(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2021-505156
(P2021-505156A)
(43)公表日　令和3年2月18日(2021.2.18)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/62	(2006.01)	C12N	15/62	Z	4B064
C07K 19/00	(2006.01)	C07K	19/00	ZNA	4B065
C07K 14/55	(2006.01)	C07K	14/55		4C076
C07K 16/28	(2006.01)	C07K	16/28		4C084
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46		4C085

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 159 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2020-531046 (P2020-531046)
(86)(22)出願日　平成30年11月28日 (2018.11.28)
(85)翻訳文提出日　令和2年6月12日 (2020.6.12)
(86)国際出願番号　PCT/US2018/062780
(87)国際公開番号　WO2019/112852
(87)国際公開日　令和1年6月13日 (2019.6.13)
(31)優先権主張番号　62/595,348
(32)優先日　平成29年12月6日 (2017.12.6)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)
(31)優先権主張番号　62/595,357
(32)優先日　平成29年12月6日 (2017.12.6)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)

(71)出願人　519333273
パンディオン・オペレーションズ・インコーポレイテッド
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２１３９．ケンブリッジ．ノース．メイン・ストリート７００
(74)代理人　100127926
弁理士　結田　純次
(74)代理人　100140132
弁理士　竹林　則幸
(72)発明者　ネイサン・ヒギンソン－スコット
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２１３９．ケンブリッジ．ノース．メイン・ストリート７００

最終頁に続く

(54)【発明の名称】標的化免疫寛容

(57)【要約】
部位特異的、または、局所的な免疫特権を付与するための方法及び化合物。
【選択図】図１

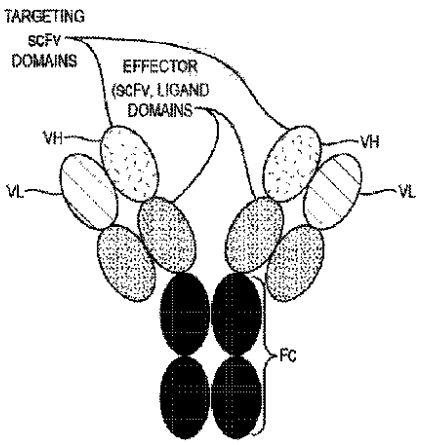


FIG. 1

【特許請求の範囲】
【請求項１】
標的細胞に結合する標的部分と、エフェクター結合／調節部分とを含むポリペプチドであって、前記エフェクター結合／調節部分が、ＩＬ－２ムテインポリペプチド（ＩＬ－２ムテイン）であり、前記ＩＬ－２ムテインが、配列番号６０の配列を含み、式中、X_1、X_2、X_3、及び、X_4の少なくとも１つがＩであり、かつ、残りがＬまたはＩである、前記ポリペプチド。
【請求項２】
前記標的部分が、標的細胞の表面の標的タンパク質に結合する抗体を含む、請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項３】
前記抗体が、ＭＡｄＣＡＭ、ＯＡＴ１、ＯＣＴ２、ＦＸＹＤ２、ＴＳＰＡＮ７、ＤＰＰ６、ＨＥＰＡＣＡＭ２、ＴＭＥＭ２７、または、ＧＰＲ１１９に結合する抗体である、請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項４】
前記ＩＬ－２ムテインは、免疫細胞が発現する受容体に結合する、請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項５】
前記免疫細胞が、望ましくない免疫応答に寄与する、請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項６】
前記免疫細胞が、疾患病状を引き起こす、請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項７】
前記標的部分が、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体を含む、請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項８】
前記化合物は、Ｎ末端からＣ末端に至る式：
Ｒ１－－－リンカー領域Ａ－Ｒ２、または、Ｒ３－リンカー領域Ｂ－Ｒ４、
を有し、
式中、
Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４は、それぞれ独立して、前記エフェクター結合／変調部分、前記標的部分を含み、または、存在しない、請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項９】
リンカー領域Ａ、及び、リンカー領域Ｂのそれぞれが、Ｆｃ領域を含む、請求項８に記載のポリペプチド。
【請求項１０】
Ｒ１及びＲ２の一方が、ＩＬ－ムテイン抗体であり、かつ、Ｒ１及びＲ２の一方が、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体である、請求項９に記載のポリペプチド。
【請求項１１】
Ｒ１が、ＩＬ－ムテインであり、かつ、Ｒ２が、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体である、請求項８に記載のポリペプチド。
【請求項１２】
Ｒ１の一方が、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体であり、かつ、１つのＲ２が、抗ＰＤ－１抗体である、請求項８に記載のポリペプチド。
【請求項１３】
Ｒ３及びＲ４の一方が、前記ＩＬ－２ムテインであり、かつ、Ｒ３及びＲ４の一方が、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体である、請求項８に記載のポリペプチド。
【請求項１４】
Ｒ３が、前記ＩＬ－２ムテインであり、かつ、Ｒ４が、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体である、請求項８に記載のポリペプチド。
【請求項１５】
Ｒ３が、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体であり、かつ、１つのＲ４が、前記ＩＬ－２ムテインであ

る、請求項８に記載のポリペプチド。
【請求項１６】
前記リンカーが存在しない、請求項８～１５のいずれかに記載のポリペプチド。
【請求項１７】
前記リンカーが、Ｆｃ領域である、請求項８～１５のいずれかに記載のポリペプチド。
【請求項１８】
前記リンカーが、グリシン／セリンリンカーである、請求項８～１５のいずれかに記載のポリペプチド。
【請求項１９】
前記リンカーが、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ、または、ＧＧＧＧＳである、請求項８に記載のポリペプチド。
【請求項２０】
前記ＩＬ－２ムテインが、配列番号６のＩＬ－２配列を含み、ペプチドが、配列番号６の位置５３、５６、８０、または、１１８に対応する位置に突然変異を含む、請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項２１】
前記ＩＬ－２ムテインは、配列番号６のＩＬ－２配列を含み、ペプチドが、配列番号６の位置５３、５６、８０、または、１１８に対応する位置に突然変異を含む、請求項１～２０のいずれかに記載のポリペプチド。
【請求項２２】
前記突然変異が、位置５３、５６、８０、または、１１８でのＬからＩへの突然変異である、請求項２０に記載のポリペプチド。
【請求項２３】
前記突然変異が、位置５３、５６、８０、または、１１８でのＬからＩへの突然変異である、請求項２１に記載のポリペプチド。
【請求項２４】
配列番号６の２９、３１、３５、３７、４８、６９、７１、７４、８８、及び、１２５の１つ以上の位置での突然変異をさらに含む、請求項１、２０、または、２３に記載のポリペプチド。
【請求項２５】
前記ムテインが、位置Ｅ１５、Ｈ１６、Ｑ２２、Ｄ８４、Ｅ９５、または、Ｑ１２６の１つ以上での突然変異をさらに含み、または、位置Ｅ１５、Ｈ１６、Ｑ２２、Ｄ８４、Ｅ９５、または、Ｑ１２６の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または、各々が野生型である、先行請求項のいずれかに記載のポリペプチド。
【請求項２６】
前記ムテインの突然変異が、Ｅ１５Ｑ、Ｈ１６Ｎ、Ｑ２２Ｅ、Ｄ８４Ｎ、Ｅ９５Ｑ、または、Ｑ１２６Ｅの１つ以上である、先行請求項のいずれかに記載のポリペプチド。
【請求項２７】
前記ムテインが、配列番号６でのＮ２９Ｓ突然変異を含む、先行請求項のいずれかに記載のポリペプチド。
【請求項２８】
前記ムテインが、Ｙ３１ＳまたはＹ５１Ｈ突然変異を含む、先行請求項のいずれかに記載のポリペプチド。
【請求項２９】
前記ムテインが、Ｋ３５Ｒ突然変異を含む、先行請求項のいずれかに記載のポリペプチド。
【請求項３０】
前記ムテインが、Ｔ３７Ａ突然変異を含む、先行請求項のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項３１】
前記ムテインが、Ｋ４８Ｅ突然変異を含む、先行請求項のいずれかに記載のポリペプチド。
【請求項３２】
前記ムテインが、Ｖ６９Ａ突然変異を含む、先行請求項のいずれかに記載のポリペプチド。
【請求項３３】
前記ムテインが、Ｎ７１Ｒ突然変異を含む、先行請求項のいずれかに記載のポリペプチド。
【請求項３４】
前記ムテインが、Ｑ７４Ｐ突然変異を含む、先行請求項のいずれかに記載のポリペプチド。
【請求項３５】
前記ムテインが、Ｎ８８Ｄ、または、Ｎ８８Ｒ突然変異を含む、先行請求項のいずれかに記載のポリペプチド。
【請求項３６】
前記ムテインが、Ｃ１２５Ａ、または、Ｃ１２５Ｓ突然変異を含む、先行請求項のいずれかに記載のポリペプチド。
【請求項３７】
前記ＩＬ－２ムテインが、配列番号５９の配列を含むタンパク質のような、Ｆｃペプチドに融合または結合している、先行請求項のいずれかに記載のポリペプチド。
【請求項３８】
前記Ｆｃペプチドが、Ｌ２３４、Ｌ２４７、Ｌ２３５、Ｌ２４８、Ｇ２３７、及び、Ｇ２５０の位置の１つ以上での突然変異を含む、請求項３７に記載のポリペプチド。
【請求項３９】
前記突然変異が、ＬからＡ、または、ＧからＡへの突然変異である、請求項３７に記載のポリペプチド。
【請求項４０】
前記Ｆｃペプチドが、Ｌ２４７Ａ、Ｌ２４８Ａ、及び、Ｇ２５０Ａ突然変異を含む、請求項３７に記載のポリペプチド。
【請求項４１】
前記Ｆｃペプチドが、Ｌ２３４Ａ突然変異、Ｌ２３５Ａ突然変異、及び／または、Ｇ２３７Ａ突然変異を含む、請求項３７に記載のポリペプチド。
【請求項４２】
前記ポリペプチドが、前記ポリペプチドを形成する第１の鎖、及び、第２の鎖を含み、
前記第１の鎖は、
V_H－H_C－リンカー－C_1を含み、V_Hが、前記第２の鎖のV_Lドメインを有する前記標的細胞に結合する可変重ドメインであり；H_Cは、ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３ドメインを含む抗体の重鎖であり、前記リンカーは、グリシン／セリンリンカーであり、及び、C_1は、Ｎ末端またはＣ末端のいずれかの方向でＦｃタンパク質に融合したＩＬ－２ムテインであり；及び
前記第２の鎖は；
V_L－L_Cを含み、V_Lは、前記第１の鎖のV_Hドメインで前記標的細胞に結合する可変軽鎖ドメインであり、及び、前記L_Cドメインは、軽鎖ＣＫドメインである、
請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項４３】
前記ＶＨ及びＶＬドメインが、細胞で発現するＭＡｄＣＡＭに結合する抗ＭＡｄＣＡＭ可変ドメインである、請求項４２に記載のポリペプチド。
【請求項４４】
前記ＩＬ－２ムテインが、配列番号６の位置５３、５６、８０、または、１１８に対応

する位置での突然変異を含む、請求項４２に記載のポリペプチド。
【請求項４５】
前記突然変異が、位置５３、５６、８０、または、１１８でのＬからＩへの突然変異である、請求項４４に記載のポリペプチド。
【請求項４６】
前記ムテインが、位置６９、７５、８８、または、１２５、または、それらのあらゆる組み合わせに対応する位置での突然変異をさらに含む、請求項４４に記載のポリペプチド。
【請求項４７】
Ｌ５３Ｉ、Ｌ５６Ｉ、Ｌ８０Ｉ、及び、Ｌ１１８Ｉの１つと、Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ、Ｎ８８Ｄ、または、Ｎ８８Ｒ、及び、任意のＣ１２５Ａ、または、Ｃ１２５Ｓの突然変異からなる群から選択した突然変異を含む、請求項４４に記載のポリペプチド。
【請求項４８】
前記ＩＬ－２ムテインが、Ｌ５３Ｉ突然変異を含む、請求項４７に記載のポリペプチド。
【請求項４９】
前記ＩＬ－２ムテインが、Ｌ５６Ｉ突然変異を含む、請求項４７に記載のポリペプチド。
【請求項５０】
前記ＩＬ－２ムテインが、Ｌ８０Ｉ突然変異を含む、請求項４７に記載のポリペプチド。
【請求項５１】
前記ＩＬ－２ムテインが、ＬＩ１８１突然変異を含む、請求項４７に記載のポリペプチド。
【請求項５２】
前記ＩＬ－２ムテインが、その他の突然変異を何ら含まない、請求項４７に記載のポリペプチド。
【請求項５３】
前記Ｆｃタンパク質は、ＫＡＢＡＴ付番法に従った、Ｌ２４７Ａ、Ｌ２４８Ａ、及び、Ｇ２５０Ａ突然変異、または、Ｌ２３４Ａ突然変異、Ｌ２３５Ａ突然変異、及び／または、Ｇ２３７Ａ突然変異を含む、請求項４７に記載のポリペプチド。
【請求項５４】
前記リンカーが、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ、または、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳの配列を含む、請求項４７に記載のポリペプチド。
【請求項５５】
前記ポリペプチドが、本明細書に記載した配列を含むＦｃペプチドを含む、先行請求項のいずれかに記載のポリペプチド。
【請求項５６】
炎症性腸疾患を有する対象を処置する方法であって、請求項１～５５のいずれかに記載のポリペプチドを前記対象に対して投与して、前記炎症性腸疾患を処置することを含む、前記方法。
【請求項５７】
前記炎症性腸疾患を有する対象が、クローン病を有する、請求項５６に記載の方法。
【請求項５８】
前記炎症性腸疾患を有する対象が、潰瘍性大腸炎を有する、請求項５６に記載の方法。
【請求項５９】
自己免疫性肝炎を有する対象を処置する方法であって、請求項１～５５のいずれかに記載の治療化合物を前記対象に対して投与して、前記自己免疫性肝炎を処置することを含む、前記方法。
【請求項６０】

原発性硬化性胆管炎を処置する方法であって、請求項１～５５のいずれかに記載の治療化合物を前記対象に対して投与して、前記原発性硬化性胆管炎を処置することを含む、前記方法。
【請求項６１】
１型糖尿病を処置する方法であって、請求項１～５５のいずれかに記載の治療化合物を前記対象に対して投与して、前記１型糖尿病を処置することを含む、前記方法。
【請求項６２】
移植対象を処置する方法であって、請求項１～５５のいずれかに記載の治療化合物の治療有効量を前記対象に対して投与し、それにより、移植（レシピエント）対象を処置することを含む、前記方法。
【請求項６３】
移植したドナー組織を有する対象でのＧＶＨＤを処置する方法であって、請求項１～５５のいずれかに記載の治療化合物の治療有効量を前記対象に対して投与することを含む、前記方法。
【請求項６４】
自己免疫疾患を有する対象、または、自己免疫疾患を有するリスクのある対象、または、自己免疫疾患を有するリスクが大きい対象を処置する方法であって、請求項１～５５のいずれかに記載の治療化合物の治療有効量を投与することを含み、それにより、前記対象を処置する、前記方法。
【請求項６５】
前記対象が、自己免疫障害を有し、かつ、前記治療化合物が、前記自己免疫障害に特有の自己抗原性ペプチドまたはポリペプチドを含まない、例えば、前記対象が保有している自己抗体に対するペプチドまたはポリペプチドを含まない、請求項５６～６４のいずれかに記載の方法。
【請求項６６】
請求項１～５５のいずれかに記載の治療化合物をコードする核酸。
【請求項６７】
請求項６５に記載の核酸を含むベクター。
【請求項６８】
請求項６６に記載の核酸、または、請求項６７に記載のベクターを含む細胞。
【請求項６９】
治療化合物を製造する方法であって、請求項６７に記載の細胞を培養して、前記治療化合物を製造することを含む、前記方法。
【請求項７０】
請求項１～５５に記載の治療化合物をコードする核酸配列を製造する方法であって、
ａ）標的部分をコードする配列を含むベクターを提供し、そして、エフェクター結合／変調部分をコードするベクター配列に挿入して、治療化合物をコードする配列を形成し、または、
ｂ）エフェクター結合／変調部分をコードする配列を含むベクターを提供し、そして、標的部分をコードするベクター配列に挿入して、治療化合物をコードする配列を形成し、
それにより、治療化合物をコードする配列を製造する、前記方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願への相互参照
本出願は、２０１８年８月２３日に出願した米国仮出願第６２／７２１，６４４号、２０１８年５月２４日に出願した米国仮出願第６２／６７５，９７２号、２０１７年１２月６日に出願した米国仮出願第６２／５９５，３５７号、２０１７年１２月６日に出願した米国仮出願第６２／５９５，３５８号、２０１８年８月２３日に出願した米国出願第１６／１０９，８７５号、２０１８年８月２３日に出願した米国出願第１６／１０９，８９７

号、２０１８年５月２４日に出願した米国出願第１５／９８８，３１１号、２０１８年５月２４日に出願したＰＣＴ出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０１８／０３４３３４号の優先権を主張するものであって、本明細書の一部を構成するものとして、それら出願の全内容を援用する。

【０００２】

技術分野

本明細書で提供する実施形態は、例えば、局所的または標的化免疫特権のための方法及び組成物に関する。

【背景技術】

【０００３】

望ましくない免疫応答の事例、例えば、移植組織の拒絶、または、自己免疫疾患などは、世界中の何百万もの人々での主要な健康問題を構成している。臓器移植の長期転帰の多くには、慢性拒絶反応と、移植臓器の最終的な失敗という特徴がある。２０を超える自己免疫障害が公知であり、本質的に身体のすべての臓器に影響が及び、そして、北米だけで５千万人を超える人々に影響が及んでいる。双方の状況において病原性免疫応答に対処するために使用されている広範囲に活性を示す免疫抑制薬には、深刻な副作用がある。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【０００４】

本明細書では、部位特異的免疫特権を提供する方法、及び、治療化合物を開示する。本明細書で開示した実施形態は、本節の一部を構成するものとして援用する。

【０００５】

一部の実施形態では、当該治療化合物は：

１）特異的な標的部分であって

ａ）例えば、ドナー標的に優先的に（レシピエント抗原への結合と比較して優先的に）結合し、かつ、ドナー由来の移植組織、例えば、臓器に対して部位特異的免疫特権を付与するのに有用である、ドナー特異的標的部分；または

ｂ）例えば、対象の標的組織に優先的に（対象の非標的組織と比較して優先的に）結合し、かつ、例えば、自己免疫障害において、）望ましくない免疫攻撃を受けている対象組織に対して部位特異的免疫特権を付与するのに有用である、組織特異的標的部分、から選択した当該特異的な標的部分；及び

２）エフェクター結合／調節部分であって、

（ａ）免疫細胞抑制性分子結合／調節部分（本明細書ではＩＣＩＭ結合／調節部分と称する）；

（ｂ）免疫抑制性免疫細胞結合／調節部分（本明細書ではＩＩＣ結合／調節部分と称する）；

（ｃ）治療化合物の一部として、例えば、当該標的の近傍に、当該標的の免疫系による攻撃を阻害または最小化する物質を提供することで、免疫抑制局所微小環境を促すエフェクター結合／調節部分（本明細書ではＳＭ結合／調節部分と称する）；または

（ｄ）免疫細胞刺激性分子結合／調節部分（本明細書ではＩＣＳＭ結合／調節部分と称する）であって、当該ＩＣＳＭは、例えば、共刺激性分子とそのカウンター構造との間の相互作用をブロックすることで、免疫活性化を阻害する、当該免疫細胞刺激性分子結合／調節部分、から選択したエフェクター結合／調節部分、

を含む、改変した多重特異性化合物、例えば、改変した二重特異性分子、例えば、改変した二重特異性抗体分子を含む。

【０００６】

エフェクター結合／調節部分は、クラスａ、ｂ、及び、ｃの複数に分類することができる。例えば、以下に示したように、ＣＴＬＡ４結合分子を、カテゴリーａとｂの双方に分類する。

【０００７】

一部の実施形態では、当該治療化合物は、ＩＣＩＭ結合／調節部分を含む。一部の実施形態では、ＩＣＩＭ結合／調節分子は、抑制性分子、例えば、抑制性免疫チェックポイント分子に結合及び刺激し、あるいは、免疫細胞、例えば、細胞傷害性Ｔ細胞、Ｂ細胞、ＮＫ細胞、または、骨髄細胞、例えば、好中球、または、マクロファージの活性を阻害または抑制する。

【０００８】

一部の実施形態では、当該治療化合物は：

１）特異的な標的部分、例えば、ドナー特異的標的部分（ドナー標的に結合し、かつ、ドナー由来の移植組織、例えば、臓器に部位特異的免疫特権を付与するのに有用である）、または、組織特異的標的部分（例えば、自己免疫障害において、望ましくない免疫攻撃を受けている対象組織に対して部位特異的免疫特権を付与するのに有用である）；及び

２）免疫細胞でのエフェクター分子、例えば、抑制性受容体、例えば、ＰＤ－１に結合するＩＣＩＭ結合／調節部分を含むエフェクター結合／調節部分であって、当該特異的な標的部分が、その標的に結合し、かつ、ＩＣＩＭ結合／調節部分が、免疫細胞でのエフェクター分子に結合すると、免疫細胞活性、例えば、免疫攻撃を開始する当該免疫細胞の能力を、例えば、当該免疫細胞でのエフェクター分子のクラスタリングに依存する阻害シグナルを介して、ダウンレギュレートする、当該エフェクター分子、を含む、改変した多重特異性化合物、例えば、改変した二重特異性分子、例えば、改変した二重特異性抗体分子を含む。一部の実施形態では、当該改変した多重特異的化合物は、さらなる結合部分を含んでおり、３つ、または、４つなど、これらの個数に限定されない、２つ以上の特異的分子に結合する。

【０００９】

一部の実施形態では、当該治療化合物は、ＩＣＩＭ結合／調節部分を含み、かつ、以下の特性の１つまたは双方を有する：（ａ）免疫細胞のダウンレギュレーションのレベルは、当該治療化合物が、その標的に結合しない場合よりも、当該治療化合物が、その標的に結合する場合の方が高く；及び、（ｂ）当該治療化合物は、細胞表面抑制性受容体、例えば、免疫細胞でのＰＤ－１と結合した場合に、細胞表面抑制性受容体が、内因性リガンドに対して結合する能力を阻害しない、または、実質的に阻害しない。

【００１０】

一部の実施形態では、免疫細胞のダウンレギュレーションのレベルは、当該治療化合物が、その標的に結合していない場合よりも、当該治療化合物が、その標的に結合している場合の方が高い。実施形態では、標的結合治療化合物によるダウンレギュレーションのレベルは、その標的に結合していない場合に認められるものよりも、１．５倍、２倍、４倍、８倍、または、１０倍以上も高い。実施形態では、治療化合物は、標的に結合していない場合、免疫細胞をダウンレギュレートせず、または、顕著にダウンレギュレートしない。したがって、抑制性受容体、例えば、ＰＤ－１の無差別または望ましくないアゴニズムを、最小化または排除する。例えば、当該治療化合物が、免疫細胞に結合しているが、標的部分に結合していない場合、当該治療化合物による抑制性免疫チェックポイント分子の関与が、ダウンレギュレーションをもたらすことはなく、または、実質的なダウンレギュレーションをもたらすことはなく、例えば、当該治療化合物が結合する免疫細胞の抑制性受容体は、当該免疫細胞のダウンレギュレーション、または、実質的に阻害をするのに十分な阻害シグナルを招くほど集団化されておらず、または、十分に集団化されていない。

【００１１】

実施形態では、当該治療化合物は、細胞表面抑制性受容体、例えば、免疫細胞のＰＤ－１と結合した場合、細胞表面抑制性受容体が、内因性リガンドに結合する能力を阻害しない、または、実質的に阻害しない。一部の実施形態では、当該治療化合物は、ＰＤ－１のＰＤ－Ｌ１／２結合部位に結合することができる。したがって、抑制性受容体、例えば、ＰＤ－１の無差別または望ましくないアンタゴニズムは最小化または排除される。実施形態では、当該治療化合物の抑制性受容体、例えば、免疫細胞のＰＤ－１に対する結合は、天然のリガンド、例えば、ＰＤ－Ｌ１に結合する抑制性受容体の能力を妨げない、または

、実質的に妨げない。実施形態では、当該治療化合物の抑制性受容体、例えば、免疫に関するＰＤ－１に対する結合は、天然のリガンド、例えば、ＰＤ－Ｌ１の結合を、治療化合物の非存在下で認められる５０、４０、３０、２０、１０、または、５％未満にまで減らす。

【００１２】

一部の実施形態では、当該治療化合物は、ＩＣＩＭ結合／調節部分を含み、そして、治療有効用量で対象に投与した場合に、あるタイプのすべての免疫細胞、例えば、すべてのＴ細胞における抑制性受容体の無差別なアゴニズムが可能であれば、許容できないレベルの全身性免疫活性化を招くことはなく、または、当該抑制性受容体と、その天然リガンドとの相互作用に当該治療化合物が拮抗した場合に起こり得る、許容できないレベルの全身性免疫抑制を招かない。

【００１３】

理論に縛られることを望むものではないが、対象に対して投与をすると、ＩＣＩＭ結合／調節部分を含む治療化合物は、４つの状態；ｉ）未結合で、かつ、自由溶液にある状態；ｉｉ）ＩＣＩＭ結合／調節部分を介して、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞の表面に発現した抑制性受容体だけに結合した状態；ｉｉｉ）当該標的部分を介して、標的移植片または対象組織の表面だけに結合した状態；及び、ｉｖ）当該標的部分を介して、標的移植片または対象組織の表面に結合し、かつ、当該ＩＣＩＭ結合／調節部分を介して、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞を発現した抑制性受容体に結合した状態、のいずれか１つで存在することができる、と考えられる。当該治療化合物を、当該標的部分を介して、当該標的移植片または対象組織だけに結合する場合（ｉｉｉ）、そのものは、当該標的移植片または組織に影響を及ぼすことはなく、または、実質的に影響を及ぼさない。当該治療化合物を、当該標的部分を介して、当該標的移植片または組織に結合させ、かつ、当該ＩＣＩＭ結合／調節部分を介して、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞で発現させた抑制性受容体に結合すると（ｉｖ）、そのものは、当該標的臓器または組織に対して免疫特権を与える。理論に縛られることを望むものではないが、このことは、例えば、複数の治療化合物分子を高密度及び高原子価で固定化することで、その表面に治療化合物分子を多量体化する標的移植組織またはドナー組織を達成する、と考えられる。当該治療化合物分子の多量体化は、当該治療化合物のＩＣＩＭ結合／調節部分に対して、免疫細胞、例えば、病原性Ｔ細胞の表面に発現した抑制性受容体のクラスター化を促すこと、そして、当該免疫細胞に作用して、沈黙させる、または、ダウンレギュレートさせる阻害シグナルの伝達を促す、ことを可能にする。例えば、Ｔ細胞の場合、ＰＤ－Ｌ１分子を含むＩＣＩＭ結合／調節部分を含む治療化合物、または、抗ＰＤ－１抗体を使用することができる。当該標的に対する複数の治療化合物分子の結合は、当該治療化合物分子の多量体化を招くものであり、このことは、ＰＤ－Ｌ１分子、または、機能性抗ＰＤ－１抗体分子が、Ｔ細胞に関してＰＤ－１のクラスター化をもたらす。かようなクラスター化が、当該Ｔ細胞でのＴ細胞受容体に対して、当該標的ＭＨＣによる抗原提示の状況下で起こると、ネガティブシグナルが生成され、そして、当該Ｔ細胞が不活性化される。実施形態では、当該ＩＣＩＭ結合／調節部分、例えば、機能性抗体分子は、当該エフェクター分子に結合するが、当該エフェクター分子と、その天然リガンド（複数可）との相互作用を阻害しない、または、実質的に阻害しない。

【００１４】

一部の実施形態では、当該治療化合物は、免疫抑制性免疫細胞、例えば、Ｔｒｅｇ、例えば、Ｆｏｘｐ３＋ＣＤ２５＋Ｔｒｅｇを、標的標的組織の近傍で、結合し、かつ、補充する、ＩＩＣ結合／調節部分を含む。

【００１５】

一部の実施形態では、当該治療化合物は、物質、例えば、免疫応答を調節する可溶性分子、例えば、ＡＴＰまたはＡＭＰを調節する、例えば、結合及び阻害する、隔離する、分解する、さもなければ、中和する、ＳＭ結合／調節部分を含む。

【００１６】

一部の実施形態では、当該治療化合物は、免疫細胞での標的に特異的な標的部分を含む

。一部の実施形態では、当該標的は、本明細書に記載した通りのものである。一部の実施形態では、当該標的は、ＭＡｄＣＡＭである。一部の実施形態では、当該標的部分は、ＭＡｄＣＡＭに結合する抗体である。

【００１７】

一部の実施形態では、当該治療化合物は、刺激性分子、例えば、共刺激性分子に結合するＩＣＳＭ結合／調節部分を含む。一部の実施形態では、当該ＩＣＳＭは、共刺激性分子のカウンター構造を阻害する。当該共刺激性分子、または、当該共刺激性分子のカウンター構造のいずれかを結合／調節することは、免疫細胞が免疫応答を開始する能力をダウンレギュレートする上で役立つ。一部の実施形態では、当該ＩＣＳＭ結合／調節部分は、刺激性分子、例えば、免疫細胞での共刺激性分子、例えば、Ｔ細胞でのＯＸ４０、または、当該刺激性分子のカウンターメンバー、例えば、ＮＫ細胞、マスト細胞、樹状細胞など、これらに限定されない免疫細胞、または、例えば、内皮細胞または平滑筋細胞などの非免疫細胞などの別の細胞でのＯＸ４０Ｌに結合することができる。

【００１８】

一部の実施形態では、当該治療化合物は、ドナー特異的標的部分を含み、そして、対象に移植したドナー移植組織に対して部位特異的免疫特権を付与する。一部の実施形態では、当該治療化合物は、組織特異的標的部分を含み、そして、対象の組織、例えば、自己免疫障害の望ましくない免疫応答を有する組織に対して部位特異的免疫特権を付与する。

【００１９】

当該標的部分は、免疫系から保護されるドナー移植または対象組織に特異的である。一部の実施形態では、当該エフェクター分子結合部分は、新たに生成した結合ドメイン、例えば、機能性抗体分子を含む。一部の実施形態では、当該エフェクター結合／調節部分は、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞の表面に発現した抑制性受容体を認識する天然リガンドに由来するアミノ酸配列を含む。

【００２０】

一部の実施形態では、当該治療化合物は、保護を受ける移植片またはドナー組織の近傍にある免疫細胞、例えば、Ｔ細胞を沈黙させるが、機能のために標的移植片またはドナー組織の存在を必要とするので、当該治療化合物は、当該標的の近くにない免疫細胞、例えば、Ｔ細胞を沈黙させない。このことは、当該治療化合物が、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞が発現した抑制性受容体にだけ結合する場合とは対照的であり、この場合、機能面の影響はない。

【００２１】

本明細書で説明する方法と治療化合物は、少なくとも部分的に、部位特異的免疫特権を提供することに基づいている。本明細書に記載した治療化合物、及び、それらの使用方法は、臨床環境、例えば、免疫応答の逆転及び抑制が望まれる場合に、自己免疫疾患、または、組織、例えば、臓器移植などにおける、免疫抑制治療薬の非部位特異的全身投与の最小化、例えば、抑制または排除を可能にする。異常な免疫系が引き起こす根本的な病態生理学が影響を受ける場合、広範に作用する免疫抑制剤は、臨床的に意味のある応答が可能であるが、患者の全身性免疫系機能を低下させるという、望ましくない効果をもたらす。正常に機能する免疫システムの役割は、周囲の環境に存在する病原性及び日和見性の生物の絶え間ない攻撃に対抗し、そして、健康な個体からがん細胞を絶えず除去することにあるので、慢性免疫抑制を受けている患者は、感染症やがんを発症するリスクが高い。本明細書に記載した方法及び治療化合物は、病理部位での病原性免疫応答だけを選択的に標的とし、減衰させ、抑制し、または、消滅させる一方で、その他の箇所での正常な全身免疫系機能の阻害を最小限に抑える治療法を提供する。

【００２２】

一部の実施形態では、当該治療化合物を、本明細書で提供したようにして提供する。一部の実施形態では、当該化合物は、ｉ）特異的標的部分であって：ａ）例えば、ドナー標的に優先的に結合するドナー特異的標的部分；または、ｂ）例えば、対象の標的組織に優先的に結合する組織特異的標的部分、から選択した当該特異的標的部分；及び、ｉｉ）エ

フェクター結合／調節部分であって；（ａ）免疫細胞抑制性分子結合／調節部分（ＩＣＩＭ結合／調節部分）；（ｂ）免疫抑制性免疫細胞結合／調節部分（ＩＩＣ結合／調節部分）；または、（ｃ）治療化合物の一部として、例えば、当該標的の近傍に、当該標的の免疫系による攻撃を阻害または最小化する物質を提供することで、免疫抑制局所微小環境を促すエフェクター結合／調節部分（ＳＭ結合／調節部分）、から選択した当該エフェクター結合／調節部分を含む。

【００２３】

一部の実施形態では、当該エフェクター結合／調節部分は、ＩＣＩＭ結合／調節部分を含む。一部の実施形態では、当該エフェクター結合／調節部分は、抑制性免疫チェックポイント分子リガンド分子を含むＩＣＩＭ結合／調節部分を含む。一部の実施形態では、当該抑制性免疫分子カウンターリガンド分子は、ＰＤ－Ｌ１分子を含む。一部の実施形態では、当該ＩＣＩＭに関して、当該抑制性免疫分子カウンターリガンド分子は、ＰＤ－１、ＫＩＲ２ＤＬ４、ＬＩＬＲＢ１、ＬＩＬＲＢ、または、ＣＴＬＡ－４から選択される同族の抑制性免疫チェックポイント分子に関与する。一部の実施形態では、当該ＩＣＩＭは、抗体である。一部の実施形態では、当該ＩＣＩＭは、ＰＤ－１、ＫＩＲ２ＤＬ４、ＬＩＬＲＢ１、ＬＩＬＲＢ、または、ＣＴＬＡ－４に結合する抗体を含む。一部の実施形態では、当該ＩＣＩＭ結合／調節部分は、細胞表面抑制性分子に対する機能性抗体分子を含む。

【００２４】

一部の実施形態では、当該細胞表面抑制性分子は、抑制性免疫チェックポイント分子である。一部の実施形態では、当該抑制性免疫チェックポイント分子は、ＰＤ－１、ＫＩＲ２ＤＬ４、ＬＩＬＲＢ１、ＬＩＬＲＢ２、ＣＴＬＡ－４から選択し、または、表１から選択される。

【００２５】

一部の実施形態では、当該エフェクター結合／調節部分は、ＩＩＣ結合／調節部分を含む。

【００２６】

一部の実施形態では、当該化合物は、Ｎ末端からＣ末端に至る式：

Ｒ１－－－リンカー領域Ａ－Ｒ２、または、Ｒ３－リンカー領域Ｂ－Ｒ４、を有しており、

式中、エフェクター結合／調節部分、及び、特異的な標的部分が存在する場合に限り、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４は、それぞれ独立して、エフェクター結合／調節部分、例えば、ＩＣＩＭ結合／調節部分、ＩＩＣ結合／調節部分、ＩＣＳＭ結合／調節部分、または、ＳＭ結合／調節部分；特異的な標的部分を含み；または、存在しない。

【００２７】

一部の実施形態では、標的細胞に結合する標的部分、及び、エフェクター結合／調節部分を含むポリペプチドであって、当該エフェクター結合／調節部分が、変異体ＩＬ－２タンパク質であるＩＬ－２ムテインポリペプチド（ＩＬ－２ムテイン）である、当該ポリペプチドを提供する。一部の実施形態では、当該標的部分は、標的細胞の表面の標的タンパク質に結合する抗体を含む。一部の実施形態では、当該ポリペプチドは、本明細書で提供する２つのポリペプチド鎖を含む。一部の実施形態では、当該第１の鎖は、ＶＨドメインを含み、そして、当該第２の鎖は、当該標的細胞、または、当該標的細胞で発現されるタンパク質に結合する、ＭＡｄＣＡＭなど、これに限定されない抗体のＶＬドメインを含む。一部の実施形態では、当該標的部分は、ＭＡｄＣＡＭに結合する抗体である。一部の実施形態では、当該標的部分は、ＯＡＴ１（ＳＬＣ２２Ａ６）、及び、ＯＣＴ２（ＳＬＣ２２Ａ２）に結合する。一部の実施形態では、当該標的部分は、ＯＡＴ１（ＳＬＣ２２Ａ６）、及び、ＯＣＴ２（ＳＬＣ２２Ａ２）に結合する抗体である。一部の実施形態では、当該標的部分は、ＯＡＴ１（ＳＬＣ２２Ａ６）、及び、ＯＣＴ２（ＳＬＣ２２Ａ２）に結合しない。誤解を避けるために、本明細書に記載したＯＣＴ２は、転写因子ではなく、腎組織で発現される表面タンパク質である。一部の実施形態では、当該標的部分は、膵臓で認められるタンパク質に特異的に結合する部分である。一部の実施形態では、当該標的部分

は、ＦＸＹＤ２、ＴＳＰＡＮ７、ＤＰＰ６、ＨＥＰＡＣＡＭ２、ＴＭＥＭ２７、または、ＧＰＲ１１９に結合する。一部の実施形態では、当該標的部分は、ＦＸＹＤ２、ＴＳＰＡＮ７、ＤＰＰ６、ＨＥＰＡＣＡＭ２、ＴＭＥＭ２７、または、ＧＰＲ１１９に結合しない。一部の実施形態では、当該標的部分は、ＦＸＹＤ２、ＴＳＰＡＮ７、ＤＰＰ６、ＨＥＰＡＣＡＭ２、ＴＭＥＭ２７、または、ＧＰＲ１１９に結合する抗体である。

【００２８】

一部の実施形態では、当該ポリペプチドは、当該ポリペプチド、または、治療化合物を形成する第１の鎖と、第２の鎖とを含み、

当該第１の鎖は：

V_H－H_C－リンカー－C_1を含み、式中、V_Hは、当該第２の鎖のV_Lドメインで当該標的細胞に結合する可変重ドメインであり；H_Cは、ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３ドメインを含む抗体の重鎖であり、当該リンカーは、本明細書で提供するグリシン／セリンアミノ酸配列であり、または、存在しておらず、そして、C_1は、本明細書で提供するＮ末端またはＣ末端のいずれかの方向でＦｃタンパク質に融合することができるＩＬ－２ムテインであり、ＩＬ－２ムテインを、当該Ｆｃタンパク質に結合するグリシン／セリンリンカーが存在してもよい；及び

当該第２の鎖は：

V_L－L_Cを含み、式中、V_Lは、当該第１の鎖のV_Hドメインで当該標的細胞に結合する可変軽鎖ドメインであり、そして、L_Cドメインは、軽鎖ＣＫドメインである。一部の実施形態では、当該第１の鎖は、先に定義をした変数を有する、C_1－リンカー－V_H－H_Cを含む。

【００２９】

一部の実施形態では、当該ポリペプチドは、C_1－リンカー－ＣＨ２－ＣＨ３－リンカー－ｓｃＦｖの式を含み、式中、C_1及びリンカーは、上記したように、及び、本明細書で定義した通りであり、当該ＣＨ２及びＣＨ３は、重鎖ドメインであり、及び、当該ｓｃＦｖは、本明細書で提供する組織標的に結合する標的部分として作用する断片などの一本鎖抗体である。一部の実施形態では、当該ムテインは、本明細書で提供するＦｃ領域に融合し、かつ、１つ以上の当該リンカーは、存在しない。一部の実施形態では、当該リンカーは、本明細書で提供するグリシン／セリンリンカーである。一部の実施形態では、当該リンカーは、ペプチド配列である。

【００３０】

一部の実施形態では、本明細書では、自己免疫疾患または病態を処置する方法を提供しており、当該方法は、本明細書で提供する治療化合物またはポリペプチドの１つ以上を投与する、ことを含む。

【００３１】

一部の実施形態では、本明細書では、本明細書に記載の疾患または病態を処置する方法を提供しており、当該方法は、本明細書で提供する治療化合物またはポリペプチドの１つ以上を投与する、ことを含む。

【００３２】

一部の実施形態では、炎症性腸疾患を有する対象を処置する方法を提供しており、当該方法は、本明細書で提供する治療化合物またはポリペプチドを当該対象に投与して、炎症性腸疾患を処置する、ことを含む。一部の実施形態では、当該対象は、クローン病、及び／または、潰瘍性大腸炎を有する。

【００３３】

一部の実施形態では、自己免疫性肝炎を有する当該対象を処置する方法を提供しており、当該方法は、本明細書で提供する治療化合物またはポリペプチドを対象に投与して、自己免疫性肝炎を処置する、ことを含む。

【００３４】

一部の実施形態では、原発性硬化性胆管炎を処置する方法を提供しており、当該方法は、本明細書で提供する治療化合物またはポリペプチドを当該対象に投与して、原発性硬化

性胆管炎を処置する、ことを含む。
【００３５】
一部の実施形態では、腸の炎症を処置する（例えば、軽減する）方法を提供しており、当該方法は、本明細書で提供する治療化合物またはポリペプチドを当該対象に投与して、腸の炎症を処置することを含む。一部の実施形態では、小腸に炎症がある。一部の実施形態では、大腸に炎症がある。一部の実施形態では、腸または結腸に炎症がある。
【００３６】
一部の実施形態では、膵臓の炎症を処置する（例えば、軽減する）方法を提供しており、当該方法は、本明細書で提供する治療化合物またはポリペプチドを当該対象に投与して、膵臓の炎症を処置する、ことを含む。一部の実施形態では、当該方法で、膵炎を処置する。
【００３７】
一部の実施形態では、１型糖尿病を処置する方法を提供しており、当該方法は、本明細書で提供する治療化合物またはポリペプチドを当該対象に投与して、１型糖尿病を処置する、ことを含む。
【００３８】
一部の実施形態では、移植対象を処置する方法を提供しており、当該方法は、本明細書で提供する治療化合物またはポリペプチドの治療有効量を当該対象に投与し、それにより、移植（レシピエント）対象を処置する、ことを含む。
【００３９】
一部の実施形態では、移植したドナー組織を有する対象のＧＶＨＤを処置する方法を提供しており、当該方法は、本明細書で提供する治療化合物またはポリペプチドの治療有効量を当該対象に投与する、ことを含む。
【００４０】
一部の実施形態では、自己免疫障害を有する対象、または、同障害有するリスクがある対象、または、同障害を有するリスクが高い対象を処置する方法を提供しており、当該方法は、本明細書で提供する治療化合物またはポリペプチドの治療有効量を投与し、それにより、当該対象を処置することを含む。
【図面の簡単な説明】
【００４１】
【図１】本明細書で提供する治療化合物の実施形態を示しており、これらに限定されない。
【図２】本明細書で提供する治療化合物の機能を説明しており、これらに限定されない。
【図３】本明細書で提供する治療化合物の例示であり、これらに限定されない。
【図３Ａ】本明細書で提供する治療化合物の例示であり、これらに限定されない。
【図４】本明細書で提供する治療化合物の例示であり、これらに限定されない。
【図５】本明細書で提供する治療化合物の例示であり、これらに限定されない。
【図６】本明細書で提供する治療化合物の例示であり、これらに限定されない。
【図７】本明細書で提供する治療化合物の例示であり、これらに限定されない。
【図８】本明細書で提供する治療化合物の例示であり、これらに限定されない。
【図９】本明細書で提供する治療化合物の例示であり、これらに限定されない。
【図１０】本明細書で提供する治療化合物の例示であり、これらに限定されない。
【図１１】本明細書で提供する治療化合物の例示であり、これらに限定されない。
【図１２】本明細書で提供する治療化合物の例示であり、これらに限定されない。
【図１３】本明細書で提供する治療化合物の例示であり、これらに限定されない。
【図１４】本明細書で提供する治療化合物の例示であり、これらに限定されない。
【図１５】本明細書で提供する治療化合物の例示であり、これらに限定されない。
【図１６】本明細書で提供する治療化合物の例示であり、これらに限定されない。
【図１７】本明細書で提供する治療化合物の例示であり、これらに限定されない。
【図１８】本明細書で提供する治療化合物の例示であり、これらに限定されない。

【図１９】本明細書で提供する治療化合物の例示であり、これらに限定されない。
【発明を実施するための形態】
【００４２】
本出願は、２０１８年３月１５日に出願した米国特許出願第１５／９２２，５９２号、及び、２０１８年３月１５日に出願したＰＣＴ出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０１８／０２２６７５号を、本明細書の一部を構成するものとして、その各々の全内容を援用する。
【００４３】
本明細書で使用し、かつ、特に断りのない限り、用語「約」とは、対象とする数値の±５％を意味する、ことを意図している。したがって、約１００とは、９５～１０５のことを意味する。
【００４４】
本明細書で使用し、かつ、添付した特許請求の範囲で使用する単数形「ａ」、「ａｎ」、及び、「ｔｈｅ」は、そうでないことが文脈で明確に示されていない限り、複数の意味を含む。
【００４５】
本明細書で使用する用語「約」とは、数値が近似値であり、かつ、多少の変動が、開示した実施形態の実施に顕著な影響を及ぼさないことを意味する。数値に制限を加える場合、文脈で特に断りがない限り、「約」は、当該数値が、±１０％変動し、かつ、開示した実施形態の範囲内に留まることを意味する。
【００４６】
本明細書で使用する用語「動物」として、ヒト、ならびに、野生動物、屋内動物、及び、家畜などの非ヒト脊椎動物があるが、これらに限定されない。
【００４７】
本明細書で使用する用語「接触する」とは、インビトロシステム、または、インビボシステムにおいて、２つの要素を一緒にすることを意味する。例えば、治療化合物を、個体または患者または細胞と「接触させる」ことは、個体、または、ヒトなどの患者に対する当該化合物の投与、ならびに、例えば、細胞を含む試料に対する化合物、または、標的を含む精製製剤の導入を含む。
【００４８】
本明細書で使用する用語「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」（及び、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅ）」、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ）」、「含んだ（ｃｏｍｐｒｉｓｅｄ）」などのあらゆる形態の含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ））、「有する（ｈａｖｉｎｇ）」（及び、「有する（ｈａｖｅ）」及び「有する（ｈａｓ）」などのあらゆる形態の有する（ｈａｖｉｎｇ））、「含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」（及び、「含む（ｉｎｃｌｕｄｅｄｓ）」及び「含む（ｉｎｃｌｕｄｅ）」などのあらゆる形態の含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ））、または、「含む（ｃｏｎｔａｎｉｎｇ）」（及び、「含む（ｃｏｎｔａｉｎｓ）」及び「含む（ｃｏｎｔａｉｎ）」などのあらゆる形態の含む（ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ））は、包括的または拡張可能であり、かつ、さらなる、引用していない要素、または、方法ステップを除外しない。また、用語「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」で記載したあらゆる組成物または方法は、列挙した成分または要素からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ）、からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｏｆ）、または、から本質的になる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｅｓｓｅｎｔｉａｌｌｙ　ｏｆ）組成物も記載している、と理解すべきである。
【００４９】
本明細書で使用する用語「融合した」または「結合した」とは、異なるドメインまたは異種配列を有するタンパク質に関して使用する場合、タンパク質ドメインが、ペプチド結合、または、その他の共有結合のいずれかで、互いに結合される同じペプチド鎖の一部である、ことを意味する。これらのドメインまたはセクションは、互いに直接に結合または融合することができ、または、別のドメインまたはペプチド配列は、２つのドメインまたは配列の間に存在することができ、そして、そのような配列は、依然として互いに融合または結合しているものとみなす。一部の実施形態では、本明細書で提供する様々なドメイ

ンまたはタンパク質は、互いに直接に結合または融合されるか、または、本明細書に記載したグリシン／セリン配列などのリンカー配列は、２つのドメインを結合する。

【００５０】

本明細書で使用する用語「個体」、「対象」、または、「患者」とは、互換可能に使用することができ、マウス、ラット、その他の齧歯類、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ウマ、または、霊長類、例えば、ヒトなどの哺乳類を含む、あらゆる動物のことを意味する。

【００５１】

本明細書で使用する用語「阻害する」とは、結果、症状、または、活性を阻害する化合物の非存在下での活性または結果と比較して、抑制を受ける結果、症状、または、活性のことを指す。一部の実施形態では、当該結果、症状、または、活性は、約、または、少なくとも、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、または、９９％が阻害される。結果、症状、または、活性は、それを完全に除去または消滅すれば、阻害することができる。

【００５２】

本明細書で使用する語句「それを必要とする」は、当該対象が、特定の方法または処置の必要があると識別された、ことを意味する。一部の実施形態では、当該識別は、診断のあらゆる手段で行うことができる。本明細書に記載の方法、及び、処置のいずれにおいても、当該対象は、それを必要とすることができる。一部の実施形態では、当該対象は、特定の疾患、障害、または、病態が蔓延している環境に存在するか、または、同環境に向けて移動する。

【００５３】

本明細書で使用する語句「Ｘ～Ｙまでの整数」は、端点を含むあらゆる整数のことを意味する。例えば、語句「Ｘ～Ｙまでの整数」は、１、２、３、４、または、５のことを意味する。

【００５４】

本明細書で使用する用語「哺乳動物」とは、齧歯類（すなわち、マウス、ラット、または、モルモット）、サル、ネコ、イヌ、ウシ、ウマ、ブタ、または、ヒトを意味する。一部の実施形態では、当該哺乳動物は、ヒトである。

【００５５】

一部の実施形態では、当該治療化合物を、本明細書で提供する。一部の実施形態では、当該治療化合物は、相互作用する複数の鎖を有するタンパク質またはポリペプチドである。当該ポリペプチドは、ジスルフィド結合、または、その他の共有結合などの非共有相互作用、または、共有相互作用を介して、互いに相互作用できる。したがって、実施形態が、治療化合物のことを指す場合、それは、本明細書で提供するタンパク質またはポリペプチドを指すと言えるものであり、文脈がそのように示す場合には、その逆も同様である。

【００５６】

本明細書で使用する語句「眼科的に許容される」は、処置した眼またはその機能、または、処置を受けている当該対象の総体的な健康に対して、持続的に有害な影響を及ぼさない、ことを意味する。しかしながら、軽度の刺激、または、「刺すような」感覚などの一過性の影響は、薬物の局所点眼投与では一般的であり、また、本明細書で定義した「眼科的に許容される」問題において、そのような一過性の影響の存在は、組成、製剤、または、成分（例えば、賦形剤）と矛盾しない、ことが認識される。一部の実施形態では、当該医薬組成物は、眼科的に許容することができ、または、眼科投与に好適なものとすることができる。

【００５７】

特定の抗原、標的、または、エピトープに対する「特異的結合」、または、「特異的に結合する」または「特異的」は、非特異的相互作用と測定可能な程度にまで異なる結合を意味する。特異的結合は、例えば、一般的に、結合活性を持たない同様の構造の分子であるコントロール分子の結合と比較して、分子の結合を決定することで、測定することがで

きる。例えば、特異的結合は、当該標的に類似したコントロール分子との競合によって、決定することができる。

【００５８】

特定の抗原、標的、または、エピトープに対する特異的結合は、抗原またはエピトープに対して、例えば、少なくとも約10^{-4}M、少なくとも約10^{-5}M、少なくとも約10^{-6}M、少なくとも約10^{-7}M、少なくとも約10^{-8}M、少なくとも約10^{-9}M、あるいは、少なくとも約10^{-10}M、少なくとも約10^{-11}M、少なくとも約10^{-12}M、または、それ以上のK_Dを有する抗体で示すことができ、K_Dは、特定の抗体－標的相互作用の解離速度のことを指す。一般的に、抗原または標的に特異的に結合する抗体は、K_Dを有しており、これは、当該抗原またはエピトープと比較して、コントロール分子に対して、２－、４－、５－、１０－、２０－、５０－、１００－、５００－、１０００－、５，０００－、１０，０００－、または、それ以上の倍数を示し、または、少なくとも、それらの数値である。

【００５９】

一部の実施形態では、特定の抗原、標的、または、エピトープに対する特異的結合とは、例えば、標的、抗原、または、エピトープに対するK_AまたはK_aが、コントロールと比較して、当該標的、抗原、または、エピトープに対して、少なくとも２－、４－、５－、２０－、５０－、１００－、５００－、１０００－、５，０００－、１０，０００－、または、それ以上の倍数を示す抗体が明らかにするものであって、K_AまたはK_aとは、特定の抗体－抗原相互作用の結合率のことを指す。

【００６０】

本明細書で提供したように、当該治療化合物、及び、組成物は、本明細書で提供する処置の方法で使用することができる。本明細書で使用する用語「処置する（ｔｒｅａｔ）」、「処置した（ｔｒｅａｔｅｄ）」、または、「処置する（ｔｒｅａｔｉｎｇ）」は、その目的が、望ましくない生理学的病態、障害、または、疾患を遅延させる（軽減する）、または、有益な、または、所望の臨床結果を獲得することである治療的処置と、予防措置との双方を意味する。これらの実施形態の目的のために、有益な、または、所望の臨床結果として、症状の緩和；病態、障害、または、疾患の程度の軽減；病態、障害、または、疾患の安定した（すなわち、悪化していない）状態；病態、障害、または、疾患の発症、または、進行の遅延；検出の可否に関係なく、病態、障害、または、疾患の状態または寛解（部分的または全体的に関係なく）の改善；必ずしも患者が認識可能である必要のない、少なくとも１つの測定可能な物理的パラメーターの改善；または、病態、障害、または、疾患の増強または改善があるが、これらに限定されない。処置には、過度のレベルの副作用を招かずに、臨床的に有意な反応を引き出すことがある。処置をすると、処置を受けない場合に予想される生存期間と比較して、生存期間をも延長する。

【００６１】

本明細書では、一般的に、別個のドメインとして、標的部分、及び、エフェクター結合／調節部分を含む、治療化合物、例えば、治療用タンパク質分子、例えば、融合タンパク質を提供する。当該治療化合物を、使用及び製造する方法も提供する。当該標的部分は、当該治療化合物、そして、エフェクター結合／調節部分を、免疫特権を所望する部位に局在化させる上で役立つ。当該エフェクター結合／調節部分は：（ａ）免疫細胞抑制性分子結合／調節部分（ＩＣＩＭ結合／調節部分）：（ｂ）免疫抑制性免疫細胞結合／調節部分（ＩＩＣ結合／調節部分）；（ｃ）可溶性分子結合／調節部分（ＳＭ結合／調節部分）、または、（ｄ）免疫細胞刺激性分子結合／調節部分をブロックまたは阻害する分子（本明細書では、ＩＣＳＭ結合／調節部分と称する）の１つ以上を含む。一部の実施形態では、当該ＩＣＳＭは、例えば、共刺激性分子と、そのカウンター構造との間の相互作用をブロックすることで、免疫活性化を阻害する。一部の実施形態では、当該治療化合物は：（ａ）及び（ｂ）；（ａ）及び（ｃ）；（ａ）及び（ｄ）；（ｂ）及び（ｃ）；（ｂ）及び（ｄ）；（ｃ）及び（ｄ）；または、（ａ）、（ｂ）、（ｃ）、及び、（ｄ）を含む。

【００６２】

本開示は、例えば、ＰＤ－１アゴニストとして作用することができる分子を提供する。特定の理論に縛られるものではないが、ＰＤ－１のアゴニズムは、Ｔ細胞の活性化／シグナル伝達を阻害し、そして、異なるメカニズムで達成できる。例えば、架橋をすると、アゴニズムでビーズに結合した機能性なＰＤ－１アゴニストを得ることができ、このことは、本明細書の一部を構成するものとして援用する（Ａｋｋａｙａ．　Ｐｈ．Ｄ．　Ｔｈｅｓｉｓ：　Ｍｏｄｕｌａｔｉｏｎ　ｏｆ　ｔｈｅ　ＰＤ－１　ｐａｔｈｗａｙ　ｂｙ　ｉｎｈｉｂｉｔｏｒｙ　ａｎｔｉｂｏｄｙ　ｓｕｐｅｒａｇｏｎｉｓｔｓ．　Ｃｈｒｉｓｔ　Ｃｈｕｒｃｈ　Ｃｏｌｌｅｇｅ，　Ｏｘｆｏｒｄ，　ＵＫ，　２０１２）で報告されている。重複しないエピトープに結合する２つのモノクローナル抗体とＰＤ－１との架橋は、本明細書の一部を構成するものとして援用する文献に記載の通り、ＰＤ－１シグナル伝達を誘導する（Ｄａｖｉｓ，ＵＳ２０１１／０１７１２２０）。別の例は、本明細書の一部を構成するものとして援用する文献に記載の通り、ヤギ抗ＰＤ－１抗血清の使用を介して例示しており（例えば、ＡＦ１０８６，Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）、このものは、本明細書の一部を構成するものとして援用する文献に記載の通り、可溶性の場合にアゴニストとして作用する（Ｓａｉｄ　ｅｔ　ａｌ．，２０１０，ＮａｔＭｅｄ）。本実施形態で使用することができるＰＤ－１アゴニストの例として、ＵＣＢクローン１９、または、クローン１０、ＰＤ１ＡＢ－１、ＰＤ１ＡＢ－２、ＰＤ１ＡＢ－３、ＰＤ１ＡＢ－４、及び、ＰＤ１ＡＢ－５、ＰＤ１ＡＢ－６（Ａｎａｐｔｙｓ／Ｃｅｌｇｅｎｅ）、ＰＤ１－１７、ＰＤ１－２８、ＰＤ１－３３、及び、ＰＤ１－３５（本明細書の一部を構成するものとして援用する、Ｃｏｌｌｉｎｓ　ｅｔ　ａｌ，ＵＳ２００８／０３１１１１７　Ａ１　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ　ａｇａｉｎｓｔ　ＰＤ－１　ａｎｄ　ｕｓｅｓ　ｔｈｅｒｅｆｏｒ）があるが、これらに限定されるものではなく、あるいは、二重特異性で、一価の抗ＰＤ－１／抗ＣＤ３（Ｏｎｏ）など、とすることができる。一部の実施形態では、当該ＰＤ－１作動性抗体を、ＰＤ－１に対するＰＤ－Ｌ１の結合をブロックする抗体とすることができる。一部の実施形態では、当該ＰＤ－１作動性抗体を、ＰＤ－１に対するＰＤ－Ｌ１の結合をブロックしない抗体とすることができる。

【００６３】

ＰＤ－１アゴニズムは、実施例に記載した方法など、あらゆる方法で測定することができる。例えば、ｂ－ガラクトシダーゼ「酵素ドナー」と融合したヒトＰＤ－１ポリペプチド、及び、２）ｂ－ガラクトシダーゼ「酵素アクセプター」と融合したＳＨＰ－２ポリペプチドを含む構築物を発現する、例えば、安定して発現する細胞を構築することができる。理論に縛られるものではないが、ＰＤ－１が関与すると、ＰＤ－１は、ＳＨＰ－２の補充を受ける。当該酵素アクセプターと酵素ドナーとは、アッセイをすることができる、完全に活性なｂ－ガラクトシダーゼ酵素を形成する。このアッセイは、ＰＤ－１アゴニズムを直接に示すことはないが、ＰＤ－１シグナル伝達の活性化は示す。ＰＤ－１アゴニズムは、理論に縛られるものではないが、抗ＣＤ３誘導Ｔ細胞活性化を阻害するので、Ｔ細胞活性化の阻害を測定することで、測定をすることもできる。例えば、ＰＤ－１アゴニズムは、Ｔ細胞を、ＰＨＡ（ヒトＴ細胞の場合）、または、ＣｏｎＡ（マウスＴ細胞の場合）で事前に活性化して、ＰＤ－１を発現させることで、測定することができる。そして、ＰＤ－１アゴニズムアッセイのために、これらの細胞を、抗ＰＤ－１（または、ＰＤ－Ｌ１）の存在下で、抗ＣＤ３で再活性化することができる。抗ＣＤ３の存在下でＰＤ－１アゴニストシグナルを受け取るＴ細胞は、抗ＣＤ３刺激だけの場合と比較して、活性化の低下を示す。活性化は、増殖、またはサイトカイン（ＩＬ－２、ＩＦＮｇ、ＩＬ－１７）産生、または、ＣＤ６９活性化マーカーなどのその他のマーカーで読み取ることができる。したがって、ＰＤ－１アゴニズムは、サイトカイン産生、または、細胞増殖のいずれかで測定することができる。その他の方法も、ＰＤ－１アゴニズムを測定するために使用することができる。

【００６４】

ＰＤ－１は、活性化Ｔ細胞、及び、その他の免疫細胞で発現するＩｇスーパーファミリーのメンバーである。ＰＤ－１の天然リガンドは、ＰＤ－Ｌ１、及び、ＰＤ－Ｌ２である

と考えられる。特定の理論に縛られるものではないが、ＰＤ－Ｌ１、または、ＰＤ－Ｌ２が、活性化Ｔ細胞のＰＤ－１に結合すると、抑制性シグナル伝達カスケードが始まり、活性化Ｔエフェクター細胞機能が減衰する。したがって、Ｔ細胞でのＰＤ－１と、別の細胞（例えば、腫瘍細胞）でのＰＤ－Ｌ１／２との間の相互作用をＰＤ－１アンタゴニストでブロックすることは、チェックポイント阻害として公知であり、そして、当該Ｔ細胞を阻害から解放する。対照的に、ＰＤ－１作動性抗体は、ＰＤ－１に結合し、次に、抑制性シグナルを送り、そして、Ｔ細胞の機能を弱めることができる。したがって、ＰＤ－１作動性抗体は、本明細書に記載のエフェクター分子結合／調節部分として、本明細書に記載した様々な実施形態に組み込むことができ、標的部分と組み合わせると、局所的な組織特異的免疫調節を達成することができる。

【００６５】

当該エフェクター分子結合／調節部分は、様々な方法で、免疫抑制性シグナルまたは環境を提供することができる。一部の実施形態では、当該エフェクター結合／調節部分は、疾患病理を駆動する原因となる免疫細胞が発現した抑制性受容体に直接結合し、そして、（本明細書に記載した適切な条件下で）活性化するＩＣＩＭ結合／調節部分を含む。別の実施形態では、当該エフェクター結合／調節部分は、ＩＩＣ結合／調節部分を含み、そして、免疫抑制性免疫細胞に結合して蓄積する。一部の実施形態では、当該蓄積した免疫抑制性細胞は、免疫特権を促す。別の実施形態では、当該エフェクター結合／調節部分は、周囲の微小環境を操作して、免疫細胞、例えば、疾患病理を駆動する免疫細胞の機能を許容しにくくするＳＭ結合／調節部分を含む。一部の実施形態では、当該ＳＭ結合／調節部分は、免疫攻撃または活性化を促す実体を枯渇させる。一部の実施形態では、当該エフェクター結合／調節部分は、一対の刺激性分子、例えば、共刺激性分子のメンバーに結合するＩＣＳＭ結合／調節部分を含み、次に、ＯＸ４０、または、ＣＤ３０、または、ＣＤ４０、及び、ＯＸ４０Ｌ、または、ＣＤ３０Ｌ、または、ＣＤ４０Ｌなど、これらに限定されない、当該共刺激性分子と、当該共刺激性分子カウンター構造との間の相互作用を阻害し、そして、Ｔ細胞、Ｂ細胞、ＮＫ細胞、または、当該ペアのメンバーを含む、その他の免疫細胞など、これらに限定されない、細胞の免疫刺激を阻害する。

【００６６】

当該標的部分、及び、エフェクター結合／調節部分は、例えば、治療タンパク質分子における同じタンパク質分子のメンバーとして、物理的に、共有結合、または、非共有結合により、直接に、または、リンカー実体を介して、互いを結合する。一部の実施形態では、当該標的、及び、エフェクター部分を、一般的には、別個のドメインとして、治療用タンパク質分子、例えば、融合タンパク質で提供する。一部の実施形態では、当該標的部分、当該エフェクター結合／調節部分、または、双方は、それぞれ、単一ドメイン抗体分子、例えば、ラクダ科動物抗体ＶＨＨ分子、または、ヒト可溶性ＶＨドメインを含む。一本鎖断片可変（ｓｃＦｖ）、または、Ｆａｂドメインも含み得る。一部の実施形態では、当該治療用タンパク質分子、または、当該治療用タンパク質分子をコードする核酸、例えば、ｍＲＮＡまたはＤＮＡを、対象に対して投与することができる。一部の実施形態では、当該標的、及び、当該エフェクター分子結合／調節部分を、第３の実体、例えば、担体、例えば、ポリマー担体、デンドリマー、または、粒子、例えば、ナノ粒子に結合する。当該治療化合物は、選択した標的、または、部位の組織で、または、組織内で使用して、免疫応答をダウンレギュレートすることができるが、全身的な免疫抑制機能は、皆無であるか、または、実質的に僅かでしかない。当該標的または部位は、ドナー組織、または、自己組織を含むことができる。

【００６７】

本明細書では、移植したドナー組織、例えば、同種移植組織、例えば、本明細書に記載の組織、例えば、同種移植肝臓、同種移植腎臓、同種移植心臓、同種移植膵臓、同種移植胸腺または胸腺組織、同種移植皮膚、または、同種移植肺に対して、本明細書に記載の治療化合物を用いて、部位特異的免疫特権を付与する方法を提供する。実施形態では、この処置は、ドナー移植組織に対する拒絶を最小化にし、免疫エフェクター細胞が媒介する損

傷を最小化にし、受容を持続させ、または、機能性寿命を延長する。

【００６８】

本明細書では、本明細書に開示した治療化合物を用いて、レシピエント組織の免疫攻撃を媒介するドナー免疫細胞、例えば、ドナーＴ細胞の能力を最小限にすることで、移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）を阻害する方法も提供する。

【００６９】

また、本明細書では、本明細書に開示した治療化合物の投与によって、対象における自己免疫障害または応答を処置し、例えば、治療的処置または予防的処置（または、予防）を行う方法を提供して、例えば、当該免疫システムの部位または組織特異的調節を提供する。一部の実施形態では、当該方法は、対象組織に対する耐性、対象組織の拒絶の最小化、対象組織に対する免疫エフェクター細胞が媒介する損傷の最小化、または、対象組織の機能の持続性を提供する。一部の実施形態では、当該治療化合物は、自己免疫攻撃下で、または、自己免疫攻撃のリスクのある状況で当該組織を標的とする、例えば、特異的に標的とする標的部分を含む。例示的な組織として、膵臓、ミエリン、唾液腺、滑膜細胞、及び、筋細胞があるが、これらに限定されない。

【００７０】

本明細書で使用する治療的処置に関する用語「処置する（ｔｒｅａｔ）」、「処置した（ｔｒａｅｔｅｄ）」、または、「処置する（ｔｒｅａｔｉｎｇ）」とは、その目的が、望ましくない生理学的病態、障害または疾患を、緩慢（軽減）ならしめること、または、有益な、または、所望の臨床結果を得ることにある。例えば、有益、または所望の臨床結果として、症状の緩和；病態、障害、または、疾患の程度の軽症化；病態、障害、または、疾患の安定した（すなわち、悪化していない）状態；病態、障害、または、疾患の進行の発症の遅延または緩慢化；検出の可否に関係なく、病態、障害、または、疾患の状態、または、寛解（部分的または全体的）の改善；必ずしも患者が認識できるとは限らない、少なくとも１つの測定可能な物理的パラメーターの改善；または、病態、障害、または、疾患の増強または改善などがあるが、これらに限定されない。処置には、過度なレベルの副作用が無いままに、臨床的に有意な反応を引き出すことを含む。処置には、処置を受けない場合に予想される生存期間よりも長い生存期間も含む。したがって、「自己免疫疾患／障害の処置」とは、本明細書に記載の自己免疫疾患／障害、または、その他の病態に関連する一次現象、または、二次症状のいずれかを緩和または改善する活性のことを意味する。本明細書では、様々な疾患または病態を提供する。当該治療的処置は、発症前に疾患または病態を予防または軽減するために、予防的に投与することもできる。

【００７１】

一部の実施形態では、当該治療化合物の投与は、当該障害が明らかになってから開始する。一部の実施形態では、当該治療化合物の投与は、当該障害を発症、または、完全に発症する前に開始する。一部の実施形態では、当該治療化合物の投与は、当該障害を発症、または、完全に発症する前に、例えば、当該障害を有する対象、当該障害を有するリスクの高い対象、当該障害のリスクまたは存在に関するバイオマーカーを有する対象、当該障害の家族歴を有する対象、または、当該障害のリスク、または、無症候性の存在に関するその他の指標を有する対象において開始する。例えば、一部の実施形態では、膵島細胞損傷を有するが、未だ糖尿病ではない対象を処置する。

