

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-511713
(P2025-511713A)

(43)公表日 令和7年4月16日(2025.4.16)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	Z N A	4 B 0 6 4
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46		4 B 0 6 5
C 0 7 K	16/30 (2006.01)	C 0 7 K	16/30		4 C 0 8 4
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13		4 C 0 8 5
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z	4 H 0 4 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求
				(全138頁)	最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-559144(P2024-559144)	(71)出願人	521525239
(86)(22)出願日	令和5年4月10日(2023.4.10)		アダジーン プライベート リミテッド
(85)翻訳文提出日	令和6年12月3日(2024.12.3)		シンガポール国 0 4 8 5 8 1 シンガポ
(86)国際出願番号	PCT/CN2023/087277		ール, ラッフルズ キー 1 6, ホン
(87)国際公開番号	WO2023/193817		リョン ビルディング 3 3-0 3 番
(87)国際公開日	令和5年10月12日(2023.10.12)	(74)代理人	100127926
(31)優先権主張番号	PCT/CN2022/085838		弁理士 結田 純次
(32)優先日	令和4年4月8日(2022.4.8)	(74)代理人	100216105
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)		弁理士 守安 智
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV	(72)発明者	ピーター・ベイチャー・ルオ
	最終頁に続く		中華人民共和国ジャンスー 2 1 5 1 2 3
			・スーチョウ・スーチョウ・インダスト
			リアル・パーク・シンフー・ストリート
			2 1 8・ビルディング・シー 1 4・フォ
			ース・フロア
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗 C D 2 8 抗体及びその使用方法

(57)【要約】

【要約】

本開示は、ヒト CD28 に結合する抗 CD28 抗体及びその抗原結合断片、それを含む組成物、ならびに腫瘍の成長を遅延および/または予防するためのその使用に関する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

CD28結合部分を含む抗原結合タンパク質または抗原結合フラグメントであって、CD28結合部分はヒトCD28に結合し、カニクイザル及びマウスCD28と交差反応性である。

【請求項 2】

前記CD28結合部分がヒトCD28の配列番号1のアミノ酸残基51～122を含むCD28エピトープに結合する、請求項1に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 3】

前記CD28エピトープは、配列番号1のアミノ酸残基51、52、54、55、98～101、110～111、113～114、及び118～122を含む、請求項2に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 4】

前記CD28結合部分が抗体重鎖可変ドメイン（V_H）及び抗体軽鎖可変ドメイン（V_L）を含み、V_H及びV_Lが、以下に記載される重鎖相補性決定領域（CDR）1～3及び軽鎖CDR1～3を含む、

それぞれ配列番号5～10、

それぞれ配列番号15、6、16、17～19、

それぞれ配列番号24、6、25、26～28、

それぞれ配列番号33、6、35～38、

それぞれ配列番号43、6、44、45、9、及び46、

それぞれ配列番号33、51～53、300、及び10、

それぞれ配列番号24、58、59、60、300、及び61、

それぞれ配列番号66～69、300、70、

それぞれ配列番号24、6、75、76、18、及び28、

それぞれ配列番号24、58、81、82、27、及び83、

それぞれ配列番号88～91、300、及び70、

それぞれ配列番号24、96～98、9、及び70、

それぞれ配列番号103～106、18、及び83、

それぞれ配列番号111、6、112、113、18、及び114、

それぞれ配列番号15、6、119、120、9、及び121、

それぞれ配列番号126、67、127、128、18、及び129、

それぞれ配列番号134、6、135、136、27、及び83、

それぞれ配列番号43、58、141、142、300、及び143、

それぞれ配列番号148、6、149、150、300、及び83、

それぞれ配列番号15、155、16、156、27、及び70、

それぞれ配列番号161、6、162、163、300、及び164、

それぞれ配列番号5、96、307、76、308、及び46、

それぞれ配列番号5、96、309、310、9、及び311、

それぞれ配列番号43、96、312、76、9、及び28、

それぞれ配列番号43、96、307、310、9、及び313、

それぞれ配列番号314、315、309、76、9、及び313、

それぞれ配列番号33、316、312、8、308、及び313、

それぞれ配列番号314、96、317、76、308、及び318、

それぞれ配列番号43、316、312、8、9、及び10、

それぞれ配列番号43、6、319、320、9、及び10、

それぞれ配列番号5、67、307、310、308、及び28、

それぞれ配列番号43、6、321、8、9、及び10、

それぞれ配列番号314、316、322、8、9、及び10、

それぞれ配列番号33、6、321、8、9、及び10、

10

20

30

40

50

それぞれ配列番号5、6、317、8、9、及び10、
それぞれ配列番号5、6、323、8、9、及び10、または
それぞれ配列番号5、6、324、8、9、及び10、請求項1～3のいずれか1つに記載の
抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項5】

ヒトCD28に結合するCD28結合部分を含む抗原結合タンパク質またはその抗原結合フラグメントであって、CD28結合部分は抗体重鎖可変ドメイン（V_H）及び抗体軽鎖可変ドメイン（V_L）を含み、V_H及びV_Lは、以下に記載される重鎖相補性決定領域（CDR）1-3及び軽鎖CDR1-3を含む、抗原結合タンパク質またはその抗原結合フラグメント、

それぞれ配列番号5～10、

それぞれ配列番号15、6、16、17～19、

それぞれ配列番号24、6、25、26～28、

それぞれ配列番号33、6、35～38、

それぞれ配列番号43、6、44、45、9、及び46、

それぞれ配列番号33、51～53、300、及び10、

それぞれ配列番号24、58、59、60、300、及び61、

それぞれ配列番号66～69、300、70、

それぞれ配列番号24、6、75、76、18、及び28、

それぞれ配列番号24、58、81、82、27、及び83、

それぞれ配列番号88～91、300、及び70、

それぞれ配列番号24、96～98、9、及び70、

それぞれ配列番号103～106、18、及び83、

それぞれ配列番号111、6、112、113、18、及び114、

それぞれ配列番号15、6、119、120、9、及び121、

それぞれ配列番号126、67、127、128、18、及び129、

それぞれ配列番号134、6、135、136、27、及び83、

それぞれ配列番号43、58、141、142、300、及び143、

それぞれ配列番号148、6、149、150、300、及び83、

それぞれ配列番号15、155、16、156、27、及び70、または

それぞれ配列番号161、6、162、163、300、及び164

それぞれ配列番号5、96、307、76、308、及び46、

それぞれ配列番号5、96、309、310、9、及び311、

それぞれ配列番号43、96、312、76、9、及び28、

それぞれ配列番号43、96、307、310、9、及び313、

それぞれ配列番号314、315、309、76、9、及び313、

それぞれ配列番号33、316、312、8、308、及び313、

それぞれ配列番号314、96、317、76、308、及び318、

それぞれ配列番号43、316、312、8、9、及び10、

それぞれ配列番号43、6、319、320、9、及び10、

それぞれ配列番号5、67、307、310、308、及び28、

それぞれ配列番号43、6、321、8、9、及び10、

それぞれ配列番号314、316、322、8、9、及び10、

それぞれ配列番号33、6、321、8、9、及び10、

それぞれ配列番号5、6、317、8、9、及び10、

それぞれ配列番号5、6、323、8、9、及び10、または

それぞれ配列番号5、6、324、8、9、及び10。

【請求項6】

前記CD28結合部分が、

それぞれ配列番号11及び12、

それぞれ配列番号20及び21、

それぞれ配列番号29及び30、
それぞれ配列番号39及び40、
それぞれ配列番号47及び48、
それぞれ配列番号54及び55、
それぞれ配列番号62及び63、
それぞれ配列番号71及び72、
それぞれ配列番号77及び78、
それぞれ配列番号84及び85、
それぞれ配列番号92及び93、
それぞれ配列番号99及び100、
それぞれ配列番号107及び108、
それぞれ配列番号115及び116、
それぞれ配列番号122及び123、
それぞれ配列番号130及び131、
それぞれ配列番号137及び138、
それぞれ配列番号144及び145、
それぞれ配列番号151及び152、
それぞれ配列番号157及び158、
それぞれ配列番号165及び166、
それぞれ配列番号362及び363、
それぞれ配列番号364及び365、
それぞれ配列番号366及び367、
それぞれ配列番号368及び369、
それぞれ配列番号370及び371、
それぞれ配列番号372及び373、
それぞれ配列番号374及び375、
それぞれ配列番号376及び12、
それぞれ配列番号377及び378、
それぞれ配列番号379及び380、
それぞれ配列番号381及び12、
それぞれ配列番号382及び12、
それぞれ配列番号383及び12、
それぞれ配列番号384及び12、
それぞれ配列番号385及び12、または

それぞれ配列番号386及び12に記載された V_H および V_L を含む、請求項4または5に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項7】

前記抗体重鎖及び抗体軽鎖を含む、
それぞれ配列番号13及び14、
それぞれ配列番号22及び23、
それぞれ配列番号31及び32、
それぞれ配列番号41及び42、
それぞれ配列番号49及び50、
それぞれ配列番号56及び57、
それぞれ配列番号64及び65
それぞれ配列番号73及び74、
それぞれ配列番号79及び80、
それぞれ配列番号86及び87、
それぞれ配列番号94及び95、
それぞれ配列番号101及び102、

10

20

30

40

50

それぞれ配列番号109及び110、
それぞれ配列番号117及び118、
それぞれ配列番号124及び125、
それぞれ配列番号141及び142、
それぞれ配列番号132及び133、
それぞれ配列番号139及び140、
それぞれ配列番号146及び147、
それぞれ配列番号153及び154、
それぞれ配列番号159及び160、または

それぞれ配列番号167及び168、請求項4または5に記載の抗原結合タンパク質。

10

【請求項8】

前記抗原結合タンパク質またはそのフラグメントがスーパーアゴニスト活性を有さない、請求項1～7のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項9】

前記腫瘍関連抗原（TAA）を標的とする第2の抗原結合部分をさらに含む、請求項1～8のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項10】

前記TAAがHER2、B7-H3、またはTROP-2である、請求項9に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項11】

20

前記HER2結合部分が、以下に記載のHCDR1-3及びLCDR1-3はそれぞれ配列番号262～264及び258～260、または以下に記載のV_H及びV_Lはそれぞれ配列番号265及び261を含む、請求項10に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項12】

前記B7-H3結合部分が、以下に記載のHCDR1-3及びLCDR1-3はそれぞれ配列番号290～292及び287、18、及び288、または以下に記載のV_H及びV_Lはそれぞれ配列番号293及び289を含む、請求項10に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項13】

前記TROP-2結合部分が、以下に記載のHCDR1-3及びLCDR1-3はそれぞれ配列番号280～282及び277、259、及び278、または以下に記載のV_H及びV_Lはそれぞれ配列番号283及び279を含む、請求項10に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

30

【請求項14】

前記CD28結合部分及びTAA結合部分のいずれかまたは両方が、単鎖Fv（scFv）、Fv、scFab、またはFabである、請求項1～13のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項15】

前記HER2結合部分が、それぞれ配列番号169及び170を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、CD28結合部分が、配列番号171を含む重鎖または配列番号266を含むscFv融合ポリペプチドを含む、請求項11に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

40

【請求項16】

前記HER2結合部分が、それぞれ配列番号169及び170を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、CD28結合部分が、配列番号172を含む重鎖または配列番号266を含むscFv融合ポリペプチドを含む、請求項11に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項17】

前記HER2結合部分が、それぞれ配列番号271及び276を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、CD28結合部分が、配列番号171を含む重鎖または配列番号266を含むscFv融合ポリペプチドを含む、請求項11に記載の抗原結合タンパク質またはその

50

【請求項 30】

40

前記 H E R 2 結合部分が、それぞれ配列番号 3 3 1 及び 3 3 2 を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、C D 2 8 結合部分が、配列番号 3 4 4 を含む重鎖を含む、請求項 10 に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 3 1】

前記 H E R 2 結合部分が、それぞれ配列番号 3 3 1 及び 3 3 2 を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、C D 2 8 結合部分が、配列番号 3 4 5 を含む重鎖を含む、請求項 10 に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 3 2】

前記 H E R 2 結合部分が、それぞれ配列番号 3 3 1 及び 3 3 2 を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、C D 2 8 結合部分が、配列番号 3 4 6 を含む重鎖を含む、請求項 10 に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

10

【請求項 3 3】

前記 H E R 2 結合部分が、それぞれ配列番号 3 3 1 及び 3 3 2 を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、C D 2 8 結合部分が、配列番号 3 4 7 を含む重鎖を含む、請求項 10 に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 3 4】

前記 H E R 2 結合部分が、それぞれ配列番号 3 3 1 及び 3 3 2 を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、C D 2 8 結合部分が、配列番号 3 4 8 を含む重鎖を含む、請求項 10 に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 3 5】

前記 H E R 2 結合部分が、それぞれ配列番号 3 3 1 及び 3 3 2 を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、C D 2 8 結合部分が、配列番号 3 4 9 を含む重鎖を含む、請求項 10 に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

20

【請求項 3 6】

前記 H E R 2 結合部分は、それぞれ配列番号 3 3 1 及び 3 3 2 を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、C D 2 8 結合部分が、配列番号 3 5 0 を含む重鎖を含む、請求項 10 に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 3 7】

前記 H E R 2 結合部分は、それぞれ配列番号 3 3 1 及び 3 3 2 を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、C D 2 8 結合部分は、配列番号 3 5 1 を含む重鎖を含む、請求項 10 に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

30

【請求項 3 8】

前記 H E R 2 結合部分が、それぞれ配列番号 3 3 1 及び 3 3 2 を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、C D 2 8 結合部分が、配列番号 3 5 2 を含む重鎖を含む、請求項 10 に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 3 9】

前記 H E R 2 結合部分が、それぞれ配列番号 3 3 1 及び 3 3 2 を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、C D 2 8 結合部分が、配列番号 3 5 3 を含む重鎖を含む、請求項 10 に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 4 0】

前記 B 7 - H 3 結合部分が、それぞれ配列番号 1 7 5 及び 1 7 6 を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、C D 2 8 結合部分が、配列番号 1 7 1 を含む重鎖または配列番号 2 6 6 を含む s c F v 融合ポリペプチドを含む、請求項 12 に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

40

【請求項 4 1】

前記 B 7 - H 3 結合部分が、それぞれ配列番号 3 5 4 及び 3 5 5 を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、C D 2 8 結合部分が、配列番号 3 2 7 を含む重鎖を含む、請求項 10 に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 4 2】

前記 B 7 - H 3 結合部分が、それぞれ配列番号 3 5 4 及び 3 5 5 を含む抗体軽鎖及び抗

50

体重鎖を含み、CD28結合部分が、配列番号356を含む重鎖を含む、請求項10に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項43】

前記B7-H3結合部分が、それぞれ配列番号354及び355を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、CD28結合部分が、配列番号357を含む重鎖を含む、請求項10に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項44】

前記B7-H3結合部分が、それぞれ配列番号354及び355を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、CD28結合部分が、配列番号358を含む重鎖を含む、請求項10に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

10

【請求項45】

前記TROP2結合部分が、それぞれ配列番号173及び174を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、CD28結合部分が、配列番号171を含む重鎖または配列番号266を含むscFv融合ポリペプチドを含む、請求項13に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項46】

前記免疫チェックポイント阻害剤を標的とする別の抗原結合部分をさらに含む、請求項1～45のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項47】

前記免疫チェックポイント阻害剤がPD-L1である、請求項46に記載の抗原結合タンパク質。

20

【請求項48】

前記PD-L1結合部分が、それぞれ配列番号325及び326を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、CD28結合部分が、配列番号327を含む重鎖を含む、請求項47に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項49】

前記PD-L1結合部分が、それぞれ配列番号325及び326を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、CD28結合部分が、配列番号328を含む重鎖を含む、請求項47に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項50】

前記PD-L1結合部分が、それぞれ配列番号325及び326を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、CD28結合部分が、配列番号329を含む重鎖を含む、請求項47に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

30

【請求項51】

前記PD-L1結合部分が、それぞれ配列番号325及び326を含む抗体軽鎖及び抗体重鎖を含み、CD28結合部分が、配列番号330を含む重鎖を含む、請求項47に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項52】

さらにFc領域を含む、請求項1～51のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

40

【請求項53】

前記Fc領域が、ヒトIgG1サブクラスのものである、請求項52に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項54】

前記Fc領域が、ヒトIgG4サブクラスのものである、請求項52に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項55】

前記Fc領域が、低下したエフェクター機能効果を有するか、またはエフェクター機能効果を有しない、低下した抗体依存性細胞傷害(ADCC)効果を有するか、または抗体依存性細胞傷害(ADCC)効果を有しない、及び／または低下した架橋効果を有するか

50

、または架橋効果を有しない、請求項52～54のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項56】

抗原結合タンパク質またはそのフラグメントが、第1のCH3ドメイン及び第2のCH3ドメインを含み、ここで：

i) 前記第1のCH3ドメインは、390位にシステイン(C)残基を含み、第2のCH3ドメインは、400位にシステイン残基を含むか、もしくは、第1のCH3ドメインは、400位にシステイン残基を含み、第2のCH3ドメインは、390位にシステイン残基を含むか；または

ii) 前記第1のCH3ドメインは、392位にシステイン残基を含み、第2のCH3ドメインは、397位にシステイン残基を含むか、もしくは、第1のCH3ドメインは、397位にシステイン残基を含み、第2のCH3ドメインは、392位にシステイン残基を含むか；または

iii) 前記第1のCH3ドメインは、392位にシステイン残基を含み、第2のCH3ドメインは、400位にシステイン残基を含み、もしくは、第1のCH3ドメインは、400位にシステイン残基を含み、第2のCH3ドメインは、392位にシステイン残基を含み；アミノ酸残基ナンバリングが、Euナンバリングに基づく、請求項1～55のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項57】

i) 前記第1のCH3ドメインは、さらに、357位に正荷電残基を含み、第2のCH3ドメインは、さらに、351位に負荷電残基を含むか、もしくは、第1のCH3ドメインは、さらに、351位に負荷電残基を含み、第2のCH3ドメインは、さらに、357位に正荷電残基を含むか；または

ii) 前記第1のCH3ドメインは、さらに、411位に正荷電残基を含み、第2のCH3ドメインは、さらに、370位に負荷電残基を含むか、もしくは、第1のCH3ドメインは、さらに、370位に負荷電残基を含み、第2のCH3ドメインは、さらに、411位に正荷電残基を含むか；または

iii) 前記第1のCH3ドメインは、さらに、364位に正荷電残基を含み、第2のCH3ドメインは、さらに、370位に負荷電残基を含むか、もしくは、第1のCH3ドメインは、さらに、370位に負荷電残基を含み、第2のCH3ドメインは、さらに、364位に正荷電残基を含むか；またはi)及びii)の組み合わせ、もしくは、i)及びiii)の組み合わせであり、アミノ酸残基ナンバリングが、Euナンバリングに基づく、請求項56に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項58】

前記第1のCH3ドメインは、D/E356K、E357K、S364K及びS400C置換を含み、第2のCH3ドメインは、L351D、K370D、N390C及びK439D置換を含み、もしくは、第1のCH3ドメインは、L351D、K370D、N390C及びK439D置換を含み、第2のCH3ドメインは、D/E356K、E357K、S364K及びS400C置換（Euナンバリング）を含む、請求項57に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項59】

前記CH3ドメインは、さらに、N297A置換（Euナンバリング）を含む、請求項58に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項60】

前記さらに、少なくとも1つのマスキングペプチドを含み、マスキングペプチド（MP）は、VLのN末端に連結され、MPは、N末端からC末端にかけて、切断部位の有無にかかわらず、マスキングユニット（MU）及びリンケージユニット（LU）を含む、請求項1～60のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項61】

前記MUが配列番号173～206からなる群から選択される配列を含む、請求項60

に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 6 2】

前記 M P が、さらに、M U の N 末端に結合した N 末端ユニット (N U) を含む、請求項 6 1 に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 6 3】

前記 N 末端ユニットが約 1 ～ 1 0 アミノ酸残基の長さである、請求項 6 2 に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 6 4】

前記 N 末端ユニットが E または E V G S Y を含む、請求項 6 3 に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 6 5】

前記 L U が切断部位を含む、請求項 6 0 ～ 6 4 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 6 6】

前記第 1 の切断部位が、ウロキナーゼ型プラスミノゲン活性化因子 / u P A、マトリックスメタロプロテアーゼ - 1 / M M P - 1、M M P - 2、M M P - 3、M M P - 8、M M P - 9、M M P - 1 4、タバコエッチウイルスプロテアーゼ / T E V プロテアーゼ、プラスミン、トロンビン、第 X 因子、P S A、P S M A、カテプシン D、カテプシン K、カテプシン S、A D A M 1 0、A D A M 1 2、A D A M T S、カスパーゼ - 1、カスパーゼ - 2、カスパーゼ - 3、カスパーゼ - 4、カスパーゼ - 5、カスパーゼ - 6、カスパーゼ - 7、カスパーゼ - 8、カスパーゼ - 9、カスパーゼ - 1 0、カスパーゼ - 1 1、カスパーゼ - 1 2、カスパーゼ - 1 3、カスパーゼ - 1 4、及び T A C E からなる群から選択されるプロテアーゼのプロテアーゼ切断部位である、請求項 6 5 に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 6 7】

前記少なくとも 1 つのマスキングペプチドが B 7 - H 3、H E R 2、または T R O P 2 結合部分または C D 2 8 結合部分に連結され、任意選択で、抗原結合タンパク質またはそのフラグメントは、それぞれ B 7 - H 3、H E R 2、または T R O P 2 結合部分及び C D 2 8 結合部分に結合する 2 つのマスキングペプチドを含む、請求項 6 0 ～ 6 6 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 6 8】

前記結合した治療用部位をさらに含み、任意に、治療用部位は放射性部分または細胞毒性部位である、請求項 1 ～ 6 7 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 6 9】

請求項 1 ～ 6 8 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント、ならびに薬学的に許容される担体と、を含む、医薬組成物。

【請求項 7 0】

請求項 1 ～ 6 8 のいずれか 1 項に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメントをコードする核酸分子または核酸分子 (複数可)。

【請求項 7 1】

請求項 7 0 に記載のヌクレオチド配列を含む宿主細胞。

【請求項 7 2】

抗原結合タンパク質またはその抗原結合フラグメントを製造するための方法であって、請求項 7 1 に記載の宿主細胞を、抗原結合タンパク質またはそのフラグメントの発現を可能にする条件下で、すること、及び

培養物から抗原結合タンパク質またはそのフラグメントを単離する。

【請求項 7 3】

癌の治療を必要とする患者において癌を治療する方法であって、有効量の請求項 1 ～ 6 8 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント、または有効量の

10

20

30

40

50

請求項 69 に記載の医薬組成物を患者に投与することを含む、方法。

【請求項 74】

前記患者に別の抗癌治療薬を投与することをさらに含む、請求項 73 に記載の方法。

【請求項 75】

前記追加の抗癌治療薬が、CD3 及び腫瘍抗原を標的とする二重特異性抗体であり、任意に腫瘍抗原が TAA と同じであるかまたは異なる、請求項 74 に記載の方法。

【請求項 76】

前記 TAA が B7-H3、HER2、または TROP2 である、請求項 75 に記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 77】

前記追加の抗癌治療薬が、免疫チェックポイント阻害剤であり、任意に抗 PD-1、抗 CTLA-4、または抗 PD-L1 抗体である、請求項 74 に記載の方法。

【請求項 78】

前記患者が、乳癌、胃癌、肺癌、卵巣癌、腎臓癌、膵臓癌、及び結腸癌から任意に選択される固形腫瘍または血液悪性腫瘍を有する方法、請求項 73～77 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 79】

癌の治療における薬剤の製造のための、請求項 1～68 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメントの使用は、任意に請求項 73～78 のいずれか 1 つに記載の方法における使用。

【請求項 80】

癌の治療に使用するもの、請求項 1～68 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質またはそのフラグメント、または請求項 69 に記載の医薬組成物であって、任意に請求項 73～78 のいずれか 1 つに記載の方法における使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2022 年 4 月 8 日出願の PCT/CN2022/085838 に基づく優先権を主張するものであり、その開示内容は全体を参照により本明細書に組み込まれている。

【0002】

配列表

本出願には、XML 形式で電子的に提出された配列リストが含まれており、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。2023 年 4 月 6 日に作成され、123687_W0003_S L.xml という名前の配列リストの電子コピーのサイズは 488,908 バイトです。

【背景技術】

【0003】

CD28 は T 細胞上の共刺激シグナル分子であり、T 細胞の活性化、増殖、生存に重要な役割を果たします。CD28 共刺激シグナルの活性化は、抗腫瘍 T 細胞免疫を強化する可能性があります。しかし、全身性 T 細胞活性化のために CD28 を標的とする治療法は、有害なサイトカインストームや多臓器不全を引き起こします (Suntharalingam et al., N Engl J Med. (2006) 355 (10): 1018-28)。したがって、全身的な CD28 活性化に関連する重篤な自己免疫有害事象を回避する、改良された CD28 標的療法が必要である。

【発明の概要】

【0004】

本発明は、腫瘍関連抗原（例えば、B7-H3、HER2、TROP2、または PD-L1）および CD28 を標的とする新規結合分子（例えば、抗体）、ならびにこれらの結合分子の 1 つ以上を含む医薬組成物、ならびに癌の治療のためのこれらの結合分子および医薬組成物の使用を提供する。抗体治療を含む現在利用可能な癌治療と比較して、本開示の結合分子は、優れた臨床反応を提供する可能性があると考えられる。

10

20

30

40

50

【0005】

いくつかの態様では、本開示は、CD28結合部分を含む抗体またはその抗原結合断片などの抗原結合タンパク質を提供する、ここで、CD28結合部分はヒトCD28に結合し、カニクイザル及びマウスCD28と交差反応性である。いくつかの実施形態では、CD28結合部分がヒトCD28の配列番号1のアミノ酸残基51～122を含むCD28エピトープに結合する。特定の実施形態では、CD28エピトープは、配列番号1のアミノ酸残基51、52、54、55、98～101、110～111、113～114、及び118～122を含む。

【0006】

いくつかの実施形態では、本開示は、ヒトCD28に結合するCD28結合部分を含む抗体またはその抗原結合断片などの抗原結合タンパク質を提供し、CD28結合部分が抗体重鎖可変ドメイン（V_H）及び抗体軽鎖可変ドメイン（V_L）を含み、V_H及びV_Lが、以下に記載される重鎖相補性決定領域（CDR）1～3及び軽鎖CDR1～3を含む、それぞれ配列番号5～10、それぞれ配列番号15、6、16、17～19、それぞれ配列番号24、6、25、26～28、それぞれ配列番号33、6、35～38、それぞれ配列番号43、6、44、45、9及び46、それぞれ配列番号33、51～53、300及び10、それぞれ配列番号24、58、59、60、300及び61、それぞれ配列番号66～69、300及び70、それぞれ配列番号24、6、75、76、18及び28、それぞれ配列番号24、58、81、82、27及び83、それぞれ配列番号88～91、300及び70、それぞれ配列番号24、96～98、9及び70、それぞれ配列番号103～106、18及び83、それぞれ配列番号111、6、112、113、18及び114、それぞれ配列番号15、6、119、120、9及び121、それぞれ配列番号126、67、127、128、18及び129、それぞれ配列番号134、6、135、136、27及び83、それぞれ配列番号43、58、141、142、300及び143、それぞれ配列番号148、6、149、150、300及び83、それぞれ配列番号15、155、16、156、27及び70、または配列番号161、6、162、163、300及び164。

【0007】

いくつかの実施形態では、CD28結合部分が、それぞれ配列番号11及び12、それぞれ配列番号20及び21、それぞれ配列番号29及び30、それぞれ配列番号39及び40、それぞれ配列番号47及び48、それぞれ配列番号54及び55、それぞれ配列番号62及び63、それぞれ配列番号71及び72、それぞれ配列番号77及び78、それぞれ配列番号84及び85、それぞれ配列番号92及び93、それぞれ配列番号99及び100、それぞれ配列番号107及び108、それぞれ配列番号115および116、それぞれ配列番号122及び123、それぞれ配列番号130及び131、それぞれ配列番号137及び138、それぞれ配列番号144及び145、それぞれ配列番号151及び152、それぞれ配列番号157及び158、それぞれ配列番号165及び166、それぞれ配列番号362及び363、それぞれ配列番号364及び365、それぞれ配列番号366及び367、それぞれ配列番号368及び369、それぞれ配列番号370及び371、それぞれ配列番号372及び373、それぞれ配列番号374及び375、それぞれ配列番号376及び12、それぞれ配列番号377及び378、それぞれ配列番号379及び380、それぞれ配列番号381及び12、それぞれ配列番号382及び12、それぞれ配列番号383及び12、それぞれ配列番号384及び12、それぞれ配列番号385及び12、またはそれぞれ配列番号386及び12に記載されたV_HおよびV_Lを含む。

【0008】

いくつかの実施形態では、CD28結合タンパク質は、以下に記載の重鎖（H_C）および軽鎖（L_C）を含む、それぞれ配列番号13及び14、それぞれ配列番号22及び23、それぞれ配列番号31及び32、それぞれ配列番号41及び42、それぞれ配列番号49及び50、それぞれ配列番号56及び57、それぞれ配列番号64及び65、それぞれ配列番号73及び74、それぞれ配列番号79及び80、それぞれ配列番号86及び87、それぞれ配列番号94及び95、それぞれ配列番号101及び102、それぞれ配列番号109及び110、それぞれ配列番号117及び118、それぞれ配列番号124及び

1 2 5、それぞれ配列番号 1 4 1 及び 1 4 2、それぞれ配列番号 1 3 2 及び 1 3 3、それぞれ配列番号 1 3 9 及び 1 4 0、それぞれ配列番号 1 4 6 及び 1 4 7、それぞれ配列番号 1 5 3 及び 1 5 4、それぞれ配列番号 1 5 9 及び 1 6 0、またはそれぞれ配列番号 1 6 7 及び 1 6 8。

【0009】

いくつかの態様では、本開示は、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片などの抗原結合タンパク質と薬学的に許容される担体、抗原結合タンパク質をコードする核酸分子、核酸分子を含む発現ベクター、およびベクターを含む宿主細胞を含む医薬組成物も提供し、宿主細胞は原核細胞または哺乳動物細胞などの真核細胞であってもよい。

【0010】

いくつかの態様では、本開示は、抗原結合タンパク質の発現を可能にする条件下で宿主細胞を培養し、培養物から抗原結合タンパク質を単離することを含む、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合フラグメントなどの抗原結合タンパク質を製造する方法も提供する。

【0011】

いくつかの態様では、本開示は、本明細書に記載の抗体または抗原結合フラグメントなどの抗原結合タンパク質の治療有効量を患者に投与することを含む、それを必要とする患者の癌を治療する方法も提供する。いくつかの実施形態では、この方法は、患者に別の抗癌治療薬を投与することをさらに含む。さらなる実施形態では、追加の抗癌剤治療薬が、CD3 及び腫瘍関連抗原 (TAA) を標的とする二重特異性抗体 (bsAb) であり。特定の実施形態では、TAA が HER2、B7-H3、または TROP-2 である。いくつかの実施形態では、追加の抗癌治療薬が、免疫チェックポイント阻害剤であり、任意に抗 PD-1、抗 CTLA-4、または抗 PD-L1 抗体である。

【0012】

本明細書では、それを必要とする患者における癌の治療に使用するための、抗体またはその抗原結合フラグメント、または医薬組成物などの現在の抗原結合タンパク質も提供される；それを必要とする患者における癌を治療するための医薬の製造のための抗体またはその抗原結合フラグメントなどの本抗原結合タンパク質の使用；ならびに抗体またはそのフラグメントなどの本抗原結合タンパク質の1つまたは複数の投与単位を含む製造物(例えば、キット)の使用。

【0013】

本発明の他の特徴、目的、および利点は、以下の詳細な説明において明らかである。しかし、詳細な説明は、本発明の実施形態および態様を示すが、限定ではなく例示としてのみ与えられることを理解されたい。本発明の範囲内での様々な変更および修正は、詳細な説明から当業者には明らかとなるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】組換えCD28(ヒトおよびマウス)タンパク質に対する抗CD28抗体の結合親和性アッセイを示すグラフのパネルである。

【図2】抗CD28IgGがヒトCD3+T細胞に結合することを示すグラフである。

【図3】ヒトCD28-CD80(右上および左上のグラフ)およびCTLA-4 CD80ペア(下のグラフ)に対するIgGのリガンドブロッキングアッセイを示すグラフのパネルである。

【図4A】CD28スーパーアゴニストTAC2386(TGN1412)と比較してIgGが全身性T細胞活性化を誘導しないことを示すT細胞増殖アッセイを示すグラフである。

【図4B】CellTiter-Glo(登録商標)(CTG)読み出しによるT細胞活性化共刺激アッセイ増殖を示すグラフである。

【図4C】IFN- γ 放出に対するT細胞活性化共刺激アッセイを示すグラフである。

【図5A】OKT3を含む抗CD28試験抗体を使用したT細胞活性化および増殖アッセイ-CTG読み取りによる増殖を示すグラフです。

【図5B】IL-2放出に対するT細胞活性化および増殖アッセイを示すグラフである。

【図6】抗HER2抗体および二重特異性抗体（BsAb）のSK-OV3細胞への結合を示すグラフである。プロットされた値を含む表も表示されます。

【図7】固定濃度の抗HER2×CD3 BsAb（TY25238）と組み合わせた抗HER2×CD28 BsAb（TY27566またはTY27807）、および固定濃度の抗HER2×CD28 BsAbと組み合わせた抗HER2×CD3 BsAbの最大シグナルおよびEC₅₀値に関してNFκBシグナル伝達刺激効果を測定するJurkat-NFκBルシフェラーゼレポーター遺伝子アッセイを示すグラフである。プロットされた値を含む表も示されている。

【図8】同じまたは異なるHER2エピトープを有するCD28 BsAbおよびCD3 BsAbのMCF-7細胞に対する殺傷アッセイを示すグラフであるおよびプロットされた値を含む表。

【図9】腫瘍細胞株に対する抗TROP2二重特異性抗体の濃度依存的結合活性を測定するアッセイを示すグラフのパネルである。

【図10A】H292細胞に対する二重特異性抗体の最大シグナルおよびEC₅₀値の観点からNFκBシグナル伝達刺激効果を測定するJurkat-NFκBルシフェラーゼレポーターアッセイを示すグラフである。プロットされた値を含む表も表示されます。

【図10B】H292細胞に対する二重特異性抗体の最大シグナルおよびEC₅₀値の観点からNFκBシグナル伝達刺激効果を測定するJurkat-NFκBルシフェラーゼレポーターアッセイを示すグラフである。プロットされた値を含む表も表示されます。

【図11】MDA-MB-231細胞におけるPD-L1とB7H3の共発現を示すフローサイトメトリープロットのパネルである。

【図12】B7H3 IgGおよびB7H3×CD28 bsAbのMDA-MB-231細胞への結合アッセイを示すグラフである。プロットされた値を含む表も表示されます。

【図13A】および13Bは、抗PD-1または抗PD-L1阻害mAbsと組み合わせたB7H3×CD28 bsAbの活性を試験するための一元MLRアッセイを示すグラフであり、IL-2分泌（図13A）およびIFN-γ分泌（図13B）によって測定された一次ヒトT細胞活性化に対する活性を示す。

【図14】抗CD3ベース、または抗CD28ベースのHER2標的bsAbまたはそれらの組み合わせのMCF-7腫瘍細胞株に対する腫瘍殺傷活性を測定するインビトロアッセイを示すグラフである。プロットされた値を含む表も表示されます。

【図15】抗CD3ベース、または抗CD28ベースのHER2標的bsAbまたはそれらの組み合わせのEMT6-HER2腫瘍細胞株に対する腫瘍殺傷活性を測定するインビトロアッセイを示すグラフである。プロットされた値を含む表も表示されます。

【図16】TCEで治療したWTマウスにおけるIL-6およびIFN-γの全身性サイトカイン放出を測定するアッセイ（それぞれ左上および右のグラフ）および総CD45+T細胞に対するCD3+T細胞の割合を測定するアッセイ（下のグラフ）を示すグラフのパネルである。

【図17】SK-OV3+ PBMC異種移植腫瘍モデルにおけるHER2×CD3 bsAbおよびB7H3×CD28 bsAb単独または併用の生体内有効性研究およびグラフを示しています。

【図18】EMT6-HER2モデルにおけるB7H3×CD28またはHER2×CD28 bsAbの生体内有効性研究を示すグラフのパネルである。

【図19】組換えヒトCD28に結合する抗CD28活性化抗体のマスキング効率のELISA測定を示すグラフである。

【図20】組換えヒトCD28に結合する抗CD28活性化抗体のマスキング効率のELISA測定を示すグラフである。

【図21】（配列番号359～361）は、ヒトおよびマウスCD28の異なる結合残基を示す表である。

【図22A】抗PD-L1×CD28 bsAbs TY29815およびTY30413のヒトCD28への結合を示すグラフである。

【図22B】抗PD-L1×CD28 bsAbs TY29815、TY30406、TY30410、およびTY30413のマウスCD28への結合を示すグラフである。

【図23A】抗HER2×CD28 bsAbs TY27566、TY28652、TY28653、TY2865

10

20

30

40

50

4、TY28655、TY28656、TY28657、TY28658、TY28659、TY28660、およびTY28661のヒトCD28への結合を示すグラフである。

【図23B】抗HER2×CD28 bsAbs TY29109、TY29306、TY29307、TY29308、TY29309、TY29310、TY29311、TY29312、TY29313、TY29314、およびTY29315のヒトCD28への結合を示すグラフである。

【図24A】抗B7H3×CD28 bsAbs TY29021、TY30120、TY30121、およびTY30123のヒトCD28への結合を示すグラフである。

【図24B】抗B7H3×CD28 bsAbs TY29021、TY30120、TY30121、およびTY30123のマウスCD28への結合を示すグラフである。

【図25】抗B7H3×CD28 bsAb TY29021、TY30120、TY30121、およびTY30123の最大シグナル、EC₅₀、およびAUC値に関してT細胞結合効果を測定するマウスT細胞結合アッセイを示すグラフである。プロットされた値を含む表も表示されます。

10

【発明を実施するための形態】

【0015】

1. 定義

本開示を詳細に説明する前に、本開示は、特定の組成物または生体系に限定されず、言うまでもなく多様であり得ることを理解されたい。また、本明細書で使用される用語は、特定の実施形態を説明することのみを目的としており、限定するようには意図されていないことも理解されたい。

20

【0016】

本明細書で使用される場合、「約」という用語は、当業者であれば容易に理解するそれぞれの値の通常の誤差範囲を指す。本明細書における「約」値またはパラメータへの言及は、その値またはパラメータ自体を対象とする実施形態を含む（かつ説明する）。

【0017】

本明細書に記載される本開示の態様及び実施形態は、態様及び実施形態「を含む」、「からなる」、及び「から本質的になる」を含むことを理解されたい。

【0018】

本明細書で使用される場合、「及び／または」という用語は、「A及び／またはB」などの語句がA及びBの両方、AまたはB、A（単独）、及びB（単独）を含むことを意図している。同様に、本明細書で使用される場合、「及び／または」という用語は、「A、B、及び／またはC」などの語句が以下の実施形態：A、B、及びC；A、B、またはC；AまたはC；AまたはB；BまたはC；A及びC；A及びB；B及びC；A（単独）；B（単独）；及びC（単独）の各々を包含することを意図している。

30

【0019】

「抗体」という用語には、モノクローナル抗体（完全長モノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、マスクされた抗体（例えば、活性化可能または非活性化可能抗体）、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体、マスク二重特異性抗体など）、及び抗体フラグメント（例えば、単鎖可変フラグメントまたはscFv）など、さまざまな抗体構造が含まれますが、これらに限定されるわけではありません。ただし、抗体は、望ましい生物学的活性（例えば、望ましい特異性および親和性で標的抗原に結合する能力など）を示す必要があります。

40

【0020】

「抗体」という用語には、モノクローナル抗体（完全長モノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、マスクされた抗体（例えば、活性化可能または非活性化可能抗体）、および多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）を含むがこれらに限定されない、さまざまな抗体構造が含まれます。「抗体」という用語には、キメラ抗体、ヒト化抗体、完全ヒト抗体も含まれますが、これらに限定されるわけではありません。

【0021】

いくつかの実施形態では、「抗体」という用語は、2つの同一の重（H）鎖及び2つの

50

同一の軽（L）鎖からなる基本的な4ポリペプチド鎖構造を有する抗原結合タンパク質（すなわち、免疫グロブリン）を指す。各L鎖は、1つのジスルフィド共有結合によってH鎖に連結されているが、一方で2本のH鎖は、H鎖アイソタイプに応じて1つ以上のジスルフィド結合によって互いに連結されている。各重鎖は、N末端に可変領域（可変ドメインとも呼ばれる）（本明細書では V_H と略される）、続いて定常領域を有する。重鎖定常領域は、3つのドメイン C_H1 、 C_H2 及び C_H3 からなる。各軽鎖は、N末端に可変領域（可変ドメインとも呼ばれる）（本明細書では V_L と略される）、続いてその反対側の端部に定常領域を有する。軽鎖定常領域は、1つのドメイン C_L からなる。 V_L は V_H と整列し、 C_L は重鎖の第1の定常ドメイン（ C_H1 ）と整列する。 V_H 及び V_L の対合は、一緒になって単一抗原結合部位を形成する。

10

【0022】

V_H と V_L はさらに相補性決定領域（CDR）とフレームワーク領域（FR）に細分化されます。CDRは配列の可変性が最も高く、抗原認識に関与します。CDRとFRは、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4の順序で散在しています。CDRには、抗原と接触する残基である「特異性決定残基」または「SDR」も含まれます。SDRは、短縮CDRまたはa-CDRと呼ばれるCDRの領域内に含まれています。代表的なa-CDR（a-LCDR1、a-LCDR2、a-LCDR3、a-HCDR1、a-HCDR2、およびa-HCDR3）は、それぞれ軽鎖のアミノ酸残基31～34、50～55、89～96、および重鎖の31～35、50～58、および95～102に存在します。Almagro and Fransson, Front Biosci. (2008) 13: 1619-33)を参照されたい。別途指示のない限り、可変ドメインの残基は、本明細書では、Kabat et al., J Biol Chem. (1977) 252: 6609-16; Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, “Sequences of proteins of immunological interest” (1991)に従ってナンバリングされる。

