

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6913682号
(P6913682)

(45) 発行日 令和3年8月4日 (2021. 8. 4)

(24) 登録日 令和3年7月14日 (2021. 7. 14)

(51) Int. Cl.

F I

C 1 2 N 15/13 (2006. 01)

C 1 2 N 15/13

C 1 2 N 15/62 (2006. 01)

C 1 2 N 15/62 Z

C O 7 K 16/28 (2006. 01)

C O 7 K 16/28

C O 7 K 16/46 (2006. 01)

C O 7 K 16/46 Z N A

C 1 2 N 1/15 (2006. 01)

C 1 2 N 1/15

請求項の数 22 (全 86 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-523387 (P2018-523387)
 (86) (22) 出願日 平成28年7月22日 (2016. 7. 22)
 (65) 公表番号 特表2018-523493 (P2018-523493A)
 (43) 公表日 平成30年8月23日 (2018. 8. 23)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2016/043717
 (87) 国際公開番号 W02017/015623
 (87) 国際公開日 平成29年1月26日 (2017. 1. 26)
 審査請求日 令和1年7月19日 (2019. 7. 19)
 (31) 優先権主張番号 62/195, 822
 (32) 優先日 平成27年7月23日 (2015. 7. 23)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(73) 特許権者 518283218
 インヒブリックス, インコーポレイテッ
 ド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 920
 37, ラ ホーヤ, エヌ. トーリー
 パインズ ロード 11025, スイ
 ート 200
 (74) 代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
 (74) 代理人 100113413
 弁理士 森下 夏樹
 (74) 代理人 100181674
 弁理士 飯田 貴敏
 (74) 代理人 100181641
 弁理士 石川 大輔

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 多価および多重特異性 G I T R 結合融合タンパク質

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

グルココルチコイド誘導性 T N F R 関連タンパク質 (G I T R) に結合する単離されたポリペプチドであって、少なくとも 1 つの配列番号 19 ~ 80 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む G I T R 結合ドメイン (G I T R - B D) を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 2】

前記ポリペプチドが、 G I T R に特異的に結合する 2 つまたはそれよりも多くの G I T R 結合ドメイン (G I T R - B D) を含む、請求項 1 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 3】

前記 2 つまたはそれよりも多くの G I T R 結合ドメインが、リンカーポリペプチドを介して作動可能に連結されている、請求項 2 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 4】

各 G I T R - B D が、配列番号 19 ~ 80 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 2 ~ 3 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 5】

同じ G I T R - B D の少なくとも 2 つまたは少なくとも 3 つのコピーを含む、請求項 4 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 6】

前記ポリペプチドが G I T R 結合について四価であり、必要に応じて、前記ポリペプチ

10

20

ドは、構造：(G I T R - B D) - リンカー - (G I T R - B D) - リンカー - ヒンジ - F cを含む融合タンパク質の2つのコピーを含む、請求項1～5のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項7】

前記ポリペプチドがG I T R結合について六価であり、必要に応じて、前記ポリペプチドは、構造：(G I T R - B D) - リンカー - (G I T R - B D) - リンカー - (G I T R - B D) - リンカー - ヒンジ - F cを含む融合タンパク質の2つのコピーを含む、請求項1～5のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項8】

前記G I T R - B Dがs d A b配列であり、配列番号138のアミノ酸配列を含む相補性決定領域1(C D R 1)と、配列番号141のアミノ酸配列を含む相補性決定領域2(C D R 2)と、配列番号116のアミノ酸配列を含む相補性決定領域3(C D R 3)とを含み、必要に応じて、各G I T R - B Dは、配列番号50～59および61～62から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項1～7のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

10

【請求項9】

前記ポリペプチドが配列番号93のアミノ酸配列を含む、請求項8に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項10】

1つまたは複数のさらなる結合ドメインを含む、請求項1～9のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

20

【請求項11】

前記G I T R - B Dが単ドメイン抗体(s d A b)を含む、請求項1～7および10のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項12】

前記G I T R - B Dが、配列番号42～62からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、そして/または、前記G I T R - B Dが、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項1～7および10のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項13】

30

免疫グロブリンF c領域ポリペプチドを含む、請求項1～12のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項14】

配列番号81～105からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むか、あるいは、配列番号81～105からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む、請求項1～13のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項15】

前記1つまたは複数のさらなる結合ドメインがG I T R以外の標的と結合し、必要に応じて、前記1つまたは複数のさらなる結合ドメインがT N F受容体スーパーファミリー(T N F R S F)に結合し、必要に応じて、前記T N F R S FのメンバーがO X 40、C D 27、ヘルペスウイルス侵入メディエーター(H V E M)、C D 40、リンホトキシンベータ受容体(L T B R)、エクトジスプラシンA2受容体(E D 2 R)、エクトジスプラシンA受容体(E D A R)、T w e a k R、B細胞成熟抗原(B C M A)、B細胞活性化因子レセプター(B A F F R)、デスレセプター3(D R 3)、デスレセプター6(D R 6)、およびC D 137からなる群から選択される、請求項10～14のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

40

【請求項16】

前記1つまたは複数のさらなる結合ドメインが非T N F R S Fメンバーに結合する、請求項10～14のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

50

【請求項 17】

前記 1 つまたは複数のさらなる結合ドメインが抗体またはその抗原結合性断片を含み、必要に応じて、前記抗体またはその抗原結合性断片が、s c F v、F a b、単一ドメイン抗体 (s d A b)、V_{N A R} または V H H である、請求項 10 ~ 16 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 18】

請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードする単離された核酸。

【請求項 19】

請求項 18 に記載の核酸を含む宿主細胞。

【請求項 20】

請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む医薬組成物。

【請求項 21】

がんを処置するための請求項 20 に記載の医薬組成物であって、必要に応じて、前記がんが、膀胱がん、乳がん、子宮がん、子宮頸がん、卵巣がん、前立腺がん、精巣がん、食道がん、胃腸がん、膵がん、結腸直腸がん、結腸がん、腎がん、頭頸部がん、肺がん、胃がん、胚細胞がん、骨がん、肝がん、甲状腺がん、皮膚がん、中枢神経系の新生物、リンパ腫、白血病、骨髄腫、肉腫、およびウイルス関連がんからなる群より選択され、必要に応じて、前記がんが、転移性がん、難治性がん、または再発がんである、医薬組成物。

【請求項 22】

抗 P D - 1 抗体または抗 P D - L 1 抗体と組み合わせて使用するための請求項 20 または 21 に記載の医薬組成物であって、必要に応じて、前記抗体が、抗 P D - 1 抗体であり、前記抗 P D - 1 抗体が B M S - 9 3 6 5 5 8 である、医薬組成物。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】****関連出願**

この出願は、2015 年 7 月 23 日に提出された米国仮出願第 62 / 195,822 号 (この内容は、その全体が参考として本明細書に援用される) の利益を主張する。

【0002】**配列表の組み込み**

2016 年 7 月 22 日に作成した、サイズが 209 K B である「I N H I 0 2 2 0 0 1 W O _ S T 2 5 . t x t」という名のテキストファイルの内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0003】

本開示は、T N F 受容体スーパーファミリー (T N F R S F) のメンバーであるグルココルチコイド誘導性 T N F R 関連タンパク質 (G I T R) と特異的に会合する分子を一般に提供する。より具体的には、本開示は、少なくとも G I T R に結合する多価および / または多重特異性分子に関する。

【背景技術】**【0004】**

腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーは、いくつかの構造的に関連性のある細胞表面受容体からなる。多量体リガンドによる活性化は、これらの受容体の多くに共通する特徴である。T N F R S F の多くのメンバーは、適切に活性化されれば多くの病態において治療的有用性を有する。重要なこととして、この受容体ファミリーを適切に作動させるには、より高次のクラスター化が必要とされることが多く、従来の二価抗体はこれに理想的ではない。したがって、T N F R S F のより強力なアゴニスト分子に関する治療上の必要性が存在する。

【発明の概要】**【課題を解決するための手段】****【0005】**

10

20

30

40

50

本開示は、少なくともグルココルチコイド誘導性TNFR関連タンパク質（GITR、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー18（TNFRSF18）および/または活性化誘導性TNFRファミリー受容体（AITR）としても公知）に結合する、多価TNF受容体スーパーファミリー（TNFRSF）結合融合ポリペプチドを提供する。少なくともGITRに結合するこれらの分子は、本明細書では、「GITR標的化分子」または「GITR標的化融合体」または「GITR標的化タンパク質」または「GITR標的化融合ポリペプチド」または「GITR標的化融合タンパク質」と呼ばれる。一部の実施形態では、GITR標的化分子は、多価分子、例えば、多価GITR標的化融合タンパク質である。一部の実施形態では、GITR標的化分子は、多重特異性分子、例えば、多重特異性GITR標的化融合タンパク質である。一部の実施形態では、GITR標的化分子は、多価および多重特異性分子、例えば、多価および多重特異性GITR標的化融合タンパク質である。本明細書で使用する用語「融合タンパク質」または「融合ポリペプチド」または「GITR標的化融合タンパク質」または「GITR標的化融合ポリペプチド」は、特に別段の表示がない限り、これらに限定されるものではないが多価誘導タンパク質、多重特異性融合タンパク質または多価および多重特異性融合タンパク質を含む、本開示の任意の融合タンパク質実施形態を指す。

10

【0006】

これらのGITR標的化分子は、GITRに結合する少なくとも1つのドメインを含み、このドメインは、本明細書では「GITR結合ドメイン」（GITR-BD）と呼ばれる。これらのGITR-BDは、GITRと特異的に結合するポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、GITR-BDは、抗体、または例えば、scFv、Fab、単一ドメイン抗体（sdAb）、VNARもしくはVHHを含む抗体断片であるか、あるいはそれに由来する、ポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、GITR-BDは、ヒトまたはヒト化sdAbを含む。

20

【0007】

本開示のGITR標的化分子は、GITRを含むTNF受容体スーパーファミリー（TNFRSF）のメンバーを標的にする従来の抗体からの問題および制限を克服する。TNFRSFのメンバーを標的にする従来の抗体は、DR4、DR5、GITRおよびOX40に対する活性抗体にとってのFc-ガンマ受容体（FcR）の必要性により証明されるように、十分なアゴニスト活性を達成するために外因的架橋を必要とすることが示されている（Ichikawara、2001年、al Nat. Med.、7巻、954～960頁；Lira、2008年、Drug Dev. Res.、69巻、69～82頁；Pukacra、2005年、Br. J. Cancer、92巻、1430～1441頁；Yandara、2008年、Ann. Oncol.、19巻、1060～1067頁；Yangら、2007年、Cancer Lett.、251巻：146～157頁；Bulliardら、2013年、JEM、210巻（9号）：1685頁；Bulliardら、2014年、Immunol and Cell Biol、92巻：475～480頁）。FcRによる架橋に加えて、オリゴマーリガンドまたは抗体結合実体（例えば、プロテインAおよび二次抗体）の付加を含む他の外因性作用物質は、抗TNFRSF抗体クラスター化および下流のシグナル伝達を増進することが実証されている。例えば、DR5リガンドTRAILの付加は、抗DR5抗体のアポトーシス誘導能力を向上させる（Gravesら、2014年、Cancer Cell、26巻：177～189頁）。これらの発見は、二量体を超えるTNFRSFクラスター化の必要性を示唆している。

30

40

【0008】

本開示は、GITRに特異的に結合する単離されたポリペプチドを提供する。一部の実施形態では、単離されたポリペプチドは、抗体に由来するか、またはscFv、Fab、単一ドメイン抗体（sdAb）、VNARもしくはVHHを含む抗体断片に由来する。一部の実施形態では、単離されたポリペプチドは、ヒトまたはヒト化sdAbである。sdAb断片は、VHH、VNAR、操作されたVHまたはVKドメインに由来しうる。VH

50

Hは、重鎖のみのラクダ科動物 (camelid) 抗体から生成することができる。V_{NAR}は、重鎖のみの軟骨魚類抗体から生成することができる。従来のヘテロ二量体のVHおよびVKドメインから単量体sdAbを生成するために様々な方法が実行されており、そのような方法には、界面操作、および特異的生殖系列ファミリーの選択が含まれる。他の実施形態では、単離されたポリペプチドは、非抗体足場タンパク質、例えば、これらに限定されるものではないが、設計されたアンキリンリピートタンパク質 (darpin)、アビマー (avimer)、アンチカリン/リボカリン、セントリン (centyrin) およびフィノマー (fynomer) に由来する。

【0009】

一部の実施形態では、単離されたポリペプチドは、配列番号19～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、単離されたポリペプチドは、配列番号42～62からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、単離されたポリペプチドは、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

【0010】

一部の実施形態では、単離されたポリペプチドは、配列番号19～80からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、単離されたポリペプチドは、配列番号42～62からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、単離されたポリペプチドは、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む。

【0011】

一部の実施形態では、単離されたポリペプチドは、配列番号106、109、112、117、120、125、131、138、143、148および149からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域1 (CDR1) と、配列番号107、110、113、115、118、121、123、128、130、132、134、136、137、139、141、144および147からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域2 (CDR2) と、配列番号108、111、114、116、119、122、124、126、127、129、133、135、140、142、145、146および150からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域3 (CDR3) とを含む。

【0012】

本開示はまた、2つまたはそれよりも多くのTNFRSF結合ドメイン (TBD) を含み、少なくとも1つのTBDがGITRに結合する (このTBDは本明細書ではGITR結合ドメイン (GITR-BD) と呼ばれる)、多価TNFRSF結合融合タンパク質を提供する。一部の実施形態では、本開示の融合タンパク質は、新生物の処置において有用性を有する。一部の実施形態では、本開示の融合タンパク質は、腫瘍細胞上で発現されるTNFRSFメンバー、例えば、少なくともGITRに結合する。

【0013】

一部の実施形態では、本開示のGITR-BDは、抗体に由来するか、またはscFv、Fab、単ドメイン抗体 (sdAb)、V_{NAR}もしくはVHHを含む抗体断片に由来する。一部の実施形態では、GITR-BDは、ヒトまたはヒト化sdAbである。sdAb断片は、VHH、V_{NAR}、操作されたVHまたはVKドメインに由来する。VHHは、重鎖のみのラクダ科動物抗体から生成することができる。V_{NAR}は、重鎖のみの軟骨魚類抗体から生成することができる。従来のヘテロ二量体のVHおよびVKドメイ

10

20

30

40

50

ンから単量体 s d A b を生成するために様々な方法が実行されており、そのような方法には、界面操作、および特異的生殖系列ファミリーの選択が含まれる。他の実施形態では、G I T R - B D は、非抗体足場タンパク質、例えば、これらに限定されるものではないが、設計されたアンキリンリピートタンパク質 (d a r p i n)、アビマー、アンチカリン / リポカリン、セントリンおよびフィノマーに由来する。

【 0 0 1 4 】

一般に、本開示の多価融合タンパク質は、リンカーポリペプチドを介して作動可能に連結されている少なくとも2つまたはそれよりも多くの G I T R - B D を含む。本開示の多価融合タンパク質中の特異的 G I T R - B D 配列としての s d A b 断片の利用には、多くの二重 / 多重特異性抗体アプローチに共通の重鎖：軽鎖誤対合問題を回避するという利益がある。加えて、本開示の多価融合タンパク質により、多くの二重特異性抗体に必要とされる長いリンカーの使用が回避される。

10

【 0 0 1 5 】

一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、2つまたはそれよりも多くの異なる G I T R - B D を含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、3つまたはそれよりも多くの異なる G I T R - B D を含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、4つまたはそれよりも多くの異なる G I T R - B D を含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、5つまたはそれよりも多くの異なる G I T R - B D を含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、6つまたはそれよりも多くの異なる G I T R - B D を含有する。

20

【 0 0 1 6 】

一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、G I T R - B D の複数のコピーを含有する。例えば、一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、G I T R - B D の少なくとも2つのコピーを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、G I T R - B D の少なくとも3つのコピーを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、G I T R - B D の少なくとも4つのコピーを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、G I T R - B D の少なくとも5つのコピーを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、G I T R - B D の少なくとも6つのコピーを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、G I T R - B D の6つまたはそれよりも多くのコピーを含有する。

30

【 0 0 1 7 】

一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 1 9 ~ 8 0 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つの G I T R - B D を含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 1 9 ~ 8 0 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む2つまたはそれよりも多くの G I T R - B D を含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 1 9 ~ 8 0 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む3つまたはそれよりも多くの G I T R - B D を含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 1 9 ~ 8 0 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む4つまたはそれよりも多く G I T R - B D を含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 1 9 ~ 8 0 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む5つまたはそれよりも多くの G I T R - B D を含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 1 9 ~ 8 0 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む6つまたはそれよりも多くの G I T R - B D を含有する。

40

【 0 0 1 8 】

一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 1 9 ~ 8 0 からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも 5 0 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % または 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む少なくとも1つの G I T R - B D を含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 1 9 ~ 8 0 からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも 5 0 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %

50

10

20

30

40

なる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む5つまたはそれよりも多くのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号42~62からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む6つまたはそれよりも多くのGITR-BDを含有する。

【0021】

一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63~80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63~80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む2つまたはそれよりも多くのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63~80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む3つまたはそれよりも多くのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63~80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む4つまたはそれよりも多くのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63~80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む5つまたはそれよりも多くのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63~80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む6つまたはそれよりも多くのGITR-BDを含有する。

【0022】

一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63~80からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63~80からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む2つまたはそれよりも多くのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63~80からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む3つまたはそれよりも多くのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63~80からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む4つまたはそれよりも多くのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63~80からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む5つまたはそれよりも多くのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63~80からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む6つまたはそれよりも多くのGITR-BDを含有する。

【0023】

一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号106、109、112、117、120、125、131、138、143、148および149からなる群より選択さ

10

20

30

40

50

れるアミノ酸配列を含む相補性決定領域1 (CDR1) と、配列番号107、110、113、115、118、121、123、128、130、132、134、136、137、139、141、144および147からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域2 (CDR2) と、配列番号108、111、114、116、119、122、124、126、127、129、133、135、140、142、145、146および150からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域3 (CDR3) とを含むGITR-BDの少なくとも1つのコピーを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号106、109、112、117、120、125、131、138、143、148および149からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号107、110、113、115、118、121、123、128、130、132、134、136、137、139、141、144および147からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号108、111、114、116、119、122、124、126、127、129、133、135、140、142、145、146および150からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR3とを含むGITR-BDの2つまたはそれよりも多くのコピーを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号106、109、112、117、120、125、131、138、143、148および149からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号107、110、113、115、118、121、123、128、130、132、134、136、137、139、141、144および147からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号108、111、114、116、119、122、124、126、127、129、133、135、140、142、145、146および150からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR3とを含むGITR-BDの3つまたはそれよりも多くのコピーを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号106、109、112、117、120、125、131、138、143、148および149からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号107、110、113、115、118、121、123、128、130、132、134、136、137、139、141、144および147からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号108、111、114、116、119、122、124、126、127、129、133、135、140、142、145、146および150からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR3とを含むGITR-BDの4つまたはそれよりも多くのコピーを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号106、109、112、117、120、125、131、138、143、148および149からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号107、110、113、115、118、121、123、128、130、132、134、136、137、139、141、144および147からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号108、111、114、116、119、122、124、126、127、129、133、135、140、142、145、146および150からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR3とを含むGITR-BDの5つまたはそれよりも多くのコピーを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号106、109、112、117、120、125、131、138、143、148および149からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号107、110、113、115、118、121、123、128、130、132、134、136、137、139、141、144および147からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号108、111、114、116、119、122、124、126、127、129、133、135、140、142、145、146および150からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR3とを含むGITR-BDの6つまたはそれよりも多くのコピーを含有する。

【0024】

一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号19～80からなる群より選択

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

【 0 0 2 6 】

20

【 0 0 2 7 】

40

【 0 0 2 8 】

50

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDと、配列番号1～6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDと、配列番号1～6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む2つまたはそれよりも多くの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ

つまたはそれよりも多くの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDと、配列番号5のアミノ酸配列を含む6つまたはそれよりも多くの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。

【0039】

一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDと、配列番号6のアミノ酸配列を含む少なくとも1つの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDと、配列番号6のアミノ酸配列を含む2つまたはそれよりも多くの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDと、配列番号6のアミノ酸配列を含む3つまたはそれよりも多くの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDと、配列番号6のアミノ酸配列を含む4つまたはそれよりも多くの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDと、配列番号6のアミノ酸配列を含む5つまたはそれよりも多くの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDと、配列番号6のアミノ酸配列を含む6つまたはそれよりも多くの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。

【0040】

一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号106、109、112、117、120、125、131、138、143、148および149からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域1(CDR1)と、配列番号107、110、113、115、118、121、123、128、130、132、134、136、137、139、141、144および147からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域2(CDR2)と、配列番号108、111、114、116、119、122、124、126、127、129、133、135、140、142、145、146および150からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域3(CDR3)とを含むGITR-BDの少なくとも1つのコピーと、配列番号1～6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号106、109、112、117、120、125、131、138、143、148および149からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号107、110、113、115、118、121、123、128、130、132、134、136、137、139、141、144および147からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号108、111、114、116、119、122、124、126、127、129、133、135、140、142、145、146および150からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR3とを含むGITR-BDの2つまたはそれよりも多くのコピーと、配列番号1～6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号106、109、112、117、120、125、131、138、143、148および149からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号107、110、113、115、118、121、123、128、130、132、134、136、137、139、141、144および147からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号108、111、114、116、119、122、124、126、127、129、133

10

20

30

40

50

、135、140、142、145、146および150からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR3とを含むGITR-BDの3つまたはそれよりも多くのコピーと、配列番号1～6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号106、109、112、117、120、125、131、138、143、148および149からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号107、110、113、115、118、121、123、128、130、132、134、136、137、139、141、144および147からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号108、111、114、116、119、122、124、126、127、129、133、135、140、142、145、146および150からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR3とを含むGITR-BDの4つまたはそれよりも多くのコピーと、配列番号1～6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号106、109、112、117、120、125、131、138、143、148および149からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号107、110、113、115、118、121、123、128、130、132、134、136、137、139、141、144および147からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号108、111、114、116、119、122、124、126、127、129、133、135、140、142、145、146および150からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR3とを含むGITR-BDの5つまたはそれよりも多くのコピーと、配列番号1～6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号106、109、112、117、120、125、131、138、143、148および149からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号107、110、113、115、118、121、123、128、130、132、134、136、137、139、141、144および147からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号108、111、114、116、119、122、124、126、127、129、133、135、140、142、145、146および150からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR3とを含むGITR-BDの6つまたはそれよりも多くのコピーと、配列番号1～6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。

【0041】

一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号81～105からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号81～93からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号94～105からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

【0042】

一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号81～105からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む。

一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号81～93からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号94～105からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【 0 0 4 3 】

一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 8 1 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 8 2 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 8 3 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 8 4 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 8 5 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 8 6 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 8 7 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 8 8 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 8 9 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 9 0 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 9 1 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 9 2 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 9 3 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 9 4 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 9 5 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 9 6 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 9 7 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 9 8 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 9 9 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 1 0 0 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 1 0 1 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 1 0 2 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 1 0 3 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 1 0 4 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号 1 0 5 のアミノ酸配列を含む。

【 0 0 4 4 】

一部の実施形態では、多価 G I T R 標的化融合タンパク質は、四価である。本明細書で
使用される四価 G I T R 標的化分子は、2 つの G I T R - B D を含む G I T R 標的化融合
タンパク質の 2 つのコピーを指す。例えば、一部の実施形態では、本開示の四価 G I T R
標的化分子は、次の構造を有する G I T R 標的化融合タンパク質の 2 つのコピーを含む：
(G I T R - B D) - リンカー - (G I T R - B D) - リンカー - ヒンジ - F c。一部の
実施形態では、本開示の四価 G I T R 標的化分子は、次の構造を有する G I T R 結合融合
タンパク質の 2 つのコピーを含む：(G I T R - B D) - リンカー - (G I T R - B D)
- リンカー - ヒンジ - F c (式中、G I T R - B D は、G I T R に結合する単離されたポリ
ペプチド配列である)。一部の実施形態では、本開示の四価 G I T R 標的化分子は、次
の構造を有する G I T R 結合融合タンパク質の 2 つのコピーを含む：(G I T R - B D)
- リンカー - (G I T R - B D) - リンカー - ヒンジ - F c (式中、G I T R - B D は、
G I T R に結合する s d A b 配列である)。一部の実施形態では、本開示の四価 G I T R
標的化分子は、次の構造を有する G I T R 結合融合タンパク質の 2 つのコピーを含む：
(G I T R - B D) - リンカー - (G I T R - B D) - リンカー - ヒンジ - F c (式中、G
I T R - B D は、G I T R に結合するヒト化または完全ヒト s d A b 配列である)。一部
の実施形態では、G I T R - B D は、配列番号 1 0 6、1 0 9、1 1 2、1 1 7、1 2 0
、1 2 5、1 3 1、1 3 8、1 4 3、1 4 8 および 1 4 9 からなる群より選択されるアミ
ノ酸配列を含む相補性決定領域 1 (C D R 1) と、配列番号 1 0 7、1 1 0、1 1 3、1
1 5、1 1 8、1 2 1、1 2 3、1 2 8、1 3 0、1 3 2、1 3 4、1 3 6、1 3 7、1
3 9、1 4 1、1 4 4 および 1 4 7 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性
決定領域 2 (C D R 2) と、配列番号 1 0 8、1 1 1、1 1 4、1 1 6、1 1 9、1 2 2
、1 2 4、1 2 6、1 2 7、1 2 9、1 3 3、1 3 5、1 4 0、1 4 2、1 4 5、1 4 6
および 1 5 0 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 3 (C D R 3
) とを含む。一部の実施形態では、四価 G I T R 標的化分子は、配列番号 1 9 ~ 8 0 から