【００７２】

理論に縛られることを望むものではないが、当該標的部分は、免疫特権を所望する解剖学的部位で選択的に発現する標的に対して、治療薬を結合及び蓄積するように機能する、と考えられている。一部の実施形態では、例えば、ドナー組織移植の状況において、当該標的部分は、レシピエントではなく、ドナー組織に存在する標的、例えば、対立遺伝子産物に結合する。自己免疫障害の治療では、当該標的部分は、免疫特権を所望する解剖学的部位、例えば、膵臓で優先的に発現する標的に結合する。ＧＶＨＤの治療では、当該標的部分は、当該宿主組織を標的とし、そして、移植組織に由来する移植免疫エフェクター細胞からの攻撃から宿主を保護する。

【００７３】
この場合もやはり、理論に縛られることを望むものではないが、当該エフェクター結合／調節部分は、免疫抑制性シグナルを送達するか、さもなければ、免疫特権環境を作り出す上で役立つ、と考えられている。
【００７４】
特に断りのない限り、本明細書で使用するすべての技術用語及び科学用語は、これらの実施形態の技術分野に属する当業者が一般に理解するものと同じ意味を有する。本明細書に記載したものと類似する、または、均等の方法及び材料を、本実施形態を実施する、または、試験するにあたって使用することができるが、適切な方法及び材料については後述する。本明細書に記載したすべての刊行物、特許出願、特許、及び、その他の参考文献は、本明細書の一部を構成するものとして、それらの全内容を援用する。加えて、材料、方法、及び、実施例は、例示に他ならず、限定は意図していない。見出し、小見出し、または、（ａ）、（ｂ）、（ｉ）などの番号、または、文字で表した要素は、単に読みやすくすることを目的としたものである。本明細書において、見出し、または、番号または文字で表した要素の使用は、ステップまたは要素をアルファベット順で実施する必要はなく、あるいは、ステップまたは要素を、必ずしも、互いに独立させる必要はない。当該実施形態のその他の特徴、目的、及び、利点は、説明、及び、図面、ならびに、特許請求の範囲から明らかである。
【００７５】
さらなる定義
特に断りのない限り、本明細書で使用するすべての技術用語及び科学用語は、当該実施形態の技術分野に関係する当業者が一般に理解するものと同じ意味を有する。本実施形態の説明及び特許請求の範囲において、以下の用語、及び、本出願を通して参照する用語は、定義を提供している場合は、その定義の通りに使用する。
【００７６】
また、本明細書で使用する用語は、特定の実施形態だけを説明するためのものであり、限定を意図していない、ことも理解されたい。
【００７７】
抗体分子という本明細書で使用する用語は、少なくとも１つの機能性免疫グロブリン可変ドメイン配列を含むポリペプチド、例えば、免疫グロブリン鎖、または、その断片のことを指す。抗体分子は、抗体（例えば、全長抗体）、及び、抗体断片を含む。一部の実施形態では、抗体分子は、全長抗体の抗原結合性、または、機能性断片、または、全長免疫グロブリン鎖を含む。例えば、全長抗体は、自然に存在するか、または、正常な免疫グロブリン遺伝子断片の組換えプロセスで形成される）免疫グロブリン（Ｉｇ）分子（例えば、ＩｇＧ抗体）である。実施形態では、抗体分子とは、抗体断片などの免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な抗原結合部分のことを指す。抗体断片、例えば、機能性断片は、抗体の一部、例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆ（ａｂ）２、可変断片（Ｆｖ）、ドメイン抗体（ｄＡｂ）、または、一本鎖断片（ｓｃＦｖ）を含む。機能性抗体断片は、インタクトな（例えば、全長の）抗体によって認識されるものと同じ抗原に結合する。用語「抗体断片」または「機能性断片」は、重鎖及び軽鎖の可変領域からなる「Ｆｖ」断片、または、軽及び重可変領域を、ペプチドリンカー（「ｓｃＦｖタンパク質」）で結合している組換え一本鎖ポリペプチド分子などの可変領域からなる単離断片も含む。一部の実施形態では、抗体断片は、Ｆｃ断片、または、単一アミノ酸残基などの抗原結合活性を持たない抗体の部分を含まない。例示的な抗体分子として、全長抗体、及び、抗体断片、例えば、ｄＡｂ（ドメイン抗体）、一本鎖、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、及び、Ｆ（ａｂ’）２断片、及び、一本鎖可変断片（ｓｃＦｖ）がある。
【００７８】
用語「抗体分子」は、「ｓｄＡｂ」または「ＶＨＨ」とも称する、ドメイン、または、単一ドメイン、抗体の全体、または、抗原結合断片も含む。ドメイン抗体は、独立した抗体断片として作用することが可能なV_HまたはV_Lのいずれかを含む。加えて、ドメイン

抗体には、重鎖だけの抗体（ＨＣＡｂｓ）を含む。ドメイン抗体は、ＣＤＲループが移植されるベースの足場として、ＩｇＧのＣＨ２ドメインも含む。また、それは、一般的に、３つの相補性決定領域で区切られた４つのフレームワーク領域から構成されるアミノ酸配列を含むポリペプチドまたはタンパク質として定義することができる。このものは、ＦＲ１－ＣＤＲ１－ＦＲ２－ＣＤＲ２－ＦＲ３－ＣＤＲ３－ＦＲ４として表わされる。ｓｄＡｂは、ラマなどのラクダ科動物で産生することができるが、当該技術分野で周知の技術を使用して、合成的に生成することもできる。ｓｄＡｂ、または、ポリペプチドのアミノ酸残基の番号付けは、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．が定めたＶＨドメインの一般的な付番方法に従う（“Ｓｅｑｕｅｎｃｅ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ ｉｎｔｅｒｅｓｔ，” ＵＳ Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，ＮＩＨ Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ，Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１，この文献は、本明細書の一部を構成するものとして援用する）。この付番方法では、ｓｄＡｂのＦＲ１は、１～３０の位置のアミノ酸残基を含み、ｓｄＡｂのＣＤＲ１は、３１～３６の位置のアミノ酸残基を含み、ｓｄＡｂのＦＲ２は、３６～４９の位置のアミノ酸を含み、ｓｄＡｂのＣＤＲ２は、５０～６５の位置のアミノ酸残基を含み、ｓｄＡｂのＦＲ３は、６６～９４の位置のアミノ酸残基を含み、ｓｄＡｂのＣＤＲ３は、９５～１０２の位置のアミノ酸残基を含み、そして、ｓｄＡｂのＦＲ４は、１０３～１１３の位置のアミノ酸残基を含む。ドメイン抗体は、ＷＯ２００４０４１８６２、及び、ＷＯ２０１６０６５３２３にも記載されており、それらの各々は、本明細書の一部を構成するものとして援用する。当該ドメイン抗体は、本明細書に記載の標的部分とすることができる。

【００７９】

抗体分子は、単一特異性（例えば、一価または二価）、二重特異性（例えば、二価、三価、四価、五価、または、六価）、三重特異性（例えば、三価、四価、五価、六価）、または、より高次の特異性（例えば、四重特異性）、及び／または、六価を超える高次の価数のものとすることができる。抗体分子は、軽鎖可変領域の機能性断片、及び、重鎖可変領域の機能性断片を含むことができ、または、重鎖と軽鎖とを一緒に融合して単一のポリペプチドとし得る。

【００８０】

多重特異性治療化合物、例えば、二重特異性抗体分子のフォーマットの例を、以下に例示するが、それらに限定されない。抗体分子を用いて説明しているが、それらは、特異的結合、または、エフェクター部分としてその他の非抗体部分を含む治療用分子のプラットフォームとして使用できる。一部の実施形態では、これらの例は、対称または非対称のＦｃフォーマットに基づいているが、それらに限定されない。

【００８１】

例えば、図面では、様々な対称ホモ二量体のアプローチについて記載をしているが、それらに限定されない。一部の実施形態では、二量化界面は、ヒトＩｇＧ１ ＣＨ２－ＣＨ３ドメインを中心とし、このものは、ＣＨ２／ＣＨ２、及び、ＣＨ３／ＣＨ３の双方にわたる接触界面を介して二量化する。そのようにして得た、そこに示した二重特異性抗体は、当該二量体の各側のＮ末端にある２つの同一の結合ユニットと、当該二量体の各側のＣ末端にある２つの同一のユニットを含む４つの結合ユニットからなる全原子価を有する。いずれの事例でも、ホモ二量体のＮ末端の結合単位は、ホモ二量体のＣ末端の結合単位とは異なる。当該分子のいずれかの末端での阻害性Ｔ細胞受容体の双方について、このタイプの二価性を使用すると、当該分子のいずれかの末端で、組織連結抗原のための二価性を実現することができる。

【００８２】

例えば、図３では、実施形態を示しているが、これに限定されない。当該ホモ二量体のＮ末端は、２つの同一の軽鎖から構成される２つの同一のＦａｂドメインを含み、これらは、ＣＨ１とのＶＨ／ＶＬ相互作用、及び、ＣｋａｐｐａまたはＣｌａｍｂｄａ相互作用を介して、各重鎖のｎ末端ＶＨ－ＣＨ１ドメインと相互作用する別個のポリペプチドである。ＣｋａｐｐａまたはＣｌａｍｂｄａとＣＨ１との間に天然のジスルフィド結合が存在

し、軽鎖と重鎖との間に共有結合アンカーを提供する。このデザインのｃ末端では、２つの同一のｓｃＦｖユニットがあり、それにより（この実施例では）、当該Ｆｃの当該ＣＨ３ドメインのｃ末端の後に、一般的には、セリン、グリシン、アラニン、及び／または、トレオニン残基（これらに限定されない）から構成される柔軟な親水性リンカーが続き、その後に、各ｓｃＦｖユニットの当該ＶＨドメインが続き、その後に、グリシン／セリンが豊富なリンカーが続き、その後に、ＶＬドメインが続く。これらのタンデムＶＨ及びＶＬドメインが結合して、当該Ｆｃの当該ｃ末端に付着した一本鎖断片可変（ｓｃＦｖ）を形成する。当該Ｆｃを中心とするホモ二量体の性質が故に、この分子の当該ｃ末端に、そのようなユニットが２つ存在する。ｓｃＦｖのドメインの順序は、ＶＨ－リンカー－ＶＬ、または、ＶＬ－リンカー－ＶＨのいずれかのＮ末端からＣ末端へと設定し得る。

【００８３】

異なる末端に異なる結合領域を有する分子の例として、一方の末端を、ＰＤ－１アゴニストとし、そして、標的特異性を提供する抗体が、抗ＭＡｄＣＡＭ－１抗体とするものがあるが、これらに限定されない。このことは、例えば、異なる幾何学的配置の分子を例示する図３Ａに示したようにして、例示することができる。

【００８４】

一部の実施形態では、当該ＭＡｄＣＡＭ抗体は、本明細書のその他の箇所で記載したようなブロッキング抗体、または、非ブロッキング抗体である。理論に縛られるものではないが、ＭＡｄＣＡＭは、その２つのＩｇスーパーファミリーＩ－セットドメイン内の複数の残基を介して、リンパ球で発現するインテグリンα４β７のヘッドピースと相互作用することが示されており、また、その相互作用の原子レベルの構造的基盤が報告されている（Ｖｉｎｅｙ ＪＬ ｅｔ ａｌ．（１９９６）．Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５７，２４８８－２４９７；Ｙｕ Ｙ ｅｔ ａｌ（２０１３）．Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ．２８８，６２８４－６２９４；Ｙｕ Ｙ ｅｔ ａｌ（２０１２）．Ｊ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ．１９６，１３１－１４６，本明細書の一部を構成するものとして、それらの全内容を援用する）。そのことは、ＭＡｄＣＡＭとα４β７の相互作用が、インテグリンベータ７サブユニットＩ様ドメインに存在する３つのジカチオン結合部位に依存しており、そして、これらの金属結合部位が、Ｃａ２＋、Ｍｎ２＋、及び、Ｍｇ２＋と協働できる、ヒト（Ｃｈｅｎ Ｊ ｅｔ ａｌ（２００３）．Ｎａｔ Ｓｔｒｕｃｔ Ｂｉｏｌ．１０，９９５－１００１；ｄｅ Ｃｈａｔｅａｕ Ｍ ｅｔ ａｌ（２００１）．Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ．４０，１３９７２－１３９７９）、及び、マウス（Ｄａｙ ＥＳ ｅｔ ａｌ（２００２）．Ｃｅｌｌ Ｃｏｍｍｕｎ Ａｄｈｅｓ．９，２０５－２１９；Ｈｏｓｈｉｎｏ Ｈ ｅｔ ａｌ（２０１１）．Ｊ Ｈｉｓｔｏｃｈｅｍ Ｃｙｔｏｃｈｅｍ．５９，５７２－５８３）の双方の分子システムにおいて、構造面、機構面、及び、機能面において非常に詳細に示されている。Ｍｇ２＋またはＭｎ２＋を含む、または、含まずに、高レベルのＣａ２＋の存在下で、細胞接着アッセイ、フローサイトメトリー、及び／または、フローチャンバーアッセイを使用すると、ＭＡｄＣＡＭ／α４β７相互作用は、機能性親和性がさらに小さくなり、また、リンパ球の回転接着を可能にするが、当該インテグリンを活性化するＣａ２＋を少なくし、Ｍｇ２＋またはＭｎ２＋を多くすると、ＭＡｄＣＡＭ／α４β７の相互作用は、機能性親和性が高くなり、また、リンパ球の強固な接着を媒介する（Ｃｈｅｎ Ｊ ｅｔ ａｌ（２００３））．Ｎａｔ Ｓｔｒｕｃｔ Ｂｉｏｌ．１０，９９５－１００１）。数多くのグループが、様々な細胞：細胞、細胞：膜調製、及び／または、細胞：タンパク質をベースとした接着／相互作用アッセイを、ＦＡＣＳ、細胞フローチャンバーをベースとした計数、または、ＩＨＣをベースとした読み取りを利用して実施することで、ＭＡｄＣＡＭとα４β７との相互作用における、抗ＭＡｄＣＡＭ、または、抗α４β７抗体の影響をモニターして、ブロッキング抗体、または、非ブロッキング抗体を同定できる、ことを報告している（Ｎａｋａｃｈｅ，Ｍ ｅｔ ａｌ（１９８９）．Ｎａｔｕｒｅ．３３７，１７９－１８１；Ｓｔｒｅｅｔｅｒ，ＰＲ ｅｔ ａｌ（１９８８）．Ｎａｔｕｒｅ．３３１．４１－４６；Ｙａｎｇ Ｙ ｅｔ ａｌ（１９

９５）．Ｓｃａｎｄ Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．４２．２３５－２４７；Ｌｅｕｎｇ Ｅ ｅｔ ａｌ（２００４）．Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ．８２．４００－４０９；Ｐｕｌｌｅｎ Ｎ ｅｔ ａｌ（２００９）．Ｂ Ｊ Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．１５７．２８１－２９３；Ｓｏｌｅｒ Ｄ ｅｔ ａｌ（２００９）．Ｊ Ｐｈａｒｍａｃｏｌ Ｅｘｐ Ｔｈｅｒ．３３０．８６４－８７５；Ｑｉ Ｊ ｅｔ ａｌ（２０１２）．Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ．２８７．１５７４９－１５７５９）。

【００８５】

このことは、ＭＥＣＡ－８９（非ブロッキング）、及び、ＭＥＣＡ－３６７（ブロッキング）などの抗マウスＭＡｄＣＡＭ抗体の同定を伴うマウスシステム設定で例示されている）Ｎａｋａｃｈｅ，Ｍ ｅｔ ａｌ（１９８９）．Ｎａｔｕｒｅ．３３７，１７９－１８１；Ｓｔｒｅｅｔｅｒ，ＰＲ ｅｔ ａｌ（１９８８）．Ｎａｔｕｒｅ．３３１．４１－４６；Ｙａｎｇ Ｙ ｅｔ ａｌ（１９９５）．Ｓｃａｎｄ Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．４２．２３５－２４７）。ヒトシステムでは、抗ヒトＭＡｄＣＡＭ ＰＦ－００５４７６５９（Ｐｕｌｌｅｎ Ｎ ｅｔ ａｌ（２００９）．Ｂ Ｊ Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．１５７．２８１－２９３）、及び、抗ヒトα４β７ベドリズマブ（Ｓｏｌｅｒ Ｄ ｅｔ ａｌ（２００９）．Ｊ Ｐｈａｒｍａｃｏｌ Ｅｘｐ Ｔｈｅｒ．３３０．８６４－８７５）などのヒトＭＡｄＣＡＭと、ヒトα４β７との相互作用をブロックする抗体、ならびに、抗ヒトＭＡｄＣＡＭクローン１７Ｆ５（Ｓｏｌｅｒ Ｄ ｅｔ ａｌ（２００９）．Ｊ Ｐｈａｒｍａｃｏｌ Ｅｘｐ Ｔｈｅｒ．３３０．８６４－８７５）、及び、抗ヒトα４β７クローンＪ１９（Ｑｉ Ｊ ｅｔ ａｌ（２０１２）．Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ．２８７．１５７４９－１５７５９）などの相互作用をブロックしない抗体が同定されている。したがって、当該抗体は、所望の効果に基づいて、ブロッキングまたは非ブロッキングのいずれかとすることができる。一部の実施形態では、当該抗体は、非ブロッキングＭＡｄＣＡＭ抗体である。一部の実施形態では、当該抗体は、ブロッキングＭＡｄＣＡＭ抗体である。当該抗体が、ブロッキングであるか、あるいは、非ブロッキングであるかを実証する一例を、実施例６に示すが、これに限定されるものではなく、あらゆる方法を使用することができる。本明細書に記載した各参考文献を、本明細書の一部を構成するものとして、その全内容を援用する。一部の実施形態では、当該ＰＤ－１アゴニストを、本明細書に記載したような、ＩＬ－２ムテインで置換するが、これらに限定されない。

【００８６】

別の実施例では、そして、図４に示したように、当該ホモ二量体のＮ末端は、２つの同一の軽鎖から構成される２つの同一のＦａｂドメインを含み、これらは、ＣＨ１とのＶＨ／ＶＬ相互作用、及び、ＣｋａｐｐａまたはＣｌａｍｂｄａ相互作用を介して、各重鎖のｎ末端ＶＨ－ＣＨ１ドメインと相互作用する別個のポリペプチドである。ＣｋａｐｐａまたはＣｌａｍｂｄａとＣＨ１との間に天然のジスルフィド結合が存在し、軽鎖と重鎖との間に共有結合アンカーを提供する。このデザインのｃ末端では、２つの同一のＶＨユニット（同ユニットで、または、４つの末端付着／融合点のいずれかで、非抗体部分も置換できる）があり、それにより（この実施例では）、当該Ｆｃの当該ＣＨ３ドメインのｃ末端の後に、一般的には、セリン、グリシン、アラニン、及び／または、トレオニン残基（これらに限定されない）から構成される柔軟な親水性リンカーが続き、その後に、各ｓｃＦｖユニットの当該ＶＨドメインが続き、その後に、可溶性の独立したＶＨ３生殖系列ファミリーをベースとしたＶＨドメインが続く。当該Ｆｃを中心とするホモ二量体の性質が故に、この分子の当該ｃ末端に、そのようなユニットが２つ存在する。

【００８７】

限定を意図していない別の実施例では、図５に示したように、当該ホモ二量体のＮ末端は、２つの同一の軽鎖からなる２つの同一のＦａｂドメインを含み、これらは、図３及び図４とは異なり、ＣｋａｐｐａまたはＣｌａｍｂｄａのｃ末端と、当該ＶＨのＮ末端との間のリンカーを介して、当該Ｎ末端で当該重鎖と物理的に結合している。このリンカーは

、３６～８０アミノ酸長で、かつ、セリン、グリシン、アラニン、及び、トレオニン残基で構成し得る。当該物理的に結合したｎ末端軽鎖は、ＣＨ１とのＶＨ／ＶＬ相互作用、及び、ＣｋａｐｐａまたはＣｌａｍｂｄａ相互作用を介して、各重鎖のｎ末端ＶＨ－ＣＨ１ドメインと相互作用する。ＣｋａｐｐａまたはＣｌａｍｂｄａとＣＨ１の間に天然のジスルフィド結合が存在しており、軽鎖と重鎖の間にさらなる安定性を提供する。このデザインのｃ末端では、２つの同一のＦａｂユニットがあり、それにより（この実施例では）、当該Ｆｃの当該ＣＨ３ドメインのｃ末端の後に、一般的には、セリン、グリシン、アラニン、及び／または、トレオニン残基（これらに限定されない）から構成される柔軟な親水性リンカーが続き、その後に、ＣＨ１ドメインが続き、その後に、ｃ末端のＶＨドメインが続く。記載したように、ｎ末端ＶＨ／ＣＨ１ドメインに結合しているＮ末端軽鎖とは異なり、ｃ末端ＣＨ１／ＶＨドメインと対になるようにデザインした軽鎖は、別個のポリペプチドとして発現する。当該Ｃ末端の軽鎖は、ＶＨ／ＶＬと、ＣｋａｐｐａまたはＣｌａｍｂｄａとの間に、ＣＨ１で界面を形成する。天然のジスルフィドは、この軽鎖を、当該重鎖に固定する。この場合もやはり、４つの付着／融合点のいずれかにおける抗体部分のいずれかは、非抗体部分、例えば、抗体分子を含まないエフェクター結合／調節部分で置換することができる。

【００８８】

当該二重特異性抗体を、以下の限定を意図していない実施例で示したように非対称とすることができる。限定を意図していない実施例は、非対称／ヘテロダイマー手法を示す、図６、図７、及び、図８にも記載している。この場合もやはり、これらのフォーマットのいずれかにおいて、４つの付着／融合点のいずれかでの抗体部分のいずれかは、非抗体部分、例えば、抗体分子を含まないエフェクター結合／調節部分で置換することができる。一部の実施形態では、当該二量化界面は、ヒトＩｇＧ１　ＣＨ２－ＣＨ３ドメインの周りに集中しており、ＣＨ２／ＣＨ２、及び、ＣＨ３／ＣＨ３の双方にわたる接触界面を介して二量化する。しかしながら、各重鎖のホモ二量化の代わりに、ヘテロ二量化を達成するために、各ＣＨ３ドメインに突然変異を導入する。当該ヘテロ二量化突然変異として、一方のＣＨ３ドメインでのＴ３６６Ｗ突然変異（ｋａｂａｔ）と、他方のＣＨ３ドメインでのＴ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ、及び、Ｙ４０７Ｖ（ｋａｂａｔ）突然変異がある。当該ヘテロ二量化界面は、ＣＨ３／ＣＨ３界面の反対側にあるＳ３５４、及び、Ｙ３４９などの天然残基からシステイン残基への突然変異を介して、新たなジスルフィド結合でさらに安定化し得る。結果として得た二重特異性抗体は、４つの結合ユニットで構成される総原子価を有している。この方法により、当該分子全体に、一方の末端だけに対する二重特異性、及び、他方の末端に対する単一特異性（全体として三重特異性）、または、全体の分子特異性が２または４であり、いずれかの末端に対する二重特異性を付与する、ようにデザインすることができる。以下の例示的な実施例では、当該Ｃ末端は、例えば、組織連結標的に対して二価の単一特異性を提供することができる、２つの同一の結合ドメインを含む。例示的な実施例での３つすべてのＮ末端では、双方の結合ドメインが、異なる認識要素／パラトープを含み、そして、同じエフェクター部分標的での２つの異なるエピトープの認識を達成でき、または、例えば、Ｔ細胞抑制性受容体、及び、ＣＤ３を認識することができる。一部の実施形態では、当該Ｎ末端結合部分は、例えば、ｓｃＦｖ、一本鎖Ｆａｂ、タンデムｓｃＦｖ、ＶＨ、または、ＶＨＨドメイン抗体構成など、その他の単一ポリペプチドフォーマットと交換し得る。線状、または、環状ペプチドなど、その他のタイプの認識要素も使用し得る。

【００８９】

非対称分子の例を、図６に示す。図６を参照すると、当該分子のＮ末端は、ＶＨ／ＶＬ、及び、ＣｋａｐｐａまたはＣｌａｍｂｄａ／ＣＨ１相互作用を介して、第１の重鎖と対になった第１の軽鎖、及び、天然の重／軽鎖ジスルフィド結合からなる共有結合連結から構成させる。このヘテロ二量体分子のＮ末端の反対側には、ＣｋａｐｐａまたはＣｌａｍｂｄａのｃ末端と、当該ＶＨのＮ末端との間のリンカーを介して、物理的に結合している第２の軽鎖と第２の重鎖がある。当該リンカーは、３６～８０アミノ酸の長さであり、か

つ、セリン、グリシン、アラニン、及び、トレオニン残基で構成し得る。当該物理的に結合したｎ末端軽鎖は、ＶＨ／ＶＬ相互作用、及び、ＣＨ１とＣｋａｐｐａまたはＣｌａｍｂｄａとの相互作用を介して、各重鎖のｎ末端ＶＨ－ＣＨ１ドメインと相互作用する。Ｃｋａｐｐａまたは Ｃｌａｍｂｄａ とＣＨ１との間に天然のジスルフィド結合が存在し、当該軽鎖と重鎖との間にさらなある安定性を付与する。当該分子のｃ末端には、Ｎ末端グリシン／セリン／アラニン／トレオニンをベースとしたリンカーを介して、重鎖１と重鎖２の双方のＣＨ３ドメインのｃ末端に結合した２つの同一の可溶性ＶＨ３生殖系列ファミリーＶＨドメインがある。

【００９０】

一部の実施形態では、非対称分子は、図７に例示したように示すことができる。例えば、当該分子のＮ末端は、グリシン／セリン／アラニン／トレオニンをベースとしたリンカーを介して、ヒトＩｇＧ１ヒンジ領域に結合した２つの異なるＶＨ３生殖系列をベースとした可溶性ＶＨドメインからなる。当該第１の重鎖に結合するＶＨドメインは、当該２番目の重鎖に結合するＶＨドメインとは異なる。各重鎖のｃ末端には、ＶＨドメインに基づいたさらなる可溶性ＶＨ３生殖細胞があり、このものは、２つの重鎖の各々と同一である。前述したｋｎｏｂｓ　ｉｎｔｏ　ｈｏｌｅｓ変異を介した当該重鎖ヘテロ二量化は、当該ＦｃモジュールのＣＨ３界面に存在する。

【００９１】

一部の実施形態では、非対称分子を、図８に例示したものとすることができる。この実施例は、双方のＮ末端ＦａｂユニットがＣｋａｐｐａまたはＣｌａｍｂｄａのｃ末端と、各々個別のＮ末端との間のリンカーを介して、軽鎖１及び軽鎖２が、重鎖１及び重鎖２と物理的に結合するように構成していることを除けば、図７に示した分子と同様である。各事例のリンカーは、３６～８０アミノ酸の長さであり、かつ、セリン、グリシン、アラニン、及び、トレオニン残基で構成し得る。当該物理的に結合したｎ末端軽鎖は、ＶＨ／ＶＬ相互作用、及び、ＣＨ１とＣｋａｐｐａまたはＣｌａｍｂｄａとの相互作用を介して、各重鎖のｎ末端ＶＨ－ＣＨ１ドメインと相互作用する。ＣｋａｐｐａまたはＣｌａｍｂｄａとＣＨ１との間に天然のジスルフィド結合が存在し、当該軽鎖と重鎖との間にさらなる安定性を付与する。

【００９２】

二重特異性分子は、混合フォーマットを有することもできる。このことを、例えば、図９、図１０、図１１に例示している。

【００９３】

例えば、図９に例示したように、ホモ二量体Ｆｃをベースとした手法（図３、４、及び、５を参照されたい）を、図７の部分フォーマット選択と組み合わせることを例示しており、それにより、総分子価は４になるが、特異性は２つの特異性に制限される。当該Ｎ末端は、２つの同一の可溶性ＶＨ３生殖細胞系に基づいたＶＨドメインからなり、かつ、当該ｃ末端は、Ｎ末端ドメインに対して異なる特異性の２つの同一の可溶性ＶＨ３生殖細胞系に基づいたＶＨドメインからなる。したがって、各特異性の価数は、２である。この場合もやはり、このフォーマットでは、４つの付着／融合点のいずれかにおける抗体部分のいずれかを、非抗体部分、例えば、抗体分子を含まないエフェクター結合／調節部分で置換することができる。

【００９４】

図１０は、別の実施例を示している。この例では、当該分子は、４つのＶＨ３生殖系列をベースとした可溶性ＶＨドメインからなる。当該最初の２つのドメインは、同じ特異性（例えば、抑制性受容体）を有しており、Ｎ末端から３番目のドメインは、組織抗原に対して特異性を有しており、そして、Ｎ末端から４番目のドメインは、ヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）に対して特異性を有しており、それにより、Ｉｇ　Ｆｃドメインの非存在下で、当該分子の半減期が延長することになる。ドメイン１と２、ドメイン２と３、ドメイン３と４の間に、グリシン、セリン、アラニン、及び／または、トレオニンが豊富な３つのリンカーが存在する。このフォーマットでは、最大で４重特異性を構成し得るが、各事例

で一価であること、または、各事例が二価である二重特異性もある。ドメインの順序を、変更することができる。また、このフォーマットでは、抗体部分のいずれかを、非抗体部分、例えば、抗体分子を含まないエフェクター結合／調節部分で置換することができる。

【００９５】

図１１は、さらに別の手法を示している。この実施例は、当該分子のＮ末端に、２つの同一のＦａｂユニット（二価の単一特異性）を有するＦｃホモ二量体である、という点で図３及び４と同様である。この実施例は、各重鎖のＣ末端にタンデムｓｃＦｖが付加している、点で異なる。したがって、各事例において、ＦｃのＣＨ３ドメインのｃ末端は、グリシン／セリン／アラニン／トレオニンをベースとしたリンカーを介して、第１のＶＨドメインのＮ末端に結合し、１２～１５アミノ酸のグリシン／セリンに富むリンカーを介して、Ｃ末端で、第１のＶＬドメインのＮ末端に結合し、２５～３５アミノ酸のグリシン／セリン／アラニン／トレオニンをベースとしたリンカーを介して、ｃ末端で、第２のＶＬドメインのＮ末端に結合し、１２～１５アミノ酸のグリシン／セリンをベースとしたリンカーを介して、ｃ末端で、第２のＶＨドメインのＮ末端に結合する。したがって、このＦｃホモ二量体をベースとした分子では、分子のｃ末端に２つの同一のタンデムｓｃＦｖがあり、例えば、単一の組織抗原に対する四価、または、２つの異なる分子に対する二価を提供する。このフォーマットは、図５、６、及び、７での一本鎖Ｆａｂ構成の使用を介して、Ｎ末端での二価の単一特異性、または、Ｎ末端での一価の二重特異性のいずれかを保持しながら、ｃ末端での一価の四重特異性を可能にするＦｃのｃ末端での２つの異なるタンデムｓｃＦｖを可能にする、ヘテロ二量体Ｆｃコアに適合させることもできる。したがって、この分子は、２つ、３つ、４つ、５つ、または、６つの特異性を持つように構成することができる。タンデムｓｃＦｖユニット内でのｓｃＦｖのドメイン順序は、Ｎ末端からＣ末端にかけて、ＶＨ－リンカー－ＶＬ、または、ＶＬ－リンカー－ＶＨのいずれかに設定し得る。この場合もやはり、このフォーマットでは、４つの付着／融合点のいずれかでの抗体部分のいずれかを、非抗体部分、例えば、抗体分子を含まないエフェクター結合／調節部分で置換することができる。

【００９６】

また、二重特異性抗体を、組織浸透性を高めながら、例えば、全身ＰＫを短くするように構築することもできる。これらのタイプの抗体は、例えば、ヒトＶＨ３をベースとしたドメイン抗体フォーマットに基づくことができる。これらを、例えば、図１２、１３、及び、１４に例示している。図１２、１３、及び１４は、それぞれ、可溶性ＶＨ３生殖系列ファミリーをベースとしたＶＨドメインモジュールを含んでいた。各ドメインは、約１２．５ｋＤａであり、全体の分子量を小さくすることができ、このことは、特定の理論に縛られるものではないが、組織への浸透を促す上では有益である。これらの実施例では、ＶＨドメインのいずれも、ＦｃＲｎまたはＨＳＡなどの半減期延長標的を認識しない。図１２に例示したように、当該分子は、第１ドメインのＣ末端と、第２ドメインのＮ末端との間の柔軟な親水性グリシン／セリンをベースとしたリンカーで結合した２つのＶＨドメインからなる。この実施例では、あるドメインが、Ｔ細胞共刺激受容体を認識し、そして、２番目のドメインが、組織連結抗原を認識する。図１３に示されるように、当該分子は、親水性グリシン／セリンをベースとしたリンカーのＮ－Ｃ末端結合を有する３つのＶＨドメインからなる。当該分子は、各標的に対して三価であるが、一価となるように構成し得る。ある標的では二価であるが、別の標的では一価である二重特異性とし得る。図１４に例示したように、当該分子は、各ドメイン間にＮ－Ｃ末端グリシン／セリンが豊富なリンカーを有する、４つのＶＨドメインからなる。この分子は、それぞれの事例における異なる抗原価で、四重特異性、三重特異性、または、二重特異性になるように構成し得る。この場合もやはり、このフォーマットにおいて、抗体部分のいずれかを、非抗体部分、例えば、抗体分子を含まないエフェクター結合／調節部分で置換することができる。

【００９７】

二重特異性抗体のその他の実施形態を、図１５及び１６に例示する。図１５及び１６は、相互作用を共有結合で固定するｃ末端重／軽ジスルフィド結合を含む、ヒトＩｇＧ　Ｃ

Ｈ１／Ｃｋａｐｐａ界面の天然のヘテロ二量化コアからなる。このフォーマットは、Ｆｃまたは半減期延長のためのあらゆる部分を含まない。図１５に例示したように、定常カッパドメインのＮ末端にある当該分子には、天然のＶＬ－Ｃｋａｐｐａエルボ配列を介して、そのＣ末端が、定常カッパドメインのＮ末端に結合している、１２～１５個のアミノ酸グリシン／セリンをベースとしたリンカーを介して、そのＣ末端が、ＶＬドメインのＮ末端に結合したＮ末端ＶＨドメインからなるｓｃＦｖ断片が付加している。当該ＣＨ１ドメインは、そのＮ末端に、天然のＶＨ－ＣＨ１エルボ配列を介して、そのＣ末端が、ＣＨ１ドメインのＮ末端に結合している、１２～１５個のアミノ酸グリシン／セリンをベースとしたリンカーを介して、そのＣ末端が、ＶＨドメインのＮ末端に結合したＮ末端ＶＬドメインからなるｓｃＦｖ断片が付加している。図１６に例示したように、当該分子は、実施例１３と同じＮ末端構成を有する。しかしながら、定常カッパ、及び、ＣＨ１ドメインのＣ末端には、ＶＨ－ＶＬ、または、ＶＬ－ＶＨ構成のいずれかであり、かつ、同じ抗原、または、２つの異なる抗原のいずれかに特異的であり得るｓｃＦｖモジュールが付加している。当該ＶＨ／ＶＬドメイン間リンカーは、１２～１５アミノ酸の長さであり、かつ、グリシン／セリン残基からなり得る。当該ｓｃＦｖ結合サブユニットは、可溶性ＶＨドメイン、または、ペプチド認識要素、または、タンデムｓｃＦｖ要素とでも交換し得る。この手法は、可変ラムダ、及び／または、定常ラムダドメインを使用するように構成することもできる。この場合もやはり、このフォーマットでは、あらゆる付着／融合点のあらゆる抗体部分を、非抗体部分、例えば、抗体分子を含まないエフェクター結合／調節部分で置換することができる。

【００９８】

図１７は、別の実施形態を例示している。図１７は、そのＣ末端で、１２～１５アミノ酸のグリシン／セリンが豊富なリンカーを有する第１のＶＨドメインのＮ末端に結合した第１のＮ末端ＶＬドメイン、それに続く、当該第１のＶＨ　ｃ末端にて、第２のＶＬドメインのＮ末端に対する、２５～３０アミノ酸のグリシン／セリン／アラニン／トレオニンをベースとしたリンカー、からなるタンデムｓｃＦｖフォーマットを表している。当該第２のＶＬドメインは、そのＣ末端で、１２～１５アミノ酸のグリシン／セリンリンカーで、第２のＶＨドメインのＮ末端に結合する。各ｓｃＦｖは、共刺激Ｔ細胞分子、及び、組織連結標的などの異なる標的抗原を認識する。この場合もやはり、このフォーマットでは、抗体部分のいずれかを、非抗体部分、例えば、抗体分子を含まないエフェクター結合／調節部分で置換することができる。

【００９９】

図１８は、別の実施形態を例示している。図１８は、Ｆ（ａｂ’）２ｓｃＦｖ融合体である。このものは、ヒトＩｇＧ　ＣＨ１ドメインのＣ末端にある天然のヒトＩｇＧ１ヒンジ領域の２つのジスルフィド結合を介して結合した、２つの同一のＦａｂ成分からなる。当該ヒトＩｇＧ１　ＣＨ２及びＣＨ３ドメインは存在しない。重鎖１及び２のｃ末端には、グリシン／セリン／アラニン／トレオニンが豊富なリンカーを介して、ｈｕＩｇＧ１ヒンジ領域のｃ末端に結合した、２つの同一のｓｃＦｖ断片がある。そこに示した構成では、当該ＶＨは、各ｓｃＦｖユニットのＮ末端であり、そして、１２～１５アミノ酸のグリシン／セリンが豊富なリンカーを介して、ＶＬドメインのＮ末端に結合する。代替構成は、Ｎ末端－ＶＬ－リンカー－ＶＨ－Ｃ末端である。このデザインでは、当該構築物は、標的に到達するための二価性を有する二重特異性である。この場合もやはり、このフォーマットでは、４つの付着／融合点のいずれかでの抗体部分のいずれかを、非抗体部分、例えば、抗体分子を含まないエフェクター結合／調節部分で置換することができる。

【０１００】

本明細書で使用する用語、ＣＤ３９分子とは、治療化合物の一部として、ＡＴＰをＡＭＰにリン酸加水分解するに十分なＣＤ３９配列を有するポリペプチドのことを指す。一部の実施形態では、ＣＤ３９分子は、天然に存在するＣＤ３９、例えば、当該ＣＤ３９分子の由来となるＣＤ３９の割合と同等、または、少なくとも１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、または、９５％となるように、ＡＴＰをＡＭＰにリン酸化す

る。一部の実施形態では、ＣＤ３９分子は、天然に存在するＣＤ３９と、少なくとも６０、７０、８０、９０、９５、９９、または、１００％の配列同一性、または、実質的な配列同一性を有する。

【０１０１】

あらゆる機能性アイソフォームを、（ＣＤ３９、または、本明細書で説明したその他のタンパク質を用いて）使用することができる。例示的なＣＤ３９配列として、Ｇｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿００１７６７．３、または、以下の配列に由来する成熟型がある：
ＭＥＤＴＫＥＳＮＶＫＴＦＣＳＫＮＩＬＡＩＬＧＦＳＳＩＩＡＶＩＡＬＬＡＶＧＬＴＱＮ
ＫＡＬＰＥＮＶＫＹＧＩＶＬＤＡＧＳＳＨＴ
ＳＬＹＩＹＫＷＰＡＥＫＥＮＤＴＧＶＶＨＱＶＥＥＣＲＶＫＧＰＧＩＳＫＦＶＱＫＶＮＥ
ＩＧＩＹＬＴＤＣＭＥＲＡＲＥＶＩＰＲＳ
ＱＨＱＥＴＰＶＹＬＧＡＴＡＧＭＲＬＬＲＭＥＳＥＥＬＡＤＲＶＬＤＶＶＥＲＳＬＳＮＹ
ＰＦＤＦＱＧＡＲＩＩＴＧＱＥＥＧＡＹＧ
ＷＩＴＩＮＹＬＬＧＫＦＳＱＫＴＲＷＦＳＩＶＰＹＥＴＮＮＱＥＴＦＧＡＬＤＬＧＧＡＳ
ＴＱＶＴＦＶＰＱＮＱＴＩＥＳＰＤＮＡＬＱ
ＦＲＬＹＧＫＤＹＮＶＹＴＨＳＦＬＣＹＧＫＤＱＡＬＷＱＫＬＡＫＤＩＱＶＡＳＮＥＩＬ
ＲＤＰＣＦＨＰＧＹＫＫＶＶＮＶＳＤＬ
ＹＫＴＰＣＴＫＲＦＥＭＴＬＰＦＱＱＦＥＩＱＧＩＧＮＹＱＱＣＨＱＳＩＬＥＬＦＮＴＳ
ＹＣＰＹＳＱＣＡＦＮＧＩＦＬＰＰＬＱＧＤＦ
ＧＡＦＳＡＦＹＦＶＭＫＦＬＮＬＴＳＥＫＶＳＱＥＫＶＴＥＭＭＫＫＦＣＡＱＰＷＥＥＩ
ＫＴＳＹＡＧＶＫＥＫＹＬＳＥＹＣＦＳ
ＧＴＹＩＬＳＬＬＬＱＧＹＨＦＴＡＤＳＷＥＨＩＨＦＩＧＫＩＱＧＳＤＡＧＷＴＬＧＹＭ
ＬＮＬＴＮＭＩＰＡＥＱＰＬＳＴＰＬＳＨＳ
ＴＹＶＦＬＭＶＬＦＳＬＶＬＦＴＶＡＩＩＧＬＬＩＦＨＫＰＳＹＦＷＫＤＭＶ（配列番号１）。

【０１０２】

一部の実施形態では、ＣＤ３９分子は、ヒト、または、マウス血清内を循環することが認められたＣＤ３９の可溶性触媒活性型を含み、例えば、Ｍｅｔａｂｏｌｉｓｍ ｏｆ ｃｉｒｃｕｌａｔｉｎｇ ＡＤＰ ｉｎ ｔｈｅ ｂｌｏｏｄｓｔｒｅａｍ ｉｓ ｍｅｄｉａｔｅｄ ｖｉａ ｉｎｔｅｇｒａｔｅｄ ａｃｔｉｏｎｓ ｏｆ ｓｏｌｕｂｌｅ ａｄｅｎｙｌａｔｅ ｋｉｎａｓｅ－１ ａｎｄ ＮＴＰＤａｓｅ１／ＣＤ３９ ａｃｔｉｖｉｔｉｅｓ，Ｙｅｇｕｔｋｉｎ ｅｔ ａｌ．ＦＡＳＥＢ Ｊ．２０１２ Ｓｅｐ；２６（９）：３８７５－８３を参照されたい。可溶性組換えＣＤ３９断片は、Ｉｎｈｉｂｉｔｉｏｎ ｏｆ ｐｌａｔｅｌｅｔ ｆｕｎｃｔｉｏｎ ｂｙ ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ ｓｏｌｕｂｌｅ ｅｃｔｏ－ＡＤＰａｓｅ／ＣＤ３９，Ｇａｙｌｅ，ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｃｌｉｎ Ｉｎｖｅｓｔ．１９９８ Ｍａｙ １；１０１（９）：１８５１－１８５９にも記載されている。

【０１０３】

本明細書で使用する用語、ＣＤ７３分子とは、治療化合物の一部として、細胞外ＡＭＰをアデノシンへと脱リン酸化するのに十分なＣＤ７３配列を有するポリペプチドのことを指す。一部の実施形態では、ＣＤ７３分子は、天然に存在するＣＤ７３、例えば、当該ＣＤ７３分子の由来となるＣＤ７３の割合と同等、または、少なくともの割合の１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、または、９５％となるように、細胞外ＡＭＰをアデノシンに脱リン酸化する。一部の実施形態では、ＣＤ７３分子は、天然に存在するＣＤ７３と、少なくとも６０、７０、８０、９０、９５、９９、または、１００％の配列同一性、または、実質的な配列同一性を有する。例示的なＣＤ７３配列として、ＧｅｎＢａｎｋ ＡＡＨ６５９３７．１ ５’－ヌクレオチダーゼ、エクト（ＣＤ７３）［ホモサピエンス］、または、以下の配列に由来する成熟型がある：
ＭＣＰＲＡＡＲＡＰＡＴＬＬＬＡＬＧＡＶＬＷＰＡＡＧＡＷＥＬＴＩＬＨＴＮＤＶＨＳＲ
ＬＥＱＴＳＥＤＳＳＫＣＶＮＡＳＲＣＭ

GGVARLFTKVQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGTIWFTVYKG
AEVAHFMNALRYDAMAL
GNHEFDNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGPLASQIS
GLYLPYKVLPVGDEVVGIVGY
TSKETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVDKLKTLNVNKII
ALGHSGFEMDKLIAQKVRGV
DVVVGGHSNTFLYTGNPPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRKVP
VVQAYAFGKYLGYLKIEFD
ERGNVISSHGNPILLNSSIPEDPSIKADINKWRIKLDNYS
TQELGKTIVYLDGSSQSCRFRE
CNMGNLICDAMINNNLRHADETFWNHVSMCILNGGGIRSP
IDERNNGTITWENLAAVLP
FGGTFDLVQLKGSTLKKAFEHSVHRYGQSTGEFLQVGGIH
VVYDLSRKPGDRVVKLDV
LCTKCRVPSYDPLKMDEVYKVILPNFLANGGDGFQMIKDE
LLRHDSGDQDINVVSTYIS
KMKVIYPAVEGRIKFSTGSHCHGSFSLIFLSLWAVIFVLY
Q（配列番号２）。

【０１０４】

一部の実施形態では、ＣＤ７３分子は、剪断応力によるＧＰＩアンカーのタンパク質分解開裂、または、加水分解を受けて、内皮細胞の膜から脱落することができる可溶性形態のＣＤ７３を含み、例えば、参考文献：Ｙｅｇｕｔｋｉｎ Ｇ，Ｂｏｄｉｎ Ｐ，Ｂｕｒｎｓｔｏｃｋ Ｇ．Ｅｆｆｅｃｔ ｏｆ ｓｈｅａｒ ｓｔｒｅｓｓ ｏｎ ｔｈｅ ｒｅｌｅａｓｅ ｏｆ ｓｏｌｕｂｌｅ ｅｃｔｏ－ｅｎｚｙｍｅｓ ＡＴＰａｓｅ ａｎｄ ５’－ｎｕｃｌｅｏｔｉｄａｓｅ ａｌｏｎｇ ｗｉｔｈ ｅｎｄｏｇｅｎｏｕｓ ＡＴＰ ｆｒｏｍ ｖａｓｃｕｌａｒ ｅｎｄｏｔｈｅｌｉａｌ ｃｅｌｌｓ．Ｂｒ Ｊ Ｐｈａｒｍａｃｏｌ ２０００；１２９：９２１－６を参照されたい。ＣＤ７３機能については、Ｃｏｌｇａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｈｙｓｉｏｌｏｇｉｃａｌ ｒｏｌｅｓ ｆｏｒ ｅｃｔｏ－５’－ｎｕｃｌｅｏｔｉｄａｓｅ（ＣＤ７３），Ｐｕｒｉｎｅｒｇｉｃ Ｓｉｇｎａｌｌｉｎｇ，Ｊｕｎｅ ２００６，２：３５１を参照されたい。

【０１０５】

本明細書で使用する用語、細胞表面分子バインダーとは、例えば、細胞の細胞表面分子、例えば、免疫抑制性免疫細胞、例えば、Ｔｒｅｇに結合する分子、一般的には、ポリペプチドのことを指す。一部の実施形態では、当該細胞表面バインダーは、当該細胞表面分子の天然に存在するリガンド（細胞表面分子リガンド）に由来する配列を十分に有しており、当該細胞表面分子に対して、特異的に結合することができる。一部の実施形態では、当該細胞表面結合は、当該細胞表面分子に対して結合する、例えば、特異的に結合する抗体分子である。

【０１０６】

本明細書で使用する用語、ドナー特異的標的部分とは、治療化合物の成分として、レシピエントの組織とは対照的に、移植したドナー組織に優先的に治療化合物を局在化させる部分、例えば、抗体分子のことを指す。治療化合物の成分として、当該ドナー特異的標的部分は、ドナーからの移植組織、例えば、臓器に対する部位特異的免疫特権を付与する。

【０１０７】

一部の実施形態では、ドナー特異的標的部分は、遺伝子座に存在する対立遺伝子の産物、例えば、ポリペプチド産物に結合し、その対立遺伝子は、（レシピエント）対象での遺伝子座には存在しない。一部の実施形態では、ドナー特異的標的部分は、産物でのエピトープに結合し、このエピトープは、（レシピエント）対象には存在しない。

【０１０８】

一部の実施形態では、治療化合物の成分としてのドナー特異的標的部分は、ドナー標的または抗原に対して優先的に結合し、例えば、ドナー抗原または組織に対する親和結合性よりも大きな結合親和性をドナー標的に対して示し、例えば、対象の抗原または組織に対する親和性よりも、少なくとも２倍、４倍、５倍、１０倍、５０倍、１００倍、５００倍、１，０００倍、５，０００倍、または、１０，０００倍も大きな親和性を有する。一部の実施形態では、ドナー特異的標的部分は、ドナー組織に存在する（しかしながら、当該対象には存在しない）対立遺伝子の産物に対する結合親和性を有しており、当該対象に存在する遺伝子座の対立遺伝子（ドナー組織には存在しない対立遺伝子）の産物に対する親和性よりも、少なくとも２倍、４倍、５倍、１０倍、５０倍、１００倍、５００倍、１，０００倍、５，０００倍、または、１０，０００倍も大きな親和性を有する。ドナー特異的部分が成分である治療化合物の親和性は、細胞懸濁液で測定することができ、例えば、当該対立遺伝子を有する浮遊細胞に対する親和性を、当該対立遺伝子を持たない浮遊細胞に対する親和性と比較する。一部の実施形態では、当該ドナー対立遺伝子細胞に対する結合親和性は、１０ｎＭ未満である。一部の実施形態では、当該ドナー対立遺伝子細胞に対する結合親和性は、１００ｐＭ、５０ｐＭ、または、１０ｐＭ未満である。

【０１０９】

一部の実施形態では、ドナー対立遺伝子の産物に対する特異性は、ドナー特異的標的部分が、免疫ダウンレギュレーションエフェクターと連動する場合に十分であり：ｉ）当該移植組織の免疫攻撃、例えば、臨床環境での組織学的炎症反応、Ｔエフェクター細胞への浸潤、または、臓器機能によって測定を行ったもの、例えば、腎臓のクレアチニンは、例えば、その他の点では同様の移植物で認められるものと比較して、実質的に減少するが、当該ドナー特異的標的部分の欠如は、免疫ダウンレギュレーティングエフェクターと連動する；及び／または、ｉｉ）移植組織の外側または移植組織から離れたレシピエントの免疫機能を実質的に維持する。一部の実施形態では、以下の内の１つ以上が認められる：治療化合物の治療レベルでは、末梢血リンパ球数は実質的に影響を受けない、例えば、Ｔ細胞のレベルは、正常値の２５、５０、７５、８５、９０、または、９５％以内であり、Ｂ細胞のレベルは、正常値の２５、５０、７５、８５、９０、または、９５％以内であり、及び／または、顆粒球（ＰＭＮ）細胞のレベルは、正常値の２５、５０、７５、８５、９０、または、９５％以内であり、または、単球のレベルは、正常値の２５、５０、７５、８５、９０、または、９５％以内であり；治療化合物の治療レベルでは、非疾患関連抗原に対するＰＢＭＣ（末梢血単核細胞）のエクスビボ増殖機能は、実質的に正常であるか、または、正常値の７０、８０、または、９０％以内であり；治療化合物の治療レベルでは、日和見感染、及び、免疫抑制に関連するがんの発生率、または、リスクのリスクは、正常値よりも実質的に増加しない；または、治療化合物の治療レベルでは、日和見感染、及び、免疫抑制に関連するがんの発生率、または、リスクのリスクは、標準治療、または、非標的免疫抑制で認められるよりも実質的に小さい。一部の実施形態では、当該ドナー特異的標的部分は、抗体分子、標的特異的結合ポリペプチド、または、標的リガンド結合分子を含む。

【０１１０】

本明細書で使用する用語、エフェクターとは、免疫応答を媒介する実体、例えば、細胞または分子、例えば、可溶性または細胞表面分子のことを指す。

【０１１１】

本明細書で使用するエフェクターリガンド結合分子とは、エフェクターの天然に存在するカウンターリガンドに由来する配列を十分に有するポリペプチドのことを指し、エフェクター結合／調節分子として役立てるに十分な特異性で、エフェクターに結合することができる。一部の実施形態では、それは、天然に存在するカウンターリガンドの親和性の少なくとも１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、または、９５％で、エフェクターに結合する。一部の実施形態では、それは、当該エフェクターに対して天然に存在するカウンターリガンドと、少なくとも６０、７０、８０、９０、９５、９９、または、１００％の配列同一性、または、実質的な配列同一性を有する。

【０１１２】
本明細書で使用するエフェクター特異的結合ポリペプチドとは、エフェクター結合／調節部分として役立てるに十分な特異性で結合できるポリペプチドのことを指す。一部の実施形態では、特異的結合ポリペプチドは、エフェクターリガンド結合分子を含む。
【０１１３】
本明細書で使用するリスクの上昇とは、対象における障害のリスクのことを指し、当該対象は、当該障害または当該障害の症状の病歴、当該障害または当該障害の症状に関連するバイオマーカー、または、当該障害または当該障害の症状の家族歴の１つ以上を有する。
【０１１４】
本明細書で使用する用語、エフェクターまたは抑制性免疫チェックポイント分子に対する機能性抗体分子とは、多量体化治療化合物のＩＣＩＭ結合／調節部分として存在する場合に、エフェクターまたは抑制性免疫チェックポイントに結合し、そして、刺激することができる抗体分子のことを指す。一部の実施形態では、抗エフェクターまたは抑制性免疫チェックポイント分子抗体分子は、単量体として、エフェクターまたは抑制性免疫チェックポイント分子に結合する（または、治療化合物が多量体化されていない場合に結合する）場合、抑制性免疫チェックポイント分子に対する、抑制性免疫チェックポイント分子抗体分子の内因性カウンターリガンドの結合を、拮抗せず、実質的に拮抗せず、妨げず、または、実質的に妨げない。一部の実施形態では、当該抗エフェクターまたは抑制性免疫チェックポイント分子抗体分子は、単量体として当該抑制性免疫チェックポイント分子に対して結合する（または、当該治療化合物を多量体化しない場合に結合する）場合、当該エフェクターまたは抑制性分子を、刺激させない、または、実質的に刺激させない。
【０１１５】
本明細書で使用する用語、ＩＣＩＭ結合／調節部分とは、治療化合物の一部として、細胞表面抑制性分子、例えば、抑制性免疫チェックポイント分子、例えば、ＰＤ－１に結合し、及び、作用し、または、細胞シグナル伝達に結合し、または、同シグナル伝達を調節する、例えば、ＦＣＲＬ、例えば、ＦＣＲＬ１－６に結合し、または、免疫機能を促す分子に結合し、及び、拮抗する、エフェクター結合／調節部分のことを指す。
【０１１６】
本明細書で使用する用語、ＩＩＣ結合／調節部分とは、治療化合物の一部として、免疫抑制性免疫細胞に結合する、エフェクター結合／調節部分のことを指す。一部の実施形態では、当該ＩＩＣ結合／調節部分は、結合部位での免疫抑制性免疫細胞の個数または濃度を増加させる。
【０１１７】
本明細書で使用する用語、ＩＣＳＭ結合／調節部分とは、刺激性、例えば、共刺激性結合ペアの免疫刺激効果に拮抗する、エフェクター結合／調節部分のことを指す。本明細書で使用する用語、刺激性または共刺激性結合ペアとは、２つのメンバー、１）免疫細胞の表面にある分子、及び、２）さらなる免疫細胞、または、非免疫細胞であり得る、その細胞分子の結合パートナー、を含む。通常、一方のメンバーが、他方のメンバーに結合すると、その他の要件が満たされると仮定すると、当該免疫細胞表面のメンバーは、免疫細胞、例えば、共刺激性分子を刺激し、そして、免疫応答を促す。共刺激性分子と共刺激性分子カウンター構造との双方が、免疫細胞で発現している状況では、双方の細胞の双方向での活性化が起こり得る。ある実施形態では、ＩＣＳＭ結合／調節部分は、結合ペアの免疫細胞発現メンバーに結合し、そして、拮抗する。例えば、それは、ＯＸ４０に結合し、そして、拮抗する。別の実施形態では、ＩＣＳＭ結合／調節部分は、それ自体が、免疫細胞発現メンバーに結合する、例えば、ＯＸ４０Ｌに結合し、そして、拮抗する結合ペアのメンバーに結合し、そして、拮抗する。どちらの事例でも、免疫細胞の刺激、または、共刺激を阻害する。ある実施形態では、当該ＩＣＳＭ結合／調節部分は、結合部位での免疫刺激性免疫細胞の個数または活性を減少させる。
【０１１８】

本明細書で使用する用語、ＩＬ－２ムテイン分子とは、ＣＤ２５（ＩＬ－２Ｒアルファ鎖）に対して高親和性で結合し、かつ、その他のＩＬ－２Ｒシグナル伝達成分ＣＤ１２２（ＩＬ－２Ｒベータ）、及び、ＣＤ１３２（ＩＬ－２Ｒガンマ）に対して低親和性で結合するＩＬ２変異体のことを指す。そのようなＩＬ－２ムテイン分子は、Ｔｒｅｇ細胞を優先的に活性化する。実施形態では、ＩＬ－２ムテインは、単独で、または、治療化合物の成分として、細胞傷害性、または、エフェクターＴ細胞よりも、少なくとも２、５、１０、または、１００倍以上にまで、Ｔｒｅｇを活性化する。例示的なＩＬ－２ムテイン分子は、ＷＯ２０１００８５４９５、ＷＯ２０１６／１６４９３７、ＵＳ２０１４／０２８６８９８Ａ１、ＷＯ２０１４１５３１１１Ａ２、ＷＯ２０１０／０８５４９５、細胞傷害性ＷＯ２０１６０１４４２８Ａ２、ＷＯ２０１６０２５３８５Ａ１、及び、ＵＳ２００６０２６９５１５に記載されている。さらなるドメイン、例えば、Ｆｃドメイン、または、半減期の延長のためのその他のドメインを含む、これらの参考文献が開示したムテインは、そのようなさらなるドメインを用いずとも、本明細書に記載の治療化合物、及び、方法で使用することができる。別の実施形態では、ＩＩＣ結合／調節部分は、別のポリペプチド、例えば、インビボでの半減期を延長するポリペプチド、例えば、免疫グロブリン定常領域、または、その多量体または二量体、例えば、ＡＭＧ５９２に結合した、例えば、融合したＩＬ－２ムテイン、または、その活性断片を含む。一実施形態では、当該治療化合物は、ＡＭＧ５９２のＩＬ－２部分を含む。一実施形態では、当該治療化合物は、ＩＬ－２部分を含むが、ＡＭＧ５９２の免疫グロブリン部分は含まない。一部の実施形態では、当該ムテインは、Ｆｃ領域を含まない。一部のＩＬ－２ムテインについては、Ｆｃ領域が、ムテインの半減期を延長することが示されているので、当該ムテインは、当該Ｆｃ領域を含むように遺伝子操作する。一部の実施形態では、当該延長した半減期は、本明細書に記載し、かつ、実施形態で示した方法には不必要である。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインと融合したＦｃ領域は、Ｎ２９７突然変異を含み、同突然変異として、Ｎ２９７Ａなどがあるが、これに限定されない。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインと融合したＦｃ領域は、Ｎ２９７突然変異を含んでおらず、同突然変異として、Ｎ２９７Ａなどがあるが、これに限定されない。

【０１１９】

本明細書で使用する用語「抑制性免疫チェックポイント分子リガンド分子」とは、例えば、ＰＤ－Ｌ１分子の事例では、十分な抑制性免疫チェックポイント分子リガンド配列を有するポリペプチドのことを指し、十分なＰＤ－Ｌ１配列は、多量体化した治療化合物のＩＣＩＭ結合／調節部分として存在する場合、例えば、この場合もやはり、ＰＤ－Ｌ１分子、ＰＤ－１の事例では、その同族の抑制性免疫チェックポイント分子に結合し、そして、作用することができる。

【０１２０】

一部の実施形態では、当該抑制性免疫チェックポイント分子リガンド分子、例えば、ＰＤ－Ｌ１分子は、単量体として、その同族リガンド、例えば、ＰＤ－１に結合する（または、当該治療化合物が多量体化していないときに結合する）場合は、抑制性免疫チェックポイント分子に対する内因性抑制性免疫チェックポイント分子リガンドを、拮抗または実質的に拮抗せず、または、その結合を妨げず、または、実質的に妨げない。例えば、ＰＤ－Ｌ１分子の事例では、当該ＰＤ－Ｌ１分子は、ＰＤ－１に対する内因性ＰＤ－Ｌ１の結合に拮抗しない。

【０１２１】

一部の実施形態では、当該抑制性免疫チェックポイント分子リガンドを、単量体として、その同族性抑制性免疫チェックポイント分子に結合させても、当該抑制性免疫チェックポイント分子は、刺激させず、または、実質的に刺激させない。例として、例えば、ＰＤ－１に結合するＰＤ－Ｌ１分子では、ＰＤ－１を刺激させず、または、実質的に刺激させない。

【０１２２】

一部の実施形態では、当該抑制性免疫チェックポイント分子リガンド分子は、天然に存

在する抑制性免疫チェックポイント分子リガンドと、少なくとも６０、７０、８０、９０、９５、９９、または、１００％の配列同一性、または、実質的な配列同一性を有する。

【０１２３】

例示的な抑制性免疫チェックポイント分子リガンド分子として：抑制性免疫チェックポイント分子ＰＤ－１に結合するＰＤ－Ｌ１分子があり、そして、実施形態では、天然のＰＤ－Ｌ１、例えば、

ＭＲＩＦＡＶＦＩＦＭＴＹＷＨＬＬＮＡＦＴＶＴＶＰＫＤＬＹＶＶＥＹＧＳＮＭＴＩＥＣＫＦＰＶＥＫＱＬＤＬＡＡＬＩＶＹＷＥ
ＭＥＤＫＮＩＩＱＦＶＨＧＥＥＤＬＫＶＱＨＳＳＹＲＱＲＡＲＬＬＫＤＱＬＳＬＧＮＡＡＬＱＩＴＤＶＫＬＱＤＡＧＶＹＲＣＭＩ
ＳＹＧＧＡＤＹＫＲＩＴＶＫＶＮＡＰＹＮＫＩＮＱＲＩＬＶＶＤＰＶＴＳＥＨＥＬＴＣＱＡＥＧＹＰＫＡＥＶＩＷＴＳＳＤＨＱＶＬ
ＳＧＫＴＴＴＴＮＳＫＲＥＥＫＬＦＮＶＴＳＴＬＲＩＮＴＴＴＮＥＩＦＹＣＴＦＲＲＬＤＰＥＥＮＨＴＡＥＬＶＩＰＥＬＰＬＡＨＰＰＮＥ
ＲＴＨＬＶＩＬＧＡＩＬＬＣＬＧＶＡＬＴＦＩＦＲＬＲＫＧＲＭＭＤＶＫＫＣＧＩＱＤＴＮＳＫＫＱＳＤＴＨＬＥＥＴ（配列番号３）の配列を含む当該ＰＤ－Ｌ１分子、または、その活性断片と、少なくとも６０、７０、８０、９０、９５、９９、または、１００％の配列同一性、または、実質的な配列同一性を有しており；一部の実施形態では、当該活性断片は、当該ＰＤ－Ｌ１配列の残基１９～２９０を含み；；抑制性免疫チェックポイント分子ＫＩＲ２ＤＬ４、ＬＩＬＲＢ１、及び、ＬＩＬＲＢ２のいずれかに結合し、及び、実施形態では、自然発生のＨＬＡ－Ｇと、少なくとも６０、７０、８０、９０、９５、９９、または、１００％の配列同一性、または、実質的な配列同一性を有するＨＬＡ－Ｇ分子、がある。例示的なＨＬＡ－Ｇ配列として、例えば、ＧｅｎＢａｎｋ　Ｐ１７６９３．１　ＲｅｃＮａｍｅ：　Ｆｕｌｌ＝ＨＬＡ　ｃｌａｓｓ　Ｉ　ｈｉｓｔｏｃｏｍｐａｔｉｂｉｌｉｔｙ　ａｎｔｉｇｅｎ，　ａｌｐｈａ　ｃｈａｉｎ　Ｇ；　ＡｌｔＮａｍｅ：　Ｆｕｌｌ＝ＨＬＡ　Ｇ　ａｎｔｉｇｅｎ；　ＡｌｔＮａｍｅ：　Ｆｕｌｌ＝ＭＨＣ　ｃｌａｓｓ　Ｉ　ａｎｔｉｇｅｎ　Ｇ；　Ｆｌａｇｓ：　Ｐｒｅｃｕｒｓｏｒ，での配列、または、

ＭＶＶＭＡＰＲＴＬＦＬＬＬＳＧＡＬＴＬＴＥＴＷＡＧＳＨＳＭＲＹＦＳＡＡＶＳＲＰＧＲＧＥＰＲＦＩＡＭＧＹＶＤＤＴＱＦＶ
ＲＦＤＳＤＳＡＣＰＲＭＥＰＲＡＰＷＶＥＱＥＧＰＥＹＷＥＥＥＴＲＮＴＫＡＨＡＱＴＤＲＭＮＬＱＴＬＲＧＹＹＮＱＳＥＡＳ
ＳＨＴＬＱＷＭＩＧＣＤＬＧＳＤＧＲＬＬＲＧＹＥＱＹＡＹＤＧＫＤＹＬＡＬＮＥＤＬＲＳＷＴＡＡＤＴＡＡＱＩＳＫＲＫＣＥ
ＡＡＮＶＡＥＱＲＲＡＹＬＥＧＴＣＶＥＷＬＨＲＹＬＥＮＧＫＥＭＬＱＲＡＤＰＰＫＴＨＶＴＨＨＰＶＦＤＹＥＡＴＬＲＣＷ
ＡＬＧＦＹＰＡＥＩＩＬＴＷＱＲＤＧＥＤＱＴＱＤＶＥＬＶＥＴＲＰＡＧＤＧＴＦＱＫＷＡＡＶＶＶＰＳＧＥＥＱＲＹＴＣＨＶＱ
ＨＥＧＬＰＥＰＬＭＬＲＷＫＱＳＳＬＰＴＩＰＩＭＧＩＶＡ（配列番号４）

の配列で認められる成熟形態がある。

【０１２４】

本明細書で使用する用語、抑制性分子カウンターリガンド分子とは、多量体治療化合物のＩＣＩＭ結合／調節部分として存在する場合、同族抑制性分子に結合し、そして、刺激させるに十分な抑制性分子カウンターリガンド配列を有するポリペプチドのことを指す。一部の実施形態では、当該抑制性分子カウンターリガンド分子は、当該抑制性分子に対して、単量体として（または、当該治療化合物を多量体としない場合に）結合すると、当該抑制性分子に対する当該抑制性分子の内因性カウンターリガンドを、拮抗せず、実質的に拮抗せず、結合を妨げず、または、実質的な結合を妨げない。一部の実施形態では、当該抑制性分子カウンターリガンド分子は、当該抑制性分子に対して、単量体として（または、当該治療化合物を多量体としない場合に）結合すると、当該抑制性分子を、作動させな

い、または、実質的に作動させない。

【０１２５】

本明細書で使用する用語、配列同一性、パーセント同一性、及び、関連する用語は、２つの配列、例えば、２つの核酸配列、または、２つのアミノ酸、または、ポリペプチド配列の関連性のことを指す。アミノ酸配列との関連で「実質的に同一」という用語は、本明細書では、ｉ）同一である、または、ｉｉ）第１及び第２のアミノ酸配列が、共通の構造ドメイン、及び／または、共通の機能性活性を付与させることが可能である第２のアミノ酸配列の整列したアミノ酸残基の保存的置換である、十分な、または、最小数のアミノ酸残基を含む第１のアミノ酸を指すために使用する。例えば、参照配列、例えば、本明細書で提供する配列と、少なくとも約８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または、９９％の同一性を示す共通の構造ドメインを含むアミノ酸配列。

