

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2022-549344

(P2022-549344A)

(43)公表日 令和4年11月24日(2022.11.24)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 15/24 (2006.01)	C 1 2 N 15/24	4 B 0 6 4
C 0 7 K 14/54 (2006.01)	C 0 7 K 14/54	Z N A 4 B 0 6 5
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	4 C 0 7 6
C 1 2 N 15/62 (2006.01)	C 1 2 N 15/62	Z 4 C 0 8 4
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63	Z 4 C 0 8 5

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全58頁) 最終頁に続く

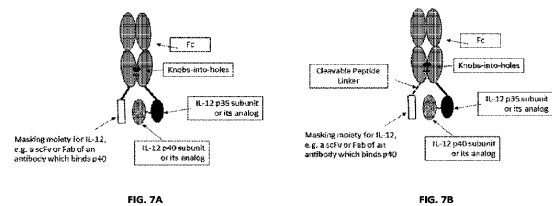
(21)出願番号	特願2022-519172(P2022-519172)	(71)出願人	520347328 アスクジーン・ファーマ・インコーポレイテッド AskGenePharma, Inc. アメリカ合衆国93012カリフォルニア州カマリロ、バードウーゴ・ウェイ5217番、スウィート・エイ
(86)(22)出願日	令和2年9月28日(2020.9.28)	(74)代理人	100145403 弁理士 山尾 憲人
(85)翻訳文提出日	令和4年5月24日(2022.5.24)	(74)代理人	100156144 弁理士 落合 康
(86)国際出願番号	PCT/US2020/053155	(72)発明者	ルウ, ユエフォン アメリカ合衆国93012カリフォルニア州カマリロ、バードウーゴ・ウェイ5217、スウィート・エイ、アスクジー
(87)国際公開番号	WO2021/062406		
(87)国際公開日	令和3年4月1日(2021.4.1)		
(31)優先権主張番号	62/907,615		
(32)優先日	令和1年9月28日(2019.9.28)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,		

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 サイトカインプロドラッグおよびデュアルプロドラッグ

(57)【要約】

本出願は、IL-12の新規プロドラッグに関する。さらに本出願に含まれるのは、該新規プロドラッグを製造および使用方法である。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

IL - 12 サイトカイン部分、マスキング部分(M)、二量体担体部分(C)および少なくとも1個のペプチドリンカーを含むヘテロ二量体プロドラッグであって、

- i) IL - 12 サイトカイン部分が IL - 12 p 40 サブユニット(p 40)および IL - 12 p 35 サブユニット(p 35)を含み；
- ii) マスキング部分が IL - 12 サイトカイン部分に結合し、IL - 12 サイトカイン部分の生物学的活性を阻害し；そして
- iii) マスキング部分が、所望によりペプチドリンカーを介して二量体担体部分の一方のポリペプチド鎖に融合し、IL - 12 サイトカイン部分が所望によりペプチドリンカーを介して担体部分の他方のポリペプチド鎖に融合するか、または

10

p 40 サブユニットが、所望によりペプチドリンカーを介して担体部分の一方のポリペプチド鎖に融合し、p 35 サブユニットが所望によりペプチドリンカーを介して担体部分の他方のポリペプチド鎖に融合しおよびマスキング部分が所望によりペプチドリンカーを介して p 40 サブユニットまたは p 35 サブユニットの C 末端に融合するものである、プロドラッグ。

【請求項 2】

該少なくとも1個のペプチドリンカーが開裂可能ペプチドリンカーである、請求項 1 のプロドラッグ。

【請求項 3】

20

該少なくとも1個のペプチドリンカーが非開裂可能ペプチドリンカーである、請求項 1 または 2 のプロドラッグ。

【請求項 4】

該マスキング部分が所望により開裂可能ペプチドリンカーを介して担体部分または IL - 12 p 40 もしくは p 35 サブユニットに融合する第一マスキング部分(M M 1)である、請求項 1 ~ 3 の何れかのプロドラッグ。

【請求項 5】

該第一マスキング部分(M M 1)が IL - 12 p 40 サブユニットに結合し、IL - 12 の IL - 12 受容体 1 (IL - 12 R 1)への結合を低減または阻害する、請求項 4 のプロドラッグ。

30

【請求項 6】

該第一マスキング部分 i が IL - 12 受容体 1 の細胞外ドメイン(IL - 12 R 1 E C D)またはそのフラグメント、p 40 結合ペプチドおよび p 40 に結合する抗体の一本鎖 F v (s c F v)または F a b ドメインから選択される、請求項 4 または 5 のプロドラッグ。

【請求項 7】

該第一マスキング部分が p 40 に結合する抗体の s c F v または F a b ドメインである、請求項 4 ~ 6 の何れかのプロドラッグ。

【請求項 8】

該第一マスキング部分が p 40 に結合する s c F v を含み、ここで、s c F v が配列番号 7 ~ 11 および 12 の一つに少なくとも 99 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 7 のプロドラッグ。

40

【請求項 9】

該プロドラッグが、さらに、所望により開裂可能ペプチドリンカーを介して担体部分または IL - 12 p 40 もしくは p 35 サブユニットに融合した、第二マスキング部分(M M 2)を含む、請求項 1 ~ 8 の何れかのプロドラッグ。

【請求項 10】

該第二マスキング部分(M M 2)が p 35 および / または p 40 に結合し、IL - 12 の IL - 12 R 2 への結合を阻害する、請求項 9 のプロドラッグ。

【請求項 11】

50

該第二マスクング部分が、IL-12受容体 α 2の細胞外ドメイン(IL-12R α 2ECD)またはそのフラグメント、p35またはペプチドライブラリーのスクリーニングにより発見されたp40結合ペプチドおよびp35またはp40に結合し、IL-12のIL-12R α 2への結合を低減または阻害する抗体の一本鎖FvまたはFabドメインから選択される、請求項9または10のプロドラッグ。

【請求項12】

該第二マスクング部分がIL-12R α 2ECDまたはそのフラグメントを含み、ここで、IL-12R α 2ECDまたはそのフラグメントが配列番号17、18または19に少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む、請求項9～11の何れかのプロドラッグ。

10

【請求項13】

該第二マスクング部分がp40に結合する抗体の一本鎖Fv(scFv)またはFabドメインを含み、IL-12のIL-12R α 2への結合を低減または阻害し；ここで、Fabの該scFvが、IL-12抗体PMA204、抗体1、抗体50、抗体68、抗体80または抗体136に由来するのと同じ軽鎖CDRおよび重鎖CDRを含む、請求項9～11の何れかのプロドラッグ。

【請求項14】

該担体部分がFcドメインおよび抗体から選択される、請求項1～13の何れかのプロドラッグ。

【請求項15】

該担体部分が第一ポリペプチド鎖および第二ポリペプチド鎖を含むヘテロ二量体Fcドメインを含み、ここで、プロドラッグのポリペプチド鎖が、次のペアの一つから選択される分子式(N末端からC末端方向で)を含む、請求項14のプロドラッグ：

20

a. F1-PL1-A-PL2-BおよびF2-CL1-MM2-CL2-MM1；および

b. F1-PL1-B-PL2-AおよびF2-CL1-MM1-CL2-MM2；

ここで、F1およびF2がFcドメインの第一および第二ポリペプチド鎖であり；PL1およびPL2がペプチドリンカーであり；CL1およびCL2が開裂可能ペプチドリンカーであり；AがIL-12 p35サブユニットであり；そしてBがIL-12 p40サブユニットである。

30

【請求項16】

該担体部分が第一ポリペプチド鎖および第二ポリペプチド鎖を含むヘテロ二量体Fcドメインであり、ここで、プロドラッグのポリペプチド鎖が次のペアから選択される分子式(N末端からC末端方向で)を含む、請求項14のプロドラッグ：

a. F1-PL1-A-PL2-BおよびF2-PL3-MM2-CL-MM1；および

b. F1-PL1-B-PL2-AおよびF2-PL3-MM1-CL-MM2；

ここで、F1およびF2がFcドメインの第一および第二ポリペプチド鎖であり；PL1、PL2およびPL3がペプチドリンカーであり；CLが開裂可能ペプチドリンカーであり；AがIL-12 p35サブユニットであり；そしてBがIL-12 p40サブユニットである。

40

【請求項17】

該担体部分が第一ポリペプチド鎖および第二ポリペプチド鎖を含むヘテロ二量体Fcドメインを含み、ここで、プロドラッグのポリペプチド鎖が、次のペアの一つから選択される分子式(N末端からC末端方向で)を含む、請求項14のプロドラッグ：

a. F1-PL1-A-CL1-MM2およびF2-PL2-B-CL2-MM1；および

b. F1-PL1-A-CL1-MM1およびF2-PL2-B-CL2-MM2；

ここで、F1およびF2がFcドメインの第一および第二ポリペプチド鎖であり；PL1およびPL2がペプチドリンカーであり；CL1およびCL2が開裂可能ペプチドリンカーであり；AがIL-12 p35サブユニットであり；そしてBがIL-12 p40

50

サブユニットである。

【請求項 18】

該担体部分が第一ポリペプチド鎖および第二ポリペプチド鎖を含むヘテロ二量体 F c ドメインを含み、ここで、ポリペプチド鎖が、次のペアの一つから選択される分子式(N末端からC末端方向で)を含む、請求項 14 のプロドラッグ：

- a. F 1 - P L 1 - A - C L - M M 2 および F 2 - P L 2 - B - P L 3 - M M 1 ; および
b. F 1 - P L 1 - A - P L 2 - M M 1 および F 2 - P L 3 - B - C L - M M 2 ;

ここで、F 1 および F 2 が F c ドメインの第一および第二ポリペプチド鎖であり；P L 1、P L 2 および P L 3 がペプチドリンカーであり；C L が開裂可能ペプチドリンカーであり；A が I L - 1 2 p 3 5 サブユニットであり；そして B が I L - 1 2 p 4 0 サブユニットである。

10

【請求項 19】

該担体部分が第一ポリペプチド鎖および第二ポリペプチド鎖を含むヘテロ二量体 F c ドメインを含み、ここで、ポリペプチド鎖が、次のペアの一つから選択される分子式(N末端からC末端方向で)を含む、請求項 1 ~ 3 の何れかのプロドラッグ：

- a. F 1 - P L 1 - A - P L 2 - B および F 2 - C L - M ; および
b. F 1 - P L 1 - B - P L 2 - A および F 2 - C L - M ;

ここで、F 1 および F 2 が F c ドメインの第一および第二ポリペプチド鎖であり；P L 1 および P L 2 がペプチドリンカーであり；C L が開裂可能ペプチドリンカーであり；M が、p 4 0 サブユニットに結合し、I L - 1 2 の生物学的活性を阻害するマスキング部分であり；A が I L - 1 2 p 3 5 サブユニットであり；そして B が I L - 1 2 p 4 0 サブユニットである。

20

【請求項 20】

該担体部分が第一ポリペプチド鎖および第二ポリペプチド鎖を含むヘテロ二量体 F c ドメインを含み、ここで、ポリペプチド鎖が、次のペアの一つから選択される分子式(N末端からC末端方向で)を含む、請求項 1 ~ 3 の何れかのプロドラッグ：

- a. F 1 - P L 1 - A - P L 2 - M および F 2 - P L 3 - B ; および
b. F 1 - P L 1 - B - P L 2 - A および F 2 - P L 3 - M ;

ここで、F 1 および F 2 が F c ドメインの第一および第二ポリペプチド鎖であり；P L 1、P L 2 および P L 3 がペプチドリンカーであり；M が、p 4 0 サブユニットに結合し、I L - 1 2 の生物学的活性を阻害するマスキング部分であり；A が I L - 1 2 p 3 5 サブユニットであり；そして B が I L - 1 2 p 4 0 サブユニットである。

30

【請求項 21】

該担体部分が第一ポリペプチド鎖および第二ポリペプチド鎖を含むヘテロ二量体 F c ドメインを含み、ここで、ポリペプチド鎖が、次のペアの一つから選択される分子式(N末端からC末端方向で)を含む、請求項 1 ~ 3 の何れかのプロドラッグ：

- a. F 1 - P L 1 - M および F 2 - P L 2 - A - S S - B ; および
b. F 1 - C L および F 2 - P L 1 - A - S S - B ;

ここで、F 1 および F 2 が F c ドメインの第一および第二ポリペプチド鎖であり；P L 1 および P L 2 がペプチドリンカーであり；M が、p 4 0 サブユニットに結合し、I L - 1 2 の生物学的活性を阻害するマスキング部分であり；A が I L - 1 2 p 3 5 サブユニットであり；そして B が I L - 1 2 p 4 0 サブユニットであり；そして S S がジスルフィド結合である。

40

【請求項 22】

該マスキング部分が I L - 1 2 R 1 E C D またはそのフラグメント、ペプチドライブラリーのスクリーニングにより発見された p 4 0 結合ペプチドおよび p 4 0 に結合する抗体の一本鎖 F v (s c F v) または F a b ドメインから選択される、請求項 19 ~ 21 の何れかのプロドラッグ。

【請求項 23】

該マスキング部分が p 4 0 に結合する抗体の s c F v または F a b ドメインである、請

50

求項 19 ~ 22 の何れかのプロドラッグ。

【請求項 24】

該マスクング部分が p 40 に結合する s c F v を含み、ここで、s c F v が配列番号 7 ~ 11 および 12 に少なくとも 99 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 23 のプロドラッグ。

【請求項 25】

該担体が癌細胞の表面に発現する標的に結合する抗体または抗原結合部分である、請求項 1 ~ 24 の何れかのプロドラッグ。

【請求項 26】

該抗体または抗原結合部分が、5 T 4、クローディン 18.2、EGFR、EGFR タイプ III、GPC3、TROP-2、メソテリン、PSMA、CMET、DLL-3 および BCMA から選択される抗原に結合する、請求項 25 のプロドラッグ。

10

【請求項 27】

該 IL-12 サブユニット p 40 が、配列番号 5 と少なくとも 95 % 同一であるアミノ酸配列を有する、請求項 1 ~ 26 の何れかのプロドラッグ。

【請求項 28】

該 IL-12 サブユニット p 35 が、配列番号 6 と少なくとも 95 % 同一であるアミノ酸配列を有する、請求項 1 ~ 27 の何れかのプロドラッグ。

【請求項 29】

該非開裂可能ペプチドリンカーが配列番号 29 ~ 33 から選択されるアミノ酸配列を含み；開裂可能ペプチドリンカーが配列番号 34 ~ 54 から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 2 ~ 28 の何れかのプロドラッグ。

20

【請求項 30】

該プロドラッグが 2 個のポリペプチド鎖を含み、ここで、第一ポリペプチド鎖が配列番号 20 に少なくとも 99 % 同一であるアミノ酸配列を含み；そして第二ポリペプチド鎖が配列番号 21 ~ 28 から選択されるものと少なくとも 99 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 1 のプロドラッグ。

【請求項 31】

該プロドラッグが 2 個のポリペプチド鎖を含み、ここで、第一ポリペプチド鎖が配列番号 55 に少なくとも 99 % 同一であるアミノ酸配列を含み；そして第二ポリペプチド鎖が配列番号 56 ~ 59 から選択されるものと少なくとも 99 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 1 のプロドラッグ。

30

【請求項 32】

該プロドラッグが 2 個のポリペプチド鎖を含み、ここで、第一ポリペプチド鎖が配列番号 60 に少なくとも 99 % 同一であるアミノ酸配列を含み；そして第二ポリペプチド鎖が配列番号 61 ~ 64 から選択されるものと少なくとも 99 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 1 のプロドラッグ。

【請求項 33】

該プロドラッグが 2 個のポリペプチド鎖を含み、ここで、第一ポリペプチド鎖が配列番号 65 に少なくとも 99 % 同一であるアミノ酸配列を含み；そして第二ポリペプチド鎖が配列番号 66 ~ 73 から選択されるものと少なくとも 99 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 1 のプロドラッグ。

40

【請求項 34】

該プロドラッグが 2 個のポリペプチド鎖を含み、ここで、第一ポリペプチド鎖が配列番号 20 に少なくとも 99 % 同一であるアミノ酸配列を含み；そして該第二ポリペプチド鎖が配列番号 76 ~ 79 から選択されるものと少なくとも 99 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 1 のプロドラッグ。

【請求項 35】

請求項 1 ~ 34 の何れかのプロドラッグおよび薬学的に許容される添加物を含む、医薬組成物。

50

【請求項 36】

請求項 1 ~ 34 の何れかのプロドラッグをコードする 1 以上のポリヌクレオチド。

【請求項 37】

請求項 36 の 1 以上のポリヌクレオチドを含む、1 以上の発現ベクター。

【請求項 38】

請求項 37 のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 39】

u P A、M M P - 2、M M P - 9 および / またはマトリプターゼをコードする遺伝子が細胞においてノックアウトされる、請求項 38 の宿主細胞。

【請求項 40】

請求項 1 ~ 34 のいずれかのプロドラッグを製造する方法であって、請求項 38 または 39 の宿主細胞をプロドラッグの発現を可能とする条件下で培養し、そしてプロドラッグを単離することを含む、方法。

10

【請求項 41】

処置を必要とする患者における癌もしくは感染性疾患を処置するまたは免疫系を刺激する方法であって、治療有効量の請求項 35 の医薬組成物を患者に投与することを含む、方法。

【請求項 42】

請求項 41 の方法における癌もしくは感染性疾患の処置または免疫系の刺激に使用するための、請求項 1 ~ 34 の何れかのプロドラッグ。

20

【請求項 43】

請求項 41 の方法における癌もしくは感染性疾患の処置または免疫系の刺激のための医薬の製造における、請求項 1 ~ 34 の何れかのプロドラッグの使用。

【請求項 44】

該癌が脳癌、乳癌、肺癌、膵臓癌、食道癌、甲状腺髄様癌、卵巣癌、子宮癌、前立腺癌、精巣癌、結腸直腸癌および胃癌からなる群から選択される、請求項 41 の方法、請求項 42 のプロドラッグまたは請求項 43 の使用。

【請求項 45】

癌を処置する方法であって、それを必要とする癌患者に請求項 35 の医薬組成物を第二医薬組成物と組み合わせて投与することを含み、ここで、第二医薬組成物が I L - 12 以外のサイトカインまたはその融合分子、P D - 1 に対する抗体、P D - L 1 に対する抗体、C T L A - 4 に対する抗体、C D 47 に対する抗体、P D - 1 抗体 - I L - 2 融合分子、P D - 1 - I L - 7 融合分子、P D - 1 抗体 - I L - 15 融合分子および P D - 1 - I L - 21 融合分子から選択される活性成分を含むものである、方法。

30

【請求項 46】

請求項 45 の方法における癌の処置に使用するための、請求項 1 ~ 34 の何れかのプロドラッグ。

40

【請求項 47】

請求項 45 の方法における癌の処置のための医薬の製造のための、請求項 1 ~ 34 の何れかのプロドラッグの使用。

【請求項 48】

該癌が神経膠芽腫 (G B M)、結腸癌、小細胞肺癌、膵臓癌、卵巣癌、胃癌、肝臓癌、トリプルネガティブ乳癌および多発性骨髄腫から選択される、請求項 45 の方法、請求項 46 のプロドラッグまたは請求項 47 の使用。

【請求項 49】

50

請求項 1 ~ 3 4 の何れかのプロドラッグ、薬学的に許容される添加物ならびに I L - 1 2 以外のサイトカインまたはそれからの誘導体、P D - 1 に対する抗体、P D - L 1 に対する抗体、C T L A - 4 に対する抗体、C D 4 7 に対する抗体、P D - 1 抗体 - I L - 1 5 融合分子、P D - 1 - I L - 2 融合分子および P D - 1 - I L - 2 1 融合分子から選択される第二活性成分を含む、医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2019年9月28日出願の米国仮出願62/907,615に基づく優先権を主張し、全体としてその内容を引用により本明細書に包含させる。 10

【0002】

配列表

本出願は、ASCII形式で電子的に提出され、全体として引用により本明細書に包含される、配列表を含む。該ASCIIコピーは2020年9月23日に作成され、025471_WO007_SL.txtなる名称であり、サイズ282,851バイトである。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

インターロイキン12 (I L - 1 2) は免疫において重要な役割を果たす (Watford et al., Cytokine Growth Factor Rev. (2003) 14(5):361-8)。それはインターフェロンガンマ放出を刺激し、T細胞およびナチュラルキラー(NK)細胞を活性化する (Del Vecchio, Clin Cancer Res. (2007) 13(16):4677-85)。I L - 1 2 は、p 4 0 および p 3 5 の 2 個のサブユニットからなる。I L - 1 2 受容体は、I L - 1 2 受容体ベータ1 (I L - 1 2 R 1) およびベータ2 (I L - 1 2 R 2) の 2 個のサブユニットからなる。I L - 1 2 R 1 の欠乏は I L - 1 2 シグナル経路を障害し、細菌感染およびシェーグレン症候群などの自己免疫に至り得る (Sogkas et al., Front Immunol. (2017) 8:885)。I L - 1 2 は、癌を治療する可能性について、以前に探索されている (Sogkas et al., Front Immunol. (2017) 8:885)。IL-12 has previously been explored as a potential therapy to treat cancer (Colombo and Trinchieri, Cytokine Growth Factor Rev. (2002) 13(2):155-68; Del Vecchio, supra; Lasek et al., Cancer Immunol Immunother. (2014) 63(5):419-35)。I L - 1 2 治療に対するいくつかの臨床試験は、おそらくその狭い治療指数のために、有効性が限定的であることを示した (Lasek et al., supra)。 20 30

【0004】

I L - 2 は、もう一つの重要なサイトカインであり、リンパ球生成、生存および恒常性に中心的役割を有する。それは、133アミノ酸を有し、機能に不可欠な四次構造を形成する4個の逆平行、両親媒性アルファヘリックスからなる (Smith, Science (1988) 240:1169-76; Bazan, Science (1992) 257:410-13)。

【0005】

I L - 2 は、3個までの独立したサブユニットからなる I L - 2 受容体 (I L - 2 R) への結合により作用する。(C D 2 5)、(C D 1 2 2) および (C D 1 3 2) サブユニットの結合は、三量体、高親和性 I L - 2 R をもたらす。および サブユニットからなる二量体 I L - 2 R は、中間親和性 I L - 2 R と称される。サブユニットは、単量体低親和性 I L - 2 R を形成する。二量体中間親和性 I L - 2 受容体は、三量体高親和性受容体より約100倍低い親和性で I L - 2 に結合するが、二量体および三量体 I L - 2 R バリエーションのいずれも、I L - 2 結合によりシグナルを伝達できる (Minami et al, Annu Rev Immunol. (1993) 11:245-68)。それ故に、サブユニットは I L - 2 シグナル伝達に必須ではないが、I L - 2 R への高親和性結合に寄与し、一方、および サブユニットは、シグナル伝達に重要である (Krieg et al., Proc Natl Acad Sci. (2010) 40 50

) 107:11906-11)。三量体 I L - 2 R は、C D 4 ⁺ F o x P 3 ⁺ 制御 T (T r e g) 細胞により発現される。慣習的活性化 T 細胞によっても一過性に誘導されるが、休止状態では、これら細胞は二量体 I L - 2 R しか発現しない。T r e g 細胞は、インビボで一貫して最高レベルの C D 2 5 を発現する (Fontenot et al., Nature Immunol. (2005) 6:1142-51)。

【 0 0 0 6 】

I L - 2 のムテインが、I L - 2 の副作用を減少させるために作製されている。例えば、米国特許 6,955,807 および 9,428,567 および E P 2 6 3 9 2 4 1 B 1 参照。高親和性三量体 I L - 2 R への親和性が減少したペグ化 I L - 2 も開示されている (U S 2 0 1 4 0 3 2 8 7 9 1)。さらに、I L - 2 ムテインは、P D - L 1 抗体 (例えば、W O 2 0 1 7 / 2 2 0 9 8 9) および C E A 抗体 (例えば、Klein et al., Oncoimmunology (2017) 6(3):e1277306; 米国特許 9,206,260) などの抗体と融合されている。C E A 抗体は、元のマウス C E A 抗体 P R 1 A 3 から成熟された (米国特許 8,642,742)。該抗体は、I L - 2 ムテインを腫瘍部位に向けることができるが、腫瘍部位での抗体 - I L - 2 融合体の量は投与された用量のほんの一部であり、投与された用量の大部分はなお循環にある可能性がある。循環 I L - 2 は、免疫臓器、例えば、リンパ節および脾臓に局在化する免疫細胞の I L - 2 R などのいわゆる「P K シンカー」に結合する。それ故に、抗体の腫瘍ターゲティング特異性をもってしても、投与され得る I L - 2 の量はなお限定的である。

10

【 0 0 0 7 】

I L - 1 5 は、I L - 2 に構造が類似するサイトカインである。I L - 1 5 は、ウイルス感染後単核食細胞および他の免疫細胞により分泌される。I L - 1 5 は N K および他の免疫細胞の増殖を誘導し、ウイルスが感染した細胞および癌細胞の死滅に参与する。I L - 2 と同様、I L - 1 5 は中間親和性受容体である I L - 2 R / 複合体に結合し、K_D は約 1 nM である (Giri et al., EMBO J. (1994) 13:2822-30)。I L - 1 5 は、はるかに高い親和性 (K_D 約 0.05 nM) で I L - 1 5 受容体 (I L - 1 5 R) に結合する。I L - 1 5 R は I L - 2 R / 複合体と結合して、I L - 1 5 特異的、機能的な高親和性受容体 () を形成できる (Minami et al., Annu Rev Immunol. (1993) 11:245-67; Giri et al., J Leukoc Biol. (1995) 5745:763-6; および Lehours et al., Eur Cytokine Netw. (2000) 11:207-15)。I L - 1 5 R の細胞外領域は、タンパク質 - タンパク質相互作用における共通モチーフである S u s h i ドメインを含む。最初の 65 アミノ酸を有する I L - 1 5 R は部分的に活性であるが、最初の 85 アミノ酸を有するフラグメントは完全に機能的であることが示されている (Wei et al., J Immunol. (2001) 167(1):277-82)。

