

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0133797

(43) 공개일자 2024년09월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 16/28 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

C07K 14/525 (2024.01) C07K 16/32 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07K 16/2809 (2013.01)

A61K 38/00 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2024-7023799

(22) 출원일자(국제) 2022년12월16일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2024년07월16일

(86) 국제출원번호 PCT/US2022/081745

(87) 국제공개번호 WO 2023/114965

국제공개일자 2023년06월22일

(30) 우선권주장

63/291,305 2021년12월17일 미국(US)

(71) 출원인

모텍스 테라퓨틱스, 인크.

미국 01760 매사추세츠 내틱 스트라스모어 로드 22

(72) 발명자

캠프, 해더 던

미국 02090 매사추세츠 웨스트우드 리저뷰어 로드 60

송, 에드워드

미국 02155 매사추세츠 메드포드 하버드 스트리트 215 #30

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

양영준, 이상남

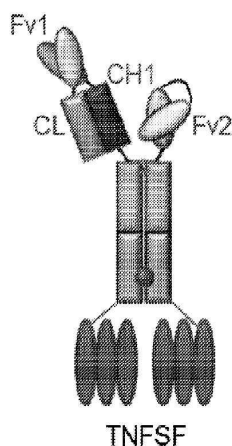
전체 청구항 수 : 총 56 항

(54) 발명의 명칭 TNFSF 리간드의 세포 외 도메인을 포함하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체

(57) 요약

특정 구조적 특징을 갖는 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 및 이의 항원 결합 단편)가 개시된다. 또한 이러한 폴리펩티드 복합체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 및 벡터; 세포, 약제학적 조성물 및 이러한 폴리펩티드 복합체를 함유하는 키트; 및 그러한 폴리펩티드 복합체를 함유하는 키트; 그리고 그러한 폴리펩티드 복합체를 사용하는 방법이 개시된다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

C07K 14/525 (2013.01)

C07K 16/2818 (2013.01)

C07K 16/32 (2013.01)

C07K 2317/31 (2013.01)

C07K 2317/73 (2013.01)

C07K 2317/74 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

C07K 2319/30 (2013.01)

(72) 발명자

양, 지용

미국 02459 매사추세츠 뉴턴 센터 사이프러스 스트리트 68

나벨, 게리 제이.

미국 33483 플로리다 텔레이 비치 빌라 팜 트레일 815

웨이, 로니 알.

미국 02493 매사추세츠 웨스턴 글렌 로드 376

제르호니, 엘리야스

미국 33305 플로리다 포트 로더데일 유닛 에스 2004 엔. 오션 불러바드 2200

명세서

청구범위

청구항 1

제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 및 제3 폴리펩티드를 포함하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체;

(a) 여기서 제1 폴리펩티드는 하기 구조로 표시된다:

VL1-L1-CL;

VL1-L1-CH1;

VH1-L1-CL; 또는

VH1-L1-CH1;

여기서:

(i) 제2 폴리펩티드는 하기 구조로 표시된다:

VH1-L2-CH1-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3;

VH1-L2-CL-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3;

VH1-L7-CH1-L8-Fc;

VH1-L7-CL-L8-Fc;

VL1-L2-CH1-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3;

VL1-L2-CL-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3;

VL1-L7-CH1-L8-Fc; 또는

VL1-L7-CL-L8-Fc; 그리고

제3 폴리펩티드는 하기 구조로 표시된다:

VL2-L9-VH2-L10-Fc-L11-TNF1-L12-TNF2-L13-TNF3; 또는

VH2-L14-VL2-L15-Fc-L16-TNF1-L17-TNF2-L18-TNF3;

또는

(ii) 제2 폴리펩티드는 하기 구조로 표시된다:

VH1-L19-CH1-L20-Fc-L21-TNF1-L22-TNF2-L23-TNF3;

VH1-L19-CL-L20-Fc-L21-TNF1-L22-TNF2-L23-TNF3;

VL1-L19-CH1-L20-Fc-L21-TNF1-L22-TNF2-L23-TNF3; 또는

VL1-L19-CL-L20-Fc-L21-TNF1-L22-TNF2-L23-TNF3; 그리고

제3 폴리펩티드는 하기 구조로 표시된다:

VL2-L24-VH2-L25-Fc; 또는

VH2-L26-VL2-L27-Fc;

여기서:

VL1은 제1 면역글로불린 경쇄 가변영역이고;

VL2는 제2 면역글로불린 경쇄 가변영역이고;

VH1은 제1 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고;

VH2는 제2 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고;

Fc는 면역글로불린 중쇄 불변 영역 2(CH2), 면역글로불린 중쇄 불변 영역 3(CH3) 및 선택적으로 면역글로불린 힌지를 포함하는 영역이고;

CH1은 면역글로불린 중쇄 불변 영역 1이고;

CL은 면역글로불린 경쇄 불변 영역이고;

TNF1은 종양 괴사 인자 슈퍼패밀리(TNFSF) 리간드의 제1 세포외 도메인이고.

TNF2는 TNFSF 리간드의 제2 세포외 도메인이고;

TNF3는 TNFSF 리간드의 제3 세포외 도메인이다; 그리고

L1-L27은 아미노산 링커이고; 또는

(b) 여기서 제1 폴리펩티드는 하기 구조로 표시된다:

VL1-L1-CL;

VL1-L1-CH1;

VH1-L1-CL; 또는

VH1-L1-CH1;

여기서:

(i) 제2 폴리펩티드는 하기 구조로 표시된다:

VH1-CH1-L2-Fc-L3-TNF1-L4-TNF2-L5-TNF3;

VH1-CL-L2-Fc-L3-TNF1-L4-TNF2-L5-TNF3;

VH1-CH1-L6-Fc;

VH1-CL-L7-Fc;

VL1-CH1-L2-Fc-L3-TNF1-L4-TNF2-L5-TNF3;

VL1-CL-L2-Fc-L3-TNF1-L4-TNF2-L5-TNF3;

VL1-CH1-L6-Fc; 또는

VL1-CL-L7-Fc; 그리고

제3 폴리펩티드는 하기 구조로 표시된다:

VL2-L8-VH2-L9-Fc-L10-TNF1-L11-TNF2-L12-TNF3; 또는

VH2-L13-VL2-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3;

또는

(ii) 제2 폴리펩티드는 하기 구조로 표시된다:

VH1-CH1-L18-Fc-L19-TNF1-L20-TNF2-L21-TNF3;

VH1-CL-L18-Fc-L19-TNF1-L20-TNF2-L21-TNF3;

VL1-CH1-L18-Fc-L19-TNF1-L20-TNF2-L21-TNF3; 또는

VL1-CL-L18-Fc-L19-TNF1-L20-TNF2-L21-TNF3; 그리고

제3 폴리펩티드는 하기 구조로 표시된다:

VL2-L22-VH2-L23-Fc; 또는

VH2-L24-VL2-L25-Fc;

여기서:

VL1은 제1 면역글로불린 경쇄 가변영역이고;

VL2는 제2 면역글로불린 경쇄 가변영역이고;

VH1은 제1 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고;

VH2는 제2 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고;

Fc는 면역글로불린 중쇄 불변 영역 2(CH2), 면역글로불린 중쇄 불변 영역 3(CH3) 및 선택적으로 면역글로불린 힌지를 포함하는 영역이고;

CH1은 면역글로불린 중쇄 불변 영역 1이고;

CL은 면역글로불린 경쇄 불변 영역이고;

TNF1은 종양 괴사 인자 슈퍼패밀리(TNFSF) 리간드의 제1 세포외 도메인이고.

TNF2는 TNFSF 리간드의 제2 세포외 도메인이고;

TNF3은 TNFSF 리간드의 제3 세포외 도메인이다; 그리고

L1-L25는 아미노산 링커이다.

청구항 2

제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체;

여기서:

(i) 제1 폴리펩티드는 하기 구조로 표시된다:

VL1-L1-VH1-L2-Fc;

VH1-L3-VL1-L4-Fc;

VL1-L5-VH1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc;

VL1-L5-VH1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc;

VH1-L5-VL1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc;

VH1-L5-VL1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc;

VL1-L9-CL-L10-VH1-L11-CH1-L12-Fc;

VL1-L9-CH1-L10-VH1-L11-CL-L12-Fc;

VH1-L9-CL-L10-VL1-L11-CH1-L12-Fc;

VH1-L9-CH1-L10-VL1-L11-CL-L12-Fc;

VL1-L13-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3;

VH1-L18-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3;

VL1-L23-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3;

VL1-L23-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3;

VH1-L23-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3;

VH1-L23-VL1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3;

VL1-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3;

VH1-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3;

VL1-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3;
 VL1-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3;
 VH1-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3;
 VH1-VL1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3;
 VL1-L30-CL-L31-VH1-L32-CH1-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3;
 VL1-L30-CH1-L31-VH1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3;
 VH1-L30-CL-L31-VL1-L32-CH1-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; 또는
 VH1-L30-CH1-L31-VL1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; 그리고
 제2 폴리펩티드는 하기 구조로 표시된다:

VL2-L37-VH2-L38-Fc-L39-TNF1-L40-TNF2-L41-TNF3;
 VH2-L42-VL2-L43-Fc-L44-TNF1-L45-TNF2-L46-TNF3;
 VL2-L47-VH2-L48-CL-L49-CH1-L50-Fc-L51-TNF1-L52-TNF2-L53-TNF3;
 VL2-L54-CL-L55-VH2-L56-CH1-L57-Fc-L58-TNF1-L59-TNF2-L60-TNF3;
 VL2-L47-VH2-L48-CH1-L49-CL-L50-Fc-L51-TNF1-L52-TNF2-L53-TNF3;
 VL2-L54-CH1-L55-VH2-L56-CL-L57-Fc-L58-TNF1-L59-TNF2-L60-TNF3;
 VL2-VH2-L38-Fc-L39-TNF1-L40-TNF2-L41-TNF3;
 VH2-VL2-L43-Fc-L44-TNF1-L45-TNF2-L46-TNF3;
 VL2-VH2-L48-CL-L49-CH1-L50-Fc-L51-TNF1-L52-TNF2-L53-TNF3;
 VL2-CL-L55-VH2-L56-CH1-L57-Fc-L58-TNF1-L59-TNF2-L60-TNF3;
 VL2-VH2-L48-CH1-L49-CL-L50-Fc-L51-TNF1-L52-TNF2-L53-TNF3; 또는
 VL2-CH1-L55-VH2-L56-CL-L57-Fc-L58-TNF1-L59-TNF2-L60-TNF3;
 또는

(ii) 제1 폴리펩티드는 하기 구조로 표시된다:

VL1-L61-VH1-L62-Fc-L63-TNF1-L64-TNF2-L65-TNF3;
 VH1-L66-VL1-L67-Fc-L68-TNF1-L69-TNF2-L70-TNF3;
 VL1-L71-VH1-L72-CL-L73-CH1-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3;
 VL1-L71-VH1-L72-CH1-L73-CL-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3;
 VL1-L78-CL-L79-VH1-L80-CH1-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3; 또는
 VL1-L78-CH1-L79-VH1-L80-CL-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3; 그리고

제2 폴리펩티드는 하기 구조로 표시된다:

VL2-L85-VH2-L86-Fc;
 VH2-L87-VL2-L88-Fc;
 VL2-L89-VH2-L90-CL-L91-CH1-L92-Fc;
 VL2-L89-VH2-L90-CH1-L91-CL-L92-Fc;
 VL2-L93-CL-L94-VH2-L95-CH1-L96-Fc; 또는
 VL2-L93-CH1-L94-VH2-L95-CL-L96-Fc;

여기서:

VL1은 제1 면역글로불린 경쇄 가변영역이고;

VL2는 제2 면역글로불린 경쇄 가변영역이고;

VH1은 제1 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고;

VH2는 제2 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고;

Fc는 면역글로불린 중쇄 불변 영역 2(CH2), 면역글로불린 중쇄 불변 영역 3(CH3) 및 선택적으로 면역글로불린 힌지를 포함하는 영역이고;

CH1은 면역글로불린 중쇄 불변 영역 1이고;

CL은 면역글로불린 경쇄 불변 영역이고;

TNF1은 TNFSF 리간드의 제1 세포의 도메인이고;

TNF2는 TNFSF 리간드의 제2 세포의 도메인이고;

TNF3은 TNFSF 리간드의 제3 세포의 도메인이다; 그리고

L1-L96는 아미노산 링커이다.

청구항 3

제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체;

여기서:

(i) 제1 폴리펩티드는 하기 구조로 표시된다:

Fc;

VL1-L1-VL2-L2-VH2-L3-VH1-L4-Fc;

VH1-L5-VH2-L6-VL2-L7-VL1-L8-Fc;

Fc-L9-TNF1-L10-TNF2-L11-TNF3;

VL1-L12-VL2-L13-VH2-L14-VH1-L15-Fc-L16-TNF1-L17-TNF2-L18-TNF3; 또는

VH1-L19-VH2-L20-VL2-L21-VL1-L22-Fc-L23-TNF1-L24-TNF2-L25-TNF3; 그리고

제2 폴리펩티드는 하기 구조로 표시된다:

VL3-L26-VL4-L27-VH4-L28-VH3-L29-Fc-L30-TNF1-L31-TNF2-L32-TNF3; 또는

VH3-L33-VH4-L34-VL4-L35-VL3-L36-Fc-L37-TNF1-L38-TNF2-L39-TNF3;

또는

(ii) 제1 폴리펩티드는 하기 구조로 표시된다:

Fc-L40-TNF1-L41-TNF2-L42-TNF3;

VL1-L43-VL2-L44-VH2-L45-VH1-L46-Fc-L47-TNF1-L48-TNF2-L49-TNF3; 또는

VH1-L50-VH2-L51-VL2-L52-VL1-L53-Fc-L54-TNF1-L55-TNF2-L56-TNF3; 그리고

제2 폴리펩티드는 하기 구조로 표시된다:

Fc;

VL3-L57-VL4-L58-VH4-L59-VH3-L60-Fc; 또는

VH3-L61-VH4-L62-VL4-L63-VL3-L64-Fc;

여기서:

VL1은 제1 면역글로불린 경쇄 가변영역이고;

VL2는 제2 면역글로불린 경쇄 가변영역이고;

VL3은 제3 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고;

VL4는 제4 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고;

VH1은 제1 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고;

VH2는 제2 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고;

VH3은 제3 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고;

VH4는 제4 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고;

Fc는 면역글로불린 중쇄 불변 영역 2(CH2), 면역글로불린 중쇄 불변 영역 3(CH3) 및 선택적으로 면역글로불린 힌지를 포함하는 영역이고;

TNF1은 TNFSF 리간드의 제1 세포의 도메인이고;

TNF2는 TNFSF 리간드의 제2 세포의 도메인이고;

TNF3은 TNFSF 리간드의 제3 세포의 도메인이다; 그리고

L1-L64는 아미노산 링커이다.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 링커 L1-L96 중 하나 이상은 약 0개 아미노산 내지 약 50개 아미노산의 길이를 갖는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 링커 L1-L96 중 하나 이상은 비-면역원성인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 링커 L1-L96 중 하나 이상은 공통 T 세포 에피토프를 함유하지 않는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 링커 L1-L96은 SEQ ID NO: 3-10 및 148-175 중 어느 하나의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 3-10 및 148-175 중 어느 하나에 대해 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 8

제1항에 있어서, VL1 및 VH1은 CD3에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 9

제8항에 있어서의, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

VL1은 SEQ ID NO: 22, 28, 185, 298 및 306 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23, 29, 186, 299 및 307 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 SEQ ID NO: 24, 30, 187, 300 및 308 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고

여기서 VH1은 SEQ ID NO: 19, 25, 182, 294 및 302 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일

성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20, 26, 183, 295 및 303 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 SEQ ID NO: 21, 27, 184, 296 및 304 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

청구항 10

제9항에 있어서, VL1은 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, VH1은 SEQ ID NO: 43 또는 44에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 11

제1항 및 제8항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, VL2 및 VH2가 종양 관련 항원(TAA) 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 12

제11항에 있어서, 종양-관련 항원은 티로신-단백질 키나제 Met(cMet), 영양막 세포 표면 항원 2(Trop2), CD20, CD19, 수용체 티로신-단백질 키나제 erbB-2(HER2), 수용체 티로신-단백질 키나제 erbB-3(HER3), 아테노신 A2A 수용체(A2AR), 증식 유도 리간드(APRIL), 표피 성장 인자 수용체(EGFR), 섬유아세포 성장 인자 수용체(FGFR), B 세포 활성화 인자(BAFF), BAFF 수용체(BAFFR), B 세포 성숙 항원(BCMA), 브루톤 티로신 키나제(BTK), B 및 T 림프구 감쇠제(BTLA), B7DC(예정사 리간드 2), B7 상동체 1(B7H1), B7 상동체 4(B7H4), 델타 유사 리간드 3(DLL3), 엑토뉴클레오타이드 삼인산 디포스포가수분해효소 1(ENTPD1), IgE 수용체 1a의 Fc 단편(FCER1A), IgE 수용체 1의 Fc 단편(FCER1), 아라키도네이트 5-리폭시게나제 활성화 단백질(FLAP), 엽산 가수분해효소 1(FOLH1), 뮤신 1(MUC-1), CD133, 뮤신 16(MUC-16), 리소좀 관련 막 단백질 1(LAMP1), CD38, 예정사 리간드 1(PD-L1), CEA 세포 부착 분자 5(CEACAM5), 전립선 1의 6개 막형단 상피 항원(STEAP1), 또는 상피 세포 부착 분자(EpCAM)인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 13

제11항에 있어서, TAA가 HER2이거나 면역 자극 수용체가 CD28인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 14

제1항 및 제8항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서의, 항원 결합 폴리펩티드 복합체,

여기서 VL2는 SEQ ID NO: 34, 40, 274, 282, 290, 314 또는 322; SEQ ID NO: 35, 41, 275, 283, 291, 315 또는 323에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 SEQ ID NO: 36, 42, 276, 284, 292, 316 또는 324에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1을 포함하고; 그리고

여기서 VH2는 SEQ ID NO: 31, 37, 270, 278, 286, 310 또는 318에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1을 포함하고, SEQ ID NO: 32, 38, 271, 279, 287, 311 또는 319에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 SEQ ID NO: 33, 39, 272, 280, 288, 312 또는 320에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

청구항 15

제14항에 있어서, VL2가 SEQ ID NO: 47, 49, 273, 281, 289, 313 또는 321에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, VH2는 SEQ ID NO: 46, 48, 269, 277, 285, 309 또는 317에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 16

제1항에 있어서, VL2 및 VH2가 CD3에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 17

제16항에 있어서, VL1 및 VH1이 TAA 또는 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 18

제17항에 있어서, TAA가 HER2이거나 면역 자극 수용체가 CD28인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 19

제2항에 있어서, VL1 및 VH1이 CD3에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 20

제19항에 있어서의, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

VL1은 SEQ ID NO: 22, 28, 185, 298 및 306 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23, 29, 186, 299 및 307 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 SEQ ID NO: 24, 30, 187, 300 및 308 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고

여기서 VH1은 SEQ ID NO: 19, 25, 182, 294 및 302 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20, 26, 183, 295 및 303 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 SEQ ID NO: 21, 27, 184, 296 및 304 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

청구항 21

제20항에 있어서, VL1이 SEQ ID NO: 45, 297 또는 305에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, VH1은 SEQ ID NO: 43, 44, 188, 293 및 301에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 22

제2항 및 제19항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, VL2 및 VH2가 TAA 또는 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 23

제22항에 있어서, TAA는 cMet, Trop2, CD20, CD19, HER2, HER3, A2AR, APRIL, EGFR, FGFR, BAFF, BAFFR, BCMA, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, DLL3, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, MUC-1, CD133, MUC-16, LAMP1, CD38, PD-L1, CEACAM5, STEAP1 및 EpCAM인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 24

제22항에 있어서, TAA가 HER2이거나 면역자극 수용체가 CD28인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 25

제2항 및 제19항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서의, 항원 결합 폴리펩티드 복합체,

(i) 여기서 VL2는 SEQ ID NO: 34, 40, 274, 282, 290, 314 및 322에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35, 41, 275, 283, 291, 315 및 323에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2;

및 SEQ ID NO: 36, 42, 276, 284, 292, 316 및 324에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고

여기서 VH2는 SEQ ID NO: 31, 37, 270, 278, 286, 310 및 318에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32, 38, 271, 279, 287, 311 및 319에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 SEQ ID NO: 33, 39, 272, 280, 288, 312 및 320에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하거나; 또는

(ii) 여기서 VL2는 SEQ ID NO: 47, 49, 273, 281, 289, 313 또는 321에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, VH2는 SEQ ID NO: 46, 48, 269, 277, 285, 309 또는 317에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

청구항 26

제2항에 있어서, VL2 및 VH2가 CD3에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 27

제2항 또는 제26항에 있어서, VL1 및 VH1이 TAA 또는 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 28

제27항에 있어서, TAA가 HER2이거나 면역자극 수용체가 CD28인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 29

제2항에 있어서, 항원 결합 폴리펩티드의 VL1 및 VH1은 CD3에 특이적으로 결합하고, VL2 및 VH2는 TAA 또는 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하고; 또는 항원 결합 폴리펩티드의 VL2 및 VH2는 CD3에 특이적으로 결합하고, VL1 및 VH1은 TAA 또는 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 30

제3항에 있어서, VL1, VH1, VL3 및 VH3이 CD3에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 31

제3항 또는 제30항에 있어서, VL2, VH2, VL4 및 VH4가 TAA 또는 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 32

제31항에 있어서, TAA가 HER2이거나 면역자극 수용체가 CD28인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 33

제3항에 있어서, VL1, VH1, VL4 및 VH4가 CD3에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 34

제3항 또는 제30항에 있어서, VL2, VH2, VL3 및 VH3이 TAA 또는 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 35

제34항에 있어서, TAA가 HER2이거나 면역자극 수용체가 CD28인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 36

제3항에 있어서, VL2, VH2, VL4 및 VH4가 CD3에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 37

제3항 또는 제30항에 있어서, VL1, VH1, VL3 및 VH3이 TAA 또는 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 38

제37항에 있어서, TAA가 HER2이거나 면역자극 수용체가 CD28인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 39

제3항에 있어서, VL2, VH2, VL3 및 VH3이 CD3에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 40

제3항 또는 제30항에 있어서, VL1, VH1, VL4 및 VH4가 TAA 또는 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 41

제40항에 있어서, TAA가 HER2이거나 면역자극 수용체가 CD28인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 42

제30항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서의, 항원 결합 폴리펩티드 복합체,

여기서 CD3에 특이적으로 결합하는 VL은 SEQ ID NO: 22, 28, 185, 298 및 306 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23, 29, 186, 299 및 307 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 SEQ ID NO: 24, 30, 187, 300 및 308 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고

여기서 CD3에 특이적으로 결합하는 VH는 SEQ ID NO: 19, 25, 182, 294 및 302 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20, 26, 183, 295 및 303 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 SEQ ID NO: 21, 27, 184, 296 및 304 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

청구항 43

제42항에 있어서, CD3에 특이적으로 결합하는 VL은 SEQ ID NO: 45, 297 또는 305에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, CD3에 특이적으로 결합하는 VH는 SEQ ID NO: 43, 44, 188, 293 또는 301에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 44

제30항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서의, 항원 결합 폴리펩티드 복합체,

여기서 TAA 또는 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 VL은 SEQ ID NO: 34, 40, 274, 282, 290, 314 또는 322에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35, 41, 275, 283, 291, 315 또는 323에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 SEQ ID NO: 36, 42, 276, 284, 292, 316 또는 324에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고

여기서 TAA 또는 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 VH는 SEQ ID NO: 31, 37, 270, 278, 286, 310 또는 318에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1;

SEQ ID NO: 32, 38, 271, 279, 287, 311 또는 319에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 SEQ ID NO: 33, 39, 272, 280, 288, 312 또는 320에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

청구항 45

제44항에 있어서, TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 VL은 SEQ ID NO: 47, 49, 273, 281, 289, 313 또는 321에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 VH는 SEQ ID NO: 46, 48, 269, 277, 285, 309 또는 317에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 46

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, TNF1, TNF2 및 TNF3이 각각 OX40L(TNFSF4), 4-1BBL(TNFSF9), TNF, TNF 관련 세포사멸 유도 리간드(TRAIL), CD40L(TNFSF5), CD27L(TNFSF7), CD30L(TNFSF8), FasL(TNFSF6), EDAM, LTA(TNFSF1), LTB(TNFSF3), CD153(TNFSF8), RANKL(TNFSF11), TWEAK(TNFSF12), APRIL(TNFSF13), BAFF(TNFSF13B), LIGHT(TNFSF14), VEGI(TNFSF15) 및 GITRL(TNFSF18)로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 47

제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, TNF1, TNF2 및 TNF3이 각각 OX40L인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 48

제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, TNF1, TNF2 및 TNF3이 각각 4-1BBL인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 49

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원 결합 폴리펩티드 복합체가 항체 또는 이의 항원 결합 단편인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 50

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 면역글로불린 힌지가 상부 힌지 영역, 중간 힌지 영역, 하부 힌지 영역, 또는 이들의 조합을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 51

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 영역이 적어도 하나의 낚-인투-홀(knob-into-hole) 변형을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

청구항 52

제51항에 있어서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체가 IgG1 또는 IgG4 항체이고, 낚-인투-홀 변형이 다음을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체:

- (i) S354C 및 T366W의 낚 치환 및 Y349C, T366S, L368A 및 Y407V의 홀 치환;
- (ii) L234A, L235A 및 P329A의 홀 치환;
- (iii) L234A 및 L235A의 홀 치환;
- (iv) M428L 및 N433S의 홀 치환;
- (v) M252Y, S254T 및 T256E의 홀 치환; 또는
- (vi) 이들의 조합으로;

EU 번호 체계를 기반으로 하는 것.

청구항 53

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서의 항원 결합 폴리펩티드 복합체를 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 54

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서의 항원 결합 폴리펩티드 복합체 또는 제53항에 있어서의 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 55

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서의 항원 결합 폴리펩티드 복합체, 제53항에 있어서의 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 제54항에 있어서의 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 면역 반응을 유도 또는 향상하는 방법.

청구항 56

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서의 항원 결합 폴리펩티드 복합체, 제53항에 있어서의 항체 또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체, 또는 제54항에 있어서의 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 암-매개성 면역 억제를 극복하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 관련 출원에 대한 상호참조
- [0002] 본 출원은 2021년 12월 17일에 출원된 미국 가출원 번호 63/291,305의 우선권을 주장하며, 이 출원은 그 전체 내용이 참조로 본원에 포함된다.
- [0003] 전자적으로 제출된 서열 목록의 참조
- [0004] 전자적으로 제출된 서열 목록(이름: 4850_008PC02_Seqlisting_ST26; 크기: 699,814바이트; 작성 날짜: 2022년 12월 13일)의 내용은 전체 내용이 참조로 여기에 포함된다.
- [0005] 본 개시내용은 종양 괴사 인자 슈퍼패밀리(TNFSF) 리간드의 세포외 도메인을 함유하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 및 이의 항원 결합 단편)에 관한 것이다. 본 개시내용은 또한 이러한 폴리펩티드 복합체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 및 벡터, 세포, 약제학적 조성물 및 이러한 폴리펩티드 복합체를 함유하는 키트에 관한 것이고; 그리고 그러한 폴리펩티드 복합체를 사용하는 방법과 관련이 있다.

배경 기술

- [0006] T세포는 면역 체계와 암 퇴치에 핵심적인 역할을 하는 백혈구의 아형이다. 암세포 항원은 항원 제시 세포(APC)에 의해 제시될 수 있으며, 이는 차례로 T세포를 활성화하여 암세포를 인식하고 사멸시킬 수 있다. T세포 활성화에는 두 가지 신호 전달 이벤트가 필요하다:(i) APC의 펩티드가 탑재된 주 조직 적합성 복합체(MHC) 및 T세포 상의 T세포 수용체(TCR) 복합체를 통한 1차 신호 전달,(ii) CD28 계열 또는 종양에 의한 공동 자극 신호 전달. 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리(TNFRSF) 구성원. CD28은 미접촉 T세포의 주요 공동-자극 경로인 반면, TNFRSF는 항원-경험 T세포 또는 기억 T세포에서 보다 중요한 역할을 하기 때문에, 공동-자극 신호 전달 경로는 서로 보완적이다.
- [0007] 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체를 사용한 T세포의 처리는 TCR과 맞물리는 공동-자극 신호를 제공하고 항원-유도된 T세포 활성화에 사용될 수 있다. 일차 T세포 활성화 신호는 종종 항-CD3 항체에 의해 제공되는데, 이는 CD3가 TCR 복합체의 보존된 구성원이기 때문이다. 이어서, 두 번째 신호는 종종 항-CD28 항체 또는 CD28 리간드(B7.1, B7.2 등) 및 항-TNF 수용체(TNFR) 구성원 또는 이들의 리간드에 의해 제공된다. OX40 및 4-1BB와 같은 TNFRSF 구성원은 길항적 또는 효능적 접근법을 사용하여 암의 면역조절 및 면역치료를 위한 생물학적 치료법 개발에 대해 잘 연구되었다.

[0008] 미접촉 T세포에서 구성적으로 발현되는 CD27을 제외하고, 다른 TNFRSF는 T세포 활성화 시에만 발현된다. 또한 기억 T세포와 조절 T세포(Treg)는 특정 계통의 구성원을 구성적으로 발현한다. 이러한 발현 패턴은 TNFRSF/TNFSF 축이 효과기 및 기억 반응을 제어하는 데 중요할 수 있음을 시사한다. 공동 신호 전달 수용체, 특히 TNFRSF 공동 자극 수용체는 효과기 T세포 반응을 조절하는 데 중요한 역할을 한다. CD27-, OX40- 및 DR3 매개 공동 자극은 CD4+ 및 CD8+ 효과기 T세포의 증식과 생존을 촉진하는 반면, 4-1BB- 및 GITR-매개 공동 자극은 CD8+ 효과기 T세포의 확장 및 생존을 우선적으로 향상시킨다.

[0009] OX40은 리간드 OX40L에 의한 결합을 통해 활성화되고, 리간드 4-1BBL과 결합하여 4-1BB 신호를 생성한다. OX40L 및 4-1BBL은 T세포에서 삼량체 OX40 또는 4-1BB와 동중삼량체 복합체를 형성할 수 있는 삼량체 분자이다.

[0010] TNFSF를 통한 공동 자극은 항종양 면역 반응을 지원하는 유망한 전략으로 부상했다. 그러나 특정 표적 분자 또는 표적 분자의 조합에 결합하고 항종양 면역 반응에서 T세포를 보다 효과적으로 활성화할 수 있는 이중특이적 및 다중특이적 항체에 대한 필요성은 여전히 존재한다. 높은 효능을 제공하는 동시에 더 넓은 치료 범위와 더 나은 내약성을 제공하는 이중특이적 및 다중특이적 항체에 대한 추가적인 필요성이 존재한다.

발명의 내용

[0011] 본원에서는 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드를 포함하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체를 제공하고; 여기서 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL; VL1-L1-CH1; VH1-L1-CL; 또는 VH1-L1-CH1로 표시되는 구조를 갖고; 여기서(i) 제2 폴리펩티드는 VH1-L2-CH1-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3; VH1-L2-CL-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3; VH1-L7-CH1-L8-Fc; VH1-L7-CL-L8-Fc; VL1-L2-CH1-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3; VL1-L2-CL-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3; VL1-L7-CH1-L8-Fc; 또는 VL1-L7-CL-L8-Fc로 표시되는 구조를 갖고; 그리고 제3 폴리펩티드는 VL2-L9-VH2-L10-Fc-L11-TNF1-L12-TNF2-L13-TNF3; 또는 VH2-L14-VL2-L15-Fc-L16-TNF1-L17-TNF2-L18-TNF3으로 표시되는 구조를 갖거나; 또는(ii) 제2 폴리펩티드는 VH1-L19-CH1-L20-Fc-L21-TNF1-L22-TNF2-L23-TNF3; VH1-L19-CL-L20-Fc-L21-TNF1-L22-TNF2-L23-TNF3; VL1-L19-CH1-L20-Fc-L21-TNF1-L22-TNF2-L23-TNF3; 또는 VL1-L19-CL-L20-Fc-L21-TNF1-L22-TNF2-L23-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제3 폴리펩티드는 VL2-L24-VH2-L25-Fc; 또는 VH2-L26-VL2-L27-Fc로 표시되는 구조를 가지며; 여기서 VL1은 제1 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VL2는 제2 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VH1은 제1 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; VH2는 제2 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; Fc는 면역글로불린 중쇄 불변 영역 2(CH2), 면역글로불린 중쇄 불변 영역 3(CH3), 및 임의로 면역글로불린 힌지를 포함하는 영역이고; CH1은 면역글로불린 중쇄 불변 영역 1이고; CL은 면역글로불린 경쇄 불변 영역이고; TNF1은 종양 괴사 인자 슈퍼패밀리(TNFSF) 리간드의 제1 세포의 도메인이다. TNF2는 TNFSF 리간드의 제2 세포의 도메인이다. TNF3은 TNFSF 리간드의 제3 세포의 도메인이다. L1-L27은 아미노산 링커이다.

[0012] 본원에서는 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드를 포함하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체를 제공하고; 여기서 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL; VL1-L1-CH1; VH1-L1-CL; 또는 VH1-L1-CH1로 표시되는 구조를 갖고; 여기서 (i) 제2 폴리펩티드는 VH1-CH1-L2-Fc-L3-TNF1-L4-TNF2-L5-TNF3; VH1-CL-L2-Fc-L3-TNF1-L4-TNF2-L5-TNF3; VH1-CH1-L6-Fc; VH1-CL-L7-Fc; VL1-CH1-L2-Fc-L3-TNF1-L4-TNF2-L5-TNF3; VL1-CL-L2-Fc-L3-TNF1-L4-TNF2-L5-TNF3; VL1-CH1-L6-Fc; 또는 VL1-CL-L7-Fc로 표시되는 구조를 갖고; 제3 폴리펩티드는 VL2-L8-VH2-L9-Fc-L10-TNF1-L11-TNF2-L12-TNF3; 또는 VH2-L13-VL2-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3으로 표시되는 구조를 갖거나; 또는(ii) 제2 폴리펩티드는 VH1-CH1-L18-Fc-L19-TNF1-L20-TNF2-L21-TNF3; VH1-CL-L18-Fc-L19-TNF1-L20-TNF2-L21-TNF3; VL1-CH1-L18-Fc-L19-TNF1-L20-TNF2-L21-TNF3; 또는 VL1-CL-L18-Fc-L19-TNF1-L20-TNF2-L21-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제3 폴리펩티드는 VL2-L22-VH2-L23-Fc 또는 VH2-L24-VL2-L25-Fc로 표시되는 구조를 가지며; 여기서 VL1은 제1 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VL2는 제2 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VH1은 제1 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; VH2는 제2 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; Fc는 면역글로불린 중쇄 불변 영역 2(CH2), 면역글로불린 중쇄 불변 영역 3(CH3) 및 선택적으로 면역글로불린 힌지를 포함하는 영역이고; CH1은 면역글로불린 중쇄 불변 영역 1이고; CL은 면역글로불린 경쇄 불변 영역이고; TNF1은 종양 괴사 인자 슈퍼패밀리(TNFSF) 리간드의 제1 세포의 도메인이다. TNF2는 TNFSF 리간드의 제2 세포의 도메인이다. TNF3은 TNFSF 리간드의 제3 세포의 도메인이다. L1-L25는 아미노산 링커이다.

[0013] 본원에서는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체를 제공하고; 여기서(i) 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-VH1-L2-Fc; VH1-L3-VL1-L4-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VL1-L9-CL-L10-VH1-L11-CH1-L12-Fc; VL1-L9-CH1-L10-VH1-L11-CL-L12-Fc; VH1-L9-CL-L10-VL1-L11-CH1-L12-Fc; VH1-L9-CH1-L10-VL1-L11-CL-

L12-Fc; VL1-L13-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-L18-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-L23-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-L23-VL1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L30-CL-L31-VH1-L32-CH1-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; VL1-L30-CH1-L31-VH1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; VH1-L30-CL-L31-VL1-L32-CH1-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; 또는 VH1-L30-CH1-L31-VL1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-L37-VH2-L38-Fc-L39-TNF1-L40-TNF2-L41-TNF3; VH2-L42-VL2-L43-Fc-L44-TNF1-L45-TNF2-L46-TNF3; VL2-L47-VH2-L48-CL-L49-CH1-L50-Fc-L51-TNF1-L52-TNF2-L53-TNF3; VL2-L54-CL-L55-VH2-L56-CH1-L57-Fc-L58-TNF1-L59-TNF2-L60-TNF3; VL2-L47-VH2-L48-CH1-L49-CL-L50-Fc-L51-TNF1-L52-TNF2-L53-TNF3; VL2-L54-CH1-L55-VH2-L56-CL-L57-Fc-L58-TNF1-L59-TNF2-L60-TNF3; VL2-VH2-L38-Fc-L39-TNF1-L40-TNF2-L41-TNF3; VH2-VL2-L43-Fc-L44-TNF1-L45-TNF2-L46-TNF3; VL2-VH2-L48-CL-L49-CH1-L50-Fc-L51-TNF1-L52-TNF2-L53-TNF3; VL2-CL-L55-VH2-L56-CH1-L57-Fc-L58-TNF1-L59-TNF2-L60-TNF3; VL2-VH2-L48-CH1-L49-CL-L50-Fc-L51-TNF1-L52-TNF2-L53-TNF3; 또는 VL2-CH1-L55-VH2-L56-CL-L57-Fc-L58-TNF1-L59-TNF2-L60-TNF3으로 표시되는 구조를 갖거나; 또는(ii) 제1 폴리펩티드는 VL1-L61-VH1-L62-Fc-L63-TNF1-L64-TNF2-L65-TNF3; VH1-L66-VL1-L67-Fc-L68-TNF1-L69-TNF2-L70-TNF3; VL1-L71-VH1-L72-CL-L73-CH1-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3; VL1-L71-VH1-L72-CH1-L73-CL-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3; VL1-L78-CL-L79-VH1-L80-CH1-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3; 또는 VL1-L78-CH1-L79-VH1-L80-CL-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-L85-VH2-L86-Fc; VH2-L87-VL2-L88-Fc; VL2-L89-VH2-L90-CL-L91-CH1-L92-Fc; VL2-L89-VH2-L90-CH1-L91-CL-L92-Fc; VL2-L93-CL-L94-VH2-L95-CH1-L96-Fc; 또는 VL2-L93-CH1-L94-VH2-L95-CL-L96-Fc로 표시되는 구조를 가지며; 여기서 VL1은 제1 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VL2는 제2 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VH1은 제1 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; VH2는 제2 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; Fc는 면역글로불린 중쇄 불변 영역 2(CH2), 면역글로불린 중쇄 불변 영역 3(CH3) 및 선택적으로 면역글로불린 힌지를 포함하는 영역이고; CH1은 면역글로불린 중쇄 불변 영역 1이고; CL은 면역글로불린 경쇄 불변 영역이고; TNF1은 TNFSF 리간드의 제1 세포외 도메인이고; TNF2는 TNFSF 리간드의 제2 세포외 도메인입니다. TNF3은 TNFSF 리간드의 제3 세포외 도메인이다. L1-L96은 아미노산 링커이다.

[0014] 본원에서는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체를 제공하고; 여기서(i) 제1 폴리펩티드는 Fc; VL1-L1-VL2-L2-VH2-L3-VH1-L4-Fc; VH1-L5-VH2-L6-VL2-L7-VL1-L8-Fc; Fc-L9-TNF1-L10-TNF2-L11-TNF3; VL1-L12-VL2-L13-VH2-L14-VH1-L15-Fc-L16-TNF1-L17-TNF2-L18-TNF3; 또는 VH1-L19-VH2-L20-VL2-L21-VL1-L22-Fc-L23-TNF1-L24-TNF2-L25-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL3-L26-VL4-L27-VH4-L28-VH3-L29-Fc-L30-TNF1-L31-TNF2-L32-TNF3; 또는 VH3-L33-VH4-L34-VL4-L35-VL3-L36-Fc-L37-TNF1-L38-TNF2-L39-TNF3으로 표시되는 구조를 갖거나; 또는(ii) 제1 폴리펩티드는 Fc-L40-TNF1-L41-TNF2-L42-TNF3; VL1-L43-VL2-L44-VH2-L45-VH1-L46-Fc-L47-TNF1-L48-TNF2-L49-TNF3; 또는 VH1-L50-VH2-L51-VL2-L52-VL1-L53-Fc-L54-TNF1-L55-TNF2-L56-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 Fc; VL3-L57-VL4-L58-VH4-L59-VH3-L60-Fc; 또는 VH3-L61-VH4-L62-VL4-L63-VL3-L64-Fc로 표시되는 구조를 가지며; 여기서 VL1은 제1 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VL2는 제2 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VL3은 제3 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VL4는 제4 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VH1은 제1 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; VH2는 제2 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; VH3은 제3 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; VH4는 제4 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; Fc는 면역글로불린 중쇄 불변 영역 2(CH2), 면역글로불린 중쇄 불변 영역 3(CH3), 및 임의로 면역글로불린 힌지를 포함하는 영역이고; TNF1은 TNFSF 리간드의 제1 세포외 도메인이고; TNF2는 TNFSF 리간드의 제2 세포외 도메인이다. TNF3은 TNFSF 리간드의 제3 세포외 도메인이다. L1-L64는 아미노산 링커이다.

[0015] 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체를 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0016] 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체 또는 항체 또는 항원 결합 단편, 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물이 본원에 제공된다.

[0017] 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체, 항체 또는 항원 결합 단편, 또는 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 면역 반응을 유도 또는 향상하는 방법이 본원에 제공된다.

[0018] 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체, 항체 또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체, 또는 약제학적 조성물을

이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 암-매개성 면역 억제를 극복하기 위한 방법이 본원에 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0019]

도 1a-1f는 본 개시내용의 예시적인 항원 결합 폴리펩티드 복합체를 예시한다. Fv1 및 Fv2는 면역 활성화 수용체 또는 중앙 관련 항원(TAA)에 결합하는 영역을 나타낸다. 일부 측면에서, Fv1 및 Fv2는 인간 CD3 또는 CD28에 결합한다. 일부 측면에서, Fv1 및 Fv2는 단일쇄 가변 단편(scFv)의 형태이다. 일부 측면에서, Fv1 및 Fv2는 선택적으로 CH1 및 CL 영역을 갖는 Fab 또는 단일쇄 Fab(scFab)의 형태이다. TNFSF는 Fc에 융합된 TNF 슈퍼패밀리 구성원 세포외 도메인의 삼량체를 나타낸다. 일부 측면에서, TNFSF는 융합 동중삼량체 형태이다. 일부 측면에서, TNFSF는 융합 동중삼량체의 이량체이다.

도 2a는 인간 CD3에 대한 OX40L 삼량체(MX169, MX368 및 MX369)를 함유하는 3개의 예시적인 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 ELISA 결합 결과를 나타낸다.

도 2b는 인간 CD28에 대한 OX40L 삼량체(MX169, MX368 및 MX369)를 함유하는 3개의 예시적인 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 ELISA 결합 결과를 나타낸다.

도 2c는 인간 OX40에 대한 OX40L 삼량체(MX169, MX368 및 MX369)를 함유하는 3개의 예시적인 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 ELISA 결합 결과를 나타낸다.

도 3a는 OX40L 삼량체를 함유하는 3개의 예시적인 항원 결합 폴리펩티드 복합체(MX169, MX368 및 MX369)의 상이한 농도로 하룻밤 동안 자극한 후 NF- κ B(NF κ b) 프로모터의 제어 하에 루시퍼라제를 발현하는 Jurkat 세포주에서 시험된 T 세포 활성화의 배수 변화를 나타낸다. 대조 IgG1 이소형 항체의 결과도 표시된다(IgG1 이소형).

도 3b는 OX40L 삼량체를 함유하는 3개의 예시적인 항원 결합 폴리펩티드 복합체(MX169, MX368 및 MX369)의 상이한 농도로 하룻밤 동안 자극한 후 NFAT 프로모터의 제어 하에 루시퍼라제를 발현하는 Jurkat 세포주에서 시험된 T 세포 활성화의 배수 변화를 나타낸다. 대조 IgG1 이소형 항체의 결과도 표시된다(IgG1 이소형).

도 4a-4f는 OX40L 삼량체(MX169, MX368 및 MX369)를 함유하는 3개의 예시적인 항원 결합 폴리펩티드 복합체 중 하나로 처리시 상이한 세(3) 공여자로부터의 1차 인간 CD4⁺ T 세포(**도 4a-4c**) 및 CD8⁺ T 세포(**도 4d-4f**)의 증식의 배수 변화를 나타낸다. 대조 IgG1 이소형 항체의 결과도 표시된다(IgG1 이소형). 인간 말초 혈액 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 항원 결합 폴리펩티드 복합체와 함께 7일 동안 배양하고 유세포 분석을 위해 염색했다. CD4⁺ 및 CD8⁺ T세포를 식별하고 Precision Count Beads™를 사용하여 농도를 측정했다. 배수 변화는 제7일 및 제0일의 세포 농도를 나누어 계산했다.

도 5a는 4-1BBL 삼량체(MX306, MX424 및 MX425)를 함유하는 3개의 예시적인 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 인간 CD3에 대한 ELISA 결합 결과를 나타낸다.

도 5b는 인간 CD28에 대한 4-1BBL 삼량체(MX306, MX424 및 MX425)를 함유하는 3개의 예시적인 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 ELISA 결합 결과를 나타낸다.

도 5c는 인간 4-1BBL에 대한 4-1BBL 삼량체(MX306, MX424 및 MX425)를 함유하는 3개의 예시적인 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 ELISA 결합 결과를 나타낸다.

도 6a-6f는 4-1BBL 삼량체(MX306, MX424 및 MX425)를 함유하는 3개의 예시적인 항원 결합 폴리펩티드 복합체로 처리시 상이한 세(3) 공여자로부터의 1차 인간 CD4⁺ T 세포(**도 6a-6c**) 및 CD8⁺ T 세포(**도 6d-6f**)의 증식의 배수 변화를 나타낸다. 대조 IgG1 이소형 항체의 결과도 표시된다(IgG1 이소형). 인간 PBMC를 항원 결합 폴리펩티드 복합체와 함께 7일 동안 배양하고 유세포 분석을 위해 염색했다. CD4⁺ 및 CD8⁺ T세포를 식별하고 Precision Count Beads™를 사용하여 농도를 측정했다. 배수 변화는 제7일 및 제0일의 세포 농도를 나누어 계산했다.

도 7a-7b는 MX169 및 MX240에 의해 야기된 말초혈액 단핵 세포(PBMC)에서 두(2) 공여자(각각 **도 7a** 및 **도 7b**)로부터의 CD4 Tcm 및 Tem의 배수 변화로서 측정된 T세포 증식을 나타낸다. 대조 항체(hIgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

도 8은 세(3) 공여자로부터의 MX169, MX368 및 MX369에 의해 유발된 PBMC에서의 CD4 Tcm 및 Tem의 배수 변화로 측정된 T세포 증식을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

도 9는 두(2) 공여자로부터의 MX169 및 MX240에 의해 유발된, PBMC에서의 CD8 Tcm 및 Tem의 배수 변화로서 측정

된 T세포 증식을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

도10은 세(3) 공여자로부터의 MX169, MX368 및 MX369에 의해 유발된, PBMC에서의 CD8 Tcm 및 Tem의 배수 변화로서 측정된 T세포 증식을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

도 11은 두(2) 공여자로부터의 MX306 및 MX321에 의해 유발된, PBMC에서의 CD4 Tcm 및 Tem 또는 CD8 Tcm 및 Tem의 배수 변화로서 측정된 T 세포 증식을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

도12는 세(3) 공여자로부터의 MX306, MX424 및 MX425에 의해 유발된, PBMC에서의 CD4 Tcm 및 Tem의 배수 변화로서 측정된 T세포 증식을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

도13은 세(3) 공여자로부터의 MX306, MX424 및 MX425에 의해 유발된, PBMC에서의 CD8 Tcm 및 Tem의 배수 변화로서 측정된 T세포 증식을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

도 14a는 MX169, MX170, MX250, MX368 및 MX369에 의해 유발되는 1차 인간 T세포로부터의 IFN감마, IL-2, IL-6 및 TNFa 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG 이소형)의 결과도 표시된다. **도 14b**는 MX169, MX170, MX250, MX368 및 MX369의 구조를 나타낸다.

