

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0124308

(43) 공개일자 2021년10월14일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2851 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2021-7027696
- (22) 출원일자(국제) 2020년01월29일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2021년08월30일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2020/015692
- (87) 국제공개번호 WO 2020/160156
국제공개일자 2020년08월06일
- (30) 우선권주장
62/798,945 2019년01월30일 미국(US)
62/798,949 2019년01월30일 미국(US)

- (71) 출원인
트루바인딩 아이엔씨.
미국 캘리포니아 94025 멘로 파크 오브라이언 드
라이브 1140에이
- (72) 발명자
선 동슈
미국 캘리포니아 94025 멘로 파크 오브라이언 드
라이브 1140에이
- 왕 안
미국 캘리포니아 94025 멘로 파크 오브라이언 드
라이브 1140에이
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
리엔목특허법인

전체 청구항 수 : 총 138 항

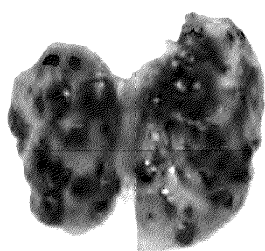
(54) 발명의 명칭 항-GAL3 항체 및 이의 용도

(57) 요약

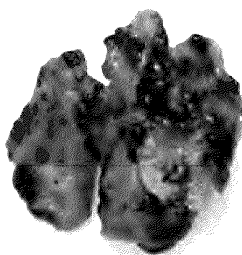
본원에는 Gal3에 특이적으로 결합하는 항체 및 이의 사용 방법이 개시된다. 일부 구체예에서, 본원에는 또한 Gal3에 특이적으로 결합하는 항체를 사용하여 면역 활성화를 유도하거나 또는 T 세포 또는 자연 살해 세포 증식을 촉진하는 방법이 개시된다. 또한, 본원에는 Gal3에 특이적으로 결합하는 항체를 사용하여 조직에서 섬유증 또는 이의 경향을 감소시키는 방법 및 조성물이 개시된다. 일부 경우에서, 상기 항-Gal3 항체는 또한 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해한다.

대표도 - 도7b

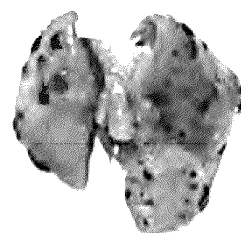
이소타입



PD1 Ab



Gal3 Ab



(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/31 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

우 이난

미국 캘리포니아 94025 멘로 파크 오브라이언 드라
이브 1140에이

고든 캐서린 에이.

미국 캘리포니아 94025 멘로 파크 오브라이언 드라
이브 1140에이

모니에 저스틴 제이씨

미국 캘리포니아 94025 멘로 파크 오브라이언 드라
이브 1140에이

윌리엄스 새무얼 에이에프

미국 캘리포니아 94025 멘로 파크 오브라이언 드라
이브 1140에이

파텔 만다키니 제이

미국 캘리포니아 94025 멘로 파크 오브라이언 드라
이브 1140에이

차이 청-황

미국 캘리포니아 94025 멘로 파크 오브라이언 드라
이브 1140에이

명세서

청구범위

청구항 1

면역 활성화 (immune activation)를 유도하는 방법으로서,

Gal3-발현 세포 및 TIM-3-발현 세포를 포함하는 복수의 세포를 항체와, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해하는 조건하에 접촉시키는 단계를 포함하고, 상기 항체는 Gal3에 특이적으로 결합하고, 상기 Gal3-발현 세포는 상기 항체에 결합 시에 면역 활성화를 유도하는 사이토카인을 발현하고, 상기 항체는 IMT001이 아닌 것인 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 사이토카인은 인터페론인 것인 방법.

청구항 3

청구항 2에 있어서, 상기 인터페론은 IFN γ 인 것인 방법.

청구항 4

청구항 3에 있어서, 상기 IFN γ 생성은 이소타입 항체에 의한 IFN γ 생성의 150%, 160%, 170%, 180%, 190%, 200%, 또는 초과인 것인 방법.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 사이토카인은 인터루킨인 것인 방법.

청구항 6

청구항 5에 있어서, 상기 인터루킨은 IL-2인 것인 방법.

청구항 7

청구항 1 내지 6 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 활성화는 CD3+ T 림프구, CD4+ T 헬퍼 세포, CD8+ 세포독성 T 세포, 자연 살해 세포, 또는 이들의 조합의 증식을 포함하는 것인 방법.

청구항 8

청구항 1 내지 7 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 활성화는 상기 복수의 세포 내의 M1 마크로파지 집단의 증가를 포함하는 것인 방법.

청구항 9

청구항 1 내지 8 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 활성화는 상기 복수의 세포 내의 M2 마크로파지 집단의 감소를 포함하는 것인 방법.

청구항 10

T 세포 또는 자연 살해 (NK) 세포 증식을 촉진하는 방법으로서,

T 세포, NK 세포, 및 Gal3-발현 세포를 포함하는 복수의 세포를 항체와, 상기 복수의 세포에서 T 세포 및/또는 NK 세포의 증식에 영향을 미치는 조건하에 접촉시키는 단계를 포함하고, 상기 항체는 Gal3에 특이적으로 결합하고, 상기 항체는 IMT001이 아닌 것인 방법.

청구항 11

청구항 10에 있어서, 상기 복수의 세포는 TIM-3 발현 세포를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 12

청구항 11에 있어서, 상기 항체는 Gal3 및 TIM-3의 상호작용을 추가로 방해하는 것인 방법.

청구항 13

면역 활성화를 유도하는 방법으로서,

Gal3-발현 세포 및 TIM-3-발현 세포를 포함하는 복수의 세포를 항체와, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해하는 조건하에 접촉시키는 단계를 포함하고, 상기 항체는 Gal3에 특이적으로 결합하고, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용이 70% 미만, 60% 미만, 59% 미만, 50% 미만, 40% 미만, 34% 미만, 30% 미만, 20% 미만, 14% 미만, 10% 미만, 7% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 또는 1% 미만으로 감소되는 것인 방법.

청구항 14

청구항 13에 있어서, 상기 상호작용은 영역 145-168, 160-177, 또는 165-184로부터 선택된 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 1**의 위치 145-168, 160-177, 또는 165-184에 해당하는 것인 방법.

청구항 15

청구항 13에 있어서, 상기 상호작용은 영역 149-156, 152-168, 163-169, 163-177, 또는 163-171로부터 선택된 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 1**의 위치 149-156, 152-168, 163-169, 163-177, 또는 163-171에 해당하는 것인 방법.

청구항 16

청구항 13 내지 15 중 어느 한 항에 있어서, 상기 상호작용은 영역 91-111 또는 82-111로부터 선택된 TIM-3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 2**의 위치 91-111 또는 82-111에 해당하는 것인 방법.

청구항 17

청구항 13 내지 15 중 어느 한 항에 있어서, 상기 상호작용은 영역 91-111, 107-117, 96-102, 100-106, 또는 92-119로부터 선택된 TIM-3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 2**의 위치 91-111, 107-117, 96-102, 100-106, 또는 92-119에 해당하는 것인 방법.

청구항 18

청구항 13 내지 17 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TIM-3은 인간 TIM-3인 것인 방법.

청구항 19

청구항 1 내지 18 중 어느 한 항에 있어서, 상기 Gal3-발현 세포는 종양 세포인 것인 방법.

청구항 20

청구항 1 내지 19 중 어느 한 항에 있어서, 상기 복수의 세포는 종양 미세환경 (tumor microenvironment: TME) 내에 위치하는 것인 방법.

청구항 21

청구항 1 내지 20 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 상기 TME 내 종양 세포의 감소를 유도하는 것인 방법.

청구항 22

청구항 1 내지 21 중 어느 한 항에 있어서, 상기 복수의 세포는 종양-침윤 림프구 (tumor-infiltrating lymphocytes: TILs)를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 23

청구항 1 내지 22 중 어느 한 항에 있어서, 상기 복수의 세포는 CD3+ T 림프구, CD4+ T 헬퍼 세포, CD8+ 세포독성 T 세포, 또는 이들의 조합을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 24

청구항 1, 10, 13 또는 22 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접촉시키는 단계는 TIL 증식을 추가로 유도하는 것인 방법.

청구항 25

청구항 1, 10, 13 또는 23 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접촉시키는 단계는 CD3+ T 림프구, CD4+ T 헬퍼 세포, CD8+ 세포독성 T 세포, 또는 이들의 조합의 증식을 추가로 유도하는 것인 방법.

청구항 26

청구항 1, 10, 13, 또는 22 내지 25 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접촉시키는 단계는 M1 마크로파지 증식의 증가를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 27

청구항 1, 10, 13, 또는 22 내지 26 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접촉시키는 단계는 TME 내 M2 마크로파지 집단의 감소를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 28

청구항 1 내지 27 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 1-20에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.

청구항 29

청구항 1 내지 27 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 41-91에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.

청구항 30

청구항 1 내지 27 또는 29 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 41-71에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.

청구항 31

청구항 1 내지 27 또는 29 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 71-91에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.

청구항 32

청구항 1 내지 31 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 펩티드_1, 펩티드_4, 펩티드_5, 펩티드_6, 펩티드_7 또는 펩티드_8 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.

청구항 33

청구항 1 내지 32 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 1nM, 1.2nM, 2nM, 5nM, 10nM, 13.5nM, 15nM, 20nM, 25nM, 또는 30nM 미만의 K_D 를 포함하는 것인 방법.

청구항 34

청구항 1 내지 33 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 인간화 항체를 포함하는 것인 방법.

청구항 35

청구항 1 내지 34 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 전장 항체 또는 이의 결합 단편을 포함하는 것인 방법.

청구항 36

청구항 1 내지 35 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 이중특이적 항체 또는 이의 결합 단편을 포함하는 것인 방법.

청구항 37

청구항 1 내지 36 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 1가 Fab', 2가 Fab2, 단일-사슬 가변 단편 (scFv), 디아바디 (diabody), 미니바디 (minibody), 나노바디 (nanobody), 단일-도메인 항체 (sdAb), 또는 카멜리드 항체 (camelid antibody) 또는 이의 결합 단편을 포함하는 것인 방법.

청구항 38

청구항 1 내지 37 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 IgG 프레임워크를 포함하는 것인 방법.

청구항 39

청구항 1 내지 38 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 IgG1, IgG2, 또는 IgG4 프레임워크를 포함하는 것인 방법.

청구항 40

청구항 1 내지 39 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 Fc 돌연변이를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 41

청구항 1 내지 33 또는 35 내지 40 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 키메라 항체 (chimeric antibody)를 포함하는 것인 방법.

청구항 42

청구항 1, 10 또는 13 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접촉시키는 단계 전에 상기 항체를 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 43

청구항 42에 있어서, 상기 대상체는 암으로 진단된 것인 방법.

청구항 44

청구항 43에 있어서, 상기 암은 고형 종양인 것인 방법.

청구항 45

청구항 44에 있어서, 상기 암은 유방암, 결장직장암, 신장암, 간암, 또는 폐암인 것인 방법.

청구항 46

청구항 43에 있어서, 상기 암은 혈액 악성종양 (hematologic malignancy)인 것인 방법.

청구항 47

청구항 43 내지 46 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 전이 암 (metastatic cancer)인 것인 방법.

청구항 48

청구항 43 내지 46 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 재발성 또는 불응성 암인 것인 방법.

청구항 49

청구항 42 내지 48 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 전신 투여용으로 제제화되는 것인 방법.

청구항 50

청구항 42 내지 49 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 비경구 투여용으로 제제화되는 것인 방법.

청구항 51

청구항 42 내지 50 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 추가의 치료제와 조합하여 투여되는 것인 방법.

청구항 52

청구항 51에 있어서, 상기 항체 및 추가의 치료제는 동시에 투여되는 것인 방법.

청구항 53

청구항 51에 있어서, 상기 항체 및 추가의 치료제는 순차적으로 투여되는 것인 방법.

청구항 54

청구항 53에 있어서, 상기 항체는 추가의 치료제를 투여하기 전에 투여되는 것인 방법.

청구항 55

청구항 53에 있어서, 상기 항체는 추가의 치료제를 투여한 후에 투여되는 것인 방법.

청구항 56

청구항 51 내지 55 중 어느 한 항에 있어서, 상기 추가의 치료제는 면역 체크포인트 조절제를 포함하는 것인 방법.

청구항 57

청구항 51 내지 55 중 어느 한 항에 있어서, 상기 추가의 치료제는 화학요법제, 표적 치료제, 호르몬 치료제, 또는 줄기세포-기반 치료제를 포함하는 것인 방법.

청구항 58

청구항 1 내지 57 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 인간인 것인 방법.

