

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和1年10月3日(2019.10.3)

【公表番号】特表2018-533909(P2018-533909A)

【公表日】平成30年11月22日(2018.11.22)

【年通号数】公開・登録公報2018-045

【出願番号】特願2018-510735(P2018-510735)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/62	(2006.01)
C 0 7 K	19/00	(2006.01)
C 0 7 K	16/46	(2006.01)
C 0 7 K	16/28	(2006.01)
C 0 7 K	16/30	(2006.01)
C 0 7 K	14/00	(2006.01)
C 1 2 Q	1/02	(2006.01)
C 1 2 N	15/13	(2006.01)
C 1 2 N	15/12	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 N	15/70	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	35/02	(2006.01)
A 6 1 P	19/00	(2006.01)
A 6 1 P	21/04	(2006.01)
A 6 1 P	37/00	(2006.01)
A 6 1 P	5/14	(2006.01)
A 6 1 K	39/395	(2006.01)
A 6 1 K	47/65	(2017.01)
A 6 1 K	47/68	(2017.01)
A 6 1 K	38/16	(2006.01)
G 0 1 N	33/574	(2006.01)
C 1 2 P	21/08	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/62	Z N A Z
C 0 7 K	19/00	
C 0 7 K	16/46	
C 0 7 K	16/28	
C 0 7 K	16/30	
C 0 7 K	14/00	
C 1 2 Q	1/02	
C 1 2 N	15/13	
C 1 2 N	15/12	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	15/70	Z
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02	
A 6 1 P	19/00	
A 6 1 P	21/04	
A 6 1 P	37/00	
A 6 1 P	5/14	

A 6 1 K	39/395	T
A 6 1 K	39/395	L
A 6 1 K	47/65	
A 6 1 K	47/68	
A 6 1 K	38/16	
A 6 1 K	39/395	U
G 0 1 N	33/574	D
G 0 1 N	33/574	A
C 1 2 P	21/08	

**【手続補正書】****【提出日】**令和1年8月26日(2019.8.26)**【手続補正1】****【補正対象書類名】**特許請求の範囲**【補正対象項目名】**全文**【補正方法】**変更**【補正の内容】****【特許請求の範囲】****【請求項1】**

第1の部分、第2の部分、および第3の部分を含むキメラポリペプチドアセンブリーであって、

a. 前記第1の部分が、

i. 腫瘍特異的マーカーに対する結合特異性を有する第1の結合ドメイン；および

ii. エフェクター細胞抗原に対する結合特異性を有する第2の結合ドメインを含み；

b. 前記第2の部分が、1つまたは複数の哺乳動物プロテアーゼにより切断され得るペプチジル放出セグメント(RS)を含み；

c. 前記第3の部分が、バルкиング部分を含み、前記バルкиング部分はX T E Nであり；

前記バルкиング部分が、前記第2の部分に対する前記哺乳動物プロテアーゼの作用によって前記第1の部分から放出され得、

N末端からC末端に向かって、(1)前記第1の部分が前記第2の部分に連結され、次いで、前記第2の部分が前記第3の部分に連結されているか、または(2)前記第3の部分が前記第2の部分に連結され、次いで、前記第2の部分が前記第1の部分に連結されており、

前記哺乳動物プロテアーゼによる前記第2の部分の切断および、前記第1の部分の前記キメラポリペプチドアセンブリーからの放出に際して、前記第1の部分が、前記エフェクタ－細胞抗原に対して、および前記腫瘍特異的マーカーを担持する腫瘍細胞に対して結合し得る、キメラポリペプチドアセンブリー。

**【請求項2】**

前記腫瘍特異的マーカーが、アルファ4インテグリン、Ang 2、B7-H3、B7-H6、CEACAM5、cMET、CTLA4、FOLR1、EpCAM、CCR5、CD19、HER2、HER2neu、HER3、HER4、HER1(EGFR)、PD-L1、PSMA、CEA、MUC1(ムチン)、MUC-2、MUC3、MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC7、MUC16、hCG、Lewis-Y、CD20、CD33、CD38、CD30、CD56(NCAM)、CD133、ガングリオシドGD3；9-O-アセチル-GD3、GM2、Globot-H、フコシルGM1、GD2、炭酸脱水酵素IX、CD44v6、Sonnic Hedgehog(Shh)、Wue-1、形質細胞抗原1、メラノーマコンドロイチン硫酸プロテオグリカン(MCSP)、CCR8、前立腺の6回膜貫通上皮抗原(STEAP)、メソテリン、A33抗原、前

立腺幹細胞抗原（PSCA）、Ly-6、デスマグレイン4、胎児アセチルコリン受容体（fnAChR）、CD25、がん抗原19-9（CA19-9）、がん抗原125（CA-125）、ミュラー管抑制物質受容体II型（MISIIR）、シアル化Tn抗原（STN）、線維芽細胞活性化抗原（FAP）、エンドシアリン（CD248）、上皮増殖因子受容体バリエントIII（EGFRvIII）、腫瘍関連抗原L6（TAL6）、SAS、CD63、TAG72、Thomsen-Friedenreich抗原（TF抗原）、インスリン様増殖因子I受容体（IGF-IR）、Cora抗原、CD7、CD22、CD70、CD79a、CD79b、G250、MT-MMP、F19抗原、CA19-9、CA-125、アルファ-フェトタンパク質（AFP）、VEGFR1、VEGFR1、VEGFR2、DLK1、SP17、ROR1、およびEphA2からなる群から選択される、請求項1に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

【請求項3】

前記エフェクター細胞抗原が分化のクラスター3T細胞受容体（CD3）である、請求項1～2のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

【請求項4】

前記放出セグメントが、MMP-2、MMP9、uPA、およびマトリプターゼから選択される2つ以上のプロテアーゼにより切断され得る、請求項1～3のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

【請求項5】

前記バルキング部分が、少なくとも100個のアミノ酸の長さのXTE-Nである、請求項1～4のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

【請求項6】

第4の部分のXTE-Nバルキング部分が前記第1の部分に直接連結している、請求項1～5のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

【請求項7】

前記第1の結合ドメインおよび前記第2の結合ドメインが、それぞれ、ヒトCD3に結合することができるモノクローナル抗体に由来するVHおよびVL領域を含む、請求項1～6のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

【請求項8】

前記第2の結合ドメインが、表1に記載される配列群から選択されるVHおよびVLに由来するVHおよびVLを有する、請求項1～7のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

【請求項9】

前記第2の結合ドメインが、それぞれ、表1のモノクローナル抗体に由来する、CDR-H1領域、CDR-H2領域、CDR-H3領域、CDR-L1領域、CDR-L2領域、およびCDR-L3領域を含む、請求項1～8のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

【請求項10】

前記第1の結合ドメインが、表2に記載される配列群から選択されるモノクローナル抗体VHおよびVLに由来するVHおよびVL領域を有する、請求項1～9のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

【請求項11】

前記第1の結合ドメインが、CDR-H1領域、CDR-H2領域、CDR-H3領域、CDR-L1領域、CDR-L2領域、およびCDR-L3領域を含み、前記領域のそれぞれが、表2に記載される配列群から選択されるモノクローナル抗体配列に由来する、請求項1から10のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

【請求項12】

前記RSが表4に記載される配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項1～11のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

【請求項13】

前記 X T E N が、表 5 に記載される配列群から選択される配列に対して少なくとも約 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

