

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和6年2月6日(2024.2.6)

【国際公開番号】WO2021/155071

【公表番号】特表2023-513003(P2023-513003A)

【公表日】令和5年3月30日(2023.3.30)

【年通号数】公開公報(特許)2023-059

【出願番号】特願2022-545975(P2022-545975)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/13(2006.01)

C 0 7 K 16/28(2006.01)

C 0 7 K 16/46(2006.01)

C 0 7 K 19/00(2006.01)

C 1 2 N 15/62(2006.01)

C 1 2 N 15/63(2006.01)

C 1 2 N 15/86(2006.01)

C 1 2 N 15/85(2006.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

C 1 2 P 21/02(2006.01)

C 0 7 K 16/18(2006.01)

A 6 1 K 39/395(2006.01)

A 6 1 P 35/00(2006.01)

A 6 1 K 47/65(2017.01)

A 6 1 K 47/68(2017.01)

【F I】

C 1 2 N 15/13 Z N A

C 0 7 K 16/28

C 0 7 K 16/46

C 0 7 K 19/00

C 1 2 N 15/62 Z

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 15/86 Z

C 1 2 N 15/85 Z

C 1 2 N 5/10

C 1 2 P 21/02 C

C 0 7 K 16/18

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 K 39/395 T

A 6 1 K 39/395 W

A 6 1 P 35/00

A 6 1 K 47/65

A 6 1 K 47/68

【手続補正書】

【提出日】令和6年1月26日(2024.1.26)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

10

20

30

40

50

## 【補正の内容】

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

CD28に結合する少なくとも1つのシングルドメイン抗体(sdAb)を含むCD28結合ポリペプチドであって、

該少なくとも1つのCD28 sdAbが、

SEQ ID NO : 195、189、192、198、199、200、および201からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域1(CDR1)；

SEQ ID NO : 206、190、193、196、202、204、205、207、208、209、210、211、212、386、387、388、389、390、391、392、393、394、および395からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域2(CDR2)；ならびに

SEQ ID NO : 197、191、194、396、397、および398からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域3(CDR3)

を含む、CD28結合ポリペプチド。

## 【請求項2】

少なくとも1つのCD28 sdAbが、

SEQ ID NO : 195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 206に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO : 189に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 190に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 191に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO : 192に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 193に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 194に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO : 195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 196に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO : 198に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 196に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO : 199に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 196に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO : 200に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 196に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO : 201に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 196に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO : 195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 202に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO : 195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 204に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO : 195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 205に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO : 195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 207に示さ





むCDR3；

SEQ ID NO：201に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO：196に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO：398に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO：195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO：206に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO：396に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO：195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO：388に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO：197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO：195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO：389に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO：197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO：195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO：206に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO：397に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；または

SEQ ID NO：195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO：206に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO：398に示されるアミノ酸配列を含むCDR3

を含む、請求項1記載のCD28結合ポリペプチド。

【請求項3】

CD28に結合する少なくとも1つのシングルドメイン抗体(sdAb)を含むCD28結合ポリペプチドであって、

該少なくとも1つのCD28 sdAb(CD28 VHH)ドメインが、

SEQ ID NO：342に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：186に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：187に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：188に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：213に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：214に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：215に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：216に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：217に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：218に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：219に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：221に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：222に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：223に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR

10

20

30

40

50

3 ;  
SEQ ID NO : 224 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;  
SEQ ID NO : 225 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;  
SEQ ID NO : 226 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;  
SEQ ID NO : 227 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;  
SEQ ID NO : 228 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR 10  
3 ;  
SEQ ID NO : 229 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;  
SEQ ID NO : 230 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;  
SEQ ID NO : 231 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;  
SEQ ID NO : 232 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;  
SEQ ID NO : 233 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR 20  
3 ;  
SEQ ID NO : 234 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;  
SEQ ID NO : 235 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;  
SEQ ID NO : 236 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;  
SEQ ID NO : 237 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;  
SEQ ID NO : 238 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR 30  
3 ;  
SEQ ID NO : 239 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;  
SEQ ID NO : 280 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;  
SEQ ID NO : 343 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR3 ;  
SEQ ID NO : 344 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;  
SEQ ID NO : 345 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;  
SEQ ID NO : 346 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR 40  
3 ;  
SEQ ID NO : 347 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;  
SEQ ID NO : 348 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;  
SEQ ID NO : 349 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;  
SEQ ID NO : 350 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
3 ;



