

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

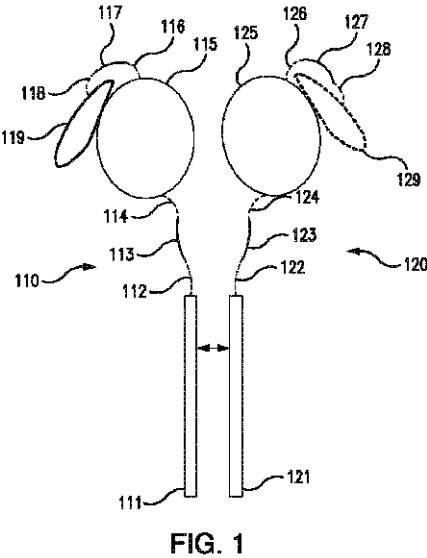
(11)公表番号
特表2024-511387
(P2024-511387A)

(43)公表日 令和6年3月13日(2024.3.13)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/19 (2006.01)	C 1 2 N	15/19	Z N A	4 B 0 6 5
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 C 0 7 6
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10		4 C 0 8 4
C 0 7 K	14/52 (2006.01)	C 0 7 K	14/52		4 H 0 4 5
A 6 1 K	38/21 (2006.01)	A 6 1 K	38/21		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全217頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2023-557128(P2023-557128)	(71)出願人	520011599	シートムエックス セラピューティクス ，インコーポレイテッド アメリカ合衆国，カリフォルニア州 9 4 0 8 0，サウス サンフランシスコ， スイート 4 0 0，1 5 1 オイスター ポイント プールバード	
(86)(22)出願日	令和4年3月16日(2022.3.16)	(74)代理人	100114775		
(85)翻訳文提出日	令和5年10月26日(2023.10.26)	(74)代理人	弁理士 高岡 亮一		
(86)国際出願番号	PCT/US2022/020492	(74)代理人	100121511		
(87)国際公開番号	WO2022/197764	(74)代理人	弁理士 小田 直	100202751 弁理士 岩堀 明代 100208580 弁理士 三好 玲奈	
(87)国際公開日	令和4年9月22日(2022.9.22)	(74)代理人	100202751		
(31)優先権主張番号	63/161,913	(74)代理人	弁理士 岩堀 明代		
(32)優先日	令和3年3月16日(2021.3.16)	(74)代理人	100208580		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 三好 玲奈	最終頁に続く	
(31)優先権主張番号	63/164,827				
(32)優先日	令和3年3月23日(2021.3.23)				
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				
(31)優先権主張番号	63/254,748			最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 マスクした活性化可能サイトカイン構成体ならびに関連する組成物及び方法

(57)【要約】
本明細書において、活性化可能サイトカイン構成体であって、(a) 第1のモノマー構成体が、第1のペプチドマスク (PM1) と、第3の開裂可能部分 (CM3) と、第1の成熟サイトカインタンパク質 (CP1) と、第1の開裂可能部分 (CM1) と、第1の二量体化ドメイン (DD1) とを含み、CM1がCP1とDD1との間に置かれ、CM3がPM1とCP1との間に置かれる、第1のモノマー構成体、及び (b) 第2のモノマー構成体が、第2の成熟サイトカインタンパク質 (CP2) と、第2の開裂可能部分 (CM2) と、第2の二量体化ドメイン (DD2) とを含み、CM2がCP2とDD2との間に置かれる、第2のモノマー構成体を含み、DD1及びDD2は互いに結合し、ACCが、少なくとも1つのCP1及び／またはCP2の活性の対照レベルと比較して、少なくとも1つのCP1及び／またはCP2の活性の低減を特徴とする、活性化可能サイトカイン構成体を提供される。
【選択図】 図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体を含有する活性化可能サイトカイン構成体（A C C）であって、

（a）前記第 1 のモノマー構成体が、第 1 のペプチドマスク（P M 1）と、第 1 の成熟サイトカインタンパク質（C P 1）と、第 1 の及び第 3 の開裂可能部分（C M 1 及び C M 3）と、第 1 の二量体化ドメイン（D D 1）と、を含み、前記 C M 1 は前記 C P 1 と前記 D D 1 との間に置かれ、前記 C M 3 は前記 P M 1 と前記 C P 1 との間に置かれ、

（b）前記第 2 のモノマー構成体が、第 2 の成熟サイトカインタンパク質（C P 2）と、第 2 の開裂可能部分（C M 2）と、第 2 の二量体化ドメイン（D D 2）と、を含み、前記 C M 2 は前記 C P 2 と前記 D D 2 との間に置かれ、

前記 D D 1 及び前記 D D 2 が互いに結合し、それによって前記第 1 のモノマー構成体及び前記第 2 のモノマー構成体の二量体を形成し、

以下の特性：

（i）N 末端から C 末端方向に、P M 1－C M 3－C P 1－C M 1－D D 1 及び C P 2－C M 2－D D 2 を含み、D D 1 及び D D 2 は二量体化される構造的配置；

（i i）前記第 1 のモノマー構成体は、前記 C P 1 及び前記 D D 1 が 18 個以下のアミノ酸の連結領域によって連結され、前記 18 個以下のアミノ酸の連結領域が前記 C M 3 を含有することを特徴とする；

（i i i）前記第 2 のモノマー構成体は、前記 C P 2 及び前記 D D 2 が 18 個以下のアミノ酸の連結領域によって連結され、前記 18 個以下のアミノ酸の連結領域が前記 C M 2 を含有することを特徴とする；

（i v）P M 1 及び P M 2 のそれぞれが、40 個未満のアミノ酸である；

（v）P M 1 及び P M 2 のそれぞれが、13～49 個のアミノ酸である；及び／または

（v i）P M 1 及び P M 2 のそれぞれが、前記 C P 1 及び前記 C P 2 の受容体ではなく、P M 1 及び P M 2 のそれぞれが、前記 C P 1 及び前記 C P 2 の受容体のフラグメントではない、

の少なくとも 1 つを有する、前記活性化可能サイトカイン構成体（A C C）。

【請求項 2】

前記第 2 のモノマー構成体が、第 2 のペプチドマスク（P M 2）及び第 4 の開裂可能部分（C M 4）をさらに含み、前記 C M 4 が前記 P M 2 と前記 C P 2 との間に置かれる、請求項 1 に記載の A C C。

【請求項 3】

前記第 1 のモノマー構成体が、前記 P M 1、前記 C M 3、前記 C P 1、前記 C M 1 及び前記 D D 1 を含む第 1 のポリペプチドを含む、請求項 1 または 2 に記載の A C C。

【請求項 4】

前記第 2 のモノマー構成体が、前記 C P 2、前記 C M 2 及び前記 D D 2 を含む第 2 のポリペプチドを含む、請求項 1～3 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 5】

前記第 2 のモノマー構成体が、前記 P M 2、前記 C M 4、前記 C P 2、前記 C M 2 及び前記 D D 2 を含む第 2 のポリペプチドを含む、請求項 2 に記載の A C C。

【請求項 6】

前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 が、それぞれ独立して、インターフェロン、インターロイキン、G M－C S F、G－C S F、L I F、O S M、C D 154、L T－β、T N F－α、T N F－β、4－1 B B L、A P R I L、C D 70、C D 153、C D 178、G I T R L、L I G H T、O X 40 L、T A L L－1、T R A I L、T W E A K、T R A N C E、T G F－β 1、T G F－β 1、T G F－β 3、E p o、T p o、F l t－3 L、S C F、M－C S F 及び M S P からなる群から選択され、所望により前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 は、独立して、I L－2、I L－7、I L－8、I L－10、I L－12、I L－15、I L－21、I F N－α、I F N β、I F N γ、G M－C S F、T G

F- β 、LIGHT、GITR-L、CD40L、CD27L、4-1BB-L、OX40、及びOX40Lから選択される、請求項1～5のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項7】

前記PM1が、配列番号328、329、323及び331～369からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP1がインターフェロンである；

前記PM1が、配列番号328、329、323及び331～364からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP1がインターフェロン α である；

前記PM1が、配列番号331～360、362～364からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP1がインターフェロン β である；

前記PM1が、配列番号331～360、366～369からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP1がインターフェロン γ である；

前記PM1が、配列番号370～374からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP1がIL-12である；

前記PM1が、配列番号375～382、469～477、478からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP1がIL-15である；

前記PM1が、配列番号383～468、469～478からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP1がIL-2である；または

前記PM1が、配列番号478及び479からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP1がIL-21である、

請求項1～6のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項8】

前記PM2が、配列番号328、329、323及び331～369からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP2がインターフェロンである；

前記PM2が、配列番号328、329、323及び331～364からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP2がインターフェロン α である；

前記PM2が、配列番号331～360、362～364からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP2がインターフェロン β である；

前記PM2が、配列番号331～360、366～369からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP2がインターフェロン γ である；

前記PM2が、配列番号370～374からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP2がIL-12である；

前記PM2が、配列番号375～382、469～477、478からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP2がIL-15である；

前記PM2が、配列番号383～468、469～478からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP2がIL-2である；または

前記PM2が、配列番号478及び479からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP2がIL-21である、

請求項2～7のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項9】

PM1、PM2またはPM1及びPM2が、配列番号323を含む、請求項2～8のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項10】

PM1、PM2またはPM1及びPM2が、配列番号331を含む、請求項2～9のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項11】

PM1、PM2またはPM1及びPM2が、配列番号332を含む、請求項2～10のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項12】

PM1とCP1との間に、15、16、17、18、19、20、21または22個の

10

20

30

40

50

アミノ酸を含むマスク連結領域を含む、請求項 2 ～ 1 1 のいずれか 1 項または組み合わせて記載の A C C。

【請求項 1 3】

P M 2 と C P 2 との間に、1 5、1 6、1 7、1 8、1 9、2 0、2 1 または 2 2 個のアミノ酸を含むマスク連結領域を含む、請求項 2 ～ 1 2 のいずれか 1 項または組み合わせて記載の A C C。

【請求項 1 4】

前記 D D 1 及び前記 D D 2 が、1 対の F c ドメイン；ヒト I L - 1 5 受容体のアルファ鎖（I L 1 5 R α）からのスシ（s u s h i）ドメイン及び可溶性 I L - 1 5；バルナーゼ及びバルスター；P K A 及び A K A P；変異 R N a s e I フラグメントベースのアダプタ／ドッキングタグモジュール；エピトープ及び s d A b；エピトープ及び s c F v；タンパク質シンタキシン、シナプトタグミン、シナプトレビン及び S N A P 2 5 の相互作用に基づく S N A R E モジュール；抗原結合ドメイン及びエピトープからなる群から選択される対である、請求項 1 ～ 1 3 のいずれか 1 項または組み合わせて記載の A C C。

【請求項 1 5】

前記 D D 1 及び前記 D D 2 が 1 対の F c ドメインである、請求項 1 4 に記載の A C C。

【請求項 1 6】

前記 1 対の F c ドメインが、1 対のヒト F c ドメインである、請求項 1 5 に記載の A C C。

【請求項 1 7】

前記ヒト F c ドメインが、ヒト I g G 1 の F c ドメイン、ヒト I g G 2 の F c ドメイン、ヒト I g G 3 の F c ドメインまたはヒト I g G 4 の F c ドメインである、請求項 1 6 に記載の A C C。

【請求項 1 8】

前記ヒト F c ドメインが、ヒト I g G 4 の F c ドメインである、請求項 1 7 に記載の A C C。

【請求項 1 9】

前記ヒト F c ドメインが、配列番号 3 と少なくとも 8 0 % 同一である配列を含む、請求項 1 6 に記載の A C C。

【請求項 2 0】

前記ヒト F c ドメインが、配列番号 3 と少なくとも 9 0 % 同一である配列を含む、請求項 1 9 に記載の A C C。

【請求項 2 1】

前記ヒト F c ドメインが配列番号 3 を含む、請求項 2 0 に記載の A C C。

【請求項 2 2】

前記 D D 1 及び前記 D D 2 が、それぞれ、配列番号 3 1 8 及び 3 1 9 を含む、請求項 1 4 に記載の A C C。

【請求項 2 3】

前記 D D 1 及び前記 D D 2 が同一である、請求項 1 ～ 2 1 のいずれか 1 項または組み合わせて記載の A C C。

【請求項 2 4】

前記 D D 1 が抗原結合ドメインを含み、前記 D D 2 が対応するエピトープを含む、請求項 1 4 に記載の A C C。

【請求項 2 5】

前記抗原結合ドメインが抗 H i s タグ抗原結合ドメインであり、前記 D D 2 が H i s タグを含む、請求項 2 4 に記載の A C C。

【請求項 2 6】

前記抗原結合ドメインが、単鎖可変領域フラグメント（s c F v）である、請求項 2 4 に記載の A C C。

【請求項 2 7】

10

20

30

40

50

前記抗原結合ドメインが、シングルドメイン抗体（s d A b）である、請求項 2 4 に記載の A C C。

【請求項 2 8】

前記 D D 1 及び前記 D D 2 の少なくとも一方が、非ポリペプチドポリマー及び小分子からなる群から選択される二量体化ドメイン置換基を含む、請求項 1 4 に記載の A C C。

【請求項 2 9】

前記 D D 1 及び前記 D D 2 が、互いに共有結合されている非ポリペプチドポリマーを含む、請求項 2 8 に記載の A C C。

【請求項 3 0】

前記非ポリペプチドポリマーが、硫黄含有ポリエチレングリコールであり、前記 D D 1 及び前記 D D 2 が、1 個以上のジスルフィド結合を介して互いに共有結合されている、請求項 2 9 に記載の A C C。

10

【請求項 3 1】

前記 D D 1 及び前記 D D 2 の少なくとも一方が小分子を含む、請求項 2 8 に記載の A C C。

【請求項 3 2】

前記小分子がビオチンである、請求項 3 1 に記載の A C C。

【請求項 3 3】

前記 D D 1 がビオチンを含み、前記 D D 2 がアビジンを含む、請求項 3 2 に記載の A C C。

20

【請求項 3 4】

前記 C P 1 及び前記 C P 2 が成熟サイトカインである、請求項 1 ～ 3 3 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 3 5】

前記 C P 1 及び前記 C P 2 がシグナルペプチドを含む、請求項 1 ～ 3 3 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 3 6】

前記 C P 1 及び前記 C P 2 が同一である、請求項 1 ～ 3 5 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 3 7】

前記 C P 1 及び前記 C P 2 が異なる、請求項 1 ～ 3 5 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

30

【請求項 3 8】

前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 がインターフェロンである、請求項 1 ～ 3 5 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 3 9】

前記 C P 1 及び前記 C P 2 がインターフェロンである、請求項 3 8 に記載の A C C。

【請求項 4 0】

前記 C P 1 及び前記 C P 2 が異なるインターフェロンである、請求項 3 8 に記載の A C C。

40

【請求項 4 1】

前記 C P 1 及び前記 C P 2 が同一のインターフェロンである、請求項 3 8 に記載の A C C。

【請求項 4 2】

前記インターフェロン（複数可）が、ヒト野生型成熟インターフェロンである、請求項 3 8 ～ 4 1 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 4 3】

前記インターフェロン（複数可）が、インターフェロン- α 、インターフェロン- β 、インターフェロン- ω 及びインターフェロン- τ からなる群から選択される、請求項 3 8 ～ 4 2 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

50

【請求項 44】

前記インターフェロンがインターフェロン α である、請求項 43 に記載の A C C。

【請求項 45】

前記インターフェロン（複数可）が、インターフェロン $\alpha-2a$ 、インターフェロン $\alpha-2b$ 及びインターフェロン $\alpha-n3$ からなる群から選択される、請求項 44 に記載の A C C。

【請求項 46】

前記インターフェロン（複数可）がインターフェロン $\alpha-2b$ である、請求項 45 に記載の A C C。

【請求項 47】

前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 が、配列番号 1 と少なくとも 80 % 同一である配列を含む、請求項 46 に記載の A C C。

【請求項 48】

前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 が、配列番号 1 と少なくとも 90 % 同一である配列を含む、請求項 47 に記載の A C C。

【請求項 49】

前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 が、配列番号 1 の配列を含む、請求項 48 に記載の A C C。

【請求項 50】

前記インターフェロンがインターフェロン β である、請求項 43 に記載の A C C。

【請求項 51】

前記インターフェロン β が、インターフェロン $\beta-1a$ 及びインターフェロン $\beta-1b$ からなる群から選択される、請求項 50 に記載の A C C。

【請求項 52】

前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 が、I F a b ドメインを含む、請求項 1 ～ 51 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 53】

前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 が、インターロイキンを含む、請求項 1 ～ 38 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 54】

前記インターロイキンが、I L - 1 α 、I L - 1 β 、I L - 1 R A、I L - 1 8、I L - 2、I L - 4、I L - 7、I L - 9、I L - 1 3、I L - 1 5、I L - 3、I L - 5、I L - 6、I L - 1 1、I L - 1 2、I L - 1 0、I L - 2 0、I L - 2 1、I L - 1 4、I L - 1 6 及び I L - 1 7 からなる群から選択される、請求項 53 に記載の A C C。

【請求項 55】

前記 C M 1 及び前記 C M 2 のそれぞれが、合計約 3 個のアミノ酸～約 15 個のアミノ酸を含む、請求項 1 ～ 54 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 56】

前記 C M 1、前記 C M 2、前記 C M 3 及び前記 C M 4 の 1 個以上が、異なるプロテアーゼの基質を含む、請求項 1 ～ 55 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 57】

前記 C M 1、前記 C M 2 及び前記 C M 3 が、同一のプロテアーゼの基質を含む、請求項 1 ～ 56 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 58】

前記プロテアーゼ（複数可）が、A D A M 8、A D A M 9、A D A M 1 0、A D A M 1 2、A D A M 1 5、A D A M 1 7 / T A C E、A D A M D E C 1、A D A M T S 1、A D A M T S 4、A D A M T S 5、B A C E、レニン、カテプシン D、カテプシン E、カスパーゼ 1、カスパーゼ 2、カスパーゼ 3、カスパーゼ 4、カスパーゼ 5、カスパーゼ 6、カスパーゼ 7、カスパーゼ 8、カスパーゼ 9、カスパーゼ 1 0、カスパーゼ 1 4、カテプシン B、カテプシン C、カテプシン K、カテプシン L、カテプシン S、カテプシン V / L 2

10

20

30

40

50

、カテプシンX／Z／P、クルジパイン、レグマイン、オツベイン-2 (O t u b a i n-2)、K L K 4、K L K 5、K L K 6、K L K 7、K L K 8、K L K 10、K L K 11、K L K 13、K L K 14、メブリン、ネプリライシン、P S M A、B M P-1、M M P-1、M M P-2、M M P-3、M M P-7、M M P-9、M M P-10、M M P-11、M M P-12、M M P-13、M M P-14、M M P-15、M M P-16、M M P-17、M M P-19、M M P-20、M M P-23、M M P-24、M M P-26、M M P-27、活性化タンパク質C、カテプシンA、カテプシンG、キマーゼ、F V I I a、F I X a、F X a、F X I a、F X I I a、エラスターゼ、グランザイムB、グアニジノベンゾアターゼ、H t r A 1、ヒト好中球リアーゼ、ラクトフェリン、マラプシン (m a r a p s i n)、N S 3／4 A、P A C E 4、プラスミン、P S A、t P A、トロンビン、トリプターゼ、u P A、D E S C 1、D P P-4、F A P、ヘプシン、マトリプターゼ-2、M T-S P 1／マトリプターゼ、T M P R S S 2、T M P R S S 3及びT M P R S S 4からなる群から選択される、請求項1～57のいずれか1項または組み合わせに記載のA C C。

10

【請求項59】

前記プロテアーゼ（複数可）が、u P A、レグマイン、M T-S P 1、A D A M 17、B M P-1、T M P R S S 3、T M P R S S 4、M M P-2、M M P-9、M M P-12、M M P-13、及びM M P-14からなる群から選択される、請求項58に記載のA C C。

【請求項60】

前記C M 1、前記C M 2、前記C M 3及び／または前記C M 4が、L S G R S D N H（配列番号5）、T G R G P S W V（配列番号6）、P L T G R S G G（配列番号7）、T A R G P S F K（配列番号8）、N T L S G R S E N H S G（配列番号9）、N T L S G R S G N H G S（配列番号10）、T S T S G R S A N P R G（配列番号11）、T S G R S A N P（配列番号12）、V H M P L G F L G P（配列番号13）、A V G L L A P P（配列番号14）、A Q N L L G M V（配列番号15）、Q N Q A L R M A（配列番号16）、L A A P L G L L（配列番号17）、S T F P F G M F（配列番号18）、I S S G L L S S（配列番号19）、P A G L W L D P（配列番号20）、V A G R S M R P（配列番号21）、V V P E G R R S（配列番号22）、I L P R S P A F（配列番号23）、M V L G R S L L（配列番号24）、Q G R A I T F I（配列番号25）、S P R S I M L A（配列番号26）、S M L R S M P L（配列番号27）、I S S G L L S G R S D N H（配列番号28）、A V G L L A P P G G L S G R S D N H（配列番号29）、I S S G L L S S G G S G G S L S G R S D N H（配列番号30）、L S G R S G N H（配列番号31）、S G R S A N P R G（配列番号32）、L S G R S D D H（配列番号33）、L S G R S D I H（配列番号34）、L S G R S D Q H（配列番号35）、L S G R S D T H（配列番号36）、L S G R S D Y H（配列番号37）、L S G R S D N P（配列番号38）、L S G R S A N P（配列番号39）、L S G R S A N I（配列番号40）、L S G R S D N I（配列番号41）、M I A P V A Y R（配列番号42）、R P S P M W A Y（配列番号43）、W A T P R P M R（配列番号44）、F R L L D W Q W（配列番号45）、I S S G L（配列番号46）、I S S G L L S（配列番号47）、I S S G L L（配列番号48）、I S S G L L S G R S A N P R G（配列番号49）、A V G L L A P P T S G R S A N P R G（配列番号50）、A V G L L A P P S G R S A N P R G（配列番号51）、I S S G L L S G R S D D H（配列番号52）、I S S G L L S G R S D I H（配列番号53）、I S S G L L S G R S D Q H（配列番号54）、I S S G L L S G R S D T H（配列番号55）、I S S G L L S G R S D Y H（配列番号56）、I S S G L L S G R S D N P（配列番号57）、I S S G L L S G R S A N P（配列番号58）、I S S G L L S G R S A N I（配列番号59）、A V G L L A P P G G L S G R S D D H（配列番号60）、A V G L L A P P G G L S G R S D I H（配列番号61）、A V G L L A P P G G L S G R S D Q H（配列番号62）、A V G L L A P P G G L S G R S D T H（配列番号63）、A V G L L A P P G G L S G R S D Y H（配列番号64）、

20

30

40

50

AVGLLAPPGGLSGRSDNP（配列番号65）、AVGLLAPPGGLSGRSANP（配列番号66）、AVGLLAPPGGLSGRSANI（配列番号67）、ISSGLLSGRSDNI（配列番号68）、AVGLLAPPGGLSGRSDNI（配列番号69）、GLSGRSDNHGGAVGLLAPP（配列番号70）、GLSGRSDNHGGVHMPLGFLGP（配列番号71）、LSGRSDNHGGVHMPLGFLGP（配列番号72）、ISSGLSS（配列番号73）、PVGYTSSL（配列番号74）、DWLYWPGI（配列番号75）、LKAAPRWA（配列番号76）、GPSHLVLT（配列番号77）、LPGGLSPW（配列番号78）、MGLFSEAG（配列番号79）、SPLPLRVP（配列番号80）、RMHLRSLG（配列番号81）、LLAPSHRA（配列番号82）、GPRSFGL（配列番号83）、GPRSGF（配列番号84）、SARGPSRW（配列番号85）、GGWHTGRN（配列番号86）、HTGRSGAL（配列番号87）、AARGPAIH（配列番号88）、RGPAFNPM（配列番号89）、SSRGPAYL（配列番号90）、RGPATPIM（配列番号91）、RGPA（配列番号92）、GGQP SGMWGW（配列番号93）、FPRPLGITGL（配列番号94）、SPLTGRSG（配列番号95）、SAGFSLPA（配列番号96）、LAPLGLQRR（配列番号97）、SGGPLGVR（配列番号98）、PLGL（配列番号99）、及びSGRSDNI（配列番号100）からなる群から選択される配列を含む、請求項1～57のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

10

【請求項61】

20

前記CM1、前記CM2、前記CM3及び／または前記CM4が、ISSGLLSGRSDNH（配列番号28）、LSGRSDDH（配列番号33）、ISSGLLSGRSDQH（配列番号54）、SGRSDNI（配列番号100）、及びISSGLLSGRSDNI（配列番号68）からなる群から選択される配列を含む、請求項60に記載のACC。

【請求項62】

前記プロテアーゼ（複数可）が、対象の腫瘍によって産生される、請求項1～61のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項63】

前記対象が、がんを有すると診断または特定されている、請求項62に記載のACC。

30

【請求項64】

前記CP1及び前記CM1が、前記第1のモノマー構成体において、互いに直接的に隣接する、請求項1～63のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項65】

前記CM1及び前記DD1が、前記第1のモノマー構成体において、互いに直接的に隣接する、請求項1～64のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項66】

前記CP2及び前記CM2が、前記第2のモノマー構成体において、互いに直接的に隣接する、請求項1～65のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項67】

前記CM2及び前記DD2が、前記第2のモノマー構成体において、互いに直接的に隣接する、請求項1～66のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

40

【請求項68】

前記第1のモノマー構成体が、少なくとも1個のリンカーを含む、請求項1～63のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項69】

前記少なくとも1個のリンカーが、前記PM1と前記CM3との間に配置されたリンカーL1及び／または前記CM3と前記CP1との間に配置されたリンカーL2である、請求項68に記載のACC。

【請求項70】

50

前記第 2 のモノマー構成体が、少なくとも 1 個のリンカーを含む、請求項 6 8 に記載の A C C。

【請求項 7 1】

前記少なくとも 1 個のリンカーが、前記 P M 2 と前記 C M 4 との間に配置されたリンカー L 3 及び／または前記 C M 4 と前記 C P 2 との間に配置されたリンカー L 4 である、請求項 7 0 に記載の A C C。

【請求項 7 2】

前記第 1 のモノマー構成体がリンカー L 1 を含み、前記第 2 のモノマー構成体がリンカー L 3 を含む、請求項 7 1 に記載の A C C。

【請求項 7 3】

L 1 及び L 3 が同一である、請求項 7 2 に記載の A C C。

【請求項 7 4】

前記第 1 のモノマー構成体がリンカー L 2 を含み、前記第 2 のモノマー構成体がリンカー L 4 を含む、請求項 7 1 に記載の A C C。

【請求項 7 5】

L 2 及び L 4 が同一である、請求項 7 4 に記載の A C C。

【請求項 7 6】

各リンカーが、1 個のアミノ酸～約 1 5 個のアミノ酸の全長を有する、請求項 6 8 ～ 7 5 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 7 7】

各リンカーが、少なくとも 5 個のアミノ酸の全長を有する、請求項 7 6 に記載の A C C。

【請求項 7 8】

前記第 1 のモノマー構成体が、少なくとも 1 個のリンカーを含み、各リンカーは独立して、G S S G G S G G S G G (配列番号 2 1 0) ; G G G S (配列番号 2) ; G G G S G G S (配列番号 2 1 1) ; G G G S G G G S G G G S (配列番号 2 1 2) ; G G G G S G G G S G G G G S (配列番号 2 1 3) ; G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S (配列番号 2 1 4) ; G G G G S G G G G S (配列番号 2 1 5) ; G G G G S (配列番号 2 1 6) ; G S ; G G G G S G S (配列番号 2 1 7) ; G G G G S G G G G S G G G S G S (配列番号 2 1 8) ; G G S L D P K G G G G S (配列番号 2 1 9) ; P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G (配列番号 2 2 0) ; S K Y G P P C P P C P A P E F L G (配列番号 2 2 1) ; G K S S G S G S E S K S (配列番号 2 2 2) ; G S T S G S G K S S E G K G (配列番号 2 2 3) ; G S T S G S G K S S E G S G S T K G (配列番号 2 2 4) ; G S T S G S G K P G S S E G S T K G (配列番号 2 2 5) ; G S T S G S G K P G S S E G S T (配列番号 2 2 6) ; (G S) n、(G G S) n、(G S G G S) n (配列番号 2 2 7)、(G G G S) n (配列番号 2 2 8)、(G G G G S) n (配列番号 2 1 6)、各 n は少なくとも 1 である整数である ; G G S G (配列番号 2 2 9) ; G G S G G (配列番号 2 3 0) ; G S G S G (配列番号 2 3 1) ; G S G G G (配列番号 2 3 2) ; G G G S G (配列番号 2 3 3) ; G S S S G (配列番号 2 3 4) ; G G G G S G G G G S G G G G S (配列番号 2 1 3) ; G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S (配列番号 2 1 4) ; G S T S G S G K P G S S E G S T (配列番号 2 2 6) ; S G G G (配列番号 3 2 7) ; 及び S G G G G (配列番号 4 9 2) からなる群から選択される、請求項 6 8 に記載の A C C。

【請求項 7 9】

前記リンカーが、G G G S (配列番号 2) の配列を含む、請求項 7 8 に記載の A C C。

【請求項 8 0】

前記第 1 のモノマー構成体が、N 末端から C 末端方向で、前記 P M 1、前記 C M 3、前記 C P 1、前記 C M 1 及び前記 D D 1 を含む、請求項 1 ～ 7 9 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 8 1】

10

20

30

40

50

前記第1のポリペプチドが、C末端からN末端方向で、前記PM1、前記CM3、前記CP1、前記CM1及び前記DD1を含む、請求項1～79のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項82】

前記第2のポリペプチドが、N末端からC末端方向で、前記CP2、前記CM2及び前記DD2を含む、請求項1～81のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項83】

前記第2のポリペプチドが、C末端からN末端方向で、前記CP2、前記CM2及び前記DD2を含む、請求項1～82のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項84】

前記第1のモノマー構成体及び前記第2のモノマー構成体が同一であり、前記第1のモノマー構成体及び前記第2のモノマー構成体のそれぞれが、1個のみのペプチドマスクを有する、請求項1～36、38、39または41～83のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項85】

前記第1のモノマー構成体が、N末端からC末端方向で、前記PM1、任意選択的リンカー、前記CM3、任意選択的リンカー、前記CP1、前記CM1及び前記DD1を含み、前記CP1及び前記CM1が互いに直接的に隣接し、前記CM1及び前記DD1が互いに直接的に隣接し、前記CM1が10個以下のアミノ酸のペプチドであり、前記第2のモノマー構成体が前記第1のモノマー構成体と同一であり、前記第1のモノマー構成体及び前記第2のモノマー構成体が、少なくとも2個のジスルフィド結合を介して、互いに共有結合されている、請求項1～79のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項86】

前記DD1及び前記DD2がそれぞれ、EUNANBリングに準拠して番号を付けたとき、システイン216でN末端を有するヒトFcドメインである、請求項85に記載のACC。

【請求項87】

前記CM1が、7個以下のアミノ酸のペプチドである、請求項85または86に記載のACC。

【請求項88】

前記CP1及び前記CP2が、配列番号1と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む、請求項85～87のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項89】

少なくとも1つのCP1及び／またはCP2の活性の対照レベルと比較して、CP1及び／またはCP2の少なくとも1つの低減した活性レベルを有することを特徴とする、請求項1～88のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項90】

前記少なくとも1つの前記CP1及び前記CP2活性が、リンパ腫細胞の増殖レベルである、請求項89に記載のACC。

【請求項91】

前記少なくとも1つの前記CP1及び前記CP2活性が、リンパ腫細胞における、JAK/STAT/ISGF3経路の活性化レベルである、請求項89に記載のACC。

【請求項92】

前記少なくとも1つの活性が、リンパ腫細胞における、SEAPの産生レベルである、請求項89に記載のACC。

【請求項93】

前記少なくとも1つの前記CP1及び／または前記CP2活性が、前記対照のレベルと比較して、少なくとも2倍低いことを特徴とする、請求項89に記載のACC。

【請求項94】

前記少なくとも1つの前記CP1及び／または前記CP2活性が、前記対照のレベルと

10

20

30

40

50

比較して、少なくとも5倍低いことを特徴とする、請求項93に記載のACC。

【請求項95】

前記少なくとも1つの前記CP1及び／または前記CP2活性が、前記対照のレベルと比較して、少なくとも10倍低いことを特徴とする、請求項94に記載のACC。

【請求項96】

前記少なくとも1つの前記CP1及び／または前記CP2活性が、前記対照のレベルと比較して、少なくとも500倍低いことを特徴とする、請求項95に記載のACC。

【請求項97】

前記少なくとも1つの前記CP1及び／または前記CP2活性の前記対照レベルが、前記ACCを前記プロテアーゼ（複数可）に曝露した後の、前記ACCの前記CP1及び／または前記CP2の活性である、請求項89～95のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項98】

前記少なくとも1つの前記CP1及び／または前記CP2の前記対照レベルが、対応する野生型成熟サイトカインの、対応する前記CP1及び／または前記CP2活性である、請求項89～97のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項99】

前記ACCが、前記プロテアーゼ（複数可）への曝露後に切断産物を生成することを特徴とし、前記切断産物が、前記少なくとも1つの前記CP1及び／または前記CP2の活性を含む、請求項89～98のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項100】

前記少なくとも1つの前記CP1及び／または前記CP2の活性が、抗増殖活性である、請求項99に記載のACC。

【請求項101】

前記対照レベルがEC50値であり、EC50（対照レベル）に対するEC50（切断産物）の比率が、約10未満、または約9未満、または約8未満、または約7未満、または約6未満、または約5未満、または約4未満、または約3未満、または約2未満、または約1.5未満、または約1.0未満である、請求項100に記載のACC。

【請求項102】

前記第1のモノマー構成体は、前記CP1及び前記DD1が、12個以下のアミノ酸の連結領域によって連結され、前記12個以下のアミノ酸の連結領域が前記CM3を含有することを特徴とする、請求項1～101のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項103】

前記第2のモノマー構成体は、前記CP2及び前記DD2が、12個以下のアミノ酸の連結領域によって連結され、前記12個以下のアミノ酸の連結領域が前記CM2を含有することを特徴とする、請求項1～102のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項104】

前記PM1が、50個未満のアミノ酸を含む、請求項1～103のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項105】

前記PM2が、50個未満のアミノ酸を含む、請求項2～104のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項106】

前記PM1及び前記PM2のそれぞれが、19個未満のアミノ酸である、請求項105に記載のACC。

【請求項107】

前記PM1が潜在型関連ペプチドではなく、かつ前記PM2が潜在型関連ペプチドではない、請求項1～103のいずれか1項または組み合わせに記載のACC。

【請求項 108】

前記 P M 1 がサイトカインではなく、かつ前記 P M 2 がサイトカインではない、請求項 1 ～ 103 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 109】

前記 P M 1 がサイトカインの受容体ではなく、かつサイトカインの受容体のフラグメントではない、請求項 1 ～ 103 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 110】

前記 P M 2 がサイトカインの受容体ではなく、かつサイトカインの受容体のフラグメントではない、請求項 1 ～ 103 及び 109 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 111】

前記 P M 1 がアルブミンではなく、かつ前記 P M 2 がアルブミンではない、請求項 1 ～ 103 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 112】

請求項 1 ～ 111 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C を含む、組成物。

【請求項 113】

薬学的組成物である、請求項 112 に記載の組成物。

【請求項 114】

請求項 112 または 113 に記載の組成物の、少なくとも 1 回の用量を含む、容器、バイアル、シリンジ、注射ペンまたはキット。

【請求項 115】

治療を必要とする対象の治療方法であって、治療有効量の、請求項 1 ～ 96 のいずれか 1 項に記載の A C C、または請求項 112 もしくは 113 に記載の組成物を、前記対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 116】

前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、請求項 115 に記載の方法。

【請求項 117】

前記がんがリンパ腫である、請求項 116 に記載の方法。

【請求項 118】

前記リンパ腫が、バーキットリンパ腫である、請求項 117 に記載の方法。

【請求項 119】

請求項 1 ～ 111 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C の、前記 C P 1 及び前記 C M 1 を含むポリペプチドをコードする核酸。

【請求項 120】

前記ポリペプチドが、請求項 1 ～ 21 または請求項 28 ～ 111 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の D D 1 をさらに含む、請求項 109 に記載の核酸。

【請求項 121】

請求項 1 ～ 111 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C の、前記 C P 2 及び前記 C M 2 を含むポリペプチドをコードする核酸。

【請求項 122】

前記ポリペプチドが、請求項 1 ～ 21 または請求項 28 ～ 111 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の D D 2 をさらに含む、請求項 111 に記載の核酸。

【請求項 123】

請求項 119 ～ 122 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の核酸を含む、ベクター。

【請求項 124】

発現ベクターである、請求項 123 に記載のベクター。

【請求項 125】

請求項 119 ～ 122 のいずれか 1 項もしくは組み合わせに記載の核酸、または請求項 123 もしくは 124 に記載のベクターを含む、細胞。

10

20

30

40

50

【請求項 1 2 6】

請求項 1 ～ 1 1 1 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の、第 1 のモノマー構成体の前記 C P 1 及び前記 C M 1 を含むポリペプチドと、第 2 のモノマー構成体の前記 C P 2 及び前記 C M 2 を含むポリペプチドと、を一緒になってコードする 1 対の核酸。

【請求項 1 2 7】

請求項 1 2 6 に記載の 1 対の核酸を一緒になって含む、1 対のベクター。

【請求項 1 2 8】

1 対の発現ベクターである、請求項 1 2 7 に記載の 1 対のベクター。

【請求項 1 2 9】

請求項 1 2 6 に記載の 1 対の核酸、または請求項 1 2 7 もしくは 1 2 8 に記載の 1 対のベクターを含む、細胞。

10

【請求項 1 3 0】

A C C を作製する方法であって、

- a. 請求項 1 2 5 または 1 2 9 に記載の細胞を、液体培地中で、前記 A C C を作製するのに十分な条件下にて培養することと、
 - b. 前記細胞または前記液体培地から前記 A C C を回収することと、
- を含む、前記方法。

【請求項 1 3 1】

前記細胞または前記液体培地から回収した前記 A C C を単離することをさらに含む、請求項 1 3 0 に記載の方法。

20

【請求項 1 3 2】

単離した前記 A C C を薬学的組成物に調製することをさらに含む、請求項 1 3 1 に記載の方法。

【請求項 1 3 3】

請求項 1 3 0 に記載の方法によって作製される A C C。

【請求項 1 3 4】

請求項 1 3 3 に記載の A C C を含む組成物。

【請求項 1 3 5】

薬学的組成物である、請求項 1 3 4 に記載の組成物。

【請求項 1 3 6】

請求項 1 3 4 または 1 3 5 に記載の組成物の、少なくとも 1 回の用量を含む、容器、バイアル、シリンジ、注射ペンまたはキット。

30

【請求項 1 3 7】

前記少なくとも 1 つの前記 C P 1 及び前記 C P 2 活性が、表面プラズモン共鳴を使用して決定される、その同族の受容体に対する前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 の結合親和性である、請求項 8 9 ～ 1 0 1 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 1 3 8】

第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体を含む活性化可能サイトカイン構成体 (A C C) であって、

- (a) 前記第 1 のモノマー構成体が、第 1 のペプチドマスク (P M 1) と、第 1 の成熟サイトカインタンパク質 (C P 1) と、第 1 の及び第 3 の開裂可能部分 (C M 1 及び C M 3) と、第 1 の二量体化ドメイン (D D 1) と、を含むポリペプチドであり、
- (b) 前記第 2 のモノマー構成体が、第 2 のペプチドマスク (P M 2) と、第 2 の成熟サイトカインタンパク質 (C P 2) と、第 2 の及び第 4 の開裂可能部分 (C M 2 及び C M 4) と、第 2 の二量体化ドメイン (D D 2) と、を含むポリペプチドであり、
- (c) 前記第 1 のモノマー構成体が、N 末端から C 末端の方向で、前記 P M 1、前記 C M 3、前記 C P 1、前記 C M 1 及び前記 D D 1 を含み、さらに、
 - (i) 前記 P M 1 は 2 0 個以下のアミノ酸を含み、かつ前記 C P 1 に結合し、
 - (i i) 前記 C M 1 及び前記 D D 1 は互いに直接的に隣接し、
 - (i i i) 前記 C P 1 及び前記 C M 1 は互いに直接的に隣接し、

40

50

(i v) 前記 C M 1 は 1 2 個以下のアミノ酸を含み、
(v) 前記 C M 1 及び前記 C M 3 はプロテアーゼの基質として機能し、
(v i) 前記 C P 1 は成熟インターフェロンであり、
(d) さらに、
(i) 前記第 2 のモノマー構成体は、前記第 1 のモノマー構成体と同一であり、
(i i) 前記 D D 1 及び前記 D D 2 は、1 対のヒト I g G の F c ドメインであり、
(i i i) 前記 D D 1 及び前記 D D 2 が、少なくとも 1 個のジスルフィド結合を介して互いに結合し、それによって前記第 1 のモノマー構成体及び前記第 2 のモノマー構成体のホモ二量体を形成し、
(e) 対応する野生型インターフェロンまたは対応するペグ化インターフェロンと比較して、インターフェロン活性の低減したレベルを有することを特徴とする、
前記活性化可能サイトカイン構成体 (A C C)。

10

【請求項 1 3 9】

前記 C P 1 が成熟インターフェロン α であり、前記 P M 1 が配列番号 3 2 3 と少なくとも 8 5 % 同一である配列を含む、請求項 1 3 8 に記載の A C C。

【請求項 1 4 0】

前記 C M 1 及び前記 C M 3 が、それぞれ独立して、ウロキナーゼ (u P a) 及び／またはマトリックスメタロプロテイナーゼ (M M P) の基質として機能する、請求項 1 3 8 または 1 3 9 に記載の A C C。

【請求項 1 4 1】

前記 C M 1 及び前記 C M 3 が、それぞれ独立して、ウロキナーゼ (u P a) 及び／または M M P - 1 4 の基質として機能する、請求項 1 4 0 に記載の A C C。

20

【請求項 1 4 2】

前記成熟インターフェロンが、成熟ヒトインターフェロン α である、請求項 1 3 8 ~ 1 4 1 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 1 4 3】

前記成熟インターフェロン α が、成熟インターフェロン $\alpha - 2 b$ である、請求項 1 3 8 ~ 1 4 2 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 1 4 4】

前記成熟インターフェロン α が、野生型成熟インターフェロン $\alpha - 2 b$ のトランケート形態である、請求項 1 3 8 ~ 1 4 3 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

30

【請求項 1 4 5】

前記成熟インターフェロンが、配列番号 1 と少なくとも 9 5 % 同一である配列を含む、請求項 1 3 8 ~ 1 4 4 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 1 4 6】

前記成熟インターフェロンが、配列番号 1 の配列を含む、請求項 1 3 8 ~ 1 4 5 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 1 4 7】

前記 C M 1 及び前記 C M 3 がそれぞれ、8 個以下のアミノ酸を含む、請求項 1 3 8 ~ 1 4 6 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

40

【請求項 1 4 8】

前記 C M 1 及び前記 C M 3 が同一である、請求項 1 3 8 ~ 1 4 7 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 1 4 9】

前記 C M 1 及び前記 C M 3 がそれぞれ、配列番号 4 1 と少なくとも 8 5 % 同一である配列を含む、請求項 1 3 8 ~ 1 4 8 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 1 5 0】

前記 C M 1 及び前記 C M 3 がそれぞれ、配列番号 4 1、配列番号 6 8 及び配列番号 1 0 0 からなる群から選択される配列を含む、請求項 1 3 8 ~ 1 4 8 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

50

【請求項 1 5 1】

前 D D 1 及び前記 D D 2 が、1 対のヒト I g G 4 の F c ドメインである、請求項 1 3 8 ～ 1 5 0 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 1 5 2】

前記 D D 1 及び前記 D D 2 が、E U ナンバリングによって番号を付けたとき、システム 2 2 6 の N 末端側でトランケートされた、1 対のヒト I g G 4 の F c ドメインである、請求項 1 5 1 に記載の A C C。

【請求項 1 5 3】

前記ヒト I g G 4 の F c ドメインが、E U ナンバリングによって番号を付けたとき、S 2 2 8 P の変異を含む、請求項 1 5 1 または 1 5 2 に記載の A C C。

【請求項 1 5 4】

前記 D D 1 及び前記 D D 2 がそれぞれ、配列番号 3 と少なくとも 9 5 % 同一である配列を含む、請求項 1 3 8 ～ 1 5 3 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 1 5 5】

前記 D D 1 及び前記 D D 2 がそれぞれ、配列番号 3 の配列を含む、請求項 1 3 8 ～ 1 5 4 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 1 5 6】

前記第 1 のモノマー構成体及び前記第 2 のモノマー構成体が、少なくとも 2 個のジスルフィド結合を介して互いに共有結合している、請求項 1 3 8 ～ 1 5 5 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 1 5 7】

前記第 1 のモノマー構成体及び前記第 2 のモノマー構成体が、少なくとも 3 個のジスルフィド結合を介して互いに共有結合している、請求項 1 5 6 に記載の A C C。

【請求項 1 5 8】

前記第 1 のモノマー構成体が、N 末端において第 1 のシグナル配列をさらに含み、前記第 2 のモノマー構成体が、N 末端において第 2 のシグナル配列をさらに含む、請求項 1 3 8 ～ 1 5 7 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 1 5 9】

前記第 1 のシグナル配列及び前記第 2 のシグナル配列がそれぞれ、配列番号 2 4 4 と少なくとも 9 5 % 同一である配列を含む、請求項 1 5 8 に記載の A C C。

【請求項 1 6 0】

前記第 1 のシグナル配列及び前記第 2 のシグナル配列がそれぞれ、配列番号 2 4 4 の配列を含む、請求項 1 5 9 に記載の A C C。

【請求項 1 6 1】

前記第 1 のモノマー構成体が、前記第 1 のシグナル配列と前記 P M 1 との間に置かれる第 1 のスペーサーをさらに含み、前記第 2 のモノマー構成体が、前記第 2 のシグナル配列と前記 P M 2 との間に置かれる第 2 のスペーサーをさらに含み、前記第 1 のモノマー構成体及び前記第 2 のモノマー構成体のそれぞれが、1 個のみのペプチドマスクを有する、請求項 1 5 8 ～ 1 6 0 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 1 6 2】

前記第 1 のスペーサー及び前記第 2 のスペーサーがそれぞれ、配列番号 2 5 6 と少なくとも 8 0 % 同一である配列を含む、請求項 1 6 1 に記載の A C C。

【請求項 1 6 3】

前記第 1 のスペーサー及び前記第 2 のスペーサーがそれぞれ、配列番号 2 5 6 の配列を含む、請求項 1 6 2 に記載の A C C。

【請求項 1 6 4】

前記 P M 1 と前記 C M 3 との間のリンカー L 1、及び／または前記 C M 3 と前記 C P 1 との間のリンカー L 2 をさらに含み、前記 L 1 及び前記 L 2 が、それぞれ独立して、配列番号 2 7 (n = 1) と少なくとも 8 0 % 同一である配列、配列番号 3 2 4 と少なくとも 8 0 % 同一である配列を含む、または存在しない、請求項 1 3 8 ～ 1 6 3 のいずれか 1 項ま

10

20

30

40

50

たは組み合わせに記載の A C C。

【請求項 1 6 5】

前記 L 1 が配列番号 2 7 (n = 1) の配列を含み、前記 L 2 が配列番号 3 2 4 の配列を含む、請求項 1 6 4 に記載の A C C。

【請求項 1 6 6】

1 2 個以下のアミノ酸を含む連結領域を含む、請求項 1 3 8 ~ 1 6 5 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 1 6 7】

前記連結領域が、7 ~ 1 2 個のアミノ酸を含む、請求項 1 6 6 に記載の A C C。

【請求項 1 6 8】

前記連結領域が、7 個のアミノ酸を含む、請求項 1 6 6 に記載の A C C。

【請求項 1 6 9】

野生型インターフェロン α と比較して、インターフェロン α 活性の少なくとも 2 0 0 0 倍の低減を特徴とする、請求項 1 3 8 ~ 1 6 8 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 1 7 0】

野生型インターフェロン α と比較して、インターフェロン α 活性の少なくとも 4 0 0 0 倍の低減を特徴とする、請求項 1 6 9 に記載の A C C。

【請求項 1 7 1】

野生型インターフェロン α と比較して、インターフェロン α 活性の少なくとも 5 0 0 0 倍の低減を特徴とする、請求項 1 7 0 に記載の A C C。

【請求項 1 7 2】

ペグ化インターフェロン α と比較して、インターフェロン α 活性の少なくとも 2 0 0 0 倍の低減を特徴とする、請求項 1 3 8 ~ 1 6 8 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 1 7 3】

前記インターフェロン活性の低減が、リンパ腫細胞の抗増殖アッセイにおいて、前記 A C C の E C 5 0 を、前記野生型インターフェロンまたは前記ペグ化インターフェロンの E C 5 0 と比較することによって決定される、請求項 1 3 8 ~ 1 7 2 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 1 7 4】

前記インターフェロン活性の低減が、インターフェロン反応性 H E K 2 9 3 細胞中の、分泌型胚性アルカリフォスファターゼ産生誘発のアッセイにおいて、前記 A C C の E C 5 0 を、前記野生型インターフェロンまたは前記ペグ化インターフェロンの E C 5 0 と比較することによって決定される、請求項 1 3 8 ~ 1 7 3 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C。

【請求項 1 7 5】

C M 1 及び C M 3 が基質として機能する前記プロテアーゼ（複数可）への曝露後に、切断産物を生成し、前記切断産物に対する、前記対応する野生型インターフェロンの前記インターフェロン活性の比率が約 2 未満であることをさらに特徴とする、請求項 1 3 8 ~ 1 7 4 のいずれかに記載の A C C。

【請求項 1 7 6】

前記切断産物の E C 5 0 が、前記対応する野生型インターフェロンの E C 5 0 とほぼ同一である、請求項 1 7 5 に記載の A C C。

【請求項 1 7 7】

前記第 1 のモノマー構成体及び前記第 2 のモノマー構成体がそれぞれ、配列番号 3 2 1 と少なくとも 9 5 % 同一である配列を含む、または前記第 1 のモノマー構成体及び前記第 2 のモノマー構成体のそれぞれが、配列番号 3 2 1 の配列を含み、前記 A C C が、野生型インターフェロン α - 2 b と比較して、インターフェロン活性の少なくとも 1 0 0 0 倍の低減を特徴とし、前記 A C C が、u P A への曝露後に、切断産物を生成することをさらに

10

20

30

40

50

特徴とし、前記切断産物が、野生型インターフェロン $\alpha-2b$ とほぼ同一のインターフェロン活性を有し、インターフェロン活性が、リンパ腫細胞の抗増殖アッセイにおいて、またはインターフェロン反応性HEK293細胞中の、分泌型胚性アルカリフォスファターゼ産生誘発アッセイにおいて測定される、請求項138に記載のACC。

【請求項178】

第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体を含む活性化可能サイトカイン構成体(ACC)であって、

(a) 前記第1のモノマー構成体が、第1のペプチドマスク(PM1)と、第1の成熟サイトカインタンパク質(CP1)と、第1の及び第3の開裂可能部分(CM1及びCM3)と、第1の二量体化ドメイン(DD1)と、を含み、

(b) 前記第2のモノマー構成体が、第2のペプチドマスク(PM2)と、第2の成熟サイトカインタンパク質(CP2)と、第2の及び第4の開裂可能部分(CM2及びCM4)と、第2の二量体化ドメイン(DD2)と、を含むポリペプチドであり、

(c) 前記第1のモノマー構成体が、N末端からC末端の方向で、前記PM1、前記CM3、前記CP1、前記CM1及び前記DD1を含むポリペプチドであり、さらに、

(i) 前記PM1は配列番号323と少なくとも85%同一である配列を含み、

(ii) 前記CM1及び前記DD1は互いに直接的に隣接し、

(iii) 前記CM1は配列番号41と少なくとも85%同一である配列を含み、

(iv) 前記CP1は配列番号1と少なくとも85%同一である配列を含み、

(d) さらに、

(i) 前記第2のモノマー構成体は、前記第1のモノマー構成体と同一であり、

(ii) 前記DD1及び前記DD2は、1対のヒトIgG4のFcドメインであり、

(e) 前記DD1及び前記DD2が、少なくとも1個のジスルフィド結合を介して互いに共有結合し、それによって前記第1のモノマー構成体及び前記第2のモノマー構成体のホモ二量体を形成し、

(f) ペグ化インターフェロン $\alpha-2b$ のインターフェロン α 活性と比較して、インターフェロン α 活性の低減したレベルを有することを特徴とする、

前記活性化可能サイトカイン構成体(ACC)。

【請求項179】

前記PM2が、配列番号323、331または332の1つと、少なくとも85%、90%または95%同一である配列を含む、請求項178に記載のACC。

【請求項180】

前記第1のモノマー構成体及び前記第2のモノマー構成体がそれぞれ、配列番号321と少なくとも95%同一である配列を含む、または前記第1のモノマー構成体及び前記第2のモノマー構成体のそれぞれが、配列番号321の配列を含み、前記ACCが、野生型インターフェロン $\alpha-2b$ またはペグ化インターフェロン $\alpha-2b$ のいずれかと比較して、インビボでより低い毒性を示す、請求項138に記載のACC。

【請求項181】

請求項138～180のいずれか1項または組み合わせに記載のACCを含む、組成物。

【請求項182】

薬学的組成物である、請求項181に記載の組成物。

【請求項183】

請求項181または182に記載の組成物の、少なくとも1回の用量を含む、容器、バイアル、シリンジ、注射ペンまたはキット。

【請求項184】

治療を必要とする対象の治療方法であって、治療有効量の、請求項138～179のいずれか1項もしくは組み合わせに記載のACC、または請求項181もしくは182に記載の組成物を、前記対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項185】

10

20

30

40

50

前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、請求項 184 に記載の方法。

【請求項 186】

請求項 138～179 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C の前記第 1 のモノマーを含むポリペプチドをコードする核酸。

【請求項 187】

請求項 186 に記載の核酸を含む、ベクター。

【請求項 188】

発現ベクターである、請求項 187 に記載のベクター。

【請求項 189】

請求項 186 に記載の核酸、または請求項 187 もしくは 188 のベクターを含む、哺乳動物細胞。

【請求項 190】

H E K 2 9 3 細胞または C H O 細胞である、請求項 189 に記載の哺乳動物細胞。

【請求項 191】

請求項 189 または 190 に記載の哺乳動物細胞中に A C C を発現させることと、前記発現された A C C を精製することと、を含む、A C C を製造する方法。

【請求項 192】

前記 C M 1 及び前記 C M 3 がそれぞれ、腫瘍組織中に過剰発現するプロテアーゼの基質として機能する、請求項 138～180 のいずれか 1 項または組み合わせに記載の A C C 。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、バイオテクノロジー分野に関するものであり、より具体的には、活性化可能サイトカイン構成体に関する。

【背景技術】

【0002】

サイトカインは、ウイルス感染及び／またはその他の抗原刺激に応答して、大部分の有核細胞から産生及び分泌される、天然に存在する低分子タンパク質及び糖タンパク質のファミリーである。インターフェロンは、サイトカインのサブクラスである。インターフェロンは、現在、3 種の主要なクラス、すなわち I 型インターフェロン、II 型インターフェロン及び III 型インターフェロンに分類される。インターフェロンは、細胞表面にある特定の膜受容体に結合することによって、その細胞活性を発揮する。

【0003】

インターフェロン療法には、多くの臨床上的利点がある。例えば、インターフェロンは、免疫系を上方制御すること、また抗ウイルス特性及び抗増殖特性を有することが知られている。これらの生物学的性質のために、インターフェロンは、ウイルス感染症及び悪性腫瘍の治療のための治療薬として臨床的に用いられてきた。さらに、インターフェロンは、患者生来の免疫系をリクルートして、がん細胞を識別し、攻撃するために有用である。したがって、インターフェロン療法は、肝炎、カポジ肉腫、毛様細胞性白血病、慢性骨髄性白血病（CML）、濾胞性リンパ腫、腎細胞癌（RCC）、黒色腫及びその他の疾患状態の治療など、がん及び抗ウイルスの治療で広く用いられてきた。ただし、インターフェロンの全身投与には、用量依存的毒性、とりわけ強いインフルエンザ様症状、神経症状、肝臓毒性、骨髄抑制及び不整脈などが伴う。黒色腫患者の試験では、ペンブロリズマブとペグ化 IFN α との併用により、治験責任医師による評価で、60.5%の奏効率（「ORR」）が得られた。この併用治療はまた、ペグ化 IFN α の用量低減を必要とする、49%の G3/G4 の有害事象を伴った（Davar et al., J. Clin. Oncol., 2018）。これらの望ましくない副作用のために、インターフェロン療法の投薬量は制限され、インターフェロン療法の中断または遅延につながることもある。

【0004】

インターロイキンは、サイトカインの別のサブクラスである。インターロイキンは、細胞の成長、分化及び運動性を制御する。インターロイキンは、免疫応答、例えば炎症などの刺激に特に重要である。インターロイキンは、がん、自己免疫性疾患及びその他の疾患の治療に用いられてきた。例えば、インターロイキン-2 (IL2) は、黒色腫、移植片対宿主病 (GVHD)、神経芽細胞腫、腎細胞癌 (RCC) の治療に適応され、また急性冠症候群、急性骨髄性症候群 (acute myeloid syndrome)、アトピー性皮膚炎、自己免疫性肝疾患、基底細胞癌、膀胱癌、乳癌、カンジダ症、大腸癌、悪性皮膚T細胞リンパ腫、子宮内膜腫、HIVの発見 (HIV invention)、虚血性心疾患、関節リウマチ、鼻咽頭腺癌、非小細胞肺癌 (NSCLC)、卵巣癌、膵臓癌、全身性エリテマトーデス、結核及びその他の疾患を含む状態にも有用であるとみなされている。その他のインターロイキン、とりわけIL-6、IL-7、IL-12及びIL-21などは、がん及びその他の疾患の治療薬となる可能性がある。インターロイキン療法は、とりわけインフルエンザ様症状、吐き気、嘔吐、下痢、低血圧及び不整脈など、望ましくない副作用を伴うことが多い。

10

【0005】

したがって、所望の標的に対するサイトカイン療法の特異性及び選択性の向上というニーズ及び要望は、大きな関心事である。サイトカイン療法の疾患部位への標的化を高めることで、全身性の機構に基づく毒性を低減させ、より幅広い治療的実用性につながる可能性がある。

20

【発明の概要】

【0006】

本開示は、活性化可能サイトカイン構成体 (ACC) であって、(a) 第1のペプチドマスク (PM1) と、第1の成熟サイトカインタンパク質 (CP1) と、第1の及び第3の開裂可能部分 (CM1及びCM3) と、第1の二量体化ドメイン (DD1) と、を含み、CM1がCP1とDD1との間に置かれ、CM3がPM1とCP1との間に置かれる第1のモノマー、ならびに (b) 第2の成熟サイトカインタンパク質 (CP2) と、第2の開裂可能部分 (CM2) と、第2の二量体化ドメイン (DD2) と、を含み、CM2がCP2とDD2との間に置かれる第2のモノマーを含有し、CM1、CM2及びCM3がプロテアーゼの基質として機能し、DD1及びDD2は互いに結合し、CP1及び／またはCP2の少なくとも1つの活性の対照のレベルと比較して、CP1及び／またはCP2の少なくとも1つの活性の低減を特徴とする、活性化可能サイトカイン構成体 (ACC) を提供する。CM1、CM2及びCM3を切断するプロテアーゼ (複数可) は、疾患のある組織 (例えば、腫瘍組織) においては、健康な組織と比較して、過剰発現している場合がある。ACCは、疾患のある組織 (例えば、腫瘍微小環境) においては、サイトカインが活性を発揮できるように、CM1、CM2及び／またはCM3の開裂を受けて活性化してもよく、一方で健康な組織では、サイトカイン活性は低下する。したがって、本明細書で提供されるACCは、従来のサイトカイン療法と比較して毒性の低減をもたらし、サイトカインのより高い有効投薬量を可能にし、及び／またはサイトカインの治療域を広げることができる。

30

【0007】

本明細書において、第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体を含有する活性化可能サイトカイン構成体 (ACC) であって、(a) 第1のモノマー構成体が、第1のペプチドマスク (PM1) と、第1の成熟サイトカインタンパク質 (CP1) と、第1の及び第3の開裂可能部分 (CM1及びCM3) と、第1の二量体化ドメイン (DD1) と、を含み、CM1がCP1とDD1との間に置かれ、CM3がPM1とCP1との間に置かれ、(b) 第2のモノマー構成体が、第2の成熟サイトカインタンパク質 (CP2) と、第2の開裂可能部分 (CM2) と、第2の二量体化ドメイン (DD2) と、を含み、CM2がCP2とDD2との間に置かれ、DD1及びDD2が互いに結合し、それによって第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体が二量体を形成し、CP1及び／またはCP2の少なくとも1つの活性の対照のレベルと比較して、CP1及び／またはCP2の少

40

50

なくとも1つの低減した活性レベルを有することを特徴とする、活性化可能サイトカイン構成体（ACC）が提供される。

【0008】

いくつかの実施形態では、第2のモノマー構成体は、第2のペプチドマスク（PM2）及び第4の開裂可能部分（CM4）をさらに含み、CM4はPM2とCP2との間に置かれる。いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体は、PM1、CM3、CP1、CM1及びDD1を含む第1のポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、第2のモノマー構成体は、CP2、CM2及びDD2を含む第2のポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、第2のモノマー構成体は、PM2、CM4、CP2、CM2及びDD2を含む第2のポリペプチドを含む。

10

【0009】

いくつかの実施形態では、PM1は、配列番号328、329、323及び331～369からなる群から選択される配列を含み、かつCP1はインターフェロンである；PM1は、配列番号328、329、323及び331～364からなる群から選択される配列を含み、かつCP1はインターフェロン α である；PM1は、配列番号331～360、362～364からなる群から選択される配列を含み、かつCP1はインターフェロン β である；PM1は、配列番号331～360、366～369からなる群から選択される配列を含み、かつCP1はインターフェロン γ である；PM1は、配列番号370～374からなる群から選択される配列を含み、かつCP1はIL-12である；PM1は、配列番号375～382、469～477、478からなる群から選択される配列を含み、かつCP1はIL-15である；PM1は、配列番号383～468、469～478からなる群から選択される配列を含み、かつCP1はIL-2である；またはPM1は、配列番号478及び479からなる群から選択される配列を含み、かつCP1はIL-21である。いくつかの実施形態では、PM2は、配列番号328、329、323及び331～369からなる群から選択される配列を含み、かつCP2はインターフェロンである；PM2は、配列番号328、329、323及び331～364からなる群から選択される配列を含み、かつCP2はインターフェロン α である；PM2は、配列番号331～360、362～364からなる群から選択される配列を含み、かつCP2はインターフェロン β である；PM2は、配列番号331～360、366～369からなる群から選択される配列を含み、かつCP2はインターフェロン γ である；PM2は、配列番号370～374からなる群から選択される配列を含み、かつCP2はIL-12である；PM2は、配列番号375～382、469～477、478からなる群から選択される配列を含み、かつCP2はIL-15である；PM2は、配列番号383～468、469～478からなる群から選択される配列を含み、かつCP2はIL-2である；またはPM2は、配列番号478及び479からなる群から選択される配列を含み、かつCP2はIL-21である。いくつかの実施形態では、PM1は、配列番号328～329、323及び331～479からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、PM2は、配列番号328～329、323及び331～479からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

20

30

【0010】

いくつかの実施形態では、DD1及びDD2は、1対のFcドメイン；ヒトIL-15受容体（IL15R α ）のアルファ鎖からのスシ（sushi）ドメイン及び可溶性IL-15；バルナーゼ及びバルスター；プロテインキナーゼA（PKA）及びAキナーゼアンカータンパク質（AKAP）；変異RNaseIフラグメントベースのアダプタ／ドッキングタグモジュール；エピトープ及びシングルドメイン抗体（sdAb）；エピトープ及び単鎖可変領域フラグメント（scFv）；タンパク質シタキシン、シナプトタグミン、シナプトブレビン及びSNAP25の相互作用に基づく可溶性N-エチルマレイミド感受性因子付着タンパク質受容体（SNARE）モジュール；抗原結合ドメイン及びエピトープからなる群から選択される対である。

40

【0011】

50

いくつかの実施形態では、D D 1 及び D D 2 は、1 対の F c ドメインである。いくつかの実施形態では、1 対の F c ドメインは、1 対の ヒト F c ドメインである。いくつかの実施形態では、ヒト F c ドメインは、ヒト I g G 1 の F c ドメイン、ヒト I g G 2 の F c ドメイン、ヒト I g G 3 の F c ドメインまたはヒト I g G 4 の F c ドメインである。いくつかの実施形態では、ヒト F c ドメインは、ヒト I g G 4 の F c ドメインである。いくつかの実施形態では、ヒト F c ドメインはそれぞれ、配列番号 3 と少なくとも 80 % 同一である配列を含む。いくつかの実施形態では、ヒト F c ドメインはそれぞれ、配列番号 3 と少なくとも 90 %、95 %、96 %、97 %、98 % または 99 % 同一である配列を含む。いくつかの実施形態では、ヒト F c ドメインは、配列番号 3 を含む。いくつかの実施形態では、D D 1 及び D D 2 はそれぞれ、配列番号 3 18 及び 3 19 を含む。いくつかの実施形態では、D D 1 及び D D 2 は同一である。いくつかの実施形態では、ヒト F c ドメインは、グリコシル化を排除するための、及び／または F c - γ 受容体結合を低減させるための変異を含有する。いくつかの実施形態では、ヒト F c ドメインは、変異 N 297 Q、N 297 A または N 297 G を含む；いくつかの実施形態では、ヒト F c ドメインは、234 番目及び／または 235 番目で変異、例えば L 235 E、または L 234 A 及び L 235 A (I g G 1 内)、または F 234 A 及び L 235 A (I g G 4 内) を含む；いくつかの実施形態では、ヒト F c ドメインは、変異 V 234 A、G 237 A、P 238 S、H 268 Q / A、V 309 L、A 330 S、もしくは P 331 S、またはこれらの組み合わせを含む I g G 2 の F c ドメインである (全て E U ナンバリングに準拠する)。

10

20

30

40

50

【0012】

遺伝子操作したヒト F c ドメインの追加例は、当業者に周知である。少なくとも 1 種のアミノ酸の変異が F c 機能の低下をもたらす I g 重鎖定常領域アミノ酸の例としては、重鎖定常領域の 228、233、234、235、236、237、239、252、254、256、265、270、297、318、320、322、327、329、330 及び 331 番目のアミノ酸の変異が挙げられるが、これらに限定されない (E U ナンバリングに準拠する)。変異アミノ酸の組み合わせの例もまた、当該技術分野において知られており、例えば L 234 F、L 235 E 及び P 331 S など 234、235 及び 331 番目のアミノ酸における変異の組み合わせ、または E 318 A、K 320 A 及び K 322 A など 318、320 及び 322 番目のアミノ酸における変異の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

【0013】

遺伝子操作した F c ドメインのさらなる例としては、F 243 L / R 292 P / Y 300 L / V 305 I / P 396 I g G 1 ; S 239 D / I 332 E I g G 1 ; S 239 D / I 332 E / A 330 L I g G 1 ; S 298 A / E 333 A / K 334 A ; 1 本の重鎖における L 234 Y / L 235 Q / G 236 W / S 239 M / H 268 D / D 270 E / S 298 A I g G 1、及び反対の重鎖における D 270 E / K 326 D、A 330 M / K 334 E I g G ; G 236 A / S 239 D / I 332 E I g G 1 ; K 326 W / E 333 S I g G 1 ; S 267 E / H 268 F / S 324 T I g G 1 ; E 345 R / E 430 G / S 440 Y I g G 1 ; N 297 A または N 297 Q または N 297 G I g G 1 ; L 235 E I g G 1 ; L 234 A / L 235 A I g G 1 ; F 234 A / L 235 A I g G 4 ; H 268 Q / V 309 L / A 330 S / P 331 S I g G 2 ; V 234 A / G 237 A / P 238 S / H 268 A / V 309 L / A 330 S / P 331 S I g G 2 ; M 252 Y / S 254 T / T 256 E I g G 1 ; M 428 L / N 434 S I g G 1 ; S 267 E / L 328 F I g G 1 ; N 325 S / L 328 F I g G 1 などが挙げられる。いくつかの実施形態では、遺伝子操作した F c ドメインは、N 297 A I g G 1、N 297 Q I g G 1 及び S 228 P I g G 4 からなる群から選択される 1 種以上の置換を含む。

【0014】

いくつかの実施形態では、D D 1 は抗原結合ドメインを含み、D D 2 は対応するエピトープを含む。いくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、抗 H i s タグ抗原結合ドメ

インであり、DD2はHisタグを含む。いくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、単鎖可変領域フラグメント (scFv) である。いくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、シングルドメイン抗体 (sdAb) である。いくつかの実施形態では、DD1及びDD2の少なくとも一方は、非ポリペプチドポリマー及び小分子からなる群から選択される、二量体化ドメインの置換基を含む。いくつかの実施形態では、DD1及びDD2は、互いに共有結合した非ポリペプチドポリマーを含む。いくつかの実施形態では、非ポリペプチドポリマーは硫黄含有ポリエチレングリコールであり、DD1及びDD2は、1個以上のジスルフィド結合を介して互いに共有結合されている。いくつかの実施形態では、DD1及びDD2の少なくとも一方は、小分子を含む。いくつかの実施形態では、小分子はビオチンである。いくつかの実施形態では、DD1はビオチンを含み、DD2はアビジンを含む。

10

【0015】

いくつかの実施形態では、CP1及びCP2は、成熟サイトカインである。いくつかの実施形態では、CP1及びCP2はそれぞれ、成熟サイトカイン配列を含み、シグナルペプチドをさらに含む。シグナルペプチドは、本明細書において「シグナル配列」とも呼ばれる。いくつかの実施形態では、CP1及び／またはCP2は、それぞれ独立して、インターフェロン、インターロイキン、GM-CSF、G-CSF、LIF、OSM、CD154、LT- β 、TNF- α 、TNF- β 、4-1BBL、APRIL、CD70、CD153、CD178、GITRL、LIGHT、OX40L、TALL-1、TRAIL、TWEAK、TRANCE、TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3、Epo、Tpo、Flt-3L、SCF、M-CSF及びMSPからなる群から選択され、所望によりCP1及び／またはCP2は、独立してIL-2、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-15、IL-21、IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、GM-CSF、TGF- β 、LIGHT、GITR-L、CD40L、CD27L、4-1BB-L、OX40、及びOX40Lから選択される。いくつかの実施形態では、CP1及びCP2は同一である。いくつかの実施形態では、CP1及びCP2は異なる。いくつかの実施形態では、CP1及び／またはCP2は、インターフェロンである。いくつかの実施形態では、CP1及びCP2は、いずれもインターフェロンである。いくつかの実施形態では、CP1及びCP2は、異なるインターフェロンである。いくつかの実施形態では、CP1及びCP2は同一のインターフェロンである。いくつかの実施形態では、CP1またはCP2の一方はインターフェロンであり、もう一方のCP1またはCP2は、インターフェロン以外のサイトカインである。いくつかの態様では、一方または両方のサイトカインは、単量体サイトカインである。いくつかの態様では、一方または両方のインターフェロンは、単量体インターフェロンである。いくつかの態様では、CP1またはCP2の一方は単量体インターフェロンであり、もう一方のCP1またはCP2は異なるサイトカインである。いくつかの態様では、CP1及び／またはCP2は、変異体サイトカイン配列を含有する。いくつかの態様では、CP1及び／またはCP2は、ユニバーサルサイトカイン配列を含有する。いくつかの態様では、CP1及び／またはCP2は、サイトカイン活性を保持するトランケートされた配列を含有する。

20

30

【0016】

いくつかの実施形態では、インターフェロン（複数可）は、ヒト野生型成熟インターフェロンである。いくつかの実施形態では、インターフェロン（複数可）は、I型及びII型インターフェロンであってよく、例えばインターフェロン- α 、インターフェロン- β 、インターフェロン- γ 、インターフェロン- ω 及びインターフェロン- τ が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、インターフェロンは、インターフェロン- α である。いくつかの実施形態では、インターフェロン（複数可）は、インターフェロン α -2a、インターフェロン α -2b及びインターフェロン α -n3からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、インターフェロン（複数可）は、インターフェロン α -2bである。いくつかの実施形態では、インターフェロン（複数可）は、変異体インターフェロンである。いくつかの実施形態では、インターフェロン（複数可）は、

40

50

内因性プロテアーゼ開裂部位が、1種以上のアミノ酸の置換、欠失または挿入によって機能不全にされている変異体インターフェロンである。いくつかの実施形態では、インターフェロン（複数可）は、例えば、異なるサイトカインサブタイプのハイブリッド配列、またはキメラサイトカイン配列、またはヒト化サイトカイン配列を有しているユニバーサルサイトカイン分子である。いくつかの実施形態では、インターフェロン（複数可）は、ユニバーサルインターフェロン分子である。いくつかの実施形態では、インターフェロン（複数可）は、ユニバーサルインターフェロン α 、例えばインターフェロン α 1及びインターフェロン α 2aのハイブリッドである。いくつかの実施形態では、CP1及び／またはCP2は、配列番号1と少なくとも80%同一である配列を含む。いくつかの実施形態では、CP1及び／またはCP2は、配列番号1と少なくとも90%、95%、96%、97%、98%または99%同一である配列を含む。いくつかの実施形態では、CP1及び／またはCP2は、配列番号1の配列を含む。いくつかの実施形態では、インターフェロンは、インターフェロン β である。いくつかの実施形態では、インターフェロン β は、インターフェロン β -1a及びインターフェロン β -1bからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、CP1及び／またはCP2は、IFabドメインを含む。いくつかの実施形態では、CP1及び／またはCP2は、インターロイキンを含む。いくつかの実施形態では、インターロイキンは、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1RA、IL-18、IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-13、IL-15、IL-3、IL-5、IL-6、IL-11、IL-12、IL-10、IL-20、IL-14、IL-16及びIL-17からなる群から選択される。

10

20

【0017】

いくつかの実施形態では、CM1及び／またはCM2は、合計約3個のアミノ酸～約15個のアミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、CM1及びCM2は、異なるプロテアーゼの基質を含む。いくつかの実施形態では、CM1及びCM2は、同一のプロテアーゼの基質を含む。いくつかの実施形態では、プロテアーゼ（複数可）は、ADAM8、ADAM9、ADAM10、ADAM12、ADAM15、ADAM17/TACE、ADAMDEC1、ADAMTS1、ADAMTS4、ADAMTS5、BACE、レニン、カテプシンD、カテプシンE、カスパーゼ1、カスパーゼ2、カスパーゼ3、カスパーゼ4、カスパーゼ5、カスパーゼ6、カスパーゼ7、カスパーゼ8、カスパーゼ9、カスパーゼ10、カスパーゼ14、カテプシンB、カテプシンC、カテプシンK、カテプシンL、カテプシンS、カテプシンV/L2、カテプシンX/Z/P、クルジパイン、レグマイン、オツベイン-2 (Otbain-2)、KLK4、KLK5、KLK6、KLK7、KLK8、KLK10、KLK11、KLK13、KLK14、メプリン、ネプリライシン、PSMA、BMP-1、マトリックスメタロプロテイナーゼ（例えば、MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-7、MMP-9、MMP-10、MMP-11、MMP-12、MMP-13、MMP-14、MMP-15、MMP-16、MMP-17、MMP-19、MMP-20、MMP-23、MMP-24、MMP-26、MMP-27）、活性化タンパク質C、カテプシンA、カテプシンG、キマーゼ、FVIIa、FIXa、FXa、FXIa、FXIIa、エラスターゼ、グランザイムB、グアニジノベンゾアターゼ、HtrA1、ヒト好中球リアーゼ、ラクトフェリン、マラプシン (marapsin)、NS3/4A、PACE4、プラスミン、PSA、tPA、トリプシン、トリプターゼ、uPA、DESC1、DPP-4、FAP、ヘプシン、マトリプターゼ-2、MT-SP1/マトリプターゼ、TMPRSS2、TMPRSS3及びTMPRSS4からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、プロテアーゼ（複数可）は、uPA、レグマイン、MT-SP1、ADAM17、BMP-1、TMPRSS3、TMPRSS4、MMP-2、MMP-9、MMP-12、MMP-13、及びMMP-14からなる群から選択される。

30

40

【0018】

好適な開裂可能部分は、WO2010/081173、WO2015/048329、WO2015/116933、WO2016/118629及びWO2020/1181

50

09において開示され、これらの明細書は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0019】

いくつかの実施形態では、CM1及び／またはCM2は、LSGRSDNH（配列番号5）、TGRGPSWV（配列番号6）、PLTGRSGG（配列番号7）、TARGPSFK（配列番号8）、NTLSGRSENHSG（配列番号9）、NTLSGRSGNHGS（配列番号10）、TSTSGRSANPRG（配列番号11）、TSGRSANP（配列番号12）、VHMPLGFLGP（配列番号13）、AVGLLAPP（配列番号14）、AQNL LGMV（配列番号15）、QNQALRMA（配列番号16）、LAAPLGLL（配列番号17）、STFPFGMF（配列番号18）、ISSGLLSS（配列番号19）、PAGLWLDP（配列番号20）、VAGRSMRP（配列番号21）、VVPEGRRS（配列番号22）、ILPRSPA F（配列番号23）、MVLGRSLL（配列番号24）、QGRAITFI（配列番号25）、SPRSIMLA（配列番号26）、SMLRSMPL（配列番号27）、ISSGLLSGRSDNH（配列番号28）、AVGLLAPP GGLSGRSDNH（配列番号29）、ISSGLLSGGSGGSLSGRSDNH（配列番号30）、LSGRSGNH（配列番号31）、SGRSANPRG（配列番号32）、LSGRSDDH（配列番号33）、LSGRSDIH（配列番号34）、LSGRSDQH（配列番号35）、LSGRSDTH（配列番号36）、LSGRSDYH（配列番号37）、LSGRSDNP（配列番号38）、LSGRSANP（配列番号39）、LSGRSANI（配列番号40）、LSGRSDNI（配列番号41）、MIAPVAYR（配列番号42）、RPSPMWAY（配列番号43）、WATPRPMR（配列番号44）、FRLLDWQW（配列番号45）、ISSGL（配列番号46）、ISSGLLS（配列番号47）、ISSGLL（配列番号48）、ISSGLLSGRSANPRG（配列番号49）、AVGLLAPP TSGRSANPRG（配列番号50）、AVGLLAPP SGRSANPRG（配列番号51）、ISSGLLSGRSDDH（配列番号52）、ISSGLLSGRSDIH（配列番号53）、ISSGLLSGRSDQH（配列番号54）、ISSGLLSGRSDTH（配列番号55）、ISSGLLSGRSDYH（配列番号56）、ISSGLLSGRSDNP（配列番号57）、ISSGLLSGRSANP（配列番号58）、ISSGLLSGRSANI（配列番号59）、AVGLLAPP GGLSGRSDDH（配列番号60）、AVGLLAPP GGLSGRSDIH（配列番号61）、AVGLLAPP GGLSGRSDQH（配列番号62）、AVGLLAPP GGLSGRSDTH（配列番号63）、AVGLLAPP GGLSGRSDYH（配列番号64）、AVGLLAPP GGLSGRSDNP（配列番号65）、AVGLLAPP GGLSGRSANP（配列番号66）、AVGLLAPP GGLSGRSANI（配列番号67）、ISSGLLSGRSDNI（配列番号68）、AVGLLAPP GGLSGRSDNI（配列番号69）、GLSGRSDNHGGAVGLLAPP（配列番号70）、GLSGRSDNHGGVHMPLGFLGP（配列番号71）、LSGRSDNHGGVHMPLGFLGP（配列番号72）、ISSGLSS（配列番号73）、PVGYTSSL（配列番号74）、DWLYWPGI（配列番号75）、LKAAPRWA（配列番号76）、GPSHLVLT（配列番号77）、LPGGLSPW（配列番号78）、MGLFSEAG（配列番号79）、SPLPLRVP（配列番号80）、RMHLRSLG（配列番号81）、LLAPSHRA（配列番号82）、GPRS FGL（配列番号83）、GPRSFG（配列番号84）、SARGPSRW（配列番号85）、GGWHTGRN（配列番号86）、HTGRSGAL（配列番号87）、AARGPAIH（配列番号88）、RGPAFNPM（配列番号89）、SSRGPAYL（配列番号90）、RGPATPIM（配列番号91）、RGPA（配列番号92）、GGQP SGMWGW（配列番号93）、FPRPLGITGL（配列番号94）、SPLTGRSG（配列番号95）、SAGFSLPA（配列番号96）、LAPLGLQRR（配列番号97）、SGGPLGVR（配列番号98）、PLGL（配列番号99）、及びSGRSDNI（配列番号1

10

20

30

40

50

00) からなる群から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、CMは、ISSGLLSGRSDNH (配列番号28)、LSGRSDDH (配列番号33)、ISSGLLSGRSDQH (配列番号54)、SGRSDNI (配列番号100) 及びISSGLLSGRSDNI (配列番号68) からなる群から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、プロテアーゼ (複数可) は対象の腫瘍によって産生され、例えばプロテアーゼは、対象の健康な組織内よりも、腫瘍内でより多量に産生される。いくつかの実施形態では、対象はがんを有すると診断または特定されている。

