

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和2年2月27日(2020.2.27)

【公表番号】特表2019-512233(P2019-512233A)

【公表日】令和1年5月16日(2019.5.16)

【年通号数】公開・登録公報2019-018

【出願番号】特願2018-547409(P2018-547409)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/77 (2006.01)

C 1 2 N 15/70 (2006.01)

C 1 2 P 21/02 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 0 7 K 14/55 (2006.01)

C 0 7 K 14/34 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

A 6 1 K 38/16 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/06 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/77 Z N A Z

C 1 2 N 15/70 Z

C 1 2 P 21/02 C

C 0 7 K 19/00

C 0 7 K 14/55

C 0 7 K 14/34

C 1 2 N 1/21

A 6 1 K 38/16

A 6 1 K 45/00

A 6 1 P 31/06

A 6 1 P 35/00

【手続補正書】

【提出日】令和2年1月17日(2020.1.17)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

D N A 発現ベクターであって、

a . t o x P と、

b . F e が媒介する遺伝子発現調節をブロックする変異体 t o x O と、

c . タンパク質をコードする D N A 配列と

を含み、

前記 t o x P 及び前記変異体 t o x O が、前記タンパク質をコードする D N A セグメントの発現を調節する、前記 D N A 発現ベクター。

【請求項2】

シグナルペプチドをコードするDNA配列をさらに含む、請求項1に記載のDNA発現ベクター。

【請求項3】

前記タンパク質が前記シグナルペプチドに結合している、請求項2に記載のDNA発現ベクター。

【請求項4】

前記変異体toxOが配列番号1である、請求項1に記載のDNA発現ベクター。

【請求項5】

前記シグナルペプチドが配列番号5である、請求項2に記載のDNA発現ベクター。

【請求項6】

前記タンパク質が、CRM197、CRM107、またはこれらの組合せからなる群から選択される、請求項1に記載のDNA発現ベクター。

【請求項7】

前記タンパク質が、配列番号10～20のいずれか1つから選択される、請求項6に記載のDNA発現ベクター。

【請求項8】

前記タンパク質が、受容体結合タンパク質またはその機能部分に結合しているジフテリア毒素またはその機能部分を含む、請求項1に記載のDNA発現ベクター。

【請求項9】

前記受容体結合タンパク質が、IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、IL-7、IL-15、EGF、FGF、サブスタンスP、CD4、MSH、GRP、TT断片C、GCSF、ヘレグリン1、これらの機能部分、またはこれらの組合せを含む群から選択される、請求項8に記載のDNA発現ベクター。

【請求項10】

前記タンパク質が、配列番号12～15および43のいずれか1つから選択される、請求項8に記載のDNA発現ベクター。

【請求項11】

DNA発現ベクターであって、

a. toxPと、

b. Feが媒介する遺伝子発現調節をブロックする変異体toxOと、

c. タンパク質をコードするDNA配列であって、前記タンパク質が、

i. シグナル配列、

ii. ジフテリア受容体結合ドメインを含まない、または機能しないジフテリア毒素受容体結合ドメインを有する、ジフテリア毒素またはその機能部分、及び

iii. IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、IL-7、IL-15、EGF、FGF、サブスタンスP、CD4、MSH、GRP、TT断片C、GCSF、ヘレグリン1、これらの機能部分、またはこれらの組合せを含む群から選択されるターゲット受容体結合ドメイン

を含む、前記DNA配列と

を含み、

前記toxP及び前記変異体toxOが、前記タンパク質をコードする前記DNA配列の発現を調節する、前記DNA発現ベクター。

【請求項12】

前記DNA発現ベクターで形質転換した細菌が、シグナルペプチドに結合しているジフテリア毒素受容体結合融合タンパク質を生成し、前記シグナルペプチドにより、前記ジフテリア毒素受容体結合融合タンパク質がペリプラズム、培地、または両方の位置に向けられる、請求項11に記載のDNA発現ベクター。

【請求項13】

前記細菌が大腸菌(E.coli)であり、前記シグナルペプチドが前記ジフテリア毒素受容体結合融合タンパク質を前記ペリプラズムに向ける、請求項12に記載のDNA発

現ベクター。

【請求項 14】

前記細菌がコリネバクテリウム・ジフテリア (*Corynebacterium diptheria*) であり、前記シグナルペプチドが前記ジフテリア毒素受容体結合融合タンパク質を前記培地に向ける、請求項 12 に記載の DNA 発現ベクター。