20

【0023】

以下の表1は、当該技術分野で知られている様々なアルゴリズムに従った例示的なCDR定義を提供する。

【表1】

表1. CDR 定義

	Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³	IMGT ⁴	AHo ⁵
HCDR1	31-35	26-32	30-35	27-38	25-40
HCDR2	50-65	53-55	47-58	56-65	58-77
HCDR3	95-102	96-101	93-101	105-117	109-137
LCDR1	24-34	26-32	30-36	27-38	25-40
LCDR2	50-56	50-52	46-55	56-65	58-77
LCDR3	89-97	91-96	89-96	105-117	109-137

30

¹残基番号付けは、上記のKabat et al.の命名法に従う。

²残基番号付けは、Chothia et al., J. Mol. Biol. (1987) 196:901-917; Al-Lazikani B. et al., J. Mol. Biol., (1997) 273:927-948の命名法に従う。

³残基番号付けは、MacCallum et al., J. Mol. Biol. (1996) 262:732-745; Abhinandan and Martin, Mol. Immunol., (2008) 45:3832-3839の命名法に従う。

40

⁴残基番号付けは、Lefranc M.P. et al., Dev. Comp. Immunol., (2003) 27:55-77; 及びHonegger and Plueckthun, J. Mol. Biol., (2001) 309:657-670の命名法に従う。

⁵残基番号付けは、Honegger and Plueckthun, J. Mol. Biol., (2001) 309:657-670の命名法に従う。

【0024】

任意の脊椎動物種に由来するL鎖は、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ及びラムダと呼ばれる2つの明確に異なる種類のうちの1つに割り当てることができる。抗体は、それらの重鎖（ C_H ）の定常ドメインのアミノ酸配列に応じて、異なるクラスまたはアイソタイプに割り当てることができる。5つのクラスの抗体：IgA、I

50

g D、I g E、I g G、及びI g Mがあり、それぞれ、 α （アルファ）、 δ （デルタ）、 ϵ （エプシロン）、 γ （ガンマ）、及び μ （ミュー）と命名された重鎖を有する。抗体のI g Gクラスは、ガンマ重鎖Y 1～Y 4によって、それぞれ4つのサブクラス、I g G₁、I g G₂、I g G₃、及びI g G₄にさらに分類することができる。

【0025】

本明細書において互換的に使用される用語「抗原結合フラグメント」または「抗原結合部分」は、抗体の抗原に結合する能力を保持する抗体の部分を目指す。抗体の「抗原結合フラグメント」の例には、これらに限定されないが、(i) Fabフラグメント、パパイン消化によって得られるV_L、V_H、C_LおよびC_{H1}ドメインからなる一価フラグメント、(ii) F(ab')₂フラグメント、ペプシン消化によって得られるヒンジ領域でジスルフィド結合によって結合された2つのFabフラグメントを含む二価フラグメント、(iii)抗体の単一のアームのV_LおよびV_HドメインからなるFvフラグメント、(iv)互いに融合された抗体のV_HおよびV_Lドメインを含む単鎖Fv (scFv)フラグメントが含まれる。(v) V_L、V_H、C_LおよびC_{H1}ドメインを含む単一のポリペプチドを含む単鎖Fab (scFab)フラグメント。

【0026】

「マスクされた抗体」という用語は、抗体の抗原結合ドメインがその標的に結合するのを妨害、阻害、その能力を低下、防止、阻害、または競合するマスキングペプチドを含む抗体（多重特異性抗体を含む）またはその抗原結合フラグメントを指します。マスクされた抗体は、抗体の抗原結合ドメインにマスキングペプチドを結合することによって生成され得る。いくつかの実施形態では、マスクされた抗体またはその抗原結合フラグメントは、不活性化状態（例えば、マスキングペプチドによって阻害またはマスクされている）のときに標的に対して第1の結合親和性を示し、活性化状態（例えば、マスキングペプチドによって阻害またはマスクされていない（例えば、マスキングペプチドが抗体から切断されている））のときに標的に対して第2の結合親和性を示し、第2の結合親和性は第1の結合親和性よりも大きい。マスクされた抗体は、活性化可能な成分（例えば、連結単位内の切断可能な部位、または「LU」）を含むマスキングペプチドを抗体の抗原結合ドメインに連結することによって生成され得る。いくつかの実施形態では、マスクされた抗体、またはそのマスクされた抗原結合フラグメントは、T細胞表面分子（例えば、CD28、CD3）に特異的な結合ドメインと、腫瘍細胞表面抗原（例えば、HER2、B7H3、TROP2など）に特異的な結合ドメインとを含む多重特異性抗体である。いくつかの実施形態では、マスクされた抗体は二価であり、2つの結合ドメインのうちの1つに単一のマスクを有する。いくつかの実施形態では、マスクされた抗体は二価であり、2つの結合ドメインのそれぞれにマスクを有する。たとえば、単一マスク抗体の場合、抗体の結合ドメインの1つが、融合または結合したマスキングペプチドによってマスクされます。二重特異性抗体の場合、一方または両方の結合ドメインが、特異的だが異なるマスキングペプチドによってマスクされる場合があります。癌細胞とT細胞の両方を標的とする不活性化二重特異性抗体では、抗原を発現する癌細胞とT細胞への結合を阻害（または最小限に抑える）するために、両方の結合ドメインの結合部位がマスクされている場合があります。しかし、活性化状態ではマスクが切断され、腫瘍微小環境（TME）内の腫瘍抗原とT細胞表面分子（例えば、CD28）の両方に抗体が結合できるようになります。この場合、活性化された二重特異性抗体は選択的にT細胞と結合し、標的腫瘍抗原を発現する癌細胞を殺します。

【0027】

「マスキングペプチド」とは、抗原結合ドメインが標的抗原に結合するのを阻害するペプチドを指し、典型的には、N末端からC末端にかけて、マスキングユニット（MU）とリンケージユニット（LU）とを含む。マスキングペプチドのC末端は通常N末端に結合している。抗原結合ドメインのV_HまたはV_Lの末端。いくつかの実施形態では、マスキングペプチドまたはその一部は、抗原結合ドメインのその標的への結合を非常に効率的に妨害または阻害し、抗原結合ドメインのその標的への結合は極めて低く、および／または検出限界以下である（例えば、結合はELISAまたはフローサイトメトリーアッセイでは検出できない）。本明細書に記載のマスクされた抗体またはポリペプチドは、例えば、LU内

、MUとLUの間、LUとV_HまたはV_Lの間、またはV_HとFcのヒンジ領域の間に配置された1つ以上のリンカーを含むことができる。

【0028】

マスキングペプチドのLUは、少なくとも1つの切断可能な部位を含み得る。切断部位には、一般に、切断可能なアミノ酸配列、例えば、酵素の基質として機能するアミノ酸配列、および/または還元可能なジスルフィド結合を形成できるシステイン-システイン対が含まれます。したがって、「切断」、「切断可能」、「切断された」などの用語が切断部位に関連して使用される場合、これらの用語には、例えばプロテアーゼによる酵素切断だけでなく、還元剤への曝露によって生じる可能性があるジスルフィド結合の還元によるシステイン-システイン対間のジスルフィド結合の破壊も含まれる。切断部位のアミノ酸配列は、MUと重複するか、MU内に含まれる場合があります。マスクされた抗体またはマスクされたポリペプチドは、抗体またはポリペプチドの活性化を媒介するように構成された切断部位を含む場合があります。例えば、活性化可能な抗体の切断部位が無傷である場合（例えば、対応する酵素によって切断されず、および/または還元されていないシステイン-システインジスルフィド結合を含む）、マスキングペプチドまたはその一部は、抗原結合ドメインのその標的への結合を妨害または阻害する可能性がある。いくつかの実施形態では、マスキングペプチドのLUは切断可能な部位を含まない。

10

【0029】

「マスキング効率」という用語は、マスキングペプチドが抗原結合ドメインと標的抗原との結合を阻害する効率を指します。マスキング効率は、抗原結合ドメインを含むマスクされた抗体またはマスクされたポリペプチドの結合親和性と、抗原結合ドメインを含むマスクされていない抗体またはマスクされていないポリペプチドの結合親和性（例えば、マスキングペプチドが抗体から切断されている）の差または比率として測定することができる。例えば、マスキング効率は、不活性化（例えば、阻害、マスキング、および/または未切断）状態の標的抗原に結合するマスクされた抗体のEC₅₀またはK_Dを、活性化（例えば、非阻害、非マスキング、および/または切断）状態の標的抗原に結合するマスキングされていない抗体のEC₅₀またはK_Dに対して、または標的抗原に結合する親抗体（例えば、マスキングペプチドに連結されていない）のEC₅₀またはK_Dに対して割ることによって測定することができる。EC₅₀値は、例えば米国特許第6,363,950号に記載されているように、ELISAアッセイまたはJurkat NFATレポーターアッセイで測定することができる。アプリ。パブ。番号US2021/0207126A1。K_D値は、例えば表面プラズモン共鳴を使用して測定することができます。

20

30

【0030】

「エピトープ」という用語は、抗体（またはその抗原結合断片）が結合する抗原の一部を指す。エピトープは、隣接アミノ酸、またはタンパク質の三次折りたたみによって並列した非隣接アミノ酸の両方から形成することができる。隣接アミノ酸から形成されたエピトープは、典型的には、変性溶媒への曝露の際に保持されるが、三次折りたたみによって形成されたエピトープは、典型的には、変性溶媒での治療の際に失われる。エピトープは、ユニークな空間的立体配座において様々な数のアミノ酸を含むことができる。エピトープの空間的立体配座を決定する方法としては、例えば、X線結晶学、2次元核磁気共鳴、質量分析法と組み合わせた重水素及び水素交換、または部位特異的変異誘発、または抗原ならびにその結合抗体及びそのバリエーションとその複合体構造の計算論的モデルと組み合わせて使用される全ての方法が挙げられる（例えば、Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996)を参照）。抗原の所望のエピトープが決定されると、例えば、本明細書に記載される技術を使用して、そのエピトープに対する抗体を生成することができる。また、抗体の生成及び特性評価は、望ましいエピトープについての情報を解明し得る。この情報から、同じエピトープへの結合について抗体を競合的にスクリーニングすることが可能である。これを達成するためのアプローチは、交差競合研究を実施して、互いに競合的に結合する抗体を発見することであり、

40

50

すなわち、抗体は抗原への結合に関して競合する。それらの交差競合に基づいて抗体を「ビニングする」ためのハイスループットプロセスは、PCT公開第WO03/48731号に記載されている。

【0031】

「生殖系列」という用語は、生殖細胞を介して親から子孫に渡されるときに抗体遺伝子及び遺伝子セグメントのヌクレオチド配列を指す。生殖系列配列は、B細胞成熟過程での組換え及び高頻度変異事象により変化した成熟B細胞の抗体をコードするヌクレオチド配列とは区別される。

【0032】

用語「グリコシル化部位」は、糖残基の付着のための位置として真核細胞によって認識されるアミノ酸残基を指す。オリゴ糖などの炭水化物が付着するアミノ酸は、典型的には、アスパラギン（N結合）、セリン（O結合）、及びスレオニン（O結合）残基である。特定の付着部位は、典型的には、本明細書で「グリコシル化部位配列」と呼ばれるアミノ酸の配列によってシグナル伝達される。N結合型グリコシル化のグリコシル化部位配列は、 $-Asn-X-Ser-$ または $-Asn-X-Thr-$ であり、Xはプロリン以外の従来のアミノ酸のいずれかであり得る。「N結合型」及び「O結合型」という用語は、糖分子とアミノ酸残基との間の付着部位として機能する化学基を指す。N結合型糖はアミノ基を介して付着される。O結合型糖はヒドロキシル基を介して付着される。「グリカン占有率」という用語は、グリコシル化部位に連結された（すなわち、グリカン部位が占有されている）炭水化物部分の存在を指す。ポリペプチド上に少なくとも2つの潜在的なグリコシル化部位が存在する場合、ゼロ（0-グリカン部位の占有）、1つ（1-グリカン部位の占有）、または両方（2-グリカン部位の占有）の部位のいずれかが炭水化物部分によって占有され得る。

【0033】

「宿主細胞」という用語は、目的のタンパク質、タンパク質断片、またはペプチドを生成するように操作することができる細胞系を指す。宿主細胞としては、培養細胞、例えば、CHO、BHK、NSO、SP2/O、YB2/Oなどのげっ歯類（ラット、マウス、モルモット、またはハムスター）に由来する哺乳動物培養細胞；ヒト細胞（例えば、HEK293F細胞、HEK293T細胞；またはヒト組織もしくはハイブリドーマ細胞、酵母細胞、昆虫細胞（例えば、S2細胞）、細菌細胞（例えば、E.coli細胞）、ならびにトランスジェニック動物または培養組織内に含まれる細胞が挙げられるが、これらに限定されない。この用語は、特定の対象細胞だけでなく、そのような細胞の子孫も包含する。ある特定の修飾は、変異または環境的影響のいずれかに起因して後続の世代において起こり得るため、そのような子孫は親細胞と同一でない場合があるが、「宿主細胞」という用語の範囲内に依然として含まれる。

【0034】

「ヒト抗体」は、ヒトもしくはヒト細胞によって産生されたか、またはヒト抗体レパートリーを利用する非ヒト源に由来する抗体のアミノ酸配列、あるいは他のヒト抗体コード配列に対応するアミノ酸配列を保有するものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を特異的に除外する。

【0035】

「ヒト化抗体」という用語は、ヒト抗体配列に由来するアミノ酸残基を含有するキメラ抗体を指す。ヒト化抗体は、非ヒト動物または合成抗体からのCDRのいくつかまたは全てを含有し得るが、抗体のフレームワーク及び定常領域は、ヒト抗体配列に由来するアミノ酸残基を含有する。

【0036】

「例示的な抗体」という用語は、本明細書に記載される抗体のいずれか1つを指す。これらの抗体は、どのクラスのものでもよい（例えば、IgA、IgD、IgE、IgG、及びIgM）。これらの抗体は、任意のクラス（例えば、IgA、IgD、IgE、IgG、及びIgM）であり得る。したがって、上記で特定された各抗体は、V_L及びV_H領

10

20

30

40

50

域について同じアミノ酸配列を有する5つのクラス全ての抗体を包含する。さらに、IgGクラスの抗体は、任意のサブクラス（例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃、及びIgG₄）であり得る。したがって、IgGサブクラスの上記で特定された各抗体は、V_L及びV_H領域について同じアミノ酸配列を有する4つのサブクラス全ての抗体を包含する。5つのクラスならびに4つのIgGサブクラスにおけるヒト抗体の重鎖定常領域のアミノ酸配列が当該技術分野で知られている。

【0037】

「単離された」抗体または結合分子は、その天然環境の構成成分から単離されているものである。いくつかの実施形態では、抗体は、例えば、電気泳動（例えば、SDS-PAGE、等電点電気泳動法（IEF）、キャピラリー電気泳動法）、またはクロマトグラフィー（例えば、イオン交換または逆相HPLC）によって決定される、95%または99%を超える純度に精製される。抗体の純度を評価するための方法の概説については、例えば、Flatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007)を参照されたい。「 k_a 」という用語は、特定の抗体-抗原相互作用の会合速度定数を指し、「 k_d 」という用語は、特定の抗体-抗原相互作用の解離速度定数を指す。

【0038】

「 K_D 」という用語は、特定の抗体-抗原相互作用の平行解離定数を指す。これは、 k_d 対 k_a の比（すなわち、 k_d/k_a ）から得られ、モル濃度（M）として表される。 K_D は、抗体の結合パートナーへの結合の親和性の尺度として使用される。 K_D が小さいほど、抗体はより強く結合するか、または抗体と抗原との間の親和性がより高くなる。例えば、ナノモル（nM）の解離定数を有する抗体は、マイクロモル（ μ M）の解離定数を有する抗体よりも強く特定の抗原に結合する。抗体の K_D 値は、当該技術分野で十分に確立されている方法を使用して決定することができる。抗体の K_D を決定するための1つの方法は、ELISAを使用することによる。たとえば、ELISAを使用したアッセイ手順です。

【0039】

「哺乳動物」という用語は、哺乳類クラスのあらゆる動物種を指す。哺乳動物の例としては、ヒト；ラット、マウス、ハムスター、ウサギ、非ヒト霊長類、及びモルモットなどの実験動物；ネコ、イヌ、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、及びブタなどの家畜；ならびにライオン、トラ、ゾウなどの捕獲された野生動物等が挙げられる。

【0040】

哺乳動物における特定の疾患状態に関する「予防する」または「予防」という用語は、疾患の発症を防止もしくは遅延させること、またはその臨床的もしくは無症候性症状の発現を防止することを指す。

【0041】

本明細書で使用される場合、2つのポリペプチド配列間の「配列同一性」は、配列間で同一であるアミノ酸のパーセンテージを示す。ポリペプチドのアミノ酸配列同一性は、Bestfit、FASTA、またはBLASTなどの既知のコンピュータプログラムを使用して慣習的に決定することができる（例えば、Pearson, Methods Enzymol. (1990) 183:63-98、Pearson, Methods Mol. Biol. (2000) 132:185-219、Altschul et al., J. Mol. Biol. (1990) 215:403-10、Altschul et al., Nucleic Acids Res. (1997) 25:3389-3402を参照されたい）。Bestfitまたは任意の他の配列アラインメントプログラムを使用して、特定の配列が、例えば、参照アミノ酸配列と95%同一であるかどうかを決定する場合、パラメータは、同一性の割合が参照アミノ酸配列の全長にわたって計算され、参照配列内のアミノ酸残基の総数の最大5%の相同性における差が許容されるように設定される。ポリペプチド間の同一性の割合の決定におけるこの前述の方法は、本明細書に開示される全てのタンパク質、断片、またはそれらのバリエーションに適用可能である。

【0042】

本明細書で使用される場合、「結合する」、「に結合する」、「特異的に結合する」、「に特異的に結合する」または「に特異的な」という用語は、生物学的分子を含む異種分子集団の存在下で標的の存在を決定する標的と抗体との間の結合などの測定可能かつ再現可能な相互作用を指す。例えば、標的（エピトープであり得る）に結合するか、またはそれに特異的に結合する抗体は、この標的に、他の標的に結合するよりも高い親和性、結合力で、より容易に、及び／またはより長期間結合する抗体である。一実施形態では、無関係の標的への抗体の結合の程度は、例えば、放射免疫測定法（RIA）によって測定された、標的への抗体の結合の約10%未満である。ある特定の実施形態では、標的に特異的に結合する抗体は、1 μ M以下、100 nM以下、10 nM以下、1 nM以下、または0.1 nM以下の解離定数（Kd）を有する。ある特定の実施形態では、抗体は、異なる種由来のタンパク質間で保存されるタンパク質上のエピトープに特異的に結合する。別の実施形態では、特異的結合は、排他的結合を含み得るが、それを必要としない。たとえば、本明細書に記載のマスクされた抗CD28抗体は、インビトロアッセイで異なる抗原に結合するEC₅₀の10パーセント未満のEC₅₀でヒCD28に結合する場合、ヒトCD28に選択的に結合すると言われる。

10

【0043】

「治療する」、「治療すること」、または「治療」という用語は、哺乳動物における特定の疾患状態に関して、疾患状態を有する哺乳動物において望ましいまたは有益な効果を引き起こすことを指す。望ましいまたは有益な効果には、疾患の1つ以上の症状（すなわち、腫瘍増殖及び／または転移、あるいは免疫細胞の数及び／または活性によって媒介される他の効果など）の頻度または重篤度の低下、あるいは疾患、状態、または障害のさらなる進行の阻止または阻害を含み得る。哺乳動物においてがんを治療する文脈において、望ましいまたは有益な効果には、がん細胞のさらなる増殖もしくは転移の阻害、がん細胞の死滅、がんの再発の阻害、がんに関連する疼痛の低減、または哺乳動物の生存能の改善が含まれ得る。効果は主観的または客観的のいずれかであり得る。例えば、哺乳動物がヒトである場合、ヒトは、改善または治療応答の自覚症状として、活力もしくは生存能の向上、または疼痛の低減を認め得る。あるいは、臨床医は、理学的検査、臨床検査値、腫瘍マーカー、またはX線所見に基づく、腫瘍サイズまたは負荷の減少を認め得る。治療応答に関して臨床医が観察し得るいくつかの臨床徴候には、白血球数、赤血球数、血小板数、赤血球沈降速度、及び種々の酵素レベル等の検査値の正常化が含まれる。さらに、臨床医は、検出可能な腫瘍マーカーの減少を観察し得る。あるいは、他の検査、例えば、超音波画像法、核磁気共鳴検査、及び陽電子放出検査を使用して客観的改善を評価することができる。

20

30

【0044】

「ベクター」という用語は、外来核酸分子を輸送することができる核酸分子を指す。外来核酸分子は、ライゲーションまたは組換えなどの組換え技術によってベクター核酸分子に連結される。これにより、外来核酸分子を増殖させ、選択し、さらに操作するか、または宿主細胞もしくは生物中で発現させることができる。ベクターは、プラスミド、ファージ、トランスポゾン、コスミド、染色体、ウイルス、またはビリオンであり得る。ある種類のベクターは、宿主細胞への導入時に宿主細胞のゲノムに組み込まれ得、それにより、宿主ゲノムとともに複製される（例えば、非エピソーム性哺乳動物ベクター）。別の種類のベクターは、それらが導入される宿主細胞において自律増殖が可能である（例えば、細菌起源の複製を有する細菌ベクター及びエピソーム性哺乳動物ベクター）。それらが作動可能に連結されている発現可能な外来核酸の発現を指示することができる別の特定の種類のベクターは、通常「発現ベクター」と称される。発現ベクターは、一般的に、発現可能な外来核酸の発現を駆動する制御配列を有する。「転写ベクター」として既知のより単純なベクターは、転写のみ可能であるが翻訳は不可能であり、これらは、標的細胞内で複製できるが発現はできない。用語「ベクター」は、全ての種類のベクターをそれらの機能に関係なく包含する。それらが動作可能に連結されている発現可能な核酸の発現を指示する

40

50

ことができるベクターは、通常「発現可能ベクター」と称される。「ベクター」の他の例は、提示ベクター（例えば、ウイルスまたは細胞（細菌細胞、酵母細胞、昆虫細胞、及び／または哺乳動物細胞など）の表面上でコードされたポリペプチドの発現及び提示を指示するベクター）を含み得る。

【0045】

本明細書で使用される場合、「対象」、「患者」、または「個体」は、ヒトまたは非ヒト動物を指し得る。「非ヒト動物」は、ヒトとして分類されないあらゆる動物、例えば、飼育動物、家畜、または動物園の動物、競技用動物、ペットの動物（例えば、イヌ、ウマ、ネコ、ウシなど）、ならびに研究において使用される動物を指し得る。研究動物とは、線虫、節足動物、脊椎動物、哺乳動物、カエル、げっ歯類（例えば、マウスまたはラット）10、魚類（例えば、ゼブラフィッシュまたはフグ）、鳥類（例えば、ニワトリ）、イヌ、ネコ、及び非ヒト霊長類（例えば、アカゲザル、カニクイザル、チンパンジーなど）を指し得るが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、対象、患者、または個体は、ヒトである。

【0046】

「有効量」とは、治療結果または予防結果を含む、1つ以上の所望のまたは示された効果を達成するために必要な投薬量及び期間で少なくとも有効な量を指す。有効量は、1回以上の投与で提供され得る。本開示の目的のための、抗体、薬物、化合物、または医薬組成物の有効量は、予防的または治療的治療を直接的または間接的に達成するのに十分な量である。臨床的状況において理解されるように、薬物、化合物、または医薬組成物の有効20量は、別の薬物、化合物、または医薬組成物と併せて達成されても、されなくてもよい（例えば、単剤療法または併用療法として投与される場合の有効量）。したがって、「有効量」は、1つ以上の治療剤の投与の状況において考慮され得、単一の薬剤は、1つ以上の他の薬剤と併せると望ましい結果が達成され得るか、または達成される場合、有効量で与えられると見なされ得る。

【0047】

特許出願および刊行物を含む、ここで引用されているすべての参考文献は、その全体が参照により本明細書に組み込まれます。

【0048】

II. 抗体

本開示の特定の側面は、単一特異性抗体（例えば、従来の非マスク単一特異性抗体）、多重特異性抗体（例えば、非マスク多重特異性抗体）、マスクされた抗体（例えば、活性化可能な単一特異性抗体または多重特異性抗体）、それらの抗原結合フラグメント、またはそのような抗体の誘導体に関する。

【0049】

A. F_c 領域及び C_H3 ドメイン

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体（例えば、多重特異性抗体）は、ヒト重鎖定常領域及び／またはヒト軽鎖定常領域などの、1つ以上の抗体定常領域を含む。いくつかの実施形態では、ヒト重鎖定常領域は、IgA、IgG、及びIgDから選択されるアイソタイプのものである。いくつかの実施形態では、ヒト軽鎖定常領域は、κ及びλ40から選択されるアイソタイプのものである。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒトIgG定常領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒトIgG₄重鎖定常領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒトIgG₁重鎖定常領域を含む。いくつかのそのような実施形態では、抗体は、ヒトIgG₄定常領域にS228P変異を含む。

【0050】

エフェクター機能が望ましいかどうかは、抗体に関して目的とする特定の処置方法に依存することがある。いくつかの実施形態では、エフェクター機能が望ましい場合、ヒトIgG₁重鎖定常領域またはヒトIgG₃重鎖定常領域を含む抗体が選択される。いくつかの実施形態では、エフェクター機能が望ましくない場合、ヒトIgG₄またはIgG₂重鎖定常領域を含む抗体が選択される。いくつかの実施形態では、抗体は、エフェクター機50

能を低減させる1つ以上の変異を含むヒトIgG₁重鎖定常領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、N297A置換を含むIgG₁重鎖定常領域を含む。

【0051】

本明細書に記載の多重特異性抗体（活性化可能な多重特異性抗体を含む）は、1つ以上の操作されたジスルフィド結合、1つ以上の操作された（例えば、再配置または反転した）塩橋、またはそれらの組み合わせを有する、C_H3ドメインを含んでもよい。別途記載がない限り、本明細書における全てのアミノ酸残基ナンバリングは、EUナンバリングに基づき、アミノ酸置換は、野生型（または天然に存在する）C_H3ドメイン配列の対応するアミノ酸位置の野生型（または天然に存在する）配列に対する。本明細書に記載の変異または置換は、全てのIgGサブクラス及びアロタイプに適用可能であることが理解される。IgGアロタイプは、例えば、Jefferys and Lefranc mAbs (2009) 1:4, 1-7に記載されており、これは、全体が参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のアミノ酸変異または置換は、IgG₁、例えば、IgG₁アロタイプG1m、1(a)、2(x)、3(f)、または17(z)、の野生型C_H3ドメイン配列に対するものである。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のアミノ酸変異または置換は、IgG₄の野生型C_H3ドメイン配列に関連する。例えば、1つのヒトIgG₁アロタイプ(Uniprot番号P01857)の野生型C_H3ドメインに対するD356K置換は、第2のヒトIgG₁アロタイプの野生型C_H3ドメイン、またはヒトIgG₄の野生型C_H3ドメインに対するE356K置換と同等である。例示的なC_H3ドメイン変異が表2および3に示される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のアミノ酸変異または置換は、野生型Fc領域配列、例えば、IgG₁Fc領域またはIgG₄Fc領域に対する。変異を有するC_H3配列はWO 2021/148006に記載されており、その開示内容は参照により本明細書に全体として組み込まれる。以下の表および仕様書の他の箇所では、C_H3変異注釈内のアポストロフィは、2番目のC_H3ドメイン内の残基を示します。たとえば、N390C-S400'Cでは、S400C変異は2番目のC_H3ドメインにあります。

【表2】

表 2. Fc 変異

設計	変異(第1のC _H 3ドメイン-第2のC _H 3ドメイン)
ジスルフィド結合	N390C-S400'C
	S400C-N390'C
	K392C-V397'C
	V397C-K392'C
	K392C-S400'C
	S400C-K392'C
荷電設計	E357K:T411K-L351'D:K370'D
	E357K:S364K-L351'D:K370'D
	D356K:E357K:S364K-L351'D:K370'D:K439'D
荷電+ジスルフィド結合の設計	E357K:S364K:N390C-L351'D:K370'D:S400'C
	E357K:S364K:S400C-L351'D:K370'D:N390'C
	D356K:E357K:S364K:N390C-L351'D:K370'D:S400'C:K439'D
	D356K:E357K:S364K:S400C-L351'D:K370'D:N390'C:K439'D

30

40

50

【表 3】

表 3. Fc 変異 ID

変異ID	変異(第1のC _H 3ドメイン-第2のC _H 3ドメイン)
TRF01	T366S, L368A, Y407V, Y349C-T366'W, S354'C
TRF02	T350V, L351Y, F405A, Y407V-T350'V, T366'L, K392'L, T394'W
TRF03	K196Q, S228P, F296Y, E356K, R409K, H435R, L445P-K196'Q, S228'P, F296'Y, R409'K, K439'E, L445'P
TYM01	T366S, L368A, Y407V, N390C-T366'W, S400'C
TYM02	T366S, L368A, Y407V, S400C-T366'W, N390'C
TYM03	Y349C, L368V, Y407V-S354'C, T366'W
TYM04	L368V, Y407V-T366'W
TYM05	L368V, Y407V, N390C-T366'W, S400'C
TYM06	L368V, Y407V, S400C-T366'W, N390'C
TYM07	E357K:T411K-L351'D:K370'D
TYM08	E357K:S364K-L351'D:K370'D
TYM09	DまたはE356K:E357K:S364K-L351'D:K370'D:K439'D
TYM10	E357K:S364K:N390C-L351'D:K370'D:S400'C
TYM11	E357K:S364K:S400C-L351'D:K370'D:N390'C
TYM12	DまたはE356K:E357K:S364K:N390C-L351'D:K370'D:S400'C:K439'D
TYM13	DまたはE356K:E357K:S364K:S400C-L351'D:K370'D:N390'C:K439'D

10

20

【0052】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗体（例えば、活性化可能な多重特異性抗体）は、第1のC_H3ドメインのC390及び第2のC_H3ドメインのC400間、第1のC_H3ドメインのC392及び第2のC_H3ドメインのC397間、または第1のC_H3ドメインのC392及び第2のC_H3ドメインのC400間に、操作されたジスルフィド結合を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性抗体（例えば、活性化可能な多重特異性抗体）は、例えば、第1のC_H3ドメインの357位及び411位と第2のC_H3ドメインの351位及び370位との間（例えば、E357K:T411K-L351'D:K370'D）に、または、第1のC_H3ドメインの357位及び364位と第2のC_H3ドメインの351位及び370位との間（例えば、E357K:S364K-L351'D:K370'D）に、野生型C_H3ドメインと比較して、再配置された塩橋ネットワークを含む。いくつかの実施形態では、多重特異性抗体（例えば、活性化可能な多重特異性抗体）は、野生型C_H3ドメインと比較して、第1のC_H3ドメインの356位及び第2のC_H3ドメインの439位間に反転した塩橋を含む（例えば、D356-K439'）。C_H3ドメインを有する多重特異性抗体は、高収量、優れた安定性（例えば、高温または凍結融解サイクルによる凝集及び沈殿に対する耐性）、ならびに強力な活性を有してもよい。

30

【0053】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗体（例えば、活性化可能な多重特異性抗体）は、本明細書に記載されるようにヘテロ二量体形成を促進する、1つ以上の操作された残基を有するC_H3ドメインを含む。第1の操作されたC_H3ドメインを含む第1のポリペプチド及び第2の操作されたC_H3ドメインを含む第2のポリペプチドにより形成された複数のヘテロダイマーを含むヘテロマルチマーもまた、本明細書で企図される。

40

【0054】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗体（例えば、活性化可能な多重特異性抗体）は、i) 第1のC_H3ドメインは、390位にシステイン(C)残基を含み、第2のC_H3ドメインは、400位にシステイン残基を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、400位にシステイン残基を含み、第2のC_H3ドメインは、390位にシステイン残基

50

を含むか；または、i i) 第1のC_H3ドメインは、392位にシステイン残基を含み、第2のC_H3ドメインは、397位にシステイン残基を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、397位にシステイン残基を含み、第2のC_H3ドメインは、392位にシステイン残基を含むか；または、i i i) 第1のC_H3ドメインは、392位にシステイン残基を含み、第2のC_H3ドメインは、400位にシステイン残基を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、400位にシステイン残基を含み、第2のC_H3ドメインは、392位にシステイン残基を含み；アミノ酸残基ナンバリングは、Euナンバリングに基づく。

【0055】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗体（例えば、活性化可能な多重特異性抗体）は、第1のC_H3ドメインを含む第1のポリペプチドと、第2のC_H3ドメインを含む第2のポリペプチドとを含み、ここで、i) 第1のC_H3ドメインは、さらに、357位に正荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、351位に負荷電残基を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、さらに、351位に負荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、357位に正荷電残基を含むか；または、i i) 第1のC_H3ドメインは、さらに、411位に正荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、370位に負荷電残基を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、さらに、370位に負荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、411位に正荷電残基を含むか；または、i i i) 第1のC_H3ドメインは、さらに、364位に正荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、370位に負荷電残基を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、さらに、370位に負荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、364位に正荷電残基を含むか；または、i) 及び i i) の組み合わせ、もしくは、i) 及び i i i) の組み合わせであり、アミノ酸残基ナンバリングは、Euナンバリングに基づく。

【0056】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、さらに、356位に正荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、439位に負荷電残基を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、さらに、439位に負荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、356位に正荷電残基を含み、アミノ酸残基ナンバリングは、Euナンバリングに基づく。

【0057】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗体（例えば、活性化可能な多重特異性抗体）は、第1のC_H3ドメインを含む第1のポリペプチドと、第2のC_H3ドメインを含む第2のポリペプチドとを含み、ここで、i) 第1のC_H3ドメインは、390位にシステイン(C)残基を含み、第2のC_H3ドメインは、400位にシステイン残基を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、400位にシステイン残基を含み、第2のC_H3ドメインは、390位にシステイン残基を含むか；または、i i) 第1のC_H3ドメインは、392位にシステイン残基を含み、第2のC_H3ドメインは、397位にシステイン残基を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、397位にシステイン残基を含み、第2のC_H3ドメインは、392位にシステイン残基を含むか；または、i i i) 第1のC_H3ドメインは、392位にシステイン残基を含み、第2のC_H3ドメインは、400位にシステイン残基を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、400位にシステイン残基を含み、第2のC_H3ドメインは、392位にシステイン残基を含み；a) 第1のC_H3ドメインは、さらに、357位に正荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、351位に負荷電残基を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、さらに、351位に負荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、357位に正荷電残基を含むか；または、b) 第1のC_H3ドメインは、さらに、411位に正荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、370位に負荷電残基を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、さらに、370位に負荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、411位に正荷電残基を含むか；または、c) 第1のC_H3ドメインは、さらに、364位

に正荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、370位に負荷電残基を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、さらに、370位に負荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、364位に正荷電残基を含むか；または、a) 及びb) の組み合わせ、もしくは、a) 及びc) の組み合わせであり、アミノ酸残基ナンバリングは、Euナンバリングに基づく。

【0058】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、さらに、356位に正荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、439位に負荷電残基を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、さらに、439位に負荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、356位に正荷電残基を含み、アミノ酸残基ナンバリングは、Euナンバリングに基づく。

10

【0059】

C_H3ドメインは、任意の天然に存在する免疫グロブリン分子に由来してもよい。いくつかの実施形態では、C_H3ドメインは、IgG₁分子、IgG₂分子、IgG₃分子、またはIgG₄分子に由来する。いくつかの実施形態では、C_H3ドメインは、ヒトC_H3ドメインである。いくつかの実施形態では、C_H3ドメインは、ヒトIgG₁分子に由来する。

【0060】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗体（例えば、活性化可能な多重特異性抗体）は、第1のC_H3ドメインを含む第1のポリペプチド、及び第2のC_H3ドメインを含む第2のポリペプチドを含み、ここで：i) 第1のC_H3ドメインは、N390C置換を含み、第2のC_H3ドメインは、S400C置換を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、S400C置換を含み、第2のC_H3ドメインは、N390C置換を含むか；または、ii) 第1のC_H3ドメインは、K392C置換を含み、第2のC_H3ドメインは、V397C置換を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、V397C置換を含み、第2のC_H3ドメインは、K392C置換を含むか；または、iii) 第1のC_H3ドメインは、K392C置換を含み、第2のC_H3ドメインは、S400C置換を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、S400C置換を含み、第2のC_H3ドメインは、K392C置換を含む。

20

【0061】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗体（例えば、活性化可能な多重特異性抗体）は、第1のC_H3ドメインを含む第1のポリペプチド、及び第2のC_H3ドメインを含む第2のポリペプチドを含み、ここで：i) 第1のC_H3ドメインは、E357K及びT411K置換を含み、第2のC_H3ドメインは、L351D及びK370D置換を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、L351D及びK370D置換を含み、第2のC_H3ドメインは、E357K及びT411K置換を含むか；または、ii) 第1のC_H3ドメインは、E357K及びS364K置換を含み、第2のC_H3ドメインは、L351D及びK370D置換を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、L351D及びK370D置換を含み、第2のC_H3ドメインは、E357K及びS364K置換を含むか；または、iii) 第1のC_H3ドメインは、D356K、E357K、及びS364K置換を含み、第2のC_H3ドメインは、L351D、K370D、及びK439D置換を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、L351D、K370D、及びK439D置換を含み、第2のC_H3ドメインは、D356K、E357K、及びS364K置換を含む。

30

40

【0062】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗体（例えば、活性化可能な多重特異性抗体）は、第1のC_H3ドメインを含む第1のポリペプチド、及び第2のC_H3ドメインを含む第2のポリペプチドを含み、ここで第1のC_H3ドメインはE357K、S364K及びN390C置換を含み、第2のC_H3ドメインはL351D、K370D及びS400C置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインはL351D、K370D及びS400C置

50

換を含み、第2のC_H3ドメインはE357K、S364K及びN390C置換を含む。

【0063】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗体（例えば、活性化可能な多重特異性抗体）は、第1のC_H3ドメインを含む第1のポリペプチド、及び第2のC_H3ドメインを含む第2のポリペプチドを含み、ここで第1のC_H3ドメインはE357K、S364K及びS400C置換を含み、第2のC_H3ドメインはL351D、K370D及びN390C置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインはL351D、K370D及びN390C置換を含み、第2のC_H3ドメインはE357K、S364K及びS400C置換を含む。

【0064】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗体（例えば、活性化可能な多重特異性抗体）は、第1のC_H3ドメインを含む第1のポリペプチド、及び第2のC_H3ドメインを含む第2のポリペプチドを含み、ここで第1のC_H3ドメインはD356K、E357K、S364K及びS400C置換を含み、第2のC_H3ドメインはL351D、K370D、N390C及びK439D置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインはL351D、K370D、N390C及びK439D置換を含み、第2のC_H3ドメインはD356K、E357K、S364K及びS400C置換を含む。

【0065】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗体（例えば、活性化可能な多重特異性抗体）は、第1のC_H3ドメインを含む第1のポリペプチド、及び第2のC_H3ドメインを含む第2のポリペプチドを含み、第1のC_H3ドメインはD356K、E357K、S364K及びN390C置換を含み、第2のC_H3ドメインはL351D、K370D、K439D及びS400C置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインはL351D、K370D、K439D及びS400C置換を含み、第2のC_H3ドメインはD356K、E357K、S364K及びN390C置換を含む。

【0066】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗体（例えば、活性化可能な多重特異性抗体）は、操作されたC_H3ドメインを含むIgG Fc領域を含む。Fc領域は、限定されないが、IgG₁、IgG₂、IgG₃、及びIgG₄サブクラスを含む任意の好適なFcサブクラスに由来してもよい。

【0067】

B. システイン変異

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の多重特異性抗体（例えば、本明細書に記載の活性化可能な多重特異性抗体）は第1のC_H3ドメインを含む第1のポリペプチド、及び第2のC_H3ドメインを含む第2のポリペプチドを含み、第1のC_H3ドメインは、第1の操作されたシステイン残基を含み、第2のC_H3ドメインは、第2の操作されたシステイン残基を含み、第1の操作されたシステイン残基及び第2のシステイン残基は、ジスルフィド結合を形成する。

【0068】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、390位にCを含み、第2のC_H3ドメインは、400位にCを含むか、または、第1のC_H3ドメインは、400位にCを含み、第2のC_H3ドメインは、390位にCを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、N390C置換を含み、第2のC_H3ドメインは、S400C置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、S400C置換を含み、第2のC_H3ドメインは、N390C置換を含む。

【0069】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、392位にCを含み、第2のC_H3ドメインは、397位にCを含むか、または、第1のC_H3ドメインは、397位にCを含み、第2のC_H3ドメインは、392位にCを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、K392C置換を含み、第2のC_H3ドメインは、V397C置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、V397C置換を含み、第2のC_H3ドメ

インは、K 3 9 2 C 置換を含む。

【0070】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、392位にCを含み、第2のC_H3ドメインは、400位にCを含むか、または、第1のC_H3ドメインは、400位にCを含み、第2のC_H3ドメインは、392位にCを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、K 3 9 2 C 置換を含み、第2のC_H3ドメインは、S 4 0 0 C 置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、S 4 0 0 C 置換を含み、第2のC_H3ドメインは、K 3 9 2 C 置換を含む。

【0071】

C. 塩橋変異

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の多重特異性抗体（例えば、本明細書に記載の活性化可能な多重特異性抗体）は、第1のC_H3ドメインを含む第1のポリペプチド及び第2のC_H3ドメインを含む第2のポリペプチドを含み、第1のC_H3ドメインは、操作された正荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、操作された負荷電残基を含み、操作された正荷電残基及び操作された負荷電残基は、塩橋を形成する。操作された塩橋は、C_H3ドメイン間に新しい塩橋を導入しても、2つ以上のアミノ酸残基間に塩橋ネットワークを再配置しても、または野生型C_H3ドメインに対して、塩橋を形成するアミノ酸残基の電荷を逆にしてもよい（すなわち、塩橋を「反転させる」）。いくつかの実施形態では、操作された正荷電残基は、野生型C_H3ドメインの負荷電残基を正荷電残基で置換する。いくつかの実施形態では、操作された負荷電残基は、野生型C_H3ドメインの正荷電残基を負荷電残基で置換する。再配置及び反転した塩橋は、操作されたC_H3ドメインを含むヘテロダイマー及びホモダイマーの等電点（PI）の変化をもたらすことがあり、それにより、精製プロセスにおけるホモダイマーからのヘテロダイマーのより良好な分離を可能にする。