【0020】

いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体において、CP1及びCM1は互いに直接的に隣接する。いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体において、CM1及びDD1は互いに直接的に隣接する。いくつかの実施形態では、第2のモノマー構成体において、CP2及びCM2は互いに直接的に隣接する。いくつかの実施形態では、第2のモノマー構成体において、CM2及びDD2は互いに直接的に隣接する。いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体は、CM1に直接的に隣接しているCP1及びDD1に直接的に隣接しているCM1を含み、CM1は配列番号5～100からなる群から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のモノマー構成体は、CM2に直接的に隣接しているCP2及びDD2に直接的に隣接しているCM2を含み、CM2は配列番号5～100からなる群から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体は、CM1に直接的に隣接しているCP1及びDD1に直接的に隣接しているCM1を含み、CM1は13、12、11、10、9、8、7、6、5または4個以下の長さのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第2のモノマー構成体は、CM2に直接的に隣接しているCP2及びDD2に直接的に隣接しているCM2を含み、CM2は13、12、11、10、9、8、7、6、5または4個以下の長さのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体は、サイトカイン (それぞれCM1及びCM2) が、10、9、8、7、6、5または4個以下の長さのアミノ酸である開裂可能部分 (それぞれCM1及びCM2) に直接的に隣接し、開裂可能部分が、ヒトIgGのFc領域である二量体化ドメイン (それぞれDD1及びDD2) に直接的に隣接するようにそれぞれ構成され、Fc領域のN末端が、第2のFcドメインとのジスルフィド結合に参加するヒンジ領域における最初のシステイン残基 (N末端からC末端方向への読み取り) (例えば、EUナンバリングを用いて、ヒトIgG1のシステイン226) となる。いくつかの態様では、二量体化ドメインは、上部ヒンジの残基が欠失したIgGのFc領域である。例えば、Fcは、N末端配列EPKSCDKTHT (配列番号330)、ERK、ELKTPPLGDTTHT (配列番号365) またはESKYGPP (配列番号317) が欠失した変異体である。

【0021】

いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体は、少なくとも1個のリンカーを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1個のリンカーは、PM1とCM3との間に配置されたリンカーL1及び/またはCM3とCP1との間に配置されたリンカーL2である。いくつかの実施形態では、第2のモノマー構成体は、少なくとも1個のリンカーを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1個のリンカーは、PM2とCM4との間に配置されたリンカーL3及び/またはCM4とCP2との間に配置されたリンカーL4である。いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体はリンカーL1を含み、第2のモノマー構成体はリンカーL3を含む。いくつかの実施形態では、L1及びL3は同一である。いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体はリンカーL2を含み、第2のモノマー構成体はリンカーL4を含む。いくつかの実施形態では、L2及びL4は同一である。いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体は、CP1とCM1との間のリンカー及び/またはCM1とDD1との間のリンカーを含む。いくつかの実施形態では、第2のモノマー構成体は、CP2とCM2との間のリンカー及び/またはCM2とDD2との間のリンカーを含む。いくつかの実施形態では、各リンカーは、1個のアミノ酸～約15個のアミノ酸の全長を有する。いくつかの実施形態では、各リンカーは、少なくとも5個のアミ

10

20

30

40

50

ノ酸の全長を有する。

【0022】

いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体は、少なくとも1個のリンカーを含み、各リンカーは独立して、GSSGGSGGGSGG（配列番号210）；GGGS（配列番号2）；GGGS（配列番号211）；GGGS（配列番号212）；GGGS（配列番号213）；GGGS（配列番号214）；GGGS（配列番号215）；GGGS（配列番号216）；GS；GGGS（配列番号217）；GGGS（配列番号218）；GSSLDPKGGGS（配列番号219）；PKSCDKTHTCPPCPAPELLG（配列番号220）；SKYGPSPPCPPCPAPEFLG（配列番号221）；GKSSGSGSESKS（配列番号222）；GSTSGSGKSSSEGGK（配列番号223）；GSTSGSGKSSSEGGSTKG（配列番号224）；GSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号225）；GSTSGSGKPGSSSEGST（配列番号226）；（GS）_n、（GGGS）_n、（GSGGS）_n（配列番号227）、（GGGS）_n（配列番号228）、（GGGS）_n（配列番号216）、各nは少なくとも1である整数である；GSG（配列番号229）；GSGG（配列番号230）；GSGSG（配列番号231）；GSGGG（配列番号232）；GGSG（配列番号233）；GSSSG（配列番号234）；GGGS（配列番号213）；GGGS（配列番号214）；及びGSTSGSGKPGSSSEGST（配列番号226）からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、リンカーは、GGGS（配列番号2）の配列を含む。

10

20

【0023】

いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体は、N末端からC末端の方向で、PM1、CM3、CP1、CM1、及びCM1のC末端に直接または間接的に連結されたDD1を含む。いくつかの実施形態では、第1のポリペプチドは、C末端からN末端の方向で、PM1、CM3、CP1、CM1、及びCM1のN末端に直接または間接的に連結されたDD1を含む。いくつかの実施形態では、第2のポリペプチドは、N末端からC末端の方向で、PM2、CM4、CP2、CM2、及びCM2のC末端に直接または間接的に連結されたDD2を含む。いくつかの実施形態では、第2のポリペプチドは、C末端からN末端の方向で、PM2、CM4、CP2、CM2、及びCM2に直接または間接的に連結されたDD2を含む。

30

【0024】

いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体は、N末端からC末端の方向で、CP1、任意選択的リンカー、CM1、任意選択的リンカー及びDD1を含み、DD1はIgGのFc領域であり、Fc領域のN末端は、第2のFcドメインとのジスルフィド結合に参加するヒンジ領域における最初のシステイン残基（N末端からC末端方向への読み取り）であり（例えば、EUNANバリングを用いて、ヒトIgG1またはIgG4のシステイン226）、CP1とDD1のN末端システインとの間に配置されるCM1及び任意のリンカー（複数可）（「連結領域」）は、合わせて18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5または4個以下のアミノ酸、好ましくは10個以下のアミノ酸、特に好ましくは7個以下のアミノ酸の全長を有する。いくつかのこのような実施形態では、第1のモノマー構成体は、N末端からC末端の方向で、PM1、任意選択的リンカー、CM3、及びCP1のN末端に結合した任意選択的リンカーをさらに含む。いくつかの実施形態では、第2のモノマー構成体は、N末端からC末端の方向で、CP2、任意選択的リンカー、CM2、任意選択的リンカー及びDD2を含み、DD2はIgGのFc領域であり、Fc領域のN末端は、第2のFcドメインとのジスルフィド結合に参加するヒンジ領域における最初のシステイン残基（N末端からC末端方向への読み取り）であり（例えば、EUNANバリングを用いて、ヒトIgG1またはIgG4のシステイン226）、CP2とDD2のN末端システインとの間に配置されるCM2及び任意のリン

40

50

ンカー（複数可）（「連結領域」）は、合わせて18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5または4個以下のアミノ酸、好ましくは10個以下のアミノ酸、特に好ましくは7個以下のアミノ酸の全長を有する。いくつかのこのような実施形態では、第2のモノマー構成体は、N末端からC末端の方向で、PM2、任意選択的リンカー、CM4、及びCP2のN末端に結合した任意選択的リンカーをさらに含む。いくつかの態様では、ペプチドマスクと開裂可能部分との間に、リンカーまたはスペーサーは存在しない。いくつかの態様では、サイトカインタンパク質と開裂可能部分との間に、リンカーまたはスペーサーは存在しない。いくつかの態様では、開裂可能部分と二量体化ドメインとの間に、リンカーまたはスペーサーは存在しない。

【0025】

いくつかの実施形態では、ACCは、第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体が同一であり、配列番号321のアミノ酸配列を含む、ホモ二量体である。いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体はそれぞれ、配列番号321と少なくとも90%、95%、96%、97%、98%または99%と同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体はそれぞれ、N末端からC末端の方向で、配列番号323；任意選択的な0～10個のアミノ酸である柔軟なリンカー；配列番号41、配列番号68及び配列番号100からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むCM；任意選択的な0～10個のアミノ酸である柔軟なリンカー；配列番号1；配列番号41、配列番号68及び配列番号100からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む第2のCM；ならびに二量体化ドメインを含む。

【0026】

いくつかの実施形態では、少なくとも1つのCP1及び／またはCP2活性は、表面プラズモン共鳴を使用して決定される、その同族受容体に対するCP1及び／またはCP2の結合親和性である。例えば、CP1またはCP2がインターフェロンである場合、同族受容体は、インターフェロン- α/β 受容体（IFNAR）であってよい。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのCP1及び／またはCP2活性は、リンパ腫細胞の増殖レベルである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのCP1及び／またはCP2活性は、リンパ腫細胞における、JAK/STAT/ISGF3経路の活性化レベルである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの活性は、リンパ腫細胞で分泌されるアルカリフォスファターゼ（SEAP）の産生レベルである。いくつかの実施形態では、ACCは、CP1及びCP2活性の少なくとも1つが、対照のレベルと比較して少なくとも2倍低いことを特徴とする。いくつかの実施形態では、ACCは、少なくとも1つのCP1及び／またはCP2活性が、対照のレベルと比較して、少なくとも5倍、10倍、20倍、50倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍、600倍、700倍、800倍、900倍、1000倍、1100倍、1200倍、1300倍、1400倍、1500倍、1600倍、1700倍、1800倍、1900倍、2000倍、3000倍、または4000倍低いことを特徴とする。いくつかの実施形態では、ACCは、CP1及び／またはCP2活性の少なくとも1つが、対照のレベルと比較して少なくとも5000倍低いことを特徴とする。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのCP1及び／またはCP2活性の対照レベルは、ACCをプロテアーゼ（複数可）に曝露した後の、ACCのCP1及び／またはCP2活性である。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのCP1及び／またはCP2活性の対照レベルは、対応する野生型成熟サイトカインの、対応するCP1及び／またはCP2活性である。

【0027】

いくつかの実施形態では、ACCは、プロテアーゼ（複数可）への曝露後に、切断産物を生成することを特徴とし、切断産物は、CP1及び／またはCP2の少なくとも1つの活性を含む。いくつかの実施形態では、CP1及び／またはCP2の少なくとも1つの活性は、抗増殖活性である。いくつかの実施形態では、対照レベルは野生型成熟サイトカインのEC50値であり、EC50（野生型対照レベル）に対するEC50（切断産物）の比率は、約10未満、または約9未満、または約8未満、または約7未満、または約6未

10

20

30

40

50

満、または約 5 未満、または約 4 未満、または約 3 未満、または約 2 未満、または約 1.5 未満であるか、または約 1 に等しい。いくつかの実施形態では、切断産物の EC50 は、野生型成熟サイトカインの EC50 とほぼ同一であり、これは開裂の後、CP1 及び／または CP2 活性が、完全に回復する、またはほぼ完全に回復することを示している。

【0028】

本明細書において、本明細書に記載の ACC のいずれか 1 つを含む組成物が提供される。いくつかの実施形態では、本組成物は、薬学的組成物である。本明細書においては、本明細書に記載される組成物のいずれか 1 つの、少なくとも 1 回の用量を含むキットもまた提供される。

【0029】

本明細書において、治療を必要とする対象の治療方法であって、治療有効量の、本明細書に記載される ACC のいずれか 1 つ、または本明細書に記載される組成物のいずれか 1 つを対象に投与することを含む、方法が提供される。いくつかの実施形態では、対象はがんを有すると特定または診断されている。いくつかの非限定的な実施形態では、がんは、カポジ肉腫、毛様細胞性白血病、慢性骨髄性白血病 (CML)、濾胞性リンパ腫、腎細胞癌 (RCC)、黒色腫、神経芽細胞腫、基底細胞癌、膀胱癌、乳癌、結腸直腸癌、悪性皮膚 T 細胞リンパ腫、鼻咽頭腺癌、非小細胞肺癌 (NSCLC)、卵巣癌、膵臓癌である。いくつかの非限定的な実施形態では、がんはリンパ腫である。いくつかの非限定的な実施形態では、リンパ腫はパーキットリンパ腫である。

【0030】

本明細書において、本明細書に記載される ACC のいずれか 1 つの CP1 及び CM1 を含むポリペプチドをコードする核酸が提供される。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、本明細書に記載される DD1 のいずれか 1 つをさらに含む。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、本明細書に記載される PM1 及び CM3 のいずれか 1 つをさらに含む。本明細書において、本明細書に記載される ACC のいずれか 1 つの CP2 及び CM2 を含むポリペプチドをコードする核酸もまた提供される。モノマーが同一である場合、本開示は、二量体化して ACC を形成するモノマーをコードする単一の核酸を提供する。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、本明細書に記載される DD2 のいずれか 1 つをさらに含む。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、本明細書に記載される PM2 及び CM4 のいずれか 1 つをさらに含む。特定の実施形態では、第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体は、同一の CP、CM 及び DD 構成成分を含む。これらの実施形態のいくつかにおいて、第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体は、同一のポリペプチド（すなわち、同一のアミノ酸配列）によってコードされる。多くの場合、第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体が同一のアミノ酸配列を含むとき、それらは、同一の核酸（すなわち、同一の核酸配列）によってコードされる。これらの実施形態のいくつかにおいて、第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体は、同一の核酸によってコードされる。本明細書においては、本明細書に記載される核酸のいずれか 1 つを含むベクターもまた提供される。いくつかの実施形態では、ベクターは、発現ベクターである。本明細書においては、本明細書に記載される核酸のいずれか 1 つ、または本明細書に記載されるベクターのいずれか 1 つを含む細胞もまた提供される。

【0031】

本明細書において、核酸の対であって、本明細書に記載される ACC のいずれか 1 つの、第 1 のモノマー構成体の CP1 及び CM1 を含むポリペプチドと、第 2 のモノマー構成体の CP2 及び CM2 を含むポリペプチドと、を一緒になってコードする核酸の対が提供される。本明細書において、核酸の対であって、本明細書に記載される ACC のいずれか 1 つの、第 1 のモノマー構成体の PM1、CM3、CP1 及び CM1 を含むポリペプチドと、第 2 のモノマー構成体の PM2、CM4、CP2 及び CM2 を含むポリペプチドと、を一緒になってコードする核酸の対もまた提供される。本明細書において、本明細書に記載される核酸の対のいずれか 1 つを一緒になって含むベクターの対もまた提供される。いくつかの実施形態では、ベクターの対は、発現ベクターの対である。本明細書においては

10

20

30

40

50

、本明細書に記載される核酸の対のいずれか1つ、または本明細書に記載されるベクターの対のいずれか1つを含む細胞もまた提供される。その他の実施形態では、本発明は、ベクターの対を含むベクターを提供する。

【0032】

本明細書において、ACCを作製する方法であって、本明細書に記載されるいずれか1個の細胞を、液体培地中で、ACCを作製するのに十分な条件下にて培養することと、細胞または液体培地からACCを回収することを含む、ACCを生成する方法が提供される。いくつかの実施形態では、本方法は、細胞または液体培地から回収したACCを単離することをさらに含む。いくつかの実施形態では、本方法は、単離したACCを薬学的組成物に調製することをさらに含む。

10

【0033】

本明細書において、本明細書に記載の方法のいずれか1つで作製したACCが提供される。本明細書において、本明細書に記載のACCのいずれか1つを含む組成物もまた提供される。本明細書において、本明細書に記載される組成物のいずれか1つの組成物もまた提供され、組成物は薬学的組成物である。本明細書において、本明細書に記載される組成物のいずれか1つの、少なくとも1回の用量を含むキットもまた提供される。

【0034】

別途定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術及び科学用語は、本発明が属する当業者により一般に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書では、本明細書で使用するための方法及び材料を記載する。当該技術分野で知られている他の好適な方法及び材料も使用することができる。材料、方法、及び実施例は、例示に過ぎず、限定するものであるとは意図されない。本明細書で言及される全ての刊行物、特許出願、特許、配列、データベースエントリ、及び他の参考文献は、参照によってその全体が組み込まれる。矛盾する場合には、定義を含めて本明細書が優先する。

20

【0035】

本発明の他の特徴及び利点は、以下の発明を実施するための形態及び図面から、ならびに特許請求の範囲から明らかになるであろう。

【0036】

用語「a」及び「an」は、冠詞の文法上の目的語のうちの1つ以上（すなわち、少なくとも1つ）を指す。一例として、「細胞（a cell）」は、1個以上の細胞を包含する。

30

【0037】

本明細書で使用される場合、用語「約（about）」及び「およそ（approximately）」は、数値または範囲で明記される量を修飾するために使用されるとき、数値だけでなく、当業者に既知の、その値からの合理的な逸脱も示す。例えば、適切な場合、±20%、±10%または±5%は、詳述された値が意図する意味の範囲内である。

【0038】

濃度、量及びその他の数値データは、本明細書において、範囲形式で表されてよい、または示されてよい。係る範囲形式は便宜上及び簡略性のためだけに使用され、したがって範囲の制限として明示的に列挙された数値だけでなく、あたかも各数値及び部分的な範囲が明示的に列挙されるかのように、その範囲内に包含された全ての個々の数値または部分的な範囲もまた含むと柔軟に解釈されるべきであることを理解されたい。実例として、「約0.01~2.0」の数値の範囲は、約0.01~約2.0という明示的に列挙された値だけでなく、示された範囲内の個々の数値及び部分的な範囲もまた含むと解釈されるべきである。したがって、この数値の範囲内には、個々の値、例えば0.5、0.7及び1.5など、ならびに部分的な範囲、例えば0.5~1.7、0.7~1.5、及び1.0~1.5などが含まれる。さらに、このような解釈は、記載されている範囲の幅または特性に関係なく適用されるべきである。加えて、全ての百分率は、特に明記しない限り、重量%であると留意されたい。

40

【0039】

50

本開示の範囲を理解する上で、用語「含む (including)」、または「含む (comprising)」及びそれらの派生形は、本明細書で使用する場合、記載された特徴、要素、構成成分、グループ、整数及び／または工程の存在を規定するが、その他の記載されていない特徴、要素、構成成分、グループ、整数及び／または工程の存在を排除しない、オープンエンドの用語であることを意図する。上記は、類似の意味を有する単語、例えば用語「含む (including)」、「有する (having)」及びそれらの派生形にも適用される。用語「なる (consisting)」及びその派生形は、本明細書で使用する場合、記載された特徴、要素、構成成分、グループ、整数及び／または工程の存在を規定するが、その他の記載されていない特徴、要素、構成成分、グループ、整数及び／または工程の存在を排除する、クローズドの用語であることを意図する。用語「から本質的になる (consisting essentially of)」は、本明細書で使用する場合、記載された特徴、要素、構成成分、グループ、整数及び／または工程の存在の規定に加えて、特徴、要素、構成成分、グループ、整数及び／または工程の基本的かつ新規の特徴（複数可）に実質的に影響を及ぼさない存在の規定を意図する。これらの移行句のいずれか1つ（すなわち、「含む (comprising)」、「なる (consisting)」または「本質的になる (consisting essentially of)」）への言及は、具体的には用いられていない、その他の移行句のいずれかへの置き換えに対する直接的な支持を提供すると理解される。例えば、用語「含む (comprising)」から「から本質的になる (consisting essentially of)」または「からなる (consisting of)」への修正は、本開示を通して開示される任意の要素がこのように定義されるために、直接的な支持が見いだされる。この定義に基づいて、本明細書に開示される、または参照によって組み込まれる任意の要素は、特許請求される発明に含まれてもよく、または除外されてもよい。

10

20

【0040】

本明細書で使用する場合、便宜上、複数の化合物、要素または工程が一般的な一覧において提示されてよい。ただし、これらの一覧は、一覧の各メンバーが別個の一意のメンバーとして個別に識別されるかのように解釈されるべきである。したがって、このような一覧の個別のメンバーは、そうでないという表示がない場合、単に一般的なグループでの提示のみに基づいて、同じ一覧の任意のその他のメンバーと同等に、事実上存在するものとして解釈されるべきでない。

30

【0041】

さらに、特定の分子、構成体、組成物、要素、部分、賦形剤、疾患、状態、特性、ステップなどは、本開示のある特定の実施形態もしくは態様、または別個の段落もしくはセクションの文脈で議論されてよい。これは単に便宜上及び簡潔さのためのものであり、このような任意の開示は、等しく適用可能であり、本開示及び特許請求の範囲のどこかに見いだされる、任意のその他の実施形態または態様と組み合わせることを意図すると理解され、これらは全て、出願日における出願及び特許請求する発明を形成する。例えば、構成体、組成物もしくは方法に関して記載された構成体、分子、方法ステップ、キット、または組成物の一覧は、本開示の任意のその他の部分に記載される構成体、組成物、配合物及び方法に関連した実施形態の直接的な支持を、それらの方法ステップ、有効な薬剤、キットまたは組成物が、その実施形態または態様の文脈またはセクションにおいて再列挙されていない場合であっても、見いだすことが意図され、直接的な支持を見いだす。

40

【0042】

特に指定のない限り、「タンパク質をコードする核酸配列」は、互いの縮重バージョンであるため、同じアミノ酸配列をコードする、全てのヌクレオチド配列を含む。

【0043】

用語「N末端に置かれる」は、ポリペプチドの一次アミノ酸配列における第1のドメインまたは配列の位置について第2のドメインまたは配列と比較して言及する場合、第1のドメインまたは配列は、第2のドメインまたは配列よりも、ポリペプチドの一次アミノ酸配列のN末端の近くに位置することを意味する。いくつかの実施形態では、第1のドメイ

50

ンまたは配列と第2のドメインまたは配列との間に、さらなる配列及び／またはドメインがあってもよい。

【0044】

用語「C末端に置かれる」は、ポリペプチドの一次アミノ酸配列における第1のドメインまたは配列の位置について第2のドメインまたは配列と比較して言及する場合、第1のドメインまたは配列は、第2のドメインまたは配列よりも、ポリペプチドの一次アミノ酸配列のC末端の近くに位置することを意味する。いくつかの実施形態では、第1のドメインまたは配列と第2のドメインまたは配列との間に、さらなる配列及び／またはドメインがあってもよい。

【0045】

用語「外因性」は、細胞、組織または生物体の外側から導入される、または由来する任意の物質で、それが導入される同じ細胞、組織または生物体によって産生されない、または由来しない物質を意味する。

【0046】

用語「形質導入された」、「トランスフェクトされた」または「形質転換された」は、外因性核酸が細胞に導入または移入されるプロセスを意味する。「形質導入された」、「トランスフェクトされた」または「形質転換された」細胞（例えば、哺乳動物細胞）は、本明細書に記載される活性化可能サイトカイン構成体のいずれかをコードする外因性核酸を含有する外因性核酸（例えば、ベクター）を用いて形質導入された、トランスフェクトされた、または形質転換された細胞である。

【0047】

用語「核酸」は、1本鎖または2本鎖の形態の、デオキシリボ核酸（DNA）、またはリボ核酸（RNA）または、これらの組み合わせを意味する。特に限定されない限り、この用語は、参照のヌクレオチドと類似した結合特性を有する、天然のヌクレオチドの周知の類似体を含む核酸を包含する。特に指定のない限り、特定の核酸配列はまた、明示的に示される配列に加えて相補的配列も暗に包含する。本明細書に記載される核酸のいずれかのいくつかの実施形態では、核酸はDNAである。本明細書に記載される核酸のいずれかのいくつかの実施形態では、核酸はRNAである。

【0048】

当該技術分野において既知の、標準的な技術、例えば部位特異的変異誘発及びポリメラーゼ連鎖反応（PCR）媒介変異誘発によって、ヌクレオチド配列への修飾を導入することができる。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に置換されている置換である。類似の側鎖を有するアミノ酸残基ファミリーは、当該技術分野において定義されている。これらのファミリーとしては、酸性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アスパルテート及びグルタメート）、塩基性側鎖を有するアミノ酸（例えば、リシン、アルギニン及びヒスチジン）、非極性アミノ酸（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、メチオニン及びトリプトファン）、無電荷極性アミノ酸（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、システイン、セリン、スレオニン及びチロシン）、親水性アミノ酸（例えば、アルギニン、アスパラギン、アスパルテート、グルタミン、グルタメート、ヒスチジン、リシン、セリン及びスレオニン）、疎水性アミノ酸（例えば、アラニン、システイン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、トリプトファン、チロシン及びバリン）が挙げられる。アミノ酸のその他のファミリーとしては、脂肪族ヒドロキシアミノ酸（例えば、セリン及びスレオニン）、アミドファミリー（例えば、アスパラギン及びグルタミン）、脂肪族ファミリー（例えば、アラニン、バリン、ロイシン及びイソロイシン）、ならびに芳香族ファミリー（例えば、フェニルアラニン、トリプトファン及びチロシン）が挙げられる。

【0049】

本明細書で使用する場合、「特異的に結合する」、または「と免疫反応する」という語句は、活性化可能抗原結合タンパク質複合体が、所望の標的抗原の1個以上の抗原決定基

10

20

30

40

50

と反応し、その他のポリペプチドと反応しない、または極めて低い親和性、例えば約 10^{-6} M 以上で結合することを意味する。

【0050】

用語「治療」は、疾患の少なくとも1つの症状を改善することを意味する。いくつかの実施形態では、治療される疾患はがんであり、がんの少なくとも1つの症状を緩和するためのものである。

【図面の簡単な説明】

【0051】

【図1】例示される活性化可能サイトカイン構成体の概略図である。

【図2】例示される活性化可能サイトカイン構成体の概略図である。

【図3】例示される活性化可能サイトカイン構成体の概略図である。

【図4】例示される活性化可能サイトカイン構成体の概略図である。

【図5】ペプチドマスクなしのサイトカイン構成体、IFN α -2b-hIgG4Fc（開裂可能部分1204dLまたは開裂可能部分1490を有する）と、プロテアーゼ（uPAまたはMT-SP1）との開裂反応を示し、この反応により、モノマーの成熟IFN α -2bが生成される。

【図6A】プロテアーゼuPa及びMMP14による、サイトカイン構成体（ProC440）の活性化を示す。

【図6B】プロテアーゼuPa及びMMP14による、サイトカイン構成体（ProC440）の活性化を示す。MMP14及びuPA開裂可能部位を有するProC440の配列（配列番号316）を示す。

【図6C】プロテアーゼuPa及びMMP14による、サイトカイン構成体（ProC440）の活性化を示す。

【図7】Aは、IFN反応性HEK293細胞を用いてインビトロで試験した、サイトカイン構成体（ProC440）の活性を示す。Bは、Daudi細胞を用いてインビトロで試験した、サイトカイン構成体（ProC440）の活性を示す。

【図8】イタリック体での任意選択のシグナル配列（配列番号244）、二重下線でのマスキングペプチド配列、太字体での開裂可能部分の配列、及び下線での成熟IFN α -2bの配列を有する、マスクしたサイトカイン構成体、ProC732（配列番号321）の配列を示す。

【図9】イタリック体での任意選択のシグナル配列（配列番号244）、二重下線でのマスキングペプチド配列、太字体での開裂可能部分配列、及び下線での成熟IFN α -2bの配列を有する、サイトカインと二量体化ドメインとの間に開裂可能部分配列がない、マスクしたサイトカイン構成体、ProC733（配列番号322）の配列を示す。

【図10A】サイトカイン構成体、ProC440、ProC732及びProC733の概略図を示す。

【図10B】IFN反応性HEK293細胞を使用して試験した、サイトカイン構成体（ProC440、ProC732及びProC733）の活性を示す。

【図10C】IFN反応性HEK293細胞を使用して試験した、サイトカイン構成体ProC732（Pb-IFN α -2bとも称される）の活性を示す。

【図11A】サイトカイン構成体ProC286の構造の概略図と、Daudiアポトーシスアッセイにおいて、Sylatron（登録商標）（ペグ化インターフェロン α -2b）の活性と比較した、ProC286の活性とを示す。ProC286及びSylatron（登録商標）は、同様レベルの活性を示し、これは、ProC286が、ハムスター試験において、IFN α -2bの忍容性を評価するためのSylatron（登録商標）対照の代用物として用いられ得ることを示唆していた。

【図11B】サイトカイン構成体ProC291の構造の概略図と、Daudiアポトーシスアッセイにおいて、Sylatron（登録商標）の活性と比較したProC291の活性とを示す。ProC291は、Sylatron（登録商標）及びProC286と比較して、有意に低下した活性を示した。

10

20

30

40

50

【図12】IFNa対照（組み換えインターフェロン α 、天然に存在しないI型インターフェロン）；ProC440の活性なサイトカイン切断産物（ProC440+uPA）；Sylatron（登録商標）（「PEG-IFNa2b」）；及びProC440の比活性と、インビボでの用量漸増試験、例えば、用量を0.08、0.4、2、10及び15mg/kg（「mpk」）で増加させる試験で、予測される毒性用量とを示す。

【図13A】ゴールデンシリアンハムスターで実施した、異なる用量での忍容性試験において、サイトカイン構成体ProC286、ProC440及びProC732または対照（ヒトIgG4）の異なる投与量に应答した、動物の体重損失プロファイルを示す。試験した各構成体の、2mg/kg（「2mpk」）の用量のデータを示す。

【図13B】ゴールデンシリアンハムスターで実施した、異なる用量での忍容性試験において、サイトカイン構成体ProC286、ProC440及びProC732または対照（ヒトIgG4）の異なる投与量に应答した、動物の体重損失プロファイルを示す。試験した各構成体の、10mg/kg（「10mpk」）の用量のデータを示す。

【図13C】ゴールデンシリアンハムスターで実施した、異なる用量での忍容性試験において、サイトカイン構成体ProC286、ProC440及びProC732または対照（ヒトIgG4）の異なる投与量に应答した、動物の体重損失プロファイルを示す。試験した各構成体の、15mg/kg（「15mpk」）の用量のデータを示す。

【図13D】マスクしていないIFNa2b/Fc（ProC286）を投薬した動物における、INFa2b媒介毒性を示す。これは、ALPの上昇、及びIFNa2b一重マスク（ProC440）及び二重マスク（ProC732）の治療指数の上昇に相当する。

【図14】忍容性試験における、サイトカイン構成体ProC286、ProC440及びProC732または対照（ヒトIgG4）の異なる投与量（2mpk、10mpk及び15mpk）に应答したゴールデンシリアンハムスターの、臨床的化学分析（アルカリフォスファターゼ、アラントランスアミナーゼ、及びアスパラギン酸トランスアミナーゼ）の結果を示す。

【図15】忍容性試験における、サイトカイン構成体ProC286、ProC440及びProC732または対照（ヒトIgG4）の異なる投与量（2mpk、10mpk及び15mpk）に应答したゴールデンシリアンハムスターの、血液学分析（網状赤血球数、好中球数及び白血球細胞（WBC）数）の結果を示す。

【図16】Dauidiアポトシスアッセイから決定した、ペプチドマスクなしのIFNa-2b-Fc融合タンパク質の活性への、連結領域（LR）の長さの影響を示す。

【図17】ACC ProC859マウス交差反応性インターフェロン（上）の構造、B16マウス黒色腫細胞アッセイにおけるACC ProC859の抗増殖作用、及びIFN反応性HEK293アッセイにおけるACC ProC859の活性を示す。

【図18】連結領域（LR）及びマスク連結領域（MLR）の描写を含む、サイトカイン構成体を図式的に示す。

【図19】初代ヒト細胞への、ProC732の活性化依存的な作用を示す。上段は、活性化ProC732による骨髓性細胞中のIP-10の誘発を示し、下段は、T及びNKリンパ球中のIFN- γ の誘発を示す。

【図20】Dauidi異種移植モデルにおける、マスクしたIFN-a2b（ProC732）の、濃度を上昇させたときのインビボ有効性を示す。

【図21】uPA処置済みProC1549開裂不可のマスクした構成体と比較した、IFNa-A/D（ProC1023）によるマウス脾細胞のインビトロ活性化を示す。

【図22】マスクしたIFN-a2b（ProC732）及びuPAで活性化したProC732の、ハムスター黒色腫細胞生存率への影響を示す。

【図23A】マスクした活性化可能IFNa A/D（ProC1023）の、10、50及び200 μ gでの抗腫瘍活性を示す。

【図23B】開裂不可のマスクしたIFNa A/D（ProC1549）に対する、マスクしたIFNa A/D（ProC1023）のインビボ活性化を示す。

10

20

30

40

50

【図24】対照ナীবマウスにおけるMC38腫瘍細胞移植（上段、図24A）と比較した、活性化可能IFN α A/D（200 μ gのProC1023）で過去に処置したマウスにおける、MC38腫瘍細胞再移植に応答した免疫記憶（下段、図24B）を示す。

【図25】マスクしたPro-IFN- α 2b（切断されていないProC732）、マスクなしのIFN- α 2b（uPA処置済みProC732）またはPeg-IFN- α 2b（Sylatron（登録商標））を使用した、I型インターフェロングネチャーの活性化依存的誘発の比較を示す。

【図26】二重マスクしたINF- α 2b（ProC732）及びProC286、ProC440及びProC659の、ハムスターにおける薬物動態を示す。

【図27】PBS対照と比較した、20 μ gの腫瘍内注入及び200 μ gの全身投与での一重マスクした活性化可能IFN α A/D（ProC859）の抗腫瘍活性を示す。

【図28A】B16マウス黒色腫細胞でのIFN α レポーターアッセイにおいて、一重マスクしたProC859と比較した、二重マスクしたProC1023の活性を示す。

【図28B】B16マウス黒色腫細胞でのIFN α レポーターアッセイにおいて、ProC1549と比較したProC1023の活性を示す。

【図28C】B16マウス黒色腫細胞でのIFN α レポーターアッセイにおいて、ProC1549と比較したProC1023の活性を示す。

【図29】IFN反応性HEK293細胞を使用してインビトロで試験した、単量体の二重マスクしたProC1239及び二量体の二重マスクしたProC732の活性を示す。

【図30】IFN反応性HEK293細胞を使用してインビトロで試験した、切断されていない状態、及びuPaまたはMTSP1を用いたプロテアーゼ活性化後における、ProC732、ProC1550及びProC1552の活性を示す。

【図31】IFN反応性HEK293を使用して、組み換えIFN α 2b、単量体IFN α 2b（ProC657）、活性化ホモ二量体IFN α 2b（ProC440+uPA）及びホモ二量体IFN α 2b（ProC440）の活性を示す。

【図32】用量を増加させた、ProC440（上段）及びペグインターフェロン（下段）の抗腫瘍活性を示す。

【図33】二重マスクした活性化可能でないIFN α A/D（ProC1549）と比較した、10 μ g、50 μ g及び200 μ gでの、二重マスクした活性化可能IFN α A/D（ProC1023）の抗腫瘍活性を示す。

【図34】Aは、PBS対照と比較した、10、50及び200 μ gでのProC1023の抗腫瘍活性を示す。Bは、活性化可能でないIFN α A/D（ProC1549）と比較した、200 μ gでのProC1023の抗腫瘍活性を示す。

【図35A】MMPによる、NSUB（ProC649）活性の回復を示す。

【図35B】uPAによる、ProC732及びProC1299の条件付き活性化を示す。

【図35C】IFN α AD（配列番号481）と比較したIFN α 2b（配列番号1）及び、ProC732と比較して、ProC1301は活性化に耐性があることを示す。

【図36】濃度の関数としての、ProC440、ProC732及びProC1301の腫瘍成長抑制活性を示す。

【図37A】腫瘍組織によるProC732活性化のアッセイ（図37A）及びその結果を示す。蛍光標識したProC732を、腫瘍組織切片上で、37℃でインキュベートした。回収した溶液を、続いて、活性分子の定量化を可能にするキャピラリー電気泳動（図37C）を通して、及びHEK青色IFN α レポーターモデル（図37B）を使用して分析した。酵素的に不活性な試料を、対照組織として使用した。

【図37B】腫瘍組織によるProC732活性化のアッセイ（図37A）及びその結果を示す。蛍光標識したProC732を、腫瘍組織切片上で、37℃でインキュベートした。回収した溶液を、続いて、活性分子の定量化を可能にするキャピラリー電気泳動（図3

10

20

30

40

50

7 C)を通して、及びHEK青色IFN α レポーターモデル(図37B)を使用して分析した。酵素的に不活性な試料を、対照組織として使用した。

【図37C】腫瘍組織によるProC732活性化のアッセイ(図37A)及びその結果を示す。蛍光標識したProC732を、腫瘍組織切片上で、37℃でインキュベートした。回収した溶液を、続いて、活性分子の定量化を可能にするキャピラリー電気泳動(図37C)を通して、及びHEK青色IFN α レポーターモデル(図37B)を使用して分析した。酵素的に不活性な試料を、対照組織として使用した。

【図38A】腫瘍組織とのインキュベート後にHEK青色IFN α レポーターモデルによって分析した、ProC732(図38A)及び組み換えIFN α 2b(図38B)分子の生理活性の変化を示す。10 ng/mLのProC732の、または1 ng/mLの組み換えIFN α 2bの、0時間の値と比較して計算した生理活性の倍数変化を示す。腫瘍組織の不存在下で、24時間インキュベートしたProC732及びIFN α 2bタンパク質の生理活性を示す。それぞれの線は、インキュベートの前及び24時間後に分析した、個々の試料(100~0.01 ng/mLの範囲の濃度)をつないでいる。

【図38B】腫瘍組織とのインキュベート後にHEK青色IFN α レポーターモデルによって分析した、ProC732(図38A)及び組み換えIFN α 2b(図38B)分子の生理活性の変化を示す。10 ng/mLのProC732の、または1 ng/mLの組み換えIFN α 2bの、0時間の値と比較して計算した生理活性の倍数変化を示す。腫瘍組織の不存在下で、24時間インキュベートしたProC732及びIFN α 2bタンパク質の生理活性を示す。それぞれの線は、インキュベートの前及び24時間後に分析した、個々の試料(100~0.01 ng/mLの範囲の濃度)をつないでいる。

【図38C】腫瘍組織とのインキュベート後にHEK青色IFN α レポーターモデルによって分析した、ProC732(図38A)及び組み換えIFN α 2b(図38B)分子の生理活性の変化を示す。10 ng/mLのProC732の、または1 ng/mLの組み換えIFN α 2bの、0時間の値と比較して計算した生理活性の倍数変化を示す。腫瘍組織の不存在下で、24時間インキュベートしたProC732及びIFN α 2bタンパク質の生理活性を示す。それぞれの線は、インキュベートの前及び24時間後に分析した、個々の試料(100~0.01 ng/mLの範囲の濃度)をつないでいる。

【図39】非ヒト霊長類における、マスクしたIFN α 2b及び対照分子の薬物動態を示す。カニクイザル(各群N=2)を、0.03 mg/kg、0.3 mg/kg、3 mg/kgまたは15 mg/kgのProC732の、単回、皮下投与で処置した。示された時点で血漿試料を収集し、総ProC732濃度について分析した結果を示す。

【図40A】非ヒト霊長類における、マスクしたIFN α 2b及び対照分子の薬物動態を示す。カニクイザル(各群N=2)を、0.03 mg/kg、0.3 mg/kg、3 mg/kgまたは15 mg/kgのProC732の、単回、皮下投与で処置した。MSD Vplexアッセイで測定した、血清中のIP-10の濃度を示す。

【図40B】非ヒト霊長類における、マスクしたIFN α 2b及び対照分子の薬物動態を示す。カニクイザル(各群N=2)を、0.03 mg/kg、0.3 mg/kg、3 mg/kgまたは15 mg/kgのProC732の、単回、皮下投与で処置した。投与後1日目及び7日目の、循環Pb-IFN α 2b及びIP-10の濃度を、互いに対してプロットした図である。

【図41A】インビトロでの、インターフェロン α 受容体に対する活性化Pb-IFN α 2bの結合を示す。ヒトIFNAR1、ヒトIFNAR2、カニクイザルIFNAR1、またはカニクイザルIFNAR2タンパク質を、固定した抗ヒトFcでコーティングしたチップ上に捕らえた。25 nM~1.5625 μ Mの範囲の濃度の活性化IFN α 2b(ProC1640)を、リガンドを捕らえたチップ上に送液し、マルチサイクルカイネティクスのセンサーグラムを生成した。

【図41B】インビトロでの、インターフェロン α 受容体に対する活性化Pb-IFN α 2bの結合を示す。ヒトIFNAR1、ヒトIFNAR2、カニクイザルIFNAR1、またはカニクイザルIFNAR2タンパク質を、固定した抗ヒトFcでコーティングし

10

20

30

40

50

たチップ上に捕らえた。25 nM～1.5625 μMの範囲の濃度の活性化IFN-α2b (ProC1640)を、リガンドを捕らえたチップ上に送液し、マルチサイクルカイネティクスのセンサーグラムを生成した。

【図41C】インビトロでの、インターフェロンα受容体に対する活性化Pb-IFN-α2bの結合を示す。ヒトIFNAR1、ヒトIFNAR2、カニクイザルIFNAR1、またはカニクイザルIFNAR2タンパク質を、固定した抗ヒトFcでコーティングしたチップ上に捕らえた。25 nM～1.5625 μMの範囲の濃度の活性化IFN-α2b (ProC1640)を、リガンドを捕らえたチップ上に送液し、マルチサイクルカイネティクスのセンサーグラムを生成した。

【図41D】インビトロでの、インターフェロンα受容体に対する活性化Pb-IFN-α2bの結合を示す。ヒトIFNAR1、ヒトIFNAR2、カニクイザルIFNAR1、またはカニクイザルIFNAR2タンパク質を、固定した抗ヒトFcでコーティングしたチップ上に捕らえた。25 nM～1.5625 μMの範囲の濃度の活性化IFN-α2b (ProC1640)を、リガンドを捕らえたチップ上に送液し、マルチサイクルカイネティクスのセンサーグラムを生成した。

【図42A】一重マスクしたPb-IFN-α2b分子の、ヒトIFNAR2への結合を示す。固定した抗ヒトFcでコーティングしたチップ上に、リガンドを捕らえた。25 nM～1.5625 μMの範囲の濃度のIFN-α2b (ProC1640)を、リガンドを捕らえたチップ上に送液し、マルチサイクルカイネティクスのセンサーグラムを生成した。

【図42B】一重マスクしたPb-IFN-α2b分子の、ヒトIFNAR2への結合を示す。固定した抗ヒトFcでコーティングしたチップ上に、リガンドを捕らえた。250 nM～15.625 μMの範囲の濃度のマスクしたPb-IFN-α2b分子 (ProC1976)を、リガンドを捕らえたチップ上に送液し、マルチサイクルカイネティクスのセンサーグラムを生成した。

【図42C】一重マスクしたPb-IFN-α2b分子の、ヒトIFNAR2への結合を示す。固定した抗ヒスチジン抗体でコーティングしたチップ上に、リガンドを捕らえた。25 nM～1.5625 μMの範囲の濃度のIFN-α2b (ProC1640)を、リガンドを捕らえたチップ上に送液し、マルチサイクルカイネティクスのセンサーグラムを生成した。

【図42D】一重マスクしたPb-IFN-α2b分子の、ヒトIFNAR2への結合を示す。固定した抗ヒスチジン抗体でコーティングしたチップ上に、リガンドを捕らえた。250 nM～15.625 μMの範囲の濃度のマスクしたPb-IFN-α2b分子 (ProC440)を、リガンドを捕らえたチップ上に送液し、マルチサイクルカイネティクスのセンサーグラムを生成した。

【図43】非ヒト霊長類において、ProC732によって誘発される、濃度を基準とした遺伝子発現プロファイル変化を示す。カニクイザル (各群N=2)を、0.03 mg/kg、0.3 mg/kg、3 mg/kgまたは15 mg/kgのProC732の、単回、皮下投与で処置した。処置した動物からのPBMCをハーベストし、バルクRNAseqによって分析した。

【図44】カニクイザル (各群N=2)を、0.03 mg/kg、0.3 mg/kg、3 mg/kgまたは15 mg/kgのProC732の、単回、皮下投与で処置した。処置した動物からのPBMCをハーベストし、バルクRNAseqによって分析した。読み取り数の変化が>3である場合、遺伝子は発現が変動しているものとした。

【図45】ProC1023が、腫瘍組織内の免疫細胞を優先的に活性化することを示す。処置の6日後、腫瘍及び組織をハーベストし、フローサイトメトリーによって分析した。生存可能なCD45+CD3+細胞でゲーティングした。

【図46】ProC732の複数回の投与後、ProC732の忍容性が良好であることを示す。雄のゴールデンシリアンハムスター (N=5)に、ProC732またはマスクなしのFc-IFN-α2b (ProC286)融合タンパク質を、週1回の投与で、3

10

20

30

40

50

回、腹腔内注射で処置し、投与前、及び投与後は週2回、体重変化及び生存をモニタリングした。

【図47】非ヒト霊長類において、Proc732のマスキングが、サイトカイン／ケモカイン放出を弱めることを示す。

【発明を実施するための形態】

【0052】

本明細書において、対応するサイトカインの少なくとも1つの活性レベルの低下を示すが、活性化条件に曝露後、実質的に回復した活性を有するサイトカイン産物を産生する活性化可能サイトカイン構成体（ACC）が提供される。本発明の活性化可能サイトカイン構成体は、患部組織への曝露に際して選択的に活性化し、正常組織においては活性化しないように設計され得る。このように、これらの化合物は、特定のサイトカインベースの治療に伴う毒性が潜在的に少ない、サイトカインベースの治療の利点を与える可能性を有する。

10

【0053】

本明細書においては、関連する中間体、組成物、キット、核酸及び組み換え細胞、ならびに本明細書に記載の活性化可能サイトカインのいずれかの使用方法及び作製方法をはじめとする関連する方法もまた提供される。

【0054】

本発明者らは、驚くべきことに、本明細書に記載される特定の要素及び構造的方向性を有するACCが、特にがん治療におけるサイトカインの安全性及び治療指数を向上させるのに、潜在的に有効であると思われることを見いだした。サイトカインは生来の免疫系及び適応免疫系の調節因子であり、前臨床モデルにおいて幅広い抗腫瘍活性を有する一方で、臨床的な成功は、全身性毒性及び標的組織への乏しい全身曝露によって限定されている。本発明者らは、驚くべきことに、本明細書に記載される特定の要素及び構造的方向性を有するACCが、サイトカイン治療に伴う全身性毒性を低減させ、標的化及び標的組織への曝露を改善すると思われることを見いだした。このように、本開示は、本明細書に記載される特定の要素及び構造的方向性を有するACCを、対象に投与することによって、サイトカイン治療の標的介在性の薬物消失（TMDD）を低減させる方法を提供する。このように、本発明は、投与されるサイトカイン投与量の有意な割合が、正常組織によって分離されるという問題を解決する。この分離は、体循環中の利用可能な投与量の割合が、従来のサイトカイン治療において、標的組織、例えばがん性組織に到達するのを制限するため問題である。本発明のサイトカイン構成体は、標的結合を腫瘍組織に局限し、それによって力価を維持し、副作用を低減させ、新しい標的機会を可能にし、認可された標的の治療域を改善し、創薬不可能な標的の治療域を作り出し、複数の結合様式を提供する。本開示は安全かつ有効な全身送達を可能にし、それによって従来の全身性サイトカイン療法の用量依存的毒性を回避し、また腫瘍内注入の必要性を回避する。本開示は、局所的な抗ウイルス性活性、免疫調節性活性、抗増殖活性及びプロアポトーシス活性を与えるための手段を提供する。本発明者らは、驚くべきことに、第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体を二量体化することで、サイトカイン活性のより大きな低減が達成されることを見だし、また驚くべきことに、活性化可能構成体のもう一方の末端にペプチドマスクを付加することによって、極めて高いマスキング効率を伴って、サイトカイン活性が実質的に低減し得ることを発見した。例えば、図10A～図10Cを参照されたい。

20

30

40

【0055】

出願人の、2020年4月10日に出願された米国仮出願第63／008,542号、及び2021年3月16日に出願された米国仮出願第63／161,889号は、親和性ペプチドマスクのない特定の活性化可能サイトカイン構成体について記載しているものであり、その全体が参照として本明細書に組み込まれる。

【0056】

活性化可能サイトカイン構成体

本発明の活性化可能なサイトカイン構成体（ACC）は、第1のモノマー構成体及び第2

50

のモノマー構成体を含む二量体複合体である。モノマー構成成分の二量体化は、1対の二量体化ドメインによって促進される。一態様では、各モノマー構成体は、サイトカインタンパク質（CP）、1個以上の開裂可能部分（CM）、二量体化ドメイン（DD）、及びペプチドマスク（PM）を含有する。本発明の発明者らは、二量体化ドメイン及びペプチドマスクを含むACC構造は、改善されたマスキング効率を有し、サイトカインのオフターゲット効果、及び望ましくない活性、及び／または毒性のある副作用を最小限にする、または取り除くことを、予想外に見いだした。

【0057】

特定の一実施形態において、本発明は、第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体を含む活性化可能サイトカイン構成体（ACC）であって、

（a）第1のモノマー構成体が、第1のペプチドマスク（PM1）と、第1の成熟サイトカインタンパク質（CP1）と、第1の及び第3の開裂可能部分（CM1及びCM2）と、第1の二量体化ドメイン（DD1）と、を含み、

CM1がCP1とDD1との間に置かれ、CM2がPM1とCP1との間に置かれ、

（b）第2のモノマー構成体が、第2の成熟サイトカインタンパク質（CP2）と、第2の開裂可能部分（CM3）と、第2の二量体化ドメイン（DD2）と、を含み、

CM3がCP2とDD2との間に置かれ、

DD1及びDD2が互いに結合し、それによって第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体が二量体を形成し、

CP1及び／またはCP2の少なくとも1つの活性の対照のレベルと比較して、CP1及び／またはCP2の少なくとも1つの低減した活性レベルを有することを特徴とする、活性化可能サイトカイン構成体（ACC）を提供する。いくつかの実施形態では、第2のモノマー構成体は、第2のペプチドマスク（PM2）と、PM2とCP2との間に置かれる第4の開裂可能部分（CM4）をさらに含む。いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体は同一であり、互いに結合してホモ二量体を形成する。その他の実施形態では、第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体のそれぞれにおいて、CP、CM、PMまたはDD構成成分の少なくとも1個は同一でなく、第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体は互いに結合してヘテロ二量体を形成する。

【0058】

用語「活性化可能」は、サイトカイン構成体に関して用いられる場合、1つ以上の活性の第1のレベルを示し、1個以上の開裂可能部分の開裂を引き起こす状態への曝露に際して、1つ以上の活性の第2のレベルを示すサイトカイン構成体の産生がもたらされるサイトカイン構成体であって、活性の第2のレベルが活性の第1のレベルよりも大きい、サイトカイン構成体を意味する。活性の非限定例としては、本明細書に記載される、または当該技術分野において既知のサイトカインの例示的な活性のいずれかが挙げられる。

【0059】

用語「成熟サイトカインタンパク質」は、本明細書において、シグナル配列を欠くサイトカインタンパク質を意味する。シグナル配列は、本明細書において「シグナルペプチド」とも呼ばれる。サイトカインタンパク質（CP）は、成熟サイトカインタンパク質、またはシグナルペプチドを有するサイトカインタンパク質であってよい。したがって、いくつかの態様において、本発明に開示のACCは、成熟サイトカインタンパク質配列を含有してよい。いくつかの態様では、本発明に開示のACCは、成熟サイトカインタンパク質配列、及び付加的にシグナル配列を含有してよい。いくつかの態様では、本発明に開示のACCは、本明細書で引用されるシグナル配列を含有する、または欠く、本明細書にて開示される配列を含有してよい。いくつかの実施形態では、シグナル配列は、配列番号242、配列番号243及び配列番号244からなる群から選択される。

【0060】

用語「開裂可能部分」及び「CM」は、本明細書では交換可能に使用され、アミノ酸配列に配列特異的なプロテアーゼの基質が含まれるペプチドを意味する。CMとして使用するのに好適な開裂可能部分としては、当該技術分野において既知であるプロテアーゼ基質

のいずれかが挙げられる。例示的な開裂可能部分は、下記により詳細に記載される。

【0061】

用語「ペプチドマスク」及び「PM」は、本明細書では交換可能に使用され、サイトカインタンパク質の1つ以上の活性を低減または阻害する、50個未満のアミノ酸のアミノ酸配列を意味する。PMはサイトカインに結合して、サイトカインがその受容体と相互作用するのを制限し得る。いくつかの実施形態では、PMは、40個以下の長さのアミノ酸である。好ましい実施形態では、PMは、20個以下の長さのアミノ酸である。いくつかの実施形態では、PMは、19、18、17、16または15個以下の長さのアミノ酸である。いくつかの態様では、PMは少なくとも13個のアミノ酸（13～49個の任意の数を含む）を有する。いくつかの態様では、PMは少なくとも14個のアミノ酸（14～49個の任意の数を含む）を有する。いくつかの態様では、PMは少なくとも15個のアミノ酸（15～49個の任意の数を含む）を有する。特定の態様では、PM内のアミノ酸の数は、サイトカインタンパク質に結合するアミノ酸としてカウントされてよい。例えば、PMは、大きなポリペプチドを除外する。例えば、PMは、潜在型関連ペプチド（latency associated peptide）ではない。例えば、PMはサイトカインではない。例えば、PMはサイトカインの受容体ではない。例えば、PMはサイトカインの受容体のフラグメントではない。いくつかの態様では、PMは、サイトカインの受容体と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を有しない。例えば、PMはアルブミンではない。例えば、PMは、50個を超えるアミノ酸を有するタンパク質またはポリペプチドを除外する。いくつかの態様では、PMは、25個を超えるアミノ酸を有するタンパク質またはポリペプチドを除外する。いくつかの態様では、PMは、20個を超えるアミノ酸を有するタンパク質またはポリペプチドを除外する。いくつかの態様では、PMは、15個を超えるアミノ酸を有するタンパク質またはポリペプチドを除外する。いくつかの態様では、PMは、柔軟なN末端またはC末端尾部領域を形成するアミノ酸を含まない。

10

20

【0062】

用語「二量体化ドメイン」及び「DD」は、本明細書では交換可能に使用され、1対の二量体化ドメインの1つのメンバーを意味し、対の各メンバーは、1個以上の共有または非共有結合的相互作用を介してもう一方に結合できる。第1のDDと第2のDDは同じでも異なってもよい。DD1及び／またはDD2として使用するために好適な例示的なDDは、本明細書の以下に、より詳細に記載されている。

30

【0063】

本明細書で使用する場合、用語「リンカー」は、アミノ酸配列がプロテアーゼの基質でないペプチドを意味する。例示的なリンカーは、以下により詳細に記載される。

【0064】

本明細書で使用する場合、用語「連結領域」または「LR」とは、サイトカインのC末端と、二量体化ドメイン間の相互作用の近位点にN末端にて隣接するアミノ酸残基との間のアミノ酸残基の伸展を意味する（すなわち、連結領域は、サイトカインのC末端アミノ酸、または対応する第2のモノマーのDDとの相互作用の近位点を形成するDDのN末端アミノ酸を含有しない）。例えば、DDが1対のFcドメインである場合、連結領域は、サイトカインのC末端と、第2のFcドメインとのジスルフィド結合に参加するFcの最初のN末端システイン残基（例えば、EUNANバリングに準拠して、IgG1またはIgG4のFcドメインのシステイン226）との間のアミノ酸残基の伸展である。二量体化ドメインがポリペプチドでない場合、連結領域は、サイトカインのC末端から最後のアミノ酸までのアミノ酸残基の伸展である。例えば、DDがビオチン-ストレプトアビジンの対である場合、ビオチン含有モノマーの連結領域は、サイトカインのC末端とビオチン分子との間のアミノ酸残基の伸展であり、ストレプトアビジン含有モノマーの連結領域は、サイトカインのC末端とストレプトアビジン分子との間のアミノ酸残基の伸展である。

40

【0065】

本明細書で使用する場合、用語「マスク連結領域」または「MLR」は、PMとCPと

50

の間のアミノ酸残基の伸展を意味する。MLRは、CPのN末端からPMのC末端に及ぶ。したがって、MLRは、PM、PM及びリンカー、またはPM及び2個のリンカーを含有してよい。いくつかの態様では、MLRは、15～22個のアミノ酸に及ぶ。いくつかの態様では、MLRは、16～21個のアミノ酸に及ぶ。いくつかの態様では、MLRは、17～20個のアミノ酸に及ぶ。いくつかの態様では、MLRは、18～20個のアミノ酸に及ぶ。いくつかの態様では、MLRは、15、16、17、18、18、20、21または22個のアミノ酸に及ぶ。

【0066】

本明細書で使用する場合、用語「マスキング効率」は、対照サイトカインの活性によって分離される、切断されていないACCの活性（例えば、EC50）を意味し、対照サイトカインは、ACCの切断産物、またはACCのCPとして用いられるサイトカインであってよい。少なくとも1つのCP1及び／またはCP2活性のレベルが低減したACCは、10を超えるマスキング効率を有する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるACCは、10を超える、100を超える、1000を超える、または5000を超えるマスキング効率を有する。

【0067】

本明細書で使用する場合、用語「スペーサー」は、本明細書において、成熟ACCの遊離末端に、例えばシグナルペプチドと成熟ACCのN末端との間に組み込まれるアミノ酸残基またはペプチドを意味する。いくつかの態様では、スペーサー（または「ヘッダー」）は、グルタミン（Q）残基を含有してよい。いくつかの態様では、スペーサー内の残基は、アミノペプチダーゼ及び／またはエキソペプチダーゼ活性を最小限にして、N末端アミノ酸の開裂を防ぐ。例示的かつ非限定的なスペーサーアミノ酸配列は、以下：QGQSGS（配列番号246）；GQSGGS（配列番号247）；QSGGS（配列番号248）；SGS；GS；S；QGQSGQG（配列番号249）；GQSGQG（配列番号251）；QSGQG（配列番号252）；SGQG（配列番号253）；GQG；QG；G；QGQSGQ（配列番号254）；GQSGQ（配列番号255）；QSGQ（配列番号256）；QGQSG（配列番号257）；QGQS（配列番号258）；SGQ；GQ；及びQの例示的なアミノ酸配列のいずれかを含んでよい、またはからなってよい。いくつかの実施形態では、スペーサー配列は省略されてもよい。

【0068】

本明細書で 사용되는場合、サイトカインまたはFcドメインなどのポリペプチドは、野生型ポリペプチド（例えば、天然に存在するポリペプチド）、または野生型ポリペプチドの変異体であってよい。変異体は、変異体が野生型ポリペプチドの基本的な機能または活性を保持するという条件で、野生型ポリペプチドの1個以上のアミノ酸の置換、挿入、欠失及び／または付加によって変性されたポリペプチドであってよい。一部の例では、変異体は、野生型ポリペプチドと比較して、変更された（例えば、増大または低減した）機能または活性を有してよい。いくつかの態様では、変異体は、野生型ポリペプチドの機能的フラグメントであってよい。用語「機能的フラグメント」は、完全長のポリペプチド配列よりも、より少ないアミノ酸を含有し得るが、活性（例えば、サイトカイン活性）を与えるために十分なポリペプチド鎖の長さを含むポリペプチド（例えば、サイトカイン）の配列を意味する。

【0069】

第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体は、例えば1個以上のリンカーなど、追加の要素をさらに含んでもよい。追加の要素については、以下でさらに詳細に記載する。第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体のそれぞれにおけるCP、CM、PM及びDD構成成分の組織は、各モノマー構成体において同一の順序で配置されてよい。CP1、CM1、PM1及びDD1構成成分は、対応するCP2、CM2、PM2及びDD2と比較して、例えば、CP、CM及びPM構成成分（及びDD構成成分がポリペプチドである実施形態ではDD構成成分）の分子量、大きさ、アミノ酸配列などの観点から同一または異なってもよい。したがって、得られる二量体は、対称または非対称のモノマー構

10

20

30

40

50

成体構成成分を有してよい。

【0070】

いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体は、CP及びCM構成成分のN末端からC末端に、PM1、CM3、CP1、CM1、及びCM1のC末端に直接または間接的（リンカーを介して）に連結されるDD1を含む。その他の実施形態では、第1のモノマー構成体は、CP及びCM構成成分のC末端からN末端に、PM1、CM3、CP1、CM1、及びCM1のN末端に直接または間接的（リンカーを介して）に連結されるDD1を含む。いくつかの実施形態では、第2のモノマー構成体は、CP及びCM構成成分のN末端からC末端に、PM2、CM4、CP2、CM2、及びCM2のC末端に直接または間接的（リンカーを介して）に連結されるDD2を含む。いくつかの実施形態では、第2のモノマー構成体は、CP及びCM構成成分のC末端からN末端に、PM2、CM4、CP2、PM2、及びCM2のN末端に直接または間接的（リンカーを介して）に連結されるDD2を含む。一例では、第1のモノマー構成体は、PM1、CM3、CP1、CM1及びDD1を含む第1のポリペプチドを含む。一例では、第2のモノマー構成体は、CP2、CM2及びDD2を含む第2のポリペプチドを含む。別の例では、第2のモノマー構成体は、PM2、CM4、CP2、CM2及びDD2を含む第2のポリペプチドを含む。

10

【0071】

いくつかの実施形態では、CP及びDD構成成分は、プロテアーゼによって開裂可能でないリンカーによって連結される。例えば、CP及びDD構成成分は、開裂不可基質配列（NSUB）によって連結されてよい。いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体の一方はCPとDDとの間にNSUBを含み、もう一方はCPとDDとの間にCMを含む。いくつかの態様では、リンカーは、グリシン残基及びセリン残基を含有してよいが、プロテアーゼ開裂に影響されやしないアミノ酸基質配列であり得る。開裂不可リンカー配列の例は、米国特許第10,611,845B2号に記載されるものが挙げられ、同明細書は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。このような場合には、CP及び／またはDDは、プロテアーゼのための切断部位を有してもよい。

20

【0072】

本開示のACCの例は、以下の式によって提示され得る（モノマー1／モノマー2の形態で、各モノマーにおけるN末端からC末端）。

【0073】

PM1-CM3-CP1-CM1-DD1／PM2-CM4-CP2-CM2-DD2
PM1-CM3-CP1-CM1-DD1／CP2-CM2-DD2
DD1-CM1-CP1-CM3-PM1／DD2-CM2-CP2-CM4-PM2
DD1-CM1-CP1-CM3-PM1／DD2-CM2-CP2

30

【0074】

ACCは、構成成分間に1個以上のリンカーを含んでもよい。例えば、ACCは、PMとCPとの間に、及び／またはCPとDDとの間に1個以上のリンカーを含んでもよい。したがって、本明細書で使用する場合、及び特に指定のない限り、ACC構成成分間の各ダッシュ（-）は、直接的な連結または1個以上のリンカーを介した連結を示す。

【0075】

いくつかの態様では、ACCがN-PM-CM1-CP-CM2-DD-Cの方向性を有する場合、ACCのN末端からサイトカインのN末端アミノ酸までのアミノ酸の全体スパンは、17～71個のアミノ酸の長さである。いくつかの態様では、ACCがN-DD-CM1-CP-CM2-PM-Cの方向性を有する場合、ACCのC末端からサイトカインのC末端アミノ酸までのアミノ酸の全体スパンは、17～71個のアミノ酸の長さである。

40

【0076】

特定の実施形態では、第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体は、二量体の各メンバーの構成成分が、CP及びCM構成成分のN末端からC末端に、同じ順序で構成されるように方向付けられる。例示的なACCの概略図を、図1において提供する。図1を

50

参照して、A C Cは、N末端からC末端で、(1) P M 1 1 1 9、C M 3 1 1 7、C P 1 1 1 5、C M 1 1 1 3及びD D 1 1 1 1を有する第1のモノマー構成体1 1 0と；(2) 所望によりP M 2 1 2 9及びC M 4 1 2 7、C P 2 1 2 5、C M 2 1 2 3及びD D 2 1 2 1を有する第2のモノマー構成体1 2 0と；(3) 第2のモノマー構成体1 2 0に第1のモノマー構成体1 1 0を結合させる1個以上の共有または非共有結合（

【化1】

←→

10

）と、を含む。A C Cは、構成成分間に、1個以上の任意選択的リンカー1 1 2、1 1 4、1 1 6、1 1 8、1 2 2、1 2 4、1 2 6及び1 2 8をさらに含んでよい。一例では、D D 1 1 1 1及びD D 2 1 2 1は同一である。別の例では、D D 1 1 1 1及びD D 2 1 2 1は異なる。

【0077】

A C Cの構成成分を反対の方向で構成した、さらなる例示的なA C Cの概略図を図2に提供する。図2を参照して、A C Cは、C P及びC M構成成分のN末端からC末端に、(1) D D 1 2 1 1、C M 1 2 1 3、C P 1 2 1 5、C M 3 2 1 7及びP M 1 2 1 9を有する第1のモノマー構成体2 1 0と；(2) D D 2 2 2 1、C M 2 2 2 3、C P 2 2 2 5、ならびに所望によりC M 4 2 2 7及びP M 2 2 2 9を有する第2のモノマー構成体2 2 0と；(3) 第2のモノマー構成体2 2 0に第1のモノマー構成体2 1 0を結合させる1個以上の共有または非共有結合（

20

【化2】

←→

）と、を含む。A C Cは、構成成分間に、1個以上の任意選択的リンカー2 1 2、2 1 4、2 1 6、2 1 8、2 2 2、2 2 4、2 2 6及び2 2 8をさらに含んでよい。一例では、D D 1 2 1 1及びD D 2 2 2 1は同一である。別の例では、D D 1 2 1 1及びD D 2 2 2 1は異なる。

30

【0078】

別の例示的なA C Cの概略図を、図3において提供する。図3を参照して、A C Cは、N末端からC末端で、(1) P M 1 3 1 9、C M 3 3 1 7、C P 1 3 1 5、C M 1 3 1 3及びD D 1 3 1 1を有する第1のモノマー構成体3 1 0と；(2) C P 2 3 2 5、C M 2 3 2 3及びD D 2 3 2 1、ならびに所望によりP M 2 3 2 9及びC M 4 3 2 7を有する第2のモノマー構成体3 2 0と、を含む。D D 1 3 1 1及びD D 2 3 2 1は、結合パートナー、例えばリガンド／受容体の対または抗原／抗原結合ペプチドの対であり、その結果、D D 1及びD D 2は、共有結合または非共有結合で一緒に結合される。A C Cは、構成成分間に、1個以上の任意選択的リンカー3 1 2、3 1 4、3 1 6、3 1 8、3 2 2、3 2 4、3 2 6及び3 2 8をさらに含んでよい。一例では、D D 1 3 1 1及びD D 2 3 2 1は同一である。別の例では、D D 1 3 1 1及びD D 2 3 2 1は異なる。

40

【0079】

代替的な態様では、C P 1 3 1 5及びC P 2 3 2 5として示される2個の部分のいずれかは、サイトカイン活性を欠く、トランケートされたサイトカインタンパク質である。例えば、C P 1またはC P 2は、野生型インターフェロンα 2 bの最初の1 5 1個のアミノ酸を有する、トランケートされたインターフェロンα 2 bであってよい。代替的な態様では、C P 1 3 1 5及びC P 2 3 2 5として示される2個の部分のいずれかは、サイトカイン活性を欠く変異サイトカインタンパク質である。例えば、C P 1またはC P 2は、L 1 3 0 Pの変異を有する、トランケートされたインターフェロンα 2 bであってよ

50

い（例えば、配列番号 329）。代替的な態様では、CP1 315 及び CP2 325 として示される 2 個の部分のいずれかは、サイトカイン活性を欠くポリペプチド配列、例えばシグナル部分及び／またはスタブ（stub）配列である。代替的な態様では、CP1 315 及び CP2 325 として示される 2 個の部分の第 1 の部分は、CP1 315 及び CP2 325 として示される 2 個の部分の第 2 の部分に、高い親和性で結合し、第 2 の部分の対照レベルと比較して、第 2 の部分のサイトカイン活性を低減させるポリペプチド配列である。

【0080】

構成成分を反対の方向で構成した、別の例示的な ACC の概略図を図 4 に提供する。図 4 を参照して、ACC は、CP 及び CM 構成成分の N 末端から C 末端に、(1) DD1 411、CM1 413、CP1 415、CM3 417 及び PM1 419 を有する第 1 のモノマー構成体 410 と；(2) DD2 421、CM2 423、CP2 425、ならびに所望により CM4 427 及び PM2 429 を有する第 2 のモノマー構成体 420 と、を含む。DD1 411 及び DD2 421 は、結合パートナー、例えばリガンド／受容体の対または抗原／抗原結合ペプチドの対であり、その結果、DD1 及び DD2 は、共有結合または非共有結合で一緒に結合される。ACC は、構成成分間に、1 個以上の任意選択的リンカー 412、414、416、418、422、424、426 及び 428 をさらに含んでよい。一例では、DD1 411 及び DD2 421 は同一である。別の例では、DD1 411 及び DD2 421 は異なる。

【0081】

ACC 構造は、成熟サイトカインタンパク質構成成分が、活性化後に実質的にサイトカイン活性が損なわれないように活性を低減させるのに、極めて有効であることが発見された。ACC 内の CP の活性は、ACC の構造（例えば、二量体構造）及び ACC 内のペプチドマスク（複数可）の両方によって低減されてよい。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される ACC の活性化条件は、DD 及び PM の両方から CP を切り離すことができる、1 種以上のプロテアーゼに曝露することである。例えば、1 種以上のプロテアーゼは、CP と PM との間の CM、及び CP と DD との間の CM を切断してよい。実施例に示されるように、ACC の活性化は、サイトカイン活性の実質的な回復をもたらした。これらの結果は、ACC の状況内で、サイトカイン構成成分のコンフォメーションが、不可逆的には変えられなかったことを示唆している。重要なことに、本発明者らは、本発明の構造は、二量体化ドメイン、及びサイトカインタンパク質に対する特異的な結合親和性を有する 1 種以上のペプチドマスクの両方を利用して、ペプチドマスク単独でまたは二量体化ドメイン単独での使用以上に、実質的なマスキング効果を達成したと思われることを発見した。

【0082】

ACC は、各種の成熟サイトカインタンパク質、開裂可能部分、ペプチドマスク及び二量体化ドメインのいずれかを、それぞれ CP1、CP2、CM1、CM2、CM3、CM4、PM1、PM2、DD1、及び DD2 として用いてよい。例えば、当該技術分野において既知である、各種の成熟サイトカインタンパク質、またはそれらの配列及び／またはトランケート型変異体のいずれかは、ACC の CP1 及び CP2 構成成分の一方または両方としての使用に好適であり得る。成熟サイトカインタンパク質、CP1 及び CP2 は、同一または異なってもよい。ある特定の実施形態では、CP1 及び CP2 は同一である。その他の実施形態では、CP1 及び CP2 は異なる。ACC は、CP1 及び／または CP2 の N 末端及び／または C 末端の一方または両方で、追加のアミノ酸残基を含んでよい。

【0083】

いくつかの実施形態では、CP1 及び／または CP2 は、それぞれ独立して、インターフェロン（例えばインターフェロン α 、インターフェロン β 、インターフェロン γ 、インターフェロン τ 及びインターフェロン ω など）、インターロイキン（例えば IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1RA、IL-18、IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-13、IL-15、IL-3、IL-5、GM-CSF、IL-6、IL-11、I

10

20

30

40

50

L-21 など)、G-CSF、IL-12、LIF、OSM、IL-10、IL-20、IL-14、IL-16、IL-17、CD154、LT- β 、TNF- α 、TNF- β 、4-1BBL、APRIL、CD27、CD70、CD153、CD178、GITRL、LIGHT、OX40L、OX40、TALL-1、TRAIL、TWEAK、TRANCE、TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3、EPOo、TPO、Flt-3L、SCF、M-CSF 及び MSP など、ならびにそれらの配列及び／またはトランケート型変異体からなる群から選択される成熟サイトカインタンパク質を含んでよい。特に、併用で用いられる ACC は、IL-2、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-15、IL-21、IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、GM-CSF、TGF- β 、LIGHT、GITRL、CD40L、CD27L、4-1BB-L、OX40、OX40L を含有してよい。例えば、このようなタンパク質の配列としては表 11 の配列が挙げられ、配列の追加の例は、ncbi.nlm.nih.gov/protein から入手できる。本発明の ACC での使用に好適なトランケート型変異体としては、サイトカイン活性を保持する、任意の、N 末端または C 末端にてトランケートされたサイトカインが挙げられる。本発明にて用いられる例示的なトランケート型変異体としては、当該技術分野において既知であるトランケートされたサイトカインポリペプチドのいずれか（例えば、Slutzki et al., J. Mol. Biol. 360:1019-1030, 2006 及び US 2009/0025106 参照）、ならびにサイトカイン活性を保持する、1～約 40 個のアミノ酸、1～約 35 個のアミノ酸、1～約 30 個のアミノ酸、1～約 25 個のアミノ酸、1～約 20 個のアミノ酸、1～約 15 個のアミノ酸、1～約 10 個のアミノ酸、1～約 8 個のアミノ酸、1～約 6 個のアミノ酸、1～約 4 個のアミノ酸が、N 及び／または C 末端にてトランケートされたサイトカインポリペプチドが挙げられる。前述の実施形態のいくつかでは、トランケートされた CP は、N 末端にてトランケートされた CP である。その他の実施形態では、トランケートされた CP は、C 末端にてトランケートされた CP である。特定の実施形態は、トランケートされた CP は、C 末端及び N 末端にてトランケートされた CP である。

10

20

30

40

50

【0084】

いくつかの実施形態では、CP1 及び／または CP2 は、それぞれ独立して、配列番号 101、配列番号 102、配列番号 103、配列番号 104、配列番号 105、配列番号 106、配列番号 107、配列番号 108、配列番号 109、配列番号 110、配列番号 111、配列番号 112、配列番号 113、配列番号 114、配列番号 115、配列番号 116、配列番号 117、配列番号 118、配列番号 119、配列番号 12、配列番号 121、配列番号 122、配列番号 123、配列番号 124、配列番号 125、配列番号 126、配列番号 127、配列番号 128、配列番号 129、配列番号 130、配列番号 131、配列番号 132、配列番号 133、配列番号 134、配列番号 135、配列番号 136、配列番号 137、配列番号 138、配列番号 139、配列番号 140、配列番号 141、配列番号 142、配列番号 143、配列番号 144、配列番号 145、配列番号 146、配列番号 147、配列番号 148、配列番号 149、配列番号 150、配列番号 151、配列番号 152、配列番号 153、配列番号 154、配列番号 155、配列番号 156、配列番号 157、配列番号 158、配列番号 159、配列番号 160、配列番号 161、配列番号 162、配列番号 163、配列番号 164、配列番号 165、配列番号 166、配列番号 167、配列番号 168、配列番号 169、配列番号 170、配列番号 171、配列番号 172、配列番号 173、配列番号 174、配列番号 175、配列番号 176、配列番号 177、配列番号 178、配列番号 179、配列番号 180、配列番号 181、配列番号 182、配列番号 183、配列番号 184、配列番号 185、配列番号 186、配列番号 187、配列番号 188、配列番号 189、配列番号 190、配列番号 191、配列番号 192、配列番号 193、配列番号 194、配列番号 195、配列番号 196、配列番号 197、配列番号 198、配列番号 199、配列番号 200、配列番号 201、配列番号 202、配列番号 203、配列番号 204、配列番号 205、配列番号 206、配列番号 207、配列番号 208、及び配列番号 209 からなる群から選択される

サイトカイン参照配列と、少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%、少なくとも84%、少なくとも86%、少なくとも88%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%同一である）であるアミノ酸配列を含む。配列同一性のパーセンテージは、シーケンスアライメントプログラム、例えばインターネット上でNCBIウェブサイト一般公開されているBLASTプログラムセットを用いてアライメントしたときの、2個以上のペプチド配列間におけるアミノ酸配列の同一性レベルを意味する。Altschul et al., J. Mol. Biol. 215: 403-10, 1990も参照されたい。いくつかの態様では、ACCは、インターフェロン α 2b変異体、例えば、配列番号1と比較して、L130の位置における変異、例えばL130P変異を有するインターフェロン α 2b分子（例えば、配列番号329）を、CP1またはCP2として含有する。いくつかの態様では、ACCは、I24、F64、I60、I63、F64、W76、I116、L117、F123もしくはL128、またはこれらの組み合わせの位置における変異を有する、インターフェロン α 2b変異体を含む。例えば、インターフェロン α 2b変異体は、I116がT、NもしくはRに；L128がN、HもしくはRに；I24がPもしくはQに；L117H；またはL128T、またはこれらの組み合わせの変異を含有してよい。いくつかの態様では、インターフェロン α 2b変異体は、I24Q、I60T、F64A、W76H、I116R及びL128N、またはこれらのサブセットの変異を含有してよい。いくつかの態様では、ACCは、CP1及びCP2のいずれかとして、サイトカイン活性を欠くトランケートされたインターフェロン α 2b分子を含有する。例えば、トランケートされたインターフェロン α 2bは、インターフェロン α 2bの151個以下のアミノ酸、例えば野生型インターフェロン α 2b配列のN末端からC末端までの1~151個、1~150個、1~149個、1~148個...1~10個、1~9個、1~8個、1~7個、1~6個、または2~151個、3~151個、4~151個、5~150個、6~149個、7~148個、8~147個のいずれか1つのアミノ酸、またはこれらのアミノ酸もしくは変異体の任意の介在配列からなるとよい。

10

20

30

40

50

【0085】

ある特定の実施形態では、CP1及び／またはCP2は、インターフェロンを含む。本発明の構成体での、CP1及び／またはCP2としての使用に好適なインターフェロンとしては、例えば、インターフェロン α 、インターフェロン β 、インターフェロン γ 、インターフェロン ω 及びインターフェロン τ が挙げられる。いくつかの実施形態では、インターフェロンがインターフェロン α である場合、インターフェロン α -2a、インターフェロン α -2bまたはインターフェロン α -n3であってよい。インターフェロン α のさらなる例としては、インターフェロン α -1、インターフェロン α -4、インターフェロン α -5、インターフェロン α -6、インターフェロン α -7、インターフェロン α -8、インターフェロン α -10、インターフェロン α -13、インターフェロン α -14、インターフェロン α -16、インターフェロン α -17及びインターフェロン α -21が挙げられる。いくつかの実施形態では、インターフェロンは、組み換えまたは精製インターフェロン α である。特定の実施形態では、インターフェロンがインターフェロン β である場合、インターフェロン β -1a及びインターフェロン β -1bからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、CP1及び／またはCP2はIFabドメインを含み、これはインターフェロン α またはインターフェロン β において見いだされる保存的タンパク質ドメインである。IFabドメインは、インターフェロンのサイトカイン放出及び抗ウイルス機能を担っている。例示的なIFab配列は、配列番号482~491に提供される。一例では、CP1及びCP2は、異なるインターフェロンである。別の例では、CP1及びCP2は同一のインターフェロンである。

【0086】

いくつかの実施形態では、CP1及び／またはCP2は、インターフェロン活性を示し、配列番号1、配列番号101、配列番号102、配列番号103、配列番号104及び

配列番号 105 からなる群から選択されるインターフェロン α 参照配列に、少なくとも 80% 同一である、少なくとも 82% 同一である、少なくとも 84% 同一である、少なくとも 86% 同一である、少なくとも 88% 同一である、少なくとも 90% 同一である、少なくとも 92% 同一である、少なくとも 94% 同一である、少なくとも 96% 同一である、少なくとも 98% 同一である、または少なくとも 99% 同一である、または 100% 同一であるアミノ酸配列を含有する。ある特定の実施形態では、インターフェロン α 参照配列は、配列番号 1 (ヒトインターフェロン $\alpha-2b$) である。いくつかの実施形態では、C P 1 及び／または C P 2 は、配列番号 1、配列番号 101、配列番号 102、配列番号 103、配列番号 104 及び配列番号 105 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する成熟 α インターフェロンを含む。特定の実施形態では、C P 1 及び／または C P 2 は、配列番号 1 のアミノ酸配列を有する成熟ヒト α インターフェロンを含む。上述した実施形態のいくつかにおいて、C P 1 及び C P 2 は、同一のアミノ酸配列を含む。

10

【0087】

その他の実施形態では、C P 1 及び／または C P 2 は、インターフェロン活性を示し、配列番号 106、配列番号 107、配列番号 108 及び配列番号 109 からなる群から選択されるインターフェロン β 参照配列に、少なくとも 80% 同一である、少なくとも 82% 同一である、少なくとも 84% 同一である、少なくとも 86% 同一である、少なくとも 88% 同一である、少なくとも 90% 同一である、少なくとも 92% 同一である、少なくとも 94% 同一である、少なくとも 96% 同一である、少なくとも 98% 同一である、または少なくとも 99% 同一である、または 100% 同一であるアミノ酸配列を含有する。特定の実施形態では、インターフェロン β 参照配列は、配列番号 106 及び配列番号 107 からなる群から選択されるヒトインターフェロン β 参照配列である。いくつかの実施形態では、C P 1 及び／または C P 2 は、配列番号 106、配列番号 107、配列番号 108 及び配列番号 109 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する成熟 β インターフェロンを含む。上述の実施形態のいくつかでは、C P 1 及び C P 2 は同一のアミノ酸配列を含む。

20

【0088】

いくつかの実施形態では、C P 1 及び／または C P 2 は、インターフェロン活性を示し、配列番号 110 (ヒトインターフェロン ω) に相当するインターフェロン ω 参照配列に、少なくとも 80% 同一である、少なくとも 82% 同一である、少なくとも 84% 同一である、少なくとも 86% 同一である、少なくとも 88% 同一である、少なくとも 90% 同一である、少なくとも 92% 同一である、少なくとも 94% 同一である、少なくとも 96% 同一である、少なくとも 98% 同一である、または少なくとも 99% 同一である、または 100% 同一であるアミノ酸配列を含有する。ある特定の実施形態では、C P 1 及び／または C P 2 は、配列番号 110 のアミノ酸配列を有する成熟ヒト ω インターフェロンを含む。上述の実施形態のいくつかでは、C P 1 及び C P 2 は同一のアミノ酸配列を含む。

30

【0089】

いくつかの実施形態では、C P 1 及び／または C P 2 は、インターロイキン活性を示し、配列番号 111、配列番号 112、配列番号 113、配列番号 114、配列番号 115、配列番号 116、配列番号 117、配列番号 118、配列番号 119、配列番号 120、配列番号 121、配列番号 122、配列番号 123、配列番号 124、配列番号 125、配列番号 126、配列番号 127、配列番号 128、配列番号 129、配列番号 130、配列番号 131、配列番号 132、配列番号 133、配列番号 134、配列番号 135、配列番号 136、配列番号 137、配列番号 138、配列番号 139、配列番号 140、配列番号 143、配列番号 144、配列番号 145、配列番号 146、配列番号 151、配列番号 152、配列番号 153、配列番号 154、配列番号 155、配列番号 156、配列番号 157、配列番号 158、配列番号 159、及び配列番号 160 からなる群から選択されるインターロイキン参照配列に、少なくとも 80% 同一である、少なくとも 82%、少なくとも 84%、少なくとも 86%、少なくとも 88%、少なくとも 90%、少なくとも 92%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 9