SEQ ID NO : 376に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3 ;  
 SEQ ID NO : 377に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3 ;  
 SEQ ID NO : 378に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3 ;  
 SEQ ID NO : 379に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3 ;  
 SEQ ID NO : 380に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3 ;  
 SEQ ID NO : 381に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3 ;  
 SEQ ID NO : 382に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3 ;  
 SEQ ID NO : 383に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3 ;  
 SEQ ID NO : 384に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3 ; または  
 SEQ ID NO : 385に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3を含む、CD28結合ポリペプチド。

10

20

## 【請求項4】

少なくとも1つのCD28 sdAbが、  
 SEQ ID NO : 342、186、187、188、213、214、215、216、217、218、219、221、222、223、224、225、226、227、228、229、230、231、232、233、234、235、236、237、238、239、280、343、344、345、346、347、348、349、350、351、352、353、354、355、356、357、358、359、360、361、362、363、364、365、366、367、368、369、370、371、372、373、374、375、376、377、378、379、380、381、382、383、384、および385のいずれかに示されるアミノ酸配列、または

SEQ ID NO : 342、186、187、188、213、214、215、216、217、218、219、221、222、223、224、225、226、227、228、229、230、231、232、233、234、235、236、237、238、239、280、343、344、345、346、347、348、349、350、351、352、353、354、355、356、357、358、359、360、361、362、363、364、365、366、367、368、369、370、371、372、373、374、375、376、377、378、379、380、381、382、383、384、および385のいずれかに対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すアミノ酸の配列

30

を含む、請求項1～3のいずれか一項記載のCD28結合ポリペプチド。

## 【請求項5】

少なくとも1つのCD28 sdAbが、  
それぞれSEQ ID NO : 195、206、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 195、196、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 198、196、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 199、196、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 200、196、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、196、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 195、202、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 195、204、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 195、205、および197 ;

40

50

それぞれSEQ ID NO : 195、207、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 195、208、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 195、209、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 195、210、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 195、211、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 195、212、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、202、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、202、および396 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、386、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、387、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、202、および397 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、202、および398 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、206、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、206、および398 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、388、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、389、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、206、および397 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、206、および398 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、203、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、203、および396 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、390、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、391、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、203、および397 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、203、および398 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、204、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、204、および396 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、392、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、393、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、204、および397 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、204、および398 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、196、および396 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、394、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、395、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、196、および397 ;  
それぞれSEQ ID NO : 201、196、および398 ;  
それぞれSEQ ID NO : 195、206、および396 ;  
それぞれSEQ ID NO : 195、388、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 195、389、および197 ;  
それぞれSEQ ID NO : 195、206、および397 ; または  
それぞれSEQ ID NO : 195、206、および398  
 に示されるCDR1、CDR2、およびCDR3を含む、かつ/あるいは  
少なくとも1つのCD28 sdAbが、  
SEQ ID NO : 342、213 ~ 219、221 ~ 239、280、および343 ~ 385のいずれか  
に示されるアミノ酸配列、または  
SEQ ID NO : 342、213 ~ 219、221 ~ 239、280、および343 ~ 385のいずれか  
に対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、  
94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すアミノ酸の配列  
を含む、  
 請求項1 ~ 4のいずれか一項記載のCD28結合ポリペプチド。  
 【請求項6】

10

20

30

40

50

少なくとも1つのCD28 sdAbが、1つのCD28 sdAbである、かつ/または  
CD28結合ポリペプチドが、CD28に対して一価である、  
請求項1～5のいずれか一項記載のCD28結合ポリペプチド。

【請求項7】

少なくとも1つのCD28 sdAbが、2つ、3つ、もしくは4つのCD28 sdAbである、  
かつ/または

CD28結合ポリペプチドが、CD28に対して多価である、  
請求項1～5のいずれか一項記載のCD28結合ポリペプチド。

【請求項8】

少なくとも1つのCD28 sdAbが、2つのCD28 sdAbであり、かつ/または  
CD28結合ポリペプチドが、CD28に対して二価であり、  
任意で、

2つのCD28 sdAbが、同じCD28 sdAbであるか、または2つのCD28 sdAbが、異なるCD28 sdAbであり、

2つのCD28 sdAbの各々が、SEQ ID NO：342、213～219、221～239、280、  
および343～385のいずれかに対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、  
91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含む、

請求項1～5および7のいずれか一項記載のCD28結合ポリペプチド。

【請求項9】

CD28結合ポリペプチドが、プロテインAに結合する部分を含み、かつ/または  
少なくとも1つのCD28 sdAbが、プロテインAに対する結合を低減させるアミノ酸改  
変を含み、