【０１２６】

ヌクレオチド配列との関連において本明細書で使用する用語「実質的に同一」とは、第１及び第２のヌクレオチド配列が、共通の機能性活性を有するポリペプチドをコードし、第１及び第２の核酸配列において整列したヌクレオチドと同一である、十分な、または、最小数のヌクレオチドを含み、または、共通の構造ポリペプチドドメイン、または、共通の機能性ポリペプチド活性をコードする、当該第１の核酸配列のことを指す。例えば、参照配列、例えば、本明細書で提供する配列と、少なくとも約８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または、９９％の同一性を示すヌクレオチド配列。

【０１２７】

用語「機能性変異体」とは、天然に存在する配列と実質的に同一のアミノ酸配列を有し、または、実質的に同一のヌクレオチド配列でコードされており、かつ、天然に存在する配列の１つ以上の活性を有することができる、ポリペプチドのことを指す。

【０１２８】

配列間の相同性または配列同一性（これらの用語は、本明細書では互換的に使用する）の計算は、次のように行う。

【０１２９】

２つのアミノ酸配列、または、２つの核酸配列のパーセント同一性を決定するために、これらの配列を、最適な比較目的のために整列する（例えば、最適なアライメントのために、ギャップを、第１及び第２のアミノ酸、または、核酸配列の一方または双方に導入することができ、また、比較のために、非相同配列を無視することができる）。好ましい実施形態では、比較のために整列した参照配列の長さは、参照配列の長さの少なくとも３０％、好ましくは少なくとも４０％、より好ましくは、少なくとも５０％、６０％、そして、さらにより好ましくは、少なくとも７０％、８０％、９０％、１００％である。次に、対応するアミノ酸位置、または、ヌクレオチド位置で、アミノ酸残基、または、ヌクレオチドを比較する。第１の配列の位置に、第２の配列での対応する位置にある同じアミノ酸残基またはヌクレオチドが置かれている場合、それらの分子は、その位置で同一である（本明細書で使用するアミノ酸または核酸の「同一性」とは、アミノ酸または核酸の「相同性」と同義である）。

【０１３０】

２つの配列間の同一性パーセントとは、２つの配列の最適なアライメントのために導入する必要があるギャップの個数と、それぞれのギャップの長さとを考慮した、配列が共有する同じ位置の個数の関数のことである。

【０１３１】

数学的アルゴリズムを使用して、２つの配列間の配列の比較と、同一性パーセントの決定を行うことができる。好ましい実施形態では、２つのアミノ酸配列間の同一性パーセントは、ＧＣＧソフトウェアパッケージ（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｃｇ．ｃｏｍで入手可能）のＧＡＰプログラムに組み込まれている、Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ ａｎｄ Ｗｕｎｓｃ

ｈ（（１９７０）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏ．４８：４４４－４５３）を使用して決定しており、同プログラムは、Ｂｌｏｓｓｕｍ６２マトリックス、または、ＰＡＭ２５０マトリックスのいずれかを使用しており、そして、ギャップウェイトは、１６、１４、１２、１０、８、６、または、４であり、かつ、レングスウェイトは、１、２、３、４、５、または、６である。なおも別の好ましい実施形態では、２つのヌクレオチド配列間の同一性パーセントは、ＧＣＧソフトウェアパッケージ（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｃｇ．ｃｏｍで入手可能）のＧＡＰプログラムを使用して決定しており、同プログラムは、ＮＷＳｇａｐｄｎａ．ＣＭＰマトリックスを使用しており、そして、ギャップウェイトは、４０、５０、６０、７０、または、８０であり、かつ、レングスウェイトは、１、２、３、４、５、または、６である。特に好ましいパラメーターのセット（及び、特に指定のない限り使用するパラメーター）は、ギャップペナルティーが１２であり、ギャップ拡張ペナルティーが４であり、そして、フレームシフトギャップペナルティーが５である、Ｂｌｏｓｓｕｍ６２スコアリングマトリックスである。

【０１３２】

２つのアミノ酸間、または、ヌクレオチド配列間のパーセント同一性は、ＡＬＩＧＮプログラム（バージョン２．０）に組み込まれたＥ．Ｍｅｙｅｒｓ ａｎｄ Ｗ．Ｍｉｌｌｅｒ（（１９８９）ＣＡＢＩＯＳ，４：１１－１７）のアルゴリズムを使用して決定することができ、同プログラムは、ＰＡＭ１２０重量残余表を使用しており、ギャップレングスペナルティーは１２であり、そして、ギャップペナルティーは４である。

【０１３３】

本明細書に記載した核酸及びタンパク質配列を、公開データベースに対して検索を実行して、例えば、その他のファミリーメンバー、または、関連する配列を同定するための「クエリ配列」として使用することができる。このような検索は、Ａｌｔｓｃｈｕｌ，ｅｔ ａｌ．，（１９９０）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３－１０のＮＢＬＡＳＴ ａｎｄ ＸＢＬＡＳＴプログラム（バージョン２．０）を使用して実行できる。ＢＬＡＳＴヌクレオチド検索を、ＮＢＬＡＳＴプログラム、スコア＝１００、ワード長＝１２で実行して、例えば、本明細書で提供するあらゆる核酸配列に相同なヌクレオチド配列を得ることができる。ＢＬＡＳＴタンパク質検索を、ＸＢＬＡＳＴプログラム、スコア＝５０、ワード長＝３で実施して、本明細書で提供するタンパク質分子と相同のアミノ酸配列を得ることができる。比較のためのギャップを有するアラインメントを取得するために、Ａｌｔｓｃｈｕｌ，ｅｔ ａｌ．，（１９９７）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２５：３３８９－３４０２に記載されたようにして、Ｇａｐｐｅｄ ＢＬＡＳＴを利用することができる。ＢＬＡＳＴ及びＧａｐｐｅｄ ＢＬＡＳＴプログラムを利用する場合、それぞれのプログラムのデフォルトパラメータ（例えば、ＸＢＬＡＳＴ及びＮＢＬＡＳＴ）を使用することができる。ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖを参照されたい。本明細書で使用する用語「低度ストリンジェンシー、中度ストリンジェンシー、高度ストリンジェンシー、または、非常に高度なストリンジェンシー条件下でハイブリダイズする」とは、ハイブリダイゼーションと洗浄のための条件を説明している。ハイブリダイゼーション反応を実施するためのガイダンスは、本明細書の一部を構成するものとして援用する、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｎ．Ｙ．（１９８９），６．３．１－６．３．６に認めることができる。その参考文献では、水性及び非水性の方法が記載されており、そのどちらでも使用することができる。本明細書に記載の特定のハイブリダイゼーション条件は、以下の通りである：１）約４５℃における、６×塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム（ＳＳＣ）での低度ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件であって、少なくとも５０℃における、０．２×ＳＳＣ、０．１％ＳＤＳを用いた２回の洗浄（低ストリンジェンシー条件の場合、洗浄液の温度を５５℃にまで上げることができる）が続く；２）約４５℃における、６×ＳＳＣでの中度ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件であって、６０℃における、０．２×ＳＳＣ、０．１％ＳＤＳを用いた１回以上の洗浄が続く；３）約４５℃における、６×ＳＳＣでの高度ストリンジ

ェンシーハイブリダイゼーション条件であって、６５℃における、０．２×ＳＳＣ、０．１％ＳＤＳを用いた１回以上の洗浄が続く；及び、好ましくは、４）非常に高度のストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件は、６５℃における、０．５Ｍリン酸ナトリウム、７％ＳＤＳであり、６５℃における、０．２×ＳＳＣ、１％ＳＤＳを用いたで１回以上の洗浄が続く。非常に高度なストリンジェンシー条件（４）が好ましい条件であり、特に断りのない限りは、使用すべきものである。

【０１３４】

本実施形態の分子及び化合物は、それらの機能に実質的な影響を及ぼすことがない、さらなる保存的、または、非必須アミノ酸置換を有し得る、ことを理解されたい。

【０１３５】

用語「アミノ酸」とは、アミノ官能性と酸官能性の双方を含み、かつ、天然アミノ酸のポリマーに含有できる、天然または合成のすべての分子を含む、ことを意図している。例示的なアミノ酸として、天然アミノ酸；その類似体、誘導体、及び、同族体；変異側鎖を有するアミノ酸類似体；及び、前述したいずれかのすべての立体異性体がある。本明細書で使用する用語「アミノ酸」とは、Ｄ－またはＬ－光学異性体、及び、ペプチド模倣体の双方を含む。「保存的アミノ酸置換」とは、アミノ酸残基が、類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置換する置換のことである。同様の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当該技術分野で定義している。これらのファミリーには、塩基性側鎖（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、ベータ分岐側鎖（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）、及び、芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）を有するアミノ酸がある。ＣＤ３９分子、ＣＤ７３分子、細胞表面分子バインダー、ドナー特異的標的部分エフェクターリガンド結合分子、ＩＣＩＭ結合／調節部分ＩＩＣ結合／調節部分、抑制性免疫チェックポイント分子リガンド分子、抑制性分子カウンターリガンド分子、ＳＭ結合／調節部分、または、ＩＣＳＭ結合／調節部分。

【０１３６】

本明細書で使用する用語、ＳＭ結合／調節部分とは、治療化合物の一部として、当該標的の免疫系による攻撃を抑制または最小化する物質、例えば、標的の近傍に提供することで、免疫抑制性局所微小環境を促すエフェクター結合／調節部分のことを指す。一部の実施形態では、当該ＳＭ結合／調節部分は、当該標的の免疫系による攻撃を阻害または最小化する分子を含み、または、そこに結合する。一部の実施形態では、治療化合物は、免疫抑制機能を有する可溶性物質、例えば、内因性または外因性物質を、結合及び蓄積するＳＭ結合／調節部分を含む。一部の実施形態では、治療化合物は、免疫攻撃を促す物質、例えば、可溶性物質、一般的には内因性の可溶性物質を、結合、及び、阻害、隔離、分解、または、さもなければ中和するＳＭ結合／調節部分を含む。一部の実施形態では、治療化合物は、免疫抑制物質、例えば、免疫抑制性であることが公知のタンパク質の断片を含むＳＭ結合／調節部分を含む。例として、成分を枯渇させ、免疫エフェクター細胞機能、例えば、ＡＴＰまたはＡＭＰを促す物質、例えば、ＣＤ３９分子、または、ＣＤ７３分子を、結合し、または、含む、エフェクター分子結合部分。

【０１３７】

本明細書で使用する用語、特異的な標的部分とは、ドナー特異的標的部分、または、組織特異的標的部分のことを指す。

【０１３８】

本明細書で使用する用語、対象とは、哺乳動物の対象、例えば、ヒト対象のことを指す。一部の実施形態では、当該対象は、非ヒト哺乳動物、例えば、ウマ、イヌ、ネコ、ウシ、ヤギ、または、ブタである。

【０１３９】

本明細書で使用する標的リガンド結合分子とは、特異的な標的部分として機能するのに十分な特異性を有する標的組織の標的リガンド（例えば、ドナー組織または対象標的組織）と結合できる、標的リガンドの天然に存在するカウンターリガンドに由来する十分な配列を有するポリペプチドのことを指す。一部の実施形態では、それは、天然に存在するカウンターリガンドの親和性の少なくとも１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、または、９５％で、標的組織または細胞に結合する。一部の実施形態では、それは、当該標的リガンドの天然に存在するカウンターリガンドと、少なくとも６０、７０、８０、９０、９５、９９、または、１００％の配列同一性、または、実質的な配列同一性を有する。

【０１４０】

本明細書で使用する用語、標的部位とは、標的部分で結合した実体、例えば、エピトープを含む部位のことを指す。一部の実施形態では、当該標的部位とは、免疫特権を確立する部位のことである。

【０１４１】

本明細書で使用する用語、組織特異的標的部分とは、治療分子の成分として、当該治療分子を、対象のその他の組織とは対照的に、標的組織に優先的に局在化させる部分、例えば、抗体分子のことを指す。治療化合物の成分として、当該組織特異的標的部分は、標的組織、例えば、自己免疫攻撃を受けている、または、自己免疫攻撃のリスクがある臓器または部位に対して、部位特異的免疫特権を付与する。一部の実施形態では、組織特異的標的部分は、当該標的組織の外部に存在しておらず、または、治療分子の治療濃度では、許容できないレベルの免疫抑制が欠如しており、または、実質的に欠如するのに十分に低いレベルで存在する産物、例えば、ポリペプチド産物に結合する。一部の実施形態では、組織特異的標的部分は、エピトープに結合し、このエピトープは、当該標的部位の外側に存在せず、または、標的部位の外側に実質的に存在していない。

【０１４２】

一部の実施形態では、組織特異的標的部分は、治療化合物の成分として、標的組織、または、標的組織抗原に対して優先的に結合し、例えば、当該標的組織または抗原に対して、標的抗原または組織に対する結合親和性よりも大きい結合親和性、例えば、非標的組織または標的組織の外部に存在する抗原に対する親和性よりも、少なくとも２倍、４倍、５倍、１０倍、５０倍、１００倍、５００倍、１，０００倍、５，０００倍、または、１０，０００倍も大きい結合親和性を有している。当該組織特異的部分を成分とする治療化合物の親和性は、細胞懸濁液で測定することができ、例えば、当該標的抗原を有する懸濁細胞に対する親和性を、当該標的抗原を持たない懸濁細胞に対する親和性と比較する。一部の実施形態では、当該標的抗原担持細胞に対する当該結合親和性は、１０ｎＭ未満である。

【０１４３】

一部の実施形態では、当該標的抗原担持細胞に対する結合親和性は、１００ｐＭ、５０ｐＭ、または、１０ｐＭ未満である。一部の実施形態では、標的抗原に対する特異性は十分であり、当該組織特異的標的部分を、免疫ダウンレギュレーティングエフェクターに結合すると：ｉ）当該標的組織の免疫攻撃、例えば、臨床環境での組織学的炎症反応、Ｔエフェクター細胞への浸潤、または、臓器機能によって測定を行ったもの、例えば、腎臓のクレアチニンは、例えば、その他の点では同様の移植物で認められるものと比較して、実質的に減少するが、当該組織特異的標的部分の欠如は、免疫ダウンレギュレーティングエフェクターと連動する；及び／または、ｉｉ）当該標的組織の外側または標的組織から離れたレシピエントの免疫機能を実質的に維持する。

【０１４４】

一部の実施形態では、以下の内の１つ以上が認められる：治療化合物の治療レベルでは、末梢血リンパ球数は実質的に影響を受けない、例えば、Ｔ細胞のレベルは、正常値の２５、５０、７５、８５、９０、または、９５％以内であり、Ｂ細胞のレベルは、正常値の２５、５０、７５、８５、９０、または、９５％以内であり、及び／または、顆粒球（Ｐ

ＭＮ）細胞のレベルは、正常値の２５、５０、７５、８５、９０、または、９５％以内であり、または、単球のレベルは、正常値の２５、５０、７５、８５、９０、または、９５％以内であり；治療化合物の治療レベルでは、非疾患関連抗原に対するＰＢＭＣ（末梢血単核細胞）のエクスビボ増殖機能は、実質的に正常であるか、または、正常値の７０、８０、または、９０％以内であり；治療化合物の治療レベルでは、日和見感染、及び、免疫抑制に関連するがんの発生率またはリスクのリスクは、正常値よりも実質的に増加しない；または、治療化合物の治療レベルでは、日和見感染、及び、免疫抑制に関連するがんの発生率またはリスクのリスクは、標準治療、または、非標的免疫抑制で認められるよりも実質的に小さい。一部の実施形態では、当該組織特異的標的部分は、抗体分子を含む。一部の実施形態では、当該ドナー特異的標的部分は、抗体分子、標的特異的結合ポリペプチド、または、標的リガンド結合分子を含む。一部の実施形態では、当該組織特異的標的部分は、標的組織に、排他的に、または、実質的に排他的に存在する、または、発現する産物、または、産物上の部位に結合する。

【０１４５】

ＩＣＩＭ結合／調節部分：抑制性受容体に結合するエフェクター結合／調節部分

本明細書に記載した方法及び化合物は、免疫細胞の表面の抑制性受容体に直接に結合し、そして、活性化して、免疫細胞が免疫攻撃を媒介する能力を、例えば、抑制し、または、解消し、または、実質的に解消する、ＩＣＩＭ結合／調節部分を含むエフェクター結合／調節部分を有する治療化合物を提供する。ＩＣＩＭ結合／調節部分の標的実体に対する結合は、免疫細胞応答の部位特異的、または、局所的ダウンレギュレーションを促し、例えば、当該標的部分に対する結合部位を有する当該位置を実質的に制限する。したがって、正常な全身性免疫機能を、実質的に保持する。一部の実施形態では、ＩＣＩＭ結合／調節部分は、抑制性免疫チェックポイント分子カウンターリガンド分子、例えば、天然リガンド、または、当該抑制性免疫チェックポイント分子の天然リガンド（例えば、ＰＤ－Ｌ１、または、ＨＬＡ－Ｇ）の断片を含む。一部の実施形態では、ＩＣＩＭ結合／調節部分は、抑制性免疫チェックポイント分子に関与する機能性抗体分子、例えば、ｓｃＦｖ結合ドメインを含む機能性抗体分子を含む。

【０１４６】

一部の実施形態では、例えば、機能性抗体分子、または、抑制性免疫チェックポイント分子リガンド分子を含むＩＣＩＭ結合／調節部分は、当該抑制性受容体に結合するが、抑制性受容体の天然リガンドが、抑制性受容体に結合することを妨げない。実施形態では、フォーマットを使っており、そこでは、標的部分が、例えば、ｓｃＦｖドメインを含むＩＣＩＭ結合／調節部分に結合し、例えば、融合し、そして、溶液（例えば、血液、または、リンパ液）（そして、おそらくは、単量体フォーマット）内にある抑制性受容体に結合するように構成しており、当該治療用分子は：ｉ）（例えば、完全な作動分子で、認められるレベルの３０、２０、１５、１０、または、５％未満を作動する）当該免疫細胞での抑制性受容体を作動させず、または、実質的に作動させず；及び／または、ｉｉ）（例えば、完全な拮抗分子で、認められるレベルの３０、２０、１５、１０、または、５％未満を拮抗する）当該免疫細胞での抑制性受容体に拮抗しない、または、実質的に拮抗しない。候補分子は、例えば、ＭＬＲをベースとしたアッセイ（混合リンパ球反応）を使用して、標的を発現しない細胞をベースとしたインビトロでのアッセイにおいて、当該免疫応答を増加または抑制する能力によって、作動させる、または、作動させない能力について評価をすることができる。

【０１４７】

一部の実施形態では、候補ＩＣＩＭ結合／調節部分を、全身性免疫抑制、及び、全身性免疫活性化を、抑制、完全または実質的に解消することができる。一部の実施形態では、当該治療化合物の標的ドメインが、標的に結合すると、免疫保護を所望する組織の表面の当該治療化合物を、クラスター化または多量体化する役割を果たす。一部の実施形態では、ＩＣＩＭ結合／調節部分、例えば、ｓｃＦｖドメインを含むＩＣＩＭ結合／調節部分は、作動性で、かつ、免疫抑制性のシグナル、または、そのようなシグナルの実質的なレベ

ルを、局所の免疫細胞に送達できるクラスター化、または、多量体の状態を必要とする。このタイプの治療薬は、例えば、全身性免疫系を撹乱させずに、または、実質的に撹乱させずに、局所免疫抑制を提供することができる。すなわち、当該免疫抑制は、全身性であって、特定の領域または組織タイプに局在化するのではなく、当該抑制を必要とする箇所に局在化する。

【０１４８】

一部の実施形態では、当該標的、例えば、標的臓器、組織、または、細胞型に結合すると、当該治療化合物は、標的、例えば、標的臓器、組織、または、細胞型を被覆する。循環リンパ球が、当該標的に関与して破壊しようとすると、この治療では、当該治療化合物の蓄積部位だけに、または、それ以上の範囲に「オフ」信号を出す。

【０１４９】

候補治療化合物は、例えば、ＥＬＩＳＡ、細胞をベースとしたアッセイ、または、表面プラズモン共鳴によって、その標的に結合する、例えば、特異的に結合する能力について評価をすることができる。この特性は、当該免疫特権の部位特異性と局所的性質とを媒介するので、一般的には、最大化する必要がある。候補治療化合物が、標的に結合した際に、例えば、細胞をベースとした活性アッセイによって、免疫細胞をダウンレギュレートする能力について評価をすることができる。この特性は、当該免疫特権の部位特異性と局所的性質とを媒介するので、一般的には、最大化する必要がある。単量体（または、非結合）形態の候補治療化合物がもたらすダウンレギュレーションのレベルを、例えば、細胞をベースとした活性アッセイによって、評価をすることができる。この特性は、免疫系の全身的ダウンレギュレーションを媒介できるので、一般的には、最小限に抑える必要がある。単量体（または、非結合）形態の候補治療化合物がもたらす細胞表面抑制性分子、例えば、抑制性免疫チェックポイント分子の拮抗レベルは、例えば、細胞をベースとした活性アッセイによって評価をすることができる。この特性は、当該免疫系の望ましくない全身活性化を媒介できるので、一般的に、最小限に抑える必要がある。一般的に、これらの特性を選択し、かつ、バランスを図ることで、許容不可能なレベルの当該抑制性免疫チェックポイント分子の非特異的作動作用またはアンタゴニズムが無いままに、十分に健全な部位特異的免疫特権を生み出す。

【０１５０】

例示的な抑制性免疫チェックポイント分子

例示的な抑制性分子（例えば、抑制性免疫チェックポイント分子）（それらのカウンターリガンドを併記した）を、表１に記載している。この表には、例示的なＩＣＩＭ結合部分が結合できる分子を列挙している。

【表１】

表１：細胞表面抑制性分子、例えば、抑制性免疫チェックポイント分子（Ａ欄）、カウンターリガンド（Ｂ欄）、及び、影響を受ける細胞タイプ（Ｃ欄）。

Ａ	Ｂ	Ｃ
ＰＤ－１	ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２	Ｔ細胞、Ｂ細胞
アルカリホスファターゼ		
Ｂ７－Ｈ３	不明	Ｔ細胞
Ｂ７－Ｈ４	ニューロピリン　１、 ニューロピリン　２、 Ｐｌｅｘｉｎ４Ａ	Ｔ細胞
ＢＴＬＡ	ＨＶＥＭ	Ｔ細胞、Ｂ細胞
ＣＴＬＡ－４	ＣＤ８０、ＣＤ８６	Ｔ細胞
ＩＤＯ１	トリプトファン	リンパ球
ＴＤＯ２	トリプトファン	リンパ球
ＫＩＲ２ＤＬ１、ＫＩＲ２ＤＬ２／３、ＫＩＲ３ＤＬ１、ＫＩＲ３ＤＬ２	ＨＬＡ　ＭＨＣ　クラスＩ	ＮＫ細胞
ＬＡＧ３	ＨＬＡ　ＭＨＣ　クラスＩＩ	Ｔ細胞
ＴＩＭ－３	ガレクチン－９	Ｔ細胞
ＶＩＳＴＡ	不明	Ｔ細胞、骨髄性細胞
ＴＩＧＩＴ	ＣＤ１５５	Ｔ細胞
ＫＩＲ２ＤＬ４	ＨＬＡ－Ｇ	ＮＫ細胞
ＬＩＬＲＢ１	ＨＬＡ－Ｇ	Ｔ細胞、ＮＫ細胞、Ｂ細胞、単球、樹状細胞
ＬＩＬＲＢ２	ＨＬＡ－Ｇ	単球、樹状細胞、好中球、一部の腫瘍細胞
ＮＫＧ２Ａ	非古典的ＭＨＣ　糖タンパク質クラスＩ	Ｔ細胞、ＮＫ細胞
ＦＣＲＬ１－６	ＦＣＲＬ１－２　未知 ＦＣＲＬ４＝ＩｇＡ ＦＣＲＬ５＝ＩｇＧ ＦＣＲＬ６＝ＭＨＣクラスＩＩ	Ｂ細胞
	ＢＵＴＹＲＯＰＨＩＬＩＮＳ、例えば、 ＢＴＮ１Ａ１、ＢＴＮ２Ａ２、 ＢＴＮＬ２、ＢＴＮＬ１、 ＢＴＮＬ８	免疫細胞の調節

【０１５１】

Ｐｄ－Ｌ１／Ｐｄ－１経路

プログラムした細胞死タンパク質１（しばしば、ＰＤ－１と称する）は、免疫グロブリンスーパーファミリーに属する細胞表面受容体である。ＰＤ－１は、Ｔ細胞、及び、その他の細胞タイプで発現し、同細胞タイプとして、Ｂ細胞、骨髄細胞、樹状細胞、単球、Ｔ

制御性細胞、ｉＮＫ　Ｔ細胞があるが、これらに限定されない。ＰＤ－１は、２つのリガンド、ＰＤ－Ｌ１及びＰＤ－Ｌ２に結合し、そして、抑制性免疫チェックポイント分子である。抗原を担持したＭＣＨと、Ｔ細胞でのＴ細胞受容体との関係において、同族リガンド、ＰＤ－Ｌ１またはＰＤ－Ｌ２との関係は、Ｔ細胞の活性化及び機能を、最小化し、または、妨げる。ＰＤ－１の抑制効果として、リンパ節での抗原特異的Ｔ細胞のアポトーシス（プログラムした細胞死）の促進と、制御性Ｔ細胞（サプレッサーＴ細胞）のアポトーシスの抑制の双方がある。

【０１５２】

一部の実施形態では、治療化合物は、ＰＤ－１阻害を作動させるＩＣＩＭ結合／調節部分を含む。ＩＣＩＭ結合／調節部分は、例えば、ＰＤ－１のリガンドの断片（例えば、ＰＤ－Ｌ１、または、ＰＤ－Ｌ２の断片）、または、例えば、ＰＤ－１に結合するｓｃＦｖドメインを含む、別の分子、例えば、機能性抗体を含む、抑制性分子カウンターリガンド分子、を含むことができる。

【０１５３】

一部の実施形態では、治療化合物は、当該対象に存在しない、実質的に低レベルで存在するドナー抗原、例えば、表２のドナー抗原に優先的に結合し、かつ、対象のドナー移植組織に局在する標的部分を含む。一部の実施形態では、それは、その他の組織に結合せず、または、実質的に結合しない。一部の実施形態では、治療化合物は、ＨＬＡ－Ａ２に特異的であり、かつ、ドナー同種移植片に特異的に結合するが、宿主組織に結合しない、または、実質的に結合しない標的部分を含むことができる。一部の実施形態では、当該治療化合物は、例えば、ＰＤ－１のリガンドの断片（例えば、ＰＤ－Ｌ１、または、ＰＤ－Ｌ２の断片）を含むＩＣＩＭ結合／調節部分、例えば、抑制性分子カウンターリガンド分子、または、例えば、標的に結合すると、当該治療化合物がＰＤ－１を活性化するように、ＰＤ－１に結合する、例えば、ｓｃＦｖドメインを含む別の部分、例えば、機能性抗体分子を含む。当該治療化合物は、同種移植片を標的とし、そして、当該同種移植片に対して局所的免疫特権を付与する。

【０１５４】

一部の実施形態では、治療化合物は、表３の抗原に優先的に結合し、かつ、対象、例えば、自己免疫障害、例えば、表３の自己免疫障害を有する対象での標的部位に局在する標的部分を含む。一部の実施形態では、そのものは、その他の組織に結合せず、または、実質的に結合しない。一部の実施形態では、当該治療化合物は、例えば、ＰＤ－１のリガンドの断片（例えば、ＰＤ－Ｌ１、または、ＰＤ－Ｌ２の断片）を含むＩＣＩＭ結合／調節部分、例えば、抑制性分子カウンターリガンド分子、または、例えば、標的に結合すると、当該治療化合物がＰＤ－１を活性化するように、ＰＤ－１に結合する、例えば、ｓｃＦｖドメインを含む別の部分、例えば、機能性抗体分子を含む。当該治療化合物は、自己免疫攻撃の対象となる組織を標的とし、そして、当該組織に対して局所的免疫特権を付与する。

【０１５５】

ＰＤ－Ｌ１及びＰＤＬ２、または、それらに由来するポリペプチドは、候補ＩＣＩＭ結合部分を提供することができる。しかしながら、単量体形態において、例えば、当該治療化合物が、血液またはリンパ液を循環すると、この分子は、ＰＤ－Ｌ１／ＰＤ－１経路に拮抗するという望ましくない効果をもたらしかねず、かつ、標的、例えば、標的臓器の表面でクラスター化または多量体化すると、当該ＰＤ－１経路だけを作動し得る。一部の実施形態では、しかしながら、組織の表面で（当該標的部分によって）多量体とした際に阻害シグナルを作動及び駆動させると、治療化合物は、可溶性形態において、ＰＤ－１経路に対して不活性である、または、実質的に不活性である機能性抗体分子、例えば、ｓｃＦｖドメインを含むＩＣＩＭ結合／調節部分を含む。

【０１５６】

ＨＬＡ－Ｇ：ＫＩＲ２ＤＬ４／ＬＩＬＲＢ１／ＬＩＬＲＢ２経路

ＫＩＲ２ＤＬ４、ＬＩＬＲＢ１、及び、ＬＩＬＲＢ２は、Ｔ細胞、ＮＫ細胞、及び、骨

髄性細胞に認められる抑制性分子である。ＨＬＡ－Ｇは、それぞれのカウンターリガンドである。

【０１５７】

ＫＩＲ２ＤＬ４は、ＣＤ１５８Ｄ、Ｇ９Ｐ、ＫＩＲ－１０３ＡＳ、ＫＩＲ１０３、ＫＩＲ１０３ＡＳ、ＫＩＲ、ＫＩＲ－２ＤＬ４、キラー細胞免疫グロブリン様受容体、及び、２つのＩｇドメイン、及び、長い細胞質テール４としても知られている。ＬＩＬＲＢ１は、ＬＩＬＲＢ１、ＣＤ８５Ｊ、ＩＬＴ－２、ＩＬＴ２、ＬＩＲ－１、ＬＩＲ１、ＭＩＲ－７、ＭＩＲ７、ＰＩＲ－Ｂ、ＰＩＲＢ、白血球免疫グロブリン様受容体Ｂ１としても知られている。ＬＩＬＲＢ２は、ＣＤ８５Ｄ、ＩＬＴ－４、ＬＩＲ－２、ＬＩＲ２、ＭＩＲ－１０、ＭＩＲ１０、及び、ＩＬＴ４としても知られている。

【０１５８】

ＨＬＡ－Ｇ分子を含む治療化合物は、例えば、ＨＬＡ－Ｇ分子を含む多量体化した治療化合物分子を用いて、ＫＩＲ２ＤＬ４、ＬＩＬＲＢ１、及び、ＬＩＬＲＢ２のいずれかを含む免疫細胞に対して阻害シグナルを提供し、そして、部位特異的免疫特権を付与することができる。

【０１５９】

作動性抗ＫＩＲ２ＤＬ４、抗ＬＩＬＲＢ１、または、抗ＬＩＬＲＢ２抗体分子を含む治療化合物を使用して、ＫＩＲ２ＤＬ４、ＬＩＬＲＢ１、及び、ＬＩＬＲＢ２のいずれかを含む免疫細胞に対して阻害シグナルを提供することができる。

【０１６０】

ＨＬＡ－Ｇは、例えば、細胞の表面に発現した場合、または、ビーズの表面に結合した場合など、多量体とした場合にのみ、阻害シグナルを伝達する。実施形態では、治療化合物を溶液において多量体化しない（または、有意なレベルの抑制性分子作動性を実現するに十分な多量体化をしない）ＨＬＡ－Ｇ分子を含む治療化合物を提供する。溶液での多量体化を最小限に抑えるＨＬＡ－Ｇ分子の使用は、免疫細胞の全身的作動性、及び、望ましくない免疫抑制を最小限に抑える。

【０１６１】

理論に縛られることを望むものではないが、多量体化しない限り、ＨＬＡ－Ｇは、ダウンレギュレーションに効果的ではなく、標的への当該治療化合物の結合は、当該標的部分を介して、ＩＣＩＭ結合実体を多量体化し、そして、当該多量体化ＩＣＩＭ結合実体は、免疫細胞の表面の抑制分子に結合し、及び、クラスター化し、その結果、当該免疫細胞をダウンレギュレートするネガティブシグナルを媒介する、と考えられる。したがって、抗原提示細胞、及び、その他の骨髄性細胞、ＮＫ細胞、及び、Ｔ細胞などの標的組織に損傷を与えようとする浸潤免疫細胞を、ダウンレギュレートする。

【０１６２】

ＨＬＡ－Ｇ分子は、単量体の形態が望ましい場合には、拮抗性を最小限に抑えるが、ＬＩＬＲＢ１及びＬＩＬＲＢ２の冗長性は最小限に抑えられ、一部の単量体の拮抗性をもってしても、全身への影響を最小限に抑える。

【０１６３】

一部の実施形態では、当該治療化合物は、ＨＬＡ－Ｇ分子、例えば、Ｂ２Ｍを含まないアイソフォーム（例えば、ＨＬＡ－Ｇ５）を含むＩＣＩＭ結合／調節部分を含む、Ｃａｒｏｓｅｌｌａ ｅｔ ａｌ．，Ａｄｖａｎｃｅｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，２０１５、１２７：３３を参照されたい。Ｂ２Ｍフリーフォーマットでは、ＨＬＡ－Ｇは、ＬＩＬＲＢ２を対して優先的に結合する。

【０１６４】

ＨＬＡ－Ｇ分子の構築に適した配列として、ＧｅｎＢａｎｋ Ｐ１７６９３．１ ＲｅｃＮａｍｅ：Ｆｕｌｌ＝ＨＬＡ ｃｌａｓｓ Ｉ ｈｉｓｔｏｃｏｍｐａｔｉｂｉｌｉｔｙ ａｎｔｉｇｅｎ，ａｌｐｈａ ｃｈａｉｎ Ｇ；ＡｌｔＮａｍｅ：Ｆｕｌｌ＝ＨＬＡ Ｇ ａｎｔｉｇｅｎ；ＡｌｔＮａｍｅ：Ｆｕｌｌ＝ＭＨＣ ｃｌａｓｓ Ｉ ａｎｔｉｇｅｎ Ｇ；Ｆｌａｇｓ：Ｐｒｅｃｕｒｓｏｒ、または

ＭＶＶＭＡＰＲＴＬＦＬＬＬＳＧＡＬＴＬＴＥＴＷＡＧＳＨＳＭＲＹＦＳＡＡＶＳＲＰＧ
ＲＧＥＰＲＦＩＡＭＧＹＶＤＤＴＱＦＶ
ＲＦＤＳＤＳＡＣＰＲＭＥＰＲＡＰＷＶＥＱＥＧＰＥＹＷＥＥＥＴＲＮＴＫＡＨＡＱＴＤ
ＲＭＮＬＱＴＬＲＧＹＹＮＱＳＥＡＳ
ＳＨＴＬＱＷＭＩＧＣＤＬＧＳＤＧＲＬＬＲＧＹＥＱＹＡＹＤＧＫＤＹＬＡＬＮＥＤＬＲ
ＳＷＴＡＡＤＴＡＡＱＩＳＫＲＫＣＥ
ＡＡＮＶＡＥＱＲＲＡＹＬＥＧＴＣＶＥＷＬＨＲＹＬＥＮＧＫＥＭＬＱＲＡＤＰＰＫＴＨ
ＶＴＨＨＰＶＦＤＹＥＡＴＬＲＣＷ
ＡＬＧＦＹＰＡＥＩＩＬＴＷＱＲＤＧＥＤＱＴＱＤＶＥＬＶＥＴＲＰＡＧＤＧＴＦＱＫＷ
ＡＡＶＶＶＰＳＧＥＥＱＲＹＴＣＨＶＱ
ＨＥＧＬＰＥＰＬＭＬＲＷＫＱＳＳＬＰＴＩＰＩＭＧＩＶＡＧＬＶＶＬＡＡＶＶＴＧＡＡ
ＶＡＡＶＬＷＲＫＫＳＳＤ（配列番号５）、がある。候補ＨＬＡ－Ｇ分子は、例えば、“Ｓｙｎｔｈｅｔｉｃ ＨＬＡ－Ｇ ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｆｏｒ ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ ｕｓｅ ｉｎ ｔｒａｎｓｐｌａｎｔａｔｉｏｎ，” ＬｅＭａｏｕｌｔ ｅｔ ａｌ．，２０１３ Ｔｈｅ ＦＡＳＥＢ Ｊｏｕｒｎａｌ ２７：３６４３に記載されたものと同様の方法で、方法及び化合物での使用に対する適合性について試験をすることができる。

【０１６５】

一部の実施形態では、治療化合物は、当該対象に存在しない、実質的に低レベルで存在するドナー抗原、例えば、表２のドナー抗原に優先的に結合し、かつ、対象のドナー移植組織に局在する標的部分を含む。一部の実施形態では、それは、その他の組織に結合せず、または、実質的に結合しない。一部の実施形態では、治療化合物は、ＨＬＡ－Ａ２に特異的であり、かつ、ドナー同種移植片に特異的に結合するが、宿主組織に結合せず、かつ、例えば、標的に結合すると、当該治療化合物が、ＫＩＲ２ＤＬ４、ＬＩＬＲＢ１、または、ＬＩＬＲＢ２を活性化するように、ＫＩＲ２ＤＬ４、ＬＩＬＲＢ１、または、ＬＩＬＲＢ２に結合するＨＬＡ－Ｇ分子を含むＩＣＩＭ結合／調節部分と組み合わせる、標的部分を含むことができる。当該治療化合物は、同種移植片を標的とし、そして、当該同種移植片に対して局所的免疫特権を付与する。

【０１６６】

一部の実施形態では、治療化合物は、組織特異的抗原、表３の抗原に優先的に結合し、かつ、対象、例えば、自己免疫障害、例えば、表３の自己免疫障害を有する対象での標的部位に局在する標的部分を含む。一部の実施形態では、そのものは、その他の組織に結合せず、または、実質的に結合しない。一部の実施形態では、当該治療化合物は、例えば、標的に結合すると、当該治療化合物がＫＩＲ２ＤＬ４、ＬＩＬＲＢ１、または、ＬＩＬＲＢ２を活性化するように、ＫＩＲ２ＤＬ４、ＬＩＬＲＢ１、または、ＬＩＬＲＢ２に結合するＨＬＡ－Ｇ分子を含むＩＣＩＭ結合／調節部分を含む。当該治療化合物は、自己免疫攻撃の対象となる組織を標的とし、そして、当該組織に対して局所的免疫特権を付与する。

【０１６７】

ＬＩＬＲＢ１にも結合できる、安定で、かつ、可溶性のＨＬＡ－Ｇ－Ｂ２Ｍ融合タンパク質を遺伝子操作することは可能である。例えば、ＨＬＡ－Ｇの結晶構造を、ＨＬＡ－Ｇ／Ｂ２Ｍ単量体を使用して決定した（Ｃｌｅｍｅｎｔｓ ｅｔ ａｌ．２００５ ＰＮＡＳ １０２：３３６０）。

【０１６８】

ＦＣＲＬファミリー

ＦＣＲＬ１－６は、一般的に、Ｂ細胞の活性化または機能を阻害する。これらの１型膜貫通糖タンパク質は、５種類の免疫グロブリン様ドメインの様々な組み合わせからなり、各々のタンパク質は、３～９個のドメインからなり、かつ、個々のタイプのドメインは、ＦＣＲＬタンパク質の全体を通して保存されていない。一般的に、ＦＣＲＬの発現は、リンパ球に限定されており、Ｂリンパ球において主要な発現がある。一般的に、ＦＣＲＬは

、Ｂ細胞の活性化を抑制するように機能する。
【０１６９】
ＩＣＩＭ結合／調節部分は、作動性抗ＢＣＭＡ抗体分子を含むことができる。一部の実施形態では、当該治療化合物は、抗ＦＣＲＬ抗体分子、及び、抗Ｂ細胞受容体（ＢＣＲ）抗体分子を含む。理論に束縛されることを望まないが、双方の特異性の抗体分子を含む治療化合物は、ＦＣＲＬをＢＣＲに近接し、そして、ＢＣＲシグナル伝達を阻害する、と考えられる。
【０１７０】
ブチロフィリン及びブチロフィリン様分子
エフェクター結合／調節部分は、ブチロフィリンのアゴニスト、または、アンタゴニストを含むことができる。一部の実施形態では、エフェクター結合／調節部分は、作動性または機能性ＢＴＮ１Ａ１分子、ＢＴＮ２Ａ２分子、ＢＴＮＬ２分子、または、ＢＴＮＬ１分子を含むことができる。
【０１７１】
本明細書で使用する用語、機能性ＢＴＮＸｉ分子（Ｘｉ＝１Ａ１、２Ａ２、Ｌ２、または、Ｌ１）とは、治療化合物の一部として、Ｔ細胞を阻害するに十分なＢＴＮＸｉ配列を有するポリペプチドのことを指す。一部の実施形態では、ＢＴＮＸｉ分子は、天然に存在するブチロフィリン、または、ブチロフィリン様分子と、少なくとも６０、７０、８０、９０、９５、９９、または、１００％の配列同一性、または、実質的な配列同一性を有する。
【０１７２】
一部の実施形態では、エフェクター結合／調節部分は、拮抗性ＢＴＮＬ８分子である。
【０１７３】
本明細書で使用する用語、拮抗性ＢＴＮＬ８分子とは、治療化合物の一部として、休止Ｔ細胞によるサイトカインの活性化、増殖、または、分泌を阻害するに十分なＢＴＮＬ８配列を有するポリペプチドのことを指す。一部の実施形態では、ＢＴＮＬ８分子は、天然に存在するブチロフィリンと、少なくとも６０、７０、８０、９０、９５、９９、または、１００％の配列同一性、または、実質的な配列同一性を有する。
【０１７４】
免疫抑制性Ｔ細胞を動員するＩＩＣ結合／調節部分：エフェクター結合／調節部分
一部の実施形態では、当該治療化合物は、標的部分が媒介した部位で免疫抑制性細胞、例えば、免疫抑制性Ｔ細胞を、結合、活性化、または、保持して部位特異的免疫特権を付与する、エフェクター結合／調節部分、例えば、ＩＩＣ結合／調節部分を含む。当該ＩＩＣ結合／調節部分、例えば、ｓｃＦｖ結合ドメインを含む抗体分子を含むＩＩＣ結合／調節部分は、免疫抑制性細胞型、例えば、Ｔｒｅｇ、例えば、Ｆｏｘｐ３＋ＣＤ２５＋Ｔｒｅｇに結合する。臓器、組織、または、特定の細胞タイプの耐性は、近接したＴｒｅｇの圧倒的な増加と、当該標的臓器への浸潤に関連しており；実施形態では、本明細書に記載の方法及び化合物は、この生理学的状態を合成的に再現し、そして、模倣する。Ｔｒｅｇｓが蓄積すると、免疫抑制性微小環境を作る出して、当該免疫系から目的の臓器を保護する。
【０１７５】
Ｔｒｅｇ及びＴＧＦＢ標的分子としてのＧＡＲＰバインダー
ＧＡＲＰは、活性化Ｔｒｅｇの表面に発現する潜在的なＴＧＦ－ベータの膜タンパク質受容体である（Ｔｒａｎ ｅｔ ａｌ．２００９ ＰＮＡＳ １０６：１３４４５、及び、Ｗａｎｇ ｅｔ ａｌ．２００９ ＰＮＡＳ １０６：１３４３９）。一部の実施形態では、治療化合物は、活性化ヒトＴｒｅｇなどの可溶性ＧＡＲＰ及びＧＡＲＰ発現細胞の一方または双方と結合するＩＩＣ結合実体と、目的の標的組織を当該治療化合物の標的とする標的部分とを含む。ＧＡＲＰバインダーを含むＩＩＣ結合／調節部分は、例えば、抗ＧＡＲＰ抗体分子、例えば、抗ＧＡＲＰ ｓｃＦｖドメインを含むＩＩＣ結合／調節部分を含む。理論に縛られることを望むものではないが、ＧＡＲＰバインダーを含む当該治療

化合物は、当該治療化合物の標的部分が標的とした部位、例えば、移植片、または、臓器損傷の部位で、ＧＡＲＰ発現Ｔｒｅｇを蓄積する、と考えられている。この場合もやはり、理論に縛られることを望むものではないが、ＧＡＲＰバインダー効果を含む治療化合物は、臓器損傷の部位での可溶性ＧＡＲＰの蓄積にも影響を与え、免疫抑制剤サイトカインであるＴＧＦＢ１に局所的に結合して、活性化をする、と考えられる（Ｆｒｉｄｒｉｃｈ　ｅｔ　ａｌ．２０１６　ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ　１１：ｅ０１５３２９０；ｄｏｉ：１０．１３７１／ｊｏｕｒｎａｌ．ｐｏｎｅ．０１５３２９０、及び、Ｈａｈｎ　ｅｔ　ａｌ．２０１３　Ｂｌｏｏｄ　１５：１１８２）。したがって、ＧＡＲＰバインダーを含むエフェクター結合／調節部分は、ＩＩＣ結合／調節部分、または、ＳＭ結合／調節部分のいずれかとして作用することができる。

【０１７６】

Ｔｒｅｇ標的及びＴエフェクター細胞サイレンシング分子としてのＣＴＬＡ４

一部の実施形態では、エフェクター結合／調節部分は、例えば、抗体分子、例えば、Ｔｒｅｇの表面で発現するＣＴＬＡ４に結合するｓｃＦｖドメインを含む。当該治療用分子は、当該標的部位でＣＴＬＡ４＋　Ｔｒｅｇを蓄積し、または、保持し、結果として、局所的な免疫抑制をもたらす。

【０１７７】

ＣＴＬＡ４は、Ｔｒｅｇでより高度に発現するが、活性化Ｔ細胞でも発現する。エフェクター結合／調節部分、例えば、抗ＣＴＬＡ４抗体、または、機能性抗ＣＴＬＡ４抗体を含む治療化合物は、ＣＴＬＡ４発現Ｔ細胞をダウンレギュレートすることができる。したがって、ＣＴＬＡ４に結合するエフェクター結合／調節部分を含む治療化合物では、当該エフェクター部分は、ＩＣＩＭ結合／調節部分として作用することもできる。

【０１７８】

一部の実施形態では、当該抗ＣＴＬＡ４バインダーは、単量体フォーマットの場合には、拮抗性も作動性も示さず、そして、当該標的へ結合してクラスター化または多量体化した場合にのみ作動性を示す。

【０１７９】

理論に縛られることを望むものではないが、当該標的部分を介した、当該治療化合物の標的に対する結合は、治療化合物の多量体化をもたらす、と考えられる。記憶及び活性化Ｔ細胞の事例では、当該治療化合物のエフェクター結合／調節部分で結合するＣＴＬＡ４はクラスター化を受け、そして、ＣＴＬＡ４の関与による阻害シグナルを、記憶及び活性化Ｔ細胞で発現する。

【０１８０】

一部の実施形態では、当該抗ＣＴＬＡ４バインダーは、単量体フォーマットの場合には、拮抗性も作動性も示さず、そして、当該標的へ結合してクラスター化または多量体化した場合にのみ作動性を示す。

【０１８１】

Ｔｒｅｇを活性化するＩＬ－２ムテイン分子：ＩＬ２受容体バインダー

Ｔｒｅｇ細胞を（細胞傷害性Ｔ細胞よりも）優先的に増殖または刺激するＩＬ－２ムテイン分子を、ＩＩＣ結合／調節部分として使用することができる。

【０１８２】

一部の実施形態では、ＩＩＣ結合／調節部分は、ＩＬ－２ムテイン分子を含む。本明細書で使用する用語「ＩＬ－２ムテイン分子」または「ＩＬ－２ムテイン」とは、Ｔｒｅｇ細胞を優先的に活性化するＩＬ－２変異体のことを指す。一部の実施形態では、ＩＬ－２ムテイン分子は、それ単独で、または、治療化合物の成分として、細胞傷害性Ｔ細胞よりも、少なくとも２、５、１０、または、１００倍以上に、Ｔｒｅｇを活性化する。Ｔｒｅｇ細胞の優先的活性化を評価するための適切なアッセイは、米国特許第９，５８０，４８６号、例えば、実施例２及び３において、または、ＷＯ２０１６０１４４２８、例えば、実施例３、４、及び、５において認めることができ、本明細書の一部を構成するものとして、それらの全内容を援用する。成熟ＩＬ－２の配列は、

ＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲＭＬＴ
ＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＶＬＮＬＡＱＳＫＮＦＨＬＲＰ
ＲＤＬＩＳＮＩＮＶＩＶＬＥＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＣ
ＱＳＩＩＳＴＬＴ（成熟ＩＬ－２配列）（配列番号６）

ＩＬ－２の未成熟な配列は、

ＭＹＲＭＱＬＬＳＣＩＡＬＳＬＡＬＶＴＮＳＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬＤＬ
ＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱＣＬＥＥＥ
ＬＫＰＬＥＥＶＬＮＬＡＱＳＫＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＮＩＮＶＩＶＬＥＬＫＧＳＥＴＴＦ
ＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＣＱＳＩＩＳＴＬＴ（配列番号１５）

として表すことができる。

【０１８３】

一部の実施形態では、ＩＩＣ結合／調節部分は、別のポリペプチド、例えば、インビボ半減期を延長するポリペプチド、例えば、免疫グロブリン定常領域、または、その多量体、または、二量体に結合した、例えば、融合したＩＬ－２ムテイン、または、その活性断片を含む。

【０１８４】

ＩＬ－２ムテイン分子は、ＩＬ－２の１つ以上の残基を変異させて調製することができる。ＩＬ－２－ムテインの例として、ＷＯ２０１６／１６４９３７、ＵＳ９５８０４８６、ＵＳ７１０５６５３、ＵＳ９６１６１０５、ＵＳ９４２８５６７、ＵＳ２０１７／００５１０２９、ＵＳ２０１４／０２８６８９８Ａ１、ＷＯ２０１４１５３１１１Ａ２、ＷＯ２０１０／０８５４９５、ＷＯ２０１６０１４４２８Ａ２、ＷＯ２０１６０２５３８５Ａ１、及び、ＵＳ２００６０２６９５１５があるが、これらに限定されず、本明細書の一部を構成するものとして、それらの全内容を援用する。

【０１８５】

一部の実施形態では、上記配列の位置１でのアラニンが欠失している。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテイン分子は、成熟ＩＬ－２配列の１２５位のシステインから置換したセリンを含む。ＩＬ－２ムテイン分子における突然変異及び置換のその他の組み合わせは、ＵＳ２００６０２６９５１５に記載されており、本明細書の一部を構成するものとして、その全内容を援用する。一部の実施形態では、１２５位のシステインも、バリンまたはアラニンで置換する。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテイン分子は、Ｖ９１Ｋ置換を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテイン分子は、Ｎ８８Ｄ置換を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテイン分子は、Ｎ８８Ｒ置換を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテイン分子は、Ｈ１６Ｅ、Ｄ８４Ｋ、Ｖ９１Ｎ、Ｎ８８Ｄ、Ｖ９１Ｋ、または、Ｖ９１Ｒ、それらのあらゆる組み合わせの置換を含む。一部の実施形態では、これらのＩＬ－２ムテイン分子は、本明細書に記載した１２５位での置換も含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテイン分子は：Ｔ３Ｎ、Ｔ３Ａ、Ｌ１２Ｇ、Ｌ１２Ｋ、Ｌ１２Ｑ、Ｌ１２Ｓ、Ｑ１３Ｇ、Ｅ１５Ａ、Ｅ１５Ｇ、Ｅ１５Ｓ、Ｈ１６Ａ、Ｈ１６Ｄ、Ｈ１６Ｇ、Ｈ１６Ｋ、Ｈ１６Ｍ、Ｈ１６Ｎ、Ｈ１６Ｒ、Ｈ１６Ｓ、Ｈ１６Ｔ、Ｈ１６Ｖ、Ｈ１６Ｙ、Ｌ１９Ａ、Ｌ１９Ｄ、Ｌ１９Ｅ、Ｌ１９Ｇ、Ｌ１９Ｎ、Ｌ１９Ｒ、Ｌ１９Ｓ、Ｌ１９Ｔ、Ｌ１９Ｖ、Ｄ２０Ａ、Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｈ、Ｄ２０Ｉ、Ｄ２０Ｙ、Ｄ２０Ｆ、Ｄ２０Ｇ、Ｄ２０Ｔ、Ｄ２０Ｗ、Ｍ２３Ｒ、Ｒ８１Ａ、Ｒ８１Ｇ、Ｒ８１Ｓ、Ｒ８１Ｔ、Ｄ８４Ａ、Ｄ８４Ｅ、Ｄ８４Ｇ、Ｄ８４Ｉ、Ｄ８４Ｍ、Ｄ８４Ｑ　Ｄ８４Ｒ、Ｄ８４Ｓ、Ｄ８４Ｔ、Ｓ８７Ｒ、Ｎ８８Ａ、Ｎ８８Ｄ、Ｎ８８Ｅ、Ｎ８８Ｉ、Ｎ８８Ｆ、Ｎ８８Ｇ、Ｎ８８Ｍ、Ｎ８８Ｒ、Ｎ８８Ｓ、Ｎ８８Ｖ、Ｎ８８Ｗ、Ｖ９１Ｄ、Ｖ９１Ｅ、Ｖ９１Ｇ

、Ｖ９１Ｓ、Ｉ９２Ｋ、Ｉ９２Ｒ、Ｅ９５Ｇ、及び、Ｑ１２６からなる群から選択される１つ以上の置換を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテイン分子のアミノ酸配列は、Ｃ１２５ＡまたはＣ１２５Ｓ置換と、Ｔ３Ｎ、Ｔ３Ａ、Ｌ１２Ｇ、Ｌ１２Ｋ、Ｌ１２Ｑ　Ｌ１２Ｓ、Ｑ１３Ｇ、Ｅ１５Ａ、Ｅ１５Ｇ、Ｅ１５Ｓ、Ｈ１６Ａ、Ｈ１６Ｄ、Ｈ１６Ｇ、Ｈ１６Ｋ、Ｈ１６Ｍ、Ｈ１６Ｎ、Ｈ１６Ｒ、Ｈ１６Ｓ、Ｈ１６Ｔ、Ｈ１６Ｖ、Ｈ１６Ｙ、Ｌ１９Ａ、Ｌ１９Ｄ、Ｌ１９Ｅ、Ｌ１９Ｇ、Ｌ１９Ｎ、Ｌ１９Ｒ、Ｌ１９Ｓ、Ｌ１９Ｔ、Ｌ１９Ｖ、Ｄ２０Ａ、Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｆ、Ｄ２０Ｇ、Ｄ２０Ｔ、Ｄ２０Ｗ、Ｍ２３Ｒ、Ｒ８１Ａ、Ｒ８１Ｇ、Ｒ８１Ｓ、Ｒ８１Ｔ、Ｄ８４Ａ、Ｄ８４Ｅ、Ｄ８４Ｇ、Ｄ８４Ｉ、Ｄ８４Ｍ、Ｄ８４Ｑ、Ｄ８４Ｒ、Ｄ８４Ｓ、Ｄ８４Ｔ、Ｓ８７Ｒ、Ｎ８８Ａ、Ｎ８８Ｄ、Ｎ８８Ｅ、Ｎ８８Ｆ、Ｎ８８Ｉ、Ｎ８８Ｇ、Ｎ８８Ｍ、Ｎ８８Ｒ、Ｎ８８Ｓ、Ｎ８８Ｖ、Ｎ８８Ｗ、Ｖ９１Ｄ、Ｖ９１Ｅ、Ｖ９１Ｇ、Ｖ９１Ｓ、Ｉ９２Ｋ、Ｉ９２Ｒ、Ｅ９５Ｇ、Ｑ１２６Ｉ、Ｑ１２６Ｌ、及び、Ｑ１２６Ｆから選択される１つの置換を有する、成熟ＩＬ－２配列に示すアミノ酸配列とは異なる。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテイン分子は、Ｃ１２５ＡまたはＣ１２５Ｓ置換と、Ｄ２０Ｈ、Ｄ２０Ｉ、Ｄ２０Ｙ、Ｄ２０Ｅ、Ｄ２０Ｇ、Ｄ２０Ｗ、Ｄ８４Ａ、Ｄ８４Ｓ、Ｈ１６Ｄ、Ｈ１６Ｇ、Ｈ１６Ｋ、Ｈ１６Ｒ、Ｈ１６Ｔ、Ｈ１６Ｖ、Ｉ９２Ｋ、Ｉ９２Ｒ、Ｌ１２Ｋ、Ｌ１９Ｄ、Ｌ１９Ｎ、Ｌ１９Ｔ、Ｎ８８Ｄ、Ｎ８８Ｒ、Ｎ８８Ｓ、Ｖ９１Ｄ、Ｖ９１Ｇ、Ｖ９１Ｋ、及び、Ｖ９１Ｓから選択される１つの置換を有する、成熟ＩＬ－２配列に示すアミノ酸配列とは異なる。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、Ｎ８８Ｒ、及び／または、Ｄ２０Ｈ突然変異を含む。

【０１８６】

一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテイン分子は、アミノ酸３０、アミノ酸３１、アミノ酸３５、アミノ酸６９、及び、アミノ酸７４からなる群から選択される位置にて、ポリペプチド配列において突然変異を含む。一部の実施形態では、３０位での突然変異は、Ｎ３０Ｓである。一部の実施形態では、３１位での突然変異は、Ｙ３１Ｈである。一部の実施形態では、３５位での突然変異は、Ｋ３５Ｒである。一部の実施形態では、６９位での突然変異は、Ｖ６９Ａである。一部の実施形態では、７４位での突然変異は、Ｑ７４Ｐである。一部の実施形態では、当該ムテインは、Ｖ６９Ａ突然変異、Ｑ７４Ｐ突然変異、Ｎ８８ＤまたはＮ８８Ｒ突然変異、及び、Ｌ５３Ｉ、Ｌ５６Ｉ、Ｌ８０Ｉ、または、Ｌ１１８Ｉ突然変異の１つ以上を含む。一部の実施形態では、当該ムテインは、Ｖ６９Ａ突然変異、Ｑ７４Ｐ突然変異、Ｎ８８ＤまたはＮ８８Ｒ突然変異、及び：Ｌ５３Ｉ、Ｌ５６Ｉ、Ｌ８０Ｉ、及び、Ｌ１１８Ｉ突然変異からなる群から選択されるＬからＩへの突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ、Ｎ８８Ｄ、または、Ｎ８８Ｒ突然変異、及び、Ｌ５３Ｉ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ、Ｎ８８Ｄ、または、Ｎ８８Ｒ突然変異、及び、Ｌ５６Ｉ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ、Ｎ８８Ｄ、または、Ｎ８８Ｒ突然変異、及び、Ｌ８０Ｉ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ、Ｎ８８Ｄ、または、Ｎ８８Ｒ突然変異、及び、Ｌ１１８Ｉ突然変異を含む。本明細書で提供する当該ムテインは、Ｃ１２５Ａ、または、Ｃ１２５Ｓ突然変異も含むことができる。

【０１８７】

一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテイン分子は、上記した成熟ヒトＩＬ－２配列と比較して：Ｎ８８Ｒ、Ｎ８８Ｉ、Ｎ８８Ｇ、Ｄ２０Ｈ、Ｄ１０９Ｃ、Ｑ１２６Ｌ、Ｑ１２６Ｆ、Ｄ８４Ｇ、または、Ｄ８４Ｉからなる群から選択される置換を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテイン分子は、Ｄ１０９Ｃの置換と、Ｎ８８Ｒ置換、及び、Ｃ１２５Ｓ置換の一方または双方とを含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテイン分子の位置１０９にあるシステインと、ポリエチレングリコール部分を結合し、当該ポリエチレングリコール部分は、５～４０ｋＤａの間の分子量を有する。

【０１８８】

一部の実施形態では、本明細書に記載のあらゆる置換を、位置１２５での置換と組み合

わせる。当該置換を、Ｃ１２５Ｓ、Ｃ１２５Ａ、または、Ｃ１２５Ｖ置換とすることができる。

【０１８９】

本明細書に記載した置換または突然変異に加えて、一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号１５に対応する位置７３、７６、１００、または、１３８の１つ以上の位置、または、配列番号６に対応する位置５３、５６、８０、または、１１８の１つ以上の位置に、置換／突然変異を有する。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号１５に対応する、位置７３と７６；７３と１００；７３と１３８；７６と１００；７６と１３８；１００と１３８；７３、７６、及び、１００；７３、７６、及び、１３８；７３、１００、及び、１３８；７６、１００、及び、１３８；または、７３、７６、１００、及び、１３８の各々の位置に突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号６に対応する、位置５３と５６；５３と８０；５３と１１８；５６と８０；５６と１１８；８０と１１８；５３、５６、及び、８０；５３、５６、及び、１１８；５３、８０、及び、１１８；５６、８０、及び、１１８；または、５３、５６、８０、及び、１１８の各々の位置に突然変異を含む。ＩＬ－２は、その他のタンパク質に融合または結合できるので、本明細書で使用する配列番号６または１５の呼称に対応する用語は、ＮＣＢＩウェブサイトで使用できるような、アラインメントソフトウェアのデフォルト設定での配列の整列の仕方のことを指す。一部の実施形態では、当該突然変異は、ロイシンからイソロイシンである。したがって、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号１５に対応する位置７３、７６、１００、または、１３８の１つ以上の位置、または、配列番号６に対応する位置５３、５６、８０、または、１１８の１つ以上の位置に、イソロイシンを含むことができる。一部の実施形態では、当該ムテインは、配列番号６に対応するＬ５３に突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ムテインは、配列番号６に対応するＬ５６に突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ムテインは、配列番号６に対応するＬ８０に突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ムテインは、配列番号６に対応するＬ１１８に突然変異を含む。一部の実施形態では、当該突然変異は、ロイシンからイソロイシンである。一部の実施形態では、当該ムテインは、配列番号６に対応するこれらのムテインでの位置６９、７４、８８、１２５、または、それらのあらゆる組み合わせでの突然変異も含む。一部の実施形態では、当該突然変異は、Ｖ６９Ａ突然変異である。一部の実施形態では、当該突然変異は、Ｑ７４Ｐ突然変異である。一部の実施形態では、当該突然変異は、Ｎ８８ＤまたはＮ８８Ｒ突然変異である。一部の実施形態では、当該突然変異は、Ｃ１２５ＡまたはＣ１２５Ｓ突然変異である。

【０１９０】

一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号１５に対応する位置４９、５１、５５、５７、６８、８９、９１、９４、１０８、及び、１４５の１つ以上の位置、または、配列番号６に対応する位置２９、３１、３５、３７、４８、６９、７１、７４、８８、及び、１２５の１つ以上の位置に突然変異を含む。これらの置換は、単独で、または、互いに組み合わせて使用することができる。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、２、３、４、５、６、７、８、９、または、４９、５１、５５、５７、６８、８９、９１、９４、１０８、及び、１４５の各々の位置での置換を含む。そのような組み合わせの例として、４９、５１、５５、５７、６８、８９、９１、９４、１０８、及び、１４５；４９、５１、５５、５７、６８、８９、９１、９４、及び、１０８；４９、５１、５５、５７、６８、８９、９１、及び、９４；４９、５１、５５、５７、６８、８９、及び、９１；４９、５１、５５、５７、６８、及び、８９；４９、５１、５５、５７、及び、６８；４９、５１、５５、及び、５７；４９、５１、及び、５５；４９及び５１；５１、５５、５７、６８、８９、９１、９４、１０８、及び、１４５；５１、５５、５７、６８、８９、９１、９４、及び、１０８；５１、５５、５７、６８、８９、９１、及び、９４；５１、５５、５７、６８、８９、及び、９１；５１、５５、５７、６８、及び、８９；５５、５７、及び、６８；５５及び５７；５５、５７、６８、８９、９１、９４、１０８、及び、１４５；５５、５７、６８、８９、９１、９４、及び、１０８；５５、５７、６

８、８９、９１、及び、９４；５５、５７、６８、８９、９１、及び、９４；５５、５７、６８、８９、及び、９１；５５、５７、６８、及び、８９；５５、５７、及び、６８；５５及び５７；５７、６８、８９、９１、９４、１０８、及び、１４５；５７、６８、８９、９１、９４、及び、１０８；５７、６８、８９、９１、及び、９４；５７、６８、８９、及び、９１；５７、６８、及び、８９；５７及び６８；６８、８９、９１、９４、１０８、及び、１４５；６８、８９、９１、９４、及び、１０８；６８、８９、９１、及び、９４；６８、８９、及び、９１；６８及び８９；８９、９１、９４、１０８、及び、１４５；８９、９１、９４、及び、１０８；８９、９１、及び、９４；８９及び９１；９１、９４、１０８、及び、１４５；９１、９４、及び、１０８；９１、及び、９４；または、９４及び１０８の位置での突然変異があるが、これらに限定されない。それぞれの突然変異を、互いに組み合わせることができる。配列番号６でも同じ置換を行うことができるが、本開示から明らかなように、付番は適切に調整する（配列番号１５で付与した番号より２０少ない数値が、配列番号６の位置に対応する）。

【０１９１】

一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号１５に対応する３５、３６、４２、１０４、１１５、または、１４６の１つ以上の位置、または、配列番号６での同等の位置（例えば、位置１５、１６、２２、８４、９５、または、１２６）に、突然変異を含む。これらの変異は、本明細書に記載したその他のロイシンからイソロイシンへの突然変異、または、配列番号１５に対応する位置７３、７６、１００、または、１３８、または、配列番号６に対応する位置５３、５６、８０、または、１１８の１つ以上での突然変異と組み合わせることができる。一部の実施形態では、当該突然変異は、Ｅ３５Ｑ、Ｈ３６Ｎ、Ｑ４２Ｅ、Ｄ１０４Ｎ、Ｅ１１５Ｑ、または、Ｑ１４６Ｅ、または、それらのあらゆる組み合わせである。一部の実施形態では、これらの置換の１つ以上は、野生型である。一部の実施形態では、当該ムテインは、配列番号１５に対応する位置３５、３６、４２、１０４、１１５、または、１４６の１つ以上、または、配列番号６での同等の位置（例えば、位置１５、１６、２２、８４、９５、及び、１２６）に、野生型残基を含む。

【０１９２】

これらの位置での突然変異は、本明細書に記載したその他の突然変異のいずれかと組み合わせることができ、同突然変異として、本明細書に記載し、かつ、上掲の配列番号１５に対応する位置７３、７６、１００、または、１３８、または、配列番号６に対応する位置５３、５６、８０、または、１１８での置換があるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号１５に対応するＮ４９Ｓ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号１５に対応するＹ５１ＳまたはＹ５１Ｈ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号１５に対応するＫ５５Ｒ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号１５に対応するＴ５７Ａ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号１５に対応するＫ６８Ｅ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号１５に対応するＶ８９Ａ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号１５に対応するＮ９１Ｒ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号１５に対応するＱ９４Ｐ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号１５に対応するＮ１０８ＤまたはＮ１０８Ｒ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号１５に対応するＣ１４５ＡまたはＣ１４５Ｓ突然変異を含む。これらの置換は、単独で、または、互いに組み合わせて使用することができる。一部の実施形態では、当該ムテインは、これらの置換の各々を含む。一部の実施形態では、当該ムテインは、これらの突然変異の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つ、または、８つを含む。一部の実施形態では、当該ムテインは、配列番号１５に対応する位置３５、３６、４２、１０４、１１５、または、１４６の１つ以上、または、配列番号６での同等の位置（例えば、位置１５、１６、２２、８４、９５、及び、１２６）に、野生型残基を含む。

【０１９３】

一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号６に対応するＮ２９Ｓ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号６に対応するＹ３１ＳまたはＹ３１Ｈ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号６に対応するＫ３５Ｒ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号６に対応するＴ３７Ａ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号６に対応するＫ４８Ｅ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号６に対応するＶ６９Ａ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号６に対応するＮ７１Ｒ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号６に対応するＱ７４Ｐ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号６に対応するＮ８８ＤまたはＮ８８Ｒ突然変異を含む。一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、配列番号６に対応するＣ１２５ＡまたはＣ１２５Ｓ突然変異を含む。これらの置換は、単独で、または、互いに組み合わせて使用することができる。一部の実施形態では、当該ムテインは、これらの突然変異の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つ、または、８つを含む。一部の実施形態では、当該ムテインは、配列番号１５に対応する位置３５、３６、４２、１０４、１１５、または、１４６の１つ以上、または、配列番号６での同等の位置（例えば、位置１５、１６、２２、８４、９５、及び、１２６）に、野生型残基を含む。