40

50

7%、少なくとも98%、または少なくとも99%同一である、または100%同一であるアミノ酸配列を含有する。いくつかの実施形態では、CP1及び／またはCP2は、配列番号111、配列番号112、配列番号113、配列番号114、配列番号115、配列番号116、配列番号117、配列番号118、配列番号119、配列番号12、配列番号121、配列番号122、配列番号123、配列番号124、配列番号125、配列番号126、配列番号127、配列番号128、配列番号129、配列番号130、配列番号131、配列番号132、配列番号133、配列番号134、配列番号135、配列番号136、配列番号137、配列番号138、配列番号139、配列番号140、配列番号143、配列番号144、配列番号145、配列番号146、配列番号151、配列番号152、配列番号153、配列番号154、配列番号155、配列番号156、配列番号157、配列番号158、配列番号159、及び配列番号160からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する成熟インターロイキンを含む。上述の実施形態のいくつかでは、CP1及びCP2は同一のアミノ酸配列を含む。

10

【0090】

いくつかの実施形態では、CP1及び／またはCP2は、インターロイキン活性を示し、配列番号111（ヒトIL-1 α ）、配列番号113（ヒトIL-1 β ）、配列番号115（ヒトIL-1RA）、配列番号117（ヒトIL-18）、配列番号119（ヒトIL-2）、配列番号121（ヒトIL-4）、配列番号123（ヒトIL-7）、配列番号125（ヒトIL-9）、配列番号127（ヒトIL-13）、配列番号129（ヒトIL-15）、配列番号131（ヒトIL-3）、配列番号133（ヒトIL-5）、配列番号137（ヒトIL-6）、配列番号139（ヒトIL-11）、配列番号143（ヒトIL-12 α ）、配列番号144（ヒトIL-12 β ）、配列番号151（ヒトIL-10）、配列番号153（ヒトIL-20）；配列番号155（ヒトIL-14）、配列番号157（ヒトIL-16）及び配列番号159（ヒトIL-17）からなる群から選択されるインターロイキン参照配列に、少なくとも80%同一である、少なくとも82%、少なくとも84%、少なくとも86%、少なくとも88%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含有する。これらの特定の実施形態では、CP1及び／またはCP2は、配列番号111（ヒトIL-1 α ）、配列番号113（ヒトIL-1 β ）、配列番号115（ヒトIL-1RA）、配列番号117（ヒトIL-18）、配列番号119（ヒトIL-2）、配列番号121、配列番号123（ヒトIL-7）、配列番号125（ヒトIL-9）、配列番号127（ヒトIL-13）、配列番号129（ヒトIL-15）、配列番号131（ヒトIL-3）、配列番号133（ヒトIL-5）、配列番号137（ヒトIL-6）、配列番号139（ヒトIL-11）、配列番号143（ヒトIL-12 α ）、配列番号144（ヒトIL-12 β ）、配列番号151（ヒトIL-10）、配列番号153（ヒトIL-20）；配列番号155（ヒトIL-14）、配列番号157（ヒトIL-16）及び配列番号159（ヒトIL-17）からなる群からのアミノ酸配列を含む。上述の実施形態のいくつかでは、CP1及びCP2は同一のアミノ酸配列を含む。

20

30

【0091】

用いられるサイトカインタンパク質の配列におけるアミノ酸の数は、用いられる特定のサイトカインタンパク質に応じて変動してよい。いくつかの実施形態では、CP1及び／またはCP2は、合計、約10個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約600個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約550個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約500個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約450個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約400個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約350個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約300個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約250個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約200個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約150個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約100個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約80個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約60個のア

40

50

50

ミノ酸、約250個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約250個のアミノ酸～約600個のアミノ酸、約250個のアミノ酸～約550個のアミノ酸、約250個のアミノ酸～約500個のアミノ酸、約250個のアミノ酸～約450個のアミノ酸、約250個のアミノ酸～約400個のアミノ酸、約250個のアミノ酸～約350個のアミノ酸、約250個のアミノ酸～約300個のアミノ酸、約300個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約300個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約300個のアミノ酸～約600個のアミノ酸、約300個のアミノ酸～約550個のアミノ酸、約300個のアミノ酸～約500個のアミノ酸、約300個のアミノ酸～約450個のアミノ酸、約300個のアミノ酸～約400個のアミノ酸、約300個のアミノ酸～約350個のアミノ酸、約350個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約350個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約350個のアミノ酸～約600個のアミノ酸、約350個のアミノ酸～約550個のアミノ酸、約350個のアミノ酸～約500個のアミノ酸、約350個のアミノ酸～約450個のアミノ酸、約350個のアミノ酸～約400個のアミノ酸、約400個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約400個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約400個のアミノ酸～約600個のアミノ酸、約400個のアミノ酸～約550個のアミノ酸、約400個のアミノ酸～約500個のアミノ酸、約400個のアミノ酸～約450個のアミノ酸、約450個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約450個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約450個のアミノ酸～約600個のアミノ酸、約450個のアミノ酸～約550個のアミノ酸、約450個のアミノ酸～約500個のアミノ酸、約500個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約500個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約500個のアミノ酸～約600個のアミノ酸、約500個のアミノ酸～約550個のアミノ酸、約550個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約550個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約550個のアミノ酸～約600個のアミノ酸、約600個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約600個のアミノ酸～約650個のアミノ酸または約650個のアミノ酸～約700個のアミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、CP1及び／またはCP2は、成熟野生型ヒトサイトカインタンパク質である。

10

20

30

40

50

【0092】

ACCの各モノマー構成体は、各種の二量体化ドメインのいずれかを用いてよい。好適なDDとしては、高分子型（例えば、合成ポリマー、ポリペプチド、ポリヌクレオチドなど）及び小分子型（約1キロダルトン未満、時には約800ダルトン未満の分子量を有する非高分子部分）の部分の両方が挙げられる。1対のDDは、互いに結合することが当該技術分野において既知である、任意の部分の対であってよい。

【0093】

例えば、いくつかの実施形態では、DD1及びDD2は、ヒトIL-15受容体のアルファ鎖（IL15R α ）からのスシ（sushi）ドメイン及び可溶性IL-15；バルナーゼ及びバルスター；プロテインキナーゼA（PKA）及びAキナーゼアンカータンパク質（AKAP）；変異RNaseIFラグメントベースのアダプタ／ドッキングタグ分子；1対の抗原結合ドメイン（例えば、1対のシングルドメイン抗体）；可溶性N-エチルマレイミド感受性因子付着タンパク質受容体（SNARE）；タンパク質シタキシン、シナプトタグミン、シナプトブレビン及びSNAP25の相互作用に基づくモジュール；シングルドメイン抗体（sdAb）及び対応するエピトープ；抗原結合ドメイン（例えば、単鎖可変領域フラグメント（scFv）、シングルドメイン抗体などの1本鎖抗体）及び対応するエピトープ；コイルドコイルポリペプチド構造（例えば、Fos-Junコイルドコイル構造、酸／塩基コイルドコイルヘリックス、Glu-Lysコイルドコイルヘリックス、ロイシンジッパー構造）、ビオチン及びアビジンまたはストレプトアビジン、アミン／アルデヒド、レクチン／炭水化物のような小分子が結合した対；互いに結合できる1対のポリマー、例えば1対の硫黄またはチオール含有ポリマー（例えば、1対のFcドメイン、1対のチオール化ヒト血清アルブミンポリペプチドなど）；などからなる群から選択される1対のメンバーである。

【0094】

いくつかの実施形態では、DD 1 及び DD 2 は、非ポリペプチドポリマーである。非ポリペプチドポリマーは、互いに共有結合してよい。いくつかの例では、非ポリペプチドポリマーは、硫黄含有ポリマー、例えば硫黄含有ポリエチレングリコールであってよい。このような場合、DD 1 及び DD 2 は、1 個以上のジスルフィド結合を介して、互いに共有結合してよい。

【0095】

1 対の DD 1 及び DD 2 が、1 対のエピトープ及び抗原結合ドメインのメンバーである場合、エピトープは、天然または非天然のエピトープであってよい。例示的な非天然のエピトープとしては、例えば、ポリHis ペプチド（例えば、His タグなど）などの非天然のペプチドが挙げられる。

10

【0096】

ある特定の実施形態では、DD 1 及び DD 2 は、1 対の Fc ドメインである。本明細書で使用する場合、「Fc ドメイン」は、免疫グロブリンの単一の重鎖の隣接するアミノ酸配列、例えば Ig G、Ig A もしくは Ig D の CH2-CH3 ドメイン、または Ig E もしくは Ig M の CH2-CH3-CH4 ドメインなどを意味する。1 対の Fc ドメインと一緒に結合して、免疫グロブリンの Fc 領域を形成する。

【0097】

いくつかの実施形態では、1 対の Fc ドメインは、1 対のヒト Fc ドメイン（例えば、1 対の野生型ヒト Fc ドメイン）である。いくつかの実施形態では、ヒト Fc ドメインは、ヒト Ig G 1 の Fc ドメイン（例えば、野生型ヒト Ig G 1 の Fc ドメイン）、ヒト Ig G 2 の Fc ドメイン（例えば、野生型ヒト Ig G 2 の Fc ドメイン）、ヒト Ig G 3 の Fc ドメイン（例えば、野生型ヒト Ig G 3 の Fc ドメイン）、またはヒト Ig G 4 の Fc ドメイン（例えば、野生型ヒト Ig G 4 の Fc ドメイン）である。いくつかの実施形態では、ヒト Fc ドメインは、配列番号 3 に少なくとも 80 % 同一である（例えば、少なくとも 82 %、少なくとも 84 %、少なくとも 85 %、少なくとも 86 %、少なくとも 88 %、少なくとも 90 %、少なくとも 92 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % または 100 % 同一である）配列を含む。

20

【0098】

いくつかの実施形態では、1 対の Fc ドメインは、Fc ドメインのノブ変異体及びホール変異体を含む。ノブ及びホール変異体は、互いに相互作用して二量体化を促進してよい。いくつかの実施形態では、ノブ及びホール変異は、2 個の Fc ドメイン間の境界面内に（例えば、CH3 ドメインに）、1 個以上のアミノ酸修飾を含んでよい。一例では、修飾には、抗体重鎖の一方におけるアミノ酸置換 T366W、及び所望によりアミノ酸置換 S354C、ならびに抗体重鎖のもう一方におけるアミノ酸置換 T366S、L368A、Y407V、及び所望により Y349C が含まれる（Kabat 番号付けシステムの EU インデックスに準拠して番号付け）。ノブアンドホール変異体の例としては、配列番号 318 及び 319 の Fc 変異体、ならびに米国特許第 5,731,168 号、同第 7,695,936 号、及び同第 10,683,368 号に記載されるものが挙げられ、同明細書は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、二量体化ドメインは、それぞれ配列番号 318 及び 319 に、少なくとも 80 % 同一である（例えば、少なくとも 82 %、少なくとも 84 %、少なくとも 85 %、少なくとも 86 %、少なくとも 88 %、少なくとも 90 %、少なくとも 92 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % または 100 % 同一である）配列を含む。

30

40

【0099】

いくつかの実施形態では、DD 1 及び／または DD 2 は、血清半減期延長部分（例えば、免疫グロブリン（例えば、Ig G）または血清アルブミン（例えば、ヒト血清アルブミン（HSA）などの血清タンパク質に結合するポリペプチド）をさらに含むことができる。半減期延長部分の例としては、ヘキサ-hat GST（グルタチオンSトランスフェ

50

ラーゼ) グルタチオンアフィニティー、カルモジュリン結合ペプチド (C B P)、ストレップタグ、セルロース結合ドメイン、マルトース結合タンパク質、S-ペプチドタグ、キチン結合タグ、免疫反応性エピトープ、エピトープタグ、E 2 T a g、H A エピトープタグ、M y c エピトープ、F L A G エピトープ、A U 1 及び A U 5 エピトープ、G l u - G l u エピトープ、K T 3 エピトープ、I R S エピトープ、B t a g エピトープ、プロテインキナーゼ-C エピトープ、ならびに V S V エピトープが挙げられる。

【0100】

いくつかの実施形態では、D D 1 及び／または D D 2 はそれぞれ、合計、約 5 個のアミノ酸～約 250 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 200 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 180 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 160 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 140 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 120 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 100 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 80 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 60 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 40 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 20 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 10 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 250 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 200 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 180 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 160 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 140 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 120 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 100 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 80 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 60 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 40 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 20 個のアミノ酸、約 20 個のアミノ酸～約 250 個のアミノ酸、約 20 個のアミノ酸～約 200 個のアミノ酸、約 20 個のアミノ酸～約 180 個のアミノ酸、約 20 個のアミノ酸～約 160 個のアミノ酸、約 20 個のアミノ酸～約 140 個のアミノ酸、約 20 個のアミノ酸～約 120 個のアミノ酸、約 20 個のアミノ酸～約 100 個のアミノ酸、約 20 個のアミノ酸～約 80 個のアミノ酸、約 20 個のアミノ酸～約 60 個のアミノ酸、約 20 個のアミノ酸～約 40 個のアミノ酸、約 40 個のアミノ酸～約 250 個のアミノ酸、約 40 個のアミノ酸～約 200 個のアミノ酸、約 40 個のアミノ酸～約 180 個のアミノ酸、約 40 個のアミノ酸～約 160 個のアミノ酸、約 40 個のアミノ酸～約 140 個のアミノ酸、約 40 個のアミノ酸～約 120 個のアミノ酸、約 40 個のアミノ酸～約 100 個のアミノ酸、約 40 個のアミノ酸～約 80 個のアミノ酸、約 40 個のアミノ酸～約 60 個のアミノ酸、約 60 個のアミノ酸～約 250 個のアミノ酸、約 60 個のアミノ酸～約 200 個のアミノ酸、約 60 個のアミノ酸～約 180 個のアミノ酸、約 60 個のアミノ酸～約 160 個のアミノ酸、約 60 個のアミノ酸～約 140 個のアミノ酸、約 60 個のアミノ酸～約 120 個のアミノ酸、約 60 個のアミノ酸～約 100 個のアミノ酸、約 60 個のアミノ酸～約 80 個のアミノ酸、約 80 個のアミノ酸～約 250 個のアミノ酸、約 80 個のアミノ酸～約 200 個のアミノ酸、約 80 個のアミノ酸～約 180 個のアミノ酸、約 80 個のアミノ酸～約 160 個のアミノ酸、約 80 個のアミノ酸～約 140 個のアミノ酸、約 80 個のアミノ酸～約 120 個のアミノ酸、約 80 個のアミノ酸～約 100 個のアミノ酸、約 100 個のアミノ酸～約 250 個のアミノ酸、約 100 個のアミノ酸～約 200 個のアミノ酸、約 100 個のアミノ酸～約 180 個のアミノ酸、約 100 個のアミノ酸～約 160 個のアミノ酸、約 100 個のアミノ酸～約 140 個のアミノ酸、約 100 個のアミノ酸～約 120 個のアミノ酸、約 120 個のアミノ酸～約 250 個のアミノ酸、約 120 個のアミノ酸～約 200 個のアミノ酸、約 120 個のアミノ酸～約 180 個のアミノ酸、約 120 個のアミノ酸～約 160 個のアミノ酸、約 120 個のアミノ酸～約 140 個のアミノ酸、約 140 個のアミノ酸～約 250 個のアミノ酸、約 140 個のアミノ酸～約 200 個のアミノ酸、約 140 個のアミノ酸～約 180 個のアミノ酸、約 140 個のアミノ酸～約 160 個のアミノ酸、約 160 個のアミノ酸～約 250 個のアミノ酸、約 160 個のアミノ酸～約 200 個のアミノ酸、約 160 個のアミノ酸～約 180 個のアミノ酸、約 180 個のアミノ酸～約 250 個のアミノ酸、約 180 個のアミノ酸～約 200 個のアミノ酸または約 200 個のアミノ酸～約 250 個のアミノ酸を含有する。いくつかの実施形態では、D D 1 及び D D 2 は、それぞれ、2 個のシステイン残基を含有するヒンジ領域

10

20

30

40

50

の一部、CH₂ドメイン及びCH₃ドメインを含むFcドメインである。いくつかの実施形態では、DD1及びDD2は、それぞれ、N末端が、第2のFcドメインとのジスルフィド結合に参加するヒンジ領域における最初のシステイン残基（N末端からC末端方向への読み取り）である、Fcドメインである（例えば、EUナンバリングを使用して、ヒトIgG1またはIgG4のシステイン226）。

【0101】

いくつかの態様では、CP構成成分とDD構成成分との間に、及び／またはCP構成成分とPM構成成分との間に、直接的にまたは間接的に（例えばリンカーを介して）置かれるのは、プロテアーゼの基質を含む開裂可能部分である。いくつかの実施形態では、CMは、それぞれ独立して、ADAM8、ADAM9、ADAM10、ADAM12、ADAM15、ADAM17／TACE、ADEMDEC1、ADAMTS1、ADAMTS4、ADAMTS5、BACE、レニン、カテプシンD、カテプシンE、カスパーゼ1、カスパーゼ2、カスパーゼ3、カスパーゼ4、カスパーゼ5、カスパーゼ6、カスパーゼ7、カスパーゼ8、カスパーゼ9、カスパーゼ10、カスパーゼ14、カテプシンA、カテプシンB、カテプシンC、カテプシンG、カテプシンK、カテプシンL、カテプシンS、カテプシンV／L2、カテプシンX／Z／P、キマーゼ、クルジパイン、DESC1、DPP-4、FAP、レグマイン、オツベイン-2（Otubain-2）、エラスターゼ、FVIIa、FIXa、FXa、FXIIa、FXIIa、グランザイムB、グアニジノベンゾアターゼ、ヘプシン、HtrA1、ヒト好中球エラスターゼ、KLK4、KLK5、KLK6、KLK7、KLK8、KLK10、KLK11、KLK13、KLK14、ラクトフェリン、マラプシン（Marapsin）、マトリプターゼ-2、メプリン、MT-SP1／マトリプターゼ、ネプリライシン、NS3／4A、PACE4、プラスミン、PSMA、PSA、BMP-1、MMP1、MMP2、MMP3、MMP7、MMP8、MMP9、MMP10、MMP11、MMP12、MMP13、MMP14、MMP15、MMP16、MMP17、MMP19、MMP20、MMP23、MMP24、MMP26、MMP27、TMPRSS2、TMPRSS3、TMPRSS4、tPA、トロニン、トリプターゼ及びuPA、ならびにこれらの2個以上の任意の組み合わせからなる群から選択されるプロテアーゼの基質を含んでよい。

【0102】

本明細書に記載されるACCのいずれかの、いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるCMのいずれかを切断するプロテアーゼは、ADAM8、ADAM9、ADAM10、ADAM12、ADAM15、ADAM17／TACE、ADEMDEC1、ADAMTS1、ADAMTS4、ADAMTS5、BACE、レニン、カテプシンD、カテプシンE、カスパーゼ1、カスパーゼ2、カスパーゼ3、カスパーゼ4、カスパーゼ5、カスパーゼ6、カスパーゼ7、カスパーゼ8、カスパーゼ9、カスパーゼ10、カスパーゼ14、カテプシンB、カテプシンC、カテプシンK、カテプシンL、カテプシンS、カテプシンV／L2、カテプシンX／Z／P、クルジパイン、レグマイン、オツベイン-2（Otubain-2）、KLK4、KLK5、KLK6、KLK7、KLK8、KLK10、KLK11、KLK13、KLK14、メプリン、ネプリライシン、PSMA、BMP-1、MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-7、MMP-9、MMP-10、MMP-11、MMP-12、MMP-13、MMP-14、MMP-15、MMP-16、MMP-17、MMP-19、MMP-20、MMP-23、MMP-24、MMP-26、MMP-27、活性化タンパク質C、カテプシンA、カテプシンG、キマーゼ、FVIIa、FIXa、FXa、FXIIa、FXIIa、エラスターゼ、グランザイムB、グアニジノベンゾアターゼ、HtrA1、ヒト好中球リアーゼ、ラクトフェリン、マラプシン（marapsin）、NS3／4A、PACE4、プラスミン、PSA、tPA、トロニン、トリプターゼ、uPA、DESC1、DPP-4、FAP、ヘプシン、マトリプターゼ-2、MT-SP1／マトリプターゼ、TMPRSS2、TMPRSS3及びTMPRSS4、ならびにこれらの2個以上の任意の組み合わせであることができる。

。

【0103】

本明細書に記載されるACCのいずれかのいくつかの実施形態では、プロテアーゼは、uPA、レグマイン、MT-SP1、ADAM17、BMP-1、TMPRSS3、TMPRSS4、MMP-2、MMP-9、MMP-12、MMP-13、及びMMP-14の群から選択される。

【0104】

既知の基質を有するプロテアーゼのレベルの上昇が、多数のがんにて報告されている。例えば、La Roca et al., British J. Cancer 90 (7) : 1414-1421, 2004を参照されたい。本明細書で用いられるCM構成成分での使用に好適な基質としては、がん細胞及び組織中により広く見いだされる基質が挙げられる。したがって、特定の実施形態において、CMはそれぞれ独立して、がんに関連する疾患組織中でより広く見いだされるプロテアーゼの基質を含む。いくつかの実施形態では、がんは、胃癌、乳癌、骨肉腫及び食道癌からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、がんは乳癌である。いくつかの実施形態では、がんは、HER2陽性癌である。いくつかの実施形態では、がんは、カボジ肉腫、毛様細胞性白血病、慢性骨髄性白血病(CML)、濾胞性リンパ腫、腎細胞癌(RCC)、黒色腫、神経芽細胞腫、基底細胞癌、悪性皮膚T細胞リンパ腫、鼻咽頭腺癌、乳癌、卵巣癌、膀胱癌、BCG耐性筋層非浸潤性膀胱癌(NMIBC)、子宮内膜癌、脾臓癌、非小細胞肺癌(NSCLC)、大腸癌、食道癌、胆嚢癌、神経膠腫、頭頸部癌、子宮癌、子宮頸癌または精巣癌などである。上述した実施形態のいくつかでは、CM構成成分は、腫瘍組織中により行き渡っているプロテアーゼ(複数可)の基質を含む。

【0105】

いくつかの実施形態では、CMは、それぞれ独立して、配列番号5～配列番号100、及びそれらのC末端及びN末端トランケート型変異体からなる群から選択される配列を含有する。

【0106】

いくつかの実施形態では、CMは、ISSGLLSGRSDNH(配列番号28)、LSGRSDDH(配列番号33)、ISSGLLSGRSDQH(配列番号54)、及びISSGLLSGRSDNI(配列番号68)からなる群から選択される配列を含有する。

【0107】

特定の実施形態では、CM1及び／またはCM1は、AQNLLGMY(配列番号264)、LSGRSDNHGGAVGLLAPP(配列番号265)、VHMPLGFLGPGGLSGRSDNH(配列番号266)、LSGRSDNHGGVHMPLGFLGP(配列番号267)、LSGRSDNHGGSGGSISSGLLSS(配列番号268)、ISSGLLSSGSGGSLSGRSGNH(配列番号269)、LSGRSDNHGGSGGSQNQALRMA(配列番号270)、QNQALRMAGGSGGSLSGRSDNH(配列番号271)、LSGRSGNHGGSGGSQNQALRMA(配列番号272)、QNQALRMAGGSGGSLSGRSGNH(配列番号273)、ISSGLLSGRSGNH(配列番号274)、ならびにそれらのC末端及びN末端トランケート型変異体からなる群から選択される配列を含有する。CMの例としては、米国特許出願公開第US20160289324号、第US20190284283号、公開番号WO2010/081173、WO2015/048329、WO2015/116933、WO2016/118629及びWO2020/118109に記載されるものもさらに挙げられ、これらは参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0108】

CMにおける使用が好適な上述したアミノ酸配列のトランケート型変異体は、対応するプロテアーゼの認識部位を保持する任意のトランケート型変異体である。これらには、プロテアーゼの認識部位を保持する、上述したアミノ酸配列の少なくとも3個の連続したアミノ酸、または前述のアミノ酸配列の少なくとも4個、または少なくとも5個、または少

なくとも6個、または少なくとも7個のアミノ酸を含むC末端及び／またはN末端トランケート型変異体が挙げられる。特定の実施形態では、上述したアミノ酸配列のトランケート型変異体は、上記のいずれかに相当するが、1～約10個のアミノ酸、1～約9個のアミノ酸、1～約8個のアミノ酸、1～約7個のアミノ酸、1～約6個のアミノ酸、1～約5個のアミノ酸、1～約4個のアミノ酸、または1～約3個のアミノ酸がC末端及び／またはN末端にてトランケートされたアミノ酸配列であり、(1)少なくとも3個のアミノ酸残基を有し；(2)プロテアーゼの認識部位を保持するものである。前述の実施形態のいくつかでは、トランケートされたCMは、N末端にてトランケートされたCMである。いくつかの実施形態では、トランケートされたCMは、C末端にてトランケートされたCMである。いくつかの実施形態では、トランケートされたCは、C末端及びN末端にてトランケートされたCMである。

10

【0109】

本明細書に記載される、活性化可能サイトカイン構成体のいずれかのいくつかの実施形態では、CMは、合計約3個のアミノ酸～約25個のアミノ酸を含んでよい。いくつかの実施形態では、CMは合計、約3個のアミノ酸～約25個のアミノ酸、約3個のアミノ酸～約20個のアミノ酸、約3個のアミノ酸～約15個のアミノ酸、約3個のアミノ酸～約10個のアミノ酸、約3個のアミノ酸～約5個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約25個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約20個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約15個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約10個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約25個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約20個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約15個のアミノ酸、約15個のアミノ酸～約25個のアミノ酸、約15個のアミノ酸～約20個のアミノ酸、または約20個のアミノ酸～約25個のアミノ酸を含んでよい。

20

【0110】

いくつかの実施形態では、ACCは、異なるプロテアーゼの基質を含む複数のCMを含んでよい。いくつかの実施形態では、ACCは、同一のプロテアーゼの基質である複数のCMを含んでよい。一例では、各CPとPMとの間のCM(複数可)は、互いに同一のプロテアーゼの基質であってよく、各CPとDDとの間のCM(複数可)は、互いに同一のプロテアーゼの基質であってよいが、CPとPMとの間のCM(複数可)とは異なるプロテアーゼの基質であってよい。別の例では、CPとPMとの間のCM(複数可)及びCPとDDとの間のCM(複数可)は、同一のプロテアーゼの基質を含んでよい。別の例では、CPとPMとの間のCM(複数可)は、異なるプロテアーゼの基質を含んでよい。別の例では、CPとDDとの間のCM(複数可)は、異なるプロテアーゼの基質を含んでよい。別の例では、CPとDDとの間のCM(複数可)は、同一のプロテアーゼの基質を含んでよい。

30

【0111】

第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体は、1個以上のリンカーなど、1個以上の追加の構成成分を含んでよい。いくつかの実施形態では、第1のモノマーは、CP1とCM1との間に配置されるリンカーを含有できる。いくつかの実施形態では、第1のモノマーにおいて、CP1及びCM1は互いに直接的に隣接する。いくつかの実施形態では、第1のモノマーは、CM1とDD1との間に配置されるリンカーを含む。いくつかの実施形態では、第1のモノマーにおいて、CM1及びDD1は互いに直接的に隣接する。いくつかの実施形態では、第1のモノマーは、CP1とCM3との間に配置されるリンカーを含有できる。いくつかの実施形態では、第1のモノマーにおいて、CP1及びCM3は互いに直接的に隣接する。いくつかの実施形態では、第1のモノマーは、CP1とPM1との間に配置されるリンカーを含有できる。いくつかの実施形態では、第1のモノマーにおいて、CP1及びPM1は互いに直接的に隣接する。いくつかの実施形態では、リンカーは、1個のアミノ酸～約15個のアミノ酸の全長を有する。いくつかの実施形態では、CP1とDD1との間に配置されるCM及び任意のリンカーは、合わせて3～15個のアミノ酸、または3～10個のアミノ酸、または3～7個のアミノ酸の全長を有する。

40

50

【0112】

いくつかの実施形態では、第2のモノマーは、CP2とCM2との間に配置されるリンカーを含む。いくつかの実施形態では、第2のモノマーにおいて、CP2及びCM2は互いに直接的に隣接する。いくつかの実施形態では、第2のモノマーは、CM2とDD2との間に配置されるリンカーを含む。いくつかの実施形態では、第2のモノマーにおいて、CM2（例えば、本明細書に記載される開裂可能部分のいずれか）及びDD2（例えば、本明細書に記載されるDDのいずれか）は、互いに直接的に隣接する。いくつかの実施形態では、第2のモノマーは、CP2とCM4との間に配置されるリンカーを含有できる。いくつかの実施形態では、第2のモノマーにおいて、CP2及びCM4は互いに直接的に隣接する。いくつかの実施形態では、第2のモノマーは、CP2とPM2との間に配置されるリンカーを含有できる。いくつかの実施形態では、第2のモノマーにおいて、CP2及びPM2は互いに直接的に隣接する。いくつかの実施形態では、リンカーは、1個のアミノ酸～約15個のアミノ酸の全長を有する。いくつかの実施形態では、リンカーは、GGGS（配列番号2）の配列を含む。いくつかの実施形態では、CP2とDD2との間に配置されるCM及び任意のリンカーは、合わせて3～15個のアミノ酸、または3～10個のアミノ酸、または3～7個のアミノ酸の全長を有する。

10

【0113】

いくつかの実施形態では、第1のモノマー及び／または第2のモノマーは、合計、約50個のアミノ酸～約800個のアミノ酸、約50個のアミノ酸～約750個のアミノ酸、約50個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約50個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約50個のアミノ酸～約600個のアミノ酸、約50個のアミノ酸～約550個のアミノ酸、約50個のアミノ酸～約500個のアミノ酸、約50個のアミノ酸～約450個のアミノ酸、約50個のアミノ酸～約400個のアミノ酸、約50個のアミノ酸～約350個のアミノ酸、約50個のアミノ酸～約300個のアミノ酸、約50個のアミノ酸～約250個のアミノ酸、約50個のアミノ酸～約200個のアミノ酸、約50個のアミノ酸～約150個のアミノ酸、約50個のアミノ酸～約100個のアミノ酸、約100個のアミノ酸～約800個のアミノ酸、約100個のアミノ酸～約750個のアミノ酸、約100個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約100個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約100個のアミノ酸～約600個のアミノ酸、約100個のアミノ酸～約550個のアミノ酸、約100個のアミノ酸～約500個のアミノ酸、約100個のアミノ酸～約450個のアミノ酸、約100個のアミノ酸～約400個のアミノ酸、約100個のアミノ酸～約350個のアミノ酸、約100個のアミノ酸～約300個のアミノ酸、約100個のアミノ酸～約250個のアミノ酸、約100個のアミノ酸～約200個のアミノ酸、約100個のアミノ酸～約150個のアミノ酸、約150個のアミノ酸～約800個のアミノ酸、約150個のアミノ酸～約750個のアミノ酸、約150個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約150個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約150個のアミノ酸～約600個のアミノ酸、約150個のアミノ酸～約550個のアミノ酸、約150個のアミノ酸～約500個のアミノ酸、約150個のアミノ酸～約450個のアミノ酸、約150個のアミノ酸～約400個のアミノ酸、約150個のアミノ酸～約350個のアミノ酸、約150個のアミノ酸～約300個のアミノ酸、約150個のアミノ酸～約250個のアミノ酸、約150個のアミノ酸～約200個のアミノ酸、約200個のアミノ酸～約800個のアミノ酸、約200個のアミノ酸～約750個のアミノ酸、約200個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約200個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約200個のアミノ酸～約600個のアミノ酸、約200個のアミノ酸～約550個のアミノ酸、約200個のアミノ酸～約500個のアミノ酸、約200個のアミノ酸～約450個のアミノ酸、約200個のアミノ酸～約400個のアミノ酸、約200個のアミノ酸～約350個のアミノ酸、約200個のアミノ酸～約300個のアミノ酸、約200個のアミノ酸～約250個のアミノ酸、約250個のアミノ酸～約800個のアミノ酸、約250個のアミノ酸～約750個のアミノ酸、約250個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約250個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約250個のアミノ酸～約600個のアミノ酸

20

30

40

50

、約250個のアミノ酸～約550個のアミノ酸、約250個のアミノ酸～約500個のアミノ酸、約250個のアミノ酸～約450個のアミノ酸、約250個のアミノ酸～約400個のアミノ酸、約250個のアミノ酸～約350個のアミノ酸、約250個のアミノ酸～約300個のアミノ酸、約300個のアミノ酸～約800個のアミノ酸、約300個のアミノ酸～約750個のアミノ酸、約300個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約300個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約300個のアミノ酸～約600個のアミノ酸、約300個のアミノ酸～約550個のアミノ酸、約300個のアミノ酸～約500個のアミノ酸、約300個のアミノ酸～約450個のアミノ酸、約300個のアミノ酸～約400個のアミノ酸、約300個のアミノ酸～約350個のアミノ酸、約350個のアミノ酸～約800個のアミノ酸、約350個のアミノ酸～約750個のアミノ酸、約350個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約350個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約350個のアミノ酸～約600個のアミノ酸、約350個のアミノ酸～約550個のアミノ酸、約350個のアミノ酸～約500個のアミノ酸、約350個のアミノ酸～約450個のアミノ酸、約350個のアミノ酸～約400個のアミノ酸、約400個のアミノ酸～約800個のアミノ酸、約400個のアミノ酸～約750個のアミノ酸、約400個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約400個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約400個のアミノ酸～約600個のアミノ酸、約400個のアミノ酸～約550個のアミノ酸、約400個のアミノ酸～約500個のアミノ酸、約400個のアミノ酸～約450個のアミノ酸、約450個のアミノ酸～約800個のアミノ酸、約450個のアミノ酸～約750個のアミノ酸、約450個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約450個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約450個のアミノ酸～約600個のアミノ酸、約450個のアミノ酸～約550個のアミノ酸、約450個のアミノ酸～約500個のアミノ酸、約500個のアミノ酸～約800個のアミノ酸、約500個のアミノ酸～約750個のアミノ酸、約500個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約500個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約500個のアミノ酸～約600個のアミノ酸、約500個のアミノ酸～約550個のアミノ酸、約550個のアミノ酸～約800個のアミノ酸、約550個のアミノ酸～約750個のアミノ酸、約550個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約550個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約550個のアミノ酸～約600個のアミノ酸、約600個のアミノ酸～約800個のアミノ酸、約600個のアミノ酸～約750個のアミノ酸、約600個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約600個のアミノ酸～約650個のアミノ酸、約650個のアミノ酸～約800個のアミノ酸、約650個のアミノ酸～約750個のアミノ酸、約650個のアミノ酸～約700個のアミノ酸、約700個のアミノ酸～約800個のアミノ酸、約700個のアミノ酸～約750個のアミノ酸または約750個のアミノ酸～約800個のアミノ酸を含有できる。

10

20

30

40

50

【0114】

本明細書に記載されるACCのいずれかのいくつかの実施形態では、1個以上のリンカー（例えば、柔軟なリンカー）を活性化可能サイトカイン構成体に導入して、ドメイン間の、部分間の、部分とドメインとの間の接合点の1個以上において、またはリンカーが有益であろう任意のその他の接合点において、柔軟性を提供することができる。いくつかの実施形態では、ACCが立体構造的に拘束される構成体として提供される場合、柔軟なリンカーを挿入して、切断されていない活性化可能サイトカイン構成体における構造の構成及び維持を促進することができる。本明細書に記載されるリンカーはいずれも、所望の柔軟性を提供して、標的（例えば、サイトカインの受容体）の結合の阻害を促進する、またはプロテアーゼによるCMの開裂を促進することができる。いくつかの実施形態では、リンカーが、柔軟なリンカーに加えて、より柔軟でない構造を付与する1個以上の部分を含有して、所望のACCを提供できるように、ACC中に含有されるリンカーは完全にまたは部分的に柔軟である。一部のリンカーはシステイン残基を含有してもよく、このシステイン残基は、ジスルフィド結合を形成し、構成体の柔軟性を低減させてよい。リンカーまたは連結領域の長さを低減させると、ACC中の成熟サイトカインタンパク質の活性が低減することが判明している（例えば、ペプチド親和性マスクのないACCのデータを示す

図 16 を参照)。ほとんどの場合、リンカーの長さは、アミノ酸の数を、N 末端から C 末端の方向に、前の構成成分の C 末端アミノ酸に隣接するリンカーの N 末端から、次の構成成分の N 末端アミノ酸と隣接するリンカーの C 末端まで（すなわち、リンカーの長さが、前の構成成分の C 末端アミノ酸、または次の構成成分の N 末端アミノ酸のいずれも含有しない場所）を数えることによって決定される。リンカーが、Fc ドメインを含む DD の N 末端で用いられる実施形態では、リンカーの長さは、前の構成成分の C 末端アミノ酸に隣接するリンカーの N 末端から、第 2 の Fc ドメインとのジスルフィド結合に参加する Fc ヒンジ領域の最初のシステインと隣接するリンカーの C 末端まで（すなわち、リンカーの長さが、前の構成成分の C 末端アミノ酸、または Fc ヒンジ領域の最初のシステインを含有しない場所）のアミノ酸の数を数えることによって決定される。

10

【0115】

本開示及び図 18 から明らかなように、本開示の ACC は、CP と、二量体化ドメイン間の相互作用の近位点との間のアミノ酸の伸展を含有する。アミノ酸のその伸展は、上記の定義のように、連結領域 (LR) を指してよい。

【0116】

いくつかの実施形態では、付加的なアミノ酸配列が、いずれかの ACC の、いずれかのドメインに、N 末端にてまたは C 末端にて置かれてよい。例としては、標的部位（例えば、標的組織に存在する細胞の受容体のリガンド）、及び血清半減期延長部分（例えば、免疫グロブリン（例えば、IgG）または血清アルブミン（例えば、ヒト血清アルブミン (HSA)）などの血清タンパク質に結合するポリペプチド）が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0117】

本明細書に記載される、活性化可能サイトカイン構成体のいずれかのいくつかの実施形態では、リンカーは、合計約 1 個のアミノ酸～約 25 個のアミノ酸（例えば、約 1 個のアミノ酸～約 24 個のアミノ酸、約 1 個のアミノ酸～約 22 個のアミノ酸、約 1 個のアミノ酸～約 20 個のアミノ酸、約 1 個のアミノ酸～約 18 個のアミノ酸、約 1 個のアミノ酸～約 16 個のアミノ酸、約 1 個のアミノ酸～約 15 個のアミノ酸、約 1 個のアミノ酸～約 14 個のアミノ酸、約 1 個のアミノ酸～約 12 個のアミノ酸、約 1 個のアミノ酸～約 10 個のアミノ酸、約 1 個のアミノ酸～約 8 個のアミノ酸、約 1 個のアミノ酸～約 6 個のアミノ酸、約 1 個のアミノ酸～約 5 個のアミノ酸、約 1 個のアミノ酸～約 4 個のアミノ酸、約 1 個のアミノ酸～約 3 個のアミノ酸、約 1 個のアミノ酸～約 2 個のアミノ酸、約 2 個のアミノ酸～約 25 個のアミノ酸、約 2 個のアミノ酸～約 24 個のアミノ酸、約 2 個のアミノ酸～約 22 個のアミノ酸、約 2 個のアミノ酸～約 20 個のアミノ酸、約 2 個のアミノ酸～約 18 個のアミノ酸、約 2 個のアミノ酸～約 16 個のアミノ酸、約 2 個のアミノ酸～約 15 個のアミノ酸、約 2 個のアミノ酸～約 14 個のアミノ酸、約 2 個のアミノ酸～約 12 個のアミノ酸、約 2 個のアミノ酸～約 10 個のアミノ酸、約 2 個のアミノ酸～約 8 個のアミノ酸、約 2 個のアミノ酸～約 6 個のアミノ酸、約 2 個のアミノ酸～約 5 個のアミノ酸、約 2 個のアミノ酸～約 4 個のアミノ酸、約 2 個のアミノ酸～約 3 個のアミノ酸、約 4 個のアミノ酸～約 25 個のアミノ酸、約 4 個のアミノ酸～約 24 個のアミノ酸、約 4 個のアミノ酸～約 22 個のアミノ酸、約 4 個のアミノ酸～約 20 個のアミノ酸、約 4 個のアミノ酸～約 18 個のアミノ酸、約 4 個のアミノ酸～約 16 個のアミノ酸、約 4 個のアミノ酸～約 15 個のアミノ酸、約 4 個のアミノ酸～約 14 個のアミノ酸、約 4 個のアミノ酸～約 12 個のアミノ酸、約 4 個のアミノ酸～約 10 個のアミノ酸、約 4 個のアミノ酸～約 8 個のアミノ酸、約 4 個のアミノ酸～約 6 個のアミノ酸、約 4 個のアミノ酸～約 5 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 25 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 24 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 22 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 20 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 18 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 16 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 15 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 14 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 12 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 10 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 8 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸～約 6 個のアミノ酸、約 6 個のアミノ酸～約 25 個のアミ

30

40

50

ノ酸、約 6 個のアミノ酸～約 24 個のアミノ酸、約 6 個のアミノ酸～約 22 個のアミノ酸、約 6 個のアミノ酸～約 20 個のアミノ酸、約 6 個のアミノ酸～約 18 個のアミノ酸、約 6 個のアミノ酸～約 16 個のアミノ酸、約 6 個のアミノ酸～約 15 個のアミノ酸、約 6 個のアミノ酸～約 14 個のアミノ酸、約 6 個のアミノ酸～約 12 個のアミノ酸、約 6 個のアミノ酸～約 10 個のアミノ酸、約 6 個のアミノ酸～約 8 個のアミノ酸、約 8 個のアミノ酸～約 25 個のアミノ酸、約 8 個のアミノ酸～約 24 個のアミノ酸、約 8 個のアミノ酸～約 22 個のアミノ酸、約 8 個のアミノ酸～約 20 個のアミノ酸、約 8 個のアミノ酸～約 18 個のアミノ酸、約 8 個のアミノ酸～約 16 個のアミノ酸、約 8 個のアミノ酸～約 15 個のアミノ酸、約 8 個のアミノ酸～約 14 個のアミノ酸、約 8 個のアミノ酸～約 12 個のアミノ酸、約 8 個のアミノ酸～約 10 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 25 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 24 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 22 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 20 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 18 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 16 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 15 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 14 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸～約 12 個のアミノ酸、約 12 個のアミノ酸～約 25 個のアミノ酸、約 12 個のアミノ酸～約 24 個のアミノ酸、約 12 個のアミノ酸～約 22 個のアミノ酸、約 12 個のアミノ酸～約 20 個のアミノ酸、約 12 個のアミノ酸～約 18 個のアミノ酸、約 12 個のアミノ酸～約 16 個のアミノ酸、約 12 個のアミノ酸～約 15 個のアミノ酸、約 12 個のアミノ酸～約 14 個のアミノ酸、約 14 個のアミノ酸～約 25 個のアミノ酸、約 14 個のアミノ酸～約 24 個のアミノ酸、約 14 個のアミノ酸～約 22 個のアミノ酸、約 14 個のアミノ酸～約 20 個のアミノ酸、約 14 個のアミノ酸～約 18 個のアミノ酸、約 14 個のアミノ酸～約 16 個のアミノ酸、約 14 個のアミノ酸～約 15 個のアミノ酸、約 15 個のアミノ酸～約 25 個のアミノ酸、約 15 個のアミノ酸～約 24 個のアミノ酸、約 15 個のアミノ酸～約 22 個のアミノ酸、約 15 個のアミノ酸～約 20 個のアミノ酸、約 15 個のアミノ酸～約 18 個のアミノ酸、約 15 個のアミノ酸～約 16 個のアミノ酸、約 16 個のアミノ酸～約 25 個のアミノ酸、約 16 個のアミノ酸～約 24 個のアミノ酸、約 16 個のアミノ酸～約 22 個のアミノ酸、約 16 個のアミノ酸～約 20 個のアミノ酸、約 16 個のアミノ酸～約 18 個のアミノ酸、約 18 個のアミノ酸～約 25 個のアミノ酸、約 18 個のアミノ酸～約 24 個のアミノ酸、約 18 個のアミノ酸～約 22 個のアミノ酸、約 18 個のアミノ酸～約 20 個のアミノ酸、約 20 個のアミノ酸～約 25 個のアミノ酸、約 20 個のアミノ酸～約 24 個のアミノ酸、約 20 個のアミノ酸～約 22 個のアミノ酸、約 22 個のアミノ酸～約 25 個のアミノ酸、約 22 個のアミノ酸～約 24 個のアミノ酸、または約 24 個のアミノ酸～約 25 個のアミノ酸) を含有できる。

10

20

30

40

50

【0118】

本明細書に記載される ACC のいずれかのいくつかの実施形態では、リンカーは、合計約 1 個のアミノ酸、約 2 個のアミノ酸、約 3 個のアミノ酸、約 4 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸、約 6 個のアミノ酸、約 7 個のアミノ酸、約 8 個のアミノ酸、約 9 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸、約 11 個のアミノ酸、約 12 個のアミノ酸、約 13 個のアミノ酸、約 14 個のアミノ酸、約 15 個のアミノ酸、約 16 個のアミノ酸、約 17 個のアミノ酸、約 18 個のアミノ酸、約 19 個のアミノ酸、約 20 個のアミノ酸、約 21 個のアミノ酸、約 22 個のアミノ酸、約 23 個のアミノ酸、約 24 個のアミノ酸、または約 25 個のアミノ酸を含有する。

【0119】

驚くべきことに、出願人は、CP と DD との間にいかなるリンカーも含まない ACC が、連結領域にリンカーまたは付加的な配列を含有する ACC と比較して、野生型成熟サイトカインに関するサイトカイン活性の最も著しい低減を示すことを発見した。例えば、図 16 (ペプチド親和性マスクのない ACC のデータを示す) を参照されたい。さらに、CP と DD との間にリンカーがない構成も、依然として、CP と DD との間に置かれる CM の有効な開裂を可能にする。例えば、図 7A、図 7B、図 10A～図 10C を参照されたい。したがって、いくつかの実施形態では、ACC は、CP と DD との間にいかなるリン

10

20

30

40

50

50

50

いくつかの実施形態では、リンカーは、GGSLDPKGGGS（配列番号219）、GGGGSGGGGSGGGGS（配列番号218）、GGGGS（配列番号

217)、GS、(GS)n、(GGS)n、(GSGGS)n(配列番号227)及び(GGGG)n(配列番号228)、GGS(配列番号229)、GGS(配列番号230)、GSGS(配列番号231)、GSGGS(配列番号232)、GGGS(配列番号233)、GSSS(配列番号234)、GGGGS(配列番号213)、GGGGS(配列番号214)、GSTSGSGKPGSSEGST(配列番号226)、(GGGGS)n(配列番号216)の群から選択される配列を含有し、nは、少なくとも1の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、GGS(配列番号219)、GGGS(配列番号218)、GGGS(配列番号217)、及びGSからなる群から選択される配列を含有する。本明細書に記載されるACCのいずれかのいくつかの実施形態では、リンカーは、GGGS(配列番号213)、GGGS(配列番号214)及びGSTSGSGKPGSSEGST(配列番号226)の群から選択される配列を含有する。本明細書に記載される、活性化可能サイトカイン構成体のいずれかのいくつかの実施形態では、リンカーは、GGGS(配列番号213)またはGGGS(配列番号216)の群から選択される配列を含有する。いくつかの実施形態では、リンカーは、GS(配列番号2)の配列を含む。リンカーの追加例としては、表11に列挙されるものが挙げられる。

10

【0124】

いくつかの実施形態では、ACCは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のリンカー配列を含有できる(例えば、本明細書に記載される、または当該技術分野において既知の、例示的なリンカー配列のいずれかと同一または異なるリンカー配列)。いくつかの実施形態では、リンカーは、スルホSIB、SMPB及びスルホSMPBを含み、リンカーは一級アミノスルフィドリルと反応する。

20

【0125】

本明細書に記載されるACCのいずれかのいくつかの実施形態では、ACCは、CP1及び/またはCP2の少なくとも1つの活性の対照レベルと比較して、CP1及び/またはCP2の少なくとも1つの活性の低減を特徴とする。いくつかの実施形態では、対照レベルは、組み換えCP1及び/またはCP2(例えば、市販の組み換えCP1及び/またはCP2、組み換え野生型CP1及び/またはCP2など)の活性レベルであることができる。いくつかの実施形態では、対照レベルは、ACCの切断(活性化)形態の活性レベルであることができる。特定の実施形態では、対照レベルは、ペグ化CP1及び/またはCP2の活性レベルであることができる。

30

【0126】

いくつかの実施形態では、少なくとも1つの活性は、表面プラズモン共鳴(例えば、リン酸緩衝食塩水中で、摂氏25度で行われる)を使用して決定される、その同族受容体に対するCP1及び/またはCP2の結合親和性である。特定の実施形態では、少なくとも1つの活性は、リンパ腫細胞の増殖レベルである。その他の実施形態では、少なくとも1つの活性は、リンパ腫細胞における、JAK/STAT/ISGF3経路の活性化レベルである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの活性は、リンパ腫細胞における、SEAPの産生レベルである。さらなる実施形態では、CP1及び/またはCP2の少なくとも1つの活性は、例えばRNAseq解析(例えば、Zimmerer et al., Clin. Cancer Res. 14(18):5900-5906, 2008; Hilkens et al., J. Immunol. 171:5255-5263, 2003を参照)を使用した、サイトカインで刺激された遺伝子誘導のレベルである。

40

【0127】

いくつかの実施形態では、ACCは、少なくとも1つのCP1及び/またはCP2活性が、少なくとも1つのCP1及び/またはCP2活性の対照レベルと比較して、少なくとも2倍低いことを特徴とする。いくつかの実施形態では、ACCは、CP1及び/またはCP2の少なくとも1つの活性が、CP1及び/またはCP2の少なくとも1つの活性の

50

対照レベルと比較して、少なくとも5倍低いことを特徴とする。いくつかの実施形態では、ACCは、CP1及び／またはCP2の少なくとも1つの活性が、CP1及び／またはCP2の少なくとも1つの活性の対照レベルと比較して、少なくとも10倍低いことを特徴とする。いくつかの実施形態では、ACCは、CP1及び／またはCP2の少なくとも1つの活性が、CP1及び／またはCP2の少なくとも1つの活性の対照レベルと比較して、少なくとも20倍低いことを特徴とする。いくつかの実施形態では、ACCは、CP1及び／またはCP2の少なくとも1つの活性が、CP1及び／またはCP2の少なくとも1つの活性の対照レベルと比較して、少なくとも30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍、500倍、1000倍、2000倍、3000倍、5000倍または5,000倍低いことを特徴とする。いくつかの実施形態では、ACCは、CP1及び／またはCP2の少なくとも1つの活性が、CP1及び／またはCP2の少なくとも1つの活性の対照レベルと比較して、少なくとも1~20倍低い、200~2000倍低い、300~2000倍低い、400~2000倍低い、500~2000倍低い、1000~2000倍低い、1500~2000倍低い、100~1500倍低い、200~1500倍低い、300~1500倍低い、400~1500倍低い、500~1500倍低い、1000~1500倍低い、100~1000倍低い、200~1000倍低い、300~1000倍低い、400~1000倍低い、500~1000倍低い、1000~5000倍低い、2000~5000倍低い、3000~5000倍低い、4000~5000倍低い、1000~4000倍低い、2000~4000倍低い、3000~4000倍低い、1000~3000倍低い、2000~3000倍低い、または1000~2000倍低いことを特徴とする。

10

20

【0128】

いくつかの実施形態では、CP1及び／またはCP2の少なくとも1つの活性の対照レベルは、プロテアーゼ（複数可）によるCMの開裂に続いてACCから放出されるCP1及び／またはCP2の活性である（「切断産物」）。いくつかの実施形態では、CP1及び／またはCP2の少なくとも1つの活性の対照レベルは、対応する野生型成熟サイトカインの活性（例えば、組み換え野生型成熟サイトカイン）である。

【0129】

いくつかの実施形態では、プロテアーゼとともにACCをインキュベートすると、活性化サイトカイン産物（複数可）が産生され、活性化サイトカイン産物（複数可）のCP1及び／またはCP2の1つ以上の活性は、無処置のACCのCP1及び／またはCP2の1つ以上の活性よりも大きい。いくつかの実施形態では、活性化サイトカイン産物（複数可）のCP1及び／またはCP2の1つ以上の活性は、ACCのCP1及び／またはCP2の1つ以上の活性よりも、少なくとも1倍大きい。いくつかの実施形態では、活性化サイトカイン産物（複数可）のCP1及び／またはCP2の1つ以上の活性は、ACCのCP1及び／またはCP2の1つ以上の活性よりも、少なくとも2倍大きい。いくつかの実施形態では、活性化サイトカイン産物（複数可）のCP1及び／またはCP2の1つ以上の活性は、ACCのCP1及び／またはCP2の1つ以上の活性よりも、少なくとも5倍大きい。いくつかの実施形態では、活性化サイトカイン産物（複数可）のCP1及び／またはCP2の1つ以上の活性は、ACCのCP1及び／またはCP2の1つ以上の活性よりも、少なくとも10倍大きい。いくつかの実施形態では、活性化サイトカイン産物（複数可）のCP1及び／またはCP2の1つ以上の活性は、ACCのCP1及び／またはCP2の1つ以上の活性よりも、少なくとも20倍大きい。いくつかの実施形態では、活性化サイトカイン産物（複数可）のCP1及び／またはCP2の1つ以上の活性は、ACCのCP1及び／またはCP2の1つ以上の活性よりも、少なくとも1~20倍大きい、200~2000倍大きい、300~2000倍大きい、400~2000倍大きい、500~2000倍大きい、1000~2000倍大きい、1500~2000倍大きい、100~1500倍大きい、200~1500倍大きい、300~1500倍大きい、400~1500倍大きい、500~1500倍大きい、1000~1500倍大きい、100~1000倍大きい、200~1000倍大きい、300~1000倍大きい、400

30

40

50

～1000倍大きい、500～1000倍大きい、1000～5000倍大きい、2000～5000倍大きい、3000～5000倍大きい、4000～5000倍大きい、1000～4000倍大きい、2000～4000倍大きい、3000～4000倍大きい、1000～3000倍大きい、2000～3000倍大きい、または1000～2000倍大きい。

【0130】

いくつかの実施形態では、ACCは、配列番号321または322に、少なくとも80%（例えば、少なくとも82%、少なくとも84%、少なくとも86%、少なくとも88%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%、少なくとも96%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一である配列を含有できる。いくつかの実施形態では、ACCは、配列番号321または322をコードする核酸に、少なくとも80%（例えば、少なくとも82%、少なくとも84%、少なくとも86%、少なくとも88%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%、少なくとも96%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%）同一である配列を含有する核酸にコードされることができる。いくつかの態様では、ACCは、このような配列を含有してもよいが、それらの配列のシグナル配列を含まない場合もある。シグナル配列は、特に限定されない。シグナル配列のいくつかの非限定例としては、例えば、配列番号244及びその他の配列の対応する残基及びヌクレオチド、または別の種もしくは細胞株からのシグナル配列と置換されたものが挙げられる。シグナル配列のその他の例としては、MR
AWIFFLLCLAGRALA（配列番号242）及びMALTFALLVALLVLS
CKSSCSVG（配列番号243）が挙げられる。

10

20

【0131】

これらの活性化可能サイトカイン構成体のさまざまな例示的な態様を以下に記載する。これらは、本明細書で提供される方法において、制限なく、任意の組み合わせで使用できる。活性化可能サイトカイン構成体及び活性化可能サイトカイン構成体の作製方法の例示的な態様を、以下に記載する。

【0132】

いくつかの実施形態では、CMは、特定のプロテアーゼとともに使用するために選択される。プロテアーゼは、腫瘍細胞によって産生されるプロテアーゼであってよい（例えば、腫瘍細胞は、健康な組織よりも、多量のプロテアーゼを発現してよい）。いくつかの実施形態では、CMは、ADAM17、BMP-1、カテプシンのようなシステインプロテアーゼ、HtrA1、レグマイン、マトリプターゼ（MTSP1）、マトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）、好中球エラスターゼ、TMPRSS3またはTMPRSS4などのTMPRSS、トロンビン、及びu-型プラスミノゲン活性化因子（uPA、ウロキナーゼとも称される）の群から選択される、少なくとも1種のプロテアーゼの基質である。

30

【0133】

いくつかの実施形態では、CMは、少なくとも1種のマトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）の基質である。MMPの例としては、MMP1、MMP2、MMP3、MMP7、MMP8、MMP9、MMP10、MMP11、MMP12、MMP13、MMP14、MMP15、MMP16、MMP17、MMP19、MMP20、MMP23、MMP24、MMP26及びMMP27が挙げられる。いくつかの実施形態では、CMは、MMP9、MMP14、MMP1、MMP3、MMP13、MMP17、MMP11、及びMMP19の基質である。いくつかの実施形態では、CMはMMP7の基質である。いくつかの実施形態では、CMはMMP9の基質である。いくつかの実施形態では、CMはMMP14の基質である。いくつかの実施形態では、CMは2種以上のMMPの基質である。いくつかの実施形態では、CMは、少なくともMMP9及びMMP14の基質である。いくつかの実施形態では、CMは、同一のMMPの2個以上の基質を含有する。いくつかの実施形態では、CMは、少なくとも2個以上のMMP9基質を含有する。いくつかの実施形態では、CMは、少なくとも2個以上のMMP14基質を含有する。

40

50

【0134】

いくつかの実施形態では、CMは、MMPの基質であり、ISSGLLSS（配列番号19）；QNQALRMA（配列番号16）；AQNLLGMV（配列番号15）；STFPFGMF（配列番号18）；PVGYTSSL（配列番号74）；DWLYWPGI（配列番号75）；MIAPVAYR（配列番号42）；RPSPMWAY（配列番号43）；WATPRPMR（配列番号44）；FRLLDWQW（配列番号45）；LKAAAPRWA（配列番号76）；GPSHLVLT（配列番号77）；LPGGLSPW（配列番号78）；MGLFSEAG（配列番号79）；SPLPLRVP（配列番号80）；RMHLRSLG（配列番号81）；LAAPLGLL（配列番号17）；AVGLLAPP（配列番号14）；LLAPSHRA（配列番号82）；PAGLWLDP（配列番号20）；及び／またはISSGLSS（配列番号73）の配列を含有する。

10

【0135】

いくつかの実施形態では、CMは、トロンビンの基質である。いくつかの実施形態では、CMは、トロンビンの基質であり、GPRSFGL（配列番号83）またはGPRSF（配列番号84）の配列を含有する。

【0136】

いくつかの実施形態では、CMは、NTLSGRSENHSG（配列番号9）；NTLSGRSGNHGS（配列番号10）；TSTSGRSANPRG（配列番号11）；TSGRSANP（配列番号12）；VAGRSMRP（配列番号21）；VVPEGRS（配列番号22）；ILPRSPA（配列番号23）；MVLGRSL（配列番号24）；QGRAITFI（配列番号25）；SPRSIMLA（配列番号26）；及びSMLRSMPL（配列番号27）の群から選択されるアミノ酸配列を含有する。

20

【0137】

いくつかの実施形態では、CMは、好中球エラスターゼの基質である。いくつかの実施形態では、CMは、セリンプロテアーゼの基質である。いくつかの実施形態では、CMは、uPAの基質である。いくつかの実施形態では、CMは、レグマインの基質である。いくつかの実施形態では、CMは、マトリプターゼの基質である。いくつかの実施形態では、CMは、システインプロテアーゼの基質である。いくつかの実施形態では、CMは、カテプシンなどのシステインプロテアーゼの基質である。

【0138】

いくつかの実施形態では、CMは、ISSGLLSGRSDNH（配列番号28）；ISSGLLSGGSGGSLSGRSDNH（配列番号30）；AVGLLAPPGGTSTSGRSANPRG（配列番号275）；TSTSGRSANPRGGGAVGLLAPP（配列番号276）；VHMPLGFLGPGGTSTSGRSANPRG（配列番号277）；TSTSGRSANPRGGGVHMPLGFLGP（配列番号278）；AVGLLAPPGGLSGRSDNH（配列番号29）；LSGRSDNHGGA（配列番号70）；VHMPLGFLGPGGLSGRSDNH（配列番号266）；LSGRSDNHGGVHMPLGFLGP（配列番号267）；LSGRSDNHGGSGGSISSGLLSS（配列番号268）；LSGRSGNHGGSGGSISSGLLSS（配列番号279）；ISSGLLSGGSGGSLSGRSGNH（配列番号269）；LSGRSDNHGGSGGSQNQALRMA（配列番号270）；QNQALRMAGGSGLSGRSDNH（配列番号271）；LSGRSGNHGGSGGSQNQALRMA（配列番号272）；QNQALRMAGGSGLSGRSGNH（配列番号273）及び／またはISSGLLSGRSGNH（配列番号274）の配列を含有する。

30

40

【0139】

いくつかの実施形態では、CMは、配列番号5～配列番号100からなる群から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、CMは、ISSGLLSGRSDNH（配列番号28）、LSGRSDDH（配列番号33）、ISSGLLSGRSDQH（配列番号54）、SGRSDNI（配列番号100）及びISSGLLSGRSDNI（配列番号54）の配列を含有する。

50

号 68) の群から選択される配列を含む。

【0140】

いくつかの態様では、ACCは、第1のモノマーであって、配列番号1及び101～209からなる群から選択されるCP1と、配列番号5～100及び264～308からなる群から選択されるCM1と、配列番号328～329、323及び331～479からなる群から選択されるPM1と、配列番号5～100及び264～308からなる群から選択されるCM3と、DD1と、を含む第1のモノマーを含有し、第1のモノマーは、配列番号1及び101～209からなる群から選択されるCP2と、配列番号5～100及び264～308からなる群から選択されるCM2と、配列番号328～329、323及び331～479から選択されるPM2と、配列番号5～100及び264～308からなる群から選択されるCM3と、DD2と、を含む第2のモノマーと二量体化される。いくつかの態様では、ACCは、CP1とCM1との間に、CP1とPM1との間に、CP1とCM3との間に、PM1とCM3との間に、及び／またはCM1とDD1との間に、配列番号2及び210～263からなる群から選択されるリンカーを含有し、かつCP2とCM2との間に、CP2とPM2との間に、CP2とCM4との間に、PM2とCM4との間に、及び／またはCM2とDD2との間に、配列番号2及び210～263からなる群から選択されるリンカーを含有してよい。いくつかの態様では、PM1は、表10に従うCP1とともに使用するために選択され、PM2は、表10に従うCP2とともに使用するために選択される。

【0141】

いくつかの実施形態では、ACCは、配列番号3または配列番号4に、少なくとも80%同一である（例えば、少なくとも82%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも88%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%同一である）アミノ酸配列を有するDD1及び／またはDD2を含有する。いくつかの実施形態では、ACCは、配列番号318または配列番号319に、少なくとも80%同一である（例えば、少なくとも82%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも88%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%同一である）アミノ酸配列を有するDD1を含有する。いくつかの実施形態では、ACCは、配列番号318または配列番号319に、少なくとも80%同一である（例えば、少なくとも82%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも88%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%同一である）アミノ酸配列を有するDD2を含有する。

【0142】

本明細書におけるACCの一方または両方のモノマーは、1個以上のペプチドマスク（PM）を含んでよく、ペプチドマスクは、CPが結合パートナー（例えば、受容体）に結合することを妨げることができる。いくつかの実施形態では、ACCが活性化されないときは、ACC中のPMはCPが標的に結合するのを防ぐが、ACCが活性化されると、PMは、実質的にまたは著しく、CPが結合パートナーに結合することを妨げない。いくつかの実施形態では、PMは、CM、及び所望により本明細書に記載される1個以上のリンカーによってCPに連結される。

【0143】

いくつかの実施形態では、PMはCPと相互作用して、それによってCPと結合パートナーとの間の相互作用を低減または阻害してもよい。いくつかの実施形態では、PMはCPに特異的に結合しない場合があり、むしろ非特異的相互作用、例えば立体障害を介して結合パートナーへのCPの結合を妨げる。例えば、ACCの三次または四次構造によって、PMが電荷ベースの相互作用を介してCPをマスクし、それによってPMを適切な位置

に保持して、結合パートナーがCPに近づくことを妨げることが可能となるように、PMは切断されていないACC中に置かれ得る。

【0144】

PMの構造的特性は、例えば、タンパク質が標的に結合するのを妨げるのに必要となる最少アミノ酸配列、対象である標的タンパク質-タンパク質結合の対、サイトカインの大きさ、リンカーの有無などの要因に従って選択され得る。

【0145】

PMは、スクリーニング手順を介して、さまざまなPMを有する候補ACCのライブラリから、特定及び／またはさらに最適化され得る。例えば、CP及びCMは、所望の酵素／標的の組み合わせを提供するように選択されることができ、PMのアミノ酸配列は、切10
換可能な表現型を提供するPMを特定するための、以下に記載されるスクリーニング手順によって特定できる。例えば、ランダムなペプチドライブラリ（例えば、約2～約40個以上のアミノ酸を含むペプチドライブラリ）を、本明細書にて開示されるスクリーニング法で使用して、好適なPMを特定してよい。特定の実施形態では、CPに対する特定の結合親和性を有するPMを、候補PMからなるペプチドスキャフォールドのライブラリであって、各スキャフォールドが膜貫通タンパク質及び候補PMによって構成されるライブラリを提供することを含むスクリーニング手順を介して、特定できる。続いて、ライブラリを、タンパク質の全体または一部、例えば完全長のタンパク質、天然に存在するタンパク質フラグメント、またはタンパク質を含有する非天然のフラグメント（対象である結合パートナーに結合できる）と接触させて、検出可能に結合したタンパク質を有する1種以上20
の候補PMを特定してよい。スクリーニングは、1回以上の磁気活性化ソーティング（MACS）または蛍光活性化ソーティング（FACS）、ならびに、例えばUS20200308243A1に記載されているような、CPに対するPMの結合親和性の決定及び続くマスキング効率の決定によって行われてよく、同明細書は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0146】

いくつかの実施形態では、PMは、連結されたCPに一意のものである。PMの例としては、サイトカインまたはタンパク質フラグメント（例えば、親和性ペプチドマスク）の結合ドメインに結合することに特定してスクリーニングされたPMが挙げられる。サイト30
カインに一意であり、結合パートナー／標的の結合ドメインに特異的に及び／または選択的に結合するPMを得るための、PMをスクリーニングする方法が本明細書で提供され、タンパク質ディスプレイ法を含むことができる。表10には、さまざまな例示的なCPとともに使用するのに好適な、例示的なPMが開示されている。

【0147】

いくつかの実施形態では、CPがPMに連結され、CPの天然の結合パートナーがある場合、例えば実施例1に記載されているようなマスキング効率アッセイで測定するとき、少なくとも2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84、96時間、または5、10、15、30、45、60、90、120、150、180日30
間、または1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12ヵ月間以上、CPの結合パートナーに対する結合は起こらない、または実質的に結合は起こらない、またはCPの結合パートナーに対する結合は、PMに連結されていないCPの結合と比較して、0.001%、0.01%、0.1%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%または50%以下である。40

【0148】

本開示によって企図されるPMは、1～50個のアミノ酸にわたってよい（例えば、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、12、15、20、30または40個のアミノ酸、または40、30、20、15、12、10、9、8、7、6、5、4または3個以下のアミノ酸）。一部の例では、PMは、8～15個のアミノ酸の長さであってよい。50

【 0 1 4 9 】

PMは、遺伝的にコードされた、または遺伝的にコードされていないアミノ酸を含有してよい。遺伝的にコードされていないアミノ酸の例は、D-アミノ酸、β-アミノ酸及びγ-アミノ酸が挙げられるが、これらに限定されない。特定の実施形態では、PMは、50%、40%、30%、20%、15%、10%、5%または1%以下の遺伝的にコードされていないアミノ酸を含有する。

【 0 1 5 0 】

PMに連結されているときの、サイトカインの標的または結合パートナーに対する結合親和性は、PMに連結されていないときの、サイトカインの結合パートナーに対する結合親和性よりも、少なくとも5倍、10倍、25倍、50倍、100倍、250倍、500倍、1,000倍、2,500倍、5,000倍、10,000倍、50,000倍、100,000倍、500,000倍、1,000,000倍、5,000,000倍、10,000,000倍以上低く、またはPMに連結されていないときの、サイトカインの結合パートナーに対する結合親和性よりも、5~10倍、10~100倍、10~1,000倍、10~10,000倍、10~100,000倍、10~1,000,000倍、10~10,000,000倍、100~1,000倍、100~10,000倍、100~100,000倍、100~1,000,000倍、100~10,000,000倍、1,000~10,000倍、1,000~100,000倍、1,000~100,000,000倍、1,000~10,000,000倍、1,000~10,000,000倍、1000~10,000,000倍、10,000~100,000倍、10,000~1,000,000倍、10,000~10,000,000倍、10,000~10,000,000倍、10,000~10,000,000倍、または100,000~10,000,000倍低くなり得る。

【 0 1 5 1 】

サイトカインがPMに連結され、結合パートナーの存在下である場合、サイトカインの結合パートナーに対する特異的結合は、PMに連結されていないサイトカインのその結合パートナーに対する特異的結合と比較して、低減される、または阻害される。PMに連結されていないサイトカインのその結合パートナーへの結合と比較するとき、PMに連結されているときの、結合パートナーに結合するサイトカインの能力は、例えば実施例1に記載されているような、インビボまたはマスキング効率アッセイにおいて、例えばUS20200308243A1に記載されているような、インビトロ免疫吸着アッセイで測定されるとき、少なくとも2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84、96時間、または5、10、15、30、45、60、90、120、150、180日間、または1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12ヵ月間以上、少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%及びさらには100%低減されることができる。

【 0 1 5 2 】

PMのサイトカインに対する K_D は、サイトカインの、サイトカインの結合パートナーに対する K_D よりも、通常大きくてよい。PMのサイトカインに対する K_D は、サイトカインの、サイトカインの結合パートナーに対する K_D よりも、少なくとも5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、100,000、1,000,000倍またはさらには10,000,000倍大きくてよい。あるいは、PMのサイトカインに対する結合親和性は、サイトカインの、サイトカインの結合パートナーに対する結合親和性よりも、通常低くてよい。PMのサイトカインに対する結合親和性は、サイトカインの、サイトカインの結合パートナーに対する結合親和性よりも、少なくとも5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、100,000、1,000,000倍またはさらには10,000,000倍低くてよい。

【 0 1 5 3 】

いくつかの実施形態では、PMは、CPの天然に存在する結合パートナー（例えば、CPの受容体）の、少なくとも部分的なまたは完全なアミノ酸配列を含む。PMは、天然に

存在する結合パートナーのフラグメントであってよい。フラグメントは、95%、90%、80%、75%、70%、60%、50%、40%、30%、25%または20%以下の、天然に存在する結合パートナーとの核酸またはアミノ酸配列相同性を保持してよい。

【0154】

いくつかの実施形態では、PMは、天然に存在しないアミノ酸配列、または天然に存在する結合パートナーもしくは標的タンパク質のアミノ酸配列を含有しないアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、PMは、CPの天然の結合パートナーではない。PMは、CPへの結合親和性及び／または結合活性が、少なくともわずかに低下しているというアミノ酸の変化を含有する、CPの修飾された結合パートナーであってよい。いくつかの実施形態では、PMは、CPの天然の結合パートナーとの核酸またはアミノ酸相同性を含有しない、または実質的に含有しない。その他の実施形態では、PMは、CPの天然の結合パートナーに、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%または80%以下類似している。

【0155】

いくつかの実施形態では、PMは、配列番号328～329、323及び331～479から選択される配列に、少なくとも80%同一である（例えば、少なくとも82%、少なくとも84%、少なくとも86%、少なくとも88%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%同一である）アミノ酸配列を含む。インターフェロン、好ましくはIFN- α である、CPとともに使用するための例示的なPMは、コンセンサス配列：TDVDYYREWXXXXXXXX（配列番号361）を含有でき、式中、Xは任意のアミノ酸である。

【0156】

いくつかの実施形態では、ACCは、表10に列挙される1対のPM1及びCP1、または1対のPM2及びCP2を含んでよく、この表は、具体的な例示的サイトカインとともに使用するための例となるPMを含有する。いくつかの例では、PM1は、配列番号328、329、323及び331～369からなる群から選択される配列を含み、かつCP1はインターフェロンである；PM1は、配列番号328、329、323及び331～364からなる群から選択される配列を含み、かつCP1はインターフェロン α である；PM1は、配列番号331～360、362～364からなる群から選択される配列を含み、かつCP1はインターフェロン β である；PM1は、配列番号331～360、366～369からなる群から選択される配列を含み、かつCP1はインターフェロン γ である；PM1は、配列番号370～374からなる群から選択される配列を含み、かつCP1はIL-12である；PM1は、配列番号375～382、469～477、478からなる群から選択される配列を含み、かつCP1はIL-15である；PM1は、配列番号383～468、469～478からなる群から選択される配列を含み、かつCP1はIL-2である；またはPM1は、配列番号478及び479からなる群から選択される配列を含み、かつCP1はIL-21である。いくつかの例では、PM2は、配列番号328、329、323及び331～369からなる群から選択される配列を含み、かつCP2はインターフェロンである；PM2は、配列番号328、329、323及び331～364からなる群から選択される配列を含み、かつCP2はインターフェロン α である；PM2は、配列番号331～360、362～364からなる群から選択される配列を含み、かつCP2はインターフェロン β である；PM2は、配列番号331～360、366～369からなる群から選択される配列を含み、かつCP2はインターフェロン γ である；PM2は、配列番号370～374からなる群から選択される配列を含み、かつCP2はIL-12である；PM2は、配列番号375～382、469～477、478からなる群から選択される配列を含み、かつCP2はIL-15である；PM2は、配列番号383～468、469～478からなる群から選択される配列を含み、かつCP2はIL-2である；またはPM2は、配列番号478及び479からなる群から選択される配列を含み、かつCP2はIL-21である。

【0157】

いくつかの実施形態では、PMは不活性サイトカインを含んでよい。例えば、不活性サイトカインは、ACCのCP構成成分と相互作用して、CPとCPの結合パートナーとの間の相互作用を妨げてよい。一例では、不活性サイトカインは、変異、例えばL130Pの変異を有するIFN α -2b（配列番号329）を含んでよい。別の例では、不活性サイトカインは、野生型サイトカインのトランケート型、例えば1～150個のアミノ酸を有するIFN α -2b（配列番号328）であってよい。

【0158】

いくつかの実施形態では、PMは、一度サイトカインから切り離され、遊離状態になってから、生物活性または治療効果、例えば結合能力を有してよい。例えば、遊離のペプチドは、同一または異なる結合パートナーと結合できる。特定の実施形態では、遊離のPM（切り離されたPM）は、治療効果を発揮して、本明細書で開示される組成物に二次機能を提供することができる。いくつかの実施形態では、PMは、一度サイトカインから切り離され、遊離状態になってから、有利には生物活性を示さなくてよい。例えば、いくつかの実施形態では、遊離状態のPMは、対象において免疫応答を誘発しない。

【0159】

試薬へのコンジュゲート

本開示は、付加的な要素、例えば対象である細胞または組織への送達を促進する標的部位、試薬（例えば、治療薬、抗腫瘍薬）、毒素、またはこれらのフラグメントなど、を本明細書に記載されるACCのいずれかに含有する方法及び材料も提供する。

【0160】

本明細書に記載されるACCのいずれかのいくつかの実施形態では、ACCは、細胞毒性剤、例えば限定されないが、毒素（例えば、細菌、真菌、植物、もしくは動物起源の酵素的に活性な毒素、もしくはこれらのフラグメント）または放射性同位体など、にコンジュゲートすることができる。本明細書に記載されるACCのいずれかのいくつかの実施形態では、活性化可能サイトカイン構成体は、細胞毒性剤、例えば限定されないが、毒素（例えば、細菌、真菌、植物、もしくは動物起源の酵素的に活性な毒素、もしくはこれらのフラグメント）または放射性同位体など、にコンジュゲートすることができる。

【0161】

本明細書に記載されるACCのいずれかにコンジュゲートすることができる、非限定的な例示的細胞毒性剤としては、ドラスタチン及びそれらの誘導体（例えば、アウリスタチンE、AFP、モノメチルアウリスタチンD（MMA D）、モノメチルアウリスタチンF（MMA F）、モノメチルアウリスタチンE（MMA E）、デスメチルアウリスタチンE（DMA E）、アウリスタチンF、デスメチルアウリスタチンF（DMA F）、ドラスタチン16（Dm J）、ドラスタチン16（Dp v）、アウリスタチン誘導体（例えば、アウリスタチンチラミン、アウリスタチンキノロン）、メイタンシノイド（例えば、DM-1、DM-4）、メイタンシノイド誘導体、デュオカルマイシン、 α -アマニチン、ツルボスタチン、フェンスタチン、ヒドロキシフェンスタチン、スポンギスタチン5、スポンギスタチン7、ハリスタチン1、ハリスタチン2、ハリスタチン3、ハロコンプスタチン、ピロロベンズイミダゾール（PBI）、シブロスタチン6、ドクサリフォーム（doxaliform）、セマドチン類似体（CemCH₂-SH）、シュードモナス毒素A（PES8）変異体、シュードモナス毒素A（ZZ-PE38）変異体、ZJ-101、アンスラサイクリン、ドキシソルピシン、ダウノルピシン、プリオスタチン、カンプトセシン、7-置換カンプトテシン、10, 11-ジフルオロオロメチレンジオキシカンプトセシン、コンプレタスタチン、デプロモアプリシアトキシン、Kahamide-F、ディスコデルモライド、及びエクテイナシジンが挙げられる。

【0162】

本明細書に記載されるACCのいずれかにコンジュゲートすることができる、非限定的な、例示的な酵素的に活性な毒素としては、ジフテリア毒素、Pseudomonas aeruginosaからの外毒素A鎖、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデッシンA鎖、

10

20

30

40

50

α -サルシン、*Aleurias fordii* タンパク質、ジアンシン (*dianf hin*) タンパク質、*Phytoiaca Americana* タンパク質 (例えば、PAPI、PAPII 及び PAP-8)、*momordica charantia* 阻害剤、クルシン、クロティーズ (*crotirs*)、*sapaonaria officinalis* 阻害剤、ゲイオニン (*geionin*)、ミトゲリン (*mitogelilin*)、レストリクトシン、フェノマイシン、ネオマイシン、及びトリコテセンが挙げられる。

【0163】

本明細書に記載される ACC のいずれかにコンジュゲートすることができる、非限定的な、例示的な抗悪性腫瘍薬としては、アドリアマイシン、セルビジン、ブレオマイシン、アルケラン、ベルバン、オンコビン、フルオロウラシル、メトトレキサート、チオテパ、

10

【0164】

本明細書に記載される ACC のいずれかにコンジュゲートすることができる、非限定的な、例示的な抗ウイルス薬としては、アシクロビル、ヴィラ A 及びシンメトレルが挙げられる。

【0165】

本明細書に記載される ACC のいずれかにコンジュゲートすることができる、非限定的な、例示的な抗真菌薬としては、ナイスタチンが挙げられる。

【0166】

本明細書に記載される ACC のいずれかにコンジュゲートすることができる、非限定的な、例示的なコンジュゲート可能な検出試薬としては、フルオレセイン及びその誘導体、フルオレセインイソチオシアネート (FITC) が挙げられる。

20

【0167】

本明細書に記載される活性化可能サイトカイン構成体のいずれかにコンジュゲートすることができる、非限定的な、例示的な抗菌薬としては、アミノグリコシド、ストレプトマイシン、ネオマイシン、カナマイシン、アミカシン、ゲンタマイシン及びトブラマイシンが挙げられる。

【0168】

本明細書に記載される活性化可能サイトカイン構成体のいずれかにコンジュゲートすることができる、非限定的な、例示的な、 3β ， 16β ， 17α -トリヒドロキシコレステ-5-エン-22-オン-16-O- (2-O-4-メトキシベンゾイル- β -D-キシロピラノシル) - (1- $\rightarrow$ 3) - (2-O-アセチル- α -L-アラビノピラノシド) (OSW-1) としては、O6-ベンジルグアニンの s-ニトロベンジロキシカルボニル誘導体、トポシソメラーゼ (*topos isomerase*) 阻害剤、ヘミアステルリン、セファロタキシン、ホモハリントン (*homoharringtonine*)、ピロロベンゾジアゼピンダイマー (PBD)、官能化ピロロベンゾジアゼピン、カリケアミシン (*callicheamicins*)、ポドフィロトキシン (*podophyllitox ins*)、タキサン、及びピンカアルカロイドが挙げられる。

30

【0169】

本明細書に記載される活性化可能サイトカイン構成体のいずれかにコンジュゲートすることができる、非限定的な、例示的な放射性医薬品としては、 ^{123}I 、 ^{89}Zr 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{201}Tl 、 ^{62}Cu 、 ^{18}F 、 ^{68}Ga 、 ^{13}N 、 ^{15}O 、 ^{38}K 、 ^{82}Rb 、 ^{111}In 、 ^{133}Xe 、 ^{11}C 及び $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (テクネチウム) が挙げられる。

40

【0170】

本明細書に記載される ACC のいずれかにコンジュゲートすることができる、非限定的な例示的な重金属としては、バリウム、金及び白金が挙げられる。

【0171】

本明細書に記載される ACC のいずれかにコンジュゲートすることができる、非限定的

50

な例示的な抗マイコプラズマ剤としては、タイロシン、スペクチノマイシン、ストレプトマイシンB、アンピシリン、スルファニルアミド、ポリミキシン及びクロラムフェニコールが挙げられる。