任意で、アミノ酸改変が、フレームワーク領域3（FR3）における、KabatによるG65  
Dである、

請求項1～8のいずれか一項記載のCD28結合ポリペプチド。

【請求項10】

請求項1～9のいずれか一項記載のCD28結合ポリペプチドと、免疫グロブリンFc領域  
とを含む、抗CD28 sdAb-Fc融合タンパク質。

【請求項11】

Fc領域が、

エフェクター機能を低減させるかつ/またはFcガンマ受容体およびC1qから選択さ  
れるエフェクター分子に対する結合を低減させる、1つまたは複数のアミノ酸改変  
を含むポリペプチド

を含む、請求項10記載の抗CD28 sdAb-Fc融合タンパク質。

【請求項12】

請求項9または10記載の抗CD28 sdAb-Fc融合タンパク質の、2つの同一コピーを含  
む、ホモ二量体Fc融合タンパク質。

【請求項13】

請求項9または10記載の抗CD28 sdAb-Fc融合タンパク質を、2つ含む、ヘテロ二量  
体融合タンパク質。

【請求項14】

請求項10または11記載の抗CD28 sdAb-Fc融合タンパク質と、CD28以外の標的抗  
原に結合する1つまたは複数の結合ドメイン（BD）とを含み、

任意で、

1つもしくは複数のBDが、腫瘍関連抗原（TAA）に結合する、

1つもしくは複数のBDが、T細胞活性化マーカーもしくはT細胞疲弊マーカーであるT  
細胞表面マーカーに結合する、または

1つもしくは複数のBDが、腫瘍微小環境マーカーである細胞表面マーカーに結合する、  
多重特異性結合ポリペプチド。

10

20

30

40

50

## 【請求項15】

1つまたは複数のBDが、任意で、1つまたは複数のBDの各々が、シングルドメイン抗体(sdAb)である、かつ/あるいは

前記多重特異性結合ポリペプチドがFc融合タンパク質であり、1つもしくは複数のBDおよび/または少なくとも1つのCD28 sdAbのうちの少なくとも1つが、免疫グロブリンFc領域に連結されている、

請求項14記載の多重特異性結合ポリペプチド。

## 【請求項16】

二量体である、請求項14または15記載の多重特異性結合ポリペプチド。

## 【請求項17】

BDが結合する抗原が、1-92-LFA-3、2B4、5T4、アルファ-4インテグリン、アルファ-Vインテグリン、アルファ4ベータ1インテグリン、アルファ4ベータ7インテグリン、アルファ-SMA、AGR2、抗Lewis-Y、Apelin J受容体、APRIL、B7-H3、B7-H4、BAFF、BTLA、C5補体、C-242、CA9、CA19-9、(Lewis a)、炭酸脱水酵素9、CD2、CD3、CD6、CD9、CD11a、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD27、CD28、CD30、CD33、CD38、CD40、CD40L、CD41、CD44、CD44v6、CD47、CD51、CD52、CD56、CD64、CD69、CD70、CD71、CD74、CD80、CD81、CD86、CD95、CD107a、CD117、CD123、CD125、CD132、(IL-2RG)、CD133、CD137、CD138、CD160、CD166、CD172A、CD248、CDH6、CEACAM5(CEA)、CEACAM6(NCA-90)、CLAUDIN-3、CLAUDIN-4、cMet、コラーゲン、Cripto、CSFR、CSFR-1、CTLA-4、CTGF、CXCL10、CXCL13、CXCR1、CXCR2、CXCR4、CYR61、DL44、DLK1、DLL3、DLL4、DPP-4、DSG1、EDA、EDB、EGFR、EGFRviii、エンドセリンB受容体(ETBR)、ENPP3、EpCAM、EPHA2、EPHB2、ERBB3、RSVのFタンパク質、FAP、FGF-2、FGF8、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT-3、葉酸受容体アルファ(FRアルファ)、FSP-1、GAL3ST1、G-CSF、G-CSFR、GD2、GITR、GLUT1、GLUT4、GM-CSF、GM-CSFR、GP IIB/IIIa受容体、Gp130、GPIIB/IIIA、GPNMB、GRP78、HER2/neu、HER3、HER4、HGF、hGH、HLA-DR、HVEM、ヒアルロニダーゼ、ICOS、IFNアルファ、IFNベータ、IFNガンマ、IgE、IgE受容体(FcεRI)、IGF、IGF1R、IL1B、IL1R、IL2、IL11、IL12、IL12p40、IL-12R、IL-12Rベータ1、IL13、IL13R、IL13Ra2、IL15、IL17、IL18、IL21、IL23、IL23R、IL27/IL27R(wsx1)、IL29、IL-31R、IL31/IL31R、IL2R、IL4、IL4R、IL6、IL6R、IL1受容体アクセサリータンパク質(IL1RAP)、インスリン受容体、Jaggedリガンド、Jagged 1、Jagged 2、KISS1-R、KLRG1、LAG-3、LIF-R、Lewis X、LIGHT、LRP4、LRRC26、Ly6G6D、LYPD1、MCSP、メソテリン、MRP4、MUC1、ムチン-16(MUC16、CA-125)、Na/K ATPase、NGF、ニカストリン、Notch受容体、Notch 1、Notch 2、Notch 3、Notch 4、NOV、OSM-R、OX-40、PAR2、PDGF-AA、PDGF-BB、PDGFRアルファ、PDGFRベータ、PD-1、PD-L1、PD-L2、ホスファチジルセリン、P1GF、PSCA、PSMA、PSGR、RAAG12、RAGE、SLC44A4、Siglec15、スフィンゴシン1リン酸、STEAP1、STEAP2、TAG-72、TAPA1、TEM-8、TGFベータ、TIGIT、TIM-3、TLR2、TLR4、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TMEM31、TNFアルファ、TNFR、TNFRS12A、TRAIL-R1、TRAIL-R2、トランスフェリン、トランスフェリン受容体、TRK-A、TRK-B、uPAR、VAP1、VCAM-1、VEGF、VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3、VISTA、WISP-1、WISP-2、およびWISP-3からなる群より選択される、請求項14~16のいずれか一項記載の多重特異性結合ポリペプチド。

