）と、b) 第1の M H C ポリペプチドと、を含み、第2の核酸は、本開示の T M M P の第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含み、第2のポリペプチドは、N末端からC末端の順に、a) 免疫調節ポリペプチド（例えば、上に記載した低い親和性のバリエーション型）と、b) 第2の M H C ポリペプチドと、c) I g F c ポリペプチドと、を含む。好適な T 細胞エピトープ、M H C ポリペプチド、免疫調節ポリペプチド、及び I g F c ポリペプチドについては上述したとおりである。一部の例では、第1のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列及び第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、転写制御エレメントに機能的に連結する。一部の例では、転写制御エレメントは、真核細胞において機能的であるプロモーターである。一部の例では、核酸は、個々の発現ベクター内に存在する。

【0282】

多量体ポリペプチド内に存在する2種以上のポリペプチドをコードする核酸

本開示は、本開示の T M M P の第1のポリペプチド及び第2のポリペプチドを少なくともコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。一部の例では、本開示の T M M P は、第1、第2及び第3のポリペプチドを含み、核酸は、第1、第2及び第3のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。一部の例では、本開示の T M M P の、第1のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列及び第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、第1のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列と第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列の間に配置されたタンパク質分解開裂性リンカーを含む。一部の例では、本開示の T M M P の、第1のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列及び第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、第1のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列と第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列の間に配置された配列内リボソーム進入部位（I R E S）を含む。一部の例では、本開示の T M M P の、第1のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列及び第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、第1のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列と第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列の間に配置されたリボソームスキッピングシグナル（またはシス作用性加水分解酵素エレメント、C H Y S E L）を含む。核酸の例につい

ては以下に記載するが、タンパク質分解開裂性リンカーは、本開示のTMMPの、第1のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列と第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列の間に配置され、これらの実施形態のいずれかにおいて、IRESまたはリボソームスキッピングシグナルは、タンパク質分解開裂性リンカーをコードするヌクレオチド配列の代わりに使用され得る。

【0283】

一部の例では、第1の核酸（例えば、組換え発現ベクター、mRNA、ウイルスRNAなど）は、本開示のTMMPの第1のポリペプチド鎖をコードするヌクレオチド配列を含み、第2の核酸（例えば、組換え発現ベクター、mRNA、ウイルスRNAなど）は、本開示のTMMPの第2のポリペプチド鎖をコードするヌクレオチド配列を含む。一部の例では、第1のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列と第2のポリペプチドをコードする第2のヌクレオチド配列はそれぞれ、転写制御エレメント、例えば、プロモーター、例えば、真核細胞において機能的であるプロモーターなどに機能的に連結し、プロモーターは、構成的プロモーターまたは誘導性プロモーターであってもよい。

【0284】

本開示は、組換えポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供し、組換えポリペプチドは、N末端からC末端の順に、a) エピトープ（例えば、T細胞エピトープ）と、b) 第1のMHCポリペプチドと、c) 免疫調節ポリペプチド（例えば、上に記載した低い親和性のバリエーション型）と、d) タンパク質分解開裂性リンカーと、e) 第2のMHCポリペプチドと、f) 免疫グロブリン（Ig）Fcポリペプチドと、を含む。本開示は、組換えポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供し、組換えポリペプチドは、N末端からC末端の順に、a) 第1のリーダーペプチドと、b) エピトープと、c) 第1のMHCポリペプチドと、d) 免疫調節ポリペプチド（例えば、上に記載した低い親和性のバリエーション型）と、e) タンパク質分解開裂性リンカーと、f) 第2のリーダーペプチドと、g) 第2のMHCポリペプチドと、h) Ig Fcポリペプチドと、を含む。本開示は、組換えポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供し、組換えポリペプチドは、N末端からC末端の順に、a) エピトープと、b) 第1のMHCポリペプチドと、c) タンパク質分解開裂性リンカーと、d) 免疫調節ポリペプチド（例えば、上に記載した低い親和性のバリエーション型）と、e) 第2のMHCポリペプチドと、f) Ig Fcポリペプチドと、を含む。一部の例では、第1のリーダーペプチド及び第2のリーダーペプチドはβ2-Mリーダーペプチドである。一部の例では、ヌクレオチド配列は転写制御エレメントに機能的に連結する。一部の例では、転写制御エレメントは、真核細胞において機能的であるプロモーターである。

【0285】

好適なMHCポリペプチドについては上述したとおりである。一部の例では、第1のMHCポリペプチドはβ2-ミクログロブリンポリペプチドであり、第2のMHCポリペプチドはMHCクラスI重鎖ポリペプチドである。一部の例では、β2-ミクログロブリンポリペプチドは、図4に記載のβ2Mアミノ酸配列に対して少なくとも85%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、MHCクラスI重鎖ポリペプチドは、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F、HLA-G、HLA-K、またはHLA-L重鎖である。

【0286】

好適なFcポリペプチドについては上述したとおりである。一部の例では、Ig Fcポリペプチドは、IgG1 Fcポリペプチド、IgG2 Fcポリペプチド、IgG3 Fcポリペプチド、IgG4 Fcポリペプチド、IgA Fcポリペプチド、またはIgM Fcポリペプチドである。一部の例では、Ig Fcポリペプチドは、図3A～図3Gに記載のアミノ酸配列に対して少なくとも85%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0287】

好適な免疫調節ポリペプチドについては上述したとおりである。

【0288】

好適なタンパク質分解開裂性リンカーについては上述したとおりである。一部の例では、タンパク質分解開裂性リンカーは、
a) LEVLFQGP (SEQ

ID NO:388); b) ENLYTQS (SEQ ID NO:389); c) DDDDK (SEQ ID NO:390); d) LVPR (SEQ ID NO:391); 及び e) GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:392)

から選択されるアミノ酸配列を含む。

【0289】

一部の例では、エピトープと第1のMHCポリペプチドの間のリンカーは第1のCys残基を含み、第2のMHCポリペプチドは、第2のCys残基をもたらすアミノ酸置換を含み、その結果、第1のCys残基と第2のCys残基は、リンカーと第2のMHCポリペプチドの間にジスルフィド結合をもたらす。一部の例では、第1のMHCポリペプチドは、第1のCys残基をもたらすアミノ酸置換を含み、第2のMHCポリペプチドは、第2のCys残基をもたらすアミノ酸置換を含み、その結果、第1のCys残基と第2のCys残基は、第1のMHCポリペプチドと第2のMHCポリペプチドの間にジスルフィド結合をもたらす。

【0290】

組換え発現ベクター

本開示は、本開示の核酸を含む組換え発現ベクターを提供する。一部の例では、組換え発現ベクターは非ウイルスベクターである。一部の例では、組換え発現ベクターは、ウイルス性構築物、例えば、組換えアデノ随伴ウイルス性構築物（例えば、米国特許第7,078,387号を参照のこと）、組換えアデノウイルス性構築物、組換えレンチウイルス性構築物、組換えレトロウイルス性構築物、非一体型ウイルスベクターなどである。

【0291】

好適な発現ベクターとしては、ウイルスベクター（例えば、ワクシニアウイルス、ポリオウイルス、アデノウイルス（例えば、Li et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 35:2543-2549, 1994; Borrás et al., Gene Ther 6:515-524, 1999; Li and Davidson, PNAS 92:7700-7704, 1995; Sakamoto et al., Hum Gene Ther 5:1088-1097, 1999; WO94/12649, WO93/03769; WO93/19191; WO94/28938; WO 95/11984及びWO95/00655を参照のこと）、アデノ随伴ウイルス（例えば、Ali et al., Hum Gene Ther 9:81-86, 1998, Flannery et al., PNAS 94:6916-6921, 1997; Bennett et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 38:2857-2863, 1997; Jomary et al., Gene Ther 4:683-690, 1997, Rolling et al., Hum Gene Ther 10:641-648, 1999; Ali et al., Hum Mol Genet 5:591-594, 1996; Srivastava in WO93/09239, Samulski et al., J. Vir. (1989) 63:3822-3828; Mendelson et al., Virol. (1988) 166:154-165; 及び Flotte et al., PNAS (1993) 90:10613-10617を参照のこと）、SV40、単純ヘルペスウイルス、ヒト免疫不全ウイルス（例えば、Miyoshi et al., PNAS 94:10319-10323, 1997; Takahashi et al., J. Virol 73:7812-7816, 1999を参照のこと）をベースとするウイルスベクター）、レトロウイルスベクター（例えば、マウス白血病ウイルス、脾臓壊死ウイルス、ならびに、レトロウイルス、例えば、ラウス肉腫ウイルス、ハーベイ肉腫ウイルス、トリ白血病ウイルス、レンチウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、骨髄増殖性肉腫ウイルス

10

20

30

40

50

、及び乳癌ウイルスなどに由来するベクター）など、が挙げられるがこれらに限定されない。

【0292】

多数の好適な発現ベクターが当業者に周知であり、その多くは市販されている。真核生物宿主細胞用に、以下のベクター、pXT1、pSG5 (Stratagene)、pSVK3、pBPV、pMSG、及び、pSVLSV40 (Pharmacia) を例として提供する。しかしながら、宿主細胞に適合する限りにおいて、任意のその他のベクターを使用してもよい。

【0293】

利用する宿主／ベクター系に応じて、構成的プロモーター及び誘導性プロモーター、転写エンハンサーエレメント、転写ターミネーターなどを含む多数の好適な転写及び翻訳制御エレメントのいずれかを、発現ベクター内において使用してもよい（例えば、Bitter et al. (1987) Methods in Enzymology, 153: 516-544を参照のこと）。

【0294】

一部の例では、DNA標的化RNA及び／または部位特異的修飾ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、制御エレメント、例えば、プロモーターなどの転写制御エレメントに機能的に連結する。転写制御エレメントは、真核細胞（例えば、哺乳動物細胞）または原核細胞（例えば、細菌細胞または古細菌細胞）のいずれかにおいて機能的であってもよい。一部の例では、DNA標的化RNA及び／または部位特異的修飾ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、原核細胞と真核細胞の両方においてDNA標的化RNA及び／または部位特異的修飾ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列の発現を可能とする複数の制御エレメントに機能的に連結する。

【0295】

好適な真核細胞プロモーター（真核細胞において機能的なプロモーター）の非限定例としては、サイトメガロウイルス (CMV) 前初期、単純ヘルペスウイルス (HSV) チミジンキナーゼ、初期及び後期SV40、レトロウイルス由来長末端反復配列 (LTR)、及びマウスメタロチオネイン-I、の真核細胞プロモーターが挙げられる。適切なベクター及びプロモーターの選択については、十分に当業者のレベルの範囲内である。発現ベクターはまた、翻訳開始用のリボソーム結合部位及び転写ターミネーターを含有していてもよい。発現ベクターはまた、発現を増幅させるための適切な配列を含んでいてもよい。

【0296】

遺伝子組換え宿主細胞

本開示は遺伝子組換え宿主細胞を提供し、その宿主細胞は本開示の核酸で遺伝子組換えされている。

【0297】

好適な宿主細胞としては、イースト菌などの真核細胞、昆虫細胞、及び哺乳動物細胞が挙げられる。一部の例では、宿主細胞は哺乳動物細胞株の細胞である。好適な哺乳動物細胞株としては、ヒト細胞株、非ヒト霊長類細胞株、げっ歯類（例えば、マウス、ラット）細胞株などが挙げられる。好適な哺乳動物細胞株としては、HeLa細胞（例えば、American Type Culture Collection (ATCC) 番号CCL-2）、CHO細胞（例えば、ATCC番号CRL9618、CCL61、CRL9096）、293細胞（例えば、ATCC番号CRL-1573）、Vero細胞、NIH 3T3細胞（例えば、ATCC番号CRL-1658）、Huh-7細胞、BHK細胞（例えば、ATCC番号CCL10）、PC12細胞（ATCC番号CRL1721）、COS細胞、COS-7細胞（ATCC番号CRL1651）、RAT1細胞、マウスL細胞（ATCC番号CCLI.3）、ヒト胎児腎臓 (HEK) 細胞（ATCC番号CRL1573）、HLHeP2細胞などが挙げられるがこれらに限定されない。

【0298】

一部の例では、宿主細胞は、内在性MHCβ2-Mを合成しないように遺伝子組換えさ

10

20

30

40

50

れた哺乳動物細胞である。

【0299】

一部の例では、宿主細胞は、内在性MHCクラスI重鎖を合成しないように遺伝子組換えされた哺乳動物細胞である。一部の例では、宿主細胞は、内在性MHCβ2-Mを合成しないように、及び内在性MHCクラスI重鎖を合成しないように遺伝子組換えされた哺乳動物細胞である。

【0300】

組成物

本開示は、本開示のTMMP (synTac) を含む組成物 (医薬組成物を含む) を提供する。本開示は、本開示のTMMPを含む組成物 (医薬組成物を含む) を提供する。本開示は、本開示の核酸または組換え発現ベクターを含む組成物 (医薬組成物を含む) を提供する。

【0301】

多量体ポリペプチドを含む組成物

本開示の組成物は、本開示のTMMPに加えて、塩、例えば、NaCl、MgCl₂、KCl、MgSO₄など；緩衝剤、例えば、トリス緩衝剤、N-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-N'-(2-エタンスルホン酸) (HEPES)、2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸 (MES)、2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸ナトリウム塩 (MES)、3-(N-モルホリノ)プロパンスルホン酸 (MOPS)、N-トリス[ヒドロキシメチル]メチル-3-アミノプロパンスルホン酸 (TAPS) など；可溶化剤；界面活性剤、例えば、Tween-20などの非イオン性界面活性剤など；プロテアーゼ阻害剤；グリセロール；など、のうちの1種以上を含んでもよい。

【0302】

組成物は薬学的に許容される賦形剤を含んでもよく、その種類は当該技術分野において周知であり、本明細書で詳細に論述する必要はない。薬学的に許容される賦形剤については、例えば、“Remington: The Science and Practice of Pharmacy”, 19th Ed. (1995), or latest edition, Mack Publishing Co; A. Gennaro (2000) “Remington: The Science and Practice of Pharmacy”, 20th edition, Lippincott, Williams, & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H. C. Ansel et al., eds 7th ed., Lippincott, Williams, & Wilkins; 及び Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A. H. Kibbe et al., eds., 3rd ed. Amer. Pharmaceutical Assocを含む、様々な刊行物において詳細に記載されている。

【0303】

医薬組成物は、本開示のTMMPと、薬学的に許容される賦形剤と、を含んでもよい。一部の例では、本医薬組成物は対象への投与に好適であり、例えば、滅菌されている。例えば、一部の例では、本医薬組成物はヒト対象への投与に好適であり、例えば、組成物は滅菌されており、検出可能な発熱物質及び／またはその他の毒素を含まない。

【0304】

タンパク質組成物は、その他の成分、例えば、医薬品グレードのマニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、タルカム、セルロース、グルコース、スクロース、マグネシウム、カーボネート、などを含んでもよい。組成物は、生理学的条件に近づくのに必要な薬学的に許容される補助剤、例えば、pH調整剤及びpH緩衝剤、毒性調整剤など、例えば、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、乳酸ナトリウム、塩酸塩、硫酸塩、溶媒和物 (例えば、混合イオン性塩、水、有機物質)、水和物 (例えば、水) など、を含んでもよい。

【0305】

例えば、組成物としては、水性液剤、粉末形状剤、顆粒剤、錠剤、丸剤、坐剤、カプセル剤、懸濁剤、噴霧剤など、を挙げてもよい。組成物は、以下に記載する様々な投与経路に応じて製剤化されてもよい。

【0306】

本開示のTMMPが、注射剤として組織へと直接投与される（例えば、皮下、腹腔内、筋肉内及び／または静脈内）場合、製剤は、レディートゥーユース剤形、すなわち、非水性形態（例えば、戻すことができる保存安定性のある粉末）または水性形態（例えば、薬学的に許容される担体と、薬学的に許容される賦形剤と、からなる液体など）として提供されてもよい。タンパク質含有製剤はまた、投与後におけるTMMPの血清中半減期を延長するように提供されてもよい。例えば、TMMPは、コロイド状に調製されるリポソーム製剤として提供されてもよく、あるいは、血清中半減期を延長するためのその他の従来技術を用いて提供されてもよい。リポソームを調製するための様々な方法が利用可能であり、例えば、Szoka et al., 1980 Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 9: 467, 米国特許第4,235,871号、第4,501,728号及び第4,837,028号に記載されている。製剤はまた、制御放出形態または徐放形態で提供されてもよい。

10

【0307】

非経口投与に好適な製剤のその他の例としては、等張性滅菌注射用液剤、酸化防止剤、静菌剤、製剤を目的のレシipientの血液と等張とする溶質、懸濁化剤、可溶化剤、増粘剤、安定化剤、及び、防腐剤、が挙げられる。例えば、本医薬組成物は、容器、例えば、注射器などの滅菌容器で提供されてもよい。製剤は、単回用量または複数回用量の密閉容器、例えば、アンプル及びバイアルなどで提供されてもよく、使用の直前において、注射用の滅菌液体賦形剤（例えば、水）の添加のみを必要とするフリーズドライ（凍結乾燥）状態で保存されてもよい。即時注射用液剤及び即時注射用懸濁剤は、滅菌した散剤、顆粒剤及び錠剤から調製してもよい。

20

【0308】

製剤中における本開示のTMMPの濃度は、広い範囲（例えば、重量比で、約0.1%未満から、通常は（または少なくとも）約2%から、20%ほどまで、50%以上まで）で変化し得るが、通常は、主に、液量、粘度、ならびに、選択した特定の投与方法及び患者のニーズに従った患者基準の因子に基づいて選択される。

30

【0309】

本開示は、本開示の組成物（例えば、液体組成物）を含む容器を提供する。容器は、例えば、注射器、アンプルなどであってもよい。一部の例では、容器は滅菌されている。一部の例では、容器と組成物の両方は滅菌されている。