청구항 59

청구항 58에 있어서, 상기 항체는 수술 전 또는 수술 후에 투여되는 것인 방법.

청구항 60

청구항 58에 있어서, 상기 항체는 방사선 요법과 함께, 방사선 요법 전 또는 방사선 요법 후에 투여되는 것인 방법.

청구항 61

청구항 1 내지 60 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 항체 IMT001의 K_D 보다 더 높은 K_D 를 갖는 것인 방법.

청구항 62

조직에서 섬유증 (fibrosis) 또는 이의 경향 (propensity)을 감소시키는 방법으로서,

상기 조직을 Gal3 항체에 특이적으로 결합하는 항체와, 상기 조직에서 섬유증 바이오마커의 발현 수준이 감소되는 조건하에 접촉시키는 단계를 포함하는 방법.

청구항 63

청구항 62에 있어서, 상기 조직은 TIM-3 발현 세포를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 64

청구항 63에 있어서, 상기 항체는 Gal3 및 TIM-3의 상호작용을 추가로 방해하는 것인 방법.

청구항 65

청구항 63에 있어서, 상기 항체는 Gal3 및 TIM-3의 상호작용을 방해하지 않는 것인 방법.

청구항 66

청구항 62 내지 65 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 하나의 섬유증 바이오마커는 α -평활근 액틴 (α -SMA)을 포함하는 것인 방법.

청구항 67

청구항 62 내지 65 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 하나의 섬유증 바이오마커는 피브로넥틴을 포함하는 것인 방법.

청구항 68

청구항 62 내지 65 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 하나의 섬유증 바이오마커는 α -평활근 액틴 (α -SMA) 및 피브로넥틴을 포함하는 것인 방법.

청구항 69

청구항 62 내지 68 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조직은 신장 조직 또는 간 조직인 것인 방법.

청구항 70

청구항 62 내지 68 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조직은 간 조직, 신장 조직, 피부 조직, 폐 조직, 심장 조직, 뇌 조직, 장 조직, 골수 조직, 및 연조직으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 71

청구항 62 내지 70 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체로 치료된 조직에서 적어도 하나의 섬유증 바이오마커의 발현이 mIgG2b 항체로 치료된 대조군 조직에서 적어도 하나의 섬유증 바이오마커의 발현보다 적은 것인 방법.

청구항 72

청구항 62 내지 71 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 상기 조직에서 세포외 기질 단백질 (extracellular matrix proteins)의 축적을 감소시키는 것인 방법.

청구항 73

청구항 72에 있어서, 상기 세포외 기질 단백질은 콜라겐을 포함하는 것인 방법.

청구항 74

청구항 73에 있어서, 상기 조직은 콜라겐-생성 세포를 포함하는 것인 방법.

청구항 75

청구항 74에 있어서, 상기 콜라겐-생성 세포는 섬유모세포 (fibroblast cell)인 것인 방법.

청구항 76

청구항 75에 있어서, 상기 섬유모세포는 섬유화 사이토카인 (fibrogenic cytokine)에 의해 활성화되는 것인 방법.

청구항 77

청구항 76에 있어서, 상기 섬유화 사이토카인은 TGF- β 1인 것인 방법.

청구항 78

청구항 62 내지 77 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조직은 상승된 TGF- β 1 발현을 갖는 것인 방법.

청구항 79

청구항 62 내지 78 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 인간화 항체를 포함하는 것인 방법.

청구항 80

청구항 62 내지 79 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 전장 항체 또는 이의 결합 단편을 포함하는 것인 방법.

청구항 81

청구항 62 내지 79 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 이중특이적 항체 또는 이의 결합 단편을 포함하는 것인 방법.

청구항 82

청구항 62 내지 79 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 키메라 항체를 포함하는 것인 방법.

청구항 83

청구항 62 내지 82 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 1-20에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.

청구항 84

청구항 62 내지 82 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 41-91에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.

청구항 85

청구항 62 내지 82 또는 84 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 41-71에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.

청구항 86

청구항 62 내지 82 또는 84 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 71-91에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.

청구항 87

청구항 62 내지 86 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 펩티드₁, 펩티드₄, 펩티드₅, 펩티드₆, 펩티드₇ 또는 펩티드₈ 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.

청구항 88

청구항 62 내지 87 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 1nM, 1.2nM, 2nM, 5nM, 10nM, 13.5nM, 15nM, 20nM, 25nM, 또는 30nM 미만의 K_D 를 포함하는 것인 방법.

청구항 89

청구항 62 내지 88 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 1가 Fab', 2가 Fab2, 단일-사슬 가변 단편 (scFv), 디아바디, 미니바디, 나노바디, 단일-도메인 항체 (sdAb), 또는 카멜리드 항체 또는 이의 결합 단편을 포함하는 것인 방법.

청구항 90

청구항 62 내지 89 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 IgG 프레임워크를 포함하는 것인 방법.

청구항 91

청구항 62 내지 90 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 IgG1, IgG2, 또는 IgG4 프레임워크를 포함하는 것인 방법.

청구항 92

청구항 62 내지 91 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 Fc 돌연변이를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 93

청구항 62 내지 92 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접촉시키는 단계 전에 상기 항체를 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 94

청구항 93에 있어서, 상기 대상체는 섬유성 질환 (fibrotic disease)으로 진단된 것인 방법.

청구항 95

청구항 94에 있어서, 상기 섬유성 질환은 신장 섬유증인 것인 방법.

청구항 96

청구항 94에 있어서, 상기 섬유성 질환은 간 섬유증인 것인 방법.

청구항 97

청구항 93 내지 96 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 전신 투여용으로 제제화되는 것인 방법.

청구항 98

청구항 93 내지 96 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 비경구 투여용으로 제제화되는 것인 방법.

청구항 99

청구항 93 내지 98 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 포유동물인 것인 방법.

청구항 100

청구항 64 및 66 내지 99 중 어느 한 항에 있어서, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용이 70% 미만, 60% 미만, 59% 미만, 50% 미만, 40% 미만, 34% 미만, 30% 미만, 20% 미만, 14% 미만, 10% 미만, 7% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 또는 1% 미만으로 감소되는 것인 방법.

청구항 101

청구항 100에 있어서, 상기 상호작용은 영역 145-168, 160-177, 또는 165-184로부터 선택된 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 1**의 위치 145-168, 160-177, 또는 165-184에 해당하는 것인 방법.

청구항 102

청구항 100에 있어서, 상기 상호작용은 영역 149-156, 152-168, 163-169, 또는 163-171로부터 선택된 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 1**의 위치 149-156, 152-168, 163-169, 또는 163-171에 해당하는 것인 방법.

청구항 103

청구항 100 내지 102 중 어느 한 항에 있어서, 상기 상호작용은 영역 90-122 또는 82-111로부터 선택된 TIM-3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 2**의 위치 90-122 또는 82-111에 해당하는 것인 방법.

청구항 104

청구항 100 내지 102 중 어느 한 항에 있어서, 상기 상호작용은 영역 91-111, 107-117, 96-102, 100-106, 또는 92-119로부터 선택된 TIM-3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 2**의 위치 91-111, 107-117, 96-102, 100-106, 또는 92-119에 해당하는 것인 방법.

청구항 105

대상체에서 면역 관련 질병 (immune related disease)의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체로서, 상기 항-Gal3 항체는 면역계의 활성화를 유도하는 것인 항-Gal3 항체.

청구항 106

청구항 105에 있어서, 상기 항-Gal3 항체는 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 억제하는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.

청구항 107

청구항 105 또는 106에 있어서, 상기 면역계의 활성화는 CD3+ T 림프구, CD4+ T 헬퍼 세포, CD8+ 세포독성 T 세포, NK 세포, M1 마크로파지, 또는 이들의 조합의 증식을 포함하는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.

청구항 108

청구항 105 내지 107 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역계의 활성화는 M2 마크로파지의 감소를 포함하는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.

청구항 109

청구항 105 내지 108 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 관련 질병은 암인 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.

청구항 110

청구항 109에 있어서, 상기 암은 유방암, 결장직장암, 신장암, 간암, 폐암, 또는 혈액 악성종양인 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.

청구항 111

청구항 109 또는 110에 있어서, 상기 암은 전이 암, 재발성 암 또는 불응성 암인 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.

청구항 112

청구항 109 내지 111 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Gal3 항체는 추가의 치료제, 예컨대 면역 체크포인트 조절제, 화학요법제, 표적 치료제, 호르몬 치료제, 줄기세포-기반 치료제, 수술, 또는 방사선 요법과 조합하여 투여되는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.

청구항 113

청구항 105 내지 108 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 관련 질병은 섬유증이고, 상기 항-Gal3 항체는 조직에서 세포외 기질 단백질의 축적을 감소시키는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.

청구항 114

청구항 113에 있어서, 상기 세포외 기질 단백질은 콜라겐을 포함하는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.

청구항 115

청구항 113 또는 114에 있어서, 대상체에서 적어도 하나의 섬유증 바이오마커의 발현 수준이 감소되고, 상기 적어도 하나의 섬유증 바이오마커는 α -SMA, 피브로넥틴, 또는 둘 다를 포함하는 것인 면역 관련 질병의 치료에

사용하기 위한 항-Ga13 항체.

청구항 116

청구항 113 내지 115 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조직은 간 조직, 신장 조직, 피부 조직, 폐 조직, 심장 조직, 뇌 조직, 장 조직, 골수 조직, 및 연조직으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Ga13 항체.

청구항 117

청구항 113 내지 116 중 어느 한 항에 있어서, 상기 섬유증은 신장 섬유증, 간 섬유증, 폐 섬유증, 심장 섬유증, 또는 혈관 섬유증인 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Ga13 항체.

청구항 118

청구항 105 내지 117 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Ga13 항체는 전신 투여, 비경구 투여, 정맥내 투여, 또는 피하 투여용으로 제제화되는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Ga13 항체.

청구항 119

청구항 105 내지 118 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 인간인 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Ga13 항체.

청구항 120

청구항 1 내지 104 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Ga13 항체는 2D10.2B2, 3B11.2G2, 4A11.2B5, 4G2.2G6, 6H6.2D6, 7D8.2D8, 12G5.D7, 13A12.2E5, 13G4.2F8, 13H12.2F8, 14H10.2C9, 15F10.2D6, 15G7.2A7, 19B5.2E6, 19D9.2E5, 20D11.2C6, 20H5.A3, 23H9.2E4, 24D12.2H9, 846.1F5, 846.2H3, 846T.1H2, 9H2.2H10, IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, IMT006-8, 및 mIMT001로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 121

청구항 1 내지 104 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Ga13 항체는 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 또는 IMT006-8 중 하나 이상인 것인 방법.

청구항 122

청구항 105 내지 119 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Ga13 항체는 2D10.2B2, 3B11.2G2, 4A11.2B5, 4G2.2G6, 6H6.2D6, 7D8.2D8, 12G5.D7, 13A12.2E5, 13G4.2F8, 13H12.2F8, 14H10.2C9, 15F10.2D6, 15G7.2A7, 19B5.2E6, 19D9.2E5, 20D11.2C6, 20H5.A3, 23H9.2E4, 24D12.2H9, 846.1F5, 846.2H3, 846T.1H2, 9H2.2H10, IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, IMT006-8, 및 mIMT001로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Ga13 항체.

청구항 123

청구항 105 내지 119 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Ga13 항체는 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 또는 IMT006-8인 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Ga13 항체.

청구항 124

도 35a 내지 36b의 항체들 중 어느 하나의 항체 내의 HCDR3을 적어도 포함하는 항-GAL3 항체.

청구항 125

청구항 124에 있어서, 도 35a 내지 36b의 항체들 중 어느 하나의 항체 내의 3개의 HCDR 모두를 추가로 포함하는 것인 항-GAL3 항체.

청구항 126

청구항 125에 있어서, 도 35a 내지 36b의 항체들 중 어느 하나의 항체 내의 3개의 LCDR 모두를 추가로 포함하는

항-GAL3 항체.

청구항 127

도 36a 내의 중쇄 서열들 중 어느 하나, 또는 이에 대해 적어도 80% 동일한 서열을 포함하는 항-GAL3 항체.

청구항 128

도 36b 내의 경쇄 서열들 중 어느 하나, 또는 이에 대해 적어도 80% 동일한 서열을 포함하는 항-GAL3 항체.

청구항 129

청구항 128에 있어서, 도 36a 내의 중쇄 서열들 중 어느 하나, 또는 이에 대해 적어도 80% 동일한 서열을 추가로 포함하는 항-GAL3 항체.

청구항 130

6개의 CDR을 포함하는 항-GAL3 항체로서, 상기 6개의 CDR은 이들의 조합된 서열에 걸쳐, 도 35a 및 35b 내의 6개의 CDR의 임의의 세트에 대해 적어도 80% 동일한 것인 항-GAL3 항체.