도 15는 MX169, MX170, MX250, MX368 및 MX369에 의해 유발되는 1차 인간 T세포로부터의 IL-4, IL-5 및 IL-10 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG 이소형)의 결과도 표시된다.

도16은 MX169, MX170, MX250, MX368 및 MX369에 의해 유발된 1차 인간 T세포로부터의 IFN감마, IL-2, IL-6 및 TNFa 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG 이소형)의 결과도 표시된다.

도17은 MX169, MX170, MX250, MX368 및 MX369에 의해 유발되는 1차 인간 T세포로부터의 IL-4, IL-5 및 IL-10 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG 이소형)의 결과도 표시된다.

도 18a는 MX306, MX170, MX318, MX424 및 MX425에 의해 유발되는 1차 인간 T세포로부터의 IFN감마, IL-2, IL-6 및 TNFa 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG 이소형)의 결과도 표시된다. **도 18b**는 MX306, MX170, MX318, MX424 및 MX425의 구조를 나타낸다.

도 19는 MX306, MX170, MX318, MX424 및 MX425에 의해 유발되는 1차 인간 T세포로부터의 IL-4, IL-5 및 IL-10 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG 이소형)의 결과도 표시된다.

도20은 MX306, MX170, MX318, MX424 및 MX425에 의해 유발된 1차 인간 T세포로부터의 IFN감마, IL-2, IL-6 및 TNFa 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG 이소형)의 결과도 표시된다.

도 21은 MX306, MX170, MX318, MX424 및 MX425에 의해 유발되는 1차 인간 T세포로부터의 IL-4, IL-5 및 IL-10 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG 이소형)의 결과도 표시된다.

도 22a는 MX424, MX485, MX487, MX620 및 MX622에 의해 유발되는 비인간 영장류(NHP) CD4 및 CD8 T세포의 활성화화를 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다. **도 22b**는 MX424, MX485, MX487, MX620 및 MX622의 구조를 나타낸다.

도 23은 MX424, MX485, MX487, MX620 및 MX622에 의해 유발된 CD4 및 CD8 세포의 배수 변화를 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

도 24는 MX424, MX485, MX487, MX620 및 MX622에 의해 유발된 IFN감마, IL-6, IL-2 및 TNFa의 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

도 25a는 MX368 및 MX489에 의해 유발된 CD4 및 CD8 NHP T세포의 활성화화를 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다. **도 25b**는 MX368과 MX489의 구조를 나타낸다.

도 26은 MX368 및 MX489에 의해 유발된 CD4 및 CD8 NHP T세포의 증식을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

도 27은 MX368 및 MX489에 의해 유발된 NHP T세포로부터 IFN감마, IL-6, IL-2 및 TNFa의 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

도 28은 두(2) 공여자에서 MX487로 처리한 후 NHP에서의 T세포 수 및 T세포 활성화 백분율을 나타낸다.

도 29는 MX487로 처리한 후 서로 다른 두(2) NHP로부터의 CD4 및 CD8 세포의 미접촉 집단, Tcm 집단, Teff 집

단 및 Tem 집단의 백분율을 나타낸다.

도 30은 MX620으로 처리된 두(2)개의 NHP로부터의 T세포 수와 CD4 및 CD8 T세포 활성화 백분율을 나타낸다. 화살표는 항체 투여량을 나타낸다.

도 31은 MX620으로 처리한 후 두(2) 공여자로부터 얻은 CD4 및 CD8 T세포의 미접촉 집단, Tcm 집단, Teff 집단 및 Tem 집단의 백분율을 나타낸다.

도 32는 MX620 처리한 후 2개의 NHP로부터의 T세포 수와 CD4 및 CD8 T세포 활성화의 배수 변화를 나타낸다. 화살표는 항체 투여량을 나타낸다.

도 33은 두(2) 공여자 NHP로부터의 CD8 T세포의 미접촉 집단, Tcm 집단, Teff 집단 및 Tem 집단의 배수 변화를 나타낸다. 화살표는 항체 투여량을 나타낸다.

도 34는 증가하는 농도의 MX582 및 MX583으로 처리한 후 Z138 세포의 용해율을 나타낸다. 대조 항체 (hIgG1LALAPA)를 사용한 처리도 표시되었다.

도 35는 증가하는 농도의 MX751, MX777 및 MX778로 처리한 후 Z138 세포의 용해 백분율을 나타낸다. 대조 항체 (hIgG1LALAPA)를 사용한 처리도 표시되었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0020] T세포 활성화 및 항종양 면역 반응에서 항-CD3 항체, OX40 및 4-1BB의 역할을 고려할 때, 항-CD3 항체를 OX40 또는 4-1BB 공동자극 신호와 결합함으로써 다양한 T세포 집단의 활성화를 확대할 수 있으며, T세포 생존 및 장기적인 확장을 위한 지속적인 자극을 제공할 수 있다. 따라서, 하나 이상의 항-CD3 영역(예를 들어, 상보성 결정 영역(CDR), 중쇄 가변 영역(VH), 경쇄 가변 영역(VL), 단일-쇄 가변 단편(scFv), Fab, 단일-쇄 Fab(scFab), 중쇄, 또는 경쇄) 및 종양 괴사 인자 슈퍼패밀리(TNFSF) 리간드(예를 들어, OX40L 또는 4-1BBL)의 세포외 도메인의 하나 이상의 삼량체를 통합한 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편)가 개발되었다. 일부 측면에서, 하나 이상의 항-HER2 결합 영역(예를 들어, CDR, VH, VL, scFv, Fab, scFab, 중쇄 또는 경쇄)과 같은 하나 이상의 항-종양 관련 항원(TAA) 영역을 본 개시내용의 항원 결합 폴리펩티드 복합체에 추가로 통합하였다. 일부 측면에서, 하나 이상의 항-CD28 결합 영역(예를 들어, CDR, VH, VL, scFv, Fab, scFab, 중쇄 또는 경쇄)과 같은 하나 이상의 항-면역 자극 수용체 영역을 본 발명의 항원 결합 복합체에 추가로 통합하였다.

[0021] 따라서, 본 발명은 개선된 특징을 갖는 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편)에 관한 것이다. 일부 측면에서, 본 발명은 암(arm) 당 단일 폴리펩티드로, 그리고 임의로, 특이적 아미노산 링커의 첨가로 발현되는 상보적 자가-조립 중쇄 및 경쇄의 발현을 통해 다중특이적 및 다기능적인 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 생성을 가능하게 한다. 이러한 다기능성으로 인해, 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 선택성 또는 폭/중화를 위해 표적 분자의 특정 조합에 결합할 수 있고, 2개 이상의 세포 유형을 하나로 연결하고, 표적을 모아 활성화 신호를 전달하고, 질환 미세환경을 변형하고, 향상된 효능에 대한 결합력을 향상시킬 수 있다.

[0022] 본 발명의 측면에 관한 다양한 용어들은 본원 및 청구항 내내 사용된다. 상기 용어들은, 달리 나타내지 않는 한, 기술 분야에서 그것의 통상적인 의미로 주어지는 것이다. 다른 특이적으로 정의된 용어들은 본원에서 제공된 정의와 일치하는 방식으로 해석되는 것이다.

[0023] I. 정의

[0024] 본원에서 사용되는 용어 "항원 결합 폴리펩티드 복합체"는 2개, 3개 또는 4개의 관련 폴리펩티드들의 군을 의미하며, 여기서 적어도 하나의 폴리펩티드는 하나 이상의 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 갖는다. 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0025] 용어 "항체"는 항원에 특이적으로 결합하고, 이황화 결합에 의해 상호연결된 적어도 2개의 중쇄(H) 및 2개의 경쇄(L)를 포함하는 당단백질 면역글로불린을 제한 없이 포함한다. 각각의 H쇄는 중쇄 가변 영역(본원에서 VH로서 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역을 포함한다. 중쇄 불변 영역은 3개의 불변 도메인, CH1, CH2 및 CH3을 포함한다. 각각의 L쇄는 경쇄 가변 영역(본원에서 VL로서 약칭됨) 및 경쇄 불변 영역을 포함한다. 경쇄 불변 영역은 1개의 불변 도메인, CL을 포함한다. VH 및 VL 영역은 추가로 더 보존된 영역, 프레임워크 영역(framework region: FR)으로 칭해지는 더 보존된 영역에 의해 배치되는 상보성 결정 영역(CDR)으로 지칭되는 과변이 영역으로 다시

분할될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은, 아미노-말단에서 카복시-말단으로 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4의 순서로 배열되는 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다. 경쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 면역 시스템의 다양한 세포(예를 들면, 효과기 세포) 및 고전적인 보체 시스템의 제1 성분(C1q)을 포함하는 숙주 조직 또는 인자에 대한 면역글로불린의 결합을 매개한다. 중쇄에는 C-말단 리신이 있을 수도 있고 없을 수도 있다. 본원에서 달리 명시하지 않는 한, 가변 영역 내의 아미노산은 카바트 번호 체계(Kabat numbering system)를 사용하여 번호가 매겨지고, 불변 영역 내의 아미노산은 EU 시스템을 사용하여 번호가 매겨진다.

[0026] 본원에서 사용되는 용어 "모노클로날 항체"는 B-세포의 단일 클론에 의해 생성되고 동일한 에피토프에 결합하는 항체를 의미한다. 대조적으로, "폴리클로날 항체"라는 용어는 상이한 B-세포에 의해 생성되고 동일한 항원의 상이한 에피토프에 결합하는 항체의 집단을 지칭한다. 용어 "항체"는 예를 들어 단클론 및 다클론 항체; 키메라 및 인간화 항체; 인간 또는 비-인간 항체; 완전 합성 항체; 및 단일쇄 항체를 포함한다. 비인간 항체는 사람에게서 그 면역원성을 감소시키기 위해 재조합법에 의하여 인간화될 수 있다.

[0027] 항체는(예를 들어, 돌연변이, 결실, 치환, 비-항체 모이어티로의 집합에 의해) 변경된 항체일 수 있다. 예를 들어, 항체는(자연 발생 항체와 비교하여) 항체의 특성(예를 들어 기능적 특성)을 변화시키는 하나 이상의 변이체 아미노산을 포함할 수 있다. 예를 들어, 여러 가지, 예컨대 반감기, 효과기 기능 및/또는 환자의 항체에 대한 면역 반응에 영향을 미치는 이러한 변경이 당업계에 공지되어 있다. 항체라는 용어는 또한 적어도 하나의 항체 유래 항원 결합 부위를 포함하는 인공 폴리펩티드 구조물을 포함한다.

[0028] "항원 결합 단편"은 전체 항체에 의해 결합된 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 항체의 하나 이상의 단편 또는 부분을 지칭한다. 항체의 항원-결합 작용은 전장 항체의 단편 또는 부분에 의해 실행될 수 있는 것으로 나타났다. 항원-결합 단편은 온전한 항체의 항원성 결정 영역(예를 들어, 상보성 결정 영역(CDR))을 함유할 수 있다. 항체의 항원 결합 단편의 예는 이에 제한되지는 않으나, Fab, Fab', F(ab')₂, 및 Fv 단편, 선형 항체, 및 단일쇄 항체를 포함한다. 항체의 항원 결합 단편은 설치류(예를 들어, 마우스, 래트 또는 햄스터) 및 인간과 같은 임의의 동물 종으로부터 유래될 수 있거나, 인공적으로 생성될 수 있다.

[0029] 더욱이, Fv 단편의 두 도메인, VL 및 VH가 별개의 유전자에 의해 코딩되지만, 그들은 재조합 방법을 사용하여 그들이 VL 및 VH 영역이 짝을 이루어 단일쇄 Fv(scFv)(단일쇄 Fv(scFv))로 공지되어 있으며, 예를 들어, 문헌 Bird et al. (1988) Science 242:423-426; and Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883을 참조한다)로서 공지된 1가 분자를 형성하는 단백질 단일쇄로서 제조되도록 하는 합성 링커에 의해 결합될 수 있다. 이러한 단일쇄 항체는 또한 항체의 "항원 결합 단편"이라는 용어 내에 포함되는 것으로 의도된다.

[0030] 항원 결합 단편은 당업자에게 공지된 통상적인 기법을 이용하여 얻어지며, 단편은 온전한 항체와 동일한 방식으로 유용성에 대해 스크리닝된다. 항원 결합 단편은 재조합 DNA 기술에 의해, 또는 온전한 면역글로불린의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 생산될 수 있다.

[0031] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "가변 영역"은 전형적으로 항체의 일부분, 일반적으로 경쇄 또는 중쇄의 일부분, 전형적으로 성숙 중쇄에서 대략 아미노-말단 110 내지 120개 아미노산, 또는 110 내지 125개 아미노산 및 성숙 경쇄에서 약 90 내지 115개 아미노산을 지칭하며, 이는 항체들 사이에서 서열이 광범위하게 상이하고 특정 항체의 그의 특정 항원에 대한 결합 및 특이성에 사용된다. 서열의 가변성은 상보성 결정 영역(CDR)이라고 불리는 영역에 집중되어 있는 반면, 가변 도메인에서 보다 고도로 보존된 영역은 프레임워크 영역(FR)이라고 한다. 임의의 특정 메카니즘 또는 이론에 얽매하고자 하는 것은 아니지만, 경쇄 및 중쇄의 CDR은 항원과 항체의 상호작용 및 특이성에 일차적으로 책임이 있는 것으로 여겨진다. 일부 측면에서, 가변 영역은 포유동물 가변 영역, 예를 들어 인간, 마우스 또는 토끼 가변 영역이다. 일부 측면에서, 가변 영역은 설치류 또는 쥐과 동물 CDR 및 인간 FR을 포함한다. 일부 측면에서, 가변 영역은 영장류(예를 들어, 비-인간 영장류) 가변 영역이다. 일부 측면에서, 가변 영역은 설치류 또는 쥐과 CDR 및 영장류(예를 들어, 비인간 영장류) FR을 포함한다.

[0032] 본원에서 사용되는 용어 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"은 서열에서 초가변이고/이거나 구조적으로 정의된 루프("초가변 루프")를 형성하고/하거나 항원-접촉 잔기를 함유하는 항체 가변 도메인의 각각의 영역을 나타낸다. 항체는 6개의 CDR, 예를 들어 VH에서 3개 및 VL에서 3개를 포함할 수 있다.

[0033] 용어 "VL", "VL 영역" 및 "VL 도메인"은 항원 결합 폴리펩티드 복합체, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 경쇄 가변 영역을 지칭하기 위해 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 일부 측면에서, VL 영역은 본원에서 제1 경쇄 가변 영역을 나타내는 VL1, 제2 경쇄 가변 영역을 나타내는 VL2, 제3 경쇄 가변 영역을 나타내는 VL3 등으로 지

칭된다. 열거된 VL 영역(예를 들어, VL1)은 또 다른 열거된 VL 영역(예를 들어, VL2)과 동일하거나 다른 항원 결합 특성 및/또는 동일하거나 다른 서열을 가질 수 있다.

[0034] 용어 "VH", "VH 영역" 및 "VH 도메인"은 항원 결합 폴리펩티드 복합체, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 중쇄 가변 영역을 지칭하기 위해 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 일부 측면에서, VH 영역은 본원에서 제1 중쇄 가변 영역을 나타내는 VH1, 제2 중쇄 가변 영역을 나타내는 VH2, 제3 중쇄 가변 영역을 나타내는 VH3 등으로 지칭된다. 열거된 VH 영역(예를 들어, VH1)은 또 다른 열거된 VH 영역(예를 들어, VH2)과 동일하거나 다른 항원 결합 특성 및/또는 동일하거나 다른 서열을 가질 수 있다.

[0035] 본원에서 사용되는 바와 같이, "카바트 번호 체계" 및 유사한 용어는 당업계에 인식되고, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 내의 아미노산 잔기의 번호를 매기는 시스템을 지칭한다. 일부 측면에서, CDR은 카바트 번호 체계에 따라 결정될 수 있다(예를 들어, 문헌 [Kabat EA & Wu TT(1971) Ann NY Acad Sci 190: 382-391] 및 [Kabat EA et al.,(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 제5판, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242] 참조). 카바트 번호 체계를 사용하여, 항체 중쇄 분자 내의 CDR은 전형적으로 아미노산 위치 31 내지 35에 존재하고, 이는 35(카바트 번호 체계에서 35A 및 35B로 지칭됨)(CDR1), 아미노산 위치 50 내지 65(CDR2), 및 아미노산 위치 95 내지 102(CDR3)에 있어서 하나 또는 2개의 추가 아미노산을 임의로 포함할 수 있다. 카바트 번호 체계를 사용하여, 항체 경쇄 분자 내의 CDR은 전형적으로 아미노산 위치 24 내지 34(CDR1), 아미노산 위치 50 내지 56(CDR2), 및 아미노산 위치 89 내지 97(CDR3)에 존재한다.

[0036] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "불변 영역" 또는 "불변 도메인"은 항원 결합 폴리펩티드 복합체, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 일부, 예를 들어 항원에 대한 항체의 결합에 직접 관여하지 않지만 Fc 영역과의 상호작용과 같은 다양한 효과기 기능을 나타낼 수 있는 경쇄 및/또는 중쇄의 카르복실 말단 부분을 지칭하기 위해 상호교환적으로 사용된다. 불변 영역은 일반적으로 가변 영역에 비해 보다 보존된 아미노산 서열을 갖는다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC), 항체-의존성 세포 식균 작용(ADCP), 및 보체-의존성 세포독성(CDC)에 충분한 불변 영역 또는 이의 일부를 포함한다.

[0037] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "단편 결정화 가능 영역", "Fc 영역", 또는 "Fc 도메인"은 본원에서 상호교환적으로 사용되어 Fc 수용체로 지칭되는 세포 표면 수용체 및 보체계(complement system)의 일부 단백질과 상호작용하는 항체의 꼬리 영역을 지칭한다. Fc 영역은 일반적으로 CH2 및 CH3 영역, 그리고 선택적으로 면역글로불린 힌지를 포함한다.

[0038] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "면역글로불린 힌지", "힌지", "힌지 도메인" 또는 "힌지 영역"은 항원 결합 폴리펩티드 복합체, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 Fab와 Fc 부분 사이의 중쇄의 스트레치를 지칭하기 위해 상호교환적으로 사용된다. 힌지는 항체의 정상적인 기능(예를 들어, 2개의 항원을 가교결합시키거나 동일한 항원 분자 상의 2개의 항원 결정기를 결합시키기 위한)을 보조하는 구조, 위치 및 유연성을 제공한다. 면역글로불린 힌지는 구조적 및/또는 유전적 구성요소에 따라 분리될 수 있는 상부, 중간 및 하부 힌지 영역으로 구분된다. 본 발명의 면역글로불린 힌지는 이들 영역 중 하나, 둘 또는 셋 모두를 함유할 수 있다. 구조적으로, 상부 힌지 영역은 CH1의 C 말단으로부터 제1 힌지 이황화 결합까지 연장된다. 중간 힌지 영역은 힌지의 제1 시스테인에서 마지막 시스테인까지 확장된다. 하부 힌지 영역은 마지막 시스테인으로부터 CH2의 글리신까지 연장된다. 힌지에 존재하는 시스테인은 면역글로불린 단량체를 연결하는 사슬간 이황화 결합을 형성한다.

[0039] 본원에서 용어 "Fab"는 항원에 결합하는 항체의 영역을 의미한다. 이는 전형적으로 중쇄 및 경쇄 각각의 하나의 불변 도메인 및 하나의 가변 도메인으로 구성된다.

[0040] 본원에서 사용되는 용어, "중쇄"는 중쇄 가변 영역(VH), 중쇄 불변 영역 1(CH1), 중쇄 불변 영역 2(CH2), 및 중쇄 불변 영역 3(CH3)으로 전형적으로 구성된 항원 결합 폴리펩티드 복합체, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 일부를 지칭한다. 전형적인 항체는 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄로 구성된다. 항체와 관련하여 사용될 때 중쇄는 아미노를 기준으로 알파(α), 델타(δ), 엡실론(ϵ), 감마(γ) 및 뮤(μ)와 같은 임의의 구별되는 유형을 의미할 수 있다. 이는 IgG의 하위 클래스(예: IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4)를 포함하여 각각 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM 클래스의 항체를 생성한다. 중쇄 아미노산 서열은 당업계에 공지되어 있다. 일부 측면에서 중쇄는 인간 중쇄이다.

[0041] 본원에서 용어 "경쇄(light chain)"는 일반적으로 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)으로 이루어진 항

원 결합 폴리펩티드 복합체, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 일부를 의미한다. 전형적인 항체는 두 개의 중쇄와 두 개의 경쇄로 구성된다. 항체와 관련하여 사용될 때, 경쇄는 불변 영역의 아미노산 서열에 기초하여 임의의 별개의 유형, 예를 들어 카파(κ) 또는 람다(λ)를 지칭할 수 있다. 경쇄 아미노산 서열은 당업계에 공지되어 있다. 일부 측면에서 경쇄는 인간 경쇄이다.

[0042] 용어 "키메라" 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아미노산 서열이 2종 이상의 종으로부터 유래된 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 지칭한다. 전형적으로, 경쇄 및 중쇄 둘 모두의 가변 영역은 원하는 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 포유동물(예를 들면, 마우스, 랫트, 토끼 등)의 하나의 종으로부터 유래된 항체의 가변 영역 또는 이의 항원 결합 단편에 상응하고, 반면에 불변 영역은 상기 종에서 면역 반응을 이끌어내는 것을 피하기 위해 다른 종(통상적으로 인간) 유래의 항체의 서열에 상동하다.

[0043] 용어 "인간화된" 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 적어도 비-인간(예를 들면, 쥐과) 서열을 함유하는 특이적 면역글로불린쇄, 키메라 면역글로불린, 또는 이의 단편인 비-인간(예를 들면 쥐과) 항체 또는 항원 결합 단편의 형태를 지칭한다. 전형적으로, 인간화된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 상보성 결정 영역(CDR)로부터 잔기가 원하는 특이성, 친화성, 및 능력을 갖는 비-인간 종(예를 들면 마우스, 랫트, 토끼, 햄스터)의 CDR로부터 잔기에 의해 대체되는 인간 면역글로불린이다(문헌 Jones et al., Nature 321:522-525(1986); Riechmann et al., Nature 332:323-327(1988); Verhoeyen et al., Science 239:1534-1536(1988)). 일부 측면에서, 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 영역(FR) 잔기는 원하는 특이성, 친화성, 및 능력을 갖는 비-인간 종으로부터 항체 또는 단편에서 상응하는 잔기로 대체된다. 인간화된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 어느 한쪽 Fv 프레임워크 영역에서 및/또는 대체된 비-인간 잔기 이내 추가의 잔기의 치환에 의해 추가로 변형되어 항체 또는 이의 항원-결합 단편 특이성, 친화성, 및/또는 능력을 개선 및 최적화할 수 있다. 보통, 인간화된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 비-인간 면역글로불린에 상응하는 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역을 함유하는 적어도 하나의, 및 전형적으로는 둘 또는 셋의 가변성 도메인 중에서 실질적으로 모두를 포함할 것이고, 반면에 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 면역글로불린 공통 서열의 것들이다. 인간화된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 또한 불변 영역의 적어도 한 부분, 전형적으로 인간 면역글로불린의 것을 포함할 수 있다. 인간화 항체를 생성하는 데 사용되는 방법의 예는 공지되어 있고, 예를 들어, 미국 특허 제5,225,539호; Roguska et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 91(3):969-973(1994), 및 Roguska et al., Protein Eng. 9(10):895-904(1996)에 기재되어 있다.

[0044] 본원에서 사용된, 용어 "인간" 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 면역글로불린 유전자 좌위로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 의미하며, 여기서 이러한 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 당업계에 공지된 재조합 기술을 사용하여 제조된다. 이러한 인간 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 정의는 무손상 또는 전장 항체 및 이의 단편을 포함한다.

[0045] "단리된" 폴리펩티드 복합체, 항체, 이의 항원 결합 단편, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 또는 세포는 자연에서 발견되지 않는 형태인 폴리펩티드 복합체, 항체, 이의 항원 결합 단편, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 또는 세포이다. 단리된 폴리펩티드 복합체, 항체, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 또는 세포는 그들이 더 이상 자연에서 발견되는 형태에 있지 않는 정도까지 정제된 것들을 포함한다. 일부 측면에서, 단리된, 폴리펩티드 복합체, 항체, 그의 항원 결합 단편, 폴리뉴클레오티드, 벡터 또는 분리된 세포는 실질적으로 순수하다. 본원에서 이용된 바와 같이, "실질적으로 순수한"은 적어도한 50% 순수한(즉, 오염체가 없는), 적어도한 90% 순수한, 적어도한 95% 순수한, 적어도한 98% 순수한, 또는 적어도한 99% 순수한 물질을 지칭한다.

[0046] 용어 "폴리펩티드," "펩티드," 및 "단백질"은 임의의 길이의 아미노산의 중합체를 지칭하기 위해 본원에서 교체가 가능하게 이용된다. 중합체는 선형이거나 또는 분지될 수 있고, 변형된 아미노산을 포함할 수 있고, 그리고 비-아미노산이 끼어들 수 있다. 용어는 또한 자연적으로 또는 개입에 의해 변형된 아미노산 중합체를 포함하며; 예를 들어, 디설파이드 결합 형성, 당화, 지질화, 아세틸화, 인산화, 또는 임의의 다른 조작 또는 변형, 예컨대 라벨링 성분과의 접합을 포함한다. 예를 들어, (예를 들어, 비천연 아미노산, 등을 포함하는) 아미노산의 하나 이상의 유사체를 함유하는 폴리펩티드, 뿐만 아니라 기술 분야에서 알려진 다른 변형은 정의 내에 또한 포함된다. 본 발명의 폴리펩티드가 항체에 기반되기 때문에, 일부 측면에서, 상기 폴리펩티드가 단일쇄 또는 관련된쇄로서 발생할 수 있다는 것이 이해된다.

[0047] 대안의 사용(예를 들어, "또는")은 대안 중 하나, 둘 다 또는 이들의 임의의 조합을 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 부정관사 "a" 또는 "an"은 임의의 인용되거나 열거된 구성요소의 "하나 이상"을 지칭하는 것으로 이해되어야 한다.

- [0048] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "및/또는"은 다른 것이 있거나 또는 다른 것이 없는 각각 2개의 구체화된 특징 또는 성분의 구체적 개시내용으로서 취해져야 한다. 따라서, 본원 "A 및/또는 B"와 같은 어구에서 사용되는 용어 "및/또는"은 "A 및 B," "A 또는 B," "A"(단독), 및 "B"(단독)를 포함하는 것으로 의도된다. 유사하게, 관용구, 예를 들면, "A, B, 및/또는 C"에서 이용된 바와 같은 용어 "및/또는"은 다음의 양상 각각을 포괄하는 것으로 의도된다: A, B, 그리고 C; A, B, 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A와 C; A와 B; B와 C; A(단독); B(단독); 그리고 C(단독).
- [0049] 어느 양상에서나 언어 "포함하는", "갖는" 등과 함께 본원에 기재되어 있으며, "이루어진" 및/또는 "본질적으로 이루어진"에 대해 기재된 다른 유사한 양상이 또한 제공된다는 것이 이해된다.
- [0050] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "약"은 당업자에 의해 결정된 특정한 값 또는 조성에 대한 허용가능한 오차 범위 내에 있는 값 또는 조성을 지칭하며, 이는 값 또는 조성이 측정되거나 결정되는 방법, 예컨대, 측정 시스템의 한계에 일부 의존할 것이다. 예를 들어, "약"은 해당 분야의 실시예 따라 1 또는 1 초과의 표준 편차 이내를 의미할 수 있다. 대안적으로, "약"은 최대 10% 또는 20%(즉, $\pm 10\%$ 또는 $\pm 20\%$)의 범위를 의미할 수 있다. 예를 들어, 약 3 mg은 2.7 mg 내지 3.3 mg(10%의 경우) 또는 2.4 mg 내지 3.6 mg(20%의 경우)의 임의의 수를 포함할 수 있다. 또한, 특히 생물학적 시스템 또는 공정과 관련하여, 상기 용어는 최대 한 자릿수 이하 또는 값의 5배 이하를 의미할 수 있다. 특정 값 또는 조성이 본 출원 및 청구범위에서 기재되는 경우, 달리 언급되지 않는 한, 용어 "약"은 특정 값 또는 조성에 대한 허용 가능한 오차 범위 내에서 추정되어야 한다는 것을 의미한다.
- [0051] 본원에 기재된 바와 같이, 임의의 수치 범위, 농도 범위, 백분율 범위, 비율 범위 또는 정수 범위는 언급된 범위 내의 임의의 정수의 값, 적절한 경우 이의 분수(예컨대 정수의 1/10 및 1/100)를 포함하도록 이해되어야 한다.
- [0052] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 개시내용이 관련된 분야의 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 예를 들어, 문헌[Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 제2판, 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 제5판, 2013, Academic Press; 및 the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, 2006, Oxford University Press]은 본 개시내용에 사용되는 다수 용어의 일반적 사전예를 당업자에게 제공한다.
- [0053] 단위, 접두사 및 기호는 그들의 국제 단위체계(SI) 허용 형태로 나타낸다. 수치적 범위는 범위를 정하는 숫자를 포함한다. 본원에 제공되는 표제는 본원에 대해 전체로서 참고가 될 수 있는 개시내용의 다양한 양상의 제한이 아니다. 따라서, 본원에서 정의되는 용어는 그의 전문이 본원에 대해 참고로서 더욱 완전하게 정의된다.
- [0054] 다양한 측면이 다음의 섹션에서 보다 상세하게 설명된다.
- [0055] **II. 항원 결합 폴리펩티드 복합체**
- [0056] 일부 측면에서, 본 발명은 본원에 추가로 기재된 특정 구조적 특징을 갖는 항원 결합 폴리펩티드 복합체에 관한 것이다. 일부 측면에서, 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편)는 항-CD3 영역(예를 들어, CDR, VH, VL, scFv, Fab, scFab, 중쇄 또는 경쇄) 및 종양 괴사 인자 슈퍼패밀리(TNFSF) 리간드의 세포외 도메인의 하나 이상의 삼량체를 포함한다. 일부 측면에서, 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 하나 이상의 항종양 관련 항원(TAA) 영역, 예를 들어, 하나 이상의 항-HER2 결합 영역(예: CDR, VH, VL, scFv, Fab, scFab, 중쇄 또는 경쇄)을 추가로 포함한다. 일부 측면에서, 본 발명의 항원 결합 복합체는 하나 이상의 항-면역 자극 수용체 영역, 예를 들어, 하나 이상의 항-CD28 결합 영역(예를 들어, CDR, VH, VL, scFv, Fab, scFab, 중쇄 또는 경쇄)을 추가로 포함한다. 일부 측면에서, 하나 이상의 불변 영역(예를 들어, CH1 및/또는 CL)은 또한 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 폴리펩티드에 통합될 수 있다.
- [0057] **A. TNFSF 리간드 및 링커의 세포외 도메인**
- [0058] 본원에서 "종양 괴사 인자 슈퍼패밀리 리간드의 세포외 도메인" 또는 "TNFSF 리간드의 세포외 도메인"은 삼량체를 형성하는 종양 괴사 인자 슈퍼패밀리 리간드(TNF 상동성 도메인 또는 엑토도메인이라고도 함)의 일부를 포함하는 펩티드를 의미한다. 따라서, TNFSF 리간드의 세포외 도메인은 또한 전장 TNFSF 리간드 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 구조는 용어 TNF1, TNF2 및/또는 TNF3에 의해 TNFSF 리간드의 세포외 도메인을 지칭할 수 있으며, 이는 각각 TNFSF 리간드의 제1, 제2 및/또는 제3 세포외 도메인을 나타낸다.
- [0059] TNFSF 리간드의 세포외 도메인의 예는 이에 제한되지는 않으나, OX40L(OX40 리간드, TNFSF4), 4-1BBL(4-1BB 리

간드, TNFSF9), TNF, TNF 관련 세포사멸 유도 리간드(TRAIL), CD40L(TNFSF5), CD27L(TNFSF7), CD30L(TNFSF8), FasL(TNFSF6), EDAM, LTA(TNFSF1), LTB(TNFSF3), CD153(TNFSF8), RANKL(TNFSF11), TWEAK(TNFSF12), APRIL(TNFSF13), BAFF(TNFSF13B), LIGHT(TNFSF14), VEGI(TNFSF15) 및 GITRL(TNFSF18)을 포함한다. 일부 측면에서, TNFSF 리간드의 세포의 도메인은 OX40L 또는 4-1BBL이다. 일부 측면에서, TNFSF 리간드의 세포의 도메인은 OX40L이다. 일부 측면에서, OX40L은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 1의 서열에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 예를 들어, OX40L은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, TNFSF 리간드의 세포의 도메인은 4-1BBL이다. 일부 측면에서, 4-1BBL은 SEQ ID NO: 2의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 2의 서열에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 예를 들어, 4-1BBL은 SEQ ID NO: 2의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0060] 일부 측면에서, 본 개시내용의 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 TNFSF 리간드의 3개의 세포의 도메인의 삼량체를 포함한다. 일부 측면에서, 삼량체는 동일한 유형의 TNFSF 리간드의 세포의 도메인(예를 들어, 3개의 OX40L 또는 3개의 4-1BBL(동종삼량체))을 포함하거나 이로 이루어지거나, 또는 삼량체는 TNFSF 리간드의 2개 또는 3개의 상이한 세포의 도메인의 혼합물(예를 들어, 임의의 순서로 하나의 OX40L 및 2개의 4-1BBL, 또는 2개의 OX40L 및 1개의 4-1BBL)을 포함하거나 이로 구성될 수 있다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 TNFSF 리간드의 세포의 도메인의 1개의 삼량체(예를 들어 동종삼량체)를 포함하거나 이로 구성된다. 예를 들어, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 3개의 OX40L 도메인의 삼량체를 포함할 수 있고, 여기서 각각의 OX40L은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 1의 서열에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나, 그로 구성된다. 예를 들어, 삼량체 중 각각의 OX40L은 SEQ ID NO: 1의 서열을 포함하거나 이로 구성될 수 있다. 예를 들어, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 3개의 4-1BBL 도메인의 삼량체를 포함할 수 있으며, 여기서 각각의 4-1BBL은 SEQ ID NO: 2의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 2의 서열에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이들로 구성된다. 예를 들어, 삼량체 내의 각각의 4-1BBL은 SEQ ID NO: 2의 서열을 포함하거나 이로 구성될 수 있다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 TNFSF 리간드의 세포의 도메인의 2개의 삼량체(예를 들어, 삼량체의 이량체, 예를 들어, 동종삼량체의 이량체)를 포함한다. 예를 들어, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 본원에 기재된 OX40L 삼량체 또는 4-1BBL 삼량체의 이량체를 포함할 수 있다.

[0061] 일부 측면에서, TNFSF 리간드의 세포의 도메인은 SEQ ID NO: 1 또는 2의 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 1 또는 2의 서열에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이들로 구성된다. 예를 들어, TNFSF 리간드의 세포의 도메인은 SEQ ID NO: 1 또는 2의 서열을 포함하거나 이로 구성될 수 있다. TNFSF 리간드의 세포의 도메인의 다른 서열은 공지되어 있으며, 예를 들어, 수탁 번호 XP_016857719.1, XP_016857718.1, XP_016857717.1, XP_011508266.2, NP_001284491.1, NP_003317.1, NP_003802.1, P41273.1, 6A3V_X, 6A3V_W, 6A3V_V, 6A3V_U, 6A3V_S, 6A3V_R, 6A3V_Q, 6A3V_P, 6A3V_O, 6A3V_N, 6A3V_M, 6A3V_L, 및 6A3V_K를 포함한다.

[0062] 일부 측면에서, TNFSF 리간드의 세포의 도메인의 삼량체는 TNFSF 리간드의 하나 이상의 세포의 도메인 사이에 아미노산 링커를 함유한다(예를 들어, TNF1-L1-TNF2-L2-TNF3으로 표시되는 구조를 가지며, 여기서 L1 및 L2는 아미노산 링커이다). 일부 측면에서, 아미노산 링커는 서열 3-10 및 148-175 중 어느 하나의 아미노산 서열 또는 서열 3-10 및 148-175 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 예를 들어, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 3-10 및 148-175 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성될 수 있다. 일부 측면에서, 아미노산 링커는 서열 3-10 중 어느 하나의 아미노산 서열 또는 서열 3-10 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 예를 들어, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 3-10 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성될 수 있다. 일부 측면들에서, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 3에 대하여 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%,

적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 예를 들어, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 이들로 구성될 수 있다. 일부 측면들에서, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 10에 대하여 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 예를 들어, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성될 수 있다. 예를 들어, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 4-10 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성될 수 있다. 일부 측면에서, TNFSF 리간드의 세포외 도메인은 OX40L(예를 들어, SEQ ID NO: 1에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성됨)이고, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 3에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 예를 들어, 삼량체 중 TNFSF 리간드의 세포외 도메인은 SEQ ID NO: 1의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성될 수 있고, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성될 수 있다. 일부 측면에서, TNFSF 리간드의 세포외 도메인은 4-1BBL(예를 들어, SEQ ID NO: 2에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성됨)이고, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 4-10 중 어느 하나 또는 SEQ ID NO: 4-10 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 예를 들어, 삼량체 내 TNFSF 리간드의 세포외 도메인은 SEQ ID NO: 2의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성될 수 있고, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 4-10 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성될 수 있다. 일부 측면에서, TNFSF 리간드의 세포외 도메인은 4-1BBL(예를 들어, SEQ ID NO: 2에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성됨)이고, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 10, 또는 SEQ ID NO: 10에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 예를 들어, 삼량체 내 TNFSF 리간드의 세포외 도메인은 SEQ ID NO: 2의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성될 수 있고, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 10 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성될 수 있다:

[0063]

일부 측면에서, TNFSF 리간드의 세포외 도메인의 삼량체는 SEQ ID NO: 11-18 중 어느 하나의 서열, 또는 SEQ ID NO: 11-18 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 예를 들어, TNFSF 리간드의 세포외 도메인의 삼량체는 SEQ ID NO: 11-18 중 어느 하나의 서열을 포함하거나 이로 구성될 수 있다. 예를 들어, TNFSF 리간드의 세포외 도메인의 삼량체는 SEQ ID NO: 11의 서열, 또는 SEQ ID NO: 11에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이로 구성될 수 있다. 일부 측면에서, TNFSF 리간드의 세포외 도메인의 삼량체는 SEQ ID NO: 18의 서열, 또는 SEQ ID NO: 18의 서열에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, TNFSF 리간드의 세포외 도메인의 삼량체의 이량체는, 그 각각이 SEQ ID NO: 11-18 중 어느 하나의 서열로 구성되거나, 또는 SEQ ID NO: 11-18 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 서열을 갖는, TNFSF 리간드의 세포외 도메인의 2개의 삼량체를 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 이량체의 두 삼량체는 동일하다. 일부 측면에서, 하나의 삼량체는 상기 이량체의 다른 삼량체와 다르다. 예를 들어, TNFSF 리간드의 세포외 도메인의 삼량체의 이량체는, SEQ ID NO: 11-18 중 어느 하나의 서열을 포함하는, TNFSF 리간드의 세포외 도메인의 2개의 삼량체를 포함하거나 이로 구성될 수 있다. 예를 들어, TNFSF 리간드의 세포외 도메인의 삼량체의 이량체는, 그 각각이 SEQ ID NO: 11의 서열로 구성되거나, 또는 SEQ ID NO: 11의 서열에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 서열을 갖는, TNFSF 리간드의 세포외 도메인의 2개의 삼량체를 포함하거나

이로 구성된다. 예를 들어, TNFSF 리간드의 세포외 도메인의 삼량체의 이량체는, 그 각각이 SEQ ID NO: 18의 서열로 구성되거나, 또는 SEQ ID NO: 18의 서열에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 서열을 갖는, TNFSF 리간드의 세포외 도메인의 2개의 삼량체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0064] **B.CD3**

[0065] 일부 측면에서, 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편)는 CD3에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 영역(예를 들어, CDR, VH, VL, scFv, Fab, scFab, 중쇄 또는 경쇄)을 함유한다.

[0066] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 CD3에 특이적으로 결합하는 VL 및/또는 VH를 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 22, 28, 185, 298 및 306 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23, 29, 186, 299 및 307 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24, 30, 187, 300 및 308 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 19, 25, 182, 294 및 312 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20, 26, 183, 295 및 313 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21, 27, 184, 296 및 314 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 22에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 19에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 28에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 29에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 30에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 25에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 26에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 27에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 185에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 186에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 187에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 182에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 183에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 184에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 298에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 299에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 300에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 294에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1을 포함하고/하거나, ; SEQ ID NO: 295에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 296에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 306에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 307에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 308에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 302에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 303에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 304에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO:

어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 예를 들어, 중쇄는 SEQ ID NO: 188의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0077] CD3에 특이적으로 결합하는 서열의 다른 예는 잘 알려져 있고, 예를 들어 미국 특허 번호 11,186,650; 11,155,621; 11,098,120; 11,072,656; 11,007,267; 10,968,276; 10,961,315; 10,906,978; 10,865,251; 10,759,858; 10,690,678; 10,688,186; 10,669,33; 10,640,572; 10,174,124; 9,850,304; 9,657,102; 8,551,478; 7,994,289; 및 7,993,641에 기재되어 있다.

[0078] C. 종양 관련 항원 및 면역 활성화 수용체

[0079] 일부 측면에서, 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편)는 면역 활성화 수용체 또는 종양 관련 항원(TAA)에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 영역(예를 들어, CDR, VH, VL, scFv, Fab, scFab, 중쇄 또는 경쇄)을 포함한다.

[0080] 본원에서 사용되는 바와 같이, "종양-관련 항원" 또는 TAA는 정상 세포에 비해 암 세포에서 더 널리 퍼지는 단백질 또는 분자이다. TAA의 예는 이에 제한되지는 않으나, 티로신-단백질 키나제 Met(cMet), 영양막 세포 표면 항원 2(Trop2), CD20, CD19, 수용체 티로신-단백질 키나제 erbB-2(HER2), 수용체 티로신-단백질 키나제 erbB-3(HER3), 아데노신 A2A 수용체(A2AR), 증식 유도 리간드(APRIL), 표피 성장 인자 수용체(EGFR), 섬유아세포 성장 인자 수용체(FGFR), B 세포 활성화 인자(BAFF), BAFF 수용체(BAFFR), B 세포 성숙 항원(BCMA), 브루톤 티로신 키나제(BTK), B 및 T 림프구 감쇠제(BTLA), B7DC(예정사 리간드 2), B7 상동체 1(B7H1), B7 상동체 4(B7H4), 델타 유사 리간드 3(DLL3), 엑토뉴클레오타이드 삼인산 디포스포가수분해효소 1(ENTPD1), IgE 수용체 1a의 Fc 단편(FCER1A), IgE 수용체 1의 Fc 단편(FCER1), 아라키도네이트 5-리폭시게나제 활성화 단백질(FLAP), 엽산 가수분해효소 1(FOLH1), 뮤신 1(MUC-1), CD133, 뮤신 16(MUC-16), 리소좀 관련 막 단백질 1(LAMP1), CD38, 예정사 리간드 1(PD-L1), CEA 세포 부착 분자 5(CEACAM5), 전립선 1의 6개 막형단 상피 항원(STEAP1) 및 상피 세포 부착 분자(EpCAM)를 포함한다. 일부 측면에서 TAA는 HER2이다.

[0081] 본원에서 사용되는 바와 같이, "면역 자극 수용체"는(예를 들어, 항원/주요 조직적합성 복합체(MHC)와의 상호작용 후에 T세포 수용체(TCR)로부터) T세포에 제공되는 초기 활성화 신호를 증폭하거나 상쇄하도록 작용하여 T세포 분화, 활성화 및/또는 증식에 영향을 미치는 세포 표면 분자의 이종 그룹이다. 면역 자극 수용체의 예는 잘 알려져 있으며, 이에 제한되지는 않으나, CD3 및 CD28을 포함한다.

[0082] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 TAA 또는 면역 자극 수용체(예를 들어, CD28)에 특이적으로 결합하는 VH 및/또는 VL을 포함한다. 예를 들어, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 CD28에 특이적으로 결합하는 VH 및/또는 VL을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 34 또는 40에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35 또는 41에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36 또는 42에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 31 또는 37에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32 또는 38에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33 또는 39에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 34에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 31에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 40에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 41에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 42에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 37에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 38에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 39에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는

CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 47 또는 49의 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 47 또는 49에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 47에 대해 적어도 80% 동일성(예를 들어 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 서열을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 49에 대해 적어도 80% 동일성(예를 들어 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 서열을 포함한다. 예를 들어, VL은 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 예를 들어, VL은 SEQ ID NO: 49의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, VH는 SEQ ID NO: 46 또는 48의 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO: 46 또는 48에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 측면에서, VH는 SEQ ID NO: 46에 대해 적어도 80% 동일성(예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 서열을 포함한다. 일부 측면에서, VH는 SEQ ID NO: 48에 대해 적어도 80% 동일성(예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 서열을 포함한다. 예를 들어, VH는 SEQ ID NO: 46의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 예를 들어, VH는 SEQ ID NO: 48의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열(또는 SEQ ID NO: 47에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열)을 포함하는 VL을 포함하고; 그리고 SEQ ID NO: 46의 아미노산 서열(또는 SEQ ID NO: 46에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열)을 포함하는 VH를 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 SEQ ID NO: 49의 아미노산 서열(또는 SEQ ID NO: 49에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열)을 포함하는 VL을 포함하고; 그리고 SEQ ID NO: 48의 아미노산 서열(또는 SEQ ID NO: 48에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열)을 포함하는 VH를 포함한다.

[0083] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 경쇄를 포함한다. 일부 측면에서, 경쇄는 SEQ ID NO: 50 또는 52에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 경쇄는 SEQ ID NO: 50에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 경쇄는 SEQ ID NO: 52에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 예를 들어, 경쇄는 SEQ ID NO: 50의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 예를 들어, 경쇄는 SEQ ID NO: 52의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 경쇄는 SEQ ID NO: 51 또는 53에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 경쇄는 SEQ ID NO: 51에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 경쇄는 SEQ ID NO: 53에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩되는 아미노산 서열을 포함한다. 예를 들어, 경쇄는 SEQ ID NO: 51의 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 코딩된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 예를 들어, 경쇄는 SEQ ID NO: 53의 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 코딩된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0084] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 CD20에 특이적으로 결합하는 VH 및/또는 VL을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 314 또는 322에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 315 또는 323에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성,

CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 280에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 281에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 277에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다.

[0087] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 CD19에 특이적으로 결합하는 VH 및/또는 VL을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 290에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 291에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 292에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 286에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 287에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 288에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 289에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 285에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다.