【0310】

本開示は、本開示のTMMPを含む組成物（医薬組成物を含む）を提供する。組成物は、a) 本開示のTMMPと、b) 上記の賦形剤と、を含んでもよい。一部の例では、賦形剤は薬学的に許容される賦形剤である。

【0311】

一部の例では、本開示のTMMPは液体組成物内に存在する。それゆえ、本開示は、本開示のTMMPを含む組成物（例えば、液体組成物（医薬組成物を含む））を提供する。一部の例では、本開示の組成物は、a) 本開示のTMMPと、b) 生理食塩水（例えば、0.9% NaCl）と、を含む。一部の例では、組成物は滅菌されている。一部の例では、組成物はヒト対象への投与に好適であり、例えば、組成物は滅菌されており、検出可能な発熱物質及び／またはその他の毒素を含まない。それゆえ、本開示は、a) 本開示のTMMPと、b) 生理食塩水（例えば、0.9% NaCl）と、を含む組成物を提供し、組成物は滅菌されており、検出可能な発熱物質及び／またはその他の毒素を含まない。

40

【0312】

核酸または組換え発現ベクターを含む組成物

50

本開示は、組成物、例えば、本開示の核酸または組換え発現ベクターを含む医薬組成物を提供する。多種多様な薬学的に許容される賦形剤は当該技術分野において周知であり、本明細書において詳細に論述する必要はない。薬学的に許容される賦形剤については、例えば、A. Gennaro (2000) “Remington: The Science and Practice of Pharmacy”, 20th edition, Lippincott, Williams, & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H. C. Ansel et al., eds 7th ed., Lippincott, Williams, & Wilkins; 及び Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A. H. Kibbe et al., eds., 3rd ed. Amer. Pharmaceutical Assocを含む、様々な刊行物において詳細に記載されている。

【0313】

本開示の組成物は、a) TMMPをコードするヌクレオチド配列を含む1種以上の核酸または1種以上の組換え発現ベクターと、b) 緩衝剤、界面活性剤、酸化防止剤、親水性ポリマー、デキストリン、キレート化剤、懸濁化剤、可溶化剤、増粘剤、安定化剤、静菌剤、湿潤剤、及び、防腐剤のうちの1種以上と、を含んでいてもよい。好適な緩衝剤としては、例えば、N, N-ビス(2-ヒドロキシエチル)-2-アミノエタンスルホン酸(BES)、ビス(2-ヒドロキシエチル)アミノートリス(ヒドロキシメチル)メタン(ビスートリス)、N-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-N'-3-プロパンスルホン酸(EPPSまたはHEPPS)、グリシルグリシン、N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-2-エタンスルホン酸(HEPES)、3-(N-モルホリノ)プロパンスルホン酸(MOPS)、ピペラジン-N, N'-ビス(2-エタンスルホン酸)(PIPES)、重炭酸ナトリウム、3-(N-トリス(ヒドロキシメチル)-メチル-アミノ)-2-ヒドロキシ-プロパンスルホン酸(TAPSO)、N-トリス(ヒドロキシメチル)メチル-2-アミノエタンスルホン酸(TES)、N-トリス(ヒドロキシメチル)メチル-グリシン(トリシン)、トリス(ヒドロキシメチル)-アミノメタン(トリス)、などが挙げられるがこれらに限定されない。好適な塩としては、例えば、NaCl、MgCl₂、KCl、MgSO₄などが挙げられる。

【0314】

本開示の医薬品製剤は、約0.001%~約90%(重量/重量)の量で、本開示の核酸または組換え発現ベクターを含んでいてもよい。以下の製剤の記述において、「本核酸または組換え発現ベクター」は、本開示の核酸または組換え発現ベクターを含むものと理解される。例えば、一部の例では、本製剤は、本開示の核酸または組換え発現ベクターを含む。

【0315】

本核酸または組換え発現ベクターは、その他の化合物または化合物の混合物と混合してもよく、それらに封入してもよく、それらに複合体化するかまたは別の方法で結合させてもよく、このような化合物としては、例えば、リポソームまたは受容体標的化分子が挙げられる。本核酸または組換え発現ベクターは、取り込み、分散及び/または吸収を補助する1種以上の成分と製剤内で混合してもよい。

【0316】

本核酸または組換え発現ベクター組成物は、限定するわけではないが例えば、錠剤、カプセル剤、ゲルカプセル剤、液体シロップ剤、ソフトゲル剤、坐剤、及び浣腸剤などの多くの可能な剤形のいずれかへと製剤化してもよい。本核酸または組換え発現ベクター組成物はまた、水性媒体、非水性媒体、または混合媒体中の懸濁剤として製剤化してもよい。水性懸濁剤は、懸濁剤の粘度を上昇させる物質をさらに含有していてもよく、それらとしては、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール及び/またはデキストランが挙げられる。懸濁剤はまた安定化剤を含有していてもよい。

【0317】

本核酸または組換え発現ベクターを含む製剤はリポソーム製剤であってもよい。本明細書で使用する場合、用語「リポソーム」とは、1つの球状二重層または複数の球状二重層で配列された両親媒性脂質からなるベシクルのことを意味する。リポソームは、親油性物質と、送達する組成物を含有する水性の内側部とで形成された膜を有するユニラメラまたはマルチラメラベシクルである。カチオン性リポソームは、負に荷電したDNA分子と相互作用して安定した複合体を形成することができる、正に荷電したリポソームである。pH感受性または負に荷電したリポソームは、DNAと複合体を形成するのではなくDNAを取り込むと考えられている。カチオン性リポソームと非カチオン性リポソームの両方は、本核酸または組換え発現ベクターを送達するのに使用することができる。

【0318】

リポソームとしてはまた「立体安定化」リポソームが挙げられ、本明細書で使用する場合、この用語は、1種以上の特殊な脂質を含むリポソームのことを意味し、それら特殊な脂質をリポソームに組み込むと、このような特殊な脂質を欠くリポソームと比較して向上した循環寿命がもたらされる。立体安定化リポソームの例は、リポソームのベシクル形成脂質部分の一部が、1種以上の糖脂質を含むか、または、ポリエチレングリコール（PEG）部分などの1種以上の親水性ポリマーで誘導体化された、立体安定化リポソームである。リポソーム及びその使用については米国特許第6,287,860号においてさらに記載されており、その全体は参照により本明細書に組み込まれる。

【0319】

本開示の製剤及び組成物はまた、界面活性剤を含んでいてもよい。医薬品製品、製剤及びエマルジョン剤における界面活性剤の使用については、当該技術分野において周知である。界面活性剤及びその使用については米国特許第6,287,860号においてさらに記載されている。

【0320】

一実施形態では、核酸の効率的な送達を達成するために、様々な浸透促進剤が含まれている。細胞膜間の非親油性薬物の拡散補助に加え、浸透促進剤はまた、親油性薬物の浸透性を向上させる。浸透促進剤は、5つの広範なカテゴリー、すなわち、界面活性剤、脂肪酸、胆汁塩、キレート化剤、及び非キレート非界面活性剤、のうちの1つに属するように分類され得る。浸透促進剤及びその使用については米国特許第6,287,860号においてさらに記載されており、その全体は参照により本明細書に組み込まれる。

【0321】

経口投与用の組成物及び製剤としては、散剤もしくは顆粒剤、マイクロ微粒子剤、ナノ微粒子剤、水もしくは水性媒体中の懸濁剤もしくは液剤、カプセル剤、カプセル剤、サッシェ剤、錠剤、または、ミニ錠剤、が挙げられる。増粘剤、風味剤、希釈剤、乳化剤、分散助剤、または結合剤が望ましい場合がある。好適な経口製剤としては、1種以上の浸透促進界面活性剤及びキレート化剤と共に本アンチセンス核酸を投与する経口製剤が挙げられる。好適な界面活性剤としては、脂肪酸及び／またはエステルまたはその塩、胆汁酸及び／またはその塩が挙げられるがこれらに限定されない。好適な胆汁酸／塩及び脂肪酸ならびにその使用については、米国特許第6,287,860号においてさらに記載されている。浸透促進剤の組み合わせ、例えば、胆汁酸／塩と組み合わせた脂肪酸／塩も好適である。例示的な好適な組み合わせは、ラウリン酸のナトリウム塩、カプリン酸、及び、UDCAである。さらなる浸透促進剤としては、ポリオキシエチレン-9-ラウリルエーテル及びポリオキシエチレン-20-セチルエーテルが挙げられるがこれらに限定されない。好適な浸透促進剤としてはまた、プロピレングリコール、ジメチルスルホキシド、トリエタノールアミン、N,N-ジメチルアセトアミド、N,N-ジメチルホルムアミド、2-ピロリドン及びその誘導体、テトラヒドロフルフリルアルコール、ならびに、AZONE（商標）、が挙げられる。

【0322】

T細胞活性化を調節するための方法

本開示は、エピトープ特異的T細胞の活性化を選択的に調節するための方法を提供し、

10

20

30

40

50

その方法は、T細胞を本開示のTMMPと接触させることを含み、T細胞を本開示のTMMPと接触させることにより、エピトープ特異的T細胞の活性化を選択的に調節する。一部の例では、接触させることはインビトロで生じる。一部の例では、接触させることはインビボで生じる。一部の例では、接触させることはエクスピボで生じる。

【0323】

一部の例では、例えば、標的T細胞がCD8⁺T細胞である場合、TMMPはクラスI MHCポリペプチド（例えば、β2-ミクログロブリン及びクラスI MHC重鎖）を含む。

【0324】

本開示のTMMPが活性化ポリペプチドである免疫調節ポリペプチドを含む場合、T細胞をTMMPと接触させることにより、エピトープ特異的T細胞が活性化される。一部の例では、エピトープ特異的T細胞は、がん細胞上に存在するエピトープに特異的なT細胞であり、エピトープ特異的T細胞をTMMPと接触させることにより、がん細胞に対するT細胞の細胞傷害活性を向上させる。一部の例では、エピトープ特異的T細胞は、がん細胞上に存在するエピトープに特異的なT細胞であり、エピトープ特異的T細胞をTMMPと接触させることにより、エピトープ特異的T細胞の数を増加させる。

【0325】

一部の例では、エピトープ特異的T細胞は、ウイルス感染細胞上に存在するエピトープに特異的なT細胞であり、エピトープ特異的T細胞をTMMPと接触させることにより、ウイルス感染細胞に対するT細胞の細胞傷害活性を向上させる。一部の例では、エピトープ特異的T細胞は、ウイルス感染細胞上に存在するエピトープに特異的なT細胞であり、エピトープ特異的T細胞をTMMPと接触させることにより、エピトープ特異的T細胞の数を増加させる。

【0326】

本開示のTMMPが抑制性ポリペプチドである免疫調節ポリペプチドを含む場合、T細胞をTMMPと接触させることにより、エピトープ特異的T細胞が抑制される。一部の例では、エピトープ特異的T細胞は、自己抗原内に存在するエピトープに特異的な自己反応性T細胞であり、接触させることにより自己反応性T細胞の数を減少させる。

【0327】

本開示は、個体における免疫応答を調節する方法を提供し、方法は、有効量の本開示のTMMPを個体に投与することを含む。TMMPを投与することにより、エピトープ特異的T細胞応答（例えば、がんエピトープ特異的T細胞応答；ウイルスエピトープ特異的）及びエピトープ非特異的T細胞応答が誘導され、その場合、エピトープ特異的T細胞応答とエピトープ非特異的T細胞応答との比は、少なくとも2:1である。一部の例では、エピトープ特異的T細胞応答とエピトープ非特異的T細胞応答との比は、少なくとも5:1である。一部の例では、エピトープ特異的T細胞応答とエピトープ非特異的T細胞応答との比は、少なくとも10:1である。一部の例では、エピトープ特異的T細胞応答とエピトープ非特異的T細胞応答との比は、少なくとも25:1である。一部の例では、エピトープ特異的T細胞応答とエピトープ非特異的T細胞応答との比は、少なくとも50:1である。一部の例では、エピトープ特異的T細胞応答とエピトープ非特異的T細胞応答との比は、少なくとも100:1である。一部の例では、個体はヒトである。一部の例では、調節は、がん細胞、例えば、TMMPに存在するペプチドエピトープによって提示される同じエピトープを提示する抗原を発現するがん細胞に対する細胞傷害性T細胞応答を増加させる。一部の例では、投与は、静脈内、皮下、筋肉内、全身、リンパ内、治療部位の遠位、局所、または治療部位もしくはその近位である。

【0328】

本開示は、共刺激（すなわち、免疫調節）ポリペプチドを標的T細胞に選択的に送達する方法を提供し、方法は、T細胞の混合集団を本開示のTMMPに接触させることを含み、T細胞の混合集団は、標的T細胞及び非標的T細胞を含み、その場合、標的T細胞は、TMMP内に存在するエピトープに特異的であり（例えば、標的T細胞は、TMMP内に

10

20

30

40

50

存在するエピトープに特異的である)、接触工程により、T M M P内に存在する1つ以上の共刺激ポリペプチド(免疫調節ポリペプチド)が標的T細胞に送達される。一部の例では、T細胞の集団はインビトロである。一部の例では、T細胞の集団は、個体内のインビボである。一部の例では、方法は、T M M Pを個体に投与することを含む。一部の例では、T細胞は細胞傷害性T細胞である。一部の例では、T細胞の混合集団は、個体から得られる混合T細胞のインビトロ集団であり、接触工程は、標的T細胞の活性化及び／または増殖をもたらす、活性化及び／または増殖した標的T細胞の集団を生成し、これらの例のいくつかでは、方法は、活性化及び／または増殖した標的T細胞の集団を個体に投与することをさらに含む。

【0329】

本開示は、個体から得られるT細胞の混合集団において、目的のエピトープ(例えば、がんエピトープ、ウイルスエピトープ)に結合する標的T細胞の存在を検出する方法を提供し、方法は、a) T細胞の混合集団を本開示のT M M Pとインビトロで接触させること(T M M Pは、目的のエピトープ(例えば、がんエピトープ、ウイルスエピトープ)を含む)、ならびにb) 前記接触に応答したT細胞の活性化及び／または増殖を検出することを含み、活性化及び／または増殖したT細胞は、標的T細胞が存在することを示す。

【0330】

治療方法

本開示は個体を治療するための方法を提供し、その方法は、個体を治療するのに有効な量の、本開示のT M M PまたはT M M Pをコードする1種以上の核酸を個体に投与することを含む。ヒトまたは動物の体を治療するための方法に使用する本開示のT M M Pも提供する。一部の例では、本開示の治療方法は、本開示のT M M Pをコードするヌクレオチド配列を含む1種以上の組換え発現ベクターを必要とする個体にそれを投与することを含む。一部の例では、本開示の治療方法は、本開示のT M M Pをコードするヌクレオチド配列を含む1種以上のmRNA分子を必要とする個体にそれを投与することを含む。一部の例では、本開示の治療方法は、本開示のT M M Pを必要とする個体にそれを投与することを含む。治療可能な病気としては、例えば、以下に記載するがん及び自己免疫疾患が挙げられる。

【0331】

一部の例では、本開示のT M M Pは、それを必要とする個体に投与する際に、エピトープ特異的T細胞応答とエピトープ非特異的T細胞応答の両方を誘導する。言い換えると、一部の例では、本開示のT M M Pは、それを必要とする個体に投与する際に、i) T M M P内に存在するエピトープに特異的なT C Rとii) T M M P内に存在する免疫調節ポリペプチドに結合する共免疫調節ポリペプチドとの両方を提示する第1のT細胞の活性化を調節することによって、エピトープ特異的T細胞応答を誘導し、i) T M M P内に存在するエピトープ以外のエピトープに特異的なT C Rとii) T M M P内に存在する免疫調節ポリペプチドに結合する共免疫調節ポリペプチドとを提示する第2のT細胞の活性化を調節することによって、エピトープ非特異的T細胞応答を誘導する。エピトープ特異的T細胞応答とエピトープ非特異的T細胞応答との比は、少なくとも2:1、少なくとも5:1、少なくとも10:1、少なくとも15:1、少なくとも20:1、少なくとも25:1、少なくとも50:1、または、少なくとも100:1である。エピトープ特異的T細胞応答とエピトープ非特異的T細胞応答との比は、約2:1~約5:1、約5:1~約10:1、約10:1~約15:1、約15:1~約20:1、約20:1~約25:1、約25:1~約50:1、もしくは、約50:1~約100:1、または、100:1超である。T細胞の「活性化を調節すること」としては、i) 細胞傷害性(例えば、CD8⁺) T細胞を活性化させること、ii) 細胞傷害性(例えば、CD8⁺) T細胞の細胞傷害活性を誘導すること、iii) 細胞傷害性(例えば、CD8⁺) T細胞による細胞毒(例えば、パーフォリン、グランザイム、グラニュライシン)の産生及び放出を誘導すること、iv) 自己反応性T細胞の活性化を抑制すること、などのうちの1つ以上を挙げることができる。

10

20

30

40

50

【0332】

免疫調節ポリペプチドの同種共免疫調節ポリペプチドに対する免疫調節ポリペプチドの低い親和性と、TCRに対するエピトープの親和性を組み合わせることにより、本開示のTMMPの向上した選択性がもたらされる。それゆえ、例えば、本開示のTMMPは、i) TMMP内に存在するエピトープ以外のエピトープに特異的なTCRとii) TMMP内に存在する免疫調節ポリペプチドに結合する共免疫調節ポリペプチドを提示する第2のT細胞に本開示のTMMPが結合する結合力よりも高い結合力で、i) TMMP内に存在するエピトープに特異的なTCRとii) TMMP内に存在する免疫調節ポリペプチドに結合する共免疫調節ポリペプチドの両方を提示する第1のT細胞に結合する。