【０１９４】

本明細書に記載したＩＬ－２ムテインのいずれかについて、一部の実施形態では、配列番号１５に対応する位置３５、３６、４２、１０４、１１５、または、１４６の１つ以上、または、配列番号６での同等の位置（例えば、位置１５、１６、２２、８４、９５、または、１２６）は、（例えば、配列番号６または１５に示したような）野生型である。一部の実施形態では、配列番号１５に対応する位置３５、３６、４２、１０４、１１５、または、１４６の２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、または、それぞれ、または、配列番号６での同等の位置（例えば、位置１５、１６、２２、８４、９５、及び、１２６）は、野生型である。

【０１９５】

一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは：
ＭＹＲＭＱＬＬＳＣＩＡＬＳＬＡＬＶＴＮＳＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬＤＬ
ＱＭＩＬＮＧＩＳＮＨＫＮＰＲＬＡＲＭＬＴＦＫＦＹＭＰＥＫＡＴＥＩＫＨＬＱＣＬＥＥＥ
ＬＫＰＬＥＥＡＬＲＬＡＰＳＫＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＤＩＮＶＩＶＬＥＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣ
ＥＹＡＤＥＴＡＴＩＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴ（配列番号１６）の配列を含む。

【０１９６】

一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは：
ＭＹＲＭＱＬＬＳＣＩＡＬＳＬＡＬＶＴＮＳＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬＤＬ
ＱＭＩＬＮＧＩＳＮＨＫＮＰＲＬＡＲＭＬＴＦＫＦＹＭＰＥＫＡＴＥＬＫＨＩＱＣＬＥＥＥ
ＬＫＰＬＥＥＡＬＲＬＡＰＳＫＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＤＩＮＶＩＶＬＥＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣ
ＥＹＡＤＥＴＡＴＩＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴ（配列番号１７）の配列を含む。

【０１９７】

一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは：
ＭＹＲＭＱＬＬＳＣＩＡＬＳＬＡＬＶＴＮＳＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬＤＬ

ＱＭＩＬＮＧＩＳＮＨＫＮＰＲＬＡＲＭＬＴＦＫＦＹＭＰＥＫＡＴＥＬＫＨＬＱＣＬＥＥＥ
ＬＫＰＬＥＥＡＬＲＬＡＰＳＫＮＦＨＩＲＰＲＤＬＩＳＤＩＮＶＩＶＬＥＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣ
ＥＹＡＤＥＴＡＴＩＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴ（配列番号１８）の配列を含む。

【０１９８】

一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは：
ＭＹＲＭＱＬＬＳＣＩＡＬＳＬＡＬＶＴＮＳＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬＤＬ
ＱＭＩＬＮＧＩＳＮＨＫＮＰＲＬＡＲＭＬＴＦＫＦＹＭＰＥＫＡＴＥＬＫＨＬＱＣＬＥＥＥ
ＬＫＰＬＥＥＡＬＲＬＡＰＳＫＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＤＩＮＶＩＶＬＥＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣ
ＥＹＡＤＥＴＡＴＩＶＥＦＩＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴ（配列番号１９）の配列を含む。

【０１９９】

一部の実施形態では、本明細書に記載したＩＬ－２ムテイン配列は、当該ＩＬ－２リーダー配列を含まない。当該ＩＬ－２リーダー配列は、ＭＹＲＭＱＬＬＳＣＩＡＬＳＬＡＬＶＴＮＳ（配列番号２０）の配列で表すことができる。したがって、一部の実施形態では、上記に例示した配列は、リーダー配列を持たないペプチドも含むことができる。配列番号１６～２０は、配列番号１５に対応する位置７３、７６、１００、または、１３８の１つで、または、配列番号６に対応する位置５３、５６、８０、または、１１８の１つ以上での突然変異だけを示すが、これらのペプチドは、これらの位置に、１つ、２つ、３つ、または、４つの突然変異を含むことができる。一部の実施形態では、各位置での置換は、イソロイシン、または、その他のタイプの保存的アミノ酸置換である。一部の実施形態では、列挙した位置でのロイシンを、独立して、イソロイシン、バリン、メチオニン、または、フェニルアラニンで置換する。

【０２００】

一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテイン分子は、本明細書に記載したＦｃ領域、または、その他のリンカー領域に融合する。そのような融合タンパク質の例は、本明細書の一部を構成するものとして、それらの全内容を援用する、ＵＳ９５８０４８６、ＵＳ７１０５６５３、ＵＳ９６１６１０５、ＵＳ９４２８５６７、ＵＳ２０１７／００５１０２９、ＷＯ２０１６／１６４９３７、ＵＳ２０１４／０２８６８９８Ａ１、ＷＯ２０１４１５３１１１Ａ２、ＷＯ２０１０／０８５４９５、ＷＯ２０１６０１４４２８Ａ２、ＷＯ２０１６０２５３８５Ａ１、ＵＳ２０１７／００３７１０２、及び、ＵＳ２００６／０２６９５１５に認めることができる。

【０２０１】

一部の実施形態では、当該Ｆｃ領域は、ＬＡＬＡ突然変異と称されるものを含む。当該Ｆｃ領域に対してＫａｂａｔ付番法を使用すると、このものは、Ｌ２４７Ａ、Ｌ２４８Ａ、及び、Ｇ２５０Ａに対応する。一部の実施形態では、当該Ｆｃ領域に対してＥＵ付番法を使用すると、当該Ｆｃ領域は、Ｌ２３４Ａ突然変異、Ｌ２３５Ａ突然変異、及び／または、Ｇ２３７Ａ突然変異を含む。使用する付番法に関係なく、一部の実施形態では、当該Ｆｃ部分は、これらの残基に対応する突然変異を含むことができる。一部の実施形態では、当該Ｆｃ領域は、Ｎ２９７ＧまたはＮ２９７Ａ（Ｋａｂａｔ付番法）突然変異を含む。Ｋａｂａｔ付番法は、全長配列に基づいているが、当該Ｆｃ領域について当業者が使用する従来のアラインメントに基づいた断片で使用する。

【０２０２】

一部の実施形態では、当該Ｆｃ領域は：
ＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＡＡＧＡＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴ

ＣＶ
ＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲ
ＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧ
ＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＥＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷ
Ｅ
ＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶ
ＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧ．（配列番号２１）
または、
ＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴ
ＣＶ
ＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲ
ＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧ
ＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＥＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷ
Ｅ
ＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶ
ＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧ．（配列番号２８）の配列を含む。

【０２０３】

一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、当該Ｆｃ領域に結合している。例として、グリシン／セリンリンカーがあるが、これらに限定されない。例えば、グリシン／セリンリンカーは、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号２２）、または、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号３０）の配列とすることができる。これは単に限定を意図しない例であり、そして、当該リンカーは、様々な数のＧＧＧＧＳ反復（配列番号２３）、または、ＧＧＧＧＡ反復（配列番号２９）を有することができる。一部の実施形態では、当該リンカーは、１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つ、８つ、９つ、または、１０個のＧＧＧＧＳ反復（配列番号２３）、または、ＧＧＧＧＡ反復（配列番号２９）反復を含む。

【０２０４】

したがって、当該ＩＬ－２／Ｆｃ融合体は、Z_{IL-2M}－L_{gs}－Z_{Fc}の式で表すことができ、式中、Z_{IL-2M}は、本明細書に記載したＩＬ－２ムテインであり、L_{gs}は、本明細書に記載したリンカー配列（例えば、グリシン／セリンリンカー）であり、及び、Z_{Fc}は、本明細書に記載した、または、当業者に公知のＦｃ領域である。一部の実施形態では、当該式は、逆方向のZ_{Fc}－L_{gs}－Z_{IL-2M}とすることができる。

【０２０５】

一部の実施形態では、当該ＩＬ－２／Ｆｃ融合体は、
ＭＹＲＭＱＬＬＳＣＩＡＬＳＬＡＬＶＴＮＳＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬＤ
Ｌ
ＱＭＩＬＮＧＩＳＮＨＫＮＰＲＬＡＲＭＬＴＦＫＦＹＭＰＥＫＡＴＥＩＫＨＬＱＣＬＥＥ
Ｅ
ＬＫＰＬＥＥＡＬＲＬＡＰＳＫＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＤＩＮＶＩＶＬＥＬＫＧＳＥＴＴ
ＦＭＣ
ＥＹＡＤＥＴＡＴＩＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧ
ＧＧ
ＳＧＧＧＧＳＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＡＡＧＡＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳ
ＲＴ
ＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱ
ＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴ
ＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＥＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳ
ＤＩ
ＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷ
ＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧ（配列番号２４）

MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDL
QMILNGISNHKNPRLARMLTFKFYMPEKATELKHIQCLEEE
LKPLEEALRLAPSKNFHLRPRDLISDINVIVLELKGSETTF
MC
EYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGGGSGGGGSGGG
GG
SGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISR
T
PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DI
AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG（配列番号２５）
MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDL
QMILNGISNHKNPRLARMLTFKFYMPEKATELKHLQCLEEE
LKPLEEALRLAPSKNFHIRPRDLISDINVIVLELKGSETTF
MC
EYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGGGSGGGGSGGG
GG
SGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISR
T
PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DI
AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG（配列番号２６）
MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDL
QMILNGISNHKNPRLARMLTFKFYMPEKATELKHLQCLEEE
LKPLEEALRLAPSKNFHLRPRDLISDINVIVLELKGSETTF
MC
EYADETATIVEFINRWITFSQSIISTLTGGGGSGGGGSGG
GGS
GGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISR
TP
EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
S
KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
A
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG（配列番号２７）、の配列を含む。

【０２０６】
一部の実施形態では、当該ＩＬ－２／Ｆｃ融合体は、以下の表、表２から選択される配列を含む：
【表２】

表２：ＩＬ－２／Ｆｃ融合体タンパク質アミノ酸配列

配列の識別	配列
配列番号７	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMIL NGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISRINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFS QSIISTLTGGGGAGGGGDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
配列番号８	APTSSSTKKTQLQLEHLLLHLQMIL NGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFS QSIISTLTVECPPCPAPPVAGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK

【表３】

配列の識別	配列
配列番号９	A P T S S S T K K T Q L Q L E H L L L D L Q M I L N G I N N Y K N P K L T R M L T F K F Y M P K K A T E L K H L Q C L E E E L K P L E E V L N L A Q S K N F H L R P R D L I S R I N V I V L E L K G S E T T F M C E Y A D E T A T I V E F L N R W I T F S Q S I I S T L T D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y A S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G
配列番号１０	A P T S S S T K K T Q L Q L E H L L L D L Q M I L N G I N N Y K N P K L T R M L T F K F Y M P K K A T E L K H L Q C L E E E L K P L E E V L N L A Q S K N F H L R P R D L I S R I N V I V L E L K G S E T T F M C E Y A D E T A T I V E F L N R W I T F S Q S I I S T L T G G G G S D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y A S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G

【表４】

配列の識別	配列
配列番号１１	A P T S S S T K K T Q L Q L E H L L L D L Q M I L N G I N N Y K N P K L T R M L T F K F Y M P K K A T E L K H L Q C L E E E L K P L E E V L N L A Q S K N F H L R P R D L I S R I N V I V L E L K G S E T T F M C E Y A D E T A T I V E F L N R W I T F S Q S I I S T L T G G G G S G G G G S D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y A S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G
配列番号１２	A P T S S S T K K T Q L Q L E H L L L D L Q M I L N G I N N Y K N P K L T R M L T F K F Y M P K K A T E L K H L Q C L E E E L K P L E E V L N L A Q S K N F H L R P R D L I S R I N V I V L E L K G S E T T F M C E Y A D E T A T I V E F L N R W I T F S Q S I I S T L T G G G G S G G G G S G G G G S D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y A S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N Y H T Q K S L S L S P G

【表５】

配列の識別	配列
配列番号１３	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMIL NGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISRINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFS QSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG
配列番号１４	APTSSSTKKTQLQLEHLLLHLQMIL NGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFS QSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYA STYPVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

【０２０７】

一部の実施形態では、当該ＩＬ－２ムテインは、一部の実施形態では、その他のタンパク質またはリンカーと融合したＩＬ－２ムテインを示す、以下の表に示す配列の１つ以上を含む。この表は、ＩＬ－２を融合できる様々なＦｃドメインまたは変異体の配列も示す：

【表６】

配列番号	簡単な説明	アミノ酸配列
３１	Ｃ１２５Ｓ突然変異を有するヒトＩＬ－２	ＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬ ＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲ ＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱ ＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＶＬＮＬＡＱＳＫ ＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＮＩＮＶＩＶＬＥ ＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩ ＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴ
３２	Ｃ１２５Ｓ及びＴ３Ａ突然変異を有するヒトＩＬ－２	ＡＰＡＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬ ＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲ ＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱ ＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＶＬＮＬＡＱＳＫ ＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＮＩＮＶＩＶＬＥ ＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩ ＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴ
３３	Ｎ８８Ｒ及びＣ１２５Ｓを有するヒトＩＬ－２	ＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬ ＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲ ＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱ ＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＶＬＮＬＡＱＳＫ ＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＲＩＮＶＩＶＬＥ ＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩ ＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴ
３４	Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ及びＣ１２５Ｓ突然変異を有するヒトＩＬ－２	ＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬ ＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲ ＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱ ＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＡＬＮＬＡＰＳＫ ＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＮＩＮＶＩＶＬＥ ＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩ ＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴ
３５	Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ、Ｎ８８Ｄ、及びＣ１２５Ｓ突然変異を有するヒトＩＬ－２	ＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬ ＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲ ＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱ ＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＡＬＮＬＡＰＳＫ ＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＤＩＮＶＩＶＬＥ ＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩ ＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴ
３６	Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ、Ｎ８８Ｒ、及	ＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬ ＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲ

【表７】

	び、Ｃ１２５Ｓ突然変異を有するヒトＩＬ－２	ＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱ ＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＡＬＮＬＡＰＳＫ ＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＲＩＮＶＩＶＬＥ ＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩ ＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴ
３７	Ｎ８８Ｄ、及び、Ｃ１２５Ｓを有するヒトＩＬ－２	ＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬ ＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲ ＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱ ＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＶＬＮＬＡＱＳＫ ＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＤＩＮＶＩＶＬＥ ＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩ ＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴ
３８	Ｌ５３Ｉ、Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ、Ｎ８８Ｄ、及び、Ｃ１２５Ｓ突然変異を有するヒトＩＬ－２	ＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬ ＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲ ＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＩＫＨＬＱ ＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＡＬＮＬＡＰＳＫ ＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＤＩＮＶＩＶＬＥ ＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩ ＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴ
３９	Ｌ５６Ｉ、Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ、Ｎ８８Ｄ、及び、Ｃ１２５Ｓ突然変異を有するヒトＩＬ－２	ＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬ ＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲ ＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＩＱ ＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＡＬＮＬＡＰＳＫ ＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＤＩＮＶＩＶＬＥ ＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩ ＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴ
４０	Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ、Ｌ８０Ｉ、Ｎ８８Ｄ、及び、Ｃ１２５Ｓ突然変異を有するヒトＩＬ－２	ＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬ ＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲ ＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱ ＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＡＬＮＬＡＰＳＫ ＮＦＨＩＲＰＲＤＬＩＳＤＩＮＶＩＶＬＥ ＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩ ＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴ
４１	Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ、Ｎ８８Ｄ、Ｌ１１８Ｉ、及び、Ｃ１２５Ｓ突然変異を有するヒトＩＬ－２	ＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬ ＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲ ＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱ ＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＡＬＮＬＡＰＳＫ ＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＤＩＮＶＩＶＬＥ ＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤｘ｀ＥＴＡ ＴＩＶＥＦＩＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴ ＬＴ

【表８】

４２	Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、及び、Ｇ２３７Ａ突然変異を有するヒトＩｇＧ１　Ｆｃ　（Ｎ－末端融合体）	ＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＡＡＧＡＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＥＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧ
３０	ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳリンカー（１５アミノ酸）	ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ
２２	ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧ（２０アミノ酸）	ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ
２３	ＧＧＧＧＳ　リンカー（５アミノ酸）	ＧＧＧＧＳ
４３	Ｎ２９７Ｇ突然変異を有するヒトＩｇＧ１　Ｆｃ（欠失した）	ＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＧＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＥＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧ
４４	抗体重鎖ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３ドメイン（Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、及び、Ｇ２３７Ａを有するヒトＩｇＧ	ＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱＴＹＩＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡ

10　20　30　40

【表９】

	１）	P E A A G A P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G
４５	抗体Ｋａｐｐａ定常ドメイン（ヒト）	R T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C
４６	ＩＬ－２－Ｇ４Ｓｘ３－Ｆｃ	A P T S S S T K K T Q L Q L E H L L L D L Q M I L N G I N N Y K N P K L T R M L T F K F Y M P K K A T E L K H L Q C L E E E L K P L E E V L N L A Q S K N F H L R P R D L I S N I N V I V L E L K G S E T T F M C E Y A D E T A T I V E F L N R W I T F S Q S I I S T L T G G G G S G G G G S G G G G S D K T H T C P P C P A P E A A G A P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G

【表１０】

４７	ＩＬ－２　Ｔ３Ａ－Ｇ４Ｓｘ３－Ｆｃ	ＡＰＡＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬ ＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲ ＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱ ＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＶＬＮＬＡＱＳＫ ＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＮＩＮＶＩＶＬＥ ＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩ ＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴ ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＤＫＴＨ ＴＣＰＰＣＰＡＰＥＡＡＧＡＰＳＶＦＬＦ ＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶ ＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧ ＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹ ＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹ ＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫ ＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＥＥ ＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤ ＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰ ＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫ ＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨ ＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧ
４８	ＩＬ－２　Ｎ８８Ｒ－Ｇ４Ｓｘ３－Ｆｃ	ＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬ ＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲ ＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱ ＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＶＬＮＬＡＱＳＫ ＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＲＩＮＶＩＶＬＥ ＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩ ＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴ ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＤＫＴＨ ＴＣＰＰＣＰＡＰＥＡＡＧＡＰＳＶＦＬＦ ＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶ ＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧ ＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹ ＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹ ＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫ ＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＥＥ ＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤ ＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰ ＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫ ＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨ ＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧ

【表１１】

４９	ＩＬ－２　Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ、－Ｇ４Ｓｘ３－Ｆｃ	ＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬ ＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲ ＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱ ＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＡＬＮＬＡＰＳＫ ＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＮＩＮＶＩＶＬＥ ＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩ ＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴ ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＤＫＴＨ ＴＣＰＰＣＰＡＰＥＡＡＧＡＰＳＶＦＬＦ ＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶ ＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧ ＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹ ＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹ ＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫ ＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＥＥ ＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤ ＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰ ＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫ ＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨ ＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧ
５０	ＩＬ－２　Ｎ８８Ｄ　Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ－Ｇ４Ｓｘ３－Ｆｃ	ＡＰＴＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬ ＤＬＱＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲ ＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱ ＣＬＥＥＥＬＫＰＬＥＥＡＬＮＬＡＰＳＫ ＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＤＩＮＶＩＶＬＥ ＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩ ＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴ ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＤＫＴＨ ＴＣＰＰＣＰＡＰＥＡＡＧＡＰＳＶＦＬＦ ＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶ ＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧ ＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹ ＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹ ＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫ ＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＥＥ ＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤ ＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰ ＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫ ＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨ

【表１２】

		N H Y T Q K S L S L S P G
５１	I L－２　N８８ R　V６９A、Q ７４P－G４S x ３－F c	A P T S S S T K K T Q L Q L E H L L L D L Q M I L N G I N N Y K N P K L T R M L T F K F Y M P K K A T E L K H L Q C L E E E L K P L E E A L N L A P S K N F H L R P R D L I S R I N V I V L E L K G S E T T F M C E Y A D E T A T I V E F L N R W I T F S Q S I I S T L T G G G G S G G G G S G G G G S D K T H T C P P C P A P E A A G A P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G
５２	I L－２　N８８ D－G４S x ３－ F c	A P T S S S T K K T Q L Q L E H L L L D L Q M I L N G I N N Y K N P K L T R M L T F K F Y M P K K A T E L K H L Q C L E E E L K P L E E V L N L A Q S K N F H L R P R D L I S D I N V I V L E L K G S E T T F M C E Y A D E T A T I V E F L N R W I T F S Q S I I S T L T G G G G S G G G G S G G G G S D K T H T C P P C P A P E A A G A P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K

【表１３】

		S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G
５３	I L－２ L５３ I N８８D V ６９A、Q７４P、 C１２５S－G４ S x４－F c	A P T S S S T K K T Q L Q L E H L L L D L Q M I L N G I N N Y K N P K L T R M L T F K F Y M P K K A T E I K H L Q C L E E E L K P L E E A L N L A P S K N F H L R P R D L I S D I N V I V L E L K G S E T T F M C E Y A D E T A T I V E F L N R W I T F S Q S I I S T L T G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S D K T H T C P P C P A P E A A G A P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G
５４	I L－２ L５６ I N８８D V ６９A、Q７４P、 C１２５S － G４S x４－F c	A P T S S S T K K T Q L Q L E H L L L D L Q M I L N G I N N Y K N P K L T R M L T F K F Y M P K K A T E L K H I Q C L E E E L K P L E E A L N L A P S K N F H L R P R D L I S D I N V I V L E L K G S E T T F M C E Y A D E T A T I V E F L N R W I T F S Q S I I S T L T G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S D K T H T C P P C P A P E A A G A P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N

【表１４】

		YKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
５５		APTSSSTKKTQLQLEHLLL DLQMILNGINNYKNPKLTR MLTFKFYMPKKATELKHLQ CLEEELKPLEEALNLAPSK NFHIRPRDLISDINVIVLE LKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITFSQSIISTLT GGGGSGGGGSGGGGSGGGG SDKTHTCPPCPAPEAAGAP SVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLP PSREEMTKNQVSLTCLVKG
	ＩＬ－２　Ｌ８０Ｉ　Ｎ８８Ｄ　Ｖ６９Ａ、Ｃ１２５Ｓ　Ｑ７４Ｐ－Ｇ４Ｓｘ４－Ｆｃ	FYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
５６		APTSSSTKKTQLQLEHLLL DLQMILNGINNYKNPKLTR MLTFKFYMPKKATELKHLQ CLEEELKPLEEALNLAPSK NFHLRPRDLISDINVIVLE LKGSETTFMCEYADETATI VEFINRWITFSQSIISTLT GGGGSGGGGSGGGGSGGGG SDKTHTCPPCPAPEAAGAP SVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLP PSREEMTKNQVSLTCLVKG
	ＩＬ－２　Ｌ１１８Ｉ　Ｎ８８ＤＶ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ、Ｃ１２５Ｓ－Ｇ４Ｓｘ４－Ｆｃ	WYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLP PSREEMTKNQVSLTCLVKG

【表１５】

		F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G
５７	ＩＬ－２　Ｎ８８Ｄ　Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ－Ｇ４Ｓｘ４－Ｆｃ	A P T S S S T K K T Q L Q L E H L L L D L Q M I L N G I N N Y K N P K L T R M L T F K F Y M P K K A T E L K H L Q C L E E E L K P L E E A L N L A P S K N F H L R P R D L I S D I N V I V L E L K G S E T T F M C E Y A D E T A T I V E F L N R W I T F S Q S I I S T L T G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S D K T H T C P P C P A P E A A G A P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G
５８	Ｆｃ－Ｇ４Ｓ－ＩＬ－２　Ｎ８８ＤＶ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ	D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y G S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G G G G G S A P T S S S T K K T Q L Q L E H L L L D L Q M I L N G I N N Y K N P K L T R M L T F K F Y M P K K A T E L K

【表１６】

		HLQCLEEELKPLEEALNLA PSKNFHLRPRDLISDINVI VLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIIS TLT
５９	ＩＬ－２　Ｎ８８Ｄ　Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ、Ｃ１２５Ｓ－Ｇ４Ｓｘ４－Ｆｃ、式中、X_1、　X_2、X_3、及び、X_4の少なくとも１つが、Ｉであり、かつ、残りが、ＬまたはＩである。	APTSSSTKKT0L0LEHLL LDL0MILNGINNYKNPKL TRMLTFKFYMPKKATEX1 KHX20CLEEELKPLEEAL NLAPSKNFHX3RPRDLIS DINVIVLELKGSETTFMC EYADETATIVEFX4NRWI TFS0SIISTLTGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSDKTHT CPPCPAPEAAGAPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREE0YN STYRVVSVLTVLH0DWLN GKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKG0PREP0VYTL PPSREEMTKN0VSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNG0P ENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRW00GNVF SCSVMHEALHNHYT0KSL SLSPG
６０	ＩＬ－２　Ｎ８８Ｄ　Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ、Ｃ１２５Ｓ、式中、X_1、X_2、X_3、及び、X_4の少なくとも１つが、Ｉであり、かつ、残りが、ＬまたはＩである。	APTSSSTKKT0L0LEHLL LDL0MILNGINNYKNPKL TRMLTFKFYMPKKATEX1 KHX20CLEEELKPLEEAL NLAPSKNFHX3RPRDLIS DINVIVLELKGSETTFMC EYADETATIVEFX4NRWI TFS0SIISTLT

【０２０８】

一部の実施形態では、これらの表または全文に示した配列は、位置Ｌ５３、Ｌ５６、Ｌ８０、及び、Ｌ１１８に対応する１つ以上の突然変異を含む、または、含まない。一部の

実施形態では、当該表または本願全体に示した配列は、位置Ｌ５９Ｉ、Ｌ６３Ｉ、Ｉ２４Ｌ、Ｌ９４Ｉ、Ｌ９６Ｉ、または、Ｌ１３２Ｉ、または、同じ位置でのその他の置換に対応する１つ以上の突然変異を含む、または、含まない。一部の実施形態では、当該突然変異は、ロイシンからイソロイシンである。一部の実施形態では、当該ムテインは、本明細書で示した、または、記載した以外の別の突然変異を含まない。一部の実施形態では、当該ペプチドは、配列番号３１、配列番号３２、配列番号３３、配列番号３４、配列番号３５、配列番号３６、配列番号３７、配列番号３８、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号５４、配列番号５５、または、配列番号５６、配列番号５７、配列番号５８、配列番号５９、または、配列番号６０の配列を含む。

【０２０９】

一部の実施形態では、当該タンパク質は、本明細書で提供するＩＬ－２ムテインを含む。一部の実施形態では、配列番号５９または配列番号６０を含むポリペプチドを提供しており、式中、X_1、X_2、X_3、及び、X_4の少なくとも１つがＩであり、かつ、残りが、ＬまたはＩである。一部の実施形態では、X_1、X_2、及び、X_3はＬであり、かつ、X_4は、Ｉである。一部の実施形態では、X_1、X_2、及び、X_4はＬであり、かつ、X_3は、Ｉである。一部の実施形態では、X_2、X_3、及び、X_4はＬであり、かつ、X_1は、Ｉである。一部の実施形態では、X_1、X_3、及び、X_4はＬであり、かつ、X_2は、Ｉである。一部の実施形態では、X_1及びX_2はＬであり、かつ、X_3及びX_4は、Ｉである。一部の実施形態では、X_1及びX_3はＬであり、かつ、X_2及びX_4は、Ｉである。一部の実施形態では、X_1及びX_4はＬであり、かつ、X_2及びX_3は、Ｉである。一部の実施形態では、X_2及びX_3はＬであり、かつ、X_1及びX_4は、Ｉである。一部の実施形態では、X_2及びX_4はＬであり、かつ、X_1及びX_3は、Ｉである。一部の実施形態では、X_3及びX_4はＬであり、かつ、X_1及びX_2は、Ｉである。一部の実施形態では、X_1、X_2、及び、X_3はＬであり、かつ、X_4は、Ｉである。一部の実施形態では、X_2、X_3、及び、X_4はＬであり、かつ、X_1は、Ｉである。一部の実施形態では、X_1、X_3、及び、X_4はＬであり、かつ、X_2は、Ｉである。一部の実施形態では、X_1、X_2、及び、X_4はＬであり、かつ、X_3は、Ｉである。

【０２１０】

一部の実施形態では、当該融合体のＦｃ部分は含まない。一部の実施形態では、当該ペプチドは、本明細書で提供するＩＬ－２ムテインから本質的になる。一部の実施形態では、当該タンパク質は、Ｆｃ部分を含まない。

【０２１１】

例示だけの目的で、Ｆｃと標的部分とで融合したＩＬ－２ムテインの実施形態を、図１９に示す。

【０２１２】

これらの配列は、例示だけを目的としており、限定は意図していない。一部の実施形態では、当該化合物は、配列番号５３、５４、５５、または、５６のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、当該化合物は、配列番号５３、５４、５５、または、５６のアミノ酸配列を含み、Ｃ１２５ＡまたはＣ１２５Ｓ突然変異を含む、または、含まない。一部の実施形態では、１２５位の残基は、Ｃ、Ｓ、または、Ａである。一部の実施形態では、当該化合物は、配列番号５９または配列番号６０のアミノ酸配列を含み、式中、X_1、X_2、X_3、及び、X_4の少なくとも１つがＩであり、かつ、残りが、ＬまたはＩである。一部の実施形態では、当該タンパク質は、本明細書で提供するＩＬ－２ムテインを含む。一部の実施形態では、配列番号５９または配列番号６０を含むポリペプチドを提供しており、式中、X_1、X_2、X_3、及び、X_4の少なくとも１つがＩであり、かつ、残りが、ＬまたはＩである。一部の実施形態では、X_1、X_2、及び、X_3はＬであり、かつ、X_4は、Ｉである。一部の実施形態では、X_1、X_2、及び、X_4はＬであり、かつ、X_3は、Ｉである。一部の実施形態では、X_2、X_3、及び、X_4はＬであり、かつ、X_1は、

Ｉである。一部の実施形態では、X_1、X_3、及び、X_4はＬであり、かつ、X_2は、Ｉである。一部の実施形態では、X_1及びX_2はＬであり、かつ、X_3及びX_4は、Ｉである。一部の実施形態では、X_1及びX_3はＬであり、かつ、X_2及びX_4は、Ｉである。一部の実施形態では、X_1及びX_4はＬであり、かつ、X_2及びX_3は、Ｉである。一部の実施形態では、X_2及びX_3はＬであり、かつ、X_1及びX_4は、Ｉである。一部の実施形態では、X_2及びX_4はＬであり、かつ、X_1及びX_3は、Ｉである。一部の実施形態では、X_3及びX_4はＬであり、かつ、X_1及びX_2は、Ｉである。一部の実施形態では、X_1、X_2、及び、X_3はＬであり、かつ、X_4は、Ｉである。一部の実施形態では、X_2、X_3、及び、X_4はＬであり、かつ、X_1は、Ｉである。一部の実施形態では、X_1、X_3、及び、X_4はＬであり、かつ、X_2は、Ｉである。一部の実施形態では、X_1、X_2、及び、X_4はＬであり、かつ、X_3は、Ｉである。

【０２１３】

また、本明細書で提供するそれぞれのタンパク質を、Ｃ１２５Ｓ、及び、ＬＡＬＡ、及び／または、Ｇ２３７Ａ変異を有するものとして見なし得る。また、本願を通して説明するように、当該Ｃ１２５置換を、Ｃ１２５Ａとすることができる。

【０２１４】

実施形態では、ＩＬ－２ムテイン分子は、天然に存在するヒトＩＬ－２分子、例えば、本明細書で開示した天然に存在するＩＬ－２配列、または、本明細書の一部を構成するものとして援用する配列と、少なくとも６０、７０、８０、８５、９０、９５、または、９７％の配列同一性または相同性を含む。

【０２１５】

本明細書に記載したように、当該ＩＬ－２ムテインは、当該ＩＬ－２ムテインを、ＭＡｄＣＡＭ発現細胞を標的とするＭＡｄＣＡＭ抗体など、結合部分を有する二重特異性分子の一部とすることができる。本明細書に記載したように、当該二重特異性分子は、２つのポリペプチド鎖から生成し得る。一部の実施形態では、以下のもの使用することができる：

【表１７】

ＭＡｄＣＡＭ－ＩＬ－２　ムテイン二重特異性化合物の表						
	鎖１　Ｎ末端からＣ末端の分子成分の配列番号				鎖２　Ｎ末端からＣ末端の分子成分の配列番号	
詳細	抗体ＶＨドメイン	抗体重鎖ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３ドメイン	リンカー１	Ｃ末端部分	軽鎖ＶＫドメイン	軽鎖ＣＫドメイン
１．抗－ＭＡｄＣａｍ－Ｆｃ－ＩＬ－２　Ｎ８８Ｄ　Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ	ラット抗－ＭＡｄＣａｍ－ＶＨ１	配列番号４４	配列番号２３	配列番号３５	ラット抗ＭＡｄＣａｍ－ＶＫ１	配列番号４５
２．抗－ＭＡｄＣａｍ－Ｆｃ－ＩＬ－２　Ｎ８８Ｄ　Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ	ラット抗－ＭＡｄＣａｍ－ＶＨ２	配列番号４４	配列番号２３	配列番号３５	ラット抗ＭＡｄＣａｍ－ＶＫ２	配列番号４５
３．抗－ＭＡｄＣａｍ－Ｆｃ－ＩＬ－２　Ｌ１１８Ｉ　Ｎ８８Ｄ　Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ	ラット抗－ＭＡｄＣａｍ－ＶＨ１	配列番号４４	配列番号２３	配列番号４１	ラット抗ＭＡｄＣａｍ－ＶＫ３	配列番号４５
４．ＴＴＪ２－Ｆｃ－ＩＬ－２　Ｌ１１８Ｉ　Ｎ８８Ｄ　Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ	ヒトＴＴＪ２－ＶＨ	配列番号４４	配列番号２３	配列番号４１	ヒトＴＴＪ２－ＶＫ	配列番号４５
５．抗－ｈｕ．ＭＡｄＣＡＭ－	抗－ＭＡｄＣａｍ	配列番号４４	配列番号２３	配列番号４１	抗ＭＡｄＣａｍ　ヒ	配列番号４５

【表１８】

Ｆｃ－ＩＬ－２Ｌ１１８Ｉ　Ｎ８８ＤＶ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ	ヒトＶＨ３				トＶＫ３	
６．抗－ｈｕ．ＭＡｄＣＡＭ－Ｆｃ－ＩＬ－２Ｌ１１８Ｉ　Ｎ８８ＤＶ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ	抗－ＭＡｄＣａｍヒトＶＨ４	配列番号４４	配列番号２３	配列番号４１	抗ＭＡｄＣａｍヒトＶＫ４	配列番号４５
７．抗－ｈｕ．ＭＡｄＣＡＭ－Ｆｃ－ＩＬ－２Ｌ１１８Ｉ　Ｎ８８Ｄ　Ｖ６９Ａ、　Ｑ７４Ｐ	抗－ＭＡｄＣａｍヒトＶＨ５	配列番号４４	配列番号２３	配列番号４１	抗ＭＡｄＣａｍヒトＶＫ５	配列番号４５

【０２１６】

これらのタンパク質は、当該ＩＬ－２ムテインでのＣ１２５ＡまたはＣ１２５Ｓ突然変異の有無に関係なく、生産することができる。含めることができるＩＬ－２ムテインの例として、配列番号５９または配列番号６０の配列などを本明細書で示しているが、これらに限定されない。

【０２１７】

一部の実施形態では、当該軽鎖のいずれかにおける定常ｋａｐｐａドメインを、定常ｌａｍｂｄａドメインに置換することができる。

【０２１８】

ＧＩＴＲバインダー

ＧＩＴＲ（ＣＤ３５７）は、Ｔｒｅｇに存在する細胞表面マーカーである。当該ＧＩＴＲ－ＧＩＴＲＬ相互作用のブロックは、Ｔｒｅｇ機能を維持する。一部の実施形態では、治療化合物は、ＧＩＴＲ発現Ｔｒｅｇ細胞に結合するＩＩＣ結合実体と、当該治療化合物を目的の標的組織に向かわせる標的部分とを含む。

【０２１９】

一部の実施形態では、治療化合物は、ＧＩＴＲＬに対するＧＩＴＲの結合を阻害する抗ＧＩＴＲ抗体分子、例えば、抗ＧＩＴＲ抗体分子を含む。

【０２２０】

一部の実施形態では、治療化合物は、抗ＧＩＴＲ抗体分子、ＧＩＴＲＬに対するＧＩＴＲの結合を阻害する抗ＧＩＴＲ抗体分子、及び、ＰＤ－１アゴニスト、ＩＬ－２ムテイン分子、または、本明細書に記載したその他のエフェクターを含む。

【０２２１】

理論に縛られることを望むものではないが、ＧＩＴＲバインダーを含む当該治療化合物は、当該治療化合物の標的部分が標的とする部位、例えば、移植、または、臓器損傷部位

でのＧＩＴＲ発現Ｔｒｅｇの蓄積をもたらす、と考えられる。
【０２２２】
ブチロフィリン／ブチロフィリン様分子
エフェクター結合／調節部分は、作動性ＢＴＮＬ２分子を含むことができる。理論に縛られることを望むものではないが、作動性ＢＴＮＬ２分子は、Ｔｒｅｇ細胞を誘導する、と考えられる。
【０２２３】
本明細書で使用する用語、作動性ＢＴＮＬ２分子とは、治療化合物の一部として、Ｔｒｅｇ細胞を誘導するに十分なＢＴＮＬ２配列を有するポリペプチドのことを指す。一部の実施形態では、ＢＴＮＬ２分子は、天然に存在するブチロフィリンと、少なくとも６０、７０、８０、９０、９５、９９、または、１００％の配列同一性、または、実質的な配列同一性を有する。
【０２２４】
一部の実施形態では、エフェクター結合／調節部分は、拮抗性ＢＴＮＬ８分子である。
【０２２５】
ＳＭ結合／調節部分を含む治療化合物：局所微小環境での操作
治療化合物は、例えば、当該標的の近傍に、当該標的の免疫系による攻撃を阻害または最小化する、本明細書でＳＭ結合／調節部分と称する物質を提供することで、免疫抑制性局所微小環境を促すエフェクター結合／調節部分を含むことができる。
【０２２６】
一部の実施形態では、当該ＳＭ結合／調節部分は、当該標的の免疫系による攻撃を阻害または最小化する分子（本明細書では、ＳＭ結合／調節部分と称する）を含む。一部の実施形態では、治療化合物は、可溶性物質、例えば、免疫抑制性機能を有する内因性または外因性物質に結合及び蓄積するＳＭ結合／調節部分を含む。一部の実施形態では、治療化合物は、一般的には、可溶性物質、及び、内因性可溶性物質を結合、阻害、隔離、分解、または、さもなければ、中和するＳＭ結合／調節部分、例えば、ＣＤ３９分子、または、ＣＤ７３分子、または、アルカリホスファターゼ分子、例えば、ＣＤ３９分子またはアルカリホスファターゼ分子の事例ではＡＴＰ、そして、ＣＤ７３分子の事例ではＡＭＰを含み、それらは、免疫攻撃を促す。一部の実施形態では、治療化合物は、免疫抑制性物質、免疫抑制性物質を含むＳＭ結合／調節部分、例えば、免疫抑制性のタンパク質の断片を含む。
【０２２７】
ＩＣＳＭ結合／調節部分を含む治療化合物：刺激の阻害、例えば、免疫細胞の共刺激の阻害
治療化合物は、刺激、例えば、共刺激結合ペア、例えば、ＯＸ４０、及び、ＯＸ４０Ｌを阻害、または、拮抗するＩＣＳＭ結合／調節部分を含むことができる。当該ＩＣＳＭ結合／調節部分は、当該ペアのいずれかのメンバーに結合して拮抗することができる。
【０２２８】
一実施形態では、当該ＩＣＳＭ結合／調節部分は、刺激性、例えば、共刺激性結合ペアのいずれかのメンバーに結合して、拮抗する抗体分子を含む。一実施形態では、当該ＩＣＳＭ結合／調節部分は、当該結合ペアのメンバーの１つの拮抗性類似体を含む。そのような実施形態では、当該ＩＣＳＭ結合／調節部分は、他方に結合するメンバーの一方の可溶性断片を含むことができる。一般的には、当該類似体は、当該ペアの標的メンバーに結合する天然に存在するメンバーと、少なくとも５０、６０、７０、８０、９０、９５、または、９８％の相同性または配列同一性を有する。免疫細胞の表面に存在するメンバーに結合するＩＣＳＭ結合／調節部分の事例では、一般的に、当該ＩＣＳＭ結合／調節部分は、結合するが、活性化はしない、または、内因性のカウンターメンバーが結合及び活性化することを許容する。
【０２２９】
したがって、例えば、ＯＸ４０免疫細胞メンバー、及び、ＯＸ４０Ｌカウンターメンバ

ーを含む結合ペアの事例では、ＩＣＳＭ結合／調節メンバーは、以下のいずれかを含むことができる：

ａ）ＯＸ４０免疫細胞メンバーに結合し、例えば、内因性ＯＸ４０Ｌカウンターメンバーの結合をブロックすることで、刺激に拮抗する抗体分子；

ｂ）ＯＸ４０Ｌカウンターメンバーに結合し、例えば、ＯＸ４０免疫細胞メンバーに対する内因性ＯＸ４０Ｌカウンターメンバーの効果的な結合をブロックすることで、刺激に拮抗する抗体分子；

ｃ）ＯＸ４０免疫細胞メンバーに結合し、そして、刺激に拮抗する、ＯＸ４０Ｌカウンターメンバーの可溶性断片または類似体；及び

ｃ）ＯＸ４０Ｌカウンターメンバーに結合し、そして、刺激に拮抗する、ＯＸ４０免疫細胞メンバーの可溶性断片または類似体。

【０２３０】

例えば、当該ＩＣＳＭ結合／調節部分、例えば、抗体分子、または、拮抗性類似体、または、カウンターメンバーは、ＣＤ２、ＩＣＯＳ、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ２８、ＬＦＡ１、ＳＬＡＭ、ＴＩＭ１、ＣＤ３０、ＯＸ４０（ＣＤ１３４）、４１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＣＤ２７、ＨＶＥＭ、ＤＲ３、ＧＩＴＲ、ＢＡＦＦＲ、ＴＡＣＩ、ＢＣＭＡ、または、ＣＤ３０、ＣＤ４０に結合することができる。別の実施形態では、当該ＩＣＳＭ結合／調節部分、例えば、抗体分子、または、拮抗性類似体、または、カウンターメンバーは、Ｂ７．１、Ｂ７．２、ＩＣＯＳＬ（Ｂ７－Ｈ２、Ｂ７ＲＰ１）、ＬＦＡ３、ＣＤ４８、ＣＤ５８、ＩＣＡＭ１、ＳＬＡＭ、ＴＩＭ４、ＣＤ４０、ＣＤ３０Ｌ、ＯＸ４０Ｌ（ＣＤ２５２）、４１ＢＢＬ（ＣＤ１３７Ｌ）、ＣＤ７０、ＬＩＧＨＴ、ＴＬ１Ａ、ＧＩＴＲＬ、ＢＡＦＦ、ＡＰＲＩＬ、または、ＣＤ３０、ＣＤ４０Ｌに結合することができる。

【０２３１】

一部の実施形態では、当該ＩＣＳＭ結合／調節分子は、免疫細胞に存在する活性化または共刺激性分子、例えば、共刺激性分子に結合及び拮抗し、または、カウンターメンバーに結合して、当該カウンターメンバーが、当該免疫細胞に存在する当該共刺激性分子の活性化を妨げる。一部の実施形態では、当該ＩＣＳＭは、拮抗性抗体分子、例えば、免疫細胞の共刺激性分子に結合し、または、当該ＩＣＳＭのカウンターメンバーに結合し、当該免疫細胞に存在する当該共刺激性分子の活性化を妨げ、その結果、当該共刺激性分子の活性を阻害する抗体分子を含む。一部の実施形態では、当該ＩＣＳＭは、拮抗性カウンター分子、例えば、当該共刺激性分子に結合し、その結果、当該共刺激性分子活性を阻害する分子の断片を含む。

【０２３２】

一部の実施形態では、結合ペアの一方のメンバーは、免疫細胞、例えば、Ｔ、Ｂ、または、ＮＫ細胞または樹状細胞の表面にあり、その一方で、当該カウンターメンバーは、別の免疫細胞、または、樹状細胞などのＡＰＣ、または、平滑細胞などの非免疫細胞、または、内皮細胞にある。

【０２３３】

以下の表で、共刺激性分子とカウンター構造のペアの例を示すが、これらに限定されない。

【表１９】

表２：共刺激分子、及び、カウンター構造ペア	
共刺激分子（例えば、Ｔ細胞での）	カウンター構造
ＣＤ２８	Ｂ７．１またはＢ７．２
ＩＣＯＳ	ＩＣＯＳＬ（Ｂ７Ｈ－２、Ｂ７ＲＰ１）
ＣＤ２	ＬＦＡ３、ＣＤ４８、ＣＤ５８
ＬＦＡ１	ＩＣＡＭ１
ＳＬＡＭ	ＳＬＡＭ
ＴＩＭ１	ＴＩＭ４
ＣＤ４０Ｌ	ＣＤ４０
ＣＤ３０	ＣＤ３０Ｌ
ＯＸ４０／ＣＤ１３４	ＯＸ４０Ｌ（ＣＤ２５２）
４１ＢＢ／ＣＤ１３７	４１ＢＢＬ（ＣＤ１３７Ｌ）
ＣＤ２７	ＣＤ７０
ＨＶＥＭ	ＬＩＧＨＴ
ＤＲ３	ＴＬ１Ａ
ＧＩＴＲ	ＧＩＴＲＬ
共刺激分子（例えば、Ｂ細胞での）	カウンター構造
ＢＡＦＦＲ	ＢＡＦＦ
ＴＡＣＩ	ＢＡＦＦ及びＡＰＲＩＬ
ＢＣＭＡ	ＢＡＦＦ及びＡＰＲＩＬ
ＣＤ４０	ＣＤ４０Ｌ
ＣＤ３０Ｌ	ＣＤ３０

【０２３４】

ドナー組織

本明細書に記載した治療化合物及び方法は、対象へのドナー組織の移植と併用することができ、ドナー移植組織の拒絶を最小限に抑え、免疫エフェクター細胞を介した損傷を最小限に抑え、ドナー移植組織の受容を延長し、または、機能寿命を延長することができる。当該組織を、異種移植組織、または、同種移植組織とすることができる。移植した組織は、例えば、肝臓、腎臓、心臓、膵臓、胸腺、皮膚、または、肺の臓器のすべて、または、一部を含むことができる。実施形態では、本明細書に記載の治療化合物は、全身性免疫抑制の必要性を低減または解消する。本明細書に記載した治療化合物及び方法は、ＧＶＨＤを処置するために使用することができる。一部の実施形態では、宿主細胞を、エフェクター結合／調節部分として、ＰＤ－Ｌ１分子を含む治療化合物でコーティングする。

【０２３５】

表２に、移植適応の標的分子を示す。標的分子とは、標的部分が結合する標的である。本明細書のその他の箇所で説明するように、一部の実施形態では、ドナー組織に存在し、かつ、対象（レシピエント）で発現しない、または、異なる（例えば、減少または実質的に減少した）レベルで発現する対立遺伝子の産物に結合する標的部分を選択する。

【表２０】

表２：移植適応症の標的分子		
適応症	臓器／細胞型	標的
同種移植片移植組織、例えば、同種移植固形臓器移植、ＧｖＨＤ	すべて	ＨＬＡ－Ａ、ＨＬＡ－Ｂ、ＨＬＡ－Ｃ、ＨＬＡ－ＤＰ、ＨＬＡ－ＤＱ、または、ＨＬＡ－ＤＲ
移植	腎臓	免疫細胞が浸潤している腎臓で発現した抗原、例えば、細管間質領域、例えば、ウロモジュリン、ＳＬＣ２２Ａ２、ＳＬＣ２２Ａ６、　ＦＸＹＤ４、ＳＬＣ５Ａ１０、ＳＬＣ６Ａ１３、　ＡＱＰ６、ＳＬＣ１３Ａ３、ＴＭＥＭ７２、ＢＳＮＤ、ＮＰＲ３、及び、近位、及び、遠位細管上皮、ＯＡＴ１、ＯＣＴ２など、があるがこれらに限定されない。

【０２３６】

自己免疫疾患

本明細書に記載した治療化合物及び方法は、望ましくない自己免疫応答、例えば、１型糖尿病、多発性硬化症、心筋炎、白斑、脱毛症、炎症性腸疾患（ＩＢＤ、例えば、クローン病、または、潰瘍性大腸炎）、シェーグレン症候群、限局性糸球体硬化症（ＦＳＧＳ）、強皮症／全身性硬化症（ＳＳｃ）、または、関節リウマチを有する、または、それらを有するリスクのある対象を処置するために使用することができる。一部の実施形態では、当該処置は、自己免疫攻撃を受けている、または、そのリスクがある対象組織の拒絶を最小化し、免疫エフェクター細胞が媒介する損傷を最小化し、生存を延長する。表３は、幾つかの自己免疫適応症と、臓器／細胞タイプでの標的分子を示している。標的分子は、標的部分が結合する標的である。

【表２１】

表３：自己免疫適応症の標的分子		
適応症	臓器／細胞型	標的分子
１型糖尿病、及び、移植	膵臓／膵島、ベータ細胞	ＳＥＺ６Ｌ２、ＬＲＰ１１、ＤＩＳＰ２、ＳＬＣ３０Ａ８、ＦＸＹＤ２　ＴＳＰＡＮ７　ＴＭＥＭ２７（参照文献Ｈａｌｄ　ｅｔ　ａｌ．２０１２　Ｄｉａｂｅｔｅｌｏｇｉａ　５５：１５４）；ＦＸＹＤ２；ＧＰＲ１１９；ＨＥＰＡＣＡＭ２、ＤＰＰ６、または、ＭＡｄＣＡＭ
多発性硬化症	ＣＮＳ／オリゴデンドロサイトの髄鞘	ＭＯＧ、ＰＬＰ、ＭＢＰ
心筋炎、関節リウマチ	心筋細胞、単球マクロファージ、骨髄性細胞	ＳＩＲＰＡ（ＣＤ１７２ａ）
炎症性腸疾患（潰瘍性大腸炎、クローン病）またはＧＶＨＤ；セリアック病	腸	ＭＡｄＣＡＭ
自己免疫性肝炎（ＡＩＨ）；原発性硬化症胆管炎（ＰＳＣ）；原発性胆汁硬化症（ＰＢＣ）；移植	肝臓	ＭＡｄＣＡＭ
巣状分節状糸球体硬化症（ＦＳＧＳ）、及び、腎臓に影響を与えることができるその他の疾患、例えば、ループス腎炎、全身性強皮症、膜性糸球体腎症（ＭＧＮ）；膜性腎症（ＭＮ）；微小変化型疾患	腎臓、有足細胞、細管、上皮細胞	ＣＯＬ１Ａ１、カドヘリン２、ＶＣＡＭ－１、Ｔｈｙ１、ポドシン、ＫＩＭ１（Ｈｏｄｇｉｎ　ｅｔ　ａｌ，　Ａｍ　Ｊ　Ｐａｔｈｏｌ　１７７：１６７５　２０１０）；ＰＬＡ２Ｒ；ＯＡＴ１；ＯＣＴ２；Ｋ－カドヘリン６

【表２２】

（ＭＣＤ）；ＩｇＡ腎症；ＡＮＣＡ－関連血管炎（ＡＡＶ）		
シェーグレン症候群	唾液腺、上皮細胞、腎臓	ＦＣＧＲ３Ｂ、ＨＬＡＢ、ＫＩＭ１（Ｈｕ ｅｔ ａｌ Ａｒｔｈ ａｎｄ Ｒｈｅｕｍ ５６：３５８８ ２００７
強皮症、全身性硬化症（ＳＳｃ）	皮膚、腎臓、肺、線維芽細胞、結合組織	コラーゲンＩ、ＩＩＩ、ＶＩ、ＶＩＩ、フィブロネクチン（Ｗａｎｇ ｅｔ ａｌ Ａｒｔｈ ａｎｄ Ｒｈｅｕｍ ５４：２２７１ ２００６）
白斑	皮膚、表皮、ランゲルハンス細胞、ケラチノサイト、メラノサイト	ＣＯＬ１７Ａ１、ＣＤ１Ａ、ＣＤ２０７、デスモグレイン１－４、ケラチン１
円形脱毛症	皮膚、毛包／毛球、真皮	ＣＤ１３３（Ｙａｎｇ ａｎｄ Ｃｏｔｓａｒｅｌｉｓ，Ｊ Ｄｅｒｍａｔｏｌ Ｓｃｉ ５７：２ ２０１０）

【０２３７】

本明細書に記載した化合物で処置することができる自己免疫障害、及び、疾患のその他の例として、心筋炎、心筋梗塞後症候群、心膜切開後症候群、亜急性細菌性心内膜炎、抗糸球体基底膜腎炎、間質性膀胱炎、ループス腎炎、膜性糸球体腎症、慢性腎臓疾患（「ＣＫＤ」）、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、抗合成酵素症候群、円形脱毛症、自己免疫性血管浮腫、自己免疫性プロゲステロン皮膚炎、自己免疫性じんましん、水疱性類天疱瘡、瘢痕性類天疱瘡、疱疹状皮膚炎、円板状エリテマトーデス、後天性表皮水疱症、結節性紅斑、妊娠性類天疱瘡、化膿性汗腺炎、扁平苔癬、硬化性苔癬、線状ｉｇａ病（ｌａｄ）、限局性強皮症、尋常性天疱瘡、急性痘瘡状苔癬状粃糠疹、ムッカハーベルマン病、乾癬、全身性皮膚硬化症、白斑、アディソン病、１型自己免疫性多内分泌症候群（ＡＰＳ）、２型自己免疫性多内分泌症候群（ＡＰＳ）、３型自己免疫性多内分泌症候群（ＡＰＳ）、自己免疫性膵炎（ＡＩＰ）、１型糖尿病、自己免疫性甲状腺炎、オード甲状腺炎、グレーブス病、自己免疫性食道炎、子宮内膜症、自己免疫性精巣炎、シェーグレン症候群、自己免疫性腸疾患、セリアック病、クローン病、顕微鏡的大腸炎、潰瘍性大腸炎、血小板減少症、有痛脂肪症、成人発症スティル病、強直性脊椎炎、ＣＲＥＳＴ症候群、薬物誘発性ループス、腱付着部炎関連関節炎、好酸球性筋膜炎、フェルティ症候群、ＩｇＧ４関連疾患、若年性関節炎、ライム病（慢性）、混合性結合組織病（ＭＣＴＤ）、回帰性リウマチ、パリーロンベルグ症候群、パーソネージ・ターナー症候群、乾癬性関節炎、反応性関節炎、再発性多発性軟骨炎、後腹膜線維症、リウマチ熱、関節リウ

マチ、サルコイドーシス、シュニッツラー症候群、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、未分化結合組織病（ＵＣＴＤ）、皮膚筋炎、線維筋痛症、封入体筋炎、筋炎、重症筋無力症、神経筋緊張症、傍腫瘍性小脳変性症、多発性筋炎、急性散在性脳脊髄炎（ＡＤＥＭ）、急性運動性軸索型ニューロパチー、抗－Ｎ－メチル－Ｄ－アスパラギン酸（抗ＮＭＤＡ）受容体脳炎、バロ同心性硬化症、ビッカースタッフ脳炎、慢性炎症性脱髄性多発神経障害、ギランバレー症候群、橋本脳症、特発性炎症性脱髄性疾患、ランバート・イートン筋無力症候群、多発性硬化症、オシュトラン症候群、連鎖球菌に関連する小児自己免疫神経精神障害（ＰＡＮＤＡＳ）、進行性炎症性神経障害、下肢静止不能症候群、スティッフパーソン症候群、シデナム舞踏病、横断性脊髄炎、自己免疫性網膜症、自己免疫性ブドウ膜炎、コガン症候群、グレーブス眼炎、中間部ブドウ膜炎、木質結膜炎、モーレン潰瘍、視神経脊髄炎、オプソクローヌス・ミオクローヌス症候群、視神経炎、強膜炎、スザック症候群、交感性眼炎、トローザ・ハント症候群、自己免疫性内耳疾患（ＡＩＥＤ）、メニエール病、ベーチェット病、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症（ＥＧＰＡ）、巨細胞性動脈炎、多発血管性肉芽腫症（ＧＰＡ）、ＩｇＡ血管炎（ＩｇＡＶ）、川崎病、白血球破砕性血管炎、ループス血管炎、リウマチ性血管炎、顕微鏡的多発性血管炎（ＭＰＡ）、結節性多発動脈炎（ＰＡＮ）、リウマチ性多発性筋痛、血管炎、原発性免疫不全などがあるが、これらに限定されない。

【０２３８】

潜在的な自己免疫障害、及び、疾患、ならびに、本明細書に記載した化合物で処置することができる自己免疫併存疾患の例として、慢性疲労症候群、複合性局所疼痛症候群、好酸球性食道炎、胃炎、間質性肺疾患、ＰＯＥＭＳ症候群、レイノー現象、原発性免疫不全、壊疽性膿皮症、無ガンマグロブリン血症、アミロイド症、筋萎縮性側索硬化症、抗細管基底膜腎炎、アトピー性アレルギー、アトピー性皮膚炎、自己免疫性末梢神経障害、ブラウ症候群、キャッスルマン病、シャーガス病、慢性閉塞性肺疾患、慢性再発性多発性骨髄炎、補体成分２欠損症、接触性皮膚炎、クッシング症候群、皮膚白血球破砕性血管炎、デゴ病、湿疹、好酸球性胃腸炎、好酸球性肺炎、胎児赤芽球症、進行性骨化性線維異形成症、胃腸類天疱瘡、低ガンマグロブリン血症、特発性巨細胞性心筋炎、特発性肺線維症、ＩｇＡ腎症、免疫調節性リポタンパク質、ＩＰＥＸ症候群、木質結膜炎、マジード症候群、発作性睡眠、ラスムッセン脳炎、統合失調症、血清病、脊椎関節症、スウィーツ症候群、高安動脈炎などがあるが、これらに限定されない。

【０２３９】

一部の実施形態では、当該自己免疫障害は、尋常性天疱瘡、天疱瘡を含まない。一部の実施形態では、当該自己免疫障害は、落葉状天疱瘡を含まない。一部の実施形態では、当該自己免疫障害は、水疱性天疱瘡を含まない。一部の実施形態では、当該自己免疫障害は、グッドパスチャー病を含まない。一部の実施形態では、当該自己免疫障害は、乾癬を含まない。一部の実施形態では、当該自己免疫障害は、皮膚障害を含まない。一部の実施形態では、当該障害は、腫瘍性障害、例えば、がんを含まない。

【０２４０】

治療化合物

治療化合物は、エフェクター結合／調節部分と機能的に関連する特異的な標的部分を含む。一部の実施形態では、当該特異的な標的部分、及び、エフェクター結合／調節部分は、共有結合または非共有結合、例えば、一方を他方に直接に結合する共有結合または非共有結合で互いに結合する。その他の実施形態では、特異的な標的部分、及び、エフェクター結合／調節部分は、例えば、共有結合的または非共有結合的に、リンカー部分を介して結合する。例えば、融合ポリペプチドの事例では、当該特異的な標的部分と、ポリペプチド配列とを含むポリペプチド配列は、互いに直接結合するか、または、１つ以上のリンカー配列を介して結合することができる。一部の実施形態では、当該リンカー部分は、ポリペプチドを含む。しかしながら、リンカーは、ポリペプチドに限定されない。一部の実施形態では、リンカー部分は、その他の主鎖、例えば、非ペプチドポリマー、例えば、ＰＥＧポリマーを含む。一部の実施形態では、リンカー部分は、粒子、例えば、ナノ粒子、例

えば、ポリマーナノ粒子を含むことができる。一部の実施形態では、リンカー部分は、分岐分子、または、デンドリマーを含むことができる。しかしながら、当該エフェクター結合／調節部分が、標的結合の非存在下でクラスター化を招く（ＰＤ－１のようなエフェクターに結合する）ＩＣＩＭ結合／調節部分構造を含む一部の実施形態は、標的結合の非存在下でクラスター化を引き起こし得るので回避すべきである。したがって、実施形態では、当該治療化合物は構造を有しており、例えば、ＩＣＩＭのコピーが十分に制限されており、その結果、標的結合の非存在下で、クラスター化を、最小化、または、実質的に解消し、または、解消し、または、実質的な全身性免疫抑制を妨げるに十分なまでに最小化する。

【０２４１】

一部の実施形態では、治療化合物は、エフェクター結合／調節部分に共有結合または非共有結合した特異的な標的部分を含むポリペプチドを含む。一部の実施形態では、治療用分子は、エフェクター結合／調節部分に、例えば、直接に、または、１つ以上のアミノ酸残基を含む結合部分を介して、融合した特異的な標的部分を含む融合タンパク質を含む。一部の実施形態では、治療用分子は、非共有結合または共有結合、例えば、ペプチド結合以外の共有結合、例えば、スルフヒドリル結合によって、エフェクター結合／調節部分に結合した特異的な標的部分を含むポリペプチドを含む。

【０２４２】

一部の実施形態では、治療化合物は：

１．ａ）標的特異的結合ポリペプチドを含む特異的標的部分；

１．ｂ）標的リガンド結合分子を含む特異的標的部分；

１．ｃ）抗体分子を含む特異的標的部分；

１．ｄ）一本鎖抗体分子、例えば、ｓｃＦｖドメインを含む特異的標的部分；または

１．ｅ）抗体分子の第１の軽鎖または重鎖可変領域を含む特異的標的部分であって、かつ、その他の可変領域は、当該第１と共有結合または非共有結合している当該特異的標的部分；

及び

２．ａ）エフェクター特異的結合ポリペプチドを含むエフェクター結合／調節部分；

２．ｂ）エフェクターリガンド結合分子を含むエフェクター結合／調節部分；

２．ｃ）抗体分子を含むエフェクター結合／調節部分；

２．ｄ）一本鎖抗体分子、例えば、ｓｃＦｖドメインを含むエフェクター結合／調節部分；または

２．ｅ）抗体分子の第１の軽鎖または重鎖可変領域を含むエフェクター結合／調節部分であって、かつ、その他の可変領域は、当該第１と共有結合または非共有結合している当該エフェクター結合／調節部分を含むポリペプチド、例えば、融合ポリペプチドを含む。

【０２４３】

一部の実施形態では、治療化合物は、１．ａ及び２．ａを含む。

【０２４４】

一部の実施形態では、治療化合物は、１．ａ及び２．ｂを含む。

【０２４５】

一部の実施形態では、治療化合物は、１．ａ及び２．ｃを含む。

【０２４６】

一部の実施形態では、治療化合物は、１．ａ及び２．ｄを含む。

【０２４７】

一部の実施形態では、治療化合物は、１．ａ及び２．ｅを含む。

【０２４８】

一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｂ及び２．ａを含む。

【０２４９】

一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｂ及び２．ｂを含む。

【０２５０】

一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｂ及び２．ｃを含む。
【０２５１】
一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｂ及び２．ｄを含む。
【０２５２】
一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｂ及び２．ｅを含む。
【０２５３】
一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｃ及び２．ａを含む。
【０２５４】
一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｃ及び２．ｂを含む。
【０２５５】
一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｃ及び２．ｃを含む。
【０２５６】
一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｃ及び２．ｄを含む。
【０２５７】
一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｃ及び２．ｅを含む。
【０２５８】
一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｄ及び２．ａを含む。
【０２５９】
一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｄ及び２．ｂを含む。
【０２６０】
一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｄ及び２．ｃを含む。
【０２６１】
一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｄ及び２．ｄを含む。
【０２６２】
一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｄ及び２．ｅを含む。
【０２６３】
一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｅ及び２．ａを含む。
【０２６４】
一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｅ及び２．ｂを含む。
【０２６５】
一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｅ及び２．ｃを含む。
【０２６６】
一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｅ及び２．ｄを含む。
【０２６７】
一部の実施形態では、治療化合物は、１．ｅ及び２．ｅを含む。
【０２６８】
本明細書で開示した治療化合物は、例えば、複数のエフェクター結合／調節、及び、特異的標的部分を含むことができる。あらゆる適切なリンカー、または、プラットフォームを使用して、複数の部分を提示することができる。当該リンカーは、一般的には、１つ以上のエフェクター結合／調節、及び、標的部分に結合または融合している。
【０２６９】
一部の実施形態では、２つ（または、それ以上）のリンカーを、共有結合または非共有結合のいずれかで会合させて、例えば、ヘテロ、または、ホモ二量体の治療化合物を形成する。例えば、当該リンカーは、Ｆｃ領域を含み、そして、２つのＦｃ領域は、互いに結合することができる。２つのリンカー領域を含む治療化合物の一部の実施形態では、当該リンカー領域は、例えば、２つの同一のＦｃ領域として自己会合することができる。２つのリンカー領域を含む治療化合物の一部の実施形態では、当該リンカー領域は、自己会合することができず、または、実質的にすることができず、例えば、２つのＦｃ領域は、ノブとホールのペアのメンバーとすることができる。
【０２７０】

治療化合物の限定を意図しない例示的構成は、以下（例えば、ＮからＣ末端に向けて）を含み：
Ｒ１－－－リンカー領域Ａ－Ｒ２
Ｒ３－－－リンカー領域Ｂ－－－Ｒ４、
式中、
Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４は、それぞれ独立して、エフェクター結合／調節部分、例えば、ＩＣＩＭ結合／調節部分、ＩＩＣ結合／調節部分、ＩＣＳＭ結合／調節部分、または、ＳＭ結合／調節部分；特異的な標的部分を含み；または、存在せず；
リンカー領域Ａ、及び、リンカーＢは、互いに結合できる部分を含み、例えば、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、それぞれ、エフェクター結合／調節部分、及び、特異的な標的部分が存在するのであれば、Ｆｃ部分を含む。
【０２７１】
一部の実施形態では：
Ｒ１は、エフェクター結合／調節部分、例えば、ＩＣＩＭ結合／調節部分、ＩＩＣ結合／調節部分、ＩＣＳＭ結合／調節部分、または、ＳＭ結合／調節部分を含み、または、存在せず；
Ｒ２は、特異的な標的部分を含み、または、存在せず；
Ｒ３は、エフェクター結合／調節部分、例えば、ＩＣＩＭ結合／調節部分、ＩＩＣ結合／調節部分、ＩＣＳＭ結合／調節部分、または、ＳＭ結合／調節部分を含み、または、存在せず；
Ｒ４は、特異的な標的部分を含み、または、存在せず；
リンカー領域Ａ、及び、リンカーＢは、互いに結合できる部分を含み、例えば、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、それぞれ、Ｒ１またはＲ３の一方が存在し、かつ、Ｒ２またはＲ４の一方が存在するのであれば、Ｆｃ部分を含む。
【０２７２】
一部の実施形態では：
Ｒ１は、特異的な標的部分を含み、または、存在せず；
Ｒ２は、エフェクター結合／調節部分、例えば、ＩＣＩＭ結合／調節部分、ＩＩＣ結合／調節部分、ＩＣＳＭ結合／調節部分、または、ＳＭ結合／調節部分を含み、または、存在せず；
Ｒ３は、特異的な標的部分を含み、または、存在せず；
Ｒ４は、エフェクター結合／調節部分、例えば、ＩＣＩＭ結合／調節部分、ＩＩＣ結合／調節部分、ＩＣＳＭ結合／調節部分、または、ＳＭ結合／調節部分を含み、または、存在せず；
リンカー領域Ａ、及び、リンカーＢは、互いに結合できる部分を含み、例えば、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、それぞれ、Ｒ１またはＲ３の一方が存在し、かつ、Ｒ２またはＲ４の一方が存在するのであれば、Ｆｃ部分を含む。
【０２７３】
限定を意図しない例を以下に示すが、これらに限定されない：

【表２３】

Ｒ１	リンカー領域Ａ	Ｒ２	Ｒ３	リンカー領域Ｂ	Ｒ４	その他
ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ	Ｆｃ領域	ｆｃＦｖ	ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ	Ｆｃ領域	ｓｃＦｖ	自己ペアリングリンカー領域
ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ	Ｆｃ領域	ｆｃＦｖ	ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ	Ｆｃ領域	ｓｃＦｖ	非自己ペアリングリンカー領域
ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ（または、存在せず）	Ｆｃ領域	ｆｃＦｖ	ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ（または、存在せず）	Ｆｃ領域	ｓｃＦｖ	自己ペアリングリンカー領域 Ｒ１またはＲ３の一方は、存在しない。
ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ（または、存在せず）	Ｆｃ領域	ｆｃＦｖ	ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ（または、存在せず）	Ｆｃ領域	ｓｃＦｖ	非自己ペアリングリンカー領域 Ｒ１またはＲ３の一方は、存在しない。
ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ	Ｆｃ領域	ｆｃＦｖ（または、存在せず）	ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ	Ｆｃ領域	ｓｃＦｖ（または、存在せず）	自己ペアリングリンカー領域 Ｒ２またはＲ４の一方は、存在しない。
ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ	Ｆｃ領域	ｆｃＦｖ（または、存	ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ	Ｆｃ領域	ｓｃＦｖ（または、存在せず）	非自己ペアリングリンカー領域 Ｒ２または