[0088] TAA에 특이적으로 결합하는 서열의 다른 예는 잘 알려져 있으며, 이에 제한되지는 않으나, GenBank 수탁 번호 AAA39272.1, AAA39159.1, ABN79462.1, AVW80143.1, AVW80142.1, AVW80141.1, AAB34430.1, AAB34429.1, CAD45042.1, 4CMH_C 및 4CMH_B를 포함한다. 이러한 서열은 또한 예를 들어, Wernly et al., Cells, 9(2):295, 2020; Arakawa et al., Journal of Biochemistry, 120(3):657-662, 1996; Cole et al., Transplantation, 68(4):563-571, 1999; Li et al., International Immunopharmacology, 62:299-308, 2018; Castella et al., Methods & Clinical Development, 12:134-144, 2019; Sun et al., Molecular Immunology, 41(9):929-938, 2004; Iwaszkiewicz-Grzes et al., Cytotherapy, 22(11):629-641, 2020, Rosinski et al., Transplant Direct, 1(2):e7, 2015; Ellis et al., J Immunology, 155(2):925-937, 1995; Stevenson et al., Blood, 77(5):1071-1079, 1991; Chillemi et al., Molecular Medicine, 19:99-108, 2013, 및 Int'l Pub. No. WO 2020/076853에 기재되어 있다.

[0089] D. 항원 결합 폴리펩티드 복합체 구조

[0090] 일부 측면에서, 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드를 포함하고; 여기서 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL; VL1-L1-CH1; VH1-L1-CL; 또는 VH1-L1-CH1로 표시되는 구조를 갖고; 여기서(i) 제2 폴리펩티드는 VH1-L2-CH1-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3; VH1-L2-CL-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3; VH1-L7-CH1-L8-Fc; VH1-L7-CL-L8-Fc; VL1-L2-CH1-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3; VL1-L2-CL-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3; VL1-L7-CH1-L8-Fc; 또는 VL1-L7-CL-L8-Fc로 표시되는 구조를 갖고; 제3 폴리펩티드는 VL2-L9-VH2-L10-Fc-L11-TNF1-L12-TNF2-L13-TNF3; 또는 VH2-L14-VL2-L15-Fc-L16-TNF1-L17-TNF2-L18-TNF3으로 표시되는 구조를 갖거나; 또는(ii) 제2 폴리펩티드는 VH1-L19-CH1-L20-Fc-L21-TNF1-L22-TNF2-L23-TNF3; VL1-L19-CH1-L20-Fc-L21-TNF1-L22-TNF2-L23-TNF3; 또는 VL1-L19-CL-L20-Fc-L21-TNF1-L22-TNF2-L23-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제3 폴리펩티드는 VL2-L24-VH2-L25-Fc; 또는 VH2-L26-VL2-L27-Fc로 표시되는 구조를 가지며; 여기서 VL1은 제1 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VL2는 제2 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VH1은 제1 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; VH2는 제2 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; Fc는 면역글로불린 중쇄 불변 영역 2(CH2), 면역글로불린 중쇄 불변 영역 3(CH3), 및 임의로 면역글로불린 힌지를 포함하는 영역이고; CH1은 면역글로불린 중쇄 불변 영역 1이고; CL은 면역글로불린 경쇄 불변 영역이고; TNF1은 종양 괴사 인자 슈퍼패밀리(TNFSF) 리간드의 제1 세포외 도메인이다. TNF2는 TNFSF 리간드의 제2 세포외 도메인이다. TNF3은 TNFSF 리간드의 제3 세포외 도메인이다. L1-L27은 아미노산 링커이다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL; VL1-L1-CH1; VH1-L1-CL; 또는 VH1-L1-CH1로 표시되는 구조를 가지며; 제2 폴리펩티드는 VH1-L2-CH1-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3으로 표시되는 구조를 가지며; 제3 폴리펩티드는 VL2-L9-VH2-L10-Fc-L11-TNF1-L12-TNF2-L13-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL; VL1-L1-CH1; VH1-L1-CL; 또는 VH1-L1-CH1로 표시되는 구조를 가지며; 제2

[illegible]

[0091] 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL로 표시되는 구조를 가지며; 제2 폴리펩티드는 VH1-L2-CH1-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3으로 표시되는 구조를 가지며; 제3 폴리펩티드는 VL2-L9-VH2-L10-Fc-L11-TNF1-L12-TNF2-L13-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL로 표시되는 구조를 가지며; 제2 폴리펩티드는 VH1-CH1-L2-Fc-L3-TNF1-L4-TNF2-L5-TNF3으로 표시되는 구조를 가지며; 제3 폴리펩티드는 VL2-L8-VH2-L9-Fc-L10-TNF1-L11-TNF2-L12-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다.

[0092] 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL로 표시되는 구조를 가지며; 제2 폴리펩티드는 VH1-L2-CH1-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3으로 표시되는 구조를 가지며; 제3 폴리펩티드는 VH2-L14-VL2-L15-Fc-L16-TNF1-L17-TNF2-L18-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL로 표시되는 구조를 가지며; 제2 폴리펩티드는 VH1-L7-CH1-L8-Fc로 표시되는 구조를 갖고; 제3 폴리펩티드는 VL2-L9-VH2-L10-Fc-L11-TNF1-L12-TNF2-L13-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL로 표시되는 구조를 가지며; 제2 폴리펩티드는 VH1-L7-CH1-L8-Fc로 표시되는 구조를 갖고; 제3 폴리펩티드는 VH2-L14-VL2-L15-Fc-L16-TNF1-L17-TNF2-L18-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL로 표시되는 구조를 가지며; 제2 폴리펩티드는 VH1-L19-CH1-L20-Fc-L21-TNF1-L22-TNF2-L23-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제3 폴리펩티드는 VL2-L24-VH2-L25-Fc로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL로 표시되는 구조를 가지며; 제2 폴리펩티드는 VH1-L19-CH1-L20-Fc-L21-TNF1-L22-TNF2-L23-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제3 폴리펩티드는 VH2-L26-VL2-L27-Fc로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL로 표시되는 구조를 가지며; 제2 폴리펩티드는 VH1-CH1-L2-Fc-L3-TNF1-L4-TNF2-L5-

TNF3으로 표시되는 구조를 가지며; 제3 폴리펩티드는 VH2-L13-VL2-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL로 표시되는 구조를 가지며; 제2 폴리펩티드는 VH1-L6-CH1-L7-Fc로 표시되는 구조를 갖고; 제3 폴리펩티드는 VL2-L8-VH2-L9-Fc-L10-TNF1-L11-TNF2-L12-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL로 표시되는 구조를 가지며; 제2 폴리펩티드는 VH1-L6-CH1-L7-Fc로 표시되는 구조를 갖고; 제3 폴리펩티드는 VH2-L13-VL2-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL로 표시되는 구조를 가지며; 제2 폴리펩티드는 VH1-L18-CH1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제3 폴리펩티드는 VL2-L23-VH2-L24-Fc로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL로 표시되는 구조를 가지며; 제2 폴리펩티드는 VH1-L18-CH1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제3 폴리펩티드는 VH2-L25-VL2-L26-Fc로 표시되는 구조를 갖는다.

[0093] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VH1은 CD3에 특이적으로 결합한다.

[0094] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 22, 28, 185, 298 및 306 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23, 29, 186, 299 및 307 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24, 30, 187, 300 및 308 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 19, 25, 182, 294 및 302 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20, 26, 183, 295 및 303 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21, 27, 184, 296 및 304 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 22에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 19에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 28에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 29에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 30에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 25에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 26에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 27에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 185에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 186에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 187에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 182에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 183에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 184에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 298에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 299에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 300에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 294에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 295에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 296에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 306에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 307에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 308에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 302에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 303에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 304에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함

결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 293에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 305에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 301에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0097] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VH2는 종양 관련 항원(TAA) 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 측면에서, 면역 자극 수용체는 CD28이다. 일부 측면에서, TAA는 티로신-단백질 키나제 Met(cMet), 영양막 세포 표면 항원 2(Trop2), CD20, CD19, 수용체 티로신-단백질 키나제 erbB-2(HER2), 수용체 티로신-단백질 키나제 erbB-3(HER3), 아테노신 A2A 수용체(A2AR), 증식 유도 리간드(APRIL), 표피 성장 인자 수용체(EGFR), 섬유아세포 성장 인자 수용체(FGFR), B 세포 활성화 인자(BAFF), BAFF 수용체(BAFFR), B 세포 성숙 항원(BCMA), 브루톤 티로신 키나제(BTK), B 및 T 림프구 감쇠제(BTLA), B7DC(예정사 리간드 2), B7 상동체 1(B7H1), B7 상동체 4(B7H4), 델타 유사 리간드 3(DLL3), 엑토뉴클레오시드 삼인산 디포스포가수분해효소 1(ENTPD1), IgE 수용체 1a의 Fc 단편(FCER1A), IgE 수용체 1의 Fc 단편(FCER1), 아라키도네이트 5-리폭시게나제 활성화 단백질(FLAP), 염산 가수분해효소 1(FOLH1), 뮤신 1(MUC-1), CD133, 뮤신 16(MUC-16), 리소좀 관련 막 단백질 1(LAMP1), CD38, 예정사 리간드 1(PD-L1), CEA 세포 부착 분자 5(CEACAM5), 전립선 1의 6개 막형단상피 항원(STEAP1), 또는 상피 세포 부착 분자(EpCAM)이다. 일부 측면에서 TAA는 HER2이다.

[0098] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 34 또는 40에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35 또는 41에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36 또는 42에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 31 또는 37에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32 또는 38에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33 또는 39에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 34에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 31에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 40에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 41에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 42에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 37에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 38에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 39에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

[0099] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 47 또는 49에 대해 적어도 80%, 적어도 85%,

적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 46 또는 48에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 47에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 46에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 46의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 49에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 48에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 49의 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 48의 아미노산 서열을 포함한다.

[0100] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VH2는 CD3에 특이적으로 결합한다.

[0101] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 22, 28, 185, 298 및 306 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23, 29, 186, 299 및 307 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24, 30, 187, 300 및 308 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 19, 25, 182, 294 및 312 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20, 26, 183, 295 및 313 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21, 27, 184, 296 및 314 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 22에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 19에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 28에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 29에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 30에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 25에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 26에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 27에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 185에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 186에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 187에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 182에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 183에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 184에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23의 아미노산

90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 301에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0105] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VH1은 TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 측면에서, 면역 자극 수용체는 CD28이다. 일부 측면에서, TAA는 cMet, Trop2, CD20, CD19, HER2, HER3, A2AR, APRIL, EGFR, FGFR, BAFF, BAFFR, BCMA, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, DLL3, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, MUC-1, CD133, MUC-16, LAMP1, CD38, PD-L1, CEACAM5, STEAP1 또는 EpCAM이다. 일부 측면에서 TAA는 HER2이다.

[0106] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 34 또는 40에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35 또는 41에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36 또는 42에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 31 또는 37에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32 또는 38에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33 또는 39에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 34에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 31에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 40에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 41에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 42에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 37에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 38에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 39에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

[0107] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 47 또는 49에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 46 또는 48에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 47에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 46에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 49에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 48에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 46의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 49의 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 48의 아미노산 서열을 포함한다.

[0108]

일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 CD20에 특이적으로 결합하는 VH 및/또는 VL을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 314 또는 322에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 315 또는 323에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 316 또는 324에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 310 또는 318에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 311 또는 319에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 312 또는 320에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 314에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 315에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 316에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 310에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 311에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 312에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 322에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 323에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 324에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 318에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 319에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 320에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 313 또는 321에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 309 또는 317에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 313에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 309에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 321에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 317에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다.

[0109]

일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 cMet에 특이적으로 결합하는 VH 및/또는 VL을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 274에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 275에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 276에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 270에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 271에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는

CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 272에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 273에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 269에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다.

[0110] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 Trop2에 특이적으로 결합하는 VH 및/또는 VL을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 282에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 283에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 284에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 278에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 279에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 280에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 281에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 277에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다.

[0111] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 CD19에 특이적으로 결합하는 VH 및/또는 VL을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 290에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 291에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 292에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 286에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 287에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 288에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, VL은 SEQ ID NO: 289에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 285에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다.

[0112] 일부 측면에서, 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하고; 여기서(i) 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-VH1-L2-Fc; VH1-L3-VL1-L4-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VL1-L9-CL-L10-VH1-L11-CH1-L12-Fc; VL1-L9-CH1-L10-VH1-L11-CL-L12-Fc; VH1-L9-CL-L10-VL1-L11-CH1-L12-Fc; VH1-L9-CH1-L10-VL1-L11-CL-L12-Fc; VL1-L13-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-L18-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-L23-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-L23-VL1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-VL1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L30-CL-L31-VH1-L32-CH1-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; VL1-L30-CH1-L31-VH1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; VH1-L30-CL-L31-VL1-L32-CH1-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; 또는 VH1-L30-CH1-L31-VL1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-L37-VH2-L38-Fc-L39-TNF1-L40-TNF2-L41-TNF3; VH2-L42-VL2-L43-Fc-L44-TNF1-L45-TNF2-L46-TNF3; VL2-L47-VH2-L48-CL-L49-CH1-L50-Fc-L51-TNF1-L52-TNF2-L53-TNF3; or VL2-L54-CL-L55-VH2-L56-CH1-L57-Fc-L58-TNF1-L59-TNF2-L60-TNF3; VL2-L47-VH2-L48-CH1-L49-CL-L50-Fc-L51-TNF1-L52-TNF2-L53-TNF3; VL2-L54-CH1-L55-VH2-L56-CL-L57-Fc-L58-TNF1-L59-TNF2-L60-TNF3; VL2-VH2-L38-Fc-L39-TNF1-L40-TNF2-L41-TNF3; VH2-VL2-L43-Fc-L44-TNF1-L45-TNF2-L46-TNF3; VL2-VH2-

L48-CL-L49-CH1-L50-Fc-L51-TNF1-L52-TNF2-L53-TNF3; VL2-CL-L55-VH2-L56-CH1-L57-Fc-L58-TNF1-L59-TNF2-L60-TNF3; VL2-VH2-L48-CH1-L49-CL-L50-Fc-L51-TNF1-L52-TNF2-L53-TNF3; 또는 VL2-CH1-L55-VH2-L56-CL-L57-Fc-L58-TNF1-L59-TNF2-L60-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 또는(ii) 제1 폴리펩티드는 VL1-L61-VH1-L62-Fc-L63-TNF1-L64-TNF2-L65-TNF3; VH1-L66-VL1-L67-Fc-L68-TNF1-L69-TNF2-L70-TNF3; VL1-L71-VH1-L72-CL-L73-CH1-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3; VL1-L71-VH1-L72-CH1-L73-CL-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3; VL1-L78-CL-L79-VH1-L80-CH1-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3; 또는 VL1-L78-CH1-L79-VH1-L80-CL-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-L85-VH2-L86-Fc; VH2-L87-VL2-L88-Fc; VL2-L89-VH2-L90-CL-L91-CH1-L92-Fc; VL2-L89-VH2-L90-CH1-L91-CL-L92-Fc; VL2-L93-CL-L94-VH2-L95-CH1-L96-Fc; 또는 VL2-L93-CH1-L94-VH2-L95-CL-L96-Fc로 표시되는 구조를 가지며; 여기서 VL1은 제1 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VL2는 제2 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VH1은 제1 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; VH2는 제2 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; Fc는 면역글로불린 중쇄 불변 영역 2(CH2), 면역글로불린 중쇄 불변 영역 3(CH3) 및 선택적으로 면역글로불린 힌지를 포함하는 영역이고; CH1은 면역글로불린 중쇄 불변 영역 1이고; CL은 면역글로불린 경쇄 불변 영역이고; TNF1은 TNFSF 리간드의 제1 세포외 도메인이고; TNF2는 TNFSF 리간드의 제2 세포외 도메인이다. TNF3은 TNFSF 리간드의 제3 세포외 도메인이다. L1-L96은 아미노산 링커이다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-VH1-L2-Fc; VH1-L3-VL1-L4-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VL1-L9-CL-L10-VH1-L11-CH1-L12-Fc; VL1-L9-CH1-L10-VH1-L11-CL-L12-Fc; VH1-L9-CL-L10-VL1-L11-CH1-L12-Fc; VH1-L9-CH1-L10-VL1-L11-CL-L12-Fc; VL1-L13-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-L18-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-L23-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-VL1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L30-CL-L31-VH1-L32-CH1-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; VL1-L30-CH1-L31-VH1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; 또는 VH1-L30-CH1-L31-VL1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3으로 표시되는 구조를 가지며; 그리고 제2 폴리펩티드는 VL2-L37-VH2-L38-Fc-L39-TNF1-L40-TNF2-L41-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-VH1-L2-Fc; VH1-L3-VL1-L4-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VL1-L9-CL-L10-VH1-L11-CH1-L12-Fc; VL1-L9-CH1-L10-VH1-L11-CL-L12-Fc; VH1-L9-CL-L10-VL1-L11-CH1-L12-Fc; VH1-L9-CH1-L10-VL1-L11-CL-L12-Fc; VL1-L13-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-L18-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-L23-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-L23-VL1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VL1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-VL1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L30-CL-L31-VH1-L32-CH1-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; VL1-L30-CH1-L31-VH1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; 또는 VH1-L30-CH1-L31-VL1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VH2-L42-VL2-L43-Fc-L44-TNF1-L45-TNF2-L46-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-VH1-L2-Fc; VH1-L3-VL1-L4-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VL1-L9-CL-L10-VH1-L11-CH1-L12-Fc; VL1-L9-CH1-L10-VH1-L11-CL-L12-Fc; VH1-L9-CL-L10-VL1-L11-CH1-L12-Fc; VH1-L9-CH1-L10-VL1-L11-CL-L12-Fc; VL1-L13-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-L18-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-L23-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L30-CL-L31-VH1-

[illegible]

TNF3; VL1-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-VL1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L30-CL-L31-VH1-L32-CH1-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; VL1-L30-CH1-L31-VH1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; VH1-L30-CL-L31-VL1-L32-CH1-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; 또는 VH1-L30-CH1-L31-VL1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-VH2-L38-Fc-L39-TNF1-L40-TNF2-L41-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-VH1-L2-Fc; VH1-L3-VL1-L4-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VL1-L9-CL-L10-VH1-L11-CH1-L12-Fc; VL1-L9-CH1-L10-VH1-L11-CL-L12-Fc; VH1-L9-CL-L10-VL1-L11-CH1-L12-Fc; VL1-L13-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-L18-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-L23-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-L23-VL1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-VL1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L30-CL-L31-VH1-L32-CH1-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; VL1-L30-CH1-L31-VH1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; VH1-L30-CL-L31-VL1-L32-CH1-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; 또는 VH1-L30-CH1-L31-VL1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VH2-VL2-L43-Fc-L44-TNF1-L45-TNF2-L46-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-VH1-L2-Fc; VH1-L3-VL1-L4-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VL1-L9-CL-L10-VH1-L11-CH1-L12-Fc; VL1-L9-CH1-L10-VH1-L11-CL-L12-Fc; VH1-L9-CL-L10-VL1-L11-CH1-L12-Fc; VL1-L13-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-L18-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-L23-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L30-CL-L31-VH1-L32-CH1-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; VL1-L30-CH1-L31-VH1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; 또는 VH1-L30-CH1-L31-VL1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-VH2-L48-CL-L49-CH1-L50-Fc-L51-TNF1-L52-TNF2-L53-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-VH1-L2-Fc; VH1-L3-VL1-L4-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VL1-L9-CL-L10-VH1-L11-CH1-L12-Fc; VL1-L9-CH1-L10-VH1-L11-CL-L12-Fc; VH1-L9-CL-L10-VL1-L11-CH1-L12-Fc; VL1-L13-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-L18-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-L23-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-L23-VL1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L30-CL-L31-VH1-L32-CH1-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; VL1-L30-CH1-L31-VH1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; 또는 VH1-L30-CH1-L31-VL1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-CL-L55-VH2-L56-CH1-L57-Fc-L58-TNF1-L59-TNF2-L60-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-VH1-L2-Fc; VH1-L3-VL1-L4-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VL1-L9-CL-L10-VH1-L11-CH1-L12-Fc; VL1-L9-CH1-L10-VH1-L11-CL-L12-Fc; VH1-L9-CL-L10-VL1-L11-CH1-L12-Fc; VL1-L13-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-

TNF3; VL1-L18-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; TNF2-L29-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-L23-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-L23-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-VL1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L30-CL-L31-VH1-L32-CH1-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; VL1-L30-CH1-L31-VH1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; VH1-L30-CL-L31-VL1-L32-CH1-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; 또는 VH1-L30-CH1-L31-VL1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-VH2-L48-CH1-L49-CL-L50-Fc-L51-TNF1-L52-TNF2-L53-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-VH1-L2-Fc; VH1-L3-VL1-L4-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VL1-L9-CL-L10-VH1-L11-CH1-L12-Fc; VL1-L9-CH1-L10-VH1-L11-CL-L12-Fc; VH1-L9-CL-L10-VL1-L11-CH1-L12-Fc; VH1-L9-CH1-L10-VL1-L11-CL-L12-Fc; VL1-L13-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-L18-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-L23-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-L23-VL1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L30-CL-L31-VH1-L32-CH1-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; VL1-L30-CH1-L31-VH1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; 또는 VH1-L30-CH1-L31-VL1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-CH1-L55-VH2-L56-CL-L57-Fc-L58-TNF1-L59-TNF2-L60-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 예를 들어, 제1 폴리펩티드는 VL1-L13-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3으로 표시되는 구조를 가질 수 있고, 제2 폴리펩티드는 VL2-L37-VH2-L38-Fc-L39-TNF1-L40-TNF2-L41-TNF3으로 표시되는 구조를 가질 수 있다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L61-VH1-L62-Fc-L63-TNF1-L64-TNF2-L65-TNF3; VH1-L66-VL1-L67-Fc-L68-TNF1-L69-TNF2-L70-TNF3; VL1-L71-VH1-L72-CL-L73-CH1-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3; VL1-L71-VH1-L72-CH1-L73-CL-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3; VL1-L78-CL-L79-VH1-L80-CH1-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3; 또는 VL1-L78-CH1-L79-VH1-L80-CL-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-L85-VH2-L86-Fc로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L61-VH1-L62-Fc-L63-TNF1-L64-TNF2-L65-TNF3; VH1-L66-VL1-L67-Fc-L68-TNF1-L69-TNF2-L70-TNF3; VL1-L71-VH1-L72-CL-L73-CH1-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3; VL1-L71-VH1-L72-CH1-L73-CL-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3; VL1-L78-CL-L79-VH1-L80-CH1-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3; 또는 VL1-L78-CH1-L79-VH1-L80-CL-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VH2-L87-VL2-L88-Fc로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L61-VH1-L62-Fc-L63-TNF1-L64-TNF2-L65-TNF3; VH1-L66-VL1-L67-Fc-L68-TNF1-L69-TNF2-L70-TNF3; VL1-L71-VH1-L72-CL-L73-CH1-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3; VL1-L71-VH1-L72-CH1-L73-CL-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3; VL1-L78-CL-L79-VH1-L80-CH1-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3; 또는 VL1-L78-CH1-L79-VH1-L80-CL-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-L93-CL-L94-VH2-L95-CH1-L96-Fc로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L61-VH1-L62-Fc-L63-TNF1-L64-TNF2-L65-TNF3; VH1-L66-VL1-L67-Fc-L68-TNF1-L69-TNF2-L70-TNF3; VL1-L71-VH1-L72-CL-L73-CH1-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3; VL1-L71-VH1-L72-CH1-L73-CL-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3; 또는 VL1-L78-CL-L79-VH1-L80-CH1-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3; 또는 VL1-L78-CH1-L79-VH1-L80-CL-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-L89-VH2-L90-CH1-L91-CL-L92-Fc로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L61-VH1-L62-Fc-L63-TNF1-L64-TNF2-L65-TNF3; VH1-L66-VL1-L67-Fc-L68-TNF1-L69-TNF2-L70-TNF3; VL1-L71-VH1-L72-CL-L73-CH1-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3; VL1-L71-VH1-L72-CH1-L73-CL-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3; 또는 VL1-L78-CL-L79-VH1-L80-CH1-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3; 또는 VL1-L78-CH1-L79-VH1-L80-CL-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-L89-VH2-L90-CH1-L91-CL-L92-Fc로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L61-VH1-L62-Fc-L63-TNF1-L64-TNF2-L65-TNF3; VH1-L66-VL1-L67-Fc-L68-TNF1-L69-TNF2-L70-TNF3; VL1-L71-VH1-L72-CL-L73-CH1-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3;

TNF3; VL1-L71-VH1-L72-CH1-L73-CL-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3; 또는 VL1-L78-CL-L79-VH1-L80-CH1-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3; 또는 VL1-L78-CH1-L79-VH1-L80-CL-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-L93-CH1-L94-VH2-L95-CL-L96-Fc로 표시되는 구조를 갖는다.

[0113] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VH1은 CD3에 특이적으로 결합한다.

[0114] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 22, 28, 185, 298 및 306 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23, 29, 186, 299 및 307 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24, 30, 187, 300 및 308 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 19, 25, 182, 294 및 302 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20, 26, 183, 295 및 303 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21, 27, 184, 296 및 304 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 22에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 19에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 28에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 29에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 30에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 25에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 26에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 27에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 185에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 186에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 187에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 182에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 183에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 184에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 185의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 186의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 187의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 182의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 183의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 184의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 298에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 299에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 300에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 294에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 295에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ

ID NO: 296에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 306에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 307에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 308에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 302에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 303에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 304에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

[0115] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 43 또는 44에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 43에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 43의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 44에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열을 포함한다.

[0116] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 297에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 293에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0117] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 305에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 301에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0118] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VH2는 TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 측면에서, 면역 자극 수용체는 CD28이다. 일부 측면에서, TAA는 cMet, Trop2, CD20, CD19, HER2, HER3, A2AR, APRIL, EGFR, FGFR, BAFF, BAFFR, BCMA, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, DLL3, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, MUC-1, CD133, MUC-16, LAMP1, CD38, PD-L1, CEACAM5, STEAP1 또는 EpCAM이다. 일부 측면에서 TAA는 HER2이다.

[0119] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 34 또는 40에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35 또는 41에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36 또는 42에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 31 또는 37에 대해 적어도

도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32 또는 38에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33 또는 39에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 34에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 31에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 40에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 41에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 42에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 37에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 38에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 39에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

[0120] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 47 또는 49에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 46 또는 48에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 47에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 46에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 49에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 48에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 49의 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 48의 아미노산 서열을 포함한다.

[0121] 일부 측면에서, VL2는 SEQ ID NO: 314 또는 322에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 315 또는 323에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 316 또는 324에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; VH2는 SEQ ID NO: 310 또는 318에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미

및 100% 동일성을 포함한다.

[0124] 일부 측면에서, VL2는 SEQ ID NO: 290에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 291에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 292에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; VH2는 SEQ ID NO: 286에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 287에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 288에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, VL2는 SEQ ID NO: 289에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는 VH2는 SEQ ID NO: 285에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다.

[0125] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VH2는 CD3에 특이적으로 결합한다.

[0126] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 22, 28, 185, 298 및 306 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23, 29, 186, 299 및 307 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24, 30, 187, 300 및 308 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 19, 25, 182, 294 및 302 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20, 26, 183, 295 및 303 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21, 27, 184, 296 및 304 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 22에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 19에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 28에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 29에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 30에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 25에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 26에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 27에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 185에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 186에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 187에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 182에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 183에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 184에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 26의 아미

노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 185의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 186의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 187의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 182의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 183의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 184의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 298에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 299에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 300에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 294에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 295에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 296에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 306에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 307에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 308에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 302에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 303에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 304에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

[0127] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 43 또는 44에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 43에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 43의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 44에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 297에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 293에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 305에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 301에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0128] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VH1은 TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 측면에서, 면역 자극 수용체는 CD28이다. 일부 측면에서, TAA는 cMet, Trop2, CD20, CD19, HER2, HER3, A2AR, APRIL, EGFR, FGFR, BAFF, BAFFR, BCMA, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, DLL3, ENTPD1, FCER1A,

FCER1, FLAP, FOLH1, MUC-1, CD133, MUC-16, LAMP1, CD38, PD-L1, CEACAM5, STEAP1 또는 EpCAM이다. 일부 측면에서 TAA는 HER2이다.

[0129]

일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 34 또는 40에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35 또는 41에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36 또는 42에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 31 또는 37에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32 또는 38에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33 또는 39에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 34에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 31에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 40에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 41에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 42에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 37에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 38에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 39에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 274에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 275에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 276에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 270에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 271에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 272에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 282에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 283에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 284에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 278에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 279에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 280에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 290에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 291에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는

도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 289에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 285에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 313에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 309에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1은 SEQ ID NO: 321에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1은 SEQ ID NO: 317에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0131] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드의 VL1 및 VH1은 CD3에 특이적으로 결합하고, VL2 및 VH2는 TAA(예를 들어, HER2) 또는 면역 자극 수용체(예를 들어, CD28)에 특이적으로 결합한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드의 VL1 및 VH1은 CD3에 특이적으로 결합하고, VL2 및 VH2는 HER2에 특이적으로 결합한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드의 VL1 및 VH1은 CD3에 특이적으로 결합하고, VL2 및 VH2는 CD28에 특이적으로 결합한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드의 VL2 및 VH2는 CD3에 특이적으로 결합하고, VL1 및 VH1은 TAA(예를 들어, HER2) 또는 면역 자극 수용체(예를 들어, CD28)에 특이적으로 결합한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드의 VL2 및 VH2는 CD3에 특이적으로 결합하고, VL1 및 VH1은 HER2에 특이적으로 결합한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드의 VL2 및 VH2는 CD3에 특이적으로 결합하고, VL1 및 VH1은 CD28에 특이적으로 결합한다.

[0132] 일부 측면에서, 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하고; 여기서(i) 제1 폴리펩티드는 Fc; VL1-L1-VL2-L2-VH2-L3-VH1-L4-Fc; VH1-L5-VH2-L6-VL2-L7-VL1-L8-Fc; Fc-L9-TNF1-L10-TNF2-L11-TNF3; VL1-L12-VL2-L13-VH2-L14-VH1-L15-Fc-L16-TNF1-L17-TNF2-L18-TNF3; 또는 VH1-L19-VH2-L20-VL2-L21-VL1-L22-Fc-L23-TNF1-L24-TNF2-L25-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL3-L26-VL4-L27-VH4-L28-VH3-L29-Fc-L30-TNF1-L31-TNF2-L32-TNF3; 또는 VH3-L33-VH4-L34-VL4-L35-VL3-L36-Fc-L37-TNF1-L38-TNF2-L39-TNF3으로 표시되는 구조를 갖거나; 또는(ii) 제1 폴리펩티드는 Fc-L40-TNF1-L41-TNF2-L42-TNF3; VL1-L43-VL2-L44-VH2-L45-VH1-L46-Fc-L47-TNF1-L48-TNF2-L49-TNF3; 또는 VH1-L50-VH2-L51-VL2-L52-VL1-L53-Fc-L54-TNF1-L55-TNF2-L56-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 Fc; VL3-L57-VL4-L58-VH4-L59-VH3-L60-Fc; 또는 VH3-L61-VH4-L62-VL4-L63-VL3-L64-Fc로 표시되는 구조를 가지며; 여기서 VL1은 제1 면역 글로불린 경쇄 가변 영역이고; VL2는 제2 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VL3은 제3 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VL4는 제4 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VH1은 제1 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; VH2는 제2 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; VH3은 제3 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; VH4는 제4 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; Fc는 면역글로불린 중쇄 불변 영역 2(CH2), 면역글로불린 중쇄 불변 영역 3(CH3), 및 임의로 면역글로불린 힌지를 포함하는 영역이고; TNF1은 TNFSF 리간드의 제1 세포의 도메인이고; TNF2는 TNFSF 리간드의 제2 세포의 도메인이고; TNF3은 TNFSF 리간드의 제3 세포의 도메인이고; L1-L64는 아미노산 링커이다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 Fc로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL3-L26-VL4-L27-VH4-L28-VH3-L29-Fc-L30-TNF1-L31-TNF2-L32-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 Fc로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VH3-L33-VH4-L34-VL4-L35-VL3-L36-Fc-L37-TNF1-L38-TNF2-L39-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-VL2-L2-VH2-L3-VH1-L4-Fc로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL3-L26-VL4-L27-VH4-L28-VH3-L29-Fc-L30-TNF1-L31-TNF2-L32-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-VL2-L2-VH2-L3-VH1-L4-Fc로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VH3-L33-VH4-L34-VL4-L35-VL3-L36-Fc-L37-TNF1-L38-TNF2-L39-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VH1-L5-VH2-L6-VL2-L7-VL1-L8-Fc로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL3-L26-VL4-L27-VH4-L28-VH3-L29-Fc-L30-TNF1-L31-TNF2-L32-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VH1-L5-VH2-L6-VL2-L7-VL1-L8-Fc로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VH3-L33-VH4-L34-

VL4-L35-VL3-L36-Fc-L37-TNF1-L38-TNF2-L39-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 Fc-L9-TNF1-L10-TNF2-L11-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL3-L26-VL4-L27-VH4-L28-VH3-L29-Fc-L30-TNF1-L31-TNF2-L32-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 Fc-L9-TNF1-L10-TNF2-L11-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VH3-L33-VH4-L34-VL4-L35-VL3-L36-Fc-L37-TNF1-L38-TNF2-L39-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L12-VL2-L13-VH2-L14-VH1-L15-Fc-L16-TNF1-L17-TNF2-L18-TNF3; 제2 폴리펩티드는 VL3-L26-VL4-L27-VH4-L28-VH3-L29-Fc-L30-TNF1-L31-TNF2-L32-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L12-VL2-L13-VH2-L14-VH1-L15-Fc-L16-TNF1-L17-TNF2-L18-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VH3-L33-VH4-L34-VL4-L35-VL3-L36-Fc-L37-TNF1-L38-TNF2-L39-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VH1-L19-VH2-L20-VL2-L21-VL1-L22-Fc-L23-TNF1-L24-TNF2-L25-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL3-L26-VL4-L27-VH4-L28-VH3-L29-Fc-L30-TNF1-L31-TNF2-L32-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VH1-L19-VH2-L20-VL2-L21-VL1-L22-Fc-L23-TNF1-L24-TNF2-L25-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VH3-L33-VH4-L34-VL4-L35-VL3-L36-Fc-L37-TNF1-L38-TNF2-L39-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 Fc-L40-TNF1-L41-TNF2-L42-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 Fc로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 c-L40-TNF1-L41-TNF2-L42-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL3-L57-VL4-L58-VH4-L59-VH3-L60-Fc로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 Fc-L40-TNF1-L41-TNF2-L42-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VH3-L61-VH4-L62-VL4-L63-VL3-L64-Fc로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L43-VL2-L44-VH2-L45-VH1-L46-Fc-L47-TNF1-L48-TNF2-L49-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고 제2 폴리펩티드는 Fc로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L43-VL2-L44-VH2-L45-VH1-L46-Fc-L47-TNF1-L48-TNF2-L49-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL3-L57-VL4-L58-VH4-L59-VH3-L60-Fc로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L43-VL2-L44-VH2-L45-VH1-L46-Fc-L47-TNF1-L48-TNF2-L49-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VH3-L61-VH4-L62-VL4-L63-VL3-L64-Fc로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VH1-L50-VH2-L51-VL2-L52-VL1-L53-Fc-L54-TNF1-L55-TNF2-L56-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 Fc로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VH1-L50-VH2-L51-VL2-L52-VL1-L53-Fc-L54-TNF1-L55-TNF2-L56-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL3-L57-VL4-L58-VH4-L59-VH3-L60-Fc로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VH1-L50-VH2-L51-VL2-L52-VL1-L53-Fc-L54-TNF1-L55-TNF2-L56-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VH3-L61-VH4-L62-VL4-L63-VL3-L64-Fc로 표시되는 구조를 갖는다.

[0133] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1, VH1, VL3 및 VH3은 CD3에 특이적으로 결합한다.

[0134] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 22, 28, 185, 298 및 306 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23, 29, 186, 299 및 307 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24, 30, 187, 300 및 308 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 19, 25, 182, 294 및 302 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20, 26, 183, 295 및 303 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21, 27, 184, 296 및 394 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 22에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 19에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 28에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 29에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 30에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 25에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 26에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 27에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 26에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 27에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 185에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 186에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 187에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 182에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 183에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 184에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 185의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 186의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 187의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 182의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 183의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 184의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 298에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 299에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 300에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 294에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 295에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 296에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 306에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 307에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 308에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 302에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 303에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 304에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

[0135] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 43 또는 44에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 43에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 43의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일

성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 44에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 297에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 293에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 305에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3이 SEQ ID NO: 301에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0136] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2, VH2, VL4 및 VH4는 TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 측면에서, 면역 자극 수용체는 CD28이다. 일부 측면에서, TAA는 cMet, Trop2, CD20, CD19, HER2, HER3, A2AR, APRIL, EGFR, FGFR, BAFF, BAFFR, BCMA, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, DLL3, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, MUC-1, CD133, MUC-16, LAMP1, CD38, PD-L1, CEACAM5, STEAP1 또는 EpCAM이다. 일부 측면에서 TAA는 HER2이다.

[0137] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL4는 SEQ ID NO: 34 또는 40에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35 또는 41에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36 또는 42에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH4는 SEQ ID NO: 31 또는 37에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32 또는 38에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33 또는 39에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL4는 SEQ ID NO: 34에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH4는 SEQ ID NO: 31에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL4는 SEQ ID NO: 40에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 41에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 42에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH4는 SEQ ID NO: 37에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 38에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 39에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL4는 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH4는 SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL4는 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH4는 SEQ ID NO: 37의

[illegible]

[0138] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL4는 SEQ ID NO:47 또는 49에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH4는 SEQ ID NO: 46 또는 48에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL4는 SEQ ID NO: 47에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 93%, 적어도 94%, 적

[illegible]

[0139] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1, VH1, VL4 및 VH4는 CD3에 특이적으로 결합한다.

[0140] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL4는 SEQ ID NO: 22, 28, 185, 298 및 306 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23, 29, 186, 299 및 307 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24, 30, 187, 300 및 308 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH4는 SEQ ID NO: 19, 25, 182, 294 및 302 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20, 26, 183, 295 및 303 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21, 27, 184, 296 및 304 중 어느 하나에

[illegible]

을 포함한다.

[0141] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL4는 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH4는 SEQ ID NO: 43 또는 44에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL4는 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH4는 SEQ ID NO: 43에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL4는 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH4는 SEQ ID NO: 43의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL4는 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH4는 SEQ ID NO: 44에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL4는 SEQ ID NO: 297에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH4는 SEQ ID NO: 293에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL4는 SEQ ID NO: 305에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH4는 SEQ ID NO: 301에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0142] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2, VH2, VL3 및 VH3은 TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 측면에서, 면역 자극 수용체는 CD28이다. 일부 측면에서, TAA는 cMet, Trop2, CD20, CD19, HER2, HER3, A2AR, APRIL, EGFR, FGFR, BAFF, BAFFR, BCMA, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, DLL3, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, MUC-1, CD133, MUC-16, LAMP1, CD38, PD-L1, CEACAM5, STEAP1 또는 EpCAM이다. 일부 측면에서 TAA는 HER2이다.

[0143] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL3은 SEQ ID NO: 34 또는 40에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35 또는 41에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36 또는 42에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH3은 SEQ ID NO: 31 또는 37에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32 또는 38에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33 또는 39에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL3은 SEQ ID NO: 34에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH3은 SEQ ID NO: 31에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32

[illegible]

[0144]

[illegible]

[0145]

일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2, VH2, VL4 및 VH4는 CD3에 특이적으로 결합한다.

[0146]

일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL4는 SEQ ID NO: 22, 28, 185, 298 및 306 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1:

[illegible]

합하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 304에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

[0147] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL4는 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH4는 SEQ ID NO: 43 또는 44에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL4는 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH4는 SEQ ID NO: 43에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL4는 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH4는 SEQ ID NO: 43의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL4는 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH4는 SEQ ID NO: 44에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL4는 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH4는 SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL4는 SEQ ID NO: 297에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH4는 SEQ ID NO: 293에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL4는 SEQ ID NO: 305에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH4는 SEQ ID NO: 301에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0148] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1, VH1, VL3 및 VH3은 TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 측면에서, 면역 자극 수용체는 CD28이다. 일부 측면에서, TAA는 cMet, Trop2, CD20, CD19, HER2, HER3, A2AR, APRIL, EGFR, FGFR, BAFF, BAFFR, BCMA, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, DLL3, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, MUC-1, CD133, MUC-16, LAMP1, CD38, PD-L1, CEACAM5, STEAP1 또는 EpCAM이다. 일부 측면에서 TAA는 HER2이다.

[0149] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 34 또는 40에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35 또는 41에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36 또는 42에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 31 또는 37에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32 또는 38에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33 또는 39에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 34에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의

일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO:47 또는 49에 대해 적어도 80%, 적어도

[illegible]

합하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 304에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

[0153] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL3은 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH3은 SEQ ID NO: 43 또는 44에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL3은 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH3은 SEQ ID NO: 43에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL3은 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH3은 SEQ ID NO: 43의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL3은 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH3은 SEQ ID NO: 44에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL3은 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH3은 SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL3은 SEQ ID NO: 297에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH3은 SEQ ID NO: 293에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VL3은 SEQ ID NO: 305에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2 및 VH3은 SEQ ID NO: 301에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0154] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1, VH1, VL4 및 VH4는 TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 측면에서, 면역 자극 수용체는 CD28이다. 일부 측면에서, TAA는 cMet, Trop2, CD20, CD19, HER2, HER3, A2AR, APRIL, EGFR, FGFR, BAFF, BAFFR, BCMA, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, DLL3, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, MUC-1, CD133, MUC-16, LAMP1, CD38, PD-L1, CEACAM5, STEAP1 또는 EpCAM이다. 일부 측면에서 TAA는 HER2이다.

[0155] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL4는 SEQ ID NO: 34 또는 40에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35 또는 41에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36 또는 42에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH4는 SEQ ID NO: 31 또는 37에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32 또는 38에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33 또는 39에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL4는 SEQ ID NO: 34에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의

[illegible]

면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL4는 SEQ ID NO: 322에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 323에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 324에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH4는 SEQ ID NO: 318에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 319에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 320에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

[0156]

[illegible]

면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL4는 SEQ ID NO: 321에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH4는 SEQ ID NO: 317에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0157] 일부 측면에서, 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하고; 여기서(i) 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-VH1-L2-Fc; VH1-L3-VL1-L4-Fc; VL1-L5-VH1-L6-Fc-L7-TNF1-L8-TNF2-L9-TNF3; 또는 VH1-L10-VL1-L11-Fc-L12-TNF1-L13-TNF2-L14-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-L15-VL3-L16-VH3-L17-VH2-L18-Fc-L19-TNF1-L20-TNF2-L21-TNF3; 또는 VH2-L22-VH3-L23-VL3-L24-VL2-L25-Fc-L26-TNF1-L27-TNF2-L28-TNF3으로 표시되는 구조를 갖거나; 또는 (ii) 제1 폴리펩티드는 VL1-L29-VH1-L30-Fc-L31-TNF1-L32-TNF2-L33-TNF3; 또는 VH1-L34-VL1-L35-Fc-L36-TNF1-L37-TNF2-L38-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-L39-VL3-L40-VH3-L41-VH2-L42-Fc; 또는 VH2-L43-VH3-L44-VL3-L45-VL2-L46-Fc로 표시되는 구조를 가지며; 여기서 VL1은 제1 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VL2는 제2 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VL3은 제3 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VH1은 제1 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; VH2는 제2 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; VH3은 제3 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; Fc는 면역글로불린 중쇄 불변 영역 2(CH2), 면역글로불린 중쇄 불변 영역 3(CH3), 및 임의로 면역글로불린 힌지를 포함하는 영역이고; TNF1은 TNFSF 리간드의 제1 세포외 도메인이고; TNF2는 TNFSF 리간드의 제2 세포외 도메인이다. TNF3은 TNFSF 리간드의 제3 세포외 도메인이다. L1-L46는 아미노산 링커이다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-VH1-L2-Fc로 표시되는 구조를 갖고, 제2 폴리펩티드는 VL2-L15-VL3-L16-VH3-L17-VH2-L18-Fc-L19-TNF1-L20-TNF2-L21-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-VH1-L2-Fc로 표시되는 구조를 갖고, 제2 폴리펩티드는 VH2-L22-VH3-L23-VL3-L24-VL2-L25-Fc-L26-TNF1-L27-TNF2-L28-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VH1-L3-VL1-L4-Fc로 표시되는 구조를 갖고, 제2 폴리펩티드는 VL2-L15-VL3-L16-VH3-L17-VH2-L18-Fc-L19-TNF1-L20-TNF2-L21-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VH1-L3-VL1-L4-Fc로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VH2-L22-VH3-L23-VL3-L24-VL2-L25-Fc-L26-TNF1-L27-TNF2-L28-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L5-VH1-L6-Fc-L7-TNF1-L8-TNF2-L9-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고, 제2 폴리펩티드는 VL2-L15-VL3-L16-VH3-L17-VH2-L18-Fc-L19-TNF1-L20-TNF2-L21-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L5-VH1-L6-Fc-L7-TNF1-L8-TNF2-L9-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고, 제2 폴리펩티드는 VH2-L22-VH3-L23-VL3-L24-VL2-L25-Fc-L26-TNF1-L27-TNF2-L28-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VH1-L10-VL1-L11-Fc-L12-TNF1-L13-TNF2-L14-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고, 제2 폴리펩티드는 VL2-L15-VL3-L16-VH3-L17-VH2-L18-Fc-L19-TNF1-L20-TNF2-L21-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VH1-L10-VL1-L11-Fc-L12-TNF1-L13-TNF2-L14-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고, 제2 폴리펩티드는 VH2-L22-VH3-L23-VL3-L24-VL2-L25-Fc-L26-TNF1-L27-TNF2-L28-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L29-VH1-L30-Fc-L31-TNF1-L32-TNF2-L33-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고, 제2 폴리펩티드는 VL2-L39-VL3-L40-VH3-L41-VH2-L42-Fc로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L29-VH1-L30-Fc-L31-TNF1-L32-TNF2-L33-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VH2-L43-VH3-L44-VL3-L45-VL2-L46-Fc로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VH1-L34-VL1-L35-Fc-L36-TNF1-L37-TNF2-L38-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-L39-VL3-L40-VH3-L41-VH2-L42-Fc로 표시되는 구조를 갖는다. 일부 측면에서, 제1 폴리펩티드는 VH1-L34-VL1-L35-Fc-L36-TNF1-L37-TNF2-L38-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-L39-VL3-L40-VH3-L41-VH2-L42-Fc로 표시되는 구조를 갖는다.

[0158] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1, VH1, VL2 및 VH2는 CD3에 특이적으로 결합한다.

[0159] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL2는 SEQ ID NO: 22, 28, 185, 298 및 306 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23, 29, 186, 299 및 307 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24, 30, 187, 300 및 308 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH2는 SEQ ID NO: 19, 25, 182, 294 및 302 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20, 26, 183, 295 및 303 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100%

동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21, 27, 184, 296 및 304 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL2는 SEQ ID NO: 22에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH2는 SEQ ID NO: 19에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL2는 SEQ ID NO: 28에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 29에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 30에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH2는 SEQ ID NO: 25에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 26에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 27에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL2는 SEQ ID NO: 185에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 186에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 187에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH2는 SEQ ID NO: 182에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 183에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 184에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL2는 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH2는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL2는 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH2는 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL2는 SEQ ID NO: 185의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 186의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 187의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH2는 SEQ ID NO: 182의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 183의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 184의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL2는 SEQ ID NO: 298에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 299에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 300에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH2는 SEQ ID NO: 294에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 295에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 296에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL2는 SEQ ID NO: 306에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 307에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 308에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH2는 SEQ ID NO: 302에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 303에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 304에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

[0160] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL2는 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의

VH1 및 VH2는 SEQ ID NO: 43 또는 44에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL2는 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH2는 SEQ ID NO: 43에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL2는 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH2는 SEQ ID NO: 43의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL2는 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH2는 SEQ ID NO: 44에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL2는 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH2는 SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL2는 SEQ ID NO: 297에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH2는 SEQ ID NO: 293에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL2는 SEQ ID NO: 305에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH2는 SEQ ID NO: 301에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0161] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL3 및 VH3은 TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 측면에서, 면역 자극 수용체는 CD28이다. 일부 측면에서, TAA는 cMet, Trop2, CD20, CD19, HER2, HER3, A2AR, APRIL, EGFR, FGFR, BAFF, BAFFR, BCMA, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, DLL3, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, MUC-1, CD133, MUC-16, LAMP1, CD38, PD-L1, CEACAM5, STEAP1 또는 EpCAM이다. 일부 측면에서 TAA는 HER2이다.