20

30

【 0 0 0 8 】

残念ながら、現在のサイトカイン薬物候補の有害作用は顕著であり、このような薬物の投与量を制限する。さらに、これら薬物候補による T、N K および他の免疫細胞の活性化は部位特異的ではない。さらに、ムテインのサイトカイン受容体に対する親和性が顕著に減少されていても、同様にサイトカインムテインに対する「P K シンカー」であると考えられる。サイトカインベースのタンパク質治療剤の産生には、また数多くの困難がある。

40

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 9 】

それ故に、改善された有効性を有しながら、より腫瘍部位選択的であり、P K シンカーを回避し、かつ重度副作用が少ない、改善されたサイトカインベースの癌治療剤を開発する必要がある。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 1 0 】

発明の概要

本発明は、I L - 1 2 サイトカイン部分、マスキング部分 (M)、二量体担体部分 (C) お

50

よび少なくとも1個のペプチドリンカーを含むIL-12プロドラッグまたは(「プロドラッグ」)であって、ここで、IL-12サイトカイン部分はIL-12 p40サブユニット(p40)およびIL-12 p35サブユニット(p35)を含み、マスキング部分はIL-12サイトカイン部分に結合し、かつIL-12サイトカイン部分の生物学的活性を阻害し、マスキング部分は、所望によりペプチドリンカーを介して二量体担体部分の一方のポリペプチド鎖に融合し、IL-12サイトカイン部分は、所望によりペプチドリンカーを介して担体部分の他方のポリペプチド鎖に融合するかまたはp40サブユニットは、所望によりペプチドリンカーを介して担体部分の一方のポリペプチド鎖に融合し、p35サブユニットは、所望によりペプチドリンカーを介して担体部分の他方のポリペプチド鎖に融合し、そしてマスキング部分は、所望によりペプチドリンカーを介してp40サブユニットまたはp35サブユニットのC末端に融合する、プロドラッグを提供する。

10

【0011】

具体的実施態様において、IL-12サブユニットp40は、配列番号5と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を有する。具体的実施態様において、IL-12サブユニットp35は、配列番号6と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を有する。

【0012】

ある実施態様において、少なくとも1個のペプチドリンカーは開裂可能ペプチドリンカーである。他の実施態様において、少なくとも1個のペプチドリンカーは非開裂可能ペプチドリンカーである。

20

【0013】

ある実施態様において、マスキング部分は、所望により開裂可能ペプチドリンカーを介して担体部分またはIL-12 p40もしくはp35サブユニットに融合する第一マスキング部分(MM1)である。具体的実施態様において、第一マスキング部分(MM1)はIL-12 p40サブユニットに結合し、IL-12のIL-12受容体1(IL-12R1)への結合を低減または阻害する。ある実施態様において、マスキング部分は、IL-12受容体1の細胞外ドメイン(IL-12R1ECD)またはそのフラグメント、ペプチドライブラリーのスクリーニングにより発見されたp40結合ペプチドおよびp40に結合する抗体の一本鎖Fv(scFv)またはFabドメインから選択される。他の実施態様において、マスキング部分はp40に結合する抗体のscFvまたはFabドメインである。具体的実施態様において、マスキング部分はp40に結合するscFv

30

【0014】

ある実施態様において、プロドラッグは、さらに、所望により開裂可能ペプチドリンカーを介して担体部分またはIL-12 p40もしくはp35サブユニットに融合した、第二マスキング部分(MM2)を含む。具体的実施態様において、第二マスキング部分(MM2)はp35および/またはp40に結合し、IL-12受容体2(IL-12R2)へのIL-12の結合を低減または阻害する。ある実施態様において、第二マスキング部分は、IL-12受容体2の細胞外ドメイン(IL-12R2ECD)またはそのフラグメント、p35またはペプチドライブラリーのスクリーニングにより発見されたp40結合ペプチドおよびp35またはp40に結合し、IL-12のIL-12R2への結合を低減または阻害する抗体の一本鎖FvまたはFabドメインから選択される。具体的実施態様において、第二マスキング部分はIL-12受容体ベータ2(IL-12R2)の細胞外ドメイン(ECD)またはそのフラグメントを含み、ここで、IL-12R2ECDまたはそのフラグメントは配列番号17、18または19に少なくとも95%

40

【0015】

ある実施態様において、第二マスキング部分はp40に結合する抗体の一本鎖Fv(scFv)またはFabドメインを含み、IL-12のIL-12R2への結合を低減または阻害し；ここで、該scFvまたはFabは、IL-12抗体PMA204、抗体1

50

、抗体 50、抗体 68、抗体 80 または抗体 136 に由来するのと同じ軽鎖 CDR および重鎖 CDR を含む。

【0016】

ある実施態様において、担体は癌細胞の表面に発現する標的に結合する抗体または抗原結合部分である。具体的実施態様において、抗体または抗原結合部分は、5T4、クロロゲン 18.2、EGFR、EGFR タイプ III、GPC3、TROP-2、メソテリン、PSMA、CMET、DLL-3 および BCMA から選択される抗原に結合する。

【0017】

ある実施態様において、担体部分は Fc ドメイン および抗体から選択される。具体的実施態様において、担体部分は、第一および第二ポリペプチド鎖を含む Fc ドメインを含み、ここで、プロドラッグのポリペプチド鎖は、次のペアの一つから選択される分子式(N 末端から C 末端方向で)を含む。

a. F1 - PL1 - A - PL2 - B、F2 - CL1 - MM2 - CL2 - MM1 ; および
b. F1 - PL1 - B - PL2 - A、F2 - CL1 - MM1 - CL2 - MM2 ;

ここで、F1 および F2 はヘテロ二量体を形成する担体部分(例えば、Fc ドメイン)のサブユニットであり ; PL1 および PL2 はペプチドリンカーであり ; CL1 および CL2 は開裂可能ペプチドリンカーであり ; MM1 は、p40 に結合し、IL-12 の IL-12 R₁ への結合を低減または阻害する第一マスクング部分であり ; MM2 は、p35 および / または p40 に結合し、IL-12 の IL-12 R₂₁ への結合を低減または阻害する第二マスクング部分であり ; A は IL-12 p35 サブユニットであり ; そして B は IL-12 p40 サブユニットである。

【0018】

具体的実施態様において、担体部分は、第一および第二ポリペプチド鎖を含む Fc ドメインを含み、ここで、プロドラッグのポリペプチド鎖は、次のペアの一つから選択される分子式(N 末端から C 末端方向で)を含む。

a. F1 - PL1 - A - PL2 - B、F2 - PL3 - MM2 - CL - MM1 ; および
b. F1 - PL1 - B - PL2 - A、F2 - PL3 - MM1 - CL - MM2 ;

ここで、F1 および F2 はヘテロ二量体を形成する担体部分(例えば、Fc ドメイン)のサブユニットであり ; PL1、PL2 および PL3 はペプチドリンカーであり ; CL は開裂可能ペプチドリンカーであり ; MM1 は、p40 に結合し、IL-12 の IL-12 R₁ への結合を低減または阻害する第一マスクング部分であり ; MM2 は、p35 および / または p40 に結合し、IL-12 の IL-12 R₂₁ への結合を低減または阻害する第二マスクング部分であり ; A は IL-12 p35 サブユニットであり ; そして B は IL-12 p40 サブユニットである。

【0019】

具体的実施態様において、担体部分は、第一および第二ポリペプチド鎖を含む Fc ドメインを含み、ここで、プロドラッグのポリペプチド鎖は、次のペアの一つから選択される分子式(N 末端から C 末端方向で)を含む。

a. F1 - PL1 - A - CL1 - MM2、F2 - PL2 - B - CL2 - MM1 ; および
b. F1 - PL1 - A - CL1 - MM1、F2 - PL2 - B - CL2 - MM2 ;

ここで、F1 および F2 はヘテロ二量体を形成する担体部分(例えば、Fc ドメイン)のサブユニットであり ; PL1 および PL2 はペプチドリンカーであり ; CL1 および CL2 は開裂可能ペプチドリンカーであり ; MM1 は、p40 に結合し、IL-12 の IL-12 R₁ への結合を低減または阻害する第一マスクング部分であり ; MM2 は、p35 および / または p40 に結合し、IL-12 の IL-12 R₂₁ への結合を低減または阻害する第二マスクング部分であり ; A は IL-12 p35 サブユニットであり ; そして B は IL-12 p40 サブユニットである。

【0020】

具体的実施態様において、担体部分は、第一および第二ポリペプチド鎖を含む Fc ドメインを含み、ここで、ポリペプチド鎖は、次のペアの一つから選択される分子式(N 末端

10

20

30

40

50

から C 末端方向で)を含む。

- a. F 1 - P L 1 - A - C L - M M 2、F 2 - P L 2 - B - P L 3 - M M 1 ; および
b. F 1 - P L 1 - A - P L 2 - M M 1、F 2 - P L 3 - B - C L - M M 2 ;

ここで、F 1 および F 2 はヘテロ二量体を形成する担体部分(例えば、F c ドメイン)のサブユニットであり; P L 1、P L 2 および P L 3 はペプチドリンカーであり; C L は開裂可能ペプチドリンカーであり; M M 1 は、p 4 0 に結合し、I L - 1 2 の I L - 1 2 R 1 への結合を低減または阻害する第一マスキング部分であり; M M 2 は、p 3 5 および / または p 4 0 に結合し、I L - 1 2 の I L - 1 2 R 2 1 への結合を低減または阻害する第二マスキング部分であり; A は I L - 1 2 p 3 5 サブユニットであり; そして B は I L - 1 2 p 4 0 サブユニットである。

10

【 0 0 2 1 】

具体的実施態様において、担体部分は、第一および第二ポリペプチド鎖を含む F c ドメインを含み、ここで、ポリペプチド鎖は、次のペアの一つから選択される分子式(N 末端から C 末端方向で)を含む。

- a. F 1 - P L 1 - A - P L 2 - B、F 2 - C L - M ; および
b. F 1 - P L 1 - B - P L 2 - A、F 2 - C L - M ;

ここで、F 1 および F 2 はヘテロ二量体を形成する担体部分(例えば、F c ドメイン)のサブユニットであり; P L 1 および P L 2 はペプチドリンカーであり; C L は開裂可能ペプチドリンカーであり; M は、p 4 0 サブユニットに結合し、I L - 1 2 の生物学的活性を阻害するマスキング部分であり; A は I L - 1 2 p 3 5 サブユニットであり; そして B は I L - 1 2 p 4 0 サブユニットである。

20

【 0 0 2 2 】

具体的実施態様において、担体部分は、第一および第二ポリペプチド鎖を含む F c ドメインを含み、ここで、ポリペプチド鎖は、次のペアの一つから選択される分子式(N 末端から C 末端方向で)を含む。

- a. F 1 - P L 1 - A - P L 2 - M、F 2 - P L 3 - B ; および
b. F 1 - P L 1 - B - P L 2 - A、F 2 - P L 3 - M ;

ここで、F 1 および F 2 はヘテロ二量体を形成する担体部分(例えば、F c ドメイン)のサブユニットであり; P L 1、P L 2 および P L 3 はペプチドリンカーであり; M は、p 4 0 サブユニットに結合し、I L - 1 2 の生物学的活性を阻害するマスキング部分であり; A は I L - 1 2 p 3 5 サブユニットであり; そして B は I L - 1 2 p 4 0 サブユニットである。

30

【 0 0 2 3 】

具体的実施態様において、担体部分は、第一および第二ポリペプチド鎖を含む F c ドメインを含み、ここで、ポリペプチド鎖は、次のペアの一つから選択される分子式(N 末端から C 末端方向で)を含む。

- a. F 1 - P L 1 - M、F 2 - P L 2 - A - S S - B ; および
b. F 1 - C L、F 2 - P L 1 - A - S S - B ;

ここで、F 1 および F 2 はヘテロ二量体を形成する担体部分(例えば、F c ドメイン)のサブユニットであり; P L 1 および P L 2 はペプチドリンカーであり; M は、p 4 0 サブユニットに結合し、I L - 1 2 の生物学的活性を阻害するマスキング部分であり; A は I L - 1 2 p 3 5 サブユニットであり; そして B は I L - 1 2 p 4 0 サブユニットであり; そして S S はジスルフィド結合である。

40

【 0 0 2 4 】

ある実施態様において、非開裂可能ペプチドリンカーは配列番号 2 9 ~ 3 3 から選択されるアミノ酸配列を含み; 開裂可能ペプチドリンカーは配列番号 3 4 ~ 5 4 から選択されるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 2 5 】

ある実施態様において、プロドラッグは 2 個のポリペプチド鎖を含み、ここで、第一ポリペプチド鎖は配列番号 2 0 に少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含み; そして

50

第二ポリペプチド鎖は配列番号 21 ~ 28 から選択されるものに少なくとも 99% 同一であるアミノ酸配列を含む。

【0026】

ある実施態様において、プロドラッグは 2 個のポリペプチド鎖を含み、ここで、第一ポリペプチド鎖は配列番号 55 に少なくとも 99% 同一であるアミノ酸配列を含み；そして第二ポリペプチド鎖は配列番号 56 ~ 59 から選択されるものに少なくとも 99% 同一であるアミノ酸配列を含む。

【0027】

ある実施態様において、プロドラッグは 2 個のポリペプチド鎖を含み、ここで、第一ポリペプチド鎖は配列番号 60 に少なくとも 99% 同一であるアミノ酸配列を含み；そして第二ポリペプチド鎖は配列番号 61 ~ 64 から選択されるものに少なくとも 99% 同一であるアミノ酸配列を含む。

10

【0028】

ある実施態様において、プロドラッグは 2 個のポリペプチド鎖を含み、ここで、第一ポリペプチド鎖は配列番号 65 に少なくとも 99% 同一であるアミノ酸配列を含み；そして第二ポリペプチド鎖は配列番号 66 ~ 73 から選択されるものに少なくとも 99% 同一であるアミノ酸配列を含む。

【0029】

ある実施態様において、プロドラッグは 2 個のポリペプチド鎖を含み、ここで、第一ポリペプチド鎖は配列番号 20 に少なくとも 99% 同一であるアミノ酸配列を含み；そして第二ポリペプチド鎖は配列番号 76 ~ 79 から選択されるものに少なくとも 99% 同一であるアミノ酸配列を含む。

20

【0030】

ある実施態様において、本発明は、本プロドラッグおよび薬学的に許容される添加物を含む、医薬組成物を提供する。

【0031】

ある態様において、本発明は、本プロドラッグをコードする 1 以上のポリヌクレオチド、本ポリヌクレオチドを含む発現ベクターおよび発現ベクターを含む宿主細胞(例えば、CHO、NS0 細胞および 293T 細胞などの哺乳動物宿主細胞)を提供する。ある実施態様において、ここに記載する哺乳動物宿主細胞は、ノックアウトされた uPA、MMP-2、MMP-9 および/またはマトリプターゼをコードする 1 以上の遺伝子を有する。本発明は、宿主細胞をプロドラッグの発現を可能とする条件下で培養し、単離(精製も)することを含む、本プロドラッグを製造する方法も提供する。

30

【0032】

本発明は、処置を必要とする患者における癌もしくは感染性疾患を処置するまたは免疫系を刺激する方法であって、患者に治療有効量の本発明のプロドラッグまたは医薬組成物を投与することを含む、方法も提供する。本発明は、癌患者に本発明のプロドラッグまたは医薬組成物を第二医薬組成物と組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、ここで、第二医薬組成物が IL-12 以外のサイトカインまたはその融合分子、PD-1 に対する抗体、PD-L1 に対する抗体、CTLA-4 に対する抗体、CD47 に対する抗体、PD-1 抗体-IL-2 融合分子、PD-1-IL-7 融合分子、PD-1 抗体-IL-15 融合分子および PD-1-IL-21 融合分子から選択される活性成分を含む、方法も提供する。患者は、例えば、ウイルス感染(例えば、HIV、HBV、HCV または HPV 感染)または脳癌、乳癌、肺癌、膵臓癌、食道癌、甲状腺髄様癌、卵巣癌、子宮癌、前立腺癌、精巣癌、結腸直腸癌および胃癌からなる群から選択される癌を有し得る。

40

【0033】

また提供されるのは、本方法において癌もしくは感染性疾患の処置または免疫系の刺激に使用するためのプロドラッグ；本方法における癌もしくは感染性疾患の処置または免疫系の刺激のための医薬の製造における IL-12 プロドラッグの使用；および 1 以上の投

50

与単位の本 I L - 1 2 プロドラッグを含む製品(例えば、キット)である。

【図面の簡単な説明】

【0034】

【図1】図1Aおよび1Bは、I L - 1 2 p 4 0 サブユニット(p 4 0)、I L - 1 2 p 3 5 サブユニット(p 3 5)、第一マスキング部分(M M 1 ; 白抜き四角)、第二マスキング部分(M M 2 ; 黒塗り四角)、担体(C)および2個の開裂可能ペプチドリンカーを含む I L - 1 2 プロドラッグの構造の例を示す。図1AはF c ドメインポリペプチドの一方のC末端に融合したI L - 1 2 サブユニットp 3 5を示し、一方、I L - 1 2 サブユニットp 4 0は非開裂可能ペプチドリンカーを介してp 3 5のC末端に融合する。第二マスキング部分は、開裂可能リンカーを介して他のF c ドメインポリペプチドのC末端に融合し、第一マスキング部分は、開裂可能ペプチドリンカーを介して第二マスキング部分のC末端に融合する。図1BはF c ドメインポリペプチドの一方のC末端に融合したI L - 1 2 サブユニットp 4 0を示し、一方、I L - 1 2 サブユニットp 3 5は非開裂可能ペプチドリンカーを介してp 4 0のC末端に融合する。第一マスキング部分は、開裂可能リンカーを介して他のF c ドメインポリペプチドのC末端に融合し、第二マスキング部分は、開裂可能ペプチドリンカーを介して第一マスキング部分のC末端に融合する。

10

【0035】

【図2】図2Aおよび2Bは、I L - 1 2 p 4 0 サブユニット(p 4 0)、I L - 1 2 p 3 5 サブユニット(p 3 5)、第一マスキング部分(M M 1 ; 白抜き四角)、第二マスキング部分(M M 2 ; 黒塗り四角)、担体(C)および1個の開裂可能ペプチドリンカーを含む I L - 1 2 プロドラッグの構造の例を示す。図2AはF c ドメインポリペプチドの一方のC末端に融合したI L - 1 2 サブユニットp 3 5を示し、一方、I L - 1 2 サブユニットp 4 0は非開裂可能ペプチドリンカーを介してp 3 5のC末端に融合する。第二マスキング部分は、非開裂可能リンカーを介して他のF c ドメインポリペプチドのC末端に融合し、第一マスキング部分は、開裂可能ペプチドリンカーを介して第二マスキング部分のC末端に融合する。図2BはF c ドメインポリペプチドの一方のC末端に融合したI L - 1 2 サブユニットp 4 0を示し、一方、I L - 1 2 サブユニットp 3 5は非開裂可能ペプチドリンカーを介してp 4 0のC末端に融合する。第一マスキング部分は、非開裂可能リンカーを介して他のF c ドメインポリペプチドのC末端に融合し、該第二マスキング部分は、開裂可能ペプチドリンカーを介して第一マスキング部分のC末端に融合する。

20

30

【0036】

【図3】図3Aおよび3Bは、I L - 1 2 p 4 0 サブユニット(p 4 0)、I L - 1 2 p 3 5 サブユニット(p 3 5)、第一マスキング部分(M M 1 ; 白抜き四角)、第二マスキング部分(M M 2 ; 黒塗り四角)、担体(C)および2個の開裂可能ペプチドリンカーを含む I L - 1 2 プロドラッグの構造の例を示す。図3AはI L - 1 2 サブユニットp 3 5を示し、一方F c ドメインポリペプチドの一方のC末端はC末端のI L - 1 2 サブユニットp 4 0に融合し、いずれも他のF c ドメインポリペプチドを介する。第二マスキング部分は開裂可能リンカーを介してp 3 5のC末端に融合し、一方第一マスキング部分は開裂可能ペプチドリンカーを介してp 4 0のC末端に融合する。図3BはF c ドメインポリペプチドの一方のC末端に融合するI L - 1 2 サブユニットp 3 5を示し、一方、I L - 1 2 サブユニットp 4 0は他のF c ドメインポリペプチドのC末端に融合し、両者とも非開裂可能ペプチドリンカーを介する。第二マスキング部分は開裂可能リンカーを介してp 4 0のC末端に融合し、一方第一マスキング部分は開裂可能ペプチドリンカーを介してp 3 5のC末端に融合する。

40

【0037】

【図4】図4Aおよび4Bは、I L - 1 2 p 4 0 サブユニット(p 4 0)、I L - 1 2 p 3 5 サブユニット(p 3 5)、第一マスキング部分(M M 1 ; 白抜き四角)、第二マスキング部分(M M 2 ; 黒塗り四角)、担体(C)および1個の開裂可能ペプチドリンカーを含む I L - 1 2 プロドラッグの構造の例を示す。図4AはF c ドメインポリペプチドの一方のC末端に融合したI L - 1 2 サブユニットp 3 5を示し、一方、I L - 1 2 サブユニットp

50

40は他のFcドメインポリペプチドのC末端に融合し、両者とも非開裂可能ペプチドリンカーを介する。第二マスキング部分は開裂可能リンカーを介してp35のC末端に融合し、第一マスキング部分は非開裂可能ペプチドリンカーを介してp40のC末端に融合する。図4BはFcドメインポリペプチドの一方のC末端に融合するIL-12サブユニットp35を示し、一方、IL-12サブユニットp40は他のFcドメインポリペプチドのC末端に融合し、両者とも非開裂可能ペプチドリンカーを介する。第二マスキング部分は開裂可能リンカーを介してp40のC末端に融合し、第一マスキング部分は非開裂可能ペプチドリンカーを介してp35のC末端に融合する。

【0038】

【図5】図5Aおよび5Bは、IL-12 p40サブユニット(p40)、IL-12 p35サブユニット(p35)、マスキング部分(MM)および1個の開裂可能ペプチドリンカーを含むIL-12プロドラッグの構造の例を示す。図5AはFcドメインポリペプチドの一方のC末端に融合したIL-12サブユニットp35を示し、一方、IL-12サブユニットp40はp35のC末端に融合し、両者とも非開裂可能ペプチドリンカーを介する。さらに、マスキング部分は開裂可能リンカーを介して第二FcのC末端に融合する。図5BはFcドメインポリペプチドの一方のC末端に融合したIL-12サブユニットp40を示し、一方、IL-12サブユニットp35はp40のC末端に融合し、両者とも非開裂可能ペプチドリンカーを介する。さらに、マスキング部分は開裂可能リンカーを介して第二FcのC末端に融合する。

【0039】

【図6】図6Aおよび6Bは、IL-12 p40サブユニット(p40)、IL-12 p35サブユニット(p35)、マスキング部分(MM)、担体(C)およびno 開裂可能ペプチドリンカーを含むIL-12プロドラッグの構造の例を示す。図6AはFcドメインポリペプチドの一方のC末端に融合したIL-12サブユニットp35を示し、一方、IL-12サブユニットp40は他のFcドメインポリペプチドのC末端に融合し、両者とも非開裂可能ペプチドリンカーを介する。さらに、マスキング部分は非開裂可能リンカーを介してp35のC末端に融合する。図6BはFcドメインポリペプチドの一方のC末端に融合したIL-12サブユニットp40を示し、一方、IL-12サブユニットp35はp40のC末端に融合し、両者とも非開裂可能ペプチドリンカーを介する。さらに、該マスキング部分は非開裂可能リンカーを介して第二FcのC末端に融合する。

【0040】

【図7】図7Aおよび7Bは、IL-12 p40サブユニット(p40)、IL-12 p35サブユニット(p35)、マスキング部分(MM)および担体(C)を含む3個のポリペプチド鎖を含むIL-12プロドラッグの構造の例を示す。図7AはFcドメインポリペプチドの一方のC末端に融合したIL-12サブユニットp35を示し、マスキング部分は他のFcドメインポリペプチドのC末端に融合し、両方とも所望により非開裂可能リンカーを介する。p40は、ジスルフィド結合を介してp35サブユニットに結合する第三ポリペプチド鎖である。図7Bは、所望により非開裂可能ペプチドリンカーを介してFcドメインポリペプチドの一方のC末端に融合したIL-12サブユニットp35を示し、マスキング部分は他のFcドメインポリペプチドのC末端に開裂可能ペプチドリンカーを介して融合する。p40は、ジスルフィド結合を介してp35サブユニットに結合する第三ポリペプチド鎖である。

【0041】

【図8】図8Aおよび8BはSDS-PAGE分析を示す。図8Aは、図5Bおよび表2に示す配列に示す構造を有するIL-12プロドラッグJR3.105.2、JR3.105.3、JR3.105.4およびJR3.105.5のプロテインA親和性クロマトグラフィーサンプルのSDS-PAGE分析を示す。サンプルを、還元および非還元条件下で流した。サンプルは妥当な純度であったが、一定レベルのプロドラッグの活性化型が見える。図8Bは、プロドラッグを活性化するためのプロテアーゼ処理前後のプロドラッグJR3.105.5サンプルのSDS-PAGE分析を示す。データは、プロドラッグサン

10

20

30

40

50

ブルの大部分が活性化されたことを示す。

【0042】

【図9】図9は、プロテアーゼ処理前後のIL-12プロドラッグサンプルの細胞ベースの活性分析を示す。プロテアーゼで処理したプロドラッグはJR3.105.2-Clv、JR3.105.3-Clv、JR3.105.4-ClvおよびJR3.105.5-Clvと表示する。顕著な活性化がプロテアーゼで処理後プロドラッグJR3.105.5で観察された。