청구항 131

도 38로부터의 CDR들 중 적어도 하나를 포함하는 항-GAL3 항체.

청구항 132

도 38로부터의 CDR들 중 적어도 2개를 포함하는 항-GAL3 항체.

청구항 133

도 38로부터의 CDR들 중 적어도 3개를 포함하는 항-GAL3 항체.

청구항 134

도 38로부터의 CDR들 중 적어도 4개를 포함하는 항-GAL3 항체.

청구항 135

도 38로부터의 CDR들 중 적어도 5개를 포함하는 항-GAL3 항체.

청구항 136

도 38로부터의 CDR들 중 6개를 포함하는 항-GAL3 항체.

청구항 137

도 38로부터의 CDR들 중 6개를 포함하는 항-GAL3 항체로서, 상기 6개 모두는 단일 빈 (single bin)으로부터 유래되는 것인 항-GAL3 항체.

청구항 138

도 38로부터의 CDR들 중 6개, 또는 이들 전체 서열에 걸쳐, 이에 대해 적어도 80% 동일한 6개의 CDR들의 세트를 포함하는 항-GAL3 항체.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원

[0002]

본 출원은 2019년 1월 30일자로 출원된 미국 가출원 제62/798945호, 및 2019년 1월 30일자로 출원된 미국 가출원 제62/798949호의 우선권을 주장하며, 이들 각각은 그 전체가 본원에 참조로 통합된다.

- [0003] 서열 목록에 대한 참조
- [0004] 본 출원은 전자 형식의 서열 목록과 함께 제출되었다. 서열 목록은 2020년 1월 29일에 생성되어 최종 저장된 파일명 Seq List IMMUT003.TXT로 제공되며, 크기는 146561 바이트이다. 전자 형식으로 된 서열 목록의 정보는 그 전체가 본원에 참조로 통합된다.

[0005] 발명의 분야

[0006] 본원에는 일부 구체예에서, Gal3 (또는 "항-Gal3 항체")에 특이적으로 결합하고, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해하며, T 세포 또는 자연 살해 (Natural Killer: NK) 세포 증식을 촉진하는 항체가 개시된다. 또한, 본원에는 상기 항체를 이용하여 면역 반응을 유발하는 방법 및 치료 방법이 개시된다. 또한, 본원에는 조직을 Gal3에 특이적으로 결합하는 항체와 접촉시킴으로써, 상기 조직에서 섬유증 (fibrosis) 또는 이의 경향 (propensity)을 감소시키는 방법이 개시된다. 또한, 본원에는 조직에서 하나 이상의 섬유증 바이오마커의 발현을 감소시키는 조건하에, Gal3에 특이적으로 결합하는 항체에 의해 Gal3-TIM-3 상호작용을 방해하는 방법이 개시된다.

배경 기술

[0007] 갈렉틴-3 (Galectin-3: Gal3)은 베타-갈락토사이드에 대해 특이성을 갖는, 렉틴 (lectin) 또는 탄수화물-결합 단백질이다. 인간 세포에서, Gal3이 발현되고, 핵, 세포질, 세포 표면 및 세포의 공간에서 찾을 수 있다. T-세포 면역글로불린 및 뮤신-도메인 함유-3 (mucin-domain containing-3: TIM-3)은 면역 세포 예컨대 T 세포, 수지상 세포, NK 세포, 및 단핵구에서 발현되는 단백질이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본원에는 일부 구체예에서, Gal3 (또는 "항-Gal3 항체")에 특이적으로 결합하고, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해하는 항체가 개시된다. 본원에는 일부 구체예에서, Gal3에 특이적으로 결합하고, T 세포 또는 자연 살해 세포 증식을 촉진하는 항체가 개시된다. 일부 구체예에서, 본원에는 또한 상기 항체를 이용하여 면역 반응을 유발하는 방법 및 치료 방법이 개시된다.

과제의 해결 수단

[0009] 본원에 제공된 본 발명의 구체예는 하기 번호가 매겨진 대안에 의해 기재된다:

[0010] 1. 면역 활성화 (immune activation)를 유도하는 방법으로서,

[0011] Gal3-발현 세포 및 TIM-3-발현 세포를 포함하는 복수의 세포를 항체와, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해하는 조건하에 접촉시키는 단계를 포함하고, 상기 항체는 Gal3에 특이적으로 결합하고, 상기 Gal3-발현 세포는 상기 항체에 결합 시에 면역 활성화를 유도하는 사이토카인을 발현하고, 상기 항체는 IMT001이 아닌 것인 방법.

[0012] 2. 대안 1에 있어서, 상기 사이토카인은 인터페론인 것인 방법.

[0013] 3. 대안 2에 있어서, 상기 인터페론은 IFN γ 인 것인 방법.

[0014] 4. 대안 3에 있어서, 상기 IFN γ 생성은 이소타입 항체에 의한 IFN γ 생성의 150%, 160%, 170%, 180%, 190%, 200%, 또는 초과인 것인 방법.

[0015] 5. 대안 1에 있어서, 상기 사이토카인은 인터루킨인 것인 방법.

[0016] 6. 대안 5에 있어서, 상기 인터루킨은 IL-2인 것인 방법.

[0017] 7. 대안 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역 활성화는 CD3+ T 림프구, CD4+ T 헬퍼 세포, CD8+ 세포독성 T 세포, 자연 살해 세포, 또는 이들의 조합의 증식을 포함하는 것인 방법.

[0018] 8. 대안 1 내지 7 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역 활성화는 상기 복수의 세포 내의 M1 마크로파지 집단의 증가를 포함하는 것인 방법.

[0019] 9. 대안 1 내지 8 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역 활성화는 상기 복수의 세포 내의 M2 마크로파지 집단의 감

소를 포함하는 것인 방법.

- [0020] 10. T 세포 또는 자연 살해 (NK) 세포 증식을 촉진하는 방법으로서,
- [0021] T 세포, NK 세포, 및 Gal3-발현 세포를 포함하는 복수의 세포를 항체와, 상기 복수의 세포에서 T 세포 및/또는 NK 세포의 증식에 영향을 미치는 조건하에 접촉시키는 단계를 포함하고, 상기 항체는 Gal3에 특이적으로 결합하고, 상기 항체는 IMT001이 아닌 것인 방법.
- [0022] 11. 대안 10에 있어서, 상기 복수의 세포는 TIM-3 발현 세포를 추가로 포함하는 것인 방법.
- [0023] 12. 대안 11에 있어서, 상기 항체는 Gal3 및 TIM-3의 상호작용을 추가로 방해하는 것인 방법.
- [0024] 13. 면역 활성화를 유도하는 방법으로서,
- [0025] Gal3-발현 세포 및 TIM-3-발현 세포를 포함하는 복수의 세포를 항체와, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해하는 조건하에 접촉시키는 단계를 포함하고, 상기 항체는 Gal3에 특이적으로 결합하고, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용이 70% 미만, 60% 미만, 59% 미만, 50% 미만, 40% 미만, 34% 미만, 30% 미만, 20% 미만, 14% 미만, 10% 미만, 7% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 또는 1% 미만으로 감소되는 것인 방법.
- [0026] 14. 대안 13에 있어서, 상기 상호작용은 영역 145-168, 160-177, 또는 165-184로부터 선택된 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 1**의 위치 145-168, 160-177, 또는 165-184에 해당하는 것인 방법.
- [0027] 15. 대안 13에 있어서, 상기 상호작용은 영역 149-156, 152-168, 163-169, 163-177, 또는 163-171로부터 선택된 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 1**의 위치 149-156, 152-168, 163-169, 163-177, 또는 163-171에 해당하는 것인 방법.
- [0028] 16. 대안 13 내지 15 중 어느 하나에 있어서, 상기 상호작용은 영역 91-111 또는 82-111로부터 선택된 TIM-3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 2**의 위치 91-111 또는 82-111에 해당하는 것인 방법.
- [0029] 17. 대안 13 내지 15 중 어느 하나에 있어서, 상기 상호작용은 영역 91-111, 107-117, 96-102, 100-106, 또는 92-119로부터 선택된 TIM-3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 2**의 위치 91-111, 107-117, 96-102, 100-106, 또는 92-119에 해당하는 것인 방법.
- [0030] 18. 대안 13 내지 17 중 어느 하나에 있어서, 상기 TIM-3은 인간 TIM-3인 것인 방법.
- [0031] 19. 대안 1 내지 18 중 어느 하나에 있어서, 상기 Gal3-발현 세포는 종양 세포인 것인 방법.
- [0032] 20. 대안 1 내지 19 중 어느 하나에 있어서, 상기 복수의 세포는 종양 미세환경 (tumor microenvironment: TME) 내에 위치하는 것인 방법.
- [0033] 21. 대안 1 내지 20 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 상기 TME 내 종양 세포의 감소를 유도하는 것인 방법.
- [0034] 22. 대안 1 내지 21 중 어느 하나에 있어서, 상기 복수의 세포는 종양-침윤 림프구 (tumor-infiltrating lymphocytes: TILs)를 추가로 포함하는 것인 방법.
- [0035] 23. 대안 1 내지 22 중 어느 하나에 있어서, 상기 복수의 세포는 CD3+ T 림프구, CD4+ T 헬퍼 세포, CD8+ 세포독성 T 세포, 또는 이들의 조합을 추가로 포함하는 것인 방법.
- [0036] 24. 대안 1, 10, 13 또는 22 중 어느 하나에 있어서, 상기 접촉시키는 단계는 TIL 증식을 추가로 유도하는 것인 방법.
- [0037] 25. 대안 1, 10, 13 또는 23 중 어느 하나에 있어서, 상기 접촉시키는 단계는 CD3+ T 림프구, CD4+ T 헬퍼 세포, CD8+ 세포독성 T 세포, 또는 이들의 조합의 증식을 추가로 유도하는 것인 방법.
- [0038] 26. 대안 1, 10, 13, 또는 22 내지 25 중 어느 하나에 있어서, 상기 접촉시키는 단계는 M1 마크로파지 증식의 증가를 추가로 포함하는 것인 방법.
- [0039] 27. 대안 1, 10, 13, 또는 22 내지 26 중 어느 하나에 있어서, 상기 접촉시키는 단계는 TME 내 M2 마크로파지 집단의 감소를 추가로 포함하는 것인 방법.
- [0040] 28. 대안 1 내지 27 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 1-20에 해당하는 Gal3 영역 내의

적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.

- [0041] 29. 대안 1 내지 27 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 41-91에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.
- [0042] 30. 대안 1 내지 27 또는 29 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 41-71에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.
- [0043] 31. 대안 1 내지 27 또는 29 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 71-91에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.
- [0044] 32. 대안 1 내지 31 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 펩티드_1, 펩티드_4, 펩티드_5, 펩티드_6, 펩티드_7, 또는 펩티드_8 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.
- [0045] 33. 대안 1 내지 32 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 1nM, 1.2nM, 2nM, 5nM, 10nM, 13.5nM, 15nM, 20nM, 25nM, 또는 30nM 미만의 K_D 를 포함하는 것인 방법.
- [0046] 34. 대안 1 내지 33 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 인간화 항체를 포함하는 것인 방법.
- [0047] 35. 대안 1 내지 34 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 전장 항체 또는 이의 결합 단편을 포함하는 것인 방법.
- [0048] 36. 대안 1 내지 35 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 이중특이적 항체 또는 이의 결합 단편을 포함하는 것인 방법.
- [0049] 37. 대안 1 내지 36 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 1가 Fab', 2가 Fab2, 단일-사슬 가변 단편 (scFv), 디아바디 (diabody), 미니바디 (minibody), 나노바디 (nanobody), 단일-도메인 항체 (sdAb), 또는 카멜리드 항체 (camelid antibody) 또는 이의 결합 단편을 포함하는 것인 방법.
- [0050] 38. 대안 1 내지 37 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 IgG 프레임워크를 포함하는 것인 방법.
- [0051] 39. 대안 1 내지 38 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 IgG1, IgG2, 또는 IgG4 프레임워크를 포함하는 것인 방법.
- [0052] 40. 대안 1 내지 39 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 Fc 돌연변이를 추가로 포함하는 것인 방법.
- [0053] 41. 대안 1 내지 33 또는 35 내지 40 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 키메라 항체 (chimeric antibody)를 포함하는 것인 방법.
- [0054] 42. 대안 1, 10 또는 13 중 어느 하나에 있어서, 상기 접촉시키는 단계 전에 상기 항체를 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는 것인 방법.
- [0055] 43. 대안 42에 있어서, 상기 대상체는 암으로 진단된 것인 방법.
- [0056] 44. 대안 43에 있어서, 상기 암은 고형 종양인 것인 방법.
- [0057] 45. 대안 44에 있어서, 상기 암은 유방암, 결장직장암, 신장암, 간암, 또는 폐암인 것인 방법.
- [0058] 46. 대안 43에 있어서, 상기 암은 혈액 악성종양 (hematologic malignancy)인 것인 방법.
- [0059] 47. 대안 43 내지 46 중 어느 하나에 있어서, 상기 암은 전이 암 (metastatic cancer)인 것인 방법.
- [0060] 48. 대안 43 내지 46 중 어느 하나에 있어서, 상기 암은 재발성 또는 불응성 암인 것인 방법.
- [0061] 49. 대안 42 내지 48 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 전신 투여용으로 제제화되는 것인 방법.
- [0062] 50. 대안 42 내지 49 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 비경구 투여용으로 제제화되는 것인 방법.
- [0063] 51. 대안 42 내지 50 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 추가의 치료제와 조합하여 투여되는 것인 방법.
- [0064] 52. 대안 51에 있어서, 상기 항체 및 추가의 치료제는 동시에 투여되는 것인 방법.
- [0065] 53. 대안 51에 있어서, 상기 항체 및 추가의 치료제는 순차적으로 투여되는 것인 방법.
- [0066] 54. 대안 53에 있어서, 상기 항체는 추가의 치료제를 투여하기 전에 투여되는 것인 방법.

