

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2022-529892

(P2022-529892A)

(43)公表日 令和4年6月27日(2022.6.27)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 15/62 (2006.01)	C 1 2 N 15/62	Z 4 B 0 5 0
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	C 0 7 K 19/00	Z N A 4 B 0 6 5
C 0 7 K 16/00 (2006.01)	C 0 7 K 16/00	4 C 0 7 6
C 1 2 N 9/12 (2006.01)	C 1 2 N 9/12	4 C 0 8 4
C 0 7 K 14/555 (2006.01)	C 0 7 K 14/555	4 C 0 8 5

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全173頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2021-558529(P2021-558529)	(71)出願人	521437068 オリオニス バイオサイエンシズ, イン コーポレイテッド アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 0 2 4 5 1, ウォルサム, 9 5 0 ウィ ンター ストリート
(86)(22)出願日	令和2年3月27日(2020.3.27)	(71)出願人	518268352 オリオニス バイオサイエンシズ ビービー ベルギー国, ビー 9 0 5 2 ヘント, テ クノロジーバルク 9 4
(85)翻訳文提出日	令和3年11月24日(2021.11.24)	(74)代理人	100114775 弁理士 高岡 亮一
(86)国際出願番号	PCT/US2020/025421	(74)代理人	100121511 弁理士 小田 直
(87)国際公開番号	WO2020/198661	(74)代理人	100202751
(87)国際公開日	令和2年10月1日(2020.10.1)		
(31)優先権主張番号	62/825,580		
(32)優先日	平成31年3月28日(2019.3.28)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA ,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く		

最終頁に続く

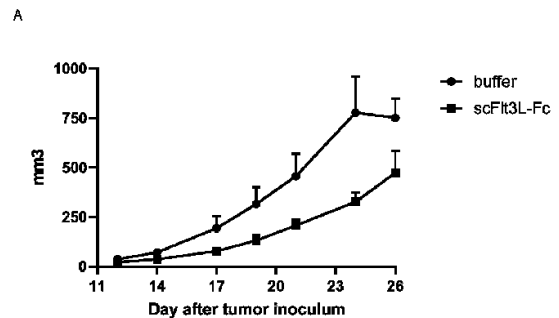
(54)【発明の名称】 FMS様チロシンキナーゼ3 (FLT3) に対するキメラタンパク質およびキメラタンパク質複合体

(57)【要約】

例えば、癌治療で使用される、任意選択でFMS様チロシンキナーゼ3L (FLT3L) ドメインおよびヒトサイトカインから構成される、FMS様チロシンキナーゼ3 (FLT3) に対するキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体が、記載される。

【選択図】 図 2 8 A

FIG. 28A



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(i) 目的の抗原または受容体に特異的に結合する 1 個または複数のターゲティング部分であって、前記目的の抗原または受容体が F M S 様チロシンキナーゼ 3 (F L T 3) である、ターゲティング部分；

(i i) 前記 F c ドメインの 1 種または複数のエフェクター機能を低減するまたは除去する、前記 F c ドメインの F c 鎖対形成を促進する、および / または前記 F c ドメイン中のヒンジ領域を安定化する 1 個または複数の変異を任意選択で有する F c ドメイン；および

(i i i) シグナル伝達物質またはその改変型、

を含む F c ベースキメラタンパク質複合体。

10

【請求項 2】

1 個のターゲティング部分が、前記 F c ドメインの各 F c 鎖に付着される、請求項 1 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 3】

2 個のターゲティング部分が、前記 F c ドメインの 1 つの F c 鎖に付着される、請求項 1 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 4】

前記 2 個のターゲティング部分が、任意選択でリンカーを介して、相互に付着される、請求項 3 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 5】

前記 2 個のターゲティング部分が、任意選択でリンカーを介して、前記 F c 鎖に付着される、請求項 4 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

20

【請求項 6】

前記ターゲティング部分が、 F L T 3 L、またはその一部を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 7】

前記ターゲティング部分が、 F L T 3 L の細胞外ドメイン、またはその一部を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 8】

前記ターゲティング部分が、配列番号 2 ~ 5 のいずれか 1 つと少なくとも 9 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 7 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

30

【請求項 9】

前記ターゲティング部分が、配列番号 2 ~ 5 のいずれか 1 つと少なくとも 9 5 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 8 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 10】

前記ターゲティング部分が、 F L T 3 L の細胞外ドメイン、またはその一部および任意選択で配列番号 2 ~ 4 のいずれか 1 つの位置 L 2 7 での置換であり、任意選択で L 2 7 D である、分子間細胞外ドメイン二量体化を低減する変異を含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 11】

前記ターゲティング部分が、 F L T 3 L の細胞外ドメイン、またはその一部含み、かつ前記細胞外ドメインが、単鎖二量体である、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

40

【請求項 12】

前記シグナル伝達物質が、野生型ヒト I F N γ 2、I F N γ 1、I F N γ 、もしくは I L - 1 α である、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 13】

前記シグナル伝達物質が、配列番号 6、7、38、39、または 74 のいずれか 1 つと少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 7 %、または少なくとも 9 8 % の同一性を有するア

50

ミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の Fc ペースキメラタンパク質複合体。

【請求項 14】

前記シグナル伝達物質が、1 個または複数の変異を含むように改変される、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の Fc ペースキメラタンパク質複合体。

【請求項 15】

前記 1 個または複数の変異が、野生型シグナル伝達物質に比べて改善された安全性を付与する、請求項 14 に記載の Fc ペースキメラタンパク質複合体。

【請求項 16】

前記 1 個または複数の変異が、シグナル伝達物質の受容体に対する低減された親和性を付与する、請求項 14 に記載の Fc ペースキメラタンパク質複合体。 10

【請求項 17】

前記 1 個または複数の変異が、シグナル伝達物質の受容体に対する低減された生物活性を付与する、請求項 14 に記載の Fc ペースキメラタンパク質複合体。

【請求項 18】

前記 1 個または複数の変異が、前記シグナル伝達物質の活性の減弱化を可能にする、請求項 14 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の Fc ペースキメラタンパク質複合体。

【請求項 19】

前記シグナル伝達物質のアゴニストまたはアンタゴニスト活性が、減弱化される、請求項 18 に記載の Fc ペースキメラタンパク質複合体。 20

【請求項 20】

前記改変シグナル伝達物質が、アゴニスト活性からアンタゴニスト活性へとその活性を変換する 1 個または複数の変異を含む、請求項 15 ~ 19 のいずれか 1 項に記載の Fc ペースキメラタンパク質複合体。

【請求項 21】

前記 1 個または複数の変異が、1 個または複数のターゲティング部分への付着によりまたは Fc ペースキメラタンパク質複合体中への包含時に回復可能である低減された親和性または活性を付与する、請求項 15 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の Fc ペースキメラタンパク質複合体。

【請求項 22】

前記 1 個または複数の変異が、ターゲティング部分への付着によりまたは Fc ペースキメラタンパク質複合体中への包含時に実質的に回復可能でない実質的に低減されたまたは除去された親和性または活性を付与する、請求項 15 ~ 21 のいずれか 1 項に記載の Fc ペースキメラタンパク質複合体。 30

【請求項 23】

前記シグナル伝達物質が、配列番号 6 または 7 と少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列を含む変異体ヒト IFN γ 2 でありかつ前記変異体ヒト IFN γ 2 が、配列番号 6 または 7 のアミノ酸配列を有する野生型 IFN γ 2 に比べて改善された安全性を付与する 1 個または複数の変異を有する、請求項 1 ~ 22 のいずれか 1 項に記載の Fc ペースキメラタンパク質複合体。 40

【請求項 24】

前記ヒト IFN γ 2 が、配列番号 6 または 7 を基準にして位置 144 ~ 154 に 1 個または複数の変異を有する、請求項 23 に記載の Fc ペースキメラタンパク質複合体。

【請求項 25】

前記ヒト IFN γ 2 が、配列番号 6 または 7 を基準にして位置 L15、A19、R22、R23、L26、F27、L30、K31、D32、R33、H34、D35、Q40、H57、E58、Q61、F64、N65、T69、L80、Y85、Y89、D114、L117、R120、R125、K133、K134、R144、A145、M148、R149、S152、L153、および N156 に 1 個または複数の変異を有する、請求項 23 に記載の Fc ペースキメラタンパク質複合体。 50

【請求項 26】

前記変異が、配列番号 6 または 7 を基準にして L 1 5 A、A 1 9 W、R 2 2 A、R 2 3 A、L 2 6 A、F 2 7 A、L 3 0 A、L 3 0 V、K 3 1 A、D 3 2 A、R 3 3 K、R 3 3 A、R 3 3 Q、H 3 4 A、D 3 5 A、Q 4 0 A、H 5 7 Y、E 5 8 N、Q 6 1 S、F 6 4 A、N 6 5 A、T 6 9 A、L 8 0 A、Y 8 5 A、Y 8 9 A、D 1 1 4 R、L 1 1 7 A、R 1 2 0 A、R 1 2 5 A、K 1 3 3 A、K 1 3 4 A、R 1 4 4 A、A 1 4 5 G、A 1 4 5 M、M 1 4 8 A、R 1 4 9 A、S 1 5 2 A、L 1 5 3 A、および N 1 5 6 A の 1 個または複数である、請求項 25 に記載の Fc ペースキメラタンパク質複合体。

【請求項 27】

前記変異体ヒト IFN γ 2 が、配列番号 6 または 7 を基準にして位置 R 3 3、R 1 4 4、A 1 4 5、M 1 4 8、R 1 4 9、および L 1 5 3 に 1 個または複数の変異を有するまたは前記変異体ヒト IFN γ 2 が、配列番号 6 または 7 のアミノ酸配列を基準にして R 3 3 A、R 1 2 0 E、R 1 4 4 X₁、A 1 4 5 X₂、M 1 4 8 A、R 1 4 9 A、および L 1 5 3 A から選択される 1 個または複数の変異を有し、X₁ が、A、S、T、Y、L、および I から選択され、かつ X₂ が、G、H、Y、K、および D から選択される、請求項 23 に記載の Fc ペースキメラタンパク質複合体。

10

【請求項 28】

前記ヒト IFN γ 2 が、T 1 0 6 A または T 1 0 6 E から選択される変異を有する、請求項 13 ~ 27 のいずれかに記載の Fc ペースキメラタンパク質複合体。

【請求項 29】

前記シグナル伝達物質が、野生型であるかまたは配列番号 74 と少なくとも 90%、または少なくとも 93%、または少なくとも 95%、または少なくとも 97%、または少なくとも 98%、または少なくとも 99%、または 100% の同一性を有するアミノ酸配列を含む変異体ヒト IFN γ 1 であり、任意選択で前記 IFN γ 1 が：

20

(i) L 1 5、A 1 9、R 2 3、S 2 5、L 3 0、D 3 2、R 3 3、H 3 4、Q 4 0、D 1 1 5、L 1 1 8、K 1 2 1、R 1 2 6、E 1 3 3、K 1 3 4、K 1 3 5、R 1 4 5、A 1 4 6、M 1 4 9、R 1 5 0、S 1 5 3、L 1 5 4、および N 1 5 7 またはこれらの組み合わせの位置での置換から任意選択で選択される、インターフェロン / 受容体 (IFNAR) に対する低減された親和性を付与する 1 個または複数の変異であって、位置が配列番号 74 を基準にして、L 1 5 A、A 1 9 W、R 2 3 A、S 2 5 A、L 3 0 A、L 3 0 V、D 3 2 A、R 3 3 K、R 3 3 A、R 3 3 Q、H 3 4 A、Q 4 0 A、D 1 1 5 R、L 1 1 8 A、K 1 2 1 A、K 1 2 1 E、R 1 2 6 A、R 1 2 6 E、E 1 3 3 A、K 1 3 4 A、K 1 3 5 A、R 1 4 5 A、R 1 4 5 D、R 1 4 5 E、R 1 4 5 G、R 1 4 5 H、R 1 4 5 I、R 1 4 5 K、R 1 4 5 L、R 1 4 5 N、R 1 4 5 Q、R 1 4 5 S、R 1 4 5 T、R 1 4 5 V、R 1 4 5 Y、A 1 4 6 D、A 1 4 6 E、A 1 4 6 G、A 1 4 6 H、A 1 4 6 I、A 1 4 6 K、A 1 4 6 L、A 1 4 6 M、A 1 4 6 N、A 1 4 6 Q、A 1 4 6 R、A 1 4 6 S、A 1 4 6 T、A 1 4 6 V、A 1 4 6 Y、M 1 4 9 A、M 1 4 9 V、R 1 5 0 A、S 1 5 3 A、L 1 5 4 A、N 1 5 7 A、L 3 0 A - H 5 8 Y - E 5 9 N - Q 6 2 S、R 3 3 A - H 5 8 Y - E 5 9 N - Q 6 2 S、M 1 4 9 A - H 5 8 Y - E 5 9 N - Q 6 2 S、L 1 5 4 A - H 5 8 Y - E 5 9 N - Q 6 2 S、R 1 4 5 A - H 5 8 Y - E 5 9 N - Q 6 2 S、D 1 1 5 A - R 1 2 1 A、L 1 1 8 A - R 1 2 1 A、L 1 1 8 A - R 1 2 1 A - K 1 2 2 A、R 1 2 1 A - K 1 2 2 A、および R 1 2 1 E - K 1 2 2 E からなる群より任意選択で選択される、1 個または複数の変異、および / または

30

40

(ii) 配列番号 74 を基準にして位置 C 1、C 2 9、C 8 6、C 9 9、C 1 3 9 の 1 つまたは複数の置換または欠失から任意選択で選択され、C 8 6 S、C 8 6 A、および C 8 6 Y から任意選択で選択される、凝集に影響を与える 1 個または複数の変異、を含む、請求項 1 ~ 22 のいずれか 1 項に記載の Fc ペースキメラタンパク質複合体。

【請求項 30】

前記シグナル伝達物質が、配列番号 38 と少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列を含む変異体ヒト IFN γ でありかつ前記変異体ヒト IFN γ が、配列番号 38 のアミ

50

ノ酸配列を有する野生型 I F N に比べて改善された安全性を付与する 1 個または複数の変異を有する、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 3 1】

前記変異が、配列番号 3 8 のアミノ酸配列を基準にして W 2 2 G、R 2 7 G、L 3 2 A、L 3 2 G、R 3 5 A、R 3 5 G、V 1 4 8 G、L 1 5 1 G、R 1 5 2 A、R 1 5 2 G の 1 個または複数である、請求項 3 0 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 3 2】

前記シグナル伝達物質が、配列番号 3 9 と少なくとも 9 5 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む変異体ヒト I L - 1 でありかつ前記変異体ヒト I L - 1 が、配列番号 3 9 のアミノ酸配列を有する野生型 I L - 1 に比べて改善された安全性を付与する 1 個または複数の変異を有する、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

10

【請求項 3 3】

前記変異が、配列番号 3 9 のアミノ酸配列を基準にして A 1 1 7 G / P 1 1 8 G、R 1 2 0 G、R 1 2 0 A、L 1 2 2 A、T 1 2 5 G / L 1 2 6 G、R 1 2 7 G、Q 1 3 0 A、Q 1 3 0 W、Q 1 3 1 G、K 1 3 2 A、S 1 3 7 G / Q 1 3 8 Y、L 1 4 5 G、H 1 4 6 A、H 1 4 6 G、H 1 4 6 E、H 1 4 6 N、H 1 4 6 R、L 1 4 5 A / L 1 4 7 A、Q 1 4 8 E、Q 1 4 8 G、Q 1 4 8 L、Q 1 4 8 G / Q 1 5 0 G、Q 1 5 0 G / D 1 5 1 A、M 1 5 2 G、F 1 6 2 A、F 1 6 2 A / Q 1 6 4 E、F 1 6 6 A、Q 1 6 4 E / E 1 6 7 K、N 1 6 9 G / D 1 7 0 G、I 1 7 2 A、V 1 7 4 A、K 2 0 8 E、K 2 0 9 A、K 2 0 9 D、K 2 0 9 A / K 2 1 0 A、K 2 1 9 S、K 2 1 9 Q、E 2 2 1 S、E 2 2 1 K、E 2 2 1 S / N 2 2 4 A、N 2 2 4 S / K 2 2 5 S、E 2 4 4 K、および N 2 4 5 Q の 1 個または複数である、請求項 3 2 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

20

【請求項 3 4】

前記ターゲティング部分が、任意選択で樹状細胞である、免疫細胞に対し向けられる、請求項 1 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 3 5】

前記樹状細胞が、任意選択で c D C - 1、遊走性 D C、C D C - 2、および F l t 3 + D C である、従来型樹状細胞 (c D C) である、請求項 3 4 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

30

【請求項 3 6】

前記ターゲティング部分が、造血幹細胞 (H S C)、早期前駆細胞、未成熟胸腺細胞、または定常状態樹状細胞 (D C) に向けられる、請求項 3 5 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 3 7】

前記ターゲティング部分が、目的の前記抗原または受容体を機能的に調節する、請求項 1 ~ 3 6 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 3 8】

前記ターゲティング部分が、目的の前記抗原または受容体を結合するが機能的に調節しない、請求項 1 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

40

【請求項 3 9】

前記ターゲティング部分が、腫瘍細胞にまたは腫瘍微小環境に免疫細胞を直接的または間接的に動員する、請求項 1 ~ 3 8 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 4 0】

前記ターゲティング部分が、樹状細胞の数を増大させる、請求項 1 ~ 3 9 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 4 1】

前記ターゲティング部分が、任意選択で樹状細胞により、腫瘍抗原提示を強化する、請求

50

項 1 ~ 4 0 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 4 2】

同一であるかまたは同一でない、任意選択で 2 個のターゲティング部分である、追加のターゲティング部分をさらに含む、請求項 1 ~ 4 1 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 4 3】

追加のシグナル伝達物質を含む、請求項 1 ~ 4 2 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 4 4】

2 個のシグナル伝達物質を含む、請求項 1 ~ 4 3 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

10

【請求項 4 5】

前記 F c ベースキメラタンパク質複合体が、癌、感染症、免疫異常、自己免疫疾患および/または神経変性疾患、心臓血管疾患、創傷、虚血関連疾患、および/または代謝疾患の 1 種または複数を有する患者における使用のために好適である、請求項 1 ~ 4 4 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 4 6】

前記 F c ドメインが、I g G、I g A、I g D、I g M、または I g E 由来である、請求項 1 ~ 4 5 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 4 7】

前記 I g G が、I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 から選択される、請求項 4 6 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

20

【請求項 4 8】

前記 F c ドメインが、ヒト I g G、I g A、I g D、I g M、または I g E 由来である、請求項 1 ~ 4 5 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 4 9】

前記ヒト I g G が、ヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 から選択される、請求項 4 8 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 5 0】

前記 F c 鎖対形成が、イオン対形成および/またはノブインホール対形成により促進される、請求項 1 ~ 4 9 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

30

【請求項 5 1】

前記 F c ドメインに対する前記 1 個または複数の変異が、前記 F c ドメイン中の F c 鎖間のイオン対形成をもたらす、請求項 1 ~ 5 0 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 5 2】

前記 F c ドメインに対する前記 1 個または複数の変異が、前記 F c ドメイン中のノブインホール対形成をもたらす、請求項 1 ~ 5 1 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 5 3】

前記 F c ドメインに対する前記 1 個または複数の変異が、前記 F c ドメインのエフェクター機能の低減または除去をもたらす、請求項 1 ~ 5 2 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

40

【請求項 5 4】

前記 F c ベースキメラタンパク質複合体が、ヘテロダイマーでありかつトランス配向を有する、請求項 1 ~ 5 3 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 5 5】

前記 F c ベースキメラタンパク質複合体が、ヘテロダイマーでありかつシス配向を有する、請求項 1 ~ 5 3 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 5 6】

50

前記 F c が、ヒト I g G 1 中に L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、および K 3 2 2 Q 置換 (E U ナンバリング準拠) を含む、請求項 1 ~ 5 5 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 5 7】

前記 F c が、ヒト I g G 1 であり、かつ L 2 3 4、L 2 3 5、K 3 2 2、D 2 6 5、P 3 2 9 および P 3 3 1 (E U ナンバリング準拠) の 1 個または複数を任意選択で含む、請求項 1 ~ 5 2 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 5 8】

前記 F c ベースキメラタンパク質複合体が、図 1 A - F、2 A - H、3 A - H、4 A - D、5 A - F、6 A - J、7 A - D、8 A - F、9 A - J、1 0 A - F、1 1 A - L、1 2 A - L、1 3 A - F、1 4 A - L、1 5 A - L、1 6 A - J、1 7 A - J、1 8 A - F、1 9 A - F、2 1 A - F、2 2 A - F、2 4 A - H、および 2 5 A - L のいずれか 1 つの配向 / 構造を有する、請求項 1 ~ 5 7 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

10

【請求項 5 9】

前記 F c ベースキメラタンパク質複合体が、配列番号 4 0、4 1、および 4 6 ~ 6 6 のいずれか 1 つと少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む、請求項 1 ~ 5 8 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 6 0】

前記 F c ベースキメラタンパク質複合体が、配列番号 4 0、4 1、および 4 6 ~ 6 6 から選択されるアミノ酸配列および前記アミノ酸配列に対し 1 0 個未満の変異を有するポリペプチドを含む、請求項 1 ~ 5 8 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

20

【請求項 6 1】

前記 F c ベースキメラタンパク質複合体が、配列番号 4 0、4 1、および 4 6 ~ 6 6 から選択されるアミノ酸配列および前記アミノ酸配列に対し 5 個未満の変異を有するポリペプチドを含む、請求項 6 0 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 6 2】

前記 F c ベースキメラタンパク質複合体が、配列番号 4 0、4 1、および 4 6 ~ 6 6 から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む、請求項 6 0 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

30

【請求項 6 3】

前記 F c ベースキメラタンパク質複合体が、配列番号 4 0 に対し少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一性を有する第 1 のアミノ酸配列および配列番号 4 1 に対し少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一性を有する第 2 のアミノ酸配列を含む、請求項 5 9 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 6 4】

前記 F c ベースキメラタンパク質複合体が、配列番号 4 6 に対し少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一性を有する第 1 のアミノ酸配列および配列番号 4 7 に対し少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一性を有する第 2 のアミノ酸配列を含む、請求項 5 9 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

40

【請求項 6 5】

前記 F c ベースキメラタンパク質複合体が、配列番号 4 8 に対し少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一性を有する第 1 のアミノ酸配列および配列番号 4 9 に対し少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一性を有する第 2 のアミノ酸配列を含む、請求項 5 9 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

50

【請求項 66】

前記 F c ベースキメラタンパク質複合体が、配列番号 50 に対し少なくとも 95%、または少なくとも 98%、または少なくとも 99% 同一性を有する第 1 のアミノ酸配列および配列番号 51 に対し少なくとも 95%、または少なくとも 98%、または少なくとも 99% 同一性を有する第 2 のアミノ酸配列を含む、請求項 59 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 67】

前記 F c ベースキメラタンパク質複合体が、配列番号 52 に対し少なくとも 95%、または少なくとも 98%、または少なくとも 99% 同一性を有する第 1 のアミノ酸配列および配列番号 53 に対し少なくとも 95%、または少なくとも 98%、または少なくとも 99% 同一性を有する第 2 のアミノ酸配列を含む、請求項 59 に記載の F c ベースキメラタン

10

【請求項 68】

前記 F c ベースキメラタンパク質複合体が、配列番号 54 に対し少なくとも 95%、または少なくとも 98%、または少なくとも 99% 同一性を有する第 1 のアミノ酸配列および配列番号 55 に対し少なくとも 95%、または少なくとも 98%、または少なくとも 99% 同一性を有する第 2 のアミノ酸配列を含む、請求項 59 に記載の F c ベースキメラタン

【請求項 69】

前記 F c ベースキメラタンパク質複合体が、配列番号 56 に対し少なくとも 95%、または少なくとも 98%、または少なくとも 99% 同一性を有する第 1 のアミノ酸配列および配列番号 57 に対し少なくとも 95%、または少なくとも 98%、または少なくとも 99% 同一性を有する第 2 のアミノ酸配列を含む、請求項 59 に記載の F c ベースキメラタン

20

【請求項 70】

前記 F c ベースキメラタンパク質複合体が、配列番号 58 に対し少なくとも 95%、または少なくとも 98%、または少なくとも 99% 同一性を有する第 1 のアミノ酸配列および配列番号 59 に対し少なくとも 95%、または少なくとも 98%、または少なくとも 99% 同一性を有する第 2 のアミノ酸配列を含む、請求項 59 に記載の F c ベースキメラタン

30

【請求項 71】

前記 F c ベースキメラタンパク質複合体が、配列番号 60 ~ 65 から選択されるいずれか 1 つの配列に対し少なくとも 95%、または少なくとも 98%、または少なくとも 99% 同一性を有する第 1 のアミノ酸配列および配列番号 66 に対し少なくとも 95%、または少なくとも 98%、または少なくとも 99% 同一性を有する第 2 のアミノ酸配列を含む、請求項 59 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 72】

前記 F L T 3 L ドメインが、式 A - B - C の単鎖二量体であり、式中：

A は、配列番号 2 ~ 5 のいずれか 1 つと、少なくとも 90% の同一性を有する、または少なくとも 95% の同一性を有する、または少なくとも 97% の同一性を有する、または少なくとも 98% の同一性を有する、または少なくとも 99% の同一性を有するアミノ酸配列であり、

40

B は、グリシンおよびセリン残基から実質的になるフレキシブルリンカーであり、任意選択でフレキシブルリンカーは、(Gly₄Ser)_n を含み、n は約 1 ~ 約 8 であり、任意選択でフレキシブルリンカーは、配列番号 10 ~ 配列番号 17 の 1 つまたは複数を含み、および

C は、配列番号 2 ~ 5 のいずれか 1 つと、少なくとも 90% の同一性を有する、または少なくとも 95% の同一性を有する、または少なくとも 97% の同一性を有する、または少なくとも 98% の同一性を有する、または少なくとも 99% の同一性を有するアミノ酸配列である、

50

請求項 1 ~ 7 1 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 7 3】

前記 F L T 3 L ドメインが、L 2 7 D 変異を含む、請求項 7 2 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 7 4】

癌を治療するまたは予防するための方法であって、それを必要としている患者に請求項 1 ~ 7 3 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体の有効量を投与することを含む、方法。

【請求項 7 5】

前記癌が、基底細胞癌、胆道癌；膀胱癌；骨癌；脳および中枢神経系癌；乳癌；腹膜の癌；子宮頸癌；絨毛癌；結腸および直腸癌；結合組織癌；消化器系の癌；子宮内膜癌；食道癌；眼癌；頭頸部の癌；胃癌（胃腸癌を含む）；神経膠芽腫；肝癌；ヘパトーマ；上皮内腫瘍；腎臓癌または腎性癌（kidney or renal cancer）；喉頭癌；白血病；肝臓癌；肺癌（例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、および肺扁平上皮癌）；黒色腫；骨髄腫；神経芽腫；口腔癌（唇、舌状、舌、口内、および咽頭）；卵巣癌；膵臓癌；前立腺癌；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫；直腸癌；呼吸器系癌；唾液腺癌腫；肉腫（例えば、カボジ肉腫）；皮膚癌；扁平上皮細胞癌；胃癌；精巣癌；甲状腺癌；子宮または子宮内膜癌；泌尿器系の癌；外陰癌；ホジキンリンパ腫および非ホジキンリンパ腫；ならびに B 細胞リンパ腫を含むリンパ腫（低悪性度 / 濾胞性非ホジキンリンパ腫（NHL）を含む）；小リンパ球性（SL）NHL；中悪性度 / 濾胞性 NHL；中悪性度びまん性 NHL；高悪性度免疫芽細胞 NHL；高悪性度リンパ芽球性 NHL；高悪性度小型非切れ込み核細胞性 NHL；巨大腫瘍病変 NHL；マントル細胞リンパ腫；エイズ関連リンパ腫；およびワルデンシュトレームマクログロブリン血症；慢性リンパ性白血病（CLL）；急性リンパ性白血病（ALL）；毛様細胞性白血病；慢性骨髄芽球性白血病；ならびに他の癌腫および肉腫；および移植後リンパ増殖性疾患（PTLD）；ならびに母斑症に関連する異常血管増殖；浮腫（例えば脳腫瘍に関連するもの）；およびメグズ症候群の 1 種または複数から選択される、請求項 7 4 に記載の方法。

【請求項 7 6】

前記癌が、急性骨髄性白血病（AML）である、請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 7 7】

自己免疫疾患および / または神経変性疾患を治療するまたは予防するための方法であって、それを必要としている患者に請求項 1 ~ 7 3 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体の有効量を投与することを含む、方法。

【請求項 7 8】

前記自己免疫疾患および / または神経変性疾患が、多発性硬化症、糖尿病、ループス、セリアック病、クローン病、潰瘍性大腸炎、ギラン・バレー症候群、強皮症、グッドパスチャー症候群、ウェゲナー肉芽腫症、自己免疫性てんかん、ラスムッセン脳炎、原発性硬化性胆管炎、硬化性胆管炎、自己免疫性肝炎、アジソン病、橋本甲状腺炎、線維筋痛症、メニエール症候群（Menier's syndrome）、移植拒絶反応（例えば、同種移植片拒絶の防止）、悪性貧血、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、皮膚筋炎、シェーグレン症候群、紅斑性狼瘡、重症筋無力症、ライター症候群、およびグレーブス病から選択される、請求項 7 7 に記載の方法。

【請求項 7 9】

請求項 1 ~ 7 3 のいずれか 1 項に記載の 1 個または複数の F c ベースキメラタンパク質複合体、またはそのポリペプチド成分をコードする組換え核酸組成物。

【請求項 8 0】

請求項 7 9 に記載の核酸を含む宿主細胞。

【請求項 8 1】

(i) FMS 様チロシンキナーゼ 3 リガンド (FLT3L) ドメインを含む 1 個または複数のターゲティング部分であって、FLT3L が、単鎖二量体である、ターゲティング部

10

20

30

40

50

分；

(i i) 要素 (i) と (i i i) を連結する 1 個または複数のフレキシブルリンカー；および

(i i i) シグナル伝達物質またはその改変型、を含む、キメラタンパク質。

【請求項 8 2】

前記ターゲティング部分が、F L T 3 L の細胞外ドメイン、またはその一部を含む、請求項 8 1 に記載のキメラタンパク質。

【請求項 8 3】

前記ターゲティング部分が、配列番号 2 ~ 5 のいずれか 1 つと少なくとも 9 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 8 1 または 8 2 に記載のキメラタンパク質。 10

【請求項 8 4】

前記ターゲティング部分が、配列番号 2 ~ 5 のいずれか 1 つと少なくとも 9 5 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 8 3 に記載のキメラタンパク質。

【請求項 8 5】

前記シグナル伝達物質が、野生型ヒト I F N 2、I F N 1、I F N 、もしくは I L - 1 である、請求項 8 1 ~ 8 4 のいずれか 1 項に記載のキメラタンパク質。

【請求項 8 6】

前記シグナル伝達物質が、配列番号 6、7、3 8、3 9 または 7 4 のいずれか 1 つと少なくとも 9 5 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 8 5 に記載のキメラタンパク質。 20

【請求項 8 7】

前記シグナル伝達物質が、配列番号 6、7、3 8、3 9 または 7 4 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、請求項 8 6 に記載のキメラタンパク質。

【請求項 8 8】

前記シグナル伝達物質が、1 個または複数の変異を含むように改変される、請求項 8 1 ~ 8 7 のいずれか 1 項に記載のキメラタンパク質。

【請求項 8 9】

前記 1 個または複数の変異が、野生型シグナル伝達物質に比べて改善された安全性、または前記シグナル伝達物質の受容体に対する低減された親和性、または前記シグナル伝達物質の受容体に対する低減された生物活性を付与する、または前記シグナル伝達物質の活性の減弱化を可能にする、請求項 8 8 に記載のキメラタンパク質。 30

【請求項 9 0】

前記 1 個または複数の変異が、1 個または複数のターゲティング部分への付着により回復可能である低減された親和性または活性を付与する、請求項 8 8 に記載のキメラタンパク質。

【請求項 9 1】

(a) 前記シグナル伝達物質は、配列番号 6 または 7 と少なくとも 9 5 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む変異体ヒト I F N 2 でありかつ前記変異体ヒト I F N 2 は、配列番号 6 または 7 のアミノ酸配列を有する野生型 I F N 2 に比べて改善された安全性を付与する 1 個または複数の変異を有し、任意選択で前記ヒト I F N 2 は、配列番号 6 または 7 を基準にして位置 1 4 4 ~ 1 5 4 に 1 個または複数の変異を有し、任意選択で前記ヒト I F N 2 は、配列番号 6 または 7 を基準にして位置 L 1 5、A 1 9、R 2 2、R 2 3、L 2 6、F 2 7、L 3 0、L 3 0、K 3 1、D 3 2、R 3 3、H 3 4、D 3 5、Q 4 0、H 5 7、E 5 8、Q 6 1、F 6 4、N 6 5、T 6 9、L 8 0、Y 8 5、Y 8 9、D 1 1 4、L 1 1 7、R 1 2 0、R 1 2 5、K 1 3 3、K 1 3 4、R 1 4 4、A 1 4 5、M 1 4 8、R 1 4 9、S 1 5 2、L 1 5 3、および N 1 5 6 に 1 個または複数の変異を有し、任意選択で前記変異体ヒト I F N 2 は、配列番号 6 または 7 を基準にして位置 R 3 3、T 1 0 6、R 1 4 4、A 1 4 5、M 1 4 8、R 1 4 9、および L 1 5 3 に 1 個または複数の変異を有し、任意選択で前記変異は、配列番号 6 または 7 を基準にして L 1 5 A、A 1 50

9 W、R 2 2 A、R 2 3 A、L 2 6 A、F 2 7 A、L 3 0 A、L 3 0 V、K 3 1 A、D 3 2 A、R 3 3 K、R 3 3 A、R 3 3 Q、H 3 4 A、D 3 5 A、Q 4 0 A、H 5 7 Y、E 5 8 N、Q 6 1 S、F 6 4 A、N 6 5 A、T 6 9 A、L 8 0 A、Y 8 5 A、Y 8 9 A、D 1 1 4 R、L 1 1 7 A、R 1 2 0 A、R 1 2 5 A、K 1 3 3 A、K 1 3 4 A、R 1 4 4 A、A 1 4 5 G、A 1 4 5 M、M 1 4 8 A、R 1 4 9 A、S 1 5 2 A、L 1 5 3 A、および N 1 5 6 A の 1 個または複数であり、任意選択で前記変異体ヒト I F N 2 は、配列番号 6 または 7 のアミノ酸配列を基準にして R 3 3 A、T 1 0 6 X 3、R 1 2 0 E、R 1 4 4 X 1、A 1 4 5 X 2、M 1 4 8 A、R 1 4 9 A、および L 1 5 3 A から選択される 1 個または複数の変異を有し、X 1 は、A、S、T、Y、L、および I から選択され、X 2 は、G、H、Y、K、および D から選択され、かつ X 3 は A および E から選択され、

10

(b) 前記シグナル伝達物質は、配列番号 3 8 と少なくとも 9 5 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む変異体ヒト I F N でありかつ前記変異体ヒト I F N は、配列番号 3 8 のアミノ酸配列を有する野生型 I F N に比べて改善された安全性を付与する 1 個または複数の変異を有し、任意選択で前記変異は、配列番号 3 8 のアミノ酸配列を基準にして W 2 2 G、R 2 7 G、L 3 2 A、L 3 2 G、R 3 5 A、R 3 5 G、V 1 4 8 G、L 1 5 1 G、R 1 5 2 A、R 1 5 2 G の 1 個または複数であり、

(c) 前記シグナル伝達物質は、配列番号 3 9 と少なくとも 9 5 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む変異体ヒト I L - 1 でありかつ前記変異体ヒト I L - 1 は、配列番号 3 9 のアミノ酸配列を有する野生型 I L - 1 に比べて改善された安全性を付与する 1 個または複数の変異を有し、任意選択で前記変異は、配列番号 3 9 のアミノ酸配列を基準にして、A 1 1 7 G / P 1 1 8 G、R 1 2 0 G、R 1 2 0 A、L 1 2 2 A、T 1 2 5 G / L 1 2 6 G、R 1 2 7 G、Q 1 3 0 A、Q 1 3 0 W、Q 1 3 1 G、K 1 3 2 A、S 1 3 7 G / Q 1 3 8 Y、L 1 4 5 G、H 1 4 6 A、H 1 4 6 G、H 1 4 6 E、H 1 4 6 N、H 1 4 6 R、L 1 4 5 A / L 1 4 7 A、Q 1 4 8 E、Q 1 4 8 G、Q 1 4 8 L、Q 1 4 8 G / Q 1 5 0 G、Q 1 5 0 G / D 1 5 1 A、M 1 5 2 G、F 1 6 2 A、F 1 6 2 A / Q 1 6 4 E、F 1 6 6 A、Q 1 6 4 E / E 1 6 7 K、N 1 6 9 G / D 1 7 0 G、I 1 7 2 A、V 1 7 4 A、K 2 0 8 E、K 2 0 9 A、K 2 0 9 D、K 2 0 9 A / K 2 1 0 A、K 2 1 9 S、K 2 1 9 Q、E 2 2 1 S、E 2 2 1 K、E 2 2 1 S / N 2 2 4 A、N 2 2 4 S / K 2 2 5 S、E 2 4 4 K および N 2 4 5 Q の 1 個または複数でありまたは

20

(d) 前記シグナル伝達物質は、野生型であるかまたは配列番号 7 4 と少なくとも 9 0 %、または少なくとも 9 3 %、または少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 7 %、または少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む変異体ヒト I F N 1 であり、任意選択で前記 I F N 1 は：

30

(i) L 1 5、A 1 9、R 2 3、S 2 5、L 3 0、D 3 2、R 3 3、H 3 4、Q 4 0、D 1 1 5、L 1 1 8、K 1 2 1、R 1 2 6、E 1 3 3、K 1 3 4、K 1 3 5、R 1 4 5、A 1 4 6、M 1 4 9、R 1 5 0、S 1 5 3、L 1 5 4、および N 1 5 7 またはこれらの組み合わせの位置での置換から任意選択で選択される、インターフェロン / 受容体 (I F N A R) に対する低減された親和性を付与する 1 個または複数の変異であって、位置が配列番号 7 4 を基準にして、L 1 5 A、A 1 9 W、R 2 3 A、S 2 5 A、L 3 0 A、L 3 0 V、D 3 2 A、R 3 3 K、R 3 3 A、R 3 3 Q、H 3 4 A、Q 4 0 A、D 1 1 5 R、L 1 1 8 A、K 1 2 1 A、K 1 2 1 E、R 1 2 6 A、R 1 2 6 E、E 1 3 3 A、K 1 3 4 A、K 1 3 5 A、R 1 4 5 A、R 1 4 5 D、R 1 4 5 E、R 1 4 5 G、R 1 4 5 H、R 1 4 5 I、R 1 4 5 K、R 1 4 5 L、R 1 4 5 N、R 1 4 5 Q、R 1 4 5 S、R 1 4 5 T、R 1 4 5 V、R 1 4 5 Y、A 1 4 6 D、A 1 4 6 E、A 1 4 6 G、A 1 4 6 H、A 1 4 6 I、A 1 4 6 K、A 1 4 6 L、A 1 4 6 M、A 1 4 6 N、A 1 4 6 Q、A 1 4 6 R、A 1 4 6 S、A 1 4 6 T、A 1 4 6 V、A 1 4 6 Y、M 1 4 9 A、M 1 4 9 V、R 1 5 0 A、S 1 5 3 A、L 1 5 4 A、N 1 5 7 A、L 3 0 A - H 5 8 Y - E 5 9 N - Q 6 2 S、R 3 3 A - H 5 8 Y - E 5 9 N - Q 6 2 S、M 1 4 9 A - H 5 8 Y - E 5 9 N - Q 6 2 S、L 1 5 4 A - H 5 8 Y - E 5 9 N - Q 6 2 S、R 1 4 5 A - H 5 8 Y - E 5 9 N - Q 6 2 S、D 1 1 5 A - R 1 2 1 A、L 1 1 8 A - R 1 2 1 A、L 1 1 8 A - R 1 2 1 A - K 1 2 2 A

40

50

、 R 1 2 1 A - K 1 2 2 A、および R 1 2 1 E - K 1 2 2 E からなる群より任意選択で選択される、1個または複数の変異および/または

(i i) 配列番号 7 4 を基準にして位置 C 1、C 2 9、C 8 6、C 9 9、C 1 3 9 の 1 つまたは複数の置換または欠失から任意選択で選択され、C 8 6 S、C 8 6 A、および C 8 6 Y から任意選択で選択される、凝集に影響を与える 1 個または複数の変異、

を含む、

請求項 8 1 ~ 9 0 のいずれか 1 項に記載のキメラタンパク質。

【請求項 9 2】

前記フレキシブルリンカーが、グリシンおよびセリン残基から実質的になり、任意選択で前記フレキシブルリンカーが、(G l y 4 S e r)_n を含み、n は約 1 ~ 約 8 であり、任意選択で前記フレキシブルリンカーが、配列番号 1 0 ~ 配列番号 1 7 の 1 つまたは複数を含む、請求項 8 1 ~ 9 1 のいずれか 1 項に記載のキメラタンパク質。

10

【請求項 9 3】

前記ターゲティング部分が、F L T 3 L の細胞外ドメイン、またはその一部および任意選択で配列番号 2 ~ 4 のいずれか 1 つの位置 L 2 7 での置換であり、任意選択で L 2 7 D である、分子間細胞外ドメイン二量体化を低減する変異を含む、請求項 8 1 ~ 9 2 のいずれか 1 項に記載のキメラタンパク質。

【請求項 9 4】

追加のターゲティング部分および/または追加のシグナル伝達物質もしくはその改変型をさらに含む、請求項 8 1 ~ 9 3 のいずれか 1 項に記載のキメラタンパク質。

20

【請求項 9 5】

請求項 8 1 ~ 9 4 のいずれか 1 項に記載の 1 種または複数のキメラタンパク質をコードする組換え核酸組成物。

【請求項 9 6】

請求項 9 5 に記載の組換え核酸を含む宿主細胞。

【請求項 9 7】

前記キメラタンパク質が、癌、感染症、免疫異常、自己免疫疾患および/または神経変性疾患、心臓血管疾患、創傷、虚血関連疾患、および/または代謝疾患の 1 種または複数を含む患者における使用のために好適である、請求項 8 1 ~ 9 4 のいずれか 1 項に記載のキメラタンパク質。

30

【請求項 9 8】

それを必要としている患者に請求項 8 1 ~ 9 4 のいずれかに記載のキメラタンパク質の有効量を投与することを含む癌、感染症、免疫異常、自己免疫疾患および/または神経変性疾患、心臓血管疾患、創傷、虚血関連疾患、および/または代謝疾患を治療するまたは予防するための方法。

【請求項 9 9】

(i) F M S 様チロシンキナーゼ 3 リガンド (F L T 3 L) ドメインを含む 1 個または複数のターゲティング部分であって、F L T 3 L が、単鎖二量体である、ターゲティング部分および

(i i) 前記 F c ドメインの 1 種または複数のエフェクター機能を低減するまたは除去する、前記 F c ドメインの F c 鎖対形成を促進する、および/または前記 F c ドメイン中のヒンジ領域を安定化する 1 個または複数の変異を任意選択で有する、F c ドメイン、を含む、F c ベースキメラタンパク質複合体。

40

【請求項 1 0 0】

前記単鎖二量体 F L T 3 L が、前記 F c ドメインの 1 つの F c 鎖に付着される、請求項 9 9 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 1 0 1】

前記単鎖二量体 F L T 3 L が、F L T 3 L の細胞外ドメイン、またはその一部を含む、請求項 9 9 または請求項 1 0 0 に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 1 0 2】

50

前記単鎖二量体 F L T 3 L が、配列番号 2 ~ 5 のいずれか 1 つと少なくとも 90 % の同一性、または配列番号 2 ~ 5 のいずれか 1 つと少なくとも 95 % の同一性、または配列番号 2 ~ 5 のいずれか 1 つと少なくとも 98 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 99 ~ 101 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 103】

前記ターゲティング部分が、F L T 3 L の細胞外ドメイン、またはその一部および任意選択で配列番号 2 ~ 4 のいずれか 1 つの位置 L 27 での置換であり、任意選択で L 27 D である、分子間細胞外ドメイン二量体化を低減する変異を含む、請求項 98 ~ 102 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 104】

追加のターゲティング部分をさらに含む、請求項 98 ~ 103 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 105】

請求項 99 ~ 104 のいずれか 1 項に記載の 1 種または複数のキメラタンパク質をコードする組換え核酸組成物。

【請求項 106】

請求項 105 に記載の組換え核酸を含む宿主細胞。

【請求項 107】

前記キメラタンパク質が、癌、感染症、免疫異常、自己免疫疾患および/または神経変性疾患、心臓血管疾患、創傷、虚血関連疾患、および/または代謝疾患の 1 種または複数を有する患者における使用のために好適である、請求項 99 ~ 104 のいずれか 1 項に記載の F c ベースキメラタンパク質複合体。

【請求項 108】

それを必要としている患者に請求項 99 ~ 104 のいずれかに記載の F c ベースキメラタンパク質複合体の有効量を投与することを含む癌、感染症、免疫異常、自己免疫疾患および/または神経変性疾患、心臓血管疾患、創傷、虚血関連疾患、および/または代謝疾患を治療するまたは予防するための方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2019年3月28日に出願された米国特許仮出願第62/825,580号の利益および優先権を主張する。この仮出願の内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0002】

発明の分野

シグナル伝達物質、例えば、限定されないが、ヒト I F N γ 2、I F N γ 1、I F N γ 3、および I L - 1 β に連結された、またはそれらと複合化された F M S 様チロシンキナーゼ 3 リガンド (F L T 3 L) について記載される。これは、例えば、癌治療に使用される。

【0003】

配列表

本出願は、E F S - W e b を経由して A S C I I フォーマットで申請された配列表を含み、この配列表は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。2020年3月27日に作成された前記 A S C I I コピーは、O R N - 0 6 2 P C _ _ B _ _ S T 2 5 . t x t と命名され、159,744バイトのサイズである。

【背景技術】

【0004】

F M S 様チロシンキナーゼ 3 (F L T 3) は、造血前駆細胞およびいくらかの分化した免疫細胞の表面上で発現される。F L T 3 のシグナル伝達は、造血幹細胞および前駆細胞の正常発生に重要である。F L T 3 遺伝子は、急性骨髄性白血病 (A M L) において最も高

10

20

30

40

50

頻度に変異している遺伝子の1つである。さらに、FMS様チロシンキナーゼ3リガンド（FLT3L）剤は、免疫系の刺激および活性化に、例えば、樹状細胞の数を増やすのに使用される。FLT3は従って、特定の免疫細胞のマーカーであると共に、免疫細胞を調節し、かつそのリガンド、FLT3Lの免疫刺激機能を媒介する、機能的に重要な分子である。

【0005】

サイトカインは、細胞の成長および分化を調節できる天然起源物質である。サイトカインは、例えば、代謝、呼吸、睡眠、排泄、治癒、運動、生殖作用、気分、ストレス、組織機能、免疫機能、感覚認知、および成長および発生を含む種々の生理学的過程で重要な役割を果たす。

10

【0006】

臨床的には、サイトカインは、例えば、癌を含む種々の疾患および障害の治療に適用できるように見えるであろう。しかし、これらの可溶性物質の投与は、リスクがないわけではない。サイトカインの治療的使用は多くの場合、全身毒性および有害な副作用と関連し、従って、種々の治療レジメンでこれらの薬剤が使用できる投与レベルを制限する。サイトカイン薬剤に伴うこれらの問題に対する可能な解決策は、シグナル伝達物質（例えば、サイトカイン）を含み、ターゲティング要素に連結されるかまたはそれと複合体化されたキメラタンパク質またはキメラタンパク質複合体であり、この中のシグナル伝達物質は、野生型であるかまたは、その標的（例えば、標的細胞上の抗原）へのターゲティング要素の結合時にそのエフェクター機能が誘導、再生、または回復され得るような方式でシグナル伝達物質の活性を減弱させる（例えば、その受容体と相互作用する/結合するその能力を実質的に低減させる）ように改変されている（例えば、変異により）。

20

【0007】

FLT3Lおよびその同族の受容体FLT3に対するその固有のエフェクター機能、および誘導性サイトカインエフェクター機能を含むサイトカインエフェクター機能などの、追加のエフェクター機能によることを含む、FLT3標的化を含む、いくつかの特性を薬剤中で組み合わせることは、癌および他の疾患の治療のための免疫系調節物質として機能する新規多官能性タンパク質生物製剤の作成において極めて興味深いであろう。しかし、FLT3LなどのFLT3ターゲティング部分、およびサイトカインおよびインターフェロン、インターロイキン、および腫瘍壊死因子ファミリーメンバーなどのサイトカインを含む、追加の他のシグナル伝達エフェクターを組み込むこのようなキメラタンパク質またはキメラタンパク質複合体は、特定の条件が満たされる場合に限り、治療的使用に適用できる。これは、例えば、下記を含む：

30

a) 機能的シグナル伝達物質シグナル、例えば、望ましくない標的細胞に対するサイトカイン交差反応性、および関連する全身性副作用および毒性を回避するためのFLT3陽性標的細胞での誘導性サイトカインシグナルを含む、サイトカインシグナル、の送達と併せたFLT3結合の保持を含む、このような薬剤の重要な機能的特性、および
b) 十分に均質の形態（理想的には、単一生成物種）で大規模生産される能力、治療上有益な効果を誘発するために薬物を暴露する十分な時間を確保するインビボ半減期、急速な排出または不十分な組織浸透性および体内分布を回避するための適切なサイズ、ならびに機能の大きな低下のない適切な溶解度、安定性および貯蔵を保證する他の性質などの、重要な生化学的、生物物理学的、薬理学的および医薬特性。

40

【0008】

重要なことに、全ての、または実質的にほとんどの上記性質は、標的選択性の喪失、および治療標的での活性減弱サイトカインに対する条件付きエフェクター機能の誘導および/または回復を含む、目的の標的への固有のまたは条件付きエフェクター機能の送達の喪失なしに、達成されなくてはならない。

【0009】

その生物製剤の耐容性および治療指数を維持すると同時に、このような望ましい特性の生物製剤を得ることができるということに対する必要性が当該技術分野で存在する。さら

50

に、疾患の治療または予防に対する療法として使用するために製造に適用できる、エフェクター機能をコードする生物製剤の必要性が存在する。

【発明の概要】

【0010】

従って、いくつかの態様では、本発明は、FMS様チロシンキナーゼ3 (FLT3)などの目的の抗原または受容体に特異的に結合する1個または複数のターゲティング部分を含むキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体に関する。種々の実施形態では、ターゲティング部分は、目的の抗原または受容体を機能的に調節する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、目的の抗原または受容体を結合するが機能的に調節しない。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分

10

【0011】

いくつかの実施形態では、FLT3L-ECD、またはそのバリエーションは、同じポリペプチド上に2つのコピーで存在する(単鎖二量体FLT3L構築物)。いくつかの実施形態では、FLT3L-ECD、またはそのバリエーションは、Fcベースキメラタンパク質複合体中などの、さもなければ二量体化できる2個の異なるポリペプチドのそれぞれの上の単一コピーとして存在する。いくつかの実施形態では、FLT3Lは、FLT3L-ECD、またはその一部もしくはバリエーションであり、これは、分子間FLT3L-ECDホモ二量体化(すなわち、さもなければ他の機序では容易に二量体化しないであろう分子を含む別々のFLT3L-ECD上でのFLT3Lドメインの二量体化)を低減する、および/または分子内のFLT3L-ECD二量体化(すなわち、同じ単一ポリペプチド内に含まれるFLT3L-ECDの2つのコピーの二量体化、すなわち、単鎖二量体FLT3L構築物)、またはさもなければFcベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複体内で二量体化できる2個の異なるポリペプチド上の単一FLT3-ECD、またはそのバリエーションの二量体化を優先する変異を含む。いくつかの実施形態では、FLT3L-ECDまたはそのバリエーション中の変異は、L27Dである(配列番号2~4のいずれか1つを基準にして、または配列番号5に対してL24D)。いくつかの実施形態では、FLT3-ECD、またはそのバリエーション中の変異L27D(配列番号2~4のいずれか1つを基準にして、または配列番号5に対してL24D)、または機能的に類似の変異は、より均質な形態のキメラタンパク質およびキメラタンパク質複合体の形成を優先し、FLT3標的化構築物の産生の規模拡大およびこのような構築物のインビボ安全性に実質的に有害であり得る、より高い分子量の凝集体を回避する(例えば、免疫反応性のリスク、活性の低下、など)。

20

30

【0012】

いくつかの実施形態では、本発明は、式A-B-Cの単鎖二量体であるFLT3Lドメインを提供し、式中:

Aは、配列番号2~5のいずれか1つと、少なくとも90%の同一性を有する、または少なくとも95%の同一性を有する、または少なくとも97%の同一性を有する、または少なくとも98%の同一性を有する、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列であり、

40

Bは、実質的にグリシンおよびセリン残基からなるフレキシブルリンカーであり、任意選択でフレキシブルリンカーは、(Gly4Ser)_nを含み、nは約1~約8であり、任意選択でフレキシブルリンカーは、配列番号10~配列番号17の1つまたは複数を含み、および

Cは、配列番号2~5のいずれか1つと、少なくとも90%の同一性を有する、または少なくとも95%の同一性を有する、または少なくとも97%の同一性を有する、または少なくとも98%の同一性を有する、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0013】

50

本発明の実施形態によるキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体はまた、シグナル伝達物質またはその改変型、本明細書に記載のシグナル伝達物質、例えば、限定されないが、ヒトIFN γ 2、IFN γ 1、IFN γ 、およびIL-1を含む。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体はまた、1個または複数のリンカーを含む。