【請求項 15】

配列番号 3 を含む、請求項 11 に記載の DNA 発現ベクター。

【請求項 16】

切断可能なタンパク質タグをコードする DNA をさらに含む、請求項 12 に記載の DNA 発現ベクター。

【請求項 17】

前記切断可能なタンパク質タグが前記ジフテリア毒素受容体結合融合タンパク質に結合している、請求項 12 に記載の DNA 発現ベクター。

【請求項 18】

前記ジフテリア毒素受容体結合融合タンパク質が、配列番号 12 ~ 15 のいずれか一つから選択される、請求項 11 に記載の DNA 発現ベクター。

【請求項 19】

凝集体を含まない単量体のジフテリア毒素融合タンパク質を生成するための方法であって、以下のステップ：

- a . 細菌を、請求項 1 ~ 18 に記載のベクターの DNA 発現により形質転換すること、
 - b . 形質転換体を形成すること、
 - c . 前記形質転換体を培地内でインキュベートして、前記培地内に分泌されるタンパク質の発現を可能にすること、及び
 - d . 前記培地から前記タンパク質を精製すること
- を含む、前記方法。

【請求項 20】

前記細菌がコリネバクテリウム・ジフテリアである、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

凝集体を含まない単量体のジフテリア毒素融合タンパク質を生成するための方法であって、以下のステップ：

- a . コリネバクテリウム・ジフテリア株を DNA ベクターにより形質転換することであって、前記 DNA ベクターが、
 - i . toxP と、
 - ii . Fe が媒介する遺伝子発現調節をブロックする変異体 toxO と、
 - iii . タンパク質をコードする DNA 配列であって、前記タンパク質が、
 - a . シグナルペプチド、
 - b . ジフテリア受容体結合ドメインを含まない、または機能しないジフテリア毒素受容体結合ドメインを有する、ジフテリア毒素またはその機能部分、及び
 - c . IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、IL-7、IL-15、EGF、FGF、サブスタンス P、CD4、MSH、GRP、TT 断片 C、GCSF、ヘレグリン 1、TNF、TGF、これらの機能断片、またはこれらの組合せを含む群から選択されるターゲット受容体結合ドメイン
- を含む、前記 DNA 配列と
- を含み、前記 toxP 及び前記変異体 toxO が、前記タンパク質をコードする前記 DNA 配列の発現を調節する、前記形質転換すること、
- b . 形質転換体を形成すること、
 - c . 前記形質転換体を培地内でインキュベートして、前記培地内に分泌される前記タンパク質の発現を可能にすること、ならびに
 - d . 前記培地から前記ジフテリア毒素融合タンパク質を精製すること

を含む、前記方法。

【請求項 22】

前記ジフテリア毒素受容体融合タンパク質が、配列番号 12 ~ 15 のいずれか 1 つから選択される、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

前記コリネバクテリウム・ジフテリア株がコリネバクテリウム (Corynebacterium) C7 ベータ (-)、tox (-) である、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 24】

結核患者を処置する方法に用いるための、請求項 21 に示されるように調整されたジフテリア毒素融合タンパク質を含む、医薬組成物。

【請求項 25】

変異体 toxO プロモーターを含む、DNA 発現ベクター。

【請求項 26】

請求項 1 ~ 18 に記載の DNA 発現ベクターを含有する、コリネバクテリウム・ジフテリア株。

【請求項 27】

タンパク質を作製する方法であって、以下のステップ：

a. toxP と、Fe が媒介する遺伝子発現調節をブロックする変異体 toxO と、シグナル配列と、タンパク質をコードする DNA 配列とを含む DNA 発現ベクターを提供すること、