【0333】

本開示は、個体におけるエピトープ特異的T細胞の活性化を選択的に調節するための方法を提供し、その方法は、有効量の、本開示のTMMP、または、TMMPをコードするヌクレオチド配列を含む1種以上の核酸（例えば、発現ベクター、mRNAなど）を個体に投与することを含み、TMMPは、個体におけるエピトープ特異的T細胞の活性化を選択的に調節する。エピトープ特異的T細胞の活性化を選択的に調節することにより、個体における疾患または障害を治療することが可能となる。それゆえ、本開示は、有効量の本開示のTMMPを必要とする個体にそれを投与することを含む治療方法を提供する。

【0334】

一部の例では、免疫調節ポリペプチド（「MOD」）は活性化ポリペプチドであり、TMMPはエピトープ特異的T細胞を活性化させる。一部の例では、エピトープはがん関連エピトープであり、TMMPは、がん関連エピトープに特異的なT細胞の活性化を促進する。一部の例では、MODは活性化ポリペプチドであり、TMMPは、エピトープ特異的T細胞を活性化する。一部の例では、T細胞は、Tヘルパー細胞（CD4⁺細胞）、細胞傷害性T細胞（CD8⁺細胞）、またはNK-T細胞である。一部の例では、エピトープはがんエピトープであり、TMMPは、がんエピトープを発現するがん細胞（例えば、Tヘルパー細胞（CD4⁺細胞）、細胞傷害性T細胞（CD8⁺細胞）、及び／またはNK-T細胞）の活性を増加させる。CD4⁺T細胞の活性化には、CD4⁺T細胞の増殖の増加、及び／またはCD4⁺T細胞による放出サイトカインの誘導または増強が含まれ得る。NK-T細胞及び／またはCD8⁺細胞の活性化には、NK-T細胞及び／またはCD8⁺細胞の増殖の増加、及び／またはNK-T細胞及び／またはCD8⁺細胞によるインターフェロンγなどのサイトカインの放出の誘導が含まれ得る。一部の例では、本開示のTMMPは、制御性T（Treg）細胞の増殖及び／または活性を低下させる。Tregは、FoxP3⁺、CD4⁺T細胞である。一部の例では、例えば、本開示のTMMPが抑制性免疫調節ポリペプチド（例えば、PD-L1、FasLなど）を含む場合、TMMPは、Tregの増殖及び／または活性を低下させる。

【0335】

本開示のTMMPががんペプチドエピトープを含む場合、TMMPを、それを必要とする個体に投与して、個体におけるがんを治療することができ、その場合、がんは、TMMPに存在するがんペプチドエピトープを発現している。本開示は、個体におけるがんを治療するための方法を提供し、その方法は、有効量の、本開示のTMMP、または、TMMPをコードするヌクレオチド配列を含む1種以上の核酸（例えば、発現ベクター、mRNAなど）を個体に投与することを含み、TMMPはがんエピトープであるT細胞エピトープを含み、TMMPは刺激免疫調節ポリペプチドを含む。一部の例では、「有効量」の本開示のTMMPとは、それを必要とする個体に1つ以上の用量で投与する際に、個体におけるがん細胞の数を減少させる量のことである。例えば、一部の例では、「有効量」の本開示のTMMPとは、それを必要とする個体に1つ以上の用量で投与する際に、TMMPを投与する前またはTMMPを投与しない状態における、個体におけるがん細胞の数と比較して、個体におけるがん細胞の数を少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または、

10

20

30

40

50

少なくとも95%減少させる量のことである。一部の例では、「有効量」の本開示のTMMPとは、それを必要とする個体に1つ以上の用量で投与する際に、個体におけるがん細胞の数を検出不能レベルにまで減少させる量のことである。

【0336】

一部の例では、「有効量」の本開示のTMMPとは、それを必要とする個体に1つ以上の用量で投与する際に、個体における腫瘍重量を減少させる量のことである。例えば、一部の例では、「有効量」の本開示のTMMPとは、それを必要とする個体（腫瘍を有する個体）に1つ以上の用量で投与する際に、TMMPを投与する前またはTMMPを投与しない状態における、個体における腫瘍重量と比較して、個体における腫瘍重量を少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または、少なくとも95%減少させる量のことである。一部の例では、「有効量」の本開示のTMMPとは、それを必要とする個体（腫瘍を有する個体）に1つ以上の用量で投与する際に、個体における腫瘍容積を減少させる量のことである。例えば、一部の例では、「有効量」の本開示のTMMPとは、それを必要とする個体（腫瘍を有する個体）に1つ以上の用量で投与する際に、TMMPを投与する前またはTMMPを投与しない状態における、個体における腫瘍容積と比較して、個体における腫瘍容積を少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または、少なくとも95%減少させる量のことである。一部の例では、「有効量」の本開示のTMMPとは、それを必要とする個体に1つ以上の用量で投与する際に、個体の生存期間を延長させる量のことである。例えば、一部の例では、「有効量」の本開示のTMMPとは、それを必要とする個体に1つ以上の用量で投与する際に、TMMPを投与しない状態の個体における想定生存期間と比較して、個体の生存期間を少なくとも1ヶ月間、少なくとも2ヶ月間、少なくとも3ヶ月間、3ヶ月間～6ヶ月間、6ヶ月間～1年間、1年間～2年間、2年間～5年間、5年間～10年間、または、10年間超、延長させる量のことである。

【0337】

一部の例では、エピトープ特異的T細胞は、ウイルス感染細胞上に存在するエピトープに特異的なT細胞であり、エピトープ特異的T細胞をTMMPと接触させることにより、ウイルス感染細胞に対するT細胞の細胞傷害活性を向上させる。一部の例では、エピトープ特異的T細胞は、ウイルス感染細胞上に存在するエピトープに特異的なT細胞であり、エピトープ特異的T細胞をTMMPと接触させることにより、エピトープ特異的T細胞の数を増加させる。

【0338】

それゆえ、本開示は、個体におけるウイルス感染症を治療するための方法を提供し、その方法は、有効量の、本開示のTMMP、または、TMMPをコードするヌクレオチド配列を含む1種以上の核酸を個体に投与することを含み、TMMPはウイルスエピトープであるT細胞エピトープを含み、TMMPは刺激免疫調節ポリペプチドを含む。一部の例では、「有効量」のTMMPとは、それを必要とする個体に1つ以上の用量で投与する際に、個体におけるウイルス感染細胞の数を減少させる量のことである。例えば、一部の例では、「有効量」の本開示のTMMPとは、それを必要とする個体に1つ以上の用量で投与する際に、TMMPを投与する前またはTMMPを投与しない状態における、個体におけるウイルス感染細胞の数と比較して、個体におけるウイルス感染細胞の数を少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または、少なくとも95%減少させる量のことである。一部の例では、「有効量」の本開示のTMMPとは、それを必要とする個体に1つ以上の用量で投与する際に、個体におけるウイルス感染細胞の数を検出不能レベルにまで減少させる量のことである。

【0339】

それゆえ、本開示は、個体における感染症を治療するための方法を提供し、その方法は、有効量の、本開示のTMMP、または、TMMPをコードするヌクレオチド配列を含む1種以上の核酸を個体に投与することを含み、TMMPは病原体関連エピトープであるT細胞エピトープを含み、TMMPは刺激免疫調節ポリペプチドを含む。一部の例では、「有効量」の本開示のTMMPとは、それを必要とする個体に1つ以上の用量で投与する際に、個体における病原体の数を減少させる量のことである。例えば、一部の例では、「有効量」の本開示のTMMPとは、それを必要とする個体に1つ以上の用量で投与する際に、TMMPを投与する前またはTMMPを投与しない状態における、個体における病原体の数と比較して、個体における病原体の数を少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または、少なくとも95%減少させる量のことである。一部の例では、「有効量」の本開示のTMMPとは、それを必要とする個体に1つ以上の用量で投与する際に、個体における病原体の数を検出不能レベルにまで減少させる量のことである。病原体としては、ウイルス、細菌、原生動物などが挙げられる。

10

【0340】

一部の例では、免疫調節ポリペプチドは抑制性ポリペプチドであり、TMMPはエピトープ特異的T細胞の活性化を抑制する。一部の例では、エピトープは自己エピトープであり、TMMPは、自己エピトープに特異的なT細胞の活性化を選択的に抑制する。

20

【0341】

本開示は、個体における自己免疫疾患を治療するための方法を提供し、その方法は、有効量の、本開示のTMMP、または、TMMPをコードするヌクレオチド配列を含む1種以上の核酸を個体に投与することを含み、TMMPは自己エピトープであるT細胞エピトープを含み、TMMPは抑制性免疫調節ポリペプチドを含む。一部の例では、「有効量」の本開示のTMMPとは、それを必要とする個体に1つ以上の用量で投与する際に、TMMPを投与する前またはTMMPを投与しない状態における、個体における自己反応性T細胞の数と比較して、自己反応性T細胞の数を少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または、少なくとも95%減少させる量のことである。一部の例では、「有効量」のTMMPとは、それを必要とする個体に1つ以上の用量で投与する際に、個体におけるTh2サイトカインの産生を抑制する量のことである。一部の例では、「有効量」の本開示のTMMPとは、それを必要とする個体に1つ以上の用量で投与する際に、個体における自己免疫疾患に関連する1つ以上の症状を緩和する量のことである。

30

【0342】

上に記載したように、一部の例では、本治療方法の実施において、本開示のTMMPは、それを必要とする個体にそれ自体TMMPとして投与される。その他の例では、本治療方法の実施において、本開示のTMMPをコードするヌクレオチド配列を含む1種以上の核酸は、それを必要とする個体に投与される。それゆえ、その他の例では、本開示の1種以上の核酸、例えば、本開示の1種以上の組換え発現ベクターは、それを必要とする個体に投与される。

40

【0343】

製剤

好適な製剤については上述したとおりであるが、好適な製剤は薬学的に許容される賦形剤を含む。一部の例では、好適な製剤は、a) 本開示のTMMPと、b) 薬学的に許容される賦形剤と、を含む。一部の例では、好適な製剤は、a) 本開示のTMMPをコードするヌクレオチド配列を含む核酸と、b) 薬学的に許容される賦形剤と、を含み、一部の例では、核酸はmRNAである。一部の例では、好適な製剤は、a) 本開示のTMMPの第1のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む第1の核酸と、b) 本開示のTM

50

MPの第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む第2の核酸と、c) 薬学的に許容される賦形剤と、を含む。一部の例では、好適な製剤は、a) 本開示のTMMPをコードするヌクレオチド配列を含む組換え発現ベクターと、b) 薬学的に許容される賦形剤と、を含む。一部の例では、好適な製剤は、a) 本開示のTMMPの第1のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む第1の組換え発現ベクターと、b) 本開示のTMMPの第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む第2の組換え発現ベクターと、c) 薬学的に許容される賦形剤と、を含む。

【0344】

好適な薬学的に許容される賦形剤については上述したとおりである。

【0345】

用量

好適な用量については、様々な臨床因子に基づき、主治医またはその他の資格のある医療関係者が決定することができる。医学技術分野においては周知のことではあるが、任意の1名の患者の用量は、患者の大きさ、体表面積、年齢、投与する特定のポリペプチドまたは核酸、患者の性別、投与期間及び投与経路、全身健康、ならびに、同時に投与するその他の薬物、を含む多くの因子によって決まる。本開示のTMMPは、用量あたり1ng/kg(体重)~20mg/kg(体重)、例えば、0.1mg/kg(体重)~10mg/kg(体重)、例えば、0.5mg/kg(体重)~5mg/kg(体重)の量で投与してもよいが、この例示的な範囲未満またはこの例示的な範囲超の用量は、特に上記の因子を考慮して想定されている。レジメンが持続注入である場合、1分間あたり体重1キログラムあたり1μg~10mgの範囲であってもよい。本開示のTMMPは、約1mg/kg(体重)~50mg/kg(体重)、例えば、約1mg/kg(体重)~約5mg/kg(体重)、約5mg/kg(体重)~約10mg/kg(体重)、約10mg/kg(体重)~約15mg/kg(体重)、約15mg/kg(体重)~約20mg/kg(体重)、約20mg/kg(体重)~約25mg/kg(体重)、約25mg/kg(体重)~約30mg/kg(体重)、約30mg/kg(体重)~約35mg/kg(体重)、約35mg/kg(体重)~約40mg/kg(体重)、または、約40mg/kg(体重)~約50mg/kg(体重)の量で投与してもよい。

【0346】

一部の例では、本開示のTMMPの好適な用量は、体重1kgあたり0.01μg~100g、体重1kgあたり0.1μg~10g、体重1kgあたり1μg~1g、体重1kgあたり10μg~100mg、体重1kgあたり100μg~10mg、または、体重1kgあたり100μg~1mgである。当業者は、体液または組織中における投与薬剤の測定滞留時間及び濃度に基づき、投与の反復速度を容易に概算することができる。奏効した治療に続き、患者に維持療法を受けさせて疾患状態の再発を予防することが望ましい場合があるが、本開示のTMMPは、体重1kgあたり0.01μg~100g、体重1kgあたり0.1μg~10g、体重1kgあたり1μg~1g、体重1kgあたり10μg~100mg、体重1kgあたり100μg~10mg、または、体重1kgあたり100μg~1mgの範囲の維持量で投与される。

【0347】

特定のTMMP、症状の重症度、及び、対象の副作用の受けやすさに応じて用量レベルが変化し得るということを、当業者は容易に理解する。任意の化合物の好ましい用量は、当業者が様々な方法を用いて容易に決定することができる。

【0348】

一部の例では、複数回用量の、本開示のTMMP、本開示の核酸、または、本開示の組換え発現ベクターを投与する。本開示のTMMP、本開示の核酸、または、本開示の組換え発現ベクターの投与頻度は、様々な因子、例えば、症状の重症度などのいずれかに応じて変化し得る。例えば、一部の例では、本開示のTMMP、本開示の核酸、または、本開示の組換え発現ベクターは、月に1回、月に2回、月に3回、1週おき(qow)、週に1回(qw)、週に2回(biw)、週に3回(tiw)、週に4回、週に5回、週に6

10

20

30

40

50

回、1日おき（q o d）、毎日（q d）、1日2回（q i d）、または、1日3回（t i d）で投与される。

【0349】

本開示のTMMP、本開示の核酸、または、本開示の組換え発現ベクターの投与の持続期間、例えば、本開示のTMMP、本開示の核酸、または、本開示の組換え発現ベクターを投与する期間は、様々な因子、例えば、患者の応答などのいずれかに応じて変化し得る。例えば、本開示のTMMP、本開示の核酸、または、本開示の組換え発現ベクターを、約1日間～約1週間、約2週間～約4週間、約1ヶ月間～約2ヶ月間、約2ヶ月間～約4ヶ月間、約4ヶ月間～約6ヶ月間、約6ヶ月間～約8ヶ月間、約8ヶ月間～約1年間、約1年間～約2年間、もしくは、約2年間～約4年間、または、それ以上の範囲の期間にわたり投与してもよい。

10

【0350】

投与経路

活性剤（本開示のTMMP、本開示の核酸、または、本開示の組換え発現ベクター）は、全身及び局所投与経路に加えて、インビボ法及びエクスピボ法を含む任意の利用可能な方法及び薬物送達に好適な経路を使用して、個体に投与される。

【0351】

一般的かつ薬学的に許容される投与経路としては、腫瘍内、腫瘍周囲、筋肉内、リンパ管内、気管内、頭蓋内、皮下、皮膚内、局所適用、静脈内、動脈内、経直腸、経鼻、経口、ならびに、その他の経腸及び非経口投与経路、が挙げられる。必要に応じて投与経路を組み合わせてもよく、または、TMMP及び／または所望の効果に応じて投与経路を調整してもよい。本開示のTMMP、または、本開示の核酸または組換え発現ベクターを、単回用量または複数回用量で投与してもよい。

20

【0352】

一部の例では、本開示のTMMP、本開示の核酸、または、本開示の組換え発現ベクターは、静脈内投与される。一部の例では、本開示のTMMP、本開示の核酸、または、本開示の組換え発現ベクターは、筋肉内投与される。一部の例では、本開示のTMMP、本開示の核酸、または、本開示の組換え発現ベクターは、リンパ管内に投与される。一部の例では、本開示のTMMP、本開示の核酸、または、本開示の組換え発現ベクターは、局所的に投与される。一部の例では、本開示のTMMP、本開示の核酸、または、本開示の組換え発現ベクターは、腫瘍内に投与される。一部の例では、本開示のTMMP、本開示の核酸、または、本開示の組換え発現ベクターは、腫瘍周囲に投与される。一部の例では、本開示のTMMP、本開示の核酸、または、本開示の組換え発現ベクターは、頭蓋内に投与される。一部の例では、本開示のTMMP、本開示の核酸、または、本開示の組換え発現ベクターは、皮下投与される。

30

【0353】

一部の例では、本開示のTMMPは静脈内投与される。一部の例では、本開示のTMMPは筋肉内投与される。一部の例では、本開示のTMMPは局所的に投与される。一部の例では、本開示のTMMPは腫瘍内に投与される。一部の例では、本開示のTMMPは腫瘍周囲に投与される。一部の例では、本開示のTMMPは頭蓋内に投与される。一部の例では、TMMPは皮下投与される。一部の例では、本開示のTMMPはリンパ管内に投与される。

40

【0354】

本開示のTMMP、本開示の核酸、または、本開示の組換え発現ベクターは、任意の利用可能な一般的な方法、及び、全身または局所経路を含む一般的な薬物の送達に好適な経路を使用して、宿主に投与されてもよい。一般的に、本開示の方法における使用を検討する投与経路としては、経腸経路、非経口経路、及び、吸入経路が挙げられるが必ずしもこれらに限定されるものではない。

