

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7397874号
(P7397874)

(45)発行日 令和5年12月13日(2023.12.13)

(24)登録日 令和5年12月5日(2023.12.5)

(51)国際特許分類		F I		
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00	Z N A
C 0 7 K	14/705 (2006.01)	C 0 7 K	14/705	
C 0 7 K	14/715 (2006.01)	C 0 7 K	14/715	
C 0 7 K	14/71 (2006.01)	C 0 7 K	14/71	
請求項の数 22 (全465頁) 最終頁に続く				
(21)出願番号	特願2021-535496(P2021-535496)	(73)特許権者	521087117	
(86)(22)出願日	令和1年8月29日(2019.8.29)		エイチシーダブリュー バイオロジックス	
(65)公表番号	特表2021-534828(P2021-534828 A)		インコーポレイテッド	
(43)公表日	令和3年12月16日(2021.12.16)		アメリカ合衆国 3 3 0 2 5 フロリダ州	
(86)国際出願番号	PCT/US2019/048881		ミラマー ノース コマース パークウェイ	
(87)国際公開番号	WO2020/047299	(74)代理人	2 9 2 9	
(87)国際公開日	令和2年3月5日(2020.3.5)		100102978	
審査請求日	令和4年8月16日(2022.8.16)	(74)代理人	弁理士 清水 初志	
(31)優先権主張番号	62/724,969	(74)代理人	100160923	
(32)優先日	平成30年8月30日(2018.8.30)		弁理士 山口 裕孝	
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100119507	
(31)優先権主張番号	62/725,043		弁理士 刑部 俊	
(32)優先日	平成30年8月30日(2018.8.30)	(74)代理人	100142929	
	最終頁に続く	(74)代理人	弁理士 井上 隆一	
			100148699	最終頁に続く

(54)【発明の名称】 多鎖キメラポリペプチドおよびその使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

(a) (i) 第1の標的結合ドメインと、
(ii) 可溶性組織因子ドメインと、
(iii) 一対の親和性ドメインの第1のドメインと
を含む、第1のキメラポリペプチド、および
(b) (i) 一対の親和性ドメインの第2のドメインと、
(ii) 第2の標的結合ドメインと
を含む、第2のキメラポリペプチド
を含み、前記第1のキメラポリペプチドおよび前記第2のキメラポリペプチドが、前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインと前記第2のドメインとの結合を介して会合している、多鎖キメラポリペプチド。

【請求項2】

前記第1の標的結合ドメインおよび前記可溶性組織因子ドメインが、前記第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、請求項1に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【請求項3】

前記第1のキメラポリペプチドが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記第1の標的結合ドメインと前記可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、請求項1に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【請求項4】

前記可溶性組織因子ドメインおよび前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインが、前記第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、請求項1～3のいずれか一項に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【請求項5】

前記第1のキメラポリペプチドが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、請求項1～3のいずれか一項に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【請求項6】

前記一対の親和性ドメインの前記第2のドメインおよび前記第2の標的結合ドメインが、前記第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、請求項1～5のいずれか一項に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【請求項7】

前記第2のキメラポリペプチドが、前記第2のキメラポリペプチド内の前記一対の親和性ドメインの前記第2のドメインと前記第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、請求項1～5のいずれか一項に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【請求項8】

前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインの一方または両方が、抗原結合ドメインである、請求項1～7のいずれか一項に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【請求項9】

前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインの一方または両方が、CD16a、CD28、CD3、CD33、CD20、CD19、CD22、CD123、IL-1R、IL-1、VEGF、IL-6R、IL-4、IL-10、PDL-1、TIGIT、PD-1、TIM3、CTLA4、MICA、MICB、IL-6、IL-8、TNF α 、CD26a、CD36、ULBP2、CD30、CD200、IGF-1R、MUC4AC、MUC5AC、Trop-2、CMET、EGFR、HER1、HER2、HER3、PSMA、CEA、B7H3、EPCAM、BCMA、P-カドヘリン、CEACAM5、UL16結合タンパク質、HLA-DR、DLL4、TYRO3、AXL、MER、CD122、CD155、PDGF- β 受容体II(TGF- β RII)リガンド、TGF- β RIIリガンド、DNAM-1リガンド、Nkp46リガンド、Nkp44リガンド、NKG2Dリガンド、Nkp30リガンド、sCMHCIリガンド、sCMHCIリガンド、sCTCRリガンド、IL-1受容体、IL-2受容体、IL-3受容体、IL-7受容体、IL-8受容体、IL-10受容体、IL-12受容体、IL-15受容体、IL-17受容体、IL-18受容体、IL-21受容体、PDGF- β 受容体、幹細胞因子(SCF)受容体、幹細胞様チロシンキナーゼ3リガンド(FLT3L)受容体、MICA受容体、MICB受容体、ULP16結合タンパク質受容体、CD155受容体、CD122受容体、およびCD28受容体からなる群から選択される標的に特異的に結合する、請求項1～8のいずれか一項に記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

30

【請求項10】

前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインの一方または両方が、可溶性インターロイキンタンパク質または可溶性サイトカインタンパク質である、請求項1～9のいずれか一項に記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【請求項11】

前記可溶性インターロイキンタンパク質または前記可溶性サイトカインタンパク質が、IL-1、IL-2、IL-3、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-15、IL-17、IL-18、およびIL-21からなる群から選択される、請求項10に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【請求項12】

前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインの一方または両方が、PDGF- β 、SCF、またはFLT3Lである、請求項10に記載の多鎖キメラポリペ

50

プチド。

【請求項 13】

前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインの一方または両方が、可溶性インターロイキン受容体または可溶性サイトカイン受容体である、請求項1～7のいずれか一項に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【請求項 14】

前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインの一方または両方が、可溶性TGF-β受容体II(TGF-βRII)、可溶性TGF-βRIII、可溶性NKGD2D、可溶性NKp30、可溶性NKp44、可溶性NKp46、可溶性DNAM-1、scMHCII、scMHCII、scTCR、可溶性CD155、または可溶性CD28である、請求項1～7のいずれか一項に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【請求項 15】

前記可溶性組織因子ドメインが、可溶性ヒト組織因子ドメインである、請求項1～14のいずれか一項に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【請求項 16】

前記一対の親和性ドメインが、ヒトIL-15受容体アルファ鎖(IL15Rα)由来のsushiドメイン、および可溶性IL-15である、請求項1～15のいずれか一項に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【請求項 17】

請求項1～16のいずれか一項に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかを含む、組成物。

20

【請求項 18】

請求項1～16のいずれか一項に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかの有効量を含む、免疫細胞を刺激するための、または免疫細胞の増殖を誘導するもしくは増加させるための、医薬組成物。

【請求項 19】

請求項1～16のいずれか一項に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかの有効量を含む、免疫細胞のメモリーまたはメモリー様免疫細胞への分化を誘導するための医薬組成物。

【請求項 20】

請求項1～16のいずれか一項に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかの治療有効量を含む、がん細胞、感染細胞、または老化細胞の死滅を必要とする対象におけるがん細胞、感染細胞、または老化細胞を死滅させるための医薬組成物。

30

【請求項 21】

請求項1～16のいずれか一項に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかの治療有効量を含む、治療を必要とする対象を治療するための医薬組成物。

【請求項 22】

請求項1～16のいずれか一項に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかをコードする、核酸。

【発明の詳細な説明】

40

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、各々参照により全体が本明細書に組み込まれる、2018年8月30日に出願された米国特許出願第62/724,969号、2019年3月12日に出願された米国特許出願第62/817,230号、2018年8月30日に出願された米国特許出願第62/725,043号、2018年8月30日に出願された米国特許出願第62/725,010号、2018年10月22日に出願された米国特許出願第62/749,007号、2018年10月17日に出願された米国特許出願第62/746,832号、2018年10月23日に出願された米国特許出願第62/749,506号、2019

50

年3月12日に出願された米国特許出願第62／817,241号、2019年3月11日に出願された米国特許出願第62／816,683号、および2019年7月31日に出願された米国特許出願第62／881,088号に対する優先権を主張する。

【0002】

技術分野

本開示は、バイオテクノロジーの分野、より具体的には、抗原結合分子に関する。

【背景技術】

【0003】

約46kDaの分子量を有する263アミノ酸内在性膜糖タンパク質であり、かつ外因性血液凝固経路のトリガータンパク質である組織因子(TF)は、インビボでの凝固の主要な開始因子である。通常、循環血液と接触していない組織因子は、循環凝固セリンプロテアーゼ因子への曝露時に凝固カスケードを開始する。血管損傷は、組織因子を発現する内皮下細胞を露出させ、既存の血漿因子FVIIa(FVIIa)とのカルシウム依存性高親和性複合体の形成をもたらす。セリンプロテアーゼFVIIaの組織因子への結合は、FXからFXaおよびFIXからFIXaへの迅速な切断を促進する。その後、結果として生じたFXaおよび活性膜表面のタンパク質分解活性は、少量のプロトロンビンを非効率的にトロンビンに変換する。FXaによって生成されたトロンビンは、血小板活性化を開始し、微量のプロ補因子である第V因子(FV)および第VIII因子(FVIII)を活性化して、活性補因子である第Va因子(FVa)および第VIIIa因子(FVIIIa)になる。FIXaは、血小板表面でFVIIIaと複合体を形成して、内因性テナーゼ複合体を形成し、これにより、FXaが急速に生成される。FXaは、FVaと複合体を形成して、活性化された血小板表面にプロトロンビナーゼ複合体を形成し、これにより、プロトロンビンがトロンビンに迅速に切断される。

【0004】

組織因子-FVIIa複合体に加えて、最近の研究では、組織因子-FVIIa-FXa複合体がFVIIIを活性化することができ、これにより、開始段階で追加のレベルのFVIIIaが提供されることが示された。外因性経路が限られた量のトロンビンの活性化により凝固を開始する際に最も重要である一方で、内因性経路は、初期シグナルの劇的な増幅により凝固を維持する。

【0005】

細胞表面に発現する組織因子の多くは「暗号化」されており、凝固に完全に関与するには「暗号解読」されなければならない。細胞表面組織因子の「暗号解読」のメカニズムは、現時点では依然として不明であるが、アニオン性リン脂質の曝露がこのプロセスで主要な役割を果たしている。健常な細胞は、ホスファチジルセリン(PS)等のアニオン性リン脂質を原形質膜の内側の小葉に能動的に隔離する。細胞損傷、活性化、または細胞質Ca²⁺レベルの増加後、この二層非対称性が失われ、外側の小葉にPS曝露が増加し、これにより、細胞表面組織因子-FVIIa複合体の比活性が増加する。PS曝露が組織因子-FVIIa複合体によるFIXおよびFXの活性化の見かけのKmを低下させることで知られているが、追加のメカニズムには、組織因子または組織因子-FVIIaの立体配座再配置およびその後の基質結合部位の曝露が含まれ得る。

【発明の概要】

【0006】

本発明は、可溶性組織因子が抗原結合ドメインを含むキメラポリペプチドの足場として使用され得るという発見に基づく。この発見に基づいて、(a)(i)第1の標的結合ドメインと、(ii)可溶性組織因子ドメインと、(iii)一对の親和性ドメインの第1のドメインとを含む、第1のキメラポリペプチド、および(b)(i)一对の親和性ドメインの第2のドメインと、(ii)第2の標的結合ドメインとを含む、第2のキメラポリペプチドを含み、第1のキメラポリペプチドと第2のキメラポリペプチドが、一对の親和性ドメインの第1のドメインと第2のドメインとの結合を介して会合している、多鎖キメラポリペプチドが、本明細書に提供される。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドの

うちのいずれかを含む組成物、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかをコードする核酸、および本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかをコードする核酸のうちのいずれかを含む細胞も本明細書に提供される。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかの使用を含む、免疫細胞を刺激する方法および治療を必要とする対象を治療する方法も本明細書に提供される。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかを産生する方法も本明細書に提供される。

【0007】

したがって、

(a) (i) 第1の標的結合ドメインと、

(ii) 可溶性組織因子ドメインと、

(iii) 一对の親和性ドメインの第1のドメインと

を含む、第1のキメラポリペプチド、および

(b) (i) 一对の親和性ドメインの第2のドメインと、

(ii) 第2の標的結合ドメインと

を含む、第2のキメラポリペプチド

を含み、第1のキメラポリペプチドと第2のキメラポリペプチドが、一对の親和性ドメインの第1のドメインと第2のドメインとの結合を介して会合している、多鎖キメラポリペプチドが、本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインと一对の親和性ドメインの第1のドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の可溶性組織因子ドメインと一对の親和性ドメインの第1のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内的一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じ抗原に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、異なる抗原に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインの一方または両方は、抗原結合ドメインである。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々、抗原結合ドメインである。いくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、s c F v または単一ドメイン抗体を含む。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインの一方または両方は、CD16a、CD28、CD3、CD33、CD20、CD19、CD22、CD123、IL-1R、IL-1、VEGF、IL-6R、IL-4、IL-10、PDL-1、TIGIT、PD-1、TIM3、CTLA4、MICA、MICB、IL-6、IL-8、TNF α 、CD26a、CD36、ULBP2、CD30、CD200、IGF-1R、MUC4AC、MUC5AC、Trop-2、CMET、EGFR、HER1、HER2、HER3、PSMA、CEA、B7H3、EPCAM、BCMA、P-カドヘリン、CEACAM5、UL16結合タンパク質、HLA-DR、DLL4、TYRO3、AXL、MER、CD122、CD155、PDGF-DD、TGF- β 受容体II (TGF- β RII) リガンド、TGF- β RIIRIリガンド、DNAM-1リガンド、Nkp46リガンド、Nkp44リガンド、NKG2Dリガンド、Nkp30リガンド、s c MHC I リガンド、s c MHC II リガンド、s c TCR リガンド、IL-

10

20

30

40

50

1 受容体、I L - 2 受容体、I L - 3 受容体、I L - 7 受容体、I L - 8 受容体、I L - 10 受容体、I L - 12 受容体、I L - 15 受容体、I L - 17 受容体、I L - 18 受容体、I L - 21 受容体、P D G F - D D 受容体、幹細胞因子 (S C F) 受容体、幹細胞様チロシンキナーゼ3リガンド (F L T 3 L) 受容体、M I C A 受容体、M I C B 受容体、U L P 16 結合タンパク質受容体、C D 155 受容体、C D 122 受容体、および C D 28 受容体からなる群から選択される標的に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインの一方または両方は、可溶性インターロイキン、可溶性サイトカインタンパク質、またはリガンドタンパク質である。いくつかの実施形態では、可溶性インターロイキン、可溶性サイトカイン、またはリガンドタンパク質は、I L - 1、I L - 2、I L - 3、I L - 7、I L - 8、I L - 10、I L - 12、I L - 15、I L - 17、I L - 18、I L - 21、P D G F - D D、S C F、および F L T 3 L からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインの一方または両方は、可溶性インターロイキン、サイトカイン受容体、または可溶性細胞表面受容体である。いくつかの実施形態では、可溶性受容体は、可溶性 T G F - β 受容体 I I (T G F - β R I I)、可溶性 T G F - β R I I、可溶性 N K G 2 D、可溶性 N K p 30、可溶性 N K p 44、可溶性 N K p 46、可溶性 D N A M - 1、s c M H C I、s c M H C I I、s c T C R、可溶性 C D 155、または可溶性 C D 28 である。いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、1つ以上の追加の標的結合ドメイン（複数可）をさらに含み、1つ以上の追加の抗原結合ドメイン（複数可）のうちの少なくとも1つは、可溶性組織因子ドメインと一対の親和性ドメインの第1のドメインとの間に位置付けられている。いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、可溶性組織因子ドメインと1つ以上の追加の抗原結合ドメイン（複数可）のうちの少なくとも1つとの間にリンカー配列、および／または1つ以上の追加の抗原結合ドメイン（複数可）のうちの少なくとも1つと一対の親和性ドメインの第1のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチドのN末端および／またはC末端に1つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む。いくつかの実施形態では、1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つは、第1のキメラポリペプチド内の一対の親和性ドメインの第1のドメインに直接隣接している。いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つと一対の親和性ドメインの第1のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つは、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメインに直接隣接している。いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つと第1の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つは、第1のキメラポリペプチドのN末端および／またはC末端に配置されており、1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つは、第1のキメラポリペプチド内の可溶性組織因子ドメインと一対の親和性ドメインの第1のドメインとの間に位置付けられている。いくつかの実施形態では、N末端に配置された1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つの追加の標的結合ドメインは、第1のキメラポリペプチド内の標的結合ドメインまたは第1の一対の親和性ドメインの第1のドメインに直接隣接している。いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の少なくとも1つの追加の標的結合ドメインと第1の標的結合ドメインまたは一対の親和性ドメインの第1のドメインとの間に配置されたリンカー配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、C末端に配置された1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つの追加の標的結合ドメインは、第1のキメラポリペプチド内の標的結合ドメインまたは第1の一対の親和性ドメインの第1のドメインに直接隣接している。いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の少なくとも1つの追加の標的結合ドメインと第1の標的結合ドメインまたは一対の親和性ドメインの第1のドメインとの間に配置され

10

20

30

40

50

たリンカー配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインと一対の親和性ドメインの第1のドメインとの間に位置付けられた1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つは、可溶性組織因子ドメインおよび／または一対の親和性ドメインの第1のドメインに直接隣接している。いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、(i) 可溶性組織因子ドメインと、可溶性組織因子ドメインと一対の親和性ドメインの第1のドメインとの間に位置付けられた1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つとの間、および／または(ii) 一対の親和性ドメインの第1のドメインと、可溶性組織因子ドメインと一対の親和性ドメインの第1のドメインとの間に位置付けられた1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つとの間に配置されたリンカー配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチドのN末端またはC末端に1つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む。いくつかの実施形態では、1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つは、第2のキメラポリペプチド内の一対の親和性ドメインの第2のドメインに直接隣接している。いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つと一対の親和性ドメインの第2のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つは、第2のキメラポリペプチド内の第2の標的結合ドメインに直接隣接している。いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つと第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上は、同じ抗原に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上は、同じエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上は、同じアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインは各々、同じ抗原に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインは各々、同じエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインは各々、同じアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインは、異なる抗原に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの1つ以上は、抗原結合ドメインである。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインは各々、抗原結合ドメインである。いくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、s c F vを含む。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの1つ以上は、CD 16 a、CD 28、CD 3、CD 33、CD 20、CD 19、CD 22、CD 123、IL-1R、IL-1、VEGF、IL-6R、IL-4、IL-10、PDL-1、TIGIT、PD-1、TIM3、CTLA4、MICA、MICB、IL-6、IL-8、TNF α 、CD 26 a、CD 36、ULBP2、CD 30、CD 200、IGF-1R、MUC4AC、MUC5AC、Trop-2、CMET、EGFR、HER1、HER2、HER3、PSMA、CEA、B7H3、EPCAM、BCMA、P-カドヘリン、CEACAM5、UL16結合タンパク質、HLA-DR、DLL4、TYRO3、AXL、MER、CD122、CD155、PDGFR- β 、TGF- β 受容体II(TGF- β RII)リガンド、TGF- β RIIリガンド、DNAM-1リガンド、NKG2Dリガンド、NKG2Dリガンド、NKG2Dリガンド、NKG2Dリガンド、s c MHC Iリガンド、s c MHC IIリガンド、s c TCRリガ

10

20

30

40

50

ンド、IL-1受容体、IL-2受容体、IL-3受容体、IL-7受容体、IL-8受容体、IL-10受容体、IL-12受容体、IL-15受容体、IL-17受容体、IL-18受容体、IL-21受容体、PDGF-DD受容体、幹細胞因子(SCF)受容体、幹細胞様チロシンキナーゼ3リガンド(FLT3L)受容体、MICA受容体、MICB受容体、ULP16結合タンパク質受容体、CD155受容体、CD122受容体、およびCD3受容体、およびCD28受容体からなる群から選択される標的に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの1つ以上は、可溶性インターロイキン、可溶性サイトカインタンパク質、またはリガンドタンパク質である。いくつかの実施形態では、可溶性インターロイキン、可溶性サイトカイン、またはリガンドタンパク質は、IL-1、IL-2、IL-3、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-15、IL-17、IL-18、IL-21、PDGF-DD、SCF、およびFLT3Lからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの1つ以上は、可溶性インターロイキンまたはサイトカイン受容体である。いくつかの実施形態では、可溶性受容体は、可溶性TGF- β 受容体II(TGF- β RII)、可溶性TGF- β RII、可溶性NKGD、可溶性NKp30、可溶性NKp44、可溶性NKp46、可溶性DNAM-1、scMHC I、scMHC II、scTCR、可溶性CD155、可溶性CD122、可溶性CD3、または可溶性CD28である。いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチドのN末端またはC末端にペプチドタグをさらに含む。いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチドのN末端またはC末端にペプチドタグをさらに含む。いくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、可溶性ヒト組織因子ドメインである。いくつかの実施形態では、可溶性ヒト組織因子ドメインは、配列番号1と少なくとも80%同一の配列を含む。いくつかの実施形態では、可溶性ヒト組織因子ドメインは、配列番号1と少なくとも90%同一の配列を含む。いくつかの実施形態では、可溶性ヒト組織因子ドメインは、配列番号1と少なくとも95%同一の配列を含む。いくつかの実施形態では、可溶性ヒト組織因子ドメインは、成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸20位に対応するアミノ酸の位置にリジン、成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸22位に対応するアミノ酸の位置にイソロイシン、成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸45位に対応するアミノ酸の位置にトリプトファン、成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸58位に対応するアミノ酸の位置にアスパラギン酸、成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸94位に対応するアミノ酸の位置にチロシン、成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸135位に対応するアミノ酸の位置にアルギニン、および成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸140位に対応するアミノ酸の位置にフェニルアラニンのうちの1つ以上を含まない。いくつかの実施形態では、可溶性ヒト組織因子ドメインは、成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸20位に対応するアミノ酸の位置にリジン、成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸22位に対応するアミノ酸の位置にイソロイシン、成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸45位に対応するアミノ酸の位置にトリプトファン、成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸58位に対応するアミノ酸の位置にアスパラギン酸、成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸94位に対応するアミノ酸の位置にチロシン、成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸135位に対応するアミノ酸の位置にアルギニン、および成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸140位に対応するアミノ酸の位置にフェニルアラニンのうちのいずれも含まない。いくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、第VIIa因子に結合することができない。いくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、不活性第X因子を第Xa因子に変換しない。いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドは、哺乳動物における血液凝固を刺激しない。本明細書に提供される一本鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ヒト可溶性組織因子ドメインは、血液凝固を開始しない。本明細書に提供される一本鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかの

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、可溶性野生型ヒト組織因子を含むか、またはそれからなる。

【0008】

いくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインは、ヒトIL-15受容体アルファ鎖（IL15R α ）由来のsushiドメインと可溶性IL-15である。いくつかの実施形態では、可溶性IL15は、D8NまたはD8Aアミノ酸置換を有する。いくつかの実施形態では、ヒトIL15R α は、成熟全長IL15R α である。いくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインは、バルナーゼとバルンスター、PKAとAKAP、変異RNase I断片に基づくアダプター／ドッキングタグモジュール、ならびに、タンパク質シンタキシン、シナプトタグミン、シナプトブレビン、およびSNAP25の相互作用に基づくSNAREモジュールからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドおよび／または第2のキメラポリペプチドは、そのN末端にシグナル配列をさらに含む。

【0009】

いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドは、組成物を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、医薬組成物である。いくつかの実施形態では、組成物は、多鎖キメラポリペプチドの少なくとも1つの用量を含む。いくつかの実施形態では、キットは、組成物の少なくとも1つの用量を含む。

【0010】

いくつかの実施形態では、免疫細胞を刺激する方法であって、免疫細胞を、上述の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは組成物の有効量と接触させることを含む、方法が本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、この方法は、免疫細胞をインビトロで接触させることを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、免疫細胞を対象から得ることを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、接触させるステップの前に、免疫細胞を対象から得ることを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、免疫細胞をインビボで接触させることを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブT細胞、多能性Th細胞前駆体、リンパ前駆細胞、Treg細胞、メモリーT細胞、Th17細胞、Th22細胞、Th9細胞、Th2細胞、Th1細胞、Th3細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、 $\alpha\beta$ T細胞、腫瘍浸潤T細胞、CD8⁺ T細胞、CD4⁺ T細胞、ナチュラルキラーT細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、およびナチュラルキラー細胞からなる群から免疫細胞を選択することを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体を発現するように免疫細胞を遺伝子修飾することを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、接触させるステップの後に、免疫細胞に、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体をコードする核酸を導入することを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、対象を、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断することを含む。いくつかの実施形態では、加齢関連疾患または状態は、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、この方法は、対象を、がんを有すると特定または診断することを含む。いくつかの実施形態では、がんは、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病（CML）、急性リンパ性白血病（ALL

10

20

30

40

50

)、骨髄異形成症候群(MDS)、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、この方法は、対象を、感染性疾患を有すると診断または特定することを含む。いくつかの実施形態では、感染性疾患は、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、およびC型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である。

【0011】

免疫細胞の増殖を誘導するまたは増加させる方法であって、免疫細胞を、上述の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは組成物の有効量と接触させることを含む、方法も本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、この方法は、免疫細胞をインビトロで接触させることを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、免疫細胞を対象から得ることを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、接触させるステップの前に、免疫細胞を対象から得ることを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、免疫細胞をインビボで接触させることを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブT細胞、多能性Th細胞前駆体、リンパ前駆細胞、Treg細胞、メモリーT細胞、Th17細胞、Th22細胞、Th9細胞、Th2細胞、Th1細胞、Th3細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、 $\alpha\beta$ T細胞、腫瘍浸潤T細胞、CD8⁺ T細胞、CD4⁺ T細胞、ナチュラルキラーT細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、およびナチュラルキラー細胞からなる群から免疫細胞を選択することを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体を発現するように免疫細胞を修飾することを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、接触させるステップの後に、免疫細胞に、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含む。いくつかの実施形態では、この方法は、免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、この方法は、対象を、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断することを含む。いくつかの実施形態では、加齢関連疾患または状態は、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、膵炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、この方法は、対象を、がんを有すると特定または診断することを含む。いくつかの実施形態では、がんは、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病(CLL)、急性骨髄性白血病(AML)、慢性骨髄性白血病(CML)、急性リンパ性白血病(ALL)、骨髄異形成症候群(MDS)、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、この方法は、対象を、感染性疾患を有すると診断または特定することを含む。いくつかの実施形態では、感染性疾患は、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、およびC型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である。

10

20

30

40

50

【0012】

免疫細胞のメモリーまたはメモリー様免疫細胞への分化を誘導する方法であって、免疫細胞を、上述の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは組成物の有効量と接触させることを含む、方法も本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、この方法は、免疫細胞をインビトロで接触させることを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、免疫細胞を対象から得ることを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、接触させるステップの前に、免疫細胞を対象から得ることをさらに含む。いくつかの実施形態では、この方法は、免疫細胞をインビボで接触させることを含む。いくつかの実施形態では、免疫細胞は、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブT細胞、多能性Th細胞前駆体、リンパ前駆細胞、Treg細胞、Th17細胞、Th22細胞、Th9細胞、Th2細胞、Th1細胞、Th3細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、 $\alpha\beta$ T細胞、腫瘍浸潤T細胞、CD8⁺ T細胞、CD4⁺ T細胞、ナチュラルキラーT細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、およびナチュラルキラー細胞からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、免疫細胞は、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている。いくつかの実施形態では、この方法は、接触させるステップの後に、免疫細胞に、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含む。いくつかの実施形態では、この方法は、免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、この方法は、対象を、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断することを含む。いくつかの実施形態では、加齢関連疾患または状態は、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、膵炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、この方法は、対象を、がんを有すると特定または診断することを含む。いくつかの実施形態では、がんは、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病（CML）、急性リンパ性白血病（ALL）、骨髄異形成症候群（MDS）、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、この方法は、対象を、感染性疾患を有すると診断または特定することを含む。いくつかの実施形態では、感染性疾患は、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、およびC型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である。

【0013】

がん細胞、感染細胞、または老化細胞の死滅を必要とする対象におけるがん細胞、感染細胞、または老化細胞を死滅させる方法であって、対象に、上述の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは組成物の治療有効量を投与することを含む、方法も本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、この方法は、対象を、がんを有すると特定または診断することを含む。いくつかの実施形態では、がんは、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病

10

20

30

40

50

(CML)、急性リンパ性白血病(ALL)、骨髄異形成症候群(MDS)、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、この方法は、対象を、老化に関連する病気または状態を有すると特定または診断することを含む。いくつかの実施形態では、加齢関連疾患または状態は、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、膵炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、この方法は、対象に、上述の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは組成物の治療有効量を投与することを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、対象を、がんを有すると特定または診断することを含む。いくつかの実施形態では、がんは、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病(CLL)、急性骨髄性白血病(AML)、慢性骨髄性白血病(CML)、急性リンパ性白血病(ALL)、骨髄異形成症候群(MDS)、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、この方法は、対象を、老化に関連する病気または状態を有すると特定または診断することを含む。いくつかの実施形態では、加齢関連疾患または状態は、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、膵炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、この方法は、対象を、感染性疾患を有すると診断または特定することを含む。いくつかの実施形態では、感染性疾患は、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、およびC型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である。

【0014】

上述の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかをコードする核酸も本明細書に提供される。いくつかの実施形態は、上述の核酸のうちのいずれかを含むベクターを含む。いくつかの実施形態では、ベクターは、発現ベクターである。いくつかの実施形態は、上述の核酸のうちのいずれかを含む細胞を含む。

【0015】

多鎖キメラポリペプチドを産生する方法であって、多鎖キメラポリペプチドの産生をもたらすのに十分な条件下で、細胞を培養培地中で培養すること、ならびに多鎖キメラポリペプチドを細胞および／または培養培地から回収することを含む方法も、本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、この方法は、上述の方法によって多鎖キメラポリペプチドを産生することを含む。

【0016】

いくつかの実施形態では、変異体可溶性ヒト組織因子ドメインは、配列番号3と少なく

10

20

30

40

50

とも80%同一の配列を含む。いくつかの実施形態では、可溶性ヒト組織因子ドメインは、配列番号3と少なくとも90%同一の配列を含む。いくつかの実施形態では、可溶性ヒト組織因子ドメインは、配列番号3と少なくとも95%同一の配列を含む。いくつかの実施形態では、可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号3と100%同一の配列を含む、請求項140に記載の多鎖キメラポリペプチド。いくつかの実施形態では、可溶性ヒト組織因子ドメインは、配列番号4と少なくとも80%同一の配列を含む。いくつかの実施形態では、可溶性ヒト組織因子ドメインは、配列番号4と少なくとも90%同一の配列を含む。いくつかの実施形態では、可溶性ヒト組織因子ドメインは、配列番号4と少なくとも95%同一の配列を含む。いくつかの実施形態では、可溶性ヒト組織因子ドメインは、配列番号4と100%同一の配列を含む。

10

【0017】

本明細書で使用される場合、「キメラ」という用語は、元来2つの異なる源（例えば、同じ種または異なる種由来の、例えば、2つの異なる天然に存在するタンパク質）に由来するアミノ酸配列（例えば、ドメイン）を含むポリペプチドを指す。例えば、キメラポリペプチドは、少なくとも2つの異なる天然に存在するヒトタンパク質由来のドメインを含み得る。いくつかの例では、キメラポリペプチドは、合成配列であるドメイン（例えば、scFv）および天然に存在するタンパク質（例えば、天然に存在するヒトタンパク質）に由来するドメインを含み得る。いくつかの実施形態では、キメラポリペプチドは、合成配列である少なくとも2つの異なるドメイン（例えば、2つの異なるscFv）を含み得る。

20

【0018】

「抗原結合ドメイン」とは、1つ以上の異なる抗原（複数可）に特異的に結合することができる1つ以上のタンパク質ドメイン（複数可）（例えば、単一のポリペプチド由来のアミノ酸から形成されるか、または2つ以上のポリペプチド（例えば、同じまたは異なるポリペプチド）由来のアミノ酸から形成される）である。いくつかの例では、抗原結合ドメインは、天然に存在する抗体と同様の特異性および親和性で抗原またはエピトープに結合することができる。いくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、抗体またはその断片であり得る。いくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、代替足場を含み得る。抗原結合ドメインの非限定的な例が本明細書に記載されている。抗原結合ドメインの追加の例が当該技術分野で既知である。

30

【0019】

「可溶性組織因子ドメイン」とは、膜貫通ドメインおよび細胞内ドメインを欠く野生型哺乳動物組織因子タンパク質（例えば、野生型ヒト組織因子タンパク質）のセグメントと少なくとも70%の同一性（例えば、少なくとも75%の同一性、少なくとも80%の同一性、少なくとも85%の同一性、少なくとも90%の同一性、少なくとも95%の同一性、少なくとも99%の同一性、または100%同一性）を有するポリペプチドを指す。可溶性組織因子ドメインの非限定的な例が本明細書に記載されている。

【0020】

「可溶性インターロイキンタンパク質」という用語は、成熟分泌インターロイキンタンパク質またはその生物学的に活性な断片を指すために本明細書で使用される。いくつかの例では、可溶性インターロイキンタンパク質は、野生型成熟分泌哺乳動物インターロイキンタンパク質（例えば、野生型ヒトインターロイキンタンパク質）と少なくとも70%同一、少なくとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも85%同一、少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、少なくとも99%同一、または100%同一であり、かつその生物学的活性を保持する配列を含み得る。可溶性インターロイキンタンパク質の非限定的な例が本明細書に記載されている。

40

【0021】

「可溶性サイトカインタンパク質」という用語は、成熟分泌サイトカインタンパク質またはその生物学的に活性な断片を指すために本明細書で使用される。いくつかの例では、可溶性サイトカインタンパク質は、野生型成熟分泌哺乳動物インターロイキンタンパク質

50

(例えば、野生型ヒトインターロイキンタンパク質)と少なくとも70%同一、少なくとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも85%同一、少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、少なくとも99%同一、または100%同一であり、かつその生物学的活性を保持する配列を含み得る。可溶性サイトカインタンパク質の非限定的な例が本明細書に記載されている。

【0022】

「可溶性インターロイキン受容体」という用語は、本明細書で最も広い意味で使用され、(例えば、生理学的条件下で、例えば、室温のリン酸緩衝生理食塩水中で)その天然リガンドのうちの1つ以上に結合することができる膜貫通ドメイン(および任意に細胞内ドメイン)を欠くポリペプチドを指す。例えば、可溶性インターロイキン受容体は、野生型インターロイキン受容体の細胞外ドメインと少なくとも70%同一(例えば、少なくとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも85%同一、少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)であり、かつその天然リガンドのうちの1つ以上に特異的に結合する能力を保持するが、その膜貫通ドメインを欠く(任意にさらに細胞内ドメインを欠く)配列を含み得る。可溶性インターロイキン受容体の非限定的な例が本明細書に記載されている。

10

【0023】

「可溶性サイトカイン受容体」という用語は、本明細書で最も広い意味で使用され、(例えば、生理学的条件下で、例えば、室温のリン酸緩衝生理食塩水中で)その天然リガンドのうちの1つ以上に結合することができる膜貫通ドメイン(および任意に細胞内ドメイン)を欠くポリペプチドを指す。例えば、可溶性サイトカイン受容体は、野生型サイトカイン受容体の細胞外ドメインと少なくとも70%同一(例えば、少なくとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも85%同一、少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)であり、かつその天然リガンドのうちの1つ以上に特異的に結合する能力を保持するが、その膜貫通ドメインを欠く(任意にさらに細胞内ドメインを欠く)配列を含み得る。可溶性サイトカイン受容体の非限定的な例が本明細書に記載されている。

20

【0024】

「抗体」という用語は、本明細書でその最も広い意味で使用され、抗原またはエпитープに特異的に結合する1つ以上の抗原結合ドメインを含むある特定のタイプの免疫グロブリン分子を含む。抗体には、具体的には、例えば、インタクトな抗体(例えば、インタクトな免疫グロブリン)、抗体断片、および多重特異性抗体が含まれる。抗原結合ドメインの一例は、VH-VL二量体によって形成された抗原結合ドメインである。抗体の追加の例が本明細書に記載されている。抗体の追加の例は当該技術分野で既知である。

30

【0025】

「親和性」とは、抗原結合部位とその結合パートナー(例えば、抗原またはエピトープ)との間の非共有相互作用の合計の強さを指す。別途指示されない限り、本明細書で使用される場合、「親和性」とは、抗原結合ドメインのメンバーと抗原またはエピトープとの間の1:1相互作用を反映する内因性結合親和性を指す。分子XのそのパートナーYに対する親和性は、解離平衡定数(K_D)で表され得る。解離平衡定数に寄与する動力学的成分は、以下でより詳細に記載される。親和性は、本明細書に記載の方法を含む、当該技術分野で既知の一般的な方法によって測定され得る。親和性は、例えば、表面プラズモン共鳴(SPR)技術(例えば、BIAcore(登録商標))または生体層干渉法(例えば、FORTEBIO(登録商標))を使用して決定され得る。抗原結合ドメインおよびその対応する抗原またはエピトープに対する親和性を決定するための追加の方法は、当該技術分野で既知である。

40

【0026】

本明細書で使用される「多鎖ポリペプチド」とは、2つ以上(例えば、3、4、5、6、7、8、9、または10)のタンパク質鎖(例えば、少なくとも第1のキメラポリペプチドおよび第2のポリペプチド)を含むポリペプチドを指し、2つ以上のタンパク質鎖が

50

非共有結合を介して結合して、四次構造を形成する。

【0027】

「一对の親和性ドメイン」という用語は、 1×10^{-7} M未満（例えば、 1×10^{-8} M未満、 1×10^{-9} M未満、 1×10^{-10} M未満、または 1×10^{-11} M未満）の K_D で互いに特異的に結合する2つの異なるタンパク質ドメイン（複数可）である。いくつかの例では、一对の親和性ドメインは、一对の天然に存在するタンパク質であり得る。いくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインは、一对の合成タンパク質であり得る。一对の親和性ドメインの非限定的な例が本明細書に記載されている。

【0028】

「エピトープ」という用語は、抗原結合ドメインに特異的に結合する抗原の一部を意味する。エピトープは、例えば、表面接触可能アミノ酸残基および／または糖側鎖からなり得、特定の三次元構造特性、ならびに特定の電荷特性を有し得る。立体配座エピトープおよび非立体配座エピトープは、変性溶媒の存在下で前者への結合が失われる可能性があるが、後者への結合が失われる可能性がないという点で区別される。エピトープは、結合に直接関与するアミノ酸残基、および結合に直接関与しない他のアミノ酸残基を含み得る。抗原結合ドメインが結合するエピトープを特定するための方法は、当該技術分野で既知である。

【0029】

「免疫エフェクター細胞」とは、哺乳動物における病原性細胞（例えば、がん細胞）の細胞増殖抑制または細胞死を直接または間接的に認識および／または引き起こすことができる哺乳動物の免疫系の細胞を指す。免疫エフェクター細胞の非限定的な例には、マクロファージ、Tリンパ球（例えば、細胞傷害性Tリンパ球およびTヘルパー細胞）、ナチュラルキラー細胞、好中球、単球、および好酸球が挙げられる。免疫エフェクター細胞の追加の例は当該技術分野で既知である。

【0030】

「治療」という用語は、障害の少なくとも1つの症状を改善することを意味する。いくつかの例では、治療される障害はがんであり、がんの少なくとも1つの症状を改善することは、異常な増殖、遺伝子発現、シグナル伝達、翻訳、および／または因子の分泌を減少させることを含む。一般に、治療方法は、かかる治療を必要とするか、またはかかる治療を必要とすると決定された対象に、障害の少なくとも1つの症状を軽減する組成物の治療有効量を投与することを含む。

【0031】

別途定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する当業者によって一般に理解される意味と同じ意味を有する。方法および材料は、本発明で使用するために本明細書に記載されており、当該技術分野で既知の他の好適な方法および材料も使用され得る。材料、方法、および実施例は、例証にすぎず、限定するようには意図されていない。本明細書に記載の全ての刊行物、特許出願、特許、配列、データベースエントリ、および他の参考文献は、参照によりそれらの全体が組み込まれる。矛盾が生じた場合、定義を含む本明細書が優先されるものとする。

【0032】

[本発明1001]

(a) (i) 第1の標的結合ドメインと、
 (ii) 可溶性組織因子ドメインと、
 (iii) 一对の親和性ドメインの第1のドメインと
 を含む、第1のキメラポリペプチド、および
 (b) (i) 一对の親和性ドメインの第2のドメインと、
 (ii) 第2の標的結合ドメインと
 を含む、第2のキメラポリペプチド
 を含む、前記第1のキメラポリペプチドおよび前記第2のキメラポリペプチドが、前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインと前記第2のドメインとの結合を介して会合してい

10

20

30

40

50

る、多鎖キメラポリペプチド。

[本発明1002]

前記第1の標的結合ドメインおよび前記可溶性組織因子ドメインが、前記第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、本発明1001の多鎖キメラポリペプチド。

[本発明1003]

前記第1のキメラポリペプチドが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記第1の標的結合ドメインと前記可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、本発明1001の多鎖キメラポリペプチド。

[本発明1004]

前記可溶性組織因子ドメインおよび前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインが、前記第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、本発明1001～1003のいずれかの多鎖キメラポリペプチド。

[本発明1005]

前記第1のキメラポリペプチドが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、本発明1001～1003のいずれかの多鎖キメラポリペプチド。

[本発明1006]

前記一対の親和性ドメインの前記第2のドメインおよび前記第2の標的結合ドメインが、前記第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、本発明1001～1005のいずれかの多鎖キメラポリペプチド。

[本発明1007]

前記第2のキメラポリペプチドが、前記第2のキメラポリペプチド内の前記一対の親和性ドメインの前記第2のドメインと前記第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、本発明1001～1005のいずれかの多鎖キメラポリペプチド。

[本発明1008]

前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインが、同じ抗原に特異的に結合する、本発明1001～1007のいずれかの多鎖キメラポリペプチド。

[本発明1009]

前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインが、異なる抗原に特異的に結合する、本発明1001～1007のいずれかの多鎖キメラポリペプチド。

[本発明1010]

前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインの一方または両方が、抗原結合ドメインである、本発明1001～1009のいずれかの多鎖キメラポリペプチド。

[本発明1011]

前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインの一方または両方が、CD16a、CD28、CD3、CD33、CD20、CD19、CD22、CD123、IL-1R、IL-1、VEGF、IL-6R、IL-4、IL-10、PDL-1、TIGIT、PD-1、TIM3、CTLA4、MICA、MICB、IL-6、IL-8、TNF α 、CD26a、CD36、ULBP2、CD30、CD200、IGF-1R、MUC4AC、MUC5AC、Trop-2、CMET、EGFR、HER1、HER2、HER3、PSMA、CEA、B7H3、EPCAM、BCMA、P-カドヘリン、CEACAM5、UL16結合タンパク質、HLA-DR、DLL4、TYRO3、AXL、MER、CD122、CD155、PDGF-DD、TGF- β 受容体II(TGF- β RII)リガンド、TGF- β RIIリガンド、DNAM-1リガンド、Nkp46リガンド、Nkp44リガンド、NKG2Dリガンド、Nkp30リガンド、scMHC Iリガンド、scMHC IIリガンド、scTCRリガンド、IL-1受容体、IL-2受容体、IL-3受容体、IL-7受容体、IL-8受容体、IL-10受容体、IL-12受容体、IL-15受容体、IL-17受容体、IL-18受容体、IL-21受容体、PDGF-DD受容体、幹細胞因子(SCF)受容体、幹細胞様チロシンキナーゼ3リガンド(FLT3L)受容体、MICA受容体、MICB受容体、ULP16結合タンパク質受容体、CD155受容体、CD122受容体、およびCD28

10

20

30

40

50

受容体からなる群から選択される標的に特異的に結合する、本発明1001～1010のいずれかの多鎖キメラポリペプチド。

[本発明1012]

前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインの一方または両方が、可溶性インターロイキンまたはサイトカインタンパク質である、本発明1001～1010のいずれかの多鎖キメラポリペプチド。

[本発明1013]

前記可溶性インターロイキン、サイトカイン、またはリガンドタンパク質が、IL-1、IL-2、IL-3、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-15、IL-17、IL-18、IL-21、PDGF-DD、SCF、およびFLT3Lからなる群から選択される、本発明1012の多鎖キメラポリペプチド。

10

[本発明1014]

前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインの一方または両方が、可溶性インターロイキンまたはサイトカイン受容体である、本発明1001～1010のいずれかの多鎖キメラポリペプチド。

[本発明1015]

前記可溶性受容体が、可溶性TGF- β 受容体II(TGF- β RII)、可溶性TGF- β RII、可溶性NKGD2D、可溶性NKp30、可溶性NKp44、可溶性NKp46、可溶性DNAM-1、sCMHCI、sCMHCII、sCTCR、可溶性CD155、または可溶性CD28である、本発明1014の多鎖キメラポリペプチド。

20

[本発明1016]

前記第1のキメラポリペプチドが、1つ以上の追加の標的結合ドメイン(複数可)をさらに含む、本発明1001～1015のいずれかの多鎖キメラポリペプチド。

[本発明1017]

前記第2のキメラポリペプチドが、1つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む、本発明1001～1016のいずれかの多鎖キメラポリペプチド。

[本発明1018]

前記可溶性組織因子ドメインが、可溶性ヒト組織因子ドメインである、本発明1001～1017のいずれかの多鎖キメラポリペプチド。

[本発明1019]

前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号1と少なくとも80%同一である配列を含む、本発明1018の多鎖キメラポリペプチド。

30

[本発明1020]

前記一対の親和性ドメインが、ヒトIL-15受容体アルファ鎖(IL15R α)由来のsushiドメイン、および可溶性IL-15である、本発明1001～1019のいずれかの多鎖キメラポリペプチド。

[本発明1021]

前記一対の親和性ドメインが、バルナーゼおよびバルンスター、PKAおよびAKAP、変異RNase I断片に基づくアダプター／ドッキングタグモジュール、ならびに、タンパク質シンタキシン、シナプトタグミン、シナプトブレビン、およびSNAP25の相互作用に基づくSNAREモジュールからなる群から選択される、本発明1001～1019のいずれかの多鎖キメラポリペプチド。

40

[本発明1022]

前記第1のキメラポリペプチドおよび／または前記第2のキメラポリペプチドが、そのN末端にシグナル配列をさらに含む、本発明1001～1021のいずれかの多鎖キメラポリペプチド。

[本発明1023]

本発明1001～1022の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかを含む、組成物。

[本発明1024]

医薬組成物である、本発明1023の組成物。

50

[本発明1025]

本発明1023または1024の組成物の少なくとも1つの用量を含む、キット。

[本発明1026]

免疫細胞を刺激する方法であって、

免疫細胞を、本発明1001～1022の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは本発明1023もしくは1024の組成物の有効量と接触させることを含む、方法。

[本発明1027]

免疫細胞の増殖を誘導するまたは増加させる方法であって、

免疫細胞を、本発明1001～1022の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは本発明1023もしくは1024の組成物の有効量と接触させることを含む、方法。

[本発明1028]

免疫細胞のメモリーまたはメモリー様免疫細胞への分化を誘導する方法であって、

免疫細胞を、本発明1001～1022の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは本発明1023もしくは1024の組成物の有効量と接触させることを含む、方法。

[本発明1029]

前記免疫細胞をインビトロで接触させる、本発明1026～1028のいずれかの方法。

[本発明1030]

前記免疫細胞をインビボで接触させる、本発明1026～1028のいずれかの方法。

[本発明1031]

前記免疫細胞が、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブT細胞、多能性Th細胞前駆体、リンパ前駆細胞、Treg細胞、Th17細胞、Th22細胞、Th9細胞、Th2細胞、Th1細胞、Th3細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、 $\alpha\beta$ T細胞、腫瘍浸潤T細胞、CD8+ T細胞、CD4+ T細胞、ナチュラルキラーT細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、およびナチュラルキラー細胞からなる群から選択される、本発明1026～1030のいずれかの方法。

[本発明1032]

前記免疫細胞が、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている、本発明1026～1031のいずれかの方法。

[本発明1033]

がん細胞、感染細胞、または老化細胞の死滅を必要とする対象におけるがん細胞、感染細胞、または老化細胞を死滅させる方法であって、前記対象に、本発明1001～1022の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは本発明1023もしくは1024の組成物の治療有効量を投与することを含む、方法。

[本発明1034]

治療を必要とする対象を治療する方法であって、前記対象に、本発明1001～1022の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは本発明1023もしくは1024の組成物の治療有効量を投与することを含む、方法。

[本発明1035]

前記対象が、がん、加齢関連疾患もしくは状態、または感染性疾患を有すると特定または診断されている、本発明1033または1034の方法。

[本発明1036]

前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病（CML）、急性リンパ性白血病（ALL）、骨髄異形成症候群（MDS）、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細

10

20

30

40

50

肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、本発明1035の方法。

[本発明1037]

前記加齢関連疾患もしくは状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、本発明1035の方法。

10

[本発明1038]

前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、およびC型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である、本発明1035の方法。

[本発明1039]

本発明1001~1022のいずれかの多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかをコードする、核酸。

[本発明1040]

本発明1039の核酸を含む、ベクター。

20

[本発明1041]

本発明1039の核酸または本発明1040のベクターを含む、細胞。

[本発明1042]

多鎖キメラポリペプチドを産生する方法であって、

前記多鎖キメラポリペプチドの産生をもたらすのに十分な条件下で、本発明1041の細胞を培養培地中で培養すること、ならびに

前記多鎖キメラポリペプチドを前記細胞および／または前記培養培地から回収することを含む、方法。

[本発明1043]

本発明1042の方法によって産生された、多鎖キメラポリペプチド。

30

[本発明1044]

前記ヒト可溶性組織因子ドメインが、血液凝固を開始しない、本発明1018の多鎖キメラポリペプチド。

[本発明1045]

前記可溶性組織因子ドメインが、野生型可溶性ヒト組織因子由来の配列を含むか、またはそれからなる、本発明1001~1022のいずれかの多鎖キメラポリペプチド。

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

【図面の簡単な説明】

40

【0033】

【図1】多鎖キメラポリペプチド：(i)第1の標的結合ドメイン(A)、可溶性組織因子ドメイン、一対の親和性ドメインの第1のドメイン(可溶性インターロイキンIL-15)、および追加の標的結合ドメイン(B)を含む、第1のキメラポリペプチド、ならびに(ii)一対の親和性ドメインの第2のドメイン(IL-15受容体アルファsuishドメイン)、第2の標的結合ドメイン(C)、および追加の抗原結合ドメイン(D)を含む、第2のキメラポリペプチドの、例示的な図を示す。上の模式図は、一対の親和性ドメインを介した第1のキメラポリペプチドと第2のキメラポリペプチドとの会合を示す。下の概略図は、第1および第2のキメラポリペプチド内のドメインの順序を示す。

【図2】多鎖キメラポリペプチド：(i)第1の標的結合ドメイン(A)、可溶性組織因

50

子ドメインのF V I I aへの結合を除去するために5つのアミノ酸置換を含む可溶性組織因子ドメイン、一対の親和性ドメインの第1のドメイン(D 8 NまたはD 8 Aアミノ酸置換を含む可溶性インターロイキンI L - 1 5)、および追加の標的結合ドメイン(B)を含む、第1のキメラポリペプチド、ならびに(i i)一対の親和性ドメインの第2のドメイン(I L - 1 5受容体アルファs u s h iドメイン)、第2の標的結合ドメイン(C)、および追加の抗原結合ドメイン(D)を含む、第2のキメラポリペプチドの、例示的な図を示す。上の模式図は、一対の親和性ドメインを介した第1のキメラポリペプチドと第2のキメラポリペプチドとの会合を示す。下の概略図は、第1および第2のキメラポリペプチド内のドメインの順序を示す。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかの他の実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、可溶性野生型ヒト組織因子ドメイン(野生型ヒト組織因子内の連続配列を含むか、またはそれからなる)を含み得るか、またはそれからなり得る。

10

【図3】例示的なI L - 1 2 / I L - 1 5 R α S u DNA構築物の概略図を示す。

【図4】例示的なI L - 1 8 / T F / I L - 1 5 DNA構築物の概略図を示す。

【図5】例示的なI L - 1 2 / I L - 1 5 R α S u DNA構築物とI L - 1 8 / T F / I L - 1 5 DNA構築物との間の相互作用の概略図を示す。

【図6】I L - 1 8 / T F / I L - 1 5 : I L - 1 2 / I L - 1 5 R α S u複合体(1 8 t 1 5 - 1 2 s)をもたらす、例示的なI L - 1 2 / I L - 1 5 R α S u融合タンパク質とI L - 1 8 / T F / I L - 1 5融合タンパク質との間の相互作用の概略図を示す。

【図7】抗T F抗体親和性カラムからの1 8 t 1 5 - 1 2 s精製溶出のクロマトグラフを示す。

20

【図8】分析的サイズ排除カラム上での溶出後の抗T F抗体/ S E C精製1 8 t 1 5 - 1 2 sタンパク質の例示的なクロマトグラフィープロファイルを示し、タンパク質凝集体からの単量体多タンパク質1 8 t 1 5 - 1 2 s複合体の分離を示す。

【図9】ジスルフィド結合の還元後の1 8 t 1 5 - 1 2 s複合体の4 ~ 1 2 % S D S - P A G Eの例を示す。レーン1 : S e e B l u e P l u s 2マーカー、レーン2 : 抗組織因子抗体親和性カラム精製1 8 t 1 5 - 1 2 s (0 . 5 μ g)、レーン3 : 抗組織因子抗体親和性カラム精製1 8 t 1 5 - 1 2 s (1 μ g)。

【図10】脱グリコシル化および非脱グリコシル化1 8 t 1 5 - 1 2 sのS D S P A G E分析を示す。レーン1 : 抗組織因子抗体親和性カラム精製1 8 t 1 5 - 1 2 s (0 . 5 μ g) (非脱グリコシル化)、レーン2 : 抗T F抗体精製1 8 t 1 5 - 1 2 s (1 μ g) (非脱グリコシル化)、レーン3 : 1 8 t 1 5 - 1 2 s (1 μ g) (脱グリコシル化)、レーン4 : M a r k 1 2非染色マーカー。

30

【図11】抗ヒト組織因子捕捉抗体およびビオチン化抗ヒトI L - 1 2検出抗体(B A F 2 1 9)を含む1 8 t 1 5 - 1 2 s複合体のサンドイッチE L I S Aを示す。

【図12】抗ヒト組織因子捕捉抗体およびビオチン化抗ヒトI L - 1 5検出抗体(B A M 2 4 7)を含む1 8 t 1 5 - 1 2 s複合体のサンドイッチE L I S Aを示す。

【図13】抗ヒト組織因子捕捉抗体およびビオチン化抗ヒトI L - 1 8検出抗体(D 0 4 5 - 6)を含む1 8 t 1 5 - 1 2 s複合体のサンドイッチE L I S Aを示す。

【図14】抗ヒト組織因子(I 4 3)捕捉抗体および抗ヒト組織因子検出抗体を含む1 8 t 1 5 - 1 2 s複合体のサンドイッチE L I S Aを示す。

40

【図15】1 8 t 1 5 - 1 2 s複合体(白四角)および組換えI L - 1 5(黒四角)によって媒介されたI L - 1 5依存性3 2 D β細胞の増殖を示す。

【図16】1 8 t 1 5 - 1 2 s複合体(白四角)内のI L - 1 8の生物学的活性を示し、組換えI L - 1 8(黒四角)および組換えI L - 1 2(黒丸)が、それぞれ、陽性対照および陰性対照として機能する。

【図17】1 8 t 1 5 - 1 2 s複合体(白四角)内のI L - 1 2の生物学的活性を示し、組換えI L - 1 2(黒丸)および組換えI L - 1 8(黒四角)が、それぞれ、陽性対照および陰性対照として機能する。

【図18 A】1 8 t 1 5 - 1 2 s複合体によって誘導されたN K細胞のC D 2 5の細胞表

50

面発現を示す。

【図18B】18t15-12s複合体によって誘導されたNK細胞の細胞表面CD69発現を示す。

【図19】18t15-12s複合体によって誘導されたNK細胞の細胞内インターフェロンガンマ発現のフローサイトメトリーグラフを示す。

【図20】K562細胞に対する18t15-12s誘導性ヒトNK細胞の細胞傷害性を示す。

【図21】例示的なIL-12/IL-15R α Su/ α CD16 DNA構築物の概略図を示す。

【図22】例示的なIL-18/TF/IL-15 DNA構築物の概略図を示す。

10

【図23】例示的なIL-12/IL-15R α Su/ α CD16scFv DNA構築物とIL-18/TF/IL-15 DNA構築物との間の相互作用の概略図を示す。

【図24】例示的な18t15-12s/ α CD16タンパク質複合体の概略図を示す。

【図25】抗ヒト組織因子捕捉抗体およびビオチン化抗ヒトIL-12またはIL-18検出抗体を含む18t15-12s16複合体のサンドイッチELISAを示す。

【図26】例示的なTGFB β RII/IL-15R α Su DNA構築物の概略図を示す。

【図27】例示的なIL-21/TF/IL-15構築物の概略図を示す。

【図28】例示的なIL-IL-21/TF/IL-15構築物とTGFB β RII/IL-15R α Su構築物との間の相互作用の概略図を示す。

【図29】IL-21/TF/IL-15/TGFB β RII/IL-15R α Su複合体(21t15-TGFRs)をもたらす、例示的なTGFB β RII/IL-15R α Su融合タンパク質とIL-21/TF/IL-15融合タンパク質との間の相互作用の概略図を示す。

20

【図30】抗TF抗体親和性カラムからの21t15-TGFRs精製溶出のクロマトグラフを示す。

【図31】主なタンパク質ピークおよび高分子量ピークを示す例示的な21t15-TGFRsサイズ排除クロマトグラフを示す。

【図32】ジスルフィド結合の還元後の21t15-TGFRs複合体の4~12%SDS-PAGEの例を示す。レーン1:Mark12非染色マーカー(左側の数字はkDa単位での分子量を示す)、レーン2:21t15-TGFRs(0.5 μ g)、レーン3:21t15-TGFRs(1 μ g)、レーン4:21t15-TGFRs(脱グリコシル化)(1 μ g)、MWは、予想サイズ53kDaおよび39.08kDaであった。

30

【図33】抗ヒト組織因子捕捉抗体およびビオチン化抗ヒトIL-21検出抗体(13-7218-81、BioLegend)を含む21t15-TGFRs複合体のサンドイッチELISAを示す。

【図34】抗ヒト組織因子捕捉抗体およびビオチン化抗ヒトIL-15検出抗体(BAM247、R&D Systems)を含む21t15-TGFRs複合体のサンドイッチELISAを示す。

【図35】抗ヒト組織因子捕捉抗体およびビオチン化抗ヒトTGFB β RII検出抗体(BAF241、R&D Systems)を含む21t15-TGFRs複合体のサンドイッチELISAを示す。

40

【図36】抗ヒト組織因子(I43)捕捉抗体および抗ヒト組織因子検出抗体を含む21t15-TGFRs複合体のサンドイッチELISAを示す。

【図37】IL-15(黒四角)と比較した21t15-TGFRs複合体(白四角)によって媒介された32D β 細胞のIL-15依存性増殖を示す。

【図38】21t15-TGFRs複合体(白四角)内のTGFB β RIIドメインの生物学的活性を示す。TGFB β RII/Fc(黒四角)は、陽性対照として機能した。

【図39】21t15-TGFRs複合体によって誘導されたNK細胞の細胞表面CD25発現のフローサイトメトリーグラフを示す。

【図40】21t15-TGFRs複合体によって誘導されたNK細胞の細胞表面CD6

50

9 発現のフローサイトメトリーグラフを示す。

【図 4 1】 21 t 1 5 - T G F R s 複合体によって誘導された N K 細胞の細胞内インターフェロンガンマ発現のフローサイトメトリーグラフを示す。

【図 4 2】 K 5 6 2 細胞に対する 21 t 1 5 - T G F R s 誘導性ヒト N K 細胞の細胞傷害性を示す。

【図 4 3】 例示的な I L - 7 / I L - 1 5 R α S u DNA 構築物の概略図を示す。

【図 4 4】 例示的な I L - 2 1 / T F / I L - 1 5 DNA 構築物の概略図を示す。

【図 4 5】 例示的な I L - 7 / I L - 1 5 R α S u 構築物と I L - 2 1 / T F / I L - 1 5 DNA 構築物との間の相互作用の概略図を示す。

【図 4 6】 I L - 2 1 / T F / I L - 1 5 : I L - 7 / I L - 1 5 R α S u 複合体 (21 t 1 5 - 7 s) をもたらす、例示的な I L - 7 / I L - 1 5 R α S u 融合タンパク質と I L - 2 1 / T F / I L - 1 5 融合タンパク質との間の相互作用の概略図を示す。

【図 4 7】 21 t 1 5 - 7 s + 抗 T F Ig G 1 抗体での刺激による初代ナチュラルキラー (NK) 細胞の増殖を示す。

【図 4 8】 C D 2 5 M F I および C D 6 9 M F I を N K 細胞活性化のマーカーとして使用した、増殖した初代 N K 細胞の活性化を示す。

【図 4 9】 K 5 6 2 ヒト腫瘍細胞に対する増殖した N K 細胞の細胞傷害活性を示し、21 t 1 5 - 7 s + 抗 T F Ig G 1 抗体で刺激した N K 細胞が、21 t 1 5 - 7 s + 抗 T F Ig G 1 抗体で刺激していない N K 細胞よりも高い K 5 6 2 細胞の特異的溶解を示す。

【図 5 0】 例示的な I L - 2 1 / I L - 1 5 R α S u DNA 構築物の概略図を示す。

【図 5 1】 例示的な I L - 7 / T F / I L - 1 5 DNA 構築物の概略図を示す。

【図 5 2】 例示的な I L - 2 1 / I L - 1 5 R α S u DNA 構築物と I L - 7 / T F / I L - 1 5 DNA 構築物との間の相互作用の概略図を示す。

【図 5 3】 I L - 7 / T F / I L - 1 5 : I L - 2 1 / I L - 1 5 R α S u 複合体 (7 t 1 5 - 2 1 s) をもたらす、例示的な I L - 2 1 / I L - 1 5 R α S u 融合タンパク質と I L - 7 / T F / I L - 1 5 融合タンパク質との間の相互作用の概略図を示す。

【図 5 4】 21 t 1 5 - T G F R s + 抗 T F Ig G 1 抗体での刺激による初代ナチュラルキラー (NK) 細胞の活性化および増殖を図形形態で示す。

【図 5 5】 抗 T F Ig G 1 抗体、7 t 1 5 - 2 1 s、および等量の抗 T F Ig G 1 抗体と 7 t 1 5 - 2 1 s とを含む複合体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 5 6】 2 体の異なるドナーの血液から単離したヒト N K 細胞 (2×10^6 細胞 / mL) のピコモル / 分単位での酸素消費速度 (OCR) を示す。

【図 5 7】 2 体の異なるドナーの血液から単離したヒト N K 細胞 (2×10^6 細胞 / mL) の mpH / 分単位での細胞外酸性化速度 (ECAR) を示す。

【図 5 8】 7 t 1 5 - 1 6 s 2 1 構築物の概略図を示す。

【図 5 9】 7 t 1 5 - 1 6 s 2 1 構築物の追加の概略図を示す。

【図 6 0】 図 6 0 A および 6 0 B は、対照タンパク質と比較した、ヒト C D 1 6 b を発現する CHO 細胞への 7 t 1 5 - 1 6 s 2 1 の結合を示す。

【図 6 1 A】 7 t 1 5 - 1 6 s 2 1 の検出に I L - 1 5 に対する抗体を使用した E L I S A 実験の結果である。

【図 6 1 B】 7 t 1 5 - 1 6 s 2 1 の検出に I L - 2 1 に対する抗体を使用した E L I S A 実験の結果である。

【図 6 1 C】 7 t 1 5 - 1 6 s 2 1 の検出に I L - 7 に対する抗体を使用した E L I S A 実験の結果である。

【図 6 2】 7 t 1 5 - 1 6 s 2 1 または組換え I L - 1 5 を用いた 3 2 D β 細胞増殖アッセイの結果を示す。

【図 6 3】 抗 T F 抗体樹脂への結合およびその上での溶出後の 7 t 1 5 - 1 6 s 2 1 タンパク質含有細胞培養上清のクロマトグラフィープロファイルを示す。

【図 6 4】 7 t 1 5 - 1 6 s 2 1 の分析的 SEC プロファイルを示す。

10

20

30

40

50

【図65】TGFRt15-16s21構築物の概略図を示す。

【図66】TGFRt15-16s21構築物の追加の概略図を示す。

【図67】図67Aおよび67Bは、TGFRt15-16S21および7t15-21sのヒトCD16bを発現するCHO細胞との結合親和性を示す。図67Aは、TGFRt15-16S21のヒトCD16bを発現するCHO細胞との結合親和性を示す。図67Bは、7t15-21sのヒトCD16bを発現するCHO細胞との結合親和性を示す。

【図68】TGFRt15-16s21およびTGFR-FcによるTGFβ1阻害の結果を示す。

【図69】TGFRt15-16s21または組換えIL-15を用いた32Dβ細胞増殖アッセイの結果を示す。

【図70A】ELISAを使用してTGFRt15-16s21中のIL-15を対応する抗体で検出した結果を示す。

【図70B】ELISAを使用してTGFRt15-16s21中のIL-21を対応する抗体で検出した結果を示す。

【図70C】ELISAを使用してTGFRt15-16s21中のTGFβRIIを対応する抗体で検出した結果を示す。

【図71】抗TF抗体樹脂への結合およびその上での溶出後のTGFRt15-16s21タンパク質含有細胞培養上清のクロマトグラフィープロファイルを示す。

【図72】TGFRt15-16s21の還元SDS-PAGE分析の結果を示す。

【図73】7t15-7s構築物の概略図を示す。

【図74】7t15-7s構築物の追加の概略図を示す。

【図75】抗TF抗体樹脂への結合およびその上での溶出後の7t15-7sタンパク質含有細胞培養上清のクロマトグラフィープロファイルを示す。

【図76】ELISAを使用した7t15-7s中のTF、IL-15、およびIL-7の検出を示す。

【図77】TGFRt15-TGFRs構築物の概略図を示す。

【図78】TGFRt15-TGFRs構築物の追加の概略図を示す。

【図79】TGFRt15-TGFRsおよびTGFR-FcによるTGFβ1阻害の結果を示す。

【図80】TGFRt15-TGFRsまたは組換えIL-15を用いた32Dβ細胞増殖アッセイの結果を示す。

【図81】図81Aおよび81Bは、ELISAを使用してTGFRt15-TGFRs中のIL-15およびTGFβRIIを対応する抗体で検出した結果を示す。

【図82】抗TF抗体樹脂への結合およびその上での溶出後のTGFRt15-TGFRsタンパク質含有細胞培養上清のクロマトグラフィープロファイルを示す線グラフである。

【図83】TGFRt15-TGFRsの分析的SECプロファイルを示す。

【図84】還元SDS-PAGEによって分析された脱グリコシル化前および脱グリコシル化後のTGFRt15-TGFRsを示す。

【図85A】図85Aおよび85Bは、TGFRt15-TGFRs処理マウスおよび対照処理マウスにおける脾臓重量および免疫細胞型のパーセンテージを示す。図85Aは、PBS対照と比較したTGFRt15-TGFRsで処理したマウスにおける脾臓重量を示す。図85Bは、PBS対照と比較したTGFRt15-TGFRsで処理したマウスにおけるCD4⁺ T細胞、CD8⁺ T細胞、およびNK細胞のパーセンテージを示す。

【図85B】図85Aの説明を参照されたい。

【図86A】図86Aおよび86Bは、TGFRt15-TGFRsで処理したマウスにおける92時間にわたる脾臓重量および免疫刺激を示す。図86Aは、処理後16、24、48、72、および92時間時点でのTGFRt15-TGFRsで処理したマウスの脾臓重量を示す。図86Bは、処理後16、24、48、72、および92時間時点でのTGFRt15-TGFRsで処理したマウスにおける免疫細胞のパーセンテージを示す。

【図86B】図86Aの説明を参照されたい。

10

20

30

40

50

【図87A】TGFRt15-TGFRsで処理したマウスにおけるKi67発現を経時的に示す。

【図87B】TGFRt15-TGFRsで処理したマウスにおけるグランザイムB発現を経時的に示す。

【図88】C57BL/6マウスにおけるTGFRt15-TGFRsによる脾細胞の細胞傷害性の増強を示す。

【図89】脾臓癌マウスモデルにおける、PBS処理、化学療法のみ、TGFRt15-TGFRsのみ、または化学療法とTGFRt15-TGFRsとの組み合わせに応答した腫瘍サイズの変化を示す。

【図90】TGFRt15-TGFRsで処理したマウスから単離されたNK細胞の細胞傷害性を示す。

10

【図91】7t15-21s137L（ロングバージョン）構築物の概略図を示す。

【図92】7t15-21s137L（ロングバージョン）構築物の追加の概略図を示す。

【図93】抗TF抗体樹脂への結合およびその上での溶出後の7t15-21s137L（ロングバージョン）タンパク質含有細胞培養上清のクロマトグラフィープロファイルを示す線グラフである。

【図94】7t15-21s137L（ロングバージョン）の分析的SECプロファイルを示す。

【図95】7t15-21s137L（ショートバージョン）のCD137L（4.1BBL）への結合を示す。

20

【図96A】図96A～96Cは、ELISAを用いた7t15-21s137L（ショートバージョン）中のIL15、IL21、およびIL7の検出を示す。図96Aは、ELISAを用いた7t15-21s137L（ショートバージョン）中のIL15の検出を示す。図96Bは、ELISAを用いた7t15-21s137L（ショートバージョン）中のIL21の検出を示す。図96Cは、ELISAを用いた7t15-21s137L（ショートバージョン）中のIL7の検出を示す。

【図96B】図96Aの説明を参照されたい。

【図96C】図96Aの説明を参照されたい。

【図97】CTL-2細胞増殖アッセイの結果を示す。

【図98】IL21R含有B9細胞増殖の促進における7t15-1s137L（ショートバージョン）の活性を示す。

30

【図99】7t15-TGFRs構築物の概略図を示す。

【図100】7t15-TGFRs構築物の追加の概略図を示す。

【図101】7t15-TGFRsおよびTGFR-FcによるTGFβ1阻害の結果を示す。

【図102A】図102A～102Cは、ELISAを用いた7t15-TGFRs中のIL-15、TGFβRII、およびIL-7の検出を示す。

【図102B】図102Aの説明を参照されたい。

【図102C】図102Aの説明を参照されたい。

【図103】7t15-TGFRsまたは組換えIL-15を用いた32Dβ細胞増殖アッセイの結果を示す。

40

【図104】抗TF抗体親和性カラムへの結合およびその上での溶出後の7t15-TGFRsタンパク質含有細胞培養上清のクロマトグラフィープロファイルを示す線グラフである。

【図105】還元SDS-PAGEを使用して分析された脱グリコシル化前および脱グリコシル化後の7t15-TGFRsを示す。

【図106】7t15-TGFRsタンパク質中のIL-7、IL-15、およびTGFβRIIのELISA検出を示す。

【図107】図107Aおよび107Bは、7t15-TGFRs処理マウスおよび対照処理マウスにおける脾臓重量および免疫細胞型のパーセンテージを示す。図107Aは、

50

PBS対照と比較した、様々な投薬量の7t15-TGFRsで処理したマウスの脾臓重量を示す。図107Bは、PBS対照と比較した、様々な投薬量の7t15-TGFRsで処理したマウスにおけるCD4⁺ T細胞、CD8⁺ T細胞、およびNK細胞のパーセンテージを示す。

【図108A】C57BL/6マウスにおける7t15-TGFRsによるCD4⁺ T細胞のCD44発現のアップレギュレーションを示す。

【図108B】C57BL/6マウスにおける7t15-TGFRsによるCD8⁺ T細胞のCD44発現のアップレギュレーションを示す。

【図109A】C57BL/6マウスにおける7t15-TGFRsによるCD8⁺ T細胞およびNK細胞のKi67発現のアップレギュレーションを示す。

10

【図109B】C57BL/6マウスにおける7t15-TGFRsによるCD8⁺ T細胞およびNK細胞のグランザイムB発現のアップレギュレーションを示す。

【図110】C57BL/6マウスにおける7t15-TGFRsによる脾細胞の細胞傷害性の増強を示す。

【図111】TGFRt15-21s137L構築物の概略図を示す。

【図112】TGFRt15-21s137L構築物の追加の概略図を示す。

【図113】抗TF抗体親和性カラムへの結合およびその上での溶出後のTGFRt15-21s137Lタンパク質含有細胞培養上清のクロマトグラフィープロファイルを示す線グラフである。

【図114】TGFRt15-TGFRs21構築物の概略図を示す。

20

【図115】TGFRt15-TGFRs21構築物の追加の概略図を示す。

【図116】抗TF抗体親和性カラムへの結合およびその上での溶出後のTGFRt15-TGFRs21タンパク質含有細胞培養上清のクロマトグラフィープロファイルを示す線グラフである。

【図117】還元SDS-PAGEによって分析された脱グリコシル化前および脱グリコシル化後のTGFRt15-TGFRs21を示す。

【図118】図118Aおよび118Bは、ELISAを使用したTGFRt15-TGFRs21成分の検出を示す。

【図119】図119Aおよび119Bは、対照処理マウスおよびTGFRt15-TGFRs21処理マウスの脾臓に存在するCD4⁺ T細胞、CD8⁺ T細胞、およびナチュラルキラー（NK）細胞のパーセンテージおよび増殖を示す。

30

【図120】TGFRt15-TGFRs21で処理したマウスにおける脾細胞のグランザイムB発現のアップレギュレーションを示す。

【図121】C57BL/6マウスにおけるTGFRt15-TGFRs21による脾細胞の細胞傷害性の増強を示す。

【図122】TGFRt15-TGFRs16構築物の概略図を示す。

【図123】TGFRt15-TGFRs16構築物の追加の概略図を示す。

【図124】TGFRt15-TGFRs137L構築物の概略図を示す。

【図125】TGFRt15-TGFRs137L構築物の追加の概略図を示す。

【図126】18t15-12s、18t15-12s16、および7t15-21sでの刺激後のリンパ球集団の表面表現型の変化を示す。

40

【図127】18t15-12sでの刺激後のNK細胞におけるホスホ-STAT4レベルおよびホスホ-STAT5レベルの増加を示す。

【図128A】図128A~128Cは、西洋食餌を与え、かつTGFRt15-TGFRsで処理したApoE^{-/-}マウスにおけるTreg細胞、NK細胞、およびCD8⁺ T細胞のインビボ刺激を示す。

【図128B】図128Aの説明を参照されたい。

【図128C】図128Aの説明を参照されたい。

【図129A】図129A~および129Cは、TGFRt15-TGFRsでの処理後のC57BL/6マウスにおける免疫刺激を示す。

50

【図129B】図129Aの説明を参照されたい。

【図129C】図129Aの説明を参照されたい。

【図130】図130Aおよび130Bは、西洋食餌を与え、かつTGFRt15-TGFRsで処理したApoE^{-/-}マウスにおけるNK細胞およびCD8⁺T細胞の増殖のインビボ誘導を示す。

【図131】図131Aおよび131Bは、NK細胞をTGFRt15-TGFRsで処理した後のNK細胞の細胞傷害性の増強を示す。

【図132】図132Aおよび132Bは、NK細胞をTGFRt15-TGFRsで処理した後のNK細胞のADCC活性の増強を示す。

【図133A】図133A~133Hは、黒色腫マウスモデルにおける化学療法と組み合わせたTGFRt15-TGFRs+抗TRP1抗体(TA99)の抗腫瘍活性を示す。

10

【図133B】図133Aの説明を参照されたい。

【図133C】図133Aの説明を参照されたい。

【図133D】図133Aの説明を参照されたい。

【図133E】図133Aの説明を参照されたい。

【図133F】図133Aの説明を参照されたい。

【図133G】図133Aの説明を参照されたい。

【図133H】図133Aの説明を参照されたい。

【図134】図134A~134Cは、TGFRt15-TGFRsによるApoE^{-/-}マウスにおける西洋食餌誘発性高血糖症の改善を示す。

20

【図135】18t15-12sで刺激してrhIL15中で培養した後のNK細胞のサイトカイン誘導性メモリー様NK細胞(CIML-NK細胞)への分化を要約した細胞表面染色を示す。

【図136】TGFRt15-TGFRsでの処理時のCD44hiメモリーT細胞のアップレギュレーションを示すアップレギュレーションを示す。

【図137】一本鎖または多鎖キメラポリペプチドでの処理後の第X因子(FX)活性化のグラフを示す。

【図138】プロトロンビン時間(PT)試験における様々な濃度のInnovinを有する緩衝液の凝固時間を示す。

【図139】PTアッセイにおける多鎖キメラポリペプチドの凝固時間を示す。

30

【図140】32DB細胞と混合した場合のPTアッセイにおける多鎖キメラポリペプチドの凝固時間を示す。

【図141】ヒトPBMCと混合した場合のPTアッセイにおける多鎖キメラポリペプチドの凝固時間を示す。

【図142】7t15-21s137L(ロングバージョン)および7t15-21s137L(ショートバージョン)のCD137(4.1BB)への結合を示す。

【図143A】図143A~143Dは、ELISAを使用した7t15-21s137L(ロングバージョン)中のIL7、IL21、IL15、および4.1BBLのそれぞれの抗体による検出を示す。

【図143B】図143Aの説明を参照されたい。

40

【図143C】図143Aの説明を参照されたい。

【図143D】図143Aの説明を参照されたい。

【図144】IL2Rαβγ含有CTL2細胞増殖アッセイによって評価された7t15-21s137L(ロングバージョン)および7t15-21s137L(ショートバージョン)のIL-15活性を示す。

【発明を実施するための形態】

【0034】

詳細な説明

(a) (i) 第1の標的結合ドメインと、(ii) 可溶性組織因子ドメインと、(iii) 一对の親和性ドメインの第1のドメインとを含む、第1のキメラポリペプチド、およ

50

び (b) (i) 一对の親和性ドメインの第2のドメインと、(ii) 第2の標的結合ドメインとを含む、第2のキメラポリペプチドを含み、第1のキメラポリペプチドと第2のキメラポリペプチドが、一对の親和性ドメインの第1のドメインと第2のドメインとの結合を介して会合している、多鎖キメラポリペプチドが、本明細書に提供される。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかを含む組成物、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかをコードする核酸、および本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかをコードする核酸のうちのいずれかを含む細胞も本明細書に提供される。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかの使用を含む、免疫細胞を刺激する方法および治療を必要とする対象を治療する方法も本明細書に提供される。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかを産生する方法も本明細書に提供される。

10

【0035】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの例では、第1のキメラポリペプチドおよび／または第2のキメラポリペプチドの全長は各々独立して、約50アミノ酸～約3000アミノ酸、約50アミノ酸～約2500アミノ酸、約50アミノ酸～約2000アミノ酸、約50アミノ酸～約1500アミノ酸、約50アミノ酸～約1000アミノ酸、約50アミノ酸～約950アミノ酸、約50アミノ酸～約900アミノ酸、約50アミノ酸～約850アミノ酸、約50アミノ酸～約800アミノ酸、約50アミノ酸～約750アミノ酸、約50アミノ酸～約700アミノ酸、約50アミノ酸～約650アミノ酸、約50アミノ酸～約600アミノ酸、約50アミノ酸～約550アミノ酸、約50アミノ酸～約500アミノ酸、約50アミノ酸～約480アミノ酸、約50アミノ酸～約460アミノ酸、約50アミノ酸～約440アミノ酸、約50アミノ酸～約420アミノ酸、約50アミノ酸～約400アミノ酸、約50アミノ酸～約380アミノ酸、約50アミノ酸～約360アミノ酸、約50アミノ酸～約340アミノ酸、約50アミノ酸～約320アミノ酸、約50アミノ酸～約300アミノ酸、約50アミノ酸～約280アミノ酸、約50アミノ酸～約260アミノ酸、約50アミノ酸～約240アミノ酸、約50アミノ酸～約220アミノ酸、約50アミノ酸～約200アミノ酸、約50アミノ酸～約150アミノ酸、約50アミノ酸～約100アミノ酸、約100アミノ酸～約3000アミノ酸、約100アミノ酸～約2500アミノ酸、約100アミノ酸～約2000アミノ酸、約100アミノ酸～約1500アミノ酸、約100アミノ酸～約1000アミノ酸、約100アミノ酸～約950アミノ酸、約100アミノ酸～約900アミノ酸、約100アミノ酸～約850アミノ酸、約100アミノ酸～約800アミノ酸、約100アミノ酸～約750アミノ酸、約100アミノ酸～約700アミノ酸、約100アミノ酸～約650アミノ酸、約100アミノ酸～約600アミノ酸、約100アミノ酸～約550アミノ酸、約100アミノ酸～約500アミノ酸、約100アミノ酸～約480アミノ酸、約100アミノ酸～約460アミノ酸、約100アミノ酸～約440アミノ酸、約100アミノ酸～約420アミノ酸、約100アミノ酸～約400アミノ酸、約100アミノ酸～約380アミノ酸、約100アミノ酸～約360アミノ酸、約100アミノ酸～約340アミノ酸、約100アミノ酸～約320アミノ酸、約100アミノ酸～約300アミノ酸、約100アミノ酸～約280アミノ酸、約100アミノ酸～約260アミノ酸、約100アミノ酸～約240アミノ酸、約100アミノ酸～約220アミノ酸、約100アミノ酸～約200アミノ酸、約100アミノ酸～約150アミノ酸、約150アミノ酸～約3000アミノ酸、約150アミノ酸～約2500アミノ酸、約150アミノ酸～約2000アミノ酸、約150アミノ酸～約1500アミノ酸、約150アミノ酸～約1000アミノ酸、約150アミノ酸～約950アミノ酸、約150アミノ酸～約900アミノ酸、約150アミノ酸～約850アミノ酸、約150アミノ酸～約800アミノ酸、約150アミノ酸～約750アミノ酸、約150アミノ酸～約700アミノ酸、約150アミノ酸～約650アミノ酸、約150アミノ酸～約600アミノ酸、約150アミノ酸～約550アミノ酸、約150アミノ酸～約500アミノ酸、約150アミノ酸～約480アミノ酸、約150アミノ酸～約460アミノ酸、約150アミノ酸～約440アミノ酸

20

30

40

50

50

50

50

ノ酸～約2000アミノ酸、約480アミノ酸～約1500アミノ酸、約480アミノ酸
～約1000アミノ酸、約480アミノ酸～約950アミノ酸、約480アミノ酸～約9
00アミノ酸、約480アミノ酸～約850アミノ酸、約480アミノ酸～約800アミ
ノ酸、約480アミノ酸～約750アミノ酸、約480アミノ酸～約700アミノ酸、約
480アミノ酸～約650アミノ酸、約480アミノ酸～約600アミノ酸、約480ア
ミノ酸～約550アミノ酸、約480アミノ酸～約500アミノ酸、約500アミノ酸～
約3000アミノ酸、約500アミノ酸～約2500アミノ酸、約500アミノ酸～約2
000アミノ酸、約500アミノ酸～約1500アミノ酸、約500アミノ酸～約100
0アミノ酸、約500アミノ酸～約950アミノ酸、約500アミノ酸～約900アミノ
酸、約500アミノ酸～約850アミノ酸、約500アミノ酸～約800アミノ酸、約5
00アミノ酸～約750アミノ酸、約500アミノ酸～約700アミノ酸、約500アミ
ノ酸～約650アミノ酸、約500アミノ酸～約600アミノ酸、約500アミノ酸～約
550アミノ酸、約550アミノ酸～約3000アミノ酸、約550アミノ酸～約250
0アミノ酸、約550アミノ酸～約2000アミノ酸、約550アミノ酸～約1500ア
ミノ酸、約550アミノ酸～約1000アミノ酸、約550アミノ酸～約950アミノ酸
、約550アミノ酸～約900アミノ酸、約550アミノ酸～約850アミノ酸、約55
0アミノ酸～約800アミノ酸、約550アミノ酸～約750アミノ酸、約550アミ
ノ酸～約700アミノ酸、約550アミノ酸～約650アミノ酸、約550アミノ酸～約6
00アミノ酸、約600アミノ酸～約3000アミノ酸、約600アミノ酸～約2500
アミノ酸、約600アミノ酸～約2000アミノ酸、約600アミノ酸～約1500アミ
ノ酸、約600アミノ酸～約1000アミノ酸、約600アミノ酸～約950アミノ酸、
約600アミノ酸～約900アミノ酸、約600アミノ酸～約850アミノ酸、約600
アミノ酸～約800アミノ酸、約600アミノ酸～約750アミノ酸、約600アミノ酸
～約700アミノ酸、約600アミノ酸～約650アミノ酸、約650アミノ酸～約30
00アミノ酸、約650アミノ酸～約2500アミノ酸、約650アミノ酸～約2000
アミノ酸、約650アミノ酸～約1500アミノ酸、約650アミノ酸～約1000アミ
ノ酸、約650アミノ酸～約950アミノ酸、約650アミノ酸～約900アミノ酸、約
650アミノ酸～約850アミノ酸、約650アミノ酸～約800アミノ酸、約650ア
ミノ酸～約750アミノ酸、約650アミノ酸～約700アミノ酸、約700アミノ酸～
約3000アミノ酸、約700アミノ酸～約2500アミノ酸、約700アミノ酸～約2
000アミノ酸、約700アミノ酸～約1500アミノ酸、約700アミノ酸～約100
0アミノ酸、約700アミノ酸～約950アミノ酸、約700アミノ酸～約900アミノ
酸、約700アミノ酸～約850アミノ酸、約700アミノ酸～約800アミノ酸、約7
00アミノ酸～約750アミノ酸、約750アミノ酸～約3000アミノ酸、約750ア
ミノ酸～約2500アミノ酸、約750アミノ酸～約2000アミノ酸、約750アミノ
酸～約1500アミノ酸、約750アミノ酸～約1000アミノ酸、約750アミノ酸～
約950アミノ酸、約750アミノ酸～約900アミノ酸、約750アミノ酸～約850
アミノ酸、約750アミノ酸～約800アミノ酸、約800アミノ酸～約3000アミノ
酸、約800アミノ酸～約2500アミノ酸、約800アミノ酸～約2000アミノ酸、
約800アミノ酸～約1500アミノ酸、約800アミノ酸～約1000アミノ酸、約8
00アミノ酸～約950アミノ酸、約800アミノ酸～約900アミノ酸、約800アミ
ノ酸～約850アミノ酸、約850アミノ酸～約3000アミノ酸、約850アミノ酸～
約2500アミノ酸、約850アミノ酸～約2000アミノ酸、約850アミノ酸～約1
500アミノ酸、約850アミノ酸～約1000アミノ酸、約850アミノ酸～約950
アミノ酸、約850アミノ酸～約900アミノ酸、約900アミノ酸～約3000アミノ
酸、約900アミノ酸～約2500アミノ酸、約900アミノ酸～約2000アミノ酸、
約900アミノ酸～約1500アミノ酸、約900アミノ酸～約1000アミノ酸、約9
00アミノ酸～約950アミノ酸、約950アミノ酸～約3000アミノ酸、約950ア
ミノ酸～約2500アミノ酸、約950アミノ酸～約2000アミノ酸、約950アミノ
酸～約1500アミノ酸、約950アミノ酸～約1000アミノ酸、約1000アミノ酸

10

20

30

40

50

～約3000アミノ酸、約1000アミノ酸～約2500アミノ酸、約1000アミノ酸
～約2000アミノ酸、約1000アミノ酸～約1500アミノ酸、約1500アミノ酸
～約3000アミノ酸、約1500アミノ酸～約2500アミノ酸、約1500アミノ酸
～約2000アミノ酸、約2000アミノ酸～約3000アミノ酸、約2000アミノ酸
～約2500アミノ酸、または約2500アミノ酸～約3000アミノ酸であり得る。本
明細書に提供される例示的な多鎖キメラポリペプチドの図形は、図1および図2に示され
ている。

【0036】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載の第1の標的結合ドメインのうちの
10
いずれか）と可溶性組織因子ドメイン（例えば、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれか）は、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメイン（本明細書に記載の例示的な第1の標的結合ドメインのうちのいずれか）と可溶性組織因子ドメイン（例えば、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれか）との間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的なリンカー配列のうちのいずれか）をさらに含む。

【0037】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメイン（例えば、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメイン
20
のうちのいずれか）と一対の親和性ドメインの第1のドメイン（例えば、本明細書に記載の例示的な一対の親和性ドメインのうちのいずれかの例示的な第1のドメインのうちのいずれか）は、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の可溶性組織因子ドメイン（本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれか）と一対の親和性ドメインの第1のドメイン（例えば、本明細書に記載の例示的な一対の親和性ドメインのうちのいずれかの例示的な第1のドメインのうちのいずれか）との間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的なリンカー配列のうちのいずれか）をさらに含む。
30

【0038】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、一対の親和性ドメインの第2のドメイン（例えば、本明細書に記載の例示的な一対の親和性ドメインのうちのいずれかの例示的な第2のドメインのうちのいずれか）と第2の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載の例示的な第2の標的結合ドメインのうちのいずれか）は、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の一対の親和性ドメインの第2のドメイン（例えば、本明細書に記載の例示的な一対の親和性ドメインのうちのいずれかの例示的な第2のドメインのうちのいずれか）と第2の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載の例示的な第2の標的結合ドメインのうちのいずれか）との間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的なリンカー配列のうちのいずれか）をさらに含む。
40

【0039】

これらのキメラポリペプチド、核酸、ベクター、細胞、および方法の非限定的な態様は、以下に記載されており、限定されことなく任意の組み合わせで使用され得る。これらのキメラポリペプチド、核酸、ベクター、細胞、および方法の追加の態様は、当該技術分野で既知である。

【0040】

組織因子

10

20

30

40

50

ヒト組織因子は、以下の3つのドメイン：（１）２１９アミノ酸N末端細胞外ドメイン（残基１～２１９）、（２）２２アミノ酸膜貫通ドメイン（残基２２０～２４２）、および（３）２１アミノ酸細胞質C末端尾部（残基２４２～２６３）（（UniProtKB 識別子番号：P13726）を含む２６３アミノ酸膜貫通タンパク質である。細胞質尾部は、Ser 253およびSer 258に２つのリン酸化部位を含み、Cys 245に１つのS-パルミトイル化部位を含む。細胞質ドメインの欠失または変異が組織因子凝固活性に影響を及ぼすことは見出されなかった。組織因子は、Cys 245のタンパク質の細胞内ドメイン内に１つのS-パルミトイル化部位を有する。Cys 245は、細胞内ドメインのアミノ酸末端に位置し、膜表面の近くにある。組織因子膜貫通ドメインは、単一膜貫通 α -ヘリックスで構成されている。

10

【0041】

２つのフィブロネクチンIII型ドメインで構成されている組織因子の細胞外ドメインは、６アミノ酸リンカーを介して膜貫通ドメインに連結されている。このリンカーは、組織因子細胞外ドメインをその膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインから分離するために立体配座可動性を提供する。各組織因子フィブロネクチンIII型モジュールは、２つの重複 β シートで構成されており、上部のシートドメインには３つの逆平行 β ストランドが含まれており、下部のシートには４つの β ストランドが含まれている。 β ストランドは、ストランド β Aと β B、 β Cと β D、および β Eと β Fの間の β ループによって連結されており、これらの全ての立体配座が２つのモジュール内で保存されている。 β ストランドを連結する３つの短い α -ヘリックスセグメントが存在する。組織因子の特有の特徴は、フィブロネクチンスーパーファミリーの共通要素ではないストランド β 10とストランド β 11との間の１７アミノ酸 β -ヘアピンである。N末端ドメインには、 β 6Fと β 7Gとの間に１２アミノ酸ループも含まれており、これは、C末端ドメインには存在せず、組織因子に特有のものである。かかるフィブロネクチンIII型ドメイン構造は、免疫グロブリン様タンパク質ファミリー折り畳みの特徴であり、多種多様な細胞外タンパク質間で保存されている。

20

【0042】

チモーゲンFVIIは、それが組織に結合して活性組織因子-FVIIa複合体を形成すると、タンパク質限定分解によってFVIIaに迅速に変換される。およそ 0.1 nM （血漿FVIIの１％）の濃度で酵素として循環するFVIIaも、組織因子に直接結合することができる。組織因子-FVIIa複合体上の組織因子とFVIIaの間のアロステリック相互作用は、FVIIaの酵素活性を大幅に増加させ、小さい発色性ペプチジル基質の加水分解速度をおよそ $20\sim 100$ 倍増加させ、天然高分子基質FIXおよびFXの活性化速度をほぼ 100 万倍増加させる。組織因子への結合時のFVIIaの活性部位のアロステリック活性化と協調して、リン脂質二重層上での組織因子-FVIIa複合体の形成（すなわち、膜表面上のホスファチジル-L-セリンの曝露時）は、 Ca^{2+} 依存的様式でFIXまたはFXの活性化速度をさらに $1,000$ 倍増加させる。遊離FVIIaと比較した組織因子-FVIIa-リン脂質複合体によるFX活性化のおよそ 100 万倍の全体的な増加は、凝固カスケードの臨界調節点である。

30

【0043】

FVIIは、約 50 kDa の一本鎖ポリペプチドであり、 406 アミノ酸残基からなり、N末端 γ -カルボキシグルタミン酸リッチ（GLA）ドメイン、２つの上皮成長因子様ドメイン（EGF1およびEGF2）、およびC末端セリンプロテアーゼドメインを有する。FVIIは、EGF2とプロテアーゼドメインとの間の短いリンカー領域における $\text{Ile}^{154}-\text{Arg}^{152}$ 結合の特異的タンパク質分解切断によってFVIIaに活性化される。この切断により、軽鎖および重鎖が Cys^{135} および Cys^{262} の単一ジスルフィド結合によって一緒に保持されるようになる。FVIIaは、そのN末端GLAドメインを介して Ca^{2+} 依存的様式でリン脂質膜に結合する。GLAドメインのすぐC末端側に、芳香族スタックおよび２つのEGFドメインが存在する。芳香族スタックは、GLAドメインを、単一の Ca^{2+} イオンに結合するEGF1ドメインに連結する。この Ca^{2+}

40

50

+ 結合部位の占有により、F V I I a アミド分解活性および組織因子会合が増加する。触媒トライアドは、H i s¹⁹³、A s p²⁴²、およびS e r³⁴⁴からなり、F V I I a プロテアーゼドメイン内での単一のC a²⁺イオンの結合は、その触媒活性に不可欠である。F V I I のF V I I a へのタンパク質分解活性は、I l e¹⁵³で新たに形成されたアミノ末端を解放して、折り返し、活性化ポケットに挿入されて、A s p³⁴³のカルボン酸塩と塩橋を形成して、オキシアニオンホールを生成する。この塩橋の形成は、F V I I a 活性に不可欠である。しかしながら、オキシアニオンホールの形成は、タンパク質分解活性化時に遊離F V I I a では生じない。結果として、F V I I a は、血漿プロテアーゼ阻害剤によってほとんど認識されないチモーゲン様状態で循環し、それがおよそ90分の半減期で循環することを可能にする。

【0044】

膜表面上でのF V I I a 活性部位の組織因子媒介性位置付けは、同族基質に対するF V I I a に重要である。遊離F V I I a は、その活性部位が膜表面の約80 Å上に位置付けられた膜に結合すると、安定した拡張構造をとる。F V I I a が組織因子に結合すると、F V a 活性部位は、膜に約6 Å近づいて再位置付けられる。この調節は、F V I I a 触媒トライアドの標的基質切断部位との適切な整列を助け得る。G L A ドメインレスF V I I a を使用して、活性部位が依然として膜上から同様の距離で位置付けられたことが示されており、組織因子がF V I I a -膜相互作用の不在下でさえもF V I I a 活性部位位置付けを完全に支援することができることを示す。追加のデータは、組織因子細胞外ドメインが何らかの方法で膜表面に繫留されている限り、組織因子が完全なF V I I a タンパク質分解活性を支援することを示した。しかしながら、F V I I a の活性部位を膜表面から80 Å超えて上昇させることにより、組織因子-F V I I a 複合体がF X を活性化する能力が大幅に低下したが、組織因子-F V I I a アミド分解活性は低下しなかった。

【0045】

アラニンスキャニング変異誘発は、F V I I a との相互作用のための組織因子細胞外ドメインにおける特定のアミノ酸側鎖の役割を評価するために使用されている (G i b b s e t a l . , B i o c h e m i s t r y 33 (47) : 14003-14010, 1994, S c h u l l e k e t a l . , J B i o l C h e m 269 (30) : 19399-19403, 1994)。アラニン置換は、アラニン置換がF V I I a 結合に対して5~10倍低い親和性を引き起こす限定された数の残基位置を特定した。これらの残基側鎖の大半が、高分子リガンド相互作用と調和して、結晶構造における溶媒に十分に曝露されることが見出された。F V I I a リガンド結合部位は、2つのモジュール間の境界の広範な領域にわたって位置する。C-モジュールにおいて、突出したB-Cループ上に位置する残基A r g¹³⁵およびP h e¹⁴⁰は、F V I I a との独立した接触を提供する。L e u¹³³は、指様の構造の基部に位置し、2つのモジュール間の隙間にパッキングされている。これにより、L y s²⁰、T h r⁶⁰、A s p⁵⁸、およびI l e²²からなる重要な結合残基の主要なクラスターに連続性が提供される。T h r⁶⁰は、部分的にのみ溶媒に曝露されており、リガンドと有意に接触するのではなく、局所的な構造的役割を果たし得る。結合部位は、G l u²⁴およびG l n¹¹⁰、ならびに潜在的により遠位の残基V a l²⁰⁷を含むモジュール間角度の凹面側に伸びている。結合領域は、A s p⁵⁸から、L y s⁴⁸、L y s⁴⁶、G l n³⁷、A s p⁴⁴、およびT r p⁴⁵によって形成された凸面領域に伸びている。T r p⁴⁵およびA s p⁴⁴は、F V I I a と独立して相互作用せず、T r p⁴⁵位での変異効果が、隣接するA s p⁴⁴およびG l n³⁷側鎖の局所的パッキングのためのこの側鎖の構造的な重要性を反映し得ることを示す。相互作用領域は、N-モジュール内に疎水性クラスターの一部を形成する2つの表面露出芳香族残基P h e⁷⁶およびT y r⁷⁸をさらに含む。

【0046】

組織因子-F V I I a の既知の生理学的基質は、F V I I、F I X、およびF X、ならびにある特定のプロテイナーゼ活性化受容体である。変異分析により、変異すると、小さいペプチジル基質に対する完全なF V I I a アミド分解活性を支援するが、高分子基質 (

10

20

30

40

50

すなわち、FVII、FIX、およびFX)の活性化を支援する能力を欠くいくつかの残基が特定されている(Ruf et al., J Biol Chem 267(31):22206-22210, 1992、Ruf et al., J Biol Chem 267(9):6375-6381, 1992、Huang et al., J Biol Chem 271(36):21752-21757, 1996、Kirchhofer et al., Biochemistry 39(25):7380-7387, 2000)。残基159~165の組織因子ループ領域、およびこの可動性ループ内のまたはそれに隣接する残基が、組織因子-FVIIa複合体のタンパク質分解活性に不可欠であることが示されている。これは、FVIIa活性部位からかなり離れた組織因子の提案された基質結合エキソサイト領域を定義する。グリシン残基をわずかによりかさばったアラニン残基で置換することにより、組織因子-FVIIaのタンパク質分解活性が著しく損なわれる。これは、グリシンによってもたらされる可動性が組織因子高分子基質認識のための残基159~165のループに不可欠であることを示唆する。

【0047】

残基Lys¹⁶⁵およびLys¹⁶⁶が基質認識および結合に重要であることも実証されている。これらの残基のいずれかをアラニンに変異させることにより、組織因子補因子機能が大幅に低下する。Lys¹⁶⁵とLys¹⁶⁶は互いに外方に向いており、Lys¹⁶⁵は、大半の組織因子-FVIIa構造内でFVIIaの方を指し、Lys¹⁶⁶は、結晶構造内の基質結合エキソサイト領域を指している。FVIIaのLys¹⁶⁵とFVIIaのGla³⁵との間の推定塩橋形成は、組織因子のFVIIaのGLAドメインとの相互作用が基質認識を調節するという概念を支持するであろう。これらの結果は、組織因子外部ドメインのC末端部分が、FIXおよびFXのGLAドメイン、隣接する可能性のあるEGF1ドメインと直接相互作用し、FVIIa GLAドメインの存在がこれらの相互作用を直接または間接的のいずれかで調節し得ることを示唆する。

【0048】

可溶性組織因子ドメイン

本明細書に記載のポリペプチド、組成物、または方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、シグナル配列、膜貫通ドメイン、および細胞内ドメインを欠く野生型組織因子ポリペプチドであり得る。いくつかの例では、可溶性組織因子ドメインは、組織因子変異体であり得、野生型組織因子ポリペプチドが、シグナル配列、膜貫通ドメイン、および細胞内ドメインを欠き、選択されたアミノ酸でさらに修飾されている。いくつかの例では、可溶性組織因子ドメインは、可溶性ヒト組織因子ドメインであり得る。いくつかの例では、可溶性組織因子ドメインは、可溶性マウス組織因子ドメインであり得る。いくつかの例では、可溶性組織因子ドメインは、可溶性ラット組織因子ドメインであり得る。可溶性ヒト組織因子ドメイン、可溶性マウス組織因子ドメイン、可溶性ラット組織因子ドメイン、および変異体可溶性組織因子ドメインの非限定的な例が以下に示される。

【0049】

例示的な可溶性ヒト組織因子ドメイン（配列番号1）

SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST
KSGDWKSKCFYTTDTEDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA
GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLIYWKS
SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSR TVNR
KSTDSPVECMGQEKGEFRE

可溶性ヒト組織因子ドメイン（配列番号2）をコードする例示的な核酸

AGCGGCACAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTT
GGAAGAGCACCAACTTCAAAACCATCCTCGAATGGGAACC
CAAACCCGTTAAACCAAGTTTACACCGTGCAGATCAGCACCC
AAGTCCGCGCACTGGAAGTCCAAATGTTTCTATACCAACCG

ACACCGAGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGT
GAAACAGACCTACCTCGCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGCC
GGCAATGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTAT
ACGAGAACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAA
TTTAGGACAGCCCCACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGC
ACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAG
TGC GGCGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTT
CGGCAAAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCC
TCTTCCTCCGGCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACG
AGTTTTTTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAAACACTACTGTTT
CAGCGTGCAAGCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGGAATAGG
AAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAGTG CATGGGCCAAGAAA
AGGGCGAGTTCCGGGAG

例示的な変異体可溶性ヒト組織因子ドメイン（配列番号3）

SGTTNTVAAYNL TWKSTNFATALEWEPKPVNQVYTVQIST
KSGDWKSKCFYTTDTECAL TDEIVKDV KQTYLARVFSYPA
GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
TKVNVTVEDERTLVARNNTALSLRDVFGKDLIYTLYYWKS
SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVIPSR TVNR
KSTDSPVECMGQEKGEFRE

例示的な変異体可溶性ヒト組織因子ドメイン（配列番号4）

SGTTNTVAAYNL TWKSTNFATALEWEPKPVNQVYTVQIST
KSGDAKSKCFYTTDTECAL TDEIVKDV KQTYLARVFSYPA
GNVESTGSAGEPLAENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
TKVNVTVEDERTLVARNNTALSLRDVFGKDLIYTLYYWKS
SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVIPSR TVNR
KSTDSPVECMGQEKGEFRE

例示的な可溶性マウス組織因子ドメイン（配列番号5）

agipekafnl twistdfktil ewqp kptnytytvqisdr s
rnwknkc fstdtecdltdeivkdvtwayeakvlsvprrn
svhgddgdlv ihgeep pftnap kflpyrdtnlgqpviqq
feqdg rkl nvvvkds ltlvrkngt fltlr qvf gkd lgyii
tyrkgsstg kktntntnefs idveegvsy cffvqami fs
rktnqnspgssstvcte qwks flge

例示的な可溶性ラット組織因子ドメイン（配列番号6）

Agtppgkafnl twistdfktil ewqp kptnytytvqisdr
srnwkykctgttdtecdltdeivkdvnwtyearvlsvpwr
nsthgketl fgt hgeep pftnark flpyrdtkigqpviqk
yeqggtkl kvtkds ftlvrkngt fltlr qvf gnd lgyil
tyrkdsstgrktntthtnefl idvekgvsy cffa qavi fs
rktnhks pesitkcte qwks vlge

【0050】

いくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、配列番号1、3、4、5、または6と少なくとも70%同一、少なくとも72%同一、少なくとも74%同一、少なくとも76%同一、少なくとも78%同一、少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一の配列を含み得る。いくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、1~20個のアミノ酸（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、

10

20

30

40

50

19、または20個のアミノ酸)がそのN末端から除去された、および/または1~20個のアミノ酸(例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個のアミノ酸)がそのC末端から除去された、配列番号1、3、4、5、または6の配列を含み得る。

【0051】

当該技術分野で理解され得るように、当業者であれば、異なる哺乳動物種間で保存されているアミノ酸の変異がタンパク質の活性および/または構造的安定性を低下させる可能性が高い一方で、異なる哺乳動物種間で保存されていないアミノ酸の変異がタンパク質の活性および/または構造的安定性を低下させる可能性が低いことを理解するであろう。

【0052】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの例では、可溶性組織因子ドメインは、第VIIa因子に結合することができない。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの例では、可溶性組織因子ドメインは、不活性第X因子を第Xa因子に変換しない。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドは、哺乳動物における血液凝固を刺激しない。

【0053】

いくつかの例では、可溶性組織因子ドメインは、可溶性ヒト組織因子ドメインであり得る。いくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、可溶性マウス組織因子ドメインであり得る。いくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、可溶性ラット組織因子ドメインであり得る。

【0054】

いくつかの例では、可溶性組織因子ドメインは、成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸20位に対応するアミノ酸の位置にリジン、成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸22位に対応するアミノ酸の位置にイソロイシン、成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸45位に対応するアミノ酸の位置にトリプトファン、成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸58位に対応するアミノ酸の位置にアスパラギン酸、成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸94位に対応するアミノ酸の位置にチロシン、成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸135位に対応するアミノ酸の位置にアルギニン、および成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸140位に対応するアミノ酸の位置にフェニルアラニンのうちの1つ以上(例えば、2、3、4、5、6、または7つ)を含まない。いくつかの実施形態では、変異体可溶性組織因子は、配列番号3または配列番号4のアミノ酸配列を有する。

【0055】

いくつかの例では、可溶性組織因子ドメインは、配列番号2と少なくとも70%同一、少なくとも72%同一、少なくとも74%同一、少なくとも76%同一、少なくとも78%同一、少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一の配列を含む核酸によってコードされ得る。

【0056】

いくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、全長約20アミノ酸~約220アミノ酸、約20アミノ酸~約215アミノ酸、約20アミノ酸~約210アミノ酸、約20アミノ酸~約205アミノ酸、約20アミノ酸~約200アミノ酸、約20アミノ酸~約195アミノ酸、約20アミノ酸~約190アミノ酸、約20アミノ酸~約185アミノ酸、約20アミノ酸~約180アミノ酸、約20アミノ酸~約175アミノ酸、約20アミノ酸~約170アミノ酸、約20アミノ酸~約165アミノ酸、約20アミノ酸~約160アミノ酸、約20アミノ酸~約155アミノ酸、約20アミノ酸~約150アミノ酸、約20アミノ酸~約145アミノ酸、約20アミノ酸~約140アミノ酸、約20アミノ酸~約135アミノ酸、約20アミノ酸~約130アミノ酸、約20アミノ酸~約

10

20

30

40

50

50

50

50

50

5 アミノ酸～約 210 アミノ酸、約 175 アミノ酸～約 205 アミノ酸、約 175 アミノ酸～約 200 アミノ酸、約 175 アミノ酸～約 195 アミノ酸、約 175 アミノ酸～約 190 アミノ酸、約 175 アミノ酸～約 185 アミノ酸、約 175 アミノ酸～約 180 アミノ酸、約 180 アミノ酸～約 220 アミノ酸、約 180 アミノ酸～約 215 アミノ酸、約 180 アミノ酸～約 210 アミノ酸、約 180 アミノ酸～約 205 アミノ酸、約 180 アミノ酸～約 200 アミノ酸、約 180 アミノ酸～約 195 アミノ酸、約 180 アミノ酸～約 190 アミノ酸、約 180 アミノ酸～約 185 アミノ酸、約 185 アミノ酸～約 220 アミノ酸、約 185 アミノ酸～約 215 アミノ酸、約 185 アミノ酸～約 210 アミノ酸、約 185 アミノ酸～約 205 アミノ酸、約 185 アミノ酸～約 200 アミノ酸、約 185 アミノ酸～約 195 アミノ酸、約 185 アミノ酸～約 190 アミノ酸、約 190 アミノ酸～約 220 アミノ酸、約 190 アミノ酸～約 215 アミノ酸、約 190 アミノ酸～約 210 アミノ酸、約 190 アミノ酸～約 205 アミノ酸、約 190 アミノ酸～約 200 アミノ酸、約 195 アミノ酸～約 215 アミノ酸、約 195 アミノ酸～約 210 アミノ酸、約 195 アミノ酸～約 205 アミノ酸、約 195 アミノ酸～約 200 アミノ酸、約 200 アミノ酸～約 220 アミノ酸、約 200 アミノ酸～約 215 アミノ酸、約 200 アミノ酸～約 210 アミノ酸、約 200 アミノ酸～約 205 アミノ酸、約 205 アミノ酸～約 220 アミノ酸、約 205 アミノ酸～約 215 アミノ酸、約 205 アミノ酸～約 210 アミノ酸、約 210 アミノ酸～約 220 アミノ酸、約 210 アミノ酸～約 215 アミノ酸、または約 215 アミノ酸～約 220 アミノ酸を有し得る。

【0057】

リンカー配列

いくつかの実施形態では、リンカー配列は、可動性リンカー配列であり得る。使用されるリンカー配列の非限定的な例は、Klein et al., Protein Engineering, Design & Selection 27 (10) : 325-330, 2014、Priyanka et al., Protein Sci. 22 (2) : 153-167, 2013 に記載されている。いくつかの例では、リンカー配列は、合成リンカー配列である。

【0058】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のリンカー配列（複数可）（例えば、同じまたは異なるリンカー配列、例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的なリンカー配列のうちのいずれか）を含み得る。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のリンカー配列（複数可）（例えば、同じまたは異なるリンカー配列、例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的なリンカー配列のうちのいずれか）を含み得る。

【0059】

いくつかの実施形態では、リンカー配列は、全長1アミノ酸～約100アミノ酸、1アミノ酸～約90アミノ酸、1アミノ酸～約80アミノ酸、1アミノ酸～約70アミノ酸、1アミノ酸～約60アミノ酸、1アミノ酸～約50アミノ酸、1アミノ酸～約45アミノ酸、1アミノ酸～約40アミノ酸、1アミノ酸～約35アミノ酸、1アミノ酸～約30アミノ酸、1アミノ酸～約25アミノ酸、1アミノ酸～約24アミノ酸、1アミノ酸～約22アミノ酸、1アミノ酸～約20アミノ酸、1アミノ酸～約18アミノ酸、1アミノ酸～約16アミノ酸、1アミノ酸～約14アミノ酸、1アミノ酸～約12アミノ酸、1アミノ酸～約10アミノ酸、1アミノ酸～約8アミノ酸、1アミノ酸～約6アミノ酸、1アミノ酸～約4アミノ酸、約2アミノ酸～約100アミノ酸、約2アミノ酸～約90アミノ酸、約2アミノ酸～約80アミノ酸、約2アミノ酸～約70アミノ酸、約2アミノ酸～約60アミノ酸、約2アミノ酸～約50アミノ酸、約2アミノ酸～約45アミノ酸、約2アミノ酸～約40アミノ酸、約2アミノ酸～約35アミノ酸、約2アミノ酸～約30アミノ酸、

50

～約45アミノ酸、約16アミノ酸～約40アミノ酸、約16アミノ酸～約35アミノ酸、約16アミノ酸～約30アミノ酸、約16アミノ酸～約25アミノ酸、約16アミノ酸～約24アミノ酸、約16アミノ酸～約22アミノ酸、約16アミノ酸～約20アミノ酸、約16アミノ酸～約18アミノ酸、約18アミノ酸～約100アミノ酸、約18アミノ酸～約90アミノ酸、約18アミノ酸～約80アミノ酸、約18アミノ酸～約70アミノ酸、約18アミノ酸～約60アミノ酸、約18アミノ酸～約50アミノ酸、約18アミノ酸～約45アミノ酸、約18アミノ酸～約40アミノ酸、約18アミノ酸～約35アミノ酸、約18アミノ酸～約30アミノ酸、約18アミノ酸～約25アミノ酸、約18アミノ酸～約24アミノ酸、約18アミノ酸～約22アミノ酸、約18アミノ酸～約20アミノ酸、約20アミノ酸～約100アミノ酸、約20アミノ酸～約90アミノ酸、約20アミノ酸～約80アミノ酸、約20アミノ酸～約70アミノ酸、約20アミノ酸～約60アミノ酸、約20アミノ酸～約50アミノ酸、約20アミノ酸～約45アミノ酸、約20アミノ酸～約40アミノ酸、約20アミノ酸～約35アミノ酸、約20アミノ酸～約30アミノ酸、約20アミノ酸～約25アミノ酸、約20アミノ酸～約24アミノ酸、約20アミノ酸～約22アミノ酸、約22アミノ酸～約100アミノ酸、約22アミノ酸～約90アミノ酸、約22アミノ酸～約80アミノ酸、約22アミノ酸～約70アミノ酸、約22アミノ酸～約60アミノ酸、約22アミノ酸～約50アミノ酸、約22アミノ酸～約45アミノ酸、約22アミノ酸～約40アミノ酸、約22アミノ酸～約35アミノ酸、約22アミノ酸～約30アミノ酸、約22アミノ酸～約25アミノ酸、約22アミノ酸～約24アミノ酸、約25アミノ酸～約100アミノ酸、約25アミノ酸～約90アミノ酸、約25アミノ酸～約80アミノ酸、約25アミノ酸～約70アミノ酸、約25アミノ酸～約60アミノ酸、約25アミノ酸～約50アミノ酸、約25アミノ酸～約45アミノ酸、約25アミノ酸～約40アミノ酸、約25アミノ酸～約35アミノ酸、約25アミノ酸～約30アミノ酸、約30アミノ酸～約100アミノ酸、約30アミノ酸～約90アミノ酸、約30アミノ酸～約80アミノ酸、約30アミノ酸～約70アミノ酸、約30アミノ酸～約60アミノ酸、約30アミノ酸～約50アミノ酸、約30アミノ酸～約45アミノ酸、約30アミノ酸～約40アミノ酸、約30アミノ酸～約35アミノ酸、約35アミノ酸～約100アミノ酸、約35アミノ酸～約90アミノ酸、約35アミノ酸～約80アミノ酸、約35アミノ酸～約70アミノ酸、約35アミノ酸～約60アミノ酸、約35アミノ酸～約50アミノ酸、約35アミノ酸～約45アミノ酸、約35アミノ酸～約40アミノ酸、約40アミノ酸～約100アミノ酸、約40アミノ酸～約90アミノ酸、約40アミノ酸～約80アミノ酸、約40アミノ酸～約70アミノ酸、約40アミノ酸～約60アミノ酸、約40アミノ酸～約50アミノ酸、約40アミノ酸～約45アミノ酸、約45アミノ酸～約100アミノ酸、約45アミノ酸～約90アミノ酸、約45アミノ酸～約80アミノ酸、約45アミノ酸～約70アミノ酸、約45アミノ酸～約60アミノ酸、約45アミノ酸～約50アミノ酸、約50アミノ酸～約100アミノ酸、約50アミノ酸～約90アミノ酸、約50アミノ酸～約80アミノ酸、約50アミノ酸～約70アミノ酸、約50アミノ酸～約60アミノ酸、約60アミノ酸～約100アミノ酸、約60アミノ酸～約90アミノ酸、約60アミノ酸～約80アミノ酸、約60アミノ酸～約70アミノ酸、約70アミノ酸～約100アミノ酸、約70アミノ酸～約90アミノ酸、約70アミノ酸～約80アミノ酸、約80アミノ酸～約100アミノ酸、約80アミノ酸～約90アミノ酸、または約90アミノ酸～約100アミノ酸を有し得る。

【0060】

いくつかの実施形態では、リンカーは、グリシン（GlyまたはG）残基に富む。いくつかの実施形態では、リンカーは、セリン（SerまたはS）残基に富む。いくつかの実施形態では、リンカーは、グリシン残基およびセリン残基に富む。いくつかの実施形態では、リンカーは、1つ以上のグリシン-セリン残基対（GS）、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上のGS対を有する。いくつかの実施形態では、リンカーは、1つ以上のGly-Gly-Gly-Ser（GGGS）配列、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上のGGGS配列を有する

10

20

30

40

50

。いくつかの実施形態では、リンカーは、1つ以上のG l y - G l y - G l y - G l y - S e r (G G G G S) 配列、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上のG G G G S 配列を有する。いくつかの実施形態では、リンカーは、1つ以上のG l y - G l y - S e r - G l y (G G S G) 配列、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上のG G S G 配列を有する。

【0061】

いくつかの実施形態では、リンカー配列は、G G G G S G G G G S G G G G S (配列番号7) を含み得るか、またはそれからなり得る。いくつかの実施形態では、リンカー配列は、G G C G G T G G A G G A T C C G G A G G A G G T G G C T C C G G C G G C G G A G G A T C T (配列番号8) を含むか、またはそれらからなる核酸によってコードされ得る。いくつかの実施形態では、リンカー配列は、G G G S G G G S (配列番号9) を含み得るか、またはそれからなり得る。

【0062】

標的結合ドメイン

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および／または追加の1つ以上の標的結合ドメインは、抗原結合ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な抗原結合ドメインのうちのいずれか）、可溶性インターロイキンまたはサイトカインタンパク質（例えば、本明細書に記載の例示的な可溶性インターロイキンタンパク質または可溶性サイトカインタンパク質のうちのいずれか）、および可溶性インターロイキンまたはサイトカイン受容体（例えば、本明細書に記載の例示的な可溶性インターロイキン受容体または可溶性サイトカイン受容体のうちのいずれか）であり得る。

【0063】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な第1の標的結合ドメインのうちのいずれか）、第2の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な第2の標的結合ドメインのうちのいずれか）、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの1つ以上は各々独立して、C D 1 6 a、C D 2 8、C D 3（例えば、C D 3 α、C D 3 β、C D 3 δ、C D 3 M、およびC D 3 Kのうちの1つ以上）、C D 3 3、C D 2 0、C D 1 9、C D 2 2、C D 1 2 3、I L - 1 R、I L - 1、V E G F、I L - 6 R、I L - 4、I L - 1 0、P D L - 1、T I G I T、P D - 1、T I M 3、C T L A 4、M I C A、M I C B、I L - 6、I L - 8、T N F α、C D 2 6 a、C D 3 6、U L B P 2、C D 3 0、C D 2 0 0、I G F - 1 R、M U C 4 A C、M U C 5 A C、T r o p - 2、C M E T、E G F R、H E R 1、H E R 2、H E R 3、P S M A、C E A、B 7 H 3、E P C A M、B C M A、P - カドヘリン、C E A C A M 5、U L 1 6 結合タンパク質（例えば、U L B P 1、U L B P 2、U L B P 3、U L B P 4、U L B P 5、およびU L B P 6）、H L A - D R、D L L 4、T Y R O 3、A X L、M E R、C D 1 2 2、C D 1 5 5、P D G F - D D、T G F - β 受容体 I I (T G F - β R I I) リガンド、T G F - β R I I I リガンド、D N A M - 1 リガンド、N K p 4 6 リガンド、N K p 4 4 リガンド、N K G 2 D リガンド、N K P 3 0 リガンド、s c M H C I リガンド、s c M H C I I リガンド、s c T C R リガンド、I L - 1 受容体、I L - 2 受容体、I L - 3 受容体、I L - 7 受容体、I L - 8 受容体、I L - 1 0 受容体、I L - 1 2 受容体、I L - 1 5 受容体、I L - 1 7 受容体、I L - 1 8 受容体、I L - 2 1 受容体、P D G F - D D 受容体、幹細胞因子 (S C F) 受容体、幹細胞様チロシンキナーゼ3リガンド (F L T 3 L) 受容体、M I C A 受容体、M I C B 受容体、U L P 1 6 結合タンパク質受容体、C D 1 5 5 受容体、C D 1 2 2 受容体、およびC D 2 8 受容体の群から選択される標的に特異的に結合し、それらから群から選択される標的に特異的に結合することができる。

【0064】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では

50

50

50

50

ミノ酸、約45アミノ酸～約90アミノ酸、約45アミノ酸～約85アミノ酸、約45ア
ミノ酸～約80アミノ酸、約45アミノ酸～約75アミノ酸、約45アミノ酸～約70ア
ミノ酸、約45アミノ酸～約65アミノ酸、約45アミノ酸～約60アミノ酸、約45ア
ミノ酸～約55アミノ酸、約45アミノ酸～約50アミノ酸、約50アミノ酸～約100
0アミノ酸、約50アミノ酸～約950アミノ酸、約50アミノ酸～約900アミノ酸、
約50アミノ酸～約850アミノ酸、約50アミノ酸～約800アミノ酸、約50アミノ
酸～約750アミノ酸、約50アミノ酸～約700アミノ酸、約50アミノ酸～約650
アミノ酸、約50アミノ酸～約600アミノ酸、約50アミノ酸～約550アミノ酸、約
50アミノ酸～約500アミノ酸、約50アミノ酸～約450アミノ酸、約50アミノ酸
～約400アミノ酸、約50アミノ酸～約350アミノ酸、約50アミノ酸～約300ア
ミノ酸、約50アミノ酸～約280アミノ酸、約50アミノ酸～約260アミノ酸、約5
0アミノ酸～約240アミノ酸、約50アミノ酸～約220アミノ酸、約50アミノ酸～
約200アミノ酸、約50アミノ酸～約195アミノ酸、約50アミノ酸～約190アミ
ノ酸、約50アミノ酸～約185アミノ酸、約50アミノ酸～約180アミノ酸、約50
アミノ酸～約175アミノ酸、約50アミノ酸～約170アミノ酸、約50アミノ酸～約
165アミノ酸、約50アミノ酸～約160アミノ酸、約50アミノ酸～約155アミノ
酸、約50アミノ酸～約150アミノ酸、約50アミノ酸～約145アミノ酸、約50ア
ミノ酸～約140アミノ酸、約50アミノ酸～約135アミノ酸、約50アミノ酸～約1
30アミノ酸、約50アミノ酸～約125アミノ酸、約50アミノ酸～約120アミノ酸
、約50アミノ酸～約115アミノ酸、約50アミノ酸～約110アミノ酸、約50アミ
ノ酸～約105アミノ酸、約50アミノ酸～約100アミノ酸、約50アミノ酸～約95
アミノ酸、約50アミノ酸～約90アミノ酸、約50アミノ酸～約85アミノ酸、約50
アミノ酸～約80アミノ酸、約50アミノ酸～約75アミノ酸、約50アミノ酸～約70
アミノ酸、約50アミノ酸～約65アミノ酸、約50アミノ酸～約60アミノ酸、約50
アミノ酸～約55アミノ酸、約55アミノ酸～約1000アミノ酸、約55アミノ酸～約
950アミノ酸、約55アミノ酸～約900アミノ酸、約55アミノ酸～約850アミノ
酸、約55アミノ酸～約800アミノ酸、約55アミノ酸～約750アミノ酸、約55ア
ミノ酸～約700アミノ酸、約55アミノ酸～約650アミノ酸、約55アミノ酸～約6
00アミノ酸、約55アミノ酸～約550アミノ酸、約55アミノ酸～約500アミノ酸
、約55アミノ酸～約450アミノ酸、約55アミノ酸～約400アミノ酸、約55アミ
ノ酸～約350アミノ酸、約55アミノ酸～約300アミノ酸、約55アミノ酸～約28
0アミノ酸、約55アミノ酸～約260アミノ酸、約55アミノ酸～約240アミノ酸、
約55アミノ酸～約220アミノ酸、約55アミノ酸～約200アミノ酸、約55アミノ
酸～約195アミノ酸、約55アミノ酸～約190アミノ酸、約55アミノ酸～約185
アミノ酸、約55アミノ酸～約180アミノ酸、約55アミノ酸～約175アミノ酸、約
55アミノ酸～約170アミノ酸、約55アミノ酸～約165アミノ酸、約55アミノ酸
～約160アミノ酸、約55アミノ酸～約155アミノ酸、約55アミノ酸～約150ア
ミノ酸、約55アミノ酸～約145アミノ酸、約55アミノ酸～約140アミノ酸、約5
5アミノ酸～約135アミノ酸、約55アミノ酸～約130アミノ酸、約55アミノ酸～
約125アミノ酸、約55アミノ酸～約120アミノ酸、約55アミノ酸～約115アミ
ノ酸、約55アミノ酸～約110アミノ酸、約55アミノ酸～約105アミノ酸、約55
アミノ酸～約100アミノ酸、約55アミノ酸～約95アミノ酸、約55アミノ酸～約9
0アミノ酸、約55アミノ酸～約85アミノ酸、約55アミノ酸～約80アミノ酸、約5
5アミノ酸～約75アミノ酸、約55アミノ酸～約70アミノ酸、約55アミノ酸～約6
5アミノ酸、約55アミノ酸～約60アミノ酸、約60アミノ酸～約1000アミノ酸、
約60アミノ酸～約950アミノ酸、約60アミノ酸～約900アミノ酸、約60アミノ
酸～約850アミノ酸、約60アミノ酸～約800アミノ酸、約60アミノ酸～約750
アミノ酸、約60アミノ酸～約700アミノ酸、約60アミノ酸～約650アミノ酸、約
60アミノ酸～約600アミノ酸、約60アミノ酸～約550アミノ酸、約60アミノ酸
～約500アミノ酸、約60アミノ酸～約450アミノ酸、約60アミノ酸～約400ア

10

20

30

40

50

50

50

50

50

50

50

50

50

900アミノ酸、約195アミノ酸～約850アミノ酸、約195アミノ酸～約800ア
ミノ酸、約195アミノ酸～約750アミノ酸、約195アミノ酸～約700アミノ酸、
約195アミノ酸～約650アミノ酸、約195アミノ酸～約600アミノ酸、約195
アミノ酸～約550アミノ酸、約195アミノ酸～約500アミノ酸、約195アミノ酸
～約450アミノ酸、約195アミノ酸～約400アミノ酸、約195アミノ酸～約35
0アミノ酸、約195アミノ酸～約300アミノ酸、約195アミノ酸～約280アミノ
酸、約195アミノ酸～約260アミノ酸、約195アミノ酸～約240アミノ酸、約1
95アミノ酸～約220アミノ酸、約195アミノ酸～約200アミノ酸、約200アミ
ノ酸～約1000アミノ酸、約200アミノ酸～約950アミノ酸、約200アミノ酸～
約900アミノ酸、約200アミノ酸～約850アミノ酸、約200アミノ酸～約800
アミノ酸、約200アミノ酸～約750アミノ酸、約200アミノ酸～約700アミノ酸
、約200アミノ酸～約650アミノ酸、約200アミノ酸～約600アミノ酸、約20
0アミノ酸～約550アミノ酸、約200アミノ酸～約500アミノ酸、約200アミノ
酸～約450アミノ酸、約200アミノ酸～約400アミノ酸、約200アミノ酸～約3
50アミノ酸、約200アミノ酸～約300アミノ酸、約200アミノ酸～約280アミ
ノ酸、約200アミノ酸～約260アミノ酸、約200アミノ酸～約240アミノ酸、約
200アミノ酸～約220アミノ酸、約220アミノ酸～約1000アミノ酸、約220
アミノ酸～約950アミノ酸、約220アミノ酸～約900アミノ酸、約220アミノ酸
～約850アミノ酸、約220アミノ酸～約800アミノ酸、約220アミノ酸～約75
0アミノ酸、約220アミノ酸～約700アミノ酸、約220アミノ酸～約650アミノ
酸、約220アミノ酸～約600アミノ酸、約220アミノ酸～約550アミノ酸、約2
20アミノ酸～約500アミノ酸、約220アミノ酸～約450アミノ酸、約220アミ
ノ酸～約400アミノ酸、約220アミノ酸～約350アミノ酸、約220アミノ酸～約
300アミノ酸、約220アミノ酸～約280アミノ酸、約220アミノ酸～約260ア
ミノ酸、約220アミノ酸～約240アミノ酸、約240アミノ酸～約1000アミノ酸
、約240アミノ酸～約950アミノ酸、約240アミノ酸～約900アミノ酸、約24
0アミノ酸～約850アミノ酸、約240アミノ酸～約800アミノ酸、約240アミノ
酸～約750アミノ酸、約240アミノ酸～約700アミノ酸、約240アミノ酸～約6
50アミノ酸、約240アミノ酸～約600アミノ酸、約240アミノ酸～約550アミ
ノ酸、約240アミノ酸～約500アミノ酸、約240アミノ酸～約450アミノ酸、約
240アミノ酸～約400アミノ酸、約240アミノ酸～約350アミノ酸、約240ア
ミノ酸～約300アミノ酸、約240アミノ酸～約280アミノ酸、約240アミノ酸～
約260アミノ酸、約260アミノ酸～約1000アミノ酸、約260アミノ酸～約95
0アミノ酸、約260アミノ酸～約900アミノ酸、約260アミノ酸～約850アミノ
酸、約260アミノ酸～約800アミノ酸、約260アミノ酸～約750アミノ酸、約2
60アミノ酸～約700アミノ酸、約260アミノ酸～約650アミノ酸、約260アミ
ノ酸～約600アミノ酸、約260アミノ酸～約550アミノ酸、約260アミノ酸～約
500アミノ酸、約260アミノ酸～約450アミノ酸、約260アミノ酸～約400ア
ミノ酸、約260アミノ酸～約350アミノ酸、約260アミノ酸～約300アミノ酸、
約260アミノ酸～約280アミノ酸、約280アミノ酸～約1000アミノ酸、約28
0アミノ酸～約950アミノ酸、約280アミノ酸～約900アミノ酸、約280アミノ
酸～約850アミノ酸、約280アミノ酸～約800アミノ酸、約280アミノ酸～約7
50アミノ酸、約280アミノ酸～約700アミノ酸、約280アミノ酸～約650アミ
ノ酸、約280アミノ酸～約600アミノ酸、約280アミノ酸～約550アミノ酸、約
280アミノ酸～約500アミノ酸、約280アミノ酸～約450アミノ酸、約280ア
ミノ酸～約400アミノ酸、約280アミノ酸～約350アミノ酸、約280アミノ酸～
約300アミノ酸、約300アミノ酸～約1000アミノ酸、約300アミノ酸～約95
0アミノ酸、約300アミノ酸～約900アミノ酸、約300アミノ酸～約850アミノ
酸、約300アミノ酸～約800アミノ酸、約300アミノ酸～約750アミノ酸、約3
00アミノ酸～約700アミノ酸、約300アミノ酸～約650アミノ酸、約300アミ

10

20

30

40

50

ノ酸～約600アミノ酸、約300アミノ酸～約550アミノ酸、約300アミノ酸～約500アミノ酸、約300アミノ酸～約450アミノ酸、約300アミノ酸～約400アミノ酸、約300アミノ酸～約350アミノ酸、約350アミノ酸～約1000アミノ酸、約350アミノ酸～約950アミノ酸、約350アミノ酸～約900アミノ酸、約350アミノ酸～約850アミノ酸、約350アミノ酸～約800アミノ酸、約350アミノ酸～約750アミノ酸、約350アミノ酸～約700アミノ酸、約350アミノ酸～約650アミノ酸、約350アミノ酸～約600アミノ酸、約350アミノ酸～約550アミノ酸、約350アミノ酸～約500アミノ酸、約350アミノ酸～約450アミノ酸、約350アミノ酸～約400アミノ酸、約400アミノ酸～約1000アミノ酸、約400アミノ酸～約950アミノ酸、約400アミノ酸～約900アミノ酸、約400アミノ酸～約850アミノ酸、約400アミノ酸～約800アミノ酸、約400アミノ酸～約750アミノ酸、約400アミノ酸～約700アミノ酸、約400アミノ酸～約650アミノ酸、約400アミノ酸～約600アミノ酸、約400アミノ酸～約550アミノ酸、約400アミノ酸～約500アミノ酸、約400アミノ酸～約450アミノ酸、約450アミノ酸～約1000アミノ酸、約450アミノ酸～約950アミノ酸、約450アミノ酸～約900アミノ酸、約450アミノ酸～約850アミノ酸、約450アミノ酸～約800アミノ酸、約450アミノ酸～約750アミノ酸、約450アミノ酸～約700アミノ酸、約450アミノ酸～約650アミノ酸、約450アミノ酸～約600アミノ酸、約450アミノ酸～約550アミノ酸、約450アミノ酸～約500アミノ酸、約500アミノ酸～約1000アミノ酸、約500アミノ酸～約950アミノ酸、約500アミノ酸～約900アミノ酸、約500アミノ酸～約850アミノ酸、約500アミノ酸～約800アミノ酸、約500アミノ酸～約750アミノ酸、約500アミノ酸～約700アミノ酸、約500アミノ酸～約650アミノ酸、約500アミノ酸～約600アミノ酸、約500アミノ酸～約550アミノ酸、約550アミノ酸～約1000アミノ酸、約550アミノ酸～約950アミノ酸、約550アミノ酸～約900アミノ酸、約550アミノ酸～約850アミノ酸、約550アミノ酸～約800アミノ酸、約550アミノ酸～約750アミノ酸、約550アミノ酸～約700アミノ酸、約550アミノ酸～約650アミノ酸、約550アミノ酸～約600アミノ酸、約600アミノ酸～約1000アミノ酸、約600アミノ酸～約950アミノ酸、約600アミノ酸～約900アミノ酸、約600アミノ酸～約850アミノ酸、約600アミノ酸～約800アミノ酸、約600アミノ酸～約750アミノ酸、約600アミノ酸～約700アミノ酸、約600アミノ酸～約650アミノ酸、約650アミノ酸～約1000アミノ酸、約650アミノ酸～約950アミノ酸、約650アミノ酸～約900アミノ酸、約650アミノ酸～約850アミノ酸、約650アミノ酸～約800アミノ酸、約650アミノ酸～約750アミノ酸、約650アミノ酸～約700アミノ酸、約700アミノ酸～約1000アミノ酸、約700アミノ酸～約950アミノ酸、約700アミノ酸～約900アミノ酸、約700アミノ酸～約850アミノ酸、約700アミノ酸～約800アミノ酸、約700アミノ酸～約750アミノ酸、約750アミノ酸～約1000アミノ酸、約750アミノ酸～約950アミノ酸、約750アミノ酸～約900アミノ酸、約750アミノ酸～約850アミノ酸、約750アミノ酸～約800アミノ酸、約800アミノ酸～約1000アミノ酸、約800アミノ酸～約950アミノ酸、約800アミノ酸～約900アミノ酸、約800アミノ酸～約850アミノ酸、約850アミノ酸～約1000アミノ酸、約850アミノ酸～約950アミノ酸、約850アミノ酸～約900アミノ酸、約900アミノ酸～約1000アミノ酸、約900アミノ酸～約950アミノ酸、または約950アミノ酸～約1000アミノ酸を有し得る。

【0065】

本明細書に記載の標的結合ドメインのうちのいずれも、 1×10^{-7} M未満、 1×10^{-8} M未満、 1×10^{-9} M未満、 1×10^{-10} M未満、 1×10^{-11} M未満、 1×10^{-12} M未満、または 1×10^{-13} M未満の解離平衡定数 (K_D) でその標的に結合することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗原結合タンパク質構築物は、 1×10^{-3} M～約 1×10^{-5} M、約 1×10^{-4} M～約 1×10^{-6} M、約 1×1

10

20

30

40

50

$0^{-5} \text{ M} \sim 1 \times 10^{-7} \text{ M}$ 、 $1 \times 10^{-6} \text{ M} \sim 1 \times 10^{-8} \text{ M}$ 、 $1 \times 10^{-7} \text{ M} \sim 1 \times 10^{-9} \text{ M}$ 、 $1 \times 10^{-8} \text{ M} \sim 1 \times 10^{-10} \text{ M}$ 、または $1 \times 10^{-9} \text{ M} \sim 1 \times 10^{-11} \text{ M}$ （その上限および下限も含む）の K_D で特定の抗原に結合することができる。

【0066】

本明細書に記載の標的結合ドメインのうちのいずれも、約1 pM～約30 nM（例えば、約1 pM～約25 nM、約1 pM～約20 nM、約1 pM～約15 nM、約1 pM～約10 nM、約1 pM～約5 nM、約1 pM～約2 nM、約1 pM～約1 nM、約1 pM～約950 pM、約1 pM～約900 pM、約1 pM～約850 pM、約1 pM～約800 pM、約1 pM～約750 pM、約1 pM～約700 pM、約1 pM～約650 pM、約1 pM～約600 pM、約1 pM～約550 pM、約1 pM～約500 pM、約1 pM～約450 pM、約1 pM～約400 pM、約1 pM～約350 pM、約1 pM～約300 pM、約1 pM～約250 pM、約1 pM～約200 pM、約1 pM～約150 pM、約1 pM～約100 pM、約1 pM～約90 pM、約1 pM～約80 pM、約1 pM～約70 pM、約1 pM～約60 pM、約1 pM～約50 pM、約1 pM～約40 pM、約1 pM～約30 pM、約1 pM～約20 pM、約1 pM～約10 pM、約1 pM～約5 pM、約1 pM～約4 pM、約1 pM～約3 pM、約1 pM～約2 pM、約2 pM～約30 nM、約2 pM～約25 nM、約2 pM～約20 nM、約2 pM～約15 nM、約2 pM～約10 nM、約2 pM～約5 nM、約2 pM～約2 nM、約2 pM～約1 nM、約2 pM～約950 pM、約2 pM～約900 pM、約2 pM～約850 pM、約2 pM～約800 pM、約2 pM～約750 pM、約2 pM～約700 pM、約2 pM～約650 pM、約2 pM～約600 pM、約2 pM～約550 pM、約2 pM～約500 pM、約2 pM～約450 pM、約2 pM～約400 pM、約2 pM～約350 pM、約2 pM～約300 pM、約2 pM～約250 pM、約2 pM～約200 pM、約2 pM～約150 pM、約2 pM～約100 pM、約2 pM～約90 pM、約2 pM～約80 pM、約2 pM～約70 pM、約2 pM～約60 pM、約2 pM～約50 pM、約2 pM～約40 pM、約2 pM～約30 pM、約2 pM～約20 pM、約2 pM～約10 pM、約2 pM～約5 pM、約2 pM～約4 pM、約2 pM～約3 pM、約5 pM～約30 nM、約5 pM～約25 nM、約5 pM～約20 nM、約5 pM～約15 nM、約5 pM～約10 nM、約5 pM～約5 nM、約5 pM～約2 nM、約5 pM～約1 nM、約5 pM～約950 pM、約5 pM～約900 pM、約5 pM～約850 pM、約5 pM～約800 pM、約5 pM～約750 pM、約5 pM～約700 pM、約5 pM～約650 pM、約5 pM～約600 pM、約5 pM～約550 pM、約5 pM～約500 pM、約5 pM～約450 pM、約5 pM～約400 pM、約5 pM～約350 pM、約5 pM～約300 pM、約5 pM～約250 pM、約5 pM～約200 pM、約5 pM～約150 pM、約5 pM～約100 pM、約5 pM～約90 pM、約5 pM～約80 pM、約5 pM～約70 pM、約5 pM～約60 pM、約5 pM～約50 pM、約5 pM～約40 pM、約5 pM～約30 pM、約5 pM～約20 pM、約5 pM～約10 pM、約10 pM～約30 nM、約10 pM～約25 nM、約10 pM～約20 nM、約10 pM～約15 nM、約10 pM～約10 nM、約10 pM～約5 nM、約10 pM～約2 nM、約10 pM～約1 nM、約10 pM～約950 pM、約10 pM～約900 pM、約10 pM～約850 pM、約10 pM～約800 pM、約10 pM～約750 pM、約10 pM～約700 pM、約10 pM～約650 pM、約10 pM～約600 pM、約10 pM～約550 pM、約10 pM～約500 pM、約10 pM～約450 pM、約10 pM～約400 pM、約10 pM～約350 pM、約10 pM～約300 pM、約10 pM～約250 pM、約10 pM～約200 pM、約10 pM～約150 pM、約10 pM～約100 pM、約10 pM～約90 pM、約10 pM～約80 pM、約10 pM～約70 pM、約10 pM～約60 pM、約10 pM～約50 pM、約10 pM～約40 pM、約10 pM～約30 pM、約10 pM～約20 pM、約15 pM～約30 nM、約15 pM～約25 nM、約15 pM～約20 nM、約15 pM～約15 nM、約15 pM～約10 nM、約15 pM～約5 nM、約15 pM～

10

20

30

40

50

約2 nM、約15 pM～約1 nM、約15 pM～約950 pM、約15 pM～約900 pM、約15 pM～約850 pM、約15 pM～約800 pM、約15 pM～約750 pM、約15 pM～約700 pM、約15 pM～約650 pM、約15 pM～約600 pM、約15 pM～約550 pM、約15 pM～約500 pM、約15 pM～約450 pM、約15 pM～約400 pM、約15 pM～約350 pM、約15 pM～約300 pM、約15 pM～約250 pM、約15 pM～約200 pM、約15 pM～約150 pM、約15 pM～約100 pM、約15 pM～約90 pM、約15 pM～約80 pM、約15 pM～約70 pM、約15 pM～約60 pM、約15 pM～約50 pM、約15 pM～約40 pM、約15 pM～約30 pM、約15 pM～約20 pM、約20 pM～約30 nM、約20 pM～約25 nM、約20 pM～約20 nM、約20 pM～約15 nM、約20 pM～約10 nM、約20 pM～約5 nM、約20 pM～約2 nM、約20 pM～約1 nM、約20 pM～約950 pM、約20 pM～約900 pM、約20 pM～約850 pM、約20 pM～約800 pM、約20 pM～約750 pM、約20 pM～約700 pM、約20 pM～約650 pM、約20 pM～約600 pM、約20 pM～約550 pM、約20 pM～約500 pM、約20 pM～約450 pM、約20 pM～約400 pM、約20 pM～約350 pM、約20 pM～約300 pM、約20 pM～約250 pM、約20 pM～約20 pM、約200 pM～約150 pM、約20 pM～約100 pM、約20 pM～約90 pM、約20 pM～約80 pM、約20 pM～約70 pM、約20 pM～約60 pM、約20 pM～約50 pM、約20 pM～約40 pM、約20 pM～約30 pM、約30 pM～約30 nM、約30 pM～約25 nM、約30 pM～約30 nM、約30 pM～約15 nM、約30 pM～約10 nM、約30 pM～約5 nM、約30 pM～約2 nM、約30 pM～約1 nM、約30 pM～約950 pM、約30 pM～約900 pM、約30 pM～約850 pM、約30 pM～約800 pM、約30 pM～約750 pM、約30 pM～約700 pM、約30 pM～約650 pM、約30 pM～約600 pM、約30 pM～約550 pM、約30 pM～約500 pM、約30 pM～約450 pM、約30 pM～約400 pM、約30 pM～約350 pM、約30 pM～約300 pM、約30 pM～約250 pM、約30 pM～約200 pM、約30 pM～約150 pM、約30 pM～約100 pM、約30 pM～約90 pM、約30 pM～約80 pM、約30 pM～約70 pM、約30 pM～約60 pM、約30 pM～約50 pM、約30 pM～約40 pM、約40 pM～約30 nM、約40 pM～約25 nM、約40 pM～約30 nM、約40 pM～約15 nM、約40 pM～約10 nM、約40 pM～約5 nM、約40 pM～約2 nM、約40 pM～約1 nM、約40 pM～約950 pM、約40 pM～約900 pM、約40 pM～約850 pM、約40 pM～約800 pM、約40 pM～約750 pM、約40 pM～約700 pM、約40 pM～約650 pM、約40 pM～約600 pM、約40 pM～約550 pM、約40 pM～約500 pM、約40 pM～約450 pM、約40 pM～約400 pM、約40 pM～約350 pM、約40 pM～約300 pM、約40 pM～約250 pM、約40 pM～約200 pM、約40 pM～約150 pM、約40 pM～約100 pM、約40 pM～約90 pM、約40 pM～約80 pM、約40 pM～約70 pM、約40 pM～約60 pM、約40 pM～約50 pM、約50 pM～約30 nM、約50 pM～約25 nM、約50 pM～約30 nM、約50 pM～約15 nM、約50 pM～約10 nM、約50 pM～約5 nM、約50 pM～約2 nM、約50 pM～約1 nM、約50 pM～約950 pM、約50 pM～約900 pM、約50 pM～約850 pM、約50 pM～約800 pM、約50 pM～約750 pM、約50 pM～約700 pM、約50 pM～約650 pM、約50 pM～約600 pM、約50 pM～約550 pM、約50 pM～約500 pM、約50 pM～約450 pM、約50 pM～約400 pM、約50 pM～約350 pM、約50 pM～約300 pM、約50 pM～約250 pM、約50 pM～約200 pM、約50 pM～約150 pM、約50 pM～約100 pM、約50 pM～約90 pM、約50 pM～約80 pM、約50 pM～約70 pM、約50 pM～約60 pM、約60 pM～約30 nM、約60 pM～約25 nM、約60 pM～約30 nM、約60 pM～約15 nM、約60 pM～約10 nM、約60 pM～約5 nM、約60 pM～約2 nM、

10

20

30

40

50

約60 pM～約1 nM、約60 pM～約950 pM、約60 pM～約900 pM、約60 pM～約850 pM、約60 pM～約800 pM、約60 pM～約750 pM、約60 pM～約700 pM、約60 pM～約650 pM、約60 pM～約600 pM、約60 pM～約550 pM、約60 pM～約500 pM、約60 pM～約450 pM、約60 pM～約400 pM、約60 pM～約350 pM、約60 pM～約300 pM、約60 pM～約250 pM、約60 pM～約200 pM、約60 pM～約150 pM、約60 pM～約100 pM、約60 pM～約90 pM、約60 pM～約80 pM、約60 pM～約70 pM、約70 pM～約30 nM、約70 pM～約25 nM、約70 pM～約30 nM、約70 pM～約15 nM、約70 pM～約10 nM、約70 pM～約5 nM、約70 pM～約2 nM、約70 pM～約1 nM、約70 pM～約950 pM、約70 pM～約900 pM、約70 pM～約850 pM、約70 pM～約800 pM、約70 pM～約750 pM、約70 pM～約700 pM、約70 pM～約650 pM、約70 pM～約600 pM、約70 pM～約550 pM、約70 pM～約500 pM、約70 pM～約450 pM、約70 pM～約400 pM、約70 pM～約350 pM、約70 pM～約300 pM、約70 pM～約250 pM、約70 pM～約200 pM、約70 pM～約150 pM、約70 pM～約100 pM、約70 pM～約90 pM、約70 pM～約80 pM、約80 pM～約30 nM、約80 pM～約25 nM、約80 pM～約30 nM、約80 pM～約15 nM、約80 pM～約10 nM、約80 pM～約5 nM、約80 pM～約2 nM、約80 pM～約1 nM、約80 pM～約950 pM、約80 pM～約900 pM、約80 pM～約850 pM、約80 pM～約800 pM、約80 pM～約750 pM、約80 pM～約700 pM、約80 pM～約650 pM、約80 pM～約600 pM、約80 pM～約550 pM、約80 pM～約500 pM、約80 pM～約450 pM、約80 pM～約400 pM、約80 pM～約350 pM、約80 pM～約300 pM、約80 pM～約250 pM、約80 pM～約200 pM、約80 pM～約150 pM、約80 pM～約100 pM、約80 pM～約90 pM、約90 pM～約30 nM、約90 pM～約25 nM、約90 pM～約30 nM、約90 pM～約15 nM、約90 pM～約10 nM、約90 pM～約5 nM、約90 pM～約2 nM、約90 pM～約1 nM、約90 pM～約950 pM、約90 pM～約900 pM、約90 pM～約850 pM、約90 pM～約800 pM、約90 pM～約750 pM、約90 pM～約700 pM、約90 pM～約650 pM、約90 pM～約600 pM、約90 pM～約550 pM、約90 pM～約500 pM、約90 pM～約450 pM、約90 pM～約400 pM、約90 pM～約350 pM、約90 pM～約300 pM、約90 pM～約250 pM、約90 pM～約200 pM、約90 pM～約150 pM、約90 pM～約100 pM、約100 pM～約30 nM、約100 pM～約25 nM、約100 pM～約30 nM、約100 pM～約15 nM、約100 pM～約10 nM、約100 pM～約5 nM、約100 pM～約2 nM、約100 pM～約1 nM、約100 pM～約950 pM、約100 pM～約900 pM、約100 pM～約850 pM、約100 pM～約800 pM、約100 pM～約750 pM、約100 pM～約700 pM、約100 pM～約650 pM、約100 pM～約600 pM、約100 pM～約550 pM、約100 pM～約500 pM、約100 pM～約450 pM、約100 pM～約400 pM、約100 pM～約350 pM、約100 pM～約300 pM、約100 pM～約250 pM、約100 pM～約200 pM、約100 pM～約150 pM、約150 pM～約30 nM、約150 pM～約25 nM、約150 pM～約30 nM、約150 pM～約15 nM、約150 pM～約10 nM、約150 pM～約5 nM、約150 pM～約2 nM、約150 pM～約1 nM、約150 pM～約950 pM、約150 pM～約900 pM、約150 pM～約850 pM、約150 pM～約800 pM、約150 pM～約750 pM、約150 pM～約700 pM、約150 pM～約650 pM、約150 pM～約600 pM、約150 pM～約550 pM、約150 pM～約500 pM、約150 pM～約450 pM、約150 pM～約400 pM、約150 pM～約350 pM、約150 pM～約300 pM、約150 pM～約250 pM、約150 pM～約200 pM、約200 pM～約30 nM、約200 pM～約25 nM、約200 pM～約30 nM、