b. 細菌株を前記 DNA ベクターにより形質転換して、形質転換体を形成すること、

c. 前記形質転換体を培地内である期間の間インキュベートして、前記培地内に分泌されるタンパク質の発現を可能にすること、及び

d. 前記培地から前記タンパク質を精製すること

を含む、前記方法。

【請求項 28】

配列番号 12 ~ 15 および 43 のいずれか 1 つから選択される、融合タンパク質。

【請求項 29】

請求項 28 に記載の融合タンパク質を含む、医薬組成物。

【請求項 30】

請求項 28 に記載の融合タンパク質と、少なくとも 1 種以上の他の化学療法剤とを含む、医薬組成物。

【請求項 31】

前記他の化学療法剤が、イソニアジド、リファンピン、リファブチン、リファペンチン、ピラジナミド、エタンブトール、ストレプトマイシン、アミカシン、カナマイシン、エチオナミド、プロチオナミド、テリジドン、チアセタゾン、シクロセリン、カブレオマイシン、パラ-アミノサリチル酸 (PAS)、ピオマイシン、オフロキサシン、シプロフロキサシン、レボフロキサシン、モキシフロキサシン、ベダキリン、またはデラマニド、リネゾリド、テデゾリド、アモキシシリン・クラブラン酸、メロペネム、イミペネム、クラリスロマイシン、またはクロファジミンからなる群から選択される、請求項 30 に記載の医薬組成物。

【請求項 32】

請求項 28 に記載の融合タンパク質及び少なくとも 1 種以上の他の抗微生物剤を含む、医薬組成物。

【請求項 33】

前記抗微生物剤が、イソニアジド、リファンピン、リファブチン、リファペンチン、ピラジナミド、エタンブトール、ストレプトマイシン、アミカシン、カナマイシン、エチオナミド、プロチオナミド、テリジドン、チアセタゾン、シクロセリン、カブレオマイシン、パラ-アミノサリチル酸 (PAS)、ピオマイシン、オフロキサシン、シプロフロキサシン、レボフロキサシン、モキシフロキサシン、ベダキリン、またはデラマニド、リネゾ

リド、テデゾリド、アモキシシリン・クラブラン酸、メロペネム、イミペネム、クラリスロマイシン、またはクロファジミンからなる群から選択される、請求項33に記載の医薬組成物。

【請求項34】

対象におけるがんを処置または予防する方法に用いるための、配列番号12～15および43のいずれか1つから選択される融合タンパク質を含む医薬組成物。

【請求項35】

対象における結核を処置または予防する方法に用いるための、配列番号12～15および43のいずれか1つから選択される融合タンパク質を含む医薬組成物。

【請求項36】

請求項1～18のいずれか1項に記載のDNA発現ベクターを含む、原核細胞株。

【請求項37】

請求項1～18のいずれかに記載のDNA発現ベクターを含む、キット。

【請求項38】

配列番号2を含むtoxP。

【請求項39】

配列番号12～15および43のいずれか1つのタンパク質。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0023

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0023】

本発明の別の実施形態は、配列番号11～15のいずれか1つのタンパク質である。

[本発明1001]

DNA発現ベクターであって、

a. toxPと、

b. Feが媒介する遺伝子発現調節をブロックする変異体toxoと、

c. タンパク質をコードするDNA配列と

を含み、

前記toxP及び前記変異体toxoが、前記タンパク質をコードするDNAセグメントの発現を調節する、前記DNA発現ベクター。

[本発明1002]

シグナルペプチドをコードするDNA配列をさらに含む、本発明1001のDNA発現ベクター。

[本発明1003]

前記タンパク質が前記シグナルペプチドに結合している、本発明1002のDNA発現ベクター。

[本発明1004]

前記変異体toxoが配列番号1である、本発明1001のDNA発現ベクター。

[本発明1005]

前記シグナルペプチドが配列番号5である、本発明1002のDNA発現ベクター。

[本発明1006]

前記タンパク質が、CRM197、CRM107、またはこれらの組合せからなる群から選択される、本発明1001のDNA発現ベクター。

[本発明1007]

前記タンパク質が、配列番号11、7～20のいずれか1つから選択される、本発明1006のDNA発現ベクター。

[本発明1008]

前記タンパク質が、受容体結合タンパク質またはその機能部分に結合しているジフテリ

ア毒素またはその機能部分を含む、本発明1001のDNA発現ベクター。

[本発明1009]

前記受容体結合タンパク質が、IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、IL-7、IL-15、EGF、FGF、サブスタンスP、CD4、MSH、GRP、TT断片C、GCSF、ヘレグリン 1、これらの機能部分、またはこれらの組合せを含む群から選択される、本発明1008のDNA発現ベクター。