【請求項 14】

前記腫瘍特異的マーカーに対する前記第 1 の結合ドメインの結合親和性が、前記エフェクター細胞抗原に対する前記第 2 の結合ドメインの結合親和性と比較して、*in vitro* アッセイにおいてより低い  $K_d$  定数によって測定された場合に、少なくとも一桁大きい、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

【請求項 15】

放出された第 1 の部分の前記エフェクター細胞抗原または前記腫瘍特異的マーカーに対する結合親和性が、前記 R S が切断されていない前記キメラポリペプチドアセンブリーの前記エフェクター細胞抗原および / または前記腫瘍特異的マーカーに対する結合親和性と比較して少なくとも 2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、または 10 倍高い、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー

【請求項 16】

前記キメラポリペプチドアセンブリーが対象に投与された場合、前記キメラポリペプチドアセンブリーを含む組成物の腫瘍を有する対象への投与の後に、前記キメラポリペプチドアセンブリーの前記第 2 の部分が、前記 R S を切断することができるプロテアーゼを発現する腫瘍の近くで切断される、請求項 15 に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

【請求項 17】

前記 C D 3 を担持する T 細胞と、前記腫瘍特異的マーカーを担持する腫瘍細胞との前記第 1 の部分による結合により、T 細胞由来エフェクター分子が放出される、請求項 3 に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

【請求項 18】

請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリーと、1 つまたは複数の薬学的に好適な賦形剤とを含む医薬組成物。

【請求項 19】

対象における疾患の処置のための医薬の調製における請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリーの使用であって、前記疾患が、がん、自己免疫、および炎症障害から選択される、使用。

【請求項 20】

( a ) 請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリーをコードするポリヌクレオチド、または ( b ) ( a ) のポリヌクレオチドの相補体から選択されるポリヌクレオチド配列を含む単離された核酸。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0041

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0041】

本発明の特徴および利点は、以下の詳細な説明および例示的な実施形態を記載する添付の図面を参照することによってさらに説明されうる。

本発明の実施形態の例として、以下の項目が挙げられる。

(項目 1)

第 1 の部分、第 2 の部分、および第 3 の部分を含むキメラポリペプチドアセンブリーであって、

a . 前記第 1 の部分が、

i . 標的細胞マーカーに対する結合特異性を有する第 1 の結合ドメイン；および

i i . エフェクター細胞抗原に対する結合特異性を有する第 2 の結合ドメインを含み

b . 前記第 2 の部分が、1つまたは複数の哺乳動物プロテアーゼにより切断され得るペプチジル放出セグメント ( R S ) を含み；

c . 前記第 3 の部分が、バルキング部分を含み；

前記バルキング部分が、前記第 2 の部分に対する前記哺乳動物プロテアーゼの作用によつて前記第 1 の部分から放出され得る、キメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 2 )

N 末端から C 末端に向かって、前記第 1 の部分が前記第 2 の部分に連結され、次いで、前記第 2 の部分が前記第 3 の部分に連結されている、項目 1 に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 3 )

N 末端から C 末端に向かって、前記第 3 の部分が前記第 2 の部分に連結され、次いで、前記第 2 の部分が前記第 1 の部分に連結されている、項目 1 に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 4 )

前記標的細胞マーカーが腫瘍特異的マーカーである、項目 1 から 3 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 5 )

前記標的細胞マーカーが炎症マーカーである、項目 1 から 3 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 6 )

前記哺乳動物プロテアーゼが、腫瘍組織中で優先的に発現される、項目 1 から 4 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 7 )

前記哺乳動物プロテアーゼが、炎症組織中で優先的に発現される、項目 1 から 3 および 5 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 8 )

モノマー融合タンパク質である、項目 1 から 7 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 9 )

( i ) 前記第 2 の部分および前記第 3 の部分がモノマー融合タンパク質であり、前記第 1 の部分が前記第 2 の部分に化学的にコンジュゲートされている；または( ii ) 前記第 1 の部分および前記第 2 の部分がモノマー融合タンパク質であり、前記第 3 の部分が前記第 2 の部分に化学的にコンジュゲートされている、項目 1 から 7 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 10 )

前記第 1 の結合ドメインおよび前記第 2 の結合ドメインがそれぞれ s c F v である、先行する項目のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 11 )

前記第 1 の結合ドメインおよび前記第 2 の結合ドメインが単鎖ダイアボディであるか、またはそれぞれ單一ドメイン抗体であるか、またはそれぞれ单ードメインラクダ抗体であるか、またはそれぞれ非抗体足場である、項目 1 から 9 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 12 )

第 2 の結合ドメインが、形質細胞、T 細胞、B 細胞、サイトカイン誘導性キラー細胞 ( C I K 細胞 ) 、マスト細胞、樹状細胞、調節性 T 細胞 ( Reg T 細胞 ) 、ヘルパー T 細胞、骨髓性細胞、および N K 細胞からなる群から選択されるエフェクター細胞上で発現されるエフェクター細胞抗原に対する結合特異性を有する、先行する項目のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 13 )

前記エフェクター細胞がT細胞である、項目12に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目14)

前記エフェクター細胞抗原がCD3である、項目12または13に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目15)

前記エフェクター細胞抗原がCD3である、項目12または13に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目16)

前記第2の結合ドメインが、ヒトCD3に結合することができるモノクローナル抗体に由来するVHおよびVL領域を含む、項目14に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目17)

前記第2の結合ドメインVHおよびVLが、表1に記載される配列群から選択されるVHおよびVLに由来する、項目14に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目18)

前記第2の結合ドメインが、ヒトCD3に結合することができるモノクローナル抗体に由来するVHおよびVL領域を含む、項目15に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目19)

前記第2の結合ドメインscFvが、N末端からC末端の方向に、VH-VLまたはVL-VHの順序に配置されるVHおよびVL領域を含む、項目16または17のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目20)

前記第2の結合ドメインが、それぞれ、表1のモノクローナル抗体に由来する、CDR-H1領域、CDR-H2領域、CDR-H3領域、CDR-L1領域、CDR-L2領域、およびCDR-H3領域を含む、項目14または項目15に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目21)

前記第1の結合ドメインが、前記腫瘍特異的マーカーに結合することができるモノクローナル抗体に由来するVHおよびVL領域を含む、先行する項目のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目22)

前記第1の結合ドメインVHおよびVL領域が、表2に記載される配列群から選択されるモノクローナル抗体VHおよびVLに由来する、項目21に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目23)

前記腫瘍特異的マーカーが腫瘍細胞によって発現される、先行する項目のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目24)

前記腫瘍細胞が、間質細胞、線維芽細胞、筋線維芽細胞、グリア細胞、上皮細胞、脂肪細胞、リンパ球細胞、血管細胞、平滑筋細胞、間葉細胞、乳房組織細胞、前立腺細胞、腎臓細胞、脳細胞、結腸細胞、卵巣細胞、子宮細胞、膀胱細胞、皮膚細胞、胃細胞、尿生殖路細胞、頸部細胞、子宮細胞、小腸細胞、肝臓細胞、脾臓細胞、胆嚢細胞、胆管細胞、食道細胞、唾液腺細胞、肺細胞、および甲状腺細胞からなる群から選択される細胞から生じる、項目21に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目25)

前記腫瘍特異的マーカーが、アルファ4インテグリン、Ang2、B7-H3、B7-H6、CEACAM5、cMET、CTLA4、FOLR1、EpCAM、CCR5、CD19、HER2、HER2neu、HER3、HER4、HER1(EGFR)、P