【0355】

吸入投与以外の非経口投与経路としては、局所経路、経皮経路、皮下経路、筋肉内経路

50

、眼窩内経路、嚢内経路、脊髄内経路、胸骨内経路、腫瘍内経路、リンパ管内経路、腫瘍周囲経路、及び、静脈内経路、すなわち、消化管を通る以外の任意の投与経路、が挙げられるが必ずしもこれらに限定されるものではない。非経口投与を実施して、本開示のTMMP、本開示の核酸、または、本開示の組換え発現ベクターの全身または局所送達を達成してもよい。全身送達が望まれる場合、投与は通常、浸潤性または全身吸収性の、医薬品製剤の局所または粘膜投与を含む。

【0356】

併用療法

一部の例では、個体におけるがんを治療するための本開示の方法は、a) 本開示のTMMPを投与し、b) 少なくとも1つの追加の治療薬または治療的処置を投与することを含む。適切な追加の治療薬として、小分子がん化学療法剤、及び免疫チェックポイント阻害剤が挙げられるが、これらに限定されない。適切な追加の治療的処置として、例えば、放射線療法、外科手術（例えば、腫瘍の外科的切除）などが挙げられる。

【0357】

本開示の治療方法は、本開示のTMMPと少なくとも1つの追加の治療薬との共投与を含み得る。「共投与」とは、TMMPと少なくとも1つの追加の治療薬の両方を投与した結果である治療効果を達成するために、必ずしも同時である必要はないが、本開示のTMMPと少なくとも1つの追加の治療薬の両方を個体に投与することを意味する。TMMPと少なくとも1つの追加の治療薬の投与は、実質的に同時にすることができ、例えば、TMMPを、少なくとも1つの追加の治療薬の投与の約1分～約24時間以内（例えば、約1分以内、約5分以内、約15分以内、約30分以内、約1時間以内、約4時間以内、約8時間以内、約12時間以内、または約24時間以内）に、個体に投与することができる。一部の例では、本開示のTMMPを、少なくとも1つの追加の治療薬で治療を受けているか、または治療を受けていた個体に投与する。TMMPの投与は、様々な時間及び／または様々な頻度で行うことができる。

【0358】

一例として、本開示の治療方法は、本開示のTMMPと、免疫チェックポイントに特異的な抗体などの免疫チェックポイント阻害剤との共投与を含み得る。「共投与」とは、TMMPと免疫チェックポイントの阻害剤（例えば、免疫チェックポイントポリペプチドに特異的な抗体）の両方を投与した結果である治療効果を達成するために、本開示のTMMPと免疫チェックポイント阻害剤（例えば、免疫チェックポイントポリペプチドに特異的な抗体）の両方を、必ずしも同時である必要はないが、個体に投与することを意味する。TMMPと免疫チェックポイント阻害剤（例えば、免疫チェックポイントポリペプチドに特異的な抗体）の投与は、実質的に同時にすることができ、例えば、TMMPを、免疫チェックポイント阻害剤（例えば、免疫チェックポイントポリペプチドに特異的な抗体）の投与の約1分～約24時間以内（例えば、約1分以内、約5分以内、約15分以内、約30分以内、約1時間以内、約4時間以内、約8時間以内、約12時間以内、または約24時間以内）に、個体に投与することができる。一部の例では、本開示のTMMPを、免疫チェックポイント阻害剤（例えば、免疫チェックポイントポリペプチドに特異的な抗体）で治療を受けているか、または治療を受けていた個体に投与する。TMMPと免疫チェックポイント阻害剤（例えば、免疫チェックポイントポリペプチドに特異的な抗体）の投与は、様々な時間及び／または様々な頻度で行うことができる。

【0359】

例示的な免疫チェックポイント阻害剤として、CD27、CD28、CD40、CD122、CD96、CD73、CD47、OX40、GITR、CSF1R、JAK、PI3K δ 、PI3K γ 、TAM、アルギナーゼ、CD137（4-1BBとしても知られる）、ICOS、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、LAG3、TIM3、VISTA、CD96、TIGIT、CD122、PD-1、PD-L1及びPD-L2などの免疫チェックポイントポリペプチドを標的とする阻害剤が挙げられる。一部の例では、免疫チェックポイントポリペプチドは、CD27、CD28、CD40

、ICOS、OX40、GITR、CD122、及びCD137から選択される刺激チェックポイント分子である。一部の例では、免疫チェックポイントポリペプチドは、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、IDO、KIR、LAG3、PD-1、TIM3、CD96、TIGIT及びVISTAから選択される阻害チェックポイント分子である。

【0360】

一部の例では、免疫チェックポイント阻害剤は免疫チェックポイントポリペプチドに特異的な抗体である。一部の例では、抗免疫チェックポイント抗体はモノクローナル抗体である。一部の例では、抗免疫チェックポイント抗体は、ヒト化されているか、または抗体がヒトにおいて免疫応答を実質的に誘発しないように脱免疫化されている。一部の例では、抗免疫チェックポイント抗体はヒト化モノクローナル抗体である。一部の例では、抗免疫チェックポイント抗体は、脱免疫化されたモノクローナル抗体である。一部の例では、抗免疫チェックポイント抗体は完全ヒトモノクローナル抗体である。一部の例では、抗免疫チェックポイント抗体は、免疫チェックポイントポリペプチドが免疫チェックポイントポリペプチドのリガンドに結合することを阻害する。一部の例では、抗免疫チェックポイント抗体は、免疫チェックポイントポリペプチドが免疫チェックポイントポリペプチドの受容体に結合することを阻害する。

【0361】

好適な抗免疫チェックポイント抗体として、ニボルマブ (Bristol-Myers Squibb)、ペンブロリズマブ (Merck)、ピジリズマブ (Curetech)、AMP-224 (GlaxoSmithKline/Amplimmune)、MPDL3280A (Roche)、MDX-1105 (Medarex, Inc./Bristol Myer Squibb)、MEDI-4736 (Medimmune/AstraZeneca)、arelumab (Merck Serono)、ipilimumab (YERVOY, (Bristol-Myers Squibb)、tremelimumab (Pfizer)、ピジリズマブ (CureTech, Ltd.)、IMP321 (Immutep S.A.)、MGA271 (Macrogenics)、BMS-986016 (Bristol-Meyers Squibb)、リリルマブ (Bristol-Myers Squibb)、ウレルマブ (Bristol-Meyers Squibb)、PF-05082566 (Pfizer)、IPH2101 (Innate Pharma/Bristol-Myers Squibb)、MEDI-6469 (MedImmune/AZ)、CP-870, 893 (Genentech)、モガムリズマブ (Kyowa Hakko Kirin)、バルリルマブ (CelIDex Therapeutics)、アベルマブ (EMD Serono)、ガリキシマブ (Biogen Idec)、AMP-514 (Amplimmune/AZ)、AUNP12 (Aurigene及びPierre Fabre)、インドキシモド (NewLink Genetics)、NLG-919 (NewLink Genetics)、INCB024360 (Incyte)、KN035、及びそれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。例えば、一部の例では、免疫チェックポイント阻害剤は抗PD-1抗体である。好適な抗PD-1抗体として、例えば、ニボルマブ、ペンブロリズマブ (MK-3475としても知られる)、ピジリズマブ、SHR-1210、PDR001、及びAMP-224が挙げられる。一部の例では、抗PD-1モノクローナル抗体は、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、またはPDR001である。好適な抗PD1抗体は、米国特許公開第2017/0044259号に記載されている。ピジリズマブについては、例えば、Rosenblatt et al. (2011) J. Immunother. 34: 409-18を参照のこと。一部の例では、免疫チェックポイント阻害剤は抗CTLA-4抗体である。一部の例では、抗CTLA-4抗体は、イピリムマブまたはトレメリムマブである。トレメリムマブについては、例えば、Ribas et al. (2013) J. Clin. Oncol. 31: 616-22を参照のこと。一部の例では、免疫チェックポイント阻害剤は抗PD-L1抗体である。一部の例では、抗PD-L1モノクローナル

10

20

30

40

50

抗体は、BMS-935559、MEDI4736、MPDL3280A（RG7446としても知られる）、KN035、またはMSB0010718Cである。一部の実施形態では、抗PD-L1モノクローナル抗体は、MPDL3280A（アテゾリズマブ）またはMEDI4736（デュルバルマブ）である。デュルバルマブについては、例えば、WO2011/066389を参照のこと。アテゾリズマブについては、例えば、米国特許第8,217,149号を参照のこと。

【0362】

治療に好適な対象

本開示の方法を用いた治療に好適な対象としては、がんを有すると診断されている個体と、がんの治療を受けてはいるがその治療に反応を示していない個体と、がんの治療を受けており最初は反応を示していたがその後治療に反応しなくなった個体と、を含む、がんを有する個体が挙げられる。本開示の方法を用いた治療に好適な対象としては、感染症を有すると診断されている個体と、感染症の治療を受けてはいるがその治療に反応を示していない個体と、を含む、感染症（例えば、細菌、ウイルス、原生動物などの病原体への感染）を有する個体が挙げられる。本開示の方法を用いた治療に好適な対象としては、細菌感染症を有すると診断されている個体と、細菌感染症の治療を受けてはいるがその治療に反応を示していない個体と、を含む、細菌感染症を有する個体が挙げられる。本開示の方法を用いた治療に好適な対象としては、ウイルス感染症を有すると診断されている個体と、ウイルス感染症の治療を受けてはいるがその治療に反応を示していない個体と、を含む、ウイルス感染症を有する個体が挙げられる。本開示の方法を用いた治療に好適な対象としては、自己免疫疾患を有すると診断されている個体と、自己免疫疾患の治療を受けてはいるがその治療に反応を示していない個体と、を含む、自己免疫疾患を有する個体が挙げられる。

【0363】

本開示の非限定態様の例

実施形態を含む、上記の本主題の態様は、単独で、または1つ以上の他の態様もしくは実施形態と組み合わせて有益であり得る。前述の記載を制限することなく、1～95の番号を振った、開示の特定の非限定的な態様を以下に提供する。本開示を読解することにより当業者には明らかとなるが、個別に番号を振った態様のそれぞれを使用してもよく、あるいは、個別に番号を振った態様のそれぞれを、個別に番号を振った先行するまたは後に続く態様のいずれかと組み合わせてもよい。このことは、態様の全てのこのような組み合わせに対する支持を提供することを意味し、以下において明確に記載する態様の組み合わせに限定されない。

【0364】

態様1. a) i) ペプチドエピトープであって、前記ペプチドが少なくとも4アミノ酸の長さを有する、ペプチドエピトープと、ii) 第1の主要組織適合遺伝子複合体（MHC）ポリペプチドとを含む、第1のポリペプチド、b) 第2のMHCポリペプチドを含む、第2のポリペプチド、及びc) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチド、を含み、前記第1及び／または前記第2のポリペプチドが前記免疫調節ポリペプチドを含む、少なくとも1つのヘテロ二量体を含む、T細胞調節多量体ポリペプチド。

【0365】

態様2. 前記1つ以上の免疫調節ドメインのうちの少なくとも1つが、同種共免疫調節ポリペプチドに対して、対応する野生型免疫調節ポリペプチドの前記同種共免疫調節ポリペプチドに対する親和性に比べて低い親和性を示す、バリエーション型免疫調節ポリペプチドであり、前記エピトープが、T細胞上のT細胞受容体（TCR）に少なくとも 10^{-7} Mの親和性で結合し、その結果、i) 前記T細胞調節多量体ポリペプチドが、第1のT細胞に対し、前記T細胞調節多量体ポリペプチドが第2のT細胞に結合する親和性に比べて少なくとも25%高い親和性で結合し、前記第1のT細胞がその表面上に、前記同種共免疫調節ポリペプチドと、前記エピトープに少なくとも 10^{-7} Mの親和性で結合するTCRとを発現し、前記第2のT細胞がその表面上に、前記同種共免疫調節ポリペプチドを発現

するが、その表面上に、前記エピトープに少なくとも 10^{-7} M の親和性で結合する TCR を発現せず、及び／または、i i) 同種共免疫調節ポリペプチドに対する、野生型免疫調節ポリペプチドを含む対照 T 細胞調節多量体ポリペプチドの結合親和性と、前記同種共免疫調節ポリペプチドに対する、前記野生型免疫調節ポリペプチドのバリエーション型を含む前記 T 細胞調節多量体ポリペプチドの結合親和性との比が、バイオレイヤー干渉法で測定した際に、 $1.5 : 1 \sim 10^6 : 1$ の範囲内である、態様 1 に記載の T 細胞調節多量体ポリペプチド。

【0366】

態様 3. a) 前記 T 細胞調節多量体ポリペプチドが、前記第 1 の T 細胞に対し、前記第 2 の T 細胞に結合する親和性に比べて、少なくとも 50%、少なくとも 2 倍、少なくとも 5 倍、または少なくとも 10 倍高い親和性で結合し、及び／または b) 前記バリエーション型免疫調節ポリペプチドが、約 10^{-4} M ～ 約 10^{-7} M、約 10^{-4} M ～ 約 10^{-6} M、約 10^{-4} M ～ 約 10^{-5} M の親和性で前記共免疫調節ポリペプチドに結合し、及び／または c) 同種共免疫調節ポリペプチドに対する、野生型免疫調節ポリペプチドを含む対照 T 細胞調節多量体ポリペプチドの前記結合親和性と、前記同種共免疫調節ポリペプチドに対する、前記野生型免疫調節ポリペプチドのバリエーション型を含む前記 T 細胞調節多量体ポリペプチドの前記結合親和性との比が、バイオレイヤー干渉法によって測定した際に、少なくとも $10 : 1$ 、少なくとも $50 : 1$ 、少なくとも $10^2 : 1$ 、または少なくとも $10^3 : 1$ である、態様 2 に記載の T 細胞調節多量体ポリペプチド。

【0367】

態様 4. 前記第 1 または前記第 2 のポリペプチドが、免疫グロブリン (Ig) Fc ポリペプチドを含む、態様 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の T 細胞調節多量体ポリペプチド。

【0368】

態様 5. 前記 Ig Fc ポリペプチドが IgG1 Fc ポリペプチドである、態様 4 に記載の T 細胞調節多量体ポリペプチド。

【0369】

態様 6. 前記 IgG1 Fc ポリペプチドが、N297A、L234A、L235A、L234F、L235E、及び P331S から選択される 1 つ以上のアミノ酸置換を含む、態様 5 に記載の T 細胞調節多量体ポリペプチド。

【0370】

態様 7.

a 1) 前記第 1 のポリペプチドが、N 末端から C 末端の順に、

i) 前記ペプチドエピトープと、

ii) 前記第 1 の MHC ポリペプチドと、

iii) 少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチド

を含み、かつ

b 1) 前記第 2 のポリペプチドが、N 末端から C 末端の順に、

i) 前記第 2 の MHC ポリペプチドと、

ii) 免疫グロブリン (Ig) Fc ポリペプチド

を含むか；または

a 2) 前記第 1 のポリペプチドが、N 末端から C 末端の順に、

i) 前記ペプチドエピトープと、

ii) 前記第 1 の MHC ポリペプチド

を含み、かつ

b 2) 前記第 2 のポリペプチドが、N 末端から C 末端の順に、

i) 少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチドと、

ii) 前記第 2 の MHC ポリペプチドと、

iii) Ig Fc ポリペプチド

を含むか；または

a 3) 前記第 1 のポリペプチドが、N 末端から C 末端の順に、

10

20

30

40

50

- i) 前記ペプチドエピトープと、
 - ii) 前記第1のMHCポリペプチド
- を含み、かつ
- b3) 前記第2のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、
 - i) 前記第2のMHCポリペプチドと、
 - ii) IgFcポリペプチドと、
 - iii) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチド
- を含むか；または
- a4) 前記第1のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、
 - i) 前記ペプチドエピトープと、
 - ii) 前記第1のMHCポリペプチド
- を含み、かつ
- b4) 前記第2のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、
 - i) 前記第2のMHCポリペプチドと、
 - ii) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチド
- を含むか；または
- a5) 前記第1のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、
 - i) 前記ペプチドエピトープと、
 - ii) 前記第1のMHCポリペプチド
- を含み、かつ
- b5) 前記第2のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、
 - i) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドと、
 - ii) 前記第2のMHCポリペプチド
- を含むか；または
- a6) 前記第1のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、
 - i) 前記ペプチドエピトープと、
 - ii) 前記第1のMHCポリペプチドと、
 - iii) 少なくとも1つの免疫調節ポリペプチド
- を含み、かつ
- b6) 前記第2のポリペプチドが、
 - i) 前記第2のMHCポリペプチド
- を含む、
- 態様1～6のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0371】

態様8． 前記第1のポリペプチドが、前記エピトープと前記第1のMHCポリペプチドとの間にペプチドリンカーを含み、及び／または前記第2のポリペプチドが、前記免疫調節ポリペプチドと前記第2のMHCポリペプチドとの間にペプチドリンカーを含む、態様1～7のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0372】

態様9． 前記ペプチドリンカーが、アミノ酸配列(GGGGS)_nを含み、nが1～10までの整数である、態様8に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0373】

態様10． 前記第1のMHCポリペプチドがβ2-ミクログロブリンポリペプチドであり、前記第2のMHCポリペプチドがMHCクラスI重鎖ポリペプチドである、態様1～9のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0374】

態様11． 前記少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドが、サイトカイン（例えば、IL2ポリペプチド、IL7ポリペプチド、IL12ポリペプチド、IL15ポリペプチド、IL17ポリペプチド、IL21ポリペプチド、IL27ポリペプチド、IL-23ポリペプチド、TGFBポリペプチドなどであり、全てのファミリーメンバー、例えば、