なる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、四価GITR標的化分子は、配列番号19～80からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、四価GITR標的化分子は、配列番号42～62からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、四価GITR標的化分子は、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、四価GITR標的化分子は、配列番号81～93からなる群より選択されるアミノ酸配列の2つのコピーを含む。

10

【0045】

一部の実施形態では、多価GITR標的化融合タンパク質は、六価である。本明細書で使用される六価GITR標的化分子は、3つのGITR-BDを含むGITR標的化融合タンパク質の2つのコピーを指す。例えば、一部の実施形態では、本開示の六価GITR標的化分子は、次の構造を有するGITR標的化融合タンパク質の2つのコピーを含む：(GITR-BD)-リンカー-(GITR-BD)-リンカー-(GITR-BD)-リンカー-ヒンジ-Fc。一部の実施形態では、本開示の六価GITR標的化分子は、次の構造を有するGITR標的化融合タンパク質の2つのコピーを含む：(GITR-BD)-リンカー-(GITR-BD)-リンカー-(GITR-BD)-リンカー-ヒンジ-Fc(式中、GITR-BDは、GITRに結合する単離されたポリペプチド配列である)。一部の実施形態では、本開示の六価GITR標的化分子は、次の構造を有するGITR標的化融合タンパク質の2つのコピーを含む：(GITR-BD)-リンカー-(GITR-BD)-リンカー-(GITR-BD)-リンカー-ヒンジ-Fc(式中、GITR-BDは、GITRに結合するsdAb配列である)。一部の実施形態では、本開示の六価GITR標的化分子は、次の構造を有するGITR標的化融合タンパク質の2つのコピーを含む：(GITR-BD)-リンカー-(GITR-BD)-リンカー-(GITR-BD)-リンカー-ヒンジ-Fc(式中、GITR-BDは、ヒト化または完全ヒトsdAb配列である)。一部の実施形態では、四価GITR標的化分子は、配列番号19～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、四価GITR標的化分子は、配列番号19～80からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、四価GITR標的化分子は、配列番号42～62からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、四価GITR標的化分子は、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、四価GITR標的化分子は、配列番号94～105からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

20

30

40

【0046】

本開示の多価融合タンパク質は、非架橋二価抗体と比較してTNFRSFメンバーの増進されたクラスター化が可能である。本開示の多価融合タンパク質により媒介されるTNFRSFメンバーの増進されたクラスター化は、非架橋二価抗体と比較して増進されたTNFRSF依存性シグナル伝達を誘導する。ほとんどの実施形態において、多価融合タンパク質は、2つより多くのGITR-BD、例えば、3つ、4つ、5つまたは6つのGITR-BDを組み込むことになる。これらの実施形態では、非TNFRSF抗原の相互作用は、さらなる架橋機能をもたらすことができ、TNFRSF活性化は、たった1つまたは2つのTBDで達成される。

【0047】

50

一部の実施形態では、多価融合タンパク質はまた、1つまたは複数のG I T R - B Dと、G I T R以外の標的と結合する1つまたは複数のさらなる結合ドメインとを含む。一部の実施形態では、多価、多重特異性融合タンパク質はまた、1つまたは複数のG I T R - B Dと、非T N F R S Fメンバー抗原に向けられた1つまたは複数のさらなる結合ドメインとを含む。これらの実施形態のいずれにおいても、多価、多重特異性融合タンパク質は、T N F R S Fメンバーに向けられた1つまたは複数のさらなる結合ドメインも含むことができ、前記結合ドメインは、本明細書ではT N F R S F結合ドメイン(T B D)と呼ばれる。これらの実施形態のいずれにおいても、非T N F R S F抗原の相互作用は、さらなる架橋機能をもたらすことができ、T N F R S F活性化は、たった1つもしくは2つのG I T R - B Dでまたはたった1つもしくは2つのG I T R - B DおよびT B Dで達成される。

10

【0048】

一部の実施形態では、多価、多重特異性融合タンパク質は、T N F R S Fメンバーに向けられた1つまたは複数のさらなる結合ドメインも含み、前記結合ドメインは、本明細書ではT N F R S F結合ドメイン(T B D)と呼ばれる。これらの実施形態では、多価、多重特異性融合タンパク質は、少なくとも2つの別個の抗原に結合する。一部の実施形態では、多価、多重特異性融合タンパク質のT B Dのすべてが、所与のT N F R S Fメンバー上の同じエピトープを認識する。例えば、本開示の多価、多重特異性融合タンパク質は、所与のT N F R S Fメンバーに対して同一の特異性を有する2、3、4、5または6つのT B Dを組み込むことができる。他の実施形態では、多価、多重特異性融合タンパク質は、所与のT N F R S Fメンバー上の別個のエピトープを認識するT B Dを組み込む。例えば、本開示の多価、多重特異性融合タンパク質は、G I T R、C D 4 0またはC D 1 3 7上の様々なエピトープに対して別個の認識特異性を有する2、3、4、5または6つのT B Dを組み込むことができる。これらの実施形態では、本開示の多価、多重特異性融合タンパク質は、特定のT N F R S Fメンバーの別個の領域を標的にする複数のT B Dを含有する。一部の実施形態では、T B Dは、同じT N F R S Fメンバー上の異なるエピトープを認識することもあり、または別個のT N F R S Fメンバー上のエピトープを認識することもある。例えば、本開示は、G I T RおよびO X 4 0に結合するT B Dを組み込む多価、多重特異性融合タンパク質を提供する。

20

【0049】

他の実施形態では、本開示の融合タンパク質は、G I T Rと、非腫瘍細胞上で発現される第2のT N F R S Fメンバー、例えば、非限定的な例としてO X 4 0、C D 2 7、H V E M、C D 4 0、リンホトキシンベータ受容体(L T B R)、エクトジスプラシンA 2受容体(E D 2 R)、エクトジスプラシンA受容体(E D A R)、T w e a k R、B C M A、B A F F R、D R 3、D R 6またはC D 1 3 7とに結合する、多重特異性融合タンパク質である。一部の実施形態では、多重特異性融合タンパク質は、多価でもある。一部の実施形態では、多重特異性融合タンパク質は、二重特異性である。これらの実施形態では、本開示の多重特異性融合タンパク質は、免疫細胞を調節し、その結果、腫瘍破壊増進をもたらす。他の実施形態では、本開示の多重特異性融合タンパク質は、炎症状態の処置において有用性を有する。これらの実施形態では、本開示の多重特異性融合タンパク質は、免疫細胞を調節し、その結果、炎症性傷害の減弱に至る。例えば、T N F R 2を特異的に作動させることで、T r e g増殖を増進することができ、その結果、免疫抑制に至る。

30

40

【0050】

一部の実施形態では、多重特異性融合タンパク質は、配列番号19~80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのG I T R - B Dを含有する。一部の実施形態では、多重特異性融合タンパク質は、配列番号42~62からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのG I T R - B Dを含有する。一部の実施形態では、多重特異性融合タンパク質は、配列番号63~80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのG I T R - B Dを含有する。

【0051】

50

一部の実施形態では、多重特異性融合タンパク質は、配列番号19～80からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、多重特異性融合タンパク質は、配列番号42～62からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDを含有する。一部の実施形態では、多重特異性融合タンパク質は、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDを含有する。

10

【0052】

一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号106、109、112、117、120、125、131、138、143、148および149からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域1(CDR1)と、配列番号107、110、113、115、118、121、123、128、130、132、134、136、137、139、141、144および147からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域2(CDR2)と、配列番号108、111、114、116、119、122、124、126、127、129、133、135、140、142、145、146および150からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域3(CDR3)とを含む少なくとも1つのGITR-BDを含有する。

20

【0053】

一部の実施形態では、多重特異性融合タンパク質は、配列番号19～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDと、配列番号1～6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。一部の実施形態では、多重特異性融合タンパク質は、配列番号42～62からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDと、配列番号1～6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。一部の実施形態では、多重特異性融合タンパク質は、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDと、配列番号1～6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。

30

【0054】

一部の実施形態では、多重特異性融合タンパク質は、配列番号19～80からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDと、配列番号1～6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。一部の実施形態では、多重特異性融合タンパク質は、配列番号42～62からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDと、配列番号1～6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。一部の実施形態では、多重特異性融合タンパク質は、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのGITR-BDと、配列番号1～6から

40

50

なる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。

【0055】

一部の実施形態では、多価融合タンパク質は、配列番号106、109、112、117、120、125、131、138、143、148および149からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域1(CDR1)と、配列番号107、110、113、115、118、121、123、128、130、132、134、136、137、139、141、144および147からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域2(CDR2)と、配列番号108、111、114、116、119、122、124、126、127、129、133、135、140、142、145、146および150からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域3(CDR3)とを含む少なくとも1つのGITR-BDと、配列番号1~6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つの免疫グロブリンFc領域ポリペプチドとを含有する。

10

【0056】

本開示の多重特異性融合タンパク質は、非架橋二価抗体と比較してTNFRSFメンバーの増進されたクラスター化が可能である。本開示の多重特異性融合タンパク質により媒介されるTNFRSFメンバーの増進されたクラスター化は、非架橋二価抗体と比較して増進されたTNFRSF依存性シグナル伝達を誘導する。ほとんどの実施形態において、多重特異性融合タンパク質は、2つより多くのTBD、例えば、3つ、4つ、5つまたは6つのTBDを組み込むことになる。一部の実施形態では、多重特異性融合タンパク質は、TBDと、非TNFRSFメンバー抗原に向けられた結合ドメインとを組み込むことになる。これらの実施形態では、非TNFRSF抗原の相互作用は、さらなる架橋機能をもたらすことができ、TNFRSF活性化は、たった1つまたは2つのTBDで達成される。これらの実施形態では、多重特異性融合タンパク質は、多重特異性であり、2つの別個の抗原に結合している。

20

【0057】

一部の実施形態では、本開示のTBDは、抗体に由来するか、またはscFv、Fab、単ドメイン抗体(sdAb)、VNARもしくはVHHを含む抗体断片に由来する。一部の実施形態では、TBDは、ヒトまたはヒト化sdAbである。sdAb断片は、VHH、VNAR、操作されたVHまたはVKドメインに由来する。VHHは、重鎖のみのラクダ科動物抗体から生成することができる。VNARは、重鎖のみの軟骨魚類抗体から生成することができる。従来のヘテロ二量体のVHおよびVKドメインから単量体sdAbを生成するために様々な方法が実行されており、そのような方法には、界面操作、および特異的生殖系列ファミリーの選択が含まれる。他の実施形態では、TBDは、非抗体足場タンパク質、例えば、これらに限定されるものではないが、設計されたアンキリンリピートタンパク質(darpin)、アビマー、アンチカリン/リボカリン、セントリンおよびフィノマーに由来する。

30

【0058】

一般に、本開示の多重特異性融合タンパク質は、リンカーポリペプチドを介して作動可能に連結されている少なくとも2つまたはそれよりも多くのTBDからなる。本開示の多重特異性融合タンパク質中の特異的TBDとしてのsdAb断片の利用には、多くの二重/多重特異性抗体アプローチに共通の重鎖：軽鎖誤対合問題を回避するという利益がある。加えて、本開示の多重特異性融合タンパク質により、多くの二重特異性抗体に必要とされる長いリンカーの使用が回避される。

40

【0059】

一部の実施形態では、多重特異性融合タンパク質のTBDのすべてが、所与のTNFRSFメンバー上の同じエピトープを認識する。例えば、本開示の多重特異性融合タンパク質は、GITRに対して同一の特異性を有する2、3、4、5または6つのTBDを組み込むことができる。他の実施形態では、多重特異性融合タンパク質は、所与のTNFRS

50

Fメンバー上の別個のエピトープを認識するTBDを組み込む。例えば、本開示の多重特異性融合タンパク質は、GITR、CD40またはCD137上の様々なエピトープに対して別個の認識特異性を有する2、3、4、5または6つのTBDを組み込むことができる。これらの実施形態では、本開示の多重特異性融合タンパク質は、特定のTNFRSFメンバーの別個の領域を標的にする複数のTBDを含有する。一部の実施形態では、TBDは、同じTNFRSFメンバー上の異なるエピトープを認識することもあり、または別個のTNFRSFメンバー上のエピトープを認識することもある。例えば、本開示は、GITRおよびOX40に結合するTBDを組み込む多重特異性融合タンパク質を提供する。

【0060】

10

一部の実施形態では、本開示の融合タンパク質、例えば、多価および/または多重特異性融合タンパク質は、単一のポリペプチドで構成されている。他の実施形態では、本開示の融合タンパク質は、1つより多くのポリペプチドで構成されている。例えば、ヘテロ二量体化ドメインは、構築物が非対称融合タンパク質になるように融合タンパク質に組み込まれている。例えば、免疫グロブリンFc領域が融合タンパク質に組み込まれている場合、CH3ドメインをホモ二量体化ドメインとして使用することができ、またはCH3二量体界面領域を、ヘテロ二量体化を可能にするように変異させることができる。

【0061】

一部の実施形態では、融合タンパク質は、TBDおよび/またはGITR-BDを融合タンパク質の互いに反対側の端に含有する。例えば、一部の実施形態では、TBDおよび/またはGITR-BDは、融合タンパク質のアミノ末端(N末端)部分と融合タンパク質のカルボキシ末端(C末端)部分の両方に位置する。他の実施形態では、TBDおよび/またはGITR-BDすべてが、融合タンパク質の同じ端に存在する。例えば、TBDおよび/またはGITR-BDは、融合タンパク質のアミノ末端部分またはカルボキシル末端部分のどちらかに存在する。

20

【0062】

一部の実施形態では、融合タンパク質は、免疫グロブリンFc領域を含有する。一部の実施形態では、免疫グロブリンFc領域は、IgG1アイソタイプ、IgG2アイソタイプ、IgG3アイソタイプ、およびIgG4サブクラスからなる群より選択されるIgGアイソタイプである。

30

【0063】

一部の実施形態では、免疫グロブリンFc領域またはその免疫学的に活性な断片は、IgGアイソタイプである。例えば、融合タンパク質の免疫グロブリンFc領域は、アミノ酸配列：

【化1】

```
PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV  
DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP  
APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPFSRDEL TKNQVSLTCLV KGFYPSDIAV  
EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH  
EALHNHYTQK SLSLSPGK ( 配列番号 : 1)
```

40

を有するヒトIgG1アイソタイプである。

【0064】

一部の実施形態では、免疫グロブリンFc領域またはその免疫学的に活性な断片は、配列番号1のアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるヒトIgG1ポリペプチド配列を含む。

【0065】

50

一部の実施形態では、ヒトIgG1 Fc領域は、融合タンパク質のグリコシル化を防止するようにアミノ酸Asn297（枠で囲まれている位置、カバット番号付け）が修飾される、例えば、Asn297Ala（N297A）またはAsn297Asp（N297D）。一部の実施形態では、融合タンパク質のFc領域は、Fc受容体相互作用を変化させるようにアミノ酸Leu235（枠で囲まれている位置、カバット番号付け）が修飾される、例えば、Leu235Glu（L235E）またはLeu235Ala（L235A）。一部の実施形態では、融合タンパク質のFc領域は、Fc受容体相互作用を変化させるようにアミノ酸Leu234（枠で囲まれている位置、カバット番号付け）が修飾される、例えば、Leu234Ala（L234A）。一部の実施形態では、融合タンパク質のFc領域は、Fc受容体相互作用を変化させるようにアミノ酸Leu234（枠で
10 囲まれている位置、カバット番号付け）が修飾される、例えば、Leu235Glu（L235E）。一部の実施形態では、融合タンパク質のFc領域は、アミノ酸234および235の両方が変化される、例えば、Leu234AlaおよびLeu235Ala（L234A/L235A）またはLeu234ValおよびLeu235Ala（L234V/L235A）。一部の実施形態では、融合タンパク質のFc領域は、Fc受容体結合を低減するようにGly235が変化される。例えば、その場合、Gly235が融合タンパク質から欠失される。一部の実施形態では、ヒトIgG1 Fc領域は、CD32Aとの相互作用を増強するようにアミノ酸Gly236が修飾される、例えば、Gly236Ala（G236A）。一部の実施形態では、ヒトIgG1 Fc領域は、Lys44
20 7を欠く（Kabataら、1991年、Sequences of Proteins of Immunological InterestのEU index）。

【0066】

一部の実施形態では、融合タンパク質のFc領域は、Fc受容体結合を低減させるように次の位置のうちの1つまたは複数が変化される：Leu234（L234）、Leu235（L235）、Asp265（D265）、Asp270（D270）、Ser298（S298）、Asn297（N297）、Asn325（N325）またはAla327（A327）。例えば、Leu234Ala（L234A）、Leu235Ala（L235A）、Asp265Asn（D265N）、Asp270Asn（D270N）、Ser298Asn（S298N）、Asn297Ala（N297A）、Asn325Glu（N325E）またはAla327Ser（A327S）。好ましい実施形態では、Fc領域内の修飾は、Fc受容体ガンマ受容体との結合を低減させるが、新生児型Fc受容体（FcRn）との結合に対して最小限の影響しか及ぼさない。

【0067】

一部の実施形態では、融合タンパク質のFc領域は、Fc受容体結合を低減させるように次の位置のうちの1つまたは複数におけるアミノ酸を欠いている：Glu233（E233）、Leu234（L234）、またはLeu235（L235）。これらの実施形態では、これら3つのアミノ酸のFc欠失は、補体タンパク質C1q結合を低減させる。これらの修飾Fc領域ポリペプチドは、本明細書では「Fc欠失」ポリペプチドと呼ばれる。

【化2】

```
PAPGGPSVEL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV
EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI
EKTISKAKGQ PREPQVYTLF PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE
SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL
HNHYTQKSLS LSPGK ( 配列番号 : 2)
```

10

20

30

40

50

【 0 0 6 8 】

一部の実施形態では、免疫グロブリン F c 領域またはその免疫学的に活性な断片は、配列番号 2 のアミノ酸配列と少なくとも 5 0 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % または 9 9 % 同一であるヒト I g G 1 ポリペプチド配列を含む。

【 0 0 6 9 】

一部の実施形態では、融合タンパク質の免疫グロブリン F c 領域または免疫学的に活性な断片は、アミノ酸配列：

【 化 3 】

PAPPVAGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQEN[□]STF RVVSVLTVVH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPA
PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDISVE
WESNGQPENN YKTTTPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPGK (配列番号 : 3)

10

を有する、ヒト I g G 2 アイソタイプのものである。

【 0 0 7 0 】

一部の実施形態では、融合タンパク質またはその免疫学的に活性な断片は、配列番号 3 のアミノ酸配列と少なくとも 5 0 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % または 9 9 % 同一であるヒト I g G 2 ポリペプチド配列を含む。

20

【 0 0 7 1 】

一部の実施形態では、ヒト I g G 2 F c 領域は、抗体のグリコシル化を防止するようにアミノ酸 A s n 2 9 7 (枠で囲まれている位置) が修飾される、例えば、A s n 2 9 7 A l a (N 2 9 7 A) または A s n 2 9 7 A s p (N 2 9 7 D)。一部の実施形態では、ヒト I g G 2 F c 領域は、L y s 4 4 7 を欠く (K a b a t ら、1 9 9 1 年、S e q u e n c e s o f P r o t e i n s o f I m m u n o l o g i c a l I n t e r e s t の E U i n d e x)。

30

【 0 0 7 2 】

一部の実施形態では、融合タンパク質の免疫グロブリン F c 領域または免疫学的に活性な断片は、アミノ酸配列：

【 化 4 】

PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVQFKWYV
DGVEVHNAKT KPREEQYN[□]ST FRVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
APIEKTISKTK KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
EWESSGQPEN NYNTTPMLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNIFSCSVMH
EALHN[□]FTQK SLSLSPGK (配列番号 : 4)

40

を有する、ヒト I g G 3 アイソタイプのものである。

【 0 0 7 3 】

一部の実施形態では、抗体またはその免疫学的に活性な断片は、配列番号 4 のアミノ酸配列と少なくとも 5 0 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % または 9 9 % 同一であるヒト I g G 3 ポリペプチド配列を含む。

50

【 0 0 7 4 】

一部の実施形態では、ヒト I g G 3 F c 領域は、抗体のグリコシル化を防止するようにアミノ酸 A s n 2 9 7 (枠で囲まれている位置、カバット番号付け) が修飾される、例えば、A s n 2 9 7 A l a (N 2 9 7 A) または A s n 2 9 7 A s p (N 2 9 7 D) 。一部の実施形態では、ヒト I g G 3 F c 領域は、半減期を延長するようにアミノ酸 4 3 5 が修飾される、例えば、A r g 4 3 5 H i s (R 4 3 5 H) 。一部の実施形態では、ヒト I g G 3 F c 領域は、L y s 4 4 7 を欠く (K a b a t ら、1991 年、S e q u e n c e s o f P r o t e i n s o f I m m u n o l o g i c a l I n t e r e s t の E U i n d e x) 。

【 0 0 7 5 】

10

一部の実施形態では、融合タンパク質の免疫グロブリン F c 領域または免疫学的に活性な断片は、アミノ酸配列：

【 化 5 】

```

PAPEFLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV
DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP
SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH
EALHNHYTQK SLSLSLGK ( 配列番号 : 5 )

```

20

を有する、ヒト I g G 4 アイソタイプのものである。

【 0 0 7 6 】

一部の実施形態では、抗体またはその免疫学的に活性な断片は、配列番号 5 のアミノ酸配列と少なくとも 5 0 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % または 9 9 % 同一であるヒト I g G 4 ポリペプチド配列を含む。

【 0 0 7 7 】

一部の実施形態では、融合タンパク質の免疫グロブリン F c 領域または免疫学的に活性な断片は、アミノ酸配列：

30

【 化 6 】

```

PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV
DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP
SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH
EALHNHYTQK SLSLSLGK ( 配列番号 : 6 )

```

40

を有する、ヒト I g G 4 アイソタイプのものである。

【 0 0 7 8 】

一部の実施形態では、抗体またはその免疫学的に活性な断片は、配列番号 6 のアミノ酸配列と少なくとも 5 0 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % または 9 9 % 同一であるヒト I g G 4 ポリペプチド配列を含む。

【 0 0 7 9 】

他の実施形態では、ヒト I g G 4 F c 領域は、F c 受容体相互作用を変化させるよう

50

にアミノ酸 235 が修飾される、例えば、Leu235Glu(L235E)。一部の実施形態では、ヒトIgG4Fc領域は、抗体のグリコシル化を防止するようにアミノ酸 Asn297(カバット番号付け)が修飾される、例えば、Asn297Ala(N297A)またはAsn297Asp(N297D)。一部の実施形態では、ヒトIgG4Fc領域は、Lys447を欠く(Kabatら、1991年、Sequences of Proteins of Immunological InterestのEU index)。

【0080】

一部の実施形態では、ヒトIgG Fc領域は、FcRn結合を増強するように修飾される。FcRnとの結合を増強するFc変異の例は、Met252Tyr、Ser254Thr、Thr256Glu(それぞれ、M252Y、S254T、T256E)(カバット番号付け、Dall'Aquilaら、2006年、J. Biol. Chem、281巻(33号)23514~23524頁)、Met428LeuおよびAsn434Ser(M428L、N434S)(Zalavskyら、2010年、Nature Biotech、28巻(2号)157~159頁)、またはMet252Ile、Thr256Asp、Met428Leu(それぞれ、M252I、T256D、M428L)、(Kabatら、1991年、Sequences of Proteins of Immunological InterestのEU index)である。

【0081】

本開示の融合タンパク質がFcポリペプチドを含む一部の実施形態では、Fcポリペプチドは、変異または修飾される。これらの実施形態では、変異または修飾Fcポリペプチドは、次の変異を含む：カバット番号付けシステムを使用してMet252TyrおよびMet428Leu(M252Y、M428L)。

【0082】

一部の実施形態では、ヒトIgG Fc領域は、抗体依存性細胞傷害(ADCC)および/または補体依存性細胞傷害(CDC)を変化させるように修飾される、例えば、Natsumeら、2008年、Cancer Res、68巻(10号):3863~72頁;Idusogieら、2001年、J. Immunol、166巻(4号):2571~5頁;Mooreら、2010年、mAbs、2巻(2号):181~189頁;Lazarら、2006年、PNAS、103巻(11号):4005~4010頁;Shieldsら、2001年、JBC、276巻(9号):6591~6604頁;Stavenhagenら、2007年、Cancer Res、67巻(18号):8882~8890頁;Stavenhagenら、2008年、Adv. Enzyme Regul、48巻:152~164頁;Alegreら、1992年、J. Immunol、148巻:3461~3468頁;(Kaneko and Niwa、2011年、Biodrugs、25巻(1号):1~11頁で概説)に記載されているアミノ酸修飾。ADCCを増強する変異の例としては、Ser239およびIle332における修飾、例えば、Ser239AspおよびIle332Glu(S239D、I332E)が挙げられる。CDCを増強する変異の例としては、Lys326およびGlu33における修飾が挙げられる。一部の実施形態では、Fc領域は、これらの位置の一方または両方が修飾される、例えば、カバット番号付けシステムを使用してLys326Alaおよび/またはGlu333Ala(K326AおよびE333A)。