【0072】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、357位に正荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、351位に負荷電残基を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、351位に負荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、357位に正荷電残基を含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、357位にKを含み、第2のC_H3ドメインは、351位にDを含むか、または、第1のC_H3ドメインは、351位にDを含み、第2のC_H3ドメインは、357位にKを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、357位にKを含み、第2のC_H3ドメインは、351位にEを含むか、または、第1のC_H3ドメインは、351位にEを含み、第2のC_H3ドメインは、357位にKを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、357位にRを含み、第2のC_H3ドメインは、351位にDを含むか、または、第1のC_H3ドメインは351位にDを含み、第2のC_H3ドメインは、357位にRを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、357位にRを含み、第2のC_H3ドメインは、351位にEを含むか、または、第1のC_H3ドメインは351位にEを含み、第2のC_H3ドメインは、357位にRを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、E 3 5 7 K 置換を含み、第2のC_H3ドメインは、L 3 5 1 D 置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、L 3 5 1 D 置換を含み、第2のC_H3ドメインは、E 3 5 7 K 置換を含む。

【0073】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、411位に正荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、370位に負荷電残基を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、370位に負荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、411位に正荷電残基を含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、411位にKを含み、第2のC_H3ドメインは、370位にDを含むか、または、第1のC_H3ドメインは、370位にDを含み、第2のC_H3ドメインは、411位にKを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、411位にKを含み、第2のC_H3ドメインは、370位にEを

10

20

30

40

50

含むか、または、第1のC_H3ドメインは、370位にEを含み、第2のC_H3ドメインは、411位にKを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、411位にRを含み、第2のC_H3ドメインは、370位にDを含むか、または、第1のC_H3ドメインは370位にDを含み、第2のC_H3ドメインは、411位にRを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、411位にRを含み、第2のC_H3ドメインは、370位にEを含むか、または、第1のC_H3ドメインは370位にEを含み、第2のC_H3ドメインは、411位にRを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、T411K置換を含み、第2のC_H3ドメインは、K370D置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、K370D置換を含み、第2のC_H3ドメインは、T411K置換を含む。

10

【0074】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、364位に正荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、370位に負荷電残基を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、370位に負荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、364位に正荷電残基を含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、364位にKを含み、第2のC_H3ドメインは、370位にDを含むか、または、第1のC_H3ドメインは、370位にDを含み、第2のC_H3ドメインは、364位にKを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、364位にKを含み、第2のC_H3ドメインは、370位にEを含むか、または、第1のC_H3ドメインは、370位にEを含み、第2のC_H3ドメインは、364位にKを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、364位にRを含み、第2のC_H3ドメインは、370位にDを含むか、または、第1のC_H3ドメインは370位にDを含み、第2のC_H3ドメインは、364位にRを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、364位にRを含み、第2のC_H3ドメインは、370位にEを含むか、または、第1のC_H3ドメインは370位にEを含み、第2のC_H3ドメインは、364位にRを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、S364K置換を含み、第2のC_H3ドメインは、K370D置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、K370D置換を含み、第2のC_H3ドメインは、S364K置換を含む。

20

【0075】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、356位に正荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、439位に負荷電残基を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、439位に負荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、356位に正荷電残基を含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、356位にKを含み、第2のC_H3ドメインは、439位にDを含むか、または、第1のC_H3ドメインは、439位にDを含み、第2のC_H3ドメインは、356位にKを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、356位にKを含み、第2のC_H3ドメインは、439位にEを含むか、または、第1のC_H3ドメインは、439位にEを含み、第2のC_H3ドメインは、356位にKを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、356位にRを含み、第2のC_H3ドメインは、439位にDを含むか、または、第1のC_H3ドメインは439位にDを含み、第2のC_H3ドメインは、356位にRを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、356位にRを含み、第2のC_H3ドメインは、439位にEを含むか、または、第1のC_H3ドメインは439位にEを含み、第2のC_H3ドメインは、356位にRを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、D356K置換を含み、第2のC_H3ドメインは、K439D置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、K439D置換を含み、第2のC_H3ドメインは、D356K置換を含む。

30

40

【0076】

本明細書に記載の操作された塩橋のいずれかは、互いに組み合わされてもよい。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、357位に正荷電残基、411位に正荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、351位に負荷電残基、370位に負荷電残基を

50

含むか、または、第1のC_H3ドメインは、351位に負荷電残基、370位に負荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、357位に正荷電残基、411位に正荷電残基を含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、E357K及びT411K置換を含み、第2のC_H3ドメインは、L351D及びK370D置換を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、L351D及びK370D置換を含み、第2のC_H3ドメインは、E357K及びT411K置換を含む。

【0077】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、357位に正荷電残基、364位に正荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、351位に負荷電残基、370位に負荷電残基を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、351位に負荷電残基、370位に負荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、357位に正荷電残基、364位に正荷電残基を含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、E357K及びS364K置換を含み、第2のC_H3ドメインは、L351D及びK370D置換を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、L351D及びK370D置換を含み、第2のC_H3ドメインは、E357K及びS364K置換を含む。

【0078】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、356位に正荷電残基、357位に正荷電残基、364位に正荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、351位に負荷電残基、370位に負荷電残基、439位に負荷電残基を含み、または、第1のC_H3ドメインは、351位に負荷電残基、370位に負荷電残基、439位に負荷電残基を含み、第2のC_H3ドメインは、356位に正荷電残基、357位に正荷電残基、364位に正荷電残基を含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、D356K、E357K、及びS364K置換を含み、第2のC_H3ドメインは、L351D、K370D、及びK439D置換を含むか、もしくは、第1のC_H3ドメインは、L351D、K370D、及びK439D置換を含み、第2のC_H3ドメインは、D356K、E357K、及びS364K置換を含む。

【0079】

D. 他の変異

本明細書に記載のC_H3ドメインまたはFc領域は、さらに、下の表Bに列挙された操作されたジスルフィド結合及び／または塩橋を含んでもよい。

10

20

30

40

50

【表 4】

表 4. 例示的な Fc 変異

第1のポリペプチド鎖の変異(複数可)	第2のポリペプチド鎖の変異(複数可)
F405L	K409R
S364H, F405A	Y349T, T394F
S364K, E357Q	L368D, K370S
T366W	T366S, L368A, Y407V
S354C, T366W	Y349C, T366S, L368A, Y407V
T350, L351, F405, Y407 T350はT350V, T350I, T350L、またはT350M L351はL351Y F450はF450A, F450V, F450T、またはF450S Y407はY407V, Y407A、またはY407I	T350, T366, K392, T394 T350はT350V, T350I, T350L、またはT350M T366はT366L, T366I, T366V、またはT366M K392はK392F, K392L、またはK392M T394はT394W
D399K, E356K	K409D, K392D
D221E, P228E, L368E	D221R, P228R, K409R
C223E, E225E, P228E, L368E	C223R, E225R, P228R, K409R
H435R	なし
K196Q, S228P, F296Y, E356K, R409K, H435R, L445P	K196Q, S228P, F296Y, R409K, K439E, L445P
K409W	D399V/F405T
K360E	Q347R
Y349C/K360E/K409W	Q347R/S354C/D399V/F405T
K360E/K409W	Q347R/D399V/F405T
Y349S/K409W	E357W/D399V/F405T
Y349S/S354C/K409W	Y349C/E357W/D399V/F405T
T366K	L351D
Y349EまたはD及びL368E	L351D
Y349C/T366W	D356C/T366S/L368A/Y407V/F405K
Y349C/T366W/F405K	D356C/T366S/L368A/Y407V
Y349C/T366W/K409E	D356C/T366S/L368A/Y407V/F405K
Y349C/T366W/K409A	D356C/T366S/L368A/Y407V/F405K
S364K	L368D
S364K	K370S
F405K	K409F
F405R	K409F
S364K/K409F	L368D/F405R
S364K/K409F	K370S/F405R
S364K/K409W	K370S/F405R
K370EまたはE356K及びK409R	E357K及びK409RまたはK370E
S354I/S364L/Y407V	Q347V/Y349I/T350K/L351Q/T366W/L368I/Y407V
Y349I	S354I/E357Q/M/G/S364L/T366S/L368A/Y407V
P395K/P396K/V397K	T394D/P395D/P396D
F405E/Y407E/K409E	F405K/Y407K
M428S/N434S/Y436H	H435R

10

20

30

40

【0080】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、さらに、392位にCを含み、第2のC_H3ドメインは、399位にCを含むか、または、第1のC_H3ドメインは、399位にCを含み、第2のC_H3ドメインは、392位にCを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、さらに、K392C置換を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、D399C置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、さらに、D399C置換を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、K392C置換を含む。

【0081】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、さらに、394位にCを含み、第

50

2のC_H3ドメインは、354位にCを含むか、または、第1のC_H3ドメインは、354位にCを含み、第2のC_H3ドメインは、394位にCを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、さらに、Y394C置換を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、S354C置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、さらに、S354C置換を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、Y394C置換を含む。

【0082】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、さらに、356位にCを含み、第2のC_H3ドメインは、349位にCを含むか、または、第1のC_H3ドメインは、349位にCを含み、第2のC_H3ドメインは、356位にCを含む。いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、さらに、D356C置換を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、Y349C置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、さらに、Y349C置換を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、D356C置換を含む。

10

【0083】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、さらに、K392D及びK409D置換を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、D356K及びD399K置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、さらに、D356K及びD399K置換を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、K392D及びK409D置換を含む。

【0084】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、さらに、L368D及びK370S置換を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、E357Q及びS364K置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、さらに、E357Q及びS364K置換を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、L368D及びK370S置換を含む。

20

【0085】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、さらに、L351K及びT366K置換を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、L351D及びL368E置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、さらに、L351D及びL368E置換を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、L351K及びT366K置換を含む。

【0086】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、さらに、P395K、P396K、及びV397K置換を含み、第2のC_H3ドメインは、T394D、P395D、及びP396D置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、さらに、T394D、P395D、及びP396D置換を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、P395K、P396K、及びV397K置換を含む。

30

【0087】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、さらに、F405E、Y407E、及びK409E置換を含み、第2のC_H3ドメインは、F405K及びY407K置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、さらに、F405K及びY407K置換を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、F405E、Y407E、及びK409E置換を含む。

【0088】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、さらに、T336S、L368A、及びY407V置換を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、T366W置換を含むか、または第1のC_H3ドメインは、さらに、T366W置換を含み、第2のC_H3ドメインは、さらに、T336S、L368A、及びY407V置換を含む。

40

【0089】

いくつかの実施形態では、第1のC_H3ドメインは、L368V及びY407V置換を含み、第2のC_H3ドメインは、T366W置換を含むか、または、第1のC_H3ドメインは、T366W置換を含み、第2のC_H3ドメインは、L368V及びY407V置換を含む。

【0090】

50

III. CD28結合分子

本発明は、抗CD28抗体およびその抗CD28抗原結合フラグメントを含む、ヒトCD28に結合する単離された結合分子を提供する。いくつかの実施形態では、結合分子には、エピトープ結合を参照して記載された抗体、および相補性決定領域（CDR）、可変領域（ V_L 、 V_H ）、ならびにIgG（例えば、IgG₄）軽鎖および重鎖の特定のアミノ酸配列を参照して記載された抗体が含まれる。

【0091】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号1のアミノ酸残基34～108内の1つ以上のアミノ酸残基に結合する。いくつかの実施形態では、抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号1のアミノ酸残基51～122内の1つ以上のアミノ酸残基に結合する。いくつかの実施形態では、抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号1のアミノ酸残基51、52、54、55、98～101、110～111、113～114、および118～122からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基に結合する。標的抗原に結合する抗体または抗原結合フラグメントの能力を測定する方法は、例えば、表面プラズモン共鳴、ELISA、等温滴定熱量測定、フィルター結合アッセイ、EMSAなどを含む、当該技術分野に公知の任意の方法を使用して実施してもよい。いくつかの実施形態では、抗体または抗原結合フラグメントの標的抗原へと結合する能力は、ELISAまたはOctet（登録商標）RED96によって測定される（例えば、以下の実施例3を参照されたい）。

【0092】

いくつかの実施形態では、抗体または抗原結合フラグメントは、約500 nM以下の K_D （例えば、約500 nM以下、約400 nM以下、約300 nM以下、約200 nM以下、約150 nM以下、約100 nM以下、約90 nM以下、約80 nM以下、約75 nM以下、約70 nM以下、約60 nM以下、約50 nM以下、約40 nM以下、約30 nM以下、約25 nM以下、約20 nM以下、約10 nM以下、約1 nM以下、約0.1 nM以下など）で、ヒトCD28へと結合する。いくつかの実施形態では、抗体または抗原結合フラグメントは、約100 nM以下の K_D で、ヒトCD28へと結合する。いくつかの実施形態では、抗体または抗原結合フラグメントは、約50 nM以下の K_D で、ヒトCD28へと結合する。抗体または抗原結合フラグメントの K_D を測定する方法は、例えば、表面プラズモン共鳴、ELISA、等温滴定熱量測定、フィルター結合アッセイ、EMSAなどを含む、当該技術分野に公知の任意の方法を使用して実施してもよい。いくつかの実施形態では、 K_D はOctet（登録商標）RED96システムによって測定される（例えば、以下の実施例3を参照されたい）。

【0093】

A. 抗CD28抗体

いくつかの実施形態では、本開示は、配列番号1のアミノ酸残基33～37、80～83、92～96、および100～104内のエピトープでヒトCD28に結合する単離されたモノクローナル抗体を提供する。特定の実施形態では、本開示は、配列番号1のアミノ酸残基33、34、36及び37、80～83、92及び93、95及び96、並びに100～104によって表されるエピトープにおいてヒトCD28に結合する単離抗体を提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、Octet（登録商標）RED96 Systemsによって測定されるように、10 nM以下の K_D でヒトCD28を結合する。ある特定の実施形態では、ヒトエピトープに結合することに加えて、本明細書に開示される抗体は、カニクイザル、マウス、ラット、およびイヌからなるリストから選択される少なくとも1つの非ヒト種と交差反応性（種間結合特性を示す）である。ある特定の実施形態では、本明細書に開示される抗体は、マウス、ヒト、サルへの種間結合の利点を有するが、ベンチマーク本明細書に開示されている対照群TAC2386およびTAC2387には、この範囲の種間交差反応性はない。特定の実施形態では、ベンチマークコントロールTAC2386およびTAC2387はヒトエピトープに結合するが、マウスエピトープには結合しない（本明細書の表7を参照されたい）。本明細書に開示された抗体の種交差反応性はまた、マウスを用いて抗

10

20

30

40

50

体の安全性、活性、機能をシミュレートすることができるさらなる利点を提供する。したがって、本明細書に開示されたTAC2386およびTAC2387と比較すると、本明細書に開示された抗体を用いた動物モデリングはより容易である。

【0094】

特定の実施形態では、単離された抗CD28モノクローナル抗体は、配列番号5のHCDR1、配列番号6のHCDR2、および配列番号7のHCDR3、ならびに配列番号8のLCDR1、配列番号9のLCDR2、および配列番号10のLCDR3を含む。特定の実施形態では、単離されたモノクローナル抗体は、配列番号11の重鎖可変領域と配列番号12の軽鎖可変領域を含む。特定の実施形態では、単離されたモノクローナル抗体は、配列番号13の重鎖および配列番号14の軽鎖を含む。

10

【0095】

本明細書に記載のCD28抗体は、IgG、IgM、IgE、IgA、またはIgDなどの任意のクラスのものであり得る。CD28抗体は、IgG₁、IgG₂、IgG₃、またはIgG₄サブクラスなどのIgGクラスのものであることが好ましい。抗CD28抗体は、当該技術分野で既知の方法を使用して、あるクラスまたはサブクラスから別のクラスまたはサブクラスに変換することができる。所望のクラスまたはサブクラスの抗体を産生するための例示的な方法は、抗CD28抗体の重鎖をコードする核酸及びCD28抗体の軽鎖をコードする核酸を単離し、V_H領域をコードする配列を単離し、V_H配列を所望のクラスまたはサブクラスの重鎖定常領域をコードする配列に連結し、細胞内で軽鎖遺伝子及び重鎖構築物を発現させ、CD28抗体を収集するステップを含む。

20

【0096】

本明細書に記載のCD28抗体は、IgG、IgM、IgE、IgA、またはIgDなどの任意のクラスのものであり得る。CD28抗体は、IgG₁、IgG₂、IgG₃、またはIgG₄サブクラスなどのIgGクラスのものであることが好ましい。抗CD28抗体は、当該技術分野で既知の方法を使用して、あるクラスまたはサブクラスから別のクラスまたはサブクラスに変換することができる。所望のクラスまたはサブクラスの抗体を産生するための例示的な方法は、抗CD28抗体の重鎖をコードする核酸及びCD28抗体の軽鎖をコードする核酸を単離し、V_H領域をコードする配列を単離し、V_H配列を所望のクラスまたはサブクラスの重鎖定常領域をコードする配列に連結し、細胞内で軽鎖遺伝子及び重鎖構築物を発現させ、CD28抗体を収集するステップを含む。

30

【0097】

さらに、本開示により提供される抗体はモノクローナルまたはポリクローナルであり得るが、好ましくはモノクローナルである。

【0098】

本開示の抗体は、従来のモノクローナル抗体方法論、例えば、標準体細胞ハイブリダイゼーション技術（例えば、Kohler and Milstein, Nature (1975) 256:495を参照されたい、Bリンパ球のウイルスまたは腫瘍遺伝子による形質転換、または本明細書で以下に詳細に記載される組換え抗体技術などを含む、当該技術分野で公知の技術によって産生できる。

【0099】

ハイブリドーマ産生は非常によく確立された手順である。ハイブリドーマを調製するための一般的な動物システムは、マウスシステムである。免疫化プロトコール及び融合のための免疫脾細胞の単離のための技術は、当該技術分野で公知である。融合パートナー（例えば、マウス骨髄腫細胞）及び融合手順も公知である。本開示により提供されるヒトCD28抗体を作製するために使用され得る1つの周知の方法は、Xenomouse（商標）動物システムの使用を含む。Xenomouse（商標）マウスは、ヒト免疫グロブリン重鎖及び軽鎖遺伝子座の大きなフラグメントを含み、マウス抗体の産生が欠失する、遺伝子操作されたマウス系統である。例えば、Green et al., Nature Genetics (1994) 7:13-21及びWO2003/040170を参照されたい。動物はCD28抗原で免疫される。CD28抗原は、単離及び／または精製された

40

50

CD28、好ましくはCD28である。それは、CD28の細胞外ドメインなどのCD28のフラグメント、特に配列番号1のアミノ酸残基33、34、36および37、80～83、92および93、95および96、および100～104を含むCD28細胞外ドメインフラグメントであってもよい。動物の免疫化は、当該技術分野で公知の任意の方法により実施され得る。例えば、Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, New York: Cold Spring Harbor Press, 1990を参照されたい。マウス、ラット、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ウシ、及びウマなどの非ヒト動物を免疫化する方法は、当該技術分野で周知である。例えば、前出のHarlow and Lane、及び米国特許第5,994,619号を参照されたい。CD28抗原は、免疫応答を刺激するためにアジュバントとともに投与してもよい。例示的なアジュバントには、完全または不完全フロイントアジュバント、RIBI（ムラミルジペプチド）、またはISCOM（免疫刺激複合体）が含まれる。CD28抗原で動物を免疫化した後、免疫動物から単離された細胞から抗体産生不死化細胞株を調製する。免疫後、動物を殺し、リンパ節及び／または脾臓B細胞を不死化する。細胞を不死化する方法には、非限定的に、それらに癌遺伝子を導入すること、それらに腫瘍ウイルスを感染させること、不死化細胞を選択する条件下でそれらを培養すること、それらを発がん性または変異化合物に供すること、不死化細胞、例えば骨髓腫細胞と融合すること、及び腫瘍抑制遺伝子を不活性化することが含まれる。例えば、前出のHarlow and Laneを参照されたい。骨髓腫細胞との融合が使用される場合、骨髓腫細胞は免疫グロブリンポリペプチドを分泌しないことが好ましい（非分泌細胞株）。不死化細胞は、CD28、その一部、またはCD28を発現する細胞を使用してスクリーニングされる。CD28抗体産生細胞、例えばハイブリドーマは、以下でさらに議論されるように、強力な増殖、高い抗体産生、及び望ましい抗体特性を含む望ましい特性について選択され、クローン化され、さらにスクリーニングされる。ハイブリドーマは、同系動物、免疫系を欠く動物、例えばヌードマウス内で*in vivo*で、または*in vitro*での細胞培養で増殖させることができる。ハイブリドーマを選択、クローニング、及び増殖する方法は、当業者に周知である。

10

20

30

40

50

【0100】

本開示の抗体は、ファージディスプレイ法または酵母ディスプレイ法を使用して調製することもできる。ヒト抗体を単離するためのそのようなディスプレイ方法は、Knappik, et al., “Fully Synthetic Human Combinatorial Antibody Libraries (HuCAL) Based on Modular Consensus Frameworks and CDRs Randomized with Trinucleotides.” *J. Mol. Biol.* (2000) 296, 57–86; 及びFeldhaus, et al., “Flow-cytometric isolation of human antibodies from a non-immune *Saccharomyces cerevisiae* surface display library” *Nat Biotechnol* (2003) 21:163–170などのように、当該技術分野で確立されている。

【0101】

B. 抗原結合フラグメント

他のいくつかの態様では、本開示は、本開示により提供されるCD28抗体のいずれかの抗原結合フラグメントを提供する。

【0102】

抗原結合フラグメントは、抗体の任意の配列を含んでもよい。いくつかの実施形態では、抗原結合フラグメントは以下のアミノ酸配列を含む：（1）抗CD28抗体の軽鎖；（2）CD28抗体の重鎖；（3）抗CD28抗体の軽鎖由来の変領域；（4）CD28抗体の重鎖由来の変領域；（5）抗CD28抗体の1つ以上のCDR（2、3、4、5、または6つのCDR）；または（6）抗CD28抗体の軽鎖由来の3つのCDRと重鎖由来の3つのCDR。

【0103】

他の特定の実施形態では、CD28抗体の抗原結合フラグメントには、(i) V_L 、 V_H 、 C_L 、及び C_H1 ドメインからなる一価フラグメントであるFabフラグメント；(ii) ヒンジ領域でジスルフィド架橋により連結された2つのFabフラグメントを含む二価フラグメントである $F(ab')_2$ フラグメント；(iii) V_H 及び C_H1 ドメインからなるFdフラグメント；(iv) 抗体の単一アームの V_L 及び V_H ドメインからなるFvフラグメント；(v) V_H ドメインからなるdAbフラグメント(Ward et al., Nature (1989) 341:544-546)；(vi) 単離CDR、ならびに、(vii) 抗体の V_H 領域に連結された抗体の V_L 領域を含むポリペプチドである一本鎖抗体(scFv)。Bird et al. Science (1988) 242:423-426およびHouston et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1988) 85:5879-5883を参照を含む抗原結合フラグメントである。

10

【0104】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される抗CD28抗体または抗体フラグメントは、配列番号11、20、29、39、47、54、62、71、77、84、92、99、107、115、122、130、137、144、151、157、及び165のいずれかに記載のアミノ酸配列と、少なくとも65%、少なくとも75%、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%、または少なくとも99%同一である V_H 領域を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される抗CD28抗体または抗体フラグメントは、配列番号12、21、30、40、48、55、63、72、78、85、93、100、108、116、123、131、138、145、152、158、及び166のいずれかに記載のアミノ酸配列と、少なくとも65%、少なくとも75%、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%、または少なくとも99%同一である V_L 領域を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される抗CD28抗体または抗体フラグメントは、配列番号5、15、24、33、43、66、88、103、111、126、134、148、及び161のいずれかに記載のアミノ酸配列と、少なくとも65%、少なくとも75%、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%、または少なくとも99%同一であるHCDR1アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される抗CD28抗体または抗体フラグメントは、配列番号6、51、58、67、89、96、104、及び155のいずれかに記載のアミノ酸配列と、少なくとも65%、少なくとも75%、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%、または少なくとも99%同一であるHCDR2アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される抗CD28抗体または抗体フラグメントは、配列番号7、16、25、35、44、52、59、81、90、97、105、112、119、127、135、141、149、及び162のいずれかに記載のアミノ酸配列と、少なくとも65%、少なくとも75%、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%、または少なくとも99%同一であるHCDR3アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される抗CD28抗体または抗体フラグメントは、配列番号8、17、26、36、45、53、60、76、82、91、98、106、113、120、128、136、142、150、156、及び163のいずれかに記載のアミノ酸配列と、少なくとも65%、少なくとも75%、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%、または少なくとも99%同一であるLCDR1アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される抗CD28抗体または抗体フラグメントは、配列番号9、18、27、37、及び300のいずれかに記載のアミノ酸配列と、少なくとも65%、少なくとも75%、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%、または少なくとも99%同一であるLCDR2アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される抗CD28抗体または抗体フラグメントは、配列番号10、19、28、38、46、61、70、83、114、121、129、143、及び164のいずれかに記載のアミノ酸配列と、少な

20

30

40

50

くとも65%、少なくとも75%、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%、または少なくとも99%同一であるL CDR3アミノ酸配列を含む。

【0105】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される抗体は、配列番号13、22、31、41、49、56、64、73、79、86、94、101、109、117、124、141、132、139、146、153、159、及び167のいずれかに記載のアミノ酸配列と、少なくとも65%、少なくとも75%、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%、または少なくとも99%同一である重鎖を含む。

【0106】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される抗体は、配列番号14、23、32、42、50、57、65、74、80、87、95、102、110、118、125、142、133、140、147、154、160、及び168のいずれかに記載のアミノ酸配列と、少なくとも65%、少なくとも75%、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%、または少なくとも99%同一である軽鎖を含む。

【0107】

IV. 多重特異性抗体

また、本明細書に記載の活性化可能な多重特異性抗体またはマスクされた多重特異性抗体に対応する多重特異性抗体も提供される。本出願の一態様は、T細胞と腫瘍細胞などの標的細胞の両方に結合できる多重特異性抗体(活性化可能な二重特異性T細胞エンゲージャー(TCE)分子を含む)を提供する。オンターゲット・オフ腫瘍効果のために、伝統的TCE分子は、中枢神経系(CNS)に対する毒性及びサイトカインストームを含む高い細胞傷害性と関連する。したがって、T細胞に結合できる抗体が必要である及び標的細胞例えば特異性が強化され、副作用が軽減された腫瘍細胞など。

【0108】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗体は二重特異性抗体(bsAb)である。いくつかの実施形態では、多重特異性抗体は三重特異性抗体(tsAb)である。

【0109】

特定の実施形態では、本開示の二重特異性抗体は、T細胞の表面上のCD28に特異的である。いくつかの実施形態では、多重特異性抗体は、TAAおよびCD28に特異的に結合する腫瘍関連抗原(TAA)xCD28二重特異性抗体である。いくつかの実施形態では、本開示の抗体は、例えば、IgG Fc領域(例えば、ヒトIgG Fc領域)を含むIgG抗体である。

【0110】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗体はT細胞の表面上のCD28に結合する。いくつかの実施形態では、多重特異性抗体は、TAAおよびCD28に特異的に結合する腫瘍関連抗原(TAA)xCD28二重特異性抗体である。いくつかの実施形態では、多重特異性抗体は、いかなるマスクング部分も含まないか、切断可能な部分。いくつかの実施形態では、多重特異性抗体は、切断可能な部分または切断可能な部分の切断によって得られる。

【0111】

いくつかの実施形態では、多重特異性抗体はT細胞の表面上のCD3に結合する。いくつかの実施形態では、多重特異性抗体は、TAAおよびCD3に特異的に結合する腫瘍関連抗原(TAA)xCD3二重特異性抗体である。いくつかの実施形態では、多重特異性抗体は、弱い親和性、例えば、ELISAアッセイによって決定されるEC₅₀が少なくとも10nM(例えば、少なくとも100nM)、および/またはK_dが少なくとも50nMでCD3に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、多重特異性抗体は、マスクング部分または切断可能な部分を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性抗体は、切断可能な部分または切断可能な部分の切断によって得られる。

【0112】

いくつかの実施形態では、以下を含む多重特異性抗体が提供される：a) 標的抗原(例えば、B7-H3、HER2、またはTROP2などの腫瘍抗原)に特異的に結合する抗

10

20

30

40

50

体のV_H1およびV_L1を含む第1の抗原結合フラグメント；およびb) C_D3に特異的に結合する抗C_D3抗体のV_H2およびV_L2を含む第2の抗原結合フラグメント、ここで、第1および／または第2の抗原結合フラグメントは、第1および／または第2のマスキングペプチド(M_P1／M_P2)に融合される。いくつかの実施形態では、以下を含む多重特異性抗体が提供される：a) 標的抗原(例えば、B7-H3、HER2、またはTROP2などの腫瘍抗原)に特異的に結合する抗体のV_H1およびV_L1を含む第1の抗原結合フラグメント；およびb) C_D28に特異的に結合する抗C_D28抗体のV_H2およびV_L2を含む第2の抗原結合フラグメント、ここで、第1および／または第2の抗原結合フラグメントは、第1および／または第2のマスキングペプチド(M_P1／M_P2)に融合される。

10

【0113】

いくつかの実施形態では、第1の抗原結合フラグメントは、F_{ab}、F_v、s_cF_{ab}およびs_cF_v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の抗原結合フラグメントはF_{ab}である。いくつかの実施形態では、第2の抗原結合フラグメントは、F_{ab}、F_v、s_cF_{ab}およびs_cF_vからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、第2の抗原結合フラグメントは、N末端からC末端にかけて、V_L2、任意のリンカー、およびV_H2を含むs_cF_vである。いくつかの実施形態では、第1の抗原結合フラグメントはF_{ab}であり、第2の抗原結合フラグメントはF_{ab}である。いくつかの実施形態では、第1の抗原結合フラグメントはF_{ab}であり、第2の抗原結合フラグメントはs_cF_vである。

20

【0114】

本明細書に記載の操作されたC_H3ドメインジスルフィド結合及び／または塩橋を含む抗体は、さらに、1つ以上のノブ・イントゥ・ホール残基を含んでもよい。「ノブ・イントゥ・ホール」または「KIH」は、「プロチューバランスイントゥキャビティ」アプローチとしても既知の二重特異性抗体を作製するための当該技術分野で既知のアプローチ(例えば、米国特許第5,731,168号を参照)を指す。このアプローチでは、2つの免疫グロブリンポリペプチド(例えば、重鎖ポリペプチド)は、それぞれ、界面を構成する。1つの免疫グロブリンポリペプチドの界面は、他の免疫グロブリンポリペプチド上の対応する界面と相互作用し、それにより、2つの免疫グロブリンポリペプチドが会合することを可能にする。これらの界面は、1つの免疫グロブリンポリペプチドの界面に位置する「ノブ」または「プロチューバランス」(これらの用語は、本明細書において互換的に使用されてもよい)が、他の免疫グロブリンポリペプチドの界面に位置する「ホール」または「キャビティ」(これらの用語は、本明細書において互換的に使用されてもよい)と対応するように操作されてもよい。いくつかの実施形態では、ホールは、ノブと同一または同様のサイズであり、2つの界面が相互作用する時、一方の界面のノブが他方の界面の対応するホールに配置可能であるように適切に配置される。理論に拘束されることを望むものではないが、これは、ヘテロマルチマーを安定化し、他の種、例えば、ホモマルチマーよりもヘテロマルチマーの形成を促進すると考えられる。いくつかの実施形態では、KIHアプローチは、本明細書に記載の操作されたジスルフィド結合及び／または塩橋と組み合わせて使用されて、2つの異なる免疫グロブリンポリペプチドのヘテロマルチマー化を促進し、異なるエпитープに対する結合特異性を有する2つの免疫グロブリンポリペプチドを含む二重特異性抗体を作製する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の活性化可能な多重特異性抗体のC_H3ドメインは、KIH残基を含まない。

30

40

【0115】

いくつかの実施形態では、第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、および第3のポリペプチドを含む、C_D28および腫瘍抗原(例えば、B7-H3、HER2、TROP2またはPD-L1)を標的とする二重特異性抗体が提供され、ここで、

(i) 第1のポリペプチドは、式：V_H1-C_H1-ヒンジ-C_H2-第1のCH3で表される構造を含む；

(ii) 第2のポリペプチドは、式：s_cF_v-ヒンジ-C_H2-第2のCH3で表される構

50

造を含む；及び

(iii) 第3のポリペプチドは、式 V_L1-C_L で表される構造を含む；

ここで、

V_L1 は、最初の免疫グロブリン軽鎖可変ドメインです；

V_H1 は、最初の免疫グロブリン重鎖可変ドメインです；

$scFv$ は、第2の免疫グロブリン軽鎖可変ドメイン(V_L2)と第2の免疫グロブリン重鎖可変ドメイン(V_H2)を含む単鎖可変フラグメントです；

C_L は免疫グロブリン軽鎖定常ドメインです；

C_H1 は免疫グロブリン重鎖定常ドメイン1です；

C_H2 は免疫グロブリン重鎖定常ドメイン2であり；ヒンジは、

C_H1 ドメインと C_H2 ドメインを接続する免疫グロブリンヒンジ領域であり、

V_L1 と V_H1 が会合して、腫瘍抗原(例えば、B7-H3、HER2、TROP2、またはPD-L1)に特異的に結合する第1のFvを形成し、 $scFv$ はCD28に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、 $scFv$ は、ELISAによって決定される0.1 nMから1000 nMの範囲の抗体(EC_{50})の濃度で、最大結合の半分でCD28に結合する(例えば、実施例3に記載されているように)。いくつかの実施形態では、 $scFv$ は、Octet(登録商標)RED96アッセイ(例えば、実施例3に記載されているように)によって決定されるように、10nM未満(例えば、1nM~0.1pMの間)の抗体濃度(EC_{50})で、最大結合の半分でCD28に結合する。特定の実施形態では、 $scFv$ は10 nM未満の解離定数(Kd)でCD28に結合する。

【0116】

いくつかの実施形態では、第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、第3のポリペプチドおよび第4のポリペプチドを含む、CD28および腫瘍抗原(例えば、B7-H3、HER2、またはTROP2)を標的とする二重特異性抗体が提供され、ここで、

(i) 第1のポリペプチドは、式： V_H1-C_H1 -ヒンジ- C_H2 -第1の C_H3 で表される構造を含む；

(ii) 第2のポリペプチドは、式： V_H2-C_H1 -ヒンジ- C_H2 -第2の C_H3 で表される構造を含む；

(iii) 第3のポリペプチドは、式 V_L1-C_L で表される構造を含む；及び

(iv) 第4のポリペプチドは、式 V_L2-C_L で表される構造を含む；

ここで、

V_L1 は、最初の免疫グロブリン軽鎖可変ドメインです；

V_H1 は、最初の免疫グロブリン重鎖可変ドメインです；

V_L2 は、2番目の免疫グロブリン軽鎖可変ドメインです；

V_H2 は2番目の免疫グロブリン重鎖可変ドメインです；

C_L は免疫グロブリン軽鎖定常ドメインです；

C_H1 は免疫グロブリン重鎖定常ドメイン1です；

C_H2 は免疫グロブリン重鎖定常ドメイン2であり；及び

ヒンジは、 C_H1 ドメインと C_H2 ドメインを接続する免疫グロブリンヒンジ領域であり；

V_L1 と V_H1 が会合して、腫瘍抗原(例えば、B7-H3、HER2、TROP2、またはPD-L1)に特異的に結合する第1のFvを形成し、 V_L2 と V_H2 が会合して、CD28に特異的に結合する第2のFvを形成します。いくつかの実施形態では、 $scFv$ はCD28と結合し、ELISAアッセイ(例えば、実施例3に記載されているように)によって決定される、0.1 nM~1000nMの範囲の抗体(EC_{50})の濃度での半最大結合。いくつかの実施形態では、第2のFvは、Octet(登録商標)RED96アッセイ(例えば、実施例3に記載)によって決定されるように、10 nM未満(例えば、1 nM~0.1 pMの間)の抗体濃度(EC_{50})で、最大結合の半分でCD28に結合する。特定の実施形態では、第2のFvは、10 nM未満の解離定数(Kd)でCD28に結合する。

【0117】

いくつかの実施形態では、以下を含む多重特異性抗体が提供される：

a) 標的抗原（例えば、B7-H3、HER2、またはTROP2などの腫瘍抗原）に特異的に結合する抗体のV_H1およびV_L1を含む第1の抗原結合フラグメント;および

b) CD28に特異的に結合する抗CD28抗体のV_H2およびV_L2を含む第2の抗原結合フラグメントであって、第2の抗原結合フラグメントが第1のマスキングペプチド（MP1）に融合されているもの。

【0118】

いくつかの実施形態では、以下を含む多重特異性抗体が提供される：

a) 標的抗原（例えば、B7-H3、HER2、またはTROP2などの腫瘍抗原）に特異的に結合する抗体のV_H1およびV_L1を含む第1の抗原結合フラグメントであって、第1の抗原結合フラグメントが第1のマスキングペプチド（MP1）に融合されているもの；および

10

b) CD28に特異的に結合する抗CD28抗体のV_H2およびV_L2を含む第2の抗原結合フラグメントであって、第2の抗原結合フラグメントが第2のマスキングペプチド（MP2）に融合されているもの。

【0119】

いくつかの実施形態では、第1の抗原結合フラグメントは、Fab、Fv、scFab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、第1の抗原結合フラグメントはFabである。いくつかの実施形態では、第2の抗原結合フラグメントは、Fab、Fv、scFab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、第2の抗原結合フラグメントは、N末端からC末端にかけて、V_L2、任意のリ

20

ンカー、およびV_H2を含むscFvである。

【0120】

いくつかの実施形態では、第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、および第3のポリペプチドを含む多重特異性抗体が提供され、

(i) 第1のポリペプチドは、式：V_H1-C_H1-ヒンジ-C_H2-第1のC_H3で表される構造を含む；

(ii) 第2のポリペプチドは、式：MP1-V_L2-V_H2-ヒンジ-C_H2-第2のC_H3で表される構造を含む；及び

(iii) 第3のポリペプチドは、式：V_L1-C_Lで表される構造を含む；

ここで、

30

V_L1は、最初の免疫グロブリン軽鎖可変ドメインです；

V_H1は、最初の免疫グロブリン重鎖可変ドメインです；

V_L2は、2番目の免疫グロブリン軽鎖可変ドメインです；

V_H2は2番目の免疫グロブリン重鎖可変ドメインです；

C_Lは免疫グロブリン軽鎖定常ドメインです；

C_H1は免疫グロブリン重鎖定常ドメイン1です；

C_H2は免疫グロブリン重鎖定常ドメイン2です；

最初のC_H3は最初の免疫グロブリン重鎖定常ドメイン3です；

2番目のC_H3は、2番目の免疫グロブリン重鎖定常ドメイン3です；

ヒンジは、C_H1ドメインとC_H2ドメインを接続する免疫グロブリンヒンジ領域

40

です；
MP1は、第1のマスキングペプチドであり、N末端からC末端にかけて、N末端ユニット(NU)、マスキングユニット(MU)、および結合ユニット(LU)を含み、マスキングペプチドのLUは、切断部位を含まないか、または少なくとも1つの切断部位を含みます。

【0121】

いくつかの実施形態では、第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、および第3のポリペプチドを含む多重特異性抗体が提供され、ここで、

(i) 第1のポリペプチドは、式：V_H1-C_H1-ヒンジ-C_H2-第1のC_H3)で表される構造を含む；

(ii) 第2のポリペプチドは、式：MP2-V_L2-V_H2-ヒンジ-C_H2-第2のC_H3で

50

表される構造を含む；及び

(iii) 第3のポリペプチドは、式：MP1-V_L1-C_Lで表される構造を含む；

ここで、

V_L1は、最初の免疫グロブリン軽鎖可変ドメインです；

V_H1は最初の免疫グロブリン重鎖可変ドメインです；

V_L2は、2番目の免疫グロブリン軽鎖可変ドメインです；

V_H2は2番目の免疫グロブリン重鎖可変ドメインです；

C_Lは免疫グロブリン軽鎖定常ドメインです；

C_H1は免疫グロブリン重鎖定常ドメイン1です；

C_H2は免疫グロブリン重鎖定常ドメイン2です；

最初のC_H3は最初の免疫グロブリン重鎖定常ドメイン3です；

2番目のC_H3は、2番目の免疫グロブリン重鎖定常ドメイン3です；

ヒンジは、C_H1ドメインとC_H2ドメインを接続する免疫グロブリンヒンジ領域

です；

MP1はマスキングペプチドであり、N末端からC末端にかけて、N末端ユニット(NU)、マスキングユニット(MU)および結合ユニット(LU)を含み、マスキングペプチドのLUは、切断部位を全く含まないか、少なくとも1つ以上の切断部位を含み得る。

MP2はマスキングペプチドであり、N末端からC末端にかけて、N末端ユニット(NU)、マスキングユニット(MU)および結合ユニット(LU)から構成されます；マスキングペプチドのLUには切断部位が含まれないか、または少なくとも1つの切断部位が含まれます。

【0122】

いくつかの実施形態では、二重特異性抗体は第1および第2の標的に結合し、第1の標的はCD28であり、二重特異性抗体は、配列番号5、15、24、33、43、66、88、103、111、126、134、148、および161からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むHCDR1と；配列番号6、51、58、67、89、96、104、および155からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むHCDR2と；および配列番号7、16、25、35、44、52、59、81、90、97、105、112、119、127、135、141、149、および162から選択されるアミノ酸配列を含むHCDR3；および配列番号8、17、26、36、45、53、60、76、82、91、98、106、113、120、128、136、142、150、156、および163からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むLCDR1；配列番号9、18、27、37、および300からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むLCDR2；および配列番号10、19、28、38、46、61、70、83、114、121、129、143、および164からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含む。いくつかの実施形態では、二重特異性抗体は、第1および第2の標的に結合し、第1の標的はヒトCD28であり、二重特異性抗体は、配列番号11、20、29、39、47、54、62、71、77、84、92、99、107、115、122、130、137、144、151、157、および165からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号12、21、30、40、48、55、63、72、78、85、93、100、108、116、123、131、138、145、152、158及び166からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む。