- [0067] 55. 대안 53에 있어서, 상기 항체는 추가의 치료제를 투여한 후에 투여되는 것인 방법.
- [0068] 56. 대안 51 내지 55 중 어느 하나에 있어서, 상기 추가의 치료제는 면역 체크포인트 조절제를 포함하는 것인 방법.
- [0069] 57. 대안 51 내지 55 중 어느 하나에 있어서, 상기 추가의 치료제는 화학요법제, 표적 치료제, 호르몬 치료제, 또는 줄기세포-기반 치료제를 포함하는 것인 방법.
- [0070] 58. 대안 1 내지 57 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 인간인 것인 방법.
- [0071] 59. 대안 58에 있어서, 상기 항체는 수술 전 또는 수술 후에 투여되는 것인 방법.
- [0072] 60. 대안 58에 있어서, 상기 항체는 방사선 요법과 함께, 방사선 요법 전 또는 방사선 요법 후에 투여되는 것인 방법.
- [0073] 61. 대안 1 내지 60 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 항체 IMT001의 K_D 보다 더 높은 K_D 를 갖는 것인 방법.
- [0074] 62. 조직에서 섬유증 또는 이의 경향을 감소시키는 방법으로서,
- [0075] 상기 조직을 Gal3 항체에 특이적으로 결합하는 항체와, 상기 조직에서 섬유증 바이오마커의 발현 수준이 감소되는 조건하에 접촉시키는 단계를 포함하는 방법.
- [0076] 63. 대안 62에 있어서, 상기 조직은 TIM-3 발현 세포를 추가로 포함하는 것인 방법.
- [0077] 64. 대안 63에 있어서, 상기 항체는 Gal3 및 TIM-3의 상호작용을 추가로 방해하는 것인 방법.
- [0078] 65. 대안 63에 있어서, 상기 항체는 Gal3 및 TIM-3의 상호작용을 방해하지 않는 것인 방법.
- [0079] 66. 대안 62 내지 65 중 어느 하나에 있어서, 상기 적어도 하나의 섬유증 바이오마커는 α -평활근 액틴 (α -SMA)을 포함하는 것인 방법.
- [0080] 67. 대안 62 내지 65 중 어느 하나에 있어서, 상기 적어도 하나의 섬유증 바이오마커는 피브로넥틴을 포함하는 것인 방법.
- [0081] 68. 대안 62 내지 65 중 어느 하나에 있어서, 상기 적어도 하나의 섬유증 바이오마커는 α -평활근 액틴 (α -SMA) 및 피브로넥틴을 포함하는 것인 방법.
- [0082] 69. 대안 62 내지 68 중 어느 하나에 있어서, 상기 조직은 신장 조직 또는 간 조직인 것인 방법.
- [0083] 70. 대안 62 내지 68 중 어느 하나에 있어서, 상기 조직은 간 조직, 신장 조직, 피부 조직, 폐 조직, 심장 조직, 뇌 조직, 장 조직, 골수 조직, 및 연조직으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 방법.
- [0084] 71. 대안 62 내지 70 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체로 치료된 조직에서 적어도 하나의 섬유증 바이오마커의 발현이 mIgG2b 항체로 치료된 대조군 조직에서 적어도 하나의 섬유증 바이오마커의 발현보다 적은 것인 방법.
- [0085] 72. 대안 62 내지 71 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 상기 조직에서 세포외 기질 단백질 (extracellular matrix proteins)의 축적을 감소시키는 것인 방법.
- [0086] 73. 대안 72에 있어서, 상기 세포외 기질 단백질은 콜라겐을 포함하는 것인 방법.
- [0087] 74. 대안 73에 있어서, 상기 조직은 콜라겐-생성 세포를 포함하는 것인 방법.
- [0088] 75. 대안 74에 있어서, 상기 콜라겐-생성 세포는 섬유모세포 (fibroblast cell)인 것인 방법.
- [0089] 76. 대안 75에 있어서, 상기 섬유모세포는 섬유화 사이토카인 (fibrogenic cytokine)에 의해 활성화되는 것인 방법.
- [0090] 77. 대안 76에 있어서, 상기 섬유화 사이토카인은 TGF- β 1인 것인 방법.
- [0091] 78. 대안 62 내지 77 중 어느 하나에 있어서, 상기 조직은 상승된 TGF- β 1 발현을 갖는 것인 방법.
- [0092] 79. 대안 62 내지 78 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 인간화 항체를 포함하는 것인 방법.
- [0093] 80. 대안 62 내지 79 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 전장 항체 또는 이의 결합 단편을 포함하는 것인 방법.

- [0094] 81. 대안 62 내지 79 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 이중특이적 항체 또는 이의 결합 단편을 포함하는 것인 방법.
- [0095] 82. 대안 62 내지 79 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 키메라 항체를 포함하는 것인 방법.
- [0096] 83. 대안 62 내지 82 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 1-20에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.
- [0097] 84. 대안 62 내지 82 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 41-91에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.
- [0098] 85. 대안 62 내지 82 또는 84 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 41-71에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.
- [0099] 86. 대안 62 내지 82 또는 84 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 71-91에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.
- [0100] 87. 대안 62 내지 86 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 펩티드₁, 펩티드₄, 펩티드₅, 펩티드₆, 펩티드₇ 또는 펩티드₈ 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합하는 것인 방법.
- [0101] 88. 대안 62 내지 87 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 1nM, 1.2nM, 2nM, 5nM, 10nM, 13.5nM, 15nM, 20nM, 25nM, 또는 30nM 미만의 K_D 를 포함하는 것인 방법.
- [0102] 89. 대안 62 내지 88 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 1가 Fab', 2가 Fab2, 단일-사슬 가변 단편 (scFv), 디아바디, 미니바디, 나노바디, 단일-도메인 항체 (sdAb), 또는 카멜리드 항체 또는 이의 결합 단편을 포함하는 것인 방법.
- [0103] 90. 대안 62 내지 89 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 IgG 프레임워크를 포함하는 것인 방법.
- [0104] 91. 대안 62 내지 90 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 IgG1, IgG2, 또는 IgG4 프레임워크를 포함하는 것인 방법.
- [0105] 92. 대안 62 내지 91 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 Fc 돌연변이를 추가로 포함하는 것인 방법.
- [0106] 93. 대안 62 내지 92 중 어느 하나에 있어서, 상기 접촉시키는 단계 전에 상기 항체를 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는 것인 방법.
- [0107] 94. 대안 93에 있어서, 상기 대상체는 섬유성 질환 (fibrotic disease)으로 진단된 것인 방법.
- [0108] 95. 대안 94에 있어서, 상기 섬유성 질환은 신장 섬유증인 것인 방법.
- [0109] 96. 대안 94에 있어서, 상기 섬유성 질환은 간 섬유증인 것인 방법.
- [0110] 97. 대안 93 내지 96 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 전신 투여용으로 제제화되는 것인 방법.
- [0111] 98. 대안 93 내지 96 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 비경구 투여용으로 제제화되는 것인 방법.
- [0112] 99. 대안 93 내지 98 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 포유동물인 것인 방법.
- [0113] 100. 대안 64 및 66 내지 99 중 어느 하나에 있어서, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용이 70% 미만, 60% 미만, 59% 미만, 50% 미만, 40% 미만, 34% 미만, 30% 미만, 20% 미만, 14% 미만, 10% 미만, 7% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 또는 1% 미만으로 감소되는 것인 방법.
- [0114] 101. 대안 100에 있어서, 상기 상호작용은 영역 145-168, 160-177, 또는 165-184로부터 선택된 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 1**의 위치 145-168, 160-177, 또는 165-184에 해당하는 것인 방법.
- [0115] 102. 대안 100에 있어서, 상기 상호작용은 영역 149-156, 152-168, 163-169, 또는 163-171로부터 선택된 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 1**의 위치 149-156, 152-168, 163-169, 또는 163-171에 해당하는 것인 방법.
- [0116] 103. 대안 100 내지 102 중 어느 하나에 있어서, 상기 상호작용은 영역 90-122 또는 82-111로부터 선택된 TIM-3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 2**의 위치 90-122 또는 82-111에 해당하는 것

인 방법.

- [0117] 104. 대안 100 내지 102 중 어느 하나에 있어서, 상기 상호작용은 영역 91-111, 107-117, 96-102, 100-106, 또는 92-119로부터 선택된 TIM-3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 2**의 위치 91-111, 107-117, 96-102, 100-106, 또는 92-119에 해당하는 것인 방법.
- [0118] 105. 대상체에서 면역 관련 질병 (immune related disease)의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체로서, 상기 항-Gal3 항체는 면역계의 활성화를 유도하는 것인 항-Gal3 항체.
- [0119] 106. 대안 105에 있어서, 상기 항-Gal3 항체는 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 억제하는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.
- [0120] 107. 대안 105 또는 106에 있어서, 상기 면역계의 활성화는 CD3+ T 림프구, CD4+ T 헬퍼 세포, CD8+ 세포독성 T 세포, NK 세포, M1 마크로파지, 또는 이들의 조합의 증식을 포함하는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.
- [0121] 108. 대안 105 내지 107 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역계의 활성화는 M2 마크로파지의 감소를 포함하는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.
- [0122] 109. 대안 105 내지 108 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역 관련 질병은 암인 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.
- [0123] 110. 대안 109에 있어서, 상기 암은 유방암, 결장직장암, 신장암, 간암, 폐암, 또는 혈액 악성종양인 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.
- [0124] 111. 대안 109 또는 110에 있어서, 상기 암은 전이 암, 재발성 암 또는 불응성 암인 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.
- [0125] 112. 대안 109 내지 111 중 어느 하나에 있어서, 상기 항-Gal3 항체는 추가의 치료제, 예컨대 면역 체크포인트 조절제, 화학요법제, 표적 치료제, 호르몬 치료제, 줄기세포-기반 치료제, 수술, 또는 방사선 요법과 조합하여 투여되는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.
- [0126] 113. 대안 105 내지 108 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역 관련 질병은 섬유증이고, 상기 항-Gal3 항체는 조직에서 세포외 기질 단백질의 축적을 감소시키는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.
- [0127] 114. 대안 113에 있어서, 상기 세포외 기질 단백질은 콜라겐을 포함하는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.
- [0128] 115. 대안 113 또는 114에 있어서, 대상체에서 적어도 하나의 섬유증 바이오마커의 발현 수준이 감소되고, 상기 적어도 하나의 섬유증 바이오마커는 α -SMA, 피브로넥틴, 또는 둘 다를 포함하는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.
- [0129] 116. 대안 113 내지 115 중 어느 하나에 있어서, 상기 조직은 간 조직, 신장 조직, 피부 조직, 폐 조직, 심장 조직, 뇌 조직, 장 조직, 골수 조직, 및 연조직으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.
- [0130] 117. 대안 113 내지 116 중 어느 하나에 있어서, 상기 섬유증은 신장 섬유증, 간 섬유증, 폐 섬유증, 심장 섬유증, 또는 혈관 섬유증이고, 일부 구체예에서, 이는 IV 또는 피하 투여될 수 있는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.
- [0131] 118. 대안 105 내지 117 중 어느 하나에 있어서, 상기 항-Gal3 항체는 전신 투여, 비경구 투여, 정맥내 투여, 또는 피하 투여용으로 제제화되는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.
- [0132] 119. 대안 105 내지 118 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 인간인 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.
- [0133] 120. 대안 1 내지 104 중 어느 하나에 있어서, 상기 항-Gal3 항체는 2D10.2B2, 3B11.2G2, 4A11.2B5, 4G2.2G6, 6H6.2D6, 7D8.2D8, 12G5.D7, 13A12.2E5, 13G4.2F8, 13H12.2F8, 14H10.2C9, 15F10.2D6, 15G7.2A7, 19B5.2E6, 19D9.2E5, 20D11.2C6, 20H5.A3, 23H9.2E4, 24D12.2H9, 846.1F5, 846.2H3, 846T.1H2, 9H2.2H10, IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, IMT006-8, 및 mIMT001 중 하나 이상으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 방법.