【0014】

いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、本明細書に記載の野生型シグナル伝達物質、例えば、限定されないが、ヒトIFN γ 2、IFN γ 1、IFN γ 、およびIL-1であり得る。いくつかの実施形態では、野生型シグナル伝達物質のキメラタンパク質および/またはキメラタンパク質複合体中への組み込みは、その活性の減弱化を引き起こす（「融合による減弱化」）。他の実施形態では、シグナル伝達物質は、1個または複数の変異を含むように改変できる。いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質中の変異は、野生型シグナル伝達物質に比べて、その活性を弱める（「変異による減弱化」）。いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質中の変異は、野生型シグナル伝達物質に比べて、その医薬特性を改善し得る。シグナル伝達物質中に導入された1個または複数の変異は、非改変（例えば、野生型）シグナル伝達物質を有するキメラタンパク質およびキメラタンパク質複合体に比べて、キメラタンパク質およびキメラタンパク質複合体に対し種々の改善された特性を付与できる。これは、非改変（例えば、野生型）シグナル伝達物質を有するFcベースキメラタンパク質複合体に比したFcベースキメラタンパク質複合体の場合も含む。例えば、シグナル伝達物質は、本明細書に記載の野生型シグナル伝達物質、例えば、限定されないが、ヒトIFN γ 2、IFN γ 1、IFN γ 、およびIL-1に比べて、改善された安全性および/または医薬特性を付与する1個または複数の変異を有する、本明細書に記載の変異体ヒトシグナル伝達物質、例えば、限定されないが、ヒトIFN γ 2、IFN γ 1、IFN γ 、およびIL-1であり得る。種々の実施形態では、1個または複数の変異は、野生型シグナル伝達物質に比べて改善された安全性、シグナル伝達物質の受容体に対する低減された親和性、またはシグナル伝達物質の受容体に対する低減された生物活性を付与できる。いくつかの実施形態では、1個または複数の変異は、シグナル伝達物質の活性化の減弱化を可能にし、例えば、シグナル伝達物質のアゴニスト活性またはアンタゴニスト活性が減弱化され得る。いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達物質の1個または複数の変異は、シグナル伝達物質の活性をアゴニスト活性からアンタゴニスト活性に変換する。種々の実施形態では、変異は、1個または複数のターゲティング部分への付着により、または本明細書で開示のFcベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体中への包含時に回復可能である、低減された親和性または活性を付与する。さらに、種々の実施形態では、変異は、ターゲティング部分への付着により、または本明細書で開示のFcベースキメラタンパク質複合体中への包含時に実質的に回復可能ではない、低減または除去された親和性または活性を付与する。

【0015】

種々の実施形態では、ターゲティング部分は、免疫細胞または腫瘍細胞または疾患微小環境の構成要素に向けられ、それによりそれは、腫瘍細胞または腫瘍微小環境、または他の疾患微小環境に免疫細胞を直接的または間接的に動員する。免疫細胞の非限定的例は、樹状細胞、T細胞、B細胞、マクロファージ、好中球、マスト細胞、骨髄派生サプレッサー細胞、またはNK細胞を含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、造血幹細胞（HSC）、早期前駆細胞、未成熟胸腺細胞、または定常状態樹状細胞（DC）に向けられる。いくつかの実施形態では、標的化は、従来型樹状細胞（cDC）、または形質細胞様樹状細胞（pDC）などの、樹状細胞に対するものである。いくつかの実施形態では、標的化は、場合によりcDC-1、遊走性DC、cDC-2、およびFlt3+DCである、cDCに対するものである。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、樹状細胞の数を増大させ得る。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質およびFcベースキメラタンパク質複合体を含むキメラタンパク質複合体は、必要に応じ樹状

10

20

30

40

50

細胞により、腫瘍抗原提示を強化する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、キメラタンパク質またはキメラタンパク質複合体の分配を疾患組織または疾患微小環境に誘導する。

【0016】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質およびキメラタンパク質複合体は、単鎖二量体 F L T 3 リガンドを含む。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質およびキメラタンパク質複合体は、F L T 3 L - E C D (細胞外ドメイン) などの F L T 3 L モノマー (すなわち、単鎖二量体 F L T 3 L) のタンデム型リピート、またはその一部もしくはバリエーションからなる単鎖二量体 F L T 3 L を含み、その中で個々のモノマー (例えば、F L T 3 L - E C D) は、リンカーにより連結されている。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質およびキメラタンパク質複合体は、単鎖二量体 F L T 3 L - E C D、またはその一部もしくはバリエーションを含み、その中でリンカーを介して連結された 2 個のモノマーが、1 個または複数のポリペプチドに 1 個または複数のリンカーを介してさらに連結され、このようなポリペプチドは、シグナル伝達物質または足場タンパク質または足場タンパク質とシグナル伝達物質、またはそれぞれの場合で、改変シグナル伝達物質を含む。いくつかの実施形態では、単鎖二量体 F L T 3 L - E C D、またはその一部もしくはバリエーションを組み込むキメラタンパク質またはキメラタンパク質複合体中のターゲティング部分は、キメラタンパク質またはキメラタンパク質複合体の分配を疾患組織または疾患微小環境に誘導する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、細胞性抗原を標的にする。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、非細胞性抗原を標的にする。

10

20

【0017】

いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、分子間 F L T 3 L - E C D ホモ二量体化 (すなわち、さもなくば、他の機序により容易に二量体化しないであろう分子を含む別々の F L T 3 L - E C D 上に存在する F L T 3 L E C D ドメインの二量体化) を低減し、かつ分子内の F L T 3 L - E C D 二量体化 (すなわち、同じ単一ポリペプチド内に含まれる F L T 3 L - E C D の 2 つのコピーの二量体化、すなわち、単鎖二量体 F L T 3 L 構築物)、またはさもなくば F c ベースキメラタンパク質複合体中の F c 鎖などの特定のキメラタンパク質複合体内で二量体化できる別々のポリペプチド上の単一 F L T 3 - E C D の二量体化を優先する変異を含む、F L T 3 L の E C D などの F L T 3 L の細胞外ドメイン (E C D)、またはその一部もしくはバリエーションを含む。いくつかの実施形態では、F L T 3 L - E C D 中の変異は、L 2 7 D である (配列番号 2 ~ 4 のいずれか 1 つを基準にして、または配列番号 5 に対して L 2 4 D)。いくつかの実施形態では、F L T 3 L - E C D ホモ二量体化に対して類似の機能的効果を有する変異は、F L T 3 L の残基 2 5 ~ 3 0 および / または 6 3 ~ 6 8 中に存在する (配列番号 2 を基準にして)。

30

【0018】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質または F c ベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、癌、感染症、免疫異常、自己免疫疾患、および / または神経変性疾患、心臓血管疾患、創傷、虚血関連疾患、代謝疾患および / または多くの他の疾患および障害の 1 種または複数などの種々の疾患または障害の患者において使用される。本発明は、疾患および障害、例えば、種々のタイプの癌および自己免疫疾患および / または神経変性疾患を治療するおよび予防する種々の方法を包含する。いくつかの実施形態では、癌は、急性骨髄性白血病 (A M L) である。

40

【0019】

図 1 A - F、2 A - H、3 A - H、4 A - D、5 A - F、6 A - J、7 A - D、8 A - F、9 A - J、1 0 A - F、1 1 A - L、1 2 A - L、1 3 A - F、1 4 A - L、1 5 A - L、1 6 A - J、1 7 A - J、1 8 A - F、1 9 A - F、2 1 A - F、2 2 A - F、2 4 A - H、および 2 5 A - L は、本発明の F c ベースキメラタンパク質複合体の種々の非限定的概略図の例を示す。いくつかの実施形態では、それぞれの概略図は、本発明の組成物である。図中で該当する場合には、「T M」は、本明細書に記載の「ターゲティング部分」を意味し、「S A」は、本明細書に記載の「シグナル伝達物質」を意味し、

50

【化 1】



は、本明細書に記載の任意選択の「リンカー」であり、2つの長い平行長方形は、任意選択で、同様に本明細書に記載のエフェクターロックアウトおよび/または安定化変異を有し、例えば、本明細書に記載の I g G 1 由来の、I g G 2 由来の、または I g G 4 由来のヒト F c ドメインであり、片方が突出部を有し、他方が陥凹部を有する2つの長い平行長方形は、本明細書に記載のノブインホールおよび/またはイオン対（別名：荷電対、イオン結合イオン結合、または荷電残基対）変異を有し、および任意選択で、本明細書に記載のエフェクターロックアウトおよび/または安定化変異を有し、例えば、同様に本明細書に記載の I g G 1 由来の、I g G 2 由来の、または I g G 4 由来のヒト F c ドメインである。

10

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図 1 A】ホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。これらの図は、ホモダイマー 2 鎖複合体の実例となる構造を示す。

【図 1 B】ホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。これらの図は、ホモダイマー 2 鎖複合体の実例となる構造を示す。

【図 1 C】ホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。これらの図は、ホモダイマー 2 鎖複合体の実例となる構造を示す。

20

【図 1 D】ホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。これらの図は、ホモダイマー 2 鎖複合体の実例となる構造を示す。

【図 1 E】ホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。これらの図は、ホモダイマー 2 鎖複合体の実例となる構造を示す。

【図 1 F】ホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。これらの図は、ホモダイマー 2 鎖複合体の実例となる構造を示す。

【図 2 A】2 個のターゲティング部分 (T M) (いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのターゲティング部分が存在する場合もある) を有するホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、 T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックスで示す構築物 (すなわち、図 2 G および 2 H) は、 T M 1 と T M 2 の間、または T M 1 と F c の間にシグナル伝達物質 (S A) を有する。

30

【図 2 B】2 個のターゲティング部分 (T M) (いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのターゲティング部分が存在する場合もある) を有するホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、 T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックスで示す構築物 (すなわち、図 2 G および 2 H) は、 T M 1 と T M 2 の間、または T M 1 と F c の間にシグナル伝達物質 (S A) を有する。

【図 2 C】2 個のターゲティング部分 (T M) (いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのターゲティング部分が存在する場合もある) を有するホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、 T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックスで示す構築物 (すなわち、図 2 G および 2 H) は、 T M 1 と T M 2 の間、または T M 1 と F c の間にシグナル伝達物質 (S A) を有する。

40

【図 2 D】2 個のターゲティング部分 (T M) (いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのターゲティング部分が存在する場合もある) を有するホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、 T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックスで示す構築物 (すなわち、図 2 G および 2 H) は、 T M 1 と T M 2 の間、または T M 1 と F c の間にシグナル伝達物質 (S A) を

50

有する。

【図 2 E】2 個のターゲティング部分 (T M) (いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのターゲティング部分が存在する場合もある) を有するホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、 T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックスで示す構築物 (すなわち、図 2 G および 2 H) は、 T M 1 と T M 2 の間、または T M 1 と F c の間にシグナル伝達物質 (S A) を有する。

【図 2 F】2 個のターゲティング部分 (T M) (いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのターゲティング部分が存在する場合もある) を有するホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、 T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックスで示す構築物 (すなわち、図 2 G および 2 H) は、 T M 1 と T M 2 の間、または T M 1 と F c の間にシグナル伝達物質 (S A) を有する。

10

【図 2 G】2 個のターゲティング部分 (T M) (いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのターゲティング部分が存在する場合もある) を有するホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、 T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックスで示す構築物 (すなわち、図 2 G および 2 H) は、 T M 1 と T M 2 の間、または T M 1 と F c の間にシグナル伝達物質 (S A) を有する。

【図 2 H】2 個のターゲティング部分 (T M) (いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのターゲティング部分が存在する場合もある) を有するホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、 T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックスで示す構築物 (すなわち、図 2 G および 2 H) は、 T M 1 と T M 2 の間、または T M 1 と F c の間にシグナル伝達物質 (S A) を有する。

20

【図 3 A】2 種のシグナル伝達物質 (いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある) を有するホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、 S A 1 および S A 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックスで示す構築物 (すなわち、図 3 G および 3 H) は、 S A 1 と S A 2 の間に T M を、または N 末端または C 末端に T M を有する。

30

【図 3 B】2 種のシグナル伝達物質 (いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある) を有するホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、 S A 1 および S A 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックスで示す構築物 (すなわち、図 3 G および 3 H) は、 S A 1 と S A 2 の間に T M を、または N 末端または C 末端に T M を有する。

【図 3 C】2 種のシグナル伝達物質 (いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある) を有するホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、 S A 1 および S A 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックスで示す構築物 (すなわち、図 3 G および 3 H) は、 S A 1 と S A 2 の間に T M を、または N 末端または C 末端に T M を有する。

40

【図 3 D】2 種のシグナル伝達物質 (いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある) を有するホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、 S A 1 および S A 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックスで示す構築物 (すなわち、図 3 G および 3 H) は、 S A 1 と S A 2 の間に T M を、または N 末端または C 末端に T M を有する。

【図 3 E】2 種のシグナル伝達物質 (いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある) を有するホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、 S A 1 および S A 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックスで示す構築物 (すなわち、図 3 G および 3 H) は、 S A 1 と S A 2 の間に T M を、または N 末端または C 末端に T M を有する。

50

【図 3 F】2 種のシグナル伝達物質（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある）を有するホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、S A 1 および S A 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックスで示す構築物（すなわち、図 3 G および 3 H）は、S A 1 と S A 2 の間に T M を、または N 末端または C 末端に T M を有する。

【図 3 G】2 種のシグナル伝達物質（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある）を有するホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、S A 1 および S A 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックスで示す構築物（すなわち、図 3 G および 3 H）は、S A 1 と S A 2 の間に T M を、または N 末端または C 末端に T M を有する。

10

【図 3 H】2 種のシグナル伝達物質（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある）を有するホモダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、S A 1 および S A 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、ボックスで示す構築物（すなわち、図 3 G および 3 H）は、S A 1 と S A 2 の間に T M を、または N 末端または C 末端に T M を有する。

【図 4 A】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に T M および F c のホール鎖上に S A を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。

【図 4 B】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に T M および F c のホール鎖上に S A を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。

【図 4 C】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に T M および F c のホール鎖上に S A を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。

20

【図 4 D】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に T M および F c のホール鎖上に S A を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。

【図 5 A】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に両 T M および F c のホール鎖上に S A を有し、2 個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

【図 5 B】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に両 T M および F c のホール鎖上に S A を有し、2 個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

30

【図 5 C】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に両 T M および F c のホール鎖上に S A を有し、2 個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

【図 5 D】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に両 T M および F c のホール鎖上に S A を有し、2 個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

40

【図 5 E】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に両 T M および F c のホール鎖上に S A を有し、2 個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

【図 5 F】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に両 T M および F c のホール鎖上に S A を有し、2 個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの

50

実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する場合がある)を有する、ヘテロダイマー-2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、TM1およびTM2の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、TM1およびTM2は同一であり得る。

【図6A】分割TMおよびSA鎖、すなわち、Fcのノブ鎖上にTMおよびFcのホール鎖上にSAを有し、2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある)を有する、ヘテロダイマー-2鎖複合体の例を示す。これらの配向および/または構造では、1種のSAはノブ鎖上にあり、1種のSAはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

【図6B】分割TMおよびSA鎖、すなわち、Fcのノブ鎖上にTMおよびFcのホール鎖上にSAを有し、2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある)を有する、ヘテロダイマー-2鎖複合体の例を示す。これらの配向および/または構造では、1種のSAはノブ鎖上にあり、1種のSAはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

10

【図6C】分割TMおよびSA鎖、すなわち、Fcのノブ鎖上にTMおよびFcのホール鎖上にSAを有し、2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある)を有する、ヘテロダイマー-2鎖複合体の例を示す。これらの配向および/または構造では、1種のSAはノブ鎖上にあり、1種のSAはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

20

【図6D】分割TMおよびSA鎖、すなわち、Fcのノブ鎖上にTMおよびFcのホール鎖上にSAを有し、2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある)を有する、ヘテロダイマー-2鎖複合体の例を示す。これらの配向および/または構造では、1種のSAはノブ鎖上にあり、1種のSAはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

【図6E】分割TMおよびSA鎖、すなわち、Fcのノブ鎖上にTMおよびFcのホール鎖上にSAを有し、2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある)を有する、ヘテロダイマー-2鎖複合体の例を示す。これらの配向および/または構造では、1種のSAはノブ鎖上にあり、1種のSAはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

30

【図6F】分割TMおよびSA鎖、すなわち、Fcのノブ鎖上にTMおよびFcのホール鎖上にSAを有し、2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある)を有する、ヘテロダイマー-2鎖複合体の例を示す。これらの配向および/または構造では、1種のSAはノブ鎖上にあり、1種のSAはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

【図6G】分割TMおよびSA鎖、すなわち、Fcのノブ鎖上にTMおよびFcのホール鎖上にSAを有し、2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある)を有する、ヘテロダイマー-2鎖複合体の例を示す。これらの配向および/または構造では、1種のSAはノブ鎖上にあり、1種のSAはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

40

【図6H】分割TMおよびSA鎖、すなわち、Fcのノブ鎖上にTMおよびFcのホール鎖上にSAを有し、2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある)を有する、ヘテロダイマー-2鎖複合体の例を示す。これらの配向および/または構造では、1種のSAはノブ鎖上にあり、1種のSAはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2

50

の位置は、交換可能である。

【図 6 I】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に T M および F c のホール鎖上に S A を有し、2 種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。これらの配向および / または構造では、1 種の S A はノブ鎖上にあり、1 種の S A はホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、S A 1 および S A 2 の位置は、交換可能である。

【図 6 J】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に T M および F c のホール鎖上に S A を有し、2 種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。これらの配向および / または構造では、1 種の S A はノブ鎖上にあり、1 種の S A はホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、S A 1 および S A 2 の位置は、交換可能である。

10

【図 7 A】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上の S A および F c のホール鎖上の T M を有する、実例となるヘテロダイマー 2 鎖複合体を示す。

【図 7 B】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上の S A および F c のホール鎖上の T M を有する、実例となるヘテロダイマー 2 鎖複合体を示す。

【図 7 C】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上の S A および F c のホール鎖上の T M を有する、実例となるヘテロダイマー 2 鎖複合体を示す。

【図 7 D】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上の S A および F c のホール鎖上の T M を有する、実例となるヘテロダイマー 2 鎖複合体を示す。

20

【図 8 A】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に S A および F c のホール鎖上に両 T M を有し、2 個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

【図 8 B】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に S A および F c のホール鎖上に両 T M を有し、2 個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

30

【図 8 C】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に S A および F c のホール鎖上に両 T M を有し、2 個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

【図 8 D】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に S A および F c のホール鎖上に両 T M を有し、2 個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

40

【図 8 E】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に S A および F c のホール鎖上に両 T M を有し、2 個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

【図 8 F】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に S A および F c のホール鎖上に両 T M を有し、2 個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 の位置は

50

、交換可能である。いくつかの実施形態では、TM1およびTM2は同一であり得る。

【図9A】分割TMおよびSA鎖、すなわち、Fcのノブ鎖上にSAおよびFcのホール鎖上にTMを有し、2種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。これらの配向および/または構造では、1種のSAはノブ鎖上にあり、1種のSAはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

【図9B】分割TMおよびSA鎖、すなわち、Fcのノブ鎖上にSAおよびFcのホール鎖上にTMを有し、2種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。これらの配向および/または構造では、1種のSAはノブ鎖上にあり、1種のSAはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

10

【図9C】分割TMおよびSA鎖、すなわち、Fcのノブ鎖上にSAおよびFcのホール鎖上にTMを有し、2種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。これらの配向および/または構造では、1種のSAはノブ鎖上にあり、1種のSAはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

【図9D】分割TMおよびSA鎖、すなわち、Fcのノブ鎖上にSAおよびFcのホール鎖上にTMを有し、2種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。これらの配向および/または構造では、1種のSAはノブ鎖上にあり、1種のSAはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

20

【図9E】分割TMおよびSA鎖、すなわち、Fcのノブ鎖上にSAおよびFcのホール鎖上にTMを有し、2種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。これらの配向および/または構造では、1種のSAはノブ鎖上にあり、1種のSAはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

30

【図9F】分割TMおよびSA鎖、すなわち、Fcのノブ鎖上にSAおよびFcのホール鎖上にTMを有し、2種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。これらの配向および/または構造では、1種のSAはノブ鎖上にあり、1種のSAはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

【図9G】分割TMおよびSA鎖、すなわち、Fcのノブ鎖上にSAおよびFcのホール鎖上にTMを有し、2種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。これらの配向および/または構造では、1種のSAはノブ鎖上にあり、1種のSAはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

40

【図9H】分割TMおよびSA鎖、すなわち、Fcのノブ鎖上にSAおよびFcのホール鎖上にTMを有し、2種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。これらの配向および/または構造では、1種のSAはノブ鎖上にあり、1種のSAはホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

【図9I】分割TMおよびSA鎖、すなわち、Fcのノブ鎖上にSAおよびFcのホール

50

鎖上に T M を有し、2 種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。これらの配向および / または構造では、1 種の S A はノブ鎖上にあり、1 種の S A はホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、S A 1 および S A 2 の位置は、交換可能である。

【図 9 J】分割 T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に S A および F c のホール鎖上に T M を有し、2 種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。これらの配向および / または構造では、1 種の S A はノブ鎖上にあり、1 種の S A はホール鎖上にある。いくつかの実施形態では、S A 1 および S A 2 の位置は、交換可能である。

10

【図 10 A】同じ鎖上の T M および S A、すなわち、F c のノブ鎖上の S A および T M の両方を有する、実例となるヘテロダイマー 2 鎖複合体を示す。

【図 10 B】同じ鎖上の T M および S A、すなわち、F c のノブ鎖上の S A および T M の両方を有する、実例となるヘテロダイマー 2 鎖複合体を示す。

【図 10 C】同じ鎖上の T M および S A、すなわち、F c のノブ鎖上の S A および T M の両方を有する、実例となるヘテロダイマー 2 鎖複合体を示す。

【図 10 D】同じ鎖上の T M および S A、すなわち、F c のノブ鎖上の S A および T M の両方を有する、実例となるヘテロダイマー 2 鎖複合体を示す。

【図 10 E】同じ鎖上の T M および S A、すなわち、F c のノブ鎖上の S A および T M の両方を有する、実例となるヘテロダイマー 2 鎖複合体を示す。

20

【図 10 F】同じ鎖上の T M および S A、すなわち、F c のノブ鎖上の S A および T M の両方を有する、実例となるヘテロダイマー 2 鎖複合体を示す。

【図 11 A】同じ鎖上に T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に S A および T M の両方を有し、2 個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

【図 11 B】同じ鎖上に T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に S A および T M の両方を有し、2 個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

30

【図 11 C】同じ鎖上に T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に S A および T M の両方を有し、2 個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

【図 11 D】同じ鎖上に T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に S A および T M の両方を有し、2 個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

40

【図 11 E】同じ鎖上に T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に S A および T M の両方を有し、2 個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

【図 11 F】同じ鎖上に T M および S A 鎖、すなわち、F c のノブ鎖上に S A および T M の両方を有し、2 個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形

50

では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある)を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、S A 1およびS A 2の位置は、交換可能である。

【図12E】同じ鎖上にT MおよびS A鎖、すなわち、F cのノブ鎖上にS AおよびT Mの両方を有し、2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある)を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、S A 1およびS A 2の位置は、交換可能である。

【図12F】同じ鎖上にT MおよびS A鎖、すなわち、F cのノブ鎖上にS AおよびT Mの両方を有し、2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある)を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、S A 1およびS A 2の位置は、交換可能である。

10

【図12G】同じ鎖上にT MおよびS A鎖、すなわち、F cのノブ鎖上にS AおよびT Mの両方を有し、2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある)を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、S A 1およびS A 2の位置は、交換可能である。

【図12H】同じ鎖上にT MおよびS A鎖、すなわち、F cのノブ鎖上にS AおよびT Mの両方を有し、2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある)を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、S A 1およびS A 2の位置は、交換可能である。

20

【図12I】同じ鎖上にT MおよびS A鎖、すなわち、F cのノブ鎖上にS AおよびT Mの両方を有し、2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある)を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、S A 1およびS A 2の位置は、交換可能である。

【図12J】同じ鎖上にT MおよびS A鎖、すなわち、F cのノブ鎖上にS AおよびT Mの両方を有し、2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある)を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、S A 1およびS A 2の位置は、交換可能である。

30

【図12K】同じ鎖上にT MおよびS A鎖、すなわち、F cのノブ鎖上にS AおよびT Mの両方を有し、2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある)を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、S A 1およびS A 2の位置は、交換可能である。

【図12L】同じ鎖上にT MおよびS A鎖、すなわち、F cのノブ鎖上にS AおよびT Mの両方を有し、2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある)を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、S A 1およびS A 2の位置は、交換可能である。

40

【図13A】同じ鎖上にT MおよびS A、すなわち、F cのホール鎖上にS AおよびT Mの両方を有する、実例となるヘテロダイマー2鎖複合体を示す。

【図13B】同じ鎖上にT MおよびS A、すなわち、F cのホール鎖上にS AおよびT Mの両方を有する、実例となるヘテロダイマー2鎖複合体を示す。

【図13C】同じ鎖上にT MおよびS A、すなわち、F cのホール鎖上にS AおよびT Mの両方を有する、実例となるヘテロダイマー2鎖複合体を示す。

【図13D】同じ鎖上にT MおよびS A、すなわち、F cのホール鎖上にS AおよびT M

50

【図14J】同じ鎖上にTMおよびSA鎖、すなわち、Fcのホール鎖上にSAおよびTMの両方を有し、2個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する）を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、TM1およびTM2の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、TM1およびTM2は同一であり得る。

【図14K】同じ鎖上にTMおよびSA鎖、すなわち、Fcのホール鎖上にSAおよびTMの両方を有し、2個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する）を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、TM1およびTM2の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、TM1およびTM2は同一であり得る。

【図14L】同じ鎖上にTMおよびSA鎖、すなわち、Fcのホール鎖上にSAおよびTMの両方を有し、2個のターゲティング部分（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのターゲティング部分が存在する）を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、TM1およびTM2の位置は、交換可能である。いくつかの実施形態では、TM1およびTM2は同一であり得る。

【図15A】同じ鎖上にTMおよびSA鎖、すなわち、Fcのホール鎖上にSAおよびTMの両方を有し、2種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する）を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

【図15B】同じ鎖上にTMおよびSA鎖、すなわち、Fcのホール鎖上にSAおよびTMの両方を有し、2種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する）を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

【図15C】同じ鎖上にTMおよびSA鎖、すなわち、Fcのホール鎖上にSAおよびTMの両方を有し、2種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する）を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

【図15D】同じ鎖上にTMおよびSA鎖、すなわち、Fcのホール鎖上にSAおよびTMの両方を有し、2種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する）を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

【図15E】同じ鎖上にTMおよびSA鎖、すなわち、Fcのホール鎖上にSAおよびTMの両方を有し、2種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する）を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

【図15F】同じ鎖上にTMおよびSA鎖、すなわち、Fcのホール鎖上にSAおよびTMの両方を有し、2種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する）を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

【図15G】同じ鎖上にTMおよびSA鎖、すなわち、Fcのホール鎖上にSAおよびTMの両方を有し、2種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する）を有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、SA1およびSA2の位置は、交換可能である。

10

20

30

40

50

【図 1 5 H】同じ鎖上に T M および S A 鎖、すなわち、F c のホール鎖上に S A および T M の両方を有し、2 種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、S A 1 および S A 2 の位置は、交換可能である。

【図 1 5 I】同じ鎖上に T M および S A 鎖、すなわち、F c のホール鎖上に S A および T M の両方を有し、2 種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、S A 1 および S A 2 の位置は、交換可能である。

【図 1 5 J】同じ鎖上に T M および S A 鎖、すなわち、F c のホール鎖上に S A および T M の両方を有し、2 種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、S A 1 および S A 2 の位置は、交換可能である。

【図 1 5 K】同じ鎖上に T M および S A 鎖、すなわち、F c のホール鎖上に S A および T M の両方を有し、2 種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、S A 1 および S A 2 の位置は、交換可能である。

【図 1 5 L】同じ鎖上に T M および S A 鎖、すなわち、F c のホール鎖上に S A および T M の両方を有し、2 種のシグナル伝達物質（本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合がある）を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、S A 1 および S A 2 の位置は、交換可能である。

【図 1 6 A】2 個のターゲティング部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのターゲティング部分が存在する場合もある）ならびにノブ F c 上に S A および各鎖上に T M を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

【図 1 6 B】2 個のターゲティング部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのターゲティング部分が存在する場合もある）ならびにノブ F c 上に S A および各鎖上に T M を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

【図 1 6 C】2 個のターゲティング部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのターゲティング部分が存在する場合もある）ならびにノブ F c 上に S A および各鎖上に T M を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

【図 1 6 D】2 個のターゲティング部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのターゲティング部分が存在する場合もある）ならびにノブ F c 上に S A および各鎖上に T M を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

【図 1 6 E】2 個のターゲティング部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのターゲティング部分が存在する場合もある）ならびにノブ F c 上に S A および各鎖上に T M を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

【図 1 6 F】2 個のターゲティング部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのターゲティング部分が存在する場合もある）ならびにノブ F c 上に S A および各鎖上に T M を有する、ヘテロダイマー 2 鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、T M 1 および T M 2 は同一であり得る。

【図 1 6 G】2 個のターゲティング部分（いくつかの実施形態では、本明細書に記載のよ

10

20

30

40

50

形態では、TM1およびTM2は同一であり得る。

【図17J】2個のターゲティング部分(いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのターゲティング部分が存在する場合もある)ならびにホールFc上にSAおよび各鎖上にTMを有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。いくつかの実施形態では、TM1およびTM2は同一であり得る。

【図18A】2種のシグナル伝達物質(いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある)を有し、分割SAおよびTM鎖：ノブFc上にSAおよびホールFc上にTMを有する、実例となるヘテロダイマー2鎖複合体を示す。

【図18B】2種のシグナル伝達物質(いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある)を有し、分割SAおよびTM鎖：ノブFc上にSAおよびホールFc上にTMを有する、実例となるヘテロダイマー2鎖複合体を示す。 10

【図18C】2種のシグナル伝達物質(いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある)を有し、分割SAおよびTM鎖：ノブFc上にSAおよびホールFc上にTMを有する、実例となるヘテロダイマー2鎖複合体を示す。

【図18D】2種のシグナル伝達物質(いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある)を有し、分割SAおよびTM鎖：ノブFc上にSAおよびホールFc上にTMを有する、実例となるヘテロダイマー2鎖複合体を示す。 20

【図18E】2種のシグナル伝達物質(いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある)を有し、分割SAおよびTM鎖：ノブFc上にSAおよびホールFc上にTMを有する、実例となるヘテロダイマー2鎖複合体を示す。

【図18F】2種のシグナル伝達物質(いくつかの実施形態では、本明細書に記載のように、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある)を有し、分割SAおよびTM鎖：ノブFc上にSAおよびホールFc上にTMを有する、実例となるヘテロダイマー2鎖複合体を示す。

【図19A】2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある)を有し、分割SAおよびTM鎖：ノブFc上にTMおよびホールFc上にSAを有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。 30

【図19B】2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある)を有し、分割SAおよびTM鎖：ノブFc上にTMおよびホールFc上にSAを有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。

【図19C】2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある)を有し、分割SAおよびTM鎖：ノブFc上にTMおよびホールFc上にSAを有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。 40

【図19D】2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある)を有し、分割SAおよびTM鎖：ノブFc上にTMおよびホールFc上にSAを有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。

【図19E】2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態では、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある)を有し、分割SAおよびTM鎖：ノブFc上にTMおよびホールFc上にSAを有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。

【図19F】2種のシグナル伝達物質(本明細書に記載のように、いくつかの実施形態で 50

は、より多くのシグナル伝達物質が存在する場合もある)を有し、分割SAおよびTM鎖：ノブFc上にTMおよびホールFc上にSAを有する、ヘテロダイマー2鎖複合体の例を示す。

【図20】一過的に遺伝子導入されたHeK293T細胞中のFMS様チロシンキナーゼ3リガンド(FLT3L)-Fc-AFNに対するpSTAT1を示す。FLT3またはMOCK(空のベクター)遺伝子導入HeK293T細胞を、示したように刺激し、pSTAT1について染色した。2回の繰り返し測定のパSTAT1陽性細胞の平均%(±STDEV)がプロットされている。

【図21A】分割二量体FLT3-L(TM)：ノブFc上にAFN(SA)を有するフォーマットのいくつかの実施形態を示す。いくつかの実施形態では、ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

10

【図21B】分割二量体FLT3-L(TM)：ノブFc上にAFN(SA)を有するフォーマットのいくつかの実施形態を示す。いくつかの実施形態では、ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図21C】分割二量体FLT3-L(TM)：ノブFc上にAFN(SA)を有するフォーマットのいくつかの実施形態を示す。いくつかの実施形態では、ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図21D】分割二量体FLT3-L(TM)：ノブFc上にAFN(SA)を有するフォーマットのいくつかの実施形態を示す。いくつかの実施形態では、ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

20

【図21E】分割二量体FLT3-L(TM)：ノブFc上にAFN(SA)を有するフォーマットのいくつかの実施形態を示す。いくつかの実施形態では、ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図21F】分割二量体FLT3-L(TM)：ノブFc上にAFN(SA)を有するフォーマットのいくつかの実施形態を示す。いくつかの実施形態では、ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図22A】分割二量体FLT3-L(TM)：ホールFc上にAFN(SA)を有するフォーマットのいくつかの実施形態を示す。いくつかの実施形態では、ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図22B】分割二量体FLT3-L(TM)：ホールFc上にAFN(SA)を有するフォーマットのいくつかの実施形態を示す。いくつかの実施形態では、ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

30

【図22C】分割二量体FLT3-L(TM)：ホールFc上にAFN(SA)を有するフォーマットのいくつかの実施形態を示す。いくつかの実施形態では、ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図22D】分割二量体FLT3-L(TM)：ホールFc上にAFN(SA)を有するフォーマットのいくつかの実施形態を示す。いくつかの実施形態では、ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図22E】分割二量体FLT3-L(TM)：ホールFc上にAFN(SA)を有するフォーマットのいくつかの実施形態を示す。いくつかの実施形態では、ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

40

【図22F】分割二量体FLT3-L(TM)：ホールFc上にAFN(SA)を有するフォーマットのいくつかの実施形態を示す。いくつかの実施形態では、ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図23A】FLT3L-AFNのHL116レポーターに対する生物活性を示す。HL116またはHL116-hFLT3細胞を、段階希釈した野生型IFN γ 2またはFLT3L-AFNで6時間刺激した。平均ルシフェラーゼ活性(±STDEV)がプロットされている。

【図23B】FLT3L-AFNのHL116レポーターに対する生物活性を示す。HL116またはHL116-hFLT3細胞を、段階希釈した野生型IFN γ 2またはFL

50

T 3 L A F Nで6時間刺激した。平均ルシフェラーゼ活性(±S T D E V)がプロットされている。

【図23C】F L T 3 L A F NのH L 1 1 6レポーターに対する生物活性を示す。H L 1 1 6またはH L 1 1 6 - h F L T 3細胞を、段階希釈した野生型I F N 2またはF L T 3 L A F Nで6時間刺激した。平均ルシフェラーゼ活性(±S T D E V)がプロットされている。

【図23D】F L T 3 L A F NのH L 1 1 6レポーターに対する生物活性を示す。H L 1 1 6またはH L 1 1 6 - h F L T 3細胞を、段階希釈した野生型I F N 2またはF L T 3 L A F Nで6時間刺激した。平均ルシフェラーゼ活性(±S T D E V)がプロットされている。

【図23E】F L T 3 L A F NのH L 1 1 6レポーターに対する生物活性を示す。H L 1 1 6またはH L 1 1 6 - h F L T 3細胞を、段階希釈した野生型I F N 2またはF L T 3 L A F Nで6時間刺激した。平均ルシフェラーゼ活性(±S T D E V)がプロットされている。

【図23F】F L T 3 L A F NのH L 1 1 6レポーターに対する生物活性を示す。H L 1 1 6またはH L 1 1 6 - h F L T 3細胞を、段階希釈した野生型I F N 2またはF L T 3 L A F Nで6時間刺激した。平均ルシフェラーゼ活性(±S T D E V)がプロットされている。

【図23G】F L T 3 L A F NのH L 1 1 6レポーターに対する生物活性を示す。H L 1 1 6またはH L 1 1 6 - h F L T 3細胞を、段階希釈した野生型I F N 2またはF L T 3 L A F Nで6時間刺激した。平均ルシフェラーゼ活性(±S T D E V)がプロットされている。

【図24A】単鎖二量体F L T 3 - L (T M) : A F N (S A)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図24B】単鎖二量体F L T 3 - L (T M) : A F N (S A)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図24C】単鎖二量体F L T 3 - L (T M) : A F N (S A)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図24D】単鎖二量体F L T 3 - L (T M) : A F N (S A)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図24E】単鎖二量体F L T 3 - L (T M) : A F N (S A)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図24F】単鎖二量体F L T 3 - L (T M) : A F N (S A)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図24G】単鎖二量体F L T 3 - L (T M) : A F N (S A)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図24H】単鎖二量体F L T 3 - L (T M) : A F N (S A)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図25A】単鎖二量体F L T 3 - L (T M) : A F N (S A)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図25B】単鎖二量体F L T 3 - L (T M) : A F N (S A)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図25C】単鎖二量体F L T 3 - L (T M) : A F N (S A)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図25D】単鎖二量体F L T 3 - L (T M) : A F N (S A)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図25E】単鎖二量体F L T 3 - L (T M) : A F N (S A)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図25F】単鎖二量体F L T 3 - L (T M) : A F N (S A)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

10

20

30

40

50

【図25G】単鎖二量体FLT3-L(TM):AFN(SA)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図25H】単鎖二量体FLT3-L(TM):AFN(SA)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図25I】単鎖二量体FLT3-L(TM):AFN(SA)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図25J】単鎖二量体FLT3-L(TM):AFN(SA)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図25K】単鎖二量体FLT3-L(TM):AFN(SA)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図25L】単鎖二量体FLT3-L(TM):AFN(SA)フォーマットを示す。ノブ・イントゥ・ホールフォーマットは、イオン電荷対変異で置換または補足され得る。

【図26A】単鎖FLT3L AFNのHL116レポーターに対する生物活性を示す。HL116またはHL116-hFLT3細胞を、段階希釈した野生型IFN γ 2またはFLT3L AFNで6時間刺激した。平均ルシフェラーゼ活性(\pm STDEV)がプロットされている。

【図26B】単鎖FLT3L AFNのHL116レポーターに対する生物活性を示す。HL116またはHL116-hFLT3細胞を、段階希釈した野生型IFN γ 2またはFLT3L AFNで6時間刺激した。平均ルシフェラーゼ活性(\pm STDEV)がプロットされている。

【図27A】精製された分割および単鎖FLT3L AFNのサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)を示す。

【図27B】精製された分割および単鎖FLT3L AFNのサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)を示す。

【図27C】精製された分割および単鎖FLT3L AFNのサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)を示す。

【図28A】緩衝液またはscFlt3-Fc(A)および緩衝液またはscFlt3L-Fc-AFN(B)で治療後のヒト化マウスにおける腫瘍増殖曲線を示す。時点毎の3~5匹の動物の平均値(\pm SEM)(mm 3 単位)がプロットされている。

【図28B】緩衝液またはscFlt3-Fc(A)および緩衝液またはscFlt3L-Fc-AFN(B)で治療後のヒト化マウスにおける腫瘍増殖曲線を示す。時点毎の3~5匹の動物の平均値(\pm SEM)(mm 3 単位)がプロットされている。

【図29】緩衝液、scFlt3-FcまたはscFlt3L-Fc-AFNで治療後の12日目の時点でのヒト化マウスの体重の変化を示す。時点毎の3~4匹の動物の平均値(\pm SEM)(mm 3 単位)がプロットされている。26日目以前に安楽死させた動物は、除外した。

【図30】配列番号73-フレキシブルリンカーを介してインターフェロンに連結された単量体型のFlt3L-の精製構築物のサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)プロファイルを示す。

【図31】緩衝液またはFlt3L-IFN γ 1で治療後のヒト化マウスにおける腫瘍増殖曲線を示す。時点毎の5または6匹の動物の平均値(mm 3 単位)(\pm SEM)がプロットされている。

【発明を実施するための形態】

【0021】

いくつかの態様では、ターゲティング部分を含むキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体が提供され、ターゲティング部分は、目的の抗原または受容体に特異的に結合でき、目的の抗原または受容体は、FMS様チロシンキナーゼ3(FLT3)である。キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体はまた、野生型シグナル伝達物質またはその改変型を含み、シグナル伝達物質は、本明細書に記載のものの1種、例えば、限定されないが

10

20

30

40

50

、ヒトIFN γ 2、IFN γ 1、IFN γ 、およびIL-1であり、これらは、種々の実施形態では、野生型のヒト型または変異体型であり得る。

【0022】

本技術は、一部は、1個または複数のその受容体に対し低減された親和性または活性を有するように任意に変更されるシグナル伝達物質の発見、およびFLT3を含む、特定の標的を認識し、これに結合するターゲティング部分の発見、遺伝子操作および統合に基づいている。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質および/またはキメラタンパク質複合体は、FLT3LのECD（細胞外ドメイン）、またはその一部もしくはバリエーションなどの、FLT3Lを含む。いくつかの実施形態では、FLT3L-ECDは、同じポリペプチド上に2つのコピーで存在する（単鎖二量体FLT3L構築物）。いくつかの実施形態では、FLT3L-ECDは、Fcベースキメラタンパク質複合体中のFc鎖により媒介されるなどの、さもなければ二量体化してキメラタンパク質複合体を形成できる2個の異なるポリペプチドのそれぞれの上で単一コピーで存在する。いくつかの実施形態では、FLT3Lは、FLT3L-ECD、またはその一部もしくはバリエーションであり、これは、分子間FLT3L-ECDホモ二量体化（すなわち、さもなければ他の機序により容易に二量体化しないであろう分子を含む別々のFLT3L-ECD上でのFLT3Lドメインの二量体化）を低減する、および分子内FLT3L-ECD二量体化（すなわち、同じ単一ポリペプチド内に含まれるFLT3L-ECDの2つのコピーの二量体化、すなわち、単鎖二量体FLT3L構築物）、またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複体内でさもなければ二量体化できる2個の異なるポリペプチド上の単一FLT3-ECDの二量体化を優先する変異を、任意に含む。いくつかの実施形態では、FLT3L-ECD中の変異は、L27Dである（配列番号2～4のいずれか1つを基準にして、または配列番号5に対してL24D）。いくつかの実施形態では、FLT3-ECD中の変異L27D（配列番号2～4のいずれか1つを基準にして、または配列番号5に対してL24D）、または機能的に類似の変異は、より均質形態のキメラタンパク質およびキメラタンパク質複合体の形成を優先し、FLT3標的化構築物の産生の規模拡大およびこのような構築物のインビボ安全性に実質的に有害であり得る望ましくないおよびより高い分子量の複合体および/または凝集体を回避する（例えば、免疫反応性のリスク、活性の低下、など）。

【0023】

理論に束縛されることを意図するものではないが、キメラタンパク質およびキメラタンパク質複合体中の、単鎖二量体FLT3L（例えば、単一ポリペプチド中のFLT3L-ECDの2つのコピー）、任意選択でL27D変異（配列番号2～4のいずれか1つを基準にして、または配列番号5に対するL24D）、または類似のまたは等価の機能的効果を有するECDドメイン変異を有するFLT3-ECDの発見および使用は、限定されないが、次記を含むFLT3標的化特性を有する構築物の顕著な簡略化を可能にする：a)シグナル伝達物質活性の機能性、特異性および選択性の保持、b)FLT3の活性化または結合、c)望ましくないFLT3L推進キメラタンパク質の分子間二量体化の回避によるキメラタンパク質およびキメラタンパク質複合体のより均質な調製物の生成、c)最終生成物のサイズの低減、d)このようなキメラタンパク質およびキメラタンパク質複合体の精製および規模拡大産生に影響を与える生成物特性の単純化、およびe)低減された凝集の可能性および、したがって、高められた安全性。

【0024】

単鎖二量体FLT3L/FLT3L-ECDキメラタンパク質およびキメラタンパク質複合体について記載されるような類似の利点はまた、Fcベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体にも認められた。この場合、FLT3L-ECD、またはその一部の単一コピーが、単一のFLT3-ECDも含む別のポリペプチドとさもなければ二量体化できる単一ポリペプチド中に存在する。さらにこの場合、2つの対形成ポリペプチドのそれぞれにおいて、任意選択でFLT3-ECDは、L27D（配列番号2～4のいずれか1つを基準にして、または配列番号5に対してL24D）などの、望ましくない

10

20

30

40

50

分子間ホモ二量体化を低減する変異、または分子間 E C D ホモ二量体化の低減において機能的に類似の効果をもつ変異を有する。これは、F c ベースキメラタンパク質複合体により例示され、ここで 2 つの対形成 / 二量体化 F c 鎖のそれぞれは、L 2 7 D (配列番号 2 ~ 4 のいずれか 1 つを基準にして、または配列番号 5 に対して L 2 4 D) などの、このような変異を組み込む、単一コピーの F L T 3 L - E C D、またはその一部を含む。鎖対形成による複合体形成は、F L T 3 L - E C D 変異体 (例えば、配列番号 2 ~ 4 のいずれか 1 つを基準にした L 2 7 D、または配列番号 5 に対する L 2 4 D) 二量体化およびこのような「分割 F L T 3 L - E C D」構築物に対する F L T 3 結合活性の回復を促進し、同時に、F c 鎖と F c キメラ複合体の間の望ましくない分子間 E C D 二量体化を低減するように変異導入されていない F L T 3 L - E C D だけでもなければ観察される高分子量および不均一な複合体形成を回避する。従って、このようなキメラタンパク質複合体の操作は、限定されないが、次記を含む F L T 3 標的化特性を有する構築物の顕著な簡略化を可能にする： a) シグナル伝達物質活性の機能性、特異性および選択性の保持、 b) F L T 3 の活性化または結合、 c) 望ましくない F L T 3 L 推進キメラタンパク質またはタンパク質複合体の分子間二量体化の回避によるキメラタンパク質複合体のより均質な調製物の生成、 c) 最終生成物のサイズの低減、 d) このようなキメラタンパク質複合体の精製および規模拡大産生に影響を与える生成物特性の単純化、 e) 低減された凝集の可能性および、したがって、高められた安全性。

【 0 0 2 5 】

いくつかの実施形態では、1 個または複数のターゲティング部分が、キメラタンパク質または F c ベースキメラタンパク質複合体を含み、キメラタンパク質複合体中に組み込まれる。いくつかの実施形態では、1 種または複数のシグナル伝達物質および 1 個または複数のターゲティング部分は、キメラタンパク質にコンジュゲートされ、または F c ベースキメラタンパク質複合体の場合には F c ドメインにコンジュゲートされる。このような F c ベースキメラタンパク質複合体は、意外にも、特に本明細書に記載 FC ヘテロダイマー構造で、他のキメラタンパク質および / または標的化シグナル伝達物質キメラタンパク質に比べて、劇的に改善されたインビボ半減期を有し、および特に、標準的方法による産生および精製に適用できる。従って、本発明の F c ベースキメラタンパク質複合体手法は、種々の治療法、特により長期間の間欠的投与から恩恵を受ける治療法における使用のために特に好適な薬剤をもたらす。

【 0 0 2 6 】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはキメラタンパク質複合体中のターゲティング部分は、F L T 3 L またはその一部を含む。他の実施形態では、ターゲティング部分は、F L T 3 L の細胞外ドメイン、またはその一部を含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、配列番号 1 のアミノ酸配列の機能性フラグメントを含み、例えば、約 1 1 0 残基、または約 1 0 0 残基、または約 9 0 残基、または約 8 0 残基、または約 7 0 残基、または約 6 0 残基、または約 5 0 残基、または約 4 0 残基、または約 3 0 残基、または約 2 0 残基、または約 1 0 残基の欠失を含む。

【 0 0 2 7 】

配列番号 1 (F 1 t 3 L 完全長) のアミノ酸配列は、

【 化 2 】

```
MTVLAPAWSPTTYLLLLLLLLSSGLSGTQDCSFQHSPISSDFAVKIREL
SDYLLQDYPVTVASNLQDEELCGGLWRLVLAQRWMERLKTIVAGSKM
QGLLERVNTEIHVFTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKP
WITRQNFSRCLLELCQCPDSSTLPPPWSRPLEATAPTAPQPPLLLLLL
LPVGLLLAAAWCLHWQRTRRRRTPRPGEQVPPVPSPQDLLLVEH
```

であり、太字 = リーダー配列、下線文字 : 受容体結合ドメインの一部ではない細胞外領域、イタリック体文字 = 膜貫通および細胞内ドメイン。

10

20

30

40

50

【0028】

いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、配列番号2～5のいずれか1つと少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号2～5のいずれか1つと少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0029】

配列番号2（成熟Flt3L - ec（細胞外ドメイン））のアミノ酸配列は下記である：

TQDCSFQHSPISSDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLD
EELCGGLWRLVLAQRWMERLKTVAGSKMQGLLERVNTTEIH
FVTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKPWIT
RQNFSRCLELQCQPDSSTLPPWSPRPLEATAPQPP。 10

【0030】

配列番号3（成熟Flt3L - ec（細胞外ドメイン）機能、より短いバリエーション、市販品）のアミノ酸配列は、下記である：

TQDCSFQHSPISSDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLD
EELCGGLWRLVLAQRWMERLKTVAGSKMQGLLERVNTTEIH
FVTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKPWIT
RQNFSRCLELQCQPDSSTLPPWSPRPLEATAPTA。

【0031】

配列番号4（Flt3L - ec（細胞外ドメイン）最小限機能ドメイン（Savvides et al., 2000, Nature Structural Biology））のアミノ酸配列は、下記である：

TQDCSFQHSPISSDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLD
EELCGGLWRLVLAQRWMERLKTVAGSKMQGLLERVNTTEIH
FVTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKPWIT
RQNFSRCLELQCQP。 20

【0032】

第1のシステインで始まり最後のシステインで終わることにより短縮された、配列番号5の成熟Flt3L - ec（細胞外ドメイン）最小限機能ドメイン（Savvides et al., 2000, Nature Structural Biology）のアミノ酸配列は、下記である：

CSFQHSPISSDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLD
EELCGGLWRLVLAQRWMERLKTVAGSKMQGLLERVNTTEIHFV
TKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKPWITRQ
NF SRCL ELQC。 30

【0033】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはキメラタンパク質複合体は、FLT3ターゲティング部分を含む、1個または複数のターゲティング部分を有する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、キメラタンパク質のFLT3ターゲティング部分またはシグナル伝達物質に付着されるまたはリンカーを介して連結され得る。いくつかの実施形態では、FLT3ターゲティング部分は、FLT3 - ECD（細胞外ドメイン）などの、単鎖二量体FLT3L、またはその一部である。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質複合体中で、FLT3ターゲティング部分、例えば、FLT3 - ECD、またはそのバリエーションまたはフラグメントは、シグナル伝達物質として、同じまたは異なるポリペプチド上に存在する。 40

いくつかの実施形態では、本発明は、式A - B - Cの単鎖二量体であるFLT3Lドメインを提供し、式中：

Aは、配列番号2～5のいずれか1つと、少なくとも90%の同一性を有する、または少なくとも95%の同一性を有する、または少なくとも97%の同一性を有する、または少なくとも98%の同一性を有する、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列であり、。 50

Bは、実質的にグリシンおよびセリン残基からなるフレキシブルリンカーであり、任意選択でフレキシブルリンカーは、(Gly₄Ser)_nを含み、nは、約1～約8であり、任意選択でフレキシブルリンカーは、配列番号10～配列番号17の1つまたは複数を含み、および

Cは、配列番号2～5のいずれか1つと、少なくとも90%の同一性を有する、または少なくとも95%の同一性を有する、または少なくとも97%の同一性を有する、または少なくとも98%の同一性を有する、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0034】

本発明の実施形態によるキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体はまた、シグナル伝達物質またはその改変型、本明細書に記載のシグナル伝達物質、例えば、限定されないが、ヒトIFN₂、IFN₁、IFN₁、およびIL-1、を含む。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体はまた、1個または複数のリンカーを含む。

10

【0035】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、Fcドメインの各Fc鎖に付着された1個のターゲティング部分を有する。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、Fcドメインの1つのFc鎖に付着された2個のターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、2個のターゲティング部分が、任意選択でリンカーを介して、相互に付着される。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、2個のターゲティング部分が、任意選択でリンカーを介して、Fc鎖に付着される。

20

【0036】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、配列番号40、41、および46～57のいずれか1つと少なくとも95%、または少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、配列番号40、41、および46～57から選択されるアミノ酸配列およびそのアミノ酸配列に対し10個未満の変異を有するポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、配列番号40、41、および46～57から選択されるアミノ酸配列およびそのアミノ酸配列に対し5個未満の変異を有するポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、配列番号40、41、および46～66から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。

30

40

【0037】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、配列番号40と少なくとも95%、または少なくとも98%、または少なくとも99%同一性を有する第1のアミノ酸配列、および配列番号41と少なくとも95%、または少なくとも98%、または少なくとも99%同一性を有する第2のアミノ酸配列を含む。

【0038】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、配列番号46と少なくとも95%、または少なくとも98%、または少なくとも99%同一性を有する第1のアミノ酸配列、および配列番号4