【表２４】

		在せず）				Ｒ４の一方は、存在しない。
ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ	Ｆｃ領域	ｆｃＦｖ	ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ	Ｆｃ領域	ｓｃＦｖ	自己ペアリングリンカー領域 Ｒ１とＲ３は、同じである。
ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ	Ｆｃ領域	ｆｃＦｖ	ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ	Ｆｃ領域	ｓｃＦｖ	非自己ペアリングリンカー領域 Ｒ１とＲ３は、同じでない。
ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ	Ｆｃ領域	ｆｃＦｖ	ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ	Ｆｃ領域	ｓｃＦｖ	自己ペアリングリンカー領域 Ｒ２とＲ４は、同じである。
ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ	Ｆｃ領域	ｆｃＦｖ	ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ	Ｆｃ領域	ｓｃＦｖ	非自己ペアリングリンカー領域 Ｒ２とＲ４は、同じでない。
ＨＣＶＲ及びＬＣＶＲ：重鎖及び軽鎖の可変領域の抗原結合部分を含む部分のことを指し、一般的には、リンカー領域に重鎖が融合している。 自己ペアリング：リンカー領域が、それ自体とペアリングすることができ、例えば、それ自体のコピーをペアリングすることができるＦｃ領域。 非自己ペアリング：リンカー領域は、それ自体とペアリングせず、または、実質的にそれ自体とペアリングせず、例えば、Ｆｃ領域は、それ自体とはペアリングせず、または、顕著にペアリングせず、例えば、リンカー領域Ａとリンカー領域Ｂは、ノブとホールのペアのメンバーである。						

【０２７４】

一部の実施形態では、：エフェクター結合部分と特異的な標的部分が存在するのであれば、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４は、それぞれ独立して：免疫細胞、例えば、Ｔ細胞、または、Ｂ細胞、例えば、ＰＤ－Ｌ１分子、または、機能性抗ＰＤ－１抗体分子（ＰＤ－

１のアゴニスト）；特異的な標的部分での抑制性受容体を活性化するエフェクター結合調節部分を含み、；または、存在しない。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分）を含む。

【０２７５】

一部の実施形態では、：Ｒ１、及び、Ｒ３は、独立して、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞、または、Ｂ細胞、例えば、ＰＤ－Ｌ１分子、または、機能性抗ＰＤ－１抗体分子（ＰＤ－１のアゴニスト）での抑制性受容体を活性化するエフェクター結合調節部分を含み；かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分）を含む。

【０２７６】

一部の実施形態では：Ｒ１、及び、Ｒ３は、独立して、機能性抗ＰＤ－１抗体分子（ＰＤ－１のアゴニスト）を含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分）を含む。

【０２７７】

一部の実施形態では、：Ｒ１、及び、Ｒ３は、独立して、特異的な標的部分、例えば、抗組織抗原抗体を含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、独立して、機能性抗ＰＤ－１抗体分子（ＰＤ－１のアゴニスト）、例えば、ｓｃＦｖ分子を含む。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分）を含む。

【０２７８】

一部の実施形態では：Ｒ１、及び、Ｒ３は、独立してＰＤ－Ｌ１分子（ＰＤ－１のアゴニスト）を含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を独立して含み、及び、一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分）を含む。

【０２７９】

一部の実施形態では、：Ｒ１、及び、Ｒ３は、独立して、特異的な標的部分、例えば、抗組織抗原抗体を含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、独立して、ＰＤ－Ｌ１分子（ＰＤ－１のアゴニスト）を含む。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分）を含む。

【０２８０】

一部の実施形態では、ＳＭ結合／調節部分と特異的な標的部分とが存在しているのであれば、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４は、それぞれ、独立して、物質、例えば、免疫応答を調節する可溶性分子、例えば、ＡＴＰ、または、ＡＭＰ、例えば、ＣＤ３９分子、または、ＣＤ７３分子を調節、例えば、結合及び阻害、隔離、分解、または、さもなければ、中和するＳＭ結合／調節部分；特異的な標的部分を含み；または、存在しない。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。

【０２８１】

一部の実施形態では、：Ｒ１、及び、Ｒ３は、独立して、物質、例えば、免疫応答を調節する可溶性分子、例えば、ＡＴＰ、または、ＡＭＰ、例えば、ＣＤ３９分子、または、ＣＤ７３分子を調節、例えば、結合及び阻害、隔離、分解、または、中和するＳＭ結合／調節部分を含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。

【０２８２】

一部の実施形態では：Ｒ１、及び、Ｒ３は、独立して、ＣＤ３９分子、または、ＣＤ７３分子を含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織

抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。

【０２８３】

一部の実施形態では：Ｒ１、及び、Ｒ３は、それぞれ、ＣＤ３９分子を含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を独立して含み、及び、一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。

【０２８４】

一部の実施形態では：Ｒ１、及び、Ｒ３は、それぞれ、ＣＤ７３分子を含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。

【０２８５】

一部の実施形態では、：Ｒ１、及び、Ｒ３の一方は、ＣＤ３９分子を含み、かつ、他方は、ＣＤ７３分子を含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。

【０２８６】

一部の実施形態では、：ＨＬＡ－Ｇ分子と特異的な標的部分とが存在するのであれば、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３及びＲ４は、それぞれ、独立して、；ＨＬＡ－Ｇ分子；特異的な標的部分を含み；または、存在しない。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。

【０２８７】

一部の実施形態では：Ｒ１、及び、Ｒ３は、それぞれ、ＨＬＧ－Ａ分子を含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。

【０２８８】

一部の実施形態では：Ｒ１、及び、Ｒ３は、それぞれ、作動性抗ＬＩＬＲＢ１抗体分子を含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。

【０２８９】

一部の実施形態では：Ｒ１、及び、Ｒ３は、それぞれ、作動性抗ＫＩＲ２ＤＬ４抗体分子を含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。

【０２９０】

一部の実施形態では：Ｒ１、及び、Ｒ３は、それぞれ、作動性抗ＬＩＬＲＢ２抗体分子を含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実

質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。
【０２９１】
一部の実施形態では：Ｒ１、及び、Ｒ３は、それぞれ、作動性抗ＮＫＧ２Ａ抗体分子を含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。
【０２９２】
一部の実施形態では、Ｒ１、及び、Ｒ３の一方は、拮抗性抗ＬＩＬＲＢ１抗体分子、作動性抗ＫＲ２ＤＬ４抗体分子、及び、作動性抗ＮＫＧ２Ａ抗体分子から選択される一方の部分と、それらから選択される異なる部分を含む他方とを含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。
【０２９３】
一部の実施形態では、：Ｒ１、及び、Ｒ３の一方は、拮抗性抗ＬＩＬＲＢ１抗体分子を含み、かつ、他方は、作動性抗ＫＲ２ＤＬ４抗体分子を含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。
【０２９４】
一部の実施形態では、：Ｒ１、及び、Ｒ３の一方は、拮抗性抗ＬＩＬＲＢ１抗体分子を含み、他方は、作動性抗ＮＫＧ２Ａ抗体分子を含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。
【０２９５】
ある実施形態では：ＩＬ－２ムテイン分子と、特異的な標的部分とが存在するのであれば、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４は、それぞれ、独立して：ＩＬ－２ムテイン分子；特異的な標的部分を含み；または、存在しない。
【０２９６】
ある実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。
【０２９７】
Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４の１つは、ＩＬ－２ムテイン分子を含み、１つは、抗ＧＩＴＲ抗体分子、例えば、ＧＩＴＲに対するＧＩＴＲＬの結合を阻害する抗ＧＩＴＲ抗体分子を含み、及び、１つは、特異的標的部分を含む；
【０２９８】
ある実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。
【０２９９】
ある実施形態では：Ｒ１、及び、Ｒ３は、それぞれ、ＩＬ－２ムテイン分子を含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を独立して含む。
【０３００】

ある実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。

【０３０１】

ある実施形態では：Ｒ１、及び、Ｒ３の一方は、ＧＡＲＰ結合分子、例えば、抗ＧＡＲＰ抗体分子、または、ＧＩＴＲ結合分子、例えば、抗ＧＩＴＲ抗体分子を含み、かつ、他方は、ＩＬ－２ムテイン分子を含み；かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を独立して含む。

【０３０２】

ある実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。

【０３０３】

ある実施形態では：Ｒ１、及び、Ｒ３の一方は、ＧＡＲＰ結合分子、例えば、抗ＧＡＲＰ抗体分子を含み、かつ、他方は、ＩＬ－２ムテイン分子を含み；かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を独立して含む。

【０３０４】

ある実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。

【０３０５】

ある実施形態では：Ｒ１、及び、Ｒ３の一方は、ＧＩＴＲ結合分子、例えば、抗ＧＩＴＲ抗体分子を含み、かつ、他方は、ＩＬ－２ムテイン分子を含み；かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を独立して含む。

【０３０６】

ある実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。

【０３０７】

一部の実施形態では：エフェクター結合部分と、特異的な標的部分とが存在するのであれば、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４は、それぞれ、独立して、Ｂ細胞の抑制性受容体を活性化するエフェクター結合調節部分、例えば、抗ＦＣＲＬ抗体分子、例えば、作動性抗ＦＣＲＬ抗体分子；特異的な標的部分を含み；または、存在しない。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。

【０３０８】

実施形態では、当該抗ＦＣＲＬ分子は：ＦＣＲＬ１、ＦＣＲＬ２、ＦＣＲＬ３、ＦＣＲＬ４、ＦＣＲＬ５、または、ＦＣＲＬ６に対する抗ＦＣＲＬ抗体分子、例えば、作動性抗ＦＣＲＬ抗体分子を含む。

【０３０９】

一部の実施形態では：Ｒ１、及び、Ｒ３は、それぞれ、作動性抗ＦＣＲＬ抗体分子を含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。

【０３１０】

実施形態では、当該抗ＦＣＲＬ分子は、抗ＦＣＲＬ抗体分子、例えば、ＦＣＲＬ１、ＦＣＲＬ２、ＦＣＲＬ３、ＦＣＲＬ４、ＦＣＲＬ５、または、ＦＣＲＬ６に対する作動性抗ＦＣＲＬ抗体分子を含む。

【０３１１】

一部の実施形態では、：Ｒ１、及び、Ｒ３は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対する抗体分子を含み、かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、それぞれ、抗ＦＣＲＬ抗体分子、例えば、作動性抗ＦＣＲＬ抗体分子、例えば、ｓｃＦｖ分子を含む。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。

【０３１２】

実施形態では、当該抗ＦＣＲＬ分子は、抗ＦＣＲＬ抗体分子、例えば、ＦＣＲＬ１、ＦＣＲＬ２、ＦＣＲＬ３、ＦＣＲＬ４、ＦＣＲＬ５、または、ＦＣＲＬ６に対する作動性抗ＦＣＲＬ抗体分子を含む。

【０３１３】

一部の実施形態では、：Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４の１つは、抗ＢＣＲ抗体分子、例えば、拮抗性抗ＢＣＲ抗体分子を含み、１つは、抗ＦＣＲＬ抗体分子を含み、かつ、１つは、特異的標的部分を含む。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。

【０３１４】

一部の実施形態では、当該抗ＦＣＲＬ分子は、抗ＦＣＲＬ抗体分子、例えば、ＦＣＲＬ１、ＦＣＲＬ２、ＦＣＲＬ３、ＦＣＲＬ４、ＦＣＲＬ５、または、ＦＣＲＬ６に対する作動性抗ＦＣＲＬ抗体分子を含む。

【０３１５】

一部の実施形態では、：Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４の１つは、抗ＢＣＲ抗体分子、例えば、拮抗性抗ＢＣＲ抗体分子と、抗ＦＣＲＬ抗体分子とを含む二重特異性抗体分子を含み、１つは特異的標的部分を含む；一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。

【０３１６】

実施形態では、当該抗ＦＣＲＬ分子は、抗ＦＣＲＬ抗体分子、例えば、ＦＣＲＬ１、ＦＣＲＬ２、ＦＣＲＬ３、ＦＣＲＬ４、ＦＣＲＬ５、または、ＦＣＲＬ６に対する作動性抗ＦＣＲＬ抗体分子を含む。

【０３１７】

一部の実施形態では、Ｔ細胞エフェクター結合／調節部分、Ｂ細胞エフェクター結合／調節部分、及び、特異的な標的部分が存在するのであれば、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４は、それぞれ、独立して、

ｉ）Ｔ細胞の活性、増殖、または、機能を最小化または阻害する、エフェクター結合／調節部分、例えば、ＩＣＩＭ結合／調節部分、ＩＩＣ結合／調節部分、ＩＣＳＭ結合／調節部分、または、ＳＭ結合／調節部分（Ｔ細胞エフェクター結合／調節部分）；

ｉｉ）Ｂ細胞の活性、増殖、または、機能を最小化または阻害する、エフェクター結合／調節部分、例えば、ＩＣＩＭ結合／調節部分、ＩＩＣ結合／調節部分、ＩＣＳＭ結合／調節部分、または、ＳＭ結合／調節部分（Ｂ細胞エフェクター結合／調節部分）；

ｉｉｉ）特異的な標的部分を含み；または

ｉｖ）存在しない。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分）を含む。

【０３１８】

一部の実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４の１つは、作動性抗ＰＤ－１抗体を含み、かつ、１つは、ＨＬＡ－Ｇ分子を含む。

【０３１９】

一部の実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４の１つは、ＳＭ結合／調節部分、例えば、ＣＤ３９分子、または、ＣＤ７３分子を含む。一部の実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４の１つは、制御性免疫細胞、例えば、Ｔｒｅｇ細胞、または、Ｂｒｅ

ｇ細胞、例えば、ＩＬ－２ムテイン分子に結合、活性化、または、維持する実体を含む。
【０３２０】
一部の実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４の１つは、作動性抗ＰＤ－１抗体を含み、または、１つは、ＨＬＡ－Ｇ分子を含み、かつ、１つは、ＩＬ－２ムテイン分子を含む。一部の実施形態では、当該ＰＤ－１抗体を、ＩＬ－２ムテイン分子で置換する。一部の実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４の１つは、作動性抗ＰＤ－１抗体を含み、１つは、ＨＬＡ－Ｇ分子を含み、かつ、１つは、ＣＤ３９分子、または、ＣＤ７３分子を含む。一部の実施形態では、当該ＰＤ－１抗体を、ＩＬ－２ムテイン分子で置換する。
【０３２１】
リンカー領域
本明細書のその他の箇所で説明したように、特異的な標的、及び、エフェクター結合／調節部分は、リンカー領域で結合することができる。本明細書に記載したあらゆるリンカー領域を、リンカーとして使用することができる。例えば、リンカー領域Ａ、及び、Ｂは、Ｆｃ領域を含むことができる。一部の実施形態では、治療化合物は、自己会合することができるリンカー領域を含む。一部の実施形態では、治療化合物は、自己会合を最小化する部分を有するリンカー領域を含み、一般的には、リンカー領域Ａ、及び、リンカー領域Ｂはヘテロ二量体である。リンカーとして、グリシン／セリンリンカーもある。一部の実施形態では、当該リンカーは、ＧＧＧＧＳ（配列番号２３）の１つ以上の反復を含むことができる。一部の実施形態では、当該リンカーは、配列番号２３の１つ、２つ、３つ、４つ、または、５つの反復を含む。一部の実施形態では、当該リンカーは、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号２２）ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号３０）を含む。これらのリンカーは、本明細書で提供する治療化合物または組成物のいずれにも使用できる。
【０３２２】
当該リンカー領域は、ヘテロ二量体を生成するために、修飾（例えば、突然変異）したＦｃ領域を含むことができる。一部の実施形態では、当該Ｆｃ領域のＣＨ３ドメインを突然変異させることができる。そのようなＦｃ領域の例を、例えば、本明細書の一部を構成するものとして、その全内容を援用する、米国特許第９，５７４，０１０号に認めることができる。本明細書で定義したＦｃ領域は、ＣＨ３ドメイン、または、その断片を含み、そして、ヒンジ、ＣＨ１、または、ＣＨ２などの１つ以上のさらなる定常領域ドメイン、または、その断片をさらに含み得る。Ｆｃアミノ酸残基の付番は、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，１９９１，ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ ９１－３２４２，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｔｅｃｈｎｉｃａｌ Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｓｐｒｉｎｇｆｉｅｌｄ，ＶＡのようなＥＵインデックスである、ことが理解される。「Ｋａｂａｔで記載のＥＵインデックス」とは、ヒトＩｇＧ１ Ｋａｂａｔ抗体のＥＵインデックス付番法のことを指す。便宜のため、本明細書の一部を構成するものとして、その内容を援用する、米国特許第９，５７４，０１０号の表Ｂは、ヒトＩｇＧ１由来のＣＨ２及びＣＨ３ドメインのＫａｂａｔに記載のＥＵインデックスに従って付番したアミノ酸を提供する。米国特許第９，５７４，０１０号の表１．１は、リンカー領域として使用することができる変異型Ｆｃヘテロ二量体の突然変異を提供する。米国特許第９，５７４，０１０号の表１．１は、本明細書の一部を構成するものとして援用する。
【０３２３】
一部の実施形態では、当該リンカー領域Ａは、第１のＣＨ３ドメインポリペプチドを含み、かつ、当該リンカー領域Ｂは、第２のＣＨ３ドメインポリペプチドを含み、当該第１及び第２のＣＨ３ドメインポリペプチドは、独立して、野生型ＣＨ３ドメインポリペプチドと比較して、アミノ酸修飾を含み、当該第１のＣＨ３ドメインポリペプチドは、位置Ｔ３５０、Ｌ３５１、Ｆ４０５、及び、Ｙ４０７にアミノ酸修飾を含み、当該第２のＣＨ３ドメインポリペプチドは、位置Ｔ３５０、Ｔ３６６、Ｋ３９２、及び、Ｔ３９４にアミノ酸修飾を含み、位置Ｔ３５０でのアミノ酸修飾は、Ｔ３５０Ｖ、Ｔ３５０Ｉ、Ｔ３５０Ｌ

、または、Ｔ３５０Ｍであり；位置Ｌ３５１でのアミノ酸修飾は、Ｌ３５１Ｙであり；位置Ｆ４０５でのアミノ酸修飾は、Ｆ４０５Ａ、Ｆ４０５Ｖ、Ｆ４０５Ｔ、または、Ｆ４０５Ｓであり；位置Ｙ４０７でのアミノ酸修飾は、Ｙ４０７Ｖ、Ｙ４０７Ａ、または、Ｙ４０７Ｉであり；位置３６６でのアミノ酸修飾は、Ｔ３６６Ｌ、Ｔ３６６Ｉ、Ｔ３６６Ｖ、または、Ｔ３６６Ｍであり、位置Ｋ３９２でのアミノ酸修飾は、Ｋ３９２Ｆ、Ｋ３９２Ｌ、または、Ｋ３９２Ｍであり、及び、位置Ｔ３９４でのアミノ酸修飾は、Ｔ３９４Ｗであり、及び、アミノ酸残基の付番は、Ｋａｂａｔに記載のＥＵインデックスに従っている。

【０３２４】

一部の実施形態では、位置Ｋ３９２でのアミノ酸修飾は、Ｋ３９２Ｍ、または、Ｋ３９２Ｌである。一部の実施形態では、位置Ｔ３５０でのアミノ酸修飾は、Ｔ３５０Ｖである。一部の実施形態では、当該第１のＣＨ３ドメインポリペプチドは、Ｑ３４７Ｒ、及び、Ｓ４００ＲまたはＳ４００Ｅの一方から選択される１つ以上のアミノ酸修飾をさらに含む。一部の実施形態では、当該第２のＣＨ３ドメインポリペプチドは、Ｌ３５１Ｙ、Ｋ３６０Ｅ、及び、Ｎ３９０Ｒ、Ｎ３９０Ｄ、または、Ｎ３９０Ｅの１つから選択される１つ以上のアミノ酸修飾をさらに含む。一部の実施形態では、当該第１のＣＨ３ドメインポリペプチドは、Ｑ３４７Ｒ、及び、Ｓ４００ＲまたはＳ４００Ｅの一方から選択される１つ以上のアミノ酸修飾をさらに含み、かつ、当該第２のＣＨ３ドメインポリペプチドは、Ｌ３５１Ｙ、Ｋ３６０Ｅ、及び、Ｎ３９０Ｒ、Ｎ３９０Ｄ、またはＮ３９０Ｅの１つから選択される１つ以上のアミノ酸修飾をさらに含む。一部の実施形態では、位置Ｔ３５０でのアミノ酸修飾は、Ｔ３５０Ｖである。一部の実施形態では、位置Ｆ４０５でのアミノ酸修飾は、Ｆ４０５Ａである。一部の実施形態では、位置Ｙ４０７でのアミノ酸修飾は、Ｙ４０７Ｖである。一部の実施形態では、位置Ｔ３６６でのアミノ酸修飾は、Ｔ３６６ＬまたはＴ３６６Ｉである。一部の実施形態では、位置Ｆ４０５でのアミノ酸修飾は、Ｆ４０５Ａであり、位置Ｙ４０７でのアミノ酸修飾は、Ｙ４０７Ｖであり、位置Ｔ３６６でのアミノ酸修飾は、Ｔ３６６ＬまたはＴ３６６Ｉであり、そして、位置Ｋ３９２でのアミノ酸修飾は、Ｋ３９２ＭまたはＫ３９２Ｌである。一部の実施形態では、当該第１のＣＨ３ドメインポリペプチドは、アミノ酸修飾Ｔ３５０Ｖ、Ｌ３５１Ｙ、Ｓ４００Ｅ、Ｆ４０５Ｖ、及び、Ｙ４０７Ｖを含み、そして、当該第２のＣＨ３ドメインポリペプチドは、アミノ酸修飾Ｔ３５０Ｖ、Ｔ３６６Ｌ、Ｎ３９０Ｒ、Ｋ３９２Ｍ、及び、Ｔ３９４Ｗを含む。一部の実施形態では、当該第１のＣＨ３ドメインポリペプチドは、アミノ酸修飾Ｔ３５０Ｖ、Ｌ３５１Ｙ、Ｓ４００Ｅ、Ｆ４０５Ｔ、及び、Ｙ４０７Ｖを含み、そして、当該第２のＣＨ３ドメインポリペプチドは、アミノ酸修飾Ｔ３５０Ｖ、Ｔ３６６Ｌ、Ｎ３９０Ｒ、Ｋ３９２Ｍ、及び、Ｔ３９４Ｗを含む。一部の実施形態では、当該第１のＣＨ３ドメインポリペプチドは、アミノ酸修飾Ｔ３５０Ｖ、Ｌ３５１Ｙ、Ｓ４００Ｅ、Ｆ４０５Ｓ、及び、Ｙ４０７Ｖを含み、そして、当該第２のＣＨ３ドメインポリペプチドは、アミノ酸修飾Ｔ３５０Ｖ、Ｔ３６６Ｌ、Ｎ３９０Ｒ、Ｋ３９２Ｍ、及び、Ｔ３９４Ｗを含む。一部の実施形態では、当該第１のＣＨ３ドメインポリペプチドは、アミノ酸修飾Ｔ３５０Ｖ、Ｌ３５１Ｙ、Ｓ４００Ｅ、Ｆ４０５Ａ、及び、Ｙ４０７Ｖを含み、そして、当該第２のＣＨ３ドメインポリペプチドは、アミノ酸修飾Ｔ３５０Ｖ、Ｌ３５１Ｙ、Ｔ３６６Ｌ、Ｎ３９０Ｒ、Ｋ３９２Ｍ、及び、Ｔ３９４Ｗを含む。一部の実施形態では、当該第１のＣＨ３ドメインポリペプチドは、アミノ酸修飾Ｑ３４７Ｒ、Ｔ３５０Ｖ、Ｌ３５１Ｙ、Ｓ４００Ｅ、Ｆ４０５Ａ、及び、Ｙ４０７Ｖを含み、そして、当該第２のＣＨ３ドメインポリペプチドは、アミノ酸修飾Ｔ３５０Ｖ、Ｋ３６０Ｅ、Ｔ３６６Ｌ、Ｎ３９０Ｒ、Ｋ３９２Ｍ、及び、Ｔ３９４Ｗを含む。一部の実施形態では、当該第１のＣＨ３ドメインポリペプチドは、アミノ酸修飾Ｔ３５０Ｖ、Ｌ３５１Ｙ、Ｓ４００Ｒ、Ｆ４０５Ａ、及び、Ｙ４０７Ｖを含み、そして、当該第２のＣＨ３ドメインポリペプチドは、アミノ酸修飾Ｔ３５０Ｖ、Ｔ３６６Ｌ、Ｎ３９０Ｄ、Ｋ３９２Ｍ、及び、Ｔ３９４Ｗを含む。一部の実施形態では、当該第１のＣＨ３ドメインポリペプチドは、アミノ酸修飾Ｔ３５０Ｖ、Ｌ３５１Ｙ、Ｓ４００Ｒ、Ｆ４０５Ａ、及び、Ｙ４０７Ｖを含み、そして、当該第２のＣＨ３ドメインポリペプチドは、アミノ酸修飾Ｔ３５０Ｖ、Ｔ３６６Ｌ、Ｎ３９０Ｅ、Ｋ３９２Ｍ、及び、Ｔ３９４Ｗを

含む。一部の実施形態では、当該第１のＣＨ３ドメインポリペプチドは、アミノ酸修飾Ｔ３５０Ｖ、Ｌ３５１Ｙ、Ｓ４００Ｅ、Ｆ４０５Ａ、及び、Ｙ４０７Ｖを含み、そして、当該第２のＣＨ３ドメインポリペプチドは、アミノ酸修飾Ｔ３５０Ｖ、Ｔ３６６Ｌ、Ｎ３９０Ｒ、Ｋ３９２Ｌ、及び、Ｔ３９４Ｗを含む。一部の実施形態では、当該第１のＣＨ３ドメインポリペプチドは、アミノ酸修飾Ｔ３５０Ｖ、Ｌ３５１Ｙ、Ｓ４００Ｅ、Ｆ４０５Ａ、及び、Ｙ４０７Ｖを含み、そして、当該第２のＣＨ３ドメインポリペプチドは、アミノ酸修飾Ｔ３５０Ｖ、Ｔ３６６Ｌ、Ｎ３９０Ｒ、Ｋ３９２Ｆ及びＴ３９４Ｗを含む。

【０３２５】

一部の実施形態では、第１のＣＨ３ドメインポリペプチド、及び、第２のＣＨ３ドメインポリペプチドを含む単離したヘテロ二量体は、当該第１のＣＨ３ドメインポリペプチドが、位置Ｆ４０５及びＹ４０７でのアミノ酸修飾を含み、そして、当該第２のＣＨ３ドメインポリペプチドが、位置Ｔ３６６及びＴ３９４でのアミノ酸修飾を含み、（ｉ）当該第１のＣＨ３ドメインポリペプチドは、位置Ｌ３５１でのアミノ酸修飾をさらに含み、及び、（ｉｉ）当該第２のＣＨ３ドメインポリペプチドは、位置Ｋ３９２でのアミノ酸修飾をさらに含み、位置Ｆ４０５でのアミノ酸修飾は、Ｆ４０５Ａ、Ｆ４０５Ｔ、Ｆ４０５Ｓ、または、Ｆ４０５Ｖであり；及び、位置Ｙ４０７でのアミノ酸修飾は、Ｙ４０７Ｖ、Ｙ４０７Ａ、Ｙ４０７Ｌ、または、Ｙ４０７１であり；位置Ｔ３９４でのアミノ酸修飾は、Ｔ３９４Ｗであり；位置Ｌ３５１でのアミノ酸修飾は、Ｌ３５１Ｙであり；位置Ｋ３９２でのアミノ酸修飾は、Ｋ３９２Ｌ、Ｋ３９２Ｍ、Ｋ３９２Ｖ、または、Ｋ３９２Ｆであり、及び、位置Ｔ３６６でのアミノ酸修飾は、Ｔ３６６Ｉ、Ｔ３６６Ｌ、Ｔ３６６Ｍ、または、Ｔ３６６Ｖであり、当該ヘテロ二量体ＣＨ３ドメインは、約７０℃以上の融解温度（Ｔｍ）と、約９０％以上の純度とを有しており、そして、アミノ酸残基の付番は、Ｋａｂａｔに記載のＥＵインデックスに従って付番した。

【０３２６】

一部の実施形態では、当該リンカー領域Ａは、第１のＣＨ３ドメインポリペプチドを含み、そして、当該リンカー領域Ｂは、第２のＣＨ３ドメインポリペプチドを含み、当該第１のＣＨ３ドメインポリペプチドは、位置Ｆ４０５及びＹ４０７でのアミノ酸修飾を含み、そして、当該第２のＣＨ３ドメインポリペプチドは、Ｔ３６６及びＴ３９４でのアミノ酸修飾を含み、（ｉ）当該第１のＣＨ３ドメインポリペプチドは、位置Ｌ３５１でのアミノ酸修飾をさらに含み、及び、（ｉｉ）当該第２のＣＨ３ドメインポリペプチドは、位置Ｋ３９２でのアミノ酸修飾をさらに含み、位置Ｆ４０５でのアミノ酸修飾は、Ｆ４０５Ａ、Ｆ４０５Ｔ、Ｆ４０５Ｓ、または、Ｆ４０５Ｖであり；及び、位置Ｙ４０７でのアミノ酸修飾は、Ｙ４０７Ｖ、Ｙ４０７Ａ、Ｙ４０７Ｌ、または、Ｙ４０７Ｉであり；及び、位置Ｔ３９４でのアミノ酸修飾は、Ｔ３９４Ｗであり；位置Ｌ３５１でのアミノ酸修飾は、Ｌ３５１Ｙであり；位置Ｋ３９２でのアミノ酸修飾は、Ｋ３９２Ｌ、Ｋ３９２Ｍ、Ｋ３９２Ｖ、または、Ｋ３９２Ｆであり、及び、位置Ｔ３６６でのアミノ酸修飾は、Ｔ３６６Ｉ、Ｔ３６６Ｌ、Ｔ３６６Ｍ、または、Ｔ３６６Ｖであり、当該ヘテロ二量体ＣＨ３ドメインは、約７０℃以上の融解温度（Ｔｍ）と、約９０％以上の純度とを有しており、そして、アミノ酸残基の付番は、Ｋａｂａｔに記載のＥＵインデックスに従って付番した。一部の実施形態では、位置Ｆ４０５でのアミノ酸修飾は、Ｆ４０５Ａである。一部の実施形態では、位置Ｔ３６６でのアミノ酸修飾は、Ｔ３６６ＩまたはＴ３６６Ｌである。一部の実施形態では、位置Ｙ４０７でのアミノ酸修飾は、Ｙ４０７Ｖである。一部の実施形態では、位置Ｆ４０５でのアミノ酸修飾は、Ｆ４０５Ａであり、位置Ｙ４０７でのアミノ酸修飾は、Ｙ４０７Ｖであり、位置Ｔ３６６でのアミノ酸修飾は、Ｔ３６６ＩまたはＴ３６６Ｌであり、そして、位置Ｋ３９２でのアミノ酸修飾は、Ｋ３９２ＬまたはＫ３９２Ｍである。一部の実施形態では、位置Ｆ４０５でのアミノ酸修飾はＦ４０５Ａであり、位置Ｙ４０７でのアミノ酸修飾は、Ｙ４０７Ｖであり、位置Ｔ３６６でのアミノ酸修飾は、Ｔ３６６Ｌであり、そして、位置Ｋ３９２でのアミノ酸修飾は、Ｋ３９２Ｍである。一部の実施形態では、位置Ｆ４０５でのアミノ酸修飾は、Ｆ４０５Ａであり、位置Ｙ４０７でのアミノ酸修飾は、Ｙ４０７Ｖであり、位置Ｔ３６６でのアミノ酸修飾は、Ｔ３６６Ｌであり、そ

して、位置Ｋ３９２でのアミノ酸修飾は、Ｋ３９２Ｌである。一部の実施形態では、位置Ｆ４０５でのアミノ酸修飾は、Ｆ４０５Ａであり、位置Ｙ４０７でのアミノ酸修飾は、Ｙ４０７Ｖであり、位置Ｔ３６６でのアミノ酸修飾は、Ｔ３６６Ｉであり、そして、位置Ｋ３９２でのアミノ酸修飾は、Ｋ３９２Ｍである。一部の実施形態では、位置Ｆ４０５でのアミノ酸修飾は、Ｆ４０５Ａであり、位置Ｙ４０７でのアミノ酸修飾は、Ｙ４０７Ｖであり、位置Ｔ３６６でのアミノ酸修飾は、Ｔ３６６Ｉであり、そして、位置Ｋ３９２のアミノ酸修飾はＫ３９２Ｌである。一部の実施形態では、当該第１のＣＨ３ドメインポリペプチドは、位置Ｓ４００でのＳ４００Ｄ及びＳ４００Ｅから選択されるアミノ酸修飾をさらに含み、そして、当該第２のＣＨ３ドメインポリペプチドは、アミノ酸修飾Ｎ３９０Ｒをさらに含む。一部の実施形態では、位置Ｆ４０５でのアミノ酸修飾は、Ｆ４０５Ａであり、位置Ｙ４０７でのアミノ酸修飾は、Ｙ４０５Ｖであり、位置Ｓ４００でのアミノ酸修飾は、Ｓ４００Ｅであり、位置Ｔ３６６でのアミノ酸修飾は、Ｔ３６６Ｌであり、及び、位置Ｋ３９２でのアミノ酸修飾は、Ｋ３９２Ｍである。

【０３２７】

一部の実施形態では、当該改変した第１及び第２のＣＨ３ドメインは、Ｇ型免疫グロブリン（ＩｇＧ）に基づいたＦｃ構築物からなる。当該ＩｇＧを、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、または、ＩｇＧ４とすることができる。

【０３２８】

変異ＣＨ３ドメインを含むその他のリンカー領域Ａ、及び、リンガー領域Ｂは、米国特許第９，４９９，６３４号、及び、第９，５６２，１０９号に記載されており、その各々を、本明細書の一部を構成するものとして、それらの全内容を援用する。

【０３２９】

リンカー領域Ａ、及び、リンカー領域Ｂは、タンパク質、例えば、ヒト血清アルブミンなどの天然に存在するタンパク質の相補的な断片とすることができる。実施形態では、リンカー領域Ａ、及び、リンカー領域Ｂの一方は、第１の、例えば、タンパク質のＮ末端断片、例えば、ｈＳＡを含み、かつ、他方は、第２の、例えば、タンパク質のＣ末端断片、例えば、ｈａｓを有する。ある実施形態では、当該断片は、Ｎ末端、及び、Ｃ末端断片を含む。ある実施形態では、当該断片は、２つの内部断片を含む。一般的に、これらの断片が、重複することはない。ある実施形態では、当該第１の、及び、当該第２の断片は、一緒に、当初のタンパク質、例えば、ｈＳＡの配列全体を提供する。当該第１の断片は、当該他方の配列、例えば、（本明細書で定義した）Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、または、Ｒ４の配列に結合、例えば、融合する、Ｎ末端、及び、Ｃ末端を提供する。

【０３３０】

当該リンカー領域Ａ、及び、リンカー領域Ｂは、アルブミンポリペプチドに由来することができる。一部の実施形態では、当該アルブミンポリペプチドは、天然のヒト血清アルブミンポリペプチド、及び、ヒトアロアルブミンポリペプチドから選択される。当該アルブミンポリペプチドを改変して、当該リンカー領域Ａとリンカー領域Ｂが互いに相互作用してヘテロダイマーを形成することができる。改変したアルブミンポリペプチドの例は、米国特許第９，３８８，２３１号、及び、第９，４９９，６０５号に記載されており、本明細書の一部を構成するものとして、それらの各々の全内容を援用する。

【０３３１】

したがって、本明細書で提供するものは、式、Ｒ１－リンカー領域Ａ－Ｒ２、及び、Ｒ３－－リンカー領域Ｂ－－－Ｒ４の多機能性ヘテロマルチマータンパク質であり、当該リンカー領域Ａ、及び、リンカー領域Ｂは、ヘテロマルチマーを形成する。一部の実施形態では、当該リンカー領域Ａは、第１のポリペプチドを含み、かつ、当該リンカー領域Ｂは、第２のポリペプチドを含み；当該第１の、及び、第２のポリペプチドのそれぞれは、天然のヒト血清アルブミンポリペプチド、及び、ヒトアロアルブミンポリペプチドから選択されるアルブミンポリペプチドのセグメントを含むアミノ酸配列を含み；当該第１の、及び、第２のポリペプチドは、セグメンテーション部位での当該アルブミンポリペプチドのセグメンテーションにより取得され、当該セグメンテーショの結果、セグメンテーション

部位にて、ゼロから３個のアミノ酸残基の欠失を招き；当該第１のポリペプチドは、Ａ１９４Ｃ、Ｌ１９８Ｃ、Ｗ２１４Ｃ、Ａ２１７Ｃ、Ｌ３３１Ｃ、及び、Ａ３３５Ｃから選択される少なくとも１つの突然変異を含み、そして、当該第２のポリペプチドは、Ｌ３３１Ｃ、Ａ３３５Ｃ、Ｖ３４３Ｃ、Ｌ３４６Ｃ、Ａ３５０Ｃ、Ｖ４５５Ｃ、及び、Ｎ４５８Ｃから選択される少なくとも１つの突然変異を含み；及び、当該第１の、及び、第２のポリペプチドは自己集合して、単量体形態のアルブミンポリペプチドの準天然構造を形成する。

【０３３２】

一部の実施形態では、当該セグメンテーション部位は、大きな溶媒接触表面積（ＳＡＳＡ）と、アルブミン構造の残部との限定的な接触を有するアルブミンポリペプチドのループとに存在しており、ｂ）当該セグメンテーションは、輸送体ポリペプチド間の相補的界面をもたらす。これらのセグメンテーション部位は、例えば、米国特許第９，３８８，２３１号に記載されており、本明細書の一部を構成するものとして、その全内容を援用する。

【０３３３】

一部の実施形態では、当該第１のポリペプチドは、本明細書に記載した突然変異の１つ以上を有する当該アルブミンポリペプチドの残基１～３３７、または、残基１～２９３を含む。一部の実施形態では、当該第２のポリペプチドは、本明細書に記載した突然変異の１つ以上を有する当該アルブミンポリペプチドの３４２～５８５、または、３０４～５８５の残基を含む。一部の実施形態では、当該第１のポリペプチドは、残基１～３３９、１～３００、１～３６４、１～４４１、１～８３、１～１７１、１～２８１、１～２９３、１～１１４、１～３３７、または、１～３３６のアルブミンタンパク質を含む。一部の実施形態では、当該第２のポリペプチドは、アルブミンタンパク質の残基３０１～５８５、３６５～５８５、４４２～５８５、８５～５８５、１７２～５８５、２８２～５８５、または、１１５～５８５、３０４～５８５、３４０～５８５、または、３４２～５８５を含む。

【０３３４】

一部の実施形態では、当該第１の、及び、当該第２のポリペプチドは、以下の表に示すようなアルブミンタンパク質の残基を含む。当該アルブミンタンパク質の配列を、以下に示す。

【表２５】

第１のポリペプチド残基	第２のポリペプチド残基
１－３００	３０１－５８５
１－３６４	３６５－５８５
１－４４１	４４２－５８５
１－８３	８５－５８５
１－１７１	１７２－５８５
１－２８１	２８２－５８５
１－１１４	１１５－５８５
１－３３９	３４０－５８５
１－３３７	３４２－５８５
１－２９３	３０４－５８５
１－３３６	３４２－５８５

【０３３５】

一部の実施形態では、当該第１の、及び、第２のポリペプチドは、ジスルフィド結合などの互いに共有結合を形成できるリンカーを含む。リンカーの例として、ペプチドリンカ

ーがあるが、これに限定されない。一部の実施形態では、当該ペプチドリンカーは、ＧＧＧＧＳを含む。当該リンカーは、当該第１のポリペプチドのＣ末端を、当該第２のポリペプチドのＮ末端に融合させることができる。当該リンカーを使用して、当該リンカーがジスルフィド結合を形成する能力を無効にせずに、本明細書に記載した部分を付着させることもできる。一部の実施形態では、当該第１の、及び、第２のポリペプチドは、共有結合を形成できるリンカーを含まない。一部の実施形態では、当該第１の、及び、第２のポリペプチドは、以下の置換を有する。

【表２６】

第１のポリペプチド置換	第２のポリペプチド置換
Ａ２１７Ｃ	Ｖ３４３Ｃ
Ｌ３３１Ｃ	Ａ３５０Ｃ
Ａ２１７Ｃ	Ｌ３４６Ｃ
Ｗ２１４Ｃ	Ｖ３４３Ｃ
Ａ３３５Ｃ	Ｌ３４６Ｃ
Ｌ１９８Ｃ	Ｖ４５５Ｃ
Ａ２１７Ｃ	Ａ３３５Ｃ
Ａ２１７Ｃ	Ｌ３３１Ｃ
Ｌ１９８Ｃ	Ｎ４５８Ｃ
Ａ１９４Ｃ	Ｖ４５５Ｃ

【０３３６】

当該アルブミンポリペプチドの配列は、Ｎ末端シグナル残基（ＭＫＷＶＴＦＩＳＬＬＦＬＦＳＳＡＹＳＲＧＶＦＲＲ）を削除したポストタンパク質形態である、以下に示すヒトアルブミンの配列である。

ＤＡＨＫＳＥＶＡＨＲＦＫＤＬＧＥＥＮＦＫＡＬＶＬＩＡＦＡＱＹＬＱＱＣＰＦＥＤＨＶ
ＫＬＶＮＥＶＴＥＦＡＫＴＣＶＡＤＥＳＡＥＮＣＤＫＳＬＨＴＬＦＧＤＫＬＣＴＶＡＴＬ
ＲＥＴＹＧＥＭＡＤＣＣＡＫＱＥＰＥＲＮＥＣＦＬＱＨＫＤＤＮＰＮＬＰＲＬＶＲＰＥＶ
ＤＶＭＣＴＡＦＨＤＮＥＥＴＦＬＫＫＹＬＹＥＩＡＲＲＨＰＹＦＹＡＰＥＬＬＦＦＡＫＲ
Ｙ
ＫＡＡＦＴＥＣＣＱＡＡＤＫＡＡＣＬＬＰＫＬＤＥＬＲＤＥＧＫＡＳＳＡＫＱＲＬＫＣＡ
ＳＬＱＫＦＧＥＲＡＦＫＡＷＡＶＡＲＬＳＱＲＦＰＫＡＥＦＡＥＶＳＫＬＶＴＤＬＴＫＶ
ＨＴＥＣＣＨＧＤＬＬＥＣＡＤＤＲＡＤＬＡＫＹＩＣＥＮＱＤＳＩＳＳＫＬＫＥＣＣＥＫ
Ｐ
ＬＬＥＫＳＨＣＩＡＥＶＥＮＤＥＭＰＡＤＬＰＳＬＡＡＤＦＶＥＳＫＤＶＣＫＮＹＡＥＡ
ＫＤＶＦＬＧＭＦＬＹＥＹＡＲＲＨＰＤＹＳＶＶＬＬＬＲＬＡＫＴＹＥＴＴＬＥＫＣＣＡ
ＡＡＤＰＨＥＣＹＡＫＶＦＤＥＦＫＰＬＶＥＥＰＱＮＬＩＫＱＮＣＥＬＦＥＱＬＧＥＹＫ
Ｆ
ＱＮＡＬＬＶＲＹＴＫＫＶＰＱＶＳＴＰＴＬＶＥＶＳＲＮＬＧＫＶＧＳＫＣＣＫＨＰＥＡ
ＫＲＭＰＣＡＥＤＹＬＳＶＶＬＮＱＬＣＶＬＨＥＫＴＰＶＳＤＲＶＴＫＣＣＴＥＳＬＶＮ
ＲＲＰＣＦＳＡＬＥＶＤＥＴＹＶＰＫＥＦＮＡＥＴＦＴＦＨＡＤＩＣＴＬＳＥＫＥＲＱＩ
ＫＫ
ＱＴＡＬＶＥＬＶＫＨＫＰＫＡＴＫＥＱＬＫＡＶＭＤＤＦＡＡＦＶＥＫＣＣＫＡＤＤＫ
ＥＴＣＦＡＥＥＧＫＫＬＶＡＡＳＱＡＡＬＧＬ（ヒトアルブミン）

【０３３７】

一部の実施形態では、当該リンカー領域Ａ、及び、当該リンカー領域Ｂは、本明細書に記載したヘテロ二量体を形成する。

【０３３８】

一部の実施形態では、当該ポリペプチドは、Ｎ末端に、ＩｇＧ　Ｆｃ骨格のＣ末端のｓｃＦｖと融合した、ＩｇＧ１　Ｆｃ骨格のＦ（ａｂ’）２からなる抗体を含む。一部の実施形態では、当該ＩｇＧ　Ｆｃ骨格は、ＩｇＧ１　Ｆｃ骨格である。一部の実施形態では、当該ＩｇＧ１骨格を、ＩｇＧ４骨格、ＩｇＧ２骨格、または、その他の同様のＩｇＧ骨格で置き換える。この段落で説明するＩｇＧ骨格は、Ｆｃ領域が治療化合物の一部と称する本願全体において使用することができる。したがって、一部の実施形態では、ＩｇＧ１　Ｆｃ骨格のＦ（ａｂ’）２からなる抗体は、ＩｇＧ１　Ｆｃの抗ＭＡｄＣＡＭ抗体または抗ＰＤ－１抗体、または、本明細書で提供する、その他のあらゆる標的部分またはエフェクター結合／調節とすることができる。一部の実施形態では、Ｃ末端に融合した当該当該ｓｃＦＶセグメントは、当該Ｎ末端領域が抗ＭＡｄＣＡＭ抗体であれば、抗ＰＤ－１抗体とし、または、当該Ｎ末端領域が抗ＭＡｄＣＡＭ抗体であれば、抗ＰＤ－１抗体とすることができる。この例では、当該Ｎ末端を、本明細書で提供した内のいずれかの標的部分とし、かつ、当該Ｃ末端を、本明細書で提供した内のいずれかのエフェクター結合／調節部分とすることができるが、これらに限定されない。あるいは、一部の実施形態では、当該Ｎ末端を、本明細書で提供した内のいずれかのエフェクター結合／調節部分とし、かつ、当該Ｃ末端を、本明細書で提供した内のいずれかの標的部分とすることができる

【０３３９】

一部の実施形態では、当該Ｎ末端を、本明細書で提供した内のいずれかの標的部分とし、かつ、当該Ｃ末端を、本明細書で提供した内のいずれかのエフェクター結合／調節部分とすることができる。

【０３４０】

一部の実施形態では、当該治療化合物は、ホモ二量体化する２つのポリペプチドを含む。一部の実施形態では、当該ポリペプチドのＮ末端は、ヒトＩｇＧ１　Ｆｃドメイン（例えば、ＣＨ２、及び／または、ＣＨ３ドメイン）に融合するエフェクター結合／調節部分を含む。一部の実施形態では、当該ＦｃドメインのＣ末端は、当該標的部分に融合した別のリンカーである。したがって、一部の実施形態では、当該分子は、Ｒ１－リンカーＡ－Ｆｃ領域－リンカーＢ－Ｒ２の式を使用して表すことができ、式中、Ｒ１を、エフェクター結合／調節部分とすることができ、Ｒ２は、標的部分であり、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、本明細書で提供する独立したリンカーである。一部の実施形態では、リンカー１とリンカー２とは相違する。

【０３４１】

一部の実施形態では、当該分子は、Ｒ１－リンカーＡ－Ｆｃ領域－リンカーＢ－Ｒ２の式を使用して表すことができ、式中、Ｒ１は、標的部分とすることができ、Ｒ２は、エフェクター結合／調節部分であり、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、本明細書で提供する独立したリンカーである。一部の実施形態では、リンカーＡとリンカーＢとは相違する。これらのリンカーは、本明細書で提供する例から選択することができるが、それらに限定されない。一部の実施形態では、Ｒ１及びＲ２は、Ｆ（ａｂ’）２及びｓｃＦＶ抗体ドメインから独立して選択する。一部の実施形態では、Ｒ１及びＲ２は、異なる抗体ドメインである。一部の実施形態では、ｓｃＦＶは、ＶＬ－ＶＨドメイン配向にある。

【０３４２】

一部の実施形態では、当該治療化合物は、二重特異性抗体である。一部の実施形態では、当該二重特異性抗体は、以下を含む４つのポリペプチド鎖から構成される：

鎖１：ｎｔ－ＶＨ１－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３－リンカーＡ－ｓｃＦｖ［ＶＬ２－リンカーＢ－ＶＨ２］－ｃｔ

鎖２：ｎｔ－ＶＨ１－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３－リンカーＡ－ｓｃＦｖ［ＶＬ２－リンカーＢ－ＶＨ２］－ｃｔ

鎖３：ｎｔ－ＶＬ１－ＣＬ－ｃｔ

鎖４：ｎｔ－ＶＬ１－ＣＬ－ｃｔ、

式中、鎖１と２は、互いに同一であり、また、鎖３と４は、互いに同一であり、

式中、鎖１は、鎖２とホモ二量体を形成し；及び、鎖３と４は、鎖１と鎖２に関連する

。すなわち、各軽鎖が各重鎖と結合すると、ＶＬ１はＶＨ１と結合し、そして、ＣＬはＣＨ１と結合して、２つの機能性Ｆａｂ単位を形成する。特定の理論に縛られるものではないが、ＶＬ２とＶＨ２は、本明細書で提供するリンカー（例えば、ＧＧＧＧＳＧ（配列番号２３）、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号２２）、または、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号３０）とタンデムに共有結合しているため、各ｓｃＦｖユニットは、本質的に機能している、と考えられる。互いに独立しているリンカーＡ、及び、リンカーＢの配列は、同一のもの、または、異なるものとすることができ、そして、本出願を通して説明した別の態様にすることもできる。したがって、一部の実施形態では、リンカーＡは、ＧＧＧＧＳ（配列番号２３）、または、その２つの反復、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号３０）、または、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号２２）を含む。一部の実施形態では、リンカーＢは、ＧＧＧＧＳ（配列番号２３）、または、その２つの反復、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号３０）、または、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号２２）を含む。当該ｓｃＦｖは、ＮＴ－ＶＨ２－ＶＬ２－ＣＴ、または、ＮＴ－ＶＬ２－ＶＨ２－ＣＴの配向に配置し得る。ＮＴまたはｎｔは、タンパク質のＮ末端を、また、ＣＴまたはｃｔは、タンパク質のＣ末端を表している。ＣＨ１、ＣＨ２、及び、ＣＨ３は、ＩｇＧ　Ｆｃ領域由来のドメインであり、そして、ＣＬは、定常軽鎖を表しており、カッパまたはラムダファミリ軽鎖のいずれかである。その他の定義は、当該技術分野で通常使用する事項を表している。

【０３４３】

一部の実施形態では、当該ＶＨ１及びＶＬ１ドメインは、当該エフェクター分子に由来しており、そして、当該ＶＨ２及びＶＬ２ドメインは、当該標的部分に由来する。一部の実施形態では、当該ＶＨ１及びＶＬ１ドメインは、標的部分に由来しており、そして、当該ＶＨ２及びＶＬ２ドメインは、エフェクター結合／調節部分に由来する。

【０３４４】

一部の実施形態では、当該ＶＨ１及びＶＬ１ドメインは、抗ＰＤ－１抗体に由来しており、そして、当該ＶＨ２及びＶＬ２ドメインは、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体に由来する。一部の実施形態では、当該ＶＨ１及びＶＬ１ドメインは、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体に由来しており、そして、当該ＶＨ２及びＶＬ２ドメインは、抗ＰＤ－１抗体に由来する。

【０３４５】

一部の実施形態では、リンカーＡは、１つ、２つ、３つ、４つ、または、５つのＧＧＧＧＳ（配列番号２３）反復を含む。一部の実施形態では、リンカーＢは、１つ、２つ、３つ、４つ、または、５つのＧＧＧＧＳ（配列番号２３）反復を含む。誤解を避けるために、本願全体で使用するリンカーＡとリンカーＢの配列は、互いに独立している。したがって、一部の実施形態では、リンカーＡとリンカーＢは、同一のもの、または、異なるものとすることができる。一部の実施形態では、リンカーＡは、ＧＧＧＧＳ（配列番号２３）、または、その２つの反復、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号３０）、または、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号２２）を含む。一部の実施形態では、リンカーＢは、ＧＧＧＧＳ（配列番号２３）、またはその２つの反復、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号３０）、または、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号２２）を含む。

【０３４６】

一部の実施形態では、当該治療化合物は、軽鎖と重鎖を含む。一部の実施形態では、当該軽鎖及び重鎖は、標的部分のＶＨドメインを有するＮ末端で始まり、その後に、ヒトＩｇＧ１のＦｃ領域（例えば、ＣＨ２－ＣＨ３）に融合するヒトＩｇＧ１のＣＨ１ドメインが続く。一部の実施形態では、Ｆｃ領域のｃ末端で、本明細書で提供するリンカーに融合し、同リンカーとして、ＧＧＧＧＳ（配列番号２３）、または、その２～３つの反復、または、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＳＧＧＧＳ（配列番号２２）などがあるが、これらに限定されない。次いで、リンカーは、本明細書で提供するエフェクター部分のいずれか１つなど、エフェクター結合／調節部分に融合することができる。重鎖ホモ二量化により、当該

ポリペプチドをホモ二量化することができ、その結果、２つの抗ＰＤ－１抗体など、２つのエフェクター部分を有する治療化合物が得られる。この配向では、当該標的部分はＩｇＧフォーマットであり、２つのＦａｂアームがあり、それぞれが、当該標的部分の結合パートナー、例えば、抗ＭＡｄＣＡＭ標的部分で結合したＭＡｄＣＡＭを認識する。

【０３４７】

一部の実施形態では、当該治療化合物がＦｃ部分を含む場合、当該Ｆｃドメイン（部分）は、Ｆｃ領域を「エフェクターレス」にする突然変異を有しており、ＦｃＲに結合することができない。エフェクターを持たないＦｃ領域をもたらす突然変異は公知である。一部の実施形態では、公知の付番方式を用いたＦｃ領域の突然変異は、Ｋ３２２Ａ、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｇ２３７Ａ、Ｌ２３４Ｆ、Ｌ２３５Ｅ、Ｎ２９７、Ｐ３３１Ｓ、または、それらのあらゆる組み合わせからなる群から選択する。一部の実施形態では、当該Ｆｃ突然変異は、Ｌ２３４、及び／または、Ｌ２３５、及び／または、Ｇ２３７での突然変異を含む。一部の実施形態では、当該Ｆｃ突然変異は、Ｌ２３４Ａ、及び／または、Ｌ２３５Ａ変異を含み、このものは、ＬＡＬＡ突然変異と称することもできる。一部の実施形態では、当該Ｆｃ突然変異は、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、及び、Ｇ２３７Ａ突然変異を含む。

【０３４８】

本明細書で開示しているものは、リンカー領域ポリペプチド、治療用ペプチド、及び、当該ポリペプチドをコードする核酸（例えば、治療化合物）、当該核酸配列を含むベクター、及び、当該核酸またはベクターを含む細胞である。

【０３４９】

治療化合物は、複数の特異的な標的部分を含むことができる。一部の実施形態では、当該治療化合物は、複数のある特異的な標的部分、ドナー特異的な標的部分の複数のコピー、または、複数の組織特異的な標的部分を含む。一部の実施形態では、治療化合物は、第１の、及び、第２のドナー特異的標的部分、例えば、第１のドナー標的に特異的な第１のドナー特異的標的部分、及び、第２のドナー標的に特異的な第２のドナー特異的標的部分を含み、例えば、当該第１の、及び、第２の標的は、同じドナー組織に認められる。一部の実施形態では、当該治療化合物は、例えば、組織特異的標的に対する第１の特異的標的部分、及び、第２の標的に対する第２の特異的標的部分を含み、例えば、当該第１の、及び、第２の標的は、同じ、または、異なる標的組織に認められる。

【０３５０】

一部の実施形態では、治療化合物は、それぞれがＩＣＩＭ結合／調節部分を含む複数のエフェクター結合／調節部分を含み、ＩＣＩＭ結合／調節部分の個数は、例えば、標的に対する当該治療化合物の結合の非存在下での免疫細胞の全身的作動性回避するために、免疫細胞でのＩＣＩＭ結合／調節部分のリガンドの（標的結合の非存在下での）クラスター化を最小化する。

【０３５１】

基準物、例えば、ヒトポリペプチド由来のポリペプチド

一部の実施形態では、治療分子の成分は、例えば、ヒトで使用する治療分子の事例では、天然に存在するヒトポリペプチドに由来する基準分子に由来する、または、同分子をベースとする。例えば、一部の実施形態では、ＣＤ３９分子、ＣＤ７３分子、細胞表面分子バインダー、ドナー特異的標的部分、エフェクターリガンド結合分子、ＩＣＩＭ結合／調節部分、ＩＩＣ結合／調節部分、抑制性免疫チェックポイント分子リガンド分子、抑制性分子カウンターリガンド分子、ＳＭ結合／調節部分、特異的標的部分、標的リガンド結合分子、または、組織特異的標的部分の全部または一部は、天然に存在するヒトポリペプチドをベースとするか、または、同ポリペプチドに由来することができる。例えば、ＰＤ－Ｌ１分子は、ヒトＰＤ－Ｌ１配列をベースとするか、または、それに由来することができる。

【０３５２】

一部の実施形態では、治療化合物成分、例えば、ＰＤ－Ｌ１分子：

ａ）当該ヒトポリペプチドの天然に存在する形態の全部または一部、例えば、その活性部分を含み；
ｂ）疾患状態とは関連のない天然に存在する形態のヒトポリペプチドであり、データベース、例えば、２０１７年１月１１日のＧｅｎＢａｎｋデータベースに記録されている配列を有するヒトポリペプチドの全部または一部、例えば、活性部分を含み；
ｃ）ａ）またはｂ）の配列と、１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、１０個、２０個、または、３０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列を有するヒトポリペプチドを含み；
ｄ）ａ）またはｂ）の配列と、１、２、３、４、５、１０、２０、または、３０％以下だけ異なるアミノ酸残基を持つヒトポリペプチドを含み；
ｅ）ａ）またはｂ）の配列と、実質的な差異が無い配列を有するヒトポリペプチドを含み；または
ｆ）ａ）またはｂ）の配列を有するヒトポリペプチドと、生物学的活性、例えば、免疫応答を増強または阻害する能力において実質的な差異が無い、ｃ）、ｄ）、または、ｅ）の配列を有するヒトポリペプチドを含む。

【０３５３】
一部の実施形態では、治療化合物は、複数のエフェクター結合／調節部分を含むことができる。例えば、治療化合物は、以下から選択される２つ以上のものを含むことができる：
（ａ）ＩＣＩＭ結合／調節部分；（ｂ）ＩＩＣ結合／調節部分；（ｃ）ＳＭ結合／調節部分、または、（ｄ）ＩＣＳＭ結合／調節部分。一部の実施形態では、例えば、治療化合物は、複数の、例えば、２つのＩＣＩＭ結合／調節部分を含むことができ（それらは、同一のものであり、または、相違している）；例として、２つは、ＰＤ－１を活性化または作動させ；複数の、例えば、２つのＩＩＣ結合／調節部分；（それらは、同一のものであり、または、相違している）；複数の、例えば、２つのＳＭ結合／調節部分（それらは、同一のものであり、または、相違している）、または、複数の、例えば、２つのＩＣＳＭ結合／調節部分（それらは、同一のものであり、または、相違している）。一部の実施形態では、当該治療化合物は、ＩＣＩＭ結合／調節部分、及び、ＩＩＣ結合／調節部分；ＩＣＩＭ結合／調節部分、及び、ＳＭ結合／調節部分；ＩＩＣ結合／調節部分、及び、ＳＭ結合／調節部分、ＩＣＩＭ結合／調節部分、及び、ＩＣＳＭ結合／調節部分；ＩＩＣ結合／調節部分、及び、ＩＣＳＭ結合／調節部分；または、ＩＣＳＭ結合／調節部分、及び、ＳＭ結合／調節部分を含むことができる。一部の実施形態では、当該治療化合物は、複数の標的部分を含む。一部の実施形態では、当該標的部分は、同一のもの、または、相違しているもの、とすることができる。

【０３５４】
医薬組成物及びキット
別の態様では、本実施形態は、医薬として許容される担体と共に製剤した、本明細書に記載した治療化合物を含む組成物、例えば、医薬として許容される組成物を提供する。本明細書で使用する「医薬として許容される担体」として、生理学的に適合性のある、ありとあらゆる溶媒、分散媒、等張剤、及び、吸収遅延剤などがある。

【０３５５】
当該担体は、（例えば、注射、または、注入による）静脈内、筋肉内、皮下、非経口、直腸、局所（ｌｏｃａｌ）、眼、局所（ｔｏｐｉｃａｌ）、脊髄、または、表皮投与に適したものとすることができる。本明細書で使用する用語「担体」とは、化合物と共に投与する希釈剤、アジュバント、または、賦形剤のことを意味する。一部の実施形態では、医薬担体は、水及び油などの液体とすることもでき、同油として、ピーナッツ油、大豆油、鉱油、ゴマ油などの石油、動物、植物、または、合成に由来するものなどがある。当該医薬担体を、生理食塩水、アカシアゴム、ゼラチン、デンプンペースト、タルク、ケラチン、コロイドシリカ、尿素など、とすることもできる。さらに、補助剤、安定剤、増粘剤、潤滑剤、着色剤を使用することができる。当該担体は、本明細書で提供する治療化合物を含む医薬組成物に使用することができる。

【０３５６】
本明細書で提供する実施形態の組成物及び化合物は、様々な形態とし得る。このようなものとして、例えば、液体溶液（例えば、注射及び注入可能な溶液）、分散液または懸濁液、リポソーム、及び、坐薬などの液体、半固体、及び、固体の剤形がある。好ましい形態は、意図する投与様式、及び、治療用途で定まる。一般的な組成物は、注射または注入可能な溶液の形態である。一部の実施形態では、当該投与様式は、非経口（例えば、静脈内、皮下、腹腔内、筋肉内）である。一部の実施形態では、当該治療分子を、静脈内への注入または注射で投与する。別の実施形態では、当該治療分子を、筋肉内注射または皮下注射で投与する。別の実施形態では、当該治療分子を、例えば、注射または局所適用して、標的部位に対して局所的に投与する。本明細書で使用する語句「非経口投与」及び「非経口的に投与した」とは、経腸及び局所投与以外の投与様式、通常は、注射による投与フォーマットのことを意味しており、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、気管内、皮下、表皮下、関節内、嚢下、くも膜下、脊髄内、硬膜外、及び、胸骨内への注射及び注入があるが、これらに限定されない。
【０３５７】
治療用組成物は、一般的には、製造及び保管の条件下で、無菌かつ安定でなければならない。当該組成物は、溶液、マイクロエマルジョン、分散液、リポソーム、または、高濃度の治療分子に適したその他の規則構造で製剤することができる。滅菌注射液は、必要な量の活性化合物（すなわち、治療用分子）を、必要に応じて、上記に列挙した成分の１つ以上を用いて、適切な溶媒に加え、続いて、ろ過滅菌して調製することができる。一般的に、分散液は、当該活性化合物を、基本的な分散媒と、上記に列挙したものの内の必要なその他の成分とを含む、滅菌ビヒクルに加えて調製する。滅菌注射溶液の調製のための滅菌粉末の事例では、好ましい調製方法は、真空乾燥と、凍結乾燥とであり、活性成分の粉末と、先に滅菌ろ過したその溶液に由来するあらゆるさらなる所望の成分とが得られる。溶液の適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングを使用して、分散液の事例では、必要な粒子サイズを維持して、及び、界面活性剤を使用して維持することができる。注射可能な組成物の持続的吸収は、吸収を遅延させる作用物質、例えば、モノステアリン酸塩、及び、ゼラチンを組成物に含めることで、実現することができる。
【０３５８】
当業者であれば、投与の経路、及び／または、様式は、所望の結果に応じて変化する、ことは理解できる。特定の実施形態では、当該活性化合物は、インプラント、経皮パッチ、及び、マイクロカプセル化送達システムなどの制御放出製剤など、急速な放出から化合物を保護する担体を用いて調製し得る。エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、及び、ポリ乳酸などの生分解性の生体適合性ポリマーを使用することができる。そのような製剤の調製のための数多くの方法に、特許が付与されており、または、一般に、当業者に公知である。例えば、Ｓｕｓｔａｉｎｅｄ ａｎｄ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｊ．Ｒ．Ｒｏｂｉｎｓｏｎ，ｅｄ．，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９７８を参照されたい。
【０３５９】
特定の実施形態では、治療化合物は、例えば、不活性希釈剤、または、吸収可能な可食性担体と共に経口投与することができる。当該化合物（及び、必要に応じて、その他の成分）は、ハードまたはソフトシェルゼラチンカプセルに封入し、錠剤に圧縮加工し、または、当該対象の食事に直接に取り入れ得る。経口治療投与のために、当該化合物は、賦形剤に含有させ、そして、摂取可能な錠剤、バッカル錠、トローチ、カプセル、エリキシル、懸濁剤、シロップ、ウエハースなどの形態で使用し得る。非経口投与以外で化合物を投与するには、その不活性化を防ぐ材料で、当該化合物をコーティングするか、または、同材料と当該化合物とを共投与する必要もあり得る。治療用組成物は、当該技術分野で公知の医療機器で投与することもできる。
【０３６０】

投与計画は、最適な望ましい反応（例えば、治療反応）を提供するために調整する。例えば、治療状況の緊急性に応じて、単一のボーラスを投与し、幾つかの分割用量を経時的に投与し、または、当該用量を比例的に減少または増加し得る。投与単位形態で非経口組成物を製剤することが、投与の簡便性と、投与量の均一性に関して特に有利である。本明細書で使用する用量単位形態は、処置を受ける対象の単位用量として適切な物理的に個別の単位のことを指し；各単位は、計算された所定量の活性化合物を含み、必要な医薬担体に関連して、所望の治療効果を導き出す。投与単位形態の詳細は、（ａ）活性化合物に固有の特性、及び、達成される特定の治療効果、及び、（ｂ）個々人の感受性に対処する活性化合物などの配合に関する当該技術分野に固有の制限によって決定され、そして、それらの直接的な支配を受ける。

【０３６１】

治療化合物の治療的または予防的有効量の例示的な範囲は、０．１～３０ｍｇ／ｋｇ、より好ましくは、１～２５ｍｇ／ｋｇであるが、これらに限定されない。当該治療化合物の投与量及び治療計画は、当業者が決定することができる。特定の実施形態では、当該治療化合物は、約１～４０ｍｇ／ｋｇ、例えば、１～３０ｍｇ／ｋｇ、例えば、約５～２５ｍｇ／ｋｇ、約１０～２０ｍｇ／ｋｇ、約１～５ｍｇ／ｋｇ、１～１０ｍｇ／ｋｇ、５～１５ｍｇ／ｋｇ、１０～２０ｍｇ／ｋｇ、１５～２５ｍｇ／ｋｇ、または、約３ｍｇ／ｋｇの用量で、注射で（例えば、皮下または静脈内）投与する。投与スケジュールは、例えば、週に１回から、２週間、３週間、または、４週間に１回まで変更することができる。ある実施形態では、当該治療化合物を、隔週で、約１０～２０ｍｇ／ｋｇの用量で投与する。当該治療化合物は、２０ｍｇ／分を超える速度、例えば、２０～４０ｍｇ／分、及び、一般的には、４０ｍｇ／分以上の速度で、静脈内注入で投与して、約３５～４４０ｍｇ／ｍ２、一般的には、約７０～３１０ｍｇ／ｍ２、そして、より一般的には、約１１０～１３０ｍｇ／ｍ２の用量に到達させることができる。実施形態では、約１１０～１３０ｍｇ／ｍ２の注入速度は、約３ｍｇ／ｋｇのレベルを達成する。その他の実施形態では、当該治療化合物は、１０ｍｇ／分未満、例えば、５ｍｇ／分以下の速度で、静脈内注入で投与して、約１～１００ｍｇ／ｍ２、例えば、約５～５０ｍｇ／ｍ２、約７～２５ｍｇ／ｍ２、または、約１０ｍｇ／ｍ２の用量に到達させることができる。一部の実施形態では、当該治療化合物を、約３０分間にわたって注入する。投与量の数値は、緩和される病態の種類と重篤度によって変わり得る、ことに留意されたい。あらゆる特定の対象に関して、個々人での必要度と、当該組成物の投与を管理または監督する専門家の判断とに従って、特定の投与計画を経時的に調整する必要があり、また、本明細書に記載した投与範囲は、例示目的のものでしかなく、かつ、特許請求した組成物の範囲と実施の制限を意図するものではない、ことをさらに理解されたい。