【0043】

【図10】図10は、図9に示すとおり細胞ベースのアッセイで試験したIL-12プロドラッグサンプルのEC₅₀値を示す。プロドラッグJR3.105.5のEC₅₀値は、10
活性化前約0.9nであり、活性化後約0.05nMであった。

【発明を実施するための形態】

【0044】

発明の詳細な記載

ここでおよび添付する特許請求の範囲で使用する単数表現は、文脈から明らかに異なることが示されない限り、複数対象を含む。ここでの値またはパラメータについての「約」の記載は、その値またはパラメータ自体に関する変動を含む(および記載する)。例えば、「約X」に関する記載は、「X」を含む。さらに、何らかの一連の数値の前の「約」の使用は、その一連の数値で記載される各々の「約」を含む。例えば、「約X、YまたはZ」の記載は、「約X、約Yまたは約Z」の記載を含む。20

【0045】

用語「抗原結合部分」は、抗原に特異的に結合するポリペプチドまたは一組の相互作用ポリペプチドをいい、抗体(例えば、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多特異的抗体、二重特異的または二特異的抗体、抗イディオタイプ抗体または二機能性ハイブリッド抗体)またはその抗原結合フラグメント(例えば、Fab、Fab'、F(ab)₂、Fv、ジスルフィド結合Fv、scFv、単一ドメイン抗体(dAb)または二重特異性抗体)、一本鎖抗体およびイムノアドヘシンなどのFc含有ポリペプチドを含むが、これらに限定されない。ある実施態様において、抗体は、あらゆる重鎖アイソタイプ(例えば、IgG、IgA、IgM、IgEまたはIgD)またはサブタイプ(例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃またはIgG₄)のものであり得る。ある実施態様において、抗体は、あ30
らゆる軽鎖アイソタイプ(例えば、カッパまたはラムダ)のものであり得る。抗体は、ヒト、非ヒト(例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヤギまたは他の非ヒト動物から)、キメラ(例えば、非ヒト可変領域およびヒト定常領域を有する)またはヒト化(例えば、非ヒトCDRおよびヒトフレームワークおよび定常領域)であり得る。ある実施態様において、抗体は誘導体化抗体である。

【0046】

用語「サイトカインアゴニストポリペプチド」または「サイトカイン部分」は、野生型サイトカインまたはそのアナログをいう。野生型サイトカインのアナログは、野生型サイトカインと同じ生物学的特異性を有するが(例えば、同じ受容体に結合し、同じ標的細胞を活性化する)、アナログの活性レベルは、野生型サイトカインと異なり得る。アナログ40
は、例えば、野生型サイトカインのムテイン(すなわち、変異ポリペプチド)であり得て、野生型サイトカインに比して少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、少なくとも8個、少なくとも9個または少なくとも10個の変異を含み得る。

【0047】

用語「サイトカインマスク」または「マスキング部分」は、サイトカインに結合し、それにより、マスクに結合されている間、サイトカインが標的細胞表面のその受容体に結合するおよび/またはその生物学的機能を発揮することを阻害する部分(例えば、ポリペプチド)をいう。サイトカインマスクの例は、サイトカインと接触するサイトカインの天然受容体の細胞外ドメインに由来するポリペプチドを含むが、これに限定されない。50

【 0 0 4 8 】

用語「有効量」または「治療有効量」は、特定の障害、状態または疾患の処置、例えば、その症状の1以上の軽減、緩和、低減および/または遅延に十分な化合物または組成物の量をいう。

【 0 0 4 9 】

用語「機能的アナログ」は、対照分子と同じ生物学的特異性(例えば、同じリガンドに結合)および/または活性(例えば、標的細胞の活性化または阻害)を有する分子をいう。

【 0 0 5 0 】

2個のポリペプチド配列に関していう「融合」または「融合体」なる用語は、主鎖ペプチド結合を介する2個のポリペプチド配列の結合をいう。2個のポリペプチドは直接または1以上のアミノ酸長のペプチドリンカーを介して融合し得る。融合ポリペプチドは、間のペプチドリンカーの配列を伴うまたは伴わない2個の融合パートナーの各コード配列を含むコード配列から、組み換えテクノロジーにより製造し得る。ある実施態様において、融合は、化学的コンジュゲーションを含む。

10

【 0 0 5 1 】

用語「薬学的に許容される添加物」は、組成物の成分をいうために使用されるとき、添加物がヒト対象を含む対象の処置に、対象への過度の有害な副作用なくかつ活性医薬成分(A P I)の生物学的活性に影響することなく投与するために適することを意味する。

【 0 0 5 2 】

用語「対象」は哺乳動物をいい、ヒト、ペット(例えば、イヌまたはネコ)、家畜(例えば、ウシまたはウマ)、齧歯類または霊長類を含むが、これらに限定されない。

20

【 0 0 5 3 】

ここで使用する「処置」または「処置する」は、有益なまたは望ましい臨床結果を得るためのアプローチである。有益なまたは望ましい臨床結果は、次の疾患に起因する1以上の症状の軽減、疾患の程度の減少、疾患状態の軽減、疾患安定化(例えば、疾患の悪化または進行の予防または遅延)、疾患拡散(例えば、転移)の予防または遅延、疾患再発の予防または遅延、疾患の一部または完全寛解の提供、疾患処置に必要な1以上の他の投薬の用量の減少、患者のクオリティ・オブ・ライフ向上および/または生存延長の1以上を含むが、これらに限定されない。本発明の方法は、処置のこれら態様の何れか1以上を意図する。

30

【 0 0 5 4 】

ここに記載する種々の実施態様の性質の一つ、いくつかまたは全てを組み合わせ、本発明の他の実施態様を形成し得ることは理解される。本明細書のセクション表題は構成の目的のみであり、その下の主題を限定すると解釈してはならない。

【 0 0 5 5 】

I. IL - 12 プロドラッグ

本発明は、インビボで代謝されて活性IL - 12治療剤となるIL - 12プロドラッグを提供する。IL - 12プロドラッグは、先のIL - 12治療剤と比較して、副作用が少なく、良好なインビボPKプロファイル(例えば、長い半減期)および良好な標的特異性を有し、より効果的である。本IL - 12プロドラッグは、IL - 12アゴニストポリペプチド、少なくとも1個のマスキング部分(M)、担体(C)およびマスキング部分をアゴニストポリペプチドまたは担体に結合する1以上の開裂可能または非開裂可能ペプチドリンカーを含む。ある実施態様において、IL - 12プロドラッグは、IL - 12アゴニストポリペプチド、第一マスキング部分(M M 1)、第二マスキング部分(M M 2)、担体(C)およびマスキング部分をアゴニストポリペプチドまたは担体に結合する1以上の開裂可能または非開裂可能ペプチドリンカーを含む。

40

【 0 0 5 6 】

IL - 12はサブユニットp 40およびp 35を含む。サブユニットp 40は配列番号5に示すアミノ酸を含み、p 35は配列番号6に示すアミノ酸を含む。ある実施態様において、IL - 12アナログは、配列番号5と少なくとも90%同一であるアミノ酸を有す

50

るサブユニット p 4 0 を含む。他の実施態様において、I L - 1 2 アナログは、配列番号 6 と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸を有するサブユニット p 3 5 を含む。

【 0 0 5 7 】

ある実施態様において、I L - 1 2 プロドラッグは、少なくとも 1 個のマスキング部分を含む。マスキング部分は、ペプチドリンカーを介してサイトカイン部分または担体部分に結合し得る。ある実施態様において、ペプチドリンカーは開裂可能ペプチドリンカーである。ある実施態様において、開裂可能ペプチドリンカーは、概して腫瘍部位に見られるプロテアーゼの基質である 1 以上の開裂可能部分を含む。マスクは、マスクが結合している間、サイトカイン部分の生物学的機能を阻害する。特定の実施態様において、マスクは I L - 1 2 またはそのアナログの生物学的活性を阻害する。プロドラッグは、リンカーの切断および結果としてのプロドラッグからのサイトカインマスクの放出により患者の標的部位(例えば、腫瘍部位または周囲環境)で活性化され、先にマスクされていたサイトカイン部分を露出し、サイトカイン部分が標的細胞上のその受容体に結合し、標的細胞でその生物学的機能を発揮することを可能とする。

10

【 0 0 5 8 】

ある実施態様において、I L - 1 2 プロドラッグの担体は、標的部位(例えば、腫瘍表面)で抗原に結合する抗原結合部分である。ある実施態様において、本 I L - 1 2 プロドラッグは、担体により標的化される標的部位で体内で活性となるように代謝される。さらなる実施態様において、プロドラッグにおける担体は、I L - 1 2 プロドラッグが患者の腫瘍部位に送達され、サイトカインマスクを担体またはサイトカイン部分に連結するリンカーの切断を介して局所的に(例えば、腫瘍微小環境内または近辺で)代謝され、サイトカイン部分が標的細胞上のその受容体と相互作用し、局所的に標的免疫細胞を刺激できるように、腫瘍抗原をターゲティングする抗体である。

20

【 0 0 5 9 】

ある実施態様において、担体はアルブミン、F c フラグメント、ポリエチレングリコール(P E G)または抗体もしくはその抗原結合フラグメントから選択される。

【 0 0 6 0 】

A. I L - 1 2 プロドラッグのマスキング部分

ある実施態様において、I L - 1 2 に対するマスキング部分(M、M M 1 または M M 2)は、I L - 1 2 受容体ベータ 1 サブユニット細胞外ドメインまたはそのフラグメント、I L - 1 2 受容体ベータ 2 サブユニット細胞外ドメインまたはそのフラグメントおよび p 4 0 または p 3 5 に特異性を有する s c F v または F a b 由来である。ある実施態様において、マスキング部分は、I L - 1 2 またはそのアナログの生物学的活性を阻害する。ある実施態様において、マスキング部分は s c F v を含み、ここで、s c F v は配列番号 7 ~ 1 1 および 1 2 と少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を有する。ある実施態様において、マスキング部分は I L - 1 2 受容体細胞外ドメイン(E C D)またはその機能的アナログであり、ここで、I L - 1 2 受容体は I L - 1 2 受容体ベータ 1 である。ある実施態様において、マスキング部分は I L - 1 2 受容体細胞外ドメイン(E C D)、その機能的アナログまたはそのフラグメントであり、ここで、I L - 1 2 受容体は I L - 1 2 受容体ベータ 1 である。ある実施態様において、I L - 1 2 受容体ベータ 1 は配列番号 1 3 7 と少なくとも 9 5 % 同一であるアミノ酸配列を有する。ある実施態様において、プロドラッグは 2 個のマスキング部分 M M 1 および M M 2 を有し、ここで、マスキング部分の少なくとも 1 個は、p 4 0 または p 3 5 に結合し、I L - 1 2 の I L - 1 2 R₁ または I L - 1 2 R₂ への結合を低減または阻害する s c F v または F a b を含む。ある実施態様において、s c F v または F a b は、I L - 1 2 抗体プリアキヌマブまたはウステキヌマブと同じ軽鎖 C D R および重鎖 C D R を含む。ある実施態様において、s c F v または F a b は、P M A 2 0 4、抗体 1、抗体 5 0、抗体 6 8、抗体 8 0 および抗体 1 3 6 から選択される I L - 1 2 抗体と同じ軽鎖 C D R および重鎖 C D R を含む(米国特許 8, 5 6 3, 6 9 7 参照)。

30

40

【 0 0 6 1 】

50

ある実施態様において、両マスキング部分(MM1およびMM2)はscFvまたはFabであり、ここで、第一マスキング部分はp40に結合し、IL-12のIL-12R1への結合を低減または阻害し、第二マスキング部分はp40またはp35に結合し、IL-12のIL-12R2への結合を低減または阻害する。ある実施態様において、第一マスキング部分は、IL-12抗体ブリアキヌマブまたはウステキヌマブと同じ軽鎖CDRおよび重鎖CDRを含む。ある実施態様において、第二マスキング部分は、PMA204、抗体1、抗体50、抗体68、抗体80および抗体136から選択されるIL-12抗体と同じ軽鎖CDRおよび重鎖CDRを含む(米国特許8,563,697参照)。

【0062】

B. プロドラッグの担体部分

本プロドラッグの担体部分は、抗原結合部分または抗原結合ではない部分であり得る。担体部分は、サイトカインアゴニストポリペプチドの血清半減期などのPKプロファイルを改善でき、またサイトカインアゴニストポリペプチドを腫瘍部位など体内の標的部位に向け得る。

【0063】

1. 非抗原結合担体部分

非抗原結合担体部分を、本プロドラッグのために使用し得る。例えば、抗体Fcドメイン(例えば、ヒトIgG₁、IgG₂、IgG₃またはIgG₄-Fc)、ポリマー(例えば、PEG)、アルブミン(例えば、ヒトアルブミン)またはそのフラグメントまたはナノ粒子が使用され得る。

【0064】

プロドラッグの担体部分は、アルブミン(例えば、ヒト血清アルブミン)またはそのフラグメントを含み得る。ある実施態様において、アルブミンまたはアルブミンフラグメントは、ヒト血清アルブミンまたはそのフラグメントと約85%以上、約90%以上、約91%以上、約92%以上、約93%以上、約94%、約95%以上、約96%以上、約97%以上、約98%以上、約99%以上、約99.5%以上または約99.8%以上同一である。

【0065】

ある実施態様において、担体部分は、約10またはそれ以上、20またはそれ以上、30またはそれ以上、40またはそれ以上、50またはそれ以上、60またはそれ以上、70またはそれ以上、80またはそれ以上、90またはそれ以上、100またはそれ以上、120またはそれ以上、140またはそれ以上、160またはそれ以上、180またはそれ以上、200またはそれ以上、250またはそれ以上、300またはそれ以上、350またはそれ以上、400またはそれ以上、450またはそれ以上、500またはそれ以上または550またはそれ以上のアミノ酸長であるアルブミンフラグメント(例えば、ヒト血清アルブミンフラグメント)を含む。ある実施態様において、アルブミンフラグメントは、約10アミノ酸~約584アミノ酸長(例えば約10~約20、約20~約40、約40~約80、約80~約160、約160~約250、約250~約350、約350~約450または約450~約550アミノ酸長)である。ある実施態様において、アルブミンフラグメントは、Sudlow IドメインまたはそのフラグメントまたはSudlow IIドメインまたはフラグメントを含む。

【0066】

ある実施態様において、担体は抗体Fcフラグメントである。Fcは、2個のN末端および2個のC末端を有する二量体分子である。ある実施態様において、サイトカイン部分は、二量体Fcフラグメントの一方のFcポリペプチドに融合でき、マスキング部分は第二のFcポリペプチドに融合できる。好ましい実施態様において、サイトカイン部分およびマスキング部分両者は、二量体Fcフラグメントの各ポリペプチド鎖のC末端に融合される。ある実施態様において、サイトカイン部分およびマスキング部分両方は、二量体Fcフラグメントの各ポリペプチド鎖のN末端に融合される。いずれの場合も、マスキング部分の少なくとも1個は、Fcポリペプチドに直接的にまたは開裂可能ペプチドリンカー

10

20

30

40

50

を介して間接的に融合される。

【0067】

ある実施態様において、担体部分は第一および第二ポリペプチド鎖(すなわち、2個の異なる重鎖)を含むFcドメインであり、ここで、プロドラッグのポリペプチド鎖は、次のペアの一つから選択される分子式(N末端からC末端方向で)を含む。

a. F1 - PL1 - A - PL2 - B、F2 - CL1 - MM2 - CL2 - MM1(図1A)；
および

b. F1 - PL1 - B - PL2 - A、F2 - CL1 - MM1 - CL2 - MM2(図1B)；
ここで、F1およびF2はヘテロ二量体を形成する担体部分(例えば、Fcドメイン)のサブユニットであり；PL1およびPL2はペプチドリンカーであり；CL1およびCL2は開裂可能ペプチドリンカーであり；MM1は、p40に結合し、IL-12のIL-12R₁への結合を低減または阻害する第一マスキング部分であり；MM2は、p35および/またはp40に結合し、IL-12のIL-12R₂₁への結合を低減または阻害する第二マスキング部分であり；AはIL-12 p35サブユニットであり；そしてBはIL-12 p40サブユニットである。

10

【0068】

ある実施態様において、担体部分は第一および第二ポリペプチド鎖(すなわち、2個の異なる重鎖)を含むFcドメインであり、ここで、プロドラッグのポリペプチド鎖は、次のペアの一つから選択される分子式(N末端からC末端方向で)を含む。

a. F1 - PL1 - A - PL2 - B、F2 - PL3 - MM2 - CL - MM1(図2A)；
および

b. F1 - PL1 - B - PL2 - A、F2 - PL3 - MM1 - CL - MM2(図2B)；
ここで、F1およびF2はヘテロ二量体を形成する担体部分(例えば、Fcドメイン)のサブユニットであり；PL1、PL2およびPL3はペプチドリンカーであり；CLは開裂可能ペプチドリンカーであり；MM1は、p40に結合し、IL-12のIL-12R₁への結合を低減または阻害する第一マスキング部分であり；MM2は、p35および/またはp40に結合し、IL-12のIL-12R₂₁への結合を低減または阻害する第二マスキング部分であり；AはIL-12 p35サブユニットであり；そしてBはIL-12 p40サブユニットである。

20

【0069】

ある実施態様において、担体部分は第一および第二ポリペプチド鎖(すなわち、2個の異なる重鎖)を含むFcドメインであり、ここで、プロドラッグのポリペプチド鎖は、次のペアの一つから選択される分子式(N末端からC末端方向で)を含む。

a. F1 - PL1 - A - CL1 - MM2、F2 - PL2 - B - CL2 - MM1(図3A)；
および

b. F1 - PL1 - A - CL1 - MM1、F2 - PL2 - B - CL2 - MM2(図3B)；
ここで、F1およびF2はヘテロ二量体を形成する担体部分(例えば、Fcドメイン)のサブユニットであり；PL1およびPL2はペプチドリンカーであり；CL1およびCL2は開裂可能ペプチドリンカーであり；MM1は、p40に結合し、IL-12のIL-12R₁への結合を低減または阻害する第一マスキング部分であり；MM2は、p35および/またはp40に結合し、IL-12のIL-12R₂₁への結合を低減または阻害する第二マスキング部分であり；AはIL-12 p35サブユニットであり；そしてBはIL-12 p40サブユニットである。

30

40

【0070】

ある実施態様において、担体部分は第一および第二ポリペプチド鎖(すなわち、2個の異なる重鎖)を含むFcドメインであり、ここで、プロドラッグのポリペプチド鎖は、次のペアの一つから選択される分子式(N末端からC末端方向で)を含む。

a. F1 - PL1 - A - CL - MM2、F2 - PL2 - B - PL3 - MM1(図4A)；
および

b. F1 - PL1 - A - PL2 - MM1、F2 - PL3 - B - CL - MM2(図4B)；

50

ここで、F 1 および F 2 はヘテロ二量体を形成する担体部分(例えば、F c ドメイン)のサブユニットであり；P L 1、P L 2 および P L 3 はペプチドリンカーであり；C L は開裂可能ペプチドリンカーであり；M M 1 は、p 4 0 に結合し、I L - 1 2 の I L - 1 2 R 1 への結合を低減または阻害する第一マスキング部分であり；M M 2 は、p 3 5 および / または p 4 0 に結合し、I L - 1 2 の I L - 1 2 R 2 1 への結合を低減または阻害する第二マスキング部分であり；A は I L - 1 2 p 3 5 サブユニットであり；そして B は I L - 1 2 p 4 0 サブユニットである。

【 0 0 7 1 】

ある実施態様において、担体部分は第一および第二ポリペプチド鎖(すなわち、2 個の異なる重鎖)を含む F c ドメインであり、ここで、プロドラッグのポリペプチド鎖は、次のペアの一つから選択される分子式(N 末端から C 末端方向で)を含む。

10

- a. F 1 - P L 1 - A - P L 2 - B、F 2 - C L - M(図 5 A)；および
b. F 1 - P L 1 - B - P L 2 - A、F 2 - C L - M(図 5 B)；

ここで、F 1 および F 2 はヘテロ二量体を形成する担体部分(例えば、F c ドメイン)のサブユニットであり；P L 1 および P L 2 はペプチドリンカーであり；C L は開裂可能ペプチドリンカーであり；M は p 4 0 に結合し、I L - 1 2 の I L - 1 2 R 1 への結合を低減または阻害するマスキング部分であり；A は I L - 1 2 p 3 5 サブユニットであり；そして B は I L - 1 2 p 4 0 サブユニットである。

【 0 0 7 2 】

ある実施態様において、担体部分は第一および第二ポリペプチド鎖(すなわち、2 個の異なる重鎖)を含む F c ドメインであり、ここで、プロドラッグのポリペプチド鎖は、次のペアの一つから選択される分子式(N 末端から C 末端方向で)を含む。

20

- a. F 1 - P L 1 - A - P L 2 - M、F 2 - P L 3 - B(図 6 A)；および
b. F 1 - P L 1 - B - P L 2 - A、F 2 - P L 3 - M(図 6 B)；

ここで、F 1 および F 2 はヘテロ二量体を形成する担体部分(例えば、F c ドメイン)のサブユニットであり；P L 1、P L 2 および P L 3 はペプチドリンカーであり；M は p 4 0 に結合し、I L - 1 2 の I L - 1 2 R 1 への結合を低減または阻害するマスキング部分であり；A は I L - 1 2 p 3 5 サブユニットであり；そして B は I L - 1 2 p 4 0 サブユニットである。

【 0 0 7 3 】

ある実施態様において、担体部分は第一および第二ポリペプチド鎖(すなわち、2 個の異なる重鎖)を含む F c ドメインであり、ここで、プロドラッグのポリペプチド鎖は、次のペアの一つから選択される分子式(N 末端から C 末端方向で)を含む。

30

- a. F 1 - P L 1 - M、F 2 - P L 2 - A - S S - B(図 7 A)；および
b. F 1 - C L - M、F 2 - P L 1 - A - S S - B(図 7 B)；

ここで、F 1 および F 2 はヘテロ二量体を形成する担体部分(例えば、F c ドメイン)のサブユニットであり；P L 1 および P L 2 はペプチドリンカーであり；M は p 4 0 に結合し、I L - 1 2 の I L - 1 2 R 1 への結合を低減または阻害するマスキング部分であり；C L は開裂可能ペプチドリンカーであり；A は I L - 1 2 p 3 5 サブユニットであり；そして B は I L - 1 2 p 4 0 サブユニットであり；そして S S はジスルフィド結合である。

40

【 0 0 7 4 】

2. 抗原結合担体部分

担体部分は、抗体またはその抗原結合フラグメントまたはイムノアドヘシンであり得る。ある実施態様において、抗原結合部分は、2 個の重鎖および 2 個の軽鎖を有する完全長抗体、F a b フラグメント、F a b ' フラグメント、F (a b ₂) フラグメント、F v フラグメント、ジスルフィド結合 F v フラグメント、単一ドメイン抗体、ナノボディまたは一本鎖可変フラグメント(s c F v)である。ある実施態様において、抗原結合部分は二特異的抗原結合部分であり、2 個の異なる抗原または同じ抗原の 2 個の異なるエピトープに結合し得る。抗原結合部分は、サイトカインアゴニストポリペプチドにさらなるそしておそ

50

らく相乗的治療有効性を提供し得る。ある実施態様において、抗原結合部分は完全長抗体重鎖または完全長抗体軽鎖を含む。ある実施態様において、抗原結合部分は抗体重鎖フラグメントまたは抗体軽鎖フラグメントを含む。

【0075】

ある実施態様において、サイトカイン部分は抗体の重鎖の一方のC末端に融合し、サイトカインのマスクはペプチドリンカー(所望により開裂可能リンカー)を介して抗体の他方の重鎖のC末端に融合し、ここで、2個の重鎖は、所望により2個の異なる重鎖の特異的対合を可能とする変異を含む。

【0076】

Fc融合ポリペプチドのヘテロ二量体または二特異的抗体を形成する戦略は周知である(例えば、Spies et al., *Mol Imm.* (2015) 67(2)(A):95-106参照)。例えば、プロドラッグの2個の重鎖ポリペプチドは、「ノブ・イントゥ・ホール」変異を介して安定なヘテロ二量体を形成し得る。「ノブ・イントゥ・ホール」変異は抗体重鎖のヘテロ二量体の形成を促進するために形成され、二特異的抗体の形成に一般に使用される(例えば、米国特許8,642,745参照)。例えば、抗体のFcドメインは、「ノブ鎖」のCH3ドメインにT366W変異および「ホール鎖」のCH3ドメインにT366S、L368Aおよび/またはY407V変異を含み得る。CH3ドメイン間のさらなる鎖間ジスルフィド架橋も、例えば、「ノブ鎖」のCH3ドメインにY349C変異および「ホール鎖」のCH3ドメインにE356CまたはS354C変異を導入することにより、使用できる(例えば、Merchant et al., *Nature Biotech.* (1998) 16:677-81参照)。他の実施態様において、抗体部分は、2個のCH3ドメインの一方にY349Cおよび/またはT366W変異および他方のCH3ドメインにE356C、T366S、L368Aおよび/またはY407V変異を含み得る。ある実施態様において、抗体部分は、2個のCH3ドメインの一方にY349Cおよび/またはT366W変異および他方のCH3ドメインにS354C(またはE356C)、T366S、L368Aおよび/またはY407V変異を含み得て、CH3ドメインの一方におけるY349C変異および他方のCH3ドメインにおけるさらなるE356CまたはS354C変異を有し、鎖間ジスルフィド架橋を形成する(ナンバリングは常にKabatのEUインデックスに従う; Kabat et al., "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))。EP1870459A1に記載されているような他のノブ・イントゥ・ホールテクノロジーを、これとは別にまたはこれに加えて使用し得る。また、抗体部分のノブ・イントゥ・ホール変異の他の例は、「ノブ鎖」にCH3ドメインにR409D/K370E変異および「ホール鎖」にCH3ドメインにD399K/E357K変異を持つものである(EUナンバリング)。