D - L 1、P S M A、C E A、M U C 1(ムチン)、M U C - 2、M U C 3、M U C 4、M U C 5 A C、M U C 5 B、M U C 7、M U C 1 6、h C G、L e w i s - Y、C D 2 0、C D 3 3、C D 3 8、C D 3 0、C D 5 6(N C A M)、C D 1 3 3、ガングリオシドG D 3；9-O-アセチル-G D 3、G M 2、G l o b o H、フコシルG M 1、G D 2、炭酸脱水酵素I X、C D 4 4 v 6、S o n i c H e d g e h o g(S h h)、W u e - 1、形質細胞抗原1、メラノーマコンドロイチン硫酸プロテオグリカン(M C S P)、C C R 8、前立腺の6回膜貫通上皮抗原(S T E A P)、メソテリン、A 3 3抗原、前立腺幹細胞抗原(P S C A)、L y - 6、デスマグレイン4、胎児アセチルコリン受容体(f n A C h R)、C D 2 5、がん抗原1 9 - 9(C A 1 9 - 9)、がん抗原1 2 5(C A - 1 2 5)、ミュラー管抑制物質受容体I I型(M I S I I R)、シアル化T n 抗原(s T N)、線維芽細胞活性化抗原(F A P)、エンドシアリン(C D 2 4 8)、上皮増殖因子受容体バリアントI I I(E G F R v I I I)、腫瘍関連抗原L 6(T A L 6)、S A S、C D 6 3、T A G 7 2、T hom s e n - F r i e d e n r e i c h 抗原(T F 抗原)、インスリン様増殖因子I受容体(I G F - I R)、C o r a 抗原、C D 7、C D 2 2、C D 7 0、C D 7 9 a、C D 7 9 b、G 2 5 0、M T - M M P、F 1 9 抗原、C A 1 9 - 9、C A - 1 2 5、アルファ-フェトタンパク質(A F P)、V E G F R 1、V E G F R 2、D L K 1、S P 1 7、R O R 1、およびE p h A 2からなる群から選択される、項目2 1または項目2 2に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

## (項目2 6)

前記第1の結合ドメインが、V H - V LまたはV L - V Hの形態でN末端からC末端に向かって配置されるV HおよびV L領域を含むs c F vである、項目2 1から2 5のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

## (項目2 7)

前記第1の結合ドメインが、C D R - H 1領域、C D R - H 2領域、C D R - H 3領域、C D R - L 1領域、C D R - L 2領域、およびC D R - H 3領域を含み、前記領域のそれぞれが、表2に記載される配列群から選択されるモノクローナル抗体配列に由来する、項目1から2 0のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

## (項目2 8)

前記第1の結合ドメインおよび前記第2の結合ドメインが、表8および表9に記載される配列群から選択される可撓性ポリペプチドリンクによって連結されている、先行する項目のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

## (項目2 9)

前記R Sが表4に記載される配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、先行する項目のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

## (項目3 0)

前記R Sが、配列L S G R S D N H S P L G L A G S、S P L G L A G S L S G R S D N H、S P L G L S G R S D N H、L A G R S D N H S P L G L A G S、L S G R S D N H V P L S L K M G、S P L G L A G S、G P L A L A R G、L S G R S D N H、V P L S L T M G、V P L S L K M G、V P L S L S M G、E P L E L V A G、E P L E L R A G、E P A A L M A G、E P A S L M A G、R I G S L R T A、R I Q F L R T A、E P F H L M A G、V P L S L F M G、E P L E L P A G、およびE P L E L A A Gからなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、先行する項目のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

## (項目3 1)

前記R Sが、表3に記載されるプロテアーゼからなる群から選択されるプロテアーゼによって切断され得るアミノ酸配列を含む、先行する項目のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

## (項目3 2)

前記バルкиング部分が、延長組換えポリペプチド(X T E N)；アルブミン結合ドメイン；アルブミン、I g G結合ドメイン；プロリン、セリン、およびアラニンからなるポリ

ペプチド；脂肪酸；E L P バイオポリマー；F c ドメイン；ポリエチレングリコール（P E G）、P L G A；ならびにヒドロキシエチルデンブンからなる群から選択される、先行する項目のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

（項目33）

前記バルキング部分がX T E Nである、項目32に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

（項目34）

前記X T E Nが、表5に記載される配列群から選択される配列に対して少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、項目33に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

（項目35）

前記キメラポリペプチドアセンブリーの前記第1の部分が、表13に記載される配列群から選択される配列に対して少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、先行する項目のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

（項目36）

前記哺乳動物プロテアーゼによって前記第2の部分が切断され、前記キメラポリペプチドアセンブリーから前記第1の部分が放出されると、前記第1の部分が、ヒトC D 3抗原を持たずT細胞と前記腫瘍特異的マーカーを持たず腫瘍細胞との両方を含むin vitroアッセイにおいて、前記T細胞と前記腫瘍細胞とに同時に結合することができる、項目13から35のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

（項目37）

前記第2の部分が切断されて、前記キメラポリペプチドアセンブリーから前記第1の部分および前記第3の部分が放出されると、前記放出された第1の部分が、前記第3の部分の1/2、1/3、1/4、または1/5以下である分子量を有する、項目36に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

（項目38）

前記第2の部分が切断されると、前記キメラポリペプチドアセンブリーから放出された前記第1の部分が、前記第2の部分が切断されていないキメラ結合アセンブリーと比較して、前記C D 3抗原を持たずT細胞または前記腫瘍細胞マーカーに対する増大した結合親和性を有する、項目36に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

（項目39）

前記ヒトC D 3抗原を持たずT細胞または前記腫瘍細胞マーカーに対する前記放出された第1の部分の結合親和性が、前記R Sが切断されていない、前記ヒトC D 3抗原を持たずT細胞または前記腫瘍細胞マーカーに対する前記キメラポリペプチドアセンブリーの結合親和性と比較して少なくとも2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、または10倍高い、項目36に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

（項目40）

前記第1の部分が前記T細胞と前記腫瘍細胞とに同時に結合することにより、前記in vitroアッセイにおいて前記腫瘍細胞に対する細胞傷害活性が生じる、項目36に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

（項目41）

前記キメラポリペプチドアセンブリーの前記放出された第1の部分が、前記in vitroアッセイにおいてインタクトなキメラ結合アセンブリーと比較して前記腫瘍細胞のより多い量の細胞溶解を行うことができる、項目36に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

（項目42）

前記キメラポリペプチドアセンブリーの前記放出された第1の部分によって行われる細胞溶解の量が、前記in vitroアッセイにおける前記インタクトなキメラ結合アセ

ンブリーと比較して少なくとも 10 倍多い、または少なくとも 30 倍、または少なくとも 100 倍、または少なくとも 300 倍、または少なくとも 1000 倍多い、項目 36 に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 43)

前記腫瘍細胞の前記細胞傷害活性および／または細胞溶解が、前記 T 細胞の標的特異的活性化によって媒介される、項目 40 から 42 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 44)