【０３６２】

当該医薬組成物は、治療的分子の「治療的有効量」または「予防的有効量」を含み得る。「治療有効量」とは、所望の治療結果を達成するために必要な投与量及び期間において有効な量のことを指す。治療分子の治療有効量は、個体の病状、年齢、性別、及び、体重、ならびに、当該個体において所望の応答を誘発する当該治療化合物の能力などの要因によって変化し得る。治療有効量とは、治療分子が奏する毒性または有害効果よりも、治療的に有益な効果が大きくなる量でもある。「治療的有効用量」は、好ましくは、測定可能なパラメーター、例えば、免疫攻撃を、未処置の対象と比較して、少なくとも約２０％、より好ましくは少なくとも約４０％、さらにより好ましくは少なくとも約６０％、及び、さらにより好ましくは少なくとも約８０％を阻害する。測定可能なパラメーター、例えば、免疫攻撃を阻害する化合物の能力は、移植拒絶または自己免疫障害の効力を予測する動物モデルシステムで評価することができる。あるいは、組成物のこの特性は、化合物の阻害能力を試験することで評価することができ、インビトロでの阻害に関するアッセイは、当業者に公知である。

【０３６３】

「予防有効量」とは、所望の予防結果を達成するために必要な投与量及び期間において

有効な量のことを指す。一般的には、疾患の前または初期の段階で、対象に予防用量を使用するので、当該予防有効量は、治療有効量よりも少量である。

【０３６４】

本明細書に記載した治療化合物を含むキットも、実施形態の範囲内である。当該キットは；使用説明書；その他の試薬、例えば、標識、治療薬、または、治療分子を、標識またはその他の治療薬、または、放射線防護組成物に対して、キレート化、または、さもなければ、結合させる上で有用な作用物質；投与する治療用分子を調製するための器具またはその他の材料；医薬として許容可能な担体；及び、対象へ投与するための器具またはその他の材料、の１つ以上のその他の要素を具備することができる。

【０３６５】

一部の実施形態では、本明細書で提供する実施形態は、以下を含むが、これらに限定されない：

【０３６６】

１．治療化合物であって：

ｉ）特異的標的部分であって：

ａ）例えば、ドナー標的に優先的に結合する、ドナー特異的標的部分；または、

ｂ）例えば、対象の標的組織に優先的に結合する、組織特異的標的部分、から選択される前記特異的標的部分；及び

ｉｉ）エフェクター結合／調節部分であって：

（ａ）免疫細胞抑制性分子結合／調節部分（ＩＣＩＭ結合／調節部分）；

（ｂ）免疫抑制性免疫細胞結合／調節部分（ＩＩＣ結合／調節部分）；または

（ｃ）治療化合物の一部として、例えば、標的の近傍に、前記標的の免疫系による攻撃を阻害または最小化する物質を提供することで、免疫抑制局所微小環境を促すエフェクター結合／調節部分標的（ＳＭ結合／調節部分）、から選択される前記エフェクター結合／調節部分を含む、前記治療化合物。

【０３６７】

２．前記エフェクター結合／調節部分が、抑制性受容体に直接に結合して活性化する、実施形態１の治療化合物。

【０３６８】

３．前記エフェクター結合／調節部分が、抑制性免疫チェックポイント分子である、実施形態２の治療化合物。

【０３６９】

４．前記エフェクター結合／調節部分が、免疫細胞によって発現する、実施形態１～３のいずれかの治療化合物。

【０３７０】

５．前記免疫細胞が、望ましくない免疫応答に寄与する、実施形態４の治療化合物。

【０３７１】

６．前記免疫細胞が、疾患病状を引き起こす、実施形態４または５の治療化合物。

【０３７２】

７．前記エフェクター結合／調節が結合する分子を刺激する前記治療分子の能力が、前記治療化合物が前記標的部分を介して標的に結合していると、前記治療化合物が前記標的部分を介して標的に結合していない場合よりも、例えば、２、５、１０、１００、５００、または、１，０００倍も大きい、実施形態１の治療化合物。

【０３７３】

８．その同族リガンド、例えば、抑制性免疫チェックポイント分子に対して、単量体として結合する（または、治療化合物が多量体化しない場合に結合する）と、前記同族リガンドを作動性にしない、または、実質的に作動性にしない、実施形態１～７の治療化合物。

【０３７４】

９．前記治療化合物の治療有効用量で、エフェクター結合／調節部分が結合する分子に

顕著な全身的作動性が存在する、実施形態１～８の治療化合物。
【０３７５】
１０．前記治療化合物の治療有効用量で、エフェクター結合／調節部分が結合する分子の作動性が、前記標的部分が結合する標的部位だけに実質的に生じる、実施形態１～９の治療化合物。
【０３７６】
１１．前記治療化合物による、その同族リガンド、例えば、抑制性免疫チェックポイント分子への結合が、内因性カウンターリガンドによる、前記同族リガンド、例えば、抑制性免疫チェックポイント分子への結合を阻害しない、または、実質的に阻害しない、実施形態１～９の治療化合物。
【０３７７】
１２．前記エフェクター結合／調節部分による、その同族リガンドへの結合が、内因性カウンターリガンドによる、前記エフェクター結合／調節部分の前記同族リガンドへの結合を、６０、５０、４０、３０、２０、１０、または、５％未満阻害する、実施形態１～１１の治療化合物。
【０３７８】
１４．前記エフェクター結合／調節部分による、その同族リガンドへの結合が、前記エフェクター結合／調節分子の同族リガンドの拮抗性を実質的に発生させない、実施形態１～１１の治療化合物。
【０３７９】
１５．前記エフェクター結合／調節部分が、ＩＣＩＭ結合／調節部分を含む、実施形態１の治療化合物。
【０３８０】
１６．前記エフェクター結合／調節部分が、抑制性免疫チェックポイント分子リガンド分子を含むＩＣＩＭ結合／調節部分を含む、実施形態１５の治療化合物。
【０３８１】
１７．前記抑制性免疫分子カウンターリガンド分子が、ＰＤ－Ｌ１分子を含む、実施形態１６の治療化合物。
【０３８２】
１８．前記ＩＣＩＭが、前記抑制性免疫分子カウンターリガンド分子を、ＰＤ－１、ＫＩＲ２ＤＬ４、ＬＩＬＲＢ１、ＬＩＬＲＢ、または、ＣＴＬＡ－４から選択される同族抑制性免疫チェックポイント分子に関与せしめる、実施形態１５の治療化合物。
【０３８３】
１９．前記ＩＣＩＭが、抗体である、実施形態１８の治療化合物。
【０３８４】
２０．前記ＩＣＩＭが、ＰＤ－１、ＫＩＲ２ＤＬ４、ＬＩＬＲＢ１、ＬＩＬＲＢ、または、ＣＴＬＡ－４に結合する抗体を含む、実施形態１８の治療化合物。
【０３８５】
２１．前記抗体が、ＰＤ－１に結合する抗体である、実施形態２０の治療化合物。
【０３８６】
２２．前記抗体が、ＰＤ－１に結合する抗体であり、かつ、ＰＤ－１アゴニストである、実施形態２０の治療化合物。
【０３８７】
２３．前記抗体が、ＰＤ－１に結合する抗体であり、かつ、標的部位に結合している時はＰＤ－１アゴニストである、実施形態２０の治療化合物。
【０３８８】
２４．前記抑制性免疫分子カウンターリガンド分子が、ＨＬＡ－Ｇ分子を含む、実施形態１６の治療化合物。
【０３８９】
２５．前記ＩＣＩＭが、前記抑制性免疫分子カウンターリガンド分子を、ＰＤ－１、Ｋ

ＩＲ２ＤＬ４、ＬＩＬＲＢ１、ＬＩＬＲＢ、または、ＣＴＬＡ－４から選択される同族抑制性免疫チェックポイント分子に関与せしめる、実施形態１５の治療化合物。

【０３９０】

２６．前記抑制性免疫分子カウンターリガンド分子が、表１から選択される同族抑制性免疫チェックポイント分子に関与する、実施形態１５の治療化合物。

【０３９１】

２７．その同族抑制性免疫チェックポイント分子に対して単量体として結合する場合、前記抑制性免疫チェックポイント分子を作動性にしない、または、実質的に作動性にしない、実施形態１５の治療化合物。

【０３９２】

２８．前記抑制性免疫分子カウンターリガンドが、天然に存在する抑制性免疫チェックポイント分子リガンドと、少なくとも６０、７０、８０、９０、９５、９９、または、１００％の相同性を有する、実施形態１５の治療化合物。

【０３９３】

２９．前記エフェクター結合／調節部分が、細胞表面抑制性分子に対する機能性抗体分子を含むＩＣＩＭ結合／調節部分を含む、実施形態１の治療化合物。

【０３９４】

３０．前記細胞表面抑制性分子が、抑制性免疫チェックポイント分子である、実施形態１の治療化合物。

【０３９５】

３１．前記抑制性免疫チェックポイント分子が、ＰＤ－１、ＫＩＲ２ＤＬ４、ＬＩＬＲＢ１、ＬＩＬＲＢ２、ＣＴＬＡ－４から選択され、または、表１から選択される、実施形態３０の化合物。

【０３９６】

３２．前記治療化合物の治療有効用量での全身性免疫抑制のレベルは、全身性免疫抑制剤を用いた標準治療が付与するレベル（関係しておれば）よりも低く、または、等モル量の遊離している（治療化合物の成分ではない）エフェクター結合／調節分子が付与するレベル（関係しておれば）よりも低い、実施形態１～３１のいずれかの治療化合物。

【０３９７】

３３．例えば、前記治療化合物の治療有効用量での全身性免疫抑制のレベルは、等モル量の遊離している（治療化合物の成分ではない）エフェクター結合／調節分子が付与するレベルよりも低い、実施形態１～３２の治療化合物。

【０３９８】

３４．第２のエフェクター結合／調節部分をさらに含む、実施形態１～３３のいずれか１つの治療化合物。

【０３９９】

３５．前記第２のエフェクター結合／調節部分が、前記エフェクター結合／調節部分とは異なる標的に結合する、実施形態３４の治療化合物。

【０４００】

３６．前記第２のエフェクター結合／調節部分が、ＩＩＣ結合／調節部分を含む、実施形態３４または３５の治療化合物。

【０４０１】

前記第２のエフェクター結合／調節部分が、ＳＭ結合／調節部分を含む、実施形態３４または３５の治療化合物。

【０４０２】

３７．前記エフェクター結合／調節部分が、ＩＩＣ結合／調節部分を含む、実施形態１の治療化合物。

【０４０３】

３８．前記エフェクター結合／調節部分が、ＩＩＣ結合／調節部分を含み、前記標的部位にて、免疫抑制性免疫細胞を増大、補充、または、蓄積する、実施形態１の治療化合物

。
【０４０４】
３９．前記エフェクター結合／調節部分が、免疫抑制性免疫細胞の細胞表面分子に、結合、または、特異的に結合する細胞表面分子バインダーを含む、実施形態１の治療化合物。
【０４０５】
４０．前記エフェクター結合／調節部分が、免疫抑制性免疫細胞の細胞表面分子に、結合、または、特異的に結合する細胞表面分子リガンド分子を含む、実施形態１の治療化合物。
【０４０６】
４１．前記エフェクター結合／調節部分が、免疫抑制性免疫細胞の細胞表面分子に、結合する抗体分子を含む、実施形態１の治療化合物。
【０４０７】
４２．前記免疫抑制性免疫細胞が、Ｆｏｘｐ３＋ＣＤ２５＋Ｔ制御性細胞などのＴ制御性細胞を含む、実施形態３８～４１のいずれかの治療化合物。
【０４０８】
４３．前記エフェクター結合／調節部分が、ＧＡＲＰに結合し、そして、例えば、ＧＡＲＰ発現免疫抑制性細胞、例えば、ＴｒｅｇのＧＡＲＰに結合する抗体分子を含む、実施形態１～４２のいずれかの治療化合物。
【０４０９】
４４．前記エフェクター結合／調節部分が、ＳＭ結合／調節部分を含む、実施形態１の治療化合物。
【０４１０】
４５．前記ＳＭ結合／調節部分が、免疫抑制性局所微小環境を促す、実施形態４４の治療化合物。
【０４１１】
４６．前記エフェクター分子結合部分が、例えば、免疫細胞機能を阻害する物質、例えば、免疫細胞の活性化を阻害し、または、活性化した免疫細胞の機能を阻害する物質の局所濃度または量を増加させることで、利用可能性を高める、実施形態４４及び４５のいずれかの治療化合物。
【０４１２】
４７．前記エフェクター分子結合部分が、免疫抑制機能を有する可溶性物質、例えば、内因性または外因性物質を結合及び蓄積する、実施形態４４～４６のいずれかの治療化合物。
【０４１３】
４８．前記エフェクター分子結合部分が、例えば、免疫細胞機能を促す物質、例えば、免疫細胞の活性化を促し、または、活性化した免疫細胞の機能を促す物質の局所濃度または量を減らし、または、封鎖することで、利用可能性を低下させる、実施形態４４～４７のいずれかの治療化合物。
【０４１４】
４９．ＳＭ結合／調節部分が、例えば、前記標的の近傍に、前記標的の免疫系による攻撃を阻害または最小化する物質を提供することで、免疫抑制局所微小環境を促す、実施形態４４～４８のいずれか１つの治療化合物。
【０４１５】
５０．前記ＳＭ結合／調節部分が、前記免疫系による標的の攻撃を阻害または最小化する分子を含む、実施形態４４～４９のいずれか１つの治療化合物。
【０４１６】
５１．前記ＳＭ結合／調節部分が、可溶性物質、例えば、免疫抑制機能を有する内因性または外因性物質に結合、及び／または、蓄積する、実施形態４４～５０のいずれか１つの治療化合物。

【０４１７】
５２．前記ＳＭ結合／調節部分が、免疫攻撃を促す物質、例えば、可溶性物質、一般的に、及び、内因性可溶性物質に結合、及び／または、阻害、封鎖、分解、または、さもなければ、中和する、実施形態４４～５１のいずれか１つの治療化合物。
【０４１８】
５３．前記エフェクター分子結合部分が、ＡＴＰまたはＡＭＰの利用可能性を低下させる、実施形態４４～５２のいずれか１つの治療化合物。
【０４１９】
５４．ＳＭ結合／調節部分が、免疫エフェクター細胞機能、例えば、ＡＴＰまたはＡＭＰを促す成分を枯渇させる物質、例えば、ＣＤ３９またはＣＤ７３に結合し、または、含む、実施形態４４～５３のいずれか１つの治療化合物。
【０４２０】
５５．前記ＳＭ結合／調節部分が、ＣＤ３９分子を含む、実施形態４４～５４のいずれか１つの治療化合物。
【０４２１】
５６．前記ＳＭ結合／調節部分が、ＣＤ７３分子を含む、実施形態４４～５４のいずれか１つの治療化合物。
【０４２２】
５７．前記ＳＭ結合／調節部分が、抗ＣＤ３９分子を含む、実施形態４４～５４のいずれか１つの治療化合物。
【０４２３】
５８．前記ＳＭ結合／調節部分が、抗ＣＤ７３抗体分子を含む、実施形態４４～５４のいずれか１つの治療化合物。
【０４２４】
５９．前記エフェクター分子結合部分が、免疫抑制物質、例えば、免疫抑制タンパク質の断片を含む、実施形態４４～５４のいずれか１つの治療化合物。
【０４２５】
６０．ＳＭ結合／調節部分が、アルカリホスファターゼ分子を含む、実施形態４４～５４のいずれか１つの治療化合物。
【０４２６】
６１．前記化合物が、Ｎ末端からＣ末端に向かう式：
Ｒ１－－－リンカー領域Ａ－Ｒ２、または、Ｒ３－リンカー領域Ｂ－Ｒ４、
式中、エフェクター結合／調節部分と特異的な標的部分とが存在する場合に限り、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４は、それぞれ、独立して、エフェクター結合／調節部分、例えば、ＩＣＩＭ結合／調節部分、ＩＩＣ結合／調節部分、または、ＳＭ結合／調節部分；特異的な標的部分を含み；または、存在しない、前記式を有する、実施形態１の治療化合物。
【０４２７】
６２．リンカー領域Ａ、及び、リンカー領域Ｂのそれぞれが、Ｆｃ領域を含む、実施形態６１の治療化合物。
【０４２８】
６３．Ｒ１及びＲ２の一方が、抗ＰＤ－１抗体であり、かつ、Ｒ１及びＲ２の一方が、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体である、実施形態６１の治療化合物。
【０４２９】
６４．Ｒ１の１つが、抗ＰＤ－１抗体であり、かつ、１つのＲ２が、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体である、実施形態６１の治療化合物。
【０４３０】
６５．Ｒ１の１つが、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体であり、かつ、１つのＲ２が、抗ＰＤ－１抗体である、実施形態６１の治療化合物。
【０４３１】

６６．Ｒ３及びＲ４の一方が、抗ＰＤ－１抗体であり、かつ、Ｒ３及びＲ４の一方が、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体である、実施形態６１の治療化合物。

【０４３２】

６７．Ｒ３の１つが、抗ＰＤ－１抗体であり、かつ、１つのＲ４が、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体である、実施形態６１の治療化合物。

【０４３３】

６８．Ｒ３の１つが、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体であり、かつ、１つのＲ４が、抗ＰＤ－１抗体である、実施形態６１の治療化合物。

【０４３４】

６９．前記リンカーが存在しない、実施形態６１～６８のいずれかの治療化合物。

【０４３５】

７０．前記リンカーが、Ｆｃ領域である、実施形態６１～６８のいずれかの治療化合物。

【０４３６】

７１．前記リンカーが、グリシン／セリンリンカー、すなわち、ＧＧＧＧＳ（配列番号２３）の１つ、２つ、３つ、４つ、または、５つの反復などである、実施形態６１～６８のいずれかの治療化合物。

【０４３７】

７２．前記リンカーが、Ｆｃ領域と、グリシン／セリンリンカー、すなわち、ＧＧＧＧＳ（配列番号２３）の１つ、２つ、３つ、４つ、または、５つの反復とを含む、実施形態６１～６８のいずれかの治療化合物。

【０４３８】

７３．前記ＰＤ－１抗体が、ＰＤ－１アゴニストである、実施形態６１～７２のいずれかの治療化合物。

【０４３９】

７４．Ｒ１、及び、Ｒ３は、独立して、機能性抗ＰＤ－１抗体分子（ＰＤ－１のアゴニスト）を含み；かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む、実施形態６１の治療化合物。

【０４４０】

７５．Ｒ１、及び、Ｒ３は、独立して、特異的な標的部分、例えば、抗組織抗原抗体を含み；かつ、Ｒ２、及び、Ｒ４は、独立して、機能性抗ＰＤ－１抗体分子（ＰＤ－１のアゴニスト）を含む、実施形態７３及び７４のいずれかの治療化合物。

【０４４１】

７６．ＳＭ結合／調節部分と特異的な標的部分とが存在する必要があるのであれば、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４は、それぞれ、独立して；物質、例えば、免疫応答を調節する可溶性分子、例えば、ＡＴＰまたはＡＭＰ、例えば、ＣＤ３９分子またはＣＤ７３分子を調節し、例えば、結合及び阻害し、封鎖し、分解し、または、さもなければ、中和するＳＭ結合／調節部分；特異的な標的部分を含み；または、存在していない、実施形態７３及び７４のいずれかの治療化合物。

【０４４２】

７７．Ｒ１及びＲ３が、独立して、ＣＤ３９分子またはＣＤ７３分子を含み；かつ、Ｒ２及びＲ４が、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む、実施形態６１の治療化合物。

【０４４３】

７８．Ｒ１及びＲ３が、それぞれ、ＣＤ３９分子を含み；かつ、Ｒ２及びＲ４が、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む、実施形態７７の治療化合物。

【０４４４】

７９．Ｒ１及びＲ３が、それぞれ、ＣＤ７３分子を含み；かつ、Ｒ２及びＲ４が、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む、実施形態６１

または７７の治療化合物。
【０４４５】
８０．Ｒ１及びＲ３の一方が、ＣＤ３９分子を含み、かつ、他方が、ＣＤ７３分子を含み；及び、Ｒ２及びＲ４が、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む、実施形態６１の治療化合物。
【０４４６】
８１．ＨＬＡ－Ｇ分子と特異的な標的部分とが存在する必要があるのであれば、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４は、それぞれ、独立して、ＨＬＡ－Ｇ分子；特異的な標的部分を含み；または、存在しない、実施形態６１の治療化合物。
【０４４７】
８２．Ｒ１及びＲ３が、それぞれ、ＨＬＧ－Ａ分子を含み；かつ、Ｒ２及びＲ４が、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む、実施形態６１または８１の治療化合物。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。
【０４４８】
８３．Ｒ１及びＲ３が、それぞれ、作動性抗ＬＩＬＲＢ１抗体分子を含み；かつ、Ｒ２及びＲ４が、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む、実施形態８１及び８２のいずれかの治療化合物。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。
【０４４９】
８４．Ｒ１及びＲ３が、それぞれ、作動性抗ＫＩＲ２ＤＬ４抗体分子を含み；かつ、Ｒ２及びＲ４が、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む、実施形態８１及び８２のいずれかの治療化合物。一部の実施形態では、リンカーＡ、及び、リンカーＢは、Ｆｃ部分（例えば、自己ペアリングＦｃ部分、または、自己ペアリングしない、または、実質的に自己ペアリングしないＦｃ部分）を含む。
【０４５０】
８５．Ｒ１及びＲ３が、それぞれ、作動性抗ＬＩＬＲＢ２抗体分子を含み；かつ、Ｒ２及びＲ４が、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む、実施形態８１～８４のいずれかの治療化合物。
【０４５１】
８６．Ｒ１及びＲ３が、それぞれ、作動性抗ＮＫＧ２Ａ抗体分子を含み、かつ；Ｒ２及びＲ４が、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む、実施形態８１～８４のいずれかの治療化合物。
【０４５２】
８７．Ｒ１及びＲ３の一方が、拮抗性抗ＬＩＬＲＢ１抗体分子、作動性抗ＫＲ２ＤＬ４抗体分子、及び、作動性抗ＮＫＧ２Ａ抗体分子から選択される第１の部分を含み、かつ、他方が、拮抗性抗ＬＩＬＲＢ１抗体分子、作動性抗ＫＲ２ＤＬ４抗体分子、及び、作動性抗ＮＫＧ２Ａ抗体分子から選択される異なる部分を含み；かつ、Ｒ２及びＲ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む、実施形態８１～８４のいずれかの治療化合物。
【０４５３】
８８．Ｒ１及びＲ３の一方が、拮抗性抗ＬＩＬＲＢ１抗体分子を含み、かつ、他方が、作動性抗ＫＲ２ＤＬ４抗体分子を含み；及び、Ｒ２及びＲ４が、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む、実施形態８１～８４のいずれかの治療化合物。
【０４５４】
８９．Ｒ１及びＲ３の一方が、拮抗性抗ＬＩＬＲＢ１抗体分子を含み、かつ、他方が、作動性抗ＮＫＧ２Ａ抗体分子を含み；及び、Ｒ２及びＲ４が、独立して、特異的な標的部

分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む、実施形態８１～８４のいずれかの治療化合物。

【０４５５】

８９Ａ．ＩＬ－２ムテイン分子と特異的な標的部分が存在する場合に限り、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４は、それぞれ、独立して、ＩＬ－２ムテイン分子；特異的な標的部分を含み；または、存在しない、実施形態８１～８４のいずれかの治療化合物。

【０４５６】

８９Ｂ．Ｒ１及びＲ３は、それぞれ、ＩＬ－２ムテイン分子を含み、かつ、Ｒ２及びＲ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む、実施形態８９Ａの治療化合物。

【０４５７】

８９Ｃ．Ｒ１及びＲ３の一方は、ＭＡｄＣＡＭ結合分子、例えば、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体分子、または、ＧＩＴＲ結合分子、例えば、抗ＧＩＴＲ抗体分子を含み、かつ、他方は、ＩＬ－２ムテイン分子を含み；及び

Ｒ２及びＲ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む、実施形態８９Ａまたは８９Ｂの治療化合物。

【０４５８】

８９Ｄ．Ｒ１及びＲ３の一方は、ＧＡＲＰ結合分子、例えば、抗ＧＡＲＰ抗体分子を含み、かつ、他方は、ＩＬ－２ムテイン分子を含み；及び

Ｒ２及びＲ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む、実施形態８９Ａまたは８９Ｂの治療化合物。

【０４５９】

８９Ｅ．Ｒ１及びＲ３の一方は、ＧＡＲＰ結合分子、例えば、抗ＧＡＲＰ抗体分子、または、ＧＩＴＲ結合分子、例えば、抗ＧＩＴＲ抗体分子を含み、かつ、他方は、ＩＬ－２ムテイン分子を含み；及び

Ｒ２及びＲ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む、実施形態８９Ａまたは８９Ｂの治療化合物。

【０４６０】

８９Ｆ．Ｒ１及びＲ３の一方は、ＧＡＲＰ結合分子、例えば、抗ＧＡＲＰ抗体分子を含み、かつ、他方は、ＩＬ－２ムテイン分子を含み；及び

Ｒ２及びＲ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む、実施形態８９Ａまたは８９Ｂの治療化合物。

【０４６１】

８９Ｇ．Ｒ１及びＲ３の一方は、ＧＩＴＲ結合分子、例えば、抗ＧＩＴＲ抗体分子を含み、かつ、他方は、ＩＬ－２ムテイン分子を含み；及び

Ｒ２及びＲ４は、独立して、特異的な標的部分、例えば、組織抗原に対するｓｃＦｖ分子を含む、実施形態８９Ａまたは８９Ｂの治療化合物。

【０４６２】

８９Ｈ．前記化合物が、ポリペプチドまたはタンパク質であり、前記ポリペプチドまたはタンパク質が、標的細胞とエフェクター結合／調節部分とに結合する標的部分を含み、前記エフェクター結合／調節部分が、ＩＬ－２突然変異ポリペプチド（ＩＬ－２ムテイン）である、実施形態１の治療化合物。

【０４６３】

８９Ｉ．前記標的部分が、標的細胞の表面の標的タンパク質に結合する抗体を含む、実施形態８９Ｈの治療化合物。

【０４６４】

８９Ｊ．前記抗体が、ＭＡｄＣＡＭ、ＯＡＴ１（ＳＬＣ２２Ａ６）、ＯＣＴ２（ＳＬＣ２２Ａ２）、ＦＸＹＤ２、ＴＳＰＡＮ７、ＤＰＰ６、ＨＥＰＡＣＡＭ２、ＴＭＥＭ２７、または、ＧＰＲ１１９に結合する抗体である、実施形態８９Ｉの治療化合物。

【０４６５】

８９Ｋ．前記ＩＬ－２ムテインが、免疫細胞が発現する受容体に結合する、実施形態８９Ｉの治療化合物。

【０４６６】

８９Ｌ．前記免疫細胞が、望ましくない免疫応答に寄与する、実施形態８９Ｉの治療化合物。

【０４６７】

８９Ｍ．前記免疫細胞が、疾患病状を引き起こす、実施形態８９Ｈ～８９Ｌのいずれかの治療化合物。

【０４６８】

８９Ｎ．前記標的部分が、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体を含む、実施形態８９Ｈ～８９Ｍのいずれかの治療化合物。

【０４６９】

８９Ｏ．前記化合物が、Ｎ末端からＣ末端に向かう式：

Ｒ１－－－リンカー領域Ａ－Ｒ２、または、Ｒ３－リンカー領域Ｂ－Ｒ４、

式中、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４は、それぞれ、独立して、前記エフェクター結合／調節部分、前記特異的な標的部分を含み、または、存在しない、前記式を有する、実施形態８９Ｈの治療化合物。

【０４７０】

８９Ｐ．リンカー領域Ａ、及び、リンカー領域Ｂのそれぞれが、Ｆｃ領域を含む、実施形態８９Ｏの治療化合物。

【０４７１】

８９Ｑ．Ｒ１及びＲ２の一方が、前記ＩＬ－ムテイン抗体であり、かつ、Ｒ１及びＲ２の一方が、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体である、実施形態８９Ｏまたは８９Ｐの治療化合物。

【０４７２】

８９Ｒ．Ｒ１が、前記ＩＬ－ムテインであり、かつ、Ｒ２が、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体である、実施形態８９Ｏ、８９Ｐ、または、８９Ｑの治療化合物。

【０４７３】

８９Ｓ．Ｒ１の一方が、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体であり、かつ、１つのＲ２が、抗ＰＤ－１抗体である、実施形態８９Ｏ、８９Ｐ、または、８９Ｑの治療化合物。

【０４７４】

８９Ｔ．Ｒ３及びＲ４の一方が、前記ＩＬ－２ムテインであり、かつ、Ｒ３及びＲ４の一方が、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体である、実施形態８９Ｏ、８９Ｐ、または、８９Ｑの治療化合物。

【０４７５】

８９Ｕ．Ｒ３が、前記ＩＬ－２ムテインであり、かつ、Ｒ４が、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体である、実施形態８９Ｏ、８９Ｐ、または、８９Ｑの治療化合物。

【０４７６】

８９Ｖ．Ｒ３が、抗ＭＡｄＣＡＭ抗体であり、かつ、１つのＲ４が、前記ＩＬ－２ムテインである、実施形態８９Ｏ、８９Ｐ、または、８９Ｑの治療化合物。

【０４７７】

８９Ｗ．前記リンカーが存在しない、実施形態８９Ｏ～８９Ｗのいずれかの治療化合物。

【０４７８】

８９Ｘ．前記リンカーが、Ｆｃ領域であり、または、Ｆｃ領域を含む、実施形態８９Ｏ～８９Ｗのいずれかの治療化合物。

【０４７９】

８９Ｙ．前記リンカーが、グリシン／セリンリンカーを含む、実施形態８９Ｏ～８９Ｗのいずれかの治療化合物。

【０４８０】

８９Ｘ．前記リンカーが、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ、ＧＧＧＧＧＳ

ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ、または、ＧＧＧＧＳの配列を含む、実施形態８９Ｏ～８９Ｗのいずれかの治療化合物。

【０４８１】

８９Ｙ．前記ＩＬ－２ムテインが、配列番号６のＩＬ－２配列を含み、ペプチドは、配列番号の位置５３、５６、８０、または、１１８に対応する位置に突然変異を含む、実施形態８９Ｈの治療化合物。

【０４８２】

８９Ｚ．前記ＩＬ－２ムテインが、配列番号６のＩＬ－２配列を含み、ペプチドは、配列番号６の位置５３、５６、８０、または、１１８に対応する位置に突然変異を含む、実施形態８９Ｈ～８９Ｚのいずれかの治療化合物。

【０４８３】

８９ＡＡ．前記突然変異が、位置５３、５６、８０、または、１１８でのＬからＩへの突然変異である、実施形態８９Ｙの治療化合物。

【０４８４】

８９ＢＢ．前記突然変異が、位置５３、５６、８０、または、１１８でのＬからＩへの突然変異である、実施形態８９Ｚの治療化合物。

【０４８５】

８９ＣＣ．前記ＩＬ－２ムテインが、配列番号６での位置に対応する、２９、３１、３５、３７、４８、６９、７１、７４、８８、及び、１２５の１つ以上の位置での突然変異をさらに含む、実施形態８９Ｈ～８９ＢＢのいずれかの治療化合物。

【０４８６】

８９ＤＤ．前記ＩＬ－２ムテインが、位置Ｅ１５、Ｈ１６、Ｑ２２、Ｄ８４、Ｅ９５、または、Ｑ１２６の１つ以上に突然変異を含み、または、位置Ｅ１５、Ｈ１６、Ｑ２２、Ｄ８４、Ｅ９５、または、Ｑ１２６の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または、それぞれが野生型である、実施形態８９Ｈ～８９ＣＣのいずれかの治療化合物。

【０４８７】

８９ＥＥ．前記ムテインの突然変異が、Ｅ１５Ｑ、Ｈ１６Ｎ、Ｑ２２Ｅ、Ｄ８４Ｎ、Ｅ９５Ｑ、または、Ｑ１２６Ｅの１つ以上である、実施形態８９Ｈ～８９ＤＤのいずれかの治療化合物。

【０４８８】

８９ＦＦ．前記ムテインが、配列番号６のＮ２９Ｓ突然変異を含む、実施形態８９Ｈ～８９ＥＥのいずれかの治療化合物。

【０４８９】

８９ＧＧ．前記ムテインが、Ｙ３１ＳまたはＹ５１Ｈ突然変異を含む、実施形態８９Ｈ～８９ＦＦのいずれかの治療化合物。

【０４９０】

８９ＨＨ．前記ムテインが、Ｋ３５Ｒ突然変異を含む、実施形態８９Ｈ～８９ＧＧのいずれかの治療化合物。

【０４９１】

８９ＩＩ．前記ムテインが、Ｔ３７Ａ突然変異を含む、実施形態８９Ｈ～８９ＨＨのいずれかの治療化合物。

【０４９２】

８９ＪＪ．前記ムテインが、Ｋ４８Ｅ突然変異を含む、実施形態８９Ｈ～８９ＩＩのいずれかの治療化合物。

【０４９３】

８９ＫＫ．前記ムテインが、Ｖ６９Ａ突然変異を含む、実施形態８９Ｈ～８９ＪＪのいずれかの治療化合物。

【０４９４】

８９ＬＬ．前記ムテインが、Ｎ７１Ｒ突然変異を含む、実施形態８９Ｈ～８９ＫＫのいずれかの治療化合物。

【０４９５】
８９ＭＭ．前記ムテインが、Ｑ７４Ｐ突然変異を含む、実施形態８９Ｈ～８９ＬＬのいずれかの治療化合物。
【０４９６】
８９ＮＮ．前記ムテインが、Ｎ８８ＤまたはＮ８８Ｒ突然変異を含む、実施形態８９Ｈ～８９ＭＭのいずれかの治療化合物。
【０４９７】
８９ＯＯ．前記ムテインが、Ｃ１２５ＡまたはＣ１２５Ｓ突然変異を含む、実施形態８９Ｈ～８９ＮＮのいずれかの治療化合物。
【０４９８】
８９ＰＰ．前記ＩＬ－２ムテインが、Ｆｃペプチドに融合または結合する、実施形態８９Ｈ～８９ＯＯのいずれかの治療化合物。
【０４９９】
８９ＰＰ１．前記Ｆｃペプチドが、Ｌ２３４、Ｌ２４７、Ｌ２３５、Ｌ２４８、Ｇ２３７、及び、Ｇ２５０の１つ以上の位置に突然変異を含む、実施形態８９ＰＰの治療化合物。
【０５００】
８９ＰＰ２．前記突然変異が、ＬからＡ、または、ＧからＡへの突然変異である、実施形態８９ＰＰ１の治療化合物。
【０５０１】
８９ＰＰ３．前記Ｆｃペプチドが、Ｌ２４７Ａ、Ｌ２４８Ａ、及び／または、Ｇ２５０Ａ突然変異（Ｋａｂａｔ付番法）を含む、実施形態８９ＰＰ１の治療化合物。
【０５０２】
８９ＰＰ４．前記Ｆｃペプチドが、Ｌ２３４Ａ突然変異、Ｌ２３５Ａ突然変異、及び／または、Ｇ２３７Ａ突然変異（ＥＵ付番法）を含む、実施形態８９ＰＰ１の治療化合物。
【０５０３】
８９ＱＱ．前記化合物が、ポリペプチドを形成する第１の鎖と、第２の鎖とを含む前記ポリペプチドを含み、前記第１の鎖が：
V_H－H_c－リンカー－C_1を含み、式中、V_Hは、前記第２の鎖のV_Lドメインで前記標的細胞に結合する可変重ドメインであり；H_cは、ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３ドメインを含む抗体の重鎖であり、前記リンカーは、グリシン／セリンリンカーであり、そして、C_1は、Ｎ末端またはＣ末端のいずれかの配向でＦｃタンパク質に融合または結合したＩＬ－２ムテインであり；及び
前記第２の鎖が：
V_L－L_cを含み、式中、V_Lは、前記第１の鎖のV_Hドメインで前記標的細胞に結合する可変軽鎖ドメインであり、そして、L_cドメインは、軽鎖ＣＫドメインである、実施形態８９Ｈの治療化合物。
【０５０４】
８９ＱＱ１．前記ＶＨ及びＶＬドメインが、細胞で発現するＭＡｄＣＡＭに結合する抗ＭＡｄＣＡＭ可変ドメインである、実施形態８９ＱＱの治療化合物。
【０５０５】
８９ＱＱ２．前記ＩＬ－２ムテインが、配列番号６の位置５３、５６、８０、または、１１８に対応する位置に突然変異を含む、実施形態８９ＱＱまたは８９ＱＱ１の治療化合物。
【０５０６】
８９ＱＱ３．前記突然変異が、位置５３、５６、８０、または、１１８でのＬからＩへの突然変異である、実施形態８９ＱＱ２の治療化合物。
【０５０７】
８９ＱＱ４．前記ムテインが、位置６９、７５、８８、及び／または、１２５、または、それらのあらゆる組み合わせに対応する位置に突然変異をさらに含む、実施形態８９Ｑ

Ｑ２または８９ＱＱ３の治療化合物。
【０５０８】
８９ＱＱ５．前記ＩＬ－２ムテインが、Ｌ５３Ｉ、Ｌ５６Ｉ、Ｌ８０Ｉ、及び、Ｌ１１８Ｉの内の１つ、ならびに、Ｖ６９Ａ、Ｑ７４Ｐ、Ｎ８８Ｄ、または、Ｎ８８Ｒの突然変異、及び、任意のＣ１２５ＡまたはＣ１２５Ｓからなる群から選択される突然変異を含む、実施形態８９ＱＱ２または８９ＱＱ３の治療化合物。。
【０５０９】
８９ＱＱ６．前記ＩＬ－２ムテインが、Ｌ５３Ｉ突然変異を含む、実施形態８９ＱＱ５の治療化合物。
【０５１０】
８９ＱＱ７．前記ＩＬ－２ムテインが、Ｌ５６Ｉ突然変異を含む、実施形態８９ＱＱ５の治療化合物。
【０５１１】
８９ＱＱ８．前記ＩＬ－２ムテインが、Ｌ８０Ｉ突然変異を含む、実施形態８９ＱＱ５の治療化合物。
【０５１２】
８９ＱＱ９．前記ＩＬ－２ムテインが、Ｌ１１８Ｉ突然変異を含む、実施形態８９ＱＱ５の治療化合物。
【０５１３】
８９ＱＱ１０．前記ＩＬ－２ムテインが、その他のあらゆる突然変異を含まない、実施形態８９ＱＱ５の治療化合物。
【０５１４】
８９ＱＱ１１．前記Ｆｃタンパク質が、ＫＡＢＡＴ付番法による、Ｌ２４７Ａ、Ｌ２４８Ａ、及び、Ｇ２５０Ａ突然変異、または、Ｌ２３４Ａ突然変異、Ｌ２３５Ａ突然変異、及び／または、Ｇ２３７Ａ突然変異を含む、実施形態８９ＱＱ～８９ＱＱ１０のいずれか１つの治療化合物。
【０５１５】
８９ＱＱ１２．前記リンカーが、ＧＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ、または、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳの配列を含む、実施形態８９ＱＱ～８９ＱＱ１１のいずれか１つの治療化合物。
【０５１６】
８９ＱＱ１３．前記ポリペプチドが、本明細書に記載した配列を含むＦｃペプチドを含む、実施形態８９ＱＱ～８９ＱＱ１１のいずれか１つの治療化合物。
【０５１７】
９０．Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４の１つが、抗ＢＣＲ抗体分子、例えば、拮抗性抗ＢＣＲ抗体分子を含み、１つが、抗ＦＣＲＬ抗体分子を含み、かつ、１つが、特異的な標的部分を含む、実施形態８１～８４のいずれかの治療化合物。
【０５１８】
９１．前記抗ＦＣＲＬ分子が、ＦＣＲＬ１、ＦＣＲＬ２、ＦＣＲＬ３、ＦＣＲＬ４、ＦＣＲＬ５、または、ＦＣＲＬ６に関する抗ＦＣＲＬ抗体分子、例えば、作動性抗ＦＣＲＬ抗体分子を含む、実施形態９０の治療化合物。
【０５１９】
９２．Ｔ細胞エフェクター結合／調節部分、Ｂ細胞エフェクター結合／調節部分、及び、特異的な標的部分が存在しておれば、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４は、それぞれ、独立して：
ｉ）Ｔ細胞の活性、増殖、または、機能を最小化または阻害する、エフェクター結合／調節部分（Ｔ細胞エフェクター結合／調節部分）、例えば、ＩＣＩＭ結合／調節部分、ＩＣ結合／調節部分、または、ＳＭ結合／調節部分；
ｉｉ）Ｂ細胞の活性、増殖、または、機能を最小化または阻害する、エフェクター結合／調節部分（Ｂ細胞エフェクター結合／調節部分）、例えば、ＩＣＩＭ結合／調節部分、

ＩＩＣ結合／調節部分、または、ＳＭ結合／調節部分；
ｉｉｉ）特異的な標的部分；または
ｉｖ）存在しない、ことを含む、実施形態８１～８４のいずれかの治療化合物。
【０５２０】
９３．Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４の１つが、作動性抗ＰＤ－１抗体を含み、かつ、１つが、ＨＬＡ－Ｇ分子を含む、実施形態９２の治療化合物。
【０５２１】
９４．Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４の１つが、ＳＭ結合／調節部分、例えば、ＣＤ３９分子、または、ＣＤ７３分子を含む、実施形態９２～９３の治療化合物。
【０５２２】
９５．Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４の１つが、制御性免疫細胞、例えば、Ｔｒｅｇ細胞またはＢｒｅｇ細胞に結合し、活性化し、または、維持する実体を含む、実施形態９２～９４のいずれかの治療化合物。
【０５２３】
９６．Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４の１つが、作動性抗ＰＤ－１抗体を含み、または、１つが、ＨＬＡ－Ｇ分子を含む、実施形態９２～９５のいずれかの治療化合物。
【０５２４】
９７．Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、及び、Ｒ４の１つが、作動性抗ＰＤ－１抗体を含み、１つが、ＨＬＡ－Ｇ分子を含み、そして、１つが、ＣＤ３９分子またはＣＤ７３分子を含む、実施形態９６の治療化合物。
【０５２５】
９８．前記エフェクター結合／調節部分が、ポリペプチドを含む、実施形態１～９７のいずれかの治療化合物。
【０５２６】
９９．前記エフェクター結合／調節部分が、少なくとも５個、１０個、２０個、３０個、４０個、５０個、１５０個、２００個、または、２５０個のアミノ酸残基を有するポリペプチドを含む、実施形態１～９８のいずれかの治療化合物。
【０５２７】
１００．前記エフェクター結合／調節部分が、５Ｋｄ、１０Ｋｄ、１５Ｋｄ、２０Ｋｄ、または、４０Ｋｄの分子量を有する、実施形態１～９９のいずれかの治療化合物。
【０５２８】
１０１．前記エフェクター結合／調節部分が、アポリポタンパク質ＣＩＩＩ、プロテインキナーゼＡ、Ｓｒｃキナーゼ、または、Ｂｅｔａ１インテグリンの発現の阻害剤を含まない、実施形態１～１００のいずれかの治療化合物。
【０５２９】
１０２．前記エフェクター結合／調節部分が、アポリポタンパク質ＣＩＩＩ、プロテインキナーゼＡ、Ｓｒｃキナーゼ、または、Ｂｅｔａ１インテグリンの活性の阻害剤を含まない、実施形態１～１００のいずれかの治療化合物。
【０５３０】
１０３．前記治療化合物は、肺、皮膚、膵臓、網膜、前立腺、卵巣、リンパ節、副腎、肝臓、または、腸組織から選択される組織を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５３１】
１０４．前記治療化合物は、細管細胞、例えば、近位細管上皮細胞を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５３２】
１０５．前記治療化合物は、ＴＩＥ－２、ＡＰＮ、ＴＥＭ４、ＴＥＭ６、ＩＣＡＭ－１、ヌクレオリンＰ２Ｚ受容体、Ｔｒｋ－Ａ、ＦＬＪ１０８４９、ＨＳＰＡ１２Ｂ、ＡＰＰ、または、ＯＸ－４５を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。

【０５３３】
１０６．前記治療化合物は、内腔発現タンパク質を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５３４】
１０７．前記ドナー標的が、心臓特異的標的を含まない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５３５】
１０８．前記治療化合物は、肺組織を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５３６】
１０９．前記治療化合物は、腎臓組織を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５３７】
１１０．前記治療化合物は、膵臓肺組織を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５３８】
１１１．前記治療化合物は、腸組織を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５３９】
１１２．前記治療化合物は、前立腺組織を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５４０】
１１３．前記治療化合物は、脳組織を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５４１】
１１４．前記治療化合物は、ＣＤ７１を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５４２】
１１５．前記治療化合物は、ＣＤ９０を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５４３】
１１６．前記治療化合物は、ＭＡｄＣＡＭを特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５４４】
１１７．前記治療化合物は、アルブミンを特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５４５】
１１８．前記治療化合物は、炭酸脱水酵素ＩＶを特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５４６】
１１９．前記治療化合物は、ＺＧ１６－ｐを特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５４７】
１２０．前記治療化合物は、ジペプチジルペプチダーゼＩＶを特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５４８】
１２１．前記治療化合物は、血管内皮細胞膜の内腔表面を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５４９】
１２１．前記治療化合物は、心臓組織を特異的な標的としない、実施形態１～１０１の

いずれかの治療化合物。
【０５５０】
１２２．前記治療化合物は、腫瘍、固形腫瘍、または、固形腫瘍の血管を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５５１】
１２３．前記治療化合物は、皮膚組織を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５５２】
１２４．前記治療化合物は、表皮組織を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５５３】
１２５．前記治療化合物は、基底膜を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５５４】
１２６．前記治療化合物は、Ｄｓｇポリペプチドを特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５５５】
１２７．前記治療化合物は、Ｄｓｇ１を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５５６】
１２８．前記治療化合物は、Ｄｓｇ３を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５５７】
１２９．前記治療化合物は、ＢＰ１８０を特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５５８】
１３０．前記治療化合物は、デスモグレインを特異的な標的としない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５５９】
１３１．前記治療化合物は、補体調節因子、例えば、補体阻害剤を含んでおらず、前記補体阻害剤として、米国特許第８，４５４，９６３号に記載されたものがあるが、これに限定されることはなく、また、同文献は、本明細書の一部を構成するものとして、その全内容を援用する、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５６０】
１３３．前記治療化合物は、造影剤を含まない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５６１】
１３４．前記治療化合物は、放射性作用物質、放射性同位体、放射性医薬品、造影剤、ナノ粒子；酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光物質、及び、生物発光物質からなる群から選択される造影剤を含まず、前記造影剤として、米国特許第８，８１５，２３５号に記載されたものがあるが、これに限定されることはなく、また、同文献は、本明細書の一部を構成するものとして、その全内容を援用する、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５６２】
１３５．前記治療化合物は、放射性核種を含まず、前記放射性核種として、米国特許第４，８７０，５３６号に記載されたものがあるが、これに限定されることはなく、また、同文献は、本明細書の一部を構成するものとして、その全内容を援用する、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。。
【０５６３】
１３６．結合するドナー細胞による内在化を受けない、実施形態１～１０１のいずれか

の治療化合物。
【０５６４】
１３７．前記治療化合物が、前記特異的な標的部分が標的とする細胞に入り込まない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５６５】
１３８．前記治療化合物が、前記特異的な標的部分が標的とする細胞を死滅させない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５６６】
１３９．前記治療化合物が、前記エフェクター結合／調節部分が結合する細胞に入り込まない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５６７】
１４０．前記治療化合物が、前記エフェクター結合／調節部分が結合する細胞を死滅させない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５６８】
１４１．前記治療化合物が、自己抗原性ペプチドまたはポリペプチドを含まない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５６９】
１４２．前記治療化合物が、自己抗原性ペプチドまたはポリペプチド、例えば、自己抗体を有する前記対象に対するペプチドまたはポリペプチドを含まない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５７０】
１４３．前記治療化合物が、哺乳動物、例えば、自己免疫障害を有するヒトに由来する抗体分子を含まない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５７１】
１４４．前記治療化合物が、哺乳動物、例えば、急性粘膜皮膚ＰＶを有するヒトに由来する抗体分子を含まない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５７２】
１４５．前記治療化合物が、哺乳動物、例えば、グッドパスチャー病を有するヒトに由来する抗体分子を含まない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５７３】
１４６．前記治療化合物が、哺乳動物、例えば、尋常性天疱瘡を有するヒトに由来する抗体分子を含まない、実施形態１～１０１のいずれかの治療化合物。
【０５７４】
１４１．ドナー特異的標的部分を含む、実施形態１～１４６のいずれかの治療化合物。
【０５７５】
１４２．レシピエントの組織とは対照的に、移植したドナー組織に優先的に局在化する、実施形態１４１のいずれかの治療化合物。
【０５７６】
１４３．前記ドナー特異的標的部分が、ドナー由来の移植組織、例えば、臓器に対して部位特異的免疫特権を付与する、実施形態１４１～１４２の治療化合物。
【０５７７】
１４４．前記ドナー特異的標的部分が、前記レシピエントの遺伝子座に存在しないドナーの遺伝子座に存在する対立遺伝子の産物、例えば、ポリペプチドに結合する、実施形態１４１～１４３の治療化合物。
【０５７８】
１４５．前記ドナー特異的標的部分が、対象組織で発現する遺伝子の対立遺伝子と比較して、ドナー組織、例えば、移植組織、例えば、臓器で発現する遺伝子の対立遺伝子に対して優先的に結合する、実施形態１４１～１４４のいずれかの治療化合物。
【０５７９】
１４６．前記ドナー特異的標的部分が、ドナー組織、例えば、移植組織、例えば、臓器

で発現する遺伝子の対立遺伝子に対して、対象組織で発現する遺伝子の対立遺伝子に対する親和性よりも、少なくとも２倍、４倍、５倍、１０倍、５０倍、１００倍、５００倍、１，０００倍、５，０００倍、または、１０，０００倍も大きな結合親和性を有する、実施形態１４１～１４５の治療化合物。

【０５８０】

１４７．前記ドナー特異的標的部分が、前記レシピエントの遺伝子座に存在しないドナーの遺伝子座に存在する対立遺伝子の産物、例えば、ポリペプチドに対して結合する、実施形態１４１～１４６の治療化合物。

【０５８１】

１４８．前記結合が、例えば、治療化合物の臨床的に有効な用量で、望ましくない、実質的に、または、臨床的に許容されない全身免疫抑制を得るのに十分に特異的である、実施形態１４１～１４７のいずれか１つの治療化合物。

【０５８２】

１４９．前記治療化合物が、前記標的部位で、例えば、前記標的部位に前記治療化合物の蓄積を招くドナー特異的標的部分の結合を蓄積する、実施形態１４１～１４８のいずれか１つの治療化合物。

【０５８３】

１５０．前記ドナー特異的標的部分が、表２、例えば、その対立遺伝子が、ドナーに存在はするが、レシピエントには存在しない、ＨＬＡ遺伝子座、例えば、ＨＬＡ－Ａ、ＨＬＡ－Ｂ、ＨＬＡ－Ｃ、ＨＬＡ－ＤＰ、ＨＬＡ－ＤＱ、または、ＨＬＡ－ＤＲ遺伝子座から選択される遺伝子座の産物に結合する、実施形態１４１～１４９のいずれか１つの治療化合物。ＨＬＡ－Ａ、ＨＬＡ－Ｂ、ＨＬＡ－Ｃ、ＨＬＡ－ＤＰ、ＨＬＡ－ＤＱ、または、ＨＬＡ－ＤＲ遺伝子座。

【０５８４】

１５１．前記ドナー特異的標的部分が、ＨＬＡ－Ａの対立遺伝子、ＨＬＡ－Ｂの対立遺伝子、ＨＬＡ－Ｃの対立遺伝子、ＨＬＡ－ＤＰの対立遺伝子、ＨＬＡ－の対立遺伝子、または、ＨＬＡ－の対立遺伝子に結合する、実施形態１４１～１５０のいずれか１つの治療化合物。

【０５８５】

１５２．前記治療化合物は、移植片を有する、移植片を有することになる、または、それを必要とする対象の処置に適している、実施形態１４１～１５１のいずれか１つの治療化合物。

【０５８６】

１５３．前記移植片が、臓器、例えば、肝臓、腎臓、心臓、膵臓、胸腺、皮膚、または、肺の全部または一部を含む、実施形態１５２の治療化合物。

【０５８７】

１５４．前記ドナー特異的標的部分が、抗体分子を含む、実施形態１４１～１５３のいずれか１つの治療化合物。

【０５８８】

１５５．前記ドナー特異的標的部分が、標的特異的結合ポリペプチド、または、標的リガンド結合分子を含む、実施形態１４１～１５３のいずれか１つの治療化合物。

【０５８９】

１５６．組織特異的標的部分を含む、実施形態１～１５５のいずれか１つの治療化合物。

【０５９０】

１５７．前記組織特異的標的部分が、ＭＡｄＣＡＭに特異的に結合する分子である、実施形態１５６の治療化合物。

【０５９１】

１５８．前記組織特異的標的部分が、ＭＡｄＣＡＭに特異的に結合する抗体である、実施形態１５６の治療化合物。

【０５９２】
１５９．前記治療化合物が、自己免疫障害、例えば、本明細書に記載した自己免疫障害を有する、または、同障害を有するリスクがある、または、そのリスクが高い対象の処置に適している、実施形態１５６～１５８のいずれか１つの治療化合物。
【０５９３】
１６０．前記治療化合物が、前記標的部位で、例えば、前記標的部位に前記治療化合物の蓄積を招くドナー特異的標的部分の結合を蓄積する、実施形態１５６～１５９のいずれかの治療化合物。
【０５９４】
１６１．前記治療化合物が、対象のその他の組織とは対照的に、標的組織に対して優先的に局在する、実施形態１５６～１６０のいずれかの治療化合物。
【０５９５】
１６２．前記治療化合物が、対象標的組織、例えば、自己免疫障害において、例えば、望ましくない免疫攻撃を受けている、または、同免疫攻撃を受けるリスクがある、または、そのリスクが高い標的組織に対して部位特異的免疫特権を付与する、実施形態１５６～１６１のいずれかの治療化合物。
【０５９６】
１６３．前記組織特異的標的部分が、前記治療化合物の成分として、例えば、自己免疫障害において、望ましくない免疫攻撃を受けている対象の標的組織に対して優先的に結合する、実施形態１５６～１６１のいずれかの治療化合物。
【０５９７】
１６４．組織特異的標的部分が、前記産物、例えば、前記標的組織の外側に存在しないポリペプチド、または、治療分子の治療濃度にて、許容不可能なレベルの免疫抑制が存在しない、または、実質的に存在しない十分に低レベルで存在するポリペプチドに結合する、実施形態１５６～１６３のいずれかの治療化合物。
【０５９８】
１６５．前記組織特異的標的部分が、非標的組織よりも、標的組織において豊富である産物、または、同産物での部位に結合する、実施形態１５６～１６４のいずれかの治療化合物。
【０５９９】
１６６．前記治療化合物が、標的組織に存在する、または、実質的に独占的に発現する産物、または、同産物での部位に結合する、実施形態１５６～１６５のいずれかの治療化合物。
【０６００】
１６７．前記特異的な標的部分が結合する前記産物、または、同産物での部位を、治療化合物の治療有効レベルで、前記対象が、許容できないレベル、例えば、臨床的に有意なレベルの全身性免疫抑制を受けなくなるのに十分なまでに前記標的組織を制限する、実施形態１５６～１６６のいずれかの治療化合物。
【０６０１】
１６８．標的組織または標的組織抗原に優先的に結合する前記治療化合物が、例えば、前記標的組織、または、抗原に対して、前記標的組織の外部に存在する非標的組織または抗原に対する親和性よりも、例えば、少なくとも２倍、４倍、５倍、１０倍、５０倍、１００倍、５００倍、１，０００倍、５，０００倍、または、１０，０００倍も大きな結合親和性を有する、実施形態１５６～１６７の治療化合物。
【０６０２】
１６９．前記組織特異的標的部分が、産物、例えば、ポリペプチド産物、または、同産物での部位に結合し、予め選択した部位、例えば、自己免疫障害における望ましくない免疫応答の部位に存在する、実施形態１５６～１６８の治療化合物。
【０６０３】
１７０．前記治療化合物が、１型糖尿病を有する、または、そのリスクがある、または

、そのリスクが高い対象の処置に適している、実施形態１５６～１６９のいずれかの治療化合物。

【０６０４】

１７１．前記標的組織が、膵臓組織、例えば、膵島、または、膵臓ベータ細胞、腸組織（例えば、腸内皮細胞）、腎臓組織（例えば、腎臓上皮細胞）、または、肝臓組織（例えば、肝臓上皮細胞）を含む、実施形態１５６～１７０のいずれかの治療化合物。

【０６０５】

１７２．前記エフェクター結合／調節部分、または、標的部分が、本明細書に記載したポリペプチド、例えば、表３に列挙したもの、例えば、ＳＥＺ６Ｌ２、ＬＲＰ１１、ＤＩＳＰ２、ＳＬＣ３０Ａ８、ＦＸＹＤ２、ＴＳＰＡＮ７、または、ＴＭＥＭ２７から選択されるポリペプチドに結合する、実施形態１５６～１７１のいずれかの治療化合物。

【０６０６】

１７３．前記治療化合物が、多発性硬化症を有する、または、そのリスクがある、または、そのリスクが高い対象の処置に適している、実施形態１５６～１６８のいずれかの治療化合物。

【０６０７】

１７４．前記標的組織が、ＣＮＳ組織、ミエリン鞘、または、乏突起膠細胞のミエリン鞘を含む、実施形態１７３の治療化合物。

【０６０８】

１７５．前記エフェクター結合／調節部分、または、標的部分が、本明細書に記載したポリペプチドに結合し、かつ、同ポリペプチドとして、表３に列挙したもの、例えば、ＭＯＧ、ＰＬＰ、または、ＭＢＰがあるが、これらに限定されない、実施形態１７３～１７４のいずれかの治療化合物。

【０６０９】

１７６．前記治療化合物が、心筋炎を有する、または、そのリスクがある、または、そのリスクが高い対象の処置に適している、実施形態１５６～１６８のいずれかの治療化合物。

【０６１０】

１７７．前記標的組織が、心筋細胞、単球、マクロファージ、または、骨髄細胞を含む、実施形態１７６の治療化合物。

【０６１１】

１７８．前記エフェクター結合／調節部分、または、標的部分が、本明細書に記載したポリペプチドに結合し、同ポリペプチドとして、表３から選択したもの、例えば、ＳＩＲＰＡ（ＣＤ１７２ａ）があるが、これらに限定されない、実施形態１７６～１７７のいずれかの治療化合物。

【０６１２】

１７９．治療化合物が、炎症性腸疾患、自己免疫性肝炎（ＡＩＨ）；原発性硬化性胆管炎（ＰＳＣ）；原発性胆汁性硬化症；（ＰＢＣ）；または、移植を有する、または、そのリスクがある、または、そのリスクが高い対象の処置に適している、実施形態１５６～１６８のいずれかの治療化合物。

【０６１３】

１８０．前記対象が、クローン病または潰瘍性大腸炎を有する、または、そのリスクがある、または、そのリスクが高い、実施形態１５６～１６８のいずれかの治療化合物。

【０６１４】

１８１．前記標的組織が、腸上皮細胞などの腸細胞、または、肝上皮細胞などの肝細胞を含む、実施形態１７９または１８０の治療化合物。

【０６１５】

１８２．前記エフェクター結合／調節部分が、本明細書に記載したポリペプチドに結合し、同ポリペプチドとして、表３から選択したもの、例えば、ＰＤ－１があるが、これらに限定されない、実施形態１７９～１８１のいずれかの治療化合物。

【０６１６】
１８２．前記標的部分が、本明細書に記載したポリペプチドに結合し、同ポリペプチドとして、ＭＡｄＣＡＭがあるが、これらに限定されない、実施形態１７９～１８１のいずれかの治療化合物。
【０６１７】
１８３．前記対象が、関節リウマチを有する、または、そのリスクがある、または、そのリスクが高い、実施形態１５６～１６８のいずれかの治療化合物。
【０６１８】
１８４．前記標的組織が、心筋細胞、単球、マクロファージ、または、骨髄細胞を含む、実施形態１８３の治療化合物。
【０６１９】
１８５．前記エフェクター結合／調節部分、または、標的部分が、表３から選択されるポリペプチド、例えば、ＳＩＲＰＡ（ＣＤ１７２ａ）に結合する、実施形態１８３または１８４の治療化合物。
【０６２０】
１８６．前記組織特異的標的部分が、抗体分子を含む、実施形態１５６～１８５のいずれかの治療化合物。
【０６２１】
１８７．前記組織特異的標的部分が、標的特異的結合ポリペプチド、または、標的リガンド結合分子を含む、実施形態１５６～１８５のいずれかの治療化合物。
【０６２２】
１８８．前記組織特異的標的部分が、ＭＡｄＣＡＭに結合する標的特異的結合ポリペプチドを含む、実施形態１５６～１８５のいずれかの治療化合物。
【０６２３】
１８９．前記治療化合物が、免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞、Ｂ細胞、ＮＫ細胞、または、その他の免疫細胞の細胞表面分子に結合して、その細胞が、前免疫応答を伝播する、実施形態１～１８８のいずれかの治療化合物。
【０６２４】
１９０．前記治療化合物が、免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞、Ｂ細胞、ＮＫ細胞、または、その他の免疫細胞の能力を低下させて、前免疫応答を伝播させる、実施形態１～１８９のいずれかの治療化合物。
【０６２５】
１９１．前記特異的な標的部分が、哺乳動物標的、例えば、哺乳動物ポリペプチドを標的とし、かつ、前記エフェクター結合／調節部分が、哺乳動物の免疫成分、例えば、ヒト免疫細胞、例えば、哺乳動物のＢ細胞、Ｔ細胞、または、マクロファージに対して、結合／調節をする、実施形態１～１９０のいずれかの治療化合物。
【０６２６】
１９２．前記特異的な標的部分が、ヒト標的、例えば、ヒトポリペプチドを標的とし、かつ、前記エフェクター結合／調節部分が、ヒト免疫成分、例えば、ヒト免疫細胞、例えば、ヒトＢ細胞、Ｔ細胞、または、マクロファージに対して、結合／調節をする、実施形態１～１９２のいずれかの治療化合物。
【０６２７】
１９３．前記治療化合物を、ヒトでの使用のために構成する、実施形態１～１９３のいずれかの治療化合物。
【０６２８】
１９４．前記治療化合物を、非ヒト哺乳動物での使用のために構成する、実施形態１～１９１のいずれかの治療化合物。
【０６２９】
１９５．前記治療化合物、例えば、前記エフェクター結合／調節部分が、ＰＤ－１アゴニストを含む、実施形態１～１９４のいずれかの治療化合物。

【０６３０】
１９５．１．前記治療化合物が、配列番号１５のＩＬ－２ムテインを含み、前記ムテインが、位置７３、７６、１００、または、１３８に突然変異を含む、先行実施形態のいずれかの治療化合物。
【０６３１】
１９５．２．前記突然変異が、位置７３、７６、１００、または、１３８でのＬからＩへの突然変異である、実施形態１９５．１の治療化合物。
【０６３２】
１９５．３．前記ＩＬ－２ムテインが、位置４９、５１、５５、５７、６８、８９、９１、９４、１０８、及び、１４５の１つ以上での突然変異をさらに含む、実施形態１９５．１または１９５．２の治療化合物。
【０６３３】
１９５．４．前記ムテインが、位置Ｅ３５、Ｈ３６、Ｑ４２、Ｄ１０４、Ｅ１１５、または、Ｑ１４６の１つ以上をさらに含み、または、Ｅ３５、Ｈ３６、Ｑ４２、Ｄ１０４、Ｅ１１５、または、Ｑ１４６の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または、各々が野生型である、実施形態１９５．１～１９５．３のいずれかの治療化合物。
【０６３４】
１９５．５．前記突然変異が、Ｅ３５Ｑ、Ｈ３６Ｎ、Ｑ４２Ｅ、Ｄ１０４Ｎ、Ｅ１１５Ｑ、または、Ｑ１４６Ｅの１つ以上である、実施形態１９５．４の治療化合物。
【０６３５】
１９５．６．前記ＩＬ－２ムテインが、Ｎ４９Ｓ突然変異を含む、実施形態１９５．１～１９５．５のいずれか１つの治療化合物。
【０６３６】
１９５．７．前記ＩＬ－２ムテインが、Ｙ５１ＳまたはＹ５１Ｈ突然変異を含む、実施形態１９５．１～１９５．６のいずれか１つの治療化合物。
【０６３７】
１９５．８．前記ＩＬ－２ムテインが、Ｋ５５Ｒ突然変異を含む、実施形態１９５．１～１９５．７のいずれか１つの治療化合物。
【０６３８】
１９５．９．前記ＩＬ－２ムテインが、Ｔ５７Ａ突然変異を含む、実施形態１９５．１～１９５．８のいずれか１つの治療化合物。
【０６３９】
１９５．１０．前記ＩＬ－２ムテインが、Ｋ６８Ｅ突然変異、Ｖ８９Ａ（Ｖ６９Ａ）突然変異、Ｎ９１Ｒ（Ｎ７１Ｒ）突然変異、Ｑ９４ＰまたはＱ７４Ｐ突然変異、（Ｎ８８Ｄ）またはＮ１０８Ｒ（Ｎ８８Ｒ）突然変異、Ｃ１４５Ａ（Ｃ１２５Ａ）、または、Ｃ１４５Ｓ（Ｃ１２５Ｓ）突然変異を含む、実施形態１９５．１～１９５．８のいずれか１つの治療化合物。
【０６４０】
１９５．１１．前記治療化合物が、配列番号６のＩＬ－２ムテインを含み、前記ムテインが、位置５３、５６、８０、または、１１８に突然変異を含み、かつ、実施形態１９５．１～１９５．１０に示した１つ以上の突然変異を含む、実施形態１９５．１～１９５．１０のいずれか１つの治療化合物。
【０６４１】
１９５．１２．前記ＩＬ－２ムテインが、Ｆｃペプチドに融合または結合する、実施形態１９５．１～１９５．１１のいずれか１つの治療化合物。
【０６４２】
１９５．１３．前記Ｆｃペプチドが、Ｌ２３４、Ｌ２４７、Ｌ２３５、Ｌ２４８、Ｇ２３７、及び、Ｇ２５０（ＥＵ付番法）の１つ以上の位置に突然変異を含む、実施形態１９５．１２の治療化合物。
【０６４３】

１９６．炎症性腸疾患を有する対象を処置する方法であって、実施形態１～１９５．１３．１３のいずれかの治療化合物を前記対象に対して投与をして、前記炎症性腸疾患を処置する、ことを含む前記方法。

【０６４４】

１９７．炎症性腸疾患を有する前記対象が、クローン病を有する、実施形態１９６の方法。

【０６４５】

１９８．炎症性腸疾患を有する前記対象が、潰瘍性大腸炎を有する、実施形態１９６の方法。

【０６４６】

１９９．自己免疫性肝炎を有する対象を処置する方法であって、実施形態１～１９５．１３のいずれかの治療化合物を前記対象に対して投与をして、前記自己免疫性肝炎を処置する、ことを含む前記方法。

【０６４７】

２００．原発性硬化性胆管炎を処置する方法であって、実施形態１～１９５．１３のいずれかの治療化合物を対象に対して投与をして、前記原発性硬化性胆管炎を処置する、ことを含む前記方法。