- [0134] 121. 대안 1 내지 104 중 어느 하나에 있어서, 상기 항-Gal3 항체는 2D10.2B2, 3B11.2G2, 4A11.2B5, 4G2.2G6, 6H6.2D6, 7D8.2D8, 12G5.D7, 13A12.2E5, 13G4.2F8, 13H12.2F8, 14H10.2C9, 15F10.2D6, 15G7.2A7, 19B5.2E6, 19D9.2E5, 20D11.2C6, 20H5.A3, 23H9.2E4, 24D12.2H9, 846.1F5, 846.2H3, 846T.1H2, 9H2.2H10, IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, IMT006-8, 및 mIMT001 중 하나 이상 내 CDR들로부터 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 CDR들을 갖는 항체인 것인 방법.
- [0135] 121. 대안 1 내지 104 중 어느 하나에 있어서, 상기 항-Gal3 항체는 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 또는 IMT006-8인 것인 방법.
- [0136] 122. 대안 105 내지 119 중 어느 하나에 있어서, 상기 항-Gal3 항체는 2D10.2B2, 3B11.2G2, 4A11.2B5, 4G2.2G6, 6H6.2D6, 7D8.2D8, 12G5.D7, 13A12.2E5, 13G4.2F8, 13H12.2F8, 14H10.2C9, 15F10.2D6, 15G7.2A7, 19B5.2E6, 19D9.2E5, 20D11.2C6, 20H5.A3, 23H9.2E4, 24D12.2H9, 846.1F5, 846.2H3, 846T.1H2, 9H2.2H10, IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, IMT006-8, 및 mIMT001로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.
- [0137] 123. 대안 105 내지 119 중 어느 하나에 있어서, 상기 항-Gal3 항체는 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 또는 IMT006-8인 것인 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체.
- [0138] 124. 도 35a 내지 36b의 항체들 중 어느 하나의 항체 내의 HCDR3을 적어도 포함하는 항-GAL3 항체.
- [0139] 125. 대안 124에 있어서, 도 35a 내지 36b의 항체들 중 어느 하나의 항체 내의 3개의 HCDR 모두를 추가로 포함하는 항-GAL3 항체.
- [0140] 126. 대안 125에 있어서, 도 35a 내지 36b의 항체들 중 어느 하나의 항체 내의 3개의 LCDR 모두를 추가로 포함하는 항-GAL3 항체.
- [0141] 127. 도 36a 내의 중쇄 서열들 중 어느 하나, 또는 이에 대해 적어도 80% 동일한 서열을 포함하는 항-GAL3 항체.
- [0142] 128. 도 36b 내의 경쇄 서열들 중 어느 하나, 또는 이에 대해 적어도 80% 동일한 서열을 포함하는 항-GAL3 항체.
- [0143] 129. 대안 128에 있어서, 도 36a 내의 중쇄 서열들 중 어느 하나, 또는 이에 대해 적어도 80% 동일한 서열을 추가로 포함하는 항-GAL3 항체.
- [0144] 130. 6개의 CDR을 포함하는 항-GAL3 항체로서, 상기 6개의 CDR은 이들의 조합된 서열에 걸쳐, 도 35a 및 35b 내의 6개의 CDR의 임의의 세트에 대해 적어도 80% 동일한 것인 항-GAL3 항체.
- [0145] 131. 도 38로부터의 CDR들 중 적어도 하나를 포함하는 항-GAL3 항체.
- [0146] 132. 도 38로부터의 CDR들 중 적어도 2개를 포함하는 항-GAL3 항체.
- [0147] 133. 도 38로부터의 CDR들 중 적어도 3개를 포함하는 항-GAL3 항체.
- [0148] 134. 도 38로부터의 CDR들 중 적어도 4개를 포함하는 항-GAL3 항체.
- [0149] 135. 도 38로부터의 CDR들 중 적어도 5개를 포함하는 항-GAL3 항체.
- [0150] 136. 도 38로부터의 CDR들 중 6개를 포함하는 항-GAL3 항체.
- [0151] 137. 도 38로부터의 CDR들 중 6개를 포함하는 항-GAL3 항체로서, 상기 6개 모두는 단일 빈 (single bin)으로부터 유래되는 것인 항-GAL3 항체.
- [0152] 138. 도 38로부터의 CDR들 중 6개, 또는 이들 전체 서열에 걸쳐, 이에 대해 적어도 80% 동일한 6개의 CDR들의 세트를 포함하는 항-GAL3 항체.

도면의 간단한 설명

- [0153] 상기 기재된 특징에 추가하여, 추가적인 특징 및 변형은 하기 도면 및 예시되는 구체예의 설명으로부터 이의 없이 명백할 것이다. 이들 도면은 전형적인 구체예를 도시하며, 범위를 제한하려는 의도가 아님을 이해해야 한다.

도 1a-c는 인간 Gal3 (hGal3)이 인간 TIM-3 (hTIM-3)을 특이적으로 풀다운 (pulled down)하였음을 나타내는 공동-면역침강 분석 (co-immunoprecipitation assay)의 결과를 나타낸다. 도 1a는 HA-태그된 hTIM-3을 코딩하는 플라스미드 및 hGal3, hGal9, 또는 hCEACAM1을 코딩하는 플라스미드로 공동-형질감염된 293T 세포에서 TIM-3 발현을 나타낸다. 도 1b는 hGal9, hGal3, 또는 hCEACAM1의 발현을 나타낸다. 도 1c는 공동-형질감염된 293T 세포에서 상기 HA-태그된 hTIM-3을, CEACAM1이 아닌 hGal3이 풀다운하는 것을 나타낸다. 상기 결과는 또한 인간 Gal9 (hGal9)가 hTIM-3을 풀다운하였지만, 상기 풀다운은 단백질 응집을 수반하였음을 보여주었고 (도 1b), 이는 hGal9 및 hTIM-3 간의 결합이 비특이적일 수 있음을 나타낸다.

도 2는 hIgG의 Fc 부분과 융합된 hTIM-3 세포의 도메인으로 구성된 융합 단백질 (hTIM-3 Fc)을 이용한 풀-다운 분석 (pull-down assays)의 결과를 나타낸다. 상기 결과는 Gal3 및 TIM-3 간의 결합이 특이적이었음을 보여준다. 도 2에 나타난 바와 같이, hFc 또는 hPD1 Fc가 아닌, hTIM-3 Fc는 293T 세포로부터 과발현된 Flag-태그된 hGal3 단백질을 풀다운하였다.

도 3은 hGal3 및 hTIM-3 간의 특이적 상호작용을 나타내는 세포 부착 분석 (cell adhesion assay)의 결과를 나타낸다. 도 3에 나타난 바와 같이, hGal3을 발현하는 A20 세포 (A20 Gal3 세포)는 hVISTA Fc 또는 hPD1 Fc로 코팅된 플레이트보다 hTIM-3 Fc로 코팅된 플레이트에 훨씬 더 많은 수가 부착할 수 있었다. 또한, 상기 결과에서 A20 PDL1 세포는 인간 VISTA Fc (hVISTA Fc)로 코팅된 플레이트 또는 hTIM-3 Fc로 코팅된 플레이트보다 hPD1 Fc로 코팅된 플레이트에 더 많은 수가 부착될 수 있음을 보여주었다.

도 4a는 유세포 분석으로 살아있는 A20 세포 (좌측 피크) 및 죽은 A20 세포 (우측 피크)를 보여주었다.

도 4b-4c는 항 hFc APC 항체로 염색된, 살아있는 세포 (도 4b) 및 죽은 세포 (도 4c)의 유세포 분석 결과를 나타낸다. 그룹 1에서, A20 Gal3 세포는 대조군으로서 mTIM-3 Fc 단백질 없이 인큐베이션되었고; 그룹 2에서, A20 Gal3 세포는 mTIM-3 Fc 단백질과 인큐베이션되었으며; 그룹 3, 4, 5에서, mTIM-3 Fc 단백질에 추가하여, 항-마우스 TIM-3 폴리클로날 항체 (R&D System, Minneapolis, MN) (그룹 3), 모노클로날 항체 RMT3-23 (Bio X cell, West Lebanon, NH) (그룹 4), 모노클로날 항체 215015 (R&D Systems) (그룹 5)가 Gal3 및 Tim3 결합을 차단할 수 있는지를 테스트하기 위해 이들이 또한 부가되었다.

도 5a-c는 Gal3의 TIM-3에의 특이적 결합을 나타내는 ELISA 결과를 나타낸다. 도 5a에서, 플레이트를 10 ug/ml의 mGal3으로 코팅하였고, 모노클로날 항체 M3/38이 아닌, mGal3 폴리클로날 항체 (mGal3 pAb) 및 모노클로날 항체 IMT001은 Gal3 및 Tim3 간의 상호작용을 차단하는 것으로 나타났다. 도 5b는 락토스가 TIM-3에의 결합으로부터 Gal9를 차단하였지만, Gal3은 차단하지 않았음을 보여주며, 이는 Gal3 및 Tim3 간의 결합이 당-비의존적 결합임을 나타낸다. 도 5c는 항체 RMT3-23이 TIM-3에의 결합으로부터 포스파티딜세린 (PS)을 차단하였지만, Gal3은 차단하지 않았음을 보여주며, 이는 Gal3에 결합하는 TIM-3 상의 에피토프가 PS에 결합하는 TIM-3 상의 에피토프와 상이함을 나타낸다.

도 6a-b는 과발현된 Gal3이 T 세포 활성화를 억제하였음을 보여준다. 도 6a는 마우스 A20 세포 클론 #41, #31 및 #15가 Gal3을 과발현하는 것을 보여준다. 도 6b는 이들 세포들이 마우스 D011.10 T 세포와 혼합되었을 때, 모체 A20 세포와 비교하여 훨씬 더 적은 IL-2를 생성하였음을 보여준다.

도 7a-e는 Gal3 항체가 폐 전이 모델에서 항-종양 활성을 갖는 것을 보여준다. 도 7a는 B16F10 종양 세포에서 Gal3의 높은 발현을 보여준다. 도 7b는 3가지 치료된 그룹으로부터 전체 폐의 대표적인 이미지를 보여준다. 도 7c는 좌측 폐엽 표면에서 전이성 콜로니 (metastatic colonies)의 수를 나타낸다 (평균 $\pm$ SEM). 도 7d 및 도 7e는 상이한 치료 그룹들의 폐 중량 및 체중을 나타낸다 (평균 $\pm$ SEM). 이소타입 대조군으로 치료한 동물과 비교하여, 모노클로날 항-인간 Gal3 항체로 치료한 동물은 종양 수의 유의미한 감소를 보였고 ($p < 0.01$) (도 7b) 및 폐 중량으로 나타난 바와 같이 훨씬 적은 종양 부담을 보였다 ($p < 0.05$) (도 7d). 그러나, PD1 항체로 치료한 동물은 이러한 폐 전이 모델에서 종양 수 또는 부담의 유의미한 감소를 보이지 않았다 ($p > 0.05$). 도 7e에서 PD1 항체 또는 Gal3 항체로 치료한 동물은 대조군 그룹과 유사한 체중을 가짐을 보여주었고, 이는 항체 투여와 관련된 유해 효과가 없음을 나타낸다.

도 8a-c는 4T1 동소이식 종양 유도된 폐 전이 (orthotopic tumor induced lung metastasis)에서 Gal3 항체의 항-종양 활성을 보여준다. 도 8a는 4T1 세포를 이식한 다음에 대조군 항체 ("isotype") 또는 IMT001로 치료한 마우스의 폐에서 전이된 종양 콜로니의 이미지를 보여준다. 상기 항체는 30일의 기간 동안 0, 3, 7, 10 및 14 일에 복강내로 투여되었다. 상기 마우스가 희생된 30일차에 이미지를 촬영하였다. 도 8b는 동일한 기간 동안 이들 마우스의 체중 측정을 나타낸다. 도 8c는 30일차에 이들 마우스의 좌측 폐엽 표면에 전이된 종양 콜로니

의 수를 나타낸다.