【0172】

当業者は、多種多様な可能性がある部分を、本明細書に記載の活性化可能サイトカイン構成体のいずれかにコンジュゲートできることを理解するであろう。コンジュゲートには、ACC及びその他の部分がそれぞれの活性を保持する限り、2個の分子を結合することになる、任意の化学反応が含まれ得る。コンジュゲートには、多くの化学的反応機構、例えば共有結合、親和性結合、インターカレーション、配位結合及び錯化が含まれ得る。いくつかの実施形態では、好ましい結合は共有結合である。共有結合は、既存の側鎖の直接的な縮合によって、または外部の架橋分子の組み込みによってのいずれかで達成できる。多くの二価または多価の結合剤が、本明細書に記載の活性化可能サイトカイン構成体のいずれかのコンジュゲートに有用である。例えば、コンジュゲートは、有機化合物、例えばチオエステル、カルボジイミド、琥珀酸イミドエステル、グルタルアルデヒド、ジアゾベンゼン及びヘキサメチレンジアミンを含有できる。いくつかの実施形態では、活性化可能サイトカイン構成体は、1個以上の非天然アミノ酸残基を含有して、またはそれ以外の場合には導入して、コンジュゲートに好適な部位を提供することができる。

10

【0173】

本明細書に記載されるACCのいずれかのいくつかの実施形態では、薬剤及び／またはコンジュゲートは、ジスルフィド結合（例えば、システイン分子上のジスルフィド結合）によって、抗原結合ドメインに付着される。多くのがんは高レベルのグルタチオン、すなわち還元剤を自然に放出するため、がん組織微小環境に存在するグルタチオンはジスルフィド結合を還元することができ、その後、送達部位で薬剤及び／またはコンジュゲートが放出される。

20

【0174】

本明細書に記載されるACCのいずれかのいくつかの実施形態では、コンジュゲートが、標的部位内（例えば、疾患組織（例えば、がん組織））で、補体の存在下で標的に結合すると、リンカーにコンジュゲート及び／または薬剤を付着しているアミドまたはエステル結合は切断され、活性化状態でのコンジュゲート及び／または薬剤の放出が得られる。これらのコンジュゲート及び／または薬剤は、対象に投与されると、コンジュゲート及び／または薬剤の標的部位（例えば、疾患組織（例えば、がん組織））での送達及び放出を達成することになる。これらのコンジュゲート及び／または薬剤は、本明細書に記載されるコンジュゲート及び／または薬剤のいずれかのインビボ送達のために特に有効である。

30

【0175】

いくつかの実施形態では、リンカーは、補体系の酵素によって開裂可能ではない。例えば、コンジュゲート及び／または薬剤は、補体活性化によって標的細胞が最終的に溶解されるため、補体活性化なしで放出される。そのような実施形態では、コンジュゲート及び／または薬剤は、標的細胞に送達されることになる（例えば、ホルモン、酵素、コルチコステロイド、神経伝達物質または遺伝子）。さらに、リンカーは血清プロテアーゼによって穏やかに開裂しやすくなり、コンジュゲート及び／または薬剤は、標的部位でゆっくりと放出される。

40

【0176】

本明細書に記載されるACCのいずれかのいくつかの実施形態では、コンジュゲート及び／または薬剤は、コンジュゲート及び／または薬剤が標的部位（例えば、疾患組織（例えば、がん組織））に送達されるが、コンジュゲート及び／または薬剤は放出されないように設計される。

【0177】

本明細書に記載されるACCのいずれかのいくつかの実施形態では、コンジュゲート及び／または薬剤は、直接または開裂不可リンカーを介してのいずれかで、抗原結合ドメインに付着される。例示的な開裂不可リンカーとしては、アミノ酸（例えば、D-アミノ酸

50

）、ペプチド、または、後に抗原結合ドメインへの付着に利用できる官能基を含有するように本明細書に記載される方法によって修飾されてよい、その他の有機化合物が挙げられる。

【0178】

本明細書に記載されるACCのいずれかのいくつかの実施形態では、ACCは、薬剤のコンジュゲートの少なくとも1個の点を含む。いくつかの実施形態では、コンジュゲートの全ての使用可能な点が、薬剤へのコンジュゲートに利用できる。いくつかの実施形態では、1個以上のコンジュゲートの点としては、ジスルフィド結合に関与する硫黄原子、鎖間ジスルフィド結合に関与する硫黄原子、鎖間スルフィド結合に関与する硫黄原子であるが鎖内ジスルフィド結合に関与する硫黄原子ではない硫黄原子、及び／またはシステイン、もしくは硫黄原子を含むその他のアミノ酸残基の硫黄原子が挙げられるが、これらに限定されない。このような場合、残基は、タンパク質構成体構造中に天然に存在してよく、または限定されることなく、部位特異的変異誘発、化学変換、もしくは非天然のアミノ酸の誤取込などの方法を用いて、タンパク質構成体に組み込まれてもよい。

10

【0179】

本開示は、コンジュゲート用のACCを調製する方法及び材料も提供する。本明細書に記載されるACCのいずれかのいくつかの実施形態では、ACCは、1個以上の鎖間ジスルフィド結合を含むように修飾される。例えば、ACC内のジスルフィド結合は、還元剤、例えば限定されることなく、TCEP、DTTまたはβ-メルカプトエタノールなどへの曝露後に、還元されることができる。場合によっては、ジスルフィド結合の還元は、部分的な還元のみである。本明細書で使用する場合、用語「部分的還元」は、ACCが還元剤と接触し、コンジュゲートの、全ての利用可能な部位の一部が還元される状況を意味する（例えば、全てのジスルフィド結合が還元されるわけではない）。いくつかの実施形態では、活性化可能サイトカイン構成体は、還元剤との接触後に、コンジュゲートの全ての利用可能な部位が99%未満（例えば、98%未満、97%未満、96%未満、95%未満、90%未満、85%未満、80%未満、75%未満、70%未満、65%未満、60%未満、55%未満、50%未満、45%未満、40%未満、35%未満、30%未満、25%未満、20%未満、15%未満、10%未満または5%未満）還元される場合、部分的に還元される。いくつかの実施形態では、1個以上の鎖間ジスルフィド結合における還元を有するACCが、遊離チオールと反応性である薬剤にコンジュゲートされる。

20

30

【0180】

本開示は、また、治療薬をACCの特定の位置にコンジュゲートする方法及び材料を提供する。本明細書に記載されるACCのいずれかのいくつかの実施形態では、治療薬がACCに、ACC上の特定の位置でコンジュゲートすることができるように、ACCは修飾される。例えば、ACCは、ACCへのコンジュゲートを促進するように、部分的に還元され得る。このような場合、ACCの部分的還元は、ACCのコンジュゲート部位が還元されないように存在する。いくつかの実施形態では、ACC上のコンジュゲート部位（複数可）は、タンパク質構成体上の特定の位置における薬剤のコンジュゲートを促進するように選択される。還元剤を用いた処置に際し、さまざまな要因がACCの「還元レベル」に影響し得る。例えば、本明細書に記載される方法及び材料を用いてACCの部分的還元を達成するためには、限定されないが、ACCに対する還元剤の比、インキュベートの長さ、インキュベート温度、及び／または還元反応溶液のpHの最適化が必要となり得る。任意の適切な要因の組み合わせ（例えば、ACCに対する還元剤の比、還元剤とのインキュベートの長さ及び温度、及び／または還元剤のpH）を用いて、ACCの部分的還元を達成できる（例えば、利用可能なコンジュゲート部位の全体的な還元、または特定のコンジュゲート部位の還元）。

40

【0181】

ACCに対する還元剤の有効な比率は、薬剤へのコンジュゲートを可能にする様式で、ACCを少なくとも部分的に還元する（例えば、利用可能なコンジュゲート部位の全体的な還元、または特定のコンジュゲート部位の還元）、任意の比率であることができる。い

50

くつかの実施形態では、A C C に対する還元剤の比は、約 20 : 1 ~ 1 : 1、約 10 : 1 ~ 1 : 1、約 9 : 1 ~ 1 : 1、約 8 : 1 ~ 1 : 1、約 7 : 1 ~ 1 : 1、約 6 : 1 ~ 1 : 1、約 5 : 1 ~ 1 : 1、約 4 : 1 ~ 1 : 1、約 3 : 1 ~ 1 : 1、約 2 : 1 ~ 1 : 1、約 20 : 1 ~ 1 : 1. 5、約 10 : 1 ~ 1 : 1. 5、約 9 : 1 ~ 1 : 1. 5、約 8 : 1 ~ 1 : 1. 5、約 7 : 1 ~ 1 : 1. 5、約 6 : 1 ~ 1 : 1. 5、約 5 : 1 ~ 1 : 1. 5、約 4 : 1 ~ 1 : 1. 5、約 3 : 1 ~ 1 : 1. 5、約 2 : 1 ~ 1 : 1. 5、約 1. 5 : 1 ~ 1 : 1. 5、または約 1 : 1 ~ 1 : 1. 5 の範囲であることになる。いくつかの実施形態では、比率は、約 5 : 1 ~ 1 : 1 の範囲である。いくつかの実施形態では、比率は、約 5 : 1 ~ 1. 5 : 1 の範囲である。いくつかの実施形態では、比率は、約 4 : 1 ~ 1 : 1 の範囲である。いくつかの実施形態では、比率は、約 4 : 1 ~ 1. 5 : 1 の範囲である。いくつかの実施形態では、比率は、約 8 : 1 ~ 約 1 : 1 の範囲である。いくつかの実施形態では、比率は、約 2. 5 : 1 ~ 1 : 1 の範囲である。

10

【0182】

還元剤で A C C を処置するための有効なインキュベート時間及び温度は、薬剤の A C C へのコンジュゲートを可能にする様式で、A C C を少なくとも部分的に還元する（例えば、利用可能なコンジュゲート部位の全体的な還元、または特定のコンジュゲート部位の還元）、任意の時間及び温度であることができる。いくつかの実施形態では、A C C を処置するためのインキュベート時間及び温度は、37℃で約1時間～37℃で約12時間（または、その任意の部分的な範囲）の範囲であることになる。

【0183】

還元剤で A C C を処置するための還元反応の有効な pH は、A C C の薬剤へのコンジュゲートを可能にする様式で、A C C を少なくとも部分的に還元する（例えば、利用可能なコンジュゲート部位の全体的な還元、または特定のコンジュゲート部位の還元）、任意の pH であることができる。

20

【0184】

部分的に還元された A C C がチオール含有薬剤と接触すると、その薬剤は、A C C 内の鎖間のチオールにコンジュゲートすることができる。薬剤は、チオール含有試薬（例えば、システインまたは N-アセチルシステイン）を用いて、チオールを含有するように修飾できる。例えば、A C C は、約 37℃で約1時間、A C C に対する還元剤の所望の比率における、還元剤（例えば、TEPC）とのインキュベート後に、部分的に還元され得る。A C C に対する還元剤の有効な比率は、チオール含有薬剤のコンジュゲートを可能にする様式で、A C C 内に位置する少なくとも2個の鎖間ジスルフィド結合を部分的に還元する（例えば、利用可能なコンジュゲート部位の全体的な還元、または特定のコンジュゲート部位の還元）、任意の比率であることができる。

30

【0185】

本明細書に記載される A C C のいずれかのいくつかの実施形態では、A C C は、いかなる鎖内ジスルフィド結合の還元も回避する様式で、還元剤によって還元される。本明細書に記載される A C C のいずれかのいくつかの実施形態では、A C C は、いかなる鎖内ジスルフィド結合の還元も回避し、少なくとも1個の鎖間ジスルフィド結合を還元する様式で、還元剤によって還元される。

40

【0186】

本明細書に記載される A C C のいずれかのいくつかの実施形態では、A C C はまた、A C C にコンジュゲートした薬剤を含有できる。いくつかの実施形態では、コンジュゲートされる薬剤は、治療薬である。

【0187】

いくつかの実施形態では、薬剤（例えば、活性化可能サイトカイン構成体にコンジュゲートされる薬剤）は、検出可能部分、例えば標識またはその他のマーカーなどである。例えば、薬剤は、放射性標識したアミノ酸、標識したアビジン（例えば、光学的または熱量測定法によって検出され得る、蛍光マーカーまたは酵素活性を含有するストレプトアビジン）によって検出され得る1種以上のバイオニル部分、1種以上の放射性同位元素もしくは

50

は放射性核種、1種以上の蛍光標識、1種以上の酵素標識、及び／または1種以上の化学発光剤である、または、これらを含む。いくつかの実施形態では、検出可能部分は、スパーサー分子によって付着される。

【0188】

いくつかの実施形態では、薬剤（例えば、活性化可能サイトカイン構成体にコンジュゲートされる細胞毒性剤）は、炭水化物部分、スルフヒドリル基、アミノ基またはカルボキシレート基を用いて、ACCに連結される。

【0189】

薬剤にコンジュゲートした、本明細書に記載されるACCのいずれかのいくつかの実施形態では、薬剤（例えば、活性化可能サイトカイン構成体にコンジュゲートされる細胞毒性剤）は、リンカー及び／またはCM（開裂可能配列とも称される）を介して、ACCにコンジュゲートされる。いくつかの実施形態では、薬剤（例えば、活性化可能サイトカイン構成体にコンジュゲートされる細胞毒性剤）は、ACC内のシステインまたはリシンにコンジュゲートされる。いくつかの実施形態では、薬剤（例えば、活性化可能サイトカイン構成体にコンジュゲートされる細胞毒性剤）は、ACCの別の残基、例えば本明細書にて開示した残基にコンジュゲートされる。いくつかの実施形態では、リンカーは、チオール含有リンカーである。リンカー及び／またはCMの、いくつかの非限定例を表1に示す。

10

20

30

40

50

【表 1】

表 1 :

開裂可能な配列／CM の種類	アミノ酸配列	
プラスミン CM		
プロウロキナーゼ	PRFKIIGG (配列番号 280)	
	PRFRIIGG (配列番号 281)	
TGFβ	SSRHRRALD (配列番号 282)	
プラスミノーゲン	RKSSIIIRMRDVVL (配列番号 283)	
スタフィロキナーゼ	SSSFDKGKYKKGDDA (配列番号 284)	10
	SSSFDKGKYKKGDDA (配列番号 285)	
第 Xa 因子の CM	IEGR (配列番号 286)	
	IDGR (配列番号 287)	
	GGSIDGR (配列番号 288)	
MMP CM		
ゼラチナーゼ A	PLGLWA (配列番号 289)	
コラゲナーゼ CM		
仔ウシ皮膚コラーゲン (α1 (I) 鎖)	GPQGIAGQ (配列番号 290)	20
仔ウシ皮膚コラーゲン (α2 (I) 鎖)	GPQGLLGA (配列番号 291)	
ウシ軟骨コラーゲン (α1 (II) 鎖)	GIAGQ (配列番号 292)	
ヒト肝臓コラーゲン (α1 (III) 鎖)	GPLGIAGI (配列番号 293)	
ヒト α ₂ m	GPEGLRVG (配列番号 294)	
ヒト PZP	YGAGLGVV (配列番号 295)	
	AGLGVVER (配列番号 296)	
	AGLGISST (配列番号 297)	
ラット α ₁ M	EPQALAMS (配列番号 298)	
	QALAMSAI (配列番号 299)	30
ラット α ₂ M	AAYHLVSQ (配列番号 300)	
	MDAFLESS (配列番号 301)	
ラット α ₁ I ₃ (2J)	ESLPVVAV (配列番号 302)	
ラット α ₁ I ₃ (27J)	SAPAVESE (配列番号 303)	
ヒト線維芽細胞コラゲナーゼ (自己分解性開裂)	DVAQFVLT (配列番号 304)	
	VAQFVLT (配列番号 305)	
	VAQFVLTE (配列番号 306)	
	AQFVLTEG (配列番号 307)	
	PVQPIGPQ (配列番号 308)	40

【0190】

当業者は、多種多様な可能性がある部分を、本開示の ACC に連結できることを理解するであろう。(例えば、“Conjugate Vaccines”, Contributions to Microbiology and Immunology, J. M. Cruse and R. E. Lewis, Jr (eds), Carger Press, New York, (1989) 参照。これらの全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。) 一般に、薬剤 (例えば、細胞毒性剤) の、ACC への有効なコンジュゲートは、ACC に薬剤をコンジュゲートし、一方で薬剤及び ACC が機能性を保持することも可能にする、任意の化学反応によって達成できる。

【0191】

薬剤にコンジュゲートした、ACCのいずれかのいくつかの実施形態では、各種の二官能性タンパク質カップリング剤を用いて、ACCに薬剤をコンジュゲートすることができる、限定されることなく、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオール)プロピオネート(SPDP)、イミノチオラン(IT)、イミドエステルの二官能性誘導体(例えば、アジブイミド酸ジメチルHCL)、活性エステル(例えば、スベリン酸ジスクシンイミジル)、アルデヒド(例えば、グルタルアルデヒド)、ビス-アジド化合物(例えば、ビス(p-アジドベンゾイル)ヘキサンジアミン)、ビス-ジアゾニウム誘導体(例えば、ビス-(p-ジアゾニウムベンゾイル)-エチレンジアミン)、ジイソシアネート(例えば、トリエン2,6-ジイソシアネート)、及びビス-活性フッ素化合物(例えば、1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼン)などが挙げられる。例えば、リシン免疫毒素は、Vitetta et al., Science 238:1098 (1987)に記載されるように調製することができる。いくつかの実施形態では、炭素-14標識1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレントリアミンペンタ酢酸(MX-DTPA)キレート剤を用いて、ACCに放射性ヌクレオチドをコンジュゲートできる。(例えば、WO94/11026参照)。

10

【0192】

好適なリンカー及びCMは、文献に記載されている(例えば、MBS(M-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル)の使用について記載している、Ramakrishnan, S. et al., Cancer Res. 44:201-208 (1984)参照)。オリゴペプチドリンカーを経由してACCに結合されたハロゲン化アセチルヒドラジド誘導体の使用について記載している、米国特許第5,030,719号も参照されたい。いくつかの実施形態では、好適なリンカーとしては、(i)EDC(1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩；(ii)SMPT(4-スクシンイミジルオキシカルボニル- α -メチル- α -(2-ピリジルジチオ)-トルエン(Pierce Chem. Co., Cat. (21558G)；(iii)SPDP(スクシンイミジル-6[3-(2-ピリジルジチオ)プロピオンアミド]ヘキサノエート(Pierce Chem. Co., Cat #21651G)；(iv)スルホ-LC-SPDP(スルホスクシンイミジル6[3-(2-ピリジルジチオ)-プロピオンアミド]ヘキサノエート(Pierce Chem. Co. Cat. #2165-G)；及び(v)EDCにコンジュゲートしたスルホ-NHS(N-ヒドロキシスルホスクシンイミド：Pierce Chem. Co., Cat. #24510)が挙げられる。追加のリンカーとしては、SMCC、スルホSMCC、SPDBまたはスルホSPDBが挙げられるが、これらに限定されない。

20

30

【0193】

上記のリンカー及びCMは、異なる属性を有する構成成分を含有し、したがって、異なる生理化学的特性を有するコンジュゲートがもたらされる。例えば、アルキルカルボキシレートのスルホNHSエステルは、芳香族カルボキシレートのスルホNHSエステルよりも、より安定している。NHSエステル含有のリンカーは、スルホNHSエステルよりも可溶性が低い。さらに、リンカーSMPTは、立体障害型のジスルフィド結合を含有し、安定性の高いコンジュゲートを形成することができる。ジスルフィド結合は、ジスルフィド結合がインビトロで切断されるため、一般的にその他の結合より安定性が低く、利用可能なコンジュゲートが得られることが少ない。スルホNHSは、特に、カルボジイミドカップリングの安定性を高めることができる。カルボイミジドカップリング(例えば、EDC)をスルホNHSと結合させて用いる場合、カルボイミジドカップリング反応単独よりも、加水分解により抵抗性のあるエステルを形成する。

40

【0194】

ACCのいずれかのいくつかの実施形態では、薬剤を、ACCのアミノ酸配列に包含される修飾されたアミノ酸配列を用いて、ACCにコンジュゲートすることができる。ACCのアミノ酸配列内の特定の位置で、コンジュゲート可能なアミノ酸を挿入することによ

50

って、コンジュゲートした薬剤（例えば、細胞毒性剤）の配置及び／または投薬量が制御されるように、タンパク質構成体が設計され得る。例えば、ACCは、反応性チオール基を提供し、タンパク質の折り畳み及び／またはアセンブリに負の影響を及ぼさず、抗原結合特性を変えない、第1のモノマー、第2のモノマー、第3のモノマー及び／または第4のモノマー上の位置で、システインアミノ酸残基を含有するように修飾され得る。いくつかの実施形態では、ACCは、ACCのアミノ酸配列内に、1個以上の非天然アミノ酸残基を含有するように修飾され、コンジュゲートに好適な部位を提供することができる。いくつかの実施形態では、ACCは、ACCのアミノ酸配列内に、酵素的に活性化可能なペプチド配列を含有するように修飾され得る。

【0195】

核酸

本明細書において、本明細書に記載のACCのいずれかの、第1のモノマー構成体（または、第1のモノマー構成体のタンパク質の部分）（例えば、明細書に記載される第1のモノマー構成体のいずれか）、及び第2のモノマー構成体（または、第2のモノマー構成体のタンパク質の部分）（例えば、本明細書に記載される第2のモノマー構成体のいずれか）をコードする配列を含有する核酸が提供される。いくつかの実施形態では、1対の核酸は、第1のモノマー構成体（または、第1のモノマー構成体のタンパク質の部分）及び第2のモノマー構成体（または、第2のモノマー構成体のタンパク質の部分）を一緒になってコードする。いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体（または、第1のモノマー構成体のタンパク質の部分）をコードする核酸配列は、第2のモノマー構成体（または、第2のモノマー構成体のタンパク質の部分）をコードする核酸配列と、少なくとも70%同一である（例えば、少なくとも72%同一である、少なくとも74%同一である、少なくとも76%同一である、少なくとも78%同一である、少なくとも80%同一である、少なくとも82%同一である、少なくとも84%同一である、少なくとも86%同一である、少なくとも88%同一である、少なくとも90%同一である、少なくとも92%同一である、少なくとも94%同一である、少なくとも96%同一である、少なくとも98%同一である、少なくとも99%同一である、または100%同一である）。

【0196】

いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体のタンパク質の部分をコードする核酸は、PM1、CP1、CM1及びCM3部分を含むポリペプチドをコードする。いくつかの実施形態では、第2のモノマーのタンパク質の部分をコードする核酸は、CP2及びCM2部分を含むポリペプチドをコードする。いくつかの実施形態では、第2のモノマーのタンパク質の部分をコードする核酸は、CP2、CM2、PM2及びCM4部分を含むポリペプチドをコードする。いくつかの実施形態では、1対の核酸は、第1のモノマー構成体のタンパク質の部分及び第2のモノマー構成体のタンパク質の部分を一緒になってコードし、タンパク質の部分は、続いて、それぞれDD1及びDD2部分にコンジュゲートされる（後続のコンジュゲートステップにおいて）。

【0197】

いくつかの実施形態では、第1のモノマー構成体をコードする核酸は、DD1部分を含むポリペプチドをコードする。いくつかの実施形態では、第2のモノマー構成体をコードする核酸は、DD2部分を含むポリペプチドをコードする。

【0198】

ベクター

本明細書において、本明細書に記載の核酸のいずれかを含有するベクター及びベクターのセットが提供される。当業者は、本明細書に記載されるACCのいずれかを作製するために、好適なベクターまたはベクターのセット（例えば、発現ベクター）を選択すること、及びベクターまたはベクターのセットを使用して、本明細書に記載されるACCのいずれかを発現させることができるであろう。例えば、ベクターまたはベクターのセットの選択では、ベクター（複数可）は、細胞の染色体に組み込まれ、及び／またはそこで複製できる必要があり得るため、細胞は考慮されなければならない。ACCを生成するために使

10

20

30

40

50

用可能な例示的なベクターを、以下にも記載する。

【0199】

本明細書で使用する場合、用語「ベクター」は、細胞内（例えば、本明細書に記載される細胞のいずれか）で、組み換えタンパク質（例えば、第1のまたは第2のモノマー）の発現を誘導できるポリヌクレオチドを意味する。「ベクター」は、宿主細胞内に核酸及びそれらのフラグメントを送達することができ、制御配列（例えば、プロモータ、エンハンサ、ポリ（A）シグナル）を含有する。外因性ポリヌクレオチドは、発現されるために、発現ベクターに挿入されてよい。用語「ベクター」はまた、人工染色体、プラスミド、レトロウイルス及びバキュロウイルスベクターも包含する。

【0200】

本明細書に記載される核酸のいずれか1つを含有し、細胞（例えば、哺乳動物細胞）を形質転換するのに好適なベクターを作成する方法は、当該技術分野で周知である。例えば、Sambrook et al., Eds., "Molecular Cloning: A Laboratory Manual," 2nd Ed., Cold Spring Harbor Press, 1989及びAusubel et., Eds., "Current Protocols in Molecular Biology," Current Protocols, 1993を参照されたい。

【0201】

ベクターの非限定例としては、プラスミド、トランスポゾン、コスミド、ならびにウイルスベクター（例えば、任意のアデノウイルスベクター（例えば、pSVまたはpCMVベクター）、アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクター、レンチウイルスベクター及びレトロウイルスベクター）、ならびに任意のGateway（登録商標）ベクターが挙げられる。ベクターは、例えば、発現のための十分なシス活性エレメントを含有でき、発現のための他のエレメントは、宿主哺乳動物細胞によって、またはインビトロの発現系において供給され得る。当業者は、本明細書に記載されるACCのいずれかを作製するために好適なベクター及び哺乳動物細胞を選択できるであろう。

【0202】

本明細書に記載されるACCのいずれかのいくつかの実施形態では、ACCは、組み換えDNA技術及び真核生物または原核生物の種における発現を使用して、生合成的に作られてよい。

【0203】

いくつかの実施形態では、ベクターは、本明細書に記載されるACCのいずれかの、第1のモノマー及び第2のモノマーをコードする核酸を含有する。いくつかの実施形態では、ベクターは、発現ベクターである。

【0204】

いくつかの実施形態では、1対のベクターは、本明細書に記載されるACCのいずれかの、第1のモノマー及び第2のモノマーと一緒にコードする1対の核酸と一緒に含有する。いくつかの実施形態では、ベクターの対は、発現ベクターの対である。

【0205】

細胞

本明細書においては、本明細書に記載される核酸のいずれかを含有する、本明細書に記載されるベクターまたはベクターのセットのいずれかを含有する宿主細胞もまた提供される。

【0206】

本明細書に記載されるいずれかのACCは、任意の細胞（例えば、哺乳動物細胞）によって生成できる。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、哺乳動物細胞（例えば、ヒト細胞）、げっ歯動物細胞（例えば、マウス細胞、ラット細胞、ハムスター細胞もしくはモルモット細胞）、またはヒト以外の霊長類細胞である。

【0207】

核酸及びベクター（例えば、本明細書に記載されるベクターのいずれかまたはベクター

10

20

30

40

50

のセットのいずれか)を、細胞内に導入する方法は、当該技術分野において既知である。細胞内に核酸を導入するために使用可能な方法の非限定例としては、リポフェクション、形質移入、リン酸カルシウム形質移入、カチオン性ポリマー形質移入、ウイルス性形質導入(例えば、アデノウイルス形質導入、レンチウイルス形質導入)、ナノ粒子形質移入及びエレクトロポレーションが挙げられる。

【0208】

いくつかの実施形態では、導入ステップは、本明細書に記載されるACCのいずれかを構成するモノマーをコードする核酸を含有するベクター(例えば、本明細書に記載されるベクターまたはベクターのセットのいずれか)を細胞内に導入することを含む。

【0209】

本明細書に記載される方法のいずれかのいくつかの実施形態では、細胞は、真核細胞であることができる。本明細書で使用する場合、用語「真核細胞」は、異なる、膜結合性の核を有する細胞を意味する。このような細胞としては、例えば、哺乳動物(例えば、げっ歯動物、ヒト以外の霊長類もしくはヒト)、昆虫、真菌または植物の細胞が挙げられ得る。いくつかの実施形態では、真核細胞は、酵母細胞、例えば *Saccharomyces cerevisiae* である。いくつかの実施形態では、真核細胞は、より高等な真核細胞、例えば哺乳動物、トリ、植物または昆虫の細胞である。哺乳動物細胞の非限定例としては、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞及びヒト胎児腎細胞(例えば、HEK 293細胞)が挙げられる。

【0210】

いくつかの実施形態では、細胞は、本明細書に記載されるACCのいずれか1つの、第1のモノマー及び第2のモノマーをコードする核酸を含有する。いくつかの実施形態では、細胞は、本明細書に記載されるACCのいずれかの、第1のモノマー及び第2のモノマーと一緒にコードする、1対の核酸を含有する。

【0211】

活性化可能サイトカイン構成体の作製方法

本明細書において、本明細書に記載されるACCのいずれかを作製する方法であって、(a)本明細書に記載される組み換え宿主細胞のいずれかを、液体培地中で、ACCを作製するのに十分な条件下にて培養することと、(b)宿主細胞及び／または液体培地からACCを回収することと、を含む、方法が提供される。

【0212】

細胞を培養する方法は、当該技術分野において周知である。細胞は、インビトロで、細胞増殖、細胞分化及び細胞成長に好都合である条件下にて維持できる。例えば、細胞は、細胞(例えば、本明細書に記載される細胞のいずれか)を、必要な成長因子及び、細胞生存力及び成長を支援するのに十分な補助剤を含有する細胞培地に接触させることによって培養できる。

【0213】

本明細書に記載される方法のいずれかのいくつかの実施形態では、本方法は、回収したACCを単離することをさらに含む。単離方法の非限定例としては、硫酸沈殿、ポリエチレングリコール沈殿、サイズ排除クロマトグラフィ、リガンド-親和性クロマトグラフィ、イオン交換クロマトグラフィ(例えば、アニオンまたはカチオン)、及び疎水性相互作用クロマトグラフィが挙げられる。

【0214】

いくつかの実施形態では、細胞は、CP1、CM1、PM2及びCM3を含有する第1のモノマー構成体のタンパク質の部分と、CP2及びCM2、所望によりPM2及びCM4を含有する第2のモノマー構成体のタンパク質の部分と、を生成でき、タンパク質の部分は、続いて、それぞれDD1及びDD2部分にコンジュゲートされる。

【0215】

本明細書に記載される組成物及び方法は、二量体化ドメイン間のジスルフィド結合の形成を可能にし、ACCの二量体化を形成及び維持する、非還元または部分的な還元条件の

10

20

30

40

50

使用を伴ってよい。

【0216】

本明細書に記載される方法のいずれかのいくつかの実施形態では、本方法は、単離したACCを薬学的組成物に調製することをさらに含む。さまざまな製剤が、当該技術分野において既知であり、本明細書に記載される。本明細書に記載される単離したACCのいずれかは、任意の投与経路用（例えば、静脈内、腫瘍内、皮下、皮内、経口（例えば、吸入）、経皮（例えば、局所用）、経粘膜、または筋肉内）に調製できる。

【0217】

本明細書において、本明細書に記載の方法のいずれかで作製したACCも提供される。本明細書記載の方法のいずれかによって作製したACCのいずれかを含有する組成物（例えば、薬学的組成物）もまた提供される。本明細書においては、本明細書に記載される組成物（例えば、薬学的組成物）のいずれかの、少なくとも1回の用量を含有するキットもまた提供される。

10

【0218】

治療方法

本明細書において、対象の疾患（例えば、がん（例えば、本明細書に記載されるがんのいずれか））を治療する方法であって、治療有効量の、本明細書に記載されるACCのいずれかを、対象に投与することを含む方法が提供される。

【0219】

本明細書で使用する場合、用語「対象」は、任意の哺乳動物を意味する。いくつかの実施形態では、対象は、ネコ科動物（例えば、ネコ）、イヌ科動物（例えば、イヌ）、ウマ科動物（例えば、ウマ）、ウサギ、ブタ、げっ歯動物（例えば、マウス、ラット、ハムスターもしくはモルモット）、ヒト以外の霊長類（例えば、シミアン（例えば、サル（例えば、ヒヒ、マーモセット）、もしくは類人猿（例えば、チンパンジー、ゴリラ、オランウータンもしくはテナガザル））、またはヒトである。いくつかの実施形態では、対象はヒトである。

20

【0220】

いくつかの実施形態では、対象は、疾患（例えば、がん（例えば、本明細書に記載のがんのいずれか））を有すると、予め特定または診断されている。

【0221】

本明細書で使用する場合、用語「治療する」は、対象（例えば、本明細書に記載される対象のいずれか）において、疾患（例えば、がん（例えば、本明細書に記載されるがんのいずれか））の重症度、頻度または、1つ以上（例えば、1、2、3、4または5つ）の症状もしくは兆候の数を低減することを含む。疾患ががんであるいくつかの実施形態では、治療によって、がんを有する対象における、がん増殖の低減、がん進行の阻害、がん転移の阻害、またはがん再発のリスク低減がもたらされる。

30

【0222】

いくつかの実施形態では、本発明の開示の方法及び使用は、静脈内、点滴、腫瘍内、皮下、腹腔内、皮内、経口（例えば、吸入）、鼻孔内、経皮（例えば、局所用）、経粘膜、及び／または筋肉内など、任意の投与経路を含む。

40

【0223】

本明細書に記載される方法のいずれかのいくつかの実施形態では、疾患は、がんである。本明細書においては、治療を必要とする対象（例えば、本明細書に記載される、または当該技術分野において既知の、例示的な対象のいずれか）の治療方法であって、対象に、治療有効量の、本明細書に記載されるACCのいずれか、または本明細書に記載される組成物のいずれか（例えば、薬学的組成物）を投与することを含む、方法もまた提供される。

【0224】

これらの方法のいくつかの実施形態では、対象はがんを有すると特定または診断されている。がんの非限定的例としては、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、グリア芽細胞腫

50

、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、リンパ腫（例えば、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、悪性皮膚T細胞リンパ腫）、白血病（例えば、毛様細胞性白血病、慢性リンパ性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病（CML）、急性リンパ性白血病（ALL））、脊髄形成異常性症候群（MDS）、カポジ肉腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮性癌、肺癌、腎細胞癌、胃及び食道癌、膵臓癌、前立腺癌、脳の癌、大腸癌、骨癌、肺癌、トリプルネガティブ乳癌（TNBC）を含む乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、鼻咽頭腺癌、非小細胞肺癌（NSCLC）、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮体癌、膀胱癌、子宮頸癌、肝臓癌、及び肝細胞癌が挙げられる。いくつかの実施形態では、がんはリンパ腫である。いくつかの実施形態では、リンパ腫はバーキットリンパ腫である。いくつかの態様では、対象は、家族性癌症候群、例えばリフラウメニ症候群、家族性乳癌・卵巣癌（BRCA1またはBRCA2の変異）症候群などを有すると特定または診断されている。開示される方法は、非固形癌の治療にも有用である。例示的な固形腫瘍としては、各種の臓器系、例えば肺、乳房、リンパ系、消化管（例えば、結腸）、泌尿生殖器（例えば、腎臓、尿路上皮、または精巣の腫瘍）、咽頭、前立腺及び卵巣などの悪性腫瘍（例えば、肉腫、腺癌及び癌腫）が挙げられる。例示的な腺癌としては、結腸直腸癌、腎細胞腫、肝臓癌、肺の非小細胞癌、及び小腸の癌が挙げられる。

10

【0225】

National Cancer Instituteによって記載される例示的ながんとしては、成人急性リンパ球性白血病；小児急性リンパ球性白血病；成人急性骨髄性白血病；副腎皮質癌；小児副腎皮質癌；AIDS関連リンパ腫；AIDS関連悪性腫瘍；肛門癌；星細胞腫（小児、小脳）；星細胞腫（大脳、小児）；肝外胆管癌；膀胱癌；小児膀胱癌；骨癌、骨肉腫／悪性線維性組織球腫；小児脳幹部グリオーマ；脳腫瘍（成人）；脳腫瘍、小児脳幹部グリオーマ；脳腫瘍、星細胞腫（小児、小脳）；脳腫瘍、星細胞腫（大脳）／小児悪性神経膠腫；脳腫瘍、小児上衣細胞腫；脳腫瘍、髄芽腫（小児）；脳腫瘍、テント上原始神経外胚葉性腫瘍（小児）；脳腫瘍、視覚路及び視床下部グリオーマ（小児）；脳腫瘍、（小児、その他）；乳癌；乳癌及び妊娠；小児乳癌；男性乳癌；小児気管支腺腫／カルチノイド；小児カルチノイド腫瘍；消化管カルチノイド腫瘍；副腎皮質癌；膵島細胞癌；原発不明癌；原発性中枢神経系リンパ腫；小脳星細胞腫（小児）；大脳星細胞腫／悪性神経膠腫（小児）；子宮頸癌；小児がん；慢性リンパ性白血病；慢性骨髄性白血病；慢性骨髄増殖性疾患；腱鞘の明細胞肉腫；大腸癌；小児結腸直腸癌；悪性皮膚T細胞リンパ腫；子宮体癌；上衣細胞腫（小児）；上皮性卵巣癌；食道癌；小児食道癌；ユーイング肉腫ファミリー腫瘍；小児頭蓋外胚細胞腫瘍；性腺外胚細胞腫瘍；肝外胆管癌；眼の癌、眼内の黒色腫；眼の癌、網膜芽細胞腫；胆嚢癌；胃部（胃）癌；小児胃部（胃）癌；消化管カルチノイド腫瘍；小児頭蓋外胚細胞腫瘍；性腺外胚細胞腫瘍；卵巣胚細胞腫瘍；妊娠性絨毛性腫瘍；小児脳幹部グリオーマ；視覚路及び視床下部グリオーマ（小児）；毛様細胞性白血病；頭頸部癌；成人原発性肝細胞性（肝臓）癌；小児原発性肝細胞性（肝臓）癌；成人ホジキンリンパ腫；小児ホジキンリンパ腫；妊娠中のホジキンリンパ腫；下咽頭癌；視床下部及び視覚路グリオーマ（小児）；眼内の黒色腫；膵島細胞癌（内分泌膵）；カポジ肉腫；腎臓癌；喉頭癌；小児喉頭癌；成人急性リンパ芽球性白血病；小児急性リンパ芽球性白血病；成人急性骨髄性白血病；小児急性骨髄性白血病；慢性リンパ性白血病；慢性骨髄性白血病；毛様細胞性白血病；口唇及び口腔癌；成人原発性肝癌；小児原発性肝癌；非小細胞肺癌；小細胞肺癌；成人急性リンパ球性白血病；小児急性リンパ球性白血病；慢性リンパ性白血病；AIDS関連リンパ腫；原発性中枢神経系リンパ腫；悪性皮膚T細胞リンパ腫；成人ホジキンリンパ腫；小児ホジキンリンパ腫；妊娠中のホジキンリンパ腫；成人非ホジキンリンパ腫；小児非ホジキンリンパ腫；妊娠中の非ホジキンリンパ腫；原発性中枢神経系リンパ腫；ワルデンシュトレームマクログロブリン血症；男性乳癌；悪性中皮腫（成人）；悪性中皮腫（小児）；悪性胸腺腫；髄芽腫（小児）；黒色腫；眼内の黒色腫；メルケル細胞癌；悪性中皮腫；原発不明の転移性頭部扁平上皮癌；多発性内分泌腺腫（小児）；多発性骨髄腫／形質細胞新生物；菌状息肉腫；脊髄形成異常性症候群；

20

30

40

50

慢性骨髓性白血病；小児急性骨髓性白血病；多発性骨髓腫；骨髓増殖性疾患（慢性）；鼻腔及び副鼻腔癌；鼻咽頭癌；小児鼻咽頭癌；神経芽細胞腫；成人非ホジキンリンパ腫；小児非ホジキンリンパ腫；妊娠中の非ホジキンリンパ腫；非小細胞肺癌；口腔癌（小児）；口腔及び口唇癌；口腔咽頭癌；骨肉腫／骨の悪性線維性組織球腫；小児卵巣癌；上皮性卵巣癌；卵巣胚細胞腫瘍；卵巣の低悪性度腫瘍；脾臓癌；小児脾臓癌；脾臓癌、脾島細胞；副鼻腔及び鼻腔癌；副甲状腺癌；陰茎癌；褐色細胞腫；松果体及びテント上原始神経外胚葉性腫瘍（小児）；下垂体腫瘍；形質細胞新生物／多発性骨髓腫；胸膜肺芽腫；妊娠及び乳癌；妊娠及びホジキンリンパ腫；妊娠及び非ホジキンリンパ腫；原発性中枢神経原発悪性リンパ腫；成人原発性肝癌；小児原発性肝癌；前立腺癌；直腸癌；腎細胞（腎臓）癌；小児腎細胞癌；腎盂及び尿管、移行細胞癌；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫（小児）；唾液腺癌；小児唾液腺癌；肉腫、ユーイング肉腫ファミリー腫瘍；カボジ肉腫；肉腫（骨肉腫）／骨の悪性線維性組織球腫；肉腫、小児横紋筋肉腫；成人軟部肉腫；小児軟部肉腫；セーザリー症候群；皮膚癌；皮膚癌（小児）；皮膚癌（黒色腫）；皮膚癌、メルケル細胞；小細胞肺癌；小腸癌；成人軟部肉腫；小児軟部肉腫；原発不明の転移性頸部扁平上皮癌；胃（胃部）癌；小児胃（胃部）癌；テント上原始神経外胚葉性腫瘍（小児）；悪性皮膚T細胞リンパ腫；精巣癌；小児胸腺腫；悪性胸腺腫；甲状腺癌；小児甲状腺癌；腎盂及び尿管、移行細胞癌；妊娠性絨毛性腫瘍；原発不明癌（小児）；小児の普通でない癌；尿管及び腎盂、移行細胞癌；尿道癌；子宮肉腫；陰癌；視覚路及び視床下部グリオーマ（小児期）；外陰癌；ワルデンシュトレームマクログロブリン血症；及びウィルムス腫瘍が挙げられる。

10

20

【0226】

さらなる例示的ながんとしては、びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫（DLBCL）及びマントル細胞リンパ腫（MCL）が挙げられる。

【0227】

上記のがんの転移もまた、本明細書に記載される方法に従って、治療または予防できる。

【0228】

いくつかの実施形態では、これらの方法は、対象におけるがんの1つ以上の症状の数、重症度、または頻度の低減をもたらすことができる（例えば、治療前の対象における、がんの1つ以上の症状の数、重症度または頻度と比較して）。

30

【0229】

本明細書に記載される方法のいずれかのいくつかの実施形態では、本方法は、対象に、追加の治療薬（例えば、表2に列挙される1種以上の治療薬）を投与することをさらに含む。

40

50

【表 2 - 1】

表 2. 追加の治療薬

抗体商品名 (抗体名)	標的
Raptiva (商標) (エファリズマブ)	CD11a
Arzerra (商標) (オファツムマブ)	CD20
Bexxar (商標) (トシツモマブ)	CD20
Gazyva (商標) (オビヌツズマブ)	CD20
Ocrevus (商標) (オクレリズマブ)	CD20
Rituxan (商標) (リツキシマブ)	CD20
Zevalin (商標) (イブリツモマブ チウセタン)	CD20
Adcetris (商標) (ブレントキシマブ ベドチン)	CD30
Myelotarg (商標) (ゲムツズマブ)	CD33
Mylotarg (商標) (ゲムツズマブ オゾガマイシン)	CD33
(バダスツキシマブ)	CD33
(バダスツキシマブ タリリン)	CD33
Campath (商標) (アレムツズマブ)	CD52
Lemtrada (商標) (アレムツズマブ)	CD52
Tactress (商標) (タムツベトマブ)	CD52
Soliris (商標) (エクリズマブ)	補体 C5
Ultomiris (商標) (ラブリズマブ)	補体 C5
(オレンダリズマブ)	補体 C5
Yervoy (商標) (イピリムマブ)	CTLA-4
(トレメリムマブ)	CTLA-4
Orencia (商標) (アバタセプト)	CTLA-4
Hu5c8	CD40L
(レトリズマブ)	CD40L
Rexomun (商標) (エルツマキソマブ)	CD3/Her2
Erbitux (商標) (セツキシマブ)	EGFR
Portrazza (商標) (ネシツムマブ)	EGFR
Vectibix (商標) (パニツムマブ)	EGFR
CH806	EGFR
(デパツキズマブ)	EGFR
(デパツキズマブ マホドチン)	EGFR
(フツキシマブ : モドツキシマブ)	EGFR
ICR62 (イムガツズマブ)	EGFR

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

(ラブリツキシマブ)	EGFR
(ロサツキシズマブ (losatuxizumab))	EGFR
(ロサツキシズマブ ベドチン (losatuxizumab vedotin))	EGFR
mAb 528	EGFR
(マツズマブ)	EGFR
(ニモツズマブ)	EGFR
(トムゾツキシマブ)	EGFR
(ザルツムマブ)	EGFR
MDX-447	EGFR/CD64
(アデカツムマブ)	EpCAM
Panorex (商標) (エドレコロマブ)	EpCAM
Vicinium (商標)	EpCAM
Synagis (商標) (パリビズマブ)	RSV の F タンパク質
ReoPro (商標) (アビシキシマブ)	糖タンパク質受容体 IIb/IIIa
Herceptin (商標) (トラスツズマブ)	Her2
Herceptin (商標) Hylecta (トラスツズマブ ; ヒアルロニダーゼ)	Her2
(トラスツズマブ デルクステカン)	Her2
(ヘルツズマブ ベドチン)	Her2
Kadcyla (商標) (トラスツズマブ エムタンシン)	Her2
(マルゲツキシマブ)	Her2
(チミグツズマブ (Timigutuzumab))	Her2
Xolair (商標) (オマリズマブ)	IgE
(リゲリズマブ)	IgE
(フィギツムマブ)	IGF1R
(テプロツムマブ)	IGF1R
Simulect (商標) (バシリキシマブ)	IL2R
Zenapax (商標) (ダクリズマブ)	IL2R
Zinbryta (商標) (ダクリズマブ)	IL2R
Actemra (商標) (トシリズマブ)	IL-6 受容体
Kevzara (商標) (サリルマブ)	IL-6 受容体
(ボバリリズマブ)	IL-6 受容体
Stelara (商標) (ウステキヌマブ)	IL-12/IL-23
Tysabri (商標) (ナタリズマブ)	インテグリン $\alpha 4$
(アブリルマブ)	インテグリン $\alpha 4$

10

20

30

40

50

【表 2 - 3】

	Jagged 1 または Jagged 2
(ファシヌマブ)	NGF
(フルラヌマブ)	NGF
(タネズマブ)	NGF
	Notch、例えば Notch 1
ピディリズマブ	Delta like-1 (PD-1 経路阻害剤)
Opdivo (登録商標) (ニボルマブ)	PD1
Keytruda (登録商標) (ペムブロリズマブ)	PD1
Libtayo (登録商標) (セミプリマブ)	PD1
BGB-A317 (ティスレリズマブ)	PD1
PDR001 (スパルタリズマブ)	PD1
JNJ-63723283 (セトレリマブ)	PD1
TSR042 (ドスタリマブ)	PD1
AGEN2034 (バルスチリマブ)	PD1
JS001 (トリパリマブ)	PD1
IOBI308 (シンチリマブ)	PD1
BCD100 (プロルゴリマブ)	PD1
CBT-501 (ゲノリムズマブ (genolimzumab))	PD1
ABBV181 (ブディジャリマブ)	PD1
AK105	PD1
BI-754091	PD1
INCSHR-1210	PD1
MEDI0680	PD1
MGA012	PD1
SHR-1210	PD1
Imfinzi (商標) (デュルバルマブ)	PD-L1
Tecentriq (登録商標) (アテゾリズマブ)	PD-L1
Bavencio (登録商標) (アベルマブ)	PD-L1
KN035 (エンバフオリマブ)	PD-L1
BMS936559 (MDX1105)	PD-L1
BGBA333	PD-L1
FAZ053	PD-L1
LY-3300054	PD-L1
SH-1316	PD-L1
AMP-224	PD-L2
(バビツキシマブ)	ホスファチジルセリン
huJ591	PSMA
RAV12	RAAG12

10

20

30

40

50

【表 2 - 4】

Prolia (商標) (デノスマブ)	RANKL
GC1008 (フレソリムマブ)	TGFβ
Cimzia (商標) (セルトリズマブ ペゴル)	TNFα
Remicade (商標) (インフリキシマブ)	TNFα
Humira (商標) (アダリムマブ)	TNFα
Simponi (商標) (ゴリムマブ)	TNFα
Enbrel (商標) (エタネルセプト)	TNF-R
(マパツムマブ)	TRAIL-R1
Avastin (商標) (ベバシズマブ)	VEGF
Lucentis (商標) (ラニビズマブ)	VEGF
(ブロールズマブ)	VEGF
(バヌシズマブ)	VEGF

10

【0230】

組成物／キット

本明細書においては、本明細書に記載される A C C のいずれか、及び 1 種以上（例えば、1、2、3、4 または 5 種）の薬学的に許容される担体（例えば、本明細書に記載の、薬学的に許容される担体のいずれか）、希釈剤または賦形剤を含む、組成物（例えば、薬学的組成物）もまた提供される。

20

【0231】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される A C C のいずれかを含有する組成物（例えば、薬学的組成物）は、無菌バイアルまたは予め充填したシリンジ中に配置できる。

【0232】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される A C C のいずれかを含有する組成物（例えば、薬学的組成物）は、異なる投与経路（例えば、静脈、皮下、筋肉内、腹腔内、または腫瘍内）用に調製できる。

【0233】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される薬学的組成物のいずれかは、1 種以上の緩衝剤（例えば、中性緩衝食塩水、リン酸緩衝食塩水（P B S））、アミノ酸（例えば、グリシン）、1 種以上の炭水化物（例えば、グルコース、マンノース、スクロース、デキストランもしくはマンニトール）、1 種以上の酸化防止剤、1 種以上のキレート剤（例えば、E D T A もしくはグルタチオン）、1 種以上の防腐剤、及び／または薬学的に許容される担体（例えば、静菌水、P B S または生理食塩水）を含有できる。

30

【0234】

本明細書で使用する場合、用語「薬学的に許容される担体」とは、医薬品の投与と適合する、あらゆる溶媒、分散媒体、コーティング、抗細菌性剤、抗菌剤、等張剤及び吸収遅延剤などを意味する。このような担体の例としては、水、生理食塩水、リンゲル溶液、デキストロース溶液、及び約 5 % ヒト血清アルブミンが挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0235】

本明細書に記載される薬学的組成物のいずれかのいくつかの実施形態では、本明細書に記載される A C C のいずれかは、身体からの急速な排除に対して保護する担体、例えばインプラント及びマイクロカプセル化送達システムなどの徐放性製剤及び制御放出製剤とともに調製される。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、生体適合性ポリマーを使用することができる。このような薬学的組成物及び製剤の調製方法は、当業者にとって明らかである。

【0236】

本明細書においては、本明細書に記載される A C C のいずれか、本明細書に記載される

50

A C C のいずれかを含有する組成物のいずれか、または本明細書に記載される A C C のいずれかを含有する薬学的組成物のいずれか、を含有するキットもまた提供される。本明細書に記載される A C C に加えて、表 2 から選択される 1 種以上の第 2 の治療薬を含有するキットもまた提供される。第 2 の治療薬（複数可）は、A C C とは別の投与形態で提供されてよい。あるいは、第 2 の治療薬（複数可）は、A C C と一緒に調製されてよい。

【0237】

本明細書に記載されるキットのいずれも、組成物（例えば、薬学的組成物）のいずれか、及び／または本明細書に記載される A C C のいずれかを使用するための説明書を含むことができる。いくつかの実施形態では、キットは、本明細書に記載の方法のいずれかを実施するための説明書を含むことができる。いくつかの実施形態では、キットは、本明細書に記載される組成物（例えば、薬学的組成物）のいずれかの、少なくとも 1 回の用量を含むことができる。いくつかの実施形態では、キットは、本明細書に記載される薬学的組成物のいずれかを投与するためのシリンジを提供できる。

【0238】

本開示は、以下の項目の任意の 1 つまたは任意の組み合わせを含む、及びその裏付けを見いだす。

【0239】

1. 第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体を含有する活性化可能サイトカイン構成体（A C C）であって、

（a）前記第 1 のモノマー構成体が、第 1 のペプチドマスク（P M 1）と、第 1 の成熟サイトカインタンパク質（C P 1）と、第 1 の及び第 3 の開裂可能部分（C M 1 及び C M 3）と、第 1 の二量体化ドメイン（D D 1）と、を含み、前記 C M 1 は前記 C P 1 と前記 D D 1 との間に置かれ、前記 C M 3 は前記 P M 1 と前記 C P 1 との間に置かれ、

（b）前記第 2 のモノマー構成体が、第 2 の成熟サイトカインタンパク質（C P 2）と、第 2 の開裂可能部分（C M 2）と、第 2 の二量体化ドメイン（D D 2）と、を含み、前記 C M 2 は前記 C P 2 と前記 D D 2 との間に置かれ、前記 D D 1 及び前記 D D 2 が互いに結合し、それによって前記第 1 のモノマー構成体及び前記第 2 のモノマー構成体の二量体を形成する、前記活性化可能サイトカイン構成体（A C C）。

【0240】

2. 前記第 2 のモノマー構成体が、第 2 のペプチドマスク（P M 2）及び第 4 の開裂可能部分（C M 4）をさらに含み、前記 C M 4 が前記 P M 2 と前記 C P 2 との間に置かれる、項目 1 に記載の A C C。

【0241】

3. 前記第 1 のモノマー構成体が、前記 P M 1、前記 C M 3、前記 C P 1、前記 C M 1 及び前記 D D 1 を含む第 1 のポリペプチドを含み、所望により前記第 1 のモノマー構成体は、N 末端から C 末端の方向で、P M 1 - C M 3 - C P 1 - C M 1 - D D 1 の構造的配置を含み、前記 A C C の構成成分間の各ダッシュ（-）は、直接的な連結または 1 個以上のリンカーを介した連結を示す、項目 1 または 2 に記載の A C C。

【0242】

4. 前記第 2 のモノマー構成体が、前記 C P 2、前記 C M 2 及び前記 D D 2 を含む第 2 のポリペプチドを含む、項目 1 ～ 3 のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【0243】

5. 前記第 2 のモノマー構成体が、前記 P M 2、前記 C M 4、前記 C P 2、前記 C M 2 及び前記 D D 2 を含む第 2 のポリペプチドを含み、所望により前記第 2 のモノマー構成体は、N 末端から C 末端方向に、P M 2 - C M 4 - C P 2 - C M 2 - D D 2 の構造的配置を含む、項目 2 に記載の A C C。

【0244】

6. 前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 が、それぞれ独立して、インターフェロン、イ

10

20

30

40

50

ンターロイキン、GM-CSF、G-CSF、LIF、OSM、CD154、LT- β 、TNF- α 、TNF- β 、4-1BBL、APRIL、CD70、CD153、CD178、GITRL、LIGHT、OX40L、TALL-1、TRAIL、TWEAK、TRANCE、TGF- β 1、TGF- β 1、TGF- β 3、Epo、Tpo、Flt-3L、SCF、M-CSF及びMSPからなる群から選択され、所望により前記CP1及び／または前記CP2は、独立して、IL-2、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-15、IL-21、IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、GM-CSF、TGF- β 、LIGHT、GITRL、CD40L、CD27L、4-1BBL、OX40、及びOX40Lから選択される、項目1～5のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

10

【0245】

7. 前記PM1が、配列番号328、329、323及び331～369からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP1がインターフェロンである；
前記PM1が、配列番号328、329、323及び331～364からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP1がインターフェロン α である；
前記PM1が、配列番号331～360、362～364からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP1がインターフェロン β である；
前記PM1が、配列番号331～360、366～369からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP1がインターフェロン γ である；
前記PM1が、配列番号370～374からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP1がIL-12である；
前記PM1が、配列番号375～382、469～477及び478からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP1がIL-15である；
前記PM1が、配列番号383～468、469～478からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP1がIL-2である；または
前記PM1が、配列番号478及び479からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP1がIL-21である、項目1～6のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

20

【0246】

8. 前記PM2が、配列番号328、329、323及び331～369からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP2がインターフェロンである；
前記PM2が、配列番号328、329、323及び331～364からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP2がインターフェロン α である；
前記PM2が、配列番号331～360、362～364からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP2がインターフェロン β である；
前記PM2が、配列番号331～360、366～369からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP2がインターフェロン γ である；
前記PM2が、配列番号370～374からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP2がIL-12である；
前記PM2が、配列番号375～382、469～477及び478からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP2がIL-15である；
前記PM2が、配列番号383～468、469～478からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP2がIL-2である；または
前記PM2が、配列番号478及び479からなる群から選択される配列を含み、かつ前記CP2がIL-21である、項目2～7のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

30

40

【0247】

9. PM1、PM2またはPM1及びPM2が、配列番号323を含む、項目2～8のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0248】

50

10. PM1、PM2またはPM1及びPM2が、配列番号331を含む、項目2～9のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0249】

11. PM1、PM2またはPM1及びPM2が、配列番号332を含む、項目2～10のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0250】

12. PM1とCP1との間に、15、16、17、18、19、20、21または22個のアミノ酸を含むマスク連結領域を含む、項目2～11のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0251】

13. PM2とCP2との間に、15、16、17、18、19、20、21または22個のアミノ酸を含むマスク連結領域を含む、項目2～12のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0252】

14. 前記DD1及び前記DD2が、1対のFcドメイン；ヒトIL-15受容体のアルファ鎖（IL15R α ）からのスシ（sushi）ドメイン及び可溶性IL-15；バルナーゼ及びバルスター；PKA及びAKAP；変異RNaseIFラグメントベースのアダプタ／ドッキングタグモジュール；エピトープ及びsdAb；エピトープ及びscFv；タンパク質シンタキシン、シナプトタグミン、シナプトレビン及びSNAP25の相互作用に基づくSNAREモジュール；抗原結合ドメイン及びエピトープからなる群から選択される1対である、項目1～13のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0253】

15. 前記DD1及び前記DD2が1対のFcドメインである、項目14に記載のACC。

【0254】

16. 前記1対のFcドメインが、1対のヒトFcドメインである、項目15に記載のACC。

【0255】

17. 前記ヒトFcドメインが、ヒトIgG1のFcドメイン、ヒトIgG2のFcドメイン、ヒトIgG3のFcドメインまたはヒトIgG4のFcドメインである、項目16に記載のACC。

【0256】

18. 前記ヒトFcドメインが、ヒトIgG4のFcドメインである、項目17に記載のACC。

【0257】

19. 前記ヒトFcドメインが、配列番号3と少なくとも80%同一である配列を含む、項目16に記載のACC。

【0258】

20. 前記ヒトFcドメインが、配列番号3と少なくとも90%同一である配列を含む、項目19に記載のACC。

【0259】

21. 前記ヒトFcドメインが配列番号3を含む、項目20に記載のACC。

【0260】

22. 前記DD1及び前記DD2が、それぞれ、配列番号318及び319を含む、項目14に記載のACC。

【0261】

23. 前記DD1及び前記DD2が同一である、項目1～21のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0262】

10

20

30

40

50

24. 前記 D D 1 が抗原結合ドメインを含み、前記 D D 2 が対応するエピトープを含む、項目 14 に記載の A C C。

【0263】

25. 前記抗原結合ドメインが抗 H i s タグ抗原結合ドメインであり、前記 D D 2 が H i s タグを含む、項目 24 に記載の A C C。

【0264】

26. 前記抗原結合ドメインが、単鎖可変領域フラグメント (s c F v) である、項目 24 に記載の A C C。

【0265】

27. 前記抗原結合ドメインが、シングルドメイン抗体 (s d A b) である、項目 24 に記載の A C C。

【0266】

28. 前記 D D 1 及び前記 D D 2 の少なくとも一方が、非ポリペプチドポリマー及び小分子からなる群から選択される二量体化ドメイン置換基を含む、項目 14 に記載の A C C。

【0267】

29. 前記 D D 1 及び前記 D D 2 が、互いに共有結合されている非ポリペプチドポリマーを含む、項目 28 に記載の A C C。

【0268】

30. 前記非ポリペプチドポリマーが、硫黄含有ポリエチレングリコールであり、前記 D D 1 及び前記 D D 2 が、1 個以上のジスルフィド結合を介して互いに共有結合されている、項目 29 に記載の A C C。

【0269】

31. 前記 D D 1 及び前記 D D 2 の少なくとも一方が小分子を含む、項目 28 に記載の A C C。

【0270】

32. 前記小分子がビオチンである、項目 31 に記載の A C C。

【0271】

33. 前記 D D 1 がビオチンを含み、前記 D D 2 がアビジンを含む、項目 32 に記載の A C C。

【0272】

34. 前記 C P 1 及び前記 C P 2 が成熟サイトカインである、項目 1 ~ 33 のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【0273】

35. 前記 C P 1 及び前記 C P 2 がシグナルペプチドを含む、項目 1 ~ 33 のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【0274】

36. 前記 C P 1 及び前記 C P 2 が同一である、項目 1 ~ 35 のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【0275】

37. 前記 C P 1 及び前記 C P 2 が異なる、項目 1 ~ 35 のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【0276】

38. 前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 がインターフェロンである、項目 1 ~ 35 のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【0277】

39. 前記 C P 1 及び前記 C P 2 がインターフェロンである、項目 38 に記載の A C C。

【0278】

40. 前記 C P 1 及び前記 C P 2 が異なるインターフェロンである、項目 38 に記載の

10

20

30

40

50

A C C。

【0279】

41. 前記C P 1及び前記C P 2が同一のインターフェロンである、項目38に記載のA C C。

【0280】

42. 前記インターフェロン（複数可）が、ヒト野生型成熟インターフェロンである、項目38～41のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるA C C。

【0281】

43. 前記インターフェロン（複数可）が、インターフェロン α 、インターフェロン β 、インターフェロン ω 及びインターフェロン τ からなる群から選択される、項目38～42のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるA C C。

10

【0282】

44. 前記インターフェロンがインターフェロン α である、項目43に記載のA C C。

【0283】

45. 前記インターフェロン（複数可）が、インターフェロン $\alpha-2a$ 、インターフェロン $\alpha-2b$ 及びインターフェロン $\alpha-n3$ からなる群から選択される、項目44に記載のA C C。

【0284】

46. 前記インターフェロン（複数可）がインターフェロン $\alpha-2b$ である、項目45に記載のA C C。

20

【0285】

47. 前記C P 1及び／または前記C P 2が、配列番号1と少なくとも80%同一である配列を含む、項目46に記載のA C C。

【0286】

48. 前記C P 1及び／または前記C P 2が、配列番号1と少なくとも90%同一である配列を含む、項目47に記載のA C C。

【0287】

49. 前記C P 1及び／または前記C P 2が、配列番号1の配列を含む、項目48に記載のA C C。

30

【0288】

50. 前記インターフェロンがインターフェロン β である、項目43に記載のA C C。

【0289】

51. 前記インターフェロン β が、インターフェロン $\beta-1a$ 及びインターフェロン $\beta-1b$ からなる群から選択される、項目50に記載のA C C。

【0290】

52. 前記C P 1及び／または前記C P 2が、I F a bドメインを含む、項目1～51のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるA C C。

【0291】

53. 前記C P 1及び／または前記C P 2が、インターロイキンを含む、項目1～38のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるA C C。

40

【0292】

54. 前記インターロイキンが、I L-1 α 、I L-1 β 、I L-1 R A、I L-1 8、I L-2、I L-4、I L-7、I L-9、I L-1 3、I L-1 5、I L-3、I L-5、I L-6、I L-1 1、I L-1 2、I L-1 0、I L-2 0、I L-2 1、I L-1 4、I L-1 6及びI L-1 7からなる群から選択される、項目53に記載のA C C。

【0293】

55. 前記C M 1及び／または前記C M 2のそれぞれが、合計約3個のアミノ酸～約15個のアミノ酸を含む、項目1～54のいずれか1項またはいずれかの組み合わせである

50

A C C。

【0294】

56. 前記C M 1、前記C M 2、前記C M 3及び前記C M 4の1個以上が、異なるプロテアーゼの基質を含む、項目1～55のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるA C C。

【0295】

57. 前記C M 1、前記C M 2及び前記C M 3が、同一のプロテアーゼの基質を含む、項目1～56のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるA C C。

【0296】

58. 前記プロテアーゼ（複数可）が、A D A M 8、A D A M 9、A D A M 10、A D A M 12、A D A M 15、A D A M 17 / T A C E、A D A M D E C 1、A D A M T S 1、A D A M T S 4、A D A M T S 5、B A C E、レニン、カテプシンD、カテプシンE、カスパーゼ1、カスパーゼ2、カスパーゼ3、カスパーゼ4、カスパーゼ5、カスパーゼ6、カスパーゼ7、カスパーゼ8、カスパーゼ9、カスパーゼ10、カスパーゼ14、カテプシンB、カテプシンC、カテプシンK、カテプシンL、カテプシンS、カテプシンV / L 2、カテプシンX / Z / P、クルジパイン、レグマイン、オツベイン-2 (O t u b a i n - 2)、K L K 4、K L K 5、K L K 6、K L K 7、K L K 8、K L K 10、K L K 11、K L K 13、K L K 14、メプリン、ネプリライシン、P S M A、B M P - 1、M M P - 1、M M P - 2、M M P - 3、M M P - 7、M M P - 9、M M P - 10、M M P - 11、M M P - 12、M M P - 13、M M P - 14、M M P - 15、M M P - 16、M M P - 17、M M P - 19、M M P - 20、M M P - 23、M M P - 24、M M P - 26、M M P - 27、活性化タンパク質C、カテプシンA、カテプシンG、キマーゼ、F V I I a、F I X a、F X a、F X I a、F X I I a、エラスターゼ、グランザイムB、グアニジノベンゾアターゼ、H t r A 1、ヒト好中球リアーゼ、ラクトフェリン、マラプシン (m a r a p s i n)、N S 3 / 4 A、P A C E 4、プラスミン、P S A、t P A、トロニンビン、トリプターゼ、u P A、D E S C 1、D P P - 4、F A P、ヘプシン、マトリプターゼ-2、M T - S P 1 / マトリプターゼ、T M P R S S 2、T M P R S S 3及びT M P R S S 4からなる群から選択される、項目1～57のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるA C C。

【0297】

59. 前記プロテアーゼ（複数可）が、u P A、レグマイン、M T - S P 1、A D A M 17、B M P - 1、T M P R S S 3、T M P R S S 4、M M P - 2、M M P - 9、M M P - 12、M M P - 13、及びM M P - 14からなる群から選択される、項目58に記載のA C C。

【0298】

60. 前記C M 1、前記C M 2、前記C M 3及び／または前記C M 4が、L S G R S D N H（配列番号5）、T G R G P S W V（配列番号6）、P L T G R S G G（配列番号7）、T A R G P S F K（配列番号8）、N T L S G R S E N H S G（配列番号9）、N T L S G R S G N H G S（配列番号10）、T S T S G R S A N P R G（配列番号11）、T S G R S A N P（配列番号12）、V H M P L G F L G P（配列番号13）、A V G L L A P P（配列番号14）、A Q N L L G M V（配列番号15）、Q N Q A L R M A（配列番号16）、L A A P L G L L（配列番号17）、S T F P F G M F（配列番号18）、I S S G L L S S（配列番号19）、P A G L W L D P（配列番号20）、V A G R S M R P（配列番号21）、V V P E G R R S（配列番号22）、I L P R S P A F（配列番号23）、M V L G R S L L（配列番号24）、Q G R A I T F I（配列番号25）、S P R S I M L A（配列番号26）、S M L R S M P L（配列番号27）、I S S G L L S G R S D N H（配列番号28）、A V G L L A P P G G L S G R S D N H（配列番号29）、I S S G L L S S G G S G G S L S G R S D N H（配列番号30）、L S G R S G N H（配列番号31）、S G R S A N P R G（配列番号32）、L S G R S D D H（配列番号33）、L S G R S D I H（配列番号34）、L S G R S D Q H（配列番号35）、

LSGRSDTH (配列番号36)、LSGRSDYH (配列番号37)、LSGRSDNP (配列番号38)、LSGRSANP (配列番号39)、LSGRSANI (配列番号40)、LSGRSDNI (配列番号41)、MIAPVAYR (配列番号42)、RPSPMWAY (配列番号43)、WATPRPMR (配列番号44)、FRLLDWQW (配列番号45)、ISSGL (配列番号46)、ISSGLLS (配列番号47)、ISSGLL (配列番号48)、ISSGLLSGRSANPRG (配列番号49)、AVGLLAPPTSGRSANPRG (配列番号50)、AVGLLAPPSSGRSANPRG (配列番号51)、ISSGLLSGRSDDH (配列番号52)、ISSGLLSGRSDIH (配列番号53)、ISSGLLSGRSDQH (配列番号54)、ISSGLLSGRSDTH (配列番号55)、ISSGLLSGRSDYH (配列番号56)、ISSGLLSGRSDNP (配列番号57)、ISSGLLSGRSANP (配列番号58)、ISSGLLSGRSANI (配列番号59)、AVGLLAPPGLSGRSDDH (配列番号60)、AVGLLAPPGLSGRSDIH (配列番号61)、AVGLLAPPGLSGRSDQH (配列番号62)、AVGLLAPPGLSGRSDTH (配列番号63)、AVGLLAPPGLSGRSDYH (配列番号64)、AVGLLAPPGLSGRSDNP (配列番号65)、AVGLLAPPGLSGRSANP (配列番号66)、AVGLLAPPGLSGRSANI (配列番号67)、ISSGLLSGRSDNI (配列番号68)、AVGLLAPPGLSGRSDNI (配列番号69)、GLSGRSDNHGGAVGLLAPP (配列番号70)、GLSGRSDNHGGVHMP LGFLGP (配列番号71)、LSGRSDNHGGVHMP LGFLGP (配列番号72)、ISSGLSS (配列番号73)、PVGYTSSL (配列番号74)、DWLYWPGI (配列番号75)、LKAAPRWA (配列番号76)、GPSHLVLT (配列番号77)、LPGGLSPW (配列番号78)、MGLFSEAG (配列番号79)、SPLPLRVP (配列番号80)、RMHLRSLG (配列番号81)、LLAPSHRA (配列番号82)、GPRSFGL (配列番号83)、GPRSG (配列番号84)、SARGPSRW (配列番号85)、GGWHTGRN (配列番号86)、HTGRSGAL (配列番号87)、AARGPAIH (配列番号88)、RGPAFNPM (配列番号89)、SSRGPAYL (配列番号90)、RGPATPI (配列番号91)、RGPA (配列番号92)、GGQP SGMWGW (配列番号93)、FPRPLGITGL (配列番号94)、SPLTGRSG (配列番号95)、SAGFSLPA (配列番号96)、LAPLGLQRR (配列番号97)、SGGPLGVR (配列番号98)、PLGL (配列番号99)、及びSGRSDNI (配列番号100) からなる群から選択される配列を含む、項目1～57のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

10

20

30

40

【0299】

61. 前記CM1、前記CM2、前記CM3及び／または前記CM4が、ISSGLLSGRSDNH (配列番号28)、LSGRSDDH (配列番号33)、ISSGLLSGRSDQH (配列番号54)、SGRSDNI (配列番号100)、及びISSGLLSGRSDNI (配列番号68) からなる群から選択される配列を含む、項目60に記載のACC。

【0300】

62. 前記プロテアーゼ (複数可) が、対象の腫瘍によって産生される、項目1～61のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0301】

63. 前記対象が、がんを有すると診断または特定されている、項目62に記載のACC。

【0302】

64. 前記CP1及び前記CM1が、前記第1のモノマー構成体において、互いに直接的に隣接する、項目1～63のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0303】

50

65. 前記CM1及び前記DD1が、前記第1のモノマー構成体において、互いに直接的に隣接する、項目1～64のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0304】

66. 前記CP2及び前記CM2が、前記第2のモノマー構成体において、互いに直接的に隣接する、項目1～65のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0305】

67. 前記CM2及び前記DD2が、前記第2のモノマー構成体において、互いに直接的に隣接する、項目1～66のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0306】

68. 前記第1のモノマー構成体が、少なくとも1個のリンカーを含む、項目1～63のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

10

【0307】

69. 前記少なくとも1個のリンカーが、前記PM1と前記CM3との間に配置されたリンカーL1及び／または前記CM3と前記CP1との間に配置されたリンカーL2である、項目68に記載のACC。

【0308】

70. 前記第2のモノマー構成体が、少なくとも1個のリンカーを含む、項目68に記載のACC。

【0309】

71. 前記少なくとも1個のリンカーが、前記PM2と前記CM4との間に配置されたリンカーL3及び／または前記CM4と前記CP2との間に配置されたリンカーL4である、項目70に記載のACC。

20

【0310】

72. 前記第1のモノマー構成体がリンカーL1を含み、前記第2のモノマー構成体がリンカーL3を含む、項目71に記載のACC。

【0311】

73. L1及びL3が同一である、項目72に記載のACC。

【0312】

74. 前記第1のモノマー構成体がリンカーL2を含み、前記第2のモノマー構成体がリンカーL4を含む、項目71に記載のACC。

30

【0313】

75. L2及びL4が同一である、項目74に記載のACC。

【0314】

76. 各リンカーが、1個のアミノ酸～約15個のアミノ酸の全長を有する、項目68～75のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0315】

77. 各リンカーが、少なくとも5個のアミノ酸の全長を有する、項目76に記載のACC。

【0316】

78. 前記第1のモノマー構成体が、少なくとも1個のリンカーを含み、各リンカーは独立して、GSSGGSGGGSGG（配列番号210）；GGGS（配列番号2）；GGSGGGGS（配列番号211）；GGSGGGSGGGGS（配列番号212）；GGGGSGGGGGSGGGGS（配列番号213）；GGGGSGGGGGSGGGGGSGGG（配列番号214）；GGGGSGGGGGSG（配列番号215）；GGGGGS（配列番号216）；GS；GGGGSGGS（配列番号217）；GGGGSGGGSGGGSGGGSGGS（配列番号218）；GGS LDPKGGGGS（配列番号219）；PKSCDKTHTCPPCPAPELLG（配列番号220）；SKYGPCCPPCPAPEFLG（配列番号221）；GKSSSGSGSESKS（配列番号222）；GSTSGSGKSSSEGGK（配列番号223）；GSTSGSGKSSSEGGSGSTKG（配列番号224）；GSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号225）

40

50

; G S T S G S G K P G S S E G S T (配列番号 2 2 6) ; (G S) n 、 (G G S) n 、 (G S G G S) n (配列番号 2 2 7) 、 (G G G S) n (配列番号 2 2 8) 、 (G G G G S) n (配列番号 2 1 6) 、各 n は少なくとも 1 である整数である ; G G S G (配列番号 2 2 9) ; G G S G G (配列番号 2 3 0) ; G S G S G (配列番号 2 3 1) ; G S G G G (配列番号 2 3 2) ; G G G S G (配列番号 2 3 3) ; G S S S G (配列番号 2 3 4) ; G G G G S G G G G S G G G G S (配列番号 2 1 3) ; G G G G S G G G G S G G G G S G G G S (配列番号 2 1 4) ; G S T S G S G K P G S S E G S T (配列番号 2 2 6) ; S G G G (配列番号 3 2 7) ; 及び S G G G G (配列番号 4 9 2) からなる群から選択される、項目 6 8 に記載の A C C。

【 0 3 1 7 】

7 9 . 前記リンカーが、G G G S (配列番号 2) の配列を含む、項目 7 8 に記載の A C C。

【 0 3 1 8 】

8 0 . 前記第 1 のモノマー構成体が、N 末端から C 末端方向で、前記 P M 1 、前記 C M 3 、前記 C P 1 、前記 C M 1 及び前記 D D 1 を含む、項目 1 ~ 7 9 のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【 0 3 1 9 】

8 1 . 前記第 1 のポリペプチドが、C 末端から N 末端方向で、前記 P M 1 、前記 C M 3 、前記 C P 1 、前記 C M 1 及び前記 D D 1 を含む、項目 1 ~ 7 9 のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【 0 3 2 0 】

8 2 . 前記第 2 のポリペプチドが、N 末端から C 末端方向で、前記 C P 2 、前記 C M 2 及び前記 D D 2 を含む、項目 1 ~ 8 1 のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【 0 3 2 1 】

8 3 . 前記第 2 のポリペプチドが、C 末端から N 末端方向で、前記 C P 2 、前記 C M 2 及び前記 D D 2 を含む、項目 1 ~ 8 2 のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【 0 3 2 2 】

8 4 . 前記第 1 のモノマー構成体及び前記第 2 のモノマー構成体が同一である、項目 1 ~ 3 6 、3 8 、3 9 、または 4 1 ~ 8 3 のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【 0 3 2 3 】

8 5 . 前記第 1 のモノマー構成体が、N 末端から C 末端方向で、前記 P M 1 、任意選択的リンカー、前記 C M 3 、任意選択的リンカー、前記 C P 1 、前記 C M 1 及び前記 D D 1 を含み、前記 C P 1 及び前記 C M 1 が互いに直接的に隣接し、前記 C M 1 及び前記 D D 1 が互いに直接的に隣接し、前記 C M 1 が 1 0 個以下のアミノ酸のペプチドであり、前記第 2 のモノマー構成体が前記第 1 のモノマー構成体と同一であり、前記第 1 のモノマー構成体及び前記第 2 のモノマー構成体が、少なくとも 2 個のジスルフィド結合を介して、互いに共有結合されている、項目 1 ~ 7 9 のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【 0 3 2 4 】

8 6 . 前記 D D 1 及び前記 D D 2 が、それぞれ、E U ナンバリングに準拠して番号を付けたとき、システイン 2 1 6 で N 末端を有するヒト F c ドメインである、項目 8 5 に記載の A C C。

【 0 3 2 5 】

8 7 . 前記 C M 1 が、7 個以下のアミノ酸のペプチドである、項目 8 5 または 8 6 に記載の A C C。

【 0 3 2 6 】

8 8 . 前記 C P 1 及び前記 C P 2 が、配列番号 1 と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ

10

20

30

40

50

酸配列を含む、項目 85～87 のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【0327】

89. 少なくとも 1 つの C P 1 及び／または C P 2 の活性の対照レベルと比較して、C P 1 及び／または C P 2 の少なくとも 1 つの低減した活性レベルを有することを特徴とする、項目 1～88 のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【0328】

90. 前記少なくとも 1 つの前記 C P 1 及び前記 C P 2 活性が、リンパ腫細胞の増殖レベルである、項目 89 に記載の A C C。

【0329】

91. 前記少なくとも 1 つの前記 C P 1 及び前記 C P 2 活性が、リンパ腫細胞における、J A K／S T A T／I S G F 3 経路の活性化レベルである、項目 89 に記載の A C C。

【0330】

92. 前記少なくとも 1 つの活性が、リンパ腫細胞における、S E A P の産生レベルである、項目 89 に記載の A C C。

【0331】

93. 前記少なくとも 1 つの前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 活性が、前記対照のレベルと比較して、少なくとも 2 倍低いことを特徴とする、項目 89 に記載の A C C。

【0332】

94. 前記少なくとも 1 つの前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 活性が、前記対照のレベルと比較して、少なくとも 5 倍低いことを特徴とする、項目 93 に記載の A C C。

【0333】

95. 前記少なくとも 1 つの前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 活性が、前記対照のレベルと比較して、少なくとも 10 倍低いことを特徴とする、項目 94 に記載の A C C。

【0334】

96. 前記少なくとも 1 つの前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 活性が、前記対照のレベルと比較して、少なくとも 500 倍低いことを特徴とする、項目 95 に記載の A C C。

【0335】

97. 前記少なくとも 1 つの前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 活性の前記対照レベルが、前記 A C C を前記プロテアーゼ（複数可）に曝露した後の、前記 A C C の前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 の活性である、項目 89～95 のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【0336】

98. 前記少なくとも 1 つの前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 活性の前記対照レベルが、対応する野生型成熟サイトカインの、対応する前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 活性である、項目 89～97 のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【0337】

99. 前記 A C C が、前記プロテアーゼ（複数可）への曝露後に切断産物を生成することを特徴とし、前記切断産物が、前記少なくとも 1 つの前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 の活性を含む、項目 89～98 のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【0338】

100. 前記少なくとも 1 つの前記 C P 1 及び／または前記 C P 2 の活性が、抗増殖活性である、項目 99 に記載の A C C。

【0339】

101. 前記対照レベルが E C 50 値であり、E C 50（対照レベル）に対する E C 50（切断産物）の比率が、約 10 未満、または約 9 未満、または約 8 未満、または約 7 未満、または約 6 未満、または約 5 未満、または約 4 未満、または約 3 未満、または約 2 未満、または約 1.5 未満、または約 1.0 未満である、項目 100 に記載の A C C。

【0340】

10

20

30

40

50

102. 前記第1のモノマー構成体は、前記CP1及び前記DD1が、18個以下のアミノ酸の連結領域によって連結され、前記18個以下のアミノ酸の連結領域が前記CM3を含有することを特徴とする、項目1～101のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0341】

103. 前記第2のモノマー構成体は、前記CP2及び前記DD2が、18個以下のアミノ酸の連結領域によって連結され、前記18個以下のアミノ酸の連結領域が前記CM2を含有することを特徴とする、項目1～102のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0342】

104. 前記PM1が、50個未満のアミノ酸を含む、項目1～103のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0343】

105. 前記PM2が、50個未満のアミノ酸を含む、項目2～104のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0344】

106. 前記PM1及び前記PM2のそれぞれが、19個未満のアミノ酸である、項目105に記載のACC。

【0345】

107. 前記PM1が潜在型関連ペプチドではなく、かつ前記PM2が潜在型関連ペプチドではない、項目1～103のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0346】

108. 前記PM1がサイトカインの受容体ではなく、前記PM2がサイトカインの受容体ではない、及び／またはサイトカインの受容体と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を有しない、項目1～103のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0347】