50

7と少なくとも95%、または少なくとも98%、または少なくとも99%同一性を有する第2のアミノ酸配列を含む。

【0039】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、配列番号48と少なくとも95%、または少なくとも98%、または少なくとも99%同一性を有する第1のアミノ酸配列、および配列番号49と少なくとも95%、または少なくとも98%、または少なくとも99%同一性を有する第2のアミノ酸配列を含む。

【0040】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、配列番号50と少なくとも95%、または少なくとも98%、または少なくとも99%同一性を有する第1のアミノ酸配列、および配列番号51と少なくとも95%、または少なくとも98%、または少なくとも99%同一性を有する第2のアミノ酸配列を含む。

10

【0041】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、配列番号52と少なくとも95%、または少なくとも98%、または少なくとも99%同一性を有する第1のアミノ酸配列、および配列番号53と少なくとも95%、または少なくとも98%、または少なくとも99%同一性を有する第2のアミノ酸配列を含む。

20

【0042】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、配列番号54と少なくとも95%、または少なくとも98%、または少なくとも99%同一性を有する第1のアミノ酸配列、および配列番号55と少なくとも95%、または少なくとも98%、または少なくとも99%同一性を有する第2のアミノ酸配列を含む。

【0043】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、配列番号56と少なくとも95%、または少なくとも98%、または少なくとも99%同一性を有する第1のアミノ酸配列、および配列番号57と少なくとも95%、または少なくとも98%、または少なくとも99%同一性を有する第2のアミノ酸配列を含む。

30

【0044】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、配列番号58と少なくとも95%、または少なくとも98%、または少なくとも99%同一性を有する第1のアミノ酸配列、および配列番号59と少なくとも95%、または少なくとも98%、または少なくとも99%同一性を有する第2のアミノ酸配列を含む。

【0045】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、配列番号60~65から選択されるいずれか1つの配列と少なくとも95%、または少なくとも98%、または少なくとも99%同一性を有する第1のアミノ酸配列、および配列番号66と少なくとも95%、または少なくとも98%、または少なくとも99%同一性を有する第2のアミノ酸配列を含む。

40

【0046】

いくつかの実施形態では、本発明のターゲティング部分は、Fcドメインを有するまたは有しない単鎖FLT3L AFNである。いくつかの実施形態では、FLT3Lは、二量体形成面で、L27D変異(配列番号2~4のいずれか1つを基準にして、または配列番号5に対してL24D)を有する。いくつかの実施形態では、FLT3Lは、FLT3Lのホモ二量体化を低減する1個または複数の変異を有する。いくつかの実施形態では、F

50

L T 3 L は、F L T 3 L ホモ二量体化ドメイン（配列番号 2 ~ 4 のいずれか 1 つを基準にして、アミノ酸領域 25 ~ 30 および 63 ~ 68）中に F L T 3 L 二量体化を低減する 1 個または複数の変異を有する。いくつかの実施形態では、2 つの F L T 3 L 配列、または改変 F L T 3 L 配列は、任意選択で、リンカー、例えば、3 * G G G G S リンカーまたは本明細書で開示の任意のリンカーにより、一緒に融合され得る。いくつかの実施形態では、2 つ以上の F L T 3 L 配列、または改変 F L T 3 L 配列は、本明細書に記載のシグナル伝達物質に連結され得る。いくつかの実施形態では、2 つの F L T 3 L 配列、または改変 F L T 3 L 配列は、h I F N 配列（例えば、I F N 1、I F N 2）またはその改変型に連結され得る。

【0047】

10

シグナル伝達物質（S A）

種々の実施形態では、シグナル伝達物質は、野生型シグナル伝達物質である。種々の実施形態では、シグナル伝達物質の活性は、キメラタンパク質またはキメラタンパク質複合体中のシグナル伝達物質の付着、連結または融合により減弱化される。種々の実施形態では、野生型シグナル伝達物質は、I 型インターフェロンである。

【0048】

いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、配列番号 6、7、38、39、または 74 の 1 つと少なくとも 95 % の同一性を有するアミノ酸配列を有するアミノ酸配列を含む、または配列番号 6、7、38、39、または 74 の 1 つのアミノ酸配列を含み得る。

【0049】

20

種々の実施形態では、シグナル伝達物質は、1 個または複数の変異を有する改変型（例えば、変異型）のシグナル伝達物質である。種々の実施形態では、変異は、改変シグナル伝達物質が、非改変型または非変異型、すなわち、野生型形態のシグナル伝達物質に比べて（例えば、野生型形態と改変（例えば、変異）形態の同じシグナル伝達物質を比較して）、低減された結合親和性、低減された内在性活性、および低減された特定の生物活性の 1 つまたは複数などの 1 つまたは複数の減弱化された活性を有することを可能にする。種々の実施形態では、変異は、改変シグナル伝達物質が、非改変型または非変異型、例えば野生型 I F N 2、I F N 1、I F N、もしくは I L-1 に比較して、低減された結合親和性、低減された内因性活性、および低減された特定の生物活性の 1 つまたは複数などの 1 つまたは複数の減弱化された活性を有することを可能にする。いくつかの実施形態では、結合または親和性を弱めるまたは低減する変異は、結合または活性を実質的に低減または除去する変異を含む。いくつかの実施形態では、結合または親和性を弱めるまたは低減する変異は、結合または活性を実質的に低減または除去する変異とは異なる。結果として、種々の実施形態では、変異は、シグナル伝達物質が、非変異型、すなわち、野生型シグナル伝達物質に比べて（例えば、野生型形態と改変（例えば、変異）型の同じシグナル伝達物質を比較して）、より安全であること、例えば、低減された全身毒性、低減された副作用、および低減されたオフターゲット効果を有することを可能にする。種々の実施形態では、変異は、シグナル伝達物質が、非変異型インターフェロン、例えば I F N 2、I F N 1、I F N、もしくは I L-1 の非変異型配列に比べて、より安全であること、例えば低減された全身毒性、低減された副作用、および低減されたオフターゲット効果を有することを可能にする。

30

40

【0050】

種々の実施形態では、シグナル伝達物質は、1 つまたは複数のその受容体に対する結合親和性または活性を低減する 1 個または複数の変異を有するように改変される。いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、受容体に対する結合親和性または活性を実質的に低減または除去する 1 個または複数の変異を有するように改変される。いくつかの実施形態では、野生型シグナル伝達物質により与えられる活性は、受容体に対するアゴニズム（例えば、治療の部位での細胞効果の活性化）である。例えば、野生型シグナル伝達物質は、その受容体を活性化し得る。このような実施形態では、変異は、受容体に対する活性化作用を低減または除去するように改変されたシグナル伝達物質をもたらす。例えば、変異は

50

、標的細胞に低減された活性化シグナルを送るように改変されたシグナル伝達物質をもたらし得る、または活性化シグナルが除去され得る。いくつかの実施形態では、野生型シグナル伝達物質により与えられる作用は、受容体に対するアンタゴニズム（例えば、治療の部位での細胞効果の遮断または抑制）である。例えば、野生型シグナル伝達物質は、受容体をアンタゴナイズするまたは阻害し得る。これらの実施形態では、変異は、受容体に対するアンタゴナイズ活性を低減または除去するように改変されたシグナル伝達物質をもたらす。例えば、変異は、標的細胞に低減された阻害シグナルを送るように改変されたシグナル伝達物質をもたらし得る、または阻害シグナルが除去され得る。種々の実施形態では、シグナル伝達物質は、1個または複数の変異に起因してアンタゴニストであり、例えば、アゴニストシグナル伝達物質はアンタゴニストシグナル伝達物質に変換され（例えば、国際公開第2015/007520号に記載のように。この特許の全内容は参照により本明細書に組み込まれる）、このような変換されたシグナル伝達物質は、場合により、1個または複数のその受容体に対し、その結合親和性または活性を低減する、またはその1個または複数の受容体に対し結合親和性または活性を低減または除去する1個または複数の変異も有する。

10

【0051】

いくつかの実施形態では、受容体に対し低減された親和性または活性は、1個または複数のターゲティング部分の付着により、または本明細書で開示のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体への包含時に、回復可能である。他の実施形態では、受容体に対し低減された親和性または活性は、1個または複数のターゲティング部分の作用により、または本明細書で開示のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体への包含時に、実質的に回復可能ではない。

20

【0052】

種々の実施形態では、シグナル伝達物質は、標的細胞に対し活性である。理由は、ターゲティング部分が、実質的な活性化に必要とされる欠損した/不十分な結合（例えば、限定されないが、および/または結合力）を補償するためである。種々の実施形態では、改変シグナル伝達物質は、治療作用部位へ向かう途上では実質的に不活性であり、特異的に標的とされる細胞型に対してその効果を実質的に有し、これにより望ましくない副作用を大きく低減する。

30

【0053】

いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、1個の受容体（すなわち、治療受容体）に対する結合または親和性を弱めるまたは低減させる1個または複数の変異および第2の受容体に対する結合または活性を実質的に低減または除去する1個または複数の変異を含み得る。このような実施形態では、これらの変異は、同じまたは異なる位置にあってよい（すなわち、同じ変異または複数の変異）。いくつかの実施形態では、1個の受容体に対し結合および/または活性を低減する変異（単一または複数）は、別の受容体に対し実質的に低減または除去する変異（単一または複数）とは異なる。いくつかの実施形態では、1個の受容体に対し結合および/または活性を低減する変異（単一または複数）は、別の受容体に対し実質的に低減または除去する変異（単一または複数）と同じである。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、治療受容体に対し結合および/または活性を弱め、したがってより制御されたオンターゲット治療効果（例えば、野生型シグナル伝達物質に比較して）を可能にする変異および、別の受容体に対する結合および/または活性を実質的に低減または除去し、従って副作用を低減する（例えば、野生型シグナル伝達物質に比べて）変異の両方を有する改変シグナル伝達物質を有する。

40

【0054】

いくつかの実施形態では、結合または活性の実質的な低減または除去は、ターゲティング部分により、または本明細書で開示のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体への包含時に、実質的に回復可能ではない。い

50

くつかの実施形態では、結合または活性の実質的な低減または除去は、ターゲティング部分により、または本明細書で開示のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体への包含時に、回復可能である。種々の実施形態では、第2の受容体に対する結合または活性の実質的な低減または除去は、他の受容体により媒介される有害作用も防止し得る。あるいは、または加えて、その他の受容体に対する結合または活性の実質的な低減または除去は、治療キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体を治療作用部位から離して隔離するのを低減するまたは無くするので、治療効果を改善させる。例えば、いくつかの実施形態では、これは、他の受容体での損失を補償するための高用量の本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体の必要性を無くする。このような投与量を低減する能力は、さらに副作用の可能性を低くする。

10

【0055】

種々の実施形態では、改変シグナル伝達物質は、1個または複数のその受容体に対し、シグナル伝達物質に、親和性、例えば、結合（例えば、KD）および/または活性化（例えば、改変シグナル伝達物質がその受容体のアゴニストである場合、例えば、KAおよび/またはEC50として測定可能である）および/または阻害（例えば、改変シグナル伝達物質がその受容体のアンタゴニストである場合、例えば、KIおよび/またはIC50として測定可能である）を低減、実質的に低減、または除去する1個または複数の変異を含む。種々の実施形態では、シグナル伝達物質の受容体に対する低減された親和性は、活性の減弱化（アゴニズムまたはアンタゴニズムを含む）を可能にする。このような実施形態では、改変シグナル伝達物質は、野生型シグナル伝達物質に比較して、受容体に対する約1%、または約3%、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約10%~20%、約20%~40%、約50%、約40%~60%、約60%~80%、約80%~100%の親和性を有する。いくつかの実施形態では、結合親和性は、野生型シグナル伝達物質に比べて、少なくとも約2倍低い、約3倍低い、約4倍低い、約5倍低い、約6倍低い、約7倍低い、約8倍低い、約9倍低い、少なくとも約10倍低い、少なくとも約15倍低い、少なくとも約20倍低い、少なくとも約25倍低い、少なくとも約30倍低い、少なくとも約35倍低い、少なくとも約40倍低い、少なくとも約45倍低い、少なくとも約50倍低い、少なくとも約100倍低い、少なくとも約150倍低い、または約10~50倍低い、約50~100倍低い、約100~150倍低い、約150~200倍低い、または200倍超低い（限定されないが、非変異型IFN₂、IFN₁、IFN、もしくはIL-1に対する比較を含む）。

20

30

【0056】

キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体が1つの受容体に対し結合を低減し、第2の受容体に対し結合を実質的に低減または除去する変異を有するいくつかの実施形態では、1つの受容体に対する改変シグナル伝達物質の結合親和性の減弱化または低減は、その他の受容体に対する親和性の実質的な低減または除去より小さい。いくつかの実施形態では、1個の受容体に対する改変シグナル伝達物質の結合親和性の減弱化または低減は、他の受容体に対する親和性の実質的な低減または除去よりも、約1%、または約3%、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、または約95%だけ小さい。種々の実施形態では、実質的な低減または除去は、減弱または低減よりも大きい結合親和性および/または活性の低減を指す。

40

【0057】

種々の実施形態では、改変シグナル伝達物質は、例えば、野生型シグナル伝達物質に比べて、シグナル伝達物質の内因性活性を、約75%、または約70%、または約60%、または約50%、または約40%、または約30%、または約25%、または約20%、ま

50

たは約 10%、または約 5%、または約 3%、または約 1% に低減する 1 個または複数の変異を含む (限定されないが、非変異型 I F N 2、I F N 1、I F N、もしくは I L - 1 に対する比較を含む)。

【 0 0 5 8 】

種々の実施形態では、改変シグナル伝達物質は、本明細書に記載のように、本明細書に記載のシグナル伝達物質が、サイトカイン、成長因子、およびホルモンのいずれか 1 種の受容体に対する低減された親和性および / または活性を有するようにさせる 1 個または複数の変異を含む。

【 0 0 5 9 】

いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達物質は、シグナル伝達物質が、その受容体に対するターゲティング部分の結合親和性より低い、その受容体に対する低減された親和性を有するようにさせる 1 個または複数の変異を含む。いくつかの実施形態では、この結合親和性の差異は、同じ細胞上のシグナル伝達物質 / 受容体とターゲティング部分 / 受容体との間に存在する。いくつかの実施形態では、この結合親和性の差異は、シグナル伝達物質、例えば、変異シグナル伝達物質が、局在化されたオンターゲット効果を有し、かつ野生型シグナル伝達物質で観察される副作用の根底にあるオフターゲット効果を最小化するのを可能にする。いくつかの実施形態では、この結合親和性は、少なくとも約 2 倍、または少なくとも約 5 倍、または少なくとも約 10 倍、または少なくとも約 15 倍低い、または少なくとも約 25 倍、または少なくとも約 50 倍低い、または少なくとも約 100 倍、または少なくとも約 150 倍低い。

【 0 0 6 0 】

受容体結合活性は、当該技術分野において既知の方法を使用して測定され得る。例えば、親和性および / または結合活性は、スキャッチャードプロット分析および結合データのコンピューターフィッティング (例えば、Scatchard, 1949 Annals of the New York Academy of Sciences, 51 (4) : 660 - 672) または Brecht et al. (1993), Biosens Bioelectron 1993 ; 8 : 387 - 392 により記載のように、フロースルー条件下で反射型干渉分光法により評価し得る。これらの文献の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。

【 0 0 6 1 】

種々の実施形態では、キメラタンパク質または Fc ベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、Fc に融合されていないシグナル伝達物質、または複合体、例えば、限定されないが、ヘテロダイマー複合体ではないシグナル伝達物質に比べて改善された標的選択性および安全性を有する野生型シグナル伝達物質を含む。種々の実施形態では、キメラタンパク質または Fc ベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、Fc に融合されていないシグナル伝達物質、または複合体、例えば、限定されないが、ヘテロダイマー複合体ではないシグナル伝達物質に比べて改善された標的選択活性を有する野生型シグナル伝達物質を含む。種々の実施形態では、キメラタンパク質または Fc ベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、条件付き活性を可能にする。

【 0 0 6 2 】

種々の実施形態では、キメラタンパク質または Fc ベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、Fc に融合されていないシグナル伝達物質、または複合体、例えば、限定されないが、ヘテロダイマー複合体ではないシグナル伝達物質に比べて、改善された安全性、例えば、低減された全身毒性、低減された副作用、および低減されたオフターゲット効果を有する野生型シグナル伝達物質を含む。種々の実施形態では、改善された安全性は、本 Fc ベースキメラタンパク質が、Fc に融合されていないシグナル伝達物質、または複合体、例えば、限定されないが、ヘテロダイマー複合体ではないシグナル伝達物質に比べて、野生型シグナル伝達物質のより低い毒性 (例えば、全身性毒性および / または組織 / 器官関連毒性) ; および / または低減されたまたは実質的に除去された

副作用；および／または高められた耐容性、低減されたまたは実質的に除去された有害事象；および／または低減されたまたは実質的に除去された；および／または拡大された治療濃度域をもたらすこと、を意味する。

【0063】

いくつかの実施形態では、受容体に対し低減された親和性または活性は、本明細書に記載の1個または複数のターゲティング部分の付着により、または本明細書で開示のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などのFcベースキメラタンパク質複合体への包含時に、回復可能である。

【0064】

種々の実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、1個または複数のその受容体に対し、低減された、実質的に低減または除去された親和性、例えば、結合（例えば、 K_D ）および／または活性化（例えば、改変シグナル伝達物質がその受容体のアゴニストである場合、例えば、 K_A および／または EC_{50} として測定可能である）および／または阻害（例えば、改変シグナル伝達物質がその受容体のアンタゴニストである場合、例えば、 K_I および／または IC_{50} として測定可能である）を有する野生型シグナル伝達物質を含む。種々の実施形態では、シグナル伝達物質の受容体に対する低減された親和性は、活性の減弱化を可能にする。このような実施形態では、改変シグナル伝達物質は、Fcに融合されていないシグナル伝達物質、または複合体、例えば、限定されないが、ヘテロダイマー複合体ではないシグナル伝達物質に比べて、受容体に対する約1%、または約3%、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約10%~20%、約20%~40%、約50%、約40%~60%、約60%~80%、約80%~100%の親和性を有する。いくつかの実施形態では、結合親和性は、Fcに融合されていないシグナル伝達物質、または複合体、例えば、限定されないが、ヘテロダイマー複合体ではないシグナル伝達物質に比べて、少なくとも約2倍低い、約3倍低い、約4倍低い、約5倍低い、約6倍低い、約7倍低い、約8倍低い、約9倍低い、少なくとも約10倍低い、少なくとも約15倍低い、少なくとも約20倍低い、少なくとも約25倍低い、少なくとも約30倍低い、少なくとも約35倍低い、少なくとも約40倍低い、少なくとも約45倍低い、少なくとも約50倍低い、少なくとも約100倍低い、少なくとも約150倍低い、または約10~50倍低い、約50~100倍低い、約100~150倍低い、約150~200倍低い、または200倍超低い。

【0065】

種々の実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、例えば、Fcに融合されていないシグナル伝達物質、または複合体、例えば、限定されないが、ヘテロダイマー複合体ではないシグナル伝達物質に比べて、約75%、または約70%、または約60%、または約50%、または約40%、または約30%、または約25%、または約20%、または約10%、または約5%、または約3%、または約1%に低減されたシグナル伝達物質の内因性活性を有する野生型シグナル伝達物質を含む。

【0066】

いくつかの実施形態では、野生型または改変シグナル伝達物質は、インターフェロンのI型インターフェロンである。いくつかの実施形態では、野生型または改変シグナル伝達物質は、IFN γ 2、IFN γ 1、IFN α 、IFN β 、コンセンサスIFN、IFN δ 、IFN ϵ 、IFN κ 、IFN ω 、およびIFN λ から選択される。

【0067】

いくつかの実施形態では、野生型または改変シグナル伝達物質は、インターフェロンである。このような実施形態では、改変IFN γ 2物質は、IFN γ / 受容体（IFNAR）、すなわち、IFNAR1および／またはIFNAR2鎖に対する低減された親和性および／または活性を有する。いくつかの実施形態では、改変IFN γ 2物質は、IFN

10

20

30

40

50

ノ受容体 (IFNAR)、すなわち、IFNAR1およびノまたはIFNAR2鎖に対し、実質的に低減または除去された親和性およびノまたは活性を有する。

変異型のインターフェロン 2は、当業者に既知である。ある例示的实施形態では、改変シグナル伝達物質は、下記のアミノ酸配列を有するアレル型IFN 2aである：

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRKISLFSCLKDRHDFGFPPQ
EEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDS SA AWDETL
LDK FYTELYQQ LNDLEACVIQGVGVTEETPLMKEDSILAVR
KYFQRITLYLKEKKYS PCAWEVVR AEIMRSFSLSTNLQES
LRSKE (配列番号6)。

【0068】

ある例示的实施形態では、改変シグナル伝達物質は、下記のアミノ酸配列を有するアレル型IFN 2bである：

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPPQ
EEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDS SA AWDETL
LDK FYTELYQQ LNDLEACVIQGVGVTEETPLMKEDSILAVR
KYFQRITLYLKEKKYS PCAWEVVR AEIMRSFSLSTNLQESL
RSKE (配列番号7；これは、アミノ酸位置23でIFN 2aとは異なる。

【0069】

いくつかの実施形態では、上記IFN 2変異体 (IFN 2aまたはIFN 2b)は、位置144~154、例えば、アミノ酸位置148、149およびノまたは153で、1個または複数のアミノ酸の変異が導入されている。いくつかの実施形態では、IFN 2変異体は、L153A、R149A、およびM148Aから選択される1個または複数の変異を含む。このような変異体は、例えば、国際公開第2013/107791号およびPiehlerら、(2000) J. Biol. Chem., 275: 40425-33に記載されている。これらの文献の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。

【0070】

いくつかの実施形態では、IFN 2変異体は、IFNAR1に対する低減された親和性およびノまたは活性を有する。いくつかの実施形態では、国際公開第2010/030671号に記載のように、IFN 2変異体は、F64A、N65A、T69A、L80A、Y85A、およびY89Aから選択される1個または複数の変異を含む。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0071】

いくつかの実施形態では、国際公開第2008/124086号に記載のように、IFN 2変異体は、K133A、R144A、R149A、およびL153Aから選択される1個または複数の変異を含む。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0072】

いくつかの実施形態では、国際公開第2015/007520号および国際公開第2010/030671号に記載のように、IFN 2変異体は、R120EおよびR120E/K121Eから選択される1個または複数の変異を含む。これらの特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。このような実施形態では、前記IFN 2変異体は、野生型IFN 活性2をアンタゴニズする。このような実施形態では、上記変異体IFN 2は、IFNAR1に対する低減された親和性およびノまたは活性を有するが、IFNAR2に対する活性は保持される。

【0073】

いくつかの実施形態では、ヒトIFN 2変異体は、(1) R120EおよびR120E/K121Eから選択される1個または複数の変異 (理論に束縛されることを望むものではないが、これらはアンタゴニスト効果を作り出す)、および(2) K133A、R144A、R149A、およびL153Aから選択される1個または複数の変異 (理論に束縛されることを望むものではないが、これらは、例えば、IFNAR2に対する減弱化効果

10

20

30

40

50

を可能とする)を含む。ある実施形態では、ヒトIFN 2変異体は、R120EおよびL153Aを含む。

【0074】

いくつかの実施形態では、ヒトIFN 2変異体は、国際公開第2013/059885号に開示の、L15A、A19W、R22A、R23A、L26A、F27A、L30A、L30V、K31A、D32A、R33K、R33A、R33Q、H34A、D35A、Q40A、T106A、T106E、D114R、L117A、R120A、R125A、K134A、R144A、A145G、A145M、M148A、R149A、S152A、L153A、およびN156Aから選択される1個または複数の変異を含む。この特許の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、国際公開第2013/059885号で開示のように、ヒトIFN 2変異体は、変異H57Y、E58N、Q61S、および/またはL30Aを含む。いくつかの実施形態では、国際公開第2013/059885号で開示のように、ヒトIFN 2変異体は、変異H57Y、E58N、Q61S、および/またはR33Aを含む。いくつかの実施形態では、国際公開第2013/059885号で開示のように、ヒトIFN 2変異体は、変異H57Y、E58N、Q61S、および/またはM148Aを含む。いくつかの実施形態では、国際公開第2013/059885号で開示のように、ヒトIFN 2変異体は、変異H57Y、E58N、Q61S、および/またはL153Aを含む。いくつかの実施形態では、国際公開第2013/059885号で開示のように、ヒトIFN 2変異体は、変異N65A、L80A、Y85A、および/またはY89Aを含む。いくつかの実施形態では、国際公開第2013/059885号で開示のように、ヒトIFN 2変異体は、変異N65A、L80A、Y85A、Y89A、および/またはD114Aを含む。

【0075】

種々の実施形態では、シグナル伝達物質は、変異体ヒトIFN 2である。いくつかの実施形態では、変異体ヒトIFN 2は、配列番号6または7と少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、変異体ヒトIFN 2は、配列番号6または7のアミノ酸配列を有する野生型IFN 2に比べて、改善された安全性を付与する1個または複数の変異を有する。いくつかの実施形態では、IFN 2は、配列番号6または7を基準にして、位置144~154に1個または複数の変異を有する。いくつかの実施形態では、ヒトIFN 2は、配列番号6または7を基準にして、位置L15、A19、R22、R23、L26、F27、L30、K31、D32、R33、H34、D35、Q40、H57、E58、Q61、F64、N65、T69、L80、Y85、Y89、D114、L117、R120、R125、K133、K134、R144、A145、M148、R149、S152、L153、およびN156に1個または複数の変異を有する。いくつかの実施形態では、変異体IFN 2は、配列番号6または7を基準にして、位置R149、M148、またはL153に1個または複数の変異を有する。いくつかの実施形態では、1個または複数の変異は、配列番号6または7を基準にして、L15A、A19W、R22A、R23A、L26A、F27A、L30A、L30V、K31A、D32A、R33K、R33A、R33Q、H34A、D35A、Q40A、H57Y、E58N、Q61S、F64A、N65A、T69A、L80A、Y85A、Y89A、D114R、L117A、R120A、R125A、K133A、K134A、R144A、A145G、A145M、M148A、R149A、S152A、L153A、およびN156Aの1個または複数である。いくつかの実施形態では、変異体ヒトIFN 2は、配列番号6または7を基準にして、R149A変異を有する。

【0076】

いくつかの実施形態では、変異体ヒトIFN 2は、配列番号6または7を基準にして、位置R33、R144、A145、M148、R149、およびL153に1個または複数の変異を有する。いくつかの実施形態では、変異体ヒトIFN 2は、配列番号6または7を基準にして、R33A、R144A、R144I、R144L、R144S、R144T、R144Y、A145D、A145G、A145H、A145K、A145Y、

M 1 4 8 A、R 1 4 9 A、および L 1 5 3 A 変異を有する。

【 0 0 7 7 】

いくつかの実施形態では、変異体ヒト I F N 2 は、配列番号 6 または 7 を基準にして、位置 R 3 3、T 1 0 6、R 1 4 4、A 1 4 5、M 1 4 8、R 1 4 9、および L 1 5 3 に 1 個または複数の変異を有する。いくつかの実施形態では、変異体ヒト I F N 2 は、配列番号 6 または 7 のアミノ酸配列を基準にして R 3 3 A、T 1 0 6 X₃、R 1 2 0 E、R 1 4 4 X₁、A 1 4 5 X₂、M 1 4 8 A、R 1 4 9 A、および L 1 5 3 A から選択される 1 個または複数の変異を有し、X₁ は、A、S、T、Y、L、および I から選択され、X₂ は、G、H、Y、K、および D から選択され、X₃ は、A および E から選択される。

【 0 0 7 8 】

いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、野生型インターフェロン 1 または改変インターフェロン 1 である。いくつかの実施形態では、本発明は、野生型 I F N 1 を含むキメラタンパク質または F c ベースキメラタンパク質複合体を提供する。種々の実施形態では、野生型 I F N 1 は、次のアミノ酸配列を含む：

C D L P E T H S L D N R R T L M L L A Q M S R I S P S S C L M D R H D F G F P Q
E E F D G N Q F Q K A P A I S V L H E L I Q Q I F N L F T T K D S S A A W D E D
L L D K F C T E L Y Q Q L N D L E A C V M Q E E R V G E T P L M N A D S I L A V
K K Y F R R I T L Y L T E K K Y S P C A W E V V R A E I M R S L S L S T N L Q E
R L R R K E (配列番号 7 4) 。

【 0 0 7 9 】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質または F c ベースキメラタンパク質複合体は、シグナル伝達物質として、改変型の I F N 1、すなわち、I F N 1 変異体を含む I F N 1 バリエーションを含む。種々の実施形態では、I F N 1 バリエーションは、インターフェロンの変異体、機能性誘導体、類似体、前駆物質、アイソフォーム、スプライスバリエーション、またはフラグメントを包含する。

【 0 0 8 0 】

いくつかの実施形態では、I F N 1 インターフェロンは、配列番号 7 4 を基準にして、位置 L 1 5、A 1 9、R 2 3、S 2 5、L 3 0、D 3 2、R 3 3、H 3 4、Q 4 0、C 8 6、D 1 1 5、L 1 1 8、K 1 2 1、R 1 2 6、E 1 3 3、K 1 3 4、K 1 3 5、R 1 4 5、A 1 4 6、M 1 4 9、R 1 5 0、S 1 5 3、L 1 5 4、および N 1 5 7 で 1 個または

複数のアミノ酸変異を有するように改変される。変異は任意選択で、疎水性の変異であってよく、例えば、アラニン、バリン、ロイシン、およびイソロイシンから選択され得る。いくつかの実施形態では、I F N 1 インターフェロンは、配列番号 1 0 4 2 を基準にして、L 1 5 A、A 1 9 W、R 2 3 A、S 2 5 A、L 3 0 A、L 3 0 V、D 3 2 A、R 3 3 K、R 3 3 A、R 3 3 Q、H 3 4 A、Q 4 0 A、C 8 6 S、C 8 6 A、D 1 1 5 R、L 1 1 8 A、K 1 2 1 A、K 1 2 1 E、R 1 2 6 A、R 1 2 6 E、E 1 3 3 A、K 1 3 4 A、K 1 3 5 A、R 1 4 5 A、R 1 4 5 D、R 1 4 5 E、R 1 4 5 G、R 1 4 5 H、R 1 4 5 I、R 1 4 5 K、R 1 4 5 L、R 1 4 5 N、R 1 4 5 Q、R 1 4 5 S、R 1 4 5 T、R 1 4 5 V、R 1 4 5 Y、A 1 4 6 D、A 1 4 6 E、A 1 4 6 G、A 1 4 6 H、A 1 4 6 I、A 1 4 6 K、A 1 4 6 L、A 1 4 6 M、A 1 4 6 N、A 1 4 6 Q、A 1 4 6 R、A 1 4 6 S、A 1 4 6 T、A 1 4 6 V、A 1 4 6 Y、M 1 4 9 A、M 1 4 9 V、R 1 5 0 A、S 1 5 3 A、L 1 5 4 A、および N 1 5 7 A から選択される 1 個または複数の変異を有するように改変される。いくつかの実施形態では、I F N 1 変異体は、配列番号 7 4 を基準にして、L 3 0 A / H 5 8 Y / E 5 9 N _ Q 6 2 S、R 3 3 A / H 5 8 Y / E 5 9 N / Q 6 2 S、M 1 4 9 A / H 5 8 Y / E 5 9 N / Q 6 2 S、L 1 5 4 A / H 5 8 Y / E 5 9 N / Q 6 2 S、R 1 4 5 A / H 5 8 Y / E 5 9 N / Q 6 2 S、D 1 1 5 A / R 1 2 1 A、L 1 1 8 A / R 1 2 1 A、L 1 1 8 A / R 1 2 1 A / K 1 2 2 A、R 1 2 1 A / K 1 2 2 A、および R 1 2 1 E / K 1 2 2 E から選択される 1 個または複数の変異を含む。

【 0 0 8 1 】

いくつかの実施形態では、I F N 1 は、望ましくないジスルフィド対形成を低減する 1

10

20

30

40

50

個または複数の変異を含むバリエーションであり、1個または複数の変異は、例えば、配列番号74を基準にして、アミノ酸位置C1、C29、C86、C99、またはC139にある。いくつかの実施形態では、位置C86での変異は、例えば、C86SまたはC86AまたはC86Yであり得る。IFN 1のこれらのC86変異体は、還元システインによる凝集変異体と呼ばれる。いくつかの実施形態では、IFN 1バリエーションは、配列番号74を基準にして位置C1、C86およびC99に変異を含む。

【0082】

いくつかの実施形態では、野生型または改変シグナル伝達物質は、IFN である。いくつかの実施形態では、IFN は、下記に示す配列を有するヒトである：

```
MSYNLLGFLQRS SNFQCQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDI 10
PEEIKQLQQFQKEDAAALTIYEMLQNIFAIFRQDSSSTGWN
ETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSL
HLKRYYGRI LHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRL
TGYLRN (配列番号38)。
```

【0083】

種々の実施形態では、IFN は、機能性誘導体、類似体、前駆物質、アイソフォーム、スプライスバリエーション、またはIFN のフラグメントを包含する。種々の実施形態では、IFN は、任意の種由来のIFN を包含する。ある実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、改変型のマウスIFN を含む。別の実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、改変型のヒトIFN を含む。ヒトIFN は、166個のアミノ酸残基を含む約22kDaの分子量を有するポリペプチドである。ヒトIFN のアミノ酸配列は、配列番号38である。

【0084】

いくつかの実施形態では、ヒトIFN は、ヒトIFN のグリコシル化型であるIFN 1aである。いくつかの実施形態では、IFN は、Met-1欠失およびCys-17のSerへの変異を有する非グリコシル化型のヒトIFN である、IFN 1bである。

【0085】

種々の実施形態では、改変IFN は、IFNARのIFNAR1サブユニットに対するその結合または親和性を低減する、1個または複数の変異を有する。一実施形態では、改変IFN は、IFNAR1に対する低減された親和性および/または活性を有する。種々の実施形態では、改変IFN は、ヒトIFN であり、位置F67、R71、L88、Y92、I95、N96、K123、およびR124に1個または複数の変異を有する。いくつかの実施形態では、1個または複数の変異は、F67G、F67S、R71A、L88G、L88S、Y92G、Y92S、I95A、N96G、K123G、およびR124Gから選択される置換である。ある実施形態では、改変IFN は、F67G変異を含む。ある実施形態では、改変IFN は、K123G変異を含む。ある実施形態では、改変IFN は、F67GおよびR71A変異を含む。ある実施形態では、改変IFN は、L88GおよびY92G変異を含む。ある実施形態では、改変IFN は、Y92G、I95A、およびN96G変異を含む。ある実施形態では、改変IFN は、K123GおよびR124G変異を含む。ある実施形態では、改変IFN は、F67G、L88G、およびY92G変異を含む。ある実施形態では、改変IFN は、F67S、L88S、およびY92S変異を含む。

【0086】

いくつかの実施形態では、改変IFN は、IFNARのIFNAR2サブユニットに対するその結合または親和性を低減する、1個または複数の変異を有する。一実施形態では、改変IFN は、IFNAR2に対する低減された親和性および/または活性を有する。種々の実施形態では、改変IFN は、ヒトIFN であり、位置W22、R27、L32、R35、V148、L151、R152、およびY155に1個または複数の変異

10

20

30

40

50

を有する。いくつかの実施形態では、1個または複数の変異は、W 2 2 G、R 2 7 G、L 3 2 A、L 3 2 G、R 3 5 A、R 3 5 G、V 1 4 8 G、L 1 5 1 G、R 1 5 2 A、R 1 5 2 G、および Y 1 5 5 G から選択される置換である。ある実施形態では、改変 I F N は、W 2 2 G 変異を含む。ある実施形態では、改変 I F N は、L 3 2 A 変異を含む。ある実施形態では、改変 I F N は、L 3 2 G 変異を含む。ある実施形態では、改変 I F N は、R 3 5 A 変異を含む。ある実施形態では、改変 I F N は、R 3 5 G 変異を含む。ある実施形態では、改変 I F N は、V 1 4 8 G 変異を含む。ある実施形態では、改変 I F N は、R 1 5 2 A 変異を含む。ある実施形態では、改変 I F N は、R 1 5 2 G 変異を含む。ある実施形態では、改変 I F N は、Y 1 5 5 G 変異を含む。ある実施形態では、改変 I F N は、W 2 2 G および R 2 7 G 変異を含む。ある実施形態では、改変 I F N は、L 3 2 A および R 3 5 A 変異を含む。ある実施形態では、改変 I F N は、L 1 5 1 G および R 1 5 2 A 変異を含む。ある実施形態では、改変 I F N は、V 1 4 8 G および R 1 5 2 A 変異を含む。

10

【0087】

いくつかの実施形態では、改変 I F N は、1個または複数の次の変異を有する：R 3 5 A、R 3 5 T、E 4 2 K、M 6 2 I、G 7 8 S、A 1 4 1 Y、A 1 4 2 T、E 1 4 9 K、および R 1 5 2 H。いくつかの実施形態では、改変 I F N は、1個または複数の次の変異を有する：C 1 7 S または C 1 7 A と組み合わせた、R 3 5 A、R 3 5 T、E 4 2 K、M 6 2 I、G 7 8 S、A 1 4 1 Y、A 1 4 2 T、E 1 4 9 K、および R 1 5 2 H。

【0088】

いくつかの実施形態では、改変 I F N は、1個または複数の次の変異を有する：本明細書に記載の他の I F N 変異と組み合わせた、R 3 5 A、R 3 5 T、E 4 2 K、M 6 2 I、G 7 8 S、A 1 4 1 Y、A 1 4 2 T、E 1 4 9 K、および R 1 5 2 H。

20

【0089】

ヒト I F N の結晶構造は既知であり、Karpusas et al., (1998) PNAS, 94(22): 11813-11818 に記載されている。特に、ヒト I F N の構造は、5つのヘリックス(すなわち、A、B、C、D、およびE)およびこれらのヘリックスを連結する4つのループ領域(すなわち、AB、BC、CD、およびDEループ)を含むことが示された。種々の実施形態では、改変 I F N は、A、B、C、D、Eヘリックスおよび/またはAB、BC、CD、およびDEループ中に、I F N A Rなどの治療受容体に対するその結合親和性または活性を低減させる1個または複数の変異を有する。代表的変異は、国際公開第2000/023114号および米国特許出願公開第2015/0011732号に記載されている。これらの全内容は参照により本明細書に組み込まれる。代表的実施形態では、改変 I F N は、アミノ酸位置15、16、18、19、22、および/または23にアラニン置換を含むヒト I F N である。代表的実施形態では、改変 I F N は、アミノ酸位置28~30、32、および33にアラニン置換を含むヒト I F N である。代表的実施形態では、改変 I F N は、アミノ酸位置36、37、39、および42にアラニン置換を含むヒト I F N である。代表的実施形態では、改変 I F N は、アミノ酸位置64および67にアラニン置換を含み、位置68にセリン置換を含むヒト I F N である。代表的実施形態では、改変 I F N は、アミノ酸位置71~73にアラニン置換を含むヒト I F N である。代表的実施形態では、改変 I F N は、アミノ酸位置92、96、99、および100にアラニン置換を含むヒト I F N である。代表的実施形態では、改変 I F N は、アミノ酸位置128、130、131、および134にアラニン置換を含むヒト I F N である。代表的実施形態では、改変 I F N は、アミノ酸位置149、153、156、および159にアラニン置換を含むヒト I F N である。

30

40

【0090】

いくつかの実施形態では、変異体 I F N は、配列番号38を含み、W 2 2 に変異を含み、変異は、グリシン(G)、アラニン(A)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である。

50

【0091】

いくつかの実施形態では、変異体 I F N は、配列番号 38 を含み、R 27 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である。

【0092】

いくつかの実施形態では、変異体 I F N は、配列番号 38 を含み、W 22 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基であり、さらに R 27 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である。

10

【0093】

いくつかの実施形態では、変異体 I F N は、配列番号 38 を含み、L 32 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である。

【0094】

いくつかの実施形態では、変異体 I F N は、配列番号 38 を含み、R 35 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である。

【0095】

いくつかの実施形態では、変異体 I F N は、配列番号 38 を含み、L 32 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基であり、さらに R 35 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である。

20

【0096】

いくつかの実施形態では、変異体 I F N は、配列番号 38 を含み、F 67 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である。

【0097】

いくつかの実施形態では、変異体 I F N は、配列番号 38 を含み、R 71 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である。

30

【0098】

いくつかの実施形態では、変異体 I F N は、配列番号 38 を含み、F 67 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基であり、さらに R 71 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である。

40

【0099】

いくつかの実施形態では、変異体 I F N は、配列番号 38 を含み、L 88 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である。

【0100】

いくつかの実施形態では、変異体 I F N は、配列番号 38 を含み、Y 92 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である。

【0101】

いくつかの実施形態では、変異体 I F N は、配列番号 38 を含み、F 67 に変異を含み

50

【0109】

いくつかの実施形態では、変異体 I F N は、配列番号 38 を含み、L 1 5 1 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である。

【0110】

いくつかの実施形態では、変異体 I F N は、配列番号 38 を含み、R 1 5 2 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である。

【0111】

いくつかの実施形態では、変異体 I F N は、配列番号 38 を含み、L 1 5 1 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基であり、さらに R 1 5 2 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である。

10

【0112】

いくつかの実施形態では、変異体 I F N は、配列番号 38 を含み、V 1 4 8 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、およびメチオニン (M) から選択される脂肪族疎水性残基である。

【0113】

いくつかの実施形態では、変異体 I F N は、配列番号 38 を含み、V 1 4 8 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基であり、さらに R 1 5 2 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である。

20

【0114】

いくつかの実施形態では、変異体 I F N は、配列番号 38 を含み、Y 1 5 5 に変異を含み、変異は、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である。

【0115】

いくつかの実施形態では、野生型または改変シグナル伝達物質は I L - 1 である。ある実施形態では、野生型 I L - 1 は、下記のアミノ酸配列を有する：

A P V R S L N C T L R D S Q Q K S L V M S G P Y E L K A L H L Q G Q D M E Q Q V
V F S M S F V Q G E E S N D K I P V A L G L K E K N L Y L S C V L K D D K P T L
Q L E S V D P K N Y P K K K M E K R F V F N K I E I N N K L E F E S A Q F P N W
Y I S T S Q A E N M P V F L G G T K G G Q D I T D F T M Q F V S S (配列番号 3 9)

30

【0116】

I L 1 は、炎症促進性のサイトカインであり、重要な免疫系制御因子である。それは、C D 4 T 細胞応答の強力な活性化因子であり、T h 1 7 細胞の比率を高め、I F N および I L 4 産生細胞の増殖を増大させる。I L 1 はまた、C D 8 + T 細胞の強力な制御因子であり、抗原特異的 C D 8 + T 細胞増殖、分化、周辺部への移動および記憶を強化する。I L 1 受容体には、I L 1 R 1 および I L 1 R 2 が含まれる。I L 1 R 1 への結合および I L 1 R 1 を介したシグナル伝達は、I L 1 が多くのその生物学的 (および病理学的) 作用を媒介する機序を構成する。I L 1 R 2 は、デコイ受容体として機能できることにより、I L 1 R 1 を介した相互作用およびシグナル伝達を行うための I L 1 の利用可能性を減らす。

40

【0117】

いくつかの実施形態では、野生型または改変シグナル伝達物質 I L 1 は、I L 1 R 1 に対する低減された親和性および / または活性 (例えば、アゴニスト活性) を有する。いくつ

50

かの実施形態では、改変 I L 1 は、I L 1 R 2 に対する実質的に低減または除去された親和性および / または活性を有する。このような実施形態では、回復可能な I L 1 / I L 1 R 1 シグナル伝達ならびに I L R 2 に対する治療用キメラタンパク質または F c ベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の損失の防止およびその結果としての必要な I L 1 投与量の削減（例えば、野生型または I L R 1 に対する減弱化変異のみを有するキメラタンパク質または F c ベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体に比べて）がもたらされる。このような構築物は、例えば、免疫系を刺激して抗癌応答を開始することを含む、例えば、癌を治療する方法で使用される。

【 0 1 1 8 】

このような実施形態では、改変シグナル伝達物質は、アミノ酸 5 2 ~ 5 4 の欠失を有し、これは、I 型 I L 1 R に対して、低減された結合親和性および低減された生物活性を有する改変ヒト I L - 1 が産生する。例えば、国際公開第 1 9 9 4 / 0 0 0 4 9 1 号を参照されたい。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、改変ヒト I L - 1 は、A 1 1 7 G / P 1 1 8 G、R 1 2 0 X、L 1 2 2 A、T 1 2 5 G / L 1 2 6 G、R 1 2 7 G、Q 1 3 0 X、Q 1 3 1 G、K 1 3 2 A、S 1 3 7 G / Q 1 3 8 Y、L 1 4 5 G、H 1 4 6 X、L 1 4 5 A / L 1 4 7 A、Q 1 4 8 X、Q 1 4 8 G / Q 1 5 0 G、Q 1 5 0 G / D 1 5 1 A、M 1 5 2 G、F 1 6 2 A、F 1 6 2 A / Q 1 6 4 E、F 1 6 6 A、Q 1 6 4 E / E 1 6 7 K、N 1 6 9 G / D 1 7 0 G、I 1 7 2 A、V 1 7 4 A、K 2 0 8 E、K 2 0 9 X、K 2 0 9 A / K 2 1 0 A、K 2 1 9 X、E 2 2 1 X、E 2 2 1 S / N 2 2 4 A、N 2 2 4 S / K 2 2 5 S、E 2 4 4 K、N 2 4 5 Q から選択される 1 個または複数の置換変異（X はアミノ酸の任意の変化、例えば、非保存的变化であり得る）を有し、これらは、例えば、全内容が参照により本明細書に組み込まれる、国際公開第 2 0 1 5 / 0 0 7 5 4 2 号および国際公開第 2 0 1 5 / 0 0 7 5 3 6 号に記載のように、I L 1 R に対し低減された結合を示す（ジェンバンク受入番号 N P _ 0 0 0 5 6 7、バージョン N P - 0 0 0 5 6 7 . 1、G I : 1 0 8 3 5 1 4 5、ヒト I L - 1 配列に基づいてナンバリング）。いくつかの実施形態では、改変ヒト I L - 1 は、R 1 2 0 A、R 1 2 0 G、Q 1 3 0 A、Q 1 3 0 W、H 1 4 6 A、H 1 4 6 G、H 1 4 6 E、H 1 4 6 N、H 1 4 6 R、Q 1 4 8 E、Q 1 4 8 G、Q 1 4 8 L、K 2 0 9 A、K 2 0 9 D、K 2 1 9 S、K 2 1 9 Q、E 2 2 1 S および E 2 2 1 K から選択される 1 個または複数の変異を有し得る。ある実施形態では、改変ヒト I L - 1 は、変異 Q 1 3 1 G および Q 1 4 8 G を含む。ある実施形態では、改変ヒト I L - 1 は、変異 Q 1 4 8 G および K 2 0 8 E を含む。ある実施形態では、改変ヒト I L - 1 は、変異 R 1 2 0 G および Q 1 3 1 G を含む。ある実施形態では、改変ヒト I L - 1 は、変異 R 1 2 0 G および H 1 4 6 A を含む。ある実施形態では、改変ヒト I L - 1 は、変異 R 1 2 0 G および H 1 4 6 N を含む。ある実施形態では、改変ヒト I L - 1 は、変異 R 1 2 0 G および H 1 4 6 R を含む。ある実施形態では、改変ヒト I L - 1 は、変異 R 1 2 0 G および H 1 4 6 E を含む。ある実施形態では、改変ヒト I L - 1 は、変異 R 1 2 0 G および H 1 4 6 G を含む。ある実施形態では、改変ヒト I L - 1 は、変異 R 1 2 0 G および K 2 0 8 E を含む。ある実施形態では、改変ヒト I L - 1 は、変異 R 1 2 0 G、F 1 6 2 A、および Q 1 6 4 E を含む。改変ヒト I L - 1 変異は、配列番号 3 9 に対するものである。

【 0 1 1 9 】

種々の実施形態では、1 個または複数のシグナル伝達物質の変異は、野生型シグナル伝達物質に比べて、キメラタンパク質または F c ベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体に対する改善された安全性を付与し得る。変異は、限定されないが、シグナル伝達物質の受容体に対する低減された親和性および / またはシグナル伝達物質の受容体に対する低減された生物活性を含む、種々の他の有益な性質を付与し得る。いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質の 1 個または複数の変異は、シグナル伝達物質の活性の減弱化を可能にする。例えば、シグナル伝達物質のアゴニスト活性またはアンタゴニスト活性が、減弱化され得る。さらに、いくつかの実施形態では、改変シグナル伝達物質は、その活性をアゴニスト活性からアンタゴニスト活性に変換する 1 個または複数の変異を

含む。

【0120】

いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、1個または複数のターゲティング部分への付着によりまたは本明細書で開示のFcベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体中への包含時に回復可能である、低減された親和性または活性を付与する1個または複数の変異を含む。他の実施形態では、シグナル伝達物質の1個または複数の変異は、ターゲティング部分への付着によりまたはキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体中への包含時に実質的に回復可能ではない、実質的に低減または除去された親和性または活性を付与する。

【0121】

いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、樹状細胞、T細胞、B細胞、マクロファージ、好中球、骨髄派生サブレッサー細胞、またはNK細胞から選択できる、免疫細胞に向けられる。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、造血幹細胞(HSC)、早期前駆細胞、未成熟胸腺細胞、または定常状態樹状細胞(DC)に向けられる。ターゲティング部分は、目的の抗原または受容体を機能的に調節できる。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、目的の抗原または受容体を結合するが機能的に調節しない。

【0122】

Fcドメイン

断片結晶化可能ドメイン(Fcドメイン)は、免疫系、例えば、Bリンパ球、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、マクロファージ、好中球、好酸球、好塩基球、およびマスト細胞に關与する細胞の細胞表面上に位置するFc受容体と相互作用する抗体のテール領域である。IgG、IgAおよびIgD抗体アイソタイプでは、Fcドメインは、抗体の2個の重鎖の第2および第3の定常ドメイン由来の、2個の同一のタンパク質フラグメントで構成される。IgMおよびIgE抗体アイソタイプでは、Fcドメインは、各ポリペプチド鎖中の3個の重鎖定常ドメイン(CHドメイン2~4)を含む。

【0123】

いくつかの実施形態では、本技術のFcベースキメラタンパク質複合体は、Fcドメインを含む。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、IgG、IgA、IgD、IgM、またはIgEから選択される。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4から選択される。

【0124】

いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ヒトIgG、IgA、IgD、IgM、またはIgEから選択される。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4から選択される。

【0125】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体のFcドメインは、IgGのCH2およびCH3領域を含む。一部の実施形態では、IgGはヒトIgGである。いくつかの実施形態では、ヒトIgGは、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4から選択される。

【0126】

いくつかの実施形態では、Fcドメインは1個または複数の変異を含む。いくつかの実施形態では、Fcドメインに対する変異は、Fcドメインのエフェクター機能を低減または除去する。いくつかの実施形態では、変異Fcドメインは、標的受容体に対する低減された親和性または結合を有する。例えば、いくつかの実施形態では、Fcドメインに対する変異は、FcRへのFcドメインの結合を低減または除去する。いくつかの実施形態では、FcRは、FcRI; FcRIIa、131R/R; FcRIIa, 131H/H、FcRIIb; およびFcRIIIから選択される、いくつかの実施形態では、Fcドメインに対する変異は、例えば、C1qなどの相補体タンパク質への結合を低減または除去する。いくつかの実施形態では、Fcドメインに対する変異は、FcRお

10

20

30

40

50

よび例えば、C1qなどの相補体タンパク質の両方への結合を低減または除去する。

【0127】

いくつかの実施形態では、FcドメインはLALA変異を含み、Fcドメインのエフェクター機能を低減または除去する。例えば、いくつかの実施形態では、LALA変異は、ヒトIgG（例えば、IgG1）中にL234AおよびL235A置換を含む（ナンバリングは、EU規則（PNAS, Edelmann et al., 1969; 63(1)78-85））に準拠して、ヒトIgG1に対しよく使われるCH2残基のナンバリングを基準にする）。

【0128】

いくつかの実施形態では、ヒトIgGのFcドメインは、位置46.に変異を含み、Fcドメインのエフェクター機能を低減または除去する。例えば、いくつかの実施形態では、変異は、L234A、L234F、L235A、L235E、L235Q、K322A、K322Q、D265A、P329G、P329A、P331G、およびP331Sから選択される。

【0129】

いくつかの実施形態では、FcドメインはFALA変異を含み、Fcドメインのエフェクター機能を低減または除去する。例えば、いくつかの実施形態では、FALA変異は、ヒトIgG4中のF234AおよびL235A置換を含む。

【0130】

いくつかの実施形態では、ヒトIgG4のFcドメインは、F234、L235、K322、D265、およびP329の内の1個または複数の位置で変異を含み、Fcドメインのエフェクター機能を低減または除去する。例えば、いくつかの実施形態では、変異は、F234A、L235A、L235E、L235Q、K322A、K322Q、D265A、P329G、およびP329Aから選択される。

【0131】

いくつかの実施形態では、Fcドメインに対する変異は、Fcドメインのヒンジ領域を安定化する。例えば、いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ヒトIgGのS228の位置に変異を含み、ヒンジ領域を安定化する。いくつかの実施形態では、変異はS228Pである。

【0132】

いくつかの実施形態では、Fcドメインに対する変異は、Fcドメインの鎖対形成を促進する。いくつかの実施形態では、鎖対形成は、イオン対形成（別名：荷電対、イオン結合、または荷電残基対）により促進される。

【0133】

いくつかの実施形態では、Fcドメインは、イオン対形成を促進するために、次のもう1個のIgGのアミノ酸残基の位置に変異を含む：D356、E357、L368、K370、K392、D399、およびK409。