10

20

30

40

50

IL17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E、IL-17F、IL-17Eが含まれる)、4-1BBLポリペプチド、ICOS-Lポリペプチド、OX-40Lポリペプチド、CD80ポリペプチド、CD86ポリペプチド、CD40ポリペプチド、CD70ポリペプチド、JAG1(CD339)ポリペプチド、ICAM(CD540ポリペプチド、PD-L1ポリペプチド、FasLポリペプチド、PD-L2ポリペプチド、PD-1H(VISTA)ポリペプチド、ICOS-L(CD275)ポリペプチド、GITRLポリペプチド、HVEMポリペプチド、CXCL10ポリペプチド、CXCL9ポリペプチド、CXCL11ポリペプチド、CXCL13ポリペプチド、及びCX3CL1ポリペプチド、ガレクチン-9ポリペプチド、CD83ポリペプチド、CD30Lポリペプチド、HLA-Gポリペプチド、MICAポリペプチド、MICBポリペプチド、HVEM(CD270)ポリペプチド、リンホトキシン β 受容体ポリペプチド、3/TR6ポリペプチド、ILT3ポリペプチド、ILT4ポリペプチド、CXCL10ポリペプチド、CXCL9ポリペプチド、CXCL11ポリペプチド、CXCL13ポリペプチド、及びCX3CL1ポリペプチド、ならびにそれらの組み合わせからなる群から選択される、態様1~10のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

10

【0375】

態様12. 前記少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドがIL-2ポリペプチドである、態様1~11のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0376】

態様13. 前記多量体ポリペプチドが、少なくとも2つの免疫調節ポリペプチドを含み、前記免疫調節ポリペプチドのうちの少なくとも2つが同じである、態様1~12のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

20

【0377】

態様14. 前記2つ以上の免疫調節ポリペプチドがタンデムに存在する、態様13に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0378】

態様15. 前記第1のポリペプチド及び前記第2のポリペプチドが、互いに共有結合している、態様1~14のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0379】

態様16. 前記共有結合が、ジスルフィド結合を介している、態様15に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

30

【0380】

態様17. 前記第1のMHCポリペプチド、またはエピトープと前記第1のMHCポリペプチドとの間のリンカーが、第1のCys残基を提供するためのアミノ酸置換を含み、前記第2のMHCポリペプチドが、第2のCys残基を提供するためのアミノ酸置換を含み、前記ジスルフィド結合が、前記第1のCys残基と前記第2のCys残基との間にある、態様1~16のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0381】

態様18. 前記ペプチドエピトープが、約4アミノ酸~約25アミノ酸の長さを有する、態様1~17のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

40

【0382】

態様19. 前記ペプチドエピトープが、がんエピトープである、態様1~18のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0383】

態様20. 前記ペプチドエピトープが、ウイルスエピトープである、態様1~18のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0384】

態様21. 前記第1または前記第2のMHCポリペプチドが、
a) 図7Aに示すHLA-A*0101、HLA-A*0201、HLA-A*0201、HLA-A*1101、HLA-A*2301、HLA-A*2402、HLA-A*2

50

407、HLA-A*3303、またはHLA-A*3401アミノ酸配列に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有する、アミノ酸配列、または

b) 図8Aに示すHLA-B*0702、HLA-B*0801、HLA-B*1502、HLA-B*3802、HLA-B*4001、HLA-B*4601、またはHLA-B*5301アミノ酸配列に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有する、アミノ酸配列、または

c) 図9Aに示すHLA-C*0102、HLA-C*0303、HLA-C*0304、HLA-C*0401、HLA-C*0602、HLA-C*0701、HLA-C*0702、HLA-C*0801、またはHLA-C*1502に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有する、アミノ酸配列

を含む、態様1～20のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0385】

態様22. 前記第1のMHCポリペプチドがβ2Mポリペプチドであり、前記第2のMHCポリペプチドが、HLA-A*2402ポリペプチドに対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、態様1～20のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0386】

態様23. 前記第1のMHCポリペプチドがβ2Mポリペプチドであり、前記第2のMHCポリペプチドがHLA-A*1101ポリペプチドである、態様1～20のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0387】

態様24. 前記第1のMHCポリペプチドがβ2Mポリペプチドであり、前記第2のMHCポリペプチドが、HLA-A*3303ポリペプチドに対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、態様1～20のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0388】

態様25. 前記第1のMHCポリペプチドがβ2Mポリペプチドであり、前記第2のMHCポリペプチドが、HLA-A*0201ポリペプチドに対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、態様1～20のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0389】

態様26. 前記MHC重鎖ポリペプチドが236位にCysを含む、態様21～25のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0390】

態様27. 前記β2Mポリペプチドが12位にCysを含む、態様21～26のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0391】

態様28. 前記免疫調節ポリペプチドが、i) H16A置換及びF42A置換、またはii) H16T置換及びF42A置換を含む、バリエーション型IL-2ポリペプチドである、態様1～27のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0392】

態様29. 前記多量体ポリペプチドが、第1及び第2のヘテロ二量体を含み、前記第1及び前記第2のヘテロ二量体が、前記第1及び前記第2のヘテロ二量体のIgFcポリペプチド間の1つ以上のジスルフィド結合によって共有結合している、態様4～28のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0393】

態様30. 前記第1または第2のポリペプチドが、少なくとも1つの免疫調節ドメインを含む、態様1～28のいずれか一項に記載の第1または第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、核酸。

【0394】

10

20

30

40

50

態様 31. 態様 30 に記載の核酸を含む、発現ベクター。

【0395】

態様 32. 所与のエピトープに特異的な T 細胞の活性を選択的に調節する方法であって、前記方法が、前記 T 細胞を、態様 1～29 のいずれか一項に記載の T 細胞調節多量体ポリペプチドと接触させることを含み、前記接触が、前記エピトープ特異的 T 細胞の活性を選択的に調節する、前記方法。

【0396】

態様 33. がんを有する患者を治療する方法であって、前記方法が、態様 1～29 のいずれか一項に記載の T 細胞調節多量体ポリペプチドを含む有効量の医薬組成物を前記患者に投与することを含む、前記方法。

【0397】

態様 34. 前記がんが、子宮頸癌、前立腺癌、または卵巣癌である、態様 33 に記載の方法。

【0398】

態様 35. 前記投与が筋肉内である、態様 33 または 34 に記載の方法。

【0399】

態様 36. 前記投与が静脈内である、態様 33 または 34 に記載の方法。

【0400】

態様 37. 個体における免疫応答を調節する方法であって、態様 12927 のいずれか一項の有効量の T 細胞調節多量体ポリペプチド (TMMP) を前記個体に投与することを含み、前記投与が、エピトープ特異的 T 細胞応答 (例えば、前記 TMMP に存在する前記エピトープに特異的な T 細胞応答) 及びエピトープ非特異的 T 細胞応答を誘導し、前記エピトープ特異的 T 細胞応答と前記エピトープ非特異的 T 細胞応答との比が少なくとも 2 : 1 である、前記方法。

【0401】

態様 38. 前記エピトープ特異的 T 細胞応答と前記エピトープ非特異的 T 細胞応答との比が少なくとも 5 : 1 である、態様 37 に記載の方法。

【0402】

態様 39. 前記エピトープ特異的 T 細胞応答と前記エピトープ非特異的 T 細胞応答との比が少なくとも 10 : 1 である、態様 37 に記載の方法。

【0403】

態様 40. 前記エピトープ特異的 T 細胞応答と前記エピトープ非特異的 T 細胞応答との比が少なくとも 25 : 1 である、態様 37 に記載の方法。

【0404】

態様 41. 前記エピトープ特異的 T 細胞応答と前記エピトープ非特異的 T 細胞応答との比が少なくとも 50 : 1 である、態様 37 に記載の方法。

【0405】

態様 42. 前記エピトープ特異的 T 細胞応答と前記エピトープ非特異的 T 細胞応答との比が少なくとも 100 : 1 である、態様 37 に記載の方法。

【0406】

態様 43. 前記個体がヒトである、態様 37～42 のいずれか一項に記載の方法。

【0407】

態様 44. 前記調節が、がん細胞 (例えば、TMMP に存在するペプチドエピトープを発現するがん細胞) に対する細胞傷害性 T 細胞応答を増加させることを含み、態様 37～43 のいずれか一項に記載の方法。

【0408】

態様 45. 前記投与が、静脈内、皮下、筋肉内、全身、リンパ内、治療部位の遠位、局所、または治療部位もしくはその近位である、態様 37～44 のいずれか一項に記載の方法。

【0409】

10

20

30

40

50

態様 47. 前記エピトープ非特異的 T 細胞応答が、対応する野生型免疫調節ポリペプチドを含む対照 T 細胞調節多量体ポリペプチドによって誘導されるであろう前記エピトープ非特異的 T 細胞応答よりも小さい、態様 37～45 のいずれか一項に記載の方法。

【0410】

態様 48. 標的 T 細胞へ共刺激（すなわち、免疫調節）ポリペプチドを選択的に送達する方法であって、前記方法が、T 細胞の混合集団を、態様 1～29 のいずれか一項に記載の T 細胞調節多量体ポリペプチド（TMMP）と接触させることを含み、前記 T 細胞の混合集団が、前記標的 T 細胞及び非標的 T 細胞を含み、前記標的 T 細胞が、前記 TMMP 内に存在する前記エピトープに特異的であり（例えば、前記標的 T 細胞が、前記 TMMP 内に存在する前記エピトープに特異的であり）、前記接触により、前記 TMMP 内に存在する前記 1 つ以上の共刺激ポリペプチドを前記標的 T 細胞に送達する、前記方法。

10

【0411】

態様 49. 前記 T 細胞の集団がインビトロである、態様 48 に記載の方法。

【0412】

態様 50. 前記 T 細胞の集団が、個体内のインビボである、態様 48 に記載の方法。

【0413】

態様 51. 前記多量体ポリペプチドを前記個体に投与することを含む、態様 50 に記載の方法。

【0414】

態様 52. 前記標的 T 細胞が細胞傷害性 T 細胞である、態様 48～51 のいずれか一項に記載の方法。

20

【0415】

態様 53. 前記 T 細胞の混合集団が、個体から得られる混合 T 細胞のインビトロ集団であり、前記接触が、前記標的 T 細胞の活性化及び／または増殖をもたらす、活性化及び／または増殖した標的 T 細胞の集団を生成する、態様 48 に記載の方法。

【0416】

態様 54. 前記活性化及び／または増殖した標的 T 細胞の集団を前記個体に投与することをさらに含む、態様 53 に記載の方法。

【0417】

態様 55. 個体から得られる T 細胞の混合集団における、目的のエピトープに結合する標的 T 細胞の存在を検出する方法であって、前記方法が、a) T 細胞の混合集団を、前記目的のエピトープを含む態様 1～29 のいずれか一項に記載の T 細胞調節多量体ポリペプチド（TMMP）にインビトロで接触させること、及び b) 前記接触に反応して、T 細胞の活性化及び／または増殖を検出することを含み、活性化及び／または増殖した T 細胞が、前記標的 T 細胞が存在することを示す、前記方法。

30

【0418】

態様 56. a) i) ペプチドエピトープ（前記ペプチドは、約 4 アミノ酸～約 25 アミノ酸の長さを有する）と、ii) 第 1 の主要組織適合遺伝子複合体（MHC）クラス I ポリペプチドを含む、第 1 のポリペプチド、b) 第 2 の MHC クラス I ポリペプチドを含む、第 2 のポリペプチド、及び c) 少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチドを含み、前記第 1 及び／または前記第 2 のポリペプチドが前記免疫調節ポリペプチドを含み、前記第 1 及び前記第 2 のポリペプチドが、少なくとも 2 つのジスルフィド結合を介して互いに共有結合している、少なくとも 1 つのヘテロ二量体を含む、T 細胞調節多量体ポリペプチド。

40

【0419】

態様 57. 少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチドの少なくとも 1 つが、同種共免疫調節ポリペプチドに対して、前記同種共免疫調節ポリペプチドに対する対応する野生型免疫調節ポリペプチドに比べて低い親和性を示す、バリエーション型免疫調節ポリペプチドであり、前記エピトープが、少なくとも 10^{-7} M の親和性で T 細胞上の T 細胞受容体（TCR）に結合し、それにより、i) 前記 T 細胞調節多量体ポリペプチドが、第 1 の T 細胞に対し、前記 T 細胞調節多量体ポリペプチドが第 2 の T 細胞に結合する親和性に比べて少な

50

くとも25%高い親和性で結合し、前記第1のT細胞がその表面に、前記同種共免疫調節ポリペプチドと、少なくとも 10^{-7} Mの親和性で前記エピトープに結合するTCRとを発現し、前記第2のT細胞がその表面に、同種共免疫調節ポリペプチドを発現するが、少なくとも 10^{-7} Mの親和性で前記エピトープに結合するTCRをその表面に発現せず、及び／またはii)同種共免疫調節ポリペプチドに対する、対照T細胞調節多量体ポリペプチド（前記対照は、野生型免疫調節ポリペプチドを含む）の前記結合親和性と、前記同種共免疫調節ポリペプチドに対する、前記野生型免疫調節ポリペプチドのバリエーション型を含む前記T細胞調節多量体ポリペプチドの前記結合親和性との比が、バイオレイヤー干渉法によって測定した際に、 $1.5:1 \sim 10^6:1$ の範囲にある、態様56に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

10

【0420】

態様58. a)前記T細胞調節多量体ポリペプチドが、前記第1のT細胞に対し、前記第2のT細胞に結合する親和性に比べて、少なくとも50%、少なくとも2倍、少なくとも5倍、または少なくとも10倍高い親和性で結合し、及び／またはb)前記バリエーション型免疫調節ポリペプチドが、約 10^{-4} M～約 10^{-7} M、約 10^{-4} M～約 10^{-6} M、約 10^{-4} M～約 10^{-5} Mの親和性で前記共免疫調節ポリペプチドに結合し、及び／またはc)同種共免疫調節ポリペプチドに対する、対照T細胞調節多量体ポリペプチド（前記対照は、野生型免疫調節ポリペプチドを含む）の前記結合親和性と、前記同種共免疫調節ポリペプチドに対する、前記野生型免疫調節ポリペプチドのバリエーション型を含む前記T細胞調節多量体ポリペプチドの前記結合親和性との比が、バイオレイヤー干渉法によって測定した際に、少なくとも10:1、少なくとも50:1、少なくとも $10^2:1$ 、または少なくとも $10^3:1$ である、態様57に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

20

【0421】

態様59. 前記第1または前記第2のポリペプチドが、免疫グロブリン(Ig)Fcポリペプチドを含む、態様56～58のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0422】

態様60. 前記IgFcポリペプチドがIgG1Fcポリペプチドである、態様59に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0423】

態様61. 前記IgFcポリペプチドがIgG4Fcポリペプチドである、態様59に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

30

【0424】

態様62. 前記IgG1Fcポリペプチドが、N297A、L234A、L235A、L234F、L235E、及びP331Sから選択される1つ以上のアミノ酸置換を含む、態様60に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0425】

態様63.

a1)前記第1のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、

i)前記ペプチドエピトープ、

ii)前記第1のクラスI MHCポリペプチド、及び

iii)少なくとも1つの免疫調節ポリペプチド

を含み、かつ

b1)前記第2のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、

i)前記第2のクラスI MHCポリペプチド、及び

ii)免疫グロブリン(Ig)Fcポリペプチド

を含むか；または

a2)前記第1のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、

i)前記ペプチドエピトープ、及び

ii)前記第1のクラスI MHCポリペプチド

40

50

を含み、かつ

- b 2) 前記第 2 のポリペプチドが、N 末端から C 末端の順に、
 - i) 少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチド、
 - ii) 前記第 2 のクラス I MHC ポリペプチド、及び
 - iii) Ig Fc ポリペプチド

を含むか；または

- a 3) 前記第 1 のポリペプチドが、N 末端から C 末端の順に、
 - i) 前記ペプチドエピトープ、及び
 - ii) 前記第 1 のクラス I MHC ポリペプチド

を含み、かつ

- b 3) 前記第 2 のポリペプチドが、N 末端から C 末端の順に、
 - i) 前記第 2 のクラス I MHC ポリペプチド、及び
 - ii) Ig Fc ポリペプチド、及び
 - iii) 少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチド

を含むか；または

- a 4) 前記第 1 のポリペプチドが、N 末端から C 末端の順に、
 - i) 前記ペプチドエピトープ、及び
 - ii) 前記第 1 のクラス I MHC ポリペプチド

を含み、かつ

- b 4) 前記第 2 のポリペプチドが、N 末端から C 末端の順に、
 - i) 前記第 2 のクラス I MHC ポリペプチド、及び
 - ii) 少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチド

を含むか；または

- a 5) 前記第 1 のポリペプチドが、N 末端から C 末端の順に、
 - i) 前記ペプチドエピトープ、及び
 - ii) 前記第 1 のクラス I MHC ポリペプチド

を含み、かつ

- b 5) 前記第 2 のポリペプチドが、N 末端から C 末端の順に、
 - i) 少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチド、及び
 - ii) 前記第 2 のクラス I MHC ポリペプチド

を含むか；または

- a 6) 前記第 1 のポリペプチドが、N 末端から C 末端の順に、
 - i) 前記ペプチドエピトープ、
 - ii) 前記第 1 のクラス I MHC ポリペプチド、及び
 - iii) 少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチド

を含み、かつ

- b 6) 前記第 2 のポリペプチドが、
 - i) 前記第 2 のクラス I MHC ポリペプチド

を含む、

態様 56～62 のいずれか一項に記載の T 細胞調節多量体ポリペプチド。

【0426】

態様 64. 前記第 1 の MHC ポリペプチドが $\beta 2$ -ミクログロブリンポリペプチドであり、前記第 2 の MHC ポリペプチドが MHC クラス I 重鎖ポリペプチドである、態様 56～63 のいずれか一項に記載の T 細胞調節多量体ポリペプチド。