【0123】

いくつかの実施形態では、二重特異性抗体は第1および第2の標的に結合し、第1の標的はCD28であり、第2の標的はB7H3であり、二重特異性抗体は、配列番号11、12、および171からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むCD28結合部分を含み、二重特異性抗体は、配列番号176に記載のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号175に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。特定の実施形態では、二重特異性抗体は、第1および第2の標的に結合し、第1の標的はCD28であり、第2の標的はB7H3であり、二重特異性抗体は、配列番号171に記載のアミノ酸配列を含む重鎖、第2である配列番号1176に記載のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号175に記載のアミノ酸配

10

20

30

40

50

列を含む軽鎖とを含む。

【0124】

いくつかの実施形態では、二重特異性抗体は第1および第2の標的に結合し、第1の標的はCD28であり、第2の標的はHER2であり、二重特異性抗体は配列番号172に記載のアミノ酸配列を含むCD28結合部分を含み、二重特異性抗体は配列番号170に記載のアミノ酸を含む重鎖と、配列番号169に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。特定の実施形態では、二重特異性抗体は第1および第2の標的に結合し、第1の標的はCD28であり、第2の標的はHER2であり、二重特異性抗体は、配列番号172に記載のアミノ酸配列を含む重鎖、配列番号170に記載のアミノ酸配列を含む第2の重鎖、および配列番号169に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

10

【0125】

いくつかの実施形態では、二重特異性抗体は第1および第2の標的に結合し、第1の標的はCD28であり、第2の標的はHER2であり、二重特異性抗体は、配列番号11、12、171に記載のアミノ酸配列を含むCD28結合部分、配列番号170に記載のアミノ酸を含む重鎖、および配列番号169に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。特定の実施形態では、二重特異性抗体は第1および第2の標的に結合し、第1の標的はCD28であり、第2の標的はHER2であり、二重特異性抗体は、配列番号171に記載のアミノ酸配列を含む重鎖、配列番号170に記載のアミノ酸配列を含む第2の重鎖、および配列番号169に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

20

【0126】

いくつかの実施形態では、二重特異性抗体は第1および第2の標的に結合し、第1の標的はヒトCD28であり、第2の標的はTROP2であり、二重特異性抗体は、配列番号13、14、および171からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むCD28結合部分を含み、二重特異性抗体は、配列番号174に記載のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号173に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。特定の実施形態では、二重特異性抗体は第1および第2の標的に結合し、第1の標的はCD28であり、第2の標的はTROP2であり、二重特異性抗体は、配列番号171に記載のアミノ酸配列を含む重鎖、配列番号174に記載のアミノ酸配列を含む第2の重鎖、および配列番号173に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

30

【0127】

特定の実施形態では、二重特異性抗体は第1および第2の標的に結合し、第1の標的はCD3であり、第2の標的はB7-H3であり、二重特異性抗体は、配列番号177に記載のアミノ酸配列を含む重鎖または配列番号299に記載のscFv融合ポリペプチド、配列番号176に記載のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号175に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0128】

特定の実施形態では、二重特異性抗体は第1および第2の標的に結合し、第1の標的はCD3であり、第2の標的はTROP2である。

【0129】

いくつかの実施形態では、二重特異性抗体は第1および第2の標的に結合し、第1の標的はヒトCD28であり、二重特異性抗体は、配列番号13、22、31、41、49、56、64、73、79、86、94、101、109、117、124、141、132、139、146、153、159、および167からなる群から選択される重鎖アミノ酸配列と、配列番号14、23、32、42、50、57、65、74、80、87、95、102、110、118、125、142、133、140、147、154、160、および168からなる群から選択される軽鎖アミノ酸配列とを含む。

40

【0130】

V. マスクされた抗体

いくつかの実施形態では、本開示は、特定の標的に対するマスクされたモノクローナル抗体、または多重特異性（例えば、二重特異性）抗体であり得るマスクされた抗体を提供

50

する。いくつかの実施形態では、本明細書で提供されるマスクされた抗体は、全長抗体軽鎖、例えば、カップ軽鎖またはラムダ軽鎖を含む。さらに、または代替的に、いくつかの実施形態では、抗体は全長抗体重鎖を含む。抗体重鎖は、IgG、IgM、IgE、IgA、またはIgDなどの任意のクラスにあってもよい。いくつかの実施形態では、抗体重鎖は、IgG₁、IgG₂、IgG₃、またはIgG₄サブクラスなどのIgGクラスにある。本明細書に記載の抗体重鎖は、あるクラスまたはサブクラスから別のクラスまたはサブクラスに変換することができる。当該技術分野で既知の方法。いくつかの実施形態では、マスクされた抗体は、Fc領域、例えばヒトFc領域またはその変異体を含む全長抗体であるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、ヒトFc領域は、ヒトIgG₁Fc領域、ヒトIgG₂Fc領域、ヒトIgG₄Fc領域、または前述のいずれかの変異体である。いくつかの実施形態では、変異型Fc領域は、変異型が由来する野生型ヒトFc領域と比較して、1つ以上のアミノ酸の置換、挿入、または欠失を含む。いくつかの実施形態では、マスクされた抗体は、ヒトIgG₁Fc領域の変異体を含む。いくつかの実施形態では、IgG₁Fc変異体は、Fc変異体のFcγRIIbに対する親和性を高める1つ以上のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、ヒトIgG₁Fc領域の変異体は、G236D、L328F、S239D、S267E、G236DおよびS267E、S239DおよびS267E、S267EおよびL328S、およびS267EおよびL328Fからなる群から選択される置換を含み、アミノ酸番号付けはEUインデックスに従っている。(例えば、Edelmanら、Proc Natl Acad Sci USA (1969) 63: 78-85を参照)。前述の置換については、Chu et al. モルイミュノール、(2008) 45 (15): 3926-33。さらに、またはあるいは、いくつかの実施形態では、ヒトIgG₁Fc領域の変異体は、E233DおよびP238D；G237DおよびP238D；H268DおよびP238D；P271GおよびP238D；A330RおよびP238D；E233D、P238D、およびA330R；E233D、P231G、P238D、およびA330R；G237D、H268D、P238D、およびP271G；G237D、P238D、P271G、およびA330R；E233D、H268D、P238D、P271G、およびA330R；G237D、H268D、P238D、P271G、およびA330R；およびE233D、G237D、P238D、H268D、P271G、およびA330Rからなる群から選択される置換を含み、アミノ酸番号付けはEUインデックスに従っている。前述の置換については、Mimoto et al. タンパク質工学の選択、(2013) 26 (10): 589-98。さらに、または代替的に、いくつかの実施形態では、ヒトIgG₁Fc領域の変異体はS2657A置換を含む (Buschor et al. Int Arch Allergy Immunol. (2014) 163 (3): 206-14)、アミノ酸番号はEUインデックスに従う。さらに、または代替的に、いくつかの実施形態では、ヒトIgG₁Fc領域の変異体は、T437Rおよび/またはK248E置換を含む (Zhang et al. MAbs. (2017) 9 (7): 1129-1142)、アミノ酸番号はEUインデックスに従う。いくつかの実施形態では、マスクされた抗体は、ヒトIgG₄Fc領域の変異体を含む。いくつかの実施形態では、IgG₄Fc変異体は、Fc変異体のFcγRIIbに対する親和性を高める1つ以上のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、ヒトIgG₄Fc領域の変異体は、G236D、L328F、S239D、S267E、G236DおよびS267E、S239DおよびS267E、S267EおよびL328S、およびS267EおよびL328Fからなる群から選択される置換を含む。ここで、アミノ酸番号はEUインデックスに従う。さらに、または代替的に、いくつかの実施形態では、ヒトIgG₄Fc領域の変異体はE233DおよびP238D；G237DおよびP238D；H268DおよびP238D；P271GおよびP238D；A330RおよびP238D；E233D、P238D、およびA330R；E233D、P231G、P238D、およびA330R；G237D、H268D、P238D、およびP271G；G237D、P238D、P271G、およびA330R；E233D、H268D、P238D、P271G、およびA330R；G237D、H268D、P238D、P271G、およびA330R；およびE233D、G237D、P238D、H268D、P271G、およびA330RおよびK248Eからなる群から選択される置換を含み、アミノ酸番号付けはEUインデックスに従っている。さらに、または代替的に、いくつかの実施形態では、ヒトIgG₄Fc領域の変異体はS2657A置換を含み、アミノ酸番号はEUインデックスに従う。さらに、または代替的に、いくつかの実施形態では、ヒトIgG₁Fc領域の変異体は、T437Rおよび/またはK248E置換を含み、アミノ酸番号はEUインデックスに従う。

10

20

30

40

50

【0131】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるマスクされた抗体は、さらに、ヒトIgG₁ドメインまたは1つ以上の置換変異を含むその変異体を含む。いくつかの実施形態では、IgG₁変異体は、G236D；L328F；S239D；S267E；G236DおよびS267E；S239DおよびS267E；S267EおよびL328S；およびS267EおよびL328F；E233DおよびP238D；G237DおよびP238D；H268DおよびP238D；P271GおよびP238D；A330RおよびP238D；E233D、P238D、およびA330R；E233D、P231G、P238D、およびA330R；G237D、H268D、P238D、およびP271G；G237D、P238D、P271G、およびA330R；E233D、H268D、P238D、P271G、およびA330R；G237D、H268D、P238D、P271G、およびA330R；S2657A；T437R；K248E；およびT437RおよびK248Eからなる群から選択される置換を含む、ここで、アミノ酸番号はEUIンデックスに従う。いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるマスクされた抗体は、ヒトIgG₄ドメインまたは1つ以上の置換変異を含むその変異体をさらに含む。いくつかの実施形態では、IgG₄変異体は、G236D；L328F；S239D；S267E；G236DおよびS267E；S239DおよびS267E；S267EおよびL328S；およびS267EおよびL328F；E233DおよびP238D；G237DおよびP238D；H268DおよびP238D；P271GおよびP238D；A330RおよびP238D；E233D、P238D、およびA330R；E233D、P231G、P238D、およびA330R；G237D、H268D、P238D、およびP271G；G237D、P238D、P271G、およびA330R；E233D、H268D、P238D、P271G、およびA330R；G237D、H268D、P238D、P271G、およびA330R；S2657A；T437R；K248E；およびT437RおよびK248E、からなる群から選択される置換を含む、ここで、アミノ酸番号はEUIンデックスに従う。

10

20

【0132】

いくつかの実施形態では、「マスクされた抗体」という用語は、抗体フラグメント、例えば、マスクされた抗CD28抗体のマスクされた抗原結合フラグメントを指す。いくつかの実施形態では、抗体フラグメントは、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab)₂、Fv、scFv (Birdら、(1988)サイエンス242: 423-426およびHuston et al. (1988)プロセス国立アカデミー科学。USA 85: 5879-5883)、(scFv)₂、直鎖抗体、単鎖抗体、ミニボディ、またはダイアボディ。

30

【0133】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のマスクされた抗CD28抗体は、異なる種のCD28と交差反応し、したがって、マスクされた抗CD28抗体を前臨床研究および臨床試験の両方で使用することを可能にする。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のマスクされた抗CD28抗体は、活性化後（すなわち、マスクされた抗体の切断、例えばプロテアーゼ切断による活性化後）、ヒトCD28、カニクイザルCD28、マウスCD28、および／またはラットCD28のうちの2つ以上に結合する。いくつかの実施形態では、マスクされた抗CD28抗体は、活性化後（すなわち、マスクされた抗体の切断、例えばプロテアーゼ切断による活性化後）に、ヒトCD28、カニクイザルCD28、マウスCD28、およびラットCD28に結合する。

40

【0134】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のマスクされた抗CD28抗体は、状況依存的である（例えば、特定の状況（プロテアーゼに富む腫瘍微小環境など）においてのみ活性化される（標的に結合することができる）。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のマスクされた抗CD28抗体は、より伝統的な非マスク抗体よりも安全性が向上しています（例えば、毒性が低下し、多くの臓器の重量に大きな変化をもたらさず、肝臓の組織病理学、血液学、および／または血液生化学を変化させないなど）。）。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のマスクされた抗CD28抗体は、従来の非マスク抗CD28抗体と同様の薬物動態特性を示す（例えば、同様の生体内半減期を有する）。いくつかの実施形態で

50

は、本明細書に記載のマスクされた抗CD28抗体は、より伝統的な非マスク抗CD28抗体と比較して、改善された薬物動態特性を示す（例えば、生体内半減期が長い）。

【0135】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のマスクされた抗CD28抗体の抗体重鎖可変領域（V_H）および抗体軽鎖可変領域（V_L）は、hCD28に結合する抗原結合ドメイン（ABD）を形成する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のマスクされた抗CD28抗体のマスキングユニット（MU）は、hCD28のABDに結合し、MUを欠く対応する抗CD28抗体のhCD28への結合と比較して、および/またはABDのhCD28への結合と比較して、マスクされた抗CD28抗体のhCD28への結合を減少または阻害する。

【0136】

いくつかの実施形態では、マスキングユニット（MU）は、本明細書で提供されるマスキングされた抗体からMUを除去する前に、少なくとも約2.0（例えば、少なくとも約2.0、少なくとも約3.0、少なくとも約4.0、少なくとも約5.0、少なくとも約6.0、少なくとも約7.0、少なくとも約8.0、少なくとも約9.0、少なくとも約10、少なくとも約25、少なくとも約50、少なくとも約75、少なくとも約100、少なくとも約150、少なくとも約200、少なくとも約300、少なくとも約400、少なくとも約500、少なくとも約600、少なくとも約700、少なくとも約800、少なくとも約900、少なくとも約1,000、少なくとも約1,100、少なくとも約1,200、少なくとも約1,300、少なくとも約1,400、少なくとも約1,500など、これらの値の間の任意の範囲を含む）を測定する。例えば、いくつかの実施形態では、マスクされた抗CD28抗体のマスキング効率、マスキングユニット（MU）を含むマスキングされた抗CD28抗体のhCD28への結合親和性（すなわち、マスクされた抗体の活性化前）と、MUを欠く抗CD28抗体のhCD28への結合親和性の差として測定される。さらなる例では、マスキング効率は、MUを含むマスクされた抗CD28抗体のhCD28に対する親和性（すなわち、切断、例えばプロテアーゼ切断によるマスクされた抗体の活性化前）と、マスクされていない抗CD28抗体のhCD28に対する親和性（すなわち、切断、例えばプロテアーゼ切断によるマスクされた抗体の活性化後）の差として測定される。いくつかの実施形態では、マスキング効率は、MUを含むマスキングされた抗体の結合に関するEC₅₀（すなわち、活性化前）を、マスキングペプチドまたはマスキングユニットを欠く同じターゲットに特異的な対応する抗体のEC₅₀で割ることによって測定される。いくつかの実施形態では、EC₅₀はELISAによって測定される。いくつかの実施形態では、マスクされた抗体のマスキングユニット（MU）はABDに結合し、マスクされたポリペプチドがその標的に結合するのを防ぐ。特定の実施形態では、標的はCD28である。他の実施形態では、標的は、CD3、B7-H3、HER2、またはTROP2である。

【0137】

いくつかの実施形態では、マスキングペプチドまたはマスキングユニットのない対応する抗体と比較して、マスキングユニットが抗体から除去された場合（例えば、連結ユニット内で切断する1つ以上のプロテアーゼで処理して活性化した後）、少なくとも約10倍、少なくとも約25倍、少なくとも約50倍、少なくとも約75倍、少なくとも約100倍、少なくとも約250倍、少なくとも約500倍、少なくとも約750倍、または少なくとも約1000倍、またはそれ以上（前述の値の間の任意の範囲を含む）の抗体に対する阻害効果が向上する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のマスクされた抗体のEC₅₀は、少なくとも約2倍（例えば、少なくとも約2倍、少なくとも約2.5倍、少なくとも約3倍、少なくとも約3.5倍、少なくとも約4倍、少なくとも約4.5倍、少なくとも約5倍、少なくとも約5.5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約6.5倍、少なくとも約7倍、少なくとも約7.5倍、少なくとも約8倍、少なくとも約8.5倍、少なくとも約9倍、少なくとも約9.5倍、少なくとも約10倍、少なくとも約25倍、少なくとも約50倍、少なくとも約75倍、少なくとも約100倍、少なくとも約250倍、少なくとも約結合単位内で切断する1つ以上のプロテアーゼによる処理による活性化後、結合能は、例えば、ELISAまたはFACSアッセイによって測定されるように、少なくとも約500倍、少なくとも約750倍

、または少なくとも約1000倍、またはそれ以上（前述の値の間の任意の範囲を含む）に向上する。

【0138】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のマスクされた抗体のABDにマスキングユニットが結合している場合、その標的に対する抗体の K_D は、マスクされた抗CD28抗体のマスキングユニットがABDから除去されている場合（例えば、プロテアーゼ処理により標的内で切断された場合）、抗体の K_D よりも約2倍（例えば、約2、約2.5、約3、約3.5、約4、約4.5、約5、約5.5、約6、約6.5、約7、約7.5、約8、約8.5、約9、約9.5、約10、約25、約50、約75、約100、約250、約500、約750、または約1000以上、前述の値の間の任意の範囲を含む）大きい。リンケージユニット。いくつかの実施形態では、マスキングユニットが本明細書に記載のマスキングされた抗体のABDに結合されている場合、その標的に対する抗体の K_D は、マスキングペプチドまたはマスキングユニットを欠く対応する抗体の K_D の約2倍（例えば、約2、約2.5、約3、約3.5、約4、約4.5、約5、約5.5、約6、約6.5、約7、約7.5、約8、約8.5、約9、約9.5、約10、約25、約50、約75、約100、約250、約500、約750、または約1000以上、前述の値の間の任意の範囲を含む）である。

10

【0139】

いくつかの実施形態では、マスキングユニットは、マスキングされた結合ポリペプチドのその標的への結合を立体的に妨げ、および／または、マスキングされた結合ポリペプチドのその標的への結合をアロステリックに妨げる。

20

【0140】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のマスクされた抗体（例えば、抗CD28）のABDに対するマスキングユニットの解離定数は、その標的（例えば、hCD28；マスクされた抗体がプロテアーゼ処理後などの活性型である場合）に対するマスクされた抗体の解離定数よりも大きい。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のマスクされた抗体（例えば、抗CD28）のABDに対するマスキングユニットの解離定数は、その標的（例えば、hCD28；マスクされた抗体がプロテアーゼ処理後などの活性型である場合）に対するマスクされた抗体の解離定数よりも約2倍（例えば、約2、約2.5、約3、約3.5、約4、約4.5、約5、約5.5、約6、約6.5、約7、約7.5、約8、約8.5、約9、約9.5、約10、約25、約50、約75、約100、約250、約500、約750、または約1000以上、前述の値の間の任意の範囲を含む）大きい。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のマスクされた抗体（例えば、抗CD28）のABDに対するマスキングユニットの解離定数は、その標的（例えば、hCD28；マスクされた抗体がプロテアーゼ処理後などの活性型である場合）に対するマスクされた抗体の解離定数とほぼ等しい。いくつかの実施形態では、マスキングユニット（MU）は、本明細書に記載のマスクされた抗体（例えば、抗CD28）のABDに結合し、マスクされた抗体が活性化されていない場合にのみ（例えば、結合ユニット内で切断する1つ以上のプロテアーゼによる処理によって）、抗体がその標的（例えば、hCD28）に結合するのを防ぎます。いくつかの実施形態では、活性化により、切断部位内でポリペプチドの切断が誘導される。でいくつかの実施形態では、活性化によりポリペプチドの構造変化（例えば、マスキングユニット（MU）の置換）が誘導され、その結果、マスキングペプチドはポリペプチドが標的に結合するのを妨げなくなる。

30

40

【0141】

A. シングルマスク抗体

いくつかの実施形態では、マスキングペプチド（MP）およびCD28に結合する抗体を含むマスクされたモノクローナル抗体が提供され、ここで、抗体は重鎖可変領域（ V_H ）および軽鎖可変領域（ V_L ）を含み、ここで、MPは、 V_L のN末端に連結され、MPは、N末端からC末端にかけて、マスキングユニット（MU）及びリンケージユニット（LU）を含む、ここで、MPは、配列番号215～248からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、ここで、抗体 V_H 領域は、配列番号5、15、24、33、43、66、8

50

8、103、111、126、134、148及び161からなる群から選択されるHCDR1アミノ酸配列；配列番号6、51、58、67、89、96、104及び155からなる群から選択されるHCDR2アミノ酸配列、および配列番号7、16、25、35、44、52、59、81、90、97、105、112、119、127、135、141、149、及び162からなる群から選択されるHCDR3アミノ酸配列；抗体V_L領域は、配列番号8、17、26、36、45、53、60、76、82、91、98、106、113、120、128、136、142、150、156及び163からなる群から選択されるLCDR1アミノ酸配列、配列番号9、18、27、37及び300からなる群から選択されるLCDR2アミノ酸配列、および配列番号10、19、28、38、46、61、70、83、114、121、129、143及び164からなる群から選択されるLCDR3アミノ酸配列を含む。

10

【0142】

いくつかの実施形態では、マスキングペプチド（MP）およびCD28に結合する抗体を含むマスクされたモノクローナル抗体が提供され、ここで、抗体は重鎖可変領域（V_H）および軽鎖可変領域（V_L）を含み、ここで、MPはV_LのN末端に連結され、ここで、MPは、N末端からC末端にかけて、マスキングユニット（MU）および連結ユニット（LU）を含み、ここで、MPは、配列番号215～248からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、ここで、抗体重鎖可変領域は、配列番号11、20、29、39、47、54、62、71、77、84、92、99、107、115、122、130、137、144、151、157、及び165からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、軽鎖可変領域は、配列番号12、21、30、40、48、55、63、72、78、85、93、100、108、116、123、131、138、145、152、158、及び166からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、マスキングペプチド（MP）とヒトCD28に結合する抗体を含むマスクされたモノクローナル抗体が提供され、抗体は重鎖と軽鎖を含む。鎖であり、ここで、MPはLCのN末端に連結され、ここで、MPは、N末端からC末端にかけて、マスキングユニット（MU）および連結ユニット（LU）を含み、ここで、MPは、配列番号215～248からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、ここで、抗体HCは、配列番号13、22、31、41、49、56、64、73、79、86、94、101、109、117、124、141、132、139、146、153、159、及び167からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、ここで、抗体LCは、配列番号14、23、32、42、50、57、65、74、80、87、95、102、110、118、125、142、133、140、147、154、160、及び168からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

20

30

【0143】

B. 単一マスク多重特異性抗体

いくつかの実施形態では、第1および第2の標的に特異的なマスクされた二重特異性モノクローナル抗体も提供され、第1の標的はCD28であり、抗体はマスキングペプチド（MP）およびCD28結合部分を含み、抗体は重鎖可変領域（V_H）および軽鎖可変領域（V_L）を含み、MPはV_LのN末端に連結され、MPはN末端からC末端にかけて、マスキングユニット（MU）および連結ユニット（LU）を含み、MPは配列番号215～248からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、CD28結合部分は配列番号5のHCDR1、配列番号6のHCDR2、および配列番号7のHCDR3を含むH領域を含み、V_L領域は、配列番号8のLCDR1、配列番号9のLCDR2、および配列番号10のLCDR3を含み、第2の標的はB7-H3、HER2、またはTROP2タンパク質である。

40

【0144】

いくつかの実施形態では、第1および第2の標的に特異的なマスクされた二重特異性モノクローナル抗体も提供され、第1の標的はCD28であり、抗体はマスキングペプチド（MP）およびCD28結合部分を含み、抗体は重鎖可変領域（V_H）および軽鎖可変領域（V_L）を含み、MPはV_LのN末端に連結され、MPはN末端からC末端にかけて、マスキングユニット（MU）および連結ユニット（LU）を含み、MPは配列番号215～248からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、CD28結合部分は配列番号

50

11、20、29、39、47、54、62、71、77、84、92、99、107、115、122、130、137、144、151、157、及び165からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む；および配列番号12、21、30、40、48、55、63、72、78、85、93、100、108、116、123、131、138、145、152、158、及び166からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含み、第2の標的はB7-H3、HER2、またはTROP2タンパク質である。

【0145】

C. 二重マスク多重特異性抗体

特定の実施形態では、第1および第2の標的に特異的なマスクされた二重特異性モノクローナル抗体も提供され、第1の標的はCD28であり、第2の標的はHER2、B7-H3、およびTROP2から選択される腫瘍関連抗原であり、抗体は2つのマスキングペプチド(MP)を含む。

【0146】

VI. マスキングペプチド

いくつかの実施形態では、MPはN末端ユニットをさらに含む。いくつかの実施形態では、N末端ユニットの長さは約1~10アミノ酸です。いくつかの実施形態では、N末端ユニットは配列番号210。いくつかの実施形態では、LUは少なくとも第1の切断部位(CS₁) (例えば、第1のプロテアーゼ切断部位) を含む。いくつかの実施形態では、LUは第2の切断部位(CS₂) をさらに含む。いくつかの実施形態では、第1切断部位および／または第2の切断部位はプロテアーゼ切断部位である。いくつかの実施形態では、第1の切断部位と第2の切断部位は同じである。いくつかの実施形態では、第1及び第2の切断部位が異なる。当該技術分野で既知の任意のプロテアーゼ (例えば、切断部位を含むポリペプチドの標的と共局在することが知られているプロテアーゼ) により認識及び／または切断される任意の好適なプロテアーゼ切断部位が使用されてもよく、これは、例えば、ウロキナーゼ型プラスミノゲンアクチベーター(uPA) により認識及び／または切断されるプロテアーゼ切断部位；マトリックスメタロプロテイナーゼ (例えば、MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-7、MMP-8、MMP-9、MMP-10、MMP-11、MMP-12、MMP-13、MMP-14、MMP-15、MMP-16、MMP-17、MMP-19、MMP-20、MMP-23、MMP-24、MMP-26、及び／またはMMP-27) ；タバコエッチウイルス(TEV) プロテアーゼ；プラスミン；トロンビン；PSA；PSMA；ADAMS/ADAMTS (例えば、ADAM8、ADAM9、ADAM10、ADAM12、ADAM15、ADAM17/TACE、ADAMDECI、ADAMTSI、ADAMTS4、及び／またはADAMTS5) ；カスパーゼ (例えば、カスパーゼ-1、カスパーゼ-2、カスパーゼ-3、カスパーゼ-4、カスパーゼ-5、カスパーゼ-6、カスパーゼ-7、カスパーゼ-8、カスパーゼ-9、カスパーゼ-10、カスパーゼ-11、カスパーゼ-12、カスパーゼ-13、及び／またはカスパーゼ-14) ；アスパラギン酸プロテアーゼ (例えば、RACE及び／またはレニン) ；アスパラギン酸カテプシン (例えば、カテプシンD及び／またはカテプシンE) ；システインカテプシン (例えば、カテプシンB、カテプシンC、カテプシンK、カテプシンL、カテプシンS、カテプシンV/L2、及び／またはカテプシンX/Z/P) ；システインプロテイナーゼ (例えば、クルジパイン、レグマイン、及び／またはオツバイン-2) ；KLK (例えば、KLK4、KLK5、KLK6、KLK7、KLK8、KLK10、KLK11、KLK13、及び／またはKLK14) ；メタロプロテイナーゼ (例えば、メブリン、ネプリライシン、PSMA、及び／またはBMP-1) ；セリンプロテアーゼ (例えば、活性化プロテインC、カテプシンA、カテプシンG、キマーゼ、及び／または凝固因子プロテアーゼ (例えば、FVIIa、FIXa、FXa、FXLa、FXIIa)) ；エラスターゼ；グランザイムB；グアニジノベンゾアターゼ；HtrAl；ヒト好中球エラスターゼ；ラクトフェリン；マラプシン；NS3/4A；PACE4；tPA；トリプターゼ；II型膜貫通セリンプロテアーゼ(TTSP) (例えば、DESC1、DPP-4、FAP、ヘプシン、マトリプターゼ-2、MT-SP1/マトリプタ

10

20

30

40

50

ーゼ、TMPRSS2、TMPRSS3、及び／またはTMPRSS4)等を含む。いくつかの実施形態では、第1のプロテアーゼ切断部位は、uPA、MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-8、MMP-9、MMP-14、TEVプロテアーゼ、プラスミン、トロンビン、第X因子、PSA、PSMA、カテプシンD、カテプシンK、カテプシンS、ADAM10、ADAM12、ADAMTS、カスパーゼ1、カスパーゼ2、カスパーゼ3、カスパーゼ4、カスパーゼ5、カスパーゼ6、カスパーゼ7、カスパーゼ8、カスパーゼ9、カスパーゼ10、カスパーゼ11、カスパーゼ12、カスパーゼ13、カスパーゼ14、及びTACEから選択されるプロテアーゼの切断部位である。いくつかの実施形態では、第1のプロテアーゼ切断部位は、uPA、MMP-2、MMP-9、及び／またはTEVプロテアーゼから選択されるプロテアーゼの切断部位である。

10

【0147】

いくつかの実施形態では、LUは、第1のリンカー(L₁)をさらに含む。いくつかの実施形態では、第1のリンカー(L₁)は、第1の切断部位(CS₁) (例えば、第1のプロテアーゼ切断部位)のC末端にある。いくつかの実施形態では、LUは、N末端からC末端にかけて、(CS₁)-L₁の構造を含む。いくつかの実施形態では、LUは第2のリンカー(L₂)をさらに含む。いくつかの実施形態では、L₂は第2の切断部位のC末端にあります。いくつかの実施形態では、LUは、N末端からC末端にかけて、(CS₁)-L₁-(CS₂)-L₂の構造を含む。いくつかの実施形態では、L₁およびL₂は、当技術分野で既知の任意の適切なリンカー (例えば、フレキシブルリンカー) であり、例えば、グリシンポリマー (G)_n (ここで、nは、少なくとも1の整数 (例えば、少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10など) である) ; グリシン-セリンポリマー (GS)_n (ここで、nは、少なくとも1の整数 (例えば、少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10など) である) 、例えば配列番号249~257; グリシン-アラニンポリマー; アラニン-セリンポリマー等。リンカー配列は、約1アミノ酸 (例えば、グリシンまたはセリン) から約20アミノ酸 (例えば、20アミノ酸グリシンポリマーまたはグリシン-セリンポリマー) 、約1アミノ酸から約15アミノ酸、約3アミノ酸から約12アミノ酸、約4アミノ酸から約10アミノ酸、約5アミノ酸から約9アミノ酸、約6アミノ酸から約8アミノ酸など、任意の長さであってもよい。いくつかの実施形態では、リンカーは、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20アミノ酸の長さのいずれかである。

20

30

【0148】

いくつかの実施形態では、LUは、配列番号213および213からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、マスキングペプチド(MP)は、N末端からC末端にかけて、(MU)-(LU)の構造を含み、ここで、LUは、(CS₁)-L₁または(CS₁)-L₁-(CS₂)-L₂の構造を含む。いくつかの実施形態では、本開示のマスキングペプチドは、配列番号215~248からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

40

【0149】

いくつかの実施形態では、マスキングペプチド(MP)は、配列番号178~211のいずれか1つに記載のMUと、配列番号213または214に記載のLUとを含む。いくつかの実施形態では、MPは、配列番号215~248のいずれか1つに記載の配列を含む。

【0150】

VII. 抗体産生

本開示の別の態様は、マスクされた抗CD28抗体を含む、本明細書に記載される抗CD28抗体のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む1つ以上の単離された核酸分子を提供する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される多重特異性抗体 (マスクされた多重特異性抗体を含む) のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む1つ

50

以上の単離された核酸分子が本明細書に提供される。ヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列は、CDR、1つ、2つ、または3つのCDRを含む配列、重鎖の可変領域、軽鎖の可変領域など、本明細書に記載される抗体の任意の部分であり得、または全長重鎖または全長軽鎖であり得る。本開示の核酸は、例えば、DNAまたはRNAであり得、イントロン配列を含んでも含まなくてもよい。通常、核酸はcDNA分子です。本開示の核酸は、例えば、DNAまたはRNAであり得、イントロン配列を含んでも含まなくてもよい。通常、核酸はcDNA分子です。

【0151】

いくつかの実施形態では、本開示は、例えば、本明細書に記載される抗体の重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域、または例えば、本明細書に記載される抗体の全長重鎖および／または全長軽鎖のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含むか、またはそれからなる単離された核酸分子を提供する。

【0152】

本発明の核酸は、PCR増幅またはcDNAクローニング技術などの任意の適切な分子生物学技術を使用して得ることができる。抗体の場合ライブラリスクリーニングによって得られた抗体をコードする核酸をライブラリから回収することができる。

【0153】

V_H領域をコードする単離されたDNAは、V_HをコードするDNAを、重鎖定常領域(C_H1、C_H2、及びC_H3)をコードする別のDNA分子に作動可能に連結することによって、完全長重鎖遺伝子に変換され得る。ヒト重鎖定常領域遺伝子の配列は、当該技術分野で公知であり(例えば、Kabat et al. (1991) Sequence of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242を参照されたい)、これらの領域を包含するDNAフラグメントは、標準的なPCR増幅によって取得され得る。重鎖定常領域はIgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA、IgE、IgM、またはIgD定常領域であり得るが、最も好ましくはADCC効果のないIgG₄またはIgG₂定常領域である。IgG₄定常領域配列は、異なる個体間で生じることが知られている様々な対立遺伝子またはアロタイプのいずれかであり得る。これらのアロタイプは、IgG₄定常領域に天然に存在するアミノ酸置換を表す。Fabフラグメント重鎖遺伝子の場合、V_HをコードするDNAは、重鎖C_H1定常領域のみをコードする別のDNA分子に作動可能に連結され得る。

【0154】

V_L領域をコードする単離されたDNAは、V_LをコードするDNAを、軽鎖定常領域、C_Lをコードする別のDNA分子に作動可能に連結することによって、完全長軽鎖遺伝子に変換され得る。ヒト軽鎖定常領域遺伝子の配列は、当該技術分野で公知であり(例えば、Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242を参照されたい)、これらの領域を包含するDNAフラグメントは、標準的なPCR増幅によって取得され得る。軽鎖定常領域は、カッパまたはラムダ定常領域であり得る。

【0155】

s c F v 遺伝子を作製するために、V_H及びV_LをコードするDNA断片は、V_H及びV_L配列が、可撓性リンカーによって結合されたV_L及びV_H領域を有する連続した一本鎖タンパク質として発現され得るように、可撓性リンカーをコードする、例えば、アミノ酸配列(Gly₄-Ser)₃をコードする別の断片と動作可能に連結される(例えば、Bird et al., Science (1988) 242:423-426、Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1988) 85:5879-83、及びMcCafferty et al., Nature (19

90) 348:552-554を参照)。

【0156】

本発明はさらに、本発明によって提供される1つ以上の核酸分子を含むベクターを提供する。いくつかの実施形態では、ベクターは、本明細書に記載される抗体またはそのような抗体の抗原結合フラグメントの発現に有用な発現ベクターである。いくつかの実施形態では、第1のベクターが本明細書に記載の重鎖可変領域をコードするポリヌクレオチド配列を含み、第2のベクターが本明細書に記載の軽鎖可変領域をコードするポリヌクレオチド配列を含むベクターが本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、単一ベクターは、本明細書に記載の重鎖可変領域及び本明細書に記載の軽鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドを含む。

10

【0157】

本開示の結合分子を発現させるために、部分長または完全長軽鎖及び重鎖をコードするDNAは、DNA分子が転写及び翻訳制御配列に動作可能に連結されるように発現ベクターに挿入される。この文脈では、「動作可能に連結される」という用語は、ベクター内の転写及び翻訳制御配列が、DNA分子の転写及び翻訳を調節する意図された機能を果たすように、抗体遺伝子がベクターにライゲーションされることを意味する。発現ベクター及び発現制御配列は、使用する発現宿主細胞と適合するように選択される。抗体軽鎖遺伝子及び抗体重鎖遺伝子は、別個のベクターに挿入することができるか、または両方の遺伝子を同じ発現ベクターに挿入することができる。抗体遺伝子は、任意の好適な方法（例えば、抗体遺伝子断片及びベクター上の相補的制限部位のライゲーション、または相同組換えベースのDNAライゲーション）によって発現ベクターに挿入される。本明細書に記載の抗体の軽鎖及び重鎖可変領域を使用して、所望のアイソタイプ及びサブクラスの重鎖定常領域及び軽鎖定常領域をすでにコードしている発現ベクターに、V_Hセグメントがベクター内のC_Hセグメント（複数可）に動作可能に連結され、V_Lセグメントがベクター内のC_Lセグメントに動作可能に連結されるようにそれらを挿入することによって、任意の抗体アイソタイプ及びサブクラスの完全長抗体遺伝子を作成することができる。さらにはまたはあるいは、組換え発現ベクターは、宿主細胞からの抗体鎖の分泌を促進するシグナルペプチドをコードすることができる。抗体鎖遺伝子は、シグナルペプチドが抗体鎖遺伝子のアミノ末端にインフレームで連結されるように、ベクターにクローニングすることができる。シグナルペプチドは、免疫グロブリンシグナルペプチドまたは異種シグナルペプチド（すなわち、非免疫グロブリンタンパク質由来のシグナルペプチド）であり得る。

20

30

【0158】

抗体鎖遺伝子に加えて、本開示の発現ベクターは、典型的には、宿主細胞における抗体鎖遺伝子の発現を制御する制御配列を担持する。「調節配列」という用語は、抗体鎖遺伝子の転写または翻訳を制御する、プロモーター、エンハンサー、及び他の発現制御要素（例えば、ポリアデニル化シグナル）を含むように意図されている。このような調節配列は、例えば、Goeddel (Gene Expression Technology. Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990)) に説明されている。調節配列の選択を含む発現ベクターの設計が、形質転換される宿主細胞の選択、所望のタンパク質の発現レベルなどといった因子に依存し得ることは、当業者により理解されるであろう。哺乳動物宿主細胞発現のための調節配列の例としては、サイトメガロウイルス (CMV)、シミアンウイルス40 (SV40)、アデノウイルス（例えば、アデノウイルス主要後期プロモーター (AdMLP)）、及びポリオーマに由来するプロモーター及び／またはエンハンサーなどの哺乳動物細胞における高レベルのタンパク質発現を指示するウイルス要素が挙げられる。あるいは、ユビキチンプロモーターまたはβ-グロビンプロモーターなどの非ウイルス性調節配列が使用され得る。またさらに、調節要素は、SV40初期プロモーターからの配列及びヒトT細胞白血病ウイルス1型の長末端反復配列を含有するSRプロモーターシステムなどの様々な源からの配列で構成されている (Takebe, Y. et al. Mol. Cell. Biol. (1988) 8:466-72)。

40

50

【0159】

抗体鎖遺伝子および調節配列に加えて、発現ベクターは、エンハンサー要素、転写終結配列、宿主細胞内でのベクターの複製を調節する配列（複製起点など）、および選択マーカー遺伝子などの追加の配列を運ぶことができる。選択可能なマーカー遺伝子は、ベクターが導入された宿主細胞の選択を容易にする（例えば、全て *Axelet al.* による、米国特許第 4,399,216 号、米国特許第 4,634,665 号、及び米国特許第 5,179,017 号を参照されたい）。例えば、典型的には、選択可能なマーカー遺伝子は、ベクターが導入された宿主細胞に、G418、ハイグロマイシン、またはメトトレキサートなどの薬物に対する耐性を付与する。選択可能なマーカー遺伝子には、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（DHFR）遺伝子（メトトレキサート選択／増幅を伴う *dhfr* 宿主細胞で使用するため）及び *neo* 遺伝子（G418 選択のため）が含まれる。

10

【0160】

軽鎖及び重鎖の発現のために、重鎖及び軽鎖をコードする発現ベクター（複数可）は、任意の適切な技術によって宿主細胞にトランスフェクトされる。「トランスフェクション」という用語の様々な形態は、外因性 DNA を原核生物または真核生物の宿主細胞に導入するために一般的に使用される多種多様な技術、例えばエレクトロポレーション、リン酸カルシウム沈殿、DEAE-デキストラントランスフェクションなどを包含することを意図している。本明細書に記載の抗体は、原核生物または真核生物の宿主細胞のいずれかで発現することが可能ですが、真核生物細胞、例えば哺乳動物宿主細胞での抗体の発現が最も一般的です。

20

【0161】

本発明はさらに、本発明によって提供される核酸分子またはベクターを含む宿主細胞を提供する。宿主細胞は、発現ベクターが利用可能な事実上、いずれの細胞であってもよい。それは、例えば、哺乳動物細胞などの高等真核宿主細胞、酵母細胞などの低等真核宿主細胞であってもよく、細菌細胞などの原核細胞であってもよい。組換え核酸コンストラクトの宿主細胞への導入は、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE、デキストラン媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、またはファージ感染により達成され得る。

【0162】

形質転換に好適な原核生物宿主としては、*E. coli*、*Bacillus subtilis*、*Salmonella typhimurium*、ならびに *Pseudomonas*、*Streptomyces*、及び *Staphylococcus* 属内の様々な種が挙げられる。

30

【0163】

本開示の結合分子を発現するための哺乳動物宿主細胞には、例えば、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞（例えば、*Kaufman and Sharp, J. Mol. Biol.* (1982) 159:601-21 に記載されるように、DHFR と共に使用される、*Urlaub and Chasin, Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1980) 77:4216-20 に記載される、*dhfr-CHO* 細胞を含む）、NS0 骨髓腫細胞、COS 細胞及び Sp2 細胞が含まれる。特に、NS0 骨髓腫または CHO 細胞で使用するための別の発現系は、WO87/04462、WO89/01036、及び EP338841 に開示されている GS（グルタミンシンテターゼ）遺伝子発現系である。

40

【0164】

本発明の抗体（またはその抗原結合フラグメント）は、当該技術分野で既知の任意の手段によって製造することができる。抗体製造のための例示的な技術は米国特許第 4,816,567 号に記載されていますが、これらの例示的な技術は説明目的のみで提供されており、限定するものではありません。本明細書に記載の抗体をコードする核酸または発現ベクターが宿主細胞に導入されると、宿主細胞内で抗体が発現するか、または宿主細胞が増殖する培養培地に抗体が分泌されるのに十分な期間、宿主細胞を培養することによって、抗

50

体が生成される。したがって、いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体を産生する方法が提供され、この方法は、抗体（例えば、上記で提供されたもの）をコードする1つ以上の核酸またはベクターを含む宿主細胞を、抗体の発現に適した条件下で培養することを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、抗体を宿主細胞（または宿主細胞培養培地）から回収することをさらに含む。抗体は、任意の適切なタンパク質精製方法を使用して培養培地から回収できます。