[本発明1010]

前記タンパク質が、配列番号12~15のいずれか1つから選択される、本発明1008のDNA発現ベクター。

[本発明1011]

DNA発現ベクターであって、

a. toxPと、

b. Feが媒介する遺伝子発現調節をブロックする変異体 toxOと、

c. タンパク質をコードするDNA配列であって、前記タンパク質が、

i. シグナル配列、

ii. ジフテリア受容体結合ドメインを含まない、または機能しないジフテリア毒素受容体結合ドメインを有する、ジフテリア毒素またはその機能部分、及び

iii. IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、IL-7、IL-15、EGF、FGF、サブスタンスP、CD4、MSH、GRP、TT断片C、GCSF、ヘレグリン 1、これらの機能部分、またはこれらの組合せを含む群から選択されるターゲット受容体結合ドメイン

を含む、前記DNA配列と

を含み、

前記 toxP 及び前記変異体 toxO が、前記タンパク質をコードする前記DNA配列の発現を調節する、前記DNA発現ベクター。

[本発明1012]

前記DNA発現ベクターで形質転換した細菌が、シグナルペプチドに結合しているジフテリア毒素受容体結合融合タンパク質を生成し、前記シグナルペプチドにより、前記ジフテリア毒素受容体結合融合タンパク質がペリプラズム、培地、または両方の位置に向けられる、本発明1011のDNA発現ベクター。

[本発明1013]

前記細菌が大腸菌(E. coli)であり、前記シグナルペプチドが前記ジフテリア毒素受容体結合融合タンパク質を前記ペリプラズムに向ける、本発明1012のDNA発現ベクター。

[本発明1014]

前記細菌がコリネバクテリウム・ジフテリア(Corynebacterium diptheria)であり、前記シグナルペプチドが前記ジフテリア毒素受容体結合融合タンパク質を前記培地に向ける、本発明1012のDNA発現ベクター。

[本発明1015]

配列番号3を含む、本発明1011のDNA発現ベクター。

[本発明1016]

切断可能なタンパク質タグをコードするDNAをさらに含む、本発明1012のDNA発現ベクター。

[本発明1017]

前記切断可能なタンパク質タグが前記ジフテリア毒素受容体結合融合タンパク質に結合している、本発明1012のDNA発現ベクター。

[本発明1018]

前記ジフテリア毒素受容体結合融合タンパク質が、配列番号12~15のいずれか1つから選択される、本発明1011のDNA発現ベクター。

[本発明1019]

凝集体を含まない単量体のジフテリア毒素融合タンパク質を生成するための方法であって、以下のステップ：

- a . 細菌を、本発明1001～1018のベクターのDNA発現により形質転換すること、
 - b . 形質転換体を形成すること、
 - c . 前記形質転換体を培地内でインキュベートして、前記培地内に分泌されるタンパク質の発現を可能にすること、及び
 - d . 前記培地から前記タンパク質を精製すること
- を含む、前記方法。

[本発明1020]

前記細菌がコリネバクテリウム・ジフテリアである、本発明1019の方法。

[本発明1021]

凝集体を含まない単量体のジフテリア毒素融合タンパク質を生成するための方法であって、以下のステップ：

- a . コリネバクテリウム・ジフテリア株をDNAベクターにより形質転換することであって、前記DNAベクターが、
 - i . toxPと、
 - ii . Feが媒介する遺伝子発現調節をブロックする変異体toxOと、
 - iii . タンパク質をコードするDNA配列であって、前記タンパク質が、
 - a . シグナルペプチド、
 - b . ジフテリア受容体結合ドメインを含まない、または機能しないジフテリア毒素受容体結合ドメインを有する、ジフテリア毒素またはその機能部分、及び
 - c . IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、IL-7、IL-15、EGF、FGF、サブスタンスP、CD4、MSH、GRP、TT断片C、GCSF、ヘレグリン1、TNF、TGF、これらの機能断片、またはこれらの組合せを含む群から選択されるターゲット受容体結合ドメイン
- を含む、前記DNA配列と
- を含み、前記toxP及び前記変異体toxOが、前記タンパク質をコードする前記DNA配列の発現を調節する、前記形質転換すること、
- b . 形質転換体を形成すること、
 - c . 前記形質転換体を培地内でインキュベートして、前記培地内に分泌される前記タンパク質の発現を可能にすること、ならびに
 - d . 前記培地から前記ジフテリア毒素融合タンパク質を精製すること
- を含む、前記方法。