【0134】

例えば、いくつかの実施形態では、ヒトIgG Fcドメインは、イオン対形成を促進するために、表1中の変異の組み合わせの1個を含む。

10

20

30

40

【表 1】

表 1	
片方のFc鎖上の置換	もう一方のFc鎖上の置換
D356K D399K	K392D K409D
E357R L368R	K370D K409D
E357R L368K	K370D K409D
E357R D399K	K370D K409D
E357R	K370D
L368R D399K	K392D K409D
L368K D399K	K392D K409D
L368R D399K	K409D
L368K D399K	K409D
L368R	K409D
L368K	K409D
K370D K409D	E357R D399K
K370D K409D	E357R L368R
K370D K409D	E357R L368K
K370D K409D	E357R D399K
K370D K409D	E357R L368R
K370D K409D	E357R L368K
K370D	E357R
K370D	E357R
K392D K409D	D356K D399K
K392D K409D	L368R D399K
K392D K409D	L368K D399K
K392D K409D	D399K
D399K	K392D K409D
D399K	K409D
K409D	L368R
K409D	L368K
K409D	L368R D399K
K409D	L368K D399K
K409D	L368R
K409D	L368K
K409D	L368R D399K
K409D	L368K D399K
K409D	D399K

10

20

30

40

【0135】

いくつかの実施形態では、鎖対形成は、ノブインホール変異により促進される。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、1個または複数の変異を含み、Fcドメイン中のノブインホール相互作用を可能にする。いくつかの実施形態では、第1のFc鎖は、「ノブ」を発現するように改変され、第2のFc鎖は、相補的「ホール」を発現するように改変される。例えば、いくつかの実施形態では、ヒトIgG Fcドメインは、表2の変異を含み、ノブインホール相互作用を可能にする。

50

【表 2】

表 2	
片方のFc鎖上の置換	もう一方のFc鎖上の置換
T366Y	Y407T
T366Y/F405A	T394W/Y407T
T366W	Y407A
T366W	Y407V
T366Y	Y407A
T366Y	Y407V
T366Y	Y407T

10

【0136】

いくつかの実施形態では、本技術のFcベースキメラタンパク質複合体中のFcドメインは、上記で開示の変異の任意の組み合わせを含む。例えば、いくつかの実施形態では、Fcドメインは、イオン対形成および/またはノブインホール相互作用を促進する変異を含む。例えば、いくつかの実施形態では、Fcドメインは、次の特性の内の1個または複数を含む：イオン対形成を促進する、ノブインホール相互作用を誘導する、Fcドメインのエフェクター機能を低減または除去する、およびFc安定化（例えば、ヒンジ）をもたらす。

20

【0137】

例えば、いくつかの実施形態では、ヒトIgG Fcドメインは、表3に開示の変異を含み、それらはFcドメイン中のイオン対形成を促進し、および/またはノブインホール相互作用を促進する。

30

40

50

【表 3】

表 3	
片方のFc鎖上の置換	もう一方のFc鎖上の置換
T366W K370D	E357R Y407A
T366W K370D	E357R Y407V
T366W K409D	L368R Y407A
T366W K409D	L368R Y407V
T366W K409D	L368K Y407A
T366W K409D	L368K Y407V
T366W K409D	L368R D399K Y407A
T366W K409D	L368R D399K Y407V
T366W K409D	L368K D399K Y407A
T366W K409D	L368K D399K Y407V
T366W K409D	D399K Y407A
T366W K409D	D399K Y407V
T366W K392D K409D	D399K Y407A
T366W K392D K409D	D399K Y407V
T366W K392D K409D	D356K D399K Y407A
T366W K392D K409D	D356K D399K Y407V
T366W K370D K409D	E357R D399K Y407A
T366W K370D K409D	E357R D399K Y407V
T366W K370D K409D	E357R L368R Y407A
T366W K370D K409D	E357R L368R Y407V
T366W K370D K409D	E357R L368K Y407A
T366W K370D K409D	E357R L368K Y407V
T366W K392D K409D	L368R D399K Y407A
T366W K392D K409D	L368R D399K Y407V
T366W K392D K409D	L368K D399K Y407A
T366W K392D K409D	L368K D399K Y407V
E357R T366W	K370D Y407A
E357R T366W	K370D Y407V
T366W L368R	Y407A K409D
T366W L368R	Y407V K409D
T366W L368K	Y407A K409D
T366W L368K	Y407V K409D
T366W L368R D399K	Y407A K409D
T366W L368R D399K	Y407V K409D
T366W L368K D399K	Y407A K409D
T366W L368K D399K	Y407V K409D
T366W D399K	Y407A K409D
T366W D399K	Y407V K409D
I366W D399K	K392D Y407A K409D
T366W D399K	K392D Y407V K409D
T366W D356K D399K	K392D Y407A K409D
T366W D356K D399K	K392D Y407V K409D
E357R T366W D399K	K370D Y407A K409D
E357R T366W D399K	K370D Y407V K409D
E357R T366W L368R	K370D Y407A K409D

10

20

30

40

50

表 3	
片方のFc鎖上の置換	もう一方のFc鎖上の置換
E357R T366W L368R	K370D Y407V K409D
E357R T366W L368K	K370D Y407A K409D
E357R T366W L368K	K370D Y407V K409D
T366W L368R D399K	K392D Y407A K409D
T366W L368R D399K	K392D Y407V K409D
T366W L368K D399K	K392D Y407A K409D

10

【 0 1 3 8 】

例えば、いくつかの実施形態では、ヒトIgG Fcドメインは、表4に開示の変異を含み、それらはFcドメインのイオン対形成を促進し、および/またはノブインホール相互作用を促進し、またはこれらの組み合わせを促進する。いくつかの実施形態では、表4の「鎖1」および「鎖2」は、入れ替え可能である（例えば、鎖1はY407Tを有することができ、鎖2はT366Yを有することができる）。

20

30

40

50

【表 4】

表 4			
鎖1変異	鎖2変異	文献	IgG
T366Y	Y407T	Ridgway <i>et al.</i> , 1996 Protein Engineering, Design and Selection, Volume 9, Issue 7, 1 July 1996, Pages 617-62	IgG1
T366Y/F405A	T394W/Y407T	Ridgway <i>et al.</i> , 1996 Protein Engineering, Design and Selection, Volume 9, Issue 7, 1 July 1996, Pages 617-62	IgG1
T366W	Y407A	Atwell <i>et al.</i> , 1997 JMB Volume 270, Issue 1, 4 July 1997, Pages 26-35	IgG1
T366W	T366S/L368V/Y407A	Atwell <i>et al.</i> , 1997 JMB Volume 270, Issue 1, 4 July 1997, Pages 26-35	IgG1
T366W	L368A/Y407A	Atwell <i>et al.</i> , 1997 JMB Volume 270, Issue 1, 4 July 1997, Pages 26-35	IgG1
T366W	T366S/L368A/Y407A	Atwell <i>et al.</i> , 1997 JMB Volume 270, Issue 1, 4 July 1997, Pages 26-35	IgG1
T366W	T366S/L368G/Y407V	Atwell <i>et al.</i> , 1997 JMB Volume 270, Issue 1, 4 July 1997, Pages 26-35	IgG1
T366W/D399C	T366S/L368A/K392C/Y407V	Merchant <i>et al.</i> , 1998 Nature Biotechnology volume 16, pages 677- 681 (1998)	IgG1
T366W/K392C	T366S/L368A/D399C/Y407V	Merchant <i>et al.</i> , 1998 Nature Biotechnology volume 16, pages 677- 681 (1998)	IgG1
S354C/T366W	Y349C/T366S/L368A/Y407V	Merchant <i>et al.</i> , 1998 Nature Biotechnology volume 16, pages 677- 681 (1998)	IgG1
Y349C/T366W	S354C/T366S/L368A/Y407V	Merchant <i>et al.</i> , 1998 Nature Biotechnology volume 16, pages 677- 681 (1998)	IgG1
E356C/T366W	Y349C/T366S/L368A/Y407V	Merchant <i>et al.</i> , 1998 Nature Biotechnology volume 16, pages 677- 681 (1998)	IgG1
Y349C/T366W	E356C/T366S/L368A/Y407V	Merchant <i>et al.</i> , 1998	IgG1

10

20

30

40

50

		Nature Biotechnology volume 16, pages 677- 681 (1998)	
E357C/T366W	Y349C/T366S/L368A/Y407V	Merchant <i>et al.</i> , 1998 Nature Biotechnology volume 16, pages 677- 681 (1998)	IgG1
Y349C/T366W	E357C/T366S/L368A/Y407V	Merchant <i>et al.</i> , 1998 Nature Biotechnology volume 16, pages 677- 681 (1998)	IgG1
D339R	K409E	Gunasekaran <i>et al.</i> , 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637-19646.	IgG1
D339K	K409E	Gunasekaran <i>et al.</i> , 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637-19646.	IgG1
D339R	K409D	Gunasekaran <i>et al.</i> , 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637-19646.	IgG1
D339K	K409D	Gunasekaran <i>et al.</i> , 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637-19646.	IgG1
D339K	K360D/K409E	Gunasekaran <i>et al.</i> , 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637-19646.	IgG1
D339K	K392D/K409E	Gunasekaran <i>et al.</i> , 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637-19646.	IgG1
D339K/E356K	K392D/K409E	Gunasekaran <i>et al.</i> , 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637-19646.	IgG1
D339K/E357K	K392D/K409E	Gunasekaran <i>et al.</i> , 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637-19646.	IgG1
D339K/E356K	K409E/K439D	Gunasekaran <i>et al.</i> , 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637-19646.	IgG1
D339K/E357K	K370D/K409E	Gunasekaran <i>et al.</i> , 2010 The Journal of	IgG1

10

20

30

40

50

		Biological Chemistry 285, 19637-19646.	
D339K/E356K/E357K	K370D/K392D/K409E	Gunasekaran <i>et al.</i> , 2010 The Journal of Biological Chemistry 285, 19637-19646.	IgG1
S364H/F405A	Y349T/T394F	Moore <i>et al.</i> , 2011 mAbs, 3:6, 546-557	IgG1
S364H/T394F	Y349T/F405A	Moore <i>et al.</i> , 2011 mAbs, 3:6, 546-557	IgG1
D221R/P228R/K409R	D221E/P228E/L368E	Strop <i>et al.</i> , 2012 JMB Volume 420, Issue 3, 13 July 2012, Pages 204- 219	IgG1
C223R/E225R/P228R/K409R	C223E/P228E/L368E	Strop <i>et al.</i> , 2012 JMB Volume 420, Issue 3, 13 July 2012, Pages 204- 219	IgG2
F405L	K409R	Labrijn <i>et al.</i> , 2013 PNAS March 26, 2013. 110 (13) 5145-5150	IgG1
F405A/Y407V	T394W	Von Kreudenstein <i>et al.</i> , 2013 mAbs Volume 5, 2013 - Issue 5, pp.644-654	IgG1
F405A/Y407V	T366I/T394W	Von Kreudenstein <i>et al.</i> , 2013 mAbs Volume 5, 2013 - Issue 5, pp.644-654	IgG1
F405A/Y407V	T366L/T394W	Von Kreudenstein <i>et al.</i> , 2013 mAbs Volume 5, 2013 - Issue 5, pp.644-654	IgG1
F405A/Y407V	T366L/K392M/T394W	Von Kreudenstein <i>et al.</i> , 2013 mAbs Volume 5, 2013 - Issue 5, pp.644-654	IgG1
L351Y/F405A/Y407V	T366L/K392M/T394W	Von Kreudenstein <i>et al.</i> , 2013 mAbs Volume 5, 2013 - Issue 5, pp.644-654	IgG1
T350V/L351Y/F405A/Y407V	T350V/T366L/K392M/T394W	Von Kreudenstein <i>et al.</i> , 2013 mAbs Volume 5, 2013 - Issue 5, pp.644-654	IgG1
T350V/L351Y/F405A/Y407V	T350V/T366L/K392L/T394W	Von Kreudenstein <i>et al.</i> , 2013 mAbs Volume 5, 2013 - Issue 5, pp.644-654	IgG1

10

20

30

40

50

K409W	D339V/F405T	Choi <i>et al.</i> , 2013 PNAS January 2, 2013. 110 (1) 270-275	IgG1	
K360E	Q347R	Choi <i>et al.</i> , 2013 PNAS January 2, 2013. 110 (1) 270-275	IgG1	
K360E/K409W	D339V/Q347R/F405T	Choi <i>et al.</i> , 2013 PNAS January 2, 2013. 110 (1) 270-275	IgG1	10
Y349C/K360E/K409W	D339V/Q347R/S354C/F405T	Choi <i>et al.</i> , 2013 PNAS January 2, 2013. 110 (1) 270-275	IgG1	
K392A/K409D	E356K/D399K	Leaver-Fey <i>et al.</i> , 2016 Structure Volume 24, Issue 4, 5 April 2016, Pages 641-651	IgG1	
T366W	T366S/L358A/Y407A	Leaver-Fey <i>et al.</i> , 2016 Structure Volume 24, Issue 4, 5 April 2016, Pages 641-651	IgG1	20
D339M/Y407A	T336V/K409V	Leaver-Fey <i>et al.</i> , 2016 Structure Volume 24, Issue 4, 5 April 2016, Pages 641-651	IgG1	
D339M/K360D/Y407A	T336V/E345R/Q347R/K409V	Leaver-Fey <i>et al.</i> , 2016 Structure Volume 24, Issue 4, 5 April 2016, Pages 641-651	IgG1	
Y349S/T366V/K370Y/K409V	E357D/S364Q/Y407A	Leaver-Fey <i>et al.</i> , 2016 Structure Volume 24, Issue 4, 5 April 2016, Pages 641-651	IgG1	30
Y349S/T366M/K370Y/K409V	E356G/E357D/S364Q/Y407A	Leaver-Fey <i>et al.</i> , 2016 Structure Volume 24, Issue 4, 5 April 2016, Pages 641-651	IgG1	
Y349S/T366M/K370Y/K409V	E357D/S364R/Y407A	Leaver-Fey <i>et al.</i> , 2016 Structure Volume 24, Issue 4, 5 April 2016, Pages 641-651	IgG1	
および米国特許出願公開第20150284475A1号の表1-3中に記載の任意の組み合わせ				

10

20

30

40

【 0 1 3 9 】

例えば、いくつかの実施形態では、ヒト IgG Fc ドメインは、表 5 に開示の変異を含み、Fc ドメイン中の Fc R および / または補体結合を低減または除去する。いくつかの実施形態では、表 5 の変異は両鎖中に存在する。

50

【表 5】

表 5		
鎖1変異	文献	IgG
L234A/L235A	Alegre <i>et al.</i> , 1994 Transplantation 57:1537-1543	IgG1
F234A/L235A	Alegre <i>et al.</i> , 1994 Transplantation 57:1537-1543	IgG4
L235E	Morgan <i>et al.</i> , 1995 Immunology. 1995 Oct; 86(2):319-324.	IgG1
L235E	Morgan <i>et al.</i> , 1995 Immunology. 1995 Oct; 86(2):319-324.	IgG4
L235A	Morgan <i>et al.</i> , 1995 Immunology. 1995 Oct; 86(2):319-324.	IgG1
G237A	Morgan <i>et al.</i> , 1995 Immunology. 1995 Oct; 86(2):319-324.	IgG1
N297H	Tao and Morrison, J. Immunol. 1989; 143:2595-2601	IgG1
N297Q	Tao and Morrison, J. Immunol. 1989; 143:2595-2601	IgG1
N297K	Tao and Morrison, J. Immunol. 1989; 143:2595-2601	IgG3
N297Q	Tao and Morrison, J. Immunol. 1989; 143:2595-2601	IgG3
D265A	Idusogie <i>et al.</i> , 2000 J Immunol April 15, 2000, 164 (8) 4178-4184	IgG1
D270A, V, K	Idusogie <i>et al.</i> , 2000 J Immunol April 15, 2000, 164 (8) 4178-4184	IgG1
K322A, L, M, D, E	Idusogie <i>et al.</i> , 2000 J Immunol April 15, 2000, 164 (8) 4178-4184	IgG1
P329A, X	Idusogie <i>et al.</i> , 2000 J Immunol April 15, 2000, 164 (8) 4178-4184	IgG1
P331A, S, G, X	Idusogie <i>et al.</i> , 2000 J Immunol April 15, 2000, 164 (8) 4178-4184	IgG1
D265A	Idusogie <i>et al.</i> , 2000 J	IgG1

10

20

30

40

50

	Immunol April 15, 2000, 164 (8) 4178-4184	
L234A	Hezareh <i>et al.</i> , 2001 J. Virol. December 2001 vol. 75 no. 24 12161-12168	IgG1
L234A/L235A	Hezareh <i>et al.</i> , 2001 J. Virol. December 2001 vol. 75 no. 24 12161-12168	IgG1
L234F/L235E/P331S	Oganesyan <i>et al.</i> , 2008 Acta Cryst. (2008). D64, 700-704	IgG1
H268Q/V309L/A330S/P331S	An <i>et al.</i> , 2009 mAbs Volume 1, 2009 - Issue 6, pp. 572-579	IgG1
G236R/L328R	Moore <i>et al.</i> , 2011 mAbs Volume 3, 2011 - Issue 6, pp. 546-557	IgG1
N297G	Couch <i>et al.</i> , 2013 Sci. Transl. Med., 5 (2013) 183ra57, 1-12	IgG1
N297G/D265A	Couch <i>et al.</i> , 2013 Sci. Transl. Med., 5 (2013) 183ra57, 1-12	IgG1
V234A/G237A/P328S/H268A/V309L/A330S/P331S	Vafa <i>et al.</i> , 2014 Methods Volume 65, Issue 1, 1 January 2014, Pages 114- 126	IgG2
L234A/L235A/P329G	Lo <i>et al.</i> , 2016 The Journal of Biological Chemistry 292, 3900-3908	IgG1
N297D	Schlothauer <i>et al.</i> , 2016 Protein Engineering, Design and Selection, Volume 29, Issue 10, 1 October 2016, Pages 457- 466	IgG1
S228P/L235E	Schlothauer <i>et al.</i> , 2016 Protein Engineering, Design and Selection, Volume 29, Issue 10, 1 October 2016, Pages 457- 466	IgG4
S228P/L235E/P329G	Schlothauer <i>et al.</i> , 2016 Protein Engineering, Design and Selection, Volume 29, Issue 10, 1 October 2016, Pages 457- 466	IgG4

10

20

30

40

50

L234F/L235A/K322Q	Borrok <i>et al.</i> , 2017 J Pharm Sci April 2017 Volume 106, Issue 4, Pages 1008-1017	IgG1	
L234F/L235Q/P331G	Borrok <i>et al.</i> , 2017 J Pharm Sci April 2017 Volume 106, Issue 4, Pages 1008-1017	IgG1	
L234F/L235Q/K322Q	Borrok <i>et al.</i> , 2017 J Pharm Sci April 2017 Volume 106, Issue 4, Pages 1008-1017	IgG1	10
L234A/L235A/G237A/P328S/H268A/A330S/P331S	Tam <i>et al.</i> , 2017 Open Access Antibodies 2017, 6(3), 12; doi:10.3390/antib6030012	IgG1	
S228P/F234A/L235A	Tam <i>et al.</i> , 2017 Open Access Antibodies 2017, 6(3), 12; doi:10.3390/antib6030012	IgG4	20
S228P/F234A/L235A/G237A/P238S	Tam <i>et al.</i> , 2017 Open Access Antibodies 2017, 6(3), 12; doi:10.3390/antib6030012	IgG4	
S228P/F234A/L235A/G236/G237A/P238S	Tam <i>et al.</i> , 2017 Open Access Antibodies 2017, 6(3), 12; doi:10.3390/antib6030012	IgG4	30

【 0 1 4 0 】

いくつかの実施形態では、本技術のFcベースキメラタンパク質複合体中のFcドメインは、ホモダイマーであり、すなわち、キメラタンパク質複合体中のFc領域は、2個の同一のタンパク質フラグメントを含む。

【 0 1 4 1 】

いくつかの実施形態では、本技術のFcベースキメラタンパク質複合体中のFcドメインは、ヘテロダイマーであり、すなわち、Fcドメインは、2個の同一でないタンパク質フラグメントを含む。

【 0 1 4 2 】

いくつかの実施形態では、ヘテロダイマーFcドメインは、本明細書に記載のイオン対形成および/またはノブインホール変異を用いて改変される。いくつかの実施形態では、ヘテロダイマーFcベースキメラタンパク質複合体は、トランス配向を有する。トランス配向では、ターゲティング部分およびシグナル伝達物質は、いくつかの実施形態では、本発明のFcベースキメラタンパク質複合体中の同じポリペプチド鎖上には認められない。

【 0 1 4 3 】

いくつかの実施形態では、ヘテロダイマーFcドメインは、本明細書に記載のイオン対形成および/またはノブインホール変異を用いて改変される。いくつかの実施形態では、ヘテロダイマーFcベースキメラタンパク質複合体は、トランス配向を有する。

【 0 1 4 4 】

10

20

30

40

50

トランス配向では、ターゲティング部分およびシグナル伝達物質は、いくつかの実施形態では、本発明のFcベースキメラタンパク質複合体中の同じポリペプチド鎖上には認められない。トランス配向では、ターゲティング部分およびシグナル伝達物質は、いくつかの実施形態では、本発明のFcベースキメラタンパク質複合体中の別々のポリペプチド鎖上に認められる。シス配向では、ターゲティング部分およびシグナル伝達物質は、いくつかの実施形態では、本発明のFcベースキメラタンパク質複合体中の同じポリペプチド鎖上に認められる。

【0145】

2個以上のターゲティング部分が本明細書に記載のヘテロダイマータンパク質複合体中に存在するいくつかの実施形態では、1個のターゲティング部分は、トランス配向（シグナル伝達物質に対し）で存在し、一方、別のターゲティング部分はシス配向（シグナル伝達物質に対し）で存在し得る。いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質およびターゲティング部分は、Fcドメインの同じ末端/側（N末端またはC末端）上に存在する。いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質およびターゲティング部分は、Fcドメインの異なる側/末端（N末端またはC末端）上に存在する。

10

【0146】

本明細書に記載のヘテロダイマータンパク質複合体中に2個以上のターゲティング部分が存在するいくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、ヘテロダイマータンパク質複合体中の同じFc鎖上または2個の異なるFc鎖上に認められ得る（後者の場合には、ターゲティング部分は、それらが異なるFc鎖上に存在するので、相互に対しトランスになるはずである）。2個以上のターゲティング部分が同じFc鎖上に存在するいくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、Fc鎖の同じまたは異なる側/末端上に存在し得る（N末端またはC末端）。

20

【0147】

本明細書に記載のヘテロダイマータンパク質複合体中に2個以上のターゲティング部分が存在するいくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、ヘテロダイマータンパク質複合体中の同じFc鎖上または2個の異なるFc鎖上に認められ得る（後者の場合には、ターゲティング部分は、それらが異なるFc鎖上に存在するので、相互に対しトランスになるはずである）。2種以上のシグナル伝達物質が同じFc鎖上に存在するいくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、Fc鎖の同じまたは異なる側/末端上に存在し得る（N末端またはC末端）。

30

【0148】

2種以上のシグナル伝達物質が本明細書に記載のヘテロダイマータンパク質複合体中に存在するいくつかの実施形態では、1種のシグナル伝達物質は、トランス配向（ターゲティング部分に対し）で存在し、一方、別のシグナル伝達物質はシス配向（ターゲティング部分に対し）で存在し得る。

【0149】

いくつかの実施形態では、FLT3L-ECD、およびL27D変異を有するFLT3L-ECDなどのそのバリエーションについて記載されるように、「分割」ターゲティング部分について、ターゲティング部分の一部は、ホモダイマーまたはヘテロダイマータンパク質複合体のFc鎖のそれぞれの上に存在し得、機能的ターゲティング部分の形成は、FLT3陽性標的細胞へのシグナル伝達物質の送達のために二量体化して機能的FLT3ターゲティング部分を形成しているFLT3L-ECDモノマーで例示されるように、キメラタンパク質複合体の形成の一部として生成される。

40

【0150】

いくつかの実施形態では、Fcドメインは、野性型ヒトIgG1のコアヒンジ領域を含むかまたはその領域で始まり、この領域は、配列Cys-Pro-Pro-Cys（配列番号42）を含む。いくつかの実施形態では、Fcドメインはまた、上部ヒンジ、またはその一部（例えば、DKTHTCPPC（配列番号43）；国際公開第2009/053368号参照）、EPKSCDKTHTCPPC（配列番号44）、またはEPKSSDK

50

THTCPPC (配列番号45); Lo et al., Protein Engineering vol. 11 no. 6 pp. 495 - 500, 1998) 参照) を含む。

【0151】

Fcベースキメラタンパク質複合体

本技術のFcベースキメラタンパク質複合体は、少なくとも1個の本明細書で開示のFcドメイン、少なくとも1種の本明細書で開示のシグナル伝達物質(SA)、および少なくとも1個の本明細書で開示のターゲティング部分(TM)を含む。

【0152】

本発明のFcベースキメラタンパク質複合体は、それぞれがFcドメインを含む、2つの融合タンパク質を包含し得ることは理解されている。

10

【0153】

いくつかの実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、ヘテロダイマーである。いくつかの実施形態では、ヘテロダイマーFcベースキメラタンパク質複合体は、トランス配向を有する。いくつかの実施形態では、ヘテロダイマーFcベースキメラタンパク質複合体は、シス配向を有する。いくつかの実施形態では、ヘテロダイマーFcベースキメラタンパク質複合体は、単一ポリペプチド上にシグナル伝達物質およびターゲティング部分を含まない。

【0154】

いくつかの実施形態では、Fcベースキメラタンパク質は、Fcを欠くキメラタンパク質またはヘテロダイマー複合体ではないキメラタンパク質に比べて改善されたインビボ半減期を有する。いくつかの実施形態では、Fcベースキメラタンパク質は、Fcを欠くキメラタンパク質またはヘテロダイマー複合体ではないキメラタンパク質に比べて改善された溶解度、安定性およびその他の薬理学的特性を有する。

20

【0155】

ヘテロダイマーFcベースキメラタンパク質複合体は、2個の異なるポリペプチドから構成される。本明細書で記載のいくつかの実施形態では、ターゲティングドメインは、シグナル伝達物質とは異なるポリペプチド上に存在し、従って、1個のみのターゲティングドメインコピー、および同様に1種のみシグナル伝達物質を含むタンパク質を作製できる(これは、望ましい特性との起こり得る干渉を制御できる)。さらに、いくつかの実施形態では、1個のターゲティングドメイン(例えば、VHH)のみにより、細胞表面上の抗原の架橋(これは、望ましくない効果を誘発する場合があります)を回避できる。さらに、いくつかの実施形態では、1個のシグナル伝達物質は、分子の「密集」、およびターゲティングドメインに依存して、エフェクター機能の回復により媒介される結合力との起こり得る干渉を緩和し得る。さらに、いくつかの実施形態では、ヘテロダイマーFcベースキメラタンパク質複合体は、2個のターゲティング部分を有することができ、これらは、2個の異なるポリペプチド上に配置できる。例えば、いくつかの実施形態では、両方のターゲティング部分(例えば、VHH)のC末端をマスクして、潜在的自己抗体または既存の抗体(例えば、VHH自己抗体または既存の抗体)を回避できる。さらに、いくつかの実施形態では、例えば、シグナル伝達物質(例えば、野生型シグナル伝達物質)とは異なるポリペプチド上にターゲティングドメインを有するヘテロダイマーFcベースキメラタンパク質複合体は、2つの細胞型(例えば、腫瘍細胞および免疫細胞)の「架橋」を優先し得る。さらに、いくつかの実施形態では、ヘテロダイマーFcベースキメラタンパク質複合体は、それぞれ、異なるポリペプチド上に2つのシグナル伝達物質を有し、より複雑なエフェクター反応を可能にする。

30

40

【0156】

さらに、いくつかの実施形態では、例えば、シグナル伝達物とは異なるポリペプチド上にターゲティングドメインを有し、ターゲティング部分およびシグナル伝達物質の組み合わせの多様性を有するヘテロダイマーFcベースキメラタンパク質複合体が、実用的な方法で提供される。例えば、いくつかの実施形態では、本明細書で記載のいずれかのターゲティング部分を有するポリペプチドは、「既製品として」本明細書で記載のいずれかのシグ

50

ナル伝達物質を有するポリペプチドと組み合わせて、単一Fcベースキメラタンパク質複合体中のターゲティング部分およびシグナル伝達物質の種々の組み合わせの迅速な生成を可能にする。

【0157】

いくつかの実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、1個または複数のリンカーを含む。いくつかの実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、Fcドメイン、シグナル伝達物質およびターゲティング部分を連結するリンカーを含む。いくつかの実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、シグナル伝達物質およびターゲティング部分をそれぞれ連結する（または2つ以上のターゲティング部分の場合、シグナル伝達物質をターゲティング部分の1個に連結する）リンカーを含む。いくつかの実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、各シグナル伝達物質をFcドメインに連結するリンカーを含む。いくつかの実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、各ターゲティング部分をFcドメインに連結するリンカーを含む。いくつかの実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、ターゲティング部分を別のターゲティング部分に連結するリンカーを含む。いくつかの実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体はシグナル伝達物質を別のシグナル伝達物質に連結するリンカーを含む。

10

【0158】

いくつかの実施形態では、本発明のFcベースキメラタンパク質複合体は、2個以上のターゲティング部分を含む。このような実施形態では、ターゲティング部分は、同じターゲティング部分であっても、異なるターゲティング部分であってもよい。

20

【0159】

いくつかの実施形態では、のFcベースキメラタンパク質複合体は、2個以上のシグナル伝達物質を含む。このような実施形態では、シグナル伝達物質は、同じターゲティング部分であっても、異なるターゲティング部分であってもよい。

【0160】

例えば、いくつかの実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、Fcドメイン、少なくとも2種のシグナル伝達物質(SA)、および少なくとも2個のターゲティング部分(TM)を含み、Fcドメイン、シグナル伝達物質、およびターゲティング部分は、本明細書で開示のFcドメイン、シグナル伝達物質、およびターゲティング部分のいずれかから選択される。いくつかの実施形態では、Fcドメインはホモダイマーである。

30

【0161】

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図1A~Fのいずれかの概略図の形式を取る。

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図2A~Hのいずれかの概略図の形式を取る。

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図3A~Hのいずれかの概略図の形式を取る。

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図4A~Dのいずれかの概略図の形式を取る。

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図5A~Fのいずれかの概略図の形式を取る。

40

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図6A~Jのいずれかの概略図の形式を取る。

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図7A~Dのいずれかの概略図の形式を取る。

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図8A~Fのいずれかの概略図の形式を取る。

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図9A~Jのいずれかの概略図の形式を取る。

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図10A~Fのいずれかの

50

概略図の形式を取る。

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図11A~Lのいずれかの概略図の形式を取る。

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図12A~Lのいずれかの概略図の形式を取る。

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図13A~Fのいずれかの概略図の形式を取る。

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図14A~Lのいずれかの概略図の形式を取る。

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図15A~Lのいずれかの概略図の形式を取る。 10

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図16A~Jのいずれかの概略図の形式を取る。

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図17A~Jのいずれかの概略図の形式を取る。

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図18A~Fのいずれかの概略図の形式を取る。

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図19A~Fのいずれかの概略図の形式を取る。

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図21A~Fのいずれかの概略図の形式を取る。 20

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図22A~Fのいずれかの概略図の形式を取る。

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図24A~Hのいずれかの概略図の形式を取る。

種々の実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、図25A~Lのいずれかの概略図の形式を取る。

【0162】

いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、ターゲティング部分に連結され、ターゲティング部分は、同じ末端上でFcドメインに連結される(図1A~F参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ホモダイマーである。 30

いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質およびターゲティング部分は、Fcドメインに連結され、ターゲティング部分およびシグナル伝達物質は、同じ末端上で連結される(図1A~F参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ホモダイマーである。

【0163】

いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、シグナル伝達物質に連結され、シグナル伝達物質は、同じ末端上でFcドメインに連結される(図1A~F参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ホモダイマーである。

【0164】

いくつかの実施形態では、ホモダイマーFcベースキメラタンパク質複合体は、2個以上のターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、4個のターゲティング部分および2種のシグナル伝達物質が存在し、ターゲティング部分は、Fcドメインに連結され、シグナル伝達物質は、同じ末端上でターゲティング部分に連結される(図2A~H参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ホモダイマーである。4個のターゲティング部分および2種のシグナル伝達物質が存在するいくつかの実施形態では、2個のターゲティング部分は、Fcドメインに連結され、2個のターゲティング部分は、シグナル伝達物質に連結され、これらは、同じ末端上でFcドメインに連結される(図2A~H参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ホモダイマーである。4個のターゲティング部分および2種のシグナル伝達物質が存在するいくつかの実施形態では、2個のターゲティング部分は、相互に連結され、各対からの1個のターゲティング部分は、同じ末端上 50

でFcドメインに連結され、シグナル伝達物質は、同じ末端上でFcドメインに連結される(図2A~H参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ホモダイマーである。4個のターゲティング部分および2種のシグナル伝達物質が存在するいくつかの実施形態では、2個のターゲティング部分は、相互に連結され、各対からの1個のターゲティング部分は、シグナル伝達物質に連結され、この対の他のターゲティング部分は、Fcドメインに連結され、Fcドメインに連結されるターゲティング部分は、同じ末端上で連結される(図2A~H参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ホモダイマーである。

【0165】

いくつかの実施形態では、ホモダイマーFcベースキメラタンパク質複合体は、2個以上のシグナル伝達物質を含む。4種のシグナル伝達物質および2種のシグナル伝達物質が存在するいくつかの実施形態では、2種のシグナル伝達物質は、相互に連結され、対からの1種のシグナル伝達物質は同じ末端上でFcドメインに連結され、ターゲティング部分は同じ末端上でFcドメインに連結される(図3A~H参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインはホモダイマーである。4種のシグナル伝達物質および2個のシグナル伝達物質が存在するいくつかの実施形態では、2種のシグナル伝達物質は、同じ末端上でFcドメインに連結され、2種のシグナル伝達物質はそれぞれ、ターゲティング部分に連結され、ターゲティング部分は、同じ末端上でFcドメインに連結される(図3A~H参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ホモダイマーである。4種のシグナル伝達物質および2個のシグナル伝達物質が存在するいくつかの実施形態では、2種のシグナル伝達物質は、相互に連結され、対の1種のシグナル伝達物質は、ターゲティング部分に連結され、ターゲティング部分は、同じ末端上でFcドメインに連結される(図3A~H参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ホモダイマーである。

【0166】

例えば、いくつかの実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、Fcドメインを含み、Fcドメインは、イオン対形成変異および/またはノブインホール変異、少なくとも1種のシグナル伝達物質、および少なくとも1個のターゲティング部分を含み、イオン対形成モチーフおよび/またはノブインホールモチーフ、シグナル伝達物質、およびターゲティング部分は、本明細書で開示のいずれかのイオン対形成モチーフおよび/またはノブインホールモチーフ、シグナル伝達物質、およびターゲティング部分から選択される。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ヘテロダイマーである。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、そのエフェクター機能を低減または除去する変異を含む。

【0167】

いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、ターゲティング部分に連結され、これは、Fcドメインに連結される(図10A~Fおよび13A~F参照)。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、シグナル伝達物質に連結され、これは、Fcドメインに連結される(図10A~Fおよび13A~F参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ヘテロダイマーである。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、そのエフェクター機能を低減または除去する変異を含む。

【0168】

いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質およびターゲティング部分は、Fcドメインに連結される(図4A~D、7A~D、10A~F、および13A~F参照)。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分およびシグナル伝達物質は、同じ末端上の異なるFc鎖に連結される(図4A~Dおよび7A~D参照)。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分およびシグナル伝達物質は、異なる末端上の異なるFc鎖に連結される(図4A~Dおよび7A~D参照)。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分およびシグナル伝達物質は、同じFc鎖に連結される(図10A~Fおよび13A~F参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ヘテロダイマーである。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、そのエフェクター機能を低減または除去する変異を含む。

【0169】

10

20

30

40

50

1種のシグナル伝達物質および2個のターゲティング部分が存在するいくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、Fcドメインに連結され、2個のターゲティング部分は、1) Fcドメインに連結された1個のターゲティング部分を用いて相互に連結され得るか、または2) それぞれFcドメインに連結され得る(図5A~F、8A~F、11A~L、14A~L、16A~J、および17A~J参照)。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、1つのFc鎖に連結され、シグナル伝達物質は、もう一方のFc鎖に連結される(図5A~Fおよび8A~F参照)。いくつかの実施形態では、対でのターゲティング部分およびシグナル伝達物質は、同じFc鎖に連結される(図11A~Lおよび14A~L参照)。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、シグナル伝達物質に連結され、もう一方のターゲティング部分は、シグナル伝達物質に連結され、対を形成したターゲティング部分は、Fcドメインに連結される(図11A~Lおよび14A~L、16A~J、および17A~J参照)。いくつかの実施形態では、対形成しないターゲティング部分および対形成したターゲティング部分は、同じFc鎖に連結される(図11A~Lおよび14A~L参照)。いくつかの実施形態では、対形成しないターゲティング部分および対形成したターゲティング部分は、異なるFc鎖に連結される(図16A~Jおよび17A~J参照)。いくつかの実施形態では、対形成しないターゲティング部分および対形成したターゲティング部分は、同じ末端上で連結される(図16A~Jおよび17A~J参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ヘテロダイマーである。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、そのエフェクター機能を低減または除去する変異を含む。

10

20

【0170】

1種のシグナル伝達物質および2個のターゲティング部分が存在するいくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、シグナル伝達物質に連結され、これは、Fcドメインに連結され、対形成しないターゲティング部分は、Fcドメインに連結される(図11A~Lおよび14A~L、16A~J、および17A~J参照)。いくつかの実施形態では、対形成したシグナル伝達物質および対形成しないターゲティング部分は、同じFc鎖に連結される(図11A~Lおよび14A~L参照)。いくつかの実施形態では、対形成したシグナル伝達物質および対形成しないターゲティング部分は、異なるFc鎖に連結される(図16A~Jおよび17A~J参照)。いくつかの実施形態では、対形成したシグナル伝達物質および対形成しないターゲティング部分は、同じ末端上で連結される(図16A~Jおよび17A~J参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ヘテロダイマーである。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、そのエフェクター機能を低減または除去する変異を含む。

30

40

【0171】

1種のシグナル伝達物質および2個のターゲティング部分が存在するいくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、一緒に連結され、シグナル伝達物質は、対形成したターゲティング部分の1個に連結され、シグナル伝達物質に連結されないターゲティング部分は、Fcドメインに連結される(図11A~Lおよび14A~L参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ヘテロダイマーである。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、そのエフェクター機能を低減または除去する変異を含む。

【0172】

1種のシグナル伝達物質および2個のターゲティング部分が存在するいくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、一緒に連結され、シグナル伝達物質は、対形成したターゲティング部分の1個に連結され、シグナル伝達物質は、Fcドメインに連結される(図11A~Lおよび14A~L参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ヘテロダイマーである。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、そのエフェクター機能を低減または除去する変異を含む。

【0173】

1種のシグナル伝達物質および2個のターゲティング部分が存在するいくつかの実施形態では、ターゲティング部分は両方とも、シグナル伝達物質に連結され、ターゲティング部

50

分の1個は、Fcドメインに連結される(図11A~Lおよび14A~L参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ヘテロダイマーである。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、そのエフェクター機能を低減または除去する変異を含む。

【0174】

1種のシグナル伝達物質および2個のターゲティング部分が存在するいくつかの実施形態では、ターゲティング部分およびシグナル伝達物質は、Fcドメインに連結される(図16A~Jおよび17A~J参照)。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、末端上で連結される(図16A~Jおよび17A~J参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ヘテロダイマーである。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、そのエフェクター機能を低減または除去する変異を含む。

10

【0175】

2種のシグナル伝達物質および1個のターゲティング部分が存在するいくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、同じ末端上でFcドメインに連結され、ターゲティング部分は、Fcドメインに連結される(図6A~Jおよび9A~J参照)。いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、同じFc鎖上でFcドメインに連結され、ターゲティング部分は、もう一方のFc鎖上で連結される(図18A~Fおよび19A~F参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ヘテロダイマーである。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、そのエフェクター機能を低減または除去する変異を含む。

【0176】

2種のシグナル伝達物質および1個のターゲティング部分が存在するいくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、ターゲティング部分に連結され、これは、Fcドメインに連結され、もう一方のシグナル伝達物質は、Fcドメインに連結される(図6A~Jおよび9A~J、12A~L、および15A~L参照)。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分および対形成しないシグナル伝達物質は、異なるFc鎖に連結される(図6A~Jおよび9A~J参照)。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分および対形成しないシグナル伝達物質は、同じ末端上で異なるFc鎖に連結される(図6A~Jおよび9A~J参照)。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分および対形成しないシグナル伝達物質は、異なる末端上で異なるFc鎖に連結される(図6A~Jおよび9A~J参照)。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分および対形成しないシグナル伝達物質は、同じFc鎖に連結される(図12A~Lおよび15A~L参照)。いくつかの実施

20

30

【0177】

2種のシグナル伝達物質および1個のターゲティング部分が存在するいくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、シグナル伝達物質に連結され、これは、Fcドメインに連結され、もう一方のシグナル伝達物質は、Fcドメインに連結される(図6A~Jおよび9A~J参照)。いくつかの実施形態では、対形成したターゲティング部分および対形成しないシグナル伝達物質は、異なるFc鎖に連結される(図6A~Jおよび9A~J参照)。いくつかの実施形態では、対形成したターゲティング部分および対形成しないシグナル伝達物質は、同じ末端上で異なるFc鎖に連結される(図6A~Jおよび9A~J参照)。いくつかの実施形態では、対形成したシグナル伝達物質および対形成しないシグナル伝達物質は、異なる末端上で異なるFc鎖に連結される(図6A~Jおよび9A~J参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ヘテロダイマーである。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、そのエフェクター機能を低減または除去する変異を含む。

40

【0178】

2種のシグナル伝達物質および1個のターゲティング部分が存在するいくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、一緒に連結され、ターゲティング部分は、対形成したシグナル伝達物質の1種に連結され、ターゲティング部分は、Fcドメインに連結される(図12A~Lおよび15A~L参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ヘテロダイマーである。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、そのエフェクター機能を低減

50

または除去する変異を含む。

【0179】

2種のシグナル伝達物質および1個のターゲティング部分が存在するいくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、一緒に連結され、シグナル伝達物質の1種は、Fcドメインに連結され、ターゲティング部分は、Fcドメインに連結される(図12A~Lおよび15A~L、18A~F、および19A~F参照)。いくつかの実施形態では、対形成したシグナル伝達物質およびターゲティング部分は、同じFc鎖に連結される(図12A~Lおよび15A~L参照)。いくつかの実施形態では、対形成したシグナル伝達物質およびターゲティング部分は、異なるFc鎖に連結される(図18A~Fおよび19A~F参照)。いくつかの実施形態では、対形成したシグナル伝達物質およびシグナル伝達物質は、同じ末端上で異なるFc鎖に連結される(図18A~Fおよび19A~F参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ヘテロダイマーである。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、そのエフェクター機能を低減または除去する変異を含む。

10

【0180】

2種のシグナル伝達物質および1個のターゲティング部分が存在するいくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は両方とも、ターゲティング部分に連結され、シグナル伝達物質の1種は、Fcドメインに連結される(図12A~Lおよび15A~L参照)。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、ヘテロダイマーである。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、そのエフェクター機能を低減または除去する変異を含む。

20

【0181】

2種のシグナル伝達物質および1個のターゲティング部分が存在するいくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、一緒に連結され、シグナル伝達物質の1種は、ターゲティング部分に連結され、もう一方のシグナル伝達物質は、Fcドメインに連結される(図12A~Lおよび15A~L参照)。

【0182】

2種のシグナル伝達物質および1個のターゲティング部分が存在するいくつかの実施形態では、各シグナル伝達物質は、Fcドメインに連結され、ターゲティング部分は、シグナル伝達物質の1種に連結される(図12A~Lおよび15A~L参照)。いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、同じFc鎖に連結される(図12A~Lおよび15A~L参照)。

30

【0183】

いくつかの実施形態では、ターゲティング部分またはシグナル伝達物質は、CH2およびCH3ドメインの片方または両方、および任意選択でヒンジ領域を含む、Fcドメインに連結される。例えば、単一ヌクレオチド配列としてFcドメインに連結されたターゲティング部分、シグナル伝達物質、またはこれらの組み合わせをコードするベクターを用いて、このようなポリペプチドを作製できる。

【0184】

いくつかの実施形態では、FLT3L-ECD、およびL27D変異を有するFLT3L-ECDなどのそのバリエーションについて記載されるように、「分割」ターゲティング部分について、ターゲティング部分の一部は、ホモダイマーまたはヘテロダイマータンパク質複合体のFc鎖のそれぞれの上に存在し得、機能的ターゲティング部分の形成は、FLT3陽性標的細胞へのシグナル伝達物質の送達のために二量体化して機能的FLT3ターゲティング部分を形成しているFLT3L-ECDモノマーで例示されるように、キメラタンパク質複合体の形成の一部として生成される。

40

【0185】

非Fcベースキメラタンパク質複合体

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質複合体は、(a)FMS様チロシンキナーゼ3リガンド(FLT3L)ドメイン、例えば、限定されないが、本明細書に記載の、例えば、限定されないが、単鎖または分割鎖の、任意選択でL27D変異を有するFlt3Lの細胞外ドメイン、および(b)本明細書に記載の野生型または改変型シグナル伝達

50

物質を含む1個または複数のターゲティング部分、を含み、(a)および(b)は、複合体形成をもたらすドメイン(例えば、複合体形成ドメイン)で連結される。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質複合体は、例えば、静電相互作用、水素結合、および/または疎水性効果を使って、相互に作用する1個または複数のタンパク質またはペプチド(例えば、複合体形成ドメイン)をさらに含む。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質複合体は、ホモマーである(例えば、2個以上の本明細書に記載のキメラタンパク質を含むもの)。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質複合体は、ヘテロマーである(例えば、野生型または改変型シグナル伝達物質および1個または複数のリンカーで連結された1個または複数のターゲティング部分および別のタンパク質を含む、1個のキメラタンパク質を含むもの)。種々のタンパク質相互作用ドメイン(例えば、複合体形成ドメイン)が、タンパク質複合体を生成するために用いられてきており、本発明のキメラタンパク質複合体を作製するために使用できる。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質複合体は、ロイシンジッパー、タンパク質のJunおよびFosファミリー、ヘリックスターンヘリックス自己二量体化ペプチド、コラーゲンおよびp53の三量体および四量体サブドメインを用いることにより作製できる(例えば、米国特許第8,507,222号に記載のタンパク質複合体の作製方法、を参照、この特許は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。ヘテロマー複合体を作製する他の方法は、Chang et al. (PNAS 1984; 91: 11408-11412)により記載の電荷ベースヘテロダイマーまたは例えば、Deng et al. (Chemistry & Biology 2008; 15: 908-919)により記載のヘテロダイマー化ロイシンジッパーまたはChen et al. (Nature 2019; 565: 106-111)により記載の設計されたヘテロダイマーを含む。種々の実施形態では、これらのキメラタンパク質複合体は、Fcベースではない。いくつかの実施形態では、種々のタンパク質相互作用ドメインを、本明細書に記載のFcドメイン(Fcベースキメラタンパク質複合体の場合)の代わりに使用してタンパク質複合体を形成できる。

10

20

30

40

50

【0186】

非Fc単鎖FLT3L構築物

いくつかの態様では、本発明は、(i)単鎖二量体であるFMS様チロシンキナーゼ3リガンド(FLT3L)ドメインを含む1個または複数のターゲティング部分; (ii)(i)と(iii)を連結する1個または複数のフレキシブルリンカー; および(iii)シグナル伝達物質またはその改変型、を含むキメラタンパク質に関する。

【0187】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはタンパク質複合体は、FLT3Lの細胞外ドメイン、またはその一部もしくはバリエーションを含む、ターゲティング部分を有する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、配列番号2~5のいずれか1つと少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、配列番号2~5のいずれか1つと少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはタンパク質複合体は、同じポリペプチド上にFLT3L-EC2D、もしくはそのバリエーションの2つのコピーを含む(すなわち、単鎖二量体FLT3L構築物)。いくつかの実施形態では、FLT3L-EC2D、またはその一部もしくはそのバリエーションは、分子間FLT3L-EC2Dホモ二量体化(すなわち、さもなければ他の機序により容易に二量体化しないであろう分子を含む別々のFLT3L-EC2D上でのFLT3Lドメインの二量体化)を低減する、および分子内のFLT3L-EC2D二量体化(すなわち、同じ単一ポリペプチド内に含まれるFLT3L-EC2Dの2つのコピーの二量体化、すなわち、単鎖二量体FLT3L構築物)を優先する、変異を含む。いくつかの実施形態では、FLT3L-EC2Dまたはそのバリエーション中の変異は、L27Dである(配列番号2~4のいずれか1つを基準にして、または配列番号5に対してL24D)。いくつかの実施形態では、FLT3L-EC2D、またはそのバリエーション中の変異L27D(配列番号2~4のいずれか1つを基準にして、または配列番号5に対してL24D)、または機能的に類似の変異は、より均質な形態のキメラ

タンパク質およびタンパク質複合体の形成を優先し、F L T 3 標的化構築物の産生の規模拡大およびこのような構築物のインビボ安全性に実質的に有害であり得る望ましくないより高い分子量の複合体および/または凝集体を回避する(例えば、免疫反応性のリスク、活性の低下、など)。

【0188】

いくつかの実施形態では、E C D 中に L 2 7 D 変異または機能的に等価な変異を有する F L T 3 L - E C D の単一コピーは、それ自体が、E C D 中に L 2 7 D 変異、または機能的に等価な変異を有する F L T 3 L - E C D の単一コピーも有する同じまたは異なるポリペプチドと二量体化できる、ポリペプチド中に存在し得る。タンパク質複合体の形成時に、F L T 3 L - E C D - L 2 7 D ドメインの二量体化が誘導され、それにより機能的 F L T 3 ターゲティング部分を生成する。このタイプのキメラタンパク質複合体は、「分割 F L T 3 L - E C D」を有すると見なされる。理由は、分割 F L T 3 - E C D 由来の機能的ターゲティング部分(すなわち、異なるポリペプチド分子上の)は、キメラタンパク質複合体の構築時に形成されるためである。シグナル伝達物質は、キメラタンパク質複合体を形成するポリペプチドのいずれか 1 個に付着または融合され得る。

10

【0189】

いくつかのタイプのシグナル伝達物質は、単鎖二量体 F L T 3 L を有するキメラタンパク質、またはその一部もしくはバリエーション、および「分割 F L T 3 L - E C D」手法により形成されたキメラタンパク質複合体中に組み込まれてよい。

【0190】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質は、F L T 3 L の細胞外ドメイン、またはその一部を含むターゲティング部分を有する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、配列番号 2 ~ 5 のいずれか 1 つと少なくとも 90% の同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、配列番号 2 ~ 5 のいずれか 1 つと少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、野生型ヒト I F N 2、I F N 1、I F N 、もしくは I L - 1 である。いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、配列番号 6、7、38、39、または 74 のいずれか 1 つと少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、配列番号 6、7、38、39、または 74 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む。

20

30

【0191】

いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、1 個または複数の変異を含むように改変される。いくつかの実施形態では、1 個または複数の変異は、野生型シグナル伝達物質に比べて改善された安全性、またはシグナル伝達物質の受容体に対し低減された親和性、またはシグナル伝達物質の受容体に対し低減された生物活性を付与し、またはシグナル伝達物質の活性の減弱化を可能にする。いくつかの実施形態では、1 個または複数の変異は、1 個または複数のターゲティング部分への付着により回復できる、低減された親和性または活性を付与する。

【0192】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質は、シグナル伝達物質が、配列番号 6 または 7 と少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列を含む変異体ヒト I F N 2 であり、変異体ヒト I F N 2 は、配列番号 6 または 7 のアミノ酸配列を有する野生型 I F N 2 に比べて改善された安全性を付与する、1 個または複数の変異を有し、任意選択でヒト I F N 2 は、配列番号 6 または 7 を基準にして位置 144 ~ 154 に 1 個または複数の変異を有し、任意選択でヒト I F N 2 は、配列番号 6 または 7 を基準にして位置 L 15、A 19、R 22、R 23、L 26、F 27、L 30、L 30、K 31、D 32、R 33、H 34、D 35、Q 40、H 57、E 58、Q 61、F 64、N 65、T 69、L 80、Y 85、Y 89、D 114、L 117、R 120、R 125、K 133、K 134、R 144、A 145、M 148、R 149、S 152、L 153、および N 156 に 1 個または複数の変異を有し、任意選択で変異体ヒト I F N 2 は、配列番号 6 または 7 を基準

40

50

にして位置 R 3 3、T 1 0 6、R 1 4 4、A 1 4 5、M 1 4 8、R 1 4 9、および L 1 5 3 に 1 個または複数の変異を有し、任意選択で変異は、配列番号 6 または 7 を基準にして L 1 5 A、A 1 9 W、R 2 2 A、R 2 3 A、L 2 6 A、F 2 7 A、L 3 0 A、L 3 0 V、K 3 1 A、D 3 2 A、R 3 3 K、R 3 3 A、R 3 3 Q、H 3 4 A、D 3 5 A、Q 4 0 A、H 5 7 Y、E 5 8 N、Q 6 1 S、F 6 4 A、N 6 5 A、T 6 9 A、L 8 0 A、Y 8 5 A、Y 8 9 A、D 1 1 4 R、L 1 1 7 A、R 1 2 0 A、R 1 2 5 A、K 1 3 3 A、K 1 3 4 A、R 1 4 4 A、A 1 4 5 G、A 1 4 5 M、M 1 4 8 A、R 1 4 9 A、S 1 5 2 A、L 1 5 3 A、および N 1 5 6 A の 1 個または複数であり、任意選択で変異体ヒト IFN 2 は、配列番号 6 または 7 のアミノ酸配列を基準にして R 3 3 A、T 1 0 6 X 3、R 1 2 0 E、R 1 4 4 X 1、A 1 4 5 X 2、M 1 4 8 A、R 1 4 9 A、および L 1 5 3 A から選択される 1 個または複数の変異を有し、X 1 は、A、S、T、Y、L、および I から選択され、X 2 は、G、H、Y、K、および D から選択され、X 3 は、A および E から選択されるキメラタンパク質である。