109. 前記PM1がサイトカインの受容体のフラグメントではなく、及び／またはサイトカインの受容体と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を有しない、項目1～103のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0348】

110. 前記PM2がサイトカインの受容体のフラグメントではない、項目1～103及び109のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0349】

111. 前記PM1がアルブミンではなく、かつ前記PM2がアルブミンではない、項目1～103のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0350】

112. 項目1～111のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACCを含む、組成物。

【0351】

113. 薬学的組成物である、項目112に記載の組成物。

【0352】

114. 項目112または113の組成物の、少なくとも1回の用量を含む、容器、バイアル、シリンジ、注射ペンまたはキット。

【0353】

115. 治療を必要とする対象の治療方法であって、治療有効量の、項目1～96のいずれか1項のACC、または項目112もしくは113の組成物を、前記対象に投与することを含む、前記方法。

【0354】

10

20

30

40

50

116. 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、項目115に記載の方法。

【0355】

117. 前記がんがリンパ腫である、項目116に記載の方法。

【0356】

118. 前記リンパ腫が、バーキットリンパ腫である、項目117に記載の方法。

【0357】

119. 項目1～111のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACCの前記CP1及び前記CM1を含むポリペプチドをコードする核酸。

【0358】

120. 前記ポリペプチドが、項目1～21または項目28～111のいずれか1項またはいずれかの組み合わせのDD1をさらに含む、項目109に記載の核酸。

【0359】

121. 項目1～111のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACCの前記CP2及び前記CM2を含むポリペプチドをコードする核酸。

【0360】

122. 前記ポリペプチドが、項目1～21または項目28～111のいずれか1項またはいずれかの組み合わせのDD2をさらに含む、項目111に記載の核酸。

【0361】

123. 項目119～122のいずれか1項またはいずれかの組み合わせの核酸を含む、ベクター。

【0362】

124. 発現ベクターである、項目123に記載のベクター。

【0363】

125. 項目119～122のいずれか1項もしくはいずれかの組み合わせの核酸、または項目123もしくは124のベクターを含む、細胞。

【0364】

126. 項目1～111のいずれか1項またはいずれかの組み合わせの、第1のモノマー構成体の前記CP1及び前記CM1を含むポリペプチドと、第2のモノマー構成体の前記CP2及び前記CM2を含むポリペプチドと、を一緒になってコードする1対の核酸。

【0365】

127. 項目126の1対の核酸を一緒になって含む、1対のベクター。

【0366】

128. 1対の発現ベクターである、項目127に記載の1対のベクター。

【0367】

129. 項目126の1対の核酸、または項目127もしくは128の1対のベクターを含む、細胞。

【0368】

130. ACCを作製する方法であって、

a. 項目125または129の細胞を、液体培地中で、前記ACCを作製するのに十分な条件下にて培養することと、

b. 前記細胞または前記液体培地から前記ACCを回収することと、を含む、前記方法。

【0369】

131. 前記細胞または前記液体培地から回収した前記ACCを単離することをさらに含む、項目130に記載の方法。

【0370】

132. 単離した前記ACCを薬学的組成物に調製することをさらに含む、項目131に記載の方法。

【0371】

10

20

30

40

50

133. 項目130に記載の方法によって作製されるACC。

【0372】

134. 項目133に記載のACCを含む組成物。

【0373】

135. 薬学的組成物である、項目134に記載の組成物。

【0374】

136. 項目134または135に記載の組成物の、少なくとも1回の用量を含む、容器、バイアル、シリンジ、注射ペンまたはキット。

【0375】

137. 前記少なくとも1つの前記CP1及び前記CP2活性が、表面プラズモン共鳴を使用して決定される、その同族の受容体に対する前記CP1及び／または前記CP2の結合親和性である、項目89～101のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

10

【0376】

138. 第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体を含む活性化可能サイトカイン構成体(ACC)であって、

(a) 前記第1のモノマー構成体が、第1のペプチドマスク(PM1)と、第1の成熟サイトカインタンパク質(CP1)と、第1の及び第3の開裂可能部分(CM1及びCM3)と、第1の二量体化ドメイン(DD1)と、を含むポリペプチドであり、

(b) 前記第2のモノマー構成体が、第2のペプチドマスク(PM2)と、第2の成熟サイトカインタンパク質(CP2)と、第2の及び第4の開裂可能部分(CM2及びCM4)と、第2の二量体化ドメイン(DD2)と、を含むポリペプチドであり、

20

(c) 前記第1のモノマー構成体が、N末端からC末端の方向で、前記PM1、前記CM3、前記CP1、前記CM1及び前記DD1を含み、さらに、

(i) 前記PM1は20個以下のアミノ酸を含み、かつ前記CP1に結合し、

(ii) 前記CM1及び前記DD1は互いに直接的に隣接し、

(iii) 前記CP1及び前記CM1は互いに直接的に隣接し、

(iv) 前記CM1は12個以下のアミノ酸を含み、

(v) 前記CM1及び前記CM3はそれぞれプロテアーゼの基質として機能し、

(vi) 前記CP1は成熟インターフェロンであり、

30

(d) さらに、

(i) 前記第2のモノマー構成体は、前記第1のモノマー構成体と同一であり、

(ii) 前記DD1及び前記DD2は、1対のヒトIgGのFcドメインであり、

(iii) 前記DD1及び前記DD2が、少なくとも1個のジスルフィド結合を介して互いに結合し、それによって前記第1のモノマー構成体及び前記第2のモノマー構成体のホモ二量体を形成し、

(e) 対応する野生型インターフェロンまたは対応するペグ化インターフェロンと比較して、インターフェロン活性の低減したレベルを有することを特徴とする、

前記活性化可能サイトカイン構成体(ACC)。

【0377】

40

139. 前記CP1が成熟インターフェロン-αであり、前記PM1が配列番号323と少なくとも85%同一である配列を含む、項目138に記載のACC。

【0378】

140. 前記CM1及び前記CM3が、それぞれ独立して、ウロキナーゼ(uPa)及び／またはマトリックスメタロプロテイナーゼ(MMP)の基質として機能する、項目138または139に記載のACC。

【0379】

141. 前記CM1及び前記CM3が、それぞれ独立して、ウロキナーゼ(uPa)及び／またはMMP-14の基質として機能する、項目140に記載のACC。

【0380】

50

142. 前記成熟インターフェロンが、成熟ヒトインターフェロン α である、項目138～141のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0381】

143. 前記成熟インターフェロン α が、成熟インターフェロン $\alpha-2b$ である、項目138～142のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0382】

144. 前記成熟インターフェロン α が、野生型成熟インターフェロン $\alpha-2b$ のトランケート形態である、項目138～143のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0383】

145. 前記成熟インターフェロンが、配列番号1と少なくとも95%同一である配列を含む、項目138～144のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0384】

146. 前記成熟インターフェロンが、配列番号1の配列を含む、項目138～145のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0385】

147. 前記CM1及び前記CM3がそれぞれ、8個以下のアミノ酸を含む、項目138～146のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0386】

148. 前記CM1及び前記CM3が同一である、項目138～147のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0387】

149. 前記CM1及び前記CM3がそれぞれ、配列番号41と少なくとも85%同一である配列を含む、項目138～148のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0388】

150. 前記CM1及び前記CM3がそれぞれ、配列番号41、配列番号68及び配列番号100からなる群から選択される配列を含む、項目138～148のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0389】

151. 前記DD1及び前記DD2が、1対のヒトIgG4のFcドメインである、項目138～150のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0390】

152. 前記DD1及び前記DD2が、EUNアンバリングによって番号を付けたとき、システイン226のN末端側でトランケートされた、1対のヒトIgG4のFcドメインである、項目151に記載のACC。

【0391】

153. 前記ヒトIgG4のFcドメインが、EUNアンバリングによって番号を付けたとき、S228Pの変異を含む、項目151または152に記載のACC。

【0392】

154. 前記DD1及び前記DD2がそれぞれ、配列番号3と少なくとも95%同一である配列を含む、項目138～153のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0393】

155. 前記DD1及び前記DD2がそれぞれ、配列番号3の配列を含む、項目138～154のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0394】

156. 前記第1のモノマー構成体及び前記第2のモノマー構成体が、少なくとも2個のジスルフィド結合を介して互いに共有結合している、項目138～155のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

10

20

30

40

50

【0395】

157. 前記第1のモノマー構成体及び前記第2のモノマー構成体が、少なくとも3個のジスルフィド結合を介して互いに共有結合している、項目156に記載のACC。

【0396】

158. 前記第1のモノマー構成体が、前記N末端において第1のシグナル配列をさらに含み、前記第2のモノマー構成体が、前記N末端において第2のシグナル配列をさらに含む、項目138～157のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0397】

159. 前記第1のシグナル配列及び前記第2のシグナル配列がそれぞれ、配列番号244と少なくとも95%同一である配列を含む、項目158に記載のACC。

10

【0398】

160. 前記第1のシグナル配列及び前記第2のシグナル配列がそれぞれ、配列番号244の配列を含む、項目159に記載のACC。

【0399】

161. 前記第1のモノマー構成体が、前記第1のシグナル配列と前記PM1との間に置かれる第1のスペーサーをさらに含み、前記第2のモノマー構成体が、前記第2のシグナル配列と前記PM2との間に置かれる第2のスペーサーをさらに含む、項目158～160のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0400】

162. 前記第1のスペーサー及び前記第2のスペーサーがそれぞれ、配列番号256と少なくとも80%同一である配列を含む、項目161に記載のACC。

20

【0401】

163. 前記第1のスペーサー及び前記第2のスペーサーがそれぞれ、配列番号256の配列を含む、項目162に記載のACC。

【0402】

164. 前記PM1と前記CM3との間のリンカーL1、及び／または前記CM3と前記CP1との間のリンカーL2をさらに含み、前記L1及び前記L2が、それぞれ独立して、配列番号27 (n=1) と少なくとも80%同一である配列、配列番号324と少なくとも80%同一である配列を含む、または存在しない、項目138～163のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

30

【0403】

165. 前記L1が配列番号27 (n=1) の配列を含み、前記L2が配列番号324の配列を含む、項目164に記載のACC。

【0404】

166. 12個以下のアミノ酸を含む連結領域を含む、項目138～165のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0405】

167. 前記連結領域が、7～12個のアミノ酸を含む、項目166に記載のACC。

【0406】

168. 前記連結領域が、7個のアミノ酸を含む、項目166に記載のACC。

40

【0407】

169. 野生型インターフェロンαと比較して、インターフェロンα活性の少なくとも2000倍の低減を特徴とする、項目138～168のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0408】

170. 野生型インターフェロンαと比較して、インターフェロンα活性の少なくとも4000倍の低減を特徴とする、項目169に記載のACC。

【0409】

171. 野生型インターフェロンαと比較して、インターフェロンα活性の少なくとも5000倍の低減を特徴とする、項目170に記載のACC。

50

【0410】

172. ペグ化インターフェロン α と比較して、インターフェロン α 活性の少なくとも2000倍の低減を特徴とする、項目138～168のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0411】

173. 前記インターフェロン活性の低減が、リンパ腫細胞の抗増殖アッセイにおいて、前記ACCのEC50を、前記野生型インターフェロンまたは前記ペグ化インターフェロンのEC50と比較することによって決定される、項目138～172のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0412】

174. 前記インターフェロン活性の低減が、インターフェロン反応性HEK293細胞中の、分泌型胚性アルカリフォスファターゼ産生誘発のアッセイにおいて、前記ACCのEC50を、前記野生型インターフェロンまたは前記ペグ化インターフェロンのEC50と比較することによって決定される、項目138～173のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0413】

175. CM1及びCM3が基質として機能する前記プロテアーゼ（複数可）への曝露後に、切断産物を生成し、前記切断産物に対する、前記対応する野生型インターフェロンの前記インターフェロン活性の比率が約2未満であることをさらに特徴とする、項目138～174のいずれか1項に記載のACC。

【0414】

176. 前記切断産物のEC50が、前記対応する野生型インターフェロンのEC50とほぼ同一である、項目175に記載のACC。

【0415】

177. 前記第1のモノマー構成体及び前記第2のモノマー構成体がそれぞれ、配列番号321と少なくとも95%同一である配列を含む、または前記第1のモノマー構成体及び前記第2のモノマー構成体のそれぞれが、配列番号321の配列を含む、もしくは配列番号321と同一であり、前記ACCが、野生型インターフェロン α -2bと比較して、インターフェロン活性の少なくとも1000倍の低減を特徴とし、前記ACCが、uPAへの曝露後に、切断産物を生成することをさらに特徴とし、前記切断産物が、野生型インターフェロン α -2bとほぼ同一のインターフェロン活性を有し、インターフェロン活性が、リンパ腫細胞の抗増殖アッセイにおいて、またはインターフェロン反応性HEK293細胞中の、分泌型胚性アルカリフォスファターゼ産生誘発アッセイにおいて測定される、項目138に記載のACC。

【0416】

178. 第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体を含む活性化可能サイトカイン構成体（ACC）であって、

（a）前記第1のモノマー構成体が、第1のペプチドマスク（PM1）と、第1の成熟サイトカインタンパク質（CP1）と、第1の及び第3の開裂可能部分（CM1及びCM3）と、第1の二量体化ドメイン（DD1）と、を含み、

（b）前記第2のモノマー構成体が、第2のペプチドマスク（PM2）と、第2の成熟サイトカインタンパク質（CP2）と、第2の及び第4の開裂可能部分（CM2及びCM4）と、第2の二量体化ドメイン（DD2）と、を含むポリペプチドであり、

（c）前記第1のモノマー構成体が、N末端からC末端の方向で、前記PM1、前記CM3、前記CP1、前記CM1及び前記DD1を含むポリペプチドであり、さらに、

（i）前記PM1は配列番号323と少なくとも85%同一である配列を含み、

（ii）前記CM1及び前記DD1は互いに直接的に隣接し、

（iii）前記CM1は配列番号41と少なくとも85%同一である配列を含み、

（iv）前記CP1は配列番号1と少なくとも85%同一である配列を含み、

（d）さらに、

10

20

30

40

50

(i) 前記第2のモノマー構成体は、前記第1のモノマー構成体と同一であり、
(ii) 前記DD1及び前記DD2は、1対のヒトIgG4のFcドメインであり、
(e) 前記DD1及び前記DD2が、少なくとも1個のジスルフィド結合を介して互いに共有結合し、それによって前記第1のモノマー構成体及び前記第2のモノマー構成体のホモ二量体を形成し、
(f) ペグ化インターフェロン α -2bのインターフェロン α 活性と比較して、インターフェロン α 活性の低減したレベルを有することを特徴とする、
前記活性化可能サイトカイン構成体(ACC)。

【0417】

179. 前記PM2が、配列番号323、331または332の1つと、少なくとも85%、90%または95%同一である配列を含む、項目178に記載のACC。 10

【0418】

180. 前記第1のモノマー構成体及び前記第2のモノマー構成体がそれぞれ、配列番号321と少なくとも95%同一である配列を含む、または前記第1のモノマー構成体及び前記第2のモノマー構成体のそれぞれが、配列番号321の配列を含む、もしくは配列番号321と同一であり、前記ACCが、野生型インターフェロン α -2bまたはペグ化インターフェロン α -2bのいずれかと比較して、インビボでより低い毒性を示す、項目138に記載のACC。

【0419】

181. 項目138~180のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACCを含む、組成物。 20

【0420】

182. 薬学的組成物である、項目181に記載の組成物。

【0421】

183. 項目181または182に記載の組成物の、少なくとも1回の用量を含む、容器、バイアル、シリンジ、注射ペンまたはキット。

【0422】

184. 治療を必要とする対象の治療方法であって、治療有効量の、項目138~179のいずれか1項もしくはいずれかの組み合わせであるACC、または項目181もしくは182の組成物を、前記対象に投与することを含む、前記方法。 30

【0423】

185. 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、項目184に記載の方法。

【0424】

186. 項目138~179のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACCの、前記第1のモノマーを含むポリペプチドをコードする核酸。

【0425】

187. 項目186に記載の核酸を含むベクター。

【0426】

188. 発現ベクターである、項目187に記載のベクター。 40

【0427】

189. 項目186の核酸、または項目187もしくは188のベクターを含む、哺乳動物細胞。

【0428】

190. HEK293細胞またはCHO細胞である、項目189に記載の哺乳動物細胞。

【0429】

191. 項目189または190の哺乳動物細胞中に前記ACCを発現させることと、発現された前記ACCを精製することと、を含む、ACCを製造する方法。

【0430】

192. 前記CM1及び前記CM3がそれぞれ、腫瘍組織中に過剰発現するプロテアーゼの基質として機能する、項目138～180のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0431】

193. 前記PM1、前記PM2または前記PM1及び前記PM2が、配列番号323を含む、先行項目のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0432】

194. 前記PM1、前記PM2または前記PM1及び前記PM2が、配列番号331を含む、先行項目のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0433】

195. 前記PM1、前記PM2または前記PM1及び前記PM2が、配列番号332を含む、先行項目のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0434】

196. 前記CP1及び前記DD1が、15個以下のアミノ酸の連結領域によって連結され、前記15個以下のアミノ酸の連結領域が前記CM3を含有する、先行項目のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0435】

197. 前記第2のモノマー構成体は、前記CP2及び前記DD2が15個以下のアミノ酸の連結領域によって連結され、前記15個以下のアミノ酸の連結領域が前記CM2を含有することを特徴とする、先行項目のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0436】

198. 前記PM1、前記PM2、または前記PM1及び前記PM2が、潜在型関連ペプチドではない、先行項目のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0437】

199. 前記PM1、前記PM2、または前記PM1及び前記PM2が、サイトカインではない、先行項目のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0438】

200. 前記PM1、前記PM2、または前記PM1及び前記PM2がサイトカインの受容体ではなく、及び／またはサイトカインの受容体と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を有しない、先行項目のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0439】

201. 前記PM1、前記PM2、または前記PM1及び前記PM2が、サイトカインの受容体のフラグメントではない、先行項目のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0440】

202. 前記PM1、前記PM2、または前記PM1及び前記PM2が、アルブミンではない、先行項目のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0441】

203. 前記PM1、前記PM2、または前記PM1及び前記PM2が、50、45、40、35、30、25、20、15または10個未満のアミノ酸である、先行項目のいずれか1項またはいずれかの組み合わせであるACC。

【0442】

204. 前記ACCが、以下の特性：

(i) N末端からC末端方向に、PM1-CM3-CP1-CM1-DD1及びCP2-CM2-DD2を含み、前記DD1及び前記DD2は二量体化される構造的配置；

(ii) N末端からC末端方向に、PM1-CM3-CP1-CM1-DD1及びPM2-CM4-CP2-CM2-DD2を含み、前記DD1及び前記DD2は二量体化される構造的配置；

(iii) 前記PM1及び前記PM2のそれぞれが、40個未満のアミノ酸である；

10

20

30

40

50

(i v) 前記 P M 1 及び前記 P M 2 のそれぞれが、前記 C P 1 及び前記 C P 2 の受容体ではない；

(v) 前記 P M 1 及び前記 P M 2 のそれぞれが、サイトカインの受容体と少なくとも 8 5 % 同一であるアミノ酸配列を有しない；

(v i) 前記 P M 1 及び前記 P M 2 のそれぞれが、前記 C P 1 及び前記 C P 2 の受容体のフラグメントではない；

(v i i) 前記 P M 1 及び前記 P M 2 のそれぞれが、1 3 ~ 4 9 個のアミノ酸である；

(v i i i) 前記第 1 のモノマー構成体は、前記 C P 1 及び前記 D D 1 が 1 8 個以下のアミノ酸の連結領域によって連結され、前記 1 8 個以下のアミノ酸の連結領域が前記 C M 3 を含有することを特徴とする；

(i x) 前記 A C C が N - P M - C M 1 - C P - C M 2 - D D C の方向性を有する場合、前記 A C C の N 末端から前記サイトカインの N - 末端アミノ酸までのアミノ酸の全体スパンは、1 7 ~ 7 1 個のアミノ酸の長さであり、前記 A C C が N - D D - C M 1 - C P - C M 2 - P M - C の方向性を有する場合、前記 A C C の C 末端から前記サイトカインの C 末端アミノ酸までのアミノ酸の全体スパンは、1 7 ~ 7 1 個のアミノ酸の長さである；及び／または

(x) 前記第 2 のモノマー構成体は、前記 C P 2 及び前記 D D 2 が 1 8 個以下のアミノ酸の連結領域によって連結され、前記 1 8 個以下のアミノ酸の連結領域が前記 C M 2 を含有することを特徴とする；

の少なくとも 1 つを有することを特徴とする、先行項目のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【0 4 4 3】

2 0 5 . 前記第 1 のモノマー構成体が、1 個のみのペプチドマスクを有する、先行項目のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【0 4 4 4】

2 0 6 . 前記第 2 のモノマー構成体が、1 個のみのペプチドマスクを有する、先行項目のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【0 4 4 5】

2 0 7 . 前記第 1 のモノマー構成体が 1 個のみのペプチドマスクを有し、かつ前記第 2 のモノマー構成体が 1 個のみのペプチドマスクを有する、先行項目のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C。

【0 4 4 6】

2 0 8 . 先行項目のいずれか 1 項またはいずれかの組み合わせである A C C を投与することを含む、I P - 1 0 放出を弱めることをそれを必要とする対象において行う方法。

【実施例】

【0 4 4 7】

本発明を以下の実施例にさらに記載するが、これらは特許請求の範囲に記載された本発明の範囲を限定するものではない。

【0 4 4 8】

実施例 1 : サイトカイン構成体例のインビトロ特性評価

活性化可能サイトカイン構成体 P r o C 4 4 0 を、組み換え法によって作製した。P r o C 4 4 0 の第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体は同一であり、それぞれが配列番号 3 1 6 のアミノ酸配列、及びその N 末端におけるシグナル配列を有するポリペプチドであった。第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体のそれぞれは、N 末端から C 末端で、シグナル配列（例えば、配列番号 2 4 4）、ヒトインターフェロン α - 2 b（配列番号 1）に相当する成熟サイトカインタンパク質、配列番号 1 0 0 のアミノ酸配列を有する開裂可能部分、及び C y s 2 2 6（E U ナンバリングに準拠する）までトランケートされ、S 2 2 8 P の変異を含有するヒト I g G 4 の F c（配列番号 3）に相当する、二量体化ドメインを含む。

【0 4 4 9】

宿主細胞を、配列番号 316 の配列を有するポリヌクレオチドで形質転換し、その後、得られた組み換え宿主細胞を培養することによって、ポリペプチドを調製した。得られた発現ポリペプチドの二量体化によって、サイトカイン構成体 ProC440 が産生された。

【0450】

ProC440 の活性を、IFN 反応性 HEK293 細胞及び Daudi 細胞を使用して、インビトロで試験した。それぞれ、図 7A 及び図 7B を参照されたい。

【0451】

IFN 反応性 HEK293 細胞を、ヒト STAT2 遺伝子及び IRF9 遺伝子を用いた安定な形質移入によって作製し、完全に活性な I 型 IFN シグナル伝達経路を得た。この細胞は、IFN α / β 誘発性 ISG54 プロモータの制御下での誘発性 SEAP（分泌型胚性アルカリフォスファターゼ）レポーター遺伝子も特徴である。導入遺伝子発現を維持するために、細胞を、10% の FBS、Pen/Strep、30 μ g/mL のブラストサイジン、100 μ g/mL のゼオシン（zeocin）及び 100 μ g/mL のノルモシン（normocin）を補充した DMEM GlutaMax 培地において培養した。これらの細胞に I 型 IFN を添加すると、JAK/STAT/ISGF3 経路が活性化され、その後に、上清中で、アルカリフォスファターゼ活性の比色検出法である Quant-iT Blue 溶液を使用してすぐに評価できる、SEAP 産生が誘発される。

【0452】

Daudi 細胞は、ヒト B 細胞リンパ芽球由来の細胞株である。Daudi 細胞を、 2×10^5 細胞/mL の濃度で、10% の FBS を補充した RPMI-1640 培地において調製し、50 μ L のアリコートをし、ピペットで白色の平底 96 穴プレートのウェル（10K/ウェル）へと取った。試験する ProC440 または対照を、10% の FBS を補充した RPMI 1640 培地において希釈した。2 検体の 5 倍段階希釈を生成し、そこから 50 μ L を各ウェルに添加した。37°C で 3 日間のインキュベーション後に、生存率キットを使用して細胞内での ATP の濃度を、残存する生存可能な細胞の数の間接的な概算として測定した。100 μ L の cell-titer glo をプレートに直接添加し、続いてプレートをオービタルシェーカー上に、10 分間置いた。このインキュベーション後に、Envision プレートリーダーを用いて、発光シグナルを直接的に測定した。Graph Pad Prism ソフトウェアを用いた S 字状フィットの非線形回帰によって、用量反応曲線を作成し、EC50 値を得た。

【0453】

HEK293 細胞及び Daudi 細胞を使用したアッセイの両方において、ProC440 の活性は、幹細胞 IFN α -2b（ヒト組み換え IFN- α 2b、StemCell Technologies から入手可能、カタログ番号 78077.1）と比較して、少なくとも 1,000 倍低下していた（図 7A 及び図 7B）。これは、ヒト IgG の Fc に相当する、開裂可能な二量体化ドメインの融合が、ProC440 構成体の IFN α -2b に対する立体化学的マスキングを提供したことを示している。uPA を用いたプロテアーゼ活性化により、組み換えサイトカインと同等のレベルまで活性が回復した。ProC440、ProC440+uPA 及び幹細胞 IFN α -2b の EC50 値を、IFN α / β アッセイ結果から計算し、以下の表 3 に提供する。

【表 3】

表 3. EC50 : IFN α / β レポーターアッセイ

	ProC440	ProC440+uPA	幹細胞 IFN α -2b
EC50	7643	4.333	10.88

ProC440、ProC440+uPA 及び幹細胞 IFN α -2b の EC50 値を、Daudi アポトーシスアッセイ結果から計算し、以下の表 4 に提供する。

【表 4】

表 4. EC50 : D a u d i アポトーシスアッセイ

	ProC440	ProC440+uPA	幹細胞 IFN α -2b
EC50	264.2	0.1842	0.3530

【0454】

u P aを用いた、開裂可能部分における予想される部位での開裂を、電気泳動及び質量分析によって確認した（図 6 A 及び図 6 B）。結果は、u P aプロテアーゼが、P r o C 4 4 0 活性化可能サイトカイン構成体内の開裂可能部分の切断に有効であったことを示唆している。u P a 活性化への感応性に加えて、P r o C 4 4 0 は、M M P 1 4 によって切断された（図 6 A ～図 6 C）。図 6 A は、ゲル電気泳動の結果を表す。左の列は、プロテアーゼに曝露されていない P r o C 4 4 0 を示し、中央の列は、プロテアーゼ u P A に曝露した P r o C 4 4 0 を示し、右の列は、M M P 1 4 に曝露した P r o C 4 4 0 を示す。質量分析によって、開裂可能部分の近くの、I F N α - 2 b の C 末端の端で、M M P 1 4 切断部位を特定した（図 6 B）。M M P 1 4 を用いたプロテアーゼ活性化も、組み換えサイトカインと同等のレベルまで活性を回復させた（図 6 C）。データは、P r o C 4 4 0 が、u P a または M M P 1 4 などのプロテアーゼによる、内因性及び遺伝子操作した開裂可能部分の切断後に、完全な活性を取り戻したことを示している。

【0455】

活性化可能サイトカイン構成体 P r o C 7 3 2 を、組み換え法によって作製した。A C C の第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体は同一であり、それぞれ図 8 に示すアミノ酸配列（例示的な任意のシグナル配列を有する配列番号 3 2 1）を有するポリペプチドであった。第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体のそれぞれは、N 末端から C 末端で、シグナル配列、スペーサー（Q S G Q）配列、I F N α - 2 b マスキングペプチド（配列番号 3 2 3）、リンカー（配列番号 3 2 4）、配列番号 4 1（L S G R S D N I）のアミノ酸配列を有する開裂可能部分、リンカー（配列番号 2 2 7、式中、n = 1）、ヒトインターフェロン α - 2 b（配列番号 1）に相当する成熟サイトカインタンパク質、配列番号 4 1 のアミノ酸配列を有する開裂可能部分、及び C y s 2 2 6（E U ナンバリングに準拠する）までトランケートされた、ヒト I g G 4 S 2 2 8 P F c（配列番号 3）に相当する D D を含む。

【0456】

別の活性化可能サイトカイン構成体 P r o C 7 3 3 を、組み換え法によって作製した。A C C の第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体は同一であり、それぞれ図 9 に示すアミノ酸配列（例示的な任意のシグナル配列を有する配列番号 3 2 2）を有するポリペプチドであった。第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体のそれぞれは、N 末端から C 末端で、シグナル配列、スペーサー（Q S G Q）配列、I F N α - 2 b マスキングペプチド（配列番号 3 2 3）、リンカー（配列番号 3 2 4）、配列番号 4 1 のアミノ酸配列を有する開裂可能部分、リンカー（配列番号 2 2 7、式中、n = 1）、ヒトインターフェロン α - 2 b（配列番号 1）に相当する成熟サイトカインタンパク質、完全なヒンジ配列を含有する、ヒト I g G 4 S 2 2 8 P F c（配列番号 4）に相当する D D を含む。P r o C 7 3 3 構成体は、サイトカイン配列と D D との間の開裂可能部分がないため、以下で議論するように、P r o C 7 3 3 構成体は部分的のみ活性化可能である。

【0457】

宿主細胞を、それぞれ配列番号 3 2 1 及び 3 2 2 の配列をコードするポリヌクレオチドで形質転換し、その後、得られた組み換え宿主細胞を培養することによって、マスクしたサイトカイン構成体 P r o C 7 3 2 及び P r o C 7 3 3 を調製した。得られた発現ポリペプチドの二量体化によって、サイトカイン構成体 P r o C 7 3 2 及び P r o C 7 3 3 がそれぞれ産生された。

【0458】

ProC732、ProC733及びProC440の活性を、上述したように、IFN反応性HEK293細胞を使用して、インビトロで試験した。ProC732及びProC733の活性は、ProC440と比較して、さらに低下した（図10A～図10C）。これは、サイトカイン活性がProC440においてすでに著しく低下したとしても、ペプチドマスクの付加が、二量体化ドメインを介した立体化学的マスキングによる、さらなるマスキング強度を提供したことを示している。驚くべきことに、マスキングペプチド（PM）の付加はDDによる立体化学的マスキングを妨げず、そしてDDもPMによるマスキングを妨げないようである。uPaを用いたプロテアーゼ活性化によって、uPaを用いたプロテアーゼ活性化後のProC440のレベルと同等のレベルまで、ProC732の活性が回復した。これは、ProC732が、プロテアーゼ活性化に際し、マスクされていないIFN α -2b活性の完全な強度を取り戻したことを示している。

10

【0459】

ProC733は、開裂可能部分を介してIFN α -2bに付着する親和性ペプチドマスクを含有し、IFN α -2bのC末端はヒトIgGのFcに直接融合している（サイトカインとFc領域との間に挿入される開裂可能部分なし）。uPaを用いたプロテアーゼ活性化によって、ProC733の活性を、非活性ProC440のレベルと同等のレベルまで回復させた。これは、開裂可能なヒトIgGのFcまたはIFN α -2b二量体化による束縛によって提供される立体化学的マスキングに加えて、開裂可能な親和性ペプチドマスクが、IFN α -2bにさらなるマスキング強度を提供することをさらに示している。ProC440、ProC440+uPa、ProC732、ProC732+uPa、ProC733及びProC733+uPaのEC50値を、IFN α / β 分析結果から計算し、以下の表5に提供する。

20

【表5】

表5. EC50：IFN α / β レポーターアッセイ

	ProC440	ProC440+uPA	ProC732	ProC732+uPA	ProC733	ProC733+uPA
EC50	0.6344	0.0004	40.69	0.0005	21.83	0.2977

30

【0460】

HEKレポーターアッセイにおけるACCのマスキング効率（開裂しないACCのEC50を、開裂したACCのEC50と比較して測定した）は、次のとおりである：

ProC440：1358倍

ProC732：7380倍

ProC733：60倍

【0461】

したがって、ペプチドマスク、及び二量体化ドメインを通した立体化学的マスキングの両方を含むACCにおいて、例えば図10Cに示すように、高レベルのマスキング効率（例えば、>5,000倍）を達成できる。

40

【0462】

図42A～図42Dにて示すように、ペプチドマスク（図42A（ペプチドマスクなし）対図42B（ペプチドマスクあり））及びFcマスク（図42C（Fcマスクなし）対図42D（Fcマスクあり））のそれぞれは、ACCの受容体への結合に影響を及ぼす。データを考慮すると、本開示のACCの二重マスキング構造を用いることにより、相乗的な活性が得られている。組み換えIFN α 2b、モノマーIFN α 2b/Fc、活性化ホモ二量体IFN α 2b/Fc、及びホモ二量体IFN α 2b/Fcの活性を、上述したようにIFN反応性HEK293細胞を用いて、インビトロで試験した。組み換えIFN α 2b、モノマーIFN α 2b/Fc、活性化ホモ二量体IFN α 2b/Fc、及びホモ二

50

量体 I F N a 2 b / F c を、上述のように調製した。ホモ二量体 I F N a 2 b / F c の活性は、組み換え I F N a 2 b と比較して実質的に低減したが、プロテアーゼ活性化によって、組み換え I F N a 2 b と同程度のレベルまで回復した（図 3 1）。図 3 1 はまた、活性化及び非活性ホモ二量体 I F N a 2 b / F c で観察される活性の間のおよそ中間値で、モノマー I F N a 2 b / F c が活性を示したことも示している。

【0463】

さらに、ProC440 は、uPA で処置した ProC440 と比較して、実質的に低下した活性を示す（図 3 5 A）。同一の分子であるが、NSUB 基質を有する場合は、MMP に反応して回復した活性を有し、これは潜在的な開裂部位の存在を示している（図 3 5 A）。ProC732 及び ProC1299（L161 の欠失）の活性は、ともに uPA によって回復した（図 3 5 B）。L161（MMP14 開裂部位内）の欠失は、MMP14 または uPA の存在下でさえ、ProC1301（NSUB 基質）の活性化を妨げる（図 3 5 C）。

【0464】

実施例 2：サイトカイン構成体のインビボ忍容性

ヒト I F N α - 2 b はハムスター I F N α 受容体と交差反応し、ハムスターにおいて活性であることが以前から示されている（Altrock et al, Journal of Interferon Research, 1986）。I F N α - 2 b 含有サイトカイン構成体の忍容性を評価するために、0.4 mg / kg の開始用量で、ゴールドンシリアンハムスターに投薬した。動物は、1 回分の用量の試験物質を与えられ、許容されない毒性が確認されない限り、投薬後最大 7 日まで試験を継続した。開始用量（0.4 mpk）は、I F N α 対照（組み換えインターフェロン α、すなわち Amgen によって、Infergen（登録商標）の名称で製造される天然に存在しない I 型インターフェロン）が、ハムスター（125 gr）において、体重低下、食物消費量の低下、及び骨髄抑制を誘発すると予想される用量と等しい用量を示す。開始用量が許容された場合、動物は、2 mg / kg の「中用量」に移され、許容される限り、3 回分の用量の試験物質を与えられた。許容された場合、動物は、10 mg / kg の「高用量」に移され、許容される限り、3 回分の用量の試験物質を与えられた。許容された場合、動物は、15 mg / kg の「より高用量」に移された。各段階で試験用量が許容されなかった場合は、動物は、一段階低い用量に移された。開始用量が許容されなかった場合は、動物は、0.08 mg / kg の「より低用量」に移された。動物には、マスクしていない I F N α - 2 b F c 融合構成体 ProC286 も投薬した。陰性対照として、動物にヒト I g G 4 を投与した。

【0465】

ProC286（ChIgG4 5AA 1204DNIdL I F N a 2 b）も、組み換え法によって調製した。第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体は同一であり、それぞれが配列番号 326 のアミノ酸配列、及びその N 末端におけるシグナル配列を有するポリペプチドであった。第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体のそれぞれは、N 末端から C 末端で、シグナル配列、ESKYGPP（配列番号 317）ヒンジ配列を含有するヒト I g G 4 S228P Fc（配列番号 4）に相当する DD、リンカー（配列番号 327）、配列番号 100 のアミノ酸配列を有する開裂可能部分、リンカー（配列番号 228）、及びヒトインターフェロン α - 2 b（配列番号 1）に相当する成熟サイトカインタンパク質を含む。

【0466】

ProC291（NhIgG4 5AA 1204DNIdL I F N a 2 b）も、組み換え法によって調製した。第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体は同一であり、それぞれが配列番号 496 のアミノ酸配列、及びその N 末端におけるシグナル配列を有するポリペプチドであった。第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体のそれぞれは、N 末端から C 末端で、シグナル配列、ヒトインターフェロン α - 2 b（配列番号 1）に相当する成熟サイトカインタンパク質、リンカー（配列番号 492）、CM（配列番号 100）、リンカー（GGGS）、ESKYGPP（配列番号 317）ヒンジ配列を含

有するヒトIgG4のFc領域（配列番号4）を含む。

【0467】

ProC286及びProC291の活性を、Dauidiアポトーシスアッセイにおいて、Sylatron（登録商標）（PEG-IFN- α 2b）の活性と比較した（図11A～図11B）。このアッセイでは、図11Aに示すように、ProC286及びSylatron（登録商標）は、同様の活性レベルを示している。これは、ProC286が、購入可能なペグ化IFN- α 2bと同様の活性を有し、ハムスター試験においてIFN α -2bの忍容性を評価するための、Sylatron対照の代用物として用いられ得ることを示している。ProC291は、ProC286及びSylatron（登録商標）と比較して活性の低下を示し、これは、FcのN末端側のIFNの構造的な方向性が、活性の低減のために重要であったことを示している。つまり、DDが1対のFcドメインである場合、サイトカインをDDのN末端側へ置くこと（ProC291における様な）で、サイトカインがDDのC末端側へ置かれる（ProC286における様な）よりも、サイトカイン活性のより大きな低減が提供され得る。

10

【0468】

図13A～図13Cに示す用量を、1日目に動物に投薬した。非許容用量（DLT）に達しない限り、動物での試験を1週間継続した。投与前、及び投与後6時間、24時間、72時間、7日目に、動物ごとに臨床的観察、体重及び温度測定を行った。血液学分析及び化学分析のための血液試料を、投与後72時間、7日目に、動物ごとに収集した。血液学分析及び化学分析は、試料採取の直後に行った。血液学分析として、血液塗抹標本、白血球百分率、ヘマトクリット、ヘモグロビン、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球容積、血小板数、赤血球数、赤血球分配幅、網状赤血球数及び白血球数を評価した。臨床的

20

化学パネルには、アラニンアミノ基転移酵素、アルブミン、アルブミン／グロブリン比、アルカリフォスファターゼ、アスパラギン酸アミノ基転移酵素、カルシウム、塩化物、コレステロール、クレアチンキナーゼ、クレアチン、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ、グロブリン、グルコース、無機リン、カリウム、ナトリウム、総ビリルビン、総タンパク質、トリグリセリド、尿素、窒素及びC反応性タンパク質の測定が含まれた。忍容性試験における毒性の根拠を、図13A～図13C、図14及び図15に要約する。

【0469】

全体として、ProC286構成体を投薬した動物は、2mpk（すなわち、2mg/kg）で投薬したときは、平均5%の体重損失、及び10mpk及び15mpkで投薬したときは、15%の体重損失を示した（図13A～図13C）。ProC286を15mpkで投薬した1匹の動物は、投与7日後（試験終了時）に20%の体重損失を示した。これは、許容できない用量とみなされる。これに対して、ProC440及びProC732を2mpk及び10mpkで投薬した動物は、体重損失を示さなかった（図13A～図13B）。ProC440を15mpkで投薬した動物は、平均5%の体重損失を示した（図13A～図13C）。ProC732を15mpkで投薬した動物は、体重損失を示さなかった（図13C）。これは、ProC440に関するIFN α -2bの受容体に対するマスキングが、IFN α -2bに媒介される体重損失を制限することを示している。マスクされていないIFN α 2b/Fcを15mpkで投薬した動物は、マスクした及び二重マスクしたIFN α 2b/Fcを投薬した動物と比較して、高いALPを示した（0.4mpkでALPの上昇を検出）。ハムスター毒性モデルにおいて、マスクしたIFN α 2b/Fcは、15mg/kgまで忍容性が良好であったことを結果は示している。

30

40

【0470】

理論に拘束されることを望むものではないが、DDのN末端にインターフェロンを置くこと、及び比較的短いLRを用いることが、ProC440に関してサイトカイン活性を阻害し、ペグ化IFN α -2b（Sylatron（登録商標））またはProC286と比較して、インターフェロンの毒性を低下させると考えられている。予期せぬことに、ProC732に関して、サイトカインのN末端でのペプチド親和性マスクの付加により、少なくとも15mpkの用量で、IFN α -2bに媒介される体重損失が完全に抑止さ

50

れる。開裂可能ペプチドマスク及び開裂可能二量体化ドメインの両方の使用は、このように毒性を低下させ、より高いレベルでの投与を可能にし、これにより、このサイトカイン治療の治療域を向上する可能性がある。

【0471】

臨床的化学に関しては、ProC286を投薬した動物は、全ての用量（0.4mpk、2mpk、10mpk及び15mpk）で、投与7日後（試験終了時）に、アルカリフォスファターゼ（ALP）の著しい上昇を示した（図14）。動物に、10mpkまたは15mpkのProC440またはProC732を投薬したときは、ALPの有意な上昇は測定されなかった（図14）。ALTの上昇は、肝臓毒性のマーカーである。IFN α -2bは、肝臓毒性を生じさせることが示されている。これは、ProC440及びProC732に関して、IFN α -2bのその受容体への結合のマスクングが、IFN α -2bが媒介する肝臓毒性を制限することを示している。

10

【0472】

血液学に関しては、投与3日後及び投与7日後（試験終了時）、ProC286を2mpk、10mpk及び15mpkで投薬した動物は、網状赤血球数、好中球数及び白血球細胞（WBC）数の有意な低下を示した（図15）。これらの低下は、IFN α -2bに媒介される骨髄毒性を連想させる。投与3日後、ProC440及びProC732を投薬した動物は、網状赤血球数、好中球数及び白血球細胞（WBC）数の低下を示した（図15）。全体として、ProC440及びProC732を投薬した動物で観察された造血細胞の低下レベルは、ProC286を投薬した動物で観察される低下レベルほど重大ではない。投与7日後（試験終了時）に、ProC732及びProC440を投薬した動物では、網状赤血球数、好中球数及び白血球細胞（WBC）数の全体的なレベルは、正常レベル、または陰性対照IgG4を投薬した動物で観察されたものと同様のレベルに戻っている（図15）。ProC286を投薬した動物では、網状赤血球数、好中球数及び白血球細胞（WBC）数のレベルは低いままである。これは、ProC440及びProC732に関して、IFN α -2bのその受容体へのマスクングが、IFN α -2bが媒介する骨髄毒性を制限することを示している。

20

【0473】

実施例3. さまざまな長さのリンカーを有するサイトカイン構成体の、がん細胞に対するインビトロ抗増殖作用

30

IFN α -2bとhIgG4Fcとの間にさまざまな長さのリンカーを有する、またはリンカーがないIFN α -2b-hIgG4のFc融合構成体の抗増殖作用を、Daudi細胞を用いてインビトロで試験した。実施例1に記載されるDaudi細胞アッセイを使用して、試験を実施した。

【0474】

この実験で試験した融合タンパク質は、N末端からC末端の方向で、成熟IFN α -2bサイトカイン配列、任意選択的リンカー及び／または開裂可能部分、ならびに配列番号4のヒトIgG4のFcドメイン（Fc配列のN末端がアミノ酸配列ESKYGP P C P C...（配列番号500）（配列番号4の最初の11個のアミノ酸）から開始するように、完全なヒンジ領域を含む）を含有する。ESKYGP P（配列番号317；配列番号4の最初の7個のアミノ酸）配列は、これらの構成体の「連結領域」に7個のアミノ酸を与える。第1の構成体（連結領域=7）は、リンカーまたは開裂可能部分を有せず、その配列は、N末端からC末端方向に、配列番号1、それが縮合する配列番号4からなる。第2の構成体（連結領域=12）は、5アミノ酸リンカーSGGGG（配列番号492）を有し、CMを有せず、その配列は、N末端からC末端方向に、配列番号1、それが縮合する配列番号492、それが縮合する配列番号4からなる。第3の構成体（連結領域=18）は、7アミノ酸CM（SGRSDNI）（配列番号100）及び4アミノ酸リンカーGGGS（配列番号228）を含有し、その配列は、N末端からC末端方向に、配列番号1、それが縮合する配列番号100、それが縮合する配列番号2、それが縮合する配列番号4からなる。第4の構成体（連結領域=23）は、5アミノ酸リンカー、7アミノ酸CM及

40

50

び4アミノ酸リンカーを含有し、その配列は、N末端からC末端方向に、配列番号1、それが縮合する配列番号492、それが縮合する配列番号100、それが縮合する配列番号2、それが縮合する配列番号4からなる。第5の構成体（連結領域＝24）は、13アミノ酸CM（ISSGLLSGRSDNI）（配列番号68）及び4アミノ酸リンカーを含有し、その配列は、N末端からC末端方向に、配列番号1、それが縮合する配列番号68、それが縮合する配列番号2、それが縮合する配列番号4からなる。

【0475】

図16は、Dauidi細胞における上記ACCの活性を示す。本実施例で試験したACCは、ACCに付着されるペプチド親和性マスクを有しなかった。サイトカインとFcドメインとの間の、柔軟なリンカーの長さ及び連結領域（LR）の長さが、（切断されていない）ACCの活性に影響を及ぼしたことを、データは示している。リンカーがない、または短いリンカーを有し、それに応じて短いLRを有する構成体は、低下したサイトカイン活性を示し、一方でより長いリンカーを有し、したがってより長いLRを有する構成体は、より高いレベルのサイトカイン活性を有する。

【0476】

実施例4．さらなる活性化可能サイトカイン構成体のインビトロ特性評価

ペプチドマスクなしの、さらなる活性化可能サイトカイン構成体も、組み換え法によって調製した。これらのACCの第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体は、同一であった。第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体のそれぞれは、N末端からC末端で、シグナル配列、ヒトインターフェロン α -2b（配列番号1）に相当する成熟サイトカインタンパク質、配列番号100（SGRSDNI）のアミノ酸配列を有する開裂可能部分（CM）、及びヒトIgG4 S228P Fc（配列番号3を含む）に相当する二量体化ドメインを含む。さらに、これらのACCは、CPとCMとの間に、アミノ酸配列SGGGG（配列番号492）を有するリンカーを含有する、または含有しない。これらのACCは、CMとDDとの間に、アミノ酸配列GGGS（配列番号228）を有するリンカーを含有する、または含有しない。これらのACCはまた、システイン226（EUNANバリングによる）のN末端側である、DDのヒンジの一部を含有する、または含有しない。これらのさらなる活性化可能サイトカイン構成体を表6に記載する。

10

20

30

40

50

【表 6 - 1】

表 6：異なる長さの連結領域を有する活性化可能サイトカイン

名称	代替名	CP と CM と の間のリン カー	CM と DD と の間のリン カー	Fc ヒンジ N 末端残基	連結領 域の長 さ
ProC288	IFNa2b 1204DNI 0AA Fc	SGGGG（配 列番号 492）	なし	なし	12
ProC289	IFNa2b 1204DNI 3AA Fc	SGGGG（配 列番号 492）	なし	GPP	15
ProC290	IFNa2b 1204DNI 7AA Fc	SGGGG（配 列番号 492）	なし	ESKYGPP （配列番号 317） （配列番号 4 の最初の 7 個のアミノ 酸）	19
ProC291	IFNa2b 1204DNI 11AA Fc	SGGGG（配 列番号 492）	GGGS（配列 番号 2）	ESKYGPP （配列番号 317）（配列 番号 4 の最 初の 7 個の アミノ酸）	23
ProC440	N IFNa2b 0 1204DNIdL 0AA Fc	なし	なし	なし	7
ProC441	N IFNa2b 0 1204DNIdL 3AA Fc	なし	なし	GPP	10
ProC442	N IFNa2b 0 1204DNIdL 7AA Fc	なし	なし	ESKYGPP （配列番号 317）（配列 番号 4 の最 初の 7 個の アミノ酸）	14

【表 6 - 2】

ProC443	N IFNa2b 0 1204DNIdL 11AA Fc	なし	GGGS（配列 番号 2）	ESKYGPP （配列番号 317）（配列 番号 4 の最 初の 7 個の アミノ酸）	18
---------	---------------------------------	----	------------------	--	----

【0 4 7 7】

柔軟なリンカーがなく、C y s 2 2 6 までトランケートされた I g G 4 F c 領域を有

10

20

30

40

50

するACC（すなわち7個のアミノ酸の連結領域を含む）である、ProC440の活性と、さまざまな柔軟なリンカー及びFc領域配列を含有する（すなわち7個を超えるアミノ酸を有する連結領域を含む）さらなるACCの活性とを、上述したように、IFN反応性HEK293細胞及びDaudi細胞を使用して、インビトロで試験した。両方のアッセイにおいて、ProC440の活性（例えば、抗増殖作用）は、より長い連結領域を有する他の全てのACCと比較して低下した。より長い連結領域は、サイトカインと、対応する第2のモノマーにDDを結合する最初のアミノ酸（すなわちIgG4のCys226、EUナンバリングによる）との間に、さまざまな追加の配列を含有する。ACCのEC50値を、IFN α / β アッセイ結果から計算し、以下の表7に提供する。

【表7】

10

表7. EC50: IFN α / β レポーターアッセイ

	Pro C288	Pro C289	Pro C290	Pro C291	Pro C440	Pro C441	Pro C442	Pro C443
EC50	34.34	17.93	10.33	8.743	41.37	6.28	6.637	1.687

ACCのEC50値を、Daudiアポトーシスアッセイ結果から計算し、以下の表8に提供する。

【表8】

20

表8. EC50: Daudiアポトーシスアッセイ

	Pro C288	Pro C289	Pro C290	Pro C291	Pro C440	Pro C441	Pro C442	Pro C443
EC50	112.8	64.55	23.04	13.39	2078	1053	642.9	478

【0478】

表7～表8のデータはまた、連結領域の長さを変化させることによって、（切断されていない）ACCの活性は調節され得ることを示している。

30

【0479】

この実施例4で試験したACCは、ペプチドマスクを含まない。本明細書で報告される、ProC440をProC732と比較している実験結果に基づく、切断されていないACCの活性は、サイトカイン構成体のN末端に開裂可能部分及びペプチドマスクを付加することによって、さらに低下し得る。同様に、ProC440をProC732と比較している本明細書のデータに基づく、N末端にCM及びPMをさらに含むACCは、PMを含まないACCと比較して、マスキング効率が上昇し得る。

【0480】

実施例5. ユニバーサルサイトカイン構成体

ユニバーサル活性化可能サイトカイン構成体を、本明細書に記載の組み換え法によって調製した。ユニバーサルACCは、図17に示すように、ヒト細胞及びマウス細胞の両方に活性を有する、ユニバーサルインターフェロン配列（ProC859）を有する。ユニバーサルACCは二量体である。このACCの第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体は同一であり、それぞれが配列番号480のアミノ酸配列、及びそのN末端におけるシグナル配列を有するポリペプチドであった。第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体のそれぞれは、N末端からC末端で、シグナル配列、IFN α 1とIFN α 2aとのハイブリッド（配列番号481）であるユニバーサルインターフェロン分子に相当する成熟サイトカインタンパク質、配列番号100のアミノ酸配列を有する開裂可能部分、及びヒトIgGのFc（配列番号3）に相当する二量体化ドメインを含む。

40

【0481】

50

ユニバーサルサイトカイン構成体の活性を、IFN反応性HEK293細胞及びB16マウス黒色腫細胞を使用して、インビトロで試験した。ProC859の活性は、マウスIFN α 4と比較して、少なくとも150倍低下した。uPaを用いたプロテアーゼ活性化によって、図17（下部パネル）に示されるように、マウスIFN α 4と同等レベルに活性を回復させた。ACC ProC859、ACC ProC859+uPA及びマウスIFN α 4のEC50値を分析結果から計算し、図17（下部パネル）に提供する。

【0482】

【表9】

EC50：B16 IFN α / β レポーターアッセイ

	ProC859 (ACC)	ProC859 (ACC) +uPA	IFN α 4
EC50	293.7	1.951	1.966

10

【0483】

本開示によるユニバーサルIFN及びペプチドマスクを有するACCは、本明細書に記載の組み換え法によって調製されてよい。ペプチドマスクをユニバーサルインターフェロンに連結して、ACCのサイトカイン活性を、ProC859と比較してさらに低下させる。このACCの第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体は同一であり、それぞれアミノ酸配列を有するポリペプチドである。第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体のそれぞれは、N末端からC末端で、シグナル配列（例えば、配列番号242～244の1個）、マスキングペプチド（例えば、配列番号323、328～479からなる群から選択されるPMのいずれか1個）、任意選択的リンカー（例えば、配列番号2または配列番号210～263から選択されるいずれか1個）、開裂可能部分（例えば、配列番号5～100及び264～279から選択されるいずれか1個）、任意選択的リンカー（例えば、配列番号2、210～263、324、325、327から選択されるいずれか1個）、IFN α 1とIFN α 2aとのハイブリッド（配列番号481）である、ユニバーサルインターフェロン分子に相当する成熟サイトカインタンパク質、配列番号100のアミノ酸配列を有する開裂可能部分、及びヒトIgGのFc（配列番号3）に相当する二量体化ドメインを含む。ユニバーサルACCの活性を、IFN反応性HEK293細胞及びB16マウス黒色腫細胞を使用して、インビトロで試験する。本明細書で報告される、ProC440をProC732と比較している実験結果に基づく、親和性マスク（PM）の存在により、切断されていないACCのサイトカイン活性が、ProC859と比較してさらに低下するだろうが、CMがプロテアーゼによって切断されると、サイトカイン活性の完全な回復が可能になり、それによってさらに毒性を低下させ、治療域を改善すると予想される。

20

30

【0484】

理論に拘束されることを望むものではないが、本明細書で提示された結果に基づいて、発明者は、サイトカインのC末端で、比較的短いLRを有するDDを使用することに加えて、サイトカインのN末端で親和性マスク（PM）を使用することで、前述の特定の実施例において例示されたインターフェロン- α サイトカインに加えて、サイトカインのサイトカイン活性への有意なマスキングが提供されるだろうと想定している。上述のように、本明細書に記載される発明は、本明細書で議論されるさまざまなサイトカインタンパク質を含む活性化可能サイトカイン構成体を包含する。非限定例として、本発明のACCに用いられるCPは、配列番号101～209に列挙されるうちのいずれか、及びそれらの変異体であってよい。特に、単量体サイトカインは、本明細書に記載されるACCにおける使用に好適である。本明細書において提供される結果に基づいて、本発明のACCは、対応する野生型サイトカインと比較して、サイトカイン活性の低下を示すこととなり、関連したプロテアーゼ（複数可）によるACCの開裂に際し、切断産物は、対応する野生型サ

40

50

イトカインのサイトカイン活性に類似したサイトカイン活性を取り戻すことになると考えられる。

【0485】

実施例6：非ヒト霊長類におけるサイトカイン構成体の忍容性

従来の半減期が延長されたIFN- α 2b（ペグ化IFN- α 2b－参照PEG-IFN B LA # 99-148、RMS # 1039494 試験95028）（PEG-IFN，PEG-INTRON（商標））を用いた、カニクイザルにおける過去の試験で、117，721 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ の単回の皮下投与量（およそ9.8 mg/kg ）が、複数の動物の一過性食欲不振、低体温、低血圧及び死亡を伴ったことが報告された。ペグ化IFN- α 2bを用いたそれらの過去の試験において、無毒性量（NOAEL）は、雄で約4.9 mg/kg （58，860 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ ）及び雌で約2.5 mg/kg （29，440 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ ）であったと報告された。

10

【0486】

本実施例では、ペプチドマスクしたIFN α -2b ACC構成体（ProC732）の、非ヒト霊長類における忍容性を評価するために、体重1 kg あたり0.03、0.30、3.0及び15 mg の用量で、皮下投与を介してカニクイザルに投薬した。サル（各群N=2、性別は混合）は、マスクしたACCの1回の投薬を受け、投与後14～28日まで試験を継続した。図39に示すように、血漿濃度を経時的に測定した。

【0487】

全ての動物を、少なくとも1日2回（午前／午後）、健康障害、病的状態、死亡数、外傷、生存率、ならびに食物及び水の入手可能性／アクセスしやすさの兆候のためにケージ脇で観察した。投与後約48時間（3日目）、及び、7日目、15日目、22日目及び29日目に、適切な抗凝固チューブに、全血を採取した。

20

【0488】

血液学パラメータには、白血球数、平均赤血球容積、白血球百分率・絶対数、平均赤血球ヘモグロビン、赤血球数、平均赤血球ヘモグロビン濃度、ヘモグロビン、血小板数、ヘマトクリット、赤血球分布幅、網状赤血球数が含まれた。

【0489】

臨床的化学パラメータには、ナトリウム、カリウム、塩化物、アルカリフォスファターゼ、アラニンアミノ基転移酵素、アスパラギン酸アミノ基転移酵素、グルコース、血中尿素窒素、クレアチニン、ガンマグルトミルトランスフェラーゼ、総コレステロール、トリグリセリド、総タンパク質、アルブミン、グロブリン（計算値）、アルブミン／グロブリン比（計算値）、カルシウム、無機リン、総ビリルビンが含まれた。

30

【0490】

評価するサイトカインには、IL-2、IP-10（CXCL10）、IL-6、IL-12p70、IFN γ 、IL-10が含まれた。血漿中IP-10の濃度を、MSD V-PLEXアッセイ（Meso Scale Diagnostics，Rockville，Maryland）によって、図40Aに示すように測定し、図40Bに示すように、ProC732血漿濃度に対してプロットした。

【0491】

さらに、全血試料の一部を、採取後24～36時間以内のフローサイトメトリーによる分析のために、分析研究所に一晩で輸送した。FAC評価には、生存率／CD20／CD45／CD14／CD3／CD159a／CD4／Ki67／CD8／PD-L1が含まれた。

40

【0492】

全体として、ProC732で処置した動物は、全ての用量レベルで、副作用の臨床的兆候を示さなかった。食欲不振、低体温、低血圧または体重損失の兆候はなかった。投与後3日、7日、15日に実施した臨床生化学及び血液学分析では、全てのパラメータの、事前に設定した正常範囲からの逸脱は示されなかったが、1件の例外があった。15 mg/kg のProC732で処置した1匹の動物は、薬剤投与の3日後に、高いASTパラ

50

メータを示した。ペプチドマスクしたIFN α -2b ACC構成体（ProC732、Pb-IFN- α 2bとも称される）は、カニクイザル中で線形の薬物動態及び半減期の延長を示し、15mg/kgの用量まで忍容性が良好だった。これらの結果を、以下の表に要約する。

【表10】

	0.03mg/kg	0.3mg/kg	3mg/kg	15mg/kg
有害事象	-	-	-	-
AST 上昇	-	-	-	+/-
WBC 減少	-	-	-	+/-
NK 細胞、T 細胞における Ki67 の増加	-	-	+	+
IP-10 の上昇	-	-	+	++

10

【0493】

全体として、これらの結果は、本開示の条件付きマスクしたIFN-a2bでは、従来の半減期延長IFN-a2bと比較したとき、雄及び雌において、最も高い15mg/kgの試験用量まで忍容性が上昇したことを示した。

20

【0494】

実施例7：PBMCによって誘発されたCXCL10及びIFN- γ 放出のインビトロ特性評価

健康なドナーの末梢血単核細胞（PBMC）において、CXCL-10及びIFN- γ の誘発された放出を、未処置PBMC、及びペプチドマスクしたIFN α -2b ACC構成体（ProC732）、またはBrefeldin Aの存在下で5時間のインビトロプロテアーゼ処置によって活性化したProC732、1ng/ml（図19、上段）または10ng/ml（図19、下段）の用量で処置したPBMCを使用して、インビトロで評価した。細胞を、CD3/CD19/CD14で染色し、固定/透過化処理し、CXCL10及びIFN- γ の細胞内発現で染色した。ゲーティングは、生存可能な単核細胞（図19、上段）または、生存可能なCD19陰性リンパ球（図19、下段）に基づいた。これらの結果は、ProC732が、PBMCからのCXCL10及びIFN- γ の放出を、活性化依存的な様式で誘発することを示している。

30

【0495】

実施例8：マスクしたIFN α -2bによるインビボ腫瘍抑制

マスクしたIFN α -2b ACC構成体（ProC732）の腫瘍抑制作用を、無血清培地（1：1のMatrigel）において成長させた 10×10^6 のDaudi細胞を皮下移植したBeige/SCIDマウスを使用して、インビボで評価した。図20に示されるグラフのx軸に示されるように、試験の間、週2回、腫瘍測定値を記録した。マウス（各群n=8）を、5週間の間、1週間に1回、PBS（対照）またはProC732、0.02mg/kg、0.1mg/kg及び0.5mg/kgの用量で処置した。平均腫瘍体積が約200mm³に達してから、処置を開始した。図20に示されるように、条件付き活性ProC732で処置したマウスで、平均腫瘍体積の用量依存的な低減が観察された。ProC732は、0.1mg/kgの低い用量で、試験20日まで完全な退縮を誘発し、0.5mg/kgの用量は、試験の間、完全な退縮を誘発した。

40

【0496】

図36は、ProC732及びProC1301が、用量依存的に腫瘍体積成長を阻害したことを示している。ProC440、ProC732及びProC1301は、0.1mg/kgの用量で、完全な腫瘍抑制を示した。

【0497】

50

実施例 9：IFN α A/D によるマウス脾細胞のインビトロ活性化

マスクした活性化可能 IFN α A/D (ProC1023) または開裂不可の IFN α A/D が、マウス脾細胞において IP-10 の放出を刺激する能力を、インビトロで試験した。IFN α A/D (配列番号 481) を、Rehberg et al. (Rehberg, et al. Specific molecular activities of recombinant and hybrid leukocyte interferons. J Biol Chem. 1982; 257: 11497-502) に記載されているように調製し、同文献は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。プロテアーゼ開裂部位を、開裂不可のリンカー配列で置き換えることによって、対照である、開裂不可の IFN α A/D を作成した。マスクした活性化可能 IFN α A/D を、1:250 のモル比で、uPA とともにインキュベートすることによってインビトロで活性化した。マウス脾細胞を、プロテアーゼ処置を伴う及びプロテアーゼ処置を伴わない、マスクした活性化可能 IFN α A/D によって、または開裂不可の IFN α A/D によって、24 時間処置した。IP-10 濃度を、標準的な ELISA 法によって、従来の方法を使用して決定した。

10

20

30

40

50

【0498】

図 21 に示されるように、uPA で処置した、マスクした活性化可能 IFN α A/D は、マウス脾細胞 IP-10 の放出を誘発した。対照である、開裂不可の IFN α A/D、及び uPA 処置されていない、マスクした活性化可能 IFN α A/D は、IP-10 刺激の類似のレベルを示し、これは、uPA 処置した、マスクした活性化可能 IFN α A/D で検出された IP-10 濃度を大きく下回った。図 21 の結果は、マウス脾細胞 IP-10 放出の刺激は、条件付きで、マスクした IFN α A/D の活性化に依存することを示している。

【0499】

実施例 10：マスクした IFN- α 2b の、インビトロでのハムスター細胞生存率への作用

マスクした活性化可能 IFN α -2b ACC 構成体 (ProC732) による処置に応答した、ハムスター黒色腫 RPMI 1846 細胞の細胞生存率を、uPA プロテアーゼで活性化した ProC732 による処置と比較して、インビトロで評価した。RPMI 1846 細胞を、マスクなし及びマスクした ACC によって、図 22 に示されるように、濃度を上昇させて処置した。RPMI 1846 細胞の生存率を、Cell Titer Glo アッセイ (Promega, USA) を使用して、標準的なアッセイプロトコルに準拠して決定した。

【0500】

図 22 に示されるように、ハムスター黒色腫 RPMI 1846 細胞は、マスクがない ProC286 と比較して、マスクした活性化可能 ProC732 の実質的に高い用量に耐えることができた。ProC732 上のマスク部分は、サイトカイン構成体の濃度の関数としての細胞生存率を、実質的に右へとシフトさせた。これらの結果は、ハムスター細胞の、ヒト IFN- α 2b の作用への感応性と、ProC732 の向上したインビトロの細胞忍容性を示している。

【0501】

ProC1301 (配列番号 240) は、MMP14 及び uPA への活性化耐性を示した。ハムスター黒色腫 RPMI 1846 細胞の生存率は、uPA による ProC732 の活性化を受けて低下した (図 22)。活性化耐性のある ProC1301 では、細胞生存率の活性化依存的な低下は観察されなかった (図 35C)。

【0502】

実施例 11：条件付きで活性な INF α -A/D のインビボ特性評価

二重マスクした INF α -A/D ProC1023、及びその改質版である、潜在的に開裂性が低下した ProC1549 を、実施例 1 に記載されるように調製した。

【0503】

マスクしたIFNa-A/Dの抗腫瘍活性を、MC38腫瘍モデルを使用して、インビボで試験した。マウス（各群N=5）に、無血清培地中の 1.5×10^6 のMC38細胞を皮下移植した。試験の間、週2回、体重及び腫瘍測定値を記録した。平均腫瘍体積が 80 mm^3 に達したとき、マスクしたIFNa-A/D（ProC1023）を皮下注射によって、1週間につき2回、またはマスクした開裂不可のIFNa-A/D（ProC1549）を腹膜内に、1週間に1回、示された用量レベルでマウスに投薬した。

【0504】

マスクしたIFNa-A/Dは、50～200 μg の用量レベルで抗腫瘍活性を示した。50 μg の投与で有意な腫瘍成長阻害が得られ、一方で200 μg の投与でも、動物の60%で腫瘍の拒絶が得られた（図23A）。開裂不可の構成体（ProC1549）は類似の反応を媒介しなかったため、マスクしたIFNa-A/D（ProC1023）の抗腫瘍作用は、タンパク質分解性の活性化に依存していた（図23B）。

10

【0505】

マスクしたIFNa2bは、用量を増やすことで腫瘍体積を低下させた。マスクしたIFNa2bは、上述のように調製した。マスクしたIFNa2b/Fcは、0.02 mg/kg の用量で腫瘍進行を予防し、0.1 mg/kg の用量で腫瘍退縮を誘発した（図32）。図32に示すとおり、マスクしたIFNa2b/Fcは、ペグインターフェロンに類似した抗腫瘍活性を示した。

【0506】

1日目、4日目、8日目、11日目及び15日目に投薬して、マスクしたIFNa-A/Dの抗腫瘍活性を上述のように試験した。腫瘍体積を、図27のグラフに示される時点で評価した。

20

【0507】

さらに、マスクしたIFNa2bは、20 μg 及び200 μg で、対照と比較して抗腫瘍活性を示した（図33）。1日目、4日目、8日目、11日目及び15日目に投薬して、マスクしたIFNa-A/Dの抗腫瘍活性を上述のように試験した。腫瘍体積を、図27のグラフに示される時点で評価した。

【0508】

図33に示すとおり、二重マスクしたIFNa ADは、10、50及び200 μg の用量で、開裂不可バージョンと比較して、腫瘍体積を低下させた（図33）。

30

【0509】

図34Aに示すとおり、Pro IFNa A/D（ProC1023）は、用量依存的に腫瘍体積成長を阻害した。図34Bに示すように、200 μg のIFNa A/D NSUB（ProC1549）が、同一用量のPro IFNa A/D（ProC1023）と比較して、抗腫瘍活性の低下を示しており、阻害には活性化が必要である。

【0510】

実施例12. IFNa-A/D処置マウスの免疫記憶

ナイーブマウス（N=5；図24A）、または200 μg の用量のProC1023を用いたIFNa-A/D処置の後に、MC38腫瘍を拒絶したマウス（N=3；図24B）に対して、初回の処置の56日後に、 1.5×10^6 のMC38細胞を再度移植した。腫瘍成長は、週2回モニタリングした。200 μg /用量のIFNa-A/Dでの処置後に腫瘍を拒絶したマウスに対して、初回の処置の56日後にMC38腫瘍を再度移植した。再移植の間、マウスにはいかなる処置も行わなかった。再移植後、全5匹の対照動物では、MC38腫瘍は進行的に成長した（図24A）が、以前にIFNa-A/D処置したマウスでは、3匹中の1匹のみの腫瘍が成長し、そのマウスの腫瘍は、200 μg の用量のProC1023で以前に処置されているこれらのマウスにおける抗腫瘍免疫記憶の形成と一致して、有意に遅い成長を示した（図24B）。

40

【0511】

マスクしたIFNa-A/Dは、活性化依存的、免疫介在的にMC38腫瘍成長を抑制すると、結果は示している。

50

【0512】

実施例13：マスクなしのIFN- α 2bによる、I型インターフェロングネチャーの活性化依存的誘発

二重マスクしたIFN- α 2b（配列番号321、ProC732）を、上述のように、uPAとの処置によって活性化した。ペグ化IFN- α 2b（Merck, USA）は、販売者から購入した。

【0513】

4人の健康なドナーからのPBMCは、低温保存され、解凍後、少なくとも80%の生存率を有する単細胞懸濁液として販売者から購入した。各ドナーからのPBMCを、1 μ g/mL（高用量）のマスクしたIFN- α 2b（切断されていないProC732）、または10 ng/mLのマスクしたIFN- α 2b（切断されていないProC732）、マスクなしのIFN- α 2b（uPA処置したProC732）、またはPeg-IFN- α 2b（Sylatron（登録商標）、Merck, USA）を用いて、24時間、インビトロで処置した。処置した細胞からのバルクmRNAに、ペアエンド150 cRNAseqハイスループットシーケンシングを行った。Subreadパッケージv. 1.5.2.を用いることによって、固有の遺伝子ヒット数を計算した。DESeq2を用いて、示された試料の群間の遺伝子発現を比較した。Wald検定を使用して、p値及びlog2倍数変化を生成した。調整したp値<0.05及び絶対log2倍数変化>1を有する遺伝子が、それぞれの比較で、発現変動遺伝子と呼ばれた。

【0514】

【表11】

表9. 遺伝子発現プロファイルのペアごとの比較

	未処置	ProC732	ProC732 高用量	ProC732+ uPA	Sylatron (Peg-IFN- a2b)
未処置		↑1 ↓0	↑248 ↓36	↑418 ↓77	↑480 ↓86
ProC732			↑8 ↓1	↑71 ↓10	↑125 ↓17
ProC732 高用量				↑1 ↓0	↑0 ↓0
ProC732+ uPA					↑0 ↓0

【0515】

マスクしたIFN- α 2bを用いたPBMCの処置は、遺伝子発現変化をもたらさなかったが、一方で活性化IFN- α 2bは、4人の全ドナーにおいて、一貫して多数の遺伝子を上方制御及び下方制御した（図25）。結果は、418遺伝子の発現の統計的に有意な増加と、一方では77遺伝子が下方制御されたことを示している（表9）。遺伝子オントロジー分析により、IFN- α 2bの既知の標的、例えばCXCL10、Trail及び2'5'AASの発現増強など、I型インターフェロングナル伝達の活性化に伴うパターンが明らかになった。ペグ化IFN- α 2bを用いた処置は、全てのドナーにおいて、同様数の遺伝子を誘発及び抑制した。活性化IFN- α 2bで処置したPBMCと、Peg-IFN- α 2bで処置したPBMCと、の発現プロファイル間の直接的な比較により、

2つの処置に違いはなかったことが明らかになった。

【0516】

この結果は、初代ヒト免疫細胞における、マスクなしのIFN- α 2bによる、インターフェロニングナル伝達の活性化依存的誘発と一致している。高用量のマスクしたIFN- α 2b及びマスクなしのインターフェロンによって誘発される遺伝子発現の変化は最小限であり、これは、二重マスクングが、受容体との新しい相互作用を引き起こさずに、サイトカインのシグナル伝達の潜在能力を低下させたことを示している。

【0517】

実施例14：マスクしたIFN- α 2bの薬物動態学的特性

二重マスクしたINF α - α 2b (ProC732)、立体化学的にマスクしたIFN- α 2b (配列番号316、ProC440)、その開裂不可の対照 (ProC659)、またはFc-IFN- α 2b融合分子 (ProC286)を、前述のようにゴールデンシリアンハムスターに投与した。血液試料を、投与後6時間、24時間、72時間または7日目に採取した。IFN- α 2bの濃度は、ELISA法 (Mabtech, USA)を使用して測定した。WinNonlinソフトウェアを使用して、ノンコンパートメント薬物動態学的分析 (Certara, USA)を実施した。

10

【0518】

全ての試験した分子の薬物動態学的プロファイルは、投与した用量に比例する血清濃度の上昇を示している (図26)。各用量レベルで、マスクしたIFN- α 2bと、対照タンパク質との薬物の曝露は、類似していた。ノンコンパートメント分析により、循環半減期が、1.98～6.38日の範囲で、平均4.3日であることが明らかになった (表10)。

20

【0519】

結果は、IFN- α 2bのインビボでの線形薬物動態学的特性、ならびに無修飾IFN- α 2b (2.3時間)及び12kDaのペグ分子とコンジュゲートしたPeg-IFN- α 2b (4.3時間)の公表されたデータと比較して、延長した半減期を示している。

【0520】

全ての試験した分子の薬物動態学的プロファイルは、投与した用量に比例する血清濃度の上昇を示している。

【0521】

30

40

50

【表 1 2】

表 1 0. I F N - a 2 b 薬物動態のノンコンパートメント分析の概要

試験物質	用量	Tmax	Cmax	AUClast	HL_Lambda_z (半減期)
	mg/kg	日数	ng/mL	日*ng/mL	日数
ProC286	0.4	0.25	2913	10371	4.3499
ProC286	2	1	8225	30936	
ProC286	2	1	8863	39595	
ProC286	2	1	7685	29731	
ProC286	10	3	19443	104368	
ProC286	10	1	37673	79286	
ProC286	10	1	24036	118866	
ProC286	15	0.25	41340	187894	1.9774
ProC286	15	1	63075	250384	
ProC286	15	1	74989	259900	
ProC286	15	3	45546	219676	
ProC440	0.4	1	401	1791	4.3952
ProC440	2	1	4718	18986	
ProC440	2	1	7137	27274	
ProC440	2	1	8968	40329	
ProC440	10	1	36860	161885	
ProC440	10	1	31851	152170	
ProC440	15	0.25	53422	214393	5.1186
ProC440	15	1	44331	226428	
ProC440	15	0.25	37551	122954	4.5772
ProC440	15	1	18738	109485	
ProC659	0.4	1	686	3143	5.0481
ProC659	2	3	9842	48705	
ProC659	2	0.25	12284	44567	
ProC659	2	0.25	15715	36674	5.7591
ProC659	10	1	51601	303538	
ProC659	10	1	57389	315392	
ProC659	10	1	51022	241447	
ProC732	10	1	21019	128288	
ProC732	10	1	34498	182458	
ProC732	10	1	34191	179881	
ProC732	15	0.25	33121	186676	6.3841
ProC732	15	1	54723	164326	
ProC732	15	1	27760	157575	
ProC732	15	1	33898	177802	

【0 5 2 2】

マスクなし、一重マスク、二重マスクした I F N a 2 b、及び N S U B 対照 I F N a 2 b を、上述のようにゴールデンシリアンハムスターに投与した。血液試料を、投与後 6 時間、24 時間、72 時間または 7 日目に採取した。I F N a 2 b の濃度は、E L I S A 法 (M a b t e c h, U S A) を使用して測定した。

【0 5 2 3】

全ての試験した分子の薬物動態学的プロファイルは、投与した用量に比例する濃度の上昇を示している (図 2 6)。

【0 5 2 4】

10

20

30

40

50

実施例 15：ユニバーサルサイトカイン構成体例のインビトロ特性評価

ユニバーサル活性化可能サイトカイン構成体を、本明細書に記載の組み換え法によって調製した。ユニバーサル A C C は、ヒト細胞及びマウス細胞の両方に活性を有する、ユニバーサルインターフェロン配列 (P r o C 1 0 2 3) を有する。ユニバーサル A C C は二量体である。この A C C の第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体は同一であり、それぞれが配列番号 2 3 5 のアミノ酸配列、及びその N 末端におけるシグナル配列を有するポリペプチドであった。第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体のそれぞれは、N 末端から C 末端で、シグナル配列、スペーサー (Q S G Q) 配列 (配列番号 2 5 6)、I F N α -2 b マスキングペプチド (T D V D Y Y R E W S W T Q V S) (配列番号 3 2 3)、リンカー (G S S G G S) (配列番号 3 2 4)、アミノ酸配列 (L S G R S D N I) (配列番号 4 1) を有する開裂可能部分、リンカー ((G S) n、(G G S) n、(G S G G S) n (配列番号 2 2 7)、式中 n=1)、I F N α 1 と I F N α 2 a とのハイブリッド (配列番号 4 8 1) である、ユニバーサルインターフェロン分子に相当する成熟サイトカインタンパク質、アミノ酸配列 (L S G R S D N I) (配列番号 4 1) を有する開裂可能部分、及び C y s 2 2 6 (E U ナンバリングに準拠する) までランケートされた、ヒト I g G 4 S 2 2 8 P F c (配列番号 3) に相当する D D を含む。

10

【0525】

別のユニバーサルサイトカイン構成体 P r o C 1 5 4 9 を、組み換え法によって作製した。この A C C の第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体は同一であり、それぞれ P r o C 1 5 4 9 (例示的な任意のシグナル配列を有する) のアミノ酸配列を有するポリペプチドであった。第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体のそれぞれは、N 末端から C 末端で、シグナル配列、スペーサー (例えば、Q S G Q) 配列、I F N α -2 b マスキングペプチド (T D V D Y Y R E W S W T Q V S) (配列番号 3 2 3)、リンカー (G S S G G S) (配列番号 3 2 4)、配列番号 2 1 1 のアミノ酸配列を有する開裂不可部分、リンカー ((G S) n、(G G S) n、(G S G G S) n (配列番号 2 2 7)、式中 n=1)、I F N α 1 と I F N α 2 a とのハイブリッド (配列番号 4 8 1) である、ユニバーサルインターフェロン分子に相当する成熟サイトカインタンパク質、アミノ酸配列 (G G S G G G G S) (配列番号 5 0 1) を有する開裂不可部分、及び完全なヒンジ配列 (配列番号 3) を含有する、ヒト I g G 4 S 2 2 8 P F c に相当する D D を含む。P r o C 1 5 4 9 構成体は、サイトカイン配列と D D との間に加えて、マスキングペプチドとサイトカインとの間の開裂可能部分を欠いているため、以下で論じるように、活性化可能ではない。

20

30

【0526】

別のユニバーサル活性化可能サイトカイン構成体 P r o C 8 5 9 を、本明細書に記載の組み換え法によって調製した。P r o C 8 5 9 は、ヒト細胞及びマウス細胞の両方に活性を有する、ユニバーサルインターフェロン配列を有する。P r o C 8 5 9 は二量体である。P r o C 8 5 9 の第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体は同一であり、それぞれが P r o C 8 5 9 のアミノ酸配列、及びその N 末端におけるシグナル配列を有するポリペプチドであった。第 1 のモノマー構成体及び第 2 のモノマー構成体のそれぞれは、N 末端から C 末端で、シグナル配列、I F N α 1 と I F N α 2 a とのハイブリッド (配列番号 4 8 1) である、ユニバーサルインターフェロン分子に相当する成熟サイトカインタンパク質、アミノ酸配列 (S G R S D N I) (配列番号 1 0 0) を有する開裂可能部分、及びヒト I g G の F c (配列番号 3) に相当する二量体化ドメインを含む。P r o C 1 0 2 3 とは異なり、P r o C 8 5 9 はペプチドマスキング部分を含まない。

40

【0527】

ユニバーサルサイトカイン構成体 P r o C 1 0 2 3 及び P r o C 8 5 9 の活性を、B 1 6 マウス黒色腫細胞を使用して、インビトロで試験した。P r o C 1 0 2 3 の活性は、P r o C 8 5 9 と比較して、さらに低下した (図 2 8 A)。これは、サイトカイン活性が P r o C 8 5 9 においてすでに著しく低下していたとしても、ペプチドマスクの付加が、二量体化ドメインを介した立体化学的マスキングによる、さらなるマスキング強度を提供し

50

たことを示している。驚くべきことに、マスキングペプチド（PM）の付加はDDによる立体化学的マスキングを妨げず、そしてDDもPMによるマスキングを妨げないようである。uPaを用いたプロテアーゼ活性化によって、uPaを用いたプロテアーゼ活性化後のProC859のレベルと同等のレベルまで、ProC1023の活性が回復した。これは、ProC1023が、プロテアーゼ活性化に際し、マスクされていないユニバーサルIFN α 活性の完全な強度を取り戻したことを示している。

【0528】

HEKレポーターアッセイにおけるACCのマスキング効率（開裂しないACCのEC50を、開裂したACCのEC50と比較して測定した）は、次のとおりである：

ProC1023：1387倍

ProC859：700倍

【0529】

ユニバーサルサイトカイン構成体ProC1023及びProC1549の活性を、B16マウス黒色腫細胞を使用して、インビトロで試験した。ProC1023及びProC1549は、非活性化状態では、シグナル伝達活性の類似した低下を示した（図28B及び図28C）。uPaまたはMMP14を用いたプロテアーゼ活性化に際して、開裂不可のProC1549の活性は低いままであり、プロテアーゼ活性化のないProC1549に類似しているが、一方でProC1023の活性は、プロテアーゼ活性化後、プロテアーゼ活性化のないProC1023及びProC1549と比較して著しく上昇した（図28B及び図28C）。これは、ProC1549がプロテアーゼ活性化に耐性があり、ユニバーサル活性化可能サイトカイン構成体のプロテアーゼ依存的活性化を示すための対照として用いられ得ることを示している。