10

20

30

40

50

約200pM～約15nM、約200pM～約10nM、約200pM～約5nM、約200pM～約2nM、約200pM～約1nM、約200pM～約950pM、約200pM～約900pM、約200pM～約850pM、約200pM～約800pM、約200pM～約750pM、約200pM～約700pM、約200pM～約650pM、約200pM～約600pM、約200pM～約550pM、約200pM～約500pM、約200pM～約450pM、約200pM～約400pM、約200pM～約350pM、約200pM～約300pM、約200pM～約250pM、約300pM～約30nM、約300pM～約25nM、約300pM～約30nM、約300pM～約15nM、約300pM～約10nM、約300pM～約5nM、約300pM～約2nM、約300pM～約1nM、約300pM～約950pM、約300pM～約900pM、約300pM～約850pM、約300pM～約800pM、約300pM～約750pM、約300pM～約700pM、約300pM～約650pM、約300pM～約600pM、約300pM～約550pM、約300pM～約500pM、約300pM～約450pM、約300pM～約400pM、約300pM～約350pM、約400pM～約30nM、約400pM～約25nM、約400pM～約30nM、約400pM～約15nM、約400pM～約10nM、約400pM～約5nM、約400pM～約2nM、約400pM～約1nM、約400pM～約950pM、約400pM～約900pM、約400pM～約850pM、約400pM～約800pM、約400pM～約750pM、約400pM～約700pM、約400pM～約650pM、約400pM～約600pM、約400pM～約550pM、約400pM～約500pM、約500pM～約30nM、約500pM～約25nM、約500pM～約30nM、約500pM～約15nM、約500pM～約10nM、約500pM～約5nM、約500pM～約2nM、約500pM～約1nM、約500pM～約950pM、約500pM～約900pM、約500pM～約850pM、約500pM～約800pM、約500pM～約750pM、約500pM～約700pM、約500pM～約650pM、約500pM～約600pM、約500pM～約550pM、約600pM～約30nM、約600pM～約25nM、約600pM～約30nM、約600pM～約15nM、約600pM～約10nM、約600pM～約5nM、約600pM～約2nM、約600pM～約1nM、約600pM～約950pM、約600pM～約900pM、約600pM～約850pM、約600pM～約800pM、約600pM～約750pM、約600pM～約700pM、約600pM～約650pM、約700pM～約30nM、約700pM～約25nM、約700pM～約30nM、約700pM～約15nM、約700pM～約10nM、約700pM～約5nM、約700pM～約2nM、約700pM～約1nM、約700pM～約950pM、約700pM～約900pM、約700pM～約850pM、約700pM～約800pM、約700pM～約750pM、約800pM～約30nM、約800pM～約25nM、約800pM～約30nM、約800pM～約15nM、約800pM～約10nM、約800pM～約5nM、約800pM～約2nM、約800pM～約1nM、約800pM～約950pM、約800pM～約900pM、約800pM～約850pM、約900pM～約30nM、約900pM～約25nM、約900pM～約30nM、約900pM～約15nM、約900pM～約10nM、約900pM～約5nM、約900pM～約2nM、約900pM～約1nM、約900pM～約950pM、約1nM～約30nM、約1nM～約25nM、約1nM～約20nM、約1nM～約15nM、約1nM～約10nM、約1nM～約5nM、約2nM～約30nM、約2nM～約25nM、約2nM～約20nM、約2nM～約15nM、約2nM～約10nM、約2nM～約5nM、約4nM～約30nM、約4nM～約25nM、約4nM～約20nM、約4nM～約15nM、約4nM～約10nM、約4nM～約5nM、約5nM～約30nM、約5nM～約25nM、約5nM～約20nM、約5nM～約15nM、約5nM～約10nM、約10nM～約30nM、約10nM～約25nM、約10nM～約20nM、約10nM～約15nM、約15nM～約30nM、約15nM～約25nM、約15nM～約20nM、約20nM～約30nM、および

10

20

30

40

50

約 20 nM～約 25 nM) の K_D でその標的に結合することができる。

【0067】

本明細書に記載の標的結合ドメインのうちのいずれも、約 1 nM～約 10 nM (例えば、約 1 nM～約 9 nM、約 1 nM～約 8 nM、約 1 nM～約 7 nM、約 1 nM～約 6 nM、約 1 nM～約 5 nM、約 1 nM～約 4 nM、約 1 nM～約 3 nM、約 1 nM～約 2 nM、約 2 nM～約 10 nM、約 2 nM～約 9 nM、約 2 nM～約 8 nM、約 2 nM～約 7 nM、約 2 nM～約 6 nM、約 2 nM～約 5 nM、約 2 nM～約 4 nM、約 2 nM～約 3 nM、約 3 nM～約 10 nM、約 3 nM～約 9 nM、約 3 nM～約 8 nM、約 3 nM～約 7 nM、約 3 nM～約 6 nM、約 3 nM～約 5 nM、約 3 nM～約 4 nM、約 4 nM～約 10 nM、約 4 nM～約 9 nM、約 4 nM～約 8 nM、約 4 nM～約 7 nM、約 4 nM～約 6 nM、約 4 nM～約 5 nM、約 5 nM～約 10 nM、約 5 nM～約 9 nM、約 5 nM～約 8 nM、約 5 nM～約 7 nM、約 5 nM～約 6 nM、約 6 nM～約 10 nM、約 6 nM～約 9 nM、約 6 nM～約 8 nM、約 6 nM～約 7 nM、約 7 nM～約 10 nM、約 7 nM～約 9 nM、約 7 nM～約 8 nM、約 8 nM～約 10 nM、約 8 nM～約 9 nM、および約 9 nM～約 10 nM) の K_D でその標的に結合することができる。

【0068】

当該技術分野で既知の様々な異なる方法を使用して、本明細書に記載の抗原結合タンパク質構築物のうちのいずれの K_D 値も決定することができる (例えば、電気泳動移動度シフトアッセイ、フィルター結合アッセイ、表面プラズモン共鳴、および生体分子結合反応速度アッセイ等)。

【0069】

抗原結合ドメイン

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じ抗原に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じエпитープに特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じアミノ酸配列を含む。

【0070】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、異なる抗原に特異的に結合する。

【0071】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインの一方または両方は、抗原結合ドメインである。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々、抗原結合ドメインである。

【0072】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、scFvまたは単ドメイン抗体 (例えば、VHHまたはVNARドメイン) を含むか、またはそれである。

【0073】

いくつかの例では、抗原結合ドメイン (例えば、本明細書に記載の抗原結合ドメインのうちのいずれか) は、CD16a (例えば、米国特許第9,035,026号に記載のものを参照のこと)、CD28 (例えば、米国特許第7,723,482号に記載のものを参照のこと)、CD3 (例えば、米国特許第9,226,962号に記載のものを参照のこと)、CD33 (例えば、米国特許第8,759,494号に記載のものを参照のこと)、CD20 (例えば、WO2014/026054に記載のものを参照のこと)、CD19 (例えば、米国特許第9,701,758号に記載のものを参照のこと)、CD22

10

20

30

40

50

(例えば、WO2003/104425に記載のものを参照のこと)、CD123 (例えば、WO2014/130635に記載のものを参照のこと)、IL-1R (例えば、米国特許第8,741,604号に記載のものを参照のこと)、IL-1 (例えば、WO2014/095808に記載のものを参照のこと)、VEGF (例えば、米国特許第9,090,684号に記載のものを参照のこと)、IL-6R (例えば、米国特許第7,482,436号に記載のものを参照のこと)、IL-4 (例えば、米国特許出願公開第2012/0171197号に記載のものを参照のこと)、IL-10 (例えば、米国特許出願公開第2016/0340413号に記載のものを参照のこと)、PDL-1 (例えば、Drees et al., Protein Express. Purif. 94:60-66, 2014に記載のものを参照のこと)、TIGIT (例えば、米国特許出願公開第2017/0198042号に記載のものを参照のこと)、PD-1 (例えば、米国特許第7,488,802号に記載のものを参照のこと)、TIM3 (例えば、米国特許第8,552,156号に記載のものを参照のこと)、CTLA4 (例えば、WO2012/120125に記載のものを参照のこと)、MICA (例えば、WO2016/154585に記載のものを参照のこと)、MICB (例えば、米国特許第8,753,640号に記載のものを参照のこと)、IL-6 (例えば、Gejima et al., Human Antibodies 11(4):121-129, 2002に記載のものを参照のこと)、IL-8 (例えば、米国特許第6,117,980号に記載のものを参照のこと)、TNF α (例えば、Geng et al., Immunol. Res. 62(3):377-385, 2015に記載のものを参照のこと)、CD26a (例えば、WO2017/189526に記載のものを参照のこと)、CD36 (例えば、米国特許出願公開第2015/0259429号に記載のものを参照のこと)、ULBP2 (例えば、米国特許第9,273,136号に記載のものを参照のこと)、CD30 (例えば、Homach et al., Scand. J. Immunol. 48(5):497-501, 1998に記載のものを参照のこと)、CD200 (例えば、米国特許第9,085,623号に記載のものを参照のこと)、IGF-1R (例えば、米国特許出願公開第2017/0051063号に記載のものを参照のこと)、MUC4AC (例えば、WO2012/170470に記載のものを参照のこと)、MUC5AC (例えば、米国特許第9,238,084号に記載のものを参照のこと)、Trop-2 (例えば、WO2013/068946に記載のものを参照のこと)、CMET (例えば、Edwardraja et al., Biotechnol. Bioeng. 106(3):367-375, 2010に記載のものを参照のこと)、EGFR (例えば、Akbari et al., Protein Expr. Purif. 127:8-15, 2016に記載のものを参照のこと)、HER1 (例えば、米国特許出願公開第2013/0274446号に記載のものを参照のこと)、HER2 (例えば、Cao et al., Biotechnol. Lett. 37(7):1347-1354, 2015に記載のものを参照のこと)、HER3 (例えば、米国特許第9,505,843号に記載のものを参照のこと)、PSMA (例えば、Parker et al., Protein Expr. Purif. 89(2):136-145, 2013に記載のものを参照のこと)、CEA (例えば、WO1995/015341に記載のものを参照のこと)、B7H3 (例えば、米国特許第9,371,395号に記載のものを参照のこと)、EPCAM (例えば、WO2014/159531に記載のものを参照のこと)、BCMA (例えば、Smith et al., Mol. Ther. 26(6):1447-1456, 2018に記載のものを参照のこと)、P-cadherin (例えば、米国特許第7,452,537号に記載のものを参照のこと)、CEACAM5 (例えば、米国特許第9,617,345号に記載のものを参照のこと)、UL16結合タンパク質 (例えば、WO2017/083612に記載のものを参照のこと)、HLA-DR (例えば、Pistillo et al., Exp. Clin. Immunogenet. 14(2):123-130, 1997を参照のこと)、DLL4 (例えば、WO2014/007513に記載のものを参照のこと)、TYRO3 (例えば、WO2016/166348に記載のものを参照のこと)、A

10

20

30

40

50

XL（例えば、WO2012/175692に記載のものを参照のこと）、MER（例えば、WO2016/106221に記載のものを参照のこと）、CD122（例えば、米国特許出願公開第2016/0367664号に記載のものを参照のこと）、CD155（例えば、WO2017/149538に記載のものを参照のこと）、またはPDGFD（例えば、米国特許第9,441,034号に記載のものを参照のこと）のうちのいずれか1つに特異的に結合することができる。

【0074】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかに存在する抗原結合ドメインは各々独立して、VHHドメイン、VNARDドメイン、およびscFvからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗原結合ドメインのうちのいずれかは、BiTe、(scFv)₂、ナノボディ、ナノボディー-HSA、DART、TandAb、scDiabody、scDiabody-CH3、scFv-CH-CL-scFv、HSAbody、scDiabody-HAS、またはタンデム-scFvである。多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかで使用され得る抗原結合ドメインの追加の例は、当該技術分野で既知である。

【0075】

VHHドメインは、ラクダ科動物に見られ得る単一単量体可変抗体ドメインである。VNARDドメインは、軟骨魚に見られ得る単一単量体可変抗体ドメインです。VHHドメインおよびVNARDドメインの非限定的な態様は、例えば、Cromie et al., Curr. Top. Med. Chem. 15:2543-2557, 2016、De Genst et al., Dev. Comp. Immunol. 30:187-198, 2006、De Meyer et al., Trends Biotechnol. 32:263-270, 2014、Kijanka et al., Nanomedicine 10:161-174, 2015、Kovaleva et al., Expert. Opin. Biol. Ther. 14:1527-1539, 2014、Krah et al., Immunopharmacol. Immunotoxicol. 38:21-28, 2016、Mujic-Delic et al., Trends Pharmacol. Sci. 35:247-255, 2014、Muyldermans, J. Biotechnol. 74:277-302, 2001、Muyldermans et al., Trends Biochem. Sci. 26:230-235, 2001、Muyldermans, Ann. Rev. Biochem. 82:775-797, 2013、Rahbarizadeh et al., Immunol. Invest. 40:299-338, 2011、Van Audenhove et al., EBioMedicine 8:40-48, 2016、Van Bockstaele et al., Curr. Opin. Investig. Drugs 10:1212-1224, 2009、Vinccke et al., Methods Mol. Biol. 911:15-26, 2012、およびWesolowski et al., Med. Microbiol. Immunol. 198:157-174, 2009に記載されている。

【0076】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチド内の抗原結合ドメインは各々、いずれもVHHドメインであるか、または少なくとも1つの抗原結合ドメインがVHHドメインである。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチド内の抗原結合ドメインは各々、いずれもVNARDドメインであるか、または少なくとも1つの抗原結合ドメインがVNARDドメインである。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドの抗原結合ドメインは各々、いずれもscFvドメインであるか、または少なくとも1つの抗原結合ドメインがscFvドメインである。

【0077】

いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドに存在する2つ以上のポリペプチドは、集合して（例えば、非共有結合的に集合して）、本明細書に記載の抗原結合ドメインのうちのいずれか、例えば、抗体の抗原結合断片（例えば、本明細書に記載の抗体の抗原

10

20

30

40

50

結合断片のうちのいずれか)、VHH-scAb、VHH-Fab、二重scFab、F(ab')₂、ダイアボディ、crossMab、DAF(ツーンワン)、DAF(フォーインワン)、DutaMab、DT-IgG、ノブ・イン・ホール共通軽鎖、ノブ・イン・ホール集合体、電荷対、Fabアーム交換、SEEDbody、LUZ-Y、Fcab、κλ-ボディ、直交Fab、DVD-IgG、IgG(H)-scFv、scFv-(H)IgG、IgG(L)-scFv、scFv-(L)IgG、IgG(L,H)-Fv、IgG(H)-V、V(H)-IgG、IgG(L)-V、V(L)-IgG、KIH IgG-scFab、2scFv-IgG、IgG-2scFv、scFv4-IgG、Zybody、DVI-IgG、ダイアボディー-CH₃、トリプルボディ、ミノ抗体、ミニボディ、TriBiミニボディ、scFv-CH₃ KIH、Fab-scFv、F(ab')₂-scFv₂、scFv-KIH、Fab-scFv-Fc、四価HCAb、scダイアボディー-Fc、ダイアボディー-Fc、タンデムscFv-Fc、イントラボディ、ドック・アンド・ロック、lmmTAC、IgG-IgGコンジュゲート、Cov-X-Body、およびscFv1-PEG-scFv2を形成することができる。これらの要素の説明については、例えば、全体が本明細書に組み込まれるSpieß et al., Mol. Immunol. 67:95-106, 2015を参照されたい。抗体の抗原結合断片の非限定的な例には、Fv断片、Fab断片、F(ab')₂断片、およびFab'断片が挙げられる。抗体の抗原結合断片の追加の例は、IgGの抗原結合断片(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4の抗原結合断片)(例えば、ヒトまたはヒト化IgG、例えば、ヒトまたはヒト化IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4の抗原結合断片)、IgAの抗原結合断片(例えば、IgA1またはIgA2の抗原結合断片)(例えば、ヒトまたはヒト化IgA、例えば、ヒトまたはヒト化IgA1またはIgA2の抗原結合断片)、IgDの抗原結合断片(例えば、ヒトまたはヒト化IgDの抗原結合断片)、IgEの抗原結合断片(例えば、ヒトまたはヒト化IgEの抗原結合断片)、またはIgMの抗原結合断片(例えば、ヒトまたはヒト化IgMの抗原結合断片)である。

【0078】

「Fv」断片は、1つの重鎖可変ドメインおよび1つの軽鎖可変ドメインを有する非共有結合二量体を含む。

【0079】

「Fab」断片は、Fv断片の重鎖および軽鎖可変ドメインに加えて、軽鎖の定常ドメインおよび重鎖の第1の定常ドメイン(CH₁)を含む。

【0080】

「F(ab')₂」断片には、ヒンジ領域の近くでジスルフィド結合によって結合された2つのFab断片が含まれる。

【0081】

「二重可変ドメイン免疫グロブリン」または「DVD-Ig」とは、例えば、各々参照により全体が組み込まれる、DiGiammarino et al., Methods Mol. Biol. 899:145-156, 2012、Jakob et al., MABS 5:358-363, 2013、および米国特許第7,612,181号、同第8,258,268号、同第8,586,714号、同第8,716,450号、同第8,722,855号、同第8,735,546号、および同第8,822,645号に記載の多価および多重特異性結合タンパク質を指す。

【0082】

DARTは、例えば、Garber, Nature Reviews Drug Discovery 13:799-801, 2014に記載されている。

【0083】

本明細書に記載の抗原結合ドメインのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、タンパク質、炭水化物、脂質、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される抗原に結合することができる。

10

20

30

40

50

【0084】

抗原結合ドメインの追加の例および態様は、当該技術分野で既知である。

【0085】

可溶性インターロイキンまたはサイトカインタンパク質

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインの一方または両方は、可溶性インターロイキンタンパク質または可溶性サイトカインタンパク質であり得る。いくつかの実施形態では、可溶性インターロイキンまたは可溶性サイトカインタンパク質は、IL-2、IL-3、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-15、IL-17、IL-18、IL-21、PDGF-DD、SCF、およびFLT3Lの群から選択される。可溶性IL-2、IL-3、IL-7、IL-8、IL-10、IL-15、IL-17、IL-18、IL-21、PDGF-DD、SCF、およびFLT3Lの非限定的な例が以下に提供される。

ヒト可溶性IL-2（配列番号9）

aptssstkkkt qlqlehlld lqmilnginn yknpklt
ml tfkfympkka telkhlqcle eelkpleevl nlaqs
knfhl rprdlisnin vivlelkgse
ttfmceyade tativeflnr witfcqsiiis tlt

ヒト可溶性IL-3（配列番号10）

apmtqttplkt swvncsnmid eiithlkqpp lplldfn
nlngedqdilmen nlrrpnleaf nravkslqna saie
silknllpclplataa ptrhpihikd
gdwnefrkl tfylktlena qaqqttls la if

ヒト可溶性IL-7（配列番号11）

dcdiegkdgkqyesv lmvsidqlld smkeigsnc l nne
fnffkrh icdankegmf lfraarklrq flkmnstgdf
dlhllkvseg ttillnctgq vkgrkpaalg eaqptksl
eenkslkeqkkl ndlcflkrll qeiktcwnki lmgtkesh

ヒト可溶性IL-8（配列番号12）

egavlprsak elrcqcikty skpfhpkfik elrviesg
ph canteiivkl sdgrelcldp kenwvqrvve kflkr
aens

ヒト可溶性IL-10（配列番号13）

spgqgtqsensc thfpgnlpnm lrdlrdafrs vktffq
mkdq ldnlllkesl ledfkgyllgc qalsemiqfy lee
vmpqaen qdpdikahvn slgenlktlr
lrlrrchrfl pcenkskave qvknafnklq ekgiykam
se fdifinyiea ymtmkirn

ヒト可溶性IL-15（配列番号14）

Nwvnvisdlkki edliqsmhid atlytesdvh psckvt
amkc fllellqvsl esgdasihdt venliilann sls
sngnvte sgckeceele eknikeflqs fvhivqmfin ts

ヒト可溶性IL-17（配列番号15）

gitiprn pgcpnsedkn fprtvmvnl n ihnrntntnp
krssdyynrs tspwnlhrne dperypsviw eakcrhl
gci nadgnvdyhm nsvpiqqeil
vlrrepphpc nsfrlekilv svgctcvtpi vhhva

ヒト可溶性IL-18（配列番号16）

yfgklesklsvirn lndqvlfidq gnrplfedmt dsdc
rdnapr tifiismykd sqprgmavti svkcekistl s

10

20

30

40

50

cenkiisfk emnppdnikd tksdiiffqr svpghdnkm
q fesssyegyf lacekerdlf klilkkedel gdrsim
ftvq ned

ヒト可溶性PDGF-DD (配列番号17)

rdtsatpqsasi kalrnanlrr desnhltdly rrdeti
qvkg ngyvqsprfp nsyprnlllt wrlhsqentr iql
vfdnqfg leeaendicr ydfvevedis
etstiirgrw cghkevppri ksrtmqikit fksddyfv
ak pgfkiiysll edfqpaase tnwesvtssi sgvsy
nspsv tdptliadal dkkiaefdtv edllkyfnpe sw
qedlenmy ldtpryrgrs yhdrkskvdL drlnddakry
sctprnysvn ireelklanv vffprcllvq rcggncgc
gt vnwrscctcns gktvkkkyhev lqfepghikr rgrak
tmalv diqldhherc dcicssrppr

10

ヒト可溶性SCF (配列番号18)

egicrnrvtnnvkdv tklv anl pkd ymitlkyvpg mdv
lpshcwi semvvqlsds ltdlldkfsn iseglsnysi
idklvnivdd lvecvkenss kdlkksfksp eprlftpe
ef frifnrsida fkdffvvaset sdcvvsstls pekds
rvsvt

20

kpfmlppvaa sslrndssss nrkaknppgd sslhwaam
al palfsliigf afgalywkk r qpsltraven iqine
ednei smlqekeref qev

ヒト可溶性FLT3L (配列番号19)

tqdcsfqhspissd favkirelsd yllqdyptv asnl
qdeelc gglwrlvlaq rwmerlktva gskmqgller v
nteihfvtk cafqpppscl rfvtqtnisrl lqetseqlv
a lkpwithrqnf srclelqcqp dsstlpppws prplea
tapt

apqpplllll llpvgl llla aawclhwqrt rrrtprpg
eq vppvpsp qdl llveh

30

[0086]

可溶性MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、およびULBP6の非限定的な例が以下に提供される。

ヒト可溶性MICA (配列番号20)

ephslry nltvlswdgs vqsgfltevh ldgqpflrcd
rqkcrakpqg qwaedvlg nk twdretrdlt gngkd lrm
tl ahikdqkegl hslqeirvce
ihednstrss qhfyydgelf lsqnletkew tmpqssra
qt lamnvrnflk edamktkthy hamhadclqe lrryl
ksgvv lrrtvppmvn vtrseasegn itvtcrasgf yp
wnitlswr qdgvslshdt qqwgdvlpdg ngtyqt wvat
ricqgee qrf tcymehsgnh sthpvp sgkv lvlqshwq
tf hvsavaaaai fviiiifyvrc ckkktsaaeg pelvs
lqvld qhpvgtsdhr datqlgf qpl msdlgstgst ega

40

ヒト可溶性MICB (配列番号21)

aephslry nlmvlsqdes vqsgflaegh ldgqpflryd
rqkrrakpqg qwaedvlg ak twdtetedlt engqdlrr
tl thikdqkggl hslqeirvce
ihedsstrgs rhfyydgelf lsqnletqes tvpqssra

50

q t l a m n v t n f w k e d a m k t k t h y r a m q a d c l q k l q r y l
k s g v a i r r t v p p m v n v t c s e v s e g n i t v t c r a s s f y p
r n i t l t w r q d g v s l s h n t q q w g d v l p d g n g t y q t w v a t
r i r q g e e q r f t c y m e h s g n h g t h p v p s g k v l v l q s q r t
d f p y v s a a m p c f v i i i i l c v p c c k k k t s a a e g p e l v s
l q v l d q h p v g t g d h r

d a a q l g f q p l m s a t g s t g s t e g a

ヒト可溶性ULBP1 (配列番号22)

w v d t h c l c y d f i i t p k s r p e p q w c e v q g l v d e r p f l h y
d c v n h k a k a f a s l g k k v n v t k t w e e q t e t l r d v v d f l
k g q l l d i q v e n l i p i e p l t l q a r m s c e h e a h g h g r g s w
q f l f n g q k f l l f d s n n r k w t a l h p g a k k m t e k w e k n r
d v t m

f f q k i s l g d c k m w l e e f l m y w e q m l d p t k p p s l a p g

ヒト可溶性ULBP2 (配列番号23)

g r a d p h s l c y d i t v i p k f r p g p r w c a v q g q v d e k t f l h
y d c g n k t v t p v s p l g k k l n v t t a w k a q n p v l r e v v d i
l t e q l r d i q l e n y t p k e p l t l q a r m s c e q k a e g h s s g s
w q f s f d g q i f l l f d s e k r m w t t v h p g a r k m k e k w e n d
k v v a m s f h y f s m g d c i g w l e d f l m g m d s t l e p s a g a p
l a m s

ヒト可溶性ULBP3 (配列番号24)

d a h s l w y n f t i i h l p r h g q q w c e v q s q v d q k n f l s y d c
g s d k v l s m g h l e e q l y a t d a w g k q l e m l r e v g q r l r l
e l a d t e l e d f t p s g p l t l q v r m s c e c e a d g y i r g s w q
f s f d g r k f l l f d s n n r k w t v v h a g a r m k e k w e k d s g l t
t f f k m v s m r d c k s w l r d f l m h r k k r l e p t a p p t m a p g

ヒト可溶性ULBP4 (配列番号25)

h s l c f n f t i k s l s r p g q p w c e a q v f l n k n l f l q y n s d n
n m v k p l g l l g k k v y a t s t w g e l t q t l g e v g r d l r m l l
c d i k p q i k t s d p s t l q v e m f c q r e a e r c t g a s w q f a t
n g e k s l l f d a m n m t w t v i n h e a s k i k e t w k k d r g l e k y
f r k l s k g d c d h w l r e f l g h w e a m p e p t v s p v n a s d i h w
s s s s l p d r w i i l g a f i l l v l m g i v l i c v w w q n g e w q a
g l w p l r t s

ヒト可溶性ULBP5 (配列番号26)

g l a d p h s l c y d i t v i p k f r p g p r w c a v q g q v d e k t f l
h y d c g s k t v t p v s p l g k k l n v t t a w k a q n p v l r e v v d i
l t e q l l d i q l e n y i p k e p l t l q a r m s c e q k a e g h g s g s
w q l s f d g q i f l l f d s e n r m w t t v h p g a r k m k e k w e n d
k d m t m s f h y i s m g d c t g w l e d f l m g m d s t l e p s a g a p
p t m s s g

ヒト可溶性ULBP6 (配列番号27)

r r d d p h s l c y d i t v i p k f r p g p r w c a v q g q v d e k t f l
h y d c g n k t v t p v s p l g k k l n v t m a w k a q n p v l r e v v d i
l t e q l l d i q l e n y t p k e p l t l q a r m s c e q k a e g h s s g s
w q f s i d g q t f l l f d s e k r m w t t v h p g a r k m k e k w e n d
k d v a m s f h y i s m g d c i g w l e d f l m g m d s t l e p s a g a p
l a m s s g

[0087]

10

20

30

40

50

可溶性インターロイキンタンパク質および可溶性サイトカインタンパク質の追加の例は、当該技術分野で既知である。

【0088】

可溶性受容体

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインの一方または両方は、可溶性インターロイキン受容体、可溶性サイトカイン受容体、またはリガンド受容体である。いくつかの実施形態では、可溶性受容体は、可溶性TGF- β 受容体II (TGF- β RII) である (例えば、Yung et al., Am. J. Resp. Crit. Care Med. 194 (9) : 1140-1151, 2016に記載のものを参照のこと)、可溶性TGF- β RIII (例えば、Heng et al., Placenta 57:320, 2017に記載のものを参照のこと)、可溶性NKG2D (例えば、Cosman et al., Immunity 14 (2) : 123-133, 2001、Costa et al., Front. Immunol., Vol. 9, Article 1150, May 29, 2018、doi:10.3389/fimmu.2018.01150を参照のこと)、可溶性NKp30 (例えば、Costa et al., Front. Immunol., Vol. 9, Article 1150, May 29, 2018、doi:10.3389/fimmu.2018.01150を参照のこと)、可溶性NKp44 (例えば、Costa et al., Front. Immunol., Vol. 9, Article 1150, May 29, 2018、doi:10.3389/fimmu.2018.01150に記載のものを参照のこと)、可溶性NKp46 (例えば、Mandelboim et al., Nature 409:1055-1060, 2001、Costa et al., Front. Immunol., Vol. 9, Article 1150, May 29, 2018、doi:10.3389/fimmu.2018.01150を参照のこと)、可溶性DNAM-1 (例えば、Costa et al., Front. Immunol., Vol. 9, Article 1150, May 29, 2018、doi:10.3389/fimmu.2018.01150に記載のものを参照のこと)、scMHCI (例えば、Washburn et al., PLoS One 6 (3) : e18439, 2011に記載のものを参照のこと)、scMHCI (例えば、Bishwajit et al., Cellular Immunol. 170 (1) : 25-33, 1996に記載のものを参照のこと)、scTCR (例えば、Weber et al., Nature 356 (6372) : 793-796, 1992に記載のものを参照のこと)、可溶性CD155 (例えば、Tahara-Hanaoka et al., Int. Immunol. 16 (4) : 533-538, 2004に記載のものを参照のこと)、または可溶性CD28 (例えば、Hebbard et al., Clin. Exp. Immunol. 136:388-392, 2004を参照のこと)。

【0089】

可溶性インターロイキン受容体および可溶性サイトカイン受容体の追加の例は、当該技術分野で既知である。

【0090】

追加の抗原結合ドメイン

多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、1つ以上 (例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、または10) の追加の標的結合ドメイン (複数可) (例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか) をさらに含み、1つ以上の追加の抗原結合ドメインのうちの少なくとも1つが、可溶性組織因子ドメイン (例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれか) と一対の親和性ドメインの第1のドメイン (例えば、本明細書に記載の例示的な一対の親和性ドメインのうちのいずれかの例示的な第1のドメインのうちのいずれか) との間に位置付けられている。いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、可溶性組織因

子ドメイン（例えば、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれか）と1つ以上の追加の標的結合ドメイン（複数可）（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか）のうちの少なくとも1つとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的なリンカー配列のうちのいずれか）、および／または1つ以上の追加の標的結合ドメイン（複数可）（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか）のうちの少なくとも1つと一対の親和性ドメインの第1のドメイン（例えば、本明細書に記載の例示的な一対の親和性ドメインのうちのいずれかの本明細書に記載の例示的な第1のドメインのうちのいずれか）との間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的なリンカー配列のうちのいずれか）をさらに含み得る。

10

【0091】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチドのN末端および／またはC末端に1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、または10）の追加の標的結合ドメインをさらに含む。いくつかの実施形態では、1つ以上の追加の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか）のうちの少なくとも1つは、第1のキメラポリペプチド内の一対の親和性ドメインの第1のドメイン（例えば、本明細書に記載の例示的な一対の親和性ドメインのうちのいずれかの本明細書に記載の例示的な第1のドメインのうちのいずれか）に直接隣接している。いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、1つ以上の追加の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか）のうちの少なくとも1つと一対の親和性ドメインの第1のドメイン（例えば、本明細書に記載の例示的な一対の親和性ドメインのうちのいずれかの本明細書に記載の例示的な第1のドメインのうちのいずれか）との間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的なリンカー配列のうちのいずれか）をさらに含む。いくつかの実施形態では、1つ以上の追加の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか）のうちの少なくとも1つは、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか）に直接隣接している。いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、1つ以上の追加の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか）のうちの少なくとも1つと第1の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか）との間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的なリンカー配列のうちのいずれか）をさらに含む。

20

30

【0092】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、1つ以上の追加の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか）のうちの少なくとも1つは、第1のキメラポリペプチドのN末端および／またはC末端に配置されており、1つ以上の追加の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか）のうちの少なくとも1つは、第1のキメラポリペプチド内の可溶性組織因子ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれか）と一対の親和性ドメインの第1のドメイン（例えば、本明細書に記載の例示的な一対の親和性ドメインのうちのいずれかの例示的な第1のドメインのうちのいずれか）との間に位置付けられている。いくつかの実施形態では、N末端に配置された1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つの追加の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示

40

50

的な標的結合ドメインのうちのいずれか)は、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメイン(例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか)または一対の親和性ドメインの第1のドメイン(例えば、本明細書に記載の例示的な一対の親和性ドメインのうちのいずれかの本明細書に記載の例示的な第1のドメインのうちのいずれか)に直接隣接している。いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の少なくとも1つの追加の標的結合ドメイン(例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか)と第1の標的結合ドメイン(例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか)または一対の親和性ドメインの第1のドメイン(例えば、本明細書に記載の例示的な一対の親和性ドメインのうちのいずれかの本明細書に記載の例示的な第1のドメインのうちのいずれか)との間に配置されたリンカー配列(例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知のリンカー配列のうちのいずれか)をさらに含む。いくつかの実施形態では、C末端に配置された1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つの追加の標的結合ドメイン(例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか)は、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメイン(例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか)または一対の親和性ドメインの第1のドメイン(例えば、本明細書に記載の例示的な一対の親和性ドメインのうちのいずれかの例示的な第1のドメインのうちのいずれか)に直接隣接している。いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の少なくとも1つの追加の標的結合ドメイン(例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか)と第1の標的結合ドメイン(例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか)または一対の親和性ドメインの第1のドメイン(例えば、本明細書に記載の例示的な一対の親和性ドメインのうちのいずれかの本明細書に記載の例示的な第1のドメインのうちのいずれか)との間に配置されたリンカー配列(例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的なリンカー配列のうちのいずれか)をさらに含む。いくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメイン(例えば、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれか)と一対の親和性ドメインの第1のドメイン(例えば、本明細書に記載の第1のドメインのうちのいずれかまたは本明細書に記載の例示的な一対の親和性ドメインのうちのいずれか)との間に位置付けられた1つ以上の追加の標的結合ドメイン(例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか)のうちの少なくとも1つは、可溶性組織因子ドメインおよび／または一対の親和性ドメインの第1のドメインに直接隣接している。いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、(i)可溶性組織因子ドメイン(例えば、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子のうちのいずれか)と、可溶性組織因子ドメイン(例えば、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子のうちのいずれか)と一対の親和性ドメインの第1のドメイン(例えば、本明細書に記載の例示的な一対の親和性ドメインのうちのいずれかの例示的な第1のドメインのうちのいずれか)との間に位置付けられた1つ以上の追加の標的結合ドメイン(例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか)のうちの少なくとも1つとの間、および／または(ii)一対の親和性ドメインの第1のドメインと、可溶性組織因子ドメインと一対の親和性ドメインの第1のドメインとの間に位置付けられた1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つとの間に配置されたリンカー配列(例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的なリンカー配列のうちのいずれか)をさらに含む。

【0093】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチドのN末端および／またはC末端に1つ以上(例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、または10)の追加の標的結

10

20

30

40

50

合ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか）をさらに含む。いくつかの実施形態では、1つ以上の追加の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか）のうちの少なくとも1つは、第2のキメラポリペプチド内の一対の親和性ドメインの第2のドメイン（例えば、本明細書に記載の例示的な一対の親和性ドメインのうちのいずれかの例示的な第2のドメインのうちのいずれか）に直接隣接している。いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の1つ以上の追加の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか）のうちの少なくとも1つと一対の親和性ドメインの第2のドメイン（例えば、本明細書に記載の例示的な一対の親和性ドメインのうちのいずれかの本明細書に記載の例示的な第2のドメインのうちのいずれか）との間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的なリンカー配列のうちのいずれか）をさらに含む。いくつかの実施形態では、1つ以上の追加の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか）のうちの少なくとも1つは、第2のキメラポリペプチド内の第2の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の標的結合ドメインのうちのいずれか）に直接隣接している。いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の1つ以上の追加の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか）のうちの少なくとも1つと第2の標的結合ドメイン（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な標的結合ドメインのうちのいずれか）との間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的なリンカー配列のうちのいずれか）をさらに含む。

【0094】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上（例えば、3つ以上、4つ以上、5つ以上、6つ以上、7つ以上、8つ以上、9つ以上、10以上、またはそれ以上）は、同じ抗原に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上（例えば、3つ以上、4つ以上、5つ以上、6つ以上、7つ以上、8つ以上、9つ以上、10以上、またはそれ以上）は、同じエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上（例えば、3つ以上、4つ以上、5つ以上、6つ以上、7つ以上、8つ以上、9つ以上、10以上、またはそれ以上）は、同じアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインは各々、同じ抗原に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインは各々、同じエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインは各々、同じアミノ酸配列を含む。

【0095】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインは、異なる抗原に特異的に結合する。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの1つ以上（例えば、2つ以上、3つ以上、4つ以上、5つ以上、6つ以上、7つ以上、8つ以上、9つ以上、10以上、またはそれ以上）は、抗原結合ドメインである。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインは各々、

抗原結合ドメイン（例えば、s c F v または単一ドメイン抗体）である。

【0096】

一対の親和性ドメイン

いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドは、1) 一対の親和性ドメインの第1のドメインを含む第1のキメラポリペプチドと、2) 一対の親和性ドメインの第2のドメインを含む第2のキメラポリペプチドとを含み、これにより、第1のキメラポリペプチドおよび第2のキメラポリペプチドが、一対の親和性ドメインの第1のドメインおよび第2のドメインの結合を介して会合するようになる。いくつかの実施形態では、一対の親和性ドメインは、ヒトIL-15受容体アルファ鎖 (IL15R α) 由来のsushiドメインと可溶性IL-15である。sushiドメイン、別名、ショートコンセンサスリピートまたは1型糖タンパク質モチーフは、タンパク質-タンパク質相互作用の一般的なモチーフである。sushiドメインは、補体成分C1r、C1s、H因子、C2m、ならびに非免疫学的分子第XIII因子および β 2-糖タンパク質を含むいくつかのタンパク質結合分子上で特定されている。典型的なsushiドメインは、およそ60個のアミノ酸残基を有し、4つのシステインを含む (Ranganathan, Pac. Symp Biocomput. 2000:155-67)。第1のシステインは第3のシステインとジスルフィド結合を形成することができ、第2のシステインは第4のシステインとジスルフィド架橋を形成することができる。一対の親和性ドメインの一方のメンバーが可溶性IL-15であるいくつかの実施形態では、可溶性IL15は、D8NまたはD8Aアミノ酸置換を有する。一対の親和性ドメインの一方のメンバーがヒトIL-15受容体アルファ鎖 (IL15R α) であるいくつかの実施形態では、ヒトIL15R α は、成熟全長IL15R α である。いくつかの実施形態では、一対の親和性ドメインは、バルナーゼとバルンスターである。いくつかの実施形態では、一対の親和性ドメインは、PKAとAKAPである。いくつかの実施形態では、一対の親和性ドメインは、変異RNase I断片に基づくアダプター/ドッキングタグモジュール (Rossi, Proc Natl Acad Sci USA. 103:6841-6846, 2006, Sharkey et al., Cancer Res. 68:5282-5290, 2008, Rossi et al., Trends Pharmacol Sci. 33:474-481, 2012)、またはタンパク質シンタキシン、シナプトタグミン、シナプトブレビン、およびSNAP25の相互作用に基づくSNAREモジュール (Deyev et al., Nat Biotechnol. 1486-1492, 2003) である。

【0097】

いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチドは、一対の親和性ドメインの第1のドメインを含み、多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチドは、一対の親和性ドメインの第2のドメインを含み、一対の親和性ドメインの第1のドメインと一対の親和性ドメインの第2のドメインは、 1×10^{-7} M未満、 1×10^{-8} M未満、 1×10^{-9} M未満、 1×10^{-10} M未満、 1×10^{-11} M未満、 1×10^{-12} M未満、または 1×10^{-13} M未満の解離平衡定数 (K_D) で互いに結合する。いくつかの実施形態では、一対の親和性ドメインの第1のドメインと一対の親和性ドメインの第2のドメインは、約 1×10^{-4} M~約 1×10^{-6} M、約 1×10^{-5} M~約 1×10^{-7} M、約 1×10^{-6} M~約 1×10^{-8} M、約 1×10^{-7} M~約 1×10^{-9} M、約 1×10^{-8} M~約 1×10^{-10} M、約 1×10^{-9} M~約 1×10^{-11} M、約 1×10^{-10} M~約 1×10^{-12} M、約 1×10^{-11} M~約 1×10^{-13} M、約 1×10^{-4} M~約 1×10^{-5} M、約 1×10^{-5} M~約 1×10^{-6} M、約 1×10^{-6} M~約 1×10^{-7} M、約 1×10^{-7} M~約 1×10^{-8} M、約 1×10^{-8} M~約 1×10^{-9} M、約 1×10^{-9} M~約 1×10^{-10} M、約 1×10^{-10} M~約 1×10^{-11} M、約 1×10^{-11} M~約 1×10^{-12} M、または約 1×10^{-12} M~約 1×10^{-13} M (その上限および下限も含む) の K_D で互いに結合する。当該技術分野で既知の様々な異なる方法のうちのいずれかを使用して、一対の親和性ドメインの第1のドメインおよび一対の親和性ドメインの第2のドメインの結合の K_D 値を決定することができる (例え

ば、電気泳動移動度シフトアッセイ、フィルター結合アッセイ、表面プラズモン共鳴、および生体分子結合反応速度アッセイ等）。

【0098】

いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチドは、一対の親和性ドメインの第1のドメインを含み、多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチドは、一対の親和性ドメインの第2のドメインを含み、一対の親和性ドメインの第1のドメイン、一対の親和性ドメインの第2のドメイン、またはそれらの両方が、約10～100アミノ酸長である。例えば、一対の親和性ドメインの第1のドメイン、一対の親和性ドメインの第2のドメイン、またはそれらの両方が、約10～100アミノ酸長、約15～100アミノ酸長、約20～100アミノ酸長、約25～100アミノ酸長、約30～100アミノ酸長、約35～100アミノ酸長、約40～100アミノ酸長、約45～100アミノ酸長、約50～100アミノ酸長、約55～100アミノ酸長、約60～100アミノ酸長、約65～100アミノ酸長、約70～100アミノ酸長、約75～100アミノ酸長、約80～100アミノ酸長、約85～100アミノ酸長、約90～100アミノ酸長、約95～100アミノ酸長、約10～95アミノ酸長、約10～90アミノ酸長、約10～85アミノ酸長、約10～80アミノ酸長、約10～75アミノ酸長、約10～70アミノ酸長、約10～65アミノ酸長、約10～60アミノ酸長、約10～55アミノ酸長、約10～50アミノ酸長、約10～45アミノ酸長、約10～40アミノ酸長、約10～35アミノ酸長、約10～30アミノ酸長、約10～25アミノ酸長、約10～20アミノ酸長、約10～15アミノ酸長、約20～30アミノ酸長、約30～40アミノ酸長、約40～50アミノ酸長、約50～60アミノ酸長、約60～70アミノ酸長、約70～80アミノ酸長、約80～90アミノ酸長、約90～100アミノ酸長、約20～90アミノ酸長、約30～80アミノ酸長、約40～70アミノ酸長、約50～60アミノ酸長、またはそれらの間の任意の範囲であり得る。いくつかの実施形態では、一対の親和性ドメインの第1のドメイン、一対の親和性ドメインの第2のドメイン、またはそれらの両方が、約10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、または100アミノ酸長である。

【0099】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される一対の親和性ドメインの第1および／または第2のドメインのうちのいずれかは、一対の親和性ドメインの第1および／または第2のドメインの機能が損なわれないままである限り、そのN末端および／またはC末端に1つ以上の追加のアミノ酸（例えば、1、2、3、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上のアミノ酸）を含み得る。例えば、ヒトIL-15受容体アルファ鎖（IL15R α ）由来のsushiドメインは、可溶性IL-15に結合する能力を依然として保持しながら、N末端および／またはC末端に1つ以上の追加のアミノ酸を含むことができる。加えてまたはあるいは、可溶性IL-15は、ヒトIL-15受容体アルファ鎖（IL15R α ）由来のsushiドメインに結合する能力を依然として保持しながら、N末端および／またはC末端に1つ以上の追加のアミノ酸を含むことができる。

【0100】

IL-15受容体アルファ鎖（IL15R α ）由来のsushiドメインの非限定的な例は、ITCPPPMSEVHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI R（配列番号28）に少なくとも70%同一、少なくとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも85%同一、少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、少なくとも99%同一、または100%同一の配列を含み得る。いくつかの実施形態では、IL15R α アルファ鎖由来のsushiドメインは、ATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTGAGCACGCCGACATCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGAGAGGTATATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACCCAGCAGCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGGCTCACTGGACAACACCCTCTTTAAAGTGCA T

CCGG（配列番号29）を含む核酸によってコードされ得る。

【0101】

いくつかの実施形態では、可溶性IL-15は、NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLLLELQVISLES GDA SIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFIN TS（配列番号14）と少なくとも70%同一、少なくとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも85%同一、少なくとも90%同一、少なくとも95%同一、少なくとも99%同一、または100%同一の配列を含み得る。いくつかの実施形態では、可溶性IL-15は、AACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAGATTTAATTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACACAGAATCCGACGTGCACCCTCTTTGTAAGGTGACCGCCATGAAATGTTTTTTTACTGGA GCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGAGCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAAGAAATTTAATCATTTT TAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTGACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGAAAGAACATCAAGGAGTTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGTCCAGATGTTTCATCAATACCTCC（配列番号30）の配列を含む核酸によってコードされ得る。

【0102】

シグナル配列

いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドは、そのN末端にシグナル配列を含む第1のキメラポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドは、そのN末端にシグナル配列を含む第2のキメラポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチドおよび多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチドの両方がシグナル配列を含む。当業者に理解されるように、シグナル配列は、タンパク質を分泌経路に指向するいくつかの内因的に産生されたタンパク質のN末端に存在するアミノ酸配列である（例えば、タンパク質は、ある特定の細胞内オルガネラに存在するか、細胞膜に存在するか、または細胞から分泌されるように指示される）。シグナル配列は不均一であり、それらの一次アミノ酸配列が大きく異なる。しかしながら、シグナル配列は、典型的には、16~30アミノ酸長であり、親水性の通常は正に帯電したN末端領域、中央の疎水性ドメイン、およびシグナルペプチダーゼの切断部位を含むC末端領域を含む。

【0103】

いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチド、多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチド、またはそれらの両方が、アミノ酸配列MKWVTFISLLFLFS SAYS（配列番号31）を有するシグナル配列を含む。いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチド、多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチド、またはそれらの両方が、核酸配列ATGAAATGGGTGACCTTTATTTCTTTACTGTTCTCTTTAGCAGCGCCTACTCC（配列番号32）、ATGAAGTGGGTCA CATT TATCTCTTTACTGTTCTCTCTCTCCAGCGCCTACAGC（配列番号33）、またはATGAAATGGGTGACCTTTATTTCTTTACTGTTCTCTTTAGCAGCGCCTACTCC（配列番号34）によってコードされるシグナル配列を含む。

【0104】

いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチド、多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチド、またはそれらの両方が、アミノ酸配列MKCLLYLAFLLGVNC（配列番号35）を有するシグナル配列を含む。いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチド、多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチド、またはそれらの両方が、アミノ酸配列MGQ

I V T M F E A L P H I I D E V I N I V I I V L I I I T S I K A V Y N F A T C G I
L A L V S F L F L A G R S C G (配列番号36) を有するシグナル配列を含む。いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチド、多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチド、またはそれらの両方が、アミノ酸配列 M P N H Q S G S P T G S S D L L L S G K K Q R P H L A L R R K R R R E M R K I N R K V R R M N L A P I K E K T A W Q H L Q A L I S E A E E V L K T S Q T P Q N S L T L F L A L L S V L G P P V T G (配列番号37) を有するシグナル配列を含む。いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチド、多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチド、またはそれらの両方が、アミノ酸配列 M D S K G S S Q K G S R L L L L L V V S N L L L C Q G V V S (配列番号38) を有するシグナル配列を含む。当業者であれば、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチドおよび／または第2のキメラポリペプチドにおける使用に適切な他のシグナル配列を認識しているであろう。

10

【0105】

いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチド、多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチド、またはそれらの両方が、約10～100アミノ酸長のシグナル配列を含む。例えば、シグナル配列は、約10～100アミノ酸長、約15～100アミノ酸長、約20～100アミノ酸長、約25～100アミノ酸長、約30～100アミノ酸長、約35～100アミノ酸長、約40～100アミノ酸長、約45～100アミノ酸長、約50～100アミノ酸長、約55～100アミノ酸長、約60～100アミノ酸長、約65～100アミノ酸長、約70～100アミノ酸長、約75～100アミノ酸長、約80～100アミノ酸長、約85～100アミノ酸長、約90～100アミノ酸長、約95～100アミノ酸長、約10～95アミノ酸長、約10～90アミノ酸長、約10～85アミノ酸長、約10～80アミノ酸長、約10～75アミノ酸長、約10～70アミノ酸長、約10～65アミノ酸長、約10～60アミノ酸長、約10～55アミノ酸長、約10～50アミノ酸長、約10～45アミノ酸長、約10～40アミノ酸長、約10～35アミノ酸長、約10～30アミノ酸長、約10～25アミノ酸長、約10～20アミノ酸長、約10～15アミノ酸長、約20～30アミノ酸長、約30～40アミノ酸長、約40～50アミノ酸長、約50～60アミノ酸長、約60～70アミノ酸長、約70～80アミノ酸長、約80～90アミノ酸長、約90～100アミノ酸長、約20～90アミノ酸長、約30～80アミノ酸長、約40～70アミノ酸長、約50～60アミノ酸長、またはそれらの間の任意の範囲であり得る。いくつかの実施形態では、シグナル配列は、約10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、または100アミノ酸長である。

20

30

【0106】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるシグナル配列のうちのいずれかは、シグナル配列の機能が損なわれないままである限り、そのN末端および／またはC末端に1つ以上の追加のアミノ酸（例えば、1、2、3、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上のアミノ酸）を含み得る。例えば、アミノ酸配列 M K C L L Y L A F L F L G V N C (配列番号35) を有するシグナル配列は、多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチド、多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチド、またはそれらの両方を分泌経路に指向する能力を依然として保持しながら、N末端またはC末端に1つ以上の追加のアミノ酸を含むことができる。

40

【0107】

いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチド、多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチド、またはそれらの両方が、多鎖キメラポリペプチドを細胞外空間に指向するシグナル配列を含む。かかる実施形態は、単離および／または精製が比較的容易な多鎖キメラポリペプチドを生成するのに有用である。

【0108】

50

ペプチドタグ

いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドは、（例えば、第1のキメラポリペプチドのN末端またはC末端に）ペプチドタグを含む第1のキメラポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドは、（例えば、第2のキメラポリペプチドのN末端またはC末端に）ペプチドタグを含む第2のキメラポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチドおよび多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチドの両方がペプチドタグを含む。いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチド、多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチド、またはそれらの両方が、2つ以上のペプチドタグを含む。

【0109】

多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチド、多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチド、またはそれらの両方に含まれ得る例示的なペプチドタグには、AviTag (GLNDIFEAQKIEWHE、配列番号39)、カルモジュリンタグ (KRRWKKNFIAVSAANRFKKISSSGAL、配列番号40)、ポリグルタミン酸タグ (EEEEEE、配列番号41)、Eタグ (GAPVPYPDPLEPR、配列番号42)、FLAGタグ (DYKDDDDK、配列番号43)、HAタグ、血球凝集素由来のペプチド (YPYDVPDYA、配列番号44)、hisタグ (HHHHH (配列番号45)、HHHHHH (配列番号46)、HHHHHHH (配列番号47)、HHHHHHHH (配列番号48)、HHHHHHHHH (配列番号49)、またはHHHHHHHHHH (配列番号50))、mycタグ (EQKLISEEDL、配列番号51)、NEタグ (TKENPRSNQEESYDDNES、配列番号52)、Sタグ (KETAAAKFERQHMDS、配列番号53)、SBPタグ (MDEKTTGWRGGHVVEGLAGELEQLRARLEHHPQGQREP、配列番号54)、Softag1 (SLAELLNAGLGGS、配列番号55)、Softag3 (TQDPSRVG、配列番号56)、Spotタグ (PDRVRAVSHWSS、配列番号57)、Streptタグ (WSHPQFEK、配列番号58)、TCタグ (CCPGCC、配列番号59)、Tyタグ (EVHTNQDPLD、配列番号60)、V5タグ (GKPIPNPLLGLDST、配列番号61)、VSVタグ (YTDIEMNRLGK、配列番号62)、およびXpressタグ (DLYDDDDK、配列番号63)が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、組織因子タンパク質は、ペプチドタグである。

【0110】

多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチド、多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチド、またはそれらの両方に含まれ得るペプチドタグは、多鎖キメラポリペプチドに関連する様々な用途のうちのいずれかに使用され得る。例えば、ペプチドタグは、多鎖キメラポリペプチドの精製に使用され得る。1つの非限定的な例として、多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチド（例えば、組換え発現された第1のキメラポリペプチド）、多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチド（例えば、組換え発現された第2のキメラポリペプチド）、またはそれらの両方が、mycタグを含み得、mycタグ付き第1キメラポリペプチド、mycタグ付き第2キメラポリペプチド、またはそれらの両方を含む多鎖キメラポリペプチドは、mycタグ（複数可）を認識する抗体を使用して精製され得る。mycタグを認識する抗体の1つの非限定的な例は、非営利Developmental Studies Hybridoma Bankから入手可能な9E10である。別の非限定的な例として、多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチド（例えば、組換え発現された第1のキメラポリペプチド）、多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチド（例えば、組換え発現された第2のキメラポリペプチド）、またはそれらの両方が、ヒスチジンタグを含み得、ヒスチジンタグ付き第1キメラポリペプチド、ヒスチジンタグ付き第2キメラポリペプチド、またはそれらの両方を含む多鎖キメラポリペプチドは、ニッケルまたはコバルトキレートを使用して精製され得る。当業者であれば、多鎖キメラポリペプチドの精製における使用に好適なそれらのタグに

10

20

30

40

50

結合する他のタグおよび薬剤を認識しているであろう。いくつかの実施形態では、ペプチドタグは、精製後に、多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチドおよび／または第2のキメラポリペプチドから除去される。いくつかの実施形態では、ペプチドタグは、精製後に、多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチドおよび／または第2のキメラポリペプチドから除去されない。

【0111】

多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチド、多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチド、またはそれらの両方に含まれ得るペプチドタグは、例えば、多鎖キメラポリペプチドの免疫沈降、多鎖キメラポリペプチドの画像化（例えば、ウエスタンブロッティング、ELISA、フローサイトメトリー、および／または免疫細胞化学による）、および／または多鎖キメラポリペプチドの可溶化に使用され得る。

【0112】

いくつかの実施形態では、多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチド、多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチド、またはそれらの両方が、約10～100アミノ酸長のペプチドタグを含む。例えば、ペプチドタグは、約10～100アミノ酸長、約15～100アミノ酸長、約20～100アミノ酸長、約25～100アミノ酸長、約30～100アミノ酸長、約35～100アミノ酸長、約40～100アミノ酸長、約45～100アミノ酸長、約50～100アミノ酸長、約55～100アミノ酸長、約60～100アミノ酸長、約65～100アミノ酸長、約70～100アミノ酸長、約75～100アミノ酸長、約80～100アミノ酸長、約85～100アミノ酸長、約90～100アミノ酸長、約95～100アミノ酸長、約10～95アミノ酸長、約10～90アミノ酸長、約10～85アミノ酸長、約10～80アミノ酸長、約10～75アミノ酸長、約10～70アミノ酸長、約10～65アミノ酸長、約10～60アミノ酸長、約10～55アミノ酸長、約10～50アミノ酸長、約10～45アミノ酸長、約10～40アミノ酸長、約10～35アミノ酸長、約10～30アミノ酸長、約10～25アミノ酸長、約10～20アミノ酸長、約10～15アミノ酸長、約20～30アミノ酸長、約30～40アミノ酸長、約40～50アミノ酸長、約50～60アミノ酸長、約60～70アミノ酸長、約70～80アミノ酸長、約80～90アミノ酸長、約90～100アミノ酸長、約20～90アミノ酸長、約30～80アミノ酸長、約40～70アミノ酸長、約50～60アミノ酸長、またはそれらの間の任意の範囲であり得る。いくつかの実施形態では、ペプチドタグは、約10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、または100アミノ酸長である。

【0113】

多鎖キメラポリペプチドの第1のキメラポリペプチド、多鎖キメラポリペプチドの第2のキメラポリペプチド、またはそれらの両方に含まれるペプチドタグは、任意の好適な長さのものであり得る。例えば、ペプチドタグは、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、またはそれ以上のアミノ酸長であり得る。多鎖キメラポリペプチドが2つ以上のペプチドタグを含む実施形態では、2つ以上のペプチドタグは、同じ長さまたは異なる長さのものであり得る。いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるペプチドタグのうちのいずれかは、ペプチドタグの機能が損なわれないままである限り、N末端および／またはC末端に1つ以上の追加のアミノ酸（例えば、1、2、3、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上のアミノ酸）を含み得る。例えば、アミノ酸配列EQKLISEEDL（配列番号64）を有するmycタグは、抗体（例えば、9E10）によって結合される能力を依然として保持しながら、（例えば、ペプチドタグのN末端および／またはC末端）に1つ以上の追加のアミノ酸を含み得る。

【0114】

例示的な多鎖キメラポリペプチドータイプA

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では

、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、I L - 1 8 受容体またはI L - 1 2 受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0115】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内的一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

10

【0116】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれかであり得る。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインは、本明細書に記載の例示的な一对の親和性ドメインのうちのいずれかであり得る。

【0117】

20

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインの一方または両方は、アゴニスト抗原結合ドメインである。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々、アゴニスト抗原結合ドメインである。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、s c F v または単一ドメイン抗体を含む。

【0118】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインの一方または両方は、可溶性I L - 1 5 または可溶性I L - 1 8 である。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、可溶性I L - 1 5 または可溶性I L - 1 8 である。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインの両方が、I L - 1 8 受容体またはI L - 1 2 受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じエピトープに特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じアミノ酸配列を含む。

30

【0119】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインはI L - 1 2 受容体に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインはI L - 1 8 受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインはI L - 1 8 受容体に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインはI L - 1 2 受容体に特異的に結合する。

40

【0120】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインは、可溶性I L - 1 8 （例えば、可溶性ヒトI L - 1 8 ）を含む。

【0121】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトI L - 1 8 は、Y F G K L E S K L S V I R N L N D Q V L F I D Q G N R P L F E D M T D S D C R D N A P R T I F I I S M Y K D S Q P R G M A V T I S V K C E K I S T L S C E N K I

50

ISFKEMNPDPDN IKDTKSDI IFFQRSVP GH DNKMQFESSSY
EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D（配列
番号16）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%
同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくと
も92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、
少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む。

【0122】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-18は、
TACTTCGGCAA AACTGGAATCCAAGCTGAGCGTGATCCGGA
ATTTAAACGACCAAGTTCTGT TTTATCGATCAAGGTAACCG
GCCTCTGTTCGAGGACATGACCGACTCCGATTGCCGGGAC
AATGCCCCCGGACCATCTTCA TTATCTCCATGTACAAGG
ACAGCCAGCCCCGGGGCATGGCTGTGACAATTAGCGTGAA
GTGTGAGAAAATCAGCACTTTATCTTGTGAGAACAAAGATC
ATCTCCTTTTAAAGGAAATGAACCCCCCGATAACATCAAGG
ACACCAAGTCCGATATCATCTTCTTCCAGCGGTCCGTGCC
CGGTCA CGATAACAAGATGCAGTTTCGAATCCTCCTCCTAC
GAGGGCTACTTTTTTAGCTTGTGAAAAGGAGAGGGGATTTAT
TCAAGCTGATCCTCAAGAAAGGAGGACGAGCTGGGCGATCG
TTCCATCATGTTTCA CCGTCCAAAACGAGGAT（配列番号65）と
少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なく
とも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一
、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも9
9%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0123】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメイン
は、可溶性IL-12（例えば、可溶性ヒトIL-12）を含む。これらの多鎖キメラポリ
ペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-15は、可溶性ヒトIL-12
β（p40）配列および可溶性ヒトIL-12α（p35）配列を含む。これらの多鎖キ
メラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性IL-15ヒトIL-15は、可溶
性IL-12β（p40）配列と可溶性ヒトIL-12α（p35）配列との間にリンカ
ー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカー配列のうちのいずれか）をさらに含
む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、リンカー配列は、GGGGS
GGGGS（配列番号7）を含む。

【0124】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-12β
（p40）配列は、

IWELKKD VYVVELDWYPDAPGEMVVLTC DTP EEDGITWT
LDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGG EVLSHSL
LLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTF LRC EAKNYSGRFT
CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV
R GDNKEYEYSVE CQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYE
NYTSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDT
WSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICR
KNASISVRAQDRYYS SSWSEWASVPCS（配列番号66）と少なく
とも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なく
とも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なく
とも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一
、または100%同一）の配列を含む。

【0125】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-12β (p40) は、

ATTTGGGAAC TGAAGAAGGACGTCTACGTGGT CGAACTGG
ACTGGTATCCCCGATGCTCCCGGCGAAATGGTGGT GCTCAC
TTGTGACACCCCCGAAGAAGACGGCATCACTTGGAC CCTC
GATCAGAGCAGCGAGGTGCTGGGCTCCGGAAAGAC CCTCA
CAATCCAAGTTAAGGAGTT CGGAGACGCTGGCCAATACAC
ATGCCACAAGGGAGGCGAGGTGCTCAGCCATTCTCTTATTA
TTATTACACAAGAAGGAAGACGGAAATCTGGTCCACCGACA
TTTTTAAAGATCAGAAGGAGCCCAAGAATAAGACCTTTTTT
AAGGTGTGAGGCCAAAACTACAGCGGTCTTTTCACTTGT
TGGTGGCTGACCACTTTTCCACCGATTTAACCCTTCTCCG
TGAAAAGCAGCCGGGGAAGCTCCGAC CCTCAAGGTGTGAC
ATGTGGAGCCGCTAC CCTCAGCGCTGAGAGGGTTCTGTGGC
GATAACAAGGAATACGAGTACAGCGTGAGGTGCCAAGAAG
ATAGCGCTTGTCCCGCTGCCGAAGAATCTTTACCCATTGA
GGTGATGGTGGACGCCGTGCACAAACTCAAGTACGAGAAC
TACACCTCCTCTCTTTATCCGGGACATCATTAAGCCCG
ATCCTCCTAAGAATTTACAGCTGAAGCCTCTCAAAAATAG
CCGGCAAGTTGAGGTCTCTTGGGAATATCCCGACACTTGG
AGCACACCCACAGCTACTTCTCTTTAACCTTTTGTGTGC
AAGTTCAAGGTAAAAGCAAGCGGGAGAGAAAGACCGGGT
GTTTACCGACAAAACCAGCGCCACCGTCATCTGTCTGGGAAG
AACGCCCTCCATCAGCGTGAGGGCTCAAGATCGTTATTACT
CCAGCAGCTGGTCCGAGTGCGGCCAGCGTGCTTGTCTCC (配
列番号67) と少なくとも80%同一 (例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84
%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なく
とも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、
少なくとも99%同一、または100%同一) の配列によってコードされる。

【0126】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-12α (p35) は、

RNLPVATPD PGMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY
PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRET
SFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMN
AKLLMDPKRQIFLDQNM L AVIDELMQALNFNSE TVPQKSS
LEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS (配列
番号68) と少なくとも80%同一 (例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%
同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なく
とも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、
少なくとも99%同一、または100%同一) の配列を含む。

【0127】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-12α (p35) は、

CGTAACCTCCCCGTGGCTACCCCCGATCCCGGAATGTTCC
CTTGTTTACACACAGCCAGAAATTTACTGAGGGCCGTGAG
CAACATGCTGCAGAAAGCTAGGCAGACTTTAGAAATTTTAC
CCTTGCAACAGCGAGGAGATCGACCATGAAGATATCACC
AGGACAAGACATCCACCGTGAGGCTTGTTTACCTCTGGA
GCTGACAAAGAACGAGTCTTGTCTCAACTCTCGTGAAACC

AGCTTCATCACAAATGGCTCTTGTTTAGCTTCCCGGAAGA
CCTCCTTTATGATGGCTTTATGCCTCAGCTCCATCTACGA
GGATTTAAAGATGTACCAAGTGGAGTTCAAGACCATGAAC
GCCAAGCTGCTCATGGACCCCTAAACGGCAGATCTTTTTTAG
ACCAGAACATGCTGGCTGTGATTGATGAGCTGATGCAAGC
TTTAAACTTCAACTCCGAGACCGTCCCTCAGAAGTCCTCC
CTCGAGGAGCCCCGATTTTTTACAAGACAAAGATCAAACCTGT
GCATTTTACTCCACGCCCTTTAGGATCCGGGGCCGTGACCAT
TGACCGGGTTCATGAGCTATTTAAACGCCAGC（配列番号69）と
少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なく
とも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、
少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも9
9%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

10

【0128】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQG NRPLFEDMTDSDCRD
NAPRTIFIISMYKDSQPRGMAVTISVKCEKISTLSCENKI
ISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFRSVP GH DNKMQFESSSY
EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE DSGT
TNTVAAYNL TWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSG
DWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPAGNV
ESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKV
NVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTL YWKSSSS
GKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVIPSR TVNRKST
DSPVECMGQEKGEFRENWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDAT
LYTESDVHP SCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVE
NLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFV
HIVQMFIN TS（配列番号70）と少なくとも80%同一（例えば、少なく
とも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少な
くとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同
一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含み
得る。

20

30

【0129】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

TACTTCGGCAAAC TGG AATCCAAGCTGAGCGTGATCCGGA
ATTTAAACGACCAAGTTCTGTTTATCGATCAAGGTAACCG
GCCTCTGTTCGAGGACATGACCGACTCCGATTGCCGGGAC
AATGCCCCCCCGGACCATCTTCAATTATCTCCATGTACAAGG
ACAGCCAGCCCCGGGGCATGGCTGTGACAATTAGCGTGAA
GTGTGAGAAAATCAGCACTTTATCTTG TGAGAACAAAGATC
ATCTCCTTTAAGGAAATGAACCCCCCGATAACATCAAGG
ACACCAAGTCCGATATCATCTTCTTCCAGCGGTCCGTGCC
CGGTCAAGATAACAAGATGCAGTTTGAATCCTCCTCCTAC
GAGGGCTACTTTTTTAGCTTG TGAAAAGGAGAGGGATTTAT
TCAAGCTGATCCTCAAGAAAGGAGGACGAGCTGGGGCGATCG
TTCCATCATGTTCAACCGTCCAAAACGAGGATAGCGGCACA
ACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTTGGGAAGAGCA
CCAAC TTCAA AACCATCCTCGAATGGGAACCCAAACCCGT
TAACCAAGTTTACACCGTGCAGATCAGCACCAAGTCCGGC
GACTGGAAGTCCA AATGTTTCTATACCAACCGACACCGAGT

40

50

GCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGTGAAACAGAC
CTACCTCGCCCGGGTGTCTTAGCTACCCCGCCGGCAATGTG
GAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTATACGAGAACAA
GCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAATTTAGGACA
GCCCCACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGCACAAAGGTG
AATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAGTGCGGCGGA
ACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTTTCGGCAAAGA
TTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCCTCTTCTCTCC
GGCAAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACGAGTTTTTAA
TCGACGTGGATAAAGGCGAAAACCTACTGTTTTTCAGCGTGCA
AGCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGAAATAGGAAAAGCACCC
GATAGCCCCGTTGAGTGCATGGGCCAAGAAAAGGGCGAGT
TCCGGGAGAACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAA
GATCGAAGATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACT
TTATACACAGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGA
CCGCCATGAAATGTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTC
TTTAGAGAGCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAG
AATTTAATCATTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACG
GCAACGTGACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCT
GGAGGAGAAGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTG
CACATTGTCCAGATGTTTCATCAATACCTCC（配列番号71）と少
なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なく
とも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、
少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99
%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0130】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYS YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFI
DQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISMYKDSQPRGMAV
TISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDKSDIIF
QRSVPGHDKMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKED
ELGDRSIMFTVQNE DSGTTNTVAAYNL TWKSTNFKTILEW
EPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSKCFYT TDTECDLTDEIVK
DV KQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLE
TNLGQPTIQSF EQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRD
VFGKDLIYTYLYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENY
CFSVQAVIPSR TVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE NWVNVI
SDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLL
LQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCK
ECEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFIN TS（配列番号72）と少なく
とも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なく
とも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少
なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同
一、または100%同一）の配列を含み得る。

【0131】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGT CACATTTATCTCTTTACTGTTTCCTCTTCT
CCAGCGCCTACAGCTACTTCGGCAAACCTGGAATCCAAGCT
GAGCGTGATCCGGAATTTAAACGACCAAGTTCTGTTTTATC
GATCAAGGTAACCGGCCTCTGTTTCGAGGACATGACCGACT

CCGATTGCGGGACAATGCCCCCGGACCATCTTCATTAT
CTCCATGTACAAGGACAGCCAGCCCCGGGGCATGGCTGTG
ACAATTAGCGTGAAGTGTGAGAAAATCAGCACTTTATCTT
GTGAGAACAAAGATCATCTCCTTTAAGGAAATGAACCCCCC
CGATAACATCAAGGACACCAAGTCCGATATCATCTTCTTC
CAGCGGTCCGTGCCCGGTACAGATAACAAGATGCAGTTTCG
AATCCTCCTCCTACGAGGGCTACTTTTTAGCTTGTGAAAA
GGAGAGGGATTATTCAAGCTGATCCTCAAGAAGGAGGAC
GAGCTGGGCGATCGTTCCATCATGTTCAACCGTCCAAAACG
AGGATAGCGGCAACAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCT
CACTTGGAAGAGCACCAACTTCAAAAACCATCCTCGAATGG
GAACCCCAAACCCGTTAACCAAGTTTACACCGTGCAGATCA
GCACCAAGTCCGGCGACTGGAAGTCCAAATGTTTCTATAC
CACCGACACCGAGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAA
GATGTGAAACAGACCTACCTCGCCCCGGGTGTTTAGCTACC
CCGCCGGCAATGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCC
TTTATACGAGAACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAG
ACCAATTTAGGACAGCCCCACCATCCAAAGCTTTGAGCAAG
TTGGCACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGAC
TTTAGTGCGGCGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGAT
GTGTTCCGGCAAAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGA
AGTCCTCTTCTCCTCCGGCAAGAAGACAGCTAAAACCAACAC
AAACGAGTTTTTTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAAACCTAC
TGTTTTCAGCGTGCAAGCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGA
ATAGGAAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAGTGCATGGGCCA
AGAAAAGGGCGAGTTCGGGGAGAACTGGGTGAACGTCATC
AGCGATTTTAAAGAAGATCGAAGATTTAATTTCAGTCCATGC
ATATCGACGCCACTTTATACACAGAATCCGACGTGCACCC
CTCTTGTAAGGTGACCGCCATGAAATGTTTTTTTACTGGAG
CTGCAAGTTATCTCTTTAGAGAGCGGAGACGCTAGCATCC
ACGACACCGTGGAGAATTTAATCATTTTATAGCCAATAACTC
TTTATCCAGCAACGGCAACGTGACAGAGTCCGGCTGCAAG
GAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGAGAACAATCAAGGAGTTTC
TGCAATCCTTTGTGCACATTGTCCAGATGTTTCATCAATAC
CTCC (配列番号 73) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少
なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90%
同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくと
も 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコードされ
る。

【0132】

いくつかの実施形態では、第 2 のキメラポリペプチドは、

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL
DQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTKHKGGEVLSHSL
LLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTC
WWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV
RGDNKEYEYSVECEQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKY
ENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYP
DTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATV
ICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSGGGGSGGGG
SGGGGSRNLPVATPDPMFPC LHHSQNL LRAVSNMLQKARQ
TLEF

Y P C T S E E I D H E D I T K D K T S T V E A C L P L E L T K N E S C L N S R E
T S F I T N G S C L A S R K T S F M M A L C L S S I Y E D L K M Y Q V E F K T M
N A K L L M D P K R Q I F L D Q N M L A V I D E L M Q A L N F N S E T V P Q K S
S L E E P D F Y K T K I K L C I L L H A F R I R A V T I D R V M S Y L N A S I T
C P P P M S V E H A D I W V K S Y S L Y S R E R Y I C N S G F K R K A G T S S L
T E C V L N K A T N V A H W T T P S L K C I R (配列番号 74) と少なくとも 80 %
同一 (例えば、少なくとも 82 % 同一、少なくとも 84 % 同一、少なくとも 86 % 同一、
少なくとも 88 % 同一、少なくとも 90 % 同一、少なくとも 92 % 同一、少なくとも 94
% 同一、少なくとも 96 % 同一、少なくとも 98 % 同一、少なくとも 99 % 同一、または
100 % 同一) の配列を含み得る。

10

【0133】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

A T T T G G G A A C T G A A G A A G G A C G T C T A C G T G G T C G A A C T G G
A C T G G T A T C C C G A T G C T C C C G G C G A A A T G G T G G T G C T C A C
T T G T G A C A C C C C C G A A G A A G A C G G C A T C A C T T G G A C C C T C
G A T C A G A G C A G C G A G G T G C T G G G C T C C G G A A A G A C C C T C A
C A A T C C A A G T T A A G G A G T T C G G A G A C G C T G G C C A A T A C A C
A T G C C A C A A G G G A G G C G A G G T G C T C A G C C A T T C C T T A T T A
T T A T T A C A C A A G A A G G A A G A C G G A A T C T G G T C C A C C G A C A
T T T T A A A A G A T C A G A A G G A G C C C A A G A A T A A G A C C T T T T T
A A G G T G T G A G G C C A A A A A C T A C A G C G G T C G T T T C A C T T G T
T G G T G G C T G A C C A C C A T T T C C A C C G A T T T A A C C T T C T C C G
T G A A A A G C A G C C G G G G A A G C T C C G A C C C T C A A G G T G T G A C
A T G T G G A G C C G C T A C C C T C A G C G C T G A G A G G G T T C G T G G C
G A T A A C A A G G A A T A C G A G T A C A G C G T G G A G T G C C A A G A A G
A T A G C G C T T G T C C C G C T G C C G A A G A A T C T T T A C C C A T T G A
G G T G A T G G T G G A C G C C G T G C A C A A A C T C A A G T A C G A G A A C
T A C A C C T C C T C C T T C T T T A T C C G G G A C A T C A T T A A G C C C G
A T C C T C C T A A G A A T T T A C A G C T G A A G C C T C T C A A A A A T A G
C C G G C A A G T T G A G G T C T C T T G G G A A T A T C C C G A C A C T T G G
A G C A C A C C C C A C A G C T A C T T C T C T T T A A C C T T T T G T G T G C
A A G T T C A A G G T A A A A G C A A G C G G G A G A A G A A A G A C C G G G T
G T T T A C C G A C A A A A C C A G C G C C A C C G T C A T C T G T C G G A A G
A A C G C C T C C A T C A G C G T G A G G G C T C A A G A T C G T T A T T A C T
C C A G C A G C T G G T C C G A G T G G G C C A G C G T G C C T T G T T C C G G
C G G T G G A G G A T C C G G A G G A G G T G G C T C C G G C G G C G G A G G A
T C T C G T A A C C T C C C C G T G G C T A C C C C G A T C C C G G A A T G T
T C C C T T G T T T A C A C C A C A G C C A G A A T T T A C T G A G G G C C G T
G A G C A A C A T G C T G C A G A A A G C T A G G C A G A C T T T A G A A T T T
T A C C C T T G C A C C A G C G A G G A G A T C G A C C A T G A A G A T A T C A
C C A A G G A C A A G A C A T C C A C C G T G G A G G C T T G T T T A C C T C T
G G A G C T G A C A A A G A A C G A G T C T T G T C T C A A C T C T C G T G A A
A C C A G C T T C A T C A C A A A T G G C T C T T G T T T A G C T T C C C G G A
A G A C C T C C T T T A T G A T G G C T T T A T G C C T C A G C T C C A T C T A
C G A G G A T T T A A A G A T G T A C C A A G T G G A G T T C A A G A C C A T G
A A C G C C A A G C T G C T C A T G G A C C C T A A A C G G C A G A T C T T T T
T A G A C C A G A A C A T G C T G G C T G T G A T T G A T G A G C T G A T G C A
A G C T T T A A A C T T C A A C T C C G A G A C C G T C C C T C A G A A G T C C
T C C C T C G A G G A G C C C G A T T T T T A C A A G A C A A A G A T C A A A C
T G T G C A T T T T A C T C C A C G C C T T T A G G A T C C G G G C C G T G A C

20

30

40

50

CATTGACCGGGTCATGAGCTATTTAAACGCCAGCATTACA
TGCCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACATCTGGG
TGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTATATCTG
TAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACCAGCAGCCTC
ACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGGCTCACT
GGACAACACCCTCTTTAAAGTGCATCCGG (配列番号75) と少な
くとも80%同一 (例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも
86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少
なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%
同一、または100%同一) の配列によってコードされる。

【0134】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSISWELKKDVYVVELDWYPDAPGE
MVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGD
AGQY TCHKGGEVLSHSL LLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPK
NKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSD
PQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEE
SLPIEVMVDAVHKLKYENYTS SFFIRDI IKPDPPKNLQLK
PLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKRE
KKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS
VPCSGGGGSGGGGSGGGGSRNLPVATPDPGMFPC LHHSQN
LLRAVSNMLQKARQTL EFPCTSEEIDHEDITKDKTSTVE
ACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALC
LSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKL LMDPKRQIFLDQNM LAVI
DELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILLHA FR
IRAVTIDRVMSYLNASITCPPPM SVEHADIWVKSYSLSR
ERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV AHWTTPSLKCI
R (配列番号76) と少なくとも80%同一 (例えば、少なくとも82%同一、少なくと
も84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、
少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98
%同一、少なくとも99%同一、または100%同一) の配列を含み得る。

【0135】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

ATGAAATGGGTGACCTTTATTTCTTTACTGTTCTCTTTA
GCAGCGCCTACTCCATTTGGGAAC TGAAGAAGGACGTCTA
CGTG GTCGAACTGGA CTGGTATCCCGATGCTCCCGGCGAA
ATGGTG GTGCTCACTTGTGACACCCCGAAGAAGACGGCA
TCACTTGGACCTCGATCAGAGCAGCGAGGTGCTGGGCTC
CGGAAAGACCTCACAAATCCAAGTTAAGGAGTTCTGGAGAC
GCTGGCCAATACACATGCCACAAGGGAGGCGAGGTGCTCA
GCCATTCTCTTATTATTATTACACAAGAAGGAAGACGGAAT
CTGGTCCACCGACATTTTAAAAGATCAGAAGGAGCCCAAG
AATAAGACCTTTTAAAGGTGTGAGGCCAAA AACTACAGCG
GTCGTTTCACTTGTGTTGGTGGCTGACCACCATTTCCACCGA
TTTAACCTTCTCCGTGAAAAGCAGCCGGGGAAGCTCCGAC
CCTCAAGGTGTGACATGTGGAGCCGCTACCTCAGCGCTG
AGAGGGTTCTGTGGCGATAACAAGGAATACGAGTACAGCGT
GGAGTGCCAAGAAGATAGCGCTTGTCCCGCTGCCGAAGAA
TCTTTTACCCATTGAGGTGATGGTGGACGCCGTGCACAAAC
TCAAGTACGAGAACTACACCTCCTCCTTCTTTATCCGGGA

CATCATTAAGCCCGATCCTCCTAAGAATTTACAGCTGAAG
CCTCTCAAAAATAGCCGGCAAGTTGAGGTCTCTTGGGAAT
ATCCCGACACTTGGAGCACACCCACAGCTACTTCTCTTT
AACCTTTTGTGTGCAAGTTCAAGGTAAGCAAGCGGGAG
AAGAAAGACCGGGTGTTTACCGACAAAACAGCGCCACCG
TCATCTGTCTGGAAGAAGCGCCTCCATCAGCGTGAGGGCTCA
AGATCGTTATTACTCCAGCAGCTGGTCCGAGTGGGCCAGC
GTGCCCTTGTTCGGCGGTGGAGGATCCGGAGGAGGTGGCT
CCGGCGGGCGGAGGATCTCGTAACCTCCCCGTGGCTACCCC
CGATCCCGGAATGTTCCCTTGTTTACACCACAGCCAGAAT
TTACTGAGGGCCGTGAGCAACATGCTGCAGAAAGCTAGGC
AGACTTTAGAAATTTTACCCCTTGACCCAGCGAGGAGATCGA
CCATGAAGATATCACCAAGGACAAAGACATCCACCGTGGAG
GCTTGTTTACCTCTGGAGCTGACAAAGAACGAGTCTTGTC
TCAACTCTCTGTGAAACCAGCTTTCATCACAAATGGCTCTTG
TTTAGCTTCCCCGGAAGACCTCCTTTATGATGGCTTTATGC
CTCAGCTCCATCTACGAGGATTTAAAGATGTACCAAGTGG
AGTTCAAGACCATGAACGCCAAGCTGCTCATGGACCCCTAA
ACGGCAGATCTTTTTTAGACCAGAACATGCTGGCTGTGATT
GATGAGCTGATGCAAGCTTTAAACTTCAACTCCGAGACCG
TCCCTCAGAAAGTCCTCCCTCGAGGAGCCCGATTTTTTACAA
GACAAAGATCAAACTGTGCATTTTACTCCACGCCCTTTAGG
ATCCGGGGCCGTGACCATTGACCGGGTTCATGAGCTATTTAA
ACGCCAGCATTTACATGCCCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCA
CGCCGACATCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGG
GAGAGGTATATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCG
GCACCAGCAGCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTAC
CAACGTGGCTCACTGGACAACACCCTCTTTAAAGTGCATC
CGG（配列番号77）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少な
くとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同
一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも
98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0136】

例示的な多鎖キメラポリペプチドタイプB

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、IL-21受容体またはTGF- β に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0137】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインと一对の親和性ドメインの第1のドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の可溶性組織因子ドメインと一对の親和性ドメインの第1のドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0138】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内的一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0139】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれかであり得る。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインは、本明細書に記載の例示的な一对の親和性ドメインのうちのいずれかであり得る。

【0140】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインの一方または両方は、可溶性IL-21（例えば、可溶性ヒトIL-21ポリペプチド）または可溶性TGF- β 受容体（例えば、可溶性TGF β RII受容体）である。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、可溶性IL-21または可溶性TGF- β 受容体（例えば、可溶性TGF β RII受容体）である。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインの両方が、IL-21受容体またはTGF- β に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じエピトープに特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じアミノ酸配列を含む。

【0141】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインはIL-21受容体に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインはTGF- β に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインはTGF- β に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインはIL-21受容体に特異的に結合する。

【0142】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインは、可溶性IL-21（例えば、可溶性ヒトIL-21）を含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-21は、
QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
TNAGR RQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH
QHLS SRTHGSEDS（配列番号78）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む。

【0143】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-21は、
CAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCGGATGAGGCAGCTCA
TCGACATCGTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCT
GGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACC
AACTGCGAGTGGTCCGCCCTTCTCCTGCTTTTCAGAAAGGCC
AGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAACAACGAGCGGATCAT
CAACGTGAGCATCAAGAAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCC

ACAAACGCCGGCAGGAGGCGAGAAGCACAGGCTGACCTGCC
CCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTT
CCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAGATGATCCAT
CAGCACCTGTCTCTCCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCC (配列番号79)と少なくとも80%同一(例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)の配列によってコードされる。

【0144】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインは、可溶性TGF- β 受容体(例えば、可溶性TGF β RII受容体(例えば、可溶性ヒトTGF β RII受容体))を含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトTGF β RIIは、第1の可溶性ヒトTGF β RII配列および第2の可溶性ヒトTGF β RII配列を含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトTGF β RIIは、第1の可溶性ヒトTGF β RII配列と第2の可溶性ヒトTGF β RII配列との間に配置されたリンカーを含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、リンカーは、配列GGGSGGGSGGGSGGGSG(配列番号7)を含む。

【0145】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の可溶性ヒトTGF β RII受容体配列は、

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSIKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCHD
PKLPYHDFILEDAAAPKCKIMKEKKKPGETFFMCSSSDEC
NDNIIFSEELYNTSNPD(配列番号80)と少なくとも80%同一(例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)の配列を含む。

【0146】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の可溶性ヒトTGF β RII受容体配列は、

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSIKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCHD
PKLPYHDFILEDAAAPKCKIMKEKKKPGETFFMCSSSDEC
NDNIIFSEELYNTSNPD(配列番号81)と少なくとも80%同一(例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)の配列を含む。

【0147】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の可溶性ヒトTGF β RII受容体配列は、

ATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAACAACGATATGAT
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGTCAAGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCTCTGCATGTCCAACCTGCACGATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGACCGTGTGTACGAC
CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTCAATTCTGGAGGACGCTG

10

20

30

40

50

CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAGAAGAAGAAGCCCGG
AGAGACCTTCTTTATGTGTTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCTTGAT（配列番号82）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%
同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくと
も90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、
少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコ
ードされる。

【0148】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の可溶性ヒトTGF
R β RII受容体配列は、

ATTCCTCCCCACGTGCAGAAAGAGCGTGAAATAATGACATGA
TCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGAAATTTCCCCAGCT
GTGCAAATTTCTGCGATGTGAGGTTTTCCACCTGCGACAAC
CAGAAAGTCCCTGTATGAGCAACTGCACAATCACCTCCATCT
GTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGGCTGTCTGGCGGAA
GAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAACCGTCTGCCACGAT
CCCAAGCTGCCCTACCAACGATTTTCATCCTGGAAGACGCCG
CCAGCCCTAAGTGCATCATGAAGAAGAGAAAAAGAAAGCCTGG
CGAGACCTTTTTTTCATGTGCTCCTGCGAGCAGCGACGAATGC
AACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAATACAATACCAGCA
ACCCCGAC（配列番号83）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%
同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくと
も90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、
少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコ
ードされる。

【0149】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトTGF β RII
受容体は、

ATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTTCTGCGATGTGAGGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAAGTCCCTGCATGTCCAACCTGCACGATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGACCGTGTGTACGAC
CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTTCATTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAGAAGAAGAAGCCCGG
AGAGACCTTCTTTATGTGTTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCTTGATGGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTCTTGG
TGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACGTGCAGAAAGAGCGTG
AATAATGACATGATCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGA
AATTTCCCCAGCTGTGCAAAATTTCTGCGATGTGAGGTTTTTC
CACCTGCGACAACCAGAAGTCTGTATGAGCAACTGCACA
ATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGG
CTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAAC
CGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCTACCAACGATTTTCATC
CTGGAAGACGCCCGCCAGCCCTAAGTGCATCATGAAGAAGA
AAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTTCATGTGCTCCTGCGAG
CAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAA

10

20

30

40

50

T A C A A T A C C A G C A A C C C C G A C（配列番号 84）と少なくとも 80% 同一（例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一）の配列によってコードされる。

【0150】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、ヒト TGF β RII 受容体は、

I P P H V Q K S V N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N
Q K S C M S N C S I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D
P K L P Y H D F I L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C
N D N I I F S E E Y N T S N P D G G G G S G G G G S G G G G S I P P H V Q K S V
N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N Q K S C M S N C S
I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D P K L P Y H D F I
L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C N D N I I F S E E
Y N T S N P D（配列番号 85）と少なくとも 80% 同一（例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一）の配列を含む。

【0151】

いくつかの実施形態では、第 1 のキメラポリペプチドは、

Q G Q D R H M I R M R Q L I D I V D Q L K N Y V N D L V P E F L P A P E D V E T
N C E W S A F S C F Q K A Q L K S A N T G N N E R I I N V S I K K L K R K P P S
T N A G R R Q K H R L T C P S C D S Y E K K P P K E F L E R F K S L L Q K M I H
Q H L S S R T H G S E D S S G T T N T V A A Y N L T W K S T N F K T I L E W E P
K P V N Q V Y T V Q I S T K S G D W K S K C F Y T T D T E C D L T D E I V K D V
K Q T Y L A R V F S Y P A G N V E S T G S A G E P L Y E N S P E F T P Y L E T N
L G Q P T I Q S F E Q V G T K V N V T V E D E R T L V R R N N T F L S L R D V F
G K D L I Y T L Y Y W K S S S S G K K T A K T N T N E F L I D V D K G E N Y C F
S V Q A V I P S R T V N R K S T D S P V E C M G Q E K G E F R E N W V N V I S D
L K K I E D L I Q S M H I D A T L Y T E S D V H P S C K V T A M K C F L L E L Q
V I S L E S G D A S I H D T V E N L I I L A N N S L S S N G N V T E S G C K E C
E E L E E K N I K E F L Q S F V H I V Q M F I N T S（配列番号 86）と少なくとも 80% 同一（例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一）の配列を含み得る。

【0152】

いくつかの実施形態では、第 1 のキメラポリペプチドは、

C A G G G C C A G G A C A G G C A C A T G A T C C G G A T G A G G C A G C T C A
T C G A C A T C G T C G A C C A G C T G A A G A A C T A C G T G A A C G A C C T
G G T G C C C G A G T T T C T G C C T G C C C C C G A G G A C G T G G A G A C C
A A C T G C G A G T G G T C C G C C T T C T C C T G C T T T C A G A A G G C C C
A G C T G A A G T C C G C C A A C A C C G G C A A C A A C G A G C G G A T C A T
C A A C G T G A G C A T C A A G A A G C T G A A G C G G A A G C C T C C C T C C
A C A A A C G C C G G C A G G A G G C A G A A G C A C A G G C T G A C C T G C C
C C A G C T G T G A C T C C T A C G A G A A G A A G C C C C C C A A G G A G T T
C C T G G A G A G G T T C A A G T C C C T G C T G C A G A A G A T G A T C C A T
C A G C A C C T G T C C T C C A G G A C C C A C G G C T C C G A G G A C T C C T
C C G G C A C C A C C A A T A C C G T G G C C G C T T A T A A C C T C A C A T G

GAAGAGCACCAACTTCAAGACAATTCTGGAATGGGAACCC
AAGCCCGTCAATCAAGTTTACACCGTGAGATCTCCACCA
AATCCGGAGACTGGAAGAGCAAGTGCTTCTACACAACAGA
CACCGAGTGATTTAACCAGACGAAATCGTCAAGGACGTC
AAGCAAACCTATCTGGCTCGGGTCTTTTCTACCCCGCTG
GCAATGTCGAGTCCACCGGCTCCGCTGGCGAGCCTCTCTA
CGAGAATTCCCCCGAATTACCCCTTATTTAGAGACCAAT
TTAGGCCAGCCTACCATCCAGAGCTTCGAGCAAGTTGGCA
CCAAGGTGAACGTCACCGTCCGAGGATGAAAGGACTTTAGT
GCGGCGGAATAACACATTTTTTATCCCTCCGGGATGTGTTT
GGCAAAGACCTCATCTACACACTGTACTATTGGAAGTCCA
GCTCCTCCGGCAAAGAGACCGCTAAGACCAACACCAACGA
GTTTTTTAATTGACGTGGACAAAGGCGAGAACTACTGCTTC
AGCGTGCAAGCCGTGATCCCTTCTCGTACCGTCAACCGGA
AGAGCACAGATTCCCCCGTTGAGTGCATGGGCCAAGAAAA
GGGCGAGTTCCGGGAGAACTGGGTGAACGTCATCAGCGAT
TTAAAGAAGATCGAAGATTTAATTTCAGTCCATGCATATCG
ACGCCACTTTATACACAGAATCCGACGTGCACCCCTCTTG
TAAGGTGACCGCCATGAAATGTTTTTTACTGGAGCTGCAA
GTTATCTCTTTAGAGAGCGGAGACGCTAGCATCCACGACA
CCGTGGAGAAATTTAATCATTTTATAGCCAATAACTCTTTATC
CAGCAACGGCAACGTGACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTG
GAAGAGCTGGAGGAGAAAGAACATCAAGGAGTTTCTGCAAT
CCTTTGTGCACATTGTCCAGATGTTTCATCAATACCTCC (配

列番号 87) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコードされる。

【0153】

いくつかの実施形態では、第 1 のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSQGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKN
YVNDLVPEFLPAPEDVETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGN
NERIINVS IKKLKRKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKK
PPKEFLERFKSL LQKMIHQHLS SRTHGSEDSSGTTNTVAA
YNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSKC
FYTTDTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPAGNVESTGSA
GEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSF EQVGTKVNVTVED
ERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKK TAK
TNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVIPSR TVNRKSTDSPVEC
MGQEKGEFRENWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESD
VHPSCKVTAMKCFLL ELQVISLES GDASIHDTVENLIILA
NNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKN IKEFLQS FVHIVQMF
INTS (配列番号 88) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列を含み得る。

【0154】

いくつかの実施形態では、第 1 のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCT
CCAGCGCCTACTCCCAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCG

GATGAGGCAGCTCATCGACATCGTTCGACCAGCTGAAGAAC
TACGTGAACGACCTGGTGCCTCGAGTTTCTGCCTGCCCCCG
AGGACGTGGAGACCAACTGCGAGTGGTCCGCCTTCTCCTG
CTTTCAGAAAGGCCAGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAAC
AACGAGCGGATCATCAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGC
GGAAGCCTCCCTCCACAAACGCCGGCAGGAGGCAGAAGCA
CAGGCTGACCTGCCCCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAG
CCCCCAAGGAGTTCTTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGC
AGAAGATGATCCATCAGCACCTGTCTCCAGGACCCACGG
CTCCGAGGACTCCTCCGGCACCAACCAATACCGTGGCCGCT
TATAACCTCACATGGAAGAGCACCAACTTCAAGACAATTCT
TGGAAATGGGAACCCAAGCCCGTCAATCAAGTTTACACCGT
GCAGATCTCCACCAAAATCCGGAGACTGGAAGAGCAAGTGC
TTCTACACAACAGACACCGAGTGTGATTTAACCGACGAAA
TCGTCAAGGACGTCAAGCAAACCTATCTGGCTCGGGTCTT
TTCCTACCCCGCTGGCAATGTCTGAGTCCACCGGCTCCGCT
GGCGAGCCTCTCTACGAGAATTCCCCCGAATTACCCCTT
ATTTAGAGACCAATTTAGGCCAGCCTACCATCCAGAGCTT
CGAGCAAGTTGGCACCAAGGTGAACGTCAACCGTCCGAGGAT
GAAAGGACTTTAGTGC GGCGGAATAACACATTTTTATCCC
TCCGGGATGTGTTCCGGCAAAGACCTCATCTACACACTGTA
CTATTGGAAGTCCAGCTCCTCCGGCAAAAAGACCGCTAAG
ACCAACACCAACGAGTTTTTTAATTGACGTGGACAAAGGCG
AGAACTACTGCTTTCAGCGTGCAGCCGTGATCCCTTCTCG
TACCGTCAACCGGAAGAGCACAGATTCCCCCGTTGAGTGC
ATGGGGCCAAGAAAAGGGCGAGTTCCGGGAGAACTGGGTGA
ACGTCAATCAGCGATTTTAAAGAAGATCGAAGATTTAATTCA
GTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACACAGAATCCGAC
GTGCACCCCTCTTGTAAAGGTGACCGCCATGAAATGTTTTT
TACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTTAGAGAGCGGAGACGC
TAGCATCCACGACACCGTGGAGAATTTAATCATTTTTAGCC
AATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTGACAGAGTCCG
GCTGCAAGGAGTGC GAAGAGCTGGAGGAGAAGAACATCAA
GGAGTTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGTCCAGATGTTT
ATCAATACCTCC (配列番号89) と少なくとも80%同一 (例えば、少なく
とも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、
少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96
%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一) の配列に
よってコードされる。

【0155】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCCHD
PKLPYHDFILEDAA SPK CIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSE EYNTSNPDGGGGSGGGGSGGGGSIIPPHVQKSV
NNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCS
ITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCCHDPKLPYHDFI
ILEDAA SPK CIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEE
YNTSNPDITC PPM SVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGF
KRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI R (配列番号90)

と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含み得る。

【0156】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

```
ATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGTCAAGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCCTGCATGTCCAACCTGCACGATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGACCGTGTGTTCACGAC
CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTTCATTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAGAAGAAGCCCGG
AGAGACCTTCTTTTATGTGTTCTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTTCTGG
TGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACGTGCAGAAGAGCGTG
AATAATGACATGATCGTGAACCGATAACAATGGCGCCCGTGA
AATTTCCCCAGCTGTGCAAAATTCCTGCGATGTGAGGTTTTTC
CACCTGCGACAACCAGAAGTCCCTGTATGAGCAACTGCACA
ATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGG
CTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAAC
CGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCTACCAACGATTTTCATC
CTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTGCATCATGAAAGAGA
AAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTCATGTGCTCCTGCAG
CAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAA
TACAATAACCAGCAACCCCGACATCACGTGTCTCCTCCTCTA
TGTCCGTGGAAACACGCAGACATCTGGGTCAAGAGCTACAG
CTTGTACTCCAGGGAGCGGTACATTTGTAACTCTGGTTTTTC
AAGCGTAAAGCCGGCACGTCCAGCCTGACGGAGTGCGTGT
TGAACAAGGCCACGAATGTGCGCCCACTGGACAACCCCCAG
TCTCAAATGTATTAGA（配列番号91）と
```

少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0157】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

```
MKWVTFISLLFLFSSAYSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAV
KFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPKQEV CV
AVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAA SPKCIMKE
KKKPGETFFMCS SCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDGGGSG
GGSGGGGSIIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFC
DFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPKQEV CVAVWRKNDEN
ITLETVCHDPKLPYHDFILEDAA SPKCIMKEKKKPGETFF
MCS SCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDITC PPM SVEHADIW
VKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV AH
WTTPSLKCIR（配列番号92）と
```

少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少な

くとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列を含み得る。

【0158】

いくつかの実施形態では、第 2 のキメラポリペプチドは、

```
ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTGTTCT
CCAGCGCCTACTCCATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGT
GAACAACGATATGATCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTG
AAGTTTCCCCAGCTCTGCAAGTTCTGCGATGTCAAGGTTCA
GCACCTGCGATAATCAGAAGTCTCTGCATGTCCAACCTGCAC
GATCACCTCCATCTGCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGTG
GCCGTGTGGCGGAAAAATGACGAGAAACATCACCCCTGGAGA
CCGTGTGTTCACGACCCCAAGCTCCCTTATCACGACTTTCAT
TCTGGAGGACGCTGCCCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAG
AAGAAGAAGCCCCGGAGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTA
GCAGCGACGAGTGTAAACGACAACATCATCTTCAGCGAAGA
GTACAACACCCAGCAACCCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGA
GGTGGAGGTTCTGGTGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACG
TGCAGAAGAGCGTGAAATAATGACATGATCGTGACCGATAA
CAATGGCGCCGTGAAATTTCCCCAGCTGTGCAAAATTCCTGC
GATGTGAGGTTTTTCCACCTGCGACAACCAGAAGTCTCTGTA
TGAGCAACTGCACAATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCA
GGAGGTGTGCGTGGCTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAAT
ATCACCCCTGGAAACCGTCTTGCCACGATCCCAAGCTGCCCT
ACCACGATTTTCATCCTGGAAGACGCCCGCCAGCCCTAAGTG
CATCATGAAGAAGAGAAAAAGAAAGCCTGGCGAGACCTTTTTC
ATGTGCTCCTGCAGCAGCGACGAATGCAACGACAATATCA
TCTTTAGCGAGGAATACAATAACAGCAACCCCGACATCAC
GTGTCCTCCTCCTATGTCCGTGGAACACGACAGACATCTGG
GTCAAGAGCTACAGCTTGTACTCCAGGGAGCGGTACATTT
GTAACCTCTGGTTTTCAAGCGTAAGCCGGCACGTCCAGCCT
GACGGAGTGCGTGTGTAACAAGGCCACGAATGTCGCCCAC
TGGACAACCCCCAGTCTCAAATGTATTAGA (配列番号 93) と少
```

なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコードされる。

【0159】

例示的な多鎖キメラポリペプチドタイプ C

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第 1 の標的結合ドメインおよび第 2 の標的結合ドメインは各々独立して、IL-7 受容体または IL-21 受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第 1 の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインは、第 1 のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第 1 のキメラポリペプチドは、第 1 のキメラポリペプチド内の第 1 の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列 (例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか) をさらに含む。

【0160】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインと一対の親和性ドメインの第 1 のドメインは、第 1 のキメラポリペプチド内で互いに直接

10

20

30

40

50

隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の可溶性組織因子ドメインと一对の親和性ドメインの第1のドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0161】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内的一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

10

【0162】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれかであり得る。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインは、本明細書に記載の例示的な一对の親和性ドメインのうちのいずれかであり得る。

【0163】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインの一方または両方は、可溶性IL-21（例えば、可溶性ヒトIL-21ポリペプチド）または可溶性IL-7（例えば、可溶性ヒトIL-7ポリペプチド）である。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、可溶性IL-21または可溶性IL-7である。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインの両方が、IL-21受容体またはIL-7受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じエピトープに特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じアミノ酸配列を含む。

20

【0164】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインはIL-21受容体に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインはIL-7受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインはIL-7受容体に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインはIL-21受容体に特異的に結合する。

30

【0165】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインは、可溶性IL-21（例えば、可溶性ヒトIL-21）を含む。

【0166】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-21は、
QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
TNAGR RQKHRLT CPSCDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH
QHLS SRTHGSEDS（配列番号78）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む。

40

【0167】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-21は、
CAAGGTCAAGATCGCCACATGATTAGAATGCGTCAACTTA

50

T A G A T A T T G T T G A T C A G C T G A A A A A T T A T G T G A A T G A C T T
G G T C C C T G A A T T T C T G C C A G C T C C A G A A G A T G T A G A G A C A
A A C T G T G A G T G G T C A G C T T T T T C C T G T T T T C A G A A G G C C C
A A C T A A A G T C A G C A A A T A C A G G A A A C A A T G A A A G G A T A A T
C A A T G T A T C A A T T A A A A A G C T G A A G A G G A A A C C A C C T T T C C
A C A A A T G C A G G G A G A A G A C A G A A A C A C A G A C T A A C A T G C C
C T T C A T G T G A T T C T T A T G A G A A A A A C C A C C C A A A G A A T T
C C T A G A A A G A T T C A A A T C A C T T C T C C A A A A G A T G A T T C A T
C A G C A T C T G T C C T C T A G A A C A C A C G G A A G T G A A G A T T C C (
配列番号 94) と少なくとも 80 % 同一 (例えば、少なくとも 82 % 同一、少なくとも 8
4 % 同一、少なくとも 86 % 同一、少なくとも 88 % 同一、少なくとも 90 % 同一、少な
くとも 92 % 同一、少なくとも 94 % 同一、少なくとも 96 % 同一、少なくとも 98 % 同
一、少なくとも 99 % 同一、または 100 % 同一) の配列によってコードされる。

10

【0168】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒト IL-21 は、
C A G G G C C A G G A C A G G C A C A T G A T C C G G A T G A G G C A G C T C A
T C G A C A T C G T C G A C C A G C T G A A G A A C T A C G T G A A C G A C C T
G G T G C C C G A G T T T C T G C C T G C C C C C G A G G A C G T G G A G A C C
A A C T G C G A G T G G T C C G C C T T C T C C T G C T T T C A G A A G G C C C
A G C T G A A G T C C G C C A A C A C C G G C A A C A A C G A G C G G A T C A T
C A A C G T G A G C A T C A A G A A G C T G A A G C G G A A G C C T C C C T C C
A C A A A C G C C G G C A G G A G G C A G A A G C A C A G G C T G A C C T G C C
C C A G C T G T G A C T C C T A C G A G A A G A A G C C C C C C A A G G A G T T
C C T G G A G A G G T T C A A G T C C C T G C T G C A G A A G A T G A T C C A T
C A G C A C C T G T C C T C C A G G A C C C A C G G C T C C G A G G A C T C C (
配列番号 79) と少なくとも 80 % 同一 (例えば、少なくとも 82 % 同一、少なくとも 8
4 % 同一、少なくとも 86 % 同一、少なくとも 88 % 同一、少なくとも 90 % 同一、少な
くとも 92 % 同一、少なくとも 94 % 同一、少なくとも 96 % 同一、少なくとも 98 % 同
一、少なくとも 99 % 同一、または 100 % 同一) の配列によってコードされる。

20

【0169】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒト IL-7 配列
は、
D C D I E G K D G K Q Y E S V L M V S I D Q L L D S M K E I G S N C L N N E F N
F F K R H I C D A N K E G M F L F R A A R K L R Q F L K M N S T G D F D L H L L
K V S E G T T I L L N C T G Q V K G R K P A A L G E A Q P T K S L E E N K S L K
E Q K K L N D L C F L K R L L Q E I K T C W N K I L M G T K E H (配列番号 11)
と少なくとも 80 % 同一 (例えば、少なくとも 82 % 同一、少なくとも 84 % 同一、少な
くとも 86 % 同一、少なくとも 88 % 同一、少なくとも 90 % 同一、少なくとも 92 % 同
一、少なくとも 94 % 同一、少なくとも 96 % 同一、少なくとも 98 % 同一、少な
くとも 99 % 同一、または 100 % 同一) の配列を含む。

30

40

【0170】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒト IL-7 は、
G A T T G T G A T A T T G A A G G T A A A G A T G G C A A A C A A T A T G A G A
G T G T T C T A A T G G T C A G C A T C G A T C A A T T A T T G G A C A G C A T
G A A A G A A A T T G G T A G C A A T T G C C T G A A T A A T G A A T T T A A C
T T T T T T A A A A G A C A T A T C T G T G A T G C T A A T A A G G A A G G T A
T G T T T T T A T T C C G T G C T G C T C G C A A G T T G A G G C A A T T T C T
T A A A A T G A A T A G C A C T G G T G A T T T T G A T C T C C A C T T A T T A
A A A G T T T C A G A A G G C A C A A C A A T A C T G T T G A A C T G C A C T G
G C C A G G T T A A A G G A A G A A A A C C A G C T G C C C T G G G T G A A G C

50

CCAACCAACAAAGAGTTTGGGAAGAAAATAAATCTTTAAAG
GAACAGAAAAAACTGAATGACTTGTGTTTCCTAAAGAGAC
TATTACAAGAGATAAAAACTTGTGGGAATAAAATTTTGAT
GGGCACATAAAGAACAC（配列番号95）と少なくとも80%同一（例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88
%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく
とも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）
の配列によってコードされる。

【0171】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
TNAGR RQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH
QHLSSRTHGSEDS SGT TNTVAAYNL TWKSTNFKTILEWEP
KPVNQVYTVQI STKSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDV
KQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETN
LGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVF
GKDLIY TLYYWKSSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCF
SVQAVIPSR TVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRENVNVI SD
LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLLELQ
VISLESGDASI HDTV ENLIILANNSLSSNGNVTESGCKEC
EELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFIN TS（配列番号96）と少なくとも
80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%
同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なく
とも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、
または100%同一）の配列を含み得る。

【0172】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

CAAGGTCAAGATCGCCACATGATTAGAAATGCGTCAACTTA
TAGATATTGTTGATCAGCTGAAAAATTATGTGAATGACTT
GGTCCCTGAATTTCTGCCAGCTCCAGAAGATGTAGAGACA
AACTGTGAGTGGTCAGCTTTTTCTCTGTTTTCAGAAGGCC
AACTAAAGTCAGCAAATACAGGAAACAATGAAAGGATAAT
CAATGTATCAATTA AAAAGCTGAAGAGGAAACCACTTCC
ACAAATG CAGGGAGAAGACAGAAACACAGACTAACATGCC
CTTCATGTGATTCTTATGAGAAAAAACCAACCAAGAATT
CCTAGAAAGATTCAAATCACTTCTCCAAAAGATGATTCAT
CAGCATCTGTCTCTAGAACACACGGAAGTGAAGATTCTCT
CAGGCAC TACAATACTGTGGCAGCATATAATTTAACTTG
GAAATCAACTAATTTCAAGACAATTTTGGAGTGGGAACCC
AAACCCGTC AATCAAGTCTACACTGTTCAAATAAGCACTA
AGTCAGGAGATTGGAAAAGCAAATGCTTTTACACAACAGA
CACAGAGTGTGACCTCACCGACGAGATTGTGAAGGATGTG
AAGCAGACGTACTTGGCACGGGTCTTCTCTACCCGGGCAG
GGAATGTGGAGAGCACCGGTCTGCTGGGGAGCCTCTGTA
TGAGAACTCCCCAGAGTTCAACACCTTACCTGGAGACAAAC
CTCGGACAGCCAACAATTCAGAGTTTTGAACAGGTGGGAA
CAAAAGTGAATGTGACCGTAGAAGATGAACGGACTTTAGT
CAGAAGGAACAACA CT TCTAAGCCTCCGGGATGTTTTT
GGCAAGGACTTAATTTATACACTTTATTATTGGAAATCTT

CAAGTTTCAGGAAAGAAAACAGCCAAAACAAACACTAATGA
GTTTTTTGATTGATGTGGATAAAGGAGAAAACACTACTGTTTC
AGTGTTTCAAGCAGTGATTCCCTCCCGAACAGTTAACC GGGA
AGAGTACAGACAGCCCCGGTAGAGTGATGGGCCAGGAGAA
AGGGGAATTCAGAGAAAACCTGGGTGAACGTCATCAGCGAT
TTAAAGAAGATCGAAGATTTAATTTCAGTCCATGCATATCG
ACGCCCACTTTATACACAGAATCCGACGTGCACCCCTCTTG
TAAGGTGACCGCCATGAAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAA
GTTATCTCTTTAGAGAGCGGAGACGCTAGCATCCACGACA
CCGTGGAGAAATTTAATCATTTTTAGCCAATAACTCTTTATC
CAGCAACGGCAACGTGACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGC
GAAGAGCTGGAGGAGAAGAACATCAAGGAGTTTCTGCAAT
CCTTTGTGCAATTGTCCAGATGTTTCATCAATACCTCC (配
列番号97)と少なくとも80%同一(例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84
%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なく
とも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一
、少なくとも99%同一、または100%同一)の配列によってコードされる。

【0173】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

MGVKVLFALICIAVAEAQGQDRHMRQLIDIVDQLKNY
VNDLVPEFLPAPEDVETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNN
ERIINVSIKKLKRKPPSTNAGRQKHRLTCPSCDSYEKKP
PKEFLERFKSL LQKMIHQHLS SRTHGSEDSSGTTNTVAAY
NLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSKCF
YTTDTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPAGNVESTGSAG
EPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSF EQVGTKVNVTV EDE
RTLVRNRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKT
NTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVIPSRTVNRKSTDSPVECM
GQEKGEFRENWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDV
HPSCKV TAMKCF LLELQVISLES GDASIHDTVENLIILAN
NSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFI
NTS (配列番号98)と少なくとも80%同一(例えば、少なくとも82%同一、少なく
とも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同
一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも
98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)の配列を含み得る。

【0174】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

ATGGGAGTGAAAGTTCTTTTTTGCCCTTATTTGTATTGCTG
TGGCCGAGGCCCAAGGTCAAGATCGCCACATGATTAGAAT
GCGTCAACTTATAGATATTGTTGATCAGCTGAAAAATTAT
GTGAATGACTTGGTCCCTGAATTTCTGCCAGCTCCAGAAG
ATGTAGAGACAAACTGTGAGTGGTCAGCTTTTTTCTCTGTTT
TCAGAAGGCCCAACTAAAGTCAGCAAATACAGGAAACAAT
GAAAGGATAAATCAATGTATCAATTA AAAAGCTGAAGAGGA
AACCACCTTCCACAAATGCAGGGAGAAGACAGAAACACAG
ACTAACATGCCCTTCATGTGATTCTTATGAGAAAAAACCA
CCCAAAGAATTCTTAGAAAGATTCAAATCACTTCTCCAAA
AGATGATTTCATCAGCATCTGTCTCTAGAACACACGGGAAG
TGAAGATTCTCAGGC ACTACAAATACTGTGGCAGCATAT
AATTTAACTTGGAAATCAACTAATTTCAAGACAATTTTG

AGTGGGAACCCAAACCCGTCAATCAAGTCTACACTGTTCA
AATAAGCACTAAGTCAGGAGATTGGAAAAGCAAATGCTTT
TACACAACAGACACAGAGTGTGACCTCACCGACGAGATTG
TGAAGGATGTGAAGCAGACGTACTTGGCACGGGTCTTCTC
CTACCCCGGCAGGGAATGTGGAGAGCACCGGTTCTGCTGGG
GAGCCTCTGTATGAGAACTCCCCAGAGTTCACACCTTACC
TGGAGACAAACCTCGGACAGCCAACAATTTCAGAGTTTTGA
ACAGGTGGGAACAAAAGTGAATGTGACCGTAGAAGATGAA
CGGACTTTTAGTCAGAAGGAACAACACTTTCTAAGCCTCC
GGGATGTTTTTTGGCAAGGACTTAATTTATACACTTTATTA
TTGGAAATCTTCAAGTTCAGGAAAGAAAACAGCCAAAACA
AACACTAATGAGTTTTTTGATTGATGTGGATAAAGGAGAAA
ACTACTGTTTTCAGTGTTCAAGCAGTGATTCCCTCCCGAAC
AGTTAACC GGAAAGAGTACAGACAGCCCGGTAGAGTGATG
GGCCAGGAGAAAGGGGAATTTCAGAGAAAACCTGGGTGAACG
TCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAGATTTAATTTCAGTC
CATGCATATCGACGCCACTTTATACACAGAATCCGACGTG
CACCCCTCTTGTAAAGGTGACCGCCATGAAATGTTTTTTAC
TGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGAGCGGAGACGCTAG
CATCCACGACACCGTGAGAAATTTAATCATTTTTAGCCAAT
AACTCTTTATCCAGCAACGGGCAACGTGACAGAGTCCGGCT
GCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGAAAGAACATCAAGGA
GTTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGTCCAGATGTTTCATC
AATACCTCC（配列番号99）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82
%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なく
とも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一
、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によって
コードされる。

【0175】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

DCDIEGKDGKQYESVLMVSI DQLLD SMKEIGSNCLNNEFN
FFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLL
KVSEGT TILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLK
EQKKLNDLCFLKRL LQEIKTCWNKILMGTK E HITCPPPMS
VEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSSLTECVLN
KATNVAHWTTPSLKCI R（配列番号100）と少なくとも80%同一（例え
ば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なく
とも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少
なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同
一）の配列を含み得る。

【0176】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

GATTGTGATATTGAAGGTAAAGATGGCAAACAATATGAGA
GTGTTCTAATGGTCAGCATCGATCAATTATTGGACAGCAT
GAAAGAAATTGGTAGCAATTGCCTGAATAATGAATTTAAC
TTTTTTTAAAAGACATATCTGTGATGCTAATAAGGAAGGTA
TGTTTTTTATTCCGTGCTGCTCGCAAGTTGAGGCAATTTCT
TAAAATGAATAGCACTGGTGATTTTGATCTCCACTTATTA
AAAGTTTTCAGAAGGCACAACAATACTGTTGAACTGCACTG
GCCAGGTTAAAGGAAGAAAACCAGCTGCCCTGGGTGAAGC

CCAACCAACAAAGAGTTTTGGGAAGAAAATAAATCTTTTAAAG
GAACAGAAAAAACTGAATGACTTTGTGTTTCCTAAAGAGAC
TATTACAAGAGATAAAAACTTGTGTTGGAATAAAATTTTGT
GGGCACTAAAGAACACATCACGTGCCCTCCCCCATGTCC
GTGGAACACGACAGACATCTGGGTCAAGAGCTACAGCTTTGT
ACTCCAGGGAGCGGTACATTTGTAACTCTGGTTTCAAGCG
TAAAGCCGGCACGTCCAGCCTGACGGAGTGCGTGTGTAAC
AAGGCCACGAATGTCGCCCACTGGACAACCCCCAGTCTCA
AATGCATTAGA（配列番号101）と少なくとも80%同一（例えば、少なく
も82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、
少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96
%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列に
よってコードされる。

10

【0177】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

MGVKVLFALICIAVAEADCDIEGKDGKQYESVLMVSI DQL
LDSMKEIGSNCLNNEFNFFKRHICDANKEGMFLFRAARKL
RQFLKMNSTGDFDLHLLKVSEGTTLILNCTGQVKGRKPAA
LGEAQPTKSLEENKSLKEQKKLNDLCFLKRLQLQEIKTCWN
KILMGTKEHITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNS
GFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI R（配列番号1
02）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一
、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも9
2%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少な
くとも99%同一、または100%同一）の配列を含み得る。

20

【0178】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

ATGGGAGTGAAAGTTCTTTTTTGCCCTTATTTGTATTGCTG
TGGCCGAGGCCGATTGTGATATTGAAGGTAAAGATGGCAA
ACAATATGAGAGTGTCTAATGGTCAGCATCGATCAATTA
TTGGACAGCATGAAAGAAATTGGTAGCAATTGCCTGAATA
ATGAATTTAACTTTTTTTAAAGACATATCTGTGATGCTAA
TAAGGAAGGTATGTTTTTATTCCTGCTGCTCGCAAGTTG
AGGCAATTTCTTAAATGAATAGCACTGGTGATTTTGTATC
TCCACTTATTTAAAGTTTTCAGAAGGCCACAACAATACTGTT
GAACTGCACTGGCCAGGTTAAAGGAAGAAAACAGCTGCC
CTGGGTGAAGCCCAACCAACAAAGAGTTTGGAAGAAAATA
AATCTTTAAAGGAACAGAAAAAACTGAATGACTTGTGTTT
CCTAAAGAGACTATTACAAGAGATAAAAACTTGTGGAAT
AAAAATTTTGATGGGCACTAAAGAACACATCACGTGCCCTC
CCCCCATGTCCGTGGAACACGACAGACATCTGGGTCAAGAG
CTACAGCTTGTACTCCAGGGAGCGGTACATTTGTAACTCT
GGTTTCAAGCGTAAAGCCGGCACGTCCAGCCTGACGGAGT
GCGTGTGTAACAAGGCCACGAATGTCGCCCACTGGACAAC
CCCCAGTCTCAAATGCATTAGA（配列番号103）と少なくとも80%
同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、
少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94
%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または
100%同一）の配列によってコードされる。

30

40

【0179】

50

例示的な多鎖キメラポリペプチドタイプD

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、IL-7受容体またはIL-21受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0180】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインと一对の親和性ドメインの第1のドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の可溶性組織因子ドメインと一对の親和性ドメインの第1のドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0181】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内的一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0182】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれかであり得る。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインは、本明細書に記載の例示的な一对の親和性ドメインのうちのいずれかであり得る。

【0183】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインの一方または両方は、可溶性IL-21（例えば、可溶性ヒトIL-21ポリペプチド）または可溶性IL-7（例えば、可溶性ヒトIL-7ポリペプチド）である。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、可溶性IL-21または可溶性IL-7である。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインの両方が、IL-21受容体またはIL-7受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じエピトープに特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じアミノ酸配列を含む。

【0184】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインはIL-21受容体に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインはIL-7受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインはIL-7受容体に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインはIL-21受容体に特異的に結合する。

【0185】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-21は、
QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS

10

20

30

40

50

TNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIHQHLSSRTHGSEDS（配列番号78）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む。

【0186】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-21は、
CAAGGTCAAGATCGCCACATGATTAGAAATGCGTCAACTTATAGATATTTGTTGATCAGCTGAAAAATTATGTGAATGACTTGGTCCCTGAATTTCTGCCAGCTCCAGAAGATGTAGAGACA
AACTGTGAGTGGTCAGCTTTTTTCTGTTTTCAGAAAGGCCCAACTAAAGTCAGCAAATACAGGAAACAATGAAAGGATAATCAATGTATCAATTAAAAAGCTGAAGAGGAAACCACTTCCACAAATGCAAGGAGAAAGACAGAAACACAGACTAACATGCCCTTCATGTGATTCTTATGAGAAAAAACCACCCAAAGAATTCTTAGAAAGATTCAAATCACTTCTCCAAAGATGATTCAATCAGCATCTGTCTCTAGAACACACGGGAAGTGAAGATTCC（配列番号94）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0187】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-21は、
CAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCGGATGAGGCAGCTCATCGACATCGTCCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCTGGTGCCCGAGTTTCTGCCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACC
AACTGCGAGTGGTCCGCTTCTCCTGCTTTTCAGAAAGGCCCAGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAACAACGAGCGGATCATCAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCCACAAACGCCCGGCAGGAGGCAGAAAGCACAGGCTGACCTGCC
CCAGCTGTGACTCCTACGAGAAAGAGCCCCCAAGGAGTTCCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAAGATGATCCATCAGCACCTGTCTCTCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCC（配列番号79）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0188】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-7配列は、

DCDIEGKDGKQYESVLMVSI DQL LDSMKEIGSNCLNNEFN
FFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHL
KVSEGT TILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLK
EQKKLNDLCFLKRL LQEIKTCWNKILMGTK E H（配列番号11）
と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む。

【0189】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-7は、
GATTGTGATATTGAAGGTAAAGATGGCAAACAATATGAGA
GTGTTCTAATGGTCAGCATCGATCAATTATTGGACAGCAT
GAAAGAAATTGGTAGCAATTGCCTGAATAATGAATTTAAC
TTTTTTTAAAAGACATATCTGTGATGCTAATAAGGAAGGTA
TGTTTTTTATTCCGTGCTGCTCGCAAGTTGAGGCAATTTCT
TAAAATGAATAGCACTGGTGATTTTGATCTCCACTTATTA
AAAGTTTTCAGAAGGCACAACAATACTGTTGAACTGCACTG
GCCAGGTTTAAAGGAAGAAAACCAGCTGCCCTGGGTGAAGC
CCAACCAACAAGAGTTTGGAAAGAAAATAAATCTTTAAAG
GAACAGAAAAAACTGAATGACTTTGTGTTTCTTAAAGAGAC
TATTACAAGAGATAAAAACTTGTGGAATAAAAATTTTGAT
GGGCACTAAAGAACAC（配列番号95）と少なくとも80%同一（例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88
%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく
とも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）
の配列によってコードされる。

【0190】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、
DCDIEGKDGKQYESVLMVSI DQLLD SMKEIGSNCLNNEFN
FFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLL
KVSEGT TILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLK
EQKKLNDLCFLKRL LQEIKTCWNKILMGTK EHS GTTNTVA
AYNL TWKSTNF KTI LEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSK
CFYTTDTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPAGNVESTGS
AGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSF EQVGTKVNV TVE
DERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTA
KTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVIPSR TVNRKSTDSPVE
CMGQEKGEFRENWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTES
DVHPSCKV TAMKCFLL ELQVISLES GDASIHDTVENLIIL
ANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQS FVHIVQM
FINTS（配列番号104）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一
、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも9
0%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少な
くとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含み得る。

【0191】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、
GATTGCGACATCGAGGGGCAAGGACGGCAAGCAGTACGAGA
GCGTGCTGATGGTGTC CATCGACCAGCTGCTGGACAGCAT
GAAGGAGATCGGCTCCA ACTGCCTCAACAACGAGTTCAAC
TTCTTCAAGCGGCACATCTGCGACGCCAACAAGGAGGGCA
TGTTCTCTGTT CAGGGCCGCCAGGAAACTGCGGCAGTTCTCT
GAAGATGA ACTCCACC GGCGACTTCGACCTGCACCTGCTG
AAGGTGTCCGAGGGGCA CCA CCACTCCTGCTGAACTGCACCG
GACAGGTGAAGGGGCCGGA AACCTGCTGCTCTGGGAGAGGC
CCAACCCACCAAGAGCCTGGAGGAGAACAAAGTCCCTGAAG
GAGCAGAAAGAGCTGAACGACCTGTGCTTCTCTGAAGAGGC
TGCTGCAAGGAGATCAAGACCTGCTGGAACAAGATCCTGAT
GGGCACCAAGGAGCATAGCGGCACAACCAACACAGTCGCT
GCCATAAACCTCACTTGGAAGAGCACCAACTTCAAAACCA

TCCTCGAATGGGAACCCAAACCCGTTAACCAAGTTTACAC
CGTGCGAGATCAGCACCAAGTCCGGCGACTGGAAGTCCAAA
TGTTTCTATACCACCGACACCGAGTGCGATCTCACCGATG
AGATCGTGAAAGATGTGAAACAGACCTACCTCGCCCCGGGT
GTTTAGCTACCCCGCCGGCAATGTGGAGAGCACTGGTTCC
GCTGGCGAGCCTTTATACGAGAACAGCCCCGAATTTACCC
CTTACCTCGAGACCAATTTAGGACAGCCCCACCATCCAAAG
CTTTGAGCAAGTTGGCACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAG
GACGAGCGGACTTTAGTGCGGGCGGAACAACACCTTTCTCA
GCCTCCGGGATGTGTTTCGGCAAAGATTTAATCTACACACT
GTATTACTGGAAGTCTCTCTCCTCCGGCAAGAAGACAGCT
AAAACCAACACAAACGAGTTTTTTAATCGACGTGGATAAAG
GCGAAAACACTACTGTTTTCAGCGTGCAAGCTGTGATCCCCCTC
CCGGACCGGTGAATAGGAAAAGCACCGATAGCCCCCGTTGAG
TGCATGGGCCAAGAAAAGGGCGAGTTCCGGGAGAACTGGG
TGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAGATTTAAT
TCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACACAGAATCC
GACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATGAAATGTT
TTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGAGCGGAGA
CGCTAGCATCCACGACACCGTGGAGAATTTAATCATTTTA
GCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTGACAGAGT
CCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGAAGAACAT
CAAGGAGTTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGTCCAGATG
TTCATCAATACCTCC（配列番号105）と少なくとも80%同一（例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88
%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく
とも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）
の配列によってコードされる。

【0192】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSDCDIEGKDQKQYESVLMVSIIDQ
LLDSMKEIGSNCLNNEFNFFKRHICDANKEGMFLFRAARK
LRQFLKMNSTGDFDLHLLKVSEGTTLILNCTGQVKGRKPA
ALGEAQPTKSLEENKSLKEQKKLNDLCFLKRLQLQEIKTCW
NKILMGTKEHSGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPV
NQVYTVQISTKSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKT
YLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQ
PTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKD
LIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFVSQ
AVIPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRENWVNVISDLKK
IEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLLLELQVIS
LES GDASIHD TVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEL
EEKNIKEFLQS FVHIVQMFINTS（配列番号106）と少なくとも80
%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一
、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも9
4%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、また
は100%同一）の配列を含み得る。

【0193】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTGTTCT

CCAGCGCCTACTCCGATTGCGACATCGAGGGCAAGGACGG
CAAGCAGTACGAGAGCGTGCTGATGGTGTCCATCGACCAG
CTGCTGGACAGCATGAAGGAGATCGGCTCCAACCTGCCTCA
ACAACGAGTTCAACTTCTTCAAGCGGCACATCTGCGACGC
CAACAAGGAGGGCATGTTCTCTGTTTCAGGGCCGCCAGGAAA
CTGCGGCAGTTCCTGAAGATGAACTCCACCGGCGACTTTCG
ACCTGCACCTGCTGAAGGTGTCCGAGGGCACCAACCATCCT
GCTGAACCTGCACCGGACAGGTGAAGGGCCGGAAACCTGCT
GCTCTGGGAGAGGGCCCAACCCACCAAGAGCCTGGAGGAGA
ACAAGTCCCTGAAGGAGCAGAAGAAGCTGAACGACCTGTG
CTTCTCTGAAGAGGCTGCTGCGAGGAGATCAAGACCTGCTGG
AACAAGATCCTGATGGGCAACCAAGGAGCATAGCGGCACAA
CCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTTGGAAGAGCAC
CAACTTCAAAAACCATCCTCGAATGGGAACCCAAACCCGTT
AACCAAGTTTACACCGTGCGAGATCAGCACCAAGTCCGGCG
ACTGGAAGTCCAAATGTTTCTATACCACCGACACCGAGTG
CGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGTGAAACAGACC
TACCTCGCCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGCCGGCAATGTGG
AGAGCACTGGTTCGCGCTGGCGAGCCTTTATACGAGAACAG
CCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAATTTAGGACAG
CCCACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGCACAAAGGTGA
ATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAGTGCGGCGGAA
CAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTTCCGGCAAAGAT
TTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCTCTTCTCTCCG
GCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACGAGTTTTTTAAT
CGACGTGGATAAAGGCGAAAACTACTGTTTTCAGCGTGCAA
GCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGAAATAGGAAAAGCACCG
ATAGCCCCGTTGAGTGCAATGGGCCCAGAAAAGGGCGAGTT
CCGGGAGAACTGGGTGAACGTCAATCAGCGATTTAAAGAAAG
ATCGAAGATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTT
TATACACAGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGAC
CGCCATGAAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCT
TTAGAGAGCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGGTGGAGA
ATTTAATCATTTTATAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGG
CAACGTGACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTG
GAGGAGAAGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGC
ACATTTGTCCAGATGTTTCATCAATACCTCC（配列番号107）と少
なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくと
も86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、
少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99
%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0194】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKLKRKPPS
TNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH
QHLSSSRTHGSEDSITCPPPM SVEHADIWVKSYSLSRERY
ICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV AHWTTPSLKCI R（配
列番号108）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも8
4%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少な

10

20

30

40

50

くとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)の配列を含み得る。

【0195】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

CAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCGGATGAGGCGAGCTCA
TCGACATCGTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCT
GGTGCCCGAGTTTCTGCCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACC
AACTGCGAGTGGTCCGCCCTTCTCCTGCTTTTCAGAAGGCC
AGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAACAACGAGCGGATCAT
CAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCC
ACAAACGCCCGGCAGGAGGCGAGAAGCACAGGCTGACCTGCC
CCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTT
CCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAGATGATCCAT
CAGCACCTGTCTCTCCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCCA
TTACATGCCCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACAT
CTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTAT
ATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACCAAGCA
GCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGGC
TCACTGGACAACACCCCTCTTTAAAGTGCAATCCGG (配列番号1
09) と少なくとも80%同一 (例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、
少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも9
2%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少な
くとも99%同一、または100%同一)の配列によってコードされる。

【0196】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSQGGQDRHMRQLIDIVDQLKN
YVNDLVPEFLPAPEDVETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGN
NERIINVSIKKLKRKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKK
PPKEFLERFKSLQKMIHQHLSRTHGSEDSITCPPPM SV
EHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNK
ATNVAHWTTTPSLKCI R (配列番号110) と少なくとも80%同一 (例えば
、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも8
8%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少な
くとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一
)の配列を含み得る。

【0197】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTCT
CCAGCGCCTACTCCAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCG
GATGAGGCAGCTCATCGACATCGTCGACCAGCTGAAGAAC
TACGTGAACGACCTGGTGCCCGAGTTTCTGCCCTGCCCCCG
AGGACGTGGAGACCAACTGCGAGTGGTCCGCCCTTCTCCTG
CTTTTCAGAAGGCCCAAGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAAC
AACGAGCGGATCATCAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGC
GGAAGCCTCCCTCCACAAACGCCGGCAGGAGGCGAGAAGCA
CAGGCTGACCTGCCCCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAG
CCCCCAAGGAGTTCCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGC
AGAAGATGATCCATCAGCACCTGTCTCTCCAGGACCCACGG
CTCCGAGGACTCCATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTG
GAGCACGCCGACATCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACA

G C C G G G A G A G G T A T A T C T G T A A C A G C G G C T T C A A G A G G A A
G G C C G G C A C C A G C A G C C T C A C C G A G T G C G T G C T G A A T A A G
G C T A C C A A C G T G G C T C A C T G G A C A A C A C C C T C T T T A A A G T
G C A T C C G G (配列番号 111) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコードされる。

【0198】

例示的な多鎖キメラポリペプチドタイプ E

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、IL-18 (例えば、可溶性ヒトIL-18) 受容体、IL-12 (例えば、可溶性ヒトIL-12) 受容体、またはCD16 (例えば、抗CD16 s c F v) に特異的に結合する。本明細書に記載のこれらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、追加の標的結合ドメインをさらに含む。本明細書に記載のこれらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、追加の標的結合ドメインをさらに含む。本明細書に記載のこれらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインは、CD16またはIL-12受容体に特異的に結合する。

【0199】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列 (例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか) をさらに含む。

【0200】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインと一対の親和性ドメインの第1のドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の可溶性組織因子ドメインと一対の親和性ドメインの第1のドメインとの間にリンカー配列 (例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか) をさらに含む。

【0201】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一対の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の一対の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列 (例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか) をさらに含む。

【0202】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチドのN末端またはC末端に1つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む。

【0203】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインと一対の親和性ドメインの第2のドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の一対の親和性ドメインの第2のドメインと追加の標的結合ドメインとの間にリンカー配列 (例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか) をさらに含む。

【0204】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の第2の標的結合ドメインと追加の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0205】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれかであり得る。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインは、本明細書に記載の例示的な一对の親和性ドメインのうちのいずれかであり得る。

10

【0206】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および追加の抗原結合ドメインのうちの1つ以上は、アゴニスト抗原結合ドメインである。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および追加の抗原結合ドメインは各々、アゴニスト抗原結合ドメインである。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、s c f vまたは単一ドメイン抗体を含む。

【0207】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインの一方または両方は、可溶性IL-15または可溶性IL-18である。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、可溶性IL-15または可溶性IL-18である。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインの両方が、IL-18受容体またはIL-12受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じエピトープに特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じアミノ酸配列を含む。

20

【0208】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインはIL-12受容体に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインはIL-18受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインはIL-18受容体に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインはIL-12受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインはCD16に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインはIL-18受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインはIL-18受容体に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインはCD16に特異的に結合する。

30

【0209】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上は、同じ抗原に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上は、同じエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上は、同じアミノ酸配列を含む。

40

【0210】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン

50

は、可溶性IL-18（例えば、可溶性ヒトIL-18）を含む。

【0211】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-18は、YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIIISMYKDSQPRGMAVTISVKCEKISTLSCENKII SFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FQRSVP GHDNKMQFESSSY EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D（配列番号16）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む。

10

【0212】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-18は、TACTTCGGCAAAC TGGAAATCCAAGCTGAGCGTGATCCGGAATTTAAACGACCAAGTTCTGTTTATCGATCAAGGTAACCGGCCTCTGTTTCGAGGACATGACCGACTCCGATTGCCGGGAC AATGCCCCCGGACCATCTTCAATTATCTCCATGTACAAGGACAGCCAGCCCCGGGGCATGGCTGTGACAATTAGCGTGAA GTGTGAGAAAATCAGCACTTTATCTTGTGAGAACAAAGATCATCTCCTTTAAGGAAATGAACCCCCCGATAACATCAAGGACACCAAGTCCGATATCATCTTCTTCCAGCGGTCCGTGCCCGGTCA CGATAACAAGATGCAGTTTCGAATCCTCCTCCTACGAGGGCTACTTTT TAGCTTGTGAAAAGGAGAGGGGATTTAT TCAAGCTGATCCTCAAGAAAGGAGGACGAGCTGGGCGATCGTTCCATCATGTTTCAACCGTCCAAAACGAGGAT（配列番号65）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

20

【0213】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインは、可溶性IL-12（例えば、可溶性ヒトIL-12）を含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-15は、可溶性ヒトIL-12β（p40）配列および可溶性ヒトIL-12α（p35）配列を含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性IL-15（例えば、可溶性ヒトIL-15）は、可溶性IL-12β（p40）配列と可溶性ヒトIL-12α（p35）配列との間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカー配列のうちのいずれか）をさらに含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、リンカー配列は、GGGGSGGGSGGGGS（配列番号7）を含む。

30

【0214】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-12β（p40）配列は、IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLL LHKKE DGIWSTDILKDQKEPKNKTF LRC EAKNYSGRFTCW WLT TTI STD LTF SVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV RG DNKEYEYSVE CQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHK LKYEN Y TSSFFIRDI IKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTW STPHSYFSLTF CVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK NASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS（配列番号66）と少なくとも

40

50

80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む。

【0215】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-12β（p40）は、

ATTTGGGAACCTGAAGAAGGACGTCTACGTGGTTCGAACCTGG
ACTGGTATCCCCGATGCTCCCGGCGAAATGGTGGTGGTCTCAC
TTGTGACACCCCCGAAGAAGACGGCATCACTTGGACCCCTC
GATCAGAGCAGCGAGGTGCTGGGCTCCGGAAAGACCCCTCA
CAATCCAAGTTAAGGAGTTTCGGAGACGCTGGCCAATACAC
ATGCCACAAGGGAGGCGAGGTGCTCAGCCATTTCCTTATTA
TTATTACACAAGAAGGAAGACGGGAATCTGGTCCACCGACA
TTTTTAAAGATCAGAAGGAGCCCAAGAATAAGACCTTTTTT
AAGGTGTGAGGCCAAAACTACAGCGGTCTTTTCACTTGT
TGGTGGCTGACCACTTTTCCACCGATTTAACCTTCTCCG
TGAAAAGCAGCCGGGGAAGCTCCGACCCCTCAAGGTGTGAC
ATGTGGAGCCGCTACCCCTCAGCGCTGAGAGGGTTCTGTGGC
GATAACAAGGAATACGAGTACAGCGTGGAGTGCCAAGAAG
ATAGCGCTTGTCCCGCTGCCGAAGAATCTTTACCCATTGA
GGTGATGGTGGACGCCGTGCACAAACTCAAGTACGAGAAC
TACACCTCCTCCTTCTTTATCCGGGACATCATTAAGCCCG
ATCCTCCTAAGAATTTACAGCTGAAGCCTCTCAAAAATAG
CCGGCAAGTTGAGGTCTCTTGGGAATATCCCGACACTTGG
AGCACACCCACAGCTACTTCTCTTTAACCTTTTGTGTGC
AAGTTCAAGGTAAAAGCAAGCGGGAGAAAGAACCGGGT
GTTTACCGACAAAACCAGCGCCACCGTCATCTGTCTGGGAAG
AACGCCCTCCATCAGCGTGAAGGGCTCAAGATCGTTATTACT
CCAGCAGCTGGTCCGAGTGGGCGCAGCGTGCCCTTGTTC（配
列番号67）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84
%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なく
とも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一
、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0216】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-12α（p35）は、

RNLPVATPDPGMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY
PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRET
SFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMN
AKLLMDPKRQIFLDQNM LAVIDELMQALNFNSETVPQKSS
LEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS（配列
番号68）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%
同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なく
とも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、
少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む。

【0217】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-12α（p35）は、

CGTAACCTCCCCGTGGCTACCCCCGATCCCGGAATGTTCC

CTTGTTTACACCCACAGCCAGAATTTACTGAGGGCCGTGAG
CAACATGCTGCAGAAAGCTAGGCAGACTTTAGAAATTTTAC
CCTTGCAACCAGCGAGGAGATCGACCATGAAGATATCACCA
AGGACAAGACATCCACCGTGGAGGCCTTGTTTACCTCTGGA
GCTGACAAAGAACGAGTCTTGCTCTCAACTCTCGTGAAACC
AGCTTTCATCACAAATGGCTCTTGTTTAGCTTCCCGGAAGA
CCTCCTTTATGATGGCTTTATGCTCAGCTCCATCTACGA
GGATTTAAAGATGTACCAAGTGGAGTTCAAGACCATGAAC
GCCAAGCTGCTCATGGACCCCTAAACGGCAGATCTTTTTAG
ACCAGAACATGCTGGCTGTGATTGATGAGCTGATGCAAGC
TTTAAACTTTCAACTCCGAGACCGTCCCTCAGAAGTCCTCC
CTCGAGGAGCCCCGATTTTTTACAAGACAAAGATCAAACCTGT
GCATTTTACTCCACGCCCTTTAGGATCCGGGCCGTGACCAT
TGACCGGGTTCATGAGCTATTTAAACGCCAGC（配列番号69）と
少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なく
とも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一
、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも9
9%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0218】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメイン
は、CD16に特異的に結合するscFv（例えば、抗CD16 scFv）を含む。

【0219】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、CD16に特異的に結合
するscFvは、

SELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQ
APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAED
EADYYCNSRDSSGNHVVFGGGTKLTVGH（配列番号112）と少な
くとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なく
とも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少
なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%
同一、または100%同一）の配列を含む軽鎖可変ドメインを含む。

【0220】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、CD16に特異的に結合
するscFvは、

TCCGAGCTGACCCAGGACCCCTGCTGTGTCCGTGGCTCTGG
GCCAGACCGTGAGGATCACCTGCCAGGGCGACTCCCTGAG
GTCCTACTACGCCCTCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAG
GCTCCTGTGCTGGTGATCTACGGCAAGAACAACAGGCCCT
CCGGCATCCCTGACAGGTTCCTCCGGATCCTCCTCCGGCAA
CACCGCCTCCCTGACCATCACAGGCGCTCAGGCCCGAGGAC
GAGGCTGACTACTACTGCAACTCCAGGGACTCCTCCGGCA
ACCATGTGGTGTTCGGCGGGCGGCACCAAGCTGACCGTGGG
CCAT（配列番号113）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、
少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90
%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なく
とも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の軽鎖可変ドメイン配列
によってコードされる。

【0221】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、CD16に特異的に結合
するscFvは、

EVQLVESGGGVVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMISWVRQA
PGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNANKNSLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARGRSLLF₁FDYWGQGT₁LVTVSR（配列
番号114）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84
%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なく
とも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一
、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【0222】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、CD16に特異的に結合
するscFvは、

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGAGGAGGAGTGGTGAGGC
CTGGAGGCTCCCTGAGGCTGAGCTGTGCTGCCTCCGGCTT
CACCTTCGACGACTACGGCATGTCTGGGTGAGGCAGGCT
CCTGGAAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGGCATCAACTGGA
ACGGCGGATCCACCGGCTACGCCGATTCCGTGAAGGGCAG
GTTCAACCATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACTCCCTGTAC
CTGCAGATGAACCTCCCTGAGGGGCCGAGGACACCGCCGTGT
ACTACTGCGCCAGGGGCGAGGTCCCTGCTGTTTCGACTACTG
GGGACAGGGCACCCCTGGTGAACCGTGTCCAGG（配列番号115）

と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なく
とも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同
一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なく
とも99%同一、または100%同一）の重鎖可変ドメイン配列によってコードされる。

【0223】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRD
NAPRTIFIISMYKDSQPRGMAVTISVKCEKISTLSCENKI
ISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRSVPGHDKMQFESSSY
EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE₁DSGT
TNTVAAYNL₁TWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSG
DWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDV₁KQTYLARVFSYPAGNV
ESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKV
NVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTL₁YWKSSSS
GKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSR₁TVNRKST
DSPVECMGQEKGEFRENWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDAT
LYTESDVHP₁SPCKVTAMKCFLL₁ELQVISLES₁GDASIHDTVE
NLIILANNSLS₁SNGNVTESGCKECEEL₁EENIKEFLQSFV
HIVQM₁FINTS（配列番号116）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも
82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少
なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%
同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含
み得る。

【0224】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

TACTTCGGCAAAC₁TGGAATCCAAGCTGAGCGTGATCCGGA
ATTTAAACGACCAAGTTCTGTTTATCGATCAAGGTAACCG
GCCTCTGTTTCGAGGACATGACCGACTCCGATTGCCGGGAC
AATGCC₁CCCCCGGACCATCTTCA₁TTATCTCCATGTACAAGG
ACAGCCAGCCCCGGGGCATGGCTGTGACAATTAGCGTGAA
GTGTGAGAAAATCAGCACTTTATCTTGTGAGAACAAAGATC

ATCTCCTTTTAAGGAAATGAACCCCCCGATAACATCAAGG
ACACCAAGTCCGATATCATCTTCTTCCAGCGGTCCGTGCC
CGGTACAGATAACAAGATGCAGTTTGAATCCTCCTCCTAC
GAGGGCTACTTTTTAGCTTGTGAAAAGGAGAGGGGATTTAT
TCAAGCTGATCCTCAAGAAGGAGGACGAGCTGGGCGATCG
TTCCATCATGTTTACCGTCCAAAACGAGGATAGCGGCACA
ACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTTGGAAAGAGCA
CCAACCTTCAAAAACCATCCTCGAATGGGAACCCAAACCCGT
TAACCAAGTTTACACCGTGCAGATCAGCACCAAGTCCGGC
GACTGGAAGTCCAAATGTTTCTATACCAACCGACACCGAGT
GCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGTGAAACAGAC
CTACCTCGCCCCGGGTGTTTATAGCTACCCCGCCGGCAATGTG
GAGAGCACTGGTTTCCGCTGGCGAGCCTTTATACGAGAACA
GCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAATTTAGGACA
GCCCCACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGCACAAAGGTG
AATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAGTGCGGCGGA
ACAACACCTTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTTTCGGCAAAGA
TTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCTCTTCTCTCC
GGCAAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACGAGTTTTTAA
TCGACGTGGATAAAGGCGAAAACCTACTGTTTTCAGCGTGCA
AGCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGAAATAGGAAAAGCACCC
GATAGCCCCGTTGAGTGCATGGGCCAAGAAAAGGGCGAGT
TCCGGGAGAACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAA
GATCGAAGATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACT
TTATACACAGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGA
CCGCCATGAAATGTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTC
TTTAGAGAGCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAG
AATTTAATCATTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACG
GCAACGTGACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCT
GGAGGAGAAGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTG
CACATTGTCCAGATGTTTCATCAATACCTCC（配列番号117）と
少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なく
とも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、
少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも9
9%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0225】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYS YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFI
DQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISMYKDSQPRGMAV
TISVKCEKISTLSCENKIIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF
QRSVPGHDKMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKED
ELGDRSIMFTVQNE DSGTTNTVAAYNL TWKSTNFKTILEW
EPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVK
DVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLE
TNLGQPTIQSF EQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRD
VFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENY
CFSVQAVIPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFREWNVNI
SDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLL
LQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLS SNGNVTESGCK
ECEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFIN TS（配列番号118）と少な

10

20

30

40

50

くとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含み得る。

【0226】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTACATTTATCTCTTTACTGTTCTCTCTCT
CCAGCGCCTACAGCTACTTCGGCAAACCTGGAATCCAAGCT
GAGCGTGATCCGGAATTTAAACGACCAAGTTCTGTTTATC
GATCAAGGTAACCGGCCCTCTGTTTCGAGGACATGACCGACT
CCGATTGCGGGGACAATGCCCGCCCGGACCATCTTCAATTAT
CTCCATGTACAAGGACAGCCAGCCCGGGGCATGGCTGTG
ACAATTAGCGTGAAAGTGTGAGAAAATCAGCACTTTATCTT
GTGAGAACAAAGATCATCTCCTTTAAGGAAATGAACCCCCC
CGATAACATCAAGGACACCAAGTCCGATATCATCTTCTTTC
CAGCGGTCCGTGCCCGGTACAGATAACAAGATGCAGTTTCG
AATCCTCCTCCTACGAGGGCTACTTTTATAGCTTGTGAAAA
GGAGAGGGGATTTATTCAAGCTGATCCTCAAGAAGGAGGAC
GAGCTGGGCGATCGTTTCCATCATGTTTCAACCGTCCAAAACG
AGGATAGCGGCACAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCT
CACTTGGAAGAGCACCAACTTCAAAAACCATCCTCGAATGG
GAACCCCAAACCCGTTAACCAAGTTTACACCGTGCAGATCA
GCACCAAGTCCGGCGACTGGAAGTCCAAATGTTTCTATAC
CACCGACACCGAGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAA
GATGTGAAACAGACCTACCTCGCCCGGGTGTTTATAGCTACC
CCGCCGGCAATGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCC
TTTATACGAGAACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAG
ACCAATTTAGGACAGCCCCACCATCCAAAGCTTTGAGCAAG
TTGGCACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGGAC
TTTAGTGCGGCGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGGAT
GTGTTTCGGCAAAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGA
AGTCCTCTTCTCCTCCGGCAAGAAGACAGCTAAAACCAACAC
AAACGAGTTTTTTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAAACCTAC
TGTTTTCAGCGTGCAAGCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTG
ATAGGAAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAGTGCAATGGGCCA
AGAAAAGGGCGAGTTCCGGGGAGAACTGGGTGAACGTCAATC
AGCGATTTTAAAGAAGATCGAAGATTTAATTCAAGTCCATGC
ATATCGACGCCACTTTATACACAGAATCCGACGTGCACCC
CTCTTGTAAGGTGACCGCCATGAAATGTTTTTTTACTGGAG
CTGCAAGTTATCTCTTTAGAGAGCGGAGACGCTAGCATCC
ACGACACCGTGGAGAATTTAATCATTTTATAGCCAATAACTC
TTTATCCAGCAACGGCAACGCTGACAGAGTCCGGGCTGCAAG
GAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGAAAGAACATCAAGGAGTTTTC
TGCAATCCTTTGTGCACATTGTCCAGATGTTTCATCAATAC
CTCC（配列番号119）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、

少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0227】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD
DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTKHKGGEVLSHSL
LLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFRLRCEAKNYSGRFTC
WWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV
RGDNKEYEYSVECEQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKY
ENYTSSFFIRDIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTW
STPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYSSSSWSEWASVPCSGGGGSGGGGSGGGG
SRNLPVATPDPMFPC LHH SQNL LRAVSNMLQKARQTLEF
YPCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE
TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTM
NAKLLMDPKRQIFLDQNM L AVIDELMQALNFNSETVPQKS
SLEEPDFYKTKIKLCIL L HAFRIRAVTIDRVMSYLNASIT
CPPPMSVEHADIWVKSYSLSYSRERYICNSGFKRKAGTSSL
TECVLNKATNVAHWTTPSLKCI RSELTQDPAVSVALGQTV
RITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIP
DRFSGSSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDS SGNHVV
FGGGTKLTVGHGGGGSGGGGGSGGGGGSEVQLVESGGGVVRP
GGSLRLSCAASGFTFDDYGM SWVRQAPGKGLEWVSGINWN
GGSTGYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVY
YCARGRSL LFDYW GQGT LVT VSR（配列番号120）と少なくとも80
%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、
少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、
少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含み得る。

【0228】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

ATTTGGGAAC TGAAGAAGGACGTCTACGTGGT CGAACTGG
ACTGGTATCCCCGATGCTCCCGGCGAAATGGTGGTGCTCAC
TTGTGACACCCCCGAAGAAGACGGCATCACTTGGACCTC
GATCAGAGCAGCGAGGTGCTGGGCTCCGGAAAGACCTCA
CAATCCAAGTTAAGGAGTTCGGAGACGCTGGCCAATACAC
ATGCCACAAGGGAGGCGAGGTGCTCAGCCATTCTTTATTA
TTATTACACAAGAAGGAAGACGGAATCTGGTCCACCGACA
TTTTTAAAGATCAGAAGGAGCCCAAGAATAAGACCTTTTT
AAGGTGTGAGGCCAAAACTACAGCGGTCTGTTTCACTTGT
TGGTGGCTGACCACCATTTCCACCGATTTAACCTTCTCCG
TGAAAAGCAGCCGGGGAAGCTCCGACCTCAAGGTGTGAC
ATGTGGAGCCGCTACCTCAGCGCTGAGAGGGTTCTGTGGC
GATAACAAGGAATACGAGTACAGCGTGGAGTGCCAAGAAG
ATAGCGCTTGTCCCGCTGCCGAAGAATCTTTACCCATTGA
GGTGATGGTGGACGCCGTGCACAAACTCAAGTACGAGAAC
TACACCTCCTCCTTTCTTTATCCGGGACATCATTAAGCCCG
ATCCTCCTAAGAATTTACAGCTGAAGCCTCTCAAAAATAG
CCGGCAAGTTGAGGTCTCTTGGGAATATCCCGACACTTGG
AGCACACCCACAGCTACTTCTCTTTAACCTTTTGTGTGC
AAGTTCAAGGTAAAAGCAAGCGGGAGAAAGAACCGGGT
GTTTACCGACAAAACCAGCGCCACCGTCATCTGTCTCGGAAG
AACGCCCTCCATCAGCGTGAGGGCTCAAGATCGTTATTACT