前記キメラポリペプチドアセンブリーの前記放出された第 1 の部分によって行われる前記 T 細胞の活性化の量が、前記インタクトなキメラ結合アセンブリーと比較して少なくとも 10 倍多い、または少なくとも 30 倍、または少なくとも 100 倍、または少なくとも 300 倍、または少なくとも 1000 倍多い、項目 43 に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 45)

a) (i) 前記エフェクター細胞抗原を担持する前記エフェクター細胞と、前記標的細胞マーカーを担持する腫瘍細胞との両方を含む *in vitro* アッセイにおける前記腫瘍細胞に対する前記放出された第 1 の部分の細胞傷害性と、(ii) 1 ~ 約 10 個のアミノ酸の非切断性ペプチドによって連結されている、前記キメラポリペプチドアセンブリーの対応する第 1 の部分と、前記キメラポリペプチドアセンブリーの対応する第 3 の部分とを含む組成物の細胞傷害性との比として測定される相対的細胞傷害性；および

b) 前記エフェクター細胞抗原に対する a (i) の前記放出された第 1 の部分の前記第 2 の結合ドメインの結合親和性と、前記エフェクター細胞抗原に対する a (ii) の前記組成物の結合親和性との比として測定される、相対的結合親和性の比較において、前記相対的細胞傷害性と前記相対的結合親和性との比が、少なくとも 10 : 1 より大きい、または少なくとも 30 : 1 より大きい、または少なくとも 50 : 1 より大きい、または少なくとも 100 : 1 より大きい、または少なくとも 300 : 1 より大きい、または少なくとも 500 : 1 より大きい、または少なくとも 1000 : 1 より大きい、項目 40 から 44 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 46)

前記非切断性ペプチドが配列グリシン - セリンを有し、前記エフェクター細胞抗原が CD3 である、項目 45 に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 47)

前記 *in vitro* アッセイが、細胞膜完全性アッセイ、混合細胞培養アッセイ、FACS ベースヨウ化プロピジウムアッセイ、トリパンブルー流入アッセイ、測光酵素放出アッセイ、放射測定 <sup>51</sup>Cr 放出アッセイ、蛍光ユーロピウム放出アッセイ、Calcein AM 放出アッセイ、測光 MTT アッセイ、XTT アッセイ、WST-1 アッセイ、アラマーブルーアッセイ、放射測定 <sup>3</sup>H - Thd 取込みアッセイ、細胞分裂活性を測定するクローン形成アッセイ、ミトコンドリア膜貫通勾配を測定する蛍光ローダミン 123 アッセイ、FACS ベースホスファチジルセリン曝露によりモニタリングされるアポトーシスアッセイ、ELISA ベース TUNEL 試験アッセイ、サンドイッチ ELISA、カスパー活性アッセイ、細胞ベース LDH 放出アッセイ、および細胞形態学アッセイ、またはその任意の組合せからなるアッセイ群から選択される、項目 36 から 46 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 48)

前記腫瘍特異的マーカーに対する前記放出された第 1 の部分の前記第 1 の結合ドメインの結合親和性が、前記 CD3 抗原に対する前記放出された第 1 の部分の前記第 2 の結合ドメインの結合親和性と比較して高い、項目 36 に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 49)

前記 *in vitro* アッセイにおいて K<sub>d</sub> 定数によって測定された場合、前記標的細

胞に対する前記第1の結合ドメインの結合親和性が、前記CD3抗原に対する前記第2の結合ドメインのより高い結合親和性と比較して、少なくとも一桁低い、項目36に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目50)

前記キメラポリペプチドアセンブリーの前記第1の結合ドメインの前記 $K_d$ 定数が、 $10^{-5} \sim 10^{-9}$ Mであり、前記第2の結合ドメインの $K_d$ が $10^{-5} \sim 10^{-9}$ Mである、項目36に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目51)

前記キメラポリペプチドアセンブリーを含む組成物を対象に投与した後、前記キメラポリペプチドアセンブリーの前記第2の部分が、前記キメラポリペプチドアセンブリーが対象に投与された場合、前記RSを切断することができるプロテアーゼを発現する腫瘍の近くで切断される、項目1から35のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目52)

前記哺乳動物プロテアーゼによって前記第2の部分が切断され、前記キメラポリペプチドアセンブリーから前記第1の部分が放出されると、前記第1の部分が、前記ヒトCD3抗原を担持するT細胞と、前記腫瘍特異的マーカーを担持する腫瘍細胞とに同時に結合することができる、項目51に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目53)

前記第1の部分が、前記CD3抗原を担持するT細胞と、前記腫瘍細胞マーカーを担持する前記腫瘍細胞とに同時に結合することにより、T細胞由来エフェクター分子が放出される、項目52に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目54)

前記エフェクター分子が、TNF-、IFN-、インターロイキン2、パーフォリン、およびグランザイムからなる群の1つまたは複数のエフェクター分子から選択される、項目53に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目55)

前記第1の部分が、前記ヒトCD3抗原を担持するT細胞と、前記腫瘍特異的マーカーを担持する腫瘍細胞とに同時に結合すると、前記腫瘍細胞の溶解が前記T細胞によって行われる、項目52に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目56)

同等用量で対象に投与された後の前記第2および第3の部分に連結されていない前記第1の部分の半減期と比較して少なくとも2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、または10倍長い、対象に投与された後の半減期を示す、項目51から55のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目57)

前記キメラポリペプチドアセンブリーを対象に投与し、前記第2の部分が切断され、前記キメラポリペプチドアセンブリーから前記第1の部分および前記第3の部分が放出された後に、前記第1の部分が、前記対象における前記インタクトなキメラポリペプチドアセンブリーと比較して $1/2$ 、 $1/3$ 、 $1/4$ 、 $1/5$ 、 $1/6$ 、 $1/7$ 、 $1/8$ 、 $1/9$ 、または $1/10$ 以下である半減期を有する、項目51から56のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目58)

前記キメラポリペプチドアセンブリーを含む組成物を前記対象に単回投与した後の前記放出された第1の部分の血漿Cmax濃度が、約 $0.01\text{ng}/\text{ml}$ 、または約 $0.1\text{ng}/\text{ml}$ 、または約 $1\text{ng}/\text{ml}$ 、または約 $10\text{ng}/\text{ml}$ 、または約 $100\text{ng}/\text{ml}$ を超えない、項目51から57のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目59)

前記キメラポリペプチドアセンブリーを含む組成物を前記対象に単回投与した後の前記

放出された第 1 の部分の血漿 C<sub>max</sub> 濃度が、同じ対象における前記インタクトなキメラポリペプチドアセンブリーの 1 / 3 以下、または 1 / 10 以下、または 1 / 30 以下、または 1 / 100 以下である、項目 51 から 57 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 60)

前記インタクトなキメラポリペプチドアセンブリーが、前記 RS が切断され、前記第 1 の部分および前記第 3 の部分を放出する前記キメラポリペプチドアセンブリーと比較して、対象における血液循環系からの溢出の減少を示す、項目 51 から 59 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 61)

前記対象が、マウス、ラット、サル、イヌ、およびヒトからなる群から選択される、項目 51 から 60 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 62)

先行する項目のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリーと、1つまたは複数の薬学的に好適な賦形剤とを含む医薬組成物。

(項目 63)

皮内、皮下、静脈内、動脈内、腹部内、腹腔内、髄腔内、または筋肉内投与のために製剤化されている、項目 62 に記載の医薬組成物。

(項目 64)

液体形態である、項目 62 に記載の医薬組成物。

(項目 65)

単回注射のためのプレフィルドシリンジ中にある、項目 64 に記載の医薬組成物。

(項目 66)

投与前に復元される凍結乾燥粉末として製剤化されている、項目 62 に記載の医薬組成物。

(項目 67)

対象における疾患の処置のための医薬の調製における項目 1 から 61 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリーの使用。

(項目 68)