【0530】

実施例16：さらなるヘテロ二量体ACCのインビトロ特性評価

ACC ProC1239（Pro-IFN 49CS 1204 IFNa2b 0 1204 0 G4 Knob Stub Hole）もまた、組み換え法によって調製した。このACCの第1のモノマー構成体は、ProC1239アーム1のアミノ酸配列、及びそのN末端におけるシグナル配列を有するポリペプチドである。このACCの第1のモノマー構成体は、N末端からC末端で、シグナル配列、スペーサー（QSGQ）配列（配列番号256）、IFN α -2bマスキングペプチド（TDVDYREWSTQVS）（配列番号323）、リンカー（GSSGGS）（配列番号324）、アミノ酸配列（LSGRSDNI）（配列番号41）を有する開裂可能部分、リンカー（（GS） n 、（GGS） n 、（GSSGGS） n （配列番号227）、式中 $n=1$ ）、ヒトインターフェロン α -2b（配列番号1）に相当する成熟サイトカインタンパク質、アミノ酸配列（LSGRSDNI）（配列番号41）を有する開裂可能部分、及びCys226（EUナンバリングに準拠する）までランケートされた、ノブ変異を有するヒトIgG Fc（配列番号318）に相当するDD、を含む。このACCの第2のモノマー構成体は、ProC1239アーム2のアミノ酸配列、及びそのN末端におけるシグナル配列を有するポリペプチドである。第2のモノマー構成体は、N末端からC末端で、シグナル配列、スタブ部分（SDNI）（配列番号320）、ホール変異を有するヒトIgG Fc（配列番号319）に相当する二量体化ドメインを有する。

【0531】

ProC1239及びProC732の活性を、上述したように、IFN反応性HEK293細胞を用いてインビトロで試験した。ProC1239の活性は、ProC732と比較して穏やかに低下した（図29）。

【0532】

実施例17：さまざまな開裂可能リンカーを有するさらなるACCのインビトロ特性評価
さまざまな開裂可能リンカーを有するさらなる活性化可能サイトカイン構成体もまた、組み換え法によって調製した。これらのACCの第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体は、同一であった。第1のモノマー構成体及び第2のモノマー構成体のそれぞれ

は、N末端からC末端で、シグナル配列、スパーサー（Q S G Q）配列（配列番号 2 5 6）、I F N α -2 b マスキングペプチド（T D V D Y Y R E W S W T Q V S）（配列番号 3 2 3）、リンカー（G S S G G S）（配列番号 3 2 4）、開裂可能部分、リンカー（（G S）n、（G G S）n、（G S G G S）n（配列番号 2 2 7）、式中 n = 1）、ヒトインターフェロン α -2 b（配列番号 1）に相当する成熟サイトカインタンパク質、開裂可能部分、及び C y s 2 2 6（E U ナンバリングに準拠する）までトランケートされた、ヒト I g G 4 S 2 2 8 P F c（配列番号 3）に相当する D D、を含む。A C C で使用したさまざまな開裂可能リンカーを、以下の表に記載する：

【0533】

【表 13】

10

異なる開裂可能リンカーを間に有する活性化可能サイトカイン

名称	代替名	CP と PM との間の CM	CP と DD との間の CM
ProC732	Pro-IFN 49CS 1204 IFNa2b 0 1204 0（-ESKYGPP（配列番号 317））G4	LSGRSDNI（配列番号 41）	LSGRSDNI（配列番号 41）
ProC1550	Pro-IFN 49CS 1205 IFNa2b 0 1205 0（-ESKYGPP（配列番号 317））G4	LSGRSNI（配列番号 315）	LSGRSNI（配列番号 315）
ProC1552	Pro-IFN 49CS 559 IFNa2b 0 559 0（-ESKYGPP（配列番号 317））G4	QNQALRMA（配列番号 16）	QNQALRMA（配列番号 16）

20

【0534】

ProC732、ProC1550 及び ProC1552 の活性を、上述したように、IFN 反応性 HEK 293 細胞を用いてインビトロで試験した。u P a または M T S P 1 のいずれかを用いたプロテアーゼ活性化に際し、全ての活性化可能サイトカイン構成体は類似した活性の上昇を示し、これは、図 30 に示すように、全ての活性化サイトカイン構成体が、プロテアーゼ処置に際して同一レベルの活性を取り戻したことを示唆している。

30

【0535】

実施例 18：インビトロでの、インターフェロン α 受容体に対する活性化 P b - I F N - α 2 b の結合

P b - I F N - α 2 b を、u P A を用いてインビトロで活性化し、クロマトグラフィによって、活性フラクションを精製した（ProC1640）。ヒト（ProC1822）及びカニクイザル（ProC1824）のインターフェロン α 受容体 1、ならびにヒト（ProC1823）及びカニクイザル（ProC1825）の I F N A R 2 を、組み換えタンパク質として発現させ、精製した。表面プラズモン共鳴法を使用して、インビトロでの結合を実施した。固定した抗ヒト F c または抗ヒスチジン抗体でコーティングしたチップ上に、リガンドを捕らえた。マルチサイクルカイネティクス解析法を可能にする再生条件を確立した。リガンドを捕らえたチップ上に異なる濃度のアナライトを送液し、マルチサイクルカイネティクスのセンサーグラムを生成し、1：1 の結合モデルを使用して、運動速度定数及び親和性定数を得るために分析した。

40

【0536】

ProC1640 は、ヒト及びカニクイザル I F N A R 1 に結合したが、分子の解離が極めて遅いため、現法では、相互作用の親和性及び特異性を決定できなかった。I F N - α 2 b の活性化フラクションの、ヒト I F N A R 2 及びカニクイザル I F N A R 2 への結合を検出した。図 41 A ~ 図 41 D に示すように、ProC732 は、類似した親和性を伴って、ヒト及びカニクイザルのインターフェロン α 受容体 I F N A R 2 に結合する。図 41 A は、経時的なヒト I F N A R 1 応答を示す。図 41 B は、経時的なカニクイザル

50

IFNAR1 応答を示す。図 4 1 C は、経時的なヒト IFNAR2 応答を示す。図 4 1 D は、経時的なカニクイザル IFNAR2 応答を示す。

【0537】

下表に示すように、ヒト IFNAR2 に対する親和性は 2.7 nM であり、カニクイザル IFNAR2 に対する親和性は 9.3 nM であった。

【表 1 4】

IFN-a 2 b 分子との結合試験の概要

リガンド	アナライト	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
ProC1823	ProC1640	4.374E+06	1.195E-02	2.731
ProC1825	ProC1640	2.674E+06	2.501E-02	9.353
ProC1823	ProC1976	8.985E+04	1.175E-02	130.8
ProC1718	ProC1640	5.177E+06	1.214E-02	2.344
ProC440	ProC1718	2.055E+05	2.077E-02	101.1

10

確認試験のために、活性化 Pb-IFN-a 2 b (ProC1640) の、Fc 標識二量体 IFNAR2 (ProC1718) への結合を分析した。ProC1640 の ProC1718 との相互作用の Kd は、2.3 nM であった。

【0538】

したがって、ヒト IFN-a 2 b は、類似した親和性を伴って、ヒト及びカニクイザルの IFNAR2 に結合する。リガンドの形態及び結合価は、測定結果に影響を与えなかった。

【0539】

実施例 19：一重マスクした Pb-IFN-a 2 b 分子の IFNAR2 への結合

マスクした Pb-IFN-a 2 b の、ヒト IFNAR2 への結合を、上述のように実施した。ペプチドマスクした IFN-a 2 b (ProC1976) と、マスクなしのバージョン (ProC1640) との直接的な比較により、約 50 倍の親和性の差が示された (それぞれ 130.8 nM 対 2.7 nM)。さらに、立体化学的にマスクした分子 (ProC440) は、マスクなしの分子と比較して、大幅に低下した親和性 (KD = 101.1 nM) を伴って IFNAR2 に結合する。図 4 2 A ~ 図 4 2 D にて示すように、ペプチドマスク (図 4 2 A (ペプチドマスクなし) 対 図 4 2 B (ペプチドマスクあり)) 及び Fc マスク (図 4 2 C (Fc マスクなし) 対 図 4 2 D (Fc マスクあり)) のそれぞれは、ACC の受容体への結合に影響を及ぼす。データを考慮すると、本開示の ACC の二重マスクング構造を用いることにより、相乗的な活性が得られている。したがって、親和性及び立体化学的マスクングの両方が、IFN-a 2 b の、IFNAR2 への結合を低下させる。

30

【0540】

実施例 20：腫瘍組織による ACC 活性化

蛍光標識した ProC732 を、酵素によって活性な腫瘍試料または低い活性の対照組織とともに、37℃で、図 3 7 A に示され、(Howng, B, Winter, MB, LePage, C, et al. Novel Ex Vivo Zymography Approach for Assessment of Protease Activity in Tissues with Activatable Antibodies. *Pharmaceutics* 2021; 13: 1390) に記載されるように、インキュベートした。2 時間または 16 時間のインキュベート後に回収したタンパク質を、活性化状態 (キャピラリ電気泳動) 及び生理活性 (HEK 青色レポーターアッセイ) について分析した。回収した溶液を、続いて、活性な分子または低い活性の対照組織の定量化を可能にするキャピラリ電気泳動 (図 3 7 B) を通して、または HEK 青色 IFNAR レポーターモデル (図 3 7 C) を使用して、分析した。酵素的に不活性な試料を、対照組織

40

50

として使用した。結果は、腫瘍微小環境における P r o C 7 3 2 の活性化を示している。

【0541】

低い活性の対照組織ではない乳房癌腫瘍試料とのインキュベートにより、立体化学的（F c フラグメント）マスク及び親和性（C S 4 9 ペプチド）マスクの解放後に生成され则认为される分子に相当するタンパク質産物の出現が得られた（図37B）。ペプチドマスクの解放は先に検出され、一方でF c マスクの分離は、後の時点でより顕著だった。対照組織ではない乳房癌組織とともにインキュベートしたP b - I F N - a 2 b 試料は、I F N 経路活性化アッセイにおいて上昇した力価を示した（図37C）。16時間のインキュベートは、2時間のインキュベートと比較して、より高い力価となった。

【0542】

観察結果は、P b - I F N - a 2 b 分子からの、立体化学的及びペプチドマスクの時間依存的解放と一致し、したがって腫瘍組織によるP b - I F N - a 2 b のタンパク質分解性の活性化と一致している。

【0543】

実施例21：腫瘍組織とのインキュベート後の、インターフェロン分子の生理活性の変化
完全にマスクしたP b - I N F - a 2 b （P r o C 7 3 2）タンパク質、またはインビトロ活性化（P r o C 1 6 4 0）I F N - a 2 b タンパク質を、腫瘍試料とともにインキュベートした。2時間、6時間または24時間のインキュベート後に回収したタンパク質を、H E K 青色レポーターアッセイを使用して、生理活性について分析した。

【0544】

酵素によって活性な腫瘍組織とのインキュベートは、P b - I F N - a 2 b の活性化及び生理活性の増強をもたらした。反対に、腫瘍組織とのインキュベートは、潜在的に分子のタンパク質分解によって、マスクなしのインターフェロンの生理活性を低下させた。P b - I F N - a 2 b 及びマスクなしのI F N - a 2 b の対照試料の生理活性は、腫瘍の不存在下でのインキュベートに際して変化しなかった。図38A～図38Cにて示すように、P r o C 7 3 2 または組み換えI F N - a 2 b を、T N B C 及び頭頸部（「H & N」）腫瘍組織切片上で、または腫瘍のないガラス領域において、37℃でインキュベートした。回収した溶液を、続いてH E K 青色I F N A レポーターモデルによって分析した。図38A及び図38Bは、10ng/mLのP r o C 7 3 2 の、または1ng/mLの組み換えI F N - a 2 b の、0時間の値と比較して計算した生理活性の倍数変化を示す。図38Cは、腫瘍組織の不存在下で、24時間インキュベートしたP r o C 7 3 2 及びI F N - a 2 b タンパク質の生理活性を示す。各線は、インキュベートの前及び24時間後に分析した、個々の試料（100～0.01ng/mLの範囲の濃度）をつないでいる。

【0545】

この結果は、腫瘍組織への曝露は、インビトロでのマスクなしのインターフェロン分子を分解し得ることを示唆している。マスクしたP b - I F N - a 2 b は、腫瘍への曝露後、その生理活性を保持し、増強する。

【0546】

実施例22：非ヒト霊長類における、マスクしたI N F - a 2 b 及び対照分子の薬物動態
カニクイザルにおけるP b - I F N - a 2 b のP K / P D 特性を理解するために、動物（各群N=2）を、0.03、0.3、3または15mg/kgのP b - I F N - a 2 b の、単回、皮下投与で処置した。示された時点で血漿試料を収集し、総P b - I F N - a 2 b 濃度について分析した。血清中のI P - 1 0 の濃度を、M e s o S c a l e D i s c o v e r y M S D V - p l e x アッセイで測定した。

【0547】

P r o C 7 3 2 の投与は、投与の24時間後での最初の測定から、薬物の血漿濃度が用量依存的に上昇するという結果になった（図39）。P b - I F N - a 2 b の血漿濃度は、投与後、少なくとも2週間維持された。

【0548】

I P - 1 0 の血清濃度の上昇を、処置した動物において、投与後24時間の早い段階で

10

20

30

40

50

検出した（図40A）。上昇の大きさは、用量レベルと相関があり、 15 mg/kg 及び 3 mg/kg の投与は、それぞれ 8 ng/mL 及び 4 ng/mL を上回るIP-10濃度という結果になった。投与の7日後、IP-10の血清レベルは、最も高い用量レベルを処置したサルを除く全ての動物において、生理的濃度に戻った。投与後1日目及び7日目の、循環Pb-IFN- $\alpha 2b$ 及びIP-10の濃度を、互いに対してプロットした（図40B）。

【0549】

結果は、非ヒト霊長類における、Pb-IFN- $\alpha 2b$ の延長した半減期と一致している。高用量Pb-IFN- $\alpha 2b$ での処置後の、IP-10の一過性の上昇は、この分子が、高用量レベルで与えられた非ヒト霊長類において、I型IFNシグナル伝達経路を活性化できることを示唆している。

10

【0550】

実施例23：非ヒト霊長類において、Pb-IFN- $\alpha 2b$ によって誘発される遺伝子発現プロファイルの変化

カニクイザルを、前述のように、Pb-IFN- $\alpha 2b$ で処置した。投与の24時間後に、PBMCを全血から単離した。カニクイザルにおいて、Proc732によって誘発される遺伝子発現プロファイル変化を分析した。カニクイザル（各群 $N=2$ ）を、 0.03 mg/kg 、 0.3 mg/kg 、 3 mg/kg または 15 mg/kg のProc732の、単回、皮下投与で処置した。単離した細胞からのバルクmRNAに、ペアエンド150cRNAseqハイスループットシーケンシングを行った。Subreadパッケージv.1.5.2を用いることによって、固有の遺伝子ヒット数を計算した。DESeq2を用いて、示された試料の群間の遺伝子発現を比較した。Wald検定を使用して、p値及びlog2倍数変化を生成した。調整したp値 <0.05 及び絶対倍数変化 >3 を有する遺伝子が、それぞれの比較で、発現変動遺伝子と呼ばれた。

20

【0551】

Pb-IFN- $\alpha 2b$ の投与は、全ての用量レベルで、循環白血球中の35遺伝子の上方制御を伴った（図43）。投与されるPb-IFN- $\alpha 2b$ の用量レベルの上昇（それぞれ 0.3 、 3 及び 15 mg/kg ）によって、さらなる数（3、12及び47）の遺伝子が上方制御された。上方制御された遺伝子の多くは、I型インターフェロンによって誘発されることが知られる、ISG、すなわちインターフェロン誘導遺伝子と特定される群に属する。上方制御された遺伝子の個々の分析により、誘発の用量依存的パターンが示され、大部分の明白な変化は、Pb-IFN- $\alpha 2b$ の最も高い用量レベルと関連付けられた。図44は、遺伝子発現の用量依存的変化を示す。読み取り数の変化が >3 である場合、遺伝子は発現変動遺伝子と呼ばれた。

30

【0552】

この結果は、Pb-IFN- $\alpha 2b$ による、I型IFNシグナル伝達のインビボ活性化と一致している。

【0553】

実施例24：Pb-IFN- $\alpha A/D$ のインビボ特性評価

マスクしたIFN- $\alpha A/D$ （Proc1023）の抗腫瘍活性を、MC38腫瘍モデルを使用して、インビボで試験した。マウス（各群 $N=10$ ）に、無血清培地中の 1.5×10^6 のMC38細胞を皮下移植した。試験の間、週2回、体重及び腫瘍測定値を記録した。平均腫瘍体積が 80 mm^3 に達したとき、示した量のProc1023を、1回の皮下注射によってマウスに投与した。マスクしたIFN- $\alpha A/D$ が、 $50 \sim 200\text{ ug}$ の用量レベルで抗腫瘍活性を示すことは、前もって立証した。 50 ug の投与で有意な腫瘍成長阻害が得られ、一方で 200 ug の投与でも、動物の60%で腫瘍の拒絶が得られた。この実験では、投与の6日後、動物を安楽死させ、腫瘍、腫瘍流入領域リンパ節及び脾臓を収集し、単細胞懸濁液へと処理した。組成物及び腫瘍免疫浸潤の活性化を、全細胞で、生存可能なCD45+CD3+のサブセットでゲーティングして実施したフローサイトメトリーによって分析した。

40

50

【0554】

Pb-IFNa-A/Dで処置したマウスにおいて、腫瘍微小環境（TME）中にあるが、末梢組織中にはないCD8+T細胞のサブセットは、殺腫瘍性活性と関連付けられたエフェクター分子の産生など、増強された活性化を示した（図45）。グランザイムBは、I型インターフェロニンシグナル伝達によって誘発され得る、細胞傷害性T細胞のエフェクター分子である。Pb-IFNa-A/Dの投与は、腫瘍におけるグランザイムB陽性及びCD69陽性のCD8+T細胞の頻度の、有意な上昇と関連付けられ、一方で腫瘍流入領域リンパ節を含む末梢組織においては、大きな変化はなかった。

【0555】

したがって、このデータは、Pb-IFNa-A/Dが、腫瘍における免疫活性化を媒介するが、末梢組織では媒介しないことを示している。免疫活性化のパターンは、I型インターフェロンの公表されている作用と、概して一致していた。腫瘍にとって好ましい免疫活性化の様式は、腫瘍による、タンパク質分解性開裂を介したACCの活性化を示す。観察結果は、Pb-IFNa-A/DによるMC38腫瘍成長抑制の免疫介在性反応機構と一致している。

【0556】

実施例25：Pb-IFN-a2bのインビボ忍容性

ヒトIFN α -2bはハムスターIFN α 受容体と交差反応し、ハムスターにおいて活性であることが以前から示されている（Altrock et al, Journal of Interferon Research, 1986）。マスクなしのIFN-a2b-Fc融合（ProC286）または一重（立体化学的）マスクしたIFN-a2b（ProC440）と比較した、1回の投与後のハムスターにおける、ProC732の向上した忍容性は、実施例2に示した。本実施例25では、複数回の投与後のゴールデンシリアンハムスターにおける、Pb-IFN α -2bの忍容性を決定した。

【0557】

動物（各群N=5）に、15または30mg/kgの用量レベルでのProC732、または7.5または15mg/kgの用量レベルでのマスクなしのIFN-a2b-Fc融合タンパク質（ProC286）を、週1回、合計3回、腹腔内に投薬した。臨床的観察、体重及び温度の測定を、投与前、その後は週2回行った。マスクなしのIFN分子（ProC286）を投与した動物は、1回目の投与後、3日という早い段階で著しい体重損失を示した（図46）。15mg/kgのProC286を投与した最初の動物は、過剰な体重損失（>25%）のために、10日目に安楽死させ、全てのその他の動物は、11日目～19日目の間に、過剰な体重損失、不動及び昏睡のため安楽死させたか、または死体で発見された。マスクなしのIFN-a2bの、より低い（7.5mg/kg）用量で処置した動物でも、同様の観察結果であった。これに対して、最大30mg/kgのProC732で処置した動物には、著しい体重損失または病的状態を示した動物はいなかった。

【0558】

この結果は、本開示で使用される二重マスキング構造を使用することによる、Pb-IFN-a2bの安全性の上昇と一致している。

【0559】

実施例26：Pb-IFN-a2bの単回投与で処置したカニクイザルにおける、サイトカイン及びケモカイン放出の低下

カニクイザルにおける、Pb-IFN-a2bのマスキング作用を理解するために、動物（各群N=2）に、1mg/kgのPb-IFN-a2b（ProC732）、または1mg/kgもしくは0.1mg/kgのマスクなしの対照分子ProC286を、単回、皮下投与で処置した。血漿試料を示された時点で収集し、マルチプレックスMSD Verplexアッセイを使用して、IP-10、MIP-1b及びIL-12p70濃度について分析した。

【0560】

図 47 に示されるように、P r o C 7 3 2 の投与は、投与 6 時間後の血漿 I P - 1 0 及び M I P - 1 b レベルの上昇という結果になった。マスクなしの分子によって処置した動物では、高用量レベル及び低用量レベルで、全ての測定した分子の血漿濃度は高くなった。投与の 24 時間後、P r o C 7 3 2 で処置した動物において、I P - 1 0 のわずかな上昇のみが認められた。反対に、1 m g / k g の P r o C 2 8 6 を与えられた動物は、I P - 1 0 レベルの著しい上昇を示した。0.1 m g / k g の P r o C 2 8 6 の投与 24 時間後に観察された I P - 1 0 の上昇は、10 倍高い用量の P r o C 7 3 2 によって誘発された上昇よりも大きかった。

【 0 5 6 1 】

マスクなしのサイトカイン- F c 融合と比較して、P r o C 7 3 2 で処置した非ヒト霊長類では、I 型インターフェロン応答のバイオマーカーの誘発が減衰したことを、結果は示している。この観察結果は、マスキング作用と一致している。

10

20

30

40

50

【表 15 - 1】

表 1 1. 配列の例

配列 番号	名称	配列
1	ヒトインターフ ェロン α -2b	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRLSLFSLKDRHDFGFPQEEFG NQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTEL YQQLNDLEACVIQGVGVTTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLK EKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKE
2	リンカー	GGGS
3	ヒト IgG4、 S228P トランケ ート型 Fc 領域	CPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLS
4	S228P の変異及 び完全なヒンジ を有する、ヒト IgG4 Fc 領域	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLS
5	CM	LSGRSDNH
6	CM	TGRGPSWV
7	CM	PLTGRSGG
8	CM	TARGPSFK
9	CM	NTLSGRSENHSG
10	CM	NTLSGRSGNHGS
11	CM	TSTSGRSANPRG
12	CM	TSGRSANP
13	CM	VHMPLGFLGP
14	CM	AVGLLAPP
15	CM	AQNLLGMV
16	CM	QNQALRMA
17	CM	LAAPLGLL
18	CM	STFPFGMF
19	CM	ISSGLLSS
20	CM	PAGLWLDP
21	CM	VAGRSMRP
22	CM	VVPEGRRS
23	CM	ILPRSPAF
24	CM	MVLGRSLL
25	CM	QGRAITFI
26	CM	SPRSIMLA

10

20

30

40

50

【表 15 - 2】

27	CM	SMLRSMPL
28	CM	ISSGLLSGRSDNH
29	CM	AVGLLAPPGGLSGRSDNH
30	CM	ISSGLLSSGGSGGSLSGRSDNH
31	CM	LSGRSGNH
32	CM	SGRSANPRG
33	CM	LSGRSDDH
34	CM	LSGRSDIH
35	CM	LSGRSDQH
36	CM	LSGRSDTH
37	CM	LSGRSDYH
38	CM	LSGRSDNP
39	CM	LSGRSANP
40	CM	LSGRSANI
41	CM	LSGRSDNI
42	CM	MIAPVAYR
43	CM	RPSPMWAY
44	CM	WATPRPMR
45	CM	FRLLDWQW
46	CM	ISSGL
47	CM	ISSGLS
48	CM	ISSGLL
49	CM	ISSGLLSGRSANPRG
50	CM	AVGLLAPPTSGRSANPRG
51	CM	AVGLAPPSGRSANPRG
52	CM	ISSGLLSGRSDDH
53	CM	ISSGLLSGRSDIH
54	CM	ISSGLLSGRSDQH
55	CM	ISSGLLSGRSDTH
56	CM	ISSGLLSGRSDYH
57	CM	ISSGLLSGRSDNP
58	CM	ISSGLLSGRSANP
59	CM	ISSGLLSGRSANI
60	CM	AVGLLAPPGGLSGRSDDH
61	CM	AVGLLAPPGGLSGRSDIH
62	CM	AVGLLAPPGGLSGRSDQH
63	CM	AVGLLAPPGGLSGRSDTH
64	CM	AVGLLAPPGGLSGRSDYH
65	CM	AVGLLAPPGGLSGRSDNP
66	CM	AVGLLAPPGGLSGRSANP
67	CM	AVGLLAPPGGLSGRSANI
68	CM	ISSGLLSGRSDNI

10

20

30

40

50

【表 15 - 3】

69	CM	AVGLLAPPGGLSGRSDNI
70	CM	GLSGRSDNHGGAVGLLAPP
71	CM	GLSGRSDNHGGVHMPLGFLGP
72	CM	LSGRSDNHGGVHMPLGFLGP
73	CM	ISSGLSS
74	CM	PVGYTSSL
75	CM	DWLYWPGI
76	CM	LKAAPRWA
77	CM	GPSHLVLT
78	CM	LPGGLSPW
79	CM	MGLFSEAG
80	CM	SPLPLRVP
81	CM	RMHLRSLG
82	CM	LLAPSHRA
83	CM	GPRSFGL
84	CM	GPRSFG
85	CM	SARGPSRW
86	CM	GGWHTGRN
87	CM	HTGRSGAL
88	CM	AARGPAIH
89	CM	RGPAFNPM
90	CM	SSRGPAYL
91	CM	RGPATPIM
92	CM	RGPA
93	CM	GGQPSGMWGW
94	CM	FPRPLGITGL
95	CM	SPLTGRSG
96	CM	SAGFSLPA
97	CM	LAPLGLQRR
98	CM	SGGPLGVR
99	CM	PLGL
100	CM	SGRSDNI
101	ヒトインターフ ェロン α -2a	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRKISLFCLKDRHDFGFPQEEFG NQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLSTKDSSAAWDETLLDKFYTEL YQQLNDLEACVIQGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLK EKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKE

10

20

30

40

50

【表 15 - 4】

102	ラットインターフェロン α -2	CDLPHTHNLNRNKRAFTLLAQMRRLSPVSCLKDRKDFGFPLEKV DGQQIQKAQAIPVLHELTQQILSLFTSKESSTAWDASLLDSFCN DLQQQLSGLQACLMQQVGVQESPLTQEDSLLAVREYFHRITVY LREKKHSPCAWEVVRAEVWRALSSSANLLGRLREERNES
103	マウスインターフェロン α -2	CDLPHTYNLRNKRALKVLAQMRRLPFLSCLKDRQDFGFPLEKV DNQQIQKAQAIPVLRDLTQQTLNLFTSKASSAAWNATLLDSFC N DLHQQNLNDLQ TCLMQQVGVQ EPPLTQEDAL LAVRKYFHRITVYLREKKHS PCAWEVVRAE VWRALSSSVN LLPRLSEEKE
104	ヒトインターフェロン α -2b	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFG NQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTEL YQQNLNDLEACVIQGVGVTEPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLK EKKYSPCAWEVVREIMRSFSLSTNLQESLRSKE
105	ヒトインターフェロン α -n3	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRKISLFSCLKDRHDFGFPQEEFG NQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTEL YQQNLNDLEACVIQGVGVTEPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLK EKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKECDLPQTHSLG SRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIP VLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQNLNDLEA CVIQGVGVTEPLMNEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAW EVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKECDLPQTHSLGSRRTLMLLA QMRRISLFSCLKDRRDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIF NLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQNLNDLEACVIQGVGVTE TPLMNEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSF SLSTNLQESLRSKE
106	ヒトインターフェロン β -1a	MSYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEE IKQLQQFQKEDAALTIYEMLNIFAIQRDSSSTGWNETIVENLL ANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYYGRIH YLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGYLNRN
107	ヒトインターフェロン β -1b	SYNLLGFLQRSSNFQSQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIK QLQQFQKEDAALTIYEMLNIFAIQRDSSSTGWNETIVENLLA NVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYYGRIHY LKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGYLNRN

10

20

30

40

50

【表 15 - 5】

108	マウスインターフェロン- β	MNNRWILHAAFLLCFSTTALSINYKQLQLQERTNIRKCQELLEQLNGKINLTYRADFKIPMEMTEKMQKSYTAFAIQEMLQNVFLVFRNNFSSTGWNETIVRLLDELHQQTVFLKTVLEEKQEERLTWEMSSTALHLKSYWVRVQRYLKLMKYNSYAWMVVRAEIFRNFLIIRRLTRNFQN
109	ラットインターフェロン- β	MANRWTLHIAFLLCFSTTALSIDYKQLQFRQSTSIRTCQKLLRQLNGRLNLSYRTDFKIPMEVMHPSQMEKSYTAFAIQVMLQNVFLVFRSNFSSTGWNETIVESLLDELHQQTELEIILKEKQEERLTWVTSTTTLGLKSYWVRVQRYLKDKKYNSYAWMVVRAEVFRNFSIILRLNRNFQN
110	ヒトインターフェロン ω	MCDLPQNHGLLSRNTLVLLHQMRRISPFLCLKDRRDRFRFPQEMVKGSQQLKAHVMSVLHEMLQQIFSLFHTERSAAWNMTLLDQLHTGLHQQLQHLETCLLQVVGEGESAGAISSPALTLRRYFQGIRVYLKEKKYSDCAWEVVRMEIMKSLFLSTNMQERLRSKDRDLGSS
111	ヒト IL-1 α	MAKVPDMFEDLKNCYSENEEDSSSIDHLSLNQKSFYHVSYGPLHEGCMDQSVLSISETSKTSKLTFKESMVVVATNGKVLKKRRLSLSQSITDDDLEAIANDSEEEIIPRSAPFSFLSNVKYNFMRIIKYEFILNDALNQSIIRANDQYLTAALHNLDEAVKFDMGAYKSSKDDAKITVILRISKTKLYVTAQDEDQPVLLKEMPEIPKTITGSETNLLFFWETHGTKNYFTSVAHPNLFIA TKQDYWVCLAGGPPSITDFQILENQA
112	マウス IL-1 α	MAKVPDLFEDLKNCYSENEYSSAIDHLSLNQKSFYDASYGSLHETCTDQFVSLRTSETSKMSNFTFKESRVTVSATSSNGKILKKRRLSFSETFTEDDLQSITHDLEETIQPRSAPYTYQSDRLRYKLMKLV RQKFVMNDSLNQTIYQDVVDKHYLSTTWLNDLQQEVKFDMYAYSSGGDDSKYPVTLKISDSQLFVSAQGEDQPVLLKELPETPKLITGSETDLIFFWKSINSKNYFTSAAYPELFIA TKEQSRVHLARGLPSTMDFQIS

10

20

30

40

50

【表 15 - 6】

113	ヒト IL-1 β	MAEVP ELASEMMAYYS GNEDDLFFEADGPKQMKCSFQDL DLC PLDGGIQLRISDHHYSKGFRQAASVVVAMD KLRKMLVPCPQTF QENDLSTFFPFIFEEEP IFFDTWDNEAYVHDAPVRS LNCTLRDSQ QKSLVMSGPYELKALHLQGQDMEQQVVF SMSFVQGEESNDKI PVALGLKEKNLYLSCVLKDDKPTLQLESVDPKNYPKKKMEKR FVFNKIEINN KLEFESAQFPN WYIST SQAENMPVFLGGTKGGQD ITDFTMQFVSS
114	マウス IL-1 β	MATVPELNCEMP PFDS DENDLFFEVDGPQKMKGCFQTFDLGCP DESIQLQISQQHINKSFRQAVSLIVAVEKLWQLPV SFPWTFQDE DMSTFFSFIFEEEPILCDSWDDDDNLLVCDVP IRLHYRLRDEQ QKSLVLSDPYELKALHLNGQNINQQVIFS MSFVQGEPSNDKIPV ALGLKGKNLYLSCVMKDGTPTLQLESVDPKQYPKKKMEKRFV FNKIEVKSKVEFESA EFPN WYIST SQA EHKPVFLGNNSGQDIIDF TMESVSS
115	ヒト IL-1RA	MEICRGLRSHLITLLLFLFHSETICRPSGRKSSKMQA FRIWDVNQ KTFYLRNNQLVAGYLQGP NVNLEEKIDVVP IEPHALFLGIHGGK MCLSCVKS GDETRLQLEAVNITDLS ENRKQDKRFA FIRSDSGPT TSFESAACPGWFLCTAMEADQP VSLTNMPDEGVMVTKFYFQE DE
116	マウス IL-1RA	MEICWGPYSHLISLLLILLFHSEAACRPSGKR PCKMQA FRIWDT NQKTFYLRNNQLIAGYLQGPNIKLEEKIDMVPIDLHS VF LGIHG GKLCLSCAKSGDDIKLQLEEVNITDLSKNKEEDKRFT FIRSEKGP TTSFESAACPGWFLCTTLEADRPVSLTNTPEEPLIVTKFYFQEDQ
117	ヒト IL-18	MAAEPVEDNCINFVAMKFIDNTLYFIAEDDENLES DYFGKLESK LSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIIS MYK DSQPRGMAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDN IKDTKSDI IFFQRSVP GHDNKMQFESSYEGYFLACEKERDLFKLILKKED E LGDRSIMFTVQ NED
118	マウス IL-18	MAAMSEDCSVNFKEMMFIDNTLYFIPEENG DLESDNFGRLHCT TAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTDIDQSASEPQTRLI IYMYK DSEVRGLAVT LSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDP PENIDDIQSD LIFFQKRVP GHNKMEFESSLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKKDE NGDKSVMFTLTNLHQS
119	ヒト IL-2	MYRMQLLS CIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATEL KHLQCLEELKPLE EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFCQSIIS

10

20

30

40

50

【表 15 - 7】

120	マウス IL-2	MYSMQLASCVTTLVLVNSAPTSSSTSSSTAEEAQQQQQQQQQ QQQHLEQLLMDLQELLSRMENYRNKLPRMLTFKFYLPKQAT ELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIRVTVV KLKGSNTFECQFDDESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQ
121	ヒト IL-4	MGLTSQLLPPLFFLLACAGNFVHGHKCDITLQEIHTLNSLTEQK TLCTELTVTDIFAASKNTTEKETFCRAATVLRQFYSHHEKDTRC LGATAQQFHRHKQLIRFLKRLDRNLWGLAGLNSCPVKEANQS TLENFLERLKTIMREKYSKCSS
122	マウス IL-4	MGLNPQLVVILLFFLECTRSHIHGCDKNHLREIIGILNEVTGEGT PCTEMDVPNVLTATKNTTESELVCRASKVLRIFYLKHGKTPCL KKNSSVLMELQRLFRAFRCCLDSSISCTMNESKSTSLKDFLESLK SIMQMDYS
123	ヒト IL-7	MFHVSFRYIFGLPPLILVLLPVASSDCDIEGKDQKQYESVLMVSI DQLLDSMKEIGSNCLNNEFNFFKRHICDANKEGMFLFRAARKL RQFLKMNSTGDFDLHLLKVSEGTILLNCTGQVKGRKPAALGE AQPTKSLEENKSLKEQKKLNDLCFLKRLLEIKTCWNKILMG TKEH
124	マウス IL-7	MFHVSFRYIFGIPPLILVLLPVTSSSECHIKDEGKAYESVLMISID ELDKMTGTDSNCPNNEPNFFRKHVCDDTKEAAFLNRAARKLK QFLKMNISEEFNVHLLTVSQGTQTLVNCTSKEEKNVKEQKKND ACFLKRLLEIKTCWNKILKGS
125	ヒト IL-9	MLLAMVLTSAALLCSVAGQGCPTLAGILDINFLINKMQEDPAS KCHCSANVTSCLCGLIPSDNCTRPCFSERLSQMTNTTMQTRYPL IFSRVKKSVEVLKNNKCPYFSCEQPCNQTTAGNALTLFLKSLEIF QKEKMRGMRGKI
126	マウス IL-9	MLVTYILASVLLFSSVLGQRCSTTWGIRDNYLIENLKDDPPSK CSCSGNVTSCLCCLSVPTDDCTTPCYREGLLQLTNATQKSRLLPV FHRVKRIVEVLKNITCPSFSCEKPCNQTMAGNTLSFLKSLLGTF QKTEMQRQKSRP
127	ヒト IL-13	MHPLLNPPLLALGLMALLTTVIALTCLGGFASPGVPVPSTALR ELIEELVNITQNQKAPLCNGSMVWSINLTAGMYCAALESINVS GCSAIEKTQRMLSGFCPHKVSAGQFSSLHVRDTKIEVAQFVKD LLLHLKKLFREGFRN
128	マウス IL-13	MALWVTAVLALACLGLAAPGPVPRSVSLPLTLKELIEELSNIT QDQTPLCNGSMVWSVDLAAGGFCVALDSLTNISNCNAIYRTQR ILHGLCNRKAPTTVSSLPDTKIEVAHFITKLLSYTKQLFRHGPF

10

20

30

40

50

【表 15 - 8】

129	ヒト IL-15	MRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKT EANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMK CFLLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCK ECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
130	マウス IL-15	MKILKP YMRNTSISCYLCFLLSHFLTEAGIHVFILGCVSVGLPK TEANWIDVRYDLEKIESLIQSIHIDTTLYTDSDFHPSCKVTAMNC FLLELQVILHEYSNMTLNETVRNVLYLANSTLSSNKNVAESGC KECEEELEKTFTEFLQSFIRIVQMFINTS
131	ヒト IL-3	MSRLPVLLLLQLLVRPGLQAPMTQTTPKTSWVNCSNMIDEIIT HLKQPPLPLLDFFNNLNGEDQDILMENNLRRPNLEAFNRAVKSL QNASAIESILKNLLPCLPLATAAPTRHPIHIKDGDWNEFRKLT YLKTLENAQAQQTTLAIF
132	マウス IL-3	MVLASSTTSIHTMLLLLLMLFHLGLQASISGRDTHRLTRLNCS SIVKEIIGKLPPELKTDDDEGPSLRNKSFRRVNLSKFVESQGEVD PEDRYVIKSNLQKLNCLPTSANDSALPGVFIRDLDLDFRKKLRF YMVHLNDLETVLT SRPPQPASGSVSPNRGTVEC
133	ヒト IL-5	MRMLLHLSLLALGAAYVYAIPTEIPTSAVKETLALLSTHRTLII ANETLRIPVPVHKNHQLCTEEIFQGIGTLESQTVQGGTVERLFK NLSLIKKYIDGQKKKCGEERRRVNQFLDYLQEFLGVMNTEWII ES
134	マウス IL-5	MRRMLLHLSVLTLSVWATAMEIPMSTVVKETLTQLSAHRAL LTSNETMRLPVPTHKNHQLCIGEIFQGLDILKNQTVRGGTVEML FQNLSLIKKYIDRQKEKCGEERRRTRQFLDYLQEFLGVMSTEW AMEG
135	ヒト GM-CSF	MWLQSLLLLGTVACSISAPARSPSPSTQPWEHVNAIQEARLLN LSRDTAAEMNETVEVISEMFDLQEPTCLQTRLELYKQGLRGSL TKLKGPLTMMASHYKQHCPPTPETSCATQIITFESFKENLKDFL LVIPFDCWEPVQE
136	マウス GM-CSF	MWLQNLLFLGIVVYSLAPTRSPITVTRPWKHVEAIKEALNLLD DMPVTLNEEVEVVSNEFSFKKLTCVQTRLKIFEQGLRGNF TKL KGALNMTASYYYQTYCPPTPETDCETQVTTYADFIDSLKTFLTDI PFECKKPGQK

10

20

30

40

50

【表 15 - 9】

137	ヒト IL-6	MNSFSTS AFGPVAFSLGLLLVLPAAFPAPVPPGEDSKDVAAPHR QPLTSSERIDKQIRYILDGISALRKETCNKSNMCESSKEALAENN LNLPKMAEKDGCQSGFNEETCLVKIITGLLEFEVYLEYLQNR ESSEEQARAVQMSTKVLIQFLQKKAKNLDAITTPDPTTNASLLT KLQAQNQWLQDMTTHLILRSFKEFLQSSLRALRQM
138	マウス IL-6	MKFLSARDFHPVAFLGLMLVTTTAFPTSQVRRGDFTEDTTPNR PVYTTSQVGGLITHVLWEIVEMRKELCNGNSDCMNNDDALAE NNLKLPEIQRNDGCYQTGYNQEICLLKISSGLLEYHSYLEYMK NLKDNKKDKARVLQRDTETLIHIFNQEVKDLHKIVLPTPISNAL LTDKLESQKEWLRTKTIQFILKSLEEFLKVTLRSTRQT
139	ヒト IL-11	MNCVCRLVLVVLSPWPD TAVAPGPPPGPPRVSPDPRAELDSTV LLTRSLLADTRQLAAQLRDKFPADGDHNLDSLPTLAMSAGALG ALQLPGVLTRLRADLLSYLRHVQWLRRAGGSSSKTLEPELGT LARLDRLRLRLQLLMSRLALPQPPDPAPPLAPPSSAWGGIRA AHAILGGLHLTLDWAVRGLLLLKTRL
140	マウス IL-11	MNCVCRLVLVVLSPWPD RVVAPGPPAGSPRVSSDPRADLDSA VLLTRSLLADTRQLAAQMRDKFPADGDHSLDSLPTLAMSAGTL GSLQLPGVLTRLRVDLMSYLRHVQWLRRAGGPSLKTLEPELGA LQARLERLLRLQLLMSRLALPQAAPDQPVIPGPPASAWGSIR AAHAILGGLHLTLDWAVRGLLLLKTRL
141	ヒト G-CSF	MAGPATQSPMKLMALQLLLWHSALWTVQEATPLGPASSLPQS FLLKCLEQVRKIQGDGAALQEKL VSECATYKLCHPHEELVLLGH SLGIPWAPLSSCPSQALQLAGCLSQLHSGFLYQGLLQALEGIS ELGPTLDTLQLDVADFATTIWQQMEELGMAPALQPTQGAMPA FASAFQRRAGGVLVASHLQSFLEVSYRVLRHLAQP
142	マウス G-CSF	MAQLSAQRRMKLMALQLLLWQSALWSGREAVPLVTVSALPPS LPLPRSFLKSLQVRKIQASGSVLEQLCATYKLCHPHEELVLL GHSLGIPKASLSGCSSQALQQTQCLSQLHSGLCLYQGLLQALSG ISPALAPTLDLLQLDVANFATTIWQQMENLGVAPTQPTQSAM PAFTSAFQRRAGGVLAISYLQGFLETARLALHHLA

10

20

30

40

50

【表 15 - 10】

143	ヒト IL-12 α	MCPARSLLLVATLVLLDHLSLARNLPVATPDPGMFPCLHHSQN LLRAVSNMLQKARQTLEFYPTCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLP LELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMMLAVIDELMQALNFNS ETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
144	ヒト IL-12 β	MCHQQLVISWFSVLFLASPLVAIWELKKDVYVVELDWYPDAP GEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDA GQYTCHKGGEVLSSHLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNYSGRFTCWWTITSTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCG AATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDA VHKLKYENYTSFFIRDIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEY PDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICR KNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
145	マウス IL-12 β	MCPQKLTIWFAIVLLVSPLMAMWELEKDVYVVEVDWTPDAP GETVNLTCDTPEEDDITWTSDQRHGVIGSGKTLTITVKEFLDAG QYTCHKGGETLSHSHLLLLHKKENGIWSTEILKNFKNKTFKCE APNYSGRFTCSWLVRNMDLKFNKSSSSSPDSRAVTCGMASL SAEKVTLDQRDYEKYSVSCQEDVTCPTAETLPIELALEARQQ NKYENYSTSFFIRDIKPDPPKNLQMKPLKNSQVEVSWEYPDSW STPHSYFSLKFFVRIQRKKEKMKETEEGCNQKGAFLVEKTSTEV QCKGGNVCVQAQDRYNNSSCSKWACVPCRVS
146	マウス IL-12 α	MCQSRYLLFLATLALLNHLSLARVIPVSGPARCLSQSRNLLKTT DDMVKTAREKLKHYSCTAEDIDHEDITRDQTSTLKTCLPLELH KNESCLATRETSSTTRGSCLPPQKTSMMTLCLGSIYEDLKMYQ TEFQAINAALQNHNHQQIILDKGMLVAIDELMQSLNHNGETLR QKPPVGEADPYRVKMKLCILLHAFSTRVVTINRVMGYLSSA
147	ヒト LIF	MKVLAAGVVPLLLVLHWKHGAGSPLPITPVNATCAIRHPCHNN LMNQIRSQAQLNGSANALFILYYTAQGEPPNNLDKLCGPNV TDFPPFHANGTEKAKLVELYRIVVYLGTSNGNITRDQKILNPSA LSLHSLNATADILRGLLSNVLCRLCSKYHVGHVVDVITYGPDS GKDVFQKKKLGCQLLGKYKQIIAVLAQAF
148	マウス LIF	MKVLAAGIVPLLLVLHWKHGAGSPLPITPVNATCAIRHPCHG NLMNQIKNQLAQLNGSANALFISYYTAQGEPPNNVEKLCAPN MTDFPSFHGNGTEKTKLVELYRMVAYLSASLTNITRDQKVLNP TAVSLQVKLNATIDVMRGLLSNVLCRLCNKYRVGHVDVPPVP DHSDKEAFQRKKLGCQLLGTYKQVISVVVQAF

10

20

30

40

50

【表 15 - 11】

149	ヒト OSM	MGVLLTQRTLLSLVLALLFPSMASMAAIGSCSKEYRVLLGQLQ KQTDLMQDTSRLLDPYIRIQGLDVPKLREHCRERPGAFPSEETL RGLGRRGFLQTLNATLGCVLHRLADLEQRLPKAQDLERSGLNI EDLEKLQMARPNILGLRNNIYCMAQLLDNSDTAEPTKAGRGAS QPPTPTPASDAFQRKLEGCRFLHGYHRFMHSVGRVFSKWGES NRSRRHSPHQALRKGVRRTRPSRKKGKRLMTRGQLPR
150	マウス OSM	MQTRLLRTLLSLTSLLLISMA LANRGCSNSSSQLLSQLQNQAN LTGNTESLLEPYIRLQNLNTPDLRAACTQHSVAFPSEDTLRQLS KPHFLSTVYTTLDRVLYQLDALRQKFLKTPAFPKLDSARHNILG IRNNVFCMARLLNHSLEIPEPTQTD SGASRSTTTPDVFN TKIGSC GFLWGYHRFMGSVGRVFREWDDGSTRSRRQSPLRARRKGTRR IRVRHKGTRRIRVRRKGTRRIWVRRKGSRKIRPSRSTQSPTTRA
151	ヒト IL-10	MHSSALLCCLVLLTGVRASPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRD LRDAFSRVKTFFQMKDQLDNLLLKESLLEDFKGYLG CQALSEM IQFYLEEVMPPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKT LRLRLRRCHRF LPCENKSKAVEQVKNAFNKLQEKG IYKAMSEFDIFINYIEAYMT MKIRN
152	マウス IL-10	MPGSALLCCLLLL TGM RISRGQYSREDNNCTHFPVGQSHMLLE LRTAFS QVKTFFQTKDQLDNILLTDSL MQDFKGYLG CQALSEM IQFYLV EVMPPQAEKHGPEIKEHLNSLGEKLKTLRMRLRRCHRF LPCENKSKAVEQVKSDFNKLQDQGVYKAMNEFDIFINCIEAYM MIKMKS
153	ヒト IL-20	MKASSLAFSLLSAAFYLLWTPSTGLKTLNLGSCVIATNLQEIRN GFSEIRGSVQAKDGNIDIRILRRTESLQDTKPANRCCLLRHLLRL YLDRVFKNYQTPDH YTLRKISSLAN SFLT IKKDLRLCHAHMTC HCGE EAMKKYSQILSHFEKLEPQA AAVVKALGELDILLQWMEET E
154	マウス IL-20	MKGFGLAFLFS AVGFLLWTPLTGLKTLHLGSCVITANLQAIQ KEFSEIRDSVQAEDTNIDIRILRTTESLKD IKS LDRCCFLRHLVRF YLDRVFKVYQTPDHHTLRKISSLAN SFLI KKDLSVCHSHMACH CGEEAMEKYNQILSHFIELELQA AAVVKALGELGILLRWME EML

10

20

30

40

50

【表 15 - 12】

155	ヒト IL-14	MKNQDKKNGAAKQSNPKSSPGQPEAGPEGAQERPSQAAPAVE AEGPGSSQAPRKPEGAQARTAQSGALRDVSEELSRQLEDILSTY CVDNNQGGPGEDGAQGEPAEPEDAESRTYVARNGEPEPTPV VNGEKEPSKGDPNTEEIRQSDEVGDRDHRRPQEKKKAKGLGKE ITLLMQTLNLTSTPEEKLAALCKKYAELLEHRNSQKQMKLLQ KKQSQLVQEKDHLRGEHSKAVLARSKLES LCRELQRHNRSLKE EGVQRAREEEEEKRKEVTSHFQVTLNDIQLQMEQHNERNSKLRQ ENMELAERLKKLIEQYELREEHIDKVFHKDLQQQLVDAKLQQ AQEMLKEAEERHQREKDFLLKEAVESQRMCELMKQQETHLKQ QLALYTEKFEEFQNTLSKSSEVFTTFKQEMEKMTKKIKKLEKET TMYRSRWESSNKALLEMAEEKTVRDKELEGLQVKIQRLEKLC RALQTERNDLNKRVQDLSAGGQGS LTDSGPERRPEGPGAQAPS SPRVTEAPCYPGAPSTEASGQTGPQEPTSARA
156	マウス IL-14	MKNQDKKNGPAKHSNSKSGSPGQREAGPEGAGHRPRQTAPGAE AEGSTSQAPGKTEGARAKAAQPGALCDVSEELSRQLEDILSTY CVDNNQGGPAEEGAQGEPTPEDTEKSRTYAARNGEPEPGIPV VNGEKETSKGEPGTEEIRASDEVGDRDHRRPQEKKKAKGLGKE ITLLMQTLNLTSTPEEKLAALCKKYAELLEHRNSQKQMKLLQ KKQSQLVQEKDHLRGEHSKAVLARSKLES LCRELQRHNRSLKE EGVQRAREEEEEKRKEVTSHFQVTLNDIQLQMEQHNERNSKLRQ ENMELAERLKKLIEQYELREEHIDKVFHKDLQQQLVDAKLQQ AQEMLKEAEERHQREKEFLLKEAVESQRMCELMKQQETHLKQ QLALYTEKFEEFQNTLSKSSEVFTTFKQEMEKMTKKIKKLEKET TMYRSRWESSNKALLEMAEEKTVRDKELEGLQVKIQRLEKLC RALQTERNDLNKRVQDLTAGGITDIGSERRPEATTASKEQGVES PGAQPASSPRATDAPCCSGAPSTGTAGQTGPGEPTPATA

10

20

30

40

50

【表 15 - 13】

157	ヒト IL-16	MESHSRAGKSRKSAKFRSISRSLMLCNAKTSDDGSSPDEKYPDP FEISLAQGKEGIFHSSVQLADTSEAGPSSVPDLALASEAAQLQA AGNDRGKTCRRIFFMKESSTASSREKPGKLEAQSSNFLFPKACH QRARSNSTSVNPYCTREIDFPMTKKSAAPTDRQPYSLCSNRKSL SQQLDPCAGKAAGTSRPTSLSTAQLVQPSGGLQASVISNIVLM KGQAKGLGFSIVGGKDSIYGPIGIYVKTI FAGGAAAADGRLQEG DEILELNGESMAGLTHQDALQKFKQAKKGLLTLTVRTRLTAPP SLCSHLSPLCRSLSSSTCITKDSSSFALESPSAPISTAKPNYRIMV EVS LQKEAGVGLGIGLCSVPYFQCISGIFVHTLSPGSVAHLDGR LRCGDEIVEISDSPVHCLTLNEVYTILSHCDPGPVPIIVSRHPDPQ VSEQQLKEAVAQAVENTKFGKERHQWSLEGVKRLESSWHGRP TLEKEREKNSAPPHRRAQKVMIRSSSDSSYMSGSPGGSPGSGSA EKPSDDVDISTHSPSLPLAREPVVLSIASSRLPQESPLPESRDSHP PLRLKKSFEIVRKPMSSKPKPPPRKYFKSDSDPQKSLEERENSSC SSGHTPPTCGQEARELLPLLLPQEDTAGRSPSASAGCPGPGIGPQ TKSSTEGEPGWRRASPTQTSPIKHPLLKRQARM DYSFDTTAE DPWVRISDCIKNLFSPIMSENHGHMPLQPNASLNEEGTQGHPD GTPPKLDTANGTPKVYKSADSSTVKKGPPVAPKPAWFRQSLKG LRNRASDPRGLPDPALSTQPAPASREHLGSHIRASSSSSIRQRIS SFETFGSSQLPDKGAQRLSLQPSSGEAAKPLGKHEEGRFSGLLG RGAAPTLVPQQPEQVLSSGSPAASEARDPGVSESPPPGRQPNQK TLPPGPDPLRLRLSTQAEESQGPVLKMPSQRARSFPLTRSQSCET KLLDEKTSKLYSISSQVSSAVMKSLCLPSSISCAQTPCIPKEGAS PTSSSNEDSAANGSAETSALDTGFSLNLSELREYTEGLTEAKED DDGDHSSLQSGQSVISLLSSEELKKLIEEVKVLDEATLKQLDGIH VTILHKEEGAGLGFSLAGGADLENKVITVHRVFPNGLASQEGTI QKGNEVLSINGKSLKGTTHDALAILRQAREPRQAVIVTRKLT EAMPDLNSSTD SAASASAASDVSVESTAEATVCTVTLEKMSAG LGFSLEGKGSLHGDKPLTINRIFKGAASEQSETVQPGDEILQLG GTAMQGLTRFEAWNIIKALPDGPVTIVIRRKSLQSKETTAAGDS
-----	----------	--

10

20

30

40

50

【表 15 - 14】

158	マウス IL-16	MEPHGHSGKSRKSTKFRSISRSLILCNAKTSDDGSSPDEKYDPDF ETSLCQGKEGFFHSSMQLADTFEAGLSNIPDLALASDSAQLAAA GSDRGKHCRKMFFMKESSTSSKEKSGKPEAQSSSFLFPKACH QRTRSNSTSVNPYSAGEIDFPMTKKSAAPTDRQPYSLCSNRKSL SQQLDYPILGTPARTRSLSTAQLGQLSGGLQASVISNIVLMKGQ AKGLGFSIVGGKDSIYGPIGIYVKSIFAGGAAAADGRLQEGDEIL ELNGESMAGLTHQDALQKFKQAKKGLLTLTVRTRLTPPSLCS HLSPLCRSLSSSTCGAQDSSPFSLESPASPASTAKPNYRIMVEV SLKKEAGVGLGIGLCSIPYFQCISGIFVHTLSPGSVAHL DGR LRC GDEIVEINDSPVHCLTLNEVYTILSHCDPGVPVPIVSRHPDPQVSE QQLKEAVAQAVEGVKFGKDRHQWSLEGVKRLESSWHGRPTL EKEREKHSAPPHRAQKIMVRSSSDSSYMSGSPGGSPCSAGAEP QPSEREGSTHSPSLSPGEEQEPCEPGVPSRPQQESPPLPESLERESH PPLRLKKSFEILVRKPTSSKPKPPPRKYFKNDSEPQKKLEEKEKV TDPSGHTLPTCSQETRELLPLLLQEDTAGRAPCTAACCPGPAAS TQTSSSTEGESRRSASPETPASPGKHPLLRQARM DYSF DITAE DPWVRISDCIKNLFSPIMSENHSHTPLQPNTSLGEEDGTQGCPEG GLSKMDAANGAPRVYKSADGSTVKKGPPVAPKPAWFRQSLKG LRNRAPDPRRPPEVASAIQPTPVSRDPPGPQPQASSSIRQRISSE NFGSSQLPDRGVQRLSLQPSSGETTKFPGKQDGGFRSGLLGQG ATVTAKHRQTEVESMSTTFPNSSEVRDPGLPESPPPGQRPSTKA LSPDPLLRLTTQSED TQGPGLKMPSQRARSFPLTRTQSCETKL LDEKASKLYSISSQLSSAVMKSLCLPSSVSCGQITCIPKERVSP KSPCNNSSAAEGFGEAMASDTGFSLNLSELREYSEGLTEPGETE DRNHCSSQAGQSVISLLSAEELEKLIEEVRVLDEATLKQLDSIHV TILHKEEGAGLGFSLAGGADLENKVITVHRVFPNGLASQEGTIQ KGNEVLSINGKSLKGATHNDALAILRQARDPRQAVIVTRRTTV EATHDLNSSTD SAASASAASDISVESKEATVCTVTLEKTSAGLG FSLEGGKGS LHGDKPLTINRIFKGTEQGEMVQP GDEILQLAGTA VQGLTRFEAWNVIKALPDGPVTIVIRRTSLQCKQTASADS	10 20 30
159	ヒト IL-17	MTPGKTSLVSLLLLLSLEAIVKAGITIPRNP GCPNSEDKNFPRTV MVNLNIHNRNTNTNPKRSSDYNNRSTSPWNLHRNEDPERYPSV IWEAKCRHLGCINADGNVDYHMNSVPIQQEILVLRREPPHCPNS FRLEKILVSVGCTCVTPIVHHVA	

10

20

30

40

50

【表 15 - 15】

160	マウス IL-17	MSPGRASSVSLMLLLLLSLAATVKAAAIIPQSSACPNTTEAKDFL QNVKVNLIKVFNSLGAKVSSRRPSDYLNIRSTSPWTLHRNEDPDR YPSVIWEAQCRHQRCVNAEGKLDHHMNSVLIQQEILVLKREPE SCPFTFRVEKMLVGVGCTCVASIVRQAA
161	ヒト CD154	MIETYNQTSRPSAATGLPISMKIFMYLLTVFLITQMIGSALFAVY LHRRLDKIEDERNLHEDFVFMKTIQRCNTGERSLSLLNCEEIKS QFEGFVKDIMLNKEETKKENSFEMQKGDQNPQIAAHVISEASS KTTSVLQWAEKGYTMSNNLVTLENGKQLTVKRQGLYYIYAQ VTFCSNREASSQAPFIASLCLKSPGRFERILLRAANTHSSAKPCG QQSIHLGGVFELQPGASVFNVTDPQSQVSHGTGFTSFGLLKL
162	マウス CD154	MIETYSQSPRSVATGLPASMKIFMYLLTVFLITQMIGSVLFAVY LHRRLDKVEEEVNLHEDFVFIKKLKRCNKGEGLSLLNCEEMR RQFEDLVKDITLNKEEKKENSFEMQRGDEDPQIAAHVVSEANS NAASVLQWAKKGYTMKSNLVMLENGKQLTVKREGLYYVY TQVTFCSNREPSSQRPFIVGLWLKPSSGSERILLKAANTHSSSQL CEQQSVHLGGVFELQAGASVFNVTESQVIHRVGFSSFGLLK L
163	ヒト LT-β	MGALGLEGRGGRLOQGRGSLLLAVAGATSLVTLLAVPITVLAV LALVPQDQGGLVTETADPGAQAQQLGFGKLPEEEEPETDLSPG LPAAHLIGAPLKGQGLGWETTKEQAFLTSGTQFSDAEGALPQ DGLYYLYCLVGYRGRAPPGGGDPQGRSVTLRSSLYRAGGAYG PGTPELLLEGAETVTPVLDPARRQGYGPLWYTSVGFGLVQLR RGERVYVNISHPDMVDFARGKTFFGAVMVG
164	マウス LT-β	MGTRGLQGLGGRPQGRGCLLLAVAGATSLVTLLAVPITVLAV LALVPQDQGRRVEKIIGSGAQAQKRLDDSKPSCILPSPSSLSETP DPRLHPQRSNASRNLASTSQGPVAQSSREASAWMTILSPAADST PDPGVQQLPKGEPETDLNPELPAAHLIGAWMSGQGLSWEASQE EAFLRSGAQFSPTHGLALPDGVDYLYCHVGYRGRTPPAGRSR ARSLTLRSALYRAGGAYGRGSPELLEGAETVTPVVDPIGYGSL WYTSVGFGLAQLRSGERVYVNISHPDMVDYRRGKTFFGAVM VG

10

20

30

40

50

【表 15 - 16】

165	ヒト TNF- α	STESMIRDVELAEEALPKKTGGPQGSRRCLFSLFSFLIVAGATT LFCLLHFGVIGPQREEFPRDLSLISPLAQAVRSSSRTPSDKPVAH VVANPQAEGQLQWLNRRANALLANGVELRDNQLVVPSEGLY LIYSQVLFKGQGPCSTHVLLTHTISRIAVSYQTKVNLLSAIKSPC QRETPEGAEAKPWYEPIYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPDYLDF AESGQVYFGIIAL
166	マウス TNF- α	NHQVEEQLEWLSQRANALLANGMDLKDNQLVVPADGLYLVIY SQVLFKGQGPCPDYVLLTHTVSRFAISYQEKVNLLSAVKSPCPK DTPEGAEAKPWYEPIYLGGVFQLEKGDQLSAEVNLPKYLDFAE SGQVYFGVIAL
167	ヒト TNF- β	MTPPERLFLPRVCGTTLHLLLGLLLVLLPGAQGLPGVGLTPSA AQTAHQHPKMHLEHSTLKPAAHLIGDPSKQNSLLWRANTDRA FLQDGFSLSNNSLLVPTSGIYFVYSQVVFSGKAYSPKATSSPLYL AHEVQLFSSQYPFHVPLLSSQKMVYPGLQEPWLHSMYHGAAF QLTQGDQLSTHTDGIPHLVLSPTVFFGAFAL
168	ヒト 4-1BBL	MEYASDASLDPEAPWPPAPRARACRVLPWALVAGLLLLLLLA AACAVFLACPWAVSGARASPGSAASPRLREGPELSPDDPAGLL DLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYK EDTKELVVAKAGVYYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLG VHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSRSE
169	マウス 4-1BBL	MDQHTLDVEDTADARHPAGTSCPSDAALLRDTGLLADAALLS DTVPRPTNAALPTDAAYPAVNVRDREAAWPPALNFCSRHPKLY GLVALVLLLLIAACVPIFTRTEPRPALTITTSPLNGLTRENNADQV TPVSHIGCPNTTQQGSPVFAKLLAKNQASLCNTTLNWHSDGGA GSSYLSQGLRYEEDKKELVVDSPGLYYVFLELKLSPFTNTGH KVQGWVSLVLQAKPVDDFDNLALTVELFPCSMENKLVDRS WSQLLLLKAGHRLSVGLRAYLHGAQDAYRDWELSYPNNTTSFG LFLVKPDNPWE
170	ヒト APRIL	AVLTQKQKKQHSLVHLVPINATSKDDSDVTEVMWQPALRRGR GLQAQGYGVRIQDAGVYLLYSQVLFQDVTFTMGQVVSREGQG RQETLFR CIRSMPSHPDRAYNSCYSAGVFHLHQGDILSVIIPRAR AKLNLSPHGTFLGFVKL

10

20

30

40

50

【表 15 - 17】

171	マウス APRIL	MPASSPGHMGGSVREPALSVALWLSWGAVLGAVTCAVALLIQ QTELQSLRREVSRLQRSSGSPSQKQGERPWQSLWEQSPDVLEA WKDGAKSRRRRRAVLTKHKKKHSVLHLVPVNITSKADSDVTE VMWQPVLRGRGLEAQGDIVRVWDTGIYLLYSQVLFHDVTFT MGQVVSREGQGRRETLFRCIRSMSPDPDRAYNSCYSAGVFHLH QGDITVKIPRANAKLSLSPHGTFLGFVKL
172	ヒト CD70	MPEEGSGCSVRRRPYGCVLRAALVPLVAGLVICLVVCIQRFAQ AQQQLPLESLGWDVAELQLNHTGPQQDPRLYWQGGPALGRSF LHGPELDKKGQLRIHRDGIYMVHIQVTLAICSSTTASRHHPTTLA VGICSPASRSISLLRLSFHQGCTIASQRLTPLARGDTLCTNLTGTL LPSRNTDETFFGVQWVRP
173	マウス CD70	MPEEGRPCPWVRWSGTAFQRQWPWLLL VVFITVFCCWFHCSG LLSKQQRLLEHPEPHTAELQLNLTVPKDPRTLWGAGPALGR SFTHGPELEEHLRIHQDGLYRLHIQVTLANCSSPGSTLQHRAT LAVGICSPA AHGISLLRGRFGQDCTVALQRLTYLVHGDVLCNTN LTLPLLPSRNADETFFGVQWICP
174	ヒト CD153	MDPGLQQALNGMAPPGDTAMHVPAGSVASHLGTTSRSYFYLT TATLALCLVFTVATIMVLVVQRTDSIPNSPDNVPLKGGNCSEDL LCILKRAPFKKSWAYLQVAKHLNKTCLSWNKDGILHGVRQD GNLVIQFPGLYFIICQLQFLVQCPNNSVDLKLELLINKHIKKQAL VTVCESGMQTKHVYQNL SQFLLDYLQVNTTISVNVDTFQYIDT STFPLENVLSIFLYSNSD
175	マウス CD153	MEPGLQQAGSCGAPSPDPAMQVQPGSVASPW RSTRPWRSTSR YFYLTSTALVCLVVAVAIILVLVVQKKDSTPNTTEKAPLKGGN CSEDLFCTLKSTPSKKSWAYLQVSKHLNNTKLSWNEDGTIHGL IYQDGNLIVQFPGLYFIVCQLQFLVQCSNHSVDLTLQLLINSKIK KQTLVTVCESGVQSKNIYQNL SQFLLHYLQVNSTISVRVDNFQ YVDTNTFPLDNVLSVFLYSSSD
176	ヒト CD178	MQQPFNYPPYPIYWVDSSASSPWAPP GTVLPCPTSVPRRPGQR RPPPPPPPPPLPPPPPPPLPPLPLPPLKKRGNHSTGLCLLMFFM VLVALVGLGLGMFQLFHLQKELAE LRESTSQMHTASSLEKQIG HPSPPEKKELRKVAHLTGKSNSRSMPL EWEDTYGIVLLSGVK YKKGGLVINETGLYFVYSKVYFRGQSCNNLPLSHKVYMRNSK YPQDLVMMEGKMMSYCTTGQMWARSSYLGA VFNLTSADHL YVNVSELSLVNFEESQTFFGLYKL

10

20

30

40

50

【表 15 - 18】

177	マウス CD178	MQQPMNYPCPQIFWVDSSATSSWAPPGSVFPCPSCGPRGPDQR RPPPPPPPVSPPLPPPSQPLPLPPLTPLKKKDHNTNLWLPVVFFMV LVALVGMGLGMYQLFHLQKELAEFREFTNQSLKVSSFQKQIAN PSTPSEKKEPRSVAHLTGNPHSRISPLEWEDTYGTALISGVKYK KGGLVINETGLYFVYSKVYFRGQSCNNQPLNHKVYMRNSKYP EDLVLMEEEKRLNYCTTGQIWAHSSYLGAVFNLTSADHLYVNIS QLSLINFEEKSTFFGLYKL
178	ヒト GITRL	MTLHPSPITCEFLFSTALISPKMCLSHLENMPLSHSRTQGAQRSS WKLWLFCSIVMLLFLCSFSWLIFIFLQLETAKEPCMAKFGPLPS KWQMASSEPPCVNKVSDWKLEILQNGLYLIYGQVAPNANYND VAPFEVRLYKNKDMIQTLTNKSKIQNVGGTYELHVGDTIDLIFN SEHQVLKNNTYWGIILLANPQFIS
179	マウス GITRL	MEEMPLRESSPQRAERCKKSWLLCIVALLMLLCSLGTLIYTSL KPTAIESCMVKFELSSSKWHMTSPKPHCVNTTSDGKLKILQSGT YLIYGQVIPVDKKYIKDNAPFVVQIYKKNDVLQTLMNDFQILPI GGVYELHAGDNIYLFNSKDHQKTNTYWGIILMPDLPFIS
180	ヒト LIGHT	MEESVVRPSVFVVDGQTDIPFTRLGRSHRRQSCSVARVGLGLL LLMGAGLAVQGWFLQLHWRLGEMVTRLPDGPAGSWEQLI QERRSHEVNPAHLTGANSSLTGSGGPLLWETQLGLAFLRGLS YHDGALVVTKAGYIYISKVQLGGVGCPLGLASTITHGLYKR TPRYPEELELLVSQQSPCGRATSSSRVWWDSSFLGGVVHLEAG EKVVVRVLDERLVRLRDGTRSYFGAFMV
181	マウス LIGHT	MESVVQPSVFVVDGQTDIPFRRLEQNHRRRRRCGTVQVSLALVL LLGAGLATQGWFLRLHQR LGDIVAHL PDGGKGSWEKLIQDQ RSHQANPAHLTGANASLIGIGGPLLWETRLGLAFLRGLTYHD GALVTMEPGYIYISKVQLSGVGCPLGLANGLPITHGLYKRT SRYPKELELLVSRRSPCGRANSSRVWWDSSFLGGVVHLEAGEE VVVRVPGNRLVRPRDGTRSYFGAFMV
182	ヒト OX40L	MERVQPLEENVGNAARPRFERNKLLLVASVIQGLGLLLCFTYIC LHFSALQVSHRYPRIQSIKVQFTEYKKEKGFILTSQKEDEIMKV QNNSVIINCDGFYLISLKGYSQEVNISLHYQKDEEPLFQLKKVR SVNSLMVASLTYKDKVYLVNTTDTNTSLDDFHVNGGELILIHQN PGEFCVL

10

20

30

40

50

【表 15 - 19】

183	マウス OX40L	MEGEGVQPLDENLENGSRPRFKWKKTLRLVVSIGKAGMLLC FIYVCLQLSSSPAKDPPIQRLRGAVTRCEDGQLFISSYKNEYQT MEVQNNNSVVIKCDGLYIIYLKGSFFQEVKIDLHFREDHNPISIPM LNDGRRIVFTVVASLAFKDKVYLTVNAPDTLCEHLQINDGELIV VQLTPGYCAPEGSYHSTVNQVP
184	ヒト TALL-1	MDDSTEREQSRLTSCCLKREEMKLKECVSILPRKESPSVRSSKD GKLLAATLLALLSCCLTVVSFYQVAALQGDLASLRAELQGHH AEKLPAGAGAPKAGLEEAPAVTAGLKIFEPPAPGEGNSSQNSR NKRAVQGPEETVTQDCLQLIADSETPTIQKGSYTFVPWLLSFKR GSALEEKENKILVKETGYFFIYGQVLYTDKTYAMGHLIQRKKV HVFGDELSLVTLFRCIQNMPETLPNNSCYSAGIAKLEEGDELQL AIPRENAQISLDGDVTFFGALKLL
185	マウス TALL-1	MAMAFCPKDQYWDSSRKSCVSCALTCSQRSQRTCTDFCKFINC RKEQGRYYDHLLGACVSCDSTCTQHPQQCAHFCEKRPRSQAN LQPELGRPQAGEVEVRSDNSGRHQGSEHGPGRLRSSDQLTYC TLGVCLCAIFCCFLVALASFLRRRGEPLPSQPAGPRGSQANS PH AHRPVTEACDEVTASPQPVETCSFCFPERSSPTQESAPRSLGIHG FAGTAAPQPCMRATVGGLGVLRASTGDARPAT
186	ヒト TRAIL	MAMMEVQGGPSLGQTCVLIVIFTVLLQSLCVAVTYVYFTNELK QMQDKYSKSGIACFLKEDDSYWDPNDEESMNSPCWQVKWQL RQLVRKMILRTSEETISTVQEKQQNISPLVRERGPQRVAAHITGT RGRSNTLSSPNSKNEKALGRKINSWESSRSGHSFLSNLHLRNGE LVIHEKGFYYIYSQTYFRFQEEIKENTKNDKQMVQYIYKYTSYP DPILLMKSARNSCWSKDAEYGLYSIYQGGLFELKENDRIFVSVT NEHLIDMDHEASFFGAFLVG
187	マウス TRAIL	MPSSGALKDLSFSQHFRMMVICIVLLQVLLQAVSVAVTYMYFT NEMKQLQDNYSKIGLACFSKTDEDWDSTDGEILNRPCLQVKR QLYQLIEEVTLRTFQDTISTVPEKQLSTPPLPRGGRPQKVAAHIT GITRRSNSALIPISKDGKTLGQKIESWESSRKGHSFLNHVLFNRNG ELVIEQEGLYYIYSQTYFRFQEAEDASKMVSKDKVRTKQLVQY IYKYTSYPDPIVLMKSARNSCWSRDAEYGLYSIYQGGLFELKK NDRIFVSVTNEHLMDLQDEASFFGAFLIN

10

20

30

40

50

【表 15 - 20】

188	ヒト TWEAK	MAARRSQRRRGRRGEPGTALLVPLALGLGLALACLGLLLAVV SLGSRASLSAQEPAQEELVAEEDQDPSELNPQTEESQDPAPFLN RLVRPRRSAPKGRKTRARRAIAAHYEVHPRPGQDGAQAGVDG TVSGWEEARINSSSPLRYNRQIGEFIVTRAGLYYLYCQVHFDEG KAVYLLKDLLVDGVLALRCLEEFSAATAASSLGPQLRLCQVSGL LALRPGSSLRIRTLPAHLKAAPFLTYFGLFQVH
189	マウス TWEAK	MASAWPRSLPQILVLGFGLVLMRAAAGEQAPGTSPCSSGSSWS ADLDKCMDCASCAPRPHSDFCLGCAAAPPAHFRLWPILGGAL SLVLVLALVSSFLVWRRRCRRREKFTTPIEETGGEGCPGVALIQ
190	ヒト TRANCE	MRRASRDYTKYLRGSEEMGGGPGAPHEGPLHAPPPAPHQPPA ASRSMFVALLGLGLGQVVCVVALFFYFRAQMDPNRISEDGTHC IYRILRLHENADFQDTTLESQDTKLIPDSCRRIKQAFQGAQVQKEL QHIVGSQHIRAEKAMVDGSWLDLAKRSKLEAQPF AHLTINATD IPSGSHKVSLSWYHDRGWAKISNMTFSNGKLIVNQDGFYYLY ANICFRHHETSGDLATEYLQLMVYVTKTSIKIPSSHTLMKGGST KYWSGNSEFHFYSINVGGFFKLRSCEEISIEVSNPSLLDPDQDAT YFGAFKVRDID
191	マウス TRANCE	MRRASRDYGYKYLRSSEEMGSGPGVPHEGPLHPAPSAPAPAPP AASRSMFLALLGLGLGQVVCVVALFFYFRAQMDPNRISEDSTHC FYRILRLHENADLQDSTLESEDTLPDSCRRMKQAFQGAQVQKEL QHIVGPQRFSGAPAMMEGSWLDVAQRGKPEAQPF AHLTINAA SIPSGSHKVTLSSWYHDRGWAKISNMTLSNGKLIVNQDGFYYLY YANICFRHHETSGSVPTDYLQLMVYVVKTSIKIPSSHNLKMGGS TKNWSGNSEFHFYSINVGGFFKL RAGEEISIQVSNPSLLDPDQD ATYFGAFKVQDID
192	ヒト TGF-β1	MPPSGRLRLLLLLLPLLWLLVLT PGRPAAGLSTCKTIDMELVKRK RIEAI RGQILSKLRLASPPSQGEVPPGPLPEAVLALYNSTRDRVA GESAEPEPEPEADYYAKEVTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIY MFFNTSELREAVPEPVLLSRAELRLRLKLKVEQHVELYQKYS NNSWRYLSNRLLAPSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSRGGEIEGFR LSAHCSCDSRDNTLQVDINGFTTGRRGDLATIHGMNRPFLLLM ATPLERAQHLQSSRHRRALDTNYCFSSTEKNCCVRQLYIDFRK DLGWKWIHEPKGYHANFCLGPCPYIWSLDTQYSKVLALYNQH NPGASAAPCCVPQALEPLPIVYYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS

10

20

30

40

50

【表 15 - 21】

193	マウス TGF-β1	MPPSGLRLLPLLLPLPWLLVLTTPGRPAAGLSTCKTIDMELVKRK RIEAI RGQILSKLRLASPPSQGEVPPGPLPEAVLALYNSTRDRVA GESADPEPEPEADYYAKEVTRVLMVDRNNAIYEKTKDISHSIY MFFNTSDIREAVPEPPLLSRAELRLQRLKSSVEQHVELYQKYSN NSWRYLGNRLLTPTDTP EWLSFDVTGVVRQWLNQGDGIQGFR FSAHCSCDSKDNKLHVEINGISPKRRGDLGTIHD MNRPFLLLMA TPLERAQHLHSSRHRRALDTNYCFSSTEKNCCVRQLYIDFRKDL GWKWIHEPKGYHANFCLGPCPYIWSLDTQYSKVLALYNQHNP GASASPCCVPQALEPLPIVYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS
194	ヒト TGF-β2	MHYCVLSAFLILHLVTVALSLSTCSTLDMQDFMRKRIEAI RGQI LSKLKLTSPPEDYPEPEEVPPEVISIYNSTRDLLQEKASRRAAAC ERERSDEEYYAKEVYKIDMPPFFPSENAIPPTFYRPFYFRIVRFDV SAMEKNASNLVKAEFRVFRLQNP KARVPEQRIELYQILKSKDL TSPTQRYIDSKVVKTRAEGEWLSFDVTD AVHEWLHHKDRNLG FKISLHPCCTFVPSNNYIIPNKSEELEARFAGIDGTSTYTSGDQK TIKSTRKKNSGKTPHLLMLLPSYRLESQQTNRRKKRALDAAY CFRNVQDNCCLRPLYIDFKRDLGWKWIHEPKGYNANFCAGAC PYLWSSDTQH SRVLSLYNTINPEASASPCCVSQDLEPLTILYYIG KTPKIEQLSNMIVKSKCS
195	マウス TGF-β2	MHYCVLSTFLLHLVPVALSLSTCSTLDMQDFMRKRIEAI RGQI LSKLKLTSPPEDYPEPDEVPEVISIYNSTRDLLQEKASRRAAAC ERERSDEEYYAKEVYKIDMPSHLPSENAIPPTFYRPFYFRIVRFDV STMEKNASNLVKAEFRVFRLQNP KARVAEQRIELYQILKSKDL TSPTQRYIDSKVVKTRAEGEWLSFDVTD AVQEWLHHKDRNLG FKISLHPCCTFVPSNNYIIPNKSEELEARFAGIDGTSTYASGDQ KTIKSTRKKTSGKTPHLLMLLPSYRLESQQSSRRKKRALDAAY CFRNVQDNCCLRPLYIDFKRDLGWKWIHEPKGYNANFCAGAC PYLWSSDTQHTKVL SLYNTINPEASASPCCVSQDLEPLTILYYIG NTPKIEQLSNMIVKSKCS

10

20

30

40

50

【表 15 - 22】

196	ヒト TGF-β3	MKMHLQRALVVLALLNFATVSLSLSTCTTLDFGHIKKKRVEAIRGQILSKLRLTSPPEPTVMTHVPYQVLALYNSTRELLEEMHGEREEGCTQENTESEYYAKEIHKFDMIQGLAEHNELAVCPKGITSKVFRFNVSSVEKNRTNLFRAEFRVLRVPNPSSKRNEQRIELFQILRPDEHIAKQRYIGGKNLPTRGTAEWLSFDVTDTVREWLLRRESNLGLEISIHCPCHTFQPNGDILENIHEVMEIKFKGVDNEDDHGRGDLGRLKKQKDHHNPHLILMMIPPHRLDNPGQGGQRKKRALDTNYCFRNLEENCCVRPLYIDFRQDLGWKWWHEPKGYANFCSGPCPYLRSADTTHSTVLGLYNTLNPEASASPCCVPQDLEPLTILYYVGRTPKVEQLSNMVKSKCS
197	マウス TGF-β3	MHLQRALVVLALLNLATISLSLSTCTTLDFGHIKKKRVEAIRGQILSKLRLTSPPEPSVMTHVPYQVLALYNSTRELLEEMHGEREEGCTQETSESEYYAKEIHKFDMIQGLAEHNELAVCPKGITSKVFRFNVSSVEKNGTNLFRAEFRVLRVPNPSSKRTEQRIELFQILRPDEHIAKQRYIGGKNLPTRGTAEWLSFDVTDTVREWLLRRESNLGLEISIHCPCHTFQPNGDILENVHEVMEIKFKGVDNEDDHGRGDLGLRLKKQKDHHNPHLILMMIPPHRLDSPGQGSQRKKRALDTNYCFRNLEENCCVRPLYIDFRQDLGWKWWHEPKGYANFCSGPCPYLRSADTTHSTVLGLYNTLNPEASASPCCVPQDLEPLTILYYVGRTPKVEQLSNMVKSKCS
198	ヒト EPO	MGVHECPAWLWLLSLLSLPLGLPVLGAPPRLICDSRVLERYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVPDTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNSSQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLLRALGAQKEAISPPDAASAAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
199	マウス EPO	MGVPERPTLLLLLSLLIPLGLPVLCAAPPRLICDSRVLERYILEAKEAENVTMGCAEGPRLSENITVPDTKVNIFYAWKRMEVEEQAIENVWQGLSLLSEAILQAQALLANSSQPPETLQLHIDKAISGLRSLTLLRVLGAQKELMSPPDTPPAPLRTLTVDTFCKLFRVYANFLRGKCLKLYTGEVCRRGDR