10

20

30

40

50

CCAGCAGCTGGTCCGAGTGGGCGCAGCGTGCCCTTGTTCCGG
CGGTGGAGGATCCGGAGGAGGTGGCTCCGGCGGGCGGAGGA
TCTCGTAACCTCCCCGTGGCTACCCCCGATCCCGGAATGT
TCCCTTGTTTACACCACAGCCAGAATTTACTGAGGGGCCGT
GAGCAACATGCTGCAGAAAGCTAGGCGAGACTTTAGAAATTT
TACCCTTGACACCAGCGAGGAGATCGACCATGAAGATATCA
CCAAGGACAAGACATCCACCCTGGAGGCTTGTTTACCTCT
GGAGCTGACAAAGAACGAGTCTTGCTCAACTCTCGTGAA
ACCAGCTTTCATCACAAATGGGCTCTTGTTTAGCTTCCCGGA
AGACCTCCTTTATGATGGCTTTATGCCTCAGCTCCATCTA
CGAGGATTTAAAGATGTACCAAGTGGAGTTCAAGACCATG
AACGCCAAGCTGCTCATGGACCCTAAACGGCAGATCTTTT
TAGACCAGAACATGCTGGCTGTGATTGATGAGCTGATGCA
AGCTTTAAACTTCAACTCCGAGACCCTCAGAAAGTCC
TCCCTCGAGGAGCCCGATTTTTTACAAGACAAAGATCAAAC
TGTGCATTTTACTCCACGCCCTTTAGGATCCGGGGCCGTGAC
CATTGACCGGGTCAATGAGCTATTTAAACGCCAGCATTACA
TGCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACATCTGGG
TGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTATATCTG
TAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCCGGCACCAGCAGCCTC
ACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGGCTCACT
GGACAACACCCTCTTTAAAGTGCATCCGGTCCGAGCTGAC
CCAGGACCCTGCTGTGTCCGTGGCTCTGGGGCCAGACCCTG
AGGATCACCTGCCAGGGCGACTCCCTGAGGTCTCTACTACG
CCTCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCTCCTGTGCT
GGTGATCTACGGCAAGAAACAACAGGCCCTCCGGGCATCCCT
GACAGGTTCTCCGGATCCTCCTCCGGCAACACCGCCTCCC
TGACCATCACAGGCGCTCAGGCCGAGGACGAGGCTGACTA
CTACTGCAACTCCAGGGACTCCTCCGGCAACCATGTGGTG
TTCGGCGGGCGGGCACCAAGCTGACCGTGGGGCCATGGCGGGCG
GCGGCTCCGGAGGGCGGGCGGCAGCGGGCGGAGGAGGATCCGA
GGTGACAGCTGGTGGAGTCCGGAGGAGGAGTGGTGAGGCCT
GGAGGCTCCCTGAGGCTGAGCTGTGCTGCCTCCGGGCTTCA
CCTTCGACGACTACGGCATGTCTCTGGGTGAGGCGAGGCTCC
TGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTGTCCGGGCATCAACTGGAAC
GGCGGATCCACCGGCTACGCCGATTCCTGTGAAGGGGAGGT
TCACCATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACTCCCTGTACCT
GCAGATGAACCTCCCTGAGGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAC
TACTGCGCCAGGGGCGAGGTCCCTGCTGTTCTGACTACTGGG
GACAGGGGCACCCTGGTGACCGGTGTCCAGG（配列番号121）と少
なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なく
とも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、
少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99
%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0229】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSISWELKKDVYVVELDWYPDAPGE
MVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGD
AGQYTKHKGGEVLSHSLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPK
NKTFRLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSD

10

20

30

40

50

PQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQCQEDSACPAAEE
SLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIKPDPPKNLQLK
PLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKRE
KKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS
VPCSGGGGSGGGGSGGGGSRNLPVATPDPGMFPC LHH SQN
LLRAVSNMLQKARQTFYFPC TSEEIDHEDITKDKTSTVE
ACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALC
LSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNM LAVI
DELMQALNFNSE TVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFR
IRAVTIDRVMSYLNASITCPPPM SVEHADIWVKSYSLSY SR
ERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI
RSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPG
QAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAE
DEADYYCNSRDS SGNHVVFGGGTKLTVGHGGGGSGGGGSG
GGGSEVQLVESGGGVVRP GGS LRLSCAASGFTTFDDY GMSW
VRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDN AK
NSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRSL LFDYWGQG TLT VTS
R（配列番号122）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なく
とも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一
、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも9
8%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含み得る。

【0230】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

ATGAAATGGGTGACCTTTATTTCTTTACTGTTCTCTTTA
GCAGCGCCTACTCCATTTGGGAAC TGAAGAAGGACGTCTA
CGTGGTCGAACTGGACTGGTATCCCGATGCTCCCGGCGAA
ATGGTGCTGCTCACTTGTGACACCCCGAAGAAGACGGCA
TCACTTGGACCCCTCGATCAGAGCAGCGAGGTGCTGGGCTC
CGGAAAGACCCCTCACAAATCCAAGTTAAGGAGTTCTGGAGAC
GCTGGCCAATACACATGCCACAAGGGAGGCGAGGTGCTCA
GCCATTCTTTATTTATTTACACAAGAAGGAAGACGGAAT
CTGGTCCACCGACATTTTAAAAGATCAGAAGGAGCCCAAG
AATAAGACCTTTTAAAGGTGTGAGGCCAAAACTACAGCG
GTCGTTTCACTTGTGTTGGTGGCTGACCACCATTTCCACCGA
TTTAACCTTCTCCGTGAAAAGCAGCCGGGGAAGCTCCGAC
CCTCAAGGTGTGACATGTGGAGCCGCTACCCCTCAGCGCTG
AGAGGGTTCTGTGGCGATAACAAGGAATACGAGTACAGCGT
GGAGTGCCAAGAAGATAGCGCTTGTCCCGCTGCCGAAGAA
TCTTTACCCATTGAGGTGATGGTGGACGCCGTGCACAAAC
TCAAGTACGAGAACTACACCTCCTCCTTCTTTATCCGGGA
CATCATTAAGCCCGATCCTCCTAAGAATTTACAGCTGAAG
CCTCTCAAAAATAGCCGGCAAGTTGAGGTCTCTTGGGAAT
ATCCCGACACTTGGAGCACACCCCAACAGCTACTTCTCTTT
AACCTTTTGTGTGCAAGTTCAAGGTAAGAAGCAAGCGGGAG
AAGAAAGACCGGGTGTTTACCGACAAAACCAGCGCCACCG
TCATCTGTGCGGAAGAACGCCTCCATCAGCGTGAGGGCTCA
AGATCGTTATTACTCCAGCAGCTGGTCCGAGTGGGGCCAGC
GTGCCCTTGTTCGGGCGGTGGAGGATCCGGAGGAGGTGGCT
CCGGCGGCGGAGGATCTCGTAACCTCCCGGTGGCTACCCC
CGATCCCGGAATGTTCCCTTGTTTACACCACAGCCAGAAT

10

20

30

40

50

T T A C T G A G G G C C G T G A G C A A C A T G C T G C A G A A A G C T A G G C
 A G A C T T T A G A A T T T T A C C C T T G C A C C A G C G A G G A G A T C G A
 C C A T G A A G A T A T C A C C A A G G A C A A G A C A T C C A C C G T G G A G
 G C T T G T T T A C C T C T G G A G C T G A C A A A G A A C G A G T C T T G T C
 T C A A C T C T C G T G A A A C C A G C T T C A T C A C A A A T G G C T C T T G
 T T T A G C T T C C C G G A A G A C C T C C T T T A T G A T G G C T T T A T G C
 C T C A G C T C C A T C T A C G A G G A T T T A A A G A T G T A C C A A G T G G
 A G T T C A A G A C C A T G A A C G C C A A G C T G C T C A T G G A C C C T A A
 A C G G C A G A T C T T T T T A G A C C A G A A C A T G C T G G C T G T G A T T
 G A T G A G C T G A T G C A A G C T T T A A A C T T C A A C T C C G A G A C C G
 T C C C T C A G A A G T C C T C C C T C G A G G A G C C C G A T T T T T A C A A
 G A C A A A G A T C A A A C T G T G C A T T T T A C T C C A C G C C T T T A G G
 A T C C G G G C C G T G A C C A T T G A C C G G G T C A T G A G C T A T T T A A
 A C G C C A G C A T T A C A T G C C C C C C T C C C A T G A G C G T G G A G C A
 C G C C G A C A T C T G G G T G A A G A G C T A T A G C C T C T A C A G C C G G
 G A G A G G T A T A T C T G T A A C A G C G G C T T C A A G A G G A A G G C C G
 G C A C C A G C A G C C T C A C C G A G T G C G T G C T G A A T A A G G C T A C
 C A A C G T G G C T C A C T G G A C A A C A C C C T C T T T A A A G T G C A T C
 C G G T C C G A G C T G A C C C A G G A C C C T G C T G T G T C C G T G G C T C
 T G G G C C A G A C C G T G A G G A T C A C C T G C C A G G G C G A C T C C C T
 G A G G T C C T A C T A C G C C T C C T G G T A C C A G C A G A A G C C C G G C
 C A G G C T C C T G T G C T G G T G A T C T A C G G C A A G A A C A A C A G G C
 C C T C C G G C A T C C C T G A C A G G T T C T C C G G A T C C T C C T C C G G
 C A A C A C C G C C T C C C T G A C C A T C A C A G G C G C T C A G G C C G A G
 G A C G A G G C T G A C T A C T A C T G C A A C T C C A G G G A C T C C T C C G
 G C A A C C A T G T G G T G T T C G G C G G C G G C A C C A A G C T G A C C G T
 G G G C C A T G G C G G C G G C G G C T C C G G A G G C G G C G G C A G C G G C
 G G A G G A G G A T C C G A G G T G C A G C T G G T G G A G T C C G G A G G A G
 G A G T G G T G A G G C C T G G A G G C T C C C T G A G G C T G A G C T G T G C
 T G C C T C C G G C T T C A C C T T C G A C G A C T A C G G C A T G T C C T G G
 G T G A G G C A G G C T C C T G G A A A G G G C C T G G A G T G G G T G T C C G
 G C A T C A A C T G G A A C G G C G G A T C C A C C G G C T A C G C C G A T T C
 C G T G A A G G G C A G G T T C A C C A T C A G C A G G G A C A A C G C C A A G
 A A C T C C C T G T A C C T G C A G A T G A A C T C C C T G A G G G C C G A G G
 A C A C C G C C G T G T A C T A C T G C G C C A G G G G C A G G T C C C T G C T
 G T T C G A C T A C T G G G G A C A G G G C A C C C T G G T G A C C G T G T C C
 A G G (配列番号123)と少なくとも80%同一(例えば、少なくとも82%同一、少
 なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%
 同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なく
 とも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)の配列によってコードされ
 る。

【0231】

例示的な多鎖キメラポリペプチドタイプF

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、IL-7(例えば、可溶性ヒトIL-7)受容体、CD16(例えば、抗CD16 scFv)、またはIL-21(例えば、可溶性ヒトIL-21)受容体に特異的に結合する。本明細書に記載のこれらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、追加の標的結合ドメインをさらに含む。本明細書に記載のこれらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、追加の標的結合

10

20

30

40

50

ドメインをさらに含む。本明細書に記載のこれらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインは、CD16またはIL-21受容体に特異的に結合する。

【0232】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0233】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインと一对の親和性ドメインの第1のドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の可溶性組織因子ドメインと一对の親和性ドメインの第1のドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0234】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内的一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0235】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチドのN末端またはC末端に1つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む。

【0236】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインと一对の親和性ドメインの第2のドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内的一对の親和性ドメインの第2のドメインと追加の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0237】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の第2の標的結合ドメインと追加の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0238】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれかであり得る。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインは、本明細書に記載の例示的な一对の親和性ドメインのうちのいずれかであり得る。

【0239】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および追加の抗原結合ドメインのうちの1つ以上は、アゴニスト抗原結合ドメインである。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および追加の抗原結合ドメイン

10

20

30

40

50

は各々、アゴニスト抗原結合ドメインである。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、s c F v または単ドメイン抗体を含む。

【0240】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインは受容体 I L - 7 に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインは C D 1 6 または I L - 2 1 受容体に特異的に結合する。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインは、可溶性 I L - 7 タンパク質を含む。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、可溶性 I L - 7 タンパク質は、可溶性ヒト I L - 7 である。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第2の抗原結合ドメインは、C D 1 6 に特異的に結合する標的結合ドメインを含む。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインは、C D 1 6 に特異的に結合する s c F v を含む。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインは、I L - 2 1 受容体に特異的に結合する。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインは、可溶性 I L - 2 1 を含む。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、可溶性 I L - 2 1 は、可溶性ヒト I L - 2 1 である。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、I L - 2 1 受容体に特異的に結合する追加の標的結合ドメインをさらに含む。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインは、可溶性 I L - 2 1 を含む。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、可溶性 I L - 2 1 は、可溶性ヒト I L - 2 1 である。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、C D 1 6 に特異的に結合する追加の標的結合ドメインをさらに含む。

【0241】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上は、同じ抗原に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上は、同じエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上は、同じアミノ酸配列を含む。

【0242】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインは、可溶性 I L - 7 (例えば、可溶性ヒト I L - 7) を含む。

【0243】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒト I L - 7 は、D C D I E G K D G K Q Y E S V L M V S I D Q L L D S M K E I G S N C L N N E F N F F K R H I C D A N K E G M F L F R A A R K L R Q F L K M N S T G D F D L H L L K V S E G T T I L L N C T G Q V K G R K P A A L G E A Q P T K S L E E N K S L K E Q K K L N D L C F L K R L L Q E I K T C W N K I L M G T K E H (配列番号 11) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列を含む。

【0244】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒト I L - 7 は、G A T T G T G A T A T T G A A G G T A A G A T G G C A A C A A T A T G A G A

GTGTTCTAATGGTCAGCATCGATCAATTATTGGACAGCAT
GAAAGAAATTGGTAGCAATTGCCTGAATAATGAATTTAAC
TTTTTTTAAAAGACATATCTGTGATGCTAATAAGGAAGGTA
TGTTTTTTATTCCGTGCTGCTCGCAAGTTGAGGCAATTTCT
TAAAATGAATAGCACTGGTGATTTTGTATCTCCACTTATTA
AAAGTTTTCAGAAGGCAACAACAATACTGTTGAACTGCACTG
GCCAGGTTAAAGGAAGAAAACCAGCTGCCCTGGGTGAAGC
CCAACCAACAAAGAGTTTGGAGAAAATAAATCTTTAAAG
GAACAGAAAAAACTGAATGACTTTGTGTTTCTAAAGAGAC
TATTACAAGAGATAAAAACTTTGTTGGAATAAAAATTTTGAT
GGGCACATAAAGAACAC（配列番号95）と少なくとも80%同一（例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88
%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく
とも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）
の配列によってコードされる。

【0245】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-7は、
GATTGCGACATCGAGGGCAAGGACGGCAAGCAGTACGAGA
GCGTGCTGATGGTGTCCATCGACCAGCTGCTGGACAGCAT
GAAGGAGATCGGCTCCAACCTGCCCTCAACAACGAGTTCAAC
TTCTTCAAGCGGCACATCTGCGACGCCAACAAGGAGGGCA
TGTTCTCTGTTTCAGGGCCGCCAGGAAACTGCGGCAGTTCTCT
GAAGATGAACCTCCACCGGCGACTTTCGACCTGCACCTGCTG
AAGGTGTCCGAGGGGCACCAACCATCCTGCTGAACTGCACCG
GACAGGTGAAGGGCCGGAAACCTGCTGCTCTGGGAGAGGC
CCAACCCACCAAGAGCCTGGAGGAGAACAAAGTCCCTGAAG
GAGCAGAAAGAAAGCTGAACGACCTGTGCTTCTCTGAAGAGGC
TGCTGCAAGGAGATCAAGACCTGCTGGAACAAGATCCTGAT
GGGCACCAAGGAGCAT（配列番号124）と少なくとも80%同一（例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88
%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく
とも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）
の配列によってコードされる。

【0246】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-21配
列は、
QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
TNAGR RQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH
QHLSSRTHGSEDS（配列番号78）と少なくとも80%同一（例えば、少なく
とも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一
、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも9
6%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列
を含む。

【0247】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-21は、
CAAGGTCAAGATCGCCACATGATTAGAAATGCGTCAACTTA
TAGATATTGTTGATCAGCTGAAAAATTATGTGAATGACTT
GGTCCCTGAATTTCTGCCAGCTCCAGAAGATGTAGAGACA
AACTGTGAGTGGTCAGCTTTTCTCTGTTTTCAGAAAGGCC

10

20

30

40

50

A A C T A A A G T C A G C A A A T A C A G G A A A C A A T G A A A G G A T A A T
C A A T G T A T C A A T T A A A A A G C T G A A G A G G A A A C C A C C T T C C
A C A A A T G C A G G G A G A A G A C A G A A A C A C A G A C T A A C A T G C C
C T T C A T G T G A T T C T T A T G A G A A A A A A C C A C C C A A A G A A T T
C C T A G A A A G A T T C A A A T C A C T T C T C C A A A A G A T G A T T C A T
C A G C A T C T G T C C T C T A G A A C A C A C G G A A G T G A A G A T T C C (配列番号 94) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコードされる。

【0248】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒト IL-21 は、
C A G G G C C A G G A C A G G C A C A T G A T C C G G A T G A G G C A G C T C A
T C G A C A T C G T C G A C C A G C T G A A G A A C T A C G T G A A C G A C C T
G G T G C C C G A G T T T C T G C C T G C C C C G A G G A C G T G G A G A C C
A A C T G C G A G T G G T C C G C C T T C T C C T G C T T T C A G A A G G C C C
A G C T G A A G T C C G C C A A C A C C G G C A A C A A C G A G C G G A T C A T
C A A C G T G A G C A T C A A G A A G C T G A A G C G G A A G C C T C C C T C C
A C A A A C G C C G G C A G G A G G C A G A A G C A C A G G C T G A C C T G C C
C C A G C T G T G A C T C C T A C G A G A A G A A G C C C C C C A A G G A G T T
C C T G G A G A G G T T C A A G T C C C T G C T G C A G A A G A T G A T C C A T
C A G C A C C T G T C C T C C A G G A C C C A C G G C T C C G A G G A C T C C (配列番号 79) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコードされる。

【0249】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインは、CD16 に特異的に結合する s c F v (例えば、抗 CD16 s c F v) を含む。

【0250】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、CD16 に特異的に結合する s c F v は、

S E L T Q D P A V S V A L G Q T V R I T C Q G D S L R S Y Y A S W Y Q Q K P G Q
A P V L V I Y G K N N R P S G I P D R F S G S S S G N T A S L T I T G A Q A E D
E A D Y Y C N S R D S S G N H V V F G G G T K L T V G H (配列番号 112) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列を含む軽鎖可変ドメインを含む。

【0251】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、CD16 に特異的に結合する s c F v は、

T C C G A G C T G A C C C A G G A C C C T G C T G T G T C C G T G G C T C T G G
G C C A G A C C G T G A G G A T C A C C T G C C A G G G C G A C T C C C T G A G
G T C C T A C T A C G C C T C C T G G T A C C A G C A G A A G C C C G G C C A G
G C T C C T G T G C T G G T G A T C T A C G G C A A G A A C A A C A G G C C C T
C C G G C A T C C C T G A C A G G T T C T C C G G A T C C T C C T C C G G C A A
C A C C G C C T C C C T G A C C A T C A C A G G C G C T C A G G C C G A G G A C
G A G G C T G A C T A C T A C T G C A A C T C C A G G G A C T C C T C C G G C A
A C C A T G T G G T G T T C G G C G G C G G C A C C A A G C T G A C C G T G G G

CCAT（配列番号113）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の軽鎖可変ドメイン配列によってコードされる。

【0252】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、CD16に特異的に結合するscFvは、

EVQLVESGGGVVRRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVRQA
PGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNANKNSLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARGRSLLFDDYWGQGTLLVTVSR（配列
番号114）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【0253】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、CD16に特異的に結合するscFvは、

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGAGGAGGAGTGGTGAAGGC
CTGGAGGCTCCCTGAGGCTGAGCTGTGCTGCCTCCGGCTT
CACCTTCGACGACTACGGCATGTCTCTGGGTGAGGCAGGCT
CCTGGAAGAGGCTGGAGTGGGTGTCCGGCATCAACTGGA
ACGGCGGATCCACCGGCTACGCCGATTCCGTGAAGGGCAG
GTTCAACCATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACTCCCTGTAC
CTGCAGATGAACCTCCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGT
ACTACTGCGCCAGGGGCAGGTCCCTGCTGTTTCGACTACTG
GGGACAGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCCAGG（配列番号115）
と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の重鎖可変ドメイン配列によってコードされる。

【0254】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

DCDIEGKDGKQYESVLMVSI DQLLD SMKEIGSNCLNNEFN
FFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLL
KVSEGTTLILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLK
EQKKLNDLCFLKRL LQEIKTCWNKILMGTK EHS GTTNTVA
AYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSK
CFYTTDTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPAGNVESTGS
AGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSF EQVGT KVNVTVE
DERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIY TLYYWKSSSSGKKTA
KTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVIPSR TVNRKSTDSPVE
CMGQEKGEFRENWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTES
DVHPSCKVTAMKCFLLLELQVISLES GDASIHD TVENLIIL
ANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQS FVHIVQM
FINTS（配列番号125）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含み得る。

【0255】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

G A T T G C G A C A T C G A G G G C A A G G A C G G C A A G C A G T A C G A G A
G C G T G C T G A T G G T G T C C A T C G A C C A G C T G C T G G A C A G C A T
G A A G G A G A T C G G C T C C A A C T G C C T C A A C A A C G A G T T C A A C
T T C T T C A A G C G G C A C A T C T G C G A C G C C A A C A A G G A G G G C A
T G T T C C T G T T C A G G G C C G C C A G G A A A C T G C G G C A G T T C C T
G A A G A T G A A C T C C A C C G G C G A C T T C G A C C T G C A C C T G C T G
A A G G T G T C C G A G G G C A C C A C C A T C C T G C T G A A C T G C A C C G
G A C A G G T G A A G G G C C G G A A A C C T G C T G C T C T G G G A G A G G C
C C A A C C C A C C A A G A G C C T G G A G G A G A A C A A G T C C C T G A A G
G A G C A G A A G A A G C T G A A C G A C C T G T G C T T C C T G A A G A G G C
T G C T G C A G G A G A T C A A G A C C T G C T G G A A C A A G A T C C T G A T
G G G C A C C A A G G A G C A T A G C G G C A C A A C C A A C A C A G T C G C T
G C C T A T A A C C T C A C T T G G A A G A G C A C C A A C T T C A A A A C C A
T C C T C G A A T G G G A A C C C A A A C C C G T T A A C C A A G T T T A C A C
C G T G C A G A T C A G C A C C A A G T C C G G C G A C T G G A A G T C C A A A
T G T T T C T A T A C C A C C G A C A C C G A G T G C G A T C T C A C C G A T G
A G A T C G T G A A A G A T G T G A A A C A G A C C T A C C T C G C C C G G G T
G T T T A G C T A C C C C G C C G G C A A T G T G G A G A G C A C T G G T T C C
G C T G G C G A G C C T T T A T A C G A G A A C A G C C C C G A A T T T A C C C
C T T A C C T C G A G A C C A A T T T A G G A C A G C C C A C C A T C C A A A G
C T T T G A G C A A G T T G G C A C A A A G G T G A A T G T G A C A G T G G A G
G A C G A G C G G A C T T T A G T G C G G C G G A A C A A C A C C T T T C T C A
G C C T C C G G G A T G T G T T C G G C A A A G A T T T A A T C T A C A C A C T
G T A T T A C T G G A A G T C C T C T T C C T C C G G C A A G A A G A C A G C T
A A A A C C A A C A C A A A C G A G T T T T A A T C G A C G T G G A T A A A G
G C G A A A A C T A C T G T T T C A G C G T G C A A G C T G T G A T C C C C T C
C C G G A C C G T G A A T A G G A A A A G C A C C G A T A G C C C C G T T G A G
T G C A T G G G C C A A G A A A A G G G C G A G T T C C G G G A G A A C T G G G
T G A A C G T C A T C A G C G A T T T A A A G A A G A T C G A A G A T T T A A T
T C A G T C C A T G C A T A T C G A C G C C A C T T T A T A C A C A G A A T C C
G A C G T G C A C C C C T C T T G T A A G G T G A C C G C C A T G A A A T G T T
T T T T A C T G G A G C T G C A A G T T A T C T C T T T A G A G A G C G G A G A
C G C T A G C A T C C A C G A C A C C G T G G A G A A T T T A A T C A T T T T A
G C C A A T A A C T C T T T A T C C A G C A A C G G C A A C G T G A C A G A G T
C C G G C T G C A A G G A G T G C G A A G A G C T G G A G G A G A A G A A C A T
C A A G G A G T T T C T G C A A T C C T T T G T G C A C A T T G T C C A G A T G
T T C A T C A A T A C C T C C (配列番号126)と少なくとも80%同一(例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88
%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく
とも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)
の配列によってコードされる。

【0256】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

M K W V T F I S L L F L F S S A Y S D C D I E G K D G K Q Y E S V L M V S I D Q
L L D S M K E I G S N C L N N E F N F F K R H I C D A N K E G M F L F R A A R K
L R Q F L K M N S T G D F D L H L L K V S E G T T I L L N C T G Q V K G R K P A
A L G E A Q P T K S L E E N K S L K E Q K K L N D L C F L K R L L Q E I K T C W
N K I L M G T K E H S G T T N T V A A Y N L T W K S T N F K T I L E W E P K P V
N Q V Y T V Q I S T K S G D W K S K C F Y T T D T E C D L T D E I V K D V K Q T

10

20

30

40

50

Y L A R V F S Y P A G N V E S T G S A G E P L Y E N S P E F T P Y L E T N L G Q
P T I Q S F E Q V G T K V N V T V E D E R T L V R R N N T F L S L R D V F G K D
L I Y T L Y Y W K S S S S G K K T A K T N T N E F L I D V D K G E N Y C F S V Q
A V I P S R T V N R K S T D S P V E C M G Q E K G E F R E N W V N V I S D L K K
I E D L I Q S M H I D A T L Y T E S D V H P S C K V T A M K C F L L E L Q V I S
L E S G D A S I H D T V E N L I I L A N N S L S S N G N V T E S G C K E C E E L
E E K N I K E F L Q S F V H I V Q M F I N T S (配列番号127)と少なくとも80
%同一(例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一
、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも9
4%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、また
は100%同一)の配列を含み得る。

10

【0257】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

A T G A A G T G G G T G A C C T T C A T C A G C C T G C T G T T C C T G T T C T
C C A G C G C C T A C T C C G A T T G C G A C A T C G A G G G C A A G G A C G G
C A A G C A G T A C G A G A G C G T G C T G A T G G T G T C C A T C G A C C A G
C T G C T G G A C A G C A T G A A G G A G A T C G G C T C C A A C T G C C T C A
A C A A C G A G T T C A A C T T C T T C A A G C G G C A C A T C T G C G A C G C
C A A C A A G G A G G G C A T G T T C C T G T T C A G G G C C G C C A G G A A A
C T G C G G C A G T T C C T G A A G A T G A A C T C C A C C G G C G A C T T C G
A C C T G C A C C T G C T G A A G G T G T C C G A G G G C A C C A C C A T C C T
G C T G A A C T G C A C C G G A C A G G T G A A G G G C C G G A A A C C T G C T
G C T C T G G G A G A G G C C C A A C C C A C C A A G A G C C T G G A G G A G A
A C A A G T C C C T G A A G G A G C A G A A G A A G C T G A A C G A C C T G T G
C T T C C T G A A G A G G C T G C T G C A G G A G A T C A A G A C C T G C T G G
A A C A A G A T C C T G A T G G G C A C C A A G G A G C A T A G C G G C A C A A
C C A A C A C A G T C G C T G C C T A T A A C C T C A C T T G G A A G A G C A C
C A A C T T C A A A A C C A T C C T C G A A T G G G A A C C C A A A C C C G T T
A A C C A A G T T T A C A C C G T G C A G A T C A G C A C C A A G T C C G G C G
A C T G G A A G T C C A A A T G T T T C T A T A C C A C C G A C A C C G A G T G
C G A T C T C A C C G A T G A G A T C G T G A A A G A T G T G A A A C A G A C C
T A C C T C G C C C G G G T G T T T A G C T A C C C C G C C G G C A A T G T G G
A G A G C A C T G G T T C C G C T G G C G A G C C T T T A T A C G A G A A C A G
C C C C G A A T T T A C C C C T T A C C T C G A G A C C A A T T T A G G A C A G
C C C A C C A T C C A A A G C T T T G A G C A A G T T G G C A C A A A G G T G A
A T G T G A C A G T G G A G G A C G A G C G G A C T T T A G T G C G G C G G A A
C A A C A C C T T T C T C A G C C T C C G G G A T G T G T T C G G C A A A G A T
T T A A T C T A C A C A C T G T A T T A C T G G A A G T C C T C T T C C T C C G
G C A A G A A G A C A G C T A A A A C C A A C A C A A A C G A G T T T T T A A T
C G A C G T G G A T A A A G G C G A A A A C T A C T G T T T C A G C G T G C A A
G C T G T G A T C C C C T C C C G G A C C G T G A A T A G G A A A A G C A C C G
A T A G C C C C G T T G A G T G C A T G G G C C A A G A A A A G G G C G A G T T
C C G G G A G A A C T G G G T G A A C G T C A T C A G C G A T T T A A A G A A G
A T C G A A G A T T T A A T T C A G T C C A T G C A T A T C G A C G C C A C T T
T A T A C A C A G A A T C C G A C G T G C A C C C C T C T T G T A A G G T G A C
C G C C A T G A A A T G T T T T T A C T G G A G C T G C A A G T T A T C T C T
T T A G A G A G C G G A G A C G C T A G C A T C C A C G A C A C C G T G G A G A
A T T T A A T C A T T T T A G C C A A T A A C T C T T T A T C C A G C A A C G G
C A A C G T G A C A G A G T C C G G C T G C A A G G A G T G C G A A G A G C T G
G A G G A G A A G A A C A T C A A G G A G T T T C T G C A A T C C T T T G T G C

20

30

40

50

ACATTGTCCAGATGTTTCATCAATACCTCC（配列番号128）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0258】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

SELTDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQ
APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAED
EADYYCNSRDS SGNHVVFGGGTKLTVGHGGGGSGGGGGSGG
GGSEVQLVESGGGVVVRPGGSLRLSCAASGFTTFDDYGMSWV
RQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNANKN
SLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGRSL LFDYWGQGTLVTVSR
ITCPPPMMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTS
SLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRQGQDRHMI RMRQLID
IVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVETNCEWSAFSCFQKAQL
KSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPSTNAGR RQKHRLTCPS
CDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIHQHLS SRTHGSEDS（配
列番号129）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも8
4%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少な
くとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同
一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含み得る。

【0259】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

TCCGAGCTGACCCAGGACCCTGCTGTGTCCGTGGCTCTGG
GCCAGACCGTGAGGATCACCTGCCAGGGCGACTCCCTGAG
GTCCTACTACGCCCTCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAG
GCTCCTGTGTGCTGGTGATCTACGGCAAGAACACAGGCCCT
CCGGCATCCCTGACAGGTTCTCCTCGGATCCTCCTCCGGCAA
CACCGCCTCCCTGACCATCACAGGCGCTCAGGCCGAGGAC
GAGGCTGACTACTACTGCAACTCCAGGGACTCCTCCGGCA
ACCATGTGTGGTGTTCGGCGGGCGGCACCAAGCTGACCGTGGG
CCATGGCGGGCGGGCGGCTCCGGGAGGCGGGCGGCAGCGGCGGA
GGAGGATCCGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGAGGAGGAG
TGGTGAGGCCCTGGAGGCTCCCTGAGGCTGAGCTGTGTCTGC
CTCCGGGCTTCAACCTTCGACGACTACGGCATGTCTCTGGGTG
AGGCAGGCTCCTGGAAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGGCA
TCAACTGGAAACGGCGGATCCACCGGCTACGCCGATTCCGT
GAAGGGCAGGTTCAACCATCAGCAGGGACAACGCCAAGAAC
TCCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGGGCCGAGGACA
CCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGGCAAGGTCCCTGCTGTT
CGACTACTGGGGACAGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCCAGG
ATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACA
TCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTA
TATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACCAAGC
AGCCTCACCGAGTGCCTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGG
CTCACTGGACAACACCCCTCTTTAAAGTGCAATCCGGGCAGGG
CCAGGACAGGCAACATGATCCGGATGAGGCAGCTCATCGAC
ATCGTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCTGGTG
CCGAGTTTCTGCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACCAACTG

CGAGTGGTCCGCTTCTCCTGCTTTTCAGAAAGGCCCCAGCTG
AAGTCCGCCAACACCGGCAACAACGAGCGGATCATCAACG
TGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCCACAAA
CGCCGGCAGGAGGCAGAAAGCACAGGCTGACCTGCCCCAGC
TGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTTCTCTGG
AGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAAGATGATCCATCAGCA
CCTGTCCTCCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCC（配列番号1
30）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一
、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも9
2%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少な
くとも99%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

10

【0260】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSSELTDPAVSVALGQTVRITCQ
GDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLIYGNRPSPGIPDRFSG
SSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHVVFGGGT
KLTVGHGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVVRPGGSLR
LSCAASGFTTFDDYGMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTG
YADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARG
RSLFLFDYWGGQGLVTVSRITCPPPMSEHADIWVKSYSLY
SRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLK
CIRQGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED
VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLK RK
PPSTNAGR RQKHRLT CPSCDSYEKKPPKEFLERFKSL LQK
MIHQHLS SRTHGSEDS（配列番号131）と少なくとも80%同一（例えば
、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも8
8%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少な
くとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一
）の配列を含み得る。

20

【0261】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCT
CCAGCGCCTACTCCTCCGAGCTGACCCAGGACCTGCTGT
GTCCGTGGCTCTGGGCCAGACCGTGAGGATCACCTGCCAG
GGCGACTCCCTGAGGTCTACTACGCCTCCTGGGTACCAGC
AGAAGCCCGGCCAGGCTCCTGTGCTGGTGATCTACGGCAA
GAACAACAGGCCCTCCGGCATCCCTGACAGGTTCTCCGGA
TCCTCCTCCGGCAACACCGCCTCCCTGACCATCACAGGCG
CTCAGGCCGAGGACGAGGCTGACTACTACTGCAACTCCAG
GGACTCCTCCGGCAACCATGTGGTGTTTCGGCGGCGGCACC
AAGCTGACCGTGGGCCATGGCGGCGGCGGCTCCGGAGGCG
GCGGCAGCGGCGGAGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGGTGGA
GTCCGGAGGAGGAGTGGTGAGGCCCTGGAGGCTCCCTGAGG
CTGAGCTGTGCTGCCTCCGGCTTCAACCTTCGACGACTACG
GCATGTCTCTGGGTGAGGCAGGCTCCTGGAAAGGGCCTGGA
GTGGGTGTCCGGCATCAACTGGAACGGCGGATCCACCGGC
TACGCCGATTCCGTGAAGGGCAGGTTCAACCATCAGCAGGG
ACAACGCCAAGA AACTCCCTGTACCTGCAGATGA AACTCCCT
GAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGGC
AGGTCCCTGCTGTTTCGACTACTGGGGACAGGGGCACCCCTGG

40

50

T G A C C G T G T C C A G G A T T A C A T G C C C C C C T C C C A T G A G C G T
G G A G C A C G C C G A C A T C T G G G T G A A G A G C T A T A G C C T C T A C
A G C C G G G A G A G G T A T A T C T G T A A C A G C G G C T T C A A G A G G A
A G G C C G G C A C C A G C A G C C T C A C C G A G T G C G T G C T G A A T A A
G G C T A C C A A C G T G G C T C A C T G G A C A A C A C C C T C T T T A A A G
T G C A T C C G G C A G G G C C A G G A C A G G C A C A T G A T C C G G A T G A
G G C A G C T C A T C G A C A T C G T C G A C C A G C T G A A G A A C T A C G T
G A A C G A C C T G G T G C C C G A G T T T C T G C C T G C C C C C G A G G A C
G T G G A G A C C A A C T G C G A G T G G T C C G C C T T C T C C T G C T T T C
A G A A G G C C C A G C T G A A G T C C G C C A A C A C C G G C A A C A A C G A
G C G G A T C A T C A A C G T G A G C A T C A A G A A G C T G A A G C G G A A G
C C T C C C T C C A C A A A C G C C G G C A G G A G G C A G A A G C A C A G G C
T G A C C T G C C C C A G C T G T G A C T C C T A C G A G A A G A A G C C C C C
C A A G G A G T T C C T G G A G A G G T T C A A G T C C C T G C T G C A G A A G
A T G A T C C A T C A G C A C C T G T C C T C C A G G A C C C A C G G C T C C G
A G G A C T C C (配列番号 132) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82
% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なく
とも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一
、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によって
コードされる。

【0262】

例示的な多鎖キメラポリペプチドタイプ G

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、TGFβ (例えば、ヒトTGFβRII受容体)、CD16 (例えば、抗CD16 scFv)、またはIL-21 (例えば、可溶性ヒトIL-21) 受容体に特異的に結合する。本明細書に記載のこれらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、追加の標的結合ドメインをさらに含む。本明細書に記載のこれらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、追加の標的結合ドメインをさらに含む。本明細書に記載のこれらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインは、CD16またはIL-21受容体に特異的に結合する。

【0263】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列 (例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか) をさらに含む。

【0264】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインと一対の親和性ドメインの第1のドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の可溶性組織因子ドメインと一対の親和性ドメインの第1のドメインとの間にリンカー配列 (例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか) をさらに含む。

【0265】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一対の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の一対の親和性ドメインの第2のドメイ

ンと第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0266】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチドのN末端またはC末端に1つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む。

【0267】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインと一对の親和性ドメインの第2のドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内的一对の親和性ドメインの第2のドメインと追加の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

10

【0268】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の第2の標的結合ドメインと追加の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0269】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれかであり得る。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインは、本明細書に記載の例示的な一对の親和性ドメインのうちのいずれかであり得る。

20

【0270】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および追加の抗原結合ドメインのうちの1つ以上は、アゴニスト抗原結合ドメインである。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および追加の抗原結合ドメインは各々、アゴニスト抗原結合ドメインである。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、s c F v または単一ドメイン抗体を含む。

30

【0271】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、T G F - β 、C D 1 6、またはI L - 2 1受容体に特異的に結合する。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインはT G F - β に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインはC D 1 6またはI L - 2 1受容体に特異的に結合する。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインは、可溶性T G F - β 受容体である。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、可溶性T G F - β 受容体は、可溶性T G F β R I I受容体である。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインは、C D 1 6に特異的に結合する。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第2の抗原結合ドメインは、C D 1 6に特異的に結合する抗原結合ドメインを含む。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第2の抗原結合ドメインは、C D 1 6に特異的に結合するs c F vを含む。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインは、I L - 2 1受容体に特異的に結合する。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインは、可溶性I L - 2 1を含む。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチ

40

50

ドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインは、可溶性ヒトIL-21を含む。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、IL-21受容体に特異的に結合する追加の標的結合ドメインをさらに含む。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインは、可溶性IL-21を含む。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、可溶性IL-21は、可溶性ヒトIL-21である。本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、CD16に特異的に結合する追加の標的結合ドメインをさらに含む。

【0272】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上は、同じ抗原に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上は、同じエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上は、同じアミノ酸配列を含む。

【0273】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインは、TGFRβRII受容体（例えば、可溶性ヒトTGFRβRII受容体）を含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトTGFRβRIIは、第1の可溶性ヒトTGFRβRII配列および第2の可溶性ヒトTGFRβRII配列を含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトTGFRβRIIは、第1の可溶性ヒトTGFRβRII配列と第2の可溶性ヒトTGFRβRII配列との間に配置されたリンカーを含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、リンカーは、配列GGGSGGGSGGGGS（配列番号7）を含む。

【0274】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の可溶性ヒトTGFRβRII受容体配列は、
IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSIKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCCHD
PKLPYHDFILEDAA SPKCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSEEEYNTSNPD（配列番号80）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む。

【0275】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の可溶性ヒトTGFRβRII受容体配列は、
IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSIKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCCHD
PKLPYHDFILEDAA SPKCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSEEEYNTSNPD（配列番号81）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む。

【0276】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の可溶性ヒトTGFR

10

20

30

40

50

R β R I I 受容体配列は、

ATCCCCCCCCCATGTGC AAAAGAGCGTGAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGTTCAGGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCCTGCATGTCCAACCTGCAGCATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAAACATCACCCCTGGAGACCGTGTGTACGAC
CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTTCATTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAAGAAGAGCCCGG
AGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCCCTGAT (配列番号 82) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82%
同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくと
も 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、
少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコ
ードされる。

【0277】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第 2 の可溶性ヒト TGF
R β R I I 受容体配列は、

ATTCCTCCCCACGTGCAGAAAGAGCGTGAATAATGACATGA
TCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGAATAATTTCCCCAGCT
GTGCAAAATTTCTGCGATGTGAGGTTTTTCCACCTGCGACAAC
CAGAAGTCCCTGTATGAGCAACTGCTCCATCACCTCCATCT
GTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGGCTGTCTGGCGGAA
GAATGACGAGAAATATCACCCCTGGAAACCGTCTGCCACGAT
CCCAAGCTGCCCCCTACCACGATTTTCATCCTGGAAGACGCCG
CCAGCCCTAAGTGCATCATGAAGAGAGAAAAGAGAGCCTGG
CGAGACCTTTTTTTCATGTGCTCCTGCAGCAGCGACGAATGC
AACGACAATATCATCTTTTAGCGAGGAATACAATACCAGCA
ACCCCGAC (配列番号 83) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82%
同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくと
も 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、
少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコ
ードされる。

【0278】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性 TGF- β 受容体
は、

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSI CEKPKQEV CVA VWRKNDENITLET VCHD
PKLPYHDFILED AASP KCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSEEYNTSNPDGGGGSGGGGSGGGGSIIPPHVQKSV
NNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCS
ITSI CEKPKQEV CVA VWRKNDENITLET VCHD PKLPYHDFI
LED AASP KCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEE
YNTSNPD (配列番号 85) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同
一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくと
も 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少
なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列を含む。

【0279】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒト TGF β R I

I 受容体は、

ATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGTCAGGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCCTGCATGTCCAACCTGCAGCATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAACAATCACCCCTGGAGACCGTGTGTACGAC
CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTCAATTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAGAAGAAGCCCCGG
AGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTTCTGG
TGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACGTGCAGAAGAGCGTG
AATAATGACATGATCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGA
AATTTCCCCAGCTGTGCAAAATTCCTGCGATGTGAGGTTTTTC
CACCTGCGACAACCAGAAGTCCCTGTATGAGCAACTGCTCC
ATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGG
CTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAAC
CGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCTACCACGATTTTCATC
CTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTGATCATGAAAGAGA
AAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTCATGTGCTCCTGCAG
CAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAA
TACAATAACAGCAACCCCCGAC（配列番号84）と少なくとも80%同一
（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少な
くとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同
一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または10
0%同一）の配列によってコードされる。

【0280】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-21配
列は、

QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
TNAGR RQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH
QHLSSSRTHGSEDS（配列番号78）と少なくとも80%同一（例えば、少なく
とも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一
、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも9
6%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列
を含む。

【0281】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-21は、
CAAGGTCAAGATCGCCACATGATTAGAATGCGTCAACTTA
TAGATATTGTTGATCAGCTGAAAAATTATGTGAATGACTT
GGTCCCTGAATTTCTGCCAGCTCCAGAAGATGTAGAGACA
AACTGTGAGTGGTCAGCTTTTTTCTGTTTTTCAGAAGGCC
AACTAAAGTCAGCAAAATACAGGAAACAATGAAAGGATAAT
CAATGTATCAATTAAAAAGCTGAAGAGGAAACCACTTCC
ACAAATGCGAGGGAGAAGACAGAAACACAGACTAACATGCC
CTTCATGTGATTCTTATGAGAAAAAACCACCCAAAGAATT
CCTAGAAAGATTCAAATCACTTCTCCAAAAGATGATTCA
T CAGCATCTGTCTCTAGAACACACGGAAGTGAAGATTCC（

10

20

30

40

50

配列番号 94) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコードされる。

【0282】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒト IL-21 は、
CAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCGGATGAGGCAGCTCA
TCGACATCGTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCT
GGTGCCCGAGTTTCTGCCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACC
AACTGCGAGTGGTCCGCCCTTCTCCTGCTTTTCAGAAAGGCC
AGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAACAACGAGCGGATCAT
CAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCC
ACAAACGCCGGCAGGAGGCGAGAAGCACAGGCTGACCTGCC
CCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTT
CCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAGATGATCCAT
CAGCACCTGTCTCTCCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCC (配列番号 79) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコードされる。

【0283】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、CD16 に特異的に結合する scFv は、
SELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQ
APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAED
EADYYCNSRDS SGNHVVFGGGTKLTVGH (配列番号 112) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列を含む軽鎖可変ドメインを含む。

【0284】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、CD16 に特異的に結合する scFv は、
TCCGAGCTGACCCAGGACCCCTGCTGTGTCCGTGGCTCTGG
GCCAGACCGTGAGGATCACCTGCCAGGGCGACTCCCTGAG
GTCCTACTACGCCCTCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAG
GCTCCTGTGCTGGTGATCTACGGCAAGAACAAACAGGCCCT
CCGGGCATCCCTGACAGGTCTCCTCGGATCCTCCTCCGGCAA
CACCGCCTCCCTGACCATCACAGGCGCTCAGGCCGAGGAC
GAGGCTGACTACTACTGCAACTCCAGGGACTCCTCCGGCA
ACCATGTGTGTTTGGCGGGCGGCACCAAGCTGACCGTGGG
CCAT (配列番号 113) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の軽鎖可変ドメイン配列によってコードされる。

【0285】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、CD16 に特異的に結合する scFv は、
EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGM SWVRQA

PGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDN AKNSLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARGRSL LFDYWGQGT LVT VSR（配列
番号114）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84
%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なく
とも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一
、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【0286】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、CD16に特異的に結合
するscFvは、

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGAGGAGGAGTG GTGAGGC
CTGGAGGCTCCCTGAGGCTGAGCTGTGCTGCCTCCGGCCTT
CACCTTCGACGACTACGGCATGTCTCTGGGTGAGGCAGGCT
CCTGGAAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGGCATCAACTGGA
ACGGCGGATCCACCGGCTACGCCGATTCCGTGAAGGGCAG
GTTCAACCATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACTCCCTGTAC
CTGCAGATGAACTCCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGCTGT
ACTACTGCGCCAGGGGCAGGTCCCTGCTGTTCTGACTACTG
GGGACAGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCCAGG（配列番号115）

と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なく
とも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同
一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なく
とも99%同一、または100%同一）の重鎖可変ドメイン配列によってコードされる。

【0287】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFC DVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSICEKPQEV CVA VWRKNDENITLET VCHD
PKLPYHDFILED AASP KCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSE EYNTSNPDGGGGSGGGGSGGGGSGIPPHVQKSV
NNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFC DVRFSTCDNQKSCMSNCS
ITSICEKPQEV CVA VWRKNDENITLET VCHD PKLPYHDFI
ILED AASP KCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEE
YNTSNPD SGTTNTVAAYNL TWKSTNFKTILEWEPKPVNQV
YTVQISTKSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDV KQTYLA
RVFSYPAGNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTI
QSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIY
TLYYWKSSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVI
PSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRENWVNVISDLKKIED
LIQSMHIDATLYTESDVHP SCKVTAMKCFLLLELQVISLES
GDASIHDTVENLII LANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEK
NIKEFLQS FVHVIVQMFINTS（配列番号133）と少なくとも80%同一

（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なく
とも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同
一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または10
0%同一）の配列を含み得る。

【0288】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

ATCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGT CAGGTT CAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCCTGCATGTCCA ACTGCAGCATCACCTCCATCT

G C G A G A A G C C C C A A G A A G T G T G C G T G G C C G T G T G G C G G A A
A A A T G A C G A G A A C A T C A C C C T G G A G A C C G T G T G T C A C G A C
C C C A A G C T C C C T T A T C A C G A C T T C A T T C T G G A G G A C G C T G
C C T C C C C C A A A T G C A T C A T G A A G G A G A A G A A G A A G C C C G G
A G A G A C C T T C T T T A T G T G T T C C T G T A G C A G C G A C G A G T G T
A A C G A C A A C A T C A T C T T C A G C G A A G A G T A C A A C A C C A G C A
A C C C T G A T G G A G G T G G C G G A T C C G G A G G T G G A G G T T C T G G
T G G A G G T G G G A G T A T T C C T C C C C A C G T G C A G A A G A G C G T G
A A T A A T G A C A T G A T C G T G A C C G A T A A C A A T G G C G C C G T G A
A A T T T C C C C A G C T G T G C A A A T T C T G C G A T G T G A G G T T T T C
C A C C T G C G A C A A C C A G A A G T C C T G T A T G A G C A A C T G C T C C
A T C A C C T C C A T C T G T G A G A A G C C T C A G G A G G T G T G C G T G G
C T G T C T G G C G G A A G A A T G A C G A G A A T A T C A C C C T G G A A A C
C G T C T G C C A C G A T C C C A A G C T G C C C T A C C A C G A T T T C A T C
C T G G A A G A C G C C G C C A G C C C T A A G T G C A T C A T G A A A G A G A
A A A A G A A G C C T G G C G A G A C C T T T T T C A T G T G C T C C T G C A G
C A G C G A C G A A T G C A A C G A C A A T A T C A T C T T T A G C G A G G A A
T A C A A T A C C A G C A A C C C C G A C A G C G G C A C A A C C A A C A C A G
T C G C T G C C T A T A A C C T C A C T T G G A A G A G C A C C A A C T T C A A
A A C C A T C C T C G A A T G G G A A C C C A A A C C C G T T A A C C A A G T T
T A C A C C G T G C A G A T C A G C A C C A A G T C C G G C G A C T G G A A G T
C C A A A T G T T T C T A T A C C A C C G A C A C C G A G T G C G A T C T C A C
C G A T G A G A T C G T G A A A G A T G T G A A A C A G A C C T A C C T C G C C
C G G G T G T T T A G C T A C C C C G C C G G C A A T G T G G A G A G C A C T G
G T T C C G C T G G C G A G C C T T T A T A C G A G A A C A G C C C C G A A T T
T A C C C C T T A C C T C G A G A C C A A T T T A G G A C A G C C C A C C A T C
C A A A G C T T T G A G C A A G T T G G C A C A A A G G T G A A T G T G A C A G
T G G A G G A C G A G C G G A C T T T A G T G C G G C G G A A C A A C A C C T T
T C T C A G C C T C C G G G A T G T G T T C G G C A A A G A T T T A A T C T A C
A C A C T G T A T T A C T G G A A G T C C T C T T C C T C C G G C A A G A A G A
C A G C T A A A A C C A A C A C A A A C G A G T T T T T A A T C G A C G T G G A
T A A A G G C G A A A A C T A C T G T T T C A G C G T G C A A G C T G T G A T C
C C C T C C C G G A C C G T G A A T A G G A A A A G C A C C G A T A G C C C C G
T T G A G T G C A T G G G C C A A G A A A A G G G C G A G T T C C G G G A G A A
C T G G G T G A A C G T C A T C A G C G A T T T A A A G A A G A T C G A A G A T
T T A A T T C A G T C C A T G C A T A T C G A C G C C A C T T T A T A C A C A G
A A T C C G A C G T G C A C C C C T C T T G T A A G G T G A C C G C C A T G A A
A T G T T T T T T A C T G G A G C T G C A A G T T A T C T C T T T A G A G A G C
G G A G A C G C T A G C A T C C A C G A C A C C G T G G A G A A T T T A A T C A
T T T T A G C C A A T A A C T C T T T A T C C A G C A A C G G C A A C G T G A C
A G A G T C C G G C T G C A A G G A G T G C G A A A G A G C T G G A G G A G A A G
A A C A T C A A G G A G T T T C T G C A A T C C T T T G T G C A C A T T G T C C
A G A T G T T C A T C A A T A C C T C C (配列番号 134) と少なくとも 80% 同一
(例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少な
くとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同
一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 10
0% 同一) の配列によってコードされる。

【0289】

いくつかの実施形態では、第 1 のキメラポリペプチドは、
MKWVTFISLLFLFSSAYSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAV

10

20

30

40

50

KFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPKQEV CV
AVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAAASPKCIMKE
KKKPGETFFMCSSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDGGGSG
GGGSGGGGSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFC
DVRFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPKQEV CVAVWRKNDEN
ITLETVCHDPKLPYHDFILEDAAASPKCIMKEKKKPGETFF
MCSSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD SGTTNTVAAYNLTWK
STNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSKCFYTTDT
ECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE
NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVR
RNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEF
LIDVDKGENYCFSVQAVIPSR TVNRKSTDSPVECMGQEK
EFRENWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHP SCK
VTAMKCFLLLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSS
NGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFIN TS (配
列番号135)と少なくとも80%同一(例えば、少なくとも82%同一、少なくとも8
4%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少な
くとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同
一、少なくとも99%同一、または100%同一)の配列を含み得る。

【0290】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTGTTCT
CCAGCGCCTACTCCATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGT
GAACAACGATATGATCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTG
AAGTTTCCCCAGCTCTGCAAGTTCTGCGATGTCAGGTTCA
GCACCTGCGATAATCAGAAGTCCTGCATGTCCAACCTGCAG
CATCACCTCCATCTGCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTG
GCCGTGTGGCGGAAAAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGA
CCGTGTGTCAACGACCCCAAGCTCCCTTATCACGACTTTCAT
TCTGGAGGACGCTGCCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAG
AAGAAGAAGCCCGGAGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTA
GCAGCGACGAGTGTAACGACAACATCATCTTTCAGCGAAGA
GTACAACACCAGCAACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGA
GGTGGAGGTTCTGGTGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACG
TGCAGAAGAGCGTGATAATAATGACATGATCGTGACCGATAA
CAATGGCGCCGTGA AATTTCCCCAGCTGTGCA AATTCCTGC
GATGTGAGGTTTTCCACCTGCGACAACCAGAAAGTCCTGTA
TGAGCAACTGCTCCATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCA
GGAGGTGTGCGTGGCTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAAT
ATCACCCCTGGAAACCGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCT
ACCACGATTTTCATCCTGGAAGACGCCCGCCAGCCCTAAGTG
CATCATGAAAGAGAAAAAGAAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTC
ATGTGCTCCTGCAGCAGCGACGAATGCAACGACAATATCA
TCTTTTAGCGAGGAATACAATACCAGCAACCCCGACAGCGG
CACAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTTGGAAG
AGCACCAACTTCAAAACCATCCTCGAATGGGAACCCAAAC
CCGTTAAACCAAGTTTACACCGTGCAGATCAGCACCAAGTC
CGGCGACTGGAAGTCCAAATGTTTTCTATACCACCGACACC
GAGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGTGAAAC
AGACCTACCTCGCCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGCCGGCAA

TGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTATACGAG
AACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAATTTAG
GACAGCCCACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGCACAAA
GGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAGTGC GG
CGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTTCGGCA
AAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCCTCTTC
CTCCGGCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACGAGTTT
TTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAAACCTACTGTTTTCAGCG
TGCAAGCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGAAATAGGAAAAG
CACCGATAGCCCCGTTGAGTGCATGGGCCAAGAAAAGGGC
GAGTTCCGGGGAGAACTGGGGTGAACGTCATCAGCGATTAA
AGAAGATCGAAGATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGC
CACTTTATACACAGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAG
GTGACCGCCATGAAATGTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTA
TCTCTTTAGAGAGCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGT
GGAGAATTTAATCATTTTATAGCCAATAACTCTTTATCCAGC
AACGGCAACGTGACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAG
AGCTGGAGGAGAGAAGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTT
TGTGCACATTGTCCAGATGTTTCATCAATACCTCC (配列番号 1
36) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、
少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、
少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なく
とも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコードされる。

【0291】

いくつかの実施形態では、第 2 のキメラポリペプチドは、

SELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQ
APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAED
EADYYCNSRDS SGNHVVFGGGTKLTVGHGGGGSGGGGSGG
GGSEVQLVESGGGVVVRPGGSLRLSCAASGFTTFDDYGMSWV
RQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNANKN
SLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGRSL LFDYWGGQGLVTVSR
ITC P P P M S V E H A D I W V K S Y S L Y S R E R Y I C N S G F K R K A G T S
S L T E C V L N K A T N V A H W T T P S L K C I R Q G Q D R H M I R M R Q L I D
I V D Q L K N Y V N D L V P E F L P A P E D V E T N C E W S A F S C F Q K A Q L
K S A N T G N N E R I I N V S I K K L K R K P P S T N A G R R Q K H R L T C P S
C D S Y E K K P P K E F L E R F K S L L Q K M I H Q H L S S R T H G S E D S (配
列番号 137) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、
少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なく
とも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同
一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列を含み得る。

【0292】

いくつかの実施形態では、第 2 のキメラポリペプチドは、

TCCGAGCTGACCCAGGACCCCTGCTGTGTCCGTGGCTCTGG
GCCAGACCGTGAGGATCACCTGCCAGGGCGACTCCCTGAG
GTCCTACTACGCCTCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAG
GCTCCTGTGCTGGTGATCTACGGCAAGAACAACAGGCCCT
CCGGGCATCCCTGACAGGTTCCTCCGGATCCTCCTCCGGCAA
CACCGCCTCCCTGACCATCACAGGCGCTCAGGCCGAGGGAC
GAGGCTGACTACTACTGCAACTCCAGGGACTCCTCCGGCA
ACCATGTGGTGTTTCGGCGGGCGGCACCAAGCTGACCGTGGG

CCATGGCGGGCGGCGGCTCCGGAGGCGGGCGGCAGCGGCGGA
GGAGGATCCGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGAGGAGGAG
TGGTGAGGCCCTGGAGGCTCCCTGAGGCTGAGCTGTGCTGC
CTCCGGGCTTCACTTTCGACGACTACGGCATGTCTCTGGGTG
AGGCAGGCTCCTGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTGTCCGGCA
TCAACTTGGAAACGGCGGATCCACCGGCTACGCCGATTCCGT
GAAGGGCAGGTTCAACATCAGCAGGGACAACGCCAAGAAC
TCCCTGTACTTGCAGATGAACTCCCTGAGGGCCGAGGACA
CCGCCGCTGTACTACTGCGCCAGGGGCGAGGTCCCTGCTGTT
CGACTACTGGGGACAGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCCAGG
ATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACA
TCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTA
TATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACCAAGC
AGCCTCACCGAGTGCCTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGG
CTCACTGGACAACACCCCTCTTTAAAGTGATCCGGCGAGGG
CCAGGACAGGACACATGATCCGGGATGAGGCGAGCTCATCGAC
ATCGTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCTGGTGC
CCGAGTTTCTGCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACCAACTG
CGAGTGGTCCGCTTCTCTCTGCTTTTCAGAAAGGCCCAAGCTG
AAGTCCGCCAACACCGGCAACAACGAGCGGATCATCAACG
TGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCCACAAA
CGCCGGCAGGAGGCGAGAAGCACAGGCTGACCTGCCCCAGC
TGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTTCTCTGG
AGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAAGATGATCCATCAGCA
CCTGTCCTCCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCC（配列番号1
38）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、
少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、
少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なく
とも99%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0293】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSSEL TQDPAVSVALGQTVRITCQ
GDSLRSYYASWYQQKPGQAPV LVIYGKNNRPSGIPDRFSG
SSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHVVFGGGT
KLT VGHGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVVRPGGSLR
LSCAASGFTTFDDYGMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTG
YADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARG
RSL LFDYWGGT LVT VSRITCPPPMSVEHADIWVKSYSLY
SRERYICNSGFKRKAGTSSSLTECVLNKATNV AHWTTPSLK
CIRQGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED
VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRK
PPSTNAGR RQKHRLT CPSCDSYEKKPPKEFLERFKSL LQK
MIHQHLS SRTHGSEDS（配列番号139）と少なくとも80%同一（例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、
少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく
とも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一
）の配列を含み得る。

【0294】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTGTTCT

CCAGCGCCTACTCCTCCGAGCTGACCCAGGACCCCTGCTGT
GTCCGTGGCTCTGGGCCAGACCGTGAGGATCACCTGCCAG
GGCGACTCCCTGAGGTCCTACTACGCCCTCCTGGTACCAGC
AGAAAGCCCCGGCCAGGCTCCTGTGCTGGTGATCTACGGCAA
GAACAACAGGCCCTCCGGGCATCCCTGACAGGTTCTCCGGA
TCCTCCTCCGGCAACACCGCCTCCCTGACCATCACAGGCG
CTCAGGCCGAGGACGAGGCTGACTACTACTGCAACTCCAG
GGACTCCTCCGGCAACCATGTGGTGTTCTGGCGGCGGCACC
AAGCTGACCGTGGGCCATGGCGGCGGCGGCTCCGGAGGCG
GCGGCAGCGGCGGAGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGGTGGA
GTCCGGAGGAGGAGTGTTGAGGCTGGAGGCTCCCTGAGG
CTGAGCTGTGCTGCCCTCCGGCTTCAACCTTCGACGACTACG
GCATGTCTCTGGGTGAGGCAGGCTCCTGGAAAGGGCCTGGA
GTGGGTGTCCGGCATCAACTGGAACGGCGGATCCACCGGC
TACGCCGATTTCGTGAAGGGCAGGTTCAACCATCAGCAGGG
ACAACGCCAAGAAGACTCCCTGTACTCTGCAGATGAAGTCCCT
GAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGGC
AGGTCCCTGCTGTTCTGACTACTGGGGACAGGGCACCCCTGG
TGACCGTGTTCCAGGATTACATGCCCCCCCTCCCATGAGCGT
GGAGCACGCCGACATCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTAC
AGCCGGGAGAGGTATATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGA
AGGCCCGGCACCAAGCAGCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAA
GGCTACCAACGTGGCTCACTGGACAACACCCCTCTTTAAAG
TGCATCCGGCAGGGCCAGGACAGGCAACATGATCCGGGATGA
GGCAGCTCATCGACATCGTCGACCAGCTGAAGAACTACGT
GAACGACCTGGTGCCCGAGTTTCTGCTGCCCCCGAGGAC
GTGGAGACCAACTGCGAGTGGTCCGCCCTTCTCCTGCTTTC
AGAAAGGCCCCAGCTGAAGTCCGCCCAACACCGGCAACAAACGA
GCGGATCATCAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGGAAG
CCTCCCTCCACAAACGCCCGGCAGGAGGCAAGAGCACAGGC
TGACCTGCCCCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAAGCCCCC
CAAGGAGTTTCTTGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAG
ATGATCCATCAGCACCTGTCTCTCCAGGACCCACGGCTCCG
AGGACTCC (配列番号140) と少なくとも80%同一 (例えば、少なくとも82
%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なく
とも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一
、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一) の配列によって
コードされる。

【0295】

例示的な多鎖キメラポリペプチドータイプH

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、IL-7受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列 (例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか) をさらに含む。

【0296】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメイン

と一対の親和性ドメインの第1のドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の可溶性組織因子ドメインと一対の親和性ドメインの第1のドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0297】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一対の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の一対の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

10

【0298】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれかであり得る。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一対の親和性ドメインは、本明細書に記載の例示的な一対の親和性ドメインのうちのいずれかであり得る。

【0299】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、IL-7受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じエピトープに特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じアミノ酸配列を含む。

20

【0300】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、可溶性IL-7（例えば、可溶性ヒトIL-7）を含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-7は、
D C D I E G K D G K Q Y E S V L M V S I D Q L L D S M K E I G S N C L N N E F N
F F K R H I C D A N K E G M F L F R A A R K L R Q F L K M N S T G D F D L H L L
K V S E G T T I L L N C T G Q V K G R K P A A L G E A Q P T K S L E E N K S L K
E Q K K L N D L C F L K R L L Q E I K T C W N K I L M G T K E H（配列番号11）
と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む。

30

【0301】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-7は、
G A T T G C G A C A T C G A G G G C A A G G A C G G C A A G C A G T A C G A G A
G C G T G C T G A T G G T G T C C A T C G A C C A G C T G C T G G A C A G C A T
G A A G G A G A T C G G C T C C A A C T G C C T C A A C A A C G A G T T C A A C
T T C T T C A A G C G G C A C A T C T G C G A C G C C A A C A A G G A G G G C A
T G T T C C T G T T C A G G G C C G C C A G G A A A C T G C G G C A G T T C C T
G A A G A T G A A C T C C A C C G G C G A C T T C G A C C T G C A C C T G C T G
A A G G T G T C C G A G G G C A C C A C C A T C C T G C T G A A C T G C A C C G
G A C A G G T G A A G G G C C G G A A A C C T G C T G C T C T G G G A G A G G C
C C A A C C C A C C A A G A G C C T G G A G G A G A A C A A G T C C C T G A A G
G A G C A G A A G A A G C T G A A C G A C C T G T G C T T C C T G A A G A G G C
T G C T G C A G G A G A T C A A G A C C T G C T G G A A C A A G A T C C T G A T
G G G C A C C A A G G A G C A T（配列番号95）と少なくとも80%同一（例えば、

40

50

少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)の配列によってコードされる。

【0302】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

DCDIEGKD G K Q Y E S V L M V S I D Q L L D S M K E I G S N C L N N E F N
F F K R H I C D A N K E G M F L F R A A R K L R Q F L K M N S T G D F D L H L L
K V S E G T T I L L N C T G Q V K G R K P A A L G E A Q P T K S L E E N K S L K
E Q K K L N D L C F L K R L L Q E I K T C W N K I L M G T K E H S G T T N T V A
A Y N L T W K S T N F K T I L E W E P K P V N Q V Y T V Q I S T K S G D W K S K
C F Y T T D T E C D L T D E I V K D V K Q T Y L A R V F S Y P A G N V E S T G S
A G E P L Y E N S P E F T P Y L E T N L G Q P T I Q S F E Q V G T K V N V T V E
D E R T L V R R N N T F L S L R D V F G K D L I Y T L Y W K S S S S G K K T A
K T N T N E F L I D V D K G E N Y C F S V Q A V I P S R T V N R K S T D S P V E
C M G Q E K G E F R E N W V N V I S D L K K I E D L I Q S M H I D A T L Y T E S
D V H P S C K V T A M K C F L L E L Q V I S L E S G D A S I H D T V E N L I I L
A N N S L S S N G N V T E S G C K E C E E L E E K N I K E F L Q S F V H I V Q M
F I N T S (配列番号141)と少なくとも80%同一(例えば、少なくとも82%同一、
少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)の配列を含み得る。

【0303】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

G A T T G C G A C A T C G A G G G C A A G G A C G G C A A G C A G T A C G A G A
G C G T G C T G A T G G T G T C C A T C G A C C A G C T G C T G G A C A G C A T
G A A G G A G A T C G G C T C C A A C T G C C T C A A C A A C G A G T T C A A C
T T C T T C A A G C G G C A C A T C T G C G A C G C C A A C A A G G A G G G C A
T G T T C C T G T T C A G G G C C G C C A G G A A A C T G C G G C A G T T C C T
G A A G A T G A A C T C C A C C G G C G A C T T C G A C C T G C A C C T G C T G
A A G G T G T C C G A G G G C A C C A C C A T C C T G C T G A A C T G C A C C G
G A C A G G T G A A G G G C C G G A A A C C T G C T G C T C T G G G A G A G G C
C C A A C C C A C C A A G A G C C T G G A G G A G A A C A A G T C C C T G A A G
G A G C A G A A G A A G C T G A A C G A C C T G T G C T T C C T G A A G A G G C
T G C T G C A G G A G A T C A A G A C C T G C T G G A A C A A G A T C C T G A T
G G G C A C C A A G G A G C A T A G C G G C A C A A C C A A C A C A G T C G C T
G C C T A T A A C C T C A C T T G G A A G A G C A C C A A C T T C A A A A C C A
T C C T C G A A T G G G A A C C C A A A C C C G T T A A C C A A G T T T A C A C
C G T G C A G A T C A G C A C C A A G T C C G G C G A C T G G A A G T C C A A A
T G T T T C T A T A C C A C C G A C A C C G A G T G C G A T C T C A C C G A T G
A G A T C G T G A A A G A T G T G A A A C A G A C C T A C C T C G C C C G G G T
G T T T A G C T A C C C C G C C G G C A A T G T G G A G A G C A C T G G T T C C
G C T G G C G A G C C T T T A T A C G A G A A C A G C C C C G A A T T T A C C C
C T T A C C T C G A G A C C A A T T T A G G A C A G C C C A C C A T C C A A A G
C T T T G A G C A A G T T G G C A C A A A G G T G A A T G T G A C A G T G G A G
G A C G A G C G G A C T T T A G T G C G G C G G A A C A A C A C C T T T C T C A
G C C T C C G G G A T G T G T T C G G C A A A G A T T T A A T C T A C A C A C T
G T A T T A C T G G A A G T C C T C T T C C T C C G G C A A G A A G A C A G C T
A A A A C C A A C A C A A A C G A G T T T T T A A T C G A C G T G G A T A A A G
G C G A A A A C T A C T G T T T C A G C G T G C A A G C T G T G A T C C C C T C

CCGGACCGTGGAATAGGAAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAG
TGCATGGGCCCAAGAAAAGGGCGAGTTCCGGGAGAACTGGG
TGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAGATTTAAT
TCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACACAGAATCC
GACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATGAAATGTT
TTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGAGCGGAGA
CGCTAGCATCCACGACACCGGTGGAGAATTTAATCATTTTA
GCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTGACAGAGT
CCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGAAGAACAT
CAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGTCCAGATG
TTCATCAATACCTCC（配列番号142）と少なくとも80%同一（例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88
%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく
とも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）
の配列によってコードされる。

【0304】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSDDCDIEGKDGKQYESVLMVSIHQ
LLDSMKEIGSNCLNNEFNFFKRHICDANKEGMFLFRAARK
LRQFLKMNSTGDFDLHLLKVSEGTITLLNCTGQVKGRKPA
ALGEAQPTKSLEENKSLKEQKKLNDLCFLKRLQLQEIKTQW
NKILMGTKEHSGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPV
NQVYTVQISTKSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQT
YLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQ
PTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKD
LIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFQSVQ
AVIPSRVTNRKSTDSPVECMGQEKGEFRENWVNVISDLKK
IEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSPCKVTAMKCFLLLELQVIS
LES GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEL
EEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS（配列番号143）と少なくとも80
%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一
、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも9
4%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、また
は100%同一）の配列を含み得る。

【0305】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTTCCTGTTCT
CCAGCGCCTACTCCGATTGCGACATCGAGGGCAAGGACGG
CAAGCAGTACGAGAGCGTGCTGATGGTGTCATCGACCAAG
CTGCTGGACAGCATGAAGGAGATCGGCTCCAACCTGCCTCA
ACAACGAGTTCAACTTCTTCAAGCGGCACATCTGCGACGC
CAACAAGGAGGGCATGTTCTCTGTTTCAAGGGCCGCCAGGAAA
CTGCGGCAGTTCCTGAAGATGAACCTCCACCGGCGACTTTCG
ACCTGCACCTGCTGAAGGTGTCCGAGGGCACCAACCATCCT
GCTGAACCTGCACCGGACAGGTGAAGGGCCGGAAACCTGCT
GCTCTGGGAGAGGGCCCAACCCACCAAGAGCCTGGAGGAGA
ACAAGTCCCTGAAGGAGCAGAAAGAGCTGAACGACCTGTG
CTTCTCTGAAGAGGCTGCTGCAGGAGATCAAGACCTGCTGG
AACAAAGATCCTGATGGGCACCAAGGAGCATAGCGGCACAA
CCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTTGGAAAGAGCAC

CAACTTCAAACCATCCTCGAATGGGAACCCAAACCCGTT
AACCAAGTTTACACCGTGAGATCAGCACCAAGTCCGGCG
ACTGGAAGTCCAAATGTTTCTATACCACCGACACCGAGTG
CGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGTGAAACAGACC
TACCTCGCCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGCCGGCAATGTGG
AGAGCACTGGTTCGCTGGCGAGCCTTTATACGAGAACAG
CCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAATTTAGGACAG
CCCAACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGCACAAAGGTGA
ATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAGTGCGGGCGGAA
CAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTTTCGGCAAAGAT
TTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCTCTTCTCTCCG
GCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACGAGTTTTTAAAT
CGACGTGGATAAAGGCGAAAACCTACTGTTTTCAGCGTGCAA
GCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGGTGAATAGGAAAAGCACCG
ATAGCCCCGTTGAGTGCATGGGCCAAGAAAAGGGCGAGTT
CCGGGAGAACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAG
ATCGAAGATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTT
TATACACAGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGAC
CGCCATGAAATGTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCT
TTAGAGAGCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAGA
ATTTAATCATTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGG
CAACGTGACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTG
GAGGAGAAAGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGC
ACATTTGTCCAGATGTTTCATCAATACCTCC（配列番号144）と少
なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なく
とも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、
少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99
%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0306】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

DCDIEGKDGKQYESVLMVSI DQLLD SMKEIGSNCLNNEFN
FFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLL
KVSEGT TILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLK
EQKKLNDLCFLKRL LQEIKTCWNKILMGTK E HITCPPPMS
VEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLN
KATNVAHWTTTPSLKCI R（配列番号145）と少なくとも80%同一（例え
ば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なく
とも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少
なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同
一）の配列を含み得る。

【0307】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

GATTGTGATATTGAAGGTAAAGATGGCAAACAATATGAGA
GTGTTCTAATGGTCAGCATCGATCAATTATTGGACAGCAT
GAAAGAAATTGGTAGCAATTGCCTGAATAATGAATTTAAC
TTTTTTTAAAAGACATATCTGTGATGCTAATAAGGAAGGTA
TGTTTTTTATTCCGTGCTGCTCGCAAGTTGAGGCAATTTCT
TAAAATGAATAGCACTGGTGATTTTGATCTCCACTTATTA
AAAGTTTTCAGAAGGCACAACAATACTGTTGAACTGCACTG
GCCAGGTTAAAGGAAGAAAACCAAGCTGCCCTGGGTGAAGC

CCAACCAACAAAGAGTTTGGGAAGAAAATAAATCTTTAAAG
GAACAGAAAAAACTGAATGACTTGTGTTTCCTAAAGAGAC
TATTACAAGAGATAAAAACTTGTGGAATAAAATTTTGAT
GGGCACTAAAGAACACATCACGTGCCCTCCCCCATGTCC
GTGGAACACGACAGACATCTGGGTCAAGAGCTACAGCTTGT
ACTCCAGGGAGCGGTACATTTGTAACCTCTGGTTTCAAGCG
TAAAGCCGGCACGTCCAGCCTGACGGAGTGCGTGTGTAAC
AAGGCCACGAATGTCGCCCACTGGACAACCCCCAGTCTCA
AATGCATTAGA（配列番号146）と少なくとも80%同一（例えば、少なく
も82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、
少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96
%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列に
よってコードされる。

【0308】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSDDCDIEGKDQYESVLMVSIIDQ
LLDSMKEIGSNCLNNEFNFFKRHICDANKEGMFLFRAARK
LRQFLKMNSTGDFDLHLLKVSEGTILLNCTGQVKGRKPA
ALGEAQPTKSLEENKSLKEQKKLNDLCFLKRLQLQEIKT
CNKILMGTKEHITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICN
SGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI（配列番号
147）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同
一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なく
とも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少
なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含み得る。

【0309】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTTCCTGTTCT
CCAGCGCCTACTCCGATTGCGACATCGAGGGCAAGGACGG
CAAGCAGTACGAGAGCGTGCTGATGGTGTCATCGACCAG
CTGCTGGACAGCATGAAGGAGATCGGCTCCAACCTGCCTCA
ACAACGAGTTCAACTTCTTCAAGCGGCACATCTGCGACGC
CAACAAGGAGGGCATGTTCTCTGTTCAAGGGCCGCCAGGAAA
CTGCGGCAGTTCCTGAAGATGAACCTCCACCGGCGACTTTCG
ACCTGCACCTGCTGAAGGTGTCCGAGGGCACCAACCATCCT
GCTGAACCTGCACCGGACAGGTGAAGGGCCGGAAACCTGCT
GCTCTGGGAGAGGCCCAACCCACCAAGAGCCTGGAGGAGA
ACAAGTCCCTGAAGGAGCAGAAGAAGCTGAACGACCTGTG
CTTCCTGAAGAGGCTGCTGCAGGAGATCAAGACCTGCTGG
AACAAGATCCTGATGGGCACCAAGGAGCATATTACATGCC
CCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACATCTGGGTGAA
GAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTATATCTGTAAAC
AGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACCAAGCAGCCTCACCG
AGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGGCTCACTGGAC
AACACCCCTCTTTAAAGTGATCCGG（配列番号148）と少なく
とも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なく
とも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少
なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、
または100%同一）の配列によってコードされる。

【0310】

例示的な多鎖キメラポリペプチドタイプ I

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、 $TGF-\beta$ に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0311】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインと一对の親和性ドメインの第1のドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の可溶性組織因子ドメインと一对の親和性ドメインの第1のドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0312】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内的一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0313】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれかであり得る。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインは、本明細書に記載の例示的な一对の親和性ドメインのうちのいずれかであり得る。

【0314】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、 $TGF-\beta$ に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じエピトープに特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、同じアミノ酸配列を含む。

【0315】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは、可溶性 $TGF-\beta$ 受容体（例えば、可溶性 $TGF\beta RI$ 受容体、例えば、可溶性ヒト $TGF\beta RI$ ）である。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒト $TGF\beta RI$ は、第1の可溶性ヒト $TGF\beta RI$ 配列および第2の可溶性ヒト $TGF\beta RI$ 配列を含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒト $TGF\beta RI$ は、第1の可溶性ヒト $TGF\beta RI$ 配列と第2の可溶性ヒト $TGF\beta RI$ 配列との間に配置されたリンカーを含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、リンカーは、配列GGGGSGGGSGGGGS（配列番号7）を含む。

【0316】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の可溶性ヒト $TGF\beta RI$ 受容体配列は、
I P P H V Q K S V N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N
Q K S C M S N C S I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D

10

20

30

40

50

PKLPYHDFILEDAA SPK CIMKEKKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSE EYNTSNPD（配列番号80）と少なくとも80%同一（例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88
%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく
とも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）
の配列を含む。

【0317】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の可溶性ヒトTGF
R β RII受容体配列は、c（配列番号81）と少なくとも80%同一（例えば、少なく
とも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一
、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも9
6%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列
を含む。

【0318】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の可溶性ヒトTGF
R β RII受容体配列は、

ATCCCCCCCCATGTGC AAAAGAGCGTGAAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGT CAGGTT CAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCCTGCATGTCCA ACTTG CAGCATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAAACATCACCCCTGGAGACCGTGTTGTACGAC
CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTTCATTTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAAGAAAGAGCCCGG
AGAGACCTTTCTTTATGTGTTCTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTT CAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCCCTGAT（配列番号82）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%
同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なく
とも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、
少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコ
ードされる。

【0319】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の可溶性ヒトTGF
R β RII受容体配列は、

ATTCCTCCCCACGTGCAGAAAGAGCGTGAAATAATGACATGA
TCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGA AATTTCCCCAGCT
GTGCA AATTTCTGCGATGTGAGGTTTTCCACCTGCGACAAC
CAGAAGTCCCTGTATGAGCAACTGCTCCATCACCTCCATCT
GTGAGAAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGGCTGTCTGGCGGAA
GAATGACGAGAAATATCACCCCTGGAAACCGTCTGCCACGAT
CCCAAGCTGCCCTACCAACGATTTTCATCCTGGAAGACGCCG
CCAGCCCTAAGTGCATCATGAAGAGAGAAAAGAAAGCCTGG
CGAGACCTTTTTTTCATGTGCTCCTG CAGCAGCGACGAATGC
AACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAATACAATACCAGCA
ACCCCGAC（配列番号83）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%
同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なく
とも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、
少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコ
ードされる。

【0320】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性 TGF- β 受容体は、

I P P H V Q K S V N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N
Q K S C M S N C S I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D
P K L P Y H D F I L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C
N D N I I F S E E Y N T S N P D G G G G S G G G G S G G G G S I P P H V Q K S V
N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N Q K S C M S N C S
I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D P K L P Y H D F I
L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C N D N I I F S E E
Y N T S N P D (配列番号 85) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同
一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくと
も 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少
なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列を含む。

【0321】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性 TGF- β 受容体は、

A T C C C C C C C C A T G T G C A A A A G A G C G T G A A C A A C G A T A T G A
T C G T G A C C G A C A A C A A C G G C G C C G T G A A G T T T C C C C A G C T
C T G C A A G T T C T G C G A T G T C A G G T T C A G C A C C T G C G A T A A T
C A G A A G T C C T G C A T G T C C A A C T G C A G C A T C A C C T C C A T C T
G C G A G A A G C C C C A A G A A G T G T G C G T G G C C G T G T G G C G G A A
A A A T G A C G A G A A C A T C A C C C T G G A G A C C G T G T G T C A C G A C
C C C A A G C T C C C T T A T C A C G A C T T C A T T C T G G A G G A C G C T G
C C T C C C C C A A A T G C A T C A T G A A G G A G A A G A A G A A G C C C G G
A G A G A C C T T C T T T A T G T G T T C C T G T A G C A G C G A C G A G T G T
A A C G A C A A C A T C A T C T T C A G C G A A G A G T A C A A C A C C A G C A
A C C C T G A T G G A G G T G G C G G A T C C G G A G G T G G A G G T T C T G G
T G G A G G T G G G A G T A T T C C T C C C C A C G T G C A G A A G A G C G T G
A A T A A T G A C A T G A T C G T G A C C G A T A A C A A T G G C G C C G T G A
A A T T T C C C C A G C T G T G C A A A T T C T G C G A T G T G A G G T T T T C
C A C C T G C G A C A A C C A G A A G T C C T G T A T G A G C A A C T G C T C C
A T C A C C T C C A T C T G T G A G A A G C C T C A G G A G G T G T G C G T G G
C T G T C T G G C G G A A G A A T G A C G A G A A T A T C A C C C T G G A A A C
C G T C T G C C A C G A T C C C A A G C T G C C C T A C C A C G A T T T C A T C
C T G G A A G A C G C C G C C A G C C C T A A G T G C A T C A T G A A A G A G A
A A A A G A A G C C T G G C G A G A C C T T T T T C A T G T G C T C C T G C A G
C A G C G A C G A A T G C A A C G A C A A T A T C A T C T T T A G C G A G G A A
T A C A A T A C C A G C A A C C C C G A C (配列番号 84) と少なくとも 80% 同一
(例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少
なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同
一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 10
0% 同一) の配列によってコードされる。

【0322】

いくつかの実施形態では、第 1 のキメラポリペプチドは、

I P P H V Q K S V N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N
Q K S C M S N C S I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D
P K L P Y H D F I L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C
N D N I I F S E E Y N T S N P D G G G G S G G G G S G G G G S I P P H V Q K S V
N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N Q K S C M S N C S
I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D P K L P Y H D F I

LED A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C N D N I I F S E E
Y N T S N P D S G T T N T V A A Y N L T W K S T N F K T I L E W E P K P V N Q V
Y T V Q I S T K S G D W K S K C F Y T T D T E C D L T D E I V K D V K Q T Y L A
R V F S Y P A G N V E S T G S A G E P L Y E N S P E F T P Y L E T N L G Q P T I
Q S F E Q V G T K V N V T V E D E R T L V R R N N T F L S L R D V F G K D L I Y
T L Y Y W K S S S S G K K T A K T N T N E F L I D V D K G E N Y C F S V Q A V I
P S R T V N R K S T D S P V E C M G Q E K G E F R E N W V N V I S D L K K I E D
L I Q S M H I D A T L Y T E S D V H P S C K V T A M K C F L L E L Q V I S L E S
G D A S I H D T V E N L I I L A N N S L S S N G N V T E S G C K E C E E L E E K
N I K E F L Q S F V H I V Q M F I N T S (配列番号 149) と少なくとも 80% 同一
(例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少な
くとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同
一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 10
0% 同一) の配列を含み得る。

10

【0323】

いくつかの実施形態では、第 1 のキメラポリペプチドは、

A T C C C C C C C C A T G T G C A A A A G A G C G T G A A C A A C G A T A T G A
T C G T G A C C G A C A A C A A C G G C G C C G T G A A G T T T C C C C A G C T
C T G C A A G T T C T G C G A T G T C A G G T T C A G C A C C T G C G A T A A T
C A G A A G T C C T G C A T G T C C A A C T G C A G C A T C A C C T C C A T C T
G C G A G A A G C C C C A A G A A G T G T G C G T G G C C G T G T G G C G G A A
A A A T G A C G A G A A C A T C A C C C T G G A G A C C G T G T G T C A C G A C
C C C A A G C T C C C T T A T C A C G A C T T C A T T C T G G A G G A C G C T G
C C T C C C C C A A A T G C A T C A T G A A G G A G A A G A A G A A G C C C G G
A G A G A C C T T C T T T A T G T G T T C C T G T A G C A G C G A C G A G T G T
A A C G A C A A C A T C A T C T T C A G C G A A G A G T A C A A C A C C A G C A
A C C C T G A T G G A G G T G G C G G A T C C G G A G G T G G A G G T T C T G G
T G G A G G T G G G A G T A T T C C T C C C C A C G T G C A G A A G A G C G T G
A A T A A T G A C A T G A T C G T G A C C G A T A A C A A T G G C G C C G T G A
A A T T T C C C C A G C T G T G C A A A T T C T G C G A T G T G A G G T T T T C
C A C C T G C G A C A A C C A G A A G T C C T G T A T G A G C A A C T G C T C C
A T C A C C T C C A T C T G T G A G A A G C C T C A G G A G G T G T G C G T G G
C T G T C T G G C G G A A G A A T G A C G A G A A T A T C A C C C T G G A A A C
C G T C T G C C A C G A T C C C A A G C T G C C C T A C C A C G A T T T C A T C
C T G G A A G A C G C C G C C A G C C C T A A G T G C A T C A T G A A A G A G A
A A A A G A A G C C T G G C G A G A C C T T T T T C A T G T G C T C C T G C A G
C A G C G A C G A A T G C A A C G A C A A T A T C A T C T T T A G C G A G G A A
T A C A A T A C C A G C A A C C C G A C A G C G G C A C A A C C A A C A C A G
T C G C T G C C T A T A A C C T C A C T T G G A A G A G C A C C A A C T T C A A
A A C C A T C C T C G A A T G G G A A C C C A A A C C C G T T A A C C A A G T T
T A C A C C G T G C A G A T C A G C A C C A A G T C C G G C G A C T G G A A G T
C C A A A T G T T T C T A T A C C A C C G A C A C C G A G T G C G A T C T C A C
C G A T G A G A T C G T G A A A G A T G T G A A A C A G A C C T A C C T C G C C
C G G G T G T T T A G C T A C C C C G C C G G C A A T G T G G A G A G C A C T G
G T T C C G C T G G C G A G C C T T T A T A C G A G A A C A G C C C C G A A T T
T A C C C C T T A C C T C G A G A C C A A T T T A G G A C A G C C C A C C A T C
C A A A G C T T T G A G C A A G T T G G C A C A A A G G T G A A T G T G A C A G
T G G A G G A C G A G C G G A C T T T A G T G C G G C G G A A C A A C A C C T T
T C T C A G C C T C C G G G A T G T G T T C G G C A A A G A T T T A A T C T A C
A C A C T G T A T T A C T G G A A G T C C T C T T C C T C C G G C A A G A A G A

20

30

40

50

CAGCTAAAACCAACACAAACGAGTTTTTTAATCGACGTGGA
TAAAGGCGAAAACTACTGTTTCAGCGTGCAAGCTGTGATC
CCCTCCCGGACCGTGAATAGGAAAAGCACCGATAGCCCCG
TTGAGTGCATGGGGCCAAGAAAAGGGCGAGTTCCGGGGAGAA
CTGGGTGAACGTCAATCAGCGATTTTAAAGAAGATCGAAGAT
TTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACACAG
AATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATGAA
ATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGAGC
GGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAGAAATTTAATCA
TTTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTGAC
AGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGAAAG
AACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGTCC
AGATGTTTCATCAATACCTCC（配列番号150）と少なくとも80%同一
（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少な
くとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同
一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または10
0%同一）の配列によってコードされる。

【0324】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAV
KFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPKQEV
CVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAA
SPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNT
SNPDGGGGSGGGSGGGGSIIPPHVQKSVNNDMIVTDN
NGAVKFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEK
PKQEVCAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAA
SPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNT
SNPDSGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQV
YTVQISTKSGDWKSKCFYTTDETCDLTDEIVKDV
KQTYLARVFSYPAGNVESTGSGAGEPLYE
NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERT
LVR RNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYWKSSSSGKKTA
KTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRVTNRKSTDS
PVECMGQEKGEFRENNWVNVISDLKKIEDLIQSMHI
DATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLLLELQVISLES
GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKE
CEELEEKNIKEFLQS FVHVQMFINTS（配
列番号151）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも8
4%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少な
くとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同
一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含み得る。

【0325】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCT
CCAGCGCCTACTCCATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGT
GAACAACGATATGATCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTG
AAGTTTCCCCAGCTCTGCAAGTTCTGCGATGTCAGGTTCA
GCACCTGCGATAATCAGAAGTCCTGCATGTCCAACCTGCAG
CATCACCTCCATCTGCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTCGTG
GCCGTGTGGCGGAAAAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGA
CCGTGTGTACACGACCCCAAGCTCCCTTATCACGACTTCAT
TCTGGAGGACGCTGCCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAG

40

50

ITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFI
LEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSSSDECNDNIIFSEE
YNTSNPDITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGF
KRKAGTSSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI R (配列番号153)
)と少なくとも80%同一(例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少
なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%
同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくと
も99%同一、または100%同一)の配列を含み得る。

【0327】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

ATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGTCAGGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCCTGCATGTCCAACCTGCAGCATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGACCGTGTGTTCACGAC
CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTCAATTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAGAAGAAGCCCCGG
AGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTCTGG
TGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACGTGCAGAAGAGCGTG
AATAATGACATGATCGTGACCGATAACAATGGCGCCCGTGA
AATTTCCCCAGCTGTGCAAAATCTGCGATGTGAGGTTTTC
CACCTGCGACAACCAGAAGTCTGTATGAGCAACTGCTCC
ATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGG
CTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAAC
CGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCTACCACGATTTTCATC
CTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTGATCATGAAAGAGA
AAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTCATGTGCTCCTGCAG
CAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAA
TACAATACCAGCAACCCCGACATTACATGCCCCCCTCCCA
TGAGCGGTGGAGCACGCCGACATCTGGGTGAAGAGCTATAG
CCTCTACAGCCGGGAGAGGTATATCTGTAAACAGCGGCTTTC
AAGAGGAAGGCCGGCACCCAGCAGCCTCACCGAGTGCGTGC
TGAATAAGGCTACCAACGTGGCTCACTGGACAACACCCTC
TTTAAAGTGATCCGG (配列番号154)と少なくとも80%同一(例えば
、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも8
8%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少な
くとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一
)の配列によってコードされる。

【0328】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAV
KFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCA
VWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKE
KKKPGETFFMCSSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDGGGGSG
GGGSGGGGSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFC
DVRFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVWRKNDEN
ITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFF

10

20

30

40

50

【 0 3 2 9 】

【 0 3 3 0 】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、IL-7受容体、IL-21受容体、またはCD137L受容体に特異的に結合する。本明細書に記載のこれらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、追加の標的結合ドメインをさらに含む。本明細書に記載のこれらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインは、IL-21（例えば、可溶性IL-21、例えば、可溶性ヒトIL-21）受容体またはCD137L（例えば、

、可溶性CD137L、例えば、可溶性ヒトCD137L)受容体に特異的に結合する。

【0331】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0332】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインと一对の親和性ドメインの第1のドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の可溶性組織因子ドメインと一对の親和性ドメインの第1のドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

10

【0333】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内的一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

20

【0334】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチドのN末端またはC末端に1つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む。

【0335】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインと一对の親和性ドメインの第2のドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内的一对の親和性ドメインの第2のドメインと追加の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

30

【0336】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の第2の標的結合ドメインと追加の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0337】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれかであり得る。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインは、本明細書に記載の例示的な一对の親和性ドメインのうちのいずれかであり得る。

40

【0338】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、追加の標的結合ドメインを含み得る。いくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインおよび

【0339】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および追加の標的結合ドメインのうちの1つ以上は、アゴニスト抗原結合ドメインである。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態で

50

は、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および追加の標的結合ドメインは各々、アゴニスト抗原結合ドメインである。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、s c F v または単ドメイン抗体を含む。

【0340】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインはIL-7受容体に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインはIL-21受容体またはCD137L受容体に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインは、IL-21受容体またはCD137L受容体に特異的に結合する。

【0341】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインは、可溶性IL-7（例えば、可溶性ヒトIL-7）である。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-7は、

DCDIEGKDGKQYESVLMVSI DQLLD SMKEIGSNCLNNEFN
FFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLL
KVSEGT TILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLK
EQKKLNDLCFLKRL LQEIKTCWNKILMGTK E H（配列番号11）
と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む。

【0342】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-7は、
GATTGCGACATCGAGGGCAAGGACGGCAAGCAGTACGAGA
GCGTGCTGATGGTGTCCATCGACCAGCTGCTGGACAGCAT
GAAGGAGATCGGCTCCAACCTGCCTCAACAACGAGTTCAAC
TTCTTCAAGCGGCACATCTGCGACGCCAACAAAGGAGGGCA
TGTTCTCTGTTTCAGGGCCGCCAGGAAACTGCGGCAGTTCTCT
GAAGATGAACCTCCACCGGCGACTTTCGACCTGCACCTGCTG
AAGGTGTCCGAGGGGCACCAACCATCCTGCTGAACTGCACCG
GACAGGTGAAGGGCCGGAAACCTGCTGCTCTGGGAGAGGC
CCAACCCACCAAGAGCCTGGAGGAGAAACAAGTCCCTGAAG
GAGCAGAAGAAGCTGAACGACCTGTGCTTCTCTGAAGAGGC
TGCTGCAGGAGATCAAGACCTGCTGGAACAAGATCCTGAT
GGGCACCAAGGAGCAT（配列番号124）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0343】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインまたは追加の標的結合ドメインは、IL-21受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインまたは追加の標的結合ドメインは、可溶性IL-21（例えば、可溶性ヒトIL-21）である。

【0344】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-21は、
QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
TNAGR RQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH
QHLSSSRTHGSEDS（配列番号78）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一

10

20

30

40

50

、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)の配列を含む。

【0345】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-21は、CAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCGGATGAGGCAGCTCATCGACATCGTTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCTGGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACCAACTGCGAGTGGTCCGCTTCTCCTGCTTTCAGAAAGGCCCAGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAACAACGAGCGGATCATCAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCCAACAACGCCCGGCAGGAGGCAGAAAGCACAGGCTGACCTGCCCCAGCTGTGACTCCTACGAGAAAGAACCCCCCAAGGAGTTCCTGGAGAGGTTCAGTCCCTGCTGCAGAAAGATGATCCATCAGCACCTGTCTCCTCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCC(配列番号79)と少なくとも80%同一(例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)の配列によってコードされる。

【0346】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインは、CD137L受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、CD137L受容体に特異的に結合する追加の標的結合ドメインをさらに含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインおよび/または追加の標的結合ドメインは、可溶性CD137L(例えば、可溶性ヒトCD137L)である。

【0347】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトCD137Lは、REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPASS EARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ GATVVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSE(配列番号157)と少なくとも80%同一(例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)の配列を含む。

【0348】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトCD137Lは、

CGCGAGGGTCCCGAGCTTTCGCCCGACGATCCCGCCGGCC TCTTGACCTGCGGCAGGGCATGTTTGCGCAGCTGGTGGC CCAAAATGTTCTGCTGATCGATGGGCCCTGAGCTGGTAC AGTGACCCAGGCCTGGCAGGCGTGTCCTGACGGGGGGGCC TGAGCTACAAAGAGGACACGAAGGAGCTGGTGGTGGCCAA GGCTGGAGTCTACTATGTCTTCTTTCAACTAGAGCTGCGG CGCGTGGTGGCCGGCGAGGGCTCAGGCTCCGTTTTCACTTG CGCTGCACCTGCAGCCACTGCGCTCTGCTGCTGGGGGCCGC CGCCCTGGCTTTGACCGTGGACCTGCCACCCGCCCTCCTCC

G A G G C T C G G A A C T C G G C C T T C G G T T T C C A G G G C C G C T T G C
T G C A C C T G A G T G C C G G C C A G C G C C T G G G C G T C C A T C T T C A
C A C T G A G G C C A G G G C A C G C C A T G C C T G G C A G C T T A C C C A G
G G C G C C A C A G T C T T G G G A C T C T T C C G G G T G A C C C C C G A A A
T C C C A G C C G G A C T C C C T T C A C C G A G G T C G G A A (配列番号 158)
)と少なくとも80%同一(例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少
なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%
同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なく
とも99%同一、または100%同一)の配列によってコードされる。

【0349】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトCD137L
は、

D P A G L L D L R Q G M F A Q L V A Q N V L L I D G P L S W Y S D P G L A G V S
L T G G L S Y K E D T K E L V V A K A G V Y Y V F F Q L E L R R V V A G E G S G
S V S L A L H L Q P L R S A A G A A A L A L T V D L P P A S S E A R N S A F G F
Q G R L L H L S A G Q R L G V H L H T E A R A R H A W Q L T Q G A T V L G L F R
V T P E I (配列番号 159)と少なくとも80%同一(例えば、少なくとも82%同一
、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なく
とも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少
なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)の配列を含む。

【0350】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトCD137L
は、

G A T C C C G C C G G C C T C T T G G A C C T G C G G C A G G G C A T G T T T G
C G C A G C T G G T G G C C C A A A A T G T T C T G C T G A T C G A T G G G C C
C C T G A G C T G G T A C A G T G A C C C A G G C C T G G C A G G C G T G T C C
C T G A C G G G G G C C T G A G C T A C A A A G A G G A C A C G A A G G A G C
T G G T G G T G G C C A A G G C T G G A G T C T A C T A T G T C T T C T T T C A
A C T A G A G C T G C G G C G C G T G G T G G C C G G C G A G G G C T C A G G C
T C C G T T T C A C T T G C G C T G C A C C T G C A G C C A C T G C G C T C T G
C T G C T G G G G C C G C C G C C C T G G C T T T G A C C G T G G A C C T G C C
A C C C G C C T C C T C C G A G G C T C G G A A C T C G G C C T T C G G T T T C
C A G G G C C G C T T G C T G C A C C T G A G T G C C G G C C A G C G C C T G G
G C G T C C A T C T T C A C A C T G A G G C C A G G G C A C G C C A T G C C T G
G C A G C T T A C C C A G G G C G C C A C A G T C T T G G G A C T C T T C C G G
G T G A C C C C C G A A A T C (配列番号 160)と少なくとも80%同一(例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なく
とも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少
なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)
の配列によってコードされる。

【0351】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

D C D I E G K D G K Q Y E S V L M V S I D Q L L D S M K E I G S N C L N N E F N
F F K R H I C D A N K E G M F L F R A A R K L R Q F L K M N S T G D F D L H L L
K V S E G T T I L L N C T G Q V K G R K P A A L G E A Q P T K S L E E N K S L K
E Q K K L N D L C F L K R L L Q E I K T C W N K I L M G T K E H S G T T N T V A
A Y N L T W K S T N F K T I L E W E P K P V N Q V Y T V Q I S T K S G D W K S K
C F Y T T D T E C D L T D E I V K D V K Q T Y L A R V F S Y P A G N V E S T G S
A G E P L Y E N S P E F T P Y L E T N L G Q P T I Q S F E Q V G T K V N V T V E
D E R T L V R R N N T F L S L R D V F G K D L I Y T L Y W K S S S S G K K T A

KTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVIPSR TVNVRKSTDSPVE
CMGQEKGEFRENWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTES
DVHPSCKVTAMKCFLLLELQVISLES GDASIHD TVENLIIL
ANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQS FVHIVQM
FINTS（配列番号161）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、
少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、
少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、
少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含み得る。

【0352】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

GATTGCGACATCGAGGGCAAGGACGGCAAGCAGTACGAGA
GCGTGCTGATGGTGTCCATCGACCAGCTGCTGGACAGCAT
GAAGGAGATCGGCTCCAACCTGCCTCAACAACGAGTTCAAC
TTCTTCAAGCGGCACATCTGCGACGCCAACAAAGGAGGGCA
TGTTCTCTGTTTCAGGGCCGCCAGGAAACTGCGGCAGTTCTCT
GAAGATGAACTCCACC GGCGACTTTCGACCTGCACCTGCTG
AAGGTGTCCGAGGGGCACCAACCATCCTGCTGAACTGCACCG
GACAGGTGAAGGGCCGGAAACCTGCTGCTCTGGGAGAGGC
CCAACCCACCAAGAGCCTGGAGGAGAACAAAGTCCCTGAAG
GAGCAGAAGAAGCTGAACGACCTGTGCTTCTCTGAAGAGGC
TGCTGCAGGAGATCAAGACCTGCTGGAACAAGATCCTGAT
GGGCACCAAGGAGCATAGCGGCACAAACCAACACAGTCGCT
GCCTATAACCTCACTTGGAAAGAGCACCAACTTCAAAACCA
TCCTCGAATGGGAACCCAAACCCGTTAACCAAGTTTACAC
CGTGCGAGATCAGCACCAAGTCCGGCGACTGGAAGTCCAAA
TGTTTCTATACCACCGACACCGAGTGCGATCTCACCGATG
AGATCGTGAAAGATGTGAAACAGACCTACCTCGCCCGGGT
GTTTAGCTACCCCGCCGGCAATGTGGAGAGCACTGGTTCC
GCTGGCGAGCCTTTATACGAGAACAGCCCCGAATTTACCC
CTTACCTCGAGACCAATTTAGGACAGCCCCACCATCCAAAG
CTTTGAGCAAGTTGGCACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAG
GACGAGCGGACTTTAGTGCGGCGGAACAACACCTTTCTCA
GCCTCCGGGATGTGTTTCGGCAAAGATTTAATCTACACACT
GTATTACTGGAAGTCTCTCTCTCCGGCAAGAAGACAGCT
AAAACCAACACAAACGAGTTTTTTAATCGACGTGGATAAAG
GCGAAAACTACTGTTTTAGCGGTGCAAGCTGTGATCCCCCTC
CCGGACCGTGAAATAGGAAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAG
TGCATGGGCCAAGAAAAGGGCGAGTTCCGGGAGAACTGGG
TGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAGATTTAAT
TCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACACAGAATCC
GACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATGAAATGTT
TTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGAGCGGAGA
CGCTAGCATCCACGACACCGTGGAGAAATTTAATCATTTTA
GCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTGACAGAGT
CCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGAAAGACAT
CAAGGAGTTTTCTGCAATCCTTTGTGCAATTGTCCAGATG
TTCATCAATACCTCC（配列番号162）と少なくとも80%同一（例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88
%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく
とも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）

10

20

30

40

50

の配列によってコードされる。

【0353】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSDDCDIEGKDGKQYESVLMVSIIDQ
LLDSMKEIGSNCLNNEFNFFKRHICDANKEGMFLFRAARK
LRQFLKMNSTGDFDLHLLKVSEGTTLILNCTGQVKGRKPA
ALGEAQPTKSLEENKSLKEQKKLNDLCFLKRLQLQEIKTCW
NKILMGTKEHSGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPV
NQVYTVQISTKSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQT
YLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQ
PTIQSFQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKD
LIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFCSVQ
AVIPSRVTNRKSTDSPVECMGQEKGEFRENWVNVISDLKK
IEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSPCKVTAMKCFLLLELQVIS
LES GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEL
EEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (配列番号163) と少なくとも80
%同一 (例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一
、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも9
4%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、また
は100%同一) の配列を含み得る。

【0354】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTTCCTGTTCT
CCAGCGCCTACTCCGATTGCGACATCGAGGGGCAAGGACGG
CAAGCAGTACGAGAGCGTGCTGATGGTGTCCATCGACCAG
CTGCTGGACAGCATGAAGGAGATCGGCTCCAACCTGCCTCA
ACAACGAGTTCAACTTCTTCAAGCGGCACATCTGCGACGC
CAACAAGGAGGGGCA TGTTCTGTTCAAGGGCCGCCAGGAAA
CTGCGGCAGTTCTCTGAAGATGAACCTCCACCGGCGACTTCTG
ACCTGCACCTGCTGAAGGTGTCCGAGGGGCACCAACCATCCT
GCTGAACCTGCACCGGACAGGTGAAGGGCCGGAAACCTGCT
GCTCTGGGAGAGGGCCCAACCCACCAAGAGCCTGGAGGAGA
ACAAGTCCCTGAAGGAGCAGAAGAAGCTGAACGACCTGTG
CTTCTCTGAAGAGGCTGCTGCAAGGAGATCAAGACCTGCTGG
AACAAGATCCTGATGGGCACCAAGGAGCATAGCGGCACAA
CCAACACAGTCTGCTGCCTATAACCTCACTTGGAAAGAGCAC
CAACTTCAAAAACCATCCTCGAATGGGAACCCAAACCCGTT
AACCAAGTTTACACCGTGCGAGATCAGCACCAAGTCCGGCG
ACTGGAAGTCCAAATGTTTCTATACCACCGACACCGAGTG
CGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGTGAAACAGACC
TACCTCGCCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGCGGCAATGTGG
AGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTATACGAGAACAG
CCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAATTTAGGACAG
CCCACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGCACAAAGGTGA
ATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAGTGCGGGCGGAA
CAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTTCCGGCAAAGAT
TTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCTCTTCTCTCCG
GCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACGAGTTTTTAAAT
CGACGTGGATAAAGGCGAAAACCTACTGTTTTCAGCGTGCAA
GCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGAAATAGGAAAAGCACCG

ATAGCCCCGTTGAGTGCATGGGCCCCAAGAAAAGGGCGAGTT
CCGGGAGAACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAG
ATCGAAGATTTAATTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTT
TATACACAGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGAC
CGCCATGAAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCT
TTAGAGAGCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGGTGGAGA
ATTTAATCATTTTATAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGG
CAACGTGACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTG
GAGGAGAAAGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGC
ACATTTGTCCAGATGTTTCATCAATACCTCC（配列番号164）と少
なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なく
とも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、
少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99
%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0355】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
TNAGR RQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH
QHLSSRTHGSEDSITCPPPM SVEHADIWVKSYSLSRERY
ICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV AHWTTPSLK CIRGG
GSGSGGGSGGGGSGREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVA
QNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAK
AGVYYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAA
ALALTVDLP PASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLH
TEARARHAWQLTQGATV LGLFRVTPEIPAGLPSPRSE（配列
番号165）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84
%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なく
とも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一
、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含み得る。

【0356】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

CAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCGGATGAGGCAGCTCA
TCGACATCGTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCT
GGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACC
AACTGCGAGTG GTCCGCCTTCTCCTGCTTTTCAGAAGGCC
AGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAACACGAGCGGATCAT
CAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCC
ACAAACGCCCGG CAGGAGGCAGAAAGCACAGGCTGACCTGCC
CCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTT
CCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAAGATGATCCAT
CAGCACCTGTCTCCTCCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCCA
TTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACAT
CTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTAT
ATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGGCACCAGCA
GCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGGC
TCACTGGACAACACCCCTCTTTAAAGTG CATCCGGGGCGGT
GGAGGATCCGGAGGAGGTGGCTCCGGCGGCGGAGGATCTC
GCGAGGGTCCCGAGCTTTCGCCCGACGATCCCGCCGGCCT
CTTGGACCTGCGGCAGGGCATGTTTGCGCAGCTGGTGGCC

C A A A A T G T T C T G C T G A T C G A T G G G C C C C T G A G C T G G T A C A
G T G A C C C A G G C C T G G C A G G C G T G T C C C T G A C G G G G G G C C T
G A G C T A C A A A G A G G A C A C G A A G G A G C T G G T G G T G G C C A A G
G C T G G A G T C T A C T A T G T C T T C T T T C A A C T A G A G C T G C G G C
G C G T G G T G G C C G G C G A G G G C T C A G G C T C C G T T T C A C T T G C
G C T G C A C C T G C A G C C A C T G C G C T C T G C T G C T G G G G C C G C C
G C C C T G G C T T T G A C C G T G G A C C T G C C A C C C G C C T C C T C C G
A G G C T C G G A A C T C G G C C T T C G G T T T C C A G G G C C G C T T G C T
G C A C C T G A G T G C C G G C C A G C G C C T G G G C G T C C A T C T T C A C
A C T G A G G C C A G G G C A C G C C A T G C C T G G C A G C T T A C C C A G G
G C G C C A C A G T C T T G G G A C T C T T C C G G G T G A C C C C C G A A A T
C C C A G C C G G A C T C C C T T C A C C G A G G T C G G A A (配列番号166)

と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0357】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

M K W V T F I S L L F L F S S A Y S Q G Q D R H M I R M R Q L I D I V D Q L K N
Y V N D L V P E F L P A P E D V E T N C E W S A F S C F Q K A Q L K S A N T G N
N E R I I N V S I K K L K R K P P S T N A G R R Q K H R L T C P S C D S Y E K K
P P K E F L E R F K S L L Q K M I H Q H L S S R T H G S E D S I T C P P P M S V
E H A D I W V K S Y S L Y S R E R Y I C N S G F K R K A G T S S L T E C V L N K
A T N V A H W T T P S L K C I R G G G G S G G G G S G G G G S R E G P E L S P D
D P A G L L D L R Q G M F A Q L V A Q N V L L I D G P L S W Y S D P G L A G V S
L T G G L S Y K E D T K E L V V A K A G V Y Y V F F Q L E L R R V V A G E G S G
S V S L A L H L Q P L R S A A G A A A L A L T V D L P P A S S E A R N S A F G F
Q G R L L H L S A G Q R L G V H L H T E A R A R H A W Q L T Q G A T V L G L F R
V T P E I P A G L P S P R S E (配列番号167)と少なくとも80%同一（例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88
%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく
とも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）
の配列を含み得る。

【0358】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

A T G A A G T G G G T G A C C T T C A T C A G C C T G C T G T T C C T G T T C T
C C A G C G C C T A C T C C C A G G G C C A G G A C A G G C A C A T G A T C C G
G A T G A G G C A G C T C A T C G A C A T C G T C G A C C A G C T G A A G A A C
T A C G T G A A C G A C C T G G T G C C C G A G T T T C T G C C T G C C C C C G
A G G A C G T G G A G A C C A A C T G C G A G T G G T C C G C C T T C T C C T G
C T T T C A G A A G G C C C A G C T G A A G T C C G C C A A C A C C G G C A A C
A A C G A G C G G A T C A T C A A C G T G A G C A T C A A G A A G C T G A A G C
G G A A G C C T C C C T C C A C A A A C G C C G G C A G G A G G C A G A A G C A
C A G G C T G A C C T G C C C C A G C T G T G A C T C C T A C G A G A A G A A G
C C C C C C A A G G A G T T C C T G G A G A G G T T C A A G T C C C T G C T G C
A G A A G A T G A T C C A T C A G C A C C T G T C C T C C A G G A C C C A C G G
C T C C G A G G A C T C C A T T A C A T G C C C C C C T C C C A T G A G C G T G
G A G C A C G C C G A C A T C T G G G T G A A G A G C T A T A G C C T C T A C A
G C C G G G A G A G G T A T A T C T G T A A C A G C G G C T T C A A G A G G A A
G G C C G G C A C C A G C A G C C T C A C C G A G T G C G T G C T G A A T A A G

GCTACCAACGTGGCTCACTGGACAACACCCTCTTTAAAGT
GCATCCGGGGCGGTGGAGGATCCGGAGGAGGTGGCTCCGG
CGGCGGAGGATCTCGCGAGGGTCCCGAGCTTTTCGCCCGAC
GATCCCGGCCGGCCTCTTGGACCTGCGGGCAGGGGCATGTTTG
CGCAGCTGGTGGCCCAAAATGTTCTGCTGATCGATGGGCC
CCTGAGCTGGTACAGTGACCCAGGCCTGGCAGGCGTGTTCC
CTGACGGGGGGCCTGAGCTACAAAGAGGACACGAAGGAGC
TGGTGGTGGCCAAGGCTGGAGTCTACTATGTCTTCTTTCA
ACTAGAGCTGCGGCGCGGTGGTGGCCGGCGAGGGCTCAGGC
TCCGTTTCACTTGCGCTGCACCTGCAGCCACTGCGCTCTG
CTGCTGGGGCCGCGCCCTGGCTTTTGACCGTGGACCTGCC
ACCCGCTCTCTCGAGGCTCGGAACCTCGGCCTTCGGTTTTC
CAGGGCCGCTTGCTGCACCTGAGTGCCGGCCAGCGCCTGG
GCGTCCATCTTCACTGAGGCCAGGGCACGCCATGCCCTG
GCAGCTTACCCAGGGCGCCACAGTCTTGGGACTCTTCCGG
GTGACCCCCGAAATCCCAGCCGGACTCCCTTTCACCGAGGT
CGGAA（配列番号168）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、
少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも9
0%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少な
くとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコード
される。

10

20

【0359】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
TNAGR RQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH
QHLSSRTHGSEDSITCPPPM SVEHADIWVKSYSLSRERY
ICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV AHWTTPSLK CIRGG
GSGSGGGSGGGGSDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGP
LSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYVFFQ
LELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP
PASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAW
QLTQGATV LGLFRVTPEI（配列番号169）と少なくとも80%同一（例
えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少な
くとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、
少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%
同一）の配列を含み得る。

30

【0360】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

CAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCGGATGAGGCAGCTCA
TCGACATCGTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCT
GGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACC
AACTGCGAGTGGTCCGCCCTTCTCCTGCTTTTCAGAAGGCC
AGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAACAACGAGCGGATCAT
CAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCC
ACAAACGCCGGCAGGAGGCAGAAGCACAGGCTGACCTGCC
CCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTT
CCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAGATGATCCAT
CAGCACCTGTCTCCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCCA
TTACATGCCCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACAT

40

50

CTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTAT
ATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACCAAGCA
GCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGGC
TCACTGGACAACACCCTCTTTAAAGTGCAATCCGGGGCGGT
GGAGGATCCGGAGGAGGTGGCTCCGGCGGGAGGATCTG
ATCCCGCGCGGCCTCTTGGACCTGCGGGCAGGGCATGTTTGC
GCAGCTGGTGGCCCAAAATGTTCTGCTGATCGATGGGCC
CTGAGCTGGTACAGTGACCCAGGCCTGGCAGGCGTGTCCC
TGACGGGGGGGCTGAGCTACAAAGAGGACACGAAGGAGCT
GGTGGTGGCCAAGGCTGGAGTCTACTATGTCTTCTTTCAA
CTAGAGCTGCGGCGCGTGGTGGCCGGCGAGGGCTCAGGCT
CCGTTTTCACTTGCGCTGCACCTGCAGCCACTGCGCTCTGC
TGCTGGGGCCGCGCGCCCTGGCTTTTGACCGTGGACCTGCCA
CCCGCCTCCTCCGAGGCTCGGAACCTCGGCCTTCGGTTTCC
AGGGCCGCTTGCTGCACCTGAGTGCCGGCCAGCGCCTGGG
CGTCCATCTTTCACACTGAGGGCCAGGGCACGCCATGCCTGG
CAGCTTACCCAGGGCGCCACAGTCTTGGGACTCTTCCGGG
TGACCCCCGAAATC（配列番号170）と少なくとも80%同一（例えば、少
なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%
同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく
とも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の
配列によってコードされる。

【0361】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSQGGQDRHMRQLIDIVDQLKN
YVNDLVPEFLPAPEDVETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGN
NERIINVSIKKLKRKPPSTNAGRQKHRLTCPSCDSYEKK
PPKEFLERFKSL LQKMIHQHLS SRTHGSEDSITCPPPMSV
EHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSSLTECVLNK
ATNVAHWTTTPSLKCI RGGGSGGGGSGGGGSDPAGLLDLR
QGMFAQLVAQNVL LIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKE
DTKELVVAKAGVYYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQ
PLRSAAGAAALALTVDLPASSEARNSAFGFQGRLLHLSA
GQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATV LGLFRVTPEI（配列番
号171）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%
同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なく
とも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、
少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含み得る。

【0362】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCAATCAGCCTGCTGTTCTCTGTTCT
CCAGCGCCTACTCCCAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCG
GATGAGGCAGCTCATCGACATCGTTCGACCAGCTGAAGAAC
TACGTGAACGACCTGGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCG
AGGACGTGGAGACCAACTGCGAGTGGTCCGCCTTCTCCTG
CTTTTCAGAAAGGCCAGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAAC
AACGAGCGGATCATCAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGC
GGAAGCCTCCCTCCACAAACGCCGGCAGGAGGCAGAAAGCA
CAGGCTGACCTGCCCCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAG
CCCCCAAGGAGTTCCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGC

AG AAGATGATCCATCAGCACCTGTCTCCAGGACCCACGG
CTCCGAGGACTCCATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTG
GAGCACGCCGACATCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACA
GCCGGGAGAGGTATATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAA
GGCCGGCACCAGCAGCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAG
GCTACCAACGTGGCTCACTGGACAACACCCTCTTTAAAGT
GCATCCGGGGCGGTGGAGGATCCGGAGGAGGTGGCTCCGG
CGGCGGAGGATCTGATCCCGCGCGGCTCTTGGACCTGCGG
CAGGGCATGTTTGCAGCAGCTGGTGGCCCAAAATGTTCTGC
TGATCGATGGGCCCTGAGCTGGTACAGTGACCCAGGCCCT
GGCAGGCGTGTCCTGACGGGGGGGCTGAGCTACAAAGAG
GACACGAAGGAGCTGGTGGTGGCCAAGGCTGGAGTCTACT
ATGTCTTCTTTCAACTAGAGCTGCGGCGCGTGGTGGCCGG
CGAGGGGCTCAGGCTCCGTTTCACTTGCGCTGCACCTGCAG
CCACTGCGCTCTGCTGCTGGGGCCGCGCCCTGGCTTTGA
CCGTGGACCTGCCACCCGCTCTCCGAGGCTCGGAACCTC
GGCCTTCGGTTTCCAGGGCCGCTTGCTGCACCTGAGTGCC
GGCCAGCGCCTGGGCGTCCATCTTCACTGAGGCCAGGG
CACGCCATGCCCTGGCAGCTTACCCAGGGCGCCACAGTCTT
GGGACTCTTCCGGGTGACCCCCGAAATC（配列番号172）と少な
くとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも
86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少
なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%
同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0363】

例示的な多鎖キメラポリペプチドタイプK

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、IL-7受容体またはTGF- β に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0364】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインと一対の親和性ドメインの第1のドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の可溶性組織因子ドメインと一対の親和性ドメインの第1のドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0365】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一対の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の一対の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0366】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメイン

は、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれかであり得る。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインは、本明細書に記載の例示的な一对の親和性ドメインのうちのいずれかであり得る。

【0367】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインはIL-7受容体に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインはTGF- β に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインはTGF- β に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインはIL-7受容体に特異的に結合する。

【0368】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインは、可溶性IL-7タンパク質（例えば、可溶性ヒトIL-7タンパク質）を含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-7タンパク質は、

DCDIEGKDGKQYESVLMVSI DQLLD SMKEIGSNCLNNEFN
FFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLL
KVSEGTTLILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLK
EQKKLNDLCFLKRL LQEIKTCWNKILMGTKEH（配列番号11）
と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む。

【0369】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-7は、
GATTGCGACATCGAGGGCAAGGACGGCAAGCAGTACGAGA
GCGTGCTGATGGTGTC CATCGACCAGCTGCTGGACAGCAT
GAAGGAGATCGGCTCCA ACTGCTCAACAACGAGTTCAAC
TTCTTCAAGCGGCACATCTGCGACGCCAACAAAGGAGGGCA
TGTTCTCTGTT CAGGGCCGCGCAGGAAACTGCGGCAGTTCTCT
GAAGATGA ACTCCACCGGCGACTTTCGACCTGCACCTGCTG
AAGGTGTCCGAGGGGCA CCAACCATCTCTGCTGA ACTGCACCG
GACAGGTGAAGGGCCGGA AACCTGCTGCTCTGGGAGAGGC
CCAACCCACCAAGAGCCTGGAGGAGAAACAAGTCCCTGAAG
GAGCAGAAAGAA GCTGAACGACCTGTGCTTCTCTGAAGAGGC
TGCTGCAGGAGATCAAGACCTGCTGGAACAAGATCCTGAT
GGGCACCAAGGAGCAT（配列番号124）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0370】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインは、TGF- β に特異的に結合する標的結合ドメインを含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインは、可溶性TGF- β 受容体（例えば、可溶性TGF- β RII受容体、例えば、可溶性ヒトTGF- β RII受容体）である。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトTGF- β RIIは、第1の可溶性ヒトTGF- β RII配列および第2の可溶性ヒトTGF- β RII配列を含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトTGF- β RIIは、第1の可溶性ヒトTGF- β RII配列と第2の可溶性ヒトTGF- β RII配列との間に配置されたリンカーを含む。これらの多鎖キメラポリペプチ

ドのいくつかの例では、リンカーは、配列 G G G G S G G G G S G G G G S（配列番号 7）を含む。

【0371】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第 1 の可溶性ヒト TGF β RII 受容体配列は、

I P P H V Q K S V N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N
Q K S C M S N C S I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D
P K L P Y H D F I L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C
N D N I I F S E E Y N T S N P D（配列番号 80）と少なくとも 80% 同一（例えば、
少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88
% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なく
とも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一）
の配列を含む。

10

【0372】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第 2 の可溶性ヒト TGF β RII 受容体配列は、

I P P H V Q K S V N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N
Q K S C M S N C S I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D
P K L P Y H D F I L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C
N D N I I F S E E Y N T S N P D（配列番号 81）と少なくとも 80% 同一（例えば、
少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88
% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なく
とも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一）
の配列を含む。

20

【0373】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第 1 の可溶性ヒト TGF β RII 受容体配列は、

A T C C C C C C C C A T G T G C A A A A G A G C G T G A A C A A C G A T A T G A
T C G T G A C C G A C A A C A A C G G C G C C G T G A A G T T T C C C C A G C T
C T G C A A G T T C T G C G A T G T C A G G T T C A G C A C C T G C G A T A A T
C A G A A G T C C T G C A T G T C C A A C T G C A G C A T C A C C T C C A T C T
G C G A G A A G C C C C A A G A A G T G T G C G T G G C C G T G T G G C G G A A
A A A T G A C G A G A A C A T C A C C C T G G A G A C C G T G T G T C A C G A C
C C C A A G C T C C C T T A T C A C G A C T T C A T T C T G G A G G A C G C T G
C C T C C C C C A A A T G C A T C A T G A A G G A G A A G A A G A A G C C C G G
A G A G A C C T T C T T T A T G T G T T C C T G T A G C A G C G A C G A G T G T
A A C G A C A A C A T C A T C T T C A G C G A A G A G T A C A A C A C C A G C A
A C C C T G A T（配列番号 82）と少なくとも 80% 同一（例えば、少なくとも 82%
同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なく
とも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、
少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一）の配列によってコ
ードされる。

30

40

【0374】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第 2 の可溶性ヒト TGF β RII 受容体配列は、

A T T C C T C C C C A C G T G C A G A A G A G C G T G A A T A A T G A C A T G A
T C G T G A C C G A T A A C A A T G G C G C C G T G A A A T T T C C C C A G C T
G T G C A A A T T C T G C G A T G T G A G G T T T T C C A C C T G C G A C A A C
C A G A A G T C C T G T A T G A G C A A C T G C T C C A T C A C C T C C A T C T
G T G A G A A G C C T C A G G A G G T G T G C G T G G C T G T C T G G C G G A A

50

GAATGACGAGAAATATCACCCCTGGAAACCGTCTGCCACGAT
CCCAAGCTGCCCTACCAAGATTTTCATCCTGGAAAGACGCCG
CCAGCCCTAAGTGATCATGAAAGAGAAAAAGAACCTGG
CGAGACCTTTTTTCATGTGCTCCTGCGAGCAGCGACGAATGC
AACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAATACAATACCAAGCA
ACCCCGAC（配列番号83）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%
同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくと
も90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、
少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコ
ードされる。

【0375】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性TGF-β受容体
は、

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSIKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCHD
PKLPYHDFILEDAAAPKCKIMKEKKKPGETFFMCSSSDEC
NDNIIFSEYNTSNPDGGGGSGGGGSGGGGSIIPPHVQKSV
NNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCS
ITSIKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFI
ILEDAAAPKCKIMKEKKKPGETFFMCSSSDECNDNIIFSEY
NTSNPD（配列番号85）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同
一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくと
も90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少
なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む。

【0376】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性TGF-β受容体
は、

ATCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGTGAGGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCCTGCATGTCCAACCTGCAGCATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGACCGTGTGTGTCAGAC
CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTTCATTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAGAAGAAGCCCGG
AGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTAGCAGCGAGAGTGT
AACGACAACATCATCTTTCAGCGAAGAGGTACAACACCAGCA
ACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTCTGG
TGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACGTGCAGAAGAGCGTG
AATAATGACATGATCGTGAACGATAACAATGGCGCCGTGA
AATTTCCCCAGCTGTGCAAATTCCTGCGATGTGAGGTTTTC
CACCTGCGACAACCAGAAGTCCCTGTATGAGCAACTGCTCC
ATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGG
CTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAAC
CGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCTACCAAGATTTTCATC
CTGGAAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTGATCATGAAAGAGA
AAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTCATGTGCTCCTGCGAG
CAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAA
TACAATACCAAGCAACCCCGAC（配列番号84）と少なくとも80%同一
（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少な

10

20

30

40

50

くとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)の配列によってコードされる。

【0377】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

DCDIEGKDGKQYESVLMVSI DQLLD SMKEIGSNCLNNEFN
FFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLL
KVSEGT TILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLK
EQKKLNDLCFLKRL LQEIKTCWNKILMGTK EHS GTTNTVA
AYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSK
CFYTTDTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPAGNVESTGS
AGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSF EQVGT KVNVTVE
DERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSSGKKTA
KTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVIPSR TVNRKSTDSPVE
CMGQEKGEFRENWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTES
DVHPSCKVTAMKCFLLLELQVISLES GDASIHD TVENLIIL
ANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQS FVHIVQM
FINTS (配列番号173) と少なくとも80%同一 (例えば、少なくとも82%同一、
少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも9
0%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少な
くとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)の配列を含み得る。

【0378】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

GATTGCGACATCGAGGGCAAGGACGGCAAGCAGTACGAGGA
GCGTGCTGATGGTGTCCATCGACCAGCTGCTGGACAGCAT
GAAGGAGATCGGCTCCAACCTGCCTCAACAACGAGTTCAAC
TTCTTCAAGCGGCACATCTGCGACGCCAACAAGGAGGGCA
TGTTTCTGTTCAGGGCCGCCAGGAAACTGCGGGCAGTTCTCT
GAAGATGAACCTCCACCGGCGACTTTCGACCCTGCACCTGCTG
AAGGTGTCCGAGGGGCACCAACCATCCTGCTGAACTGCACCG
GACAGGTGAAGGGCCCGGAACCTGCTGCTCTGGGAGAGGC
CCAACCCACCAAGAGCCTGGAGGAGAACAAAGTCCCTGAAG
GAGCAGAAGAAGCTGAACGACCTGTGCTTCTCTGAAGAGGC
TGCTGCAAGGAGATCAAGACCTGCTGGAACAAGATCCTGAT
GGGCACCAAGGAGCATAGCGGCACAAACCAACACAGTCGCT
GCCTATAACCTCACTTGGAAGAGCACCAACTTCAAAACCA
TCCTCGAATGGGAACCCAAACCCGTTAACCAAGTTTACAC
CGTGCGAGATCAGCACCAAGTCCGGCGACTGGAAGTCCAAA
TGTTTCTATACCAACCGACACCGAGTGCGATCTCACCGATG
AGATCGTGAAAGATGTGAAACAGACCTACCTCGCCCGGGT
GTTTAGCTACCCCGCCGGCAATGTGGAGAGCACTGGTTCC
GCTGGCGAGCCTTTATACGAGAACAGCCCCGAATTTACCC
CTTACCTCGAGACCAATTTAGGACAGCCCCACCATCCAAAG
CTTTGAGCAAGTTGGCACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAG
GACGAGCGGACTTTAGTGCGGGCGGAACAACACCTTTCTCA
GCCTCCGGGATGTGTTCCGGCAAGATTTAATCTACACACT
GTATTACTGGAAGTCTCTTCTCTCCGGCAAGAAGACAGCT
AAAACCAACACAAACGAGTTTTTAAATCGACGTGGATAAAG
GCGAAAACCTACTGTTTTCAGCGTGCAAGCTGTGATCCCCCTC
CCGGACCGTGAAATAGGAAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAG

TGCATGGGCCCAAGAAAAGGGGCGAGTTCCGGGAGAACTGGG
TGAACGTCATCAGCGATTTTAAAGAAGATCGAAGATTTAAT
TCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACACAGAATCC
GACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATGAAATGTT
TTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGAGCGGAGA
CGCTAGCATCCACGACACCGGTGGAGAATTTAATCATTTTA
GCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTGACAGAGT
CCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGAAGAACAT
CAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGTCCAGATG
TTCATCAATACCTCC（配列番号174）と少なくとも80%同一（例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88
%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく
とも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）
の配列によってコードされる。

10

【0379】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSDCDIEGKDQYESVLMVSI DQ
LLDSMKEIGSNCLNNEFNFFKRHICDANKEGMFLFRAARK
LRQFLKMNSTGDFDLHLLKVSEGTTILLNCTGQVKGRKPA
ALGEAQPTKSLEENKSLKEQKKLNDLCFLKRLQLQEIKT CW
NKILMGTKEHSGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPV
NQVYTVQISTKSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDV KQT
YLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQ
PTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKD
LIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQ
AVIPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRENWVNVISDLKK
IEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLLLELQVIS
LES GDASIHD TVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEL
EEKNIKEFLQS FVHIVQMFIN TS（配列番号175）と少なくとも80
%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一
、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも9
4%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、また
は100%同一）の配列を含み得る。

20

30

【0380】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTGTTCT
CCAGCGCCTACTCCGATTGCGACATCGAGGGCAAGGACGG
CAAGCAGTACGAGAGCGTGCTGATGGTGTCCATCGACCAG
CTGCTGGACAGCATGAAGGAGATCGGCTCCA ACTGCTCA
ACAACGAGTTCAACTTCTTCAAGCGGCACATCTGCGACGC
CAACAAGGAGGGCATGTTCTCTGTTCAAGGGCCGCCAGGAAA
CTGCGGCAGTTCCTGAAGATGAACTCCACCGGCGACTT CG
ACCTGCACCTGCTGAAGGTGTCCGAGGGCACCAACCATCCT
GCTGA ACTGCAACCGGACAGGTGAAGGGCCGGAAACCTGCT
GCTCTGGGAGAGGGCCCAACCCACCAAGAGCCTGGAGGAGA
ACAAGTCCCTGAAGGAGCAGAAGAAGCTGAACGACCTGTG
CTTCTCTGAAGAGGCTGCTGCAAGGAGATCAAGACCTGCTGG
AACAAAGATCCTGATGGGCACCAAGGAGCATAGCGGCACAA
CCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTTGGAAGAGCAC
CAACTTCAAAAACCATCCTCGAATGGGAACCCAAACCCGTT

40

50

AACCAAGTTTACACCGTG CAGATCAGCACCAAGTCCGGCG
ACTGGAAGTCCAAATGTTTCTATACCACCGACACCGAGTG
CGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGTGAAACAGACC
TACCTCGCCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGCCGGCAATGTGG
AGAGCACTGGTTC CGCTGGCGAGCCTTTATACGAGAACAG
CCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAATTTAGGACAG
CCCAACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGCACAAAGGTGA
ATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAGTGCGGCGGAA
CAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTTCCGGCAAAGAT
TTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCTCTTCTCTCCG
GCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACGAGTTTTTAAT
CGACGTGGATAAAGGCGAAAACTACTGTTTTCAGCGTGCAA
GCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTG AATAGGAAAAGCACCG
ATAGCCCCGTTGAGTG CATGGGCGCAAAGAAAAGGGCGAGTT
CCGGGAGAACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAAG
ATCGAAGATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTT
TATACACAGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGAC
CGCCATGAAATGTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCT
TTAGAGAGCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAGA
ATTTAATCATTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGG
CAACGTGACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTG
GAGGAGAAGAACATCAAGGAGTTTTCTGCAATCCTTTGTGC
ACATTTGTCCAGATGTTTCATCAATACCTCC（配列番号176）と少
なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少な
くとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、
少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99
%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0381】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCHD
PKLPYHDFILED AASPCKIMKEKKKPGETFFMCSSSDEC
NDNIIFSE EYNTSNPDGGGGSGGGGSGGGGSIIPPHVQKSV
NNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCS
ITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFI
ILED AASPCKIMKEKKKPGETFFMCSSSDECNDNIIFSEE
YNTSNPDITC PPM SVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGF
KRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI R（配列番号177
）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少
なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%
同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なく
とも99%同一、または100%同一）の配列を含み得る。

【0382】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

ATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGTCAGGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCCTGCATGTCCAACCTGCAGCATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTG TGC GTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAACAATCACCCCTGGAGACCGTG TGT CACGAC

CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTTCATTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAGAAGAGCCCGG
AGAGACCTTCTTTATGTGTTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTTCTGG
TGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACGTGCAGAAGAGCGTG
AATAATGACATGATCGTGACCGATAACAATGGCGCCGCTGA
AATTTCCCCAGCTGTGCAAATTCCTGCGATGTGAGGTTTTTC
CACCTGCGACAACCAGAAGTCCCTGTATGAGCAACTGCTCC
ATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGG
CTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAAC
CGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCTACCACGATTTTCATC
CTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTGCCATCATGAAAGAGA
AAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTCATGTGCTCCTGCAG
CAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAA
TACAATACCAGCAACCCCGACATTACATGCCCCCCTCCCA
TGAGCGTGGAGCACGCCGACATCTGGGTGAAGAGCTATAG
CCTCTACAGCCGGGAGAGGTATATCTGTAAACAGCGGCTTC
AAGAGGAAGGCCGGCACCAAGCAGCCTCACCGAGTGC GTGC
TGAATAAGGCTACCAACGTGGCTCACTGGACAACACCCTC
TTTAAAGTGCCATCCGG (配列番号178) と少なくとも80%同一 (例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも8
8%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少な
くとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一
) の配列によってコードされる。

【0383】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAV
KFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPKQEV CV
AVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAA SPKCIMKE
KKKPGETFFMCS SDECNDNIIFSEEYNTSNPDGGGSG
GGSGGGGSIIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFC
DVRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPKQEV CVAVWRKNDEN
ITLETVCHDPKLPYHDFILEDAA SPKCIMKEKKKPGETFF
MCS SDECNDNIIFSEEYNTSNPDITCPPPM SVEHADIW
VKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAH
WTTPSLKCIR (配列番号179) と少なくとも80%同一 (例えば、少なくとも
82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少
なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%
同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一) の配列を含
み得る。

【0384】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCT
CCAGCGCCTACTCCATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGT
GAACAACGATATGATCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTG
AAGTTTCCCCAGCTCTGCAAGTTCTGCGATGTCAGGTTCA
GCACCTGCGATAATCAGAAGTCCCTGCATGTCCA ACTGCAG
CATCACCTCCATCTGCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTG
GCCGTGTGGCGGAAAAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGA

CCGTGTGTCACGACCCCAAGCTCCCTTATCACGACTTTCAT
TCTGGAGGACGCTGCCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAG
AAGAAGAAGCCCGGAGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTA
GCAGCGACGAGTGTAACGACAACATCATCTTCAGCGAAGA
GTACAACACCCAGCAACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGA
GGTGGAGGTTCTGGTGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACG
TGCAGAAGAGCGTGAAATAATGACATGATCGTGACCGATAA
CAATGGCGCCGTGAAATTTCCCCAGCTGTGCAAATTTCTGC
GATGTGAGGTTTTTCCACCTGCGACAACCAGAAAGTCCTGTA
TGAGCAACTGCTCCATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCA
GGAGGTGTGCGTGGCTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAAT
ATCACCCCTGGAAACCGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCT
ACCACGATTTTCATCCTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTG
CATCATGAAAGAGAAAGAAAGAGCCTGGCGAGACCTTTTTTC
ATGTGCTCCTGCGAGCAGCGACGAATGCAACGACAATATCA
TCTTTAGCGAGGAATACAATACCAGCAACCCCGACATTAC
ATGCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACATCTGG
GTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTATATCT
GTAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACCAAGCAGCCT
CACCGAGTGCGTGTGAATAAGGCTACCAACGTGGCTCAC
TGGACAACACCCTCTTTAAAGTGCAATCCGG (配列番号180)と
少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なく
とも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一
、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも9
9%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0385】

例示的な多鎖キメラポリペプチドタイプL

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、TGF- β 、IL-21受容体、またはCD137L受容体に特異的に結合する。本明細書に記載のこれらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、追加の標的結合ドメインをさらに含む。本明細書に記載のこれらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインは、IL-21（例えば、可溶性IL-21、例えば、可溶性ヒトIL-21）受容体またはCD137L（例えば、可溶性CD137L、例えば、可溶性ヒトCD137L）受容体に特異的に結合する。

【0386】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0387】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインと一对の親和性ドメインの第1のドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の可溶性組織因子ドメインと一对の親和性ドメインの第1のドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0388】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインの

第2のドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の一対の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0389】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチドのN末端またはC末端に1つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む。

【0390】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインと一対の親和性ドメインの第2のドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の一対の親和性ドメインの第2のドメインと追加の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0391】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の第2の標的結合ドメインと追加の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0392】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれかであり得る。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一対の親和性ドメインは、本明細書に記載の例示的な一対の親和性ドメインのうちのいずれかであり得る。

【0393】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および追加の標的結合ドメインのうちの1つ以上は、アゴニスト抗原結合ドメインである。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメイン、第2の標的結合ドメイン、および追加の標的結合ドメインは各々、アゴニスト抗原結合ドメインである。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、s c F v または単一ドメイン抗体を含む。

【0394】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインはTGF- β に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインはIL-21受容体またはCD137L受容体に特異的に結合する。

【0395】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインは、可溶性TGF- β 受容体（例えば、可溶性TGF- β RII受容体、例えば、可溶性ヒトTGF- β RII受容体）である。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトTGF- β RIIは、第1の可溶性ヒトTGF- β RII配列および第2の可溶性ヒトTGF- β RII配列を含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトTGF- β RIIは、第1の可溶性ヒトTGF- β RII配列と第2の可溶性ヒトTGF- β RII配列との間に配置されたリンカーを含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、リンカーは、配列GGGSGGGSGGGGG（配列番号7）を含む。

【0396】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の可溶性ヒトTGF

10

20

30

40

50

RβRII受容体配列は、

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSICEKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCCHD
PKLPYHDFILEDAA SPKCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSEEYNTSNPD（配列番号80）と少なくとも80%同一（例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88
%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく
とも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）
の配列を含む。

【0397】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の可溶性ヒトTGF
RβRII受容体配列は、

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSICEKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCCHD
PKLPYHDFILEDAA SPKCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSEEYNTSNPD（配列番号81）と少なくとも80%同一（例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88
%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく
とも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）
の配列を含む。

【0398】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の可溶性ヒトTGF
RβRII受容体配列は、

ATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGTTCAGGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCCTGCATGTCCAACCTGCAGCATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAAACATCACCCCTGGAGACCGTGTTGTACGAC
CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTCAATTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAGAAGAGCCCGG
AGAGACCTTCTTTATGTGTTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCCCTGAT（配列番号82）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%
同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なく
とも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、
少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコ
ードされる。

【0399】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の可溶性ヒトTGF
RβRII受容体配列は、

ATTCTCCCCACGTGCAAGAAGAGCGTGAAATAATGACATGA
TCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGAATTTCCCCAGCT
GTGCAAAATTCTGCGATGTGAGGTTTTTCCACCTGCGACAAC
CAGAAGTCCCTGTATGAGCAACTGCTCCATCACCTCCATCT
GTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGGCTGTCTGGCGGAA
GAATGACGAGAAATATCACCCCTGGAAACCGTCTGCCACGAT
CCCAAGCTGCCCTACCAAGATTTCAATCCTGGAAGACGCCG
CCAGCCCTAAGTGCATCATGAAGAAGAGAAAAAGAGCCTGG
CGAGACCTTTTTTCATGTGCTCCTGCAAGCAGCGACGAATGC

10

20

30

40

50

A A C G A C A A T A T C A T C T T T A G C G A G G A A T A C A A T A C C A G C A
A C C C C G A C (配列番号 83) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82%
同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくと
も 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、
少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコ
ードされる。

【0400】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性 TGF- β 受容体
は、

I P P H V Q K S V N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N
Q K S C M S N C S I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D
P K L P Y H D F I L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C
N D N I I F S E E Y N T S N P D G G G G S G G G G S G G G G S I P P H V Q K S V
N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N Q K S C M S N C S
I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D P K L P Y H D F I
L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C N D N I I F S E E
Y N T S N P D (配列番号 85) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同
一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくと
も 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少
なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列を含む。

【0401】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性 TGF- β 受容体
は、

A T C C C C C C C C A T G T G C A A A A G A G C G T G A A C A A C G A T A T G A
T C G T G A C C G A C A A C A A C G G C G C C G T G A A G T T T C C C C A G C T
C T G C A A G T T C T G C G A T G T C A G G T T C A G C A C C T G C G A T A A T
C A G A A G T C C T G C A T G T C C A A C T G C A G C A T C A C C T C C A T C T
G C G A G A A G C C C C A A G A A G T G T G C G T G G C C G T G T G G C G G A A
A A A T G A C G A G A A C A T C A C C C T G G A G A C C G T G T G T C A C G A C
C C C A A G C T C C C T T A T C A C G A C T T C A T T C T G G A G G A C G C T G
C C T C C C C C A A A T G C A T C A T G A A G G A G A A G A A G A A G C C C G G
A G A G A C C T T C T T T A T G T G T T C C T G T A G C A G C G A C G A G T G T
A A C G A C A A C A T C A T C T T C A G C G A A G A G T A C A A C A C C A G C A
A C C C T G A T G G A G G T G G C G G A T C C G G A G G T G G A G G T T C T G G
T G G A G G T G G G A G T A T T C C T C C C C A C G T G C A G A A G A G C G T G
A A T A A T G A C A T G A T C G T G A C C G A T A A C A A T G G C G C C G T G A
A A T T T C C C C A G C T G T G C A A A T T C T G C G A T G T G A G G T T T T C
C A C C T G C G A C A A C C A G A A G T C C T G T A T G A G C A A C T G C T C C
A T C A C C T C C A T C T G T G A G A A G C C T C A G G A G G T G T G C G T G G
C T G T C T G G C G G A A G A A T G A C G A G A A T A T C A C C C T G G A A A C
C G T C T G C C A C G A T C C C A A G C T G C C C T A C C A C G A T T T C A T C
C T G G A A G A C G C C G C C A G C C C T A A G T G C A T C A T G A A A G A G A
A A A A G A A G C C T G G C G A G A C C T T T T T C A T G T G C T C C T G C A G
C A G C G A C G A A T G C A A C G A C A A T A T C A T C T T T A G C G A G G A A
T A C A A T A C C A G C A A C C C C G A C (配列番号 84) と少なくとも 80% 同一
(例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少な
くとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同
一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 10
0% 同一) の配列によってコードされる。

【0402】

10

20

30

40

50

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインまたは追加の標的結合ドメインは、IL-21受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインまたは追加の標的結合ドメインは、可溶性IL-21（例えば、可溶性ヒトIL-21）を含む。

【0403】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-21は、
QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
TNAGR RQKHRLT C P S C D S Y E K K P P K E F L E R F K S L L Q K M I H
Q H L S S R T H G S E D S（配列番号78）と少なくとも80%同一（例えば、少なく
とも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、
少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも9
6%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列
を含む。

10

【0404】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトIL-21は、
CAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCGGATGAGGCAGCTCA
TCGACATCGTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCT
GGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACC
AACTGCGAGTGGTCCGCCTTCTCCTGCTTTTCAGAAGGCC
AGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAACAACGAGCGGATCAT
CAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCC
ACAAACGCCGGCAGGAGGCAGAAAGCACAGGCTGACCTGCC
CCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTT
CCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAGATGATCCAT
CAGCACCTGTCTCTCCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCC（
配列番号79）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも8
4%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少な
くとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同
一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

20

30

【0405】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインまたは追加の標的結合ドメインは、CD137L受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインおよび／または追加の標的結合ドメインは、可溶性CD137L（例えば、可溶性ヒトCD137L）を含む。

【0406】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性CD137Lは、
REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWY
SDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELR
RVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPASS
EARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ
GATVVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSE（配列番号157）と少なくとも8
0%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同
一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも
94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、ま
たは100%同一）の配列を含む。

40

【0407】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性CD137Lは、
CGCGAGGGTCCCCGAGCTTTTCGCCCGACGATCCCCGCCGGCC

50

TCTTGGACCTGCGGCAGGGCATGTTTGCAGCTGGTGGC
CCAAAATGTTCTGCTGATCGATGGGCCCTGAGCTGGTAC
AGTGACCCAGGCCTGGCAGGCGTGTCCTGACGGGGGGCC
TGAGCTACAAAGAGGACACGAAGGAGCTGGTGGTGGCCAA
GGCTGGAGTCTACTATGTCTTCTTTCAACTAGAGCTGCGG
CGCGTGGTGGCCGGCGAGGGGCTCAGGCTCCGTTTCACTTG
CGCTGCACCTGCAGCCACTGCGCTCTGCTGCTGGGGCCGC
CGCCCTGGCTTTGACCGTGACCTGCCACCCGCCCTCCTCC
GAGGCTCGGAACTCGGCCCTTCGGTTTCCAGGGCCGCTTGC
TGACACCTGAGTGCCGGCCAGCGCCTGGGCGTCCATCTTCA
CACTGAGGCCAGGGCACGCCATGCCCTGGCAGCTTACCCAG
GGCGCCACAGTCTTGGGACTCTTCCGGGTGACCCCCGAAA
TCCCAGCCGGACTCCCTTCAACCGAGGTCGGAA（配列番号158）
と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少
なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%
同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくと
も99%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0408】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトCD137L
は、

DPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVS
LTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYVFFQLELR RVVAGEGSG
SVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPASSEARNSAFGF
QGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVVLGLFR
VTPEI（配列番号159）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも85%、少
なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも
98%、少なくとも99%、または100%同一）の配列を含む。

【0409】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトCD137L
は、

GATCCCGCCGGCCTCTTGGACCTGCGGCAGGGCATGTTTG
CGCAGCTGGTGGCCAAAATGTTCTGCTGATCGATGGGCC
CCTGAGCTGGTACAGTGACCCAGGCCTGGCAGGCGTGTC
CTGACGGGGGGCCTGAGCTACAAAGAGGACACGAAGGAGC
TGGTGGTGGCCAAGGCTGGAGTCTACTATGTCTTCTTTCA
ACTAGAGCTGCGGCGCGTGGTGGCCGGCGAGGGGCTCAGGC
TCCGTTTCACTTGCGCTGCACCTGCAGCCACTGCGCTCTG
CTGCTGGGGCCGCCGCCCTGGCTTTGACCGTGACCTGCC
ACCCGCCCTCCTCCGAGGCTCGGAACTCGGCCCTTCGGTTTC
CAGGGGCCGCTTGCTGCACCTGAGTGCCGGCCAGCGCCTGG
GCGTCCATCTTCACTGAGGCCAGGGCACGCCATGCCCTG
GCAGCTTACCCAGGGCGCCACAGTCTTGGGACTCTTCCGG
GTGACCCCCGAAATC（配列番号160）と少なくとも80%同一（例えば、
少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくと
も97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一）の配列によって
コードされる。

【0410】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFC DVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSI CEKPQEVCAVWRKNDENITLET VCHD

PKLPYHDFILEDAA SPK CIMKEKKKKPGETFFMCS SCSSDEC
NDNIIFSE EYNTSNPDGGGGSGGGGSGGGGSI PPHVQKSV
NNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFC DVRFSTCDNQKSCMSNCS
ITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLET VCHDPKLPYHDFI
LEDAASPKCIMKEKKKKPGETFFMCS SCSSDECNDNIIFSEE
YNTSNPDSGTTNTVAAYNL TWKSTNFKTILEWEPKPVNQV
YTVQISTKSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDV KQTYLA
RVFSYPAGNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTI
QSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIY
TLYYWKSSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVI
PSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRENWVNVISDLKKIED
LIQSMHIDATLYTESDVHP SCKVTAMKCFLLLELQVISLES
GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEK
NIKEFLQS FVHIVQMFINTS（配列番号181）と少なくとも80%同一
（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少な
くとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同
一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または10
0%同一）の配列を含み得る。