[0162] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL3은 SEQ ID NO: 34 또는 40에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35 또는 41에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36 또는 42에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH3은 SEQ ID NO: 31 또는 37에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32 또는 38에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33 또는 39에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL3은 SEQ ID NO: 34에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH3은 SEQ ID NO: 31에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL3은 SEQ ID NO: 40에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 41에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 42에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을

[illegible]

아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 320에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

[0163]

[illegible]

[0164]

일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1, VH1, VL3 및 VH3은 CD3에 특이적으로 결합한다.

[0165]

일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 22, 28, 185, 298 및 306 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1;

[illegible]

합하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 304에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

[0166] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 43 또는 44에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 43에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 44에 대해 적어도 80% 동일성(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 43의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 45의 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 297에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3은 SEQ ID NO: 293에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1 및 VL3은 SEQ ID NO: 305에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH1 및 VH3이 SEQ ID NO: 301에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0167] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2 및 VH2는 TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 측면에서, 면역 자극 수용체는 CD28이다. 일부 측면에서, TAA는 cMet, Trop2, CD20, CD19, HER2, HER3, A2AR, APRIL, EGFR, FGFR, BAFF, BAFFR, BCMA, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, DLL3, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, MUC-1, CD133, MUC-16, LAMP1, CD38, PD-L1, CEACAM5, STEAP1 또는 EpCAM이다. 일부 측면에서 TAA는 HER2이다.

[0168] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 34 또는 40에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35 또는 41에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36 또는 42에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 31 또는 37에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32 또는 38에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33 또는 39에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL2는 SEQ ID NO: 34에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH2는 SEQ ID NO: 31에 대해

[illegible]

적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0170]

일부 측면에서, CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL은 SEQ ID NO: 22, 28, 185, 298 및 306 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23, 29, 186, 299 및 307 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24, 30, 187, 300 및 308 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL은 SEQ ID NO: 22에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL은 SEQ ID NO: 28에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 29에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 30에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL은 SEQ ID NO: 185에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 186에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 187에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다. 일부 측면에서, CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL은 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL은 SEQ ID NO: 185의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 186의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 187의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL은 SEQ ID NO: 298에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 299에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 300에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL은 SEQ ID NO: 306에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 307에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 308에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

[0171]

일부 측면에서, CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH는 SEQ ID NO: 19, 25, 182, 294 및 302 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20, 26, 183, 295 및 303 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21, 27, 184, 296 및 304 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH는 SEQ ID NO: 19에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH는 SEQ ID NO: 25에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 26에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 27에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH는 SEQ ID NO: 182에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 183에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 184에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "적어도 90% 동일성"은 인용된 참조 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 동일성을 포함한다. 일부 측면에서, CD3에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21의

서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 272에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH는 SEQ ID NO: 278에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 279에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 280에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH는 SEQ ID NO: 286에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 287에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 288에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH는 SEQ ID NO: 310에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 312에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 313에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VH는 SEQ ID NO: 318에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 319에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 320에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

[illegible]

어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, TAA 또는 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 VH는 SEQ ID NO: 285에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL은 SEQ ID NO: 313에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, TAA 또는 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 VH는 SEQ ID NO: 309에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL은 SEQ ID NO: 321에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고/하거나, TAA 또는 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 VH는 SEQ ID NO: 317에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0176] 의심의 여지를 피하기 위해, 본원에 기재된 모든 항원 결합 폴리펩티드 복합체 구조는 본원에 기재된 임의의 하나 이상의 표적과 조합될 수 있다. 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체에 대한 표적에 관한 본원의 임의의 및 모든 개시내용은 일반적으로 적용가능하며, 본원에 기재된 각각의 그리고 모든 항원 결합 폴리펩티드 복합체에 대해 동일하게 그리고 조건 없이 적용된다. 의심의 여지를 피하기 위해, 본원에 기재된 각각의 모든 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 VL1, VL2, VL3, VL4, VH1, VH2, VH3, 및/또는 VH4는 상기 특히 바람직한 표적 중 어느 하나에 독립적으로 결합할 수 있다.

[0177] 일부 측면에서, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체 구조의 TNF1, TNF2 및 TNF3은 각각 TNFSF 리간드의 세포외 도메인이다. 일부 측면에서, TNF1, TNF2 및 TNF3은 OX40L(TNFSF4), 4-1BBL(TNFSF9), TNF, TNF 관련 세포사멸 유도 리간드(TRAIL), CD40L(TNFSF5), CD27L(TNFSF7), CD30L(TNFSF8), FasL(TNFSF6), EDAM, LTA(TNFSF1), LTB(TNFSF3), CD153(TNFSF8), RANKL(TNFSF11), TWEAK(TNFSF12), APRIL(TNFSF13), BAFF(TNFSF13B), LIGHT(TNFSF14), VEGI(TNFSF15) 및 GITRL(TNFSF18)으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 측면에서, TNF1, TNF2 및 TNF3은 각각 OX40L 또는 4-1BBL이다. 일부 측면에서, TNF1, TNF2 및 TNF3은 각각 OX40L이다. 일부 측면에서, TNF1, TNF2 및 TNF3은 각각 4-1BBL이다. 일부 측면에서, TNF1, TNF2 및 TNF3은 각각 OX40L, OX40L 및 4-1BBL이다. 일부 측면에서, TNF1, TNF2 및 TNF3은 각각 OX40L, 4-1BBL 및 4-1BBL이다. 일부 측면에서, TNF1, TNF2 및 TNF3은 각각 OX40L, 4-1BBL 및 OX40L이다. 일부 측면에서, TNF1, TNF2 및 TNF3은 각각 4-1BBL, OX40L 및 4-1BBL이다. 일부 측면에서, TNF1, TNF2 및 TNF3은 각각 4-1BBL, 4-1BBL 및 OX40L이다. 사용될 수 있는 예시적인 OX40L 및 4-1BBL 서열은 공지되어 있으며 본원에 추가로 기재되어 있다.

[0178] 일부 측면에서, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 SEQ ID NO: 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 178, 180, 및 188-228 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 복합체는 SEQ ID NO: 58에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94% 이상, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 복합체는 SEQ ID NO: 64에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94% 이상, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 복합체는 SEQ ID NO: 118에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94% 이상, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 복합체는 SEQ ID NO: 120에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94% 이상, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴

75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 179, 181 및 229-268 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 복합체는 SEQ ID NO: 59에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94% 이상, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 복합체는 SEQ ID NO: 65에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94% 이상, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 복합체는 SEQ ID NO: 119에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94% 이상, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 복합체는 SEQ ID NO: 121에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94% 이상, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 복합체는 SEQ ID NO: 177에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94% 이상, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 복합체는 SEQ ID NO: 179에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94% 이상, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 복합체는 SEQ ID NO: 181에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94% 이상, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 복합체는 SEQ ID NO: 59의 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 아미노산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 복합체는 SEQ ID NO: 65의 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 아미노산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 복합체는 SEQ ID NO: 119의 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 아미노산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 복합체는 SEQ ID NO: 121의 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 아미노산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 복합체는 SEQ ID NO: 177의 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 아미노산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 복합체는 SEQ ID NO: 179의 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 아미노산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 측면에서, 항원 결합 복합체는 SEQ ID NO: 181의 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 아미노산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다.

[0183] 항원 결합 복합체 및 이러한 서열을 함유하는 항체의 제조, 스크리닝 및 엔지니어링을 위한 분자 생물학 및 조합 DNA 방법은 잘 공지되어 있고, 예를 들어 문헌 [Adair et al. Human Antibodies, 5(1-2):41-47, 1994; Kostelny et al., J Immunol, 148(5):1547-1553(1992), Shiraiwa et al., Methods, 154:10-20, 2019]; 및 [Zola, "Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques," 1987, 1st Ed., CRC Press]; 및 [Steinitz, Human Antibodies, 18(1-2):1-10, 2009]에 기재되어 있다.

[0184] 일부 측면에서, 본 개시내용의 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편)는 면역글로불린 힌지를 포함한다. 일부 측면에서, 면역글로불린 힌지는 상부 힌지 영역, 중간 힌지 영역, 하부 힌지 영역, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0185] 본원에서 사용되는 바와 같이, 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편), 또는 "특이적으로 결합"하는 그의 영역 또는 도메인은 그의 항원 결합 도메인에 의한 에피토프와의 그의 회합을 지칭하고, 결합은 항원 결합 도메인과 에피토프 사이의 일부 상보성을 수반한다. 에피토프에 대한 특이적 결합은 무작위적이고 관련되지 않은 에피토프에 결합하는 것보다 더 쉽게 항원 결합 도메인을 통해 해당 에피토프에 결합하는 경우 발생한다.

[0186] 본원에서 사용되는 바와 같이, "에피토프"는 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결

합 단편)가 특이적으로 결합할 수 있는 항원의 국소화된 영역을 지칭한다. 에피토프는, 예를 들어, 폴리펩티드의 인접 아미노산(선형 또는 인접 에피토프)일 수 있거나, 또는 에피토프는, 예를 들어, 폴리펩티드 또는 폴리펩티드들의 2개 이상의 비-인접 영역(입체형태적, 비-선형, 불연속적, 또는 비-인접 에피토프)으로부터 합쳐질 수 있다. 일부 측면에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 결합하는 에피토프는 예를 들어 NMR 분광법, X-선 회절 결정학 연구, ELISA 검정, 질량 분광법과 커플링된 수소/중수소 교환(예를 들어, 액체 크로마토그래피 전 기분무 질량 분광법), 어레이-기반 올리고-펩티드 스캐닝 검정, 및/또는 돌연변이유발 맵핑(예를 들어, 부위-지정 돌연변이유발 맵핑)에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 문헌 Gieg u R et al.,(1994) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 50(Pt 4): 339-350; McPherson A(1990) Eur J Biochem 189: 1-23; Chayen NE(1997) Structure 5: 1269-1274; McPherson A(1976) J Biol Chem 251: 6300-6303; Meth Enzymol(1985) volumes 114 & 115, eds Wyckoff HW et al., U.S. Pub. No. 2004/0014194), Bricogne G(1993) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49(Pt 1): 37-60, Bricogne G(1997) Meth Enzymol 276A: 361-423, ed Carter CW, and Roversi et al.,(2000) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 56(Pt 10): 1316-1323(X-ray diffraction crystallography studies); and Champe et al.,(1995) J Biol Chem 270: 1388-1394 및 Cunningham BC & Wells JA(1989) Science 244: 1081-1085(mutagenesis mapping)을 참조한다.

[0187] 특이적 결합은 "결합 친화성"으로 나타낼 수 있다. "결합 친화성"은 결합 쌍(예를 들면, 항체와 항원)의 구성원 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 고유 결합 친화성을 지칭한다. 결합 친화도는 평형 해리 상수(K_D)를 포함하지만 이에 국한되지 않는 당업계에 공지된 여러 방식으로 측정 및/또는 표현될 수 있다. K_D 는 k_{off}/k_{on} 의 몫으로부터 계산되며, 여기서 k_{on} 은, 예를 들어, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 항원에 대한 회합 속도 상수를 지칭하고, k_{off} 는, 예를 들어, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 항원으로부터의 해리를 지칭한다. k_{on} 및 k_{off} 는 당업자에게 공지된 기술, 예컨대 Octet BLI, BIAcore® 또는 KinExA에 의해 결정될 수 있다.

[0188] 따라서, 일부 측면에서, 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다.

[0189] 일부 측면에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 약 10 μ M 내지 약 1pM의 평형 해리 상수(K_D)로 항원에 특이적으로 결합한다. 일부 측면에서, 항체는 IgG, IgM, IgE, IgA 또는 IgD이다. 예를 들어, 항체는 IgG일 수 있다. 예를 들어, 항체는 IgM일 수 있다. 예를 들어, 항체는 IgE일 수 있다. 예를 들어, 항체는 IgA일 수 있다. 예를 들어, 항체는 IgD일 수 있다. 일부 측면에서, IgG는 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4이다. 예를 들어, 항체는 IgG1일 수 있다. 예를 들어, 항체는 IgG2일 수 있다. 예를 들어, 항체는 IgG3일 수 있다. 예를 들어, 항체는 IgG4일 수 있다. 일부 측면에서, 항원 결합 단편은 Fab, scFab, Fab', F(ab')₂, Fv 또는 scFv이다. 예를 들어, 항원 결합 단편은 Fab일 수 있다. 예를 들어, 항원 결합 단편은 scFab일 수 있다. 예를 들어, 항원 결합 단편은 Fab'일 수 있다. 예를 들어, 항원 결합 단편은 F(ab')₂일 수 있다. 예를 들어, 항원 결합 단편은 Fv일 수 있다. 예를 들어, 항원 결합 단편은 scFv일 수 있다. 일부 측면에서, 항체는 인간 항체 또는 인간화된 항체이다. 예를 들어, 항체는 인간일 수 있다. 예를 들어, 항체는 인간화될 수 있다.

[0190] 일부 측면에서, 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편)는 2가, 3가, 4가, 5가 또는 6가이다.

[0191] III. 아미노산 링커

[0192] 일부 측면에서, 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편)는 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 하나 이상의 영역 사이에 하나 이상의 아미노산 링커를 포함한다.

[0193] 본원에서 사용되는 바와 같이, "아미노산 링커"는 폴리펩티드 영역과 연관된 기능을 유지하거나 촉진하는 안정한 방식으로 본원에 기재된 본 발명의 2개의 폴리펩티드 영역을 결합할 수 있는 단일 아미노산 또는 짧은 아미노산 서열을 지칭한다. 일부 측면에서, 아미노산 링커는 본원에서 약어 "L" 또는 "L" 및 숫자(예를 들어, L1은 제1 링커를 나타내고, L2는 제2 링커를 나타내고, L3은 제3 링커를 나타내고, L4는 제4 링커를 나타내고, L5는 제5 링커를 나타내고, L6은 제6 링커를 나타내고, L7은 제7 링커를 나타내고, L8은 제8 링커를 나타내는 등)에 의해 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 구조로 나타내어진다. 일부 측면에서, 이러한 열거된 아미노산 링커(예를 들어, L1)는 임의의 다른 열거된 아미노산 링커(예를 들어, L2 등)와 동일하거나 상이한 서열을 가질 수 있다. 또한, 일부 측면에서, 하나의 폴리펩티드에 존재하는 열거된 아미노산 링커(예를 들어, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체 구조의 제1 폴리펩티드 상의 L1)는 다른 폴리펩티드에 존재하는 동일한 열거된 아미노산 링커(예를 들어, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체 구조의 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 상의 L

1)와 동일하거나 상이한 서열을 가질 수 있다.

- [0194] 일부 측면에서, 아미노산 링커는 0개 아미노산 내지 약 50개 아미노산(예를 들어, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체 구조의 제1, 제2, 제3, 제4 등의 폴리펩티드의 L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7, L8, L9, L10, L11, L12, L13, L14, L15, L16, L17, L18, L19, L20 등 내지 L96 이상 중 하나 이상)의 길이를 갖는다. 일부 측면들에서, 아미노산 링커는 그 길이로 0 아미노산 내지 약 45 아미노산, 0 아미노산 내지 약 40 아미노산, 0 아미노산 내지 약 35 아미노산, 0 아미노산 내지 약 30 아미노산, 0 아미노산 내지 약 25 아미노산, 0 아미노산 내지 약 20 아미노산, 0 아미노산 내지 약 15 아미노산, 0 아미노산 내지 약 10 아미노산, 0 아미노산 내지 약 5 아미노산, 약 1 아미노산 내지 약 45 아미노산, 약 1 아미노산 내지 약 40 아미노산, 약 1 아미노산 내지 약 35 아미노산, 약 1 아미노산 내지 약 30 아미노산, 약 1 아미노산 내지 약 25 아미노산, 약 1 아미노산 내지 약 20 아미노산, 1 아미노산 내지 약 15 아미노산, 약 1 아미노산 내지 약 10 아미노산, 약 1 아미노산 내지 약 5 아미노산, 약 5 아미노산 내지 약 50 아미노산, 약 5 아미노산 내지 약 45 아미노산, 약 5 아미노산 내지 약 40 아미노산, 약 5 아미노산 내지 약 35 아미노산, 약 5 아미노산 내지 약 30 아미노산, 약 5 아미노산 내지 약 25 아미노산, 약 5 아미노산 내지 약 20 아미노산의 길이를 가진다 약 5 아미노산 내지 약 15 아미노산, 약 5 아미노산 내지 약 10 아미노산, 약 10 아미노산 내지 약 50 아미노산, 약 10 아미노산 내지 약 45 아미노산, 약 10 아미노산 내지 약 40 아미노산, 약 10 아미노산 내지 약 35 아미노산, 약 10 아미노산 내지 약 30 아미노산, 약 10 아미노산 내지 약 25 아미노산, 약 10 아미노산 내지 약 20 아미노산, 약 10 아미노산 내지 약 15 아미노산, 약 15 아미노산 내지 약 50 아미노산, 약 15 아미노산 내지 약 45 아미노산, 약 15 아미노산 내지 약 40 아미노산, 약 15 아미노산 내지 약 35 아미노산, 약 15 아미노산 내지 약 30 아미노산, 약 15 아미노산 내지 약 25 아미노산, 약 15 아미노산 내지 약 20 아미노산, 약 20 아미노산 내지 약 50 아미노산, 약 20 아미노산 내지 약 45 아미노산, 약 20 아미노산 내지 약 40 아미노산, 약 20 아미노산 내지 약 35 아미노산, 약 20 아미노산 내지 약 30 아미노산, 약 20 아미노산 내지 약 25 아미노산, 약 25 아미노산 내지 약 50 아미노산, 약 25 아미노산 내지 약 45 아미노산, 약 25 아미노산 내지 약 40 아미노산, 약 25 아미노산 내지 약 35 아미노산, 약 25 아미노산 내지 약 30 아미노산, 약 30 아미노산 내지 약 50 아미노산, 약 30 아미노산 내지 약 45 아미노산, 약 30 아미노산 내지 약 40 아미노산, 약 30 아미노산 내지 약 35 아미노산, 약 40 아미노산 내지 약 50 아미노산, 약 40 아미노산 내지 약 45 아미노산, 또는 약 45 아미노산 내지 약 50 아미노산의 길이를 갖는다.
- [0195] 일부 측면에서, 아미노산 링커는 0개의 아미노산(즉, 아미노산 링커가 존재하지 않음) 또는 약 1, 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20, 약 25, 약 30, 약 35, 약 40, 약 45, 또는 약 50개의 아미노산(예를 들어, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체 구조의 제1, 제2, 제3, 제4 등의 폴리펩티드의 L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7, L8, L9, L10, L11, L12, L13, L14, L15, L16, L17, L18, L19, L20 등 내지 L96 등 중 하나 이상)을 갖는다.
- [0196] 일부 측면에서, 아미노산 링커는 하나 이상의 아미노산 잔기(예를 들어, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체 구조의 제1, 제2, 제3, 제4 등의 폴리펩티드 중 L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7, L8, L9, L10, L11, L12, L13, L14, L15, L16, L17, L18, L19, L20 등 내지 L96 이상 중 하나 이상)로 이루어진다. 일부 측면에서, 아미노산 잔기는 글리신, 알라닌, 세린, 트레오닌, 시스테인, 아스파라긴, 글루타민, 류신, 이소류신, 발린, 프롤린, 히스티딘, 아스파르트산, 글루탐산, 라이신, 아르기닌, 메티오닌, 페닐알라닌, 트립토판 및 티로신으로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0197] 일부 측면에서, 본 발명의 아미노산 링커는 비-면역원성이다. 일부 측면에서, 비-면역원성 링커는 세린, 글리신 및/또는 알라닌 잔기로 구성되거나, 세린 및/또는 글리신 잔기로 구성된다. 일부 측면에서, 본 발명의 아미노산 링커는 T세포 에피토프 또는 공통 T 세포 에피토프를 함유하지 않는다.
- [0198] 일부 측면에서, 아미노산 링커는 알라닌, 시스테인, 글리신, 이소류신, 류신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 트립토판, 티로신, 발린의 하나 이상의 잔기(예를 들어, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체 구조의 제1, 제2, 제3, 제4 등의 폴리펩티드의 L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7, L8, L9, L10, L11, L12, L13, L14, L15, L16, L17, L18, L19, L20 등 내지 L96 이상 중 하나 이상)로 이루어진다.
- [0199] 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편)와 함께 사용될 수 있는 아미노산 링커 서열은 잘 알려져 있고, 일상적인 분자 생물학 및 재조합 DNA 기술을 사용하여 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체로 통합될 수 있다. 예를 들어, 문헌 Chen et al., Adv Drug Deliv Rev., 65(10):1357-1369, 2013; 및 Chichili et al., Protein Sci., 22(2):153-167, 2013을 참조한다.
- [0200] 일부 측면에서, 아미노산 링커(예를 들어, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체 구조의 제1, 제2, 제3,

제4 등의 폴리펩티드의 L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7, L8, L9, L10, L11, L12, L13, L14, L15, L16, L17, L18, L19, L20 등 내지 L96 이상 중 하나 이상)는 SEQ ID NO:3-10 및 148-175 중 어느 하나의 서열 또는 SEQ ID NO:3-10 및 148-175에 대해 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 서열을 갖는다. 일부 측면에서, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 3-10 및 148-175 중 어느 하나의 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 10에 대해 적어도 80%(예컨대, 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 10의 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 3에 대해 적어도 80%(예컨대, 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 아미노산 링커는 SEQ ID NO:3의 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

[0201] 일부 측면에서, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 폴리펩티드 구조 내 VH와 VL 사이의 아미노산 링커는 GGGSGGGSGGGSGSASGSG(SEQ ID NO: 168)이거나 또는 SEQ ID NO: 168에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 서열이다. 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 폴리펩티드 구조 내 VH와 VL 사이의 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 168의 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

[0202] 일부 측면에서, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 폴리펩티드 구조에서 Fc와 TNFSF 리간드의 제1 세포의 도메인 사이의 아미노산 링커는 GGSGGGSGGG(SEQ ID NO: 149), GGSGSGGGSGSSG(SEQ ID NO: 150), 또는 GGSGGGSGGLREGPELSPDDPAGLLDLRQG(SEQ ID NO: 151) 또는 SEQ ID NO: 149-151 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 서열이다. 일부 측면에서, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 149와 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 150과 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 151과 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 149의 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 150의 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 151의 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

[0203] 일부 측면에서, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 폴리펩티드 구조에서 VH와 Fc 사이 또는 CH1과 Fc 사이의 링커는 ASGGSG(SEQ ID NO: 161) 또는 SEQ ID NO: 161에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일성을 갖는 서열이다. 일부 측면에서, 아미노산 링커는 SEQ ID NO: 161의 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

[0204] IV. 검출 가능한 표지 및 약물 접합체

[0205] 일부 측면에서, 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편)는 하나 이상의 검출 가능한 표지를 포함한다. 검출 가능한 표지를 함유하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편)는 치료, 진단, 영상화(예를 들어, 방사선 영상화), 또는 기본 연구 응용에 유용하다.

[0206] 일부 측면에서, 검출 가능한 표지는 방사성 표지이다. 방사성 표지의 예는 이에 제한되지는 않으나, 동위원소 ³H, ¹⁴C, ³²P, ³⁵S, ³⁶Cl, ⁵¹Cr, ⁵⁷Co, ⁵⁸Co, ⁵⁹Fe, ⁹⁰Y, ¹²¹I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹³¹I, ¹¹¹In, ¹¹⁷Lu, ²¹¹At, ¹⁹⁸Au, ⁶⁷Cu, ²²⁵Ac, ²¹³Bi, ⁹⁹Tc, ¹⁸⁶Re 및 ⁸⁹Zr를 포함한다.

[0207] 일부 측면에서, 검출 가능한 표지는 화학발광 표지, 형광 표지, 효소, 비오틴 또는 이들의 조합이다.

[0208] 일부 측면에서, 검출 가능한 표지는 펩티드 태그이다. 일부 측면에서, 상기 펩티드 태그는 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 복합체의 N-말단에 위치한다. 일부 측면에서, 상기 펩티드 태그는 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 복합체의 C-말단에 위치한다. 일부 측면에서, 펩티드 태그는 친화성 태그 또는 융합 태그이다.

- [0209] 일부 측면에서, 검출 가능한 표지는 폴리히스티딘 태그, 폴리아르기닌 태그, 글루타티온-S-트랜스퍼라제(GST), 말토스 결합 단백질(MBP), 키틴 결합 단백질(CBP), Strep-태그, 티오레독신(TRX), 폴리(NANP), FLAG 태그, ALFA-태그, V5-태그, Myc-태그, 헤마글루티닌(HA) 태그, 스팟 태그, T7 태그, NE 태그 또는 녹색 형광 단백질(GFP) 또는 이들의 조합이다. 일부 측면에서, 폴리히스티딘 태그는 약 4 내지 약 10개의 히스티딘 잔기로 구성된다. 일부 측면에서, 폴리히스티딘 태그는 약 4개, 약 5개, 약 6개, 약 7개, 약 8개, 약 9개, 또는 약 10개 히스티딘 잔기로 구성된다.
- [0210] 검출 가능한 표지의 추가 예 및 검출 가능한 표지를 폴리펩티드 내로 도입하기 위한 방법은 공지되어 있으며, 통상적인 화학적, 분자생물학 및 재조합 DNA 기술을 포함한다. 예를 들어, 문헌 Hnatowich et al., Science, 220(4597):613-615, 1983; Yao et al., Int. J. Mol. Sci., 17(2):194, 2016; Kimple et al., Curr. Protoc. Protein Sci., 73:Unit 9.9, 2013; Sambrook J, Fritsch EF. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press; Cold Spring Harbor, N.Y.: 1989; Molecular Cell Biology, 4th edition, Section 3.5, Purifying, Detecting and Characterizing Proteins; 및 Mahmoodi et al., Cogent Biology, 5(1):DOI: 10/1080/23312025.2019.1665406을 참조한다.
- [0211] 일부 측면에서, 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편)는 항체-약물 접합체(ADC)로서 작용제에 접합된다. 본 발명의 ADC는 치료, 진단, 영상화(예: 방사선 영상화) 또는 기본 연구 응용에 유용하다.
- [0212] 일부 측면에서, 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편)는 전형적으로 링커를 통해 세포독성제, 면역조절제, 영상화제 또는 치료 단백질에 접합된다. 링커는 절단가능한 단위를 포함할 수 있거나 또는 절단가능하지 않을 수 있다. 절단가능한 단위는 예를 들어, 이황화물 교환을 통해 절단가능한 링커를 함유하는 이황화물, 산성 pH에서 절단가능한 산-불안정성 링커, 및 가수분해효소, 에스테라제, 펩티다제, 및 글루코코니다제에 의해 절단가능한 링커(예를 들어, 펩티드 링커 및 글루코코나이드 링커)를 포함한다. 절단 불가능한 링커는 단백질 분해 항체 분해 메커니즘을 통해 약물을 방출하는 것으로 여겨진다.
- [0213] ADC를 제조하는 방법은 공지되어 있으며, 이에 제한되지는 않으나, 티올, 아마이드, 알데히드 또는 아지드를 통한 접합뿐만 아니라 기타 일상적인 화학, 분자 생물학 및 재조합 DNA 기술을 포함한다. 예를 들어, 문헌 Yao et al., Int. J. Mol. Sci., 17(2):194, 2016; Sambrook J, Fritsch EF. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press; Cold Spring Harbor, N.Y.: 1989; Molecular Cell Biology, 4th edition, Section 3.5, Purifying, Detecting and Characterizing Proteins; 및 Mahmoodi et al., Cogent Biology, 5(1):DOI: 10/1080/23312025.2019.1665406을 참조한다.
- [0214] **V. 변형들**
- [0215] 일부 측면에서, 본 발명은 효과기 기능 돌연변이 또는 반감기 연장 돌연변이를 포함하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편)에 관한 것이다.
- [0216] 효과기 기능은 체액성 면역 반응의 중요한 부분이며 선천성 면역과 적응성 면역 사이의 연결을 형성한다. 대부분의 효과기 기능은 보체 단백질 및 특수 Fc 수용체와 상호작용할 수 있는 항체의 Fc 영역을 통해 유도된다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "효과기 기능 돌연변이"는, 예를 들어, 특정 Fc 수용체에 대한 Fc의 결합 친화도를 증가시키거나 항체-의존성 세포 세포독성(ADCC) 활성을 증가시키는, 효과기 기능을 증가 또는 감소시키는, 전형적으로 Fc 영역에서의 아미노산 서열의 변화를 지칭한다.
- [0217] 약제학적 활성 물질의 "반감기"는 일단 신체에 투여된 물질의 양이 절반으로 감소하는 데 걸리는 시간이다. 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 "반감기 연장 돌연변이(half-life extension mutation)"는 전형적으로 Fc 영역에서 아미노산 서열의 변화를 의미하며, 이는(예를 들어, Fc 수용체 결합 친화도를 증가시키고, Fc 및 Fc 수용체에 대한 오프-레이트를 늦추고, 및/또는 증가된 시알릴화에 의해) 항원 결합 폴리펩티드 복합체의 반감기를 증가시킨다.
- [0218] 기능을 증가시키는 효과기 기능 돌연변이의 예는 이에 제한되지는 않으나, EU 번호 체계에 기초한 Fc 영역에서의 다음의 치환을 포함한다: S298A/E333A/K334A, S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, and G236A/S239D/I332E. 기능을 감소시키는 효과기 기능 돌연변이의 예는 이에 제한되지는 않으나, EU 번호 체계에 기초한 Fc 영역에서의 다음의 치환을 포함한다: N297A 및 L234A/L235A. 효과기 기능 돌연변이, 반감기 연장 돌연변이 및 이를 아미노산 서열에 통합시키는 방법의 추가 예는 공지되어 있으며, 예를 들어 문헌 Saunders, "Conceptual Approaches

to Modulating Antibody Effector Functions and Circulation Half-Life," Front Immunol. June 7, 2019에 기재되어 있다.

- [0219] 일부 측면에서, 본 발명은 하나 이상의 노브-인투-홀(knob-into-hole) 변형을 포함하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 그의 항원 결합 단편)에 관한 것이다.
- [0220] 본원에서 사용되는 용어 "노브-인투-홀(knob-into-hole) 변형"은 이중이량체화를 촉진하기 위해 2개의 폴리펩티드의 쌍을 유도하는 유전적 변형을 지칭한다. 일부 측면에서, 변형은 두 폴리펩티드가 상호작용하는 경계면에서 하나의 폴리펩티드에 돌기(노브)를 도입하고 다른 폴리펩티드에 공동(홀)을 도입한다. 일부 측면에서, 노브-인투-홀(knob-into-hole) 변형은 홀 변형만을 도입함으로써, 예를 들어, 아미노산 잔기를 원래의 아미노산 잔기보다 더 작은 측쇄로 대체함으로써(예를 들어, 하나 이상의 세린, 트레오닌, 발린 또는 알라닌 잔기 또는 이들의 조합의 치환으로) 생성될 수 있다. 일부 측면에서, 노브-인투-홀(knob-into-hole) 변형은 노브 변형만을 도입함으로써, 예를 들어, 아미노산 잔기를 원래의 아미노산 잔기보다 더 큰 측쇄로 대체함으로써(예를 들어, 하나 이상의 트립토판 또는 티로신 잔기 또는 이들의 조합의 치환으로) 생성될 수 있다.
- [0221] 일부 양태에서, 노브-인투-홀(knob-into-hole) 변형은 2개의 Fc 영역의 결합 계면, 2개의 CH2 영역의 결합 계면, 2개의 CH3 영역의 결합 계면, CL 영역과 CH1 영역의 결합 계면, 또는 VH 영역과 VL 영역의 결합 계면에 있다. 예를 들어 문헌 U.S. Pub. No. 2007/0178552, Int'l Pub. No. WO 96/027011, Int'l Pub. No. WO 98/050431 and Zhu et al., Protein Science 6:781-788, 1987을 참조한다.
- [0222] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 이상의 노브-인투-홀 변형을 포함한다.
- [0223] 노브-인투-홀 변형은 익히 공지되어 있으며, 일상적인 분자 생물학 및 재조합 DNA 기술을 사용하여 본 발명의 항원 결합 폴리펩티드 복합체에 통합될 수 있다. 예를 들어, 문헌 U.S. Pub. No. 2003/0078385; Int'l Pub. No. WO 96/027011; Ridgway et al., Protein Eng., 9:617-621, 1996; and Merchant et al., Nat. Biotechnol., 16:677-681, 1998을 참조한다.
- [0224] 일부 측면에서, 노브-인투-홀 변형은 아미노산 치환이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 이러한 치환은 단백질 데이터뱅크(Protein Data Bank, PDB)에서의 넘버링에 대응하는 카바트의 EU 번호 체계를 기초로 기재된다.
- [0225] 일부 측면에서, 노브-인투-홀 변형은 EU 번호 체계에 기초한 S354C 및/또는 T366W의 노브 치환이다.
- [0226] 일부 측면에서, 노브-인투-홀 변형은 EU 번호 체계에 기초하여 Y349C, T366S, L368A, Y407V, L234A, L235A, P329A, M428L, N433S, M252Y, S254T, T256E 또는 이들의 임의의 조합의 홀 치환이다.
- [0227] 일부 측면에서, 노브-인투-홀 변형은 EU 번호 체계에 기초한 Y349C, T366S, L368A 및 Y407V의 홀 치환이다. 일부 측면에서, 노브-인투-홀 변형은 EU 번호 체계에 기초한 L234A, L235A 및 P329A의 홀 치환이다. 일부 측면에서, 노브-인투-홀 변형은 EU 번호 체계에 기초한 L234A 및 L235A의 노브 치환이다. 일부 측면에서, 노브-인투-홀 변형은 EU 번호 체계에 기초한 M428L 및 N433S의 노브 치환이다. 일부 측면에서, 노브-인투-홀 변형은 EU 번호 체계에 기초한 M252Y, S254T 및 T256E의 노브 치환이다.
- [0228] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 IgG1 또는 IgG4 항체이고, 노브-인투-홀 변형은 S354C 및 T366W의 노브 치환 및 Y349C, T366S, L368A 및 Y407V의 홀 치환이다.
- [0229] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 IgG1 또는 IgG4 항체이고, 노브-인투-홀 변형은 L234A, L235A 및 P329A의 홀 치환이다.
- [0230] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 IgG1 또는 IgG4 항체이고, 노브-인투-홀 변형은 L234A 및 L235A의 홀 치환이다.
- [0231] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 IgG1 또는 IgG4 항체이고, 노브-인투-홀 변형은 M428L 및 N433S의 홀 치환이다.
- [0232] 일부 측면에서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 IgG1 또는 IgG4 항체이고, 노브-인투-홀 변형은 M252Y, S254T 및 T256E의 홀 치환이다.
- [0233] **VI. 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 및 단백질 생산 방법**
- [0234] 일부 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 그의 항원 결합

단편)의 일부를 코딩하는 폴리펩티드에 관한 것이다.

- [0235] 일부 측면에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 1-228 및 269-324 중 하나 이상의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 1-228 및 269-324 중 하나 이상에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94% 이상, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 폴리펩티드에 관한 것이다. 일부 측면에서, 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO: 58에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO: 64에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO: 118에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO: 120에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO: 176에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO: 178에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO: 180에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO: 1-228 및 269-324 중 하나 이상의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO: 58의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO: 64의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO: 118의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO: 120의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO: 176의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO: 178의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO: 180의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다.
- [0236] 일부 측면에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 12-18, 58-147, 178, 180, 188-228 및 269-324 중 하나 이상의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 12-18, 58-147, 178 및 180 중 하나 이상에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된 폴리펩티드에 관한 것이다. 일부 측면에서, 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO: 12-18, 58-147, 178, 180, 188-228 및 269-324 중 하나 이상의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다.
- [0237] 일부 측면에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 178, 180, 188-228 및 269-324 중 하나 이상의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 178, 180, 188-228 및 269-324 중 하나 이상에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 폴리펩티드에 관한 것이다. 일부 측면에서, 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO: 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 178, 180, 188-228 및 269-324 중 하나 이상의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다.
- [0238] 일부 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편)의 일부를 코딩하는 폴리뉴클레오티드에 관한 것이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "폴리뉴클레오티드"는 DNA 및 RNA(예를 들어, mRNA)를 포함한다.
- [0239] 일부 측면에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 1-175 및 229-268 중 하나 이상의 폴리뉴클레오티드 서열 또는 SEQ ID NO: 1-175 및 229-268 중 하나 이상에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적

어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이로 이루어진 폴리뉴클레오타이드에 관한 것이다. 일부 측면에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 1-175 및 229-268 중 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에 관한 것이다. 일부 측면에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 SEQ ID NO: 59에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 SEQ ID NO: 65에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 SEQ ID NO: 119에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 SEQ ID NO: 121에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 SEQ ID NO: 177에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 SEQ ID NO: 179에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 SEQ ID NO: 181에 대해 적어도 80%(예컨대 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일성을 갖는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 SEQ ID NO: 59의 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 SEQ ID NO: 65의 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 SEQ ID NO: 119의 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 SEQ ID NO: 121의 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 SEQ ID NO: 177의 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 SEQ ID NO: 179의 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 측면에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 SEQ ID NO: 181의 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

[0240] 일부 측면에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 179, 181, 및 229-268 중 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 서열 또는 SEQ ID NO: 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 179, 181 및 229-268 중 하나 이상에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이로 이루어진 폴리뉴클레오타이드에 관한 것이다. 일부 측면에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 179, 181 및 229-268 중 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 이로 이루어진 폴리뉴클레오타이드에 관한 것이다.

[0241] 일부 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터에 관한 것이다.

[0242] 일부 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 및/또는 벡터를 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다.

[0243] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "숙주 세포"는 임의의 유형의 세포, 예를 들어, 1차 세포, 배양 중인 세포, 또는 세포주로부터의 세포일 수 있다. 일부 측면에서, 용어 "숙주 세포"는 외래 유전자를 함유하는 세포[예를 들어, 유전자 전달에 적용되거나 유전자를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, DNA 또는 mRNA)로 형질감염된 세포] 및 이러한 세포의 자손 또는 잠재적 자손을 지칭한다. 이러한 세포의 자손은, 예를 들어, 후속 세대 또는 숙주 세포 계능 내로의 핵산 분자의 통합에서 발생할 수 있는 돌연변이 또는 환경적 영향으로 인해, 핵산 분자로 형질감염된 모 세포와 동일하지 않을 수 있다.

[0244] 당업자에게 익히 공지된 방법은 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, CDR, VH, VL, scFv, Fab, scFab, 중쇄 또는 경쇄 코딩 서열 및 적절한 전사 및 번역 제어 신호)를 코딩하는 벡터를 작제하는데 사용될 수 있다. 이들

방법은, 예를 들어, 시험관내 재조합 DNA 기법, 합성 기법 및 생체내 유전자 재조합을 포함한다.

[0245] 벡터는 종래 기술에 의해 숙주 세포로 전달될 수 있고, 이어서 생성된 세포를 종래 기술에 의해 배양하여, 예를 들어 6개의 CDR, VH, VL, scFv, Fab, scFab, 중쇄 또는 경쇄, 또는 그의 도메인을 포함하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체를 생성할 수 있다. 따라서, 숙주 세포에서 이러한 서열의 발현을 위해 프로모터에 작동가능하게 연결된, 6개의 CDR, VH, VL, scFv, Fab, scFab, 중쇄 또는 경쇄, 또는 그의 도메인을 포함하는, 예를 들어, 이들을 포함하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 함유하는 숙주 세포가 본원에 제공된다. 일부 측면에서, 중쇄 및 경쇄 둘 다 또는 이의 도메인을 개별적으로 코딩하는 벡터는 발현을 위해 숙주 세포에서 공동발현될 수 있다. 일부 측면에서, 숙주 세포는 중쇄 및 경쇄 둘 다를 코딩하는 폴리뉴클레오티드, 또는 이의 도메인을 포함하는 벡터를 함유한다. 일부 측면에서, 숙주 세포는 2개의 상이한 벡터, 즉 중쇄 또는 이의 도메인을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 제1 벡터, 및 경쇄 또는 이의 도메인을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 제2 벡터를 함유한다. 일부 측면에서, 제1 숙주 세포는 중쇄 또는 그의 도메인을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 제1 벡터를 포함하고, 제2 숙주 세포는 경쇄 또는 그의 도메인을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 제2 벡터를 포함한다. 일부 측면에서, 이러한 제1 숙주 세포 및 이러한 제2 숙주 세포를 포함하는 숙주 세포의 집단이 본원에 제공된다.

[0246] 일부 측면에서, 경쇄 또는 이의 도메인을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 제1 벡터, 및 중쇄 또는 이의 도메인을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 제2 벡터를 포함하는 벡터 집단이 본원에 제공된다. 대안적으로, 중쇄 및 경쇄 폴리펩티드 둘 모두를 코딩하는 단일 벡터가 사용될 수 있다.

[0247] 다양한 숙주-벡터 시스템을 활용하여 본원에 기재된 상기 폴리펩티드 및 상기 폴리펩티드 복합체를 발현할 수 있다. 이러한 숙주-벡터 시스템은 관심 코딩 서열이 생성되고 후속적으로 정제될 수 있는 운반체를 나타내지만, 또한 적절한 뉴클레오티드 코딩 서열로 형질전환 또는 형질감염될 때 본원에 기재된 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 복합체를 현장에서 발현할 수 있는 세포를 나타내기도 한다. 여기에는 이에 제한되지는 않으나, 항체 코딩 서열을 함유하는 재조합 박테리오파지 DNA, 플라스미드 DNA 또는 코스미드 DNA 발현 벡터로 형질전환된 박테리아(예: *E. coli* 및 *B. subtilis*)와 같은 미생물; 항체 코딩 서열을 함유하는 재조합 효모 발현 벡터로 형질전환된 효모(예를 들어, *Saccharomyces pichia*); 항체 코딩 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예: 바콜로 바이러스)로 감염된 곤충 세포 시스템; 재조합 바이러스 발현 벡터(예: 콜리플라워 모자이크 바이러스, CaMV; 담배 모자이크 바이러스, TMV)로 감염되거나 항체 코딩을 포함하는 재조합 플라스미드 발현 벡터(예: Ti 플라스미드)로 형질전환된 식물 세포 시스템(예: *Chlamydomonas reinhardtii*와 같은 녹조류) 시퀀스; 또는 포유동물 세포 시스템(예를 들어, COS(예를 들어, COS1 또는 COS), CHO, BHK, MDCK, HEK 293, NS0, PER.C6, VERO, CRL7030, HsS78Bst, HeLa 및 NIH 3T3, HEK-293T, HepG2, SP210, R1.1, B-W, L-M, BSC1, BSC40, YB/20 및 BMT10 세포) 포유동물 세포의 계능(예: 메탈로티오네인 프로모터) 또는 포유동물 바이러스(예: 아데노바이러스 후기 아데노바이러스 프로모터; 백시니아 바이러스 7.5K 프로모터)로부터 유래된 프로모터를 함유하는 재조합 발현 구조물이 포함된다. 일부 측면에서, 본원에 기재된 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 복합체를 발현하기 위한 세포는 CHO 세포, 예를 들어 CHO GS System™(Lonza)의 CHO 세포이다. 일부 측면에서, 본 발명의 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 복합체를 발현하기 위한 세포는 인간 세포, 예를 들어 인간 세포주이다. 일부 측면에서, 포유동물 발현 벡터는 pOptiVEC™ 또는 pcDNA3.3이다. 일부 측면에서, 대장균과 같은 박테리아 세포 또는 진핵 세포(예를 들어, 포유동물 세포)가 재조합 폴리펩티드의 발현을 위해 사용된다. 예를 들어, 인간 사이토메갈로바이러스의 주요 중간 초기 유전자 프로모터 요소와 같은 벡터와 결합된 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포와 같은 포유동물 세포는 폴리펩티드에 대한 효과적인 발현 시스템이다(Foecking MK & Hofstetter H(1986) Gene 45: 101-105; 및 Cockett MI et al.,(1990) Biotechnology 8: 662-667). 일부 측면에서, 본원에 기재된 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 복합체는 HEK-293T세포에 의해 생산된다.

[0248] 추가적으로, 삽입된 서열의 발현을 조절하거나, 원하는 특정 방식으로 유전자 산물을 개질 및 가공하는 숙주 세포주가 선택될 수 있다. 이와 같은 단백질 산물의 개질(예를 들어, 글리코실화) 및 가공(예를 들어, 절단)은 단백질의 작용을 위해 중요할 수 있다. 이를 위해, 유전자 산물의 일차 전사물의 적절한 가공, 글리코실화, 및 인산화를 위한 세포 기구를 보유하는 진핵 숙주 세포가 사용될 수 있다. 이러한 포유동물 숙주 세포에는 이에 제한되지는 않으나, CHO, VERO, BHK, Hela, MDCK, HEK 293, NIH 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 및 T47D, NS0(임의의 면역글로불린쇄를 내인성으로 생성하지 않는 무린 골수종 세포주), CRL7030, COS(예를 들어, COS1 또는 COS), PER.C6, VERO, HsS78Bst, HEK-293T, HepG2, SP210, R1.1, B-W, L-M, BSC1, BSC40, YB/20, BMT10 및 HsS78Bst 세포가 포함된다.

[0249] 일단 본원에 기재된 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 복합체가 재조합 발현에 의해 생성되면, 이는 단백질 또는 면

역글로불린 분자의 정제를 위해 당업계에 공지된 임의의 방법, 예를 들어 크로마토그래피(예를 들어, 이온 교환, 친화도, 특히 단백질 A 후의 특정 항원에 대한 친화도 및 크기 배제 크로마토그래피), 원심분리, 차등 용해도에 의해, 또는 단백질의 정제를 위한 임의의 다른 표준 기술에 의해 정제될 수 있다. 추가로, 본원에 기재된 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 복합체는 정제를 용이하게 하기 위해 본원에 기술되거나 당업계에 달리 공지된 이중 폴리펩티드 서열(예를 들어, 태그)에 융합될 수 있다.

[0250] 일부 측면에서, 본원에 기재된 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 복합체는 분리 또는 정제된다. 일반적으로, 분리된 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 복합체는 항원 특이성이 다른 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 복합체가 실질적으로 없는 것이다. 예를 들어, 일부 측면에서, 본원에 기재된 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 복합체의 제제에는 세포 물질 및/또는 화학적 전구체가 실질적으로 없다.

[0251] VII. 약제학적 조성물 및 키트

[0252] 일부 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 그의 항원 결합 단편), 폴리펩티드(들), 폴리뉴클레오티드(들), 벡터(들), 또는 세포(들)를 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0253] 일부 측면에서, 본 발명은(1) 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 그의 항원 결합 단편), 폴리뉴클레오티드, 벡터 또는 세포, 및(2) 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 본원에 사용된 바와 같이, “약제학적으로 허용되는 담체”는 생리학적으로 적합한 임의의 및 모든 용매, 분산매, 코팅물, 항균제 및 항진균제, 등장성 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 임의의 통상적인 매질 또는 제제가 활성 성분과 양립할 수 없는 경우를 제외하고는, 치료적 조성물에서 이들의 사용이 고려된다. 보충적인 활성 성분이 또한 조성물에 혼입될 수 있다. 그 밖에도 당업계에서 통상적으로 사용되는 다양한 부형제를 포함할 수 있다. 이들 및 다른 이러한 화합물은 문헌에, 예를 들어, Merck Index, Merck & Company, Rahway, NJ. Considerations for the inclusion of various components in pharmaceutical compositions are described, e.g., in Gilman et al.(Eds.)(2010); Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 12th Ed., The McGraw-Hill Companies에 기재되어 있다. 일부 측면에서, 비경구 투여는 정맥내 또는 피하 투여이다.