【０６４８】

２０１．１型糖尿病を処置する方法であって、実施形態１～１９５．１３のいずれかの治療化合物を投与し、それにより、前記対象を処置して、前記１型糖尿病を処置する、ことを含む前記方法。

【０６４９】

２０２．移植対象を処置する方法であって、実施形態１～１９５．１３のいずれかの治療化合物の治療有効量を対象に投与し、それにより、移植（レシピエント）対象を処置する、ことを含む前記方法。

【０６５０】

２０３．移植したドナー組織を有する対象におけるＧＶＨＤを処置する方法であって、実施形態１～１９５．１３のいずれかの治療化合物の治療有効量を前記対象に投与する、ことを含む前記方法。

【０６５１】

２０４．移植を受ける前；ＧＶＨＤの症状を発症する前；移植後または移植と同時；または、ＧＶＨＤの症状の発症後または発症と同時に、前記治療化合物を前記対象に投与する、実施形態２０３の方法。

【０６５２】

２０５．自己免疫障害を有する、または、そのリスクがある、または、そのリスクが高い対象を処置する方法であって、実施形態１～１９５．１３のいずれかの治療化合物の治療的有効量を投与し、それにより、前記対象を処置する、ことを含む前記方法。

【０６５３】

２０６．前記対象が、同種移植ドナー組織を移植した、移植する、または、必要としている、実施形態２０５の方法。

【０６５４】

２０７．前記ドナー組織が、固形臓器、例えば、肝臓、腎臓、心臓、膵臓、胸腺、または、肺を含む、実施形態２０５～２０６のいずれかの方法。

【０６５５】

２０８．前記ドナー組織が、臓器、例えば、肝臓、腎臓、心臓、膵臓、胸腺、または、肺の全部または一部を含む、実施形態２０５～２０６のいずれかの方法。

【０６５６】

２０９．前記ドナー組織が、皮膚を含む、実施形態２０５～２０６のいずれかの方法。

【０６５７】

２１０．前記ドナー組織が、皮膚を含まない、実施形態２０５～２０６のいずれかの方

法。
【０６５８】
２１１．前記ドナー組織が、遺伝子座の対立遺伝子の産物を提示または発現するが、対立遺伝子は、前記対象において存在または発現しない、実施形態２０５～２１０のいずれかの方法。
【０６５９】
２１２．前記ドナー組織が、表２から選択される遺伝子座、例えば、ＨＬＡ遺伝子座、例えば、ＨＬＡ－Ａ、ＨＬＡ－Ｂ、ＨＬＡ－Ｃ、ＨＬＡ－ＤＰ、ＨＬＡ－ＤＱ、または、ＨＬＡ－ＤＲ遺伝子座の対立遺伝子の産物を提示または発現するが、対立遺伝子は、前記対象において存在または発現しない、実施形態２０５～２１０のいずれかの方法。
【０６６０】
２１３．前記移植組織を前記対象に導入することを含む、実施形態２０５～２１２のいずれかの方法。
【０６６１】
２１４．例えば、末梢循環、または、リンパ系において、前記標的部位から離間した部位での免疫細胞不活性化について対象をモニターする（例えば、免疫抑制チェックポイント分子の望ましくない作動作用をモニターする）、ことを含む、実施形態１９６～２１３のいずれかの方法。
【０６６２】
２１５．例えば、末梢循環、または、リンパ系において、前記標的部位から離間した部位での免疫細胞活性化について対象をモニターする（例えば、免疫抑制チェックポイント分子の望ましくない拮抗作用をモニターする）、ことを含む、実施形態１９６～２１４のいずれかの方法。
【０６６３】
２１６．モニタリングの結果に応じて、前記対象の処置コースを選択する、例えば、前記治療化合物の用量を増加させる、前記治療化合物の用量を減少させる、そのままの用量で前記治療化合物による治療を継続する、実施形態１９６～２１５のいずれかの方法。
【０６６４】
２１７．実施形態１～１９５．１３の化合物を、前記レシピエントに投与することを含む、実施形態１９６～２１６のいずれかの方法。
【０６６５】
２１８．前記投与が、例えば、末梢循環系への全身投与を含む、実施形態１９６～２１６のいずれかの方法。
【０６６６】
２１９．前記投与が、例えば、前記標的組織、前記ドナー組織、または、前記標的組織または前記ドナー組織が位置する、または、位置する予定である部位への局所投与を含む、実施形態１９６～２１６のいずれかの方法。
【０６６７】
２２０．前記ドナー組織をレシピエントに導入する前に、前記治療化合物を、レシピエントに投与することを含む、実施形態２１９のいずれかの方法。
【０６６８】
２２１．前記ドナー組織をレシピエントに導入した後に、前記治療化合物を、レシピエントに投与することを含む、実施形態２１９のいずれかの方法。
【０６６９】
２２２．前記ドナー組織をレシピエントに導入すると同時に、前記治療化合物を、レシピエントに投与することを含む、実施形態２１３のいずれかの方法。
【０６７０】
２２３．前記ドナー組織をレシピエントに導入する前に、前記治療化合物を、前記ドナー組織と接触させることを含む、実施形態２１３の方法。
【０６７１】

２２４．前記対象に前記治療化合物を提供することを含み、前記移植組織は、前記対象に導入する前に治療化合物と接触している、実施形態２１３のいずれかの方法。

【０６７２】

２２５．前記ドナー組織をレシピエントに導入した後に、例えば、前記ドナー組織に対する局所投与によって、前記治療化合物をドナー組織と接触させることを含む、実施形態２１３のいずれかの方法。

【０６７３】

２２６．本明細書で提供する治療化合物を、治療レベルが、少なくとも１日間、５日間、１０日間、１４日間、または、２８日間、例えば、連続する、または、連続しない日数にわたって存在するように投与することを含む、実施形態１９６～２２６のいずれかの方法。

【０６７４】

２２７．前記対象に、非標的免疫抑制剤を与えない、実施形態１９６～２２６のいずれかの方法。

【０６７５】

２２８．前記対象に、前記治療化合物の最初の投与前の少なくとも１日間、１５日間、３０日間、６０日間、または、９０日間、非標的免疫抑制剤を与えない、実施形態１９６～２２６のいずれかの方法。

【０６７６】

２２９．前記対象に、移植組織の導入前の少なくとも１日間、１５日間、３０日間、６０日間、または、９０日間、非標的免疫抑制剤を与えない、実施形態２１３のいずれかの方法。

【０６７７】

２３０．前記対象に、前記治療化合物の最初の投与後の少なくとも１日間、１５日間、３０日間、６０日間、９０日間、または、１８０日間、非標的免疫抑制剤を与えない、実施形態１９６～２２９のいずれかの方法。

【０６７８】

２３１．前記対象に、前記の移植組織の導入後の少なくとも１日間、１５日間、３０日間、６０日間、９０日間、または、１８０日間、非標的免疫抑制剤を与えない、実施形態１９６～２２９のいずれかの方法。

【０６７９】

２３２．前記対象に対して、非標的化免疫抑制剤を投与することを含む、実施形態１９６～２３１のいずれかの方法。

【０６８０】

２３３．前記対象に、前記治療化合物の最初の投与の後の少なくとも１日間、１５日間、３０日間、６０日間、または、９０日間、非標的免疫抑制剤を与える、実施形態１９６～２３２のいずれかの方法。

【０６８１】

２３４．前記対象に、前記移植組織の導入前の少なくとも１日間、１５日間、３０日間、６０日間、または、９０日間、非標的免疫抑制剤を与える、実施形態２１３の方法。

【０６８２】

２３５．前記対象に、前記治療化合物の最初の投与後の少なくとも１日間、１５日間、３０日間、６０日間、９０日間、または、１８０日間、非標的免疫抑制剤を与える、実施形態２３４の方法。

【０６８３】

２３６．前記対象に、前記移植組織の導入後の少なくとも１日間、１５日間、３０日間、６０日間、９０日間、または、１８０日間、非標的免疫抑制剤を与える、実施形態１９６～２３５のいずれかの方法。

【０６８４】

２３７．前記対象に、前記治療化合物の最初の投与前に非標的免疫抑制剤を与えるが、

１日、１５日、３０日、６０日、９０日、または、１８０日を超えて与えない、実施形態１９６～２３５のいずれかの方法。

【０６８５】

２３８．前記対象に、前記移植組織の導入前に非標的免疫抑制剤を与えるが、１日、１５日、３０日、６０日、９０日、または、１８０日を超えて与えない、実施形態２１３の方法。

【０６８６】

２３９．前記対象に、前記治療化合物の最初の投与後に非標的免疫抑制剤を与えるが、１日、１５日、３０日、６０日、９０日、または、１８０日を超えて与えない、実施形態１９６～２３８のいずれかの方法。

【０６８７】

２４０．前記対象に、移植組織の導入後に非標的免疫抑制剤を与えるが、１日、１５日、３０日、６０日、９０日、または、１８０日を超えて与えない、実施形態２１３の方法。

【０６８８】

２４１．前記対象を、前記移植組織の拒絶についてモニターする、実施形態２１３の方法。

【０６８９】

２４２．非標的免疫抑制剤の用量を選択し、または、前記モニタリングに応じて、非標的免疫抑制剤の用量を選択する、実施形態１９６～２４２のいずれかの方法。

【０６９０】

２４３．前記用量で投与する、実施形態２４２の方法。

【０６９１】

２４４．選択した用量がゼロである、すなわち、非標的免疫抑制剤を投与しない、実施形態２４３の方法。

【０６９２】

２４５．選択した用量がゼロではなく、すなわち、非標的免疫抑制剤を投与する、実施形態２４３の方法。

【０６９３】

２４６．前記用量が、治療化合物の投与をしない場合に投与するであろう量よりも少ない、実施形態２４３の方法。

【０６９４】

２４７．前記対象が、哺乳動物、例えば、非ヒト哺乳動物である、実施形態１９６～２４６のいずれかの方法。

【０６９５】

２４８．前記対象が、ヒトである、実施形態１９６～２４６のいずれかの方法。

【０６９６】

２４９．前記ドナー及び対象が、ＨＬＡ遺伝子座、例えば、主流または傍流の遺伝子座でミスマッチする、実施形態２１３の方法。

【０６９７】

２５０．前記対象が、哺乳動物、例えば、非ヒト哺乳動物である、実施形態２４９の方法。

【０６９８】

２５１．前記対象が、ヒトである、実施形態２４９の方法。

【０６９９】

２５２．自己免疫障害を有する、または、そのリスクがある、または、そのリスクが高い対象を処置する方法であって、実施形態１～１９５．１３のいずれかの治療化合物の治療的有効量を投与し、それにより、前記対象を処置する、ことを含む前記方法。

【０７００】

２５３．前記治療化合物の提供を、前記自己免疫障害の症状の発症前、または、発症の

同定前に開始する、実施形態２５２の方法。
【０７０１】
２５４．前記治療化合物の提供を、前記自己免疫障害の症状の発症後、または、発症の同定後に開始する、実施形態２５２～２５３のいずれかの方法。
【０７０２】
２５５．自己免疫障害が、１型糖尿病を含む、実施形態２５２～２５４の方法。
【０７０３】
２５６．前記標的組織が、膵島または膵臓ベータ細胞、腸組織（例えば、腸内皮細胞）、腎臓組織（例えば、腎臓上皮細胞）、または、肝臓組織（例えば、肝臓上皮細胞）を含む、実施形態２５２～２５５のいずれかの治療化合物。。
【０７０４】
２５７．前記エフェクター結合／調節部分、または、標的部分が、表３から選択されるポリペプチド、例えば、ＭＡｄＣＡＭ、ＯＡＴ１、ＯＣＴ、ＤＰＰ６、ＳＥＺ６Ｌ２、ＬＲＰ１１、ＤＩＳＰ２、ＳＬＣ３０Ａ８、ＦＸＹＤ２、ＴＳＰＡＮ７、または、ＴＭＥＭ２７ポリペプチドに結合する、実施形態２５２～２５６のいずれかの治療化合物。
【０７０５】
２５８．前記治療化合物の提供を、１型糖尿病の症状の発症前、または、発症の同定前に開始する、実施形態２５２～２５７のいずれかの方法。
【０７０６】
２５９．前記治療化合物の提供を、事前に選択した特徴または症状を有する前記対象の同定前に開始する、実施形態２５２～２５８のいずれかの方法。
【０７０７】
２６０．前記治療化合物の提供を、１型糖尿病の症状の発症後、または、発症の同定後に開始する、実施形態２５２～２５９のいずれかの方法。
【０７０８】
２６１．前記治療化合物の提供を、事前に選択した特徴または症状を有する前記対象の同定後に開始する、実施形態２５２～２６０のいずれかの方法。
【０７０９】
２６２．前記治療化合物が、実施形態１～１９５．１３のいずれかの治療化合物である、実施形態２５２～２６１のいずれかの方法。
【０７１０】
２６３．前記治療化合物が、多発性硬化症を有する、または、そのリスクがある、または、そのリスクが高い対象の処置に適している、実施形態２５２～２５７のいずれかの方法。
【０７１１】
２６４．前記標的組織が、ＣＮＳ組織、ミエリン鞘、または、乏突起膠細胞のミエリン鞘を含む、実施形態２６３の方法。
【０７１２】
２６５．前記エフェクター結合／調節部分、または、標的部分が、表３から選択されるポリペプチド、例えば、ＭＯＧ、ＰＬＰ、または、ＭＢＰポリペプチドに結合する、実施形態２６３または２６４のいずれかの方法。
【０７１３】
２６６．前記治療化合物の提供を、多発性硬化症の症状の発症前、または、発症の同定前に開始する、実施形態２６３～２６５のいずれかの方法。
【０７１４】
２６７．前記治療化合物の提供を、事前に選択した特徴または症状の対象の同定前に開始する、請求項２３６～２６５のいずれかの方法。
【０７１５】
２６８．前記治療化合物の提供を、多発性硬化症の症状の発症後、または、発症の同定後に開始する、実施形態２６３～２６５のいずれかの方法。

【０７１６】
２６９．前記治療化合物の提供を、事前に選択した特徴または症状を有する前記対象の同定後に開始する、実施形態２６３～２６５のいずれかの方法。
【０７１７】
２７０．前記治療化合物が、実施形態１～１９５．１３のいずれかの治療化合物である、実施形態２６３～２６９のいずれかの方法。
【０７１８】
２７１．前記治療化合物が、心筋炎を有する、または、そのリスクがある、または、そのリスクが高い対象の処置に適している、実施形態２５２～２５７のいずれかの方法。
【０７１９】
２７２．前記標的組織が、心筋細胞、単球、マクロファージ、または、骨髄細胞を含む、実施形態２７１の方法。
【０７２０】
２７３．前記エフェクター結合／調節部分、または、標的部分が、表３から選択するポリペプチド、例えば、ＳＩＲＰＡ（ＣＤ１７２ａ）ポリペプチドに結合する、実施形態２７１または２７２の方法。
【０７２１】
２７４．前記治療化合物の提供を、心筋炎の症状の発症前、または、発症の同定前に開始する、実施形態２７１～２７３のいずれかの方法。
【０７２２】
２７５．前記治療化合物の提供を、事前に選択した特徴または症状を有する前記対象の同定前に開始する、請求項２７１～２７３のいずれかの方法。
【０７２３】
２７６．前記治療化合物の提供を、心筋炎の症状の発症後、または、発症の同定後に開始する、実施形態２７１～２７３のいずれかの方法。
【０７２４】
２７７．前記治療化合物の提供を、事前に選択した特徴または症状を有する前記対象の同定後に開始する、実施形態２７１～２７３のいずれかの方法。
【０７２５】
２７８．前記治療化合物が、実施形態１～１９５．１３のいずれかの治療化合物である、実施形態２７１～２７７のいずれかの方法。
【０７２６】
２７９．前記治療化合物が、関節リウマチを有する、または、そのリスクがある、または、そのリスクが高い対象の処置に適している、実施形態２５２～２５７のいずれかの方法。
【０７２７】
２８０．前記標的組織が、心筋細胞、単球、マクロファージ、または、骨髄細胞を含む、実施形態２７９の方法。
【０７２８】
２８１．前記エフェクター結合／調節部分、または、前記標的部分が、表３から選択されるポリペプチド、例えば、ＳＩＲＰＡ（ＣＤ１７２ａ）ポリペプチドと結合する、実施形態２７９または２８０の方法。
【０７２９】
２８２．前記治療化合物の提供を、関節リウマチの症状の発症前、または、発症の同定前に開始する、実施形態２７９～２８１の方法。
【０７３０】
２８３．前記治療化合物の提供を、事前に選択した特徴または症状を有する前記対象の同定前に開始する、実施形態２７９～２８１の方法。
【０７３１】
２８４．前記治療化合物の提供を、関節リウマチの症状の発症後、または、発症の同定

後に開始する、実施形態２７９～２８１の方法。
【０７３２】
２８５．前記治療化合物の提供を、事前に選択した特徴または症状を有する前記対象の同定後に開始する、実施形態２７９～２８１の方法。
【０７３３】
２８６．前記治療化合物が、実施形態１～１９５．１３のいずれかの治療化合物である、実施形態２７９～２８５の方法。
【０７３４】
２８７．例えば、末梢循環、または、リンパ系において、前記標的部位から離間した部位での免疫細胞不活性化について対象をモニターする（例えば、免疫抑制チェックポイント分子の望ましくない作動作用をモニターする）、ことを含む、実施形態１９６～２８６のいずれかの方法。
【０７３５】
２８８．例えば、末梢循環、または、リンパ系において、前記標的部位から離間した部位での免疫細胞活性化について対象をモニターする（例えば、免疫抑制チェックポイント分子の望ましくない拮抗作用をモニターする）、ことを含む、実施形態１９６～２８７のいずれかの方法。
【０７３６】
２８９．モニタリングの結果に応じて、前記対象の処置コースを選択する、例えば、前記治療化合物の用量を増加させる、前記治療化合物の用量を減少させる、そのままの用量で前記治療化合物による治療を継続する、実施形態１９６～２８８のいずれかの方法。
【０７３７】
２９０．前記対象を、標的組織の自己免疫攻撃についてモニターする、実施形態１９６～２８９のいずれかの方法。
【０７３８】
２９１．前記モニタリングに応じて、前記治療化合物の用量を選択する、実施形態２９０の方法。
【０７３９】
２９２．前記用量を投与する、実施形態２９１の方法。
【０７４０】
２９３．選択した用量がゼロである、すなわち、治療化合物を投与しない、実施形態２９０の方法。
【０７４１】
２９４．選択した用量がゼロでない、実施形態２９０の方法。
【０７４２】
２９５．選択した用量が増大した用量である、実施形態２９０の方法。
【０７４３】
２９６．選択した用量が減少した用量である、実施形態２９０の方法。
【０７４４】
２９７．投与が、全身投与、例えば、末梢循環系への投与を含む、実施形態１９６～２９６のいずれかの方法。
【０７４５】
２９８．投与が、局所投与、例えば、標的組織への投与を含む、実施形態１９６～２９７のいずれかの方法。
【０７４６】
２９９．本明細書で提供する治療化合物を、治療レベルが、少なくとも１日間、５日間、１０日間、１４日間、または、２８日間、例えば、連続する、または、連続しない日数にわたって存在するように投与することを含む、実施形態１９６～２９８のいずれかの方法。
【０７４７】

３００．前記対象が、哺乳動物、例えば、非ヒト哺乳動物である、実施形態１９６～２９９のいずれかの方法。

【０７４８】

３０１．前記対象が、ヒトである、実施形態１９６～２９９のいずれかの方法。

【０７４９】

３０２．実施形態１～１９５．１３のいずれかの治療化合物をコードする核酸分子または複数の核酸分子。

【０７５０】

３０３．実施形態３０２の核酸分子を含むベクターまたは複数のベクター。

【０７５１】

３０４．実施形態３０２の核酸分子、または、実施形態３０３のベクターを含む細胞。

【０７５２】

３０５．実施形態３０４の細胞を培養して、前記治療化合物を製造することを含む、治療化合物を製造する方法。

【０７５３】

３０６．実施形態１～１９５．１３のいずれかの治療化合物をコードする核酸配列を作り出す方法であって、

ａ）標的部分をコードする配列を含むベクターを提供し、そして、エフェクター結合／調節部分をコードする前記ベクター配列に挿入して、治療化合物をコードする配列を形成し、または

ｂ）エフェクター結合／調節部分をコードする配列を含むベクターを提供し、そして、標的部分をコードする前記ベクター配列に挿入して、治療化合物をコードする配列を形成する、ことを含み、

それにより、治療化合物をコードする配列を作り出す、前記方法。

【０７５４】

３０７．前記標的部分を、対象の必要性に応じて選択する、実施形態３０６の方法。

【０７５５】

３０８．前記エフェクター結合／調節部分を、対象の必要性に応じて選択する、実施形態３０６または３０７の方法。

【０７５６】

３０９．前記治療化合物をコードする配列を発現させて、前記治療化合物を製造する、ことをさらに含む、実施形態３０６または３０７のいずれかの方法。

【０７５７】

３１０．前記配列、または、前記配列から作り出したポリペプチドを、別の実体、例えば、対象に対して前記治療化合物を投与する医療提供者に移す、ことをさらに含む、実施形態３０６～３０９のいずれかの方法。

【０７５８】

３１１．対象を処置する方法であって：

実施形態３０６～３１０に限らず、本明細書で提供するいずれかの方法によって、治療化合物、または、治療化合物をコードする核酸を別の実体から取得すること、例えば、受け取ること；

前記治療化合物、または、治療化合物をコードする核酸を対象に対して投与し、

それにより、前記対象を処置することを含む、前記方法。

【０７５９】

３１２．前記治療化合物、または、治療化合物をコードする核酸を、別の実体、例えば、前記治療化合物、または、治療化合物をコードする核酸を作り出す実体と同定する、ことをさらに含む、実施形態３１１の方法。

【０７６０】

３１３．前記治療化合物、または、治療化合物をコードする核酸を、別の実体、例えば、前記治療化合物、または、治療化合物をコードする核酸を作り出す実体に要求する、こ

とをさらに含む、実施形態３１１または３１２の方法。
【０７６１】
３１４．前記対象が、自己免疫障害を有し、かつ、前記治療化合物が、自己免疫障害に特徴的な自己抗原性ペプチドまたはポリペプチドを含まず、例えば、前記対象が保有する自己抗体に対するペプチドまたはポリペプチドを含まない、実施形態３１１～３３３のいずれかの方法。
【実施例】
【０７６２】
以下の実施例は、本明細書に記載した化合物、組成物、及び、方法を例示するものであり、これらに限定されない。当業者に公知のその他の適切な変更及び改変は、以下の実施形態の範囲内のものである。
【０７６３】
実施例１：ＨＬＡを標的としたＰＤ－１アゴナイズ治療化合物
ＨＬＡを標的としたＰＤ－１アゴナイズ治療薬の技術
ＨＬＡ－Ａ２に特異的な結合ドメインを、ＢＢ７．２ハイブリドーマ（ＡＴＣＣ）由来のＩｇ重及び軽鎖の可変領域をクローニングし、そして、一本鎖抗体（ｓｃＦｖ）に変換して得る。ｓｃＦｖの活性及び特異性は、ＨＬＡ－Ａ２発現細胞に対するＢＢ７．２の結合を、その他のＨＬＡ－Ａ対立遺伝子を発現する細胞と比較して評価することで、確認できる。ＰＤ－１結合活性に必要な最小のＰＤ－Ｌ１残基を、アミノ酸６８～１１４に対応するＰＤ－Ｌ１　ＩｇＶドメインのアミノ酸３’及び５’の必要性を体系的に評価して同定する。発現構築物をデザインし、そして、タンパク質を合成及び精製し、ＢｉａｃｏｒｅでＰＤ－１結合活性を試験する。ＰＤ－Ｌ１　ＩｇＶドメインによるＰＤ－１結合に必要な最小必須アミノ酸を、ＰＤ－Ｌ１－ＩｇＶと称する。ＢＢ７．２　ｓｃＦｖ、及び、ＰＤ－Ｌ１－ＩｇＶ二重特異性分子を生成するために、ドメイン配置$VL_{BB7.2}$－$VH_{BB7.2}$－ＰＤ－Ｌ１－ＩｇＶ－ＩｇＧ４　Ｆｃを有する二重特異性一本鎖抗体ＢＢ７．２ｘＰＤ－Ｌ１－ＩｇＶをコードするＤＮＡ断片を合成し、そして、ＤＨＦＲ選択カセットを含む発現ベクターにクローニングする。
【０７６４】
発現ベクタープラスミドＤＮＡを、２９３Ｔ細胞に一時的にトランスフェクトし、そして、ＢＢ７．２ｘＰＤ－Ｌ１－ＩｇＶ二重特異性抗体を、プロテインＡ／Ｇカラムを使用して上清から精製する。ＢＢ７．２ｘＰＤ－Ｌ１－ＩｇＶ二重特異性抗体の完全性を、ポリアクリルアミドゲルで評価する。ＢＢ７．２　ｓｃＦｖドメインのＨＬＡ－Ａ２に対する結合、及び、ＰＤ－Ｌ１－ＩｇＶドメインのＰＤ－１に対する結合を、ＥＬＩＳＡ、及び、細胞をベースとしたＦＡＣＳアッセイで評価する。
【０７６５】
ＢＢ７．２ｘＰＤ－Ｌ１－ＩｇＶ二重特異性抗体のインビトロでの機能は、混合リンパ球反応（ＭＬＲ）アッセイを使用して評価する。９６ウェルプレートフォーマットでは、ＨＬＡ－Ａ２$^{+}$ドナー由来の照射した１００，０００個のヒトＰＢＭＣを、ウェルごとに分注し、そして、活性化剤として使用する。次いで、ＨＬＡ－Ａ１$^{-}$レスポンダーＴ細胞を、増量を行うＢＢ７．２ｘＰＤ－Ｌ１－ＩｇＶ二重特異性抗体とともに加える。７２時間にわたって増殖するレスポンダーＴ細胞の能力を、ＢｒｄＵの取り込みで評価し、そして、ＩＦＮｇ及びＩＬ２サイトカイン産生を、ＥＬＩＳＡで評価する共培養上清でさらに評価を行う。ＢＢ７．２ｘＰＤ－Ｌ１－ＩｇＶ二重特異性抗体は、ＨＬＡ－Ａ２$^{-}$－レスポンダーＴ細胞の増殖と、サイトカイン産生とを阻害することで実証されているように、ＭＬＲ反応を抑制することが認められている。
【０７６６】
ＢＢ７．２ｘＰＤ－Ｌ１－ＩｇＶ二重特異性抗体のインビボ機能を、皮膚同種移植に寛容なネズミ科のマウスモデルを使用して評価する。マウスのＣ５７ＢＬ／６－Ｔｇ（ＨＬＡ－Ａ２．１）１Ｅｎｇｅ／Ｊ（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｂａｒ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｍａｉｎｅ）系統を、Ｂａｌｂ／ｃＪと交配すると、Ｆ１子孫は、ＨＬＡ

－Ａ２．１導入遺伝子を発現し、そして、同種移植片ドナーとして機能する。Ｃ５７ＢＬ／６Ｊマウスを剃毛し、そして、安楽死させたＣ５７ＢＬ／６－Ｔｇ（ＨＬＡ－Ａ２．１）１Ｅｎｇｅ／ＪｘＢａｌｂ／ｃＪ　Ｆ１マウスの皮膚を剥ぎ取って、外科的に移植する。同時に、宿主マウスに対して、ＢＢ７．２ｘＰＤ－Ｌ１－ＩｇＶ二重特異性抗体の腹腔内注射を開始し、同抗体には、マウスＩｇＧ１　ＦｃまたはＢＢ７．２だけを、または、ＰＤ－Ｌ１－ＩｇＶだけを含むように操作を施してある。皮膚同種移植片の拒絶または受容を、３０日間にわたってモニタリングし、宿主を安楽死させ、そして、リンパ節及び同種移植片に残存するリンパ球集団を定量する。

【０７６７】

実施例２：関心のある細胞型または組織を取り囲むプリン作動性ハローを作り出す、エフェクタードメインとしてのＣＤ３９及び／またはＣＤ７３

ＣＤ３９及び／またはＣＤ７３の触媒的に活性な断片を、標的ドメインに融合する。当該標的部位での結合と蓄積が起こると、ＣＤ３９は、ＡＴＰをＡＭＰに加水分解する。当該標的部位での結合と蓄積が起こると、ＣＤ７３は、細胞外ＡＭＰをアデノシンに脱リン酸化する。本明細書での使用に適したＣＤ３９の可溶性触媒活性形態は、ヒト及びマウスの血液で循環することが認められる、例えば、Ｙｅｇｕｔｋｉｎ　ｅｔ　ａｌ．ＦＡＳＥＢ　Ｊ．２０１２　Ｓｅｐ；２６（９）：３８７５－８３を参照されたい。可溶性組換えＣＤ３９断片は、Ｉｎｈｉｂｉｔｉｏｎ　ｏｆ　ｐｌａｔｅｌｅｔ　ｆｕｎｃｔｉｏｎ　ｂｙ　ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ　ｓｏｌｕｂｌｅ　ｅｃｔｏ－ＡＤＰａｓｅ／ＣＤ３９，Ｇａｙｌｅ，ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｃｌｉｎ　Ｉｎｖｅｓｔ．１９９８　Ｍａｙ　１；１０１（９）：１８５１－１８５９にも記載されている。適切なＣＤ７３分子は、剪断応力によるＧＰＩアンカーのタンパク質分解開裂または加水分解により、内皮細胞の膜から脱落することができる可溶型ＣＤ７３を含む、例えば、参考文献：Ｙｅｇｕｔｋｉｎ　Ｇ，Ｂｏｄｉｎ　Ｐ，Ｂｕｒｎｓｔｏｃｋ　Ｇ．Ｅｆｆｅｃｔ　ｏｆ　ｓｈｅａｒ　ｓｔｒｅｓｓ　ｏｎ　ｔｈｅ　ｒｅｌｅａｓｅ　ｏｆ　ｓｏｌｕｂｌｅ　ｅｃｔｏ－ｅｎｚｙｍｅｓ　ＡＴＰａｓｅ　ａｎｄ　５’－ｎｕｃｌｅｏｔｉｄａｓｅ　ａｌｏｎｇ　ｗｉｔｈ　ｅｎｄｏｇｅｎｏｕｓ　ＡＴＰ　ｆｒｏｍ　ｖａｓｃｕｌａｒ　ｅｎｄｏｔｈｅｌｉａｌ　ｃｅｌｌｓ．Ｂｒ　Ｊ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌ　２０００；１２９：９２１－６を参照されたい。

【０７６８】

ＡＴＰからＡＭＰ、または、ＡＭＰからアデノシンの局所触媒作用を受けて、劇症Ｔエフェクター細胞機能に必要な局所エネルギー貯蔵は枯渇する。Ｔｒｅｇ機能は、必要なエネルギーの酸化的リン酸化に依存している（必要とするＡＴＰがより少ない）ため、ＡＴＰ枯渇の影響を受けることはなく、Ｔ記憶、及び、その他のエフェクター細胞では、解糖機能に依存している（ＡＴＰの使用が大きい）ため、影響を免れない。

【０７６９】

実施例３：抗体誘発性ＰＤ－１シグナル伝達の測定

２つの構築物、１）ｂ－ガラクトシダーゼに融合したヒトＰＤ－１ポリペプチド、別名、「酵素ドナー」、及び、２）ｂ－ガラクトシダーゼに融合したＳＨＰ－２ポリペプチド、別名、「酵素アクセプター」を、安定的に発現するＪｕｒｋａｔ細胞。ＰＤ－１抗体を、当該細胞と接触させ、そして、ＰＤ－１が結合すると、ＳＨＰ－２を、ＰＤ－１に動員する。当該酵素アクセプター及び酵素ドナーは、アッセイすることができる完全に活性なβ－ガラクトシダーゼ酵素を形成する。このアッセイは、ＰＤ－１シグナル伝達の活性化を示すために使用することができる。

【０７７０】

実施例４：ＰＤ－１アゴニズムの測定。ＰＤ－１アゴニストは、Ｔ細胞の活性化を阻害する。

特定の理論に縛られるものではないが、ＰＤ－１アゴニズムは、抗ＣＤ３誘導Ｔ細胞活性化を阻害する。ヒトまたはマウスの細胞は、ＰＨＡ（ヒトＴ細胞の場合）、または、ＣｏｎＡ（マウスＴ細胞の場合）で事前に活性化して、ＰＤ－１を発現する。次に、ＰＤ－

１アゴニズムアッセイのために、抗ＰＤ－１（または、ＰＤ－Ｌ１）の存在下で、Ｔ細胞を、抗ＣＤ３で「再活性化」する。抗ＣＤ３の存在下でＰＤ－１アゴニストシグナルを受け取るＴ細胞は、抗ＣＤ３刺激だけと比較して、活性化の低下を示す。活性化は、増殖またはサイトカイン産生（ＩＬ－２、ＩＦＮｇ、ＩＬ－１７）によって、また、場合によっては、ＣＤ６９活性化マーカーなどのその他のマーカーによって、読み取ることができる。

【０７７１】

実施例５：抗ＭＡｄＣＡＭ／マウスＰＤ－Ｌ１融合タンパク質の発現と機能は、分子配置の影響を受けない

抗マウスＭＡｄＣＡＭ抗体／マウスＰＤ－Ｌ１分子を含む二重特異性融合分子を、２つの配向で発現した。第１の配向は、マウスＰＤ－Ｌ１が、その重鎖のｃ末端に融合した抗マウスＭＡｄＣＡＭ　ＩｇＧから構成されていた。第２の配向は、Ｉｇ　ＦｃドメインのＮ末端で融合したマウスＰＤ－Ｌ１と、ｃ末端で融合した抗マウスＭＡｄＣＡＭ　ｓｃＦｖとから構成されていた。双方の分子は、哺乳類の発現システムで十分に発現することが認められた。また、これらの分子が、それぞれの結合パートナーであるＭＡｄＣＡＭまたはＰＤ－１に、双方の配向で同時に結合できることも認められた。これらの結果は、ＰＤ－Ｌ１に融合した抗ＭＡｄＣＡＭ抗体からなる分子が、ＰＤ－Ｌ１が、Ｆｃに対して、ＮまたはＣ末端融合でき、そして、適切な機能性結合活性を保持する構成で発現できる、ことを実証している。

【０７７２】

簡単に説明すると、ヒトＩｇＧ１　ＦｃドメインのＮ末端に融合したマウスＰＤ－Ｌ１、及び、ｃ末端に融合した抗ＭＡｄＣＡＭ　ｓｃＦｖ　ＭＥＣＡ－８９を有する単一ポリペプチドをコードする単一遺伝子を含むｐＴＴ５ベクターを、ＨＥＫ２９３　Ｅｘｐｉ細胞にトランスフェクトした。あるいは、２つのプラスミドを、等モル比で同時トランスフェクトした。第１のプラスミドは、ＭＥＣＡ－８９の軽鎖をコードし、かつ、第２のものは、ｃ－末端に融合したマウスＰＤ－Ｌ１を有するＭＥＣＡ－８９の全長ＩｇＧ１重鎖をコードした。５～７日後、これらの分子を発現する細胞培養上清を回収し、そして、遠心分離と、０．２２ｕｍろ過装置でろ過して清澄化した。この二重特異性分子を、ｐｒｏＡ樹脂で捕捉した。この樹脂を、ＰＢＳ　ｐＨ７．４で洗浄し、そして、捕捉した分子を、１Ｍ容量の１Ｍ　Ｔｒｉｓ　ｐＨ８．５を使用して中和しながら、１００ｍＭグリシンｐＨ２．５を使用して溶出した。このタンパク質を、ＰＢＳ　ｐＨ７．４で緩衝剤交換し、そして、Ｓｕｐｅｒｄｅｘ２００　３．２／３００でのサイズ排除クロマトグラフィーで分析した。Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ　４～１２％ゲルでの還元及び非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥによって、１ｕｇの精製物質の分析を実施した。

【０７７３】

配向に関係なく、双方のタンパク質を、１０ｍｇ／Ｌを超えて発現し、そして、サイズ排除クロマトグラフィー、及び、還元／非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥで示したように、精製後に９５％以上が単分散した。したがって、このことは、ＦｃドメインのＮ及びＣ末端に異なる免疫調節剤と組織標的部分とを備えた、二重機能二重特異性分子の産生及び活性を実証している。このことは、ＰＤ－１アゴニスト、及び、結合パートナーが、Ｉｇ　ＦｃドメインのＮまたはＣ末端で発現できることも具体的に示している。

【０７７４】

実施例６：ＭＡｄＣＡＭに結合したＰＤ－１アゴニストプロトタイプを含む二重特異性分子は、ＭＡｄＣＡＭ及びＰＤ－１を同時に結合することができる。

簡単に説明すると、免疫吸着プレートを、１μｇ／ｍＬの濃度のマウスＰＤ－１を含むＰＢＳ　ｐＨ７．４で、７５ｕｌ／ウェルになるようにコーティングし、そして、４℃で、一晩、インキュベートした。０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０（洗浄緩衝剤）を含むＰＢＳ　ｐＨ７．４で、ウェルを３回洗浄し、次いで、１％ＢＳＡを含むＰＢＳ　ｐＨ７．４（ブロック緩衝剤）を、２００ｕｌ／ウェルにして、室温で、２時間ブロックした。洗浄緩衝剤で３回洗浄した後に、Ｎ末端またはＣ末端にＰＤ－１アゴニストプロトタイプを含む

２つの二重特異性分子を、１％ＢＳＡ及び０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０（アッセイ緩衝剤）を含むＰＢＳで、１ｎＭ、１０ｎＭ、及び、１００ｎＭに希釈した。希釈した材料を、マウスＰＤ－１コーティングプレートに対して、７５ｕｌ／ウェルで、室温で、１時間加えた。洗浄緩衝剤で３回洗浄した後に、マウスＭＡｄＣＡＭを、アッセイ緩衝剤で１０ｎＭの濃度にして、１時間、室温で、７５ｕｌ／ウェルで、プレートに対して加えた。洗浄緩衝剤で３回洗浄した後に、アッセイ緩衝剤で０．５μｇ／ｍＬに希釈したヤギビオチン化抗マウスＭＡｄＣＡＭポリクローナル抗体を、１時間、室温で、７５ｕｌ／ウェルで、プレートに対して加えた。洗浄緩衝剤で３回洗浄した後に、１：５０００のアッセイ緩衝剤で希釈した高感度ストレプトアビジンＨＲＰを、１５分間、室温で、７５ｕｌ／ウェルで、プレートに対して加えた。洗浄緩衝剤で３回洗浄した後に、洗浄緩衝剤（ｔｗｅｅｎ－２０不含）で１回洗浄して、ＴＭＢでアッセイを進展させ、そして、１Ｎ　ＨＣＬで停止した。ＯＤ　４５０ｎｍを測定した。この実験は、マウスＰＤ－１の非存在下でのプレート／ブロックへの非特異的結合の適切なコントロールを含んでおり、ならびに、ＭＡｄＣＡＭコントロールは使っておらず、そして、マウスＰＤ－１とマウスＭＡｄＣＡＭとの間に架橋を形成できない単一特異的コントロールを含んでいた。

【０７７５】

これらの結果は、１ｎＭ、１０ｎＭ、及び、１００ｎＭの濃度で、双方の二重特異性分子が、マウスＭＡｄＣＡＭ及びマウスＰＤ－Ｌ１と同時に相互作用できる一方で、単一特異性コントロールが、架橋シグナルを生成しない、ことを実証した。加えて、マウスＰＤ－１が当該プレート表面に存在しない場合、試験したあらゆる濃度で、ＭＡｄＣＡＭに対する化合物の結合は存在しておらず、このことは、当該試験化合物が、当該プレート表面と非特異的に相互作用しないことを示した。したがって、これらの結果は、ＭＡｄＣＡＭとＰＤ－１の双方に対する結合を標的にしている二重特異性分子が、双方の分子に対して首尾良く結合することができることを実証した。これらの実験は、ＰＤ－１抗体の代替としてＰＤ－Ｌ１を使用して行ったが、ＰＤ－１抗体も同様に機能するものと考られる。

【０７７６】

実施例７：二重特異性ＰＤ－Ｌ１プロトタイプ分子は、ＰＤ－１アゴニストアッセイでＴ細胞を阻害する

ＰＤ－１作動性抗体を模倣する二重特異性分子を試験して、ＰＤ－１アゴニズムが、Ｔ細胞を阻害できることを実証した。簡単に説明すると、７週齢のメスのＣ５７ＬＢ／６マウスを屠殺し、そして、脾細胞を単離した。これらの脾細胞を、３日間、ＣｏｎＡに曝露し、そして、ＰＤ－１型分子の存在下または非存在下で抗ＣＤ３に曝露し、この実施例では、同分子は、抗ヒトＩｇＧを使用して、プレートに結合したＰＤ－Ｌ１二重特異性分子であった。次に、Ｔ細胞を、ＰＤ－Ｌ１二重特異性分子に導入した。ＰＤ－１抗体を模倣するＰＤ－Ｌ１は、Ｔ細胞アゴニストであり、そして、Ｔ細胞活性化を阻害することが認められた。ＭＡｄＣＡＭコーティングプレートと相互作用することで、プレートに結合した抗ＭＡｄＣＡＭ抗体と融合したＰＤ－Ｌ１二重特異性分子を使用して、同じ実験を反復した。ＰＤ－１アゴニスト模倣体であるＰＤ－Ｌ１／抗ＭＡｄＣＡＭ抗体は、Ｔ細胞活性の効果的なアゴニストであることが認められた。これらの結果は、ＰＤ－１抗体／ＭＡｄＣＡＭＡｂ融合タンパク質を模倣する二重特異性分子が、分子の末端にある当該ＭＡｄＣＡＭ抗体成分を介して、当該分子を捕捉すると、一次マウスＴ細胞芽細胞への機能性阻害シグナルを伝達できることを実証している。

【０７７７】

実施例８：異なる組織結合を有する二重特異性ＰＤ－１プロトタイプ分子は、ＰＤ－１アゴニストアッセイにおいて、Ｔ細胞を阻害することができる

ＰＤ－Ｌ１の融合分子を、ＰＤ－１抗体の代替として使用して、クラスＩＨ－２Ｋｋ抗体に結合させた。実施例６及び７に記載したデータと同様に、ＭＨＣクラスＩＨ－２Ｋｋ結合ＰＤ－Ｌ１分子は、機能性結合を有していた。簡単に説明すると、Ｃ５７Ｂｌ／６マウスの脾細胞を、コンカナバリンＡ（ＣｏｎＡ）とＩＬ－２で、３日間、刺激した。プレートを、４Ｃで、一晩、抗ＣＤ３（２Ｃ１１）でコーティングし、次いで、洗浄した。プ

レートを、３７Ｃで、３時間、抗ヒトＩｇＧでコーティングし、次いで、洗浄した。単一特異性抗Ｈ－２Ｋｋ（１６－３－２２）、または、二重特異性抗Ｈ－２Ｋｋ：ｍＰＤ－Ｌ１を添加し、そして、３７Ｃで、３時間、インキュベートし、次いで、洗浄した。すべての試験試料は、ヒトＩｇＧ１－Ｆｃ部分を含んでいた。ＰＢＳ（Ｔｘ不含）を添加して、アッセイのバックグラウンドを決定した。ＣｏｎＡ芽球を、２回洗浄し、プレートに加え、そして、３７Ｃでインキュベートした。２４時間後に、上清を除去した。ＩＦＮｇレベルを、ＭＳＤで決定した。４８時間後、細胞生存率／代謝を、Ｃｅｌｌ　Ｔｉｔｅｒ－ｇｌｏで分析した。当該ＩｇＧ　Ｆｃドメインを介して捕捉すると、ＭＨＣクラスＩ結合ＰＤ－Ｌ１二重特異性は、マウスＰＤ－１アゴニズムアッセイで、Ｔ細胞活性化を減衰させることができる。したがって、この実施例は、ＭＨＣクラスＩ　Ｈ－２Ｋｋに対するマウス抗体の事例では、異なる二重特異性プロトタイプ分子は、当該分子が異なる組織連結を介して捕捉すると、初代マウスＴ細胞芽細胞に、機能性阻害シグナルを発揮できることを実証している。したがって、このデータは、当該結合が、ＭＡｄＣＡＭに特異的ではなく、かつ、本明細書で提供する標的部分として作用することができるその他の分子で可能であることを実証している。

【０７７８】

実施例９：ＰＤ－１アゴニストは、Ｊｕｒｋａｔ細胞のシグナル伝達を誘導できる

ベーターガラクトシダーゼ酵素ドナーに融合したヒトＰＤ－１と、ベーターガラクトシダーゼ酵素アクセプターに融合したＳＨＰ－２との双方を発現するＪｕｒｋａｔ細胞を、プレートの試験条件に加え、そして、２時間、インキュベートする。アゴニストＰＤ－１抗体は、シグナル伝達とＳＨＰ－２の補充、酵素の追加、及び、活性ベーターガラクトシダーゼ酵素の形成を誘導する。ベーターガラクトシダーゼ基質を加えると、化学発光は、標準的な発光プレートリーダーで測定できる。アゴニズムを、化学発光で測定し、測定される化学発光が大きいほど、アゴニズムが大きいことを示す。

【０７７９】

このアッセイでは、ＰＤ－１／ＭＡｄＣＡＭ二重特異性分子のアゴニズムを測定した。Ｃ１１０（ＵＣＢ）、及び、ＣＣ－９０００６（Ｃｅｌｇｅｎｅ／Ａｎａｐｔｙｓ）を、ＰＤ－１作動性抗体として使用した。どちらにも活性があり、そして、Ｉｇ捕捉アッセイフォーマットの機能アッセイでＰＤ－１アゴニズムを示す。簡単に説明すると、プレートを、４Ｃで、一晩、抗ヒトＩｇＧでコーティングし、そして、洗浄した。抗破傷風毒素（ＴＴ）、または、ベンチマーク作動性抗ＰＤ－１モノクローナル抗体、Ｃ１１０、または、ＣＣ－９０００６を加え、３７Ｃで、１時間、インキュベートし、そして、洗浄した。すべての試験試料は、ヒトＩｇＧ１－Ｆｃを含んでいた。培地（Ｔｘ不含）を加えて、アッセイのバックグラウンドを決定した。プレートを、３回洗浄した。ｂ－ガラクトシダーゼ酵素ドナーに融合したヒトＰＤ－１と、ｂ－ガラクトシダーゼ酵素アクセプターに融合したＳＨＰ－２との双方を発現するＪｕｒｋａｔ細胞を加え、そして、２時間、インキュベートした。アゴニストＰＤ－１抗体は、シグナル伝達とＳＨＰ－２の補充、酵素の追加、及び、活性ｂ－ガラクトシダーゼ酵素の形成を誘導する。Ｂ－ガラクトシダーゼ基質を加え、そして、標準的な発光プレートリーダーで化学発光を測定した。２つのヒトＰＤ－１作動性抗体（Ｃ１１０、及び、ＣＣ－９０００６）は、改変したＪｕｒｋａｔレポーターアッセイにおいて、シグナル伝達（アゴニズムの代わりとなるもの）に結合して誘導する。したがって、このアッセイは、機能性ＰＤ－１アゴニズムアッセイである。Ｃ１１０：ＭＥＣＡ８９（ＭＥＣＡ８９は、公知のＭＡｄＣＡＭ抗体である）は、ＭＡｄＣＡＭ抗体であるＭＥＣＡ８９［ｓｃＦｖ］を、Ｃ１１０の重鎖のＣ末端に融合して作成した新規の二重特異性分子である。この融合タンパク質は、Ｃ１１０だけのタンパク質と同様に、ＩｇＧ　Ｆｃドメインを介して捕捉すると、機能性アッセイにおいて、活性を示し、また、ＰＤ－１アゴニズムを示す、ことが認められた。しかしながら、Ｃ１１０：ＭＥＣＡ８９だけが、ＭＡｄＣＡＭタンパク質を捕捉物として使用する機能アッセイフォーマットにおいて活性化する（単一特異性成分は、シグナル伝達しない）。

【０７８０】

簡単に説明すると、プレートを、４Ｃで、一晩、抗ヒトＩｇＧ、または、組換えｍＭＡｄＣＡＭ－１でコーティングし、そして、洗浄した。単一特異性抗破傷風毒素（ＴＴ）、抗ＭＡｄＣＡＭ－１（ＭＥＣＡ８９）、または、作動性抗ＰＤ－１（Ｃ１１０）、または、二重特異性Ｃ１１０：ＭＥＣＡ８９を加え、３７Ｃで、１時間、インキュベートし、そして、洗浄した。すべての試験試料は、ヒトＩｇＧ１－Ｆｃ部分を含んでいた。ＰＢＳ（Ｔｘ不含）を添加して、アッセイのバックグラウンドを決定した。プレートを、２回洗浄した。ｂ－ガラクトシダーゼ酵素ドナーに融合したヒトＰＤ－１と、ｂ－ガラクトシダーゼ酵素アクセプターに融合したＳＨＰ－２との双方を発現するＪｕｒｋａｔ細胞を加え、そして、２時間、インキュベートした。アゴニストＰＤ－１抗体は、シグナル伝達とＳＨＰ－２の補充、酵素の追加、及び、活性ｂ－ガラクトシダーゼ酵素の形成を誘導する。Ｂ－ガラクトシダーゼ基質を加え、そして、標準的な発光プレートリーダーで化学発光を測定した。結果：プレートを、抗ＩｇＧＦｃ捕捉剤でコーティングすると、Ｃ１１０と、ＭＡｄＣＡＭで結合したＣ１１０二重特異性分子との双方は、Ｊｕｒｋａｔレポーターアッセイにおいて、ＰＤ－１シグナルを誘導することができるが、当該プレートを、組換えＭＡｄＣＡＭタンパク質でコーティングすると、レポーターアッセイにおいて、ＭＡｄＣＡＭに結合した二重特異性分子だけが、ＰＤ－１シグナルを誘導することができる。これらの結果は、ＰＤ－１アゴニストの代わりとなるＰＤ－Ｌ１で認められた結果と同様に、ＭＡｄＣＡＭで結合し、かつ、ＰＤ－１アゴニスト抗体を含む分子が、機能性であることを実証している。

【０７８１】

実施例１０：ＰＤ－１作動性抗体の生成

ＰＤ－１に対する免疫応答を生成する条件下で、マウスＰＤ－１で、ＰＤ－１欠損マウスを免疫処置した。マウスＰＤ－１に結合する５４個のハイブリドーマを生成し、そして、同定した。異なるハイブリドーマが産生した抗体を、実施例４及び６に記載した方法に従って、Ｔ細胞アゴニズムについて分析をした。５４種のハイブリドーマの内、少なくとも６種を、ＰＤ－１アゴニストとして同定した。これらの抗体は、ＰＤ－１に対する結合についても試験を行い、そして、ＰＤ－Ｌ１結合部位と同じ部位で結合することが認められた。

【０７８２】

簡単に説明すると、ＰＤ－Ｌ１結合部位への結合を、以下のアッセイを使用して決定した。免疫吸着プレートを、１×ＰＢＳ、ｐＨ７．４において、組換えマウスＰＤ－Ｌ１－Ｆｃ（２μｇ／ｍＬ）の７５μＬで、一晩、コーティングした。次いで、プレートを、１×ＰＢＳで、３回洗浄し、そして、１％ＢＳＡを補充した１×ＰＢＳで、室温で、２時間ブロックした。組換えマウスＰＤ－１－Ｆｃ（１ｎＭ）を、１％ＢＳＡと、０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０（アッセイ緩衝剤）を補充した１×ＰＢＳにおいて、１００ｎＭの標記抗マウスＰＤ－１抗体と、室温で、１時間、インキュベートし、そして、震盪した。ブロッキングした後に、プレートを、０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０　ＰＢＳＴを補充した１×ＰＢＳで、３回洗浄し、そして、抗体－ＰＤ－１コンジュゲートを、プレートに結合したマウスＰＤ－Ｌ１とインキュベートした。未結合のＰＤ－１をＰＢＳＴで洗い流した後に、プレートを、ビオチン化ポリクローナル抗ＰＤ－１抗体（０．５μｇ／ｍＬ）を含むアッセイ緩衝剤の７５μＬと共にインキュベートし、続いて、同じくアッセイ緩衝剤で希釈した１：５０００ストレプトアビジンＨＲＰを用いて増幅した。プレートを、ＰＢＳＴで、３回洗浄し、続いて、１×ＰＢＳで、３回洗浄した後に、１００μＬのＴＭＢを添加し、続いて、１００μＬの１Ｍ　ＨＣｌで進行を停止した。４５０ｎｍで吸光度を読み取り、そして、抗体の非存在下で、ＰＤ－Ｌ１に対するＰＤ－１の結合に対して正規化した。それらの結果は、当該活性抗体が、当該ＰＤ－Ｌ１結合部位に結合することを示した。当該不活性な抗体は、ＰＤ－Ｌ１結合部位に結合しなかった。したがって、この実施例は、本明細書に記載する以前に同定したＰＤ－１作動性抗体に加えて、アゴニストである抗ＰＤ－１抗体を産生する能力を実証している。

【０７８３】

実施例１１：結合した抗ＰＤ－１抗体は、ＰＤ－１アゴニストとして作用する
ヒト抗体ｓｃＦｖファージライブラリーを、組換えヒト、マウス、及び、イヌＰＤ－１タンパク質に対して、反復選択ラウンドを経てパンニングをして、前述した３つのＰＤ－１の全種のオーソロガスを認識する抗体クローンを濃縮した。これらのｓｃＦｖクローンは、ｎｔ－ＶＨ－リンカー－ＶＬ－ｃｔフォーマットで構成されており、そして、ｐＩＩＩコートタンパク質を介して、Ｍ１３ファージ表面に融合した。選択の後に、ＣＨＯ細胞の細胞表面に発現したヒト、マウス、及び、イヌＰＤ－１に対する結合について、クローンｓｃＦｖをスクリーニングした。３つすべての細胞表面発現したＰＤ－１種オーソロガスに対して交差反応性が認められたクローンを、標準的な分子生物学技術を使用して、ヒトＩｇＧ１フォーマットに変換し、それにより、各分子は、合計で４つのポリペプチド鎖（２つの重鎖と、２つの軽鎖）で構成されていた。２つの軽鎖は、互いに同一であり、また、２つの重鎖は、提示したように互いに同一であった。

【０７８４】
２つの同一の重鎖が、ホモ二量化し、そして、２つの同一の軽鎖が、各重鎖と対になって、インタクトなヒトＩｇＧ１を形成する。当該Ｆｃドメインは、ＦｃγＲ相互作用を除去するＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、及び、Ｇ２３７Ａ突然変異を含む。当該変換したヒトＩｇＧ１抗ＰＤ－１抗体をトランスフェクトし、そして、ＨＥＫ２９３　Ｅｘｐｉ細胞で発現させ、さらに、プロテインＡクロマトグラフィーで精製した。当該タンパク質濃度は、ナノドロップ分光光度計と、抗体特異的吸光係数とを組み合わせて使用して決定した。抗体は、ＰＢＳ　ｐＨ７．４で製剤した。

【０７８５】
次に、当該抗ＰＤ－１抗体を、アゴニスト活性について、本明細書に記載したＪｕｒｋａｔアッセイで試験した。簡単に説明すると、組織培養プレートを、抗ＩｇＧでコーティングし、または、コーティングせずに放置した。捕捉フォーマットでは、試験試料またはコントロールを、抗ＩｇＧでコーティングしたウェルに対して、１００ｎＭ、２５ｎＭ、または、１２．５ｎＭで加え、３７Ｃで、３時間、インキュベートした。プレートを洗浄し、そして、Ｊｕｒｋａｔ　ＰＤ－１細胞を加えた。可溶性フォーマットでは、予めＪｕｒｋａｔ　ＰＤ１細胞を含有する、１００ｎＭ、２５ｎＭ、または、１２．５ｎＭのウェルに対して、可溶性試験試料、または、コントロールを加えた。プレートリーダーで、発光を測定した。それらの結果は、抗ＰＤ－１抗体を、抗ＩｇＧを介して捕捉するが、１２個のヒト／マウス交差反応性ＰＤ－１抗体の内の９つが、可溶性フォーマットではなく、Ｊｕｒｋａｔアッセイで、用量依存的活性を示すことを実証した。このデータは、当該抗ＰＤ－１抗体が、標的部分によって、その標的に結合すると、アゴニストとして作用できることを実証している。

【０７８６】
結論として、特定の理論に縛られるものではないが、本明細書に記載したデータは、ＰＤ－１アゴニスト／ＭＡｄＣＡＭ二重特異性分子が、ＭＡｄＣＡＭ及びＰＤ－１の双方に結合し、また、Ｔ細胞活性をアゴナイズすることも実証している。したがって、これらの分子を使用して、本明細書で提供する様々な病態を処置し、そして、局所的、及び／または、組織特異的免疫調節及びＴ細胞応答のダウンレギュレーションをもたらすことができる。

【０７８７】
実施例１２：ＩＬ－２ムテインの生成
ヒトＩｇＧ１　ＦｃドメインのＮ末端（配列番号５７）またはＣ末端（配列番号５８）に融合したヒトＩＬ－２Ｍポリペプチドをコードする単一遺伝子を含むｐＴＴ５ベクターを、ＨＥＫ２９３　Ｅｘｐｉ細胞にトランスフェクトした。５～７日後に、ＩＬ－２Ｍを発現する細胞培養上清を回収し、そして、遠心分離と、０．２２ｕｍろ過装置で過とを行って清澄化した。ＩＬ－２Ｍを、ｐｒｏＡ樹脂で捕捉した。当該樹脂を、ＰＢＳ　ｐＨ７．４で洗浄し、そして、１０分の１容量の１Ｍ　Ｔｒｉｓ　ｐＨ８．０を使用して中和しながら、０．２５％酢酸　ｐＨ３．５を使用して、捕捉したタンパク質を溶出した。当該

タンパク質を、３０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ　１５０ｍＭ　ＮａＣｌ　ｐＨ７に緩衝剤交換し、そして、Ｓｕｐｅｒｄｅｘ　２００　３．２／３００カラムで、サイズ排除クロマトグラフィーによって分析した。Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ　４～１２％ゲルでの還元及び非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥによって、５ｕｇの精製物の分析を実施した。これらのＩＬ－２Ｍを、１０ｍｇ／Ｌを超えて発現しており、サイズ排除クロマトグラフィー、及び、還元／非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥが示すように、精製後に、９５％超が単分散した。

【０７８８】

実施例１３：ＩＬ－２Ｍ分子は、ＣＤ２５に結合することができる

免疫吸着プレートを、０．５μｇ／ｍＬの濃度のＣＤ２５を含むＰＢＳ　ｐＨ７．４で、７５ｕｌ／ウェルになるようにコーティングし、そして、４℃で、一晩、インキュベートした。０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０（洗浄緩衝剤）を含むＰＢＳ　ｐＨ７．４で、ウェルを洗浄し、次いで、１％ＢＳＡを含むＰＢＳ　ｐＨ７．４（ブロック緩衝剤）を、２００ｕｌ／ウェルにして、室温で、２時間ブロックした。洗浄緩衝剤で３回洗浄した後に、実施例１２のＩＬ－２Ｍ分子を、１％ＢＳＡ及び０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０（アッセイ緩衝剤）を含むＰＢＳで、１１～２倍の段階希釈で希釈を行い、２ｎＭを最高濃度とした。希釈した材料を、ＣＤ２５コーティングプレートに対して、７５ｕｌ／ウェルで、室温で、１時間加えた。洗浄緩衝剤で３回洗浄した後に、アッセイ緩衝剤で０．０５μｇ／ｍＬに希釈したヤギビオチン化抗ＩＬ－２ポリクローナル抗体を、１時間、室温で、７５ｕｌ／ウェルで、プレートに対して加えた。洗浄緩衝剤で３回洗浄した後に、１：５０００のアッセイ緩衝剤で希釈した高感度ストレプトアビジンＨＲＰを、１５分間、室温で、７５ｕｌ／ウェルで、プレートに対して加えた。洗浄緩衝剤で３回洗浄した後に、洗浄緩衝剤（ｔｗｅｅｎ－２０不含）で１回洗浄して、ＴＭＢでアッセイを進展させ、そして、１Ｎ　ＨＣＬで停止した。ＯＤ　４５０ｎｍを測定した。この実験は、ＣＤ２５、及び、ＣＤ２５に結合できないネガティブコントロール分子の非存在下で、プレート／ブロックに対するＩＬ－２Ｍ分子の非特異的結合の適切なコントロールを含んでいた。

【０７８９】

これらの結果は、２ｎＭ～１．９ｐＭの濃度で、ＩＬ－２Ｍ分子を、ＣＤ２５に対して、基準未満のナノモルＥＣ５０で結合できたことを示す。加えて、当該プレート表面にＣＤ２５が存在しない場合、試験したいずれの濃度にあっても、化合物が全く検出されておらず、このことは、どの試験化合物も、当該プレート表面とは非特異的に相互作用しないことを示す（データは示さず）。

【０７９０】

実施例１４：ＩＬ－２Ｍ分子の効力及び選択性を決定するインビトロＰ－ＳＴＡＴ５アッセイ

末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を、ＦＩＣＯＬＬ－ＰＡＱＵＥ　Ｐｒｅｍｉｕｍ及びＳｅｐｍａｔｅチューブを使用して、新たに分離したヘパリン化ヒト全血から調製した。ＰＢＭＣを、実施例１２の野生型ＩＬ－２、または、ＩＬ－２Ｍの存在下で、１０％ウシ胎児血清ＲＰＭＩ培地で、２０分間、培養し、その後、ＢＤ　Ｃｙｔｏｆｉｘで、１０分間、固定した。固定した細胞を、ＢＤ　Ｐｅｒｍ　ＩＩＩ、次いで、ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ　ＦＯＸＰ３の透過処理バッファーで順次に透過処理した。ヒト血清で、１０分間、ブロッキングした後に、細胞を、ｐｈｏｓｐｈｏ－ＳＴＡＴ５　ＦＩＴＣ、ＣＤ２５　ＰＥ、ＦＯＸＰ３　ＡＦ６４７、及び、ＣＤ４　ＰｅｒＣＰ　Ｃｙ５．５の抗体で、３０分間、染色し、次いで、プレートリーダーを備えたＡｔｔｕｎｅ　ＮＸＴで取得した。実施例１２のＩＬ－２Ｍは、Ｔｒｅｇでは、ＳＴＡＴ５リン酸化を、強力かつ選択的に誘導するが、Ｔｅｆｆでは認められない。

【０７９１】

実施例１５：二重特異性ＭＡｄＣＡＭ結合ＩＬ－２Ｍ分子の生成方法

ＧＧＧＧＳ（ｘ３）リンカーを備えた本明細書で提供したＬＡＬＡ突然変異を有するＦｃタンパク質に融合したＮ８８Ｄ、Ｖ６９Ａ、及び、Ｑ７４Ｐ突然変異を有するＩＬ－２ムテインと、ＭＡｄＣＡＭ、または、類似の分子に結合するが、ヒトＩｇＧ１　Ｆｃドメ

インのＮ末端に融合したヒトＩＬ－２Ｍ、及び、ｃ末端に融合した抗ｍＭＡｄＣＡＭ　ｓｃＦｖ　ＭＥＣＡ－８９を有するＧＧＧＧＳ（ｘ４）リンカーＢ０００２を備えたｓｃＦＶとを含む、単一Ｂ０００１ポリペプチドをコードする単一遺伝子を含むｐＴＴ５ベクターを、ＨＥＫ２９３　Ｅｘｐｉ細胞にトランスフェクトした。Ｂ０００３では、２つのプラスミドを、等モル比で、同時トランスフェクトした。第１のプラスミドは、ＭＥＣＡ－８９の軽鎖をコードし、そして、第２のものは、ｃ－末端に融合したヒトＩＬ－２Ｍを有するＭＥＣＡ－８９の全長ＩｇＧ１重鎖をコードした。５～７日後に、Ｂ０００１、Ｂ０００２、及び、Ｂ０００３を発現する細胞培養上清を回収し、そして、遠心分離、及び、０．２２ｕｍろ過装置でろ過して清澄化した。Ｂ０００１、Ｂ０００２、及び、Ｂ０００３を、ｐｒｏＡ樹脂で捕捉した。この樹脂を、ＰＢＳ　ｐＨ７．４で洗浄し、１０分の１容量の１Ｍ　Ｔｒｉｓ　ｐＨ８．０を使用して中和しながら、０．２５％酢酸　ｐＨ３．５を使用して、捕捉タンパク質を溶出させた。当該タンパク質を、３０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ　１５０ｍＭ　ＮａＣｌ　ｐＨ７に緩衝剤交換し、そして、Ｓｕｐｅｒｄｅｘ　２００　３．２／３００カラムで、サイズ排除クロマトグラフィーによって分析した。Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ　４～１２％ゲルでの還元及び非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥによって、１ｕｇの精製物の分析を実施した。

【０７９２】

Ｂ０００１、Ｂ０００２、及び、Ｂ０００３は、８ｍｇ／Ｌを超えて発現しており、サイズ排除クロマトグラフィー、及び、還元／非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥが示すように、精製後に、９５％超が単分散した。この実験は、ＮまたはＣ末端のいずれかに免疫調節剤を有する二重機能二重特異性分子を産生することができ、また、ＩＬ－２Ｍタンパク質の位置（ＮまたはＣ末端のいずれか）が、発現を有意に変更せず、したがって、いずれのフォーマットも使用できることを示す。

【０７９３】

実施例１６：二重特異性ＭＡｄＣＡＭ結合ＩＬ－２Ｍ分子は、ＭＡｄＣＡＭとＣＤ２５とを同時に結合できる

免疫吸着プレートを、１μｇ／ｍＬの濃度の組換えマウスＭＡｄＣＡＭ－１を含むＰＢＳ　ｐＨ７．４で、７５ｕｌ／ウェルになるようにコーティングし、そして、４℃で、一晩、インキュベートした。０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０（洗浄緩衝剤）を含むＰＢＳ　ｐＨ７．４で、ウェルを３回洗浄し、次いで、１％ＢＳＡを含むＰＢＳ　ｐＨ７．４（ブロック緩衝剤）を、２００ｕｌ／ウェルにして、室温で、２時間ブロックした。洗浄緩衝剤、Ｂ０００１、Ｂ０００２、Ｂ０００３で、３回洗浄した後に、１％ＢＳＡ及び０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０（アッセイ緩衝剤）を含むＰＢＳで、１ｎＭ、１０ｎＭ、及び、１００ｎＭに希釈した。希釈した材料を、マウスＭＡｄＣＡＭ－１コーティングプレートに対して、７５ｕｌ／ウェルで、室温で、１時間加えた。洗浄緩衝剤で３回洗浄した後に、アッセイ緩衝剤で１０ｎＭの濃度にしたヒトＣＤ２５を、１時間、室温で、７５ｕｌ／ウェルで、プレートに対して加えた。洗浄緩衝剤で３回洗浄した後に、アッセイ緩衝剤で０．４μｇ／ｍＬに希釈したヤギビオチン化抗ＣＤ２５ポリクローナル抗体を、１時間、室温で、７５ｕｌ／ウェルで、プレートに対して加えた。洗浄緩衝剤で３回洗浄した後に、１：５０００のアッセイ緩衝剤で希釈した高感度ストレプトアビジンＨＲＰを、１５分間、室温で、７５ｕｌ／ウェルで、プレートに対して加えた。洗浄緩衝剤で３回洗浄した後に、洗浄緩衝剤（ｔｗｅｅｎ－２０不含）で１回洗浄して、ＴＭＢでアッセイを進展させ、そして、１Ｎ　ＨＣＬで停止した。ＯＤ　４５０ｎｍを測定した。この実験は、マウスＭＡｄＣＡＭ－１の非存在下でのプレート／ブロックに対する実施例１５のタンパク質の非特異的結合の適切なコントロールを含んでおり、ならびに、ヒトＣＤ２５とマウスＭＡｄＣＡＭとの間に架橋を形成することができないＣＤ２５コントロール、及び、単一特異的コントロールは含んでいなかった。