【0411】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

ATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGTCAGGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCTGCAATGTCCAACCTGCAGCATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAACAATCACCCCTGGAGACCGTGTGTACGAC
CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTCAATTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAGAAGAAGCCCGG
AGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTCTGG
TGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACGTGCAGAAGAGCGTG
AATAATGACATGATCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGA
AATTTCCCCAGCTGTGCAAAATTCCTGCGATGTGAGGTTTTC
CACCTGCGACAACCAGAAGTCCCTGTATGAGCAACTGCTCC
ATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGG
CTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAAC
CGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCTACCACGATTTTCATC
CTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTG CATCATGAAAGAGA
AAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTCATGTGCTCCTGCAG
CAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAA
TACAATAACAGCAACCCCGACAGCGGCACAACCAACACAG
TCGCTGCCCTATAACCTCACTTGGAAAGAGCACCAACTTCAA
AACCATCCTCGAATGGGAACCCCAAACCCGTTAACC AAGTT
TACACCGGTGCAGATCAGCACCAAGTCCGGCGACTGGAAGT
CCAAATGTTTCTATACCACCGACACCGAGTGCGATCTCAC
CGATGAGATCGTGAAAGATGTGAAACAGACCTACCTCGCC
CGGGTGTTT TAGCTACCCCGCCGGCAATGTGGAGAGCACTG
GTTCCGCTGGCGAGCCTTTATACGAGAACAGCCCCGAATT
TACCCCTTACCTCGAGACCAATTTAGGACAGCCCCACCATC

10

20

30

40

50

CAAAGCTTTGAGCAAGTTGGCACAAAGGTGAATGTGACAG
TGGAGGACGAGCGGACTTTAGTGCGGCGGAACAACACCTT
TCTCAGCCTCCGGGATGTGTTTCGGCAAAGATTTAATCTAC
ACACTGTATTACTGGAAGTCCTCTTCCCTCCGGCAAGAAGA
CAGCTAAAACCAACACAAACGAGTTTTTTAATCGACGTGGA
TAAAGGCGAAAACTACTGTTTTCAGCGTGCAAGCTGTGATC
CCCTCCCGGACCGTGAAATAGGA AAAAGCACCGATAGCCCCG
TTGAGTGCATGGGCCAAGAAAAGGGCGAGTTCCGGGAGAA
CTGGGTGAACGTCAATCAGCGATT TAAAGAAGATCGAAGAT
TTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACACAG
AATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATGAA
ATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGAGC
GGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAGAATTTAATCA
TTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTGAC
AGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGAAG
AACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGTCC
AGATGTTTCATCAATACCTCC（配列番号182）と少なくとも80%同一
（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少な
くとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同
一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または10
0%同一）の配列によってコードされる。

【0412】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAV
KFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPKQEV CV
AVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAA SPKCIMKE
KKKPGETFFMCSSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDGGGSG
GGGSGGGGSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFC
DVRFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPKQEV CVAVWRKNDEN
ITLETVCHDPKLPYHDFILEDAA SPKCIMKEKKKPGETFF
MCSSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD SGTTNTVAAYNL TWK
STNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSKCFYTTDT
ECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE
NSPEFTPYLETNLGQPTIQSF EQVGTKVNVTVEDERTLVR
RNNTFLSLRDVFGKDLIYTL YWKSSSSGKK TAKTNTNEF
LIDVDKGENYCF SVQAVIPSR TVNRKSTDSPVECMGQEK G
EFRENWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHP SCK
VTAMKCFLLLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSS
NGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFIN TS（配
列番号183）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも8
4%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少な
くとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同
一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含み得る。

【0413】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCT
CCAGCGCCTACTCCATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGT
GAACAACGATATGATCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTG
AAGTTTCCCGAGCTCTGCAAGTTCTGCGATGTCAGGTTCA
GCACCTGCGATAATCAGAAGTCCCTGCATGTCCA ACTGCAG

CATCACCTCCATCTGCGAGAAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTG
 GCCGTGTGGCGGAAAAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGA
 CCGTGTGTACGACCCCAAGCTCCCTTATCACGACTTTCAT
 TCTGGAGGACGCTGCCTCCCCCAAAATGCATCATGAAGGAG
 AAGAAGAAGCCCCGGAGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTA
 GCAGCGACGAGTGTAACGACAACATCATCTTCAGCGAAGA
 GTACAACACCAGCAACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGA
 GGTGGAGGTTCTGGTGGAGGTGGGAGTATTCTCTCCCAACG
 TGCAGAAGAGCGTGAAATAATGACATGATCGTGACCGATAA
 CAATGGCGCCGTGAAATTTCTCCCAAGCTGTGCAAATTTCTGC
 GATGTGAGGTTTTTCCACCTGCGACAACCAGAAGTCTCTGTA
 TGAGCAACTGCTCCATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCA
 GGAGGTGTGCGTGGCTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAAAT
 ATCACCCCTGGAAACCCTGCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCT
 ACCACGATTTTCATCCTGGAAGACGCCCGCCAGCCCTAAGTG
 CATCATGAAAGAGAAAAAGAAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTC
 ATGTGCTCCTGCGAGCAGCGACGAATGCAACGACAATATCA
 TCTTTAGCGAGGAATACAATACCAGCAACCCCGACAGCGG
 CACAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTTTGGAAG
 AGCACCAACTTCAAAACCATCCTCGAATGGGAACCCAAAC
 CCGTTAACCAGTTTACACCGGTGCAGATCAGCACCAAGTC
 CGGCGACTGGAAGTCCAAATGTTTTCTATACCACCGACACC
 GAGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGTGAAAC
 AGACCTACCTCGCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGCCGGCAA
 TGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTATACGAG
 AACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAATTTAG
 GACAGCCCACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGCACAAA
 GGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAGTGC GG
 CGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTTTCGGCA
 AAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCTCTTTC
 CTCCGGCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACGAGTTT
 TTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAAACTACTGTTTTAGCG
 TGCAAGCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGAAATAGGAAAAAG
 CACCGATAGCCCCGTTGAGTGCATGGGCCAAGAAAAAGGGC
 GAGTTCCGGGGAGAACTGGGGTGAAACGTATCAGCGATTTA
 AGAAGATCGAAAGATTTAATTTAGTCCATGCATATCGACGC
 CACTTTATACACAGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAG
 GTGACCGCCATGAAATGTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTA
 TCTCTTTAGAGAGCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGT
 GGAGAATTTAATCATTTTATAGCCAATAACTCTTTATCCAGC
 AACGGCAACGTGACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGC GAAG
 AGCTGGAGGAGAAAGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTT
 TGTGCACATTGTCCAGATGTTTCATCAATACCTCC (配列番号 1
 84) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、
 少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、
 少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なく
 とも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコードされる。

【0414】

いくつかの実施形態では、第 2 のキメラポリペプチドは、
 QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET

10

20

30

40

50

NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
TNAGRQRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH
QHLSSRTHGSEDSITCPPPMSEHADIWVKSYSLSRERY
ICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIIRGG
GSGSGGGSGSGGSGSREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVA
QNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAK
AGVYYVFFQLELRV VAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAA
ALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLHL SAGQRLGVHLH
TEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSE (配列
番号185) と少なくとも80%同一 (例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84
%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なく
とも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一
、少なくとも99%同一、または100%同一) の配列を含み得る。

10

【0415】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

CAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCGGATGAGGCAGCTCA
TCGACATCGTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCT
GGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACC
AACTGCGAGTGGTCCGCCCTTCTCCTGCTTTTCAGAAAGGCC
AGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAACACGAGCGGATCAT
CAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCC
ACAAACGCCGGCAGGAGGCAGAAAGCACAGGCTGACCTGCC
CCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTT
CCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAAGATGATCCAT
CAGCACCTGTCTCTCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCCA
TTACATGCCCCCCCTCCCATGAGCGTGAGACACGCCGACAT
CTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTAT
ATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGGCACCAAGCA
GCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGGC
TCACTGGACAACACCCTCTTTAAAGTGATCCGGGGGCGGT
GGAGGATCCGGAGGAGGTGGCTCCGGCGGCGGAGGATCTC
GCGAGGGTCCCGAGCTTTGCGCCGACGATCCCGCGGCGCT
CTTGGACCTGCGGCGAGGGCATGTTTGCGCAGCTGGTGGCC
CAAAATGTTCTGCTGATCGATGGGCCCTTGAGCTGGTACA
GTGACCCAGGCCTGGCAGGCGTGTTCCCTGACGGGGGGGCT
GAGCTACAAAGAGGACACGAAGGAGCTGGTGGTGGCCAAG
GCTGGAGTCTACTATGTCTTCTTTCAACTAGAGCTGCGGC
GCGTGGTGGCCGGCGAGGGCTCAGGCTCCGTTTCACTTGC
GCTGCACCTGCAGCCACTGCGCTCTGCTGCTGGGGGCCGCC
GCCCTGGCTTTGACCGTGAGACCTGCCACCCGCCCTCCTCCG
AGGCTCGGAACCTCGGCCCTTCGGTTTCCAGGGCCGCTTGCT
GCACCTGAGTGCCGGCCAGCGCCTGGGGCGTCCATCTTCA
ACTGAGGCCAGGGCACGCCATGCCCTGGCAGCTTACCCAGG
GCGCCACAGTCTTGAGGACTCTTCCGGGTGACCCCCGAAAT
CCCAGCCGGACTCCCTTCAACCGAGGTCGGAA (配列番号186)

20

30

40

と少なくとも80%同一 (例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なく
とも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同
一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なく
とも99%同一、または100%同一) の配列によってコードされる。

【0416】

50

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSQGGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKN
YVNDLVPEFLPAPEDVETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGN
NERIINVSIKKLKRKPPSTNAGR RQKHRLTCPSCDSYEKK
PPKEFLERFKSL LQKMIHQHLS SRTHGSEDSITCPPPM SV
EHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSSLTECVLNK
ATNVAHWTTPSLKCI RGGGGSGGGGSGGGGSGREGPELSPD
DPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVS
LTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELR RVVAGEGSG
SVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP PASSEARNSAFGF
QGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFR
VTPEIPAGLPSPRSE（配列番号187）と少なくとも80%同一（例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88
%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく
とも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）
の配列を含み得る。

10

【0417】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTTCT
CCAGCGCCTACTCCCAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCG
GATGAGGCAGCTCATCGACATCGTTCGACCAGCTGAAGAAC
TACGTGAACGACCTGGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCG
AGGACGTGGAGACCAACTGCGAGTGGTCCGCCAACACCGGCAAC
CTTTTCAGAAAGGCCCAGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAAC
AACGAGCGGATCATCAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGC
GGAAGCCTCCCTCCACAAACGCCGGCAGGAGGCAGAAGCA
CAGGCTGACCTGCCCCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAG
CCCCCCAAGGAGTTCTTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGC
AGAAGATGATCCATCAGCACCTGTCTCTCAGGACCCACGG
CTCCGAGGACTCCATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTG
GAGCACGCCGACATCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACA
GCCGGGAGAGGTATATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAA
GGCCGGCACCAGCAGCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAG
GCTACCAACGTGGCTCACTGGACAACACCTCTTTTAAAGT
GCATCCGGGGGCGGTGGAGGATCCGGAGGAGGTGGCTCCGG
CGGCGGAGGATCTCGCGAGGGTCCCGAGCTTTTCGCCCGAC
GATCCCGCCGGCCTCTTGGACCTGCGGCAGGGCATGTTTG
CGCAGCTGGTGGCCCAAATGTTCTGCTGATCGATGGGCC
CCTGAGCTGGTACAGTGACCCAGGCCTGGCAGGCGTGTTCC
CTGACGGGGGGCCTGAGCTACAAAGAGGACACGAAGGAGC
TGGTGGTGGCCAAGGCTGGAGTCTACTATGTCTTCTTTCA
ACTAGAGCTGCGGCGCGTGGTGGCCGGCGAGGGCTCAGGC
TCCGTTTCACTTGCGCTGCACCTGCGAGCCACTGCGCTCTG
CTGCTGGGGCCGCGCCCTGGCTTTTGACCGTGAGCCTGCC
ACCCGCCCTCCTCCGAGGCTCGGAACCTCGGCCTTCGGTTTC
CAGGGCCGCTTGCTGCACCTGAGTGCCGGCCAGCGCCTGG
GCGTCCATCTTCACACTGAGGCCAGGGCACGCCATGCCCTG
GCAGCTTACCCAGGGCGCCACAGTCTTGGGACTCTTCCGG
GTGACCCCGAAATCCAGCCGGACTCCCTTCAACCGAGGT
CGGAA（配列番号188）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一

20

30

40

50

、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)の配列によってコードされる。

【0418】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
TNAGR RQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH
QHLSSRTHGSEDSITCPPPM SVEHADIWVKSYSLSRERY
ICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV AHWTTPSLK CIRGG
GGSGGGGSGGGGSDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGP
LSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQ
LELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP
PASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAW
QLTQGATV LGLFRVTPEI (配列番号189) と少なくとも80%同一 (例
えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なく
とも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、
少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%
同一)の配列を含み得る。

【0419】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

CAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCGGATGAGGCAGCTCA
TCGACATCGTTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCT
GGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACC
AACTGCGAGTGGTCCGCCTTCTCCTGCTTTCAGAAGGCC
AGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAACACGAGCGGATCAT
CAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCC
ACAAACGCCCGGCAGGAGGCAGAAAGCACAGGCTGACCTGCC
CCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTT
CCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAAGATGATCCAT
CAGCACCTGTCTCCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCCA
TTACATGCCCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACAT
CTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTAT
ATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGGCACCAGCA
GCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGGC
TCACTGGACAACACCCTCTTTAAAGTGATCCGGGGCGGT
GGAGGATCCGGAGGAGGTGGCTCCGGCGGCGGAGGATCTG
ATCCCGCCGGCCTCTTGGA CCTGCGGCAGGGCATGTTTGC
GCAGCTGGTGGCCCAAAATGTTCTGCTGATCGATGGGCC
CTGAGCTGGTACAGTGACCCAGGCCCTGGCAGGCGTGTTCC
TGACGGGGGGGCTGAGCTACAAAGAGGACACGAAGGAGCT
GGTGGTGGCCAAGGCTGGAGTCTACTATGTCTTCTTTCAA
CTAGAGCTGCGGCGCGTGGTGGCCGGCGAGGGCTCAGGCT
CCGTTTCACTTGCGCTGCACCTGCAGCCACTGCGCTCTGC
TGCTGGGGCCGCCGCCCTGGCTTTGACCGTGGACCTGCCA
CCCGCCTCCTCCGAGGCTCGGAACCTCGGCCTTCGGTTTCC
AGGGCCGCTTGCTGCACCTGAGTGCCGGGCCAGCGCCTGGG
CGTCCATCTTCACACTGAGGCCAGGGCACGCCATGCCTGG
CAGCTTACCCAGGGCGCCACAGTCTTGGGACTCTTCCGGG

TGACCCCCGAAATC（配列番号190）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0420】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSQGGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKN
YVNDLVPEFLPAPEDVETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGN
NERIINVSIKKLKRKPSTNAGR RQKHRLT C P S C D S Y E K K
PPKEFLERFKSL LQKMIHQHLS SRTHGSEDSITC P P P M S V
EHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSSLTECVLNK
ATNVAHWTTPSLKCIRGGGSGGGGSGGGGSDPAGLLDLR
QGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKE
DTKELVVAKAGVYYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQ
PLRSAAGAAALALTVDLP PASSEARNSAFGFQGRLLHLSA
GQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEI（配列番
号191）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%
同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくと
も92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、
少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含み得る。

【0421】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTCT
CCAGCGCCTACTCCCAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCG
GATGAGGCAGCTCATCGACATCGTTCGACCAGCTGAAGAAC
TACGTGAACGACCTGGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCG
AGGACGTGGAGACCAACTGCGAGTGGTCCGCTTCTCCTG
CTTTTCAGAAAGGCCCAGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAAC
AACGAGCGGATCATCAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGC
GGAAGCCTCCCTCCACAAACGCCGGCAGGAGGCAGAAAGCA
CAGGCTGACCTGCCCCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAAG
CCCCCCAAGGAGTTCTTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGC
AGAAGATGATCCATCAGCACCTGTCTCTCAGGACCCACGG
CTCCGAGGACTCCATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTG
GAGCACGCCGACATCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACA
GCCGGGAGAGGTATATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAA
GGCCGGCACCAGCAGCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAG
GCTACCAACGTGGCTCACTGGACAACACCCTCTTTAAAGT
GCATCCGGGGCGGTGGAGGATCCGGAGGAGGTGGCTCCGG
CGGCGGAGGATCTGATCCCGCCGGCCTCTTGGACCTGCGG
CAGGGCATGTTTGCAGCTGGTGGCCCAAATGTTCTGC
TGATCGATGGGCCCTGAGCTGGTACAGTGACCCAGGCCCT
GGCAGGCGTGTCCTGACGGGGGGCCTGAGCTACAAAGAG
GACACGAAGGAGCTGGTGGTGGCCAAAGGCTGGAGTCTACT
ATGTCTTCTTTCAACTAGAGCTGCGGCGCGTGGTGGCCGG
CGAGGGGCTCAGGCTCCGTTTCACTTGCGCTGCACCTGCAG
CCACTGCGCTCTGCTGCTGGGGGCCCGCCGCTTGGCTTTGA
CCGTGGACCTGCCACCCGCCCTCCTCCGAGGCTCGGAACCTC
GGCCTTCGGTTTCCAGGGCGCCTTGCTGCACCTGAGTGCC

GGCCAGCGCCTGGGCGTCCATCTTTCACACTGAGGCCAGGG
CAGGCCATGCTTGGCAGCTTACCCAGGGCGCCACAGTCTT
GGGACTCTTCCGGGTGACCCCCGAAATC（配列番号192）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0422】

例示的な多鎖キメラポリペプチドタイプM

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、TGF- β またはIL-21受容体に特異的に結合する。本明細書に記載のこれらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、追加の標的結合ドメインをさらに含む。本明細書に記載のこれらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインは、IL-21（例えば、可溶性IL-21、例えば、可溶性ヒトIL-21）受容体またはTGF- β 受容体（例えば、可溶性TGF- β 受容体、例えば、可溶性TGF- β RII受容体）に特異的に結合する。

【0423】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0424】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインと一対の親和性ドメインの第1のドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の可溶性組織因子ドメインと一対の親和性ドメインの第1のドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0425】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一対の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の一対の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0426】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチドのN末端またはC末端に1つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む。

【0427】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインと一対の親和性ドメインの第2のドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の一対の親和性ドメインの第2のドメインと追加の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0428】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の第2の標的結合ドメインと追加の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0429】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれかであり得る。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインは、本明細書に記載の例示的な一对の親和性ドメインのうちのいずれかであり得る。

【0430】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインはTGF- β に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインはTGF- β またはIL-21受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインは、可溶性TGF- β 受容体（例えば、可溶性TGF β RII受容体、例えば、可溶性ヒトTGF β RII受容体）である。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトTGF β RIIは、第1の可溶性ヒトTGF β RII配列および第2の可溶性ヒトTGF β RII配列を含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトTGF β RIIは、第1の可溶性ヒトTGF β RII配列と第2の可溶性ヒトTGF β RII配列との間に配置されたリンカーを含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、リンカーは、配列GGGGSGGGSGGGGS（配列番号7）を含む。

【0431】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の可溶性ヒトTGF β RII受容体配列は、
IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSI CEKPKQEV CVAVWRKNDENITLETVC HD
PKLPYHDFILED AASP KCIMKEKKKPGETF FMCSCSSDEC
NDNIIFSEEYNTSNPD（配列番号80）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む。

【0432】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の可溶性ヒトTGF β RII受容体配列は、
IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSI CEKPKQEV CVAVWRKNDENITLETVC HD
PKLPYHDFILED AASP KCIMKEKKKPGETF FMCSCSSDEC
NDNIIFSEEYNTSNPD（配列番号81）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む。

【0433】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の可溶性ヒトTGF β RII受容体配列は、
ATCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAAACAACGATATGAT
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGTCAGGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCCTGCATGTCCAACCTGCAGCATCACCTCCAATCT

G C G A G A A G C C C C A A G A A G T G T G C G T G G C C G T G T G G C G G A A
A A A T G A C G A G A A C A T C A C C C T G G A G A C C G T G T G T C A C G A C
C C C A A G C T C C C T T A T C A C G A C T T C A T T C T G G A G G A C G C T G
C C T C C C C C A A A T G C A T C A T G A A G G A G A A G A A G A A G C C C G G
A G A G A C C T T T C T T T A T G T G T T C C T G T A G C A G C G A C G A G T G T
A A C G A C A A C A T C A T C T T C A G C G A A G A G T A C A A C A C C A G C A
A C C C T G A T (配列番号 82) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82%
同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくと
も 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、
少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコ
ードされる。

10

【0434】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の可溶性ヒト TGF
R β RII 受容体配列は、

A T T C C T C C C C A C G T G C A G A A G A G C G T G A A T A A T G A C A T G A
T C G T G A C C G A T A A C A A T G G C G C C G T G A A A T T T C C C C A G C T
G T G C A A A T T C T G C G A T G T G A G G T T T T C C A C C T G C G A C A A C
C A G A A G T C C T G T A T G A G C A A C T G C T C C A T C A C C T C C A T C T
G T G A G A A G C C T C A G G A G G T G T G C G T G G C T G T C T G G C G G A A
G A A T G A C G A G A A T A T C A C C C T G G A A A C C G T C T G C C A C G A T
C C C A A G C T G C C C T A C C A C G A T T T C A T C C T G G A A G A C G C C G
C C A G C C C T A A G T G C A T C A T G A A A G A G A A A A G A A G C C T G G
C G A G A C C T T T T T C A T G T G C T C C T G C A G C A G C G A C G A A T G C
A A C G A C A A T A T C A T C T T T A G C G A G G A A T A C A A T A C C A G C A
A C C C C G A C (配列番号 83) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82%
同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくと
も 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、
少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコ
ードされる。

20

【0435】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性 TGF- β 受容体
は、

I P P H V Q K S V N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N
Q K S C M S N C S I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D
P K L P Y H D F I L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C
N D N I I F S E E Y N T S N P D G G G G S G G G G S G G G G S I P P H V Q K S V
N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N Q K S C M S N C S
I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D P K L P Y H D F I
L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C N D N I I F S E E
Y N T S N P D (配列番号 85) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同
一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくと
も 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少
なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列を含む。

40

【0436】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性 TGF- β 受容体
は、

A T C C C C C C C C A T G T G C A A A A G A G C G T G A A C A A C G A T A T G A
T C G T G A C C G A C A A C A A C G G C G C C G T G A A G T T T C C C C A G C T
C T G C A A G T T C T G C G A T G T C A G G T T C A G C A C C T G C G A T A A T
C A G A A G T C C T G C A T G T C C A A C T G C A G C A T C A C C T C C A T C T

50

G C G A G A A G C C C C A A G A A G T G T G C G T G G C C G T G T G G C G G A A
A A A T G A C G A G A A C A T C A C C C T G G A G A C C G T G T G T C A C G A C
C C C A A G C T C C C T T A T C A C G A C T T C A T T C T G G A G G A C G C T G
C C T C C C C C A A A T G C A T C A T G A A G G A G A A G A A G A A G C C C G G
A G A G A C C T T T C T T T A T G T G T T C C T G T A G C A G C G A C G A G T G T
A A C G A C A A C A T C A T C T T C A G C G A A G A G T A C A A C A C C A G C A
A C C C T G A T G G A G G T G G C G G A T C C G G A G G T G G A G G T T C T G G
T G G A G G T G G G A G T A T T C C T C C C C A C G T G C A G A A G A G C G T G
A A T A A T G A C A T G A T C G T G A C C G A T A A C A A T G G C G C C G T G A
A A T T T C C C C A G C T G T G C A A A T T C T G C G A T G T G A G G T T T T C
C A C C T G C G A C A A C C A G A A G T C C T G T A T G A G C A A C T G C T C C
A T C A C C T C C A T C T G T G A G A A G C C T C A G G A G G T G T G C G T G G
C T G T C T G G C G G A A G A A T G A C G A G A A T A T C A C C C T G G A A A C
C G T C T G C C A C G A T C C C A A G C T G C C C T A C C A C G A T T T C A T C
C T G G A A G A C G C C G C C A G C C C T A A G T G C A T C A T G A A A G A G A
A A A A G A A G C C T G G C G A G A C C T T T T T C A T G T G C T C C T G C A G
C A G C G A C G A A T G C A A C G A C A A T A T C A T C T T T A G C G A G G A A
T A C A A T A C C A G C A A C C C C G A C (配列番号 84) と少なくとも 80% 同一
(例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少な
くとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同
一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 10
0% 同一) の配列によってコードされる。

【0437】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメイン
は、IL-21 受容体に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつか
の実施形態では、第2の標的結合ドメインは、可溶性 IL-21 (例えば、ヒト可溶性 IL-
21) を含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性
IL-21 は、

Q G Q D R H M I R M R Q L I D I V D Q L K N Y V N D L V P E F L P A P E D V E T
N C E W S A F S C F Q K A Q L K S A N T G N N E R I I N V S I K K L K R K P P S
T N A G R R Q K H R L T C P S C D S Y E K K P P K E F L E R F K S L L Q K M I H
Q H L S S R T H G S E D S (配列番号 78) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なく
とも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一
、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 9
6% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列
を含む。

【0438】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性 IL-21 は、
C A G G G C C A G G A C A G G C A C A T G A T C C G G A T G A G G C A G C T C A
T C G A C A T C G T C G A C C A G C T G A A G A A C T A C G T G A A C G A C C T
G G T G C C C G A G T T T C T G C C T G C C C C C G A G G A C G T G G A G A C C
A A C T G C G A G T G G T C C G C C T T C T C C T G C T T T C A G A A G G C C C
A G C T G A A G T C C G C C A A C A C C G G C A A C A A C G A G C G G A T C A T
C A A C G T G A G C A T C A A G A A G C T G A A G C G G A A G C C T C C C T C C
A C A A A C G C C G G C A G G A G G C A G A A G C A C A G G C T G A C C T G C C
C C A G C T G T G A C T C C T A C G A G A A G A A G C C C C C A A G G A G T T
C C T G G A G A G G T T C A A G T C C C T G C T G C A G A A G A T G A T C C A T
C A G C A C C T G T C C T C C A G G A C C C A C G G C T C C G A G G A C T C C (配
列番号 79) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 8
4% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少な

10

20

30

40

50

くとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコードされる。

【0439】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

I P P H V Q K S V N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N
Q K S C M S N C S I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D
P K L P Y H D F I L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C
N D N I I F S E E Y N T S N P D G G G G S G G G G S G G G G S I P P H V Q K S V
N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N Q K S C M S N C S
I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D P K L P Y H D F I
L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C N D N I I F S E E
Y N T S N P D S G T T N T V A A Y N L T W K S T N F K T I L E W E P K P V N Q V
Y T V Q I S T K S G D W K S K C F Y T T D T E C D L T D E I V K D V K Q T Y L A
R V F S Y P A G N V E S T G S A G E P L Y E N S P E F T P Y L E T N L G Q P T I
Q S F E Q V G T K V N V T V E D E R T L V R R N N T F L S L R D V F G K D L I Y
T L Y Y W K S S S S G K K T A K T N T N E F L I D V D K G E N Y C F S V Q A V I
P S R T V N R K S T D S P V E C M G Q E K G E F R E N W V N V I S D L K K I E D
L I Q S M H I D A T L Y T E S D V H P S C K V T A M K C F L L E L Q V I S L E S
G D A S I H D T V E N L I I L A N N S L S S N G N V T E S G C K E C E E L E E K
N I K E F L Q S F V H I V Q M F I N T S (配列番号 193) と少なくとも 80% 同一
(例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少な
くとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同
一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 10
0% 同一) の配列を含み得る。

【0440】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

A T C C C C C C C C A T G T G C A A A A G A G C G T G A A C A A C G A T A T G A
T C G T G A C C G A C A A C A A C G G C G C C G T G A A G T T T C C C C A G C T
C T G C A A G T T C T G C G A T G T C A G G T T C A G C A C C T G C G A T A A T
C A G A A G T C C T G C A T G T C C A A C T G C A G C A T C A C C T C C A T C T
G C G A G A A G C C C C A A G A A G T G T G C G T G G C C G T G T G G C G G A A
A A A T G A C G A G A A C A T C A C C C T G G A G A C C G T G T G T C A C G A C
C C C A A G C T C C C T T A T C A C G A C T T C A T T C T G G A G G A C G C T G
C C T C C C C C A A A T G C A T C A T G A A G G A G A A G A A G A A G C C C G G
A G A G A C C T T C T T T A T G T G T T C C T G T A G C A G C G A C G A G T G T
A A C G A C A A C A T C A T C T T C A G C G A A G A G T A C A A C A C C A G C A
A C C C T G A T G G A G G T G G C G G A T C C G G A G G T G G A G G T T C T G G
T G G A G G T G G G A G T A T T C C T C C C C A C G T G C A G A A G A G C G T G
A A T A A T G A C A T G A T C G T G A C C G A T A A C A A T G G C G C C G T G A
A A T T T C C C C A G C T G T G C A A A T T C T G C G A T G T G A G G T T T T C
C A C C T G C G A C A A C C A G A A G T C C T G T A T G A G C A A C T G C T C C
A T C A C C T C C A T C T G T G A G A A G C C T C A G G A G G T G T G C G T G G
C T G T C T G G C G G A A G A A T G A C G A G A A T A T C A C C C T G G A A A C
C G T C T G C C A C G A T C C C A A G C T G C C C T A C C A C G A T T T C A T C
C T G G A A G A C G C C G C C A G C C C T A A G T G C A T C A T G A A A G A G A
A A A A G A A G C C T G G C G A G A C C T T T T T C A T G T G C T C C T G C A G
C A G C G A C G A A T G C A A C G A C A A T A T C A T C T T T A G C G A G G A A
T A C A A T A C C A G C A A C C C G A C A G C G G C A C A A C C A A C A C A G
T C G C T G C C T A T A A C C T C A C T T G G A A G A G C A C C A A C T T C A A
A A C C A T C C T C G A A T G G G A A C C C A A A C C C G T T A A C C A A G T T

TACACCGTGCGAGATCAGCACCAAGTCCGGCGACTGGAAGT
CCAAATGTTTCTATACCAACCGACACCGAGTGCGATCTCAC
CGATGAGATCGTGAAAGATGTGAAACAGACCTACCTCGCC
CGGGTGTTTAGCTACCCCGCCGGCAATGTGGAGAGCACTG
GTTCCGCTGGCGAGCCTTTATACGAGAACAGCCCCGAATT
TACCCCTTACCTCGAGACCAATTTAGGACAGCCCCACCATC
CAAAGCTTTGAGCAAGTTGGCACAAAGGTGAATGTGACAG
TGGAGGACGAGCGGACTTTAGTGCGGCGGAACAACACCTT
TCTCAGCCTCCGGGATGTGTTTCGGCAAAGATTTAATCTAC
ACACTGTATTTACTGGAAGTCTCTTCTCCGGCAAGAAGA
CAGCTAAAACCAACACAAACGAGTTTTTTAATCGACGTGGA
TAAAGGCGAAAACTACTGTTTTAGCGTGCAAGCTGTGATC
CCCTCCCGGACCGTGAATAGGAAAAGCACCGATAGCCCCG
TTGAGTGCAATGGGCCAAGAAAAGGGCGAGTTCGGGGAGAA
CTGGGTGAACGTATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAGAT
TTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACACAG
AATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATGAA
ATGTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGAGC
GGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAGAAATTTAATCA
TTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTGAC
AGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGAAAG
AACATCAAGGAGTTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGTCC
AGATGTTTCATCAATACCTCC（配列番号194）と少なくとも80%同一
（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少な
くとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同
一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または10
0%同一）の配列によってコードされる。

【0441】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAV
KFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEV
CVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAA
SPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNT
SNPDGGGGSGGGSGGGGSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAV
KFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEV
CVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAA
SPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNT
SNPDSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSKCFYTTDT
ECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE
NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVR
RNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEF
LIDVDKGENYCFSVQAVIPSRVTNVRKSTDSPVECMGQEK
GEFRENVVNIISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHP
SCKVTAMKCFLLLELQVISLES GDASIHDTVENLIILAN
NSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFI
NTS（配列番号195）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも8
4%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少な
くとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同
一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含み得る。

【0442】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTGTTCT
CCAGCGCCTACTCCATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGT
GAACAACGATATGATCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTG
AAGTTTCCCCAGCTCTGCAAGTTCTGCGATGTCAGGTTCA
GCACCTGCGATAATCAGAAGTCCCTGCATGTCCAACCTGCAG
CATCACCTCCATCTGCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTG
GCCGTGTGGCGGAAAAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGA
CCGTGTGTCAACGACCCCAAGCTCCCTTATCACGACTTTCAT
TCTGGAGGACGCTGCCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAG
AAGAAGAAGCCCCGGAGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTA
GCAGCGACGAGTGTAACGACAACATCATCTTTCAGCGAAGA
GTACAACACCAGCAACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGA
GGTGGAGGTTCTGGTGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACG
TGCAGAAGAGCGTGATAATGACATGATCGTGACCGATAA
CAATGGCGCCGTGAAATTTCCCCAGCTGTGCAAAATTCCTGC
GATGTGAGGTTTTTCCACCTGCGACAACCAGAAGTCCCTGTA
TGAGCAACTGCTCCATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCA
GGAGGTGTGCGTGGCTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAAT
ATCACCCCTGGAAACCGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCT
ACCACGATTTTCATCCTGGAAGACGCCCGCCAGCCCTAAGTG
CATCATGAAAGAGAAAAAGAAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTC
ATGTGCTCCTGCGAGCAGCGACGAATGCAACGACAATATCA
TCTTTAGCGAGGAATACAATAACAGCAACCCTCGACAGCGG
CACAAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTTGGAAG
AGCACCAACTTCAAAACCATCCTCGAATGGGAACCCAAAC
CCGTTAACCAAGTTTACACCGTGCAGATCAGCACCAAGTC
CGGCGACTGGAAAGTCCAAATGTTTTCTATACCACCGACACC
GAGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGTGAAAC
AGACCTACCTCGCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGCCGGCAA
TGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTATACGAG
AACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAATTTAG
GACAGCCCACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGGCACAAA
GGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAGTGC GG
CGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTTTCGGCA
AAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCCCTCTTC
CTCCGGCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACGAGTTT
TTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAAACTACTGTTTTCAGCG
TGCAAGCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGAAATAGGAAAAG
CACCGATAGCCCCGTGAGTGCATGGGCCAAGAAAAGGGC
GAGTTCCGGGAGAACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAA
AGAAGATCGAAGATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGC
CACTTTATACACAGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAAG
GTGACCGCCATGAAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTA
TCTCTTTAGAGAGCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGT
GGAGAATTTAATCATTTTATAGCCAATAACTCTTTATCCAGC
AACGGCAACGTGACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAG
AGCTGGAGGAGAAAGAACATCAAGGAGTTTTCTGCAATCCTT
TGTGCACATTGTCCAGATGTTTCATCAATACCTCC (配列番号1
96) と少なくとも80%同一 (例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一

10

20

30

40

50

、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)の配列によってコードされる。

【0443】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

I P P H V Q K S V N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N
Q K S C M S N C S I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D
P K L P Y H D F I L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C
N D N I I F S E E Y N T S N P D G G G G S G G G G S G G G G S I P P H V Q K S V
N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N Q K S C M S N C S
I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D P K L P Y H D F I
L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C N D N I I F S E E
Y N T S N P D I T C P P P M S V E H A D I W V K S Y S L Y S R E R Y I C N S G F
K R K A G T S S L T E C V L N K A T N V A H W T T P S L K C I R Q G Q D R H M I
R M R Q L I D I V D Q L K N Y V N D L V P E F L P A P E D V E T N C E W S A F S
C F Q K A Q L K S A N T G N N E R I I N V S I K K L K R K P P S T N A G R R Q K
H R L T C P S C D S Y E K K P P K E F L E R F K S L L Q K M I H Q H L S S R T H
G S E D S (配列番号197)と少なくとも80%同一(例えば、少なくとも82%同一、
少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、
少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、
少なくとも99%同一、または100%同一)の配列を含み得る。

【0444】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

A T C C C C C C C C A T G T G C A A A A G A G C G T G A A C A A C G A T A T G A
T C G T G A C C G A C A A C A A C G G C G C C G T G A A G T T T C C C C A G C T
C T G C A A G T T C T G C G A T G T C A G G T T C A G C A C C T G C G A T A A T
C A G A A G T C C T G C A T G T C C A A C T G C A G C A T C A C C T C C A T C T
G C G A G A A G C C C C A A G A A G T G T G C G T G G C C G T G T G G C G G A A
A A A T G A C G A G A A C A T C A C C C T G G A G A C C G T G T G T C A C G A C
C C C A A G C T C C C T T A T C A C G A C T T C A T T C T G G A G G A C G C T G
C C T C C C C C A A A T G C A T C A T G A A G G A G A A G A A G A A G C C C G G
A G A G A C C T T C T T T A T G T G T T C C T G T A G C A G C G A C G A G T G T
A A C G A C A A C A T C A T C T T C A G C G A A G A G T A C A A C A C C A G C A
A C C C T G A T G G A G G T G G C G G A T C C G G A G G T G G A G G T T C T G G
T G G A G G T G G G A G T A T T C C T C C C C A C G T G C A G A A G A G C G T G
A A T A A T G A C A T G A T C G T G A C C G A T A A C A A T G G C G C C G T G A
A A T T T C C C C A G C T G T G C A A A T T C T G C G A T G T G A G G T T T T C
C A C C T G C G A C A A C C A G A A G T C C T G T A T G A G C A A C T G C T C C
A T C A C C T C C A T C T G T G A G A A G C C T C A G G A G G T G T G C G T G G
C T G T C T G G C G G A A G A A T G A C G A G A A T A T C A C C C T G G A A A C
C G T C T G C C A C G A T C C C A A G C T G C C C T A C C A C G A T T T C A T C
C T G G A A G A C G C C G C C A G C C C T A A G T G C A T C A T G A A A G A G A
A A A A G A A G C C T G G C G A G A C C T T T T T C A T G T G C T C C T G C A G
C A G C G A C G A A T G C A A C G A C A A T A T C A T C T T T A G C G A G G A A
T A C A A T A C C A G C A A C C C C G A C A T T A C A T G C C C C C C T C C C A
T G A G C G T G G A G C A C G C C G A C A T C T G G G T G A A G A G C T A T A G
C C T C T A C A G C C G G G A G A G G T A T A T C T G T A A C A G C G G C T T C
A A G A G G A A G G C C G G C A C C A G C A G C C T C A C C G A G T G C G T G C
T G A A T A A G G C T A C C A A C G T G G C T C A C T G G A C A A C A C C C T C
T T T A A A G T G C A T C C G G C A G G G C C A G G A C A G G C A C A T G A T C

CGGATGAGGCAGCTCATCGACATCGTCGACCAGCTGAAGA
ACTACGTGAACGACCTGGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCC
CGAGGACGTGGAGACCAACTGCGAGTGGTCCGCCCTTCTCC
TGCTTTTCAGAAAGGCCCAGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCA
ACAACGAGCGGATCATCAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAA
GCGGAAGCCTCCCTCCACAAACGCCCGGCAGGAGGCAGAAAG
CACAGGCTGACCTGCCCCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGA
AGCCCCCAAGGAGTTCTCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCT
GCAGAAAGATGATCCATCAGCACCTGTCCTCCAGGACCCAC
GGCTCCGAGGACTCC（配列番号198）と少なくとも80%同一（例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88
%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく
とも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）
の配列によってコードされる。

【0445】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAV
KFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPKQEV CV
AVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAA SPKCIMKE
KKKPGETFFMCS SDECDNIIFSEEYNTSNPDGGGSG
GGGSGGGGSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFC
DVRFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPKQEV CVAVWRKNDEN
ITLETVCHDPKLPYHDFILEDAA SPKCIMKEKKKPGETFF
MCS SDECDNIIFSEEYNTSNPDITCPPPMSEHADIW
VKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAH
WTPPSLKCIRQGQDRHMRQLIDIVDQLKNYVNDL VPE
FLPAPEDVETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVS
IKKLLKRKPPSTNAGR RQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLER
FKSLLQKMIHQHLS SRTHGSEDS（配列番号199）と少なくとも80
%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一
、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも9
4%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、また
は100%同一）の配列を含み得る。

【0446】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTCT
CCAGCGCCTACTCCATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGT
GAACAACGATATGATCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTG
AAGTTTCCCCAGCTCTGCAAGTTCTGCGATGTCAGGTTCA
GCACCTGCGATAATCAGAAGTCCCTGCATGTCCAACCTGCAG
CATCACCTCCATCTGCGAGAAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTG
GCCGTGTGGCGGAAAAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGA
CCGTGTGTACAGACCCCAAGCTCCCTTATCACGACTTCA
TCTGGAGGACGCTGCCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAG
AAGAAGAAGCCCGGAGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTA
GCAGCGACGAGTGTAACGACAACATCATCTTCAGCGAAGA
GTACAACACCAGCAACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGA
GGTGGAGGTTCTGGTGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACG
TGCAGAAAGAGCGTGATAATGACATGATCGTGACCGATAA
CAATGGCGCCGTGAAATTTCCCCAGCTGTGCAAAATTCCTGC

GATGTGAGGTTTTTCCACCTGCGACAACCAGAAAGTCCTGTAT
TGAGCAACTGCTCCATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCA
GGAGGTGTGCGTGGCTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAAT
ATCACCCCTGGAAACCGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCT
ACCACGATTTTCATCCTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTG
CATCATGAAAGAGAAAAAGAAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTC
ATGTGCTCCTGCGAGCAGCGACGAATGCAACGACAATATCA
TCTTTAGCGAGGAATACAATACCAGCAACCCCGACATTAC
ATGCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACATCTGG
GTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTTATATCT
GTAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACCAAGCAGCCT
CACCGAGTGCCTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGGCTCAC
TGGACAACACCCCTCTTTAAAGTGCATCCGGCAGGGGCCAGG
ACAGGCACATGATCCGGATGAGGCGAGCTCATCGACATCGT
CGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCTGGTGCCCGAG
TTTTCTGCCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACCAACTGCGAGT
GGTCCGCTTCTCTCTGCTTTTCAGAAAGGCCCAAGCTGAAGTC
CGCCAACACCGGCAACAACGAGCGGATCATCAACGTGAGC
ATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCCACAACGCCG
GCAGGAGGCGAGAAGCACAGGCTGACCTGCCCCAGCTGTGA
CTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTTCCTGGAGAGG
TTCAAGTCCCTGCTGCGAAGATGATCCATCAGCACCTGT
CCTCCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCC（配列番号200）と少
なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくと
も86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、
少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99
%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0447】

例示的な多鎖キメラポリペプチドータイプN

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、TGF- β またはCD16に特異的に結合する。本明細書に記載のこれらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、追加の標的結合ドメインをさらに含む。本明細書に記載のこれらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインは、CD16（例えば、抗CD16 scFv）またはTGF- β （例えば、可溶性TGF- β 受容体、例えば、可溶性TGF β RII受容体）に特異的に結合する。

【0448】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0449】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインと一対の親和性ドメインの第1のドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の可溶性組織因子ドメインと一対の親和性ドメインの第1のドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

10

20

30

40

50

【0450】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内的一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0451】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチドのN末端またはC末端に1つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む。

10

【0452】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインと一对の親和性ドメインの第2のドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内的一对の親和性ドメインの第2のドメインと追加の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0453】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の第2の標的結合ドメインと追加の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

20

【0454】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれかであり得る。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインは、本明細書に記載の例示的な一对の親和性ドメインのうちのいずれかであり得る。

【0455】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインはTGF- β に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインはTGF- β またはCD16に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインは、可溶性TGF- β 受容体（例えば、可溶性TGF- β RII受容体、例えば、可溶性ヒトTGF- β RII受容体）である。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトTGF- β RIIは、第1の可溶性ヒトTGF- β RII配列および第2の可溶性ヒトTGF- β RII配列を含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトTGF- β RIIは、第1の可溶性ヒトTGF- β RII配列と第2の可溶性ヒトTGF- β RII配列との間に配置されたリンカーを含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、リンカーは、配列GGGGSGGGSGGGGS（配列番号7）を含む。

30

【0456】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の可溶性ヒトTGF- β RII受容体配列は、
 IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
 QKSCMSNCSITSIKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCCHD
 PKLPYHDFILEDAAAPKCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
 NDNIIIFSEELYNTSNPD（配列番号80）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく

40

50

とも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列を含む。

【0457】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の可溶性ヒト TGF β RII 受容体配列は、

I P P H V Q K S V N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N
Q K S C M S N C S I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D
P K L P Y H D F I L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C
N D N I I F S E E Y N T S N P D (配列番号 81) と少なくとも 80% 同一 (例えば、
少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88
% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なく
とも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一)
の配列を含む。

10

【0458】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の可溶性ヒト TGF β RII 受容体配列は、

A T C C C C C C C C A T G T G C A A A A G A G C G T G A A C A A C G A T A T G A
T C G T G A C C G A C A A C A A C G G C G C C G T G A A G T T T C C C C A G C T
C T G C A A G T T C T G C G A T G T C A G G T T C A G C A C C T G C G A T A A T
C A G A A G T C C T G C A T G T C C A A C T G C A G C A T C A C C T C C A T C T
G C G A G A A G C C C C A A G A A G T G T G C G T G G C C G T G T G G C G G A A
A A A T G A C G A G A A C A T C A C C C T G G A G A C C G T G T G T C A C G A C
C C C A A G C T C C C T T A T C A C G A C T T C A T T C T G G A G G A C G C T G
C C T C C C C C A A A T G C A T C A T G A A G G A G A A G A A G A A G C C C G G
A G A G A C C T T T C T T T A T G T G T T C C T G T A G C A G C G A C G A G T G T
A A C G A C A A C A T C A T C T T C A G C G A A G A G T A C A A C A C C A G C A
A C C C T G A T (配列番号 82) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82%
同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なく
とも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、
少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコ
ードされる。

20

30

【0459】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の可溶性ヒト TGF β RII 受容体配列は、

A T T C C T C C C C A C G T G C A G A A G A G C G T G A A T A A T G A C A T G A
T C G T G A C C G A T A A C A A T G G C G C C G T G A A A T T T C C C C A G C T
G T G C A A A T T C T G C G A T G T G A G G T T T T C C A C C T G C G A C A A C
C A G A A G T C C T G T A T G A G C A A C T G C T C C A T C A C C T C C A T C T
G T G A G A A G C C T C A G G A G G T G T G C G T G G C T G T C T G G C G G A A
G A A T G A C G A G A A T A T C A C C C T G G A A A C C G T C T G C C A C G A T
C C C A A G C T G C C C T A C C A C G A T T T C A T C C T G G A A G A C G C C G
C C A G C C C T A A G T G C A T C A T G A A A G A G A A A A G A A G C C T G G
C G A G A C C T T T T T C A T G T G C T C C T G C A G C A G C G A C G A A T G C
A A C G A C A A T A T C A T C T T T A G C G A G G A A T A C A A T A C C A G C A
A C C C C G A C (配列番号 83) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82%
同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なく
とも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、
少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコ
ードされる。

40

【0460】

50

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性 TGF- β 受容体は、

I P P H V Q K S V N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N
Q K S C M S N C S I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D
P K L P Y H D F I L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C
N D N I I F S E E Y N T S N P D G G G G S G G G G S G G G G S I P P H V Q K S V
N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N Q K S C M S N C S
I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D P K L P Y H D F I
L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C N D N I I F S E E
Y N T S N P D (配列番号 85) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同
一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくと
も 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少
なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 100% 同一) の配列を含む。

【0461】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性 TGF- β 受容体は、

A T C C C C C C C C A T G T G C A A A A G A G C G T G A A C A A C G A T A T G A
T C G T G A C C G A C A A C A A C G G C G C C G T G A A G T T T C C C C A G C T
C T G C A A G T T C T G C G A T G T C A G G T T C A G C A C C T G C G A T A A T
C A G A A G T C C T G C A T G T C C A A C T G C A G C A T C A C C T C C A T C T
G C G A G A A G C C C C A A G A A G T G T G C G T G G C C G T G T G G C G G A A
A A A T G A C G A G A A C A T C A C C C T G G A G A C C G T G T G T C A C G A C
C C C A A G C T C C C T T A T C A C G A C T T C A T T C T G G A G G A C G C T G
C C T C C C C C A A A T G C A T C A T G A A G G A G A A G A A G A A G C C C G G
A G A G A C C T T C T T T A T G T G T T C C T G T A G C A G C G A C G A G T G T
A A C G A C A A C A T C A T C T T C A G C G A A G A G T A C A A C A C C A G C A
A C C C T G A T G G A G G T G G C G G A T C C G G A G G T G G A G G T T C T G G
T G G A G G T G G G A G T A T T C C T C C C C A C G T G C A G A A G A G C G T G
A A T A A T G A C A T G A T C G T G A C C G A T A A C A A T G G C G C C G T G A
A A T T T C C C C A G C T G T G C A A A T T C T G C G A T G T G A G G T T T T C
C A C C T G C G A C A A C C A G A A G T C C T G T A T G A G C A A C T G C T C C
A T C A C C T C C A T C T G T G A G A A G C C T C A G G A G G T G T G C G T G G
C T G T C T G G C G G A A G A A T G A C G A G A A T A T C A C C C T G G A A A C
C G T C T G C C A C G A T C C C A A G C T G C C C T A C C A C G A T T T C A T C
C T G G A A G A C G C C G C C A G C C C T A A G T G C A T C A T G A A A G A G A
A A A A G A A G C C T G G C G A G A C C T T T T T C A T G T G C T C C T G C A G
C A G C G A C G A A T G C A A C G A C A A T A T C A T C T T T A G C G A G G A A
T A C A A T A C C A G C A A C C C C G A C (配列番号 84) と少なくとも 80% 同一
(例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少
なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同
一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一、または 10
0% 同一) の配列によってコードされる。

【0462】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインは、CD16に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメインは、抗CD16 scFvを含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、CD16に特異的に結合する scFv は、

S E L T Q D P A V S V A L G Q T V R I T C Q G D S L R S Y Y A S W Y Q Q K P G Q
A P V L V I Y G K N N R P S G I P D R F S G S S S G N T A S L T I T G A Q A E D
E A D Y Y C N S R D S S G N H V V F G G G T K L T V G H (配列番号 112) と少な

10

20

30

40

50

くとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む軽鎖可変ドメインを含む。

【0463】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、CD16に特異的に結合するscFvは、

TCCGAGCTGACCCAGGACCCTGCTGTGTCCGTGGCTCTGG
GCCAGACCGTGAGGATCACCTGCCAGGGCGACTCCCTGAG
GTCCTACTACGCCCTCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAG
GCTCCTGTGTCTGGTGATCTACGGCAAGAACACAGGCCCT
CCGGCATCCCTGACAGGTTCTCCGGATCCTCCTCCGGCAA
CACCGCCTCCCTGACCATCACAGGCGCTCAGGCCGAGGAC
GAGGCTGACTACTACTGCAACTCCAGGGACTCCTCCGGCA
ACCATGTGTGGTGTTCGGCGGGCGGCACCAAGCTGACCGTGGG
CCAT（配列番号113）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、
少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90
%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なく
とも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の軽鎖可変ドメイン配列
によってコードされる。

【0464】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、CD16に特異的に結合するscFvは、

EVQLVESGGGVVRRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVRQA
PGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNANKNSLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARGRSLLFDDYWGQGTLLVTVSR（配列
番号114）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84
%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なく
とも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一
、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【0465】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、CD16に特異的に結合するscFvは、

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGAGGAGGAGTGGTGAGGC
CTGGAGGCTCCCTGAGGCTGAGCTGTGCTGCCCTCCGGCTT
CACCTTCGACGACTACGGCATGTCTCTGGGTGAGGCAGGCT
CCTGGAAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGGCATCAACTGGA
ACGGCGGATCCACCGGCTACGCCGATTCCGTGAAGGGCAG
GTTACCATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACTCCCTGTAC
CTGCAGATGAACCTCCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGT
ACTACTGCGCCAGGGGCGAGGTCCCTGCTGTTCTGACTACTG
GGGACAGGGCACCCCTGGTGAACCGTGTCCAGG（配列番号115）
と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なく
とも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同
一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも
99%同一、または100%同一）の重鎖可変ドメイン配列によってコードされる。

【0466】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDFRFSSTCDN
QKSCMSNCSITSIKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCCHD

PKLPYHDFILEDAA SPK CIMKEKKKKPGETFFMCS SCSSDEC
NDNIIFSE EYNTSNPDGGGGSGGGGSGGGGSI PPHVQKSV
NNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFC DVRFSTCDNQKSCMSNCS
ITSICEKPQEV CVA VWRKNDENITLET VCHDPKLPYHDFI
LEDAASPKCIMKEKKKKPGETFFMCS SCSSDECNDNIIFSEE
YNTSNPD SGT TNTVAAYNL TWKSTNFKTILEWEPKPVNQV
YTVQISTKSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDV KQTYLA
RVFSYPAGNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTI
QSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIY
TLYYWKSSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVI
PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRENWVNVISDLKKIED
LIQSMHIDATLYTESDVHP SCKVTAMKCFLLLELQVISLES
GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEK
NIKEFLQS FVHIVQMFINTS（配列番号201）と少なくとも80%同一
（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少な
くとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同
一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または10
0%同一）の配列を含み得る。

【0467】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

ATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGTCAGGTT CAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCTGCA TGTCCA ACTG CAGCATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAAACATCACCCCTGGAGACCGTGTGTACGAC
CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTCA TTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAGAAGAAGCCCGG
AGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTCTGG
TGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACGTGCAGAAGAGCGTG
AATAATGACATGATCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGA
AATTTCCCCAGCTGTGCAAAATCTGCGATGTGAGGTTTTTC
CACCTGCGACAACCAGAAGTCTGTATGAGCAACTGCTCC
ATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGG
CTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAAC
CGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCTACCACGATTTATC
CTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTG CATCATGAAAGAGA
AAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTCATGTGCTCCTGCAG
CAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAA
TACAATAACAGCAACCCCGACAGCGGCACAACCAACACAG
TCGCTGCCCTATAACCTCACTTGGAAAGAGCACCAACTTCAA
AACCATCCTCGAATGGGAACCCAAACCCGTTAACCAGTT
TACACCGGTGCAGATCAGCACCAAGTCCGGCGACTGGAAGT
CCAAATGTTTTCTATACCACCGACACCGAGTGCGATCTCAC
CGATGAGATCGTGAAAGATGTGAAACAGACCTACCTCGCC
CGGGTGTTT TAGCTACCCCGCCGGCAATGTGGAGAGCACTG
GTTCCGCTGGCGAGCCTTTATACGAGAACAGCCCCGAATT
TACCCCTTACCTCGAGACCAATTTAGGACAGCCCCACCATC

10

20

30

40

50

CAAAGCTTTGAGCAAGTTGGCACAAAGGTGAATGTGACAG
TGGAGGACGAGCGGACTTTAGTGCGGCGGAACAACACCTT
TCTCAGCCTCCGGGATGTGTTTCGGCAAAGATTTAATCTAC
ACACTGTATTACTGGAAGTCCTCTTCCCTCCGGCAAGAAGA
CAGCTAAAACCAACACAAACGAGTTTTTTAATCGACGTGGA
TAAAGGCGAAAACTACTGTTTTCAGCGTGCAAGCTGTGATC
CCCTCCCGGACCGTGAAATAGGA AAAAGCACCGATAGCCCCG
TTGAGTGCATGGGCCAAGAAAAGGGCGAGTTCCGGGAGAA
CTGGGTGAACGTCAATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAGAT
TTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACACAG
AATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATGAA
ATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGAGC
GGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAGAATTTAATCA
TTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTGAC
AGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGAAG
AACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGTCC
AGATGTTTCATCAATACCTCC（配列番号202）と少なくとも80%同一
（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少な
くとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同
一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または10
0%同一）の配列によってコードされる。

【0468】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAV
KFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPKQEV CV
AVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAA SPKCIMKE
KKKPGETFFMCSSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDGGGSG
GGGSGGGGSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFC
DVRFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPKQEV CVAVWRKNDEN
ITLETVCHDPKLPYHDFILEDAA SPKCIMKEKKKPGETFF
MCSSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD SGTTNTVAAYNLTWK
STNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSKCFYTTDT
ECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE
NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVR
RNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEF
LIDVDKGENYCFSVQAVIPSR TVNRKSTDSPVECMGQEK
EFRENWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCK
VTAMKCFLLLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSS
NGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFIN TS（配
列番号203）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも8
4%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少な
くとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同
一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含み得る。

【0469】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCT
CCAGCGCCTACTCCATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGT
GAACAACGATATGATCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTG
AAGTTTCCCCAGCTCTGCAAGTTCTGCGATGTCAGGTTCA
GCACCTGCGATAATCAGAAGTCCCTGCATGTCCA ACTGCAG

CATCACCTCCATCTGCGAGAAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTG
GCCGTGTGGCGGAAAAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGA
CCGTGTGTCAACGACCCCAAGCTCCCTTATCACGACTTTCAT
TCTGGAGGACGCTGCCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAG
AAGAAGAAGCCCCGGAGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTA
GCAGCGACGAGTGTAACGACAACATCATCTTCAGCGAAGA
GTACAACACCAGCAACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGA
GGTGGAGGTTCTGGTGGAGGTGGGAGTATTCTCTCCCCACG
TGCAGAAGAGCGTGAAATAATGACATGATCGTGACCGATAA
CAATGGCGCCGTGAAATTTCCCCAGCTGTGCAAATTTCTGC
GATGTGAGGTTTTTCCACCTGCGACAACCAGAAGTCTCTGTA
TGAGCAACTGCTCCATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCA
GGAGGTGTGCGTGGCTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAAAT
ATCACCCCTGGAAACCGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCT
ACCACGATTTTCATCCTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTG
CATCATGAAAGAGAAAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTC
ATGTGCTCCTGCGAGCAGCGACGAATGCAACGACAATATCA
TCTTTAGCGAGGAATACAATACCAGCAACCCCGACAGCGG
CACAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTTGGAAAG
AGCACCAACTTCAAAACCATCCTCGAATGGGAACCCAAAC
CCGTTAACCAGTTTACACCGGTGCAGATCAGCACCAAGTC
CGGCGACTGGAAGTCCAAATGTTTTCTATACCACCGACACC
GAGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGTGAAAC
AGACCTACCTCGCCCCGGGTGTTTTAGCTACCCCGCCGGCAA
TGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTATACGAG
AACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAATTTAG
GACAGCCCCACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGCACAAA
GGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAGTGC GG
CGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTTTCGGCA
AAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCTCTTTC
CTCCGGCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACGAGTTT
TTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAAACTACTGTTTTAGCG
TGCAAGCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGAAATAGGAAAAAG
CACCGATAGCCCCGTTGAGTGCATGGGCCAAGAAAAAGGGC
GAGTTCCGGGGAGAACTGGGGTGAAACGTATCAGCGATTTA
AGAAGATCGAAAGATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGC
CACTTTATACACAGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAG
GTGACCGCCATGAAATGTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTA
TCTCTTTAGAGAGCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGT
GGAGAATTTAATCATTTTATAGCCAATAACTCTTTATCCAGC
AACGGCAACGTGACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGC GAAG
AGCTGGAGGAGAAAGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTT
TGTGCACATTGTCCAGATGTTTCATCAATACCTCC (配列番号 2
04) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、
少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、
少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なく
とも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコードされる。

【0470】

いくつかの実施形態では、第 2 のキメラポリペプチドは、
IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN

10

20

30

40

50

QKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCCHD
PKLPYHDFILEDAAASPCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSEYNTSNPDGGGGSGGGGSGGGGSIPPHVQKSV
NNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCS
ITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCCHDPKLPYHDFI
LEDAASPCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEE
YNTSNPDITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGF
KRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRSELTQDPA
VSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLIYG
KNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNS
RDSSGNHVVFGGGTKLTVGHGGGGSGGGGSGGGGGSEVQLV
ESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTTFDDYGMSWVRQAPGKGL
EWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNS
LRAEDTAVYYCARGRSLFLDYWGQGTLVTVSR（配列番号205）
と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含み得る。

【0471】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

ATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGTCCAGGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCCTGCATGTCCAACCTGCAGCATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAACAATCACCCCTGGAGACCGTGTGTACGAC
CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTCAATTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAGAAGAAGCCCGG
AGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTCTGG
TGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACGTGCAGAAGAGCGTG
AATAATGACATGATCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGA
AATTTCCCCAGCTGTGCAAAATTCCTGCGATGTGAGGTTTTC
CACCTGCGACAACCAGAAGTCCCTGTATGAGCAACTGCTCC
ATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGG
CTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAAC
CGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCTACCACGATTTTCATC
CTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTGATCATGAAAGAGA
AAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTCATGTGCTCCTGCAG
CAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAA
TACAATAACAGCAACCCCGACATTACATGCCCCCCCTCCCA
TGAGCGTGGAGCACGCCGACATCTGGGTGAAGAGCTATAG
CCTCTACAGCCGGGAGAGGTATATCTGTAAACAGCGGCTTC
AAGAGGAAGGCCGGCACCCAGCAGCCTCACCGAGGTGCGTGC
TGAATAAGGCTACCAACGTGGCTCACTGGACAACACCCTC
TTTAAAGTGATCCGGGTCCGAGCTGACCCAGGACCCTGCT
GTGTCCGTGGCTCTGGGCCAGACCGTGAGGATCACCTGCC
AGGGCGACTCCCTGAGGTCTACTACGCCTCCTGGGTACCA
GCAGAAGCCCCGGCCAGGCTCCTGTGCTGGTGATCTACGGC

10

20

30

40

50

AAGAACAAACAGGCCCTCCGGGCATCCCTGACAGGTTCTCCG
GATCCTCCTCCGGCAACACCGCCTCCCTGACCATCACAGG
CGCTCAGGCCGAGGACGAGGCTGACTACTACTGCAACTCC
AGGGACTCCTCCGGCAACCATGTGGTGTTCGGCGGGCGGCA
CCAAGCTGACCGTGCGGCCATGGCGGGCGGGCTCCGGAGG
CGGGCGGCAGCGGGCGGAGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGGTG
GAGTCCGGAGGAGGAGTGTTGAGGCTTGAGGCTCCCTGA
GGCTGAGCTGTGCTGCCTCCGGCTTCACTTTCGACGACTA
CGGCATGTCTCTGGGTGAGGCAAGGCTCCTGGAAAGGGCCTG
GAGTGGGTGTCCGGCATCAACTTGGAAACGGCGGATCCACCG
GCTACGCCGATTCCGTGAAGGGCAGGTTCAACCATCAGCAG
GGACAACGCCAAGA ACTCCCTGTACCTGCAGATGA ACTCC
CTGAGGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGG
GCAGGTCCCTGCTGTTTCGACTACTGGGGACAGGGCACCT
GGTGACCGTGTTCCAGG（配列番号206）と少なくとも80%同一（例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも8
8%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少な
くとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一
）の配列によってコードされる。

【0472】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAV
KFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPEVVCV
AVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAAASP KCIMKE
KKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDGGGSG
GGSGGGGSIIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFC
DVRFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPEVVCVAVWRKNDEN
ITLETVCHDPKLPYHDFILEDAAASP KCIMKEKKKPGETFF
MCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDITCPPPMSEHADIW
VKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAH
WTTPSLKCIRSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLSYY
ASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTAS
LTTITGAQAEDY YCNSRDSSGNHVVFGGGTKLTVGHGG
GGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVVRPGGSLRLSCAASGF
TFDDYGMWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGR
FTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRSL LFDYW
GQGT LVT VSR（配列番号207）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも
82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少
なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%
同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含
み得る。

【0473】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCT
CCAGCGCCTACTCCATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGT
GAACAACGATATGATCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTG
AAGTTTCCCCAGCTCTGCAAGTTCTGCGATGT CAGGTTCA
GCACCTGCGATAATCAGAAGTCTG CATGTCCA ACTGCAG
CATCACCTCCATCTGCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTG
GCCGTGTGGCGGAAAAATGACGAGAACATCACCTGGAGA

CCGTGTGTCAACGACCCCAAGCTCCCTTATCACGACTTTCAT
TCTGGAGGACGCTGCCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAG
AAGAAGAAGCCCCGGAGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTA
GCAGCGACGAGTGTAACGACAACATCATCTTCAGCGAAGA
GTACAACACCAAGCAACCCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGA
GGTGGAGGTTCTGGTGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACG
TGCAGAAGAGCGTGAAATAATGACATGATCGTGACCGATAA
CAATGGCGCCGTGAAATTTCCCCAGCTGTGCAAATTTCTGC
GATGTGAGGTTTTTCCACCTGCGACAACCAAGATCCTGTA
TGAGCAACTGCTCCATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCA
GGAGGTGTGCGTGGCTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAAT
ATCACCCCTGGAAACCGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCT
ACCACGATTTTCATCCTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTG
CATCATGAAAGAGAAAGAAAGAGCCTGGCGAGACCTTTTTC
ATGTGCTCCTGCGAGCAGCGACGAATGCAACGACAATATCA
TCTTTTAGCGAGGAATACAATACCAGCAACCCCGACATTAC
ATGCCCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACATCTGG
GTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTATATCT
GTAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACCAAGCAGCCT
CACCGAGTGCGTGTGAATAAGGCTACCAACGTGGCTCAC
TGGACAACACCCCTCTTTAAAGTGATCCGGTCCGAGCTGA
CCCAGGACCCCTGCTGTGTCCGTGGCTCTGGGCCAGACCGT
GAGGATCACCTGCCAGGGCGACTCCCTGAGGTCCTACTAC
GCCTCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCTCCTGTGC
TGGTGATCTACGGCAAGAACAAACAGGCCCTCCGGGCATCCC
TGACAGGTTCTCCGGATCCTCCTCCGGCAACACCGCCTCC
CTGACCATCACAGGCGCTCAGGCCGAGGACGAGGCTGACT
ACTACTGCAACTCCAGGGACTCCTCCGGCAACCATGTGGT
GTTCCGGCGGCGGCCAACCAAGCTGACCGTGGGCCATGGCGGC
GGCGGCTCCGGAGGCGGCGGCGAGCGGCGGAGGAGGATCCG
AGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGAGGAGGAGTGGTGAGGCC
TGGAGGCTCCCTGAGGCTGAGCTGTGCTGCCTCCGGCTTC
ACCTTCGACGACTACGGCATGTCTCTGGGTGAGGCAGGCTC
CTGGAAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGGCATCAACTGGAA
CGGCGGATCCACCGGCTACGCCGATTCCGTGAAGGGCAGG
TTCACCATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACTCCCTGTACC
TGCAGATGAACTCCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTA
CTACTGCGCCAGGGGCGAGGTCCCTGCTGTTCTGACTACTGG
GGACAGGGCACCCCTGGTGAACCGTGTCCAGG (配列番号208) と
少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なく
とも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一
、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも9
9%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0474】

例示的な多鎖キメラポリペプチドータイプO

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインおよび第2の標的結合ドメインは各々独立して、TGF- β またはCD137L受容体に特異的に結合する。本明細書に記載のこれらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、追加の標的結合ドメインをさらに含む。本明細書に記載のこれらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施

10

20

30

40

50

形態では、追加の標的結合ドメインは、 $TGF-\beta$ 受容体（例えば、可溶性 $TGF-\beta$ 受容体、例えば、可溶性 $TGF-\beta RII$ 受容体）または $CD137L$ 受容体に特異的に結合する。

【0475】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の第1の標的結合ドメインと可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0476】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインと一对の親和性ドメインの第1のドメインは、第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、第1のキメラポリペプチド内の可溶性組織因子ドメインと一对の親和性ドメインの第1のドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0477】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内的一对の親和性ドメインの第2のドメインと第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0478】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチドのN末端またはC末端に1つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む。

【0479】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインと一对の親和性ドメインの第2のドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内的一对の親和性ドメインの第2のドメインと追加の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0480】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、追加の標的結合ドメインと第2の標的結合ドメインは、第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、第2のキメラポリペプチド内の第2の標的結合ドメインと追加の標的結合ドメインとの間にリンカー配列（例えば、本明細書に記載の例示的なリンカーのうちのいずれか）をさらに含む。

【0481】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性組織因子ドメインは、本明細書に記載の例示的な可溶性組織因子ドメインのうちのいずれかであり得る。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、一对の親和性ドメインは、本明細書に記載の例示的な一对の親和性ドメインのうちのいずれかであり得る。

【0482】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインは $TGF-\beta$ に特異的に結合し、第2の標的結合ドメインは $CD137L$ に特異的に結合する。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の標的結合ドメインまたは追加の標的結合ドメインは、可溶性 $TGF-\beta$ 受容体（例えば、可溶性 TGF

10

20

30

40

50

β R I I 受容体、例えば、可溶性ヒト T G F β R I I 受容体) である。

【0483】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒト T G F R β R I I は、第1の可溶性ヒト T G F R β R I I 配列および第2の可溶性ヒト T G F R β R I I 配列を含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒト T G F R β R I I は、第1の可溶性ヒト T G F R β R I I 配列と第2の可溶性ヒト T G F R β R I I 配列との間に配置されたリンカーを含む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの例では、リンカーは、配列 G G G S G G G S G G G S (配列番号7) を含む。

【0484】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の可溶性ヒト T G F R β R I I 受容体配列は、

I P P H V Q K S V N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N
Q K S C M S N C S I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D
P K L P Y H D F I L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C
N D N I I F S E E Y N T S N P D (配列番号80) と少なくとも80%同一 (例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88
%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく
とも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)

の配列を含む。

【0485】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の可溶性ヒト T G F R β R I I 受容体配列は、

I P P H V Q K S V N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N
Q K S C M S N C S I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D
P K L P Y H D F I L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C
N D N I I F S E E Y N T S N P D (配列番号81) と少なくとも80%同一 (例えば、
少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88
%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なく
とも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一)

の配列を含む。

【0486】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第1の可溶性ヒト T G F R β R I I 受容体配列は、

A T C C C C C C C C A T G T G C A A A A G A G C G T G A A C A A C G A T A T G A
T C G T G A C C G A C A A C A A C G G C G C C G T G A A G T T T C C C C A G C T
C T G C A A G T T C T G C G A T G T C A G G T T C A G C A C C T G C G A T A A T
C A G A A G T C C T G C A T G T C C A A C T G C A G C A T C A C C T C C A T C T
G C G A G A A G C C C C A A G A A G T G T G C G T G G C C G T G T G G C G G A A
A A A T G A C G A G A A C A T C A C C C T G G A G A C C G T G T G T C A C G A C
C C C A A G C T C C C T T A T C A C G A C T T C A T T C T G G A G G A C G C T G
C C T C C C C C A A A T G C A T C A T G A A G G A G A A G A A G A A G C C C G G
A G A G A C C T T C T T T A T G T G T T C C T G T A G C A G C G A C G A G T G T
A A C G A C A A C A T C A T C T T C A G C G A A G A G T A C A A C A C C A G C A
A C C C T G A T (配列番号82) と少なくとも80%同一 (例えば、少なくとも82%
同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なく
とも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、
少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一) の配列によってコ
ードされる。

【0487】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の可溶性ヒトTGF β RRII受容体配列は、

ATTCTCCCCACGTGCAGAAAGAGCGTGAATAATGACATGATCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGAAATTTCCCCAGCTGTGCAAATTTCTGCGATGTGAGGTTTTTCCACCTGCGACAACAGAAAGTCTCTGTATGAGCAACTGCTCCATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGGCTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAACCGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCCTACCACGATTTTCATCCTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTGCAATCATGAAAGAGAAAAAGAACCTGGCGAGACCTTTTTTTCATGTGCTCCTGCGAGCAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAATACAATACCAGCAACCCCGAC（配列番号83）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列によってコードされる。

【0488】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性TGF β 受容体は、

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAAASPCKIMKEKKKPGETFFMCSSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDGGGGSGGGGSGGGGSIIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAAASPCKIMKEKKKPGETFFMCSSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD（配列番号85）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含む。

【0489】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性TGF β 受容体は、

ATCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAACAACGATATGATCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTTCCCCAGCTCTGCAAGTTTCTGCGATGTCCAACTGCGAGCATCACCTCCATCTCAGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAAAAATGACGAGAACAATCACCCCTGGAGACCGTGTGTTCACGACCCCAAGCTCCCTTATCACGACTTCAATTCTGGAGGACGCTGCCCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAGAAGAAGCCCGGAGAGACCTTCTTTATGTGTTCTGTAGCAGCGACGAGTGTAAACGACAACATCATCTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCAACCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTCTGGTGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACGTGCAGAAGAGCGTGAATAATGACATGATCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGAATTTCCCCAGCTGTGCAAAATTTCTGCGATGTGAGGTTTTTCCACCTGCGACAACCAGAAGTCTGTATGAGCAACTGCTCCATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGG

CTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAAC
CGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCTACCACGATTTTCATC
CTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTGATCATGAAAGAGA
AAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTCATGTGCTCCTGCGAG
CAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAA
TACAATACCAGCAACCCCGAC（配列番号84）と少なくとも80%同一
（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少な
くとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同
一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または10
0%同一）の配列によってコードされる。

【0490】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、第2の標的結合ドメイン
は、可溶性CD137Lタンパク質（例えば、可溶性ヒトCD137Lタンパク質）を含
む。これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトCD137
Lは、

REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWY
SDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELR
RVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASS
EARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ
GATVVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSE（配列番号157）と少なくとも8
0%同一（例えば、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なく
とも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同
一）の配列を含む。

【0491】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトCD137L
は、

CGCGAGGGTCCCGAGCTTTTCGCCCGACGATCCCGCCGGCC
TCTTGGACCTGCGGCAGGGCATGTTTTCGCGCAGCTGGTGGC
CCAAAATGTTCTGCTGATCGATGGGCCCTGAGCTGGTAC
AGTGACCCAGGCCTGGCAGGCGTGTCCTGACGGGGGGGCC
TGAGCTACAAAGAGGACACGAAGGAGCTGGTGGTGGCCAA
GGCTGGAGTCTACTATGTCTTCTTTCAACTAGAGCTGCGG
CGCGTGGTGGCCGGCGAGGGCTCAGGCTCCGTTTCACTTG
CGCTGCACCTGCAGCCACTGCGCTCTGCTGCTGGGGCCGC
CGCCCTGGCTTTTGACCGTGAGCCTGCCACCCGCCCTCCTCC
GAGGCTCGGAACCTCGGCCTTCGGTTTTCAGGGCCGCTTGC
TGACCTGAGTGCCGGCCAGCGCCTGGGCGTCCATCTTCA
CACTGAGGCCAGGGCACGCCATGCCTGGCAGCTTACCCAG
GGCGCCACAGTCTTGGGACTCTTCCGGGTGACCCCCGAAA
TCCCAGCCGGACTCCCTTTCACCGAGGTCGGAA（配列番号158）
と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも85%、少なくとも90%、少なく
とも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、
または100%同一）の配列によってコードされる。

【0492】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトCD137L
は、

DPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVS
LTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELR RVVAGEGSG
SVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGF
QGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVVLGLFR

10

20

30

40

50

V T P E I（配列番号159）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一）の配列を含む。

【0493】

これらの多鎖キメラポリペプチドのいくつかの実施形態では、可溶性ヒトCD137Lは、

G A T C C C G C C G G C C T C T T G G A C C T G C G G C A G G G C A T G T T T G
C G C A G C T G G T G G C C C A A A A T G T T C T G C T G A T C G A T G G G C C
C C T G A G C T G G T A C A G T G A C C C A G G C C T G G C A G G C G T G T C C
C T G A C G G G G G G C C T G A G C T A C A A A G A G G A C A C G A A G G A G C
T G G T G G T G G C C A A G G C T G G A G T C T A C T A T G T C T T C T T T C A
A C T A G A G C T G C G G C G C G T G G T G G C C G G C G A G G G C T C A G G C
T C C G T T T C A C T T G C G C T G C A C C T G C A G C C A C T G C G C T C T G
C T G C T G G G G C C G C C G C C C T G G C T T T G A C C G T G G A C C T G C C
A C C C G C C T C C T C C G A G G C T C G G A A C T C G G C C T T C G G T T T C
C A G G G C C G C T T G C T G C A C C T G A G T G C C G G C C A G C G C C T G G
G C G T C C A T C T T C A C A C T G A G G C C A G G G C A C G C C A T G C C T G
G C A G C T T A C C C A G G G C G C C A C A G T C T T G G G A C T C T T C C G G
G T G A C C C C C G A A A T C（配列番号160）と少なくとも80%同一（例えば、
少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一）の配列によって
コードされる。

【0494】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

I P P H V Q K S V N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N
Q K S C M S N C S I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D
P K L P Y H D F I L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C
N D N I I F S E E Y N T S N P D G G G G S G G G G S G G G G S I P P H V Q K S V
N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N Q K S C M S N C S
I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D P K L P Y H D F I
L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C N D N I I F S E E
Y N T S N P D S G T T N T V A A Y N L T W K S T N F K T I L E W E P K P V N Q V
Y T V Q I S T K S G D W K S K C F Y T T D T E C D L T D E I V K D V K Q T Y L A
R V F S Y P A G N V E S T G S A G E P L Y E N S P E F T P Y L E T N L G Q P T I
Q S F E Q V G T K V N V T V E D E R T L V R R N N T F L S L R D V F G K D L I Y
T L Y Y W K S S S S G K K T A K T N T N E F L I D V D K G E N Y C F S V Q A V I
P S R T V N R K S T D S P V E C M G Q E K G E F R E N W V N V I S D L K K I E D
L I Q S M H I D A T L Y T E S D V H P S C K V T A M K C F L L E L Q V I S L E S
G D A S I H D T V E N L I I L A N N S L S S N G N V T E S G C K E C E E L E E K
N I K E F L Q S F V H I V Q M F I N T S（配列番号209）と少なくとも80%同一
（例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少な
くとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同
一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または10
0%同一）の配列を含み得る。

【0495】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

A T C C C C C C C C A T G T G C A A A A G A G C G T G A A C A A C G A T A T G A
T C G T G A C C G A C A A C A A C G G C G C C G T G A A G T T T C C C C A G C T
C T G C A A G T T C T G C G A T G T C A G G T T C A G C A C C T G C G A T A A T
C A G A A G T C C T G C A T G T C C A A C T G C A G C A T C A C C T C C A T C T

GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
 AAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGACCGTGTGTACGAC
 CCCAAGCTCCCTTATCAGACTTCAATTCTGGAGGACGCTG
 CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAGAAGAAGCCCCGG
 AGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
 AACGACAACATCATCTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
 ACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTTCTGG
 TGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACGTGCAGAAGAGCGTG
 AATAATGACATGATCGTGAACCGATAACAATGGCGCCCGTGA
 AATTTCCCCAGCTGTGCAAATTTCTGCGATGTGAGGTTTTTC
 CACCTGCGACAACCAGAAGTCCCTGTATGAGCAACTGCTCC
 ATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGG
 CTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAAC
 CGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCTACCACGATTTTCATC
 CTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTGATCATGAAAGAGA
 AAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTTCATGTGCTCCTGCAG
 CAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAA
 TACAATAACCAGCAACCCCGACAGCGGCACAACCAACACAG
 TCGCTGCCCTATAACCTCACTTTGGAAGAGCACCAACTTCAA
 AACCATCCTCGAATGGGAACCCAAACCCGTTAAACCAAGTT
 TACACCGGTGCAGATCAGCACCAAGTCCGGCGACTGGAAGT
 CCAAATGTTTTCTATACCACCGACACCGAGTGCGATCTCAC
 CGATGAGATCGTGAAAGATGTGAAACAGACCTACCTCGCC
 CGGGTGTTTTAGCTACCCCGCCGGCAATGTGGAGAGCACTG
 GTTCCGCTGGCGAGCCTTTATACGAGAACAGCCCCGAATT
 TACCCCTTACCTCGAGACCAATTTAGGACAGCCCCACCATC
 CAAAGCTTTGAGCAAGTTGGCACAAAGGTGAATGTGACAG
 TGGAGGACGAGCGGACTTTAGTGCGGCGGAACAACACCTT
 TCTCAGCCTCCGGGATGTGTTCTGGCAAAGATTTAATCTAC
 ACACTGTATTACTGGAAGTCCCTCTTCTCCGGCAAGAAGA
 CAGCTAAACCAACACAAACGAGTTTTTTAATCGACGTGGA
 TAAAGGCGAAAACCTACTGTTTTAGCGGTGCAAGCTGTGATC
 CCTCCCGGACCGGTGAATAGGA AAAAGCACCGATAGCCCCG
 TTGAGTGCATGGGCCAAGAAAAGGGCGAGTTCCGGGAGAA
 CTGGGGTGAAACGTATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAGAT
 TTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACACAG
 AATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATGAA
 ATGTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGAGC
 GGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAGAATTTAATCA
 TTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTGAC
 AGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGAAAG
 AACATCAAGGAGTTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGTCC
 AGATGTTTCATCAATACCTCC（配列番号210）と少なくとも80%同一
 （例えば、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少な
 くとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同
 一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または10
 0%同一）の配列によってコードされる。

【0496】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、
 MKWVTFISLLFLFSAYSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAV

10

20

30

40

50

KFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPKQEV CV
AVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAAASPKCIMKE
KKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSE EYNTSNPDGGGSG
GGGSGGGGSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFC
DVRFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPKQEV CVAVWRKNDEN
ITLETVCHDPKLPYHDFILEDAAASPKCIMKEKKKPGETFF
MCSCSSDECNDNIIFSE EYNTSNPD SGTTNTVAAYNLTWK
STNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSKCFYTTDT
ECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE
NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVR
RNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEF
LIDVDKGENYCFSVQAVIPSR TVNRKSTDSPVECMGQEK
EFRENWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSC
VTAMKCFLLLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLS
NGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFIN TS (配
列番号211)と少なくとも80%同一(例えば、少なくとも82%同一、少なくとも8
4%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少な
くとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同一、少なくとも98%同
一、少なくとも99%同一、または100%同一)の配列を含み得る。

【0497】

いくつかの実施形態では、第1のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTGTTCT
CCAGCGCCTACTCCATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGT
GAACAACGATATGATCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTG
AAGTTTCCCCAGCTCTGCAAGTTCTGCGATGTCAGGTTCA
GCACCTGCGATAATCAGAAGTCCTGCATGTCCAACCTGCAG
CATCACCTCCATCTGCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTG
GCCGTGTGGCGGAAAAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGA
CCGTGTGTCAACGACCCCAAGCTCCCTTATCACGACTTTCAT
TCTGGAGGACGCTGCCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAG
AAGAAGAAGCCCGGAGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTA
GCAGCGACGAGTGTAACGACAACATCATCTTTCAGCGAAGA
GTACAACACCAGCAACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGA
GGTGGAGGTTCTGGTGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACG
TGCAGAAGAGCGTGATAATAATGACATGATCGTGACCGATAA
CAATGGCGCCGTGA AATTTCCCCAGCTGTGCA AATTCCTGC
GATGTGAGGTTTTCCACCTGCGACAACCAGAAAGTCCTGTA
TGAGCAACTGCTCCATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCA
GGAGGTGTGCGTGGCTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAAT
ATCACCCCTGGAAACCGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCT
ACCACGATTTTCATCCTGGAAGACGCCCGCCAGCCCTAAGTG
CATCATGAAAGAGAAAAAGAAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTC
ATGTGCTCCTGCAGCAGCGACGAATGCAACGACAATATCA
TCTTTAGCGAGGAATACAATACCAGCAACCCCGACAGCGG
CACAAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTTGGAAG
AGCACCAACTTCAAAACCATCCTCGAATGGGAACCCAAAC
CCGTTAAACCAAGTTTACACCGTGCAGATCAGCACCAAGTC
CGGCGACTGGAAGTCCAAATGTTTTCTATACCACCGACACC
GAGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGTGAAAC
AGACCTACCTCGCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGCCGGCAA

TGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTATACGAG
AACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAATTTAG
GACAGCCCACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGCACAAA
GGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAGTGC GG
CGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTTTCGGCA
AAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCCTCTTC
CTCCGGCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACGAGTTT
TTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAAACCTACTGTTTTCAGCG
TGCAAGCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGAAATAGGAAAAG
CACCGATAGCCCCGTTGAGTGCATGGGCCAAGAAAAGGGC
GAGTTCCGGGGAGAACTGGGGTGAACGTCATCAGCGATT TAA
AGAAGATCGAAGATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGC
CACTTTATACACAGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAG
GTGACCGCCCATGAAATGTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTA
TCTCTTTTAGAGAGCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGT
GGAGAATTTAATCATTTT TAGCCAATAACTCTTTATCCAGC
AACGGCAACGTGACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGC GAAG
AGCTGGAGGAGAGAAGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTT
TGTGCACATTGTCCAGATGTTTCATCAATACCTCC (配列番号 2
12) と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、
少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、
少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なく
とも 99% 同一、または 100% 同一) の配列によってコードされる。

【0498】

いくつかの実施形態では、第 2 のキメラポリペプチドは、

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSICEKPQEV CVAVWRKNDENITLETVCHD
PKLPYHDFILED AASP KCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSE EYNTSNPDGGGGSGGGGSGGGGSIIPPHVQKSV
NNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCS
ITSICEKPQEV CVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFI
LED AASP KCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEE
YNTSNPDITC PPM SVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGF
KRKAGTSSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRGGGGSGGG
GSGGGGSGREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLI
DGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYV
FFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTV
DLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARAR
HAWQLTQGATV LGLFRVTPEIPAGLPSPRSE (配列番号 213)
と少なくとも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少な
くとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同
一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なく
とも 99% 同一、または 100% 同一) の配列を含み得る。

【0499】

いくつかの実施形態では、第 2 のキメラポリペプチドは、

ATCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGTCAGGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCTGCATGTCCAACCTGCAGCATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCCGTGTGGCGGAA

AAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGACCGTGTGTACGAC
CCCAAGCTCCCTTATCAGACTTCAATTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAAGAAAGAGCCCGG
AGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTCAGCGAAGAGTACAACACCAAGCA
ACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTCTCTGG
TGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACGTGCAGAAAGAGCGTG
AATAATGACATGATCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGA
AATTTCCCCAGCTGTGCAAAATTCCTGCGATGTGAGGTTTTC
CACCTGCGACAACCAAGTCTCTGTATGAGCAACTGCTCC
ATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGG
CTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAAC
CGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCTACCACGATTTTCATC
CTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTGCAATCATGAAAGAGA
AAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTCATGTGCTCCTGCAG
CAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAA
TACAATACCAGCAACCCCGACATTACATGCCCCCTCCCA
TGAGCGTGGAGCACGCCGACATCTGGGTGAAGAGCTATAG
CCTCTACAGCCGGGAGAGGTATATCTGTAAACAGCGGCTTC
AAGAGGAAGGCCGGCACAGCAGCCTCACCGAGTGCCTGC
TGAATAAGGCTACCAACGTGGCTCACTGGACAACACCCTC
TTTAAAGTGCAATCCGGGGCGGTGGAGGATCCGGAGGAGGT
GGCTCCGGCGGGCGGAGGATCTCGCGAGGGTCCCGAGCTTT
CGCCCGACGATCCCGCCGGCCTCTTGGAACCTGCGGGCAGGG
CATGTTTTCGCGCAGCTGGTGGCCCAAATGTTCTGCTGATC
GATGGGGCCCCCTGAGCTGGTACAGTGACCCAGGCCTGGCAG
GCGTGTCCCTGACGGGGGGCCTGAGCTACAAAGAGGACAC
GAAGGAGCTGGTGGTGGCCAAAGGCTGGAGTCTACTATGTC
TTCTTTCAACTAGAGCTGCGGGCGCGTGGTGGCCGGCGAGG
GCTCAGGCTCCGTTTCACTTGCGCTGCACCTGCAGCCACT
GCGCTCTGCTGCTGGGGCCGCCGCCCTGGCTTTTGACCGTG
GACCTGCCACCCGCCCTCCTCCGAGGCTCGGAACCTCGGCCT
TCGGTTTCCAGGGGCCGCTTGCTGCACCTGAGTGCCGGCCA
GCGCCTGGGGCGTCCATCTTCACACTGAGGCCAGGGCACGC
CATGCCTGGCAGCTTACCCAGGGCGCCACAGTCTTGGGAC
TCTTCCGGGTGACCCCGAAATCCCAAGCCGGACTCCCTTC
ACCGAGGTCGGAA（配列番号214）と少なくとも80%同一（例えば、少な
くとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同
一、少なくとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも
96%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配
列によってコードされる。

【0500】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

MKWVTFISLLFLFSSAYSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAV
KFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPKQEV
AVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAA
SPKCIMKEKKKPGETFFMCSSSDECNDNIIFSEEYNT
SNPDGGGGSGGGSGGGGSIPPHVQKSVNNDMIVTDN
NGAVKFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSICE
KPKQEVCAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILED
AA

10

20

30

40

50

MCSCSSDECNDNIIFSEEEYNTSNPDITCPPPMMSVEHADIW
VKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAH
WTTPSLKCI RGGGGSGGGGSGGGGSGREGPELSPDDPAGLL
DLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLS
YKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLAL
HLQPLRSAAGAAALALTVDLPASSEARNSAFGFQGRLLH
LSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEIP
AGLPSPRSE（配列番号215）と少なくとも80%同一（例えば、少なくとも8
2%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少な
くとも90%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも96%同
一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、または100%同一）の配列を含み
得る。

10

【0501】

いくつかの実施形態では、第2のキメラポリペプチドは、

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTCT
CCAGCGCCTACTCCATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGT
GAACAACGATATGATCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTG
AAGTTTCCCCAGCTCTGCAAGTTCTGCGATGTCAGGTTCA
GCACCTGCGATAATCAGAAGTCCCTGCATGTCCAACCTGCAG
CATCACCTCCATCTGCGAGAAAGCCCCAAGAAGTGTCGTG
GCCGTGTGGCGGAAAAATGACGAGAACATCACCTTGGAGA
CCGTGTGTACGACCCCAAGCTCCCTTATCACGACTTTCAT
TCTGGAGGACGCTGCCCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAG
AAGAAGAAGCCCCGGAGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTA
GCAGCGACGAGTGTAACGACAACATCATCTTCAGCGAAGA
GTACAACACCAGCAACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGA
GGTGGAGGTTCTGGTGGAGGTGGGAGTATTCTCTCCCCACG
TGCAGAAGAGCGTGAAATAATGACATGATCGTGACCGATAA
CAATGGCGCCCGTGAAATTTCCCCAGCTGTGCAAATTTCTGC
GATGTGAGGTTTTTCCACCTGCGACAACCAGAAGTCTGTGA
TGAGCAACTGCTCCATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCA
GGAGGTGTGCGTGGCTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAAT
ATCACCTTGGAAACCGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCT
ACCACGATTTTCATCCTGGAAGACGCCCGCCAGCCCTAAGTG
CATCATGAAAGAGAAAAAGAAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTC
ATGTGCTCCTGCGAGCAGCGACGAATGCAACGACAATATCA
TCTTTAGCGAGGAATACAATACCAGCAACCCCGACATTAC
ATGCCCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACATCTGG
GTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTATATCT
GTAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACCAAGCAGCCT
CACCGAGTGCGTGTGAATAAGGCTACCAACGTGGCTCAC
TGGACAACACCCTCTTTAAAGTGATCCGGGGGCGGTGGAG
GATCCGGAGGAGGTGGCTCCGGCGGGCGGAGGATCTCGCGA
GGGTCCCGAGCTTTTCGCCCGACGATCCCGCCGGCCTCTTG
GACCTGCGGCGAGGGCATGTTTTCGCGCAGCTGGTGGCCCAA
ATGTTCTGCTGATCGATGGGCCCTGAGCTGGTACAGTGA
CCCAGGCCTGGCAGGCGTGTCCTTGACGGGGGGCCTGAGC
TACAAAGAGGACACGAAGGAGCTGGTGGTGGCCAAGGCTG
GAGTCTACTATGTCTTCTTTCAACTAGAGCTGCGGCGCGT
GGTGGCCGGCGAGGGCTCAGGCTCCGTTTCACTTGCGCTG

20

30

40

50

C A C C T G C A G C C A C T G C G C T C T G C T G C T G G G G C C G C C G C C C
T G G C T T T G A C C G T G G A C C T G C C A C C C G C C T C C T C C G A G G C
T C G G A A C T C G G C C T T C G G T T T C C A G G G C C G C T T G C T G C A C
C T G A G T G C C G G C C A G C G C C T G G G C G T C C A T C T T C A C A C T G
A G G C C A G G G C A C G C C A T G C C T G G C A G C T T A C C C A G G G C G C
C A C A G T C T T G G G A C T C T T C C G G G T G A C C C C C G A A A T C C C A
G C C G G A C T C C C T T C A C C G A G G T C G G A A (配列番号 216) と少なく
とも 80% 同一 (例えば、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 92% 同一、少なく
とも 94% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同
一、または 100% 同一) の配列によってコードされる。

10

【0502】

組成物／キット

本明細書に記載のいずれかの多鎖キメラポリペプチドのうちの少なくとも 1 つ、細胞のうちのいずれか、または核酸のうちのいずれかを含む組成物 (例えば、医薬組成物) も本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、組成物は、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかの少なくとも 1 つを含む。いくつかの実施形態では、組成物は、免疫細胞のうちのいずれか (例えば、本明細書に記載の免疫細胞のうちのいずれか、例えば、本明細書に記載の方法のうちのいずれかを使用して産生された免疫細胞のうちのいずれか) を含む。

20

【0503】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、異なる投与経路 (例えば、静脈内、皮下) 用に製剤化される。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、医薬的に許容される担体 (例えば、リン酸緩衝生理食塩水) を含み得る。

【0504】

医薬組成物の単回または複数回投与は、例えば、対象によって必要とされ、かつ許容される投薬量および頻度に応じて、それを必要とする対象に与えられ得る。製剤は、状態、疾患、または症状を効果的に治療、予防、または改善するのに十分な量の活性薬剤を提供すべきである。

【0505】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチド、組成物、核酸、または細胞 (例えば、免疫細胞) のうちのいずれかを含むキットも本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、キットは、本明細書に記載の方法のうちのいずれかを行うための指示を含み得る。いくつかの実施形態では、キットは、本明細書に記載の医薬組成物のうちのいずれかの少なくとも 1 用量を含み得る。

30

【0506】

核酸／ベクター

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかをコードする核酸も本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、第 1 の核酸は、第 1 のキメラポリペプチドをコードすることができ、第 2 の核酸は、第 2 のキメラポリペプチドをコードすることができる。いくつかの実施形態では、単一核酸は、第 1 のキメラポリペプチドおよび第 2 のキメラポリペプチドの両方をコードすることができる。

40

【0507】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかをコードする核酸のうちのいずれかを含むベクターも本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、第 1 のベクターは、第 1 のキメラポリペプチドをコードする核酸を含み得、第 2 のベクターは、第 2 のキメラポリペプチドをコードする核酸を含み得る。いくつかの実施形態では、単一ベクターは、第 1 のキメラポリペプチドをコードする第 1 の核酸および第 2 のキメラポリペプチドをコードする第 2 の核酸を含み得る。

【0508】

50

【 0 5 0 9 】

10

【 0 5 1 0 】

20

【 0 5 1 1 】

30

【 0 5 1 2 】

40

【 0 5 1 3 】

50

ョン、カチオン性ポリマートランスフェクション、細胞圧搾、ソノポレーション、光学トランスフェクション、インパレフェクション、流体力学的送達、マグネトフェクション、ウイルス形質導入（例えば、アデノウイルスおよびレンチウイルス形質導入）、およびナノ粒子トランスフェクションが挙げられる。

【0514】

多鎖キメラポリペプチドを産生する方法

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかを産生する方法であって、多鎖キメラポリペプチドの産生をもたらすのに十分な条件下で本明細書に記載の細胞のうちのいずれかを培養培地中で培養すること、ならびに多鎖キメラポリペプチドを細胞および／または培養培地から回収することを含む方法も、本明細書に提供される。

10

【0515】

本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかを産生する方法であって、第1のキメラポリペプチドの産生をもたらすのに十分な条件下で本明細書に記載の細胞のうちのいずれかを第1の培養培地中で培養すること、第1のキメラポリペプチドを細胞および／または第1の培養培地から回収すること、第2のキメラポリペプチドの産生をもたらすのに十分な条件下で本明細書に記載の細胞のうちのいずれかを第2の培養培地中で培養すること、第2のキメラポリペプチドを細胞および／または第2の培養培地から回収すること、ならびに、回収された第1のキメラポリペプチドと回収された第2のキメラポリペプチドを組み合わせ（例えば、混合して）、多鎖キメラポリペプチド（例えば、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれか）を形成することを含む方法も、本明細書に提供される。

20

【0516】

細胞（例えば、真核生物細胞）からの多鎖キメラポリペプチド、第1のキメラポリペプチド、または第2のキメラポリペプチドの回収は、当該技術分野で周知の技法（例えば、硫酸アンモニウム沈殿、ポリエチレングリコール沈殿、イオン交換クロマトグラフィー（アニオンまたはカチオン）、疎水性相互作用に基づくクロマトグラフィー、金属親和性クロマトグラフィー、リガンド親和性クロマトグラフィー、およびサイズ排除クロマトグラフィー）を使用して行われ得る。

【0517】

細胞を培養する方法は、当該技術分野で周知である。細胞は、増殖、分化、および成長を好む条件下で、インビトロで維持され得る。簡潔には、細胞は、細胞（例えば、任意の細胞）を、細胞の生存および成長を支持するために必要な成長因子および栄養補助剤を含む細胞培養培地と接触させることによって培養され得る。

30

【0518】

本明細書に記載の方法のうちのいずれかによって産生された多鎖キメラポリペプチド（例えば、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれか）、第1のキメラポリペプチド（例えば、第1のキメラポリペプチドのうちのいずれか）、または第2のキメラポリペプチド（例えば、本明細書に記載の第2のキメラポリペプチドのうちのいずれか）も本明細書に提供される。

【0519】

免疫細胞を刺激する方法

免疫細胞（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な免疫細胞のうちのいずれか）を刺激する方法であって、免疫細胞を、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは本明細書に記載の組成物（例えば、医薬組成物）のうちのいずれかの有効量と接触させることを含む、方法も本明細書に提供される。いくつかの例では、免疫細胞は、インビトロで（例えば、免疫細胞の刺激をもたらすのに十分な条件下で、好適な液体培地中で）接触する。

40

【0520】

いくつかの例では、免疫細胞は、対象（例えば、哺乳動物、例えば、ヒト）から以前に得られた。これらの方法のいくつかの実施形態は、接触させるステップの前に、免疫細胞

50

を対象から得ることをさらに含む。

【0521】

いくつかの例では、免疫細胞をインビボで接触させる。かかる実施形態では、多鎖キメラポリペプチドは、対象（例えば、哺乳動物、例えば、ヒト）に、対象における免疫細胞の刺激をもたらすのに十分な量で投与される。

【0522】

本明細書に記載の方法のうちのいずれかのいくつかの例では、免疫細胞は、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブT細胞、多能性Th細胞前駆体、リンパ前駆細胞、Treg細胞、メモリーT細胞、Th17細胞、Th22細胞、Th9細胞、Th2細胞、Th1細胞、Th3細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、 $\alpha\beta$ T細胞、腫瘍浸潤T細胞、CD8⁺ T細胞、CD4⁺ T細胞、ナチュラルキラーT細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、またはナチュラルキラー細胞、またはそれらの組み合わせであり得る。

10

【0523】

いくつかの例では、免疫細胞は、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている。いくつかの例では、免疫細胞（例えば、本明細書に記載の免疫細胞のうちのいずれか）は、共刺激分子（例えば、CD28）を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている。

【0524】

これらの方法のいくつかの実施形態は、接触させるステップの後に、免疫細胞（例えば、本明細書に記載の免疫細胞のうちのいずれか）に、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含み得る。これらの方法のいくつかの実施形態は、接触させるステップの後に、免疫細胞（例えば、本明細書に記載の免疫細胞のうちのいずれか）に、共刺激分子（例えば、CD28）をコードする核酸を導入することをさらに含み得る。

20

【0525】

これらの方法のいくつかの実施形態は、免疫細胞の治療有効量を、それを必要とする対象（例えば、本明細書に記載の例示的な対象のうちのいずれか）に投与することをさらに含み得る。

【0526】

いくつかの例では、対象は、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断された対象であり得る。加齢関連疾患または障害の非限定的な例には、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、膵炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害が挙げられる。

30

【0527】

いくつかの例では、対象は、がんを有すると特定または診断された対象であり得る。がんの非限定的な例には、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病（CML）、急性リンパ性白血病（ALL）、骨髄異形成症候群（MDS）、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌が挙げられる。

40

【0528】

50

【 0 5 2 9 】

50

0 %、約 1 5 %～約 6 5 0 %、約 1 5 %～約 6 0 0 %、約 1 5 %～約 5 5 0 %、約 1 5 %
～約 5 0 0 %、約 1 5 %～約 4 5 0 %、約 1 5 %～約 4 0 0 %、約 1 5 %～約 3 5 0 %、
約 1 5 %～約 3 0 0 %、約 1 5 %～約 2 8 0 %、約 1 5 %～約 2 6 0 %、約 1 5 %～約 2
4 0 %、約 1 5 %～約 2 2 0 %、約 1 5 %～約 2 0 0 %、約 1 5 %～約 1 8 0 %、約 1 5
%～約 1 6 0 %、約 1 5 %～約 1 4 0 %、約 1 5 %～約 1 2 0 %、約 1 5 %～約 1 0 0 %
、約 1 5 %～約 9 0 %、約 1 5 %～約 8 0 %、約 1 5 %～約 7 0 %、約 1 5 %～約 6 0 %
、約 1 5 %～約 5 0 %、約 1 5 %～約 4 5 %、約 1 5 %～約 4 0 %、約 1 5 %～約 3 5 %
、約 1 5 %～約 3 0 %、約 1 5 %～約 2 5 %、約 1 5 %～約 2 0 %、約 2 0 %～約 8 0 0
%、約 2 0 %～約 7 5 0 %、約 2 0 %～約 7 0 0 %、約 2 0 %～約 6 5 0 %、約 2 0 %～
約 6 0 0 %、約 2 0 %～約 5 5 0 %、約 2 0 %～約 5 0 0 %、約 2 0 %～約 4 5 0 %、約
2 0 %～約 4 0 0 %、約 2 0 %～約 3 5 0 %、約 2 0 %～約 3 0 0 %、約 2 0 %～約 2 8
0 %、約 2 0 %～約 2 6 0 %、約 2 0 %～約 2 4 0 %、約 2 0 %～約 2 2 0 %、約 2 0 %
～約 2 0 0 %、約 2 0 %～約 1 8 0 %、約 2 0 %～約 1 6 0 %、約 2 0 %～約 1 4 0 %、
約 2 0 %～約 1 2 0 %、約 2 0 %～約 1 0 0 %、約 2 0 %～約 9 0 %、約 2 0 %～約 8 0
%、約 2 0 %～約 7 0 %、約 2 0 %～約 6 0 %、約 2 0 %～約 5 0 %、約 2 0 %～約 4 5
%、約 2 0 %～約 4 0 %、約 2 0 %～約 3 5 %、約 2 0 %～約 3 0 %、約 2 0 %～約 2 5
%、約 2 5 %～約 8 0 0 %、約 2 5 %～約 7 5 0 %、約 2 5 %～約 7 0 0 %、約 2 5 %～
約 6 5 0 %、約 2 5 %～約 6 0 0 %、約 2 5 %～約 5 5 0 %、約 2 5 %～約 5 0 0 %、約
2 5 %～約 4 5 0 %、約 2 5 %～約 4 0 0 %、約 2 5 %～約 3 5 0 %、約 2 5 %～約 3 0
0 %、約 2 5 %～約 2 8 0 %、約 2 5 %～約 2 6 0 %、約 2 5 %～約 2 4 0 %、約 2 5 %
～約 2 2 0 %、約 2 5 %～約 2 0 0 %、約 2 5 %～約 1 8 0 %、約 2 5 %～約 1 6 0 %、
約 2 5 %～約 1 4 0 %、約 2 5 %～約 1 2 0 %、約 2 5 %～約 1 0 0 %、約 2 5 %～約 9
0 %、約 2 5 %～約 8 0 %、約 2 5 %～約 7 0 %、約 2 5 %～約 6 0 %、約 2 5 %～約 5
0 %、約 2 5 %～約 4 5 %、約 2 5 %～約 4 0 %、約 2 5 %～約 3 5 %、約 3 5 %～約 8
0 0 %、約 3 5 %～約 7 5 0 %、約 3 5 %～約 7 0 0 %、約 3 5 %～約 6 5 0 %、約 3 5
%～約 6 0 0 %、約 3 5 %～約 5 5 0 %、約 3 5 %～約 5 0 0 %、約 3 5 %～約 4 5 0 %
、約 3 5 %～約 4 0 0 %、約 3 5 %～約 3 5 0 %、約 3 5 %～約 3 0 0 %、約 3 5 %～約
2 8 0 %、約 3 5 %～約 2 6 0 %、約 3 5 %～約 2 4 0 %、約 3 5 %～約 2 2 0 %、約 3
5 %～約 2 0 0 %、約 3 5 %～約 1 8 0 %、約 3 5 %～約 1 6 0 %、約 3 5 %～約 1 4 0
%、約 3 5 %～約 1 2 0 %、約 3 5 %～約 1 0 0 %、約 3 5 %～約 9 0 %、約 3 5 %～約
8 0 %、約 3 5 %～約 7 0 %、約 3 5 %～約 6 0 %、約 3 5 %～約 5 0 %、約 3 5 %～約
4 5 %、約 3 5 %～約 4 0 %、約 4 0 %～約 8 0 0 %、約 4 0 %～約 7 5 0 %、約 4 0 %
～約 7 0 0 %、約 4 0 %～約 6 5 0 %、約 4 0 %～約 6 0 0 %、約 4 0 %～約 5 5 0 %、
約 4 0 %～約 5 0 0 %、約 4 0 %～約 4 5 0 %、約 4 0 %～約 4 0 0 %、約 4 0 %～約 3
5 0 %、約 4 0 %～約 3 0 0 %、約 4 0 %～約 2 8 0 %、約 4 0 %～約 2 6 0 %、約 4 0
%～約 2 4 0 %、約 4 0 %～約 2 2 0 %、約 4 0 %～約 2 0 0 %、約 4 0 %～約 1 8 0 %
、約 4 0 %～約 1 6 0 %、約 4 0 %～約 1 4 0 %、約 4 0 %～約 1 2 0 %、約 4 0 %～約
1 0 0 %、約 4 0 %～約 9 0 %、約 4 0 %～約 8 0 %、約 4 0 %～約 7 0 %、約 4 0 %～
約 6 0 %、約 4 0 %～約 5 0 %、約 4 0 %～約 4 5 %、約 4 5 %～約 8 0 0 %、約 4 5 %
～約 7 5 0 %、約 4 5 %～約 7 0 0 %、約 4 5 %～約 6 5 0 %、約 4 5 %～約 6 0 0 %、
約 4 5 %～約 5 5 0 %、約 4 5 %～約 5 0 0 %、約 4 5 %～約 4 5 0 %、約 4 5 %～約 4
0 0 %、約 4 5 %～約 3 5 0 %、約 4 5 %～約 3 0 0 %、約 4 5 %～約 2 8 0 %、約 4 5
%～約 2 6 0 %、約 4 5 %～約 2 4 0 %、約 4 5 %～約 2 2 0 %、約 4 5 %～約 2 0 0 %
、約 4 5 %～約 1 8 0 %、約 4 5 %～約 1 6 0 %、約 4 5 %～約 1 4 0 %、約 4 5 %～約
1 2 0 %、約 4 5 %～約 1 0 0 %、約 4 5 %～約 9 0 %、約 4 5 %～約 8 0 %、約 4 5 %
～約 7 0 %、約 4 5 %～約 6 0 %、約 4 5 %～約 5 0 %、約 5 0 %～約 8 0 0 %、約 5 0
%～約 7 5 0 %、約 5 0 %～約 7 0 0 %、約 5 0 %～約 6 5 0 %、約 5 0 %～約 6 0 0 %
、約 5 0 %～約 5 5 0 %、約 5 0 %～約 5 0 0 %、約 5 0 %～約 4 5 0 %、約 5 0 %～約
4 0 0 %、約 5 0 %～約 3 5 0 %、約 5 0 %～約 3 0 0 %、約 5 0 %～約 2 8 0 %、約 5
0 %～約 2 6 0 %、約 5 0 %～約 2 4 0 %、約 5 0 %～約 2 2 0 %、約 5 0 %～約 2 0 0

10

20

30

40

50

50

00%、約180%～約650%、約180%～約600%、約180%～約550%、約180%～約500%、約180%～約450%、約180%～約400%、約180%～約350%、約180%～約300%、約180%～約280%、約180%～約260%、約180%～約240%、約180%～約220%、約180%～約200%、約200%～約800%、約200%～約750%、約200%～約700%、約200%～約650%、約200%～約600%、約200%～約550%、約200%～約500%、約200%～約450%、約200%～約400%、約200%～約350%、約200%～約300%、約200%～約280%、約200%～約260%、約200%～約240%、約200%～約220%、約220%～約800%、約220%～約750%、約220%～約700%、約220%～約650%、約220%～約600%、約220%～約550%、約220%～約500%、約220%～約450%、約220%～約400%、約220%～約350%、約220%～約300%、約220%～約280%、約220%～約260%、約220%～約240%、約240%～約800%、約240%～約750%、約240%～約700%、約240%～約650%、約240%～約600%、約240%～約550%、約240%～約500%、約240%～約450%、約240%～約400%、約240%～約350%、約240%～約300%、約240%～約280%、約240%～約260%、約260%～約800%、約260%～約750%、約260%～約700%、約260%～約650%、約260%～約600%、約260%～約550%、約260%～約500%、約260%～約450%、約260%～約400%、約260%～約350%、約260%～約300%、約260%～約280%、約280%～約800%、約280%～約750%、約280%～約700%、約280%～約650%、約280%～約600%、約280%～約550%、約280%～約500%、約280%～約450%、約280%～約400%、約280%～約350%、約280%～約300%、約300%～約800%、約300%～約750%、約300%～約700%、約300%～約650%、約300%～約600%、約300%～約550%、約300%～約500%、約300%～約450%、約300%～約400%、約300%～約350%、約350%～約800%、約350%～約750%、約350%～約700%、約350%～約650%、約350%～約600%、約350%～約550%、約350%～約500%、約350%～約450%、約350%～約400%、約400%～約800%、約400%～約750%、約400%～約700%、約400%～約650%、約400%～約600%、約400%～約550%、約400%～約500%、約400%～約450%、約450%～約800%、約450%～約750%、約450%～約700%、約450%～約650%、約450%～約600%、約450%～約550%、約450%～約500%、約500%～約800%、約500%～約750%、約500%～約700%、約500%～約650%、約500%～約600%、約500%～約550%、約550%～約800%、約550%～約750%、約550%～約700%、約550%～約650%、約550%～約600%、約600%～約800%、約600%～約750%、約600%～約700%、約600%～約650%、約650%～約800%、約650%～約750%、約650%～約700%、約700%～約800%、約700%～約750%、または約750%～約800%)の増加をもたらし得る(例えば、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれとも接触していない対照における1つ以上のサイトカイン、ケモカイン、細胞傷害性顆粒、および調節分子のレベルと比較して)。

【0530】

免疫細胞の増殖を誘導するまたは増加させる方法

免疫細胞(例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な免疫細胞のうちのいずれか)の増殖を誘導するまたは増加させる方法であって、免疫細胞を、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは本明細書に記載の組成物(例えば、医薬組成物)のうちのいずれかの有効量と接触させることを含む、方法も本明細書に提供される。いくつかの例では、免疫細胞は、インビトロで(例えば、免疫細胞の刺激

10

20

30

40

50

をもたらすのに十分な条件下で、好適な液体培地中で）接触する。

【0531】

いくつかの例では、免疫細胞は、対象（例えば、哺乳動物、例えば、ヒト）から以前に得られた。これらの方法のいくつかの実施形態は、接触させるステップの前に、免疫細胞を対象から得ることをさらに含む。

【0532】

いくつかの例では、免疫細胞をインビボで接触させる。かかる実施形態では、多鎖キメラポリペプチドは、対象（例えば、哺乳動物、例えば、ヒト）に、対象における免疫細胞の刺激をもたらすのに十分な量で投与される。

【0533】

本明細書に記載の方法のうちのいずれかのいくつかの例では、免疫細胞は、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブT細胞、多能性Th細胞前駆体、リンパ前駆細胞、Treg細胞、メモリーT細胞、Th17細胞、Th22細胞、Th9細胞、Th2細胞、Th1細胞、Th3細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、 $\alpha\beta$ T細胞、腫瘍浸潤T細胞、CD8⁺ T細胞、CD4⁺ T細胞、ナチュラルキラーT細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、またはナチュラルキラー細胞、またはそれらの組み合わせであり得る。

【0534】

いくつかの例では、免疫細胞は、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている。いくつかの例では、免疫細胞（例えば、本明細書に記載の免疫細胞のうちのいずれか）は、共刺激分子（例えば、CD28）を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている。

【0535】

これらの方法のいくつかの実施形態は、接触させるステップの後に、免疫細胞（例えば、本明細書に記載の免疫細胞のうちのいずれか）に、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含む得る。これらの方法のいくつかの実施形態は、接触させるステップの後に、免疫細胞（例えば、本明細書に記載の免疫細胞のうちのいずれか）に、共刺激分子（例えば、CD28）をコードする核酸を導入することをさらに含む得る。

【0536】

これらの方法のいくつかの実施形態は、免疫細胞の治療有効量を、それを必要とする対象（例えば、本明細書に記載の例示的な対象のうちのいずれか）に投与することをさらに含む得る。

【0537】

いくつかの例では、対象は、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断された対象であり得る。加齢関連疾患または障害の非限定的な例には、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、膵炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害が挙げられる。

【0538】

いくつかの例では、対象は、がんを有すると特定または診断された対象であり得る。がんの非限定的な例には、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病（CML）、急性リンパ性白血病（ALL）、骨髄異形成症候群（MDS）、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、

10

20

30

40

50

尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌が挙げられる。

【0539】

いくつかの例では、対象は、感染性疾患を有すると診断または特定された対象であり得る。感染性疾患の非限定的な例には、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、またはインフルエンザウイルスによる感染が挙げられる。

【0540】

免疫細胞の増殖の検出は、当該技術分野で既知の方法、例えば、サイトメトリー（例えば、蛍光支援フローサイトメトリー）、顕微鏡法、および免疫蛍光顕微鏡法を使用して、例えば、多鎖キメラポリペプチドと接触していない試料中の免疫細胞の濃度の増加率を、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかと接触した同様の試料中の免疫細胞の濃度の増加率と比較することによって行われ得る。

【0541】

他の例では、免疫細胞の増殖は、増殖性免疫細胞によって分泌またはアップレギュレートされる1つ以上のサイトカインまたはケモカインまたは細胞傷害性顆粒または調節分子（例えば、IL-2、IFN- γ 、IL-1、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-9、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、IL-17、IL-18、IL-22、IL-33、ロイコトリエンB4、CCL5、TNF α 、グランザイム、パーフォリン、TGF β 、STAT3、STAT4、STAT5、ROR γ T、FOXP3、およびGATA3のうちの1つ以上）のレベルの増加（例えば、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれとも接触していない対照における1つ以上のサイトカイン、ケモカイン、細胞傷害性顆粒、および調節分子のレベルと比較して）を検出することによって間接的に検出され得る。

【0542】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される方法は、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれとも接触していない同様の対照試料中の免疫細胞の濃度の増加率と比較して、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかと接触した試料中の免疫細胞の濃度の増加率の増加（例えば、約1%～約800%の増加、または本明細書に記載のこの範囲の部分範囲のうちのいずれか）をもたらす得る。

【0543】

免疫細胞の分化を誘導する方法

免疫細胞（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な免疫細胞のうちのいずれか）のメモリーまたはメモリー様免疫細胞への分化を誘導する方法であって、免疫細胞を、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは本明細書に記載の組成物（例えば、医薬組成物）のうちのいずれかの有効量と接触させることを含む、方法も本明細書に提供される。いくつかの例では、免疫細胞は、インビトロで（例えば、免疫細胞の刺激をもたらすのに十分な条件下で、好適な液体培地中で）接触する。

【0544】

いくつかの例では、免疫細胞は、対象（例えば、哺乳動物、例えば、ヒト）から以前に得られた。これらの方法のいくつかの実施形態は、接触させるステップの前に、免疫細胞を対象から得ることをさらに含む。

【0545】

いくつかの例では、免疫細胞をインビボで接触させる。かかる実施形態では、多鎖キメラポリペプチドは、対象（例えば、哺乳動物、例えば、ヒト）に、対象における免疫細胞の刺激をもたらすのに十分な量で投与される。

【0546】

本明細書に記載の方法のいずれかのいくつかの例では、免疫細胞は、未熟胸腺細胞、未

10

20

30

40

50

梢血リンパ球、ナイーブT細胞、多能性Th細胞前駆体、リンパ前駆細胞、Treg細胞、Th17細胞、Th22細胞、Th9細胞、Th2細胞、Th1細胞、Th3細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、 $\alpha\beta$ T細胞、腫瘍浸潤T細胞、CD8⁺T細胞、CD4⁺T細胞、ナチュラルキラー細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、またはナチュラルキラー細胞、またはそれらの組み合わせであり得る。

【0547】

いくつかの例では、免疫細胞は、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている。いくつかの例では、免疫細胞（例えば、本明細書に記載の免疫細胞のうちのいずれか）は、共刺激分子（例えば、CD28）を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている。

【0548】

いくつかの例では、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは本明細書に記載の組成物（例えば、医薬組成物）のうちのいずれかの有効量が抗TFI γ 1抗体と組み合わせられて、メモリーまたはメモリー様免疫細胞が作製される。

【0549】

これらの方法のいくつかの実施形態は、接触させるステップの後に、免疫細胞（例えば、本明細書に記載の免疫細胞のうちのいずれか）に、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含み得る。これらの方法のいくつかの実施形態は、接触させるステップの後に、免疫細胞（例えば、本明細書に記載の免疫細胞のうちのいずれか）に、共刺激分子（例えば、CD28）をコードする核酸を導入することをさらに含み得る。

【0550】

これらの方法のいくつかの実施形態は、免疫細胞の治療有効量を、それを必要とする対象（例えば、本明細書に記載の例示的な対象のうちのいずれか）に投与することをさらに含み得る。

【0551】

いくつかの例では、対象は、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断された対象であり得る。加齢関連疾患または障害の非限定的な例には、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害が挙げられる。

【0552】

いくつかの例では、対象は、がんを有すると特定または診断された対象であり得る。がんの非限定的な例には、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病（CML）、急性リンパ性白血病（ALL）、骨髄異形成症候群（MDS）、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌が挙げられる。

【0553】

いくつかの例では、対象は、感染性疾患を有すると診断または特定された対象であり得る。感染性疾患の非限定的な例には、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、パピローマウイル

10

20

30

40

50

ス、またはインフルエンザウイルスによる感染が挙げられる。

【0554】

いくつかの例では、免疫細胞は、NK細胞であり、メモリーNK細胞の検出は、例えば、IL-12、IL-18、IL-33、CD25、CD69、CD62L、STAT4、Zbtb32、DNAM-1、Nkp30、Nkp44、Nkp46、BIM、Noxa、SOCS1、BNIP3、BNIP3L、IFN- γ 、CXCL16、CXCR6、NKG2D、TRAIL、CD49、Ly49D、CD49b、およびLy79Hのうちの1つ以上のレベルの検出を含み得る。メモリーNK細胞およびそれを検出する方法の説明は、O'Sullivan et al., Immunity 43:634-645, 2015に記載されている。

10

【0555】

いくつかの例では、免疫細胞は、T細胞であり、メモリーT細胞の検出は、例えば、CD45RO、CCR7、L-セレクチン(CD62L)、CD44、CD45RA、インテグリン $\alpha\beta$ 7、CD43、CD27、CD28、IL-7R α 、CD95、IL-2R β 、CXCR3、およびLFA-1のうちの1つ以上の発現レベルの検出を含み得る。いくつかの例では、免疫細胞は、B細胞であり、メモリーB細胞の検出は、例えば、CD27の発現レベルの検出を含み得る。メモリーまたはメモリー様免疫細胞の他のタイプおよびマーカーは、当該技術分野で既知である。

【0556】

治療法

20

治療を必要とする対象（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な対象のうちのいずれか）を治療する方法であって、対象に、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは本明細書に記載の組成物（例えば、医薬組成物）のうちのいずれかの治療有効量を投与することを含む、方法も本明細書に提供される。

【0557】

これらの方法のいくつかの実施形態では、対象は、がんを有すると特定または診断されている。がんの非限定的な例には、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病(CLL)、急性骨髄性白血病(AML)、慢性骨髄性白血病(CML)、急性リンパ性白血病(ALL)、骨髄異形成症候群(MDS)、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌が挙げられる。いくつかの実施形態では、これらの方法は、対象におけるがんの1つ以上の症状の数、重症度、または頻度の減少をもたらし得る（例えば、治療前の対象におけるがんの1つ以上の症状の数、重症度、または頻度と比較して）。いくつかの実施形態では、これらの方法は、対象における1つ以上の固形腫瘍の体積の減少（例えば、約1%減少～約99%減少、約1%減少～約95%減少、約1%減少～約90%減少、約1%減少～約85%減少、約1%減少～約80%減少、約1%減少～約75%減少、約1%減少～約70%減少、約1%減少～約65%減少、約1%減少～約60%減少、約1%減少～約55%減少、約1%減少～約50%減少、約1%減少～約45%減少、約1%減少～約40%減少、約1%減少～約35%減少、約1%減少～約30%減少、約1%減少～約25%減少、約1%減少～約20%減少、約1%減少～約15%減少、約1%減少～約10%減少、約1%減少～約5%減少、約5%減少～約99%減少、約5%減少～約95%減少、約5%減少～約90%減少、約5%減少～約85%減少、約5%減少～約80%減少、約5%減少～約75%減少、約5%減少～約70%減少、約5%減少～約65%減少、約5%減少～約60%減少、約5%減少～約55%減少、約5%減少～約50%減少、約5%減少～約45%減少、約5%減少～約40%減少、約5%減少～約35%減少、約5%減少～約30%減少、約5%減少～約25%減少、約5%減少～約20%減少、約5%減少～約15%減少、約5%減少～約10%減少、約10%減少～約99%減少

30

40

50

50

減少、約 65% 減少～約 95% 減少、約 65% 減少～約 90% 減少、約 65% 減少～約 85% 減少、約 65% 減少～約 80% 減少、約 65% 減少～約 75% 減少、約 65% 減少～約 70% 減少、約 70% 減少～約 99% 減少、約 70% 減少～約 95% 減少、約 70% 減少～約 90% 減少、約 70% 減少～約 85% 減少、約 70% 減少～約 80% 減少、約 70% 減少～約 75% 減少、約 75% 減少～約 99% 減少、約 75% 減少～約 95% 減少、約 75% 減少～約 90% 減少、約 75% 減少～約 85% 減少、約 75% 減少～約 80% 減少、約 80% 減少～約 99% 減少、約 80% 減少～約 95% 減少、約 80% 減少～約 90% 減少、約 80% 減少～約 85% 減少、約 85% 減少～約 99% 減少、約 85% 減少～約 95% 減少、約 85% 減少～約 90% 減少、約 90% 減少～約 99% 減少、約 90% 減少～約 95% 減少、または約 95% 減少～約 99% 減少) をもたらし得る (例えば、治療前または治療開始時の 1 つ以上の固形腫瘍の体積と比較して)。いくつかの実施形態では、これらの方法は、対象における転移を発症するリスクまたは 1 つ以上の追加の転移を発症するリスクを減少させることができる (例えば、約 1% 減少～約 99% 減少、または本明細書に記載のこの範囲の部分範囲のうちのいずれか) (例えば、治療前の対象または異なる治療が施された同様の対象もしくは対象集団における転移を発症するリスクまたは 1 つ以上の追加の転移を発症するリスクと比較して)。

【0558】

これらの方法のいくつかの例では、対象は、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている。加齢関連疾患および状態の非限定的な例には、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2 型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害が挙げられる。いくつかの例では、これらの方法は、対象における加齢関連疾患または状態の 1 つ以上の症状の数、重症度、または頻度の減少をもたらし得る (例えば、治療前の対象における加齢関連疾患または状態の 1 つ以上の症状の数、重症度、または頻度と比較して)。いくつかの例では、これらの方法は、例えば、治療前の対象における老化細胞の数と比較して、対象における老化細胞の数の減少をもたらし得る (例えば、約 1% 減少～約 99% 減少、約 1% 減少～約 95% 減少、約 1% 減少～約 90% 減少、約 1% 減少～約 85% 減少、約 1% 減少～約 80% 減少、約 1% 減少～約 75% 減少、約 1% 減少～約 70% 減少、約 1% 減少～約 65% 減少、約 1% 減少～約 60% 減少、約 1% 減少～約 55% 減少、約 1% 減少～約 50% 減少、約 1% 減少～約 45% 減少、約 1% 減少～約 40% 減少、約 1% 減少～約 35% 減少、約 1% 減少～約 30% 減少、約 1% 減少～約 25% 減少、約 1% 減少～約 20% 減少、約 1% 減少～約 15% 減少、約 1% 減少～約 10% 減少、約 1% 減少～約 5% 減少、約 5% 減少～約 99% 減少、約 5% 減少～約 95% 減少、約 5% 減少～約 90% 減少、約 5% 減少～約 85% 減少、約 5% 減少～約 80% 減少、約 5% 減少～約 75% 減少、約 5% 減少～約 70% 減少、約 5% 減少～約 65% 減少、約 5% 減少～約 60% 減少、約 5% 減少～約 55% 減少、約 5% 減少～約 50% 減少、約 5% 減少～約 45% 減少、約 5% 減少～約 40% 減少、約 5% 減少～約 35% 減少、約 5% 減少～約 30% 減少、約 5% 減少～約 25% 減少、約 5% 減少～約 20% 減少、約 5% 減少～約 15% 減少、約 5% 減少～約 10% 減少、約 10% 減少～約 99% 減少、約 10% 減少～約 95% 減少、約 10% 減少～約 90% 減少、約 10% 減少～約 85% 減少、約 10% 減少～約 80% 減少、約 10% 減少～約 75% 減少、約 10% 減少～約 70% 減少、約 10% 減少～約 65% 減少、約 10% 減少～約 60% 減少、約 10% 減少～約 55% 減少、約 10% 減少～約 50% 減少、約 10% 減少～約 45% 減少、約 10% 減少～約 40% 減少、約 10% 減少～約 35% 減少、約 10% 減少～約 30% 減少、約 10% 減少～約 25% 減少、約 10% 減少～約 20% 減少、約 10% 減少～約 15% 減少、約 15% 減少～約 99% 減少、約 15% 減少～約 95% 減少、約 15% 減少～約 90%

10

20

30

40

50

50

5%減少～約99%減少、約85%減少～約95%減少、約85%減少～約90%減少、約90%減少～約99%減少、約90%減少～約95%減少、または約95%減少～約99%減少）（例えば、対象における加齢関連疾患または障害に関与しているおよび／または関係付けられている1つ以上の特定の組織中の老化細胞の数の減少）。

【0559】

これらの方法のいくつかの例では、対象は、感染性疾患を有すると診断または特定されている。感染性疾患の非限定的な例には、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、およびインフルエンザウイルスによる感染が挙げられる。いくつかの実施形態では、これらの方法は、対象における感染力価（例えば、ウイルス力価）の減少をもたらし得る（例えば、治療前の対象における感染力価と比較して）。いくつかの実施形態では、これらの方法は、対象における感染性疾患（例えば、ウイルス感染）の1つ以上の症状の数、重症度、または頻度の減少をもたらし得る（例えば、治療前の対象における感染性疾患の1つ以上の症状の数、重症度、または頻度と比較して）。

【0560】

「対象」という用語は、任意の哺乳動物を指す。いくつかの実施形態では、対象または「治療を必要とする対象」は、イヌ科動物（例えば、イヌ）、ネコ科動物（例えば、ネコ）、ウマ科動物（例えば、ウマ）、ヒツジ、ウシ、ブタ、ヤギ、霊長類、例えば、サル（simian）（例えば、サル（monkey）（例えば、マーモセット、ヒヒ）、もしくは類人猿（例えば、ゴリラ、チンパンジー、オランウータン、またはテナガザル）、もしくはヒト、または齧歯類（例えば、マウス、テングネズミ、ハムスター、またはラット）であり得る。いくつかの実施形態では、対象または「治療を必要とする対象」は、非ヒト哺乳動物であり得、特にヒトにおける治療効果を実証するためにモデルとして従来使用されている哺乳動物（例えば、マウス、ラバイン、ブタ、イヌ、または霊長類動物）が用いられ得る。

【0561】

がん細胞、感染細胞、または老化細胞を死滅させる方法

がん細胞（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的なタイプのがんのうちのいずれか）、感染細胞（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的なウイルスのうちのいずれかによる感染）、または老化細胞（例えば、老化がん細胞、老化線維芽細胞、または老化内皮細胞）の死滅を必要とする対象（例えば、本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の例示的な対象のうちのいずれか）におけるそれらを死滅させる方法であって、対象に、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは本明細書に記載の組成物（例えば、医薬組成物）のうちのいずれかの治療有効量を投与することを含む、方法も本明細書に提供される。

【0562】

これらの方法のいくつかの実施形態では、対象は、がんを有すると特定または診断されている。がんの非限定的な例には、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病（CML）、急性リンパ性白血病（ALL）、骨髄異形成症候群（MDS）、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌が挙げられる。

【0563】

これらの方法のいくつかの例では、対象は、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている。加齢関連疾患および状態の非限定的な例には、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、膵炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症

10

20

30

40

50

性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害が挙げられる。

【0564】

これらの方法のいくつかの例では、対象は、感染性疾患を有すると診断または特定されている。感染性疾患の非限定的な例には、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、およびインフルエンザウイルスによる感染が挙げられる。

10

【0565】

老化細胞

老化は、表現型の変化、アポトーシスへの耐性、および損傷を感知するシグナル伝達経路の活性化を伴う不可逆的な成長停止の一形態である。細胞老化は、増殖する能力を失った培養ヒト線維芽細胞で最初に説明され、約50回の集団倍加（ヘイフリック限界と称される）後に永久停止に達した。老化は、酸化的ストレスおよび遺伝毒性ストレス、DNA損傷、テロメア摩滅、発がん性活性化、ミトコンドリア機能障害、または化学療法剤を含む、広範囲の内因性および外因性傷害によって誘導され得るストレス応答とみなされる。

20

【0566】

老化細胞は、代謝的に活性を維持し、それらの分泌表現型を介して組織の止血、疾患、加齢に影響を及ぼし得る。老化は、生理学的プロセスとみなされており、創傷治癒、組織の恒常性、再生、および線維症の調節を促進する上で重要である。例えば、老化細胞の一過性の誘導は、治癒中に観察され、創傷の消散に寄与する。恐らく、老化の最も重要な役割の1つは、腫瘍抑制におけるその役割である。しかしながら、老化細胞の蓄積は、加齢および加齢関連疾患および状態も促進する。老化の表現型は、慢性炎症反応も引き起こし、その結果、慢性炎症状態を増強して、腫瘍の成長を促進する可能性がある。老化と加齢との間の関連性は、当初、老化細胞が加齢組織に蓄積するという観察に基づいていた。トランスジェニックモデルの使用により、多くの加齢関連病状において老化細胞を体系的に検出することが可能になった。老化細胞を選択的に排除するための戦略は、老化細胞が実際に加齢および関連病状において因果的役割を果たすことができることを実証している。

30

【0567】

老化細胞は、形態、クロマチン構成、遺伝子発現、および代謝の変化を含む重要な特有の特性を示す。細胞老化に関連するいくつかの生化学的および機能的特性、例えば、(i)サイクリン依存性キナーゼの阻害剤であるp16およびp21の発現の増加、(ii)リソソーム活性のマーカーである老化関連β-ガラクトシダーゼの存在、(iii)老化関連ヘテロクロマチン病巣の出現およびラミンB1レベルのダウンレギュレーション、(iv)抗アポトーシスBCLファミリータンパク質の発現の増加によって引き起こされるアポトーシスに対する耐性、および(v)CD26(DPP4)、CD36(スカベンジャー受容体)、フォークヘッドボックス4(FOXO4)、および分泌キャリア膜タンパク質4(SCAMP4)のアップレギュレーションが存在する。老化細胞は、炎症特性、いわゆる老化関連分泌表現型(SASP)も発現する。SASPを介して、老化細胞は、細胞自律的様式で作動して老化を強化し(オートクリン効果)、微小環境と通信して修飾する(パラクリン効果)、広範囲の炎症性サイトカイン(IL-6、IL-8)、成長因子(TGF-β)、ケモカイン(CCL-2)、およびマトリックスメタロプロテイナーゼ(MMP-3、MMP-9)を産生する。SASP因子は、老化細胞の免疫介在性クリアランスである老化監視をトリガすることによって腫瘍抑制に寄与することができる。しかしながら、慢性炎症も腫瘍形成の既知の要因であり、累積証拠は、慢性SASPががんおよび加齢関連疾患を後押しする可能性もあることを示す。

40

50

【0568】

老化細胞の分泌プロファイルは、状況依存的である。例えば、ヒト線維芽細胞における様々なミトコンドリア機能障害によって誘導されるミトコンドリア機能障害関連老化（M i D A S）は、I L - 1 依存性炎症性因子が不足したS A S Pの出現をもたらした。N A D + / N A D H 比の減少は、p 5 3 の活性化によりM i D A S を誘導したA M P K シグナル伝達を活性化した。結果として、p 5 3 は炎症促進性S A S P の重要な誘導因子であるN F - κ B シグナル伝達を阻害した。対照的に、ヒト細胞における持続的なD N A 損傷によって引き起こされた細胞老化は、炎症性S A S P を誘導し、これは、運動失調-毛細血管拡張症変異（A T M）キナーゼの活性化に依存したが、p 5 3 の活性化には依存しなかった。具体的には、I L - 6 およびI L - 8 の発現レベルおよび分泌レベルが増加した。異所性発現p 1 6 I N K 4 a およびp 2 1 C I P 1 によって引き起こされる細胞老化が、炎症性S A S P なしでヒト線維芽細胞における老化表現型を誘導することも実証されており、成長停止自体はS A S P を刺激しなかったことを示している。

10

【0569】

老化の最も明確な特徴の1つは、安定した成長停止である。これは、2つの重要な経路であるp 1 6 / R b およびp 5 3 / p 2 1 によって達成され、これらはいずれも腫瘍抑制の中心である。D N A 損傷は、（1）クロマチンにおけるγ H 2 A x（ヒストンコーディング遺伝子）および5 3 B P 1（D N A 損傷応答に関与）の高沈着（これは最終的にp 5 3 活性化をもたらすキナーゼカスケードの活性化につながる）、および（2）p 1 6 I N K 4 a およびA R F（いずれもC D K N 2 A によってコードされる）ならびにP 1 5 I N K 4 b（C D K N 2 B によってコードされる）の活性化（p 5 3 はサイクリン依存性キナーゼ阻害剤（p 2 1）の転写を誘導し、p 1 6 I N K 4 a およびp 1 5 I N K 4 b の両方とともに、細胞周期進行のために遺伝子を遮断する（C D K 4 およびC D K 6））をもたらす。これは、最終的に網膜芽細胞腫タンパク質（R b）の低リン酸化およびG 1 期での細胞周期停止につながる。

20

【0570】

老化細胞を選択的に死滅させることにより、正常な加齢との関連でマウスの健康スパンが大幅に改善され、加齢関連疾患またはがん療法の結果が改善されることが示されている（O v a d y a, J C l i n I n v e s t. 1 2 8（4）：1 2 4 7 - 1 2 5 4, 2 0 1 8）。自然界では、老化細胞は、通常、自然免疫細胞によって除去される。老化の誘導は、損傷／変化した細胞の潜在的な増殖および形質転換を阻止するのみならず、主にナチュラルキラー（NK）細胞（I L - 1 5 およびC C L 2 等）およびマクロファージ（C F S - 1 およびC C L 2 等）の化学誘引物質として機能するS A S P 因子の産生により組織修復も支持する。これらの自然免疫細胞は、ストレスを受けた細胞を排除するための免疫監視メカニズムを媒介する。老化細胞は、通常、ストレス誘導性リガンドのファミリーに属するNK細胞活性化受容体N K G 2 D およびD N A M - 1 リガンドをアップレギュレートし、これは、感染性疾患および悪性腫瘍に対する最前線の免疫防御の重要な要素である。受容体が活性化されると、NK細胞は、それらの細胞溶解機構を介して老化細胞の死を特異的に誘導することができる。老化細胞の免疫監視におけるNK細胞の役割は、肝線維症（S a g i v, O n c o g e n e 3 2（15）：1 9 7 1 - 1 9 7 7, 2 0 1 3）、肝細胞癌（I a n n e l l o, J E x p M e d 2 1 0（10）：2 0 5 7 - 2 0 6 9, 2 0 1 3）、多発性骨髄腫（S o r i a n i, B l o o d 1 1 3（15）：3 5 0 3 - 3 5 1 1, 2 0 0 9）、およびメバロン酸経路の機能傷害によってストレスを受けた神経膠腫細胞（C i a g l i a, I n t J C a n c e r 1 4 2（1）：1 7 6 - 1 9 0, 2 0 1 8）において指摘されている。子宮内膜細胞は、急性細胞老化を受け、脱落膜細胞に分化しない。分化した脱落膜細胞は、I L - 1 5 を分泌し、それにより、子宮NK細胞を動員して、未分化老化細胞を標的として排除し、子宮内膜の再構築および若返りを助ける（B r i g h t o n, E l i f e 6:e 3 1 2 7 4, 2 0 1 7）。同様のメカニズムを用いて、肝線維症の間に、p 5 3 を発現する老化肝衛星細胞は、老化細胞除去活性を呈する常在性K u p f e r マクロファージおよび新たに浸潤したマクロファージの極性を

30

40

50

炎症促進性 M1 表現型に向かって歪めた。F4/80+マクロファージが、分娩後の子宮機能を維持するためにマウス子宮老化細胞のクリアランスに重要な役割を果たすことが示されている。

【0571】

老化細胞は、主に、NKGD (NK細胞で発現)、ケモカイン、および他の SASP 因子に対するリガンドをアップレギュレートすることによってNK細胞を動員する。肝線維症のインビボモデルは、活性化されたNK細胞による老化細胞の効果的なクリアランスを示している (Krizhanovsky, Cell 134 (4): 657-667, 2008)。研究では、肝線維症 (Krizhanovsky, Cell 134 (4): 657-667, 2008)、変形性関節症 (Xu, J Gerontol A Biol Sci Med Sci 72 (6): 780-785, 2017)、およびパーキンソン病 (Chinta, Cell Rep 22 (4): 930-940, 2018) を含む老化を研究するための様々なモデルが説明されている。老化細胞を研究するための動物モデルは、Krizhanovsky, Cell 134 (4): 657-667, 2008、Baker, Nature 479 (7372): 232-236, 2011、Farr, Nat Med 23 (9): 1072-1079, 2017、Bourgeois, FEBS Lett 592 (12): 2083-2097, 2018、Xu, Nat Med 24 (8): 1246-1256, 2018) で説明されている。

【0572】

追加の治療薬

本明細書に記載の方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態は、1つ以上の追加の治療薬の治療有効量を対象 (例えば、本明細書に記載の対象のうちのいずれか) に投与することをさらに含み得る。1つ以上の追加の治療薬は、多鎖キメラポリペプチド (例えば、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれか) または免疫細胞と実質的に同時に対象に投与され得る (例えば、単一製剤としてまたは2つ以上の製剤として対象に投与され得る)。いくつかの実施形態では、1つ以上の追加の治療薬は、多鎖キメラポリペプチド (例えば、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれか) または免疫細胞を投与する前に、対象に投与され得る。いくつかの実施形態では、1つ以上の追加の治療薬は、多鎖キメラポリペプチド (例えば、本明細書に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれか) または免疫細胞を対象に投与した後に、対象に投与され得る。

【0573】

追加の治療薬の非限定的な例には、抗がん剤、活性化受容体アゴニスト、免疫チェックポイント阻害剤、HLA 特異的阻害受容体を遮断するための薬剤、グリコーゲンシンターゼキナーゼ (GSK) 3 阻害剤、および抗体が挙げられる。

【0574】

抗がん剤の非限定的な例には、代謝拮抗薬 (例えば、5-フルオロウラシル (5-FU)、6-メルカプトプリン (6-MP)、カペシタビン、シタラビン、フロクスウリジン、フルダラビン、ゲムシタビン、ヒドロキシカルバミド、メトトレキサート、6-チオグアニン、クラドリビン、ネララビン、ペントスタチン、またはペメトレキセド)、植物アルカロイド (例えば、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシン、カンプトセシン、9-メトキシカンプトセシン、コロナリジン、タキソール、ナウクレアオラル (nucleolar)、ジプレニル化インドールアルカロイド、モンタミン、シシュキニイン、プロトベルベリン、ベルベリン、サンギナリン、ケレリトリン、ケリドニン、リリオデニン、クリボリン、β-カルボリン、アントフィン、チロホリン、クリプトレピン、ネオクリプトレピン、コリノリン、サンパンギン、カルバゾール、クリナミン、モンタニン、エリプチシン、パクリタキセル、ドセタキセル、エトポシド、テニポシド、イリノテカン、トポテカン、またはアクリドンアルカロイド)、プロテアソーム阻害剤 (例えば、ラクタシスチン、ジスルフィラム、エピガロカテキン-3-ガラート、マリゾミブ (サリノスポラミド A)、オプロゾミブ (ONX-0912)、デランゾミブ (CEP-18770)、エポキシオミシン、MG132、ベーターヒドロキシベーターメチルブチラート、ボル

テゾミブ、カルフィルゾミブ、またはイキサゾミブ)、抗腫瘍抗生物質(例えば、ドキソルビシン、ダウノルビシン、エピルビシン、ミトキサントロン、イダルビシン、アクチノマイシン、プリカマイシン、マイトマイシン、またはブレオマイシン)、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤(例えば、ボリノスタット、パノビノスタット、ギビノスタット、アベキシノスタット、デブシペプチド、エンチノスタット、フェニルブチラート、バルプロ酸、トリコスタチンA、ダシノスタット、モセチノスタット、プラシノスタット、ニコチンアミド、カンビノール、テノビン1、テノビン6、シルチノール、リコリノスタット、テフィノスタット、ケベトリン、キシノスタット、レスミノスタット、タセジナリン、チダミド、またはセリシスタット)、チロシンキナーゼ阻害剤(例えば、アキシチニブ、ダサチニブ、エンコラフィニブ、エルロチニブ、イマチニブ、ニロチニブ、パゾパニブ、およびスニチニブ)、および化学療法剤(例えば、オールトランスレチノイン酸、アザシチジン、アザチオプリン、ドキシフルリジン、エポチロン、ヒドロキシウレア、イマチニブ、テニポシド、チオグアニン、バルルビシン、ベムラフェニブ、およびレナリドミド)が挙げられる。化学療法剤の追加の例には、アルキル化剤、例えば、メクロレタミン、シクロホスファミド、クロラムブシル、メルファラン、イホスファミド、チオテパ、ヘキサメチルメラミン、ブスルファン、アルトレタミン、プロカルバジン、ダカルバジン、テモゾロミド、カルムスチン、ルムスチン、ストレプトゾシン、カルボプラチン、シスプラチン、およびオキサリプラチンが挙げられる。

【0575】

活性化受容体アゴニストの非限定的な例には、抗CD16抗体(例えば、抗CD16/CD30二重特異性モノクローナル抗体(BiMAb))およびFcベースの融合タンパク質を含む、NK細胞の細胞傷害性を活性化および増強する活性化受容体のための任意のアゴニストが挙げられる。チェックポイント阻害剤の非限定的な例には、抗PD-1抗体(例えば、MEIO680)、抗PD-L1抗体(例えば、BCD-135、BGB-A333、CBT-502、CK-301、CS1001、FAZ053、KN035、MDX-1105、MSB2311、SHR-1316、抗PD-L1/CTLA-4二重特異性抗体KN046、抗PD-L1/TGFβRII融合タンパク質M7824、抗PD-L1/TIM-3二重特異性抗体LY3415244、アテゾリズマブ、またはアベルマブ)、抗TIM3抗体(例えば、TSR-022、Sym023、またはMBG453)、および抗CTLA-4抗体(例えば、AGEN1884、MK-1308、または抗CTLA-4/OX40二重特異性抗体ATOR-1015)が挙げられる。HLA特異的阻害受容体を遮断するための薬剤の非限定的な例には、モナリズマブ(例えば、抗HLA-E/NKG2A阻害受容体モノクローナル抗体)が挙げられる。GSK3阻害剤の非限定的な例には、チデグルシブまたはCHIR99021が挙げられる。追加の治療薬として使用され得る抗体の非限定的な例には、抗CD26抗体(例えば、YS110)、抗CD36抗体、およびNK細胞上のFc受容体(例えば、CD16)に結合して活性化することができる任意の他の抗体または抗体構築物が挙げられる。いくつかの実施形態では、追加の治療薬は、インスリンまたはメトホルミンであり得る。

【実施例】

【0576】

本発明は、以下の実施例にさらに記載されており、これらは、特許請求の範囲に記載の本発明の範囲を限定しない。

【0577】

実施例1. 例示的な多鎖キメラポリペプチドの構築およびその特性の評価

2つの多鎖キメラポリペプチドを生成し、それらの特性を評価した。2つの多鎖キメラポリペプチドは各々、第1の標的結合ドメインに共有結合した可溶性組織因子ドメインと、一対の親和性ドメインの第1のドメインとを含む第1のキメラポリペプチドを含む。2つの多鎖キメラポリペプチドの各々内の第2のキメラポリペプチドは、一対の親和性ドメインの第2のドメインと、第2の標的結合ドメインとを含む。

【0578】

多鎖キメラポリペプチドの構築の根底にある論理の説明

組織因子（TF）は、236個のアミノ酸残基を含む安定した膜貫通タンパク質である。組織因子の切断された組換え219アミノ酸細胞外ドメインは可溶性であり、細菌細胞または哺乳動物細胞で、高レベルで発現されることが知られている。特定の理論に拘束されることを望むことなく、本出願人は、219-a a組織因子が特有の多鎖キメラポリペプチドを作製するためのコネクタリンカーとして使用され得ると推測した。

【0579】

可溶性組織因子ドメインを含む第1のキメラポリペプチドを、発酵プロセス中で増殖したCHO細胞によって高レベルで産生した。これらの第1のキメラポリペプチドを、固体マトリックス上に結合した抗組織因子モノクローナル抗体（mAb）によって精製した。注目すべきことに、組織因子には、FVIIaおよびFXの結合部位が含まれている。FXに対する組織因子-FVIIa複合体の触媒活性は、組織因子がリン脂質二重層に固定されていない場合、およそ100万倍低くなる。したがって、特定の理論に拘束されることを望むことなく、本出願人は、第1のキメラポリペプチドの構築時に膜貫通なしで組織因子の219-a a細胞外ドメインを使用することにより、第1のキメラポリペプチドにおける組織因子の凝固促進活性を排除することができると推測した。219-a a組織因子の凝固促進活性をさらに低下させるまたは排除するために、特にFVIIa結合部位の結合エネルギーに寄与することで知られている7つのアミノ酸残基で、組織因子の選択的変異を行うことができる。

【0580】

記載のキメラポリペプチドの結合相互作用の特徴付け

第1のキメラポリペプチドと第2のキメラポリペプチドが互いに結合して多鎖キメラポリペプチドを形成するかを決定するために、インビトロ結合アッセイを行った。可溶性組織因子ドメインを含む第1のキメラポリペプチドが認識され、抗TF mAbによって結合されるかを決定するために、インビトロ結合アッセイを行った。注目すべきことに、データは、変異した組織因子タンパク質が依然として認識され、組織因子上のFX結合部位に結合することで知られている抗TF mAbによって選択的に結合されることを示した。s c F vまたはサイトカインに共有結合した可溶性組織因子ドメインを含む第1のキメラポリペプチド（図1および図2を参照のこと）が機能的s c F vまたはサイトカインを有するかを決定するために、インビトロ結合アッセイを行った。前述のアッセイからのデータは、予想された生物学的活性を有する精製された第1のキメラポリペプチドと一致した（例えば、s c F vが予想された標的抗原に選択的に結合するか、またはサイトカインが予想された受容体または結合タンパク質に選択的に結合する）。

【0581】

加えて、互いに結合した第1のキメラポリペプチドおよび第2のキメラポリペプチドを含む2つの多鎖キメラポリペプチドを使用して行った実験は、予想された標的結合活性を実証している（例えば、多鎖キメラポリペプチドは、第1の標的結合ドメインによって特異的に認識される標的および第2の標的結合ドメインによって特異的に認識される標的に特異的に結合する）。

【0582】

前述の結果に基づいて、本出願人は、可溶性組織因子コネクタリンカーが、可溶性組織因子ドメインに対して、かつ互いに対して、三次元空間内でのいずれかのs c F v、インターロイキン、サイトカイン、インターロイキン受容体、またはサイトカイン受容体をコードするポリペプチドの適切な表示を提供または可能にし、これにより、各々が予想された生物学的特性および活性を保持したと結論付けた。

【0583】

第1のキメラポリペプチドおよび第2のキメラポリペプチドの両方を共発現させた場合、ヘテロ二量体複合体を高レベルで発酵プロセス中に分泌した。複合体を捕捉し、親和性クロマトグラフィーを使用して固体マトリックスにコンジュゲートされた抗TF mAbによって容易に精製した。これらの多鎖キメラポリペプチドの第1および第2の標的結合ド

メインは、インビトロ結合アッセイによってアッセイされるように、それらの予想された生物学的活性を保持していた。したがって、多鎖キメラポリペプチドの集合は、生物学的活性のためのドメインの適切な空間的表示および折り畳みを提供する。重要なことに、多鎖キメラポリペプチドの空間的配置は、組織因子上の F X 結合部位を妨害せず、これにより、親和性精製に抗 T F m A b を使用することができる。

【0584】

記載のキメラポリペプチドの安定性の特徴付け

精製された多鎖キメラポリペプチドは両方ともに安定している。これらの多鎖キメラポリペプチドは、ヒト血清中 37℃ で 72 時間インキュベートした場合、構造的に損なわれておらず、完全に生物学的に活性である。