[0254] 일단 약제학적 조성물이 제형화된다면, 용액, 현탁액, 겔, 에멀션, 고체, 결정으로서 또는 탈수 또는 동결건조 분말로서 멸균 바이알 중에 저장될 수 있다. 이러한 제형은 바로 사용 가능한 형태로 또는 투여 전에 재구성되는(예를 들어, 동결건조된) 형태로 저장될 수 있다.

[0255] 일부 측면에서, 본 발명은 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 그의 항원 결합 단편), 폴리펩티드(들), 폴리뉴클레오티드(들), 벡터(들), 세포(들), 또는 본원에 기재된 약제학적 조성물, 또는 이들의 조합의 키트에 관한 것으로, 선택적으로 사용 방법을 포함한다. 일부 측면에서, 본 발명은 또한 일회용 투여 단위를 위한 키트를 제공한다. 일부 측면에서, 본 발명의 키트는 건조된 단백질을 갖는 제1 용기 및 수성 제형을 갖는 제2 용기를 모두 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 단일 및 다중 챔버의 사전 충전된 주사기(예를 들어, 액체 주사기 및 동결건조주사기)를 수용하는 키트가 제공된다. 일부 측면에서, 키트는 정맥내 또는 피하 투여를 위한 성분을 함유한다.

[0256] VIII. 사용 방법

[0257] 일부 측면에서, 본 발명은 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 그의 항원 결합 단편), 폴리펩티드(들), 폴리뉴클레오티드(들), 벡터(들), 세포(들), 또는 본원에 기재된 약제학적 조성물, 또는 이들의 조합의 특정 사용 방법에 관한 것이다. 본원에 기재된 하나 이상의 표적을 표적으로 하는 본원에 기재된 임의의 항원 결합 폴리펩티드 복합체 구조는 본 발명의 임의의 방법 및 용도에 사용될 수 있다.

[0258] 일부 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 그의 항원 결합 단편), 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포, 또는 약제학적 조성물, 또는 그의 조합을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 일부 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 그의 항원 결합 단편), 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포, 또는 약제학적 조성물, 또는 그의 조합을 이를 필요로 하는 대상체에게 치료적으로 유효한 양을 투여하는 것을 포함하는, 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 대상체에서 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하는데 사용하기 위한, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 그의 항원 결합 단편), 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는

약제학적 조성물, 또는 이들의 조합을 추가로 제공한다. 본 발명은 대상체에서 질환 또는 병태의 치료 또는 예방을 위한, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편), 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약제학적 조성물, 또는 이들의 조합의 용도를 추가로 제공한다. 상기 치료는 상기 대상체에서 면역 반응을 유도 또는 향상하는 것을 포함하거나 구성할 수 있다. 따라서, 본 발명은 상기 대상체에서 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하기 위해 면역 반응을 유도 또는 향상하는데 사용하는 것을 포함하여, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편), 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약제학적 조성물, 또는 이들의 조합을 추가로 제공한다. 본 발명은 추가로 본 발명은 상기 대상체에서 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하기 위해 면역 반응을 유도 또는 향상하기 위한 약제의 제조에서, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편), 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약제학적 조성물, 또는 이들의 조합의 용도를 제공한다.

[0259] 일부 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체, 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 면역 반응을 유도 또는 향상하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 추가로 대상체에서 면역 반응을 유도 또는 향상하는데 사용하는 것을 포함하여, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편), 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약제학적 조성물, 또는 이들의 조합을 제공한다. 본 발명은 추가로 대상체에서 면역 반응을 유도 또는 향상하기 위한 약제의 제조에서, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편), 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약제학적 조성물, 또는 이들의 조합의 용도를 제공한다.

[0260] 본원에서 사용되는 바와 같이, "면역 반응을 유도 또는 향상"하는 것은 이에 제한되지는 않으나, 면역 세포(예를 들어, 림프구(T세포, B 세포 및/또는 NK 세포), 호중구, 및/또는 단핵구/대식세포)의 활성화, 증식, 분화, 및/또는 성숙을 증가시키는 것을 포함한다. 따라서, "면역 반응을 유도 또는 향상"하는 것은 본원에 기재된 바와 같은 암 또는 다른 질환 또는 장애의 치료에서와 같이, 유도 또는 향상된 면역 반응이 잠재적인 임상적 이점을 갖는 질환의 치료 또는 예방에 유용할 수 있다. 본 개시내용의 항원 결합 폴리펩티드 복합체는 종양 관련 항원(TAA) 또는 암에 대한 면역 반응의 크기, 지속 기간 및/또는 질을 조절하는 데 사용될 수 있다. 면역 세포의 증강된 면역 세포 활성화, 증식, 분화, 및/또는 성숙은 본원에 기재된 T 세포 증식 및 결합 분석과 같은 일상적인 분석에 의해 결정될 수 있다.

[0261] 일부 측면에서, 상기 방법은 TAA 또는 암을 인식하는 항체의 생성을 향상시킨다. 향상된 항체 생산은 항원 결합 폴리펩티드 복합체를 투여받지 않은 대상체에서의 항체 수준과 비교하여 본 개시내용의 항원 결합 폴리펩티드 복합체로 치료된 대상체에서 증가된 항체 수준을 검출하는 것과 같은 일상적인 분석에 의해 결정될 수 있다.

[0262] 본 발명의 방법은 예방 및 치료 둘 다에서 면역 반응을 조절하거나 향상시키기 위해 사용될 수 있다.

[0263] 따라서, 일부 측면에서, 본 발명은 항원 결합 폴리펩티드 복합체, 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상에게 투여하는 것을 포함하는 암-매개성 면역 억제를 극복하는 방법에 관한 것이다.

[0264] 일부 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 그의 항원 결합 단편), 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포, 또는 약제학적 조성물, 또는 그의 조합을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 암 치료 방법에 관한 것이다. 본 발명은 추가로 대상체에서 암을 치료 또는 예방하는데 사용하기 위한, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편), 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약제학적 조성물, 또는 이들의 조합을 제공한다. 본 발명은 추가로 대상체에서 암의 치료 또는 예방을 위한, 본원에 기재된 항원 결합 폴리펩티드 복합체(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편), 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약제학적 조성물, 또는 이들의 조합의 용도를 제공한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "대상체"는 인간 또는 비-인간 포유동물, 예를 들어, 개, 고양이, 마우스, 래트, 소, 양, 돼지, 염소, 비-인간 영장류 또는 조류, 예를 들어, 닭뿐만 아니라 임의의 다른 척추동물 또는 무척추동물을 의미한다. 일부 측면에서, 대상체는 인간이다. 일부 측면에서, 대상체는 수의학적 동물이다. 일부 측면에서, 대상체는 포유동물이다.

[0265]

항체 서열

항체	펩티드 SEQ ID NO:(DNA SEQ ID NO:)
MX169	54(55), 58(59), 104(105)
MX170	54(55), 72(73), 98(99)
MX306	54(55), 118(119), 120(121)
MX318	54(55), 120(121)
MX368	132(133), 134(135)
MX369	54(55), 132(133)
MX424	140(141), 142(143)
MX425	118(119), 140(141)
MX485	193, 189
MX487	193
MX620	193, 208
MX622	208, 209

표 2

플라스미드 서열

플라스미드	설명	단백질 서열번호	DNA 서열번호
MD668	ScFab_CD28_Kcc_4-1BBL LALAPA	189	229
MD703	ScFab_CD3_Glo_Hcc_hOx40L LALAPA	190	230
MD704	ScFab_CD3_Glo_Hcc_h4-1BBL LALAPA	191	231
MD705	ScFab_CD3_SAR_Hcc_hOx40L LALAPA	192	232
MD706	ScFab_CD3_SAR_Hcc_h4-1BBL LALAPA	193	233
MD747	ahTrop2_h20xCD3_hOKT_Kcc LALAPA	194	234
MD748	ahTrop2_h20xCD3_hOKT_Kcc_41BBLrw8 LALAPA	195	235
MD749	ahcMetxahCD3_hOKT_Kcc LALAPA	196	236
MD750	ahcMetxahCD3_hOKTKcc LALAPA_4-1BBL	197	237
MD751	ahcMetxahTrop2_h20_Kcc_41BBLrw8 LALAPA	198	238
MD752	ahTrop2_h20xahcMet_Kcc_41BBLrw8 LALAPA	199	239
MD753	ahTrop2_h20Hrw3_Hcc_41BBLrw8 LALAPA	200	240
MD754	ahcMet_Hrw5_Hcc_41BBLrw8 LALAPA	201	241
MD778	VRC01.23scFab_Kcc_4-1BBL LALAPA	202	242
MD779	VRC01.23H_Kcc_4-1BBL LALAPA	203	243
MD780	VRC01.23scFv_Kcc_hOx40L LALAPA	204	244
MD781	VRC01.23scFv_Kcc_4-1BBL LALAPA	205	245
MD797	ahCD20_hRitxahCD19_Kcc_41BBL LALAPA	206	246
MD798	ahCD19xahCD20_hRit_Kcc_41BBL LALAPA	207	247
MD799	ScFab_CD28_TGNcs LALAPA_Kcc	208	248
MD800	ScFab_CD3_SAR_Hcc LALAPA	209	249
MD885	CD3_SAR x VRC01.23_Hcc_hOx40L LALAPA	210	250
MD886	CD28 x VRC01.23_Kcc_hOx40L LALAPA	211	251
MD900	VRC01.23H_Kcc_Ox40L LALAPA	212	252
MD901	VRC01.23scFab_Kcc_Ox40L LALAPA	213	253
MD902	ahCD19xahCD20PS_Kcc_41BBL LALAPA	214	254
MD903	ahCD20_PScxahCD19_Kcc_41BBL LALAPA	215	255
MD918	ScFab_CD3_hOKT_v23_Hcc LALAPA	216	256
MD956	CD20_PScxahCD19 LALAPA_41BBL	217	257
MD957	CD19 x CD20_PS LALAPA_41BBL	218	258
MD958	cMetxTrop2_h20_41BBL	219	259
MD959	ahTrop2_h20xahcMet 41BBL	220	260
MD962	ScFab_CD3_Hcc_mono4-1BBL8	221	261
MD963	ScFab_CD28_Kcc_mono4-1BBL8	222	262
MD964	ScFab_CD3_Hcc_mono4-1BBL7	223	263
MD965	ScFab_CD28_Kcc_mono4-1BBL7	224	264
MD966	ahCD20_ofxahCD19_Kcc_41BBL LALAPA	225	265
MD967	ahCD20_ofx ahCD19_41BBLrw8	226	266
MD968	ahCD19xahCD20_of_Kcc_41BBL LALAPA	227	267
MD969	ahCD19xahCD20_of_41BBLrw8	228	268

[0266]

[0267]

본 개시내용의 측면들에 관한 조항들

[0268]

1. 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 및 제3 폴리펩티드를 포함하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체;

- [0269] 여기서 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL; VL1-L1-CH1; VH1-L1-CL; 또는 VH1-L1-CH1로 표시되는 구조를 갖고;
- [0270] 여기서:
- [0271] (i)제2 폴리펩티드는 VH1-L2-CH1-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3; VH1-L2-CL-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3; VH1-L7-CH1-L8-Fc; VH1-L7-CL-L8-Fc; VL1-L2-CH1-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3; VL1-L2-CL-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3; VL1-L7-CH1-L8-Fc; 또는 VL1-L7-CL-L8-Fc로 표시되는 구조를 갖고; 제3 폴리펩티드는 VL2-L9-VH2-L10-Fc-L11-TNF1-L12-TNF2-L13-TNF3; 또는 VH2-L14-VL2-L15-Fc-L16-TNF1-L17-TNF2-L18-TNF3으로 표시되는 구조를 갖거나; 또는
- [0272] (ii)제2 폴리펩티드는 VH1-L19-CH1-L20-Fc-L21-TNF1-L22-TNF2-L23-TNF3; VH1-L19-CL-L20-Fc-L21-TNF1-L22-TNF2-L23-TNF3; VL1-L19-CH1-L20-Fc-L21-TNF1-L22-TNF2-L23-TNF3; 또는 VL1-L19-CL-L20-Fc-L21-TNF1-L22-TNF2-L23-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제3 폴리펩티드는 VL2-L24-VH2-L25-Fc; or VH2-L26-VL2-L27-Fc으로 표시되는 구조를 가지며;
- [0273] 여기서: VL1은 제1 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VL2는 제2 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VH1은 제1 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; VH2는 제2 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; Fc는 면역글로불린 중쇄 불변 영역 2 (CH2), 면역글로불린 중쇄 불변 영역 3 (CH3), 및 임의로, 면역글로불린 힌지를 포함하는 영역이고; CH1은 면역글로불린 중쇄 불변 영역 1이고; CL은 면역글로불린 경쇄 불변 영역이고; TNF1은 종양 괴사 인자 슈퍼패밀리 (TNFSF) 리간드의 제1 세포외 도메인이고; TNF2는 TNFSF 리간드의 제2 세포외 도메인이고; TNF3은 TNFSF 리간드의 제3 세포외 도메인이고; L1-L27은 아미노산 링커이다.
- [0274] 2. 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 및 제3 폴리펩티드를 포함하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체 ;
- [0275] 여기서 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL; VL1-L1-CH1; VH1-L1-CL; 또는 VH1-L1-CH1로 표시되는 구조를 갖고;
- [0276] 여기서:
- [0277] (i)제2 폴리펩티드는 VH1-CH1-L2-Fc-L3-TNF1-L4-TNF2-L5-TNF3; VH1-CL-L2-Fc-L3-TNF1-L4-TNF2-L5-TNF3; VH1-CH1-L6-Fc; VH1-CL-L7-Fc; VL1-CH1-L2-Fc-L3-TNF1-L4-TNF2-L5-TNF3; VL1-CL-L2-Fc-L3-TNF1-L4-TNF2-L5-TNF3; VL1-CH1-L6-Fc; 또는 VL1-CL-L7-Fc으로 표시되는 구조를 갖고; 제3 폴리펩티드는 VL2-L8-VH2-L9-Fc-L10-TNF1-L11-TNF2-L12-TNF3; 또는 VH2-L13-VL2-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3으로 표시되는 구조를 갖거나; 또는
- [0278] (ii)제2 폴리펩티드는 VH1-CH1-L18-Fc-L19-TNF1-L20-TNF2-L21-TNF3; VH1-CL-L18-Fc-L19-TNF1-L20-TNF2-L21-TNF3; VL1-CH1-L18-Fc-L19-TNF1-L20-TNF2-L21-TNF3; 또는 VL1-CL-L18-Fc-L19-TNF1-L20-TNF2-L21-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제3 폴리펩티드는 VL2-L22-VH2-L23-Fc; 또는 VH2-L24-VL2-L25-Fc로 표시되는 구조를 갖고;
- [0279] 여기서: VL1은 제1 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VL2는 제2 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VH1은 제1 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; VH2는 제2 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; Fc는 면역글로불린 중쇄 불변 영역 2 (CH2), 면역글로불린 중쇄 불변 영역 3 (CH3), 및 임의로, 면역글로불린 힌지를 포함하는 영역이고; CH1은 면역글로불린 중쇄 불변 영역 1이고; CL은 면역글로불린 경쇄 불변 영역이고; TNF1은 종양 괴사 인자 슈퍼패밀리 (TNFSF) 리간드의 제1 세포외 도메인이고; TNF2는 TNFSF 리간드의 제2 세포외 도메인이고; TNF3은 TNFSF 리간드의 제3 세포외 도메인이고; L1-L25는 아미노산 링커이다.
- [0280] 3. 제1항에 있어서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VH1-L2-CH1-L3-Fc-L4-TNF1-L5-TNF2-L6-TNF3으로 표시되는 구조를 가지며; 제3 폴리펩티드는 VL2-L9-VH2-L10-Fc-L11-TNF1-L12-TNF2-L13-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0281] 4. 제2항에 있어서, 제1 폴리펩티드는 VL1-L1-CL로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VH1-CH1-L2-Fc-L3-TNF1-L4-TNF2-L5-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제3 폴리펩티드는 VL2-L8-VH2-L9-Fc-L10-TNF1-L11-TNF2-L12-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0282] 5. 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체; 여기서:
- [0283] (i)제1 폴리펩티드는 VL1-L1-VH1-L2-Fc; VH1-L3-VL1-L4-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VL1-L5-VH1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CL-L7-CH1-L8-Fc; VH1-L5-VL1-L6-CH1-L7-CL-L8-Fc; VL1-L9-CL-L10-VH1-L11-CH1-L12-Fc; VL1-L9-CH1-L10-VH1-L11-CL-L12-Fc; VH1-L9-CL-L10-VL1-L11-CH1-L12-Fc; VH1-L9-CH1-L10-VL1-L11-CL-L12-Fc; VL1-L13-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-L18-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-

L22-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L23-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-L23-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-L23-VL1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3; VH1-VL1-L19-Fc-L20-TNF1-L21-TNF2-L22-TNF3; VL1-VH1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-VH1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-VL1-L24-CL-L25-CH1-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VH1-VL1-L24-CH1-L25-CL-L26-Fc-L27-TNF1-L28-TNF2-L29-TNF3; VL1-L30-CL-L31-VH1-L32-CH1-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; VL1-L30-CH1-L31-VH1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; VH1-L30-CL-L31-VL1-L32-CH1-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3; 또는 VH1-L30-CH1-L31-VL1-L32-CL-L33-Fc-L34-TNF1-L35-TNF2-L36-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-L37-VH2-L38-Fc-L39-TNF1-L40-TNF2-L41-TNF3; VH2-L42-VL2-L43-Fc-L44-TNF1-L45-TNF2-L46-TNF3; VL2-L47-VH2-L48-CL-L49-CH1-L50-Fc-L51-TNF1-L52-TNF2-L53-TNF3; VL2-L54-CL-L55-VH2-L56-CH1-L57-Fc-L58-TNF1-L59-TNF2-L60-TNF3; VL2-L47-VH2-L48-CH1-L49-CL-L50-Fc-L51-TNF1-L52-TNF2-L53-TNF3; VL2-L54-CH1-L55-VH2-L56-CL-L57-Fc-L58-TNF1-L59-TNF2-L60-TNF3; VL2-VH2-L38-Fc-L39-TNF1-L40-TNF2-L41-TNF3; VH2-VL2-L43-Fc-L44-TNF1-L45-TNF2-L46-TNF3; VL2-VH2-L48-CL-L49-CH1-L50-Fc-L51-TNF1-L52-TNF2-L53-TNF3; VL2-CL-L55-VH2-L56-CH1-L57-Fc-L58-TNF1-L59-TNF2-L60-TNF3; VL2-VH2-L48-CH1-L49-CL-L50-Fc-L51-TNF1-L52-TNF2-L53-TNF3; 또는 VL2-CH1-L55-VH2-L56-CL-L57-Fc-L58-TNF1-L59-TNF2-L60-TNF3으로 표시되는 구조를 갖거나; 또는

[0284] (ii)제1 폴리펩티드는 VL1-L61-VH1-L62-Fc-L63-TNF1-L64-TNF2-L65-TNF3; VH1-L66-VL1-L67-Fc-L68-TNF1-L69-TNF2-L70-TNF3; VL1-L71-VH1-L72-CL-L73-CH1-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3; VL1-L71-VH1-L72-CH1-L73-CL-L74-Fc-L75-TNF1-L76-TNF2-L77-TNF3; VL1-L78-CL-L79-VH1-L80-CH1-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3; 또는 VL1-L78-CH1-L79-VH1-L80-CL-L81-Fc-L82-TNF1-L83-TNF2-L84-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL2-L85-VH2-L86-Fc; VH2-L87-VL2-L88-Fc; VL2-L89-VH2-L90-CL-L91-CH1-L92-Fc; VL2-L89-VH2-L90-CH1-L91-CL-L92-Fc; VL2-L93-CL-L94-VH2-L95-CH1-L96-Fc; 또는 VL2-L93-CH1-L94-VH2-L95-CL-L96-Fc으로 표시되는 구조를 가지며;

[0285] 여기서: VL1은 제1 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VL2는 제2 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VH1은 제1 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; VH2는 제2 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; Fc는 면역글로불린 중쇄 불변 영역 2(CH2), 면역글로불린 중쇄 불변 영역 3(CH3) 및 선택적으로 면역글로불린 힌지를 포함하는 영역이고; CH1은 면역글로불린 중쇄 불변 영역 1이고; CL은 면역글로불린 경쇄 불변 영역이고; TNF1은 TNFSF 리간드의 제1 세포외 도메인이고; TNF2는 TNFSF 리간드의 제2 세포외 도메인이고; TNF3은 TNFSF 리간드의 제3 세포외 도메인이고; L1-L96은 아미노산 링커이다.

[0286] 6. 제5항에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드가 VL1-L13-VH1-L14-Fc-L15-TNF1-L16-TNF2-L17-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 상기 제2 폴리펩티드가 VL2-L37-VH2-L38-Fc-L39-TNF1-L40-TNF2-L41-TNF3으로 표시되는 구조를 갖는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0287] 7. 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 항원 결합 폴리펩티드 복합체; 여기서:

[0288] (i) 제1 폴리펩티드는 Fc; VL1-L1-VL2-L2-VH2-L3-VH1-L4-Fc; VH1-L5-VH2-L6-VL2-L7-VL1-L8-Fc; Fc-L9-TNF1-L10-TNF2-L11-TNF3; VL1-L12-VL2-L13-VH2-L14-VH1-L15-Fc-L16-TNF1-L17-TNF2-L18-TNF3; 또는 VH1-L19-VH2-L20-VL2-L21-VL1-L22-Fc-L23-TNF1-L24-TNF2-L25-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 VL3-L26-VL4-L27-VH4-L28-VH3-L29-Fc-L30-TNF1-L31-TNF2-L32-TNF3; 또는 VH3-L33-VH4-L34-VL4-L35-VL3-L36-Fc-L37-TNF1-L38-TNF2-L39-TNF3으로 표시되는 구조를 갖거나; 또는

[0289] (ii)제1 폴리펩티드는 Fc-L40-TNF1-L41-TNF2-L42-TNF3; VL1-L43-VL2-L44-VH2-L45-VH1-L46-Fc-L47-TNF1-L48-TNF2-L49-TNF3; 또는 VH1-L50-VH2-L51-VL2-L52-VL1-L53-Fc-L54-TNF1-L55-TNF2-L56-TNF3으로 표시되는 구조를 갖고; 제2 폴리펩티드는 Fc; VL3-L57-VL4-L58-VH4-L59-VH3-L60-Fc; 또는 VH3-L61-VH4-L62-VL4-L63-VL3-L64-Fc로 표시되는 구조를 갖고;

[0290] 여기서: VL1은 제1 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VL2는 제2 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VL3은 제3 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VL4는 제4 면역글로불린 경쇄 가변 영역이고; VH1은 제1 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; VH2는 제2 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; VH3은 제3 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; VH4는 제4 면역글로불린 중쇄 가변 영역이고; Fc는 면역글로불린 중쇄 불변 영역 2(CH2), 면역글로불린 중쇄 불변 영역 3(CH3), 및 임의로 면역글로불린 힌지를 포함하는 영역이고; TNF1은 TNFSF 리간드의 제1 세포외 도메인이고; TNF2는 TNFSF 리간드의 제2 세포외 도메인이고; TNF3은 TNFSF 리간드의 제3 세포외 도메인이고; L1-L64는

아미노산 링커이다.

- [0291] 8. 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커 L1-L96 중 하나 이상은 약 0개 아미노산 내지 약 50개 아미노산의 길이를 갖는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0292] 9. 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 링커 L1-L96 중 하나 이상은 비-면역원성인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0293] 10. 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 링커 L1-L96 중 하나 이상은 공통 T 세포 에피토프를 함유하지 않는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0294] 11. 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 링커 L1-L96은 SEQ ID NO: 3-10 및 148-175 중 어느 하나의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 3-10 및 148-175 중 어느 하나에 대해 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0295] 12. 제11항에 있어서, 여기서:
- [0296] (i) 링커 L1-L96 중 하나 이상은 SEQ ID NO: 3과 적어도 80% 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하고;
- [0297] (ii) 링커 L1-L96 중 하나 이상은 SEQ ID NO: 10과 적어도 80% 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하고;
- [0298] (iii) 링커 L1-L96 중 하나 이상은 SEQ ID NO: 150과 적어도 80% 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하고;
- [0299] (iv) 링커 L1-L96 중 하나 이상은 SEQ ID NO: 151과 적어도 80% 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하고;
- [0300] (v) 링커 L1-L96 중 하나 이상은 SEQ ID NO: 161과 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는
- [0301] (vi) 링커 L1-L96 중 하나 이상은 SEQ ID NO: 168과 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0302] 13. 제1항 내지 제6항 및 제8항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, VL1 및 VH1이 CD3에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0303] 14. 제13항에 있어서, VL1은 SEQ ID NO: 22, 28, 및 185 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23, 29, 및 186 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24, 30, 및 187 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; VH1은 SEQ ID NO: 19, 25, 및 182 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20, 26, 및 183 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 SEQ ID NO: 21, 27, 및 184 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0304] 15. 제14항에 있어서, VL1은 SEQ ID NO: 22에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 및/또는 여기서 VH1은 SEQ ID NO: 19에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 선택적으로 VL1은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 및/또는 VH1은 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는, 항원 결합 폴리펩티드 결합체.
- [0305] 16. 제14항에 있어서, VL1은 SEQ ID NO: 28에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 29에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 30에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 및/또는 여기서 VH1은 SEQ ID NO: 25에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 26에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미

노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 27에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 선택적으로 VL1은 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 및/또는 VH1은 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는, 항원 결합 폴리펩티드 결합체.

[0306] 17. 제14항에 있어서, VL1은 SEQ ID NO: 185에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 186에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 187에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 및/또는 여기서 VH1은 SEQ ID NO: 182에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 183에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 184에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 선택적으로 VL1은 SEQ ID NO: 185의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 186의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 187의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 및/또는 VH1은 SEQ ID NO: 182의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 183의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 184의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는, 항원 결합 폴리펩티드 결합체.

[0307] 18. 제14항에 있어서, VL1은 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, VH1은 SEQ ID NO: 43 또는 44에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 선택적으로, 여기서 VL1은 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, VH1은 SEQ ID NO: 43에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 여기서 VL1은 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, VH1은 SEQ ID NO: 44에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0308] 19. 제1항 내지 제6항, 제8항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, VL2 및 VH2가 종양 관련 항원(TAA) 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0309] 20. 제19항에 있어서, 종양-관련 항원은 티로신-단백질 키나제 Met(cMet), 영양막 세포 표면 항원 2(Trop2), CD20, CD19, 수용체 티로신-단백질 키나제 erbB-2(HER2), 수용체 티로신-단백질 키나제 erbB-3(HER3), 아테노신 A2A 수용체(A2AR), 증식 유도 리간드(APRIL), 표피 성장 인자 수용체(EGFR), 섬유아세포 성장 인자 수용체(FGFR), B 세포 활성화 인자(BAFF), BAFF 수용체(BAFFR), B 세포 성숙 항원(BCMA), 브루튼 티로신 키나제(BTK), B 및 T 림프구 감쇠제(BTLA), B7DC(예정사 리간드 2), B7 상동체 1(B7H1), B7 상동체 4(B7H4), 텔타 유사 리간드 3(DLL3), 엑토뉴클레오시드 삼인산 디포스포가수분해효소 1(ENTPD1), IgE 수용체 1a의 Fc 단편(FCER1A), IgE 수용체 1의 Fc 단편(FCER1), 아라키도네이트 5-리폭시게나제 활성화 단백질(FLAP), 염산 가수분해효소 1(FOLH1), 뮤신 1(MUC-1), CD133, 뮤신 16(MUC-16), 리소좀 관련 막 단백질 1(LAMP1), CD38, 예정사 리간드 1(PD-L1), CEA 세포 부착 분자 5(CEACAM5), 전립선 1의 6개 막형단 상피 항원(STEAP1), 또는 상피 세포 부착 분자(EpCAM)이거나; 또는 여기서 면역 자극 수용체는 CD28인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0310] 21. 제19항 또는 제20항에 있어서, VL2 및 VH2가 HER2에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0311] 22. 제19항에 있어서, VL2 및 VH2가 면역자극 수용체 CD28에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0312] 23. 제19항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, VL2는 SEQ ID NO: 34 또는 40에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35 또는 41에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 SEQ ID NO: 36 또는 42에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고 여기서 VH2는 SEQ ID NO: 31 또는 37에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32 또는 38에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 SEQ ID NO: 33 또는 39에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

- [0313] 24. 제23항에 있어서, VL2는 SEQ ID NO: 34에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH2는 SEQ ID NO: 31에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 선택적으로 VL2는 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 여기서 VH2는 SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0314] 25. 제23항에 있어서, VL2는 SEQ ID NO: 40에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 41에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 42에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH2는 SEQ ID NO: 37에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 38에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 39에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 선택적으로 VL2는 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 여기서 VH2는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0315] 26. 제23항에 있어서, VL2는 SEQ ID NO: 47 또는 49에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, VH2는 SEQ ID NO: 46 또는 48에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0316] 27. 제26항에 있어서, VL2가 SEQ ID NO: 47에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하고/하거나 VH2가 SEQ ID NO: 46에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하고; 임의로, 여기서 VL2가 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열을 포함하고/하거나 VH2가 SEQ ID NO: 46의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0317] 28. 제26항에 있어서, VL2가 SEQ ID NO: 49에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하고/하거나 VH2가 SEQ ID NO: 48에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하고; 임의로, 여기서 VL2가 SEQ ID NO: 49의 아미노산 서열을 포함하고/하거나 VH2가 SEQ ID NO: 48의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0318] 29. 제1항 내지 제8항 및 제12항 중 어느 한 항에 있어서, VL2 및 VH2가 CD3에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0319] 30. 제29항에 있어서, VL2는 SEQ ID NO: 22, 28, 185, 298 및 306 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23, 29, 186, 299 및 307 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24, 30, 187, 300 및 308 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; VH2는 SEQ ID NO: 19, 25, 182, 294 및 302 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20, 26, 183, 295 및 303 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 SEQ ID NO: 21, 27, 184, 296 및 304 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0320] 31. 제30항에 있어서, VL2는 SEQ ID NO: 22에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 및/또는 여기서 VH2는 SEQ ID NO: 19에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 선택적으로 VL2는 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23의 아미노

산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 및/또는 VH2는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는, 항원 결합 폴리펩티드 결합체.

[0321] 32. 제30항에 있어서, VL2는 SEQ ID NO: 28에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 29에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 30에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 및/또는 여기서 VH2는 SEQ ID NO: 25에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 26에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 27에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 선택적으로 VL2는 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 및/또는 VH2는 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는, 항원 결합 폴리펩티드 결합체.

[0322] 33. 제30항에 있어서, VL2는 SEQ ID NO: 185에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 186에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 187에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 및/또는 여기서 VH2는 SEQ ID NO: 182에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 183에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 184에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 선택적으로 VL2는 SEQ ID NO: 185의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 186의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 187의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 및/또는 VH2는 SEQ ID NO: 182의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 183의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 184의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는, 항원 결합 폴리펩티드 결합체.

[0323] 34. 제30항에 있어서, VL2는 SEQ ID NO: 45, 297 및 305에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, VH2는 SEQ ID NO: 43, 44, 188, 293 및 301에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 임의로, 여기서 VL2는 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, VH2는 SEQ ID NO: 43에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 여기서 VL2는 SEQ ID NO: 45에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, VH2는 SEQ ID NO: 44에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 여기서 VL2는 SEQ ID NO: 297에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, VH2는 SEQ ID NO: 293에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 여기서 VL2는 SEQ ID NO: 305와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 VH2는 SEQ ID NO: 301에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0324] 35. 제1항 제6항, 제8항 내지 제12항 및 제29항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, VL1 및 VH1은 TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0325] 36. 제35항에 있어서, VL1 및 VH1은 cMet, Trop2, CD20, CD19, HER2, HER3, A2AR, APRIL, EGFR, FGFR, BAFF, BAFFR, BCMA, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, DLL3, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, MUC-1, CD133, MUC-16, LAMP1, CD38, PD-L1, CEACAM5, STEAP1 및 EpCAM으로부터 선택된 TAA에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0326] 37. 제35항 또는 제36항에 있어서, TAA가 HER2인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0327] 38. 제35항에 있어서, VL1 및 VH1이 면역 자극 수용체 CD28에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0328] 39. 제35항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, VL1은 SEQ ID NO: 34, 40, 274, 282, 290, 314 또는 322에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35, 41, 275, 283, 291, 315 또는 323에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을

갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 SEQ ID NO: 36, 42, 275, 284, 292, 316 또는 324에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고 여기서 VH1은 SEQ ID NO: 31, 37, 270, 278, 286, 310 또는 318에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32, 38, 271, 279, 287, 311 또는 319에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 SEQ ID NO: 33, 39, 272, 280, 288, 312 또는 320에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0329] 40. 제39항에 있어서, VL1은 SEQ ID NO: 34에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH1은 SEQ ID NO: 31에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 선택적으로 VL1은 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 여기서 VH1은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0330] 41. 제39항에 있어서, VL1은 SEQ ID NO: 40에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 41에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 42에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH1은 SEQ ID NO: 37에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 38에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 39에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 선택적으로 VL1은 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 여기서 VH1은 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0331] 42. 제39항에 있어서, VL1은 SEQ ID NO: 47 또는 49에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, VH1은 SEQ ID NO: 46 또는 48에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0332] 43. 제42항에 있어서, VL1은 SEQ ID NO: 47에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하고/하거나 VH1은 SEQ ID NO: 46에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하고; 임의로, 여기서 VL1이 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열을 포함하고/하거나 VH1이 SEQ ID NO: 46의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0333] 44. 제42항에 있어서, VL1은 SEQ ID NO: 49에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하고/하거나 VH1은 SEQ ID NO: 48에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하고; 임의로, 여기서 VL1이 SEQ ID NO: 49의 아미노산 서열을 포함하고/하거나 VH1이 SEQ ID NO: 48의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0334] 45. 제1항 내지 제6항 및 제8항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 폴리펩티드의 VL1 및 VH1은 CD3에 특이적으로 결합하고, VL2 및 VH2는 TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0335] 46. 제1항 내지 제6항, 제8항 내지 제12항 및 제29항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 폴리펩티드의 VL2 및 VH2는 CD3에 특이적으로 결합하고, VL1 및 VH1은 TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0336] 47. 제7항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, VL1, VH1, VL3 및 VH3이 CD3에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0337] 48. 제7항 내지 제12항 및 제47항 중 어느 한 항에 있어서, VL2, VH2, VL4 및 VH4가 TAA 또는 면역 자극 수용

체에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

- [0338] 49. 제48항에 있어서, TAA가 HER2이거나 면역 자극 수용체가 CD28인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0339] 50. 제7항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, VL1, VH1, VL4 및 VH4가 CD3에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0340] 51. 제7항 내지 제12항 및 제50항 중 어느 한 항에 있어서, VL2, VH2, VL3 및 VH3이 TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0341] 52. 제51항에 있어서, TAA가 HER2이거나 면역 자극 수용체가 CD28인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0342] 53. 제7항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, VL2, VH2, VL4 및 VH4가 CD3에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0343] 54. 제7항 내지 제12항 및 제53항 중 어느 한 항에 있어서, VL1, VH1, VL3 및 VH3이 TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0344] 55. 제54항에 있어서, TAA가 HER2이거나 면역 자극 수용체가 CD28인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0345] 56. 제7항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, VL2, VH2, VL3 및 VH3이 CD3에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0346] 57. 제7항 내지 제12항 및 제56항 중 어느 한 항에 있어서, VL1, VH1, VL4 및 VH4가 TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0347] 58. 제57항에 있어서, TAA가 HER2이거나 면역 자극 수용체가 CD28인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0348] 59. 제47항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, CD3에 특이적으로 결합하는 VL은 SEQ ID NO: 22, 28, 185, 298 및 306 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23, 29, 186, 299 및 307 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24, 30, 187, 300 및 308 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 여기서 CD3에 특이적으로 결합하는 VH는 SEQ ID NO: 19, 25, 182, 294 및 302 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20, 26, 183, 295 및 303 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 SEQ ID NO: 21, 27, 184, 296 및 304 중 어느 하나에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0349] 60. 제59항에 있어서, CD3에 특이적으로 결합하는 VL은 SEQ ID NO: 22에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 여기서 CD3에 특이적으로 결합하는 VH는 SEQ ID NO: 19에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 선택적으로 VL은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 여기서 VH는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.
- [0350] 61. 제59항에 있어서, CD3에 특이적으로 결합하는 VL은 SEQ ID NO: 28에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 29에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 30에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 여기서 CD3에 특이적으로 결합하는 VH는 SEQ ID NO: 25에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 26에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 27에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 선택적으로 VL은 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 30의

아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 여기서 VH는 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0351] 62. 제59항에 있어서, CD3에 특이적으로 결합하는 VL은 SEQ ID NO: 185에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 186에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 187에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 여기서 CD3에 특이적으로 결합하는 VH는 SEQ ID NO: 182에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 183에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 184에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 선택적으로 VL은 SEQ ID NO: 185의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 186의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 187의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 VH는 SEQ ID NO: 182의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 183의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 184의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0352] 63. 제59항에 있어서, CD3에 특이적으로 결합하는 VL은 서열 45, 297 또는 305와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, CD3에 특이적으로 결합하는 VH는 서열 43, 44, 188, 293 또는 301과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0353] 64. 제63항에 있어서, CD3에 특이적으로 결합하는 VL은 SEQ ID NO: 45와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, CD3에 특이적으로 결합하는 VH는 SEQ ID NO: 43과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 여기서 CD3에 특이적으로 결합하는 VL은 SEQ ID NO: 45와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, CD3에 특이적으로 결합하는 VH는 SEQ ID NO: 44와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0354] 65. 제47항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 VL은 SEQ ID NO: 34, 40, 274, 282, 289, 314 또는 322에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35, 41, 275, 283, 290, 315 또는 323에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 SEQ ID NO: 36, 42, 276, 284, 291, 316 또는 324에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고 여기서 TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 VH는 SEQ ID NO: 31, 37, 270, 278, 286, 310 또는 318에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32, 38, 271, 279, 287, 311 또는 319에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 SEQ ID NO: 33, 39, 272, 280, 288, 312 또는 320에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0355] 66. 제65항에 있어서, 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 VL은 SEQ ID NO: 34에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 여기서 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 VH는 SEQ ID NO: 31에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 선택적으로 VL은 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 여기서 VH는 SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0356] 67. 제65항에 있어서, TAA에 특이적으로 결합하는 VL은 SEQ ID NO: 40에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 41에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 42에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/

또는 여기서 TAA에 특이적으로 결합하는 VH는 SEQ ID NO: 37에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 38에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 39에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 선택적으로 VL은 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고/또는 여기서 VH는 SEQ ID NO: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; SEQ ID NO: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는 SEQ ID NO: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0357] 68. 제65항에 있어서, TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 VL은 SEQ ID NO:47 또는 49와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, TAA 또는 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 VH는 SEQ ID NO:46 또는 48과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0358] 69. 제68항에 있어서, 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 VL이 SEQ ID NO: 47과 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하고/하거나 면역 자극 수용체에 특이적으로 결합하는 VH가 SEQ ID NO: 46과 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하고; 임의로, VL이 SEQ ID NO: 47의 아미노산 서열을 포함하고/하거나 VH가 SEQ ID NO: 46의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0359] 70. 제68항에 있어서, TAA에 특이적으로 결합하는 VL이 SEQ ID NO: 49에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하고/하거나 TAA에 특이적으로 결합하는 VH가 SEQ ID NO: 48에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하고; 임의로, 여기서 VL이 SEQ ID NO: 49의 아미노산 서열을 포함하고/하거나 VH가 SEQ ID NO: 48의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0360] 71. 제1항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, TNF1, TNF2 및 TNF3이 각각 OX40L(TNFSF4), 4-1BBL(TNFSF9), TNF, TNF 관련 세포사멸 유도 리간드(TRAIL), CD40L(TNFSF5), CD27L(TNFSF7), CD30L(TNFSF8), FasL(TNFSF6), EDAM, LTA(TNFSF1), LTB(TNFSF3), CD153(TNFSF8), RANKL(TNFSF11), TWEAK(TNFSF12), APRIL(TNFSF13), BAFF(TNFSF13B), LIGHT(TNFSF14), VEGI(TNFSF15) 및 GITRL(TNFSF18)로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0361] 72. 제1항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, TNF1, TNF2 및 TNF3은 각각 OX40L인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0362] 73. 제1항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, TNF1, TNF2 및 TNF3이 각각 4-1BBL인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0363] 74. 제1항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원 결합 폴리펩티드 복합체가 항체 또는 이의 항원 결합 단편인 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0364] 75. 제1항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 면역글로불린 힌지가 상부 힌지 영역, 중간 힌지 영역, 하부 힌지 영역, 또는 이들의 조합을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0365] 76. 제1항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 영역이 적어도 하나의 노브-인투-홀(knob-into-hole) 변형을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0366] 77. 제76항에 있어서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체가 IgG1 또는 IgG4 항체이고, 노브-인투-홀 변형이, EU 번호 체계를 기초로, (i) S354C 및 T366W의 노브 치환 및 Y349C, T366S, L368A 및 Y407V의 홀 치환; (ii) L234A, L235A 및 P329A의 홀 치환; (iii) L234A 및 L235A의 홀 치환; (iv) M428L 및 N433S의 홀 치환; (v) M252Y, S254T 및 T256E의 홀 치환; 또는 (vi) 이들의 조합을 포함하는 것인, 항원 결합 폴리펩티드 복합체.

[0367] 78. 제1항 내지 제77항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 폴리펩티드 복합체를 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

[0368] 79. 제1항 내지 제77항 중 어느 한 항의 항원 결합 폴리펩티드 복합체 또는 제78항의 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

[0369] 80. 제1항 내지 제77항 중 어느 한 항에 따른 항원 결합 폴리펩티드 복합체, 제78항에 따른 항체 또는 그의 항원 결합 단편, 또는 환자에서 질환 또는 병태를 치료하는데 사용하기 위한 제79항에 따른 약제학적 조성물.

[0370] 81. 제1항 내지 제77항 중 어느 한 항에 따른 항원 결합 폴리펩티드 복합체, 제78항에 따른 항체 또는 그의 항

원 결합 단편, 또는 환자에서 암을 치료하는데 사용하기 위한 제79항에 따른 약제학적 조성물.

[0371]

실시에

[0372]

다음 실시예들은 본 개시의 측면들을 추가로 예시하기 위해 제공되며, 본 개시를 임의의 특정 적용 또는 작동 이론으로 제한하도록 의도되지 않는다.

[0373]

실시에 1

[0374]

다중특이적 TNFSF 융합 항체 발현 및 정제

[0375]

본 개시내용의 다중특이적 종양 괴사 인자 슈퍼패밀리(TNFSF) 융합 항체는 폴리에틸렌이민 (PEI)(Polyscienc e)을 사용하여 $2.5-3.0 \times 10^6$ /mL의 밀도로 Expi293F 세포 내로 발현 플라스미드의 일시적 형질감염에 의해 생산 되었다. 플라스미드 DNA와 PEI는 OPTi-MEM(LifeTech)에 별도로 희석하여 나중에 혼합하였다. 1:3 (w:w)의 비율 로 플라스미드/PEI 혼합물을 혼합 10분 후에 세포 배양물에 첨가하였다. 발프로산 및 프로피온산나트륨을 형질 감염 후 16-20시간에 각각 0.5 mM 및 5 mM의 최종 농도로 첨가하였다. 상청액을 형질감염 5일 후에 채집하고 0.45 μ m 필터를 통해 여과했다.

[0376]

그런 다음 다중특이적 항체를 제조업체의 표준 절차에 따라 배치 모드에서 단백질 A 수지를 사용하여 친화성 크 로마토그래피로 먼저 정제했다. 단백질 A로부터 3M 염화마그네슘을 사용하여 항체를 용출시킨 후, 2회 완충액을 교체하면서 밤새 10mM 히스티딘(pH 6.0) + 150mM NaCl로 투석하였다. Hiload 16/600 Superdex 200 PG 또는 Superdex 200 증가 10/300 GL(Cytiva Lifesciences)을 사용하여 크기 배제 크로마토그래피로 항체를 추가로 정 제했다. 정확한 용출 프로파일을 갖는 분획을 수집하고 추가 특성화를 위해 농축했다.

[0377]

실시에 2

[0378]

다중특이적 OX40L 융합 항체 ELISA 결합 분석

[0379]

CD3 및 CD28에 결합하고 OX40L 삼량체의 이량체를 함유하는 3개의 다중특이적 항체를 실시예 1에 설명된 바와 같이 제조하고 정제하였다(MX169, MX368 및 MX369). 항체의 표적 단백질에 대한 결합을 평가하기 위해 효소-결 합 면역흡착 분석(ELISA)을 수행했다.

[0380]

다중특이성 항체의 각 결합 부위에 대한 표적 단백질을 96-웰 이뮤노플레이트(Immuno Plates, Thermo Fisher Scientific)의 웰에 4° C에서 밤새 코팅했다. 코팅된 플레이트를 5% 탈지유 + 인산염 완충 식염수(PBS) + 0.25% Tween 중의 2% 소 혈청 알부민(BSA)을 사용하여 실온에서 1시간 동안 블로킹한 다음, PBS + 0.25% Tween 20으 로 3회 세척하였다. 연속 희석된 항체 및 대조 분자를 플레이트에 첨가하고 실온에서 1시간 동안 배양했다. 플 레이트를 PBS + 0.25% Tween 20으로 3회 세척하고, HRP(horseradish peroxidase)가 결합된 검출 항체와 함께 실온에서 1시간 동안 배양한 후 다시 세척한 후 Peroxydase Substrate(KPL, Gaithersburg, MD, USA)로 현상했 다. 100 μ l의 KPL TMB BlueSTOP 용액을 첨가하여 반응을 종료한 후 플레이트 리더기를 사용하여 OD650에서 플레 이트를 판독하고 GraphPad Prism에서 데이터를 분석했다.

[0381]

도 2a는 인간 CD3에 대한 MX169, MX368 및 MX369의 ELISA 결합 결과를 나타낸다. **도 2b**는 인간 CD28에 대한 MX169, MX368 및 MX369의 ELISA 결합 결과를 나타낸다. **도 2c**는 인간 OX40에 대한 MX169, MX368 및 MX369의 ELISA 결합 결과를 나타낸다. 이러한 결과는 세 가지 다중특이적 항체가 모두 기능적으로 활성을 가지며 CD3, CD28 및 OX40 표적 단백질에 결합한다는 것을 보여준다.

[0382]

실시에 3

[0383]

루시퍼라제 리포터 분석 - MX169, MX368 및 MX369

[0384]

T세포 활성화에 대한 다중특이적 항체 MX169, MX368 및 MX369의 효과를 평가하기 위해, *시험관내* 루시퍼라제 리 포터 검정을 수행하였다. NF-kB 루시퍼라제 리포터 저켓 안정한 세포주 (Signosis, CA, USA) 및 저켓-루시아™ NFAT 세포 (InvivoGen, CA, USA)를 제조업체의 프로토콜에 따라 제조하였다. 간략하게, 세포를 37° C 수조에서 2분 동안 해동시키고, 10 mL의 예열된 R10 배지를 함유하는 15 mL 원뿔형 원심분리 튜브로 부드럽게 옮겼다. 세 포를 실온에서 5분 동안 300g에서 펠렛화하였다. 상층액을 제거한 후, 세포를 미리 예열된 배양 배지 20 mL에 재현탁시키고 75 cm^2 배양 플라스크로 옮겼으며, 이어서 세포가 성장하고 안정될 때까지(~3-4일) 포유류 조직 배양 인큐베이터에서 배양했다. 세포를 배양 배지 + 선택적 항생제에서 유지하고 해동 후 약 7일 동안 사용했다.