前記疾患が、癌腫、ホジキンリンパ腫、および非ホジキンリンパ腫、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、芽細胞腫、乳がん、ER / PR + 乳がん、Her 2 + 乳がん、トリプルネガティブ乳がん、結腸がん、悪性腹水を伴う結腸がん、粘液腫瘍、前立腺がん、頭頸部がん、皮膚がん、メラノーマ、尿生殖路がん、卵巣がん、悪性腹水を伴う卵巣がん、腹膜癌症、子宮漿液性癌、子宮内膜がん、子宮頸がん、結腸直腸がん、子宮がん、腹腔の中皮腫、腎臓がん、ウィルムス腫瘍、肺がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、胃がん (gastric cancer)、胃がん (stomach cancer)、小腸がん、肝臓がん、肝細胞癌、肝芽腫、脂肪肉腫、脾がん、胆囊がん、胆管がん、食道がん、唾液腺癌、甲状腺がん、上皮がん、男化腫瘍、腺癌、肉腫、および B 細胞由来慢性リンパ性白血病からなる群から選択される、項目 67 に記載の使用。

(項目 69)

対象における疾患を処置する方法であって、それを必要とする前記対象に、項目 1 から 68 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリーまたは前記キメラポリペプチドアセンブリーを含む医薬組成物の治療有効用量を投与することを含む方法。

(項目 70)

前記疾患が、癌腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B 細胞リンパ腫、T 細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、芽細胞腫、乳がん、結腸がん、前立腺がん、頭頸部がん、任意の形態の皮膚がん、メラノーマ、尿生殖路がん、卵巣がん、悪性腹水を伴う卵巣がん、腹膜癌症、子宮漿液性癌、子宮内膜がん、子宮頸がん、結腸直腸がん、悪性腹水を伴う上皮腹腔内悪性腫瘍、子宮がん、腹腔の中皮腫、腎臓がん、肺がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、胃がん (gastric cancer)、食道がん、胃がん (sto

mach cancer)、小腸がん、肝臓がん、肝細胞癌、肝芽腫、脂肪肉腫、脾がん、胆嚢がん、胆管がん、唾液腺癌、甲状腺がん、上皮がん、腺癌、任意の起源の肉腫、急性もしくは慢性リンパ球性白血病、急性もしくは慢性骨髄性白血病を含む原発性血液悪性腫瘍、骨髄増殖性新生物障害、または骨髄異形成障害、重症筋無力症、バセドウ病、橋本甲状腺炎、またはグッドパスチャー症候群からなる群から選択される、項目69に記載の方法。

(項目71)

前記医薬組成物が、前記対象に週2回、週1回、2週毎、3週毎、または毎月投与される1つまたは複数の治療有効用量として投与される、項目69または70に記載の方法。

(項目72)

前記医薬組成物が、前記対象に少なくとも2週、または少なくとも1カ月、または少なくとも2カ月、または少なくとも3カ月、または少なくとも4カ月、または少なくとも5カ月、または少なくとも6カ月の期間にわたって1つまたは複数の用量として投与される、項目69から71のいずれか一項に記載の方法。

(項目73)

前記用量が、皮内、皮下、静脈内、動脈内、腹部内、腹腔内、または筋肉内に投与される、項目69から72のいずれか一項に記載の方法。

(項目74)

前記用量が、最大の安全性および效能のために忍容されるように、ボーラス用量として、または5分～96時間の注入によって投与される、項目69から73のいずれか一項に記載の方法。

(項目75)

前記用量が、少なくとも約0.005mg/kg、少なくとも約0.01mg/kg、少なくとも約0.02mg/kg、少なくとも約0.04mg/kg、少なくとも約0.08mg/kg、少なくとも約0.1mg/kg、少なくとも約0.12mg/kg、少なくとも約0.14mg/kg、少なくとも約0.16mg/kg、少なくとも約0.18mg/kg、少なくとも約0.20mg/kg、少なくとも約0.22mg/kg、少なくとも約0.24mg/kg、少なくとも約0.26mg/kg、少なくとも約0.27mg/kg、少なくとも約0.28mg/kg、少なくとも約0.3mg/kg、少なくとも約0.35mg/kg、少なくとも約0.4mg/kg、少なくとも約0.5mg/kg、少なくとも約0.6mg/kg、少なくとも約0.7mg/kg、少なくとも約0.8mg/kg、少なくとも約0.9mg/kg、少なくとも約1.0mg/kg、少なくとも約1.5mg/kg、または少なくとも約2.0mg/kgからなる群から選択される、項目69から74のいずれか一項に記載の方法。

(項目76)

初期用量が、少なくとも約0.005mg/kg、少なくとも約0.01mg/kg、少なくとも約0.02mg/kg、少なくとも約0.04mg/kg、少なくとも約0.08mg/kg、少なくとも約0.1mg/kgからなる群から選択され、その後の用量が、少なくとも約0.12mg/kg、少なくとも約0.14mg/kg、少なくとも約0.16mg/kg、少なくとも約0.18mg/kg、少なくとも約0.20mg/kg、少なくとも約0.22mg/kg、少なくとも約0.24mg/kg、少なくとも約0.26mg/kg、少なくとも約0.27mg/kg、少なくとも約0.28mg/kg、少なくとも約0.3mg/kg、少なくとも約0.4mg/kg、少なくとも約0.5mg/kg、少なくとも約0.6mg/kg、少なくとも約0.7mg/kg、少なくとも約0.8mg/kg、少なくとも約0.9mg/kg、少なくとも約1.0mg/kg、少なくとも約1.5mg/kg、または少なくとも約2.0mg/kgからなる群から選択される、項目69から74のいずれか一項または組合せに記載の方法。

(項目77)

前記対象への前記投与が、少なくとも約3日間、少なくとも約7日間、少なくとも約10日間、少なくとも約14日間、または少なくとも約21日間、前記対象において少なく

とも約 0.1 ng / mL ~ 少なくとも約 2 ng / mL またはそれよりも多くの前記キメラポリペプチドアセンブリーの血漿濃度をもたらす、項目 6 9 から 7 4 のいずれか一項または組合せに記載の方法。

(項目 7 8 )

前記対象が、マウス、ラット、サル、およびヒトからなる群から選択される、項目 6 9 から 7 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 7 9 )

任意選択で、治療有効用量を使用する 1 つまたは複数の連続用量を含む処置レジメンに従って、前記疾患を有する対象に前記医薬組成物または前記キメラポリペプチドアセンブリーを投与することを含む、前記疾患の処置のための方法における使用のための、項目 6 2 から 6 5 のいずれか一項に記載の医薬組成物または項目 1 から 6 1 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 8 0 )

前記疾患が、癌腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B 細胞リンパ腫、T 細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、芽細胞腫、乳がん、結腸がん、前立腺がん、頭頸部がん、任意の形態の皮膚がん、メラノーマ、尿生殖路がん、卵巣がん、悪性腹水を伴う卵巣がん、腹膜癌症、子宮漿液性癌、子宮内膜がん、子宮頸がん、結腸直腸がん、悪性腹水を伴う上皮腹腔内悪性腫瘍、子宮がん、腹腔の中皮腫、腎臓がん、肺がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、胃がん (gastric cancer) 、食道がん、胃がん (stomach cancer) 、小腸がん、肝臓がん、肝細胞癌、肝芽腫、脂肪肉腫、膵がん、胆嚢がん、胆管がん、唾液腺癌、甲状腺がん、上皮がん、腺癌、任意の起源の肉腫、急性もしくは慢性リンパ球性白血病、急性もしくは慢性骨髄性白血病を含む原発性血液悪性腫瘍、骨髄増殖性新生物障害、または骨髄異形成障害、重症筋無力症、バセドウ病、橋本甲状腺炎、およびグッドパスチャー症候群からなる群から選択される、項目 7 9 に記載の使用のための医薬組成物またはキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 8 1 )