【0427】

態様 65. 前記少なくとも 1 つの免疫調節ポリペプチドが、サイトカイン（例えば、IL2 ポリペプチド、IL7 ポリペプチド、IL12 ポリペプチド、IL15 ポリペプチド、IL17 ポリペプチド、IL21 ポリペプチド、IL27 ポリペプチド、IL-23 ポリペプチド、TGFB β ポリペプチドなどであり、全てのファミリーメンバー、例えば、IL17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E、IL-17F

10

20

30

40

50

、IL-17Eが含まれる)、4-1BBLポリペプチド、ICOS-Lポリペプチド、OX-40Lポリペプチド、CD80ポリペプチド、CD86ポリペプチド、CD40ポリペプチド、CD70ポリペプチド、JAG1(CD339)ポリペプチド、ICAM(CD540ポリペプチド、PD-L1ポリペプチド、FasLポリペプチド、PD-L2ポリペプチド、PD-1H(VISTA)ポリペプチド、ICOS-L(CD275)ポリペプチド、GITRLポリペプチド、HVEMポリペプチド、CXCL10ポリペプチド、CXCL9ポリペプチド、CXCL11ポリペプチド、CXCL13ポリペプチド、及びCX3CL1ポリペプチド、ガレクチン-9ポリペプチド、CD83ポリペプチド、CD30Lポリペプチド、HLA-Gポリペプチド、MICAポリペプチド、MICBポリペプチド、HVEM(CD270)ポリペプチド、リンホトキシンβ受容体ポリペプチド、3/TR6ポリペプチド、ILT3ポリペプチド、ILT4ポリペプチド、CXCL10ポリペプチド、CXCL9ポリペプチド、CXCL11ポリペプチド、CXCL13ポリペプチド、及びCX3CL1ポリペプチド、ならびにそれらの組み合わせからなる群から選択される、態様56～64のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。
【0428】

10

態様66. 前記少なくとも1つの免疫調節ポリペプチドがIL-2ポリペプチドである、態様56～64のいずれか1つに記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0429】

態様67. 前記多量体ポリペプチドが少なくとも2つの免疫調節ポリペプチドを含み、前記免疫調節ポリペプチドのうちの少なくとも2つが同じである、態様56～66のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

20

【0430】

態様68. 前記2つ以上の免疫調節ポリペプチドがタンデムに存在する、態様67のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0431】

態様69. a) 第1のジスルフィド結合が、i) 前記ペプチドエピトープと、前記第1のMHCクラスIポリペプチド(前記第1のMHCクラスIポリペプチドはβ2Mポリペプチドである)の間のリンカーに存在するCysと、ii) 前記第2のMHCクラスIポリペプチド(前記第2のMHCクラスIポリペプチドはMHCクラスI重鎖ポリペプチドである)にY84C置換を介して導入されるCys残基との間であり、b) 第2のジスルフィド結合が、i) R12C置換を介して前記β2Mポリペプチドに導入されるCys残基と、ii) A236C置換を介して前記MHCクラスI重鎖ポリペプチドに導入されるCys残基との間であり、態様56～68のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

30

【0432】

態様70. 前記リンカーがアミノ酸配列GCGGS(SEQ ID NO:318)を含む、態様69に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0433】

態様71. 前記リンカーがアミノ酸配列GCGGS(GGGGS)n(SEQ ID NO:342)を含み、nが1～10の整数である、態様70のT細胞調節多量体ポリペプチド。

40

【0434】

態様72. 前記ペプチドエピトープが、がん関連ペプチドエピトープである、態様56～71のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0435】

態様73. 前記ペプチドエピトープが、ウイルス関連ペプチドエピトープである、態様56～71のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0436】

態様74. 前記第1または前記第2のMHCポリペプチドが、

a) 図7Aに示すアミノ酸配列HLA-A*0101、HLA-A*0201、HLA

50

－A*0201、HLA-A*1101、HLA-A*2301、HLA-A*2402、HLA-A*2407、HLA-A*3303、もしくはHLA-A*3401アミノ酸配列に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有する、アミノ酸配列、または

b) 図8Aに示すHLA-B*0702、HLA-B*0801、HLA-B*1502、HLA-B*3802、HLA-B*4001、HLA-B*4601、もしくはHLA-B*5301アミノ酸配列に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有する、アミノ酸配列、または

c) 図9Aに示すHLA-C*0102、HLA-C*0303、HLA-C*0304、HLA-C*0401、HLA-C*0602、HLA-C*0701、HLA-C*0702、HLA-C*0801、もしくはHLA-C*1502に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有する、アミノ酸配列を含む、態様56～73のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0437】

態様75．前記第1のMHCポリペプチドがβ2Mポリペプチドであり、前記第2のMHCポリペプチドが、HLA-A*2402ポリペプチドに対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、態様56～73のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0438】

態様76．前記第1のMHCポリペプチドがβ2Mポリペプチドであり、前記第2のMHCポリペプチドがHLA-A*1101ポリペプチドである、態様56～73のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0439】

態様77．前記第1のMHCポリペプチドがβ2Mポリペプチドであり、前記第2のMHCポリペプチドが、HLA-A*3303ポリペプチドに対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、態様56～73のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0440】

態様78．前記第1のMHCポリペプチドがβ2Mポリペプチドであり、前記第2のMHCポリペプチドが、HLA-A*0201ポリペプチドに対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、態様56～73のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0441】

態様79．前記MHC重鎖ポリペプチドが、236位にCysを含む、態様56～78のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0442】

態様80．前記β2Mポリペプチドが、12位にCysを含む、態様56～79のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0443】

態様81．前記免疫調節ポリペプチドが、i) H16A置換及びF42A置換、またはii) H16T置換及びF42A置換を含む、バリエーション型IL-2ポリペプチドである、態様56～80のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0444】

態様82．前記多量体ポリペプチドが第1及び第2のヘテロ二量体を含み、前記第1及び第2のヘテロ二量体が、前記第1及び第2のヘテロ二量体のIgFcポリペプチド間の1つ以上のジスルフィド結合によって共有結合している、態様56～81のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチド。

【0445】

態様83．前記第1または第2のポリペプチドが少なくとも1つの免疫調節ドメインを含む、態様56～82のいずれか一項に記載の第1または第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、核酸。

10

20

30

40

50

【0446】

態様84. 態様83に記載の核酸を含む、発現ベクター。

【0447】

態様85. ペプチドエピトープに特異的なT細胞の活性を選択的に調節する方法であって、前記方法が、前記T細胞を、態様56～82のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチドと接触させることを含み、前記接触が、前記エピトープ特異的T細胞の活性を選択的に調節する、前記方法。

【0448】

態様86. がんを有する患者を治療する方法であって、前記方法が、態様56～82のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチドを含む有効量の医薬組成物を前記患者に投与することを含む、前記方法。

10

【0449】

態様87. 前記投与が筋肉内である、態様86に記載の方法。

【0450】

態様88. 前記投与が静脈内である、態様86に記載の方法。

【0451】

態様89. 1つ以上のチェックポイント阻害剤を前記個体に投与することをさらに含む、態様86～88のいずれか一項に記載の方法。

【0452】

態様90. 前記チェックポイント阻害剤が、CD27、CD28、CD40、CD122、CD96、CD73、CD47、OX40、GITR、CSF1R、JAK、PI3K δ 、PI3K γ 、TAM、アルギナーゼ、CD137、ICOS、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、LAG3、TIM3、VISTA、CD96、TIGIT、CD122、PD-1、PD-L1、及びPD-L2からなる群から選択されるポリペプチドに結合する抗体である、態様89に記載の方法。

20

【0453】

態様91. 前記チェックポイント阻害剤が、PD-1、PD-L1、またはCTLA4に特異的な抗体である、態様89に記載の方法。

【0454】

態様92. 前記1つ以上のチェックポイント阻害剤が、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、ピジリズマブ、AMP-224、MPDL3280A、MDX-1105、MED-4736、アレルマブ、イビリムマブ、トレメリマブ、ピジリズマブ、IMP321、MGA271、BMS-986016、リリルマブ、ウレルマブ、PF-05082566、IPH2101、MED-6469、CP-870, 893、モガムリズマブ、バルリルマブ、アベルマブ、ガリキシマブ、AMP-514、AUNP12、インドキシモド、NLG-919、INCB024360、KN035、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、態様89に記載の方法。

30

【0455】

態様93. 個体における免疫応答を調節する方法であって、前記方法が、態様56～82のいずれか一項に記載の有効量のT細胞調節多量体ポリペプチドを前記個体に投与することを含み、前記投与が、エピトープ特異的T細胞応答及びエピトープ非特異的T細胞応答を誘導し、その場合、エピトープ特異的T細胞応答とエピトープ非特異的T細胞応答との比が少なくとも2:1である、前記方法。

40

【0456】

態様94. 標的T細胞へ免疫調節ポリペプチドを選択的に送達する方法であって、前記方法が、T細胞の混合集団を、態様56～82のいずれか一項に記載のT細胞調節多量体ポリペプチドに接触させることを含み、前記T細胞の混合集団が、前記標的T細胞及び非標的T細胞を含み、前記標的T細胞が、前記T細胞調節多量体ポリペプチド内に存在する前記エピトープに特異的であり、前記接触が、前記T細胞調節多量体ポリペプチド内に存在する前記1つ以上の免疫調節ポリペプチドを、前記標的T細胞に送達する、前記方法。

50

【 0 4 5 7 】

態様 95. 個体から得られる T 細胞の混合集団における、ペプチドエピトープに結合する標的 T 細胞の存在を検出する方法であって、前記方法が、a) 前記 T 細胞の混合集団を、ペプチドエピトープを含む態様 56～82 のいずれか一項に記載の T 細胞調節多量体ポリペプチドに接触させること、及び b) 前記接触に応答した T 細胞の活性化及び／または増殖を検出することを含み、活性化及び／または増殖した T 細胞が、前記標的 T 細胞が存在することを示す、前記方法。

【 0 4 5 8 】

本発明における特定の実施形態を参照して本発明を説明してきたが、本発明の真の趣旨及び範囲を逸脱することなく、様々な変更を行うことが可能であること、また均等物で置き換え可能であることを当業者は理解するであろう。さらに、特定の状態、材料、物質の組成物、プロセス、1つのプロセス工程または複数のプロセス工程について多くの修正を行い、本発明の目的、趣旨及び範囲に適合させることも可能である。全てのこのような修正は、本書に添付する特許請求の範囲の範囲内となることを意図している。

10

20

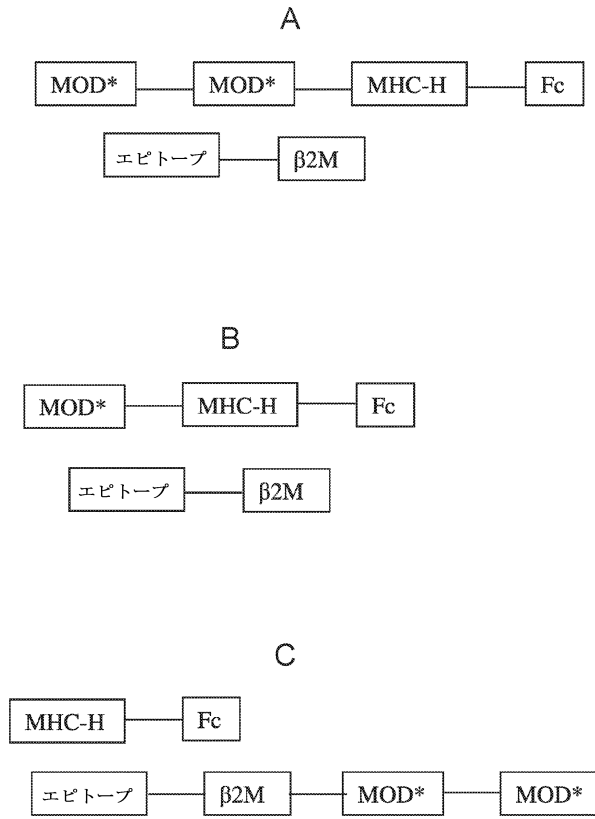
30

40

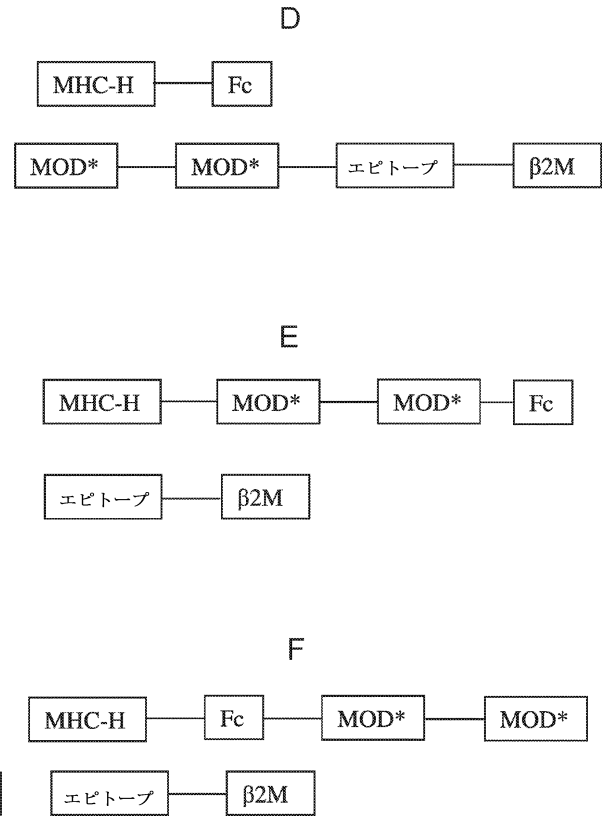
50

【図面】

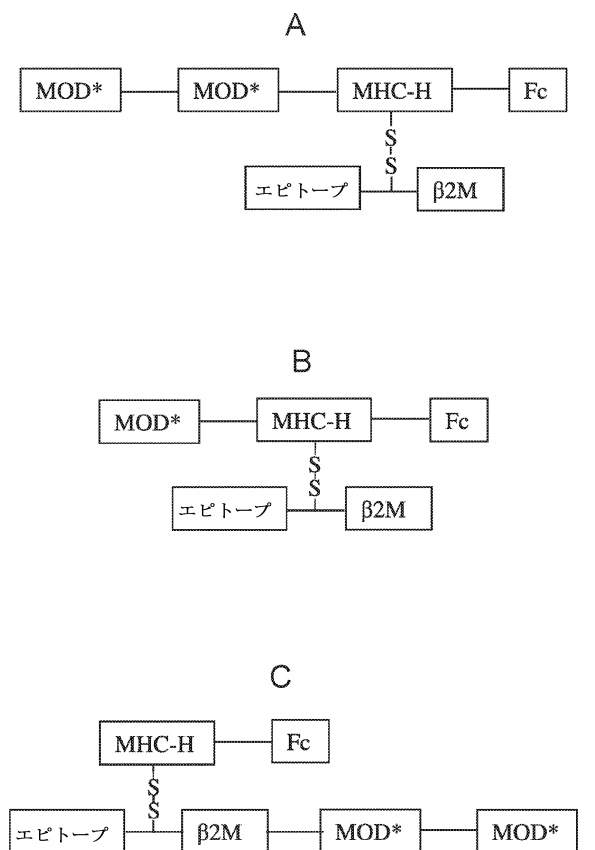
【図 1 - 1】



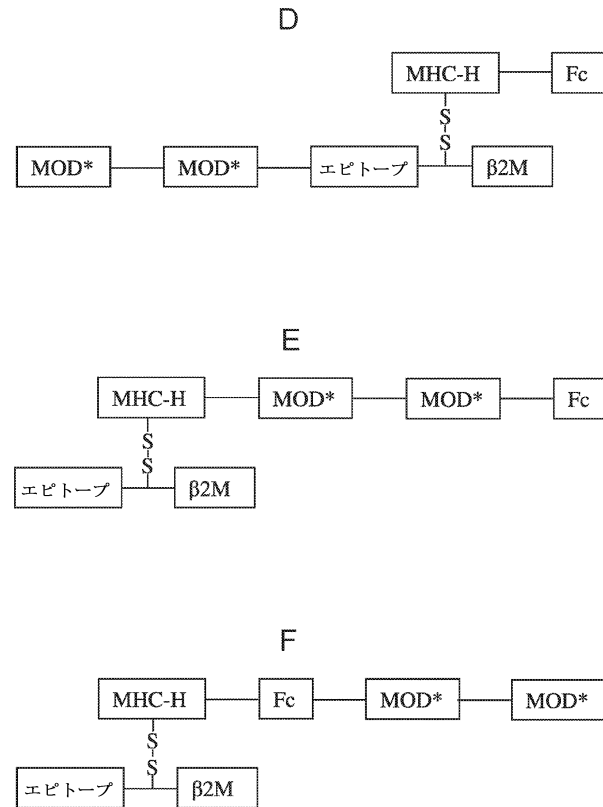
【図 1 - 2】



【図 2 - 1】



【図 2 - 2】



10

20

30

40

50

【図 3 - 1】

A

GenBank 3S7G_A

ヒト (Homo sapiens) IgG1 Fc (SEQ ID NO://)
227 aa

1 dkthtccppc apellggpsv flfppkpkdt lmsrtpevt cvvvdvshd pevknfnyvd
61 gvevhnakt preeqynsty rvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkalpa piektiskak
121 gqprepqvty lpsrsdeltk nqvsltclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds
181 dgsfflyskl tvdkerwqgg nvfscsvmhe alhnhytqks lslspgk

GenBank AAN76044

ヒト IgG2 Fc (アミノ酸 99-325) (SEQ ID NO://)
227 aa

1 stkgpsvfp aplcsrstes taalgcldvk yfpepvtvsw nsgaltsgvh tfpavlqss
61 lyslssvvtv pssnfgtqty tcnvdhkpsn tkvdktkverk ccveccppca ppvagpsvfl
121 fppkpkdtlm isrtpevtcv vvdvshdpe vqfnwyvdgv evhnaktkpr eeqfnstfrv
181 vsvltvvhqd wlngkeykck vsnkglpapi ektisktkgq prepqvtylp psreemtknq
241 vsltclvkqf ypsdiavewe sngqpennyk ttpmldsdg sfflyskltv dksrwqggv
301 fscsvmheal hnhytqksls lspgk