- [0385] 항체 자극을 위해 다중특이적 또는 대조 항체를 PBS에 연속적으로 희석하고 37° C 조직 배양 인큐베이터에서 2-4시간 동안 배양하여 96웰 평면 바닥 배양 플레이트에 코팅했다. NF-κB 루시퍼라제 리포터 저켓 안정한 세포를 항체를 함유하는 각각의 웰에 100 μL의 세포를 첨가한 2x10⁶ 세포/mL로 재현탁시키고, 포유동물 인큐베이터에서 24시간 동안 배양하였다. 그런 다음 분석 플레이트를 꺼내어 주위 온도에 평형을 이루도록 했다(10-15분). Bio-Glo™ 시약 (프로메가 Cat #G7941) (주위 온도)을 검정 플레이트의 각 웰에 대해 50 μL로 첨가하였다. 5분 후 Varioskan 마이크로플레이트 리더(Thermo Fisher)를 사용하여 발광 활성을 측정했다. 데이터를 그래프패드(GraphPad) 프리즘 소프트웨어를 사용하여 분석하였다.
- [0386] Jurkat-Lucia™ NFAT세포를 7.5x10⁵ 세포/mL로 재현탁하고, 200 μL의 세포를 항체가 들어 있는 각 웰에 첨가하고 포유동물 배양기에서 24시간 동안 배양했다. 20 μL의 세포 배양 상청액을 새로운 96-웰 백색 벽 미세역가 플레이트에 피펫으로 넣었다. 50 μL의 Quanti-Luc 용액(InvivoGen)을 각 웰에 첨가한 후 Varioskan 마이크로플레이트 판독기(Thermo Fisher)를 사용하여 발광 활성을 측정했다. 데이터를 그래프패드(GraphPad) 프리즘 소프트웨어를 사용하여 분석하였다.
- [0387] **도 3a**는 MX169, MX368 및 MX369에 대한 NF-κB(NFκB) 프로모터의 제어 하에 루시퍼라제를 발현하는 JurkaT세포주에서 테스트된 T세포 활성화의 배수 변화를 나타낸다. **도 3b**는 MX169, MX368 및 MX369에 대한 NFAT 프로모터의 제어 하에 루시퍼라제를 발현하는 JurkaT세포주에서 시험된 T세포 활성화의 배수 변화를 나타낸다. 대조 IgG1 이소형 항체의 결과도 표시된다(IgG1 이소형). 이러한 결과는 세 가지 다중특이적 항체 모두 기능적으로 활성이 있었고 두 프로모터 중 하나를 사용하여 T세포의 용량 의존적 활성화를 초래했음을 나타낸다.
- [0388] 실시예 4
- [0389] T세포 증식 분석 - MX169, MX368 및 MX369
- [0390] T세포에 대한 다중특이적 항체 MX169, MX368 및 MX369의 효과를 평가하기 위해 시험관 내 T세포 증식 분석 및 유세포 분석을 수행했다. 정제된 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)(Blood Research Component, Brookline, MA, USA)를 배양 배지(RPMI1640, 10% 태아 소 혈청(FBS) 및 페니실린 스트렙토마이신 보충 배지)(Gibco)(2.5 x 10⁵ 세포/ml)에 재현탁시켰다. 연속 희석된 다중특이적 및 대조 항체를 먼저 37° C 조직 배양 인큐베이터에서 2-4시간 동안 배양하여 96웰 평면 바닥 배양 플레이트에 코팅했다. 그런 다음 PBMC(200 μL)를 항체가 들어 있는 각 웰에 첨가하고 37° C 조직 배양 인큐베이터에서 7일 동안 배양했다.
- [0391] 배양 중 4일 후에 세포 배양 배지를 교체했다. 세포를 원심분리하고, 세척하고, 생존 염료 및 Precision Count Beads™(Biolegend)와 함께 CD2, CD4 및 CD8과 같은 T세포 마커에 대한 형광 표지된 항체로 염색했다. Attune 유세포 분석기(Thermo Fisher Scientific, USA)에서 획득하기 전이다. 데이터를 FlowJo 소프트웨어로 분석하였다. 치료에 따른 CD4+ 및 CD8+ T세포 증식의 배수 변화는 제7일 및 제0일의 세포 농도를 나누어 계산했다.
- [0392] **도 4A-4F**는 MX169, MX368 및 MX369 처리 시 상이한 세(3) 공여자로부터의 1차 인간 CD4+ T세포(**도 4A-4C**) 및 CD8+ T세포(**도 4D-4F**)의 증식 배수 변화를 나타낸다. 대조 IgG1 이소형 항체의 결과도 표시된다(IgG1 이소형). 이러한 결과는 세 가지 다중특이적 항체 모두 CD4+ 및 CD8+ T세포 증식을 유도했음을 나타낸다.
- [0393] 실시예 5
- [0394] 다중특이적 4-1BBL 융합 항체 ELISA 결합 분석
- [0395] CD3 및 CD28에 결합하고 4-1BBL 삼량체를 함유하는 3개의 다중특이적 항체를 실시예 1에 설명된 바와 같이 제조하고 정제하였다(MX306, MX424 및 MX425). 표적 단백질에 대한 항체의 결합을 평가하기 위해 ELISA 결합 분석을 수행했다.
- [0396] 다중특이성 항체의 각 결합 부위에 대한 표적 단백질을 96-웰 이뮤노플레이트(Immuno Plates, Thermo Fisher Scientific)의 웰에 4° C에서 밤새 코팅했다. 코팅된 플레이트를 5% 탈지유 + 인산염 완충 식염수(PBS) + 0.25% Tween 중의 2% 소 혈청 알부민(BSA)을 사용하여 실온에서 1시간 동안 블로킹한 다음, PBS + 0.25% Tween 20으로 3회 세척하였다. 연속 희석된 항체 및 대조 분자를 플레이트에 첨가하고 실온에서 1시간 동안 배양했다. 플레이트를 PBS + 0.25% Tween 20으로 3회 세척하고, HRP(horseradish peroxidase)가 결합된 검출 항체와 함께 실온에서 1시간 동안 배양한 후 다시 세척한 후 Peroxydase Substrate(KPL, Gaithersburg, MD, USA)로 현상했다. 100 μl의 KPL TMB BlueSTOP 용액을 첨가하여 반응을 종료한 후 플레이트 리더기를 사용하여 OD650에서 플레이트를 판독하고 GraphPad Prism에서 데이터를 분석했다.

- [0397] **도 5A**는 인간 CD3에 대한 MX306, MX424 및 MX425의 ELISA 결합 결과를 나타낸다. **도 5B**는 인간 CD28에 대한 MX306, MX424 및 MX425의 ELISA 결합 결과를 나타낸다. **도 5C**는 인간 4-1BBL에 대한 MX306, MX424 및 MX425의 ELISA 결합 결과를 나타낸다. 이러한 결과는 세 가지 다중특이적 항체가 모두 기능적으로 활성을 가지며 CD3, CD28 및 4-1BBL 표적 단백질에 결합한다는 것을 나타낸다.
- [0398] 실시예 6
- [0399] T세포 증식 분석 - MX306, MX424 및 MX425
- [0400] T세포에 대한 다중특이적 항체 MX306, MX424 및 MX425의 효과를 평가하기 위해 *시험관내* T세포 증식 분석 및 유세포 분석을 수행했다. PBMC(Blood Research Component, Brookline, MA, USA)를 배양 배지(RPMI1640, 10% 태아 소 혈청(FBS) 및 페니실린 스트렙토마이신 보충 배지)(Gibco)(2.5×10^5 세포/ml)에 재현탁시켰다. 연속 희석된 다중특이적 및 대조 항체를 먼저 37° C 조직 배양 인큐베이터에서 2-4시간 동안 배양하여 96웰 평면 바닥 배양 플레이트에 코팅했다. 그런 다음 PBMC(200 μ L)를 항체가 들어 있는 각 웰에 첨가하고 37° C 조직 배양 인큐베이터에서 7일 동안 배양했다.
- [0401] 배양 중 4일 후에 세포 배양 배지를 교체했다. 세포를 원심분리하고, 세척하고, 생존 염료 및 Precision Count Beads™(Biolegend)와 함께 CD2, CD4 및 CD8과 같은 T세포 마커에 대한 형광 표지된 항체로 염색했다. Attune 유세포 분석기(Thermo Fisher Scientific, USA)에서 획득하기 전이다. 데이터를 FlowJo 소프트웨어로 분석하였다. 치료에 따른 CD4+ 및 CD8+ T세포 증식의 배수 변화는 제7일 및 제0일의 세포 농도를 나누어 계산했다.
- [0402] **도 6A-6F**는 MX306, MX424 및 MX425 처리 시 상이한 세(3) 공여자로부터의 1차 인간CD4+ T세포(**도 6A-6C**) 및 CD8+ T세포(**도 6D-6F**)의 증식 배수 변화를 나타낸다. 대조 IgG1 이소형 항체의 결과도 표시된다(IgG1 이소형). 이러한 결과는 세 가지 다중특이적 항체 모두 CD4+ 및 CD8+ T세포 증식을 유도했음을 나타낸다.
- [0403] 실시예 7
- [0404] OX40L 융합 항체를 이용한 인간 CD4 기억 T세포의 증식
- [0405] T세포에 대한 다중특이적 항체의 효과를 평가하기 위해, *시험관내* T세포 증식 검정 및 유세포 분석을 수행했다. MX169는 실시예 1에 설명된 바와 같이 제조하였다. MX240은 또한 **도 7A 내지 도 7B**에 도시된 바와 같이, OX40L 삼량체의 이량체 및 CD3 및 CD28에 대한 결합 부위를 함유하기 위해 실시예 1에 설명된 바와 같이 제조하였다.
- [0406] 분석을 위해, 정제된 인간 PBMC(Blood Research Component, Brookline, MA, USA)를 배양 배지(RPMI1640, 10% FBS 및 페니실린 스트렙토마이신 보충 배지)(Gibco)(2.5×10^5 세포/ml)에 재현탁시켰다. 대안적으로, 정제된 사이노몰거스 PBMC(휴먼셀즈 바이오사이언시즈)를 배양 배지(10% FBS를 갖는 RPMI1640)에 재현탁시키고, 페니실린 스트렙토마이신 및 rIL-2(50 단위/mL)(길코)로 보충하였다. 연속적으로 희석된 다중특이적 및 대조 항체(IgG1 이소타입)를 먼저 37° C 조직 배양 인큐베이터에서 2-4시간 동안 배양하여 96웰 평면 바닥 배양 플레이트에 코팅했다. 그런 다음 PBMC(200 μ L)를 항체가 들어 있는 각 웰에 첨가하고 37° C 조직 배양 인큐베이터에서 여러 시점(최대 10일) 동안 배양했다. 4일 배양 후에 세포 배양 배지를 교체했다. 세포를 원심분리하고, 세척하고, 생존 염료 및 Precision Count Beads™(Biolegend)와 함께 CD4 및 CD8과 같은 T세포 마커에 대한 형광 표지된 항체로 염색했다(Attune 유세포 분석기(Thermo Fisher Scientific, USA)에서 획득하기 전). CD4 및 CD8 T세포가 확인되었고 기억 T세포 하위 집합은 CD45RA 및 CCR7 발현을 특징으로 했다. 배수 변화는 제7일 및 제0일의 세포 농도를 나누어 계산했다. 데이터는 FlowJo 소프트웨어를 사용하여 분석하였다.
- [0407] **도 7A-7B**는 두(2) 공여자로부터의 MX169 및 MX240에 의해 유발된 PBMC에서의 CD4의 배수 변화로서 측정된 T세포 증식을 나타낸다(**각각 도 7A 및 도 7B**). 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다. 이러한 결과는 MX169 및 MX240 둘 모두가 CD4 기억 T 세포 증식을 유도함을 보여준다.
- [0408] 실시예 8
- [0409] OX40L 융합 항체시간 경과에 따른 인간 CD4 기억 T세포의 증식
- [0410] T세포에 대한 다중특이적 항체의 효과를 평가하기 위해, *시험관내* T세포 증식 검정 및 유세포 분석을 수행했다. MX169, MX368 및 MX369는 실시예 1에 설명된 대로 제조되었다. 분석은 실시예 7에 설명된 대로 수행되었다. PBMC를 다중특이적 항체와 함께 3, 7, 10일 동안 배양했다.
- [0411] **도 8**은 세(3) 공여자로부터의 MX169, MX368 및 MX369에 의해 유발된 PBMC에서의 CD4의 배수 변화로서 측정된 T

세포 증식을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다. 이러한 결과는 MX169, MX368 및 MX369가 CD4 기억 T세포 증식을 유도했음을 나타낸다.

[0412] 실시예 9

[0413] OX40L 융합 항체를 이용한 인간 CD8 기억 T세포의 증식

[0414] T세포에 대한 다중특이적 항체의 효과를 평가하기 위해, *시험관내* T세포 증식 검정 및 유세포 분석을 수행했다. MX169는 실시예 1에 설명된 바와 같이 제조되었다. MX240은 실시예 7에 설명된 바와 같이 제조되었다. 분석은 실시예 7에 설명된 바와 같이 수행하였다.

[0415] **도 9**는 두(2) 공여자로부터의 MX169 및 MX240에 의해 유발된 PBMC에서의 CD8의 배수 변화로서 측정된 T세포 증식을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다. 이러한 결과는 MX169 및 MX240 둘 모두가 CD8 기억 T 세포 증식을 유도함을 보여준다.

[0416] 실시예 10

[0417] OX40L 융합 항체 시간 경과에 따른 인간 CD8 기억 T세포의 증식

[0418] T세포에 대한 다중특이적 항체의 효과를 평가하기 위해, *시험관내* T세포 증식 검정 및 유세포 분석을 수행했다. MX169, MX368 및 MX369는 실시예 1에 설명된 대로 제조되었다. 분석은 실시예 7에 설명된 대로 수행되었다. PBMC를 다중특이적 항체와 함께 3, 7, 10일 동안 배양했다.

[0419] **도 10**은 세(3) 공여자로부터의 MX169, MX368 및 MX369에 의해 유발된 PBMC에서의 CD8의 배수 변화로서 측정된 T 세포 증식을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다. 이러한 결과는 MX169, MX368 및 MX369가 CD8 기억 T세포 증식을 유도했음을 나타낸다.

[0420] 실시예 11

[0421] 41BBL 융합 항체를 이용한 인간 CD4 및 CD8 기억 T세포의 증식

[0422] T세포에 대한 다중특이적 항체의 효과를 평가하기 위해, *시험관내* T세포 증식 검정 및 유세포 분석을 수행했다. MX306은 실시예 5에 설명된 대로 제조되었다. MX321도 **도 11**에 도시된 바와 같이 4-1BBL 삼량체의 이량체 및 CD3 및 CD28에 대한 결합 부위를 함유하도록 실시예 5에 설명된 대로 제조되었다. 분석은 실시예 7에 설명된 대로 수행되었다.

[0423] **도 11**은 두(2) 공여자로부터의 MX306 및 MX321에 의해 유발된 PBMC에서의 CD4 또는 CD8의 배수 변화로 측정된 T 세포 증식을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다. 이러한 결과는 MX306과 MX321이 CD4 및 CD8 기억 T세포 증식을 유도했음을 나타낸다.

[0424] 실시예 12

[0425] 4-1BBL 융합 항체 시간 경과에 따른 인간 CD4 기억 T세포의 증식

[0426] T세포에 대한 다중특이적 항체의 효과를 평가하기 위해, *시험관내* T세포 증식 검정 및 유세포 분석을 수행했다. MX306, MX424 및 MX425는 실시예 5에 설명된 대로 제조되었다. 분석은 실시예 7에 설명된 대로 수행되었다. PBMC를 다중특이적 항체와 함께 3, 7 및 10일 동안 배양했다.

[0427] **도12**는 세(3) 공여자로부터의 MX306, MX424 및 MX425에 의해 유발된 PBMC에서의 CD4의 배수 변화로서 측정된 T 세포 증식을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다. 이러한 결과는 MX306, MX424 및 MX425가 CD4 기억 T세포 증식을 유도했음을 나타낸다.

[0428] 실시예 13

[0429] 4-1BBL 융합 항체 시간 경과에 따른 인간 CD8 기억 T세포의 증식

[0430] T세포에 대한 다중특이적 항체의 효과를 평가하기 위해, *시험관내* T세포 증식 검정 및 유세포 분석을 수행했다. MX306, MX424 및 MX425는 실시예 5에 설명된 대로 제조되었다. 분석은 실시예 7에 설명된 대로 수행되었다. PBMC를 다중특이적 항체와 함께 3, 7 및 10일 동안 배양했다.

[0431] **도 13**은 세(3) 공여자로부터의 MX306, MX424 및 MX425에 의해 유발된 PBMC에서의 CD8의 배수 변화로서 측정된 T 세포 증식을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다. 이러한 결과는 MX306, MX424 및 MX425가

CD4 기억 T세포 증식을 유도했음을 나타낸다.

[0432] 실시예14

[0433] OX40L 융합 항체를 갖는 1차 인간 T세포 공여자로부터의 Th1 시토카인 방출 농도

[0434] 사이토카인 방출에 대한 다중특이적 항체의 효과를 평가하기 위해 다음 분석을 수행했다. MX169, MX368 및 MX369를 상기 기재된 바와 같이 제조하였다. MX170 및 MX250도 위에 설명된 방법을 사용하여 제조되었으며 결과 구조는 **도 14b**에 도시되어 있다.

[0435] 분석을 위해, 세포 배양 상청액을 Drop Array system(Curiox Biosystems, 싱가포르)의 채택과 함께 MILLIPLEX® MAP 멀티플렉스 분석 (밀리포어 시그마)을 사용하여 분석하였다. 혈장 샘플은 Drop Array 시스템을 채택한 ProcartaPlex™ 면역검정(Thermo Fisher)을 사용하여 검정하였다. 간단히 말해서, DropArray 분석 플레이트의 웰에 자성 분석물 비드 혼합물을 첨가했다. 그런 다음 표준품, 품질 관리 및 희석 샘플을 플레이트에 추가했다. 모든 표준 및 품질 관리는 이중으로 테스트되었으며 샘플은 여러 번 반복하여 테스트되었다. 플레이트를 가슴 챔버 내의 자기 스탠드 상에 놓고 밤새 4° C에서 진탕하였다. 플레이트를 DropArray LT210 세척 스테이션 (Curiox Biosystems)으로 세척하였다. 검출 항체와 스트렙타비딘-PE 기질을 각 웰에 첨가하고 진탕하면서 배양했다. Luminex MAGPIX 기기로 관독하기 전에 플레이트를 세척했다. 데이터는 EMD Millipore Milliplex Analyst 소프트웨어 또는 Thermofisher Procartaplex 분석 도구를 사용하여 분석되었다.

[0436] **도 14a**는 MX169, MX170, MX250, MX368 및 MX369에 의해 유발된 1차 인간 T세포로부터의 IFN감마, IL-2, IL-6 및 TNFa 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

[0437] 실시예15

[0438] OX40L 융합 항체를 갖는 1차 인간 T세포 공여자 50으로부터의 Th2 시토카인 방출 농도

[0439] 사이토카인 방출에 대한 다중특이적 항체의 효과를 평가하기 위해 다음 분석을 수행했다. MX169, MX170, MX250, MX368 및 MX369는 위에서 설명한 대로 제조하고 실시예 14에 설명된 방법을 사용하여 분석했다. PBMC를 1nM 다중특이적 항체와 함께 4일 및 7일 동안 배양하였다.

[0440] **도 15**는 MX169, MX170, MX250, MX368 및 MX369에 의해 유발되는 1차 인간 T세포로부터의 IL-4, IL-5 및 IL-10 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

[0441] 실시예16

[0442] OX40L 융합 항체를 갖는 1차 인간 T세포 공여자 51로부터의 Th1 시토카인 방출 농도

[0443] 사이토카인 방출에 대한 다중특이적 항체의 효과를 평가하기 위해 다음 분석을 수행했다. MX169, MX170, MX250, MX368 및 MX369는 위에서 설명한 대로 제조하고 실시예 14에 설명된 방법을 사용하여 분석했다. PBMC를 1nM 다중특이적 항체와 함께 4일 및 7일 동안 배양하였다.

[0444] **도16**은 MX169, MX170, MX250, MX368 및 MX369에 의해 유발된 1차 인간 T세포로부터의 IFN감마, IL-2, IL-6 및 TNFa 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

[0445] 실시예17

[0446] OX40L 융합 항체를 갖는 1차 인간 T세포 공여자 51로부터의 Th2 시토카인 방출 농도

[0447] 사이토카인 방출에 대한 다중특이적 항체의 효과를 평가하기 위해 다음 분석을 수행했다. MX169, MX170, MX250, MX368 및 MX369는 위에서 설명한 대로 제조하고 실시예 14에 설명된 방법을 사용하여 분석했다. PBMC를 1nM 다중특이적 항체와 함께 4일 및 7일 동안 배양하였다.

[0448] **도17**은 MX169, MX170, MX250, MX368 및 MX369에 의해 유발되는 1차 인간 T세포로부터의 IL-4, IL-5 및 IL-10 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

[0449] 실시예18

[0450] 41BBL 융합 항체를 갖는 1차 인간 T세포 공여자 50으로부터의 Th1 시토카인 방출 농도

[0451] 사이토카인 방출에 대한 다중특이적 항체의 효과를 평가하기 위해 다음 분석을 수행했다. MX306, MX170, MX424 및 MX425를 상기 기재된 바와 같이 제조하였다. MX318은 또한 상기 설명된 방법을 사용하여 제조되었으며, 그

결과 도 18b에 도시된 구조를 갖는다. 실시예 14에 기재된 방법을 사용하여 다중특이적 항체를 분석하였다. PBMC를 1nM 다중특이적 항체와 함께 4일 및 7일 동안 배양하였다.

[0452] **도 18a**는 MX306, MX170, MX318, MX424 및 MX425에 의해 유발되는 1차 인간 T세포로부터의 IFN γ , IL-2, IL-6 및 TNF α 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

[0453] 실시예 19

[0454] 41BBL 융합 항체를 갖는 1차 인간 T세포 공여자 50으로부터의 Th2 시토카인 방출 농도

[0455] 사이토카인 방출에 대한 다중특이적 항체의 효과를 평가하기 위해 다음 분석을 수행했다. MX306, MX170, MX318, MX424 및 MX425는 위에서 설명한 대로 제조하고 실시예 14에 설명된 방법을 사용하여 분석했다. PBMC를 1nM 다중특이적 항체와 함께 4일 및 7일 동안 배양하였다.

[0456] **도 19**는 MX306, MX170, MX318, MX424 및 MX425에 의해 유발되는 1차 인간 T세포로부터의 IL-4, IL-5 및 IL-10 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

[0457] 실시예 20

[0458] 41BBL 융합 항체를 갖는 1차 인간 T세포 공여자 51로부터의 Th1 시토카인 방출 농도

[0459] 사이토카인 방출에 대한 다중특이적 항체의 효과를 평가하기 위해 다음 분석을 수행했다. MX306, MX170, MX318, MX424 및 MX425는 위에서 설명한 대로 제조하고 실시예 14에 설명된 방법을 사용하여 분석했다. PBMC를 1nM 다중특이적 항체와 함께 4일 및 7일 동안 배양하였다.

[0460] **도 20**는 MX306, MX170, MX318, MX424 및 MX425에 의해 유발되는 1차 인간 T세포로부터의 IFN γ , IL-2, IL-6 및 TNF α 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG 이소형)의 결과도 표시된다.

[0461] 실시예 21

[0462] 41BBL 융합 항체를 갖는 1차 인간 T세포 공여자 51로부터의 Th2 시토카인 방출 농도

[0463] 사이토카인 방출에 대한 다중특이적 항체의 효과를 평가하기 위해 다음 분석을 수행했다. MX306, MX170, MX318, MX424 및 MX425는 위에서 설명한 대로 제조하고 실시예 14에 설명된 방법을 사용하여 분석했다. PBMC를 1nM 다중특이적 항체와 함께 4일 및 7일 동안 배양하였다.

[0464] **도 21**는 MX306, MX170, MX318, MX424 및 MX425에 의해 유발되는 1차 인간 T세포로부터의 IL-4, IL-5 및 IL-10 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG 이소형)의 결과도 표시된다.

[0465] 실시예 22

[0466] 41BBL 융합 항체를 사용한 원숭이 T세포의 활성화

[0467] 사이토카인 방출에 대한 다중특이적 항체의 효과를 평가하기 위해 다음 분석을 수행했다. MX424를 상기 기재된 바와 같이 제조하였다. MX485, MX487, MX620 및 MX622는 또한, **도 22b**에 도시된 구조를 갖는, 상기 기재된 바와 같이 제조하였다. 다중특이성 항체를 실시예 14에 기재된 방법을 이용하여, 하기 변경과 함께 분석하였다: NHP PBMC를 rIL-2가 보충된 배양 배지에서 3일 동안 1nM 다중특이성 항체와 함께 배양하였다. 그런 다음 유세포 분석을 위해 세포를 염색했다. CD4 및 CD8 세포가 확인되었고 이들의 활성화 상태는 CD25 발현의 백분율로 결정되었다. NHP 반응성 항CD3을 함유한 항체만이 T세포 활성화를 입증했다.

[0468] **도 22a**는 MX424, MX485, MX487, MX620 및 MX622에 의해 유발되는 원숭이 CD4 및 CD8 T세포의 활성화를 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

[0469] 실시예 23

[0470] 41BBL 융합 항체를 사용한 원숭이 T세포의 증식

[0471] MX424, MX485, MX487, MX620 및 MX622로 처리한 후 원숭이 T세포의 증식을 또한 시험하였다. 시노물구스 비인간 영장류(NHP) PBMC를 rIL-2가 보충된 배양 배지에서 8일 동안 1nM 다중특이적 항체와 함께 배양했다. 그런 다음 유세포 분석을 위해 세포를 염색했다. CD4 및 CD8 세포를 확인하고 Precision Count Beads™(Biolegend)를 사용하여 농도를 측정했다. 배수 변화는 각 시점의 세포 농도를 0일로 나누어 계산하였다. NHP-반응성 항-CD3을 갖는 항체들만이 T 세포 증식을 입증하였다. 탐색적 NHP 연구를 위해, 시노물구스 원숭이를 모든 동물 절차 및

실험과 함께 사용하였고, 이는 동물실험윤리위원회에 의해 승인된 프로토콜에 따라 수행하였다. MX487 및 MX620은 다중 1시간 IV(10-30-100 μ g/kg) 주입 투여를 통해 투여되었으며, MX620은 다중 1시간 IV(100-300 μ g/kg) 주입 투여를 통해 투여되었다. 전혈 샘플을 주사 전 및 투여 후 14일까지 설계된 바와 같이 여러 시점에서 수집하였다. 세포 표면 마커의 패널을 사용하여 순환 세포의 유세포 분석 기반 면역표현형 분석을 수행하여 세포 하위 집단(CD2, CD4, CD8, CD45RA 및 CCR7)을 확인했다.

[0472] **도 23**은 MX424, MX485, MX487, MX620 및 MX622에 의해 유발된 CD4 및 CD8 세포의 배수 변화를 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

[0473] 실시예 24

[0474] 41BBL 융합 항체와 함께 배양된 원숭이 T세포로부터의 사이토카인 방출 농도

[0475] MX424, MX485, MX487, MX620 및 MX622로 처리한 후 원숭이 T 세포의 사이토카인 방출을 시험하였다. 시노물구스 비인간 영장류(NHP) PBMC를 rIL-2가 보충된 배양 배지에서 3일 동안 1nM 다중특이적 항체와 함께 배양했다. 상청액을 수집하고 Luminex® 분석을 사용하여 다중화하여 사이토카인 농도를 결정했다.(이 분석에서 rIL-2 보충물이 검출되었다).

[0476] **도 24**는 MX424, MX485, MX487, MX620 및 MX622에 의해 유발된 IFN γ , IL-6, IL-2 및 TNF α 의 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

[0477] 실시예 25

[0478] OX40L 융합 항체를 사용한 원숭이 T세포의 활성화

[0479] MX368 및 MX489로 처리한 후 원숭이 T세포의 활성화를 테스트했다. MX368을 상기 기재된 바와 같이 제조하였다. MX489는 또한 **도 25b**에 도시된 구조를 갖는, 상기 논의된 바와 같이 제조되었다. 활성화를 시험하기 위해, 시노물구스 비인간 영장류(NHP) PBMC를 rIL-2가 보충된 배양 배지에서 3일 동안 1nM 다중특이적 항체와 함께 배양했다. 그런 다음 유세포 분석을 위해 세포를 염색했다. CD4 및 CD8 세포가 확인되었고 이들의 활성화 상태는 CD25 발현의 백분율로 결정되었다. NHP 반응성 항CD3을 함유한 항체만이 T세포 활성화를 입증했다.

[0480] **도 25a**는 MX368 및 MX489에 의해 유발된 CD4 및 CD8 원숭이 T세포의 활성화를 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

[0481] 실시예 26

[0482] OX40L 융합 항체를 이용한 원숭이 T세포의 증식

[0483] MX368 및 MX489로 처리한 후 원숭이 T 세포의 증식을 상기 설명된 바와 같이 시험하였다. 시노물구스 비인간 영장류(NHP) PBMC를 rIL-2가 보충된 배양 배지에서 8일 동안 1nM 다중특이적 항체와 함께 배양했다. 그런 다음 유세포 분석을 위해 세포를 염색했다. CD4 및 CD8 세포를 확인하고 Precision Count Beads™(Biolegend)를 사용하여 농도를 측정했다. 변화 배수는 각 시점의 세포 농도를 제0일로 나누어 계산했다. NHP-반응성 항-CD3를 포함하는 항체만이 T세포 증식을 입증했다.

[0484] **도 26**은 MX368 및 MX489에 의해 유발된 CD4 및 CD8 원숭이 T세포의 증식을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

[0485] 실시예 27

[0486] OX40L 융합 항체와 함께 배양된 원숭이 T세포의 사이토카인 방출 농도

[0487] MX368 및 MX489로 처리한 후 원숭이 T 세포로부터의 사이토카인 방출을 상기 설명된 바와 같이 시험하였다. 시노물구스 비인간 영장류(NHP) PBMC를 배양 배지에서 3일 동안 1nM 다중특이적 항체와 함께 배양하였다. 상청액을 수집하고 Luminex® 분석을 사용하여 다중화하여 사이토카인 농도를 결정했다.

[0488] **도 27**은 MX368 및 MX489에 의해 유발된 원숭이 T세포로부터 IFN γ (IFN γ), IL-6, IL-2 및 TNF α 의 방출을 나타낸다. 대조 항체(IgG1 이소형)의 결과도 표시된다.

[0489] 실시예 28

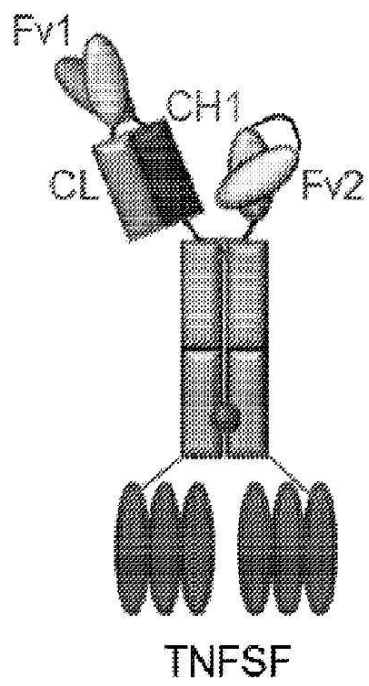
[0490] NHP의 T세포는 41BBL 융합 항체 MX487을 투여한 후 확장되었다가 기준선으로 돌아간다.

- [0491] 2마리의 시노물구스 비-인간 영장류(NHP)에 대해 41BBL 융합 항체 MX487의 3회의 동물내 단계적 증가 용량 0.01, 0.03으로 시작하여 최종 용량 0.1 mg/kg을 투여하였다. 다양한 시점에서 혈액을 수집하고 유세포 분석법으로 면역 표현형을 분석했다. 결과가 **도 28**에 도시되어 있다. 화살표는 항체 투여량을 나타낸다. 이러한 결과는 영장류의 T 세포가 MX487을 투여한 후 확장된 다음 기준선으로 돌아간다는 것을 보여준다.
- [0492] 실시예 29
- [0493] 미접촉 T세포 기억 하위 집합은 41BBL 융합 항체 MX487을 투여한 후 NHP에서 우세하다.
- [0494] 시노물구스 NHP에는 0.01, 0.03 및 최종 용량 0.1 mg/kg으로 41BBL 융합 항체 MX487의 3가지 동물내 단계적 증가 용량을 투여하였다. 제1 투여 후 1주 후에 혈액을 수집하고 유세포 분석법으로 면역 표현형을 분석했다. 기억 T세포 하위 집합은 CD45RA 및 CCR7 발현을 특징으로 한다.
- [0495] **도 29**는 서로 다른 두(2) 동물의 CD4 및 CD8 T세포의 미접촉 집단, Tcm 집단, Teff 집단 및 Tem 집단의 백분율을 나타낸다. 이러한 결과는 미접촉 CD4 및 CD8 기억 T세포가 MX487 치료 후 영장류에서 주요 집단임을 나타낸다.
- [0496] 실시예 30
- [0497] 41BBL 융합 항체 MX620을 투여한 후 NHP의 T세포가 크게 확장된다.
- [0498] 시노물구스 NHP에는 0.01, 0.03 및 최종 용량 0.1mg/kg으로 41BBL 융합 항체 MX620의 3가지 동물내 단계적 증가 용량을 투여하였다. 다양한 시점에서 혈액을 수집하고 유세포 분석법으로 면역 표현형을 분석했다.
- [0499] **도 30**은 MX620으로 처리된 2개의 NHP로부터의 T세포 수와 CD4 및 CD8 T세포 활성화 백분율을 나타낸다. 화살표는 Ab 투여량을 나타낸다. 이러한 결과는 MX620 처리 후 T세포가 크게 확장되었음을 보여준다.
- [0500] 실시예 31
- [0501] 효과기 기억 T세포 하위 집합은 41BBL 융합 항체 MX620을 투여한 후 NHP에서 지배적이다.
- [0502] 시노물구스 NHP에는 0.01, 0.03 및 최종 용량 0.1mg/kg으로 41BBL 융합 항체 MX620의 3가지 동물내 단계적 증가 용량을 투여하였다. 제1 투여 후 1주 후에 혈액을 수집하고 유세포 분석법으로 면역 표현형을 분석했다. 기억 T세포 하위 집합은 CD45RA 및 CCR7 발현을 특징으로 한다.
- [0503] **도 31**은 서로 다른 두(2) 동물의 CD4 및 CD8 T세포의 미접촉 집단, Tcm 집단, Teff 집단 및 Tem 집단의 백분율을 나타낸다.
- [0504] 실시예 32
- [0505] 41BBL 융합 항체 MX620을 투여한 후 NHP의 T세포가 크게 확장되었다.
- [0506] 시노물구스 NHP에는 0.1 및 0.3 mg/kg의 41BBL 융합 항체 MX620의 2회의 동물내 단계적 증가 용량이 투여되었다. 다양한 시점에서 혈액을 수집하고 유세포 분석법으로 면역 표현형을 분석했다. 세포 농도는 Precision Count Beads™(Biolegend)를 사용하여 결정되었다. 배수 변화는 각 시점의 세포 농도를 Day -2 값으로 나누어 계산했다.
- [0507] **도 32**는 MX620 처리 후 2개의 NHP로부터의 T세포 수와 CD4 및 CD8 T세포 활성화의 배수 변화를 나타낸다. 화살표는 Ab 투여량을 나타낸다. 이러한 결과는 NHP의 T세포가 MX620을 투여한 후 확장되었음을 보여준다.
- [0508] 실시예 33
- [0509] 효과기 기억 CD8 T세포 하위 집합은 41BBL 융합 항체 MX620을 투여한 후 NHP에서 지배적이다.
- [0510] 시노물구스 NHP에는 0.1 및 0.3 mg/kg의 41BBL 융합 항체 MX620의 2회의 동물내 단계적 증가 용량이 투여되었다. 다양한 시점에서 혈액을 수집하고 유세포 분석법으로 면역 표현형을 분석했다. 기억 T세포 하위 집합은 CD45RA 및 CCR7 발현을 특징으로 한다. 세포 농도는 Precision Count Beads™(Biolegend)를 사용하여 결정되었다. 배수 변화는 각 시점의 세포 농도를 Day -2 값으로 나누어 계산했다.
- [0511] **도 33**은 다른 두(2) NHP로부터의 CD8 T세포의 미접촉 집단, Tcm 집단, Teff 집단 및 Tem 집단의 배수 변화를 나타낸다. 화살표는 Ab 투여량을 나타낸다.
- [0512] 실시예 34

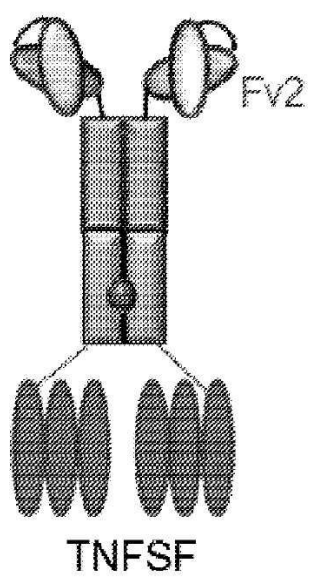
- [0513] Z138 세포의 시험관 사멸은 CD19xCD20/CD3 4-1BBL 융합 항체에 의해 매개된다.
- [0514] MX582 및 MX583 융합 항체는 도 34에 도시된 구조를 갖도록 상기 기재된 바와 같이 제조되었다. MX582 및 MX583으로 48시간 동안 처리(E:T 비율 3:1)한 후 Z138 세포의 사멸을 다음 검정을 사용하여 시험하였다. Z138 종양 표적 세포를 PKH26 염료로 표지한 다음 배양 배지에서 세척하였다. 표적 세포를 2×10^4 세포의 최종 농도로 96 웰 U-바닥 플레이트에 플레이팅하였다. Pan-T 세포를 제조하고, 3:1의 E:T 비로 6×10^4 세포/웰의 최종 농도로 첨가하였다. 항체를 배지에 연속 희석하고, 2.5 nM 내지 0.8 pM의 최종 농도로 첨가하였다. 플레이트를 5% CO₂, 37° C에서 48시간 동안 배양했다. 배양 후 세포를 펠렛화하고 바이올렛 데드(Violet dead) 염색 1:1000으로 20 분 동안 염색했다. 염색을 세척하고 세포를 FACS 고정 완충액에 재현탁시켰다. 세포를 Attune Cytpix 유세포 분석기로 분석한 후 FloJo 소프트웨어를 사용하여 분석했다. 표적 세포를 PE 양성으로 게이팅하였다. 죽은 표적 세포는 APC 양성으로 확인되었다. 시험관 내 사멸 활성화 효과는 세포용해 활성의 백분율로 계산되었다. 용해% = 100-(실험적 살아있는 표적 세포/대조 항체 그룹의 살아있는 표적 세포의 평균)*100. 세포 독성의 백분율은 GraphPad Prism에서 처리되었다.
- [0515] 도 34는 증가하는 농도의 MX582 및 MX583으로 처리한 후 Z138 세포의 용해율을 나타낸다. 대조 항체 (hIgG1LALAPA)를 사용한 처리도 표시되었다. 이러한 결과는 MX582 및 MX583이 Z138 세포에 대한 세포 사멸을 매개한다는 것을 나타낸다.
- [0516] 실시예 35
- [0517] Z138 세포의 시험관 사멸은 CD19xCD20/CD3 of 4-1BBL 융합 항체에 의해 매개된다.
- [0518] MX751, MX777 및 MX778 융합 항체는 도 35에 도시된 구조를 갖도록 상기 기재된 바와 같이 제조되었다. MX751, MX777 및 MX778로 48시간(E:T 비율 3:1) 동안 처리한 후 Z138 세포의 사멸을 상기 기재된 바와 같이 시험하였다.
- [0519] 도 35는 증가하는 농도의 MX751, MX777 및 MX778로 처리한 후 Z138 세포의 용해 백분율을 나타낸다. 대조 항체 (hIgG1LALAPA)를 사용한 처리도 표시되었다. 이러한 결과는 MX751, MX777 및 MX778이 Z138 세포에 대한 세포 사멸을 매개한다는 것을 나타낸다.
- [0520] 본 출원에 언급된 모든 공보, 특허 및 특허 출원 및 생물학적 물질 기탁은, 각각의 개별 공보, 특허, 특허 출원 또는 생물학적 물질 기탁이 본원에서 참조로 포함되는 것으로 구체적으로 및 개별적으로 표시되는 것과 동일한 정도로, 본원으로 그 전문이 참조로 본원에서 포함된다. 또한, 본원에서 임의의 참조문헌의 인용 또는 확인은 이러한 참조문헌이 본 발명에 대한 선행 기술로 이용 가능하다는 인정으로서 해석되지 않아야 한다. 헤딩 부분이 사용되는 정도로, 이것은 반드시 제한으로서 해석되지 않아야 한다.