【0083】

一部の実施形態では、ヒトIgG Fc領域は、ヘテロ二量体化を誘導するように修飾される。例えば、CH3ドメイン内のThr366にアミノ酸修飾を有し、より嵩高いアミノ酸、例えばTryで置き換えられている(T366W)場合、Thr366、Leu368およびTyr407位においてさほど嵩高くないアミノ酸、例えば、それぞれSer、AlaおよびValへのアミノ酸修飾(T366S/L368A/Y407V)を有する第2のCH3ドメインと、優先的に対合することができる。CH3修飾によるヘテロ二量体化は、ジスルフィド結合の導入により、例えば、反対側のCH3ドメインにおける

10

20

30

40

50

Ser 354をCysに変化させ(S 354C)、Y 349をCysに変化させること(Y 349C)により、さらに安定させることができる(Carter、2001年、Journal of Immunological Methods、248巻:7~15頁で概説)。

【0084】

一部の実施形態では、ヒトIgG Fc領域は、二量体化を防止するように修飾される。これらの実施形態では、本開示の融合タンパク質は、単量体のものである。例えば、残基Thr 366における荷電残基への修飾、例えば、Thr 366 Lys、Thr 366 Arg、Thr 366 AspまたはThr 366 Glu(それぞれ、T 366 K、T 366 R、T 366 DまたはT 366 E)は、CH3-CH3二量体化を防止する。

10

【0085】

一部の実施形態では、融合タンパク質のFc領域は、Fc受容体結合を低減させるように次の位置のうちの1つまたは複数が変化される: Leu 234(L 234)、Leu 235(L 235)、Asp 265(D 265)、Asp 270(D 270)、Ser 298(S 298)、Asn 297(N 297)、Asn 325(N 325)またはAla 327(A 327)。例えば、Leu 234 Ala(L 234 A)、Leu 235 Ala(L 235 A)、Asp 265 Asn(D 265 N)、Asp 270 Asn(D 270 N)、Ser 298 Asn(S 298 N)、Asn 297 Ala(N 297 A)、Asn 325 Glu(N 325 E)またはAla 327 Ser(A 327 S)。好ましい実施形態では、Fc領域内の修飾は、Fc受容体ガンマ受容体との結合を低減させるが、新生児型Fc受容体(FcRn)との結合に対して最小限の影響しか及ぼさない。

20

【0086】

一部の実施形態では、融合タンパク質は、免疫グロブリンヒンジ領域に由来するポリペプチドを含有する。ヒンジ領域は、ヒトIgGサブクラスのいずれかから選択することができる。例えば、融合タンパク質は、軽鎖のC末端システインとジスルフィド結合を形成するCys 220がセリンに変異されている(例えば、Cys 220 Ser(C 220 S))、EPKSSDKTHTCPPC(配列番号7)の配列を有する修飾IgG1ヒンジを含有する。他の実施形態では、融合タンパク質は、配列DKTHTCPPC(配列番号8)を有する短縮型ヒンジを含有する。

【0087】

30

一部の実施形態では、融合タンパク質は、鎖交換を防止するまたは低減させるように修飾されている(例えば、Ser 228 Pro(S 228 P))、IgG4からの修飾ヒンジであって、配列ESKYGP CPCPPC(配列番号9)を有する修飾ヒンジを有する。一部の実施形態では、融合タンパク質は、リンカーポリペプチドを含有する。他の実施形態では、融合タンパク質は、リンカーおよびヒンジポリペプチドを含有する。

【0088】

一部の実施形態では、本開示の融合タンパク質は、N連結グリカン鎖のN 297に結合されているフコースがないまたは低減されている。フコシル化を防止するための多くの方法があり、そのような方法には、FUT8欠損細胞株における産生;哺乳動物細胞培地への阻害剤の添加、例えばカスタノスペルミン;および産生細胞株の代謝改変が含まれるが、これらに限定されない。

40

【0089】

一部の実施形態では、TBDは、ヒトにおいて見出される既存の抗体による認識をなくすように改変される。一部の実施形態では、本開示の単一ドメイン抗体は、Leu 11位の変異、例えば、Leu 11 Glu(L 11 E)またはLeu 11 Lys(L 11 K)により修飾される。他の実施形態では、本開示の単一ドメイン抗体は、カルボキシ末端領域における変化により修飾され、例えば、前記末端配列は、GQGTLVTVKPGG(配列番号10)もしくはGQGTLVTVPEPGG(配列番号11)またはこれらの修飾形からなる。一部の実施形態では、本開示の単一ドメイン抗体は、11位の変異によりおよびカルボキシ末端領域における変化により修飾される。

50

【 0 0 9 0 】

一部の実施形態では、本開示の融合タンパク質の T B D および / または G I T R - B D は、アミノ酸リンカーを介して作動可能に連結されている。一部の実施形態では、これらのリンカーは、アミノ酸グリシンおよびセリンで主として構成されており、本明細書では G S リンカーとして表される。本開示の融合タンパク質の G S リンカーは、様々な長さのもの、例えば、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 アミノ酸長のものであってもよい。

【 0 0 9 1 】

一部の実施形態では、G S リンカーは、G G S G G S、すなわち (G G S) ₂ (配列番号 1 2) ; G G S G G S G G S、すなわち (G G S) ₃ (配列番号 1 3) ; G G S G G S G G S G G S、すなわち (G G S) ₄ (配列番号 1 4) ; および G G S G G S G G S G G S G G S、すなわち (G G S) ₅ (配列番号 1 5) からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

10

【 0 0 9 2 】

一部の実施形態では、リンカーは、非限定的な例として G G、G G G、G G G G (配列番号 1 6)、G G G G G (配列番号 1 7) および G G G G G G (配列番号 1 8) などの、グリシン残基を含む可撓性リンカーである。

【 0 0 9 3 】

一部の実施形態では、G I T R 標的化融合タンパク質は、G S リンカーとグリシンリンカーの組合せを含む。

20

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目 1)

少なくともグルココルチコイド誘導性 T N F R 関連タンパク質 (G I T R) に結合する単離されたポリペプチドであって、複数の腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリー (T N F R S F) 結合ドメイン (T B D) を含み、少なくとも第 1 の T B D (T B D 1) が、G I T R に特異的に結合する G I T R 結合ドメイン (G I T R - B D) を含む、単離されたポリペプチド。

(項目 2)

前記複数の T B D における T B D の各々が G I T R - B D を含む、項目 1 に記載の単離されたポリペプチド。

30

(項目 3)

前記複数の T B D が、G I T R 上の同じエピトープに結合する 2 つまたはそれよりも多くの G I T R - B D を含む、項目 2 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 4)

少なくとも 2 つの前記 G I T R - B D が、G I T R 上の異なるエピトープに結合する、項目 2 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 5)

同じ G I T R - B D の少なくとも 2 つのコピーを含む、項目 2 ~ 4 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 6)

同じ G I T R - B D の少なくとも 3 つのコピーを含む、項目 2 ~ 4 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

40

(項目 7)

各 G I T R - B D が、配列番号 1 9 ~ 8 0 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、項目 1 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 8)

各 G I T R - B D が、配列番号 4 2 ~ 6 2 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、項目 1 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 9)

各 G I T R - B D が、配列番号 6 3 ~ 8 0 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含

50

む、項目 1 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 1 0)

前記複数の T B D における T B D の各々が、配列番号 1 9 ~ 8 0 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む G I T R - B D を含む、項目 1 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 1 1)

前記複数の T B D における T B D の各々が、配列番号 1 9 ~ 8 0 からなる群より選択される同じアミノ酸配列を含む G I T R - B D を含む、項目 1 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 1 2)

前記複数の T B D における T B D の各々が、配列番号 4 2 ~ 6 2 からなる群より選択される同じアミノ酸配列を含む G I T R - B D を含む、項目 1 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 1 3)

前記複数の T B D における T B D の各々が、配列番号 6 3 ~ 8 0 からなる群より選択される同じアミノ酸配列を含む G I T R - B D を含む、項目 1 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 1 4)

複数の G I T R - B D における G I T R - B D の少なくとも 1 つが、配列番号 1 0 6、1 0 9、1 1 2、1 1 7、1 2 0、1 2 5、1 3 1、1 3 8、1 4 3、1 4 8 および 1 4 9 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 1 (C D R 1) と、配列番号 1 0 7、1 1 0、1 1 3、1 1 5、1 1 8、1 2 1、1 2 3、1 2 8、1 3 0、1 3 2、1 3 4、1 3 6、1 3 7、1 3 9、1 4 1、1 4 4 および 1 4 7 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 2 (C D R 2) と、配列番号 1 0 8、1 1 1、1 1 4、1 1 6、1 1 9、1 2 2、1 2 4、1 2 6、1 2 7、1 2 9、1 3 3、1 3 5、1 4 0、1 4 2、1 4 5、1 4 6 および 1 5 0 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 3 (C D R 3) とを含む、項目 1 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 1 5)

複数の G I T R - B D における G I T R - B D の各々が、配列番号 1 0 6、1 0 9、1 1 2、1 1 7、1 2 0、1 2 5、1 3 1、1 3 8、1 4 3、1 4 8 および 1 4 9 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 1 (C D R 1) と、配列番号 1 0 7、1 1 0、1 1 3、1 1 5、1 1 8、1 2 1、1 2 3、1 2 8、1 3 0、1 3 2、1 3 4、1 3 6、1 3 7、1 3 9、1 4 1、1 4 4 および 1 4 7 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 2 (C D R 2) と、配列番号 1 0 8、1 1 1、1 1 4、1 1 6、1 1 9、1 2 2、1 2 4、1 2 6、1 2 7、1 2 9、1 3 3、1 3 5、1 4 0、1 4 2、1 4 5、1 4 6 および 1 5 0 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 3 (C D R 3) とを含む、項目 1 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 1 6)

複数の G I T R - B D における G I T R - B D の各々が、配列番号 1 0 6、1 0 9、1 1 2、1 1 7、1 2 0、1 2 5、1 3 1、1 3 8、1 4 3、1 4 8 および 1 4 9 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 1 (C D R 1) と、配列番号 1 0 7、1 1 0、1 1 3、1 1 5、1 1 8、1 2 1、1 2 3、1 2 8、1 3 0、1 3 2、1 3 4、1 3 6、1 3 7、1 3 9、1 4 1、1 4 4 および 1 4 7 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 2 (C D R 2) と、配列番号 1 0 8、1 1 1、1 1 4、1 1 6、1 1 9、1 2 2、1 2 4、1 2 6、1 2 7、1 2 9、1 3 3、1 3 5、1 4 0、1 4 2、1 4 5、1 4 6 および 1 5 0 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 3 (C D R 3) とを含む同じアミノ酸配列を含む、項目 1 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 1 7)

10

20

30

40

50

前記複数の T B D における T B D の各々が、リンカーポリペプチドを介して作動可能に連結されている、項目 1 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 1 8)

ヘテロ二量体化ドメインを含む、項目 1 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 1 9)

免疫グロブリン F c 領域ポリペプチドを含む、項目 1 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 2 0)

前記免疫グロブリン F c 領域ポリペプチドが、配列番号 1 ~ 6 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、項目 1 9 に記載の単離されたポリペプチド。

10

(項目 2 1)

前記 G I T R - B D が、抗体またはその抗原結合性断片を含む、項目 1 ~ 2 0 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 2 2)

前記複数の T B D における各 T B D が、抗体またはその抗原結合性断片を含む、項目 1 ~ 2 0 のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 2 3)

前記抗体またはその抗原結合性断片が、s c F v、F a b、単ドメイン抗体 (s d A b)、V_{N A R} または V H H である、項目 2 1 または項目 2 2 に記載の単離されたポリペプチド。

20

(項目 2 4)

前記抗体またはその抗原結合性断片が s d A b である、項目 2 1 または項目 2 2 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 2 5)

前記 s d A b が、ヒトまたはヒト化 s d A b である、項目 2 4 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 2 6)

前記 s d A b が、V H H、V_{N A R}、操作された V H ドメインまたは操作された V K ドメインである、項目 2 4 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 2 7)

前記 s d A b が、重鎖のみの軟骨魚類抗体から生成される、項目 2 3 に記載の単離されたポリペプチド。

30

(項目 2 8)

少なくとも 1 つの前記 T B D が、非抗体足場タンパク質を含む、先行する項目のいずれか一項に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 2 9)

前記非抗体足場タンパク質が、アンキリンリピートタンパク質、d a r p i n、アビマー、アンチカリンノリボカリン、セントリン、またはフィノマーである、項目 2 8 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 3 0)

四価である、項目 1 に記載の単離されたポリペプチド。

40

(項目 3 1)

構造：(G I T R - B D) - リンカー - (G I T R - B D) - リンカー - ヒンジ - F c を含む融合タンパク質の 2 つのコピーを含む、項目 3 0 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 3 2)

前記 G I T R - B D が、s d A b 配列である、項目 3 1 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 3 3)

前記 G I T R - B D が、ヒト化または完全ヒト s d A b 配列である、項目 3 1 に記載の

50

単離されたポリペプチド。

(項目 3 4)

各 G I T R - B D が、配列番号 1 9 ~ 8 0 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、項目 3 1 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 3 5)

各 G I T R - B D が、配列番号 1 0 6、1 0 9、1 1 2、1 1 7、1 2 0、1 2 5、1 3 1、1 3 8、1 4 3、1 4 8 および 1 4 9 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 1 (C D R 1) と、配列番号 1 0 7、1 1 0、1 1 3、1 1 5、1 1 8、1 2 1、1 2 3、1 2 8、1 3 0、1 3 2、1 3 4、1 3 6、1 3 7、1 3 9、1 4 1、1 4 4 および 1 4 7 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 2 (C D R 2) と、配列番号 1 0 8、1 1 1、1 1 4、1 1 6、1 1 9、1 2 2、1 2 4、1 2 6、1 2 7、1 2 9、1 3 3、1 3 5、1 4 0、1 4 2、1 4 5、1 4 6 および 1 5 0 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 3 (C D R 3) とを含む、項目 3 1 に記載の単離されたポリペプチド。

10

(項目 3 6)

六価である、項目 1 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 3 7)

構造：(G I T R - B D) - リンカー - (G I T R - B D) - リンカー - (G I T R - B D) - リンカー - ヒンジ - F c を含む融合タンパク質の 2 つのコピーを含む、項目 3 6 に記載の単離されたポリペプチド。

20

(項目 3 8)

前記 G I T R - B D が、s d A b 配列である、項目 3 6 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 3 9)

前記 G I T R - B D が、ヒト化または完全ヒト s d A b 配列である、項目 3 6 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 4 0)

各 G I T R - B D が、配列番号 1 9 ~ 8 0 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、項目 3 6 に記載の単離されたポリペプチド。

(項目 4 1)

各 G I T R - B D が、配列番号 1 0 6、1 0 9、1 1 2、1 1 7、1 2 0、1 2 5、1 3 1、1 3 8、1 4 3、1 4 8 および 1 4 9 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 1 (C D R 1) と、配列番号 1 0 7、1 1 0、1 1 3、1 1 5、1 1 8、1 2 1、1 2 3、1 2 8、1 3 0、1 3 2、1 3 4、1 3 6、1 3 7、1 3 9、1 4 1、1 4 4 および 1 4 7 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 2 (C D R 2) と、配列番号 1 0 8、1 1 1、1 1 4、1 1 6、1 1 9、1 2 2、1 2 4、1 2 6、1 2 7、1 2 9、1 3 3、1 3 5、1 4 0、1 4 2、1 4 5、1 4 6 および 1 5 0 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 3 (C D R 3) とを含む、項目 3 6 に記載の単離されたポリペプチド。

30

(項目 4 2)

配列番号 8 1 ~ 1 0 5 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、項目 1 に記載の単離されたポリペプチド。

40

(項目 4 3)

配列番号 8 1 ~ 1 0 5 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチド。

(項目 4 4)

配列番号 8 1 ~ 1 0 5 からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 5 % または 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチド。

(項目 4 5)

配列番号 8 1 ~ 1 0 5 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、項目 4 4 に記載

50

の単離されたポリペプチド。

(項目 4 6)

項目 4 4 に記載のポリペプチドをコードする単離された核酸。

(項目 4 7)

項目 4 6 に記載の核酸を含む宿主細胞。

(項目 4 8)

項目 4 4 に記載のポリペプチドを含む医薬組成物。

(項目 4 9)

がんの処置を必要とする被験体におけるがんを処置する方法であって、治療有効量の項目 4 8 に記載の医薬組成物を前記被験体に投与するステップを含む、方法。

10

(項目 5 0)

がんを有する被験体の生存を増大させる方法であって、治療有効量の項目 1 または項目 4 3 または項目 4 4 に記載のポリペプチドを前記被験体に投与するステップを含む、方法。

(項目 5 1)

前記被験体がヒトである、項目 4 9 または項目 5 0 に記載の方法。

(項目 5 2)

前記がんが、膀胱がん、乳がん、子宮がん、子宮頸がん、卵巣がん、前立腺がん、精巣がん、食道がん、胃腸がん、膵がん、結腸直腸がん、結腸がん、腎がん、頭頸部がん、肺がん、胃がん、胚細胞がん、骨がん、肝がん、甲状腺がん、皮膚がん、中枢神経系の新生物、リンパ腫、白血病、骨髄腫、肉腫、およびウイルス関連がんからなる群より選択される、項目 4 9 ~ 5 1 のいずれか一項に記載の方法。

20

(項目 5 3)

前記がんが、転移性がん、難治性がん、または再発がんである、項目 5 2 に記載の方法。

(項目 5 4)

腫瘍成長の阻害を必要とする被験体における腫瘍成長を阻害する方法であって、治療有効量の項目 4 3 または項目 4 4 に記載のポリペプチドを前記被験体に投与するステップを含む、方法。

(項目 5 5)

腫瘍内制御性 T 細胞 (T_{reg}) の頻度を低下せる方法、CD8 + T 細胞の活性化および増殖を誘導する方法、または T_{reg} 細胞の頻度を低下させ、かつ CD8 + T 細胞の活性化および増殖を誘導する方法であって、項目 4 3 または項目 4 4 に記載のポリペプチドを被験体に投与するステップを含む、方法。

30

(項目 5 6)

前記被験体が、CT26 マウスである、項目 5 5 に記載の方法。

(項目 5 7)

新生物を処置するための、項目 1 ~ 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチドの使用。

(項目 5 8)

腫瘍破壊を増進するように免疫細胞を調節するための、項目 1 ~ 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチドの使用。

40

【図面の簡単な説明】

【0094】

【図 1】 図 1 A は、本開示の例示的な多価融合タンパク質の略図である。

【0095】

【図 2】 図 2 A、2 B および 2 C は、フローサイトメトリーにより評定した、CHO 細胞において発現された GITR との GITR 標的化融合タンパク質の結合を実証する一連のグラフである。GITR 抗体、TRX-518 を対照としてこれらの研究に使用した。

【0096】

【図 3】 図 3 A、3 B および 3 C は、GITRL と GITR 間の相互作用を遮断する GI

50

T R 標的化融合タンパク質の能力を実証する一連のグラフである。本明細書では、G I T R 発現 C H O 細胞および組換え G I T R L を使用するフローサイトメトリーアッセイを使用して、遮断能力を評価した。G I T R 抗体、T R X - 5 1 8 を対照としてこれらの研究に使用した。

【 0 0 9 7 】

【図 4】図 4 A、4 B、4 C、4 D および 4 E は、フローサイトメトリーにより測定した、C H O 細胞の表面で発現されたヒト G I T R およびカニクイザル G I T R (「c y n o G I T R」) に対する h z C 0 6 v 1 . 1、h z C 0 6 v 1 . 2、h z C 0 6 v 1 . 3、h z C 0 6 v 1 . 4、h z C 0 6 v 2 . 1、h z C 0 6 v 2 . 2、h z C 0 6 v 2 . 3、h z C 0 6 v 2 . 4、h z C 0 6 v 3、h z C 0 6 v 3 . 1、h z C 0 6 v 3 . 2、h z C 0 6 v 3 . 3、h z C 0 6 v 3 . 4、h z C 0 6 v 3 . 5、h z C 0 6 v 3 . 6、h z C 0 6 v 3 . 7、h z C 0 6 v 3 . 8、h z C 0 6 v 3 . 9、h z C 0 6 v 3 . 1 0、h z C 0 6 v 3 . 1 1 および h z C 0 6 v 3 . 1 2 と呼ばれる本開示の G I T R 標的化分子の結合を図示する一連のグラフである。

10

【 0 0 9 8 】

【図 5】図 5 A、5 B、5 C、5 D および 5 E は、フローサイトメトリーにより測定した、C H O 細胞の表面で発現されたヒト G I T R およびカニクイザル G I T R (「c y n o G I T R」) に対する h z C 0 4 v 4 . 1、h z C 0 4 v 4 . 1 . 2、h z C 0 4 v 4 . 2、h z C 0 4 v 4 . 2 . 2、h z C 0 4 v 5、h z C 0 4 v 1 . 2 . 1、h z C 0 4 v 5 . 1、h z C 0 4 v 5 . 2、h z C 0 4 v 5 . 3、h z C 0 4 v 5 . 4、h z C 0 4 v 5 . 5、h z C 0 4 v 5 . 6、h z C 0 4 v 5 . 7、h z C 0 4 v 5 . 8、h z C 0 4 v 5 . 9、h z C 0 4 v 5 . 1 0、h z C 0 4 v 5 . 1 1 および h z C 0 4 v 5 . 1 2 と呼ばれる本開示の G I T R 標的化分子の結合を図示する一連のグラフである。

20

【 0 0 9 9 】

【図 6】図 6 は、ヒト I g G 1 F c ドメインに融合した単一ドメイン可変領域 (s d A b) の 2 つのタンデムコピーを用いて構築される、本開示の四価抗 G I T R 分子の略図である。代替分子は、マウス I g G 2 a に由来する F c ドメインを用いて構築される。

【 0 1 0 0 】

【図 7】図 7 は、本明細書では四価 h z C 0 6 - h I g G 1 と呼ばれる本開示の抗 G I T R 分子の初代ヒト T 細胞との結合を図示するグラフである。四価 h z C 0 6 - h I g G 1 は、配列番号 9 3 の G I T R 結合分子の 2 つのコピーを用いて構築され、そしてまた前記 G I T R 結合分子は、配列番号 1 のヒト I g G 1 F c ドメインに融合した配列番号 5 9 の単一ドメイン可変領域 (s d A b) の 2 つのタンデムコピーを用いて構築される。

30

【 0 1 0 1 】

【図 8】図 8 A および 8 B は、G I T R を発現するレポーター細胞株における N F - k B シグナル伝達を活性化する本開示の四価 G I T R 標的化分子の能力を図示する一連のグラフである。

【 0 1 0 2 】

【図 9】図 9 A、9 B および 9 C は、本開示の四価 G I T R 標的化分子での処置が投与日に関係なく C T 2 6 腫瘍成長を有意に低減させたことを図示する一連のグラフである。

40

【 0 1 0 3 】

【図 1 0】図 1 0 は、本開示の四価 G I T R 標的化分子による C T 2 6 腫瘍成長の用量依存的抑制を図示する一連のグラフである。

【 0 1 0 4 】

【図 1 1】図 1 1 は、本開示の四価 G I T R 標的化分子による M C 3 8 腫瘍成長の用量依存的抑制を図示する一連のグラフである。

【 0 1 0 5 】

【図 1 2】図 1 2 A、1 2 B および 1 2 C は、C T 2 6 腫瘍成長の阻害に対する F c 機能の影響を図示する一連のグラフである。

【 0 1 0 6 】

50

【図13】図13A、13Bおよび13Cは、四価GITR標的化分子での処置がCT26腫瘍での再負荷に対するその後の抵抗性を有したことを図示する一連のグラフである。

【0107】

【図14】図14A、14Bおよび14Cは、本開示の四価GITR標的化分子での処置がT_{reg}頻度を有意に低減させ、腫瘍微小環境内のT_{reg}細胞のエフェクター細胞に対する比を変化させたことを図示する一連のグラフである。

【0108】

【図15】図15Aおよび15Bは、本開示の四価GITR標的化分子での処置がCD8 T細胞活性化および増殖を有意に誘導したことを図示する一連のグラフである。

【発明を実施するための形態】

10

【0109】

本開示は、TNF受容体スーパーファミリー(TNFRSF)のメンバーであるグルコシルチコイド誘導性TNFR関連タンパク質(GITR)と特異的に会合する分子を提供する。より具体的には、本開示は、少なくともGITRに結合する多価分子に関する。これらの多価TNFRSF結合融合タンパク質は、2つまたはそれよりも多くのTNFRSF結合ドメイン(TBD)を含み、少なくとも1つのTBDがGITRに結合しており、このTBDは本明細書では「GITR結合ドメイン」(GITR-BD)と呼ばれる。