【0077】

ある実施態様において、プロドラッグにおける抗体部分は、そのFcドメインにL234AおよびL235A(「LALA」)変異を含む。LALA変異は、補体結合および固定ならびにFc依存性ADCCを排除する(例えば、Hezareh et al. *J. Virol.* (2001) 75(24):12161-8参照)。さらなる実施態様において、LALA変異は、ノブ・イントゥ・ホール変異に加えて抗体部分に存在する。

【0078】

ある実施態様において、抗体部分は、FcドメインにM252Y/S254T/T256E(「YTE」)変異を含む。YTE変異は、血清半減期、組織分布およびIgG₁活性の同時調節を可能とする(Dall'Acqua et al., *J Biol Chem.* (2006) 281: 23514-24; and Robbie et al., *Antimicrob Agents Chemother.* (2013) 57(12):6147-53参照)。さらなる実施態様において、YTE変異は、ノブ・イントゥ・ホール変異に加えて抗体部分に存在する。具体的実施態様において、抗体部分は、YTE、LALAおよびノブ・イントゥ・ホール変異またはそれらの何れかの組み合わせを有する。

【0079】

ある実施態様において、抗体はPD-L1に結合する。ある実施態様において、抗体は

10

20

30

40

50

C E Aに結合する。ある実施態様において、抗体は腫瘍細胞の抗原、例えば、5 T 4、F A P、T r o p - 2、P D - L 1、H E R - 2、E G F R、クローディン1 8.2、D L L - 3、G C P 3およびC E Aに結合する。抗体は抗体依存性細胞傷害(A D C C)活性を有しても有していなくてもよい。抗体をさらに細胞毒性薬物ともコンジュゲートし得る。ある実施態様において、抗体、例えば、P D - 1抗体、L A G 3抗体、T I G I T抗体、T G F - ベータ抗体およびC T L A 4抗体は免疫細胞表面の標的に結合し、該免疫細胞を活性化し、その抗癌活性を増強する能力を有する。

【0080】

抗原結合部分は、癌細胞などの細胞の表面上の抗原に結合できる。ある実施態様において、抗原結合部分は二特異的抗原結合部分であり、2個の異なる抗原または同じ抗原の2個の異なるエピトープに結合できる。ある実施態様において、抗原結合部分はグアニル酸シクラーゼC(G C C)、炭水化物抗原19-9(C A 19-9)、糖タンパク質A33(gp A 33)、ムチン1(M U C 1)、癌胎児性抗原(C E A)、インシュリン様増殖因子1受容体(I G F 1 - R)、ヒト上皮細胞増殖因子受容体2(H E R 2)、ヒト上皮細胞増殖因子受容体3(H E R 3)、デルタ様タンパク質3(D L L 3)、デルタ様タンパク質4(D L L 4)、上皮細胞増殖因子受容体(E G F R)、グリピカン-3(G P C 3)、c - M E T、血管内皮細胞増殖因子受容体1(V E G F R 1)、血管内皮細胞増殖因子受容体2(V E G F R 2)、ネクチン-4、L i v - 1、糖タンパク質N M B(G P N M B)、前立腺特異的膜抗原(P S M A)、T r o p - 2、炭酸脱水酵素IX(C A 9)、エンドセリンB受容体(E T B R)、トムゼン・フリーデンライヒ抗原(T F)、ナトリウム依存的リン酸輸送タンパク質2 B(N a P i 2 b)、前立腺の6膜貫通上皮抗原1(S T E A P 1)、葉酸受容体アルファ(F R -)、S L I TおよびN T R K様タンパク質6(S L I T R K 6)、炭酸脱水酵素VI(C A 6)、エクトヌクレオチドピロホスファターゼ/ホスホジエステラーゼファミリーメンバー3(E N P P 3)、メソテリン、栄養芽細胞糖タンパク質(T P B G)、C D 19、C D 20、C D 22、C D 33、C D 40、C D 56、C D 66 e、C D 70、C D 74、C D 79 b、C D 98、C D 123、C D 138、C D 352、プログラム死リガンド1(P D - L 1)、クローディン1 8.2、クローディン6、P S M AまたはF A P - アルファに結合する。ある実施態様において、抗原結合部分はD L L 3の上皮細胞増殖因子(E G F)様ドメインに結合する。ある実施態様において、抗原結合部分はD L L 3のデルタノセラートノL a g 2(D S L)様ドメインに結合する。ある実施態様において、抗原結合部分は、G P C 3の374番目のアミノ酸後に位置するエピトープに結合する。ある実施態様において、抗原結合部分は、G P C 3のヘパリン硫酸グリカンに結合する。ある実施態様において、抗原結合部分はクローディン1 8.2に結合し、クローディン1 8.1に結合しない。ある実施態様において、抗原結合部分は、クローディン1 8.2より少なくとも10倍弱い結合親和性でクローディン1 8.1に結合する。

【0081】

抗原結合部分は、免疫細胞、例えばT細胞、NK細胞およびマクロファージなどの細胞表面の抗原に結合できる。ある実施態様において、抗原結合部分は二特異的抗原結合部分であり、2個の異なる抗原または同じ抗原の2個の異なるエピトープに結合できる。ある実施態様において、抗原結合部分は、P D - 1、L A G - 3、T I M - 3、C T L A - 4またはT G F - ベータに結合する。

【0082】

ある実施態様において、抗原結合部分(担体部分)は、P D - 1に結合し、P D - 1とそのリガンド(P D - L 1)の間の相互作用を妨害し、抗腫瘍免疫応答を刺激することが当分野で知られる抗体またはそのフラグメントを含む。ある実施態様において、抗体またはその抗原結合部分は、P D - 1に特異的に結合する。例えば、P D - 1を標的とし、本発明において有用であり得る抗体は、ニボルマブ(BMS-936558、Bristol-Myers Squibb)、ペムプロリズマブ(ランプロリズマブ、M K 0 3 4 7 5またはM K - 3 4 7 5、Merck)、ヒト化抗P D - 1抗体J S 0 0 1(ShangHai JunShi)、モノクローナル抗P D - 1抗体T S R - 0 4 2(Tesaro, Inc.)、ピディリズマブ(抗P D - 1 m A b C T - 0

11、Medivation)、抗PD-1モノクローナル抗体BGB-A317(BeiGene)および/または抗PD-1抗体SHR-1210(ShangHai HengRui)、ヒトモノクローナル抗体REGN2810(Regeneron)、ヒトモノクローナル抗体MDX-1106(Bristol-Myers Squibb)および/またはヒト化抗PD-1 IgG4抗体PDR001(Novartis)を含むが、これらに限定されない。ある実施態様において、PD-1抗体は、クローン：RMP1-14(ラットIgG)-BioXcell cat# BP0146からである。他の適当な抗PD-1抗体は、米国特許8,008,449に開示のものを含む。ある実施態様において、抗体またはその抗原結合部分はPD-L1に特異的に結合し、PD-1との相互作用を阻害し、それにより免疫活性を増加させる。PD-L1に結合し、PD-1とPD-L1の間の相互作用を妨害し、抗腫瘍免疫応答を刺激する当分野で知られるあらゆる抗体が、ここに開示する組み合わせ処置方法における使用に適する。例として、PD-L1を標的とする抗体は、BMS-936559(Bristol-Myers Squibb)およびMPDL3280A(Genentech; 現在ヒトで治験中)を含む。他の適当なPD-L1を標的とする抗体は、米国特許7,943,743に開示される。PD-1またはPD-L1に結合し、PD-1/PD-L1相互作用を妨害し、抗腫瘍免疫応答を刺激するあらゆる抗体がここに開示する組み合わせ処置方法に適することは、当業者により理解される。

10

【0083】

ある実施態様において、担体は、ASKB1296、アベルマブ、アテゾリズマブおよびデュルバルマブから選択されるヒトPD-L1に対する抗体である。

【0084】

抗原結合部分の例は、トラスツズマブ、リツキシマブ、プレントキシマブ、セツキシマブ、パニツムマブ、GC33(またはそのヒト化型)、抗EGFR抗体mAb806(またはそのヒト化型)、抗FAP-アルファ抗体シプロツズマブ(BIBH1)およびそのフラグメントを含む。ある実施態様において、抗原結合部分は、トラスツズマブ、リツキシマブ、プレントキシマブ、セツキシマブまたはパニツムマブ、GC33(またはそのヒト化型)、抗EGFR抗体mAb806(またはそのヒト化型)、シプロツズマブ(BIBH1)またはそのフラグメントに少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一性を有する。ある実施態様において、抗原結合部分は、トラスツズマブ、リツキシマブ、プレントキシマブ、セツキシマブ、パニツムマブ、GC33(またはそのヒト化型)、抗EGFR抗体mAb806(またはそのヒト化型)、シプロツズマブ(BIBH1)またはそのフラグメントの抗体重鎖と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一性を有する抗体重鎖を有する。ある実施態様において、抗原結合部分は、トラスツズマブ、リツキシマブ、プレントキシマブ、セツキシマブ、パニツムマブ、GC33(またはそのヒト化型)、抗EGFR抗体mAb806(またはそのヒト化型)、シプロツズマブ(BIBH1)またはそのフラグメントの抗体軽鎖と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一性を有する抗体軽鎖を有する。

20

30

【0085】

ある実施態様において、抗原結合部分は、トラスツズマブ、リツキシマブ、プレントキシマブ、セツキシマブ、パニツムマブ、GC33、抗EGFR抗体mAb806またはシプロツズマブ(BIBH1)の6個の相補性決定領域(CDR)を含む。いくつかのCDR線引きが当分野で知られ、本明細書に包含させる。当業者は、重鎖または軽鎖可変領域の配列に基づき、ある線引きでのCDRを容易に決定できる。「Kabat」相補性決定領域(CDR)は配列可変性に基づき、最も一般的に使用される(Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))。「Chothia」CDRは、構造ループの位置を参照する(Chothia & Lesk, J. Mol. Biol. (1987) 196:901-917)。「AbM」CDRは、Kabat CDRとChothia構造ループの間の妥協点を表し、Oxford Molecular's AbM抗体モデリングソフトウェアで使用される。「Contact」CDR

40

50

ある実施態様において、IL-12プロドラッグは抗原結合部分を含む担体を含み、ここで、該抗原結合部分はEGFRタイプIIIに結合する。ある実施態様において、該IL-12プロドラッグを、神経膠芽腫および結腸癌を有する患者の処置に使用する。

【0091】

ある実施態様において、IL-12プロドラッグを、PD-1抗体またはPD-1抗体そのフラグメントなどの免疫チェックポイント遮断と組み合わせて使用する。

【0092】

C. プロドラッグのリンカー成分

IL-12アゴニストポリペプチドを、ペプチドリッカーを用いてまたは用いずに担体部分に融合し得る。ペプチドリッカーは非開裂可能であり得る。ある実施態様において、ペプチドリッカーは配列番号29~33から選択される。

【0093】

IL-12マスクは、非開裂可能リンカーまたは開裂可能リンカーを介して、サイトカイン部分、担体または他のマスクに融合され得る。開裂可能リンカーは、1以上の(例えば、2個または3個の)開裂可能部分(CM)を含み得る。各CMは、レグマイン、プラスミン、TMPRSS-3/4、MMP2、MMP9、MT1-MMP、カテプシン、カスパーゼ、ヒト好中球エラスターゼ、ベータ-セクレターゼ、uPAおよびPSAから選択される酵素またはプロテアーゼの基質であり得る。開裂可能リンカーの例は、配列番号34~54から選択されるアミノ酸配列を含むものを含むが、これらに限定されない。

【0094】

D. さらなるエフェクターポリペプチドを有するIL-12プロドラッグ

1. IL-2アゴニストポリペプチド

ある実施態様において、本発明のIL-12プロドラッグは、さらに他のサイトカインまたはエフェクター部分を含む。ある実施態様において、第二サイトカイン部分は、IL-2アゴニストポリペプチドを含む。

【0095】

ある実施態様において、プロドラッグにおけるIL-2アゴニストポリペプチドは、配列番号1と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%または100%同一のアミノ酸配列を含む。ある実施態様において、IL-2アゴニストポリペプチドは、高親和性三量体IL-2受容体に対する親和性を顕著に低減させる変異を含む。高親和性三量体IL-2受容体はアルファ、ベータおよびガンマIL-2受容体サブユニットを含む。所望により、IL-2アゴニストポリペプチドは、さらに、IL-2受容体ベータおよびガンマサブユニットを含む中間親和性IL-2受容体に対する結合親和性を顕著に低減させる変異を含む。ある実施態様において、IL-2アゴニストポリペプチドは、配列番号1のアミノ酸配列を有するヒトIL-2のナンバリングに従い、残基R38、F42、F44、Y45、E62、E68、L72およびA73に1以上の変異を含む。ある実施態様において、IL-2アゴニストポリペプチドさらには、配列番号1のアミノ酸配列を有するヒトIL-2のナンバリングに従い、残基D20、N88、N90およびQ126に1以上の変異を含む。残基T3および/またはC125のさらなる変異は、所望により含まれる。

【0096】

ある実施態様において、IL-2プロドラッグのIL-2アゴニストポリペプチドは残基F42N/F44T、A73Tおよび/またはN90Tに変異を含み、ここで、変異は配列番号1のアミノ酸配列を有するヒトIL-2のナンバリングに従い記載する。

【0097】

ある実施態様において、IL-2プロドラッグのIL-2アゴニストポリペプチドは、次の組み合わせ

T3A、R38A、F42I、Y45N、E62L、E68V、C125S；

T3A、R38K、F42K、Y45R、E62L、E68V、C125S；

T3A、R38A、F42A、Y45A、E62A、C125S；

10

20

30

40

50

T 3 A、R 3 8 S、F 4 2 A、Y 4 5 A、E 6 2 A、C 1 2 5 S ; または
R 3 8 S、F 4 2 A、Y 4 5 A、E 6 2 A ; および
の一つから選択される変異を含み、ここで、該変異は配列番号 1 のアミノ酸配列を有する
ヒト IL - 2 のナンバリングに従い記載する。

【 0 0 9 8 】

ある実施態様において、IL - 2 アゴニストポリペプチドは、野生型 IL - 2 と比較し
て、アルファ、ベータおよびガンマサブユニットを含む高親和性三量体 IL - 2 受容体へ
の結合の親和性が少なくとも 3 0 倍低く ; ここで、ポリペプチドは、配列番号 1 のアミノ
酸配列を有するヒト IL - 2 のナンバリングに従い、R 3 8、F 4 2、Y 4 5、E 6 2、
E 6 8 および L 7 2 に 1 以上の変異を含み、ここで、変異は配列番号 1 のアミノ酸配列を
有するヒト IL - 2 のナンバリングに従い記載する。ある実施態様において、IL - 2 の
アゴニストポリペプチドは、さらに、配列番号 1 のアミノ酸配列を有するヒト IL - 2 の
ナンバリングに従い、残基 A 3、D 2 0、N 8 8、C 1 2 5 および / または Q 1 2 6 に 1
以上の変異を含む。

10

【 0 0 9 9 】

ある実施態様において、IL - 2 アゴニストペプチドは配列番号 7 4 および 7 5 から選
択されるアミノ酸配列を含む。

【 0 1 0 0 】

2. IL - 1 5 アゴニストポリペプチド

ある実施態様において、本発明の IL - 1 2 プロドラッグは、さらに他のサイトカイン
またはエフェクター部分を含む。ある実施態様において、第二サイトカイン部分は IL -
1 5 アゴニストポリペプチドを含む。ある実施態様において、IL - 1 5 アゴニストポリ
ペプチドは、所望により IL - 1 5 受容体アルファサブユニットの S u s h i ドメインを
含み得る。

20

【 0 1 0 1 】

ある実施態様において、IL - 1 5 部分は、ヒト IL - 1 5 の N 1、N 4、I 6、S 7
、D 8、K 1 0、K 1 1、E 4 6、D 6 1、T 6 2、E 6 4、N 6 5、I 6 8、L 6 9、
N 7 2、V 6 3、L 6 6、I 6 7、A 7 0、N 7 1、Q 1 0 8、N 1 1 2 から選択される
位置に少なくとも 1、2、3、4 または 5 変異含む IL - 1 5 ムテインである。IL - 1
5 ムテインの例は、N 1 A、N 1 D、N 4 A、N 4 D、I 6 T、S 7 A、D 8 A、D A T
、D 8 E、D 8 N、K 1 0 A、K 1 0 D、K 1 1 A、K 1 1 D、D 6 1 A、D 6 1 N、T
6 2 L、T 6 2 A、E 6 4 A、E 6 4 L、E 6 4 K、E 6 4 Q、N 6 5 A、N 6 5 L、N
6 5 D、L 6 6 D、L 6 6 E、I 6 7 D、I 6 7 E、I 6 8 S、I 6 8 E、L 6 9 S、L
6 9 E、N 7 2 A、N 7 2 D、V 6 3 E、V 6 3 D、L 6 6 E、L 6 6 D、I 6 7 E、I
6 7 D、Q 1 0 8 E および N 1 1 2 A から選択される 1 以上の変異を有するものである。
ある実施態様において、IL - 1 5 部分は、E 4 6、V 4 9、L 4 5、S 5 1 および L 5
2 から選択される位置に変異を含む。特に断らない限り、ここに記載する IL - 1 5 およ
び IL - 1 5 ムテインの全残基番号は、配列番号 4 のナンバリングに従う。他の実施態様
において、IL - 1 5 部分は、配列番号 4 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %
、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % または 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む

30

40

【 0 1 0 2 】

具体的実施態様において、IL - 1 5 ムテインは、N 1 D / D 6 1 N、N 1 D / E 6 4
Q、N 4 D / D 6 1 N、N 4 D / E 6 4 Q、D 8 N / D 6 1 N、D 8 N / E 6 4 Q、D 3
0 N / E 6 4 Q / N 6 5 D、D 6 1 N / E 6 4 Q、E 6 4 Q / Q 1 0 8 E、N 1 D / N 4
D / D 8 N、D 6 1 N / E 6 4 Q / N 6 5 D、N 1 D / D 6 1 N / E 6 4 Q、N 1 D / D
6 1 N / E 6 4 Q / Q 1 0 8 E および N 4 D / D 6 1 N / E 6 4 Q / Q 1 0 8 E から選
択される変異を含む。

【 0 1 0 3 】

ある実施態様において、本 IL - 1 5 プロドラッグは、IL - 1 5 R S u s h i ド

50

メインを含む。S u s h iドメインは、担体に直接または所望によりリンカー(例えば、非開裂可能または開裂可能ペプチドリンカー)を介してI L - 1 5 サイトカイン部分に融合し得る。マスキング部分は、開裂可能または非開裂可能ペプチドリンカーを介してS u s h iドメインまたは担体に融合し得る。特定の実施態様において、S u s h iドメインは担体に融合し、サイトカイン部分はペプチドリンカーを介してS u s h iドメインに融合する。

【0104】

3. I L - 2 / I L - 1 5 マスキング部分

ある実施態様において、ここに開示するさらなるサイトカイン部分のマスキング部分は、I L - 2 受容体ベータサブユニットの可溶性細胞外ドメイン、I L - 2 受容体ベータおよびガンマサブユニット融合体タンパク質もしくは複合体の可溶性細胞外ドメインのペプチド、単量体または二量体またはI L - 2 またはI L - 1 5 に結合し、I L - 2、I L - 2 ムテインまたはI L - 1 5 の二量体I L - 2 受容体への結合を妨害する抗体を含む。ある実施態様において、I L - 2 マスキング部分は、I L - 2 またはI L - 1 5 の生物学的活性も阻害または低減する。ある実施態様において、I L - 2 マスキング部分は、スクリーニングを介してペプチドライブラリーから同定されたペプチドである。ある実施態様において、I L - 2 マスキング部分はI L - 2 またはI L - 2 変異体のI L - 2 受容体への結合を遮断する抗体またはそのフラグメントである。ある実施態様において、I L - 2 マスキング部分は、ハイブリドーマクローン4 E 1 2 B 2 D 1 0、4 E 1 2 B 2 および4 E 1 2 から選択される抗体と同じC D Rドメイン配列を有するs c F v、F a bまたは一本鎖F a bである。

10

20

【0105】

II. I L - 1 2 プロドラッグの例

ある実施態様において、I L - 1 2 プロドラッグは抗体またはF cドメインおよびI L - 1 2 アゴニストポリペプチドを含み、ここで、I L - 1 2 アゴニストポリペプチドは、所望によりペプチドリンカーを介して抗体重鎖またはF cドメインのF cポリペプチド鎖の一方のC末端に融合し；ここで、該I L - 1 2 マスキング部分は、開裂可能ペプチドリンカーを介して、第二重鎖またはF cポリペプチド鎖のC末端に融合する。プロドラッグの例は図1 A、1 B、2 A、2 B、3 A、3 B、4 A、4 B、5 A、5 B、6 A、6 B、7 Aおよび7 Bに示される。全てのプロドラッグは、サイトカイン成分p 3 5 およびp 4 0 ならびにF cドメインのC末端に位置するマスキング部分を有する。ある実施態様において、サイトカイン成分p 3 5 およびp 4 0 およびマスキング部分はF cドメインのN末端に位置する。さらに、プロドラッグは、I L - 1 2 およびI L - 2 アゴニストポリペプチド両方またはI L - 1 2 およびI L - 1 5 アゴニストポリペプチド両方を含み得る。

30

【0106】

例として、I L - 1 2 プロドラッグは2個のポリペプチド鎖を含み、ここで、第一ポリペプチド鎖は配列番号20に少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含み；そして第二ポリペプチド鎖は配列番号21~28から選択されるものと少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。

【0107】

他の例として、I L - 1 2 プロドラッグは2個のポリペプチド鎖を含み、ここで、第一ポリペプチド鎖は配列番号55に少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含み；そして該第二ポリペプチド鎖は配列番号56~59から選択されるものと少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。

40

【0108】

他の例として、I L - 1 2 プロドラッグは2個のポリペプチド鎖を含み、ここで、第一ポリペプチド鎖は配列番号60に少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含み；そして第二ポリペプチド鎖は配列番号61~64から選択されるものと少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。

【0109】

50

他の例として、I L - 1 2 プロドラッグは 2 個のポリペプチド鎖を含み、ここで、第一ポリペプチド鎖は配列番号 6 5 に少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含み；そして第二ポリペプチド鎖は配列番号 6 6 ~ 7 3 から選択されるものと少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む。

【 0 1 1 0 】

他の例として、I L - 1 2 プロドラッグは 2 個のポリペプチド鎖を含み、ここで、第一ポリペプチド鎖は配列番号 2 0 に少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含み；そして第二ポリペプチド鎖は配列番号 7 6 ~ 7 9 から選択されるものと少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む。

【 0 1 1 1 】

第二サイトカインまたはエフェクター部分をさらに含むプロドラッグにおけるある実施態様において、第二サイトカイン部分は配列番号 7 4 および 7 5 から選択されるアミノ酸配列を有するもののような I L - 2 アゴニストポリペプチドである。例として、図 1 A ~ 7 B に示すとおり、第二サイトカインは F c ドメインポリペプチドの一方の N 末端に融合でき、一方 I L - 1 2 アゴニストポリペプチドおよびマスキング部分は F c ドメインの C 末端に融合する。ある実施態様において、I L - 1 2 プロドラッグは、さらに第二サイトカインに結合し、生物学的活性を阻害する 1 以上のマスキング部分を含み得る。

【 0 1 1 2 】

III. 医薬組成物

プロドラッグの医薬組成物は、望ましい純度を有するここに開示するプロドラッグまたは抗体融合分子または抗体融合分子薬物コンジュゲートと、1 以上の任意の薬学的に許容される担体の混合により、凍結乾燥製剤または水溶液の形態で調製される (Osol, A. Ed. Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition (1980) 参照)。薬学的に許容される担体は、一般に用いる投与量および濃度でレシピエントに非毒性であり、リン酸、クエン酸および他の有機酸などの緩衝液；アスコルビン酸およびメチオニンを含む抗酸化剤；防腐剤 (例えばオクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロライド；ヘキサメトニウムクロライド；塩化ベンザルコニウム；ベンゼトニウムクロライド；フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール；メチルまたはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3 - ペンタノール；および m - クレゾール)；低分子量 (約 1 0 残基未満) ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニンまたはリシンなどのアミノ酸；グルコース、マンノースまたはデキストリンを含む単糖、二糖および他の炭水化物；E D T A などのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトールなどの糖；ナトリウムなどの塩形成カウンターイオン；金属錯体 (例えば Z n - タンパク質錯体)；および / またはポリエチレングリコール (P E G) などの非イオン性界面活性剤を含むが、これらに限定されない。

【 0 1 1 3 】

緩衝液は、特に安定性が p H 依存性であるとき、治療有効性を最適にする範囲に p H を制御するために使用する。緩衝液は、好ましくは約 5 0 m M ~ 約 2 5 0 m M の範囲の濃度で存在する。本発明で使用するのに適する緩衝剤は、有機および無機両方の酸およびその塩、例えば、クエン酸塩、リン酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩、グルコン酸塩、シュウ酸塩、乳酸塩、酢酸塩を含む。さらに、緩衝液はヒスチジンおよび T r i s などのトリメチルアミン塩を含み得る。

【 0 1 1 4 】

防腐剤は微生物増殖を遅延するために加えられ、概して 0 . 2 % ~ 1 . 0 % (w / v) の範囲で存在する。本発明で使用するのに適する防腐剤は、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロライド；ヘキサメトニウムクロライド；ベンザルコニウムクロライド (例えば、クロライド、プロマイド、アイオダイド)、ベンゼトニウムクロライド；チメロサル、フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール；メチルまたはプロピルパラベンなど

10

20

30

40

50

のアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール、3 - ペンタノールおよびm - クレゾールを含む。