도면

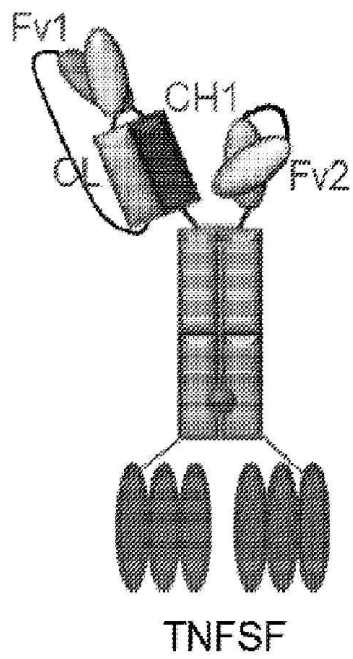
도면1a



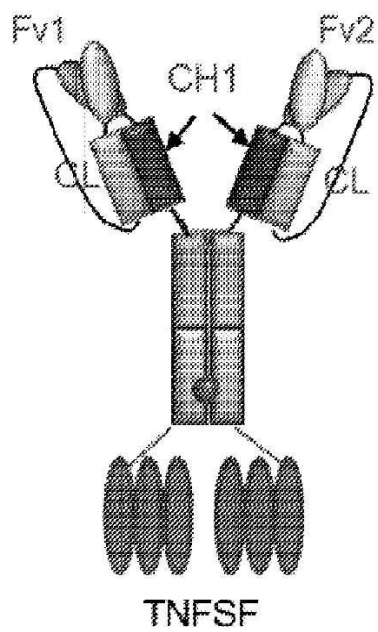
도면1b



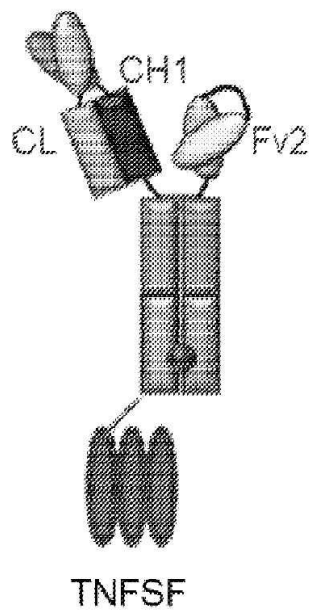
도면1c



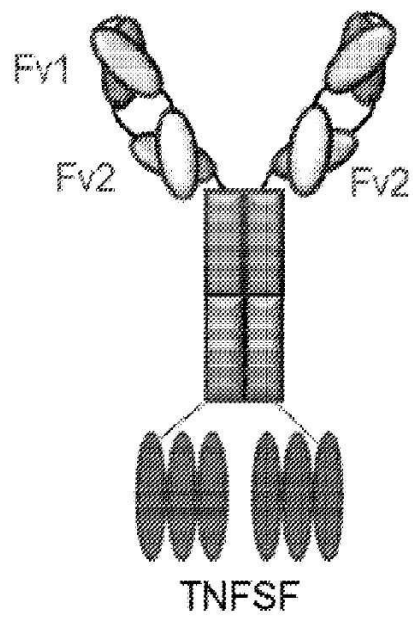
도면1d



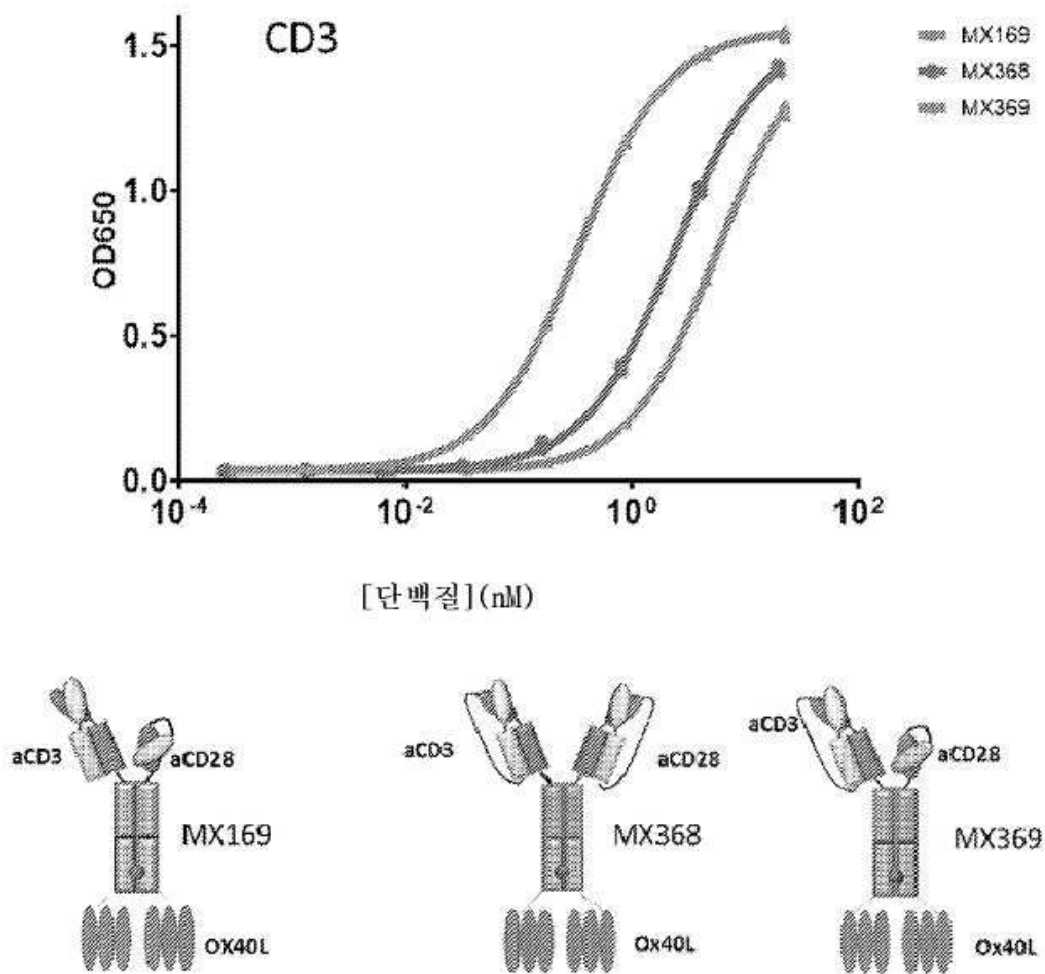
도면1e



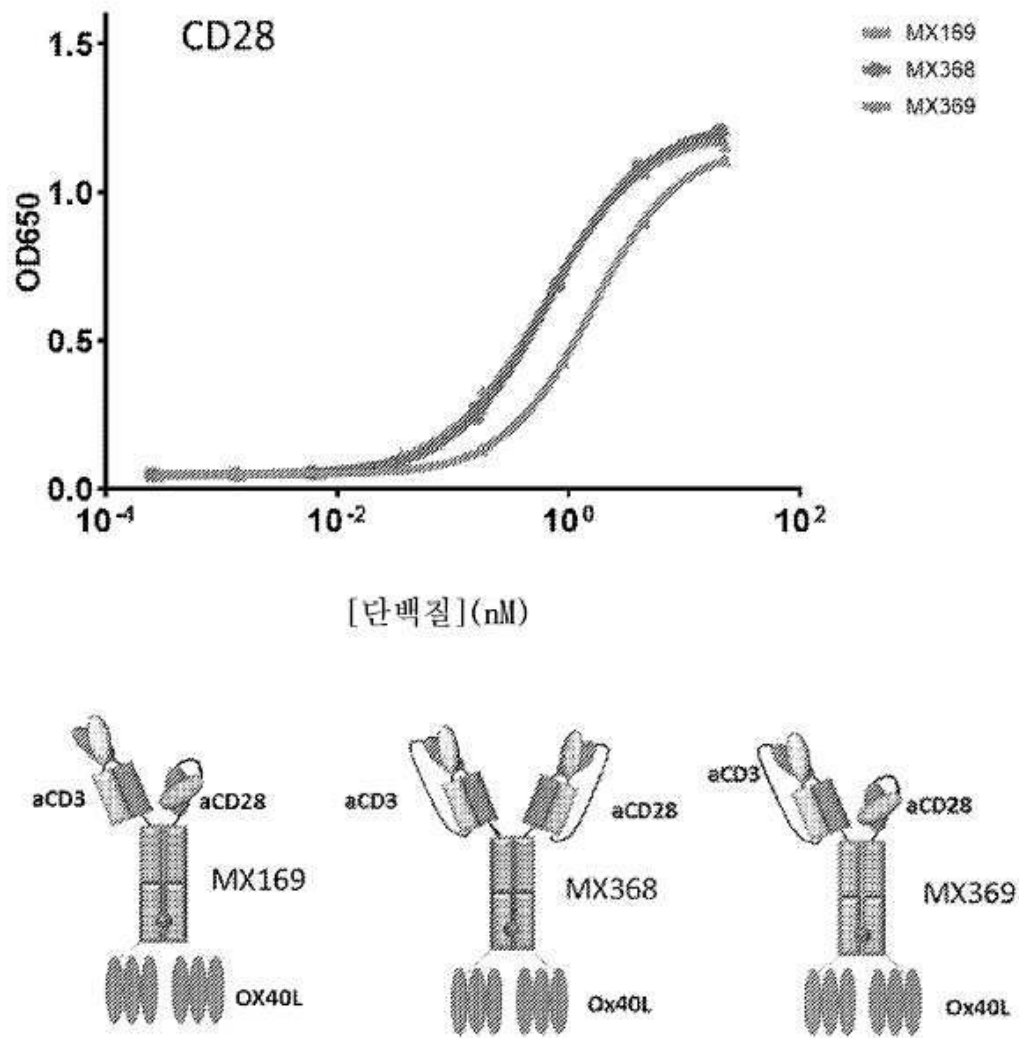
도면1f



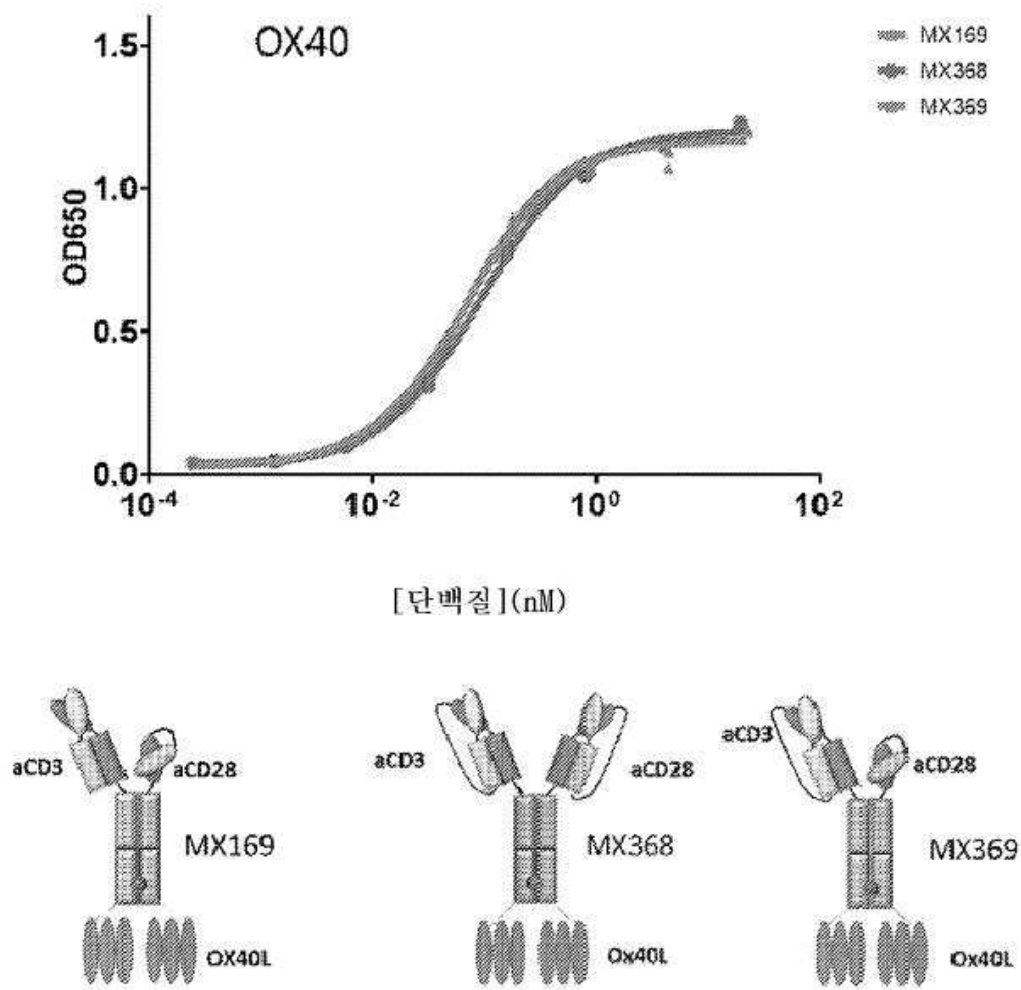
도면2a



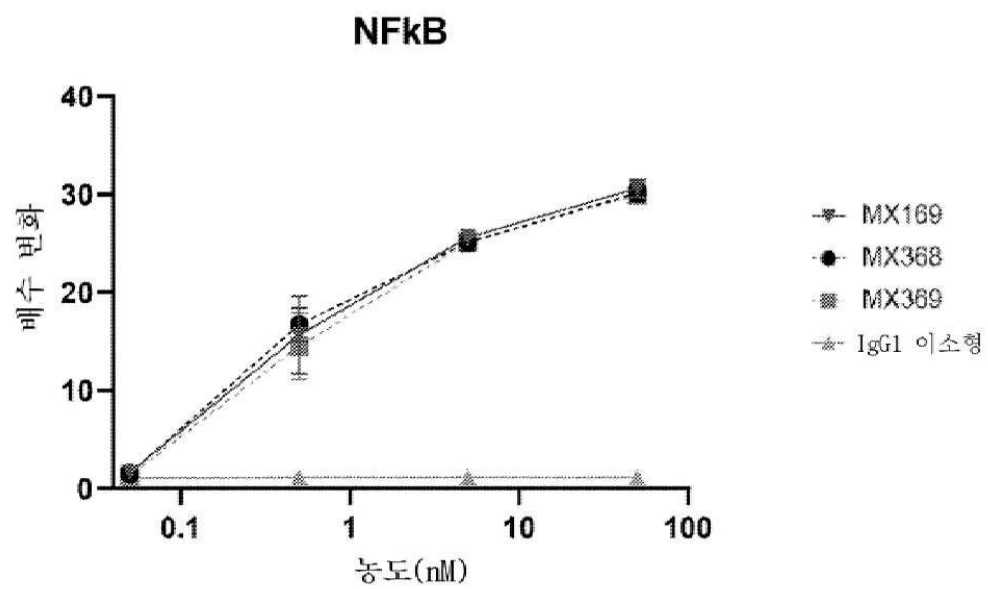
도면2b



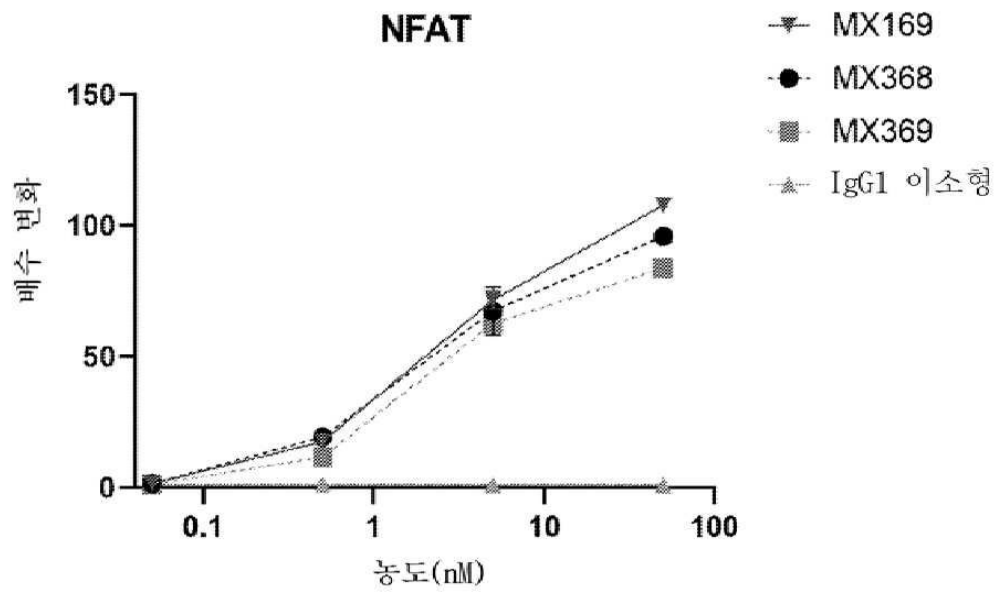
도면2c



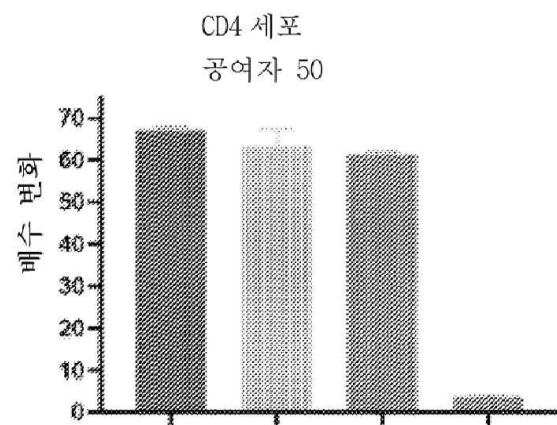
도면3a



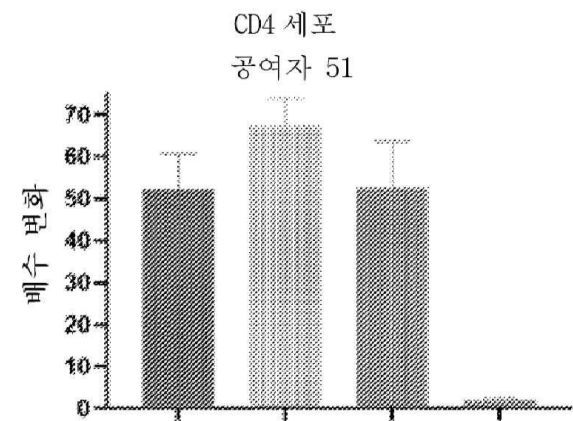
도면3b



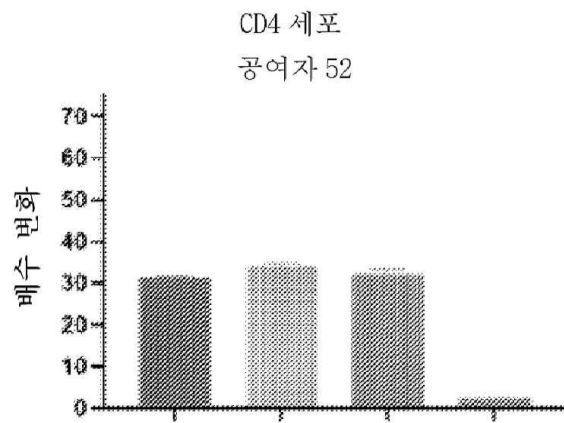
도면4a



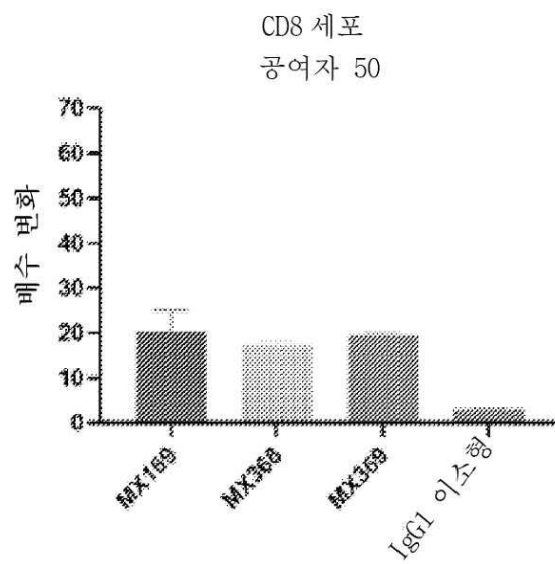
도면4b



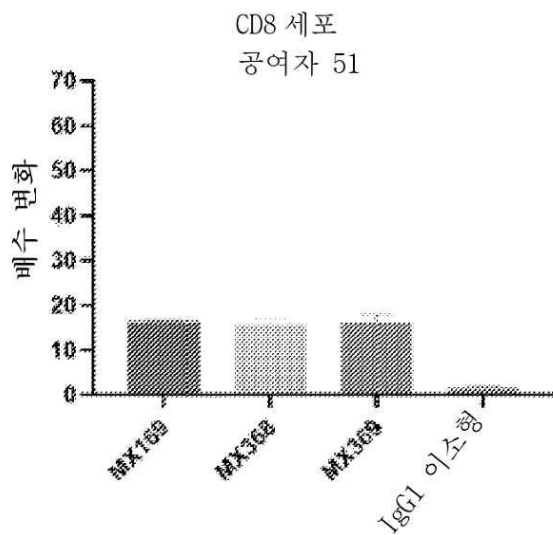
도면4c



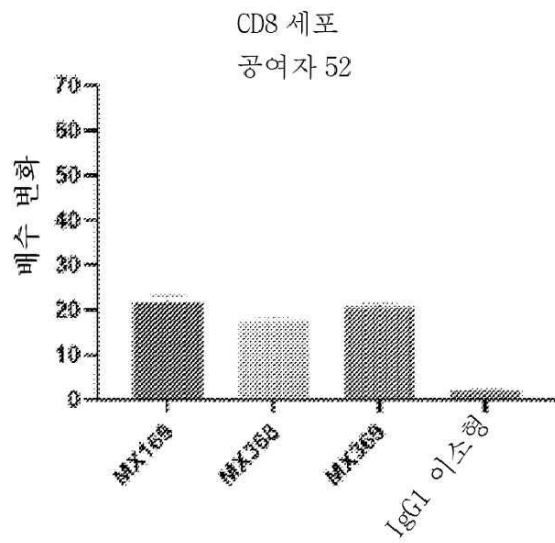
도면4d



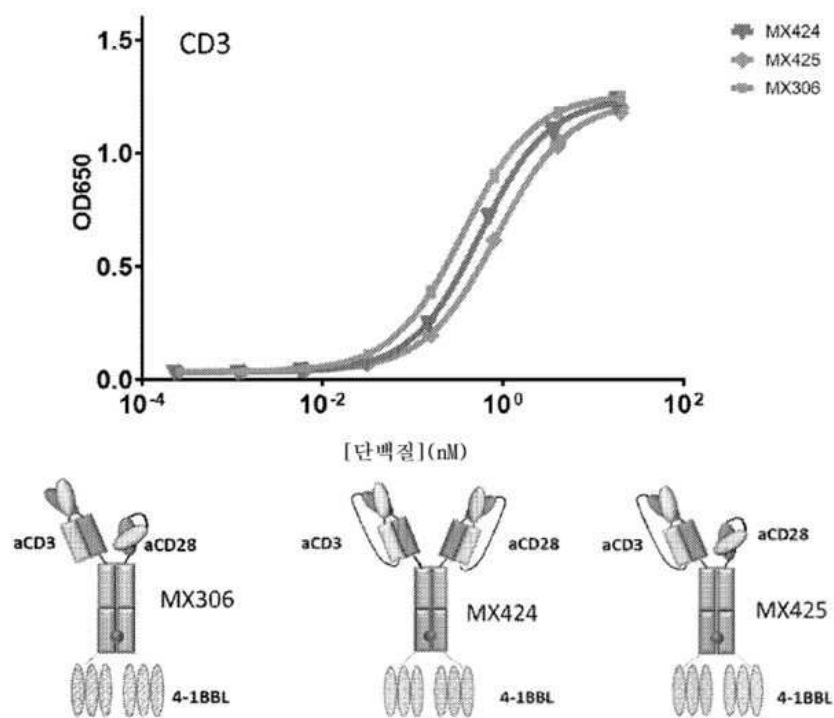
도면4e



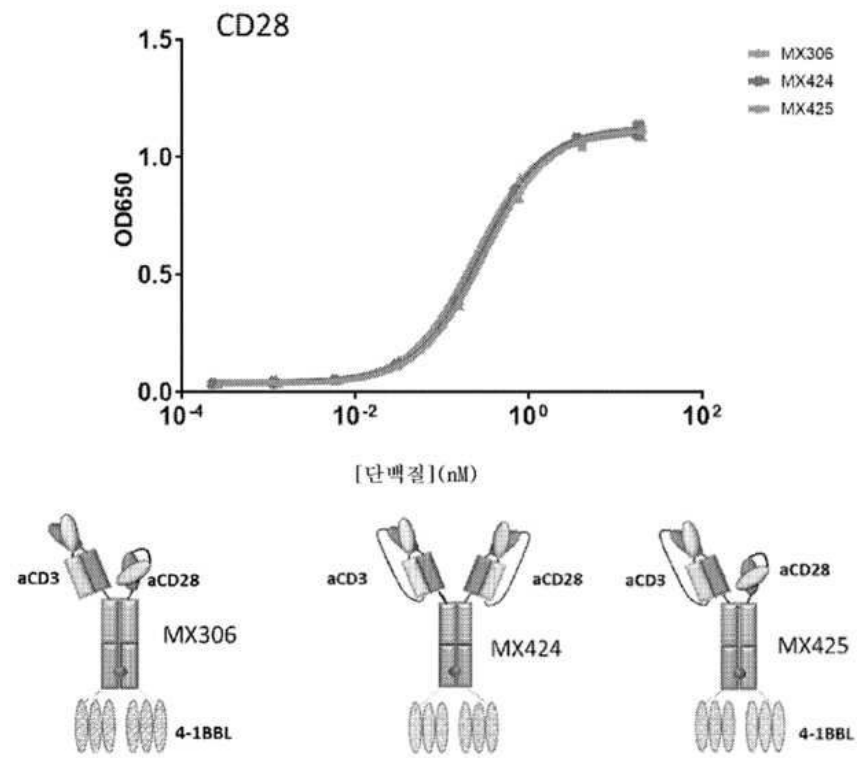
도면4f



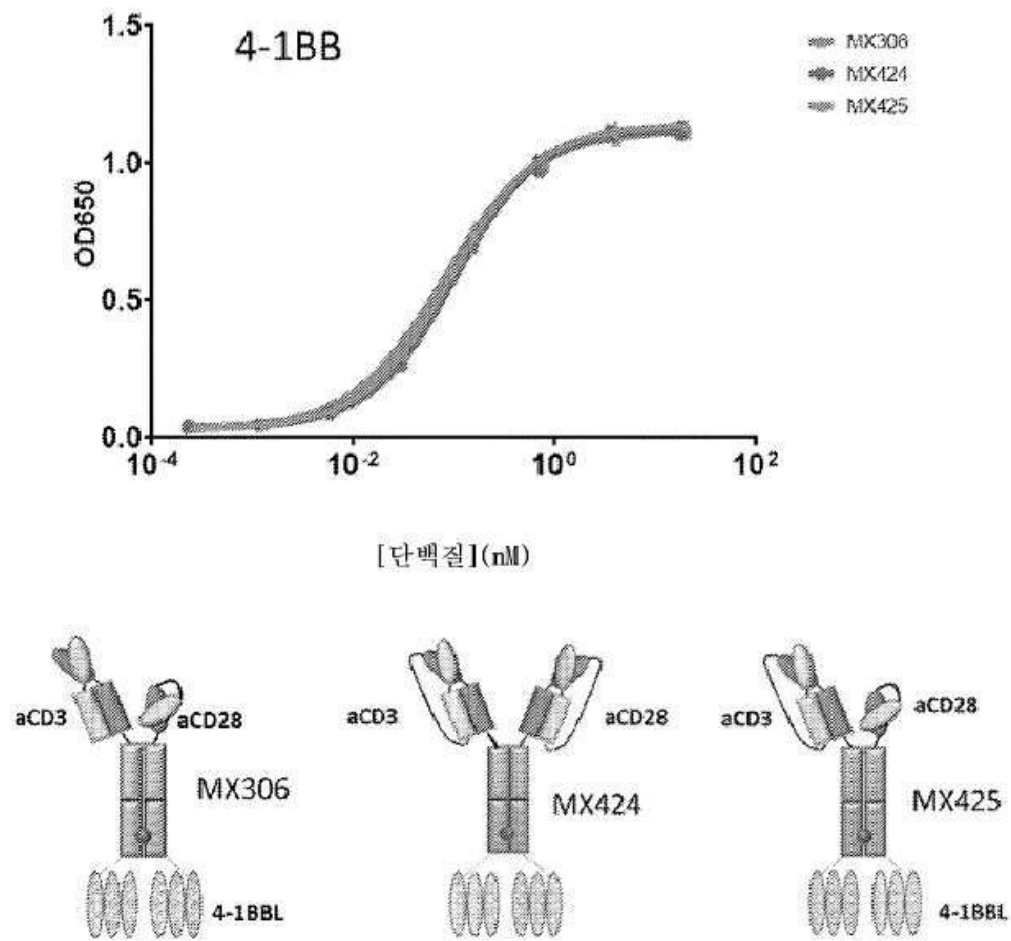
도면5a



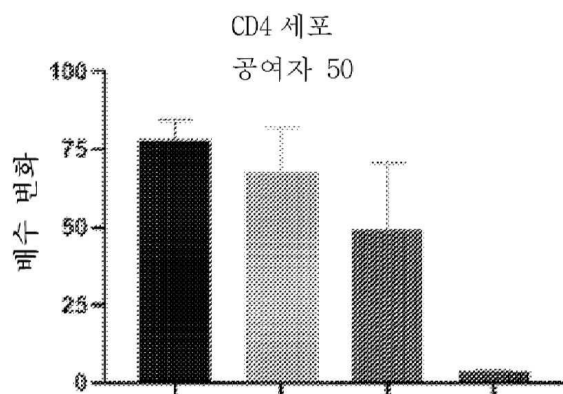
도면5b



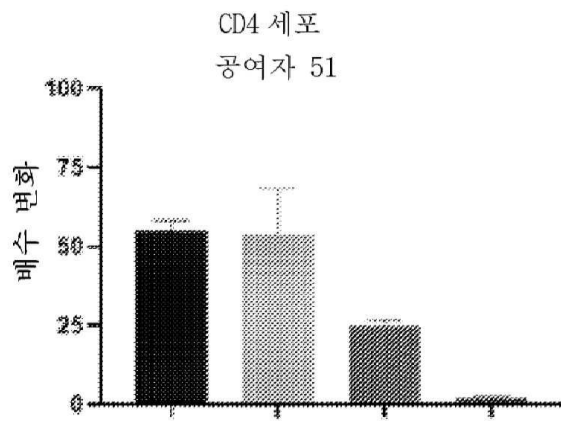
도면5c



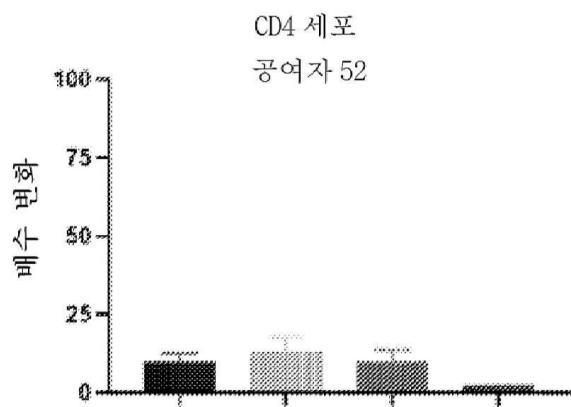
도면6a



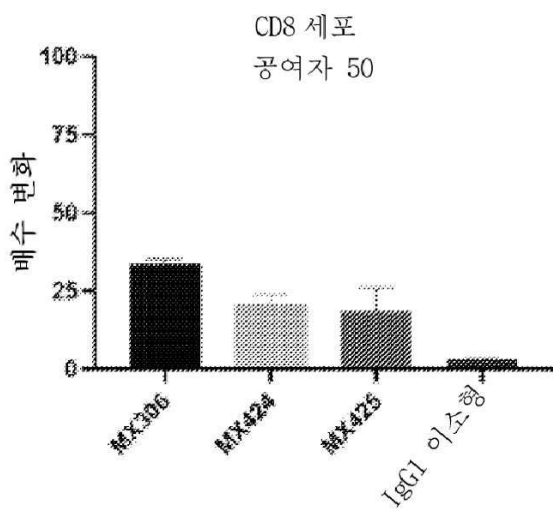
도면6b



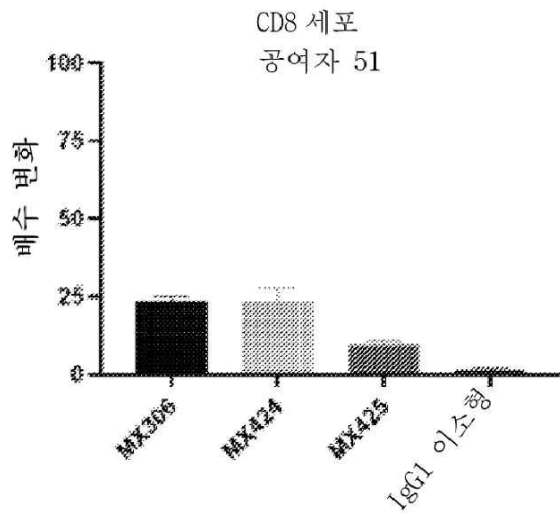
도면6c



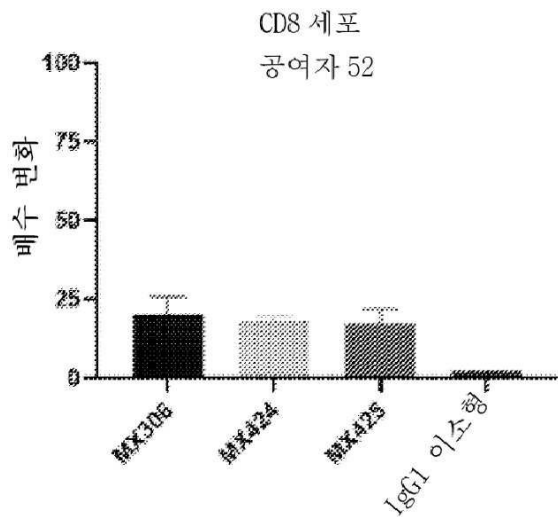
도면6d



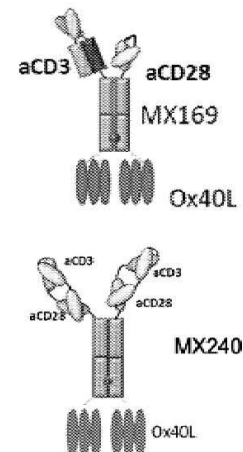
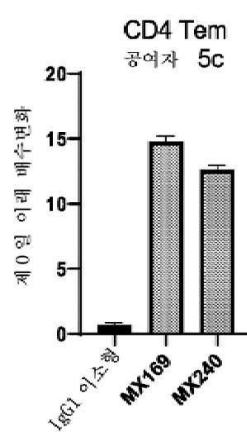
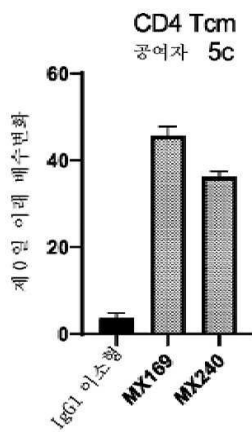
도면6e