【0110】

GITRは、TNFRSFのメンバーであり、腫瘍内のCD4⁺/CD25⁺/Foxop3⁺制御性T細胞(Treg)上で構成的に発現され、活性化後に他のT細胞集団上で上方制御される。それは、Treg媒介免疫自己寛容において主要な役割を果たすと仮定される。GITRアゴニストは、Tregの抑制活性を減弱し、マウスモデルにおいてエフェクターT細胞による腫瘍の殺滅を増進することが証明されている。したがって、機能的GITRアゴニストには腫瘍免疫療法において大きな可能性がある。

20

【0111】

一部の実施形態では、本開示の融合タンパク質は、少なくとも1つのGITR-BDを組み込む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、多価融合タンパク質である。一部の実施形態では、融合タンパク質は、GITRと、例えば任意の他のTNFRSFメンバーなどの、第2の抗原とに結合する、多重特異性融合タンパク質である。一部の実施形態では、融合タンパク質は、多重特異性および多価の融合タンパク質である。

30

【0112】

一部の実施形態では、GITR-BDは、ヒトおよびカニクイザルGITRに結合する。一部の実施形態では、GITR-BDは、GITRとそのリガンドGITR-リガンド(GITR-L)の相互作用を遮断、阻害または別様に調節する。他の実施形態では、GITR-BDは、GITRとGITR-Lの相互作用を遮断も、阻害も、別様に調節もしない。一部の実施形態では、本開示の融合タンパク質は、同じGITR-BDの複数のコピーを組み込む。一部の実施形態では、本開示の融合タンパク質は、GITR上の同じエピトープを認識する複数のGITR-BDを組み込む。一部の実施形態では、本開示の融合タンパク質は、GITR上の別個のエピトープを認識する複数のGITR-BDを組み込む。一部の実施形態では、本開示の融合タンパク質は、GITR-GITR-L相互作用を遮断するGITR-BDもあり、GITR-GITR-L相互作用を遮断しないものもある、複数のGITR-BDを組み込む。好ましい実施形態では、本開示のGITR標的化融合タンパク質は、腫瘍細胞の直接的な細胞死を誘導する。

40

【0113】

一部の実施形態では、GITR標的化分子は、GITRに特異的に結合する単ドメイン抗体(sdAb)配列の少なくとも1つのコピーを含む。一部の実施形態では、GITR標的化分子は、GITRに特異的に結合するsdAbの2つまたはそれよりも多くのコピー、例えば、GITRに特異的に結合するsdAbの3つもしくはそれよりも多く、4つもしくはそれよりも多く、5つもしくはそれよりも多く、または6つもしくはそれよりも多くのコピーを含む。

50

【 0 1 1 4 】

単ドメイン抗体 (s d A b) は、特異的抗原と選択的に結合することができる単一の単量体可変抗体ドメインからなる抗体断片である。たった 1 2 ~ 1 5 k D a の分子量しか有さない単ドメイン抗体は、2本のタンパク質重鎖および2本の軽鎖で構成されている通常の抗体 (1 5 0 ~ 1 6 0 k D a) よりはるかに小さく、F a b 断片 (約 5 0 k D a 、1本の軽鎖と半分の重鎖) および一本鎖可変断片 (約 2 5 k D a 、軽鎖からのものと重鎖からのものである2つの可変ドメイン) よりも小さい。

【 0 1 1 5 】

単ドメイン抗体は、相補性決定領域が単ドメインポリペプチドの一部である抗体である。例としては、重鎖抗体、天然に軽鎖を欠いている抗体、通常の4本鎖抗体に由来する単ドメイン抗体、操作された抗体、および抗体に由来するもの以外の単ドメイン足場が挙げられるが、これらに限定されない。単ドメイン抗体は、これらに限定されるものではないがマウス、ヒト、ラクダ、ラマ、ヤギ、ウサギおよび/またはウシを含む、いずれの種に由来してもよい。一部の実施形態では、本明細書で使用される単ドメイン抗体は、軽鎖を欠いている重鎖抗体として公知の、天然に存在する単ドメイン抗体である。明確にするために、軽鎖を天然に欠いている重鎖抗体に由来するこの可変ドメインは、4本鎖免疫グロブリンの通常のV H と区別するために本明細書ではV H H として公知である。そのようなV H H 分子は、C a m e l i d a e 種において、例えば、ラクダ、ラマ、ヒトコブラクダ、アルパカおよびグアナコにおいて産生される抗体に由来しうる。C a m e l i d a e 以外の他の種が、軽鎖を天然に欠いている重鎖抗体を産生することもあり、そのようなV H H は、本開示の範囲内である。

【 0 1 1 6 】

G I T R V H H (ラマ由来) およびヒト化配列を下記にて示し、下記にて提示する配列中にC D R 配列を示す。一部の実施形態では、G I T R 結合 s d A b は、I g G F c 領域に融合され、これらの実施形態では、融合タンパク質は、二価であり、1分子当り2つのG I T R 結合ドメインを有する。一部の実施形態では、2つのG I T R 結合 s d A b (2 x) がI g G F c 領域に融合され、これらの実施形態では、融合タンパク質は、四価であり、1分子当り4つのG I T R 結合ドメインを有する。一部の実施形態では、3つのG I T R 結合 s d A b (3 x) がI g G F c 領域に融合され、これらの実施形態では、融合タンパク質は、六価であり、1分子当り6つのG I T R 結合ドメインを有する。

例示的G I T R 結合 s d A b

【 化 7 】

B09

QVQLQESGGXLVQSGGSLRLSCAASGVSFSDAMGWYRLAPGKQRELVAVMSSGSPKYADS
VKGRFTISRGSARGTVVYLQMDSLKPEDTAVYYCYADVATGWGRDASAYWGQGTQVTVSS

(配列番号 : 19)

CDR1: GSVFSIDAM (配列番号 : 106)

10

20

30

40

【化 8】

CDR2: VMSSGSPK (配列番号 : 107)
 CDR3: YADVATGWGRDASAYW (配列番号 : 108)

H09

QVQLQQSGGGLVRAGGSLRLSCVAAGSTFSVNSMAWYRQAPGKERELVAAFTGGSTMNYAS
 SVKGRFTISRGNAAHTVLLQMTNLKPEDTAVYYCNAEVNEGWNADYHDYWGQGTQVTVSS
 (配列番号 : 20)

10

CDR1: AGSTFSVNSM (配列番号 : 109)
 CDR2: FTGGSTMN (配列番号 : 110)
 CDR3: NAEVNEGWNADYHDYW (配列番号 : 111)

F05

QVQLVQSGGGLVQAGGSLRLSCTASGSIFSINHMAWYRQAPGKQREMAHITGGASTKYAD
 SVKGRFTISRDSALNTVSLRMNSLKPEDTAVYYCNAEVNEGWNADYYDVWGQGTQVTVSS
 (配列番号 : 21)

20

CDR1: SGSIFSINHM (配列番号 : 112)
 CDR2: HITGGASTK (配列番号 : 113)
 CDR3: NAEVNEGWNADYYDVW (配列番号 : 114)

C06

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSVFSIDAMGWYRLAPGQQRELVAVLNGISSAKYAD
 SVKGRFTISGDSAKNAVYLQMDGLKPEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGTQVTVSS
 (配列番号 : 22)

30

CDR1: GSVFSIDAM (配列番号 : 106)
 CDR2: VLNGISSAK (配列番号 : 115)
 CDR3: YADVSTGWGRDAHGYW (配列番号 : 116)

2A1

EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGNIFSIDAMGWYRQAPGRQRELVAQIFGGPTDSVKG
 RFTVSGNSAKNTGYLQMNLTLPEDTAVYYCNIVASTSWGSPSKVYWQGTQATVSS (配列番号
 : 23)

40

CDR1: SGNIFSIDAM (配列番号 : 117)
 CDR2: QIPGG (配列番号 : 118)
 CDR3: NIVASTSWGSPSKVYW (配列番号 : 119)

【化 9】

E2

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGVSFSDSMQAPGNERELVALITGGRTTTYAD
SVKGRFTISRASPNTVYLMNSLKPEDTAVYYCNAVVSTGWGRNADDYWGQGTQVTVS

(配列番号 : 24)

CDR1: SGSVFSIDSM (配列番号 : 120)

CDR2: LITGGRTTT (配列番号 : 121)

CDR3: NAVVSTGWGRNADDYW (配列番号 : 122)

10

B12

QVQLQQSGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIFSIDAMGWYRLAPGKQRELVAVIDGVSPNYADS
VKGRFTISSDIKNTVYLMHSPKPEDTAVYYCNADVSTGWGRPADHYWGQGTQVTVS

(配列番号 : 25)

CDR1: SGSIFSIDAM (配列番号 : 149)

CDR2: VIDGVSPN (配列番号 : 123)

CDR3: NADVSTGWGRPADHYW (配列番号 : 150)

20

B2

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGVSFSDSMQAPGNERELVALITGGHTTTYGD
SVKGRFTISRASPNTVHLMNSLQPEDTAVYYCNAAVSTGWGRNADDYWGQGTQVTVS

(配列番号 : 26)

CDR1: SGSVFSIDSM (配列番号 : 120)

CDR2: LITGGHTTT (配列番号 : 123)

CDR3: NAAVSTGWGRNADDYW (配列番号 : 124)

30

F2

QLVQSGGGLVQPGESLRLSCAASGVSFSDSVSWFRQGPGNERELVALITGGRTTTYADSV
KGRFTISRANAPNTVHLRMNSLKPEDTAVYYCNAAVSTGWGRNADDYWGQGTQVTVS

(配列番号 : 27)

CDR1: SGSVFSIDSV (配列番号 : 125)

CDR2: LITGGRTTT (配列番号 : 121)

CDR3: NAAVSTGWGRNADDYW (配列番号 : 124)

B3

40

【化 10】

QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLICAASGSVFSIDSMWFRQRPGERELVALITGGRTTTYSD
SVKGRFTISRASALNTVHLQMNSLKPEDTAVYYCNAALSTGWGRDASAYWGQGTQVTVS

(配列番号 : 28)

CDR1: SGSVFSIDSM (配列番号 : 120)

CDR2: LITGGRTTT (配列番号 : 121)

CDR3: NAALSTGWGRDASAYW (配列番号 : 126)

10

E3

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCTASGSIFSINHMAWYRQAPGKQREMVAHITGGASTKYAD
SVKGRFTISRDSALNTVSLRMNSLKPEDTAVYYCNAEVNEGWNADYYDVWGQGTQVTVS

(配列番号 : 29)

CDR1: SGSIFSINHM (配列番号 : 112)

CDR2: HITGGASTK (配列番号 : 113)

CDR3: AEVNEGWNADYYDVW (配列番号 : 127)

20

B4

QLQLQESGGGTQVQAGGSLRLSCAASRSIASINVMGWYRQAPGNQHELVAAITSGGSPNYAG
SVRGRFTISRDNKNTVYLLQMNDLKPEDTAVYYCAGELRDDSNGYLHYWGQGTQVTVS

(配列番号 : 30)

CDR1: SRSIASINVM (配列番号 : 148)

CDR2: ITSGGSPN (配列番号 : 128)

CDR3: AGELRDDSNGYLHYW (配列番号 : 129)

30

B7

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDSMWFRQTPGERELVAHITGGRTTTYAD
SVKGRFTISRASAPNTVHLQMNNLKPEDTAVYYCNAAVSTGWGRNADDYWGQGTQVTVS

(配列番号 : 31)

CDR1: SGSVFSIDSM (配列番号 : 120)

CDR2: HITGGRTTT (配列番号 : 130)

CDR3: NAAVSTGWGRNADDYW (配列番号 : 124)

40

【化 1 1】

C7

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCTASGSIFSIDDMGWYRLAPGKQRELVAVHSGSSTNYGDS
VKGRFTISGDSAKNTVYQLQMRLEPEDTAVYYCYAAISSGWGRDAEDYWQGTQVTVS

(配列番号 : 32)

CDR1: SGSIFSIDDM (配列番号 : 131)

CDR2: VHSGSSTN (配列番号 : 132)

CDR3: YAAISSGWGRDAEDYW (配列番号 : 133)

10

C4

QVQLVQSGGGLVQPGESLRLSCAASGSVFSIDSMWFRQGPGENERELVALITGGRTTTYAD
SVKGRFTISRANAPNTVHLQMNLSKPEDTAVYYCNAAVSTGWGRSADDYWQGTQVTVS

(配列番号 : 33)

CDR1: SGSVFSIDSM (配列番号 : 120)

CDR2: ITGGRTTT (配列番号 : 134)

CDR3: NAAVSTGWGRSADDYW (配列番号 : 135)

20

B5

QVQLVQSGGGLVQPGESLRLSCAASGSVFSIDSMWFRQGPGENERELVALITGGRTTTYAD
SVKGRFTISRANAPNTVHLQMNSLEPEDTAVYYCNAAVSTGWGRNADDYWQGTQVTVS

(配列番号 : 34)

CDR1: SGSVFSIDSM (配列番号 : 120)

CDR2: LITGGRTTT (配列番号 : 121)

CDR3: NAAVSTGWGRNADDYW (配列番号 : 124)

30

H11

QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDSMWFRQAPGENERELVALITGGRTTTYAD
SVKGRFTISRASAPNTVHLQMNLSKPEDTAVYYCNAVSTGWGRNADDYWQGTQVTVS

(配列番号 : 35)

CDR1: SGSVFSIDSM (配列番号 : 120)

CDR2: LITGGRTTT (配列番号 : 121)

CDR3: NAVSTGWGRNADDYW (配列番号 : 122)

40

【化 1 2】

H11v420

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASG SVFSIDAMSWFRQAPGKGLELVSAITGGRTTYAE
SVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAV VSTGWGRNADDYWGQGT LVTVKP

(配列番号 : 36)

CDR1: GSVFSIDAM (配列番号 : 106)

CDR2: ITGGRTTY (配列番号 : 136)

CDR3: NAVVSTGWGRNADDYW (配列番号 : 122)

10

H11v420.1

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASG SVFSIDAMSWFRQAPGKGLELVCAITGGRTTYAE
SVKGRFTCSRDNAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAV VSTGWGRNADDYWGQGT LVTVKP

(配列番号 : 37)

CDR1: GSVFSIDAM (配列番号 : 106)

CDR2: AITGGRTTY (配列番号 : 137)

CDR3: NAVVSTGWGRNADDYW (配列番号 : 122)

20

H11v401

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASG SVFSIDSMWFRQAPGKGLELVSLITGGRTTYAE
SVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAV VSTGWGRNADDYWGQGT LVTVKP

(配列番号 : 38)

CDR1: SGSVFSIDSM (配列番号 : 120)

CDR2: LITGGRTTY (配列番号 : 137)

CDR3: NAVVSTGWGRNADDYW (配列番号 : 122)

30

H11v401.1

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASG SVFSIDSMWFRQAPGKGLELVCLITGGRTTYAE
SVKGRFTCSRDNAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAV VSTGWGRNADDYWGQGT LVTVKP

(配列番号 : 39)

CDR1: SGSVFSIDSM (配列番号 : 120)

CDR2: LITGGRTTY (配列番号 : 137)

CDR3: NAVVSTGWGRNADDYW (配列番号 : 122)

40

【化 1 3】

H11v421

EVQLLESQGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFSDAMSWFRQAPGKGLVSLITGGRTTYAE
SVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVVSSTGWGRNADDYWGQGLVTVKP

(配列番号 : 40)

CDR1: SGSVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LITGGRTTY (配列番号 : 137)

CDR3: NAVVSSTGWGRNADDYW (配列番号 : 122)

10

H11v421.1

EVQLLESQGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFSDAMSWFRQAPGKGLVCLITGGRTTYAE
SVKGRFTCSRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVVSSTGWGRNADDYWGQGLVTVKP

(配列番号 : 41)

CDR1: SGSVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LITGGRTTY (配列番号 : 137)

CDR3: NAVVSSTGWGRNADDYW (配列番号 : 122)

20

hzC06v1.1

EVQLLESQGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFSDAMGWYRQAPGKGLVLSALSGISSATYAE
SVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGLVTV

(配列番号 : 42)

CDR1: SGSVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LSGISSAT (配列番号 : 139)

CDR3: YADVSTGWGRDAHGYW (配列番号 : 116)

hzC06v1.2

EVQLLESQGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFSDAMGWYRQAPGKGLVLSALSGISSATYAE
SVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGLVTV

(配列番号 : 43)

CDR1: GSVFSIDAM (配列番号 : 106)

CDR2: LSGISSAT (配列番号 : 139)

CDR3: YADVSTGWGRDAHGYW (配列番号 : 116)

30

【化 1 4】

hzC06v1.3

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSF SIDAMGWYRQAPGKQRELVSALSGISSATYAE
SVKGRTISRDN AKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGLTVTV

(配列番号 : 44)

CDR1: GSVFSIDAM (配列番号 : 106)

CDR2: LSGISSAT (配列番号 : 139)

CDR3: YADVSTGWGRDAHGYW (配列番号 : 116)

10

hzC06v1.4

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSF SIDAMGWYRQAPGQRELVSALSGISSATYAE
SVKGRTISRDN AKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGLTVTV

(配列番号 : 45)

CDR1: SGSVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LSGISSAT (配列番号 : 139)

CDR3: ADVSTGWGRDAHGYW (配列番号 : 140)

20

hzC06v2.1

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSF SIDAMGWYRQAPGKGLELVAVLSGISSATYAE
SVKGRTISRDN AKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGLTVTV

(配列番号 : 46)

CDR1: SGSVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LSGISSAT (配列番号 : 139)

CDR3: YADVSTGWGRDAHGYW (配列番号 : 116)

30

hzC06v2.2

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSF SIDAMGWYRQAPGKGRELAVLSGISSATYAE
SVKGRTISRDN AKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGLTVTV

(配列番号 : 47)

CDR1: SGSVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LSGISSAT (配列番号 : 139)

CDR3: YADVSTGWGRDAHGYW (配列番号 : 116)

40

【化 15】

hzC06v2.3

EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDAMGWYRQAPGKQRELVAVLSGISSATYAE
SVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGLTVTV

(配列番号 : 48)

CDR1: SGSVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LSGISSAT (配列番号 : 139)

CDR3: YADVSTGWGRDAHGYW (配列番号 : 116)

10

hzC06v2.4

EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDAMGWYRQAPGQRELVAVLSGISSATYAE
SVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGLTVTV

(配列番号 : 49)

CDR1: SGSVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LSGISSAT (配列番号 : 139)

CDR3: YADVSTGWGRDAHGYW (配列番号 : 116)

20

hzC06v3

EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDAMGWYRQAPGKQRELVAVLSGISSAKYAE
SVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGLTVTV

(配列番号 : 50)

CDR1: SGSVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LSGISSAK (配列番号 : 141)

CDR3: YADVSTGWGRDAHGYW (配列番号 : 116)

30

hzC06v3.1

EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDAMGWYRLAPGQRELVAVLSGISSAKYAE
SVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGLTVTV

(配列番号 : 51)

CDR1: SGSVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LSGISSAK (配列番号 : 141)

CDR3: YADVSTGWGRDAHGYW (配列番号 : 116)

40

【化 16】

hzC06v3.2

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSF SIDAMGWYRQAPGKQREL VAVLSGISSAKYAD
SVKGRFTISGDNAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGTLVTV

(配列番号 : 52)

CDR1: SGSVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LSGISSAK (配列番号 : 141)

CDR3: YADVSTGWGRDAHGYW (配列番号 : 116)

10

hzC06v3.3

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSF SIDAMGWYRQAPGKQREL VAVLSGISSAKYAE
SVKGRFTISRDSA KNAVY LQMDGLKPEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGTLVTV

(配列番号 : 53)

CDR1: SGSVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LSGISSAK (配列番号 : 141)

CDR3: YADVSTGWGRDAHGYW (配列番号 : 116)

20

hzC06v3.4

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSF SIDAMGWYRQAPGKQREL VAVLSGISSAKYAE
SVKGRFTISRDN AKNTVYLQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGTLVTV

(配列番号 : 54)

CDR1: SGSVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LSGISSAK (配列番号 : 141)

CDR3: YADVSTGWGRDAHGYW (配列番号 : 116)

30

hzC06v3.5

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSF SIDAMGWYRQAPGKQREL VAVLSGISSAKYAE
SVKGRFTISRASAPNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGTLVTV

(配列番号 : 55)

CDR1: SGSVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LSGISSAK (配列番号 : 141)

CDR3: YADVSTGWGRDAHGYW (配列番号 : 116)

40

【化 17】

hzC06v3.6

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGTVFSIDAMGWYRQAPGKQREL VAVLSGIISSAKYAE
SVKGRFTISRASAPNTVY LQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHG YWGQGTLLVTV

(配列番号 : 56)

CDR1: SGTVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LSGIISSAK (配列番号 : 141)

CDR3: YADVSTGWGRDAHG YW (配列番号 : 116)

10

hzC06v3.7

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGTVFSIDAMGWYRQAPGKQREL VAVLSGIISSAKYAA
SAPGRFTISRDAVKNTVY LQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHG YWGQGTLLVTV

(配列番号 : 57)

CDR1: SGTVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LSGIISSAK (配列番号 : 141)

CDR3: YADVSTGWGRDAHG YW (配列番号 : 116)

20

hzC06v3.8

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGTVFSIDAMGWYRQAPGKQREL VAVLSGIISSAKYAA
SAPGRFTISRDAVENTVY LQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHG YWGQGTLLVTV

(配列番号 : 58)

CDR1: SGTVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LSGIISSAK (配列番号 : 141)

CDR3: YADVSTGWGRDAHG YW (配列番号 : 116)

30

hzC06v3.9

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGTVFSIDAMGWYRQAPGKQREL VAVLSGIISSAKYAA
SAPGRFTISRDNKNTVY LQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHG YWGQGTLLVTV

(配列番号 : 59)

CDR1: SGTVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LSGIISSAK (配列番号 : 141)

CDR3: YADVSTGWGRDAHG YW (配列番号 : 116)

40

【化 18】

hzC06v3.10

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASG SVFSIDAMGWYRQAPGKQREL VAVLSGISSAKYAD
AVKGRFTISRASAPNTVY LQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGT LVT V

(配列番号 : 60)

CDR1: SG SVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LSGISSAK (配列番号 : 141)

CDR3: ADVSTGWGRDAHGYW (配列番号 : 142)

10

hzC06v3.11

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASG SVFSIDAMGWYRQAPGKQREL VAVLSGISSAKYAD
AVEGRFTISRASAPNTVY LQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGT LVT V

(配列番号 : 61)

CDR1: SG SVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LSGISSAK (配列番号 : 141)

CDR3: YADVSTGWGRDAHGYW (配列番号 : 116)

20

hzC06v3.12

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASG SVFSIDAMGWYRQAPGKQREL VAVLSGISSAKYAA
SAPGRFTISRASAPNTVY LQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGT LVT V

(配列番号 : 62)

CDR1: SG SVFSIDAM (配列番号 : 138)

CDR2: LSGISSAK (配列番号 : 141)

CDR3: YADVSTGWGRDAHGYW (配列番号 : 116)

30

hzC04v1

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASG FT FSTHGMDFRQAPGKDLEWVSAINNGGSWTSYA
SSVKGRFTISRDNANTLY LQMSSLRAEDTAVYWCQNRVTRGQGT LVT V (配列番号

: 63)

CDR1: SG FT FSTHGM (配列番号 : 143)

CDR2: AINNGGSWTS (配列番号 : 144)

CDR3: CQNRVTR (配列番号 : 145)

40

【化 19】

hzC04v1.2

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGFTFSTHGMDWFRQAPGKDLEWVSAINNGGSWTSYA
SSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCQNRVTRGQGTLVTV (配列番号
: 64)

CDR1: SGFTFSTHGM (配列番号 : 143)

CDR2: AINNGGSWTS (配列番号 : 144)

CDR3: QNRVTR (配列番号 : 146)

10

hzC04v1.2.1

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGFTFSTHGMDWFRQAPGKDLEWVSAINQGGSWTSYA
SSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCQNRVTRGQGTLVTV (配列番号
: 65)

CDR1: SGFTFSTHGM (配列番号 : 143)

CDR2: INQGGSWTS (配列番号 : 147)

CDR3: QNRVTR (配列番号 : 146)

20

hzC04v2

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGFTFSTHGMDWFRQAPGKGLEWVSAINNGGSWTSYA
SSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYWCQNRVTRGQGTLVTV (配列番号
: 66)

CDR1: SGFTFSTHGM (配列番号 : 143)

CDR2: AINNGGSWTS (配列番号 : 144)

CDR3: QNRVTR (配列番号 : 146)

30

hzC04v2.2

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGFTFSTHGMDWFRQAPGKGLEWVSAINNGGSWTSYA
SSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCQNRVTRGQGTLVTV (配列番号
: 67)

CDR1: SGFTFSTHGM (配列番号 : 143)

CDR2: AINNGGSWTS (配列番号 : 144)

CDR3: QNRVTR (配列番号 : 146)

40

【化 20】

hzC04v5

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGFTFSTHGMDWFRQAPGKDLEWVSAIQSGGSWTSYA
SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYWCQNRVTRGQGTLVTV (配列番号
: 68)

CDR1: SGFTFSTHGM (配列番号 : 143)