GenBank AAW65947

ヒト IgG3 Fc (アミノ酸 19-246) (SEQ ID NO://)
238 aa

1 hkpsntkvdk rvelktpldg thtccppca pellggpsvf lfppkpkdtl msrtpevtc
61 vvdvshdpe evkfnwyvdg vevhnaktkp reeqynstyrv vsvltvlhqd dwlngkeykc
121 kvsnkaldpap iektiskakg qprepqvtyl ppsrdeltkn qvsltclvkq fypsdiavew
181 esngqpenny kttppvlds gsflyskltv dksrwqggv vfscsvmhea lnhytqksl
241 slspgk

【図 3 - 3】

C

GenBank P01876

ヒト IgA Fc (アミノ酸 120-353) (SEQ ID NO://)
234 aa

1 asptspkvfp lslcstqpdg nvviacilvqg ffpqepslvt wsesggqvta rnfppsqdas
61 gdltytssql tlpqtqclag ksvtchvkhy tnpsqdvtvp cpvpstppt spstpptpsp
121 scchprislh rpaeldlllg seanltctlt glrdasgvtf twtpssgksa vqgpperdlc
181 gcysvssvlp gcaepwnhkg tftctaaype sktpltatls ksgntfrpev hllpppseel
241 alnelvtltc largfspkv lvrlwqgsqe lprekyltwa srqepsqgtt tfavtsilrv
301 aaedwkkqgd fscmvghcal plaftqktid rlagkpthvn vsvvmaevdg toy

GenBank 1F6A_B

ヒト IgE Fc (アミノ酸 6-222) (SEQ ID NO://)
212 aa

1 adpcdsnprg vsaylsrpsf fdifirkspt itclvldlap skgtvnltws rasgkpvnhs
61 trkeekqrng tlvtstslpv gtrdwiegt yqcrvthphl pralmrsttk tsqpraapev
121 yafatpewpg srdrktlacl ignfmpedis vqwlhnevql pdarhsttq rktksggffv
181 fsrlevtrae weqkdeficr avheaaspsq tvqgravsvnp gk

GenBank P01861

ヒト IgG4 Fc (アミノ酸 100-327) (SEQ ID NO://)
228 aa

1 astkgpsvfp lapcsrstse staaclclvk dyfpepvtvs wnsaltsgv htfpavlqss
61 glyslssvvt vpssslgtkt ytcnvdkhps ntkvdkrves kyggpcpscp afeilggpsv
121 flfppkpkdt lmsrtpevt cvvvdvsqgd pevqfnwyvd gvevhnakt preeqfnsty
181 rvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkgips siektiskak gqprepqvty lpsqeemtk
241 nqvsltclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds dgsfflysr ltvdkerwqg
301 nvfscsvmhe alhnhytqks lslsigk

【図 3 - 2】

B

GenBank AAA52770

ヒト IgD Fc (アミノ酸 162-383) (SEQ ID NO://)
222 aa

1 ptkapdvfpi isgrchpkdn spvvlacitl gyhtpsvtvtv wymgtqsgqp rtfpeiqrdr
61 symtssqls tlpqqrqge ykcvvqhtas kskkeifrw pspkaqassv ptaqpqaegs
121 lakattapat trntgrggee kkekekeqee eeretktpec pshtqplgyv lltpavqdlw
181 lrdkatftcf vvgdskdah ltwevagkvp tggveeglle rnsngsqsqh srltprslw
241 nagstvtctl nhpslppql malrepaaqa pvklslnlia ssdppeaasv llcevsqfisp
301 pnillmwled qrevntsgfa parppppqrs ttfwawsvlr vpappspqa tytcvvshd
361 srltlasrs levsyvtldhg pmk

GenBank 0308221A

ヒト IgM Fc (SEQ ID NO://)
276 aa

1 vtstltikzs dwlgesmftc rvdhrgltfq gnassmcpvd qdtairvfai ppsfasiflt
61 kstkltclvt dltybsvti swtreengav kthtnisesh pnatfsavge asicedbdws
121 gerftctvth tdlpsplkqt isrpkgvalh rpbvylppa rzzlnlresa titclvtgfs
181 padvfvevmq rgeplspqky vtsapmpepq apgryfahsi ltvseeewnt ggytycvvah
241 ealpnrvter tvdkstgkpt lynsvlmsd tagtcy

【図 3 - 4】

D

野生型ヒトIgG1 Fc配列 (SEQ ID NO://)
DKHTCCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVSVLTVLHODWLNKEYKKKSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPOVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

E

ヒトIgG1 Fc変異体: L234F/L235E/P331S [三重変異体-TM] (SEQ ID NO://)
DKHTCCPPCPAPEEGGGSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVSVLTVLHODWLNKEYKKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPOVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

F

ヒトIgG1 Fc変異体: N287A (SEQ ID NO://)
DKHTCCPPCPAPEAGGGSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVSVLTVLHODWLNKEYKKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPOVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

G

ヒトIgG1 Fc変異体: L234A/L235A ("LALA") (SEQ ID NO://)
DKHTCCPPCPAPEAAGGSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVSVLTVLHODWLNKEYKKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPOVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

残基は、EUインデックス (Kabat番号付け) に従って付番

10

20

30

40

50

【図 4】

[illegible]

【図 5 - 1】

A

ヒト HLA-A

5A.1 HLA-A*01:01:01:01 NCBI (国立バイオテクノロジー情報センター)
登録番号 NP_001229687.1

```
(SEQ ID NO:7)
1  MAVMAPTL LLSGALALT QTWAGSHSMR YFTTSVSRPG RGEPRIAVG YVDDTQFVRF
61 DSDAASQKME PRAPWIEQEG PEYWDQETRN MKAHSQIDRA NLGLTRGYNN QSEDSGSHTIQ
121 IMYGCDCVDP GLRLRYRGYD AYDGKDYIAL NEDLTHRSWA DMAAQITKRK WEAVHAEITR
181 RVLYEGRGDP GRFLRYLENG ETLQRTDPKK TMTHTHPISD HEATLRCALR WGPYPAEITLT
241 WQRDGEBDQT DTELVETPA GDGTQKWAA VVVPSEGEQR YTCVHQHEGL PKPLTLRLNEL
301 SSQPTIPIVG IIAGLVLLGA VITGAVVAAB MWRKSSDRK GGSYTQAASS DSAQGSQDVSL
361 TACKTY
```

5A.2 HLA-A*1101 NCBI登録番号 P13746.1 (SEQ ID NO:1)

1	MSVAPMPTLL	LLLSGALPQ	QTWAGSHMR	YFYTSVSRPG	RGEPRFVAVG	YVDDTQVFRV
6	DADAASQRM	PRAPWIEQG	PVWQDSTRN	VKAGSQDTRV	DGLTGRGYNV	QSDGSHGTHI
121	IMYGCDVCPD	GRLRGRYRQD	AYDGKDVIAT	NEDLRSWTAA	DMAAQITKRR	WEAAHAAEQC
181	RAYLEGRQVE	WLRRYLKNGA	ELDTGTRDPK	THMTHHPSID	HEATLRCAWL	GPYPAEITLT
241	WORDGDCVTE	DELTVETPRA	QDQTFQKWA	VVTHSGEQRQ	YTCBHQHEGL	PKPLTLRWEL
301	SSQPTPIPIV	IIAGLVLLGA	PVTGAVVAIV	MMRRKSSDRK	GGSYTQAASS	QSDGSDSVTL
361	TACKY					

5A.3 HLA-A*2402 NCBI登録番号 P05534.2 (SEQ ID NO:1)

1	MAV DAASRT W	LLS GALE T	Q TWA G SHSMR	YFSTSUSVRE	GEPRPIAYV	YVDDTOVFVR
61	MMDSAPSRQM	PWAPIWEQ	PWEYDTEGK	VKAHSDTRG	NLRALRIAGN	QSEAGSHTLV
121	MMFGCDVGS	GRLRGYHQ	AYDGKDIAL	KEDLRKSTAA	DMAAQITKRK	WEAAHVAEQQ
181	RAYLGEGDQ	GLRRYLEQ	EDLTQDTPPK	THMTHPISD	HAETLRCALW	GPFPASITLT
241	WQRBGEQDQ	DELTVETPA	GTGTFQKAA	VVMSGEEGR	YTCBHQHGL	KKYLTLRWP
301	SSQPTPIVG	IIAGVLVLLG	VITGAASVA	MWRNNSDRK	GGSYQAASS	QSAQSDSVSL
361	TACKV					

5A.4 HLA-A*3303 NCBI 登録番号 AAA79865.1 (SEQ ID NO:1)

1	MAMVAPRTLL	LLLLGALALT	QTWAGSHSMR	YFTTSVSRPG	RGEPRFIAVG	YVDDTQFVRP
61	DSMAAGQVMS	PRAPNIQVDE	PEYWDKRIAL	VKAHSGIDRV	DLGTILRGYN	QSGAGSHTGI
121	DDYAGSCDGS	GRFLRGYQD	AYGKDNYAL	NELHRSDDR	LMAETITQRK	WEAARVAEQL
181	RAYLEGTQVE	WLRRYLENGK	ETLQRTDPPK	THMTHHVS	HEATLRCWAL	SFPYAEITLT
241	WORDGEDDTQ	DTBLVETRPA	GDGTQPKWAS	VVVPSSGQQR	YTCVQHEGL	PKPLTLRWEP
301	SSQPTPIQIV	IIAGLVLFVGA	VFAGAVVAAV	RWRKRSSDRK	GGSYSQAASS	DSAQSGDMSL
361	TACKV					

【図 5 - 2】

B

ヒト HLA-B*07:02:01 HLA-B GenBank 登録番号 NP_005505.2
(SEQ ID NO://)

```

1  mlvmaprtvl lllsaalalt etwagshsmr yfytsvsrpg rgeprfisvg yvddtqfvr
61 dsdaasppre prapwieeg peywdntiy ykaqaqtde sirnlrqqyn qseagshltq
121 smygcdvgpge grllrghdgy akydrkdial nedlrstaa dtaaqitgry weaareaeqr
181 rmaylegceve wlrryengk clkgadpck tlththnpis heatlrcwal gfpayitil
241 wqrddgedgtq dteivetrpa gdrtfqkwa vvvpsgeqr ythcvqhegl pkpiltlrwp
301 ssqsqvtpiv ivaglavlav vvigavaav mcrkrsggk ggsysgaacs dsaggsdvl
361 ta

```

【図 6-1】

```
HLA-A      GSHSMRYFTTSVSRPGRGEPFRF IAVGVYDDTQVFRFSDAASQRMPEAPWPIEGQPEYH
HLA-B      GSHSMRYFTTSVSRPGRGEPFRF ISVGVYDDTQVFRFSDAASPRPEEPAPWPIEGQPEYH
HLA-C      GSHSMRYFTTASVSRPGRGEPFRF ISVGVYDDTQVFRFSDAASPRGEPAPWPIEGQPEYH
HLA-A*0201 GSHSMRYFTTSVSRPGRGEPFRF IAVGVYDDTQVFRFSDAASQRMPEAPWPIEGQPEYH
マウス H2K GPHSLRYVTAVTSRPGRGEPFRF IAVGVYDDTQVFRFSDADNPRPEAPWPIEGQPEYH
HLA-A (ハリアント型2C) GSHSMRYFTTSVSRPGRGEPFRF IAVGVYDDTQVFRFSDAASQRMPEAPWPIEGQPEYH
HLA-A (ハリアント型2C) GSHSMRYFTTSVSRPGRGEPFRF IAVGVYDDTQVFRFSDAASQRMPEAPWPIEGQPEYH
HLA-A (ハリアント型2CP) GSHSMRYFTTSVSRPGRGEPFRF IAVGVYDDTQVFRFSDAASQRMPEAPWPIEGQPEYH
HLA-A*1101 GSHSMRYFTTSVSRPGRGEPFRF IAVGVYDDTQVFRFSDAASQRMPEAPWPIEGQPEYH
HLA-A*2402 GSHSMRYFTTSVSRPGRGEPFRF IAVGVYDDTQVFRFSDAASQRMPEAPWPIEGQPEYH
HLA-A*3303 GSHSMRYFTTSVSRPGRGEPFRF IAVGVYDDTQVFRFSDAASQRMPEAPWPIEGQPEYH
*****.*****.*****.*****.*****.*****.*****.*****.*****.
```

C

ヒト HLA-C
HLA-C GenBank登録番号 NP_001229971.1,
w (SEQ ID NO://)

```

1 mrvmaprall lllsgqlalt etwacshmr yfdtavsrrp rgeprfisvg yvddtqfvr
61 ddaasagpve prapwvqegs peydwdrctn ykrqaqadrn sirnlrqtyn qsgdsqstlq
121 mrygcdlgpd grllrgdydg aygdgkyltl nedlrstaa daallgqn leaaraaeql
181 rmylectcve wlrrylengk etlrgaepk thrlthplsd heatlrcwal gfpaeitil
241 wqrdgedgtg dtelvetrpa gdgtfqkwa vvvpsgqgr ytchmqhegl qepltlswep
301 ssqptipimg ivaglavlvv lavlgavta mmcrckssgg kggscsqaac snsaggsdes
361 lctpk

```

84

HLA-A	DQETRMNKAHSGTDRLNLTGRLTGR	INQSGDSGSHITQIMYGCDVGDGDFRLGRYQCDAYDG
HLA-A (バリアント型 2)	DRNTQIYKQAQADRESLNLRG	INQSGDSGSHITQIMYGCDVGDGDFRLGRGHQYAYDG
HLA-B	DRETQNYKRAQADRVSLNLRG	INQSGDSGSHITQIMYGCDVGDGDFRLGRYQCDAYDG
HLA-A*0201	DQETRNVKAHSGTHRVDLTGLRG	INQSGDSGSHITQIMYGCDVGDGDFRLGRYHQYAYDG
マウス H2K	EEIQTKRAKSDQWFRVSLTKA	INQSGSGSHITQRMFGCDVGDWRLLRGLQFYAYDG
HLA-A (バリアント型 2)	DGETRNVKAHSGTHRVDLTGLRG	INQSGDSGSHITQIMYGCDVGDGDFRLGRYHQYAYDG
HLA-A (バリアント型 2C)	DGETRNVKAHSGTHRVDLTGLRG	INQSGDSGSHITQIMYGCDVGDGDFRLGRYHQYAYDG
HLA-A (バリアント型 2CP)	DGETRNVKAHSGTHRVDLTGLRG	INQSGDSGSHITQIMYGCDVGDGDFRLGRYHQYAYDG
HLA-A*1101	DQETRMVKAQSSTDRLVLTGLRG	INQSGDSGSHITQIMYGCDVGDGDFRLGRYRQAYDG
HLA-A*2402	DEETKRVKAHSGTDRENLRALY	INQSGDSGSHITQIMYGCDVGDGDFRLGRYHQYAYDG
HLA-A*3303	DQETRMVKAHSGTHRVDLTGLRG	INQSGDSGSHITQIMYGCDVGDGDFRLGRYQCDAYDG
	: : * * * * *	***** : * * * * * : * * * * *
	aac1	aac2

139

HLA-A	KDYIALNEDLRSLWAADMAAQITQTKRWEAAHAAEQRRVYLGEGRVCDGLRRYLENGKETQL
HLA-B	KDYIALNEDLRSLWAADTAQAQITQTKRWEAAAREAEQRRAYLGEGRVWMLRRYLENGKDKLE
HLA-C	KDYIALNEDLRSLWAADTAQAQITQTKLEAARAAREQLRAYLGEGRVWMLRRYLENGKETQL
HLA-A*0201	KDYIALTKEDLRSLWAADMAAQITQTKHWEAAHVAEQRLAYLGEGRVWMLRRYLENGKETQL
マウス H2K	RDYIALNEDLTKTWAADTAALIITRKWEQAQDAREYRAYLGEGRVWMLRRYLENGLETLL
HLA-A (バリエーション型2)	KDYIALTKEDLRSLWAADMAAQITQTKHWEAAHVAEQRLAYLGEGRVWMLRRYLENGKETQL
HLA-A (バリエーション型2C)	KDYIALTKEDLRSLWAADMAAQITQTKHWEAAHVAEQRLAYLGEGRVWMLRRYLENGKETQL
HLA-A (バリエーション型2CP)	KDYIALTKEDLRSLWAADMAAQITQTKHWEAAHVAEQRLAYLGEGRVWMLRRYLENGKETQL
HLA-A*1101	KDYIALNEDLRSLWAADMAAQITQTKRWEAAHAAEQRRVYLGEGRVWMLRRYLENGKETQL
HLA-A*2402	KDYIALTKEDLRSLWAADMAAQITQTKRWEAAHVAEQRRAYLGEGRVCDGLRRYLENGKETQL
HLA-A*3303	KDYIALNEDLRSLWAADMAAQITQTKRWEAAHVAEQRRAYLGEGRVWMLRRYLENGKETQL
	*.....*.....*.....*.....*.....*.....*.....*.....*