前記処置レジメンが特定の処置サイクルの一部である、項目 7 9 または項目 8 0 に記載の使用のための医薬組成物またはキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 8 2 )

前記特定の処置サイクルが、各処置サイクルあたり、週 2 回、毎週、10 日毎、2 週毎、3 週毎、または毎月の前記医薬組成物の投与を含む、項目 8 2 に記載の使用のための医薬組成物またはキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 8 3 )

前記処置レジメンが、前記対象における前記疾患と関連する臨床パラメーターまたは評価項目の改善をもたらす、項目 7 9 から 8 1 のいずれか一項に記載の使用のための医薬組成物またはキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 8 4 )

前記臨床パラメーターまたは評価項目が、完全、部分または不完全奏効としての腫瘍縮小；無増悪期間、治療成功期間、バイオマーカー応答；無増悪生存期間；無病生存期間；再発までの期間；転移までの期間；全生存期間；生活の質の改善；および症状の改善からなる群の 1 つまたは任意の組合せから選択される、項目 8 3 に記載の使用のための医薬組成物またはキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 8 5 )

項目 6 2 から 6 5 のいずれか一項に記載の医薬組成物、容器、および前記容器上の、またはそれに付随するラベルまたは添付文書を含むキット。

(項目 8 6 )

ペプチジル RS を含む第 4 の部分と、バルкиング部分を含む第 5 の部分とをさらに含む、項目 3 2 から 3 5 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 8 7 )

前記第 4 の部分の RS が、表 4 に記載される配列からなる群から選択されるアミノ酸配

列を含む、項目 8 6 に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 8 8 )

前記第 4 の部分の R S が、配列 L S G R S D N H S P L G L A G S 、 S P L G L A G S L S G R S D N H 、 S P L G L S G R S D N H 、 L A G R S D N H S P L G L A G S 、 L S G R S D N H V P L S L K M G 、 S P L G L A G S 、 G P L A L A R G 、 L S G R S D N H 、 V P L S L T M G 、 V P L S L K M G 、 V P L S L S M G 、 E P L E L V A G 、 E P L E L R A G 、 E P A A L M A G 、 E P A S L M A G 、 R I G S L R T A 、 R I Q F L R T A 、 E P F H L M A G 、 V P L S L F M G 、 E P L E L P A G 、 および E P L E L A G からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 8 9 )

前記 R S が、表 3 に記載されるプロテアーゼからなる群から選択されるプロテアーゼによって切断され得るアミノ酸配列を含む、項目 8 6 に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 9 0 )

前記バルキング部分が、 X T E N ；アルブミン結合ドメイン；アルブミン； I g G 結合ドメイン；プロリン、セリン、およびアラニンからなるポリペプチド；脂肪酸； F c ドメイン；ならびにエラスチン様タンパク質からなる群から選択される、項目 8 6 に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 9 1 )

前記バルキング部分が X T E N である、項目 9 0 に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 9 2 )

前記 X T E N が、表 5 に記載される配列群から選択される配列に対して少なくとも 9 0 % 、 9 1 % 、 9 2 % 、 9 3 % 、 9 4 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 9 9 % 、または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、項目 9 1 に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 9 3 )

表 1 0 または表 1 2 に記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも 9 0 % 、 9 1 % 、 9 2 % 、 9 3 % 、 9 4 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 9 9 % 、または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 9 4 )

インタクトな前記アセンブリーが、前記アセンブリーに連結されていないアセンブリーの対応する第 1 の部分と比較して、エフェクター細胞からの T h 1 サイトカインの産生を行う能力が 1 / 1 0 以下、または 1 / 2 0 以下、または 1 / 3 0 以下、または 1 / 4 0 以下、または 1 / 5 0 以下、または 1 / 6 0 以下、または 1 / 7 0 以下、または 1 / 8 0 以下、または 1 / 9 0 以下、または 1 / 1 0 0 以下、または 1 / 1 0 0 0 以下であり、前記アセンブリーが、前記エフェクター細胞および標的細胞と接触している、項目 1 から 3 5 および 9 3 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目 9 5 )

前記 T h 1 サイトカインの産生が、 P B M C または C D 3 + T 細胞ならびにアルファ 4 インテグリン、 A n g 2 、 B 7 - H 3 、 B 7 - H 6 、 C E A C A M 5 、 c M E T 、 C T L A 4 、 F O L R 1 、 E p C A M 、 C C R 5 、 C D 1 9 、 H E R 2 、 H E R 2 n e u 、 H E R 3 、 H E R 4 、 H E R 1 ( E G F R ) 、 P D - L 1 、 P S M A 、 C E A 、 M U C 1 ( ムチン ) 、 M U C - 2 、 M U C 3 、 M U C 4 、 M U C 5 A C 、 M U C 5 B 、 M U C 7 、 M U C 1 6 h C G 、 L e w i s - Y 、 C D 2 0 、 C D 3 3 、 C D 3 8 、 C D 3 0 、 C D 5 6 ( N C A M ) 、 C D 1 3 3 、 ガングリオシド G D 3 ; 9 - O - アセチル - G D 3 、 G M 2 、 G l o b o H 、 フコシル G M 1 、 G D 2 、 炭酸脱水酵素 I X 、 C D 4 4 v 6 、 S o n i c H e d g e h o g ( S h h ) 、 W u e - 1 、 形質細胞抗原 1 、 メラノーマコンドロイチン硫酸プロテオグリカン ( M C S P ) 、 C C R 8 、 前立腺の 6 回膜貫通上皮抗原

(S T E A P)、メソテリン、A 3 3 抗原、前立腺幹細胞抗原 (P S C A)、L y - 6、デスマグレイン4、胎児アセチルコリン受容体 (f n A C h R)、C D 2 5、がん抗原 1 9 - 9 (C A 1 9 - 9)、がん抗原 1 2 5 (C A - 1 2 5)、ミュラー管抑制物質受容体 I I 型 (M I S I I R)、シアル化T n 抗原 (s T N)、線維芽細胞活性化抗原 (F A P)、エンドシアリン (C D 2 4 8)、上皮増殖因子受容体バリアントI I I (E G F R v I I I )、腫瘍関連抗原L 6 (T A L 6)、S A S、C D 6 3、T A G 7 2、Thom s e n - F r i e d e n r e i c h 抗原 (T F 抗原)、インスリン様増殖因子I 受容体 (I G F - I R)、C o r a 抗原、C D 7、C D 2 2、C D 7 0、C D 7 9 a、C D 7 9 b、G 2 5 0、M T - M M P、F 1 9 抗原、C A 1 9 - 9、C A - 1 2 5、アルファ - フェトタンパク質 (A F P)、V E G F R 1、V E G F R 2、D L K 1、S P 1 7、R O R 1、およびE p h A 2 からなる群から選択される腫瘍特異的マーカー抗原を有する標的細胞を含むin vitro アッセイにおいてアッセイされる、項目9 4に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目9 6)

前記T h 1 サイトカインが、I L - 2、T N F - アルファ、およびI F N - ガンマからなる群から選択される、項目9 4に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目9 7)

前記T h 1 サイトカインの產生が、前記アセンブリーに連結されていない対応する第1の部分を投与された対象と比較して、前記アセンブリーを投与された対象に由来する血液または流体試料を使用してアッセイされる、項目9 4または項目9 6に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目9 8)

前記対象が、マウス、ラット、サル、およびヒトからなる群から選択される、項目9 7に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目9 9)