【0115】

等張化剤は、「安定化剤」として知られることもあり、組成物の液体の張性を調節または維持するために存在する。タンパク質および抗体などの大型荷電生体分子と使用するとき、アミノ酸側鎖の荷電基と相互作用し、それにより分子間および分子内相互作用の可能性を低減することができるため、しばしば「安定化剤」と称される。等張化剤は、他の成分の相対量を考慮して、0.1%～25重量%またはそれ以上、好ましくは1%～5重量%の間の両で存在し得る。好ましい等張化剤は、グリセリン、エリトリトール、アラビトール、キシリトール、ソルビトールおよびマンニトールなどの多価糖アルコール、好ましくは三価または高級糖アルコールを含む。

10

【0116】

非イオン性界面活性剤またはデタージェント(「湿潤剤としても知られる」)は、治療剤の可溶化を助け、治療タンパク質を攪拌誘導凝集から保護するために存在し、また、製剤が活性治療タンパク質または抗体の変性なく剪断表面応力に曝されることを可能とする。非イオン性界面活性剤は、約0.05mg/ml～約1.0mg/ml、好ましくは約0.07mg/ml～約0.2mg/mlの範囲で存在する。

【0117】

適当な非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート(20、40、60、65、80など)、ポリオキサマー(184、188など)、ブルロニック(登録商標)ポリオール、TRITON(登録商標)、ポリオキシエチレンソルビタン物エーテル(TWEEN(登録商標)-20、TWEEN(登録商標)-80など)、ラウロマクロゴール400、ポリオキシシロ40ステアレート、ポリオキシエチレン水素化ヒマシ油10、50および60、モノステアリン酸グリセロール、スクロース脂肪酸エステル、メチルセルロースおよびカルボキシメチルセルロースを含む。使用できるイオン性界面活性剤は、ラウリル硫酸ナトリウム、ジオクチルソジウムスルホスクシネートおよびジオクチルナトリウムスルホネートを含む。カチオン性界面活性剤は、塩化ベンザルコニウムまたはベンゼトニウムクロライドを含む。

20

【0118】

医薬担体、添加物または希釈剤の選択は、意図する投与経路および標準薬務に関連して選択し得る。医薬組成物は、担体、添加物または希釈剤として - またはそれに加えて - あらゆる適当な結合剤、滑沢剤、懸濁化剤、コーティング剤または可溶化剤を含み得る。

30

【0119】

異なる送達系に依存して、異なる組成物/製剤要件が存在し得る。例として、本発明において有用な医薬組成物は、ミニポンプを使用して、または粘膜経路により、例えば、経鼻スプレーまたは吸入用エアロゾルとしてまたは経口摂取可能溶液としてまたは組成物が、例えば、静脈内、筋肉内または皮下経路による送達のための注射形態で製剤化される、非経腸的に投与されるために製剤化され得る。あるいは、製剤は、多数の経路により投与されるように設計され得る。ある実施態様において、該製剤は直接1以上の腫瘍に投与される。

40

【0120】

ある実施態様において、抗体またはタンパク質製剤は凍結乾燥製剤である。他の実施態様において、抗体またはタンパク質製剤は水性製剤である。

【0121】

ある実施態様において、医薬組成物は、本発明のIL-12プロドラッグ、薬学的に許容される添加物およびIL-12以外のサイトカインまたはその融合分子、PD-1に対する抗体、PD-L1に対する抗体、CTLA-4に対する抗体、CD47に対する抗体、PD-1抗体-IL-15融合分子、PD-1-IL-2融合分子およびPD-1-IL-21融合分子から選択される第二活性成分を含む、組み合わせ医薬組成物である。

【0122】

50

IV. 処置方法

ここに開示するプロドラッグを、抗原結合ドメインにより結合される抗原に依存して、疾患の処置に使用し得る。ある実施態様において、ここに開示するプロドラッグは、癌の処置に使用される。ある実施態様において、プロドラッグは、例えば、薬物分子が抗細菌剤または抗ウイルス剤であるとき、感染の処置に使用される。

【0123】

ある実施態様において、対象における疾患(例えば癌、ウイルス感染または細菌感染)を処置する方法は、対象に有効量のここに開示するプロドラッグを投与することを含む。

【0124】

ある実施態様において、癌は固形癌である。ある実施態様において、癌は血液癌である。処置され得る癌の例は、白血病、リンパ腫、腎臓癌、膀胱癌、尿路癌、子宮頸癌、脳癌、頭頸部癌、皮膚癌、子宮癌、精巣癌、食道癌、肝臓癌、結腸直腸癌、胃癌、扁平上皮癌、前立腺癌、膵臓癌、肺癌、胆管癌、乳癌および卵巣癌を含むが、これらに限定されない。

10

【0125】

ある実施態様において、ここに開示するプロドラッグは、敗血症などの細菌感染の処置に使用される。ある実施態様において、細菌感染を引き起こす細菌は、薬物耐性細菌である。ある実施態様において、抗原結合部分は細菌抗原に結合する。

【0126】

ある実施態様において、プロドラッグを、ウイルス感染の処置に使用する。ある実施態様において、ウイルス感染を引き起こすウイルスは、C型肝炎ウイルス(HCV)、B型肝炎ウイルス(HBV)、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)、ヒトパピローマウイルス(HPV)である。ある実施態様において、抗原結合部分はウイルス抗原に結合する。

20

【0127】

一般に、本医薬組成物の投与量および投与経路は、対象の体格および状態により、標準薬務に従い決定される。ある実施態様において、医薬組成物は、経口、経真皮、吸入、静脈内、動脈内、筋肉内、創傷部位への直接適用、手術部位への適用、腹腔内、坐薬、皮下、皮内、経皮、噴霧化、胸膜内、脳室内、関節内、眼内または髄腔内を含むあらゆる経路を介して対象に投与される。ある実施態様において、組成物は、対象に静脈内投与される。

30

【0128】

ある実施態様において、プロドラッグを、それを必要とする対象に1回または反復投与で投与する。ある実施態様において、投与量を、対象に1日1回、1日2回、1日3回または1日4回またはそれ以上で投与する。ある実施態様において、週に約1回またはそれ以上(例えば約2回、3回、4回、5回、6回または7回またはそれ以上)投与する。ある実施態様において、薬物にコンジュゲートした抗体融合分子を、毎週、2週に1回、3週に1回、4週に1回、3週のうち2週は毎週または4週のうち3週は毎週で投与する。ある実施態様において、複数回を、数日、数週、数カ月または数年にわたり投与する。ある実施態様において、一連の処置は、約1回以上の投与である(例えば約2回、2回、3回、4回、5回、7回、10回、15回または20回またはそれ以上)。

40

【0129】

ある実施態様において、IL-12プロドラッグを、第二医薬組成物と組み合わせて対象に投与し、ここで、第二医薬組成物は、IL-12以外のサイトカインまたはその融合分子、PD-1に対する抗体、PD-L1に対する抗体、CTLA-4に対する抗体、CD47に対する抗体、PD-1抗体-IL-2融合分子、PD-1-IL-7融合分子、PD-1抗体-IL-15融合分子およびPD-1-IL-21融合分子から選択される活性成分を含む。

【0130】

V. プロドラッグを製造する方法

ここに開示するプロドラッグを、組み換えDNA方法を使用して製造できる。該プロド

50

ラッグのポリペプチドまたは融合ポリペプチドをコードする核酸分子を単離し、さらなるクローニングおよび/または宿主細胞における発現のための1以上のベクターに挿入し得る。このような核酸分子は、慣用法を使用して、容易に単離および配列決定できる。融合ポリペプチドベクターのクローニングまたは発現のための適当な宿主細胞は、原核生物細胞または真核生物細胞を含む。宿主細胞の例は、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞またはヒト胚腎臓細胞(例えば、HEK293)を含む。

【0131】

発現宿主細胞は抗体融合分子を発現する。発現期間後、宿主細胞を溶解し、プロドラッグまたは抗体融合分子を精製できる。精製方法の例は、液体クロマトグラフィー、例えばイオン交換クロマトグラフィー、親和性クロマトグラフィー(例えばプロテインA親和性クロマトグラフィー)またはサイズ排除クロマトグラフィーを含む。

10

【0132】

本明細書における態様は、特定の実施態様の言及により強調されるが、当業者はこれらの開示される実施態様がここに開示される主題の原則の単なる例示であることを容易に認識することが理解されるべきである。それ故に、開示される主題は、明示されない限り、特定の化合物、組成物、品物または方法に限定すると解釈されてはならない。さらに、ある変更、修飾、置き換え、改変、付加、減法およびそれらの下位の組み合わせを、本明細書の精神から逸脱することなくここでの教示に従いなし得ることを当業者は認識する。

【0133】

特に断らない限り、本開示に関連して使用する科学および技術的用語は、当業者により共通して理解される意味を有する。例示的方法および材料を下に記載するが、ここに記載されているものに類似するまたは同等な方法および材料も、本発明の実施または試験に使用できる。矛盾があるときは、定義を含む本明細書の記載が優先する。一般に、ここに記載する、細胞および組織培養、分子生物学、免疫学、微生物学、遺伝学、分析化学、合成有機化学、医薬品化学および薬化学ならびにタンパク質および核酸化学およびハイブリダイゼーションと関連して使用する命名法および技術は、当分野で周知であり、一般に使用されるものである。酵素反応および精製技術は、当分野で一般に実施されるまたはここに記載するとおり、製造業者の仕様に従い実施する。さらに、文脈から他の解釈が必要ではない限り、単数表現は複数表現を含み、複数表現は単数表現を含む。本明細書および実施態様をとおして、用語「有する」および「含む」または「有し」、「含有し」、「含み」または「含んで」などのその変形は、記載する整数または整数群を含むが、あらゆる他の整数または整数の群を除外しないことを含意すると解釈される。ここに記載する本発明の態様およびバリエーションは、「からなる」および/または「本質的にからなる」態様およびバリエーションを含むと解釈される。ここに記載する全ての刊行物および他の引用は、全体として引用により本明細書に包含させる。多数の文献がここで引用されているが、これらの引用文献は、これらの文献の何れも当分野の共通する一般的知識の一部を形成することを認めるものではない。

20

30

【0134】

VI. 例示的实施態様

本発明の非限定的例示的实施態様を下に記載する。

40

1. IL-12 p40サブユニット(p40)、IL-12 p35サブユニット(p35)、第一マスキング部分(MM)、第二マスキング部分、担体(C)および少なくとも1個の開裂可能ペプチドリンカーを含むIL-12のプロドラッグであって、ここで、
 - a. 該IL-12サブユニットp40は配列番号5と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を有し；
 - b. 該IL-12サブユニットp35は配列番号6と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を有し；
 - c. 該第一マスキング部分はp40に結合する結合部分を含み、該第二マスキング部分はp35に結合する結合部分を含み；そして
 - d. 該担体はアルブミンまたはアルブミンフラグメント、Fcドメインおよび抗体から選

50

択される、

プロドラッグ。

2. 該第一マスキング部分が I L - 1 2 受容体 1 の細胞外ドメイン (I L - 1 2 R 1 E C D) またはそのフラグメント、ペプチドライブラリーのスクリーニングにより発見された p 4 0 結合ペプチドおよび p 4 0 に結合する抗体の一本鎖 F v または F a b ドメインから選択される、実施態様 1 のプロドラッグ。

3. 該第二マスキング部分が I L - 1 2 受容体 2 の細胞外ドメイン (I L - 1 2 R 2 E C D) またはそのフラグメント、 p 3 5 またはペプチドライブラリーのスクリーニングにより発見された p 4 0 結合ペプチドおよび p 3 5 に結合する抗体の一本鎖 F v または F a b ドメインから選択される、実施態様 1 または 2 のプロドラッグ。

4. 該第一マスキング部分が I L - 1 2 受容体 ベータ 1 (I L - 1 2 R 1) の細胞外ドメイン (E C D) またはそのフラグメントを含み、ここで、該 I L - 1 2 R 1 E C D が配列番号 1 3 と少なくとも 9 5 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施態様 1 ~ 3 の何れかのプロドラッグ。

5. 該第一マスキング部分が I L - 1 2 R 1 E C D のフラグメントを含み、ここで、該フラグメントが配列番号 1 4、1 5 または 1 6 と少なくとも 9 5 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施態様 1 ~ 3 の何れかのプロドラッグ。

6. 該第二マスキング部分が I L - 1 2 受容体 ベータ 2 (I L - 1 2 R 2) の細胞外ドメイン (E C D) またはそのフラグメントを含み、ここで、該 I L - 1 2 R 2 E C D が配列番号 1 7 と少なくとも 9 5 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施態様 1 ~ 3 の何れかのプロドラッグ。

7. 該第二マスキング部分が I L - 1 2 R 2 E C D のフラグメントを含み、ここで、該フラグメントが配列番号 1 8 または 1 9 と少なくとも 9 5 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施態様 1 ~ 3 の何れかのプロドラッグ。

8. 該第一マスキング部分が p 4 0 に結合する s c F v を含み、ここで、該 s c F v が配列番号 7 ~ 1 1 および 1 2 から選択されるものと少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施態様 1 ~ 3 の何れかのプロドラッグ。

9. 該第一マスキング部分が配列番号 1 3 ~ 1 6 から選択されるアミノ酸配列を含む I L - 1 2 R 1 E C D またはそのフラグメントまたは配列番号 7 ~ 1 2 から選択されるアミノ酸配列を有する s c F v から選択され、ここで、該第二マスキング部分が配列番号 1 7 ~ 1 9 から選択されるアミノ酸配列を含む I L - 1 2 R 2 E C D またはそのフラグメントを含む、実施態様 1 ~ 3 の何れかのプロドラッグ。

1 0. 該第一マスキング部分が配列番号 1 3 ~ 1 6 から選択されるアミノ酸配列を含む I L - 1 2 R 1 E C D またはそのフラグメントまたは配列番号 7 ~ 1 2 から選択されるアミノ酸配列を有する s c F v から選択され、ここで、該第二マスキング部分が p 3 5 に結合する s c F v を含む、実施態様 1 ~ 3 の何れかのプロドラッグ。

1 1. 該担体が免疫細胞または癌細胞の表面に発現される標的に結合する抗体である、実施態様 1 ~ 1 0 の何れかのプロドラッグ。

1 2. さらに他のサイトカインまたはエフェクター部分を含む、実施態様 1 ~ 1 0 の何れかのプロドラッグ。

1 3. 該サイトカイン部分が配列番号 7 4 および 7 5 から選択されるアミノ酸配列を含む I L - 2 アゴニストポリペプチドを含む、実施態様 1 2 のプロドラッグ。

1 4. 該担体が第一ポリペプチド鎖 F 1 および第二ポリペプチド鎖 F 2 を含む F c ドメインを含み、ここで、該 F 1 および F 2 がヘテロ二量体化を形成し；ここで、該 p 4 0 またはそのアナログが所望により非開裂可能ペプチドリンカーを介して F 1 の C 末端に融合し、該 p 3 5 またはそのアナログが非開裂可能ペプチドリンカーを介して p 4 0 の C 末端に融合し；ここで、該第一マスキング部分が開裂可能または非開裂可能ペプチドリンカーを介して F 2 の C 末端に融合し、該第二マスキング部分が開裂可能ペプチドリンカーを介して該第一マスキング部分の C 末端に融合する、実施態様 1 ~ 1 0 の何れかのプロドラッグ。

。

10

20

30

40

50

15. 該担体が第一ポリペプチド鎖 F 1 および第二ポリペプチド鎖 F 2 を含む F c ドメインを含み、ここで、該 F 1 および F 2 がヘテロ二量体化を形成し；ここで、該 p 4 0 が所望により非開裂可能ペプチドリンカーを介して F 1 の C 末端に融合し、該第一マスキング部分が開裂可能または非開裂可能ペプチドリンカーを介して p 4 0 の C 末端に融合し；ここで、該 p 3 5 が F 2 の C 末端に融合し、該第二マスキング部分が開裂可能ペプチドリンカーを介して p 3 5 の C 末端に融合する、実施態様 1 ~ 1 0 の何れかのプロドラッグ。

16. 該担体が第一ポリペプチド鎖 F 1 および第二ポリペプチド鎖 F 2 を含む F c ドメインを含み、ここで、該 F 1 および F 2 がヘテロ二量体化を形成し；ここで、該 p 3 5 が所望により非開裂可能ペプチドリンカーを介して F 1 の C 末端に融合し、該第一マスキング部分が開裂可能または非開裂可能ペプチドリンカーを介して p 3 5 の C 末端に融合し；ここで、該 p 4 0 が F 2 の C 末端に融合し、該第二マスキング部分が開裂可能ペプチドリンカーを介して p 4 0 の C 末端に融合する、実施態様 1 ~ 1 0 の何れかのプロドラッグ。

17. 該非開裂可能ペプチドリンカーが配列番号 2 9 ~ 3 3 の何れかのアミノ酸配列を含み、該開裂可能ペプチドリンカーが配列番号 3 4 ~ 5 4 から選択されるアミノ酸配列を含む、実施態様 1 ~ 1 6 の何れかのプロドラッグ。

18. 2 個のポリペプチド鎖を含み、ここで、該第一ポリペプチド鎖が配列番号 2 0 から選択されるものと少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含み；該第二ポリペプチド鎖が配列番号 2 1 ~ 2 8 から選択されるものと少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施態様 1 のプロドラッグ。

19. 2 個のポリペプチド鎖を含み、ここで、該第一ポリペプチド鎖が配列番号 5 5 と少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含み；該第二ポリペプチド鎖が配列番号 5 6 ~ 5 9 から選択されるものと少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施態様 1 のプロドラッグ。

20. 2 個のポリペプチド鎖を含み、ここで、該第一ポリペプチド鎖が配列番号 6 0 から選択されるものと少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含み；該第二ポリペプチド鎖が配列番号 6 1 ~ 6 4 から選択されるものと少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施態様 1 のプロドラッグ。

21. 2 個のポリペプチド鎖を含み、ここで、該第一ポリペプチド鎖が配列番号 6 5 と少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含み；該第二ポリペプチド鎖が配列番号 6 6 ~ 7 3 から選択されるものと少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施態様 1 のプロドラッグ。

22. 実施態様 1 ~ 2 1 の何れかのプロドラッグおよび薬学的に許容される添加物を含む、医薬組成物。

23. 実施態様 1 ~ 2 2 の何れかのプロドラッグをコードする 1 以上のポリヌクレオチド。

24. 実施態様 2 3 の 1 以上のポリヌクレオチドを含む、1 以上の発現ベクター。

25. 実施態様 2 4 のベクターを含む、宿主細胞。

26. 該宿主細胞がノックアウトされた u P A、M M P - 2、M M P - 9 および / またはマトリプターゼをコードする 1 以上の遺伝子を有する、実施態様 2 5 の宿主細胞。

27. 請求項 2 5 または 2 6 の宿主細胞を、抗原結合分子を発現する条件下で培養し、抗原結合分子を単離することを含む、実施態様 1 ~ 2 1 の何れかのプロドラッグを製造する方法。

28. 実施態様 2 2 の医薬組成物を投与することを含む、処置を必要とする患者における癌もしくは感染性疾患を処置するまたは免疫系を刺激する方法。

29. 実施態様 2 8 の方法における癌もしくは感染性疾患の処置または免疫系の刺激に使用するための、プロドラッグ。

30. 該癌が乳癌、肺癌、膵臓癌、食道癌、甲状腺髄様癌、卵巣癌、子宮癌、前立腺癌、精巣癌、結腸直腸癌および胃癌からなる群から選択される、実施態様 2 8 の方法。

31. 請求項 2 2 の医薬組成物を 1 以上の腫瘍に直接投与することを含む、癌を有する患者を処置する方法。

10

20

30

40

50

【 0 1 3 5 】

本発明がよりよく理解され得るために、次の実施例を示す。これらの実施例は説明の目的のみであり、如何なる方法でも本発明の範囲を限定すると解釈してはならない。

【 実施例 】

【 0 1 3 6 】

実施例 1 : H E K 2 9 3 細胞を使用する I L - 1 2 プロドラッグの一過性トランスフェクション

発現プラスミドを、P E I (ポリエチレンイミン)を使用して約 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で約 4×10^6 細胞/ml freestyle HEK293細胞に共トランスフェクトした。Fcベースの I L - 1 2 プロドラッグについて、Fc - I L - 1 2 融合ポリペプチドおよびFc - マスキング部分融合ポリペプチドは 1 : 2 比であった。細胞培養物を 9,000 rpmで45分間の遠心分離、続く 0.22 μM 濾過により、トランスフェクション6日後収集した。多数の I L - 1 2 プロドラッグが発現された。配列番号を表 2 に列記する。

10

【 表 2 】

表 2. サンプルの配列情報

プロドラッグまたは管理名	Fc-I L - 1 2 融合ポリペプチドの配列番号	Fc-マスキング部分融合ポリペプチドの配列番号
J R 3.1 0 5.2	配列番号 2 0	配列番号 7 6
J R 3.1 0 5.3	配列番号 2 0	配列番号 7 7
J R 3.1 0 5.4	配列番号 2 0	配列番号 7 8
J R 3.1 0 5.5	配列番号 2 0	配列番号 7 9

20

【 0 1 3 7 】

実施例 2 : Fcベースの I L - 1 2 プロドラッグの精製

Fcベースの I L - 1 2 プロドラッグのタンパク質の精製を、プロテイン A 親和性を使用して実施した。簡潔には、一過性発現細胞培養物の上清を、サンプル適用前 25 mM T r i s - H C l、30 mM N a C l、pH 7.8 (緩衝液 A)で平衡化したプロテイン A カラムに負荷した。カラムを 5 カラム体積の緩衝液 A で洗浄し、結合タンパク質を 50 mM 酢酸、pH 3.6で溶出した。溶出タンパク質の pH を、1 M T r i s 塩基を使用して約 5.2 に調節した。サンプルを、下記のとおり S D S - P A G E で分析した。

30

【 0 1 3 8 】

実施例 3 : S D S - P A G E 分析

10 μl の 10 ~ 20 μg の精製タンパク質サンプルを、還元剤存在下または非存在下で Bolt™ LDS サンプル緩衝液 (Novex) と混合した。サンプルを 70 で 3 分間加熱し、次いで、NuPAGE™ 4 ~ 12 % BisTris Gel (Invitrogen™) に負荷した。ゲルを NuPAGE™ MOPS SDS Running 緩衝液 (Invitrogen™) で 200 ボルトで 40 分間流し、次いでクマシーで染色した。プロドラッグの精製サンプルを、図 8 A に示すとおり S D S - P A G E 分析で分析した。プロテアーゼ MMP - 2 処理 (下記参照) した J R 3.1 0 5.5 (図 5 B に示す構造) も、図 8 B に示すとおり S D S - P A G E 分析で分析した。データは、プロドラのマスキング部分が大部分プロテアーゼ消化で除去され、活性化分子が予測された分子量で移動することを示す。さらに、プロテイン A カラムプールサンプルは、I L - 1 2 プロドラッグの活性化型も含んだことを示す (図 8 B)。

40

【 0 1 3 9 】

実施例 4 : タンパク質分解処理

プロテアーゼ、ヒト MMP 2、ヒト MMP 9、マウス MMP 2 およびマウス MMP 9 を R & D systems から購入した。プロテアーゼ消化を、10 μg ~ 50 μg のプロドラッグと 1 μg のヒト MMP 2、ヒト MMP 9、マウス MMP 2 またはマウス MMP 9 を、2 mM C a C l ₂ および 10 μM Z n C l ₂ 含有 H B S 緩衝液 (20 mM H E P E S、150 mM N a C l ₂、pH 7.4) 中、37 で 12 時間インキュベートすることにより

50

実施した。消化前後のプロドラッグ J R 3 . 1 0 5 . 5 を S D S - P A G E (図 8 B) および細胞ベースの活性アッセイ(下記参照)で分析した。

【 0 1 4 0 】

実施例 5 : 細胞ベースの I L - 1 2 レポーターアッセイ

活性化前後の I L - 1 2 プロドラッグを、分泌型アルカリホスファターゼレポーター細胞株(HEK-Blue IL-12, InvivoGen catalog # hkb-il12)を使用して、生物学的活
性についてアッセイした。HEK-Blue IL-12細胞株は、HEK 293細胞へのヒト I L
- 1 2 受容体およびシグナル伝達経路の遺伝子の安定な導入により産生された。細胞は、
S T A T 4 誘導型分泌型アルカリホスファターゼ(S E A P)レポーター遺伝子も発現する
。試験品を、96ウェル平底細胞培養プレート中100 μL/ウェル培養培地に希釈し、
続いて100 μLで50,000細胞/ウェルでHEK-Blue IL-12細胞を加える。培養物
を37 °Cで一晩インキュベートする。20 μLの培養上清をE L I S A プレートに移し、
180 μL Quanti-Blue(InvivoGen, Catalog #rep-qb1)を加える。E L I S A プ
レートを37 °Cで1時間インキュベートし、マイクロプレートリーダーでO D ₆₃₀を測
定する。データを図9および図10に示す。結果は、J R 3 . 1 0 5 . 5 が E C ₅₀値に基
づき、約1.8倍活性化されたことを示す(図10)。図8Bに示すとおり、I L - 1 2 プロ
ドラッグ J R 3 . 1 0 5 . 5 サンプルは、プロドラッグの少量の活性化型を含み得る。結果
として、J R 3 . 1 0 5 . 5 のマスキング部分のマスキング効率は、図9および10に示す
より大きい可能性がある。

10

【 0 1 4 1 】

この I L - 1 2 プロドラッグ J R 3 . 1 0 5 . 5 は、他のサンプルと比較して、活性化も
最高であった。I L - 1 2 プロドラッグは全て同じ F c - I L - 1 2 鎖(配列番号20、
表2)を有した。しかしながら、J R 3 . 1 0 5 . 5 のマスキング部分は、配列番号80に
示すとおり、その V L と V H の間に(G₄S)₄を含む最長リンカーを有した。