도 9는 Renca 종양 세포를 이식하고 Gal3 항체로 치료한 마우스에서 종양 성장을 나타낸다. Renca 종양 세포를 이식하고 이소타입 대조군 항체 ("iso")로 치료한 마우스와 비교하여, Gal3 항체 ("IMT001")로 치료한 마우스는 훨씬 감소된 종양 크기를 보였고 ($p < 0.05$), 반면에 항 마우스 PD-1 항체 29F는 효과가 없었다 ($p > 0.05$).

도 10은 MC38 결장암 세포를 이식하고 항 Gal3 항체로 치료한 마우스에서 종양 성장을 나타낸다. MC38 종양 세포를 이식되고 이소타입 대조군 항체 ("iso")로 치료한 마우스와 비교하여, Gal3 항체 ("IMT001")로 치료한 마우스는 훨씬 감소된 종양 크기를 보여주었다 ($p < 0.05$).

도 11a-d는 에피토프 맵핑 (epitope mapping)의 결과를 나타낸다. hGal3 단백질 서열로부터 유래된 펩티드 어레이를 합성하였고 (도 11a), 항 Gal3 항체 IMT001로 도트 블롯팅 (dot blotting)하였다 (도 11b). 펩티드 5 및 6은 양호한 신호를 보여주었고, 이는 상기 항 Gal3 모노클로날 항체인 IMT001이 이들 펩티드에 결합할 수 있음을 나타낸다. IMT001의 이들 펩티드에의 결합 에피토프를 추가로 맵핑하기 위해, 이들 펩티드 서열로부터 유래된 몇 개의 더 짧은 펩티드를 합성하였고 (도 11c), 이들의 IMT001에의 결합을 ELISA로 측정하였다 (도 11d). 서열 GQAPPGAYPG (서열번호: 28)를 갖는 펩티드가 가장 높은 신호를 생성하였다.

도 12는 다양한 림프구 마커: CD3, CD4, CD8, CD19, 또는 DX5를 발현하는 B16F10 세포를 이식한 마우스로부터 면역 세포의 수를 요약하였다. 이들 마우스를 이소타입 대조군 항체 또는 IMT001로 치료하였다.

도 13a-b는 면역조직화학 (IHC) 분석에서 인간 폐암의 종양 관련 마크로파지에서 Gal3 발현을 보여주었다. IMT001을 사용하여 인간 폐암 동결된 슬라이드를 염색하여 종양 관련 마크로파지에서 Gal3 발현을 검출하였다. 도 13a는 편평세포 암종의 염색 결과를 나타내고, 도 13b는 선암종의 염색 결과를 나타낸다.

도 14a-c는 Gal3의 발현이 인간 M2 마크로파지에서 검출되었지만 (도 14c), 수지상 세포 (DC) (도 14a) 또는 M1 마크로파지 (도 14b)에서는 검출되지 않았음을 나타낸다.

도 15a-d는 마우스 마크로파지/T 세포 반응에서 Gal3 항체 ("IMT001")의 면역 활성을 보여준다. 도 15b는 대조군 (도 15a)과 비교하여, 마우스 마크로파지 세포주 RAW264.7에서 Gal3 발현의 IHC에 의한 검출을 보여준다. 도 15c는 IMT001로 염색된 세포를 사용하여 유세포 분석에 의해 마우스 마크로파지 세포주에서 Gal3의 발현을 나타낸다. 상기 항 Gal3 항체 IMT001은 RAW 마크로파지/DO11.10 T 세포 혼합 반응에서 IL-2 생성을 향상시켰지만, 항 마우스 PD-1 항체 29F는 향상시키지 못하였다 (도 15d).

도 16은 GAL3 결합 항체에 의한 GAL3-TIM3 상호작용 차단 ELISA 평가를 예시한다. 결과는 Gal3-표적 항체가 Gal3-TIM3 결합의 차등 차단 (differential blockade)을 나타내는 것을 보여준다. 항체의 부재 하에 TIM3-GAL3 결합의 퍼센트가 제시된다.

도 17a-17b는 GAL3의 펩티드 단편에 항-GAL3 항체 결합의 ELISA 평가를 나타낸다. 도 17a: 항체들 mab1, mab3, mab4 및 mab5; 도 17b: 항체들 mab2, mab3, mab6 및 mab7. 결과에서 Gal3-표적 항체는 Gal3-TIM3 결합의 차등 차단을 나타내는 것을 보여준다.

도 18은 항-GAL3 항체의 GAL3에의 결합의 ELISA 경쟁적 결합 평가 (ELISA competitive binding assessment)를 나타낸다. 결과에서 Gal3-표적 항체인 mab1 (801) 및 mab4 (804)는 Gal3에의 결합에 대해 양방향으로 (bi-directionally) 경쟁하지만, mab5 (805)는 경쟁하지 않았다.

도 19a-c는 항-Gal3 항체의 Gal3과의 결합 및 해리 동역학 (Gal3 결합 항체 친화도)의 생물층 간섭계 평가 (biolayer interferometry assessment)를 나타낸다. 도 19a: mab1; $k_D = 13.5$ nM. 도 19b: mab4; $k_D = 1.2$ nM. 도 19c: mab5; $k_D = 32$ nM.

도 20은 T-세포 항원-특이적 반응성의 GAL3 상승작용 (potentiation)의 CMV 항원 리콜 분석 평가 (CMV antigen recall assay assessment)를 나타낸다. 결과에서 Gal-3 표적 항체는 CMV-유도된 항원 리콜에 의해 T-세포의 차등 활성화 (differential activation)를 나타내는 것을 보여준다.

도 21a-c는 TIM3 및 GAL3 간의 상호작용을 매개하는 GAL3 및 TIM3 영역의 MALDI-MS 확인을 나타낸다. 아미노산 넘버링은 신호 펩티드의 처리 후에 성숙한 단백질을 기반으로 한다. 또한 표 2를 참조한다. 도 21a는 결합 계면에 관여된 잠재적인 서열을 나타낸다. 도 21b는 상호작용에 관여된 잠재적인 잔기를 나타낸다. 도 21c는 각 TIM-3 및 Gal3에 맵핑된 서열 위치를 나타낸다. 아미노산 넘버링은 신호 펩티드의 처리 후에 성숙한 단백질을 기반으로 한다.

도 22는 요관 결찰 (ureteral ligation) 후에 IMT001 및 mIgG2b (대조군) 항체로 14일 동안 치료한 수컷 일측성 요관 폐쇄 (unilateral urethral obstruction: UUO) 마우스, 또는 항체 치료 없이 치료된 샴 (sham)으로부터 신장 조직 용해물 중에 섬유증 마커인, 알파-평활근 액틴 (α -SMA) 및 피브로넥틴의 웨스턴 블롯 분석 (Western blot analysis)을 나타낸다. GAPDH는 로딩 대조군 (loading control)으로 사용되었다.

도 23은 비만이 아닌 당뇨병 및 염증 (N-IF) 마우스의 간 조직 용해물 중에 섬유증 마커인, α -SMA 및 피브로넥틴의 웨스턴 블롯 분석을 나타낸다. 상기 동물을 40일간 항-Gal3 항체인 IMT001 및 mIgG2b (대조군) 항체로 치료하였다. GAPDH는 로딩 대조군으로 사용되었다.

도 24. GAL3 및 TIM3의 결합을 차단하는 능력에 대해 3 μ g/mL의 갈렉틴-3 표적 항체를 ELISA로 평가하였다. 막대는 평균 $\pm$ 표준 편차를 나타낸다.

도 25. GAL3-표적 항체를 차단하는 GAL3-TIM3에 결합하는 능력을 가진 GAL3 펩티드의 정렬.

도 26. 항체 경쟁에 의한 갈렉틴-3 결합 항체 빈 (Galectin-3 binding antibody bins)의 확인. 값은 생물층 간섭계에 의해 평가되는 억제율을 나타낸다.

도 27. 인간화 항-GAL3 항체를 적정 시리즈 (titration series)에서 GAL3-TIM3의 차단에 대해 ELISA로 평가하였다. 플로팅된 값은 평균 $\pm$ 표준 편차를 나타낸다.

도 28a-d. 피하 MBT2 종양을 이식하고, 대조군, IMT001, 항-PD-L1 항체 또는 이들의 조합으로 치료하거나 (도 28a), 또는 대조군, IMT001, 항-PD-1 항체, 또는 이들의 조합으로 치료한 (도 28c) 마우스의 종양 부피. 항-PD-L1 (도 28b) 또는 항-PD-1 (도 28d)에 대한 종양 부피의 플롯은 개별 동물의 일일 측정을 나타낸다.

도 29a-d. 인간 IgG4 (huIgG4) 또는 IMT001-4로 치료한 정상 및 STAM-CDAA 마우스에서 간세포 암종 형성의 육안 조직학 (gross histology)에 의한 평가 (도 29a) 및 수치 나열 (enumerate)에 의한 평가 (도 29b). 화살표는 종양이 있는 영역을 강조 표시한다. 간 샘플의 헤마톡실린 및 에오신 염색된 절편을 종양 형성에 대해 평가하였다 (도 29c). 화살표는 종양이 있는 영역을 강조 표시한다. huIgG4 또는 IMT001-4로 치료한 STAM-CDAA 마우스의 혈청 중 알파-태아단백질 (alpha-fetoprotein)의 정량분석 (도 29d). 원 (circles)은 동물당 평균 값을 나타내고, 선 (line)은 그룹당 평균 값을 나타낸다.

도 30a-d. 이소타입 대조군 또는 mIMT001로 치료한 NASH 간 섬유증의 MCD 마우스 모델로부터 헤마톡실린 및 에오신 염색된 간 절편 (도 30a). 지방증 (steatosis), 간세포 팽창 (hepatocellular ballooning), 소엽 염증 (lobular inflammation), 또는 NAFLD 활성 스코어 (NAFLD Activity Score: NAS)를 측정하는 조직학적 소견의 이미지-기반 정량분석 (도 30b). (a)에서와 같이 치료한 마우스로부터 간 표본의 Picosirius 레드 염색 (Picosirius red staining) (도 30c). Sirius 레드 염색 (Sirius red staining)의 이미지 기반-정량분석 (도 30d). 막대는 7마리 동물의 평균값 $\pm$ 상기 평균의 표준 오차를 나타낸다.

도 31a-b. 이소타입 대조군 또는 IMT001-4로 치료한 간 섬유증의 콜린-결핍 L-아미노 정의된 고지방 식이 (choline-deficient L-amino defined high fat diet: CDAA-HFD) STAM 모델로부터의 간 표본의 Picosirius 레드 염색 (도 31a). Sirius 레드 염색의 이미지 기반-정량분석 (도 31b). 막대는 각 7마리 동물로부터 5개 필드의 평균값 $\pm$ 상기 평균의 표준 오차를 나타낸다.

도 32a-c. 신장 섬유증의 혈청 마커인 KIM-1 및 NGAL의 평가 (도 32a), 및 마우스 일측성 요관 폐쇄 (UUO) 모델에서 이소타입 대조군, IMT001-4, IMT001-6 또는 메트포르민으로 치료한 마우스로부터 신장 표본의 picosirius 레드 염색 (도 32b). 이미지-기반 Picosirius 레드 염색 정량분석 (도 32c). 막대는 그룹당 각 7마리 동물로부터 3중 평가의 평균값 $\pm$ 상기 평균의 표준 오차를 나타낸다. 포인트 (points)는 개별 동물의 평균 picosirius 레드 염색을 나타내고, 막대는 평균 그룹 값을 나타낸다.

도 33a-b. UUO 1일 후에 이소타입 대조군 또는 mIMT001로 치료한 신장 표본에서 콜라겐 1a1 (Col1a1) 침착의 IHC 평가 (도 33a). 검은색 화살표는 섬유성 콜라겐 침착 영역에 해당한다. 이미지 기반 정량분석 (도 33b). 막대는 그룹당 각 7마리 동물로부터 10개 필드의 평균값 $\pm$ 상기 평균의 표준 오차를 나타낸다.

도 34a-b. 이소타입 대조군 또는 mIMT001로 치료한 블레오마이신-유도된 폐 섬유증 마우스 모델에서 폐 섬유증의 Masson 삼색 평가 (Masson's trichrome assessment) (도 34a). 조직 절편의 Ashcroft 스코어링 (도 34b). 막대는 그룹당 각 8마리 동물로부터 10개 필드의 평균값 $\pm$ 상기 평균의 표준 오차를 나타낸다.