[本発明1022]

前記ジフテリア毒素受容体融合タンパク質が、配列番号12～15のいずれか1つから選択される、本発明1021の方法。

[本発明1023]

前記コリネバクテリウム・ジフテリア株がコリネバクテリウム(Corynebacterium) C7ベータ(-)、tox(-)である、本発明1021の方法。

[本発明1024]

結核患者を処置する方法であって、以下のステップ：

- a . 本発明1021に示されるようにジフテリア毒素融合タンパク質を調製すること、
 - b . 前記ジフテリア毒素融合タンパク質を結核患者に投与すること
- を含む、前記方法。

[本発明1025]

変異体toxOプロモーターを含む、DNA発現ベクター。

[本発明1026]

本発明1001～1018のDNA発現ベクターを含有する、コリネバクテリウム・ジフテリア株。

[本発明1027]

タンパク質を作製する方法であって、以下のステップ：

a . t o x P と、 F e が媒介する遺伝子発現調節をブロックする変異体 t o x O と、シグナル配列と、タンパク質をコードする D N A 配列とを含む D N A 発現ベクターを提供すること、

b . 細菌株を前記 D N A ベクターにより形質転換して、形質転換体を形成すること、

c . 前記形質転換体を培地内である期間の間インキュベートして、前記培地内に分泌されるタンパク質の発現を可能にすること、及び

d . 前記培地から前記タンパク質を精製することを含む、前記方法。

[本発明1028]

配列番号12～15のいずれか1つから選択される、融合タンパク質。

[本発明1029]

本発明1028の融合タンパク質を含む、医薬組成物。

[本発明1030]

本発明1028の融合タンパク質と、少なくとも1種以上の他の化学療法剤とを含む、医薬組成物。

[本発明1031]

前記他の化学療法剤が、イソニアジド、リファンピン、リファブチン、リファペンチン、ピラジナミド、エタンブトール、ストレプトマイシン、アミカシン、カナマイシン、エチオナミド、プロチオナミド、テリジドン、チアセタゾン、シクロセリン、カプレオマイシン、パラ-アミノサリチル酸 (P A S)、ピオマイシン、オフロキサシン、シプロフロキサシン、レボフロキサシン、モキシフロキサシン、ベダキリン、またはデラマニド、リネゾリド、テデゾリド、アモキシシリン・クラブラン酸、メロペネム、イミペネム、クラリスロマイシン、またはクロファジミンからなる群から選択される、本発明1030の医薬組成物。

[本発明1032]

本発明1028の医薬組成物及び少なくとも1種以上の他の抗微生物剤。

[本発明1033]

前記抗微生物剤が、イソニアジド、リファンピン、リファブチン、リファペンチン、ピラジナミド、エタンブトール、ストレプトマイシン、アミカシン、カナマイシン、エチオナミド、プロチオナミド、テリジドン、チアセタゾン、シクロセリン、カプレオマイシン、パラ-アミノサリチル酸 (P A S)、ピオマイシン、オフロキサシン、シプロフロキサシン、レボフロキサシン、モキシフロキサシン、ベダキリン、またはデラマニド、リネゾリド、テデゾリド、アモキシシリン・クラブラン酸、メロペネム、イミペネム、クラリスロマイシン、またはクロファジミンからなる群から選択される、本発明1033の医薬組成物。

[本発明1034]

対象におけるがんを処置または予防する方法であって、前記対象に、有効量の、配列番号12～15のいずれか1つから選択される融合タンパク質を含む医薬組成物を投与することを含む、前記方法。

[本発明1035]

対象における結核を処置または予防する方法であって、前記対象に、有効量の、配列番号11～15のいずれか1つから選択される融合タンパク質を含む医薬組成物を投与することを含む、前記方法。

[本発明1036]

本発明1001～1018のいずれかの D N A 発現ベクターを含む、原核細胞株。

[本発明1037]

本発明1001～1018のいずれかの D N A 発現ベクターを含む、キット。

[本発明1038]