【0193】

いくつかの実施形態では、シグナル伝達物質は、野生型インターフェロン 1 または改変型インターフェロン 1 である。いくつかの実施形態では、本発明は、野生型 IFN 1 を含むキメラタンパク質または Fc ベースキメラタンパク質複合体を提供する。種々の実施形態では、野生型 IFN 1 は、配列番号 7 4 のアミノ酸配列を含む。

【0194】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質または Fc ベースキメラタンパク質複合体は、シグナル伝達物質として、改変型の IFN 1、すなわち、IFN 1 変異体を含む IFN 1 バリエーションを含む。種々の実施形態では、IFN 1 バリエーションは、インターフェロンの変異体、機能性誘導体、類似体、前駆物質、アイソフォーム、スプライスバリエーション、またはフラグメントを包含する。

【0195】

いくつかの実施形態では、IFN 1 インターフェロンは、配列番号 7 4 を基準にして位置 L 1 5、A 1 9、R 2 3、S 2 5、L 3 0、D 3 2、R 3 3、H 3 4、Q 4 0、C 8 6、D 1 1 5、L 1 1 8、K 1 2 1、R 1 2 6、E 1 3 3、K 1 3 4、K 1 3 5、R 1 4 5、A 1 4 6、M 1 4 9、R 1 5 0、S 1 5 3、L 1 5 4、および N 1 5 7 で 1 個または複数のアミノ酸変異を有するように改変される。変異は任意選択で、疎水性の変異であってよく、例えば、アラニン、バリン、ロイシン、およびイソロイシンから選択され得る。いくつかの実施形態では、IFN 1 インターフェロンは、配列番号 1 0 4 2 を基準にして L 1 5 A、A 1 9 W、R 2 3 A、S 2 5 A、L 3 0 A、L 3 0 V、D 3 2 A、R 3 3 K、R 3 3 A、R 3 3 Q、H 3 4 A、Q 4 0 A、C 8 6 S、C 8 6 A、D 1 1 5 R、L 1 1 8 A、K 1 2 1 A、K 1 2 1 E、R 1 2 6 A、R 1 2 6 E、E 1 3 3 A、K 1 3 4 A、K 1 3 5 A、R 1 4 5 A、R 1 4 5 D、R 1 4 5 E、R 1 4 5 G、R 1 4 5 H、R 1 4 5 I、R 1 4 5 K、R 1 4 5 L、R 1 4 5 N、R 1 4 5 Q、R 1 4 5 S、R 1 4 5 T、R 1 4 5 V、R 1 4 5 Y、A 1 4 6 D、A 1 4 6 E、A 1 4 6 G、A 1 4 6 H、A 1 4 6 I、A 1 4 6 K、A 1 4 6 L、A 1 4 6 M、A 1 4 6 N、A 1 4 6 Q、A 1 4 6 R、A 1 4 6 S、A 1 4 6 T、A 1 4 6 V、A 1 4 6 Y、M 1 4 9 A、M 1 4 9 V、R 1 5 0 A、S 1 5 3 A、L 1 5 4 A、および N 1 5 7 A から選択される 1 個または複数の変異を有するように改変される。いくつかの実施形態では、IFN 1 変異体は、配列番号 7 4 を基準にして L 3 0 A / H 5 8 Y / E 5 9 N __ Q 6 2 S、R 3 3 A / H 5 8 Y / E 5 9 N / Q 6 2 S、M 1 4 9 A / H 5 8 Y / E 5 9 N / Q 6 2 S、L 1 5 4 A / H 5 8 Y / E 5 9 N / Q 6 2 S、R 1 4 5 A / H 5 8 Y / E 5 9 N / Q 6 2 S、D 1 1 5 A / R 1 2 1 A、L 1 1 8 A / R 1 2 1 A、L 1 1 8 A / R 1 2 1 A / K 1 2 2 A、R 1 2 1 A / K 1 2 2 A、および R 1 2 1 E / K 1 2 2 E から選択される 1 個または複数の変異を含む。

【0196】

いくつかの実施形態では、IFN 1 は、望ましくないジスルフィド対形成を低減する 1 個または複数の変異を含むバリエーションであり、1 個または複数の変異は、例えば、配列番

号74を基準にしてアミノ酸位置C1、C29、C86、C99、またはC139にある。いくつかの実施形態では、位置C86での変異は、例えば、C86SまたはC86AまたはC86Yであり得る。IFN 1のこれらのC86変異体は、還元システインによる凝集変異体と呼ばれる。いくつかの実施形態では、IFN 1バリエーションは、配列番号74を基準にして位置C1、C86およびC99に変異を含む。

【0197】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質は、シグナル伝達物質が、配列番号38と少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列を含む変異体ヒトIFN であり、変異体ヒトIFN は、配列番号38のアミノ酸配列を有する野生型IFN に比べて、改善された安全性を付与する1個または複数の変異を有し、変異は、配列番号38のアミノ酸配列を基準にして、W22G、R27G、L32A、L32G、R35A、R35G、V148G、L151G、R152A、R152Gの1個または複数であるキメラタンパク質である。

10

【0198】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質は、シグナル伝達物質が、配列番号39と少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列を含む変異体ヒトIL-1 であり、変異体ヒトIL-1 は、配列番号39のアミノ酸配列を有する野生型IL-1 に比べて改善された安全性を付与する1個または複数の変異を有し、変異は、配列番号39のアミノ酸配列を基準にしてA117G/P118G、R120G、R120A、L122A、T125G/L126G、R127G、Q130A、Q130W、Q131G、K132A、S137G/Q138Y、L145G、H146A、H146G、H146E、H146N、H146R、L145A/L147A、Q148E、Q148G、Q148L、Q148G/Q150G、Q150G/D151A、M152G、F162A、F162A/Q164E、F166A、Q164E/E167K、N169G/D170G、I172A、V174A、K208E、K209A、K209D、K209A/K210A、K219S、K219Q、E221S、E221K、E221S/N224A、N224S/K225S、E244KおよびN245Qの1個または複数である。

20

【0199】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質は、フレキシブルリンカーを含み、フレキシブルリンカーは、グリシンおよびセリン残基から実質的になり、任意選択でフレキシブルリンカーは、(Gly4Ser)_nを含み、nは、約1~約8であり、任意選択でフレキシブルリンカーは、配列番号10~配列番号17の1つまたは複数を含む。

30

【0200】

いくつかの実施形態では、本発明は、本明細書に記載の1個または複数のキメラタンパク質をコードする組換え核酸組成物に関する。いくつかの実施形態では、本発明は、組換え核酸を含む宿主細胞に関する。

【0201】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質は、癌、感染症、免疫異常、自己免疫疾患および/または神経変性疾患、心臓血管疾患、創傷、虚血関連疾患、および/または代謝疾患の1種または複数を含む患者における使用のために好適である。本発明のいくつかの態様は、癌、感染症、免疫異常、自己免疫疾患および/または神経変性疾患、心臓血管疾患、創傷、虚血関連疾患、および/または代謝疾患を治療するまたは予防するための方法に関し、方法は、それを必要としている患者にキメラタンパク質の有効量を投与することを含む。

40

【0202】

単鎖FcベースFlt3L構築物

いくつかの態様では、本発明は、(i)単鎖二量体であるFMS様チロシンキナーゼ3リガンド(FLT3L)ドメインを含む1個または複数のターゲティング部分、および(ii)Fcドメインの1つまたは複数のエフェクター機能を低減または除去する、Fcドメイン中でFc鎖対形成を促進する、および/またはFcドメイン中のヒンジ領域を安定化

50

する 1 個または複数の変異を任意選択で有する、Fcドメイン、を含むFcベースキメラタンパク質複合体に関する。

【0203】

いくつかの実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、単鎖二量体FLT3Lが、Fcドメインの1つのFc鎖に付着されるFcベースキメラタンパク質複合体である。いくつかの実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、単鎖FLT3Lが、FLT3Lの細胞外ドメイン、またはその一部を含むFcベースキメラタンパク質複合体である。いくつかの実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、単鎖二量体FLT3Lが、配列番号2～5のいずれか1つと少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含むFcベースキメラタンパク質複合体である。いくつかの実施形態では、単鎖二量体FLT3Lは、配列番号2～5のいずれか1つと少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

10

【0204】

いくつかの実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、Fcドメインの1つのFc鎖に付着された、FLT3L-ECD (FLT3L細胞外ドメイン)、またはそのバリエーションの2つのコピーを含む(すなわち、単鎖二量体FLT3L-ECD構築物)。いくつかの実施形態では、FLT3L-ECD、またはその一部もしくはそのバリエーションは、分子間FLT3L-ECDホモ二量体化(すなわち、分子を含む別々のFLT3L-ECD上に存在するFLT3Lドメインの二量体化)を低減する、および分子内のFLT3L-ECD二量体化(すなわち、同じ単一ポリペプチド内に含まれるFLT3L-ECDの2つのコピーの二量体化、すなわち、単鎖二量体FLT3L構築物)を優先する、変異を含む。いくつかの実施形態では、FLT3L-ECDまたはそのバリエーション中の変異は、L27Dである(配列番号2～4のいずれか1つを基準にして、または配列番号5に対してL24D)。いくつかの実施形態では、FLT3-ECD、またはそのバリエーション中の変異L27D(配列番号2～4のいずれか1つを基準にして、または配列番号5に対してL24D)、または機能的に類似の変異は、より均質な形態のキメラタンパク質およびタンパク質複合体の形成を優先し、FLT3標的化構築物の産生の規模拡大およびこのような構築物のインビボ安全性に実質的に有害であり得る望ましくないより高い分子量の複合体および/または凝集体を回避する(例えば、免疫反応性のリスク、活性の低下、など)。

20

30

【0205】

いくつかの態様では、本発明は、本明細書に記載の1個または複数のキメラタンパク質をコードする組換え核酸組成物に関する。いくつかの実施形態では、本発明は、組換え核酸を含む宿主細胞に関する。

【0206】

いくつかの実施形態では、Fcベースキメラタンパク質複合体は、癌、感染症、免疫異常、自己免疫疾患および/または神経変性疾患、心臓血管疾患、創傷、虚血関連疾患、および/または代謝疾患の1種または複数を含む患者における使用のために好適である。いくつかの実施形態では、本発明は、癌、感染症、免疫異常、自己免疫疾患および/または神経変性疾患、心臓血管疾患、創傷、虚血関連疾患、および/または代謝疾患を治療するまたは予防するための方法に関し、方法は、それを必要としている患者にFcベースキメラタンパク質複合体の有効量を投与することを含む。

40

【0207】

使用方法

種々の実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、多くの特徴の中でも特に、例えば、ターゲティング部分を介して、1個または複数の免疫細胞を直接的または間接的に疾患細胞に動員する。従って、いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、腫瘍細胞にまたは腫瘍微小環境に免疫細胞を直接的または間接的に動員する。このように、ターゲティング部分は樹状細胞の数を増大させ得る。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、必要に応じ樹状細胞

50

胞により、腫瘍抗原提示を強化する。

【0208】

種々の実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、癌、感染症、免疫異常、自己免疫疾患および/または神経変性疾患、心臓血管疾患、創傷、虚血関連疾患、および/または代謝疾患の1種または複数を有する患者における使用のために好適である。いくつかの態様では、癌を治療または予防する方法が提供され、方法は、それを必要とする患者に本開示の種々の実施形態に従いキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体の有効量を投与することを含む。

【0209】

種々の実施形態では、癌は、基底細胞癌、胆道癌；膀胱癌；骨癌；脳および中枢神経系癌；乳癌；腹膜の癌；子宮頸癌；絨毛癌；結腸および直腸癌；結合組織癌；消化器系の癌；子宮内膜癌；食道癌；眼癌；頭頸部の癌；胃癌（胃腸癌を含む）；神経膠芽腫；肝癌；ヘパトーマ；上皮内腫瘍；腎臓癌または腎性癌（kidney or renal cancer）；喉頭癌；白血病；肝臓癌；肺癌（例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、および肺扁平上皮癌）；黒色腫；骨髄腫；神経芽腫；口腔癌（唇、舌状、舌、口内、および咽頭）；卵巣癌；膵臓癌；前立腺癌；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫；直腸癌；呼吸器系癌；唾液腺癌腫；肉腫（例えば、カポジ肉腫）；皮膚癌；扁平上皮細胞癌；胃癌；精巣癌；甲状腺癌；子宮または子宮内膜癌；泌尿器系の癌；外陰癌；ホジキンリンパ腫および非ホジキンリンパ腫；ならびにB細胞リンパ腫を含むリンパ腫（低悪性度/濾胞性非ホジキンリンパ腫（NHL）を含む）；小リンパ球性（SL）NHL；中悪性度/濾胞性NHL；中悪性度びまん性NHL；高悪性度免疫芽細胞NHL；高悪性度リンパ芽球性NHL；高悪性度小型非切れ込み核細胞性NHL；巨大腫瘍病変NHL；マントル細胞リンパ腫；エイズ関連リンパ腫；およびワルデンシュトレームマクログロブリン血症；慢性リンパ性白血病（CLL）；急性リンパ性白血病（ALL）；毛様細胞性白血病；慢性骨髄芽球性白血病；ならびに他の癌腫および肉腫；および移植後リンパ増殖性疾患（PTLD）；ならびに母斑症に関連する異常血管増殖；浮腫（例えば脳腫瘍に関連するもの）；およびメグズ症候群の1種または複数から選択される。特定の実施形態では、癌は、急性骨髄性白血病（AML）である。

【0210】

さらに、いくつかの態様では、本発明は、自己免疫疾患および/または神経変性疾患を治療するまたは予防するための方法を含み、方法は、それを必要とする患者に本開示の種々の実施形態に従いキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体の有効量を投与することを含む。自己免疫疾患および/または神経変性疾患は、多発性硬化症、糖尿病、ループス、セリアック病、クローン病、潰瘍性大腸炎、ギラン・バレー症候群、強皮症、グッドパスチャー症候群、ウェグナー肉芽腫症、自己免疫性てんかん、ラスムッセン脳炎、原発性硬化性胆管炎、硬化性胆管炎、自己免疫性肝炎、アジソン病、橋本甲状腺炎、線維筋痛症、メニエール症候群（Meniere's syndrome）、移植拒絶反応（例えば、同種移植片拒絶の防止）、悪性貧血、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、皮膚筋炎、シェーグレン症候群、紅斑性狼瘡、重症筋無力症、ライター症候群、およびグレーブス病から選択できる。

【0211】

いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は任意選択で、1個または複数のリンカーを含む。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、Fcドメイン、ターゲティング部分およびシグナル伝達物質（例えば、IFN₂、IFN₁、IFN、もしくはIL-1またはそのバリエーション）の1個または複数を連結するリンカーを含む。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、シグナル伝達物質（例えば、IFN₂、IFN₁、IFN

10

20

30

40

50

、もしくはIL-1 またはそのバリエーション)内にリンカーを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、本明細書に記載の種々の官能基、残基、または部分をキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体に連結するために利用し得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、結合領域および結合タンパク質の安定性、配向、結合、中和、および/または排出特性に影響を与えない、またはそれらを低下させない、単一アミノ酸または複数のアミノ酸である。種々の実施形態では、リンカーは、ペプチド、タンパク質、糖、または核酸から選択される。

【0212】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、1種または複数の追加のシグナル伝達物質、例えば、限定されないが、本明細書に記載の野生型でもまたは改変型でもよい、インターフェロン、インターロイキン、および腫瘍壊死因子を含む。種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、改変シグナル伝達物質を有し、非改変の野生型に比べて改善された安全性を提供する。なお、本発明は、いくつかの実施形態では、キメラタンパク質または1個、または2個、または3個のシグナル伝達物質を有するFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体を含む。

10

【0213】

種々の実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、目的の標的(例えば、抗原、受容体)に特異的に結合する1個または複数のターゲティング部分(例えば、限定されないが、VHHを含む単ドメイン抗体を含む種々の抗体フォーマット)を含む。種々の実施形態では、ターゲティング部分は、限定されないが、T細胞、細胞傷害性Tリンパ球、ヘルパーT細胞、ナチュラルキラー(NK)細胞、ナチュラルキラーT(NKT)細胞、抗腫瘍マクロファージ(例えば、M1マクロファージ)、B細胞、および樹状細胞を含み得る1個または複数の免疫細胞上で見出されるものを含む、目的の標的(例えば、抗原、受容体)の特異的に結合する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、目的の標的(例えば、抗原、受容体)に特異的に結合し、1種または複数の免疫細胞を効果的に動員する。いくつかの実施形態では、目的の標的(例えば、抗原、受容体)は、1個または複数の腫瘍細胞上で見出され得る。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、免疫細胞、例えば、腫瘍細胞を死滅させるおよび/または抑制できる免疫細胞を、作用部位(非限定的例であるが、腫瘍微小環境など)に動員し得る。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、非細胞構造の一部である目的の標的(例えば、抗原、受容体)に特異的に結合する。なお、本発明は、いくつかの実施形態では、キメラタンパク質または1個、または2個、または3個のターゲティング部分を有するFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体を含む。

20

30

【0214】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のリンカーのいずれかに単一ヌクレオチド配列として連結された本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体をコードするベクターが提供され、このようなキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体を調製するために使用され得る。

40

【0215】

いくつかの実施形態では、リンカーの長さは、一つのターゲティング部分とシグナル伝達物質(例えば、IFN γ 、IFN α 、IFN β 、もしくはIL-1 またはそのバリエーション)のそれらの受容体への効果的結合を可能にする。例えば、いくつかの実施形態では、リンカーの長さは、同じ細胞上でターゲティング部分の1つとシグナル伝達物質の受容体への効果的な結合を可能にする。

【0216】

50

いくつかの実施形態では、リンカーの長さは少なくとも、同じ細胞上の1個のターゲティング部分およびシグナル伝達物質の受容体への結合部位の間の最短距離に等しい。いくつかの実施形態では、リンカーの長さは、同じ細胞上の1個のターゲティング部分およびシグナル伝達物質の受容体への結合部位の間の最短距離の、少なくとも2倍、または3倍、または4倍、または5倍、または10倍、または20倍、または25倍、または50倍、または100倍、または、それを超える。

【0217】

本明細書に記載されるように、リンカーの長さは、同じ細胞上で1個のターゲティング部分とシグナル伝達物質の受容体への効果的結合を可能にし、結合は、逐次であり、例えば、ターゲティング部分/受容体結合がシグナル伝達物質/受容体結合に先行する。

10

【0218】

いくつかの実施形態では、単一キメラ中に2個のリンカーが存在し、それぞれが、シグナル伝達物質をターゲティング部分に連結する。種々の実施形態では、リンカーは、いずれかの細胞の調節を妨害し得る立体障害なしに疾患細胞およびエフェクター細胞を保持する部位の形成を可能にする、長さを有する。

【0219】

本発明は、種々のリンカー配列の使用を意図する。種々の実施形態では、リンカーは、天然のマルチドメインタンパク質から誘導され得るか、または、例えば、Chichili et al., (2013), Protein Sci. 22(2): 153-167; Chen et al., (2013), Adv Drug Deliv Rev. 65(10): 1357-1369に記載されている経験的リンカーである。これらの文献の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、リンカーは、リンカー設計データベースおよびChen et al., (2013), Adv Drug Deliv Rev. 65(10): 1357-1369 and Crasto et al., (2000), Protein Eng. 13(5): 309-312に記載のものなどのコンピュータープログラムを用いて設計し得る。種々の実施形態では、リンカーは機能性であり得る。例えば、限定されないが、リンカーは、フォールディングおよび/または安定性を改善するように、発現を改善するように、薬物動態学を改善するように、および/または本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体の生物活性を改善するように機能し得る。

20

30

【0220】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ポリペプチドである。いくつかの実施形態では、リンカーは、約100アミノ酸長未満である。例えば、リンカーは、約100、約95、約90、約85、約80、約75、約70、約65、約60、約55、約50、約45、約40、約35、約30、約25、約20、約19、約18、約17、約16、約15、約14、約13、約12、約11、約10、約9、約8、約7、約6、約5、約4、約3、または約2アミノ酸長未満であり得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、ポリペプチドである。いくつかの実施形態では、リンカーは、約100アミノ酸長超である。例えば、リンカーは、約100、約95、約90、約85、約80、約75、約70、約65、約60、約55、約50、約45、約40、約35、約30、約25、約20、約19、約18、約17、約16、約15、約14、約13、約12、約11、約10、約9、約8、約7、約6、約5、約4、約3、または約2アミノ酸長さ超であり得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、フレキシブルである。別の実施形態では、リンカーは、剛性である。

40

【0221】

種々の実施形態では、リンカーは、グリシンおよびセリン残基から実質的に構成される(例えば、約30%、または約40%、または約50%、または約60%、または約70%、または約80%、または約90%、または約95%、または約97%のグリシンとセリン)。例えば、いくつかの実施形態では、リンカーは、(Gly₄Ser)_nであり、式中、nは、約1~約8、例えば、1、2、3、4、5、6、7、または8(それぞれ、配

50

列番号10～配列番号17)である。ある実施形態では、リンカー配列は、GGSGGS
GGGGS GGGGS (配列番号18)である。追加のリンカーの例としては、限定され
ないが、配列: LE、GGGGS (配列番号10)、(GGGGS)_n (n=1~4) (配列番号10~13)、
(Gly)₈ (配列番号19)、(Gly)₆ (配列番号20)、
(EAAAK)_n (n=1~3) (配列番号21~23)、A(EAAAK)_nA (n
=2~5) (配列番号24~27)、AEAAAKEAAAKA (配列番号24)、A
(EAAAK)₄ALEA(EAAAK)₄A (配列番号28)、PAPAP (配列番号29)、KESGVSSEQLAQFRSLD (配列番号30)、EGKSSGSGSE
SKST (配列番号31)、GSAGSAAAGSGEF (配列番号32)、および(XP
)_n (Xは、任意のアミノ酸、例えば、Ala、Lys、またはGluを示す)を有する
リンカーが挙げられる。種々の実施形態では、リンカーは、GGGである。

【0222】

いくつかの実施形態では、リンカーは、GGGSE (配列番号33)、GSESG (配列
番号34)、GSEGS (配列番号35)、GEGGS GEGSS GEGSSSEGGG
SEGGGSEGGGSEGGGS (配列番号36)、および4個のアミノ酸間隔毎にラン
ダムに配置されたG、S、およびEのリンカー、の1種または複数である。

【0223】

いくつかの実施形態では、リンカーは、抗体(例えば、IgG、IgA、IgD、および
IgE、サブクラス(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4、および
IgA1およびIgA2)を含む)のヒンジ部である。種々の実施形態では、リンカーは
抗体(例えば、IgG、IgA、IgD、およびIgE、サブクラス(例えば、IgG1
、IgG2、IgG3、およびIgG4、およびIgA1およびIgA2)を含む)のヒ
ンジ部である。IgG、IgA、IgD、およびIgEクラス抗体で見つかるヒンジ部は
、フレキシブルスパーサーとして機能し、Fab部が空間中で自由に動くことを可能にする。
定常領域と対照的に、ヒンジドメインは、構造上多様であり、免疫グロブリンクラス
およびサブクラス中の配列および長さの両方で変動する。例えば、ヒンジ部の長さおよび
可撓性は、IgGサブクラス内で変動する。IgG1のヒンジ部は、アミノ酸216~2
31を包含し、それが自由にフレキシブルであるために、Fabフラグメントは、それら
の対称軸の周りで回転でき、最初の2つの重鎖間ジスルフィド架橋を中心とする球内で移
動できる。IgG2は、IgG1より短いヒンジを有し、12個のアミノ酸残基と4個の
ジスルフィド架橋を有する。IgG2のヒンジ部は、グリシン残基を欠き、比較的短く、
また、追加の重鎖間ジスルフィド架橋により安定化された剛性ポリプロリン二重らせん体
を含む。これらの特性は、IgG2分子の可撓性を制限する。IgG3は、62個のアミ
ノ酸を含む(21個のプロリンと11個のシステインを含む)その特有の延長されたヒン
ジ部(IgG1ヒンジの約4倍の長さ)により、他のサブクラスとは異なり、柔軟性を欠
くポリプロリン二重らせん体を形成する。IgG3では、Fabフラグメントは、Fcフ
ラグメントから比較的遠くに離れており、より大きな可撓性を分子に与える。IgG3の
伸びたヒンジは、他のサブクラスに比べて、そのより高分子量の原因でもある。IgG4
のヒンジ部は、IgG1より短く、その可撓性は、IgG1とIgG2との中間である。
ヒンジ部の可撓性は、次の順に低下すると報告されている: IgG3 > IgG1 > IgG
4 > IgG2。

【0224】

結晶学的調査によれば、免疫グロブリンヒンジ部は、機能的に次の3つの領域にさらに細
分できる: 上部ヒンジ部、コア部、および下部ヒンジ部。Shin et al., 19
92 Immunological Reviews 130: 87を参照されたい。上
部ヒンジ部は、CH1のカルボキシル末端から運動を制限するヒンジ中の最初の残基、通
常は2つの重鎖間の鎖間ジスルフィド結合を形成する最初のシステイン残基のアミノ酸を
含む。上部ヒンジ部の長さは、抗体のセグメントの可撓性と相関する。コアヒンジ部は重
鎖間ジスルフィド架橋を含み、下部ヒンジ部はCH2ドメインのアミノ末端に繋がり、C
H2中の残基を含む。野性型ヒトIgG1のコアヒンジ部は、配列Cys-Pro-Pro

o - C y s (配列番号 37) を含み、これは、ジスルフィド結合形成により二量体化されると、環状オクタペプチドを生成し、これが回転軸として機能することにより、可撓性を付与すると考えられている。種々の実施形態では、本発明のリンカーは、任意の抗体（例えば、I g G、I g A、I g D、および I g E、サブクラス（例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、および I g G 4、および I g A 1 および I g A 2）を含む）の 1、または 2、または 3 個の上部ヒンジ部、コア部および下部ヒンジ部を含む。ヒンジ部はまた、1 つまたは複数のグリコシル化部位も含み得、これは、いくつかの構造上異なるタイプの炭水化物付着部位を含む。例えば、I g A 1 は、ヒンジ部の 17 アミノ酸セグメント内に 5 つのグリコシル化部位を含み、腸内プロテアーゼに対するヒンジ部ポリペプチドの耐性を付与し、これは、分泌性免疫グロブリンにとって、有利な性質であると考えられる。種々の実施形態では、本発明のリンカーは、1 つまたは複数のグリコシル化部位を含む。

10

【0225】

いくつかの実施形態では、リンカーは、PEG などの合成リンカーである。

種々の実施形態では、リンカーは、機能性であり得る。例えば、限定されないが、リンカーは、フォールディングおよび/または安定性を改善するように、発現を改善するように、薬物動態学を改善するように、および/または本発明のキメラタンパク質または Fc ベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体の生物活性を改善するように機能し得る。別の例では、リンカーは、キメラタンパク質または Fc ベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体を特定の細胞型または部位に向けるように機能し得る。

20

【0226】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質または Fc ベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、1 個または複数の官能基、残基、または部分を含み得る。種々の実施形態では、1 つまたは複数の官能基、残基、または部分は、本明細書に記載のいずれかのシグナル伝達物質またはターゲティング部分に結合されるか、または遺伝的に融合される。いくつかの実施形態では、このような官能基、残基または部分は、1 つまたは複数の望ましい特性または機能性を本発明のキメラタンパク質または Fc ベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体に付与する。このような官能基およびそれらをキメラタンパク質または Fc ベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体に導入する技術の例は、当技術分野において既知であり、例えば、

30

【0227】

種々の実施形態では、キメラタンパク質または Fc ベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体のそれぞれは、別の物質と複合化および/または融合して、半減期を延長するか、または別の方法で薬学的および薬物動態学的特性を改善し得る。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質または Fc ベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、PEG、XTEN（例えば、rPEG として）、ポリシアル酸（POLYXEN）、アルブミン（例えば、ヒト血清アルブミンまたは HAS）、

40

【0228】

種々の実施形態では、それぞれ個々のキメラタンパク質または Fc ベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、BioDrugs（2015）29：215 - 239 に記載の 1 種または複数の物質に融合される。この文献の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。

【0229】

いくつかの実施形態では、官能基、残基、または部分は、好適な薬学的に許容可能なポリマー、例えばポリ（エチレングリコール）（PEG）またはその誘導体（例えば、メトキ

50

シポリ（エチレングリコール）またはmPEG）を含む。いくつかの実施形態では、PEG部分の付着は、半減期を伸ばし、および/またはキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体の免疫原性を低減する。例えば、抗体および抗体フラグメント（限定されないが、VHHなどの単ドメイン抗体を含む）に対し当該技術分野で用いられるペグ化などの任意の好適な形態のペグ化が、通常用いられる；例えば、Chapman, Nat. Biotechnol., 54, 531-545 (2002)；VeroneseおよびHarrisによる、Adv. Drug Deliv. Rev. 54, 453-456 (2003), HarrisおよびChessによる、Nat. Rev. Drug Discov., 2, (2003)ならびに国際公開第04/060965号を参照されたい。これらの文献の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。タンパク質のペグ化のための種々の試薬も、例えば、Nektar Therapeutics, USAから市販されている。いくつかの実施形態では、特に、システイン残基を介した部位特異的なペグ化が、使用される（例えば、Yang et al., Protein Engineering, 16, 10, 761-770 (2003)を参照されたい。この文献の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる）。いくつかの実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、PEGの付着のための1個または複数のシステイン残基を適切に導入するように改変されるか、またはPEGの付着のための1個または複数のシステイン残基を含むアミノ酸配列が、当該技術分野において既知の技術を使用してキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体のアミノ末端および/またはカルボキシ末端に融合され得る。

【0230】

いくつかの実施形態では、官能基、残基、または部分は、N結合型またはO結合型グリコシル化を含む。いくつかの実施形態では、N結合型またはO結合型グリコシル化は、翻訳時修飾および/または翻訳後修飾の一部として導入される。

【0231】

いくつかの実施形態では、官能基、残基、または部分は、1個または複数の検出可能なラベルまたはその他のシグナル生成基または部分を含む。好適なラベルおよびそれらの結合、使用および検出のための技術は、当該技術分野において、既知であり、限定されないが、蛍光標識（例えば、フルオレセイン、イソチオシアネート、ローダミン、フィコエリトリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、o-フタルアルデヒド、ならびにフルオレサミンおよび蛍光金属、例えば、Euまたはランタニド系列の他の金属）、リン光標識、化学発光ラベルまたは生物発光ラベル（例えば、ルミノール、イソルミノール、セロマティックアクリジニウム・エステル、イミダゾール、アクリジニウム塩、オキサレートエステル、ジオキセタンまたはGFPおよびその類似体）、放射性同位体、金属、金属キレートもしくは金属カチオンまたはインビボ、インビトロまたはインサイツ診断および画像処理での使用に特に適している他の金属もしくは金属カチオン、ならびに発色団および酵素（例えば、リンゴ酸脱水素酵素、ブドウ球菌ヌクレアーゼ、デルタ-V-ステロイドイソメラーゼ、酵母アルコール脱水素酵素、アルファグリセロリン酸脱水素酵素、トリオースリン酸イソメラーゼ、ピオチンアビジンペルオキシダーゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、アスパラギナーゼ、グルコースオキシダーゼ、ベータガラクトシダーゼ、リボヌクレアーゼ、ウレアーゼ、カタラーゼ、グルコース-VI-リン酸脱水素酵素、グルコアミラーゼおよびアセチルコリンエステラーゼ）を含む。他の好適なラベルとしては、NMRまたはESR分光法を用いて検出できる部分が挙げられる。このように標識した本発明のVHHおよびポリペプチドは、特定の標識の選択により、例えば、インビトロ、インビボまたはインサイツアッセイ（これ自体ELISA、RIAおよびEIAおよびその他の「サンドイッチ法」などとして知られるイムノアッセイ）ならびにインビボ診断および画像処理の目的に使用し得る。

【0232】

いくつかの実施形態では、官能基、残基、または部分は、キメラタンパク質またはFcベ

ースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体に結合または遺伝的に融合されたタグを含む。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、単一タグまたは複数タグを含み得る。例えば、タグは、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体のその標的または腫瘍抗原などのいずれか他の目的抗原に対する結合を阻害または妨害しない、ペプチド、糖、またはDNA分子である。種々の実施形態では、タグは、少なくとも約：3～5アミノ酸長、5～8アミノ酸長、8～12アミノ酸長、12～15アミノ酸長、または15～20アミノ酸長である。タグの例は、例えば、米国特許出願公開第2013/0058962号に記載されている。いくつかの実施形態では、タグは、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)およびヒスチジン(His)タグなどの親和性タグである。ある実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、ヒスチジンタグを含む。

10

【0233】

いくつかの実施形態では、官能基、残基、または部分は、例えば、1種の金属または金属カチオンをキレートするためのキレート化基を含む。好適なキレート化基は、例えば、限定されないが、ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)またはエチレンジアミン四酢酸(EDTA)を含む。

【0234】

いくつかの実施形態では、官能基、残基、または部分は、ビオチン-(ストレプト)アビジン結合対などの、特異的結合対の片方の部分である官能基を含む。このような官能基を使って、本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体を、結合対のもう一方の半分に結合された別のタンパク質、ポリペプチドまたは化学化合物に、すなわち、結合対の形成を介して、連結し得る。例えば、本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体をビオチンに複合化させ、アビジンまたはストレプトアビジンに複合化させた別のタンパク質、ポリペプチド、化合物または担体に連結し得る。例えば、検出可能なシグナル生成物質がアビジンまたはストレプトアビジンに複合化されている診断システムにおいて、このような結合キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体を、例えば、レポーターとして用い得る。例えば、このよう

20

30

【0235】

本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体の産生方法が、本明細書に記載される。例えば、本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体をコードするDNA配列(例えば、シグナル伝達物質(例えば、IFN₂、IFN₁、IFN、もしくはIL-1 またはそのバリエーション)およびターゲティング部分およびリンカーをコードするDNA配列、またはキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体のポリペプチド成分)は、当該技術分野において既知の方法を使用して化学的に合成できる。合成DNA配列は、例えば、発現制御配列を含む他の適切なヌクレオチド配列に連結し、目的のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体をコードする遺伝子発現構築物を産生できる。したがって、種々の実施形態では、本発明は、本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体、またはそのポリペプチドサブユニットをコードするヌクレオチド配列を含む単離核酸を提供する。

40

50

【0236】

本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体をコードする核酸は、発現ベクター中に組み込まれ（連結され）てよく、このベクターは、遺伝子導入、形質転換、または形質導入技術により宿主細胞中に導入できる。例えば、本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体をコードする核酸は、レトロウイルス形質導入により宿主細胞中に導入できる。宿主細胞の例は、大腸菌細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、ヒト胎児腎臓293（HEK293）細胞、ヒーラ細胞、仔ハムスター腎（BHK）細胞、サル腎培養細胞（COS）、またはヒト肝細胞癌細胞（例えば、HepG2）、および骨髄腫細胞である。形質転換宿主細胞は、宿主細胞に、本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体をコードする遺伝子を発現させるのを可能にする条件下で増殖させることができる。したがって、種々の実施形態では、本発明は、本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体をコードする核酸を含む発現ベクターを提供する。種々の実施形態では、本発明は、このような発現ベクターを含む宿主細胞をさらに提供する。

10

【0237】

特定の発現および精製条件は、用いた発現系に応じて変化する。例えば、遺伝子が大腸菌中で発現される場合、遺伝子は最初に、操作された遺伝子を細菌プロモーター、例えば、TrpまたはTac、および原核生物シグナル配列の下流に配置することにより発現ベクター中に挿入される。別の例では、操作された遺伝子が真核生物宿主細胞、例えば、CHO細胞中で発現される場合、遺伝子は最初に、例えば、好適な真核生物プロモーター、分泌シグナル、転写促進因子、および種々のイントロンを含む発現ベクター中に挿入される。遺伝子構築物は、遺伝子導入、形質転換、または形質導入技術を用いて宿主細胞中に導入できる。

20

【0238】

本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、タンパク質の発現を許容する条件下で、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体をコードする発現ベクターを遺伝子導入した宿主細胞を増殖させることにより産生できる。発現後、タンパク質を収集し、例えば、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ（GST）およびヒスチジンタグなどの親和性タグまたはクロマトグラフィーにより、当該技術分野において周知の技術を用いて精製できる。

30

【0239】

したがって、種々の実施形態では、本発明は、本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体をコードする核酸を提供する。種々の実施形態では、本発明は、本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体をコードする核酸を含む宿主細胞を提供する。種々の実施形態では、本発明は、非細胞系（例えば、インビトロ転写および/またはインビトロ翻訳）での産生に好適する、本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体をコードする核酸を提供する。

40

【0240】

種々の実施形態では、IFN γ 2、IFN γ 1、IFN γ 、またはIL-1 β 、そのバリエーション、またはIFN γ 2、IFN γ 1、IFN γ 、またはIL-1 β またはそのバリエーションを含むキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、例えば、患者中でインビボ発現され得る。例えば、種々の実施形態では、IFN γ 2、IFN γ 1、IFN γ 、もしくはIL-1 β 、そのバリエーション、またはIFN γ 2、IFN γ 1、IFN γ 、もしくはIL-1 β またはそのバリエーションを含むキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、IFN γ 2、IFN γ 1、IFN γ 、もしくはIL-1 β またはそのバリエーション、

50

またはIFN γ 2、IFN γ 1、もしくはIL-1 またはそのバリエーションを含むキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体をコードする核酸の形で投与され得る。種々の実施形態では、核酸は、DNAまたはRNAである。いくつかの実施形態では、IFN γ 2、IFN γ 1、IFN γ 、もしくはIL-1、そのバリエーション、またはIFN γ 2、IFN γ 1、IFN γ 、もしくはIL-1、またはそのバリエーションを含むキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、修飾mRNA、すなわち、1種または複数の修飾ヌクレオチドを含むmRNAによりコードされる。いくつかの実施形態では、修飾mRNAは、米国特許第8,278,036号で見出される1つまたは複数の修飾を含む。この特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、修飾mRNAは、m5C、m5U、m6A、s2U、および2'-O-メチル-Uの内の1種または複数を含む。いくつかの実施形態では、本発明は、1個または複数の本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体をコードする修飾mRNAの投与に関する。いくつかの実施形態では、本発明は、修飾mRNAを含む遺伝子治療ベクターに関する。いくつかの実施形態では、本発明は、修飾mRNAを含む遺伝子治療法に関する。種々の実施形態では、核酸は、腫瘍溶解性ウイルス、例えば、アデノウイルス、レオウイルス、はしか、単純ヘルペス、ニューカッスル病ウイルスまたはワクシニアの形態である。

10

【0241】

本明細書に記載のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、十分に塩基性の官能基を有することができ、これは無機もしくは有機酸またはカルボキシル基と反応でき、またこれは、無機または有機塩基と反応でき、薬学的に許容可能な塩を形成できる。薬学的に許容可能な酸付加塩は、当該技術分野でよく知られているように、薬学的に許容可能な酸から形成される。このような塩は、例えば、Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2-19 (1977) およびThe Handbook of Pharmaceutical Salts; Properties, Selection, and Use. P. H. Stahl and C. G. Wermuth (eds.), Verlag, Zurich (Switzerland) 2002、に挙げられた薬学的に許容可能な塩を含む。これらの文献は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

20

30

【0242】

薬学的に許容可能な塩としては、非限定的例であるが、硫酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、塩化物、臭化物、ヨウ化物、硝酸塩、重硫酸塩、ホスフェート、酸性リン酸塩、イソニコチン酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、酸性クエン酸塩、酒石酸塩、オレイン酸塩、タンニン酸塩、パントテン酸塩、酒石酸水素塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、ゲンチシン酸塩、フマル酸塩、グルコン酸塩、グルカロン酸塩、サッカリン酸塩、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、樟脳スルホン酸塩、パモ酸塩、フェニル酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、アクリル酸塩、クロロ安息香酸塩、ジニトロ安息香酸塩、ヒドロキシ安息香酸塩、メトキシ安息香酸塩、メチル安息香酸塩、o-アセトキシ安息香酸塩、ナフタレン-2-安息香酸塩、イソ酪酸塩、フェニル酪酸塩、p-ヒドロキシ酪酸塩、ブチン-1,4-ジカルボキシレート、ヘキシン-1,4-ジカルボキシレート、カプリン酸塩、カプリル酸塩、ケイ皮酸塩、グリコール酸塩、ヘプタン酸塩、ヒプル酸塩、リンゴ酸塩、ヒドロキシマレイン酸塩、マロン酸塩、マンデル酸塩、メシル酸塩、ニコチン酸塩、フタル酸塩、テラフタル酸塩、プロピオール酸塩、プロピオン酸塩、フェニルプロピオン酸塩、セバシン酸塩、スベリン酸塩、p-プロモベンゼンスルホン酸塩、クロロベンゼンスルホン酸塩、エチルスルホン酸塩、2-ヒドロキシエチルスルホン酸塩、メチルスルホン酸塩、ナフタレン-1-スルホン酸塩、ナフタレン-2-スルホン酸塩、ナフタレン-1,5-スルホン酸塩、キシレンスルホン酸塩、および酒石酸塩が挙げられる。

40

50

【0243】

「薬学的に許容可能な塩」という用語はまた、カルボン酸官能基などの酸性官能基、および塩基を有する本発明の組成物の塩を指す。適切な塩基としては、限定されないが、ナトリウム、カリウム、およびリチウムなどのアルカリ金属の水酸化物；カルシウムおよびマグネシウムなどのアルカリ土類金属の水酸化物；アルミニウムおよび亜鉛などのその他の金属の水酸化物；アンモニア、および非置換またはヒドロキシ置換のモノ -、ジ -、またはトリ - アルキルアミン、ジシクロヘキシルアミンなどの有機アミン；トリブチルアミン；ピリジン；N - メチル、N - エチルアミン；ジエチルアミン；トリエチルアミン；モノ -、ビス -、またはトリス - (2 - ヒドロキシエチル) アミン、2 - ヒドロキシ - t e r t - ブチルアミン、またはトリス - (ヒドロキシメチル) メチルアミンなどのモノ -、ビス -、またはトリス - (2 - O H - 低級アルキルアミン)、N, N - ジメチル - N - (2 - ヒドロキシエチル) アミンまたはトリ - (2 - ヒドロキシエチル) アミンなどのN, N - ジ - 低級アルキル - N - (ヒドロキシル - 低級アルキル) - アミン；N - メチル - D - グルカミン；およびアルギニン、リシンなどのアミノ酸などが挙げられる。

10

【0244】

いくつかの実施形態では、本明細書で記載の組成物は、薬学的に許容可能な塩の形態である。

【0245】

種々の実施形態では、本発明は、本明細書で記載のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体および薬学的に許容可能な担体または賦形剤を含む医薬組成物に関する。本明細書で記載のいずれの医薬組成物も、薬学的に許容可能な担体またはピークルを含む組成物の成分として、対象に投与することができる。このような組成物は、適切な投与用の形態を与えるように、適切な量の薬学的に許容可能な賦形剤を任意に含み得る。

20

【0246】

種々の実施形態では、医薬賦形剤は、ピーナッツオイル、大豆油、ミネラルオイル、ゴマ油などの石油、動物、植物、または人工起源のものを含む、水および油などの液体であり得る。医薬賦形剤は、例えば、食塩水、アカシアゴム、ゼラチン、デンプンペースト、滑石、ケラチン、コロイド状シリカ、尿素などであってよい。さらに、助剤、安定化剤、増粘化剤、潤滑剤、および着色料を使用することができる。一実施形態では、薬学的に許容可能な賦形剤は、対象に投与される場合、無菌である。本明細書で記載のいずれかの薬剤が静脈内に投与される場合、水は有用な賦形剤である。生理食塩水および水性デキストロスならびにグリセリン溶液はまた、液体賦形剤として、特に注射可能溶液に用いることができる。適切な医薬賦形剤としては、デンプン、グルコース、ラクトース、ショ糖、ゼラチン、麦芽、米、小麦粉、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、グリセリンモノステアレート、滑石、塩化ナトリウム、乾燥脱脂乳、グリセリン、プロピレン、グリコール、水、エタノールなども挙げられる。本明細書で記載のいずれの薬剤も、必要に応じ、少量の湿潤剤もしくは乳化剤、またはpH緩衝剤を含んでよい。適切な医薬賦形剤のそのほかの例は、Remington's Pharmaceutical Sciences 1447 - 1676 (Alfonso R. Gennaro eds., 19th ed., 1995) に記載されている。この文献は参照により本明細書に組み込まれる。

30

40

【0247】

本発明は、種々の製剤中に記載医薬組成物（および/または追加の治療薬）を含む。本明細書で記載のいずれの本発明の医薬組成物（および/または追加の治療薬）も、液剤、懸濁剤、乳濁液、点滴剤、錠剤、丸薬、タブレット、カプセル剤、液体含有カプセル剤、ゼラチンカプセル剤、散剤、徐放製剤、坐剤、乳剤、エアロゾル、噴霧剤、懸濁剤、凍結乾燥散剤、凍結懸濁剤、乾燥散剤、または使用に適するその他の任意の形態をとることができる。一実施形態では、組成物はカプセルの形態である。別の実施形態では、組成物は錠剤の形態である。さらに別の実施形態では、医薬組成物は、軟質ゲルカプセルの形態に処方される。さらなる実施形態では、医薬組成物は、ゼラチンカプセルの形態に処方される。

50

さらに別の実施形態では、医薬組成物は、液剤として処方される。

【0248】

必要に応じて、本発明の医薬組成物（および/または追加の薬剤）は、可溶化剤も含み得る。また、薬剤は当技術分野において既知の適切なビークルまたは送達装置を使って送達できる。本明細書で概要を述べた併用療法剤は、単一の送達ビークルまたは送達担体で共送達できる。

【0249】

本発明の医薬組成物（および/または追加の薬剤）を含む製剤は単位剤形として好都合に提供でき、薬学の分野でよく知られたいずれかの方法により調製され得る。このような方法は通常、治療薬を担体と混合するステップを含み、担体は1種または複数の補助成分を構成する。通常、製剤は、治療薬と、液体担体、微粉化固相担体、または両方とを均一に、完全に混合すること、その後、必要に応じ、生成物を所望の製剤の剤形に成形すること（例えば、湿式または乾式造粒、散剤ブレンド、など、それに続く、当該技術分野で既知の従来の方法を使って錠剤化すること）により調製される。

10

【0250】

種々の実施形態では、本明細書で記載のいずれの医薬組成物（および/または追加の薬剤）も、本明細書で記載の投与方法に適合された組成物として、ルーチン手順に従って処方される。

【0251】

投与経路は、例えば、経口、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外、舌下、鼻腔内、脳内、腔内、経皮、直腸内、吸入、または局所を含む。投与は局所的または全身性であり得る。いくつかの実施形態では、投与は、経口により行われる。別の実施形態では、投与は非経口の注射による。投与方法は、開業医の自由裁量に任ずことができ、一部には、病状の部位に依存する。大抵の場合、投与は本明細書で記載のいずれかの薬剤の血流中への放出をもたらす。

20

【0252】

一実施形態では、本明細書で記載のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、経口投与に適合された組成物として、常法に従って処方される。経口送達用の組成物は、錠剤、トローチ剤、水性または油性懸濁剤、粒剤、散剤、乳剤、カプセル剤、シロップ剤、またはエリキシル剤の形態であってよい。経口投与される組成物は、薬学的に口当たりの良い製剤を提供するために、1種または複数の薬剤、例えば、ラクトース、アスパルテムまたはサッカリンなどの甘味料、ペパーミント、冬緑油またはチェリー油などの調味料、着色料および保存剤を含み得る。さらに、錠剤または丸薬形態では、組成物をコートして、消化管での崩壊および吸収を遅らせることにより長期間にわたり持続作用を可能にできる。本明細書に記載のいずれかの浸透活性駆動性キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体を取り囲む選択的透過性膜も、経口投与組成物として好適である。これらの後者のプラットフォームでは、カプセルの周りの環境からの液体が運搬化合物により吸収され、この化合物は膨潤し、開口部を介して薬剤または薬剤組成物を追い出す。これらの送達プラットフォームは、即時放出製剤の急上昇プロファイルとは対照的に、基本的に0次の送達プロファイルを提供できる。グリセロールモノステアレートまたはグリセロールステアレートなどの時間遅延物質も使用できる。経口組成物は、標準的な賦形剤、例えば、マンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、ナトリウムサッカリン、セルロース、および炭酸マグネシウムを含んでよい。一実施形態は、賦形剤は医薬品グレードである。活性化化合物に加えて、懸濁剤は、例えば、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビトールおよびソルビタンエステル、微結晶セルロース、アルミニウムメタヒドロキシド、ベントナイト、寒天、トラガント、など、およびこれらの混合物などの沈殿防止剤を含んでよい。

30

40

【0253】

非経口投与（例えば、静脈内、筋肉内、腹腔内、皮下および関節内注射および注入）に好

50

適な剤形は、例えば、液剤、懸濁剤、分散剤、乳剤、などを含む。それらは、無菌の固相組成物（例えば、凍結乾燥組成物）の形態で製造されてよく、これは、使用直前に、無菌の注入可能媒体中に溶解または懸濁され得る。それらは、例えば、当該技術分野において、既知の懸濁剤または分散剤を含み得る。非経口的投与に好適な製剤成分としては、注射用の水、食塩水溶液、揮発性油、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、またはその他の合成溶媒などの無菌希釈剤、ベンジルアルコールまたはメチルパラベンなどの抗菌剤、アスコルビン酸もしくは亜硫酸水素ナトリウムなどの酸化防止剤、EDTAなどのキレート化剤、アセテート、シトレート、またはホスフェートなどの緩衝剤、および塩化ナトリウムまたはデキストロースなどの浸透圧調節剤が挙げられる。

【0254】

10

静脈内投与の場合、好適な担体としては、生理食塩水、静菌性水、クレモフォア E L T M (B A S F , P a r s i p p a n y , N J) またはリン酸緩衝生理食塩水 (P B S) が挙げられる。担体は、製造および貯蔵条件下で安定でなければならず、微生物に対し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）、およびこれらの好適な混合物を含む、溶媒または分散媒であってよい。

【0255】

本明細書にて提供される組成物は、単独でまたは他の好適な成分と組み合わせて、吸入により投与されるエアロゾル製剤（すなわち、「噴霧化」製剤）を作製できる。エアロゾル製剤は、ジクロロジフルオロメタン、プロパン、窒素などの許容され得る加圧化噴射剤中に入れることができる。

20

【0256】

本明細書で記載のいずれの本発明の医薬組成物（および/または追加の薬剤）も、当業者に既知の制御放出によりまたは徐放手段または送達装置により投与可能である。例としては、米国特許第 3, 845, 770 号；同第 3, 916, 899 号；同第 3, 536, 809 号；同第 3, 598, 123 号；同第 4, 008, 719 号、同第 5, 674, 533 号、同第 5, 059, 595 号、同第 5, 591, 767 号、同第 5, 120, 548 号、同第 5, 073, 543 号、同第 5, 639, 476 号、同第 5, 354, 556 号、および同第 5, 733, 556 号に記載のものが挙げられるが、これらに限定されない。これらの特許のそれぞれは参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。このような剤形は、例えば、ヒドロプロピルセルロース、ヒドロプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、その他のポリマーマトリクス、ゲル、浸透膜、浸透系、多層被膜、微粒子、リポソーム、マイクロスフェア、またはこれらの組み合わせを用いて、1つまたは複数の有効成分の制御放出または徐放を可能にするために有用であり、様々な割合での所望の放出プロファイルを提供できる。本明細書に記載されたものを含む当業者に既知の適切な制御放出または徐放製剤は、本明細書で記載の薬剤の有効成分と共に使用する上で容易に選択できる。本発明はこのように、限定されないが、制御放出または徐放に適合された錠剤、カプセル、ジェルカプセルおよびカプレットなどの経口投与に好適な単位剤形を提供する。

30

【0257】

40

有効成分の制御放出または徐放は、限定されないが、pH変化、温度変化、適切な波長の光による刺激、酵素の濃度もしくは利用可能性、水の濃度または利用可能性、または他の生理学的条件または化合物を含む、種々の条件により刺激できる。

【0258】

別の実施形態では、徐放系を、治療される標的領域の近傍に配置でき、したがって全身用量の一部のみを必要とする（例えば、Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115 - 138 (1984) を参照）。Langer, 1990, Science 249: 1527 - 1533、中の概説で考察されている他の放出制御系を使用し得る。

50

【0259】

医薬製剤は好ましくは、無菌である。無菌化は、例えば、無菌濾過膜で濾過することにより達成される。組成物が凍結乾燥される場合、凍結乾燥および再構成の前またはその後でフィルター滅菌を行うことができる。

【0260】

本発明により投与されるキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体の実際の用量は、特定の剤形および投与方法に応じて変わることは理解されよう。当業者なら、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体の作用を変える多くの要因（例えば、体重、性別、食事、投与時期、投与経路、排出速度、対象の状態、薬剤の組み合わせ、遺伝的素因および反応感度）を考慮に入れることができる。投与は、最大耐量の範囲内で連続的にまたは1種または複数の別々の投与量で実施できる。与えられた一連の条件に対する最適投与速度は、従来の用量投与試験を使って、当業者により確認できる。