CDR2: AIQSGGSWTS (配列番号 : 147)

CDR3: QNRVTR (配列番号 : 146)

10

hzC04v5.1

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGFTFSTHGMDWFRQAPGKDLEWVSAIQSGGSWTSYA
SSVKGRFTISRDNKNTLYLEMNNLKPEDTAVYWCQNRVTRGQGTLVTV (配列番号
: 69)

CDR1: SGFTFSTHGM (配列番号 : 143)

CDR2: AIQSGGSWTS (配列番号 : 147)

CDR3: QNRVTR (配列番号 : 146)

20

hzC04v5.2

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGFTFSTHGMDWFRQAPGKDLEWVSAIQSGGSWTSYA
SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLLRAEDTAVYWCQNRVTRGQGTLVTV (配列番号
: 70)

CDR1: SGFTFSTHGM (配列番号 : 143)

CDR2: AIQSGGSWTS (配列番号 : 147)

CDR3: QNRVTR (配列番号 : 146)

30

hzC04v5.3

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGFTFSTHGMDWFRQAPGKDLEWVSAIQSGGSWTSYA
SSVKGRFTISRDNKNTLYLEMSSLRAEDTAVYWCQNRVTRGQGTLVTV (配列番号
: 71)

CDR1: SGFTFSTHGM (配列番号 : 143)

CDR2: AIQSGGSWTS (配列番号 : 147)

CDR3: QNRVTR (配列番号 : 146)

40

【化 2 1】

hzC04v5.4

EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGFTFSTHGMDWFRQAPGKDLEWVSAIQSGGSWTSYA
SSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLRPEDTAVYWCQNRVTRGQGTLLTV (配列番号
: 72)

CDR1: SGFTFSTHGM (配列番号 : 143)

CDR2: AIQSGGSWTS (配列番号 : 147)

CDR3: QNRVTR (配列番号 : 146)

10

hzC04v5.5

EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGFTFSTHGMDWFRQAPGKDLEWVSAIQSGGSWTSYA
SSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMQLRAEDTAVYWCQNRVTRGQGTLLTV (配列番号
: 73)

CDR1: SGFTFSTHGM (配列番号 : 143)

CDR2: AIQSGGSWTS (配列番号 : 147)

CDR3: QNRVTR (配列番号 : 146)

20

hzC04v5.6

EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGFTFSTHGMDWFRQAPGKDLEWVSAIQSGGSWTSYA
SSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMQLRAEDTAVYWCQNRVTRGQGTLLTV (配列番号
: 74)

CDR1: SGFTFSTHGM (配列番号 : 143)

CDR2: AIQSGGSWTS (配列番号 : 147)

CDR3: QNRVTR (配列番号 : 146)

30

hzC04v5.7

EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGFTFSTHGMDWFRQAPGKDLEWVSAIQSGGSWTSYA
SSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMDNLRAEDTAVYWCQNRVTRGQGTLLTV (配列番号
: 75)

CDR1: SGFTFSTHGM (配列番号 : 143)

CDR2: AIQSGGSWTS (配列番号 : 147)

CDR3: QNRVTR (配列番号 : 146)

40

【化 2 2】

hzC04v5.8

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGFTFSTHGMDWFRQAPGKDLEWVSAIQSGGSWTSYA
SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNDLRAEDTAVYWCQNRVTRGQGTLVTV (配列番号
: 76)

CDR1: SGFTFSTHGM (配列番号 : 143)

CDR2: AIQSGGSWTS (配列番号 : 147)

CDR3: QNRVTR (配列番号 : 146)

10

hzC04v5.9

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGFTFSTHGMDWFRQAPGKDLEWVSAIQSGGSWTSYA
SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMDDLRAEDTAVYWCQNRVTRGQGTLVTV (配列番号
: 77)

CDR1: SGFTFSTHGM (配列番号 : 143)

CDR2: AIQSGGSWTS (配列番号 : 147)

CDR3: QNRVTR (配列番号 : 146)

20

hzC04v5.10

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGFTFSTHGMDWFRQAPGKDLEWVSAIQSGGSWTSYA
SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMQLRAEDTAVYWCQNRVTRGQGTLVTV (配列番号
: 78)

CDR1: SGFTFSTHGM (配列番号 : 143)

CDR2: AIQSGGSWTS (配列番号 : 147)

CDR3: QNRVTR (配列番号 : 146)

30

hzC04v5.11

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGFTFSTHGMDWFRQAPGKDLEWVSAIQSGGSWTSYA
SSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNQLRAEDTAVYWCQNRVTRGQGTLVTV (配列番号
: 79)

CDR1: SGFTFSTHGM (配列番号 : 143)

CDR2: AIQSGGSWTS (配列番号 : 147)

CDR3: QNRVTR (配列番号 : 146)

40

【化 2 3】

hzC04v5.12

EVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGFTFSTHGMDWFRQAPGKDLEWVSAIQSGGSWTSYA
SSVKGRFTISRDNANTLYLQMSNLRAEDTAVYWCQNRVTRGQGT LTV (配列番号

: 80)

CDR1: SGFTFSTHGM (配列番号 : 143)

CDR2: AIQSGGSWTS (配列番号 : 147)

CDR3: QNRVTR (配列番号 : 146)

10

2x H11v420 + Fc 欠失ポリペプチド

MKWVTFISLLFLFSSAYSEVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDAMSWFRQAPGK
GLELVSAITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSNLRAEDTAVYYCNAVVS TGWG
RNADDYWGQGT LTVTKPGGSGGSEVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDAMSWFR
QAPGKGLELVSAITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSNLRAEDTAVYYCNAVVS
STGWGRNADDYWGQGT LTVTKPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK (配列番号 : 81)

20

2x H11v420.1 + Fc 欠失ポリペプチド

MKWVTFISLLFLFSSAYSEVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDAMSWFRQAPGK
GLELVCAITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSNLRAEDTAVYYCNAVVS TGWG
RNADDYWGQGT LTVTKPGGSGGSEVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDAMSWFR
QAPGKGLELVCAITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSNLRAEDTAVYYCNAVVS
STGWGRNADDYWGQGT LTVTKPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK (配列番号 : 82)

30

2x H11v420 IgG1-Fc

MKWVTFISLLFLFSSAYSEVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDAMSWFRQAPGK
GLELVSAITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSNLRAEDTAVYYCNAVVS TGWG
RNADDYWGQGT LTVTKPGGSGGSEVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDAMSWFR

40

【化 2 4】

QAPGKGLELVSAITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSLRAEDTAVYYCNAV
STGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGGGDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGK (配列番号 : 83)

10

2x H11v420.1 IgG1-Fc

MKWVTFISLLFLFSSAYSEVQLLESQGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDAMSWFRQAPGK
GLELVCAITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSLRAEDTAVYYCNAVSTGWG
RNADDYWGQGTLLVTVKPGGGGSEVQLLESQGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDAMSWFR
QAPGKGLELVCAITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSLRAEDTAVYYCNAV
STGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGGGDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGK (配列番号 : 84)

20

2x H11v401 + Fc 欠失ポリペプチド

MKWVTFISLLFLFSSAYSEVQLLESQGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDMSWFRQAPGK
GLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSLRAEDTAVYYCNAVSTGWG
RNADDYWGQGTLLVTVKPGGGGSEVQLLESQGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDMSWFR
QAPGKGLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSLRAEDTAVYYCNAV
STGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGGGDKHTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK (配列番号 : 85)

30

2x H11v401.1 + Fc 欠失ポリペプチド

MKWVTFISLLFLFSSAYSEVQLLESQGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDMSWFRQAPGK
GLELVCLITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSLRAEDTAVYYCNAVSTGWG
RNADDYWGQGTLLVTVKPGGGGSEVQLLESQGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDMSWFR
QAPGKGLELVCLITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSLRAEDTAVYYCNAV

40

【化 2 5】

STGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGGGDKHTTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRPE
VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK (配列番号 : 86)

2x H11v401 IgG1-Fc

MKWVTFISLLFLFSSAYSEVQLLESQGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFVSIIDMSWFRQAPGK
GLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVSTGWG
RNADDYWGQGTLLVTVKPGGGGSEVQLLESQGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFVSIIDMSWFR
QAPGKGLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAV
STGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGGGDKHTTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGK (配列番号 : 87)

2x H11v401.1 IgG1-Fc

MKWVTFISLLFLFSSAYSEVQLLESQGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFVSIIDMSWFRQAPGK
GLELVCLITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVSTGWG
RNADDYWGQGTLLVTVKPGGGGSEVQLLESQGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFVSIIDMSWFR
QAPGKGLELVCLITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAV
STGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGGGDKHTTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGK (配列番号 : 88)

2x H11v421 + Fc 欠失ポリペプチド

MKWVTFISLLFLFSSAYSEVQLLESQGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFVSIIDMSWFRQAPGK
GLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVSTGWG
RNADDYWGQGTLLVTVKPGGGGSEVQLLESQGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFVSIIDMSWFR
QAPGKGLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAV
STGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGGGDKHTTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRPE

【化 2 6】

VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK (配列番号 : 89)

2x H11v421.1 + Fc 欠失ポリペプチド

MKWVTFISLLEFLFSSAYSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFIDAMSWFRQAPGK
GLELVCLITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVSTGWG
RNADDYWGQGTLVTVKPGGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFIDAMSWFR
QAPGKGLELVCLITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAV
STGWGRNADDYWGQGTLVTVKPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK (配列番号 : 90)

2x H11v421 IgG1-Fc

MKWVTFISLLEFLFSSAYSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFIDAMSWFRQAPGK
GLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVSTGWG
RNADDYWGQGTLVTVKPGGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFIDAMSWFR
QAPGKGLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAV
STGWGRNADDYWGQGTLVTVKPGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGK (配列番号 : 91)

2x H11v421.1 IgG1-Fc

MKWVTFISLLEFLFSSAYSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFIDAMSWFRQAPGK
GLELVCLITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVSTGWG
RNADDYWGQGTLVTVKPGGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFIDAMSWFR
QAPGKGLELVCLITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAV
STGWGRNADDYWGQGTLVTVKPGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG

【化 27】

KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGK (配列番号 : 92)

2x h2C06 IgG1-Fc

EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFISIDAMGWYRQAPGKQRELVAVLSGISSAKYAA
SAPGRFTISRDNANKNTVYLYQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGTLLVTVKPG
GSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFISIDAMGWYRQAPGKQRELVAVLSGISS
AKYAASAPGRFTISRDNANKNTVYLYQMSSLRAEDTAVYYCYADVSTGWGRDAHGYWGQGTLLV
TVKPGGGGDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KENWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号
: 93)

10

20

3x H11v420 + Fc 欠失ポリペプチド

MKWVTFISLLLEFSSAYSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFISIDAMSWFRQAPGK
GLELVS AITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANKNTLYLYQMSSLRAEDTAVYYCNAVVSTGWG
RNADDYWGQGTLLVTVKPGGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFISIDAMSWFR
QAPGKGLELVS AITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANKNTLYLYQMSSLRAEDTAVYYCNAVV
STGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGVSFISIDA
MSWFRQAPGKGLELVS AITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANKNTLYLYQMSSLRAEDTAVYY
CNAVVSTGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK (配列番号 : 94)

30

【化 2 8】

3x H11v420.1 + Fc 欠失ポリペプチド

MKWVTFISLLFLESSAYSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDAMSWFRQAPGK
GLELVCAITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVSTGWG
RNADDYWGQGTLLVTVKPGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDAMSWFR
QAPGKGLELVCAITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAV
STGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDA
MSWFRQAPGKGLELVCAITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYY
CNAVSTGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGGDKHTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHY
TQKSLSLSPGK (配列番号 : 95)

10

3x H11v420 IgG1-Fc

MKWVTFISLLFLESSAYSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDAMSWFRQAPGK
GLELVSAITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVSTGWG
RNADDYWGQGTLLVTVKPGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDAMSWFR
QAPGKGLELVSAITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAV
STGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDA
MSWFRQAPGKGLELVSAITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYY
CNAVSTGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGGDKHTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALH
NHYTQKSLSLSPGK (配列番号 : 96)

20

30

3x H11v420.1 IgG1-Fc

MKWVTFISLLFLESSAYSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDAMSWFRQAPGK
GLELVCAITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVSTGWG
RNADDYWGQGTLLVTVKPGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDAMSWFR
QAPGKGLELVCAITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAV
STGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDA
MSWFRQAPGKGLELVCAITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYY
CNAVSTGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGGDKHTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDT

40

【化 2 9】

LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK (配列番号 : 97)

3x H11v401 + Fc 欠失ポリペプチド

MKWVTFISLLFLFSSAYSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDISMSWFRQAPGK
GLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVVSTGWG
RNADDYWGQGTLLVTVKPGGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDISMSWFR
QAPGKGLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAV
STGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDIS
MSWFRQAPGKGLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYY
CNAVVSTGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK (配列番号 : 98)

3x H11v401.1 + Fc 欠失ポリペプチド

MKWVTFISLLFLFSSAYSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDISMSWFRQAPGK
GLELVCLITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVVSTGWG
RNADDYWGQGTLLVTVKPGGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDISMSWFR
QAPGKGLELVCLITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAV
STGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDIS
MSWFRQAPGKGLELVCLITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYY
CNAVVSTGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK (配列番号 : 99)

10

20

30

40

【化 3 0】

3x H11v401 IgG1-Fc

MKWVTFISLLFLESSAYSEVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDSMSWFRQAPGK
GLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVSTGWG
RNADDYWGQGTLLVTVKPGGSGGSEVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDSMSWFR
QAPGKGLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAV
STGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGSGGSEVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDS
MSWFRQAPGKGLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYY
CNAVSTGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK (配列番号 : 100)

10

3x H11v401.1 IgG1-Fc

MKWVTFISLLFLESSAYSEVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDSMSWFRQAPGK
GLELVCLITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVSTGWG
RNADDYWGQGTLLVTVKPGGSGGSEVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDSMSWFR
QAPGKGLELVCLITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAV
STGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGSGGSEVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDS
MSWFRQAPGKGLELVCLITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYY
CNAVSTGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK (配列番号 : 101)

20

30

3x H11v421 + Fc 欠失ポリペプチド

MKWVTFISLLFLESSAYSEVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDAMS WFRQAPGK
GLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVSTGWG
RNADDYWGQGTLLVTVKPGGSGGSEVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDAMS WFR
QAPGKGLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAV
STGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGSGGSEVQLLES GGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSDA
MSWFRQAPGKGLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYY
CNAVSTGWGRNADDYWGQGTLLVTVKPGGGGDKTHTCPPCPAGGGSVFLFPPKPKDTLMI

40

【化 3 1】

SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK (配列番号 : 102)

3x H11v421.1 + Fc 欠失ポリペプチド

MKWVTFISLLFLFSSAYSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDAMSWFRQAPGK
GLELVCLITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVSTGWG
RNADDYWGQGTILVTVKPGGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDAMSWFR
QAPGKGLELVCLITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVSTGWGRNADDYWGQGTILVTVKPGGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDA
MSWFRQAPGKGLELVCLITGGRTTYAESVKGRFTCSRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYY
CNAVSTGWGRNADDYWGQGTILVTVKPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK (配列番号 : 103)

3x H11v421 IgG1-Fc

MKWVTFISLLFLFSSAYSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDAMSWFRQAPGK
GLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVSTGWG
RNADDYWGQGTILVTVKPGGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDAMSWFR
QAPGKGLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCNAVSTGWGRNADDYWGQGTILVTVKPGGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSVFSIDA
MSWFRQAPGKGLELVSLITGGRTTYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYY
CNAVSTGWGRNADDYWGQGTILVTVKPGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK (配列番号 : 104)

形態では、本開示の四価G I T R標的化分子は、次の構造を有するG I T R結合融合タンパク質の2つのコピーを含む：(G I T R - B D) - リンカー - (G I T R - B D) - リンカー - ヒンジ - F c (式中、G I T R - B Dは、G I T Rに結合するヒト化または完全ヒトs d A b配列である)。一部の実施形態では、四価G I T R標的化分子は、配列番号106、109、112、117、120、125、131、138、143、148および149からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域1(C D R 1)と、配列番号107、110、113、115、118、121、123、128、130、132、134、136、137、139、141、144および147からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域2(C D R 2)と、配列番号108、111、114、116、119、122、124、126、127、129、133、135、140、142、145、146および150からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域3(C D R 3)とを含む。一部の実施形態では、四価G I T R標的化分子は、配列番号19～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのG I T R - B Dを含有する。一部の実施形態では、四価G I T R標的化分子は、配列番号42～62からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのG I T R - B Dを含有する。一部の実施形態では、四価G I T R標的化分子は、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのG I T R - B Dを含有する。一部の実施形態では、四価G I T R標的化分子は、配列番号81～93からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

【0122】

一部の実施形態では、多価G I T R標的化融合タンパク質は、六価である。一部の実施形態では、本開示の六価G I T R標的化分子は、次の構造を有するG I T R標的化融合タンパク質の2つのコピーを含む：(G I T R - B D) - リンカー - (G I T R - B D) - リンカー - (G I T R - B D) - リンカー - ヒンジ - F c。一部の実施形態では、本開示の六価G I T R標的化分子は、次の構造を有するG I T R標的化融合タンパク質の2つのコピーを含む：(G I T R - B D) - リンカー - (G I T R - B D) - リンカー - (G I T R - B D) - リンカー - ヒンジ - F c (式中、G I T R - B Dは、G I T Rに結合するヒト化または単離されたポリペプチド配列である)。一部の実施形態では、本開示の六価G I T R標的化分子は、次の構造を有するG I T R標的化融合タンパク質の2つのコピーを含む：(G I T R - B D) - リンカー - (G I T R - B D) - リンカー - (G I T R - B D) - リンカー - ヒンジ - F c (式中、G I T R - B Dは、G I T Rに結合するs d A b配列である)。一部の実施形態では、本開示の六価G I T R標的化分子は、次の構造を有するG I T R標的化融合タンパク質の2つのコピーを含む：(G I T R - B D) - リンカー - (G I T R - B D) - リンカー - (G I T R - B D) - リンカー - ヒンジ - F c (式中、G I T R - B Dは、G I T Rに結合するヒト化または完全ヒトs d A b配列である)。一部の実施形態では、六価G I T R標的化分子は、配列番号106、109、112、117、120、125、131、138、143、148および149からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域1(C D R 1)と、配列番号107、110、113、115、118、121、123、128、130、132、134、136、137、139、141、144および147からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域2(C D R 2)と、配列番号108、111、114、116、119、122、124、126、127、129、133、135、140、142、145、146および150からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域3(C D R 3)とを含む。一部の実施形態では、六価G I T R標的化分子は、配列番号19～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのG I T R - B Dを含有する。一部の実施形態では、六価G I T R標的化分子は、配列番号42～62からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのG I T R - B Dを含有する。一部の実施形態では、六価G I T R標的化分子は、配列番号63～80からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つのG I T R - B Dを含有する。一部の実施形態では、六価G I T R標的化分子は、配列番号94～105からなる群より選択され

るアミノ酸配列を含む。

【0123】

本明細書に記載のGITR標的化タンパク質は、様々な治療、診断および予防適応に有用である。例えば、GITR標的化タンパク質は、被験体における様々な疾患および障害の処置に有用である。一部の実施形態では、GITR標的化タンパク質は、炎症性疾患もしくは障害に罹患している被験体または炎症性疾患もしくは障害のリスクがあると同定された被験体における疾患もしくは障害の処置、そのような疾患もしくは障害の症状の緩和、そのような疾患もしくは障害の改善、および/またはそのような疾患もしくは障害の進行の遅延に有用である。一部の実施形態では、GITR標的化タンパク質は、がんもしくは他の新生物状態の処置、がんもしくは他の新生物状態の症状の緩和、がんもしくは他の新生物状態の改善、および/またはがんもしくは他の新生物状態の進行の遅延に有用である。一部の実施形態では、がんは、膀胱がん、乳がん、子宮/子宮頸がん、卵巣がん、前立腺がん、精巣がん、食道がん、胃腸がん、膵がん、結腸直腸がん、結腸がん、腎がん、頭頸部がん、肺がん、胃がん、胚細胞がん、骨がん、肝がん、甲状腺がん、皮膚がん、中枢神経系の新生物、リンパ腫、白血病、骨髄腫、肉腫、およびウイルス関連がんである。ある特定の実施形態では、がんは、転移性がん、難治性がん、または再発がんである。一部の実施形態では、GITR標的化タンパク質は、それを必要とする被験体の腫瘍内の制御性T細胞の数を低減または枯渇させるのに有用である。一部の実施形態では、GITR標的化タンパク質は、被験体における免疫応答を刺激するのに有用である。一部の実施形態では、GITR標的化タンパク質は、自己免疫疾患もしくは障害の処置、自己免疫疾患もしくは障害の症状の緩和、自己免疫疾患もしくは障害の改善、および/または自己免疫疾患もしくは障害の進行の遅延に有用である。一部の実施形態では、GITR標的化タンパク質は、ウイルス、細菌および寄生生物感染症の処置、そのような感染症の症状の緩和、そのような感染症の改善、ならびに/またはそのような感染症の進行の遅延に有用である。

【0124】

本開示のGITR標的化分子を含む、本開示の治療製剤は、被験体におけるGITRの異常な活性および/もしくは発現に関連する疾患もしくは障害を処置するために、またはそのような疾患もしくは障害に関連する症状を緩和するために使用される。治療レジメンは、様々な臨床および/または検査室手順のいずれかを含む標準的な方法を使用して、GITRの異常な活性および/または発現に関連する疾患または障害に罹患している（またはそのような疾患もしくは障害を発現するリスクがある）被験体、例えば、ヒト患者を同定することにより行われる。用語、患者は、ヒトおよび獣医学的被験体を含む。用語、被験体は、ヒトおよび他の哺乳動物を含む。

【0125】

GITRの異常な活性および/または発現に関連する特定の疾患または障害を診断または処置するための任意の公知の方法に関連して処置の効能が決定される。GITRの異常な活性および/または発現に関連する疾患または障害の1つまたは複数の症状の緩和は、GITR標的化分子が臨床的利益をもたらすことを示す。

【0126】

本開示のGITR標的化分子の治療的使用は、1つまたは複数のさらなる薬剤の投与を含むこともある。一部の実施形態では、1つまたは複数のさらなる薬剤は、抗GITR抗体もしくは融合タンパク質、抗PD1抗体もしくは融合タンパク質、LAG-3抗体もしくは融合タンパク質、CTLA-4抗体もしくは融合タンパク質、および/またはPD-L1抗体もしくは融合タンパク質である。

【0127】

本発明のGITR標的化分子を単独で投与してもよく、または他の処置方法とともに投与してもよい。それらを、他の処置方法、例えば、外科手術、化学療法、放射線療法、または別の治療用ポリペプチド/抗体などの生物製剤の投与の前に提供してもよく、そのような他の処置方法と実質的に同時に提供してもよく、またはそのような他の処置方法の後

に提供してもよい。

【 0 1 2 8 】

一部の実施形態では、本発明の G I T R 標的化分子を化学療法剤と併用してもよい。化学療法剤の例としては、アルキル化剤、例えば、チオテパおよび C y t o x a n (登録商標) シクロホスファミド; アルキルスルホナート、例えば、ブスルファン、インプロスルファンおよびピボスルファン; アジリジン、例えば、ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパおよびウレドーパ; エチレンイミンおよびメチルメラミン (m e t h y l a m e l a m i n e) (アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド (t r i e t h y l e n e p h o s p h o r a m i d e)、トリエチレンチオホスホラミド (t r i e t h i y l e n e t h i o p h o s p h o r a m i d e) およびトリメチロールメラミン (t r i m e t h y l o l o m e l a m i n e) を含む); アセトゲニン (特に、プラタシンおよびプラタシノン); カンプトテシン (合成類似体トボテカンを含む); プリオスタチン; カリスタチン; C C - 1 0 6 5 (そのアドゼレシン、カルゼレシンおよびビゼレシン合成類似体を含む); クリプトフィシン (特に、クリプトフィシン 1 およびクリプトフィシン 8); ドラスタチン; デュオカルマイシン (合成類似体、K W - 2 1 8 9 および C B 1 - T M 1 を含む); エリュテロピン; パンクラチスタチン (p a n c r a t i s t a t i n); サルコジクチン (s a r c o d i c t y i n); スポンギスタチン (s p o n g i s t a t i n); ナイトロジェンマスタード、例えば、クロラムブシル、クロルナファジン、クロロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシド塩酸塩、メルファラン、ノベムビチン (n o v e m b i c h i n)、フェネステリン (p h e n e s t e r i n e)、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード; ニトロソウレア (n i t r o s u r e a s)、例えば、カルムスチン、クロロゾトシン、ホテムスチン、ロムスチン、ニムスチンおよびラニムスチン; 抗生物質、例えば、エンジイン抗生物質 (例えば、カリケアマイシン、特に、カリケアマイシガンマ 1 I およびカリケアマイシオメガ I 1 (例えば、A g n e w、C h e m I n t l . E d . E n g l .、3 3 巻: 1 8 3 ~ 1 8 6 頁 (1994 年) を参照されたい); ダイネマイシン (d y n e m i c i n) (ダイネマイシン A を含む); ビスホスホネート、例えば、クロドロネート; エスペラマイシン; ならびにネオカルチノスタチンクロモフォアおよび関連色素タンパク質エンジイン抗生物質発色団)、アクラシノマイシン (a c l a c i n o m y s i n)、アクチノマイシン、アントラマイシン (a u t h r a m y c i n)、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン (c a r a b i c i n)、カルミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、デトルピシン (d e t o r u b i c i n)、6 - ジアゾ - 5 - オキソ - L - ノルロイシン、A d r i a m y c i n (登録商標) ドキソルピシン (モルホリノ - ドキソルピシン、シアノモルフィノ - ドキソルピシン、2 - ピロリノ - ドキソルピシンおよびデオキシドキソルピシンを含む)、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、マルセロマイシン、マイトマイシン、例えばマイトマイシン C、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン (p o t f i r o m y c i n)、ピューロマイシン、クエラマイシン、ロドルピシン (r o d o r u b i c i n)、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルピシン; 代謝拮抗薬、例えば、メトトレキサートおよび 5 - フルオロウラシル (5 - F U); 葉酸類似体、例えば、デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン (p t e r o p t e r i n)、トリメテレキサート; プリン類似体、例えば、フルダラビン、6 - メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン; ピリミジン類似体、例えば、アンシタピン、アザシチジン (a z a c i t i d i n e)、6 - アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン、フロクスウリジン; アンドロゲン、例えば、カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン; 副腎皮質ホルモン合成阻害薬 (a n t i - a d r e n a l s)、例えば、アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン; 葉酸補充薬、例えば、フォリン酸 (f r o l i n i c a c i d); アセグラトン;