도 35a는 항-GAL3 항체의 다양한 구체예의 VH CDR 영역의 일부 구체예를 나타낸다. 일부 구체예에서, 본원에

제공된 임의의 방법 또는 조성물은 본원에 제공된 CDR들 중 1, 2 또는 3개를 포함하는, 하나 이상을 포함할 수 있다.

도 35b는 항-GAL3 항체의 다양한 구체예의 VL CDR 영역의 일부 구체예를 나타낸다. 일부 구체예에서, 본원에 제공된 임의의 방법 또는 조성물은 본원에 제공된 CDR들 중 1, 2 또는 3개를 포함하는, 하나 이상을 포함할 수 있다.

도 36a는 항-GAL3 항체의 다양한 구체예의 전장 VH 영역의 일부 구체예를 나타낸다. 일부 구체예에서, 본원에 제공된 임의의 방법 또는 조성물은 이들 VH 영역들 중 어느 하나를 포함할 수 있다.

도 36b는 항-GAL3 항체의 다양한 구체예의 전장 VL 영역의 일부 구체예를 나타낸다. 일부 구체예에서, 본원에 제공된 임의의 방법 또는 조성물은 이들 VL 영역들 중 어느 하나를 포함할 수 있다.

도 37은 (전장 중쇄 또는 카파 사슬 서열을 포함하는) 다양한 GAL3 항체의 일부 구체예를 나타낸다. 일부 구체예에서, 다른 도면에 제공된 VH/VL 및/또는 CDR들 중 임의의 하나 이상은 도 37에서 관련 서열 중 임의의 하나 이상과 페어링 (pairing)될 수 있다 (예: IgG4 단편 또는 카파 서열).

도 38은 항-Gal3 항체의 다양한 구체예의 VH CDR 또는 VL CDR 영역의 일부 구체예의 정렬을 나타낸다. 일부 구체예에서, 본원에 제공된 임의의 방법 또는 조성물은 도 38에 제공된 컨센서스 CDR들 중 임의의 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개를 사용할 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0154] 갈렉틴-3 (Gal3, GAL3, 또는 Gal-3)은 여러 세포 타입에서 발현되고, 세포 부착, 세포 활성화 및 화학유인, 세포 주기, 아포토시스, 세포 성장 및 분화, 및 종양 진행 및 전이를 포함하는, 광범위한 생리학 및 병리학 과정에 관여한다. Gal3은 종양 세포 및 종양 미세환경의 세포, 예컨대 종양-관련 마크로파지, 특히 M2 마크로파지에서 발현된다. 또한, 섬유모세포 증식 및 형질전환을 촉진하고, 콜라겐 생성을 매개하는 다양한 섬유화 유발 인자 (profibrotic factors)의 활성화와 관련이 있다. 또한, Gal3은 간, 신장, 폐 및 심근을 포함한 다양한 조직의 섬유화에 중요한 역할을 하는 것으로 사료된다.
- [0155] TIM-3은 면역 세포, 특히 T 세포에서 발현되는 분자이고, Gal3과의 상호작용을 통해 면역 반응, 예컨대 T 세포 신호전달을 억제할 수 있다. 상기 항-Gal3 항체는 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해하고, 면역 반응을 활성화시킨다.
- [0156] 종양은 종종 마크로파지가 풍부한 반응성 기질 (reactive stroma)의 일부로서 면역 침윤물 (immune infiltrate)과 관련된다. 종양-관련 마크로파지 (Tumor-associated macrophages: TAMs)는 신생혈관 생성 및 기질 분해를 촉진하여 종양 성장을 촉진하는데 중요한 역할을 한다. 종양과 관련되는 경우, 마크로파지는 M1 마크로파지 또는 M2 마크로파지인 표현형이 상이한 마크로파지의 2가지 서브세트 중 하나에 대한 기능적 분극화 (functional polarization)를 나타낸다. M1 마크로파지는 염증유발 사이토카인을 생성하고 세포 파괴에 적극적인 역할을 하는 것으로 알려진 반면에, M2 마크로파지는 주로 데브리스를 소거하고 혈관형성 및 상처 복구를 촉진한다. 결과적으로, 많은 수의 TAM을 가진 다수의 종양은 종양 성장 속도, 국소 증식 및 원격 전이가 증가한다. 상기 M2 마크로파지 집단은 종양 성장 및 발달을 촉진하는 TAM 집단과 표현형이 유사하다. Gal3을 발현하는 것에 추가하여, M2 마크로파지는 또한 일부 경우에 CD206, IL-4r, IL-1ra, decoy IL-1rl1, IL-10r, CD23, 마크로파지 소거 수용체 (macrophage scavenging receptors) A 및 B, Ym-1, Ym-2, 저밀도 수용체-관련 단백질 1 (Low density receptor-related protein 1: LRP1), IL-6r, CXCR1/2, CD136, CD14, CD1a, CD1b, CD93, CD226, (FcγR) 및 PD-L1로 구성된 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 세포 표면 마커를 발현한다.
- [0157] 조직 섬유증 (tissue fibrosis)은 세포외 기질 (extracellular matrix: ECM) 단백질 예컨대 콜라겐 및 피브로넥틴의 풍부한 축적을 특징으로 하는 진행성 쇠약성 질환 (progressive debilitating disease)으로, 조직 흉터 형성, 장기 손상, 장기 기능 저하, 및 후속하는 장기 부전으로 이어진다. 조직 섬유증은 신장, 간, 폐, 심장, 피부, 체장, 장, 눈, 신경계, 관절, 힘줄, 종격동 또는 후복막에 위치할 수 있다. 조직 섬유증의 특징은 상피 및 내피 손상 및 기능장애, 근섬유모세포 (MFb), 평활근 세포 및 성상 세포 (stellate cell)의 비정상적인 증식, 및 ECM 침착을 포함한다. 사이토카인, 케모카인, 성장 인자 및 혈관신생 인자의 존재는 섬유화 유발 과정 중에 ECM-생성 세포의 활성화를 추가로 조절한다.
- [0158] 갈렉틴-3 (Gal3)은 세포 증식, 부착, 분화, 혈관신생 및 아포토시스에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 또한, 이는 섬유모세포 증식 및 형질전환을 촉진하고, 콜라겐 생성을 매개하는 다양한 섬유화 유발 인자의

활성화와 관련이 있다. 또한, Gal3은 간, 신장, 폐 및 심근을 포함하는, 다양한 조직의 섬유화에 중요한 역할을 하는 것으로 사료된다.

[0159] 본원에는 일부 구체예에서, 항-Gal3 항체를 사용하여 조직에서 섬유증 또는 이의 경향을 감소시키는 방법이 개시된다. 일부 구체예에서, 조직에서 섬유증 또는 이의 경향을 감소시키는 것은 섬유증이 정상 조직에서 발생하는 것을 방지하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 조직에서 섬유증 또는 이의 경향을 감소시키는 것은 섬유증 조직에서 섬유증의 진행을 지연 또는 정지시키는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 조직에서 섬유증 또는 이의 경향을 감소시키는 것은 섬유증 조직에서 섬유증 정도의 양을 감소시키는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 조직에서 섬유증 또는 이의 경향을 감소시키는 것은 섬유증 조직에서 섬유증을 제거하는 것을 포함한다.

[0160] 일부 구체예에서, 본원에는 또한 하나 이상의 섬유증 바이오마커를 모니터링하여 조직 섬유증의 진행을 모니터링하는 방법이 개시된다. 추가의 예에서, 본원에는 항-Gal3 항체로 조직 섬유증을 치료하는 방법이 개시되고, 상기 항-Gal3 항체는 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해한다.

[0161] 하기 상세한 설명에서, 본원의 일부를 형성하는 첨부 도면을 참조한다. 도면에서, 유사한 기호는 문맥에서 달리 지시하지 않는 한, 전형적으로 유사한 구성요소를 식별한다. 상세한 설명, 도면 및 청구범위에 기재된 예시되는 구체예는 제한을 의미하지 않는다. 본원에 제시된 주제의 사상 또는 범위를 벗어나지 않으면서, 다른 구체예가 이용될 수 있고, 다른 변경이 이루어질 수 있다. 본원에서 일반적으로 기재되고 도면에 도시되는 바와 같이, 본 개시내용의 양상은 상이한 구성의 광범위한 다양성으로 배열, 치환, 조합, 분리 및 디자인될 수 있는 것을 쉽게 이해할 것이며, 이들 모두가 본원에서 명시적으로 고려된다.

[0162] 본원에서 사용되는 기술 및 과학 용어는 달리 정의하지 않는 한, 본 개시내용이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 개시내용의 목적을 위해, 다음 용어들이 하기에 정의된다.

[0163] 관사 "a" 및 "an"은 본원에서 관사의 문법적 대상의 하나 또는 하나 초과 (예: 적어도 하나)를 지칭하는데 사용된다. 예로서, "일 요소 (an element)"는 하나의 요소 또는 하나 초과의 요소를 의미한다.

[0164] "약 (about)"은 정량, 수준, 값, 수, 빈도, 퍼센트, 치수, 크기, 양, 중량 또는 길이가 참조 정량, 수준, 값, 수, 빈도, 퍼센트, 치수, 크기, 양, 중량 또는 길이에 대해 30, 25, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1% 만큼 가변하는 것을 의미한다.

[0165] 본 명세서 전반에 걸쳐, 문맥이 달리 요구하지 않는 한, 단어 "포함하다 (comprise)", "포함한다 (comprises)" 및 "포함하는 (comprising)"은 언급된 단계 또는 요소 또는 단계들 또는 요소들의 그룹의 포함을 의미하지만, 임의의 다른 단계 또는 요소 또는 단계들 또는 요소들의 그룹을 배제하지 않는 것으로 이해될 것이다. "구성되는 (consisting of)"은 "구성되는"이라는 문구 뒤에 오는 모든 것을 포함하고 이에 국한되는 것을 의미한다. 따라서, 문구 "구성되는"은 나열된 요소가 요구되거나 또는 필수이며, 다른 요소가 존재하지 않을 수 있음을 나타낸다. "본질적으로 구성되는 (consisting essentially of)"은 상기 문구 뒤에 나열된 임의의 요소를 포함하고, 나열된 요소에 대해 본 개시내용에 명시된 활성 또는 작용을 방해하거나 또는 기여하지 않는 다른 요소로 제한되는 것을 의미한다. 따라서, 문구 "본질적으로 구성되는"은 나열된 요소가 요구되거나 또는 필수이지만, 다른 요소는 선택적 사항이므로, 나열된 요소의 활성 또는 작용에 실질적으로 영향을 주는지 여부에 따라 존재할 수도 있고 또는 존재하지 않을 수 있음을 나타낸다.

[0166] 일부 구체예에서, 항-Gal3 항체 또는 이의 결합 단편, 또는 항-Gal3 항체 또는 이의 결합 단편을 포함하는 조성물이 제공된다. 일부 구체예에서, 항-Gal3 항체 또는 이의 결합 단편, 또는 항-Gal3 항체 또는 이의 결합 단편을 포함하는 조성물을 사용하여 인 비트로 또는 인 비보에서 Gal3 및 TGF-베타 수용체 간의 상호작용을 차단 또는 방해하는 방법이 제공된다. 일부 구체예에서, 항-Gal3 항체 또는 이의 결합 단편, 또는 항-Gal3 항체 또는 이의 결합 단편을 포함하는 조성물을 사용하여 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 차단 또는 방해하는 방법은 대상체에서 질병 또는 장애를 치료, 치유 또는 예방하는데 사용된다. 일부 구체예에서, 상기 질병 또는 장애는 암, 유방암, 결장직장암, 신장암, 간암, 폐암, 또는 혈액 악성종양이다. 일부 구체예에서, 상기 암은 전이 암, 재발성 암, 또는 불응성 암이다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 추가의 치료제, 예컨대 면역 체크포인트 억제제, 화학요법제, 표적 치료제, 호르몬 치료제, 또는 줄기세포-기반 치료제와 조합하여 투여된다. 일부 구체예에서, 상기 질병 또는 장애는 간 조직, 신장 조직, 피부 조직, 폐 조직, 심장 조직, 뇌 조직, 장 조직, 골수 조직 또는 연조직과 같은 조직에서의 섬유증이다.

[0167] 본원에서 사용된, 용어 "개인(들) (individual(s))", "대상체(들) (subject(s))" 및 "환자(들) (patient(s))"

는 임의의 포유동물 또는 조류를 의미한다. 일부 구체예에서, 상기 포유동물은 인간이다. 일부 구체예에서, 상기 포유동물은 비-인간 (non-human)이고, 농장 동물 (farm animals) (예: 소, 돼지, 말, 닭 등), 스포츠 동물, 애완동물, 영장류, 개, 고양이, 마우스 (mice) 및 래트 (rats)를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 상기 용어는 의료 종사자 (예: 의사, 공인 간호사, 개업 간호사, 의사 조수, 일반 또는 호스피스 종사자)의 감독 (예: 지속적 또는 간헐적)에 의해 특성화된 상황을 필요로 하거나 또는 이에 국한되지 않는다.