10

【0261】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体の好適な投与量は、約0.01 μg/kg ~ 約100 mg/kgの対象の体重、約0.01 μg/kg ~ 約10 mg/kgの対象の体重、または約0.01 μg/kg ~ 約1 mg/kgの対象の体重の範囲であり、例えば、約0.01 μg/kg、約0.02 μg/kg、約0.03 μg/kg、約0.04 μg/kg、約0.05 μg/kg、約0.06 μg/kg、約0.07 μg/kg、約0.08 μg/kg、約0.09 μg/kg、約0.1 mg/kg、約0.2 mg/kg、約0.3 mg/kg、約0.4 mg/kg、約0.5 mg/kg、約0.6 mg/kg、約0.7 mg/kg、約0.8 mg/kg、約0.9 mg/kg、約1 mg/kg、約1.1 mg/kg、約1.2 mg/kg、約1.3 mg/kg、約1.4 mg/kg、約1.5 mg/kg、約1.6 mg/kg、約1.7 mg/kg、約1.8 mg/kg、約1.9 mg/kg、約2 mg/kg、約3 mg/kg、約4 mg/kg、約5 mg/kg、約6 mg/kg、約7 mg/kg、約8 mg/kg、約9 mg/kg、約10 mg/kg体重、または約100 mg/kg体重（これらの間の全ての値および範囲を含む）である。

20

【0262】

キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体の個々の用量は、例えば、単位剤形（例えば、錠剤、カプセル、または液体製剤）当たり、約1 μg ~ 約100 mg、約1 μg ~ 約90 mg、約1 μg ~ 約80 mg、約1 μg ~ 約70 mg、約1 μg ~ 約60 mg、約1 μg ~ 約50 mg、約1 μg ~ 約40 mg、約1 μg ~ 約30 mg、約1 μg ~ 約20 mg、約1 μg ~ 約10 mg、約1 μg ~ 約5 mg、約1 μg ~ 約3 mg、約1 μg ~ 約1 mg、または約1 μg ~ 約50 μgを含む単位剤形として投与できる。例えば、単位剤形は、約1 μg、約2 μg、約3 μg、約4 μg、約5 μg、約6 μg、約7 μg、約8 μg、約9 μg、約10 μg、約11 μg、約12 μg、約13 μg、約14 μg、約15 μg、約16 μg、約17 μg、約18 μg、約19 μg、約20 μg、約21 μg、約22 μg、約23 μg、約24 μg、約25 μg、約26 μg、約27 μg、約28 μg、約29、約30 μg、約35 μg、約40 μg、約45 μg、約50 μg、約60 μg、約70 μg、約80 μg、約90 μg、約0.1 mg、約0.2 mg、約0.3 mg、約0.4 mg、約0.5 mg、約0.6 mg、約0.7 mg、約0.8 mg、約0.9 mg、約1 mg、約2 mg、約3 mg、約4 mg、約5 mg、約6 mg、約7 mg、約8 mg、約9 mg、約10 mg、約15 mg、約20 mg、約25 mg、約30 mg、約35 mg、約40 mg、約45 mg、約50 mg、約55 mg、約60 mg、約65 mg、約70 mg、約75 mg、約80 mg、約85 mg、約90 mg、約95 mg、または約100 mg（これらの間の全ての値および範囲を含む）であり得る。

30

40

【0263】

一実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キ

50

メラタンパク質複合体は、毎日約1 μ g～約100mg、毎日約1 μ g～約90mg、毎日約1 μ g～約80mg、毎日約1 μ g～約70mg、毎日約1 μ g～約60mg、毎日約1 μ g～約50mg、毎日約1 μ g～約40mg、毎日約1 μ g～約30mg、毎日約1 μ g～約20mg、毎日約0.1 μ g～約10mg、毎日約1 μ g～約5mg、毎日約1 μ g～約3mg、または毎日約1 μ g～約1mgの量で投与される。種々の実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、約1 μ g、約2 μ g、約3 μ g、約4 μ g、約5 μ g、約6 μ g、約7 μ g、約8 μ g、約9 μ g、約10 μ g、約11 μ g、約12 μ g、約13 μ g、約14 μ g、約15 μ g、約16 μ g、約17 μ g、約18 μ g、約19 μ g、約20 μ g、約21 μ g、約22 μ g、約23 μ g、約24 μ g、約25 μ g、約26 μ g、約27 μ g、約28 μ g、約29 μ g、約30 μ g、約35 μ g、約40 μ g、約45 μ g、約50 μ g、約60 μ g、約70 μ g、約80 μ g、約90 μ g、約0.1mg、約0.2mg、約0.3mg、約0.4mg、約0.5mg、約0.6mg、約0.7mg、約0.8mg、約0.9mg、約1mg、約2mg、約3mg、約4mg、約5mg、約6mg、約7mg、約8mg、約9mg、約10mg、約15mg、約20mg、約25mg、約30mg、約35mg、約40mg、約45mg、約50mg、約55mg、約60mg、約65mg、約70mg、約75mg、約80mg、約85mg、約90mg、約95mg、または約100mg（これらの間の全ての値および範囲を含む）の1日量で投与される。

【0264】

本発明の特定の実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体を含む医薬組成物は、例えば、1日2回以上（例えば、毎日約2回、約3回、約4回、約5回、約6回、約7回、約8回、約9回、または約10回）、1日約1回、約1日おき、約3日おき、週約1回、2週毎に約1回、毎月約1回、2か月毎に約1回、3か月毎に約1回、6か月毎に約1回、または毎年約1回投与され得る。ある実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体を含む医薬組成物は、週約3回投与される。

【0265】

種々の実施形態では、本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、長期間にわたり投与され得る。例えば、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、本明細書に記載のように、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間にわたり投与され得る。例えば、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、12週間、24週間、36週間または48週間にわたり投与され得る。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、少なくとも約1か月間、少なくとも約2か月間、少なくとも約3か月間、少なくとも約4か月間、少なくとも約5か月間、少なくとも約6か月間、少なくとも約7か月間、少なくとも約8か月間、少なくとも約9か月間、少なくとも約10か月間、少なくとも約11か月間、または少なくとも約12か月間にわたり投与される。いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、少なくとも約1年間、少なくとも約2年間、少なくとも約3年間、少なくとも約4年間、または少なくとも約5年間にわたり投与され得る。

【0266】

種々の実施形態では、本発明の医薬組成物は、追加の治療薬と併せて共投与される。共投与は、同時または順次であってよい。

【0267】

一実施形態では、追加の治療薬および本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、対象に同時に投与される。本明細

書で使用される場合、用語「同時に」は、追加の治療薬およびキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体が、約60分以下、例えば、約30分以下、約20分以下、約10分以下、約5分以下、または約1分以下の時間間隔で投与されることを意味する。追加の治療薬およびキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体の投与は、単一製剤（例えば、追加の治療薬およびキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体を含む製剤）または別々の製剤（例えば、追加の治療薬を含む第1の製剤およびキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体を含む第2の製剤）の同時の投与により行うことが可能である。

【0268】

共投与は、それらの投与のタイミングが、追加の治療薬およびキメラタンパク質の薬理的活性が時間経過と共に重なりあい、それにより組み合わせられた治療効果が発揮されるような場合には、治療薬が同時に投与される必要はない。例えば、追加の治療薬およびキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、順次に投与できる。本明細書で使用される場合、用語「順次に」は、追加の治療薬およびキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体が、約60分を超える時間間隔で投与されることを意味する。例えば、追加の治療薬とキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体との逐次投与の間の時間は、約60分を超えて、約2時間を超えて、約5時間を超えて、約10時間を超えて、約1日を超えて、約2日を超えて、約3日を超えて、約1週間を超えて間隔を開ける、約2週間を超えて間隔を開ける、または約1か月を越えて間隔を開けることができる。最適投与時間は、投与される追加の治療薬およびキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体の代謝、排泄速度、および/または薬学的活性に依存するであろう。追加の治療薬またはキメラタンパク質もしくはFcベースキメラタンパク質複合体などのキメラタンパク質複合体は、最初に投与されてよい。

【0269】

共投与はまた、治療薬が同じ投与経路により対象に投与される必要はない。むしろ、それぞれの治療薬は、任意の適切な経路、例えば、非経口または経口（non-parenterally）で投与できる。

【0270】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、別の治療薬と共投与されると、相乗的に作用する。このような実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体および追加の治療薬は、その治療薬が単剤療法で使用される場合に採用される用量よりも低い用量で投与され得る。

【0271】

いくつかの実施形態では、本発明は、追加の治療薬としての化学療法剤に関する。例えば、限定されないが、本発明のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体と化学療法剤とのこのような組み合わせは、本明細書の別の場所で記載のように、癌の治療に使用される。化学療法剤の例としては、アルキル化剤、例えば、チオテパ、CYTOXAN（シクロホスファミド）、スルホン酸アルキル、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、メチラメラミン例えば、アルトレタミン、トリエチルエネメラミン、トリエチレンネフォスフォラミド、トリエチレンチオフォスフォラミドおよび、トリメチロールメラミン、アセトゲニン（例えば、プラタシン、プラタチノン）、カントテシン（合成類似剤トポテカンを含む）、プリオスタチン、カリスタチン（callystatin）、CC-1065（アドゼレシン、カルゼル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（例えば、クリプトフィシン1、クリプトフィシン8など）、ドラスタチン、デュオカル

10

20

30

40

50

マイシン（合成類似薬 KW - 2189 および CB1 - TM1 を含む）、エレウテロピン、
 パンクラチスタチン、サルコディクチン、スポンギスタチン、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、酸化メクロルエタミン塩酸塩、メルファラン、ノベ
 ンピチン、フェネステリン、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、例えば、カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチ
 ン、ニムスチンおよびラニムスチン（*ranimustine*）、抗生物質、例えば、
 エンジン抗生物質（カリチアマイシン、特にカリチアマイシガンマII とカリチアマ
 イシンオメガII（*Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33: 183*
 - 186（1994）を参照）；ダイネマイシンAを含むダイネマイシン；ビスフォスフ
 オネート、例えば、クロドロネート；エスペラマイシン；ならびに、ネオカルジノスタチ
 ン発色団および関連色素タンパク質エンジン抗生物質発色団）、アクラシノマイシン、
 アクチノマイシン、オースラマイシン、アザセリン、プレオマイシン、カクチノマイシン
 、カラピシン、カルミノマイシン（*caminomycin*）、カルジノフィリン、クロ
 モマイシン（*chromomycinis*）、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、デト
 ルピシン、6 - ジアゾ - 5 - オキソ - L - ノルロイシン、アドリアマイシンドキソルピシ
 ン（モルフォリノドキソルピシン、シアノモルフォリノドキソルピシン、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
 エノール酸、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、
 ピューロマイシン、クエラマイシン、ロドルピシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾ
 シン、チュベルシジン、ウベニメックス、ジノスタチン、ゾルピシン；代謝拮抗薬、例え
 ば、メトトレキセートおよび5 - フルオロウラシル（5 - FU）；葉酸の類似体、例えば
 、デノプテリン、メトトレキセート、プテロプテリン、トリメトトレキサート；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、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；抗副腎物質、例えば、アミノグルテチミド
 （*minoglutethimide*）、ミトタン、トリロスタン；葉酸補充液、例えば
 、フロリン酸（*frolinic acid*）；アセグラトン；アルドホスファミドグリ
 コシド；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；エダトラキセート（*edatraxate*）、デメコルチン；ジアジクオン；エル
 フォルミチン（*elformithine*）；エリプチニウムアセテート；エポチロン；
 エトグルシド；ガリウムニトレート；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダミン（*loni*
idainine）；メイタンシノイド、例えば、メイタンシンおよびアンサマイトシン
 ；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダモール；ニトラエリン；ペントスタチン；フ
 エナメット；ピラルピシン；ロソキサントロン；ポドフィリン酸；2 - エチルヒドラジド
 ；プロカルバジン；PSK多糖複合体（*JHS Natural Products, Eugene, Oreg.*）；ラゾキサ
 ン；リゾキシシン；シゾフィラン；スピロゲルマニウ
 ム；テヌアゾン酸；2, 2', 2'' - トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン（例
 えば、T2毒素、ベラクリンA、ロリジンA、およびアングイディン）；ウレタン；ピンデシ
 ン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトプロニトール；ミトラクトール；ピポプロマン
 ；ガシトシン；アラビノシド（アラ - C）；シクロホスファミド；チオテパ；タキソイド
 、例えば、タキソール、パクリタキセル（*Bristol-Myers Squibb*
Oncology, Princeton, N.J.）、アブラキサクレモフォアフリー
 、アルブミン処理ナノ粒子形成パクリタキセル（*American Pharmaceutical Partners, Schauberg, 111.*）、タキソテールドキ
 セタキセル（*Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France*）
 ）、クロラムブシル、ジェムザール（ゲムシタピン）；6 - チオグアニン；メルカプトプ

10

20

30

40

50

リン；メトトレキセート；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；ピンブラスチン、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；ナベルピン（ビノレルピン）；ノバントロン；テニポシド；エダトレキセート；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（キャンプトサー、CPT-11）（イリノテカンと5-FUおよびロイコボリンの治療法を含む）；トポイソメラーゼ阻害剤RFS2000；チル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；コンブレタスタチン；ロイコボリン（LV）；オキサリプラチン治療法（FOLFEX）を含むオキサリプラチン；ラパチニブ（Tykerb）；PKC-、Raf、H-Ras、EGFRの阻害剤（例えば、エルロチニブ（Tarceva）および細胞増殖を低減するVEGF-A；ならびに上述のいずれかの薬剤の薬学的に許容可能な塩、酸または誘導体、が挙げられるが、これらに限定されない。さらに、治療の方法は、放射線の使用をさらに含み得る。さらに、治療の方法は、光線力学的治療の使用をさらに含み得る。

10

【0272】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、修飾されている誘導体、すなわち、共有結合が組成物の活性を妨げないような任意のタイプの分子の組成物への共有結合により修飾されている誘導体を含む。例えば、限定されないが、誘導体は、特に、グリコシル化、脂質化、アセチル化、ペグ化、リン酸化、アミド化、既知の保護/ブロック基による誘導体化、タンパク質切断、細胞リガンドまたはその他のタンパク質への結合、などにより修飾されている組成物を含む。多くの化学修飾のいずれかを既知の技術、例えば、限定されないが、特異的切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝合成、などを使って行うことができる。

20

【0273】

さらにその他の実施形態では、本明細書に記載のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、例示的实施形態では、毒素、化学療法剤、放射性同位元素、およびアポトーシスまたは細胞死を引き起こす物質を含む細胞傷害薬をさらに含む。このような物質は、本明細書に記載の組成物に複合化され得る。

【0274】

本明細書に記載のキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体をこのように翻訳後修飾して、化学リンカーなどのエフェクター部分、例えば、蛍光染料、酵素、基質、生物発光物質、放射性物質、および化学発光部分などの検出可能な部分、または、例えば、ストレプトアビジン、アビジン、ビオチン、細胞毒、細胞傷害性薬、および放射性物質などの機能的部分を付加し得る。

30

【0275】

細胞傷害薬の例としては、メトトレキセート、アミノプテリン、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、シタラビン、5-フルオロウラシルデカルバジン；アルキル化剤（例えば、メクロレタミン、チオテパ（thioepa）、クロラムブシル、メルファラン、カルムスチン（BSNU）、マイトマイシンC、ロムスチン（CCNU）、1-メチルニトロソウレア、シクロホスファミド（cyclophosphamide）、メクロレタミン、ブスルファン、ジプロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンC、シス-ジクロロジアミン白金（II）（DDP）シスプラチンおよびカルボプラチン（パラプラチン）；アントラサイクリン（ダウノルピシン（以前のダウノマイシン）およびドキソルピシン（アドリアマイシン）、デトルピシン、カルミノマイシン、イダルピシン、エピルピシン、ミトキサントロンおよびピサントレンを含む）；抗生物質（ダクチノマイシン（アクチノマイシンD）、プレオマイシン、カリチアマイシン、ミトラマイシン、およびアントラマイシン（AMC）を含む）；有糸分裂阻害薬（antimytotic agent）（例えば、ピンカアルカロイドピンカアルカロイド、ピンクリスチンおよびピンブラスチン）が挙げられるが、これらに限定されない。その他の細胞傷害薬には、パクリタキセル（タキソール）、リシン、緑膿菌外毒素、ゲムシタピン、サイトカラシンB

40

50

、グラミシジンD、臭化エチジウム、エメチン、エトポシド、テノポシド、コルヒチン、ジヒドロキシアントラシンジオン、1-デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、ピューロマイシン、プロカルバジン、ヒドロキシ尿素、アスパラギナーゼ、副腎皮質ステロイド、ミトタン(mytotane)(O, P'-(DDD))、インターフェロン、およびこれらの細胞傷害薬の混合物が挙げられる。

【0276】

さらなる細胞傷害薬としては、化学療法剤、例えば、カルボプラチン、シスプラチン、パクリタキセル、ゲムシタピン、カリチアマイシン、ドキシソルピシン、5-フルオロウラシル、マイトマイシンC、アクチノマイシンD、シクロホスファミド、ピンクリスチン、ブレオマイシン、VEGFアンタゴニスト、EGFRアンタゴニスト、プラチン、タキソール、イリノテカン、5-フルオロウラシル、ゲムシタピン(gemcytabine)、ロイコボリン、ステロイド類、シクロホスファミド、メルファラン、ピンカアルカロイド(例えば、ピンラスチン、ピンクリスチン、ピンデシンおよびピノレルピン)、ムスチン、チロシンキナーゼ阻害剤、放射線療法、性ホルモン拮抗薬、選択的アンドロゲン受容体調節薬、選択的エストロゲン受容体調節薬、PDGFアンタゴニスト、TNFアンタゴニスト、IL1アンタゴニスト、インターロイキン(例えば、IL12またはIL2)、IL12Rアンタゴニスト、毒素複合モノクローナル抗体、腫瘍抗原特異的モノクローナル抗体、アービタックス、アバスチン、ベルツズマブ、抗CD20抗体、リツキサン、オクレリズマブ、オフアツムマブ、DXL625、ハーセプチン(登録商標)、またはこれらの任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。リシン、ジフテリア毒素およびシュードモナス毒素などの植物および細菌由来の毒性酵素は、治療薬(例えば、抗体)と複合体形成して、細胞型特異的殺作用剤を生成し得る(Youle, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77: 5483 (1980); Gilliland, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77: 4539 (1980); Krollick, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77: 5419 (1980))。

【0277】

他の細胞傷害薬としては、Goldenbergによる米国特許第6,653,104号に記載される細胞傷害性リボヌクレアーゼが挙げられる。本発明の実施形態はまた、放射性免疫複合体に関し、複合体形成剤を使用してまたは使用せずに、アルファまたはベータ粒子を放出する放射性核種がキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体に安定に結合される。このような放射性核種としては、例えば、リン-32、スカンジウム-47、銅-67、ガリウム-67、イットリウム-88、イットリウム-90、ヨウ素-125、ヨウ素-131、サマリウム-153、ルテチウム-177、レニウム-186またはレニウム-188などの放射体、およびアスタチン-211、鉛-212、ビスマス-212、ビスマス-213またはアクチニウム-225などの放射体が挙げられる。

【0278】

検出可能な部分の例としては、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アセチルコリンエステラーゼ、アルカリフォスファターゼ、ベータガラクトシダーゼおよびルシフェラーゼが挙げられるが、これらに限定されない。蛍光材料のさらなる例としては、ローダミン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ウンベリフェロン、ジクロロトリアジニルアミン、フィコエリトリンおよびダンシルクロリドが挙げられるが、これらに限定されない。化学発光部分のさらなる例としては、ルミノールが挙げられるが、これに限定されない。生物発光材料のさらなる例としては、ルシフェリンおよびエクオリンが挙げられるが、これらに限定されない。放射性材料のさらなる例としては、ヨウ素-125、炭素-14、硫黄-35、トリチウムおよびリン-32が挙げられるが、これらに限定されない。

【0279】

いくつかの実施形態では、限定されないが、自己免疫適用を含む、追加の治療薬は、ステ

10

20

30

40

50

ロイド性抗炎症剤または非ステロイド性抗炎症剤（NSAID）などの抗炎症剤である免疫抑制剤である。ステロイド、特に副腎皮質ホルモン剤およびそれらの合成類似体は当該技術分野においてよく知られている。本発明で有用な副腎皮質ステロイドの例としては、ヒドロキシトリウムシノロン、 β -メチルデキサメタゾン、 β -メチル β -メタゾン、ベクロメタゾンジプロピオネート、 β -メタゾンベンゾエート、 β -メタゾンジプロピオネート、 β -メタゾンバレレート、クロベタゾールバレレート、デソニド、デソキシメタゾン、デキサメタゾン、ジフロラソンジアセテート、ジフルコルトロンバレレート、フルアドレノロン、フルクロロロンアセトニド、フルメタゾンピバレート、フルオシノロンアセトニド、フルオシノニド、フルコルチンブチルエステル、フルオコルトロン、フルプレドニデン（フルプレドニリデン）アセテート、フルランドレノロン、ハルシノニド、ヒドロコルチゾンアセテート、ヒドロコルチゾンブチレート、メチルプレドニゾロン、トリウムシノロンアセトニド、コルチゾン、コルトドキソン、フルセトニド、フルドロコルチゾン、ジフルオロソンジアセテート、フルアドレノロンアセトニド、メドリゾン、アムシナフェル、アムシナフィド、ベタメタゾンおよびその残りのエステル、クロロプレドニゾン、クロコルテロン、クレシノロン、ジクロリゾン、ジフルプレドネート、フルクロロニド、フルニソリド、フルオロメタロン、フルペロロン、フルプレドニゾロン、ヒドロコルチゾン、メプレドニゾン、パラメタゾン、プレドニゾロン、プレドニゾン、ベクロメタゾンジプロピオネートが挙げられるが、これらに限定されない。本発明で使用してよい（NSAIDS）としては、限定されないが、サリチル酸、アセチルサリチル酸、サリチル酸メチル、グリコールサリチレート、サリチルアミド、ベンジル-2,5-ジアセトキシ安息香酸、イブプロフェン、スリンダク（fulindac）、ナプロキセン、ケトプロフェン、エトフェナメート、フェニルブタゾン、およびインドメタシンが挙げられる。いくつかの実施形態では、免疫抑制剤は、アルキル化剤、代謝拮抗物質（例えば、アザチオプリン、メトトレキサート）、細胞傷害性抗生物質、抗体（パシリキシマブ、ダクリズマブ、およびムロモナブ）、抗イムノフィリン剤（例えば、シクロスポリン、タクロリムス、シロリムス）、インターフェロン、オピオイド、TNF結合タンパク質、ミコフェノレート、および小分子生物学的製剤（例えば、フィンゴリモド、ミリオシン）などの細胞分裂阻害薬であってよい。追加の抗炎症剤は、例えば、米国特許第4,537,776号に記載され、この特許の全内容は参照により本明細書に組み込まれる。

10

20

30

【0280】

いくつかの実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体は、1種または複数の本明細書に記載の疾患修飾治療薬（DMT）（例えば、表Aの薬剤）と組み合わせて多発性硬化症の治療方法で使用される。いくつかの実施形態では、本発明は、1種または複数の開示結合物質を含まない1種または複数の本明細書に記載のDMT（例えば、下表Aに挙げた物質）の使用と比べて、改善された治療効果を提供する。ある実施形態では、キメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体と1種または複数のDMTの組み合わせは、相乗的治療効果をもたらす。

疾患修飾治療薬の例としては、下記が挙げられるが、これらに限定されない：

40

50

【表 6】

表 A		
一般名	商標名／会社	頻度／送達経路／通常投与量
テリフルノミド	AUBAGIO (GENZYME)	毎日；丸薬の経口摂取；7 mg または14 mg
インターフェロンβ 1a	AVONEX (BIOGEN IDEC)	週1回；筋肉内（筋肉中）注射； 30 mcg
インターフェロンβ 1b	BETASERON (BAYER HEALTHCARE PHARMACEUTICALS, INC.)	隔日；皮下（皮膚の下）注射； 250 mcg
酢酸グラチラマー	COPAXONE (TEVA NEUROSCIENCE)	毎日；皮下（皮膚の下）注射； 20 mg (20,000 mcg) または週 3回；皮下（皮膚の下）注射；40 mg (40,000 mcg)
インターフェロンβ 1b	EXTAVIA (NOVARTIS PHARMACEUTICALS CORP.)	隔日；皮下（皮膚の下）注射； 250 mcg
フィンゴリモド	GILENYA (NOVARTIS PHARMACEUTICALS CORP.)	毎日；カプセル剤の経口摂取 ；0.5 mg
アレムツズマブ（抗CD52 モノ クローナル抗体）	LEMTRADA (GENZYME)	5日間連続静脈内注入、その後 、1年後に3日間連続静脈内注 入（12 mg）
ミトキサントロン	NOVANTRONE (EMD SERONO)	医療施設で年4回IV注入2～3年 間で約8～12用量の生涯累積投 与量許容限度（140 mg/m ² ）
ペグ化インターフェロンβ 1a	PLEGRIDY (BIOGEN IDEC)	14日毎；皮下（皮膚の下）注射 ；125 mcg
インターフェロンβ 1a	REBIF (EMD SERONO, INC.)	週3回；皮下（皮膚の下）注射； 44 mcg
ジメチルフマレート（BG-12）	TECFIDERA (BIOGEN IDEC)	1日2回；カプセル剤の経口摂 取；1週間は120 mg、その後 240 mg
ナタリズマブ（ヒト化モノク ローナル抗体VLA-4アンタゴ ニスト）	TYSABRI (BIOGEN IDEC)	4週毎に登録注入施設でIV注入 ；300 mg
開発中の DMT		
アミロライド（酸感受性イオ ンチャンネル-1、上皮型ナト	PAR PHARMACEUTICAL,	経口

10

20

30

40

50

表 A		
一般名	商標名／会社	頻度／送達経路／通常投与量
リウムチャネル、Na ⁺ /H ⁺ 交換輸送体を標的とする)	PERRIGO COMPANY , SIGMAPHARM LABORATORIES	
ATX-MS-1467 (主要組織適合抗原クラスII、ミエリン塩基性タンパク質に対するT細胞応答を標的とする)	APITOPE / MERCK SERONO	皮内、皮下
BAF312 (スフィンゴシン1-ホスフェート (S1P) 受容体サブタイプS1P1およびS1P5、B細胞分布、T細胞分布を標的とする)	NOVARTIS PHARMA	経口
BGC20-0134 (炎症促進性および抗炎症性サイトカインを標的とする)	BTG PLC	経口
BIIB033 (LINGO-1 (「ロイシンリッチ反復および免疫グロブリン様ドメイン含有Nogo受容体相互作用タンパク質」)を標的とする)	BIOGEN	静脈内注入を第1相・第2相臨床試験で使用、皮下注射を第1相臨床試験で使用
クラドリピン (CD4 ⁺ T細胞、DNA合成および修復、E-セレクチン細胞内接着性分子-1、炎症促進性サイトカイン、インターロイキン2およびインターロイキン2R、炎症促進性サイトカイン、インターロイキン8およびRANTESサイトカイン分泌単球およびリンパ球移動を標的とする)	MERCK SERONO	経口
シクロホスファミド (T細胞、特にCD4 ⁺ ヘルパーT細胞、B細胞を標的とする)	BAXTER HEALTHCARE CORPORATION	経口、月1回の静注パルス療法
ダクリズマブ (CD25、T細胞の免疫調節物質を標的とするヒト化モノクローナル抗体)	BIOGEN IDEC/ABBVIE BIOTHERAPEUTICS	月1回のIM注射が計画されている
ダルファムプリジン (電位作動型カリウムチャネル、デジエネリン／上皮ナトリウムチャネル、サブユニット	ACORDA THERAPEUTICS / BIOGEN IDEC	12時間毎に1錠(持続放出)、10mgを1日2回

10

20

30

40

50

表 A		
一般名	商標名／会社	頻度／送達経路／通常投与量
Cavbeta3を含むL型カルシウムチャンネルを標的とする)		
ドロナビノール (カンナビノイド受容体CB1、カンナビノイド受容体CB2を標的とする)	ABBVIE INC.	経口
フィラテグラスト ($\alpha 4 \beta 1$ インテグリンを標的とする)	GLAXOSMITHKLINE	経口
GNbAC1MSRV-Env (MS関連レトロウイルスのエンベロープタンパク質を標的とする)	GENEURO SA / SERVIER	静脈内注入
イデベノン (活性酸素種を標的とする)	SANTHERA PHARMACEUTICALS	PPMSに対する臨床試験での経口投与量は、2250 mg/日 (750 mg用量、1日3回)
イミレクルーセルT (ミエリン特異的自己反応性T細胞を標的とする)	OPEXA THERAPEUTICS / MERCK SERONO	皮下に年5回投与 (製造業者の情報による)
ラキニモド	TEVA	毎日、0.6 mgまたは1.2 mgの経口錠剤の摂取が計画されている
マシチニブ (KIT (幹細胞因子、(c-KITとも呼ばれる)) 受容体を標的とし、加えて、その他のチロシンキナーゼ、マスト細胞を選択する)	AB SCIENCE	経口
MEDI-551 (CD19 (B細胞受容体複合体の一部でありB細胞活性化のための閾値の決定において機能するB細胞特異的抗原)、およびCD19を発現するがCD20は発現せず、大量の抗体を分泌するB細胞であるB細胞形質芽細胞を標的とする；形質芽細胞の枯渇は病原性自己抗体を含む自己免疫疾患に有用であり得る)	MEDIMMUNE	皮内、皮下
ミノサイクリン (T細胞、ミクログリア、白血球移動、マトリックスメタロプロテアーゼを標的とする)	VARIOUS	ペレット充填カプセル剤および経口懸濁剤として経口利用可能
MIS416 (自然免疫系、自然免	INNATE	静脈内

10

20

30

40

50

表 A		
一般名	商標名／会社	頻度／送達経路／通常投与量
疫系の病原体関連分子パターン認識受容体、自然免疫系の骨髄性細胞を標的とし、これは、SPMSで発生する調節解除された免疫系活性を再構築できると思われる)	IMMUNOTHERAPEUTICS	
ミコフェノール酸モフェチル (プリン合成を標的とする)	MANUFACTURED BY GENENTECH	経口
ナルトレキソン (オピオイド受容体、トール様受容体4を標的とする)	VARIOUS	「低用量ナルトレキソン」(または「LDN」として経口剤形で低用量にて投与 (3~4.5 mg/日))
オクレリズマブおよびオファツムマブ (CD20を標的とするヒト化モノクローナル抗体、B細胞の抑制)	ROCHE / GSK	IV輸注が計画されている
ONO-4641 (スフィンゴシン1-ホスフェート受容体を標的とする)	ONO PHARMACEUTICAL CO.	経口
フェニトイン (ナトリウムチャンネルを標的とする)	PFIZER	静脈内、筋肉内、(あまり好ましくない選択肢) 経口
ポネシモド	ACTELION	未決定
ラルテグラビル (レトロウイルスのインテグラーゼ、ヘルペスウイルスDNAパッケージングターミナーゼを標的とする)	MERCK	経口400 mg錠剤を毎日2回 (製造業者の情報による)
RHB-104	REDHILL BIOPHARMA LIMITED	95 mgクラリスロマイシン、45 mgリファブチン、および10 mgクロファジミン
リルゾール (グルタミン酸神経伝達、グルタミン酸取り込みおよび放出、電位依存性ナトリウムチャンネル、プロテインキナーゼCを標的とする)	COVIS PHARMA / SANOFI	経口

10

20

30

40

【0281】

本発明はまた、本明細書に記載のいずれかの薬剤 (例えば、種々の追加の治療薬を含む、または含まないキメラタンパク質またはFcベースキメラタンパク質複合体などの、キメラタンパク質複合体) の投与のためのキットを提供する。キットは、本明細書に記載の少なくとも1種の本発明の医薬組成物を含む、材料または成分の集合体である。したがって、いくつかの実施形態では、キットは、本明細書に記載の少なくとも1種の医薬組成物を含む。

【0282】

キットを構成する成分の明確な性質は、その意図される目的に依存する。一実施形態では

50

、キットは、ヒト対象を治療する目的のために構成される。

【0283】

使用説明書をキット中に含めてもよい。使用説明書は、通常、癌の治療などの望まれる結果を達成するために、キットの成分を使用する際に採用すべき技術を説明する明確な表現を含む。必要に応じ、キットは、他の有用な成分、例えば、希釈剤、緩衝剤、薬学的に許容可能な担体、シリンジ、カテーテル、塗布具、ピペット操作または測定用ツール、包装材料または当業者なら容易に気付くような他の有用な備品一式も含む。

【0284】

キットに組込まれる材料および成分は、それらの操作性および有用性を維持する任意の便利で適切な方法で保管され開業医に提供され得る。例えば、成分は、室温、冷蔵温度、または凍結温度で提供できる。成分は通常、適切な梱包材料に収容される。種々の実施形態では、梱包材料は、よく知られた方法、好ましくは、無菌の、混入物のない環境を与える方法で構築される。梱包材料は、内容物および/またはキットの目的および/またはその成分を表示する外部ラベルを有してよい。

【0285】

定義

本明細書で使用される場合、「a」、「an」、または「the」は、1つ(1種)または1つ(1種)を超える、を意味し得る。

【0286】

特に記載のない限り、または文脈から明らかでない限り、本明細書で使用される場合、「または(or)」という用語は、「または(or)」および「および(and)」の両方を含み、それらを対象とする。

【0287】

さらに、参照数値表示に関連して使われる用語「約」は、参照数値表示±参照数値表示の最大で10%、例えば、示した値の(±)10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、0.05%、または0.01%以内の値を意味する。例えば、用語の「約50」は、45~55の範囲を対象とする。

【0288】

「有効量」という用語は、医学的使用に関連して使用される場合、測定できる目的の疾患の治療、予防、または発病速度の低下をもたらすのに効果的である、量である。

【0289】

本明細書で使用される場合、物質または刺激の存在下で、このような調節の非存在下に比べて、活性および/または効果の出力値がかなりの量、例えば、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、またはそれを超えて、少なくとも最大約100%(約100%を含む)低減されるとき、何かが「低減されている」。当業者により理解されるように、いくつかの実施形態では、活性は低下し、かついくつかの下流の出力値は低下するが、他のものは増加し得る。

【0290】

逆に、物質または刺激の存在下で、このような物質または刺激の非存在下に比べて、活性および/または効果の出力値がかなりの量、例えば、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、またはそれを超えて、最大少なくとも約100%(約100%を含む)またはそれを超えて、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約50倍、少なくとも約100倍増加する場合、活性は「高く」なる。

【0291】

本明細書において、参照される場合、全ての組成物に関するパーセンテージは、特に指定がない限り、総組成物の重量による。本明細書で使用する場合、「含む (include)」という単語とその変形物は、非限定であることを意図し、それにより、リスト中の項目の記載は、この技術の組成物および方法に有用である可能性を同様に有する他の類似項目の除外を意図するものではない。同様に、用語の「can」および「may」およびその変形物は、非限定であることを意図し、それにより、ある実施形態が特定の要素または特徴を含むことが「できる (can)」または含んでも「よい (may)」という記載は、これらの要素または特徴を含まない本発明の技術のその他の実施形態を排除するものではない。

【0292】

including、containing、またはhavingなどの用語の同義語としてのオープンエンド用語の「含む (comprising)」を本明細書で使用して本発明を記載および請求するが、本発明、またはその実施形態は、「からなる (consisting of)」または「から本質的になる (consisting essentially of)」などの代替用語を使って、代わりに記載することができる。

【0293】

本明細書で使用される場合、用語の「好ましい」および「好ましくは」は、特定の状況下で、特定の利点をもたらす本技術の実施形態を指す。しかしながら、同じまたは他の環境下で、他の実施形態も好ましい場合がある。さらに、1つまたは複数の好ましい実施形態の記載は、他の実施形態が有用でないことを示すものではなく、また、本技術の範囲から他の実施形態を排除することを意図するものではない。

【0294】

治療効果の達成に必要な本明細書で記載の組成物の量は、特定目的のための従来の手順に従って経験的に決定されてよい。一般に、治療目的のために治療薬を投与する場合、治療薬は薬理学的有効量で投与される。「薬理学的有効量」、「薬理学的有効用量」、「治療有効量」、または「有効量」は、特に障害または疾患を治療するために、目的の生理的な効果を生み出すのに十分な量または目的の結果を達成することができる量を意味する。本明細書で使用される場合、有効量は、例えば、障害または疾患の症状の進展を遅らせる、障害または疾患の症状の経過を変える（例えば、疾患の症状の進展を遅らせる）、障害または疾患の1つまたは複数の症状または発症を減らすまたはなくする、および障害または疾患の症状を回復させるのに十分な量を含んでよい。治療効果はまた、改善が実現されるかどうかにかかわらず、根底にある疾患または障害の進行を止めるまたは遅らせることも含む。

【0295】

有効量、毒性、および治療効果は、例えば、細胞培養または実験動物によりLD50（集団の約50%に対する致死用量）およびED50（集団の約50%での治療的有效量）を測定するための標準的薬学的手順により決定できる。投与量は、用いられる剤形および利用される投与経路に応じて変化し得る。毒性と治療効果との間の用量比率は、治療指数であり、比率LD50/ED50で表すことができる。いくつかの実施形態では、大きな治療指数を示す組成物および方法が好ましい。治療有効量は、最初は、例えば、細胞培養アッセイを含むインビトロアッセイから推測することができる。また、用量は、細胞培養または適切な動物モデルで決定したIC50などの循環血漿中濃度範囲を達成するように動物モデルで処方することができる。記載の組成物の血漿中レベルは、例えば、高速液体クロマトグラフィーにより測定することができる。いずれかの特定の投与量の効果は、適切なバイオアッセイによりモニターすることができる。投与量は医師により決定されてよく、必要に応じて、観察された治療の効果に適合するように調節できる。

【0296】

特定の実施形態では、効果は、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約50%、少なくとも約70%、または少なくとも約90%の定量可能な変化をもたらすであろう。いくつかの実施形態では、効果は、約10%、約20%、

10

20

30

40

50

HeK293T細胞にFLT3発現プラスミドまたは空のベクター(MOCK)を一過性に遺伝子導入した。遺伝子導入の2日後、細胞を、段階希釈(示したように)野生型IFN α 2またはFLT3L-Fc-AFNを用いて37°Cで15分間刺激した。固定(10分間、37°C、Fix Buffer I; BD Biosciences)、透過処理(30分、氷上、Perm III Buffer I; BD Biosciences)および洗浄後、抗STAT1 pY701 Ab(BD Biosciences)による細胞の染色を実施した。試料をMACSQuant X instrument(Miltenyi Biotec)で取得し、FlowLogicソフトウェア(Miltenyi Biotec)を用いて分析した。図20のデータは、FLT3L-Fc-AFNは、FLT3中でのみSTAT1リン酸化を誘導できるが、MOCK遺伝子導入細胞では誘導できないことを明確に示し、それにより、このリガンドを用いた標的化が可能であることを示す。留意すべきは、FLT3またはMOCK遺伝子導入細胞は、野生型IFN α 2に対し同等に感受性であることである。

【0301】

実施例2：分割FLT3L-Fc-AFNバリエント

この実施例では、我々は、FLT3Lの1つのコピーが各Fc鎖上に呈示される構築物を用いて、FLT3陽性細胞を選択的に活性化することを目指しFLT3Lにより標的化されるFcフォーマットIFNベースAFNの潜在力を評価した。このような「ノブインホール」のFc状況における分割FLT3L-Fc構築物の可能性は、図21A~Fおよび図22A~Fに示される。例示されたヘテロダイマー(構造図21A参照)について、FLT3L配列は、両Fcアームのクローン化N末端であり、いわゆる「分割」配置をもたらした。第1のFLT3L配列は、pcDNA3.4発現ベクター中で、L234A__L235A__K322Qエフェクター変異および「ホール」改変Y349C__T366S__L368A__Y407Vを含むヒトIgG1-Fc配列に融合された。pcDNA3.4ベクター中で同様にクローン化された第2のAFNパートナーは、FLT3L配列、L234A__L235A__K322Qエフェクター変異および「ノブ」改変S354C__T366Wを含むヒトIgG1-Fc配列と、AFN変異R149AおよびT106のEへの変異によるO-グリコシル化部位の欠失を有するhIFN α 2の間の融合から構成される。3種のバリエントが試験された：第1のバリエントでは、FLT3Lアミノ酸(aa)27~184の配列が、5*GGSLinkerを介してFcアームに融合された。同じFLT3L配列が、第2のバリエントでFcアームに直接融合された。第3のバリエントでは、FLT3Lアミノ酸27~160および5*GGSLinkerの組み合わせが、使用された。各バリエントでは、FLT3-L二量体形成面中の残基L27が任意選択で、Dへさらに変異された。これは、12個の異なる配列を生じた(下記参照)。

【0302】

これらの「ノブインホール」AFNを産生するために、「ホール」および「ノブ」の両方のプラスミドの組み合わせを、製造業者の説明書に従いExpichO細胞(ThermoFisher)中で遺伝子導入した。遺伝子導入の7日後に、組換えタンパク質を、Protein Aスピンプレート(ThermoFisher)を用いて精製し、定量化しおよびSDS-PAGEを用いて純度試験した。非還元条件下でのSDS-PAGEは、L27D変異を含む構築物について、より均質なプロファイルを示した。

【0303】

得られたタンパク質の生物活性を、親HL116細胞(p6-16ルシフェラーゼレポーターを安定に遺伝子導入されたIFN応答性細胞株)および得られた、安定に遺伝子導入されたHL116-FLT3細胞について測定した。細胞を、一晚播種し、段階希釈のFLT3L-AFNで6時間刺激した。ルシフェラーゼ活性を、EnSight Multimode Plate Reader(Perkin Elmer)で測定した。図23A~Gのデータは、(i)親HL116およびHL116-FLT3細胞の両方は、野生型IFN α 2に対し同等の応答性である、(ii)全てのFLT3L-AFNは、非標的化細胞に比べて、標的化(FLT3発現)細胞で、明らかに活性がより高い、(iii)

) FLT3L バリエーション間での IFN 様シグナル伝達の明確な差異はない、および (i v) L27D 変異は、標的化または非標的化細胞の両方に対するシグナル伝達に与える明らかな効果を示さない、ことを明確に示す。

配列：

【化4】

- 1. **P-2168:** FLT3L_27-184-S-5***GGG**-Fc3

TQDCSFQHSPISSDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQDEELCGGLWRLVLAQRWMERLKTAVAGSKMQGLLE
 RVNTEIHVTKCAFQPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKPWITRQNFSRCELCQCQPSSTLPPPWSRPL
 EATAPTAPQPS**GGSGGGSGSGSGG**DKHTHTCPPCPAPEAAGGSPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVD
 VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCVSNKALPAPIEKT
 ISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
 VSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号：46)

10

- 2. **P-2169:** FLT3L_27-184-S-5***GGG**-Fc4-AFN

TQDCSFQHSPISSDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQDEELCGGLWRLVLAQRWMERLKTAVAGSKMQGLLE
 RVNTEIHVTKCAFQPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKPWITRQNFSRCELCQCQPSSTLPPPWSRPL
 EATAPTAPQPS**GGSGGGSGSGSGG**DKHTHTCPPCPAPEAAGGSPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVD
 VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCVSNKALPAPIEKT
 ISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
 YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGG
 SGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSCDLPQTHSLGSRRTLMMLAQMRKISLFSCLKDR
HDFGFPQEEFGNQFKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQNLDEACVIQGVGV
EETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVRAEIMASFSLSLNLQESLSRKE (配列番号：47)

20

- 3. **P-2170:** FLT3L_27-184-S-Fc3

TQDCSFQHSPISSDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQDEELCGGLWRLVLAQRWMERLKTAVAGSKMQGLLE
 RVNTEIHVTKCAFQPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKPWITRQNFSRCELCQCQPSSTLPPPWSRPL
 EATAPTAPQPSDKHTHTCPPCPAPEAAGGSPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL
 PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN
 VFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号：48)

30

- 4. **P-2171:** FLT3L_27-184-S-Fc4-AFN

TQDCSFQHSPISSDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQDEELCGGLWRLVLAQRWMERLKTAVAGSKMQGLLE
 RVNTEIHVTKCAFQPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKPWITRQNFSRCELCQCQPSSTLPPPWSRPL
 EATAPTAPQPSDKHTHTCPPCPAPEAAGGSPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
 NVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGG
 GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSCDLPQTHSLGSRRTLMMLAQMRKISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQF
QKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQNLDEACVIQGVGV
EETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVRAEIMASFSLSLNLQESLSRKE (配列番号：49)

40

、遠心分離により取り出した。タンパク質を、AKTA pure instrument (GE Healthcare)を用いて5mlのProtein Aカラム(GE Healthcare)で精製した。精製タンパク質を、AKTAを使用して、スーパーデックス200 Increase 10/300カラム(GE Healthcare)でのサイズ排除クロマトグラフィーによりさらに分析した。図27A~CでのSECプロファイルおよびそれに続く各ピークのSDS-PAGEによる分析は、(i)158kDマーカの位置で溶出したピークは主に、二量体P-1414型(p-2180+P-1414の組み合わせに対してのみ観察される)である；(ii)158kDマーカの左側の溶出ピークは、P-2180+P-1414について最も多い存在量(78%であり、これに対しP-2168+P-2169では57%、およびP-2174+P-2175では25%)で見出される目的の生成物として特定される；(iii)L27D変異を有する分割鎖産生(P-2174+P-2175)では、主要な単一の高分子量種が認められ、一方で他の分割鎖構築物では、さらに複数の高分子量種を形成する高い傾向がある(P-2168+P-2169)、ことを示す。親HL116対HL116-FLT3細胞中のHL116レポーターアッセイは、P-2180+P-1414について、158kDマーカの左側のピークは、それが158kDの位置のピークに比べてHL116-FLT3細胞で活性が約25倍高いので、実際に適切な物質であることを確認した。

10

【0307】

実施例5：単鎖FLT3L Fc AFNバリエーション

この実施例では、下記「配列」で挙げた全ての構築物の発現および製造性を、試験した。これらの単鎖FLT3L Fc AFNバリエーションは、使われるFLT3L配列の長さ(a a 27~182、a a 27~177およびa a 27~160)、およびFLT3L二量体形成面中のL27D変異の存在または非存在が基本的に異なる。2つのこのようなFLT3L配列は、3*GGGSリンカーにより融合される。得られたFLT3L配列は、フレキシブル10*GGSリンカーを介しておよびpcDNA3.4発現ベクター中で、L234A__L235A__K322Qエフェクター変異および「ホール」改変Y349C__T366S__L368A__Y407Vを含むヒトIgG1 Fc配列に融合された。pcDNA3.4ベクター中で同様にクローン化された第2のAFNパートナーは、L234A__L235A__K322Qエフェクター変異および「ノブ」改変S354C__T366Wを含むヒトIgG1 Fc配列と、AFN変異R149AおよびT106のEへの変異によりO-グリコシル化部位の欠失を有するhIFNa2の間の融合から構成される。構築物は、製造者ガイドラインに従って、ExpichO細胞(ThermoFisher)中で発現された。遺伝子導入の7日後、組換えタンパク質を、Protein Aスピンプレート(ThermoFisher)を用いて精製し、定量しおよびSDS-PAGEを用いて純度評価した。

20

30

【0308】

得られたタンパク質の生物活性を、実施例2に記載のように親HL116およびHL116-FLT3細胞で、2種の独立した実験にて測定した。表6のデータは、(i)全ての試験したFLT3L AFNバリエーションは、HL116-FLT3細胞中でIFNAR依存性シグナル伝達を誘導する、(ii)このようなシグナル伝達は、試験した最高濃度でも、親HL116細胞株では検出可能でなく、従って全てのこれらのバリエーションは、野生型IFNa2には完全に欠けている極めて高い選択性ウィンドウを有する、(iii)FLT3Lバリエーションa a 27~182およびa a 27~177は同等の活性を有し、一方でa a 27~160ベースのFLT3Lでさえ、まだ著しく効力が高い、(iv)L27D変異は、全3種の長さのバリエーションにおいて幾らかシグナル伝達能力を低下させる傾向があり、これは、製造性を最適化するための解決策としての道を開く、ことを示す。

40

【表 7】

表 6 : 発現した HL 1 1 6 細胞における IFNAR シグナル伝達の EC 5 0 (n g / m l 単位)。最高濃度でのレポーター活性が検出可能であったが EC 5 0 レベルに達しなかった場合、これを「>」で示す。最高濃度でレポーター活性が検出されなかった場合、これを「>>」で示す。

EC50 ng/ml	実験1			実験2		
	HL116	HL116-FLT3	比率	HL116	HL116-FLT3	比率
IFNa2	0.12	0.13	1	0.22	0.17	0.8
P-2410+ P-1414		>>1000		2.2	>>200	>>90
P-2411+ P-1414	6.1	>>1000	>>160	11.4	>>1000	>>85
P-2412+ P-1414	2.1	>>1000	>>475		>>1000	
P-2413+ P-1414	13.6	>>1000	>>70	18.4	>>1000	>>50
P-2414+ P-1414	22.0	>>1000	>>45	16.6	>>1000	>>60
P-2415+ P-1414	44.3	>>1000	>>20	64.0	>>1000	>>15

配列 :

10

20

30

40

50

【化 6】

1. **P-2410: FLT3L_27-182-3*GGGGS-FLT3L_27-182-10*GGS-Fc3**

TQDCSFQHSPISDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQDEELCGGLWRLVLAQRWMERLKTVAGSKMQG
 LLERVNTEIHVTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKPWITRQNFRCLELQCQPDSSTLPPP
 WSPRPLEATAPTAPGGGSGGGSGGGGSTQDCSFQHSPISDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQDE
 ELCGGLWRLVLAQRWMERLKTVAGSKMQGLLERVNTEIHVTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQL
 VALKPWITRQNFRCLELQCQPDSSTLPPPWSPRPLEATAPTAPGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGS
GGSGGSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKQCQVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLP
PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV
FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 : 60)

10

2. **P-2411: FLT3L_27-182_L27D-3*GGGGS-FLT3L_27-182_L27D-10*GGS-Fc3**

TQDCSFQHSPISDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQDEELCGGLWRLVLAQRWMERLKTVAGSKMQG
 LLERVNTEIHVTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKPWITRQNFRCLELQCQPDSSTLPPP
 WSPRPLEATAPTAPGGGSGGGSGGGGSTQDCSFQHSPISDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQD
 EELCGGLWRLVLAQRWMERLKTVAGSKMQGLLERVNTEIHVTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSE
 QLVALKPWITRQNFRCLELQCQPDSSTLPPPWSPRPLEATAPTAPGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGG
SGGSGGSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKQCQVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLP
PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV
FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 : 61)

20

3. **P-2412: FLT3L_27-177-3*GGGGS-FLT3L_27-177-10*GGS-Fc3**

TQDCSFQHSPISDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQDEELCGGLWRLVLAQRWMERLKTVAGSKMQG
 LLERVNTEIHVTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKPWITRQNFRCLELQCQPDSSTLPPP
 WSPRPLEATGGGSGGGSGGGGSTQDCSFQHSPISDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQDEELCG
 GLWRLVLAQRWMERLKTVAGSKMQGLLERVNTEIHVTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALK
 PWITRQNFRCLELQCQPDSSTLPPPWSPRPLEATGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGSDK
THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKQCQVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLP
PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV
FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 : 62)

30

40

50

の欠失を有する h I F N a 2 から構成される A F N パートナーに融合される。構築物は、C 末端ヒスチジンタグを有して p c D N A 3 . 4 中でクローン化され、E x p i C H O 中で発現され、金属親和性により精製される。

配列：

【化 7】

1. FLT3L_27-182-**3*GGGGS**-FLT3L_27-182-**10*GGS**-AFN-H6
 TQDCSFQHSPISDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQDEELCGGLWRLVLAQRWMERLKT VAGSKMQG
 LLERVNTEIHVFTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKPWITRQNF SRCLELQCQPD S STLPPP
 WSPRPLEATAPTAP**GGGGS**TQDCSFQHSPISDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQDE
 EELCGGLWRLVLAQRWMERLKT VAGSKMQG LLERVNTEIHVFTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQL
 VALKPWITRQNF SRCLELQCQPD S STLPPP WSPRPLEATAPTAP**GGGGS**
GGGGSCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRKISLF SCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFN
 LNSTKDSSAAWDETLDDK FYTELYQQLNDLEACVIQGVGVEETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPC
 AWEVVR AEIMASFSLSLSTNLQESLSKE (配列番号：67) 10
2. FLT3L_27-182-**L27D-3*GGGGS**-FLT3L_27-182-**L27D-10*GGS**-AFN-H6
 TQDCSFQHSPISDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQDEELCGGLWRLVLAQRWMERLKT VAGSKMQG
 LLERVNTEIHVFTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKPWITRQNF SRCLELQCQPD S STLPPP
 WSPRPLEATAPTAP**GGGGS**TQDCSFQHSPISDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQD
 EELCGGLWRLVLAQRWMERLKT VAGSKMQG LLERVNTEIHVFTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSE
 QLVALKPWITRQNF SRCLELQCQPD S STLPPP WSPRPLEATAPTAP**GGGGS**
GGGGSCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRKISLF SCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQI
 FNLFSTKDSSAAWDETLDDK FYTELYQQLNDLEACVIQGVGVEETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYS
 PCAWEVVR AEIMASFSLSLSTNLQESLSKE (配列番号：68) 20
3. FLT3L_27-177-**3*GGGGS**-FLT3L_27-177-**10*GGS**-AFN-H6
 TQDCSFQHSPISDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQDEELCGGLWRLVLAQRWMERLKT VAGSKMQG
 LLERVNTEIHVFTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALKPWITRQNF SRCLELQCQPD S STLPPP
 WSPRPLEAT**GGGGS**TQDCSFQHSPISDFAVKIRELSDYLLQDYPVTVASNLQDEELCG
 GLWRLVLAQRWMERLKT VAGSKMQG LLERVNTEIHVFTKCAFQPPPSCLRFVQTNISRLLQETSEQLVALK
 PWITRQNF SRCLELQCQPD S STLPPP WSPRPLEAT**GGGGS**
GGGGSCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRKISLF SCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSA
 AWDETLDDK FYTELYQQLNDLEACVIQGVGVEETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVR AE
 IMASFSLSLSTNLQESLSKE (配列番号：69) 30