10

20

30

40

50

アルドホスファミドグリコシド (aldophosphamide glycoside) ; アミノレプリン酸 ; エニルウラシル ; アムサクリン ; ベストラブシル ; ピサントレン ; エダトレキサート (edatraxate) ; デフォファミン (defofamine) ; デメコルシン ; ジアジクオン ; エフロルニチン (elfornithine) ; 酢酸エリブチニウム ; エポチロン ; エトグルシド ; 硝酸ガリウム ; ヒドロキシ尿素 ; レンチナン ; ロニダミン (lonidainine) ; マイタンシノイド、例えば、マイタンシンおよびアンサマイトシン (ansamitocin) ; ミトグアゾン ; ミトキサントロン ; モピダモール ; ニトラクリン (nitraerine) ; ペントスタチン ; フェナメット ; ピラルピシン ; ロソキサントロン ; ポドフィリン酸 ; 2 - エチルヒドラジン ; プロカルバジン ; PSK (登録商標) 多糖類複合体 (JHS Natural Products、Eugene、OR) ; ラゾキサン ; リゾキシン ; シゾフィラン ; スピロゲルマニウム ; テヌアゾン酸 ; トリアジコン ; 2, 2', 2'' - トリクロロトリエチルアミン ; トリコテセン (特に、T - 2トキシン、ベルカリンA (verracurin A)、ロリジン (roridin) A およびアングイジン (anguidine)) ; ウレタン ; ビンデシン ; ダカルバジン ; マンノムスチン ; ミトブロニトール ; ミトラクトール ; ピボプロマン ; ガシトシン (gacytosine) ; アラビノシド (「ara - C」) ; シクロホスファミド ; チオテパ ; タキソイド、例えば、Taxol (登録商標) パクリタキセル (Bristol - Myers Squibb Oncology、Princeton、N. J.)、Abraxane (登録商標) パクリタキセルのクレモフォル不含、アルブミン改変ナノ粒子製剤 (American Pharmaceutical Partners、Schaumburg、イリノイ州)、およびTaxotere (登録商標) ドキセタキセル (Rhone - Poulenc Rorer、Antony、フランス) ; クロラムブシル ; Gemzar (登録商標) ゲムシタピン ; 6 - チオグアニン ; メルカプトブリン ; メトトレキサート ; 白金類似体、例えば、シスプラチン、オキサリプラチンおよびカルボプラチン ; ビンブラスチン ; 白金 ; エトポシド (VP - 16) ; イホスファミド ; ミトキサントロン ; ピンクリスチン ; Navelbine (登録商標) ビノレルピン ; ノバントロン ; テニポシド ; エダトレキサート ; ダウノマイシン ; アミノプテリン ; ゼローダ ; イバンドロネート ; イリノテカン (カンプトサル、CPT - 11) (5 - FU およびロイコボリンを伴うイリノテカンの処置レジメンを含む) ; トポイソメラーゼ阻害剤 RFS 2000 ; ジフルオロメチルオルニチン (DMFO) ; レチノイド、例えばレチノイン酸 ; カペシタピン ; コンプレタスタチン ; ロイコボリン (LV) ; オキサリプラチン (オキサリプラチン処置レジメン (FOLFOX) を含む) ; 細胞増殖を低減させる PKC - アルファ阻害剤、Raf 阻害剤、H - Ras 阻害剤、EGFR 阻害剤 (例えば、エルロチニブ (Tarceva (登録商標)) および VEGF - A 阻害剤、ならびに上記もののいずれかの薬学的に許容される塩、酸または誘導体が挙げられるが、これらに限定されない。

【0129】

さらなる非限定的例示的化学療法剤としては、がんに対するホルモン作用を制御または阻害するように作用する抗ホルモン剤、例えば、抗エストロゲン剤および選択的エストロゲン受容体調節物質 (SERM) (例えば、タモキシフェン (Nolvadex (登録商標) タモキシフェンを含む)、ラロキシフェン、ドロロキシフェン、4 - ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストン、および Fareston (登録商標) トレミフェンを含む) ; 副腎におけるエストロゲン産生を制御する酵素アロマターゼを阻害するアロマターゼ阻害剤、例えば、4 (5) - イミダゾール、アミノグルテチミド、Megase (登録商標) 酢酸メゲストロール、Aromasin (登録商標) エキセメスタン、ホルメスタン (formestanie)、ファドロゾール、Rivisor (登録商標) ボロゾール、Femara (登録商標) レトロゾールおよび Arimidex (登録商標) アナストロゾールなど ; ならびに抗アンドロゲン剤、例えば、フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリドおよびゴセレリン ; ならびにトロキサシタピン (1, 3 - ジオキソランヌクレオシドシトシン類似体

10

20

30

40

50

); アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に、異常な細胞増殖に関係づけられるシグナル伝達経路における例えばPKC - アルファ、R a l fおよびH - R a sなどの遺伝子の発現を阻害するもの; リボザイム、例えば、VEGF発現阻害剤(例えば、Angiozyme(登録商標)リボザイム)およびHER2発現阻害剤; ワクチン、例えば遺伝子療法ワクチン、例えば、All o v e c t i n(登録商標)ワクチン、Leu v e c t i n(登録商標)ワクチンおよびV a x i d(登録商標)ワクチン; P r o l e u k i n(登録商標)r I L - 2; L u r t o t e c a n(登録商標)トポイソメラーゼ1阻害剤、A b a r e l i x(登録商標)r m R H; ならびに上記もののいずれかの薬学的に許容される塩、酸または誘導体が挙げられる。

【0130】

一部の実施形態では、本発明のGITR標的化分子を抗血管新生剤と一緒に使用してもよい。血管新生剤は、血管新生、脈管形成または望ましくない血管透過性を直接または間接的に阻害する、小分子量物質、ポリヌクレオチド(例えば、阻害性RNA(RNAiもしくはsiRNA)を含む)、ポリペプチド、単離されたタンパク質、組換えタンパク質、抗体またはそれらのコンジュゲートもしくは融合タンパク質を指す。抗血管新生剤には血管新生因子またはその受容体に結合してその血管新生活性を遮断する薬剤が含まれることは、理解されるはずである。例えば、抗血管新生剤は、血管新生剤に対する抗体もしくは他のアンタゴニスト、例えば、VEGF - Aに対する抗体(例えば、ベバシズマブ(A v a s t i n(登録商標))もしくはVEGF - A受容体(例えば、K D R受容体もしくはF l t - 1受容体)に対する抗体; 抗PDGFR阻害剤、例えばG l e e v e c(登録商標)(メシル酸イマチニブ); VEGF受容体シグナル伝達を遮断する小分子(例えば、P T K 7 8 7 / Z K 2 2 8 4、S U 6 6 6 8、S u t e n t(登録商標)/ S U 1 1 2 4 8(スニチニブリンゴ酸塩)、A M G 7 0 6、または例えば国際特許出願W O 2 0 0 4 / 1 1 3 3 0 4に記載されているもの)である。抗血管新生剤には、ネイティブ血管新生阻害剤、例えば、アンジオスタチン、エンドスタチンなども含まれる。例えば、K l a g s b r u nおよびD ' A m o r e(1991年)A n n u . R e v . P h y s i o l . 5 3巻: 2 1 7 ~ 3 9頁; S t r e i tおよびD e t m a r(2003年)O n c o g e n e、2 2巻: 3 1 7 2 ~ 3 1 7 9頁(例えば、悪性黒色腫に関する抗血管新生療法を収載している表3); F e r r a r aおよびA l i t a l o(1999年)N a t u r e M e d i c i n e、5巻(12号): 1 3 5 9 ~ 1 3 6 4頁; T o n i n iら(2003年)O n c o g e n e、2 2巻: 6 5 4 9 ~ 6 5 5 6頁(例えば、公知の抗血管新生因子を収載している表2); ならびにS a t o(2003年)I n t . J . C l i n . O n c o l .、8巻: 2 0 0 ~ 2 0 6頁(例えば、治験において使用された抗血管新生剤を収載している表1)を参照されたい。

【0131】

一部の実施形態では、GITR標的化分子は、他の抗腫瘍剤、例えば、抗HER - 2抗体、抗CD20抗体、上皮増殖因子受容体(EGFR)アンタゴニスト(例えば、チロシンキナーゼ阻害剤)、HER1/EGFR阻害剤(例えば、エルロチニブ(T a r c e v a(登録商標))、血小板由来増殖因子阻害剤(例えば、G l e e v e c(登録商標)(メシル酸イマチニブ))、COX - 2阻害剤(例えば、セレコキシブ)、インターフェロン、CTLA4阻害剤(例えば、抗CTLA抗体イピリムマブ(Y E R V O Y(登録商標))、PD - 1阻害剤(例えば、抗PD1抗体、B M S - 9 3 6 5 5 8)、PDL1阻害剤(例えば、抗PDL1抗体、M P D L 3 2 8 0 A)、PDL2阻害剤(例えば、抗PDL2抗体)、サイトカイン、標的: E r b B 2、E r b B 3、E r b B 4、PDGFR - ベータ、B l y S、A P R I L、B C M A、PD - 1、PDL1、PDL2、CTLA4、またはVEGF受容体のうちの1つまたは複数と結合するアンタゴニスト(例えば、中和抗体)、T R A I L / A p o 2、ならびに他の生物活性および有機化学薬剤などと組み合わせ使用される。

【0132】

一部の実施形態では、GITR標的化分子は、処置中および/または後に、1つまたは

10

20

30

40

50

複数のさらなる薬剤と組み合わせて投与される。一部の実施形態では、G I T R 標的化分子およびさらなる薬剤は、単一の治療用組成物に製剤化され、G I T R 標的化分子およびさらなる薬剤は同時に投与される。あるいは、G I T R 標的化分子およびさらなる薬剤は互いに別々であり、例えば、各々が別々の治療用組成物に製剤化され、G I T R 標的化分子およびさらなる薬剤は同時に投与されるか、またはG I T R 標的化分子およびさらなる薬剤は処置レジメン中の異なる時点で投与される。例えば、G I T R 標的化分子は、さらなる薬剤の投与前に投与され、G I T R 標的化分子は、さらなる薬剤の投与後に投与され、またはG I T R 標的化分子およびさらなる薬剤は、交互の様式で投与される。本明細書に記載のG I T R 標的化分子およびさらなる薬剤は、単一用量でまたは複数用量で投与される。

10

【0133】

一部の実施形態では、G I T R 標的化分子およびさらなる薬剤は、同時に投与される。例えば、G I T R 標的化分子およびさらなる薬剤を単一の組成物に製剤化することができる、または2つもしくはそれよりも多くの別々の組成物として投与することができる。一部の実施形態では、G I T R 標的化分子およびさらなる薬剤は、逐次的に投与され、またはG I T R 標的化分子およびさらなる薬剤は、処置レジメン中の異なる時点で投与される。

【0134】

所望の特異性を有するG I T R 標的化分子のスクリーニング方法には、酵素結合免疫吸着アッセイ (E L I S A)、酵素アッセイ、フローサイトメトリー、および当技術分野内で公知の他の免疫学的に媒介される技術が含まれるが、これらに限定されない。

20

【0135】

本開示は、本融合タンパク質をコードする核酸配列および特にD N A 配列をさらに提供する。好ましくは、前記D N A 配列は、染色体外複製に適したベクター、例えば、ファージ、ウイルス、プラスミド、ファージミド、コスミド、Y A Cまたはエピソームにより保有される。詳細には、所望の融合タンパク質をコードするD N A ベクターは、本明細書に記載のG I T R 標的化分子を調製する方法および融合タンパク質の有意な量を得る方法を助長するために使用することができる。D N A 配列を適切な発現ベクターに挿入することができ、すなわち、挿入されたタンパク質コード配列の転写および翻訳に必要なエレメントを含有するベクターに挿入することができる。タンパク質コード配列を発現させるために様々な宿主 - ベクター系を利用することができる。これらには、ウイルス (例えば、ワクシニアウイルス、アデノウイルスなど) に感染した哺乳動物細胞系; ウイルス (例えば、バキュロウイルス) に感染した昆虫細胞系; 酵母ベクターを含有する酵母、またはバクテリオファージD N A、プラスミドD N AもしくはコスミドD N Aで形質転換された細菌などの、微生物が含まれる。利用される宿主 - ベクター系に依存して、多数の好適な転写および翻訳エレメントのいずれか1つを利用することができる。

30

【0136】

本開示は、ポリペプチドの発現をもたらす条件下で細胞を培養することによりG I T R 標的化分子を産生させる方法であって、前記細胞が、本明細書に記載のG I T R 標的化分子をコードする単離された核酸分子、および/またはこれらの単離された核酸配列を含むベクターを含む、方法も提供する。本開示は、G I T R 標的化分子の発現をもたらす条件下で細胞を培養することによりG I T R 標的化分子を産生させる方法であって、前記細胞が、本明細書に記載のG I T R 標的化分子をコードする単離された核酸分子、および/またはこれらの単離された核酸配列を含むベクターを含む、方法を提供する。

40

【0137】

本開示の (本明細書では「活性化合物」とも呼ばれる) 融合タンパク質、ならびにそれらの誘導体、断片、類似体および同族体を、投与に好適な医薬組成物に組み込むことができる。そのような組成物は、融合タンパク質と薬学的に許容される担体とを典型的に含む。本明細書で使用される用語「薬学的に許容される担体」は、薬学的投与に適合する任意のおよびすべての溶媒、分散媒、コーティング、抗菌および抗真菌剤、等張剤ならびに吸収遅延剤などを含むことを意図したものである。好適な担体は、参照により本明細書に組

50

み込まれる、当分野における標準参照テキストである Remington's Pharmaceutical Sciences の最新版に記載されている。そのような担体または希釈剤の好適な例としては、水、食塩水、リンゲル液、デキストロース溶液、および 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。リポソームおよび非水性ビヒクル、例えば固定油も使用されることがある。薬学的に活性な物質のためのそのような媒体および薬剤の使用は、当技術分野において周知である。任意の従来の媒体または薬剤が活性化合物と不適合性である場合を除き、組成物におけるその使用が企図される。補助活性化合物を組成物に組み込むこともできる。

【0138】

本開示の医薬組成物は、その所期の投与経路と適合性であるように製剤化される。投与経路の例としては、非経口、例えば静脈内、皮内、皮下、腫瘍内、経口（例えば、吸入）、経皮（例えば、局所）、経粘膜および直腸投与が挙げられる。非経口、皮内または皮下適用に使用される溶液または懸濁物は、次の構成成分を含むことができる：滅菌希釈剤、例えば、注射用蒸留水、食塩溶液、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒；抗菌剤、例えば、ベンジルアルコールまたはメチルパラベン；抗酸化剤、例えば、アスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウム；キレート剤、例えば、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）；緩衝剤、例えば、酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩、および張度を調整するための薬剤、例えば塩化ナトリウムまたはデキストロース。pH は、塩酸または水酸化ナトリウムなどの、酸または塩基で調整することができる。非経口調製物を、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器または複数用量バイアルに封入することができる。

【0139】

注射剤用に好適な医薬組成物には、滅菌水溶液（水溶性の場合）または分散物、および無菌注射用溶液または分散物の即時調製のための無菌粉末が含まれる。静脈内投与に好適な担体としては、生理食塩水、静菌水、Cremophor EL（商標）（BASF、Parsippany, N.J.）またはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）が挙げられる。すべての場合、組成物は、無菌でなければならず、容易な注入性（syringeability）が存在する程度に流動性であるべきである。組成物は、製造および保管条件下で安定していなければならず、細菌および真菌などの微生物の汚染作用から保護されなければならない。担体は、例えば水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコールおよび液体ポリエチレングリコールなど）およびこれらの適する混合物を含有する、溶媒または分散媒であることができる。適正な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティング剤の使用によって、分散物の場合は必要粒径の維持によって、および界面活性剤の使用によって、維持することができる。微生物の作用の防止は、様々な抗菌および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなどによって達成することができる。多くの場合、等張剤、例えば、糖、多価アルコール、例えばマンニトール、ソルビトール、塩化ナトリウムを組成物に含めることが好ましいであろう。注射用組成物の持続的吸収は、吸収を遅延させる薬剤、例えばモノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンを組成物に含めることによってもたすことができる。

【0140】

無菌注射用溶液は、上に列挙した成分の 1 つまたは組合せを必要に応じて有する適切な溶媒に必要な量の活性化合物を組み込み、その後、濾過滅菌することにより調製することができる。一般に、分散物は、基本の分散媒と上に列挙したもののからのその他の必要成分とを含有する滅菌ビヒクルに活性化合物を組み込むことによって調製される。滅菌注射用溶液の調製のための滅菌粉末の場合、調製方法は、任意の追加の所望成分を加えた活性成分の粉末を、予め滅菌濾過されたその溶液から生じさせる、真空乾燥および凍結乾燥である。

【0141】

経口組成物は、一般に、不活性希釈剤または可食担体を含む。それらをゼラチンカプセ

10

20

30

40

50

ルに封入することができ、または錠剤に圧縮することができる。経口治療投与のために、活性化合物を賦形剤に組み込み、錠剤、トローチ剤またはカプセル剤の形態で 사용할ことができる。経口組成物は、液体担体を使用して口腔洗浄液として使用するために調製することもでき、この場合、前記液体担体中の化合物が経口適用され、口に含んですすぎ、吐き出されるか、または嚥下される。薬学的に適合性の結合剤、および/またはアジュバント材料を、組成物の一部として含めることができる。錠剤、丸剤、カプセル剤、トローチ剤などは、次の成分のいずれか、または同様の性質の化合物を含有することができる：結合剤、例えば、微結晶性セルロース、トラガカントゴムもしくはゼラチン；賦形剤、例えば、デンプンもしくはラクトース；崩壊剤、例えば、アルギン酸、プリモゲル（*PrimoGel*）もしくはコーンスターチ；滑沢剤、例えば、ステアリン酸マグネシウムもしくはステロテックス（*Sterotex*）；流動促進剤、例えば、コロイド状二酸化ケイ素；甘味剤、例えば、スクロースもしくはサッカリン；または矯味矯臭剤、例えば、ペパーミント、サリチル酸メチルもしくはオレンジ香料。

【0142】

吸入による投与のために、化合物は、好適な噴霧体、例えば二酸化炭素などのガスを含有する加圧容器もしくはディスペンサーから、またはネブライザーから、エアロゾルスプレーの形態で送達される。

【0143】

経粘膜または経皮手段により全身投与することもできる。経粘膜または経皮投与のために、浸透させることになるバリアに適した浸透剤が製剤化の際に使用される。そのような浸透剤は当技術分野において一般に公知であり、例えば、経粘膜投与用は、洗浄剤、胆汁酸塩、およびフシジン酸誘導体を含む。経粘膜投与は、鼻スプレーまたは坐剤の使用により達成され得る。経皮投与のために、活性化合物は、当技術分野において一般に公知であるような軟膏剤（*ointment*）、軟膏剤（*salve*）、ゲル剤またはクリーム剤に製剤化される。

【0144】

化合物を直腸送達のために坐剤の形態に（例えば、カカオ脂および他のグリセリドなどの従来の坐剤基剤を用いて）または停留浣腸の形態に調製することもできる。

【0145】

一実施形態では、インプラントおよびマイクロカプセル化送達系を含む制御放出製剤など、活性化合物は、該化合物を身体からの急速な除去から保護することになる担体を用いて調製される。生分解性、生体適合性ポリマー、例えば、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およびポリ乳酸を使用することができる。そのような製剤の調製方法は、当業者には明らかであるだろう。前記材料は、*Alza Corporation*および*Nova Pharmaceuticals Inc.*から購入することもできる。リボソーム懸濁物を薬学的に許容される担体として使用することもできる。これらは、例えば米国特許第4,522,811号に記載されているような、当業者に公知の方法に従って調製することができる。

【0146】

投与の容易さおよび投薬量の均一性のため単位剤形での経口または非経口組成物の製剤化は特に有利である。本明細書で使用される単位剤形は、処置すべき被験体のための単位投薬量として適している物理的に別個の単位であって、各単位が、必要とされる医薬担体と関連して所望の治療効果を生じさせるように計算された所定量の活性化合物を含有する、前記単位を指す。本開示の単位剤形の仕様は、活性化合物の特有の特徴、および達成される特定の治療効果、および個体の処置のためのそのような活性化合物の配合分野に固有の制限により決まり、そのような特徴、効果および制限に直接依存する。

【0147】

医薬組成物を投与についての指示と一緒にキット、容器、パックまたはディスペンサーに含めることができる。これらの医薬組成物を使用のための指示とともに診断キットに含めることができる。

【 0 1 4 8 】

医薬組成物は、特定の適応症の処置または予防に有効な量で投与される。治療有効量は、処置を受ける被験体の体重、被験体の身体もしくは健康状態、処置すべき状態の広範さ、または処置を受ける被験体の年齢に典型的に依存する。一部の実施形態では、医薬組成物を1用量当たり体重1 kgにつき約50 µg～体重1 kgにつき約50 mgの範囲の量で投与してもよい。一部の実施形態では、医薬組成物を1用量当たり体重1 kgにつき約100 µg～体重1 kgにつき約50 mgの範囲の量で投与してもよい。一部の実施形態では、医薬組成物を1用量当たり体重1 kgにつき約100 µg～体重1 kgにつき約20 mgの範囲の量で投与してもよい。一部の実施形態では、医薬組成物を1用量当たり体重1 kgにつき約0.5 mg～体重1 kgにつき約20 mgの範囲の量で投与してもよい。

10

【 0 1 4 9 】

一部の実施形態では、医薬組成物を1用量当たり約10 mg～約1,000 mgの範囲の量で投与してもよい。一部の実施形態では、医薬組成物を1用量当たり約20 mg～約500 mgの範囲の量で投与してもよい。一部の実施形態では、医薬組成物を1用量当たり約20 mg～約300 mgの範囲の量で投与してもよい。一部の実施形態では、医薬組成物を1用量当たり約20 mg～約200 mgの範囲の量で投与してもよい。

【 0 1 5 0 】

医薬組成物を必要に応じて被験体に投与してもよい。一部の実施形態では、医薬組成物の有効用量は、被験体に1回または複数回、投与される。様々な実施形態では、医薬組成物の有効用量は、被験体に月1回、月1回未満、例えば、2カ月ごとに、3カ月ごとに、または6カ月ごとに投与される。他の実施形態では、医薬組成物の有効用量は、月1回より多く、例えば、2週間ごとに、週1回、週2回、週3回、1日1回、または1日に複数回、投与される。医薬組成物の有効用量は、被験体に少なくとも1回投与される。一部の実施形態では、医薬組成物の有効用量を複数回投与してもよく、これは、少なくとも1カ月、少なくとも6カ月または少なくとも1年間にわたっての投与を含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、状態の1つまたは複数の症状を緩和するために必要に応じて被験体に投与される。

20

【 0 1 5 1 】

別段の定義がない限り、本開示に関連して使用される科学および専門用語は、当業者により一般に理解されている意味を有するものとする。さらに、文脈による別段の要求がない限り、単数形用語は、複数形を含むものとし、複数形用語はその単数形を含むものとする。一般に、本明細書に記載の細胞および組織培養、分子生物学、タンパク質およびオリゴまたはポリヌクレオチド化学ならびにハイブリダイゼーションに関連して用いられる命名法ならびにそれらの技術は、当技術分野において周知の、一般に使用されているものである。組換えDNA、オリゴヌクレオチド合成、ならびに組織培養および形質転換（例えば、エレクトロポレーション、リポフェクション）には標準的技術が使用される。酵素反応および精製技術は、製造業者の仕様に従って行われるか、または当技術分野において一般に達成されているように行われるか、または本明細書に記載の通りに行われる。上述の技術および手順は、一般に、当技術分野において周知の、ならびに本明細書の至るところで引用され、論じられている様々な一般的なおよびより特異的な参考文献に記載されているような、従来する方法に従って行われる。例えば、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual（第2版、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、N.Y.（1989年））を参照されたい。本明細書に記載の分析化学、合成有機化学ならびに医学および製薬化学に関連して用いられる命名法、ならびにそれらの検査手技および技術は、当技術分野において周知の、一般に使用されているものである。化学合成、化学分析、薬学的調製、製剤化および送達、ならびに患者の処置には、標準的技術が使用される。用語、患者は、ヒトおよび獣医学的被験体を含む。