## 【請求項18】

請求項14~17のいずれか一項記載の多重特異性結合ポリペプチドの、2つの同一コピーを含む、ホモ二量体多重特異性Fc融合タンパク質。

## 【請求項19】

10

20

30

40

50

請求項14~17のいずれか一項記載の多重特異性結合ポリペプチドを、2つ含む、ヘテロ二量体多重特異性Fc融合タンパク質。

【請求項20】

1つまたは複数のBDのうちの少なくとも1つがその抗原に結合していない限り、少なくとも1つのCD28 sdAbが、

CD28に結合することも係合することもできない、または

CD28に実質的に結合することも係合することもできない、

請求項14~17のいずれか一項記載の多重特異性結合ポリペプチドまたは請求項18もしくは19記載の多重特異性Fc融合タンパク質。

【請求項21】

SEQ ID NO : 195、189、192、198、199、200、および201からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域1 (CDR1) ;

SEQ ID NO : 206、190、193、196、202、204、205、207、208、209、210、211、212、386、387、388、389、390、391、392、393、394、および395からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域2 (CDR2) ; ならびに

SEQ ID NO : 197、191、194、396、397、および398からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域3 (CDR3) を含む、抗CD28シングルドメイン抗体 (sdAb) 。

【請求項22】

SEQ ID NO : 195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 206に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3 ;

SEQ ID NO : 189に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 190に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 191に示されるアミノ酸配列を含むCDR3 ;

SEQ ID NO : 192に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 193に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 194に示されるアミノ酸配列を含むCDR3 ;

SEQ ID NO : 195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 196に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3 ;

SEQ ID NO : 198に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 196に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3 ;

SEQ ID NO : 199に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 196に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3 ;

SEQ ID NO : 200に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 196に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3 ;

SEQ ID NO : 201に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 196に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3 ;

SEQ ID NO : 195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 202に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3 ;

SEQ ID NO : 195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 204に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO : 197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3 ;

SEQ ID NO : 195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO : 205に示さ

10

20

30

40

50





むCDR3；

SEQ ID NO：201に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO：196に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO：397に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO：201に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO：196に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO：398に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO：195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO：206に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO：396に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO：195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO：388に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO：197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO：195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO：389に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO：197に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；

SEQ ID NO：195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO：206に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO：397に示されるアミノ酸配列を含むCDR3；または

SEQ ID NO：195に示されるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO：206に示されるアミノ酸配列を含むCDR2、およびSEQ ID NO：398に示されるアミノ酸配列を含むCDR3

を含む、請求項21記載の抗CD28 sdAb。

【請求項23】

SEQ ID NO：342に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：186に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：187に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：188に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：213に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：214に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：215に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：216に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：217に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：218に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：219に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：221に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：222に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3；