【0585】

記載のキメラポリペプチドが凝集する傾向の特徴付け

開発した精製された多鎖キメラポリペプチドは両方ともに、P B S 中 4℃ で保存した場合、凝集体を形成しない。

【0586】

記載のキメラポリペプチドの粘度の特徴付け

多鎖キメラポリペプチドを P B S 中 50 mg / mL の高濃度で製剤化した場合、粘度の問題はない。

【0587】

多鎖キメラポリペプチドプラットフォームの追加の用途

これらの研究からのデータは、本明細書に記載のプラットフォーム技術を利用して、接着分子、受容体、サイトカイン、リガンド、およびケモカインを含むが、これらに限定されない、本明細書に記載の形式のうちのいずれかで、抗体に由来する標的結合ドメインに融合することができる分子を作製することができることを示す。適切な標的結合ドメインを用いて、結果として生じた多鎖キメラポリペプチドは、様々な免疫エフェクター細胞のコンジュゲーションを促進し、がん細胞、ウイルス感染細胞、または老化細胞を含む標的細胞の破壊を媒介し得る。多鎖キメラポリペプチド内の他のドメインは、免疫系を刺激、活性化、および誘引して、標的細胞に対するエフェクター細胞の細胞傷害性を増強する。

【0588】

実施例 2：I L - 12 / I L - 15 R α S u DNA 構築物の作製

非限定的な例では、I L - 12 / I L - 15 R α S u DNA 構築物を作製した（図 3）。ヒト I L - 12 サブユニット配列、ヒト I L - 15 R α S u 配列、ヒト I L - 15 配列、ヒト組織因子 219 配列、およびヒト I L - 18 配列を U n i P r o t ウェブサイトから入手し、これらの配列の DNA を G e n e w i z によって合成した。G S (3) リンカーを用いて I L - 12 サブユニットベータ (p 40) を I L - 12 サブユニットアルファ (p 35) に結合して I L - 12 の一本鎖バージョンを生成し、その後、I L - 12 配列を I L - 15 R α S u 配列に直接結合することによって DNA 構築物を作製した。最終 I L - 12 / I L - 15 R α S u DNA 構築物配列を G e n e w i z によって合成した。

【0589】

I L 12 / I L - 15 R α S u 構築物の核酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである（配列番号 77）。

（シグナルペプチド）

A T G A A A T G G G T G A C C T T T A T T T C T T T A C T G T T C C T C T T T A
G C A G C G C C T A C T C C

（ヒト I L - 12 サブユニットベータ (p 40)）

A T T T G G G A A C T G A A G A A G G A C G T C T A C G T G G T C G A A C T G G
A C T G G T A T C C C G A T G C T C C C G G C G A A A T G G T G G T G C T C A C
T T G T G A C A C C C C G A A G A A G A C G G C A T C A C T T G G A C C C T C
G A T C A G A G C A G C G A G G T G C T G G G C T C C G G A A A G A C C C T C A
C A A T C C A A G T T A A G G A G T T C G G A G A C G C T G G C C A A T A C A C

10

20

30

40

50

ATGCCACAAGGGAGGCGAGGTGCTCAGCCATTTCCTTATTA
TTATTACACAAGAAGGAAGACGGGAATCTGGTCCACCGACA
TTTTTAAAGATCAGAAGGAGCCCAAGAATAAGACCTTTTTT
AAGGTGTGAGGCCAAAACTACAGCGGTCTGTTTCACTTGT
TGGTGGCTGACCAACCATTTCCACCGATTTAACCTTCTCCG
TGAAAAGCAGCCGGGGAAGCTCCGACCCCTCAAGGTGTGAC
ATGTGGAGCCGCTACCCCTCAGCGCTGAGAGGGTTCTGTGGC
GATAACAAGGAATACGAGTACAGCGTGGAGTGCCAAGAAG
ATAGCGCTTGTCCCGCTGCCGAAGAATCTTTACCCATTGA
GGTGATGGTGGACGCCGTGCACAAACTCAAGTACGAGAAC
TACACCTCCTCCTTCTTTATCCGGGACATCATTAAGCCCG
ATCCTCCTAAGAATTTACAGCTGAAGCCTCTCAAAAATAG
CCGGCAAGTTGAGGTCTCTTGGGAATATCCCGACACTTGG
AGCACACCCCAAGCTACTTCTCTTTAACCTTTTGTGTGC
AAGTTCAAGGTAAAAGCAAGCGGGAGAAAGAACCGGGT
GTTTACCGACAAAACCAGCGCCACCGTCATCTGTGCGGAAG
AACGCCTCCATCAGCGTGAGGGCTCAAGATCGTTATTACT
CCAGCAGCTGGTCCGAGTGCGGCCAGCGTGCCCTTGTTCC

(リンカー)

GGCGGTGGAGGATCCGGAGGAGGTGGCTCCGGCGGCGGAG
GATCT

(ヒトIL-12サブユニットアルファ (p35))

CGTAACCTCCCCGTGGCTACCCCCGATCCCGGAATGTTCC
CTTGTTTACACCACAGCCAGAATTTACTGAGGGCCGTGAG
CAACATGCTGCAGAAAGCTAGGCAGACTTTAGAAATTTTAC
CCTTGCAACCAGCGAGGAGATCGACCATGAAGATATCACC
AGGACAAGACATCCACCGTGGAGGCTTGTTTACCTCTGGA
GCTGACAAAGAACGAGTCTTGCTCTCAACTCTCGTGAAACC
AGCTTTCATCACAAATGGCTCTTGTTTAGCTTCCCGGAAGA
CCTCCTTTATGATGGCTTTATGCCTCAGCTCCATCTACGA
GGATTTAAAGATGTACCAAGTGAGTTCAAGACCATGAAC
GCCAAGCTGCTCATGGACCCCTAAACGGCAGATCTTTTTTAG
ACCAGAACATGCTGGCTGTGATTGATGAGCTGATGCAAGC
TTTAAACTTCAACTCCGAGACCGTCCCTCAGAAGTCTCTCC
CTCGAGGAGCCCGATTTTTTACAAGACAAAGATCAAACCTGT
GCATTTTACTCCACGCCTTTAGGATCCGGGCGGTGACCAT
TGACCGGGTTCATGAGCTATTTAAACGCCAGC

(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

ATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACA
TCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTA
TATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACCAAGC
AGCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGG
CTCACTGGACAACACCCCTCTTTAAAGTGCAATCCGG

【0590】

実施例3：IL-18／TF／IL-15 DNA構築物の作製

非限定的な例では、IL-18配列を組織因子219のN末端コーディング領域に結合し、IL-18／TF構築物をIL-15のN末端コーディング領域に結合することによってIL-18／TF／IL-15構築物を作製した(図4)。Genewizによって合成したIL-18／TF／IL-15構築物の核酸配列(リーダー配列を含む)は、以下の通りである(配列番号73)。

10

20

30

40

50

(シグナルペプチド)

ATGAAGTGGGTACACATTTATCTCTTTACTGTTTCCTCTTCT
CCAGCGCCTACAGC

(ヒトIL-18)

TACTTCGGCAAACCTGGAATCCAAGCTGAGCGTGATCCGGA
ATTTAAACGACCAAGTTCTGTTTATCGATCAAGGTAACCG
GCCTCTGTTCGAGGACATGACCGACTCCGATTGCCGGGAC
AATGCCCCCCGGACCATCTTCAATTATCTCCATGTACAAGG
ACAGCCAGCCCCGGGGCATGGCTGTGACAATTAGCGTGAA
GTGTGAGAAAATCAGCACTTTATCTTGTGAGAACAAAGATC
ATCTCCTTTTAAAGGAAATGAACCCCCCGATAACATCAAGG
ACACCAAGTCCGATATCATCTTCTTCCAGCGGTCCGTGCC
CGGTCACGATAACAAGATGCAGTTTCGAATCCTCCTCCTAC
GAGGGCTACTTTTTAGCTTGTGAAAAGGAGAGGGGATTTAT
TCAAGCTGATCCTCAAGAAGGAGGACGAGCTGGGCGATCG
TTCCATCATGTTTACCGTCCAAAACGAGGAT

(ヒト組織因子219)

AGCGGCACAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTT
GGAAGAGCACCAACTTCAAAACCATCCTCGAATGGGAACC
CAAACCCGTTAAACCAAGTTTACACCGTGAGATCAGCACCC
AAGTCCGGCGACTGGAAGTCCAAATGTTTCTATACCACCG
ACACCGAGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGT
GAAACAGACCTACCTCGCCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGCC
GGCAATGTGGAGAGCACTGGTTTCCGCTGGCGAGCCTTTAT
ACGAGAACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAA
TTTAGGACAGCCCCACCATCCAAGCTTTGAGCAAGTTGGC
ACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAG
TGCGGCGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGGATGTGTT
CGGCAAAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCC
TCTTCTCCTCCGGCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACG
AGTTTTTTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAACTACTGTTT
CAGCGTGCAAGCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGAATAGG
AAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAGTGCATGGGCGCAAGAAA
AGGGCGAGTTCCGGGAG

(ヒトIL-15)

AACTGGGTGAACGTCAATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAG
ATTTAATTCAAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACAC
AGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATG
AAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGA
GCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAGAATTTAAT
CATTTTATAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTG
ACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCAGAGAGCTGGAGGAGA
AGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGT
CCAGATGTTTCAATACCTCC

【0591】

実施例4：IL-12／IL-15 R α Su 融合タンパク質およびIL-18／TF／IL-15 融合タンパク質の分泌

IL-12／IL-15 R α Su DNA構築物およびIL-18／TF／IL-15 DNA構築物をpMSGV-1修飾レトロウイルス発現ベクターにクローニングし（参照により本明細書に組み込まれる、Hughes, Hum Gene Ther 16:45

10

20

30

40

50

7-72, 2005に記載のもの)、発現ベクターをCHO-K1細胞にトランスフェクトした。CHO-K1細胞でのこれらの2つの構築物の共発現により、可溶性IL-18/TF/IL-15:IL-12/IL-15R α Suタンパク質複合体(18t15-12sと称する、図5および図6)の形成および分泌が可能になった。18t15-12sタンパク質を、抗TF抗体親和性クロマトグラフィーおよびサイズ排除クロマトグラフィーを使用してCHO-K1細胞培養上清から精製し、IL-12/IL-15R α Su融合タンパク質およびIL-18/TF/IL-15融合タンパク質からなる可溶性(非凝集)タンパク質複合体を得た。

【0592】

IL12/IL-15R α Su融合タンパク質のアミノ酸配列(シグナルペプチド配列を含む)は、以下の通りである(配列番号76)。

(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSSAYS

(ヒトIL-12サブユニットベータ(p40))

IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL
DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSL
LLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFRLCEAKNYSGRFTC
WWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV
RGDNKEYEYSVECEQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKY
ENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTW
STPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS

(リンカー)

GGGGSGGGGSGGGGS

(ヒトIL-12サブユニットアルファ(p35))

RNLPVATPDPGMFPC LHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY
PCTSEEDIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRET
SFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMN
AKLLMDPKRQIFLDQNM L AVIDELMQALNFNSETVPQKSS
LEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS

(ヒトIL-15R α sushidメイン)

ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTS
SLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI R

【0593】

IL-18/TF/IL-15融合タンパク質のアミノ酸配列(シグナルペプチド配列を含む)は、以下の通りである(配列番号72)。

(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSSAYS

(ヒトIL-18)

YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRD
NAPRTIFIISMYKDSQPRGMAVTISVKCEKISTLSCENKI
ISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRSVPGHDKMQFESSSY
EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D

(ヒト組織因子219)

SGTTNTVAAYNL TWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST
KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA
GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTYLWKS
SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNR
KSTDSPVECMGQEKGEFRE

10

20

30

40

50

(ヒトIL-15)

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAM
KCFLLLELQVISLESGDASIHDVTENLIILANNSLSSNGNV
TESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS

【0594】

ある場合には、リーダー（シグナル配列）ペプチドをインタクトなポリペプチドから切断して、可溶性であり得るか、または分泌され得る成熟形態を生成する。

【0595】

実施例5：免疫親和性クロマトグラフィーによる18t15-12sの精製

抗TF抗体親和性カラムをGE Healthcare（商標）AKTA Avantタンパク質精製システムに接続した。流速は、2mL／分の溶出ステップを除く全てのステップで4mL／分であった。

【0596】

18t15-12sの細胞培養収集物を1Mトリス塩基でpH7.4に調整し、5カラム体積のPBSで平衡化した抗TF抗体親和性カラムにロードした。試料をロードした後、カラムを5カラム体積のPBSで洗浄し、その後、6カラム体積の0.1M酢酸（pH2.9）で溶出した。280nmでの吸光度を収集し、その後、1Mトリス塩基の添加により、試料をpH7.5～8.0に中和した。その後、中和した試料を、分子量カットオフ30kDaでAmicon（登録商標）遠心フィルターを使用してPBSに緩衝液交換した。図7は、18t15-12s複合体が抗TF抗体親和性カラムに結合することを示しており、ここで、TFは、18t15-12s結合パートナーである。緩衝液交換したタンパク質試料を、さらなる生化学的分析および生物学的活性試験のために2～8℃で保管する。

【0597】

各溶出後、抗TF抗体親和性カラムを6カラム体積の0.1Mグリシン（pH2.5）を使用してストリッピングした。その後、カラムを、10カラム体積のPBS、0.05%アジ化ナトリウムを使用して中和し、2～8℃で保管した。

【0598】

実施例6：18t15-12sのサイズ排除クロマトグラフィー

GE Healthcare Superdex（登録商標）200 Increase 10/300 GLゲル濾過カラムを、GE Healthcare AKTA（商標）Avantタンパク質精製システムに接続した。カラムを2カラム体積のPBSで平衡化した。流速は0.8mL／分であった。キャピラリーループを使用して、1mg／mLの18t15-12s複合体200μLをカラムに注入した。注入を1.25カラム体積のPBSで追跡した。SECクロマトグラフを図8に示す。恐らく18t15-12s二量体または凝集体のグリコシル化程度が異なるため、マイナーな高分子量ピークとともに主要な18t15-12sタンパク質ピークが存在する。

【0599】

実施例7：18t15-12sのSDS-PAGE

純度およびタンパク質分子量を決定するために、精製した18t15-12sタンパク質試料を、4～12%NuPageビスートリスタンパク質ゲルSDS-PAGEを使用して分析した。ゲルをInstantBlue（商標）で約30分間染色し、その後、精製水中で一晩脱色した。図9は、抗TF抗体親和性精製18t15-12sのSDSゲルの例を示しており、予想された分子量（66kDaおよび56kDa）にバンドがある。

【0600】

実施例8：CHO-K1細胞における18t15-12sのグリコシル化

CHO-K1細胞における18t15-12sのグリコシル化を、Protein Deglycosylation Mix IIキット（New England Biolabs）を製造業者の指示に従って使用して確認した。図10は、脱グリコシル化および非脱グリコシル化18t15-12sのSDS PAGEの例を示す。図10のレーン4

10

20

30

40

50

に見られるように、脱グリコシル化により18t15-12sの分子量が減少する。

【0601】

実施例9：18t15-12s複合体の組換えタンパク質定量

18t15-12s複合体を、標準のサンドイッチELISA法を使用して検出および定量化した(図11~14)。抗ヒト組織因子抗体が捕捉抗体として機能し、ビオチン化抗ヒトIL-12、IL-15、またはIL-18抗体(BAF 219、BAM 247、D045-6、全てR&D Systems)が検出抗体として機能した。精製した18t15-12sタンパク質複合体の組織因子も、抗ヒト組織因子捕捉抗体(I43)および抗ヒト組織因子抗体検出抗体を使用して検出した。I43/抗TF抗体ELISAを、同様の濃度の精製組織因子と比較した。

10

【0602】

実施例10：18t15-12s複合体の免疫刺激能力

18t15-12s複合体のIL-15免疫刺激活性を評価するために、増加濃度の18t15-12sを200μLのIMDM:10%FBS培地中の32Dβ細胞(104細胞/ウェル)に添加した。32Dβ細胞を37℃で3日間インキュベートした。4日目に、WST-1増殖試薬(10μL/ウェル)を添加し、4時間後、吸光度を450nmで測定して、WST-1の可溶性ホルマザン色素への切断に基づいて細胞増殖を測定した。ヒト組換えIL-15の生物活性を陽性対照として評価した。図15に示されるように、18t15-12sは、32Dβ細胞のIL-15依存性細胞増殖を示した。18t15-12s複合体は、恐らくIL-18および組織因子のIL-15ドメインへの結合のため、ヒト組換えIL-15と比較して低下した活性を示した。

20

【0603】

18t15-12s複合体におけるIL-12およびIL-18の個々の活性を評価するために、18t15-12sを、200μLのIMDM:10%熱不活性化FBS培地中のHEK-Blue IL-12およびHEK-Blue IL-18レポーター細胞に添加した(5×10⁴細胞/ウェル、hkb-il12およびhkb-hmil18、InvivoGen)。細胞を37℃で一晩インキュベートした。20μLの誘導されたHEK-Blue IL-12およびHEK-Blue IL-18レポーター細胞上清を180μLのQUANT-Blue(InvivoGen)に添加し、37℃で1~3時間インキュベートした。IL-12またはIL-18活性を、吸光度を620nmで測定することによって評価した。ヒト組換えIL-12またはIL-18を陽性または陰性対照として評価した。図16および図17に示されるように、18t15-12s複合体のサイトカインドメインは各々、特定の生物学的活性を保持する。18t15-12sの活性は、恐らくIL-15および組織因子のIL-18ドメインへの結合、およびIL-12のIL-15Rαsushidドメインへの結合のため、ヒト組換えIL-18またはIL-12の活性と比較して低下した。

30

【0604】

実施例11：18t15-12s複合体によるサイトカイン誘導性メモリー様NK細胞の誘導

サイトカイン誘導性メモリー様NK細胞を、精製NK細胞を飽和量のIL-12(10ng/mL)、IL-15(50ng/mL)、およびIL-18(50ng/mL)で一晩刺激した後にエクスピボで誘導することができる。これらのメモリー様特性は、IL-2受容体α(IL-2Rα、CD25)、CD69(および他の活性化マーカー)の発現、およびIFN-γ産生の増加により測定されている。サイトカイン誘導性メモリー様NK細胞の生成を促進する18t15-12s複合体の能力を評価するために、精製ヒトNK細胞(95%超のCD56+)を、0.01nM~10000nMの18t15-12s複合体または個々のサイトカインの組み合わせ(組換えIL-12(10ng/mL)、IL-18(50ng/mL)、およびIL-15(50ng/mL))で14~18時間刺激した。細胞表面CD25およびCD69発現および細胞内IFN-γレベルを、抗体染色およびフローサイトメトリーによって評価した。

40

50

【0605】

新鮮なヒト白血球を血液バンクから入手し、CD56+NK細胞を、RosetteSep／ヒトNK細胞試薬 (StemCell Technologies) を使用して単離した。NK細胞の純度は70%超であり、CD56-BV421、CD16-BV510、CD25-PE、CD69-APCFire750特異的抗体 (BioLegend) で染色することにより確認した。細胞をカウントし、0.2mLの完全培地 (RPMI 1640 (Gibco)、2mMのL-グルタミン (Thermo Life Technologies)、ペニシリン (Thermo Life Technologies)、ストレプトマイシン (Thermo Life Technologies)、および10% FBS (Hyclone) を補充) 中の96ウェル平底プレートに $0.2 \times 10^6 / \text{mL}$ で再懸濁した。細胞を、サイトカインhIL-12 (10ng/mL) (BioLegend)、hIL-18 (50ng/mL) (R&D Systems)、およびhIL-15 (50ng/mL) (NCI) の混合物、または0.01nM~10000nMの18t15-12sのいずれかで、37℃、5%CO₂で14~18時間刺激した。その後、細胞を収集し、CD56-BV421、CD16-BV510、CD25-PE、CD69-APCFire750特異的抗体 (BioLegend) で30分間表面染色した。染色後、細胞を、FACS緩衝液 (1X PBS (Hyclone)、0.5% BSA (EMD Millipore) および0.001%アジ化ナトリウム (Sigma) を含む) 中で洗浄した (1500RPM、室温で5分間)。2回洗浄した後、細胞を、FACS Celesta (商標) フローサイトメーターを使用して分析した (プロットされたデーター平均蛍光強度、図18Aおよび図18B)。

【0606】

新鮮なヒト白血球を血液バンクから入手し、CD56+NK細胞を、RosetteSep／ヒトNK細胞試薬 (StemCell Technologies) を使用して単離した。NK細胞の純度は70%超であり、CD56-BV421、CD16-BV510、CD25-PE、CD69-APCFire750特異的抗体 (BioLegend) で染色することにより確認した。細胞をカウントし、0.2mLの完全培地 (RPMI 1640 (Gibco)、2mMのL-グルタミン (Thermo Life Technologies)、ペニシリン (Thermo Life Technologies)、ストレプトマイシン (Thermo Life Technologies)、および10% FBS (Hyclone) を補充) 中の96ウェル平底プレートに $0.2 \times 10^6 / \text{mL}$ で再懸濁した。細胞を、hIL-12 (10ng/mL) (BioLegend)、hIL-18 (50ng/mL) (R&D)、およびhIL-15 (50ng/mL) (NCI) のサイトカイン混合物、または0.01nM~10000nMの18t15-12s複合体のいずれかで、37℃、5%CO₂で14~18時間刺激した。その後、細胞を、10μg/mLのブレフェルジンA (Sigma) および1Xモネンシン (eBioscience) で4時間処理し、収集した後、CD56-BV421、CD16-BV510、CD25-PE、CD69-APCFire750特異的抗体で30分間染色した。染色後、細胞を、FACS緩衝液 (1X PBS (Hyclone)、0.5% BSA (EMD Millipore) および0.001%アジ化ナトリウム (Sigma) を含む) 中で洗浄し (1500RPM、室温で5分間)、室温で10分間固定した。固定後、細胞を1x透過処理緩衝液 (eBioscience) 中で洗浄し (1500RPM、室温で5分間)、IFN-γ-PE Ab (BioLegend) で、室温で30分間染色した。細胞を1x透過処理緩衝液で再度洗浄し、その後、FACS緩衝液で洗浄した。細胞ペレットを300μLのFACS緩衝液中に再懸濁し、BD FACS Celesta (商標) フローサイトメーターを使用して分析した (IFN-γ陽性細胞のプロット%、図19)。

【0607】

実施例12：ヒト腫瘍細胞に対するNK細胞のインビトロ細胞傷害性

ヒト骨髓性白血病細胞K562 (CellTrace violetで標識) を、増加

濃度の18t15-12s複合体または対照としてのサイトカイン混合物の存在下で、精製ヒトNK細胞とインキュベートした。20時間後、培養物を収集し、ヨウ化プロピジウム(PI)で染色し、フローサイトメトリーで評価した。図20に示されるように、18t15-12s複合体は、サイトカイン混合物と同様のまたはそれよりも高いレベルで、K562に対するヒトNK細胞傷害性を誘導し、18t15-12s複合体およびサイトカイン混合物の両方が培地対照よりも高い細胞傷害性を誘導した。

【0608】

実施例13: IL-12/IL-15R α Su/ α CD16scFv DNA構築物およびIL-18/TF/IL-15 DNA構築物の作製

非限定的な例では、IL-12/IL-15R α Su/ α CD16scFv DNA構築物およびIL-18/TF/IL-15 DNA構築物を作製した(図21および図22)。ヒトIL-12サブユニット配列、ヒトIL-15R α Su配列、ヒトIL-15配列、ヒト組織因子219配列、およびヒトIL-18配列をGenewizによって合成した。GS(3)リンカーを用いてIL-12サブユニットベータ(p40)をIL-12サブユニットアルファ(p35)に結合してIL-12の一本鎖バージョンを生成し、IL-12配列をIL-15R α Su配列に、かつIL-12/IL-15R α Su構築物を α CD16scFvのN末端コーディング領域に直接結合することによってDNA構築物を作製した。

【0609】

IL-12/IL-15R α Su/ α CD16scFv構築物の核酸配列は、以下の通りである(配列番号123)。

(シグナルペプチド)

ATGAAATGGGTGACCTTTATTTCTTTACTGTTTCCTCTTTA
GCAGCGCCTACTCC

(ヒトIL-12サブユニットベータ(p40))

ATTTGGGAACCTGAAGAAGGACGTCCTACGTGGTCTGAACCTGG
ACTGGTATCCCGATGCTCCCGGCGAAATGGTGGTGCTCAC
TTGTGACACCCCGAAGAAGACGGCATCACTTGGACCCCTC
GATCAGAGCAGCGAGGTGCTGGGCTCCGGAAAGACCCCTCA
CAATCCAAGTTAAGGAGTTCGGAGACGCTGGCCAATACAC
ATGCCACAAGGGAGGCGAGGTGCTCAGCCATTCTCTTATTA
TTATTACACAAGAAGGAAGACGGAATCTGGTCCACCGACA
TTTTTAAAGATCAGAAGGAGCCCAAGAATAAGACCTTTTTT
AAGGTGTGAGGCCAATAAATACTACAGCGGTCTGTTTCACTTGT
TGGTGGCTGACCACCATTTCCACCGATTTTAACCTTCTCCG
TGAAAAGCAGCCGGGGAAGCTCCGACCCCTCAAGGTGTGAC
ATGTGGAGCCGCTACCCCTCAGCGCTGAGAGGGTTCTGTGGC
GATAACAAGGAATACGAGTACAGCGTGGAGTGCCAAGAAG
ATAGCGCTTGTCCCGCTGCCGAAGAATCTTTACCCATTGA
GGTGATGGTGGACGCCGTGCACAACTCAAGTACGAGAAC
TACACCTCCTCCTTTTATCCGGGACATCATTAAGCCCG
ATCCTCCTAAGAATTTACAGCTGAAGCCTCTCAAAAATAG
CCGGCAAGTTGAGGTCTCTTGGGAATATCCCGACACTTGG
AGCACACCCACAGCTACTTCTCTTTAACCTTTTGTGTGC
AAGTTCAAGGTAAAGCAAGCGGGAGAAGAAAGACCGGGT
GTTTACCGACAAACAGCGCCACCGTCATCTGTCTGGAAG
AACGCTCCTCATCAGCGTGAGGGCTCAAGATCGTTATTACT
CCAGCAGCTGGTCCGAGTGCGGCCAGCGTGCTTGTTC

(リンカー)

GGCGGTGGAGGATCCGGAGGAGGTGGCTCCGGCGGGCGGAG

10

20

30

40

50

G A T C T

(ヒトIL-12サブユニットアルファ (p35))

C G T A A C C T C C C C G T G G C T A C C C C C G A T C C C G G A A T G T T C C
 C T T G T T T A C A C C A C A G C C A G A A T T T A C T G A G G G C C G T G A G
 C A A C A T G C T G C A G A A A G C T A G G C A G A C T T T A G A A T T T T A C
 C C T T G C A C C A G C G A G G A G A T C G A C C A T G A A G A T A T C A C C A
 A G G A C A A G A C A T C C A C C G T G G A G G C T T G T T T A C C T C T G G A
 G C T G A C A A A G A A C G A G T C T T G T C T C A A C T C T C G T G A A A C C
 A G C T T C A T C A C A A A T G G C T C T T G T T T A G C T T C C C G G A A G A
 C C T C C T T T A T G A T G G C T T T A T G C C T C A G C T C C A T C T A C G A
 G G A T T T A A A G A T G T A C C A A G T G G A G T T C A A G A C C A T G A A C
 G C C A A G C T G C T C A T G G A C C C T A A A C G G C A G A T C T T T T T A G
 A C C A G A A C A T G C T G G C T G T G A T T G A T G A G C T G A T G C A A G C
 T T T A A A C T T C A A C T C C G A G A C C G T C C C T C A G A A G T C C T C C
 C T C G A G G A G C C C G A T T T T T A C A A G A C A A A G A T C A A A C T G T
 G C A T T T T A C T C C A C G C C T T T A G G A T C C G G G C C G T G A C C A T
 T G A C C G G G T C A T G A G C T A T T T A A A C G C C A G C

10

(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

A T T A C A T G C C C C C C T C C C A T G A G C G T G G A G C A C G C C G A C A
 T C T G G G T G A A G A G C T A T A G C C T C T A C A G C C G G G A G A G G T A
 T A T C T G T A A C A G C G G C T T C A A G A G G A A G G C C G G C A C C A G C
 A G C C T C A C C G A G T G C G T G C T G A A T A A G G C T A C C A A C G T G G
 C T C A C T G G A C A A C A C C C T C T T T A A A G T G C A T C C G G

20

(抗ヒトCD16軽鎖可変ドメイン)

T C C G A G C T G A C C C A G G A C C C T G C T G T G T C C G T G G C T C T G G
 G C C A G A C C G T G A G G A T C A C C T G C C A G G G C G A C T C C C T G A G
 G T C C T A C T A C G C C T C C T G G T A C C A G C A G A A G C C C G G C C A G
 G C T C C T G T G C T G G T G A T C T A C G G C A A G A A C A A C A G G C C C T
 C C G G C A T C C C T G A C A G G T T C T C C G G A T C C T C C T C C G G C A A
 C A C C G C C T C C C T G A C C A T C A C A G G C G C T C A G G C C G A G G A C
 G A G G C T G A C T A C T A C T G C A A C T C C A G G G A C T C C T C C G G C A
 A C C A T G T G G T G T T C G G C G G C G G C A C C A A G C T G A C C G T G G G
 C C A T

30

(リンカー)

G G C G G C G G C G G C T C C G G A G G C G G C G G C A G C G G C G G A G G A G
 G A T C C

(抗ヒトCD16重鎖可変ドメイン)

G A G G T G C A G C T G G T G G A G T C C G G A G G A G G A G T G G T G A G G C
 C T G G A G G C T C C C T G A G G C T G A G C T G T G C T G C C T C C G G C T T
 C A C C T T C G A C G A C T A C G G C A T G T C C T G G G T G A G G C A G G C T
 C C T G G A A A G G G C C T G G A G T G G G T G T C C G G C A T C A A C T G G A
 A C G G C G G A T C C A C C G G C T A C G C C G A T T C C G T G A A G G G C A G
 G T T C A C C A T C A G C A G G G A C A A C G C C A A G A A C T C C C T G T A C
 C T G C A G A T G A A C T C C C T G A G G G C C G A G G A C A C C G C C G T G T
 A C T A C T G C G C C A G G G G C A G G T C C C T G C T G T T C G A C T A C T G
 G G G A C A G G G C A C C C T G G T G A C C G T G T C C A G G

40

【0610】

IL-18配列を組織因子219のN末端コーディング領域に結合し、IL-18/T
 F構築物をIL-15のN末端コーディング領域に結合することによっても構築物を作製
 した(図22)。IL-18/T F/IL-15構築物の核酸配列(リーダー配列を含む

50

）は、以下の通りである（配列番号 73）。

（シグナルペプチド）

ATGAAGTGGGTCACATTTATCTCTTTACTGTTTCCTCTTCT
CCAGCGCCTACAGC

（ヒト IL-18）

TACTTCGGCAAACCTGGAATCCAAGCTGAGCGTGATCCGGA
ATTTAAACGACCAAGTTCTGTTTATCGATCAAGGTAACCG
GCCTCTGTTCGAGGACATGACCGACTCCGATTGCCGGGAC
AATGCCCCCCCGGACCATCTTCAATTATCTCCATGTACAAGG
ACAGCCAGCCCCGGGGCATGGCTGTGACAATTAGCGTGAA
GTGTGAGAAAATCAGCACTTTATCTTGTGAGAACAAGATC
ATCTCCTTTTAAAGGAATGAACCCCCCGATAACATCAAGG
ACACCAAGTCCGATATCATCTTCTTCCAGCGGTCCGTGCC
CGGTACAGATAACAAGATGCAGTTTGAATCCTCCTCCTAC
GAGGGCTACTTTTTTAGCTTGTGAAAAGGAGAGGGATTTAT
TCAAGCTGATCCTCAAGAAGGAGGACGAGCTGGGCGATCG
TTCCATCATGTTTCAACCGTCCAAAACGAGGAT

10

（ヒト組織因子 219）

AGCGGCACAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTT
GGAAGAGCACCAACTTCAAAAACCATCCTCGAATGGGAACC
CAAACCCGTTTAAACCAAGTTTACACCGTGAGATCAGCACCC
AAGTCCGGCGACTGGAAGTCCAAATGTTTCTATACCAACCG
ACACCGAGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGT
GAAACAGACCTACCTCGCCCCGGGTGTTTATAGCTACCCCCGCC
GGCAATGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTAT
ACGAGAACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAA
TTTAGGACAGCCCCACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGC
ACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAG
TGCGGCGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTT
CGGCAAAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCC
TCTTCTCCTCCGGCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAACG
AGTTTTTTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAAACCTACTGTTT
CAGCGTGCAAGCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGAAATAGG
AAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAGTGCATGGGCGCAAGAAA
AGGGCGAGTTCCGGGAG

20

30

（ヒト IL-15）

AACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAG
ATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACAC
AGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAAGGTGACCGCCATG
AAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGA
GCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGAGGAATTTAAT
CATTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTG
ACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCAGAGAGCTGGAGGAGA
AGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGT
CCAGATGTTTCATCAATACCTCC

40

【0611】

実施例 14：IL-12／IL-15 R α Su／ α CD16 s c F v 融合タンパク質および IL-18／TF／IL-15 融合タンパク質の分泌

IL-12／IL-15 R α Su／ α CD16 s c F v 構築物および IL-18／TF／IL-15 構築物を pMSGV-1 修飾レトロウイルス発現ベクター（参照により本明

50

細書に組み込まれる、Hughes, Hum Gene Ther 16:457-72, 2005)にクローニングし、発現ベクターをCHO-K1細胞にトランスフェクトした。CHO-K1細胞でのこれらの2つの構築物の共発現により、可溶性IL-18/TF/IL-15:IL-12/IL-15R α Su/ α CD16scFvタンパク質複合体(18t15-12s/ α CD16と称する、図23および図24)の分泌がもたらされた。CHO-K1細胞でのこれらの2つの構築物の共発現により、可溶性IL-18/TF/IL-15:IL-12/IL-15R α Su/ α CD16scFvタンパク質複合体(18t15-12s/ α CD16と称する、図23および図24)の分泌がもたらされ、これを抗TF抗体親和性および他のクロマトグラフィー法により精製することができる。ある場合には、シグナルペプチドをインタクトなポリペプチドから切断して、成熟形態を生成する。

10

【0612】

IL-12/IL-15R α Su/ α CD16scFv融合タンパク質のアミノ酸配列(シグナルペプチド配列を含む)は、以下の通りである(配列番号122)。

(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSSAYS

(ヒトIL-12サブユニットベータ(p40))

IWELKKD VYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL
DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSL
LLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTC
WWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV
RGDNKEYEYSVECEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYEN
YTSSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTW
STPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS

20

(リンカー)

GGGGS GGGGS GGGGS

(ヒトIL-12サブユニットアルファ(p35))

RNLPVATPDPMFPC LHH SQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY
PCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRET
SFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMN
AKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSS
LEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS

30

(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTS
SLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI R

(抗ヒトCD16軽鎖可変ドメイン)

SELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQ
APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAED
EADYYCNSRDSSGNHVVFGGGTKLTVGH

40

(リンカー)

GGGGS GGGGS GGGGS

(抗ヒトCD16重鎖可変ドメイン)

EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVRQA
PGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNANKNSLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARGRSL LFDYWGQGTLVTVSR

【0613】

IL-18/TF/IL-15融合タンパク質のアミノ酸配列(リーダー配列を含む)は、以下の通りである(配列番号72)。

(シグナルペプチド)

50

MKWVTFISLLFLFSSAYS

(ヒトIL-18)

YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQG NRPLFEDMTDSDCRD
NAPRTIFIISMYKDSQPRGMAVTISVKCEKISTLSCENKI
ISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FQRSVPGHDKMQFESSSY
EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D

(ヒト組織因子219)

SGTTNTVAAYNL TWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST
KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPA
GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS
SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVIPSR TVNR
KSTDSPVECMGQEKGEFRE

(ヒトIL-15)

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAM
KCFLLLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNV
TESGCKECEEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFIN TS

【0614】

実施例15：IL-18／IL-15R α Su DNA構築物およびIL-12／TF／
IL-15 DNA構築物の作製

非限定的な例では、IL-18／IL-15R α Su DNA構築物およびIL-12
／TF／IL-15 DNA構築物を作製した。ヒトIL-18サブユニット配列、ヒト
IL-15R α Su配列、ヒトIL-12配列、ヒト組織因子219配列、およびヒトIL-
15配列をGenewizによって合成した。IL-18をIL-15R α Suに直
接結合することによってDNA構築物を作製した。IL-12配列をヒト組織因子219
形態のN末端コーディング領域に結合し、さらにIL-12／TF構築物をIL-15の
N末端コーディング領域に結合することによって追加の構築物も作製した。上述のように
、IL-12の一本鎖バージョン（p40-リンカー-p35）を使用した。

【0615】

IL-18／IL-15R α Su構築物の核酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は
、以下の通りである（配列番号217）。

（シグナルペプチド）

ATGAAGTGGGT CACATTTATCTCTTTACTGTTCCCTCTTCT
CCAGCGCCTACAGC

(ヒトIL-18)

TACTTCGGCAA AACTGGAATCCAAGCTGAGCGTGATCCGGA
ATTTAAACGACCAAGTTCTGTTTATCGATCAAGGTAACCG
GCCTCTGTTCGAGGACATGACCGACTCCGATTGCCGGGAC
AATGCCCCCCCGGACCATCTTCAATTATCTCCATGTACAAGG
ACAGCCAGCCCCGGGGCATGGCTGTGACAATTAGCGTGAA
GTGTGAGAAAATCAGCACTTTATCTTGTGAGAACAAAGATC
ATCTCCTTTTAAGGAAATGAACCCCCCGATAACATCAAGG
ACACCAAGTCCGATATCATCTTCTTCCAGCGGTCCGTGCC
CGGTACAGATAACAAGATGCAGTTTCGAATCCTCCTCCTAC
GAGGGCTACTTTT TAGCTTGTGAAAAGGAGAGGGATTAT
TCAAGCTGATCCTCAAGAAGGAGGACGAGCTGGGCGATCG
TTCCATCATGTTCAACCGTCCAAAACGAGGAT

(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

ATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTGAGGCACGCCGACA
TCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTA

10

20

30

40

50

TATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACCAAGC
AGCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGG
CTCACTGGACAACACCCTCTTTAAAGTG CATCCGG

【0616】

IL-12 / TF / IL-15 構築物の核酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである（配列番号218）。

（シグナルペプチド）

ATGAAATGGGTGACCTTTATTTCTTTACTGTTCCCTCTTTA
GCAGCGCCTACTCC

（ヒトIL-12サブユニットベータ（p40））

ATTTGGGAACCTGAAGAAGGACGTCTACGTGGTCTGAACCTGG
ACTGGTATCCCGATGCTCCCGGCGAAATGGTGGTGGTCTCAC
TTGTGACACCCCCGAAGAAGACGGCATCACTTGGACCCCTC
GATCAGAGCAGCGAGGTGCTGGGCTCCGGAAAGACCCCTCA
CAATCCAAGTTAAGGAGTTTCGGAGACGCTGGCCAATACAC
ATGCCACAAGGGAGGCGAGGTGCTCAGCCATTCTCTTATTA
TTATTACACAAGAAGGAAGACGGGAATCTGGTCCACCGACA
TTTTTAAAGATCAGAAGGAGCCCAAGAATAAGACCTTTTTT
AAGGTGTGAGGCCAAAACTACAGCGGTCTGTTTCACTTGT
TGGTGGCTGACCACCATTTCCACCGATTTAACCTTCTCCG
TGAAAAGCAGCCGGGGAAGCTCCGACCCTCAAGGTGTGAC
ATGTGGAGCCGCTACCCCTCAGCGCTGAGAGGGTTCTGTGGC
GATAACAAGGAATACGAGTACAGCGTGGAGTGCCAAGAAG
ATAGCGCTTGTCCCGCTGCCGAAGAATCTTTACCCATTGA
GGTGATGGTGGACGCCGTGCACAACTCAAGTACGAGAAC
TACACCTCCTCTCTTTATCCGGGACATCATTAAGCCCG
ATCCTCCTAAGAATTTACAGCTGAAGCCTCTCAAAAATAG
CCGGCAAGTTGAGGTCTCTTGGGAATATCCCGACACTTGG
AGCACACCCCAACAGCTACTTCTCTTTAACCTTTTGTGTGC
AAGTTCAAGGTAAAAGCAAGCGGGAGAAGAAAGACCGGGT
GTTTACCGACAAAACAGCGCCACCGTCATCTGTCTCGGAAG
AACGCCTCCATCAGCGTGAGGGCTCAAGATCGTTATTACT
CCAGCAGCTGGTCCGAGTGCGGCCAGCGTGCCTTGTTC

（リンカー）

GGCGGTGGAGGATCCGGAGGAGGTGGCTCCGGCGGCGGAG
GATCT

（ヒトIL-12サブユニットアルファ（p35））

CGTAACCTCCCCGTGGCTACCCCCGATCCCGGAATGTTCC
CTTGTTTACACCACAGCCAGAAATTTACTGAGGGCCGTGAG
CAACATGCTGCAGAAAGCTAGGCAGACTTTAGAAATTTTAC
CCTTGCAACCAGCGAGGAGATCGACCATGAAGATATCACC
AGGACAAGACATCCACCGTGGAGGCTTGTTTACCTCTGGA
GCTGACAAAGAACGAGTCTTGTCTCAACTCTCGTGAAACC
AGCTTCATCACAAATGGCTCTTGTTTAGCTTCCCGGAAGA
CCTCCTTTATGATGGCTTTATGCCTCAGCTCCATCTACGA
GGATTTAAAGATGTACCAAGTGAGTTCAAGACCATGAAC
GCCAAGCTGCTCATGGACCCCTAAACGGCAGATCTTTTTAG
ACCAGAACATGCTGGCTGTGATTGATGAGCTGATGCAAGC
TTTAAACTTCAACTCCGAGACCGTCCCTCAGAAGTCCTCC
CTCGAGGAGCCCCGATTTTTTACAAGACAAAGATCAAACTGT

10

20

30

40

50

GCATTTTACTCCACGCCTTTAGGATCCGGGCCGTGACCAT
TGACCGGGTTCATGAGCTATTTAAACGCCAGC

(ヒト組織因子219)

AGCGGCACAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTT
GGAAGAGCACCAACTTCAAAACCATCCTCGAATGGGAACC
CAAACCCGTTAACCAGTTTACACCGTGAGATCAGCACCC
AAGTCCGGCGACTGGAAGTCCAAATGTTTCTATACCACCG
ACACCGAGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGT
GAAACAGACCTACCTCGCCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGCC
GGCAATGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTAT
ACGAGAACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAA
TTTAGGACAGCCCCACCATCCAAGCTTTGAGCAAGTTGGC
ACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAG
TGCGGCGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGGATGTGTT
CGGCAAAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCC
TCTTCTCTCCGGCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACG
AGTTTTTTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAACTACTGTTT
CAGCGTGCAAGCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGAAATAGG
AAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAGTGCATGGGGCCAAGAAA
AGGGCGAGTTCCGGGAG

(ヒトIL-15)

AACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAG
ATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACAC
AGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATG
AAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGA
GCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGAGAAATTTAAT
CATTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTG
ACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGA
AGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGT
CCAGATGTTTCATCAATACCTCC

【0617】

実施例16：IL-18／IL-15R α Su融合タンパク質およびIL-12／TF／IL-15融合タンパク質の分泌

IL-18／IL-15R α Su構築物およびIL-12／TF／IL-15構築物をpMSGV-1修飾レトロウイルス発現ベクター（参照により本明細書に組み込まれる、Hughes, Hum Gene Ther 16:457-72, 2005）にクローニングし、発現ベクターをCHO-K1細胞にトランスフェクトした。CHO-K1細胞でのこれらの2つの構築物の共発現により、可溶性IL-12／TF／IL-15：IL-18／IL-15R α Suタンパク質複合体（12t15／s18と称する）の分泌がもたらされ、これを抗TF抗体親和性および他のクロマトグラフィー法により精製することができる。

【0618】

IL-18／IL-15R α Su融合タンパク質のアミノ酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである（配列番号219）。

(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSSAYS

(ヒトIL-18)

YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFI DQGNRPLFEDMTDSDCRD
NAPRTIFIISMYKDSQPRGMAVTISVKCEKISTLSCENKI
ISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FQRSVP GHDKMQFESSY

EGYFLACEKERDLFKLILKKEDDELGDRSIMFTVQNE D

(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

ITCPPPMMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTS
SLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI R

【0619】

IL-12/TF/IL-15融合タンパク質のアミノ酸配列(リーダー配列を含む)
は、以下の通りである(配列番号220)。

(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSSAYS

(ヒトIL-12サブユニットベータ(p40))

IWELKKD VYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL
DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSL L
LLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNYSGRFTC
WWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV RG
DNKEYEYSVE CQEDSACPAAEESLP I EVMVDAVHKLKYEN
YTSSSF FIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTW
STPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRK
NASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS

(リンカー)

GGGGSGGGGSGGGGS

(ヒトIL-12サブユニットアルファ(p35))

RNLPVATPDPGMFPC LHHSQNLLRAVSNMLQKARQTL E FY
PCTSE EIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRET
SFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMN
AKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSS
LEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS

(ヒト組織因子219)

SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST
KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPA
GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTL YWKS
SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVIPSR TVNR
KSTDSPVECMGQEKGEFRE

(ヒトIL-15)

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSC KVTAM
KCFLLLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLS SNGNV
TESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFIN TS

【0620】

ある場合には、リーダーペプチドをインタクトなポリペプチドから切断して、可溶性で
あり得るか、または分泌され得る成熟形態を生成する。

【0621】

実施例17: 18t15-12s16複合体の組換えタンパク質量

18t15-12s16複合体(IL-12/IL-15R α Su/ α CD16scF
v; IL-18/TF/IL-15を含む)を、標準のサンドイッチELISA法を使用
して検出および定量化した(図25)。抗ヒト組織因子抗体/IL-2または抗TF抗体
/IL-18が捕捉抗体として機能し、ビオチン化抗ヒトIL-12またはIL-18抗
体(BAF 219、D045-6、いずれもR&D Systems)が検出抗体として
機能した。組織因子を、抗ヒト組織因子抗体(I43)および抗ヒト組織因子抗体検出抗
体を使用して検出した。

【0622】

10

20

30

40

50

実施例 18 : TGF β RII / IL-15R α Su DNA 構築物および IL-21 / TGF / IL-15 DNA 構築物の作製

非限定的な例では、TGF β RII / IL-15R α Su DNA 構築物を作製した（図 26）。ヒト TGF β RII 二量体配列およびヒト IL-21 配列を UniProt ウェブサイトから入手し、これらの配列の DNA を Genewiz によって合成した。リンカーを用いて TGF β RII を別の TGF β RII に結合して TGF β RII の一本鎖バージョンを生成し、その後、TGF β RII 一本鎖二量体配列を IL-15R α Su の N 末端コーディング領域に直接結合することによって DNA 構築物を作製した。

【0623】

TGF β RII / IL-15R α Su 構築物の核酸配列（シグナル配列を含む）は、以下の通りである（配列番号 93）。

（シグナルペプチド）

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTTCCTGTTCT
CCAGCGCCTACTCC

（（ヒト TGF β RII - 第 1 の断片）

ATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGTTCAGGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCTGCAATGTCCAACCTGCACGATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAACAATCACCCCTGGAGACCGTGTGTTCACGAC
CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTCAATTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAAGAAGACCCGG
AGAGACCTTTCTTTATGTGTTCTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCCTGAT

（リンカー）

GGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTTCTGGTGGAGGTG
GGAGT

（ヒト TGF β RII - 第 2 の断片）

ATTCCTCCCCACGTGCAGAAGAGCGTGAATAATGACATGA
TCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGAATTTCCCCAGCT
GTGCAAAATCTGCGATGTGAGGTTTTCACCTGCGACAAC
CAGAAGTCCTGTATGAGCAACTGCACAATCACCTCCATCT
GTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGGCTGTCTGGCGGAA
GAATGACGAGAATATCACCCCTGGAACCGTCTGCCACGAT
CCCAAGCTGCCCTACCACGATTTTCATCCTGGAAGACGCCG
CCAGCCCTAAGTGCATCATGAAGAGAAAAAGAACCTGG
CGAGACCTTTTTTCATGTGCTCCTGCAGCAGCGACGAATGC
AACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAATACAATACCAGCA
ACCCCGAC

（ヒト IL-15R α sushi ドメイン）

ATCACGTGTCTCTCTCTCTATGTCCGTGGAACACGCAGACA
TCTGGGTCAAGAGCTACAGCTTGTACTCCAGGGAGCGGTA
CATTTGTAACTCTGGTTTCAAGCGTAAAGCCGGCACGTCC
AGCCTGACGGAGTGC GTTGAACAAGGCCACGAATGTCG
CCCACTGGACAACCCCCAGTCTCAAATGTATTAGA

【0624】

加えて、IL-21 配列を組織因子 219 の N 末端コーディング領域に結合し、さらに IL-21 / TGF 構築物を IL-15 の N 末端コーディング領域に結合することによって

10

20

30

40

50

IL-21/TF/IL-15構築物を作製した(図27)。IL-21/TF/IL-15構築物の核酸配列(リーダー配列を含む)は、以下の通りである(配列番号89)。

(シグナルペプチド)

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTCT
CCAGCGCCTACTCC

(ヒトIL-21)

CAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCGGATGAGGCAGCTCA
TCGACATCGTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCT
GGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACC
AACTGCGAGTGGTCCGCCTTCTCCTGCTTTTCAGAAGGCC
AGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAACAACGAGCGGATCAT
CAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCC
ACAAACGCCGGCAGGAGGCAAGAAGCACAGGCTGACCTGCC
CCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTT
CCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAGATGATCCAT
CAGCACCTGTCTCTCCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCC

(ヒト組織因子219)

TCCGGCACCACCAATAACCGTGGCCGCTTATAACCTCACAT
GGAAGAGCACCAACTTCAAGACAATTCTGGAATGGGAACC
CAAGCCCGTCAATCAAGTTTACACCGTGAGATCTCCACC
AAATCCGGAGACTGGAAGAGCAAGTGCTTCTACACAACAG
ACACCGAGTGTGATTTAACCGACGAAATCGTCAAGGACGT
CAAGCAAACCTATCTGGCTCGGGTCTTTTCTACCCCGCT
GGCAATGTGAGTCCACCGGCTCCGCTGGCGAGCCTCTCT
ACGAGAATTCCCCCGAATTACCCCTTATTTAGAGACCAA
TTTAGGCCAGCCTACCATCCAGAGCTTCGAGCAAGTTGGC
ACCAAGGTGAACGTCACCGTCGAGGATGAAAGGACTTTAG
TGCGGCGGAATAACACATTTTATCCCTCCGGGATGTGTT
CGGCAAAGACCTCATCTACACACTGTACTATTGGAAGTCC
AGCTCCTCCGGCAAAGAGACCGCTAAGACCAACACCAACG
AGTTTTTTAATTGACGTGGACAAGGCGAGAACTACTGCTT
CAGCGTGCAAGCCGTGATCCCTTCTCGTACCGTCAACCGG
AAGAGCACAGATTCCCCCGTTGAGTGCAATGGGCCAAGAAA
AGGGCGAGTTCCGGGAG

(ヒトIL-15)

AACTGGGTGAACGTCAATCAGCGATTTTAAAGAAGATCGAAG
ATTTAATTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACAC
AGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATG
AAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGA
GCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGAGGAATTTAAT
CATTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTG
ACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGA
AGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGT
CCAGATGTTTCATCAATACCTCC

【0625】

実施例19: TGFβRII/IL-15RαSu融合タンパク質およびIL-21/TF/IL-15融合タンパク質の分泌

TGFβRII/IL-15RαSu DNA構築物およびIL-21/TF/IL-15 DNA構築物をpMSGV-1修飾レトロウイルス発現ベクター(参照により本明細書に組み込まれる、Hughes et al., Hum Gene Ther 16:

10

20

30

40

50

457-72, 2005に記載のもの)にクローニングし、発現ベクターをCHO-K1細胞にトランスフェクトした。CHO-K1細胞でのこれらの2つの構築物の共発現により、可溶性IL-21/TF/IL-15:TGFβRII/IL-15RαSuタンパク質複合体(21t15-TGFRsと称する、図28および図29)の分泌がもたらされた。21t15-TGFRs複合体を、抗TF抗体親和性クロマトグラフィーおよび他のクロマトグラフィー法を使用して、CHO-K1細胞培養上清から精製した。

【0626】

TGFβRII/IL-15RαSu構築物のアミノ酸配列(シグナルペプチド配列を含む)は、以下の通りである(配列番号92)。

(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSAYS

(ヒトTGFβRII-第1の断片)

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCCHD
PKLPYHDFILEDAAAPKCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSEELYNTSNPD

(リンカー)

GGGGS GGGGS GGGGS

(ヒトTGFβRII-第2の断片)

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCCHD
PKLPYHDFILEDAAAPKCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSEELYNTSNPD

(ヒトIL-15Rαsushiドメイン)

ITCPPPMMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTS
SLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI R

【0627】

成熟IL-21/TF/IL-15融合タンパク質のアミノ酸配列(シグナルペプチド配列を含む)は、以下の通りである(配列番号88)。

(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSAYS

(ヒトIL-21)

QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
TNAGR RQKHRLT CPSCDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH
QHLS SRTHGSEDS

(ヒト組織因子219)

SGTTNTVAAYNL TWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST
KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPA
GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS
SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVIPSR TVNR
KSTDSPVECMGQEKGEFRE

(ヒトIL-15)

NWVNVI SDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHP SCKVTAM
KCFLL ELQVISLESGDASIHD TVENLIILANNSLSSNGNV
TESGCKECEELEEKNIKEFLQS FVHVIVQMFIN TS

【0628】

ある場合には、リーダーペプチドをインタクトなポリペプチドから切断して、可溶性であり得るか、または分泌され得る成熟形態を生成する。

10

20

30

40

50

【0629】

実施例20：免疫親和性クロマトグラフィーによる21t15-TGFRsの精製

抗TF抗体親和性カラムをGE Healthcare AKTA（商標）Avantタンパク質精製システムに接続した。流速は、2mL／分の溶出ステップを除く全てのステップで4mL／分であった。

【0630】

21t15-TGFRsの細胞培養収集物を1Mトリス塩基でpH7.4に調整し、5カラム体積のPBSで平衡化した抗TF抗体親和性カラムにロードした。試料をロードした後、カラムを5カラム体積のPBSで洗浄し、その後、6カラム体積の0.1M酢酸（pH2.9）で溶出した。280nmでの吸光度を収集し、その後、1Mトリス塩基の添加により、試料をpH7.5～8.0に中和した。その後、中和した試料を、分子量カットオフ30kDaでAmicon（登録商標）遠心フィルターを使用してPBSに緩衝液交換した。図30は、21t15-TGFRs複合体が抗TF抗体親和性カラムに結合することを示しており、ここで、TFは、21t15-TGFRs結合パートナーである。緩衝液交換したタンパク質試料を、さらなる生化学的分析および生物学的活性試験のために2～8℃で保管する。

10

【0631】

各溶出後、抗TF抗体親和性カラムを6カラム体積の0.1Mグリシン（pH2.5）を使用してストリッピングした。その後、カラムを、10カラム体積のPBS、0.05%アジ化ナトリウムを使用して中和し、2～8℃で保管した。

20

【0632】

実施例21：21t15-TGFRsのサイズ排除クロマトグラフィー

GE Healthcare Superdex（登録商標）200 Increase 10／300 GLゲル濾過カラムを、GE Healthcare AKTA（商標）Avantタンパク質精製システムに接続した。カラムを2カラム体積のPBSで平衡化した。流速は0.8mL／分であった。キャピラリーループを使用して、1mg／mLの21t15-TGFRs複合体200μLをカラムに注入した。その後、注入を1.25カラム体積のPBSで追跡した。SECクロマトグラフを図31に示した。21t15-TGFRsの単量体形態と二量体形態を表す可能性が高い2つのタンパク質ピークが存在した。

30

【0633】

実施例22：21t15-TGFRsのSDS-PAGE

純度およびタンパク質分子量を決定するために、精製した21t15-TGFRs複合タンパク質試料を、還元条件下で4～12%NuPageビスートリスタンパク質ゲルSDS-PAGEを使用して分析した。ゲルをInstantBlue（商標）で約30分間染色し、その後、精製水中で一晩脱色した。図32は、抗TF抗体親和性精製21t15-TGFRsのSDSゲルの例を示しており、39.08kDaおよび53kDaにバンドがある。

【0634】

CHO細胞における21t15-TGFRsのグリコシル化は、Protein Deglycosylation Mix IIキット（New England Biolabs）および製造業者の指示を使用して確認した。図32のレーン4に見られるように、脱グリコシル化により21t15-TGFRsの分子量が減少する。

40

【0635】

実施例23：21t15-TGFRs複合体の組換えタンパク質定量

21t15-TGFRs複合体を、標準のサンドイッチELISA法を使用して検出および定量化した（図33～37）。抗ヒト組織因子抗体が捕捉抗体として機能し、ビオチン化抗ヒトIL-21、IL-15、またはTGFBRIIが検出抗体として機能した。組織因子も、抗ヒト組織因子捕捉抗体（I43）および抗ヒト組織因子抗体検出抗体を使用して検出した。I43／抗TF抗体ELISAを、同様の濃度の精製組織因子と比較し

50

た。

【0636】

実施例24：21t15-TGFRs複合体の免疫刺激能力

21t15-TGFRs複合体のIL-15免疫刺激活性を評価するために、増加濃度の21t15-TGFRsを200 μ LのIMDM：10%FBS培地中の32D β 細胞（10⁴細胞／ウェル）に添加し、細胞を37℃で3日間インキュベートした。4日目に、WST-1増殖試薬（10 μ L／ウェル）を添加し、4時間後、吸光度を450nmで測定して、WST-1の可溶性ホルマザン色素への切断に基づいて細胞増殖を測定した。ヒト組換えIL-15の生物活性を陽性対照として評価した。図37に示されるように、21t15-TGFRsは、IL-15依存性32D β 細胞増殖を示した。21t15-TGFRs複合体は、恐らくIL-21および組織因子のIL-15ドメインへの結合のため、ヒト組換えIL-15と比較して低下した。

10

【0637】

加えて、HEK-Blue TGFBレポーター細胞（hkb-tgfb、InvivoGen）を使用して、TGFB1活性を遮断する21t15-TGFRsの能力を測定した（図38）。増加濃度の21t15-TGFRsを0.1nMのTGFB1と混合し、200 μ LのIMDM：10%熱不活性化FBS培地中のHEK-Blue TGFBレポーター細胞（2.5 $\times$ 10⁴細胞／ウェル）に添加した。細胞を37℃で一晩インキュベートした。翌日、20 μ Lの誘導されたHEK-Blue TGFBレポーター細胞上清を180 μ LのQUANTI-Blue（InvivoGen）に添加し、37℃で1～3時間インキュベートした。21t15-TGFRs活性を、吸光度を620nmで測定することによって評価した。ヒト組換えTGFBRII／Fc活性を陽性対照として評価した。

20

【0638】

これらの結果は、21t15-TGFRs複合体のTGFBRIIDメインがTGFB1を捕捉する能力を保持することを示す。TGFB1活性を遮断する21t15-TGFRsの能力は、恐らくTGFBRIIのIL-15R α sushiドメインへの結合のため、ヒト組換えTGFBRII／Fcの能力と比較して低下した。

【0639】

実施例25：21t15-TGFRs複合体によるサイトカイン誘導性メモリー様NK細胞の誘導

30

サイトカイン誘導性メモリー様NK細胞を、精製NK細胞を飽和量のサイトカインで一晩刺激した後にエキスピボで誘導することができる。これらのメモリー様特性を、IL-2受容体 α （IL-2R α 、CD25）、CD69（および他の活性化マーカー）の発現、およびIFN- γ 産生の増加により測定することができる。サイトカイン誘導性メモリー様NK細胞の生成を促進する21t15-TGFRs複合体の能力を評価するために、精製ヒトNK細胞（95%超のCD56+）を1nM～100nMの21t15-TGFRs複合体で14～18時間刺激した。細胞表面CD25およびCD69発現および細胞内IFN- γ レベルを、抗体染色およびフローサイトメトリーによって評価した。

【0640】

40

新鮮なヒト白血球を血液バンクから入手し、CD56+NK細胞を、RosetteSep／ヒトNK細胞試薬（StemCell Technologies）を使用して単離した。NK細胞の純度は70%超であり、CD56-BV421、CD16-BV510、CD25-PE、CD69-APCFire750特異的抗体（BioLegend）で染色することにより確認した。細胞をカウントし、0.2mLの完全培地（RPMI 1640（Gibco）、2mMのL-グルタミン（Thermo Life Technologies）、ペニシリン（Thermo Life Technologies）、ストレプトマイシン（Thermo Life Technologies）、および10%FBS（Hyclone）を補充）中の96ウェル平底プレートに0.2 $\times$ 10⁶／mLで再懸濁した。細胞を、hIL-21（50ng／mL）（BioLegend）およ

50

びhIL-15 (50 ng/mL) (NCI) の混合サイトカイン、または1 nM、10 nM、もしくは100 nMの21t15-TGFRs複合体のいずれかで、37℃で一晩、5%CO₂で14~18時間刺激した。その後細胞を収集し、CD56-BV421、CD16-BV510、CD25-PE、CD69-APCFire750特異的抗体で30分間表面染色した。染色後、細胞を、FACS緩衝液(1X PBS (Hyclone)、0.5%BSA (EMD Millipore) および0.001%アジ化ナトリウム (Sigma) を含む) 中で洗浄した(1500 RPM、室温で5分間)。2回洗浄した後、細胞を、BD FACSCelesta (商標) フローサイトメーターを使用して分析した。(プロットされたデータ-平均蛍光強度、図39および図40)。

【0641】

新鮮なヒト白血球を血液バンクから入手し、CD56+NK細胞を、RosetteSep/ヒトNK細胞試薬 (StemCell Technologies) を使用して単離した。NK細胞の純度は70%超であり、CD56-BV421、CD16-BV510、CD25-PE、CD69-APCFire750特異的抗体 (BioLegend) で染色することにより確認した。細胞をカウントし、0.2 mLの完全培地 (RPMI 1640 (Gibco)、2 mMのL-グルタミン (Thermo Life Technologies)、ペニシリン (Thermo Life Technologies)、ストレプトマイシン (Thermo Life Technologies)、および10%FBS (Hyclone) を補充) 中の96ウェル平底プレートに0.2×10⁶/mLで再懸濁した。細胞を、hIL-21 (50 ng/mL) (BioLegend) およびhIL-15 (50 ng/mL) (NCI) の混合サイトカイン、または1 nM、10 nM、もしくは100 nMの21t15-TGFRs複合体のいずれかで、37℃で一晩、5%CO₂で14~18時間刺激した。その後、細胞を、10 μg/mLのプレフェルジンA (Sigma) および1Xモネンシン (eBioscience) で4時間処理した。細胞を収集し、CD56-BV421、CD16-BV510、CD25-PE、CD69-APCFire750特異的抗体で30分間表面染色した。染色後、細胞を、FACS緩衝液(1X PBS (Hyclone)、0.5%BSA (EMD Millipore) および0.001%アジ化ナトリウム (Sigma) を含む) 中で洗浄し(1500 RPM、室温で5分間)、室温で10分間固定した。固定後、細胞を1x透過処理緩衝液 (eBioscience) で洗浄し(1500 RPM、室温で5分間)、細胞内IFN-γ-PE Ab (BioLegend) で、室温で30分間染色した。細胞を1x透過処理緩衝液で再度洗浄し、その後、FACS緩衝液で洗浄した。細胞ペレットを300 μLのFACS緩衝液中に再懸濁し、BD FACSCelesta (商標) フローサイトメーターを使用して分析した。(プロットされたIFN-γ陽性細胞%、図41)。

【0642】

実施例26：ヒト腫瘍細胞に対するNK細胞のインビトロ細胞傷害性

ヒト骨髄性白血病細胞K562 (CellTrace violetで標識) を、増加濃度の21t15-TGFRs複合体の存在下で、精製ヒトNK細胞 (StemCell ヒトNK細胞精製キット (E:T比; 2:1) を使用) とインキュベートした。20時間後、培養物を収集し、ヨウ化プロピジウム (PI) で染色し、フローサイトメトリーで評価した。図42に示されるように、21t15-TGFRs複合体は、対照と比較して、K562に対するヒトNK細胞傷害性を誘導した。

【0643】

実施例27：IL-21/TF変異体/IL-15 DNA構築物の作製、およびTGFβRII/IL-15RαSuとの結果として生じた融合タンパク質複合体

非限定的な例では、IL-21を組織因子219変異体のN末端コーディング領域に直接結合し、さらにIL-21/TF変異体をIL-15のN末端コーディング領域に結合することによってIL-21/TF変異体/IL-15 DNA構築物を作製した。

【0644】

IL-21/TF変異体/IL-15構築物の核酸配列 (シグナルペプチド配列を含む

10

20

30

40

50

）は、以下の通りである（配列番号 221、影付きのヌクレオチドが変異体であり、変異体コドンには下線が引かれている）。

（シグナル配列）

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTCT
CCAGCGCCTACTCC

（ヒト IL-21）

CAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCGGATGAGGCAGCTCA
TCGACATCGTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCT
GGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACC
AACTGCGAGTGGTCCGCCTTCTCCTGCTTTTCAGAAGGCC
AGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAACAACGAGCGGATCAT
CAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCC
ACAAACGCCGGCAGGAGGCAGAAGCACAGGCTGACCTGCC
CCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTT
CCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAGATGATCCAT
CAGCACCTGTCTCTCCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCC

（ヒト組織因子 219 変異体）

TCCGGCACCAACAATACCGTGGCCGCTTATAACCTCACATGGAAGAGC
ACCAACTTCGACAGCTCTGGAATGGGAACCCAAGCCCGTCAATCAAGTTT
ACACCGTGCAGATCTCCACCAAATCCGGAGACTGGAAGAGCAAGTGCTTCTA
CACAACAGACACCGAGTGTGTTTAACCGACGAAATCGTCAAGGACGTCAAG
CAAACCTATCTGGCTCGGGTCTTTTCCTACCCCGCTGGCAATGTCGAGTCCAC
CGGCTCCGCTGGCGAGCCTCTCTACGAGAATTCCCCCGAATTCACCCCTTATT
TAGAGACCAATTTAGGCCAGCCTACCATCCAGAGCTTCGAGCAAGTTGGCAC
CAAGGTGAACGTCACCGTCGAGGATGAAAGGACTTTAGTGCGCGGAATAA
CACAGCTTTATCCCTCCGGGATGTGTTTCGGCAAAGACCTCATCTACACACTGT
ACTATTGGAAGTCCAGCTCCTCCGGCAAAAAGACCGCTAAGACCAACACCAA
CGAGTTTTTAATTGACGTGGACAAAGGCGAGAACTACTGCTTCAGCGTGCAA
GCCGTGATCCCTTCTCGTACCGTCAACCGGAAGAGCACAGATTCCCCCGTTG
AGTGCATGGGCCAAGAAAAGGGCGAGTTCCGGGAG

（ヒト IL-15）

AACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAG
ATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACAC
AGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATG
AAATGTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGA
GCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAAGAAATTTAAT
CATTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTG
ACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGA
AGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGT
CCAGATGTTTCATCAATACCTCC

【0645】

IL-21 / TF 変異体 / IL-15 構築物のアミノ酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである（配列番号 222、置換残基には影付けされている）。

(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSAYS

(ヒトIL-21)

QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
TNAGR RQKHRLT C P S C D S Y E K K P P K E F L E R F K S L L Q K M I H
QHLSSRTHGSEDS

(ヒト組織因子219)

SGTTNTVAAYNLTWKSTNFTLEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSKC
FYTTDTECLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYL
ETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVARNNTLSLRDVFGKDLIYTLYYW
KSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRVTNRKSTDSPVECMGQE
KGEFRE

10

(ヒトIL-15)

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAM
KCFLLLELQVISLESGDASIHDVTENLIILANNSLSSNGNV
TESGCKECEEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFINTS

20

【0646】

ある場合には、リーダーペプチドをインタクトなポリペプチドから切断して、可溶性であり得るか、または分泌され得る成熟形態を生成する。

【0647】

いくつかの実施形態では、IL-21/TF変異体/IL-15 DNA構築物を、TGFBRII/IL-15R α Su DNA構築物と組み合わせて、上述のようにレトロウイルスベクターを使用して細胞にトランスフェクトし、IL-21/TF変異体/IL-15融合タンパク質およびTGFBRII/IL-15R α Su融合タンパク質として発現させることができる。TGFBRII/IL-15R α Su融合タンパク質のIL-15R α SuドメインがIL-21/TF変異体/IL-15融合タンパク質のIL-15ドメインに結合して、IL-21/TF変異体/IL-15: TGFBRII/IL-15R α Su複合体を作製する。

30

【0648】

実施例28: IL-21/IL-15R α Su DNA構築物およびTGFBRII/TGFBRII/IL-15 DNA構築物の作製、ならびに結果として生じた融合タンパク質複合体

非限定的な例では、IL-21をIL-15R α Suサブユニット配列に直接結合することによってIL-21/IL-15R α Su DNA構築物を作製した。IL-21/IL-15R α Su構築物の核酸配列(シグナル配列を含む)は、以下の通りである(配列番号111)。

(シグナル配列)

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCT
CCAGCGCCTACTCC

(ヒトIL-21)

CAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCGGATGAGGCAGCTCA
TCGACATCGTTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCT
GGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACC
AACTGCGAGTGGTCCGCCTTCTCCTGCTTTTCAGAAGGCC
AGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAACAACGAGCGGATCAT
CAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCC
ACAAACGCCGGCAGGAGGCAGAAGCACAGGCTGACCTGCC

40

50

CCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTT
CCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAGATGATCCAT
CAGCACCTGTCTCCTCCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCC
(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

ATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACA
TCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTA
TATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACCAGC
AGCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGG
CTCACTGGACAACAACCTCTTTAAAGTGCAATCCGG
【0649】

IL-21/IL-15R α Su構築物のアミノ酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである（配列番号110）。

（シグナルペプチド）

MKWVTFISLLFLFSAYS

（ヒトIL-21）

QGQDRHMIRMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
TNAGRQRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSLLQKMIH
QHLSSRTHGSEDS

（ヒトIL-15R α sushiドメイン）

ITCPPPMMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTS
SLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI R

【0650】

ある場合には、リーダーペプチドをインタクトなポリペプチドから切断して、可溶性であり得るか、または分泌され得る成熟形態を生成する。

【0651】

いくつかの実施形態では、IL-21/IL-15R α Su DNA構築物を、TGF β RII/TF/IL-15 DNA構築物と組み合わせて、上述のようにレトロウイルスベクターにトランスフェクトし、IL-21/IL-15R α Su融合タンパク質およびTGF β RII/TF/IL-15融合タンパク質として発現させることができる。IL-21/IL-15R α Su融合タンパク質のIL-15R α SuドメインがTGF β RII/TF/IL-15融合タンパク質のIL-15ドメインに結合して、TGF β RII/TF/IL-15:IL-21/IL-15R α Su複合体を作製する。

【0652】

TGF β RII配列をヒト組織因子219形態のN末端コーディング領域に結合し、その後、TGF β RII/TF構築物をIL-15のN末端コーディング領域に結合することによってTGF β RII/TF/IL-15R α Su DNA構築物を作製した。上述のように、TGF β RIIの一本鎖バージョン（TGF β RII-リンカー-TGF β RII）を使用した。TGF β RII/TF/IL-15構築物の核酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである（配列番号136）。

（シグナルペプチド）

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTCT
CCAGCGCCTACTCC

（ヒトTGF β RII-第1の断片）

ATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGTCAGGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCCTGCATGTCCAACCTGCACGATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGACCGTGTGTACGAC

10

20

30

40

50

CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTTCATTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAGAAGAGCCCGG
AGAGACCTTCTTTATGTGTTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCCTGAT

(リンカー)

GGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTTCTGGTGGAGGTG
GGAGT

(ヒトTGFβRII-第2の断片)

ATTCCTCCCCACGTGCAGAAAGAGCGTGAATAATGACATGA
TCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGAAATTTCCCCAGCT
GTGCAAATTTCTGCGATGTGAGGTTTTTCCACCTGCGACAAC
CAGAAGTCTGTATGAGCAACTGCACAATCACCTCCATCT
GTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGGCTGTCTGGCGGAA
GAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAACCGTCTGCCACGAT
CCCAAGCTGCCCTACCACGATTTTCATCCTGGAAGACGCCG
CCAGCCCTAAGTGCATCATGAAGAAGAGAAAAAGAGCCTGG
CGAGACCTTTTTTCATGTGCTCCTGCAGCAGCGACGAATGC
AACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAATACAATACCAGCA
ACCCCGAC

(ヒト組織因子219)

TCCGGGCACCACCAATACCGTGGCCGCTTATAACCTCACAT
GGAAGAGCACCAACTTCAAGACAATTCTGGAATGGGAACC
CAAGCCCGTCAATCAAGTTTACACCGTGCAGATCTCCACC
AAATCCGGAGACTGGAAGAGCAAGTGCTTCTACACAACAG
ACACCGAGTGTTGATTTAAACCGACGAAATCGTCAAGGACGT
CAAGCAAACCTATCTGGCTCGGGTCTTTTCTTACCCTCGCT
GGCAATGTTCGAGTCCACCGGCTCCGCTGGCGAGCCTCTCT
ACGAGAATTCCCCCGAATTACACCCCTTATTTAGAGACCAA
TTTAGGGCCAGCCTACCATCCAGAGCTTCGAGCAAGTTGGC
ACCAAGGTGAACGTCAACCGTCGAGGATGAAAGGACTTTAG
TGCGGCGGAATAACACATTTTTTATCCCTCCGGGATGTGTT
CGGCAAAGACCTCATCTACACACTGTACTATTGGAAGTCC
AGCTCCTCCGGCAAAGAGACCGCTAAGACCAACACCAACG
AGTTTTTTAATTGACGTGGACAAAGGCGAGAACTACTGCTT
CAGCGTGCAAGCCGTGATCCCTTCTCGTACCGTCAACCGG
AAGAGCACAGATTCCCCCGTTGAGTGATGGGCCAAGAAA
AGGGCGAGTTCCGGGAG

(ヒトIL-15)

AACTGGGTGAACGTCAATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAG
ATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACAC
AGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATG
AAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGA
GCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAGAATTTAAT
CATTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTG
ACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGA
AGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGT
CCAGATGTTTCATCAATACCTCC

[0653]

TGFβRII／TF／IL-15融合タンパク質のアミノ酸配列(シグナルペプチド

10

20

30

40

50

を含む)は、以下の通りである(配列番号135)。

(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSAYS

(ヒトTGFβRII-第1の断片)

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSICEKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCHD
PKLPYHDFILEDAAASPCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSEEYNTSNPD

(リンカー)

GGGGS GGGGS GGGGS

(ヒトTGFβRII-第2の断片)

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSICEKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCHD
PKLPYHDFILEDAAASPCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSEEYNTSNPD

(ヒト組織因子219)

SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST
KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA
GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS
SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSR TVNR
KSTDSPVECMGQEKGEFRE

(ヒトIL-15)

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAM
KCFLLLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNV
TESGCKECEEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFIN TS

【0654】

実施例29: IL-7/IL-15RαSu DNA構築物の作製

非限定的な例では、IL-7/IL-15RαSu DNA構築物を作製した(図43を参照のこと)。ヒトIL-7配列、ヒトIL-15RαSu配列、ヒトIL-15配列、およびヒト組織因子219配列をUniProtウェブサイトから入手し、これらの配列のDNAをGenewizによって合成した。IL-7配列をIL-15RαSu配列に結合することによってDNA構築物を作製した。最終IL-7/IL-15RαSu DNA構築物配列をGenewizによって合成した。

【0655】

IL-7/IL-15RαSu構築物の第2のキメラポリペプチドをコードする核酸配列(シグナルペプチド配列を含む)は、以下の通りである(配列番号103)。

(シグナルペプチド)

ATGGGAGTGAAAGTTCTTTTTTGCCCTTATTTGTATTGCTGTGGCCGAGGCC

(ヒトIL-7)

GATTGTGATATTGAAGGTAAAGATGGCAAACAATATGAGA
GTGTTCTAATGGTCAGCATCGATCAATTATTGGACAGCAT
GAAAGAAATTGGTAGCAATTGCCTGAATAATGAATTTAAC
TTTTTTTAAAAGACATATCTGTGATGCTAATAAGGAAGGTA
TGTTTTTTATTCCGTGCTGCTCGCAAAGTTGAGGCAATTTCT
TAAAATGAATAGCACTGGTGATTTTGATCTCCACTTATTA
AAAGTTTTCAGAAAGGCACAACAATACTGTTGAACTGCACTG
GCCAGGTTTAAAGGAAGAAAACCAGCTGCCCTGGGGTGAAGC
CCAACCAACAAGAGTTTGGGAAGAAAATAAATCTTTAAAG

GAACAGAAAAAACTGAATGACTTGTGTTTCTAAAGAGAC
TATTACAAGAGATAAAAACTTGTGTTGGAATAAAATTTTGAT
GGGCACTAAAGAACAC

(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

ATCACGTGCCCTCCCCCATGTCCGTGGAACACGCGAGACA
TCTGGGTCAAGAGCTACAGCTTGTACTCCAGGGAGCGGTA
CATTTGTAACTCTGGTTTCAAGCGTAAAGCCGGCACGTCC
AGCCTGACGGAGTGCGTGTGTAACAAGGCCACGAATGTCG
CCCCTGGACAACCCCCAGTCTCAAATGCATTAGA

【0656】

IL-7/IL-15R α Su構築物の第2のキメラポリペプチド（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである（配列番号102）。

（シグナルペプチド）

MKWVTFISLLFLFSAYS

（ヒトIL-7）

DCDIEGKDGKQYESVLMVSI DQLLD SMKEIGSNCLNNEFN
FFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLL
KVSEGTITILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLK
EQKKLNDLCFLKRL LQEIKTCWNKILMGTKEH

（ヒト組織因子219）

SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST
KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA
GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTYLWKS
SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVIPSR TVNR
KSTDSPVECMGQEKGEFRE

（ヒトIL-15）

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAM
KCFLLLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLS SNGNV
TESGCKECEEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFIN TS

【0657】

実施例30：IL-21/TF/IL-15 DNA構築物の作製

非限定的な例では、IL-21配列を組織因子219のN末端コーディング領域に結合し、さらにIL-21/TF構築物をIL-15のN末端コーディング領域に結合連結することによってIL-21/TF/IL-15構築物を作製した（図44）。

【0658】

Genewizによって合成したIL-21/TF/IL-15構築物の第1のキメラポリペプチドをコードする核酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである（配列番号89）。

（シグナルペプチド）

ATGGGAGTGAAAGTTCTTTTTTGCCCTTATTTGTATTGCTG
TGGCCGAGGCC

（ヒトIL-21断片）

CAAGGTCAAGATCGCCACATGATTAGAATGCGTCAACTTA
TAGATATTGTTGATCAGCTGAAAAATTATGTGAATGACTT
GGTCCCTGAATTTCTGCCAGCTCCAGAAGATGTAGAGACA
AACTGTGAGTGGTCAGCTTTTTTCTGTTCAGAAAGGCC
AACTAAAGTCAAGCAAATACAGGAAACAATGAAAGGATAAT
CAATGTATCAATTAAAAAGCTGAAGAGGAAACCACCTTCC
ACAAATGCAGGGAGAAGACAGAAACACAGACTAACATGCC

10

20

30

40

50

CTTCATGTGATTCTTATGAGAAAAAACCAACCCAAAGAATT
 CCTAGAAAGATTCAAATCACTTCTCCAAAGATGATTCA
 CAGCATCTGTCTCTAGAACACACGGGAAGTGAAGATTCC
 (ヒト組織因子219)

TCAGGCACTACAAATACTGTGGCAGCATATAATTTAACTT
 GGAAATCAACTAATTTCAAGACAATTTTGGAGTGGGAACC
 CAAACCCGTCATCAAGTCTACACTGTTCAAATAAGCACT
 AAGTCAGGAGATTGGAAAAGCAAATGCTTTTACACAACAG
 ACACAGAGTGTGACCTCACCGACGAGATTGTGAAGGATGT
 GAAGCAGACGTACTTGGCACGGGTCTTCTCCTACCCGGCA
 GGGAAATGTGGAGAGCACCGGTTCTGCTGGGGAGCCTCTGT
 ATGAGAACTCCCCAGAGTTCAACACCTTACCTGGAGACAAA
 CCTCGGACAGCCAACAATTTCAGAGTTTTGAACAGGTGGGA
 ACAAAAGTGAATGTGACCGTAGAAGATGAACGGACTTTAG
 TCAGAAGGAACAACAACCTTTCTTAAGCCTCCGGGATGTTTT
 TGGCAAGGACTTAATTTATACACTTTATTATTGGAAATCT
 TCAAGTTTCAGGAAAGAAAACAGCCAAACAAACACTAATG
 AGTTTTTTGATTGATGTGGATAAAGGAGAAAACACTACTGTTT
 CAGTGTTCAAGCAGTGATTCCCTCCCGAACAGTTAACCGG
 AAGAGTACAGACAGCCCGGTAGAGTGTATGGGCCAGGAGA
 AAGGGGAATTCAGAGAA
 (ヒトIL-15)

10

20

AACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAG
 ATTTAATTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACAC
 AGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATG
 AAATGTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGA
 GCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAGAATTTAAT
 CATTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTG
 ACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGA
 AGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGT
 CCAGATGTTTCATCAATACCTCC
 【0659】

30

リーダー配列を含むIL-21／TF／IL-15構築物の第1のキメラポリペプチド
 は、配列番号88である：

(シグナルペプチド)

MGVKVLFALICIAVAEA (配列番号223)

(ヒトIL-21)

QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
 NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
 TNAGR RQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH
 QHLS SRTHGSEDS

40

(ヒト組織因子219)

SGTTNTVAAYNL TWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST
 KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA
 GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
 TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS
 SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVIPSR TVNR
 KSTDSPVECMGQEKGEFRE

(ヒトIL-15)

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAM

50

K C F L L E L Q V I S L E S G D A S I H D T V E N L I I L A N N S L S S N G N V
T E S G C K E C E E L E E K N I K E F L Q S F V H I V Q M F I N T S

【0660】

実施例31：IL-7／IL-15 R α S u 融合タンパク質およびIL-21／TF／IL-15 融合タンパク質の分泌

IL-7／IL-15 R α S u DNA構築物およびIL-21／TF／IL-15 DNA構築物をpMSGV-1修飾レトロウイルス発現ベクターにクローニングし（参照により本明細書に組み込まれる、Hughes, Hum Gene Ther 16:457-72, 2005に記載のもの）、発現ベクターをCHO-K1細胞にトランスフェクトした。CHO-K1細胞でのこれらの2つの構築物の共発現により、可溶性IL-21／TF／IL-15：IL-7／IL-15 R α S uタンパク質複合体（21t15-7sと称する、図45および図46）の形成および分泌が可能になった。21t15-7sタンパク質を、抗TF抗体親和性クロマトグラフィーおよびサイズ排除クロマトグラフィーを使用してCHO-K1細胞培養上清から精製し、IL-7／IL-15 R α S u融合タンパク質およびIL-21／TF／IL-15 融合タンパク質からなる可溶性（非凝集）タンパク質複合体を得た。

10

【0661】

ある場合には、リーダー（シグナル配列）ペプチドをインタクトなポリペプチドから切断して、可溶性であり得るか、または分泌され得る成熟形態を生成する。

【0662】

実施例32：免疫親和性クロマトグラフィーによる21t15-7sの精製

抗TF抗体親和性カラムをGE Healthcare（商標）AKTA Avantタンパク質精製システムに接続した。流速は、2mL／分の溶出ステップを除く全てのステップで4mL／分であった。

20

【0663】

21t15-7sの細胞培養収集物を1Mトリス塩基でpH7.4に調整し、5カラム体積のPBSで平衡化した抗TF抗体親和性カラムにロードした。試料をロードした後、カラムを5カラム体積のPBSで洗浄し、その後、6カラム体積の0.1M酢酸（pH2.9）で溶出した。280nmでの吸光度を収集し、その後、1Mトリス塩基の添加により、試料をpH7.5～8.0に中和した。その後、中和した試料を、分子量カットオフ30kDaでAmicon（登録商標）遠心フィルターを使用してPBSに緩衝液交換した。緩衝液交換したタンパク質試料を、さらなる生化学的分析および生物学的活性試験のために2～8℃で保管した。

30

【0664】

各溶出後、抗TF抗体親和性カラムを6カラム体積の0.1Mグリシン（pH2.5）を使用してストリッピングした。その後、カラムを、10カラム体積のPBS、0.05%アジ化ナトリウムを使用して中和し、2～8℃で保管した。

【0665】

実施例33：サイズ排除クロマトグラフィー

GE Healthcare Superdex（登録商標）200 Increase 10／300 GLゲル濾過カラムを、GE Healthcare AKTA（商標）Avantタンパク質精製システムに接続した。カラムを2カラム体積のPBSで平衡化した。流速は0.7mL／分であった。キャピラリーループを使用して、1mg／mLの7t15-21s複合体200 μ Lをカラムに注入した。注入を1.25カラム体積のPBSで追跡した。

40

【0666】

実施例34：21t15-7sおよび21t15-TGFRsのSDS-PAGE

純度およびタンパク質分子量を決定するために、精製した21t15-7sタンパク質または21t15-TGFRsタンパク質試料を、4～12%NuPageビーストリスタンパク質ゲルSDS-PAGEを使用して分析した。ゲルをInstantBlue（

50

商標)で約30分間染色し、その後、精製水中で一晩脱色する。

【0667】

実施例35: CHO-K1細胞における21t15-7sおよび21t15-TGFRsのグリコシル化

CHO-K1細胞における21t15-7sまたはCHO-K1細胞における21t15-TGFRsのグリコシル化を、Protein Deglycosylation Mix IIキット(New England Biolabs)を製造業者の指示に従って使用して確認した。

【0668】

実施例36: 21t15-7s複合体および21t15-TGFRs複合体の組換えタンパク質定量

21t15-7s複合体または21t15-TGFRs複合体を、標準のサンドイッチELISA法を使用して検出および定量化した。抗ヒト組織因子抗体(IgG1)は捕捉抗体として機能し、ビオチン化抗ヒトIL-21、IL-15、もしくはIL-7抗体(21t15-7s)、またはビオチン化抗ヒトIL-21、IL-15、もしくはTGFR-βRII抗体(21t15-TGFRs)が検出抗体として機能した。精製した21t15-7sタンパク質複合体または21t15-TGFRsタンパク質複合体の組織因子を、抗ヒト組織因子捕捉抗体および抗ヒト組織因子抗体(IgG1)検出抗体を使用して検出した。抗TF抗体ELISAを、同様の濃度の精製組織因子と比較する。

【0669】

実施例37: 21t15-7s複合体+抗TF IgG1抗体または21t15-TGFRs複合体+抗TF IgG1抗体による初代ナチュラルキラー(NK)細胞の増殖能力

初代ナチュラルキラー(NK)細胞を増殖する21t15-7s複合体の能力を評価するために、21t15-7s複合体および21t15-7s複合体+抗TF IgG1抗体を、新鮮なヒト白血球の試料から得たNK細胞に添加した。細胞を、25nMの抗TF IgG1抗体または抗TF IgG4抗体を有するまたは有しない50nMの21t15-7s複合体で、37℃および5%CO₂で刺激した。細胞を、48~72時間毎にカウントすることにより $0.5 \times 10^6 / \text{mL} \sim 2.0 \times 10^6 / \text{mL}$ 未満の濃度で維持し、培地に新鮮な刺激剤を補充した。21t15-7s複合体または抗TF IgG1抗体もしくは抗TF IgG4抗体もしくは抗TF IgG4+21t15-7s複合体で刺激した細胞を5日目まで維持した。図47は、21t15-7s複合体+抗TF IgG1抗体とのインキュベーション時の初代NK細胞の増殖を示す。図54もこれらの結果の概略図を示す。

【0670】

実施例38: 21t15-7s複合体+抗TF IgG1抗体または21t15-TGFRs複合体+抗TF IgG1抗体による増殖したNK細胞の活性化

初代NK細胞を、精製NK細胞を21t15-7s複合体+抗TF IgG1抗体で一晩刺激した後にエクスピボで誘導することができる。新鮮なヒト白血球を血液バンクから入手し、CD56+NK細胞を、Rosette Sep/ヒトNK細胞試薬(Stem Cell Technologies)を使用して単離した。NK細胞の純度は80%超であり、CD56-BV421およびCD16-BV510特異的抗体(BioLegend)で染色することにより確認した。細胞をカウントし、1mLの完全培地(RPMI 1640(Gibco)、4mMのL-グルタミン(Thermo Life Technologies)、ペニシリン(Thermo Life Technologies)、ストレプトマイシン(Thermo Life Technologies)、非必須アミノ酸(Thermo Life Technologies)、ビルビン酸ナトリウム(Thermo Life Technologies)、および10%FBS(Hyclone)を補充)中の24ウェル平底プレートに $1 \times 10^6 / \text{mL}$ で再懸濁した。細胞を、25nMの抗TF IgG1抗体を有するまたは有しない50nMの21t15-7sで、37℃および5%CO₂で刺激した。細胞を48~72時間毎にカウントし、14日目ま

10

20

30

40

50

で $0.5 \times 10^6 / \text{mL} \sim 2.0 \times 10^6 / \text{mL}$ の濃度で維持した。培地に新鮮な刺激剤を定期的に補充した。細胞を収集し、3日目に、CD56-BV421、CD16-BV510、CD25-PE、CD69-APCFire750 特異的抗体 (Biolegend) で表面染色し、Flow Cytometry-Celeste-BD Bioscience によって分析した。図48は、活性化マーカーCD25 MFIおよびCD69 MFIを示す。活性化マーカーCD25 MFIは、21t15-7s複合体+抗TF IgG1抗体刺激で増加したが、21t15-7s複合体刺激では増加しなかった。活性化マーカーCD69 MFIは、21t15-7s複合体+抗TF IgG1抗体および21t15-7s複合体単独の両方で増加した。

【0671】

実施例39：ヒト腫瘍細胞に対するNK細胞の細胞傷害性

新鮮なヒト血液バフィーコート血液バンクから入手した。NK細胞を、RosetteSep/ヒトNK細胞試薬 (StemCell Technologies) を使用した陰性選択により単離した。NK細胞を、100nMの21t15-7sおよび50nMの抗TF IgG1抗体を有する完全RPMI-1640培地中で、37℃および5%CO₂で11日目まで培養した。活性化したNK細胞をCelltrace violet 標識K562細胞と2:1のE:T比で混合し、37℃で4時間インキュベートした。混合物を収集し、死んだK562細胞のパーセンテージをヨウ化プロピジウム染色およびフローサイトメトリーによって決定した。図49は、増殖したNK細胞とインキュベートした際のK562細胞の特異的溶解の増加を示す。

【0672】

実施例40：IL-21/IL-15RαSu DNA構築物の作製

非限定的な例では、IL-21/IL-15RαSu DNA構築物を作製した。ヒトIL-21配列およびヒトIL-15RαSu配列をUniProtウェブサイトから入手し、これらの配列のDNAをGenewizによって合成した。IL-21配列をIL-15RαSu配列に結合することによってDNA構築物を作製した。最終IL-21/IL-15RαSu DNA構築物配列をGenewizによって合成した。図50を参照されたい。

【0673】

実施例41：IL-7/TF/IL-15 DNA構築物の作製

非限定的な例では、IL-7配列を組織因子219のN末端コーディング領域に結合し、さらにIL-7/TF構築物をIL-15のN末端コーディング領域に結合することによってIL-7/TF/IL-15構築物を作製した。図51を参照されたい。

【0674】

実施例42：IL-21/IL-15Rαsushi DNA構築物の作製

非限定的な例では、IL-21/IL-15RαSuの第2のキメラポリペプチドを生成した。ヒトIL-21配列およびヒトIL-15Rαsushi配列をUniProtウェブサイトから入手し、これらの配列のDNAをGenewizによって合成した。IL-21配列をIL-15Rαsushi配列に結合することによってDNA構築物を作製した。最終IL-21/IL-15RαSu DNA構築物配列をGenewizによって合成した。

【0675】

Genewizによって合成したIL-21/IL-15RαSuドメインの第2のキメラポリペプチドをコードする核酸配列 (リーダー配列を含む) は、以下の通りである (配列番号111)。

(シグナルペプチド)

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTGTTCT
CCAGCGCCTACTCC

(ヒトIL-21)

CAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCGGATGAGGCGAGCTCA

10

20

30

40

50

TCGACATCGTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCT
GGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACC
AACTGCGAGTGGTCCGCCTTCTCCTGCTTTTCAGAAGGCC
AGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAACAACGAGCGGATCAT
CAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCC
ACAAACGCCGGCAGGAGGCAGAAGCACAGGCTGACCTGCC
CCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTT
CCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAGATGATCCAT
CAGCACCTGTCTCCTCCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCC

(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

10

ATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACA
TCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTA
TATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACCAAGC
AGCCTCACCGAGTGCCTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGG
CTCACTGGACAACACCCTCTTTAAAGTGATCCGG

【0676】

IL-21/IL-15R α sushiドメインの第2のキメラポリペプチド（リーダー配列を含む）は、以下の通りである（配列番号110）。

（シグナル配列）

MKWVTFISLLFLFSAYS

20

（ヒトIL-21）

QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
TNAGR RQKHRLT CPSCDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH
QHLSSRTHGSEDS

（ヒトIL-15R α sushiドメイン）

ITCPPPM SVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTS
SLTECVLNKATNV AHWTT PSLKCI R

【0677】

実施例43：IL-7/TF/IL-15 DNA構築物の作製

30

非限定的な例では、IL-7配列を組織因子219のN末端コーディング領域に結合し、さらにIL-7/TF構築物をIL-15のN末端コーディング領域に結合することによってIL-7/TF/IL-15の例示的な第1のキメラポリペプチドを作製した。Genewizによって合成したIL-7/TF/IL-15の第1のキメラポリペプチドをコードする核酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである（配列番号107）。

（シグナルペプチド）

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCT
CCAGCGCCTACTCC

（ヒトIL-7断片）

GATTGCGACATCGAGGGGCAAGGACGGCAAGCAGTACGAGA
GCGTGCTGATGGTGTCCATCGACCAGCTGCTGGACAGCAT
GAAGGAGATCGGCTCCAACCTGCCTCAACAACGAGTTCAAC
TTCTTCAAGCGGCACATCTGCGACGCCAACAAAGGAGGGCA
TGTTCTCTGTT CAGGGCCGCCAGGAAACTGCGGCAGTTCTCT
GAAGATGAACTCCACC GGCGACTTTCGACCTGCACCTGCTG
AAGGTGTCCGAGGGGCAACCACCATCCTGCTGAACTGCACCG
GACAGGTGAAGGGCCGGAAACCTGCTGCTCTGGGAGAGGC
CCAACCCACCAAGAGCCTGGAGGAGAACAAAGTCCCTGAAG
GAGCAGAAGAAGCTGAACGACCTGTGCTTCTCTGAAGAGGC
TGCTGCAGGAGATCAAGACCTGCTGGAAACAAGATCCTGAT

40

50

GGGCACCAAGGAGCAT

(ヒト組織因子219)

AGCGGCACAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTT
GGAAGAGCACCAACTTCAAAACCATCCTCGAATGGGAACC
CAAACCCGTTAAACCAAGTTTACACCGTGAGATCAGCACCC
AAGTCCGGCGACTGGAAGTCCAAATGTTTCTATACCACCG
ACACCGAGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGT
GAAACAGACCTACCTCGCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGCC
GGCAATGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTAT
ACGAGAACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAA
TTTAGGACAGCCCCACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGC
ACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAG
TGCGGCGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTT
CGGCAAAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCC
TCTTCTCCTCCGGCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACG
AGTTTTTTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAAACCTACTGTTT
CAGCGTGCAAGCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGAAATAGG
AAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAGTG CATGGGGCCAAGAAA
AGGGCGAGTTCCGGGAG

(ヒトIL-15)

AACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAG
ATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACAC
AGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATG
AAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGA
GCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGAGAGAATTTAAT
CATTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTG
ACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGA
AGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGT
CCAGATGTTTCATCAATACCTCC

【0678】

IL-7／TF／IL-15の第1のキメラポリペプチド（リーダー配列を含む）は、以下の通りである（配列番号106）。

（シグナルペプチド）

MKWVTFISLLFLFSAYS

(ヒトIL-7)

DCDIEGKDQKQYESVLMVSI DQLLD SMKEIGSNCLNNEFN
FFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLL
KVSEGT TILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLK
EQKKLNDLCFLKRL LQEIKTCWNKILMGTK EH

(ヒト組織因子219)

SGTTNTVAAYNL TWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST
KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPA
GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS
SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSR TVNR
KSTDSPVECMGQEKGEFRE

(ヒトIL-15)

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAM
KCFLLLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNV
TESGCKECEEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFIN TS

10

20

30

40

50

【0679】

実施例44：IL-21/IL-15R α Su融合タンパク質およびIL-7/TF/IL-15融合タンパク質の分泌

IL-21/IL-15R α Su DNA構築物およびIL-7/TF/IL-15 DNA構築物をpMSGV-1修飾レトロウイルス発現ベクターにクローニングし（参照により本明細書に組み込まれる、Hughes, Hum Gene Ther 16:457-72, 2005に記載のもの）、発現ベクターをCHO-K1細胞にトランスフェクトした。CHO-K1細胞でのこれらの2つの構築物の共発現により、可溶性IL-7/TF/IL-15:IL-21/IL-15R α Suタンパク質複合体（7t15-21sと称する）の形成および分泌が可能になった。7t15-21sタンパク質を、抗TF抗体（IgG1）親和性クロマトグラフィーおよびサイズ排除クロマトグラフィーを使用してCHO-K1細胞培養上清から精製し、IL-21/IL-15R α Su融合タンパク質およびIL-7/TF/IL-15融合タンパク質からなる可溶性（非凝集）タンパク質複合体を得た。図52および図53を参照されたい。

10

【0680】

実施例45：IL-21/IL-15R α Su融合タンパク質およびIL-7/TF/IL-15融合タンパク質の分析的サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）分析

抗組織因子モノクローナル抗体および7t15-21sが抗体-融合-分子複合体を形成することができるかを決定するために、分析的サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）を行った。Superdex 200 Increase 10/300 GLゲル濾過カラム（GE Healthcare製）をAKTA Avantシステム（GE Healthcare製）に接続した。カラムを2カラム体積のPBSで平衡化した。流速は0.7mL/分であった。抗TF mAb（1mg/mL）、7t15-21s（1mg/mL）、および1:1の比率で組み合わせた混合物（各タンパク質の最終濃度0.5mg/mL）の試料をPBS中に置いた。各試料を、キャピラリーチューブを使用してSuperdex 200カラムに注入し、SECによって分析した。各試料のSECクロマトグラフを図55に示した。SECの結果は、7t15-21sに2つのタンパク質ピークが存在し、恐らく7t15-21sの二量体（199.2kDaの見かけの分子量）およびより高次のオリゴマーを表し、抗TF mAbには1つのピーク（見かけの分子量206.8kDa）が存在する。しかしながら、予想通り、抗TF mAbおよび7t15-21sを含有する混合試料では、高分子量（576.9kDaの見かけの分子量）の新たなタンパク質ピークが形成され、抗TF mAbおよび7t15-21sが融合タンパク質複合体における抗TF mAbのTFへの結合により抗体-抗原複合体を形成することを示す。

20

30

【0681】

実施例46：7t15-21s複合体+抗TF IgG1抗体による初代ナチュラルキラー（NK）細胞の増殖能力

初代ナチュラルキラー（NK）細胞を増殖する7t15-21s複合体の能力を評価するために、7t15-21s複合体および7t15-21s複合体+抗TF IgG1抗体を、新鮮なヒト白血球の試料から得たNK細胞に添加する。細胞を、25nMの抗TF IgG1抗体または抗TF IgG4抗体を有するまたは有しない50nMの7t15-21s複合体で、37°Cおよび5%CO₂で刺激する。細胞を、48~72時間毎にカウントすることにより0.5×10⁶/mL~2.0×10⁶/mL未満の濃度で維持し、培地に新鮮な刺激剤を補充する。7t15-21s複合体または抗TF IgG1抗体もしくは抗TF IgG4抗体もしくは抗TF IgG4+7t15-21s複合体で刺激した細胞を5日目まで維持する。21t15-7s複合体+抗TF IgG1抗体とのインキュベーション時の初代NK細胞の増殖が観察される。

40

【0682】

実施例47：7t15-21s複合体+抗TF IgG1抗体による増殖したNK細胞の活性化

50

初代NK細胞を、精製NK細胞を7t15-21s複合体+抗TF IgG1抗体で一晩刺激した後にエクスピボで誘導することができる。新鮮なヒト白血球を血液バンクから入手し、CD56+NK細胞を、RosetteSep/ヒトNK細胞試薬(StemCell Technologies)を使用して単離する。NK細胞の純度は80%超であり、CD56-BV421およびCD16-BV510特異的抗体(BioLegend)で染色することにより確認する。細胞をカウントし、1mLの完全培地(RPMI 1640 (Gibco)、4mMのL-グルタミン(Thermo Life Technologies)、ペニシリン(Thermo Life Technologies)、ストレプトマイシン(Thermo Life Technologies)、非必須アミノ酸(Thermo Life Technologies)、ビルビン酸ナトリウム(Thermo Life Technologies)、および10%FBS(Hyclone)を補充)中の24ウェル平底プレートに 1×10^6 /mLで再懸濁する。細胞を、25nMの抗TF IgG1抗体を有するまたは有しない50nMの7t15-21sで、37℃および5%CO₂で刺激する。細胞を48~72時間毎にカウントし、14日目まで 0.5×10^6 /mL~ 2.0×10^6 /mLの濃度で維持する。培地に新鮮な刺激剤を定期的に補充する。細胞を収集し、3日目に、CD56-BV421、CD16-BV510、CD25-PE、CD69-APCFire750特異的抗体(BioLegend)で表面染色し、Flow Cytometry-Celeste-BD Bioscienceによって分析する。活性化マーカーCD25 MFIは、7t15-21s複合体+抗TF IgG1抗体刺激で増加するが、7t15-21s複合体刺激では増加しないことが観察される。活性化マーカーCD69 MFIは、7t15-21s複合体+抗TF IgG1抗体および7t15-21s複合体単独の両方で増加することが観察される。

【0683】

実施例48：18t15-12sを使用したNK細胞のグルコース代謝の増加

一連の実験を行い、ヒト血液から精製したNK細胞の酸素消費速度および細胞外酸性化速度(ECAR)に対する18t15-12s構築物(図6)の影響を決定した。

【0684】

これらの実験では、2名の異なるヒトドナー由来の血液バンクから新鮮なヒト白血球を入手し、NK細胞を、RosetteSep/ヒトNK細胞試薬(StemCell Technologies)を使用した陰性選択により単離した。NK細胞の純度は80%超であり、CD56-BV421およびCD16-BV510特異的抗体(BioLegend)で染色することにより確認した。細胞をカウントし、1mLの完全培地(RPMI 1640 (Gibco)、4mMのL-グルタミン(Thermo Life Technologies)、ペニシリン(Thermo Life Technologies)、ストレプトマイシン(Thermo Life Technologies)、非必須アミノ酸(Thermo Life Technologies)、ビルビン酸ナトリウム(Thermo Life Technologies)、および10%FBS(Hyclone)を補充)中の24ウェル平底プレートに 2×10^6 /mLで再懸濁した。細胞を、(1)培地のみ、(2)100nMの18t15-12s、または(3)単一サイトカインである組換えヒトIL-12(0.25μg)、組換えヒトIL-15(1.25μg)、および組換えヒトIL-18(1.25μg)の混合物のいずれかで、37℃および5%CO₂で一晩刺激した。翌日、細胞を収集し、増殖したNK細胞の細胞外フラックスアッセイを、XFp分析器(Seahorse Bioscience)を使用して行った。収集した細胞を洗浄し、OCR(酸素消費速度)およびECAR(細胞外酸性化速度)の細胞外フラックス分析のために少なくとも二連で、 2.0×10^5 細胞/ウェルでプレATINGした。解糖ストレス試験を、2mMのグルタミンを含有するSeahorse培地中で行った。以下のものをアッセイ中に使用した：10mMのグルコース、100nMのオリゴマイシン、および100mMの2-デオキシ-D-グリコーゼ(2DG)。

【0685】

データは、18 t 15-12 s が、組換えヒト IL-12、組換えヒト IL-15、および組換えヒト IL-18 の組み合わせで活性化された同じ細胞と比較して、酸素消費速度（図 56）および細胞外酸性化速度（ECAR）を著しく増加させることを示す（図 57）。

【0686】

実施例 49：7 t 15-16 s 21 融合タンパク質の生成および特徴付け

抗 CD16 s c F v / IL-15 R α S u / IL-21 融合タンパク質および IL-7 / TF / IL-15 融合タンパク質からなる融合タンパク質複合体を生成した。ヒト IL-7 配列およびヒト IL-21 配列を UniProt ウェブサイトから入手し、これらの配列の DNA を Genewiz によって合成した。具体的には、IL-7 配列を組織因子 219 の N 末端コーディング領域に、続いて、IL-15 の N 末端コーディング領域に結合することによって構築物を作製した。

【0687】

組織因子 219 の N 末端に、続いて、IL-15 の N 末端に結合した IL-7 を含む構築物の核酸配列およびタンパク質配列を以下に示す。

【0688】

IL-7 / TF / IL-15 構築物の核酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである。

（シグナルペプチド）

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTCTGTTCT
CCAGCGCCTACTCC

（ヒト IL-7）

GATTGCGACATCGAGGGCAAGGACGGCAAGCAGTACGAGAG
GCGTGCTGATGGTGTCCATCGACCAGCTGCTGGACAGCAT
GAAGGAGATCGGCTCCAACCTGCCTCAACAACGAGTTCAAC
TTCTTCAAGCGGCACATCTGCGACGCCAACAAGGAGGGCA
TGTTCTCTGTTCAAGGGCCGCCAGGAAACTGCGGCAGTTCTCT
GAAGATGAACCTCCACC GGCGACTTTCGACCCTGCACCCTGCTG
AAGGTGTCCGAGGGGCACCAACCATCCTGCTGAACTGCACCCG
GACAGGTGAAGGGCCGGAAACCTGCTGCTCTGGGAGAGGC
CCAACCCACCAAGAGCCTGGAGGAGAACAAAGTCCCTGAAG
GAGCAGAAAGAAAGCTGAACGACCTGTGCTTCTCTGAAGAGGC
TGCTGCAGGAGATCAAGACCTGCTGGAACAAGATCCTGAT
GGGCACCAAGGAGCAT

（ヒト組織因子 219）

AGCGGCACAACCAACACAGTCGCTGCTCTATAACCTCACTT
GGAAGAGCACCAACTTCAAAACCATCCTCGAATGGGAACC
CAAACCCGTTAAACCAAGTTTACACCGTGCGAGATCAGCACCC
AAGTCCGGCGACTGGAAAGTCCAAATGTTTCTATACCAACCG
ACACCGAGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGT
GAAACAGACCTACCTCGCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGCC
GGCAATGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTAT
ACGAGAACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAA
TTTAGGACAGCCCCACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGC
ACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAG
TGCGGCGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTT
CGGCAAAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCC
TCTTCTCTCCGGCAAGAAAGACAGCTAAAACCAACACAACG
AGTTTTTTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAAACCTACTGTTT
CAGCGTGCAAGCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGAAATAGG

10

20

30

40

50

AAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAGTGCATGGGCCAAGAAA
AGGGCGAGTTCCGGGAG

(ヒトIL-15)

AACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAG
ATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACAC
AGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATG
AAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGA
GCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAGAATTTAAT
CATTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTG
ACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGA
AGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGT
CCAGATGTTTCATCAATACCTCC

【0689】

IL-7／TF／IL-15融合タンパク質のアミノ酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである。

(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSAYS

(ヒトIL-7)

DCDIEGKDQKQYESVLMVSI DQLLD SMKEIGSNCLNNEFN
FFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLL
KVSEGT TILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLK
EQKKLNDLCFLKRL LQEIKTCWNKILMGTKEH

(ヒト組織因子219)

SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST
KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA
GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS
SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVIPSR TVNR
KSTDSPVECMGQEKGEFRE

(ヒトIL-15)

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESD VHP SCKVTAM
KCFLLLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNV
TESGCKECEEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFIN TS

【0690】

抗CD16scFv配列をGenewizによって合成したIL-15R α Su鎖のN末端コーディング領域に、続いて、IL-21のN末端コーディング領域に結合することによっても構築物を作製した。IL-15R α Su鎖のN末端に、続いて、IL-21のN末端コーディング領域に結合した抗CD16scFvを含む構築物の核酸配列およびタンパク質配列を以下に示す。

【0691】

抗CD16SscFv／IL-15R α Su／IL-21構築物の核酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである。

(シグナルペプチド)

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTCT
CCAGCGCCTACTCC

((抗ヒトCD16scFv)

TCCGAGCTGACCCAGGACCCCTGCTGTGTCCGTGGCTCTGG
GCCAGACCGTGAGGATCACCTGCCAGGGCGACTCCCTGAG
GTCCTACTACGCCTCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAG
GCTCCTGTGCTGGTGATCTACGGCAAGAACAAACAGGCCCT

10

20

30

40

50

CCGGCATCCCTGACAGGTTCTCCGGATCCTCCTCCGGCAA
CACCGCCTCCCTGACCATCACAGGCGCTCAGGCCGAGGAC
GAGGCTGACTACTACTGCAACTCCAGGGA CTCTCCGGCA
ACCATGTGGTGTTCGGCGGCGGCACCAAGCTGACCGTGGG
CCATGGCGGCGGCGGCTCCGGAGGCGGCGGCAGCGGCGGA
GGAGGATCCGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGAGGAGGAG
TGGTGAGGCCCTGGAGGCTCCCTGAGGCTGAGCTGTGCTGC
CTCCGGCTTTCACCTTCGACGACTACGGCATGTCTCTGGGTG
AGGCAGGCTCCTGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTGTCCGGCA
TCAACTTGGAAACGGCGGATCCACCCGGCTACGCCGATTCCGT
GAAGGGCAGGTTTACCATCAGCAGGGACAACGCCAAGAAC
TCCCTGTACTCTGCAGATGAACTCCCTGAGGGCCGAGGACA
CCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGGCGAGGTCCCTGCTGTT
CGACTACTGGGGACAGGGGACCCCTGGTGACCGTGTCCAGG
(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

10

ATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACA
TCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTA
TATCTGTAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACCCAGC
AGCCTCACCCGAGTGC GTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGG
CTCACTGGACAACACCCCTCTTTAAAGTG CATCCGG
(ヒトIL-21)

20

CAGGGCCAGGACAGGCA CATGATCCGGATGAGGCGAGCTCA
TCGACATCGTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCT
GGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACC
AACTGCGAGTGGTCCGCCTTCTCCTGCTTTTCAGAAGGCC
AGCTGAAGTCCGCCAACACCCGGCAACAACGAGCGGATCAT
CAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCC
ACAAACGCCGGCAGGAGGCGAGAAGCACAGGCTGACCTGCC
CCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTT
CCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAGATGATCCAT
CAGCACCTGTCTCTCCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCC
【0692】

30

抗CD16scFv／IL-15R α Su／IL-21構築物のアミノ酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである。

（シグナルペプチド）

MKWVTFISLLFLFSAYS

（抗ヒトCD16scFv）

SELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQ
APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAED
EADYYCNSRDSSGNHVVFGGGTLKLTVGHGGGGSGGGGSGG
GGSEVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTTFDDYGMWV
RQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNANKN
SLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGRSL LFDYWGGQGT LVT VSR
(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

40

ITCPPPMMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTS
SLTECVLNKATNV AHWTT PSLK CIR

（ヒトIL-21）

QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
TNAGR RQKHRLTCPS CDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH

50

QHLS SRTHGSEDS

【0693】

ある場合には、リーダーペプチドをインタクトなポリペプチドから切断して、可溶性であり得るか、または分泌され得る成熟形態を生成する。

【0694】

抗CD16scFv/IL-15R α Su/IL-21構築物およびIL-7/TF/IL-15構築物を前述の修飾レトロウイルス発現ベクターにクローニングし (Hughes MS, Yu YY, Dudley ME, Zheng Z, Robbins PF, Li Y, et al. Transfer of a TCR gene derived from a patient with a marked antitumor response conveys highly active T-cell effector functions. Hum Gene Ther 2005; 16: 457-72)、発現ベクターをCHO-K1細胞にトランスフェクトした。CHO-K1細胞でのこれらの2つの構築物の共発現により、可溶性IL-7/TF/IL-15:anti-CD16scFv/IL-15R α Su/IL-21タンパク質複合体 (7t15-16s21と称する、図58および図59)の形成および分泌が可能になり、これを抗TF IgG1ベースの親和性および他のクロマトグラフィー法によって精製することができる。

【0695】

ヒトCD16bを発現するCHO細胞への7t15-16s21の結合

CHO細胞をpMCプラスミド中のヒトCD16bでトランスフェクトし、10 μ g/mLのブラストサイジンで10日間選択した。CD16bを安定的に発現するCHO細胞を、1.2 μ g/mLの抗ヒトCD16scFvを含む7t15-16s21または陰性対照として抗ヒトCD16scFvを含まない18t15-12sで染色し、その後、ビオチン化抗ヒト組織因子抗体およびPE結合ストレプトアビジンで染色した。図60Aに示されるように、抗ヒトCD16scFvを含む7t15-16s21のみが細胞を染色した。図60Bに示されるように、18t15-12sは、ヒトCD16bを発現するCHO細胞を染色しなかった。

【0696】

ELISAを使用した7t15-16s21におけるIL-15、IL-21、およびIL-7の検出

96ウェルプレートにR5 (コーティング緩衝液) 中100 μ L (8 μ g/mL)の抗TF IgG1でコーティングし、室温 (RT) で2時間インキュベートした。プレートを3回洗浄し、PBS中100 μ Lの1%BSAでブロックした。連続希釈の7t15-16s21 (1:3比)をウェルに添加し、室温で60分間インキュベートした。3回洗浄した後、50ng/mLのビオチン化抗IL15抗体 (BAM247、R&D Systems)、500ng/mLのビオチン化抗IL-21抗体 (13-7218-81、R&D Systems)、または500ng/mLのビオチン化抗IL-7抗体 (506602、R&D Systems)をウェルと室温で60分間インキュベートした。プレートを3回洗浄し、0.25 μ g/mLのHRP-SA (Jackson ImmunoResearch)と100 μ L/ウェルで、室温で30分間インキュベートし、その後、4回洗浄し、100 μ LのABTSと室温で2分間インキュベートした。吸光度を405nmで読み取った。図61A~61Cに示されるように、7t15-16s21中のIL-15ドメイン、IL-21ドメイン、およびIL-7ドメインを個々の抗体によって検出した。

【0697】

7t15-16s21におけるIL-15は、IL-2R β および共通 γ 鎖含有32D β 細胞の増殖を促進する

7t15-16s21におけるIL-15の活性を分析するために、7t15-16s21のIL-15活性を、IL2R β および共通 γ 鎖を発現する32D β 細胞を使用して組換えIL-15と比較し、細胞増殖の促進に対するそれらの効果を評価した。IL-1

10

20

30

40

50

5 依存性 32Dβ細胞をIMDM-10%FBSで5回洗浄し、 2×10^4 細胞/ウェルでウェル中に播種した。連続希釈した7t15-16s21またはIL-15を細胞に添加した(図62)。細胞をCO₂インキュベーター内で、37℃で3日間インキュベートした。3日目に10μLのWST1を各ウェルに添加し、CO₂インキュベーター内で、37℃でさらに3時間インキュベートすることにより、細胞増殖を検出した。生成されたホルマザン色素の量を分析することにより、吸光度を450nmで測定した。図62に示されるように、7t15-16s21およびIL-15は32Dβ細胞増殖を促進し、7t15-16s21およびIL-15のEC₅₀は、それぞれ、172.2PMおよび16.63PMであった。

【0698】

抗TF抗体親和性カラムからの7t15-16s21の精製溶出クロマトグラフ

細胞培養物から収集した7t15-16s21を、5カラム体積のPBSで平衡化した抗TF抗体親和性カラムにロードした。次いで、カラムを5カラム体積のPBSで洗浄し、その後、6カラム体積の0.1M酢酸(pH2.9)で溶出した。A280溶出ピークを収集し、1Mトリス塩基でpH7.5~8.0に中和した。中和した試料を、分子量カットオフ30kDaでAmicon遠心フィルターを使用してPBSに緩衝液交換した。図63は、抗TF抗体樹脂への結合およびその上での溶出後の7t15-16s21タンパク質含有細胞培養上清のクロマトグラフィープロファイルを示す線グラフである。図63に示されるように、抗TF抗体親和性カラムは、TFを含む7t15-16s21に結合した。緩衝液交換したタンパク質試料を、さらなる生化学的分析および生物学的活性試験のために2~8℃で保管した。各溶出後、抗TF抗体親和性カラムを6カラム体積の0.1Mグリシン(pH2.5)を使用してストリッピングした。その後、カラムを、保管のために5カラム体積のPBSおよび7カラム体積の20%エタノールを使用して中和した。抗TF抗体親和性カラムを、GE Healthcare AKTA Avantシステムに接続した。流速は、2mL/分の溶出ステップを除く全てのステップで4mL/分であった。

【0699】

7t15-16s21の分析的サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)分析

7t15-16s21のサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)分析を行うために、AKTA Avantシステム(GE Healthcare)に接続したSuperdex 200 Increase 10/300 GLゲル濾過カラム(GE Healthcare)を使用した。カラムを2カラム体積のPBSで平衡化した。流速は0.7mL/分であった。PBS中7t15-16s21を含む試料を、キャピラリーループを使用してSuperdex 200カラムに注入し、SECによって分析した。図64に示されるように、SEC結果は、7t15-16s21の2つのタンパク質ピークを示した。

【0700】

実施例50: TGFβ 7t15-16s21融合タンパク質の生成および特徴付け

抗ヒトCD16scFv/IL-15RαSu/IL21およびTGFβ受容体II/TF/IL-15融合タンパク質を含む融合タンパク質複合体を生成した(図65および図66)。ヒトTGFβ受容体II(ILE24-ASP159)、組織因子219、およびIL-15配列をUniProtウェブサイトから入手し、これらの配列のDNAをGenewizによって合成した。具体的には、G4S(3)リンカーを用いて2つのTGFβ受容体II配列を結合してTGFβ受容体IIの一本鎖バージョンを生成し、その後、組織因子219のN末端コーディング領域に、続いて、IL-15のN末端コーディング領域に直接結合することによって構築物を作製した。

【0701】

組織因子219のN末端に、続いて、IL-15のN末端に結合した2つのTGFβ受容体IIを含む構築物の核酸配列およびタンパク質配列を以下に示す。

【0702】

2つのTGFβ受容体II/TF/IL-15構築物の核酸配列(シグナルペプチド配

10

20

30

40

50

列を含む)は、以下の通りである。

(シグナルペプチド)

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCT
CCAGCGCCTACTCC

(2つのヒトTGFβ受容体ⅠⅠ断片)

ATCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGTCAAGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCTCTGCATGTCCAACCTGCAAGCATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGACCGTGTGTCAAGAC
CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTCAATTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAGAAGAAGCCCCGG
AGAGACCTTCTTTATGTGTTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTCTTGG
TGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACGTGCAGAAGAGCGTG
AATAATGACATGATCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGA
AATTTCCCCAGCTGTGCAAAATCTGCGATGTGAGGTTTTC
CACCTGCGACAACCAGAAGTCTGTATGAGCAACTGCTCC
ATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGG
CTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAAC
CGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCTACCACGATTTTCATC
CTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTGATCATGAAAGAGA
AAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTCATGTGCTCCTGCAG
CAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAA
TACAATACCAGCAACCCCCGAC

(ヒト組織因子219)

AGCGGCACAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTT
GGAAGAGCACCAACTTCAAAACCATCCTCGAATGGGAACC
CAAACCCGTTTAACCAAGTTTACACCGTGCGATCAGCACCC
AAGTCCGGCGACTGGAAGTCCAAATGTTTCTATACCACCG
ACACCGAGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGT
GAAACAGACCTACCTCGCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGCC
GGCAATGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTAT
ACGAGAACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAA
TTTAGGACAGCCCCACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGC
ACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAG
TGCGGCGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTT
CGGCAAAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCC
TCTTCTCTCCGGCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAACG
AGTTTTTTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAAACCTACTGTTT
CAGCGTGCAAGCTGTGATCCCTCCCGGACCGTGAAATAGG
AAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAGTGATGGGCCAAGAAA
AGGGCGAGTTCCGGGAG

(ヒトIL-15)

AACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAG
ATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACAC
AGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATG
AAATGTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGA

10

20

30

40

50

G C G G A G A C G C T A G C A T C C A C G A C A C C G T G G A G A A T T T A A T
C A T T T T A G C C A A T A A C T C T T T A T C C A G C A A C G G C A A C G T G
A C A G A G T C C G G C T G C A A G G A G T G C G A A G A G C T G G A G G A G A
A G A A C A T C A A G G A G T T T C T G C A A T C C T T T G T G C A C A T T G T
C C A G A T G T T C A T C A A T A C C T C C

【0703】

TGFβ受容体II／TF／IL-15融合タンパク質のアミノ酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである。

（シグナルペプチド）

MKWVTFISLLFLFSSAYS

10

（ヒトTGFβ受容体II）

I P P H V Q K S V N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N
Q K S C M S N C S I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D
P K L P Y H D F I L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C
N D N I I F S E E Y N T S N P D G G G G S G G G G S G G G G S I P P H V Q K S V
N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N Q K S C M S N C S
I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D P K L P Y H D F I
L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C N D N I I F S E E
Y N T S N P D

（ヒト組織因子219）

20

S G T T N T V A A Y N L T W K S T N F K T I L E W E P K P V N Q V Y T V Q I S T
K S G D W K S K C F Y T T D T E C D L T D E I V K D V K Q T Y L A R V F S Y P A
G N V E S T G S A G E P L Y E N S P E F T P Y L E T N L G Q P T I Q S F E Q V G
T K V N V T V E D E R T L V R R N N T F L S L R D V F G K D L I Y T L Y W K S
S S S G K K T A K T N T N E F L I D V D K G E N Y C F S V Q A V I P S R T V N R
K S T D S P V E C M G Q E K G E F R E

（ヒトIL-15）

N W V N V I S D L K K I E D L I Q S M H I D A T L Y T E S D V H P S C K V T A M
K C F L L E L Q V I S L E S G D A S I H D T V E N L I I L A N N S L S S N G N V
T E S G C K E C E E L E E K N I K E F L Q S F V H I V Q M F I N T S

30

【0704】

抗ヒトCD16scFvをGenewizによって合成したIL-15RαSu鎖のN末端コーディング領域に、続いて、IL-21のN末端コーディング領域に直接結合することによっても構築物を作製した。IL-15RαSuのN末端に、続いて、IL-21のN末端コーディング領域に結合した抗ヒトCD16scFvを含む構築物の核酸配列およびタンパク質配列を以下に示す。

【0705】

抗CD16scFv／IL-15RαSu／IL-21構築物の核酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである。

（シグナルペプチド）

40

A T G A A G T G G G T G A C C T T C A T C A G C C T G C T G T T C C T G T T C T
C C A G C G C C T A C T C C

（抗ヒトCD16scFv）

T C C G A G C T G A C C C A G G A C C C T G C T G T G T C C G T G G C T C T G G
G C C A G A C C G T G A G G A T C A C C T G C C A G G G C G A C T C C C T G A G
G T C C T A C T A C G C C T C C T G G T A C C A G C A G A A G C C C G G C C A G
G C T C C T G T G C T G G T G A T C T A C G G C A A G A A C A A C A G G C C C T
C C G G C A T C C C T G A C A G G T T C T C C G G A T C C T C C T C C G G C A A
C A C C G C C T C C C T G A C C A T C A C A G G C G C T C A G G C C G A G G A C
G A G G C T G A C T A C T A C T G C A A C T C C A G G G A C T C C T C C G G C A

50

ACCATGTGGTGTTCGGCGGCGGGCACCAGCTGACCGTGGG
 CCATGGCGGGCGGGCGGCTCCGGAGGGCGGGCAGCGGCGGA
 GGAGGATCCGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGAGGAGGAG
 TGGTGAGGCCTGGAGGCTCCCTGAGGCTGAGCTGTGCTGC
 CTCCGGGCTTTCACCTTCGACGACTACGGCATGTCTCTGGGTG
 AGGCAGGCTCCTGGAAAGGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGGCA
 TCAACTGGAAACGGCGGATCCACCGGCTACGCCGATTCCGT
 GAAGGGCAGGTTCAACCATCAGCAGGGACAACGCCAAGAAC
 TCCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGGGGCCGAGGACA
 CCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGGCGAGGTCCCTGCTGTT
 CGACTACTGGGGACAGGGGCACCTGGTGACCGTGTCCAGG
 (ヒトIL-15R α sushiドメイン)

10

ATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACA
 TCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTA
 TATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACACAGC
 AGCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGG
 CTCACTGGACAACACCCTCTTTAAAGTGATCCGG

(ヒトIL-21)

CAGGGCCAGGACAGGACACATGATCCGGATGAGGCGAGCTCA
 TCGACATCGTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCT
 GGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACC
 AACTGCGAGTGGTCCGCCCTTCTCCTGCTTTTCAGAAGGCC
 AGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAACAACGAGCGGATCAT
 CAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCC
 ACAACGCGCCGGCAGGAGGCGAGAAGCACAGGCTGACCTGCC
 CCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTT
 CCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAGATGATCCAT
 CAGCACCTGTCCTCCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCC

20

【0706】

抗CD16scFv／IL-15R α Su／IL-21構築物のアミノ酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである。

30

(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSAYS

(抗ヒトCD16scFv)

SELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQ
 APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAED
 EADYYCNSRDSSGNHVVFGGGTKLTVGHGGGSGGGGSGG
 GGSEVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTTFDDYGMSWV
 RQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNANKN
 SLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRSLFLDYWGQGTLVTVSR

40

(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

ITCPPPMSEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTS
 SLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIR

(ヒトIL-21)

QGQDRHMIRMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
 NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
 TNAGRQRKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSLQLQKMIH
 QHLSSTRTHGSEDS

【0707】

ある場合には、リーダーペプチドをインタクトなポリペプチドから切断して、可溶性で

50

あり得るか、または分泌され得る成熟形態を生成する。

【0708】

抗CD16scFv/IL-15R α Su/IL-21構築物およびTGFR/TF/IL-15構築物を前述の修飾レトロウイルス発現ベクターにクローニングし (Hughes MS, Yu YY, Dudley ME, Zheng Z, Robbins PF, Li Y, et al. Transfer of a TCR gene derived from a patient with a marked antitumor response conveys highly active T-cell effector functions. Hum Gene Ther 2005; 16: 457-72)、発現ベクターをCHO-K1細胞にトランスフェクトした。CHO-K1細胞でのこれらの2つの構築物の共発現により、可溶性TGFR/TF/IL-15:CD16scFv/IL-15R α Su/IL-21タンパク質複合体 (TGFRt15-16s21と称する) の形成および分泌が可能になり、これを抗TF IgG1ベースの親和性および他のクロマトグラフィー法によって精製することができる。

【0709】

TGFRt15-16s21とヒトCD16bを発現するCHO細胞との間の相互作用

CHO細胞をpMCプラスミド中のヒトCD16bでトランスフェクトし、10 μ g/mLのプラストサイジンで10日間選択した。CD16bを安定的に発現する細胞を、1.2 μ g/mLの抗ヒトCD16 scFvを含むTGFRt15-16s21または陰性対照として抗ヒトCD16 scFvを含まない7t15-21sで染色し、ビオチン化抗ヒト組織因子抗体およびPE結合ストレプトアビジンで染色した。図67Aおよび図67Bに示されるように、抗ヒトCD16 scFvを含むTGFRt15-16s21が陽性結合を示した一方で、7t15-21sは結合を示さなかった。

【0710】

HEK-Blue TGF β 細胞におけるTGF β 1活性に対するTGFRt15-16s21の効果

TGFRt15-16s21中のTGF β RIIの活性を評価するために、HEK-Blue TGF β 細胞におけるTGF β 1活性に対するTGFRt15-16s21の効果を分析した。HEK-Blue TGF β 細胞 (InvivoGen) を予熱したPBSで2回洗浄し、試験培地 (DMEM、10%熱不活性化FCS、1 $\times$ グルタミン、1 $\times$ 抗-抗、および2 $\times$ グルタミン) 中に5 $\times$ 10⁵細胞/mLで再懸濁した。平底96ウェルプレート中、50 μ Lの細胞を各ウェルに添加し (2.5 $\times$ 10⁴細胞/ウェル)、その後、50 μ Lの0.1 nM TGF β 1 (R&D systems) を添加した。その後、1:3連続希釈で調製したTGFRt15-16s21またはTGFR-Fc (R&D Systems) をプレートに添加して、総量を200 μ Lにした。37°Cで24時間インキュベートした後、40 μ Lの誘導されたHEK-Blue TGF β 細胞上清を平底96ウェルプレート中の160 μ Lの予熱したQUANTI-Blue (InvivoGen) に添加し、37°Cで1~3時間インキュベートした。その後、OD値を、プレートリーダー (Multiscan Sky) を使用して620~655 nMで決定した。各タンパク質試料のIC₅₀を、GraphPad Prism 7.04を用いて計算した。TGFRt15-16s21およびTGFR-FcのIC₅₀は、それぞれ、9127 pMおよび460.6 pMであった。これらの結果は、TGFRt15-16s21中のTGF β RIIドメインがHEK-Blue TGF β 細胞におけるTGF β -1活性を遮断することができたことを示した。

【0711】

TGFRt15-16s21におけるIL-15は、IL-2R β および共通 γ 鎖含有32D β 細胞の増殖を促進する

TGFRt15-16s21におけるIL-15の活性を分析するために、TGFRt15-16s21のIL-15活性を、IL2R β および共通 γ 鎖を発現する32D β 細胞を使用して組換えIL-15と比較し、細胞増殖の促進に対するそれらの効果を評価し

た。IL-15 依存性 32D β 細胞を IMDM-10% FBS で 5 回洗浄し、 2×10^4 細胞/ウェルでウェル中に播種した。連続希釈した TGF α 15-16s21 または IL-15 を細胞に添加した (図 68)。細胞を CO₂ インキュベーター内で、37℃ で 3 日間インキュベートした。3 日目に 10 μ L の WST1 を各ウェルに添加し、CO₂ インキュベーター内で、37℃ でさらに 3 時間インキュベートすることにより、細胞増殖を検出した。生成されたホルマザン色素の量を分析することにより、吸光度を 450 nm で測定した。図 68 に示されるように、TGF α 15-16s21 および IL-15 は 32D β 細胞増殖を促進し、TGF α 15-16s21 および IL-15 の EC₅₀ は、それぞれ、51298 PM および 10.63 PM であった。

【0712】

ELISA を使用した TGF α 15-16s21 における IL-15、IL-21、および TGF β RII の検出

96 ウェルプレートに R5 (コーティング緩衝液) 中 100 μ L (8 μ g/mL) の抗 TF IgG1 でコーティングし、室温 (RT) で 2 時間インキュベートした。プレートを 3 回洗浄し、PBS 中 100 μ L の 1% BSA でブロックした。1:3 比で連続希釈した TGF α 15-16s21 を添加し、室温で 60 分間インキュベートした。3 回洗浄した後、50 ng/mL のビオチン化抗 IL-15 抗体 (BAM247、R&D Systems)、500 ng/mL のビオチン化抗 IL-21 抗体 (13-7218-81、R&D Systems)、または 200 ng/mL のビオチン化抗 TGF β RII 抗体 (BAF241、R&D Systems) をウェル毎に適用し、室温で 60 分間インキュベートした。3 回洗浄した後、0.25 μ g/mL の HRP-SA (Jackson ImmunoResearch) と 100 μ L/ウェルで、室温で 30 分間インキュベートし、その後、4 回洗浄し、100 μ L の ABTS と室温で 2 分間インキュベートした。吸光度を 405 nm で読み取った。データを図 69 に示す。図 70A~70C に示されるように、TGF α 15-16s21 中の IL-15 ドメイン、IL-21 ドメイン、および TGF β RII ドメインをそれぞれの抗体によって検出した。

【0713】

抗 TF 抗体親和性カラムを使用した TGF α 15-16s21 の精製溶出クロマトグラフ

細胞培養物から収集した TGF α 15-16s21 を、5 カラム体積の PBS で平衡化した抗 TF 抗体親和性カラムにロードした。試料をロードした後、カラムを 5 カラム体積の PBS で洗浄し、その後、6 カラム体積の 0.1 M 酢酸 (pH 2.9) で溶出した。A280 溶出ピークを収集し、1 M トリス塩基で pH 7.5~8.0 に中和した。その後、中和した試料を、分子量カットオフ 30 kDa で Amicon 遠心フィルターを使用して PBS に緩衝液交換した。図 71 に示されるように、抗 TF 抗体親和性カラムは、融合パートナーとして組織因子を含む TGF α 15-16s21 に結合した。緩衝液交換したタンパク質試料を、さらなる生化学的分析および生物学的活性試験のために 2~8℃ で保管した。各溶出後、抗 TF 抗体親和性カラムを 6 カラム体積の 0.1 M グリシン (pH 2.5) を使用してストリッピングした。その後、カラムを、保管のために 5 カラム体積の PBS および 7 カラム体積の 20% エタノールを使用して中和した。抗 TF 抗体親和性カラムを、GE Healthcare AKTA Avant システムに接続した。流速は、2 mL/分の溶出ステップを除く全てのステップで 4 mL/分であった。

【0714】

TGF α 15-16s21 の還元 SDS-PAGE

TGF α 15-16s21 タンパク質の純度および分子量を決定するために、抗 TF 抗体親和性カラムで精製したタンパク質試料を、還元条件下でドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル (4~12% NuPage ビスートリスゲル) 電気泳動 (SDS-PAGE) によって分析した。電気泳動後、ゲルを Instant Blue で約 30 分間染色し、その後、精製水中で一晩脱色した。

【0715】

TGF α 15-16s21 タンパク質が CHO 細胞において翻訳後にグリコシル化を

10

20

30

40

50

受けることを検証するために、脱グリコシル化実験を、New England Biolabs製のProtein Deglycosylation Mix IIキットを製造業者の指示に従って使用して実施した。図72は、非脱グリコシル化状態（赤色の縁内のレーン1）および脱グリコシル化状態（黄色の縁内のレーン2）での試料の還元SDS-PAGE分析の結果を示す。結果は、TGFRt15-16s21タンパク質がCHO細胞で発現されるとグリコシル化されることを示した。脱グリコシル化後、精製した試料は、還元SDSゲル中で予想された分子量（69 kDaおよび48 kDa）を示した。レーンMには、10 μLのSeeBlue Plus2 Prestained Standardをロードした。

【0716】

実施例51：7t15-7s融合タンパク質の生成および特徴付け

IL-7/Tf/IL-15融合タンパク質およびIL-7/IL-15RαSu融合タンパク質を含む融合タンパク質複合体を生成した（図73および図74）。ヒトIL-7、組織因子219、およびIL-15配列をUniProtウェブサイトから入手し、これらの配列のDNAをGenewizによって合成した。具体的には、IL-7配列を組織因子219のN末端コーディング領域に、続いて、IL-15のN末端コーディング領域に結合することによって構築物を作製した。

【0717】

組織因子219のN末端に、続いて、IL-15のN末端に結合したIL-7を含む構築物の核酸配列およびタンパク質配列を以下に示す。

【0718】

7t15構築物の核酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである。

（シグナルペプチド）

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTCTCCAGCGCCTACTCC

（ヒトIL7）

GATTGCGACATCGAGGGCAAGGACGGCAAGCAGTACGAGAGCGGTGCTGATGGTGTCCATCGACCAGCTGCTGGACAGCATGAAGGAGATCGGCTCCAACCTGCCTCAACAACGAGTTCAACTTCTTCAAGCGGCACATCTGCGACGCCAACAAAGGAGGGCA
TGTTCCTGTTTCAGGGCCGCCAGGAAACTGCGGCAGTTCTCTGAAGATGAACTCCACC GGCGACTTTCGACCCTGCACCTGCTGAAGGTGTCCGAGGGGCACCAACCATCCTGCTGAACTGCACCCG
GACAGGTGAAGGGCCGGAAACCTGCTGCTCTGGGAGAGGGCCCAACCCACCAAGAGCCTGGAGGAGAACAAGTCCCTGAAGGAGCAGAAAGCTGAACGACCTGTGCTTCTCTGAAGAGGGCTGCTGCAGGAGATCAAGACCTGCTGGAAACAAGATCCTGATGGGCACCAAGGAGCAT

（ヒト組織因子219）

AGCGGCACAAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTTGGAAGAGCACCAACTTCAAAACCATCCTCGAATGGGAACCCAAACCCGTTAAACCAAGTTTACACCGTGCGAGATCAGCACCAAGTCCGGCGACTGGAAAGTCCAAATGTTTCTATACCAACCGACACCGAGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGTGAAACAGACCTACCTCGCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGCCGGCAATGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTATACGAGAACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAATTTAGGACAGCCCCACCATCCAAGCTTTGAGCAAGTTTGGCACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAGTGCGGCGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTT

10

20

30

40

50

CGGCAAAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCC
TCTTCCTCCGGCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACG
AGTTTTTTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAACTACTGTTT
CAGCGTGCAAGCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGAAATAGG
AAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAGTG CATGGGCCAAGAAA
AGGGCGAGTTCCGGGAG

(ヒトIL-15)

AACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAG
ATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACAC
AGAATCCGACGTGCACCCCTCTTTGTAAGGTGACCGCCATG
AAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGA
GCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGAGAAATTTAAT
CATTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTG
ACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGA
AGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGT
CCAGATGTTTCATCAATACCTCC

【0719】

7 t 15 融合タンパク質のアミノ酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである。
(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSAYS

(ヒトIL7)

DCDIEGKDGKQYESVLMVSI DQLLD SMKEIGSNCLNNEFN
FFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLL
KVSEGT TILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLK
EQKKLNDLCFLKRL LQEIKTCWNKILMGTK EH

(ヒト組織因子219)

SGTTNTVAAYNL TWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST
KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA
GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS
SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVIPSR TVNR
KSTDSPVECMGQEKGEFRE

(ヒトIL-15)

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAM
KCFLLLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNV
TESGCKECEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFIN TS

【0720】

IL-7 配列を Genewiz によって合成した IL-15R α Su 鎖の N 末端コーデ
ィング領域に連結することによっても構築物を作製した。IL-15R α Su 鎖の N 末端
に結合した IL-7 を含む構築物の核酸配列およびタンパク質配列を以下に示す。

【0721】

7 s 構築物の核酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである。

(シグナルペプチド)

ATGGGAGTGAAAGTTCTTTTTTGCCCTTATTTGTATTGCTG
TGGCCGAGGCC

(ヒトIL7)

GATTGTGATATTGAAGGTAAAGATGGCAAACAATATGAGA
GTGTTCTAATGGTCAGCATCGATCAATTATTGGACAGCAT
GAAAGAAATTGGTAGCAATTGCCTGAATAATGAATTTAAC
TTTTTTTAAAAGACATATCTGTGATGCTAATAAGGAAGGTA

10

20

30

40

50

TGTTTTTATTCCGTGCTGCTCGCAAGTTGAGGCAATTTCT
TAAAATGAATAGCACTGGTGATTTTGATCTCCACTTATTA
AAAGTTTTCAGAAGGCACAACAATACTGTTGAACTGCACTG
GCCAGGTTAAAGGAAGAAAACCAGCTGCCCTGGGTGAAGC
CCAACCAACAAGAGTTTGGGAAGAAAATAAATCTTTAAAG
GAACAGAAAAAACTGAATGACTTTGTGTTTCTTAAAGAGAC
TATTACAAGAGATAAAAACTTGTGGAATAAAATTTTGAT
GGGCACTAAAGAACAC

(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

ATCACGTGCCCTCCCCCATGTCCGTGGAACACGCAGACA
TCTGGGTCAAGAGCTACAGCTTGTACTCCAGGGAGCGGTA
CATTTGTAACTCTGGTTTCAAGCGTAAAGCCGGCACGTCC
AGCCTGACGGAGTGCGTGTTGAACAAGGCCACGAATGTCG
CCCCTGGACAACCCCCAGTCTCAAATGCATTAGA

【0722】

7s融合タンパク質のアミノ酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである。

(シグナルペプチド)

MGVKVLFALICIAVAEA

(ヒトIL7)

DCDIEGKDGKQYESVLMVSI DQLLD SMKEIGSNCLNNEFN
FFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLL
KVSEGT TILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLK
EQKKLNDLCFLKRL LQEIKTCWNKILMGTKEH

(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

ITCPPPM SVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTS
SLTECVLNKATNV AHWTTPSLKCIR

【0723】

IL-7/TF/IL-15構築物およびIL-7/IL-15R α Su構築物を前述
の修飾レトロウイルス発現ベクターにクローニングし (Hughes MS, Yu YY,
Dudley ME, Zheng Z, Robbins PF, Li Y, et al. T
ransfer of a TCR gene derived from a patie
nt with a marked antitumor response convey
s highly active T-cell effector functions
. Hum Gene Ther 2005;16:457-72)、発現ベクターをCHO
-K1細胞にトランスフェクトした。CHO-K1細胞でのこれらの2つの構築物の共発
現により、7t15-7sと称する可溶性IL-7/TF/IL-15:IL-7/IL
-15R α Suタンパク質複合体の形成および分泌が可能になり、これを抗TF IgG
1親和性および他のクロマトグラフィー法によって精製することができる。

【0724】

抗TF抗体親和性カラムを使用した7t15-7sの精製溶出クロマトグラフ

細胞培養物から収集した7t15-7sを、5カラム体積のPBSで平衡化した抗TF
抗体親和性カラムにロードした。試料をロードした後、カラムを5カラム体積のPBSで
洗浄し、その後、6カラム体積の0.1M酢酸(pH2.9)で溶出した。A280溶出
ピークを収集し、1Mトリス塩基でpH7.5~8.0に中和した。その後、中和した試
料を、分子量カットオフ30kDaでAmicon遠心フィルターを使用してPBSに緩
衝液交換した。図75に示されるように、抗TF抗体親和性カラムは、融合パートナーと
して組織因子(TF)を含む7t15-7sに結合した。緩衝液交換したタンパク質試料
を、さらなる生化学的分析および生物学的活性試験のために2~8℃で保管した。各溶出
後、抗TF抗体親和性カラムを6カラム体積の0.1Mグリシン(pH2.5)を使用し
てストリッピングした。その後、カラムを、保管のために5カラム体積のPBSおよび7

10

20

30

40

50

カラム体積の20%エタノールを使用して中和した。抗TF抗体親和性カラムを、GE Healthcare AKTA Avantシステムに接続した。流速は、2mL/分の溶出ステップを除く全てのステップで4mL/分であった。

【0725】

C57BL/6マウスにおける7t15-7sの免疫刺激

7t15-7sは、ヒトIL-7、ヒト組織因子219断片、およびヒトIL-15の可溶性融合物(7t15)である第1のポリペプチドと、ヒトIL-7およびヒトIL-15受容体アルファ鎖のsushiドメインの可溶性融合物(7s)である第2のポリペプチドとを含む多鎖ポリペプチド(本明細書に記載のタイプA多鎖ポリペプチド)である。

【0726】

CHO細胞を、IL7-TF-IL15(7t15)およびIL7-IL15Rasushiドメイン(7s)ベクターで共トランスフェクトした。7t15-7s複合体を、トランスフェクトしたCHO細胞培養上清から精製した。図76に示されるように、複合体中のIL-7、IL-15、および組織因子(TF)成分をELISAによって実証した。ヒト化抗TFモノクローナル抗体(抗TF IgG1)を捕捉抗体として使用して、7t15-7s中のTFを決定し、ビオチン化抗ヒトIL-15抗体(R&D systems)およびビオチン化抗ヒトIL-7抗体(R&D Systems)を検出抗体として使用して、それぞれ、7t15-7s中のIL-15およびIL-7を検出し、その後、ペルオキシダーゼ結合ストレプトアビジン(Jackson ImmunoResearch Lab)およびABTS基質(Surmodics IVD, Inc.)を使用した。

【0727】

実施例52: TGFβ15-TGFβs融合タンパク質の生成および特徴付け

TGFβ受容体II/IL-15RαSushi融合タンパク質およびTGFβ受容体II/TF/IL-15融合タンパク質からなる融合タンパク質複合体を生成した(図77および図78)。ヒトTGFβ受容体II(ILE24-ASP159)、組織因子219、およびIL-15配列をUniProtウェブサイトから入手し、これらの配列のDNAをGenewizによって合成した。具体的には、G4S(3)リンカーを用いて2つのTGFβ受容体II配列を結合してTGFβ受容体IIの一本鎖バージョンを生成し、その後、組織因子219のN末端コーディング領域に、続いて、IL-15のN末端コーディング領域に直接連結することによって構築物を作製した。

【0728】

組織因子219のN末端に、続いて、IL-15のN末端に結合した2つのTGFβ受容体IIを含む構築物の核酸配列およびタンパク質配列を以下に示す。

【0729】

2つのTGFβ受容体II/TF/IL-15構築物の核酸配列(シグナルペプチド配列を含む)は、以下の通りである。

(シグナルペプチド)

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTCCAGCGCCTACTCC

(2つのヒトTGFβ受容体II断片)

ATCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAAACAACGATATGATCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCTCTGCAAGTTCTGCGATGTTCAGGTTTCAGCACCTGCGATAATCAGAAGTCCCTGCATGTCCAACCTGCAGCATCACCTCCATCTGCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAAAAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGACCGTGTGTTCACGACCCCAAGCTCCCTTATCACGACTTCAATTCTGGAGGACGCTGCCCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAGAAGAAGCCCGGAGAGACCTTCTTTATGTGTTCCTGTAGCAGCGACGAGTGT

AACGACAACATCATCTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTCTGG
TGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACGTGCAGAAGAGCGTG
AATAATGACATGATCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGA
AATTTCCCCAGCTGTGCAAATTTCTGCGATGTGAGGTTTTTC
CACCTGCGACAACCAGAAGTCCCTGTATGAGCAACTGCTCC
ATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGG
CTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAAC
CGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCTACCACGATTTTCATC
CTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTGCATCATGAAAGAGA
AAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTTCATGTGCTCCTGCAG
CAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAA
TACAATACCAGCAACCCCGAC

(ヒト組織因子219)

AGCGGCACAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTT
GGAAGAGCACCAACTTCAAAACCATCCTCGAATGGGAACC
CAAACCCGTTAACCAGTTTACACCGTGCAGATCAGCACCC
AAGTCCGGCGACTGGAAGTCCAAATGTTTTCTATACCACCG
ACACCGAGTGCATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGT
GAAACAGACCTACCTCGCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGCC
GGCAATGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTAT
ACGAGAACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAA
TTTAGGACAGCCCCACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGC
ACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAG
TGCGGCGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGGATGTGTT
CGGCAAAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCC
TCTTCTCTCCGGCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACG
AGTTTTTTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAAACCTACTGTTT
CAGCGTGCAAGCTGTGATCCCTCCTCCGGACCGTGAAATAGG
AAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAGTGCATGGGGCCAAGAAA
AGGGCGAGTTCCGGGAG

(ヒトIL-15)

AACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAG
ATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACAC
AGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATG
AAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGA
GCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAGAATTTAAT
CATTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTG
ACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGA
AGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGT
CCAGATGTTTCATCAATACCTCC

【0730】

TGFβ受容体II／TF／IL-15融合タンパク質のアミノ酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである。

(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSAYS

(ヒトTGFβ受容体II)

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSICEKPEVCVAVWRKNDENITLETVCCHD
PKLPYHDFILEDASPCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC

10

20

30

40

50

NDNIIFSE EYNTSNPDGGGGSGGGGSGGGGSI PPHVQKSV
NNDMI VTDNNGAVKFPQLCKFC D VRFSTCDN QKSCMSNCS
ITSICEK PQEVCVAVWRKNDENITLET VCHDPKLPYHDFI
LEDAASPKCIMKEKKKPGETFFM C SCS SDECNDNIIFSEE
YNTSNPD

(ヒト組織因子219)

SGTTNTVAAYNL TWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST
KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPA
GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS
SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVIPSR TVNR
KSTDSPVECMGQEKGEFRE

(ヒトIL-15)

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHP SCKVTAM
KCFLLLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLS SNGNV
TESGCKECEEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFIN TS

【0731】

2つのTGFβ受容体IIをGenewizによって合成したIL-15RαSu鎖に
直接結合することによっても構築物を作製した。IL-15RαSuのN末端に結合した
TGFβ受容体IIを含む構築物の核酸配列およびタンパク質配列を以下に示す。

【0732】

TGFβ受容体II／IL-15RαSu構築物の核酸配列（シグナルペプチド配列を
含む）は、以下の通りである。

(シグナルペプチド)

ATGAAGTG GGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCT
CCAGCGCCTACTCC

(2つのヒトTGFβ受容体II断片)

ATCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGT CAGGTT CAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCCTGCATGTCCA ACTTG CAGCATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGACCGTGTGTCA CGAC
CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTCA TTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAGAAGAAGCCCGG
AGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTCTGG
TGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACGTGCAGAAGAGCGTG
AATAATGACATGATCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGA
AATTTCCCCAGCTGTGCAAATTCCTGCGATGTGAGGTTTTC
CACCTGCGACAACCAGAAGTCCCTGTATGAGCAACTGCTCC
ATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGG
CTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAAC
CGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCTACCACGATTTTCATC
CTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTG CATCATGAAAGAGA
AAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTCATGTGCTCCTGCAG
CAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAA
TACAATACCAGCAACCCCGAC

(ヒトIL-15Rαsushiドメイン)

ATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACA
TCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTA
TATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACACAGC
AGCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGG
CTCACTGGACAACACCCTCTTTAAAGTGCAATCCGG

【0733】

2つのTGFβ受容体II/IL-15RαSu構築物のアミノ酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである。

（シグナルペプチド）

MKWVTFISLLFLFSSAYS

10

（2つのヒトTGFβ受容体II細胞外ドメイン）

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCHD
PKLPYHDFILEDAAASPCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSEEYNTSNPDGGGGSGGGGSGGGGSIIPPHVQKSV
NNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCS
ITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFI
LEDAASPCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEE
YNTSNPD

（ヒトIL-15Rαsushiドメイン）

20

ITCPPPMSSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTS
SLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIR

【0734】

ある場合には、リーダーペプチドをインタクトなポリペプチドから切断して、可溶性であり得るか、または分泌され得る成熟形態を生成する。

【0735】

TGFβR/IL-15RαSu構築物およびTGFβR/TF/IL-15構築物を前述の修飾レトロウイルス発現ベクターにクローニングし（Hughes MS, Yu Y, Dudley ME, Zheng Z, Robbins PF, Li Y, et al. Transfer of a TCR gene derived from a patient with a marked antitumor response conveys highly active T-cell effector functions. Hum Gene Ther 2005;16:457-72）、発現ベクターをCHO-K1細胞にトランスフェクトした。CHO-K1細胞でのこれらの2つの構築物の共発現により、可溶性TGFβR/TF/IL-15:TGFβR/IL-15RαSuタンパク質複合体（TGF Rt15-TGFRsと称する）の形成および分泌が可能になり、これを抗TF IgG1親和性および他のクロマトグラフィー法によって精製することができる。

30

【0736】

HEK-Blue TGFβ細胞におけるTGFβ1活性に対するTGF Rt15-TGFRsの効果

40

TGF Rt15-TGFRs中のTGFβRIIの活性を評価するために、HEK-Blue TGFβ細胞におけるTGFβ1活性に対するTGF Rt15-TGFRsの効果を分析した。HEK-Blue TGFβ細胞（InvivoGen）を予熱したPBSで2回洗浄し、試験培地（DMEM、10%熱不活性化FCS、1×グルタミン、1×抗-抗、および2×グルタミン）中に5×10⁵細胞/mLで再懸濁した。平底96ウェルプレート中、50μLの細胞を各ウェルに添加し（2.5×10⁴細胞/ウェル）、その後、50μLの0.1nM TGFβ1（R&D systems）を添加した。その後、1:3連続希釈で調製したTGF Rt15-TGFRsまたはTGF Rt15-TGFR-Fc（R&D Systems）をプレートに添加して、総量を200μLにした。37℃で24時間イ

50

ンキュベートした後、40 μ Lの誘導されたHEK-Blue TGF β 細胞上清を平底96ウェルプレート中の160 μ Lの予熱したQUANTI-Blue (InvivoGen)に添加し、37℃で1～3時間インキュベートした。その後、OD値を、プレートリーダー (Multiscan Sky) を使用して620～655 nmで決定した。各タンパク質試料のIC₅₀を、GraphPad Prism 7.04を用いて計算した。TGFRt15-TGFRsおよびTGFR-FcのIC₅₀は、それぞれ、216.9 pMおよび460.6 pMであった。これらの結果は、TGFRt15-TGFRs中のTGF β RIIドメインがHEK-Blue TGF β 細胞におけるTGF β 1活性を遮断することができたことを示した。

【0737】

TGFRt15-TGFRs中のIL-15は、IL-2R β および共通 γ 鎖含有32D β 細胞の増殖を促進する

TGFRt15-TGFRs中のIL-15の活性を評価するために、TGFRt15-TGFRsのIL-15活性を、IL2R β および共通 γ 鎖を発現する32D β 細胞を使用して組換えIL-15と比較し、細胞増殖の促進に対するそれらの効果を評価した。IL-15依存性32D β 細胞をIMDM-10%FBSで5回洗浄し、2 $\times$ 10⁴細胞/ウェルでウェル中に播種した。連続希釈したTGFRt15-TGFRsまたはIL-15を細胞に添加した(図79)。細胞をCO₂インキュベーター内で、37℃で3日間インキュベートした。3日目に10 μ LのWST1を各ウェルに添加し、CO₂インキュベーター内で、37℃でさらに3時間インキュベートすることにより、細胞増殖を検出した。生成されたホルマザン色素の量を分析することにより、吸光度を450 nmで測定した。図79に示されるように、TGFRt15-TGFRsおよびIL-15は32D β 細胞増殖を促進し、TGFRt15-TGFRsおよびIL-15のEC₅₀は、それぞれ、1901 pMおよび10.63 pMであった。

【0738】

ELISAを使用した対応する抗体を用いたTGFRt15-TGFRs中のIL-15ドメインおよびTGF β RIIドメインの検出

96ウェルプレートをR5 (コーティング緩衝液) 中100 μ L (8 μ g/mL)の抗TF IgG1でコーティングし、室温(RT)で2時間インキュベートした。プレートを3回洗浄し、PBS中100 μ Lの1%BSAでブロックした。TGFRt15-TGFRsを1:3連続希釈で添加し、室温で60分間インキュベートした。3回洗浄した後、50 ng/mLのビオチン化抗IL-15抗体(BAM247、R&D Systems)または200 ng/mLのビオチン化抗TGF β RII抗体(BAF241、R&D Systems)をウェルに添加し、室温で60分間インキュベートした。次いで、プレートを3回洗浄し、0.25 μ g/mLのHRP-SA (Jackson ImmunoResearch)を100 μ L/ウェルで添加し、室温で30分間インキュベートし、その後、4回洗浄し、100 μ LのABTSと室温で2分間インキュベートした。吸光度を405 nmで読み取った。図81Aおよび81Bに示されるように、TGFRt15-TGFRs中のIL-15ドメインおよびTGF β RIIドメインを個々の抗体によって検出した。

【0739】

抗TF抗体親和性カラムからのTGFRt15-TGFRsの精製溶出クロマトグラフ

細胞培養物から収集したTGFRt15-TGFRsを、5カラム体積のPBSで平衡化した抗TF抗体親和性カラムにロードした。試料をロードした後、カラムを5カラム体積のPBSで洗浄し、その後、6カラム体積の0.1 M酢酸(pH 2.9)で溶出した。A280溶出ピークを収集し、1 Mトリス塩基でpH 7.5～8.0に中和した。その後、中和した試料を、分子量カットオフ30 kDaでAmicon遠心フィルターを使用してPBSに緩衝液交換した。図82に示されるように、抗TF抗体親和性カラムは、融合パートナーとしてTFを含むTGFRt15-TGFRsに結合した。緩衝液交換したタンパク質試料を、さらなる生化学的分析および生物学的活性試験のために2～8℃で保管

10

20

30

40

50

した。各溶出後、抗TF抗体親和性カラムを6カラム体積の0.1Mグリシン(pH2.5)を使用してストリッピングした。その後、カラムを、保管のために5カラム体積のPBSおよび7カラム体積の20%エタノールを使用して中和した。抗TF抗体親和性カラムを、GE Healthcare AKTA Avantシステムに接続した。流速は、2mL/分の溶出ステップを除く全てのステップで4mL/分であった。

【0740】

TGFRt15-TGFRsの分析的サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)分析

Superdex 200 Increase 10/300 GLゲル濾過カラム(GE Healthcare製)をAKTA Avantシステム(GE Healthcare製)に接続した。カラムを2カラム体積のPBSで平衡化した。流速は0.7mL/分であった。PBS中TGFRt15-TGFRsを含む試料を、キャピラリーループを使用してSuperdex 200カラムに注入し、SECによって分析した。試料のSECクロマトグラフを図83に示す。SECの結果は、TGFRt15-TGFRsの4つのタンパク質ピークを示した。

10

【0741】

TGFRt15-TGFRsの還元SDS-PAGE分析

TGFRt15-TGFRsタンパク質の純度および分子量を決定するために、抗TF抗体親和性カラムで精製したタンパク質試料を、還元条件下でドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル(4~12%NuPageビスートリスゲル)電気泳動(SDS-PAGE)法によって分析した。電気泳動後、ゲルをInstant Blueで約30分間染色し、その後、精製水中で一晩脱色した。

20

【0742】

TGFRt15-TGFRsタンパク質がCHO細胞において翻訳後にグリコシル化を受けることを検証するために、脱グリコシル化実験を、New England Biolabs製のProtein Deglycosylation Mix IIキットおよび製造業者の指示を使用して実施した。図84は、非脱グリコシル化状態(赤色の縁内のレーン1)および脱グリコシル化状態(黄色の縁内のレーン2)での試料の還元SDS-PAGE分析を示す。結果は、TGFRt15-TGFRsタンパク質がCHO細胞で発現されるとグリコシル化されることを示した。脱グリコシル化後、精製した試料は、還元SDSゲル中で予想された分子量(69kDaおよび39kDa)を示した。レーンMには、10uLのSeeBlue Plus2 Prestained Standardをロードした。

30

【0743】

C57BL/6マウスにおけるTGFRt15-TGFRsの免疫刺激活性

TGFRt15-TGFRsは、2つのTGFBRIIDメイン、ヒト組織因子219断片、およびヒトIL-15の可溶性融合物である第1のポリペプチドと、2つのTGFBRIIDメインおよびヒトIL-15受容体アルファ鎖のsushiドメインの可溶性融合物である第2のポリペプチドとを含む多鎖ポリペプチド(本明細書に記載のタイプA多鎖ポリペプチド)である。

【0744】

野生型C57BL/6マウスを、対照溶液、または0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、もしくは10mg/kgの投薬量のTGFRt15-TGFRsのいずれかで皮下処理した。処理の4日後、脾臓の重量および脾臓に存在する様々な免疫細胞型のパーセンテージを評価した。図85Aに示されるように、TGFRt15-TGFRsで処理したマウスにおける脾臓の重量は、TGFRt15-TGFRsの投薬量の増加とともに増加した。さらに、1mg/kg、3mg/kg、および10mg/kgのTGFRt15-TGFRsで処理したマウスにおける脾臓の重量は、それぞれ、対照溶液で処理したマウスと比較して高かった。加えて、対照処理マウスおよびTGFRt15-TGFRs処理マウスの脾臓に存在するCD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞、NK細胞、およびCD19⁺B細胞のパーセンテージを評価した。図85Bに示されるように、TGFR

40

50

t15-TGFRsで処理したマウスの脾臓では、CD8⁺ T細胞およびNK細胞の両方のパーセンテージが、TGFRt15-TGFRsの投薬量の増加とともに増加した。具体的には、CD8⁺ T細胞のパーセンテージは、対照処理マウスと比較して、0.3 mg/kg、3 mg/kg、および10 mg/kgのTGFRt15-TGFRsで処理したマウスで高く、NK細胞のパーセンテージは、対照処理マウスと比較して、0.3 mg/kg、1 mg/kg、3 mg/kg、および10 mg/kgのTGFRt15-TGFRsで処理したマウスで高かった。これらの結果は、TGFRt15-TGFRsが、脾臓中の免疫細胞、特にCD8⁺ T細胞およびNK細胞を刺激することができることを示す。

【0745】

TGFRt15-TGFRs分子の薬物動態を、野生型C57BL/6マウスで評価した。マウスを、3 mg/kgの投薬量のTGFRt15-TGFRsで皮下処理した。マウスの血液を様々な時点で尾静脈から排出し、血清を調製した。マウス血清中のTGFRt15-TGFRs濃度を、ELISAを用いて測定した（捕捉：抗ヒト組織因子抗体、検出：ビオチン化抗ヒトTGFβ受容体抗体、その後、ペルオキシダーゼ結合ストレプトアビジンおよびABTS基質）。結果は、C57BL/6マウスにおけるTGFRt15-TGFRsの半減期が12.66時間であることを示した。

【0746】

マウスにおけるTGFRt15-TGFRsの免疫刺激活性を経時的に評価するために、マウス脾細胞を調製した。図86Aに示されるように、TGFRt15-TGFRsで処理したマウスの脾臓重量は、処理後48時間時点で増加し、経時的に増加し続けた。加えて、対照処理マウスおよびTGFRt15-TGFRs処理マウスの脾臓に存在するCD4⁺ T細胞、CD8⁺ T細胞、NK細胞、およびCD19⁺ B細胞のパーセンテージを評価した。図86Bに示されるように、TGFRt15-TGFRsで処理したマウスの脾臓では、CD8⁺ T細胞およびNK細胞の両方のパーセンテージが処理後48時間時点で増加し、単回投与処理後に経時的に高くなった。これらの結果は、TGFRt15-TGFRsが、脾臓中の免疫細胞、特にCD8⁺ T細胞およびNK細胞を刺激することができることをさらに示す。

【0747】

さらに、脾細胞のKi67発現に基づく免疫細胞の動的増殖およびグランザイムB発現に基づく細胞傷害性の潜在性を、TGFRt15-TGFRsの単回投与（3 mg/kg）後にマウスから単離した脾細胞で評価した。図87Aおよび図87Bに示されるように、TGFRt15-TGFRsで処理したマウスの脾臓では、NK細胞によるKi67およびグランザイムBの発現は処理後24時間時点で増加し、CD8⁺ T細胞およびNK細胞の発現はいずれも単回投与処理後48時間およびその後の時点で増加した。これらの結果は、TGFRt15-TGFRsがCD8⁺ T細胞およびNK細胞の数を増加させるのみならず、これらの細胞の細胞傷害性も増強することを示す。TGFRt15-TGFRsの単回投与処理により、CD8⁺ T細胞およびNK細胞が少なくとも4日間増殖した。

【0748】

腫瘍細胞に対するTGFRt15-TGFRs処理マウス由来の脾細胞の細胞傷害性も評価した。マウスモロニーMoloney白血病細胞（Yac-1）をCellTrace Violetで標識し、腫瘍標的細胞として使用した。脾細胞を、TGFRt15-TGFRs（3 mg/kg）で処理したマウス脾臓から処理後の様々な時点で調製し、エフェクター細胞として使用した。標的細胞をエフェクター細胞とE:T比10:1で混合し、37℃で20時間インキュベートした。フローサイトメトリーを使用したヨウ化プロピジウム陽性のバイオレット標識Yac-1細胞の分析により、標的細胞の生存率を評価した。Yac-1腫瘍阻害のパーセンテージを、式（1 - [実験試料中の生存Yac-1細胞数] / [脾細胞を含まない試料中の生存Yac-1細胞数]）×100を使用して計算した。図88に示されるように、TGFRt15-TGFRsで処理したマウス由来の

10

20

30

40

50

脾細胞は、対照マウス脾細胞よりもY a c - 1細胞に対して強い細胞傷害性を有した。

【0749】

化学療法および／またはT G F R t 1 5 - T G F R sに応答した腫瘍サイズ分析

脾臓癌細胞（SW1990、ATCC（登録商標）CRL-2172）をC57BL／6 scidマウス（The Jackson Laboratory、001913、 2×10^6 細胞／マウス、100 μ LのHBSS中）に皮下（s.c.）注射して、脾臓癌マウスモデルを確立した。腫瘍細胞注射の2週間後、アブラキサン（Celgene、68817-134、5mg／kg、腹腔内）とゲムシタビン（Sigma Aldrich、G6423、40mg／kg、腹腔内）との組み合わせを用いた化学療法をこれらのマウスに腹腔内で開始し、続いて、2日後にT G F R t 1 5 - T G F R s（3mg／kg、皮下注射）を用いた免疫療法を行った。上記の手順を1つの処理サイクルとみなし、さらに3サイクル（1サイクル／週）繰り返した。対照群を、PBS、化学療法（ゲムシタビンおよびアブラキサン）、またはT G F R t 1 5 - T G F R sのみを受けたSW1990注射マウスとして設定した。処理サイクルに加えて、各動物の腫瘍サイズを、SW1990細胞を注射した2か月後に実験を終了するまで1日おきに測定および記録した。腫瘍体積の測定を群毎に分析し、結果は、化学療法とT G F R t 1 5 - T G F R sとの組み合わせを受けた動物がPBS群と比較して有意に小さい腫瘍を有した一方で、化学療法もT G F R t 1 5 - T G F R s療法も単独では組み合わせほどには十分に機能しないことを示した（図89）。

【0750】

インビトロ老化B16F10黒色腫モデル

次に、活性化マウスNK細胞による老化B16F10黒色腫細胞のインビトロ死滅を評価した。B16F10老化細胞（B16F10-SNC）細胞をCellTrace violetで標識し、異なるE：T比のインビトロ2t2活性化マウスNK細胞（T G F R t 1 5 - T G F R sを10mg／kgで4日間注射したC57BL／6マウスの脾臓から単離したもの）と16時間インキュベートした。細胞をトリプシン処理し、洗浄し、ヨウ化プロピジウム（PI）溶液を含有する完全培地中に再懸濁した。細胞傷害性をフローサイトメトリーによって評価した（図90）。

【0751】

実施例53：7t15-21s137L（ロングバージョン）融合タンパク質の作製および特徴付け

IL-21／IL-15R α Su／CD137L融合タンパク質およびIL-7／TF／IL-15融合タンパク質からなる融合タンパク質複合体を生成した（図91および図92）。具体的には、IL-7配列を組織因子219のN末端コーディング領域に、続いて、IL-15のN末端コーディング領域に結合することによって構築物を作製した。組織因子219のN末端に、続いて、IL-15のN末端に結合したIL-7を含む構築物の核酸配列およびタンパク質配列を以下に示す。

【0752】

7t15構築物の核酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである。

（シグナルペプチド）

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCT
CCAGCGCCTACTCC

（ヒトIL7）

GATTGCGACATCGAGGGCAAGGACGGCAAGCAGTACGAGA
GCGTGCTGATGGTGTCCATCGACCAGCTGCTGGACAGCAT
GAAGGAGATCGGCTCCAACCTGCCTCAACAACGAGTTCAAC
TTCTTCAAGCGGCACATCTGCGACGCCAACAAAGGAGGGCA
TGTTCTCTGTTCAAGGGCCGCCAGGAAACTGCGGCAGTTCTCT
GAAGATGAACCTCCACCGGCGACTTTCGACCTGCACCTGCTG
AAGGTGTCCGAGGGCACCAACCATCTGCTGAACCTGCACCG

GACAGGTGAAGGGGCCGGAAACCTGCTGCTCTGGGAGAGGC
CCAACCCACCAAGAGCCTGGAGGAGAACAAGTCCCTGAAG
GAGCAGAAGAAGCTGAACGACCTGTGCTTCCTGAAGAGGC
TGCTGCAGGAGATCAAGACCTGCTGGAACAAGATCCTGAT
GGGCACCAAGGAGCAT

(ヒト組織因子219)

AGCGGCACAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTT
GGAAGAGCACCAACTTCAAAACCATCCTCGAATGGGAACC
CAAACCCGTTAAACCAAGTTTACACCGTGCGAGATCAGCACC
AAGTCCGGCGACTGGAAGTCCAAATGTTTCTATACCAACCG
ACACCGAGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGT
GAAACAGACCTACCTCGCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGCC
GGCAATGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTAT
ACGAGAACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAA
TTTAGGACAGCCCCACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGC
ACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAG
TGCGGCGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTT
CGGCAAAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCC
TCTTCCTCCGGCAAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACG
AGTTTTTTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAAACCTACTGTTT
CAGCGTGCAAGCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGGAATAGG
AAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAGTGCAATGGGCCAAGAAA
AGGGCGAGTTCCGGGAG

(ヒトIL-15)

AACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAG
ATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACAC
AGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATG
AAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGA
GCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAAGAATTTAAT
CATTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTG
ACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGA
AGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGT
CCAGATGTTTCATCAATACCTCC

【0753】

7 t 15 融合タンパク質のアミノ酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである。
(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSAYS

(ヒトIL7)

DCDIEGKDQKQYESVLMVSI DQLLD SMKEIGSNCLNNEFN
FFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLL
KVSEGT TILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLK
EQKKLNDLCFLKRL LQEIKTCWNKILMGTKEH

(ヒト組織因子219)

SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST
KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA
GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS
SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSR TVNR
KSTDSPVECMGQEKGEFRE

(ヒトIL-15)

10

20

30

40

50

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAM
KCFLLLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNV
TESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS

【0754】

21s137Lの核酸配列およびタンパク質配列を以下に示す。21s137L構築物の核酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである。

（シグナルペプチド）

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCT
CCAGCGCCTACTCC

（ヒトIL-21）

CAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCGGATGAGGCAGCTCA
TCGACATCGTTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCT
GGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACC
AACTGCGAGTGGTCCGCCTTCTCCTGCTTTCAGAAGGCC
AGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAACAACGAGCGGATCAT
CAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCC
ACAAACGCCGGCAGGAGGCAGAAGCACAGGCTGACCTGCC
CCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTT
CCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAGATGATCCAT
CAGCACCTGTCTCTCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCC

（ヒトIL-15R α sushiドメイン）

ATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACA
TCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTA
TATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACACAGC
AGCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGG
CTCACTGGACAACACCCTCTTTAAAGTGATCCGG

（（G4S）3リンカー）

GGCGGTGGAGGATCCGGAGGAGGTGGCTCCGGCGGGCGGAG
GATCT

（ヒトCD137L）

CGCGAGGGTCCCCGAGCTTTTCGCCCGACGATCCCGCCGGCC
TCTTGGACCTGCGGCAGGGCATGTTTTCGCGAGCTGGTGGC
CCAAAATGTTCTGCTGATCGATGGGCCCTGAGCTGGTAC
AGTGACCCAGGCCTGGCAGGCGTGTTCCCTGACGGGGGGCC
TGAGCTACAAAGAGGACACGAAGGAGCTGGTGGTGGCCAA
GGCTGGAGTCTACTATGTCTTTCTTTCAACTAGAGCTGCGG
CGCGTGGTGGCCGGCGAGGGCTCAGGCTCCGTTTTCACTTG
CGCTGCACCTGCAGCCACTGCGCTCTGCTGCTGGGGGCCGC
CGCCCTGGCTTTTGACCGTGACCTGCCACCCGCCCTCCTCC
GAGGCTCGGAACTCGGCCCTTCGGTTTCCAGGGCCGCTTGC
TGCACTGTAGTGCCGGCCAGCGCCTGGGCGTCCATCTTCA
CACTGAGGCCAGGGCACGCCATGCCTGGCAGCTTACCCAG
GGCGCCACAGTCTTGGGACTCTTCCGGGTGACCCCCGAAA
TCCCAGCCGGACTCCCTTCAACCGAGGTGGAA

【0755】

21s137L融合タンパク質のアミノ酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである。

（シグナルペプチド）

MKWVTFISLLFLFSSAYS

（ヒトIL-21）

QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
TNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH
QHLS SRTHGSEDS

(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTS
SLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI R

((G4S)3リンカー)

GGGGSGGGGS GGGGS

(ヒトCD137L)

REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWY
SDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELR
RVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPASS
EARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ
GATVVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSE

【0756】

ある場合には、リーダーペプチドをインタクトなポリペプチドから切断して、可溶性であり得るか、または分泌され得る成熟形態を生成する。

【0757】

IL-21/IL-15R α Su/CD137L構築物およびIL-7/TF/IL-15構築物を前述の修飾レトロウイルス発現ベクターにクローニングし(Hughes MS, Yu YY, Dudley ME, Zheng Z, Robbins PF, Li Y, et al. Transfer of a TCR gene derived from a patient with a marked antitumor response conveys highly active T-cell effector functions. Hum Gene Ther 2005;16:457-72)、発現ベクターをCHO-K1細胞にトランスフェクトした。CHO-K1細胞でのこれらの2つの構築物の共発現により、可溶性IL-7/TF/IL-15:IL-21/IL-15R α Su/CD137Lタンパク質複合体(7t15-21s137Lと称する)の形成および分泌が可能になり、これを抗TF IgG1親和性および他のクロマトグラフィー法によって精製することができる。

【0758】

抗TF抗体親和性カラムを使用した7t15-21s137Lの精製溶出クロマトグラフ細胞培養物から収集した7t15-21s137Lを、5カラム体積のPBSで平衡化した抗TF抗体親和性カラムにロードした。試料をロードした後、カラムを5カラム体積のPBSで洗浄し、その後、6カラム体積の0.1M酢酸(pH2.9)で溶出した。A280溶出ピークを収集し、1Mトリス塩基でpH7.5~8.0に中和した。その後、中和した試料を、分子量カットオフ30kDaでAmicon遠心フィルターを使用してPBSに緩衝液交換した。図93に示されるように、抗TF抗体親和性カラムは、融合パートナーとしてTFを含む7t15-21s137Lに結合した。緩衝液交換したタンパク質試料を、さらなる生化学的分析および生物学的活性試験のために2~8℃で保管した。各溶出後、抗TF抗体親和性カラムを6カラム体積の0.1Mグリシン(pH2.5)を使用してストリッピングした。その後、カラムを、保管のために5カラム体積のPBSおよび7カラム体積の20%エタノールを使用して中和した。抗TF抗体親和性カラムを、GE Healthcare AKTA Avantシステムに接続した。流速は、2mL/分の溶出ステップを除く全てのステップで4mL/分であった。図94は、7t15-21s137Lの分析的SECプロファイルを示す。

【0759】

実施例54:7t15-21s137L(ショートバージョン)融合タンパク質の生成および特徴付け

10

20

30

40

50

IL-21/IL-15R α Su/CD137L融合タンパク質およびIL-7/TF/IL-15融合タンパク質からなる融合タンパク質複合体を生成した。具体的には、IL-7配列を組織因子219のN末端コーディング領域に、続いて、IL-15のN末端コーディング領域に結合することによって構築物を作製した。組織因子219のN末端に、続いて、IL-15のN末端に結合したIL-7を含む構築物の核酸配列およびタンパク質配列を以下に示す。

【0760】

7t15構築物の核酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである。

（シグナルペプチド）

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTCT
CCAGCGCCTACTCC

10

（ヒトIL7）

GATTGCGACATCGAGGGCAAGGACGGCAAGCAGTACGAGA
GCGTGCTGATGGTGTCATCGACCAGCTGCTGGACAGCAT
GAAGGAGATCGGCTCCAACCTGCCTCAACAACGAGTTCAAC
TTCTTCAAGCGGCACATCTGCGACGCCAACAAGGAGGGCA
TGTTCTCTGTTTCAGGGCCGCCAGGAAACTGCGGCAGTTCTCT
GAAGATGAACTCCACC GGCGACTTTCGACCTGCACCTGCTG
AAGGTGTCCGAGGGGCACCAACCATCCTGCTGAACTGCACCG
GACAGGTGAAGGGCCGGAAACCTGCTGCTCTGGGAGAGGC
CCAACCCACCAAGAGCCTGGAGGAGAACAAGTCCCTGAAG
GAGCAGAAGAAGCTGAACGACCTGTGCTTCTCTGAAGAGGC
TGCTGCAGGAGATCAAGACCTGCTGGAACAAGATCCTGAT
GGGCACCAAGGAGCAT

20

（ヒト組織因子219）

AGCGGCACAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTT
GGAAGAGCACCAACTTCAAAACCATCCTCGAATGGGAACC
CAAACCCGTTAAACCAAGTTTACACCGTGCGAGATCAGCACCC
AAGTCCGGCGACTGGAAAGTCCA AATGTTTTCTATACCAACCG
ACACCGAGGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGT
GAAACAGACCTACCTCGCCCGGGTGTTTTAGCTACCCCGCC
GGCAATGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTTAT
ACGAGAACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAA
TTTAGGACAGCCCAACCATCCA AAGCTTTGAGCAAGTTGGC
ACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAG
TGCGGCGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTT
CGGCAAAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCC
TCTTCTCTCCGGCAAGAAAGACAGCTAA AACCACAAACG
AGTTTTTTAATCGACGTGGATAAAGGCGAA AACTACTGTTT
CAGCGTGCAAGCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGAAATAGG
AAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAGTG CATGGGCGCAAGAAA
AGGGCGAGTTCCGGGAG

30

40

（ヒトIL-15）

AACTGGGTGAACGTCAATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAG
ATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACAC
AGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATG
AAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGA
GCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGAGGAATTTAAT
CATTTTATAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTG
ACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGA

50

AGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGT
CCAGATGTTTCATCAATACCTCC

【0761】

7t15融合タンパク質のアミノ酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである。
（シグナルペプチド）

MKWVTFISLLFLFSSAYS

（ヒトIL7）

DCDIEGKDGKQYESVLMVSI DQLLD SMKEIGSNCLNNEFN
FFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLL
KVSEGT TILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLK
EQKKLNDLCFLKRL LQEIKTCWNKILMGTKEH

10

（ヒト組織因子219）

SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST
KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA
GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS
SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVIPSR TVNR
KSTDSPVECMGQEKGEFRE

（ヒトIL-15）

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHP SCKVTAM
KCFLLLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNV
TESGCKECEEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFIN TS

20

【0762】

21s137L（ショートバージョン）の核酸配列およびタンパク質配列を以下に示す。
21s137L（ショートバージョン）構築物（シグナルペプチド配列を含む）の核酸
配列は、以下の通りである。

（シグナルペプチド）

ATGAAGTGGGTGACCTTTCATCAGCCTGCTGTTTCCTGTTCT
CCAGCGCCTACTCC

（ヒトIL-21）

30

CAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCGGATGAGGCAGCTCA
TCGACATCGTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCT
GGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACC
AACTGCGAGTG GTCCGCCTTCTCCTGCTTTTCAGAAGGCC
AGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAACAACGAGCGGATCAT
CAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCC
ACAAACGCCGGCAGGAGGCAGAAGCACAGGCTGACCTGCC
CCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTT
CCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAGATGATCCAT
CAGCACCTGTCCTCCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCC

40

（ヒトIL-15R α sushiドメイン）

ATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACA
TCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTA
TATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACACGC
AGCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGG
CTCACTGGACAACACCCTCTTTAAAGTG CATCCGG

（（G4S）3リンカー）

GGCGGTGGAGGATCCGGAGGAGGTGGCTCCGGCGGGCGGAG
GATCT

（ヒトCD137リガンドショートバージョン）

50

GATCCCGCCGGCCTCTTGGACCTGCGGGCAGGGGCATGTTTTC
CGCAGCTGGTGGCCCAAAATGTTCTGCTGATCGATGGGGCC
CCTGAGCTGGTACAGTGACCCAGGCCTGGCAGGCGTGTCC
CTGACGGGGGGGCTGAGCTACAAAGAGGACACGAAGGAGC
TGGTGGTGGCCAAGGCTGGAGTCTACTATGTCTTCTTTCA
ACTAGAGCTGCGGCGCGTGTTGGTGGCCGGCGAGGGGCTCAGGC
TCCGTTTCACTTGCGCTGCACCTGCAGCCACTGCGCTCTG
CTGCTGGGGCCGCGCCCTGGCTTTGACCGTGGACCTGCC
ACCCGCCCTCCTCCGAGGCTCGGAACTCGGCCCTTCGGTTTC
CAGGGCCGCTTGCTGCACCTGAGTGCCGGCCAGCGCCTGG
GCGTCCATCTTCACTGAGGCCAGGGGCACGCCATGCCTG
GCAGCTTACCCAGGGCGCCACAGTCTTGGGACTCTTCCGG
GTGACCCCCGAAATC

【0763】

21s137L（ショートバージョン）構築物のアミノ酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである。

（シグナルペプチド）

MKWVTFISLLFLFSSAYS

（ヒトIL-21）

QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKLKRKPPS
TNAGR RQKHRLTCPS CDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH
QHLSSSRTHGSEDS

（ヒトIL-15R α sushiドメイン）

ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTS
SLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI R

（（G4S）3リンカー）

GGGGSGGGGSGGGGS

（ヒトCD137リガンドショートバージョン）

DPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVS
LTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYVFFQLELR RVVAGEGSG
SVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGF
QGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATV LGLFR
VTPEI

【0764】

IL-21／IL-15R α Su／CD137L（ショートバージョン）構築物および
IL-7／TF／IL-15構築物を前述の修飾レトロウイルス発現ベクターにクローニ
ングし（Hughes MS, Yu YY, Dudley ME, Zheng Z, Rob
bins PF, Li Y, et al. Transfer of a TCR gene
derived from a patient with a marked antitumor response conveys highly active T-cell
effector functions. Hum Gene Ther 2005;16:
457-72）、発現ベクターをCHO-K1細胞にトランスフェクトした。CHO-K
1細胞でのこれらの2つの構築物の共発現により、可溶性IL-7／TF／IL-15：
IL-21／IL-15R α Su／CD137Lタンパク質複合体（7t15-21s1
37L（ショートバージョン）と称する）の形成および分泌が可能になり、これを抗TF
IgG1親和性および他のクロマトグラフィー法によって精製することができる。

【0765】

7t15-21s137L（ショートバージョン）のCD137（4.1BB）への結合
1日目に、96ウェルプレートに、R5（コーティング緩衝液）中100 μ L（2.5

10

20

30

40

50

$\mu\text{g}/\text{mL}$) の GAH IgG Fc (G-102-C、R&D Systems) または R5 のみでコーティングし、 4°C で一晩インキュベートした。2 日目に、プレートを 3 回洗浄し、PBS 中 $300\mu\text{L}$ の 1% BSA で、 37°C で 2 時間ブロックした。 $10\text{ng}/\text{mL}$ の 4.1BB/Fc (838-4B、R&D Systems) を $100\mu\text{L}/\text{ウェル}$ で添加し、室温で 2 時間インキュベートした。3 回洗浄した後、7t15-21s137L または 7t15-21s を $1/3$ 比で連続希釈し (10nM から開始)、 4°C で一晩インキュベートした。3 日目に、3 回洗浄した後、 $300\text{ng}/\text{mL}$ のビオチン化抗 hTF 抗体 (BAF2339、R&D Systems) を $100\mu\text{L}/\text{ウェル}$ で添加し、室温で 2 時間インキュベートした。次いで、プレートを 3 回洗浄し、 $0.25\mu\text{g}/\text{mL}$ の HRP-SA (Jackson ImmuneResearch) と $100\mu\text{L}/\text{ウェル}$ で 30 分間インキュベートし、その後、3 回洗浄し、 $100\mu\text{L}$ の ABTS と室温で 2 分間インキュベートした。吸光度を 405nm で読み取った。図 95 に示されるように、7t15-21s137L (ショートバージョン) は、7t15-21s と比較して 4.1BB/Fc (青色線) との有意な相互作用を示した。

【0766】

ELISA を用いた 7t15-21s137L (ショートバージョン) 中の IL-15、IL-21、および IL-7 の検出

96 ウェルプレートを R5 (コーティング緩衝液) 中 $100\mu\text{L}$ ($8\mu\text{g}/\text{mL}$) の抗 TF IgG1 でコーティングし、室温で 2 時間インキュベートした。プレートを 3 回洗浄し、PBS 中 $100\mu\text{L}$ の 1% BSA でブロックした。 $1:3$ 比で連続希釈した 7t15-21s137L (ショートバージョン) を添加し、室温で 60 分間インキュベートした。3 回洗浄した後、 $50\text{ng}/\text{mL}$ のビオチン化抗 IL15 抗体 (BAM247、R&D Systems)、 $500\text{ng}/\text{mL}$ のビオチン化抗 IL21 抗体 (13-7218-81、R&D Systems)、または $500\text{ng}/\text{mL}$ のビオチン化抗 IL7 抗体 (506602、R&D Systems) をウェルに添加し、室温で 60 分間インキュベートした。3 回洗浄し、 $0.25\mu\text{g}/\text{mL}$ の HRP-SA (Jackson ImmunoResearch) と $100\mu\text{L}/\text{ウェル}$ で、室温で 30 分間インキュベートした後、4 回洗浄し、 $100\mu\text{L}$ の ABTS と室温で 2 分間インキュベートした。吸光度を 405nm で読み取った。図 96A~96C に示されるように、7t15-21s137L (ショートバージョン) 中の IL-15 ドメイン、IL-21 ドメイン、および IL-7 ドメインをそれぞれの抗体によって検出した。

【0767】

7t15-1s137L (ショートバージョン) における IL-15 は、IL2R $\alpha\beta\gamma$ 含有 CTL L2 細胞の増殖を促進する

7t15-21s137L (ショートバージョン) の IL-15 活性を評価するために、7t15-21s137L (ショートバージョン) を、IL2R $\alpha\beta\gamma$ を発現する CTL L2 細胞の増殖の促進について組換え IL15 と比較した。IL-15 依存性 CTL L2 細胞を IMDM-10% FBS で 5 回洗浄し、 2×10^4 細胞/ウェルでウェルに播種した。連続希釈した 7t15-21s137L (ショートバージョン) または IL-15 を細胞に添加した (図 97)。細胞を CO_2 インキュベーター内で、 37°C で 3 日間インキュベートした。3 日目に $10\mu\text{L}$ の WST1 を各ウェルに添加し、 CO_2 インキュベーター内で、 37°C でさらに 3 時間インキュベートすることにより、細胞増殖を検出した。吸光度を 450nm で測定することにより、生成されたホルマザン色素の量を分析した。図 97 に示されるように、7t15-21s137L (ショートバージョン) および IL-15 は、CTL L2 細胞の増殖を促進した。7t15-21s137L (ショートバージョン) および IL-15 の EC_{50} は、それぞれ、 55.91pM および 6.22pM であった。

【0768】

7t15-1s137L (ショートバージョン) における IL-21 は、IL21R 含有 B9 細胞の増殖を促進する

7 t 1 5 - 2 1 s 1 3 7 L (ショートバージョン) の I L - 2 1 活性を評価するために、7 t 1 5 - 2 1 s 1 3 7 L (ショートバージョン) を、I L - 2 1 R を発現する B 9 細胞の増殖の促進について組換え I L - 2 1 と比較した。I L - 2 1 R 含有 B 9 細胞を R P M I - 1 0 % F B S で 5 回洗浄し、 1×10^4 細胞/ウェルでウェルに播種した。連続希釈した 7 t 1 5 - 2 1 s 1 3 7 L (ショートバージョン) または I L - 2 1 を細胞に添加した (図 9 8)。細胞を C O ₂ インキュベーター内で、3 7 °C で 5 日間インキュベートした。5 日目に 1 0 μ L の W S T 1 を各ウェルに添加し、C O ₂ インキュベーター内で、3 7 °C でさらに 4 時間インキュベートすることにより、細胞増殖を検出した。吸光度を 4 5 0 n m で測定することにより、生成されたホルマザン色素の量を分析した。図 9 8 に示されるように、7 t 1 5 - 2 1 s 1 3 7 L (ショートバージョン) および I L - 2 1 は、B 9 細胞の増殖を促進した。7 t 1 5 - 2 1 s 1 3 7 L (ショートバージョン) および I L - 2 1 の E C ₅₀ は、それぞれ、1 0 4 . 1 n M および 7 2 . 5 5 n M であった。

10

【0769】

実施例 5 5 : 7 t 1 5 - T G F R s 融合タンパク質の生成および特徴付け

T G F β 受容体 I I / I L - 1 5 R α S u 融合タンパク質および I L - 7 / T F / I L - 1 5 融合タンパク質からなる融合タンパク質複合体を生成した (図 9 9 および図 1 0 0)。ヒト T G F β 受容体 I I (I l e 2 4 - A s p 1 5 9)、組織因子 2 1 9、I L - 1 5、および I L - 7 配列を U n i P r o t ウェブサイトから入手し、これらの配列の D N A を G e n e w i z によって合成した。具体的には、I L - 7 配列を組織因子 2 1 9 の N 末端コーディング領域に、続いて、I L - 1 5 の N 末端コーディング領域に結合することによって構築物を作製した。組織因子 2 1 9 の N 末端に、続いて、I L - 1 5 の N 末端に結合した I L - 7 を含む構築物の核酸配列およびタンパク質配列を以下に示す。

20

【0770】

7 t 1 5 構築物の核酸配列 (シグナルペプチド配列を含む) は、以下の通りである。

(シグナルペプチド)

A T G A A G T G G G T G A C C T T C A T C A G C C T G C T G T T C C T G T T C T
C C A G C G C C T A C T C C

(ヒト I L 7)

G A T T G C G A C A T C G A G G G C A A G G A C G G C A A G C A G T A C G A G A
G C G T G C T G A T G G T G T C C A T C G A C C A G C T G C T G G A C A G C A T
G A A G G A G A T C G G C T C C A A C T G C C T C A A C A A C G A G T T C A A C
T T C T T C A A G C G G C A C A T C T G C G A C G C C A A C A A G G A G G G C A
T G T T C C T G T T C A G G G C C G C C A G G A A A C T G C G G C A G T T C C T
G A A G A T G A A C T C C A C C G G C G A C T T C G A C C T G C A C C T G C T G
A A G G T G T C C G A G G G C A C C A C C A T C C T G C T G A A C T G C A C C G
G A C A G G T G A A G G G C C G G A A A C C T G C T G C T C T G G G A G A G G C
C C A A C C C A C C A A G A G C C T G G A G G A G A A C A A G T C C C T G A A G
G A G C A G A A G A A G C T G A A C G A C C T G T G C T T C C T G A A G A G G C
T G C T G C A G G A G A T C A A G A C C T G C T G G A A C A A G A T C C T G A T
G G G C A C C A A G G A G C A T

30

(ヒト組織因子 2 1 9)

A G C G G C A C A A C C A A C A C A G T C G C T G C C T A T A A C C T C A C T T
G G A A G A G C A C C A A C T T C A A A A C C A T C C T C G A A T G G G A A C C
C A A A C C C G T T A A C C A A G T T T A C A C C G T G C A G A T C A G C A C C
A A G T C C G G C G A C T G G A A G T C C A A A T G T T T C T A T A C C A C C G
A C A C C G A G T G C G A T C T C A C C G A T G A G A T C G T G A A A G A T G T
G A A A C A G A C C T A C C T C G C C C G G G T G T T T A G C T A C C C C G C C
G G C A A T G T G G A G A G C A C T G G T T C C G C T G G C G A G C C T T T A T
A C G A G A A C A G C C C C G A A T T T A C C C C T T A C C T C G A G A C C A A
T T T A G G A C A G C C C A C C A T C C A A A G C T T T G A G C A A G T T G G C

40

50

ACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAG
 TCGGCGCGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTT
 CGGCAAAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCC
 TCTTCCTCCGGCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACG
 AGTTTTTTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAAACACTACTGTTT
 CAGCGTGCAGCTGTGATCCCCCTCCCGGACCGTGGAATAGG
 AAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAGTGCAATGGGCGCAAGAAA
 AGGGCGAGTTCCGGGAG

(ヒトIL-15)

AACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAG
 ATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACAC
 AGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATG
 AAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGA
 GCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAAGAAATTTAAT
 CATTTTATAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTG
 ACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGA
 AGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGT
 CCAGATGTTTCATCAATACCTCC

【0771】

7 t 15 融合タンパク質のアミノ酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである。

(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSSAYS

(ヒトIL7)

DCDIEGKDQYESVLMVSI DQLLD SMKEIGSNCLNNEFN
 FFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLL
 KVSEGT TILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLK
 EQKKLNDLCFLKRL LQEIKTCWNKILMGTKEH

(ヒト組織因子219)

SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST
 KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA
 GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
 TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS
 SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSR TVNR
 KSTDSPVECMGQEKGEFRE

(ヒトIL-15)

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAM
 KCFLLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNV
 TESGCKECEEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFIN TS

【0772】

2つのTGFβ受容体IIをGenewizによって合成したIL-15RαSu鎖に
 直接結合することによっても構築物を作製した。IL-15RαSuのN末端に結合した
 TGFβ受容体IIを含む構築物の核酸配列およびタンパク質配列を以下に示す。

【0773】

TGFRs構築物の核酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである。

(シグナルペプチド)

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCT
 CCAGCGCCTACTCC

(ヒトTGFβ受容体II断片)

ATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAAACAACGATATGA
 TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT

10

20

30

40

50

CTGCAAGTTTCTGCGATGTCAGGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCCTGCATGTCCAACCTGCAGCATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGACCGTGTGTTCACGAC
CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTTCATTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAGAAGAAGCCCGG
AGAGACCTTCTTTATGTGTTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTTCTGG
TGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACGTGCAGAAGAGCGTG
AATAATGACATGATCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGA
AATTTCCCCAGCTGTGCAAATTCCTGCGATGTGAGGTTTTC
CACCTGCGACAACCAGAAGTCCCTGTATGAGCAACTGCTCC
ATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGG
CTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAAC
CGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCTACCACGATTTTCATC
CTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTGATCATGAAGAGA
AAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTCATGTGCTCCTGCAG
CAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAA
TACAATACCAGCAACCCCGAC

10

20

(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

ATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACA
TCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTA
TATCTGTAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACACAGC
AGCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGG
CTCACTGGACAACACCCTCTTTAAAGTGATCCGG

【0774】

TGFRs融合タンパク質のアミノ酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである。

(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSAYS

(ヒトTGF β 受容体II)

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCHD
PKLPYHDFILEDAAAPKCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSEYNTSNPDGGGGSGGGGSGGGGSIIPPHVQKSV
NNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCS
ITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFI
LEDAAPKCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEE
YNTSNPD

30

40

(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTS
SLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIR

【0775】

HEK-Blue TGF β 細胞におけるTGF β 1活性に対する7t15-TGFRsの効果

7t15-TGFRs中のTGF β Rの活性を評価するために、HEK-Blue TGF β 細胞におけるTGF β 1活性に対する7t15-TGFRsの効果を分析した。HEK-Blue TGF β 細胞（InvivoGen）を予熱したPBSで2回洗浄し、試験培地（DMEM、10%熱不活性化FCS、1×グルタミン、1×抗-抗、および2

50

×グルタミン)中に 5×10^5 細胞/mLで再懸濁した。平底96ウェルプレート中、 $50 \mu\text{L}$ の細胞を各ウェルに添加し(2.5×10^4 細胞/ウェル)、その後、 $50 \mu\text{L}$ の 0.1 nM TGF β 1 (R&D systems)を添加した。その後、1:3連続希釈で調製した7t15-TGFRsまたはTGFR-Fc (R&D Systems)をプレートに添加して、総量を $200 \mu\text{L}$ にした。 37°C で24時間インキュベートした後、 $40 \mu\text{L}$ の誘導されたHEK-Blue TGF β 細胞上清を平底96ウェルプレート中の $160 \mu\text{L}$ の予熱したQUANT-Blue (InvivoGen)に添加し、 37°C で1~3時間インキュベートした。その後、OD値を、プレートリーダー (Multiscan Sky)を使用して $620 \sim 655 \text{ nm}$ で決定した。各タンパク質試料の IC_{50} を、GraphPad Prism 7.04を用いて計算した。7t15-TGFRsおよびTGFR-Fcの IC_{50} は、それぞれ、 1142 pM および 558.6 pM であった。これらの結果は、7t15-TGFRs中のTGF β RがHEK-Blue TGF β 細胞におけるTGF β 1活性を遮断することができたことを示した。

【0776】

ELISAを用いた7t15-TGFRs中のIL-15、TGF β RII、およびIL-7の検出

96ウェルプレートをR5 (コーティング緩衝液)中 $100 \mu\text{L}$ ($8 \mu\text{g/mL}$)の抗TF IgG1でコーティングし、室温(RT)で2時間インキュベートした。プレートを3回洗浄し、PBS中 $100 \mu\text{L}$ の1%BSAでブロックした。連続希釈の7t15-TGFRs (1:3比)を添加し、室温で60分間インキュベートした。3回洗浄した後、 50 ng/mL のビオチン化抗IL-15抗体 (BAM247、R&D Systems)、 200 ng/mL のビオチン化抗TGF β RII抗体 (BAF241、R&D Systems)、または 500 ng/mL のビオチン化抗IL-7抗体 (506602、R&D Systems)を添加し、室温で60分間インキュベートした。3回洗浄した後、 $0.25 \mu\text{g/mL}$ のHRP-SA (Jackson ImmunoResearch)と $100 \mu\text{L}$ /ウェルで、室温で30分間インキュベートし、その後、4回洗浄し、 $100 \mu\text{L}$ のABTSと室温で2分間インキュベートした。吸光度を 405 nm で読み取った。データを図101に示す。図102A~102Cに示されるように、7t15-TGFRs中のIL-15、TGF β R、およびIL-7をそれぞれの抗体によって検出した。

【0777】

7t15-TGFRs中のIL-15は、IL-2R β および共通 γ 鎖含有32D β 細胞の増殖を促進する

7t15-TGFRs中のIL-15の活性を評価するために、7t15-TGFRsを、IL2R β および共通 γ 鎖を発現する32D β 細胞を使用して組換えIL-15と比較し、細胞増殖の促進に対するそれらの効果を評価した。IL-15依存性32D β 細胞をIMDM-10%FBSで5回洗浄し、 2×10^4 細胞/ウェルでウェル中に播種した。連続希釈した7t15-TGFRsまたはIL-15を細胞に添加した (図103)。細胞を CO_2 インキュベーター内で、 37°C で3日間インキュベートした。3日目に $10 \mu\text{L}$ のWST1を各ウェルに添加し、 CO_2 インキュベーター内で、 37°C でさらに3時間インキュベートすることにより、細胞増殖を検出した。吸光度を 450 nm で測定することにより、生成されたホルマゼン色素の量を分析した。図103に示されるように、7t15-TGFRsおよびIL-15は32D β 細胞増殖を促進し、7t15-TGFRsおよびIL-15の EC_{50} は、それぞれ、 126 nM および 16.63 pM であった。

【0778】

抗TF抗体親和性カラムを使用した7t15-TGFRsの精製溶出クロマトグラフ

細胞培養物から収集した7t15-TGFRsを、5カラム体積のPBSで平衡化した抗TF抗体親和性カラムにロードした。試料をロードした後、カラムを5カラム体積のPBSで洗浄し、その後、6カラム体積の 0.1 M 酢酸 ($\text{pH} 2.9$)で溶出した。A280溶出ピークを収集し、 1 M トリス塩基で $\text{pH} 7.5 \sim 8.0$ に中和した。その後、中和した試料を、分子量カットオフ 30 kDa でAmicon遠心フィルターを使用してPB

10

20

30

40

50

Sに緩衝液交換した。図104に示されるように、抗TF抗体親和性カラムは、7t15-TGFRsの融合パートナーとしてTFを含む7t15-TGFRsに結合することができる。緩衝液交換したタンパク質試料を、さらなる生化学的分析および生物学的活性試験のために2~8℃で保管した。各溶出後、抗TF抗体親和性カラムを6カラム体積の0.1Mグリシン(pH2.5)を使用してストリッピングした。その後、カラムを、保管のために5カラム体積のPBSおよび7カラム体積の20%エタノールを使用して中和した。抗TF抗体親和性カラムを、GE Healthcare AKTA Avantシステムに接続した。流速は、2mL/分の溶出ステップを除く全てのステップで4mL/分であった。

【0779】

7t15-TGFRsの還元SDS-PAGE分析

タンパク質の純度および分子量を決定するために、抗TF抗体親和性カラムで精製した7t15-TGFRsタンパク質試料を、還元条件下でドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル(4~12%NuPageビーストリスゲル)電気泳動(SDS-PAGE)法によって分析した。電気泳動後、ゲルをInstant Blueで約30分間染色し、その後、精製水中で一晩脱色した。

【0780】

7t15-TGFRsタンパク質がCHO細胞において翻訳後にグリコシル化を受けることを検証するために、脱グリコシル化実験を、New England Biolabs製のProtein Deglycosylation Mix IIキットおよび製造業者の指示を使用して実施した。図105は、非脱グリコシル化状態(赤色の縁内のレーン1)および脱グリコシル化状態(黄色の縁内のレーン2)での試料の還元SDS-PAGE分析を示す。これらの結果は、タンパク質がCHO細胞で発現されるとグリコシル化されることを示した。脱グリコシル化後、精製した試料は、還元SDSゲル中で予想された分子量(55kDaおよび39kDa)を示した。レーンMには、10uLのSeeBlue Plus2 Prestained Standardをロードした。

【0781】

7t15-TGFRsの特徴付け

7t15-TGFRsは、ヒトIL-7、ヒト組織因子219断片、およびヒトIL-15の可溶性融合物(7t15)である第1のポリペプチドと、一本鎖の2つのTGFBRIIDメインおよびヒトIL-15受容体アルファ鎖のsushiドメインの可溶性融合物(TGFRs)である第2のポリペプチドとを含む多鎖ポリペプチド(本明細書に記載のタイプA多鎖ポリペプチド)である。

【0782】

CHO細胞を、7t15およびTGFRsベクターで共トランスフェクトした。7t15-TGFRs複合体を、トランスフェクトしたCHO細胞培養上清から精製した。図106に示されるように、複合体中のIL-7、IL-15、TGFB受容体、および組織因子(TF)成分をELISAによって実証した。ヒト化抗TFモノクローナル抗体(抗TF IgG1)を捕捉抗体として使用して、7t15-TGFRs中のTFを決定し、ヒトIL-15抗体(R&D systems)、ヒトIL-7(Biolegend)、抗TGFB受容体(R&D Systems)に対するビオチン化抗体を検出抗体として使用して、それぞれ、7t15-TGFRs中のIL-7、IL-15、およびTGFB受容体を決定した。その後、ペルオキシダーゼ結合ストレプトアビジン(Jackson ImmunoResearch Lab)およびABTS基質(Surmodics IVD, Inc.)を使用して、結合したビオチン化抗体を検出した。結果をELISAによって分析した(図106)。

【0783】

C57BL/6マウスにおける7t15-TGFRsのインビボ特徴付け

インビボでの7t15-TGFRsの免疫刺激活性を決定するために、C57BL/6マウスを、対照溶液(PBS)または0.3、1、3、および10mg/kgの7t15

10

20

30

40

50

ー T G F R s で皮下処理した。処理したマウスを安楽死させた。マウスの脾臓を収集し、処理後 4 日目に秤量した。単一脾細胞懸濁液を調製し、蛍光色素結合抗 C D 4、抗 C D 8、および抗 N K 1. 1 抗体で染色し、C D 4⁺ T 細胞、C D 8⁺ T 細胞、および N K 細胞のパーセンテージをフローサイトメトリーによって分析した。結果は、脾臓重量に基づいて、7 t 1 5- T G F R s が特に 1 ~ 1 0 m g / k g で脾臓細胞を増殖させるのに効果的であることを示した (図 1 0 7 A)。C D 8⁺ T 細胞および N K 細胞のパーセンテージは、試験した全ての用量で対照処理マウスと比較して高かった (図 1 0 7 B)。

【 0 7 8 4 】

C D 4⁺ T 細胞および C D 8⁺ T 細胞の C D 4 4 発現

I L-1 5 が T 細胞での C D 4 4 発現およびメモリー T 細胞の成長を誘導することが知られている。7 t 1 5- T G F R s で処理したマウスにおける C D 4⁺ T 細胞および C D 8⁺ T 細胞の C D 4 4 発現を評価した。C 5 7 B L / 6 マウスを 7 t 1 5- T G F R s で皮下処理した。脾細胞を、免疫細胞サブセット用の蛍光色素結合抗 C D 4、抗 C D 8、および抗 C D 4 4 モノクローナル抗体で染色した。総 C D 4⁺ T 細胞の C D 4⁺ C D 4 4 高 T 細胞および総 C D 8⁺ T 細胞の C D 8⁺ C D 4 4 高 T 細胞のパーセンテージをフローサイトメトリーによって分析した。図 1 0 8 A および図 1 0 8 B に示されるように、7 t 1 5- T G F R s は、C D 4⁺ T 細胞および C D 8⁺ T 細胞を有意に活性化して、メモリー T 細胞に分化した。

【 0 7 8 5 】

さらに、脾細胞の K i 6 7 発現に基づく免疫細胞の動的増殖およびマウスの単回投与処理後に 7 t 1 5- T G F R s によって誘導された脾細胞のグランザイム B 発現に基づく細胞傷害性の潜在性も評価した。C 5 7 B L / 6 マウスを 3 m g / k g の 7 t 1 5- T G F R s で皮下処理した。処理したマウスを安楽死させ、脾細胞を調製した。調製した脾細胞を、免疫細胞サブセット用の蛍光色素結合抗 C D 4、抗 C D 8、および抗 N K 1. 1 (N K) 抗体で染色し、その後、細胞増殖用の抗 K i 6 7 抗体および細胞傷害性マーカー用の抗グランザイム B 抗体で細胞内染色した。対応する免疫細胞サブセットの K i 6 7 およびグランザイム B の平均蛍光強度 (M F I) をフローサイトメトリーによって分析した。図 1 0 9 A および図 1 0 9 B に示されるように、7 t 1 5- T G F R s で処理したマウスの脾臓では、C D 8⁺ T 細胞および N K 細胞による K i 6 7 およびグランザイム B の発現が P B S 対照処理と比較して増加した。これらの結果は、7 t 1 5- T G F R s が C D 8⁺ T 細胞および N K 細胞の数を増加させるのみならず、これらの細胞の潜在的な細胞傷害性も増強することを示す。

【 0 7 8 6 】

加えて、腫瘍細胞に対するマウス脾細胞の細胞傷害性も評価した。マウス Y a c-1 細胞を C e l l T r a c e V i o l e t で標識し、腫瘍標的細胞として使用した。脾細胞を 7 t 1 5- T G F R s で処理したマウスから調製し、エフェクター細胞として使用した。標的細胞を、1 0 0 n M の 7 t 1 5- T G F R s を有するまたは有しない R P M I-1 0 培地中でエフェクター細胞と E : T 比 1 0 : 1 で混合し、3 7 °C で 2 0 時間インキュベートした。標的 Y a c-1 細胞阻害を、フローサイトメトリーを使用した生存 v i o l e t 標識 Y a c-1 細胞の分析によって評価した。Y a c-1 阻害のパーセンテージを、式 (1-実験試料中の生存 Y a c-1 細胞数 / 脾細胞を含まない試料中の生存 Y a c-1 細胞数) × 1 0 0 を使用して計算した。図 1 1 0 に示されるように、7 t 1 5- T G F R s で処理したマウス脾細胞は、対照マウス脾細胞よりも Y a c-1 細胞に対して強い細胞傷害性を示し、細胞傷害性アッセイ中に 7 t 1 5- T G F R s を添加することにより、Y a c-1 標的細胞に対する脾細胞の細胞傷害性がさらに増強された。

【 0 7 8 7 】

実施例 5 6 : T G F R t 1 5-2 1 s 1 3 7 L 融合タンパク質の生成および特徴付け

I L-2 1 / I L-1 5 R α S u / C D 1 3 7 L 融合タンパク質および T G F β 受容体 I I / T F / I L-1 5 融合タンパク質を含む融合タンパク質複合体を生成した (図 1 1 1 および図 1 1 2)。ヒト T G F β 受容体 I I (I l e 2 4-A s p 1 5 9)、組織因子

10

20

30

40

50

【 0 7 8 8 】

(シグナルペプチド)

10

20

30

40

50

AAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAGTGCATGGGCCAAGAAA
AGGGCGAGTTCCGGGAG

(ヒトIL-15)

AACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAG
ATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACAC
AGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATG
AAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGA
GCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAGAATTTAAT
CATTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTG
ACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGA
AGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGT
CCAGATGTTTCATCAATACCTCC

10

【0789】

TGFRt15融合タンパク質のアミノ酸配列(リーダー配列を含む)は、以下の通りである。

(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSSAYS

(ヒトTGFβ受容体II)

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCHD
PKLPYHDFILEDAAASPCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSEEYNTSNPDGGGGSGGGGSGGGGSIIPPHVQKSV
NNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCS
ITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFI
LEDAASPKCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEE
YNTSNPD

20

(ヒト組織因子219)

SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST
KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA
GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYWKS
SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRVTNR
KSTDSPVECMGQEKGEFRE

30

(ヒトIL-15)

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAM
KCFLLLELQVISLESGDASIHDIVENLIILANNSLSSNGNV
TESGCKECEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFINTS

【0790】

21s137Lの核酸配列およびタンパク質配列を以下に示す。21s137L構築物の核酸配列(シグナルペプチド配列を含む)は、以下の通りである。

40

(シグナルペプチド)

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTCT
CCAGCGCCTACTCC

(ヒトIL-21)

CAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCGGATGAGGCGAGCTCA
TCGACATCGTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCT
GGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACC
AACTGCGAGTGGTCCGCCTTCTCCTGCTTTCAGAAGGCC
AGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAACAACGAGCGGATCAT
CAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCC

50

ACAAACGCCGGCAGGAGGCGAGAAGCACAGGCTGACCTGCC
CCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTT
CCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAGATGATCCAT
CAGCACCTGTCTCCTCCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCC
(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

ATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACA
TCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTA
TATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACAGC
AGCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGG
CTCACTGGACAACACCCTCTTTAAAGTGCAATCCGG
((G4S) 3リンカー)

10

GGCGGTGGAGGATCCGGAGGAGGTGGCTCCGGCGGGCGGAG
GATCT
(ヒトCD137L)

CGCGAGGGTCCCGAGCTTTCGCCCGACGATCCCGCCGGCC
TCTTGGACCTGCGGCAGGGGCATGTTTGCGCAGCTGGTGGC
CCAAAATGTTCTGCTGATCGATGGGCCCTGAGCTGGTAC
AGTGACCCAGGCCTGGCAGGCGTGTCCTGACGGGGGGCC
TGAGCTACAAAGAGGACACGAAGGAGCTGGTGGTGGCCAA
GGCTGGAGTCTACTATGTCTTCTTTCAACTAGAGCTGCGG
CGCGTGGTGGCCGGCGAGGGCTCAGGCTCCGTTTCACTTG
CGCTGCACCTGCAGCCACTGCGCTCTGCTGCTGGGGCCGC
CGCCCTGGCTTTGACCGTGAGCCTGCCACCCGCCCTCCTCC
GAGGCTCGGAACTCGGCCCTTCGGTTTCCAGGGCCGCTTGC
TGCACCTGAGTGCCGGCCAGCGCCTGGGCGTCCATCTTCA
CACTGAGGCCAGGGCACGCCATGCCCTGGCAGCTTACCCAG
GGCGCCACAGTCTTGGGACTCTTCCGGGTGACCCCCGAAA
TCCCAGCCGGACTCCCTTCACCGAGGTCTGGAA

20

【0791】

21s137L融合タンパク質のアミノ酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである。

30

(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSAYS

(ヒトIL-21)

QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKLKRKPPS
TNAGR RQKHRLTCPS CDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH
QHLSSRTHGSEDS

(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

ITCPPPM SVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTS
SLTECVLNKATNVAHWTTPSLK CIR

40

((G4S) 3リンカー)

GGGGSGGGGS GGGGS

(ヒトCD137L)

REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWY
SDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELR
RVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASS
EARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ
GATVVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSE

【0792】

50

ある場合には、リーダーペプチドをインタクトなポリペプチドから切断して、可溶性であり得るか、または分泌され得る成熟形態を生成する。

【0793】

IL-21/IL-15R α Su/CD137L構築物およびTGFR/TF/IL-15構築物を前述の修飾レトロウイルス発現ベクターにクローニングし (Hughes MS, Yu YY, Dudley ME, Zheng Z, Robbins PF, Li Y, et al. Transfer of a TCR gene derived from a patient with a marked antitumor response conveys highly active T-cell effector functions. Hum Gene Ther 2005; 16: 457-72)、発現ベクターをCHO-K1細胞にトランスフェクトした。CHO-K1細胞でのこれらの2つの構築物の共発現により、可溶性TGFR/TF/IL-15:IL-21/IL-15R α Su/CD137Lタンパク質複合体 (TGFRt15-21s137Lと称する) の形成および分泌が可能になり、これを抗TF IgG1親和性および他のクロマトグラフィー法によって精製することができる。

【0794】

抗TF抗体親和性カラムを使用したTGFRt15-21s137Lの精製溶出クロマトグラフ

細胞培養物から収集したTGFRt15-21s137Lを、5カラム体積のPBSで平衡化した抗TF抗体親和性カラムにロードした。試料をロードした後、カラムを5カラム体積のPBSで洗浄し、その後、6カラム体積の0.1M酢酸 (pH 2.9) で溶出した。A280溶出ピークを収集し、1Mトリス塩基でpH 7.5~8.0に中和した。その後、中和した試料を、分子量カットオフ30kDaでAmicon遠心フィルターを使用してPBSに緩衝液交換した。図113に示されるように、抗TF抗体親和性カラムは、TGFRt15-21s137Lの融合パートナーとしてTFを含むTGFRt15-21s137Lに結合した。緩衝液交換したタンパク質試料を、さらなる生化学的分析および生物学的活性試験のために2~8℃で保管した。各溶出後、抗TF抗体親和性カラムを6カラム体積の0.1Mグリシン (pH 2.5) を使用してストリッピングした。その後、カラムを、保管のために5カラム体積のPBSおよび7カラム体積の20%エタノールを使用して中和した。抗TF抗体親和性カラムを、GE Healthcare AKTA Avantシステムに接続した。流速は、2mL/分の溶出ステップを除く全てのステップで4mL/分であった。

【0795】

実施例57: TGFRt15-TGFRs21融合タンパク質の生成および特徴付け

TGF β 受容体II/IL-15R α Su/IL-21融合タンパク質およびTGF β 受容体II/TF/IL-15融合タンパク質からなる融合タンパク質複合体を生成した (図114および図115)。ヒトTGF β 受容体II (Ile24-Asp159)、組織因子219、IL-21、およびIL-15配列をUniProtウェブサイトから入手し、これらの配列のDNAをGenewizによって合成した。具体的には、G4S (3) リンカーを用いて2つのTGF β 受容体II配列を結合してTGF β 受容体IIの一本鎖バージョンを生成し、その後、組織因子219のN末端コーディング領域に、続いて、IL-15のN末端コーディング領域に直接連結することによって構築物を作製した。

【0796】

組織因子219のN末端に、続いて、IL-15のN末端に結合した2つのTGF β 受容体IIを含む構築物の核酸配列およびタンパク質配列を以下に示す。

【0797】

TGFRt15構築物の核酸配列 (シグナルペプチド配列を含む) は、以下の通りである。

(シグナルペプチド)

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTGTTCT

CCAGCGCCTACTCC

(ヒトTGFβ受容体ⅠⅠ断片)

ATCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTTCTGCGATGTCAGGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCCTGCATGTCCAACCTGCAGCATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGACCGTGTGTACAGAC
CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTTCATTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAGAAGAAGCCCCGG
AGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTTCTGG
TGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACGTGCAGAAGAGCGTG
AATAATGACATGATCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGA
AATTTCCCCAGCTGTGCAAAATTCTGCGATGTGAGGTTTTC
CACCTGCGACAACCAGAAGTCTGTATGAGCAACTGCTCC
ATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGG
CTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAAC
CGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCTACCACGATTTTCATC
CTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTGTCATCATGAAAGAGA
AAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTCATGTGCTCCTGCAG
CAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAA
TACAATACCAGCAACCCCGAC

(ヒト組織因子219)

AGCGGCACAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTT
GGAAGAGCACCAACTTCAAAACCATCCTCGAATGGGAACC
CAAACCCGTTAAACCAAGTTTACACCGTGACAGATCAGCACC
AAGTCCGGCGACTGGAAGTCCAATGTTTCTATACCACCG
ACACCGAGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGT
GAAACAGACCTACCTCGCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGCC
GGCAATGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTAT
ACGAGAACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAA
TTTAGGACAGCCCAACCATCCAAGCTTTGAGCAAGTTGGC
ACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAG
TGCGGCGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTT
CGGCAAAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCC
TCTTCCTCCGGCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAACG
AGTTTTTTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAAACCTACTGTTT
CAGCGTGCAAGCTGTGATCCCTCCCGGACCGTGAAATAGG
AAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAGTGTCATGGGCCAAGAAA
AGGGCGAGTTCCGGGAG

(ヒトIL-15)

AACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAG
ATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACAC
AGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATG
AAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGA
GCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGGAGAATTTAAT
CATTTTATAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTG
ACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGA

10

20

30

40

50

AGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGT
CCAGATGTTTCATCAATACCTCC

【0798】

TGFR ϵ 15融合タンパク質のアミノ酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである。

（シグナルペプチド）

MKWVTFISLLFLFSAYS

（ヒトTGF β 受容体II）

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSICEKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCCHD
PKLPYHDFILEDAAASPCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSEYNTSNPDGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSIIPPHVQKSV
NNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCS
ITSICEKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCCHDPKLPYHDFI
LEDAASPCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEE
YNTSNPD

（ヒト組織因子219）

SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST
KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA
GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS
SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNR
KSTDSPVECMGQEKGEFRE

（ヒトIL-15）

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAM
KCFLLLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNV
TESGCKECEELEEKNIKEFLQS FVHIVQMFINTS

【0799】

2つのTGF β 受容体IIをGenewizによって合成したIL-15R α Su鎖に、続いて、IL-21のN末端コーディング領域に直接結合することによっても構築物を作製した。IL-15R α SuのN末端に、続いて、IL-21のN末端に結合したTGF β 受容体IIを含む構築物の核酸配列およびタンパク質配列を以下に示す。

【0800】

TGFR ϵ 21構築物の核酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである。

（シグナルペプチド）

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCCCTGTTCT
CCAGCGCCTACTCC

（ヒトTGF β 受容体II断片）

ATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGTCAGGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCTGCATGTCCAACCTGCAGCATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAACATCACCCCTGGAGACCGTGTGTACGAC
CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTCATTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAGAAGAAGCCCGG
AGAGACCTTCTTTATGTGTTCCCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTCTTG

TGGAGGTGGGAGTATTCTCTCCCCACGTGCAGAAGAGCGTG
AATAATGACATGATCGTGACCGATAACAATGGCGCCGTGA
AATTTCCCCAGCTGTGCAAATTCTGCGATGTGAGGTTTTTC
CACCTGCGACAACCAGAAGTCTGTATGAGCAACTGCTCC
ATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGG
CTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAAC
CGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCTACCACGATTTTCATC
CTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTGCAATCATGAAAGAGA
AAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTCATGTGCTCCTGCAG
CAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAA
TACAATAACCAGCAACCCCGAC

10

(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

ATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACA
TCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTA
TATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACACGC
AGCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGG
CTCACTGGACAACACCCTCTTTAAAGTGATCCGG

(ヒトIL-21)

CAAGGTCAAGATCGCCACATGATTAGAATGCGTCAACTTA
TAGATATTGTTGATCAGCTGAAAAATTATGTGAATGACTT
GGTCCCTGAATTTCTGCCAGCTCCAGAAGATGTAGAGACA
AACTGTGAGTGGTCAGCTTTTTTCTGTTTTTCAGAAGGCC
AACTAAAGTCAGCAAATACAGGAAACAATGAAAGGATAAT
CAATGTATCAATTAAAAAGCTGAAGAGGAAACCACTTCC
ACAAATGCAGGGAGAAGACAGAAACACAGACTAACATGCC
CTTCATGTGATTCTTATGAGAAAAAACCACCCAAAGAATT
CCTAGAAAGATTCAAATCACTTCTCCAAAAGATGATTCAT
CAGCATCTGTCCTCTAGAACACACGGAAGTGAAAGATTCC

20

【0801】

TGFRs21融合タンパク質のアミノ酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである。

30

(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSAYS

(ヒトTGF β 受容体II)

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCHD
PKLPYHDFILEDAAAPKCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSEEYNTSNPDGGGGSGGGGSGGGGSIIPPHVQKSV
NNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCS
ITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFI
ILEDAAAPKCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEE
YNTSNPD

40

(ヒトIL-15R α sushiドメイン)

ITCPPPMSEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTS
SLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI R

(ヒトIL-21)

QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPS
TNAGR RQKHRLTCPS CDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH
QHLSSRTHGSEDS

50

【0802】

ある場合には、リーダーペプチドをインタクトなポリペプチドから切断して、可溶性であり得るか、または分泌され得る成熟形態を生成する。

【0803】

TGFR/IL-15R α Su/IL-21構築物およびTGFR/TF/IL-15構築物を前述の修飾レトロウイルス発現ベクターにクローニングし (Hughes MS, Yu YY, Dudley ME, Zheng Z, Robbins PF, Li Y, et al. Transfer of a TCR gene derived from a patient with a marked antitumor response conveys highly active T-cell effector functions. Hum Gene Ther 2005; 16: 457-72)、発現ベクターをCHO-K1細胞にトランスフェクトした。CHO-K1細胞でのこれらの2つの構築物の共発現により、可溶性TGFR/TF/IL-15: TGFR/IL-15R α Su/IL-21タンパク質複合体 (TGFRt15-TGFRs21と称する) の形成および分泌が可能になり、これを抗TF抗体IgG1親和性および他のクロマトグラフィー法によって精製することができる。

10

【0804】

抗TF抗体親和性カラムを使用したTGFRt15-TGFRs21の精製溶出クロマトグラフ

細胞培養物から収集したTGFRt15-TGFRs21を、5カラム体積のPBSで平衡化した抗TF抗体親和性カラムにロードした。試料をロードした後、カラムを5カラム体積のPBSで洗浄し、その後、6カラム体積の0.1M酢酸 (pH 2.9) で溶出した。A280溶出ピークを収集し、1Mトリス塩基でpH 7.5~8.0に中和した。その後、中和した試料を、分子量カットオフ30kDaでAmicon遠心フィルターを使用してPBSに緩衝液交換した。図116に示されるように、抗TF抗体親和性カラムは、融合パートナーとしてTFを含むTGFRt15-TGFRs21に結合した。緩衝液交換したタンパク質試料を、さらなる生化学的分析および生物学的活性試験のために2~8℃で保管した。各溶出後、抗TF抗体親和性カラムを6カラム体積の0.1Mグリシン (pH 2.5) を使用してストリッピングした。その後、カラムを、保管のために5カラム体積のPBSおよび7カラム体積の20%エタノールを使用して中和した。抗TF抗体親和性カラムを、GE Healthcare AKTA Avantシステムに接続した。流速は、2mL/分の溶出ステップを除く全てのステップで4mL/分であった。

20

30

【0805】

TGFRt15-TGFRs21の還元SDS-PAGE分析

タンパク質の純度および分子量を決定するために、抗TF抗体親和性カラムで精製したTGFRt15-TGFRs21タンパク質試料を、還元条件下でドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル (4~12% NuPage bis-トリスゲル) 電気泳動 (SDS-PAGE) 法によって分析した。電気泳動後、ゲルをInstant Blueで約30分間染色し、その後、精製水中で一晩脱色した。

【0806】

TGFRt15-TGFRs21タンパク質がCHO細胞において翻訳後にグリコシル化を受けることを検証するために、脱グリコシル化実験を、New England Biolabs製のProtein Deglycosylation Mix IIキットおよび製造業者の指示を使用して実施した。図117は、非脱グリコシル化状態 (赤色の縁内のレーン1) および脱グリコシル化状態 (黄色の縁内のレーン2) での試料の還元SDS-PAGE分析を示す。タンパク質がCHO細胞で発現されるとグリコシル化されることは明らかである。脱グリコシル化後、精製した試料は、還元SDSゲル中で予想された分子量 (69kDaおよび55kDa) を示した。レーンMには、10uLのSeeBlue Plus2 Prestained Standardをロードした。

40

【0807】

50

C57BL/6マウスにおけるTGF α 15-TGF β 21の免疫刺激

TGF α 15-TGF β 21は、一本鎖の2つのTGF β RIIドメイン、ヒト組織因子219断片、およびヒトIL-15の可溶性融合物（TGF α 15）である第1のポリペプチドと、一本鎖の2つのTGF β RIIドメイン、ヒトIL-15受容体アルファ鎖のsushiドメイン、およびヒトIL-21の可溶性融合物（TGF β 21）である第2のポリペプチドを含む多鎖ポリペプチド（本明細書に記載のタイプA多鎖ポリペプチド）である。

【0808】

CHO細胞を、TGF α 15およびTGF β 21ベクターで共トランスフェクトした。TGF α 15-TGF β 21複合体を、トランスフェクトしたCHO細胞培養上清から精製した。図118A～Bに示されるように、複合体中のTGF β 受容体、IL-15、IL-21、および組織因子（TF）成分をELISAによって実証した。ヒト化抗TFモノクローナル抗体（抗TF IgG1）を捕捉抗体として使用して、TGF α 15-TGF β 21、ビオチン化抗ヒトIL-15抗体（R&D systems）、ビオチン化抗ヒトTGF β 受容体抗体（R&D systems）中のTFを決定し、ビオチン化抗ヒトIL-21抗体（R&D Systems）を検出抗体として使用して、それぞれ、TGF α 15-TGF β 21中のIL-15、TGF β 受容体、およびIL-21を決定した。検出のために、ペルオキシダーゼ結合ストレプトアビジン（Jackson ImmunoResearch Lab）およびABTSを使用した。

【0809】

野生型C57BL/6マウスを、対照溶液（PBS）または3mg/kgのTGF α 15-TGF β 21のいずれかで皮下処理した。処理の4日後、脾臓の重量および脾臓に存在する様々な免疫細胞型のパーセンテージを評価した。図119Aに示されるように、対照処理マウスおよびTGF α 15-TGF β 21処理マウスの脾臓に存在するCD4⁺ T細胞、CD8⁺ T細胞、およびNK細胞のパーセンテージを評価した。TGF α 15-TGF β 21処理後のKi67発現に基づく免疫細胞の動的増殖も評価した。脾細胞を蛍光色素結合抗CD4、抗CD8、および抗NK1.1（NK）抗体で染色し、抗Ki67抗体で細胞内染色した。CD4⁺ T細胞、CD8⁺ T細胞、およびNK細胞のパーセンテージ、ならびに対応する免疫細胞サブセットのKi67の平均蛍光強度（MFI）をフローサイトメトリーによって分析した（図119Aおよび図119B）。さらに、マウスの単回投与と処理後にTGF α 15-TGF β 21によって誘導された脾細胞のグランザイムB発現に基づく細胞傷害性の潜在性も評価した。図120に示されるように、TGF α 15-TGF β 21で処理したマウスの脾臓では、NK細胞によるグランザイムBの発現が処理後に増加した。TGF α 15-TGF β 21で処理したマウスの脾細胞を、蛍光色素結合抗CD4、抗CD8、および抗NK1.1（NK）抗体で染色し、抗グランザイムB抗体で細胞内染色した。対応する免疫細胞サブセットのグランザイムBの平均蛍光強度（MFI）をフローサイトメトリーによって分析した（図120）。

【0810】

図119Aに示されるように、TGF α 15-TGF β 21で処理したマウスの脾臓では、CD8⁺ T細胞およびNK細胞の両方のパーセンテージが、単回TGF α 15-TGF β 21処理後4日目に増加した。これらの結果は、TGF α 15-TGF β 21が免疫細胞を誘導して、マウス脾臓、特にCD8⁺ T細胞およびNK細胞を増殖させることができることを示す。

【0811】

加えて、腫瘍細胞に対するマウス脾細胞の細胞傷害性も評価した。マウスYac-1細胞をCellTrace Violetで標識し、腫瘍標的細胞として使用した。脾細胞をTGF α 15-TGF β 21で処理したマウスから調製し、エフェクター細胞として使用した。標的細胞を、100nMのTGF α 15-TGF β 21を有するまたは有しないRPMI-10培地中でエフェクター細胞とE:T比10:1で混合し、37℃

10

20

30

40

50

【 0 8 1 2 】

TGFβ受容体II／IL-15RαSu／抗CD16scFv融合タンパク質およびTGFβ受容体II／TF／IL-15融合タンパク質からなる融合タンパク質複合体を生成した（図122および図123）。ヒトTGFβ受容体II（Ile24-Asp159）、組織因子219、およびIL-15配列をUniProtウェブサイトから入手し、これらの配列のDNAをGenewizによって合成した。具体的には、G4S（3）リンカーを用いて2つのTGFβ受容体II配列を結合してTGFβ受容体IIの一本鎖バージョンを生成し、その後、組織因子219のN末端コーディング領域に、続いて、IL-15のN末端コーディング領域に直接連結することによって構築物を作製した。

【 0 8 1 4 】

(シグナルペプチド)

(ヒト TGFβ 受容体 II 断片)

(ヒト組織因子219)

AGCGGCACAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTT
GGAAGAGCACCAACTTCAAAACCATCCTCGAATGGGAACC
CAAACCCGTTAACCAAGTTTACACCGTGAGATCAGCACCC
AAGTCCGGCGACTGGAAGTCCAAATGTTTCTATACCAACCG
ACACCGAGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGT
GAAACAGACCTACCTCGCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGCC
GGCAATGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTAT
ACGAGAACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAA
TTTAGGACAGCCCCACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGC
ACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAG
TGCGGCGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGGATGTGTT
CGGCAAAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCC
TCTTCCTCCGGCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAAACG
AGTTTTTTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAAACTACTGTTT
CAGCGTGCAAGCTGTGATCCCTCCCGGACCGTGAAATAGG
AAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAGTGCATGGGGCCAAGAAA
AGGGCGAGTTCCGGGAG

(ヒトIL-15)

AACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAG
ATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACAC
AGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATG
AAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGA
GCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGAGGAATTTAAT
CATTTTATAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTG
ACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGAGA
AGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGT
CCAGATGTTTCATCAATACCTCC

【0815】

TGFR ϵ 15融合タンパク質のアミノ酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである。

(シグナルペプチド)

MKWVTFISLLFLFSAYS

(ヒトTGF β 受容体II)

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCHD
PKLPYHDFILEDAAASPCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSEEYNTSNPDGGGGSGGGGSGGGGSIIPPHVQKSV
NNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCS
ITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFI
LEDAASPKCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEE
YNTSNPD

(ヒト組織因子219)

SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST
KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA
GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS
SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRVTNR
KSTDSPVECMGQEKGEFRE

(ヒトIL-15)

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAM

10

20

30

40

50

K C F L L E L Q V I S L E S G D A S I H D T V E N L I I L A N N S L S S N G N V
T E S G C K E C E E L E E K N I K E F L Q S F V H I V Q M F I N T S

【0816】

2つのTGFβ受容体IIをGenewizによって合成したIL-15RαSu鎖に、続いて、抗CD16scFv配列に直接結合することによっても構築物を作製した。IL-15RαSuのN末端に、続いて、抗CD16scFv配列に結合したTGFβ受容体IIを含む構築物の核酸配列およびタンパク質配列を以下に示す。

【0817】

TGFRs16構築物の核酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである。

（シグナルペプチド）

A T G A A G T G G G T G A C C T T C A T C A G C C T G C T G T T C C T G T T C T
C C A G C G C C T A C T C C

（ヒトTGFβ受容体II断片）

A T C C C C C C C C A T G T G C A A A A G A G C G T G A A C A A C G A T A T G A
T C G T G A C C G A C A A C A A C G G C G C C G T G A A G T T T C C C C A G C T
C T G C A A G T T C T G C G A T G T C A G G T T C A G C A C C T G C G A T A A T
C A G A A G T C C T G C A T G T C C A A C T G C A G C A T C A C C T C C A T C T
G C G A G A A G C C C C A A G A A G T G T G C G T G G C C G T G T G G C G G A A
A A A T G A C G A G A A C A T C A C C C T G G A G A C C G T G T G T C A C G A C
C C C A A G C T C C C T T A T C A C G A C T T C A T T C T G G A G G A C G C T G
C C T C C C C C A A A T G C A T C A T G A A G G A G A A G A A G A A G C C C G G
A G A G A C C T T C T T T A T G T G T T C C T G T A G C A G C G A C G A G T G T
A A C G A C A A C A T C A T C T T C A G C G A A G A G T A C A A C A C C A G C A
A C C C T G A T G G A G G T G G C G G A T C C G G A G G T G G A G G T T C T G G
T G G A G G T G G G A G T A T T C C T C C C C A C G T G C A G A A G A G C G T G
A A T A A T G A C A T G A T C G T G A C C G A T A A C A A T G G C G C C G T G A
A A T T T C C C C A G C T G T G C A A A T T C T G C G A T G T G A G G T T T T C
C A C C T G C G A C A A C C A G A A G T C C T G T A T G A G C A A C T G C T C C
A T C A C C T C C A T C T G T G A G A A G C C T C A G G A G G T G T G C G T G G
C T G T C T G G C G G A A G A A T G A C G A G A A T A T C A C C C T G G A A A C
C G T C T G C C A C G A T C C C A A G C T G C C C T A C C A C G A T T T C A T C
C T G G A A G A C G C C G C C A G C C C T A A G T G C A T C A T G A A A G A G A
A A A A G A A G C C T G G C G A G A C C T T T T T C A T G T G C T C C T G C A G
C A G C G A C G A A T G C A A C G A C A A T A T C A T C T T T A G C G A G G A A
T A C A A T A C C A G C A A C C C C G A C

（ヒトIL-15Rαsushiドメイン）

A T T A C A T G C C C C C C T C C C A T G A G C G T G G A G C A C G C C G A C A
T C T G G G T G A A G A G C T A T A G C C T C T A C A G C C G G G A G A G G T A
T A T C T G T A A C A G C G G C T T C A A G A G G A A G G C C G G C A C C A G C
A G C C T C A C C G A G T G C G T G C T G A A T A A G G C T A C C A A C G T G G
C T C A C T G G A C A A C A C C C T C T T T A A A G T G C A T C C G G

（抗ヒトCD16scFv）

T C C G A G C T G A C C C A G G A C C C T G C T G T G T C C G T G G C T C T G G
G C C A G A C C G T G A G G A T C A C C T G C C A G G G C G A C T C C C T G A G
G T C C T A C T A C G C C T C C T G G T A C C A G C A G A A G C C C G G C C A G
G C T C C T G T G C T G G T G A T C T A C G G C A A G A A C A A C A G G C C C T
C C G G C A T C C C T G A C A G G T T C T C C G G A T C C T C C T C C G G C A A
C A C C G C C T C C C T G A C C A T C A C A G G C G C T C A G G C C G A G G A C
G A G G C T G A C T A C T A C T G C A A C T C C A G G G A C T C C T C C G G C A

10

20

30

40

50

ACCATGTGGTGTTCGGCGGCGGCGGCACCAAGCTGACCGTG
CCATGGCGGCGGCGGCGGCTCCGGAGGCGGCGGCAGCGGCGGA
GGAGGATCCGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGAGGAGGAG
TGGTGAGGCCTGGAGGCTCCCTGAGGCTGAGCTGTGCTGC
CTCCGGGCTTTCACCTTCGACGACTACGGCATGTCTCTGGGTG
AGGCAGGCTCCTGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTGTCCGGCA
TCAACTGGAAACGGCGGATCCACCGGCTACGCCGATTCCGT
GAAGGGCAGGTTCAACCATCAGCAGGGACAACGCCAAGAAC
TCCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGGGCCGAGGACA
CCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGGCAGGTCCCTGCTGTT
CGACTACTGGGGACAGGGGCACCTGGTGACCGTGTTCCAGG
【0818】

10

TGFRs16融合タンパク質のアミノ酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである。

（シグナルペプチド）

MKWVTFISLLFLFSAYS

（ヒトTGFβ受容体II）

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSICEKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCHD
PKLPYHDFILEDAAASPCKIMKEKKKPGETFFMCSSSDEC
NDNIIFSEELYNTSNPDGGGGSGGGGSGGGGSIIPPHVQKSV
NNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCS
ITSICEKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFI
LEDAASPKCKIMKEKKKPGETFFMCSSSDECNDNIIFSEE
YNTSNPD

20

（ヒトIL-15Rαsushiドメイン）

ITCPPPMMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTS
SLTECVLNKATNVAHWTTTPSLKCI R

（抗ヒトCD16scFv）

SELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQ
APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAED
EADYYCNSRDSSGNHVVFGGGTKLTVGHGGGGSGGGGSGG
GGSEVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWV
RQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNANKN
SLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGRSL LFDYWGQGTLVTVSR
【0819】

30

ある場合には、リーダーペプチドをインタクトなポリペプチドから切断して、可溶性であり得るか、または分泌され得る成熟形態を生成する。

【0820】

TGFR/IL-15RαSu/抗CD16scFv構築物およびTGFR/TF/IL-15構築物を前述の修飾レトロウイルス発現ベクターにクローニングし（Hughes MS, Yu YY, Dudley ME, Zheng Z, Robbins PF, Li Y, et al. Transfer of a TCR gene derived from a patient with a marked antitumor response conveys highly active T-cell effector functions. Hum Gene Ther 2005;16:457-72）、発現ベクターをCHO-K1細胞にトランスフェクトした。CHO-K1細胞でのこれらの2つの構築物の共発現により、可溶性TGFR/TF/IL-15: TGFR/IL-15RαSu/anti-CD16scFvタンパク質複合体（TGFRt15-TGFRs16と称する）の形成および分泌が可能になり、これを抗TF IgG1親和性および他

40

50

10

20

30

50

G A A A C A G A C C T A C C T C G C C C G G G T G T T T A G C T A C C C C G C C
G G C A A T G T G G A G A G C A C T G G T T C C G C T G G C G A G C C T T T A T
A C G A G A A C A G C C C C G A A T T T A C C C C T T A C C T C G A G A C C A A
T T T A G G A C A G C C C A C C A T C C A A A G C T T T G A G C A A G T T G G C
A C A A A G G T G A A T G T G A C A G T G G A G G A C G A G C G G A C T T T A G
T G C G G C G G A A C A A C A C C T T T C T C A G C C T C C G G G A T G T G T T
C G G C A A A G A T T T A A T C T A C A C A C T G T A T T A C T G G A A G T C C
T C T T C C T C C G G C A A G A A G A C A G C T A A A A C C A A C A C A A A C G
A G T T T T T A A T C G A C G T G G A T A A A G G C G A A A A C T A C T G T T T
C A G C G T G C A A G C T G T G A T C C C C T C C C G G A C C G T G A A T A G G
A A A A G C A C C G A T A G C C C C G T T G A G T G C A T G G G C C A A G A A A
A G G G C G A G T T C C G G G A G

(ヒトIL-15)

A A C T G G G T G A A C G T C A T C A G C G A T T T A A A G A A G A T C G A A G
A T T T A A T T C A G T C C A T G C A T A T C G A C G C C A C T T T A T A C A C
A G A A T C C G A C G T G C A C C C C T C T T G T A A G G T G A C C G C C A T G
A A A T G T T T T T T A C T G G A G C T G C A A G T T A T C T C T T T A G A G A
G C G G A G A C G C T A G C A T C C A C G A C A C C G T G G A G A A T T T A A T
C A T T T T A G C C A A T A A C T C T T T A T C C A G C A A C G G C A A C G T G
A C A G A G T C C G G C T G C A A G G A G T G C G A A G A G C T G G A G G A G A
A G A A C A T C A A G G A G T T T C T G C A A T C C T T T G T G C A C A T T G T
C C A G A T G T T C A T C A A T A C C T C C

【0824】

T G F R t 15 融合タンパク質のアミノ酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである。

(シグナルペプチド)

M K W V T F I S L L F L F S S A Y S

(ヒトTGFβ受容体II)

I P P H V Q K S V N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N
Q K S C M S N C S I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D
P K L P Y H D F I L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C
N D N I I F S E E Y N T S N P D G G G G S G G G G S G G G G S I P P H V Q K S V
N N D M I V T D N N G A V K F P Q L C K F C D V R F S T C D N Q K S C M S N C S
I T S I C E K P Q E V C V A V W R K N D E N I T L E T V C H D P K L P Y H D F I
L E D A A S P K C I M K E K K K P G E T F F M C S C S S D E C N D N I I F S E E
Y N T S N P D

(ヒト組織因子219)

S G T T N T V A A Y N L T W K S T N F K T I L E W E P K P V N Q V Y T V Q I S T
K S G D W K S K C F Y T T D T E C D L T D E I V K D V K Q T Y L A R V F S Y P A
G N V E S T G S A G E P L Y E N S P E F T P Y L E T N L G Q P T I Q S F E Q V G
T K V N V T V E D E R T L V R R N N T F L S L R D V F G K D L I Y T L Y Y W K S
S S S G K K T A K T N T N E F L I D V D K G E N Y C F S V Q A V I P S R T V N R
K S T D S P V E C M G Q E K G E F R E

(ヒトIL-15)

N W V N V I S D L K K I E D L I Q S M H I D A T L Y T E S D V H P S C K V T A M
K C F L L E L Q V I S L E S G D A S I H D T V E N L I I L A N N S L S S N G N V
T E S G C K E C E E L E E K N I K E F L Q S F V H I V Q M F I N T S

【0825】

2つのTGFβ受容体IIをGenewizによって合成したIL-15RαSu鎖に、続いて、(G4S)3リンカーおよびCD137L配列に直接結合することによっても

10

20

30

40

50

構築物を作製した。IL-15R α SuのN末端に、続いて、(G4S)3リンカーおよびCD137L配列に結合したTGF β 受容体IIを含む構築物の核酸配列およびタンパク質配列を以下に示す。

【0826】

TGFRs137L構築物の核酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである。

（シグナルペプチド）

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTTCCTGTTCT
CCAGCGCCTACTCC

（ヒトTGF β 受容体II断片）

ATCCCCCCCCCATGTGCAAAAGAGCGTGAAACAACGATATGA
TCGTGACCGACAACAACGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCT
CTGCAAGTTCTGCGATGTCAGGTTTCAGCACCTGCGATAAT
CAGAAGTCCTGCAATGTCCAACCTGCAGCATCACCTCCATCT
GCGAGAAGCCCCAAGAAGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA
AAATGACGAGAACAATCACCCCTGGAGACCGTGTGTACGAC
CCCAAGCTCCCTTATCACGACTTCAATTCTGGAGGACGCTG
CCTCCCCCAAATGCATCATGAAGGAGAAGAAGAAGCCCCGG
AGAGACCTTCTTTATGTGTTCTCTGTAGCAGCGACGAGTGT
AACGACAACATCATCTTCAGCGAAGAGTACAACACCAGCA
ACCCTGATGGAGGTGGCGGATCCGGAGGTGGAGGTCTTGG
TGGAGGTGGGAGTATTCCTCCCCACGTGCAGAAGAGCGTG
AATAATGACATGATCGTGACCGATAACAATGGCGCCCGTGA
AATTTCCCCAGCTGTGCAAAATCTGCGATGTGAGGTTTTC
CACCTGCGACAACCAGAAGTCTGTATGAGCAACTGCTCC
ATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGG
CTGTCTGGCGGAAGAATGACGAGAATATCACCCCTGGAAAC
CGTCTGCCACGATCCCAAGCTGCCCTACCACGATTTTCATC
CTGGAAGACGCCGCCAGCCCTAAGTGATCATGAAAGAGA
AAAAGAAGCCTGGCGAGACCTTTTTTCATGTGCTCCTGCAG
CAGCGACGAATGCAACGACAATATCATCTTTAGCGAGGAA
TACAATACCAGCAACCCCGAC

（ヒトIL-15R α sushiドメイン）

ATTACATGCCCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACA
TCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTA
TATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACCAAGC
AGCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGG
CTCACTGGACAACAACCTCTTTAAAGTGATCCGG

（(G4S)3リンカー）

GGCGGTGGAGGATCCGGAGGAGGTGGCTCCGGCGGGCGGAG
GATCT

（ヒトCD137L）

CGCGAGGGTCCCCGAGCTTTTCGCCCGACGATCCCGCCGGCC
TCTTGACCTGCGGCAGGGCATGTTTTCGCGAGCTGGTGGC
CCAAAATGTTCTGCTGATCGATGGGCCCTGAGCTGGTAC
AGTGACCCAGGCCTGGCAGGCGTGTCCCTGACGGGGGGCC
TGAGCTACAAAGAGGACACGAAGGAGCTGGTGGTGGCCAA
GGCTGGAGTCTACTATGTCTTCTTTCAACTAGAGCTGCGG
CGCGTGGTGGCCGGCGAGGGCTCAGGCTCCGTTTCACTTG
CGCTGCACCTGCAGCCACTGCGCTCTGCTGCTGGGGCCGC

10

20

30

40

50

CGCCCTGGCTTTGACCGTGGACCTGCCACCCGCCTCCTCC
GAGGCTCGGAACTCGGCCTTCGGTTTCCAGGGCCGCTTGC
TGCACTTGAGTGCCGGCCAGCGCCTGGGCGTCCATCTTCA
CACTGAGGCCAGGGCACGCCATGCCTGGCAGCTTACCCAG
GGCGCCACAGTCTTGGGACTCTTCCGGGTGACCCCCGAAA
TCCCAGCCGGACTCCCTTCACCGAGGTCGGAA

【0827】

TGFRs137L融合タンパク質のアミノ酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである。

（シグナルペプチド）

MKWVTFISLLFLFSSAYS

（ヒトTGFB受容体II）

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDN
QKSCMSNCSITSICEKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCHD
PKLPYHDFILEDAAASPCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDEC
NDNIIFSEEEYNTSNPDGGGGSGGGGSGGGGSIIPPHVQKSV
NNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCS
ITSICEKPKQEVCAVWRKNDENITLETVCHDHPKLPYHDFI
LEDAASPKCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEE
YNTSNPD

（ヒトIL-15R α sushiドメイン）

ITCPPPMMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTS
SLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI R

（（G4S）3リンカー）

GGGSGGGGSGGGGS

（ヒトCD137L）

REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWY
SDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELR
RVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPASS
EARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ
GATVVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSE

【0828】

ある場合には、リーダーペプチドをインタクトなポリペプチドから切断して、可溶性であり得るか、または分泌され得る成熟形態を生成する。

【0829】

TGFR/IL-15R α Su/CD137L構築物およびTGFR/TF/IL-15構築物を前述の修飾レトロウイルス発現ベクターにクローニングし（Hughes M S, Yu YY, Dudley ME, Zheng Z, Robbins PF, Li Y, et al. Transfer of a TCR gene derived from a patient with a marked antitumor response conveys highly active T-cell effector functions. Hum Gene Ther 2005; 16: 457-72）、発現ベクターをCHO-K1細胞にトランスフェクトした。CHO-K1細胞でのこれらの2つの構築物の共発現により、可溶性TGFR/TF/IL-15: TGFR/IL-15R α Su/CD137Lタンパク質複合体（TGFRt15-TGFRs137Lと称する）の形成および分泌が可能になり、これを抗TF IgG1親和性および他のクロマトグラフィー法によって精製することができる。

【0830】

実施例60：多鎖キメラポリペプチド構築物によるインビトロでのNK細胞の刺激

18t15-12s、18t15-12s16、および7t15-21sで刺激した後

10

20

30

40

50

のリンパ球集団の表面表現型の変化を評価するために一連の実験を行った。これらの実験では、新鮮なヒト白血球を血液バンクから入手した。末梢血リンパ球を、Ficoll-PAQUE Plus (GE Healthcare) 密度勾配培地で単離した。細胞をカウントし、0.2 mLの完全培地 (RPMI 1640 (Gibco)、2 mMのL-グルタミン (Thermo Life Technologies)、ペニシリン (Thermo Life Technologies)、ストレプトマイシン (Thermo Life Technologies)、および10% FBS (Hyclone) を補充) 中の96ウェル平底プレートに 0.2×10^6 / mLで再懸濁した。細胞を、18 t 15-12 s (100 nM)、18 t 15-12 s 16 (100 nM)、単一サイトカイン rh IL15 (50 ng / mL) (Miltenyi) と rh IL18 (50 ng / mL) (Invivogen) と rh IL-12 (10 ng / mL) (Peprotech) との混合物、7 t 15-21 s (100 nM) + 抗TF抗体 (50 nM)、7 t 15-21 s (100 nM)、または抗TF抗体 (50 nM) で、37°Cおよび5% CO₂で16時間刺激した。翌日、細胞を収集し、CD4またはCD8、CD62L、およびCD69に特異的な抗体で30分間表面染色した。表面染色後、細胞を、FACS緩衝液 (1X PBS (Hyclone)、0.5% BSA (EMD Millipore) および0.001% アジ化ナトリウム (Sigma) を含む) 中で洗浄した (1500 RPM、室温で5分間)。2回洗浄した後、細胞をフローサイトメトリー (Celsata-BD Bioscience) によって分析した。図126は、精製リンパ球集団 (CD4およびCD8 T細胞) を18 t 15-12 s、18 t 15-12 s 16、または7 t 15-21 s + 抗TF抗体と一晩インキュベートすることにより、CD69を発現するCD8およびCD4 T細胞のパーセンテージが増加したことを示す。さらに、7 t 15-21 s + 抗TF抗体とインキュベートすることにより、CD62Lを発現するCD8およびCD4 T細胞のパーセンテージが増加した (図126)。

【0831】

18 t 15-12 sで刺激した後のNK細胞におけるホスホ-STAT4およびホスホ-STAT5レベルの増加を決定するために一連の実験を行った。これらの実験では、新鮮なヒト白血球を血液バンクから入手し、CD56⁺ NK細胞をRosetteSep / ヒトNK細胞試薬 (StemCell Technologies) で単離した。NK細胞の純度は70%超であり、CD56-BV421、CD16-BV510、CD25-PE、およびCD69-APCFire750特異的な抗体 (BioLegend) で染色することによって確認した。細胞をカウントし、0.1 mLの完全培地 (RPMI 1640 (Gibco)、2 mMのL-グルタミン (Thermo Life Technologies)、ペニシリン (Thermo Life Technologies)、ストレプトマイシン (Thermo Life Technologies)、および10% FBS (Hyclone) を補充) 中の96ウェル平底プレートに 0.05×10^6 / mLで再懸濁した。細胞を、hIL-12 (10 ng / mL) (BioLegend) もしくはhIL-15 (50 ng / mL) (NCI) (単一サイトカイン)、または18 t 15-12 s (100 nM) で、37°Cおよび5% CO₂で90分間刺激した。刺激していないNK細胞 (US) を対照として使用した。細胞を収集し、パラホルムアルデヒド (Sigma) で固定して、最終濃度1.6%にした。プレートを暗所で、室温で10分間インキュベートした。FACS緩衝液 (0.5% BSA (EMD Millipore) および0.001% アジ化ナトリウム (Sigma) を含む1X PBS (Hyclone)) (100 μL) を添加し、細胞を96ウェル「V」ボトムプレートに移した。細胞を1500 RPMで、室温で5分間洗浄した。細胞ペレットを100 μLの冷却メタノールと上下に穏やかにピペティングしながら混合し、細胞を4°Cで30分間インキュベートした。細胞を100 mLのFACS緩衝液と混合し、1500 RPMで、室温で5分間洗浄した。細胞ペレットを、4 mLのpSTAT4 (BD Bioscience) およびpSTAT5抗体 (BD Bioscience) を含む50 mLのFACS緩衝液と混合し、その後、暗所で、室温で30分間インキュベートした。細胞を100 mLのFAC

10

20

30

40

50

S緩衝液と混合し、1500RPMで、室温で5分間洗浄した。細胞ペレットを50mLのFACS緩衝液と混合し、細胞をフローサイトメトリー（Celesta-BD Bioscience）によって分析した。図127は、NK細胞を18t15-12sとインキュベートすることにより、pSTAT4およびpSTAT5の増加が誘導されたことを示す（プロットされたデータ、正規化された倍率変化）。

【0832】

実施例61：TGFRt15-TGFRsによるインビボでのNK細胞の刺激

西洋食餌を与えたApoE^{-/-}マウスにおける免疫刺激に対するTGFRt15-TGFRs構築物の効果を決定するために一連の実験を行った。これらの実験では、6週齢の雌B6.129P2-ApoE^{tm1Unc}/Jマウス（Jackson Laboratory）に、21%脂肪、0.15%コレステロール、34.1%スクロース、19.5%カゼイン、および15%デンプンを含む西洋食餌（TD88137、Envigo Laboratories）を与えた。西洋食餌の8週間後、マウスにTGFRt15-TGFRsを3mg/kgで皮下注射した。処理の3日後、マウスを16時間絶食させ、その後、血液試料を後眼窩静脈叢穿刺によって収集した。血液を10μLの0.5M EDTAと混合し、リンパ球サブセット分析のために血液を20μL採取した。赤血球を、ACK（0.15M NH₄Cl、1.0mM KHCO₃、0.1mM Na₂EDTA、pH7.4）で溶解し、リンパ球を、FACS染色緩衝液（PBS中1%BSA）中、抗マウスCD8aおよび抗マウスNK1.1抗体で、4℃で30分間染色した。細胞を1回洗浄し、FACS Celestaを用いて分析した。Treg染色の場合、ACKで処理した血液リンパ球を、FACS染色緩衝液中、抗マウスCD4および抗マウスCD25抗体で、4℃で30分間染色した。細胞を1回洗浄し、固定/透過処理希釈標準溶液中に再懸濁し、室温で60分間インキュベートした。細胞を1回洗浄し、透過処理緩衝液中に再懸濁した。試料を300~400×gで、室温で5分間遠心分離し、上清を廃棄した。細胞ペレットを残留体積中に再懸濁し、体積を1×透過処理緩衝液で約100μLに調整した。抗Foxp3抗体を細胞に添加し、細胞を室温で30分間インキュベートした。透過処理緩衝液（200μL）を細胞に添加し、細胞を300~400×gで、室温で5分間遠心分離した。細胞をフローサイトメトリー染色緩衝液中に再懸濁し、フローサイトメーター上で分析した。図128A~128Cは、TGFRt15-TGFRsでの処理により、西洋食餌を与えたApoE^{-/-}マウスにおけるNK細胞およびCD8⁺ T細胞のパーセンテージが増加したことを示す。

【0833】

実施例62：インビボでの免疫細胞の増殖の誘導

C57BL/6マウスにおける免疫刺激に対するTGFRt15-TGFRs構築物の効果を決定するために一連の実験を行った。これらの実験では、C57BL/6マウスを、対照溶液（PBS）、または0.1、0.3、1、3、および10mg/kgのTGFRt15-TGFRsで皮下処理した。処理したマウスを処理の4日後に安楽死させた。脾臓重量を測定し、脾臓細胞懸濁液を調製した。脾細胞懸濁液を、結合抗CD4、抗CD8、および抗NK1.1（NK）抗体で染色した。細胞を増殖マーカーKi67についてさらに染色した。図129Aは、TGFRt15-TGFRsで処理したマウスにおける脾臓の重量がTGFRt15-TGFRsの投薬量の増加とともに増加したことを示す。加えて、1mg/kg、3mg/kg、および10mg/kgのTGFRt15-TGFRsで処理したマウスにおける脾臓の重量は、対照溶液のみで処理したマウスと比較して高かった。CD8⁺ T細胞およびNK細胞の両方のパーセンテージが、TGFRt15-TGFRsの投薬量の増加とともに増加した（図129B）。最後に、TGFRt15-TGFRsは、試験したTGFRt15-TGFRsの全ての用量で、CD8⁺ T細胞およびNK細胞の両方での細胞増殖マーカーKi67の発現を有意にアップレギュレートした（図129C）。これらの結果は、TGFRt15-TGFRsでの処理が、C57BL/6におけるCD8⁺ T細胞およびNK細胞の両方の増殖を誘導したことを示す。

【0834】

西洋食餌を与えたApoE^{-/-}マウスにおける免疫刺激に対するTGFRt15-TGFRs構築物の効果を決定するために一連の実験を行った。これらの実験では、6週齢の雌B6.129P2-ApoE^{tm1Unc}/Jマウス(Jackson Laboratory)に、21%脂肪、0.15%コレステロール、34.1%スクロース、19.5%カゼイン、および15%デンプンを含む西洋食餌(TD88137、Envigo Laboratories)を与えた。西洋食餌の8週間後、マウスにTGFRt15-TGFRsを3mg/kgで皮下注射した。処理の3日後、マウスを16時間絶食させ、その後、血液試料を後眼窩静脈叢穿刺によって収集した。血液を10μLの0.5M EDTAと混合し、リンパ球サブセット分析のために血液を20μL採取した。赤血球を、ACK(0.15M NH₄Cl、1.0mM KHCO₃、0.1mM Na₂EDTA、pH7.4)で溶解し、リンパ球を、FACS染色緩衝液(PBS中1%BSA)中、抗マウスCD8αおよび抗マウスNK1.1抗体で、4℃で30分間染色した。細胞を1回洗浄し、Fixation Buffer(BioLegendカタログ番号420801)中に室温で20分間再懸濁した。細胞を350×gで5分間遠心分離し、固定した細胞をIntracellular Staining Permeabilization Wash Buffer(BioLegendカタログ番号421002)中に再懸濁し、その後、350×gで5分間遠心分離した。その後、細胞を抗Ki67抗体で、室温で20分間染色した。細胞をIntracellular Staining Permeabilization Wash Bufferで2回洗浄し、350×gで5分間遠心分離した。その後、細胞をFACS染色緩衝液中に再懸濁した。リンパ球サブセットを、BD FACS Celestaを用いて分析した。図130Aおよび図130Bに記載されるように、ApoE^{-/-}マウスをTGFRt15-TGFRsで処理することにより、NK細胞およびCD8⁺T細胞の増殖(Ki67陽性染色)が誘導された。

【0835】

実施例63：多鎖構築物での処理後のNK媒介性細胞傷害性

NK細胞をTGFRt15-TGFRsで処理することによりNK細胞の細胞傷害性が増強されるかを決定するために一連の実験を行った。これらの実験では、ヒトDaudi Bリンパ腫細胞をCellTrace Violet(CTV)で標識し、腫瘍標的細胞として使用した。マウスNKエフェクター細胞を、3mg/kgでのTGFRt15-TGFRs皮下処理の4日後のC57BL/6雌マウス脾臓の磁気細胞選別法(Miltenyi Biotec)を使用したNK1.1陽性選択で単離した。ヒトNKエフェクター細胞を、RosetteSep/ヒトNK細胞試薬(Stemcell Technologies)を用いて、ヒト血液バフィーコート由来の末梢血単核細胞から単離した。標的細胞(ヒトDaudi Bリンパ腫細胞)を、50nMのTGFRt15-TGFRsの存在下またはTGFRt15-TGFRsの不在下(対照)でエフェクター細胞(マウスNKエフェクター細胞またはヒトNKエフェクター細胞のいずれか)と混合し、マウスNK細胞の場合は44時間、ヒトNK細胞の場合は20時間、37℃でインキュベートした。フローサイトメトリーを使用したヨウ化プロピジウム陽性のCTV標識細胞の分析により、標的細胞(Daudi)の生存率を評価した。Daudi阻害のパーセンテージを、式(1-実験試料中の生存腫瘍細胞数/NK細胞を含まない試料中の生存腫瘍細胞数)×100を使用して計算した。図131は、マウス(図131A)およびヒト(図131B)NK細胞が、TGFRt15-TGFRs活性化の不在下よりも、TGFRt15-TGFRsによるNK細胞活性化後にDaudi B細胞に対する有意に強い細胞傷害性を有したことを示す。

【0836】

TGFRt15-TGFRsで処理した後のマウスおよびヒトNK細胞の抗体依存性細胞傷害性(ADCC)を決定するために一連の実験を行った。これらの実験では、ヒトDaudi Bリンパ腫細胞をCellTrace Violet(CTV)で標識し、腫瘍標的細胞として使用した。マウスNKエフェクター細胞を、3mg/kgでのTGFRt15-TGFRs皮下処理の4日後のC57BL/6雌マウス脾臓の磁気細胞選別法(M

iltenyi Biotec) を使用したNK1.1陽性選択で単離した。ヒトNKエフェクター細胞を、RosetteSep/ヒトNK細胞試薬 (Stemcell Technologies) を用いて、ヒト血液バフィーコート由来の末梢血単核細胞から単離した。標的細胞 (Daudi B細胞) を、抗CD20抗体 (10nMリツキシマブ、Genentech) の存在下および50nMのTGFRt15-TGFRsの存在下、またはTGFRt15-TGFRsの不在下 (対照) で、エフェクター細胞 (マウスNKエフェクター細胞またはヒトNKエフェクター細胞のいずれか) と混合し、マウスNK細胞の場合は44時間、ヒトNK細胞の場合は20時間、37℃でインキュベートした。Daudi B細胞は、抗CD20抗体のCD20標的を発現する。フローサイトメトリーを使用したヨウ化プロピジウム陽性のCTV標識標的細胞の分析により、インキュベーション後の標的細胞の生存率を評価した。Daudi 阻害のパーセンテージを、式 (1 - 実験試料中の生存腫瘍細胞数 / NK細胞を含まない試料中の生存腫瘍細胞数) × 100 を使用して計算した。図132は、マウスNK細胞 (図132A) およびヒトNK細胞 (図132B) が、TGFRt15-TGFRs活性化の不在下よりも、TGFRt15-TGFRsによるNK細胞の活性化後にDaudi B細胞に対する強いADCC活性を有したことを示す。

【0837】

実施例64：がんの治療

黒色腫マウスモデルにおける化学療法と組み合わせたTGFRt15-TGFRs + 抗TRP1抗体 (TA99) の抗腫瘍活性を評価するために一連の実験を行った。これらの実験では、C57BL/6マウスに0.5 × 10⁶個のB16F10黒色腫細胞を皮下注射した。マウスを、1日目、4日目、および7日目に化学療法ドセタキセル (10mg/kg) (DTX) の3回投与で処理、その後、9日目に組み合わせ免疫療法TGFRt15-TGFRs (3mg/kg) + 抗TRP1抗体TA99 (200μg) の単回投与で処理した。図133Aは、処理レジメンの概略図を示す。腫瘍成長をキャリパー測定によって監視し、腫瘍体積を式 (L × W²) / 2 を使用して計算し、式中、Lは最大腫瘍直径であり、Wは垂直腫瘍直径である。図133Bは、DTX + TGFRt15-TGFRs + TA99での処理が、生理食塩水対照群およびDTX処理群と比較して腫瘍成長を有意に抑制したことを示す (N = 10、****p < 0.001、複数のt検定分析)。

【0838】

B16F10腫瘍モデルにおける免疫細胞サブセットを評価するために、末梢血分析を行った。これらの実験では、C57BL/6マウスにB16F10細胞を注射し、DTX、DTX + TGFRt15-TGFRs + TA99、または生理食塩水で処理した。DTX + TGFRt15-TGFRs + TA99群の免疫療法後2、5、および8日目、およびDTX群および生理食塩水群の腫瘍注射後11日目に、B16F10腫瘍を有するマウスの顎下静脈から採血した。RBCをACK溶解緩衝液中に溶解させ、リンパ球を洗浄し、抗NK1.1、抗CD8、および抗CD4抗体で染色した。細胞をフローサイトメトリー (Celesta-BD Bioscience) によって分析した。図133C~133Eは、DTX + TGFRt15-TGFRs + TA99処理が、生理食塩水処理群およびDTX処理群と比較して、腫瘍内のNK細胞およびCD8⁺ T細胞のパーセンテージの増加を誘導したことを示す。

【0839】

17日目に、全RNAを、Trizolを使用して、生理食塩水、DTX、またはDTX + TGFRt15-TGFRs + TA99で処理したマウスの腫瘍から抽出した。全RNA (1μg) を、Quantitect Reverse Transcription Kit (Qiagen) を使用したcDNA合成に使用した。リアルタイムPCRを、老化細胞マーカー (F) p21 (G) DPP4および (H) IL6用のFAM標識事前設計プライマーを使用して、CFX96 Detection System (Bio-Rad) で実行した。ハウスキーピング遺伝子18SリボソームRNAを、発現レベルの変動を正規化するための内部対照として使用した。18S rRNAに対する各標的mRNAの

10

20

30

40

50

発現を、 C_t に基づいて $2^{-\Delta(\Delta C_t)}$ として計算し、式中、 $\Delta C_t = C_t \text{ 標的} - C_t 18s$ である。データを、生理食塩水対照と比較した倍率変化として表す。図133F~133Hは、DTX処理が老化腫瘍細胞の増加を誘導し、その後、TGFRt15-TGFRs+TA99免疫療法での処理後に減少したことを示す。

【0840】

TGFRt15-TGFRsによるApoE^{-/-}マウスの西洋食餌誘発性高血糖の改善を調査するために一連の実験を行った。これらの実験では、6週齢の雌B6.129P2-ApoE^{tm1Unc}/Jマウス(Jackson Laboratory)に、21%脂肪、0.15%コレステロール、34.1%スクロース、19.5%カゼイン、および15%デンプンを含む西洋食餌(TD88137、Envigo Laboratories)を与えた。西洋食餌の8週間後、マウスにTGFRt15-TGFRsを3mg/kgで皮下注射した。処理の3日後、マウスを16時間絶食させ、その後、血液試料を後眼窩静脈叢穿刺によって収集した。血糖値を、一滴の新鮮な血液を使用して血糖値計(OneTouch UltraMini)およびGenUltimated試験条片で検出した。図134Aに示されるように、TGFRt15-TGFRs処理は、西洋食餌によって誘発された高血糖を軽減した。血漿インスリンレベルおよびレジスチンレベルを、Eve Technologies製のMouse Rat Metabolic Arrayを用いて分析した。HOMA-IRを、以下の式：恒常性モデル評価-インスリン抵抗性=グルコース(mg/dL)×インスリン(mU/mL)/405を使用して計算した。図134Bに示されるように、TGFRt15-TGFRs処理は、未処理群と比較してインスリン抵抗性を低下させた。TGFRt15-TGFRs(p<0.05)は、図142Cに示されるように、未処理群と比較してレジスチンレベルを有意に低下させ、これは、TGFRt15-TGFRsによって誘導されたインスリン抵抗性の低下に関連している可能性がある(図134B)。

【0841】

実施例65：NK細胞のサイトカイン誘導性メモリー様NK細胞への分化の誘導

18t15-12sで刺激した後のNK細胞のサイトカイン誘導性メモリー様NK細胞(CIMK-NK細胞)への分化を評価するために一連の実験を行った。これらの実験では、新鮮なヒト白血球を血液バンクから入手し、CD56⁺ NK細胞をRosette Sep/ヒトNK細胞試薬(StemCell Technologies)で単離した。NK細胞の純度は90%超であり、CD56-BV421、CD16-BV510、CD25-PE、およびCD69-APCFire750抗体(BioLegend)で染色することによって確認した。細胞をカウントし、2mLの完全培地(RPMI 1640(Gibco)、2mMのL-グルタミン(Thermo Life Technologies)、ペニシリン(Thermo Life Technologies)、ストレプトマイシン(Thermo Life Technologies)、および10%FBS(Hyclone)を補充)中の24ウェル平底プレートに 2×10^6 /mLで再懸濁した。細胞を、刺激しない(「スパイクなし」)か、または18t15-12s(100nM)、もしくはrhIL15(50ng/mL)(Miltenyi)、rhIL18(50ng/mL)(Invivogen)、およびrhIL-12(10ng/mL)(Peprotech)を含む単一サイトカイン混合物(「単一サイトカイン」)で、37℃および5%CO₂で16時間刺激した。翌日、細胞を収集し、温かい完全培地で2回、1000RPMで、室温で10分間洗浄した。細胞を、rhIL15(1ng/mL)を含む2mLの完全培地中の24ウェル平底プレートに 2×10^6 /mLで再懸濁した。2日毎に、培地の半分を、rhIL15を含む新鮮な完全培地と交換した。

【0842】

7日目のNK細胞のメモリー表現型の変化を評価するために、細胞を、細胞表面CD56、CD16、CD27、CD62L、NKp30、およびNKp44(BioLegend)に対する抗体で染色した。表面染色後、細胞を、FACS緩衝液(1X PBS(Hyclone)、0.5%BSA(EMD Millipore)および0.001%

アジ化ナトリウム (Sigma) を含む) 中で洗浄した (1500 RPM、室温で5分間)。2回洗浄した後、細胞をフローサイトメトリー (Celesta-BD Bioscience) によって分析した。図135は、NK細胞を18t15-12sとインキュベートすることにより、CD27、CD62L、およびNKp44を発現するCD16⁺CD56⁺ NK細胞のパーセンテージが増加し、CD16⁺CD56⁺ NK細胞中のNKp30のレベル (MFI) が増加したことを示す。

【0843】

実施例66：CD44メモリーT細胞のアップレギュレーション

TGFRt15-TGFRsでの処理時のCD44メモリーT細胞のアップレギュレーションを評価するために一連の実験を行った。これらの実験では、C57BL/6マウスをTGFRt15-TGFRsで皮下処理した。処理したマウスを安楽死させ、単一脾細胞懸濁液を処理の4日後に調製した (TGFRt15-TGFRs)。調製した脾細胞を蛍光色素結合抗CD4、抗CD8、および抗CD44抗体で染色し、CD4⁺ T細胞またはCD8⁺ T細胞中のCD44高 T細胞のパーセンテージをフローサイトメトリーによって分析した。結果は、TGFRt15-TGFRsがCD4⁺およびCD8⁺ T細胞でのメモリーマーカーCD44の発現をアップレギュレートしたことを示す (図136)。これらの所見は、TGFRt15-TGFRsがマウスT細胞のメモリーT細胞への分化を誘導することができたことを示す。

【0844】

実施例67：一本鎖または多鎖キメラポリペプチドでの処理後の組織因子凝固アッセイ

一本鎖または多鎖キメラポリペプチドでの処理後の血液凝固を評価するために一連の実験を行った。血液凝固カスケード経路を開始するために、組織因子 (TF) を第VIIa因子 (FVIIa) に結合して、TF/FVIIa複合体を形成する。その後、TF/FVIIa複合体を第X因子 (FX) に結合し、FXをFXaに変換する。

【0845】

第VIIa因子 (FVIIa) 活性アッセイ

血液凝固を測定するための1つのアッセイは、第VIIa因子 (FVIIa) 活性の測定を含む。このタイプのアッセイは、組織因子およびカルシウムの存在を必要とする。TF/FVIIa複合体活性を、小さい基質または天然タンパク質基質、例えば、第X因子 (FX) を用いて測定することができる。FXを基質として使用する場合、リン脂質もTF/FVIIa活性に必要とされる。このアッセイでは、FVIIa活性を、FVIIa特異的発色性基質S-2288 (Diapharma, West Chester, OH) を用いて決定する。S-2288基質の色の变化を分光光度法で測定することができ、これは、FVIIa (TF/FVIIa複合体等) のタンパク質分解活性に比例する。

【0846】

これらの実験では、以下の群：組織因子ドメインの219アミノ酸細胞外ドメイン (TF₂₁₉)、野生型組織因子ドメインを有する多鎖キメラポリペプチド、および変異体組織因子ドメインを有する多鎖キメラポリペプチドのFVIIa活性を比較した。変異体組織因子分子を含むキメラポリペプチドを、アミノ酸部位：Lys20、Ile22、Asp58、Arg135、およびPhe140でのTFドメインへの変異により構築した。

【0847】

FVIIaの活性を評価するために、FVIIa、およびTF₂₁₉またはTF₂₁₉含有多鎖キメラポリペプチドを、96ウェルELISAプレートの全てのウェル中に全体積70 μL中等モル濃度 (10 nM) で混合した。37°Cで10分間インキュベートした後、10 μLの8 mM S-2288基質を添加して、反応を開始した。その後、37°Cで20分間インキュベートし続けた。最後に、色の变化を、吸光度を405 nmで読み取ることによって監視した。様々なTF/VIIa複合体のOD値を表1および表2に示す。表1は、TF₂₁₉、21t15-21s野生型 (WT)、および21t15-21s変異体 (Mut) の比較を示す。表2は、TF₂₁₉、21t15-TGFRs野生型 (WT)、および21t15-TGFRs変異体 (Mut) の比較を示す。これらのデータは、発

10

20

30

40

50

色性 S-2288 を基質として使用した場合、TF₂₁₉ 含有多鎖キメラポリペプチド（例えば、21t15-21s-WT、21t15-21s-Mut、21t15-TGFRS-WT、および 21t15-TGFRS-Mut）が TF₂₁₉ よりも低い FVIIa 活性を有することを示す。注目すべきことに、TF₂₁₉ 変異を含む多鎖キメラポリペプチドは、野生型 TF₂₁₉ を含む多鎖キメラポリペプチドと比較した場合、はるかに低い FVIIa 活性を示した。

【0848】

（表 1）FVIIa 活性

分子	405 nmでの OD 値
TF ₂₁₉	0.307
21t15/21S-WT	0.136
21t15/21S-Mut	0.095

10

WT：野生型 TF₂₁₉、Mut：TF₂₁₉ 含有変異。

【0849】

（表 2）FVIIa 活性

分子	405 nmでの OD 値
TF ₂₁₉	0.345
21t15/TGFRS-WT	0.227
21t15/TGFRS-Mut	0.100

20

WT：野生型 TF₂₁₉、Mut：TF₂₁₉ 含有変異。

【0850】

第 X 因子（FX）活性化アッセイ

血液凝固を測定するための追加のアッセイは、第 X 因子（FX）の活性化の測定を含む。簡潔には、TF/VIIa は、カルシウムおよびリン脂質の存在下で、血液凝固第 X 因子（FX）を第 Xa 因子（FXa）に活性化する。TF の膜貫通ドメインを含む TF₂₄₃ は、FX を FXa に活性化する際に膜貫通ドメインを含まない TF₂₁₉ よりもはるかに高い活性を有する。FX の TF/VIIa 依存性活性化を、FXa 特異的発色性基質 S-2765（Diapharma, West Chester, OH）を使用して FXa 活性を測定することによって決定する。S-2765 の色の変化を分光光度法で監視することができ、これは、FXa のタンパク質分解活性に比例する。

30

【0851】

これらの実験では、多鎖キメラポリペプチド（18t15-12s、マウス（m）21t15、21t15-TGFRs、および 21t15-7s）による FX 活性化を、陽性対照（Innovin）または TF₂₁₉ と比較した。TF₂₁₉（または TF₂₁₉ 含有多鎖キメラポリペプチド）/FVIIa 複合体を、96 ウェル ELISA プレートの丸底ウェル中に 50 μL の体積中等モル濃度（各 0.1 nM）で混合し、その後、10 μL の 180 nM FX を添加した。37℃で 15 分間インキュベートしている間に FX を FXa に変換し、その後、8 μL の 0.5 M EDTA（カルシウムをキレート化し、ひいては TF/VIIa による FX 活性化を終了させる）を各ウェルに添加して、FX 活性化を停止した。次に、10 μL の 3.2 mM S-2765 基質を反応混合物に添加した。直ちにプレート吸光度を 405 nm で測定し、0 時点での吸光度として記録した。その後、プレートを 37℃で 10～20 分間インキュベートした。色の変化を、インキュベートした後に吸光度を 405 nm で読み取ることによって監視した。発色性基質 S-2765 を使用して FXa 活性によって測定された FX 活性化の結果を図 137 に示す。この実験で

40

50

は、脂質化組換えヒトTF₂₄₃を含む市販のプロトロンビン試薬であるInnovinを、FX活性化の陽性対照として使用した。Innovinを精製水で再構成して、約10 nMのTF₂₄₃にした。次に、等体積の0.2 nMのFVIIaを0.2 nMのInnovinと混合することにより、0.1 nMのTF/FVIIa複合体を作製した。Innovinが非常に強力なFX活性化活性を示した一方で、TF₂₁₉およびTF₂₁₉含有多鎖キメラポリペプチドは非常に低いFX活性化活性を有し、TF₂₁₉がインビボで天然基質FXを活性化するためにTF/FVIIa複合体では活性でないことを確認した。

【0852】

プロトロンビン時間試験

血液凝固を測定するための第3のアッセイは、血液凝固活性を測定するプロトロンビン時間（PT）試験である。ここでは、PT試験を、市販の正常ヒト血漿（Citrone Coagulation Control, Level I）を使用して行った。標準PT試験のために、凝固反応を、カルシウムの存在下で、脂質化組換えヒトTF₂₄₃であるInnovinの添加によって開始した。凝固時間を、Start PTアナライザー（Diagnostica Stago, Parsippany, N. J.）によって監視および報告した。PTアッセイを、PTアッセイ緩衝液（50 mM トリス-HCl、pH 7.5、14.6 mM CaCl₂、0.1% BSA）中に希釈した0.2 mLの様々なInnovin希釈物を37°Cで予熱した0.1 mLの正常ヒト血漿を含むキュベットに注入することによって開始した。PTアッセイでは、PT時間（凝固時間）が短いほどTF依存性凝固活性が高いことを示し、PT（凝固時間）が長いほどTF依存性凝固活性が低いことを意味する。

【0853】

図138に見られるように、異なる量のInnovin（例えば、10 nMの脂質化組換えヒトTF₂₄₃と同等の精製水で再構成したInnovinを100%のInnovinとみなす）のPTアッセイへの添加は、用量反応関係を示し、TF₂₄₃濃度が低いほどPT時間が長くなった（凝固活性が低くなった）。例えば、0.001%のInnovinのPT時間は110秒を超え、これは緩衝液のみの場合とほぼ同じであった。

【0854】

別の実験では、PT試験を、TF₂₁₉、ならびに18 t15-12 s、7 t15-21 s、21 t15-TGFRs-WT、および21 t15-TGFRs-Mutを含む多鎖キメラポリペプチドに対して行った。図139は、TF₂₁₉およびTF₂₁₉含有多鎖キメラポリペプチド（100 nMの濃度）が長時間のPT時間を有し、非常に低い凝固活性または凝固活性なしを示す。

【0855】

多鎖キメラポリペプチドのサイトカイン成分に対する受容体を有する他の細胞（32 DβまたはヒトPBMC）の存在下で多鎖キメラポリペプチドをインキュベートすることがPTアッセイにおける凝固時間に影響を及ぼすかを評価するための研究も実施した。IL-15受容体を発現する細胞（32 Dβ細胞）またはIL-15受容体およびIL-21受容体を発現する細胞（PBMC）が、IL-15含有多鎖キメラポリペプチドを細胞FVIIa受容体として模倣天然TFに結合するかを試験するために、TF₂₁₉含有多鎖キメラポリペプチド（各分子100 nMの濃度）をPTアッセイ緩衝液中に希釈し、32 Dβ細胞（2×10⁵細胞/mL）またはPBMC（1×10⁵細胞/mL）と室温で20～30分間プレインキュベートした。その後、PTアッセイを上述のように実施した。図140および図141は、100 nMの最終濃度で32 Dβ細胞（図140）またはPBMC（図141）と混合したTF₂₁₉およびTF₂₁₉含有多鎖キメラポリペプチドが、0.001～0.01%のInnovinと同様の長時間のPT時間を有したことを示す（0.1 pM～1.0 pMのTF₂₄₃と同等）。相対的TF₂₄₃活性のパーセンテージで表すと、TF₂₁₉含有多鎖キメラポリペプチドは、Innovinと比較して100, 000～1, 000, 000倍低いTF依存性凝固活性を有した。これは、分子が32 DβまたはPBMC等のインタクトな細胞膜表面に結合している間でさえも、TF₂₁₉含有

多鎖キメラポリペプチドが非常に低いTF依存性凝固活性を有したまたはTF依存性凝固活性を有しなかったことを示した。

【0856】

実施例68：7t15-21s137L（ロングバージョン）の特徴付け

7t15構築物の核酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである（配列番号107）。

（シグナルペプチド）

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCCCTGTTCT
CCAGCGCCTACTCC

（ヒトIL7）

GATTGCGACATCGAGGGCAAGGACGGCAAGCAGTACGAGA
GCGTGCTGATGGTGTCCATCGACCAGCTGCTGGACAGCAT
GAAGGAGATCGGCTCCAACCTGCCTCAACAACGAGTTCAAC
TTCTTCAAGCGGCACATCTGCGACGCCAACAAAGGAGGGCA
TGTTCCCTGTTTCAGGGCCGCCAGGAAACTGCGGCAGTTCTCT
GAAGATGAACTCCACC GGCGACTTTCGACCCTGCACCTGCTG
AAGGTGTCCGAGGGGCACCACCATCCTGCTGAACTGCACCG
GACAGGTGAAGGGCCGGAAACCTGCTGCTCTGGGAGAGGC
CCAACCCACCAAGAGCCTGGAGGGAGAACAAAGTCCCTGAAG
GAGCAGAAGAAGCTGAACGACCTGTGCTTCTCTGAAGAGGC
TGCTGCAGGAGATCAAGACCTGCTGGAAACAAGATCCTGAT
GGGCACCAAGGAGCAT

（ヒト組織因子219）

AGCGGCACAACCAACACAGTCGCTGCCTATAACCTCACTT
GGAAGAGCACCAACTTCAAAAACCATCCTCGAATGGGAACC
CAAACCCGTTTAACCAAGTTTACACCGTGCGAGATCAGCACCC
AAGTCCGGCGACTGGAAGTCCAAATGTTTTCTATACCACCG
ACACCGAGTGCGATCTCACCGATGAGATCGTGAAAGATGT
GAAACAGACCTACCTCGCCCGGGTGTTTAGCTACCCCGGCC
GGCAATGTGGAGAGCACTGGTTCCGCTGGCGAGCCTTTAT
ACGAGAACAGCCCCGAATTTACCCCTTACCTCGAGACCAA
TTTAGGACAGCCCAACCATCCAAAGCTTTGAGCAAGTTGGC
ACAAAGGTGAATGTGACAGTGGAGGACGAGCGGACTTTAG
TGCGGCGGAACAACACCTTTCTCAGCCTCCGGGATGTGTT
CGGCAAAGATTTAATCTACACACTGTATTACTGGAAGTCC
TCTTCTCTCCGGCAAGAAGACAGCTAAAACCAACACAACG
AGTTTTTTAATCGACGTGGATAAAGGCGAAAACCTACTGTTT
CAGCGTGCAAGCTGTGATCCCTTCCCGGACCGTGAAATAGG
AAAAGCACCGATAGCCCCGTTGAGTGCATGGGCGCAAGAAA
AGGGCGAGTTCCGGGAG

（ヒトIL-15）

AACTGGGTGAACGTCATCAGCGATTTAAAGAAGATCGAAG
ATTTAATTTCAGTCCATGCATATCGACGCCACTTTATACAC
AGAATCCGACGTGCACCCCTCTTGTAAGGTGACCGCCATG
AAATGTTTTTTTACTGGAGCTGCAAGTTATCTCTTTAGAGA
GCGGAGACGCTAGCATCCACGACACCGTGAGGAATTTAAT
CATTTTAGCCAATAACTCTTTATCCAGCAACGGCAACGTG
ACAGAGTCCGGCTGCAAGGAGTGCGAAGAGCTGGAGGGAGA
AGAACATCAAGGAGTTTCTGCAATCCTTTGTGCACATTGT
CCAGATGTTTCATCAATACCTCC

10

20

30

40

50

【0857】

7 t 15 融合タンパク質のアミノ酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである（配列番号106）。

（シグナルペプチド）

MKWVTFISLLFLFS SAYS

（ヒトIL7）

DCDIEGKDGKQYESVLMVSI DQLLD SMKEIGSNCLNNEFN
FFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLL
KVSEGT TILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLK
EQKKLNDLCFLKRL LQEIKTCWNKILMG TKEH

10

（ヒト組織因子219）

SGTTNTVAAYNL TWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST
KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPA
GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG
TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIY TLYWKS
SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCF SVQAVIPSR TVNR
KSTDSPVECMGQEKGEFRE

（ヒトIL-15）

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHP SCKVTAM
KCFLLLELQVISLES GDASIH
DTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFL
QS FVHIVQMFIN TS

20

【0858】

21 s 137 L 構築物の核酸配列（シグナルペプチド配列を含む）は、以下の通りである（配列番号225）。

（シグナルペプチド）

ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTCT
CCAGCGCCTACTCC

（ヒトIL-21）

CAGGGCCAGGACAGGCACATGATCCGGATGAGGCAGCTCA
TCGACATCGTTCGACCAGCTGAAGAACTACGTGAACGACCT
GGTGCCCGAGTTTCTGCCTGCCCCCGAGGACGTGGAGACC
AACTGCGAGTGGTCCGCCTTCTCCTGCTTTTCAGAAGGCC
AGCTGAAGTCCGCCAACACCGGCAACAACGAGCGGATCAT
CAACGTGAGCATCAAGAAGCTGAAGCGGAAGCCTCCCTCC
ACAAACGCCGGCAGGAGGCAGAAGCACAGGCTGACCTGCC
CCAGCTGTGACTCCTACGAGAAGAAGCCCCCAAGGAGTT
CCTGGAGAGGTTCAAGTCCCTGCTGCAGAAGATGATCCAT
CAGCACCTGTCTCTCAGGACCCACGGCTCCGAGGACTCC

30

（ヒトIL-15R α sushiドメイン）

ATTACATGCCCCCTCCCATGAGCGTGGAGCACGCCGACA
TCTGGGTGAAGAGCTATAGCCTCTACAGCCGGGAGAGGTA
TATCTGTAAACAGCGGCTTCAAGAGGAAGGCCGGCACACGC
AGCCTCACCGAGTGCGTGCTGAATAAGGCTACCAACGTGG
CTCACTGGACAACACCCTCTTTAAAGTG CATCCGG

40

（（G4S）3リンカー）

GGCGGTGGAGGATCCGGAGGAGGTGGCTCCGGCGGGCGGAG
GATCT

（ヒトCD137L）

CGCGAGGGTCCCGAGCTTTCGCCCGACGATCCCGCCGGCC

50

TCTTGGACCTGCGGCAGGGGCATGTTTTCGCGCAGCTGGTGGC
CCAAAATGTTCTGCTGATCGATGGGCCCCCTGAGCTGGTAC
AGTGACCCAGGCCTGGCAGGCGTGTCCTGACGGGGGGCC
TGAGCTACAAAGAGGACACGAAGGAGCTGGTGGTGGCCAA
GGCTGGAGTCTACTATGTCTTCTTTCAACTAGAGCTGCGG
CGCGTGGTGGCCGGCGAGGGGCTCAGGCTCCGTTTCACTTG
CGCTGCACCTGCAGCCACTGCGCTCTGCTGCTGGGGGCCGC
CGCCCTGGCTTTTGACCGTGACCTGCCACCCGCCCTCCTCC
GAGGCTCGGAACTCGGGCCTTCGGTTTCCAGGGCCGCTTGC
TGCACCTGAGTGCCGGGCCAGCGCCTGGGCGTCCATCTTCA
CACTGAGGCCAGGGCACGCCATGCCCTGGCAGCTTACCCAG
GGCGCCACAGTCTTGGGACTCTTCCGGGTGACCCCCGAAA
TCCCAGCCGGACTCCCTTCAACCGAGGTCTGGAA

【0859】

21s137L融合タンパク質のアミノ酸配列（リーダー配列を含む）は、以下の通りである（配列番号226）。

（シグナルペプチド）

MKWVTFISLLFLFSAYS

（ヒトIL-21）

QGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVET
NCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKLKRKPPS
TNAGR RQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSL LQKMIH
QHLSSSRTHGSEDS

（ヒトIL-15R α sushiドメイン）

ITCPPPM SVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTS
SLTECVLNKATNV AHWTTPS
LKCIR

（（G4S）3リンカー）

GGGGSGGGGSGGGGS

（ヒトCD137L）

REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWY
SDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELR
RVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP PASS
EARN S AFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ
GATV LGLFRVTPEIPAGLPSPRSE

【0860】

7t15-21s137L中のCD137L部分がCD137（4.1BB）に結合するためにインタクトであるかを評価するために以下の実験を実施した。1日目に、96ウェルプレートをR5（コーティング緩衝液）中100 μ L（2.5 μ g/mL）のGAH IgG Fc（G-102-C、R&D Systems）で一晩コーティングした。2日目に、プレートを3回洗浄し、PBS中300 μ Lの1%BSAで、37℃で2時間ブロックした。10ng/mLの4.1BB/Fc（838-4B、R&D Systems）を100 μ L/ウェルで、室温で2時間添加した。3回洗浄した後、7t15-21s137L（ロングバージョン）もしくは7t15-21s137L（ショートバージョン）を10nMから、または組換えヒト4.1BBLを180ng/mLから、1/3希釈で添加し、その後、4℃で一晩インキュベートした。3日目に、プレートを3回洗浄し、500ng/mLのビオチン化ヤギ抗ヒト4.1BBL（BAF2295、R&D Systems）を100 μ L/ウェルで適用し、その後、室温で2時間インキュベートした。プレートを3回洗浄し、0.25 μ g/mLのHRP-SA（Jackson Immune Research）と100 μ L/ウェルで30分間インキュベートした。その後

10

20

30

40

50

、プレートを3回洗浄し、100 μ LのABTSと室温で2分間インキュベートした。結果を405 nmで読み取った。図142に示されるように、7t15-21s137L（ロングバージョン）および7t15-21s137L（ショートバージョン）はいずれも、組換えヒト4.1BBリガンド（rhCD137L、薄灰色の星）と比較して、4.1BB/Fc（濃色のひし形および灰色の四角）と相互作用することができた。7t15-21s137L（ロングバージョン）（濃色のひし形）は、7t15-21s137L（ショートバージョン）（灰色の四角）と比較して4.1BB/Fcとより良好に相互作用した。

【0861】

7t15-21s137L（ロングバージョン）中の成分IL7、IL21、IL15、および4.1BBLがELISAを使用して個々の抗体によって検出されるためにインタクトであるかを評価するために以下の実験を実施した。96ウェルプレートをR5（コーティング緩衝液）中100 μ L（4 μ g/mL）の抗TF（ヒトIgG1）でコーティングし、室温で2分間インキュベートした。プレートを3回洗浄し、PBS中100 μ Lの1%BSAでブロックした。精製した7t15-21s137L（ロングバージョン）を10 nMから1/3希釈で添加し、その後、室温で60分間インキュベートした。プレートを3回洗浄し、500 ng/mLのビオチン化抗IL7（506602、R&D Systems）、500 ng/mLのビオチン化抗IL21（13-7218-81、R&D Systems）、50 ng/mLのビオチン化抗IL15（BAM247、R&D Systems）、または500 ng/mLのビオチン化ヤギ抗ヒト4.1BBL（BAF2295、R&D Systems）を各ウェルに添加し、室温で60分間インキュベートした。プレートを3回洗浄し、0.25 μ g/mLのHRP-SA（Jackson ImmunoResearch）と100 μ L/ウェルで、室温で30分間インキュベートした。プレートを4回洗浄し、100 μ LのABTSと室温で2分間インキュベートした。吸光度結果を405 nmで読み取った。図143A~143Dに示されるように、7t15-21s137L（ロングバージョン）中のIL7、IL21、IL15、4.1BBLを含む成分を個々の抗体によって検出した。

【0862】

7t15-21s137L（ロングバージョン）および7t15-21s137L（ショートバージョン）におけるIL15の活性を評価するために以下の実験を実施した。IL2R $\alpha\beta\gamma$ 発現CTL2細胞の増殖を促進する7t15-21s137L（ロングバージョン）および7t15-21s137L（ショートバージョン）の能力を、組換えIL15の能力と比較した。IL15依存性CTL2細胞をIMDM-10%FBSで5回洗浄し、ウェルに2 $\times$ 10⁴細胞/ウェルで播種した。連続希釈した7t15-21s137L（ロングバージョン）、7t15-21s137L（ショートバージョン）、またはIL15を細胞に添加した。細胞をCO₂インキュベーター内で、37°Cで3日間インキュベートした。3日目に20 μ LのPrestoBlue（A13261、ThermoFisher）を各ウェルに添加し、CO₂インキュベーター内で、37°Cでさらに4時間インキュベートすることにより、細胞増殖を検出した。570~610 nmでの生吸光度をマイクロタイタープレートリーダーで読み取った。図144に示されるように、7t15-21s137L（ロングバージョン）、7t15-21s137L（ショートバージョン）、およびIL15は全て、CTL2細胞増殖を促進した。7t15-21s137L（ロングバージョン）、7t15-21s137L（ショートバージョン）、およびIL15のEC₅₀は、それぞれ、51.19 pM、55.75 pM、および4.947 pMである。

【0863】

他の実施形態

本発明がその発明を実施するための形態と併せて記載されているが、前述の記述は、例証するものであり、添付の特許請求の範囲によって規定される本発明の範囲を限定するようには意図されていないことを理解されたい。他の態様、利点、および修正は、以下の特

10

20

30

40

50

許請求の範囲内である。

【0864】

例示的な実施形態

実施形態 A 1.