30

40

【 0 1 5 2 】

本開示に従って利用される、下記の用語は、別段の指示がない限り、下記の意味を有す

50

ると理解されるものとする：

【0153】

本明細書で使用される用語「標的化融合タンパク質」および「抗体」は同義語でありうる。本明細書で使用される用語「抗体」は、免疫グロブリン分子、および免疫グロブリン(Ig)分子の免疫学的に活性な部分、すなわち、抗原に特異的に結合する(抗原と特異的に免疫反応する)抗原結合部位を含有する分子を指す。「に特異的に結合する」または「と免疫反応する」または「に対する」は、抗体が、所望の抗原の1つまたは複数の抗原決定基と反応し、他のポリペプチドと反応しない、またははるかに低い親和性($K_d > 10^{-6}$)で結合することを意味する。抗体には、ポリクローナル、モノクローナル、キメラ、dAb(ドメイン抗体)、一本鎖、Fab、Fab'およびF(ab')₂断片、F_v、scFv、Fab発現ライブラリー、ならびに単ドメイン抗体(sdAb)断片、例えば、V_HH、V_{NAR}、操作されたV_HまたはV_Kが含まれるが、これらに限定されない。

10

【0154】

基本抗体構造単位が四量体を含むことは公知である。各四量体は、各対が1本の「軽」鎖(約25 kDa)および1本の「重」鎖(約50~70 kDa)を有する、同一の2対のポリペプチド鎖で構成されている。各鎖のアミノ末端部分は、抗原認識を主に担当する、約100~110またはそれよりも多くのアミノ酸の可変領域を含む。各鎖のカルボキシ末端部分は、エフェクター機能を主に担当する定常領域を規定する。一般に、ヒトから得られる抗体分子は、IgG、IgM、IgA、IgEおよびIgDクラスのいずれかに

20

【0155】

本明細書で使用される用語「モノクローナル抗体」(mAb)または「モノクローナル抗体組成物」は、特有の軽鎖遺伝子産物および特有の重鎖遺伝子産物からなる抗体分子の1分子種のみを含有する抗体分子集団を指す。特に、モノクローナル抗体の相補性決定領域(CDR)は、この集団のすべての分子において同一である。mAbは、該mAbに対する特有の結合親和性を特徴とする抗原の特定のエピトープと免疫反応することができる抗原結合部位を含有する。

30

【0156】

用語「抗原結合部位」または「結合部分」は、抗原結合に關与する免疫グロブリン分子の部分の部分を指す。抗原結合部位は、重(「H」)鎖および軽(「L」)鎖のN末端可変(「V」)領域のアミノ酸残基により形成される。「超可変領域」とも呼ばれる、重鎖および軽鎖のV領域内の3つの高度に多岐にわたるストレッチは、「フレームワーク領域」または「FR」として公知の、より高度に保存される隣接ストレッチ間に挿入されている。したがって、用語「FR」は、免疫グロブリン中の超可変領域間にまたは超可変領域に隣接して天然に見出されるアミノ酸配列を指す。抗体分子において、軽鎖の3つの超可変領域および重鎖の3つの超可変領域は、抗原結合表面を形成するように三次元空間で互いに対して配置されている。抗原結合表面は、結合される抗原の三次元表面に対して相補的であり、重鎖および軽鎖各々の3つの超可変領域は、「相補性決定領域」または「CDR」と呼ばれる。各ドメインへのアミノ酸の割り当ては、Kabats、Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health, Bethesda, Md.(1987年および1991年))、またはChothiaおよびLesk、J. Mol. Biol.、196巻：901~917頁(1987年)、Chothiaら、Nature、342巻：878~883頁(1989年)の定義に従っている。

40

【0157】

本開示の融合タンパク質の単ドメイン抗体(sdAb)断片部分は、本明細書では互換的に、本明細書における標的化ポリペプチドと呼ばれる。

50

【0158】

本明細書で使用される用語「エピトープ」は、免疫グロブリンもしくはその断片またはT細胞受容体とのノによる特異的結合が可能な任意のタンパク質決定基を含む。用語「エピトープ」は、免疫グロブリンまたはT細胞受容体とのノによる特異的結合が可能な任意のタンパク質決定基を含む。エピトープ決定基は、アミノ酸または糖側鎖などの分子の化学的に活性な表面基から通常はなり、特異的三次元構造特徴はもちろん、特異的電荷特徴も通常は有する。抗体は、解離定数が、 $1\mu\text{M}$ 、例えば、 100nM 、好ましくは 10nM およびより好ましくは 1nM であるとき、抗原に特異的に結合すると言われる。

【0159】

本明細書で使用される用語「免疫学的結合」および「免疫学的結合特性」および「特異的結合」は、免疫グロブリン分子とその免疫グロブリンが特異的である抗原との間で起こるタイプの非共有結合性相互作用を指す。免疫学的結合相互作用の強度または親和性は、相互作用の解離定数(K_d)によって表現することができ、 K_d が小さいほど大きい親和性を表す。選択されたポリペプチドの免疫学的結合特性は、当技術分野において周知の方法を使用して定量することができる。1つのそのような方法は、抗原結合部位/抗原複合体形成および解離速度を測定することを必然的に伴い、これらの速度は、複合体パートナーの濃度、相互作用の親和性、および両方向の速度に同等に影響する幾何学的パラメータに依存する。したがって、「オンレート定数」(k_{on})と「オフレート定数」(k_{off})の両方を、濃度ならびに実際の会合および解離速度の計算により決定することができる。(*Nature*、361巻:186~87頁(1993年)を参照されたい)。 k_{off}/k_{on} 比は、親和性に関係しないすべてのパラメータの削除を可能にし、解離定数 K_d に等しい。(一般に、*Daviesら*、(1990年)*Annual Rev Biochem*、59巻、439~473頁を参照されたい)。本開示の抗体は、アッセイ、例えば、放射リガンド結合アッセイ、表面プラズモン共鳴(SPR)、フローサイトメトリ結合アッセイ、または当業者に公知の同様のアッセイにより測定して平衡結合定数(K_d)が $1\mu\text{M}$ 、好ましくは 100nM 、より好ましくは 10nM 、および最も好ましくは 100pM ~約 1pM であるとき、抗原と特異的に結合すると言われる。

【0160】

好ましくは、同一でない残基位置は、保存的アミノ酸置換の点で異なる。

【0161】

保存的アミノ酸置換は、同様の側鎖を有する残基の互換性を指す。例えば、脂肪族側鎖を有するアミノ酸の群は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシンおよびイソロイシンであり；脂肪族-ヒドロキシル側鎖を有するアミノ酸の群は、セリンおよびトレオニンであり；アミド含有側鎖を有するアミノ酸の群は、アスパラギンおよびグルタミンであり；芳香族側鎖を有するアミノ酸の群は、フェニルアラニン、チロシンおよびトリプトファンであり；塩基性側鎖を有するアミノ酸の群は、リシン、アルギニンおよびヒスチジンであり；ならびに硫黄含有側鎖を有するアミノ酸の群は、システインおよびメチオニンである。好適な保存的アミノ酸置換群は、バリン-ロイシン-イソロイシン、フェニルアラニン-チロシン、リシン-アルギニン、アラニンバリン、グルタミン酸-アスパラギン酸、およびアスパラギン-グルタミンである。

【0162】

本明細書で論じられる、抗体または免疫グロブリン分子のアミノ酸配列の小規模な変動は、そのアミノ酸配列の変動が少なくとも75%、より好ましくは少なくとも80%、90%、95%、および最も好ましくは99%を維持することを条件に、本開示により包含されると企図される。特に、保存的アミノ酸置き換えが企図される。保存的置き換えは、側鎖に関連性があるアミノ酸ファミリー内で起こるものである。遺伝的にコードされたアミノ酸は、一般に、(1)酸性アミノ酸がアスパラギン酸、グルタミン酸であるファミリー、(2)塩基性アミノ酸がリシン、アルギニン、ヒスチジンであるファミリー、(3)非極性アミノ酸がアラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラ

10

20

30

40

50

ニン、メチオニン、トリプトファンであるファミリー、および(4)非荷電極性アミノ酸がグリシン、アスパラギン、グルタミン、システイン、セリン、トレオニン、チロシンであるファミリーに分けられる。親水性アミノ酸は、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン、グルタミン酸、ヒスチジン、リシン、セリンおよびトレオニンを含む。疎水性アミノ酸は、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、チロシンおよびバリンを含む。アミノ酸の他のファミリーは、(i)脂肪族-ヒドロキシファミリーであるセリンおよびトレオニン、(ii)アミド含有ファミリーであるアスパラギンおよびグルタミン、(iii)脂肪族ファミリーであるアラニン、バリン、ロイシンおよびイソロイシン、および(iv)芳香族ファミリーであるフェニルアラニン、トリプトファンおよびチロシンを含む。例えば、ロイシンのイソロイシンまたはバリンでの、アスパラギン酸のグルタミン酸での、トレオニンのセリンでの孤立した置き換え、またはアミノ酸の構造的に関連性のあるアミノ酸での同様の置き換えは、特に、その置き換えにフレームワーク部位内のアミノ酸が関与しない場合、結果として得られる分子の結合または特性に大きな影響を与えないと予想することは理にかなっている。アミノ酸変化が機能的ペプチドをもたらすかどうかは、ポリペプチド誘導体の比活性をアッセイすることによって容易に決定することができる。アッセイは、本明細書中で詳細に説明される。抗体または免疫グロブリン分子の断片または類似体を当業者は容易に調製することができる。断片または類似体の好適なアミノおよびカルボキシ末端は、機能的ドメインの境界付近に存在する。構造的および機能的ドメインは、ヌクレオチドおよび/またはアミノ酸配列データを公開または専売の配列データベースと比較することにより同定することができる。好ましくは、コンピュータ化された比較方法を使用して、公知の構造および/または機能の他のタンパク質中に存在する配列モチーフまたは予測タンパク質コンホメーションドメインを同定する。公知の三次元構造に折り畳めるタンパク質配列を同定する方法は公知である。Bowieら、Science、253巻：164頁(1991年)。したがって、上述の例は、本開示に従って構造的および機能的ドメインを定義するために使用されうる配列モチーフおよび構造コンホメーションを当業者には認識することができることを実証するものである。

【0163】

好ましいアミノ酸置換は、(1)タンパク質分解に対する感受性を低減させるもの、(2)酸化に対する感受性を低減させるもの、(3)タンパク質複合体を形成するために結合親和性を変化させるもの、(4)結合親和性を変化させるもの、および(4)そのような類似体の他の物理化学的または機能的特性を付与または修飾するものである。類似体は、天然に存在するペプチド配列以外の配列の様々な変異タンパク質を含むことができる。例えば、単一または複数のアミノ酸置換(好ましくは、保存的アミノ酸置換)を、天然に存在する配列において(好ましくは、分子間接触を形成するドメイン外のポリペプチドの部分において)行ってもよい。保存的アミノ酸置換は、親配列の構造的特徴を実質的に変化させないはずである(例えば、置き換えアミノ酸は、親配列中に存在するヘリックスを破壊する傾向も、親配列を特徴付ける他のタイプの二次構造を崩壊する傾向も、ないはずである)。当技術分野において認識されているポリペプチド二次構造および三次構造の例は、Proteins, Structures and Molecular Principles(Creighton編、W. H. Freeman and Company、New York(1984年)); Introduction to Protein Structure(C. BrandenおよびJ. Tooze編、Garland Publishing、New York、N.Y.(1991年)); およびThorntonら、Nature、354巻、105頁(1991年)に記載されている。

【0164】

本明細書で使用される用語「ポリペプチド断片」は、アミノ末端および/またはカルボキシ末端欠失を有するポリペプチドであって、しかし、残りのアミノ酸配列が、例えば完全長cDNA配列から推論される、天然に存在する配列内の対応する位置と同一である、

ポリペプチドを指す。断片は、典型的には少なくとも5、6、8または10アミノ酸長、好ましくは少なくとも14アミノ酸長、より好ましくは少なくとも20アミノ酸長、通常は少なくとも50アミノ酸長、およびよりいっそう好ましくは少なくとも70アミノ酸長である。本明細書で使用される用語「類似体」は、推論されるアミノ酸配列の一部分との実質的同一性を有する少なくとも25アミノ酸のセグメントからなるポリペプチドであって、好適な結合条件下でGITRとの特異的結合を有するポリペプチドを指す。典型的に、ポリペプチド類似体は、天然に存在する配列に関しての保存的アミノ酸置換（または付加もしくは欠失）を含む。類似体は、典型的には少なくとも20アミノ酸長であり、好ましくは、少なくとも50アミノ酸長であるか、それより長く、および多くの場合、天然に存在する完全長ポリペプチドと同様の長さでありうる。

10

【0165】

ペプチド類似体は、鑄型ペプチドのものに類似した特性を有する非ペプチド薬として製薬業界において一般に使用される。非ペプチド化合物のこれらのタイプは、「ペプチド模倣物」または「ペプチドミメティック」と称される。Fauchere、J. Adv.

Drug Res.、15巻：29頁（1986年）、VeberおよびFreidinger、TINS、392頁（1985年）；およびEvansら、J. Med. Chem.、30巻：1229頁（1987年）。そのような化合物は、コンピュータ化された分子モデリングに補助されて開発されることが多い。治療的に有用なペプチドに構造的に類似しているペプチド模倣物を使用して、同等の治療または予防効果を生じさせることができる。一般に、ペプチドミメティックは、ヒト抗体などのパラダイムポリペプチド（すなわち、生化学的特性または薬理学的活性を有するポリペプチド）に構造的に類似しているが、当技術分野において周知の方法により、1つまたは複数のペプチド結合が、
- - CH₂NH - -、- - CH₂S -、- - CH₂-CH₂- -、- - CH=CH - -（シスおよびトランス）、- - COCH₂- -、CH(OH)CH₂- -、および- CH₂SO - - からなる群より選択される結合によって任意選択で置き換えられている。コンセンサス配列の1つまたは複数のアミノ酸の、同じタイプのD-アミノ酸（例えば、L-リシンの代わりにD-リシン）での系統的置換を使用して、より安定したペプチドを生成することができる。加えて、コンセンサス配列または実質的に同一のコンセンサス配列バリエーションを含む制約されたペプチドを、当技術分野において公知の方法（RizoおよびGierasch、Ann. Rev. Biochem.、61巻：387頁（1992年））により、例えば、ペプチドを環化する分子間ジスルフィド架橋を形成することができる内部システイン残基の付加により、生成することができる。

20

30

【0166】

用語「薬剤」は、化合物、化合物の混合物、生体高分子、および/または生物材料から製造された抽出物を示すために本明細書では使用される。

【0167】

本明細書で使用される用語「標識する」または「標識された」は、放射標識されたアミノ酸の組み込み、または印を付けたアビジン（例えば、光学的方法もしくは熱量測定方法により検出することができる蛍光マーカースしくは酵素活性を含有するストレプトアビジン）により検出することができるピオチニル部分のポリペプチドへの結合を指す。ある特定の状況では、標識またはマーカースは、治療的であることもある。ポリペプチドおよび糖タンパク質を標識する様々な方法が当技術分野において公知であり、それらを使用することができる。ポリペプチドに対する標識の例としては、これらに限定されるものではないが次のものが挙げられる：放射性同位体または放射性核種（例えば、³H、¹⁴C、¹⁵N、³⁵S、⁹⁰Y、⁹⁹Tc、¹¹¹In、¹²⁵I、¹³¹I）、蛍光標識（例えば、FITC、ローダミン、ランタニドリン光体）、酵素標識（例えば、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、 α -ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）、化学発光性、ピオチニル基、二次レポーター（例えば、ロイシンジッパー対配列、二次抗体の結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ）により認識される所定のポリペプチドエピトープが挙げられるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、標識は

40

50

、潜在的立体障害を低減させるために様々な長さのスペーサーアームにより結合される。本明細書で使用される用語「医薬品薬剤または薬物」は、患者に適切に投与されたときに所望の治療効果を誘導することができる化合物または組成物を指す。

【0168】

本明細書で使用される用語「処置する」、「処置すること」、「処置」などは、障害および/または障害に伴う症状の低減および/または改善を指す。「緩和する」および/または「緩和すること」は、例えばがんなどの疾患の発症または進行を減少させる、抑制する、減弱させる、弱める、抑止する、および/または安定化する、を意味する。障害または状態の処置が、障害、状態またはそれに関連する症状を完全に除去することを、除外しないが、必要ではないことは、理解されるであろう。

10

【0169】

本開示において、「含む (comprise)」、「含むこと (comprising)」、「含有すること (containing)」、「有すること (having)」などは、米国特許法においてそれらのものと見なされている意味を有することができ、「含む (include)」、「含むこと (including)」などを意味することができ、同様に、用語「から本質的になること」または「本質的になる」は、米国特許法においてそれらのものと見なされている意味を有することができ、これらの用語は非限定的であり、したがって、列挙されているものの基本的または新規の特徴が、先行技術実施形態を除外するが列挙されているものより多くのものの存在により変化されない限り、列挙されているものより多くのものの存在を許容する。

20

【0170】

「有効量」は、未処置の患者と比較して疾患の症状を改善するために必要な量を意味する。疾患の治療的処置のための本開示の実施に使用される活性化合物の有効量は、投与様式、被験体の年齢、体重および全体的な健康に依存して変動する。最終的には、担当の医師または獣医師が適切な量および投薬レジメンを決定することになる。そのような量が「有効」量と呼ばれる。

【0171】

「被験体」は、ヒトまたは非ヒト哺乳動物、例えばウシ、ウマ、イヌ、齧歯動物、ヒツジ、霊長類、ラクダ科動物もしくはネコを含むがこれらに限定されない、哺乳動物を意味する。

30

【0172】

本明細書で使用される用語「投与すること」は、治療剤を、そのような薬剤での処置を必要とする被験体に移入、送達、導入または輸送する任意の様式を指す。そのような様式には、経口、局所、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮内、鼻腔内および皮下投与が含まれるが、これらに限定されない。

【0173】

「断片」は、ポリペプチドまたは核酸分子の部分を意味する。この部分は、好ましくは、参照核酸分子またはポリペプチドの完全長の少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%または90%を含有する。断片は、10、20、30、40、50、60、70、80、90または100、200、300、400、500、600、700、800、900または1000ヌクレオチドまたはアミノ酸を含有することがある。

40

【0174】

本明細書において提供される範囲は、範囲内の値のすべてについての省略表現であると理解される。例えば、1~50の範囲は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49もしくは50からなる群からの、任意の数、数の組合せ、または部分範囲を含むと理解される。

【0175】

50

具体的に述べられていない限り、または文脈から明らかでない限り、本明細書で使用する用語「1つの(a)」、「1つの(an)」および「その(the)」は、単数または複数であると理解される。具体的に述べられていない限り、または文脈から明らかでない限り、本明細書で使用する用語「または」は、包括的であると理解される。

【0176】

具体的に述べられていない限り、または文脈から明らかでない限り、本明細書で使用する用語「約」は、当技術分野における通常の許容範囲内、例えば、平均値の2標準偏差以内と理解される。約は、述べられている値の10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、0.05%または0.01%以内と理解することができる。文脈からそうでないことが明らかでない限り、本明細書において提供されるすべての数値は、用語「約」により修飾されている。

10

【0177】

本開示を以下の実施例でさらに説明することにするが、これらの実施例は特許請求の範囲に記載の本開示の範囲を限定しない。

【実施例】

【0178】

(実施例1 GITR標的化分子はGITRに結合する)

図2A、2Bおよび2Cに示すように、本開示の様々なGITR標的化融合タンパク質は、フローサイトメトリーにより評価して、CHO細胞上で発現されるGITRと結合する。GITR抗体、TRX-518を対照としてこれらの研究に使用した。

20

【0179】

CHO細胞の表面で発現されたヒトおよびカニクイザルGITRに対する、本明細書ではhzC06v1.1(配列番号42)、hzC06v1.2(配列番号43)、hzC06v1.3(配列番号44)、hzC06v1.4(配列番号45)、hzC06v2.1(配列番号46)、hzC06v2.2(配列番号47)、hzC06v2.3(配列番号48)、hzC06v2.4(配列番号49)、hzC06v3(配列番号50)、hzC06v3.1(配列番号51)、hzC06v3.2(配列番号52)、hzC06v3.3(配列番号53)、hzC06v3.4(配列番号54)、hzC06v3.5(配列番号55)、hzC06v3.6(配列番号56)、hzC06v3.7(配列番号57)、hzC06v3.8(配列番号58)、hzC06v3.9(配列番号59)、hzC06v3.10(配列番号60)、hzC06v3.11(配列番号61)、hzC06v3.12(配列番号62)、hzC04v4.1(配列番号63)、hzC04v4.1.2(配列番号64)、hzC04v4.2(配列番号65)、hzC04v4.2.2(配列番号66)、hzC04v5(配列番号67)、hzC04v1.2.1(配列番号68)、hzC04v5.1(配列番号69)、hzC04v5.2(配列番号70)、hzC04v5.3(配列番号71)、hzC04v5.4(配列番号72)、hzC04v5.5(配列番号73)、hzC04v5.6(配列番号74)、hzC04v5.7(配列番号75)、hzC04v5.8(配列番号76)、hzC04v5.9(配列番号77)、hzC04v5.10(配列番号78)、hzC04v5.11(配列番号79)、およびhzC04v5.12(配列番号80)と呼ばれるGITR標的化分子の結合親和性を、フローサイトメトリーにより決定した。結果を図4A~4Eおよび5A~5Eに示す。

30

40

【0180】

(実施例2 GITR標的化分子はGITRとGITR-Lとの相互作用を遮断する)

図3A、3Bおよび3Cに示すように、本開示の様々なGITR標的化融合タンパク質は、GITRLとGITRとの相互作用を遮断することができた。簡単に言うと、これらの研究では、GITR発現CHO細胞および組換えGITRLを使用するフローサイトメトリーアッセイを使用して、遮断能力の評価を実行した。GITR抗体、TRX-518を対照としてこれらの研究に使用した。

【0181】

50

(実施例3 ヒトおよびカニクイザルG I T Rに対するG I T R標的化分子の結合親和性)

ヒトおよびカニクイザルG I T R細胞外ドメインヒトI g G 1融合タンパク質(G I T R - F c)に対する、本明細書では二価h z C 0 6 v 3 . 9 - h I g G 1または2 x h z C 0 6 v 3 . 9 - I g G 1 F c(配列番号93)と呼ばれるG I T R標的化分子の結合親和性を、表面プラズモン共鳴により決定した。簡単に言うと、ビオチン化ヒトおよびカニクイザルG I T R - F cをチップ表面に捕捉し、次いで二価h z C 0 6 v 3 . 9 - h I g G 1を10種の濃度(0 n M ~ 6 0 0 n M)で、4 0 u l /分で1 2 0秒間注入した。解離を2 4 0秒間追跡した。k a 1、k d 1、およびK D 1を下の表において報告する。

【表1】

G I T R - F c	k a 1 (1/Ms)	k d 1 (1/s)	K D 1 (nM)
カニクイザル	1.22E+05	1.05E-02	87.1
ヒト	6.40E+05	4.12E-03	6.4

【0182】

(実施例4 初代ヒトT細胞に対するG I T R標的化分子の結合)

初代ヒトT細胞に対する、本明細書では四価h z C 0 6 - h I g G 1と呼ばれる本開示の抗G I T R分子の能力を本明細書では評価した。四価h z C 0 6 - h I g G 1は、配列番号93のG I T R標的化分子の2つのコピーを用いて構築し、そしてまた前記G I T R結合分子は、配列番号1のヒトI g G 1 F cドメインに融合した配列番号59の単ドメイン可変領域(s d A b)の2つのタンデムコピーを用いて構築する。

【0183】

健常ヒトドナーから蛍光活性化セルソーティングによって単離した全P B M Cまたは精製T r e gを調製した。組換えヒトI L 2を補充した抗C D 3および抗C D 2 8で細胞をi n v i t r oで活性化した。細胞を様々な濃度の四価h z C 0 6 - h I g G 1および表面表現型決定用抗体カクテルとともにインキュベートした。次いで試料を洗浄し、蛍光標識抗h I g G二次抗体で染色し、次いでフローサイトメトリーにより評価した。活性化C D 4 T細胞をC D 3、C D 4およびC D 2 5での染色により同定した。これらの研究の結果を、3名のドナーからの活性化C D 4 T細胞(黒塗り記号、実線)および2名のドナーからの活性化T r e g(白抜き記号、破線)について図7に示す。

【0184】

(実施例5 G I T R標的化分子はN F - k Bシグナル伝達を活性化する)