SEQ ID NO：223に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR

10

20

30

40

50

3 ;  
 SEQ ID NO : 224 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 225 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 226 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 227 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 228 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR 10  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 229 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 230 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 231 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 232 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 233 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR 20  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 234 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 235 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 236 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 237 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 238 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR 30  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 239 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 280 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 343 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR3 ;  
 SEQ ID NO : 344 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 345 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 346 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR 40  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 347 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 348 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 349 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;  
 SEQ ID NO : 350 に示されるアミノ酸配列に含有される CDR1、CDR2、および CDR  
 3 ;



SEQ ID NO : 376に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3 ;  
 SEQ ID NO : 377に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3 ;  
 SEQ ID NO : 378に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3 ;  
 SEQ ID NO : 379に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3 ;  
 SEQ ID NO : 380に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3 ;  
 SEQ ID NO : 381に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3 ;  
 SEQ ID NO : 382に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3 ;  
 SEQ ID NO : 383に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3 ;  
 SEQ ID NO : 384に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3 ; または  
 SEQ ID NO : 385に示されるアミノ酸配列に含有されるCDR1、CDR2、およびCDR3を含む、抗CD28シングルドメイン抗体 (sdAb)。

10

20

## 【請求項24】

SEQ ID NO : 342、186、187、188、213、214、215、216、217、218、219、221、222、223、224、225、226、227、228、229、230、231、232、233、234、235、236、237、238、239、280、343、344、345、346、347、348、349、350、351、352、353、354、355、356、357、358、359、360、361、362、363、364、365、366、367、368、369、370、371、372、373、374、375、376、377、378、379、380、381、382、383、384、および385のいずれかに示されるアミノ酸配列、または

SEQ ID NO : 342、186、187、188、213、214、215、216、217、218、219、221、222、223、224、225、226、227、228、229、230、231、232、233、234、235、236、237、238、239、280、343、344、345、346、347、348、349、350、351、352、353、354、355、356、357、358、359、360、361、362、363、364、365、366、367、368、369、370、371、372、373、374、375、376、377、378、379、380、381、382、383、384、および385のいずれかに対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すアミノ酸の配列

30

を含む、請求項21~23のいずれか一項記載の抗CD28 sdAb。

## 【請求項25】

以下：

40

それぞれSEQ ID NO : 195、206、および197 ;

それぞれSEQ ID NO : 195、196、および197 ;

それぞれSEQ ID NO : 198、196、および197 ;

それぞれSEQ ID NO : 199、196、および197 ;

それぞれSEQ ID NO : 200、196、および197 ;

それぞれSEQ ID NO : 201、196、および197 ;

それぞれSEQ ID NO : 195、202、および197 ;

それぞれSEQ ID NO : 195、204、および197 ;

それぞれSEQ ID NO : 195、205、および197 ;

それぞれSEQ ID NO : 195、207、および197 ;

50

それぞれSEQ ID NO : 195、208、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 195、209、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 195、210、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 195、211、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 195、212、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、202、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、202、および396 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、386、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、387、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、202、および397 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、202、および398 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、206、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、206、および398 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、388、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、389、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、206、および397 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、206、および398 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、203、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、203、および396 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、390、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、391、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、203、および397 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、203、および398 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、204、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、204、および396 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、392、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、393、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、204、および397 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、204、および398 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、196、および396 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、394、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、395、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、196、および397 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 201、196、および398 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 195、206、および396 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 195、388、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 195、389、および197 ;  
 それぞれSEQ ID NO : 195、206、および397 ; または  
 それぞれSEQ ID NO : 195、206、および398

10

20

30

40

に示されるCDR1、CDR2、およびCDR3  
 を含む、請求項21~24のいずれか一項記載の抗CD28 sdAb。

【請求項26】

SEQ ID NO : 342、213~219、221~239、280、および343~385のいずれか  
 に示されるアミノ酸配列、または

SEQ ID NO : 342、213~219、221~239、280、および343~385のいずれか  
 に対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、  
 94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すアミノ酸の配列  
 を含む、請求項21~25のいずれか一項記載の抗CD28 sdAb。