40

50

L二量体化の結果である。図27A～Cのサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）プロファイルと比較されたい。

【0311】

実施例7：治療のためのFLT3標的化AFNの使用

FLT3標的化AFNの抗腫瘍活性を評価するために、次の2つの単鎖Flt3Lキメラタンパク質構築物を、Exp CHO中で発現させ、Protein Aにより続いてサイズ排除クロマトグラフィーにより精製した。

・scFLT3-Fc-AFN：P-2180+P-1414

・scFLT3-Fc：P-2180+P-2038（P-2038は、AFN部分を含まないFc4タンパク質をコードする）。

【0312】

精製タンパク質をその後、ヒト化マウスの腫瘍モデルで評価した。簡単に説明すると、新生児NSGマウス（1～2日齢）を、100cGyで亜致死量照射し、その後 1×10^5 個のCD34+ヒト幹細胞（HLA-A2陽性臍帯血由来）を肝内に送達した。幹細胞移入後13週で、マウスに、 25×10^5 個のヒトRL濾胞性リンパ腫細胞（ATCC CRL-2261；IFNの直接抗増殖作用に感受性でない）を皮下接種した。等モル投与量のscFlt3-Fc融合体（19.8 μ g）およびscFlt3L-Fc-AFN（25 μ g）または緩衝液による静脈内治療を、腫瘍接種後の12日目および20日目に実施した（n=3～5マウス/群）。腫瘍サイズ（ノギス測定値）および体重を、2日または3日毎に評価した。

【0313】

図28Aのデータは、第2の治療後6日までの腫瘍増殖を示し、scFlt3L-Fc融合体は、腫瘍増殖が緩衝液治療に比べて低減されるので、機能的であることを実証する。図28Bのデータは、さらにより強力に腫瘍増殖を抑制するscFlt3L-Fc-AFNタンパク質の効力を実証する。図29の体重変化は、Flt3L構築物で治療した両群のマウスは、体重が減少した緩衝液治療動物と対照的に、体重が等しく増加したことを示す。

【0314】

実施例8：さらなるFlt3L/IFN1AFNの生成、産生、精製およびキャラクタリゼーション

この実施例では、我々は、FLT3Lに融合されたIFN1の活性を評価した。

精製タンパク質を、ヒト化マウスの腫瘍モデルで評価した。簡単に説明すると、新生児NSGマウス（1～2日齢）を、100cGyで亜致死量照射し、その後 1×10^5 個のCD34+ヒト幹細胞（HLA-A2陽性臍帯血由来）を肝内に送達した。幹細胞移入後13週で、マウスに、 25×10^5 個のヒトRL濾胞性リンパ腫細胞（ATCC CRL-2261；IFNの直接抗増殖作用に感受性がない）を皮下接種した。マウスを、腫瘍接種後8日目～18日目に、30 μ gのヒトFlt3Lタンパク質で毎日腹腔内治療した。緩衝液またはFlt3L-IFN1（30 μ g）での毎日の静脈内注射を、触知できる腫瘍が認められた、腫瘍接種後の10日目に開始した（群当たりn=5または6匹のマウス）。腫瘍サイズ（ノギス測定値）、体重および体温を、毎日評価した。

【0315】

図31のデータは、最後の治療の2日後までの腫瘍増殖を示し、標的化Flt3L/IFN1が強力に腫瘍増殖を抑制することを実証する。体重および体温のデータは、緩衝液治療およびIFN1治療間で何ら大きな差異を示さず、治療が耐容性良好であったことを裏付けた。