インタクトな前記キメラポリペプチドアセンブリーが、同等用量で対象に投与された場合の前記アセンブリーに連結されていない前記第1の部分と比較して、対象に投与された場合の循環から溢出する能力が1 / 3以下、または1 / 1 0以下、または1 / 2 0以下、または1 / 3 0以下、または1 / 4 0以下、または1 / 5 0以下、または1 / 6 0以下、または1 / 7 0以下、または1 / 8 0以下、または1 / 9 0以下、または1 / 1 0 0以下である、項目1から3 5および9 3のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目1 0 0)

(a) 項目1から6 1および8 6から9 9のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリーをコードするポリヌクレオチド、または(b)(a)のポリヌクレオチドの相補体から選択されるポリヌクレオチド配列を含む単離された核酸。

(項目1 0 1)

表1 0または表1 3に記載されるポリヌクレオチド配列に対して少なくとも9 0%、9 1%、9 2%、9 3%、9 4%、9 5%、9 6%、9 7%、9 8%、9 9%、または1 0 0%の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む単離された核酸。

(項目1 0 2)

項目9 4または項目1 0 1に記載のポリヌクレオチド配列と、前記ポリヌクレオチド配列に作動可能に連結した組換え調節配列とを含む発現ベクター。

(項目1 0 3)

項目1 0 2に記載の発現ベクターを含む単離された宿主細胞。

(項目1 0 4)

E . c o l i である、項目1 0 3に記載の単離された宿主細胞。

(項目1 0 5)

表7に記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも9 0%、9 1%、9 2%、9 3%、9 4%、9 5%、9 6%、9 7%、9 8%、9 9%、または1 0 0%の配列同一性を有す

るアミノ酸配列を含むモノマー融合タンパク質。

(項目106)

(a) 項目105に記載の融合タンパク質をコードするポリヌクレオチド、(b)表7に記載されるポリヌクレオチド配列からなる群から選択されるポリヌクレオチド配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列;または(c)(a)もしくは(b)のポリヌクレオチドの相補体から選択されるポリヌクレオチド配列を含む単離された核酸。

(項目107)

項目1から61および86から99のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリーまたはその相補体をコードするポリヌクレオチド配列を作製する方法における、項目106に記載の核酸の使用。

(項目108)

項目106に記載のポリヌクレオチド配列と、前記ポリヌクレオチド配列に作動可能に連結した組換え調節配列とを含む発現ベクター。

(項目109)

項目108に記載の発現ベクターを含む単離された宿主細胞。

(項目110)

E.coliである、項目109に記載の単離された宿主細胞。

(項目111)

項目1から61および86から99のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリーを產生する方法であって、宿主細胞を項目102または項目108に記載の発現ベクターで形質転換すること、形質転換された前記宿主細胞中での前記キメラポリペプチドアセンブリーの発現を可能にする条件下で前記宿主細胞を培養すること、および前記キメラポリペプチドアセンブリーを可溶性ポリペプチドとして単離することを含む方法。

(項目112)

標的細胞の死を誘導する方法であって、前記標的細胞を、項目1から61および85から98のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリーならびにエフェクター細胞と接触させることを含み、前記接触が、膜完全性の喪失、核濃縮、核崩壊、アポトーシスの内因性経路の誘導、アポトーシスの外因性経路の誘導、アポトーシス、細胞溶解、および細胞死からなる群から選択される前記標的細胞中での効果をもたらす、方法。

(項目113)

前記標的細胞と前記エフェクター細胞との混合集団、ならびに前記標的細胞および前記エフェクター細胞の抗原に対する結合親和性を有する有効量の前記キメラポリペプチドアセンブリーを含むin vitroでの細胞ベースアッセイにおいて用いられる、項目112に記載の方法。

(項目114)

前記標的細胞が、アルファ4インテグリン、Ang2、B7-H3、B7-H6、CEACAM5、cMET、CTLA4、FOLR1、EpCAM、CCR5、CD19、HER2、HER2neu、HER3、HER4、HER1(EGFR)、PD-L1、PSMA、CEA、MUC1(ムチン)、MUC-2、MUC3、MUC4、MUC5A/C、MUC5B、MUC7、MUC16hCG、Lewis-Y、CD20、CD33、CD38、CD30、CD56(NCAM)、CD133、ガングリオシドGD3；9-O-アセチル-GD3、GM2、GlobotriaH、フコシルGM1、GD2、炭酸脱水酵素IX、CD44v6、Sonic Hedgehog(Shh)、Wue-1、形質細胞抗原1、メラノーマコンドロイチン硫酸プロテオグリカン(MCSP)、CCR8、前立腺の6回膜貫通上皮抗原(STEAP)、メソテリン、A33抗原、前立腺幹細胞抗原(PSCA)、Ly-6、デスマグレイン4、胎児アセチルコリン受容体(fnAChR)、CD25、がん抗原19-9(CA19-9)、がん抗原125(CA-125)、ミュラー管抑制物質受容体II型(MISIIR)、シアル化Tn抗原(s-TN)

、線維芽細胞活性化抗原（FAP）、エンドシアリン（CD248）、上皮増殖因子受容体パリアントIII（EGFRvIII）、腫瘍関連抗原L6（TAL6）、SAS、CD63、TAG72、Thomsen-Friedenreich抗原（TF抗原）、インスリン様増殖因子I受容体（IGF-IR）、Cora抗原、CD7、CD22、CD70、CD79a、CD79b、G250、MT-MMP、F19抗原、CA19-9、CA-125、アルファ-フェトタンパク質（AFP）、VEGFR1、VEGFR2、DLK1、SP17、ROR1、およびEpHA2からなる群から選択される腫瘍特異的マーカー抗原を有し、前記エフェクター細胞がT細胞であり、前記エフェクター細胞抗原がCD3である、項目112に記載の方法。

（項目115）

前記標的細胞の集団を含むがんを有する対象において用いられ、前記対象に治療有効量の前記キメラポリペプチドアセンブリーを投与することを含む、項目114に記載の方法。

（項目116）

前記キメラポリペプチドアセンブリーと、1つまたは複数の賦形剤とを含む医薬組成物の1つまたは複数の連続的に投与される治療有効用量として、前記キメラポリペプチドアセンブリーを投与することを含む、項目115に記載の方法。

（項目117）

前記がんを有する前記対象において治療効果を達成するのに必要とされる医薬組成物の量を決定し、1つまたは複数の連続用量としての前記量を前記対象に投与するレジメンを含む、項目116に記載の方法。

（項目118）

前記がんが、癌腫、ホジキンリンパ腫、および非ホジキンリンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、芽細胞腫、乳がん、ER/PR+乳がん、Her2+乳がん、トリプルネガティブ乳がん、結腸がん、悪性腹水を伴う結腸がん、粘液腫瘍、前立腺がん、頭頸部がん、皮膚がん、メラノーマ、尿生殖路がん、卵巣がん、悪性腹水を伴う卵巣がん、腹膜癌症、子宮漿液性癌、子宮内膜がん、子宮頸がん、結腸直腸がん、子宮がん、腹腔の中皮腫、腎臓がん、ウィルムス腫瘍、肺がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、胃がん（gastric cancer）、胃がん（stomach cancer）、小腸がん、肝臓がん、肝細胞癌、肝芽腫、脂肪肉腫、膵がん、胆嚢がん、胆管がん、食道がん、唾液腺癌、甲状腺がん、上皮がん、男化腫瘍、腺癌、肉腫、およびB細胞由来慢性リンパ性白血病からなる群から選択される、項目115から117のいずれか一項に記載の方法。