四価抗G I T R標的化分子は、G I T Rを発現するレポーター細胞株におけるN F - k Bシグナル伝達を活性化した。本明細書に記載する研究は、本開示の2つの四価G I T R標的化分子を使用した。第1の四価G I T R標的化分子は、本明細書では2 x h z C 0 6 v 3 . 9 I g G 1 - F c(配列番号93)と呼ばれるG I T R結合融合タンパク質の2つのコピーを含み、そしてまた前記G I T R結合融合タンパク質は、h z C 0 6 v 3 . 9 G I T R - B D(配列番号59)および配列番号1のI g G 1 F cポリペプチドの2つのコピーを含む。第2の四価G I T R標的化分子は、本明細書では2 x C 0 6 I g G 1 - F cと呼ばれるG I T R結合融合タンパク質の2つのコピーを含み、そしてまた前記G I T R結合融合タンパク質は、C 0 6 G I T R - B D(配列番号22)および配列番号1のI g G 1 F cポリペプチドの2つのコピーを含む。

【0185】

N F - k Bに駆動される分泌型アルカリホスファターゼ(S E A P)レポーター遺伝子を含むH E K 2 9 3細胞株にヒトG I T R(図8 A)またはカニクイザルG I T R(

10

20

30

40

50

図8B)を安定的にトランスフェクトした。それらの細胞株を、力価測定用量(titrating dose)の四価GITR抗体とともに一晚、37℃でインキュベートした。650nmでの光学密度により測定する基質の加水分解によってSEAPレポーター遺伝子発現を定量した。

【0186】

(実施例6 腫瘍モデルにおけるGITR標的化分子)

図9A~9Cに示すように、本開示のGITR標的化分子での処置は、投与日に関係なくCT26腫瘍成長を有意に低減させた。BALB/cマウスにCT26結腸直腸癌細胞を皮下接種し、本明細書では2x C06-IgG1-Fcと呼ばれるGITR結合融合タンパク質の2つのコピーを含む(そしてまた、前記GITR結合融合タンパク質が、配列番号22のGITR-BDおよび配列番号1のヒトIgG1-Fcポリペプチド配列の2つのコピーを含む)四価C06-hIgG1、または対照としてのヒトIgG1-Fcを、7日目(図9A)、9日目(図9B)または11日目(図9C)に投与し、これらの時点で平均腫瘍体積は、125、230または310mm³であった。四価C06-IgG1-Fc処置は、処置日に関係なく投与の6~8日後に開始して、ヒトFcと比較して腫瘍成長の有意な低減をもたらした(p<0.05、対応のない両側t検定により決定)。

【0187】

図10に示すように、本開示のGITR標的化分子での処置は、CT26腫瘍成長の用量依存性抑制を生じさせた。BALB/cマウスにCT26結腸直腸癌細胞を皮下接種し、本明細書では2x C06-mIgG1-2a-Fcと呼ばれるGITR結合融合タンパク質の2つのコピーを含む四価C06-mIgG2aであって、そしてまた、前記GITR結合融合タンパク質が、配列番号22のGITR-BDおよびマウスIgG2a配列の2つのコピーを含む、四価C06-mIgG2a、または対照としての非特異的mIgG2aを、9日目(近似的腫瘍体積260mm³)に投与した。四価C06-mIgG2a処置は、2.5、0.25、0.08または0.025mg/kgで投与したとき対照と比較して腫瘍体積の有意な低減をもたらした(p<0.05)。0.008mg/kgで投与した四価C06-mIgG2aは、CT26腫瘍成長を有意に抑制しなかった。統計的有意性は、一元配置ANOVAと、四価C06-mIgG2a群のmIgG2aとの多重比較により決定した。

【0188】

図11A~11Bに示すように、本開示のGITR標的化分子での処置は、MC38腫瘍成長の用量依存性抑制を生じさせた。C57BL/6マウスにMC38結腸直腸癌細胞を皮下接種し、四価C06-mIgG2aまたは対照としての非特異的mIgG2aを7日目(平均腫瘍体積110~115mm³)に投与した。0.08またはそれより上の用量での四価C06-mIgG2aの投与は、14日目に開始して、mIgG2a対照と比較して有意な腫瘍成長低減をもたらした(p<0.05)(図11A)。0.025での四価C06-mIgG2a処置は、18日目に開始して、mIgG2a対照と比較して腫瘍成長を有意に低減させた(p<0.05)。0.008mg/kgで投与した四価C06-mIgG2aは、MC38腫瘍成長を有意に抑制しなかった。統計的有意性は、一元配置ANOVAと、C06群のIgG2aとの多重比較により決定した。MC38接種後20日目の個々の腫瘍体積を図11Bに示す。この時点での2.5、0.25および0.08mg/kg処置群における腫瘍成長の低減は同様である。

【0189】

(実施例7 CT26腫瘍成長の阻害に対するFc機能の影響)

BALB/cマウスにCT26結腸直腸癌細胞を皮下接種し、野生型Fcを有するか、Fc受容体との結合を遮断するためのN297G変異を有する(mIgG2a-サイレント)、四価C06-mIgG2aを9日目(平均腫瘍体積260mm³)に投与した。非特異的mIgG2a、抗GITR mAb1-mIgG2a、および抗GITR対照mAb1-mIgG2a-サイレントを対照として使用した。図12Aに示すように、野生型

Fcを有する四価C06は最も強力であったが、野生型形式とサイレント形式両方が、対照と比較して腫瘍成長を有意に低減させた($p < 0.05$)。mAb1は、野生型Fc形式で投与した場合にのみCT26成長を阻害した。統計的有意性は、一元配置ANOVAと、処置群のmIgG2aとの多重比較により決定した。CT26接種後22日目の個々の腫瘍体積を図12Bに示す。四価C06のFc野生型形式とサイレント形式間の腫瘍成長の差は有意でないが、形式は、腫瘍成長を抑制するmAb1の能力について有意であった。カプラン・マイヤー分析は、野生型Fcを有する四価C06での処置がCT26担持マウスの生存を有意に向上させることができることを示す(図12C)。10日目の四価C06-mIgG2aの単回投与は、メジアン生存を、mIgG2a対照群についての20日と比較して66日に延長する。

10

【0190】

(実施例8 GITR標的化分子での処置は再負荷に対する抵抗性をもたらす)

四価C06-mIgG2a誘導CT26拒絶を被ったマウスは、再負荷に対して抵抗性であった。四価C06-mIgG2aでの処置によりCT26腫瘍を拒絶したBALB/cマウスにCT26、Renca、またはEMT6マウス腫瘍細胞株を再接種した。図13Aに示すように、以前にCT26を拒絶したマウスは、このモデルの後続の再接種時に腫瘍成長に対して完全に抵抗性であった。重要なこととして、年齢を一致させた未処置マウスは、CT26腫瘍成長を実証した。図13Bに示すように、Renca腫瘍は、以前にCT26を拒絶したマウスではあまり成長しなかった。実際、4匹のマウスのうちの2匹は、完全に抵抗性であり、1匹のマウスは、年齢を一致させた未処置対照と比較してRenca成長の顕著な低減を有した。RencaはCT26とT細胞エピトープを共有し、これは、T細胞媒介免疫が誘導されることを示唆している。図13Cに示すように、BALB/cマウスでは、それらが、C06処置により前もってCT26を除去したか、または未処置であったかにかかわらず、EMT6腫瘍がよく成長する。EMT6はCT26とT細胞エピトープを共有しない。

20

【0191】

(実施例9 T細胞に対するGITR標的化分子での処置の効果)

処置は、Treg頻度を有意に低下させ、腫瘍微小環境内のエフェクター細胞に対する比を変化させた。BALB/cマウスにCT26結腸直腸癌細胞を皮下接種し、野生型Fcを有するか、Fc受容体との結合を遮断するためのN297G変異を有する(mIgG2a-サイレント)、2.5mg/kgの四価C06-mIgG2aを9日目に投与した。非特異的mIgG2aを対照として使用した。処置の3日後に末梢血および腫瘍を採取し、フローサイトメトリーにより分析した。図14Aに示すように、四価C06-mIgG2aでの処置は、循環Treg、通常のCD4⁺T細胞(4Tcon)、およびCD8⁺T細胞(8T)の頻度を有意に低下させた($p < 0.05$)。mIgG2a-サイレント形式では効果が観察されなかった。図14Bに示すように、四価C06-mIgG2aでの処置は、腫瘍内Tregおよび通常のCD4⁺T細胞の頻度を有意に低下させた($p < 0.001$)が、CD8⁺T細胞を変化させなかった。mIgG2a-サイレント形式では効果が観察されなかった。図14Cに示すように、四価C06-mIgG2aによるTregの強力な低減の結果として、腫瘍内でのエフェクターT細胞のTregに対する比が有意に増加された($p < 0.05$)。統計的有意性を対応のない両側t検定によって決定した。

30

40

【0192】

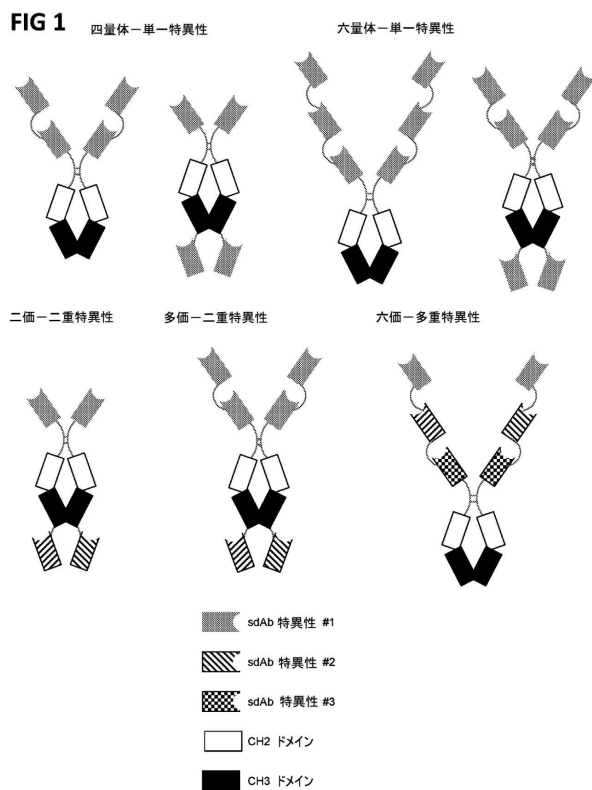
(実施例10 T細胞活性化および増殖に対するGITR標的化分子の効果)

処置は、CD8⁺T細胞活性化および増殖を有意に誘導した。BALB/cマウスにCT26結腸直腸癌細胞を皮下接種し、野生型Fcを有するか、Fc受容体との結合を遮断するためのN297G変異を有する(mIgG2a-サイレント)、2.5mg/kgの四価C06-mIgG2aを9日目に投与した。非特異的mIgG2aを対照として使用した。処置の12日後に末梢血をフローサイトメトリーにより分析した。図15Aに示すように、四価C06-mIgG2aでの処置は、循環CD8⁺T細胞の頻度を有意に誘導

50

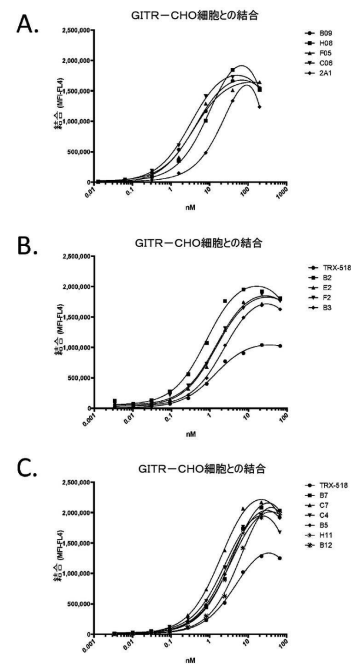
した ($p < 0.005$) が、 T_{reg} および通常の $CD4^+$ T 細胞を変化させなかった。
 $mIgG2a$ -サイレント形式ではこの効果が観察されなかった。図 15B に示すように、 $CD8^+$ T 細胞も、四価 $CO6-mIgG2a$ での処置後に活性化された増殖性の表現型 ($CD62L^+Kl67^+$) をとった。統計的有意性を対応のない両側 t 検定によって決定した。

【図 1】



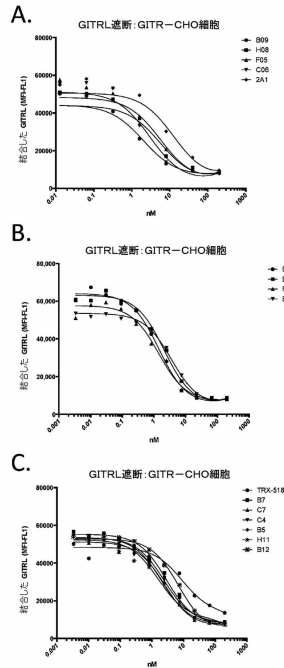
【図 2】

FIG 2



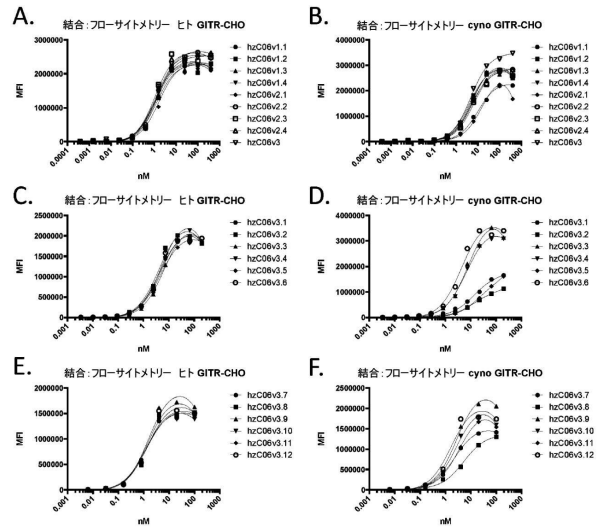
【図 3】

FIG 3



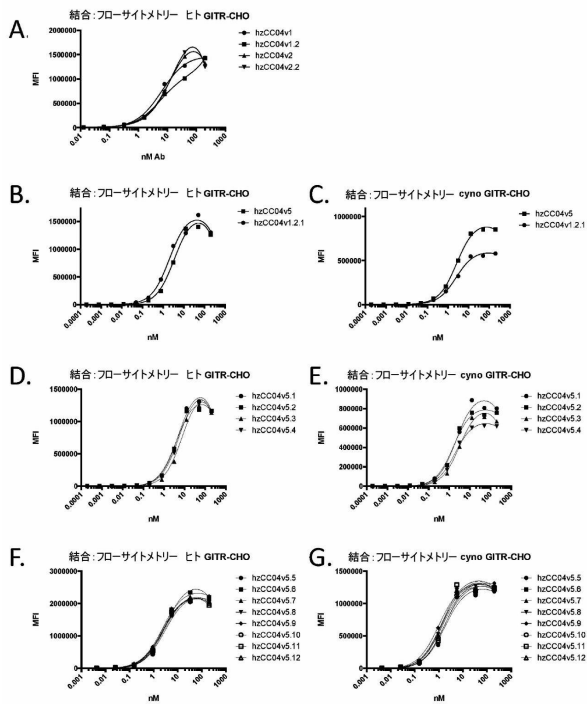
【図 4】

FIG 4



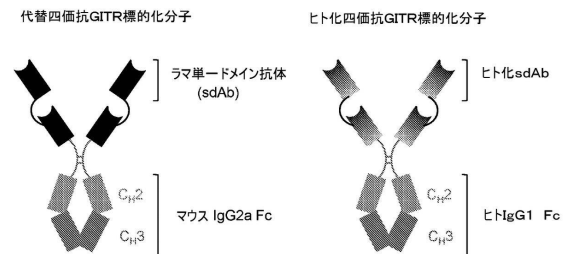
【図 5】

FIG 5



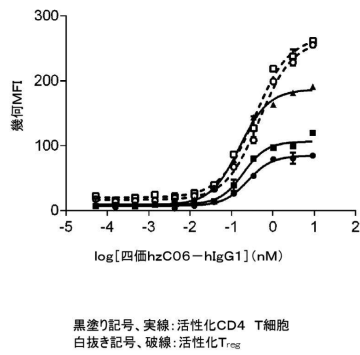
【図 6】

FIG 6



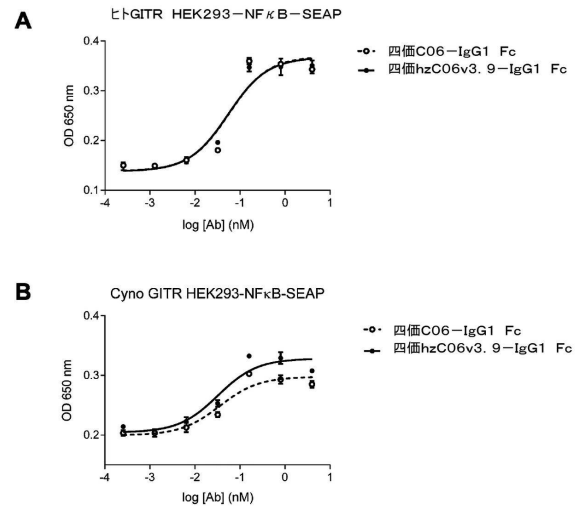
【図 7】

FIG 7



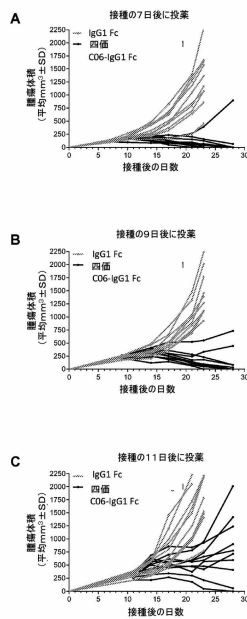
【図 8】

FIG 8



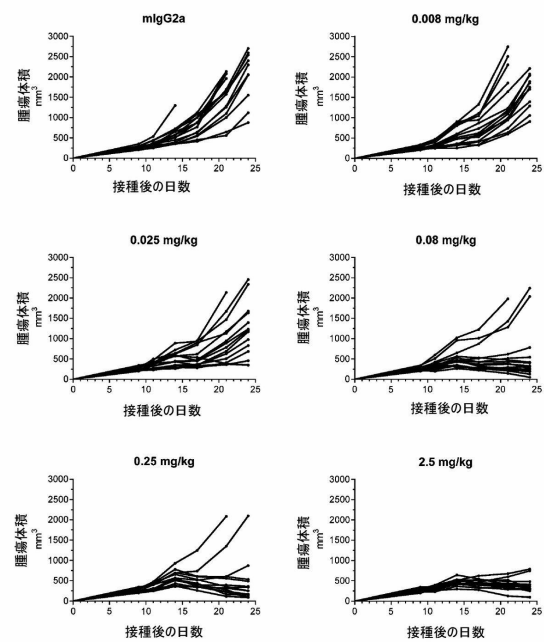
【図 9】

FIG 9



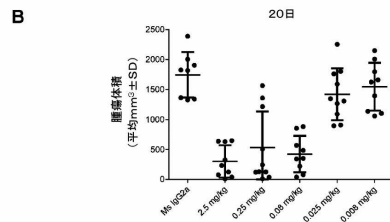
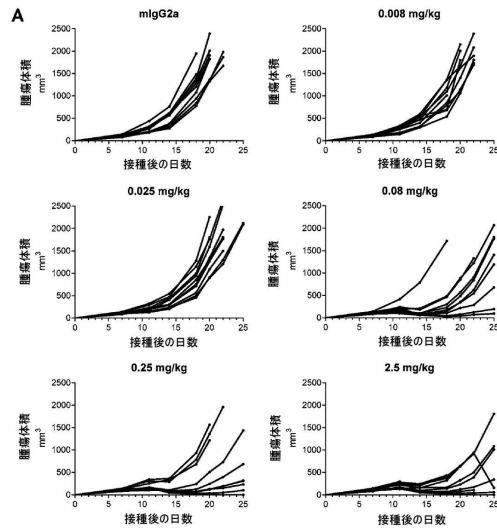
【図 10】

FIG 10



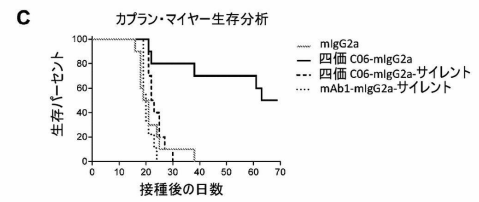
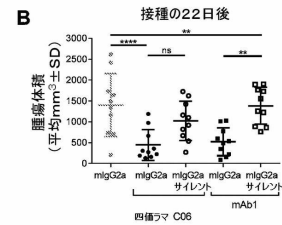
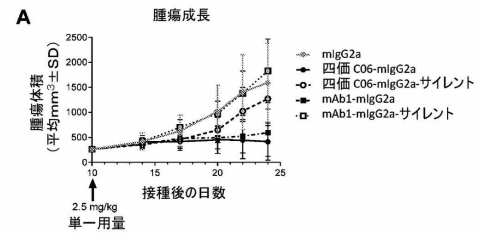
【図 1 1】

FIG 11



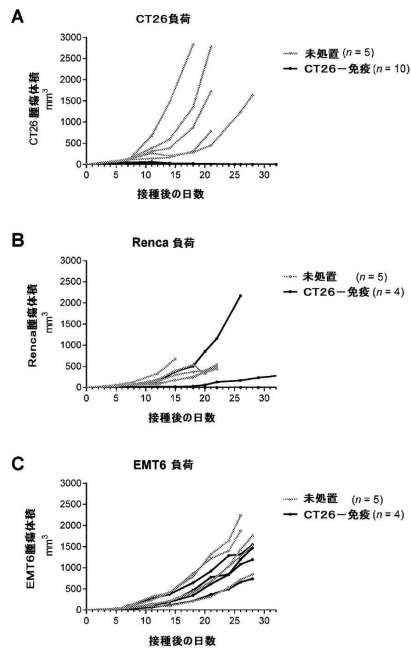
【図 1 2】

FIG 12



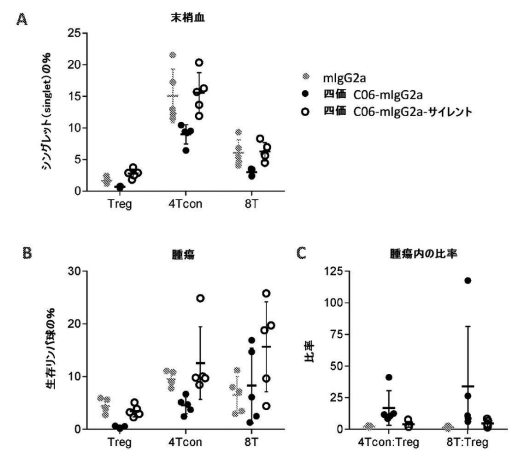
【図 1 3】

FIG 13

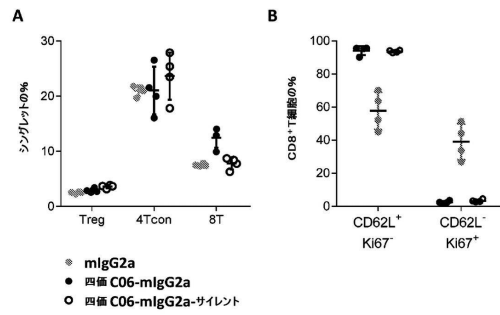


【図 1 4】

FIG 14



【図 15】
FIG 15



【配列表】
0006913682000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395 N
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02
A 6 1 P	35/04 (2006.01)	A 6 1 P	35/04
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ティマー, ジョン シー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 0 3 7, ラ ホーヤ, エヌ. トーリー パインズ
ロード 1 1 0 9 9, スイート 2 8 0

(72)発明者 ジョーンズ, カイル エス.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 0 3 7, ラ ホーヤ, エヌ. トーリー パインズ
ロード 1 1 0 9 9, スイート 2 8 0

(72)発明者 ラザイ, アミール エス.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 0 3 7, ラ ホーヤ, エヌ. トーリー パインズ
ロード 1 1 0 9 9, スイート 2 8 0

(72)発明者 フサイン, エイブラヒム

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 0 3 7, ラ ホーヤ, エヌ. トーリー パインズ
ロード 1 1 0 9 9, スイート 2 8 0

(72)発明者 ウィリス, ケイトリン エム.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 0 3 7, ラ ホーヤ, エヌ. トーリー パインズ
ロード 1 1 0 9 9, スイート 2 8 0

(72)発明者 デヴェロー, クイン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 0 3 7, ラ ホーヤ, エヌ. トーリー パインズ
ロード 1 1 0 9 9, スイート 2 8 0

(72)発明者 エクケルマン, ブレンダン ピー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 0 3 7, ラ ホーヤ, エヌ. トーリー パインズ
ロード 1 1 0 9 9, スイート 2 8 0

審査官 西 賢二

(56)参考文献 特表2008-533993(JP,A)

特表2013-503632(JP,A)

国際公開第2015/031667(WO,A2)

国際公開第2014/089113(WO,A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0

C 0 7 K 1 / 0 0 - 1 9 / 0 0

A 6 1 K 3 8 / 0 0 - 3 9 / 4 4

CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS
(STN)