10

20

30

40

50

【表 15 - 23】

200	ヒト TPO	MELTELLLVVMLLLTARLTLSPPACDLRVLSKLLRDSHVLH SRLSQCPEVHPLPTPVLLPAVD FSLGEWKTQMEETKAQDILGA VTLLLEGVMAARGQLGPTCLSSLLGQLSGQVRLLL GALQSLLG TQLPPQGRRTAHKDPNAIFLSFQHLLRGKVRFLMLVGGSTLCV RRAPPTTAVPSRTSLVLTNLNPNRTSGLLETNFTASARTTGSG LKWQQGFRAKIPGLLNQTSRSLDQIPGYLNRIHELLNGTRGLFP GPSRRTLGA PDISSGTS DTGSLPPNLQPGYSPSPHTPPTGQYTLFP LPPTLPTPVVQLHPLLPDPSAPTPTPTSPLLNTSYTHSQNLSQEG
201	マウス TPO	MELTDLLLAAMLLAVARLTLSPPVAPACDPRLNKLRLRDSHLL HSRLSQCPDVDPLSIPVLLPAVD FSLGEWKTQTEQSKAQDILGA VSLLEGVMAARGQLEPSCLSLLGQLSGQVRLLL GALQGLLG TQLPLQGRRTAHKDPNALFLSLQQLLRGKVRFLLLVEGPTLCV RRTLPTTAVPSSTSQLLTNLKFPNRTSGLLETNFSVTARTAGPGL LSRLQGFRVKITPGQLNQTSPVQISGYLNRTHGPNVNGTHGLF AGTSLQTL EASDISPGAFNKGS LAFNLQGGLPSPSLAPDGHTPF PPSPALPTTHGSPQLHPLFPDPSTTMPNSTAPHPVTMYPHPRNL SQET
202	ヒト FLT-3L	MTVLAPAWSPTTYLLLLLLLLSSGLSGTQDCSFQHSPISDFAVKI RELSDYLLQDYPVTVASNLQDEELCGGLWRLVLAQRWMERLK TVAGSKMQGLLERVNTIEHFVTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRL QETSEQLVALKPWITRQNF SRCLELQCQPDSS TLPPWSPRPLE ATAPTAPQPLLLLLLLLPVGLLLLAAAWCLHWQRTRRRTPRPG EQVPPVPSPQDLLLLVEH
203	マウス FLT-3L	MTVLAPAWSPNSSLLLLLLLLSPCLRGTPDCYFHSPISSNFKVK FRELTDHLLKDYPVTVA VNLQDEKHCKALWSLFLAQRWIEQL KTVAGSKMQTLLEDVNTIEHFVTSCTFQPLPECLRFVQTNISHL LKDTCTQLLALKPCIGKACQNF SRCLEVQCQPDSS TLPPRSPIA LEATELPEPRPRQLLLLLLLLLPLTLVLLAAAWGLRWQRARRR GELHPGVPLPSHP
204	ヒト SCF	MKKTQTWILTICIYLQLLLLFNPLVKTEGICRNRVTNNVKDVTKL VANLPKDYMITLKYVPGMDVLP SHCWISEMVVQLSDSLTDLL DKFSNISEGLSNYSIIDKL VNIVDDLVECVKENS SKDLKKSFKSP EPRLFTPEEFFRIFNRSIDAFKDFVVA SETSDCVVSS TLSPEKDSR VSVTKPFMLPPVAASSLRNDSSSSNRKAKNPPGDSSSLHWAAMA LPALFSLIIGFAFGALYWKQRQPSL TRAVENIQINEEDNEISMLQ EKEREFQEV

10

20

30

40

50

【表 15 - 24】

205	マウス SCF	MKKTQTWIITCIYLQLLLNFNPLVKTKEICGNPVTDNVKDITKLV ANLPNDYMITLNYVAGMDVLPSCWLRDMVIQLSLSLTTLLD KFSNISEGLSNYSIIDKLKGIVDDLVLCEENAPKNIKESPKRPE TRSFTPEEFFSIFNRSIDAFKDFMVASDTSDCVLSSTLGPEKDSR VSVTKPFMLPPVAASSLRNDSSSSNRKAAKAPEDSGLQWTAM ALPALISLVIGFAFGALYWKKKQSSLTRAVENIQINEEDNEISML QQKEREFEV
206	ヒト M-CSF	MTAPGAAGRCPPPTTWLGSLLLVCLLASRSITEEVSEYCSHMIG SGHLQSLQRLIDSQMETSCQITFEFVDQEQLKDPVCYLKKAFL VQDIMEDTMRFRDNTPNIAIVQLQELSLRLKSCFTKDYEHD KACVRTFYETPLQLLEKVKNVFNETKNLLDKDWNIFSKNCNNS FAECSSQDVVTKPDCNCLYPKAIPSSDPASVSPHQPLAPSMAPV AGLTWEDSEGTEGSSLLPGEQPLHTVDPGSAKQRPPRSTCQSFE PPETPVVKDSTIGGSPQPRPSVGAFNPGMEDILDSAMGTNWVPE EASGEASEIPVPQGTELSRPGGGSMQTEPARPSNFLSASSPLP ASAKGQQPADVTGTALPRVGPVRPTGQDWNHTPQKTDHPSAL LRDPPEPGSPRISSLRPQGLSNPSTLSAQPLSRSHSSGSVLPLGE LEGRSTRDRRSPAEEGGPASEGAARPLPRFNSVPLTDTGHER QSEGSFSPQLQESVFHLLVPSVILVLLAVGGLLFYRWRRRSHQE PQRADSPLEQPEGSPLTQDDRQVELPV
207	マウス M-CSF	MTARGAAGRCPSSTWLGSRLLLVCLLMSRSIAKEVSEHCShMI GNGHLKVLQQLIDSQMETSCQIAFEFVDQEQLDDPVCYLKKAFL FLVQDIIDETMRFDNTPNANATERLQELSNNLNSCFTKDYEEO NKACVRTFHETPLQLLEKIKNFFNETKNLLEKDOWNIFTKNCNNS FAKCSSRDVVTKPDCNCLYPKATPSSDPASASPHQPPAPSMAPL AGLAWDDSQRTGESSLLPSELPLRIEDPGSAKQRPPRSTCQTLES TEQPNHGDRLTEDSQPHPSAGGPVPGVEDILESSLGTNWVLEEA SGEASEGFLTQEAKFSPSTPVGGSIQAETDRPRALSASFPKSTE DQKPVDTDRPLTEVNPMRPIGQTQNNTPEKTDGTSTLREDHQE PGSPHIATPNPQRVSNSATPVAQLLLPKSHSWGIVLPLGELEGK RSTRDRRSPAEEGGSAASEGAARPVARFNSIPLTDTGHVEQHEG SSDPQIPESVFHLLVPGIILVLLTVGGLLFYKWKWRSHRDPQTL DSSVGRPEDSSLTQDEDRQVELPV

10

20

30

40

50

【表 1 5 - 2 5】

208	ヒト MSP	MGWLPLLLLLLTQCLGVPGQRSPLNDFQVLRGTELQHLLHAVVP GPWQEDVADAEECAGRCGPLMDCRAFHYNVSSHGCQLLPWT QHSPHTRLRRSGRCDLFQKKDYVRTCIMNNGVGYRGTMATTV GGLPCQAWSHKFPNDHKYTPTLRNGLEENFCRNPDPGGPW CYTTDPAVRFQSCGIKSCREAAACVWCNGEEYRGAVDRTESGRE CQRWDLQHPHQHPFEPGKFLDQGLDDNYCRNPDGSERPWCYT TDPQIEREFCDLPRCGSEAQPRQEATTVSCFRGKGEGYRGTTANT TTAGVPCQRWDAQIPHQHRFTPEKYACKDLRENFCRNPDGSEA PWCFTLRPGMRAAFCYQIRRCTDDVRPQDCYHGAGEQYRGTV SKTRKGVQCQRWSAETPHKPQFTFTSEPHAQLEENFCRNPDPGD SHGPWCYTMDPRTPFDYCALRRCADDQPPSILDPDPQVQFEKC GKRVDRLDQRRSKLRVVGHPGNSPWTVSLRNRQGGHFCGGS LVKEQWILTARQCFSSCHMPLTGYEVWLGTLFQNPQHGEPSLQ RVPVAKMVCGPSGSQLVLLKLEERSVTLNQRVALICLPPEWYVV PPGTKCEIAGWGETKGTGNDTVLNVALLNVISNQECNIKHRGR VRESEMCTEGLLAPVGACEGDYGGPLACFTHNCWVLEGIIPNR VCARSRWPAVFTRVSVFVDWIHKVMRLG
-----	--------	--

10

20

30

40

50

【表 15 - 26】

209	マウス MSP	MGLPLPLLQSSLLLMLLLRLSAASTNLNWQCPRIPYAASRDFS KYVVPSFSAGGRVQATAAYEDSTNSAVFVATRNHLHLVGPDL QFIENLTTGPIGNPGCQTCASCGPGPHGPPKDDTLVLVMEPGL PALVSCGSTLQGRCLHELEPRGKALHLAAPACLFSAANNKPE ACTDCVASPLGTRVTVVEQGHASYFYVASSLDPELAASFSPRS VSIRRLKSDTSGFQPGFPSLSVLPKYLASYLIKYVVSFHSDFVY FLTVQPISVTSPPSALHTRLVRLNAVEPEIGDYRELVLDFHAPK RRRRGAPEGTQPYVPLQAAHSAPVDAKLAVELSESEGQEVFLG VFVTVKDGGSGMGPNSVVCAPFIYHLNILIEEGVEYCCHSSNSS SLLSRGLDFFQTPSFCPNPPGGEASGPSSRCHYFPLMVHASFTRV DLFNGLLGSVKVTALHVRTLGNTVAHMGTVDGRVLQVEIAR SLNYLLYVSNFLGSSGQPVHRDVSRLGNDLLFASGDQVFKVPI QGPGRHFLTCWRCLRAQRFMGCGWCGDRCDRQKECPGSWQ QDHCPEISEFYPHSGPLRGTTTLTLCGSNFYLRPDDVVPEGTH QITVGQSPCRLLPKDSSSPRPGSLKEFIQELECELEPLVTQAVGT TNISLVITNMPAGKHFRVEGISVQEGFSFVEPVLTSLKPDFGPRA GGTYLTLEGQSLSVGTSRAVLVNGTQCRLEQVNEEQILCVTPP GAGTARVPLHLQIGGAEVPGSWTFHYKEDPIVLDISPKCGYSGS HIMIHGQHLTSAWHFTLSFHDGQSTVESRCAGQFVEQQQRRCR LPEYVVRNPQGWATGNLSVWGDGAAGFTLPGFRFLPPPSPLRA GLVELKPEEHSVKVEYVGLGAVADCVTVNMTVGGEVCQHEL RGDVVICPLPPSLQLGKDGVPPLQVCVDGGCHILSQVVRSSPGRA SQRILLIALLVLILLVAVLAVALIFNSRRRKQLGAHSLSPTTLS DINDTASGAPNHEESSES RDGTSVPLLRTESIRLQDLDRMLLAE VKDVLIPHEQVVIHTDQVIGKGHFGVVYHGEYTDGAQNQTHC AIKSLSRITEVQEVEAFLREGLLMRGLHHPNILALIGIMLPPEGLP RVLLPYMRHGDLLHFIRSPQRNPTVKDLVSFGLQVACGMEYLA EQKFVHRDLAARNCMLDESFTVKVADFGFLARGVLDKEYYSVR QHRHARLPVKWMALES LQTYRFTTKSDVWSFGVLLWELLTRG APPYPHIDPFDLSHFLAQGRRLPQPEYCPDSL YHVMLRCWEAD PAARPTFRALVLEV KQVVASLLGDHYVQLTAAYVNVGPRAVD DGSVPPEQVQPSPQHCRSTSKPRPLSEPPLPT
210	リンカー	GSSGGSGGSGG
211	リンカー	GGGSGGGS
212	リンカー	GGGSGGGSGGGS
213	リンカー	GGGGSGGGSGGGGS
214	リンカー	GGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGS

10

20

30

40

50

【表 15 - 27】

215	リンカー	GGGSGGGGS
216	リンカー	(GGGS) n
217	リンカー	GGGSGS
218	リンカー	GGGSGGGSGGGSGS
219	リンカー	GGSLDPKGGGS
220	リンカー	PKSCDKTHTCPPAPELLG
221	リンカー	SKYGPPCPPAPEFLG
222	リンカー	GKSSGSGSEKS
223	リンカー	GSTSGSGKSSEGKG
224	リンカー	GSTSGSGKSSEGSSTKG
225	リンカー	GSTSGSGKPGSSEGSTKG
226	リンカー	GSTSGSGKPGSSEGST
227	リンカー	(GSGS) n
228	リンカー	(GGGS) n
229	リンカー	GGSG
230	リンカー	GGSGG
231	リンカー	GSGSG
232	リンカー	GSGGG
233	リンカー	GGGSG
234	リンカー	GSSSG
245	リンカー	GPQGTAQ
250	リンカー	YGAGLGW
264	CM	AQNLLGMY
265	CM	LSGRSDNHGGAVGLLAPP
266	CM	VHMPGLGFLPGGLSGRSDNH
267	CM	LSGRSDNHGGVHMPGLGFLP
268	CM	LSGRSDNHGGSGGSISSGLLSS
269	CM	ISSGLLSSGGSGGSLSGRSGNH
270	CM	LSGRSDNHGGSGGSQNQALRMA
271	CM	QNQALRMAGGSGGSLSGRSDNH
272	CM	LSGRSGNHGGSGGSQNQALRMA
273	CM	QNQALRMAGGSGGSLSGRSGNH
274	CM	ISSGLLSGRSGNH
275	CM	AVGLLAPPGGTSTSGRSANPRG
276	CM	TSTSGRSANPRGGGAVGLLAPP
277	CM	VHMPGLGFLPGGTSTSGRSANPRG
278	CM	TSTSGRSANPRGGGVHMPGLGFLP
279	CM	LSGRSGNHGGSGGSISSGLLSS
280	開裂可能な配列	PRFKIIGG

10

20

30

40

50

【表 15 - 28】

281	開裂可能な配列	PRFRIIGG
282	開裂可能な配列	SSRHRRALD
283	開裂可能な配列	RKSSIIIRMRDVVL
284	開裂可能な配列	SSSFDKGKYKKGDDA
285	開裂可能な配列	SSSFDKGKYKRGDDA
286	開裂可能な配列	IEGR
287	開裂可能な配列	IDGR
288	開裂可能な配列	GGSIDGR
289	開裂可能な配列	PLGLWA
290	開裂可能な配列	GPQGIAGQ
291	開裂可能な配列	GPQGLLGA
292	開裂可能な配列	GIAGQ
293	開裂可能な配列	GPLGIAGI
294	開裂可能な配列	GPEGLRVG
295	開裂可能な配列	YGAGLGVV
296	開裂可能な配列	AGLGVVER
297	開裂可能な配列	AGLGISST
298	開裂可能な配列	EPQALAMS
299	開裂可能な配列	QALAMSAI
300	開裂可能な配列	AAYHLVSQ
301	開裂可能な配列	MDAFLESS
302	開裂可能な配列	ESLPVVAV
303	開裂可能な配列	SAPAVESE
304	開裂可能な配列	DVAQFVLT
305	開裂可能な配列	VAQFVLT
306	開裂可能な配列	VAQFVLTE
307	開裂可能な配列	AQFVLTEG
308	開裂可能な配列	PVQPIGPQ

10

20

30

40

50

【表 15 - 29】

309	シグナル配列を有する、IFN- α 2b-1204dL-hIgG4	METDTLLLWVLLLWVPGSTGCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRLSFLSCLKDRHDF GFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTEL YQQL NDLEACVIQGVGVTEPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEI MRSFSLSTNLQESLRSKESGRSDNIGGGSESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLS
310	IFN- α -1204dL-hIgG4 (ポリヌクレオチド)	ATGGAAACCGACACACTGCTGCTGTGGGTGCTGCTTTTGTGGGTGCCAGGATC CACAGGCTGTGATCTGCCTCAAACGCATTCAATTGGGGTCCAGGCGCACGCTTA TGTTGCTTGACAGATGAGGAGAATATCACTTTTCTCTTGCTTGAAGGACCGC CACGATTTTGGCTTTCGCGAGGAAGAGTTCGGTAACCAGTTCCAAAAGGCAG AGACAATCCCCGTTTTGCATGAGATGATCCAACAGATCTTTAACCTGTTTTCA ACCAAGGATAGCAGCGCAGCGTGGGATGAGACACTGCTTGACAAGTTTTACA CCGAGCTCTATCAGCAACTTAATGATCTCGAAGCCTGCGTAATTCAAGGAGTA GGCGTTACAGAGACACCTTTGATGAAGGAGGATTCCATCCTTGCAGTAAGAA AATACTTCCAGAGGATCACCTCTACCTCAAAGAAAAGAAATACTCCCCATG CGCGTGGAAGTAGTGCGAGCTGAAATAATGCGGAGCTTTTCTTTGTCAACTA ATCTCCAAGAATCTCTGAGAAGCAAGGAGTCAGGTAGGTCTGATAATATCGG GGGAGGTTCTGAATCTAAGTACGGCCCTCCTTGTCCTCCATGTCCTGCTCCAG AGTTTCTCGGAGGCCCTCCGTGTTCTGTTTCTCCAAAGCCTAAGGACACC CTGATGATCAGCAGAACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTCGACGTTTCAC AAGAGGACCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCA CAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTTCAACAGCACCTACAGAGT GGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTAC AAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCTAGCAGCATCGAGAAAACCATCA GCAAGGCCAAGGGCCAGCCAAGGGAACCCAGGTTTACACACTGCCACCTAG CCAAGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAGGGC TTTTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGA ACAACTACAAGACCACACCTCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCTG TACAGCAGACTGACCGTGACAAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCA GCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCTCT GAGCCTGAGCTGA

10

20

30

40

50

【表 15 - 30】

311	シグナル配列を有する、IFN- α 2b-1490DN I-hlgG4	METDTLLLWVLLLWVPGSTGCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRLSLFSLKDRHDF GFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQL NDLEACVIQGVGVTTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEI MRSFSLSTNLQESLRSKEISSGLLSGRSDNIGGGSESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLS
312	IFN- α 2b-1490DN I-hlgG4 (ポリヌクレオチド)	ATGGAACCGACACACTGCTGCTGTGGGTGCTGCTTTTGTGGGTGCCAGGATC CACAGGCTGTGATCTGCCTCAAACGCATTTCATTGGGGTCCAGGCGCACGCTTA TGTTGCTTGCACAGATGAGGAGAATATCACTTTTCTCTTGCTTGAAGGACCGC CACGATTTTGGCTTTCCGCAGGAAGAGTTCGGTAACCAGTTCCAAAAGGCAG AGACAATCCCCGTTTTGCATGAGATGATCCAACAGATCTTTAACCTGTTTTCA ACCAAGGATAGCAGCGCAGCGTGGGATGAGACACTGCTTGACAAGTTTTACA CCGAGCTCTATCAGCAACTTAATGATCTCGAAGCCTGCGTAATTCAAGGAGTA GGCGTTACAGAGACACCTTTGATGAAGGAGGATTCCATCCTTGACGTAAGAA AATACTTCAGAGGATCACCTCTACCTCAAAGAAAAGAAATACTCCCCATG CGCGTGGGAAGTAGTGCGAGCTGAAATAATGCGGAGCTTTTCTTTGTCAACTA ATCTCCAAGAATCTCTGAGAAGCAAGGAGATTAGTTCTGGCCTGCTGTCAGGT AGGTCTGATAATATCGGGGGAGGTTCTGAATCTAAGTACGGCCCTCCTTGTC TCCATGTCCTGCTCCAGAGTTTCTCGGAGGCCCTCCGTGTTCTGTTTCCTCC AAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCTGAAGTGACCTGCGTG GTGGTCGACGTTTCACAAGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGG ACGGCGTGGAAGTGACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTTCA ACAGCACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCT GAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCTAGCAG CATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCAAGGGAACCCAGGT TTACACACTGCCACCTAGCCAAGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTG ACCTGCCTGGTCAAGGGCTTTTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAG CAATGGCCAGCCTGAGAACAACCTACAAGACCACACCTCCTGTGCTGGACAGC GACGGCTCATTCTTCTGTACAGCAGACTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTACAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCA CTACACCCAGAAGTCTCTGAGCCTGAGCTGA

10

20

30

40

50

【表 15 - 31】

316	ProC440	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFG NQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTEL YQQLNDLEACVIQGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLK EKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKESGRSDNICPP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LS
318	ノブ変異を有するヒト IgG Fc	CPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCQE EMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVL DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLG
319	ホール変異を有するヒト IgG Fc	CPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVCTLPQS EMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVL SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSLG
320	スタブ部分	SDNI
321	ProC732	QSGQTDVDYYREWSWTQVSGSSGGSLSGRSDNIGSGGSCDLPQ THSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQK AETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLN DLEACVIQGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSP CAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKELSGRSDNICPPCPAPEF LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS

10

20

30

40

50

【表 15 - 32】

322	ProC733	QSGQTDVDYYREWSWTQVSGSSGGSLSGRSDNIGSGGSCDLPQ THSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQK AETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTEL YQQLN DLEACVIQGVGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSP CAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEESKYGPPCPPCPAPEFL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SRLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLS
323	IFNa-2b マスキ ングペプチド	TDVDYYREWSWTQVS
324	リンカー	GSSGGS
325	リンカー	ESKY
326	ProC286	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN HYTQKSLSLSSGGGGSGRSDNIGGGSCDLPQTHSLGSRRTLMLL AQMRRLISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQ IFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTEL YQQLNDLEACVIQGVGV TETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIM RSFSLSTNLQESLRSKE
327	リンカー	SGGG
328	トランケート型 IFNa-2b(アミノ 酸 1～150 個)	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFG NQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTEL YQQLNDLEACVIQGVGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLK EKKYSPCAWEVVRAEIMRS
329	IFNa-2b L130P 変 異体	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFG NQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTEL YQQLNDLEACVIQGVGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYPKE KKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKE
331～ 479	PM の配列	(配列については以下の表 12 を参照)

10

20

30

40

50

【表 15 - 33】

480	ProC859 配列	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRKISLFSCLKDRHDFGFPQEEFG NQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFTTKDSSAAWDEDLLDKFCTEL YQQLNDLEACVMQEERVGETPLMNVDLSILAVKKYFRRITLYLT EKKYSPCAWEVVRAEIMRSLSLSTNLQERLRRKELSGRSDNICP PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLS LS
481	ユニバーサル IFN- α A/D 配列	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRKISLFSCLKDRHDFGFPQEEFG NQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFTTKDSSAAWDEDLLDKFCTEL YQQLNDLEACVMQEERVGETPLMNVDLSILAVKKYFRRITLYLT EKKYSPCAWEVVRAEIMRSLSLSTNLQERLRRKE
482	インターフェロ ン β 、鎖 A、ヒト (1AU1)	MSYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEE IKQLQQFQKEDAALTIYEMLQNIFAIF RQDSSSTGWNENIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTR GKLMSSLHLKRYYGRIHLHYLKAKEYSH CAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGYLRLN
483	IFNB_CHICK Q90873.1	MTANHQSPGMHSILLLLLLPAITTTFCNHLRHQDANFSWKS QLLQNTAPPPPQPCPQQDVTFFPETL LKSDDKKQAATITLRLQHLFNMLSSPHTPKHWIDRTRHSLN IQHYIHHLEQCFVNQGRSQRGRPN AHLKINKYFRSIHNLQHNYSACTWDHVRLQARDCFRHVDL IQWMKSRAPLTASSKRLNTQ
484	IFNA3_CANLF O97945.1	MALPCSFSVALVLLSCHSLCCLACHLPDTHSLRNWRVLTLLGQ MRRLSASSCDHYTTDFAPKELFDGQR LQEAQALSVVHVMTQKVHFLFCTNTSSAPWNMTLLEELCSGLS EQDDLDACPLQEAGLAETPLMHEDST LRTYFQRISLYLQDRNHSPCAWEMVRAEIGRSFFSLTILQERVR RRK
485	IFN_ANAPL P51526.1	MPGPSAPPPPAIYSALALLLLTPPANAFSCSPLRLHDSAFAWS LQLLRNMAPSPTQPCPQQHAPCSFP DTLLDTNDTQQAHTALHLLQHLFDLSSPSTPAHWLHTARHD LLNQLQHIIHHLERCFPADAARLHRRG PRNLHLSINKYFGCIQHFLQNHTYSPCAWDHVRLEAHACFQRI HRLTRTMR

10

20

30

40

50

【表 15 - 34】

486	IFNAH_BOVIN P49878.1	MAPAWSFLLALLLLSCNAICSLGCHLPHTHSLPNRRVLTLLRQL RRVSPSSCLQDRNDFAFPQEALGGSQ LQKAQAISVLHEVTQHTFQLFSTEGSAAAWDESLLDKLRAALD QQLTDLQACLRQEEGLRGAPLLKEDAS LAVRKYFHRLTLYLREKRNPCAWEVVRAEVMRAFSSSTNLQ ERFRRKD
487	IFNA1_CHICK P42165.1	MAVPASPQHPRGYGILLTLLKALATTASACNHLRPQDATFS HDSLQLLRDMAPTLPQLCPQHNASCSF NDTILDTSNTRQADKTTHDILQHLFKILSSPSTPAHWNDSQRQS LLNRIHRYTQHLEQCLDSSDTRSRTR WPRNLHLTIKKHFSLHTFLQDNDYSACAWEHVRLQARAWFL HIHNLTGNTRT
488	IFNA_FELCA P35849.1	MALPSSFLVALVALGCNSVCSLGCDLPQTHGLLNRRALTLLGQ MRRLPASSCQKDRNDFAFPQDVFGGDQ SHKAQALSVVHVNTNQKIFHFFCTEASSSAAWNTTLLEEFCTGL DRQLTRLEACVLQEVEEGEAPLTNEDI HPEDSILRNYFQRLSLYLQEKKYSPCAWEIVRAEIMRSLYYSST ALQKRLRSEK
489	インターフェロ ン-β-1 [Sus scrofa] AAA31056.1	MANKCILQIALLMCFSTTALSMSYDVLRYQQRSSNLACQKLLG QLPGTPQYCLEDRMNFEVPEEIMQPPQ FQKEDAVLIHHEMLQQIFGILRRNFSSTGWNETVIKTILVELDGQ MDDLETILEEIMEEENFPRGDMTIL HLKKYYLSILQYLKSKEYRSCAWTVVQVEILRNFSFLNRLTDY LRN
490	IFNB2_BOVIN P01576.1	MTHRCLLMVLLLCFSTTALSRSYSLLRFQQRSLALCQKLLR QLPSTPQHCLARMDFQMPEEMKQAAQ FQKEDAILVIYEMLQQIFNILTRDFSSTGWSETIIEDLLEELYEQM NHLEPIQKEIMQKQNSTMGDTTVL HLRKYYFNLVQYLKSKEYNRCAWTVVRVQILRNFSFLTRLTGY LRE
491	A 鎖 A、インター フェロン-α 2B 1RH2	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFG NQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTK DSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTTETPLMN EDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAW EVRRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKE
492	リンカー	SGGGG

10

20

30

40

50

【表 15 - 35】

493	ProC288	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCCLKDRHDFGFPQEEF GNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYT ELYQQLNDLEACVIQGVGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLY LKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKES <u>SGGGGSG</u> <u>RSDNI</u> CPPC PAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEAL HNHYTQKSLSLS	10
494	ProC289	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCCLKDRHDFGFPQEEF GNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYT ELYQQLNDLEACVIQGVGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLY LKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKES <u>SGGGGS</u> <u>GRSDNI</u> GPPC PPC PAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFCSCV MHEALHNHYTQKSLSLS	20
495	ProC290	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCCLKDRHDFGFPQEEF GNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYT ELYQQLNDLEACVIQGVGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLY LKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKESGGGGS <u>GRSDNIESKY</u> GPPC PPC PAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLS	30

40

50

【表 15 - 36】

496	ProC291	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFG NQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTEL YQQLNDLEACVIQGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLK EKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKESGGGSGRS DNIGGGSESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLS	10
497	ProC441	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFG NQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTEL YQQLNDLEACVIQGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLK EKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKESGRSDNIGPP CPPCAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNA	
498	ProC442	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFG NQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTEL YQQLNDLEACVIQGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLK EKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKESGRSDNIESK YGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHY TQKSLSLS	20
499	ProC443	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFG NQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTEL YQQLNDLEACVIQGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLK EKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKESGRSDNIGGG SESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALH NHYTQKSLSLS	30

【表 15 - 37】

235	ProC1023	QSGQTDVDYYREWSWTQVSGSSGGSLSGRSDNIGSGGSCDLPQ THSLGSRRTLMLLAQMRKISLFSLCKDRHDFGFPQEEFGNQFQ KAETIPVLHEMIQQIFNLFTTKDSSAAWDEDLLDKFCTELYQQ NDLEACVMQEERVGETPLMNVDLSILAVKKYFRITLYLTEKKY SPCAWEVVRAEIMRSLSLSTNLQERLRRKELSGRSDNICPPCPA PEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGS FFLYSRLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLS	10
236	ProC1549	QSGQTDVDYYREWSWTQVSGSSGGSGGGSGGGSGGGSCDLP QTHSLGSRRTLMLLAQMRKISLFSLCKDRHDFGFPQEEFGNQF QKAETIPVLHEMIQQIFNLFTTKDSSAAWDEDLLDKFCTELYQQ LNDLEACVMQEERVGETPLMNVDLSILAVKKYFRITLYLTEKK YSPCAWEVVRAEIMRSLSLSTNLQERRRKEGGSGGGSGGGSCPPCP APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSG SFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLS	20
237	ProC659(開裂不 可、立体化学的に マスクした IFN- α2b)	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSLCKDRHDFGFPQEEFG NQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFTTKDSSAAWDETLLDKFYTEL YQQLNDLEACVIQGVGVTTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLK EKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGSGGGSCPP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS LS	30

【表 15 - 38】

238	ProC1239 アーム 1	QSGQTDVDYYREWSWTQVSGSSGGSLSGRSDNIGSGGSCDLPQ THSLGSRRTLMLLAQMRRISLFCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQK AETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLN DLEACVIQGVGVTTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSP CAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKELSGRSDNICPPCPAPEF EGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVVSQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCQEEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
239	ProC1239 アーム 2	SDNICPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVCT PPSQEEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFLLVSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNRT QKSLSLGLG
240	ProC1301	QSGQTDVDYYREWSWTQVSGSSGSGSGSGSGSGSGSCDLP QTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQ KAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQL NDLEACVIQGVGVTTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYS PCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESRSKEGGSGGGSGSCPPCPAPE FLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVVSQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLL YSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
241	CM	GLSGRSDNHG
242	シグナル配列	MRAWIFFLLCLAGRALA
243	シグナル配列	MALTFALLVALLVLCKSSCSVG
244	シグナル配列	METDTLLLWVLLLWVPGSTG
246	スペーサー	QQSGS
247	スペーサー	GQSGS
248	スペーサー	QSGS
249	スペーサー	QQSGQG
251	スペーサー	GQSGQG
252	スペーサー	QSGQG
253	スペーサー	SGQG

10

20

30

40

50

【表 15 - 39】

254	スぺーサー	QQQSGQ
255	スぺーサー	GQSGQ
256	スぺーサー	QSGQ
257	スぺーサー	QQQSG
258	スぺーサー	QQQS
259	ProC1640	DNIGSGGSCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCCLKDRHDF GFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETL LDKFYTELYQQLNDEACVIQGVGVGTETPLMKEDSILAVRKYF QRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLSKELS GRS
260	ProC1822	KNLKSPQKVEVDIIDDNFILRWNRSDSVGNVTFSDYQKTGM DNWIKLSGCQNITSTKCNFSSLKLNVEEIKLRIRAEKENTSSW YEVDSTPFRKAQIGPPEVHLEAEDKAIVIHISPGTKDSVMWAL DGLSFTYSLVIWKNSSGVEERIENIYSRHKIYKLSPETTYCLKVK AALLTSWKIGVYSPVHCITTVENELPPPENIEVSVQNQNYVLK WDYTYANMTFQVQWLHAFKRNPGNHL YKWKQIPDCENVKT TQCVFPQNVFQKGIYLLRVQASDGNNTSFWSSEEIKFDTEIQAF LPPVFNIRSLSDSFHIYIGAPKQSGNTPVIQDYPLIYEIIFWENTSN AERKIIKKTDVTVPNLKPLTVYCVKARAHTMDEKLNKSSVFS DAVCEKTKPGNTSKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
261	ProC1823	ISYDSPDYTDESCTFKISLRNFRSILSWELKNHSIVPTHYTLTYTI MSKPEDLKVVKNCANTTRSFCDLTDEWRSTHEAYVTVLEGFS GNTTLFSCSHNFWLAIDMSFEPPEFEIVGFTNHINVMVKFPSIVE EELQFDLSLVIEEQSEGIVKKHKPEIKGNMSGNFTYIIDKLIPNTN YCVSVYLEHSDEQAVIKSPLKCTLLPPGQESESAESAAPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG

10

20

30

40

50

【表 15 - 40】

262	ProC1824	KNLKSPQKVEVDVIDDNFILRWNRSEESVGNVTFSFDYQKPEM DNWIKLPGCQNMSTSTKCNFSSLKLNIDEIKLRIRAEKENTSSW CEVDSFTFPRKAQIGPPEVHLEAEDKAIVIIYISPPGTEDSVMWAL DRSSFTYSLVIWKNSSSVVEERIEIYSRHKISKLSPETTYCLKVK AALLTSRKIGVYGPVHCIKTTVENELPPPENIEVIVQNQNYVLK WDYTYANMTFQVQWLHAFLLKRPKNHLYKWKQIPDCENVTT TQCVFPPNTFQKGIYLLRVQASDGNNTSFWSEEIKFDTEIQASLL PPVFNIRSLSDSLHISIGAPKWSENKPVIQDYPLIYEILFWENTSK AERKIIKKKTDVTIPNLKPLTVYCVKARAHSMDEKLNKSSVFSD VVCEETKSGNTSKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	10
263	ProC1825	ISHDLPDYTSSECTFKISLRNFRSILSWELKNHSIVATHYKLLYTI MSKPEDLKIVKNCANTTRSFCDLTDEWRSTHEAYVTSLEGFSG NTTLFNCSHNFWLDIDMSFEPPEFEIVGFTNHINVIVKFPSIVEEE LQFDLSLVIEEQSEGIVKKHKPTIKGNMSGNFTYIIDKLIPNTNY CVSVYFDHNDEQAVIKSPLKCTLLQPGQESESAESAAPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG	20
313	ProC1718	ISYDSPDYTDESCTFKISLRNFRSILSWELKNHSIVPTHYTLTYTI MSKPEDLKVVKNCANTTRSFCDLTDEWRSTHEAYVTVLEGFS GNTTLFSCSHNFWLAIDMSFEPPEFEIVGFTNHINVMVKFPSIVE EELQFDLSLVIEEQSEGIVKKHKPEIKGNMSGNFTYIIDKLIPNTN YCVSVYLEHSDEQAVIKSPLKCTLLPPGQESESAESAAGGGGSH HHHHHHH	30
314	ProC1976	DNIGSGGSCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSLKDRHDF GFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETL LDKFYTELYQQNLNDEACVIQGVGVTTETPLMKEDSILAVRKYF QRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKELS GRS	40

【表 16-1】

表 12. 好適なサイトカインと関連するマスキングペプチド (PM) の例

PMと連結して よいサイトカイン	PMの配列	配列番号
IFN	IAYLEYEHLHMAYG	331
IFN	TDVDYYREWCVTQVS	332
IFN	FPLNTFDLVHELLSR	333
IFN	FLNDIHRFLHWTDLN	334
IFN	PYTFVEQVEYWLHAT	335
IFN	ACVIHFLDRISNILE	336
IFN	FCYIAAFSAMQRQSC	337
IFN	PLYLPEIGWMFGLPT	338
IFN	TVLVIPDLHYLYVDR	339
IFN	FINNVETALDTIYNL	340
IFN	SAKHLHPGRLPPMTK	341
IFN	ATMYAYLERLEAILS	342
IFN	IYPLDALLRHLNSLC	343
IFN	CFPTVVWRELYNLYG	344
IFN	NLDFYLNHLYNTLAG	345
IFN	DFINSMRSHLQSSDQ	346
IFN	EPKCSFCSPLIVPSP	347
IFN	PNCIESFLSSIHDSL	348
IFN	TDNALFLETVQHLYL	349
IFN	CYPSISWLFADAPRN	350
IFN	ELTQLLNALVDVRNC	351
IFN	LLSSFVETMSSILTC	352
IFN	YLLRLPSLEELWGFS	353
IFN	ATCYIINHWWERYII	354
IFN	IAYLEYEHLHMAY	355
IFN	RVTCDDYYYGFGCNKFGRPA	356

10

20

30

40

50

【表 1 6 - 2】

IFN	MLAVVGAAALVLVAGAPWVLP SAAGGENLKPPENIDVYII DDNYTLKWSSHGESMGSVTF SAEYRTKDEAKWLKVPECQ HTTTTKCEFSLLDTNVYIKT QFRVRAEEGNSTSSWNEVDP FIPFYTAHMSPPPEVRLEAED KAILVHISPPGQDGNMWALEK PSFSYTIRIWQKSSSDKKTIN STYYVEKIPPELLPETTYCLE VKA IHPSLKKHSNYSTVQCISTTV ANKMPVPGNLQVDAQGKSY VLKWDYIASADVLFRAQWLPG YSKSSSGSRSDKWKPIPTC ANVQTTHCVFSQDTVYTGTFF LHVQASEGNHTSFWSEEKFI DSQKHILPPPPVITVTAMSDT LLVYVNCQDSTCDGLNYEII FWENTSNTKISMEKDGPEFTL KNLQPLTVYCVQARVLFRA L LNKTSNFSEKLCEKTRPGSFST	357
IFN	MLLSQNAFIFRSLNLVLMVYIS LVFGISYDSPDYTDESCTFK ISLRNFRSILSWELKNHSIVP THYTLLYTIMSKPEDLKVVKN CANTTRSFCDLTDEWRSTHEAY VTVLEGFSGNTTLFSCSHN FWLAIDMSFEPPEFEIVGFTNH INVMVKFPSIVEEELQFDLS LVIEEQSEGIVKKHKPEIKGNM SGNFTYIIDKLIPNTNYCVS VYLEHSDEQAVIKSPLKCTLLP PGQESESAESAK	358
IFN	MMVVLLGATTLVLVAVAPWVLS AAAGGKNLKSPQKVEV DIIDDNFILRWNRSDESVGNVTF SFDYQKTGMDNWIKLSGC QNITSTKCNFSSLKLNVEEIKLR IRAEKENTSSWYEVDST PFRKAQIGPPEVHLEAEDKAIV IHISPGTKDSVMWALDGLS FTYSLVIWKNSSGVEERIE NIYSRHKIYKLSPETTYCLKV KA ALLTSWKIGVYSPVHCIKTTVE NELPPPENIEVSVQNQNYV LKWDYTYANMTFQVQWLHAFL KRNPNGNHLKWKQIPDC ENVKTTQCVFPQNVFQKGIYLL RVQASDGNNTSFWSEEIKF DTEIQAFLLPPVFNIRSLSDSF HIYIGAPKQSGNTPVIQDYPLI YEIIFWENTSNAERKII EKKTDVTPNLKPLTVYCVKARAH TMDEKLNKSSVFSDAVCEKTK PGNTSK	359
IFN	MRSRCTVSAVGLLSLCLVVSAS LETITPSAFDGYDPDEPCTIN ITIRNSRLILSWELNKSGPPAN YTLWYTVMSKDENLTKVK NCSDTTKSSCDVTDKWLEGME SYVVAIVIVHRGDLTVCRC SDYIVPANAPLEPPEFEIVGFT DHINVTMEFPPVTSKIIQEK M KTTVPFVIKEQIGDSVRKKHEP KVNNVTGNFTFVLRDLLPKT NYCVSLYFDDDP A IKSPLKCVLQPGQESGL SESA	360
IFN- α	TDVDYYREWXXXXXXXXX (Xは任意のアミノ酸であってよい)	361

10

20

30

40

50

【表 16-3】

IFN- α 及び IFN- β	GSGTDVDYYREWSWTQV	362
IFN- α 及び IFN- β	GSGTDVDYYREWSWTQVS	363
IFN- α 及び IFN- β	TDVDYYREWSWTQV	364
IFN- α 及び IFN- β	TDVDYYREWSWTQVS	323
IFN- γ	ALTSTEDPEPPSPVPPTNVLIKSYNLNPVVCWEYQNMSQTP IFTVQVKVYSGSWTDSCTNISDHCCNIYEQIMYPDVSAWA RVKAKVGQKESDYARSKEFLMCLKGKVGPPGLEIRRKKEE QLSVLVFHFPEVVVNGESQGTMTFGDGSTCYTFDYTVYVEH NRSGEILHTKHTVEKEECNETLCELNISVSTLDSRYCLSVDG ISSFWQVRTEKSKDVCIPPFHDDRKDS	366
IFN- γ	ASSPDSFSQLAAPLNPRHLHYNDEQILTWEPSPPSSNDPRPVV YQVEYSFIDGSWHRLLEPNCTDITETKCDLTGGGRLKLFPH PFTVFLRVRAKRGNLTSKWVGLEPFQHYENVTVGPPKNIS VTPGKGS�VIHFSPFDVFHGATFQYLVHYWEKSETQQEQ VEGPFKSNSIVLGNLKPVRVYCLQTEAQLILKNKKIRPHGL LSNVSCHETTANASARLQQVILPLGIFALLLGLTGACFTLF LKYQSRVKYWFQAPPNIPEQIEEYLKDPDQFILEVLDDKDG PKEDSWDSVSISSPEKERDDVLQTP	367
IFN- γ	EMGTADLGPSSVPTPTNTVIESYNMNPVYWEYQIMPQVPV FTVEVKNYGVKNSEWIDACINISHHYCNISDHVGDPSNSLW VRVKARVGQKESAYAKSEEFVCRDGGKIGPPKLDIRKEEK QIMIDIFHPSVFVNGDEQEVDYDPETTCYIRVYNVYVRMN GSEIQYKILTQKEDDCDEIQCQLAIPVSSLNSQYCVSAEGL HVWGVTTTEKSKEVCITIFNSSIKG	368
IFN- γ	SQLPAPQHHPKIRLYNAEQVLSWEPVALSNSTRPVVYQVQF KYTDSKWFTADIMSIGVNCTQITATECDFTAASPSAGFPMD FNVTLRLRAELGALHSAWVTMPWFQHYRNVTVGPPENIE VTPGEGSLIIRFSSPFDIADTSTAFFCYVHYWEKGGIQQVK GPFRSNSISLDNLKPSRVYCLQVQAQLLWNKSNIFRVGHLS NISCYETMADASTELQQ	369

10

20

30

40

50

【表 1 6 - 4】

IL-12	CRTSECCFQDPPYPDADSGSASGPRDLRCYRISSDRYEC QYEGPTAGVSHFLRCCLSSGRCCYFAAGSATRLQFSDQAG VSVLYTVTLWVESWARNQTEKSPEVTLQLYNSVKYEPPLG DIKVSCLAGQLRMEWETPDNQVGAEVQFRHRTSPSPWKL GDCGPQDDDTESCLCPLEMNVAQEFQLRRRQLGSQGSSWS KWSSPVCVPPENPPQPQVRFSVEQLGQDGRRLTLKEQPT QLELPEGCQGLAPGTEVTYRLQLHMLSCPCAKATRTHL GKMPYLSGAAYNVAVISSNQFGPGLNQTHIPADTHTEPV ALNISVGTNGTTMYWPARAQSMTCIEWQPVGQDGGGLAT CSLTAPQDPDPAGMATYSWSRESGAMGQEKCYITIFASA HPEKLTWSTVLSTYHFGGNASAAAGTPHHVSVKNHSLDSV SVDWAPSLSTCPGVLKEYVVRCDDESKQVSEHPVQPT TQVTLGLRAGVAYTVQVRADTAWLRGVWSQPQRFSEV QVSDWLIFASLGSFLSILLVGLVGLNRAARHLCPPLPT PC AS S AIEFPGGKETW QWINP VDF QEEASLQEAL VVEMS WDKGERTEPLEKTELPEGAP ELALDTELSLEDGDRCKAKM	370
IL-12	KIDACKRGDVTVKPSHVILLGSTVNITCSLKPRQGC FHYSR RNKLILYKFDRRINFHHGSLNSQVTGLPLGTT LFCVLACI NSDEIQICGAEIFVGVAPEQPQNLSCIQK GEQGT VACTWER GRDTHLYTEYTLQLSGPKNL TWQKQCKDIYCDYLD FGINL TPESPESNFTAKV TAVNSLGSSSSLPSTFTFLDIVRPLPPWDI RIKFQKASVSRCTLYWRDEGLVLLNRLRYRPSNSRL WNMV NVTKAKGRHDLLDLKPFTEYEFQISSKLHLY KGSWSDWSE SLRAQTPEEEPTGMLDVWYMKRHIDY SRQQISLFWKNLSV SEARGKILHYQVTLQELTGGK AMTQNTGHTSWTTVIPRTG NWAVAVSAANSKGSS LPTRINIMNLCEAGLLAPRQVSANS EGMDNILVTW QPPRKDPSAVQEYVVEWRELHPGGDTQVP LNWLRSRPYNVSALISENIKSICYEIRVYALSGDQ GGCSSI LGNSKHKAPLSGPHINAITEEKG SILISWNSIPVQEQMGCLL HYRIYWKERDSNSQ PQLCEIPYRVSN SHPINS LQPRVTYV LWMTALTAAGESSHGNEREFCLQGKANWMAFVAP SICI AII MVGIFSTHYFQKQVFVLLAALRPQWCS REIPDPANSTCAK KYPIAEKTQLPLDRLLIDWPT PEDPEPLVISEVLHQVTPVF RHPPCSNWPQREK GIQGHQASEKDMMHSAASSPPPPRALQA ESRQLVDLYKVLESRGSDPKPENPACPWTVLPAGD LPTHG GYLPSNIDDLPSHEAPLADSL EELEPQHISLSVFPSSSLHPLT FSCGDKLTLDQLKMRCDSLML	371

10

20

30

40

50

【表 1 6 - 5】

IL-12	NIDVCKLGTVTVPAPVPIPLGSAANISCSLNPQGCSHYPSS NELILLKFVNDVLVENLHGKKVHDHTGHSSTFQVTNLSLG MTLFFVCKLNCSNSQKKPPVPVCGVEISVGVAPEPPQNISCV QEGENGTVACSWNSGKVTYLKTNITLQLSGPNNLTCQKQ CFSDNRQNCNRLDLGINLSPDLAESRFIVRVTAINDLGSSS LPHTFTFLDIVIPLPPWDIRINFLNASGSRGTLQWEDEGQVV LNQLRYQPLNSTSWNMVNATNAKGKYDLRDLRPFTEYEF QISSKLHLSGGSWSNWSESLRTRTPEEEPVGILDIWYMKQD IDYDRQQISLFWKSLNPSEARGKILHYQVTLQEVTKKTTLQ NTTRHTSWTRVIPRTGAWTASVSAANSKGASAPTHINIVDL CGTGLLAPHQVSAKSENMDNILVTWQPPKKADSAVREYIV EWRALQPGSITKFPPHWRIPPDNMSALISENIKPYICYEIRV HALSESQGGCSSIRGDSKHKAPVSGPHITAITEKKERLFISW THIPFPEQRGCILHYRIYWKERDSTAQPELCEIQYRRSQNSH PISSLQPRVTYVLWMTAVTAAGESPQGNEREFCPQGKANW KAFVISSICIAIITVGTFISIRYFRQKAFTLLSTLKPQWYSRTIP DPANSTWVKKYPILEEKIQLPTDNLLMAWPTPEEPEPLIHE VLYHMIPVVRQPYYFKRGQGFQGYSTSKQDAMYIANPQA TGTLTAETRQLVNLYKVLESRDPSKLANLTSPLTVTPVNY LPSHEGYLPSNIEDLSPHEADPTDSFDLEHQHISLSIFASSSL RPLIFGGERLTLDRLKMGYDSLMSNEA	372
IL-12	QLGASGPGDGCCVEKTSFPEGASGSPLGPRNLSCYRVSKTD YECSWQYDGPEDNVSHVLWCCFVPPNHTHTGQERCRYFS SGPDRTVQFWEQDGIPVLSKVNFWVESRLGNRTMKSQKIS QYLYNWTKTTPPLGHIKVSQSHRQLRMDWNVSEEAGAEV QFRRRMPTTNWTLGDCGPQVNSGSGVLGDIRGSMSESLC PSENMAQEIQIRRRRLSSGAPGGPWSDWSPVCVPPEVLP QALVPRGS	373

10

20

30

40

50

【表 1 6 - 6】

IL-12	QLGASGPGDGCCVEKTSFPEGASGSPLGPRNLSCYRVSKTD YECSWQYDGPEDNVSHVLWCCFVPPNHTHTGQERCYFYS SGPDRTVQFWEQDGIPVLSKVNFVWVESRLGNRTMKSQKIS QYLYNWTKTTPPLGHIKVSQSHRQLRMDWNVSEEAGA EV QFRRRMPTTNWTLGDCGPQVNSGSGVLGDIRGSMSESLC PSENMAQEIQIRRRRLSSGAPGGPWSDW SMPVCVPPEVLP QAKIKFLVEPLNQGGRRRLTMQGGSPQLAVPEGCRGRPGA QVKKHLVLRMLSCRCQAQTSKTVP LGKKLNLSGATYDL NVLAKTRFGRSTIQKWHLPAQELTETRALNVSVGGNMTS MQWAAQAPGTTYCLEWQPWFQHRNHTHCTLIVPEEEDPA K MVTHSWSSKPTLEQEECYRITVFASKNPKNPMLWATVLS SYYFGGNASRAGTPRHVSVRNQTGDSVSVEWTASQLSTCP GVLTYQYVVRCEAEDGAWESEWLVPPTKTQVTL DGLRSRV MYKVQVRADTARLP GAWSH PQRF SFEVQISRLSIIFASLG SF ASVLLVGS LGYIGLNRAAWHLCPPLPTPGSTAVEFP GSQG KQAWQWCNPEDFPEVLYPRDALVVEMPGDRGDGTESPQA APECALDTRRPLETQRQRQVQALSEARRLGLAREDCPRGD LAHVTLPLLLGGVTQGASVLDDLWRTHKTAEPGPPTLGQE A	374
IL-15	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDGALQDTSCQVHAWP DRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVT LRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRLMAPISLQVVH VET HRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTL KQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQP LAFRTKPAALGKDT	375
IL-15	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSL TECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRD PALVHQR PAPP	376
IL-15	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSL TECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRD P	377
IL-15	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSL TECVLNKATNVAHWTTPSLKCIR	378
IL-15	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSL TECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRD PALVHQR PAPPSTVTT AGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAAIVPGSQLMP SKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGV YPQGHSDTT	379
IL-15	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSL TECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRD PALVHQR PAPPSTVTT AGVTPQPESLSPSGKEPAAS	380

10

20

30

40

50

【表 1 6 - 7】

IL-15	ITCPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSL TECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAAPS	381
IL-15	MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEH ADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATN VAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAAPPSTVTTAGVTPQPESLS PSGKEPAASSPSSNNTAATTAAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEIS SHESSHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTV AISTSTVLLCGLSAVSLACYLKSRQTPPLASVEMEAMEAL PVTWGTSSRDEDLENCSSHL	382
IL-2	AVKNCSHLECFYNSRANVSCMWSHEEALNVTTCCHVHAKS NLRHWNKTCELTLVRQASWACNLILGSFPESQSLTSVDLL DINVVCWEEKGWRRVKTCDFHPFDNLRLVAPHSQVLHID TQRCNISWKVSQVSHYIEPYLEFEARRRLLGHSWEDASVLS LKQRQQWLFLEMLIPSTSYEVQVRVKAQRNNTGTW SPW SQPLTFRTRPADPMKE	383
IL-2	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDQALQDTSCQVHAWP DRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVT LRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRLMAPISLQVVHVET HRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTL KQKQEWICL ETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTKPAA LGKDT	384
IL-2	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDQALQDTSCQVHAWP DRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVT LRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRLMAPISLQVVHVET HRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTL KQKQEWICLETLTPDTQYEF QVRVKPLQ	385
IL-2	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDQALQDTSCQVHAWP DRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVT LRVLCREGVRWRVMAIQDF	386
IL-2	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDQALQDTSCQVHAWP DRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVT LRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRLMAPISLQVVHVET HRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTL KQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQP LAFRTKPAALGKD	387

10

20

30

40

50

【表 1 6 - 8】

IL-2	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQVHAWP DRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVT LRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVET HRSNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLK QKQEWISLETLPDQTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPL AFRTKPAALGKD	388
IL-2	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQVHAWP DRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVT LRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVET HRSNISWEISQASHYFEDHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTL KWKQEWISLATLPDQTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQP LAFRTKPAALGKD	389
IL-2	CGGHQYERRGGC	390
IL-2	CGGHYFERHGGC	391
IL-2	CQKLTTVDIC	392
IL-2	CSFHQYERHEGC	393
IL-2	CSGHQYERREGC	394
IL-2	CSGHYFERHEGC	395
IL-2	CSHYFERC	396
IL-2	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPA SISRSSQSLLSHNGYNYLDWY LQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGAGTDFTLKLISR VEAEDVG VYYCMQALQTPLTFGGG TKVEIKR	397
IL-2	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISRSSQSLVHSDGNTYLSWL QQRPGQPPRLLIYKISNRFS GVPDRFSGSGAGTDFTLKISR V EAEDVG VYYCMQATQFPTFGQG TKVEIKR	398
IL-2	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISRSSQSLVHSDGNTYLSWL QQRPGQPPRLLIYKISNRFS GVPDRFSGSGAGTDFTLKISR V EAEDVG VYYCMQTSQFPTFGQG TKVEIKR	399
IL-2	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISRSSQSLVHSDGNTYLSWL QQRPGQPPRLLIYKISNRFS GVPDRFSGSGAGTDFTLKISR V EAEDVG VYYCMQTTQFPTFGQG TKVEIKR	400
IL-2	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISRSSQSLVHSDGNTYLSWL QQRPGQPPRLLIYKISNRFS GVPDRFSGSGAGTDFTLKISR V EAEDVG VYYCMQVTQFPTFGQG TKVEIKR	401

10

20

30

40

50

【表 16 - 9】

IL-2	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF AVYYCQQYGSSPLTFGGGTKVEIKR	402
IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTILNCECKRGFRRIKSGS LYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQI QTEMAATMETSIFTTEYQ	403
IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTILNCECKRGFRRIKSGS LYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSC	404
IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTILNCECKRGFRRIKSGS LYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKP	405
IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTILNCECKRGFRRIKSGS VYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQI QTEMAATMETSIFTTEYQ	406
IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTILNCECKRGFRRIKSGS VYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSC	407
IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTILNCECKRGFRRIKSGS VYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKP	408

10

20

30

40

50

【表 16 - 10】

IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKEL VYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQI QTEMAATMETSIFTTEYQ	409
IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKEL VYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSC	410
IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKEL VYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKP	411
IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS LYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTS	412
IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS LYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGE	413
IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS LYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQI QTEMAATMETSIFTTEYQ	414
IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS LYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSC	415

10

20

30

40

50

【表 1 6 - 1 1】

IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS LYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKP	416
IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS LYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQI QTEMAATMETSIFTTEYQ	417
IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS LYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTG	418
IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS LYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICT	419
IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS LYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQI QTEMAATMETS	420
IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS LYMLCTGSSSHSSWDNQCQCTSSATRSTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGE	421
IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS VYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQI QTEMAATMETSIFTTEYQ	422

10

20

30

40

50

【表 1 6 - 1 2】

IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS VYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSC	423
IL-2	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS VYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKP	424
IL-2	ELCLYDPPEIPHATFKAMAYKEGTILNCECKRGFRRIKSGSL YMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKE RKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFV VGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQ LICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQ TEMAATMETSIFTTEYQ	425
IL-2	ELCLYDPPEIPHATFKAMAYKEGTILNCECKRGFRRIKSGSL YMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKE RKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFV VGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQ LICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSC	426
IL-2	ELCLYDPPEIPHATFKAMAYKEGTILNCECKRGFRRIKSGS VYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQI QTEMAATMETSIFTTEYQ	427
IL-2	ELCLYDPPEIPHATFKAMAYKEGTILNCECKRGFRRIKSGS VYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSC	428

10

20

30

40

50

【表 1 6 - 1 3】

IL-2	ELCLYDPPEIPHATFKAMAYKEGTILNCECKRGFRRIKSGS VYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKP	429
IL-2	ELCLYDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS LYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSC	430
IL-2	ELCLYDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS LYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSC	431
IL-2	ELCLYDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS LYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKP	432
IL-2	ELCLYDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS VYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSC	433
IL-2	ELCLYDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS VYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSC	434

10

20

30

40

50

【表 1 6 - 1 4】

IL-2	ELCLYDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGS VYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQK ERKTTMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHF VVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTGEMETSQFPGEEKP	435
IL-2	ELCLYDPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTS	436
IL-2	ELCLYDPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQT TTDMQKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSKRIYHFVEG QSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCV DEREHRFLASEESQGSRNSSPESETSCPITTTDFPQPTETTA MTETFVLTMEYK	437
IL-2	ELCLYDPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQT TTDMQKPTQSMHQENLTGHCREPPPWKHEDSKRIYHFVEG QSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCV DEREHRFLASEESQGSRNS SPESETSCPITTTDFPQPTETTAMTETFVLTMEYK	438
IL-2	ELCLYDPPEVPNATFKALSYKNGTILNCECKRGFRRLKELV YMRCLGNSWSSNCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTT EMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQM VYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTG EMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMA ATMETSIFTTEYQ	439
IL-2	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQM PGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQ WSSLKASDTAMY YCARQQVAGMLDYWGQGT TVTVSS	440
IL-2	GMLSLAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQV HAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTT VDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLR LMAPISLQV VHVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEA PLLT LKQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQAFRTL TGH	441

10

20

30

40

50

【表 1 6 - 1 5】

IL-2	GMLSLELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFR RIKSGSLYMLCTGSSSHSSWDNQCQCTSSATRSTTKQVTPQ PEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATE RIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGE	442
IL-2	GMLSLELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFR RIKSGSLYMLCTGSSSHSSWDNQCQCTSSATRSTTKQVTPQ PEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATE RIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEAS	443
IL-2	GMLSLELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFR RIKSGSLYMLCTGSSSHSSWDNQCQCTSSATRSTTKQVTPQ PEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATE RIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEASGGGGHHHHHH	444
IL-2	GMLSLELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFR RIKSGSLYMLCTGSSSHSSWDNQCQCTSSATRSTTKQVTPQ PEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATE RIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEAS	445
IL-2	GMLSLELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFR RIKSGSLYMLCTGSSSHSSWDNQCQCTSSATRSTTKQVTPQ PEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATE RIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKT RWTQPQLICTGEASGGGGHHHHHH	446
IL-2	LNTTILTPNGNEDTTADFFLTMTPTDSLSVSTLPLPEVQCFV FNVEYMNCTWNSSSEPQPTNLTLHYWYKNSDNDKVQKCS HYLFSEEITSGCQLQKKEIHLTYQTFVVQLQDPREPRRQATQ MLKLQNLVIPWAPENLTLHKLSESQLELNWNNRFLNHCLE HLVQYRTDWDHSWTEQSVDYRHKFSLPSVDGQKRYTFRV RSRFNPLCGSAQHWSEWSHPIHWGSNTSKENPFLFALEAV	447

10

20

30

40

50

【表 16 - 16】

IL-2	MDSYLLMWGLLT FIMVPGCQAE LCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQVAVAGCVFLLISVLLLSGLTWQRRQRKSRRTI	448
IL-2	MLSLELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGSSSHSSWDNQCQCTSSATRSTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGE	449
IL-2	QKLTTVDI	450
IL-2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVTVIWYDGSNEY YADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAREDWLGEADYGMDVWGQGTTVTVSS	451
IL-2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVTVIWYDGSNEY YADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARDGEQWRGFDYWGQGTTVTVS S	452
IL-2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVTVIWYDGSNEY YADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARDQE QWRLAFDYWGQGTTVTVSS	453
IL-2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVTVIWYDGSNEY YADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARGAVAGTGRDY YYYGMDVWGQGTTVTVSS	454
IL-2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVTVIWYDGSNEY YADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARGSY YDSSGYYYGEDFDYWGQGTTVTVSS	455
IL-2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVTVIWYDGSNEY YADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAREEWELEDY GMDVWGQGTTVTVSS	456

10

20

30

40

50

【表 16 - 17】

IL-2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQA PGKGLEWVTVIWYDGSNEYYSADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARDNWGSDAFDIWGQGTTVTVSS	457
IL-2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQA PGKGLEWVTVIWYDGSNEYYSADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARDDFWGEADYGMDVWGQGTT TVSS	458
IL-2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQA PGKGLEWVTVIWYDGSNEYYSADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARRISITPFDYWQGTTVTVSS	459
IL-2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQA PGKGLEWVTVIWYDGSNEYYSADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARDDFWSDYPFDYWQGTTVTV SS	460
IL-2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQA PGKGLEWVTVIWYDGSNEYYSADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAREEFWGEADYGMDVWGQGTTV TVSS	461
IL-2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQA PGKGLEWVTVIWYDGSNEYYSADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARGSYDSSGYFFGEDFDYWGG GTTVTVSS	462
IL-2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQA PGKGLEWVTVIWYDGSNEYYSADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARGTVAGTGRDY YYGMDVWG QGTTVTVSS	463
IL-2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQ APGKGLEWVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAREDFDSHYGMDVWGQGTTV TVSS	464
IL-2	SHYFER	465
IL-2	TLPLPEVQCFVFNVEYMNCTWNSSSEPQPTNLT LHYWYKN SDNDKVQKCSHYLFSEEITSGCQLQKKEIHL YQTFVVQLQD PREPRRQATQMLKLQNLVIPWAPENLT LHKLSQSLELNW NNRFLNHCLEHLVQYRTDWDHSWTEQSVDYRHKFSLPSV DGQKRYTFRVRSR FNPLCGSAQHWSEWSHPIHWGSNT	466
IL-2	TLPLPEVQCFVFNVEYMNCTWNSSSEPQPTNLT LHYWYKN SDNDKVQKCSHYLFSEEITSGCQLQKKEIHL YQTFVVQLQD PREPRRQATQMLKLQNLVI	467

10

20

30

40

50

【表 16 - 18】

IL-2	WSSKVLMSANEDIKADLILTSTAPEHLSAPTLPLPEVQCFV FNIEYMNCTWNSSSEPQATNLTLYHYRYKVSDNNTFQEC SHYLFSKEITSGCQIQKEDIQLYQTFVVQLQDPQKPQRR AVQKLNLQNLVIPRAPENLTLSNLSQLELRWKSRIKERCL QYLVQYRSNRDRSWTELIVNHEPRFSLPSVDELKRYTFR VRSRYNPICGSSQQWSKWSQPVHWGSHTVEENPSLFALEA	468
IL-2 及び IL-15	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDQALQDTSCQVHAWP DRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVT LRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVET HRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTL KQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQP LAFRTKPAALGKDTGGGGSGGGSGGGSGGGSSISSGLSSGGS GGSLSGRSDNHGGGGSGGGGSLNTTILTPNGNEDTTADFFL TTMPTDSLVSSTLPLPEVQCFVFNVEYMNCTWNSSSEPQPT NLTLYHYWYKNSDNDKVKCSHYLFSEEITSGCQLQKKEIHL YQTFVVQLQDPPRRQATQMLKLQNLVIPWAPENLTLHK LSESQLELNWNNRFLNHCLEHLVQYRTDWDHSWTEQSVD YRHKFSLPSVDGQKRYTFRVRSRFPNPLCGSAQHWSEWSHP IHWGSNTSKENPFLFALEA	469
IL-2 及び IL-15	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDQALQDTSCQVHAWP DRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVT LRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVET HRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTL KQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQP LAFRTKPAALGKDTGGGGSGGGSGGGSGGGSSISSGLSSGGS GGSLSGRSDNHGGGGSGGGGSAVNGTSQFTCFYNSRANIS CVWSQDQALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQAS WACNLILGAPDSQKLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQD FKPFENLRMAPISLQVVHVETHRCNISWEISQASHYFERH LEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPDTQYE FQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTKPAALGKDT	470
IL-2 及び IL-15	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDQALQDTSCQVHAWP DRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPESQKLTTVDIVT LRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVET HRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTL KQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQP LAFRTKPAALGKDT	471

10

20

30

40

50

【表 16 - 19】

IL-2 及び IL-15	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDGALQDTSCQVHAWP DRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDHQKLTTVDIVT LRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRLMAPISLQVVHVET HRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTL KQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQP LAFRTKPAALGKDT	472
IL-2 及び IL-15	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDGALQDTSCQVHAWP DRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTQDIVT LRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRLMAPISLQVVHVET HRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTL KQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQP LAFRTKPAALGKDT	473
IL-2 及び IL-15	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDGALQDTSCQVHAWP DRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTFDIVTL RVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRLMAPISLQVVHVETH RCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLK QKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPL AFRTKPAALGKDT	474
IL-2 及び IL-15	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDGALQDTSCQVHAWP DRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVT LRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRLMAPISLQVVHVET HRCNISWEISQASHYFQRHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTL KQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQP LAFRTKPAALGKDT	475
IL-2 及び IL-15	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDGALQDTSCQVHAWP DRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVT LRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRLMAPISLQVVHVET HRCNISWEISQASHYFQRRLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTL KQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQP LAFRTKPAALGKDT	476
IL-2 及び IL-15	AVNGTSQFTCFYNSYANISCVWSQDGALQDTSCQVHAWP DRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVT LRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRLMAPISLQVVHVET HRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTL KQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQP LAFRTKPAALGKDT	477

【表 16-20】

IL-2、IL-15、及び IL-21	LNTILTTPNGNEDTTADFFLTMTPTDSLVSSTLPLPEVQCFV FNVEYMNCTWNSSSEPQPTNLTLYHYWYKNSDNDKVQKCS HYLFSEEITSGCQLQKKEIHL YQTFVVQLQDPREPRRQATQ MLKLQNLVIPWAPENLT LHKLSSESQLELNWNNRFLNHCLE HLVQYRTDWDHWSWTEQSV D YRHKFS LPSVDGQKRYTFRV RSR FNPLCGSAQHWSEWSHPIHWGSNTSKENPFLFALEA	478
IL-21	CPDLVCYTDYLTQTVICILEMWNLHPSTLTLTWQDQYEELK DEATSCSLHRS AHNATHATYTCHMDVFHFMADDIFSVNIT DQSGNYSQECGSFLLAESIKPAPPFNVTVTFSGQYNISWRS DYEDPAFYMLKGKQLQYELQYRNRGDPWAVSPRRKLISVD SRSVSLLPLEFRK DSSYELQVRAGPMPGSSYQGTWSEWSD PVIFQTQSEELKE	479

10

【0562】

他の実施形態

本発明を上記の発明を実施するための形態に関連して説明してきたが、前述の説明は例示を意図しており、本発明の範囲を限定するものではなく、本発明の範囲は、添付の特許請求の範囲によって定義されることを理解されたい。他の態様、利点及び修正は、以下の特許請求の範囲に含まれる。

20

【図面】

【図 1】

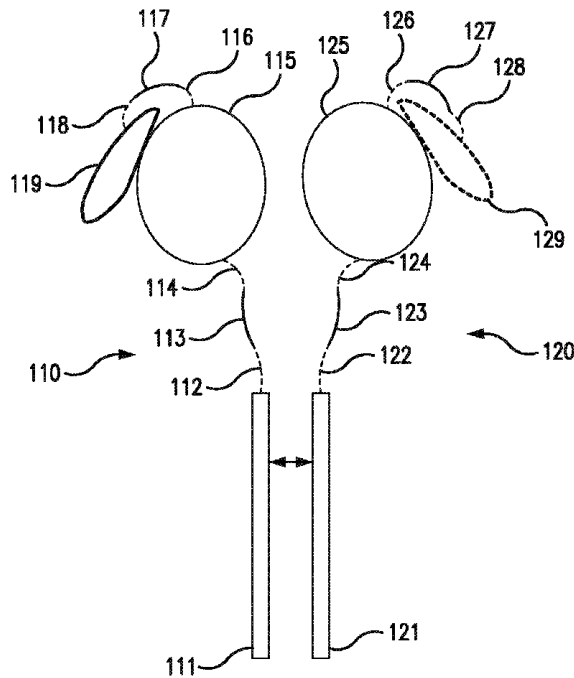


FIG. 1

【図 2】

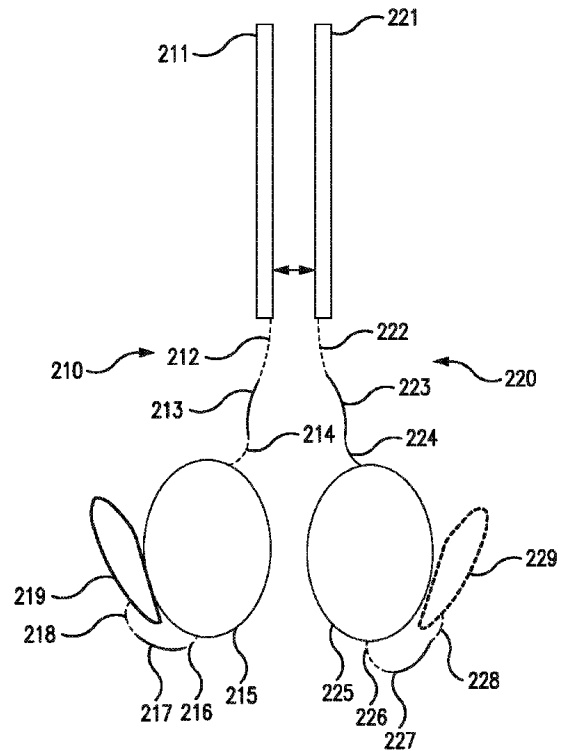


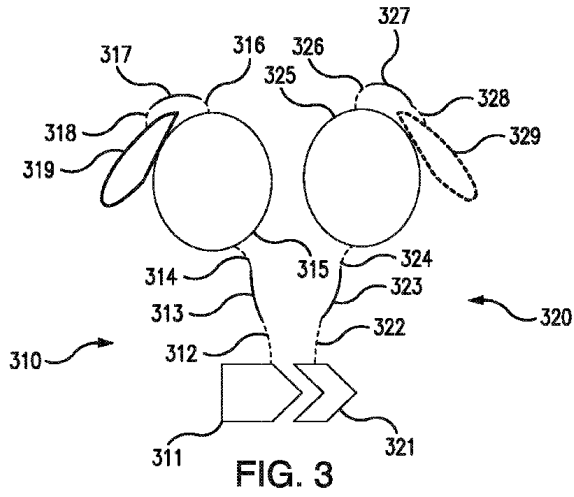
FIG. 2

30

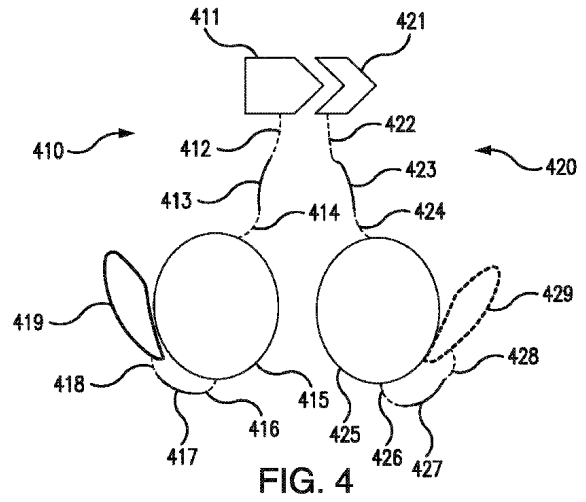
40

50

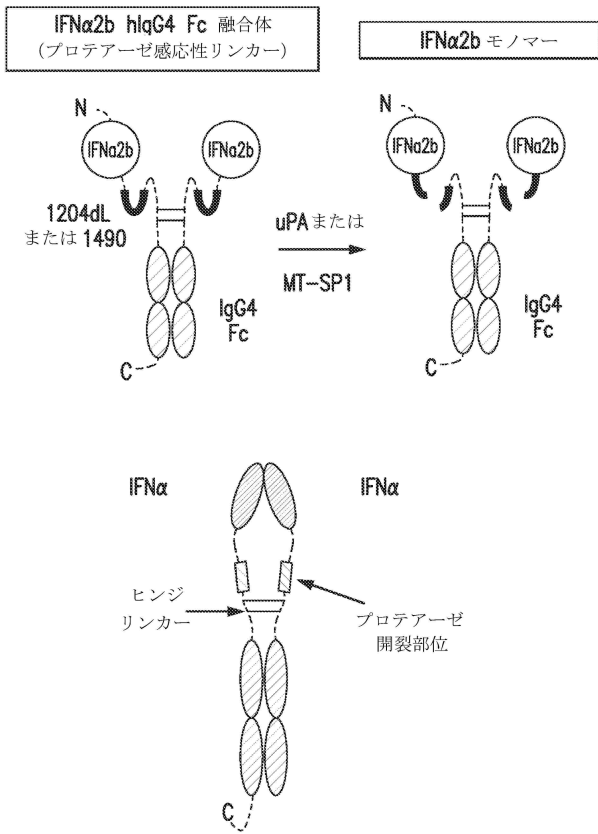
【図 3】



【図 4】



【図 5】



【図 6 A】

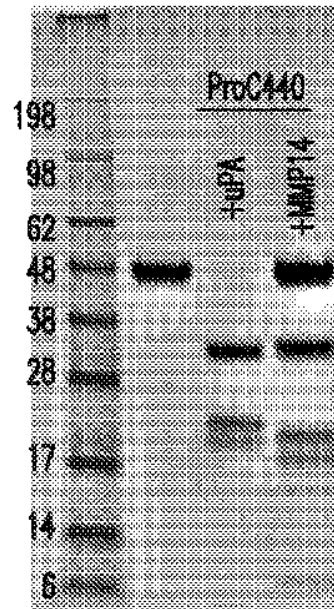
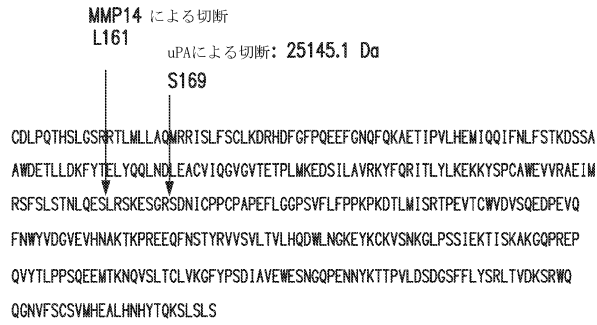


FIG. 6A

【図 6 B】

ProC440 LC-MS データ :



【図 6 C】

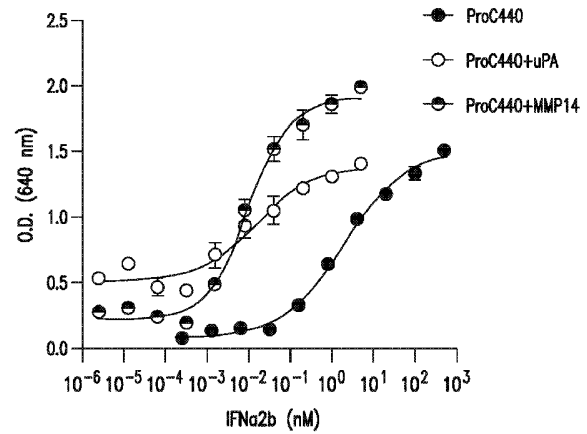
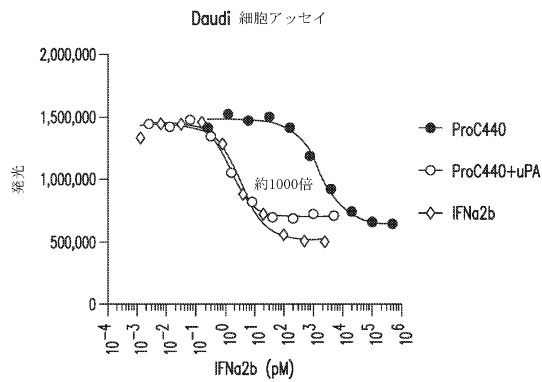
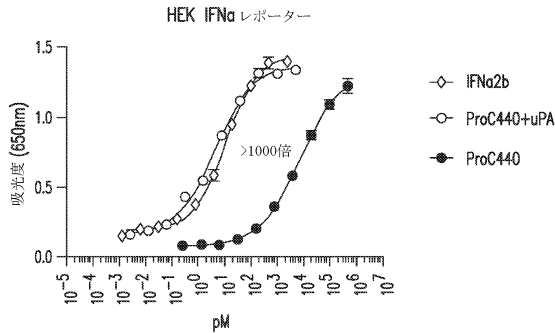


FIG. 6C

【図 7】



【図 8】

METDTLLLVVLLLVPGSTG

QSGQTDVDYIREWSWTQVSGSSGGSLSGRSDNIGSGGSCDLPQTHSLG

SRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHE

MIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELQQLNDLEACVIQGVGT

ETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSL

TNLQESLSRKELSGRSDNICPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS

RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV

VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYT

LPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL

DSGGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLS

(ProC732)

FIG. 8

10

20

30

40

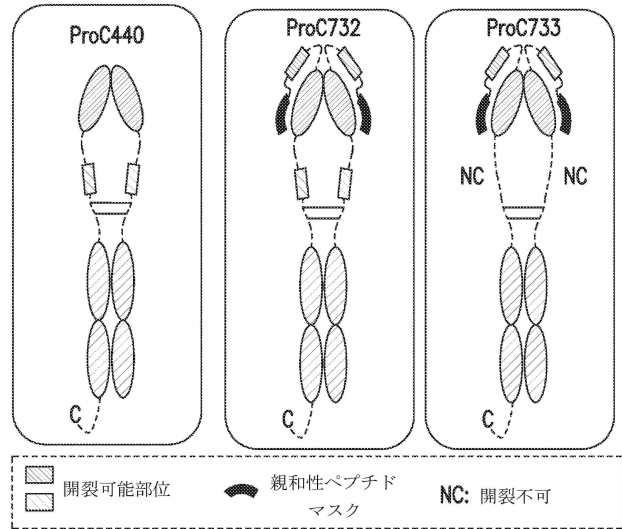
50

【図 9】

METDTLLLVWLLWVPGSTG
 QSGQTDVDYYREWSWTQVSGSSGGSLSGRSDNIGSGGSCDLPQTHSLG
 SRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHE
 MIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVT
 ETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSL
 TNLQESLRSKEESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
 TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV
 SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD
 SDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLS
 (ProC733)