(a) (i) 第 1 の標的結合ドメインと、

(ii) 可溶性組織因子ドメインと、

(iii) 一对の親和性ドメインの第 1 のドメインと

を含む、第 1 のキメラポリペプチド、および

(b) (i) 一对の親和性ドメインの第 2 のドメインと、

(ii) 第 2 の標的結合ドメインと

を含む、第 2 のキメラポリペプチド

を含み、前記第 1 のキメラポリペプチドと前記第 2 のキメラポリペプチドが、前記一对の親和性ドメインの前記第 1 のドメインと前記第 2 のドメインとの結合を介して会合している、多鎖キメラポリペプチド。

10

【0865】

実施形態 A 2. 前記第 1 の標的結合ドメインと前記可溶性組織因子ドメインが、前記第 1 のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、実施形態 A 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0866】

実施形態 A 3. 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記第 1 の標的結合ドメインと前記可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 A 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【0867】

実施形態 A 4. 前記可溶性組織因子ドメインと前記一对の親和性ドメインの前記第 1 のドメインが、前記第 1 のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、実施形態 A 1 ~ A 3 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0868】

実施形態 A 5. 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記可溶性組織因子ドメインと前記一对の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 A 1 ~ A 3 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【0869】

実施形態 A 6. 前記一对の親和性ドメインの前記第 2 のドメインと前記第 2 の標的結合ドメインが、前記第 2 のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、実施形態 A 1 ~ A 5 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0870】

実施形態 A 7. 前記第 2 のキメラポリペプチドが、前記第 2 のキメラポリペプチド内の前記一对の親和性ドメインの前記第 2 のドメインと前記第 2 の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 A 1 ~ A 5 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【0871】

実施形態 A 8. 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが同じ抗原に特異的に結合する、実施形態 A 1 ~ A 7 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0872】

実施形態 A 9. 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが同じエпитープに特異的に結合する、実施形態 A 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0873】

実施形態 A 10. 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが同じアミノ酸配列を含む、実施形態 A 9 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

50

【0874】

実施形態A11. 前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインが異なる抗原に特異的に結合する、実施形態A1～A7のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0875】

実施形態A12. 前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインの一方または両方が、抗原結合ドメインである、実施形態A1～A11のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0876】

実施形態A13. 前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインが各々、抗原結合ドメインである、実施形態A12に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【0877】

実施形態A14. 抗原結合ドメインが、scFvまたは単ドメイン抗体を含む、実施形態A12またはA13に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0878】

実施形態A15. 前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインの一方または両方が、CD16a、CD28、CD3、CD33、CD20、CD19、CD22、CD123、IL-1R、IL-1、VEGF、IL-6R、IL-4、IL-10、PDL-1、TIGIT、PD-1、TIM3、CTLA4、MICA、MICB、IL-6、IL-8、TNF α 、CD26a、CD36、ULBP2、CD30、CD200、IGF-1R、MUC4AC、MUC5AC、Trop-2、CMET、EGFR、HER1、HER2、HER3、PSMA、CEA、B7H3、EPCAM、BCMA、P-カドヘリン、CEACAM5、UL16結合タンパク質、HLA-DR、DLL4、TYRO3、AXL、MER、CD122、CD155、PDGFR-DD、TGF- β 受容体II(TGF- β RII)リガンド、TGF- β RIIRリガンド、DNAM-1リガンド、Nkp46リガンド、Nkp44リガンド、NKG2Dリガンド、NKP30リガンド、scMHCIRリガンド、scMHCIIリガンド、scTCRリガンド、IL-1受容体、IL-2受容体、IL-3受容体、IL-7受容体、IL-8受容体、IL-10受容体、IL-12受容体、IL-15受容体、IL-17受容体、IL-18受容体、IL-21受容体、PDGFR-DD受容体、幹細胞因子(SCF)受容体、幹細胞様チロシンキナーゼ3リガンド(FLT3L)受容体、MICA受容体、MICB受容体、ULP16結合タンパク質受容体、CD155受容体、CD122受容体、およびCD28受容体からなる群から選択される標的に特異的に結合する、実施形態A1～A14のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

30

【0879】

実施形態A16. 前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインの一方または両方が、可溶性インターロイキンまたはサイトカインタンパク質である、実施形態A1～A14のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0880】

実施形態A17. 前記可溶性インターロイキン、サイトカイン、またはリガンドタンパク質が、IL-1、IL-2、IL-3、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-15、IL-17、IL-18、IL-21、PDGFR-DD、SCF、およびFLT3Lからなる群から選択される、実施形態A16に記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【0881】

実施形態A18. 前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインの一方または両方が、可溶性インターロイキンまたはサイトカイン受容体である、実施形態A1～A14のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0882】

実施形態A19. 前記可溶性受容体が、可溶性TGF- β 受容体II(TGF- β RII)、可溶性TGF- β RIIR、可溶性NKG2D、可溶性NKP30、可溶性NKP

50

44、可溶性NKp46、可溶性DNAM-1、scMHCI、scMHCI I、scTCR、可溶性CD155、または可溶性CD28である、実施形態A18に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0883】

実施形態A20。前記第1のキメラポリペプチドが、1つ以上の追加の標的結合ドメイン（複数可）をさらに含み、前記1つ以上の追加の抗原結合ドメイン（複数可）のうちの少なくとも1つが、前記可溶性組織因子ドメインと前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間に位置付けられている、実施形態A1～A19のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0884】

実施形態A21。前記第1のキメラポリペプチドが、前記可溶性組織因子ドメインと前記1つ以上の追加の抗原結合ドメイン（複数可）のうちの前記少なくとも1つとの間にリンカー配列、および／または前記1つ以上の追加の抗原結合ドメイン（複数可）のうちの前記少なくとも1つと前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態A20に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0885】

実施形態A22。前記第1のキメラポリペプチドが、前記第1のキメラポリペプチドのN末端および／またはC末端に1つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む、実施形態A1～A19のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0886】

実施形態A23。前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインに直接隣接している、実施形態A22に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0887】

実施形態A24。前記第1のキメラポリペプチドが、前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つと前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態A22に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0888】

実施形態A25。前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記第1の標的結合ドメインに直接隣接している、実施形態A22に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0889】

実施形態A26。前記第1のキメラポリペプチドが、前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つと前記第1の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態A22に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0890】

実施形態A27。前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つが、前記第1のキメラポリペプチドのN末端および／またはC末端に配置されており、前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記可溶性組織因子ドメインと前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間に位置付けられている、実施形態A22に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0891】

実施形態A28。N末端に配置された前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つの追加の標的結合ドメインが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記第1の標的結合ドメインまたは前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインに直接隣接している、実施形態A27に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0892】

実施形態A29。前記第1のキメラポリペプチドが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記少なくとも1つの追加の標的結合ドメインと前記第1の標的結合ドメインまたは前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間に配置されたリンカー配列をさらに

10

20

30

40

50

含む、実施形態 A 2 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0893】

実施形態 A 3 0 . C 末端に配置された前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つの追加の標的結合ドメインが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記第 1 の標的結合ドメインまたは前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインに直接隣接している、実施形態 A 2 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0894】

実施形態 A 3 1 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記少なくとも 1 つの追加の標的結合ドメインと前記第 1 の標的結合ドメインまたは前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に配置されたリンカー配列をさらに含む、実施形態 A 2 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【0895】

実施形態 A 3 2 . 前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に位置付けられた前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つが、前記可溶性組織因子ドメインおよび／または前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインに直接隣接している、実施形態 A 2 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0896】

実施形態 A 3 3 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、(i) 前記可溶性組織因子ドメインと、前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に位置付けられた前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つとの間、および／または (i i) 前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインと、前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に位置付けられた前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つとの間に配置されたリンカー配列をさらに含む、実施形態 A 2 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【0897】

実施形態 A 3 4 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、前記第 2 のキメラポリペプチドの N 末端または C 末端に 1 つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む、実施形態 A 1 ~ A 3 3 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【0898】

実施形態 A 3 5 . 前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも 1 つが、前記第 2 のキメラポリペプチド内の前記一対の親和性ドメインの前記第 2 のドメインに直接隣接している、実施形態 A 3 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0899】

実施形態 A 3 6 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、前記第 2 のキメラポリペプチド内の前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも 1 つと前記一対の親和性ドメインの前記第 2 のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 A 3 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0900】

実施形態 A 3 7 . 前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも 1 つが、前記第 2 のキメラポリペプチド内の前記第 2 の標的結合ドメインに直接隣接している、実施形態 A 3 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【0901】

実施形態 A 3 8 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、前記第 2 のキメラポリペプチド内の前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも 1 つと前記第 2 の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 A 3 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0902】

実施形態 A 3 9 . 前記第 1 の標的結合ドメイン、前記第 2 の標的結合ドメイン、および

50

前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上が同じ抗原に特異的に結合する、実施形態A20～A38のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0903】

実施形態A40．前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上が同じエピトープに特異的に結合する、実施形態A39に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0904】

実施形態A41．前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上が同じアミノ酸配列を含む、実施形態A40に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【0905】

実施形態A42．前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の追加の標的結合ドメインが各々、同じ抗原に特異的に結合する、実施形態A39に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0906】

実施形態A43．前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の追加の標的結合ドメインが各々、同じエピトープに特異的に結合する、実施形態A42に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0907】

実施形態A44．前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の追加の標的結合ドメインが各々、同じアミノ酸配列を含む、実施形態A43に記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【0908】

実施形態A45．前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の追加の標的結合ドメインが異なる抗原に特異的に結合する、実施形態A20～A38のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0909】

実施形態A46．前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の標的結合ドメインのうちの1つ以上が、抗原結合ドメインである、実施形態A20～A45のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【0910】

実施形態A47．前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の追加の標的結合ドメインが各々、抗原結合ドメインである、実施形態A46に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0911】

実施形態A48．抗原結合ドメインが、s c F vを含む、実施形態A47に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0912】

実施形態A49．前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の標的結合ドメインのうちの1つ以上が、CD16a、CD28、CD3、CD33、CD20、CD19、CD22、CD123、IL-1R、IL-1、VEGF、IL-6R、IL-4、IL-10、PD-1、TIM3、CTLA4、MICA、MICB、IL-6、IL-8、TNF α 、CD26a、CD36、ULBP2、CD30、CD200、IGF-1R、MUC4AC、MUC5AC、Trop-2、CMET、EGFR、HER1、HER2、HER3、PSMA、CEA、B7H3、EPCAM、BCMA、P-カドヘリン、CEACAM5、UL16結合タンパク質、HLA-DR、DLL4、TYRO3、AXL、MER、CD122、CD155、PDGFR- β 受容体II (TGF- β RII) リガンド、TGF- β RIIリガンド、DNAM-1リガンド、NKG2Dリガンド、s c MHC Iリガンド、s c MHC II

40

50

リガンド、s c T C R リガンド、I L - 1 受容体、I L - 2 受容体、I L - 3 受容体、I L - 7 受容体、I L - 8 受容体、I L - 1 0 受容体、I L - 1 2 受容体、I L - 1 5 受容体、I L - 1 7 受容体、I L - 1 8 受容体、I L - 2 1 受容体、P D G F - D D 受容体、幹細胞因子 (S C F) 受容体、幹細胞様チロシンキナーゼ 3 リガンド (F L T 3 L) 受容体、M I C A 受容体、M I C B 受容体、U L P 1 6 結合タンパク質受容体、C D 1 5 5 受容体、C D 1 2 2 受容体、および C D 3 受容体、および C D 2 8 受容体からなる群から選択される標的に特異的に結合する、実施形態 A 2 0 ~ A 4 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 0 9 1 3 】

実施形態 A 5 0 . 前記第 1 の標的結合ドメイン、前記第 2 の標的結合ドメイン、および前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの 1 つ以上が、可溶性インターロイキンまたはサイトカインタンパク質である、実施形態 A 2 0 ~ A 4 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【 0 9 1 4 】

実施形態 A 5 1 . 前記可溶性インターロイキン、サイトカイン、またはリガンドタンパク質が、I L - 1、I L - 2、I L - 3、I L - 7、I L - 8、I L - 1 0、I L - 1 2、I L - 1 5、I L - 1 7、I L - 1 8、I L - 2 1、P D G F - D D、S C F、および F L T 3 L からなる群から選択される、実施形態 A 5 0 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 0 9 1 5 】

実施形態 A 5 2 . 前記第 1 の標的結合ドメイン、前記第 2 の標的結合ドメイン、および前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの 1 つ以上が、可溶性インターロイキンまたはサイトカイン受容体である、実施形態 A 2 0 ~ A 4 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【 0 9 1 6 】

実施形態 A 5 3 . 前記可溶性受容体が、可溶性 T G F - β 受容体 I I (T G F - β R I I)、可溶性 T G F - β R I I I、可溶性 N K G 2 D、可溶性 N K p 3 0、可溶性 N K p 4 4、可溶性 N K p 4 6、可溶性 D N A M - 1、s c M H C I、s c M H C I I、s c T C R、可溶性 C D 1 5 5、可溶性 C D 1 2 2、可溶性 C D 3、または可溶性 C D 2 8 である、実施形態 A 5 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 0 9 1 7 】

実施形態 A 5 4 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチドの N 末端または C 末端にペプチドタグをさらに含む、実施形態 A 1 ~ A 5 3 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【 0 9 1 8 】

実施形態 A 5 5 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、前記第 2 のキメラポリペプチド N 末端または C 末端にペプチドタグをさらに含む、実施形態 A 1 ~ A 5 3 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 0 9 1 9 】

実施形態 A 5 6 . 前記可溶性組織因子ドメインが、可溶性ヒト組織因子ドメインである、実施形態 A 1 ~ A 5 5 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【 0 9 2 0 】

実施形態 A 5 7 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 1 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 A 5 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 0 9 2 1 】

実施形態 A 5 8 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 1 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 A 5 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 0 9 2 2 】

実施形態 A 5 9 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 1 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 A 5 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 0 9 2 3 】

50

実施形態 A 6 0 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 2 0 位に対応するアミノ酸の位置にリジン、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 2 2 位に対応するアミノ酸の位置にイソロイシン、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 4 5 位に対応するアミノ酸の位置にトリプトファン、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 5 8 位に対応するアミノ酸の位置にアスパラギン酸、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 9 4 位に対応するアミノ酸の位置にチロシン、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 1 3 5 位に対応するアミノ酸の位置にアルギニン、および
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 1 4 0 位に対応するアミノ酸の位置にフェニルアラニンのうちの 1 つ以上を含まない、実施形態 A 5 6 ~ A 5 9 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0924】

実施形態 A 6 1 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 2 0 位に対応するアミノ酸の位置にリジン、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 2 2 位に対応するアミノ酸の位置にイソロイシン、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 4 5 位に対応するアミノ酸の位置にトリプトファン、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 5 8 位に対応するアミノ酸の位置にアスパラギン酸、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 9 4 位に対応するアミノ酸の位置にチロシン、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 1 3 5 位に対応するアミノ酸の位置にアルギニン、および
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 1 4 0 位に対応するアミノ酸の位置にフェニルアラニンのうちのいずれも含まない、実施形態 A 6 0 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0925】

実施形態 A 6 2 . 前記可溶性組織因子ドメインが、第 V I I a 因子に結合することができない、実施形態 A 1 ~ A 6 1 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0926】

実施形態 A 6 3 . 前記可溶性組織因子ドメインが、不活性第 X 因子を第 X a 因子に変換しない、実施形態 A 1 ~ A 6 2 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0927】

実施形態 A 6 4 . 前記多鎖キメラポリペプチドが、哺乳動物における血液凝固を刺激しない、実施形態 A 1 ~ A 6 3 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0928】

実施形態 A 6 5 . 前記一対の親和性ドメインが、ヒト I L - 1 5 受容体アルファ鎖 (I L 1 5 R α) 由来の s u s h i ドメインと可溶性 I L - 1 5 である、実施形態 A 1 ~ A 6 4 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0929】

実施形態 A 6 6 . 前記可溶性 I L 1 5 が、D 8 N または D 8 A アミノ酸置換を有する、実施形態 A 6 5 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0930】

10

20

30

40

50

実施形態 A 6 7 . 前記ヒト I L 1 5 R α が、成熟全長 I L 1 5 R α である、実施形態 A 6 5 または A 6 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0931】

実施形態 A 6 8 . 前記一対の親和性ドメインが、バルナーゼとバルンスター、P K A と A K A P、変異 R N a s e I 断片に基づくアダプター／ドッキングタグモジュール、ならびに、タンパク質シンタキシン、シナプトタグミン、シナプトブレビン、および S N A P 2 5 の相互作用に基づく S N A R E モジュールからなる群から選択される、実施形態 A 1 ～ A 6 4 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【0932】

実施形態 A 6 9 . 前記第 1 のキメラポリペプチドおよび／または前記第 2 のキメラポリペプチドが、その N 末端にシグナル配列をさらに含む、実施形態 A 1 ～ A 6 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【0933】

実施形態 A 7 0 . 実施形態 A 1 ～ A 6 9 に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかを含む、組成物。

【0934】

実施形態 A 7 1 . 医薬組成物である、実施形態 A 7 0 に記載の組成物。

【0935】

実施形態 A 7 2 . 実施形態 A 7 0 または A 7 1 に記載の組成物の少なくとも 1 つの用量を含む、キット。

20

【0936】

実施形態 A 7 3 . 免疫細胞を刺激する方法であって、

免疫細胞を、実施形態 A 1 ～ A 6 9 に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態 A 7 0 または A 7 1 に記載の組成物の有効量と接触させることを含む、方法。

【0937】

実施形態 A 7 4 . 前記免疫細胞をインビトロで接触させる、実施形態 A 7 3 に記載の方法。

【0938】

実施形態 A 7 5 . 前記免疫細胞が、対象から以前に得られた、実施形態 A 7 4 に記載の方法。

30

【0939】

実施形態 A 7 6 . 前記方法が、前記接触させるステップの前に、前記免疫細胞を前記対象から得ることをさらに含む、実施形態 A 7 5 に記載の方法。

【0940】

実施形態 A 7 7 . 前記免疫細胞をインビボで接触させる、実施形態 A 7 3 に記載の方法。

【0941】

実施形態 A 7 8 . 前記免疫細胞が、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブ T 細胞、多能性 T h 細胞前駆体、リンパ前駆細胞、T r e g 細胞、メモリー T 細胞、T h 1 7 細胞、T h 2 2 細胞、T h 9 細胞、T h 2 細胞、T h 1 細胞、T h 3 細胞、 $\gamma \delta$ T 細胞、 $\alpha \beta$ T 細胞、腫瘍浸潤 T 細胞、C D 8 $^{+}$ T 細胞、C D 4 $^{+}$ T 細胞、ナチュラルキラー T 細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、およびナチュラルキラー細胞からなる群から選択される、実施形態 A 7 3 ～ A 7 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

40

【0942】

実施形態 A 7 9 . 前記免疫細胞が、キメラ抗原受容体または組換え T 細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている、実施形態 A 7 3 ～ A 7 8 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0943】

実施形態 A 8 0 . 前記方法が、前記接触させるステップの後に、前記免疫細胞に、キメ

50

ラ抗原受容体または組換えT細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含む、実施形態A 73～A 78のいずれか1つに記載の方法。

【0944】

実施形態A 81．前記方法が、前記免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することをさらに含む、実施形態A 73～A 80のいずれか1つに記載の方法。

【0945】

実施形態A 82．前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態A 81に記載の方法。

【0946】

実施形態A 83．前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、膵炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態A 82に記載の方法。

10

【0947】

実施形態A 84．前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態A 81に記載の方法。

20

【0948】

実施形態A 85．前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病（CML）、急性リンパ性白血病（ALL）、骨髄異形成症候群（MDS）、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態A 84に記載の方法。

【0949】

実施形態A 86．前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態A 81に記載の方法。

30

【0950】

実施形態A 87．前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、およびC型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態A 86に記載の方法。

【0951】

実施形態A 88．免疫細胞の増殖を誘導するまたは増加させる方法であって、免疫細胞を、実施形態A 1～A 69に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態A 70またはA 71に記載の組成物の有効量と接触させることを含む、方法。

40

【0952】

実施形態A 89．前記免疫細胞をインビトロで接触させる、実施形態A 88に記載の方法。

【0953】

実施形態A 90．前記免疫細胞が、対象から以前に得られた、実施形態A 89に記載の方法。

【0954】

50

実施形態 A 9 1 . 前記方法が、前記接触させるステップの前に、前記免疫細胞を前記対象から得ることをさらに含む、実施形態 A 9 0 に記載の方法。

【0955】

実施形態 A 9 2 . 前記免疫細胞をインビボで接触させる、実施形態 A 8 8 に記載の方法。

【0956】

実施形態 A 9 3 . 前記免疫細胞が、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブ T 細胞、多能性 T h 細胞前駆体、リンパ前駆細胞、T r e g 細胞、メモリー T 細胞、T h 1 7 細胞、T h 2 2 細胞、T h 9 細胞、T h 2 細胞、T h 1 細胞、T h 3 細胞、 $\gamma \delta$ T 細胞、 $\alpha \beta$ T 細胞、腫瘍浸潤 T 細胞、C D 8 ⁺ T 細胞、C D 4 ⁺ T 細胞、ナチュラルキラー T 細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、およびナチュラルキラー細胞からなる群から選択される、実施形態 A 8 8 ~ A 9 2 のいずれか 1 つに記載の方法。

10

【0957】

実施形態 A 9 4 . 前記免疫細胞が、キメラ抗原受容体または組換え T 細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている、実施形態 A 8 8 ~ A 9 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0958】

実施形態 A 9 5 . 前記方法が、前記接触させるステップの後に、前記免疫細胞に、キメラ抗原受容体または組換え T 細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含む、実施形態 A 8 8 ~ A 9 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

20

【0959】

実施形態 A 9 6 . 前記方法が、前記免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することをさらに含む、実施形態 A 8 8 ~ A 9 5 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0960】

実施形態 A 9 7 . 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態 A 9 6 に記載の方法。

【0961】

実施形態 A 9 8 . 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2 型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、C O P D、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、N A F L D、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態 A 9 7 に記載の方法。

30

【0962】

実施形態 A 9 9 . 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態 A 9 6 に記載の方法。

【0963】

実施形態 A 1 0 0 . 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B 細胞新生物、多発性骨髄腫、B 細胞リンパ腫、B 細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病 (C L L)、急性骨髄性白血病 (A M L)、慢性骨髄性白血病 (C M L)、急性リンパ性白血病 (A L L)、骨髄異形成症候群 (M D S)、皮膚 T 細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態 A 9 9 に記載の方法。

40

【0964】

実施形態 A 1 0 1 . 前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態 A 9 6 に記載の方法。

50

【0965】

実施形態A102. 前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、およびC型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態A96に記載の方法。

【0966】

実施形態A103. 免疫細胞のメモリーまたはメモリー様免疫細胞への分化を誘導する方法であって、

免疫細胞を、実施形態A1～A69に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態A70またはA71に記載の組成物の有効量と接触させることを含む、方法。

【0967】

実施形態A104. 前記免疫細胞をインビトロで接触させる、実施形態A103に記載の方法。

【0968】

実施形態A105. 前記免疫細胞が、対象から以前に得られた、実施形態A104に記載の方法。

【0969】

実施形態A106. 前記方法が、前記接触させるステップの前に、前記免疫細胞を前記対象から得ることをさらに含む、実施形態A105に記載の方法。

【0970】

実施形態A107. 前記免疫細胞をインビボで接触させる、実施形態A103に記載の方法。

【0971】

実施形態A108. 前記免疫細胞が、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブT細胞、多能性Th細胞前駆体、リンパ前駆細胞、Treg細胞、Th17細胞、Th22細胞、Th9細胞、Th2細胞、Th1細胞、Th3細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、 $\alpha\beta$ T細胞、腫瘍浸潤T細胞、CD8+ T細胞、CD4+ T細胞、ナチュラルキラーT細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、およびナチュラルキラー細胞からなる群から選択される、実施形態A103～A107のいずれか1つに記載の方法。

【0972】

実施形態A109. 前記免疫細胞が、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている、実施形態A103～A108のいずれか1つに記載の方法。

【0973】

実施形態A110. 前記方法が、前記接触させるステップの後に、前記免疫細胞に、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含む、実施形態A103～A108のいずれか1つに記載の方法。

【0974】

実施形態A111. 前記方法が、前記免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することをさらに含む、実施形態A103～A110のいずれか1つに記載の方法。

【0975】

実施形態A112. 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態A111に記載の方法。

【0976】

実施形態A113. 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リボジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量

10

20

30

40

50

喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態 A 1 1 2 に記載の方法。

【0977】

実施形態 A 1 1 4 . 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態 A 1 1 1 に記載の方法。

【0978】

実施形態 A 1 1 5 . 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B 細胞新生物、多発性骨髄腫、B 細胞リンパ腫、B 細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病 (CLL)、急性骨髄性白血病 (AML)、慢性骨髄性白血病 (CML)、急性リンパ性白血病 (ALL)、骨髄異形成症候群 (MDS)、皮膚 T 細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態 A 1 1 4 に記載の方法。

【0979】

実施形態 A 1 1 6 . 前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態 A 1 1 1 に記載の方法。

【0980】

実施形態 A 1 1 7 . 前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B 型肝炎ウイルス、A 型肝炎ウイルス、および C 型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態 A 1 1 6 に記載の方法。

【0981】

実施形態 A 1 1 8 . がん細胞、感染細胞、または老化細胞の死滅を必要とする対象におけるがん細胞、感染細胞、または老化細胞を死滅させる方法であって、前記対象に、実施形態 A 1 ~ A 6 9 に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態 A 7 0 または A 7 1 に記載の組成物の治療有効量を投与することを含む、方法。

【0982】

実施形態 A 1 1 9 . 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態 A 1 1 8 に記載の方法。

【0983】

実施形態 A 1 2 0 . 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B 細胞新生物、多発性骨髄腫、B 細胞リンパ腫、B 細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病 (CLL)、急性骨髄性白血病 (AML)、慢性骨髄性白血病 (CML)、急性リンパ性白血病 (ALL)、骨髄異形成症候群 (MDS)、皮膚 T 細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態 A 1 1 9 に記載の方法。

【0984】

実施形態 A 1 2 1 . 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態 A 1 1 8 に記載の方法。

【0985】

実施形態 A 1 2 2 . 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、膵炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2 型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量

10

20

30

40

50

喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態 A 1 2 1 に記載の方法。

【0986】

実施形態 A 1 2 3 . 治療を必要とする対象を治療する方法であって、前記対象に、実施形態 A 1 ~ A 6 9 に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態 A 7 0 または A 7 1 に記載の組成物の治療有効量を投与することを含む、方法。

【0987】

実施形態 A 1 2 4 . 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態 A 1 2 3 に記載の方法。

【0988】

実施形態 A 1 2 5 . 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病 (CLL)、急性骨髄性白血病 (AML)、慢性骨髄性白血病 (CML)、急性リンパ性白血病 (ALL)、骨髄異形成症候群 (MDS)、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態 A 1 2 4 に記載の方法。

【0989】

実施形態 A 1 2 6 . 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態 A 1 2 3 に記載の方法。

【0990】

実施形態 A 1 2 7 . 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リボジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態 A 1 2 6 に記載の方法。

【0991】

実施形態 A 1 2 8 . 前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態 A 1 2 3 に記載の方法。

【0992】

実施形態 A 1 2 9 . 前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、およびC型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態 A 1 2 8 に記載の方法。

【0993】

実施形態 A 1 3 0 . 実施形態 A 1 ~ A 6 9 のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかをコードする、核酸。

【0994】

実施形態 A 1 3 1 . 実施形態 A 1 3 0 に記載の核酸を含む、ベクター。

【0995】

実施形態 A 1 3 2 . 前記ベクターが、発現ベクターである、実施形態 A 1 3 1 に記載のベクター。

【0996】

10

20

30

40

50

実施形態 A 1 3 3 . 実施形態 A 1 3 0 に記載の核酸または実施形態 A 1 3 1 または A 1 3 2 に記載のベクターを含む、細胞。

【 0 9 9 7 】

実施形態 A 1 3 4 . 多鎖キメラポリペプチドを産生する方法であって、
前記多鎖キメラポリペプチドの産生をもたらすのに十分な条件下で、実施形態 A 1 3 3 に記載の細胞を培養培地中で培養すること、ならびに

前記多鎖キメラポリペプチドを前記細胞および／または前記培養培地から回収することを含む、方法。

【 0 9 9 8 】

実施形態 A 1 3 5 . 実施形態 A 1 3 4 に記載の方法によって産生された多鎖キメラポリペプチド。

【 0 9 9 9 】

実施形態 A 1 3 6 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 3 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 A 5 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 0 0 0 】

実施形態 A 1 3 7 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 3 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 A 1 3 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 0 0 1 】

実施形態 A 1 3 8 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 3 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 A 1 3 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 0 0 2 】

実施形態 A 1 3 9 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 3 と 1 0 0 % 同一の配列を含む、実施形態 A 1 3 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 0 0 3 】

実施形態 A 1 4 0 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 4 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 A 5 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 0 0 4 】

実施形態 A 1 4 1 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 4 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 A 1 4 0 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 0 0 5 】

実施形態 A 1 4 2 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 4 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 A 1 4 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 0 0 6 】

実施形態 A 1 4 3 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 4 と 1 0 0 % 同一の配列を含む、実施形態 A 1 4 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 0 0 7 】

実施形態 A 1 4 4 . 前記ヒト可溶性組織因子ドメインが凝固を開始しない、実施形態 5 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 0 0 8 】

実施形態 A 1 4 5 . 前記可溶性組織因子ドメインが、野生型可溶性ヒト組織因子由来の配列を含むか、またはそれからなる、請求項 1 ～ 5 9 のいずれか 1 項に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 0 0 9 】

B . 例示的な実施形態

実施形態 B 1 .

(a) (i) 第 1 の標的結合ドメインと、

(i i) 可溶性組織因子ドメインと、

(i i i) 一対の親和性ドメインの第 1 のドメインと
を含む、第 1 のキメラポリペプチド、および

(b) (i) 一対の親和性ドメインの第 2 のドメインと、

10

20

30

40

50

(i i) 第 2 の 標 的 結 合 ド メ イ ン と
を 含 む 、 第 2 の キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド
を 含 む 、

前 記 第 1 の キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド と 前 記 第 2 の キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド が 、 前 記 一 対 の 親 和 性 ド
メ イ ン の 前 記 第 1 の ド メ イ ン と 前 記 第 2 の ド メ イ ン と の 結 合 を 介 し て 会 合 し て お り 、

前 記 第 1 の 標 的 結 合 ド メ イ ン お よ び 前 記 第 2 の 標 的 結 合 ド メ イ ン が 各 々 独 立 し て 、 I L
ー 1 8 受 容 体 ま た は I L ー 1 2 受 容 体 に 特 異 的 に 結 合 す る 、
多 鎖 キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド 。

【 1 0 1 0 】

実 施 形 態 B 2 ． 前 記 第 1 の 標 的 結 合 ド メ イ ン と 前 記 可 溶 性 組 織 因 子 ド メ イ ン が 、 前 記 第
1 の キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド 内 で 互 い に 直 接 隣 接 し て い る 、 実 施 形 態 B 1 に 記 載 の 多 鎖 キ メ ラ
ポ リ ペ プ チ ド 。

【 1 0 1 1 】

実 施 形 態 B 3 ． 前 記 第 1 の キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド が 、 前 記 第 1 の キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド 内 の
前 記 第 1 の 標 的 結 合 ド メ イ ン と 前 記 可 溶 性 組 織 因 子 ド メ イ ン と の 間 に リ ン カ ー 配 列 を さ ら
に 含 む 、 実 施 形 態 B 1 に 記 載 の 多 鎖 キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド 。

【 1 0 1 2 】

実 施 形 態 B 4 ． 前 記 可 溶 性 組 織 因 子 ド メ イ ン と 前 記 一 対 の 親 和 性 ド メ イ ン の 前 記 第 1 の
ド メ イ ン が 、 前 記 第 1 の キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド 内 で 互 い に 直 接 隣 接 し て い る 、 実 施 形 態 B 1
～ B 3 の い ず れ か 1 つ に 記 載 の 多 鎖 キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド 。

【 1 0 1 3 】

実 施 形 態 B 5 ． 前 記 第 1 の キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド が 、 前 記 第 1 の キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド 内 の
前 記 可 溶 性 組 織 因 子 ド メ イ ン と 前 記 一 対 の 親 和 性 ド メ イ ン の 前 記 第 1 の ド メ イ ン と の 間 に
リ ン カ ー 配 列 を さ ら に 含 む 、 実 施 形 態 B 1 ～ B 3 の い ず れ か 1 つ に 記 載 の 多 鎖 キ メ ラ ポ リ
ペ プ チ ド 。

【 1 0 1 4 】

実 施 形 態 B 6 ． 前 記 一 対 の 親 和 性 ド メ イ ン の 前 記 第 2 の ド メ イ ン と 前 記 第 2 の 標 的 結 合
ド メ イ ン が 、 前 記 第 2 の キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド 内 で 互 い に 直 接 隣 接 し て い る 、 実 施 形 態 B 1
～ B 5 の い ず れ か 1 つ に 記 載 の 多 鎖 キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド 。

【 1 0 1 5 】

実 施 形 態 B 7 ． 前 記 第 2 の キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド が 、 前 記 第 2 の キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド 内 の
前 記 一 対 の 親 和 性 ド メ イ ン の 前 記 第 2 の ド メ イ ン と 前 記 第 2 の 標 的 結 合 ド メ イ ン と の 間 に
リ ン カ ー 配 列 を さ ら に 含 む 、 実 施 形 態 B 1 ～ B 5 の い ず れ か 1 つ に 記 載 の 多 鎖 キ メ ラ ポ リ
ペ プ チ ド 。

【 1 0 1 6 】

実 施 形 態 B 8 ． 前 記 可 溶 性 組 織 因 子 ド メ イ ン が 、 可 溶 性 ヒ ト 組 織 因 子 ド メ イ ン で あ る 、
実 施 形 態 B 1 ～ B 7 の い ず れ か 1 つ に 記 載 の 多 鎖 キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド 。

【 1 0 1 7 】

実 施 形 態 B 9 ． 前 記 可 溶 性 ヒ ト 組 織 因 子 ド メ イ ン が 、 配 列 番 号 1 と 少 なく とも 8 0 % 同
一 の 配 列 を 含 む 、 実 施 形 態 B 8 に 記 載 の 多 鎖 キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド 。

【 1 0 1 8 】

実 施 形 態 B 1 0 ． 前 記 可 溶 性 ヒ ト 組 織 因 子 ド メ イ ン が 、 配 列 番 号 1 と 少 なく とも 9 0 %
同 一 の 配 列 を 含 む 、 実 施 形 態 B 9 に 記 載 の 多 鎖 キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド 。

【 1 0 1 9 】

実 施 形 態 B 1 1 ． 前 記 可 溶 性 ヒ ト 組 織 因 子 ド メ イ ン が 、 配 列 番 号 1 と 少 なく とも 9 5 %
同 一 の 配 列 を 含 む 、 実 施 形 態 B 1 0 に 記 載 の 多 鎖 キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド 。

【 1 0 2 0 】

実 施 形 態 B 1 2 ． 前 記 可 溶 性 ヒ ト 組 織 因 子 ド メ イ ン が 、
成 熟 野 生 型 ヒ ト 組 織 因 子 タ ン パ ク 質 の ア ミ ノ 酸 2 0 位 に 対 応 す る ア ミ ノ 酸 の 位 置 に リ ジ
ン 、

10

20

30

40

50

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 22 位に対応するアミノ酸の位置にイソロイシン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 45 位に対応するアミノ酸の位置にトリプトファン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 58 位に対応するアミノ酸の位置にアスパラギン酸、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 94 位に対応するアミノ酸の位置にチロシン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 135 位に対応するアミノ酸の位置にアルギニン、および

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 140 位に対応するアミノ酸の位置にフェニルアラニンのうちの 1 つ以上を含まない、実施形態 B8～B11 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1021】

実施形態 B13．前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 20 位に対応するアミノ酸の位置にリジン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 22 位に対応するアミノ酸の位置にイソロイシン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 45 位に対応するアミノ酸の位置にトリプトファン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 58 位に対応するアミノ酸の位置にアスパラギン酸、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 94 位に対応するアミノ酸の位置にチロシン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 135 位に対応するアミノ酸の位置にアルギニン、および

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 140 位に対応するアミノ酸の位置にフェニルアラニンのうちのいずれも含まない、実施形態 B12 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1022】

実施形態 B14．前記可溶性組織因子ドメインが、第 VII a 因子に結合することができない、実施形態 B1～B13 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1023】

実施形態 B15．前記可溶性組織因子ドメインが、不活性第 X 因子を第 X a 因子に変換しない、実施形態 B1～B14 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1024】

実施形態 B16．前記多鎖キメラポリペプチドが、哺乳動物における凝固を刺激しない、実施形態 B1～B15 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1025】

実施形態 B17．前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチドの N 末端または C 末端にペプチドタグをさらに含む、実施形態 B1～B16 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1026】

実施形態 B18．前記第 2 のキメラポリペプチドが、前記第 2 のキメラポリペプチド N 末端または C 末端にペプチドタグをさらに含む、実施形態 B1～B17 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1027】

実施形態 B19．前記第 1 のキメラポリペプチドおよび／または前記第 2 のキメラポリペプチドが、その N 末端にシグナル配列をさらに含む、実施形態 B1～18 のいずれか 1

10

20

30

40

50

つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1028】

実施形態B20．前記シグナル配列が、配列番号31を含む、実施形態B19に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1029】

実施形態B21．前記シグナル配列が、配列番号31である、実施形態B20に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1030】

実施形態B22．前記一対の親和性ドメインが、ヒトIL-15受容体アルファ鎖（IL15R α ）由来のsushidメインと可溶性IL-15である、実施形態B1～B21のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1031】

実施形態B23．前記可溶性IL-15が、D8NまたはD8Aアミノ酸置換を有する、実施形態B22に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1032】

実施形態B24．前記可溶性IL-15が、配列番号14と80%同一の配列を含む、実施形態B22に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1033】

実施形態B25．前記可溶性IL-15が、配列番号14と90%同一の配列を含む、実施形態B24に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1034】

実施形態B26．前記可溶性IL-15が、配列番号14と95%同一の配列を含む、実施形態B25に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1035】

実施形態B27．前記可溶性IL-15が、配列番号14を含む、実施形態B26に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1036】

実施形態B28．IL15R α の前記sushidメインが、ヒトIL15R α 由来のsushidメインを含む、実施形態B22～B27のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1037】

実施形態B29．ヒトIL15R α 由来の前記sushidメインが、配列番号28と80%同一の配列を含む、実施形態B28に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1038】

実施形態B30．ヒトIL15R α 由来の前記sushidメインが、配列番号28と90%同一の配列を含む、実施形態B29に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1039】

実施形態B31．ヒトIL15R α 由来の前記sushidメインが、配列番号28と95%同一の配列を含む、実施形態B30に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1040】

実施形態B32．ヒトIL15R α 由来の前記sushidメインが、配列番号28を含む、実施形態B31に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1041】

実施形態B33．ヒトIL15R α 由来の前記sushidメインが、成熟全長IL15R α である、実施形態B28に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1042】

実施形態B34．前記一対の親和性ドメインが、バルナーゼとバルンスター、PKAとAKAP、変異RNase I断片に基づくアダプター／ドッキングタグモジュール、ならびに、タンパク質シンタキシン、シナプトタグミン、シナプトブレビン、およびSNAP25の相互作用に基づくSNAREモジュールからなる群から選択される、実施形態B

10

20

30

40

50

1 ～ B 2 1 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1043】

実施形態 B 3 5 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインの一方または両方が、アゴニスト抗原結合ドメインである、実施形態 B 1 ～ B 3 4 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1044】

実施形態 B 3 6 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが各々、アゴニスト抗原結合ドメインである、実施形態 B 3 5 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1045】

実施形態 B 3 7 . 抗原結合ドメインが、s c F v または単ドメイン抗体を含む、実施形態 B 3 5 または B 3 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1046】

実施形態 B 3 8 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインの一方または両方が、可溶性 I L - 1 5 または可溶性 I L - 1 8 である、実施形態 B 1 ～ B 3 4 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1047】

実施形態 B 3 9 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが各々独立して、可溶性 I L - 1 5 または可溶性 I L - 1 8 である、実施形態 B 3 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1048】

実施形態 B 4 0 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインの両方が、I L - 1 8 受容体または I L - 1 2 受容体に特異的に結合する、実施形態 B 1 ～ B 3 9 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1049】

実施形態 B 4 1 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが同じエピトープに特異的に結合する、実施形態 B 4 0 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1050】

実施形態 B 4 2 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが同じアミノ酸配列を含む、実施形態 B 4 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1051】

実施形態 B 4 3 . 前記第 1 の標的結合ドメインが I L - 1 2 受容体に特異的に結合し、前記第 2 の標的結合ドメインが I L - 1 8 受容体に特異的に結合する、実施形態 B 1 ～ B 3 9 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1052】

実施形態 B 4 4 . 前記第 1 の標的結合ドメインが I L - 1 8 受容体に特異的に結合し、前記第 2 の標的結合ドメインが I L - 1 2 受容体に特異的に結合する、実施形態 B 1 ～ B 3 9 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1053】

実施形態 B 4 5 . 前記第 1 の標的結合ドメインが、可溶性 I L - 1 8 を含む、実施形態 B 4 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1054】

実施形態 B 4 6 . 前記可溶性 I L - 1 8 が、可溶性ヒト I L - 1 8 である、実施形態 B 4 5 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1055】

実施形態 B 4 7 . 前記可溶性ヒト I L - 1 8 が、配列番号 1 6 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 B 4 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1056】

実施形態 B 4 8 . 前記可溶性ヒト I L - 1 8 が、配列番号 1 6 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 B 4 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

20

30

40

50

【1057】

実施形態B49. 前記可溶性ヒトIL-18が、配列番号16と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態B48に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1058】

実施形態B50. 前記可溶性ヒトIL-18が、配列番号16の配列を含む、実施形態B49に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1059】

実施形態B51. 前記第2の標的結合ドメインが、可溶性IL-12を含む、実施形態B44～B50のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1060】

実施形態B52. 前記可溶性IL-18が、可溶性ヒトIL-12である、実施形態B51に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1061】

実施形態B53. 前記可溶性ヒトIL-15が、可溶性ヒトIL-12β (p40) 配列および可溶性ヒトIL-12α (p35) 配列を含む、実施形態B52に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1062】

実施形態B54. 前記可溶性ヒトIL-15が、前記可溶性IL-12β (p40) 配列と前記可溶性ヒトIL-12α (p35) 配列との間にリンカー配列をさらに含む、実施形態B53に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1063】

実施形態B55. 前記リンカー配列が、配列番号7を含む、実施形態B54に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1064】

実施形態B56. 前記可溶性ヒトIL-12β (p40) 配列が、配列番号66と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態B53～B55のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1065】

実施形態B57. 前記可溶性ヒトIL-12β (p40) 配列が、配列番号66と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態B56に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1066】

実施形態B58. 前記可溶性ヒトIL-12β (p40) 配列が、配列番号66と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態B57に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1067】

実施形態B59. 前記可溶性ヒトIL-12β (p40) 配列が、配列番号66を含む、実施形態B58に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1068】

実施形態B60. 前記可溶性ヒトIL-12α (p35) 配列が、配列番号68と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態B53～B59のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1069】

実施形態B61. 前記可溶性ヒトIL-12α (p35) 配列が、配列番号68と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態B60に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1070】

実施形態B62. 前記可溶性ヒトIL-12α (p35) 配列が、配列番号68と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態B61に記載のミュール鎖キメラポリペプチド。

【1071】

実施形態B63. 前記可溶性ヒトIL-12α (p35) 配列が、配列番号68を含む、実施形態B62に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1072】

10

20

30

40

50

実施形態 B 6 4 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 7 0 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 B 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 0 7 3】

実施形態 B 6 5 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 7 0 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 B 6 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 0 7 4】

実施形態 B 6 6 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 7 0 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 B 6 5 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 0 7 5】

実施形態 B 6 7 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 7 0 を含む、実施形態 B 6 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【1 0 7 6】

実施形態 B 6 8 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 7 2 を含む、実施形態 B 6 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 0 7 7】

実施形態 B 6 9 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 7 4 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 B 1 および B 6 4 ~ B 6 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 0 7 8】

実施形態 B 7 0 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 7 4 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 B 6 9 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【1 0 7 9】

実施形態 B 7 1 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 7 4 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 B 7 0 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 0 8 0】

実施形態 B 7 2 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 7 4 を含む、実施形態 B 7 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 0 8 1】

実施形態 B 7 3 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 7 4 を含む、実施形態 B 7 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【1 0 8 2】

実施形態 B 7 4 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、1 つ以上の追加の標的結合ドメイン（複数可）をさらに含み、前記 1 つ以上の追加の抗原結合ドメイン（複数可）のうちの少なくとも 1 つが、前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に位置付けられている、実施形態 B 1 ~ B 6 3 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 0 8 3】

実施形態 B 7 5 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記可溶性組織因子ドメインと前記 1 つ以上の追加の抗原結合ドメイン（複数可）のうちの前記少なくとも 1 つとの間にリンカー配列、および／または前記 1 つ以上の追加の抗原結合ドメイン（複数可）のうちの前記少なくとも 1 つと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 B 7 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【1 0 8 4】

実施形態 B 7 6 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチドの N 末端および／または C 末端に 1 つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む、実施形態 B 1 ~ B 6 3 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 0 8 5】

実施形態 B 7 7 . 前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも 1 つが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインに直接隣接している、実施形態 B 7 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

50

【1086】

実施形態 B 7 8 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 B 7 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1087】

実施形態 B 7 9 . 前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記第 1 の標的結合ドメインに直接隣接している、実施形態 B 7 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1088】

実施形態 B 8 0 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つと前記第 1 の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 B 7 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【1089】

実施形態 B 8 1 . 前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも 1 つが、前記第 1 のキメラポリペプチドの N 末端および／または C 末端に配置されており、前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも 1 つが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に位置付けられている、実施形態 B 7 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1090】

実施形態 B 8 2 . N 末端に配置された前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つの追加の標的結合ドメインが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記第 1 の標的結合ドメインまたは前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインに直接隣接している、実施形態 B 8 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【1091】

実施形態 B 8 3 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記少なくとも 1 つの追加の標的結合ドメインと前記第 1 の標的結合ドメインまたは前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に配置されたリンカー配列をさらに含む、実施形態 B 8 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1092】

実施形態 B 8 4 . C 末端に配置された前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つの追加の標的結合ドメインが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記第 1 の標的結合ドメインまたは前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインに直接隣接している、実施形態 B 8 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【1093】

実施形態 B 8 5 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記少なくとも 1 つの追加の標的結合ドメインと前記第 1 の標的結合ドメインまたは前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に配置されたリンカー配列をさらに含む、実施形態 B 8 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1094】

実施形態 B 8 6 . 前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に位置付けられた前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つが、前記可溶性組織因子ドメインおよび／または前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインに直接隣接している、実施形態 B 8 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【1095】

実施形態 B 8 7 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、(i) 前記可溶性組織因子ドメインと、前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に位置付けられた前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つとの間、および／または (i i) 前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインと、前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に

50

位置付けられた前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つとの間に配置されたリンカー配列をさらに含む、実施形態B81に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1096】

実施形態B88．前記第2のキメラポリペプチドが、前記第2のキメラポリペプチドのN末端またはC末端に1つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む、実施形態B1～B63およびB74～B87のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1097】

実施形態B89．前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つが、前記第2のキメラポリペプチド内の前記一対の親和性ドメインの前記第2のドメインに直接隣接している、実施形態B88に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【1098】

実施形態B90．前記第2のキメラポリペプチドが、前記第2のキメラポリペプチド内の前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つと前記一対の親和性ドメインの前記第2のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態B88に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1099】

実施形態B91．前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つが、前記第2のキメラポリペプチド内の前記第2の標的結合ドメインに直接隣接している、実施形態B88に記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【1100】

実施形態B92．前記第2のキメラポリペプチドが、前記第2のキメラポリペプチド内の前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つと前記第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態B88に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1101】

実施形態B93．前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上が同じ抗原に特異的に結合する、実施形態B74～B92のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1102】

実施形態B94．前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上が同じエピトープに特異的に結合する、実施形態B93に記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【1103】

実施形態B95．前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上が同じアミノ酸配列を含む、実施形態B94に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1104】

実施形態B96．前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の追加の標的結合ドメインが異なる抗原に特異的に結合する、実施形態B74～B92のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【1105】

実施形態B97．前記1つ以上の追加の抗原結合ドメインが、CD16a、CD28、CD3、CD33、CD20、CD19、CD22、CD123、IL-1R、IL-1、VEGF、IL-6R、IL-4、IL-10、PDL-1、TIGIT、PD-1、TIM3、CTLA4、MICA、MICB、IL-6、IL-8、TNF α 、CD26a、CD36、ULBP2、CD30、CD200、IGF-1R、MUC4AC、MUC5AC、Trop-2、CMET、EGFR、HER1、HER2、HER3、PSMA、CEA、B7H3、EPCAM、BCMA、P-カドヘリン、CEACAM5、UL16結合タンパク質、HLA-DR、DLL4、TYRO3、AXL、MER、CD12

50

2、CD155、PDGF-DD、TGF- β 受容体II(TGF- β RII)リガンド、TGF- β RIIIリガンド、DNAM-1リガンド、NKp46リガンド、NKp44リガンド、NKG2Dリガンド、NKP30リガンド、scMHC Iリガンド、scMHC IIリガンド、scTCRリガンド、IL-1受容体、IL-2受容体、IL-3受容体、IL-7受容体、IL-8受容体、IL-10受容体、IL-12受容体、IL-15受容体、IL-17受容体、IL-18受容体、IL-21受容体、PDGF-DD受容体、幹細胞因子(SCF)受容体、幹細胞様チロシンキナーゼ3リガンド(FLT3L)受容体、MICA受容体、MICB受容体、ULP16結合タンパク質受容体、CD155受容体、およびCD28受容体からなる群から選択される標的に特異的に結合する、実施形態B74~B96のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【1106】

実施形態B98. 前記1つ以上の追加の標的結合ドメインが、可溶性インターロイキンまたはサイトカインタンパク質である、実施形態B74~B96のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1107】

実施形態B99. 前記可溶性インターロイキン、サイトカイン、またはリガンドタンパク質が、IL-1、IL-2、IL-3、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-15、IL-17、IL-18、IL-21、PDGF-DD、SCF、およびFLT3Lからなる群から選択される、実施形態B98に記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【1108】

実施形態B100. 前記1つ以上の追加の標的結合ドメインが、可溶性インターロイキンまたはサイトカイン受容体である、実施形態B74~B96のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1109】

実施形態B101. 前記可溶性受容体が、可溶性TGF- β 受容体II(TGF- β RII)、可溶性TGF- β RIII、可溶性NKG2D、可溶性NKp30、可溶性NKp44、可溶性NKp46、可溶性DNAM-1、scMHC I、scMHC II、scTCR、可溶性CD155、可溶性CD122、または可溶性CD28である、実施形態B100に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1110】

実施形態B102. 実施形態B1~B101に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかを含む、組成物。

30

【1111】

実施形態B103. 医薬組成物である、実施形態B102に記載の組成物。

【1112】

実施形態B104. 実施形態B102またはB103に記載の組成物の少なくとも1つの用量を含む、キット。

【1113】

実施形態B105. 免疫細胞を刺激する方法であって、

免疫細胞を、実施形態B1~B101に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態B102またはB103に記載の組成物の有効量と接触させることを含む、方法。

40

【1114】

実施形態B106. 前記免疫細胞をインビトロで接触させる、実施形態B105に記載の方法。

【1115】

実施形態B107. 前記免疫細胞が、対象から以前に得られた、実施形態B106に記載の方法。

【1116】

実施形態B108. 前記方法が、前記接触させるステップの前に、前記免疫細胞を前記

50

対象から得ることをさらに含む、実施形態 B 1 0 7 に記載の方法。

【1117】

実施形態 B 1 0 9 . 前記免疫細胞をインビボで接触させる、実施形態 B 1 0 5 に記載の方法。

【1118】

実施形態 B 1 1 0 . 前記免疫細胞が、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブ T 細胞、多能性 T h 細胞前駆体、リンパ前駆細胞、T r e g 細胞、メモリー T 細胞、T h 1 7 細胞、T h 2 2 細胞、T h 9 細胞、T h 2 細胞、T h 1 細胞、T h 3 細胞、 $\gamma \delta$ T 細胞、 $\alpha \beta$ T 細胞、腫瘍浸潤 T 細胞、C D 8 ⁺ T 細胞、C D 4 ⁺ T 細胞、ナチュラルキラー T 細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、およびナチュラルキラー細胞からなる群から選択される、実施形態 B 1 0 5 ~ B 1 0 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

10

【1119】

実施形態 B 1 1 1 . 前記免疫細胞が、キメラ抗原受容体または組換え T 細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている、実施形態 B 1 0 5 ~ B 1 1 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

【1120】

実施形態 B 1 1 2 . 前記方法が、前記接触させるステップの後に、前記免疫細胞に、キメラ抗原受容体または組換え T 細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含む、実施形態 B 1 0 5 ~ B 1 1 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

20

【1121】

実施形態 B 1 1 3 . 前記方法が、前記免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することをさらに含む、実施形態 B 1 0 5 ~ B 1 1 2 のいずれか 1 つに記載の方法。

【1122】

実施形態 B 1 1 4 . 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態 B 1 1 3 に記載の方法。

【1123】

実施形態 B 1 1 5 . 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2 型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、C O P D、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、N A F L D、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態 B 1 1 4 に記載の方法。

30

【1124】

実施形態 B 1 1 6 . 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態 B 1 1 3 に記載の方法。

【1125】

実施形態 B 1 1 7 . 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B 細胞新生物、多発性骨髄腫、B 細胞リンパ腫、B 細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病 (C L L)、急性骨髄性白血病 (A M L)、慢性骨髄性白血病 (C M L)、急性リンパ性白血病 (A L L)、骨髄異形成症候群 (M D S)、皮膚 T 細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態 B 1 1 6 に記載の方法。

40

【1126】

実施形態 B 1 1 8 . 前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態 B 1 1 3 に記載の方法。

50

【1127】

実施形態B119. 前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、およびC型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態B118に記載の方法。

【1128】

実施形態B120. 免疫細胞の増殖を誘導するまたは増加させる方法であって、免疫細胞を、実施形態B1～B101に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態B102またはB103に記載の組成物の有効量と接触させることを含む、方法。

10

【1129】

実施形態B121. 前記免疫細胞をインビトロで接触させる、実施形態B120に記載の方法。

【1130】

実施形態B122. 前記免疫細胞が、対象から以前に得られた、実施形態B121に記載の方法。

【1131】

実施形態B123. 前記方法が、前記接触させるステップの前に、前記免疫細胞を前記対象から得ることをさらに含む、実施形態B122に記載の方法。

20

【1132】

実施形態B124. 前記免疫細胞をインビボで接触させる、実施形態B120に記載の方法。

【1133】

実施形態B125. 前記免疫細胞が、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブT細胞、多能性Th細胞前駆体、リンパ前駆細胞、Treg細胞、メモリーT細胞、Th17細胞、Th22細胞、Th9細胞、Th2細胞、Th1細胞、Th3細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、 $\alpha\beta$ T細胞、腫瘍浸潤T細胞、CD8+ T細胞、CD4+ T細胞、ナチュラルキラーT細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、およびナチュラルキラー細胞からなる群から選択される、実施形態B120～B124のいずれか1つに記載の方法。

30

【1134】

実施形態B126. 前記免疫細胞が、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている、実施形態B120～B125のいずれか1つに記載の方法。

【1135】

実施形態B127. 前記方法が、前記接触させるステップの後に、前記免疫細胞に、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含む、実施形態B120～B125のいずれか1つに記載の方法。

【1136】

実施形態B128. 前記方法が、前記免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することをさらに含む、実施形態B120～B127のいずれか1つに記載の方法。

40

【1137】

実施形態B129. 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態B128に記載の方法。

【1138】

実施形態B130. 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リボジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量

50

喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態B129に記載の方法。

【1139】

実施形態B131. 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態B128に記載の方法。

【1140】

実施形態B132. 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病(CLL)、急性骨髄性白血病(AML)、慢性骨髄性白血病(CML)、急性リンパ性白血病(ALL)、骨髄異形成症候群(MDS)、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態B131に記載の方法。

【1141】

実施形態B133. 前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態B128に記載の方法。

【1142】

実施形態B134. 前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、およびC型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態B128に記載の方法。

【1143】

実施形態B135. 免疫細胞のメモリーまたはメモリー様免疫細胞への分化を誘導する方法であって、

免疫細胞を、実施形態B1～B101に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態B102またはB103に記載の組成物の有効量と接触させることを含む、方法。

【1144】

実施形態B136. 前記免疫細胞をインビトロで接触させる、実施形態B135に記載の方法。

【1145】

実施形態B137. 前記免疫細胞が、対象から以前に得られた、実施形態B136に記載の方法。

【1146】

実施形態B138. 前記方法が、前記接触させるステップの前に、前記免疫細胞を前記対象から得ることをさらに含む、実施形態B137に記載の方法。

【1147】

実施形態B139. 前記免疫細胞をインビボで接触させる、実施形態B135に記載の方法。

【1148】

実施形態B140. 前記免疫細胞が、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブT細胞、多能性Th細胞前駆体、リンパ前駆細胞、Treg細胞、Th17細胞、Th22細胞、Th9細胞、Th2細胞、Th1細胞、Th3細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、 $\alpha\beta$ T細胞、腫瘍浸潤T細胞、CD8+ T細胞、CD4+ T細胞、ナチュラルキラーT細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、およびナチュラルキラー細胞からなる群から選択される、実施形態B135～B139のいずれか1つに記載の方法。

10

20

30

40

50

【1149】

実施形態B141．前記免疫細胞が、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている、実施形態B135～B140のいずれか1つに記載の方法。

【1150】

実施形態B142．前記方法が、前記接触させるステップの後に、前記免疫細胞に、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含む、実施形態B135～B140のいずれか1つに記載の方法。

【1151】

実施形態B143．前記方法が、前記免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することをさらに含む、実施形態B135～B142のいずれか1つに記載の方法。

10

【1152】

実施形態B144．前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態B143に記載の方法。

【1153】

実施形態B145．前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、膵炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態B144に記載の方法。

20

【1154】

実施形態B146．前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態B143に記載の方法。

【1155】

実施形態B147．前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病（CML）、急性リンパ性白血病（ALL）、骨髄異形成症候群（MDS）、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態B146に記載の方法。

30

【1156】

実施形態B148．前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態B143に記載の方法。

【1157】

実施形態B149．前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、およびC型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態B148に記載の方法。

40

【1158】

実施形態B150．がん細胞、感染細胞、または老化細胞の死滅を必要とする対象におけるがん細胞、感染細胞、または老化細胞を死滅させる方法であって、前記対象に、実施形態B1～B101に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態B102またはB103に記載の組成物の治療有効量を投与することを含む、方法。

【1159】

50

実施形態 B 1 5 1 . 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態 B 1 5 0 に記載の方法。

【 1 1 6 0 】

実施形態 B 1 5 2 . 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B 細胞新生物、多発性骨髄腫、B 細胞リンパ腫、B 細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病 (C L L) 、急性骨髄性白血病 (A M L) 、慢性骨髄性白血病 (C M L) 、急性リンパ性白血病 (A L L) 、骨髄異形成症候群 (M D S) 、皮膚 T 細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態 B 1 5 1 に記載の方法。

10

【 1 1 6 1 】

実施形態 B 1 5 3 . 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態 B 1 5 0 に記載の方法。

【 1 1 6 2 】

実施形態 B 1 5 4 . 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2 型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、C O P D 、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、N A F L D 、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態 B 1 5 3 に記載の方法。

20

【 1 1 6 3 】

実施形態 B 1 5 5 . 治療を必要とする対象を治療する方法であって、前記対象に、実施形態 B 1 ~ B 1 0 1 に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態 B 1 0 2 または B 1 0 3 に記載の組成物の治療有効量を投与することを含む、方法。

【 1 1 6 4 】

実施形態 B 1 5 6 . 前記対象が、がんまたは感染性疾患を有すると特定または診断されている、実施形態 B 1 5 5 に記載の方法。

30

【 1 1 6 5 】

実施形態 B 1 5 7 . 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B 細胞新生物、多発性骨髄腫、B 細胞リンパ腫、B 細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病 (C L L) 、急性骨髄性白血病 (A M L) 、慢性骨髄性白血病 (C M L) 、急性リンパ性白血病 (A L L) 、骨髄異形成症候群 (M D S) 、皮膚 T 細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態 B 1 5 6 に記載の方法。

【 1 1 6 6 】

40

実施形態 B 1 5 8 . 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態 B 1 5 5 に記載の方法。

【 1 1 6 7 】

実施形態 B 1 5 9 . 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2 型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、C O P D 、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、N A F L D 、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化

50

症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態 B 1 5 8 に記載の方法。

【1 1 6 8】

実施形態 B 1 6 0 . 前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態 B 1 5 5 に記載の方法。

【1 1 6 9】

実施形態 B 1 6 1 . 前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B 型肝炎ウイルス、A 型肝炎ウイルス、および C 型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態 B 1 6 0 に記載の方法。

10

【1 1 7 0】

実施形態 B 1 6 2 . 実施形態 B 1 ~ B 1 0 1 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかをコードする、核酸。

【1 1 7 1】

実施形態 B 1 6 3 . 実施形態 B 1 6 2 に記載の核酸を含む、ベクター。

【1 1 7 2】

実施形態 B 1 6 4 . 前記ベクターが、発現ベクターである、実施形態 B 1 6 3 に記載のベクター。

【1 1 7 3】

実施形態 B 1 6 5 . 実施形態 B 1 6 2 に記載の核酸または実施形態 B 1 6 3 または B 1 6 4 に記載のベクターを含む、細胞。

20

【1 1 7 4】

実施形態 B 1 6 6 . 多鎖キメラポリペプチドを産生する方法であって、
前記多鎖キメラポリペプチドの産生をもたらすのに十分な条件下で、実施形態 B 1 6 5 に記載の細胞を培養培地中で培養すること、ならびに
前記多鎖キメラポリペプチドを前記細胞および／または前記培養培地から回収することを含む、方法。

【1 1 7 5】

実施形態 B 1 6 7 . 実施形態 B 1 6 6 に記載の方法によって産生された多鎖キメラポリペプチド。

30

【1 1 7 6】

実施形態 B 1 6 8 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 3 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 B 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 1 7 7】

実施形態 B 1 6 9 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 3 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 B 1 6 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 1 7 8】

実施形態 B 1 7 0 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 3 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 B 1 6 9 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 1 7 9】

実施形態 B 1 7 1 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 3 と 1 0 0 % 同一の配列を含む、実施形態 B 1 7 0 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【1 1 8 0】

実施形態 B 1 7 2 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 4 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 B 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 1 8 1】

実施形態 B 1 7 3 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 4 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 B 1 7 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 1 8 2】

実施形態 B 1 7 4 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 4 と少なくとも 9 5

50

%同一の配列を含む、実施形態 B 1 7 3 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1183】

実施形態 B 1 7 5 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 4 と 1 0 0 % 同一の配列を含む、実施形態 B 1 7 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1184】

C . 例示的な実施形態

実施形態 C 1 .

(a) (i) 第 1 の標的結合ドメインと、

(ii) 可溶性組織因子ドメインと、

(iii) 一对の親和性ドメインの第 1 のドメインと

を含む、第 1 のキメラポリペプチド、および

(b) (i) 一对の親和性ドメインの第 2 のドメインと、

(ii) 第 2 の標的結合ドメインと

を含む、第 2 のキメラポリペプチド

を含み、

前記第 1 のキメラポリペプチドと前記第 2 のキメラポリペプチドが、前記一对の親和性ドメインの前記第 1 のドメインと前記第 2 のドメインとの結合を介して会合しており、

前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが各々独立して、IL-21 受容体または腫瘍増殖因子受容体 β II (TGF β RII) リガンドに特異的に結合する、
多鎖キメラポリペプチド。

【1185】

実施形態 C 2 . 前記第 1 の標的結合ドメインと前記可溶性組織因子ドメインが、前記第 1 のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、実施形態 C 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1186】

実施形態 C 3 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記第 1 の標的結合ドメインと前記可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 C 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1187】

実施形態 C 4 . 前記可溶性組織因子ドメインと前記一对の親和性ドメインの前記第 1 のドメインが、前記第 1 のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、実施形態 C 1 ~ C 3 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1188】

実施形態 C 5 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記可溶性組織因子ドメインと前記一对の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 C 1 ~ C 3 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1189】

実施形態 C 6 . 前記一对の親和性ドメインの前記第 2 のドメインと前記第 2 の標的結合ドメインが、前記第 2 のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、実施形態 C 1 ~ C 5 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1190】

実施形態 C 7 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、前記第 2 のキメラポリペプチド内の前記一对の親和性ドメインの前記第 2 のドメインと前記第 2 の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 C 1 ~ C 5 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1191】

実施形態 C 8 . 前記可溶性組織因子ドメインが、可溶性ヒト組織因子ドメインである、実施形態 C 1 ~ C 7 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

20

30

40

50

【1192】

実施形態C9．前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号1と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態C8に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1193】

実施形態C10．前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号1と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態C9に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1194】

実施形態C11．前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号1と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態C10に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1195】

実施形態C12．前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸20位に対応するアミノ酸の位置にリジン、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸22位に対応するアミノ酸の位置にイソロイシン、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸45位に対応するアミノ酸の位置にトリプトファン、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸58位に対応するアミノ酸の位置にアスパラギン酸、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸94位に対応するアミノ酸の位置にチロシン、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸135位に対応するアミノ酸の位置にアルギニン、および
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸140位に対応するアミノ酸の位置にフェニルアラニンのうちの1つ以上を含まない、実施形態C8～C11のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1196】

実施形態C13．前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸20位に対応するアミノ酸の位置にリジン、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸22位に対応するアミノ酸の位置にイソロイシン、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸45位に対応するアミノ酸の位置にトリプトファン、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸58位に対応するアミノ酸の位置にアスパラギン酸、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸94位に対応するアミノ酸の位置にチロシン、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸135位に対応するアミノ酸の位置にアルギニン、および
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸140位に対応するアミノ酸の位置にフェニルアラニンのうちのいずれも含まない、実施形態C12に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1197】

実施形態C14．前記可溶性組織因子ドメインが、第VIIa因子に結合することができない、実施形態C1～C13のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1198】

実施形態C15．前記可溶性組織因子ドメインが、不活性第X因子を第Xa因子に変換しない、実施形態C1～C14のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1199】

10

20

30

40

50

実施形態 C 1 6 . 前記多鎖キメラポリペプチドが、哺乳動物における血液凝固を刺激しない、実施形態 C 1 ~ C 1 5 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 0 0 】

実施形態 C 1 7 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチドの N 末端または C 末端にペプチドタグをさらに含む、実施形態 C 1 ~ C 1 6 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 0 1 】

実施形態 C 1 8 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、前記第 2 のキメラポリペプチド N 末端または C 末端にペプチドタグをさらに含む、実施形態 C 1 ~ C 1 7 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 0 2 】

実施形態 C 1 9 . 前記第 1 のキメラポリペプチドおよび／または前記第 2 のキメラポリペプチドが、その N 末端にシグナル配列をさらに含む、実施形態 C 1 ~ C 1 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 0 3 】

実施形態 C 2 0 . 前記シグナル配列が、配列番号 3 1 を含む、実施形態 C 1 9 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 0 4 】

実施形態 C 2 1 . 前記シグナル配列が、配列番号 3 1 である、実施形態 C 2 0 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 0 5 】

実施形態 C 2 2 . 前記一对の親和性ドメインが、ヒト I L - 1 5 受容体アルファ鎖 (I L 1 5 R α 由来の s u s h i ドメインと可溶性 I L - 1 5 である、実施形態 C 1 ~ C 2 1 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 0 6 】

実施形態 C 2 3 . 前記可溶性 I L - 1 5 が、D 8 N または D 8 A アミノ酸置換を有する、実施形態 C 2 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 0 7 】

実施形態 C 2 4 . 前記可溶性 I L - 1 5 が、配列番号 1 4 と 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 C 2 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 0 8 】

実施形態 C 2 5 . 前記可溶性 I L - 1 5 が、配列番号 1 4 と 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 C 2 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 0 9 】

実施形態 C 2 6 . 前記可溶性 I L - 1 5 が、配列番号 1 4 と 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 C 2 5 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 1 0 】

実施形態 C 2 7 . 前記可溶性 I L - 1 5 が、配列番号 1 4 を含む、実施形態 C 2 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 1 1 】

実施形態 C 2 8 . I L 1 5 R α の前記 s u s h i ドメインが、ヒト I L 1 5 R α 由来の s u s h i ドメインを含む、実施形態 C 2 2 ~ C 2 7 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 1 2 】

実施形態 C 2 9 . ヒト I L 1 5 R α 由来の前記 s u s h i ドメインが、配列番号 2 8 と 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 C 2 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 1 3 】

実施形態 C 3 0 . ヒト I L 1 5 R α 由来の前記 s u s h i ドメインが、配列番号 2 8 と 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 C 2 9 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 1 4 】

10

20

30

40

50

実施形態 C 3 1 . ヒト I L 1 5 R α 由来の前記 s u s h i ドメインが、配列番号 2 8 と 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 C 3 0 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 1 5 】

実施形態 C 3 2 . ヒト I L 1 5 R α 由来の前記 s u s h i ドメインが、配列番号 2 8 を含む、実施形態 C 3 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 1 6 】

実施形態 C 3 3 . ヒト I L 1 5 R α 由来の前記 s u s h i ドメインが、成熟全長 I L 1 5 R α である、実施形態 C 2 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 1 7 】

実施形態 C 3 4 . 前記一対の親和性ドメインが、バルナーゼとバルンスター、P K A と A K A P、変異 R N a s e I 断片に基づくアダプター／ドッキングタグモジュール、ならびに、タンパク質シンタキシン、シナプトタグミン、シナプトブレビン、および S N A P 2 5 の相互作用に基づく S N A R E モジュールからなる群から選択される、実施形態 C 1 ～ C 2 1 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 1 8 】

実施形態 C 3 5 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインの一方または両方が、抗原結合ドメインである、実施形態 C 1 ～ C 3 4 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 1 9 】

実施形態 C 3 6 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが、抗原結合ドメインである、実施形態 C 3 5 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 2 0 】

実施形態 C 3 7 . 抗原結合ドメインが、s c F v または単一ドメイン抗体を含む、実施形態 C 3 5 または C 3 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 2 1 】

実施形態 C 3 8 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインの一方または両方が、可溶性 I L - 2 1 または可溶性 T G F β R I I である、実施形態 C 1 ～ C 3 4 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 2 2 】

実施形態 C 3 9 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインの両方が、I L - 2 1 受容体または T G F β R I I リガンドに特異的に結合する、実施形態 C 1 ～ C 3 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 2 3 】

実施形態 C 4 0 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが同じエピトープに特異的に結合する、実施形態 C 3 9 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 2 4 】

実施形態 C 4 1 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが同じアミノ酸配列を含む、実施形態 C 4 0 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 2 5 】

実施形態 C 4 2 . 前記第 1 の標的結合ドメインが T G F β R I I リガンドに特異的に結合し、前記第 2 の標的結合ドメインが I L - 2 1 受容体に特異的に結合する、実施形態 C 1 ～ C 3 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 2 6 】

実施形態 C 4 3 . 前記第 1 の標的結合ドメインが I L - 2 1 受容体に特異的に結合し、前記第 2 の標的結合ドメインが T G F β R I I リガンドに特異的に結合する、実施形態 C 1 ～ C 3 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 2 7 】

実施形態 C 4 4 . 前記第 1 の標的結合ドメインが、可溶性 I L - 2 1 を含む、実施形態 C 4 3 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 2 8 】

10

20

30

40

50

実施形態 C 4 5 . 前記可溶性 I L - 2 1 が、可溶性 ヒト I L - 2 1 である、実施形態 C 4 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 2 9 】

実施形態 C 4 6 . 前記可溶性 ヒト I L - 2 1 が、配列番号 7 8 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 C 4 5 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 3 0 】

実施形態 C 4 7 . 前記可溶性 ヒト I L - 2 1 が、配列番号 7 8 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 C 4 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 3 1 】

実施形態 C 4 8 . 前記可溶性 ヒト I L - 2 1 が、配列番号 7 8 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 C 4 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【 1 2 3 2 】

実施形態 C 4 9 . 前記可溶性 ヒト I L - 2 1 が、配列番号 7 8 の配列を含む、実施形態 C 4 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 3 3 】

実施形態 C 5 0 . 前記第 2 の標的結合ドメインが、可溶性 T G F β R I I を含む、実施形態 C 4 3 ~ C 4 9 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 3 4 】

実施形態 C 5 1 . 前記可溶性 T G F β R I I が、可溶性 ヒト T G F β R I I である、実施形態 C 5 0 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【 1 2 3 5 】

実施形態 C 5 2 . 前記可溶性 ヒト T G F β R I I が、第 1 の可溶性 ヒト T G F β R I I 配列および第 2 の可溶性 ヒト T G F β R I I 配列を含む、実施形態 C 5 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 3 6 】

実施形態 C 5 3 . 前記可溶性 ヒト T G F β R I I が、前記第 1 の可溶性 ヒト T G F β R I I 配列と前記第 2 の可溶性 ヒト T G F β R I I 配列との間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 C 5 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 3 7 】

実施形態 C 5 4 . 前記リンカー配列が、配列番号 7 を含む、実施形態 C 5 3 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【 1 2 3 8 】

実施形態 C 5 5 . 前記第 1 の可溶性 ヒト T G F β R I I 配列が、配列番号 8 0 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 C 5 2 ~ C 5 4 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 3 9 】

実施形態 C 5 6 . 前記第 1 の可溶性 ヒト T G F β R I I 配列が、配列番号 8 0 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 C 5 5 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 4 0 】

実施形態 C 5 7 . 前記第 1 の可溶性 ヒト T G F β R I I 配列が、配列番号 8 0 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 C 5 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【 1 2 4 1 】

実施形態 C 5 8 . 前記第 1 の可溶性 ヒト T G F β R I I 配列が、配列番号 8 0 を含む、実施形態 C 5 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 4 2 】

実施形態 C 5 9 . 前記第 2 の可溶性 ヒト T G F β R I I 配列が、配列番号 8 1 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 C 5 2 ~ C 5 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 2 4 3 】

実施形態 C 6 0 . 前記第 2 の可溶性 ヒト T G F β R I I 配列が、配列番号 8 1 と少なく

50

とも 90% 同一の配列を含む、実施形態 C 59 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1244】

実施形態 C 61 . 前記第 2 の可溶性ヒト TGF β RII 配列が、配列番号 81 と少なくとも 95% 同一の配列を含む、実施形態 C 60 に記載のミュール鎖キメラポリペプチド。

【1245】

実施形態 C 62 . 前記第 2 の可溶性ヒト TGF β RII 配列が、配列番号 81 を含む、実施形態 C 61 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1246】

実施形態 C 63 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 86 と少なくとも 80% 同一の配列を含む、実施形態 C 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1247】

実施形態 C 64 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 86 と少なくとも 90% 同一の配列を含む、実施形態 C 63 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1248】

実施形態 C 65 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 86 と少なくとも 95% 同一の配列を含む、実施形態 C 64 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1249】

実施形態 C 66 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 86 を含む、実施形態 C 65 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1250】

実施形態 C 67 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 88 を含む、実施形態 C 66 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1251】

実施形態 C 68 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 90 と少なくとも 80% 同一の配列を含む、実施形態 C 1 および C 63 ~ C 67 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1252】

実施形態 C 69 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 90 と少なくとも 90% 同一の配列を含む、実施形態 C 68 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1253】

実施形態 C 70 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 90 と少なくとも 95% 同一の配列を含む、実施形態 C 69 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1254】

実施形態 C 71 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 90 を含む、実施形態 C 70 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1255】

実施形態 C 72 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 92 を含む、実施形態 C 71 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1256】

実施形態 C 73 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、1 つ以上の追加の標的結合ドメイン（複数可）をさらに含み、前記 1 つ以上の追加の抗原結合ドメイン（複数可）のうちの少なくとも 1 つが、前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に位置付けられている、実施形態 C 1 ~ C 62 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1257】

実施形態 C 74 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記可溶性組織因子ドメインと前記 1 つ以上の追加の抗原結合ドメイン（複数可）のうちの前記少なくとも 1 つとの間にリンカー配列、および／または前記 1 つ以上の追加の抗原結合ドメイン（複数可）のうちの前記少なくとも 1 つと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 C 73 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

20

30

40

50

【1258】

実施形態C75. 前記第1のキメラポリペプチドが、前記第1のキメラポリペプチドのN末端および／またはC末端に1つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む、実施形態C1～C62のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1259】

実施形態C76. 前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインに直接隣接している、実施形態C75に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1260】

実施形態C77. 前記第1のキメラポリペプチドが、前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つと前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態C75に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【1261】

実施形態C78. 前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記第1の標的結合ドメインに直接隣接している、実施形態C75に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1262】

実施形態C79. 前記第1のキメラポリペプチドが、前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つと前記第1の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態C75に記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【1263】

実施形態C80. 前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つが、前記第1のキメラポリペプチドのN末端および／またはC末端に配置されており、前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記可溶性組織因子ドメインと前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間に位置付けられている、実施形態C75に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1264】

実施形態C81. N末端に配置された前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つの追加の標的結合ドメインが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記第1の標的結合ドメインまたは前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインに直接隣接している、実施形態C80に記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【1265】

実施形態C82. 前記第1のキメラポリペプチドが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記少なくとも1つの追加の標的結合ドメインと前記第1の標的結合ドメインまたは前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間に配置されたリンカー配列をさらに含む、実施形態C80に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1266】

実施形態C83. C末端に配置された前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つの追加の標的結合ドメインが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記第1の標的結合ドメインまたは前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインに直接隣接している、実施形態C80に記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【1267】

実施形態C84. 前記第1のキメラポリペプチドが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記少なくとも1つの追加の標的結合ドメインと前記第1の標的結合ドメインまたは前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間に配置されたリンカー配列をさらに含む、実施形態C80に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1268】

実施形態C85. 前記可溶性組織因子ドメインと前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間に位置付けられた前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つが、前記可溶性組織因子ドメインおよび／または前記一对の親和性ドメイ

50

ンの前記第1のドメインに直接隣接している、実施形態C80に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1269】

実施形態C86．前記第1のキメラポリペプチドが、(i)前記可溶性組織因子ドメインと、前記可溶性組織因子ドメインと前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間に位置付けられた前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つとの間、および／または(ii)前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインと、前記可溶性組織因子ドメインと前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間に位置付けられた前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つとの間に配置されたリンカー配列をさらに含む、実施形態C80に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【1270】

実施形態C87．前記第2のキメラポリペプチドが、前記第2のキメラポリペプチドのN末端またはC末端に1つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む、実施形態C1～C62およびC73～C86のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1271】

実施形態C88．前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つが、前記第2のキメラポリペプチド内の前記一对の親和性ドメインの前記第2のドメインに直接隣接している、実施形態C87に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1272】

実施形態C89．前記第2のキメラポリペプチドが、前記第2のキメラポリペプチド内の前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つと前記一对の親和性ドメインの前記第2のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態C87に記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【1273】

実施形態C90．前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つが、前記第2のキメラポリペプチド内の前記第2の標的結合ドメインに直接隣接している、実施形態C87に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1274】

実施形態C91．前記第2のキメラポリペプチドが、前記第2のキメラポリペプチド内の前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つと前記第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態C87に記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【1275】

実施形態C92．前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上が同じ抗原に特異的に結合する、実施形態C73～C91のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1276】

実施形態C93．前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上が同じエピトープに特異的に結合する、実施形態C92に記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【1277】

実施形態C94．前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上が同じアミノ酸配列を含む、実施形態C93に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1278】

実施形態C95．前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の追加の標的結合ドメインが異なる抗原に特異的に結合する、実施形態C73～C91のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1279】

50

実施形態 C 9 6 . 前記 1 つ以上の追加の抗原結合ドメインが、CD 1 6 a、CD 2 8、CD 3、CD 3 3、CD 2 0、CD 1 9、CD 2 2、CD 1 2 3、IL-1 R、IL-1、VEGF、IL-6 R、IL-4、IL-1 0、PDL-1、TIGIT、PD-1、TIM 3、CTLA 4、MICA、MICB、IL-6、IL-8、TNF α 、CD 2 6 a、CD 3 6、ULBP 2、CD 3 0、CD 2 0 0、IGF-1 R、MUC 4 AC、MUC 5 AC、Trop-2、CMET、EGFR、HER 1、HER 2、HER 3、PSMA、CEA、B7H3、EPCAM、BCMA、P-カドヘリン、CEACAM 5、UL 1 6 結合タンパク質、HLA-DR、DLL 4、TYRO 3、AXL、MER、CD 1 2 2、CD 1 5 5、PDGFR-D、TGF- β 受容体 II (TGF-RII) リガンド、TGF- β RII リガンド、DNAM-1 リガンド、NKP 4 6 リガンド、NKP 4 4 リガンド、NKG 2 D リガンド、NKP 3 0 リガンド、scMHC I リガンド、scMHC II リガンド、scTCR リガンド、IL-1 受容体、IL-2 受容体、IL-3 受容体、IL-7 受容体、IL-8 受容体、IL-1 0 受容体、IL-1 2 受容体、IL-1 5 受容体、IL-1 7 受容体、IL-1 8 受容体、IL-2 1 受容体、PDGFR-DD 受容体、幹細胞因子 (SCF) 受容体、幹細胞様チロシンキナーゼ 3 リガンド (FLT 3 L) 受容体、MICA 受容体、MICB 受容体、ULP 1 6 結合タンパク質受容体、CD 1 5 5 受容体、および CD 2 8 受容体からなる群から選択される標的に特異的に結合する、実施形態 C 7 3 ~ C 9 5 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【1 2 8 0】

実施形態 C 9 7 . 前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインが、可溶性インターロイキンまたはサイトカインタンパク質である、実施形態 C 7 3 ~ C 9 5 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【1 2 8 1】

実施形態 C 9 8 . 前記可溶性インターロイキン、サイトカイン、またはリガンドタンパク質が、IL-1、IL-2、IL-3、IL-7、IL-8、IL-1 0、IL-1 2、IL-1 5、IL-1 7、IL-1 8、IL-2 1、PDGFR-DD、SCF、および FLT 3 L からなる群から選択される、実施形態 C 9 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 2 8 2】

実施形態 C 9 9 . 前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインが、可溶性インターロイキンまたはサイトカイン受容体である、実施形態 C 7 3 ~ C 9 5 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【1 2 8 3】

実施形態 C 1 0 0 . 前記可溶性受容体が、可溶性 TGF- β 受容体 II (TGF- β RII)、可溶性 TGF- β RIII、可溶性 NKG 2 D、可溶性 NKP 3 0、可溶性 NKP 4 4、可溶性 NKP 4 6、可溶性 DNAM-1、scMHC I、scMHC II、scTCR、可溶性 CD 1 5 5、または可溶性 CD 2 8 である、実施形態 C 9 9 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 2 8 4】

実施形態 C 1 0 1 . 実施形態 C 1 ~ C 1 0 0 に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかを含む、組成物。

40

【1 2 8 5】

実施形態 C 1 0 2 . 医薬組成物である、実施形態 C 1 0 1 に記載の組成物。

【1 2 8 6】

実施形態 C 1 0 3 . 実施形態 C 1 0 1 または C 1 0 2 に記載の組成物の少なくとも 1 つの用量を含む、キット。

【1 2 8 7】

実施形態 C 1 0 4 . 免疫細胞を刺激する方法であって、

免疫細胞を、実施形態 C 1 ~ C 1 0 0 に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態 C 1 0 1 または C 1 0 2 に記載の組成物の有効量と接触させることを含む、方法。

50

【1288】

実施形態C105．前記免疫細胞をインビトロで接触させる、実施形態C104に記載の方法。

【1289】

実施形態C106．前記免疫細胞が、対象から以前に得られた、実施形態C105に記載の方法。

【1290】

実施形態C107．前記方法が、前記接触させるステップの前に、前記免疫細胞を前記対象から得ることをさらに含む、実施形態C106に記載の方法。

【1291】

実施形態C108．前記免疫細胞をインビボで接触させる、実施形態C104に記載の方法。

【1292】

実施形態C109．前記免疫細胞が、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブT細胞、多能性Th細胞前駆体、リンパ前駆細胞、Treg細胞、メモリーT細胞、Th17細胞、Th22細胞、Th9細胞、Th2細胞、Th1細胞、Th3細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、 $\alpha\beta$ T細胞、腫瘍浸潤T細胞、CD8⁺ T細胞、CD4⁺ T細胞、ナチュラルキラーT細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、およびナチュラルキラー細胞からなる群から選択される、実施形態C104～C108のいずれか1つに記載の方法。

【1293】

実施形態C110．前記免疫細胞が、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている、実施形態C104～C109のいずれか1つに記載の方法。

【1294】

実施形態C111．前記方法が、前記接触させるステップの後に、前記免疫細胞に、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含む、実施形態C104～C109のいずれか1つに記載の方法。

【1295】

実施形態C112．前記方法が、前記免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することをさらに含む、実施形態C104～C111のいずれか1つに記載の方法。

【1296】

実施形態C113．前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態C112に記載の方法。

【1297】

実施形態C114．前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態C113に記載の方法。

【1298】

実施形態C115．前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態C112に記載の方法。

【1299】

実施形態C116．前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白

10

20

30

40

50

血病（ＣＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）、骨髄異形成症候群（ＭＤＳ）、皮膚Ｔ細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態Ｃ１１５に記載の方法。

【１３００】

実施形態Ｃ１１７．前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態Ｃ１１２に記載の方法。

【１３０１】

実施形態Ｃ１１８．前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、Ｂ型肝炎ウイルス、Ａ型肝炎ウイルス、およびＣ型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態Ｃ１１７に記載の方法。

【１３０２】

実施形態Ｃ１１９．免疫細胞の増殖を誘導するまたは増加させる方法であって、免疫細胞を、実施形態Ｃ１～Ｃ１００に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態Ｃ１０１またはＣ１０２に記載の組成物の有効量と接触させることを含む、方法。

【１３０３】

実施形態Ｃ１２０．前記免疫細胞をインビトロで接触させる、実施形態Ｃ１１９に記載の方法。

【１３０４】

実施形態Ｃ１２１．前記免疫細胞が、対象から以前に得られた、実施形態Ｃ１２０に記載の方法。

【１３０５】

実施形態Ｃ１２２．前記方法が、前記接触させるステップの前に、前記免疫細胞を前記対象から得ることをさらに含む、実施形態Ｃ１２１に記載の方法。

【１３０６】

実施形態Ｃ１２３．前記免疫細胞をインビボで接触させる、実施形態Ｃ１１９に記載の方法。

【１３０７】

実施形態Ｃ１２４．前記免疫細胞が、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブＴ細胞、多能性Ｔｈ細胞前駆体、リンパ前駆細胞、Ｔｒｅｇ細胞、メモリーＴ細胞、Ｔｈ１７細胞、Ｔｈ２２細胞、Ｔｈ９細胞、Ｔｈ２細胞、Ｔｈ１細胞、Ｔｈ３細胞、 $\gamma\delta$ Ｔ細胞、 $\alpha\beta$ Ｔ細胞、腫瘍浸潤Ｔ細胞、ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞、ナチュラルキラーＴ細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、およびナチュラルキラー細胞からなる群から選択される、実施形態Ｃ１１９～Ｃ１２３のいずれか１つに記載の方法。

【１３０８】

実施形態Ｃ１２５．前記免疫細胞が、キメラ抗原受容体または組換えＴ細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている、実施形態Ｃ１１９～Ｃ１２４のいずれか１つに記載の方法。

【１３０９】

実施形態Ｃ１２６．前記方法が、前記接触させるステップの後に、前記免疫細胞に、キメラ抗原受容体または組換えＴ細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含む、実施形態Ｃ１１９～Ｃ１２４のいずれか１つに記載の方法。

【１３１０】

実施形態Ｃ１２７．前記方法が、前記免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することをさらに含む、実施形態Ｃ１１９～Ｃ１２６のいずれか１つに記載の方法。

10

20

30

40

50

【1311】

実施形態C128. 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態C127に記載の方法。

【1312】

実施形態C129. 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態C128に記載の方法。

10

【1313】

実施形態C130. 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態C127に記載の方法。

【1314】

実施形態C131. 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病（CML）、急性リンパ性白血病（ALL）、骨髄異形成症候群（MDS）、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態C130に記載の方法。

20

【1315】

実施形態C132. 前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態C127に記載の方法。

【1316】

実施形態C133. 前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、およびC型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態C127に記載の方法。

30

【1317】

実施形態C134. 免疫細胞のメモリーまたはメモリー様免疫細胞への分化を誘導する方法であって、

免疫細胞を、実施形態C1～C100に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態C101またはC102に記載の組成物の有効量と接触させることを含む、方法。

【1318】

実施形態C135. 前記免疫細胞をインビトロで接触させる、実施形態C134に記載の方法。

40

【1319】

実施形態C136. 前記免疫細胞が、対象から以前に得られた、実施形態C135に記載の方法。

【1320】

実施形態C137. 前記方法が、前記接触させるステップの前に、前記免疫細胞を前記対象から得ることをさらに含む、実施形態C136に記載の方法。

【1321】

実施形態C138. 前記免疫細胞をインビボで接触させる、実施形態C134に記載の

50

方法。

【1322】

実施形態C139. 前記免疫細胞が、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブT細胞、多能性Th細胞前駆体、リンパ前駆細胞、Treg細胞、Th17細胞、Th22細胞、Th9細胞、Th2細胞、Th1細胞、Th3細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、 $\alpha\beta$ T細胞、腫瘍浸潤T細胞、CD8+ T細胞、CD4+ T細胞、ナチュラルキラーT細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、およびナチュラルキラー細胞からなる群から選択される、実施形態C134～C138のいずれか1つに記載の方法。

【1323】

実施形態C140. 前記免疫細胞が、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている、実施形態C134～C139のいずれか1つに記載の方法。

10

【1324】

実施形態C141. 前記方法が、前記接触させるステップの後に、前記免疫細胞に、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含む、実施形態C134～C139のいずれか1つに記載の方法。

【1325】

実施形態C142. 前記方法が、前記免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することをさらに含む、実施形態C134～C141のいずれか1つに記載の方法。

【1326】

実施形態C143. 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態C142に記載の方法。

20

【1327】

実施形態C144. 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態C143に記載の方法。

30

【1328】

実施形態C145. 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態C142に記載の方法。

【1329】

実施形態C146. 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病(CLL)、急性骨髄性白血病(AML)、慢性骨髄性白血病(CML)、急性リンパ性白血病(ALL)、骨髄異形成症候群(MDS)、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態C145に記載の方法。

40

【1330】

実施形態C147. 前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態C142に記載の方法。

【1331】

実施形態C148. 前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、およびC型肝炎ウイルス、パピロ

50

ーマウウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態 C 1 4 7 に記載の方法。

【1 3 3 2】

実施形態 C 1 4 9 . がん細胞、感染細胞、または老化細胞の死滅を必要とする対象におけるがん細胞、感染細胞、または老化細胞を死滅させる方法であって、前記対象に、実施形態 C 1 ~ C 1 0 0 に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態 C 1 0 1 または C 1 0 2 に記載の組成物の治療有効量を投与することを含む、方法。

【1 3 3 3】

実施形態 C 1 5 0 . 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態 C 1 4 9 に記載の方法。

【1 3 3 4】

実施形態 C 1 5 1 . 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病 (CLL)、急性骨髄性白血病 (AML)、慢性骨髄性白血病 (CML)、急性リンパ性白血病 (ALL)、骨髄異形成症候群 (MDS)、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態 C 1 5 0 に記載の方法。

【1 3 3 5】

実施形態 C 1 5 2 . 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態 C 1 4 9 に記載の方法。

【1 3 3 6】

実施形態 C 1 5 3 . 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態 C 1 5 2 に記載の方法。

【1 3 3 7】

実施形態 C 1 5 4 . 治療を必要とする対象を治療する方法であって、前記対象に、実施形態 C 1 ~ C 1 0 0 に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態 C 1 0 1 または C 1 0 2 に記載の組成物の治療有効量を投与することを含む、方法。

【1 3 3 8】

実施形態 C 1 5 5 . 前記対象が、がんまたは感染性疾患を有すると特定または診断されている、実施形態 C 1 5 4 に記載の方法。

【1 3 3 9】

実施形態 C 1 5 6 . 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病 (CLL)、急性骨髄性白血病 (AML)、慢性骨髄性白血病 (CML)、急性リンパ性白血病 (ALL)、骨髄異形成症候群 (MDS)、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態 C 1 5 7 に記載の方法。

【1 3 4 0】

実施形態 C 1 5 7 . 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態 C 1 5 4 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【1341】

実施形態C158. 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態C157に記載の方法。

【1342】

実施形態C159. 前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態C154に記載の方法。

【1343】

実施形態C160. 前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、およびC型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態C159に記載の方法。

【1344】

実施形態C161. 実施形態C1～C100のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかをコードする、核酸。

【1345】

実施形態C162. 実施形態C161に記載の核酸を含む、ベクター。

【1346】

実施形態C163. 前記ベクターが、発現ベクターである、実施形態C162に記載のベクター。

【1347】

実施形態C164. 実施形態C161に記載の核酸または実施形態C162またはC163に記載のベクターを含む、細胞。

【1348】

実施形態C165. 多鎖キメラポリペプチドを産生する方法であって、
前記多鎖キメラポリペプチドの産生をもたらすのに十分な条件下で、実施形態C164に記載の細胞を培養培地中で培養すること、ならびに
前記多鎖キメラポリペプチドを前記細胞および／または前記培養培地から回収することを含む、方法。

【1349】

実施形態C166. 実施形態C165に記載の方法によって産生された多鎖キメラポリペプチド。

【1350】

実施形態C167. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号3と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態C12に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1351】

実施形態C168. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号3と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態C167に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1352】

実施形態C169. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号3と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態C168に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1353】

実施形態C170. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号3と100%同一の配列を含む、実施形態C169に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

20

30

40

50

【1354】

実施形態C171. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号4と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態C12に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1355】

実施形態C172. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号4と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態C171に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1356】

実施形態C173. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号4と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態C172に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1357】

実施形態C174. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号4と100%同一の配列を含む、実施形態C173に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1358】

D. 例示的な実施形態

実施形態D1.

(c) (i) 第1の標的結合ドメインと、

(ii) 可溶性組織因子ドメインと、

(iii) 一对の親和性ドメインの第1のドメインと

を含む、第1のキメラポリペプチド、および

(d) (i) 一对の親和性ドメインの第2のドメインと、

(ii) 第2の標的結合ドメインと

を含む、第2のキメラポリペプチド

を含み、

前記第1のキメラポリペプチドと前記第2のキメラポリペプチドが、前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインと前記第2のドメインとの結合を介して会合しており、

前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインが各々独立して、IL-21受容体またはIL-7受容体に特異的に結合する、多鎖キメラポリペプチド。

【1359】

実施形態D2. 前記第1の標的結合ドメインと前記可溶性組織因子ドメインが、前記第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、実施形態D1に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1360】

実施形態D3. 前記第1のキメラポリペプチドが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記第1の標的結合ドメインと前記可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態D1に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1361】

実施形態D4. 前記可溶性組織因子ドメインと前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインが、前記第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、実施形態D1～D3のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1362】

実施形態D5. 前記第1のキメラポリペプチドが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記可溶性組織因子ドメインと前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態D1～D3のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1363】

実施形態D6. 前記一对の親和性ドメインの前記第2のドメインと前記第2の標的結合ドメインが、前記第2のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、実施形態D1～D5のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1364】

10

20

30

40

50

実施形態 D 7 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、前記第 2 のキメラポリペプチド内の前記一対の親和性ドメインの前記第 2 のドメインと前記第 2 の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 D 1 ~ D 5 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 3 6 5 】

実施形態 D 8 . 前記可溶性組織因子ドメインが、可溶性ヒト組織因子ドメインである、実施形態 D 1 ~ D 7 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 3 6 6 】

実施形態 D 9 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 1 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 D 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 3 6 7 】

実施形態 D 1 0 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 1 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 D 9 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 3 6 8 】

実施形態 D 1 1 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 1 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 D 1 0 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 3 6 9 】

実施形態 D 1 2 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 1 を含む、実施形態 D 1 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 3 7 0 】

実施形態 D 1 3 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 3 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 D 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 3 7 1 】

実施形態 D 1 4 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 3 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 D 1 3 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 3 7 2 】

実施形態 D 1 5 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 3 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 D 1 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 3 7 3 】

実施形態 D 1 6 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 3 を含む、実施形態 D 1 5 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 3 7 4 】

実施形態 D 1 7 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 4 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 D 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 3 7 5 】

実施形態 D 1 8 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 4 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 D 1 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 3 7 6 】

実施形態 D 1 9 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 4 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 D 1 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 3 7 7 】

実施形態 D 2 0 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 4 を含む、実施形態 D 1 9 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 3 7 8 】

実施形態 D 2 1 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 2 0 位に対応するアミノ酸の位置にリジン、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 2 2 位に対応するアミノ酸の位置にイソロイシン、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 4 5 位に対応するアミノ酸の位置にトリ

10

20

30

40

50

プトファン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 58 位に対応するアミノ酸の位置にアスパラギン酸、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 94 位に対応するアミノ酸の位置にチロシン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 135 位に対応するアミノ酸の位置にアルギニン、および

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 140 位に対応するアミノ酸の位置にフェニルアラニンのうちの 1 つ以上を含まない、実施形態 D8～D11、D13～D15、および D17～D19 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1379】

実施形態 D22．前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 20 位に対応するアミノ酸の位置にリジン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 22 位に対応するアミノ酸の位置にイソロイシン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 45 位に対応するアミノ酸の位置にトリプトファン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 58 位に対応するアミノ酸の位置にアスパラギン酸、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 94 位に対応するアミノ酸の位置にチロシン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 135 位に対応するアミノ酸の位置にアルギニン、および

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 140 位に対応するアミノ酸の位置にフェニルアラニンのうちのいずれも含まない、実施形態 D21 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1380】

実施形態 D23．前記可溶性組織因子ドメインが、第 VII a 因子に結合することができない、実施形態 D1～D22 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1381】

実施形態 D24．前記可溶性組織因子ドメインが、不活性第 X 因子を第 X a 因子に変換しない、実施形態 D1～D23 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1382】

実施形態 D25．前記多鎖キメラポリペプチドが、哺乳動物における凝固を刺激しない、実施形態 D1～D24 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1383】

実施形態 D26．前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチドの N 末端または C 末端にペプチドタグをさらに含む、実施形態 D1～D25 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1384】

実施形態 D27．前記第 2 のキメラポリペプチドが、前記第 2 のキメラポリペプチド N 末端または C 末端にペプチドタグをさらに含む、実施形態 D1～D26 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1385】

実施形態 D28．前記第 1 のキメラポリペプチドおよび／または前記第 2 のキメラポリペプチドが、その N 末端にシグナル配列をさらに含む、実施形態 D1～D27 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1386】

実施形態 D29．前記シグナル配列が、配列番号 31 を含む、実施形態 D28 に記載の

10

20

30

40

50

多鎖キメラポリペプチド。

【1387】

実施形態D30．前記シグナル配列が、配列番号223である、実施形態D28に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1388】

実施形態D31．前記一对の親和性ドメインが、ヒトIL-15受容体アルファ鎖（IL15R α ）由来のsushiドメインと可溶性IL-15である、実施形態D1～D30のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1389】

実施形態D32．前記可溶性IL-15が、D8NまたはD8Aアミノ酸置換を有する、実施形態D31に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1390】

実施形態D33．前記可溶性IL-15が、配列番号14と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態D31に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1391】

実施形態D34．前記可溶性IL-15が、配列番号14と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態D33に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1392】

実施形態D35．前記可溶性IL-15が、配列番号14と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態D34に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1393】

実施形態D36．前記可溶性IL-15が、配列番号14を含む、実施形態D35に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1394】

実施形態D37．IL15R α の前記sushiドメインが、ヒトIL15R α 由来のsushiドメインを含む、実施形態D31～D36のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1395】

実施形態D38．ヒトIL15R α 由来の前記sushiドメインが、配列番号28と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態D37に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1396】

実施形態D39．ヒトIL15R α 由来の前記sushiドメインが、配列番号28と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態D38に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1397】

実施形態D40．ヒトIL15R α 由来の前記sushiドメインが、配列番号28と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態D39に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1398】

実施形態D41．ヒトIL15R α 由来の前記sushiドメインが、配列番号28を含む、実施形態D40に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1399】

実施形態D42．ヒトIL15R α 由来の前記sushiドメインが、成熟全長IL15R α である、実施形態D37に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1400】

実施形態D43．前記一对の親和性ドメインが、バルナーゼとバルンスター、PKAとAKAP、変異RNase I断片に基づくアダプター／ドッキングタグモジュール、ならびに、タンパク質シンタキシン、シナプトタグミン、シナプトブレビン、およびSNAP25の相互作用に基づくSNAREモジュールからなる群から選択される、実施形態D1～D30のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1401】

実施形態D44．前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインの一

10

20

30

40

50

方または両方が、アゴニスト抗原結合ドメインである、実施形態 D 1 ～ D 4 3 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1402】

実施形態 D 4 5 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが各々、アゴニスト抗原結合ドメインである、実施形態 D 4 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1403】

実施形態 D 4 6 . 抗原結合ドメインが、s c F v または単一ドメイン抗体を含む、実施形態 D 4 4 または D 4 5 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1404】

実施形態 D 4 7 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインの一方または両方が、可溶性 I L - 2 1 または可溶性 I L - 7 である、実施形態 D 1 ～ D 4 3 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1405】

実施形態 D 4 8 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが各々独立して、可溶性 I L - 2 1 または可溶性 I L - 7 である、実施形態 D 4 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1406】

実施形態 D 4 9 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインの両方が、I L - 2 1 受容体または I L - 7 受容体に特異的に結合する、実施形態 D 1 ～ D 4 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1407】

実施形態 D 5 0 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが同じエピトープに特異的に結合する、実施形態 D 4 9 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1408】

実施形態 D 5 1 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが同じアミノ酸配列を含む、実施形態 D 5 0 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1409】

実施形態 D 5 2 . 前記第 1 の標的結合ドメインが I L - 2 1 受容体に特異的に結合し、前記第 2 の標的結合ドメインが I L - 7 受容体に特異的に結合する、実施形態 D 1 ～ D 4 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1410】

実施形態 D 5 3 . 前記第 1 の標的結合ドメインが I L - 7 受容体に特異的に結合し、前記第 2 の標的結合ドメインが I L - 2 1 受容体に特異的に結合する、実施形態 D 1 ～ D 4 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1411】

実施形態 D 5 4 . 前記第 1 の標的結合ドメインが、可溶性 I L - 2 1 を含む、実施形態 D 5 3 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1412】

実施形態 D 5 5 . 前記可溶性 I L - 2 1 が、可溶性ヒト I L - 2 1 である、実施形態 D 5 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1413】

実施形態 D 5 6 . 前記可溶性ヒト I L - 2 1 が、配列番号 7 8 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 D 5 5 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1414】

実施形態 D 5 7 . 前記可溶性ヒト I L - 2 1 が、配列番号 7 8 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 D 5 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1415】

実施形態 D 5 8 . 前記可溶性ヒト I L - 2 1 が、配列番号 7 8 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 D 5 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

20

30

40

50

【1416】

実施形態D59．前記可溶性ヒトIL-21が、配列番号78の配列を含む、実施形態D58に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1417】

実施形態D60．前記第2の標的結合ドメインが、可溶性IL-7を含む、実施形態D53～D59のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1418】

実施形態D61．前記可溶性IL-7が、可溶性ヒトIL-7である、実施形態D60に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1419】

実施形態D62．前記可溶性ヒトIL-7が、配列番号11と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態D61に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1420】

実施形態D63．前記可溶性ヒトIL-7が、配列番号11と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態D62に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1421】

実施形態D64．前記可溶性ヒトIL-7が、配列番号11と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態D63に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1422】

実施形態D65．前記可溶性ヒトIL-7が、配列番号11の配列を含む、実施形態D64に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1423】

実施形態D66．前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号104と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態D1に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1424】

実施形態D67．前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号104と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態D66に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1425】

実施形態D68．前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号104と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態D67に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1426】

実施形態D69．前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号104を含む、実施形態D68に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1427】

実施形態D70．前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号106を含む、実施形態D69に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1428】

実施形態D71．前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号108と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態D1およびD66～D70のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1429】

実施形態D72．前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号108と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態D71に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1430】

実施形態D73．前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号108と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態D72に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1431】

実施形態D74．前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号108を含む、実施形態D73に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1432】

10

20

30

40

50

実施形態 D 7 5 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 1 0 を含む、実施形態 D 7 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 3 3 】

実施形態 D 7 6 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 9 6 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 D 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 3 4 】

実施形態 D 7 7 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 9 6 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 D 7 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 3 5 】

実施形態 D 7 8 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 9 6 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 D 7 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 3 6 】

実施形態 D 7 9 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 9 6 を含む、実施形態 D 6 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 3 7 】

実施形態 D 8 0 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 9 8 を含む、実施形態 D 6 9 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 3 8 】

実施形態 D 8 1 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 0 0 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 D 1 および D 7 6 ~ D 8 0 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 3 9 】

実施形態 D 8 2 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 0 0 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 D 8 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 4 0 】

実施形態 D 8 3 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 0 0 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 D 8 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 4 1 】

実施形態 D 8 4 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 0 0 を含む、実施形態 D 8 3 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 4 2 】

実施形態 D 8 5 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 0 6 を含む、実施形態 D 8 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 4 3 】

実施形態 D 8 6 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、1 つ以上の追加の標的結合ドメイン（複数可）をさらに含み、前記 1 つ以上の追加の抗原結合ドメイン（複数可）のうちの少なくとも 1 つが、前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に位置付けられている、実施形態 D 1 ~ D 6 5 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 4 4 】

実施形態 D 8 7 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記可溶性組織因子ドメインと前記 1 つ以上の追加の抗原結合ドメイン（複数可）のうちの前記少なくとも 1 つとの間にリンカー配列、および／または前記 1 つ以上の追加の抗原結合ドメイン（複数可）のうちの前記少なくとも 1 つと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 D 8 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 4 5 】

実施形態 D 8 8 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチドの N 末端および／または C 末端に 1 つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む、実施形態 D 1 ~ D 6 5 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 4 6 】

10

20

30

40

50

実施形態 D 8 9 . 前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも 1 つが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインに直接隣接している、実施形態 D 8 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 4 7 】

実施形態 D 9 0 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 D 8 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 4 8 】

実施形態 D 9 1 . 前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記第 1 の標的結合ドメインに直接隣接している、実施形態 D 8 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 4 9 】

実施形態 D 9 2 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つと前記第 1 の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 D 8 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 5 0 】

実施形態 D 9 3 . 前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも 1 つが、前記第 1 のキメラポリペプチドの N 末端および／または C 末端に配置されており、前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも 1 つが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に位置付けられている、実施形態 D 8 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 5 1 】

実施形態 D 9 4 . N 末端に配置された前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つの追加の標的結合ドメインが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記第 1 の標的結合ドメインまたは前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインに直接隣接している、実施形態 D 9 3 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 5 2 】

実施形態 D 9 5 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記少なくとも 1 つの追加の標的結合ドメインと前記第 1 の標的結合ドメインまたは前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に配置されたリンカー配列をさらに含む、実施形態 D 9 3 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 5 3 】

実施形態 D 9 6 . C 末端に配置された前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つの追加の標的結合ドメインが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記第 1 の標的結合ドメインまたは前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインに直接隣接している、実施形態 D 9 3 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 5 4 】

実施形態 D 9 7 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記少なくとも 1 つの追加の標的結合ドメインと前記第 1 の標的結合ドメインまたは前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に配置されたリンカー配列をさらに含む、実施形態 D 9 3 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 5 5 】

実施形態 D 9 8 . 前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に位置付けられた前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つが、前記可溶性組織因子ドメインおよび／または前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインに直接隣接している、実施形態 D 9 3 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 4 5 6 】

実施形態 D 9 9 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、(i) 前記可溶性組織因子ドメインと、前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインと

10

20

30

40

50

の間に位置付けられた前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つとの間、および／または(i i)前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインと、前記可溶性組織因子ドメインと前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間に位置付けられた前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つとの間に配置されたリンカー配列をさらに含む、実施形態D93に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1457】

実施形態D100. 前記第2のキメラポリペプチドが、前記第2のキメラポリペプチドのN末端またはC末端に1つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む、実施形態D1～D65およびD86～D99のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【1458】

実施形態D101. 前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つが、前記第2のキメラポリペプチド内の前記一对の親和性ドメインの前記第2のドメインに直接隣接している、実施形態D100に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1459】

実施形態D102. 前記第2のキメラポリペプチドが、前記第2のキメラポリペプチド内の前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つと前記一对の親和性ドメインの前記第2のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態D100に記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【1460】

実施形態D103. 前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つが、前記第2のキメラポリペプチド内の前記第2の標的結合ドメインに直接隣接している、実施形態D100に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1461】

実施形態D104. 前記第2のキメラポリペプチドが、前記第2のキメラポリペプチド内の前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つと前記第2の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態D100に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1462】

実施形態D105. 前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上が同じ抗原に特異的に結合する、実施形態D86～D104のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【1463】

実施形態D106. 前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上が同じエピトープに特異的に結合する、実施形態D105に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1464】

実施形態D107. 前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの2つ以上が同じアミノ酸配列を含む、実施形態D106に記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【1465】

実施形態D108. 前記第1の標的結合ドメイン、前記第2の標的結合ドメイン、および前記1つ以上の追加の標的結合ドメインが異なる抗原に特異的に結合する、実施形態D86～D104のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1466】

実施形態D109. 前記1つ以上の追加の抗原結合ドメインが、CD16a、CD28、CD3、CD33、CD20、CD19、CD22、CD123、IL-1R、IL-1、VEGF、IL-6R、IL-4、IL-10、PDL-1、TIGIT、PD-1、TIM3、CTLA4、MICA、MICB、IL-6、IL-8、TNF α 、CD26a、CD36、ULBP2、CD30、CD200、IGF-1R、MUC4AC、M

50

UC5AC、Trop-2、CMET、EGFR、HER1、HER2、HER3、PSMA、CEA、B7H3、EPCAM、BCMA、P-カドヘリン、CEACAM5、UL16結合タンパク質、HLA-DR、DLL4、TYRO3、AXL、MER、CD122、CD155、PDGF-DD、TGF- β 受容体II (TGF- β RII) リガンド、TGF- β RIIRIリガンド、DNAM-1リガンド、Nkp46リガンド、Nkp44リガンド、NKG2Dリガンド、Nkp30リガンド、scMHC Iリガンド、scMHC IIRIリガンド、scTCRリガンド、IL-1受容体、IL-2受容体、IL-3受容体、IL-7受容体、IL-8受容体、IL-10受容体、IL-12受容体、IL-15受容体、IL-17受容体、IL-18受容体、IL-21受容体、PDGF-D受容体、幹細胞因子(SCF)受容体、幹細胞様チロシンキナーゼ3リガンド(FLT3L)受容体、MICA受容体、MICB受容体、ULP16結合タンパク質受容体、CD155受容体、およびCD28受容体からなる群から選択される標的に特異的に結合する、実施形態D86~D108のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【1467】

実施形態D110. 前記1つ以上の追加の標的結合ドメインが、可溶性インターロイキンまたはサイトカインタンパク質である、実施形態D86~D108のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1468】

実施形態D111. 前記可溶性インターロイキン、サイトカイン、またはリガンドタンパク質が、IL-1、IL-2、IL-3、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-15、IL-17、IL-18、IL-21、PDGF-DD、SCF、およびFLT3Lからなる群から選択される、実施形態D110に記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【1469】

実施形態D112. 前記1つ以上の追加の標的結合ドメインが、可溶性インターロイキンまたはサイトカイン受容体である、実施形態D86~D108のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1470】

実施形態D113. 前記可溶性受容体が、可溶性TGF- β 受容体II (TGF- β RII)、可溶性TGF- β RIIRI、可溶性NKG2D、可溶性Nkp30、可溶性Nkp44、可溶性Nkp46、可溶性DNAM-1、scMHC I、scMHC IIRI、scTCR、可溶性CD155、可溶性CD122、または可溶性CD28である、実施形態D112に記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【1471】

実施形態D114. 実施形態D1~D113に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかを含む、組成物。

【1472】

実施形態D115. 医薬組成物である、実施形態D114に記載の組成物。

【1473】

実施形態D116. 実施形態D114またはD115に記載の組成物の少なくとも1つの用量を含む、キット。

40

【1474】

実施形態D117. 免疫細胞を刺激する方法であって、

免疫細胞を、実施形態D1~D113に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態D114またはD115に記載の組成物の有効量と接触させることを含む、方法。

【1475】

実施形態D118. 前記免疫細胞をインビトロで接触させる、実施形態D117に記載の方法。

【1476】

50

実施形態 D 1 1 9 . 前記免疫細胞が、対象から以前に得られた、実施形態 D 1 1 8 に記載の方法。

【1 4 7 7】

実施形態 D 1 2 0 . 前記方法が、前記接触させるステップの前に、前記免疫細胞を前記対象から得ることをさらに含む、実施形態 D 1 1 9 に記載の方法。

【1 4 7 8】

実施形態 D 1 2 1 . 前記免疫細胞をインビボで接触させる、実施形態 D 1 1 7 に記載の方法。

【1 4 7 9】

実施形態 D 1 2 2 . 前記免疫細胞が、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブ T 細胞、多能性 T h 細胞前駆体、リンパ前駆細胞、T r e g 細胞、メモリー T 細胞、T h 1 7 細胞、T h 2 2 細胞、T h 9 細胞、T h 2 細胞、T h 1 細胞、T h 3 細胞、 $\gamma \delta$ T 細胞、 $\alpha \beta$ T 細胞、腫瘍浸潤 T 細胞、 $C D 8^{+}$ T 細胞、 $C D 4^{+}$ T 細胞、ナチュラルキラー T 細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、およびナチュラルキラー細胞からなる群から選択される、実施形態 D 1 1 7 ~ D 1 2 1 のいずれか 1 つに記載の方法。

【1 4 8 0】

実施形態 D 1 2 3 . 前記免疫細胞が、キメラ抗原受容体または組換え T 細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている、実施形態 D 1 1 7 ~ D 1 2 2 のいずれか 1 つに記載の方法。

【1 4 8 1】

実施形態 D 1 2 4 . 前記方法が、前記接触させるステップの後に、前記免疫細胞に、キメラ抗原受容体または組換え T 細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含む、実施形態 D 1 1 7 ~ D 1 2 2 のいずれか 1 つに記載の方法。

【1 4 8 2】

実施形態 D 1 2 5 . 前記方法が、前記免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することをさらに含む、実施形態 D 1 1 7 ~ D 1 2 4 のいずれか 1 つに記載の方法。

【1 4 8 3】

実施形態 D 1 2 6 . 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態 D 1 2 5 に記載の方法。

【1 4 8 4】

実施形態 D 1 2 7 . 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2 型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、C O P D、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、N A F L D、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態 D 1 2 6 に記載の方法。

【1 4 8 5】

実施形態 D 1 2 8 . 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態 D 1 2 5 に記載の方法。

【1 4 8 6】

実施形態 D 1 2 9 . 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B 細胞新生物、多発性骨髄腫、B 細胞リンパ腫、B 細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病 (C L L)、急性骨髄性白血病 (A M L)、慢性骨髄性白血病 (C M L)、急性リンパ性白血病 (A L L)、骨髄異形成症候群 (M D S)、皮膚 T 細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、お

10

20

30

40

50

よび肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態 D 1 2 8 に記載の方法。

【1 4 8 7】

実施形態 D 1 3 0 . 前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態 D 1 2 5 に記載の方法。

【1 4 8 8】

実施形態 D 1 3 1 . 前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B 型肝炎ウイルス、A 型肝炎ウイルス、C 型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、またはインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態 D 1 3 0 に記載の方法。

【1 4 8 9】

実施形態 D 1 3 2 . 免疫細胞の増殖を誘導するまたは増加させる方法であって、免疫細胞を、実施形態 D 1 ~ D 1 1 3 に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態 D 1 1 4 または D 1 1 5 に記載の組成物の有効量と接触させることを含む、方法。

【1 4 9 0】

実施形態 D 1 3 3 . 前記免疫細胞をインビトロで接触させる、実施形態 D 1 3 2 に記載の方法。

【1 4 9 1】

実施形態 D 1 3 4 . 前記免疫細胞が、対象から以前に得られた、実施形態 D 1 3 3 に記載の方法。

【1 4 9 2】

実施形態 D 1 3 5 . 前記方法が、前記接触させるステップの前に、前記免疫細胞を前記対象から得ることをさらに含む、実施形態 D 1 3 4 に記載の方法。

【1 4 9 3】

実施形態 D 1 3 6 . 前記免疫細胞をインビボで接触させる、実施形態 D 1 3 2 に記載の方法。

【1 4 9 4】

実施形態 D 1 3 7 . 前記免疫細胞が、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブ T 細胞、多能性 T h 細胞前駆体、リンパ前駆細胞、T r e g 細胞、メモリー T 細胞、T h 1 7 細胞、T h 2 2 細胞、T h 9 細胞、T h 2 細胞、T h 1 細胞、T h 3 細胞、 $\gamma \delta$ T 細胞、 $\alpha \beta$ T 細胞、腫瘍浸潤 T 細胞、C D 8 + T 細胞、C D 4 + T 細胞、ナチュラルキラー T 細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、およびナチュラルキラー細胞からなる群から選択される、実施形態 D 1 3 2 ~ D 1 3 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

【1 4 9 5】

実施形態 D 1 3 8 . 前記免疫細胞が、キメラ抗原受容体または組換え T 細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている、実施形態 D 1 3 2 ~ D 1 3 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

【1 4 9 6】

実施形態 D 1 3 9 . 前記方法が、前記接触させるステップの後に、前記免疫細胞に、キメラ抗原受容体または組換え T 細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含む、実施形態 D 1 3 2 ~ D 1 3 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

【1 4 9 7】

実施形態 D 1 4 0 . 前記方法が、前記免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することをさらに含む、実施形態 D 1 3 2 ~ D 1 3 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

【1 4 9 8】

実施形態 D 1 4 1 . 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態 D 1 4 0 に記載の方法。

【1 4 9 9】

10

20

30

40

50

実施形態 D 1 4 2 . 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、膵炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2 型真性糖尿病、脂肪萎縮、リボジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、C O P D、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、N A F L D、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態 D 1 4 1 に記載の方法。

【1500】

実施形態 D 1 4 3 . 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態 D 1 4 0 に記載の方法。

10

【1501】

実施形態 D 1 4 4 . 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B 細胞新生物、多発性骨髄腫、B 細胞リンパ腫、B 細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病 (C L L)、急性骨髄性白血病 (A M L)、慢性骨髄性白血病 (C M L)、急性リンパ性白血病 (A L L)、骨髄異形成症候群 (M D S)、皮膚 T 細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態 D 1 4 3 に記載の方法。

20

【1502】

実施形態 D 1 4 5 . 前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態 D 1 4 0 に記載の方法。

【1503】

実施形態 D 1 4 6 . 前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B 型肝炎ウイルス、A 型肝炎ウイルス、C 型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、またはインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態 D 1 4 0 に記載の方法。

【1504】

30

実施形態 D 1 4 7 . 免疫細胞のメモリーまたはメモリー様免疫細胞への分化を誘導する方法であって、

免疫細胞を、実施形態 D 1 ~ D 1 1 3 に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態 D 1 1 4 または D 1 1 5 に記載の組成物の有効量と接触させることを含む、方法。

【1505】

実施形態 D 1 4 8 . 前記免疫細胞をインビトロで接触させる、実施形態 D 1 4 7 に記載の方法。

【1506】

実施形態 D 1 4 9 . 前記免疫細胞が、対象から以前に得られた、実施形態 D 1 4 8 に記載の方法。

40

【1507】

実施形態 D 1 5 0 . 前記方法が、前記接触させるステップの前に、前記免疫細胞を前記対象から得ることをさらに含む、実施形態 D 1 4 9 に記載の方法。

【1508】

実施形態 D 1 5 1 . 前記免疫細胞をインビボで接触させる、実施形態 D 1 4 7 に記載の方法。

【1509】

実施形態 D 1 5 2 . 前記免疫細胞が、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブ T 細胞、多能性 T h 細胞前駆体、リンパ前駆細胞、T r e g 細胞、T h 1 7 細胞、T h 2 2 細胞

50

、T h 9細胞、T h 2細胞、T h 1細胞、T h 3細胞、 $\gamma \delta$ T細胞、 $\alpha \beta$ T細胞、腫瘍浸潤T細胞、C D 8 + T細胞、C D 4 + T細胞、ナチュラルキラーT細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、およびナチュラルキラー細胞からなる群から選択される、実施形態D 1 4 7 ~ D 1 5 1のいずれか1つに記載の方法。

【1 5 1 0】

実施形態D 1 5 3 . 前記免疫細胞が、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている、実施形態D 1 4 7 ~ D 1 5 2のいずれか1つに記載の方法。

【1 5 1 1】

実施形態D 1 5 4 . 前記方法が、前記接触させるステップの後に、前記免疫細胞に、キメラ抗原受容体または組換えT細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含む、実施形態D 1 4 7 ~ D 1 5 2のいずれか1つに記載の方法。

【1 5 1 2】

実施形態D 1 5 5 : 前記免疫細胞が、抗T F I g G抗体と接触して、メモリーまたはメモリー様免疫細胞を作製する、実施形態D 1 4 7 ~ D 1 5 3のいずれか1つに記載の方法。

【1 5 1 3】

実施形態D 1 5 6 . 前記方法が、前記免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することをさらに含む、実施形態D 1 4 7 ~ D 1 5 5のいずれか1つに記載の方法。

【1 5 1 4】

実施形態D 1 5 7 . 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態D 1 5 6に記載の方法。

【1 5 1 5】

実施形態D 1 5 8 . 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、C O P D、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、N A F L D、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態D 1 5 6に記載の方法。

【1 5 1 6】

実施形態D 1 5 9 . 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態D 1 5 6に記載の方法。

【1 5 1 7】

実施形態D 1 6 0 . 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病(C L L)、急性骨髄性白血病(A M L)、慢性骨髄性白血病(C M L)、急性リンパ性白血病(A L L)、骨髄異形成症候群(M D S)、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態D 1 5 9に記載の方法。

【1 5 1 8】

実施形態D 1 6 1 . 前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態D 1 5 6に記載の方法。

【1 5 1 9】

実施形態D 1 6 2 . 前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、パピローマウ

10

20

30

40

50

イルス、またはインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態 D 1 6 1 に記載の方法。

【1 5 2 0】

実施形態 D 1 6 3 . がん細胞、感染細胞、または老化細胞の死滅を必要とする対象におけるがん細胞、感染細胞、または老化細胞を死滅させる方法であって、前記対象に、実施形態 D 1 ~ D 1 1 3 に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態 D 1 1 4 または D 1 1 5 に記載の組成物の治療有効量を投与することを含む、方法。

【1 5 2 1】

実施形態 D 1 6 4 . 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態 D 1 6 3 に記載の方法。

【1 5 2 2】

実施形態 D 1 6 5 . 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B 細胞新生物、多発性骨髄腫、B 細胞リンパ腫、B 細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病 (C L L)、急性骨髄性白血病 (A M L)、慢性骨髄性白血病 (C M L)、急性リンパ性白血病 (A L L)、骨髄異形成症候群 (M D S)、皮膚 T 細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態 D 1 6 4 に記載の方法。

【1 5 2 3】

実施形態 D 1 6 6 . 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態 D 1 6 3 に記載の方法。

【1 5 2 4】

実施形態 D 1 6 7 . 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2 型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、C O P D、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、N A F L D、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態 D 1 6 6 に記載の方法。

【1 5 2 5】

実施形態 D 1 6 8 . 治療を必要とする対象を治療する方法であって、前記対象に、実施形態 D 1 ~ D 1 1 3 に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態 D 1 1 4 または D 1 1 5 に記載の組成物の治療有効量を投与することを含む、方法。

【1 5 2 6】

実施形態 D 1 6 9 . 前記対象が、がんまたは感染性疾患を有すると特定または診断されている、実施形態 D 1 6 8 に記載の方法。

【1 5 2 7】

実施形態 D 1 7 0 . 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B 細胞新生物、多発性骨髄腫、B 細胞リンパ腫、B 細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病 (C L L)、急性骨髄性白血病 (A M L)、慢性骨髄性白血病 (C M L)、急性リンパ性白血病 (A L L)、骨髄異形成症候群 (M D S)、皮膚 T 細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態 D 1 6 9 に記載の方法。

【1 5 2 8】

実施形態 D 1 7 1 . 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態 D 1 6 8 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【1529】

実施形態D172. 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態D171に記載の方法。

【1530】

実施形態D173. 前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態D168に記載の方法。

【1531】

実施形態D174. 前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、またはインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態D173に記載の方法。

【1532】

実施形態D175. 実施形態D1～D113のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかをコードする、核酸。

【1533】

実施形態D176. 実施形態D174に記載の核酸を含む、ベクター。

【1534】

実施形態D177. 前記ベクターが、発現ベクターである、実施形態D176に記載のベクター。

【1535】

実施形態D178. 実施形態D175に記載の核酸または実施形態D175またはD176に記載のベクターを含む、細胞。

【1536】

実施形態D179. 多鎖キメラポリペプチドを産生する方法であって、
前記多鎖キメラポリペプチドの産生をもたらすのに十分な条件下で、実施形態D177に記載の細胞を培養培地中で培養すること、ならびに
前記多鎖キメラポリペプチドを前記細胞および／または前記培養培地から回収することを含む、方法。

【1537】

実施形態D180. 実施形態D179に記載の方法によって産生された多鎖キメラポリペプチド。

【1538】

E. 例示的な実施形態

実施形態E1.

(e) (i) 第1の標的結合ドメインと、
(ii) 可溶性組織因子ドメインと、
(iii) 一対の親和性ドメインの第1のドメインと
を含む、第1のキメラポリペプチド、および
(f) (i) 一対の親和性ドメインの第2のドメインと、
(ii) 第2の標的結合ドメインと
を含む、第2のキメラポリペプチド
を含み、

前記第1のキメラポリペプチドと前記第2のキメラポリペプチドが、前記一対の親和性

10

20

30

40

50

ドメインの前記第 1 のドメインと前記第 2 のドメインとの結合を介して会合しており、

前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが各々独立して、IL-7 受容体、CD16、IL-21 受容体、TGF- β 、または CD137L 受容体に特異的に結合する、

多鎖キメラポリペプチド。

【1539】

実施形態 E2. 前記第 1 の標的結合ドメインと前記可溶性組織因子ドメインが、前記第 1 のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、実施形態 E1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1540】

実施形態 E3. 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記第 1 の標的結合ドメインと前記可溶性組織因子ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 E1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1541】

実施形態 E4. 前記可溶性組織因子ドメインと前記一对の親和性ドメインの前記第 1 のドメインが、前記第 1 のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、実施形態 E1 ~ E3 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1542】

実施形態 E5. 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記可溶性組織因子ドメインと前記一对の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 E1 ~ E3 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1543】

実施形態 E6. 前記一对の親和性ドメインの前記第 2 のドメインと前記第 2 の標的結合ドメインが、前記第 2 のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、実施形態 E1 ~ E5 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1544】

実施形態 E7. 前記第 2 のキメラポリペプチドが、前記第 2 のキメラポリペプチド内の前記一对の親和性ドメインの前記第 2 のドメインと前記第 2 の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 E1 ~ E5 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1545】

実施形態 E8. 前記可溶性組織因子ドメインが、可溶性ヒト組織因子ドメインである、実施形態 E1 ~ E7 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1546】

実施形態 E9. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 1 と少なくとも 80 % 同一の配列を含む、実施形態 E8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1547】

実施形態 E10. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 1 と少なくとも 90 % 同一の配列を含む、実施形態 E9 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1548】

実施形態 E11. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号 1 と少なくとも 95 % 同一の配列を含む、実施形態 E10 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1549】

実施形態 E12. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 20 位に対応するアミノ酸の位置にリジン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 22 位に対応するアミノ酸の位置にイソロイシン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 45 位に対応するアミノ酸の位置にトリ

10

20

30

40

50

プトファン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 58 位に対応するアミノ酸の位置にアスパラギン酸、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 94 位に対応するアミノ酸の位置にチロシン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 135 位に対応するアミノ酸の位置にアルギニン、および

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 140 位に対応するアミノ酸の位置にフェニルアラニンのうちの 1 つ以上を含まない、実施形態 E 8 ～ E 11 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1550】

実施形態 E 13 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 20 位に対応するアミノ酸の位置にリジン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 22 位に対応するアミノ酸の位置にイソロイシン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 45 位に対応するアミノ酸の位置にトリプトファン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 58 位に対応するアミノ酸の位置にアスパラギン酸、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 94 位に対応するアミノ酸の位置にチロシン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 135 位に対応するアミノ酸の位置にアルギニン、および

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 140 位に対応するアミノ酸の位置にフェニルアラニンのうちのいずれも含まない、実施形態 E 12 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1551】

実施形態 E 14 . 前記可溶性組織因子ドメインが、第 V I I a 因子に結合することができない、実施形態 E 1 ～ E 13 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1552】

実施形態 E 15 . 前記可溶性組織因子ドメインが、不活性第 X 因子を第 X a 因子に変換しない、実施形態 E 1 ～ E 14 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1553】

実施形態 E 16 . 前記多鎖キメラポリペプチドが、哺乳動物における凝固を刺激しない、実施形態 E 1 ～ E 15 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1554】

実施形態 E 17 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチドの N 末端または C 末端にペプチドタグをさらに含む、実施形態 E 1 ～ E 16 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1555】

実施形態 E 18 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、前記第 2 のキメラポリペプチド N 末端または C 末端にペプチドタグをさらに含む、実施形態 E 1 ～ E 17 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1556】

実施形態 E 19 . 前記第 1 のキメラポリペプチドおよび／または前記第 2 のキメラポリペプチドが、その N 末端にシグナル配列をさらに含む、実施形態 E 1 ～ E 18 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1557】

実施形態 E 20 . 前記シグナル配列が、配列番号 31 を含む、実施形態 E 19 に記載の

10

20

30

40

50

多鎖キメラポリペプチド。

【1558】

実施形態E21．前記シグナル配列が、配列番号31である、実施形態E20に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1559】

実施形態E22．前記一对の親和性ドメインが、ヒトIL-15受容体アルファ鎖（IL15R α ）由来のsushiドメインと可溶性IL-15である、実施形態E1～E21のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1560】

実施形態E23．前記可溶性IL-15が、D8NまたはD8Aアミノ酸置換を有する、実施形態E22に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1561】

実施形態E24．前記可溶性IL-15が、配列番号14と80%同一の配列を含む、実施形態E22に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1562】

実施形態E25．前記可溶性IL-15が、配列番号14と90%同一の配列を含む、実施形態E24に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1563】

実施形態E26．前記可溶性IL-15が、配列番号14と95%同一の配列を含む、実施形態E25に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1564】

実施形態E27．前記可溶性IL-15が、配列番号14を含む、実施形態E26に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1565】

実施形態E28．IL15R α の前記sushiドメインが、ヒトIL15R α 由来のsushiドメインを含む、実施形態E22～E27のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1566】

実施形態E29．ヒトIL15R α 由来の前記sushiドメインが、配列番号28と80%同一の配列を含む、実施形態E28に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1567】

実施形態E30．ヒトIL15R α 由来の前記sushiドメインが、配列番号28と90%同一の配列を含む、実施形態E29に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1568】

実施形態E31．ヒトIL15R α 由来の前記sushiドメインが、配列番号28と95%同一の配列を含む、実施形態E30に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1569】

実施形態E32．ヒトIL15R α 由来の前記sushiドメインが、配列番号28を含む、実施形態E31に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1570】

実施形態E33．ヒトIL15R α 由来の前記sushiドメインが、成熟全長IL15R α である、実施形態E28に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1571】

実施形態E34．前記一对の親和性ドメインが、バルナーゼとバルンスター、PKAとAKAP、変異RNase I断片に基づくアダプター／ドッキングタグモジュール、ならびに、タンパク質シンタキシン、シナプトタグミン、シナプトブレビン、およびSNAP25の相互作用に基づくSNAREモジュールからなる群から選択される、実施形態E1～E21のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1572】

実施形態E35．前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインが各

10

20

30

40

50

々独立して、IL-7受容体、CD16、またはIL-21受容体に特異的に結合する、実施形態E1～E34のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1573】

実施形態E36．前記第1の標的結合ドメインがIL-7受容体に特異的に結合し、前記第2の標的結合ドメインが、CD16またはIL-21受容体に特異的に結合する、実施形態E35に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1574】

実施形態E37．前記第1の標的結合ドメインが、可溶性IL-7タンパク質を含む、実施形態E36に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1575】

実施形態E38．前記可溶性IL-7タンパク質が、可溶性ヒトIL-7である、実施形態E37に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1576】

実施形態E39．前記第2の抗原結合ドメインが、CD16に特異的に結合する抗原結合ドメインを含む、実施形態E36～E38のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1577】

実施形態E40．前記第2の抗原結合ドメインが、CD16に特異的に結合するscFvを含む、実施形態E39に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1578】

実施形態E41．前記第2の抗原結合ドメインが、IL-21受容体に特異的に結合する、実施形態E36～E38のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1579】

実施形態E42．前記第2の抗原結合ドメインが、可溶性IL-21を含む、実施形態E41に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1580】

実施形態E43．前記可溶性IL-21が、可溶性ヒトIL-21である、実施形態E42に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1581】

実施形態E44．前記第2のキメラポリペプチドが、IL-21受容体に特異的に結合する追加の標的結合ドメインをさらに含む、実施形態E36～E40のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1582】

実施形態E45．前記追加の標的結合ドメインが、可溶性IL-21を含む、実施形態E44に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1583】

実施形態E46．前記可溶性IL-21が、可溶性ヒトIL-12である、実施形態E45に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1584】

実施形態E47．前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインが各々独立して、TGF- β 、CD16、またはIL-21受容体に特異的に結合する、実施形態E1～E34のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1585】

実施形態E48．前記第1の標的結合ドメインがTGF- β に特異的に結合し、前記第2の標的結合ドメインが、CD16またはIL-21受容体に特異的に結合する、実施形態E47に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1586】

実施形態E49．前記第1の標的結合ドメインが、可溶性TGF- β 受容体である、実施形態E48に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1587】

10

20

30

40

50

実施形態 E 5 0 . 可溶性 T G F - β 受容体が、可溶性 T G F β R I I 受容体である、実施形態 E 4 9 に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【 1 5 8 8 】

実施形態 E 5 1 . 前記第 2 の標的結合ドメインが、C D 1 6 に特異的に結合する、実施形態 E 4 8 ~ E 5 0 のいずれか 1 つに記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【 1 5 8 9 】

実施形態 E 5 2 . 前記第 2 の抗原結合ドメインが、C D 1 6 に特異的に結合する抗原結合ドメインを含む、実施形態 E 5 1 に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【 1 5 9 0 】

実施形態 E 5 3 . 前記第 2 の抗原結合ドメインが、C D 1 6 に特異的に結合する s c F v を含む、実施形態 E 5 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【 1 5 9 1 】

実施形態 E 5 4 . 前記第 2 の標的結合ドメインが、I L - 2 1 受容体に特異的に結合する、実施形態 E 4 8 ~ E 5 0 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 5 9 2 】

実施形態 E 5 5 . 前記第 2 の標的結合ドメインが、可溶性 I L - 2 1 を含む、実施形態 E 5 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 5 9 3 】

実施形態 E 5 6 . 前記第 2 の標的結合ドメインが、可溶性ヒト I L - 2 1 を含む、実施形態 E 5 5 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【 1 5 9 4 】

実施形態 E 5 7 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、I L - 2 1 受容体に特異的に結合する追加の標的結合ドメインをさらに含む、実施形態 E 4 8 ~ E 5 3 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 5 9 5 】

実施形態 E 5 8 . 前記追加の標的結合ドメインが、可溶性 I L - 2 1 を含む、実施形態 E 5 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 5 9 6 】

実施形態 E 5 9 . 前記可溶性 I L - 2 1 が、可溶性ヒト I L - 2 1 である、実施形態 E 5 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【 1 5 9 7 】

実施形態 E 6 0 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが各々独立して、I L - 7 受容体に特異的に結合する、実施形態 E 1 ~ E 3 4 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 5 9 8 】

実施形態 E 6 1 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが、可溶性 I L - 7 を含む、実施形態 E 6 0 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 5 9 9 】

実施形態 E 6 2 . 前記可溶性 I L - 7 が、可溶性ヒト I L - 7 である、実施形態 E 6 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【 1 6 0 0 】

実施形態 E 6 3 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが各々独立して、T G F - β に特異的に結合する、実施形態 E 1 ~ E 3 4 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 6 0 1 】

実施形態 E 6 4 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが、可溶性 T G F - β 受容体である、実施形態 E 6 3 に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【 1 6 0 2 】

実施形態 E 6 5 . 前記可溶性 T G F - β 受容体が、可溶性 T G F β R I I 受容体である、実施形態 E 6 4 に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

50

【1603】

実施形態E66．前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインが各々独立して、IL-7受容体、IL-21受容体、またはCD137L受容体に特異的に結合する、実施形態E1～E34のいずれか1つに記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1604】

実施形態E67．前記第1の標的結合ドメインがIL-7受容体に特異的に結合し、前記第2の標的結合ドメインがIL-21受容体またはCD137L受容体に特異的に結合する、実施形態E66に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1605】

実施形態E68．前記第1の標的結合ドメインが、可溶性IL-7である、実施形態E67に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

10

【1606】

実施形態E69．前記可溶性IL-7が、可溶性ヒトIL-7である、実施形態E68に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1607】

実施形態E70．前記第2の標的結合ドメインが、IL-21受容体に特異的に結合する、実施形態E67～E69のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1608】

実施形態E71．前記第2の標的結合ドメインが、可溶性IL-21である、実施形態E70に記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【1609】

実施形態E72．前記可溶性IL-21が、可溶性ヒトIL-21である、実施形態E71に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1610】

実施形態E73．前記第2の抗原結合ドメインが、CD137L受容体に特異的に結合する、実施形態E67～E69のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1611】

実施形態E74．前記第2の抗原結合ドメインが、可溶性CD137Lである、実施形態E73に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1612】

実施形態E75．前記可溶性CD137Lが、可溶性ヒトCD137Lである、実施形態E74に記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【1613】

実施形態E76．前記第2のキメラポリペプチドが、CD137L受容体に特異的に結合する追加の標的結合ドメインをさらに含む、実施形態E67～E72のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1614】

実施形態E77．前記追加の標的結合ドメインが、可溶性CD137Lを含む、実施形態E76に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1615】

実施形態E78．前記可溶性CD137Lが、可溶性ヒトCD137Lである、実施形態E77に記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【1616】

実施形態E79．前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインが各々独立して、IL-7受容体またはTGF- β に特異的に結合する、実施形態E1～E34のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1617】

実施形態E80．前記第1の標的結合ドメインがIL-7受容体に特異的に結合し、前記第2の標的結合ドメインがTGF- β に特異的に結合する、実施形態E79に記載の多鎖キメラポリペプチド。

50

【1618】

実施形態E81. 前記第1の標的結合ドメインが、可溶性IL-7タンパク質を含む、実施形態E80に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1619】

実施形態E82. 前記可溶性IL-7タンパク質が、可溶性ヒトIL-7である、実施形態E81に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1620】

実施形態E83. 前記第2の抗原結合ドメインが、TGF- β に特異的に結合する抗原結合ドメインを含む、実施形態E80～E82のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【1621】

実施形態E84. 前記第2の標的結合ドメインが、可溶性TGF- β 受容体である、実施形態E83に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1622】

実施形態E85. 前記可溶性TGF- β 受容体が、可溶性TGF- β RII受容体である、実施形態E84に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1623】

実施形態E86. 前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインが各々独立して、TGF- β 、IL-21受容体、またはCD137L受容体に特異的に結合する、実施形態E1～E34のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【1624】

実施形態E87. 前記第1の標的結合ドメインがTGF- β に特異的に結合し、前記第2の標的結合ドメインがIL-21受容体またはCD137L受容体に特異的に結合する、実施形態E86に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1625】

実施形態E88. 前記第1の標的結合ドメインが、可溶性TGF- β 受容体である、実施形態E87に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1626】

実施形態E89. 前記可溶性TGF- β 受容体が、可溶性TGF- β RII受容体である、実施形態E88に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

30

【1627】

実施形態E90. 前記第2の標的結合ドメインが、IL-21受容体に特異的に結合する、実施形態E87～E89のいずれか1つに記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1628】

実施形態E91. 前記第2の標的結合ドメインが、可溶性IL-21を含む、実施形態E90に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1629】

実施形態E92. 前記第2の標的結合ドメインが、可溶性ヒトIL-21を含む、実施形態E91に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1630】

実施形態E93. 前記第2の標的結合ドメインが、CD137L受容体に特異的に結合する、実施形態E87～E89のいずれか1つに記載の多重特異性キメラポリペプチド。

40

【1631】

実施形態E94. 前記第2の標的結合ドメインが、可溶性CD137Lを含む、実施形態E93に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1632】

実施形態E95. 前記第2の標的結合ドメインが、可溶性ヒトCD137Lを含む、実施形態E94に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1633】

実施形態E96. 前記第2のキメラポリペプチドが、CD137L受容体に特異的に結

50

合する追加の標的結合ドメインをさらに含む、実施形態 E 87～E 92 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1634】

実施形態 E 97 . 前記追加の標的結合ドメインが、可溶性 CD 137 L を含む、実施形態 E 96 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1635】

実施形態 E 98 . 前記可溶性 CD 137 L が、可溶性ヒト CD 137 L である、実施形態 E 97 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1636】

実施形態 E 99 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが各々独立して、TGF- β または IL-21 受容体に特異的に結合する、実施形態 E 1～E 34 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【1637】

実施形態 E 100 . 前記第 1 の標的結合ドメインが TGF- β に特異的に結合し、前記第 2 の標的結合ドメインが TGF- β または IL-21 受容体に特異的に結合する、実施形態 E 99 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1638】

実施形態 E 101 . 前記第 1 の標的結合ドメインが、可溶性 TGF- β 受容体である、実施形態 E 100 に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1639】

実施形態 E 102 . 前記可溶性 TGF- β 受容体が、可溶性 TGF β RII 受容体である、実施形態 E 101 に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

20

【1640】

実施形態 E 103 . 前記第 2 の標的結合ドメインが、IL-21 受容体に特異的に結合する、実施形態 E 100～E 102 のいずれか 1 つに記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1641】

実施形態 E 104 . 前記第 2 の標的結合ドメインが、可溶性 IL-21 を含む、実施形態 E 103 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1642】

実施形態 E 105 . 前記第 2 の標的結合ドメインが、可溶性ヒト IL-21 を含む、実施形態 E 104 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【1643】

実施形態 E 106 . 前記第 2 の標的結合ドメインが、TGF- β に特異的に結合する、実施形態 E 100～E 102 のいずれか 1 つに記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1644】

実施形態 E 107 . 前記第 1 の標的結合ドメインが、可溶性 TGF- β 受容体である、実施形態 E 106 に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1645】

実施形態 E 108 . 前記可溶性 TGF- β 受容体が、可溶性 TGF β RII 受容体である、実施形態 E 107 に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

40

【1646】

実施形態 E 109 . 前記第 2 のポリペプチドが、TGF- β に特異的に結合する追加の標的結合ドメインをさらに含む、実施形態 E 100～E 105 のいずれか 1 つに記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1647】

実施形態 E 110 . 前記第 1 の標的結合ドメインが、可溶性 TGF- β 受容体である、実施形態 E 109 に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1648】

実施形態 E 111 . 前記可溶性 TGF- β 受容体が、可溶性 TGF β RII 受容体であ

50

る、実施形態 E 1 1 0 に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1 6 4 9】

実施形態 E 1 1 2 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが各々独立して、T G F - β または I L - 1 6 に特異的に結合する、実施形態 E 1 ~ E 3 4 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 5 0】

実施形態 E 1 1 3 . 前記第 1 の標的結合ドメインが T G F - β に特異的に結合し、前記第 2 の標的結合ドメインが T G F - β または I L - 1 6 に特異的に結合する、実施形態 E 1 1 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 5 1】

実施形態 E 1 1 4 . 前記第 1 の標的結合ドメインが、可溶性 T G F - β 受容体である、実施形態 E 1 1 3 に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1 6 5 2】

実施形態 E 1 1 5 . 前記可溶性 T G F - β 受容体が、可溶性 T G F β R I I 受容体である、実施形態 E 1 1 4 に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1 6 5 3】

実施形態 E 1 1 6 . 前記第 2 の標的結合ドメインが、I L - 1 6 に特異的に結合する、実施形態 E 1 1 3 ~ E 1 1 5 のいずれか 1 つに記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1 6 5 4】

実施形態 E 1 1 7 . 前記第 2 の抗原結合ドメインが、C D 1 6 に特異的に結合する抗原結合ドメインを含む、実施形態 E 1 1 6 に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1 6 5 5】

実施形態 E 1 1 8 . 前記第 2 の抗原結合ドメインが、C D 1 6 に特異的に結合する s c F v を含む、実施形態 E 1 1 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 5 6】

実施形態 E 1 1 9 . 前記第 2 の標的結合ドメインが、T G F - β に特異的に結合する、実施形態 E 1 1 3 ~ E 1 1 5 のいずれか 1 つに記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1 6 5 7】

実施形態 E 1 2 0 . 前記第 1 の標的結合ドメインが、可溶性 T G F - β 受容体である、実施形態 E 1 1 9 に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1 6 5 8】

実施形態 E 1 2 1 . 前記可溶性 T G F - β 受容体が、可溶性 T G F β R I I 受容体である、実施形態 E 1 2 0 に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1 6 5 9】

実施形態 E 1 2 2 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、T G F - β に特異的に結合する追加の標的結合ドメインをさらに含む、実施形態 E 1 1 3 ~ E 1 1 8 のいずれか 1 つに記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1 6 6 0】

実施形態 E 1 2 3 . 前記第 1 の標的結合ドメインが、可溶性 T G F - β 受容体である、実施形態 E 1 2 2 に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1 6 6 1】

実施形態 E 1 2 4 . 前記可溶性 T G F - β 受容体が、可溶性 T G F β R I I 受容体である、実施形態 E 1 2 3 に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1 6 6 2】

実施形態 E 1 2 5 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが各々独立して、T G F - β または C D 1 3 7 L 受容体に特異的に結合する、実施形態 E 1 ~ E 3 4 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 6 3】

実施形態 E 1 2 6 . 前記第 1 の標的結合ドメインが T G F - β に特異的に結合し、前記第 2 の標的結合ドメインが C D 1 3 7 L 受容体に特異的に結合する、実施形態 E 1 2 5 に

10

20

30

40

50

記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1664】

実施形態E127．前記第1の標的結合ドメインが、可溶性TGF- β 受容体である、実施形態E126に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1665】

実施形態E128．前記可溶性TGF- β 受容体が、可溶性TGF β RII受容体である、実施形態E127に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1666】

実施形態E129．前記第2の標的結合ドメインが、可溶性CD137Lタンパク質を含む、実施形態E128に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1667】

実施形態E130．前記可溶性CD137Lタンパク質が、可溶性ヒトCD137Lである、実施形態E129に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1668】

実施形態E131．前記第2のキメラポリペプチドが、TGF- β に特異的に結合する追加の標的結合ドメインをさらに含む、実施形態E126～E130のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1669】

実施形態E132．前記追加の標的結合ドメインが、可溶性TGF- β 受容体である、実施形態E131に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1670】

実施形態E133．前記可溶性TGF- β 受容体が、可溶性TGF β RII受容体である、実施形態E132に記載の多重特異性キメラポリペプチド。

【1671】

実施形態E134．前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号104と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態E1に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1672】

実施形態E135．前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号104と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態E134に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1673】

実施形態E136．前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号104と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態E135に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1674】

実施形態E137．前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号104を含む、実施形態E136に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1675】

実施形態E138．前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号106を含む、実施形態E137に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1676】

実施形態E139．前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号129と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態E1およびE134～E138のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1677】

実施形態E140．前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号129と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態E139に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1678】

実施形態E141．前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号129と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態E140に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1679】

実施形態E142．前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号129を含む、実施形

10

20

30

40

50

態 E 1 4 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 8 0】

実施形態 E 1 4 3 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 3 1 を含む、実施形態 E 1 4 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 8 1】

実施形態 E 1 4 4 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 3 3 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 E 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 8 2】

実施形態 E 1 4 5 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 3 3 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 E 1 4 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 8 3】

実施形態 E 1 4 6 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 3 3 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 E 1 4 5 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 8 4】

実施形態 E 1 4 7 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 3 3 を含む、実施形態 E 1 4 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 8 5】

実施形態 E 1 4 8 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 3 5 を含む、実施形態 E 1 4 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 8 6】

実施形態 E 1 4 9 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 3 7 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 E 1 および E 1 4 4 ~ E 1 4 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 8 7】

実施形態 E 1 5 0 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 3 7 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 E 1 4 9 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 8 8】

実施形態 E 1 5 1 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 3 7 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 E 1 5 0 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 8 9】

実施形態 E 1 5 2 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 3 7 を含む、実施形態 E 1 5 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 9 0】

実施形態 E 1 5 3 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 3 9 を含む、実施形態 E 1 5 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 9 1】

実施形態 E 1 5 4 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 4 1 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 E 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 9 2】

実施形態 E 1 5 5 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 4 1 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 E 1 5 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 9 3】

実施形態 E 1 5 6 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 4 1 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 E 1 5 5 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 9 4】

実施形態 E 1 5 7 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 4 1 を含む、実施形態 E 1 5 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 6 9 5】

実施形態 E 1 5 8 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 4 3 を含む、実施形態 E 1 5 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

20

30

40

50

【1696】

実施形態E159. 前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号145と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態E1およびE154～E158のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1697】

実施形態E160. 前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号145と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態E159に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1698】

実施形態E161. 前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号145と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態E160に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【1699】

実施形態E162. 前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号145を含む、実施形態E161に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1700】

実施形態E163. 前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号147を含む、実施形態E162に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1701】

実施形態E164. 前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号149と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態E1に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1702】

実施形態E165. 前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号149と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態E164に記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【1703】

実施形態E166. 前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号149と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態E165に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1704】

実施形態E167. 前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号149を含む、実施形態E166に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1705】

実施形態E168. 前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号151を含む、実施形態E167に記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【1706】

実施形態E169. 前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号153と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態E1およびE164～E168のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1707】

実施形態E170. 前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号153と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態E169に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1708】

実施形態E171. 前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号153と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態E170に記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【1709】

実施形態E172. 前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号153を含む、実施形態E171に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1710】

実施形態E173. 前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号155を含む、実施形態E172に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1711】

実施形態E174. 前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号161と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態E1に記載の多鎖キメラポリペプチド。

50

【1712】

実施形態 E 175. 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 161 と少なくとも 90 % 同一の配列を含む、実施形態 E 174 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1713】

実施形態 E 176. 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 161 と少なくとも 95 % 同一の配列を含む、実施形態 E 175 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1714】

実施形態 E 177. 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 161 を含む、実施形態 E 176 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1715】

実施形態 E 178. 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 163 を含む、実施形態 E 177 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1716】

実施形態 E 179. 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 165 と少なくとも 80 % 同一の配列を含む、実施形態 E 1 および E 174 ~ E 178 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1717】

実施形態 E 180. 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 165 と少なくとも 90 % 同一の配列を含む、実施形態 E 179 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1718】

実施形態 E 181. 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 165 と少なくとも 95 % 同一の配列を含む、実施形態 E 180 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1719】

実施形態 E 182. 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 165 を含む、実施形態 E 181 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1720】

実施形態 E 183. 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 167 を含む、実施形態 E 182 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1721】

実施形態 E 184. 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 173 と少なくとも 80 % 同一の配列を含む、実施形態 E 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1722】

実施形態 E 185. 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 173 と少なくとも 90 % 同一の配列を含む、実施形態 E 184 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1723】

実施形態 E 186. 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 173 と少なくとも 95 % 同一の配列を含む、実施形態 E 185 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1724】

実施形態 E 187. 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 173 を含む、実施形態 E 186 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1725】

実施形態 E 188. 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 175 を含む、実施形態 E 187 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1726】

実施形態 E 189. 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 189 と少なくとも 80 % 同一の配列を含む、実施形態 E 1 および E 184 ~ E 188 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1727】

実施形態 E 190. 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 189 と少なくとも 90 % 同一の配列を含む、実施形態 E 189 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

20

30

40

50

【1728】

実施形態E191. 前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号189と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態E190に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1729】

実施形態E192. 前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号189を含む、実施形態E191に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1730】

実施形態E193. 前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号191を含む、実施形態E192に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1731】

実施形態E194. 前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号173と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態E1に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1732】

実施形態E195. 前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号173と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態E194に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1733】

実施形態E196. 前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号173と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態E195に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1734】

実施形態E197. 前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号173を含む、実施形態E196に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1735】

実施形態E198. 前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号175を含む、実施形態E197に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1736】

実施形態E199. 前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号177と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態E1およびE194～E198のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1737】

実施形態E200. 前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号177と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態E199に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1738】

実施形態E201. 前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号177と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態E200に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1739】

実施形態E202. 前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号177を含む、実施形態E201に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1740】

実施形態E203. 前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号179を含む、実施形態E202に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1741】

実施形態E204. 前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号181と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態E1に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1742】

実施形態E205. 前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号181と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態E204に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1743】

実施形態E206. 前記第1のキメラポリペプチドが、配列番号181と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態E205に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1744】

10

20

30

40

50

実施形態 E 2 0 7 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 8 1 を含む、実施形態 E 2 0 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 4 5 】

実施形態 E 2 0 8 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 8 3 を含む、実施形態 E 2 0 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 4 6 】

実施形態 E 2 0 9 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 8 5 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 E 1 および E 2 0 4 ~ E 2 0 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 4 7 】

実施形態 E 2 1 0 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 8 5 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 E 2 0 9 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 4 8 】

実施形態 E 2 1 1 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 8 5 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 E 2 1 0 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 4 9 】

実施形態 E 2 1 2 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 8 5 を含む、実施形態 E 2 1 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 5 0 】

実施形態 E 2 1 3 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 8 7 を含む、実施形態 E 2 1 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 5 1 】

実施形態 E 2 1 4 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 9 3 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 E 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 5 2 】

実施形態 E 2 1 5 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 9 3 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 E 2 1 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 5 3 】

実施形態 E 2 1 6 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 9 3 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 E 2 1 5 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 5 4 】

実施形態 E 2 1 7 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 9 3 を含む、実施形態 E 2 1 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 5 5 】

実施形態 E 2 1 8 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 9 5 を含む、実施形態 E 2 1 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 5 6 】

実施形態 E 2 1 9 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 9 7 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 E 1 および E 2 1 4 ~ E 2 1 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 5 7 】

実施形態 E 2 2 0 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 9 7 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 E 2 1 9 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 5 8 】

実施形態 E 2 2 1 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 9 7 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 E 2 2 0 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 5 9 】

実施形態 E 2 2 2 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 9 7 を含む、実施形態 E 2 2 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 6 0 】

10

20

30

40

50

実施形態 E 2 2 3 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 1 9 9 を含む、実施形態 E 2 2 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 6 1 】

実施形態 E 2 2 4 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 2 0 1 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 E 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 6 2 】

実施形態 E 2 2 5 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 2 0 1 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 E 2 2 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 6 3 】

実施形態 E 2 2 6 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 2 0 1 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 E 2 2 5 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 6 4 】

実施形態 E 2 2 7 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 2 0 1 を含む、実施形態 E 2 2 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 6 5 】

実施形態 E 2 2 8 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 2 0 3 を含む、実施形態 E 2 2 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 6 6 】

実施形態 E 2 2 9 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 2 0 5 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 E 1 および E 2 2 4 ~ E 2 2 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 6 7 】

実施形態 E 2 3 0 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 2 0 5 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 E 2 2 9 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 6 8 】

実施形態 E 2 3 1 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 2 0 5 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 E 2 3 0 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 6 9 】

実施形態 E 2 3 2 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 2 0 5 を含む、実施形態 E 2 3 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 7 0 】

実施形態 E 2 3 3 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 2 0 7 を含む、実施形態 E 2 3 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 7 1 】

実施形態 E 2 3 4 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 2 0 9 と少なくとも 8 0 % 同一の配列を含む、実施形態 E 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 7 2 】

実施形態 E 2 3 5 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 2 0 9 と少なくとも 9 0 % 同一の配列を含む、実施形態 E 2 3 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 7 3 】

実施形態 E 2 3 6 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 2 0 9 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む、実施形態 E 2 3 5 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 7 4 】

実施形態 E 2 3 7 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 2 0 9 を含む、実施形態 E 2 3 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 7 5 】

実施形態 E 2 3 8 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、配列番号 2 1 1 を含む、実施形態 E 2 3 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【 1 7 7 6 】

実施形態 E 2 3 9 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、配列番号 2 1 3 と少なくとも 8

10

20

30

40

50

0%同一の配列を含む、実施形態E1およびE234～E238のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1777】

実施形態E240．前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号213と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態E239に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1778】

実施形態E241．前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号213と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態E240に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1779】

実施形態E242．前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号213を含む、実施形態E241に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【1780】

実施形態E243．前記第2のキメラポリペプチドが、配列番号215を含む、実施形態E242に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1781】

実施形態E244．前記第1のキメラポリペプチドが、1つ以上の追加の標的結合ドメイン（複数可）をさらに含み、前記1つ以上の追加の抗原結合ドメイン（複数可）のうちの少なくとも1つが、前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間に位置付けられている、実施形態E1～E133のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【1782】

実施形態E245．前記第1のキメラポリペプチドが、前記可溶性組織因子ドメインと前記1つ以上の追加の抗原結合ドメイン（複数可）のうちの前記少なくとも1つとの間にリンカー配列、および／または前記1つ以上の追加の抗原結合ドメイン（複数可）のうちの前記少なくとも1つと前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態E244に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1783】

実施形態E246．前記第1のキメラポリペプチドが、前記第1のキメラポリペプチドのN末端および／またはC末端に1つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む、実施形態E1～E133のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【1784】

実施形態E247．前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインに直接隣接している、実施形態E246に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1785】

実施形態E248．前記第1のキメラポリペプチドが、前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つと前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態E246に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1786】

実施形態E249．前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記第1の標的結合ドメインに直接隣接している、実施形態E246に記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【1787】

実施形態E250．前記第1のキメラポリペプチドが、前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つと前記第1の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態E246に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1788】

実施形態E251．前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つが、前記第1のキメラポリペプチドのN末端および／またはC末端に配置されており、前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも1つが、前記第1のキメラポリペ

50

プチド内の前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間に位置付けられている、実施形態E 2 4 6に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 7 8 9】

実施形態E 2 5 2. N末端に配置された前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つの追加の標的結合ドメインが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記第1の標的結合ドメインまたは前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインに直接隣接している、実施形態E 2 5 1に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 7 9 0】

実施形態E 2 5 3. 前記第1のキメラポリペプチドが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記少なくとも1つの追加の標的結合ドメインと前記第1の標的結合ドメインまたは前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間に配置されたリンカー配列をさらに含む、実施形態E 2 5 1に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【1 7 9 1】

実施形態E 2 5 4. C末端に配置された前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つの追加の標的結合ドメインが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記第1の標的結合ドメインまたは前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインに直接隣接している、実施形態E 2 5 1に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 7 9 2】

実施形態E 2 5 5. 前記第1のキメラポリペプチドが、前記第1のキメラポリペプチド内の前記少なくとも1つの追加の標的結合ドメインと前記第1の標的結合ドメインまたは前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間に配置されたリンカー配列をさらに含む、実施形態E 2 5 1に記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【1 7 9 3】

実施形態E 2 5 6. 前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間に位置付けられた前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つが、前記可溶性組織因子ドメインおよび／または前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインに直接隣接している、実施形態E 2 5 1に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 7 9 4】

実施形態E 2 5 7. 前記第1のキメラポリペプチドが、(i) 前記可溶性組織因子ドメインと、前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間に位置付けられた前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つとの間、および／または(ii) 前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインと、前記可溶性組織因子ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間に位置付けられた前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも1つとの間に配置されたリンカー配列をさらに含む、実施形態E 2 5 1に記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【1 7 9 5】

実施形態E 2 5 8. 前記第2のキメラポリペプチドが、前記第2のキメラポリペプチドのN末端またはC末端に前記追加の標的結合ドメインをさらに含む、実施形態E 4 4～E 4 6、E 5 7～E 5 9、E 7 6～E 7 8、E 9 6～E 9 8、E 1 0 9～E 1 1 1、E 1 2 2～E 1 2 4、およびE 1 3 1～E 1 3 3のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【1 7 9 6】

実施形態E 2 5 9. 前記追加の標的結合ドメインが、前記第2のキメラポリペプチド内の前記一対の親和性ドメインの前記第2のドメインに直接隣接している、実施形態E 2 5 8に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1 7 9 7】

実施形態E 2 6 0. 前記第2のキメラポリペプチドが、前記第2のキメラポリペプチド内の前記追加の標的結合ドメインと前記一対の親和性ドメインの前記第2のドメインとの

50

間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 E 2 5 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1798】

実施形態 E 2 6 1 . 前記追加の標的結合ドメインが、前記第 2 のキメラポリペプチド内の前記第 2 の標的結合ドメインに直接隣接している、実施形態 E 2 5 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1799】

実施形態 E 2 6 2 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、前記第 2 のキメラポリペプチド内の前記追加の標的結合ドメインと前記第 2 の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 E 2 5 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1800】

実施形態 E 2 6 3 . 実施形態 E 1 ~ E 2 6 2 に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかを含む、組成物。

【1801】

実施形態 E 2 6 4 . 医薬組成物である、実施形態 E 2 6 3 に記載の組成物。

【1802】

実施形態 E 2 6 5 . 実施形態 E 2 6 3 または E 2 6 4 に記載の組成物の少なくとも 1 つの用量を含む、キット。

【1803】

実施形態 E 2 6 6 . 免疫細胞を刺激する方法であって、

免疫細胞を、実施形態 E 1 ~ E 2 6 2 に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態 E 2 6 3 または E 2 6 4 に記載の組成物の有効量と接触させることを含む、方法。

【1804】

実施形態 E 2 6 7 . 前記免疫細胞をインビトロで接触させる、実施形態 E 2 6 6 に記載の方法。

【1805】

実施形態 E 2 6 8 . 前記免疫細胞が、対象から以前に得られた、実施形態 E 2 6 7 に記載の方法。

【1806】

実施形態 E 2 6 9 . 前記方法が、前記接触させるステップの前に、前記免疫細胞を前記対象から得ることをさらに含む、実施形態 E 2 6 8 に記載の方法。

【1807】

実施形態 E 2 7 0 . 前記免疫細胞をインビボで接触させる、実施形態 E 2 6 6 に記載の方法。

【1808】

実施形態 E 2 7 1 . 前記免疫細胞が、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブ T 細胞、多能性 T h 細胞前駆体、リンパ前駆細胞、T r e g 細胞、メモリー T 細胞、T h 1 7 細胞、T h 2 2 細胞、T h 9 細胞、T h 2 細胞、T h 1 細胞、T h 3 細胞、 $\gamma \delta$ T 細胞、 $\alpha \beta$ T 細胞、腫瘍浸潤 T 細胞、C D 8 ⁺ T 細胞、C D 4 ⁺ T 細胞、ナチュラルキラー T 細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、およびナチュラルキラー細胞からなる群から選択される、実施形態 E 2 6 6 ~ E 2 7 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

【1809】

実施形態 E 2 7 2 . 前記免疫細胞が、キメラ抗原受容体または組換え T 細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている、実施形態 E 2 6 6 ~ E 2 7 1 のいずれか 1 つに記載の方法。

【1810】

実施形態 E 2 7 3 . 前記方法が、前記接触させるステップの後に、前記免疫細胞に、キメラ抗原受容体または組換え T 細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含む、実施形態 E 2 6 6 ~ E 2 7 1 のいずれか 1 つに記載の方法。

10

20

30

40

50

【1811】

実施形態 E 2 7 4 . 前記方法が、前記免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することをさらに含む、実施形態 E 2 6 6 ~ E 2 7 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

【1812】

実施形態 E 2 7 5 . 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態 E 2 7 4 に記載の方法。

【1813】

実施形態 E 2 7 6 . 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2 型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態 E 2 7 5 に記載の方法。

10

【1814】

実施形態 E 2 7 7 . 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態 E 2 7 4 に記載の方法。

【1815】

実施形態 E 2 7 8 . 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B 細胞新生物、多発性骨髄腫、B 細胞リンパ腫、B 細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病 (CLL)、急性骨髄性白血病 (AML)、慢性骨髄性白血病 (CML)、急性リンパ性白血病 (ALL)、骨髄異形成症候群 (MDS)、皮膚 T 細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態 E 2 7 7 に記載の方法。

20

【1816】

実施形態 E 2 7 9 . 前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態 E 2 7 4 に記載の方法。

30

【1817】

実施形態 E 2 8 0 . 前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B 型肝炎ウイルス、A 型肝炎ウイルス、および C 型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態 E 2 7 9 に記載の方法。

【1818】

実施形態 E 2 8 1 . 免疫細胞の増殖を誘導するまたは増加させる方法であって、免疫細胞を、実施形態 E 1 ~ E 2 6 2 に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態 E 2 6 3 または E 2 6 4 に記載の組成物の有効量と接触させることを含む、方法。

40

【1819】

実施形態 E 2 8 2 . 前記免疫細胞をインビトロで接触させる、実施形態 E 2 8 1 に記載の方法。

【1820】

実施形態 E 2 8 3 . 前記免疫細胞が、対象から以前に得られた、実施形態 E 2 8 2 に記載の方法。

【1821】

実施形態 E 2 8 4 . 前記方法が、前記接触させるステップの前に、前記免疫細胞を前記対象から得ることをさらに含む、実施形態 E 2 8 3 に記載の方法。

50

【1822】

実施形態 E 2 8 5 . 前記免疫細胞をインビボで接触させる、実施形態 E 2 8 1 に記載の方法。

【1823】

実施形態 E 2 8 6 . 前記免疫細胞が、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブ T 細胞、多能性 T h 細胞前駆体、リンパ前駆細胞、T r e e g 細胞、メモリー T 細胞、T h 1 7 細胞、T h 2 2 細胞、T h 9 細胞、T h 2 細胞、T h 1 細胞、T h 3 細胞、 $\gamma \delta$ T 細胞、 $\alpha \beta$ T 細胞、腫瘍浸潤 T 細胞、C D 8 + T 細胞、C D 4 + T 細胞、ナチュラルキラー T 細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、およびナチュラルキラー細胞からなる群から選択される、実施形態 E 2 8 1 ~ E 2 8 5 のいずれか 1 つに記載の方法。

10

【1824】

実施形態 E 2 8 7 . 前記免疫細胞が、キメラ抗原受容体または組換え T 細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている、実施形態 E 2 8 1 ~ E 2 8 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

【1825】

実施形態 E 2 8 8 . 前記方法が、前記接触させるステップの後に、前記免疫細胞に、キメラ抗原受容体または組換え T 細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含む、実施形態 E 2 8 1 ~ E 2 8 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

【1826】

実施形態 E 2 8 9 . 前記方法が、前記免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することをさらに含む、実施形態 E 2 8 1 ~ E 2 8 8 のいずれか 1 つに記載の方法。

20

【1827】

実施形態 E 2 9 0 . 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態 E 2 8 9 に記載の方法。

【1828】

実施形態 E 2 9 1 . 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2 型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、C O P D、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、N A F L D、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態 E 2 9 0 に記載の方法。

30

【1829】

実施形態 E 2 9 2 . 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態 E 2 8 9 に記載の方法。

【1830】

実施形態 E 2 9 3 . 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B 細胞新生物、多発性骨髄腫、B 細胞リンパ腫、B 細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病 (C L L)、急性骨髄性白血病 (A M L)、慢性骨髄性白血病 (C M L)、急性リンパ性白血病 (A L L)、骨髄異形成症候群 (M D S)、皮膚 T 細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態 E 2 9 2 に記載の方法。

40

【1831】

実施形態 E 2 9 4 . 前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態 E 2 8 9 に記載の方法。

【1832】

50

実施形態 E 2 9 5 . 前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B 型肝炎ウイルス、A 型肝炎ウイルス、および C 型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態 E 2 8 9 に記載の方法。

【1 8 3 3】

実施形態 E 2 9 6 . 免疫細胞のメモリーまたはメモリー様免疫細胞への分化を誘導する方法であって、

免疫細胞を、実施形態 E 1 ~ E 2 6 2 に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態 E 2 6 3 または E 2 6 4 に記載の組成物の有効量と接触させることを含む、方法。

【1 8 3 4】

実施形態 E 2 9 7 . 前記免疫細胞をインビトロで接触させる、実施形態 E 2 9 6 に記載の方法。

【1 8 3 5】

実施形態 E 2 9 8 . 前記免疫細胞が、対象から以前に得られた、実施形態 E 2 9 7 に記載の方法。

【1 8 3 6】

実施形態 E 2 9 9 . 前記方法が、前記接触させるステップの前に、前記免疫細胞を前記対象から得ることをさらに含む、実施形態 E 2 9 8 に記載の方法。

【1 8 3 7】

実施形態 E 3 0 0 . 前記免疫細胞をインビボで接触させる、実施形態 E 2 9 6 に記載の方法。

【1 8 3 8】

実施形態 E 3 0 1 . 前記免疫細胞が、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ナイーブ T 細胞、多能性 T h 細胞前駆体、リンパ前駆細胞、T r e g 細胞、T h 1 7 細胞、T h 2 2 細胞、T h 9 細胞、T h 2 細胞、T h 1 細胞、T h 3 細胞、 $\gamma \delta$ T 細胞、 $\alpha \beta$ T 細胞、腫瘍浸潤 T 細胞、C D 8 + T 細胞、C D 4 + T 細胞、ナチュラルキラー T 細胞、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球、およびナチュラルキラー細胞からなる群から選択される、実施形態 E 2 9 6 ~ E 3 0 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

【1 8 3 9】

実施形態 E 3 0 2 . 前記免疫細胞が、キメラ抗原受容体または組換え T 細胞受容体を発現するようにあらかじめ遺伝子修飾されている、実施形態 E 2 9 6 ~ E 3 0 1 のいずれか 1 つに記載の方法。

【1 8 4 0】

実施形態 E 3 0 3 . 前記方法が、前記接触させるステップの後に、前記免疫細胞に、キメラ抗原受容体または組換え T 細胞受容体をコードする核酸を導入することをさらに含む、実施形態 E 2 9 6 ~ E 3 0 1 のいずれか 1 つに記載の方法。

【1 8 4 1】

実施形態 E 3 0 4 . 前記方法が、前記免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することをさらに含む、実施形態 E 2 9 6 ~ E 3 0 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

【1 8 4 2】

実施形態 E 3 0 5 . 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態 E 3 0 4 に記載の方法。

【1 8 4 3】

実施形態 E 3 0 6 . 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2 型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、C O P D、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキン

10

20

30

40

50

ソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態 E 3 0 5 に記載の方法。

【1844】

実施形態 E 3 0 7 . 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態 E 3 0 4 に記載の方法。

【1845】

実施形態 E 3 0 8 . 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病（CML）、急性リンパ性白血病（ALL）、骨髄異形成症候群（MDS）、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態 E 3 0 7 に記載の方法。

【1846】

実施形態 E 3 0 9 . 前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態 E 3 0 4 に記載の方法。

【1847】

実施形態 E 3 1 0 . 前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、およびC型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態 E 3 0 9 に記載の方法。

【1848】

実施形態 E 3 1 1 . がん細胞、感染細胞、または老化細胞の死滅を必要とする対象におけるがん細胞、感染細胞、または老化細胞を死滅させる方法であって、前記対象に、実施形態 E 1 ~ E 2 6 2 に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態 E 2 6 3 または E 2 6 4 に記載の組成物の治療有効量を投与することを含む、方法。

【1849】

実施形態 E 3 1 2 . 前記対象が、がんを有すると特定または診断されている、実施形態 E 3 1 1 に記載の方法。

【1850】

実施形態 E 3 1 3 . 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B細胞新生物、多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、B細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病（CML）、急性リンパ性白血病（ALL）、骨髄異形成症候群（MDS）、皮膚T細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態 E 3 1 2 に記載の方法。

【1851】

実施形態 E 3 1 4 . 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態 E 3 1 1 に記載の方法。

【1852】

実施形態 E 3 1 5 . 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキン

10

20

30

40

50

ソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態 E 3 1 4 に記載の方法。

【1853】

実施形態 E 3 1 6 . 治療を必要とする対象を治療する方法であって、前記対象に、実施形態 E 1 ~ E 2 6 2 に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかまたは実施形態 E 2 6 3 または E 2 6 4 に記載の組成物の治療有効量を投与することを含む、方法。

【1854】

実施形態 E 3 1 7 . 前記対象が、がんまたは感染性疾患を有すると特定または診断されている、実施形態 E 3 1 6 に記載の方法。

【1855】

実施形態 E 3 1 8 . 前記がんが、固形腫瘍、血液腫瘍、肉腫、骨肉腫、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、横紋筋肉腫、ユーイング肉腫、骨肉腫、B 細胞新生物、多発性骨髄腫、B 細胞リンパ腫、B 細胞非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、慢性リンパ性白血病 (CLL)、急性骨髄性白血病 (AML)、慢性骨髄性白血病 (CML)、急性リンパ性白血病 (ALL)、骨髄異形成症候群 (MDS)、皮膚 T 細胞リンパ腫、網膜芽細胞腫、胃癌、尿路上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃食道癌、膵臓癌、前立腺癌、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、肝臓癌、および肝細胞癌からなる群から選択される、実施形態 E 3 1 7 に記載の方法。

【1856】

実施形態 E 3 1 9 . 前記対象が、加齢関連疾患または状態を有すると特定または診断されている、実施形態 E 3 1 6 に記載の方法。

【1857】

実施形態 E 3 2 0 . 前記加齢関連疾患または状態が、アルツハイマー病、動脈瘤、嚢胞性線維症、肺炎における線維症、緑内障、高血圧症、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、椎間板変性、黄斑変性、骨関節炎、2 型真性糖尿病、脂肪萎縮、リポジストロフィー、アテローム性動脈硬化症、白内障、COPD、特発性肺線維症、腎移植不全、肝線維症、骨量喪失、心筋梗塞、サルコペニア、創傷治癒、脱毛症、心筋細胞肥大、骨関節炎、パーキンソン病、加齢関連肺組織弾性喪失、黄斑変性、悪液質、糸球体硬化症、肝硬変、NAFLD、骨粗しょう症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、多発性硬化症、および腎機能障害からなる群から選択される、実施形態 E 3 1 9 に記載の方法。

【1858】

実施形態 E 3 2 1 . 前記対象が、感染性疾患を有すると診断または特定されている、実施形態 E 3 1 6 に記載の方法。

【1859】

実施形態 E 3 2 2 . 前記感染性疾患が、ヒト免疫不全ウイルス、サイトメガロウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、ライノウイルス、ロタウイルス、天然痘、単純ヘルペスウイルス、B 型肝炎ウイルス、A 型肝炎ウイルス、および C 型肝炎ウイルス、パピローマウイルス、ならびにインフルエンザウイルスによる感染である、実施形態 E 3 2 1 に記載の方法。

【1860】

実施形態 E 3 2 3 . 実施形態 E 1 ~ E 2 6 2 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかをコードする、核酸。

【1861】

実施形態 E 3 2 4 . 実施形態 E 3 2 3 に記載の核酸を含む、ベクター。

【1862】

実施形態 E 3 2 5 . 前記ベクターが、発現ベクターである、実施形態 E 3 2 4 に記載のベクター。

【1863】

実施形態 E 3 2 6 . 実施形態 E 3 2 3 に記載の核酸または実施形態 E 3 2 4 または E 3

10

20

30

40

50

25に記載のペプチドを含む、細胞。

【1864】

実施形態E327. 多鎖キメラポリペプチドを産生する方法であって、

前記多鎖キメラポリペプチドの産生をもたらすのに十分な条件下で、実施形態E326に記載の細胞を培養培地中で培養すること、ならびに

前記多鎖キメラポリペプチドを前記細胞および／または前記培養培地から回収することを含む、方法。

【1865】

実施形態E328. 実施形態E327に記載の方法によって産生された多鎖キメラポリペプチド。

【1866】

実施形態E329. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号3と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態E8に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1867】

実施形態E330. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号3と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態E329に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1868】

実施形態E331. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号3と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態E330に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1869】

実施形態E332. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号3と100%同一の配列を含む、実施形態E331に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1870】

実施形態E333. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号4と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態E8に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1871】

実施形態E334. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号4と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態E333に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1872】

実施形態E335. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号4と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態E334に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1873】

実施形態E336. 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号4と100%同一の配列を含む、実施形態E335に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1874】

F. 例示的な実施形態

実施形態F1.