（項目119）

全生存期間、症状評価項目、無病生存期間、客観的奏功率、完全奏効、奏効期間、無増悪生存期間、無増悪期間、治療成功期間、腫瘍測定、腫瘍サイズ、腫瘍奏効率、転移までの期間、およびバイオマーカー濃度からなる群から選択される臨床パラメーターまたは評価項目の改善をもたらす、項目115から118のいずれか一項に記載の方法。

（項目120）

前記方法が、前記キメラポリペプチドアセンブリーの前記第1の部分を含み、前記第2の部分および第3の部分を含まない組成物の、同等の対象へのmmol/kgの同等用量の投与と比較して、前記対象における診断的に関連する副作用の頻度、持続期間、または重症度の減少をもたらし、前記副作用が、IL-2の血漿レベルの増大、TNF-アルファの血漿レベルの増大、IFN-ガンマの血漿レベルの増大、敗血症、発熱性好中球減少症、神経毒性、痙攣、脳症、サイトカイン放出症候群、言語障害、平衡障害、発熱、頭痛、混乱、低血圧、好中球減少症、恶心、意識障害、見当識障害、および肝酵素の増加からなる群から選択される、項目115から119のいずれか一項に記載の方法。

（項目121）

腫瘍特異的マーカーを含む腫瘍細胞に治療剤を送達する方法であって、標的細胞に、項目1から61および86から99のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリ

ーを投与することを含み、前記治療剤が、前記腫瘍特異的マーカーに特異的に結合する前記第1の部分の前記第1の結合ドメインを介して前記標的細胞に送達される、方法。

(項目122)

前記腫瘍特異的マーカーが、アルファ4インテグリン、Ang 2、B7-H3、B7-H6、CEACAM5、cMET、CTLA4、FOLR1、EpCAM、CCR5、CD19、HER2、HER2 neu、HER3、HER4、HER1(EGFR)、PD-L1、PSMA、CEA、MUC1(ムチン)、MUC-2、MUC3、MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC7、MUC16 hCG、Lewis-Y、CD20、CD33、CD38、CD30、CD56(NCAM)、CD133、ガングリオシドGD3；9-O-アセチル-GD3、GM2、Globoside、フコシルGM1、GD2、炭酸脱水酵素IX、CD44v6、Sonic Hedgehog(Shh)、Wue-1、形質細胞抗原1、メラノーマコンドロイチン硫酸プロテオグリカン(MCSP)、CCR8、前立腺の6回膜貫通上皮抗原(STEAP)、メソテリン、A33抗原、前立腺幹細胞抗原(PSCA)、Ly-6、デスマグレイン4、胎児アセチルコリン受容体(fnAChR)、CD25、がん抗原19-9(CA19-9)、がん抗原125(CA-125)、ミュラー管抑制物質受容体II型(MISIIR)、シアル化Tn抗原(STN)、線維芽細胞活性化抗原(FAP)、エンドシアリン(CD248)、上皮増殖因子受容体バリアントIII(EGFRvIII)、腫瘍関連抗原L6(TAL6)、SAS、CD63、TAG72、Thomsen-Friedenreich抗原(TF抗原)、インスリン様増殖因子I受容体(IGF-IR)、Cora抗原、CD7、CD22、CD70、CD79a、CD79b、G250、MT-MMP、F19抗原、CA19-9、CA-125、アルファ-フェトタンパク質(AFP)、VEGFR1、VEGFR2、DLK1、SP17、ROR1、およびEphA2からなる群から選択される、項目121に記載の方法。

(項目123)

前記腫瘍特異的マーカーが、アルファ4インテグリン、Ang 2、CEACAM5、CD19、CD20、CD33、CD38、cMET、CTLA4、EpCAM、EphA2、FOLR1、HER1(EGFR)、HER2、HER3、HER1(EGFR)/HER3、HER2/3、メソテリン、MUC1、PD-L1、PSMA、TAG-72、VEGFR1、VEGFR2からなる群から選択される、項目121に記載の方法。

(項目124)

キメラポリペプチドアセンブリーが、表12の配列からなる群から選択されるポリペプチド配列に対して少なくとも90%、または少なくとも91%、または少なくとも92%、または少なくとも93%、または少なくとも94%、または少なくとも95%、または少なくとも96%、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%、または少なくとも100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、項目123に記載の方法。

(項目125)

キメラポリペプチドアセンブリーが、図36または図37に記載される配列からなる群から選択されるポリペプチド配列に対して少なくとも90%、または少なくとも91%、または少なくとも92%、または少なくとも93%、または少なくとも94%、または少なくとも95%、または少なくとも96%、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%、または少なくとも100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、項目123に記載の方法。

(項目126)

前記腫瘍細胞が、対象における腫瘍中に存在する、項目121から125のいずれか一項に記載の方法。

(項目127)

前記対象が、マウス、ラット、サル、イヌ、およびヒトからなる群から選択される、項目126に記載の方法。

(項目128)

前記第2の部分も前記第3の部分も前記第1の部分に対する特異的結合親和性を有さない、項目1から61のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目129)

前記第1の部分が、前記キメラポリペプチドアセンブリーの分子量の50%未満を占める、項目1から61のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目130)

見かけの分子量係数がサイズ排除クロマトグラフィーによって評価される場合、前記第1の部分が、前記キメラポリペプチドアセンブリーの見かけの分子量係数の30%未満、または40%未満、または50%未満を占める、項目1から61のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目131)

前記第2の部分が切断され、前記キメラポリペプチドアセンブリーから前記第1の部分および前記第3の部分が放出されると、流体力学半径がサイズ排除クロマトグラフィーによって評価される場合、前記放出された第1の部分の流体力学半径が、前記インタクトなキメラポリペプチドアセンブリーの流体力学半径の約30%未満、または約40%未満、または約50%未満である、項目36に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目132)

前記第2の部分が切断され、前記キメラポリペプチドアセンブリーから前記第1の部分および前記第3の部分が放出されると、流体力学半径がサイズ排除クロマトグラフィーによって決定される場合、前記放出された第1の部分の流体力学半径が、約5nm未満、または約4nm未満、または約3nm未満である、項目36に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目133)

前記放出された第1の部分が、インタクトなキメラポリペプチドアセンブリーと比較して、腫瘍組織に浸透する高い能力を有する、項目132に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目134)

流体力学半径がサイズ排除クロマトグラフィーによって決定される場合、インタクトなキメラポリペプチドアセンブリーの流体力学半径が、約8nmより大きい、または約9nmより大きい、または約10nmより大きい、項目1から35のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目135)

腫瘍を有する対象に投与されたインタクトなキメラポリペプチドアセンブリーが、前記腫瘍の血管系から溢出する能力と比較して、前記対象の正常組織の血管系から溢出する能力がより低い、項目1から35のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目136)

表10または表12に記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列からなるキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目137)

図36または図37に記載される配列からなる群から選択されるポリペプチド配列に対して少なくとも90%、または少なくとも91%、または少なくとも92%、または少なくとも93%、または少なくとも94%、または少なくとも95%、または少なくとも96%、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%、または少なくとも100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むキメラポリペプチドアセンブリー。

(項目138)

図36または図37に記載される配列からなる群から選択されるポリペプチド配列に対

して少なくとも 9 0 %、または少なくとも 9 1 %、または少なくとも 9 2 %、または少な  
くとも 9 3 %、または少なくとも 9 4 %、または少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9  
6 %、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  
たは少なくとも 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列からなるキメラポリペプチド  
アセンブリー。