FIG. 9

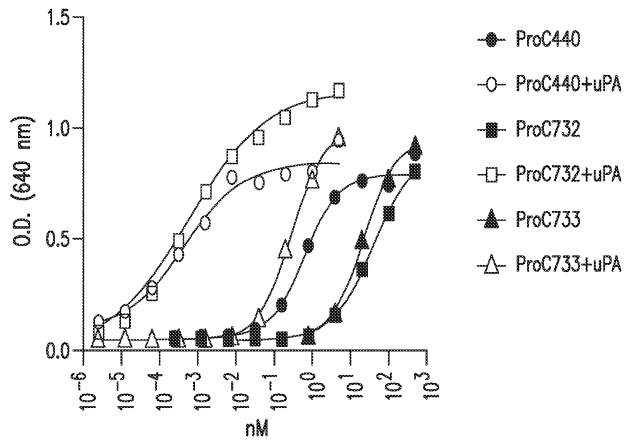
【図 10 A】



10

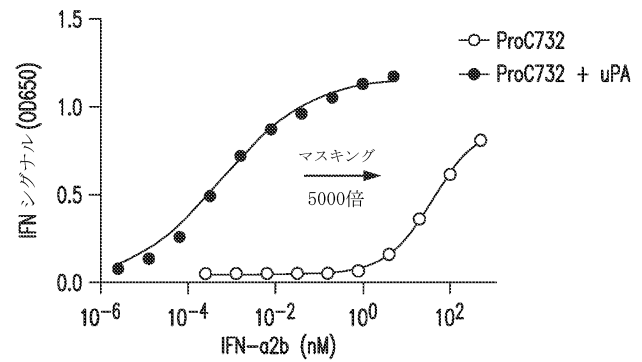
【図 10 B】

HEK レポーターアッセイ



【図 10 C】

インターフェロン経路活性化



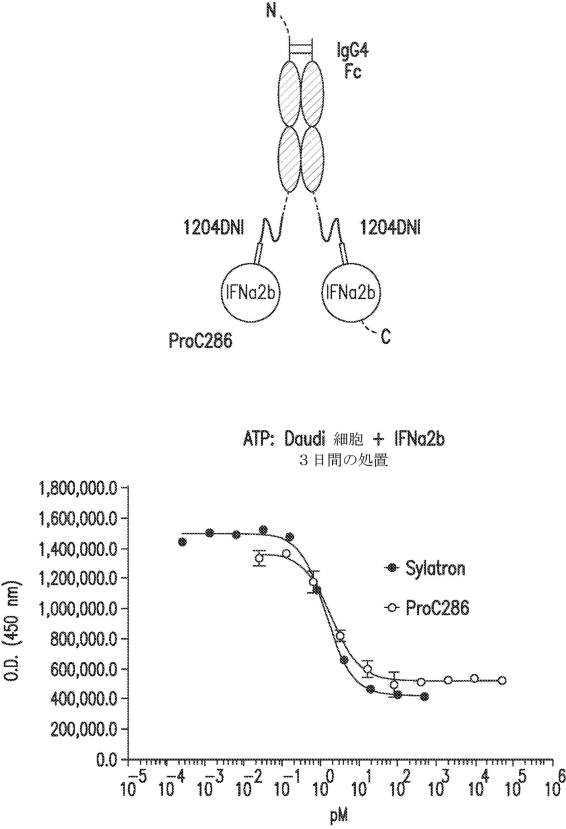
20

30

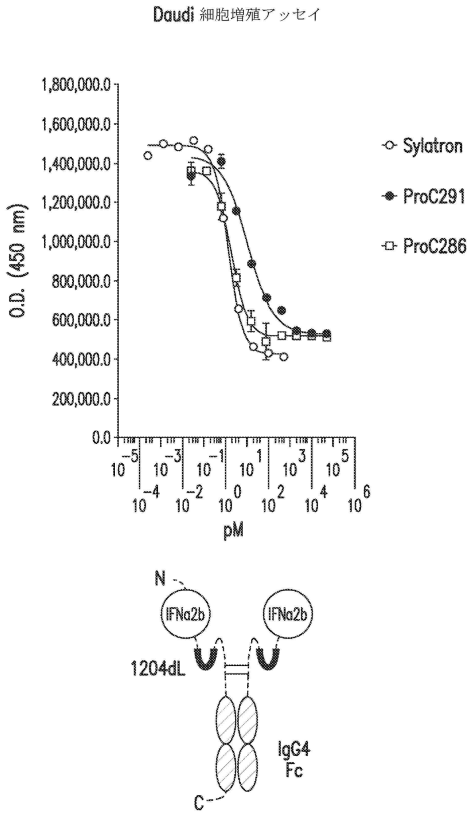
40

50

【図 1 1 A】



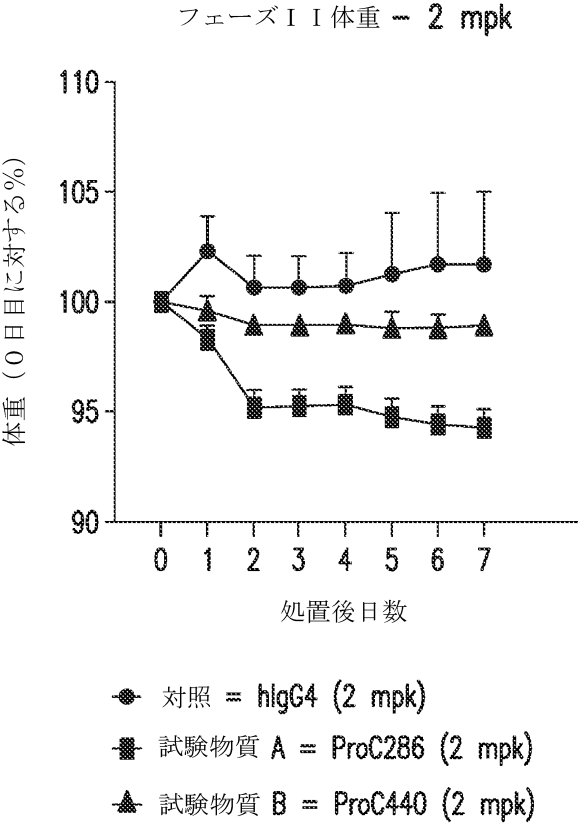
【図 1 1 B】



【図 1 2】

ProC440	1.3×10^7 U/mg	7.68 mpk
PEG-IFNa2b (Sylatron)	0.7×10^8 U/mg	1.43 mpk
ProC440+uPA	3.5×10^8 U/mg	0.288 mpk
IFNa 対照	$1-2 \times 10^9$ U/mg	0.1 mpk *
比活性	予測される毒性用量	

【図 1 3 A】



10

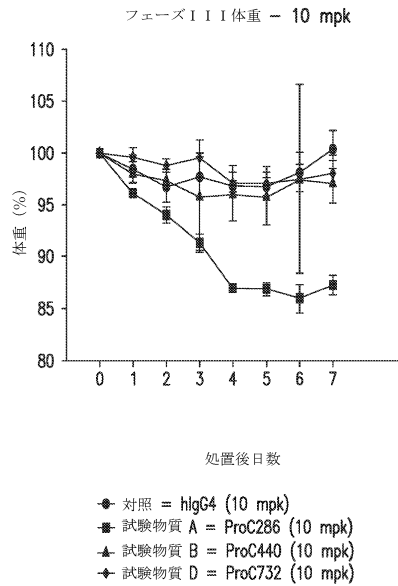
20

30

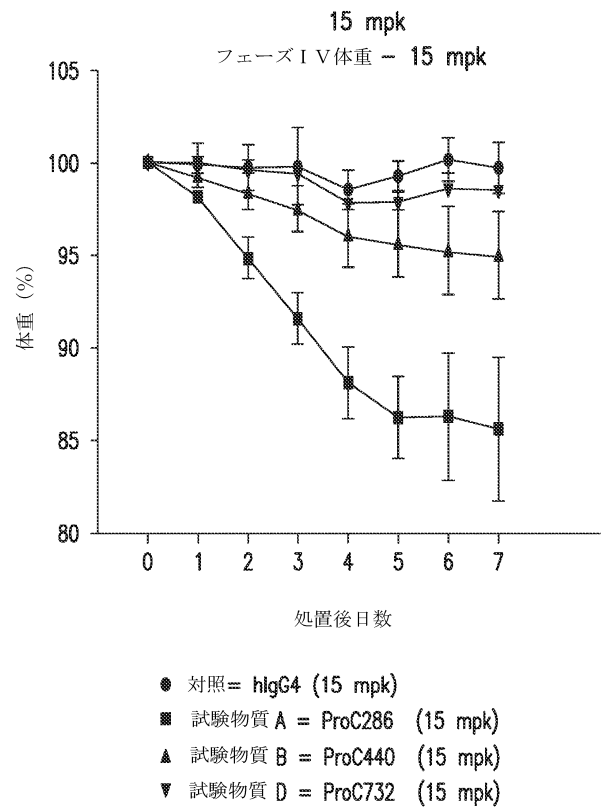
40

50

【図 13 B】



【図 13 C】



【図 13 D】

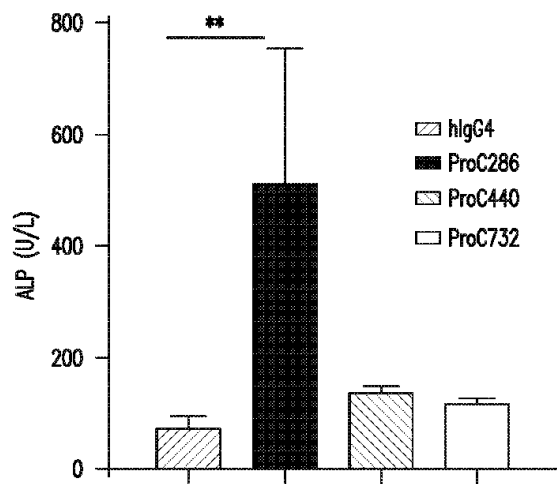
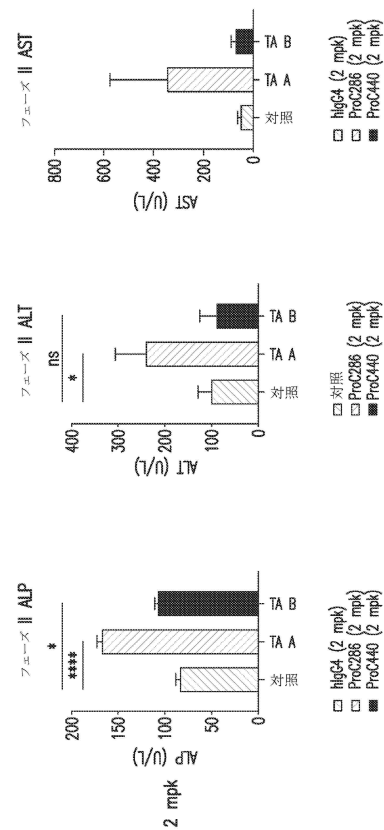


FIG. 13D

【図 14 - 1】



10

20

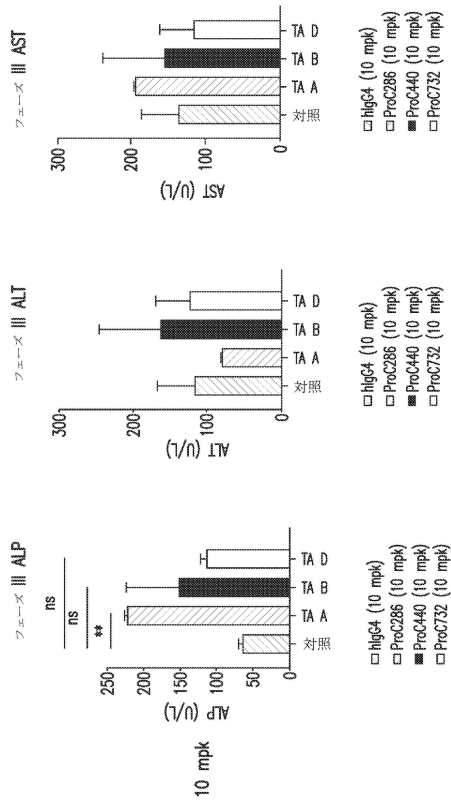
30

40

50

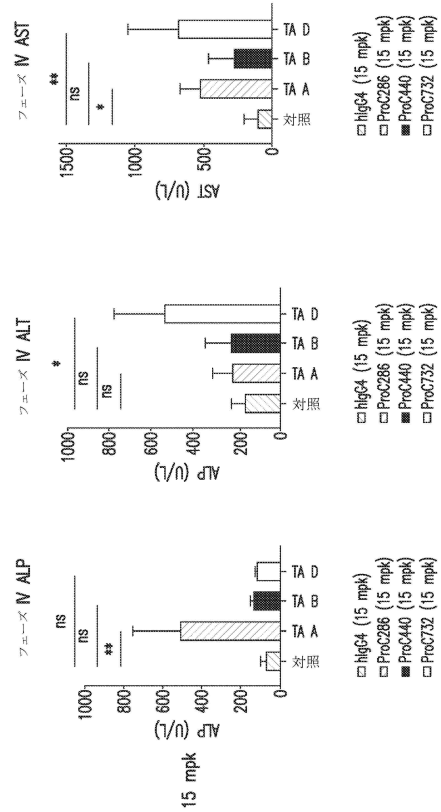
【図 1 4 - 2】

(続き)



【図 1 4 - 3】

(続き)

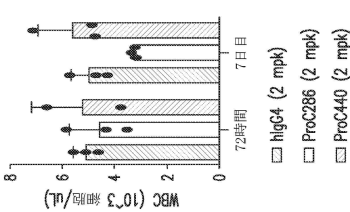


10

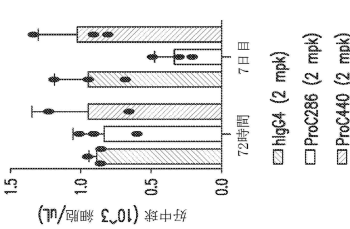
20

【図 1 5 - 1】

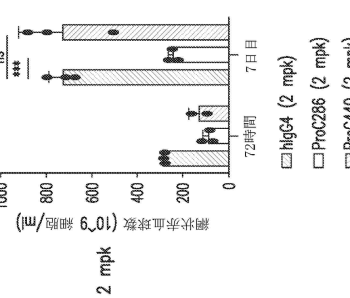
フェーズ2-WBC数



フェーズ2-好中球数

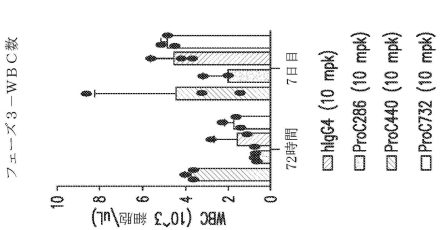


フェーズ2-網状赤血球数

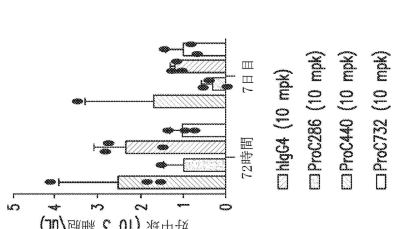


【図 1 5 - 2】

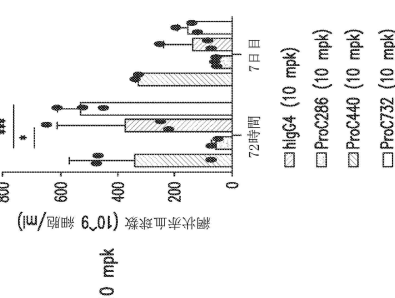
(続き)



フェーズ3-好中球数



フェーズ3-網状赤血球数



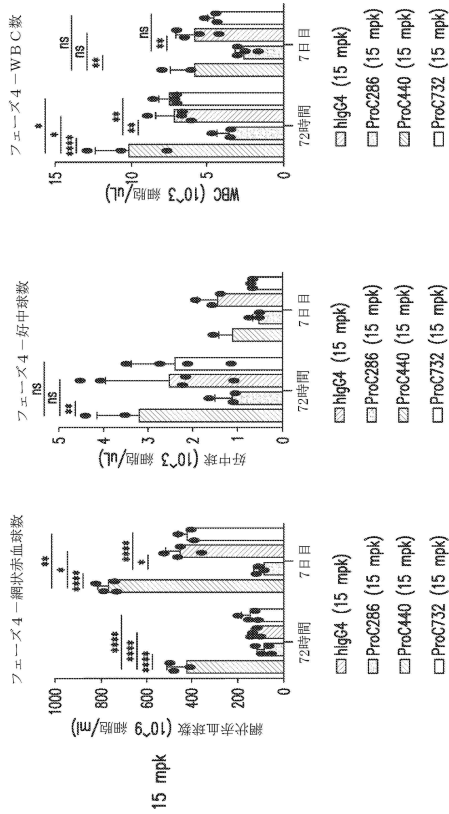
30

40

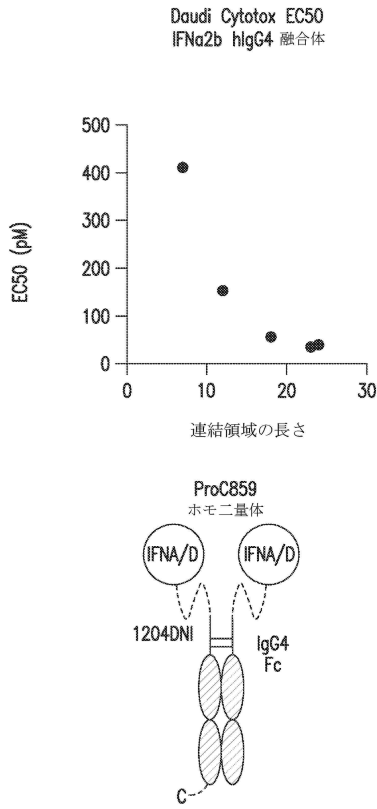
50

【図 15 - 3】

(続き)



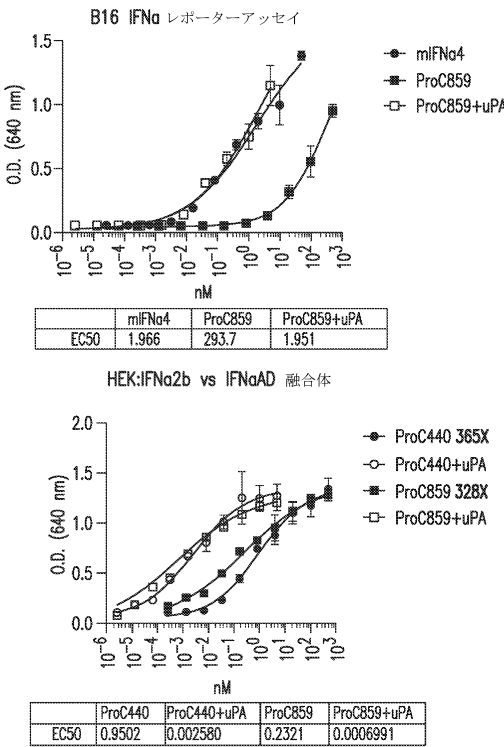
【図 16】



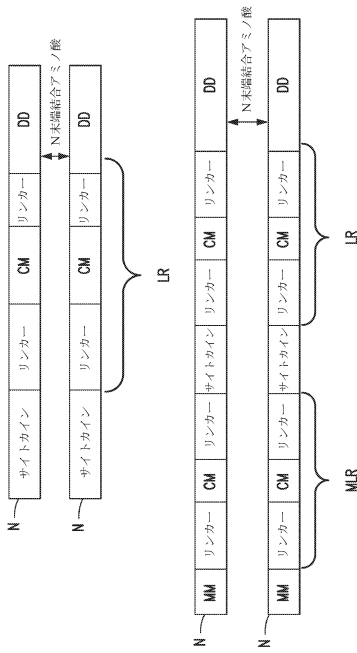
10

20

【図 17】



【図 18】

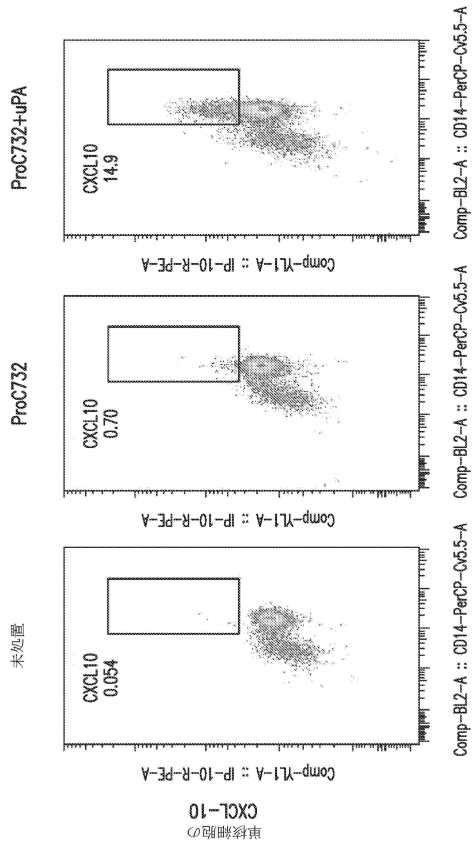


30

40

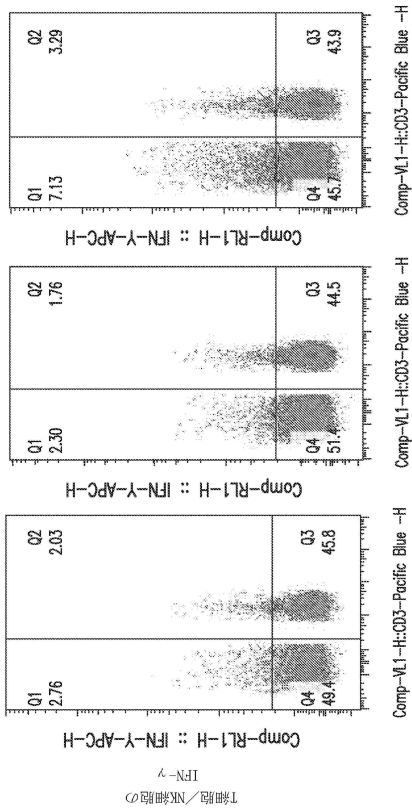
50

【図 19 - 1】



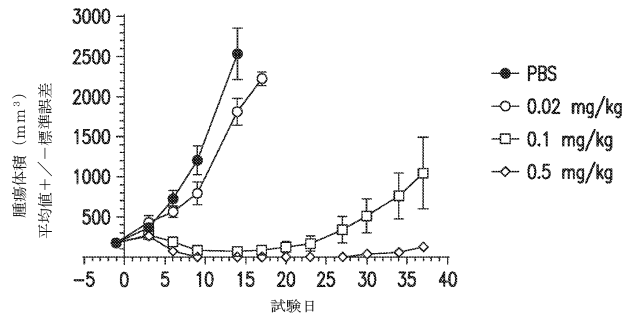
【図 19 - 2】

(続き)



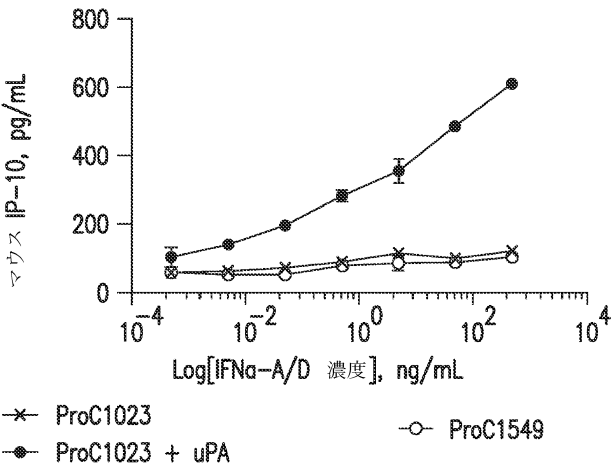
【図 20】

腫瘍成長抑制



【図 21】

IFNa-A/Dによるマウス脾細胞のインビトロ活性化



10

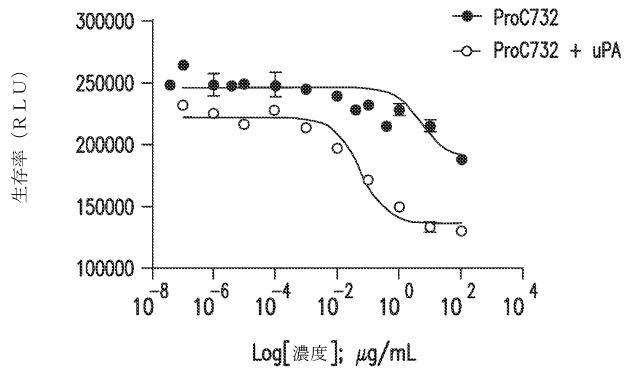
20

30

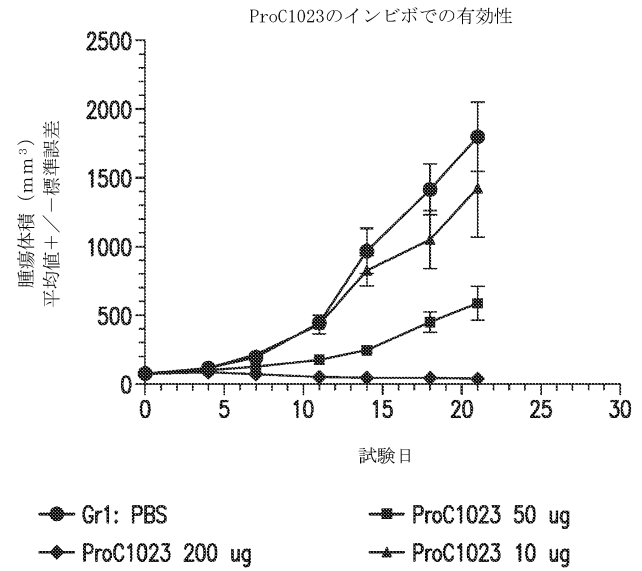
40

50

【図 2 2】

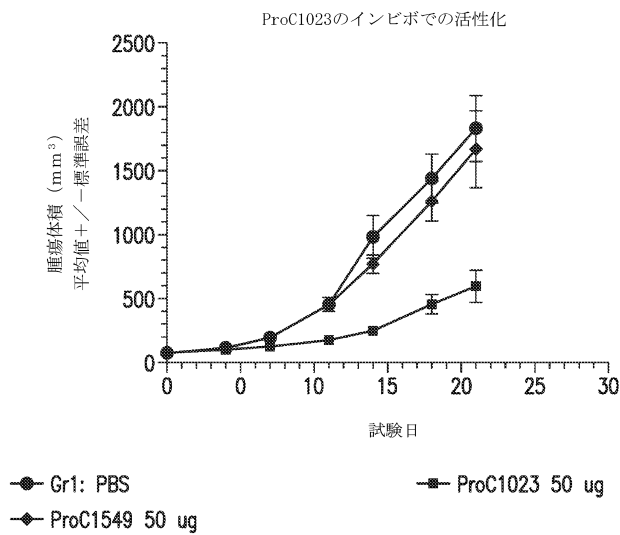


【図 2 3 A】

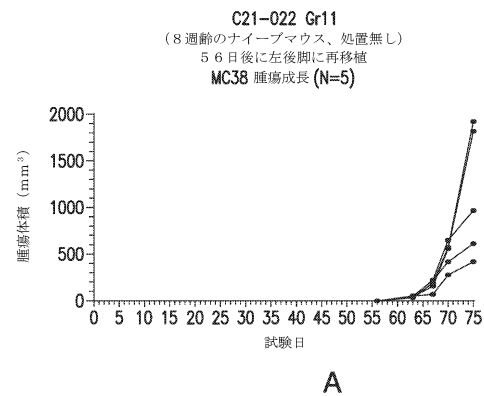


10

【図 2 3 B】



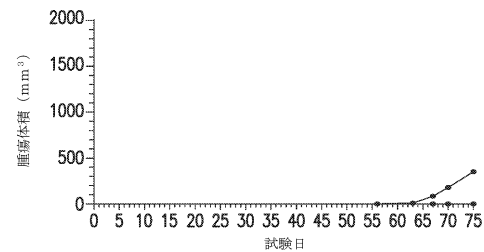
【図 2 4】



30

A

C21-022 -Gr2 (ProC1023 200ug)
5 6 日後に左後脚に再移植
MC38 腫瘍成長 (N=3)

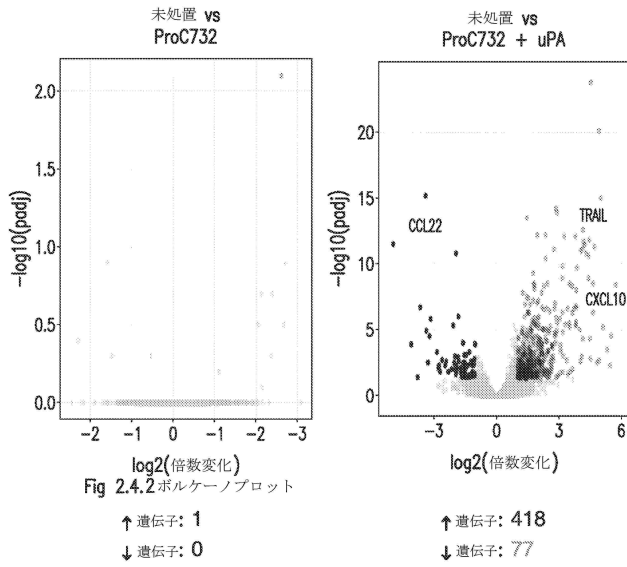


40

B

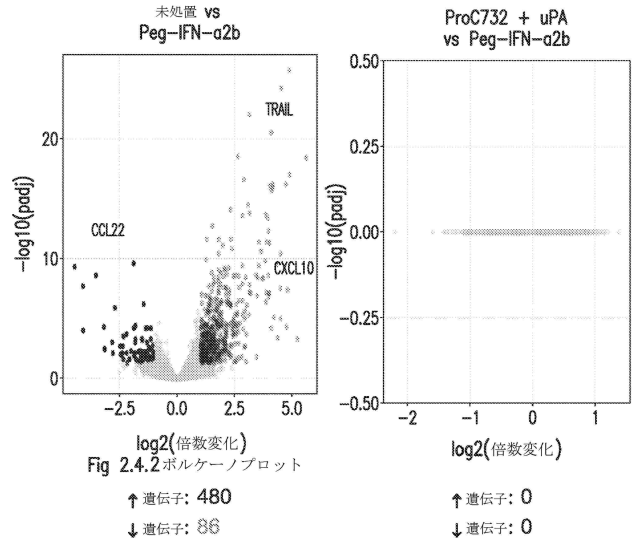
50

【図 25-1】



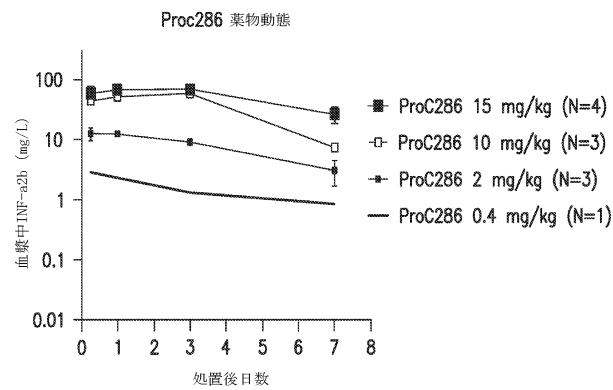
【図 25-2】

(続き)



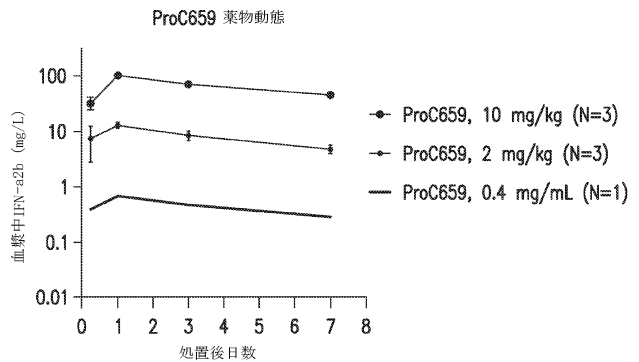
10

【図 26-1】



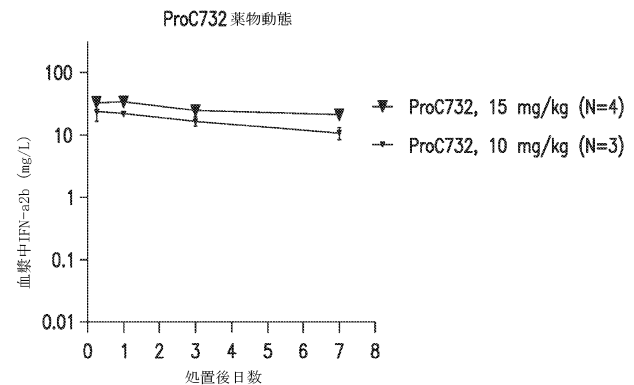
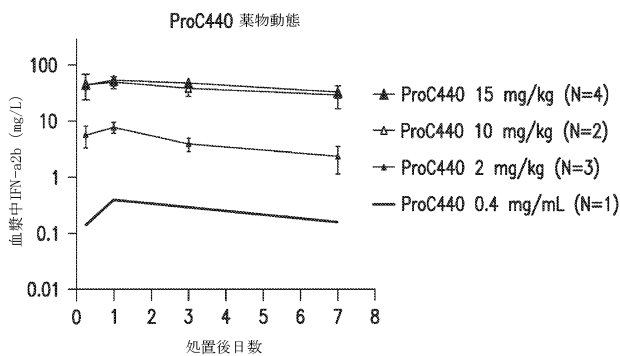
【図 26-2】

(続き)



20

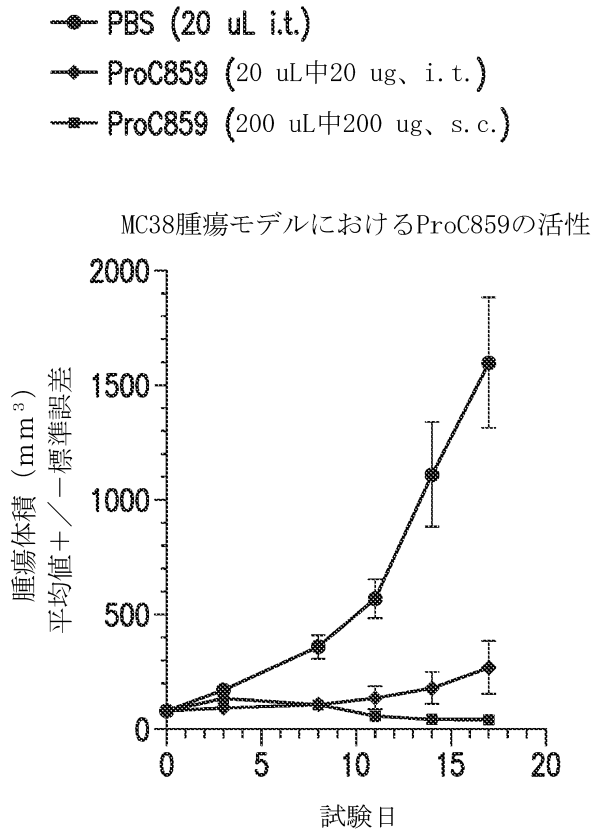
30



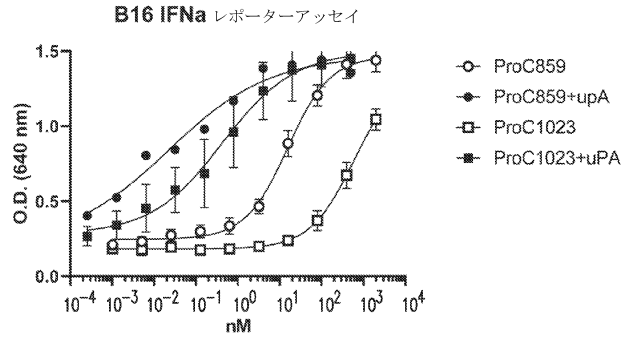
40

50

【図 2 7】



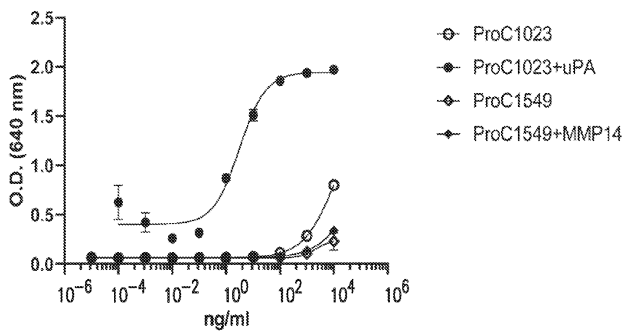
【図 2 8 A】



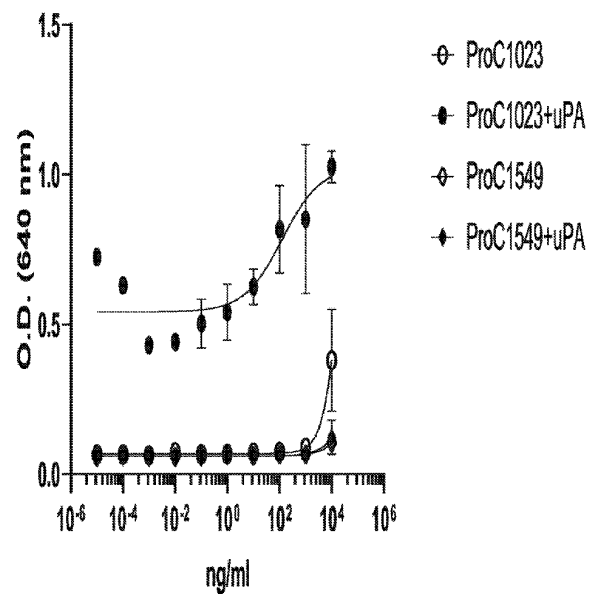
10

20

【図 2 8 B】



【図 2 8 C】



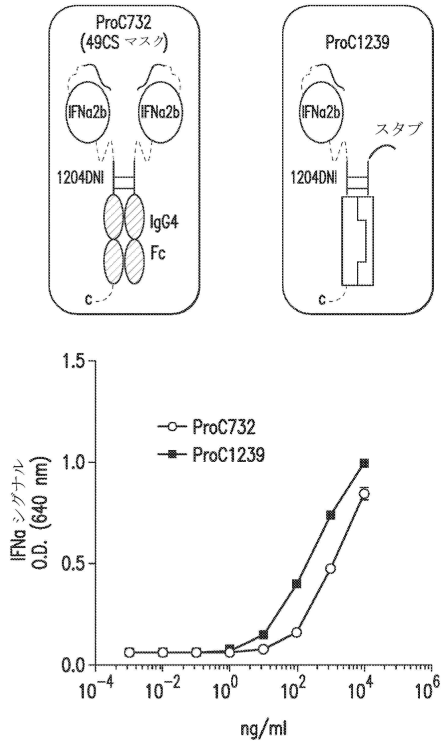
30

40

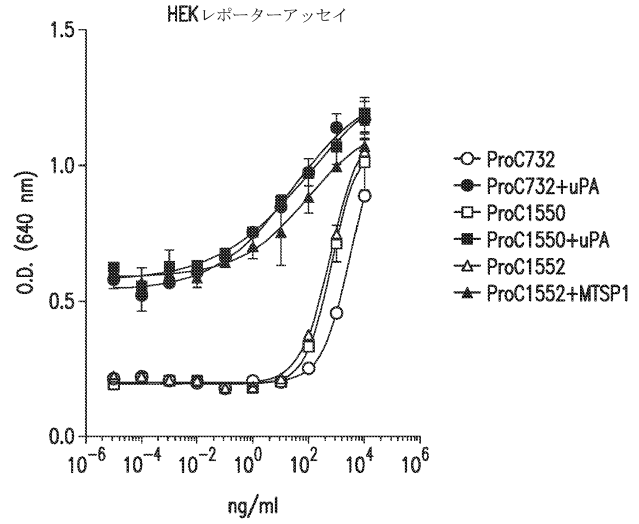
FIG. 28C

50

【図 29】



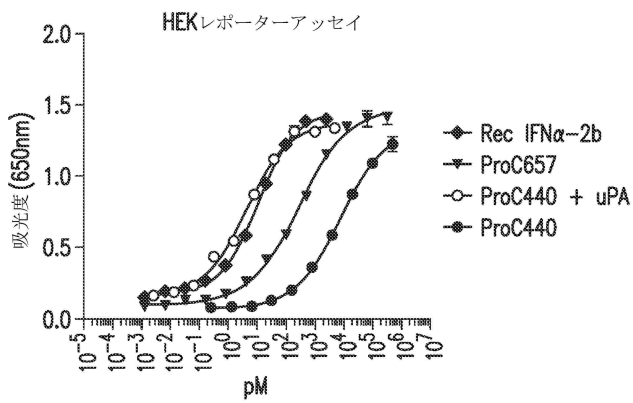
【図 30】



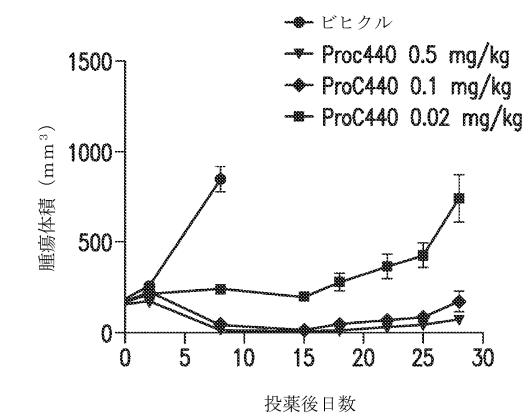
10

20

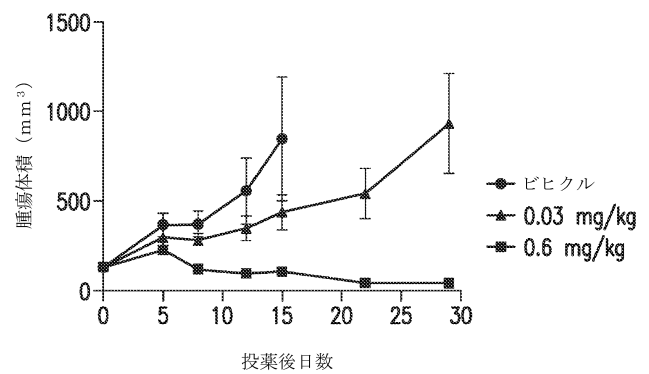
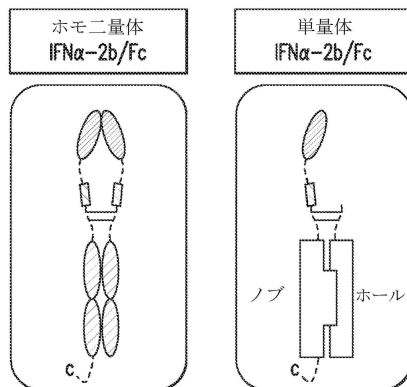
【図 31】



【図 32】



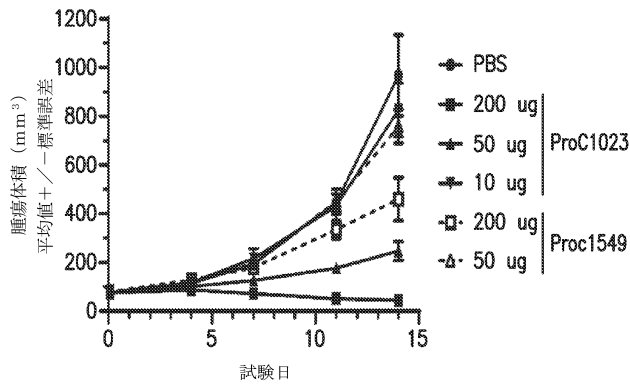
30



40

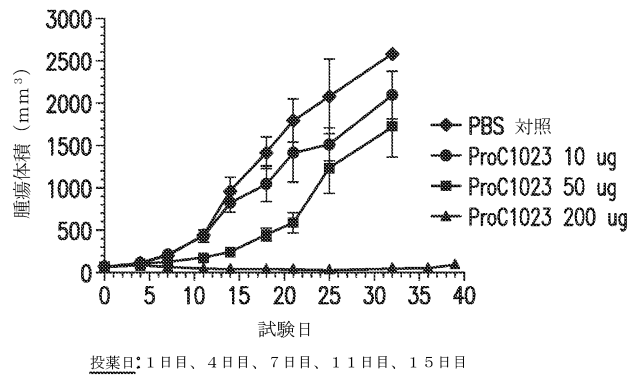
50

【図 3 3】

二重マスクしたIFN α ADの活性

【図 3 4 A】

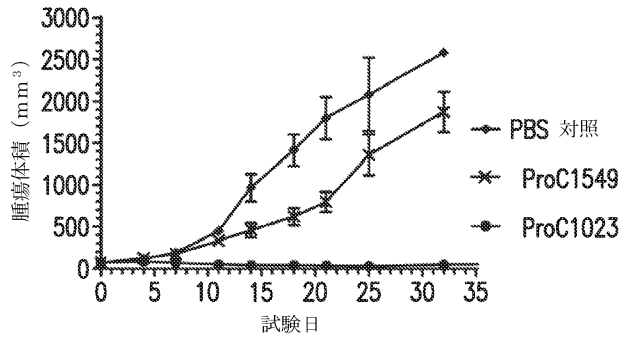
Pro-IFN-A/D (二重マスク) の用量反応



10

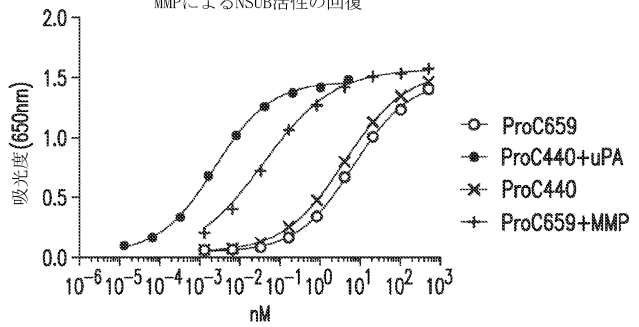
【図 3 4 B】

活性化依存的な有効性



【図 3 5 A】

MMPによるNSUB活性の回復



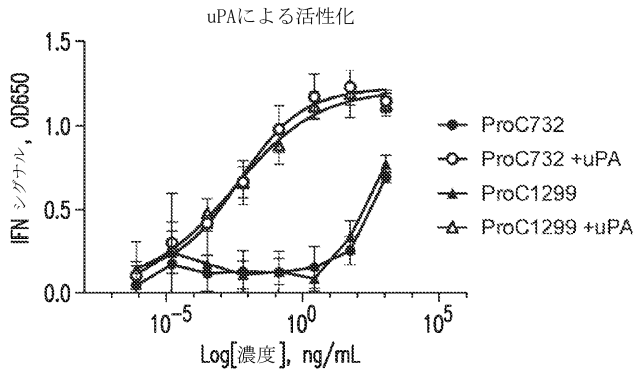
20

30

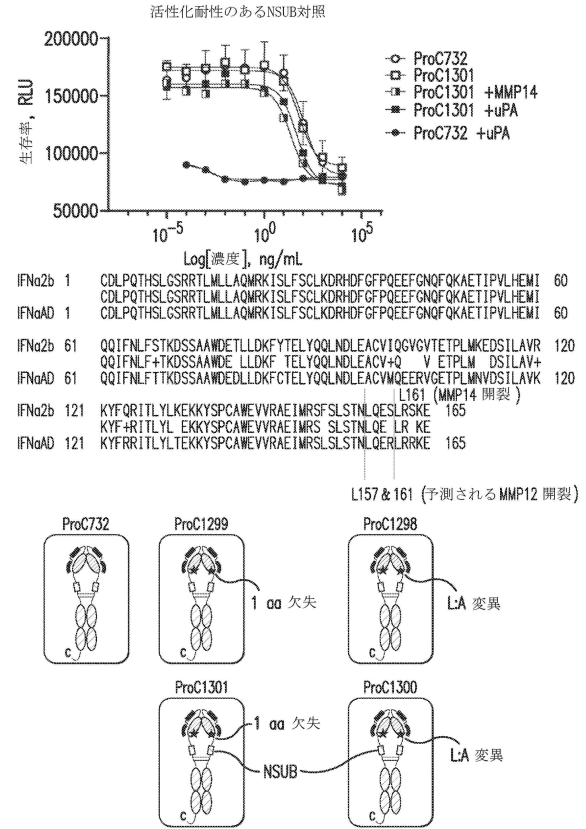
40

50

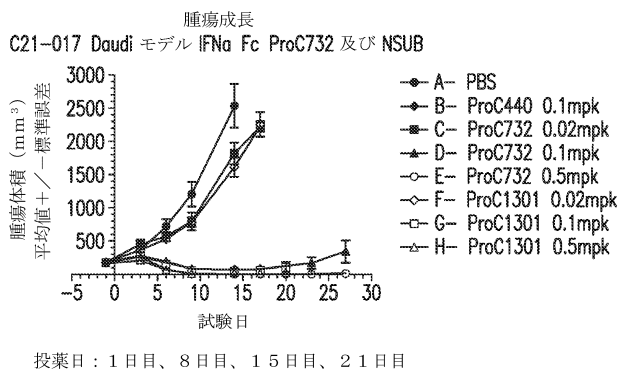
【図 3 5 B】



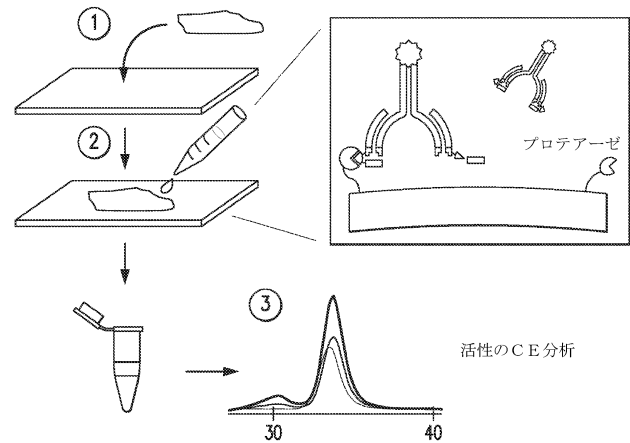
【図 3 5 C】



【図 3 6】



【図 3 7 A】



10

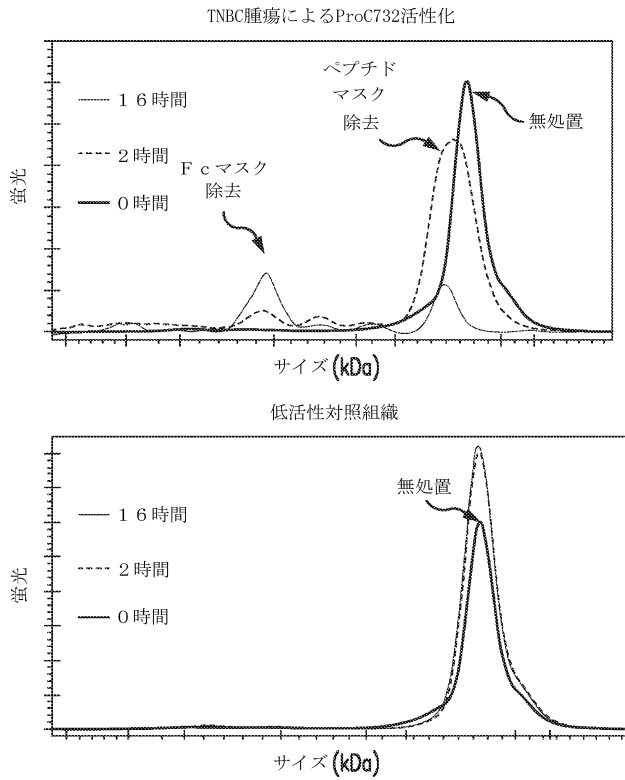
20

30

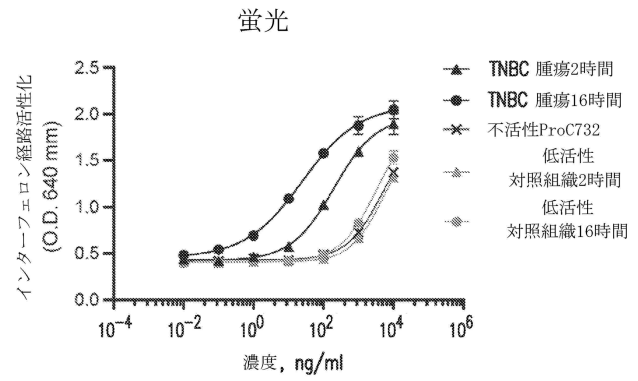
40

50

【図 3 7 B】



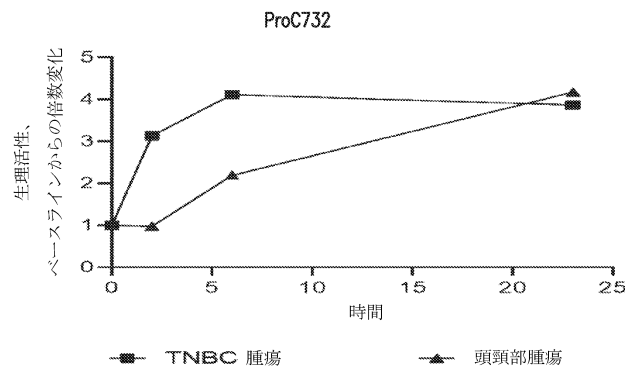
【図 3 7 C】



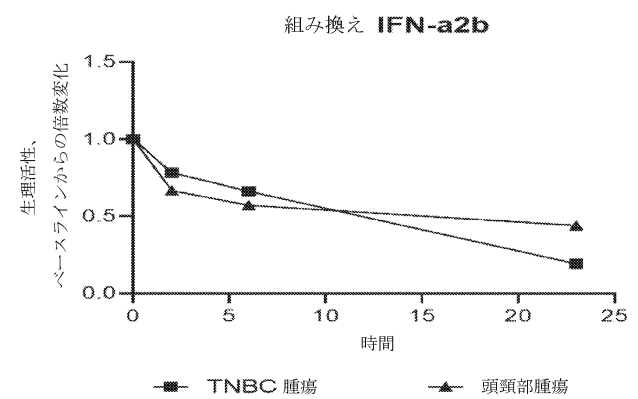
10

20

【図 3 8 A】



【図 3 8 B】



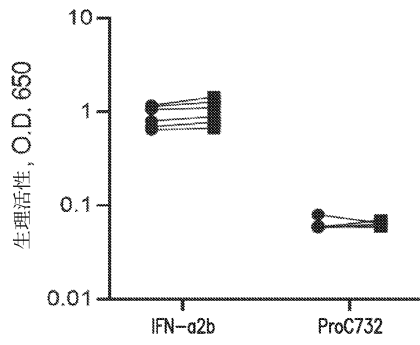
30

40

50

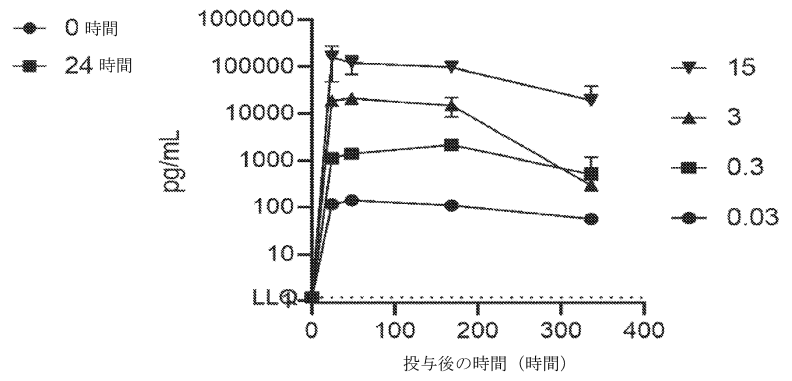
【図 38 C】

腫瘍なしの対照



【図 39】

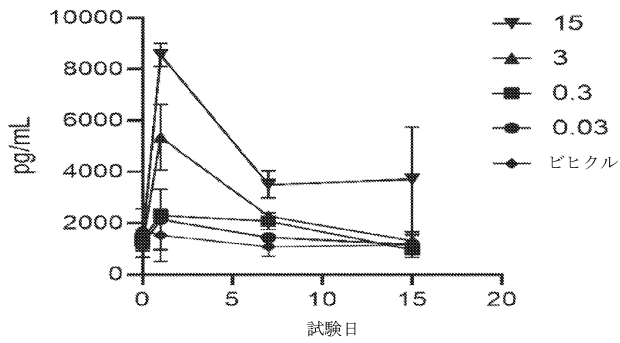
ProC732 血漿濃度



10

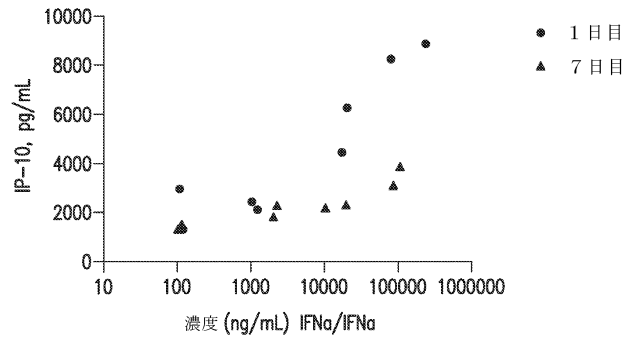
【図 40 A】

IP-10



【図 40 B】

1 日目対 7 日目



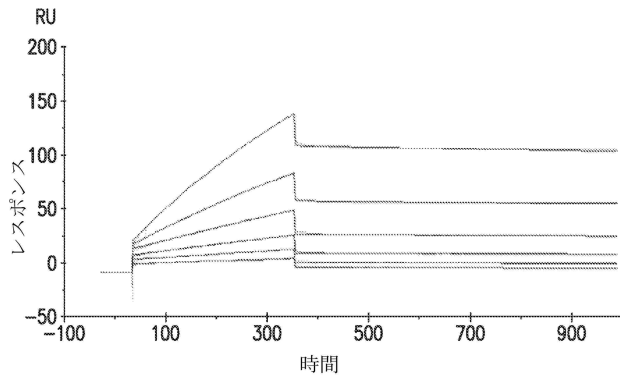
20

30

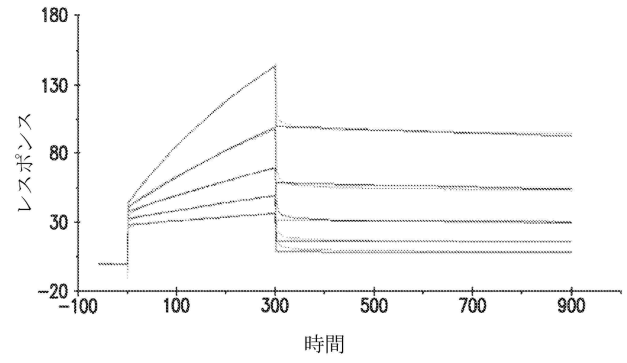
40

50

【図 4 1 A】

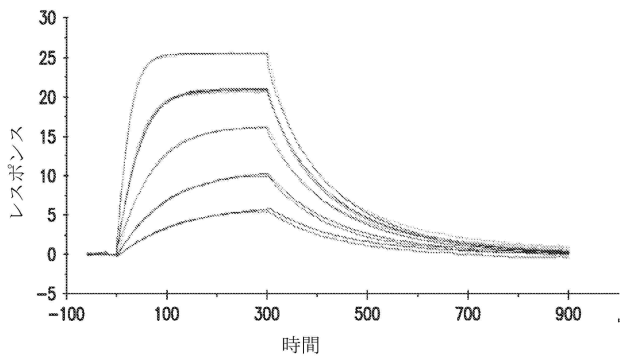


【図 4 1 B】

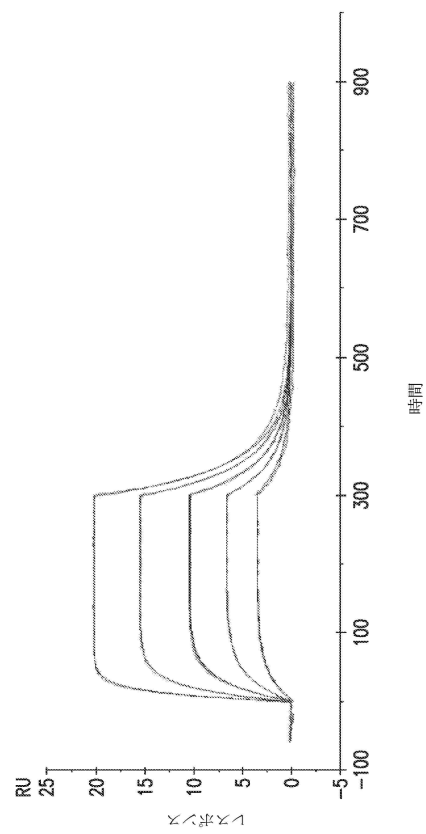


10

【図 4 1 C】



【図 4 1 D】



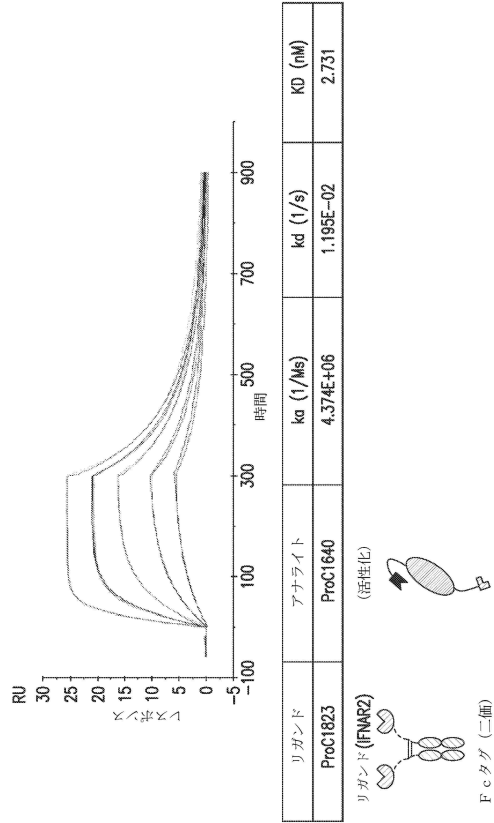
20

30

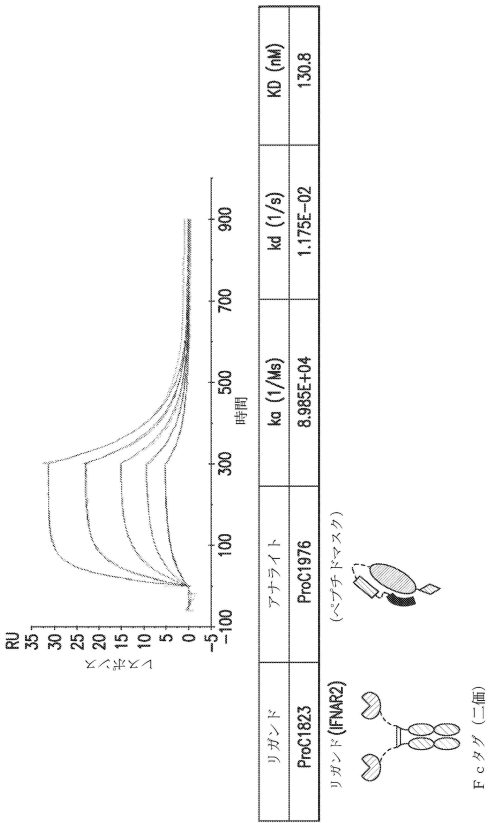
40

50

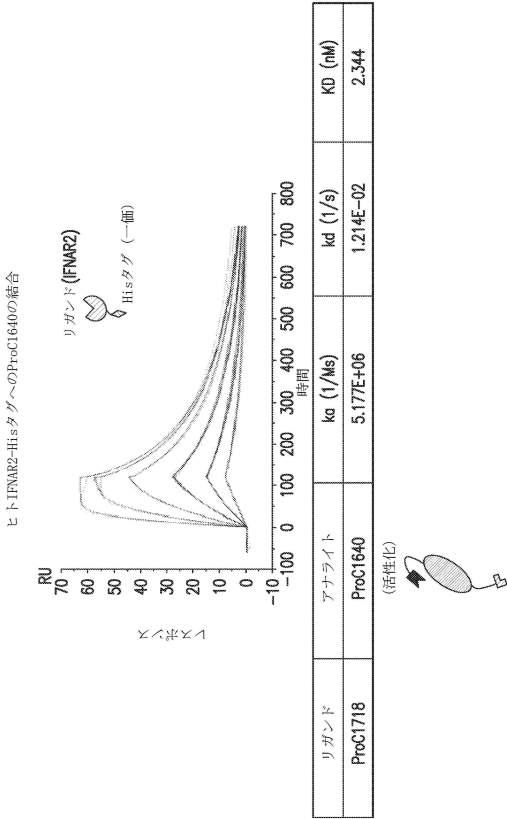
【図 4 2 A】



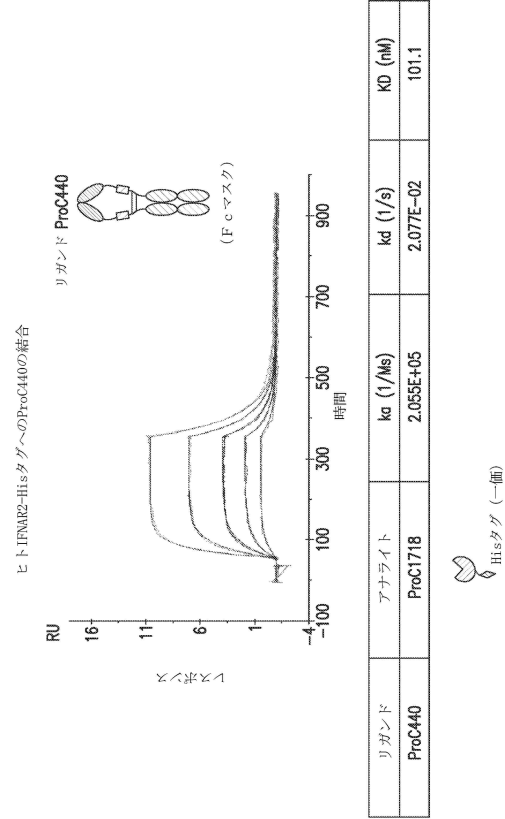
【図 4 2 B】



【図 4 2 C】



【図 4 2 D】



10

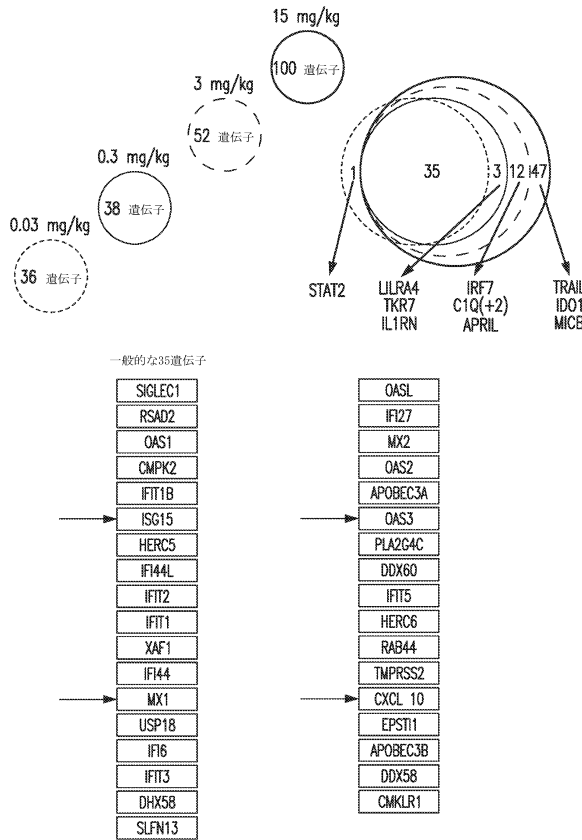
20

30

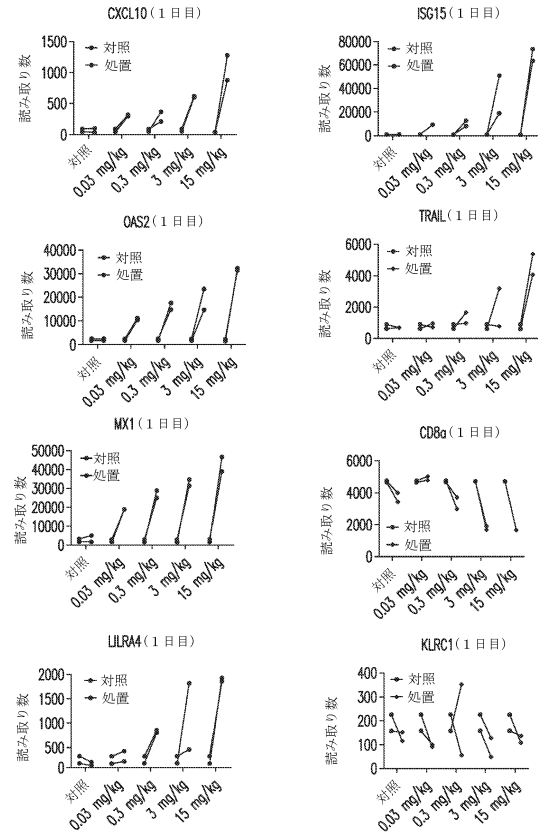
40

50

【図 4 3】



【図 4 4 - 1】

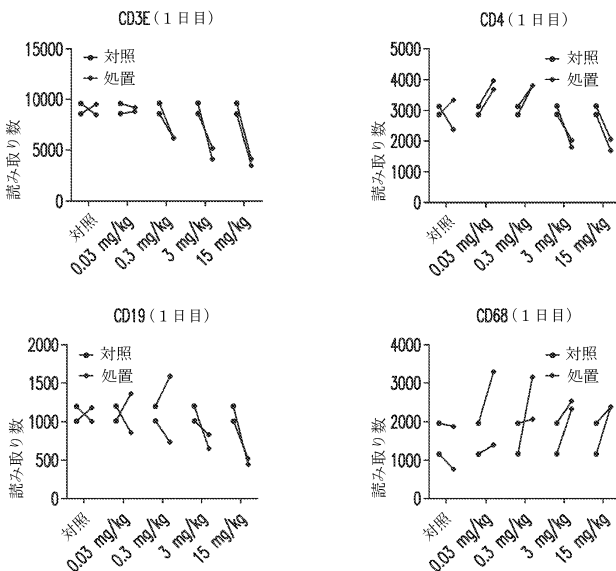


10

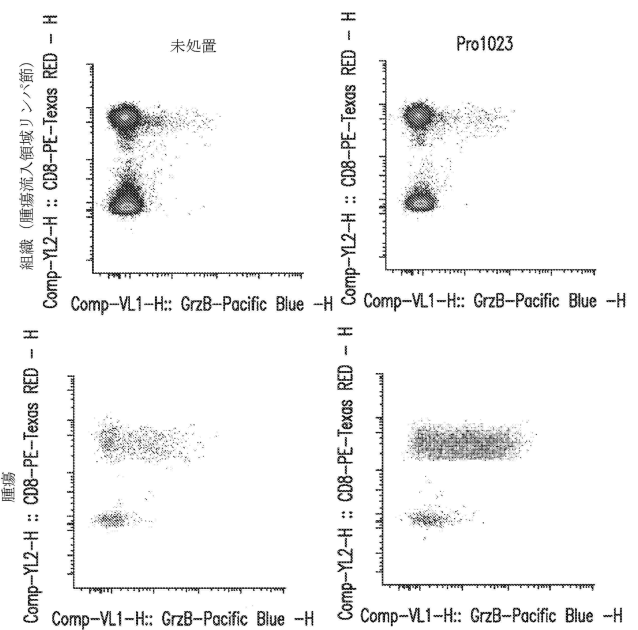
20

【図 4 4 - 2】

(続き)



【図 4 5 - 1】



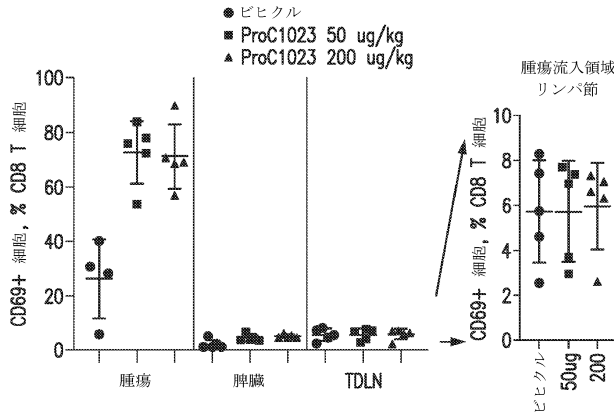
30

40

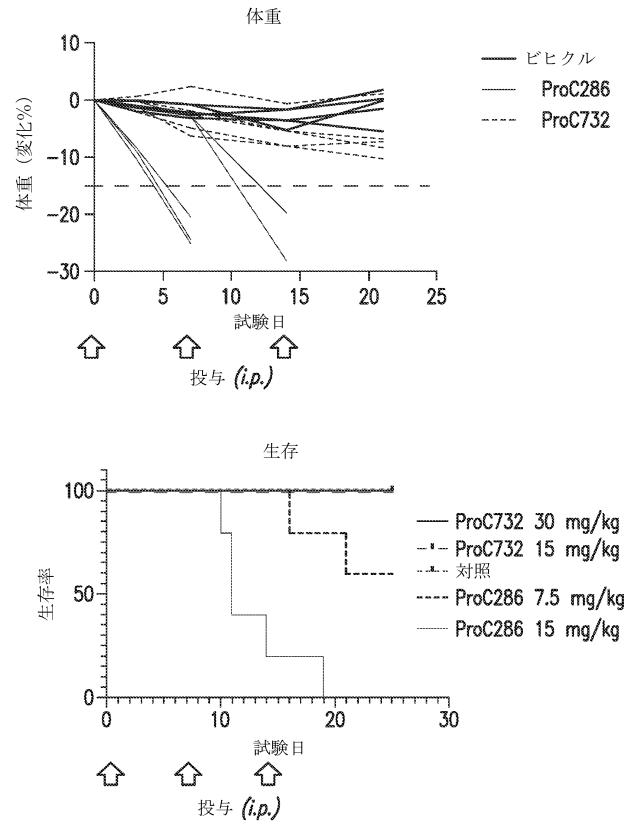
50

【図 45-2】

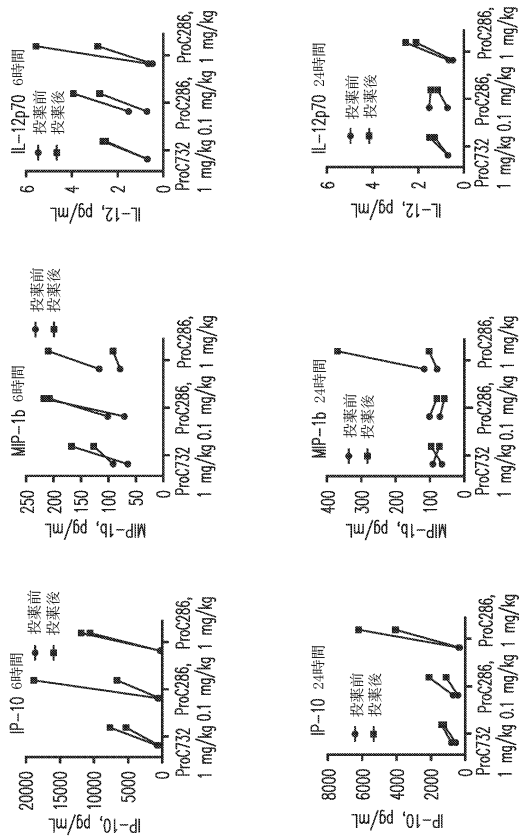
(続き)



【図 46】



【図 47】



10

20

30

40

50

【手続補正書】

【提出日】令和5年12月4日(2023.12.4)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

2024511387000001.app

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International application No PCT/US2022/020492
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV. C07K14/56 C07K14/54 C07K14/55 C07K19/00 A61K38/21 A61P35/00		
ADD. According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2010/096838 A2 (CYTOMX THERAPEUTICS LLC; STAGLIANO NANCY E [US] ET AL.) 26 August 2010 (2010-08-26) paragraphs [0027], [0107] - [0109], [0147] - [0152] examples 2, 5 claims 1-5, 7, 11-21, 38, 40, 41, 45, 47-49, 69-72 -----	1-192
X	WO 2020/214690 A1 (QWIXEL THERAPEUTICS [US]) 22 October 2020 (2020-10-22) paragraphs [0065], [0158] claims 1, 2, 5 ----- -/-	1-119, 121, 123-125, 129-192
☒ 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 14 September 2022		Date of mailing of the international search report 05/10/2022
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Tudor, Mark

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2022/020492

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2019/222296 A1 (WEREWOLF THERAPEUTICS INC [US]; WINSTON WILLIAM [US] ET AL.) 21 November 2019 (2019-11-21) paragraphs [0005], [0006], [0012] example 6 claims 1-24, 28-32, 34-36, 39, 41, 42-46, 48-68 figure 1D -----	1-192
A	WO 2019/075405 A1 (CYTOMX THERAPEUTICS INC [US]) 18 April 2019 (2019-04-18) figure 17 -----	1-192
A	WO 2020/252264 A1 (ASKGENE PHARMA INC [US]) 17 December 2020 (2020-12-17) figures 1A-C, 2A-C -----	1-192
X,P	WO 2021/207669 A1 (CYTOMX THERAPEUTICS INC [US]) 14 October 2021 (2021-10-14) page 33, line 23 - page 34, line 6 figure 5 -----	119-128, 186-190
X,P	WO 2021/202678 A1 (XILIO DEV INC [MA]) 7 October 2021 (2021-10-07) claim 1 figure 2 -----	1-37, 53-137

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2022/020492

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed:
- ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- ☐ on paper or in the form of an image file.
- b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
- ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2022/020492

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2010096838 A2	26-08-2010	AU 2010215761 A1	06-10-2011
		AU 2017201682 A1	30-03-2017
		BR PI1011384 A2	15-03-2016
		CA 2753294 A1	26-08-2010
		CN 102481341 A	30-05-2012
		EP 2398494 A2	28-12-2011
		JP 5861223 B2	16-02-2016
		JP 2012520059 A	06-09-2012
		JP 2015193653 A	05-11-2015
		RU 2011138951 A	27-03-2013
		US 2010221212 A1	02-09-2010
		US 2013101555 A1	25-04-2013
		US 2015203559 A1	23-07-2015
		US 2017240608 A1	24-08-2017
		US 2020308243 A1	01-10-2020
		WO 2010096838 A2	26-08-2010
WO 2020214690 A1	22-10-2020	AU 2020258384 A1	04-11-2021
		CA 3136602 A1	22-10-2020
		CN 113993540 A	28-01-2022
		EP 3955957 A1	23-02-2022
		JP 2022529943 A	27-06-2022
		KR 20210153092 A	16-12-2021
		US 2020331966 A1	22-10-2020
		US 2022056076 A1	24-02-2022
		WO 2020214690 A1	22-10-2020
WO 2019222296 A1	21-11-2019	AU 2019271147 A1	17-12-2020
		AU 2019271149 A1	17-12-2020
		BR 112020023118 A2	13-04-2021
		BR 112020023167 A2	09-02-2021
		CA 3100005 A1	21-11-2019
		CA 3100018 A1	21-11-2019
		CN 112654635 A	13-04-2021
		CN 112654636 A	13-04-2021
		EP 3794022 A1	24-03-2021
		EP 3794023 A1	24-03-2021
		JP 2021523741 A	09-09-2021
		JP 2021524756 A	16-09-2021
		KR 20210020907 A	24-02-2021
		KR 20210021468 A	26-02-2021
		SG 11202011308V A	30-12-2020
		SG 11202011309S A	30-12-2020
		US 2019367576 A1	05-12-2019
		US 2020283489 A1	10-09-2020
		WO 2019222294 A1	21-11-2019
		WO 2019222296 A1	21-11-2019
WO 2019075405 A1	18-04-2019	AU 2018347607 A1	26-03-2020
		BR 112020007309 A2	29-09-2020
		CA 3078911 A1	18-04-2019
		CN 111247171 A	05-06-2020
		EP 3694885 A1	19-08-2020
		IL 273937 A	31-05-2020
		JP 2020536549 A	17-12-2020
		KR 20200064096 A	05-06-2020
		SG 11202002384V A	29-04-2020
		TW 201927816 A	16-07-2019

INTERNATIONAL SEARCH REPORT				International application No	
Information on patent family members				PCT/US2022/020492	
Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
			US	2019135943 A1	09-05-2019
			WO	2019075405 A1	18-04-2019

WO 2020252264	A1	17-12-2020	AU	2020291012 A1	16-12-2021
			CA	3141626 A1	17-12-2020
			CN	114341189 A	12-04-2022
			EP	3983432 A1	20-04-2022
			JP	2022536898 A	22-08-2022
			KR	20220020879 A	21-02-2022
			US	2020392235 A1	17-12-2020
			WO	2020252264 A1	17-12-2020

WO 2021207669	A1	14-10-2021	US	2021317177 A1	14-10-2021
			WO	2021207669 A1	14-10-2021

WO 2021202678	A1	07-10-2021	TW	202204386 A	01-02-2022
			WO	2021202678 A1	07-10-2021

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00
A 6 1 K	38/20 (2006.01)	A 6 1 K	38/20
A 6 1 K	38/19 (2006.01)	A 6 1 K	38/19
A 6 1 K	47/65 (2017.01)	A 6 1 K	47/65
(32)優先日	令和3年10月12日(2021.10.12)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(31)優先権主張番号	63/276,893		
(32)優先日	令和3年11月8日(2021.11.8)		
(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,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW		
(74)代理人	100191086 弁理士 高橋 香元		
(72)発明者	ミトラ, サヤンタン アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, スイート 4 0 0, 1 5 1 オイスター ポイント ブールバード, シートムエックス セラピューティクス, インコーポレイテッド内		
(72)発明者	ラブヤデ, ニコル ジー. アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, スイート 4 0 0, 1 5 1 オイスター ポイント ブールバード, シートムエックス セラピューティクス, インコーポレイテッド内		
(72)発明者	アシ, ヒクマト ハイザー アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, スイート 4 0 0, 1 5 1 オイスター ポイント ブールバード, シートムエックス セラピューティクス, インコーポレイテッド内		
(72)発明者	パイデュングト, マダン エム. アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, スイート 4 0 0, 1 5 1 オイスター ポイント ブールバード, シートムエックス セラピューティクス, インコーポレイテッド内		
(72)発明者	ダニエル, ディラン エル. アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, スイート 4 0 0, 1 5 1 オイスター ポイント ブールバード, シートムエックス セラピューティクス, インコーポレイテッド内		
(72)発明者	ル スコラン, アーワン アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, スイート 4 0 0, 1 5 1 オイスター ポイント ブールバード, シートムエックス セラピューティクス, インコーポレイテッド内		
(72)発明者	ボグダノフ, ウォルター エー. アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, スイート 4 0 0, 1 5 1 オイスター ポイント ブールバード, シートムエックス セラピューティクス, インコー		

-
- ポレイテッド内
- (72)発明者 カイ, ナ
アメリカ合衆国, カリフォルニア州 94080, サウス サンフランシスコ, スイート 400,
151 オイスター ポイント ブールバード, シートムエックス セラピューティクス, インコー
ポレイテッド内
- (72)発明者 ワン, シン
アメリカ合衆国, カリフォルニア州 94080, サウス サンフランシスコ, スイート 400,
151 オイスター ポイント ブールバード, シートムエックス セラピューティクス, インコー
ポレイテッド内
- (72)発明者 ベレズノイ, アレクシー イブゲニビッチ
アメリカ合衆国, カリフォルニア州 94080, サウス サンフランシスコ, スイート 400,
151 オイスター ポイント ブールバード, シートムエックス セラピューティクス, インコー
ポレイテッド内
- F ターム (参考) 4B065 AA90X AB01 BA02 CA24 CA44
4C076 BB11 CC27 EE41 EE59
4C084 AA02 AA03 DA12 DA13 DA14 DA16 DA21 DA22 DA23 MA66
NA05 ZB26
4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA01 DA02 DA15 EA20
FA72 FA74