【0165】

VIII. 医薬組成物

いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書に記載される1つ以上の抗体を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物は本明細書に記載の抗体および薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。組成物は、当該技術分野で知られている従来の方法によって調製することができる。

10

【0166】

「薬学的に許容される担体」という用語は、ポリペプチド（例えば、本明細書に記載の抗体）の送達のための製剤における使用に好適な任意の不活性物質を指す。担体は、付着防止剤、結合剤、コーティング、崩壊剤、充填剤または希釈剤、保存剤（抗酸化剤、抗菌剤、または抗真菌剤など）、甘味料、吸収遅延剤、湿潤剤、乳化剤、緩衝剤などであり得る。好適な薬学的に許容される担体の例としては、水、エタノール、ポリオール（グリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなど）、ブドウ糖、植物油（オリーブオイルなど）、生理食塩水、緩衝液、緩衝生理食塩水、ならびに糖類、多価アルコール、ソルビトール、及び塩化ナトリウムなどの等張剤が挙げられる。

20

【0167】

組成物は、液体、半固体、及び固体剤形などの任意の好適な形態であり得る。液体剤形の例としては、溶液（例えば、注射及び注入可能な溶液）、マイクロエマルジョン、リポソーム、分散液、または懸濁液が挙げられる。固体剤形の例としては、錠剤、丸剤、カプセル、マイクロカプセル、及び散剤が挙げられる。本明細書に記載のを送達するのに好適な組成物の特定の形態は、注射もしくは注入のための溶液、懸濁液、または分散液などの滅菌液体である。滅菌溶液は、適切な担体中に必要量の抗体を組み込み、続いて滅菌精密濾過することによって調製することができる。分散液は抗体を、基本的な分散媒及び他の担体を含有する滅菌ビヒクルに組み込むことによって調製される。滅菌液体の調製のための滅菌散剤の場合、調製方法は、活性成分に、その事前に滅菌濾過された溶液からの任意の追加の所望の成分を添加した散剤を得るための、真空乾燥及びフリーズドライ（凍結乾燥）を含む。組成物の様々な剤形は、当該技術分野で既知の従来の技法によって調製することができる。

30

【0168】

組成物中に含まれる抗体の相対量は、使用される特定のポリペプチド及び担体、剤形、ならびに所望の放出及び薬力学的特性などの多くの要因に応じて異なるであろう。単一剤形中の抗体の量は、一般的に治療効果をもたらす量であるが、より少ない量であってもよい。一般的に、この量は、剤形の総重量に対して、約0.01パーセント～約99パーセント、約0.1パーセント～約70パーセント、または約1パーセント～約30パーセントの範囲である。

40

【0169】

本明細書に記載の抗体に加えて、1つ以上の追加の治療剤が組成物に含まれていてもよい。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの追加の治療剤は、ウイルス遺伝子治療、免疫チェックポイント阻害剤、標的療法、放射線療法、及び化学療法からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの追加の治療剤は、ポマリスト、レブラミド、レナリドミド、ボマリドミド、サリドマイド、DNAアルキル化白金含有誘導体、シスプラチン、5-フルオロウラシル、シクロホスファミド、抗CTLA4抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗CD20抗体、抗CD40抗体、抗DR5抗体、抗CD1d抗体、抗TIM3抗体、抗SLAMF7抗体、抗KIR受容体抗体、抗OX40抗

50

体、抗HER2抗体、抗ErbbB-2抗体、抗EGFR抗体、セツキシマブ、リツキシマブ、トラスツズマブ、ペムブロリズマブ、放射線療法、単回放射線、分割放射線、焦点放射線、全臓器放射線、IL-12、IFN α 、GM-CSF、キメラ抗原受容体、養子移入T細胞、抗がんワクチン、及び腫瘍溶解性ウイルスからなる群から選択される。組成物に含まれるべき追加の治療剤の好適な量は、当業者によって容易に選択することができ、使用される特定の薬剤及び担体、剤形、ならびに所望の放出及び薬力学的特性などの多くの要因に応じて異なるであろう。単一剤形に含まれる追加の治療剤の量は、一般的に治療効果をもたらす薬剤の量であるが、より少ない量であってもよい。

【0170】

本明細書に記載の抗体は、さらに改変されてもよい。いくつかの実施形態では、抗体は追加の分子実体に連結される。追加の分子実体の例としては、医薬品、ペプチドまたはタンパク質、検出剤またはラベル、抗体などが挙げられます。

【0171】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体は医薬品に連結される。医薬品の例には、細胞傷害剤または他のがん治療剤、及び放射性同位元素が含まれる。細胞傷害剤の具体例としては、タキソール、サイトカラシンB、グラミシジンD、臭素エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テノポシド、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルチシン、ドキシソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンD、1-デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、ピュロマイシン、及びそれらの類似体または相同体が挙げられる。また、治療剤としては、例えば、代謝拮抗物質（例えば、メトトレキサート、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、シタラビン、5-フルオロウラシルデカルバジン）、アルキル化剤（例えば、メクロレタミン、チオテパクロラムブシル、メルファラン、カルムスチン（BSNU）及びロムスチン（CCNU）、シクロトスファミド、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンC、及びシス-ジクロロジアミンプラチナ（II）（DDP）シスプラチン）、アントラシクリン（例えば、ダウノルビシン（以前のダウノマイシン）及びドキシソルビシン）、抗生物質（例えば、ダクチノマイシン（以前のアクチノマイシン）、ブレオマイシン、ミトラマイシン、及びアントラマイシン（AMC））、ならびに抗有糸分裂剤（例えば、ビンクリスチン及びビンブラスチン）も挙げられる。診断的または治療的に使用するために抗体にコンジュゲートすることができる放射性同位元素の例としては、ヨウ素¹³¹、インジウム¹¹¹、イットリウム⁹⁰、及びルテチウム¹⁷⁷が挙げられるが、これらに限定されない。ポリペプチドを医薬品に連結する方法は、様々なリンカー技術を使用するなどの方法が当該技術分野で知られている。リンカーの種類の例としては、ヒドラゾン、チオエーテル、エステル、ジスルフィド、及びペプチド含有リンカーが挙げられる。治療剤を抗体に連結するためのリンカー及び方法のさらなる考察については、例えば、Saito et al., Adv. Drug Deliv. Rev. (2003) 55:199-215、Trail, et al., Cancer Immunol. Immunother. (2003) 52:328-337、Payne, Cancer Cell (2003) 3:207-212、Allen, Nat. Rev. Cancer (2002) 2:750-763、Pastan and Kreitman, Curr. Opin. Investig. Drugs 3: (2002) 1089-1091、Senter and Springer Adv. Drug Deliv. Rev. (2001) 53:247-264を参照されたい。

【0172】

本明細書に記載の抗体及び／または組成物（例えば、医薬組成物）のいずれかを、医薬品（例えば、がんの治療またはがんの進行の遅延を必要とする対象においてそれを行う際使用するための医薬品）の調製において使用することができる。

【0173】

IX. 治療方法

本明細書に記載の抗体および医薬組成物は、癌の治療または他の癌治療の有効性の向上などの治療目的に有用である。したがって、いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書に記載される抗体または医薬組成物を使用する方法を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、対象（例えば、ヒト対象）における癌を治療する方法を提供し、その方法は、本明細書に記載される対象に有効量の抗体を投与することを含む。いくつかの実施形態では、癌は乳癌、肝臓癌、または大腸癌、胃癌、卵巣癌、肺癌、膵臓癌、または腎臓癌である。

【0174】

治療方法を実施する場合、本明細書に記載のマスクされた抗CD28抗体は、単独で、すなわち単剤療法として投与されてもよいし、1つ以上の追加の治療剤または療法と組み合わせて投与されてもよい。したがって、別の態様では、本開示は、別々に、連続して、または同時に投与するための、1つ以上の追加の療法または治療剤と組み合わせた結合分子を含む併用療法を提供する。いくつかの実施形態では、「追加の療法」という用語は、本明細書に記載される抗体を治療剤として使用しない療法を指す。いくつかの実施形態では、「追加の治療剤」という用語は、本明細書に記載される抗体以外の任意の治療剤を指す。いくつかの実施形態では、本開示は、対象（例えば、ヒト対象）における癌を治療する方法を提供し、この方法は、本明細書に記載される抗体（例えば、抗CD28抗体またはCD28および1つ以上の他の標的を標的とする多重特異性抗体）の有効量および抗PD-1抗体の有効量を対象に投与することを含む。いくつかの実施形態では、本開示は、対象（例えば、ヒト対象）における癌を治療する方法を提供し、この方法は、本明細書に記載される抗体（例えば、抗CD28抗体またはCD28および1つ以上の他の標的を標的とする多重特異性抗体）の有効量および抗CTLA4抗体の有効量を対象に投与することを含む。いくつかの実施形態では、抗CTLA4抗体はマスクされた抗CTLA4抗体である。

【0175】

X. キット及び製品

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の1つ以上の抗体（例えば、抗CD28抗体またはCD28および1つ以上の他の標的を標的とする多重特異性抗体）を含むキットが提供される。いくつかの実施形態では、キットには、本明細書に記載の抗体の使用説明書を含む添付文書がさらに含まれる。いくつかの実施形態では、製造物またはキットは、本明細書に記載のマスクされた抗体または組成物の1つ以上を含む容器を含む。ある特定の
実施形態では、製造物またはキットは、本明細書に記載されるマスクされた抗体の1つ（または複数）をコードする核酸を含む容器を含む。いくつかの実施形態では、キットには、本明細書に記載の抗体を産生する細胞株の細胞が含まれる。いくつかの実施形態では、キットには、CD28（例えば、ヒトCD28、カニクイザルCD28、マウスCD28、ラットCD28、または前述のいずれかの断片）またはCD28⁺細胞に対する1つ以上の陽性対照が含まれる。いくつかの実施形態では、キットには、例えば、CD28が実質的に含まれない表面または溶液、あるいはCD28を発現しない細胞などのネガティブコントロールが含まれます。

【0176】

ある特定の実施形態では、製造品またはキットは、容器と、容器上または容器に関連付けられたラベルまたは添付文書とを含む。適切な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、注射器、点滴液バッグ、試験管などがあります。容器はガラスやプラスチックなどさまざまな材料から形成されます。容器には、本明細書に記載の抗体（またはそのような抗体を含む組成物）が収容されており、これは単独で、または他の組成物と組み合わせて、対象（例えば、ヒト対象）における癌の治療、進行の遅延、および／または予防に有効である。容器には滅菌アクセスポートが設けられていてもよい（例えば、容器は静脈内注射針で貫通可能なストッパーを備えたバイアルや静脈内注射液バッグであってもよい）。いくつかの実施形態では、ラベルまたは添付文書には、組成物が対象（例えば、ヒト対象）の乳癌、肝臓癌、または大腸癌の治療に使用されることが示されている。

【0177】

さらに、製造品またはキットは、(a) 本明細書に記載の抗体（またはその免疫学的に活性な断片）を含む組成物が収容された第1の容器と、(b) 組成物が収容された第2の容器と、を含み得、組成物にはさらなる細胞傷害性薬剤またはその他の治療剤が含まれる。いくつかの実施形態では、第2の容器には抗PD-1抗体を含む組成物が収容されており、製造物品には、抗体および抗PD-L1が、例えば本明細書に提供される方法に従って、それを必要とする対象（例えば、ヒト対象）における結腸癌などの治療に使用されることを示すラベルまたは添付文書が含まれる。いくつかの実施形態では、第2の容器には、抗CTLA4抗体（例えば、マスクされた抗CTLA4抗体など）を含む組成物が収容されており、製造物品には、本明細書に記載の抗体および抗CTLA4抗体（例えば、マスクされた抗CTLA4抗体）が、例えば本明細書で提供される方法に従って、それを必要とする対象（例えば、ヒト対象）における結腸癌などの治療に使用されることを示すラベルまたは添付文書が含まれる。

10

【0178】

加えて、製品は、静菌注射用水（BWFI）、リン酸緩衝食塩水、リンガー液及びブドウ糖液など、医薬上許容される緩衝液を含む追加の容器を更に含んでよい。これは、他の緩衝液、希釈液、濾過器、針、及び注射器を含めて、商業上及び利用者の立場からの他の好ましい材料を更に含んでよい。

【0179】

前述の記述は、当業者が本開示を実践することを可能にするのに十分であると見なされる。以下の実施例は例証目的でのみ提示され、決して本開示の範囲を限定することを意図していない。実際、本明細書に示され、説明される改変に加えて、本開示の様々な改変が前述の説明から当業者に明らかとなり、添付の特許請求の範囲内に入るであろう。

20

【0180】

本明細書で特に定義されない限り、本開示に関連して使用される科学用語及び技術用語は、当業者によって一般に理解される意味を有するものとする。例示的な方法および材料を以下に記載するが、本明細書に記載されたものと同様または同等の方法および材料も、本開示の実施または試験に使用することができる。矛盾が生じた場合は、定義を含む本仕様優先されます。さらに、文脈により別途要求されない限り、単数形の使用には複数形も含まれ、複数形の使用には単数形も含まれます。本明細書および実施形態全体を通じて、「有する」および「含む」という単語、または「有する」、「有する」、「含む」または「含む」などの変形は、指定された整数または整数のグループが含まれることを意味するが、他の整数または整数のグループが除外されることを意味するものではないと理解される。特許出願、特許および非特許公報及びUniProtKB/Swiss-Prot受託番号を含む、本明細書に引用されるすべての参考文献は、各個々の参考文献が参照により組み込まれるように具体的かつ個別に示されているかのように、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。本明細書では多数の文書が引用されているが、この引用は、これらの文書のいずれかが当該技術分野における共通一般知識の一部を構成することを認めるものではない。本明細書において、1つ以上の関心対象値に適用される「およそ」または「約」という用語は、記載された参照値と同様の値を指します。ある特定の実施形態では、この用語は、別途記載されている場合、または文脈から明らかな場合を除き、記載された基準値のいずれかの方向（より大きい小さいか）でも10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%以内。

30

40

【0181】

本開示によれば、従属請求項における後方参照は、後方参照によって示される請求項のそれぞれのあらゆる組み合わせを直接的かつ明確に開示するための速記として意図される。本明細書に開示される任意の化合物は、本明細書のいずれかの治療方法において使用することができ、治療される個体は本明細書のいずれかで定義されるとおりである。さらに、ここでのヘッダーは整理を容易にするために作成されたものであり、請求された発明の範囲をいかなる形でも制限することを意図するものではありません。

【0182】

50

本発明をより良く理解するために、以下の実施例を示す。これらの例は説明のみを目的としており、いかなる形でも本発明の範囲を制限するものとして解釈されるべきではありません。

【実施例】

【0183】

実施例1: ヒトCD28に特異的に結合する一次Fabの生成

【0184】

独自のファージミドライブラリを使用して、ヒトCD28抗原に対してパニングした。合計3〜4ラウンドのパニングを実行した。最終ラウンドのパニング後、個々のクローンの培養上清をELISAで検査し、ヒトCD28を特異的に認識するもの（すなわち、一次ヒット）を同定しました。ELISA信号がバックグラウンドの少なくとも2倍であったとき、クローンを陽性と定義した。陽性クローンを選択して配列を確認し、ユニークヒットに対応するFabを大腸菌で発現させてアフィニティー精製しました。ヒトCD28に対する親和性は、Octet（登録商標）RED96 Systems (ForteBio)によって測定されました。簡単に言えば、Dip and Read Anti-Human IgG Fc Capture (AHC) バイオセンサー (ForteBio) を使用してヒトまたはマウスCD28-Fc融合タンパク質を捕捉し、ForteBio カイネティックバッファー (10 mM HEPES、150 mM NaCl、3 mM EDTA、0.005% v/v 界面活性剤 P20、pH 7.4) で5〜10倍に希釈した精製Fabを含むウェルに浸しました。取得したデータはOctet Data Analysis Software Version 7.1 (ForteBio) で処理され、運動データは1:1 Langmuir 結合モデルに適合されました。

10

20

【0185】

一次Fabヒットは、ELISAによってヒトおよびマウスCD28種との交差反応性についてさらに特徴付けられ、これらの一次ヒットから、46個のユニーク配列Fabのパネルが、コアヒンジ変異S241P (Kabat番号付けスキーム) を持つIgG₄アイソタイプmAbsに変換され、詳細な生物物理学および機能的特性評価が行われました(表5)。

【0186】

実施例2: IgG₄変換と発現

【0187】

表5に記載されている操作されたヒト抗CD28 IgG₄アイソタイプmAbsの重鎖と軽鎖は、哺乳類発現ベクターpcDNA3.3 (ThermoFisher Scientific) にクローニングされました。1つの重鎖および1つの軽鎖を有するプラスミドの対を、製造業者の指示に続いてHEK293細胞に一過性にトランスフェクトした。インキュベーション後、上清を回収し、遠心分離及び濾過により清澄化し、IgG₄アイソタイプmAbsをMabSelectTM SuReTM プロテインAアフィニティークロマトグラフィー (GE Healthcare) で捕捉しました。

30

【0188】

mAbsを溶出して中和し、溶出バッファーを還元バッファー (20 mMヒスチジン、pH 5.5) に交換しました。タンパク質濃度はUV分光光度法で測定し、IgG純度は変性、還元、非還元条件下でSDS-PAGEまたはSEC-HPLCによって分析しました。

40

【表 5 - 1】

表 5. ヒト抗 CD28 IgG₄ モノクローナル抗体のリスト

No.	IgG ID	アイソタイプ/変異
1	TY24853	hIgG ₄ /S241P
2	TY24854	hIgG ₄ /S241P
3	TY24855	hIgG ₄ /S241P
4	TY24856	hIgG ₄ /S241P
5	TY24857	hIgG ₄ /S241P
6	TY24858	hIgG ₄ /S241P
7	TY24859	hIgG ₄ /S241P
8	TY24860	hIgG ₄ /S241P
9	TY24861	hIgG ₄ /S241P
10	TY24862	hIgG ₄ /S241P
11	TY24863	hIgG ₄ /S241P
12	TY24864	hIgG ₄ /S241P
13	TY24865	hIgG ₄ /S241P
14	TY24866	hIgG ₄ /S241P
15	TY24867	hIgG ₄ /S241P
16	TY24868	hIgG ₄ /S241P
17	TY24869	hIgG ₄ /S241P
18	TY24870	hIgG ₄ /S241P
19	TY24871	hIgG ₄ /S241P
20	TY24872	hIgG ₄ /S241P
21	TY24873	hIgG ₄ /S241P
22	TY24874	hIgG ₄ /S241P
23	TY24875	hIgG ₄ /S241P
24	TY24876	hIgG ₄ /S241P
25	TY24877	hIgG ₄ /S241P
26	TY24878	hIgG ₄ /S241P
27	TY24879	hIgG ₄ /S241P
28	TY24880	hIgG ₄ /S241P
29	TY24881	hIgG ₄ /S241P
30	TY24882	hIgG ₄ /S241P
31	TY24883	hIgG ₄ /S241P
32	TY24884	hIgG ₄ /S241P
33	TY24885	hIgG ₄ /S241P
34	TY24886	hIgG ₄ /S241P
35	TY24887	hIgG ₄ /S241P
36	TY24888	hIgG ₄ /S241P
37	TY24889	hIgG ₄ /S241P
38	TY24890	hIgG ₄ /S241P

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

No.	IgG ID	アイソタイプ/変異
39	TY24891	hIgG ₄ /S241P
40	TY24892	hIgG ₄ /S241P
41	TY24772	hIgG ₄ /S241P
42	TY24773	hIgG ₄ /S241P
43	TY24774	hIgG ₄ /S241P
44	TY24775	hIgG ₄ /S241P
45	TY24776	hIgG ₄ /S241P
46	TY24777	hIgG ₄ /S241P

10

【0189】

実施例3:抗CD28抗体の結合特性

【0190】

抗CD28 mAbsパネルのヒト、カニクイザル、マウスCD28およびヒトCTLA4への結合親和性を、Octet（登録商標）RED96 Systems (ForteBio)、ELISA、およびCyto Flex flow cytometry (Beckman)によって測定した。抗CD28抗体TAC2386（特許WO2006/050949A2に記載されているようにTGN1412としても知られる）およびTAC2387（特許WO2019/246514A2に記載されている）をベンチマークコントロールとして使用しました。

20

【0191】

Octet RED96システムによるヒトCD28およびCTLA4への結合親和性

【0192】

Octet（登録商標）RED96 Systems (ForteBio)を使用して、抗CD28 mAbsパネルのヒトCD28およびCTLA4への結合速度を評価しました。簡単に言えば、mAbsは運動緩衝液(0.02% Tween 20および0.1% BSAを添加したPBS)で15 μg/mLに希釈され、DipおよびRead AHCバイオセンサー(ForteBio)によって並行して捕捉されました。次に、センサーをHisタグ付きヒトCD28およびCTLA4タンパク質(100 nM)と300秒間結合させ、さらに300秒間運動緩衝液中で解離させました。会合及び解離曲線は、Octet（登録商標）Data Analysis Software Version 7.1 (ForteBio)を使用して1:1 Langmuir結合モデルに適合されました。

30

【0193】

表6に示すように、抗CD28テストおよびベンチマークmAbsのパネルは、Octet（登録商標）RED96 Systemsで測定したところ、ヒトCD28に対して高い結合親和性(<10 nM)を示しました。さらに、試験mAbs TY24773、TY24853、TY24854、TY24860、TY24865、およびTY24871並びにベンチマークコントロールmAbsは、ヒトCTLA4に対して検出可能な親和性を示さなかった。

40

50

【表 6】

表 6. ヒト CD28 および CTLA4 への結合親和性

mAb ID	ヒト CD28			ヒト CTLA4		
	KD (nM)	Kon (1/Ms)	Koff (1/s)	KD (nM)	Kon (1/Ms)	Koff (1/s)
TAC2386	<0.001	9.625E+04	<1.0E-07	ND		
TAC2387	4.873	7.071E+04	3.446E-04			
TY24773	8.285	3.848E+04	3.188E-04			
TY24853	3.955	4.159E+04	1.645E-04			
TY24854	5.434	6.488E+04	3.526E-04			
TY24855	7.927	7.918E+04	6.277E-04	4.022	7.596E+05	3.055E-03
TY24856	7.805	6.887E+04	5.376E-04	5.127	3.036E+05	1.557E-03
TY24857	8.639	7.294E+04	6.301E-04	5.442	6.515E+05	3.546E-03
TY24858	9.882	7.101E+04	7.017E-04	7.904	3.055E+05	2.415E-03
TY24859	2.684	7.081E+04	1.900E-04	6.631	4.687E+05	3.108E-03
TY24860	6.664	6.323E+04	4.213E-04	ND		
TY24864	4.413	9.418E+04	4.157E-04	5.501	5.168E+05	2.843E-03
TY24865	<0.001	5.958E+04	<1.0E-07	ND		
TY24866	<0.001	5.804E+04	<1.0E-07	7.645	5.238E+05	4.004E-03
TY24869	2.733	4.676E+04	1.278E-04	1.198	3.793E+05	4.544E-04
TY24871	4.993	7.011E+04	3.501E-04	ND		
TY24876	<0.001	3.251E+04	<1.0E-07	4.280	1.366E+05	5.848E-04
TY24877	7.191	2.686E+04	1.931E-04	13.20	2.353E+05	3.105E-03
TY24878	4.214	9.747E+04	4.108E-04	0.9686	4.233E+05	4.100E-04
TY24879	<0.001	5.939E+04	<1.0E-07	7.165	4.369E+05	3.130E-03
TY24881	5.246	1.262E+05	6.618E-04	2.353	1.114E+06	2.622E-03
TY24884	2.420	6.836E+04	1.655E-04	6.359	6.409E+05	4.076E-03
TY24890	4.440	9.846E+04	4.371E-04	3.133	1.099E+06	3.444E-03

ND: 検出されな

【0194】

ELISAを用いたヒトおよびマウスCD28への結合親和性

【0195】

組換えヒトおよびマウスCD28-FcをPBSで2 $\mu\text{g/mL}$ に希釈し、Nunc MaxiSorp™ 高タンパク質結合容量96ウェルELISAプレート(ThermoFisher Scientific)にコーティングし、4℃で一晩放置しました。プレートを3%脱脂乳を添加したPBSで37℃で1時間ブロックした。洗浄後、抗CD28テストmAbsパネルの3倍連続希釈液50 μL を各ウェルに加えました。37℃で1時間インキュベートした後、プレートを4回洗浄し、各ウェルに100 μL のホースラディッシュペルオキシダーゼ(HRP)結合抗ヒトIgG(Fab特異的)(1:6000希釈)二次抗体を添加した。プレートを37℃で1時間インキュベートし、4回洗浄した後、TMB基質(3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン)溶液50 μL を各ウェルに加え、プレートを室温でインキュベートした。各ウェルに硫酸停止液50 μL を加えて反応を停止した後、450 nmでの吸光度を測定した。EC₅₀は、GraphPad Prism version 7 for Windows, GraphPad Software, La Jolla California USA, www.graphpad.comの非対称シグモイド(4パラメータロジスティック方程式)モデルを使用してELISAデータをフィッティングすることで評価されました。

【0196】

表7および図1に示すように、抗CD28テストmAbsのパネルは、2つのベンチマークコントロールと同様のヒトCD28に対する親和性を示しました。さらに、TY24890を除くテストmAbsはマウスCD28に結合しましたが、2つのベンチマークコントロールは結合

しませんでした。

【表 7】

表 7. ELISA で測定した組み換え CD28 への結合親和性

mAb ID	EC ₅₀ (nM)	
	ヒト CD28	マウス CD28
TAC2386	0.78	ND
TAC2387	>1.65	ND
TY24859	1.34	>44.44
TY24865	0.58	>4.94
TY24866	0.57	>1.65
TY24869	0.87	>14.81
TY24876	1.02	3.93
TY24878	1.06	>14.81
TY24879	0.9	>1.65
TY24884	1.02	>44.44
TY24890	1.55	ND

ND: 検出されな

10

20

30

40

50

【0197】

抗CD28抗体のJurkat細胞への結合活性

【0198】

Jurkat (クローンE6-1)細胞を96ウェルプレートに 1.0×10^5 (50 μ L/ウェル)で播種し、段階希釈したベンチマーク陽性コントロール、アイソタイプ陰性コントロール抗体、抗CD28テストmAbsパネル(100、20、4、0.8、0.16、および0.032 nM)とともに2%ウシ胎児血清/ダルベッコPBS (FBS/DPBS)中で4℃で30分間インキュベートしました。次に、細胞をDPBSで2回洗浄し、APC抗ヒトIgG Fc二次抗体(1 μ g/mL、100 μ L/ウェル、Biolegend)とともに4℃で30分間さらにインキュベートしました。最後に、細胞をDPBSで2回洗浄し、フローサイトメリー分析のためにFACSバッファーに懸濁しました。分析では、FlowJo 10ソフトウェア(FlowJo LLC)を使用して、平均蛍光強度(MFI)値と濃度の関係をプロットし、さらに4パラメータの非線形回帰を使用してデータをフィッティングし、GraphPad Prism version 7 for Windows, GraphPad Software, La Jolla California USA, www.graphpad.comでEC₅₀値を取得しました。

【0199】

表8に示すように、TY24775とTY24867を除く他のすべての抗CD28テストmAbsは、Jurkat細胞上のCD28分子に対して高い結合活性(EC₅₀値の範囲は0.38~10.42 nM)を示しました。さらに、測定された結合活性は2つのベンチマークコントロールと同等でした。

【表 8】

表 8. フローサイトメトリーで測定した Jurkat 細胞に発現する CD28 への結合親和性

Ab ID	EC ₅₀ (nM)	Ab ID	EC ₅₀ (nM)	Ab ID	EC ₅₀ (nM)
TAC2386	1.10	TY24863	2.60	TY24881	0.38
TAC2387	0.81	TY24864	0.54	TY24882	2.24
TY24772	0.74	TY24865	0.46	TY24883	5.92
TY24773	0.71	TY24866	0.70	TY24884	1.09
TY24774	3.35	TY24867	ND	TY24885	5.77
TY24775	ND	TY24868	2.08	TY24886	10.42
TY24776	1.83	TY24869	1.07	TY24887	3.17
TY24777	1.50	TY24870	3.95	TY24888	0.58
TY24853	0.43	TY24871	0.89	TY24889	2.32
TY24854	0.60	TY24872	1.07	TY24890	0.59
TY24855	0.61	TY24873	2.08	TY24891	0.62
TY24856	0.76	TY24874	1.65	TY24892	1.30
TY24857	0.75	TY24875	1.72	アイソタイプ対照	ND
TY24858	0.70	TY24876	0.38		
TY24859	0.97	TY24877	0.79		
TY24860	0.78	TY24878	0.39		
TY24861	2.25	TY24879	1.17		
TY24862	2.82	TY24880	1.62		

ND: 検出されな

【0200】

抗CD28抗体の、フローサイトメトリーによるヒトT細胞へのインビトロ結合

【0201】

ヒトCD3⁺ T細胞は、EasySepTM Human Naive Pan T Cell Isolation Kit (STEMCELL Technologies)を使用して、凍結保存された末梢血単核細胞(PBMC)から分離されました。分離したヒトT細胞を96ウェルプレートに 1.0×10^5 細胞/ウェルに加え、100 nMのベンチマークコントロール、アイソタイプ陰性コントロール抗体、および抗CD28テストmAbsパネルとともにFACSバッファー中で氷上で30分間インキュベートしました。次に、細胞をPBSで3回洗浄し、さらにPE標識二次抗体とともに氷上で30分間インキュベートしました。最後に、細胞をPBSで3回洗浄し、フローサイトメトリー分析のためにFACSバッファーに再懸濁しました。分析では、FlowJo 10ソフトウェア(FlowJo LLC)を使用してMFI値を計算し、GraphPad Prism version 7 for Windows, GraphPad Software, La Jolla California USA, www.graphpad.comを使用して、mAbに対する幾何平均MFI値をプロットしました。

【0202】

図2に示すように、ベンチマークコントロールTAC2386およびTAC2387と比較すると、TY24772を除くすべてのテストmAbsは同等のMFI値を示しました。TY24772の結合はベンチマークコントロールの約2倍でした。

【0203】

実施例4: Elisaを使用したリガンド競合

【0204】

抗体は、ELISAによって、CD28またはCTLA4とその天然リガンドCD80との結合を阻害する能力についてテストされました。

【0205】

図3および表9に示すように、対照として含まれている抗CTLA4抗体TY21580と比較

して、ベンチマーク対照TAC2386およびTAC2387および試験したすべての抗CD28試験mAbsはCD28とCD80の結合を阻害しましたが、CTLA4とCD80の結合を阻害したものではありませんでした。

【表9】

表9. ヒトCD28-CD80 および CTLA4-CD80 ペアに対する抗CD28 または抗CTLA4 抗体のIC₅₀

試料 ID	IC ₅₀ (nM)	
	CD28/CD80	CTLA4/CD80
TAC2386	0.48	—
TAC2387	0.12	—
TY24859	0.42	—
TY24865	0.68	—
TY24866	0.27	—
TY24890	0.21	—
TY24869	0.55	ND
TY24876	0.54	ND
TY24878	0.35	ND
TY24879	0.42	ND
TY24884	0.28	ND
TY21580	ND	37.24

10

20

【0206】

実施例5: ドライコートヒトT細胞増殖アッセイにおけるスーパーアゴニズムの評価

【0207】

ベンチマークコントロールTAC2386およびTAC2387、アイソタイプネガティブコントロール抗体、および抗CD28テストmAbsパネルによって誘導されたリンパ球増殖のレベルを、CellTiter-Glo (登録商標) Luminescent Cell Viability Assay (Promega)によって測定しました。このアッセイでは、100 nMの試験mAbsを50 μL/ウェルで96ウェルマイクロプレートに3重に添加し、ウェルの壁に直接空気乾燥させました。次に、マイクロプレートをPBSで2回洗浄しました。凍結保存したPBMCを復元し、10% FBS/RPMI1640で細胞密度を 5.0×10^5 細胞/mLに調整し、 1.0×10^5 PBMCs (ウェルあたり200 μL)をプレコートしたマイクロプレートに加えました。細胞を37°C、5% CO₂で72時間インキュベートし、その後、CellTiter-Glo (登録商標) アッセイを使用してリンパ球増殖を評価しました。

30

【0208】

図4Aに示すように、固定化されたベンチマークコントロールTAC2386 (既知のCD28スーパーアゴニスト)によって誘導されたリンパ球増殖のレベルは、すべてのテストmAbsよりも有意に高かった。TAC2386と比較して、ベンチマーク制御TAC2387と、TAC2387、TY24865、TY24866、TY24876、TY24878、TY24879及びTY24884を含む抗CD28テストmAbsは、インビトロで弱いスーパーアゴニスト活性を示した。

40

【0209】

実施例6: ヒトT細胞活性化における抗CD28抗体の効果インビトロ

【0210】

T細胞活性化共刺激アッセイ: IFN-γ 放出

【0211】

インビトロでヒトT細胞を活性化する際のアゴニストT細胞共刺激剤としての抗CD28 mAbの生物活性を、ELISAを使用してIFN-γ サイトカイン分泌によって測定した。Ultra-LEAF™ Purified抗ヒトCD28抗体 (Biolegend) が陽性対照として含まれていました。

【0212】

50

ヒトCD3⁺ T細胞は、EasySepTM Human Naive Pan T Cell Isolation Kit (STEMCELL Technologies)を使用して、凍結保存されたPBMCsから分離されました。分離した細胞は、段階希釈したベンチマークコントロール、アイソタイプネガティブコントロール抗体、市販の抗ヒトCD28ポジティブコントロール抗体、および抗CD28テストmAbsパネル(0.1、1、10、および100 nM)の存在下で、最適濃度未満(10 nM、ウェルあたり50 μL)の抗ヒトCD3抗体(OKT3)で予めコーティングした96ウェル組織培養プレート(ウェルあたり1.0×10⁵)で培養しました。細胞は37℃、5%CO₂で120時間培養され、その後細胞上清が採取され、ELISAによるIFN-γサイトカイン分析が行われ、T細胞増殖はCellTiter-Glo(登録商標)で測定された。

【0213】

図4Bおよび4Cに示すように、アイソタイプ対照抗体と比較して、抗CD28 mAbsは、T細胞の増殖およびIFN-γサイトカイン分泌を含む濃度依存的な生物学的活性を示した。一般的に、抗CD28 mAbsのヒトT細胞活性化に対する効果は、2つのベンチマークコントロール抗体と同等かそれ以上の強力さでした。

【0214】

T細胞活性化共刺激アッセイ：IL-2放出

【0215】

抗CD28 mAbsの、インビトロでのヒトT細胞の活性化におけるアゴニストT細胞共刺激剤としての生物学的活性は、CellTiter-Glo(登録商標) Luminescent Cell Viability Assay (Promega)によるT細胞増殖と、ELISAによるIL-2サイトカイン分泌によって測定されました。Ultra-LEAFTM精製抗ヒトCD28抗体(Biolegend)が陽性対照として含まれていました。

【0216】

EasySepTM Human Naive Pan T Cell Isolation Kit (STEMCELL Technologies)を使用して、アジア人ドナーからの新鮮なPBMCsからヒトT細胞を分離しました。細胞は、段階希釈したベンチマークコントロールTAC2387、アイソタイプネガティブコントロール抗体、市販の抗ヒトCD28ポジティブコントロール抗体、および抗CD28テストmAbsパネルの存在下で、最適濃度以下(5nM)の抗ヒトCD3抗体(OKT3)で予めコーティングされた96ウェル組織培養プレート(1.0×10⁵細胞/ウェル)で培養されました。細胞を37℃、5%CO₂で72時間インキュベートし、その後、細胞上清を採取してELISAによるIL-2サイトカイン分析を行い、T細胞増殖のレベルをCellTiter-Glo(登録商標)アッセイで測定した。

【0217】

図5A-Bに示すように、アイソタイプ対照抗体と比較して、抗CD28抗体は、T細胞の増殖およびIL-2サイトカイン分泌を含む濃度依存的な生物学的活性を示した。TY24859、TY24865、TY24866、およびTY24890のヒトT細胞活性化に対する効果は、ベンチマークコントロールTAC2387と同等でした。抗CD3をプレコーティングすることなく陰性対照群は、検出可能なT細胞増殖およびIL-2サイトカイン分泌を示さなかった。

【0218】

実施例7:抗HER2×CD28二重特異性抗体の構築と機能特性

【0219】

抗HER2×CD28二重特異性抗体の生成

【0220】

TYM13 Fc変異体(DまたはE356K:E357K:S364K:S400C L351'D:K370'D:N390'C:K439'D、IgG1H3ドメインのKabat番号付けスキームに従う)を使用して、ヘテロ二量体二重特異性スキャフォールドが設計されました。軽鎖-重鎖ハーフ抗体および単鎖フラグメント変数(scFv)-Fc鎖を組み合わせることで二重特異性抗体(BsAb)を形成し、ヘテロ-FcドメインにTOM13突然変異を形成した。

【0221】

BsAbsの重鎖、軽鎖、scFv-Fc鎖をコードするプラスミドを、一時的に哺乳類細胞に

10

20

30

40

50

トランスフェクトしました。二重特異性抗体を含む細胞培養上清は、トランスフェクションの7日後に14000 gで30分間遠心分離して採取し、滅菌フィルター（0.22 μm ）で濾過した。抗体は、MabSelect™ SuRe™ preppackedカラム(GE Healthcare)を使用したプロテインAアフィニティークロマトグラフィーによって精製され、その後20 mMヒスチジン(pH 5.5)バッファーでバッファー交換されました。

【0222】

このスキャフォールドを使用してCD28 BsAbsを構築するために、TY24865（高親和性CD28）とTY24865変異体（低親和性CD28）が選択されました。構成要素については表10で説明します。

【表10】

表 10. 抗 HER2×CD28 二重特異性抗体の設計

BsAb ID	ファブアーム(抗 HER2)	scFv アーム(抗 CD28)
TY27566	Perjeta(登録商標)	TY24865
TY27881	Perjeta(登録商標)	TY24865 変異体
TY27807	Herceptin(登録商標)	TY24865

10

【0223】

FACSによるSK-OV-3細胞への結合

【0224】

抗HER2×CD28 BsAb（TY27566）、抗HER2×CD3 BsAb（TY25238、PCT/CN2021/076626にも記載されており、その全文が本明細書に参照として組み込まれている）、および抗HER2 mAbsのPerjeta（登録商標）（TAC2319）またはHerceptin（登録商標）（TAC2320）に対する濃度依存的結合活性をフローサイトメトリーを使用して測定した。Perjeta（登録商標）（TAC2319）は、Herceptin（登録商標）（TAC2320）とは異なるHER2二量体化ドメインのエピトープに結合します。

【0225】

SK-OV-3細胞を培養し、96ウェルプレートに 8.0×10^4 細胞/ウェルで添加し、2% FBS/RPMI1640緩衝液中で段階希釈した試験BsAbsとともに4℃で60分間インキュベートした。次に、細胞をDPBSで2回洗浄し、さらに二次APC-抗ヒトIgG Fc抗体（1:400希釈）を4℃で30分間反応させる。最後に、細胞をDPBSで2回洗浄し、フローサイトメトリー分析のためにFACSバッファーに再懸濁しました。分析では、FlowJo 10ソフトウェア(FlowJo LLC)を使用してMFI値と濃度の関係をプロットし、さらに4パラメータの非線形回帰を使用してデータをフィッティングし、GraphPad Prism version 7 for Windows, GraphPad Software, La Jolla California USA, www.graphpad.comでEC₅₀値を取得しました。アイソタイプ抗体が陰性対照として含まれていました。

【0226】

図6に示すように、抗HER2×CD28または抗HER2×CD3 BsAbsは、Perjeta（登録商標）（TAC2319）またはHerceptin（登録商標）（TAC2320）の抗HER2 mAbsと比較して、SK-OV-3細胞に対して非常に類似した結合親和性を示しました。

【0227】

T細胞受容体およびCD28受容体シグナル伝達に対する刺激作用

【0228】

抗HER2×CD3BsAb、抗HER2×CD28BsAb、またはそれらの組合せによるT細胞受容体(TCR)およびCD28受容体シグナリングに対する刺激活性を評価した。このアッセイでは、TCRとCD28の同時活性化によりNFkBの転写活性が強化され、レポーター遺伝子の生成が誘導されます。アイソタイプ抗体は陰性対照として含められました。

【0229】

20

30

40

50

Jurkat-NFkB-Nlucエフェクター(E)レポーター細胞(5×10^4 細胞/ウェル)を、HER2抗原を内因的に発現するSK-OV-3 ターゲット(T)細胞(E: T=5: 1の場合は 1×10^4 細胞/ウェル)と共培養しました。連続希釈した抗HER2×CD3 BsAbまたはアイソタイプ対照抗体を固定濃度の抗HER2×CD28 BsAb (10 nM)、または逆に連続希釈した抗HER2×CD28 BsAbまたはアイソタイプ対照抗体を固定濃度の抗HER2×CD3 BsAb (0.01 nM) とともにレポーター細胞システムに加え、下流のルシフェラーゼ活性を刺激するそれらの組み合わせ効果を評価しました。共培養細胞を37℃、5%CO₂で6時間インキュベートした。次に、100 μLのNano-Glo (登録商標) Luciferase Assay System (Promega)試薬を細胞に加え、細胞を10分間溶解しました。上清(100 μL)を採取し、SpectraMax (登録商標) i3x Multi-Mode Microplate Reader (Molecular Devices)を使用して発光測定を行いました。

10

【0230】

図7に示すように、抗HER2×CD28 BsAb (TY25238)の固定濃度と組み合わせた抗HER2×CD28 BsAb (TY27566)、および抗HER2×CD28BsAbの固定濃度と組み合わせた抗HER2×CD3 BsAbは、最大信号およびEC₅₀値に関して相乗的または増強された刺激効果を示した。

【0231】

同じまたは異なるTAAエピトープを持つ抗HER2×CD28 BsAbと抗HER2×CD3 BsAbの細胞毒性

【0232】

抗HER2×CD3 BsAb (TY25238) 単独または抗HER2×CD28 BsAb (TY27566 またはTY27807) との併用によるMCF-7腫瘍細胞株に対するインビトロ細胞毒性活性を、乳酸脱水素酵素(LDH) 放出アッセイを使用して測定した。TY25238は、TY27566とは異なるHER2二量体化ドメインの腫瘍関連抗原(TAA)エピトープに結合しますが、TY27807と同じTAAエピトープに結合します。