10

20

30

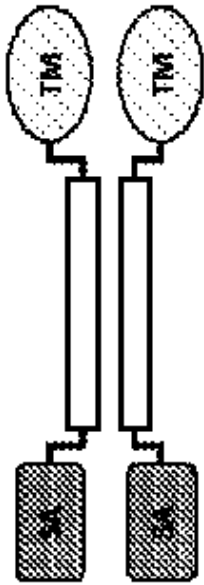
40

50

【図面】

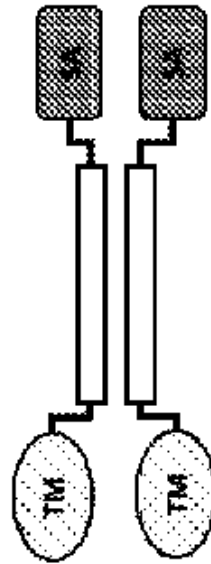
【図 1 A】

FIG. 1A



【図 1 B】

FIG. 1B

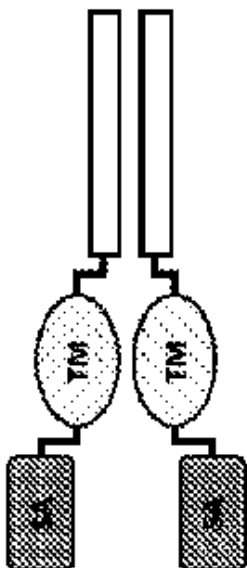


10

20

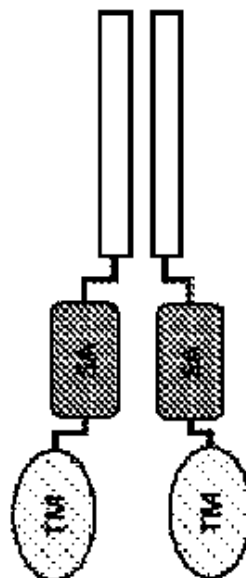
【図 1 C】

FIG. 1C



【図 1 D】

FIG. 1D



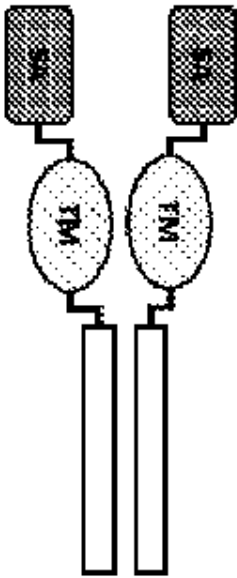
30

40

50

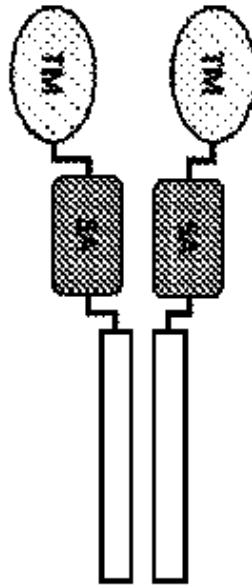
【 図 1 E 】

FIG. 1E



【 図 1 F 】

FIG. 1F

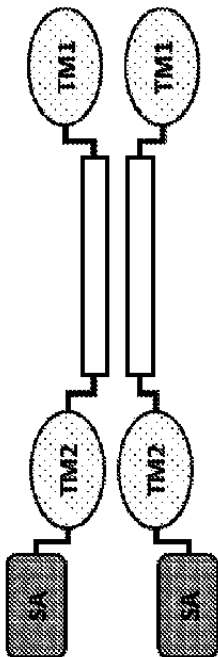


10

20

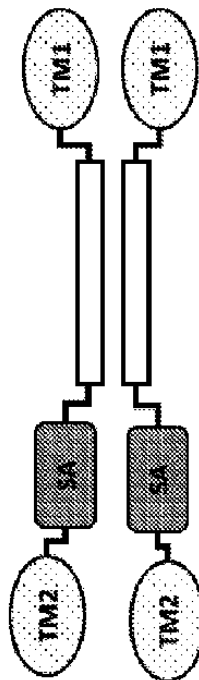
【 図 2 A 】

FIG. 2A



【 図 2 B 】

FIG. 2B



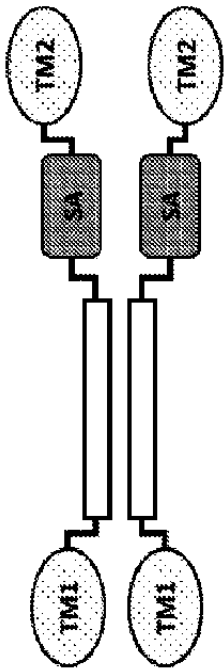
30

40

50

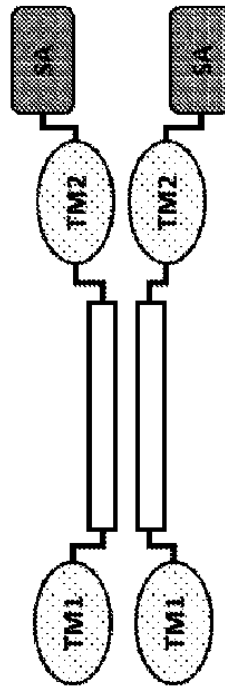
【 図 2 C 】

FIG. 2C



【 図 2 D 】

FIG. 2D

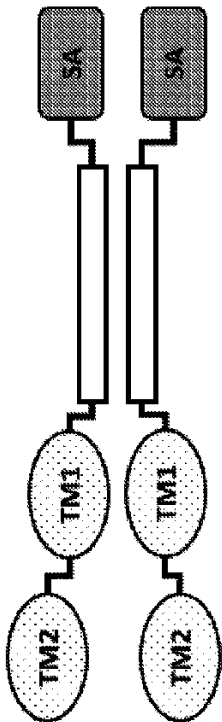


10

20

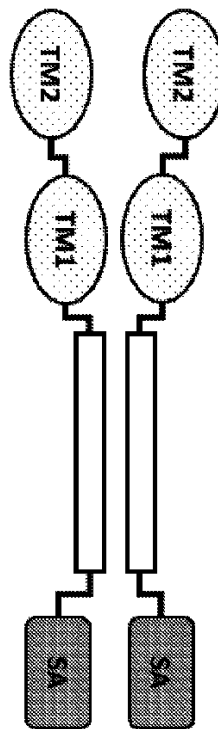
【 図 2 E 】

FIG. 2E



【 図 2 F 】

FIG. 2F



30

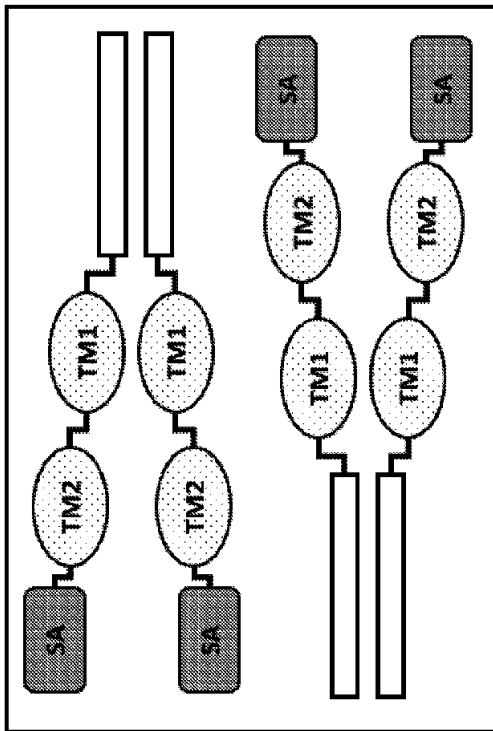
40

50

【 2 G - 2 H 】

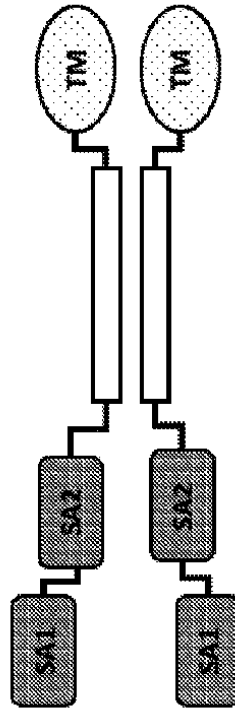
FIG. 2G

FIG. 2H



【 3 A 】

FIG. 3A

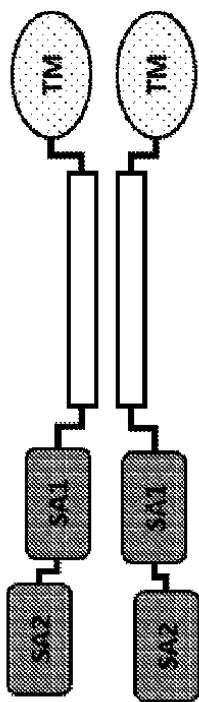


10

20

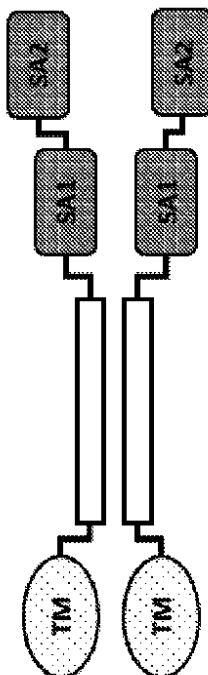
【 3 B 】

FIG. 3B



【 3 C 】

FIG. 3C



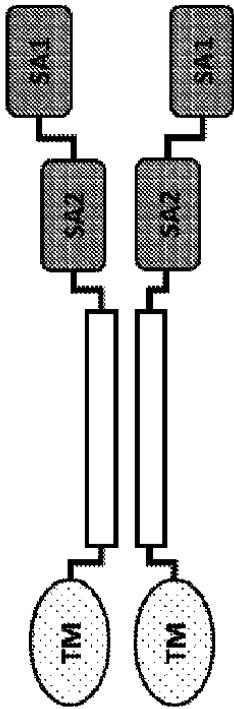
30

40

50

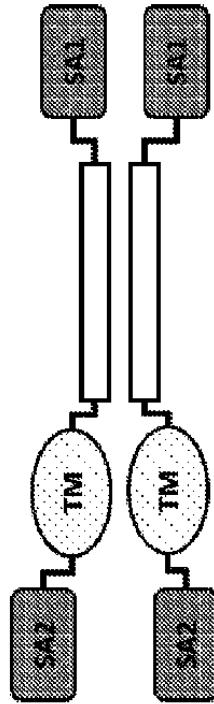
【 3 D 】

FIG. 3D



【 3 E 】

FIG. 3E

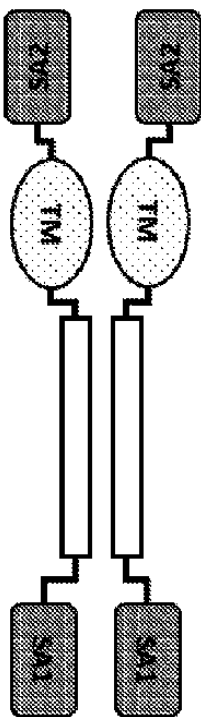


10

20

【 3 F 】

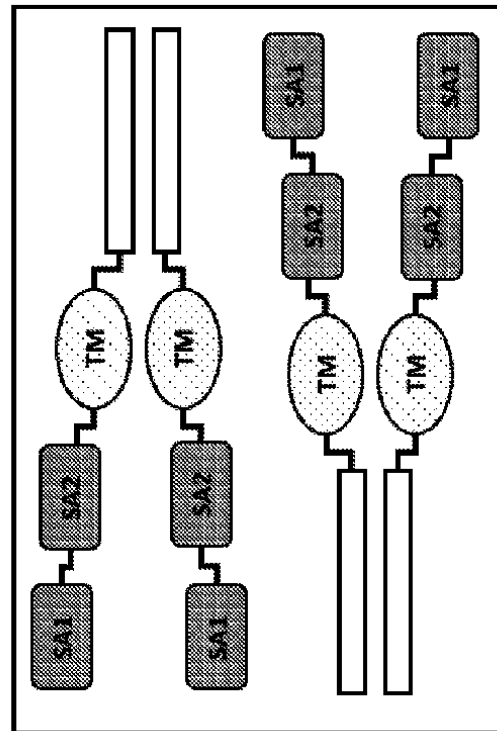
FIG. 3F



【 3 G - 3 H 】

FIG. 3G

FIG. 3H



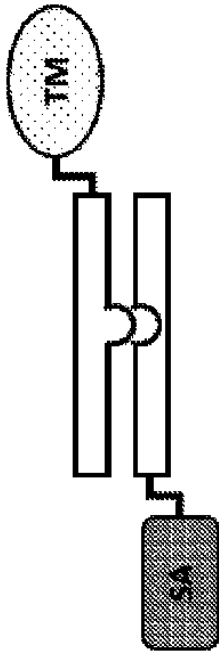
30

40

50

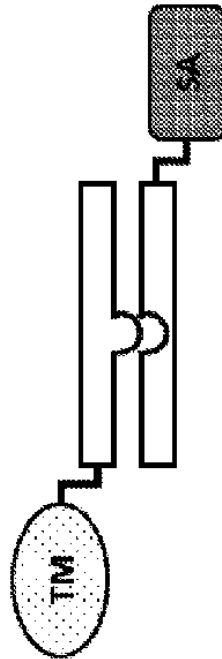
【 図 4 A 】

FIG. 4A



【 図 4 B 】

FIG. 4B

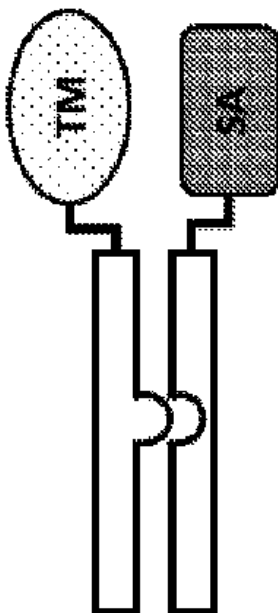


10

20

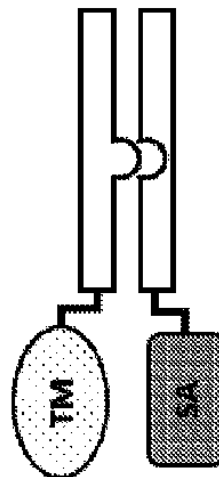
【 図 4 C 】

FIG. 4C



【 図 4 D 】

FIG. 4D



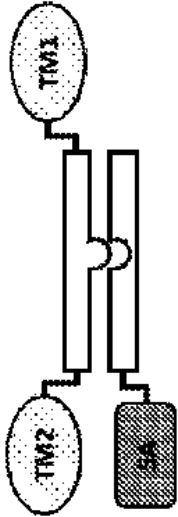
30

40

50

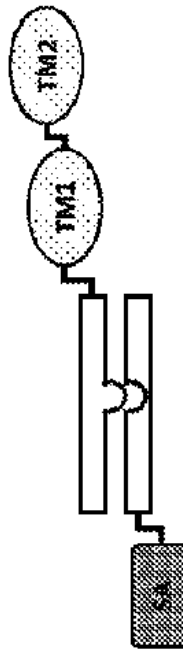
【 図 5 A 】

FIG. 5A



【 図 5 B 】

FIG. 5B

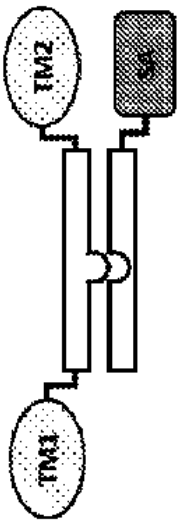


10

20

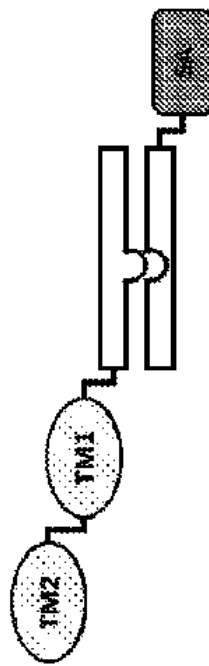
【 図 5 C 】

FIG. 5C



【 図 5 D 】

FIG. 5D



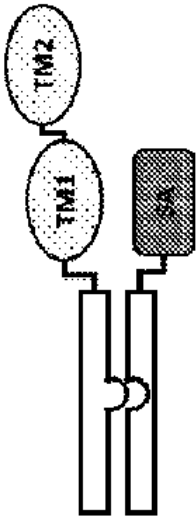
30

40

50

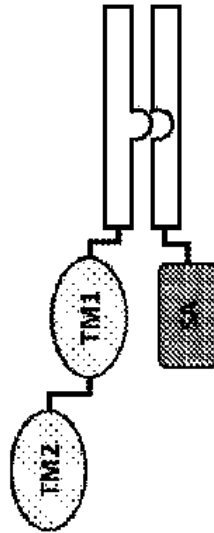
【 図 5 E 】

FIG. 5E



【 図 5 F 】

FIG. 5F

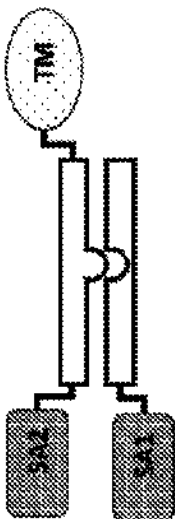


10

20

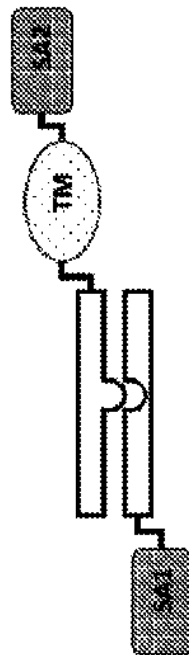
【 図 6 A 】

FIG. 6A



【 図 6 B 】

FIG. 6B



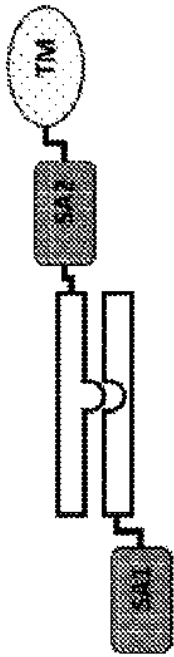
30

40

50

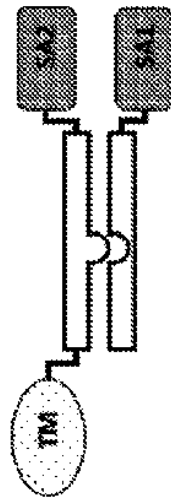
【 図 6 C 】

FIG. 6C



【 図 6 D 】

FIG. 6D

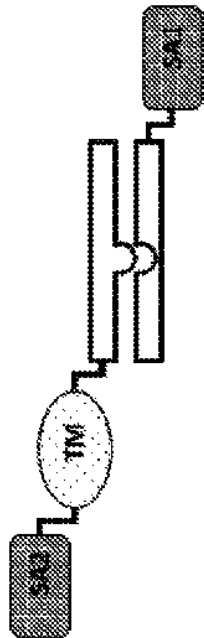


10

20

【 図 6 E 】

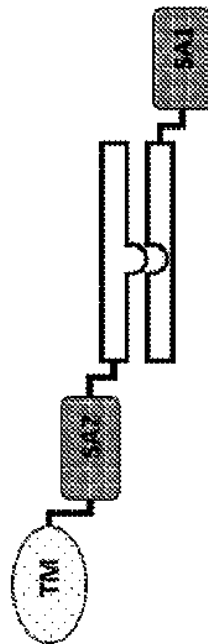
FIG. 6E



30

【 図 6 F 】

FIG. 6F

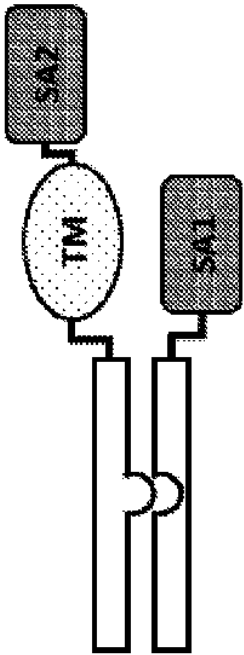


40

50

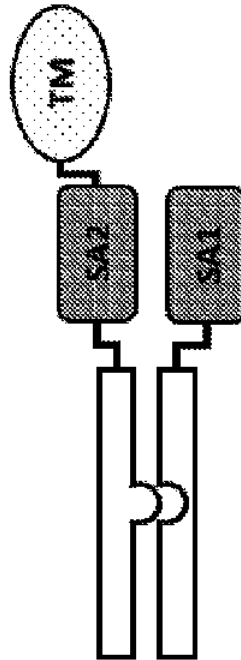
【 図 6 G 】

FIG. 6G



【 図 6 H 】

FIG. 6H

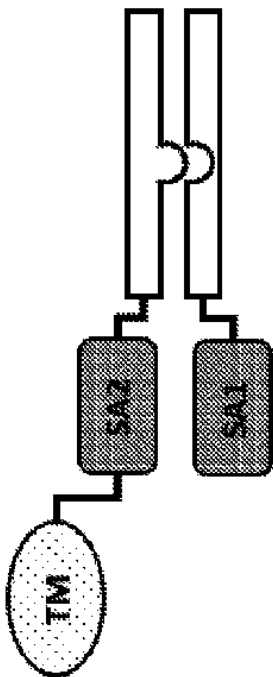


10

20

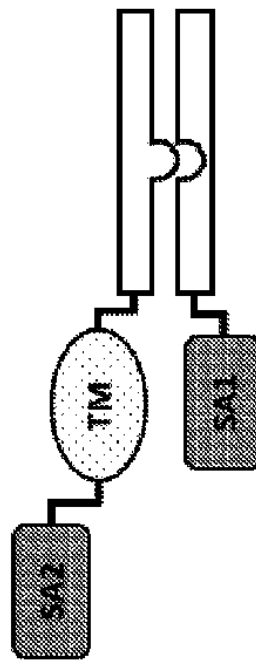
【 図 6 I 】

FIG. 6I



【 図 6 J 】

FIG. 6J



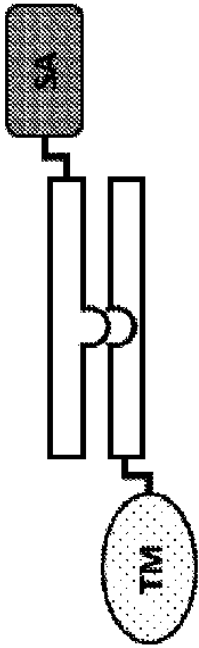
30

40

50

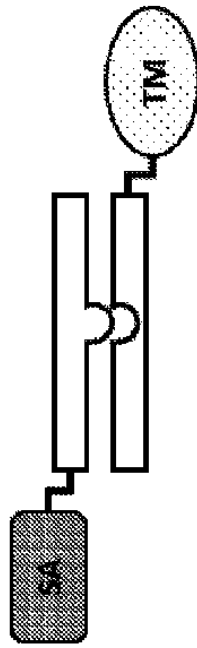
【 図 7 A 】

FIG. 7A



【 図 7 B 】

FIG. 7B

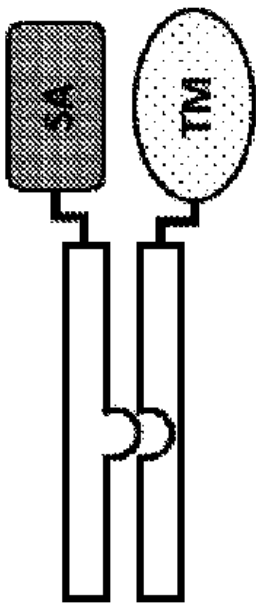


10

20

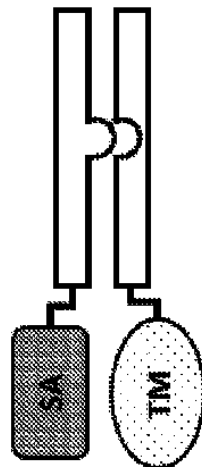
【 図 7 C 】

FIG. 7C



【 図 7 D 】

FIG. 7D



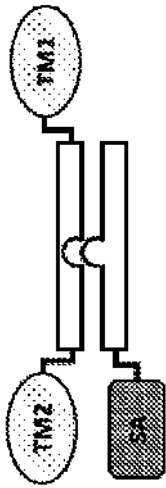
30

40

50

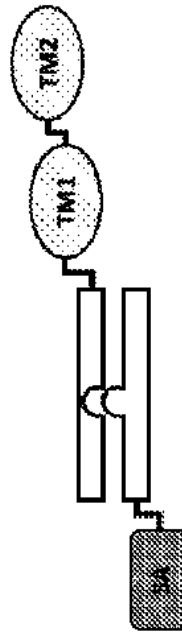
【 図 8 A 】

FIG. 8A



【 図 8 B 】

FIG. 8B

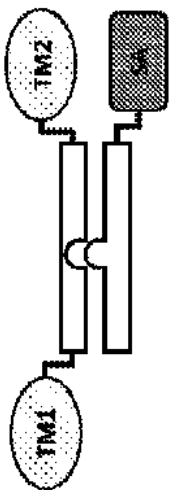


10

20

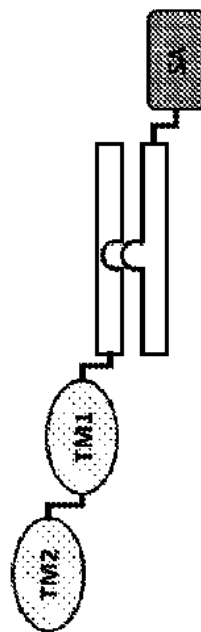
【 図 8 C 】

FIG. 8C



【 図 8 D 】

FIG. 8D



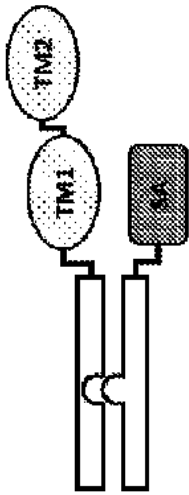
30

40

50

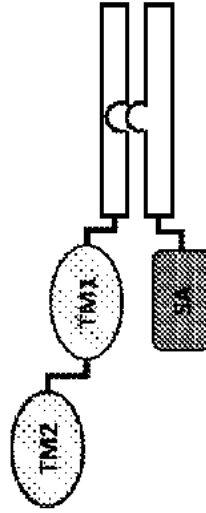
【 図 8 E 】

FIG. 8E



【 図 8 F 】

FIG. 8F

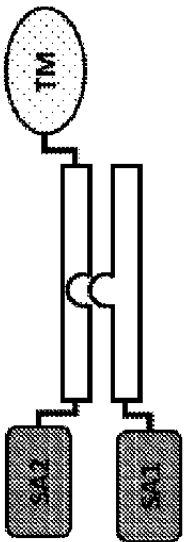


10

20

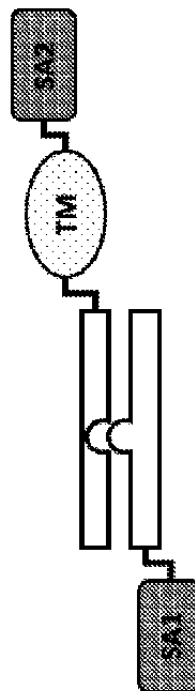
【 図 9 A 】

FIG. 9A



【 図 9 B 】

FIG. 9B



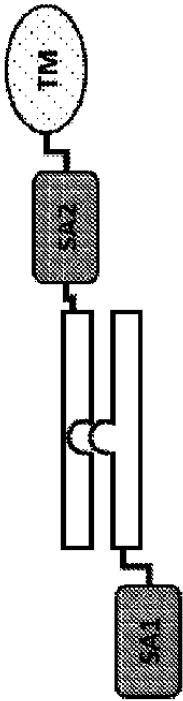
30

40

50

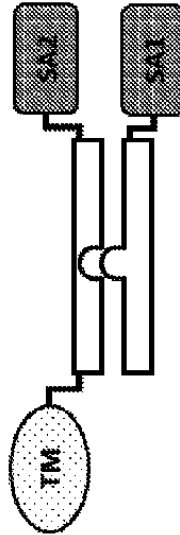
【 図 9 C 】

FIG. 9C



【 図 9 D 】

FIG. 9D

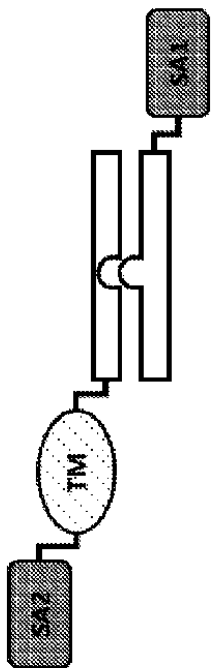


10

20

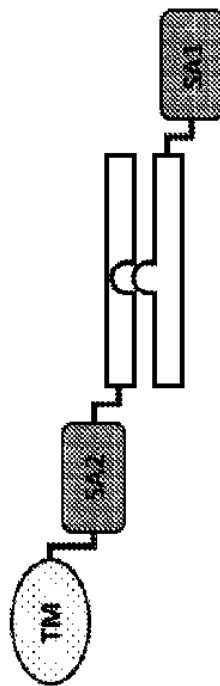
【 図 9 E 】

FIG. 9E



【 図 9 F 】

FIG. 9F



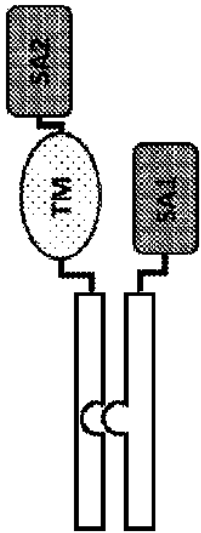
30

40

50

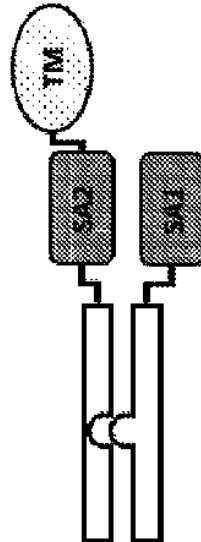
【 図 9 G 】

FIG. 9G



【 図 9 H 】

FIG. 9H

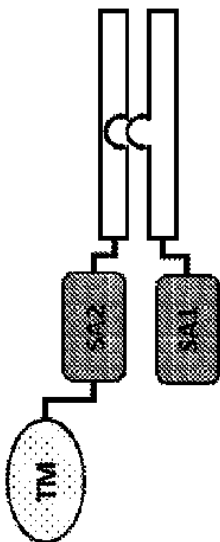


10

20

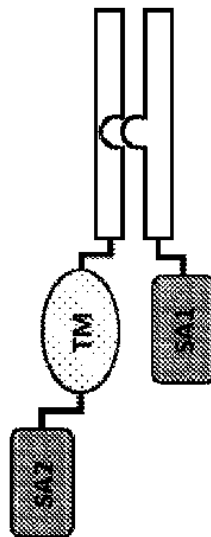
【 図 9 I 】

FIG. 9I



【 図 9 J 】

FIG. 9J



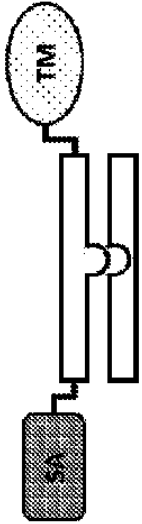
30

40

50

【 図 1 0 A 】

FIG. 10A



【 図 1 0 B 】

FIG. 10B

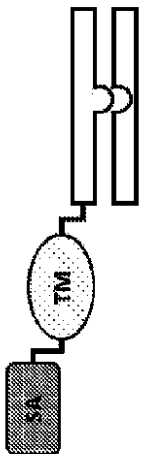


10

20

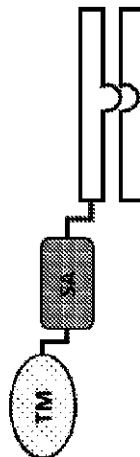
【 図 1 0 C 】

FIG. 10C



【 図 1 0 D 】

FIG. 10D



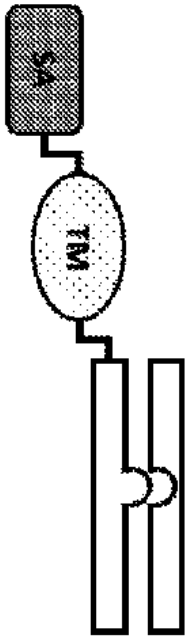
30

40

50

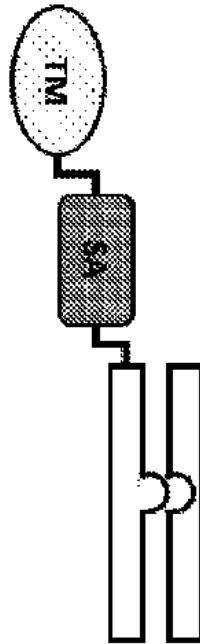
【 図 1 0 E 】

FIG. 10E



【 図 1 0 F 】

FIG. 10F

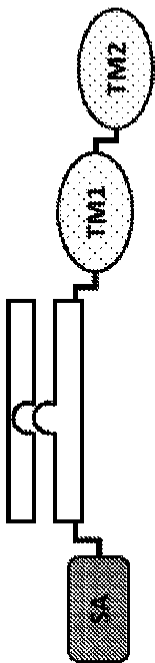


10

20

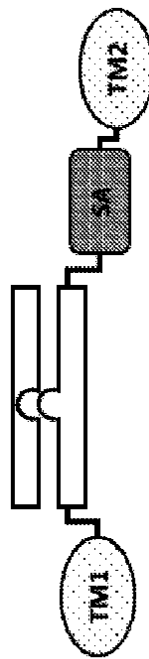
【 図 1 1 A 】

FIG. 11A



【 図 1 1 B 】

FIG. 11B



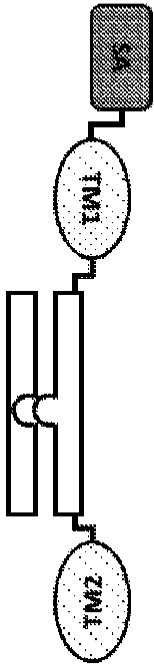
30

40

50

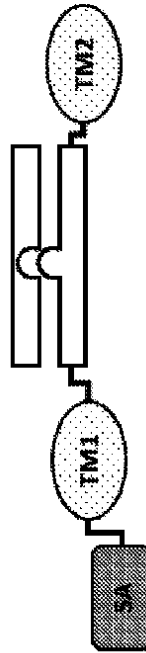
【 1 1 C 】

FIG. 11C



【 1 1 D 】

FIG. 11D

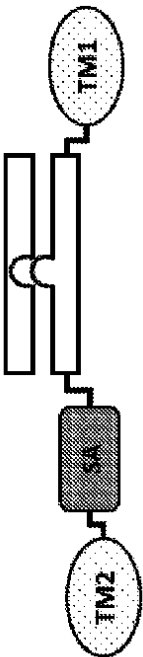


10

20

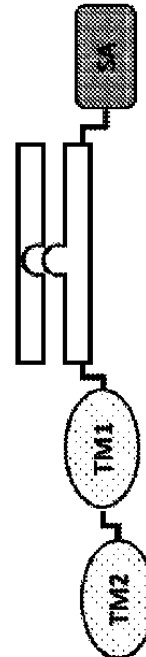
【 1 1 E 】

FIG. 11E



【 1 1 F 】

FIG. 11F



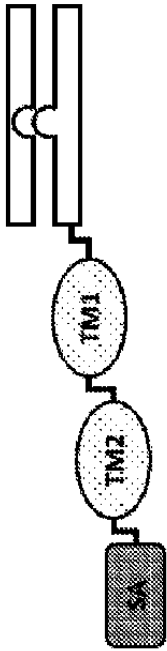
30

40

50

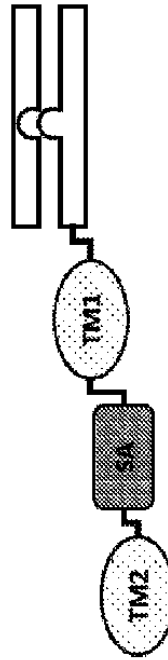
【 図 1 1 G 】

FIG. 11G



【 図 1 1 H 】

FIG. 11H

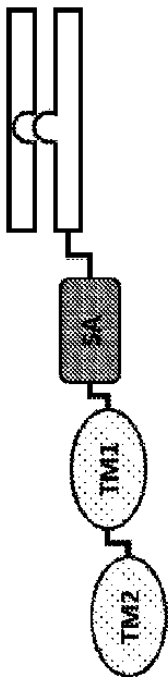


10

20

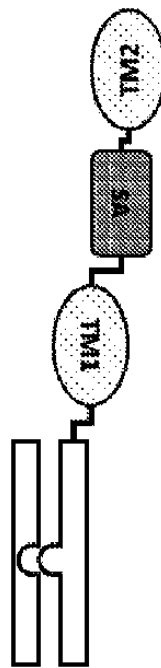
【 図 1 1 I 】

FIG. 11I



【 図 1 1 J 】

FIG. 11J



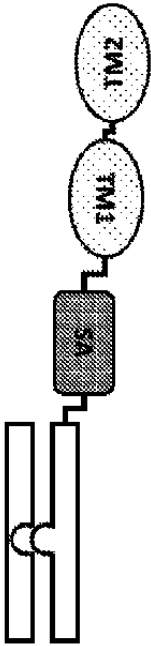
30

40

50

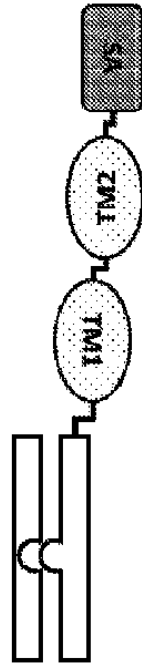
【 図 1 1 K 】

FIG. 11K



【 図 1 1 L 】

FIG. 11L

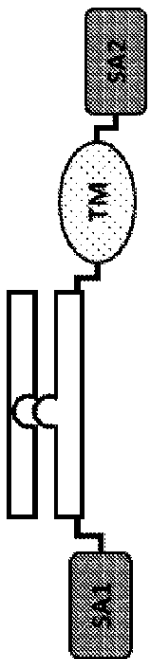


10

20

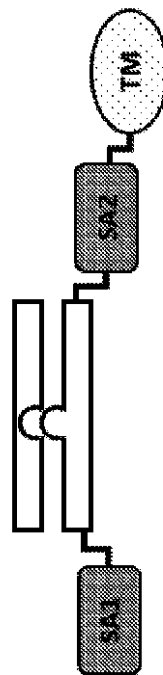
【 図 1 2 A 】

FIG. 12A



【 図 1 2 B 】

FIG. 12B



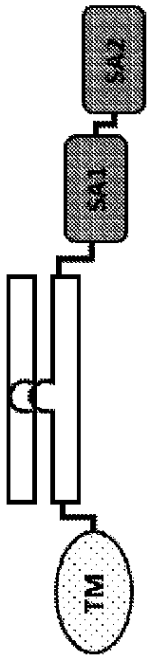
30

40

50

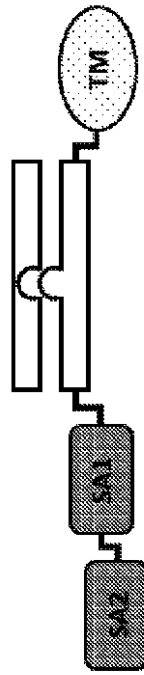
【 図 1 2 C 】

FIG. 12C



【 図 1 2 D 】

FIG. 12D

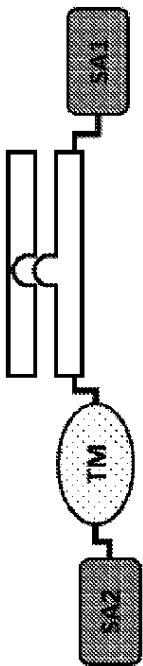


10

20

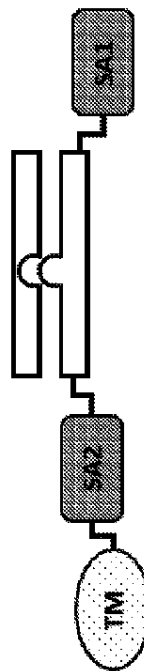
【 図 1 2 E 】

FIG. 12E



【 図 1 2 F 】

FIG. 12F



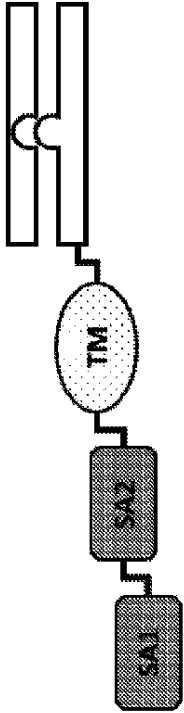
30

40

50

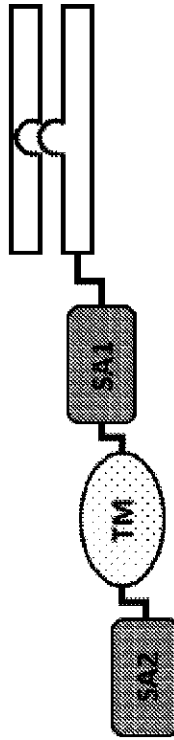
【 図 1 2 G 】

FIG. 12G



【 図 1 2 H 】

FIG. 12H



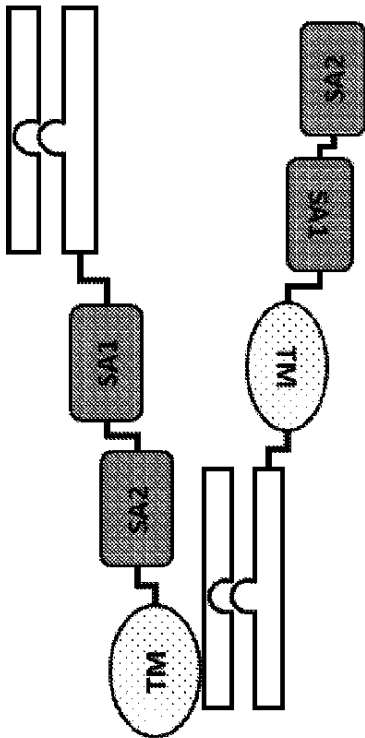
10

20

【 図 1 2 I - 1 2 J 】

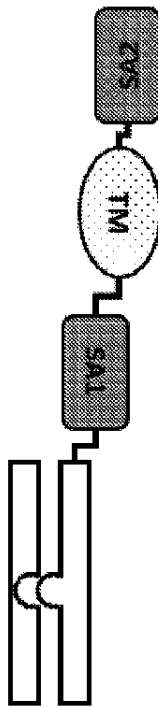
FIG. 12I

FIG. 12J



【 図 1 2 K 】

FIG. 12K



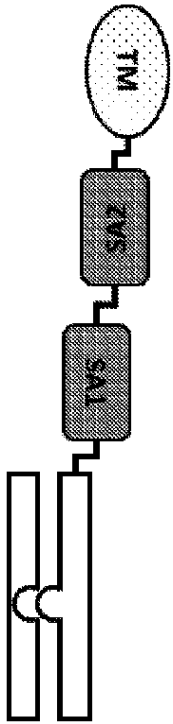
30

40

50

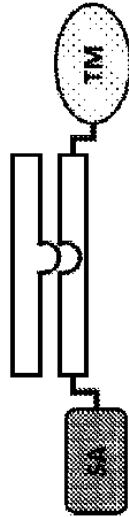
【 図 1 2 L 】

FIG. 12L



【 図 1 3 A 】

FIG. 13A

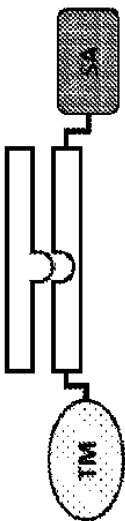


10

20

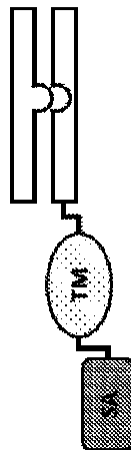
【 図 1 3 B 】

FIG. 13B



【 図 1 3 C 】

FIG. 13C



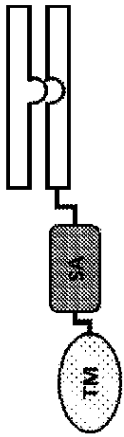
30

40

50

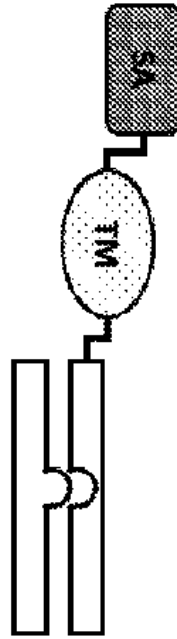
【 図 1 3 D 】

FIG. 13D



【 図 1 3 E 】

FIG. 13E

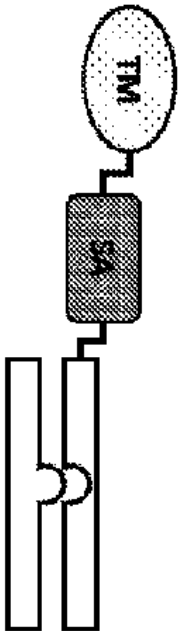


10

20

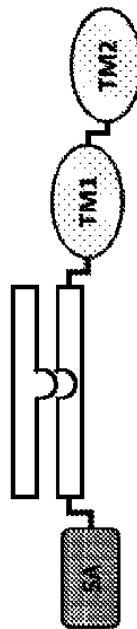
【 図 1 3 F 】

FIG. 13F



【 図 1 4 A 】

FIG. 14A



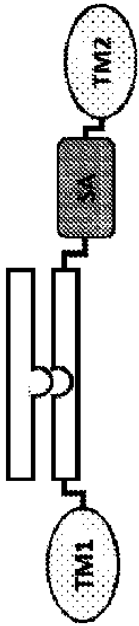
30

40

50

【 図 1 4 B 】

FIG. 14B



【 図 1 4 C 】

FIG. 14C

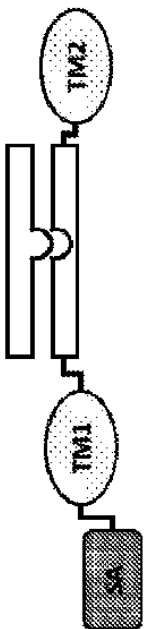


10

20

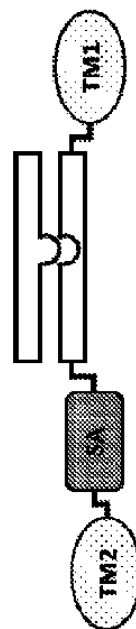
【 図 1 4 D 】

FIG. 14D



【 図 1 4 E 】

FIG. 14E



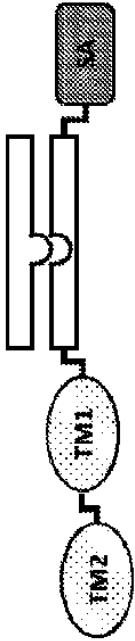
30

40

50

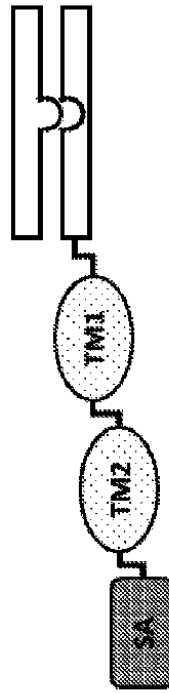
【 図 1 4 F 】

FIG. 14F



【 図 1 4 G 】

FIG. 14G

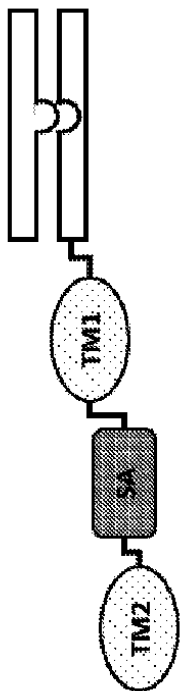


10

20

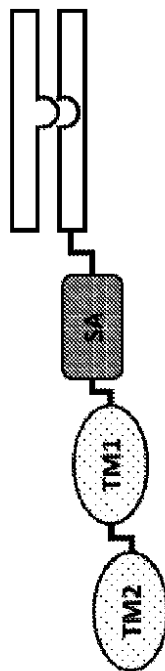
【 図 1 4 H 】

FIG. 14H



【 図 1 4 I 】

FIG. 14I



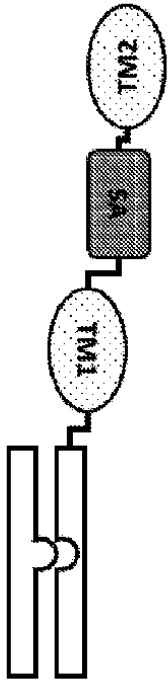
30

40

50

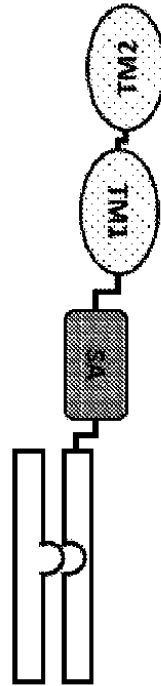
【 図 1 4 J 】

FIG. 14J



【 図 1 4 K 】

FIG. 14K

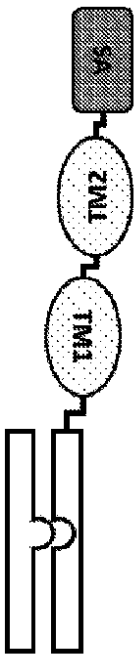


10

20

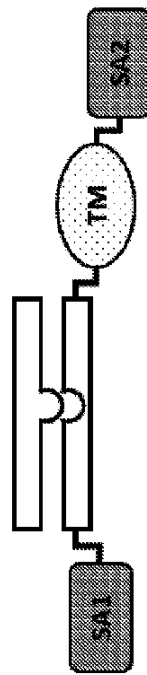
【 図 1 4 L 】

FIG. 14L



【 図 1 5 A 】

FIG. 15A



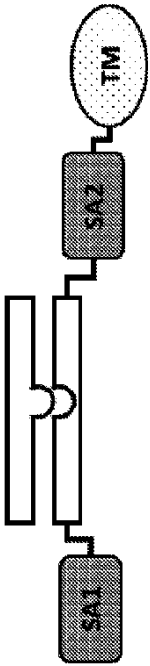
30

40

50

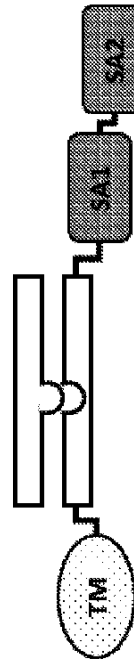
【 図 1 5 B 】

FIG. 15B



【 図 1 5 C 】

FIG. 15C

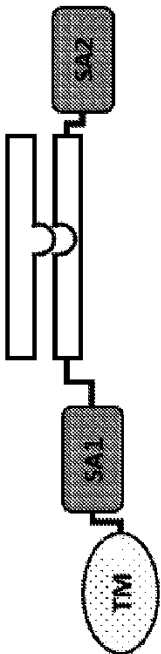


10

20

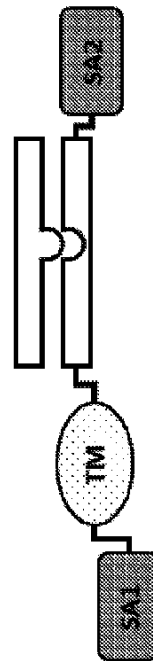
【 図 1 5 D 】

FIG. 15D



【 図 1 5 E 】

FIG. 15E



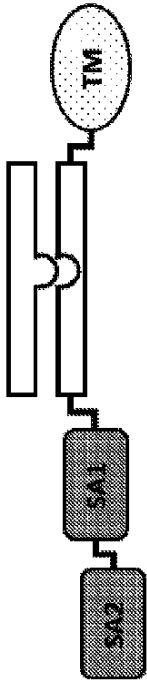
30

40

50

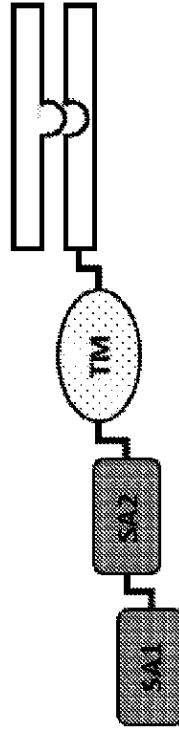
【 図 1 5 F 】

FIG. 15F



【 図 1 5 G 】

FIG. 15G

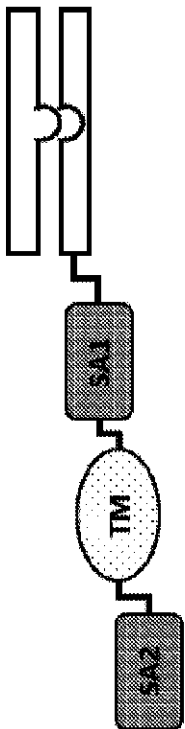


10

20

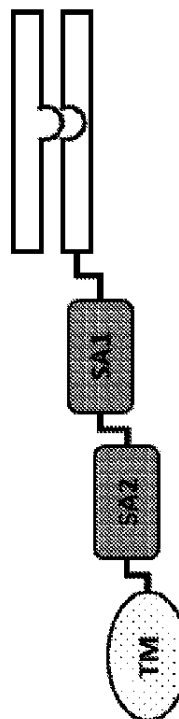
【 図 1 5 H 】

FIG. 15H



【 図 1 5 I 】

FIG. 15I



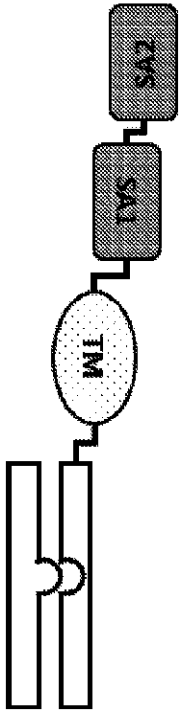
30

40

50

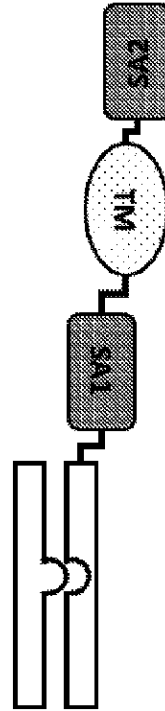
【 図 1 5 J 】

FIG. 15J



【 図 1 5 K 】

FIG. 15K

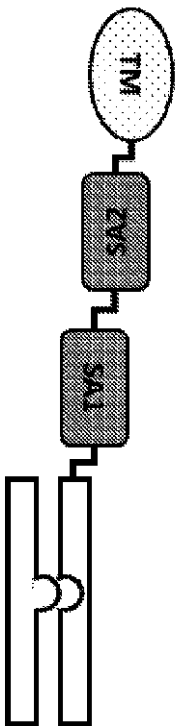


10

20

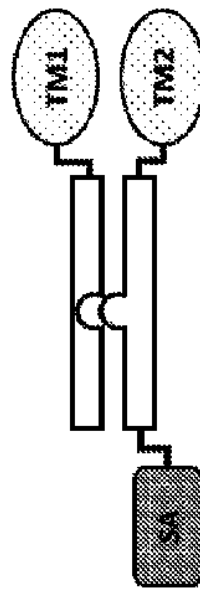
【 図 1 5 L 】

FIG. 15L



【 図 1 6 A 】

FIG. 16A



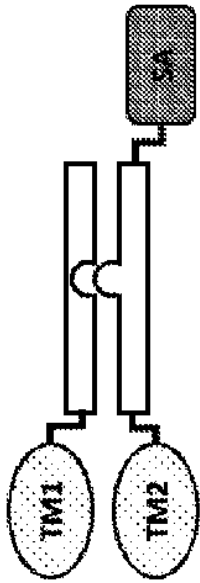
30

40

50

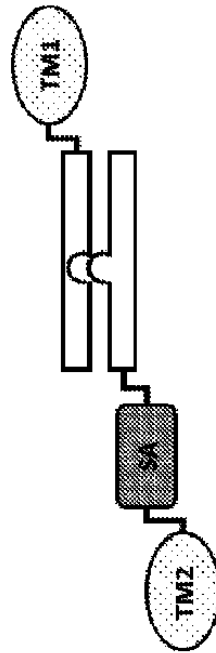
【 図 1 6 B 】

FIG. 16B



【 図 1 6 C 】

FIG. 16C

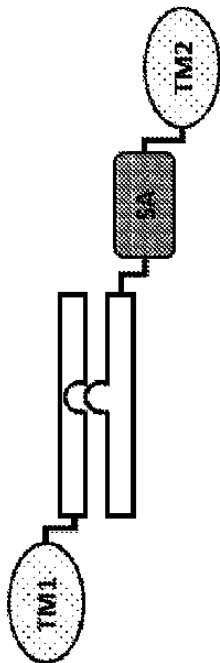


10

20

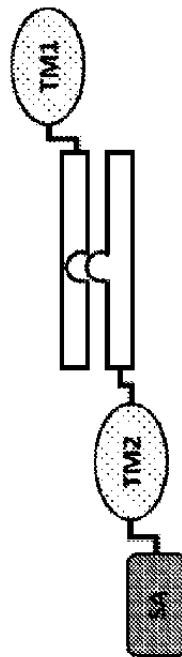
【 図 1 6 D 】

FIG. 16D



【 図 1 6 E 】

FIG. 16E



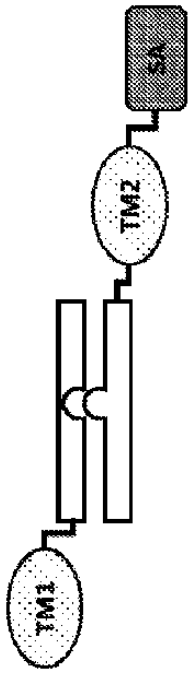
30

40

50

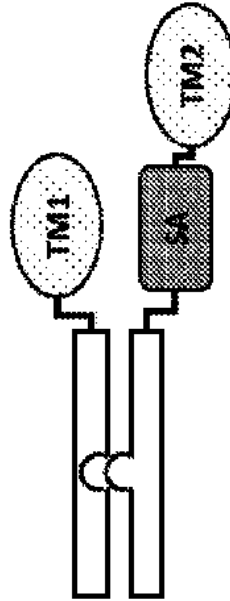
【 図 1 6 F 】

FIG. 16F



【 図 1 6 G 】

FIG. 16G

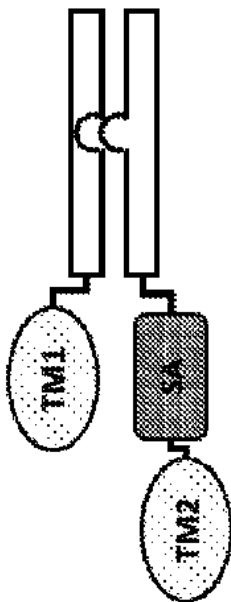


10

20

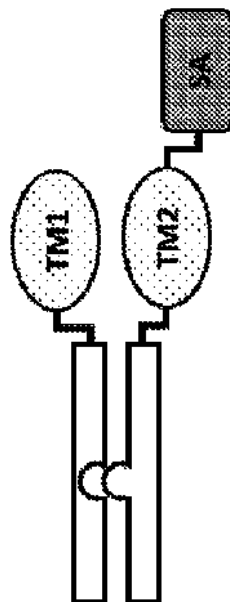
【 図 1 6 H 】

FIG. 16H



【 図 1 6 I 】

FIG. 16I



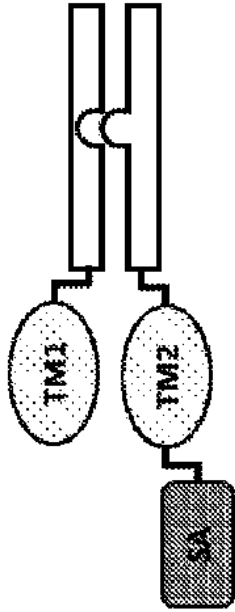
30

40

50

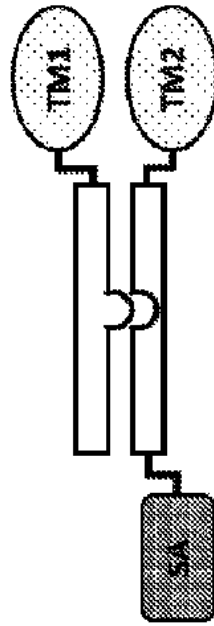
【 図 1 6 J 】

FIG. 16J



【 図 1 7 A 】

FIG. 17A

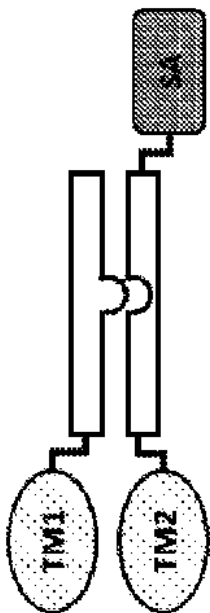


10

20

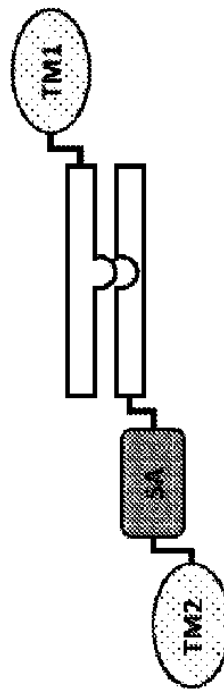
【 図 1 7 B 】

FIG. 17B



【 図 1 7 C 】

FIG. 17C



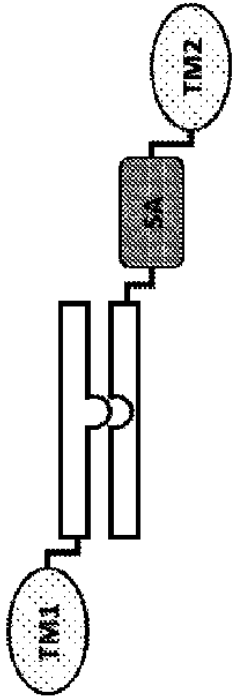
30

40

50

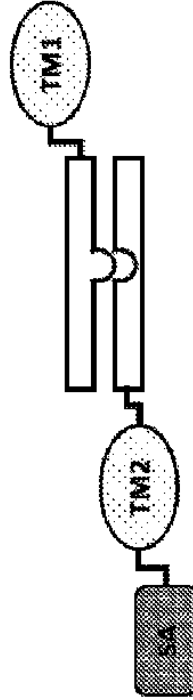
【 17 D 】

FIG. 17D



【 17 E 】

FIG. 17E

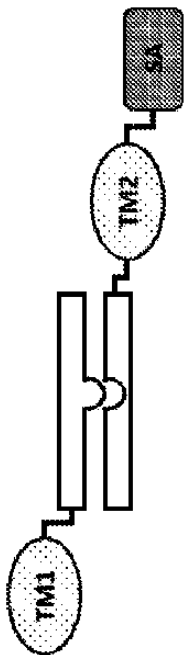


10

20

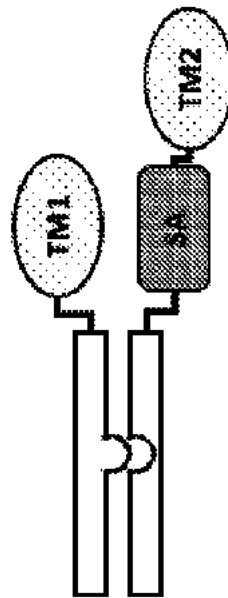
【 17 F 】

FIG. 17F



【 17 G 】

FIG. 17G



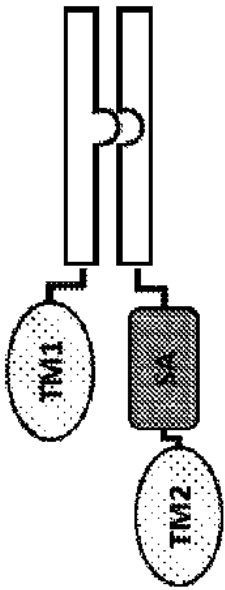
30

40

50

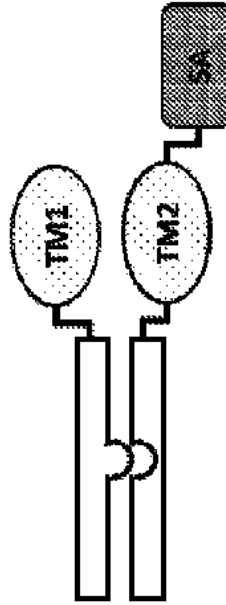
【 17 H 】

FIG. 17H



【 17 I 】

FIG. 17I

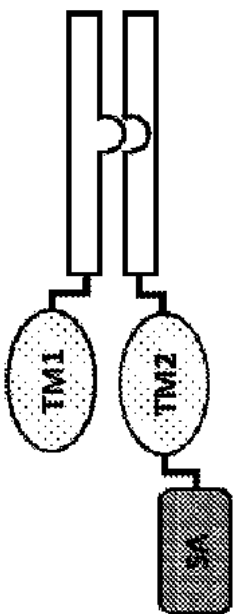


10

20

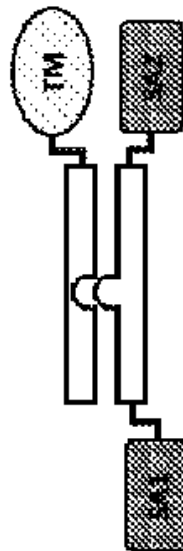
【 17 J 】

FIG. 17J



【 18 A 】

FIG. 18A



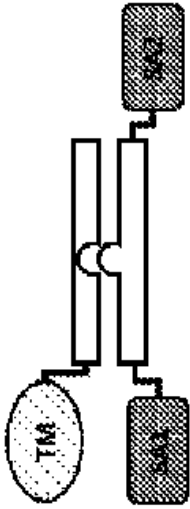
30

40

50

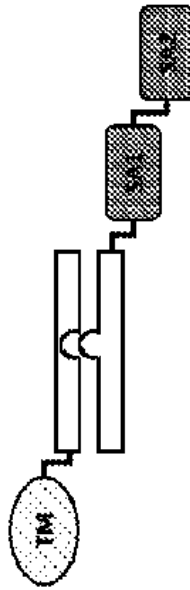
【 図 1 8 B 】

FIG. 18B



【 図 1 8 C 】

FIG. 18C

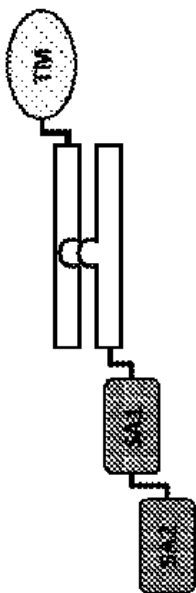


10

20

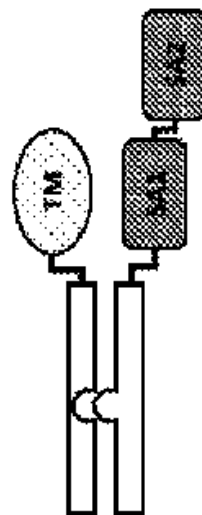
【 図 1 8 D 】

FIG. 18D



【 図 1 8 E 】

FIG. 18E



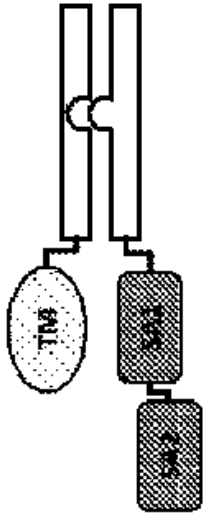
30

40

50

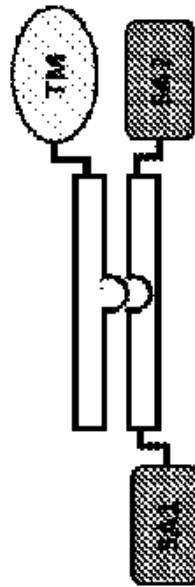
【 図 1 8 F 】

FIG. 18F



【 図 1 9 A 】

FIG. 19A

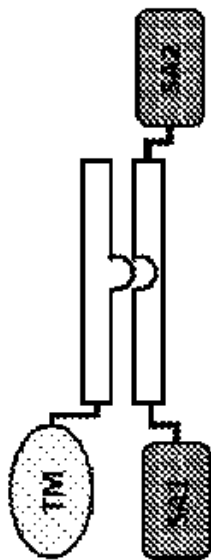


10

20

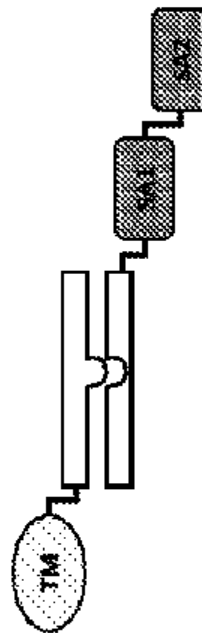
【 図 1 9 B 】

FIG. 19B



【 図 1 9 C 】

FIG. 19C



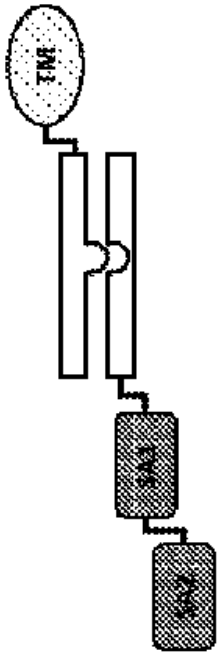
30

40

50

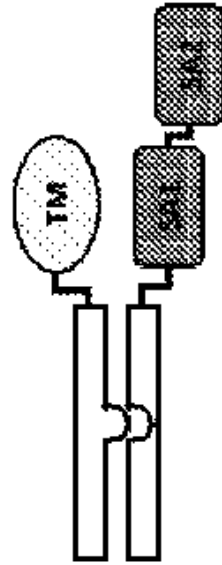
【 図 1 9 D 】

FIG. 19D



【 図 1 9 E 】

FIG. 19E

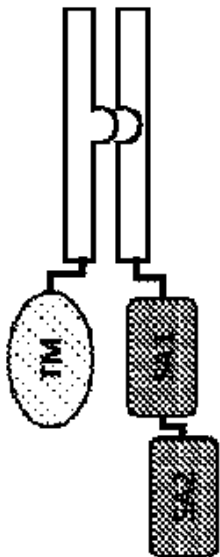


10

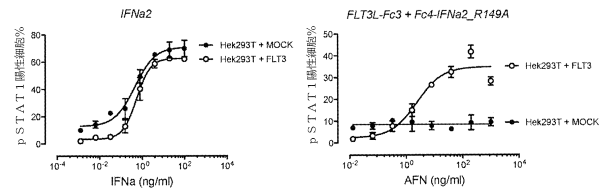
20

【 図 1 9 F 】

FIG. 19F



【 図 2 0 】

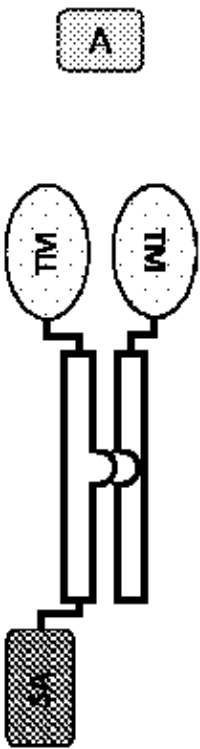


30

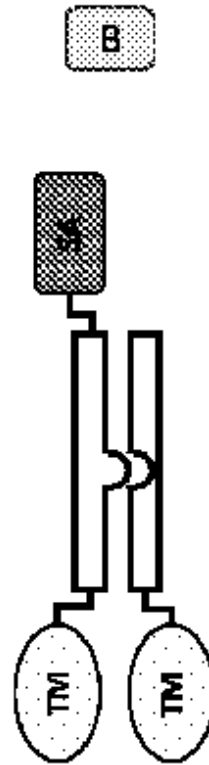
40

50

【図 2 1 A】



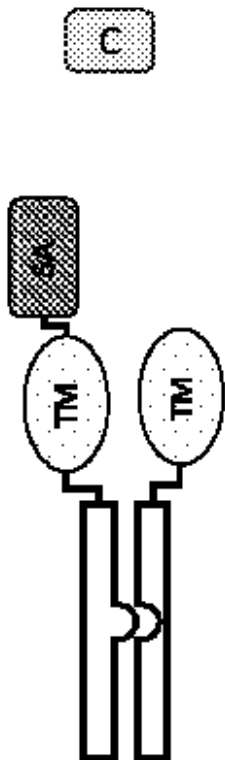
【図 2 1 B】



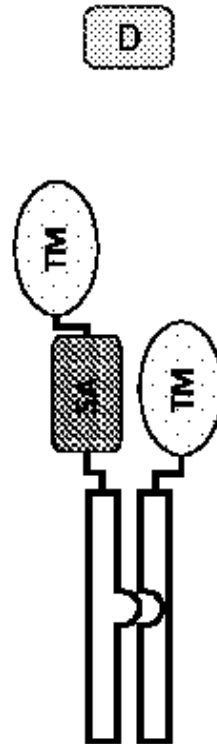
10

20

【図 2 1 C】



【図 2 1 D】

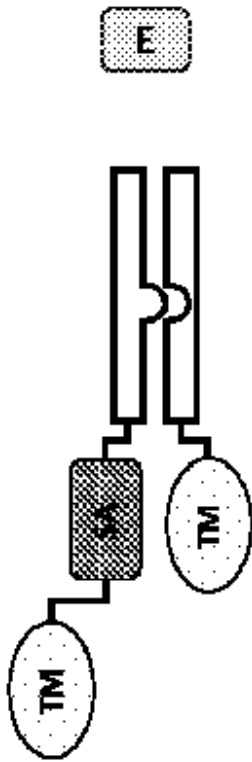


30

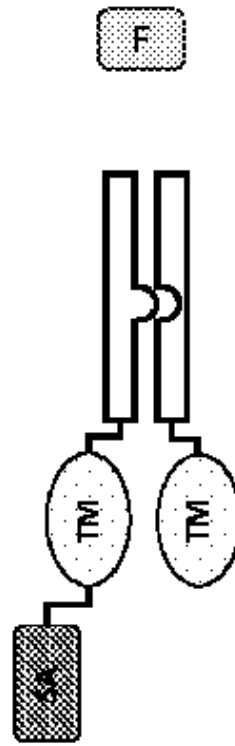
40

50

【 図 2 1 E 】



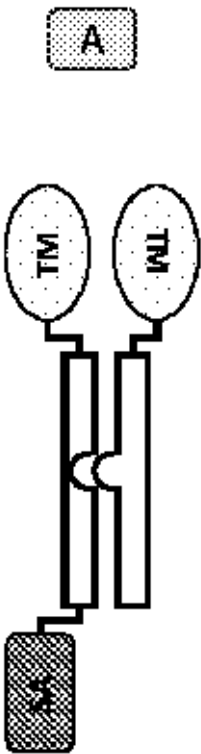
【 図 2 1 F 】



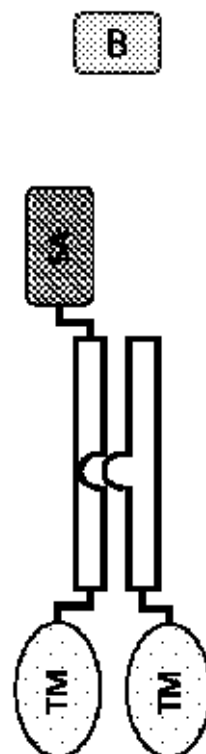
10

20

【 図 2 2 A 】



【 図 2 2 B 】

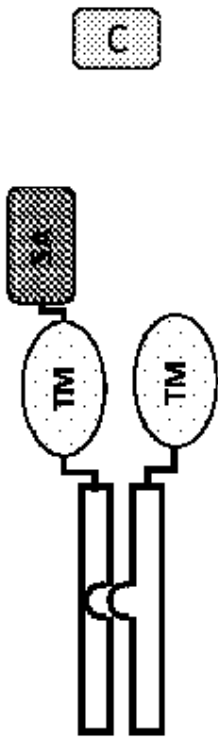


30

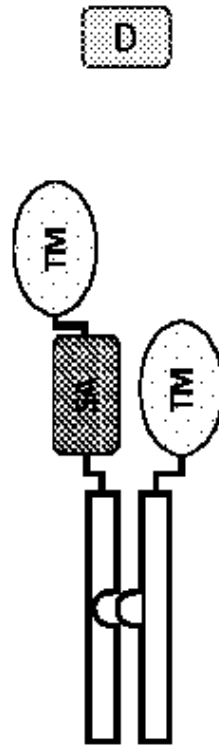
40

50

【 2 2 C 】



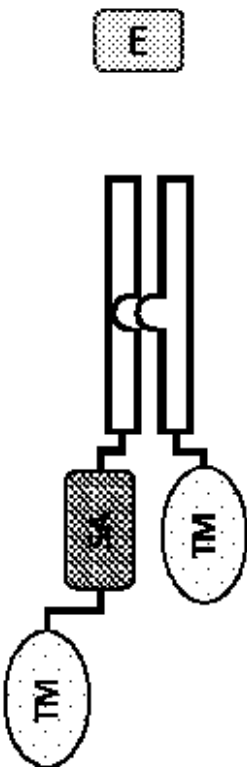
【 2 2 D 】



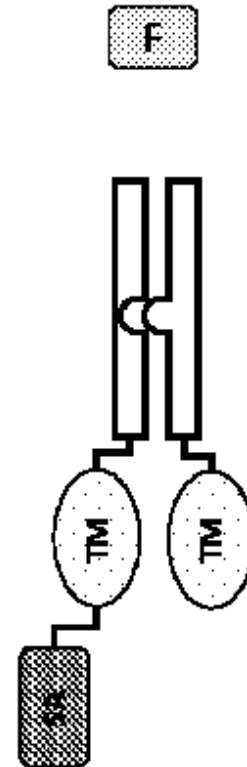
10

20

【 2 2 E 】



【 2 2 F 】

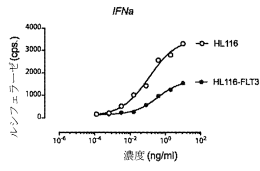


30

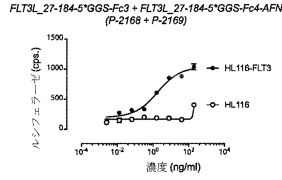
40

50

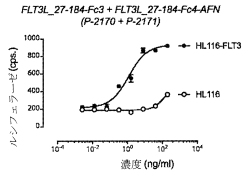
【 図 2 3 A 】



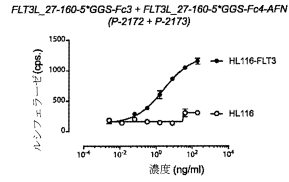
【 図 2 3 B 】



【 図 2 3 C 】

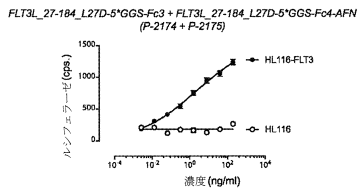


【 図 2 3 D 】

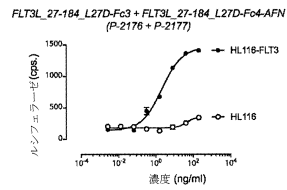


10

【 図 2 3 E 】



【 図 2 3 F 】



20

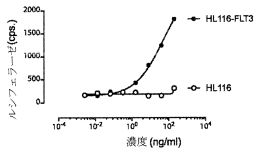
30

40

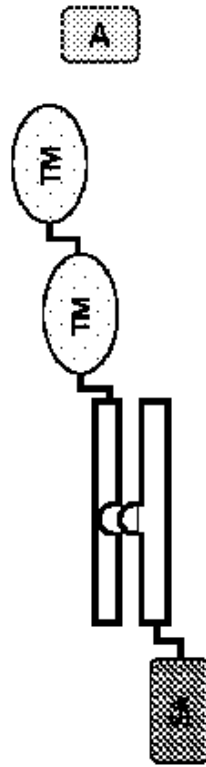
50

【 2 3 G 】

FLT3L_27-160_L27D-5*GGG-Fc3 + FLT3L_27-160_L27D-5*GGG-Fc4-AFN
(P-2178 + P-2179)



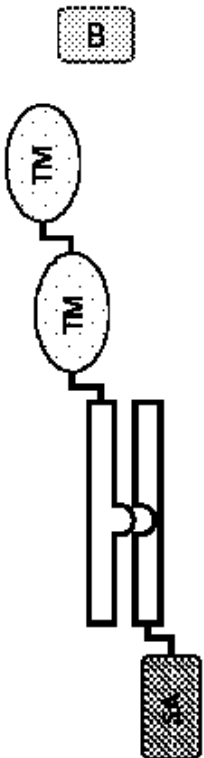
【 2 4 A 】



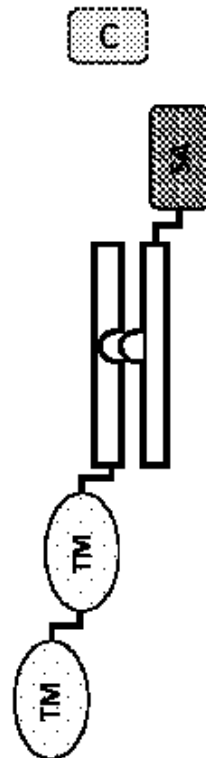
10

20

【 2 4 B 】



【 2 4 C 】

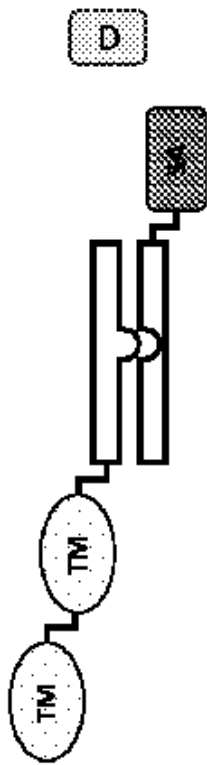


30

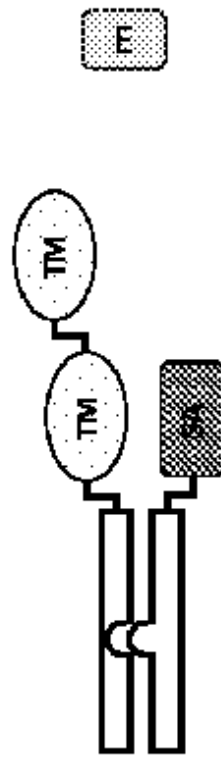
40

50

【 2 4 D 】



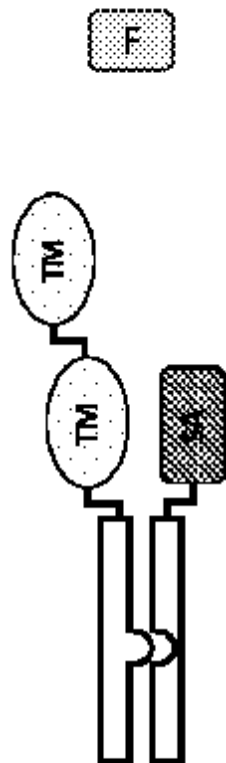
【 2 4 E 】



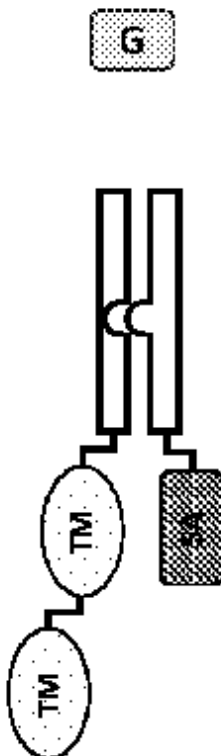
10

20

【 2 4 F 】



【 2 4 G 】

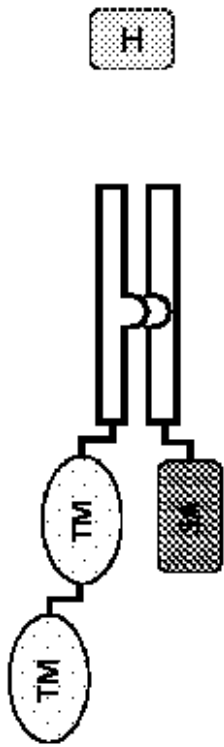


30

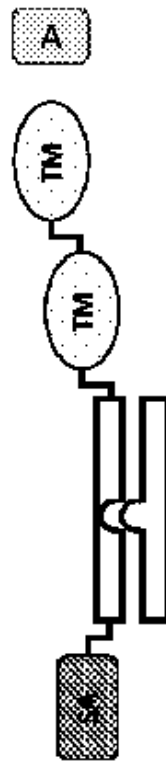
40

50

【 図 2 4 H 】



【 図 2 5 A 】



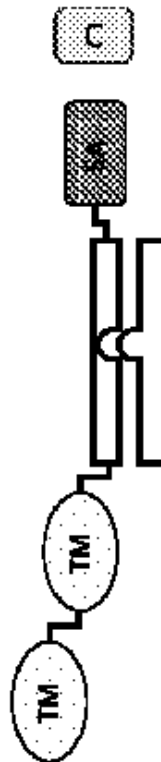
10

20

【 図 2 5 B 】



【 図 2 5 C 】



30

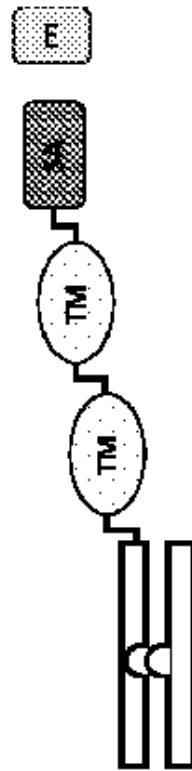
40

50

【 2 5 D 】



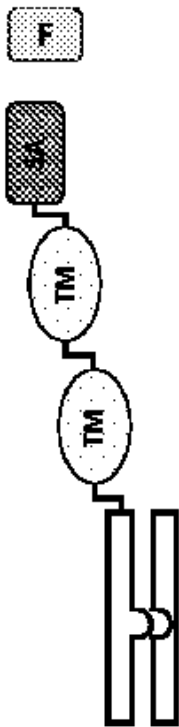
【 2 5 E 】



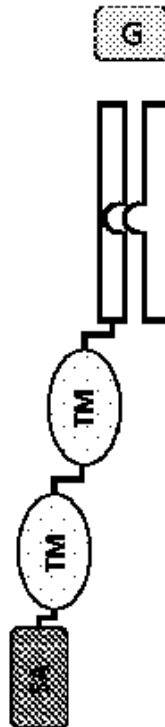
10

20

【 2 5 F 】



【 2 5 G 】

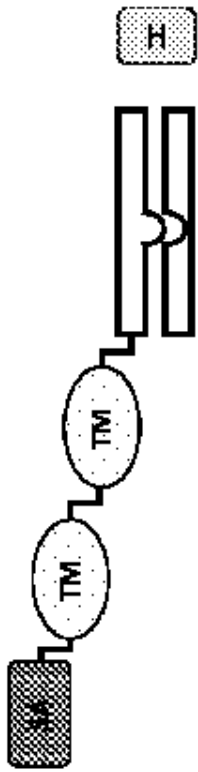


30

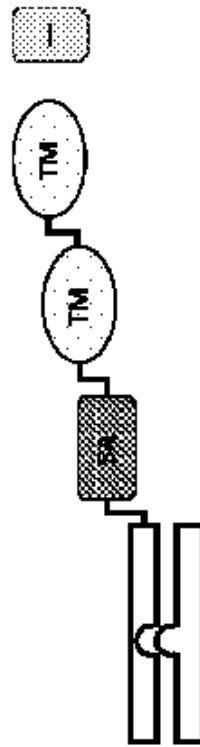
40

50

【 図 2 5 H 】



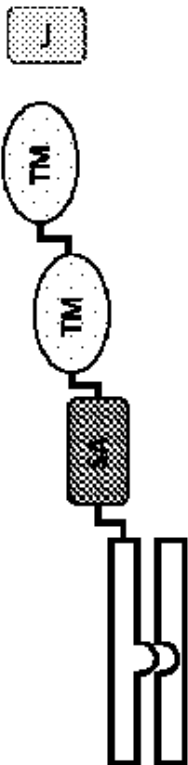
【 図 2 5 I 】



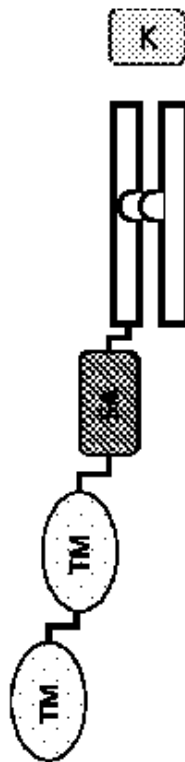
10

20

【 図 2 5 J 】



【 図 2 5 K 】

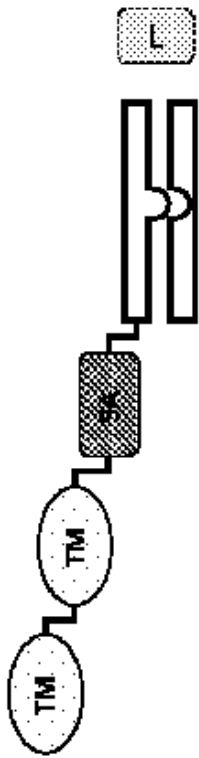


30

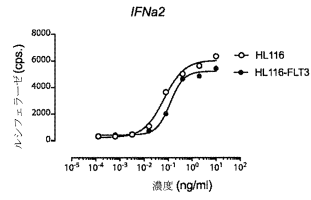
40

50

【 図 2 5 L 】



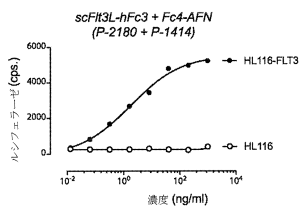
【 図 2 6 A 】



10

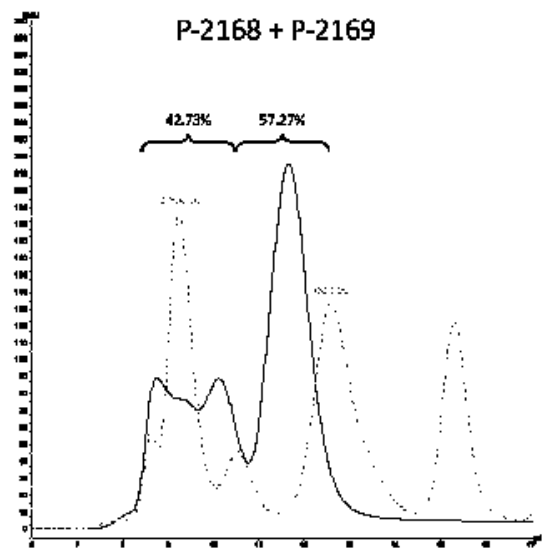
20

【 図 2 6 B 】



【 図 2 7 A 】

FIG. 27A



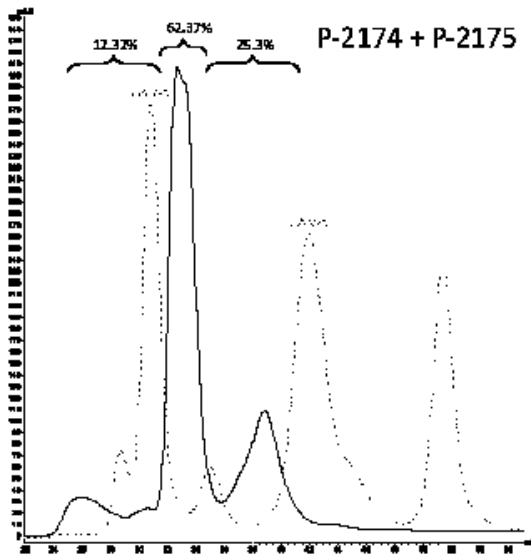
30

40

50

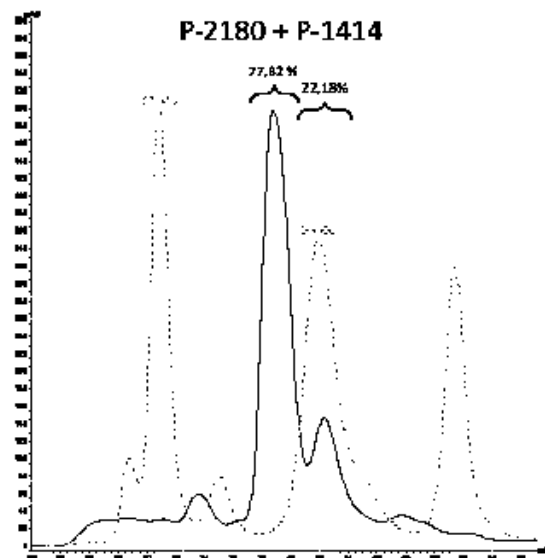
【 図 2 7 B 】

FIG. 27B



【 図 2 7 C 】

FIG. 27C

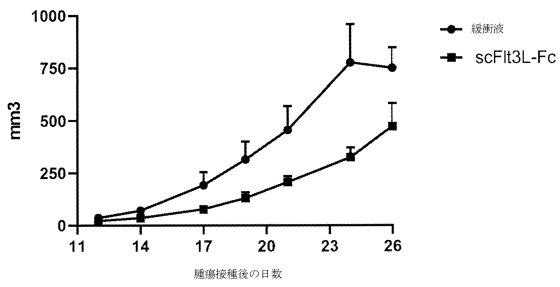


10

20

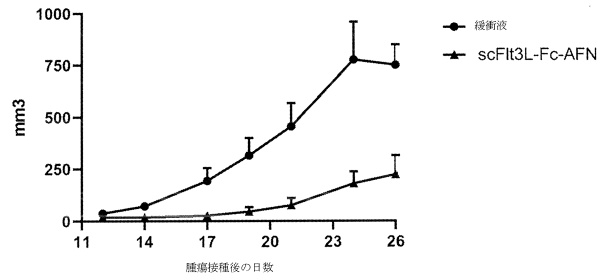
【 図 2 8 A 】

A



【 図 2 8 B 】

B

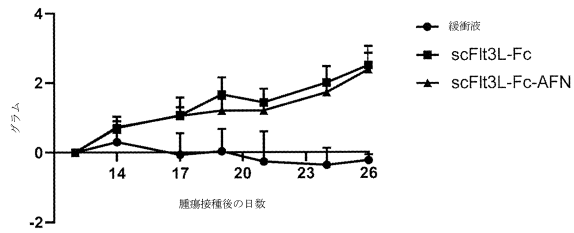


30

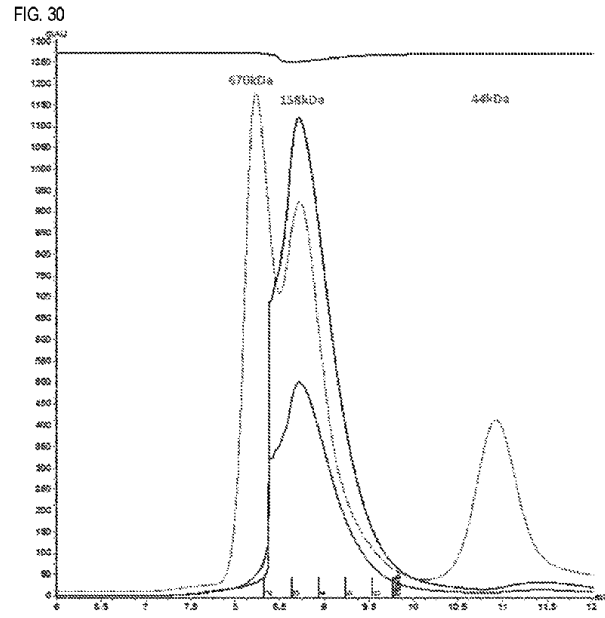
40

50

【 図 29 】



【 図 30 】



10

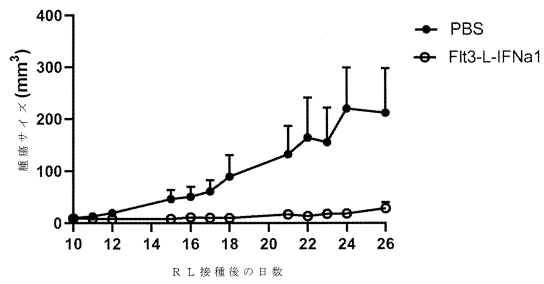
20

30

40

50

【 図 31 】



【 手続補正書 】

【 提出日 】 令和3年12月20日(2021.12.20)

【 手続補正1 】

【 補正対象書類名 】 明細書

【 補正対象項目名 】 配列表

【 補正方法 】 追加

【 補正の内容 】

【 配列表 】

2022529892000001.app

10

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2020/025421

Box No. I	Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)
1.	With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
a.	<input checked="" type="checkbox"/> forming part of the international application as filed: <ul style="list-style-type: none"> <input checked="" type="checkbox"/> in the form of an Annex C/ST.25 text file. <input type="checkbox"/> on paper or in the form of an image file.
b.	<input type="checkbox"/> furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
c.	<input type="checkbox"/> furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only: <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)). <input type="checkbox"/> on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2.	<input type="checkbox"/> In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3.	Additional comments: SEQ ID NOs: 1-20 were searched.

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2020/025421

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

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

- 1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
- 2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
- 3. Claims Nos.: 7-90, 85-98, 102-108
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

- 1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
- 2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
- 3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
- 4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

20

30

- Remark on Protest
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
 - The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
 - No protest accompanied the payment of additional search fees.

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2020/025421

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - A61K 38/00; A61K 38/17; A61K 39/00; A61P 37/04; C07K 14/47; C07K 14/475 (2020.01)
CPC - A61K 38/1709; A61K 47/64; A61K 2039/505; A61P 37/04; A61P 43/00; C07K 14/4747; C07K 14/475; C07K 16/28; C07K 16/2863; C07K 16/30; C07K 2317/52; C07K 2317/626; C07K 2317/73; C07K 2319/00; C07K 2319/01; C07K 2319/30; C07K 2319/33 (2020.05)

10

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
see Search History document

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5,554,512 A (LYMAN et al) 10 September 1996 (10.09.1996) entire document	1-6, 99-101
Y		81-84
Y	WO 2006/060021 A2 (ONCOMAX ACQUISITION CORP. et al) 08 June 2006 (08.06.2006) entire document	81-84
A	WO 2018/215938 A1 (NOVARTIS AG) 29 November 2018 (29.11.2018) entire document	1-6, 81-84, 99-101
A	US 2009/0311247 A1 (PRIEST et al) 17 December 2009 (17.12.2009) entire document	1-6, 81-84, 99-101
A	US 8,043,608 B2 (GILLIES et al) 25 October 2011 (25.10.2011) entire document	1-6, 81-84, 99-101

20

30

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

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"D" document cited by the applicant in the international application

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search 19 June 2020	Date of mailing of the international search report 02 JUL 2020
---	--

40

Name and mailing address of the ISA/US Mall Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Blaine R. Copenheaver Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300
---	---

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

4 H 0 4 5

C 1 2 N	15/20	(2006.01)	C 1 2 N	15/20	
C 1 2 N	15/54	(2006.01)	C 1 2 N	15/54	
C 1 2 N	15/13	(2006.01)	C 1 2 N	15/13	
C 1 2 N	1/15	(2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	(2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	(2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 0 7 K	14/705	(2006.01)	C 0 7 K	14/705	
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	25/28	(2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	37/06	(2006.01)	A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	1/00	(2006.01)	A 6 1 P	1/00	
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	1/14	(2006.01)	A 6 1 P	1/14	
A 6 1 P	17/00	(2006.01)	A 6 1 P	17/00	
A 6 1 P	25/08	(2006.01)	A 6 1 P	25/08	
A 6 1 P	1/16	(2006.01)	A 6 1 P	1/16	
A 6 1 P	21/00	(2006.01)	A 6 1 P	21/00	
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	7/06	(2006.01)	A 6 1 P	7/06	
A 6 1 P	37/02	(2006.01)	A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	13/02	(2006.01)	A 6 1 P	13/02	
A 6 1 K	38/16	(2006.01)	A 6 1 K	38/16	
A 6 1 P	31/00	(2006.01)	A 6 1 P	31/00	
A 6 1 P	9/00	(2006.01)	A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	17/02	(2006.01)	A 6 1 P	17/02	
A 6 1 P	3/00	(2006.01)	A 6 1 P	3/00	
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P	9/10	
A 6 1 K	47/68	(2017.01)	A 6 1 K	47/68	
A 6 1 K	38/17	(2006.01)	A 6 1 K	38/17	1 0 0
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	
			A 6 1 K	39/395	Y

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

弁理士 岩堀 明代

(74)代理人 100208580

弁理士 三好 玲奈

(74)代理人 100191086

弁理士 高橋 香元

(72)発明者 クレイ, ニコライ

アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 0 2 4 5 1, ウォルサム, 9 5 0 ウインター ストリート
, オリオニス バイオサイエンシズ, インコーポレイテッド内

(72)発明者 デプラ, エリク

ベルギー国, ビーイー ビー - 9 0 5 2 ズウェイナールデ, テクノロジーパーク 9 4, オリオニ

-
- (72)発明者 ス バイオサイエンシズ ビービー内
ザビュー, レンナート
ベルギー国, ビーイー ビー - 9 0 5 2 ズウェイナルデ, テクノロジーパーク 9 4 , オリオニス バイオサイエンシズ ビービー内
- (72)発明者 タヴェルニエル, ジャン
ベルギー国, ビーイー ビー - 9 0 5 2 ズウェイナルデ, テクノロジーパーク 9 4 , オリオニス バイオサイエンシズ ビービー内
- F ターム (参考) 4B050 CC05 DD11 EE03 FF03E FF05E FF12E LL01
4B065 AA90X AA90Y AA93X AA93Y AB01 AC14 BA02 BC03 BD14 BD15
BD18 CA24 CA25 CA44
4C076 AA95 CC01 CC05 CC07 CC11 CC14 CC16 CC17 CC18 CC19
CC21 CC27 CC31 CC41 EE41 EE59 FF68
4C084 AA01 AA02 AA07 BA01 BA22 BA23 CA53 CA59 DA38 NA13
NA14 ZA021 ZA022 ZA061 ZA062 ZA141 ZA142 ZA151 ZA152 ZA401 ZA402
ZA551 ZA552 ZA661 ZA662 ZA681 ZA682 ZA751 ZA752 ZA811 ZA812 ZA891
ZA892 ZA911 ZA912 ZA941 ZA942 ZB051 ZB052 ZB071 ZB072 ZB081 ZB082
ZB111 ZB112 ZB151 ZB152 ZB261 ZB262 ZB271 ZB272 ZB311 ZB312 ZC211
ZC212 ZC351 ZC352
4C085 AA33 BB11 BB31 BB33 BB34 BB35 BB36 BB37 BB42 CC01
CC21 CC22 CC32 DD62 EE01
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 BA41 CA40 DA15 DA50 DA76 DA89
EA20 FA74 GA10 GA15 GA21 GA45