(a) (i) 第1の標的結合ドメインと、

(ii) リンカードメインと、

(iii) 一对の親和性ドメインの第1のドメインと

を含む、第1のキメラポリペプチド、および

(b) (i) 一对の親和性ドメインの第2のドメインと、

(ii) 第2の標的結合ドメインと

を含む、第2のキメラポリペプチド

を含み、前記第1のキメラポリペプチドと前記第2のキメラポリペプチドが、前記一对の親和性ドメインの前記第1のドメインと前記第2のドメインとの結合を介して会合している、多鎖キメラポリペプチド。

【1875】

実施形態F2. 前記第1の標的結合ドメインと前記リンカードメインが、前記第1のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、実施形態F1に記載の多鎖キメラポリペ

10

20

30

40

50

プチド。

【1876】

実施形態 F 3 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記第 1 の標的結合ドメインと前記リンカードメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 F 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1877】

実施形態 F 4 . 前記リンカードメインと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインが、前記第 1 のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、実施形態 F 1 ~ F 3 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1878】

実施形態 F 5 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記リンカードメインと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 F 1 ~ F 3 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1879】

実施形態 F 6 . 前記一対の親和性ドメインの前記第 2 のドメインと前記第 2 の標的結合ドメインが、前記第 2 のキメラポリペプチド内で互いに直接隣接している、実施形態 F 1 ~ F 5 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1880】

実施形態 F 7 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、前記第 2 のキメラポリペプチド内の前記一対の親和性ドメインの前記第 2 のドメインと前記第 2 の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 F 1 ~ F 5 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1881】

実施形態 F 8 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが同じ抗原に特異的に結合する、実施形態 F 1 ~ F 7 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1882】

実施形態 F 9 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが同じエпитープに特異的に結合する、実施形態 F 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1883】

実施形態 F 10 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが同じアミノ酸配列を含む、実施形態 F 9 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1884】

実施形態 F 11 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが異なる抗原に特異的に結合する、実施形態 F 1 ~ F 7 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1885】

実施形態 F 12 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインの一方または両方が、抗原結合ドメインである、実施形態 F 1 ~ F 11 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1886】

実施形態 F 13 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインが各々、抗原結合ドメインである、実施形態 F 12 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1887】

実施形態 F 14 . 前記抗原結合ドメインが、s c F v または単一ドメイン抗体を含む、実施形態 F 12 または F 13 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1888】

実施形態 F 15 . 前記第 1 の標的結合ドメインおよび前記第 2 の標的結合ドメインの一方または両方が、C D 16 a、C D 28、C D 3、C D 33、C D 20、C D 19、C D

10

20

30

40

50

22、CD123、IL-1R、IL-1、VEGF、IL-6R、IL-4、IL-10、PDL-1、TIGIT、PD-1、TIM3、CTLA4、MICA、MICB、IL-6、IL-8、TNF α 、CD26a、CD36、ULBP2、CD30、CD200、CD80、CD86、PD-L2、B7-H4、HVEM、ILT3、ILT4、TIGIT、MHCI、LAG3、CD272、VISTA、CD137、CD40、CD47、CD70、OX40、IGF-1R、MUC4AC、MUC5AC、Trop-2、CMET、EGFR、HER1、HER2、HER3、PSMA、CEA、B7H3、EPCAM、BCMA、P-カドヘリン、CEACAM5、UL16結合タンパク質、HLA-DR、DLL4、TYRO3、AXL、MER、CD122、CD155、PDGF-DD、TGF- β 受容体II (TGF- β RII) リガンド、TGF- β RII Iリガンド、DNAM-1リガンド、Nkp46リガンド、Nkp44リガンド、NKG2Dリガンド、Nkp30リガンド、scMHCIリガンド、scMHCI Iリガンド、scTCRリガンド、IL-1受容体、IL-2受容体、IL-3受容体、IL-7受容体、IL-8受容体、IL-10受容体、IL-12受容体、IL-15受容体、IL-17受容体、IL-18受容体、IL-21受容体、PDGF-DD受容体、幹細胞因子(SCF)受容体、幹細胞様チロシンキナーゼ3リガンド(FLT3L)受容体、MICA受容体、MICB受容体、ULP16結合タンパク質受容体、CD155受容体、CD122受容体、およびCD28受容体からなる群から選択される標的に特異的に結合する、実施形態F1～F14のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1889】

実施形態F16．前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインの一方または両方が、可溶性インターロイキンまたはサイトカインタンパク質である、実施形態F1～F14のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1890】

実施形態F17．前記可溶性インターロイキン、サイトカイン、またはリガンドタンパク質が、IL-1、IL-2、IL-3、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-15、IL-17、IL-18、IL-21、PDGF-DD、SCF、およびFLT3Lからなる群から選択される、実施形態F16に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1891】

実施形態F18．前記第1の標的結合ドメインおよび前記第2の標的結合ドメインの一方または両方が、可溶性インターロイキンまたはサイトカイン受容体である、実施形態F1～F14のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1892】

実施形態F19．前記可溶性受容体が、可溶性TGF- β 受容体II (TGF- β RII)、可溶性TGF- β RIII、可溶性NKG2D、可溶性Nkp30、可溶性Nkp44、可溶性Nkp46、可溶性DNAM-1、scMHCI、scMHCI I、scTCR、可溶性CD155、または可溶性CD28である、実施形態F18に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1893】

実施形態F20．前記第1のキメラポリペプチドが、1つ以上の追加の標的結合ドメイン(複数可)をさらに含み、前記1つ以上の標的結合ドメイン(複数可)のうちの少なくとも1つが、前記リンカードメインと前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間に位置付けられている、実施形態F1～F19のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1894】

実施形態F21．前記第1のキメラポリペプチドが、前記リンカードメインと前記1つ以上の標的抗原結合ドメイン(複数可)のうちの前記少なくとも1つとの間にリンカー配列、および／または前記1つ以上の標的抗原結合ドメイン(複数可)のうちの前記少なくとも1つと前記一対の親和性ドメインの前記第1のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態F20に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

20

30

40

50

【1895】

実施形態 F 2 2 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチドの N 末端および／または C 末端に 1 つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む、実施形態 F 1 ～ F 1 9 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1896】

実施形態 F 2 3 . 前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも 1 つが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインに直接隣接している、実施形態 F 2 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1897】

実施形態 F 2 4 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 F 2 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【1898】

実施形態 F 2 5 . 前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記第 1 の標的結合ドメインに直接隣接している、実施形態 F 2 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1899】

実施形態 F 2 6 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つと前記第 1 の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 F 2 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【1900】

実施形態 F 2 7 . 前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも 1 つが、前記第 1 のキメラポリペプチドの N 末端および／または C 末端に配置されており、前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも 1 つが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記リンカードメインと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に位置付けられている、実施形態 F 2 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1901】

実施形態 F 2 8 . N 末端に配置された前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つの追加の標的結合ドメインが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記第 1 の標的結合ドメインまたは前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインに直接隣接している、実施形態 F 2 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【1902】

実施形態 F 2 9 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記少なくとも 1 つの追加の標的結合ドメインと前記第 1 の標的結合ドメインまたは前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に配置されたリンカー配列をさらに含む、実施形態 F 2 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1903】

実施形態 F 3 0 . C 末端に配置された前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つの追加の標的結合ドメインが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記第 1 の標的結合ドメインまたは前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインに直接隣接している、実施形態 F 2 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【1904】

実施形態 F 3 1 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、前記第 1 のキメラポリペプチド内の前記少なくとも 1 つの追加の標的結合ドメインと前記第 1 の標的結合ドメインまたは前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に配置されたリンカー配列をさらに含む、実施形態 F 2 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1905】

実施形態 F 3 2 . 前記リンカードメインと前記一対の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に位置付けられた前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つが、前記リンカードメインおよび／または前記一対の親和性ドメインの前記第 1

50

のドメインに直接隣接している、実施形態 F 2 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1906】

実施形態 F 3 3 . 前記第 1 のキメラポリペプチドが、(i) 前記リンカードメインと、前記リンカードメインと前記一对の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に位置付けられた前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つとの間、および／または (i i) 前記一对の親和性ドメインの前記第 1 のドメインと、前記リンカードメインと前記一对の親和性ドメインの前記第 1 のドメインとの間に位置付けられた前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの前記少なくとも 1 つとの間に配置されたリンカー配列をさらに含む、実施形態 F 2 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1907】

実施形態 F 3 4 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、前記第 2 のキメラポリペプチドの N 末端および／または C 末端に 1 つ以上の追加の標的結合ドメインをさらに含む、実施形態 F 1 ～ F 3 3 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1908】

実施形態 F 3 5 . 前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも 1 つが、前記第 2 のキメラポリペプチド内の前記一对の親和性ドメインの前記第 2 のドメインに直接隣接している、実施形態 F 3 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1909】

実施形態 F 3 6 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、前記第 2 のキメラポリペプチド内の前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも 1 つと前記一对の親和性ドメインの前記第 2 のドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 F 3 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1910】

実施形態 F 3 7 . 前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも 1 つが、前記第 2 のキメラポリペプチド内の前記第 2 の標的結合ドメインに直接隣接している、実施形態 F 3 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1911】

実施形態 F 3 8 . 前記第 2 のキメラポリペプチドが、前記第 2 のキメラポリペプチド内の前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの少なくとも 1 つと前記第 2 の標的結合ドメインとの間にリンカー配列をさらに含む、実施形態 F 3 4 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1912】

実施形態 F 3 9 . 前記第 1 の標的結合ドメイン、前記第 2 の標的結合ドメイン、および前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの 2 つ以上が同じ抗原に特異的に結合する、実施形態 F 2 0 ～ F 3 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1913】

実施形態 F 4 0 . 前記第 1 の標的結合ドメイン、前記第 2 の標的結合ドメイン、および前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの 2 つ以上が同じエピトープに特異的に結合する、実施形態 F 3 9 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1914】

実施形態 F 4 1 . 前記第 1 の標的結合ドメイン、前記第 2 の標的結合ドメイン、および前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの 2 つ以上が同じアミノ酸配列を含む、実施形態 F 4 0 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1915】

実施形態 F 4 2 . 前記第 1 の標的結合ドメイン、前記第 2 の標的結合ドメイン、および前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインが各々、同じ抗原に特異的に結合する、実施形態 F 3 9 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1916】

実施形態 F 4 3 . 前記第 1 の標的結合ドメイン、前記第 2 の標的結合ドメイン、および前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインが各々、同じエピトープに特異的に結合する、実

10

20

30

40

50

施形態 F 4 2 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1917】

実施形態 F 4 4 . 前記第 1 の標的結合ドメイン、前記第 2 の標的結合ドメイン、および前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインが各々、同じアミノ酸配列を含む、実施形態 F 4 3 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1918】

実施形態 F 4 5 . 前記第 1 の標的結合ドメイン、前記第 2 の標的結合ドメイン、および前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインが異なる抗原に特異的に結合する、実施形態 F 2 0 ~ F 3 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1919】

実施形態 F 4 6 . 前記第 1 の標的結合ドメイン、前記第 2 の標的結合ドメイン、および前記 1 つ以上の標的結合ドメインのうちの 1 つ以上が、抗原結合ドメインである、実施形態 F 2 0 ~ F 4 5 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1920】

実施形態 F 4 7 . 前記第 1 の標的結合ドメイン、前記第 2 の標的結合ドメイン、および前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインが各々、抗原結合ドメインである、実施形態 F 4 6 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1921】

実施形態 F 4 8 . 前記抗原結合ドメインが、s c F v を含む、実施形態 F 4 6 または F 4 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1922】

実施形態 F 4 9 . 前記第 1 の標的結合ドメイン、前記第 2 の標的結合ドメイン、および前記 1 つ以上の標的結合ドメインのうちの 1 つ以上が、CD 1 6 a、CD 2 8、CD 3、CD 3 3、CD 2 0、CD 1 9、CD 2 2、CD 1 2 3、IL-1 R、IL-1、VEG F、IL-6 R、IL-4、IL-1 0、PD L-1、TIGIT、PD-1、TIM 3、CTLA 4、MICA、MICB、IL-6、IL-8、TNF α 、CD 2 6 a、CD 3 6、ULBP 2、CD 3 0、CD 2 0 0、CD 8 0、CD 8 6、PD-L 2、B 7-H 4、HVEM、ILT 3、ILT 4、TIGIT、MHC II、LAG 3、CD 2 7 2、VISTA、CD 1 3 7、CD 4 0、CD 4 7、CD 7 0、OX 4 0、IGF-1 R、MUC 4 AC、MUC 5 AC、Trop-2、CMET、EGFR、HER 1、HER 2、HER 3、PSMA、CEA、B 7 H 3、EPCAM、BCMA、P-カドヘリン、CEACAM 5、UL 1 6 結合タンパク質、HLA-DR、DLL 4、TYRO 3、AXL、MER、CD 1 2 2、CD 1 5 5、PDGF-DD、TGF- β 受容体 II (TGF- β R II) リガンド、TGF- β R II リガンド、DNAM-1 リガンド、NKp 4 6 リガンド、NKp 4 4 リガンド、NKG 2 D リガンド、NKp 3 0 リガンド、s c MHC I リガンド、s c MHC II リガンド、s c TCR リガンド、IL-1 受容体、IL-2 受容体、IL-3 受容体、IL-7 受容体、IL-8 受容体、IL-1 0 受容体、IL-1 2 受容体、IL-1 5 受容体、IL-1 7 受容体、IL-1 8 受容体、IL-2 1 受容体、PDGF-DD 受容体、幹細胞因子 (SCF) 受容体、幹細胞様チロシンキナーゼ 3 リガンド (FLT 3 L) 受容体、MICA 受容体、MICB 受容体、ULP 1 6 結合タンパク質受容体、CD 1 5 5 受容体、CD 1 2 2 受容体、および CD 3 受容体、および CD 2 8 受容体からなる群から選択される標的に特異的に結合する、実施形態 F 2 0 ~ F 4 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1923】

実施形態 F 5 0 . 前記第 1 の標的結合ドメイン、前記第 2 の標的結合ドメイン、および前記 1 つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの 1 つ以上が、可溶性インターロイキンまたはサイトカインタンパク質である、実施形態 F 2 0 ~ F 4 8 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1924】

実施形態 F 5 2 . 前記第 1 の標的結合ドメイン、前記第 2 の標的結合ドメイン、および

10

20

30

40

50

前記1つ以上の追加の標的結合ドメインのうちの1つ以上が、可溶性インターロイキンまたはサイトカイン受容体である、実施形態F20～F48のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1925】

実施形態F53．前記可溶性受容体が、可溶性TGF-β受容体II(TGF-βRII)、可溶性TGF-βRIII、可溶性NKG2D、可溶性NKP30、可溶性NKP44、可溶性NKP46、可溶性DNAM-1、scMHC I、scMHC II、scTCR、可溶性CD155、可溶性CD122、可溶性CD3、または可溶性CD28である、実施形態F52に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1926】

実施形態F54．前記第1のキメラポリペプチドが、前記第1のキメラポリペプチドのN末端またはC末端にペプチドタグをさらに含む、実施形態F1～F53のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1927】

実施形態F55．前記第2のキメラポリペプチドが、前記第2のキメラポリペプチドN末端またはC末端にペプチドタグをさらに含む、実施形態F1～F53のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1928】

実施形態F56．前記リンカードメインが、可溶性組織因子ドメインである、実施形態F1～F55のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1929】

実施形態F57．前記可溶性組織因子ドメインが、可溶性ヒト組織因子ドメインである、実施形態F56に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1930】

実施形態F58．前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号1と少なくとも80%同一の配列を含む、実施形態F57に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1931】

実施形態F59．前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号1と少なくとも90%同一の配列を含む、実施形態F58に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1932】

実施形態F60．前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、配列番号1と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態F59に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1933】

実施形態F61．前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、
成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸20位に対応するアミノ酸の位置にリジン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸22位に対応するアミノ酸の位置にイソロイシン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸45位に対応するアミノ酸の位置にトリプトファン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸58位に対応するアミノ酸の位置にアスパラギン酸、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸94位に対応するアミノ酸の位置にチロシン、

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸135位に対応するアミノ酸の位置にアルギニン、および

成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸140位に対応するアミノ酸の位置にフェニルアラニンのうちの1つ以上を含まない、実施形態F57～F60のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1934】

10

20

30

40

50

実施形態 F 6 2 . 前記可溶性ヒト組織因子ドメインが、
 成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 2 0 位に対応するアミノ酸の位置にリジン、
 成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 2 2 位に対応するアミノ酸の位置にイソロイシン、
 成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 4 5 位に対応するアミノ酸の位置にトリプトファン、
 成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 5 8 位に対応するアミノ酸の位置にアスパラギン酸、
 成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 9 4 位に対応するアミノ酸の位置にチロシン、
 成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 1 3 5 位に対応するアミノ酸の位置にアルギニン、および
 成熟野生型ヒト組織因子タンパク質のアミノ酸 1 4 0 位に対応するアミノ酸の位置にフェニルアラニンのうちのいずれも含まない、実施形態 F 6 1 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

10

【1935】

実施形態 F 6 3 . 前記可溶性組織因子ドメインが、第 V I I a 因子に結合することができない、実施形態 F 5 6 ~ F 6 2 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1936】

実施形態 F 6 4 . 前記可溶性組織因子ドメインが、不活性第 X 因子を第 X a 因子に変換しない、実施形態 F 5 6 ~ F 6 3 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

20

【1937】

実施形態 F 6 5 . 前記多鎖キメラポリペプチドが、哺乳動物における血液凝固を刺激しない、実施形態 F 5 6 ~ F 6 4 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1938】

実施形態 F 6 6 . 前記リンカードメインが、カップ鎖およびラムダ鎖からなる群から選択される、実施形態 F 1 ~ F 5 5 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1939】

実施形態 F 6 7 . 前記一対の親和性ドメインが、ヒト I L - 1 5 受容体アルファ鎖 (I L 1 5 R α) 由来の s u s h i ドメインと可溶性 I L - 1 5 である、実施形態 F 1 ~ F 6 6 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

30

【1940】

実施形態 F 6 8 . 前記可溶性 I L 1 5 が、D 8 N または D 8 A アミノ酸置換を有する、実施形態 F 6 7 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1941】

実施形態 F 6 9 . 前記ヒト I L 1 5 R α が、成熟全長 I L 1 5 R α である、実施形態 F 6 7 または F 6 8 に記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1942】

実施形態 F 7 0 . 前記一対の親和性ドメインが、バルナーゼとバルンスター、P K A と A K A P、変異 R N a s e I 断片に基づくアダプター／ドッキングタグモジュール、ならびに、タンパク質シンタキシン、シナプトタグミン、シナプトブレビン、および S N A P 2 5 の相互作用に基づく S N A R E モジュールからなる群から選択される、実施形態 F 1 ~ F 6 6 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

40

【1943】

実施形態 F 7 1 . 前記第 1 のキメラポリペプチドおよび／または前記第 2 のキメラポリペプチドが、その N 末端にシグナル配列をさらに含む、実施形態 F 1 ~ F 7 0 のいずれか 1 つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1944】

実施形態 F 7 2 . 前記第 1 のキメラポリペプチドおよび／または前記第 2 のキメラポリ

50

ペプチドが、そのN末端にシグナル配列を欠く、実施形態F 1～F 7 0のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチド。

【1945】

実施形態F 7 3．実施形態F 1～F 7 2に記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかを含む、組成物。

【1946】

実施形態F 7 4．医薬組成物である、実施形態F 7 3に記載の組成物。

【1947】

実施形態F 7 5．実施形態F 7 3またはF 7 4に記載の組成物の少なくとも1つの用量を含む、キット。

【1948】

実施形態F 7 6．実施形態F 1～F 7 2のいずれか1つに記載の多鎖キメラポリペプチドのうちのいずれかをコードする、核酸。

【1949】

実施形態F 7 7．実施形態F 7 6に記載の核酸を含む、ベクター。

【1950】

実施形態F 7 8．前記ベクターが、発現ベクターである、実施形態F 7 7に記載のベクター。

【1951】

実施形態F 7 9．実施形態F 7 6に記載の核酸または実施形態F 7 7またはF 7 8に記載のベクターを含む、細胞。

【1952】

実施形態F 8 0．多鎖キメラポリペプチドを産生する方法であって、

前記多鎖キメラポリペプチドの産生をもたらすのに十分な条件下で、実施形態F 7 9に記載の細胞を培養培地中で培養すること、ならびに

前記多鎖キメラポリペプチドを前記細胞および／または前記培養培地から回収することを含む、方法。

【1953】

実施形態F 8 1．実施形態F 8 0に記載の方法によって産生された多鎖キメラポリペプチド。

10

20

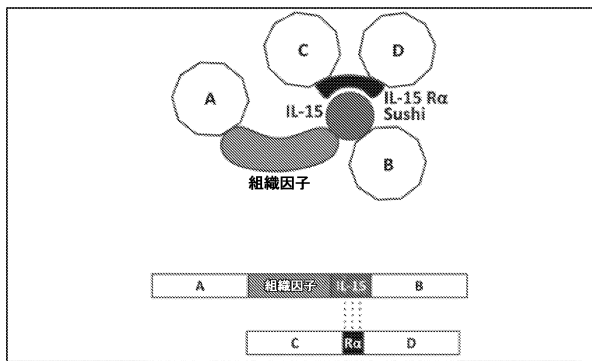
30

40

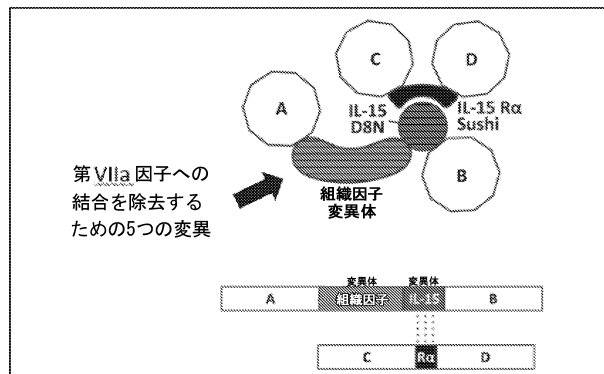
50

【図面】

【図 1】



【図 2】



10

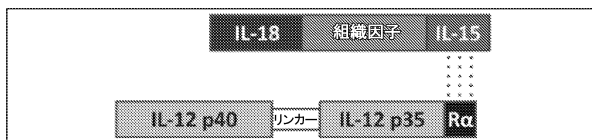
【図 3】



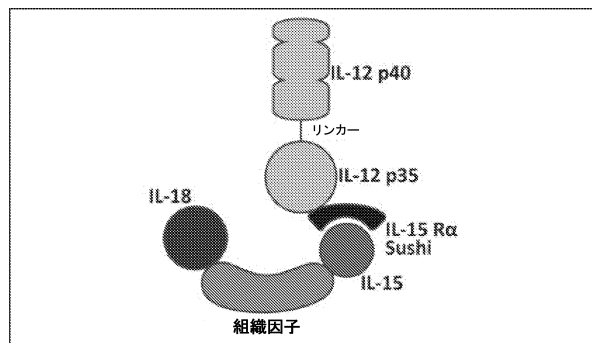
【図 4】



【図 5】



【図 6】



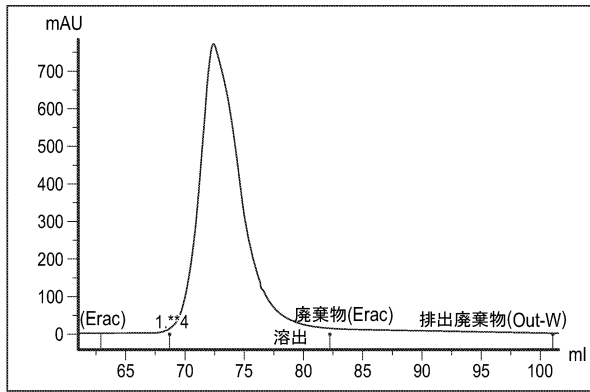
20

30

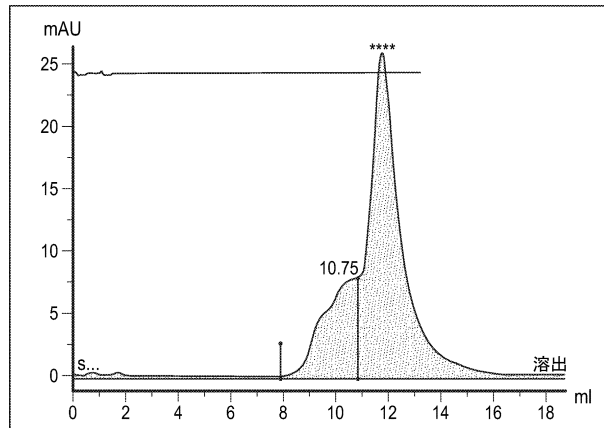
40

50

【図 7】

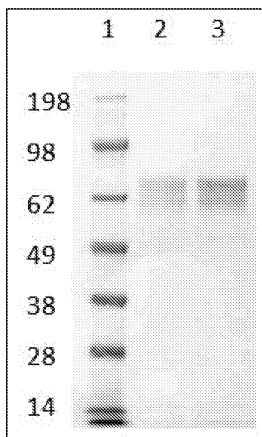


【図 8】

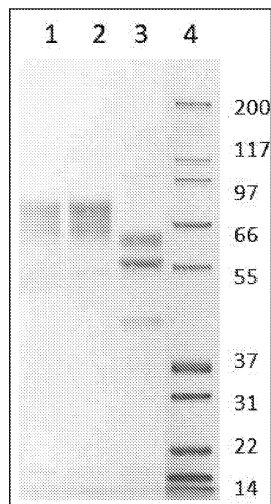


10

【図 9】



【図 10】



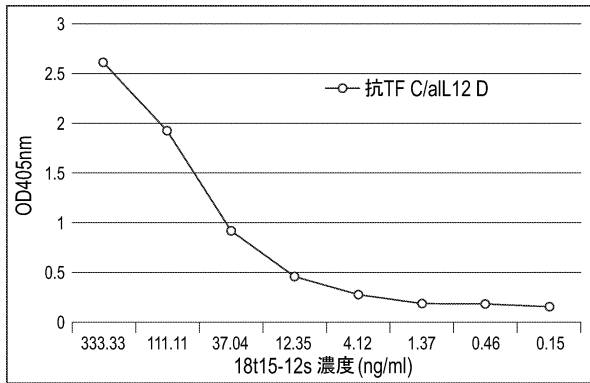
20

30

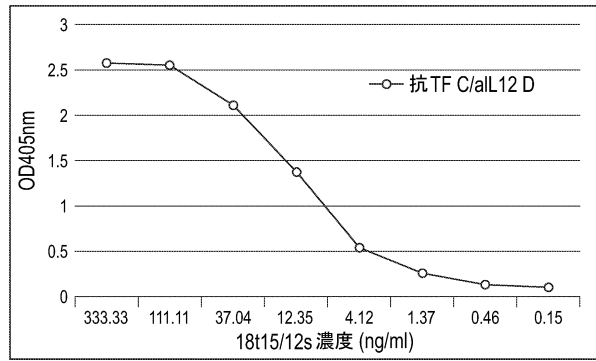
40

50

【図 1 1】

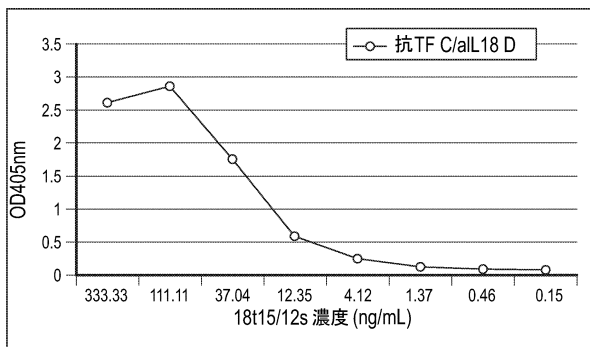


【図 1 2】

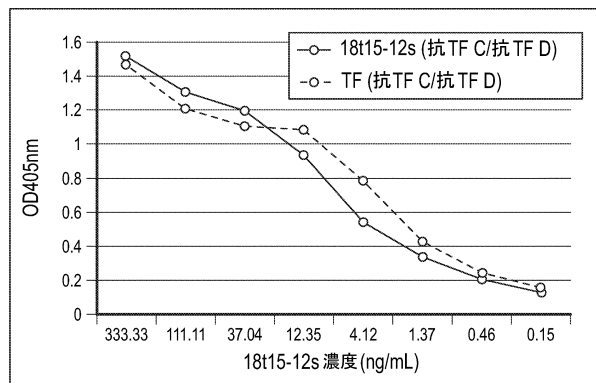


10

【図 1 3】

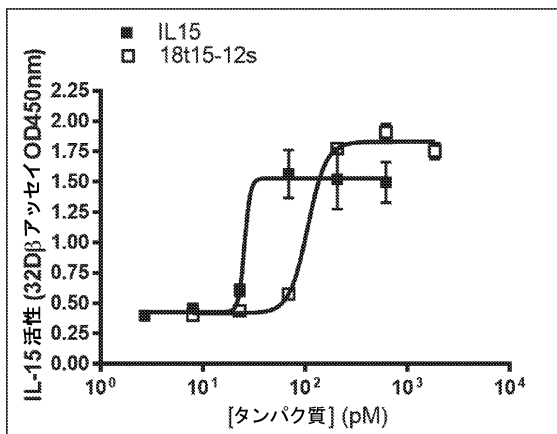


【図 1 4】

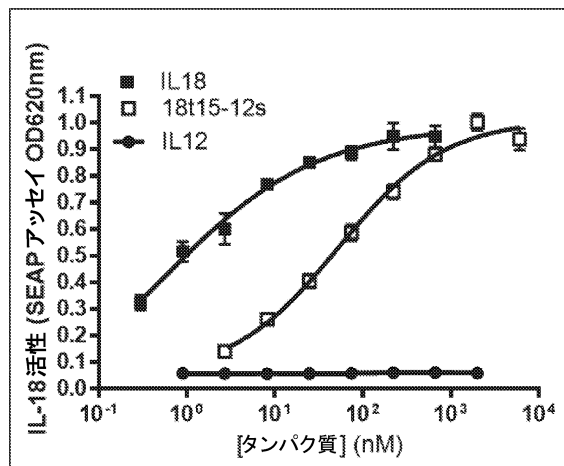


20

【図 1 5】



【図 1 6】

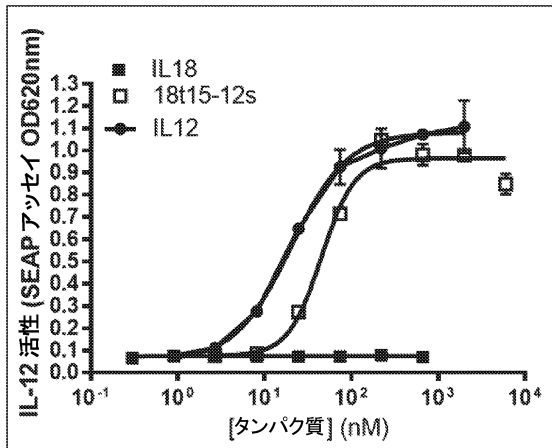


30

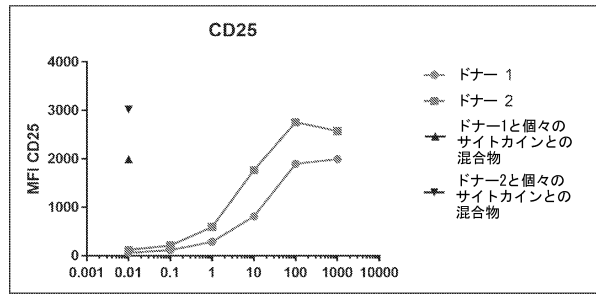
40

50

【図 17】

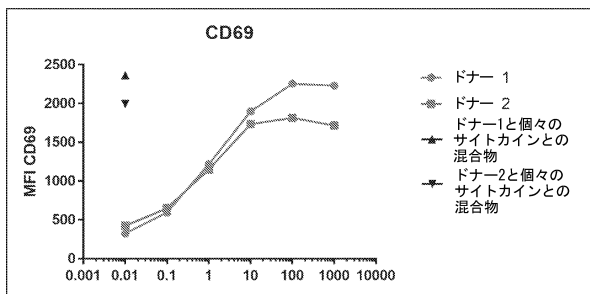


【図 18 A】

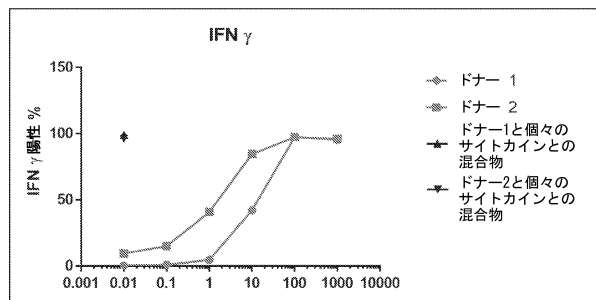


10

【図 18 B】

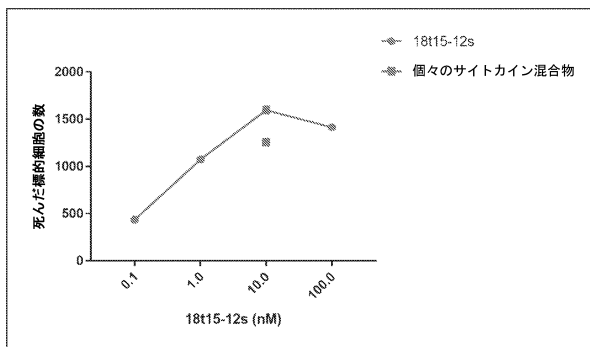


【図 19】



20

【図 20】



【図 21】



30

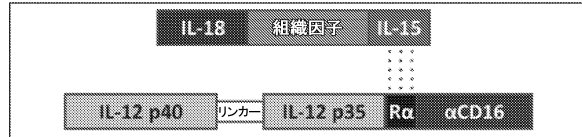
40

50

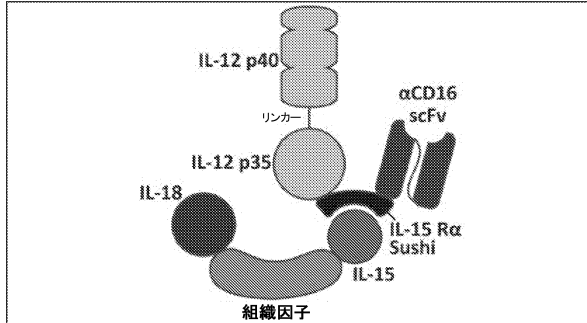
【図 2 2】



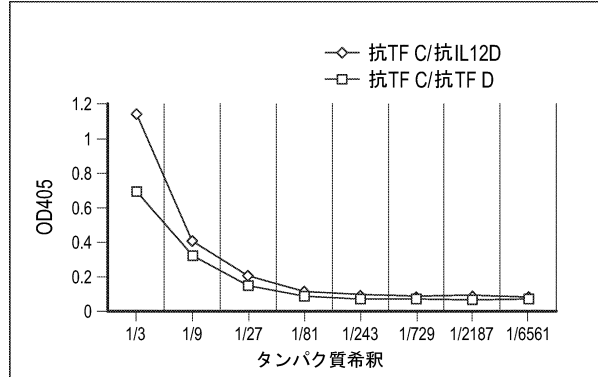
【図 2 3】



【図 2 4】



【図 2 5】



10

【図 2 6】

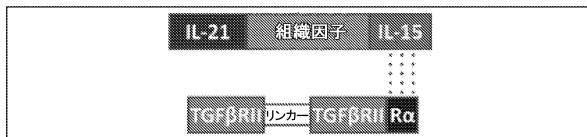


【図 2 7】

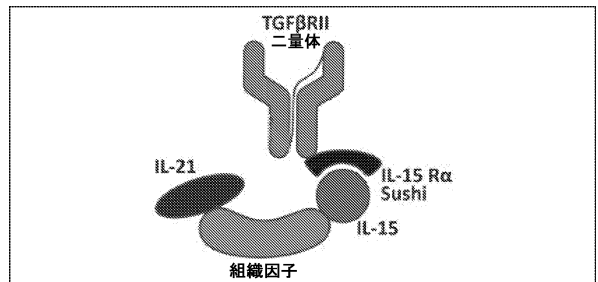


20

【図 2 8】



【図 2 9】

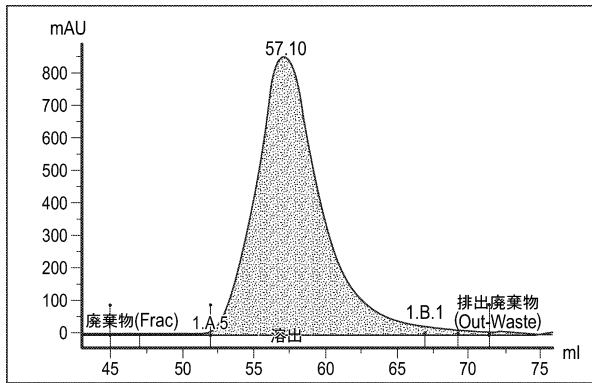


30

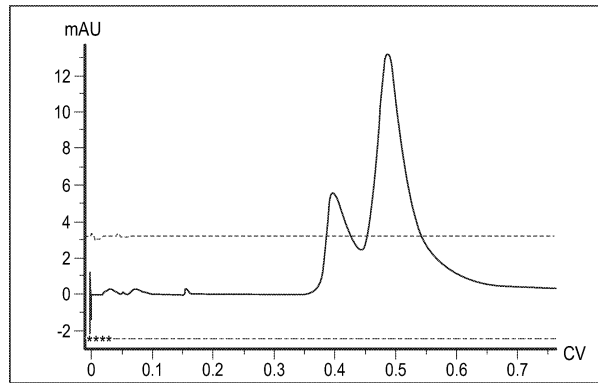
40

50

【図 3 0】

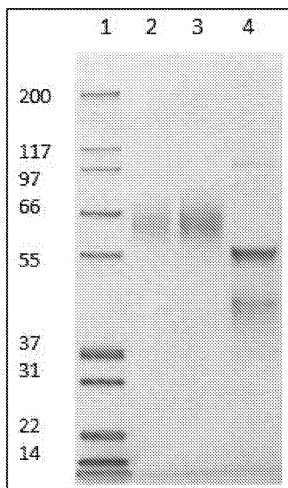


【図 3 1】

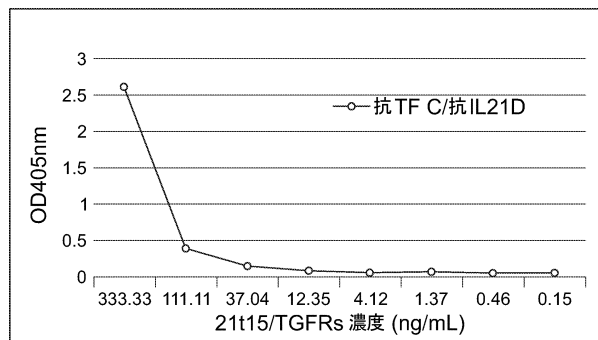


10

【図 3 2】

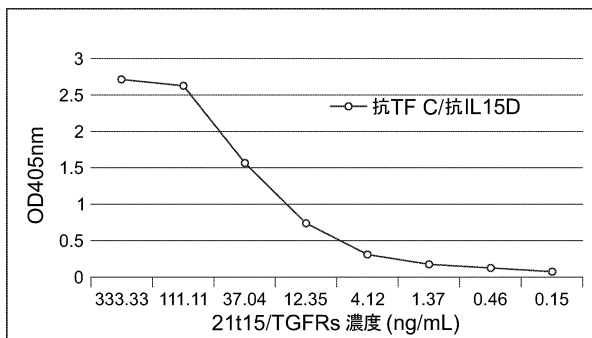


【図 3 3】

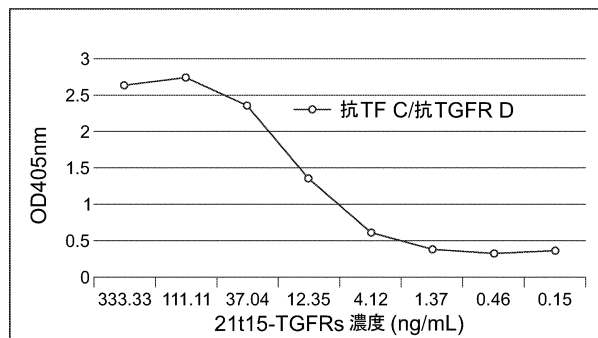


20

【図 3 4】



【図 3 5】

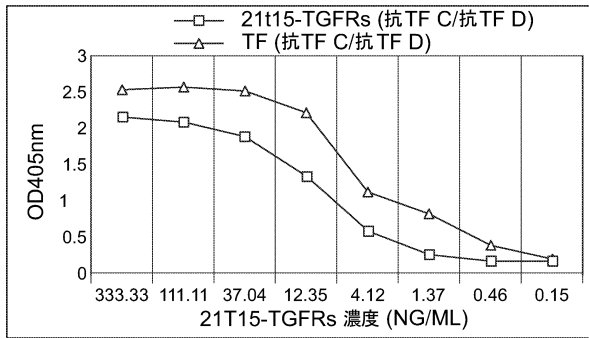


30

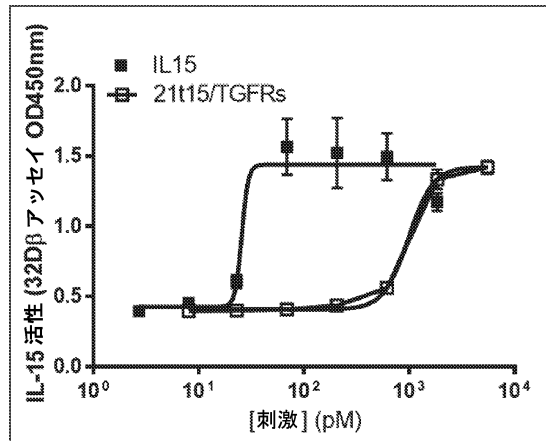
40

50

【図 3 6】

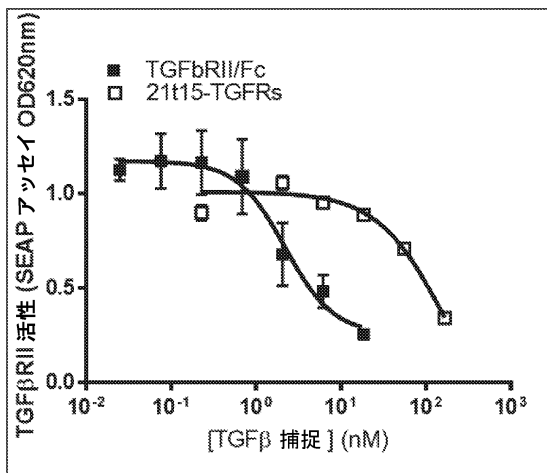


【図 3 7】

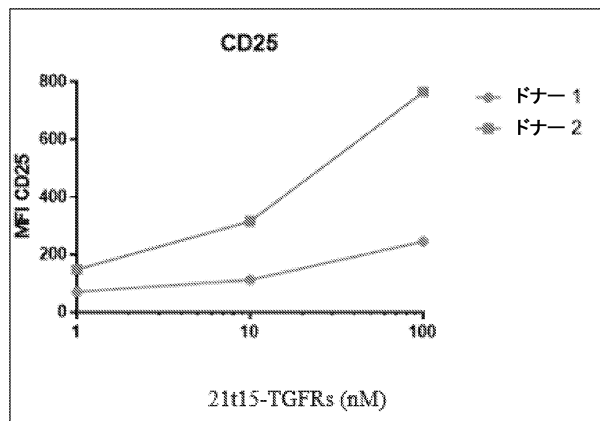


10

【図 3 8】



【図 3 9】



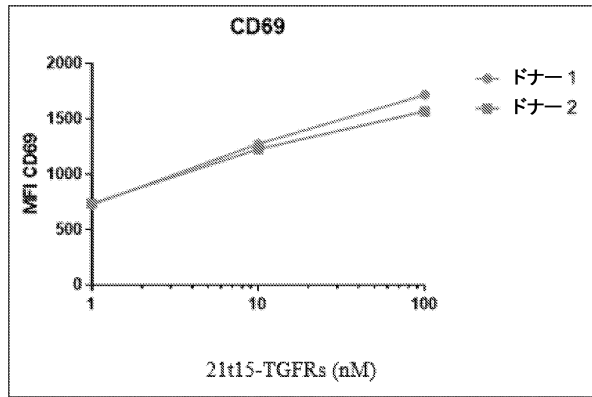
20

30

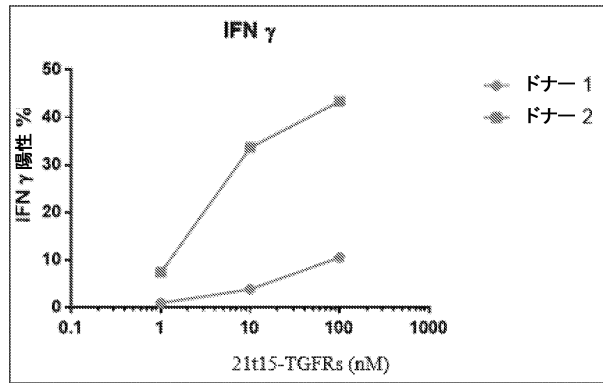
40

50

【図 4 0】

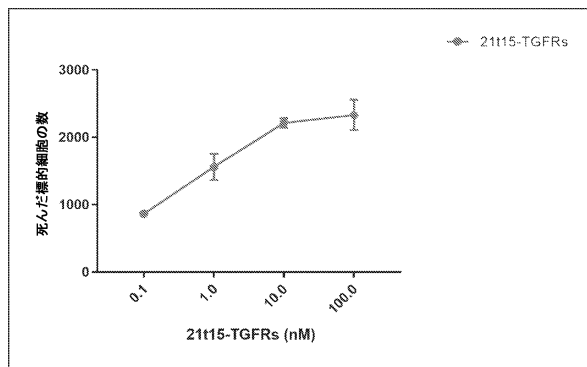


【図 4 1】



10

【図 4 2】



【図 4 3】

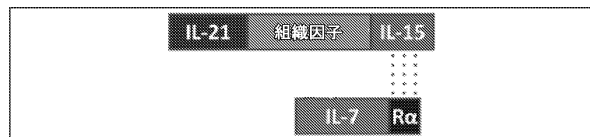


20

【図 4 4】



【図 4 5】

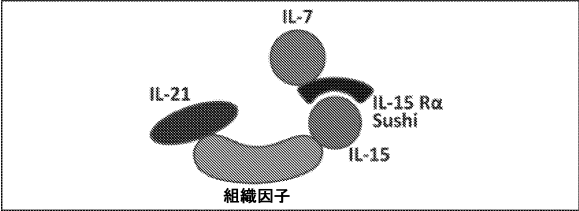


30

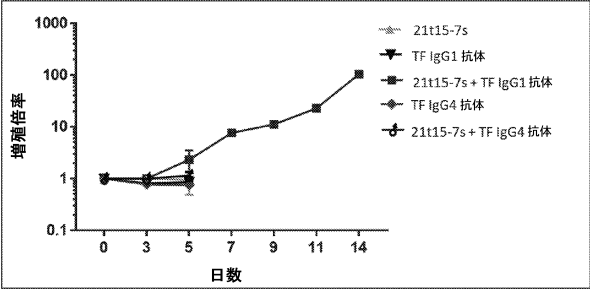
40

50

【図 4 6】

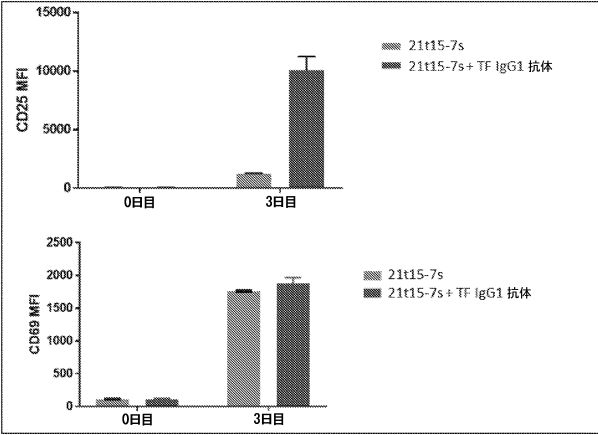


【図 4 7】

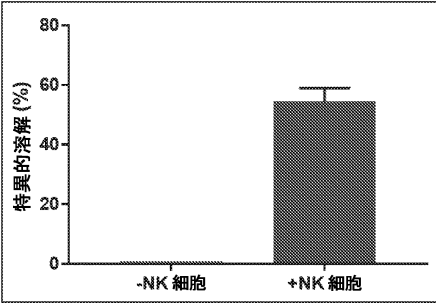


10

【図 4 8】



【図 4 9】



20

【図 5 0】



【図 5 1】



30

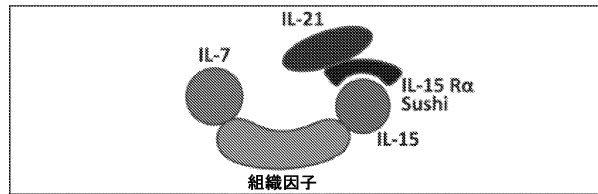
40

50

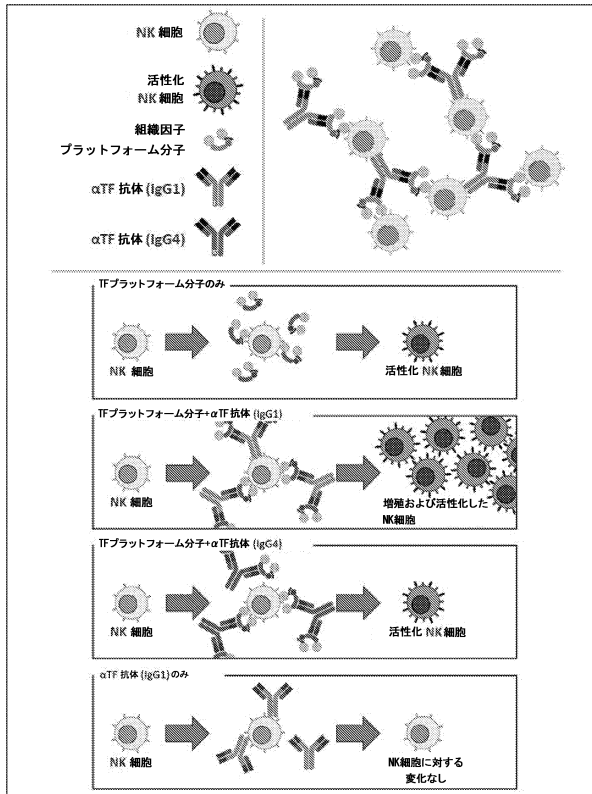
【図 5 2】



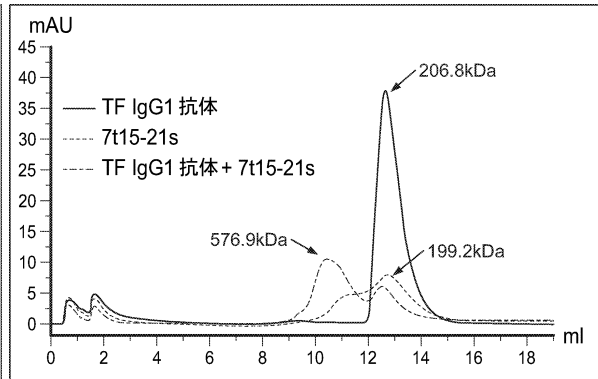
【図 5 3】



【図 5 4】



【図 5 5】



10

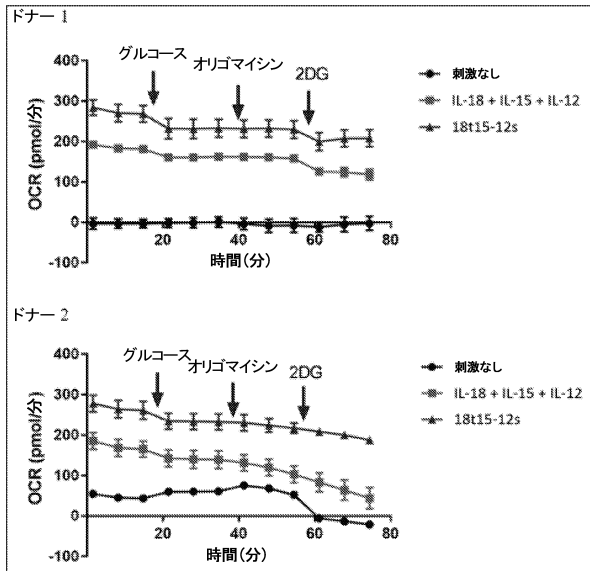
20

30

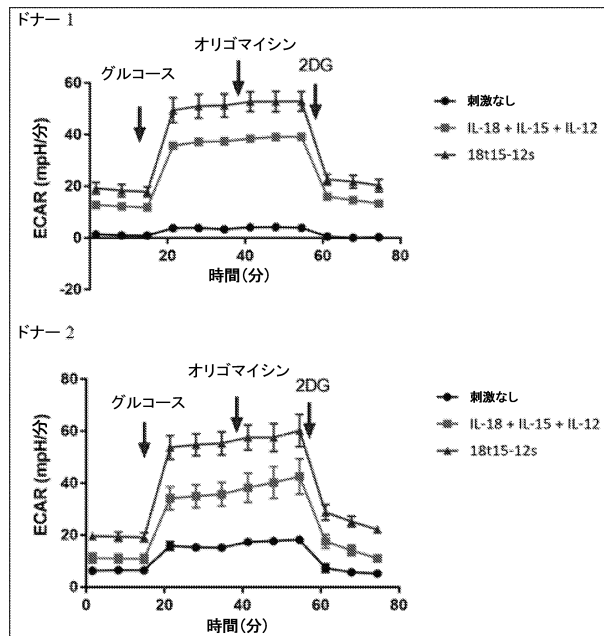
40

50

【図 5 6】

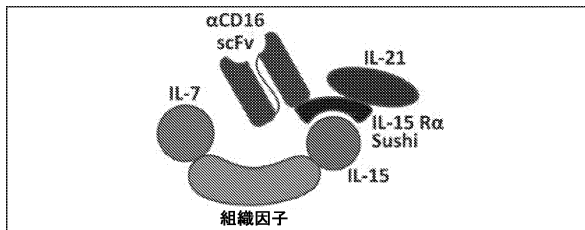


【図 5 7】



10

【図 5 8】



【図 5 9】



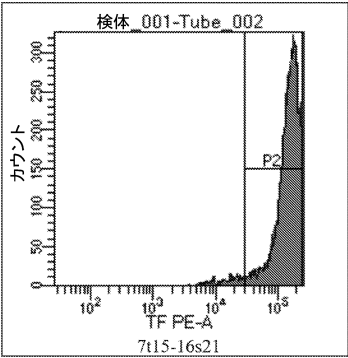
20

30

40

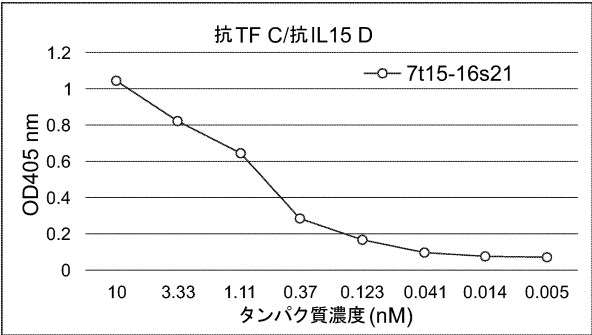
50

【図 6 0】

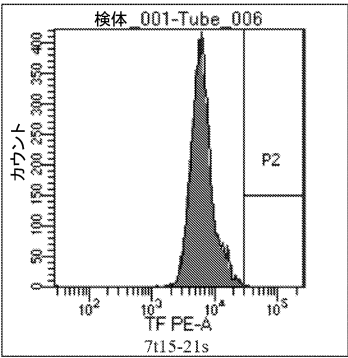


A

【図 6 1 A】



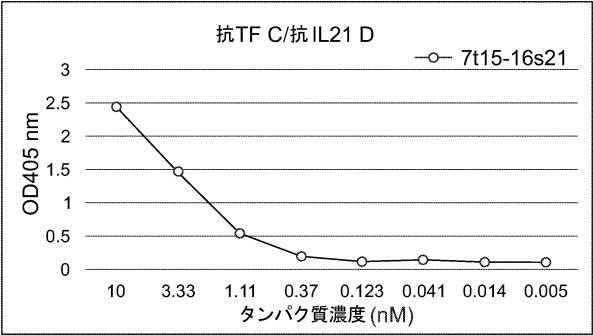
10



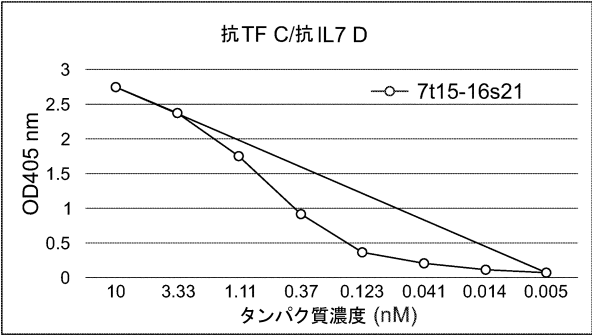
B

20

【図 6 1 B】



【図 6 1 C】

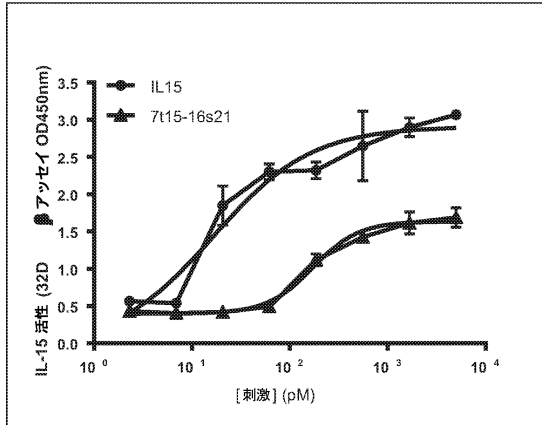


30

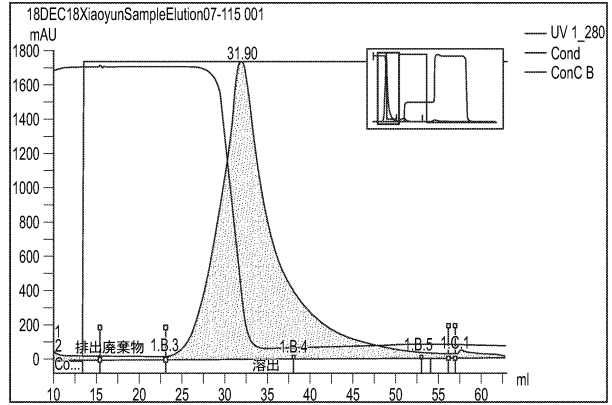
40

50

【図 6 2】

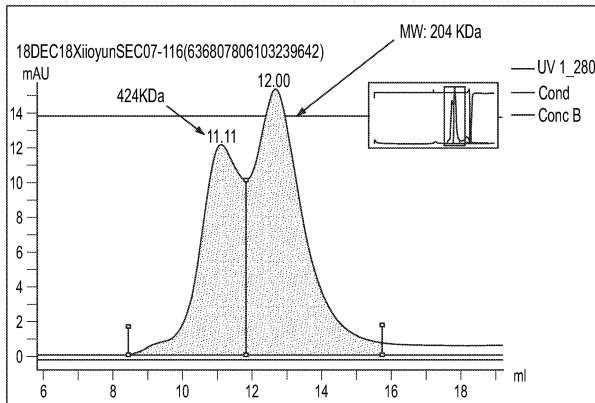


【図 6 3】

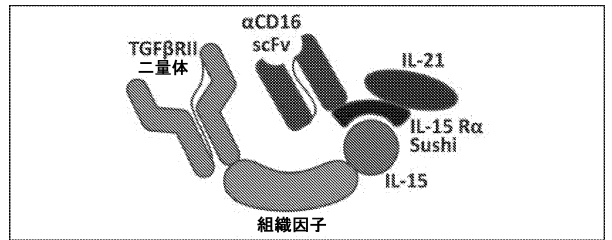


10

【図 6 4】



【図 6 5】



20

30

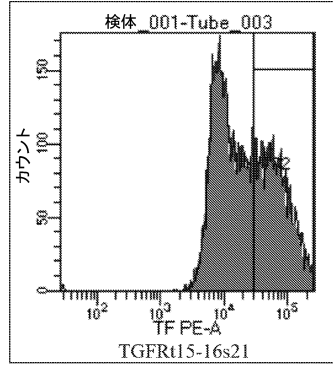
40

50

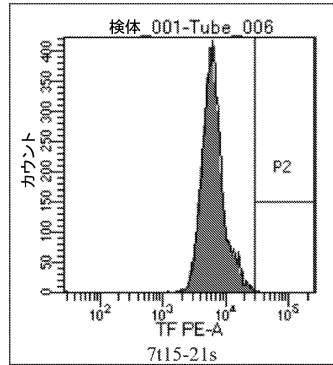
【図 6 6】



【図 6 7】

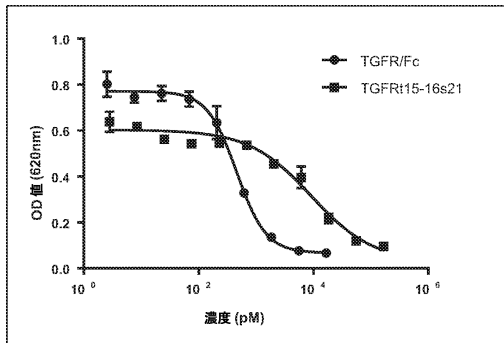


A

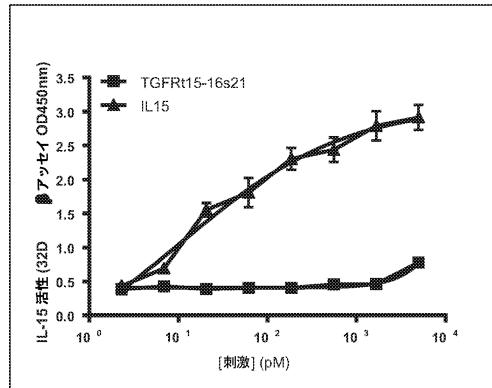


B

【図 6 8】



【図 6 9】



10

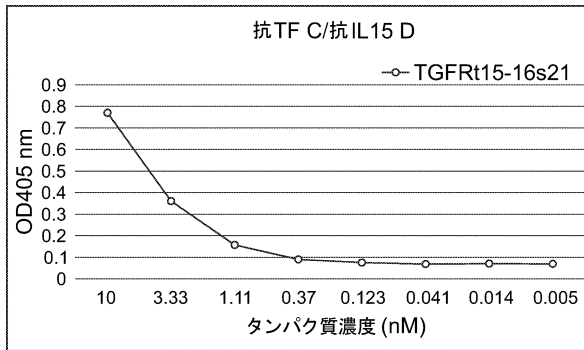
20

30

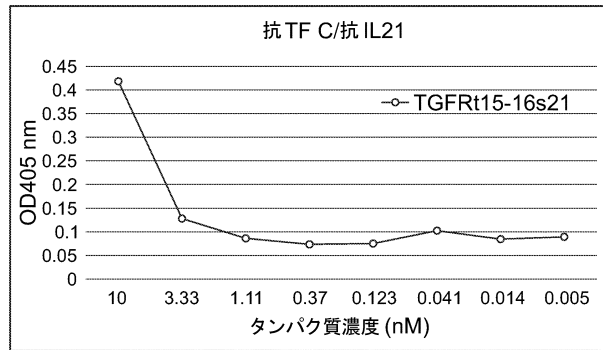
40

50

【図 7 0 A】

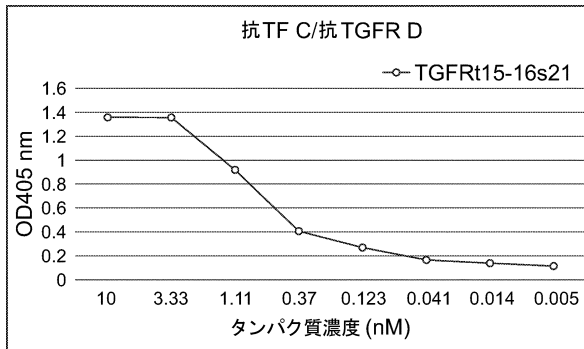


【図 7 0 B】

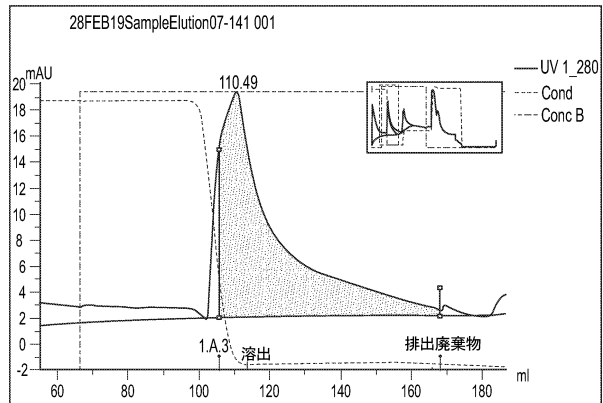


10

【図 7 0 C】

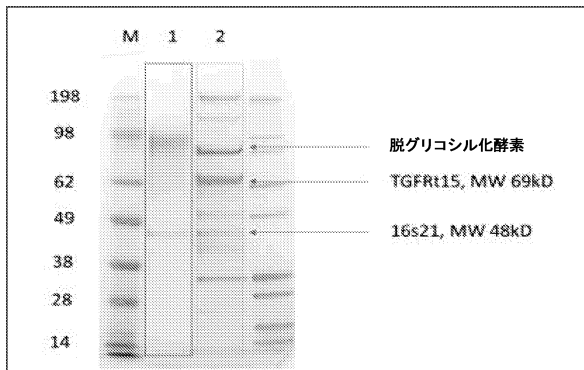


【図 7 1】

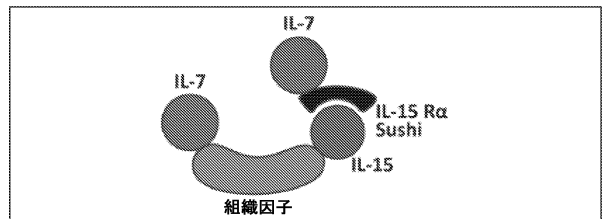


20

【図 7 2】



【図 7 3】

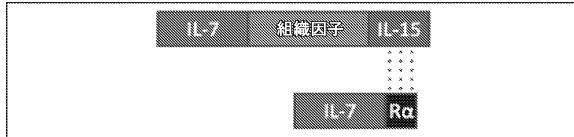


30

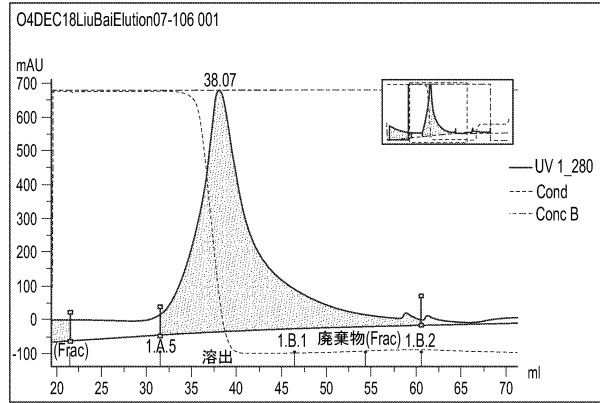
40

50

【図 7 4】

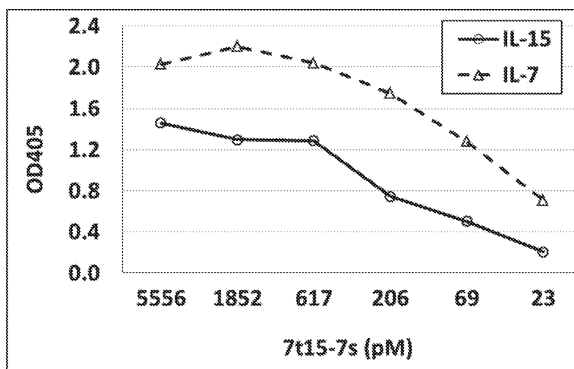


【図 7 5】

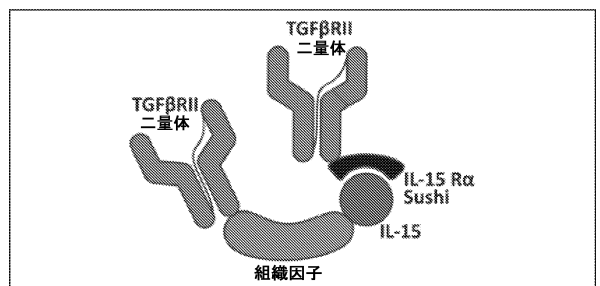


10

【図 7 6】

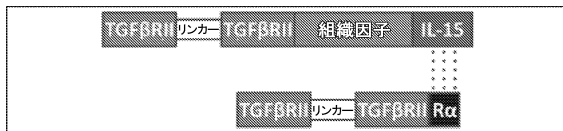


【図 7 7】

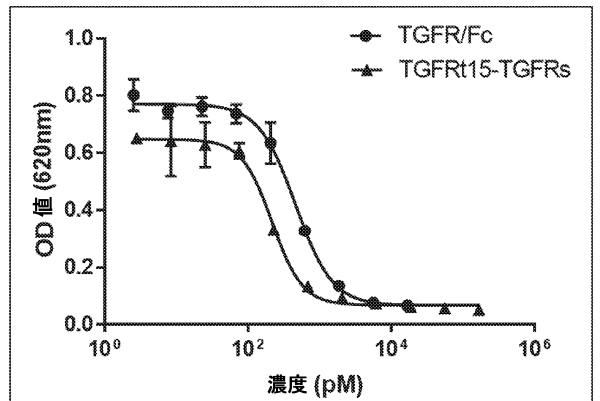


20

【図 7 8】



【図 7 9】

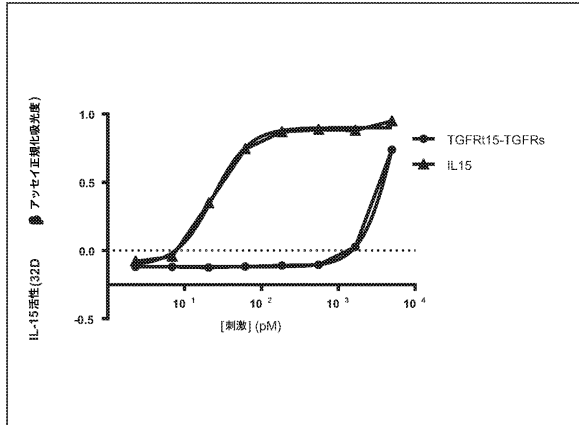


30

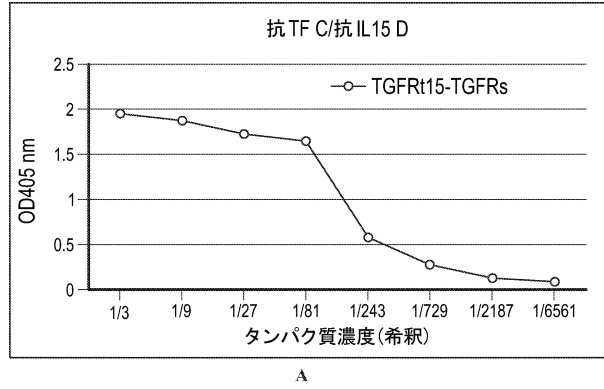
40

50

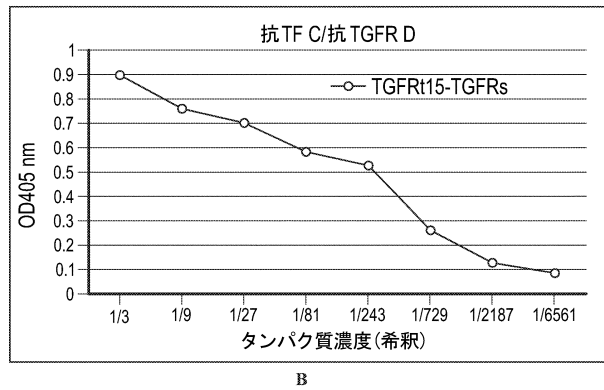
【図 80】



【図 81】

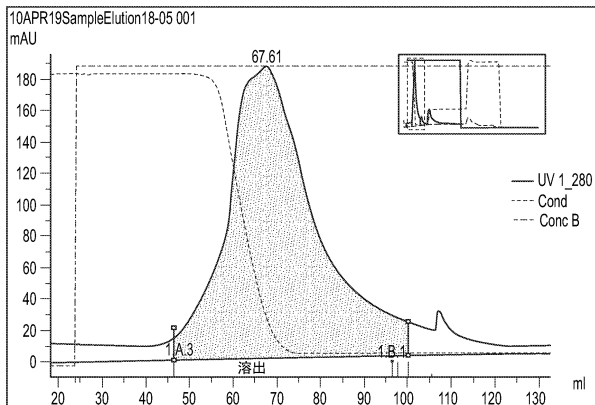


10

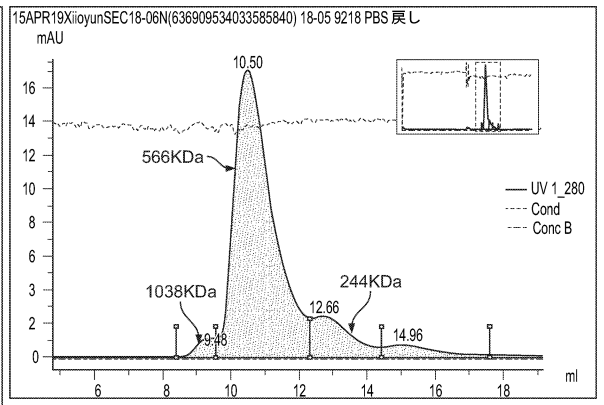


20

【図 82】



【図 83】

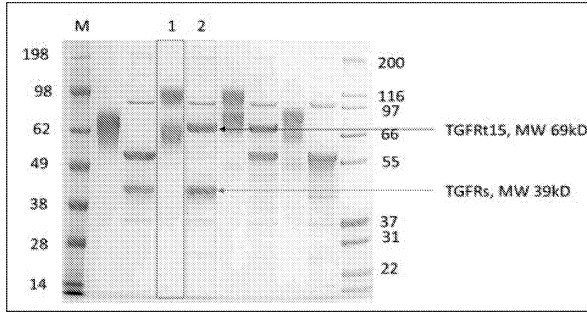


30

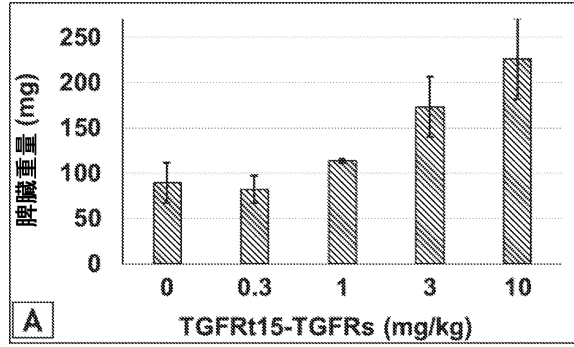
40

50

【図 8 4】

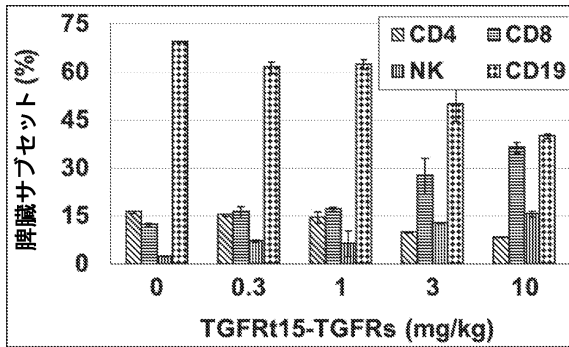


【図 8 5 A】

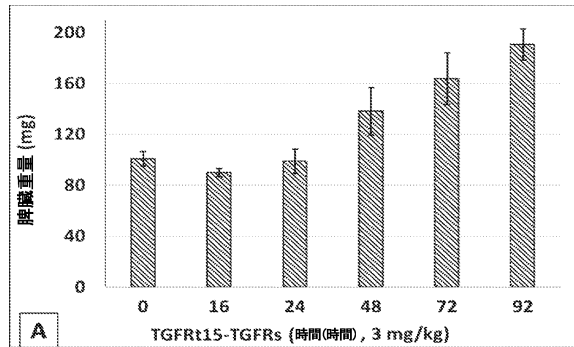


10

【図 8 5 B】

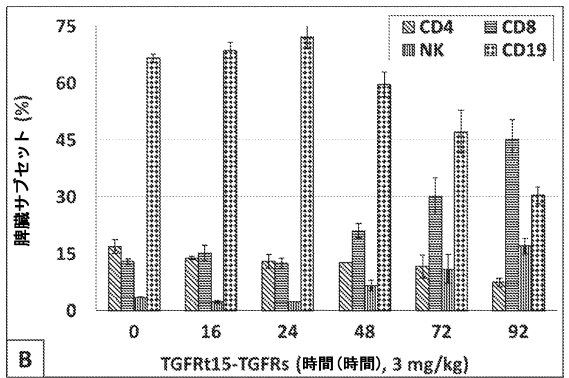


【図 8 6 A】

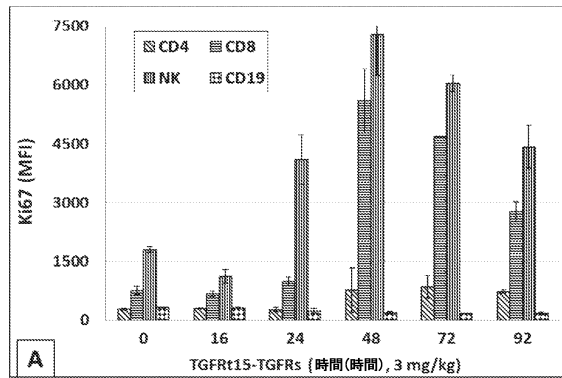


20

【図 8 6 B】



【図 8 7 A】

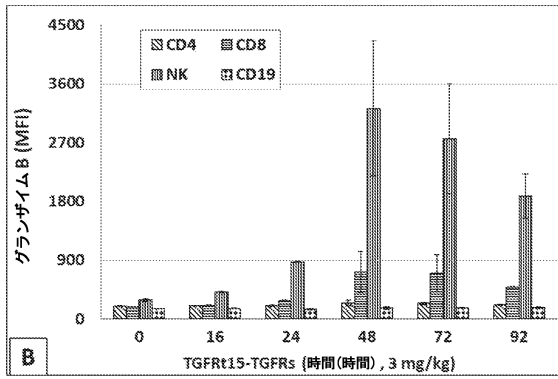


30

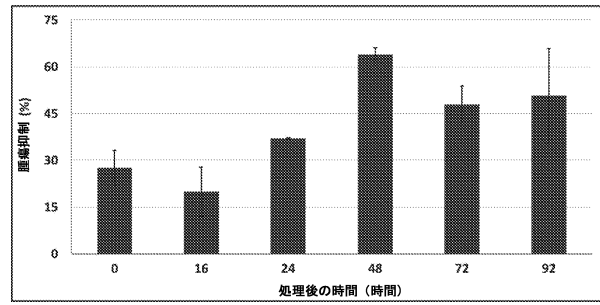
40

50

【図 8 7 B】

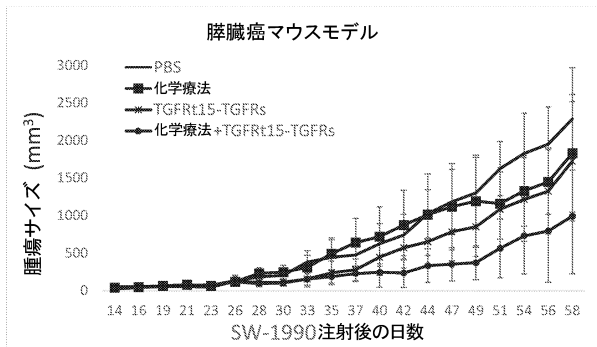


【図 8 8】

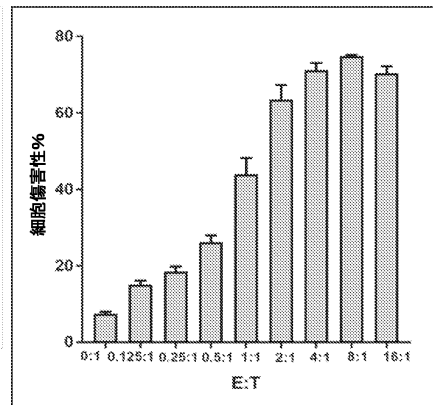


10

【図 8 9】

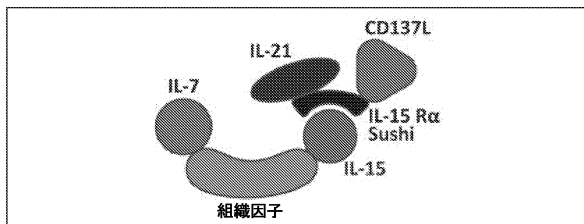


【図 9 0】

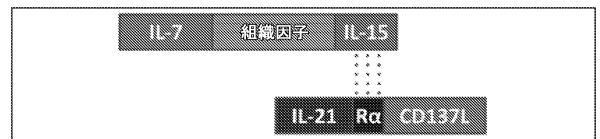


20

【図 9 1】



【図 9 2】

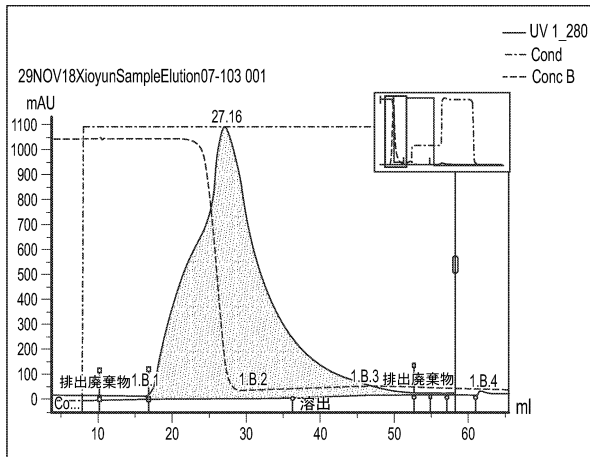


30

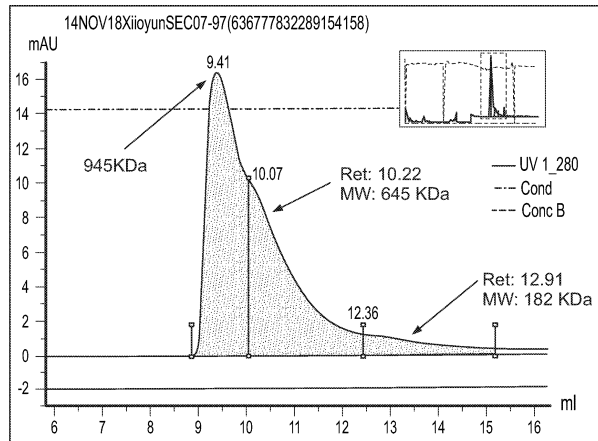
40

50

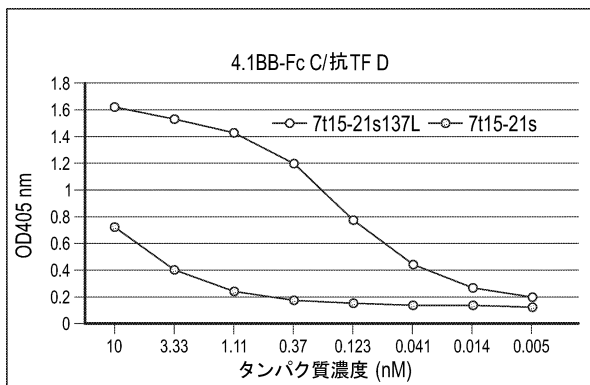
【図 9 3】



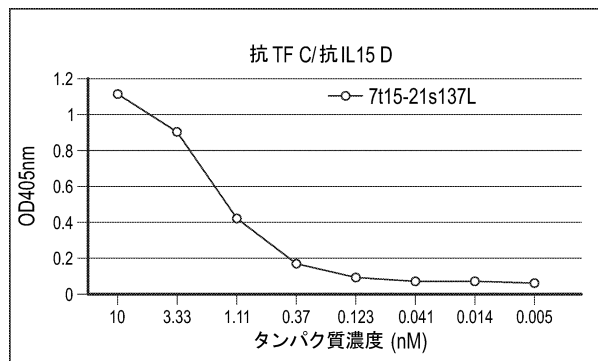
【図 9 4】



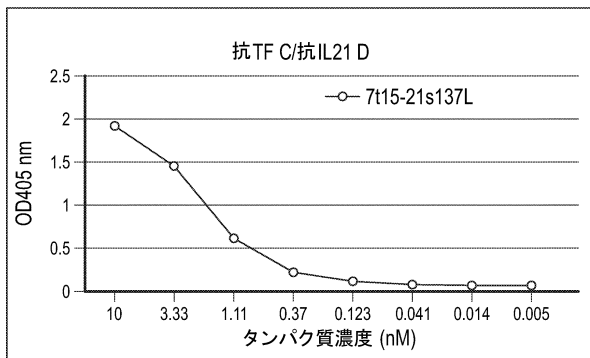
【図 9 5】



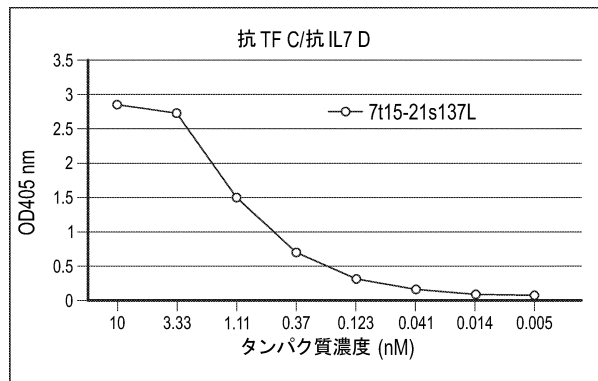
【図 9 6 A】



【図 9 6 B】



【図 9 6 C】



10

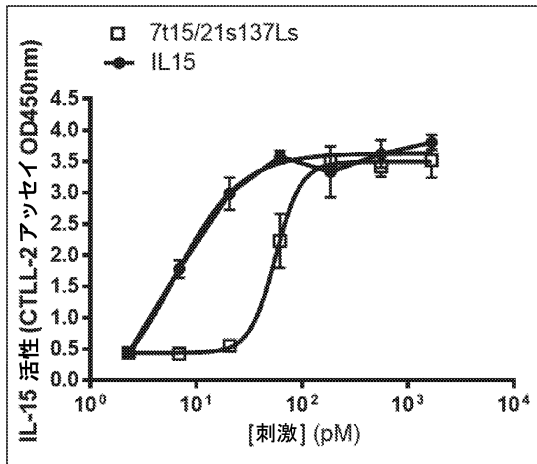
20

30

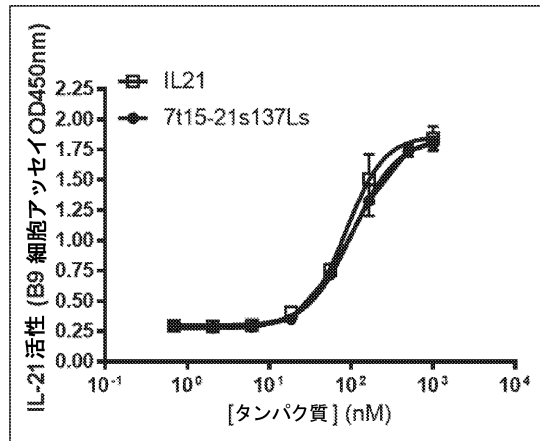
40

50

【図 9 7】

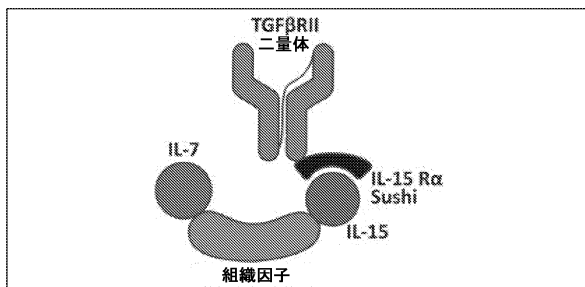


【図 9 8】

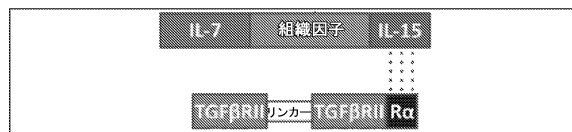


10

【図 9 9】

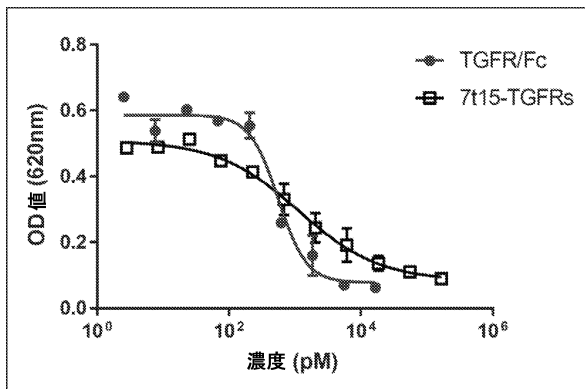


【図 1 0 0】

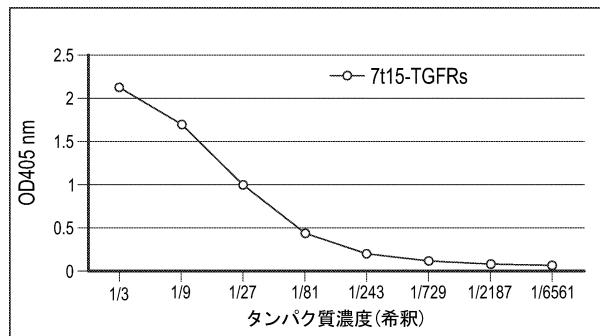


20

【図 1 0 1】



【図 1 0 2 A】

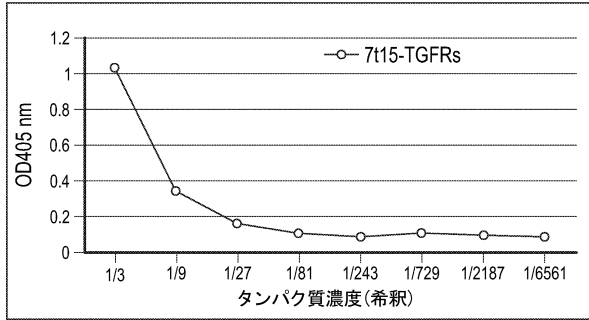


30

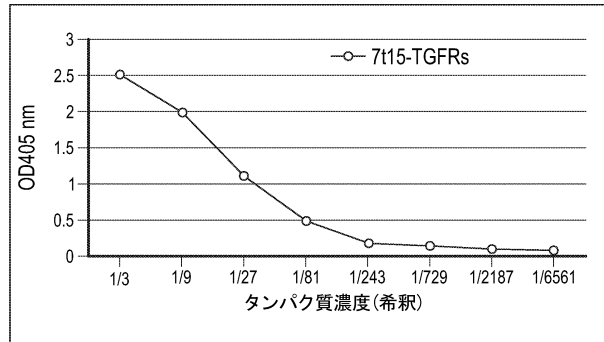
40

50

【図 102 B】

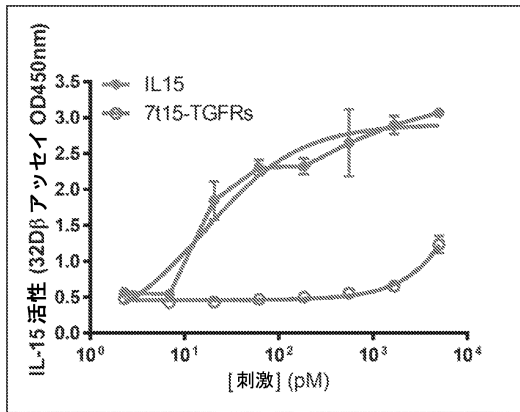


【図 102 C】

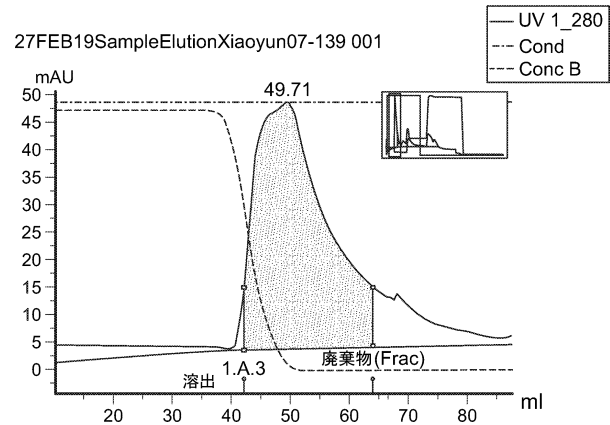


10

【図 103】

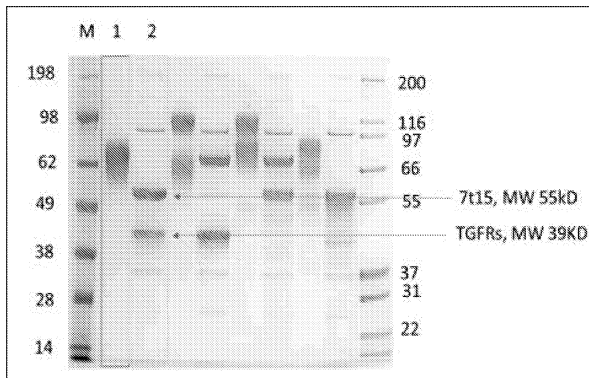


【図 104】

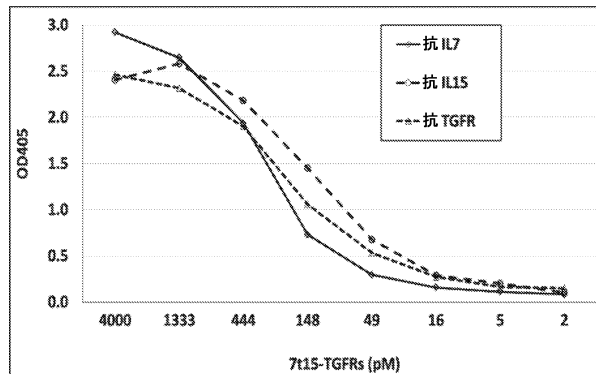


20

【図 105】



【図 106】

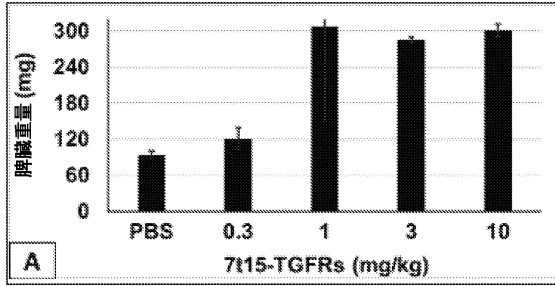


30

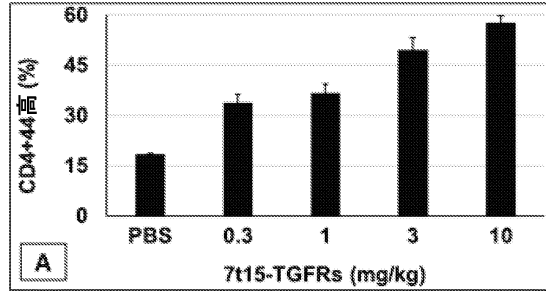
40

50

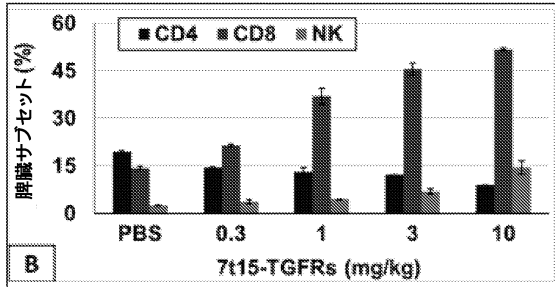
【図 1 0 7】



【図 1 0 8 A】

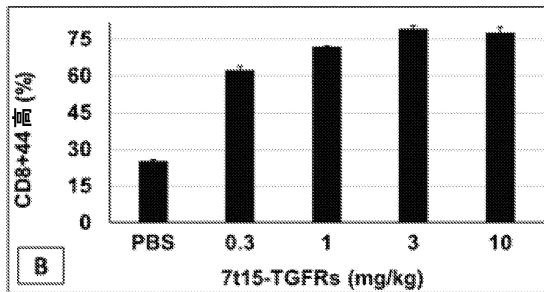


10

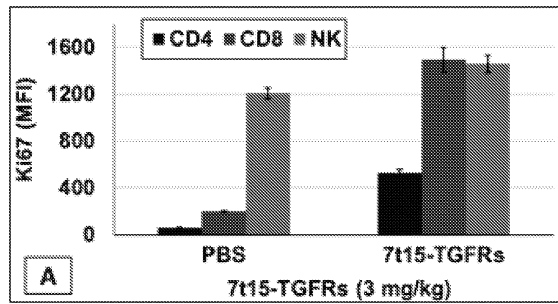


20

【図 1 0 8 B】



【図 1 0 9 A】

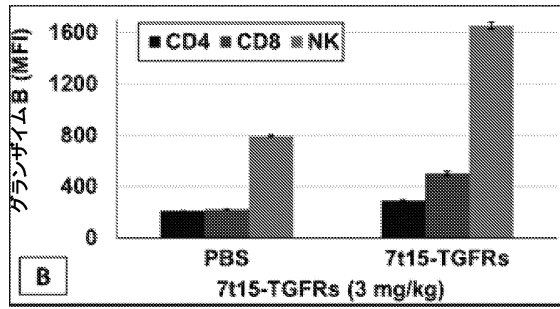


30

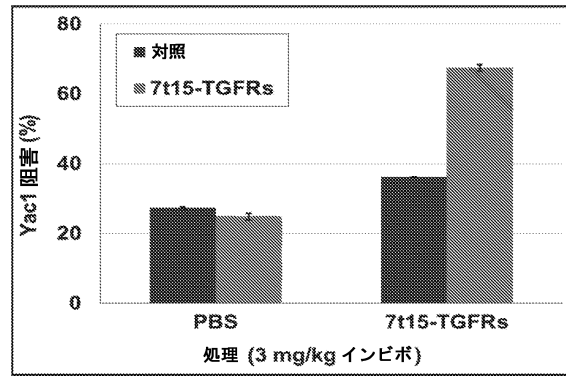
40

50

【図 1 0 9 B】

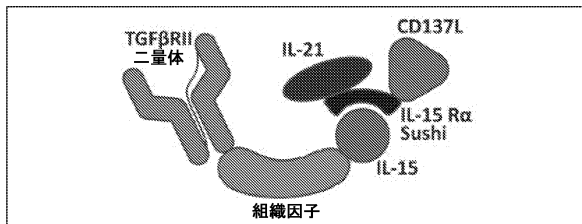


【図 1 1 0】



10

【図 1 1 1】

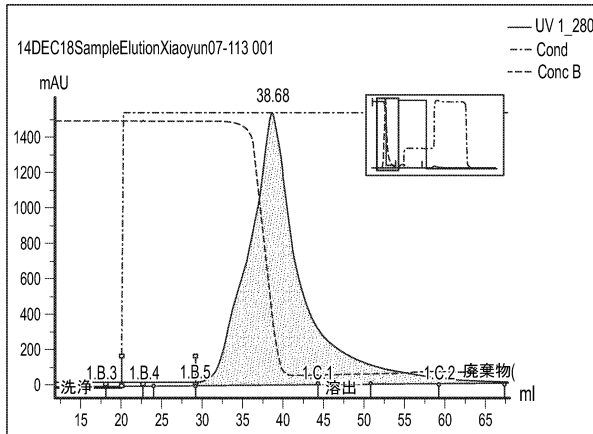


【図 1 1 2】

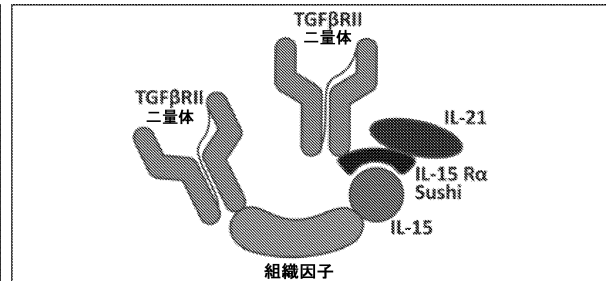


20

【図 1 1 3】



【図 1 1 4】

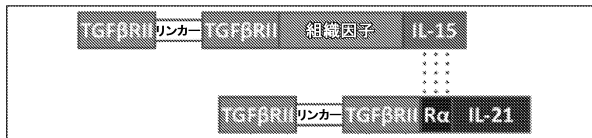


30

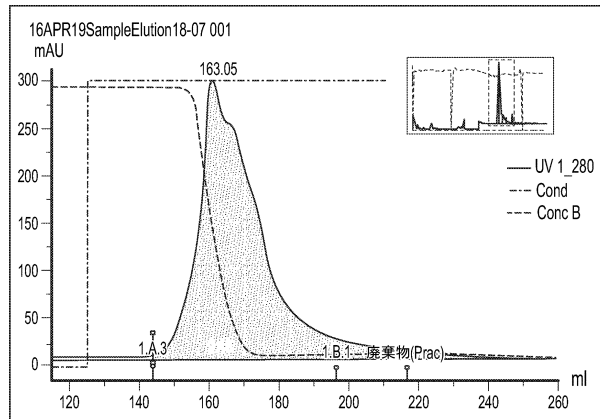
40

50

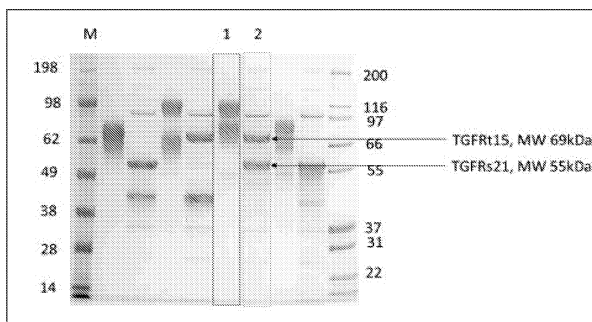
【図 1 1 5】



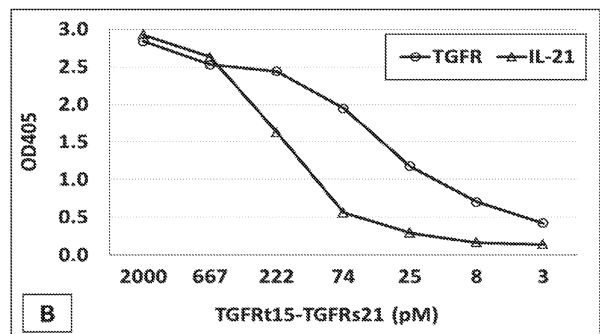
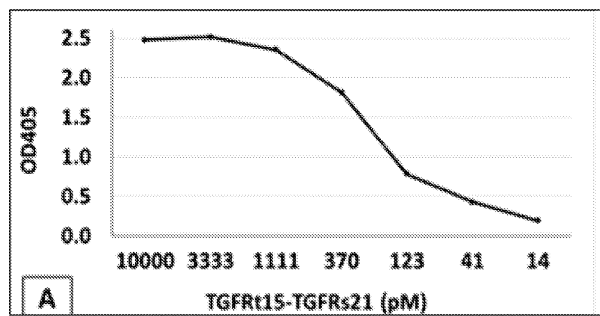
【図 1 1 6】



【図 1 1 7】



【図 1 1 8】



10

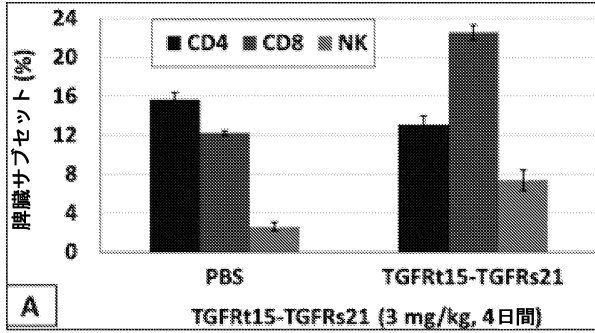
20

30

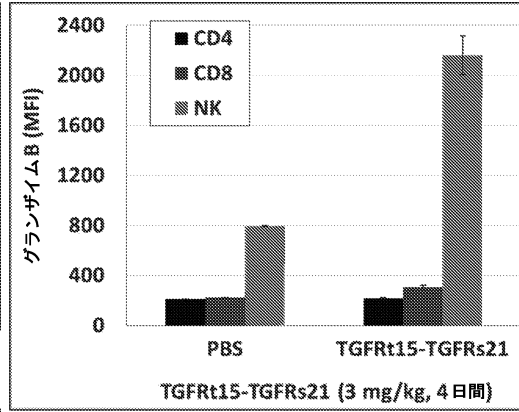
40

50

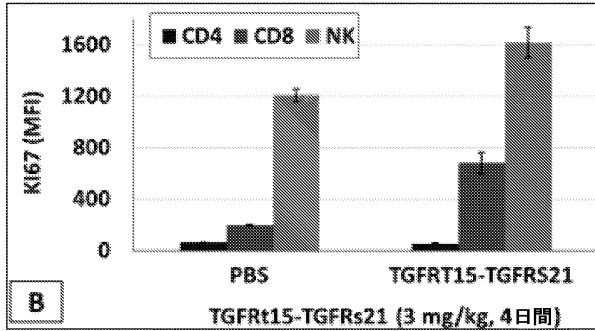
【図 1 1 9】



【図 1 2 0】

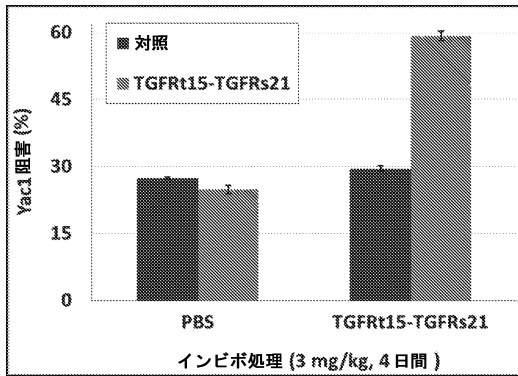


10

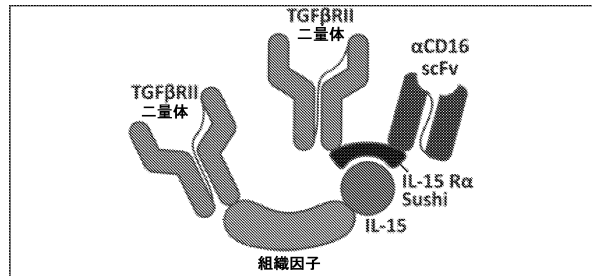


20

【図 1 2 1】



【図 1 2 2】

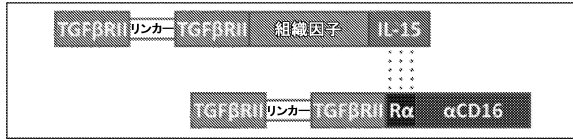


30

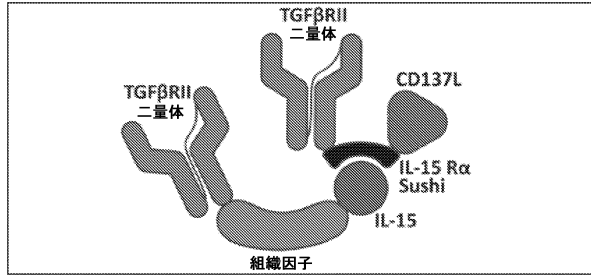
40

50

【図 1 2 3】

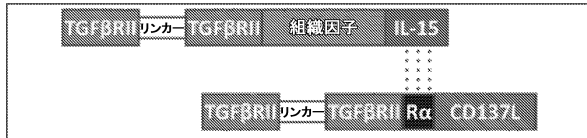


【図 1 2 4】

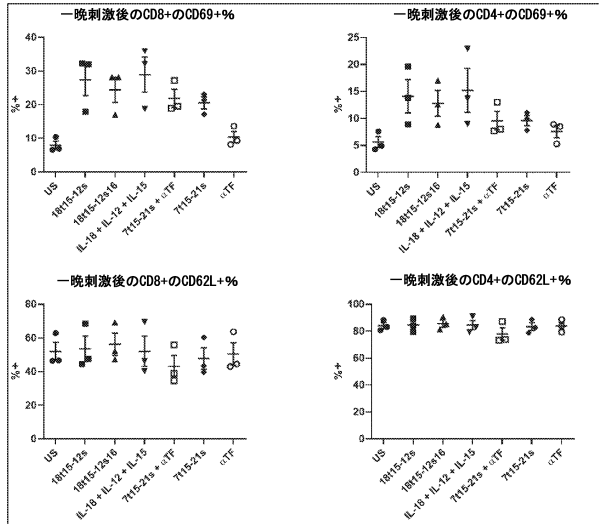


10

【図 1 2 5】



【図 1 2 6】



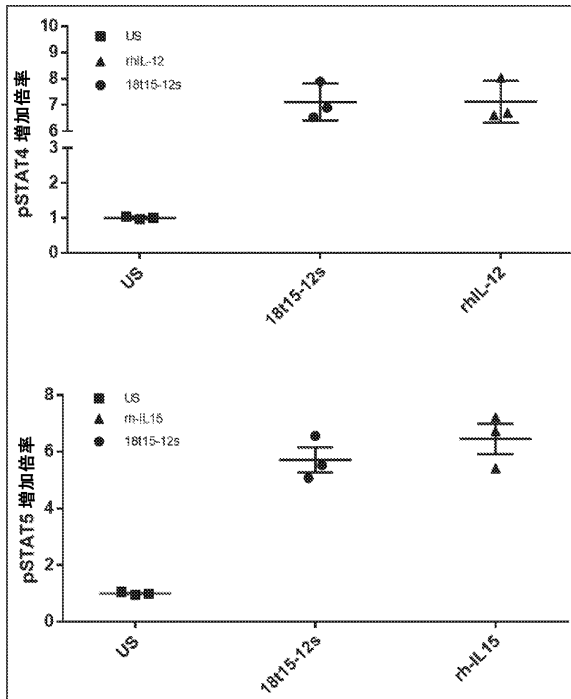
20

30

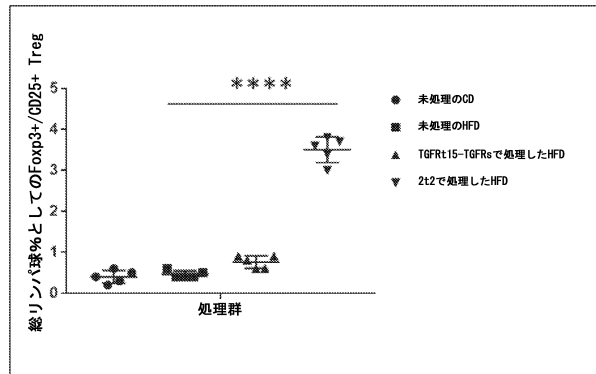
40

50

【図 1 2 7】



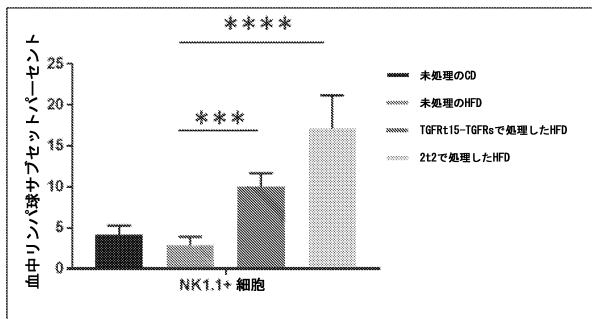
【図 1 2 8 A】



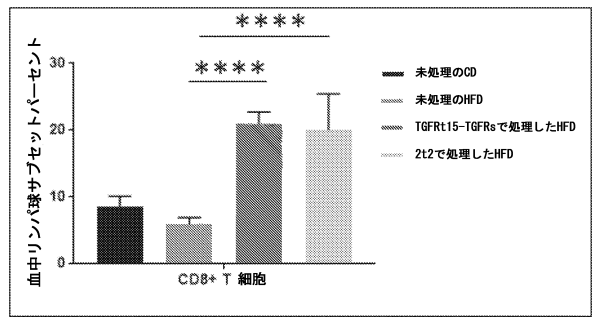
10

20

【図 1 2 8 B】



【図 1 2 8 C】

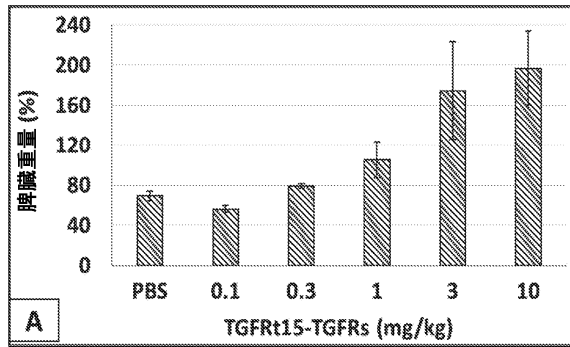


30

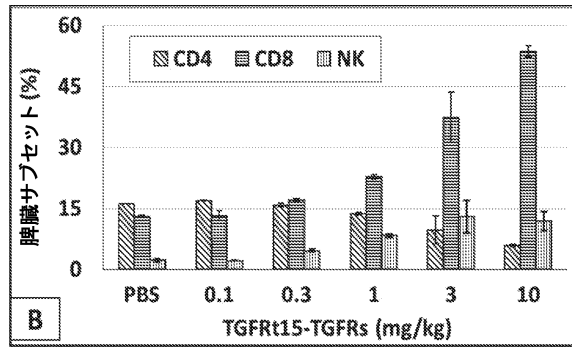
40

50

【図 1 2 9 A】

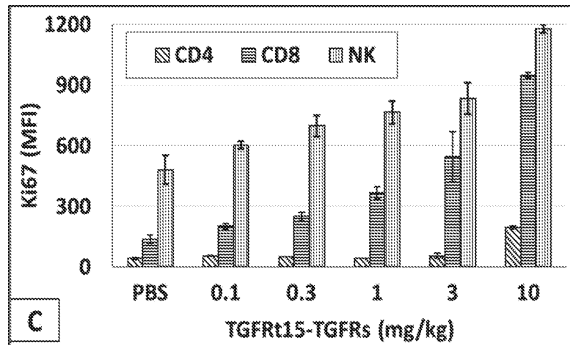


【図 1 2 9 B】

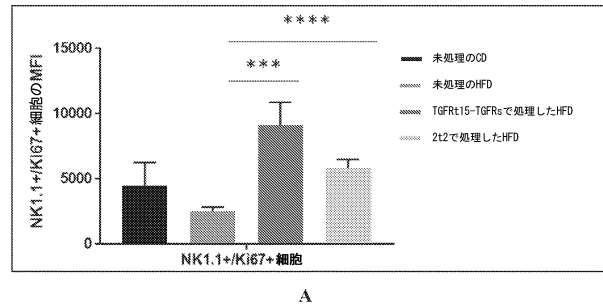


10

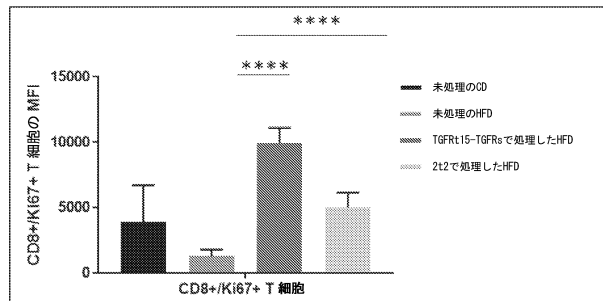
【図 1 2 9 C】



【図 1 3 0】



20



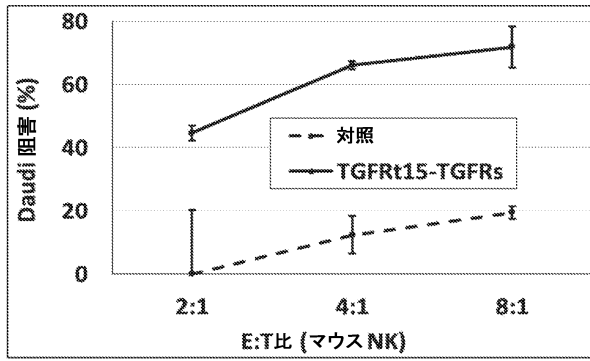
30

B

40

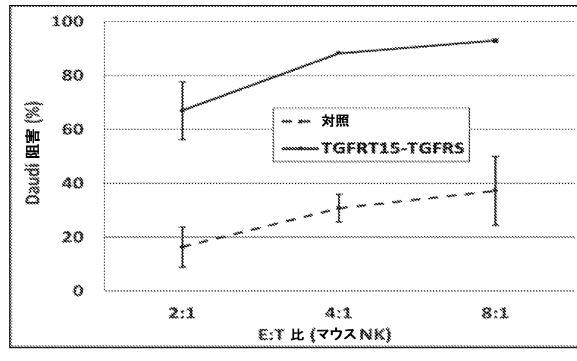
50

【図 1 3 1】



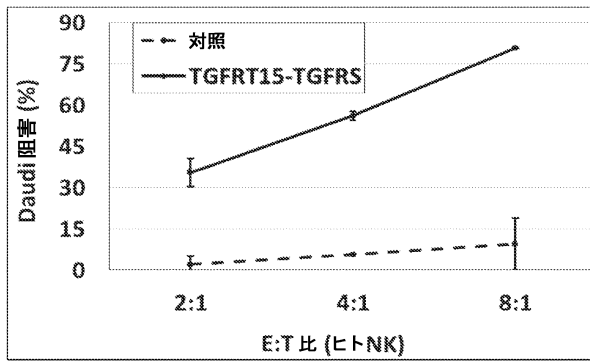
A

【図 1 3 2】

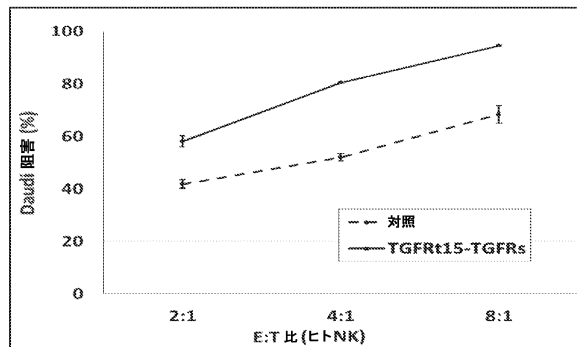


A

10



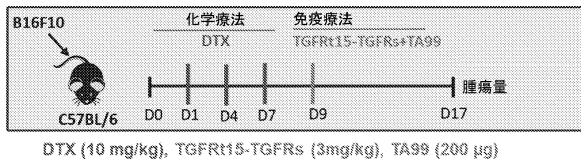
B



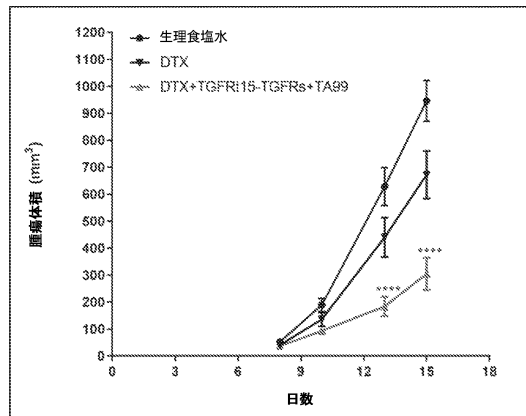
B

20

【図 1 3 3 A】



【図 1 3 3 B】

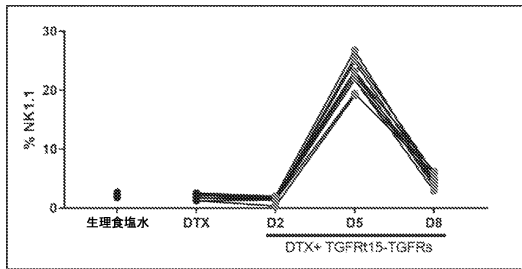


30

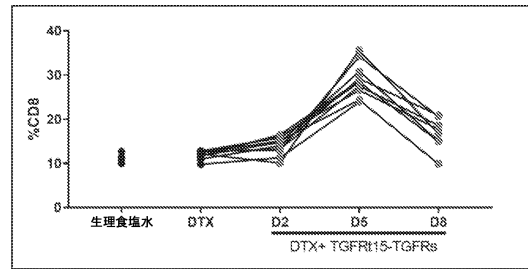
40

50

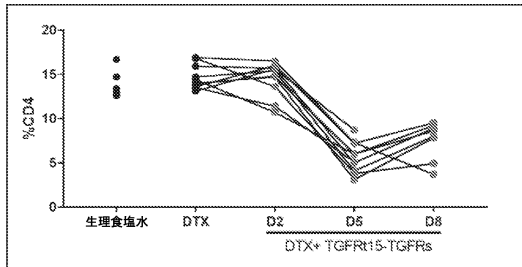
【図 1 3 3 C】



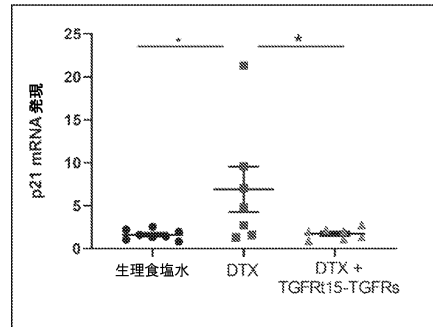
【図 1 3 3 D】



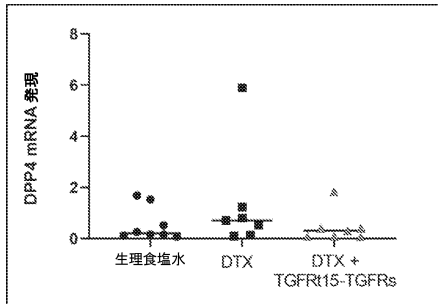
【図 1 3 3 E】



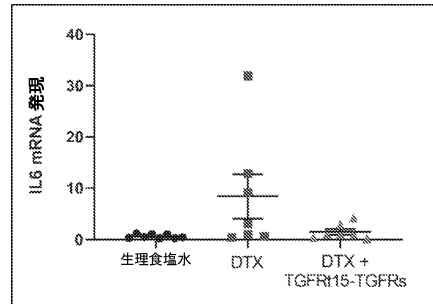
【図 1 3 3 F】



【図 1 3 3 G】



【図 1 3 3 H】



10

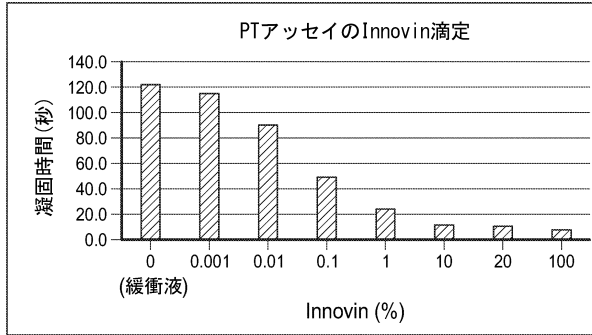
20

30

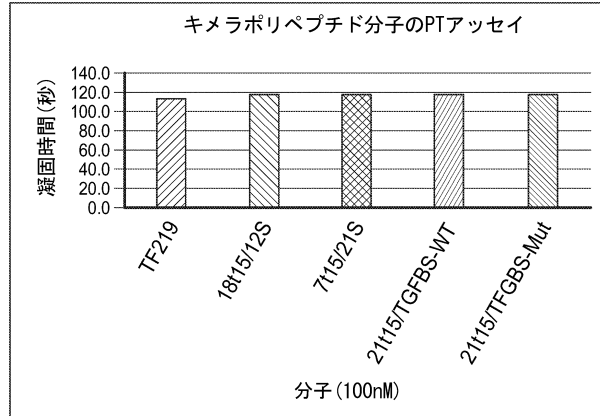
40

50

【図 1 3 8】

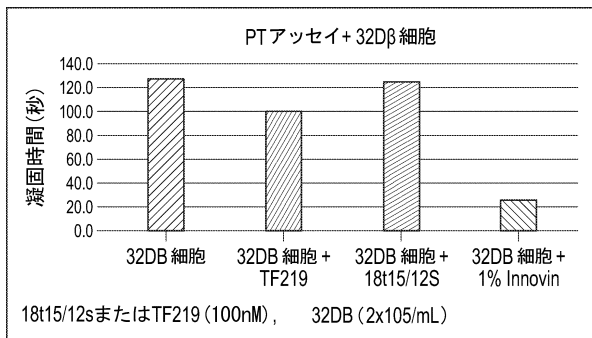


【図 1 3 9】

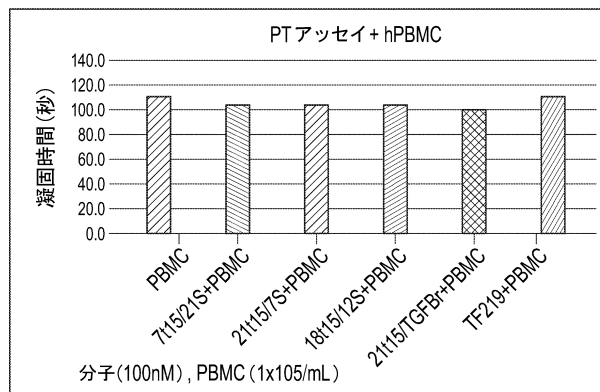


10

【図 1 4 0】

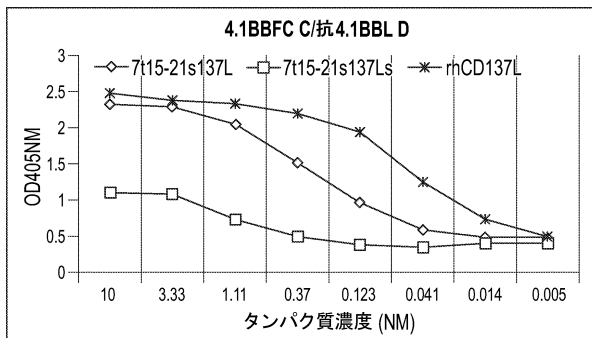


【図 1 4 1】

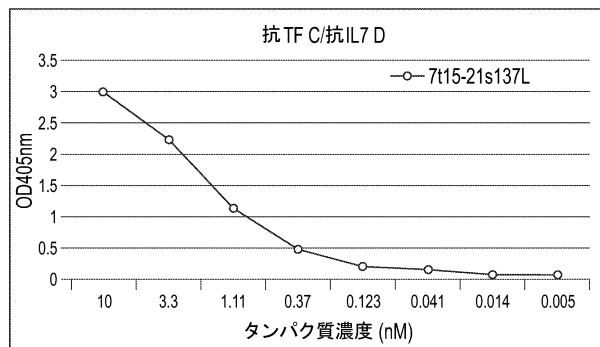


20

【図 1 4 2】



【図 1 4 3 A】

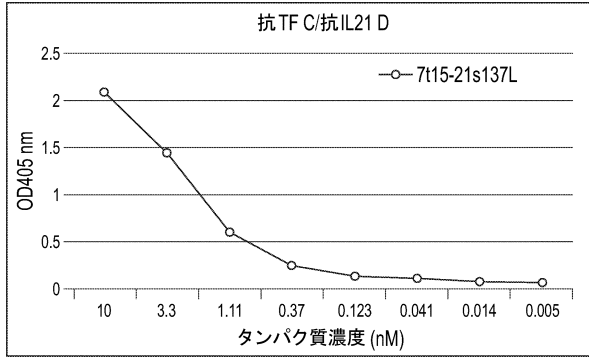


30

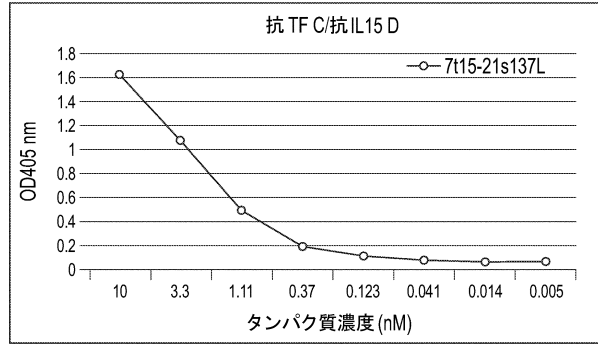
40

50

【図 1 4 3 B】

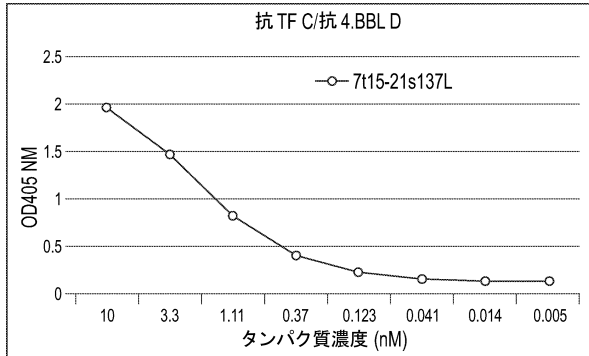


【図 1 4 3 C】

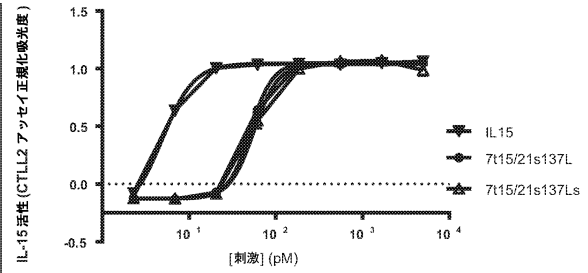


10

【図 1 4 3 D】



【図 1 4 4】



20

【配列表】

0007397874000001.app

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I		
C 0 7 K 14/545 (2006.01)	C 0 7 K	14/545	
C 0 7 K 14/54 (2006.01)	C 0 7 K	14/54	
C 0 7 K 14/525 (2006.01)	C 0 7 K	14/525	
C 0 7 K 14/55 (2006.01)	C 0 7 K	14/55	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 7
A 6 1 P 31/00 (2006.01)	A 6 1 P	31/00	
A 6 1 K 38/17 (2006.01)	A 6 1 K	38/17	

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 62/725,010

(32)優先日 平成30年8月30日(2018.8.30)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 62/746,832

(32)優先日 平成30年10月17日(2018.10.17)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 62/749,007

(32)優先日 平成30年10月22日(2018.10.22)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 62/749,506

(32)優先日 平成30年10月23日(2018.10.23)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 62/816,683

(32)優先日 平成31年3月11日(2019.3.11)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 62/817,241

(32)優先日 平成31年3月12日(2019.3.12)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 62/817,230

(32)優先日 平成31年3月12日(2019.3.12)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 62/881,088

(32)優先日 令和1年7月31日(2019.7.31)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥

(72)発明者 ウォン ヒン
アメリカ合衆国 33025 フロリダ州 ミラマー ノース コマース パークウェイ 2929

審査官 松田 芳子

(56)参考文献 特許第4361133 (JP, B2)
Biochem. J., 2000年, vol.349, p.805-812
Protein Eng. Des. Sel., 2010年, vol.24, no.4, p.373-383

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
C12N 15/09
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)
Caplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)