【図 6-2】

236

```
HLA-A      RTDPKPTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEIITLTWRGDGEDQTQDELVETRPAGDGTE
HLA-B      RADPPKPTHTVHHPISDHEATLRCWALGFYPAEIITLTWRGDGEDQTQDELVETRPGDRTRT
HLA-C      RAEPKPTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEIITLTWRGDGEDQTQDELVETRPGDGTE
HLA-A*0201 RDTAPKTHMTTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWRGDGEDQTQDELVETRPAEDGTE
マウス H2K RIDSPKAHVYTHPRSPVDILRCWALGFYPADIITLTWLNGEDLTQDELVETRPAEDGTE
HLA-A(バリエ型2) RDTAPKTHMTTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWRGDGEDQTQDELVETRPGDGTE
HLA-A(バリエ型2C) RDTAPKTHMTTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWRGDGEDQTQDELVETRPGDGTE
HLA-A(バリエ型2CP) RDTAPKTHMTTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWRGDGEDQTQDELVETRPGDGTE
HLA-A*1101  RIDPDKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEIITLTWRGDGEDQTQDELVETRPAEDGTE
HLA-A*2402  RIDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEIITLTWRGDGEDQTQDELVETRPAEDGTE
HLA-A*3303  RIDPPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWRGDGEDQTQDELVETRPAEDGTE
*: *.**.* * : .*****.****.***** .* ** ***** ** **
aac5    aac6
```

【図 7 A - 1】

[illegible]

【図 7 A - 2】

[illegible]

【図 7 B】

GS5HMYRjX1T5VSSRPQGEPPFIAXVGYDDTQFVRFDSDAaSX2MEPRFAVIBQEGPEYNDX
 3K41X5X6V7KaX8QX9X10X11X12L13X14X15L16X17Y1NQSEX18GSHTX19X20
 N21GCDVGX7K2X32RFLRGVjX24QX25AYGDGYK1X26EDBLSRWTAADaX27YX28T
 X29RWE3X30X31X32EAFQX33R3X34Y1X35X36CVX37X38LRRYLNGELTKQRTIX39PK
 TMTHTH4X40X41SDHEATLRCAW1X42FPCW12WQRDGEDQTDQVETLVRPaAGDGTfQKW
 AX43VVVPvSX44EQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEX45

X1 は F, Y, S, または T; X2 は KまたはR; X3 は Q, G, E, または R; X4 は N
 または F; X5 は RまたはX; X6 は NまたはX; X7 は MまたはV; X8 は MまたはQ; X9
 は TまたはX; X10 は DまたはH; X11 は A, V, または E; X12 は NまたはD; X13
 は CまたはR; X14 は TまたはI; X15 は A, またはA; X16 は RまたはL; X17 は G
 またはI; X18 は AまたはD; X19 は I, L, またはV; X20 は I, R, またはM; X21 は
 FまたはY; X22 は SまたはP; X23 は MまたはG; X24 は R, H, またはQ; X25 は
 DまたはT; X26 は NまたはH; X27 は TまたはI; X28 は CまたはQ; X29 は Rまたは
 H; X30 は AまたはT; X31 は AまたはV; X32 は HまたはR; X33 は R, L, Q,
 またはW; X34 は VまたはA; X35 は DまたはE; X36 は RまたはT; X37 は Dまたは
 E; X38 は WまたはH; X39 は FまたはA; X40 は FまたはA; X41 は VまたはI;
 X42 は SまたはG; X43 は AまたはS; X44 は QまたはE; 及び X45 は PまたはIである。

【図 9 A - 2】

```

236
C*0102   RAESHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQTQDTEIETRAASDGT
C*0303   RAESHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQTQDTEIETRAASDGT
C*0304   RAESHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQTQDTEIETRAASDGT
C*0401   RAESHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQTQDTEIETRAASDGT
C*0602   RAESHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQTQDTEIETRAASDGT
C*0701   RAEPFKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQTQDTEIETRAASDGT
C*0702   RAEPFKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQTQDTEIETRAASDGT
C*0801   RAESHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQTQDTEIETRAASDGT
C*1502   RAESHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQTQDTEIETRAASDGT
** *****
aac5 aac6
C*0102   QRKAAAVVVPSEGEQRKYTCHVQHEGLPEPLTLRWEP 276
C*0303   QRKAAAVVVPSEGEQRKYTCHVQHEGLPEPLTLRWEP 276
C*0304   QRKAAAVVVPSEGEQRKYTCHVQHEGLPEPLTLRWEP 276
C*0401   QRKAAAVVVPSEGEQRKYTCHVQHEGLPEPLTLRWEP 276
C*0602   QRKAAAVVVPSEGEQRKYTCHVQHEGLPEPLTLRWEP 276
C*0701   QRKAAAVVVPSEGEQRKYTCHVQHEGLPEPLTLRWEP 276
C*0702   QRKAAAVVVPSEGEQRKYTCHVQHEGLPEPLTLRWEP 276
C*0801   QRKAAAVVVPSEGEQRKYTCHVQHEGLPEPLTLRWEP 276
C*1502   QRKAAAVVVPSEGEQRKYTCHVQHEGLPEPLTLRWEP 276
*****

```

【圖 9 B】

```

241 X1SHSX2YFX3YKX4SPGEPX5IX6VGUYDDTPQVX7FDSDAASPGEPRX8PWVEQEG
PEYWDRETQYX3YKQQAX10DRVX11LRX12LRQYNGSEX13X14SHX1516X1718X19
241 X19PGDGRLLRX20X21X22A23YQVJYALNEBDRSWAEDTAQIQRXX23FAARX24A
EQY25RAYLEX26CVMLVYX27NGKX28TLQRAEX29PKTHVTHHPX30SDHEATLRCA
241 LGFYPAEITLTWX3132DGEDDOTELVETRFAGDGTFOKWAUVX32VPSGX33EORYTCHX34
241 QHEGLX35EPLLTX36WX37P

```

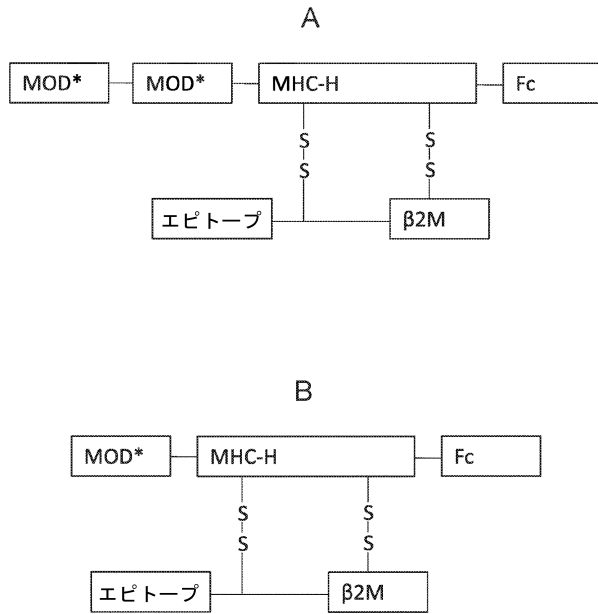
【図 10】

HLA-E			
GSLSLKYFHT	SVSRPRGRGEP	RFISVGYVDD	TQFVRFNDNA ASRPMRPAP
WMEGEGSEYW	DRETRSARDT	AQIFRVNLRT	LRGYNQSGX1A GSHTLQWMHG
CELGPDPX2FL	RGVEGYFAYDG	KDYLNLNEDL	RSWTAADTAQ X1SQRKKEA
SEAEHCX13AXL	EDTCEVWLHK	LYLEKGKTELL	HHPFDISHEAT
LRCLWALGFY	AEIITLTWQD	GEQDTQDTLE	VETRPAGDGT FQKWAAVVVP
SGEEQRYTCH	VQHEGLGX6EPV	TLRWKPA5QP	TIPI
X1= KまたはE; X2= RまたはG; X3= RまたはG; X4= AまたはV; X5= QまたはP; 及び X6= PまたはS			
以下を含む: HLA-E*0101 (HLA-E*01:01:01:01); HLA-E*01:03 (HLA-E*01:03:01:01); HLA-E*01:04; HLA-E*01:05; HLA-E*01:06; HLA-E*01:07; HLA-E*01:09; HLA-E*01:10			
HLA-F			
GSLSLFX1FST	AVSRPRGRGEP	RYIAVEYVDD	TQFLRFDSDA AIPRMEPREX2
WMVEGEGFYW	EWITGYAKAN	AQTRDRVALN	LLRBYNQSEA GSHTLQGMNG
CDMGPDGRL	RGYHQHAYDG	KDYISLNEDL	RSWTAADTAQ Q1TRFYEEA
YEAEEFRTYL	EGCECLLEHR	YLANGKETLL	RADDPKVAHA HHPDISHEAT
LRCLWALGFY	AEIITLTWQD	GEEQTQDTLE	VETRPAGDGT FQKWAAVVVP
X3GEEQRYTCH	VQHEGLPLCL	ILRWGX5X4P	TIPI
X1= YまたはF; X2= PまたはQ; X3= SまたはP; 及び X4= PまたはL			
以下を含む: HLA-F*0101 (HLA-F*01:01:01:01); HLA-F*01:02; HLA-F*01:03 (HLA-F*01:03:01:01); HLA-F*01:04; HLA-F*01:05; HLA-F*01:06;			
HLA-G			
GSLSMRYFSA	AVETIRPRGRGE	RFIAMGX2VDD	X3QFX4RFDSDS ACPRMEPRAP
WVEX5GEPYXW	AEENTRTKAH	AQTRDMRLQT	X6RYNQNSEA SSHTLQWMIX7
CDLX28X9GRLX10	RGVEGYAYDG	KDYALNEDL	RSWTAADTAQ X1SQRKKEA
WVEXQFRAH11L	EGCEVWELX12	X13LENGKEGX14LQ	RADPX15SKTHVT HHPFDYEAT
LRCLWALGFY	AEIITLTWQX16D	GEDQTQDVEL	VETRPAGDGT FQKWAAVVVP
SGEEQRYX17CH	VQHEGLPEL	MLRWX18QSSLL	TIPI
X1= SまたはF; X2= YまたはH; X3= T, SまたはM; X4= LまたはV; X5= QまたはR; X6= PまたはI; X7= GまたはD; X8= GまたはV; X9= SまたはC; X10= LまたはI; X11= YまたはH; H; X12= HまたはR; X13= YまたはH; X14= MまたはT; X15= PまたはA; X16= R, W, 及びX; X17= LまたはH; X18= KまたはE;			
以下を含む: HLA-G*0101 (HLA-G*01:01:01:01); HLA-G*01:02; HLA-G*01:03 (HLA-G*01:03:01:01); HLA-G*01:04 (HLA-G*01:04:01:01); HLA-G*01:06; HLA-G*01:07; HLA-G*01:09; HLA-G*01:09; HLA-G*01:10; HLA-G*01:10; HLA-G*01:11; HLA-G*01:12; HLA-G*01:14; HLA-G*01:15; HLA-G*01:16; HLA-G*01:17; HLA-G*01:18; HLA-G*01:19; HLA-G*01:20; HLA-G*01:22			

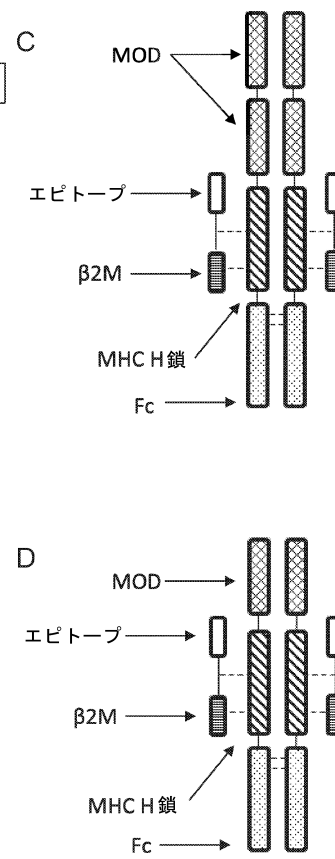
【図 11】

[illegible]

【図 1 2 - 1】



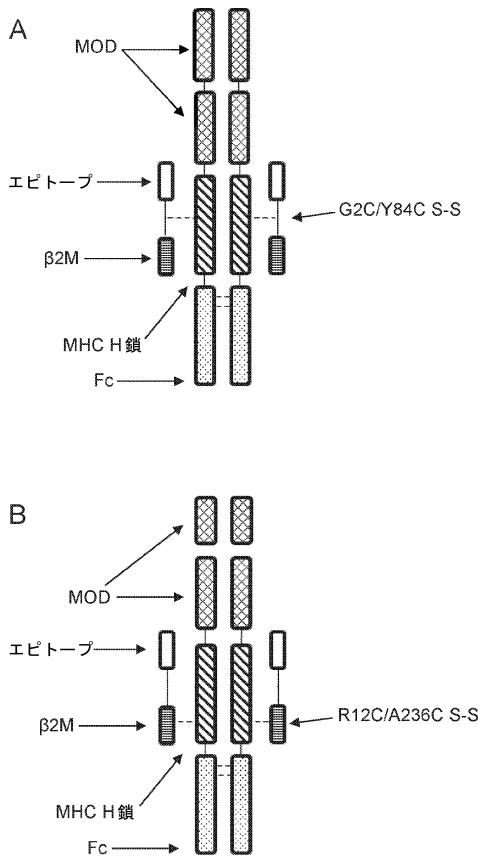
【図 1 2 - 2】



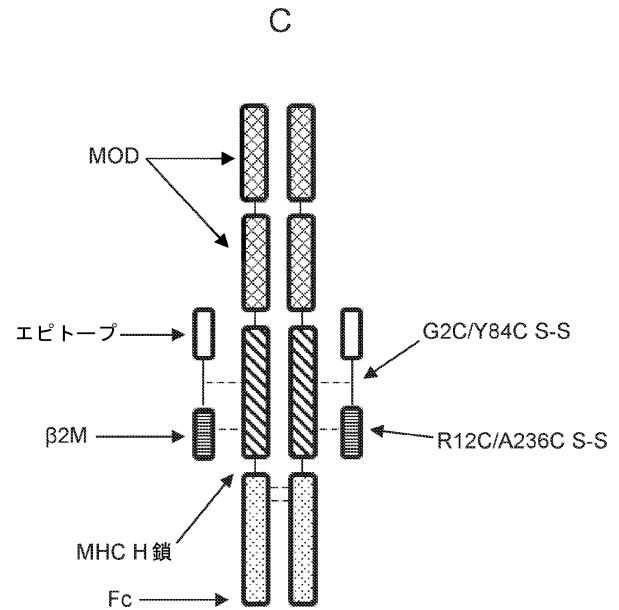
10

20

【図 1 3 - 1】



【図 1 3 - 2】

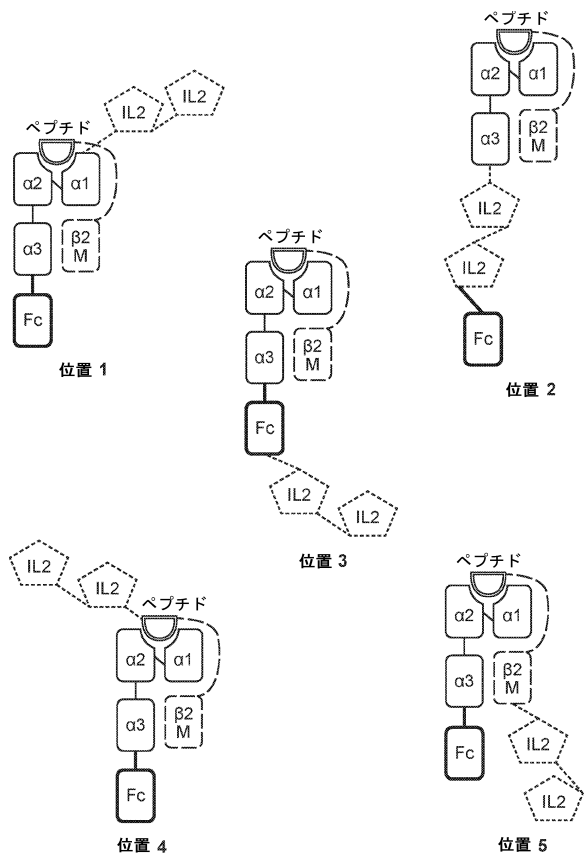


30

40

50

【図 1 4】



【配列表】

0007481342000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類

C 0 7 K 14/74 (2006.01)
C 0 7 K 16/00 (2006.01)
C 1 2 N 15/12 (2006.01)
C 1 2 N 15/13 (2006.01)
C 1 2 Q 1/04 (2006.01)
C 1 2 P 21/02 (2006.01)
A 6 1 K 38/02 (2006.01)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)
A 6 1 P 37/02 (2006.01)
A 6 1 P 43/00 (2006.01)
C 1 2 N 15/63 (2006.01)
C 1 2 N 5/0783(2010.01)

F I

C 0 7 K 14/74
C 0 7 K 16/00
C 1 2 N 15/12
C 1 2 N 15/13
C 1 2 Q 1/04
C 1 2 P 21/02 C
A 6 1 K 38/02
A 6 1 K 39/395 D
A 6 1 K 39/395 N
A 6 1 K 39/395 V
A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 37/02
A 6 1 P 43/00 1 2 1
C 1 2 N 15/63 Z
C 1 2 N 5/0783

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 セイデル ザ サード ロナルド ディー.

アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ エリー ストリート 2 1

(72)発明者 チャパーロ ロドルフォ ジェイ.

アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ エリー ストリート 2 1

審査官 藤山 純

(56)参考文献 特表 2 0 1 7 - 5 1 9 4 9 1 (J P, A)

特表 2 0 1 7 - 5 3 0 1 0 2 (J P, A)

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B名)

C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0

C 0 7 K 1 / 0 0 - 1 9 / 0 0

C 1 2 Q 1 / 0 4

A 6 1 K 3 8 / 0 2

A 6 1 K 3 9 / 3 9 5

A 6 1 P 3 5 / 0 0

A 6 1 P 3 7 / 0 2

A 6 1 P 4 3 / 0 0

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)

G e n B a n k / E M B L / D D B J / G e n e S e q

U n i P r o t / G e n e S e q

P u b M e d