【請求項27】

抗CD28 sdAbが、プロテインAに対する結合を低減させるアミノ酸改変を含み、

50

任意で、アミノ酸改変が、フレームワーク領域3 (FR3) における、KabatによるG65 Dである、

請求項21~26のいずれか一項記載の抗CD28 sdAb。

【請求項28】

請求項21~27のいずれか一項記載の少なくとも1つの抗CD28シングルドメイン抗体 (sdAb) と、CD28以外の抗原に結合する1つまたは複数の結合ドメイン (BD) と、CD3結合領域とを含み、

任意で、該BDが、TAAに結合する、

任意で、該BDが、シングルドメイン抗体 (sdAb) である、

多重特異性構築物。

10

【請求項29】

(i) CD3結合領域が、CD3 (CD3 ) に結合する、

(ii) CD3結合領域が、抗CD3抗体もしくは抗原結合断片である、

(iii) CD3結合領域が一価である、かつ/または

(iv) CD3結合領域が、可変重鎖領域 (VH) と可変軽鎖領域 (VL) とを含む可変断片 (Fv) である、

請求項28記載の多重特異性構築物。

【請求項30】

CD28結合ポリペプチドが、免疫グロブリンFc領域を含む、請求項28または29記載の多重特異性構築物。

20

【請求項31】

Fcが、ヘテロ二量体Fcであり、

抗CD3抗体または抗原結合断片を含むVHおよびVLが、該ヘテロ二量体Fcの相対するポリペプチドに連結されている、

請求項30記載の多重特異性構築物。

【請求項32】

1つまたは複数のBDのうちの少なくとも1つがその抗原に結合していない限り、CD3結合領域が、

CD3に結合することも係合することもできない、または

CD3に実質的に結合することも係合することもできない、

請求項28~31のいずれか一項記載の多重特異性構築物。

30

【請求項33】

請求項1~9のいずれか一項記載のCD28結合ポリペプチド；請求項10~13、18、および19のいずれか一項記載の融合タンパク質；請求項14~17および20のいずれか一項記載の多重特異性結合ポリペプチド；請求項28~32のいずれか一項記載の多重特異性構築物；または請求項21~27のいずれか一項記載の抗CD28sdAbをコードする、ポリヌクレオチド。

【請求項34】

請求項33記載のポリヌクレオチドを含むベクターであって、

任意で、該ベクターが、発現ベクターおよび/またはウイルスベクターもしくは真核生物ベクターであり、

任意で、該真核生物ベクターが、哺乳類ベクターである、

ベクター。

40

【請求項35】

請求項33記載の1つもしくは複数のポリヌクレオチド、または請求項34記載のベクターを含む、細胞。

【請求項36】

ポリペプチドを産生する方法であって、

請求項33記載の1つもしくは複数のポリヌクレオチド、または請求項34記載のベクターを細胞中に導入する工程、および

50

該ポリペプチドを産生する条件下で該細胞を培養する工程  
を含み、  
任意で、該ポリペプチドを該細胞から単離または精製する工程を含む、  
方法。

【請求項 37】

請求項36記載の方法によって産生される、ポリペプチド。

【請求項 38】

請求項1～9のいずれか一項記載のCD28結合ポリペプチド；請求項10～13、18、および19のいずれか一項記載の融合タンパク質；請求項14～17および20のいずれか一項記載の多重特異性結合ポリペプチド；請求項28～32のいずれか一項記載の多重特異性構築物；または請求項21～27のいずれか一項記載の抗CD28 sdAb  
を含み、

10

任意で、薬学的に許容される担体を含む、  
薬学的組成物。

【請求項 39】

対象において疾患または状態を処置するための、

請求項1～9のいずれか一項記載のCD28結合ポリペプチド；請求項10～13、18、および19のいずれか一項記載の融合タンパク質；請求項14～17および20のいずれか一項記載の多重特異性結合ポリペプチド；請求項21～27のいずれか一項記載の抗CD28 sdAb；請求項28～32のいずれか一項記載の多重特異性構築物；または請求項38記載の薬学的組成物

20

を含む組成物であって、

任意で、該疾患または状態が腫瘍またはがんである、  
組成物。

【請求項 40】

対象において疾患または状態を処置するための医薬の製造のための、

請求項1～9のいずれか一項記載のCD28結合ポリペプチド；請求項10～13、18、および19のいずれか一項記載の融合タンパク質；請求項14～17および20のいずれか一項記載の多重特異性結合ポリペプチド；請求項21～27のいずれか一項記載の抗CD28 sdAb；請求項28～32のいずれか一項記載の多重特異性構築物；または請求項38記載の薬学的組成物

30

を含む組成物の使用であって、

任意で、該疾患または状態が腫瘍またはがんである、  
使用。

40

50