【０７９４】

１ｎＭ、１０ｎＭ、及び、１００ｎＭの濃度で、実施例１５の二重特異性分子は、マウスＭＡｄＣＡＭとヒトＣＤ２５とを同時に相互作用することができるが、単一特異性コン

トロールは、架橋シグナルを生成しないことが明らかになった。加えて、当該プレート表面にマウスＭＡｄＣＡＭ－１が存在しない場合、あらゆる試験濃度でＣＤ２５に対してあらゆる化合物が結合しなかったことは、当該試験化合物が、当該プレート表面と非特異的に相互作用していないことを示すものであった。これらの結果は、ＥＬＩＳＡなどの機能性結合アッセイにおいて、当該二重特異性分子が、ＭＡｄＣＡＭとＣＤ２５との双方に同時に結合できることを実証している。

【０７９５】

実施例１７：溶液内にある場合、または、結合している場合の二重特異性ＭＡｄＣＡＭ結合ＩＬ－２Ｍの活性及び選択性を実証するインビトロでのＰ－ＳＴＡＴ５アッセイ

組換えマウスＭＡｄＣＡＭを、９６ウェル高結合性プレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ）のウェルに、一晩、コーティングさせた。ＰＢＳで２回洗浄した後に、当該プレートを、１０％ＦＢＳ　ＲＰＭＩ培地で、１時間、ブロックした。実施例１５のＭＡｄＣＡＭ結合ＩＬ－２Ｍ二重特異性、または、未結合ＩＬ－２Ｍコントロール（実施例１２で調製したものなど）を、１時間、捕捉した。ＰＢＳで２回洗浄した後に、新たに単離したヒトＰＢＭＣを、捕捉したＩＬ－２Ｍ、または、溶液内のＩＬ－２Ｍと比較するために、６０分間、刺激した。次に、細胞を、ＢＤ　Ｃｙｔｏｆｉｘで、１０分間、固定し、ＢＤ　Ｐｅｒｍ　ＩＩＩ及びＢｉｏＬｅｇｅｎｄ　ＦＯＸＰ３透過性緩衝剤で連続して透過処理を行い、ヒト血清でブロックし、そして、ホスホ－ＳＴＡＴ５　ＦＩＴＣ（ＣＳＴ）、ＣＤ２５　ＰＥ、ＦＯＸＰ３　ＡＦ６４７、及び、ＣＤ４　ＰｅｒＣＰ　Ｃｙ５．５（ＢＤ）に対する抗体で、３０分間、染色し、及び、プレートローダーを備えたＡｔｔｕｎｅ　ＮＸＴで取得した。溶液では、双方の分子は、ＴｒｅｇとＴｅｆｆで同等の活性と選択性を有している。マウスＭＡｄＣＡＭでコーティングしたプレートは、実施例１５の二重特異性分子を捕捉することができ、そして、捕捉／固定化した二重特異性分子は、T_{eff}よりもT_{reg}を選択的に活性化することもできた。この実施例は、ＭＡｄＣＡＭと結合したＩＬ－２Ｍ分子が、溶液内にある場合、または、捕捉／固定化している場合に、生物活性と選択性を保持することができることを実証している。

【０７９６】

実施例１８：ＩＬ－２ムテインの免疫原性

ＩＬ－２ムテイン配列を、ｗｗｗ”ｄｏｔ”ｃｂｓ”ｄｏｔ”ｄｔｕ”ｄｏｔ”ｄｋ／ｓｅｒｖｉｃｅｓ／ＮｅｔＭＨＣＩＩｐａｎ／でのＮｅｔＭＨＣＩＩＰａｎ　３．２ソフトウェアを使用して分析した。人工神経回路網を使用して、ＭＨＣクラスＩＩ対立遺伝子に対するペプチド親和性を決定した。その分析では、ＭＨＣクラスＩＩ分子と潜在的に直接相互作用する９残基のペプチドを、結合コアとして認識した。間接的に結合に影響を与える可能性がある結合コアに隣接する残基も、マスキング残基として調べた。当該結合コアとマスキング残基との双方を含むペプチドをＭＨＣクラスＩＩ分子に対する予測K_Dが５０ｎＭ未満の場合には、強力なバインダーとして認識した。強力なバインダーは、Ｔ細胞の免疫原性を導入する可能性が大きい。

【０７９７】

コンピューターでの分析は、北米及びヨーロッパで最も代表的な合計で９つのＭＨＣＩＩ対立遺伝子を含んでいた。試験したＩＬ－２Ｍ（ＩＬ－２ムテイン）分子のパネルは、Ｌ５３Ｉ、Ｌ５６Ｉ、Ｌ８０Ｉ、または、Ｌ１１８Ｉ突然変異を含むＩＬ－２ムテインであった。ＭＨＣＩＩ対立遺伝子ＤＲＢ１＿１１０１、ＤＲＢ１＿１５０１、ＤＲＢ１＿０７０１、及び、ＤＲＢ１＿０１０１だけが、評価したいずれかの分子とヒットした。ＤＲＢ＿１５０１についてのペプチドヒットは、Ｃ１２５Ｓ突然変異を含む野生型ＩＬ－２を含む、試験したすべての構築物の間で同一であった。Ｌ８０Ｉを追加すると、ＤＲＢ１－０１０１の１つのＴ細胞エピトープ［ＡＬＮＬＡＰＳＫＮＦＨＬＲＰＲ］が除去され、そして、その他の２つのＴ細胞エピトープ［ＥＥＡＬＮＬＡＰＳＫＮＦＨＬＲ及びＥＡＬＮＬＡＰＳＫＮＦＨＬＲＰ］の親和性がわずかに低下する。ＭＨＣＩＩ対立遺伝子ＤＲＢ１－０７０１の場合、Ｌ８０Ｉは、１つのＴ細胞エピトープ［ＥＥＡＬＮＬＡＰＳＫＮＦＨＬＲ］を除去する。したがって、このデータは、Ｌ８０Ｉ突然変異を含むＩＬ－２ムテイ

ンの免疫原性が小さいことを実証しており、このことは、驚くべきことであり、かつ、コンピューターでの分析からは予測しえない結果である。

【０７９８】

実施例１９：さらなるＩＬ－２ムテインの生成

ヒトＩｇＧ１　ＦｃドメインのＮ末端に融合したヒトＩＬ－２Ｍを有する、配列番号５３、配列番号５４、配列番号５５、配列番号５６の単一ＩＬ－２Ｍ（ＩＬ－２ムテイン）（及び、ＩＬ－２Ｍコントロール；配列番号５０）ポリペプチドをコードする単一遺伝子を含むｐＴＴ５ベクターを、ＨＥＫ２９３　Ｅｘｐｉ細胞にトランスフェクトした。５～７日後に、配列番号５３、配列番号５４、配列番号５５、配列番号５６（及び、ＩＬ－２Ｍコントロール；配列番号５０）を発現する細胞培養上清を回収し、そして、遠心分離、及び、０．２２ｕｍろ過装置でろ過して清澄化した。配列番号５３、配列番号５４、配列番号５５、配列番号５６（及び、ＩＬ－２Ｍコントロール；配列番号５０）を、ｐｒｏＡ樹脂で捕捉した。この樹脂を、ＰＢＳ　ｐＨ７．４で洗浄し、１０分の１容量の１Ｍ　Ｔｒｉｓ　ｐＨ８．０を使用して中和しながら、０．２５％酢酸　ｐＨ３．５を使用して、捕捉タンパク質を溶出させた。当該タンパク質を、３０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ　１５０ｍＭ　ＮａＣｌ　ｐＨ７に緩衝剤交換し、そして、Ｓｕｐｅｒｄｅｘ　２００　３．２／３００カラムで、サイズ排除クロマトグラフィーによって分析した。Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ　４～１２％ゲルでの還元及び非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥによって、５ｕｇの精製物の分析を実施した。

【０７９９】

ＩＬ－２Ｍ配列番号５３、配列番号５４、配列番号５５、配列番号５６（及び、ＩＬ－２Ｍコントロール；配列番号５０）は、４５ｍｇ／Ｌを超えて発現しており、サイズ排除クロマトグラフィー、及び、還元／非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥが示すように、精製後に、９５％超が単分散した。

【０８００】

実施例２０：実施例１９のＩＬ－２Ｍは、ＣＤ２５に結合できる

免疫吸着プレートを、０．５μｇ／ｍＬの濃度のＣＤ２５を含むＰＢＳ　ｐＨ７．４で、７５ｕｌ／ウェルになるようにコーティングし、そして、４℃で、一晩、インキュベートした。０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０（洗浄緩衝剤）を含むＰＢＳ　ｐＨ７．４で、ウェルを洗浄し、次いで、１％ＢＳＡ（ブロック緩衝剤）を含むＰＢＳ　ｐＨ７．４を、２００ｕｌ／ウェルにして、室温で、２時間ブロックした。洗浄緩衝剤で３回洗浄した後に、ＩＬ－２Ｍ配列番号５３、配列番号５４、配列番号５５、配列番号５６を、１％ＢＳＡ及び０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０（アッセイ緩衝剤）を含むＰＢＳで、１１～２倍の段階希釈で希釈を行い、２ｎＭを最高濃度とした。希釈した材料を、ＣＤ２５コーティングプレートに対して、７５ｕｌ／ウェルで、室温で、１時間加えた。洗浄緩衝剤で３回洗浄した後に、アッセイ緩衝剤で０．０５μｇ／ｍＬに希釈したヤギビオチン化抗ＩＬ－２ポリクローナル抗体を、１時間、室温で、７５ｕｌ／ウェルで、プレートに対して加えた。洗浄緩衝剤で３回洗浄した後に、１：５０００のアッセイ緩衝剤で希釈した高感度ストレプトアビジンＨＲＰを、１５分間、室温で、７５ｕｌ／ウェルで、プレートに対して加えた。洗浄緩衝剤で３回洗浄した後に、洗浄緩衝剤（ｔｗｅｅｎ－２０不含）で１回洗浄した後に、ＴＭＢでアッセイを進展させ、そして、１Ｎ　ＨＣＬで停止した。ＯＤ　４５０ｎｍを測定した。この実験は、ＣＤ２５の非存在下で、プレート／ブロックに対する当該分子の非特異的結合の適切なコントロールを含んでいた。これらの結果は、２ｎＭ～１．９ｐＭの濃度で、実施例１９のムテインを、ＣＤ２５に対して、基準未満のナノモルＥＣ５０で結合できたことを示す。加えて、当該プレート表面にＣＤ２５が存在しない場合、試験したいずれの濃度にあっても、化合物が全く検出されておらず、このことは、どの試験化合物も、当該プレート表面とは非特異的に相互作用しないことを示す。したがって、実施例１９のムテインは、ＣＤ２５に結合することができる。

【０８０１】

実施例２１：実施例１９のＩＬ－２ムテインは強力かつ選択的である

末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を、ＦＩＣＯＬＬ－ＰＡＱＵＥ　Ｐｒｅｍｉｕｍ及びＳｅｐｍａｔｅチューブを使用して、新たに分離したヘパリン化ヒト全血から調製した。ＰＢＭＣを、野生型ＩＬ－２、または、実施例１９のムテインの存在下で、１０％ウシ胎児血清ＲＰＭＩ培地で、２０分間、培養し、その後、ＢＤ　Ｃｙｔｏｆｉｘで、１０分間、固定した。固定した細胞を、ＢＤ　Ｐｅｒｍ　ＩＩＩ、次いで、ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ　ＦＯＸＰ３の透過処理緩衝剤で順次に透過処理した。ヒト血清で、１０分間、ブロッキングした後に、細胞を、ｐｈｏｓｐｈｏ－ＳＴＡＴ５　ＦＩＴＣ（ＣＳＴ）、ＣＤ２５　ＰＥ、ＦＯＸＰ３　ＡＦ６４７、及び、ＣＤ４　ＰｅｒＣＰ　Ｃｙ５．５（すべてＢＤ）の抗体で、３０分間、染色し、次いで、プレートリーダーを備えたＡｔｔｕｎｅ　ＮＸＴで取得した。実施例１９のＩＬ－２ムテインは強力であり、Ｔｒｅｇ対Ｔｅｆｆに対して選択性を有することも認められた。Ｌ１１８Ｉ突然変異を含むムテインは、その他のムテインと比較して、活性と選択性が増大していた。

【０８０２】

実施例２２：ＩＬ－２ムテインはヒト化マウスのＴｒｅｇを増殖する

ヒトＣＤ３４＋造血幹細胞でヒト化したＮＳＧマウスを、Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｓから購入した。０日目及び７日目に、これらのマウスに対して、１μｇのＩＬ－２ムテイン（配列番号５０）、または、その他のＩＬ－２ムテイン配列番号５３、配列番号５４、配列番号５５、または、配列番号５６を皮下投与した。７日目に、マウスを安楽死させ、そして、全血と脾臓を採取した。全血を、９６ウェルディープウェルプレートに分注し、そして、ＢＤ　Ｆｉｘ　Ｌｙｓｅを使用して、１０分間、固定した。７０ｕｍフィルター（ＢＤ）を使用して脾細胞を単離し、そして、ＢｉｏＬｅｇｅｎｄのＲＢＣ溶解緩衝剤を使用して赤血球を溶解した。２％ウシ胎児血清ＰＢＳで洗浄した後に、脾細胞を、近赤外生死染色（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）で、２０分間、標識し、次いで、ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ固定緩衝剤を使用して、２０分間、固定した。その後、全血細胞と脾細胞の双方を、ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ　ＦＯＸＰ３透過処理緩衝剤を使用して透過処理し、ヒト血清でブロックし、そして、ヒトＣＤ８ａ　ＦＩＴＣ（ＢＬ）、ヒトＣＤ２５　ＰＥ（ＢＤ）、ヒトＦＯＸＰ３　ＡＦ６４７（ＢＤ）ＣＤ４　ＰｅｒＣＰ　Ｃｙ５．５（ＢＤ）、ヒトＳｉｇｌｅｃ－８　ＰＥ　Ｃｙ７（ＢＬ）、ヒトＣＤ３　ＢＶ４２１（ＢＬ）、ヒトＣＤ４５　ＢＶ６０５（ＢＬ）、ヒトＣＤ５６　ＢＶ７８５（ＢＬ）、及び、マウスＣＤ４５（ＢＶ７１１）に対する抗体で、３０分間、染色し、そして、プレートリーダーを備えたＡｔｔｕｎｅ　ＮＸＴで取得した。

【０８０３】

ビヒクルコントロールと比較して、ＩＬ－２Ｍ配列番号５４及び配列番号５６は、マウス脾臓及び全血において、Ｔｒｅｇを選択的に誘導した（Ｄｕｎｎの多重比較試験を用いたＡＮＯＶＡで、ｐ＜０．０００５）。その他のＩＬ－２もＴｒｅｇの頻度を増加させたが、ビヒクル群と比較して、これらの変化は、統計的に有意ではなかった。配列番号５４及び配列番号５６を投与したマウスでは、ＣＤ５６ｐｏｓ　ＮＫ細胞、ＣＤ３ｐｏｓ　Ｔ細胞、ＣＤ８ｐｏｓ　細胞傷害性Ｔリンパ球、ＣＤ４ｐｏｓ　ヘルパーＴ細胞、または、ＣＤ２５ｌｏ／ＦＯＸＰ３ｎｅｇ　Ｔエフェクターの頻度に有意な変化はなかった。これらの結果は、ＩＬ－２ムテインが、制御性Ｔ細胞の頻度を増加させることを実証している。

【０８０４】

実施例２３：二重特異性ｍＡｄＣＡＭ結合ＩＬ－２Ｍ分子の生成

二重特異性ＭＡｄＣＡＭ－ＩＬ－２ムテインを生成し、その抗体は、ＭＥＣＡ８９の重鎖と軽鎖であった。このものを、重鎖と軽鎖の双方をコードする２つのプラスミドを等モル比で同時トランスフェクトして作成した。第１のプラスミドは、ＭＥＣＡ－８９の軽鎖をコードし、そして、第２のものは、Ｌ１１８Ｉ突然変異を含むヒトＩＬ－２ＭにＣ末端で融合したＭＥＣＡ－８９の全長ＩｇＧ１重鎖をコードした。３～５日後に、二重特異性を発現する細胞培養上清を回収し、そして、遠心分離と、０．２２ｕｍろ過装置で過とを行って清澄化した。二重特異性を、ｐｒｏＡ樹脂で捕捉した。当該樹脂を、ＰＢＳ　ｐＨ

７．４で洗浄し、そして、１０分の１容量の１Ｍ　Ｔｒｉｓ　ｐＨ８．０を使用して中和しながら、０．２５％酢酸　ｐＨ３．５を使用して、捕捉したタンパク質を溶出した。当該タンパク質を、３０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ　１５０ｍＭ　ＮａＣｌ　ｐＨ７に緩衝剤交換し、そして、ＡｄｖａｎｃｅＢｉｏ　ＳＥＣカラムで、サイズ排除クロマトグラフィーによって分析した。Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ　４～１２％ゲルでの還元及び非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥによって、１ｕｇの精製物の分析を実施した。

【０８０５】

当該二重特異性分子は、１７ｍｇ／Ｌで発現しており、サイズ排除クロマトグラフィー、及び、還元／非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥが示すように、精製後に、９５％超が単分散した。これらの結果は、Ｃ末端に免疫調節物質を有する二重機能性二重特異性分子を生成できたことを実証している。

【０８０６】

実施例２４：ＭＡｄＣＡＭ抗体の生成

ヒト抗体ｓｃＦｖファージライブラリーを、組換えヒト、マウス、及び、イヌＭＡｄＣＡＭタンパク質に対して反復選択ラウンドにわたってパニングして、ＭＡｄＣＡＭの３つの上記した種のオーソロガスをすべて認識する抗体クローンを濃縮した。これらのｓｃＦｖクローンを、ｎｔ－ＶＨ－リンカー－ＶＬ－ｃｔフォーマットで構成し、そして、ｐＩＩＩコートタンパク質を介して、Ｍ１３ファージ表面に融合した。選択の後に、ＣＨＯ細胞の細胞表面で発現したヒト、マウス、及びイヌＭＡｄＣＡＭに対する結合について、クローンｓｃＦｖを、ＥＬＩＳＡでスクリーニングした。３つの細胞表面発現ＭＡｄＣＡＭ種オーソロガスのすべてに対して交差反応性であると認められたクローンを、標準的な分子生物学技術、または、遺伝子合成を使用して、ヒトＩｇＧ１フォーマットに変換し、それにより、各分子は、合計で４つのポリペプチド鎖（２つの重鎖と、２つの軽鎖）から構成されていた。２つの軽鎖は、互いに同一であり、かつ、２つの重鎖は、互いに同一であった。２つの同一の重鎖（１及び２）をホモ二量化し、そして、２つの同一の軽鎖（３及び４）は、各重鎖と対になって、インタクトなヒトＩｇＧ１を形成する。当該Ｆｃドメインは、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、及び、Ｇ２３７Ａ突然変異を含んでおり、ＦｃγＲ相互作用を解消する。当該フォーマットは、次のように例示することができる：

鎖１：ｎｔ－ＶＨ１－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３－ｃｔ
鎖２：ｎｔ－ＶＨ１－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３－ｃｔ
鎖３：ｎｔ－ＶＫ１－ＣＫ－ｃｔ
鎖４：ｎｔ－ＶＫ１－ＣＫ－ｃｔ

【０８０７】

加えて、ＭＡｄＣＡＭ　ｓｃＦｖは、標準的な分子生物学技術（Ｇｉｂｓｏｎクローニング手順など）、または、遺伝子合成を使用することで、ＩＬ－２Ｍが、以下に概説する、ＭＡｄＣＡＭ抗体のＩｇＧ重鎖のｃ末端に位置する二重特異性フォーマットにも変換した：

鎖１：ｎｔ－ＶＨ１－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３－ｃｔ－リンカー－ＩＬ－２Ｍ
鎖２：ｎｔ－ＶＨ１－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３－ｃｔ－リンカー－ＩＬ－２Ｍ
鎖３：ｎｔ－ＶＫ１－ＣＫ－ｃｔ
鎖４：ｎｔ－ＶＫ１－ＣＫ－ｃｔ

【０８０８】

ＥＬＩＳＡを使用して、捕捉した、または、プレートに結合したヒト、イヌ、及び、マウスＭＡｄＣＡＭに対する抗ＭＡｄＣＡＭ　ｓｃＦｖの結合を分析した。ビオチン化したヒト及びイヌＭＡｄＣＡＭを、ストレプトアビジンでコーティングしたプレートで捕捉し、そして、マウスＭＡｄＣＡＭ－Ｆｃを、免疫吸着プレートに直接にコーティングした。ブロッキングステップの後に、それらのプレートを洗浄し、そして、粗ペリプラズム溶解物に含まれるｓｃＦｖをプレート表面に塗布した。ｓｃＦｖ結合を、抗Ｖ５　ＨＲＰコンジュゲートを使用して検出した。このアッセイを、ＴＭＢ基質で進行させ、そして、酸で停止した。４５０ｎｍでの吸光度を測定した。ＥＬＩＳＡの各ステップの間に、適切な洗

浄ステップを入れた。ヒト対イヌ、及び、ヒト対マウスで評価した。ｓｃＦｖも、表面プラズモン共鳴技術を使用して分析した。当該Ｖ５タグを介して、バイオセンサー表面で捕捉した後に、可溶性単量体ヒトＭＡｄＣＡＭを滴定し、次いで、結合と解離の双方を測定し、そして、オン及びオフレートの導出を可能にする１：１結合モデルに適合させた。

【０８０９】

測定した結果は、試験したクローンの大部分が、ヒト及びイヌのＭＡｄＣＡＭ結合交差反応性を有しており、そして、小さなパネルが、マウスＭＡｄＣＡＭに対するさらなる交差反応性を有していることを示している。バイオセンサー実験は、ヒトＭＡｄＣＡＭに対するオン及びオフレートに関して、クローンが、様々な結合を示し、k_a値は、10^3 １／Ｍ～10^7 ／１Ｍの範囲であり、かつ、k_d値は、10^{-1}～10^{-4} １／ｓの範囲であった。特定のクローンは、２ｘ１０ｅ２ １／ｓよりも遅いオフレートを有する。したがって、ＭａｄＣＡＭ抗体は生成されており、そして、二重特異性フォーマットで使用することができる。

【０８１０】

実施例２５：実施例１９の二重特異性ヒトＭＡｄＣＡＭ結合ＩＬ－２Ｍの生成

２つのプラスミドの各々を、等モル比で、同時トランスフェクトした。各事例での第１のプラスミドは、Ｈｕ．ＭＡｄＣＡＭの軽鎖をコードし、そして、第２のものは、本明細書で提供するＭＡｄＣＡＭ－ＩＬ－２ムテイン二重特異性化合物の表に例示したように、Ｌ１１８Ｉ突然変異を含むＣ末端に融合したヒトＩＬ－２Ｍを有する、Ｈｕ．ＭＡｄＣＡＭの全長ＩｇＧ１重鎖をコードした。３～５日後に、当該Ｈｕ．ＭＡｄＣＡＭ－ＩＬ－２Ｍ二重特異性を発現する細胞培養上清を回収し、そして、遠心分離と、０．２２ｕｍろ過装置で過とを行って清澄化した。当該Ｈｕ．ＭＡｄＣＡＭ－ＩＬ－２Ｍ二重特異性を、ｐｒｏＡ樹脂で捕捉した。当該樹脂を、ＰＢＳ ｐＨ７．４で洗浄し、そして、１０分の１容量の１Ｍ Ｔｒｉｓ ｐＨ８．０を使用して中和しながら、０．２５％酢酸 ｐＨ３．５を使用して、捕捉したタンパク質を溶出した。当該タンパク質を、３０ｍＭ ＨＥＰＥＳ １５０ｍＭ ＮａＣｌ ｐＨ７に緩衝剤交換し、そして、ＡｄｖａｎｃｅＢｉｏ ＳＥＣカラムで、サイズ排除クロマトグラフィーによって分析した。Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ ４～１２％ゲルでの還元及び非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥによって、１ｕｇの精製物の分析を実施した。当該Ｈｕ．ＭＡｄＣＡＭ－ＩＬ－２Ｍ二重特異性は、１０ｍｇ／Ｌを超えて発現しており、サイズ排除クロマトグラフィー、及び、還元／非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥが示すように、精製後に、９５％超が単分散した。したがって、これらの結果は、Ｃ末端に免疫調節物質を有するヒトの二重機能性二重特異性分子を生成できたことを実証している。

【０８１１】

実施例２６：ＩＬ－２ムテインが誘導するシグナル伝達の持続性

末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を、ＦＩＣＯＬＬ－ＰＡＱＵＥ Ｐｒｅｍｉｕｍ及びＳｅｐｍａｔｅチューブを使用して、新たに分離したヘパリン化ヒト全血から調製した。ＰＢＭＣを、ＩＬ－２Ｍの存在下で、１０％ウシ胎児血清ＲＰＭＩ培地で、６０分間、培養した。次いで、細胞を、３回洗浄し、さらに3時間インキュベートした。その後、細胞を、ＢＤ Ｃｙｔｏｆｉｘで、１０分間、固定した。固定した細胞を、ＢＤ Ｐｅｒｍ ＩＩＩ、次いで、ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ ＦＯＸＰ３の透過処理緩衝剤で順次に透過処理した。ヒト血清で、１０分間、ブロッキングした後に、細胞を、ｐｈｏｓｐｈｏ－ＳＴＡＴ５ ＦＩＴＣ、ＣＤ２５ ＰＥ、ＦＯＸＰ３ ＡＦ６４７、及び、ＣＤ４ ＰｅｒＣＰ Ｃｙ５．５の抗体で、３０分間、染色し、次いで、プレートリーダーを備えたＡｔｔｕｎｅ ＮＸＴで取得した。実施例１９の４つのＩＬ－２ムテインはすべて、コントロールと比較して、Ｔｒｅｇでは持続的シグナル伝達を誘導したが、Ｔｅｆｆではかような誘導はなかった。配列番号５６のＩＬ－２ムテインは、配列番号５５、配列番号５４、または、配列番号５３のＩＬ－２ムテインよりも優れている。これらの結果は、ＩＬ－２が、Ｔｒｅｇで持続性のある選択的なシグナル伝達を誘導しており、このことは、インビボでのＴｒｅｇの増殖を促し、また、Ｔｒｅｇの増殖を実現するための投与頻度を低減可能にすることを実証している。

【０８１２】
実施例２７：インビトロでのＰ－ＳＴＡＴ５アッセイは、溶液内にある場合、または、結合している場合の二重特異性Ｈｕ．ＭＡｄＣＡＭ結合ＩＬ－２Ｍの活性及び選択性を実証する

組換えヒトＭＡｄＣＡＭを、９６ウェル高結合性プレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ）のウェルに、一晩、コーティングさせた。ＰＢＳで２回洗浄した後に、当該プレートを、１０％ＦＢＳ　ＲＰＭＩ培地で、１時間、ブロックした。ＭＡｄＣＡＭ結合ＩＬ－２Ｍ二重特異性、または、未結合ＩＬ－２Ｍコントロールを、１時間、捕捉した。ＰＢＳで２回洗浄した後に、新たに単離したヒトＰＢＭＣを、捕捉したＩＬ－２Ｍ、または、溶液内のＩＬ－２Ｍと比較するために、６０分間、刺激した。次に、細胞を、ＢＤ　Ｃｙｔｏｆｉｘで、１０分間、固定し、ＢＤ　Ｐｅｒｍ　ＩＩＩ及びＢｉｏＬｅｇｅｎｄ　ＦＯＸＰ３透過性緩衝剤で連続して透過処理を行い、ヒト血清でブロックし、そして、ホスホ－ＳＴＡＴ５　ＦＩＴＣ（ＣＳＴ）、ＣＤ２５　ＰＥ、ＦＯＸＰ３　ＡＦ６４７、及び、ＣＤ４　ＰｅｒＣＰ　Ｃｙ５．５（ＢＤ）に対する抗体で、３０分間、染色し、及び、プレートローダーを備えたＡｔｔｕｎｅ　ＮＸＴで取得した。結果：溶液では、ヒトＭＡｄＣＡＭ及びコントロールに結合したＩＬ－２Ｍ二重特異性は、ＴｒｅｇとＴｅｆｆで同等の活性と選択性を有している。ＭＡｄＣＡＭでコーティングしたプレートは、二重特異性分子を捕捉することができ、そして、捕捉／固定化した二重特異性分子は、ＴｅｆｆよりもＴｒｅｇを選択的に活性化することもできた。この実施例は、ヒトＭＡｄＣＡＭと結合したＩＬ－２Ｍ二重特異性が、溶液内にある場合、または、捕捉／固定化している場合に、生物活性と選択性を保持することができることを実証している。

【０８１３】
実施例２８：ＩＬ－２ムテインは、ヒトＴｒｅｇにおいてｐＳＴＡＴ５を誘導する。

６名の健康なドナー由来のヘパリン添加全血から得た精製ＰＢＭＣを、X_3がＩであり、X_1、X_2、及び、X_4がＬである、配列番号５９の配列、または、X_4がＩであり、X_1、X_2、及び、X_3がＬである、配列番号５９の配列を含むＩＬ－２ムテインタンパク質の連続希釈で、３７℃で、３０分間、処理をした。細胞を固定し、洗浄し、透過処理し、そして、洗浄した。表面マーカーと細胞内／核マーカーの両方（ｐＳＴＡＴ５、及び、ＦＯＸＰ３）を検出する抗体で細胞を染色した。データを、Ａｔｔｕｎｅ　ＮｘＴサイトメーターで収集した。Ｔｒｅｇを、単核、一重項、ＣＤ３ｐｏｓ、ＣＤ４ｐｏｓ、ＣＤ２５ｈｉ、ＦｏｘＰ３ｐｏｓにゲートした。リン酸化ＳＴＡＴ５を発現するゲートしたＴｒｅｇの％を測定した。最適曲線を、ｐＳＴＡＴ５の用量反応に適合させ、そして、ＥＣ５０値を決定した。６名すべてのドナーの平均ＥＣ５０値を、X_3がＩであり、X_1、X_2、及び、X_4がＬである、配列番号５９のＩＬ－２（３７．２６±７．３０；ｎ＝１６）、及び、X_4がＩであり、X_1、X_2、及び、X_3がＬである、配列番号５９のＩＬ－２（２３．１１±５．３５；ｎ＝１５）について決定した。このデータは、当該ＩＬ－２ムテインが、ヒトＴｒｅｇにおいてｐＳＴＡＴ５を誘導できることを実証している。X_4がＩであり、X_1、X_2、及び、X_3がＬである、配列番号５９の配列を含むＩＬ－２は、配列番号３９を含むＩＬ－２配列よりも強力であるが、どちらも、複数の細胞集団では活性である。

【０８１４】
実施例２９：ＩＬ－２ムテインは、インビトロで、サルＰＢＭＣにおいてｐＳＴＡＴ５を誘導する。

３頭の健康なサルのヘパリン添加全血から得た精製ＰＢＭＣを、X_3がＩであり、X_1、X_2、及び、X_4がＬである、配列番号５９の配列、または、X_4がＩであり、X_1、X_2、及び、X_3がＬである、配列番号５９の配列を含むＩＬ－２ムテインタンパク質の連続希釈で、３７℃で、６０分間、処理をした。ＩＬ－２ムテイン処理の最後の３０分間に、蛍光色素標識抗ＣＤ２５、及び、抗ＣＤ４を加えた。細胞を、固定し、洗浄し、透過処理し、そして、洗浄した。表面マーカーと細胞内／核マーカーの両方（ｐＳＴＡＴ５、及び、ＦＯＸＰ３）を検出する抗体で細胞を染色した。データを、Ａｔｔｕｎｅ　ＮｘＴ

サイトメーターに集めた。Ｔｒｅｇを、単核、一重項、ＣＤ３ｐｏｓ、ＣＤ４ｐｏｓ、ＣＤ２５ｈｉ、ＦｏｘＰ３ｐｏｓにゲートした。リン酸化ＳＴＡＴ５を発現するゲートしたＴｒｅｇの％を測定した。ＩＬ－２ムテインが、サルにおいてｐＳＴＡＴ５を誘導することが認められた。

【０８１５】

実施例２０：ＩＬ－２ムテインは、増殖Ｔｒｅｇ細胞を誘導し、そして、インビボで、Ｔｒｅｇ増殖を誘導する。

X_3がＩであり、X_1、X_2、及び、X_4はＬである、配列番号５９、または、X_4がＩであり、X_1、X_2、及び、X_3がＬである配列の配列番号５９のＩＬ－２ムテインを投与（２つの時点／カニクイザル、５頭のカニクイザル）する前に、または、X_3がＩであり、X_1、X_2、及び、X_4はＬである、配列番号５９（５つの時点／カニクイザル、２頭のカニクイザル）、もしくは、X_4がＩであり、かつ、X_1、X_2、及び、X_3はＬである、配列番号５９（５つの時点／カニクイザル、３頭のカニクイザル）のいずれかによる投与の後に、サル（カニクイザル）の静脈全血を、Ｋ２ＥＤＴＡチューブに回収した。試料を、２つに分け、２つのＦＡＣＳパネルで個別に染色した。一方は、「Ｔｒｅｇパネル」であり、他方は、一般的な免疫表現型分類パネルであった。赤血球を溶解し、そして、固定および透過処理した後に、細胞を、表面および細胞内マーカーで染色した。ＦＡＣＳ分析では、μｌあたりの総細胞数を、ＡＤＶＩＡで決定した。次いで、μｌあたりの所与の亜集団の細胞数を、総数／μｌ、及び、全体の％で計算した。それぞれのサルについて、投与前の２度の採血で得た所定の細胞型のμｌあたりの平均数を平均し、投与後の採血の正規化のために使用して、「投与前からの倍数変化」を決定した。血清サイトカイン、及び、ケモカインを分析するために、Ｋ２ＥＤＴＡ全血由来の血漿を試験が終わるまで凍結した。ケモカインとサイトカインの量を、標準対照の連続希釈を使用して、マルチプレックスＭＳＤアッセイで定量した。ＭＣＰ－１とＩＰ－１０の平均と範囲を、投与前の採血で決定した。双方のムテインが、Ｔｒｅｇを増殖させて、サルのＴｒｅｇ増殖を誘導することが認められた。これらの結果は、ＩＬ－２ムテインが、ヒトに類似するインビボ動物モデルで機能することを実証している。いずれの分子も、Ｔｃｏｎｖ細胞、ＣＤ４細胞（Ｔナイーブ）、または、ＣＤ８細胞（細胞傷害性Ｔ）、サルのＮＫ細胞（非ヒト霊長類）を有意に増殖させないことも認められた。また、いずれの分子も、血清ケモカインを有意に誘導しないことも認められた。このデータは、ＩＬ－２ムテインが、Ｔｒｅｇ細胞を増殖させ、そして、その他の経路の望ましくない拡大または活性化を伴わず、Ｔｒｅｇ細胞の増殖を誘導できることを実証している。したがって、当該ＩＬ－２ムテインは、Ｔｒｅｇの拡大と増殖に対して、驚くほどに強力で、効果的で、そして、選択的である。

【０８１６】

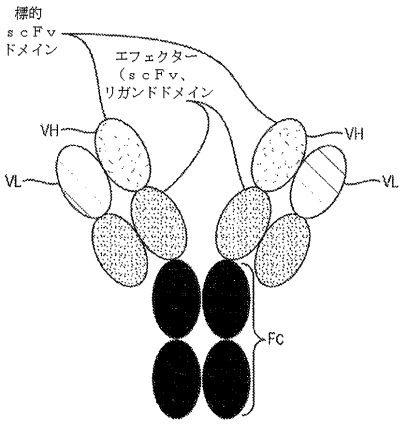
まとめると、本明細書で説明した実施形態、及び、実施例は、ある特定の組織を標的とすることができるＩＬ－２ムテインが意図したように機能すること、そして、本明細書に記載した疾患および病態を処置するために使用できることを実証している。さらに、本明細書で提供した実施例は、ＭＡｄＣＡＭ抗体、及び、ＩＬ－２ムテインを含む二重特異性分子が、ＴｅｆｆよりもＴｒｅｇを選択的かつ強力に活性化することができる、という驚くべき予期しない結果を示しており、これらの分子を使用して、本明細書に記載した病態を処置または改善できることを実証している。また、これらの実施例は、本明細書で提供したように、単独で（または、Ｆｃタンパク質に結合して）使用すると、ＩＬ－２ムテインが、ＴｅｆｆよりもＴｒｅｇを選択的かつ強力に活性化するように機能できることを実証している。

【０８１７】

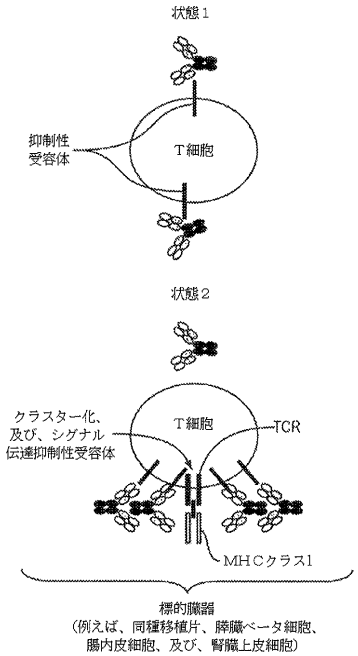
本明細書で引用したありとあらゆる特許、特許出願、及び、刊行物の開示は、本明細書の一部を構成するものとしてその全内容を援用する。特定の態様を参照して様々な実施形態が開示してきたが、当業者であれば、これらの実施形態のその他の態様及び変更を、当該実施形態の要旨及び範囲から逸脱することなく想到し得る、ことは明らかである。添付した特許請求の範囲は、そのようなすべての態様及び同等の変更を含む、と解釈すること

を意図している。

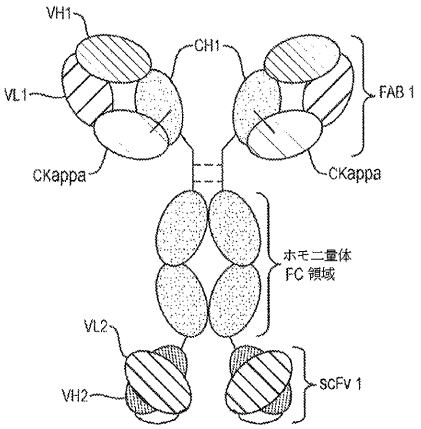
【図１】



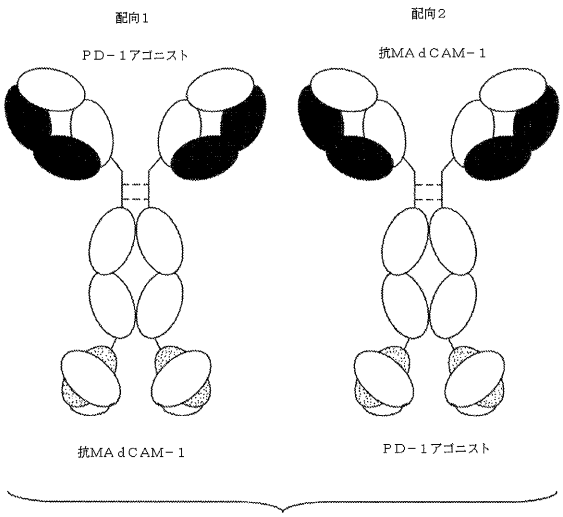
【図２】



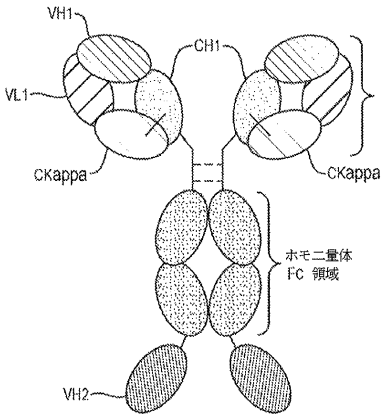
【図３】


VH1
CH1
VL1
FAB 1
CKappa
CKappa
ホモ二量体
FC 領域
VL2
VH2
scFv 1

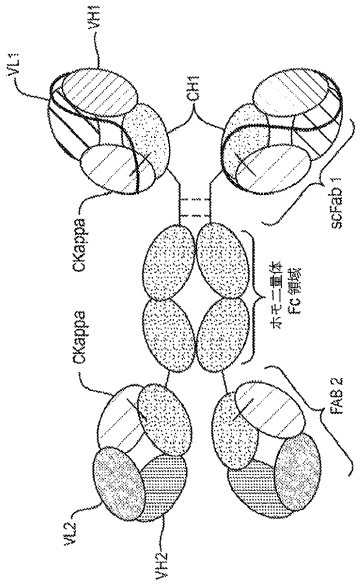
【図３Ａ】


配向１
ＰＤ－１アゴニスト
抗ＭＡｄＣＡＭ－１
配向２
抗ＭＡｄＣＡＭ－１
ＰＤ－１アゴニスト

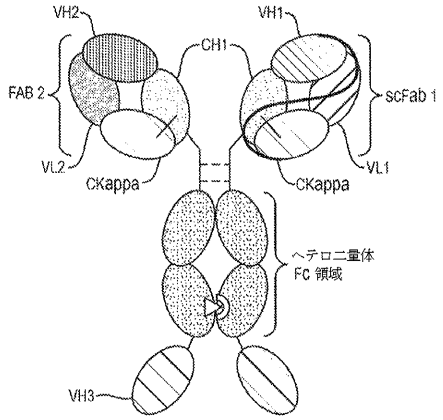
【図４】


VH1
CH1
VL1
CKappa
CKappa
ホモ二量体
FC 領域
VH2

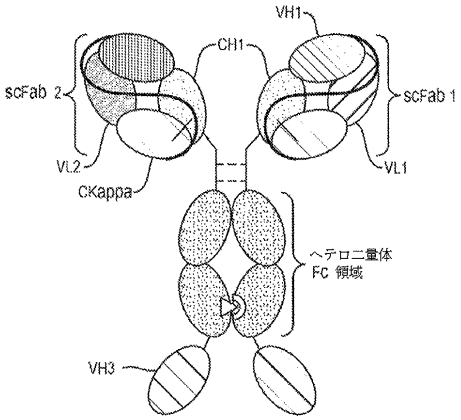
【図５】


VH1
VL1
CH1
scFab 1
CKappa
ホモ二量体
FC 領域
CKappa
FAB 2
VL2
VH2

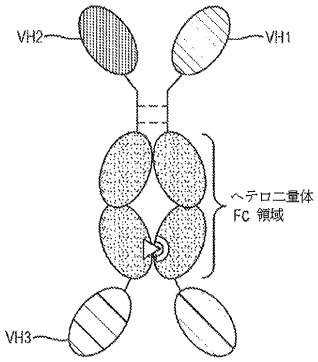
【図６】



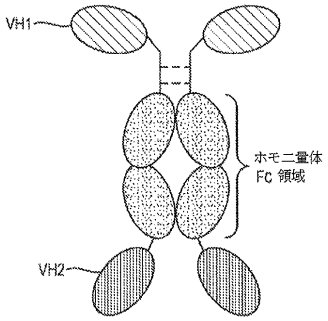
【図８】



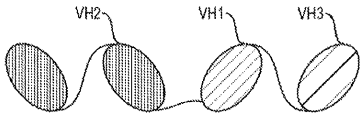
【図７】



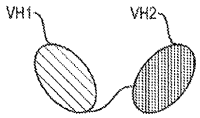
【図９】



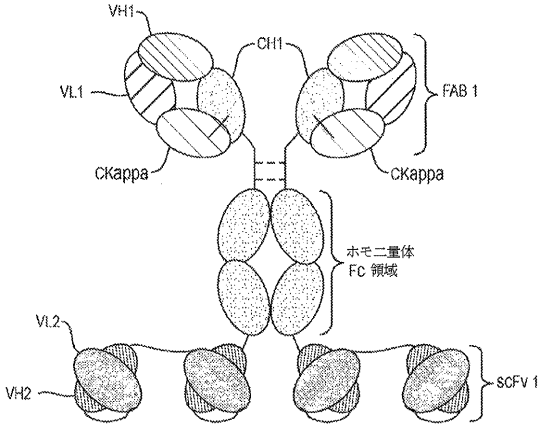
【図１０】



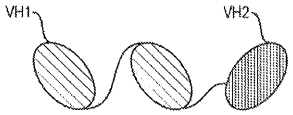
【図１２】



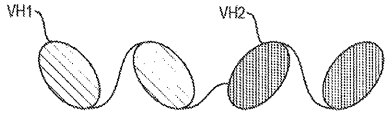
【図１１】



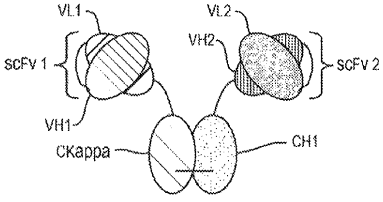
【図１３】



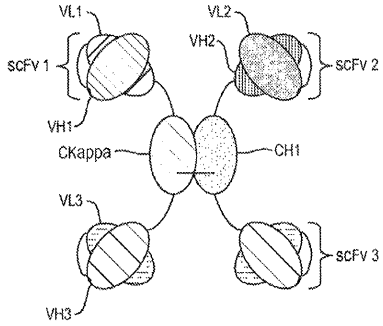
【図１４】



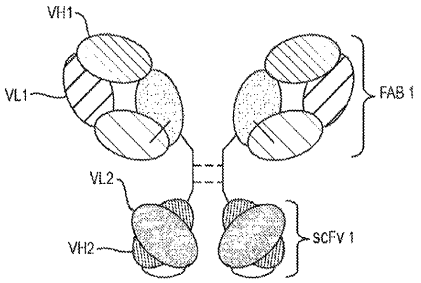
【図１５】



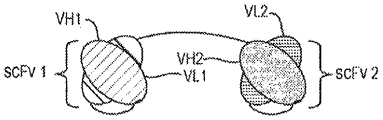
【図１６】



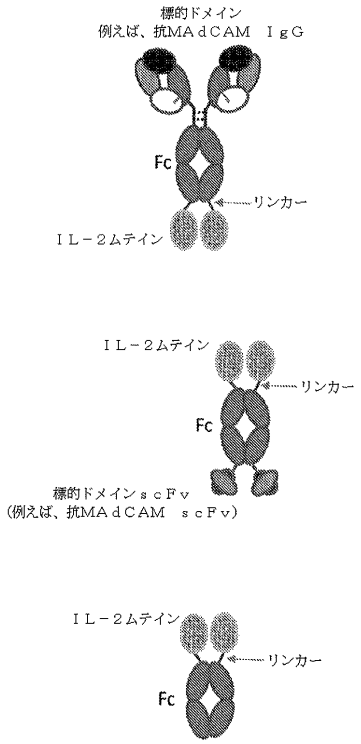
【図１８】



【図１７】



【図１９】



【配列表】
2021505156000001.app
【手続補正書】
【提出日】令和2年9月7日(2020.9.7)
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０３３５
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０３３５】
一部の実施形態では、当該第１の、及び、第２のポリペプチドは、ジスルフィド結合などの互いに共有結合を形成できるリンカーを含む。リンカーの例として、ペプチドリンカーがあるが、これに限定されない。一部の実施形態では、当該ペプチドリンカーは、ＧＧＧＧＳ（配列番号２３）を含む。当該リンカーは、当該第１のポリペプチドのＣ末端を、当該第２のポリペプチドのＮ末端に融合させることができる。当該リンカーを使用して、当該リンカーがジスルフィド結合を形成する能力を無効にせずに、本明細書に記載した部分を付着させることもできる。一部の実施形態では、当該第１の、及び、第２のポリペプチドは、共有結合を形成できるリンカーを含まない。一部の実施形態では、当該第１の、及び、第２のポリペプチドは、以下の置換を有する。
【表２６】

第１のポリペプチド置換	第２のポリペプチド置換
Ａ２１７Ｃ	Ｖ３４３Ｃ
Ｌ３３１Ｃ	Ａ３５０Ｃ
Ａ２１７Ｃ	Ｌ３４６Ｃ
Ｗ２１４Ｃ	Ｖ３４３Ｃ
Ａ３３５Ｃ	Ｌ３４６Ｃ
Ｌ１９８Ｃ	Ｖ４５５Ｃ
Ａ２１７Ｃ	Ａ３３５Ｃ
Ａ２１７Ｃ	Ｌ３３１Ｃ
Ｌ１９８Ｃ	Ｎ４５８Ｃ
Ａ１９４Ｃ	Ｖ４５５Ｃ

【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０３３６
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０３３６】
当該アルブミンポリペプチドの配列は、Ｎ末端シグナル残基（ＭＫＷＶＴＦＩＳＬＬＦＬＦＳＳＡＹＳＲＧＶＦＲＲ）（配列番号６１）を削除したポストタンパク質形態である、以下に示すヒトアルブミンの配列である。
ＤＡＨＫＳＥＶＡＨＲＦＫＤＬＧＥＥＮＦＫＡＬＶＬＩＡＦＡＱＹＬＱＱＣＰＦＥＤＨＶＫＬＶＮＥＶＴＥＦＡＫＴＣＶＡＤＥＳＡＥＮＣＤＫＳＬＨＴＬＦＧＤＫＬＣＴＶＡＴＬＲＥＴＹＧＥＭＡＤＣＣＡＫＱＥＰＥＲＮＥＣＦＬＱＨＫＤＤＮＰＮＬＰＲＬＶＲＰＥＶＤＶＭＣＴＡＦＨＤＮＥＥＴＦＬＫＫＹＬＹＥＩＡＲＲＨＰＹＦＹＡＰＥＬＬＦＦＡＫＲＹ
ＫＡＡＦＴＥＣＣＱＡＡＤＫＡＡＣＬＬＰＫＬＤＥＬＲＤＥＧＫＡＳＳＡＫＱＲＬＫＣＡ

ＳＬＱＫＦＧＥＲＡＦＫＡＷＡＶＡＲＬＳＱＲＦＰＫＡＥＦＡＥＶＳＫＬＶＴＤＬＴＫＶ
ＨＴＥＣＣＨＧＤＬＬＥＣＡＤＤＲＡＤＬＡＫＹＩＣＥＮＱＤＳＩＳＳＫＬＫＥＣＣＥＫ
Ｐ
ＬＬＥＫＳＨＣＩＡＥＶＥＮＤＥＭＰＡＤＬＰＳＬＡＡＤＦＶＥＳＫＤＶＣＫＮＹＡＥＡ
ＫＤＶＦＬＧＭＦＬＹＥＹＡＲＲＨＰＤＹＳＶＶＬＬＬＲＬＡＫＴＹＥＴＴＬＥＫＣＣＡ
ＡＡＤＰＨＥＣＹＡＫＶＦＤＥＦＫＰＬＶＥＥＰＱＮＬＩＫＱＮＣＥＬＦＥＱＬＧＥＹＫ
Ｆ
ＱＮＡＬＬＶＲＹＴＫＫＶＰＱＶＳＴＰＴＬＶＥＶＳＲＮＬＧＫＶＧＳＫＣＣＫＨＰＥＡ
ＫＲＭＰＣＡＥＤＹＬＳＶＶＬＮＱＬＣＶＬＨＥＫＴＰＶＳＤＲＶＴＫＣＣＴＥＳＬＶＮ
ＲＲＰＣＦＳＡＬＥＶＤＥＴＹＶＰＫＥＦＮＡＥＴＦＴＦＨＡＤＩＣＴＬＳＥＫＥＲＱＩ
ＫＫ
ＱＴＡＬＶＥＬＶＫＨＫＰＫＡＴＫＥＱＬＫＡＶＭＤＤＦＡＡＦＶＥＫＣＣＫＡＤＤＫ
ＥＴＣＦＡＥＥＧＫＫＬＶＡＡＳＱＡＡＬＧＬ（ヒトアルブミン）（配列番号６２）

【手続補正３】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０４８０
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０４８０】
８９Ｘ．前記リンカーが、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号２２）、ＧＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号３０）、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号６３）、または、ＧＧＧＧＳ（配列番号２３）の配列を含む、実施形態８９Ｏ～８９Ｗのいずれかの治療化合物。

【手続補正４】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０５１５
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０５１５】
８９ＱＱ１２．前記リンカーが、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号３０）、または、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号２２）の配列を含む、実施形態８９ＱＱ～８９ＱＱ１１のいずれか１つの治療化合物。

【手続補正５】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０７９１
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０７９１】
実施例１５：二重特異性ＭＡｄＣＡＭ結合ＩＬ－２Ｍ分子の生成方法
ＧＧＧＧＳ（ｘ３）（配列番号３０）リンカーを備えた本明細書で提供したＬＡＬＡ突然変異を有するＦｃタンパク質に融合したＮ８８Ｄ、Ｖ６９Ａ、及び、Ｑ７４Ｐ突然変異を有するＩＬ－２ムテインと、ＭＡｄＣＡＭ、または、類似の分子に結合するが、ヒトＩｇＧ１　ＦｃドメインのＮ末端に融合したヒトＩＬ－２Ｍ、及び、ｃ末端に融合した抗ｍＭＡｄＣＡＭ　ｓｃＦｖ　ＭＥＣＡ－８９を有するＧＧＧＧＳ（ｘ４）（配列番号２２）リンカーＢ０００２を備えたｓｃＦＶとを含む、単一Ｂ０００１ポリペプチドをコードする単一遺伝子を含むｐＴＴ５ベクターを、ＨＥＫ２９３　Ｅｘｐｉ細胞にトランスフェクトした。Ｂ０００３では、２つのプラスミドを、等モル比で、同時トランスフェクトした。第１のプラスミドは、ＭＥＣＡ－８９の軽鎖をコードし、そして、第２のものは、ｃ－末端に融合したヒトＩＬ－２Ｍを有するＭＥＣＡ－８９の全長ＩｇＧ１重鎖をコードした。５～７日後に、Ｂ０００１、Ｂ０００２、及び、Ｂ０００３を発現する細胞培養上清を

回収し、そして、遠心分離、及び、０．２２ｕｍろ過装置でろ過して清澄化した。Ｂ０００１、Ｂ０００２、及び、Ｂ０００３を、ｐｒｏＡ樹脂で捕捉した。この樹脂を、ＰＢＳ　ｐＨ７．４で洗浄し、１０分の１容量の１Ｍ　Ｔｒｉｓ　ｐＨ８．０を使用して中和しながら、０．２５％酢酸　ｐＨ３．５を使用して、捕捉タンパク質を溶出させた。当該タンパク質を、３０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ　１５０ｍＭ　ＮａＣｌ　ｐＨ７に緩衝剤交換し、そして、Ｓｕｐｅｒｄｅｘ　２００　３．２／３００カラムで、サイズ排除クロマトグラフィーによって分析した。Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ　４～１２％ゲルでの還元及び非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥによって、１ｕｇの精製物の分析を実施した。

【手続補正６】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０７９７
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０７９７】
コンピューターでの分析は、北米及びヨーロッパで最も代表的な合計で９つのＭＨＣＩＩ対立遺伝子を含んでいた。試験したＩＬ－２Ｍ（ＩＬ－２ムテイン）分子のパネルは、Ｌ５３Ｉ、Ｌ５６Ｉ、Ｌ８０Ｉ、または、Ｌ１１８Ｉ突然変異を含むＩＬ－２ムテインであった。ＭＨＣＩＩ対立遺伝子ＤＲＢ１＿１１０１、ＤＲＢ１＿１５０１、ＤＲＢ１＿０７０１、及び、ＤＲＢ１＿０１０１だけが、評価したいずれかの分子とヒットした。ＤＲＢ＿１５０１についてのペプチドヒットは、Ｃ１２５Ｓ突然変異を含む野生型ＩＬ－２を含む、試験したすべての構築物の間で同一であった。Ｌ８０Ｉを追加すると、ＤＲＢ１－０１０１の１つのＴ細胞エピトープ［ＡＬＮＬＡＰＳＫＮＦＨＬＲＰＲ］（配列番号６４）が除去され、そして、その他の２つのＴ細胞エピトープ［ＥＥＡＬＮＬＡＰＳＫＮＦＨＬＲ（配列番号６５）及びＥＡＬＮＬＡＰＳＫＮＦＨＬＲＰ（配列番号６６）］の親和性がわずかに低下する。ＭＨＣＩＩ対立遺伝子ＤＲＢ１－０７０１の場合、Ｌ８０Ｉは、１つのＴ細胞エピトープ［ＥＥＡＬＮＬＡＰＳＫＮＦＨＬＲ］（配列番号６７）を除去する。したがって、このデータは、Ｌ８０Ｉ突然変異を含むＩＬ－２ムテインの免疫原性が小さいことを実証しており、このことは、驚くべきことであり、かつ、コンピューターでの分析からは予測しえない結果である。

【手続補正７】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】配列表
【補正方法】変更
【補正の内容】
【配列表】
2021505156000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 18/62780

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - C07K 14/55, C07K 19/00, A61K 38/00 (2019.01)
CPC - C07K 14/55, C07K 2319/33, A61K 38/00, A61K 38/2013

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History Document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History Document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History Document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2002/0041865 A1 (Austin et al.) 11 April 2002 (11.04.2002). Especially claim 1-3, 9, 10	1-11, 13, 14, 17/(8-11,13,14)
A	US 2006/0234205 A1 (Cao et al.) 19 October 2006 (19.10.2006). Especially para [0091]	1-11, 13, 14, 17/(8-11,13,14)
A	US 2004/0132977 A1 (Gantier et al.) 8 July 2004 (08.07.2004). Especially para [0520]	1-11, 13, 14, 17/(8-11,13,14)
A	US 2014/0286898 A1 (Amgen, Inc.) 25 September 2014 (25.09.2014). Especially claims 1, 4, 6 SEQ ID NO: 8	1-11, 13, 14, 17/(8-11,13,14)
A	US 2007/0166308 A1 (Pullen et al) 19 July 2017 (19.07.2007). Especially para [0161], claim 1	1-11, 13, 14, 17/(8-11,13,14)
X,P	US 2018/0340014 A1 (Pandion Therapeutics, Inc) 29 November 2018 (29.11.2018). Especially claims 1,2 7, 20, 22	1-8
T	US 10,174,092 B1 (Pandion Therapeutics, Inc) 8 January 2019 (08.01.2019). Especially SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27	1

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
16 April 2019	29 APR 2019

Name and mailing address of the ISA/US	Authorized officer:
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 18/62780

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 21, 23-41, 55-70
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
-----Go to Extra Sheet for continuation------

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Claims 1-11, 13-14 and 17 (in part) limited to antibody binds to MAdCAM

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 18/62780

Continuation of Box III: Observations where Unity of Invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I+: Claims 1-20, 22, 42-54 directed to a polypeptide composition having two (dimerized) polypeptide chains comprising a targeting moiety and an IL-2 mutein effector binding/modulating moiety on each chain [see instant application Fig 19], said moieties separated by linker regions, with two targeting and binding/modulating moieties and linkers; i.e. from N-terminus, RI-Linker Region A-R2 and R3-Linker Region B-R4. The polypeptide composition will be searched to the extent that the targeting moiety that binds to the target cell is a MadCAM binding antibody, the binding/modulating moiety is an IL-2 mutein comprising the sequence of SEQ ID NO: 60, wherein at least one of X1, X2, X3, and X4 is I and the remainder are L or I, wherein the, where RI and R3 are the IL-mutein, R2 and R4 are the anti-MAdCAM antibody, and the linker regions comprise Fc domains. It is believed that claims 1-11, 13-14 and 17 (in part) limited to a polypeptide with two chains comprising (from N-terminus) an IL-2 mutein, an Fc linker, and a MadCAM binding antibody. Additional polypeptide compositions will be searched upon the payment of additional fees, encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that the polypeptide composition encompasses a polypeptide chains (from N-terminus) comprising an IL-2 mutein, an Fc linker, and a MadCAM binding antibody. Additional polypeptide compositions will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected polypeptide compositions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be a polypeptide that comprises a first chain and a second chain that form the polypeptide, wherein the first chain comprises: VH-Hc-Linker-C1, wherein VH is a variable heavy domain that binds to the target cell with a VL domain of the second chain; Hc is a heavy chain of antibody comprising CH1-CH2-CH3 domain, the Linker is a glycine/serine linker, and C1 is a IL-2 mutein fused to a Fc protein in either the N-terminal or C-terminal orientation; and the second chain comprises: VL-Lc, wherein VL is a variable light chain domain that binds to the target cell with the VH domain of the first chain, and the Lc domain is a light chain CK domain, wherein the VH and VL domain are anti-MAdCAM variable domains, and the IL-2 mutein comprises an I mutation at position 53, L53I (position X1 of claim 1) (claims 1-8, 18-19 (in part), 20, 22, 42-45, 47-48 and 54).

The inventions listed as Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features

No technical features are shared between the IL-2 Mutein sequences (or IL-mutein and Fc sequences) of Groups I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if the inventions listed as Group I+ were considered to share technical features, these shared technical features are previously disclosed by the prior art, as further discussed below.

Common Technical Features

The feature shared by the inventions listed as Group I+ is a polypeptide composition having polypeptide chains comprising a targeting moiety and an IL-2 mutein effector binding/modulating moiety [see applicant Fig 19], said moieties separated by linker regions, with targeting and binding/modulating moieties and linkers; i.e. from N-terminus, RI-Linker Region A-R2 and R3-Linker Region B-R4, wherein RI, R2, R3, and R4, each independently comprises the effector binding/modulating moiety, the targeting moiety, or is absent. However, these shared technical features do not represent a contribution over prior art, because the shared technical features are anticipated by US 2004/0082039 A1 to Gillies et al. (hereinafter 'Gillies'). Gillies teaches polypeptides comprising a targeting moeity-linker region-IL-2 mutein (para [0036] "The invention provides improved forms of such antibody fusion proteins, which include fusion proteins comprising V regions that recognize tumor-specific antigens, other tissue-specific antigens, or other disease-specific antigens. In one preferred embodiment, each of these antibodies is fused to a cytokine, such as IL-2.", para [0079] "an immunogenicly modified fusion protein having the formula A-L.sub.n-X", para [0080]-[0085] "wherein ... A is a whole antibody or its sFv, Fab, Fab', F(ab').sub.2 fragments ... X is a non-immunoglobulin target polypeptide .... L is a linker peptide, n=0 or 1, and wherein A and/or X and/or L comprise amino acid residue modifications which elicit a reduced immunogenicity compared to the parent molecule", para [0115]-[0116] "a ... fusion protein, wherein the target polypeptide X is ... IL-2", Fig. 5 shows said polypeptide having an antibody-Fc region, linker, and IL-2 moeity). Gillies further teaches modified IL-2 (para [0352] The cytokine interleukin 2 (IL-2) has been fused to specific monoclonal antibodies KS-1/4 and ch14.18 ... Theses antibodies have been de-immunized according to the invention and fused to a immunogenicly modified IL2", para [0046] "Examining the amino acid sequences in the fusion protein and prioritizing them with respect to likely immunogenicity ... For example, completely non-self epitopes are identified, and are the highest priority for removal of T-cell epitopes by mutation. ... An intermediate priority for removal of T-cell epitopes by mutation are self sequences that are found in low abundance proteins, such as cytokines" Said mutations thus make said IL-2 a mutein).

********** See Next Extra Sheet to continue **********

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 18/62780

continuation of previous extra sheet:

Another shared technical feature is an IL-2 mutein, having one or more L to I mutations at position 53, 56, 80, or 118 (corresponding to X1-X4 of claim 1).

However, this shared technical features does not represent a contribution over prior art, because the shared technical feature is mad obvious by US 2006/0234205 A1 to Cao et al. (hereinafter 'Cao'). Cao teaches substitutions of IL-2 comprising L80 (para [0006] " IL-2 mutants have been developed in order to overcome the toxicity exhibited by the native molecule", para [0091] "these muteins comprise the amino acid sequence of mature human IL-2 with at least one additional amino acid substitution within the mature human IL-2 sequence such that the mutein has these same functional characteristics. In some embodiments, the additional substitution is selected from ... L80E, L80F, L80G, L80K, L80N, L80R, L80T, L80V, L80W, L80Y ... where the amino acid residue position is relative to numbering of the mature human IL-2 amino acid sequence.", para [0083] Biologically active muteins of IL-2 will generally have at least about 70%, preferably at least about 80%, more preferably at least about 90% to 95% or more, and most preferably at least about 98%, 99% or more amino acid sequence identity to the amino acid sequence of the reference IL-2 polypeptide molecule, such as native human IL-2, which serves as the basis for comparison.... A variant may, for example, differ by as few as 1 to 15 amino acid residues, as few as 1 to 10 residues, such as 6-10, as few as 5, as few as 4, 3, 2, or even 1 amino acid residue.."). Although Cao does not expressly recite the IL-2 substitution L80I, Cao teaches numerous other substitutions, including the conservative L80V, thus, it would have been obvious to experiment with other substitutions such as L80I, because very similar conservative substitutions at L80 have improved properties such as reduced toxicity when present in IL-2 fusion proteins.

As the technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered special technical features that would otherwise unify the inventions.

Group I+ therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share the same or corresponding special technical feature.

Item 4, continued: claims 21, 23-41, 55-70 are multiple dependent claims and not not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Note: Claim 10 reads on "the IL-mutein antibody", however, said antibody is not cited in any other claim. For the purposes of this application, Claim 10 reads as follows: 10. The polypeptide of claim 9, wherein one of RI and R2 is the IL-mutein and one of RI and R2 is an anti-MAdCAM antibody

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI			テーマコード（参考）
C07K 7/06	*(2006.01)*	C07K	7/06		4H045
C07K 7/08	*(2006.01)*	C07K	7/08		
C12N 15/13	*(2006.01)*	C12N	15/13		
C12N 15/26	*(2006.01)*	C12N	15/26		
C12N 15/63	*(2006.01)*	C12N	15/63	Z	
C12N 1/15	*(2006.01)*	C12N	1/15		
C12N 1/19	*(2006.01)*	C12N	1/19		
C12N 1/21	*(2006.01)*	C12N	1/21		
C12N 5/10	*(2006.01)*	C12N	5/10		
C12P 21/02	*(2006.01)*	C12P	21/02	C	
C12P 19/34	*(2006.01)*	C12P	19/34	A	
A61P 1/04	*(2006.01)*	A61P	1/04		
A61P 1/16	*(2006.01)*	A61P	1/16		
A61P 3/10	*(2006.01)*	A61P	3/10		
A61P 37/06	*(2006.01)*	A61P	37/06		
A61K 39/395	*(2006.01)*	A61K	39/395	D	
A61K 47/65	*(2017.01)*	A61K	47/65		
A61K 48/00	*(2006.01)*	A61K	48/00		

(31)優先権主張番号 15/988,311
(32)優先日 平成30年5月24日(2018.5.24)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 62/675,972
(32)優先日 平成30年5月24日(2018.5.24)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 PCT/US2018/034334
(32)優先日 平成30年5月24日(2018.5.24)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 16/109,875
(32)優先日 平成30年8月23日(2018.8.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 16/109,897
(32)優先日 平成30年8月23日(2018.8.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 62/721,644
(32)優先日 平成30年8月23日(2018.8.23)
(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,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,

BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．ＴＷＥＥＮ

(72)発明者　ジョアン・エル・ヴィニー
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２１３９．ケンブリッジ．ノース．メイン・ストリート７００
(72)発明者　ジョスナ・ビシュウェシュワライア
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２１３９．ケンブリッジ．ノース．メイン・ストリート７００
(72)発明者　エリク・ロバート・サンプソン
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２１３９．ケンブリッジ．ノース．メイン・ストリート７００
(72)発明者　ケビン・ルイス・オティポビー
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０２１３９．ケンブリッジ．ノース．メイン・ストリート７００

Ｆターム(参考)
4B064 AF27 AG05 AG20 AG26 AG27 BJ10 BJ12 CA02 CA05 CA08 CA09 CA10 CA11 CA19 CC24 DA01 DA13
4B065 AA01X AA57X AA83X AA86X AA87X AA87Y AA90X AA90Y AB01 AC14 BA02 CA23 CA24 CA25 CA44 CA46
4C076 AA95 BB11 BB13 BB15 BB16 BB31 CC16 EE41 EE59 FF31
4C084 AA02 AA03 AA07 AA13 MA05 MA17 MA22 MA23 MA24 MA31 MA34 MA55 MA56 MA58 MA65 MA66 NA12 NA13 NA14 ZA66 ZA68 ZA75 ZB08 ZC35
4C085 AA13 BB36 BB42 CC22 DD62 EE01 EE05 GG01 GG02 GG03 GG04 GG06 GG08
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA40 BA41 CA40 DA04 DA50 DA75 DA76 EA20 EA22 EA50 FA74