20

【 0 1 4 2 】

実施例 6 : マウス腫瘍モデルを用いるインビボ有効性試験

本発明の I L - 1 2 - F c プロドラッグのインビボ抗腫瘍効果をマウスモデルで試験す
る。N O D S C I D ガンマ(N S G)マウスに、右脇腹に 3×10^6 p p - 6 5 発現 M
C F - 7 細胞を皮内移植する。腫瘍確立後、マウスに 1.5×10^6 ヒト P B M C を腹
腔内移植する。次いで、マウスを、I L - 1 2 プロドラッグで週2回、毎週または2週毎
に処置する。腫瘍体積および体重を隔日で測定する。マウスを試験終了時に 殺し、血液
サンプル、血清サンプルおよび組織(腫瘍ならびに肝臓および肺を含む主要臓器)を、P K
、安全性、サイトカイン放出およびプロドラッグ活性化について試験する。

30

【 0 1 4 3 】

上記非限定的例は、本発明の主題のより完全な理解を促すために、説明の目的のみで提
供される。これらの実施例は、抗体、医薬組成物または癌、神経変性または感染性疾患の
処置のための方法および使用を含み、本明細書に記載する実施態様の何れかに限定される
と解釈してはならない。

【 0 1 4 4 】

配列一覧

40

配列番号 1 - ヒト I L - 2 :

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELK
HLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYAD
E TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT

配列番号 2 - ヒト I L - 2 受容体ベータサブユニット細胞外ドメイン(<https://www.uniprot.org/uniprot/P14784>)

AVNGTSQFTC FYNSRANISC VWSQDGALQD TSCQVHAWPD RRRWNQTCEL LP
VSQASWAC NLILGAPDSQ KLTTVDIVTL RVLCREGVRW RVMAIQDFKP FENLR
LMAPI SLQVVHVETH RCNISWEISQ ASHYFERHLE FEARTLSPGH TWEEAPLLT
L KQKQEWICLE TLTPDTQYEF QVRVKPLQGE FTTWSPWSQP LAFRTKPAAL GKDT

50

配列番号 3 - I L 1 5 受容体アルファサブユニット s u s h i ドメイン

ITCPPMMSVE HADIWVKSYS LYSRERYICN SGFKRKAGTS SLTECVLNKA TNVA
HWTTPS LKCIRDPALV HQRPAPP

配列番号 4 - ヒト I L 1 5

GIHVFILGCF SAGLPKTEAN WVNVISDLKK IEDLIQSMHI DATLYTESDV HPSCK
VTAMK CFLLELQVIS LESGDASIHD TVENLIILAN NSLSSNGNVT ESGCKECEEL
EEKNIKEFLQ SFVHIVQMFI NTS

配列番号 5 - ヒト I L - 1 2 p 4 0 サブユニット

IWELKKDVYV VELDWYPDAP GEMVVLTCDT PEEDGITWTL DQSSEVLGSG KTL
TIQVKEF GDAGQYTCHK GGEVLSHSLL LLHKKEDGIW STDILKDQKE PKNKTFL
RCE AKNYSGRFTC WWLTTISTDL TFSVKSSRGS SDPQGVTCGA ATLSAERVRG
DNKEYEYSVE CQEDSACPAA EESLPIEVMV DAVHKLKYEN YTSSFFIRDI IKPDP
PKNLQ LKPLKNSRQV EVSWEYPDTW STPHSYFSLT FCVQVQGKSK REKKDRVF
TD KTSATVICRK NASISVRAQD RYSSSSWSEW ASVPCS

10

配列番号 6 - ヒト I L - 1 2 p 3 5 サブユニット

RNLPVATPDP GMFPCLHHSQ NLLRAVSNML QKARQTLEFY PCTSEEIDHE DITK
DKTSTV EACLPLELTK NESCLNSRET SFITNGSCLA SRKTSFMMAL CLSSIYEDLK
MYQVEFKTMN AKLLMDPKRQ IFLDQNMLAV IDELMQALNF NSETVPQKSS LEE
PDFYKTK IKLCILLHAF RIRAVTIDRV MSYLNAS

配列番号 7 - I L - 1 2 に結合する s c F v

EVQLVQSGAE VKKPGESLKI SCKGSGYSFT TYWLGWVRQM PGKGLDWIGI MSP
VDSDIRY SPSFQGQVTM SVDKSITTAY LQWNSLKASD TAMYYCARRR PGQGYF
DFWG QGTLVTVSSG GGGSGGGGSD IQMTQSPSSL SASVGDRVTI TCRASQGISS
WLAWYQQKPE KAPKSLIYAA SSLQSGVPSR FSGSGSGTDF TLTISLQPE DFATY
YCQQY NIYPYTFGQG TKLEIK

20

配列番号 8 - I L - 1 2 に結合する s c F v

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIS SWLAWYQQKP EKAPKSLIYA ASSL
QSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNIYPYTFGQ GTKLEIKGG
G GSGGGGSEVQ LVQSGAEVKK PGESLKISCK GSGYSFTTYW LGWVRQMPGK GL
DWIGIMSP VDSDIRYSPS FQGQVTMSVD KSITTAYLQW NSLKASDTAM YYCAR
RRPGQ GYFDFWGGGT LVTVSS

30

配列番号 9 - I L - 1 2 に結合する s c F v

EVQLVQSGAE VKKPGESLKI SCKGSGYSFT TYWLGWVRQM PGKGLDWIGI MSP
VDSDIRY SPSFQGQVTM SVDKSITTAY LQWNSLKASD TAMYYCARRR PGQGYF
DFWG QGTLVTVSSG GGGSGGGGSG GGGSDIQMTQ SPSSLSASVG DRVTITCRAS
QGISSWLAWY QKPEKAPKS LIYAASSLQS GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLQPE
DFATY YCQQYNIYPY TFGQGTKLEI K

配列番号 1 0 - I L - 1 2 に結合する s c F v

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIS SWLAWYQQKP EKAPKSLIYA ASSL
QSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNIYPYTFGQ GTKLEIKGG
G GSGGGGSGGG GSEVQLVQSG AEVKKPGESL KISCKGSGYS FTTYWLGWVR QM
PGKGLDWI GIMSPVSDI RYSPSFQGQV TMSVDKSITT AYLQWNSLKA SDTAM
YYCAR RRPQGQYFDF WGQGLTVTS S

40

配列番号 1 1 - I L - 1 2 に結合する s c F v

EVQLVQSGAE VKKPGESLKI SCKGSGYSFT TYWLGWVRQM PGKGLDWIGI MSP
VDSDIRY SPSFQGQVTM SVDKSITTAY LQWNSLKASD TAMYYCARRR PGQGYF
DFWG QGTLVTVSSG GGGSGGGGSG GGGSGGGGSD IQMTQSPSSL SASVGDRVTI
TCRASQGISS WLAWYQQKPE KAPKSLIYAA SSLQSGVPSR FSGSGSGTDF TLTIS
SLQPE DFATYYCQQY NIYPYTFGQG TKLEIK

配列番号 1 2 - I L - 1 2 に結合する s c F v

50

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIS SWLAWYQQKP EKAPKSLIYA ASSL
 QSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNIYPYTFGQ GTKLEIKGG
 G GSGGGGSGGG GSGGGGSEVQ LVQSGAEVKK PGESLKISCK GSGYSFTTYW LG
 WVRQMPGK GLDWIGIMSP VSDIRYSPS FQGQVTMSVD KSITTAYLQW NSLKA
 SDTAM YYCARRRPGQ GYDFDFWGGGT LVTVSS

配列番号 13 - I L - 1 2 受容体ベータ1細胞外ドメイン(I L - 1 2 R 1 E C D)

RTSECCFQDP PYPDADSGSA SGPRDLRCYR ISSDRYECSW QYEGPTAGVS HFLR
 CCLSSG

RCCYFAAGSA TRLQFSDQAG VSVLYTVTLW VESWARNQTE KSPEVTLQLY NSV
 KYEPPLG

10

DIKVSKLAGQ LRMEWETPDN QVGAEVQFRH RTPSSPWKLG DCGPQDDDE SCL
 CPLEMNV

AQEFQLRRRQ LGSQGSSWSK WSSPVCVPPE NPPQPQVRFS VEQLGQDGR RLT
 LKEQPTQ

LELPEGCQGL APGTEVTYRL QLHMLSCPCK AKATRTLHLG KMPYLSGAAY NVA
 VISSNQF

GPGLNQTWHI PADTHTEPVA LNISVGTNGT TMYWPARAQS MTYCIEWQPV GQ
 DGGLATCS

LTAPQDPDPA GMATYSWSRE SGAMGQEKCY YITIFASAHP EKLTTLWSTVL STY
 HFGGNAS

20

AAGTPHHVSV KNHSLDSVSV DWAPSLSTC PGVLKEYVVR CRDEDSKQVS EHP
 VQPTETQ

VTLSGLRAGV AYTQVVRADT AWLRGVWSQP QRFSIEVQVS D

配列番号 14 - I L - 1 2 R 1 E C D D 1 - D 5

RTSECCFQDP PYPDADSGSA SGPRDLRCYR ISSDRYECSW QYEGPTAGVS HFLR
 CCLSSG

RCCYFAAGSA TRLQFSDQAG VSVLYTVTLW VESWARNQTE KSPEVTLQLY NSV
 KYEPPLG

DIKVSKLAGQ LRMEWETPDN QVGAEVQFRH RTPSSPWKLG DCGPQDDDE SCL
 CPLEMNV

30

AQEFQLRRRQ LGSQGSSWSK WSSPVCVPPE NPPQPQVRFS VEQLGQDGR RLT
 LKEQPTQ

LELPEGCQGL APGTEVTYRL QLHMLSCPCK AKATRTLHLG KMPYLSGAAY NVA
 VISSNQF

GPGLNQTWHI PADTHTEPVA LNISVGTNGT TMYWPARAQS MTYCIEWQPV GQ
 DGGLATCS

LTAPQDPDPA GMATYSWSRE SGAMGQEKCY YITIFASAHP EKLTTLWSTVL STY
 HFGGNAS

AAGTPHHVSV KNHSLDSVSV DWAPSLSTC PGVLKEYVVR CRDEDSKQVS EHP
 VQPTETQ

40

VTLSGLRAGV AYTQVVRADT AWLRGVWSQP QRFSIEVQVS D

配列番号 15 - I L - 1 2 R 1 E C D D 1 - D 2

RTSECCFQDP PYPDADSGSA SGPRDLRCYR ISSDRYECSW QYEGPTAGVS HFLR
 CCLSSG

RCCYFAAGSA TRLQFSDQAG VSVLYTVTLW VESWARNQTE KSPEVTLQLY NSV
 KYEPPLG

DIKVSKLAGQ LRMEWETPDN QVGAEVQFRH RTPSSPWKLG DCGPQDDDE SCL
 CPLEMNV

AQEFQLRRRQ LGSQGSSWSK WSSPVCVPPE

配列番号 16 - I L - 1 2 R 1 E C D D 1 - D 3

50

RTSECCFQDP PYPDADSGSA SGPRDLRCYR ISSDRYECSW QYEGPTAGVS HFLR
 CCLSSG
 RCCYFAAGSA TRLQFSDQAG VSVLYTVTLW VESWARNQTE KSPEVTLQLY NSV
 KYEPPLG
 DIKVSKLAGQ LRMEWETPDN QVGAEVQFRH RTPSSPWKLG DCGPQDDDE SCL
 CPLEMNV
 AQEFQLRRRQ LGSQGSSWSK WSSPVCVPPE NPPQPQVRFS VEQLGQDGRR RLT
 LKEQPTQ
 LELPEGCQGL APGTEVTYRL QLHMLSCPCK AKATRTLHLG KMPYLSGAAY NVA
 VISSNQF
 GPGLNQTWHI PA

10

配列番号 17 - I L - 1 2 R 2 E C D D 1 - D 6

KIDACKRGDV TVKPSHVILL GSTVNITCSL KPRQGCFHYS RRNKLILYKF DRRIN
 FHGH
 SLNSQVTGLP LGTTLFVCKL ACINSDEIQI CGAEIFVGVA PEQPQNLSCI QKGEQ
 GTVAC
 TWERGRDTHL YTEYTLQLSG PKNLTWQKQC KDIYCDYLDF GINLTPESPE SNFT
 AKVTAV
 NSLGSSSSSLP STFTFLDIVR PLPPWDIRIK FQKASVSRCT LYWRDEGLVL LNRLR
 YRPSN

20

SRLWNMVNVT KAKGRHDLLD LKPFTEYEFQ ISSKLHLYKG SWSDWSESLR AQT
 PEEPTG
 MLDVWYMKRH IDYSRQQISL FWKNLSVSEA RGKILHYQVT LQELTGGKAM TQ
 NITGHTSW
 TTVIPRTGNW AVAVSAANSK GSSLPTRINI MNLCEAGLLA PRQVSANSEG MDNI
 LVTWQP
 PRKDPSAVQE YVVEWRELHP GGDTQVPLNW LRSRPYNVSA LISENIKSYI CYEI
 RYALS

GDQGGCSSIL GNSKHKAPLS GPHINAITEE KGSILISWNS IPVQEQMGCL LHYRI
 YWKER
 DSNSQPQLCE IPYRVSQNSH PINSLQPRVT YVLWMTALTA AGESSHGNER EFCL
 QGKAN

30

配列番号 18 - I L - 1 2 R 2 E C D D 1 - D 2

KIDACKRGDV TVKPSHVILL GSTVNITCSL KPRQGCFHYS RRNKLILYKF DRRIN
 FHGH
 SLNSQVTGLP LGTTLFVCKL ACINSDEIQI CGAEIFVGVA PEQPQNLSCI QKGEQ
 GTVAC
 TWERGRDTHL YTEYTLQLSG PKNLTWQKQC KDIYCDYLDF GINLTPESPE SNFT
 AKVTAV
 NSLGSSSSSLP STFTFLDI

40

配列番号 19 - I L - 1 2 R 2 E C D D 1 - D 3

KIDACKRGDV TVKPSHVILL GSTVNITCSL KPRQGCFHYS RRNKLILYKF DRRIN
 FHGH
 SLNSQVTGLP LGTTLFVCKL ACINSDEIQI CGAEIFVGVA PEQPQNLSCI QKGEQ
 GTVAC
 TWERGRDTHL YTEYTLQLSG PKNLTWQKQC KDIYCDYLDF GINLTPESPE SNFT
 AKVTAV
 NSLGSSSSSLP STFTFLDIVR PLPPWDIRIK FQKASVSRCT LYWRDEGLVL LNRLR
 YRPSN

SRLWNMVNVT KAKGRHDLLD LKPFTEYEFQ ISSKLHLYKG SWSDWSESLR AQT

50

PEEEPTG

配列番号 20 - Fc - ノブ変異を有する IL - 12 (P40 - P35)

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYASTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPCRDELTK NQVSLWCLVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALH
 NHYTQKS LSLSPGAGGG GSGGGGSGGG GSIWELKKDV YVVELDWYPD APGEMV
 VLTC DTPEEDGITW TLDQSSEVLG SGKTLTIQVK EFGDAGQYTC HKGGEVLSHS
 LLLLHKKEDG IWSTDILKDQ KEPKNKTFLR CEAKNYSGRF TCWWLTTIST DLTF
 SVKSSR GSSDPQGVTC GAATLSAERV RGDNKEYEYS VECQEDSACP AAEEESLPIE
 V MVDVAVHKLKY ENYTSSFFIR DIIKPDPPKN LQLKPLKNSR QVEVSWEYPD TW
 STPHSYFS LTFQVQVQGK SKREKKDRVF TDKTSATVIC RKNASISVRA QDRYYS
 SWS EWASVPCSGG GSGGGGGSGG GGSRNLPVAT PDPGMFPCLH HSQNLLRAVS
 NMLQKARQTL EFYPCTSEEI DHEDITKDKT STVEACPLE LTKNESCLNS RETSF
 ITNGS CLASRKTSFM MALCLSSIYE DLKMYQVEFK TMNAKLLMDP KRQIFLDQ
 NM LAVIDELMQA LNFNSETVPQ KSSLEEPDFY KTKIKLCILL HAFRIRAVTI DR
 VMSYLNAS

10

配列番号 21 - ホール変異を有する Fc - IL - 12 R 1 - D1D2 / IL - 12 R 2 - D1D2

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
 HNHYTQKS LSLSPGGGGG SGGGGSGGGG RTSECCFQDP PYPDADSGSA SGPRDL
 RCYR ISSDRYECSW QYEGPTAGVS HFLRCCLSSG RCCYFAAGSA TRLQFSDQAG
 VSVLYTVTLW VESWARNQTE KSPEVTLQLY NSVKYEPPLG DIKVSCLAGQ LRM
 EWETPDN QVGAEVQFRH RTPSSPWKLG DCGPQDDDE SCLCPLMNVAQEFQ
 LRRRQ LGSQGSSWSK WSSPVCVPPE (GGGGG)_{n1} VHMPLGFLGPR QARVVN(GG
 GGS)_{n2} KIDAC KRGDVTVKPS HVILLGSTVN ITCSLKPRQG CFHYSRRNKL ILYK
 FDRRIN FHHGHSLSNSQ VTGLPLGTTL FVCKLACINS DEIQICGAEI FVGVAPEQP
 Q NLSCIQKGEQ GTVACTWERG RDTHLYTEYT LQLSGPKNLT WQKQCKDIYC D
 YLDFGINLT PESPESNFTA KVTAVNSLGS SSSLPSTFT LDI ; ここで、 n1 = 1、
 2、3 または 4 および n2 = 1、2、3 または 4。

20

30

配列番号 22 - ホール変異を有する Fc IL - 12 R 1 - D1D2D3 / IL - 12 R 2 - D1D2D3

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
 HNHYTQKS LSLSPGGGGG SGGGGSGGGG RTSECCFQDP PYPDADSGSA SGPRDL
 RCYR ISSDRYECSW QYEGPTAGVS HFLRCCLSSG RCCYFAAGSA TRLQFSDQAG
 VSVLYTVTLW VESWARNQTE KSPEVTLQLY NSVKYEPPLG DIKVSCLAGQ LRM
 EWETPDN QVGAEVQFRH RTPSSPWKLG DCGPQDDDE SCLCPLMNVAQEFQ
 LRRRQ LGSQGSSWSK WSSPVCVPPE NPPQPQVRF VEQLGQDGR RLTLKEQP
 TQ LELPEGCQGL APGTEVTYRL QLHMLSCPCK AKATRTLHLG KMPYLGAAY
 NVAVISSNQF GPGLNQTWHI PA(GGGGS)_{n1} VHMPLGFLGPR RQARVVN(GG GGS)
 n2 KIDA CKRGDVTVPK SHVILLGSTV NITCSLKPRQ GCFHYSRRNK LILYKFDRRI
 NFHHGHSLSNS QVTGLPLGTT LRVCKLACIN SDEIQICGAE IFVGVAPEQP QNLSC
 IQKGE QGTVACTWER GRDTHLYTEY TLQLSGPKNL TWQKQCKDIY CDYLDLFI
 NL TPESPESNFT AKVTAVNSLG SSSLPSTFT FLDIRPLPP WDIRIKFQKA SVS

40

50

RCTLYWR DEGLVLLNRL RYRPSNSRLW NMVNVTKAKG RHDLLDLKPF TEYEFQ
ISSK LHLYKGSWSD WSESLRAQTP EEEPTG; $n_1 = 1, 2, 3$ または 4 および $n_2 = 1, 2, 3$ または 4 。

配列番号 23 - ホール変異を有する Fc - IL - 12R 1 - D1D2 / IL - 12R 2 - D1D2

DKTHTCPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED P
EVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKV
SNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIA
VE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPGGGGG SGGGGSTGRG PSWVGGGGGSG GGSRTSECCF QDP
PYPDADS GSASGPRDLR CYRISSDRYE CSWQYEGPTA GVSHFLRCCL SSGRCCY
FAA GSATRLQFSD QAGVSVLYTV TLWVESWARN QTEKSPEVTL QLYNSVKYEP
PLGDIKVS KL AGQLRMEWET PDNQVGAEVQ FRHRTPSSPW KLGDCGPQDD DT
ESCLCPLE MNVAQEFQLR RRQLGSQGSS WSKWSSPVCV PPE(GGGGS) n_1 VHMP
LGFL GPRQARVVN(GGGGGS) n_2 KI DACKRGDVTV KPSHVILLGS TVNITCSLKP R
QGCFHYSRR NKLILYKFDR RINFHHGHSL NSQVTGLPLG TTLFVCKLAC INSDEI
QICG AEIFVGVAPPE QPQNLSCIQK GEQGTVA CTW ERGRDTHLYT EYTLQLSGPK
NLTWQKQCKD IYCDYLDFGI NLTPEPESN FTAKVTAVNS LGSSSSLPST FTFLD
I; ここで、 $n_1 = 1, 2, 3$ または 4 および $n_2 = 1, 2, 3$ または 4 。

10

配列番号 24 - ホール変異を有する Fc IL - 12R 1 - D1D2D3 / IL - 12R 2 - D1D2D3

20

DKTHTCPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
HNHYTQKS LSLSPGGGGG SGGGGSTGRG PSWVGGGGGSG GGSRTSECCF QDP
PDADS GSASGPRDLR CYRISSDRYE CSWQYEGPTA GVSHFLRCCL SSGRCCYFAA
GSATRLQFSD QAGVSVLYTV TLWVESWARN QTEKSPEVTL QLYNSVKYEP PLG
DIKVS KL AGQLRMEWET PDNQVGAEVQ FRHRTPSSPW KLGDCGPQDD DTESCL
CPLE MNVAQEFQLR RRQLGSQGSS WSKWSSPVCV PPE(NPPQPQV RFSVEQLGQ
D GRRRLTLKEQ PTQLELPEGC QGLAPGTEVT YRLQLHMLSC PCKAKATRTL HL
GKMPYLSG AAYNVAVISS NQFGPGLNQT WHIPA(GGGGS) n_1 VHMPLG FLGPRQ
ARVV N(GGGGGS) n_2 KIDACKRGDV TVKPSHVILL GSTVNITCSL KPRQGCFHYS R
RNKLILYKF DRRINFHHGH SLNSQVTGLP LGTTTLFVCKL ACINSDEIQI CGAEIFV
GVA PEQPQNLSCI QKGEQGTVAC TWERGRDTHL YTEYTLQLSG PKNLTWQKQC
KDIYCDYLDF GINLTPEPE SNFTAKVTAV NSLGSSSSLP STFTFLDIVR PLPPW
DIRIK FQKASVSRCT LYWRDEGLVL LNRLRYRPSN SRLWNMVNVT KAKGRHDL
LD LKPFTEYEFQ ISSKLHLYKG SWSDWSESLR AQTPEEEPTG; $n_1 = 1, 2, 3$
または 4 および $n_2 = 1, 2, 3$ または 4 。

30

配列番号 25 - ホール変異を有する Fc scFv / IL - 12R 2 - D1D2D3

40

DKTHTCPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
HNHYTQKS LSLSPGGGGG SGGGGSGGGG DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRAS
QGIS SWLAWYQQKP EKAPKSLIYA ASSLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISLQ
EDFATYYCQQ YNIYPYTFGQ GTKLEIKGGG GSGGGGSGGG GSEVQLVQSG AEVK
KPGESL KISCKGSGYS FTTYWLGWVR QMPGKGLDWI GIMSPVDS DI RYSPSFQG
QV TMSVDKSITT AYLQWNSLKA SDTAMYYCAR RRPQGQYFDF WGQGT LVTVS
S(GGGGS) n_1 VHMPLGFLGP RQARVVN(GGGGGS) n_2 KIDA CKRGDVTVKP SHVILL

50

GSTV NITCSLKPRQ GCFHYSRRNK LILYKFDRRI NFHHGHSLNS QVTGLPLGTT
 LfvckLACIN SDEIQICGAE IFVGVAPeQP QNLSCIQKGE QGTvACTWER GRDT
 HLYTEY TLQLSGPKNL TWQKQCKDIY CDYLDFGINL TPESPEsnFT AKVTAVNS
 LG SSSSLPSTFT FLDIVRPLPP WDIRIKFQKA SVSRCTLYWR DEGLVLLNRL RY
 RPSNSRLW NMVNVTKAKG RHDLLDLKPF TEYEFQISSK LHLYKGSWSD WSESL
 RAQTP EEEPTG; n 1 = 1、2、3または4および n 2 = 1、2、3または4。

配列番号 26 - ホール変異を有する F c s c F v / I L - 1 2 R 2 - D 1 D 2 D 3
 DKThTCPPCP APELLGGPSV FLFPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE 10
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
 HNHYTQKS LSLSPGGGGG SGGGGSTGRG PSWVGGGGSG GGSDIQMTQS PSSLSA
 SVGD RVTITCRASQ GISSWLAWYQ QKPEKAPKSL IYAASSLQSG VPSRFSGSGS
 GTDFTLTISS LQPEDFATYY CQQYNIYPY FGGGTKLEIK GGGGSGGGGS GGGGS
 EVQLV QSGAEVKKPG ESLKISCKGS GYSFTTYWLG WVRQMPGKGL DWIGIMSP
 VD SDIRYSPSFQ GQVTMSVDKS ITTAYLQWNS LKASDTAMYY CARRRPGQGY F
 DFWGQGTLV TVSS(GGGGS)_{n1}VHMPLGF LGPRQARVVN(GGGS)_{n2}K IDACKR
 GDVT VKPSHVILLG STVNITCSLK PRQCGFHYSR RNKLILYKFD RRINFHHGHS
 LNSQVTGLPL GTTLFVCKLA CINSDEIQIC GAEIFVGVAP EQPQNLSCIQ KGEQG
 TVACT WERGRDTHLY TEYTLQLSGP KNLTWQKQCK DIYCDYLDFG INLTPESP 20
 ES NFTAKVTAVN SLGSSSSLPS TFTFLDIVRP LPPWDIRIKF QKASVSRCTL YW
 RDEGLVLL NRLRYRPSNS RLWNVNVTK AKGRHDLLDL KPFTEYEFQI SSKLH
 LYKGS WSDWSESLRA QTPEEEPTG; n 1 = 1、2、3または4および n 2 = 1、2
 、3または4。