配列番号2を含む t o x P 。

[本発明1039]

配列番号12～15のいずれか1つのタンパク質。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0003

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0003】

政府所有についての記載

本発明は、国立衛生研究所の認可を受けた A I 0 3 7 8 5 6、A I 0 3 6 9 7 3、A I 0 9 7 1 3 8、および A I 0 9 5 3 2 1 の下、政府支援によってなされた。政府は、本発明に一定の権利を有する。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0024

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0024】

【図1】図1 a ~ 1 b は以下のことを示している：a) 本発明の変異体 *t o x O* (配列番号1)、b) 野生型 *t o x O* (配列番号25)。

【図2】図2 a ~ 2 b は以下のことを示している：a) *O n t a k* (登録商標)の製造に使用される古典的デニロイキンジフチトクス(c - デニロイキンジフチトクス)発現ベクターを示している、b) *t o x* プロモーター(*t o x P*)と、本発明の変異体 *t o x O* とを含む分泌デニロイキンジフチトクス(s - デニロイキンジフチトクス)発現ベクターを示している。図2 a は配列番号26を開示し、図2 b は配列番号27を開示している。

【図3】血管漏出変異体(VLM)を示している。これはc - デニロイキンジフチトクス - VLMと呼ばれ、IL - 2受容体保有細胞の殺滅においてc - デニロイキンジフチトクスと同等の効力を有する。

【図4】*i n v i t r o*で血管漏出を生じないc - デニロイキンジフチトクス - VLMを示している。

【図5】マウス生存モデルを用いたときに、c - デニロイキンジフチトクス - VLMがc - *O n t a k* (登録商標)よりも顕著に少ない急性毒性を*i n v i v o*で有することを示している。

【図6】本発明におけるジフテリア毒素ベース融合タンパク質毒素プラットフォーム技術を示している。

【図7】c - デニロイキンジフチトクスのDNA配列(DNA配列番号6)に結合した*t o x* プロモーター(配列番号2の*t o x P*)及び変異体 *t o x* オペレーター(*t o x O*) (DNA配列番号1)、シグナルペプチド(DNA配列番号4)を有するプラスミドpKN2.6Z-LC127を示している。

【図8】図8 a ~ 8 b は以下のことを示している：a) 大腸菌内の細胞質封入体としての *O n t a k* (登録商標)の従来の製造プロセスにおける問題、b) *O n t a k* (登録商標)タンパク質より1つアミノ酸が少ない分泌デニロイキンジフチトクスを生成するための容易かつクリーンな製造プロセスを示している。図8 a は配列番号28としての「fMGADD」を開示し、図8 b は配列番号29としての「GADD」を開示している。

【図9】本発明のプロセスによって調製されたs - デニロイキンジフチトクスの免疫プロットを示しており、s - デニロイキンジフチトクスは *C o r y n e b a c t e r i u m d i p h t h e r i a C 7* ベータ(-)、*t o x* (-)株内で発現し、培地内に分泌されている。

【図10】本発明のデニロイキンジフチトクスが結核性肉芽腫内のIL - 2R (CD25+)保有T細胞(*T r e g*)を枯渇させることが予想される方法を示している。*T r e g*

は、T_ef_f細胞を阻害することにより免疫抑制的である。

【図11】結核菌(M. tuberculosis)を有する対象(マウス)のin vivo処置で使用されるジフテリア融合タンパク質を示している。

【図12】ジフテリア毒素ベース融合タンパク質によって結核菌に感染した対象(マウス)を処置した結果を示している。

【図13】結核菌に感染した対象(マウス)を処置するためのジフテリア毒素ベース融合タンパク質のレジメンを示している。

【図14】悪性黒色腫を有する対象(ヒト)を処置するためのジフテリア毒素ベース融合タンパク質の用法を示している。

【図15】His(ヒスチジンタグ)を用いてVLM_s-Ontak及び関連するタンパク質を迅速に生成するための3つのコンストラクトを示している(「His₆/6x His」及び「His₉/9x His」はそれぞれ配列番号23及び48として開示されている)。

【図16】C末端側His₆ VLM_s-Ontakコンストラクトを用いて生成した純度が97%超の精製されたVLM_s-Ontakを示している(「His₆」は配列番号23として開示されている)。