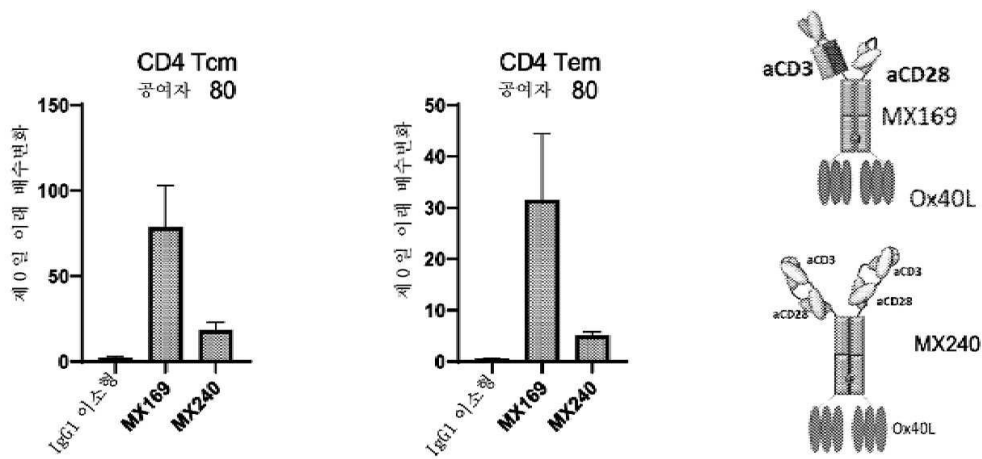
도면6f



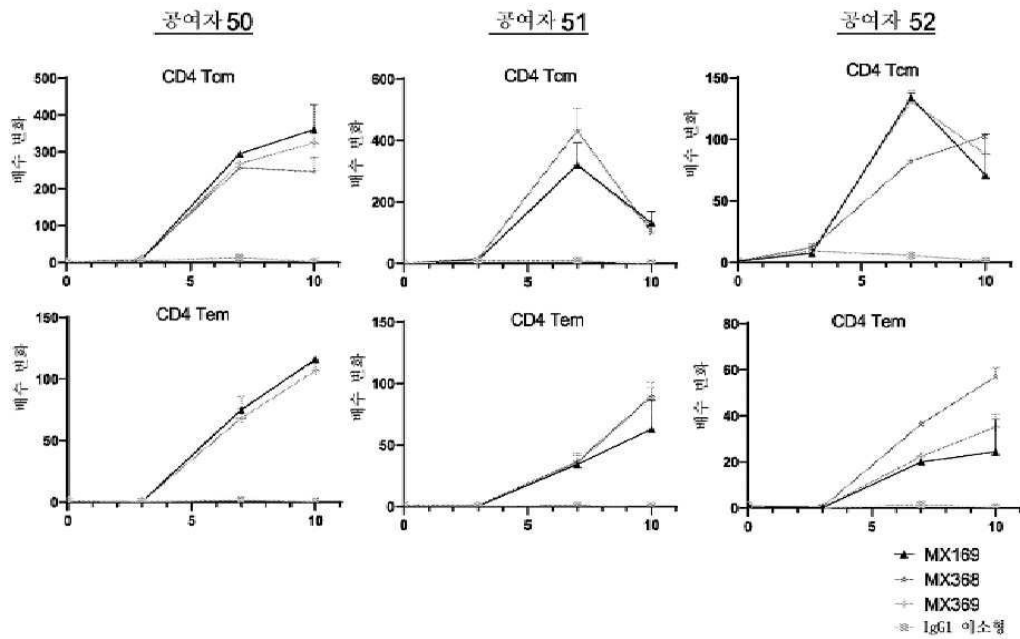
도면7a



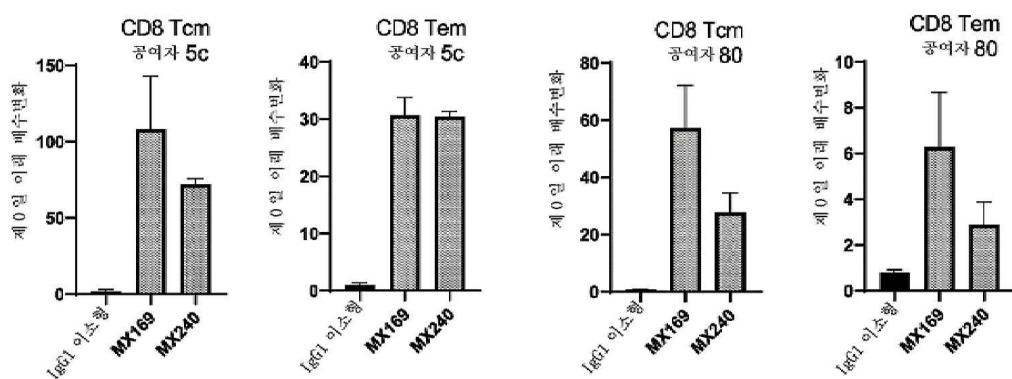
도면7b



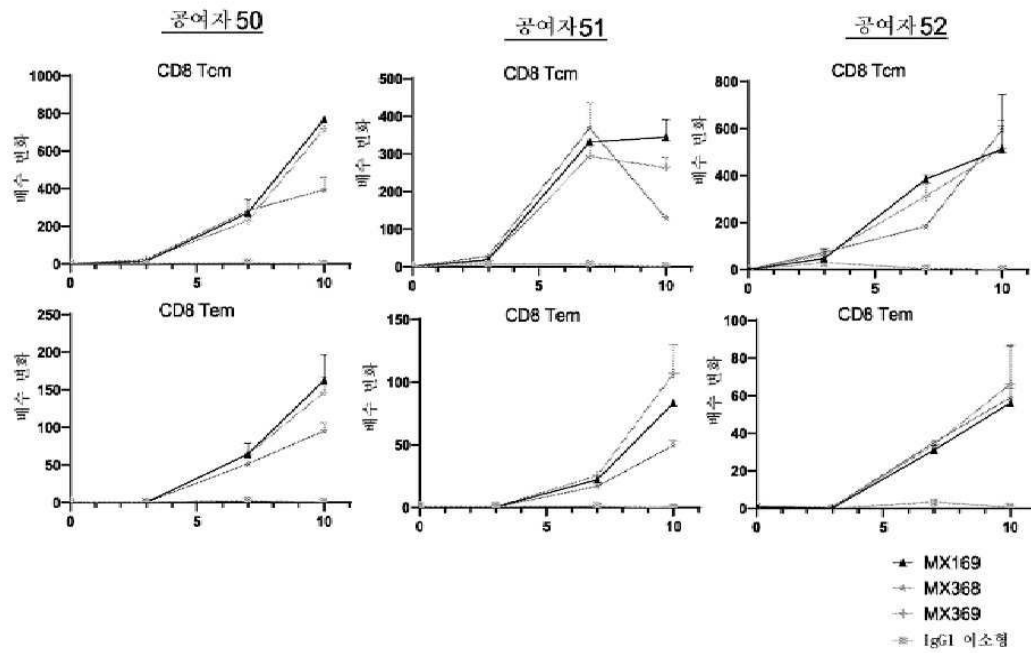
도면8



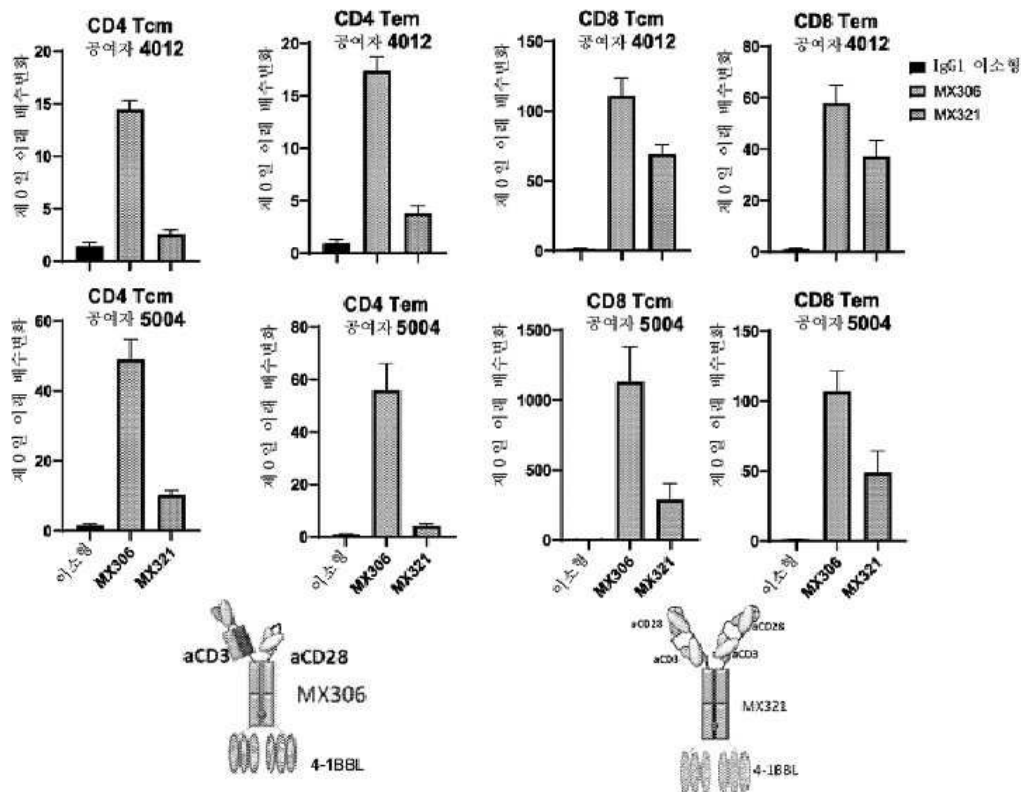
도면9



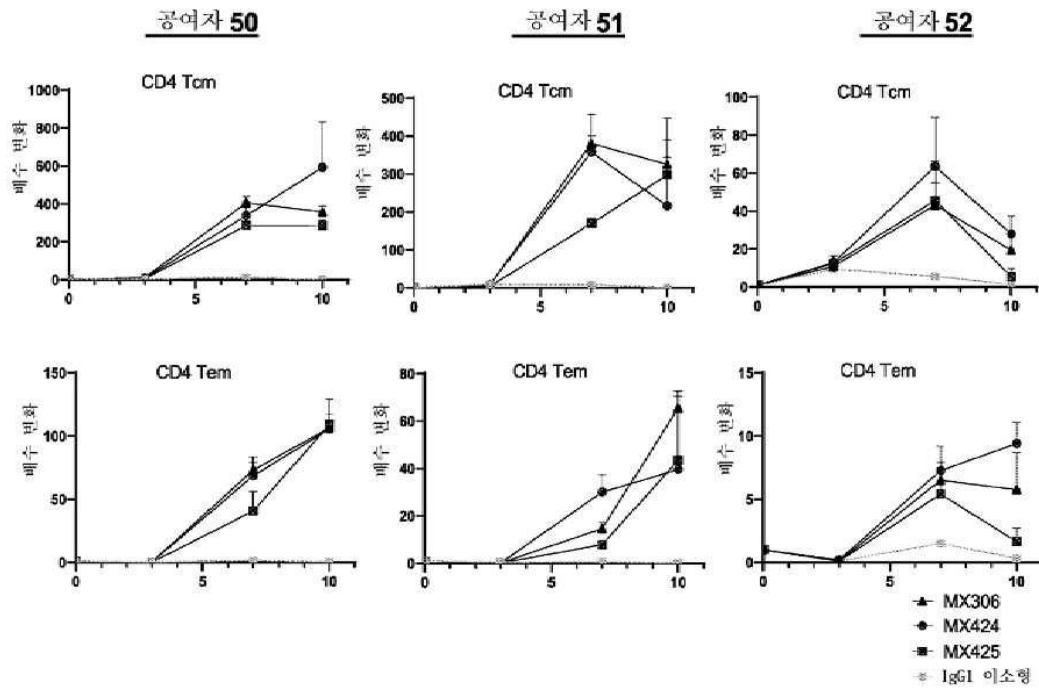
도면10



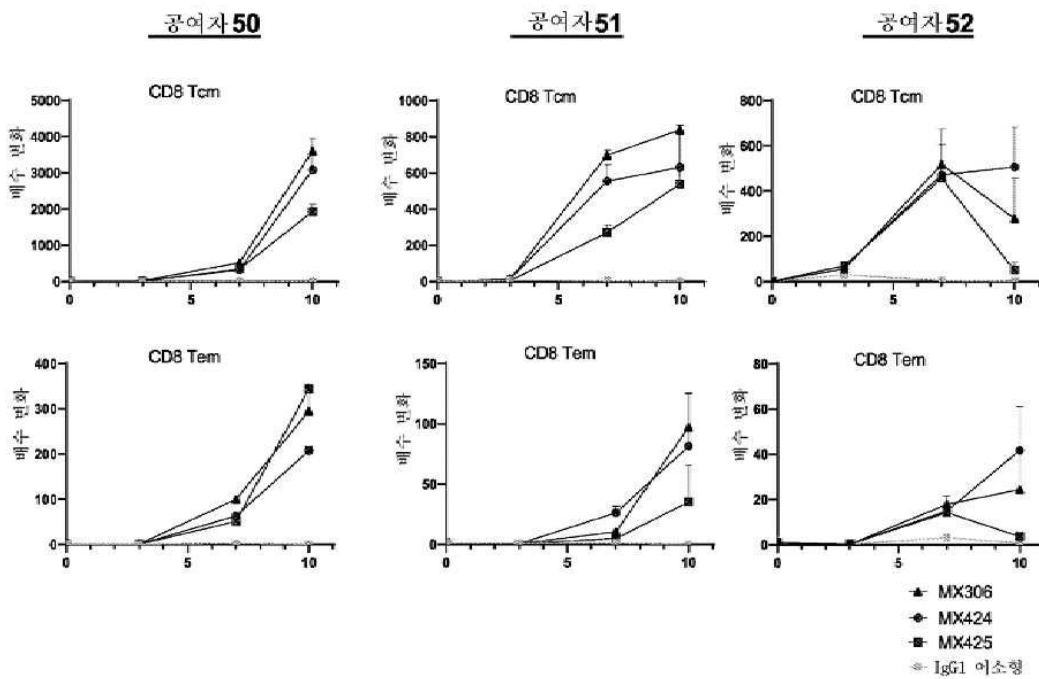
도면11



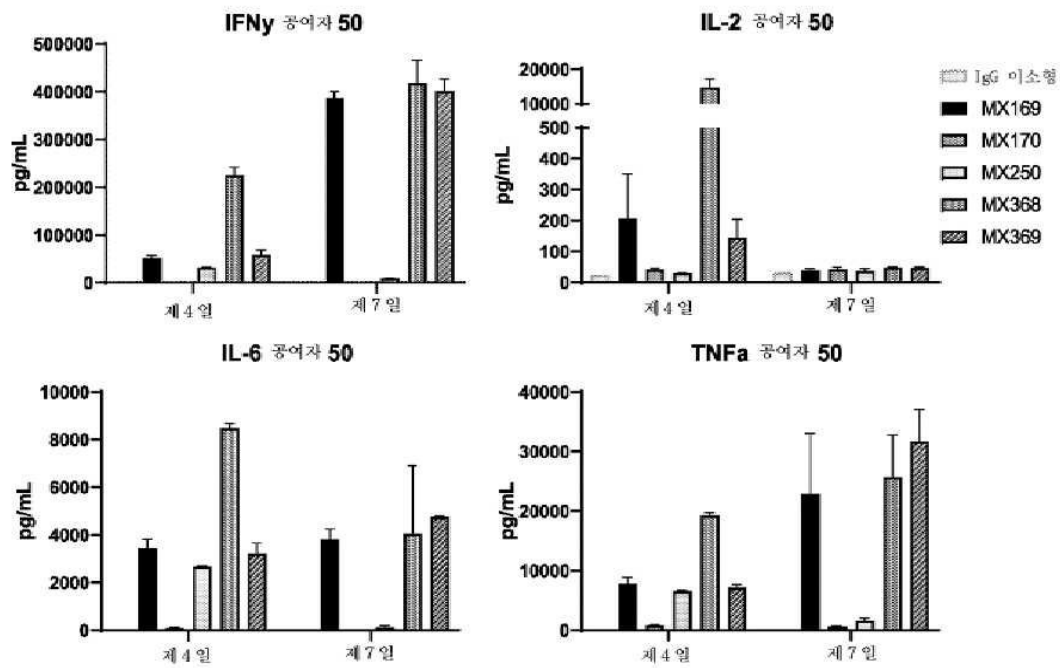
도면12



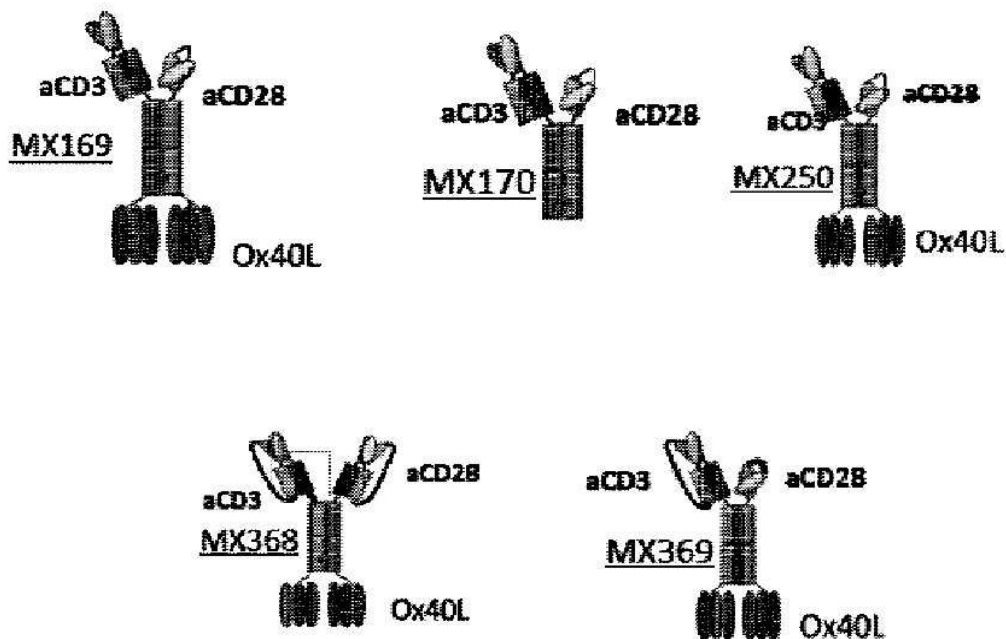
도면13



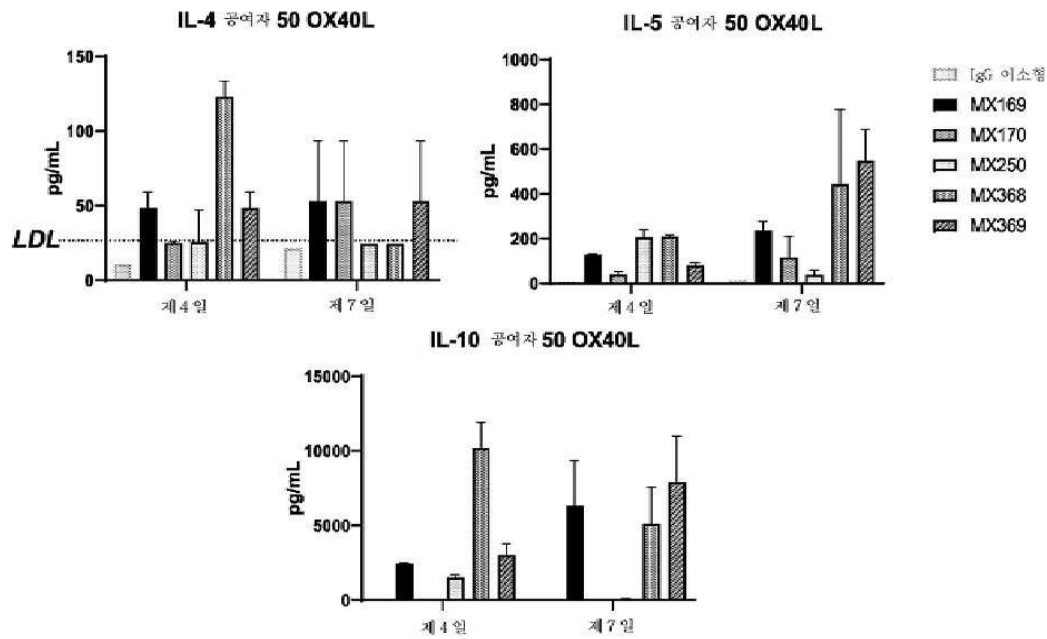
도면14a



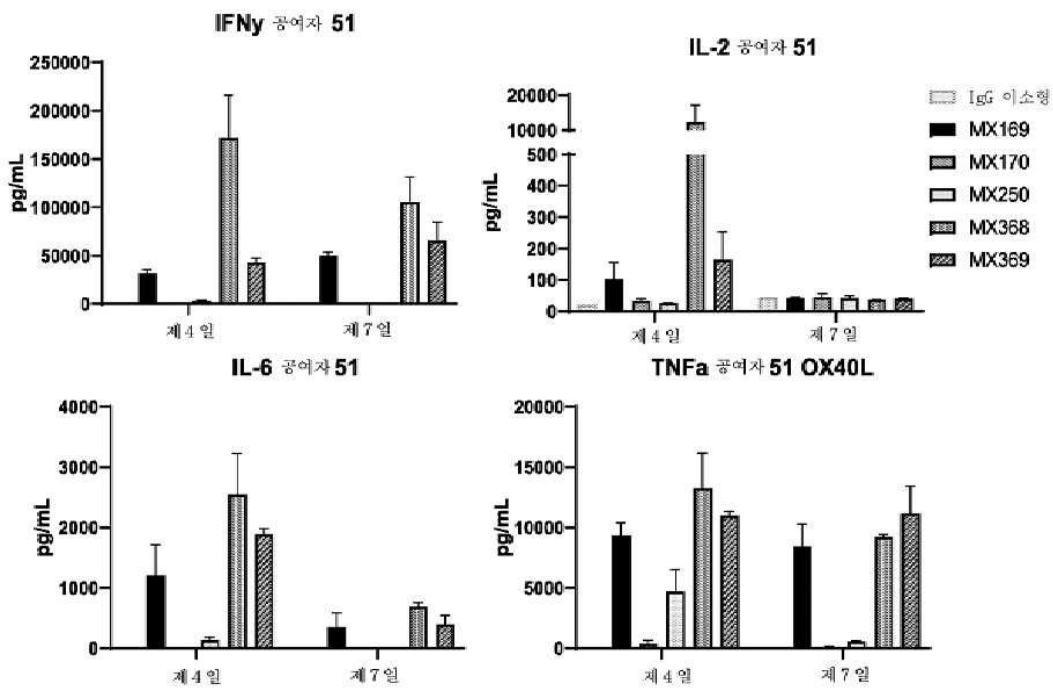
도면14b



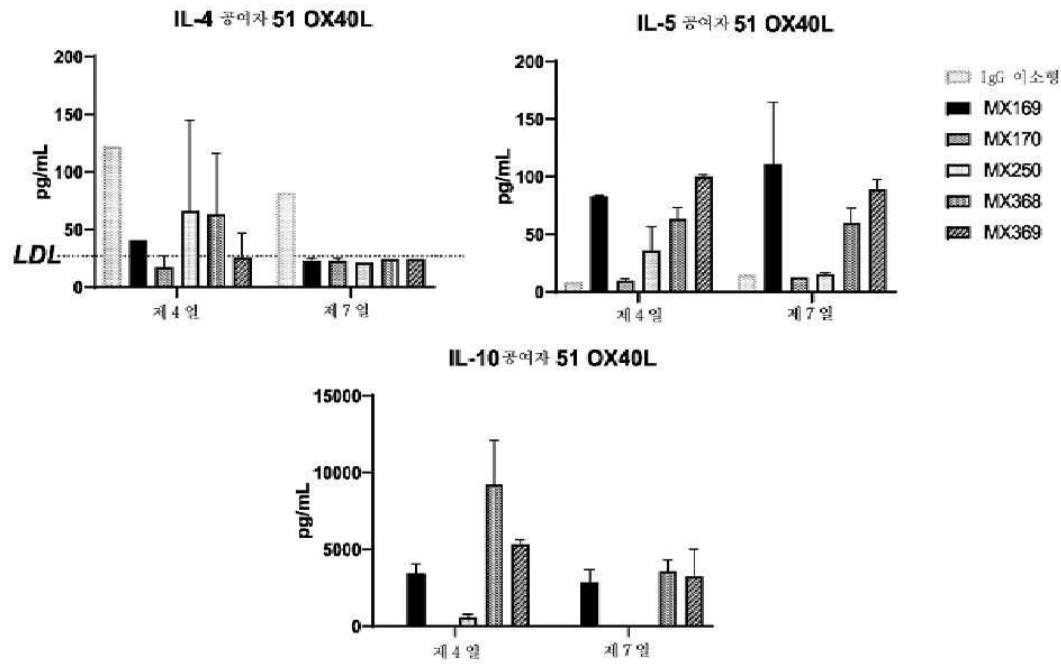
도면15



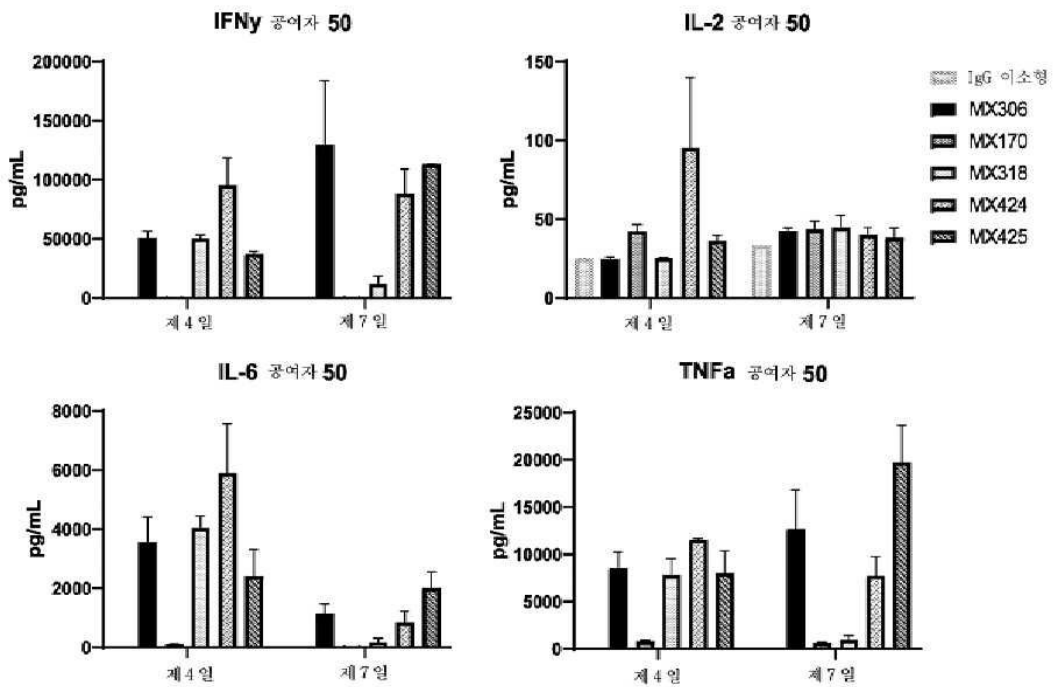
도면16



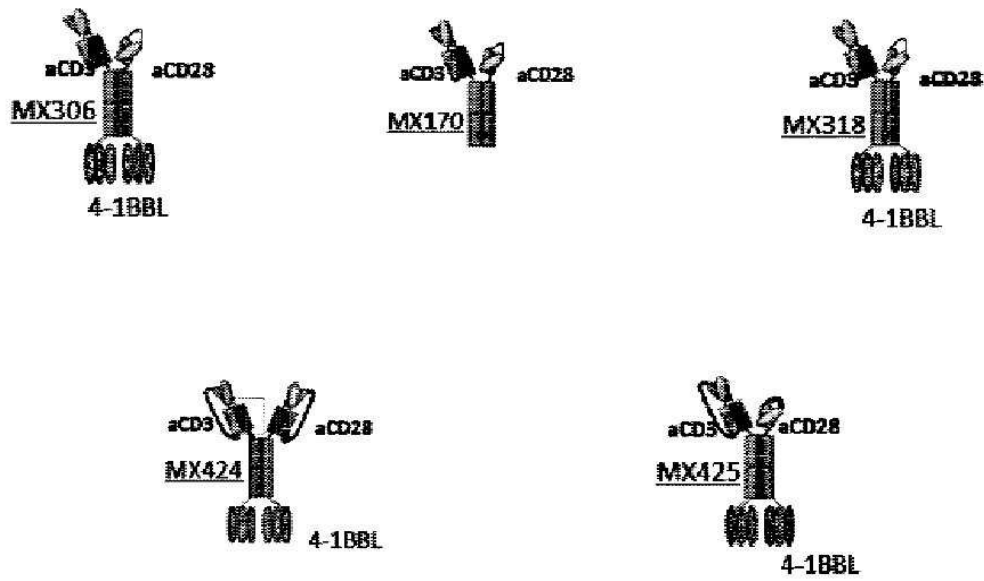
도면17



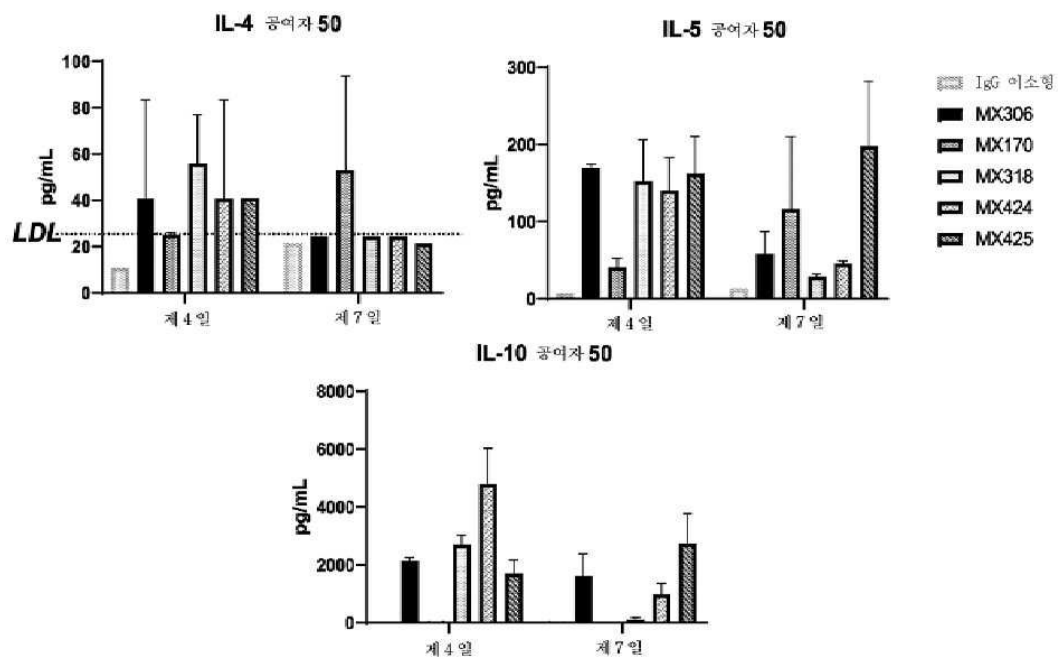
도면18a



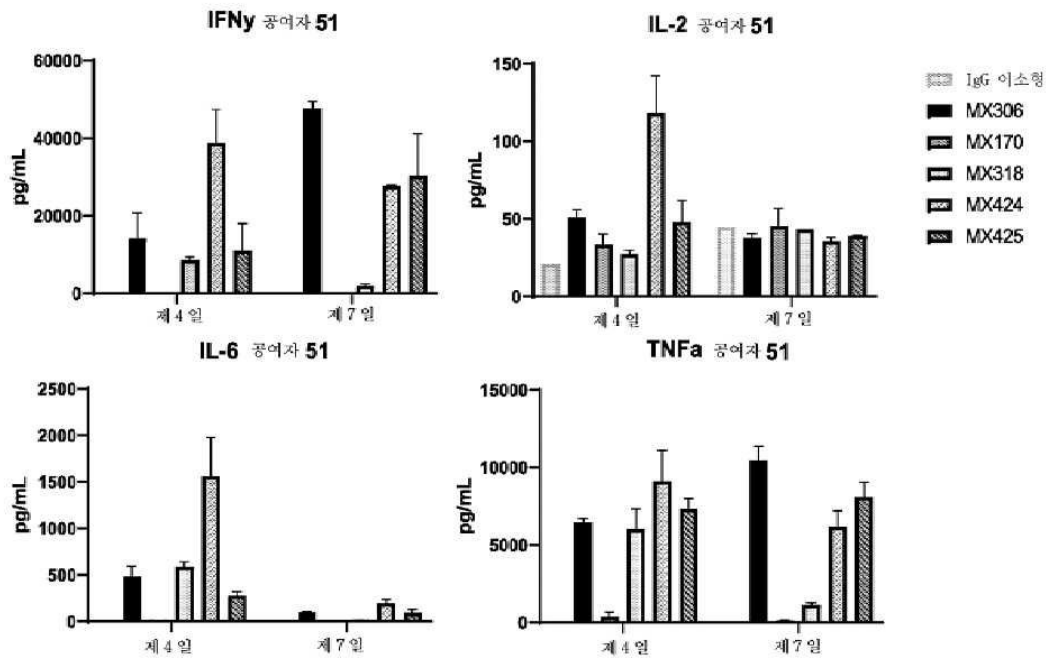
도면18b



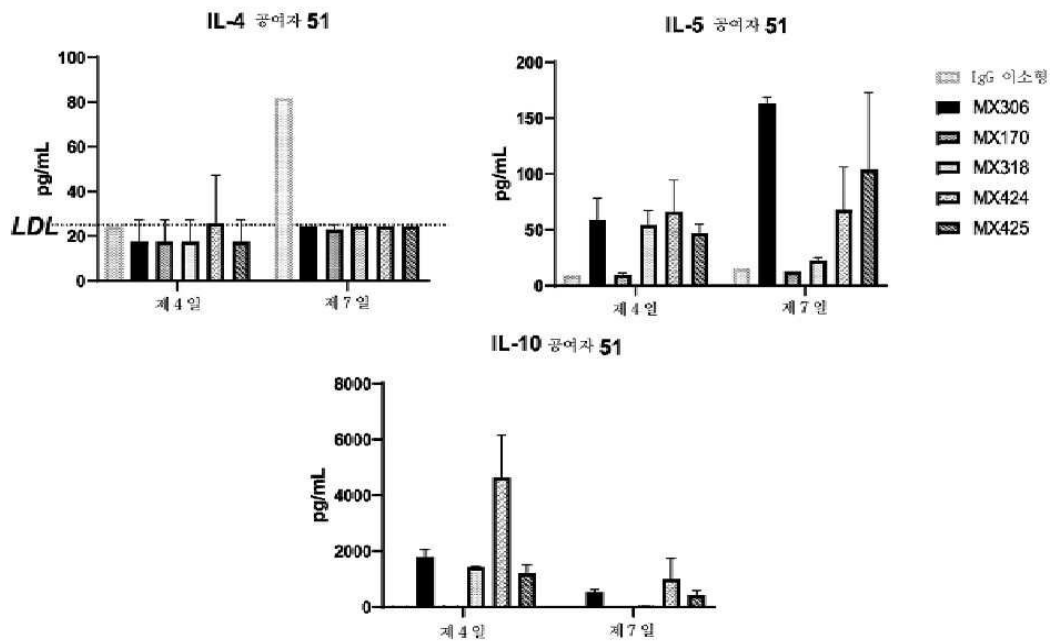
도면19



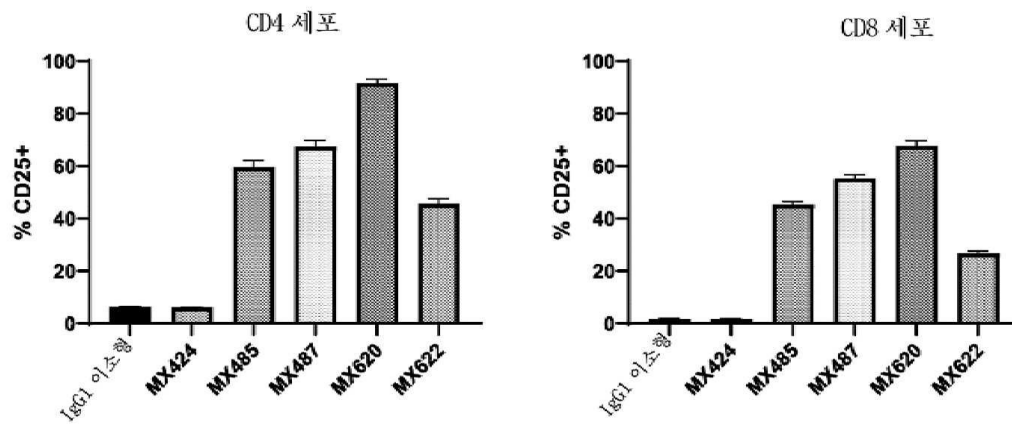
도면20



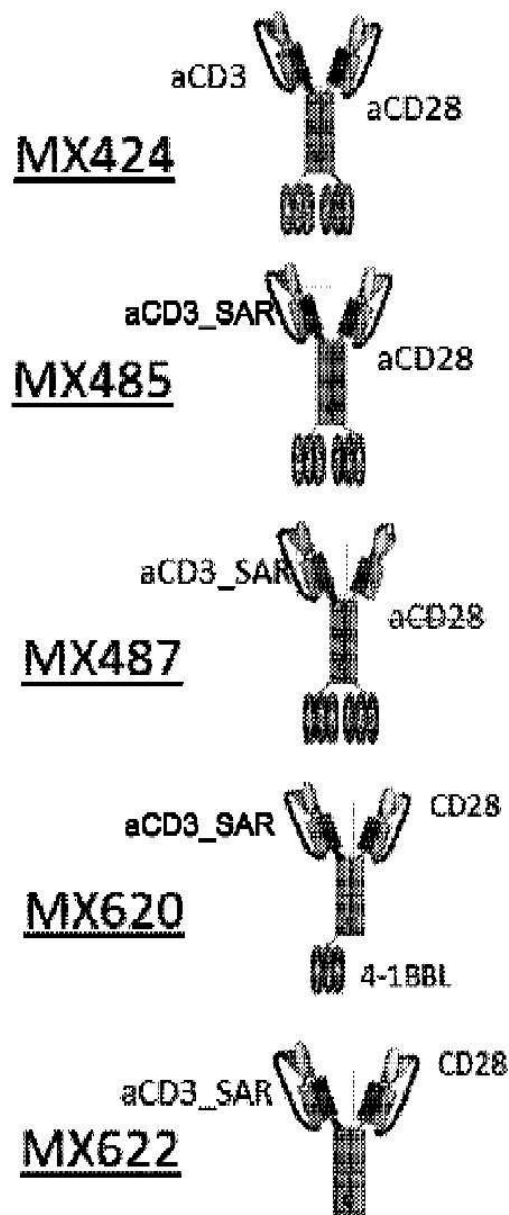
도면21



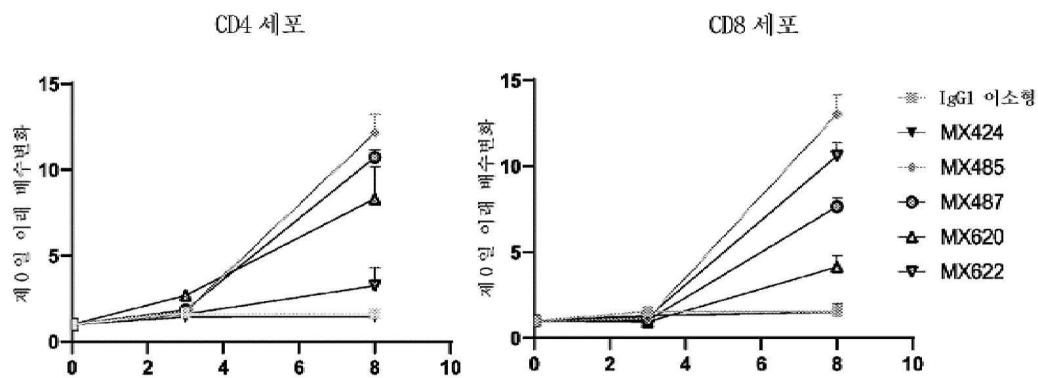
도면22a



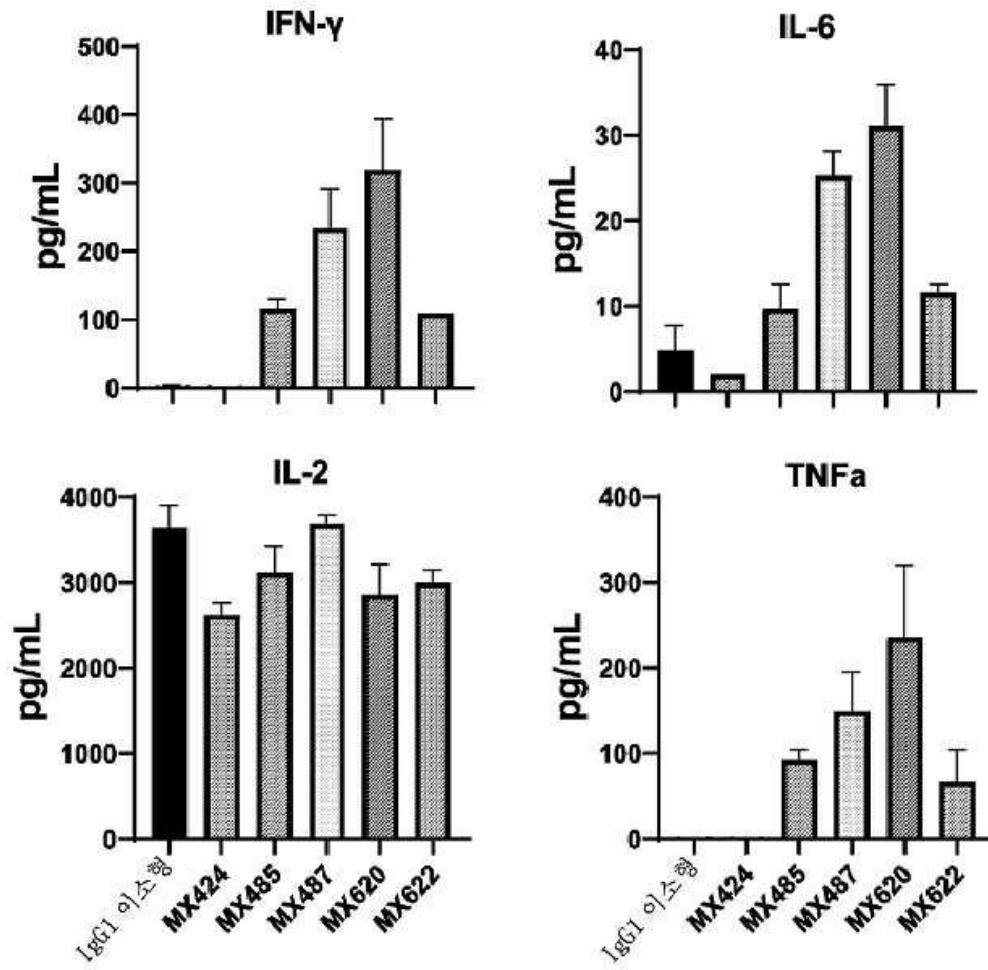
도면22b



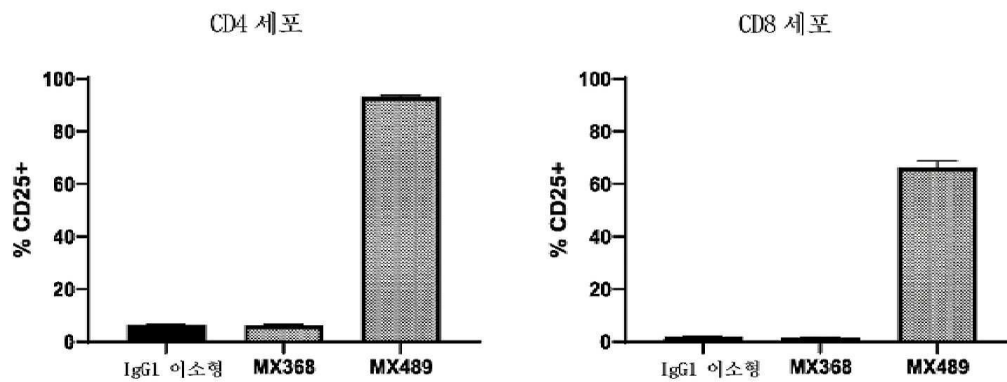
도면23



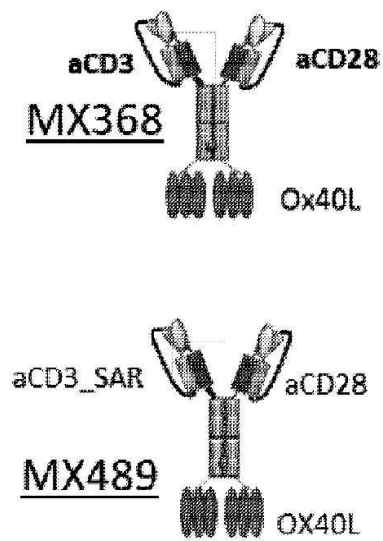
도면24



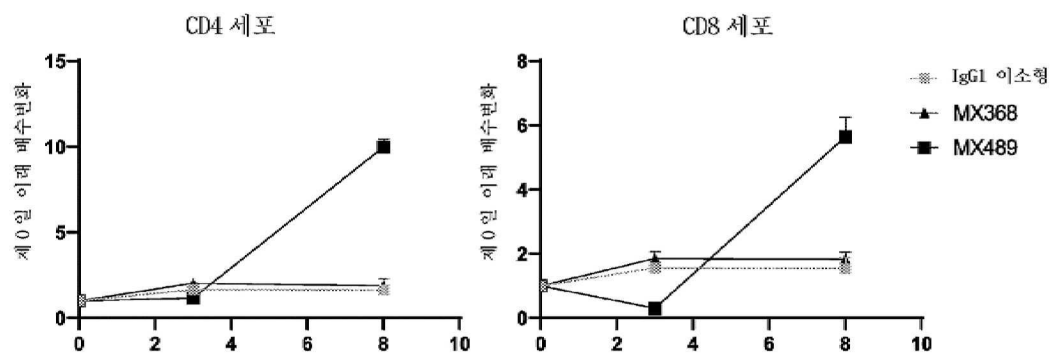
도면25a



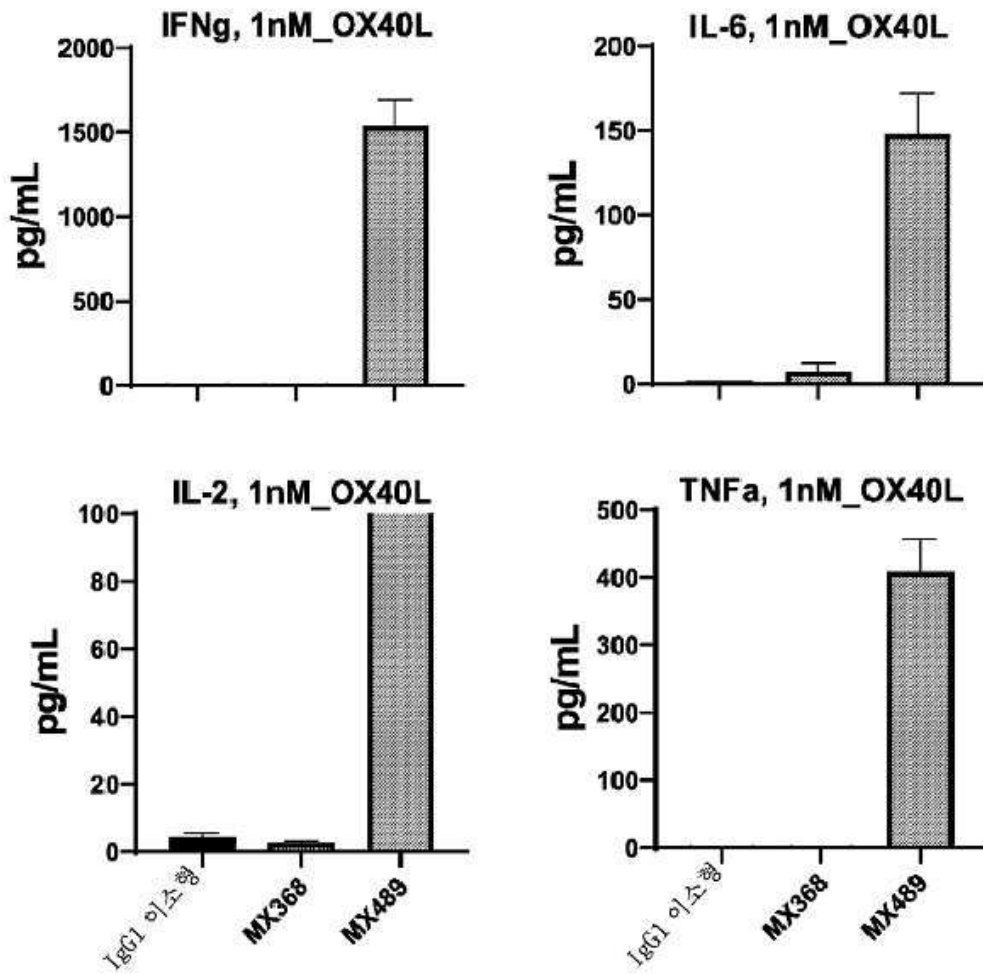
도면25b



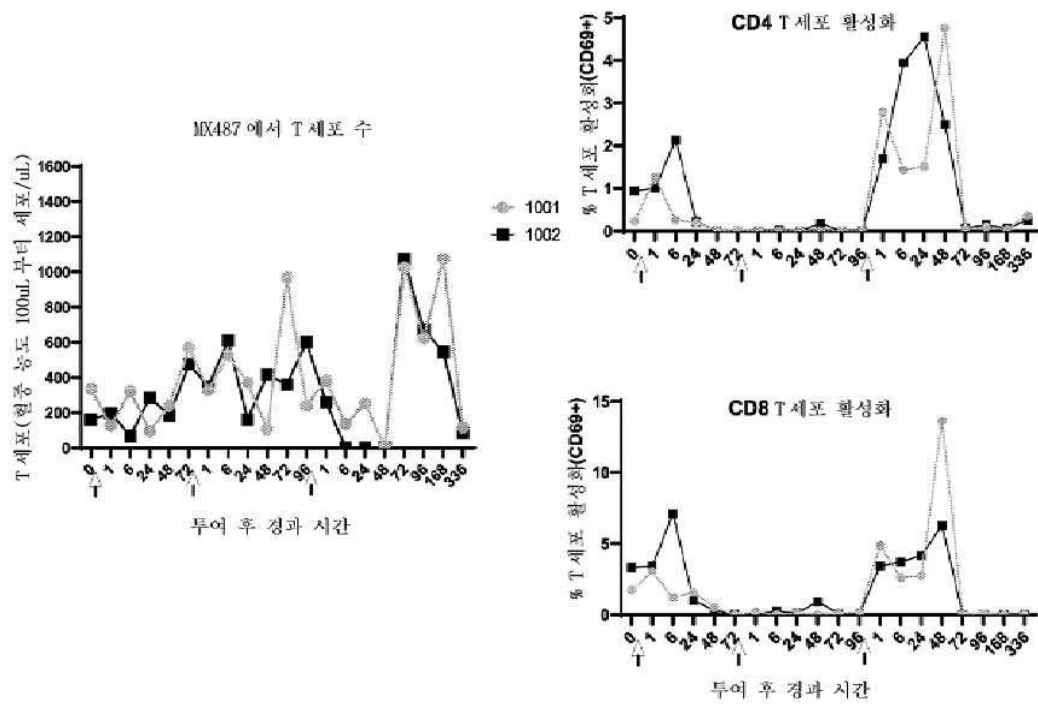
도면26



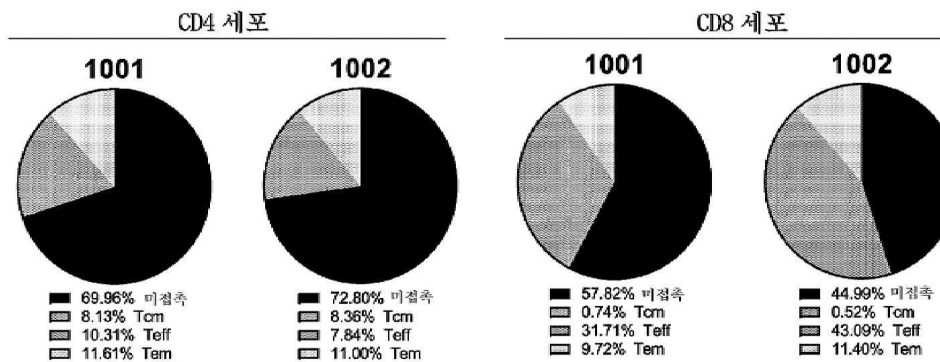
도면27



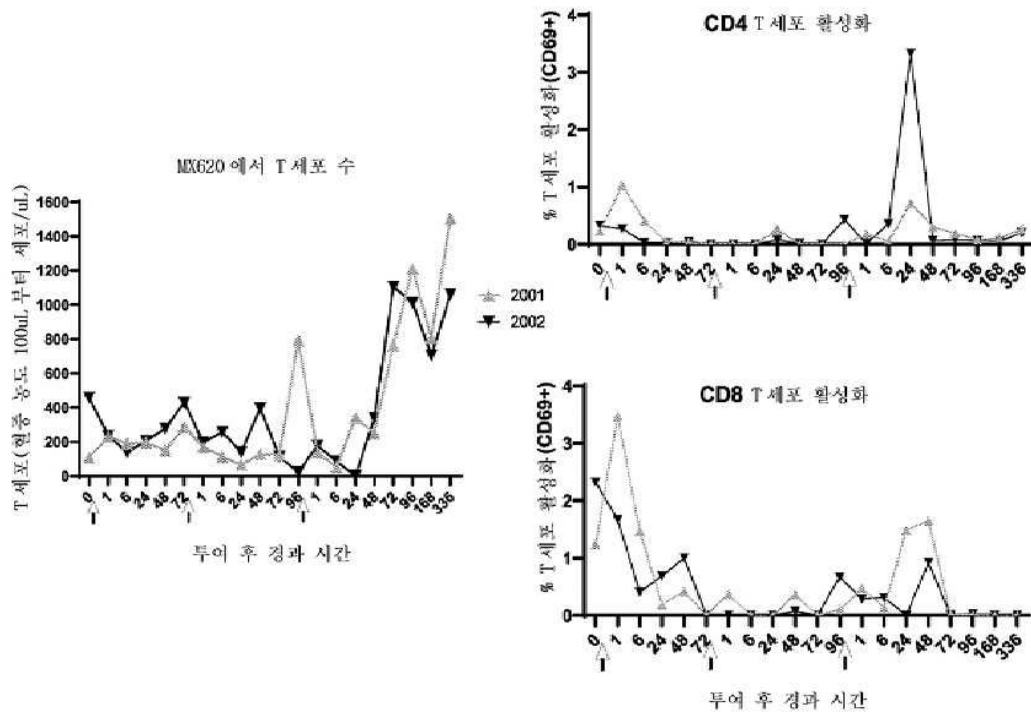
도면28



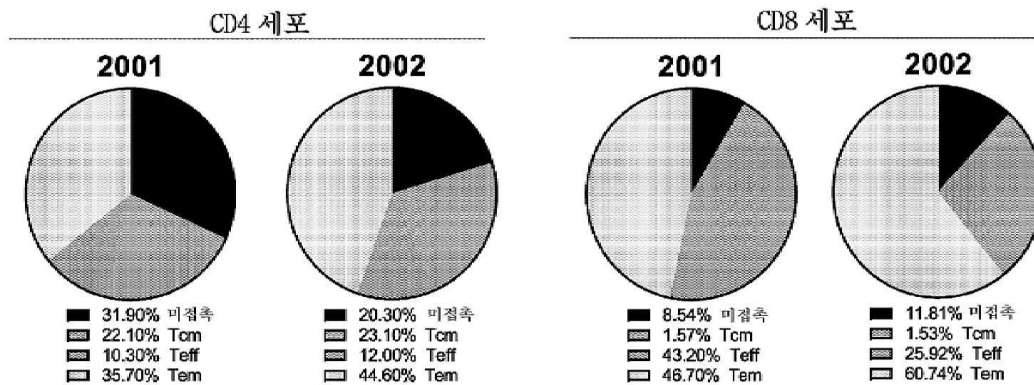
도면29



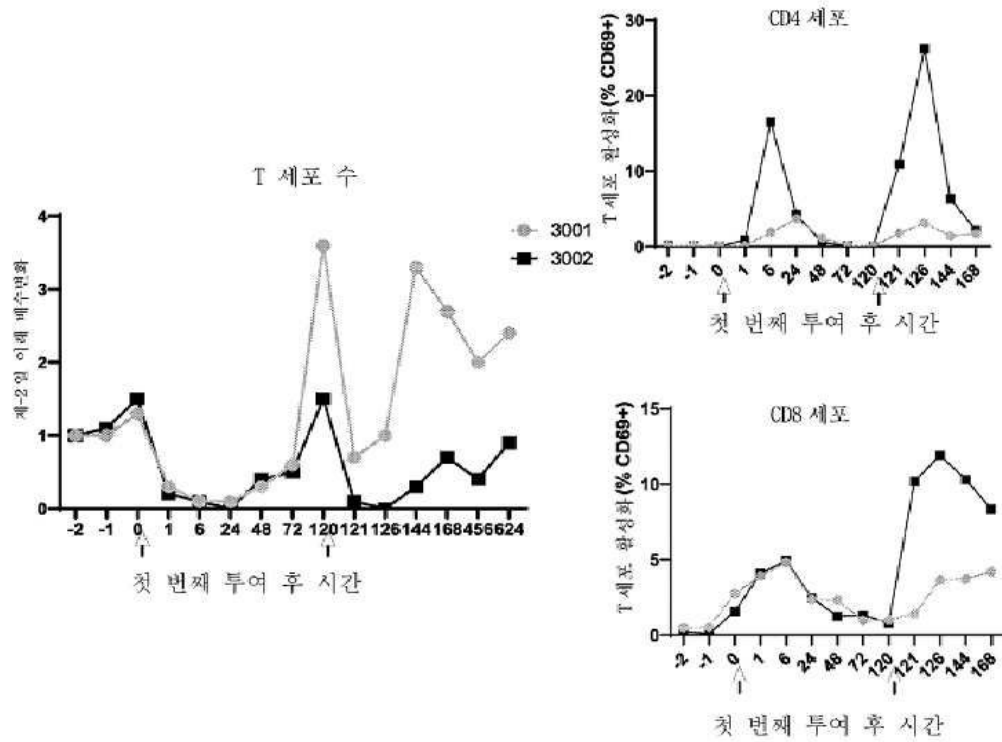
도면30



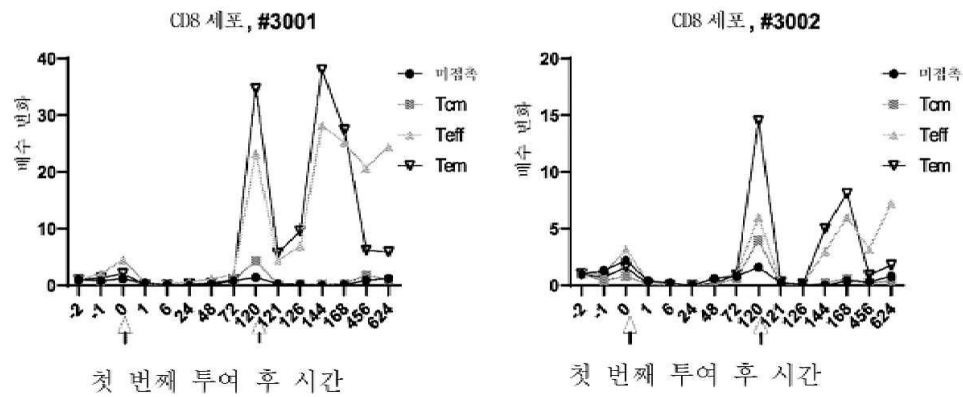
도면31



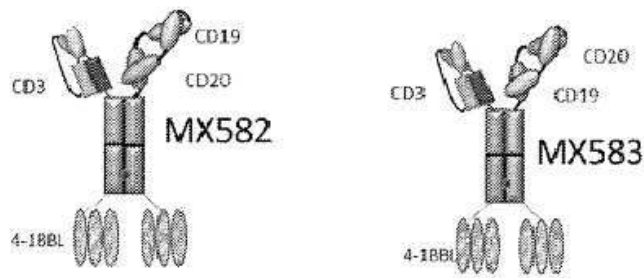
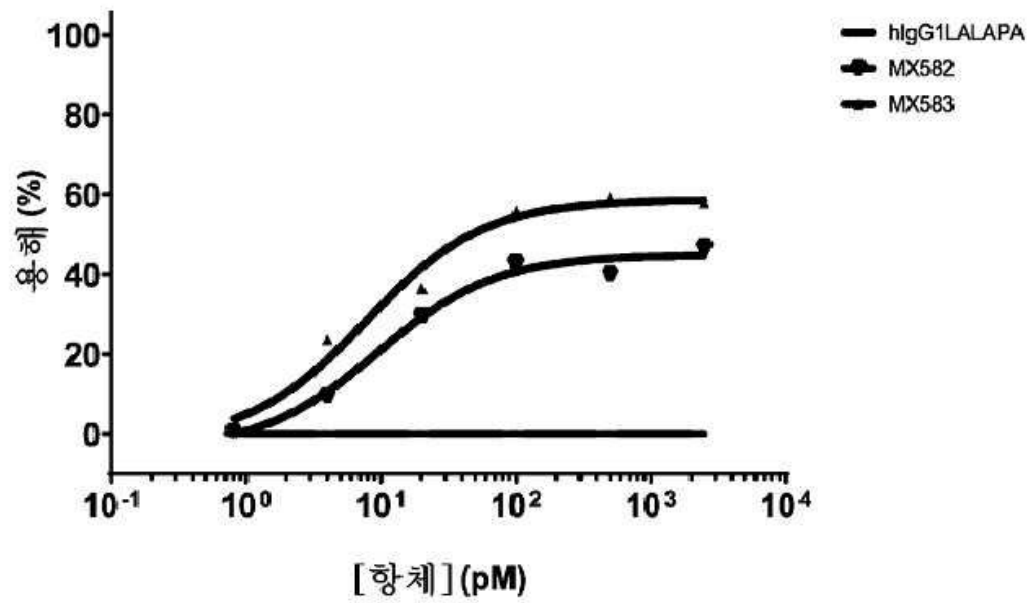
도면32



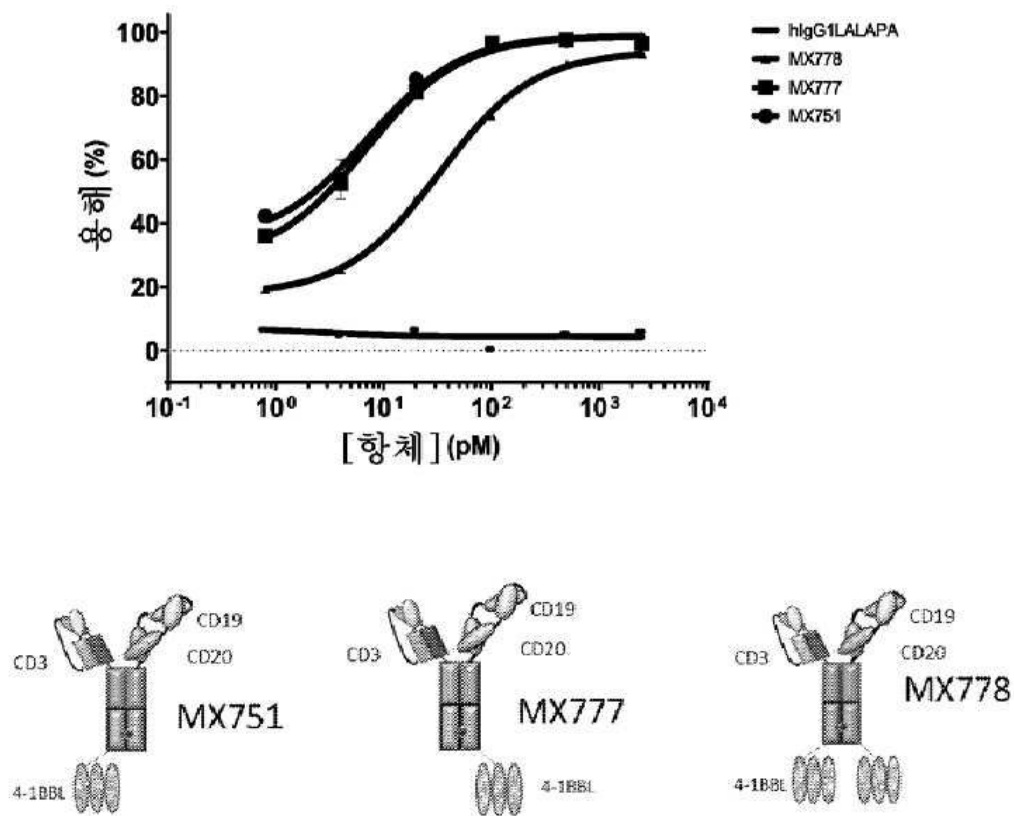
도면33



도면34



도면35



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.