配列番号 27 - ホール変異を有する F c s c F v / I L - 1 2 R 2 - D 1 D 2 D 3
 DKThTCPPCP APELLGGPSV FLFPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
 HNHYTQKS LSLSPGGGGG SGGGGSGGGGS EVQLVQSGAE VKKPGESLKI SCKGSG 30
 YSFT TYWLGWVRQM PGKGLDWIGI MSPVDSDIRY SPSFQGGVMT SVDKSITTA
 Y LQWNSLKASD TAMYYCARRR PGQGYDFDWG QGTLVTVSSG GGGSGGGGGSG G
 GGSDIQMTQ SPSSLSASVG DRVTITCRAS QGISSWLAWY QKPEKAPKS LIYAA
 SSLQS GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLQPEDFATY YCQQYNIYPY TFGGQTKLEI
 K(GGGGS)_{n1}VHMPLGFLGP RQARVVN(GGGS)_{n2}KIDA CKRGDVTVKP SHVILL
 GSTV NITCSLKPRQ GCFHYSRRNK LILYKFDRRI NFHHGHSLNS QVTGLPLGTT
 LfvckLACIN SDEIQICGAE IFVGVAPeQP QNLSCIQKGE QGTvACTWER GRDT
 HLYTEY TLQLSGPKNL TWQKQCKDIY CDYLDFGINL TPESPEsnFT AKVTAVNS
 LG SSSSLPSTFT FLDIVRPLPP WDIRIKFQKA SVSRCTLYWR DEGLVLLNRL RY
 RPSNSRLW NMVNVTKAKG RHDLLDLKPF TEYEFQISSK LHLYKGSWSD WSESL 40
 RAQTP EEEPTG; n 1 = 1、2、3または4および n 2 = 1、2、3または4。

配列番号 28 - ホール変異を有する F c s c F v / I L - 1 2 R 2 - D 1 D 2 D 3
 DKThTCPPCP APELLGGPSV FLFPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
 HNHYTQKS LSLSPGGGGG SGGGGSTGRG PSWVGGGGSG GGSEVQLVQS GAEVK
 KPGES LKISCKGSGY SFTTYWLGWV RQMPGKGLDW IGIMSPVDS IRYSPSFQG
 Q VTMSVDKSIT TAYLQWNSLK ASDTAMYYCA RRRPGQGYFD FWGQGTLVTV S
 SGGGGSGGG GSGGGGSDIQ MTQSPSSLSA SVGDRVTITC RASQGISSWL AWYQQ 50

KPEKA PKSLIYAASS LQSGVPSRFS GSGSGTDFTL TISSLQPEDF ATYYCQQYNI
 YPYTFGQGTK LEIK(GGGGS)_{n1}VHMPLGFLGPRQARVVN_(GGGGS)_{n2}K IDACKR
 GDVT VKPSHVILLG STVNITCSLK PRQGCFFHYSR RNKLILYKFD RRINFHHGHS
 LNSQVTGLPL GTTLFVCKLA CINSDEIQIC GAEIFVGVAP EQPQNLSCIQ KGEQG
 TVACT WERGRDTHLY TEYTLQLSGP KNLTWQKQCK DIYCDYLDLFG INLTPESP
 ES NFTAKVTAVN SLGSSSSLPS TFTFLDIVRP LPPWDIRIKF QKASVSRCTL YW
 RDEGLVLL NRLRYRPSNS RLWNMVNVTAKGRHDLDDL KPFTEYEFQI SSKLH
 LYKGS WSDWSESLRA QTPEEEPTG; n 1 = 1、2、3または4およびn 2 = 1、2
 、3または4。

配列番号 29 ~ 33 ペプチドリンカー

GGGGS(配列番号 29)

GGGSGGGGS(配列番号 30)

GGGSGGGGS GGGGS(配列番号 31)

GGGSGGGGX GGGSGGGGS(配列番号 32)、X = AまたはN

(GGGSGGGGX₁ GGGX₂GGGGS)_n(配列番号 33)、X₁ = S、AまたはN、X₂ =
 AまたはNおよびn = 1、2または3。

配列番号 34 - 開裂可能ペプチドリンカー

GSLSGRSDN HGGGGS

配列番号 35 - 開裂可能ペプチドリンカー

GSLSGRSDN HGS

配列番号 36 - 開裂可能リンカー

GGGSGGGGS GGGGSISSGL LSSGGSGGSL SGRSDNHGGG GS

配列番号 37 ~ 43 - MMP - 2 / MMP - 9 開裂可能ペプチドリンカー

GPLGVR(配列番号 37)

PLGMWSR(配列番号 38)

PLGLWAR(配列番号 39)

PQGIAGQR(配列番号 40)

PLGLAG(配列番号 41)

LALGPR(配列番号 42)

GGPLGMLSQS(配列番号 43)

配列番号 44 ~ 52 - ウロキナーゼプラスミノーゲンアクティベーター(uPA)開裂
 可能ペプチドリンカー

GGGRRRGGGS(配列番号 44)

TGRGPSWV(配列番号 45)

SARGPSRW(配列番号 46)

TARGPSFK(配列番号 47)

TARGPSW(配列番号 48)

GGWHTGRN(配列番号 49)

HTGRSGAL(配列番号 50)

PLTGRSGG(配列番号 51)

LTGRSGA(配列番号 52)

配列番号 53 - マトリプターゼ開裂可能ペプチドリンカー

RQARVVNG(配列番号 53)

配列番号 54 - マトリプターゼ - MMP 2 / 9 デュアル開裂可能ペプチドリンカー

VHMPLGFLGPRQARVVNG(配列番号 54)。

配列番号 55 - ホール変異を有するFc - IL - 12 P35 - リンカー - IL - 1
 2R 2フラグメント

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE

10

20

30

40

50

WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
 HNHYTQKS LSLSPGGGGG SGGGGSGGGG SRNLPVATPD PGMFPCLHHS QNLLR
 AVSNM LQKARQTLEF YPCTSEEIDH EDITKDKTST VEACLPLELT KNESCLNSRE
 TSFITNGSCL ASRKTSFMMA LCLSSIIYEDL KMYQVEFKTM NAKLLMDPKR QIFL
 DQNMLA VIDELMQALN FNSETVPQKS SLEEPDFYKT KIKLCILLHA FRIRAVTID
 R VMSYLNAS(G GGGG)_{n1}VHM PLGFLGPRQA RVVN(GGGG)_{n2}KIDACKR GDVT
 VKPSHV ILLGSTVNIT CSLKPRQGCF HYSRRNKLIL YKFDRRINFH HGHSLNSQV
 T GLPLGTTLFV CKLACINSDE IQICGAEIFV GVAPEQPQNL SCIQKGEQGT VACT
 WERGRD THLYTEYTLQ LSGPKNLTWQ KQCKDIYCDY LDFGINLTPE SPESNFTA
 KV TAVNSLGSSS SLPSTFTFLD IVRPLPPWDI RIKFQKASVS RCTLYWRDEG LV 10
 LLNRLRYR PSNSRLWNMV NVTKAKGRHD LLDLKPFTY EFQISSKLHL YKGSW
 SDWSE SLRAQTPEEE PTG; n 1 = 1、2、3または4およびn 2 = 1、2、3また
 は4。

配列番号 56 - ノブ変異を有する Fc - IL - 12 P40 - 非開裂可能リンカー -
 IL - 12 R 1フラグメント

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYASTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPCRDELTK NQVSLWCLVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALH
 NHYTQKS LSLSPGAGGG GSGGGGSGGG GSIWELKKDV YVVELDWYPD APGEMV 20
 VLTC DTPEEDGITW TLDQSSEVLG SGKTLTIQVK EFGDAGQYTC HGGGEVLSHS
 LLLLHKKEDG IWSTDILKDQ KEPKNKTFLR CEAKNYSGRF TCWWLTTIST DLTF
 SVKSSR GSSDPQGVTC GAATLSAERV RGDNKEYEYS VECQEDSACP AAESLPIE
 V MVDAVHKLKY ENYTSSFFIR DIIKPDPPKN LQLKPLKNSR QVEVSWEYPD TW
 STPHSYFS LTFVCVQVQGK SKREKKDRVF TDKTSATVIC RKNASISVRA QDRYYSS
 SWS EWASVPCSGG GSGGGGGSGG GGSRTSECCF QDPPYPDADS GSASGPRDLR
 CYRISSDRYE CSWQYEGPTA GVSHFLRCCL SSGRCCYFAA GSATRLQFSD QAGV
 SVLYTV TLWVESWARN QTEKSPEVTL QLYNSVKYEP PLGDIKVS KL AGQLRME
 WET PDNQVGAEVQ FRHRTSPSPW KLGDCGPQDD DTESCLCPLM MNVAQEFQLR
 RRQLGSQGSS WSKWSSPVCV PPENPPQPQV RFSVEQLGQD GRRRLTLKEQ PTQ 30
 LELPEGC QGLAPGTEVT YRLQLHMLSC PCKAKATRTL HLGKMPYLSG AAYNVA
 VISS NQFGPGLNQT WHIPA

配列番号 57 - ノブ変異を有する Fc - IL - 12 P40 - 開裂可能リンカー - I
 L - 12 R 1フラグメント

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYASTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPCRDELTK NQVSLWCLVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALH
 NHYTQKS LSLSPGAGGG GSGGGGSGGG GSIWELKKDV YVVELDWYPD APGEMV 40
 VLTC DTPEEDGITW TLDQSSEVLG SGKTLTIQVK EFGDAGQYTC HGGGEVLSHS
 LLLLHKKEDG IWSTDILKDQ KEPKNKTFLR CEAKNYSGRF TCWWLTTIST DLTF
 SVKSSR GSSDPQGVTC GAATLSAERV RGDNKEYEYS VECQEDSACP AAESLPIE
 V MVDAVHKLKY ENYTSSFFIR DIIKPDPPKN LQLKPLKNSR QVEVSWEYPD TW
 STPHSYFS LTFVCVQVQGK SKREKKDRVF TDKTSATVIC RKNASISVRA QDRYYSS
 SWS EWASVPCSGG GSGGGGGSTG RGPWSVGGGG SGGGSRTEC CFQDPPYPDA
 DSGSASGPRD LRCYRISSDR YECWQYEGP TAGVSHFLRC CLSSGRCCYF AAGS
 ATRLQF SDQAGVSVLY TVTLWVESWA RNQTEKSPEV TLQLYNSVKY EPPLGDI
 KVS KLAGQLRMEW ETPDNQVGAE VQFRHRTSPSS PWKLGDCGPQ DDDTESCLCP
 LEMVAQEFQ LRRRQLGSQG SWSKWSSPV CVPPENPPQP QVRFSVEQLG QDG
 RRRLTLK EQPTQLELPE GCQGLAPGTE VTYRLQLHML SCPCAKATR TLHLGK 50

MPYL SGAAYNVAVI SSNQFGPGLN QTWHIPA

配列番号 58 - ノブ変異を有する Fc - IL - 12 P40 - 開裂可能リンカー - scFv

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYASTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPCRDELTK NQVSLWCLVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALH
 NHYTQKS LSLSPGAGGG GSGGGGSGGG GSIWELKKDV YVVELDWYPD APGEMV
 VLTC DTPEEDGITW TLDQSSEVLG SGKTLTIQVK EFGDAGQYTC HKGGEVLSHS
 LLLLHKKEDG IWSTDILKDQ KEPKNKTFLR CEAKNYSGRF TCWWLTTIST DLTF
 SVKSSR GSSDPQGVTC GAATLSAERV RGDNKEYEYS VECQEDSACP AAEEESLPIE
 V MDAVHKLKY ENYTSSFFIR DIIKPDPPKN LQLKPLKNSR QVEVSWEYPD TW
 STPHSYFS LTFVCVQVQGK SKREKKDRVF TDKTSATVIC RKNASISVRA QDRYYSS
 SWS EWASVPCSGG GSGGGGGSTG RGPSWVGGGG SGGGSEVQLV QSGAEVKKPG
 ESLKISCKGS GYSFTTYWLG WVRQMPGKGL DWIGIMSPVD SDIRYSPSFQ GQVT
 MSVDKS ITTAYLQWNS LKASDTAMYY CARRRPGQGY FDFWGGGTLV TVSSGGG
 GSG GGGSGGGGSD IQMTQSPSSL SASVGDRVTI TCRASQGISS WLAWYQQKPE
 KAPKSLIYAA SSLQSGVPSR FSGSGSGTDF TLTISLQPE DFATYYCQQY NIYPYT
 FGQG TKLEIK

10

配列番号 59 - ノブ変異を有する Fc - IL - 12 P40 - 開裂可能リンカー - scFv

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYASTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPCRDELTK NQVSLWCLVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALH
 NHYTQKS LSLSPGAGGG GSGGGGSGGG GSIWELKKDV YVVELDWYPD APGEMV
 VLTC DTPEEDGITW TLDQSSEVLG SGKTLTIQVK EFGDAGQYTC HKGGEVLSHS
 LLLLHKKEDG IWSTDILKDQ KEPKNKTFLR CEAKNYSGRF TCWWLTTIST DLTF
 SVKSSR GSSDPQGVTC GAATLSAERV RGDNKEYEYS VECQEDSACP AAEEESLPIE
 V MDAVHKLKY ENYTSSFFIR DIIKPDPPKN LQLKPLKNSR QVEVSWEYPD TW
 STPHSYFS LTFVCVQVQGK SKREKKDRVF TDKTSATVIC RKNASISVRA QDRYYSS
 SWS EWASVPCSGG GSGGGGGSTG RGPSWVGGGG SGGGSDIQMT QSPSSLASV
 GDRVTITCRA SQGISSWLAW YQQKPEKAPK SLIYAASSLQ SGVPSRFSGS GSGTD
 FTTLTI SSLQPEDFAT YYCQQYNIYP YTFGQGKLE IKGGGGSGGG GSGGGGSEVQ
 LVQSGAEVKK PGESLKISCK GSGYSFTTYW LGWVRQMPGK GLDWIGIMSP VDS
 DIRYSPS FQGQVTMSVD KSITTAYLQW NSLKASDTAM YYCARRRPGQ GYFDFW
 GQGT LVTVSS

30

配列番号 60 - ホール変異を有する Fc - IL - 12 P40 - リンカー - IL - 12R 2フラグメント

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
 HNHYTQKS LSLSPGGGGG SGGGGSGGGG SIWELKKDVY VVELDWYPDA PGEMV
 VLTC D TPEEDGITWT LDQSSEVLGS GKTLTIQVKE FGDAGQYTCH KGGEVLSHS
 L LLLLHKKEDGI WSTDILKDQK EPKNKTFLRC EAKNYSGRFT CWWLTTISTD LT
 FSVKSSRG SSDPQGVTCG AATLSAERVR GDNKEYEYSV ECQEDSACPA AEESLPI
 EVM VDAVHKLKYE NYTSSFFIRD IIKPDPPKNL QLKPLKNSRQ VEVSWEYPDT
 WSTPHSYFSL TFCVQVQGKS KREKKDRVFT DKTSATVICR KNASISVRAQ DRY
 SSSWSE WASVPCS(GG GGS)_{n1} VHMP LGFLGPRQAR VVN(GGGGS) _{n2} KIDACKR

40

50

G DVTVKPSHVI LLGSTVNITC SLKPRQGCFH YSRRNKLILY KFDRRINFHH GHS
 LNSQVTG LPLGTTLFVC KLACINSDEI QICGAEIFVG VAPEQPQNLS CIQKGEQG
 TV ACTWERGRDT HLYTEYTLQL SGPKNLTWQK QCKDIYCDYL DFGINLTPES P
 ESNFTAKVT AVNSLGSSSS LPSTFTFLDI VRPLPPWDIR IKFQKASVSR CTLYWR
 DEGL VLLNRLRYRP SNSRLWNMVN VTKAKGRHDL LDLKPFTEYE FQISSKLHLY
 KGSWSDWSES LRAQTPEEEP TG; n 1 = 1、2、3または4およびn 2 = 1、2、
 3または4。

配列番号 6 1 - ノブ変異を有する F c - I L - 1 2 P 3 5 - 非開裂可能リンカー -
 I L - 1 2 R 1フラグメント

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK 10
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYASTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPCRDELTK NQVSLWCLVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALH
 NHYTQKS LSLSPGAGGG GSGGGGSGGG GSRNLPVATP DPGMFPCLHH SQNLLR
 AVSN MLQKARQTL E FYPCTSEEID HEDITKDKTS TVEACLPLEL TKNESCLNSR
 ETSFITNGSC LASRKTSFMM ALCLSSIYED LKMYQVEFKT MNAKLLMDPK RQIF
 LDQNML AVIDELMQAL NFNSETVPQK SSLEEDPFYK TKIKLCILLH AFRIRAVTI
 D RVMSYLNASG GGGSGGGGSG GGGRTSECC FQDPPYPDAD SGSASGPRDL RC
 YRISSDRY ECSWQYEGPT AGVSHFLRCC LSSGRCCYFA AGSATRLQFS DQAGVS
 VLYT VTLWVESWAR NQTEKSPEVT LQLYNSVKYE PPLGDIKISK LAGQLRMEW 20
 E TPDNQVGAEV QFRHRTSPSS WKLGDGCGPD DATESCLCPL EMNVAQEFQL R
 RRQLGSQGS SWSKWSSPVC VPPENPPQPQ VRFSVEQLGQ DGRRLTLKE QPTQ
 LELPEG CQGLAPGTEV TYRLQLHMLS CPCKAKATRT LHLGKMPYLS GAAYNVA
 VIS SNQFGPGLNQ TWHIPA

配列番号 6 2 - ノブ変異を有する F c - I L - 1 2 P 3 5 - 開裂可能リンカー - I
 L - 1 2 R 1フラグメント

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYASTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPCRDELTK NQVSLWCLVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALH 30
 NHYTQKS LSLSPGAGGG GSGGGGSGGG GSRNLPVATP DPGMFPCLHH SQNLLR
 AVSN MLQKARQTL E FYPCTSEEID HEDITKDKTS TVEACLPLEL TKNESCLNSR
 ETSFITNGSC LASRKTSFMM ALCLSSIYED LKMYQVEFKT MNAKLLMDPK RQIF
 LDQNML AVIDELMQAL NFNSETVPQK SSLEEDPFYK TKIKLCILLH AFRIRAVTI
 D RVMSYLNASG GGGSGGGGSGT GRGPSWVGGG GSGGGRTSE CCFQDPPYPD A
 DSGSASGPR DLRCYRISSD RYECWQYEG PTAGVSHFLR CCLSSGRCCY FAAGS
 ATRLQ FSDQAGVSVL YTVTLWVESW ARNQTEKSPE VTLQLYNSVK YEPPLGDI
 KV SKLAGQLRME WETPDNQVGA EVQFRHRTPS SPWKLGDGCGP QDDATESCLC
 PLEMNVAQEF QLRRRQLGSQ GSSWSKWSSP VCVPPENPPQ PQVRFSVEQL GQD
 GRRRLTL KEQPTQLELP EGCQGLAPGT ETTYRLQLHM LSCPCKAKAT RTLHLG 40
 KMPY LSGAAYNVAV ISSNQFGPGL NQTWHIPA

配列番号 6 3 - ノブ変異を有する F c - I L - 1 2 P 3 5 - 開裂可能リンカー - s
 c F v

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYASTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPCRDELTK NQVSLWCLVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALH
 NHYTQKS LSLSPGAGGG GSGGGGSGGG GSRNLPVATP DPGMFPCLHH SQNLLR
 AVSN MLQKARQTL E FYPCTSEEID HEDITKDKTS TVEACLPLEL TKNESCLNSR
 ETSFITNGSC LASRKTSFMM ALCLSSIYED LKMYQVEFKT MNAKLLMDPK RQIF 50

LDQNML AVIDELMQAL NFNSETVPQK SSLEEPDFYK TKIKLCILLH AFRIRAVTI
 D RVMSYLNASG GGGSGGGGST GRGPSWVGGG GSGGGSEVQL VQSGAEVKKP G
 ESLKISCKG SGYSFTTYWL GWVRQMPGKG LDWIGIMSPV DSDIRYSPSF QGQVT
 MSVDK SITTAYLQWN SLKASDTAMY YCARRRPGQG YDFDFWGGGTL VTVSSGGG
 GS GGGGSGGGGS DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIS SWLAWYQQKP E
 KAPKSLIYA ASSLQSGVPS RFGSGSGGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNIYPYT
 FGQ GTKLEIK

配列番号 64 - ノブ変異を有する Fc - IL - 12 P35 - 開裂可能リンカー - scFv

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK 10
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYASTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPCRDELTK NQVSLWCLVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALH
 NHYTQKS LSLSPGAGGG GSGGGGSGGG GSRNLPVATP DPGMFPCLHH SQNLLR
 AVSN MLQKARQTL FYPCTSEEID HEDITKDKTS TVEACLPLEL TKNESCLNSR
 ETSFITNGSC LASRKTSFMM ALCLSSIYED LKMYQVEFKT MNAKLLMDPK RQIF
 LDQNML AVIDELMQAL NFNSETVPQK SSLEEPDFYK TKIKLCILLH AFRIRAVTI
 D RVMSYLNASG GGGSGGGGST GRGPSWVGGG GSGGGSDIQM TQSPSSLSAS VG
 DRVTITCR ASQGISSWLA WYQQKPEKAP KSLIYAASSL QSGVPSRFGS GSGGTD
 TLT ISSLQPEDFA TYCQQYNIY PYTFGQGTCL EIKGGGGSGG GSGGGGSEV Q 20
 LVQSGAEVK KPGESLKISC KSGYSFTTY WLGWVRQMPG KGLDWIGIMS PVDS
 DIRYSP SFQGQVTMSV DKSITTAYLQ WNSLKASDTA MYCARRRPG QGYDFW
 GQG TLVTVSS

配列番号 65 - Fc - ノブ変異を有する IL - 12 (P35 - P40)

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYASTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPCRDELTK NQVSLWCLVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALH
 NHYTQKS LSLSPGA(GG GGS)_{n1}RNLP VATPDPGMFP CLHHSQNLLR AVSNMLQ
 KAR QTLEFYPCTS EEIDHEDITK DKTSTVEACL PLELTKNESC LNSRETSFIT NG 30
 SCLASRKT SFMMALCLSS IYEDLKMYQV EFKTMNAKLL MDPKRQIFLD QNMLA
 VIDEL MQALNFNSET VPQKSSLEEP DFYKTKIKLC ILLHAFRIRA VTIDRVMSYL
 NAS(GGGGS)_{n2}IWELKKDV YVELDWYPD APGEMVVLTC DTPEEDGITW TLD
 QSSEVLG SGKTLTIQVK EFGDAGQYTC HKGGEVLSHS LLLLHKKEDG IWSTDIL
 KDQ KEPKNKTFLR CEAKNYSGRF TCWWLTTIST DLTFSVKSSR GSSDPQGVTC
 GAATLSAERV RGDNKEYEYS VECQEDSACP AAESLPIEV MVDVAVHKLKY ENYT
 SFFIR DIIKPDPPKN LQLKPLKNSR QVEVSWEYPD TWSTPHSYFS LTFCVQVQ
 GK SKREKKDRVF TDKTSATVIC RKNASISVRA QDRYSSSSWS EWASVPCS;ここ
 で、n1 = 2、3、4または5；ここで、n2 = 2、3、4または5。

配列番号 66 - ホール変異を有する Fc - IL - 12 R2 - D1D2 / IL - 12 R1 - D1D2 40

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
 HNHYTQKS LSLSPGGGGG SGGGGSGGGG KIDACKRGDV TVKPSHVILL GSTVNI
 TCSL KPRQGCFHYS RRNKLILYKF DRRINFHHGH SLNSQVTGLP LGTTLFVCKL
 ACINSDEIQI CGAEIFVGVA PEQPQNLSKI QKGEQGTVAC TWERGRDTHL YTEY
 TLQLSG PKNLTWQKQC KDIYCDYLDG GINLTPESPE SNFTAKVTAV NSLGSSSS
 LP STFTFLDI(G GGGGS)_{n1}VHM PLGFLGPRQA RVVN(GGGGS)_{n2}RTSECCF QDPP 50

YPDADS GSASGPRDLR CYRISSDRYE CSWQYEGPTA GVSHFLRCCL SSGRCCYF
 AA GSATRLQFSD QAGVSVLYTV TLWVESWARN QTEKSPEVTL QLYNSVKYEP
 PLGDIKVS KL AGQLRMEWET PDNQVGAEVQ FRHRTSPSPW KLGDCGPQDD DT
 ESCLCPL MNVAQEFQLR RRQLGSQGSS WSKWSSPVCV PPE;ここで、 $n_1 = 1$
 、2、3または4および $n_2 = 1$ 、2、3または4。

配列番号 67 - ホール変異を有する F c I L - 1 2 R 2 - D 1 D 2 D 3 / I L -
 1 2 R 1 - D 1 D 2 D 3