20

【0233】

ヒトT細胞は凍結保存したPBMCから分離されました。培養されたMCF-7腫瘍標的細胞(1×10^4 細胞/ウェル)を、段階希釈した抗CD3 BsAb FG14127単独、または異なるTAAエピトープTY27566またはTY27807に対する2つの抗CD28 BsAbの固定濃度(1 μg/mL)と組み合わせて、37℃で30分間インキュベートしました。次に、単離したヒトTエフェクター細胞(2×10^4 細胞/ウェル)を加え、37℃、5%CO₂で72時間インキュベートした(E: T=2: 1)。殺されたMCF-7標的細胞からの上清へのLDH放出に基づく細胞毒性は、CytoTox 96 (登録商標) Non-Radioactive Cytotoxicity Assay (Promega)を使用して定量化されました。

30

【0234】

図8に示すように、抗HER2×CD3 BsAb (TY25238) は単剤としてMCF-7標的細胞に対して強力な濃度依存的細胞毒性を誘発した。異なるTAAエピトープに対する抗HER2×CD28 BsAb (TY27566) と抗HER2×CD3 BsAb (TY25238) の組み合わせにより、EC₅₀の観点から、インビトロ腫瘍殺傷活性がさらに強化されました。しかし、抗HER2×CD3 BsAb (TY25238) 単独の治療と比較して、同じTAAエピトープを持つ抗HER2×CD28 BsAb (TY27807) の追加により、EC₅₀および最大溶解に関してMCF-7腫瘍細胞溶解が大幅に減少しました。単剤アッセイの陰性対照としてアイソタイプ抗体が含まれていました。

40

【0235】

実施例8: 抗TROP2×CD28または抗TROP2×CD3 BsAbの構築と機能特性

【0236】

抗腫瘍関連カルシウムシグナル伝達体2 (TROP2) ×CD28または抗TROP2×CD3ヘテロ二量体二重特異性スクャフォールドは、実施例7に記載されているようにTYM13 Fc変異体を使用して設計された。抗TROP2×CD28 BsAbの構成は表11に記載されています。

50

【0237】

抗TROP2×CD3 BsAbの構成は表12に記載されています。

【表11】

表 11. 抗 TROP2×CD28 二重特異性抗体の設計

BsAb ID	ファブアーム(抗 TROP2)	scFv アーム(抗 CD28)
TY27571	TY25616	TY24865

【表12】

表 12. 抗 TROP2×CD3 二重特異性抗体の設計

BsAb ID	ファブアーム(抗 TROP2)	scFv アーム(抗 CD3)
TY25839	TY25616	TY24742

【0238】

TROP2の高、中、低発現腫瘍細胞株へのCD3またはCD28ベースの二重特異性結合

【0239】

フローサイトメトリーを使用して、TROP2発現が高、中、または低いさまざまな腫瘍細胞株に対する抗 TROP2 BsAbsの濃度依存的結合活性を測定しました。アイソタイプ抗体は陰性対照として含まれました。

【0240】

H292、NCI-N87、またはHT29細胞を培養し、96ウェルプレートに 1.0×10^5 細胞/ウェルで播種し、2% FBS/RPMI1640緩衝液中で段階希釈した試験抗TROP2 BsAbsとともに4℃で30分間インキュベートした。次に、細胞をDPBSで2回洗浄し、二次抗ヒトIgG抗体（H292細胞の場合はAPC-抗ヒトIgG Fc抗体、1：300希釈；NCI-N87およびHT29細胞の場合はAPC-F(ab')₂フラグメントヤギ抗ヒトIgG（H+L）、1：500希釈）とともに4℃で30分間さらにインキュベートした。最後に、細胞をDPBSで2回洗浄し、フローサイトメトリー分析のためにFACSバッファーに再懸濁しました。分析では、FlowJo 10ソフトウェア(FlowJo LLC)を使用してMFI値と濃度の関係をプロットし、さらに4パラメータの非線形回帰を使用してデータをフィッティングし、GraphPad Prism version 7 for WindowsでEC₅₀値を取得しました。

【0241】

図9および表13に示すように、TROP2発現が高い、中程度、または低い3つの異なる腫瘍細胞株において、TY25839とTY27571のTROP2アーム結合活性は同様でした。

【表13】

表 13. EC₅₀ 腫瘍細胞株における抗 TROP2 二重特異性抗体の価値

BsAb ID	H292			NCI-N87			HT-29		
	EC ₅₀ (nM)	Span	AUC	EC ₅₀ (nM)	Span	AUC	EC ₅₀ (nM)	Span	AUC
TY25839	0.813	149008	418398	0.901	612873	1715321	0.693	52548	156975
TY27571	0.822	156304	465058	0.911	589022	1644423	0.559	52992	162739

【0242】

TCRおよびCD28受容体シグナル伝達に対する刺激作用

【0243】

抗TROP2×CD3 BsAbs、抗TROP2×CD28 BsAbs、または組合せによるTCRおよびCD28受容体シグナリングに対する刺激活性を評価した。TCRとCD28の同時活性化によりNFκBの転写活性が強化され、レポーター遺伝子の生成が誘導されます。

【0244】

Jurkat-NFkB-Nlucエフェクターレポーター細胞 (5×10^4 細胞/ウェル) を H292 標的細胞 (E: T=5: 1) と共培養した。連続希釈した抗TROP2×CD3 BsAbsを固定濃度の抗TROP2×CD28 BsAb (5 nM)、または逆に連続希釈した抗TROP2×CD28 BsAbを固定濃度の抗TROP2×CD3 BsAb (0.01 nM) とともにレポーター細胞システムに加え、下流のルシフェラーゼ活性を刺激するそれらの複合活性を評価した。共培養細胞を 37℃、5% CO₂ で6時間インキュベートした。次に、Nano-Glo Luciferase Assay System (Promega) 試薬 100 μL を細胞に加え、細胞を10分間溶解しました。上清 (100 μL) を採取し、SpectraMax i3x Multi-Mode Microplate Reader (Molecular Devices) を使用して発光を測定しました。

10

【0245】

図10に示すように、単剤CD28ベースのBsAbsは非常に弱いレポーター遺伝子活性を示した。しかし、抗TROP2×CD3 BsAbsと抗TROP2×CD28 BsAbsの組み合わせは、最大シグナルまたはEC₅₀値に関して相乗的または強化された刺激効果を示しました。

【0246】

実施例9: B7H3×CD28二重特異性抗体の構築と機能特性

【0247】

B7H3×CD28 BsAbが構築されました。構成要素については表14で説明します。

【0248】

B7H3×CD3 BsAbsの構成は表15に記載されています。

20

【表14】

表 14. B7H3×CD28 二重特異性抗体の設計

BsAb ID	ファブアーム(抗 B7H3)	scFv アーム(抗 CD28)
TY27556	TY21601	TY24865

【表15】

表 15. B7H3×CD3 二重特異性抗体の設計

BsAb ID	ファブアーム(抗 B7H3)	scFv アーム(抗 CD3)
TY26999	TY21601	中親和性の CD3

30

【0249】

FACSによるMDA-MB-231細胞への結合

【0250】

抗B7H3×CD28 BsAb TY27556とその親抗B7H3 mAb TY21601のMDA-MB-231細胞に対する濃度依存的結合活性をフローサイトメトリーを用いて測定した (図11)。アイソタイプ抗体が陰性対照として含まれていました。

【0251】

MDA-MB-231細胞を培養し、96ウェルプレートに 1.0×10^5 細胞/ウェルで播種し、2% FBS/RPMI1640緩衝液中で段階希釈した試験BsAbsとともに4℃で60分間インキュベートした。次に、細胞をDPBSで2回洗浄し、二次APC抗ヒトIgG Fc抗体 (1:400希釈) とともに4℃で30分間さらにインキュベートした。最後に、細胞をDPBSで2回洗浄し、フローサイトメトリー分析のためにFACSバッファーに再懸濁しました。分析では、FlowJo 10ソフトウェア(FlowJo LLC)を使用してMFI値と濃度の関係をプロットし、さらに4パラメータの非線形回帰を使用してデータをフィッティングし、GraphPad Prism version 7 for WindowsでEC₅₀値を取得しました。

40

【0252】

図12に示すように、抗B7H3 mAb TY21601はMDA-MB-231標的細胞に対してnM未満 (0.4525 nM) の結合親和性を示し、BsAb TY27556の標的細胞への結合活性は

50

約28倍 (12.84 nM) 減少した。

【0253】

B7H3xCD28二重特異性抗体は、インビトロでT細胞活性化を誘導するためのPD-1またはPD-L1遮断の能力を増強した

【0254】

抗PD-1阻害mAbsとB7H3xCD28二重特異性Absを組み合わせた場合の、インビトロでの一次ヒトT細胞活性化に対する効果を、ELISAによるIFN- γ およびIL-2分泌で測定しました。ここでは、生理的なPD-L1発現とTCR/CD3刺激をシミュレートする修正混合リンパ球反応(MLR)を使用しました。一元配置MLRアッセイを生成するために、1人の健康なドナー(D#XC11147W)からのヒトT細胞(1ウェルあたり 1×10^5 細胞)を、異なる試験抗体(B7H3xCD28またはアイソタイプ対照)単独の存在下、または抗PD-1 (ペンブロリズマブ、Keytruda (登録商標))もしくは抗PD-L1 (アテゾリズマブ、Tecentriq (登録商標))との併用下で、同種MDA-MB-231細胞(E: T=5: 1)とともにインキュベートしました。その後、細胞をインキュベーター内で37°C、5%CO₂で120時間共培養した。活性化T細胞による上清中へのIL-2 (72時間) およびIFN- γ (120時間) サイトカイン分泌を、ELISAキットで定量した。

【0255】

図13A-13Bに示すように、このMLRアッセイでは、100 nM PD-1/PD-L1 mAbsまたは滴定されたB7H3xCD28を添加しても、サイトカインの放出は全く起こらないか、またはわずかしき起こらなかった。しかし、B7H3xCD28と100 nM PD-1/PD-L1 mAbsの併用により、単独療法と比較してT細胞の活性化が著しく増加しました。これらの結果は、B7H3xCD28二重特異性抗体は、PD-1/PD-L1阻害薬と相乗的に結合して、PD-L1およびB7H3を内因的に発現する腫瘍細胞の存在下でT細胞の活性化を促進します。

【0256】

共刺激性二重特異性抗体は、双方向結合時のMCF-7細胞に対するインビトロT細胞傷害性を増強する

【0257】

抗CD3ベース、または抗CD28ベースのBsAbs、またはそれらの組み合わせのMCF-7腫瘍細胞株に対するインビトロ腫瘍細胞殺傷活性を、LDH放出細胞毒性アッセイを使用して測定しました。

【0258】

ヒトT細胞を凍結保存したPBMCから分離した。MCF-7細胞 (1×10^4 細胞/ウェル)を段階希釈した抗HER2xCD3 BsAb TY25238、または固定濃度の高親和性CD28アーム抗HER2xCD28 BsAb TY27566、抗CD28xB7H3 TY27556、または低親和性CD28アーム抗HER2xCD28 BsAb TY27881 (1 ug/mLまたは10 ug/mL)と組み合わせて37°Cで30分間インキュベートし、ヒトT細胞 (2×10^4 細胞/ウェル)を加えて37°C、5% CO₂で72時間 (E: T=2: 1) インキュベートした。殺されたMCF-7標的細胞からの上清へのLDH放出に基づく細胞毒性は、CytoTox 96 (登録商標) Non-Radioactive Cytotoxicity Assay (Promega)を使用して定量化されました。

【0259】

図14に示すように、CD28ベースのBsAbsは単剤としてはMCF-7標的細胞に対して細胞毒性を誘発しませんでした。対照的に、単一の薬剤として、抗CD3BsAbTY25238は、濃度依存効果を示し、最も高い細胞毒性は、MCF-7細胞の54.47%が溶解したHER2に対するBsAbで誘導された。抗CD3および抗CD28BsAbsの組み合わせは、EC₅₀の低減によって明らかにされるインビトロ腫瘍細胞殺傷活動をさらに増強した抗CD3 BsAb TY25238単独の治療と比較して、高親和性CD28アームを備えた抗CD28 BsAb TY27566の追加により、腫瘍細胞の溶解が約10倍大幅に強化されました (EC₅₀)。しかし、低親和性CD28アームを備えた抗CD28 BsAb TY27881と組み合わせた場合、細胞毒性の増強は観察されませんでした。

【0260】

共刺激性二重特異性抗体は、双方向結合時のEMT-6-HER2細胞に対するインビトロT細胞傷害性を増強する

【0261】

抗CD3ベースまたは抗CD28ベースのBsAbsのインビトロ腫瘍細胞殺傷活性、またはEMT-6-HER2腫瘍細胞株上のそれらの組合せをLDH放出細胞傷害性アッセイを使用して測定した

【0262】

ヒトT細胞は、EasySep™ Human Naive Pan T Cell Isolation Kit (STEMCELL Technologies)を使用して新鮮なPBMCsから分離されました。EMT-6-HER2 (5×10^3 細胞/ウェル) 標的細胞を、段階希釈した抗HER2×CD3 BsAb (TY25238) または固定濃度の抗B7H3×CD28 BsAb TY27556 (8 nM) と組み合わせ て37℃で30分間インキュベートし、逆にEMT-6-HER2 (5×10^3 細胞/ウェル) 細胞を、段階希釈した抗B7H3×CD3 BsAb TY26999または固定濃度の抗HER2×CD28 BsAb TY27566 (8または0.8 nM) との組み合わせで、37℃で30分間インキュベートした。次に、単離したヒトTエフェクター細胞 (2×10^4 細胞/ウェル) を加え、37℃、5% CO₂で72時間インキュベートした (E:T=2:1)。殺されたEMT-6-HER2標的細胞からの上清へのLDH放出に基づく細胞毒性を、CytoTox 96 (登録商標) Non-Radioactive Cytotoxicity Assay (Promega)を使用して定量化した。単剤アッセイの陰性対照としてアイソタイプ抗体が含まれていました。

【0263】

図15に示すように、TY27556 (抗B7H3×CD28) またはTY27566 (抗HER2×CD28) は、単剤としてEMT-6-HER2細胞に対して殺傷効力を示さなかった。TY27556と組み合わせたTY25238は、TY25238と比較して、EC₅₀の約2倍の減少、及び最大死滅の約3倍の増加 (17%から50%まで) をもたらした。

【0264】

TY27566と組み合わされたTY26999は、TY26999と比較して、EC₅₀の約1.3倍の減少及び最大死滅の約2倍の増加 (23%から47%) をもたらした。

【0265】

抗CD3または抗CD28ベースの二重特異性抗体またはその組み合わせによる生体内全身性サイトカイン放出リスク

【0266】

BALB/cマウスモデルにおける抗マウスCD3または抗CD28ベースのBsAbs単独または併用の体内全身性サイトカイン放出リスク (IL-6およびIFN-γ) をELISAを使用して測定しました。

【0267】

BALB/cマウスを無作為に4つのグループ (グループあたり3匹) に分け、それぞれ抗マウスCD3 mAb (145-2C11クローン、1 mg/kg)、抗B7H3×CD28 (TY27556、2 mg/kg)、抗B7H3×CD3 (CD3アームがマウス特異的145-2C11クローン由来のTY27042、2 mg/kg)、またはその組み合わせ (TY27556、2 mg/kgとTY27042、2 mg/kg) を注射した。マウス血清及び全血を、注入前及び注入後 (プリドーズ、3.5、及び24時間) の様々な時点で収集した。全身性サイトカイン放出リスクは、ELISAによるIL-6およびIFN-γで評価されました。CD3+ T細胞である全末梢T細胞の割合は、各時点でフローサイトメトリーによって測定されました。

【0268】

図16に示すように、抗mCD3または抗B7H3×CD3 (TY27042) を投与されたマウスでは、試験抗体処理後3.5時間でサイトカイン (IL-6およびIFN-γ) の放出が著しく誘導されました。抗B7H3×CD28 (TY27556) で治療したマウスでは、試験抗体治療後に検出可能なサイトカイン放出は見られませんでした。さらに、抗B7H3×CD3 (TY27042) と抗B7H3×CD28 (TY27556) を併用した場合、抗B7H3×CD3 (TY270

42) 単独投与の場合よりもサイトカイン放出リスクの増加は見られませんでした。末梢CD3⁺ T細胞は単剤抗マウスではほぼゼロにまで急激に減少した。CD3、抗B7H3×CD3 (TY27042)、抗B7H3×CD28 (TY27556) 群、および抗B7H3×CD3 (TY27042) と抗B7H3×CD28 (TY27556) を組み合わせた群。注射後3.5時間で末梢血中に残ったCD3⁺ T細胞は約2%~3%のみでした。

【0269】

実施例10: 生体内有効性研究

【0270】

SK-OV3モデルにおけるB7H3×CD28 BsAb単独療法またはHER2×CD3 BsAbとの併用療法の生体内有効性試験

【0271】

免疫不全M-NSGマウス(各群n=8、雌、7~8週齢)に、腹腔内注射により 5×10^6 P BMCを移植した。7日後、マウスに 2×10^6 SK-OV3細胞を皮下接種しました。治療は、腫瘍接種後8日目に開始され、平均腫瘍体積が約90 mm³に達しました。マウスに、h IgG1アイソタイプ対照5 mg/kg、抗HER2×CD3二重特異性二重マスクされた抗体0.2 mg/kg、抗B7H3×CD28二重特異性抗体TY27556 5 mg/kg、またはTY27151 0.2 mg/kgとTY27556 5 mg/kgの組み合わせを腹腔内注射で投与した。TY27151は以前PCT/CN2021/076626に記載されていました。マウスにはこれらの抗体が週2回、合計5回投与されました。腫瘍の成長は週2回モニタリングされ、時間の経過に伴う平均腫瘍体積±s. e. m.として報告されました。

【0272】

図17に示すように、このモデルでは、二重マスク抗HER2×CD3二重特異性抗体TY27151は、抗B7H3×CD28二重特異性抗体TY27556と強力な相乗的な抗腫瘍効果を示した。

【0273】

EMT6-HER2マウス乳癌同系モデルにおけるCD28 BsAbsの生体内有効性研究

【0274】

BALB/cマウス(1群あたりn=5、雌、8~9週齢)に 5×10^5 EMT-HER2細胞を皮下接種した。治療は、腫瘍接種後7日目に開始され、平均腫瘍体積が約110 mm³に達しました。マウスに、腹腔内注射により、溶媒、抗B7H3×CD28 BsAb TY27556 0.5 mg/kgおよび0.05 mg/kg、または抗HER2×CD28二重特異性抗体TY27566 0.2 mg/kgを投与した。マウスにはこれらの抗体が週2回、合計4回投与されました。腫瘍の成長は週2回モニタリングされ、時間の経過に伴う平均腫瘍体積±s. e. m.として報告されました。

【0275】

図18に示すように、抗B7H3×CD28二重特異性抗体TY27556はこのモデルにおいて用量依存的な抗腫瘍効果を示した。図18に示すように、抗HER2×CD28二重特異性抗体TY27566は強力な抗腫瘍効果を示した。

【0276】

実施例11: マスクされた抗CD28抗体に対する自己ブロッキングペプチドを同定する方法

【0277】

マスクされた抗CD28抗体の生成

【0278】

良好な開発可能性で、マスクされていない親抗CD28抗体を効果的にマスクできるマスキング部分を効率的に発見するためのスクリーニングシステムが設計され、実行されました。このシステムでは、まず標的の抗CD28 scFvが酵母の表面に表示され、CD28抗原への結合に機能することが確認されました。次いで、改良されたMPペプチドライブラリーからのマスキングペプチド(MP)を、標的抗CD28 scFvの軽鎖のN末端に直接融合させ、酵母表面上に融合タンパク質を表示する酵母ライブラリーを構築した。その後、酵母ラ

10

20

30

40

50

イブラリは、FACSベースのスクリーニングを数回実施しました。1) 抗原への結合が低い酵母クローンを濃縮し、2) 濃縮された酵母クローンをプロテアーゼで処理してN末端MPを除去し、3) 抗原への結合が高いクローンを選択しました。5～6回の選別後、これらのクローンからプラスミドを抽出し、DNA配列決定によってMP配列を確認しました。scFv形式で選択されたマスクされた抗CD28抗体クローンは、MPの存在下では抗原への結合をほとんど示しませんでした。しかし、酵母細胞をタバコエッチウイルス核封入αエンドペプチダーゼ(TEV)で処理してMPを除去すると、抗原への結合が劇的に増加しました。選択されたクローンを検証するためにTEVプロテアーゼの適用と組み合わせられた、MPにおける切断部位としてのTEV認識部位の組み込みは、MP選択の成功率を有意に増加させた。

10

【0279】

MP配列を同定するために、プラスミド抽出キット(Generay)を使用して選択された酵母クローンからシャトルプラスミドを抽出し、コンピテントE. coli細胞に形質転換しました。プラスミドを準備し、MPをコードする領域の配列を決定して整列させました。予想どおり、これらの配列はいくつかのグループに分けられ、ソートのラウンドを通じて明らかに濃縮されたことが示されました。マスクング効率が選択されたMPは以下の表16に示され、各MPのシーケンスは以下のシーケンスセクションに示されます。

【0280】

マスクされた抗CD28 scFvタンパク質はIgG4アイソタイプmAbsに変換されました。マスクされたIgG4 mAbsは、酵母表面に表示されるのと同じ方法で、軽鎖のN末端に融合された単一の不変マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)切断部位を持つMPを含むように設計されました。重鎖及び軽鎖は、哺乳類発現ベクターpCDNA3.3 (Thermo Fisher Scientific)に別々にクローニングされました。親抗CD28抗体のV_H配列およびV_L配列(TY24865)は、以下の配列セクションに列挙される。

20

【0281】

プラスミドのペアをHEK293F細胞に一時的にトランスフェクトしました。6日後、上清を採取し、遠心分離と濾過により清澄化し、IgGを標準的なプロテインAアフィニティークロマトグラフィー(MabSelect SuRe、GE Healthcare)で精製しました。IgGを溶出して中和し、20 mMヒスチジン、pH 5.5緩衝液に緩衝液交換しました。タンパク質濃度はUV分光光度計で測定し、IgG純度はSDS-PAGEまたはSEC-HPLCで変性、還元、非還元条件下で分析しました。重要な点は、HEK293細胞におけるマスクされた抗体の発現レベルが親抗体と同等かそれ以下であり、プロテインA樹脂後の精製収率も同様であったことです。これは、マスクングペプチドと切断ペプチドの存在が哺乳類細胞における抗体発現に重大な悪影響を及ぼさないことを示唆しています。

30

【表16】

表 16. マスクングペプチド

IgG ID	ELISAMaskung効率	IgG ID	ELISAMaskung効率	IgG ID	ELISAMaskung効率
TY26142	3062	TY26152	1867	TY26162	ND
TY26143	ND	TY26153	1825	TY26163	ND
TY26144	ND	TY26154	ND	TY26164	ND
TY26145	1430	TY26155	368	TY26165	ND
TY26146	2179	TY26156	670	TY26166	ND
TY26147	4882	TY26157	ND	TY26167	1427
TY26148	ND	TY26158	887	TY26168	2567
TY26149	3841	TY26159	468	TY26169	1818
TY26150	1027	TY26160	1461	TY26170	ND
TY26151	2476	TY26161	1484	TY26171	406

40

50

【0282】

マスキング効率の測定

【0283】

ELISAによるマスキング効率の測定では、組み換えヒトCD28-FcをPBSで2 $\mu\text{g/mL}$ に希釈し、MaxiSorpTM高タンパク質結合能96ウェルELISAプレート(ThermoFisher Scientific)に4℃で一晩コーティングしました。プレートを3%脱脂乳を添加したPBSで37℃で1時間ブロックした。洗浄後、抗CD28試験mAbsの3倍段階希釈液100 μL を各ウェルに加えました。37℃で1時間インキュベートした後、プレートを4回洗浄し、100 μL のホースラディッシュペルオキシダーゼ(HRP)結合抗ヒトIgG(Fab特異的)(1:6000希釈)二次抗体を各ウェルに加えました。プレートを37℃で1時間インキュベートし、4回洗浄した。を回繰り返し、その後、TMB基質(3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン)溶液50 μL を各ウェルに加え、プレートを室温でインキュベートした。反応をウェルあたり50 μL の硫酸停止溶液で停止した後、450 nmでの吸光度を測定しました。EC₅₀は、GraphPad Prism version 6 for Windows, GraphPad Software, La Jolla California USA, www.graphpad.comのシグモイド(4パラメータロジスティック方程式)モデルを使用してELISAデータをフィッティングすることで評価されました。

10

【0284】

選択されたマスクされた抗CD28試験mAbのマスキング効率は、マスクされたmAbの結合に対するEC₅₀をマスクされていない親mAb(TY24865)のEC₅₀で割ることによって計算され、表17に示されています。図19に示すように、親mAbと比較して、活性化可能なmAbはすべて抗原への結合が劇的に減少し、計算されたマスキング効率は368から4000を超える範囲でした。これらの結果は、改良されたMPペプチドライブラリから特定された複数のMPが、哺乳類細胞で発現した場合、および完全なIgG分子の一部として発現した場合、マスキング効率を維持することを示しています。

20

30

40

50

【表 17】

表 17. SEC 純度およびマスクされた抗 CD28 抗体のマスキング効率

IgG ID	SEC 純度		マスキング効率
	HMW (%)	LMW (%)	
TY26142	2	0	3062
TY26143	>2.0	0	ND
TY26144	24.6	0	ND
TY26145	4.5	0	1430
TY26146	3.6	0.2	2179
TY26147	1.9	0	4882
TY26148	1.9	0.1	ND
TY26149	1.4	0.1	3841
TY26150	1.9	0	1027
TY26151	1.7	0	2476
TY26152	2.1	0	1867
TY26153	1.7	0	1825
TY26154	14.2	0	ND
TY26155	1.8	0	368
TY26156	2.7	0	670
TY26157	主峰なし		ND
TY26158	低ピーク		887
TY26159	36.6	0	468
TY26160	1.4	0	1461
TY26161	1.8	0	1484
TY26162	0.9	0	ND
TY26163	1.1	0	ND
TY26164	2.5	0	ND
TY26165	2.8	0	ND
TY26166	58.5	0	ND
TY26167	2.2	0.3	1427
TY26168	20.8	0	2567
TY26169	非対称主ピーク		1818
TY26170	3.9	0.8	ND
TY26171	5.9	0	406

10

20

30

【0285】

選択された抗CD28活性化抗体の最適化

【0286】

2つのリードマスク抗CD28 mAb、TY26149とTY26152については、いくつかのN末端残基の削除、TY26149配列の残基「D」と「G」の間に「S」アミノ酸残基の追加など、MPが変更されました（表18のTY26149の太字下線付き残基）。図20に示すように、新しいマスクされた抗体の発現およびマスキング効率は有意な影響を受けませんでした。

40

50

【表 18】

表 18. マスキングペプチド配列の改変

IgG ID	マスキング+切断ペプチド配列:	配列番号
TY26149	EVGSYAATYSDCYSDPYACHDGGGGLGLAGSGGS	301
TY28338	EAATYSDCYSDPYACHDSGGGGLGLAGSGGS	302
TY28339	EYSDCYSDPYACHDSGGGGLGLAGSGGS	303
TY26152	EVGSYAAFSPACYTDPYCHAGGGPLGLAGSGGS	304
TY28341	EAAFSPACYTDPYCHAGGGPLGLAGSGGS	305
TY28342	ESPCYTDPYCHAGGGPLGLAGSGGS	306

10

【0287】

実施例12: エピトープマッピング

【0288】

試験した抗体の結合領域をアミノ酸残基レベルで決定するために、ヒトCD28の細胞外ドメインに一連の変異（表19）を作製した。これらのCD28変異プラスミドはHEK293F細胞のトランスフェクションに使用されました。ヒトCD28変異体に対する抗体の結合はフローサイトメトリー分析によって評価されました。結果は、興味深い違いにおけるこれらの抗体とヒト、サル、マウスCD28との交差反応性ととも表19にまとめられています。TY24865はヒト、サル、マウスCD28と交差反応しますが、TAC2386とTAC2387はマウスCD28に結合しません。変異体構築物は、TY24865によるエピトープとTAC2386およびTAC2387による参照抗体を区別することを目的としていました。TY24865は明らかにRE49AA、VY68AA、YS79AA、KT81AAへの結合能力は、TY24865が残基RE49、VY68、YS79、KT81に結合せず、これらの残基がヒトおよびマウスCD28の非保存領域にあることを示しています。一方、TY24865はFR51AA、SL54AA、YL98AA、QN100AA、YF110AA、KI113AA、YP118AA、PPP119AAA、PP120AA、PY121AA、およびY122A変異に対する結合能力を失っており、その結合エピトープがこれらの領域、例えば配列番号1のアミノ酸残基51、52、54、55、98～101、110～111、113～114、118～122内にあることを示しています。

20

30

40

50

【表 19】

表 19. エピトープマッピング

変異	TY24865	TAC2386	TAC2387
Hu_WT	+	+	+
Cyno_WT	+	+	+
Mouse_WT	+	-	-
Hu_RE49AA	+	+	-
Hu_FR51AA	-	-	-
Hu_SL54AA	-	-	-
Hu_VY68AA	+	+	-
Hu_Y69A	+	+	-
Hu_YS79AA	+	-	+
Hu_KT81AA	+	-	+
Hu_YL98AA	-	-	-
Hu_QN100AA	-	-	-
Hu_YF110AA	-	-	-
Hu_KI113AA	-	-	-
Hu_M117A	+	+	-
Hu_YP118AA	-	+	-
Hu_PPP119AAA	-	+	-
Hu_PP120AA	-	+	-
Hu_PY121AA	-	+	-
Hu_Y122A	-	+	+

10

20

【0289】

実施例13: TY24865の変異体

【0290】

TY24865の変異体を生成するために2つのアプローチが採用されました。TY24865 scFvのYYYY配列にさまざまな点突然変異が導入され、酵母ベースの成熟ライブラリスクリーニングを通じて新しいバッチのTY24865 scFvバリエーションが発見されました。抗TAA×CD28二重特異性抗体はFab-scFv-Fc形式で構築され、これらのbsAbsのCD28親和性はELISAを使用して測定されました。

30

【0291】

抗PD-L1×CD28二重特異性抗体は、抗PD-L1 TY21421 Fab (WO 2019/185035を参照されたい) およびTY24865 scFv (VH-VL形式) またはその変異体を使用してFab-scFv-Fc形式で構築されました。これらのbsAbsのCD28に対する親和性は、表20および図22Aおよび22B; TY29815は野生型bsAbであり、TY30413はTY29815と同様の親和性を持ちますが、他のbsAbは親和性が高くなるか低下します。

40

50

【表 2 0】

表 20. TY24865 変異体を用いた抗 PD-L1×CD28 BsAbs の構築と特性評価

BsAb	CD28 scFv	力価 (mg/L)	SEC純度		単点ELISA	ELISA EC ₅₀ (nM)
			HMW(%)	LMW (%)		
TY29815	VH-VL (YYYY)	54.1	6.4	0.6		22.26
TY30406	VH-VL (YDYY)	37.5	7.2	1.6	より高い	
TY30410	VH-VL (YYEY)	23.2	9.5	1.7	低減	
TY30413	VH-VL (YYHY)	60.2	2.8	0.5	変化はない	26.81

10

【 0 2 9 2】

抗HER2×CD28 bsAbsまたは抗B7-H3×CD28 bsAbsは、VH-VLまたはVL-VH形式のTY24865 scFv変異体を使用して構築されました。表21に示すように、これらのbsAbsは正常な力価とSEC純度を示しています。これらのbsAbsのCD28親和性はELISAによって測定され、図23Aおよび23Bに示されています。これらのscFvバリエーションは、0.954～417 nMの範囲のさまざまな親和性を示し、VL-VH形式のscFvはVH-VL形式のscFvよりも高い親和性を示します。表22および図24Aおよび24Bのいくつかの変異体はヒトおよびマウスに対して高い親和性を示し、これらの親和性はマウスT細胞結合アッセイでさらに確認された（図25）。

20

30

40

50

【表 2 1】

表 21. TY24865 変異体を用いた抗 HER2×CD28 BsAbs の構築と特性評価

BsAb ID	CD28 scFv (VL-VH)	力価 (mg/L)	SEC純度		EC ₅₀ (nM)
			HMW(%)	LMW (%)	
TY27566	WT	61.7	4.4	0.0	3.89
TY28652	BC8227	60.5	NA	NAA	3.68
TY28653	BC8228	42.2	6.8	0.1	7.30
TY28654	BC8230	59.6	3	0	68.41
TY28655	BC8233	55.2	3.4	0.2	8.14
TY28656	BC8235	70.6	2.7	0	127.7
TY28657	BC8237	67.1	3.3	0	5.29
TY28658	BC8240	67.3	4.9	0	78.02
TY28659	BC8242	64	3.4	0.3	0.954
TY28660	BC8257	67.5	4.9	0.4	3.77
TY28661	BC8263	62.8	4.9	0	52.57
BsAb ID	CD28 scFv (VH-VL)	力価 (mg/L)	SEC純度		EC ₅₀ (nM)
			HMW(%)	LMW (%)	
TY29109	WT	73.4	5.1	0.0	30.33
TY29306	BC8227	63.7	1.4	0.6	9.27
TY29307	BC8228	69.3	1.4	0	27.79
TY29308	BC8230	34.1	2.4	0	417.3
TY29309	BC8233	38.6	2	0	27.7
TY29310	BC8235	50.4	2.7	0	348.9
TY29311	BC8237	25.4	3	2.1	91.28
TY29312	BC8240	43.0	2.6	0	624.1
TY29313	BC8242	36.0	2.4	1.8	6.97
TY29314	BC8257	96.5	4	0.9	27.51
TY29315	BC8263	60.5	1.3	0	291.2

10

20

30

【表 2 2】

表 22. TY24865 変異体を用いた抗 B7-H3×CD28 BsAbs の構築と特性評価

BsAb ID	CD28 scFv (VH-VL)	ヒトCD28 EC ₅₀ (nM)	マウス CD28 EC ₅₀ (nM)
TY29021	WT	36.39	NM
TY30120	BC10599	3.026	74.18
TY30121	BC10601	5.731	108.3
TY30123	BC10621	3.588	96.41

40

【0 2 9 3】

上記の非限定的な例は、開示された主題のより完全な理解を容易にするために、説明目的のみで提供されています。これらの例は、本明細書に記載された実施形態（抗体、医薬組成物、または癌、神経変性疾患、もしくは感染症を治療するための方法および使用に関する実施形態を含む）のいずれかを制限するものと解釈されるべきではない。

50

【 0 2 9 4 】

配列

【 0 2 9 5 】

以下の表には、本明細書で開示された配列がリストされており、配列番号（SEQ）は左の列に表示されます。

【 0 2 9 6 】

【表 2 3 - 1】

SEQ	説明	配列
1	ヒトCD28	MLRLLALNLFPSIQVTGNKILVKQSPMLVAYDNAVNLSCKYSYN LFSREFRASLHKGLDSAVEVCVVYGNYSQQLQVYSKTGFNCDG KLGNESVTFYLNLYVNQTDIYFCKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIH VKGKHLCPSPFLPGPSKPFWLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS
2	マカクムラータ CD28	MLRLLALNLLPSIQVTGNKILVKQSPMLVAYDNAVNLSCKYSYN LFSREFRASLHKGLDSAVEVCVVYGNYSQQLQVYSKTGFNCDG KLGNESVTFYLNLYVNQTDIYFCKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIH VKGKHLCPSPFLPGPSKPFWLVVVGGVLACYSLLVTVAFCIFW MRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS
3	Macaca fascicularis CD28	MLRLLALNLLPSIQVTGNKILVKQSPMLVAYDNAVNLSCKYSYN LFSREFRASLHKGLDSAVEVCVVYGNYSQQLQVYSKTGFNCDG KLGNESVTFYLNLYVNQTDIYFCKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIH VKGKHLCPSPFLPGPSKPFWLVVVGGVLACYSLLVTVAFCIFW MRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS
4	マウスCD28	MTLRLFLALNFFSVQVTENKILVKQSPLLVDSDNEVSLSCRYSY NLLAKEFRASLYKGVNSDVEVCVGNNGFTYQPQFRSNAEFNCD GDFDNETVTFRLWNLHVNHDTIYFCKIEFMYPYPPYLDNERSNGTII HIKEKHLCHTQSSPKLFWALVVVAGVLCYGLLVTVALCVIWTNS RRNRLLQSDYMNMTPRRPGPTRKPYQPYAPARDFAAYRP
マスクされていない抗CD28抗体		
抗CD28 mAb(TY24865)		
5	HCDR1	TGGVGVS
6	HCDR2	EIYHSGSTYYSPSLKS
7	HCDR3	YEEEEYDFDY
8	LCDR1	RASQSVDFHGISFLH
9	LCDR2	AASSLQS
10	LCDR3	QQSYRSPRT
11	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVSQIRQAP GKGLEWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRA EDTAVYYCARYEEEEYDFDYWGQGTLLTVSS
12	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFHGISFLHWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQSYRSPRTFGQGTKEIK
13	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVSQIRQAP GKGLEWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRA EDTAVYYCARYEEEEYDFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESK YGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 2】

		SLSLGK
14	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVDFHGISFLHWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATY YCQQSYRSPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24853)		
15	HCDR1	SGHHWS
6	HCDR2	EIYHSGSTYYSPSLKS
16	HCDR3	KDDYYAFDY
17	LCDR1	RASESVDFYGISFLH
18	LCDR2	AATLQS
19	LCDR3	QQSYRTPT
20	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSGHHWSWIRQAPGK GLEWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRAED TAVYYCARKDDYYAFDYWGQGLTVTVSS
21	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASESVDFYGISFLHWYQQKPG KAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATY YCQQSYRTPTFGGGTKVEIK
22	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSGHHWSWIRQAPGK GLEWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRAED TAVYYCARKDDYYAFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVL DSDGFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK
23	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASESVDFYGISFLHWYQQKPG KAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATY YCQQSYRTPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24854)		
24	HCDR1	SGYHWG
6	HCDR2	EIYHSGSTYYSPSLKS
25	HCDR3	RRGDGYFDF
26	LCDR1	RASQSVDFLGISFLH
27	LCDR2	DASNRAT
28	LCDR3	QQSYRTPLT
29	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSGYHWGWIRQAPGK GLEWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRAED TAVYYCARRRGDGYDFWQGLTVTVSS
30	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVDFLGISFLHWYQQKPG KAPKLLIYDASNRATGIPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYY CQQSYRTPLTFGGGTKVEIK
31	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSGYHWGWIRQAPGK GLEWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRAED

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 3】

		TAVYYCARRRGDGYFDFWGGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS SGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVL DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLKG
32	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFLGISFLHWYQQKPG KAPKLLIYDASNRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYY CQQSYRTPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24859)		
33	HCDR1	TGGVGVG
6	HCDR2	EIYHSGSTYYSPSLKS
35	HCDR3	YGYSYYALDY
36	LCDR1	SASSSVGYVQ
37	LCDR2	DASNLET
38	LCDR3	QQSYTSPRT
39	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAP GKGLEWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRA EDTAVYYCARYGYSYYALDYWGQGTTLTVSS
40	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVGYVQWYQQKPGKAPK LLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ SYTSPRTFGGGTKVEIK
41	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAP GKGLEWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRA EDTAVYYCARYGYSYYALDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVES KYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLKG
42	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVGYVQWYQQKPGKAPK LLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ SYTSPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24860)		
43	HCDR1	TSGVGVS
6	HCDR2	EIYHSGSTYYSPSLKS
44	HCDR3	KGYYYAFDY
45	LCDR1	RASQDIGSFLA
9	LCDR2	AASSLQS
46	LCDR3	QQSYRSPPT

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 4】

47	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTSGVGVSWIRQAP GKGLEWIGEIIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRA EDTAVYYCARKGYYYYAFDYWGPGTLTVSS
48	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIGSFLAWYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ SYRSPPTFGQGTKVEIK
49	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTSGVGVSWIRQAP GKGLEWIGEIIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRA EDTAVYYCARKGYYYYAFDYWGPGTLTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESK YGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSGEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK
50	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIGSFLAWYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ SYRSPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24866)		
33	HCDR1	TGGVGVG
51	HCDR2	EIYHSGSTYYPPSLKS
52	HCDR3	YEYSSYGLDY
53	LCDR1	RASQDIRKFLA
300	LCDR2	DASSLES
10	LCDR3	QQSYRSPRT
54	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAP GKGLEWIGEIIYHSGSTYYPPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRA EDTAVYYCARYEYSSYGLDYWGQGTTLTVSS
55	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIRKFLAWYQQKPGKAPK LLIYDASSLESQVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ SYRSPRTFGQGTKVEIK
56	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAP GKGLEWIGEIIYHSGSTYYPPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRA EDTAVYYCARYEYSSYGLDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESK YGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSGEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK
57	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIRKFLAWYQQKPGKAPK LLIYDASSLESQVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ SYRSPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSST

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 5】

		LTLISKADYEHKHYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24869)		
24	HCDR1	SGYHWG
58	HCDR2	AIYHSGSTYYSPSLKS
59	HCDR3	SGLVYYAFDY
60	LCDR1	RASQGIGSYLA
300	LCDR2	DASSLES
61	LCDR3	QYSTSPLT
62	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYSISSGYHWGWIRQAPG QGLEWIGAIYHSGSTYYSPSLKSRVTITADKSTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCARSGLVYYAFDYWGQGTLLTVSS
63	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIGSYLAWYQQKPGKAP KLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QYSTSPLTFGQGTKEIK
64	HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYSISSGYHWGWIRQAPG QGLEWIGAIYHSGSTYYSPSLKSRVTITADKSTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCARSGLVYYAFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESK YGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV LDSGSEFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK
65	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIGSYLAWYQQKPGKAP KLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QYSTSPLTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSLSS LTLISKADYEHKHYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24871)		
66	HCDR1	SYAIH
67	HCDR2	SIYHSGSTYYSPSLKS
68	HCDR3	DVYGSYALDV
69	LCDR1	RASQSVDFDGISFLH
300	LCDR2	DASSLES
70	LCDR3	QQSYRSPIT
71	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGFTFSSYAIHWVRQAPGQ GLEWIGSIYHSGSTYYSPSLKSRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARDVYGSYALDVWGQGTLLTVSS
72	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSVDFDGISFLHWYQQKPG KAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYY CQQSYRSPITFGQGTKEIK
73	HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGFTFSSYAIHWVRQAPGQ GLEWIGSIYHSGSTYYSPSLKSRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARDVYGSYALDVWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY GPPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 6】

		HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LSDGSEFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK
74	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFDGISFLHWYQQKPG KAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYY CQQSYRSPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24773)		
24	HCDR1	SGYHWG
6	HCDR2	EIYHSGSTYYSPSLKS
75	HCDR3	KDYYYALDY
76	LCDR1	RASQSVDFYGKSFLH
18	LCDR2	AASTLQS
28	LCDR3	QQSYRTPLT
77	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGYHWGWIRQAPGK GLEWIGEIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAED TAVYYCARKDYYYALDYWGQGLTVTVSS
78	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFYGKSFLHWYQQKPG GKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYCQQSYRTPLTFGQGTKVEIK
79	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGYHWGWIRQAPGK GLEWIGEIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAED TAVYYCARKDYYYALDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSVVTPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVGFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHL QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LSDGSEFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK
80	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFYGKSFLHWYQQKPG GKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYCQQSYRTPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYST SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24876)		
24	HCDR1	SGYHWG
58	HCDR2	AIYHSGSTYYSPSLKS
81	HCDR3	GPLSYAFDY
82	LCDR1	RASQSVSRYLA
27	LCDR2	DASNRAT
83	LCDR3	QQYYRSPIT
84	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGYSITSGYHWGWIRQAPG QGLEWIGAIYHSGSTYYSPSLKSRVTITADKSTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCARGPLSYAFDYWGQGLTVTVSS
85	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVSRYLAWYQQKPGKAP KLLIYDASNRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 7】

		QYYRSPITFGQGTKVEIK
86	HC	QQVLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYSITSGYHWGWIRQAPG QGLEWIGAIYHSGSTYYPSLKSRTITADKSTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCARGPLSYAFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESK YGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSGEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSLGK
87	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVSRYLAWYQQKPGKAP KLLIYDASNRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QYYRSPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24878)		
88	HCDR1	TGGVAVA
89	HCDR2	QIYYSGSTYYNPSLKS
90	HCDR3	SSAHYYFDV
91	LCDR1	RASESVDFQGISFLD
300	LCDR2	DASSLES
70	LCDR3	QQSYRSPIT
92	VH	QQVLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGFSLSLSTGGVAVAWIRQAP QGLEWIGQIYYSGSTYYNPSLKSRTITADKSTSTAYMELSSLR SEDTAVYYCARSSAHYYFDVWGQGLTVTVSS
93	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASESVDFQGISFLDWYQQKPG KAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYY CQQSYRSPITFGQGTKVEIK
94	HC	QQVLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGFSLSLSTGGVAVAWIRQAP QGLEWIGQIYYSGSTYYNPSLKSRTITADKSTSTAYMELSSLR SEDTAVYYCARSSAHYYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVES KYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV VLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQK SLSLSLGK
95	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASESVDFQGISFLDWYQQKPG KAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYY CQQSYRSPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24879)		
24	HCDR1	SGYHWG
96	HCDR2	SIYHSGSTYYNPSLKS
97	HCDR3	SGLRYAFDV

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 8】

98	LCDR1	AASQDVSTAVA
9	LCDR2	AASSLQS
70	LCDR3	QQSYRSPIT
99	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYSISSGYHWGWIRQAPG QGLEWIGSIYHSGSTYYNPSLKSRTITADKSTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCARSGLRYYAFDVWGQGTLLTVSS
100	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCAASQDVSTAVAWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYRSPITFGQGTKVEIK
101	HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYSISSGYHWGWIRQAPG QGLEWIGSIYHSGSTYYNPSLKSRTITADKSTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCARSGLRYYAFDVWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESK YGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSLGK
102	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCAASQDVSTAVAWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYRSPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSS TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24884)		
103	HCDR1	GYAIH
104	HCDR2	QIYHSGSTYYNPSLKS
105	HCDR3	SGYGGYDFDY
106	LCDR1	RASQSVPRRYLA
18	LCDR2	AASTLQS
83	LCDR3	QQYYRSPIT
107	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGFTFSGYAIHWVRQAPGQ GLEWIGQIYHSGSTYYNPSLKSRTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARSYGGYDFDYWGQGTLLTVSS
108	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVPRRYLAWYQQKPGKA PKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQYYRSPITFGQGTKVEIK
109	HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGFTFSGYAIHWVRQAPGQ GLEWIGQIYHSGSTYYNPSLKSRTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARSYGGYDFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSLGK
110	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVPRRYLAWYQQKPGKA

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 9】

		PKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC QQYYRSPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSS STLTLSKADYEHKVKYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24890)		
111	HCDR1	SGHHWG
6	HCDR2	EIYHSGSTYYSPSLKS
112	HCDR3	RELGYAYFDY
113	LCDR1	RASQDIRKYLA
18	LCDR2	AASLTQS
114	LCDR3	QQYYRTPLT
115	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGHHWGWRQAPG KGLEWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAE DTAVYYCARRELGYAYFDYWGQGLTVTVSS
116	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDIRKYLAWYQQKPGQAP RLLIYAASLTQSGVPARFSGSGSGTDFLTISLQPEDFAVYYCQ QYYRTPLTFGQGTKVEIK
117	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGHHWGWRQAPG KGLEWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAE DTAVYYCARRELGYAYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESK YGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSKEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK
118	LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDIRKYLAWYQQKPGQAP RLLIYAASLTQSGVPARFSGSGSGTDFLTISLQPEDFAVYYCQ QYYRTPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSS TLTSLKADYEHKVKYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24856)		
15	HCDR1	SGHHWS
6	HCDR2	EIYHSGSTYYSPSLKS
119	HCDR3	RDFGASYFDY
120	LCDR1	RASQGVGPWLA
9	LCDR2	AASSLQS
121	LCDR3	QQYYSYST
122	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGHHWSWRQAPGK GLEWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAED TAVYYCARRDFGASYFDYWGQGLTVTVSS
123	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGVGPWLAWYQQKPGKA PKLLIYAASSLTQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC QQYYSYSTFGQGTKVEIK
124	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGHHWSWRQAPGK GLEWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAED TAVYYCARRDFGASYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 1 0】

		SSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSGGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK
125	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGVGPWLAWYQQKPGKA PKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC QQYYSYSTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYSLSS TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24881)		
126	HCDR1	TGGVGVVT
67	HCDR2	SIYHSGSTYYSPSLKS
127	HCDR3	YDYGYSFDV
128	LCDR1	RASQSVDFDAFSFLA
18	LCDR2	AASTLQS
129	LCDR3	QQSYSAST
130	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFSLSLTGGVGVTVIRQAP QGQLEWIGSIYHSGSTYYSPSLKSRVTITADKSTSTAYMELSSLR SEDTAVYYCARYDYGYYSFDVWGQGLTVTVSS
131	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVDFDAFSFLAWYQQKP GKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYCQQSYSASTFGQGTKVEIK
132	HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFSLSLTGGVGVTVIRQAP QGQLEWIGSIYHSGSTYYSPSLKSRVTITADKSTSTAYMELSSLR SEDTAVYYCARYDYGYYSFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPL APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDRVE SKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSLGK
133	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVDFDAFSFLAWYQQKP GKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYCQQSYSASTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYS LSSTLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24858)		
134	HCDR1	SGHHWT
6	HCDR2	EIYHSGSTYYSPSLKS
135	HCDR3	RDYGSYFDY
136	LCDR1	RASQSVRSFLA
27	LCDR2	DASNRAT
83	LCDR3	QQYRSPIT
137	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGHHWTWIRQAPGK GLEWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAED

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 1 1】

		TAVYYCARRDYGSSYFDYWGGGTLVTVSS
138	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSVSRFLAWYQQKPGKA PKLLIYDASNRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QYYRSPITFGQGTKVEIK
139	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGHHWTWIRQAPGK GLEWIGEIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRAED TAVYYCARRDYGSSYFDYWGGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVVTPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK
140	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSVSRFLAWYQQKPGKA PKLLIYDASNRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QYYRSPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24864)		
43	HCDR1	TSGVGVS
58	HCDR2	AIYHSGSTYYSPSLKS
141	HCDR3	YGYSYAFDY
142	LCDR1	RASQTIGSFLN
300	LCDR2	DASSLES
143	LCDR3	QQSYSYQT
144	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTSGVGVSWIRQAP GKGLEWIGAIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRA EDTAVYYCARYGYSYAFDYWGQGTTLVTVSS
145	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQTIGSFLNYYQQKPGKAPK LLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ SYSYQTFGQGTKVEIK
146	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTSGVGVSWIRQAP GKGLEWIGAIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRA EDTAVYYCARYGYSYAFDYWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSVVTPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVES KYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLGK
147	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQTIGSFLNYYQQKPGKAPK LLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ SYSYQTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTL TLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24877)		

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 1 2】

148	HCDR1	NYGIH
6	HCDR2	EIYHSGSTYYSPSLKS
149	HCDR3	GPLSYALDY
150	LCDR1	RASQSIRRLN
300	LCDR2	DASSLES
83	LCDR3	QQYYRSPIT
151	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGYTFTNYGIHWVRQAPGQ GLEWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGPLSYALDYWGQGTLLTVSS
152	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSIRRLNHWYQQKPKAPK LLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ YYRSPITFGQGTKVEIK
153	HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGYTFTNYGIHWVRQAPGQ GLEWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGPLSYALDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVGFNHWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK
154	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSIRRLNHWYQQKPKAPK LLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ YYRSPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTL TLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24855)		
15	HCDR1	SGHHWS
155	HCDR2	DIYHSGSTYYNPSLKS
16	HCDR3	KDDYYAFDY
156	LCDR1	RAPQSVDFHGKSFLH
27	LCDR2	DASNRAT
70	LCDR3	QQSYRSPIT
157	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSGHHWSWIRQAPGK GLEWIGDIYHSGSTYYNPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAED TAVYYCARKDDYYAFDYWGQGTLLTVSS
158	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRAPQSVDFHGKSFLHWYQQKP GKAPKLLIYDASNRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQSYRSPITFGQGTKVEIK
159	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSGHHWSWIRQAPGK GLEWIGDIYHSGSTYYNPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAED TAVYYCARKDDYYAFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVGFNHWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 1 3】

		DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK
160	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRAPQSVDFHGSFLHWYQQKP GKAPKLLIYDASNRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQSYRSPITFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗CD28 mAb (TY24857)		
161	HCDR1	TSGVAVG
6	HCDR2	EIYHSGSTYYSPSLKS
162	HCDR3	HGYHYALDY
163	LCDR1	PASQDVGTA
300	LCDR2	DASSLES
164	LCDR3	QYYSSPPT
165	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSSTSGVAVGWIRQAP GKGLEWIGEIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYQLNSLRA EDTAVYYCARHGYHYALDYWGQGTLLVTVSS
166	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITICPASQDVGTA VAWYQQKPGKAP KLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QYYSSPPTFGQGTKEIK
167	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSSTSGVAVGWIRQAP GKGLEWIGEIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYQLNSLRA EDTAVYYCARHGYHYALDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSVTVPSSSLGKTITCNVDHKPSNTKVDKRVES KYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVGFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPQVYTLTP PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSLGK
168	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITICPASQDVGTA VAWYQQKPGKAP KLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QYYSSPPTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSLSS TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
マスクされていない二重特異性抗体		
HER2×CD28二重特異性抗体-(親-TY24865)		
TY27566		
169	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICKASQDVSIQVAWYQQKPGKAP KLLIYSASYRYTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QYYIYPYTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSLSS TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
170	HC-A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWDVVRQAPGK GLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPA AVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGKTITCNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 1 4】

		CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRKLTKNQVKLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNH YTQKSLSLSPGK
171	HC-B	DIQLTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQSVDFHGISFLHWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQSYRSPRTFGQGTKEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVSWIRQAPG KGLEWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAE DTAVYYCARYEYDYFDYWGQGTLLTVVSSEPKSSDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTDPPSRDELTK NQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENCYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQDSLSPGK
TY27881		
169	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCKASQDVSIQVAWYQQKPGKAP KLLIYSASYRYTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QYYIYPYTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
170	HC-A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGK GLEWVADVPNSGGSIYNGRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRKLTKNQVKLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNH YTQKSLSLSPGK
172	HC-B	DIQLTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQSVDFYGKSFHLHWYQQK GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYCQQSYRSPLTFGQGTKEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGGS EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTSGVGVSWIRQAP KGKLEWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRV EDTAVYYCARDEYDYAFDYWGQGTLLTVVSSEPKSSDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTDPPSRDELT KNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENCYKTTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQDSLSPG K
TROP2×CD28二重特異性抗体		
TY27571		
173	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQDVSIQVAWYQQKPGKAP KLLIYSASYRYTGVPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ QHYITPLTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC

10

20

30

40

50

【表 23-15】

		LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS TLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
174	HC-A	QVQLLQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGINWVRQAPGQ GLEWLGWIHTYTGEPYTDGKGRFVFLDTSVSTAYLQISSLKA DDTAVYYCARGGFGSSYWFYDVGQGTLLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSKVHFFP AVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRKRLTKNQVCLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYK TPPVLDGDSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNNH YTQKSLSPGK
171	HC-B	DIQLTQSPSSLSASVGDRTTICRASQSVDFHGIFLHWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQSYRSPRTFGQGTKEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVSWIRQAPG KGLEWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAE DTAVYYCARYEYDYFDYWGQGTLLTVSSEPKSSDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLW GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTPPSRDELTK NQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENYKTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNNHYTQDSLSPGK
B7H3×CD28二重特異性抗体		
TY27556		
175	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRTTICRASQSVIRKYLWYQQKPGKAPK LLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCSQ GTHVPFTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSST TLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
176	HC-A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYGIHWVRQAPGK GLEWIGWISPGGDTKYAQKFQGRVTISRDNKNTLYLQLNSLRA EDTAVYYCARGGTVVYFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSKVHFFPAVL QSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRKRLTKNQVCLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDGDSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNNHYT QKSLSPGK
171	HC-B	DIQLTQSPSSLSASVGDRTTICRASQSVDFHGIFLHWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQSYRSPRTFGQGTKEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVSWIRQAPG KGLEWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAE DTAVYYCARYEYDYFDYWGQGTLLTVSSEPKSSDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLW

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 1 6】

		GKEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTDPPSRDELTK NQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENCYKTTTPVLDSGGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSLSPGK
TY26999		
175	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIRKYLNWYQQKPGKAPK LLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCSQ GTHVPFTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
176	HC-A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYGIHWVRQAPGK GLEWIGWISPSGGDTKYAQKFQGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRA EDTAVYYCARGGTVVYFDYWGGQTLTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRKLTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDCDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
177	HC-B	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTGSSTGAVTTSNYPNWVQQKPG QAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAE YYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAINWVRQAPGK GLEWVGRIRSKYNNYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQINSL RAEDTAVYYCVRHGNFGTSYVSWFAYWGGQTLTVTSSEPKSSD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTDPP SRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENCYKTTTPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDS LSLSPGK

10

20

マスキングユニット(MU)	
配列番号	配列
178	ASDLYVCAHDPYFCHS
179	PNVFDTCYVDPYSCTI
180	YAAAPSCPPANYCAD
181	HHADPLCFAQHSACNT
182	YDTHDYCLIHYSCTD
183	ADFAPYCYADPYCHD
184	DIASDSCYYHPNHCDT
185	AATYSDCYSDPYACHD
186	PTYDHDCAVYNNFCNA
187	HNHALTCYTDYPYACHS
188	AAFSPACYTDYPYSCHA
189	TPHPDACFVDPYHCHT
190	APSDAYCYADPYACHT
191	AVDDDPYTDYPYQCTA
192	THSDAVCAPDHAYCLY

30

40

50

【表 2 3 - 1 7】

193	PYIYVDCYAPPFCAAY
194	YFCAEGVPIVLCIG
195	DYCEGPPAFFYCAK
196	FPCEPLADPFLCRQ
197	LVCEDVPFPAACRA
198	ALCEFYAFPYFCAR
199	IVCKYFDDPFLCRR
200	YFCPVRVPLAVCLR
201	PSCPDYVPFPVCAQ
202	VACAKAFAYVYCLV
203	VLCGDSVPFLLCEP
204	ILCPEGVPVVFVCL
205	SDCGLGVPLLVCLK
206	TDCGIFFPVDDCLS
207	HIPDHYCAADHHYCY
208	AATYSDCYSDPYACHD
209	YSDCYSDPYACHD
210	AAFSPACYTDPYSCHA
211	SPACYTDPYSCHA

10

マスキングペプチドコンポーネント		
配列番号	説明	配列
212	N末端ユニット	EVGSY
213	連結ユニット(LU)	GGGPLGLAGSGGS
214	連結ユニット(LU)	SGGGPLGLAGSGGS

20

配列番号	試料 ID 名	マスキング+切断ペプチド配列:	配列番号			
			LC	HC	MU	LU
215	TY26142	EVGSYASDLVCAHDPYFCHSGGGPLGLAGSGGS	14	13	171	213
216	TY26143	EVGSYPNVFDTCYVDPYSCTIGGGPLGLAGSGGS	14	13	172	213
217	TY26144	EVGSYAAAPSCPPANYCADGGGPLGLAGSGGS	14	13	173	213
218	TY26145	EVGSYHHADPLCFAQHSACNTGGGPLGLAGSGGS	14	13	174	213
219	TY26146	EVGSYYDTHDYCLIHYHSCDTGGGPLGLAGSGGS	14	13	175	213
220	TY26147	EVGSYADFAPYCYADPYCHDGGGPLGLAGSGGS	14	13	176	213
221	TY26148	EVGSYDIASDSCYYHPNHCDTGGGPLGLAGSGGS	14	13	177	213
222	TY26149	EVGSYAATYSDCYSDPYACHDGGGPLGLAGSGGS	14	13	178	213
223	TY26150	EVGSYPTYDHDCAVYNNFCNAGGGPLGLAGSGGS	14	13	179	213
224	TY26151	EVGSYHNHALTCYTDPYACHSGGGPLGLAGSGGS	14	13	180	213
225	TY26152	EVGSYAAFSPACYTDPYSCHAGGGPLGLAGSGGS	14	13	181	213

30

40

50

【表 2 3 - 1 8】

配列番号	試料 ID 名	マスキング+切断ペプチド配列:	配列番号			
226	TY26153	<u>EVGSYTPHPDACFVDPYHCHTGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	182	213
227	TY26154	<u>EVGSYAPSDAYCYADPYACHTGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	183	213
228	TY26155	<u>EVGSYAVDDDPYCTDPYQCTAGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	184	213
229	TY26156	<u>EVGSYTHSDAVCAPDHAYCLYGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	185	213
230	TY26157	<u>EVGSYPYIYVDCYAPPFFCAYGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	186	213
231	TY26158	<u>EVGSYFCAEGVPIVLCIGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	187	213
232	TY26159	<u>EVGSYDYCEGPPAFFYCAKGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	188	213
233	TY26160	<u>EVGSYFPCPLADPFLCRQGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	189	213
234	TY26161	<u>EVGSYLVCEDEVFPAACRAGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	190	213
235	TY26162	<u>EVGSYALCEFYAFPYFCARGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	191	213
236	TY26163	<u>EVGSYIVCKYFDDPFLCRRGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	192	213
237	TY26164	<u>EVGSYFPCVVRVPLAVCLRGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	193	213
238	TY26165	<u>EVGSYSPCPDYVPFVCAQGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	194	213
239	TY26166	<u>EVGSYVACAKAFAYVYCLVGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	195	213
240	TY26167	<u>EVGSYVLCGDSVPFLLCEPGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	196	213
241	TY26168	<u>EVGSYILCEGVVVFVCLGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	197	213
242	TY26169	<u>EVGSYSDCGLVPLLVCLKGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	198	213
243	TY26170	<u>EVGSYTDGIPFPVDDCLSGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	199	213
244	TY26171	<u>EVGSYHIPDHYCAADHHYCYGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	200	213
245	TY28338	<u>EATYSDCYSDPYACHDSGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	201	214
246	TY28339	<u>EYSDCYSDPYACHDSGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	202	214
247	TY28341	<u>EAAFSPACYTDPYSCHAGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	203	213
248	TY28342	<u>ESPACYTDPYSCHAGGGPLGLAGSGGS</u>	14	13	204	213

SEQ	フレキシブルリンカー
249	GGGGS
250	GGGGT
251	SGGS

10

20

30

40

50

【表 23-19】

252	GGSG
253	GGSGG
254	GSGSG
255	GSGGG
256	GGGSG
257	GSSSG

マスク二重特異性抗体		
HER2xCD28二重特異性抗体-(親-TY24865)		
TY27566		
258	LCDR1	KASQDVSIGVA
259	LCDR2	SASYRYT
260	LCDR3	QYYYIYPYT
261	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYYYIYPYTF GQGTKVEIK
262	HCDR1-A	DYTMD
263	HCDR2-A	DVNPNSGGSIYNQRFKG
264	HCDR3-A	NLGPSFYFDY
265	VH-A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLE WVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARNLGPSFYFDYWGQGTLLTVSS
5	HCDR1-B	TGGVGVS
6	HCDR2-B	EIYHSGSTYYSPSLKS
7	HCDR3-B	YEYYYYDFDY
8	LCDR1-B	RASQSVDFHGISFLH
9	LCDR2-B	AASSLQS
10	LCDR3-B	QSYRSPRT
266	scFv-B	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFHGISFLHWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYR SPRTFGQGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFSLSLSTGGVGVSQIRQAPGKGLEWIGEIYHSGSTY YSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARYEYYYYDFDY WGQGTLLTVSS
TY27807		
267	LCDR1	RASQDVNTAVA
268	LCDR2	SASFLYS
269	LCDR3	QQHYTTPPT
270	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLI YSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPT FGQGTKVEIK
271	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLI YSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPT FGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
272	HCDR1-A	DTYIH
273	HCDR2-A	RIYPTNGYTRYADSVKG
274	HCDR3-A	WGGDGFYAMDY

10

20

30

40

50

【表 23-20】

275	VH-A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWV ARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCS RWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSS
276	HC-A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWV ARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCS RWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKRLTKNQVKLTVLKGFPYSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDLDCDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
5	HCDR1-B	TGGVGVS
6	HCDR2-B	EIYHSGSTYYSPSLKS
7	HCDR3-B	YEYYYYDFDY
8	LCDR1-B	RASQSVDFHGISFLH
9	LCDR2-B	AASSLQS
10	LCDR3-B	QQSYRSPRT
266	scFv-B	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFHGISFLHWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYR SPRTFGQGTKEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFSLSTGGVGVSQWIRQAPGKGLEWIGEIYHSGSTY YSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARYEYYYYDFDY WGQGLTVTVSS
171	HC-B	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFHGISFLHWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYR SPRTFGQGTKEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFSLSTGGVGVSQWIRQAPGKGLEWIGEIYHSGSTY YSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARYEYYYYDFDY WGQGLTVTVSSSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYAST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENYKTTTP PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLS LSPGK
TROP2×CD28二重特異性抗体		
TY27571		
277	LCDR1-A	RASQDVSIAVA
259	LCDR2-A	SASYRYT
278	LCDR3-A	QQHYITPLT
279	VL-A	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSIAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYITPLTF GQGTKEIK
280	HCDR1-A	NYGIN
281	HCDR2-A	WIHTYTGEPTYTDDFKG
282	HCDR3-A	GGFGSSYWYFDV
283	VH-A	QVQLLQSGSELKPKGASVKVSCASGYFTFTNYGINWVRQAPGQGLEW LGWIHTYTGEPTYTDDFKGRFVSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYYC ARGGFGSSYWYFDVWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 2 1】

5	HCDR1-B	TGGVGVS
6	HCDR2-B	EIYHSGSTYYSPSLKS
7	HCDR3-B	YEYYYYDFDY
8	LCDR1-B	RASQSVDFHGISFLH
9	LCDR2-B	AASSLQS
10	LCDR3-B	QQSYRSPRT
266	scFv-B	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFHGISFLHWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYR SPRTFGQGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFSLSLSTGGVGVSQIRQAPGKGLEWIGEIYHSGSTY YSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARYEYYYYDFDY WGQGTLLTVSS
B7H3×CD28二重特異性抗体		
TY27556		
287	LCDR1-A	RASQSIRKYLN
18	LCDR2-A	AASTLQS
288	LCDR3-A	QGTHVPFT
289	VL-A	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRKYLNWYQQKPGKAPKLLIY AASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCSQGTHVPFT FGQGTKVEIK
290	HCDR1-A	GYGIH
291	HCDR2-A	WISPSGGDTKYAQKFQG
292	HCDR3-A	GGTVVYFDY
293	VH-A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYGIHWVRQAPGKGLEWI GWISPSGGDTKYAQKFQGRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARGGTVVYFDYWGQGTLLTVSS
5	HCDR1-B	TGGVGVS
6	HCDR2-B	EIYHSGSTYYSPSLKS
7	HCDR3-B	YEYYYYDFDY
8	LCDR1-B	RASQSVDFHGISFLH
9	LCDR2-B	AASSLQS
10	LCDR3-B	QQSYRSPRT
266	scFv-B	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFHGISFLHWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYR SPRTFGQGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFSLSLSTGGVGVSQIRQAPGKGLEWIGEIYHSGSTY YSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARYEYYYYDFDY WGQGTLLTVSS
B7H3×CD3二重特異性抗体		
TY26999		
287	LCDR1-A	RASQSIRKYLN
18	LCDR2-A	AASTLQS
288	LCDR3-A	QGTHVPFT
289	VL-A	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRKYLNWYQQKPGKAPKLLIY AASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCSQGTHVPFT FGQGTKVEIK
290	HCDR1-A	GYGIH
291	HCDR2-A	WISPSGGDTKYAQKFQG
292	HCDR3-A	GGTVVYFDY

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 2 2】

293	VH-A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYGIHWVRQAPGKGLEWIGWISPSGGDTKYAQKFQGRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARGGTVVYFDYWGQGT LVTVSS
5	HCDR1-B	TYAIN
294	HCDR2-B	RIRSKYNNYATYYAESVKG
295	HCDR3-B	HGNFGTSYVSWFAY
296	LCDR1-B	GSSTGAVTTSNYPN
297	LCDR2-B	GTNKRAP
298	LCDR3-B	ALWYSNLWV
299	scFv-B	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYPNWWVQQKPGQAP RGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWY SNLWVFGGGTKLTVLGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAINWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYAESVKG RFTISRDDSKNTLYLQINSLRAEDTAVYYCVRHGNFGTSYVSWFAYWGQGT LVTVSS

10

配列番号	IgG ID	マスキング+切断ペプチド配列:
301	TY26149	EVGSYAATYSDCYSDPYACHDGGGGLGLAGSGGS
302	TY28338	EAATYSDCYSDPYACHDSGGGGLGLAGSGGS
303	TY28339	EYSDCYSDPYACHDSGGGGLGLAGSGGS
304	TY26152	EVGSYAAFSPACYTDPY SCHAGGGPLGLAGSGGS
305	TY28341	EAAFSPACYTDPY SCHAGGGPLGLAGSGGS
306	TY28342	ESPACYTDPY SCHAGGGPLGLAGSGGS

20

TY24865 変異体		
配列番号	説明	配列
TY28652		
5	HCDR1	TGGVGVS
96	HCDR2	SIYHSGSTYYNPSLKS
307	HCDR3	YEYDYAFDY
76	LCDR1	RASQSVDFYGKSFLH
308	LCDR2	AASSLES
46	LCDR3	QQSYRSPPT
362	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLS TGGVGVS WIRQAPGKGLEWIGSIYHSGSTYYNPSLKS RVTISRDN SKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARYEYDYAFDYWGQGT LVTVSS
363	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFY GKSFLHWYQQKPGKAPKLLIYAASSLESGVPSRFSGSGGTDFLT ISSLQPEDFATYYCQQSYRSPPTFGQG TKVEIK
TY28653		
5	HCDR1	TGGVGVS
96	HCDR2	SIYHSGSTYYNPSLKS
309	HCDR3	YEGYYALDY
310	LCDR1	RASQSVDFYGISFLH

30

40

50

【表 2 3 - 2 3】

9	LCDR2	AASSLQS
311	LCDR3	QQSYRTPPT
364	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVSWIRQ APGKGLEWIGSIYHSGSTYYNPSLKSRTISRDN SKNTLYLQLN SLRAEDTAVYYCARYEYGYALDYWGQGT LVTVSS
365	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFYGISFLHWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSYRTPPTFGQGTKVEIK
TY28654		
43	HCDR1	TSGVGVS
96	HCDR2	SIYHSGSTYYNPSLKS
312	HCDR3	YEYGYAFDY
76	LCDR1	RASQSVDFYGKSFLH
9	LCDR2	AASSLQS
28	LCDR3	QQSYRTPLT
366	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTSGVGVSWIRQA PGKGLEWIGSIYHSGSTYYNPSLKSRTISRDN SKNTLYLQLNS LRAEDTAVYYCARYEYGYAFDYWGQGT LVTVSS
367	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFYGKSFLHWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYRTPLTFGQGTKVEIK
TY28655		
43	HCDR1	TSGVGVS
96	HCDR2	SIYHSGSTYYNPSLKS
307	HCDR3	YEYDYAFDY
310	LCDR1	RASQSVDFYGISFLH
9	LCDR2	AASSLQS
313	LCDR3	QQSYRTPRT
368	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTSGVGVSWIRQA PGKGLEWIGSIYHSGSTYYNPSLKSRTISRDN SKNTLYLQLNS LRAEDTAVYYCARYEYDYAFDYWGQGT LVTVSS
369	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFYGISFLHWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSYRTPRTFGQGTKVEIK
TY28656		
314	HCDR1	TSGVGVG
315	HCDR2	EIYHSGSTNYPNPSLKS
309	HCDR3	YEYGYALDY
76	LCDR1	RASQSVDFYGKSFLH
9	LCDR2	AASSLQS
313	LCDR3	QQSYRTPRT
370	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTSGVGVSWIRQ APGKGLEWIGIYHSGSTNYPNPSLKSRTISRDN SKNTLYLQLN SLRAEDTAVYYCARYEYGYALDYWGQGT LVTVSS
371	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFYGKSFLHWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYRTPRTFGQGTKVEIK
TY28657		
33	HCDR1	TGGVGVG

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 2 4】

316	HCDR2	EIYHSGSTYYNPSLKS
312	HCDR3	YEYGYAFDY
8	LCDR1	RASQSVDFHGISFLH
308	LCDR2	AASSLES
313	LCDR3	QQSYRTPRT
372	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSLSTGGVGVGWIRQ APGKGLEWIGEIIYHSGSTYYNPSLKSRTVISRDNSKNTLYLQLN SLRAEDTAVYYCARYEYGYAFDYWGQGTLLTVSS
373	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQSVDFHGISFLHWYQQK PGKAPKLLIYAASSLESQVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQSYRTPRTFGQGTKVEIK
TY28658		
314	HCDR1	TSGVGVG
96	HCDR2	SIYHSGSTYYNPSLKS
317	HCDR3	YEYDYYDFDY
76	LCDR1	RASQSVDFYGKSFLH
308	LCDR2	AASSLES
318	LCDR3	QQSYRSPLT
374	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSLSTSGVGVGWIRQ APGKGLEWIGSIYHSGSTYYNPSLKSRTVISRDNSKNTLYLQLN SLRAEDTAVYYCARYEYDYYDFDYWGQGTLLTVSS
375	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQSVDFYGKSFLHWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLESQVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE DFATYYCQQSYRSPLTFGQGTKVEIK
TY28659		
43	HCDR1	TSGVGVS
316	HCDR2	EIYHSGSTYYNPSLKS
312	HCDR3	YEYGYAFDY
8	LCDR1	RASQSVDFHGISFLH
9	LCDR2	AASSLQS
10	LCDR3	QQSYRSPRT
376	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSLSTSGVGVSWIRQA PGKGLEWIGEIIYHSGSTYYNPSLKSRTVISRDNSKNTLYLQLNS LRAEDTAVYYCARYEYGYAFDYWGQGTLLTVSS
12	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQSVDFHGISFLHWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQSYRSPRTFGQGTKVEIK
TY28660		
43	HCDR1	TSGVGVS
6	HCDR2	EIYHSGSTYYSPSLKS
319	HCDR3	YEYYSYAFDY
320	LCDR1	RASQSVDFHGKSFLH
9	LCDR2	AASSLQS
10	LCDR3	QQSYRSPRT
377	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSLSTSGVGVSWIRQA PGKGLEWIGEIIYHSGSTYYSPSLKSRTVISRDNSKNTLYLQLNS LRAEDTAVYYCARYEYYSYAFDYWGQGTLLTVSS

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 2 5】

378	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVDFHKGSLHWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE DFATYYCQQSYRSPRTFGQGTKVEIK
TY28661		
5	HCDR1	TGGVGVS
67	HCDR2	SIYHSGSTYYSPSLKS
307	HCDR3	YEYDYAFDY
310	LCDR1	RASQSVDFYGISFLH
308	LCDR2	AASSLES
28	LCDR3	QQSYRTPLT
379	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSLSTGGVGVS WIRQAPGKGLEWIGSIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLN SLRAEDTAVYYCARYEYDYAFDYWGQGT LTVSS
380	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVDFYGISFLHWYQQK PGKAPKLLIYAASSLESQGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE DFATYYCQQSYRTPLTFGQGTKVEIK
TY30120		
43	HCDR1	TSGVGVS
6	HCDR2	EIYHSGSTYYSPSLKS
321	HCDR3	YGYYYDFDY
8	LCDR1	RASQSVDFHGISFLH
9	LCDR2	AASSLQS
10	LCDR3	QQSYRSPRT
381	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSLSTSGVGVS WIRQAPGKGLEWIGSIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLN LRAEDTAVYYCARYGYYYDFDYWGQGT LTVSS
12	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVDFHGISFLHWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE DFATYYCQQSYRSPRTFGQGTKVEIK
TY30121		
314	HCDR1	TSGVGVS
316	HCDR2	EIYHSGSTYYNPSLKS
322	HCDR3	YKYDYDFDY
8	LCDR1	RASQSVDFHGISFLH
9	LCDR2	AASSLQS
10	LCDR3	QQSYRSPRT
382	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSLSTSGVGVS WIRQAPGKGLEWIGSIYHSGSTYYNPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLN SLRAEDTAVYYCARYKYDYDFDYWGQGT LTVSS
12	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVDFHGISFLHWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE DFATYYCQQSYRSPRTFGQGTKVEIK
TY30123		
33	HCDR1	TGGVGVS
6	HCDR2	EIYHSGSTYYSPSLKS
321	HCDR3	YGYYYDFDY
8	LCDR1	RASQSVDFHGISFLH
9	LCDR2	AASSLQS
10	LCDR3	QQSYRSPRT

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 2 6】

383	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVS WIRQAPGKGLEWIGEIIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLN SLRAEDTAVYYCARYGYYYDFDYWGQGT LTVVSS
12	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFHGISFLH WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPED FATYYCQQSYRSPRTFGQGTKVEIK
TY30406		
5	HCDR1	TGGVGVS
6	HCDR2	EIYHSGSTYYSPSLKS
317	HCDR3	YEYDYYDFDY
8	LCDR1	RASQSVDFHGISFLH
9	LCDR2	AASSLQS
10	LCDR3	QQSYRSPRT
384	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVS WIRQAPGKGLEWIGEIIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLN SLRAEDTAVYYCARYEYDYYDFDYWGQGT LTVVSS
12	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFHGISFLH WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPED FATYYCQQSYRSPRTFGQGTKVEIK
TY30410		
5	HCDR1	TGGVGVS
6	HCDR2	EIYHSGSTYYSPSLKS
323	HCDR3	YEEYDYDFDY
8	LCDR1	RASQSVDFHGISFLH
9	LCDR2	AASSLQS
10	LCDR3	QQSYRSPRT
385	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVS WIRQAPGKGLEWIGEIIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLN SLRAEDTAVYYCARYEYDYDFDYWGQGT LTVVSS
12	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFHGISFLH WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPED FATYYCQQSYRSPRTFGQGTKVEIK
TY30413		
5	HCDR1	TGGVGVS
6	HCDR2	EIYHSGSTYYSPSLKS
324	HCDR3	YEEYHYDFDY
8	LCDR1	RASQSVDFHGISFLH
9	LCDR2	AASSLQS
10	LCDR3	QQSYRSPRT
386	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVS WIRQAPGKGLEWIGEIIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLN SLRAEDTAVYYCARYEYHYDFDYWGQGT LTVVSS
12	VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFHGISFLH WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPED FATYYCQQSYRSPRTFGQGTKVEIK
PD-L1xCD28 二重特異性抗体(VH-VL)		
配列番号	TY29815 (WT)	

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 2 7】

325	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIPSFLNWWYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQHYISWPRQFT FGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
326	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGYYWGWRQAPGKGLEW IGIYPSGGGTNYAQKFQGRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCA RGGGLGFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRKRLTKNQVKL TCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLD CDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEAL HNHYTQKSLSLSPGK*
327	HC_B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVSWIRQAPGKGL EWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARYEYDYDFDYWGQGT LTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ LTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFHGISFLHWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYRSPR TFGQGTKEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENYKTTTPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY30406		
325	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIPSFLNWWYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQHYISWPRQFT FGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
326	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGYYWGWRQAPGKGLEW IGIYPSGGGTNYAQKFQGRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCA RGGGLGFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRKRLTKNQVKL TCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLD CDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEAL HNHYTQKSLSLSPGK*
328	HC_B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVSWIRQAPGKGL EWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARYEYDYDFDYWGQGT LTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ LTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFHGISFLHWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYRSPR TFGQGTKEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 2 8】

		RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPSSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENCYKTTTPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY30410		
325	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIPSLNWWYQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQHYISWPRQFT FGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
326	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGYYWGWIQAPGKGLEW IGIIPSGGGTNYAQKFQGRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCA RGGGLGFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRKLTKNQVKLTCLVKGFPYSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDCDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK*
329	HC_B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVSWIRQAPGKGL EWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARYEYHYDFDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ LTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFHGISFLHWYQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYRSPR TFGQGTKEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPSSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENCYKTTTPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY30413		
325	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIPSLNWWYQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQHYISWPRQFT FGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
326	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGYYWGWIQAPGKGLEW IGIIPSGGGTNYAQKFQGRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCA RGGGLGFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRKLTKNQVKLTCLVKGFPYSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDCDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK*
330	HC_B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVSWIRQAPGKGL EWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARYEYHYDFDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 2 9】

		LTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVDFHGISFLHWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQSYRSPR TFGQGTKEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENCYKTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
HER2xCD28二重特異性抗体(VL-VH)		
TY27566 (WT)		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPSPRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWDVVRQAPGKGLEW VADVPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGGTGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKKLTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTPPVLDGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK*
333	HC_B	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVDFHGISFLHWYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQSYRS PRTFGQGTKEIKGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVSWIRQAPGKGLEWIGEIIHSGSTYYS PSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARYEYYYYDFDYWG QGTLTVTSSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT DPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENCYKTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSLSP GK*
TY28652		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPSPRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWDVVRQAPGKGLEW VADVPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGGTGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKKLTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEW

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 3 0】

		ESNGQPENNYKTPPVLDGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK*
334	HC_B	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFYGKSFLHWYQQKPGKAP KLLIYAASSLESQVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYR SPPTFGQGTKEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFSLSLTGGVGVSWIRQAPGKGLEWIGSIYHSGSTY YNPSLKSRTISRDNKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARYEYDYAFDY WGQGTTLVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPSSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENCYKTPPV LDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY28653		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIQVAVYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPFSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGGGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKLTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTPPVLDGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK*
335	HC_B	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFYGISFLHWYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYRT PPTFGQGTKEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGFSLSLTGGVGVSWIRQAPGKGLEWIGSIYHSGSTYYN PSLKSRTISRDNKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARYEYGYALDYWG QGTTLVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT DPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENCYKTPPV LDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY28654		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIQVAVYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPFSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGGGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 3 1】

		PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKKLTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDODGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK*
336	HC_B	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFYGKSFLHWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYR TPLTFGGQTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFSLSSTSGVGVSWIRQAPGKGLEWIGSIYHSGSTYY NPSLKSRTVISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARYEYGYAFDYW GGGTLVTVSSEPSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENYKTTTPV LSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY28655		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYYIYPYTF GGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWDWRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARNLGPSTFYFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKKLTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDODGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK*
337	HC_B	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFYGISFLHWYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYRT PRTFGGQTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGFSLSSTSGVGVSWIRQAPGKGLEWIGSIYHSGSTYYN PSLKSRTVISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARYEYDYAFDYWG QGTLVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY DPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY28656		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYYIYPYTF GGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 3 2】

332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKKLTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTPPVLDGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK*
338	HC_B	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSVDFYGKSFHWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYR TPRTFGQGTKEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFSLSSTSGVGVGWIRQAPGKGLEWIGEIYHSGSTN YNPSLKSRTVISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARYEYGYALDY WGGGTLVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENYKTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY28657		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKKLTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTPPVLDGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK*
339	HC_B	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSVDFHGISFLHWYQQKPGKAPK LLIYAASSLESQVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYRT PRTFGQGTKEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWIGEIYHSGSTYY NPSLKSRTVISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARYEYGYAFDYW GQGTLTVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENYKTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY28658		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIY

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 3 3】

		SASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKCLTKNQVKLTCLVKGFPYSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDGDSFFLYSLKTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK*
340	HC_B	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFYGKSFHWYQQKPGKAP KLLIYAASSLESQVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYR SPLTFGQGTKVEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFSLSTSGVGVGWIRQAPGKGLEWIGSIYHSGSTY YNPSLKSRTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARYEYDYYDFDY WQGGTLVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENYKTTTPV LDSDGSFFLYSLKTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY28659		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIQVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKCLTKNQVKLTCLVKGFPYSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDGDSFFLYSLKTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK*
341	HC_B	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFHGISFHWYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYRS PRTFGQGTKVEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGFSLSTSGVGVSWIRQAPGKGLEWIGSIYHSGSTY PSLKSRTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARYEYGYAFDYWG QGTLLVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY DPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENYKTTTPV

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 3 4】

		DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSPGK*
TY28660		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWDWRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKRLTKNQVKLTVLKGFPYSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPVLDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSPGK*
342	HC_B	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVDFHGKSFHLHWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYR SPRTFGQGTKEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFSLSSTSGVGVSWIRQAPGKGLEWIGEIYHSGSTYY SPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARYEYYSYAFDYW GQGLTVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENYKTTTPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSPGK*
TY28661		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWDWRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKRLTKNQVKLTVLKGFPYSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPVLDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSPGK*
343	HC_B	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVDFYGISFHLHWYQQKPGKAPK LLIYAASSLESQVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYRT PLTFGQGTKEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVSWIRQAPGKGLEWIGSIYHSGSTYYS PSLKSRTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARYEYDYAFDYWG

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 3 5】

		QGTLTVTSSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT DPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENCYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQDSLSLSP GK*
HER2xCD28二重特異性抗体(VH-VL)		
TY29109 (WT)		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKCLTKNQVCLTCLVKGFPYSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK*
327	HC_B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSLTGGVGVSWIRQAPGKGL EWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARYEYDYFDYWGGGTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ LTQSPSSLSASVGDRVITICRASQVDFHGISFLHWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYRSPR TFGQGTKEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENCYKTTTPV LSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY29306		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKCLTKNQVCLTCLVKGFPYSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK*

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 3 6】

344	HC_B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVSWIRQAPGKGL EWIGSIYHSGSTYYNPSLKSRTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARYEYDYAFDYWGQGTTLVTSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQ LTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSVDFYGKSFLHWYQQKPGKAPKLLI YAASSLESQVPSRFSGSGSGTDFLTITSSSLQPEDFATYYCQQSYRSP TFQGQGTKEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENCYKTTTPPV LSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY29307		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPSPRFSGSGSGTDFLTITSSSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGQGTTLVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKLTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDCDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK*
345	HC_B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVSWIRQAPGKGL EWIGSIYHSGSTYYNPSLKSRTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARYEYGYALDYWGQGTTLVTSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQ LTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSVDFYGISFLHWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSSLQPEDFATYYCQQSYRTPP TFQGQGTKEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENCYKTTTPPV LSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY29308		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPSPRFSGSGSGTDFLTITSSSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGQGTTLVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 3 7】

		HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKKLTKNQVKLTCLVKGFPYSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK*
346	HC_B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTSGVGVSWIRQAPGKGL EWIGSIYHSGSTYYNPSLKSRTVISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARYEYGYAFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ LTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFYGKSFLHWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYRTPL TFGQGTKEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY29309		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWDWRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKKLTKNQVKLTCLVKGFPYSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK*
347	HC_B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTSGVGVSWIRQAPGKGL EWIGSIYHSGSTYYNPSLKSRTVISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARYEYDYAFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ LTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFYGISFLHWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYRTPR TFGQGTKEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY29310		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWDWRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 3 8】

		CARNLGPSFYFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKKLTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDCDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK*
348	HC_B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTSGVGVGWIRQAPGKGL EWIGEYHSGSTNYNPSLKSRTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARYEYGYAALDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQ LTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSVDFYGKSFHLHWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYRTPR TFGGQTKVEIKEPKSSDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPV LSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY29311		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSIQVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSPVTKSFNRGEC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWDVWRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKKLTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDCDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK*
349	HC_B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGL EWIGEYHSGSTYYNPSLKSRTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARYEYGYAFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQ LTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSVDFHGISFHLHWYQQKPGKAPKLLI YAASSLESQVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYRTPR TFGGQTKVEIKEPKSSDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPV LSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY29312		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSIQVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 3 9】

		WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEHKHYACE VTHQGLSSPVTKSFNREGC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWDWRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKKLTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTPPVLDGGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK*
350	HC_B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTSGVGVGWIRQAPGKGL EWIGSIYHSGSTYYNPSLKSRTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARYEYDYYDFDYWGQTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ LTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVDFYGKSFHLHWYQQKPKAPKLLI YAASSLESQVPSRFGSGSGSDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYRSP FTGQGTKEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY DPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSLSP GK*
TY29313		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICKASQDVSGVAWYQQKPKAPKLLIY SASYRYTGVPSPRFGSGSGSDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKEIKEKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEHKHYACE VTHQGLSSPVTKSFNREGC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWDWRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKKLTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTPPVLDGGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK*
351	HC_B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTSGVGVSWIRQAPGKGL EWIGEYHSGSTYYNPSLKSRTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARYEYGYAFDYWGQTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ LTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVDFHGISFLHWYQQKPKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFGSGSGSDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYRSP TFGQGTKEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 4 0】

TY29314		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVSGVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWDVRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKKLTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTPPVLDGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
352	HC_B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSLTSGVGVSWIRQAPGKGL EWIGEIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARYEYYSYAFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ LTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFHGSFLHWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYRSPR TFGQGTKEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY29315		
331	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVSGVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
332	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWDVRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARNLGPSFYFDYWGGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKKLTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTPPVLDGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
353	HC_B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSLTGGVGVSWIRQAPGKGL EWIGSIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARYEYDYAFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ LTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVDFYGISFLHWYQQKPGKAPKLLI YAASSLESQVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYRTPLT FGQGTKEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYR

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 4 1】

		VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENCYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQDSLSLSPGK*
B7H3xCD28 二重特異性抗体(VH-VL)		
TY29021 (WT)		
354	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRTTICRASQSIRKYNWYQQKPGKAPKLLIYA ASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCSQGTHVPFTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
355	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYGIHWVRQAPGKGLEWI GWISPSGGDTKYAQKFQGRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARGGTVVYFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRKKLTKNQVKTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLD CDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK*
327	HC_B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSLTGGVGVS WIRQAPGKGL EWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARYEYYYYDFDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ LTQSPSSLSASVGDRTTICRASQSVDFHGISFLHWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYRSPR TFGQGTKEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENCYKTTTPVL LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQDSLSLSP GK*
TY30120		
354	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRTTICRASQSIRKYNWYQQKPGKAPKLLIYA ASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCSQGTHVPFTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
355	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYGIHWVRQAPGKGLEWI GWISPSGGDTKYAQKFQGRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARGGTVVYFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRKKLTKNQVKTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLD CDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK*
356	HC_B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSLTSGVGVS WIRQAPGKGL EWIGEYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDN SKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC

10

20

30

40

50

【表 2 3 - 4 2】

		ARYGYYYDFDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQ LTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFHGISFLHWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYRSPR TFGQGTKEIKEPKSSDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENCYKTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY30121		
354	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIKYLNWYQQKPGKAPKLLIYA ASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCSQGTHVPFTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSPVTKSFNRGEC*
355	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYGIHWVRQAPGKGLEWI GWISPSGGDTKYAQKFQGRVTISRDNKNTLYQLNSLRAEDTAVYYC ARGGTVVYFDYWGGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRKKLTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK*
357	HC_B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSLSTSGVGVGWIRQAPGKGL EWIGEYHSGSTYYNPSLKSRTISRDNKNTLYQLNSLRAEDTAVYYC ARYKYDYDFDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQ LTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFHGISFLHWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYRSPR TFGQGTKEIKEPKSSDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENCYKTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSLSLS PGK*
TY30123		
354	LC	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIKYLNWYQQKPGKAPKLLIYA ASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCSQGTHVPFTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSPVTKSFNRGEC*
355	HC_A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYGIHWVRQAPGKGLEWI GWISPSGGDTKYAQKFQGRVTISRDNKNTLYQLNSLRAEDTAVYYC ARGGTVVYFDYWGGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRKKLTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWES

10

20

30

40

50

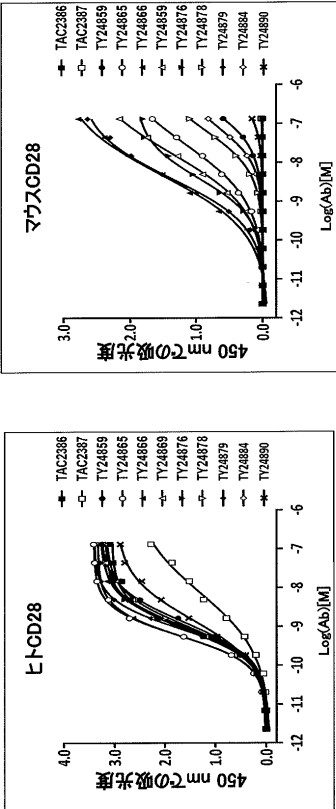
【表 2 3 - 4 3】

		NGQPENNYKTPPVLDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK*
358	HC_B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSLSTGGVGVGWIRQAPGKGL EWIGEIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARYGYYYDFDYWGQGTLTVTSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ LTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSVDFHGISFLHWYQQKPKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYRSPR TFGQGTKVEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TDPPSRDELTKNQVSLTCLVDGFYPSDIAVEWESNGQPENCYKTPPV LDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQDSL SLSPGK*

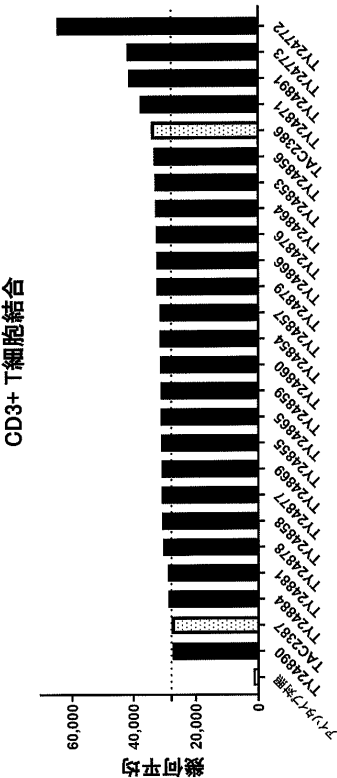
10

【図面】

【図 1】



【図 2】



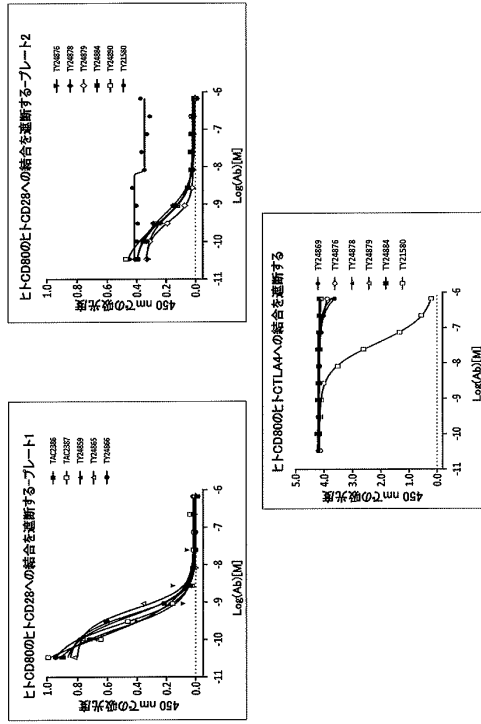
20

30

40

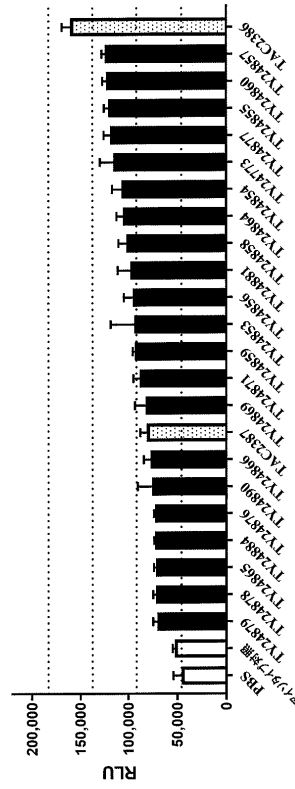
50

【図 3】



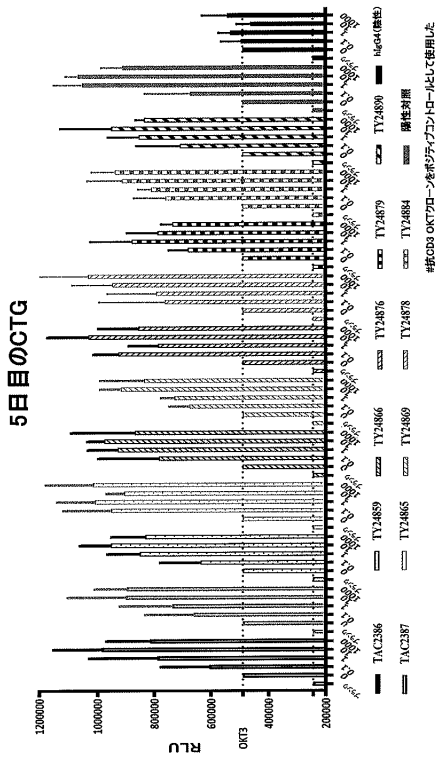
【図 4 A】

ドライプレートPBMC CTG、ドナー2044



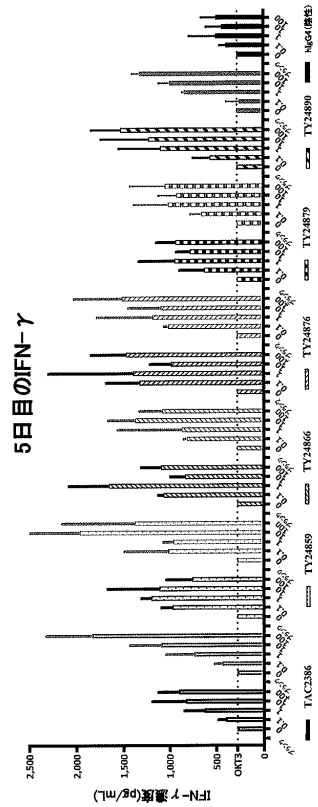
A

【図 4 B】



B

【図 4 C】



C

10

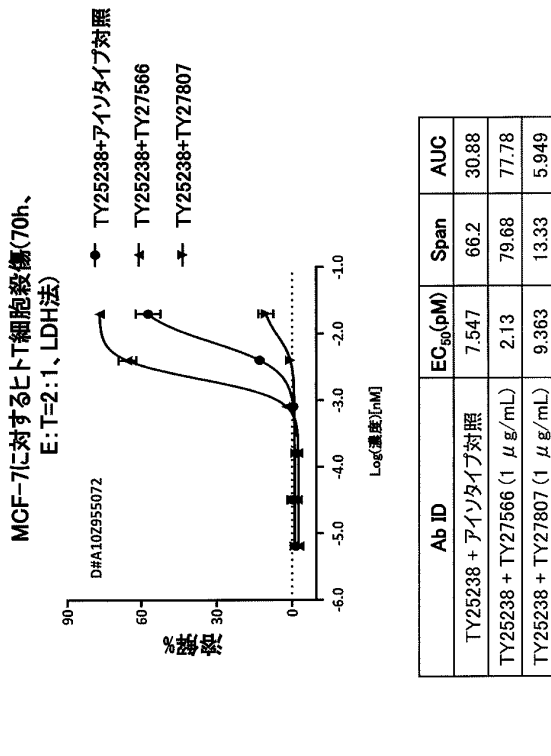
20

30

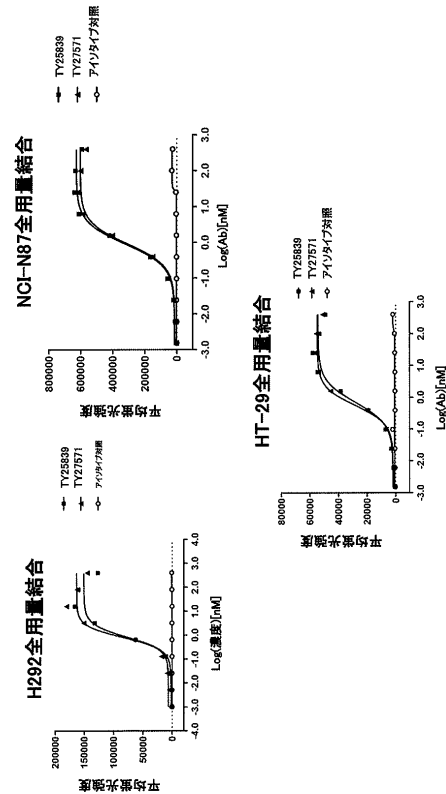
40

50

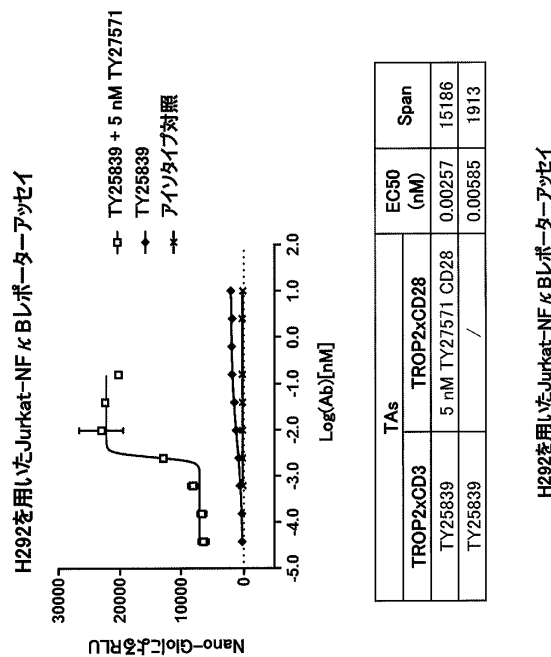
【図 8】



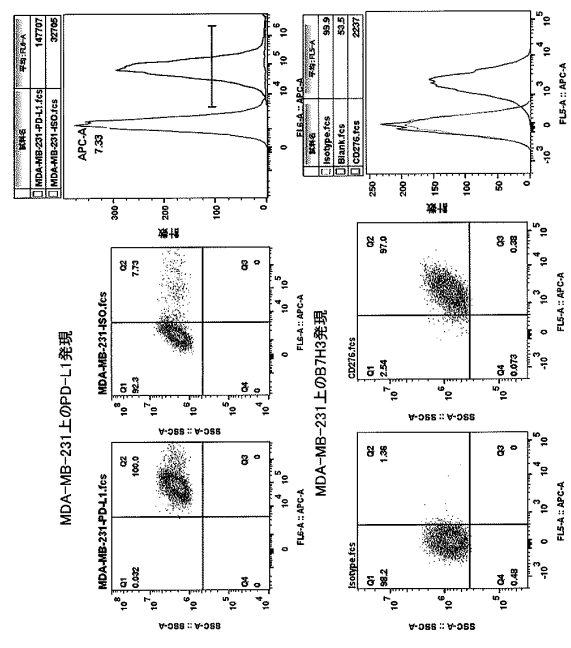
【図 9】



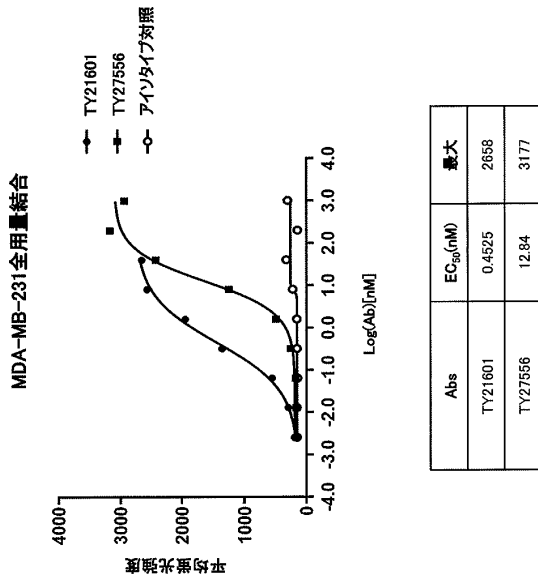
【図 10】



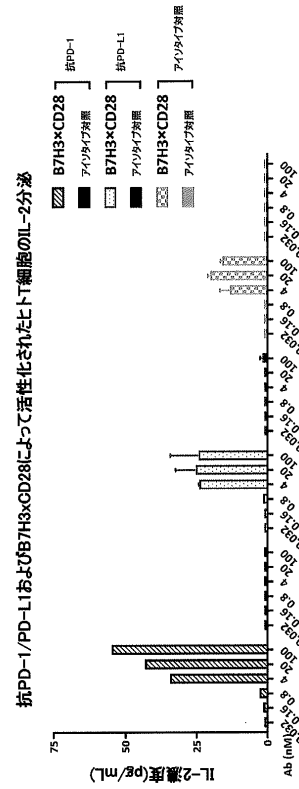
【図 11】



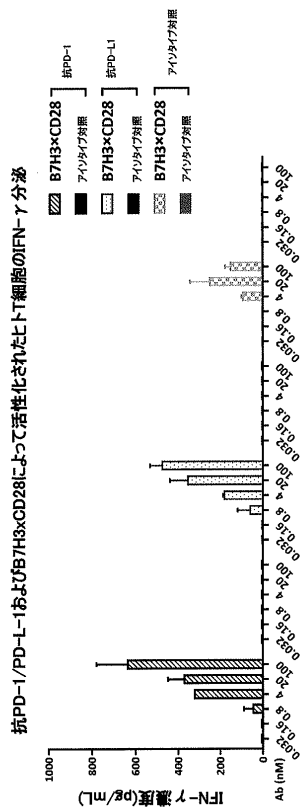
【図 1 2】



【図 1 3 A】

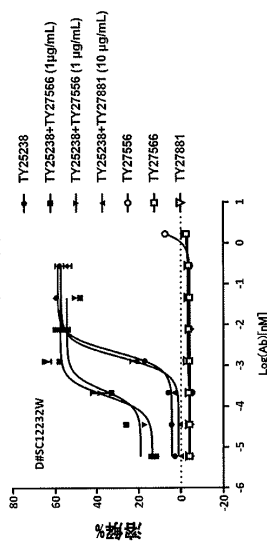


【図 1 3 B】



【図 1 4】

MCF-7に対するヒト細胞殺傷(72h)
E:T=2:1、LDH法



10

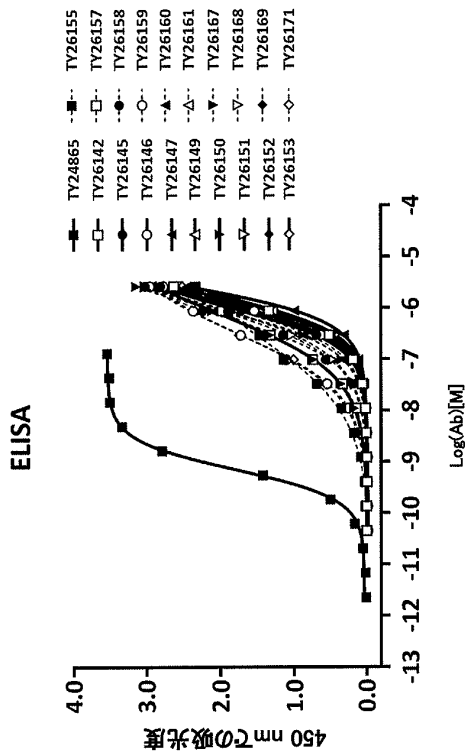
20

30

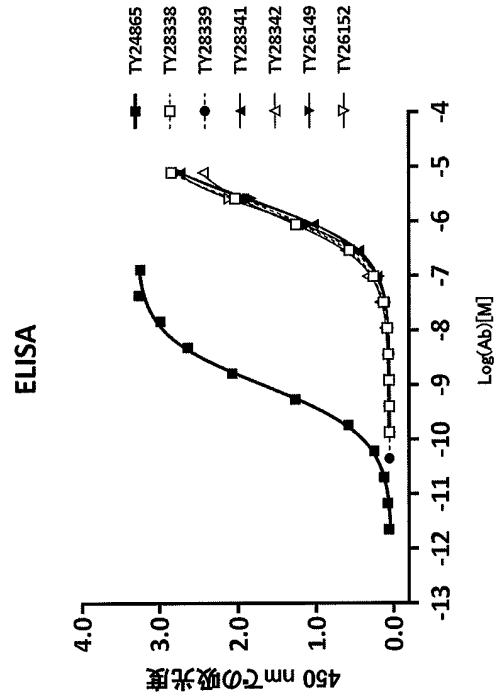
40

50

【図 1 9】



【図 2 0】



【図 2 1】

シーアス番号	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43
hSP1047CD28.HUMAN	N	K	I	L	V	K	Q	S	P	M	L	V	A	Y	D	N	A	V	N	L	S	C	K	Y	S
hSP1041CD28.MOUSE	N	K	I	L	V	K	Q	S	P	L	L	V	V	D	S	N	E	V	S	L	S	C	R	Y	S
TY24865	N	K	I	L	V	K	Q	S	P	M	L	V	A	Y	D	N	A	V	N	L	S	C	K	Y	S

シーアス番号	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68
hSP1047CD28.HUMAN	Y	N	L	F	S	R	E	F	R	A	S	L	H	K	G	L	D	S	A	V	E	V	C	V	Y
hSP1041CD28.MOUSE	Y	N	L	L	A	K	E	F	R	A	S	L	Y	K	G	V	N	S	D	V	E	V	C	V	Y
TY24865	Y	N	L	F	S	R	E	F	R	A	S	L	H	K	G	L	D	S	A	V	E	V	C	V	Y

シーアス番号	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93
hSP1047CD28.HUMAN	Y	G	N	Y	S	Q	Q	L	Q	Y	S	K	I	G	F	N	C	D	G	K	L	G	N	E	
hSP1041CD28.MOUSE	N	G	N	F	T	Y	Q	P	Q	F	R	S	N	A	E	F	N	C	D	G	D	F	D	N	E
TY24865	Y	G	N	Y	S	Q	Q	L	Q	Y	S	K	I	G	F	N	C	D	G	K	L	G	N	E	

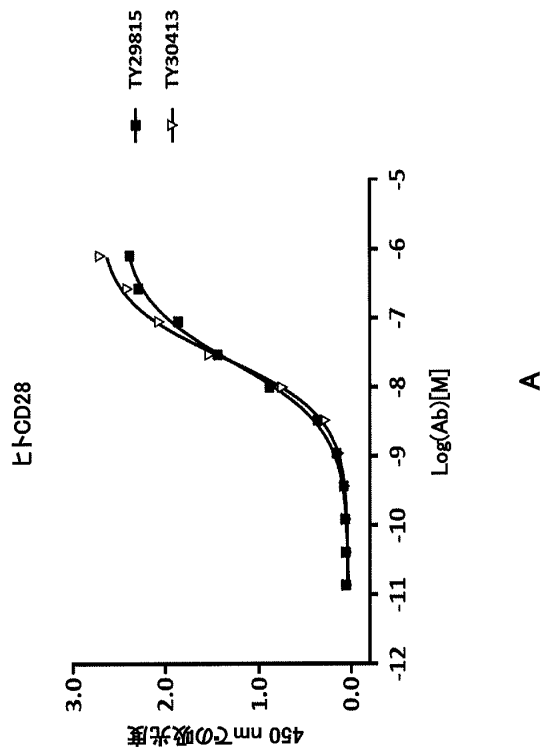
シーアス番号	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118
hSP1047CD28.HUMAN	S	V	T	F	Y	L	Q	N	L	Y	V	N	Q	T	D	I	Y	F	C	K	I	E	V	M	Y
hSP1041CD28.MOUSE	T	V	T	F	R	L	W	N	L	H	V	N	H	T	D	I	Y	F	C	K	I	E	F	M	Y
TY24865	S	V	T	F	Y	L	Q	N	L	Y	V	N	Q	T	D	I	Y	F	C	K	I	E	V	M	Y

シーアス番号	119	120	121	122	123	124	125	126
hSP1047CD28.HUMAN	P	P	P	Y	L	D	N	E
hSP1041CD28.MOUSE	P	P	P	Y	L	D	N	E
TY24865	P	P	P	Y	L	D	N	E

結合部位

ヒトおよびマウスCD28とは異なる残基

【図 2 2 A】



10

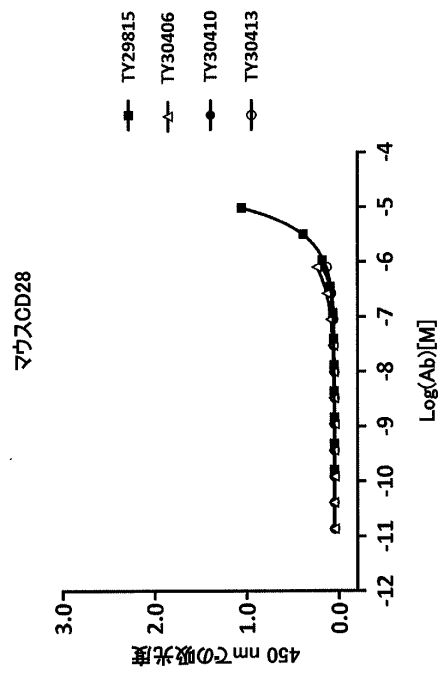
20

30

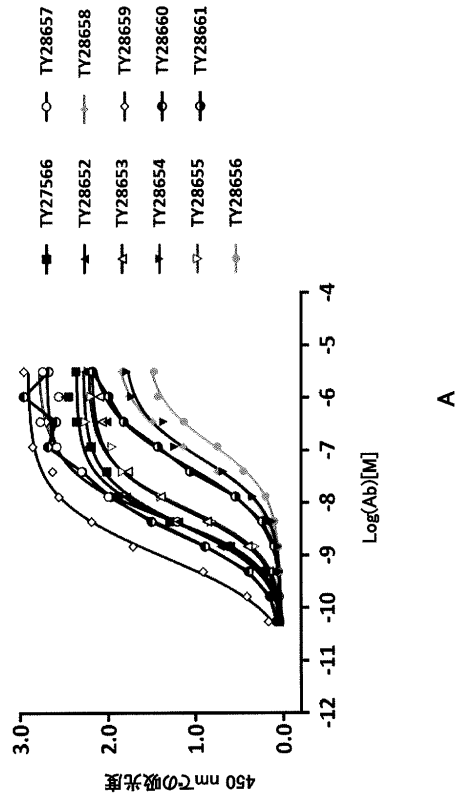
40

50

【図 2 2 B】



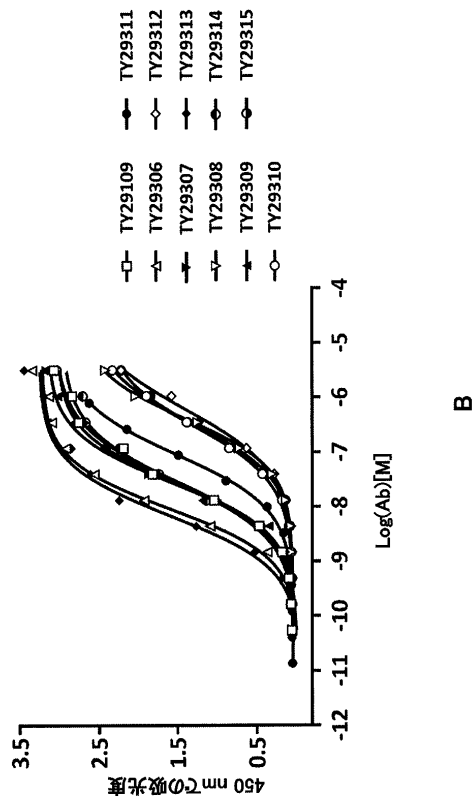
【図 2 3 A】



B

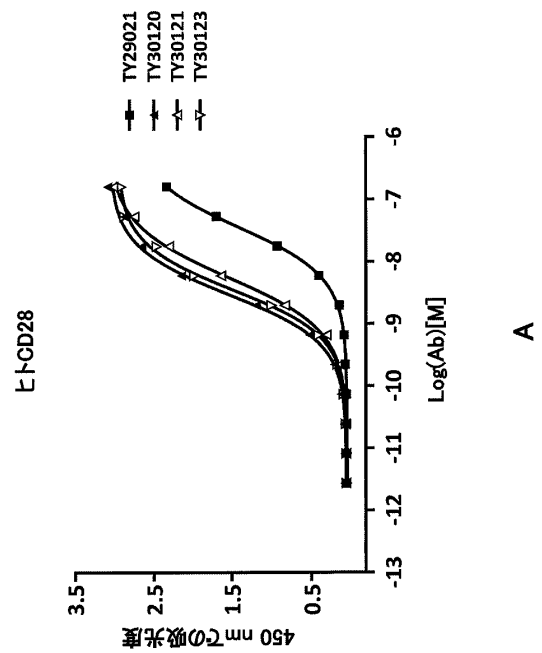
A

【図 2 3 B】



B

【図 2 4 A】



ヒトCD28

A

10

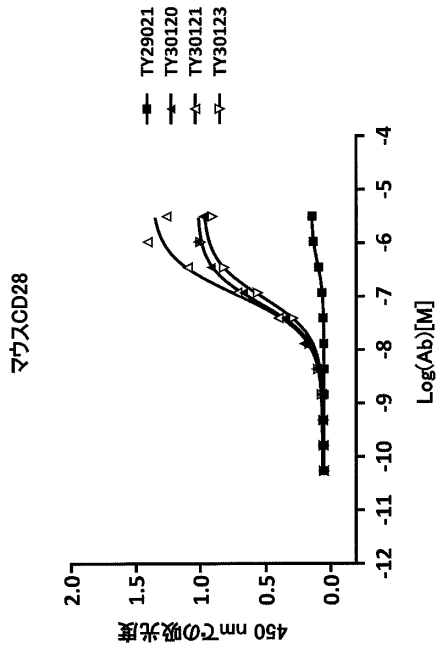
20

30

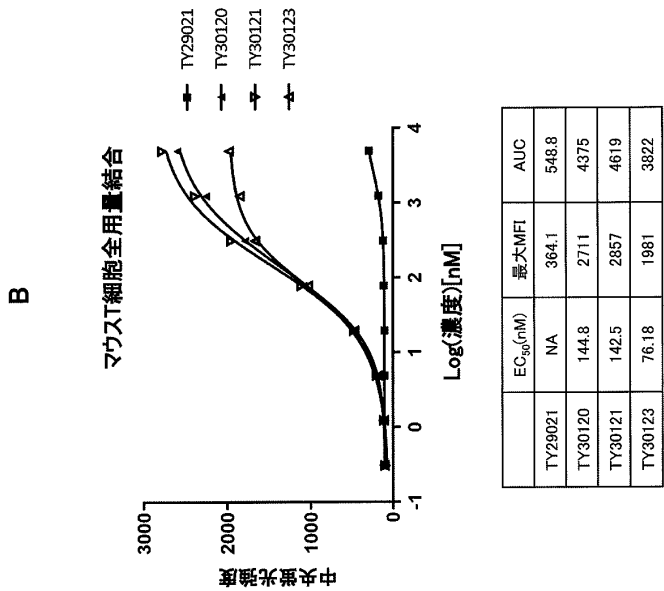
40

50

【図 2 4 B】



【図 2 5】



【配列表】

2025511713000001.xml

10

20

30

40

50

【手続補正書】

【提出日】令和6年12月20日(2024.12.20)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2025511713000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/CN2023/087277

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/28 C07K16/30 A61P35/00 C07K16/32 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2014/120916 A1 (BRISTOL MYERS SQUIBB CO [US]; DOMANTIS LTD [GB]) 7 August 2014 (2014-08-07)	1, 52, 68-72
Y	the whole document in particular, pages 39-45, 83, 98, 197 and 215-219	2-51, 53-67, 73-80
Y	WO 2022/040482 A1 (XENCOR INC [US]) 24 February 2022 (2022-02-24) the whole document in particular, pages 17-19, 135-140, 142-143, 147-155 and paragraphs 134, 366, 377-378 and 510	2-51, 53-67, 73-80
----- -/--		
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 17 July 2023		Date of mailing of the international search report 18/09/2023
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040. Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Pérez-Mato, Isabel

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/CN2023/087277

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2021/155071 A1 (INHIBRX INC [US]) 5 August 2021 (2021-08-05) the whole document in particular, pages 172-180, 293-295 and 302-306 -----	2-51, 53-67, 73-80
Y	WO 2021/259890 A1 (HOFFMANN LA ROCHE [CH]; HOFFMANN LA ROCHE [US]) 30 December 2021 (2021-12-30) the whole document in particular, pages 116-124 -----	2-51, 53-67, 73-80
Y	WO 2021/148006 A1 (ADAGENE AG [CH]; LUO PETER PEIZHI [CN]) 29 July 2021 (2021-07-29) cited in the application the whole document in particular, pages 6 and 30-31 -----	56-59
Y	US 2015/132217 A1 (CHANG CHIEN-HSING [US] ET AL) 14 May 2015 (2015-05-14) the whole document in particular, pages 11-12 -----	13,45
Y	US 2019/241886 A1 (DU FANGYONG [CN] ET AL) 8 August 2019 (2019-08-08) the whole document in particular, pages 3, 14-18 and 46-47 -----	60-67

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/087277

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed.
- b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/087277**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

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

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

10

20

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

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

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:
1-80 (partially)

30

40

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No. PCT/CN2023/087277

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-80 (partially)

directed to anti-CD28 antibodies that bind human CD28 and cross-react with cyno and mouse CD28, insofar as they relate to antibodies having CDRs of SEQ ID NOs:5-10 and variants thereof (as recited in claims 4 and 5, clones at positions 22-37 of respective lists).

2. claims: 1-80 (partially)

directed to anti-CD28 antibodies that bind human CD28 and cross-react with cyno and mouse CD28, insofar as they relate to antibodies having CDRs of SEQ ID NOs:15, 6 and 16-19

3-21. claims: 1-80 (partially)

directed to anti-CD28 antibodies that bind human CD28 and cross-react with cyno and mouse CD28, insofar as they relate to antibodies having CDRs of SEQ ID NOs:24, 6 and 25-28 (invention 4), or SEQ ID NOs:33, 6 and 35-38 (invention 5), ... or SEQ ID NOs:161, 6, 162, 163, 300 and 164 (invention 21).

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/CN2023/087277

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2014120916 A1	07-08-2014	NONE	
WO 2022040482 A1	24-02-2022	AU 2021329378 A1 CA 3192204 A1 EP 4200332 A1 IL 300666 A KR 20230052293 A US 2022098306 A1 US 2022119530 A1 US 2023257466 A1 WO 2022040482 A1	23-03-2023 24-02-2022 28-06-2023 01-04-2023 19-04-2023 31-03-2022 21-04-2022 17-08-2023 24-02-2022
WO 2021155071 A1	05-08-2021	AU 2021213177 A1 BR 112022014667 A2 CA 3168832 A1 CN 115380047 A EP 4097129 A1 IL 294879 A JP 2023513003 A KR 20220148175 A WO 2021155071 A1	18-08-2022 20-09-2022 05-08-2021 22-11-2022 07-12-2022 01-09-2022 30-03-2023 04-11-2022 05-08-2021
WO 2021259890 A1	30-12-2021	AR 122719 A1 AU 2021295549 A1 BR 112022025989 A2 CA 3181014 A1 CN 115702168 A CO 2023000055 A2 CR 20220627 A EP 4168448 A1 IL 297880 A JP 2023530760 A KR 20230016206 A TW 202216769 A US 2022017637 A1 WO 2021259890 A1	28-09-2022 24-11-2022 17-01-2023 30-12-2021 14-02-2023 27-03-2023 17-02-2023 26-04-2023 01-01-2023 19-07-2023 01-02-2023 01-05-2022 20-01-2022 30-12-2021
WO 2021148006 A1	29-07-2021	AU 2021210482 A1 BR 112022014574 A2 CA 3165045 A1 CN 115279796 A EP 4093778 A1 IL 294878 A JP 2023511376 A KR 20220145833 A TW 202140570 A US 2023124669 A1 WO 2021148006 A1	25-08-2022 27-09-2022 29-07-2021 01-11-2022 30-11-2022 01-09-2022 17-03-2023 31-10-2022 01-11-2021 20-04-2023 29-07-2021
US 2015132217 A1	14-05-2015	US 2015132217 A1 US 2016264678 A1 US 2017226219 A1 US 2018118846 A1	14-05-2015 15-09-2016 10-08-2017 03-05-2018
US 2019241886 A1	08-08-2019	AU 2019214189 A1 BR 112020015380 A2 CA 3090027 A1 CN 112771066 A	17-09-2020 22-12-2020 08-08-2019 07-05-2021

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/CN2023/087277

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		EP 3746461 A1	09-12-2020
		IL 276285 A	30-09-2020
		JP 2021512122 A	13-05-2021
		KR 20200128011 A	11-11-2020
		SG 11202007166X A	28-08-2020
		US 2019241886 A1	08-08-2019
		US 2021207126 A1	08-07-2021
		WO 2019148445 A1	08-08-2019
		WO 2019149282 A1	08-08-2019

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00	
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	D
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	T
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	E
		A 6 1 P	35/00	
		A 6 1 P	43/00	1 2 1
		A 6 1 K	45/00	
		A 6 1 K	39/395	U

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T W E E N

(72)発明者 ファンヨン・トゥー

中華人民共和国ジャンスー 2 1 5 1 2 3 . スーチョウ . スーチョウ・インダストリアル・パーク . シンファー・ストリート 2 1 8 . ビルディング・シー 1 4 . フォース・フロア

(72)発明者 ヤン・リー

中華人民共和国ジャンスー 2 1 5 1 2 3 . スーチョウ . スーチョウ・インダストリアル・パーク . シンファー・ストリート 2 1 8 . ビルディング・シー 1 4 . フォース・フロア

(72)発明者 ギジョン・リュウ

中華人民共和国ジャンスー 2 1 5 1 2 3 . スーチョウ . スーチョウ・インダストリアル・パーク . シンファー・ストリート 2 1 8 . ビルディング・シー 1 4 . フォース・フロア

F ターム (参考)

4B064 AG27 CA19 CC24 DA05
 4B065 AA01X AA57X AA72X AA87X AA94Y AB01 AC14 BA02 CA25 CA44
 4C084 AA19 MA02 MA17 MA21 MA23 MA66 NA14 ZB26 ZC75
 4C085 AA13 AA14 BB31 BB36 BB41 BB42 BB44 CC22 CC23 DD62
 EE01 EE03 GG01
 4H045 AA11 AA30 BA41 BA71 BA72 DA76 EA28 FA74