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE 10
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
 HNHYTQKS LSLSPGGGGG SGGGGSGGGS KIDACKRGDV TVKPSHVILL GSTVNI
 TCSL KPRQGCFHYS RRNKLILYKF DRRINFHHGH SLNSQVTGLP LGTTLFVCKL
 ACINSDEIQI CGAEIFVGVA PEQPQNLSCI QKGEQGTVAC TWERGRDTHL YTEY
 TLQLSG PKNLTWQKQC KDIYCDYLDG GINLTPEspe SNFTAKVTAV NSLGSSSS
 LP STFTFLDIVR PLPPWDIRIK FQKASVSRCT LYWRDEGLVL LNRLRYRPSN SR
 LWNMVNVT KAKGRHLLD LKPFTEYEFQ ISSKLHLYKG SWSDWSESLR AQTPE
 EEPTG (GGGGS)_{n1}VHMP LGFLGP RQARVVN(GGG GS)_{n2}RTSEC CFQDPPYPDA
 DSGSASGPRD LRCYRISSDR YECSWQYEGP TAGVSHFLRC CLSSGRCCYF AAGS
 ATRLQF SDQAGVSVLY TVTLWVESWA RNQTEKSPEV TLQLYNSVKY EPPLGDI 20
 KVS KLAGQLRMEW ETPDNQVGA E VQFRHRTSPS PWKLGDCGPQ DDDTESCLCP
 LEMNVAQEFQ LRRRQLGSQG SSWSKWSSPV CVPPENPPQP QVRFSVEQLG QDG
 RRRLTLK EQPTQLELPE GCQGLAPGTE VTYRLQLHML SCPCAKATR TLHLGK
 MPYL SGAAYNVAVI SSNQFGPGLN QTWHIPA; $n_1 = 1$ 、2、3または4および
 $n_2 = 1$ 、2、3または4。

配列番号 68 - ホール変異を有する F c - I L - 1 2 R 2 - D 1 D 2 / I L - 1 2
 R 1 - D 1 D 2

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE 30
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
 HNHYTQKS LSLSPGGGGG SGGGGSTGRG PSWVGGGGSG GSKIDACKR GDVTV
 KPSHV ILLGSTVNIT CSLKPRQGCF HYSRRNKLIL YKFDRRINFH HGHSLSNSQVT
 GLPLGTTLFV CKLACINSDE IQICGAEIFV GVAPEQPQNL SCIQKGEQGT VACTW
 ERGRD THLYTEYTLQ LSGPKNLTWQ KQCKDIYCDY LDFGINLTPE SPESNFTAK
 V TAVNSLGSSS SLPSTFTFLD I(GGGGS)_{n1}VHMP LGFLGP RQARVVN(GG GGS)<sub>n
 2</sub>RTSE CCFQDPPYPD ADSGSASGPR DLRCYRISSD RYECWQYEG PTAGVSHFLR
 CCLSSGRCCY FAAGSATRLQ FSDQAGVSVL YTVTLWVESW ARNQTEKSPE VTL
 QLYNSVK YEPPLGDIKV SKLAGQLRME WETPDNQVGA EVQFRHRTPS SPWKL
 DCGP QDDDTESCLC PLEMNVAQEF QLRRRQLGSQ GSSWSKWSSP VCVPE; こ 40
 ここで、 $n_1 = 1$ 、2、3または4および $n_2 = 1$ 、2、3または4。

配列番号 69 - ホール変異を有する F c I L - 1 2 R 2 - D 1 D 2 D 3 / I L -
 1 2 R 1 - D 1 D 2 D 3

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
 HNHYTQKS LSLSPGGGGG SGGGGSTGRG PSWVGGGGSG GSKIDACKR GDVTV
 KPSHV ILLGSTVNIT CSLKPRQGCF HYSRRNKLIL YKFDRRINFH HGHSLSNSQVT
 GLPLGTTLFV CKLACINSDE IQICGAEIFV GVAPEQPQNL SCIQKGEQGT VACTW 50

ERGRD THLYTEYTLQ LSGPKNLTWQ KQCKDIYCDY LDFGINLTPE SPESNFTAK
 V TAVNSLGSSS SLPSTFTFLD IVRPLPPWDI RIKFQKASVS RCTLYWRDEG LVL
 LNRLRYR PSNSRLWNMV NVTKAKGRHD LLDLKPFTHEY EFQISSKLHL YKGSWS
 DWSE SLRAQTPEEE PTG(GGGGS) n_1 VHMPLGFL GPRQARVVN(GGGGS) n_2 RT S
 ECCFQDPY PDADSGSASG PRDLRCYRIS SDRYECWQY EGPTAGVSHF LRCCL
 SSGRC CYFAAGSATR LQFSDQAGVS VLYTVTLWVE SWARNQTEKS PEVTLQLY
 NS VKYEPPLGDI KVSKLAGQLR MEWETPDNQV GAEVQFRHRT PSSPWKLGDC
 GPQDDDTESC LCPLEMNVAQ EFQLRRRQLG SQGSSWSKWS SPVCPVENP PQP
 QVRFVSVE QLGQDGRRRL TLKEQPTQLE LPEGCQGLAP GTEVTYRLQL HMLSCP
 CKAK ATRTLHLGKM PYLSGAAYNV AVISSNQFGP GLNQTWHIPA; $n_1 = 1、2$ 10
 、3または4および $n_2 = 1、2、3$ または4。

配列番号70 - ホール変異を有する F c I L - 1 2 R 2 - D 1 D 2 D 3 / s c F v
 DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
 HNHYTQKS LSLSPGGGGG SGGGGSGGGS KIDACKRGDV TVKPSHVILL GSTVNI
 TCSL KPRQGCFHYS RRNKLILYKF DRRINFHHGH SLNSQVTGLP LGTTLFVCKL
 ACINSDEIQI CGAEIFVGVA PEQPQNLSCI QKGEQGTVAC TWERGRDTHL YTEY
 TLQLSG PKNLTWQKQC KDIYCDYLDG GINLTPESPE SNFTAKVTAV NSLGSSSS 20
 LP STFTFLDIVR PLPPWDIRIK FQKASVSRCT LYWRDEGLVL LNRLRYRPSN SR
 LWNMNVNT KAKGRHDLLD LKPFTHEYEFQ ISSKLHLYKG SWSDWSESLR AQTPE
 EEPTG (GGGGS) n_1 V H M P L G F L G P R Q A R V V N(GGG GS) n_2 DIQMT QSPSSLSASV
 GDRVTITCRA SQGISSWLAW YQQKPEKAPK SLIYAASSLQ SGVPSRFSGS GSGTD
 FTLTI SSLQPEDFAT YYCQQYNIYP YTFGQGTKLE IKGGGGSGGG GSGGGGSEVQ
 LVQSGAEVKK PGESLKISCK GSGYSFTTYW LGWVRQMPGK GLDWIGIMSP VDS
 DIRYSPS FQGQVTMSVD KSITTAYLQW NSLKASDTAM YYCARRRPGQ GYFDFW
 GQGT LVTVSS; $n_1 = 1、2、3$ または4および $n_2 = 1、2、3$ または4。

配列番号71 - ホール変異を有する F c I L - 1 2 R 2 - D 1 D 2 D 3 / s c F v
 DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK 30
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
 HNHYTQKS LSLSPGGGGG SGGGGSTGRG PSWVGGGGSG GSKIDACKR GDVTV
 KPSHV ILLGSTVNIT CSLKPRQGC F HYSRRNKLIL YKFDRRINFH HGHSLSNSQVT
 GLPLGTTLFV CKLACINSDE IQICGAEIFV GVAPEQPQNL SCIQKGEQGT VACTW
 ERGRD THLYTEYTLQ LSGPKNLTWQ KQCKDIYCDY LDFGINLTPE SPESNFTAK
 V TAVNSLGSSS SLPSTFTFLD IVRPLPPWDI RIKFQKASVS RCTLYWRDEG LVL
 LNRLRYR PSNSRLWNMV NVTKAKGRHD LLDLKPFTHEY EFQISSKLHL YKGSWS
 DWSE SLRAQTPEEE PTG(GGGGS) n_1 VHMPLGFL GPRQARVVN(GGGGS) n_2 DI Q 40
 MTQSPSSLS ASVGDRVTIT CRASQGISSW LAWYQQKPEK APKSLIYAAS SLQSG
 VPSRF SGGSGTDFDFT LTISSLQPED FATYYCQQYN IYPYTFGQGT KLEIKGGGGG
 GGGGSGGGGS EVQLVQSGAE VKKPGESLKI SCKGSGYSFT TYWLGWVRQM PGK
 GLDWIGI MSPVDSDIRY SPSFQGQVTM SVDKSITTAY LQWNSLKASD TAMYCY
 ARRR PGQGYFDFWG QGTLVTVSS; $n_1 = 1、2、3$ または4および $n_2 = 1、2$
 、3または4。

配列番号72 - ホール変異を有する F c I L - 1 2 R 2 - D 1 D 2 D 3 s c F v
 DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE 50

WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
 HNHYTQKS LSLSPGGGGG SGGGGSGGGS KIDACKRGDV TVKPSHVILL GSTVNI
 TCSL KPRQGCFHYS RRNKLILYKF DRRINFHHGH SLNSQVTGLP LGTTLFVCKL
 ACINSDEIQI CGAEIFVGVA PEQPQNLSCI QKGEQGTVAC TWERGRDTHL YTEY
 TLQLSG PKNLTWQKQC KDIYCDYLDG GINLTPESPE SNFTAKVTAV NSLGSSSS
 LP STFTFLDIVR PLPPWDIRIK FQKASVSRT LYWRDEGLVL LNRLRYRPSN SR
 LWNMVNVT KAKGRHLLD LKPFTEYEFQ ISSKLHLYKG SWSDWSESLR AQTPE
 EEPTG (GGGGS)_{n1}VHMPLGFLGPR QARVVN(GGG GS)_{n2}EVQLV QSGAEVKKPG
 ESLKISCKGS GYSFTTYWLG WVRQMPGKGL DWIGIMSPVD SDIRYSPSFQ GQVT
 MSVDKS ITTAYLQWNS LKASDTAMYY CARRRPGQGY FDFWGGQGLV TVSSGGG 10
 GSG GGGSGGGGSD IQMTQSPSSL SASVGDRVTI TCRASQGISS WLAWYQQKPE
 KAPKSLIYAA SSLQSGVPSR FSGSGSGTDF TLTISLQPE DFATYYCQQY NIYPYT
 FGQG TKLEIK; n 1 = 1、2、3または4およびn 2 = 1、2、3または4。

配列番号 7 3 - ホール変異を有する F c I L - 1 2 R 2 - D 1 D 2 D 3 / s c F v
 DKHTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
 HNHYTQKS LSLSPGGGGG SGGGGSTGRG PSWVGGGGSG GSKIDACKR GDVTV 20
 KPSHV ILLGSTVNIT CSLKPRQGC F HYSRRNKLIL YKFDRRINFH HGHSLSNSQVT
 GLPLGTTLFV CKLACINSDE IQICGAEIFV GVAPEQPQNL SCIQKGEQGT VACTW
 ERGRD THLYTEYTLQ LSGPKNLTWQ KQCKDIYCDY LDFGINLTPE SPESNFTAK
 V TAVNSLGSSS SLPSTFTFLD IVRPLPPWDI RIKFQKASVS RCTLYWRDEG LVL
 LNRLRYR PSNSRLWNMV NVTKAKGRHD LLDLKPFTY EFQISSKLHL YKGSWS
 DWSE SLRAQTPEEE PTG(GGGGS) _{n1}VHMPLGFL GPRQARVVN(GGGGS)_{n2}EV Q
 LVQSGAEVK KPGESLKISC KSGYSFTTY WLGWVRQMPG KGLDWIGIMS PVDS
 DIRYSP SFQGQVTMSV DKSITTAYLQ WNSLKASDTA MYCARRRPG QGYFDFW
 GQG TLVTVSSGGG GSGGGGSGGG GSDIQMTQSP SSLSASVGDR VTITCRASQG I
 SSWLAWYQQ KPEKAPKSLI YAASSLQSGV PSRFSGSGSG TDFTLTISL QPEDFA
 TYYC QQYNIYPYTF GQGTKLEIK; n 1 = 1、2、3または4およびn 2 = 1、2、 30
 3または4。

配列番号 7 4 - I L - 2 アゴニストポリペプチド

APX_{aa3}SSSTKKT QLQLEHLLL X_{aa20} LQMILNGINN YKNPKLTRML TX_{aa42}KFX
{aa45}MPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NX{aa72}X_{aa73}QSKNFHL RPRDLISX_{aa}
₈₈IX_{aa90} VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFX_{aa125}X_{aa126}SIIS
 TLT

ここで、X_{aa3}はNまたはAであり；ここで、X_{aa125}はCまたはSであり；ここで
 、X_{aa20}はD、H、K、L、M、N、Q、R、S、VおよびYから選択され；ここで
 、X_{aa42}はA、G、S、T、Q、E、N、D、RおよびKから選択され；ここで、X
{aa45}はA、G、S、T、Q、E、N、D、RおよびKから選択され；ここで、X{aa} 40
₇₂はA、G、S、T、Q、E、N、D、RおよびKから選択され；ここで、X_{aa73}
 はAであり；ここで、X_{aa88}はN、A、E、F、H、K、L、M、S、T、V、Wお
 よびYから選択され；ここで、X_{aa90}はNまたはTであり；ここで、X_{aa126}はA
 、D、F、G、H、I、K、L、P、S、T、WおよびYから選択され；ここで、X_{aa}
₂₀、X_{aa88}、X_{aa90}およびX_{aa126}の少なくとも1個は変異される。

配列番号 7 5 - I L - 2 アゴニストポリペプチド

APX_{aa3}SSSTKKT QLQLEHLLL X_{aa20} LQMILNGINN YKNPKLTX_{aa38}ML TX_{aa4}
₂KFX_{aa45}MPKKA TELKHLQCLE EX_{aa62}LKPLEX_{aa68}VL NLX_{aa73}QSKNFHL RP
 RDLISX_{aa88}IX_{aa90} VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFX_{aa125}X_a
_{a126}SIIS TLT

ここで、 $X_{a a 3}$ は N または A であり；ここで、 $X_{a a 1 2 5}$ は C または S であり；ここで、 $X_{a a 2 0}$ は D、H、K、L、M、N、Q、R、S、V および Y から選択され；ここで、 $X_{a a 3 8}$ は A、K および S から選択され；ここで、 $X_{a a 4 2}$ は A、G、I、S、T、Q、E、N、D、R および K から選択され；ここで、 $X_{a a 4 5}$ は A、G、S、T、Q、E、N、D、R および K から選択され；ここで、 $X_{a a 6 2}$ は E、L、A および I から選択され；ここで、 $X_{a a 6 8}$ は E または V から選択され；ここで、 $X_{a a 7 3}$ は A または T であり；ここで、 $X_{a a 8 8}$ は N、A、E、F、H、K、L、M、S、T、V、W および Y から選択され；ここで、 $X_{a a 9 0}$ は N または T であり；ここで、 $X_{a a 1 2 6}$ は A、D、F、G、H、I、K、L、P、S、T、W および Y から選択され；ここで、 $X_{a a 2 0}$ 、 $X_{a a 8 8}$ 、 $X_{a a 9 0}$ および $X_{a a 1 2 6}$ の少なくとも 1 個は変異される。

10

配列番号 76 - IL - 12 に結合する s c F v - V H - V L - 2 リンカー

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
 HNHYTQKS LSLSPGKGGG GSGGGGSGPL GVRGGGGSEV QLVQSGAEVK KPGESL
 KISC KSGYSFTTY WLGWVRQMPG KGLDWIGIMS PVDSDIRYSP SFQGGVTMS
 V DKSITTAYLQ WNSLKASDTA MYYCARRRPG QGYFDFWQQG TLVTVSSGGG G
 SGGGGSDIQ MTQSPSSLSA SVGDRVTITC RASQGISSWL AWYQQKPEKA PKSLI
 YAASS LQSGVPSRFS GSGSGTDFTL TISSLQPEDF ATYYCQQYNI YPYTFGQGTK
 LEIK

20

配列番号 77 - IL - 12 に結合する s c F v - V H - V L - 3 リンカー

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
 HNHYTQKS LSLSPGKGGG GSGGGGSGPL GVRGGGGSEV QLVQSGAEVK KPGESL
 KISC KSGYSFTTY WLGWVRQMPG KGLDWIGIMS PVDSDIRYSP SFQGGVTMS
 V DKSITTAYLQ WNSLKASDTA MYYCARRRPG QGYFDFWQQG TLVTVSSGGG G
 SGGGGSGGG GSDIQMTQSP SLSASVGDR VTITCRASQG ISSWLAWYQQ KPEKA
 PKSLI YAASSLQSGV PSRFSGSGSG TDFTLTISSL QPEDFATYYC QQYNIYPYTF
 GQGTKLEIK

30

配列番号 78 - IL - 12 に結合する s c F v - V L - V H - 3 リンカー

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
 HNHYTQKS LSLSPGKGGG GSGGGGSGPL GVRGGGGSDI QMTQSPSSLS ASVGDR
 VTIT CRASQGISSW LAWYQQKPEK APKSLIYAAS SLQSGVPSRF SSGSGTDFT
 LTISSLQPED FATYYCQQYN IYPYTFGQGT KLEIKGGGGG GGGGSGGGGS EVQLV
 QSGAE VKKPGESLKI SCKGSGYSFT TYWLGWVRQM PGKGLDWIGI MSPVDSDI
 RY SPSFQGGVTM SVDKSITTAY LQWNSLKASD TAMYYCARRR PGQGYFDFWG
 QGTLVTVSS

40

配列番号 79 - IL - 12 に結合する s c F v - V L - V H - 4 リンカー

DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVK
 FNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNK
 ALPA PIEKTISKAK GQPREPQVCT LPPSRDELTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE AL
 HNHYTQKS LSLSPGKGGG GSGGGGSGPL GVRGGGGSDI QMTQSPSSLS ASVGDR
 VTIT CRASQGISSW LAWYQQKPEK APKSLIYAAS SLQSGVPSRF SSGSGTDFT

50

【 図 7 】

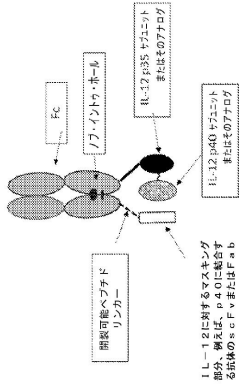


FIG. 7B

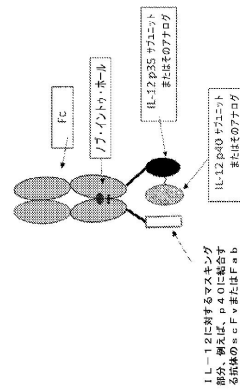


FIG. 7A

【 図 8 】

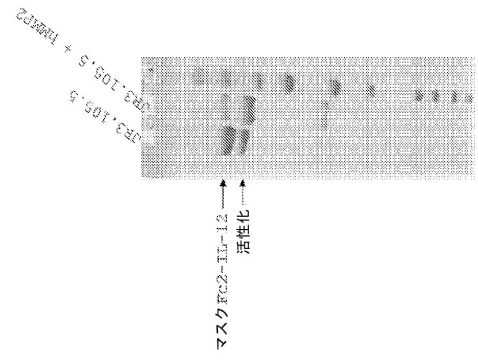


FIG. 8B

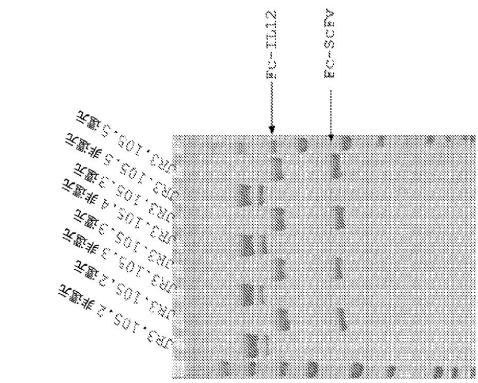


FIG. 8A

【 図 9 】

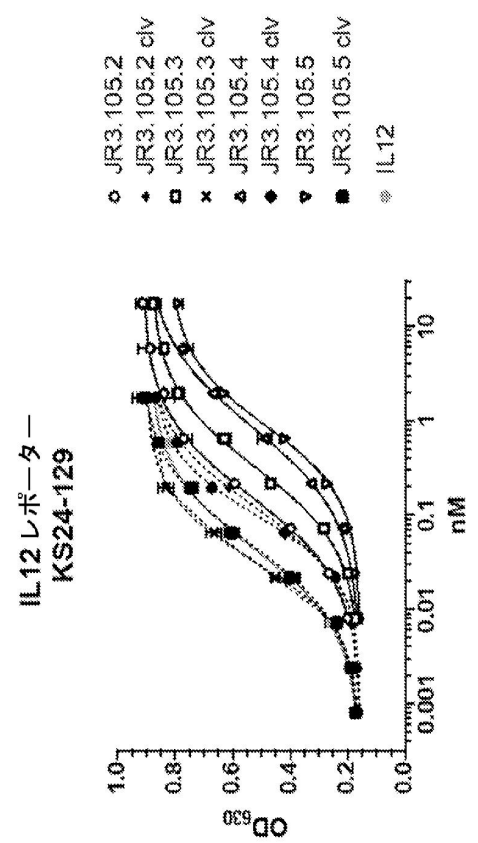


FIG. 9

【 図 10 】

	EC50 nM
JR3.105.2	0.16
JR3.105.2 clv (活性化)	0.13
JR3.105.3	0.32
JR3.105.3 clv (活性化)	0.03
JR3.105.4	0.86
JR3.105.4 clv (活性化)	0.1
JR3.105.5	0.9
JR3.105.5 clv (活性化)	0.05
IL-12	0.04

FIG. 10

10

20

30

40

50

【配列表】

2022549344000001.app

10

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2020/053155

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K14/54 C07K14/705 C07K14/715 A61K47/65 A61K47/68 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2019/173832 A2 (ASKGENE PHARMA INC [US]; YU CHUNXIAO [US] ET AL.) 12 September 2019 (2019-09-12) whole document, especially the claims and especially figure 3.	1-49
A	----- DENISE SKROMBOLAS ET AL: "Development of an Interleukin-12 Fusion Protein That Is Activated by Cleavage with Matrix Metalloproteinase 9", JOURNAL OF INTERFERON AND CYTOKINE RESEARCH., vol. 39, no. 4, 1 April 2019 (2019-04-01), pages 233-245, XP055617771, US ISSN: 1079-9907, DOI: 10.1089/jir.2018.0129 the whole document -----	1-49
	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier application or patent but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art *&* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 17 December 2020		Date of mailing of the international search report 12/01/2021
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Kools, Patrick

10

20

30

40

1

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2020/053155

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WITOLD LASEK ET AL: "Interleukin 12: still a promising candidate for tumor immunotherapy?", CANCER IMMUNOLOGY, IMMUNOTHERAPY, vol. 63, no. 5, 11 February 2014 (2014-02-11), pages 419-435, XP055656186, Berlin/Heidelberg ISSN: 0340-7004, DOI: 10.1007/s00262-014-1523-1 cited in the application the whole document	1-49
A	----- WO 99/29732 A2 (LEXIGEN PHARM CORP [US]) 17 June 1999 (1999-06-17) the whole document	1-49
A	----- WO 2005/066348 A2 (EMD LEXIGEN RES CT CORP [US]; ANTISOMA PLC [GB] ET AL.) 21 July 2005 (2005-07-21) the whole document	1-49

10

20

30

40

1

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2020/053155

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2019173832 A2	12-09-2019	EP 3762406 A2 WO 2019173832 A2	13-01-2021 12-09-2019

WO 9929732 A2	17-06-1999	AT 267215 T AU 763719 B2 CA 2312188 A1 CA 2693296 A1 DE 69824039 T2 DK 1037927 T3 EP 1037927 A2 EP 1489100 A2 ES 2221717 T3 ES 2590912 T3 JP 4336452 B2 JP 2001525423 A JP 2009149640 A PT 1037927 E US 2002193570 A1 US 2005137384 A1 US 2008311655 A1 US 2010015089 A1 WO 9929732 A2	15-06-2004 31-07-2003 17-06-1999 17-06-1999 18-08-2005 06-09-2004 27-09-2000 22-12-2004 01-01-2005 24-11-2016 30-09-2009 11-12-2001 09-07-2009 29-10-2004 19-12-2002 23-06-2005 18-12-2008 21-01-2010 17-06-1999

WO 2005066348 A2	21-07-2005	AU 2005203962 A1 CA 2552590 A1 EA 200601264 A1 EP 1702069 A2 JP 2007517506 A US 2007202103 A1 WO 2005066348 A2	21-07-2005 21-07-2005 28-12-2007 20-09-2006 05-07-2007 30-08-2007 21-07-2005

10

20

30

40

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 H 0 4 5
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 31/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/00	
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 6 1 K 47/65 (2017.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 3
A 6 1 K 47/64 (2017.01)	A 6 1 K 47/65	
A 6 1 K 38/20 (2006.01)	A 6 1 K 47/64	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 38/20	
	A 6 1 K 39/395	D
	A 6 1 K 39/395	N
	A 6 1 K 39/395	E
	A 6 1 K 39/395	T

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,K
E,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,N
G,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,
TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

ン・ファーマ・インコーポレイテッド内

(72)発明者 ユイ , チュンシャオ

アメリカ合衆国 9 3 0 1 2 カリフォルニア州カマリロ、バードウーゴ・ウェイ 5 2 1 7、スウィー
ト・エイ、アスクジーン・ファーマ・インコーポレイテッド内

F ターム (参考) 4B064 AG03 AG26 CA19 CC24 DA01
4B065 AA93X AB01 AC14 AC15 BA02 CA24 CA25 CA44
4C076 BB01 BB11 BB13 BB14 BB15 BB16 BB21 BB24 BB31 CC07
CC27 CC31 CC42 EE41 EE59
4C084 AA01 AA02 AA03 AA07 DA12 MA02 MA13 MA17 MA31 MA52
MA56 MA58 MA60 MA66 NA05 NA14 NA15 ZB091 ZB092 ZB261 ZB262
ZB311 ZB312 ZC751
4C085 AA13 AA14 BB11 EE03 GG01 GG02 GG03 GG04 GG05 GG06
GG08
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA42 DA02 DA75 EA22
FA74 GA26