[0168] 본원에서 사용된, 용어 "폴리펩티드 (polypeptide)", "펩티드 (peptide)" 및 "단백질 (protein)"은 임의의 길이의 아미노산의 폴리머를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환 가능하게 사용된다. 상기 폴리머는 선형, 고리형 또는 분지형일 수 있고, 이는 변형된 아미노산을 포함할 수 있으며, 이는 비-아미노산에 의해 중단될 수 있다. 상기 용어는 또한 예를 들어 황산화, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화, 요오드화, 메틸화, 산화, 단백질 분해 과정 (proteolytic processing), 인산화, 프레닐화 (prenylation), 라세미화 (racemization), 셀레닐화 (selenylation), 아미노산의 단백질로의 전달-RNA 매개된 부가 (transfer-RNA mediated addition) 예컨대 아르기닐화, 유비퀴틴화, 또는 임의의 기타 조작, 예컨대 표지화 성분과의 접합을 통해 변형된 아미노산 폴리머를 포함한다.

[0169] 본원에서 사용된, 용어 "아미노산 (amino acid)"은 글리신 및 D 또는 L 광학 이성질체 모두를 포함하는, 천연 및/또는 비천연 또는 합성 아미노산, 및 아미노산 유사체 및 펩티도모방체 (peptidomimetics)를 지칭한다.

[0170] 지정된 단백질 "로부터 유래된 (derived from)" 폴리펩티드 또는 아미노산 서열은 폴리펩티드의 기원을 지칭한다. 바람직하게는, 상기 폴리펩티드는 서열에 있어서 코딩된 폴리펩티드의 아미노산 서열과 본질적으로 동일한 아미노산 서열, 또는 이의 일부를 가지며, 여기서 상기 일부는 적어도 10-20개의 아미노산, 또는 적어도 20-30개의 아미노산, 또는 적어도 30-50개의 아미노산으로 구성되거나, 또는 이는 서열에 있어서 코딩된 폴리펩티드와 면역학적으로 식별 가능하다. 이러한 용어는 또한 지정된 핵산 서열로부터 발현된 폴리펩티드를 포함한다.

[0171] 본원에서 사용된, 용어 "항체 (antibody)"는 에피토프에 적합하고 이를 인식하는 특정 형태를 가진 임의의 폴리펩티드 사슬-함유 분자 구조를 포함하는 것으로 의도되며, 여기서 하나 이상의 비-공유 결합 상호작용은 분자 구조 및 에피토프 간의 복합체를 안정화시킨다. 본 발명에서 사용되는 항체는 폴리클로날 항체일 수 있지만, 모노클로날 항체가 세포 배양에 의해 또는 재조합으로 복제될 수 있고, 이의 항원성을 감소시키기 위해 변형될 수 있기 때문에 바람직하다.

[0172] 전체 면역글로불린 (또는 이의 재조합 대응물)에 추가하여, 면역글로불린 단편 또는 에피토프 결합 부위를 포함하는 "결합 단편" (예: Fab', F(ab')₂, 단일-사슬 가변 단편 (scFv), 디아바디, 미니바디, 나노바디, 단일-도메인 항체 (sdAb), 또는 기타 단편)은 본 발명에서 항체 모이어티로서 유용하다. 이러한 항체 단편은 리신 (ricin), 펩신, 파파인 또는 기타 프로테아제 절단에 의해 전체 면역글로불린으로부터 생성될 수 있다. 최소 면역글로불린은 재조합 면역글로불린 기술을 사용하여 디자인될 수 있다. 예를 들어, 본 발명에서 사용하기 위한 "Fv" 면역글로불린은 가변 경쇄 영역을 가변 중쇄 영역에 펩티드 링커 (예: 폴리-글리신, 또는 알파 나선 또는 베타 시트 모티프를 형성하지 않는 또 다른 서열)를 통해 연결함으로써 생성될 수 있다. 나노바디 또는 단일-도메인 항체는 또한 대체 유기체, 예컨대 단봉낙타 (dromedaries), 낙타, 라마, 알파카 또는 상어로부터 유래될 수 있다. 일부 구체예에서, 항체는 접합체, 예컨대 폐길화 항체, 약물, 방사성 동위원소, 또는 독소 접합체일 수 있다. 특정 에피토프 또는 에피토프들의 조합에 대한 모노클로날 항체는 상기 마커를 발현하는 세포 집단의 표적화 및/또는 고갈을 허용할 것이다. 모노클로날 항체를 사용하는 다양한 기술을 활용하여 상기 마커 (들)를 발현하는 세포 집단을 스크리닝할 수 있고, 항체-코팅된 자기 비드를 사용한 자기 분리, 고체 매트릭스 (즉, 플레이트)에 부착된 항체를 사용한 "패닝 (panning)", 및 유세포 분석을 포함한다 (예: 미국 특허 제 5,985,660호, 이는 그 전체가 참조로 본원에 명시적으로 통합됨).

[0173] 본원에서 사용된, 비-인간 (예: 설치류 또는 영장류) 항체에 적용되는 용어 "인간화 (humanized)"는 비-인간 면역글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 혼성 면역글로불린, 면역글로불린 사슬 또는 이의 단편이다.

[0174] 항체의 "가변 영역 (variable region)"은 항체 경쇄의 가변 영역 또는 항체 중쇄의 가변 영역을, 단독으로 또는 조합하여 지칭한다. 당해 분야에 알려진 바와 같이, 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 각각 초가변 영역으로도 알려진 3개의 상보성 결정 영역 (CDR)에 의해 연결된 4개의 프레임워크 영역 (FR)으로 구성되며, 항체의 항원 결합 부위의 형성에 기여한다. 대상 가변 영역의 변이체가 요구되는 경우, 특히 CDR 영역 외부 (즉, 프레임워크 영역 내)의 아미노산 잔기의 치환의 경우, 적절한 아미노산 치환, 바람직하게는 보존적 아미노산 치환은 대상 가변 영역과 동일한 표준 클래스에서 CDR1 및 CDR2 서열을 함유하는 다른 항체의 가변 영역에 대해 대상 가변 영

역을 비교하여 확인될 수 있다 (Chothia and Lesk, J Mol Biol 196(4): 901-917, 1987).

[0175] 일부 구체예에서, CDR의 명확한 묘사 및 항체의 결합 부위를 포함하는 잔기의 확인은 항체의 구조를 해석하고 및/또는 항체-리간드 복합체의 구조를 해석함으로써 달성된다. 일부 구체예에서, 이는 X-선 결정학과 같은 당 업자에게 알려진 다양한 기술들 중 임의의 기술에 의해 달성될 수 있다. 일부 구체예에서, 다양한 분석 방법을 이용하여 CDR 영역을 확인하거나 또는 근사화할 수 있다. 일부 구체예에서, 다양한 분석 방법을 이용하여 CDR 영역을 확인하거나 또는 근사화할 수 있다. 이러한 방법의 예로는 Kabat 정의, Chothia 정의, IMGT 접근 방식 (Lefranc et al., 2003) Dev Comp Immunol. 27:55-77), 계산 프로그램 (computational programs) 예컨대 Paratome (Kunik et al., 2012, Nucl Acids Res. W521-4), AbM 정의, 및 입체배좌 정의 (conformational definition)를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0176] 상기 Kabat 정의는 항체에서 잔기를 넘버링하는 표준이며, 전형적으로 CDR 영역을 확인하는데 사용된다. 예를 들어, Johnson & Wu, 2000, Nucleic Acids Res., 28: 214-8을 참조한다. 상기 Chothia 정의는 상기 Kabat 정의와 유사하지만, Chothia 정의는 소정의 구조적 루프 영역의 위치를 고려한다. 예를 들어, Chothia et al., 1986, J. Mol. Biol., 196: 901-17; Chothia et al., 1989, Nature, 342: 877-83을 참조한다. 상기 AbM 정의는 항체 구조를 모델링하는 Oxford Molecular Group에 의해 생성된 통합 컴퓨터 프로그램 제품군을 사용한다. 예를 들어, Martin et al., 1989, Proc Natl Acad Sci (USA), 86:9268-9272; "AbM.TM., A Computer Program for Modeling Variable Regions of Antibodies," Oxford, UK; Oxford Molecular, Ltd.를 참조한다. 상기 AbM 정의는 지식 데이터베이스 및 ab initio 방법의 조합을 사용하여 1차 서열로부터 항체의 3차 구조를 모델링하며, 예컨대 Samudrala et al., 1999, "Ab Initio Protein Structure Prediction Using a Combined Hierarchical Approach," in PROTEINS, Structure, Function and Genetics Suppl., 3:194-198에 기재되어 있다. 접촉 정의 (contact definition)는 이용 가능한 복잡한 결정 구조의 분석을 기반으로 한다. 예를 들어, MacCallum et al., 1996, J. Mol. Biol., 5:732-45를 참조한다. 본원에서 CDR의 "입체배좌 정의"로 지칭되는 또 다른 접근방식에서, 상기 CDR의 위치는 항원 결합에 엔탈피 기여하는 잔기로서 확인될 수 있다. 예를 들어, Makabe et al., 2008, Journal of Biological Chemistry, 283:1156-1166을 참조한다. 또 다른 CDR 경계 정의 (CDR boundary definitions)는 상기 접근 방식들 중 하나를 엄격하게 따르지 않을 수 있지만, 그럼에도 불구하고 상기 Kabat CDR들의 적어도 일부와 중복될 것이고, 특정 잔기 또는 잔기들의 그룹이 항원 결합에 상당한 영향을 주지 않는다는 예측 또는 실험 결과에 비추어 이들은 단축되거나 또는 길어질 수 있다. 본원에서 사용된, CDR은 접근방식들의 조합을 포함하여, 당해 분야에 알려진 임의의 접근방식에 의해 정의된 CDR을 지칭할 수 있다. 본원에서 사용된 방법은 이들 접근방식 중 임의의 접근방식들에 따라 정의된 CDR을 이용할 수 있다. 하나 초과 CDR을 함유하는 일부 구체예에서, 상기 CDR은 임의의 Kabat, Chothia, 연장된 (extended), IMGT, Paratome, AbM, 및/또는 입체배좌 정의, 또는 임의의 전술한 것들의 조합에 따라 정의될 수 있다. 일부 구체예에서, 가변 영역의 잔기 번호는 IMGT 넘버링 시스템을 사용하여 넘버링된다. 본원에 제공된 서열에서, 상기 CDR은 IMGT (<https://worldwideweb.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/align.html>)에 따라 맵핑된다.

[0177] 당해 분야에 알려진 바와 같이, 항체의 "불변 영역 (constant region)"은 항체 경쇄의 불변 영역 또는 항체 중쇄의 불변 영역을, 단독으로 또는 조합하여 지칭한다.

[0178] 항체와 관련하여 본원에서 사용된, 용어 "경쟁하다 (compete)"는 제1 항체 또는 이의 항원-결합 부분이 제2 항체 또는 이의 항원-결합 부분의 결합과 충분히 유사한 방식으로 에피토프에 결합하여, 상기 제2 항체의 존재 하에 상기 제1 항체의 이의 동족 에피토프와의 결합의 결과로 상기 제2 항체의 부재 하에 제1 항체의 결합과 비교하여 검출 가능하게 감소되는 것을 의미한다. 상기 제2 항체의 이의 에피토프에의 결합이 또한 상기 제1 항체의 존재 하에 검출 가능하게 감소되는 대안이 필요할 수 있지만 반드시 그렇지는 않다. 즉, 제1 항체는 제2 항체의 이의 에피토프에의 결합을 억제할 수 있지만, 상기 제2 항체가 상기 제1 항체의 이의 각 에피토프에의 결합을 억제하지 않는다. 그러나, 각 항체가 다른 항체의 이의 동족 에피토프 또는 리간드와의 결합을, 동일하거나 더 크거나, 또는 더 작은 정도로 검출 가능하게 억제하는 경우, 상기 항체는 이들의 각 에피토프(들)의 결합에 대해 서로 "교차-경쟁 (cross-compete)"한다고 한다. 경쟁 및 교차-경쟁 항체 모두는 본 발명에 포함된다. 이러한 경쟁 또는 교차-경쟁이 발생하는 기전 (예: 입체 장애, 입체배좌 변화, 또는 공통 에피토프 또는 이의 일부에의 결합)에 관계없이, 숙련된 기술자는 본원에 제공된 교시를 기반으로, 이러한 경쟁 및/또는 교차-경쟁 항체가 포함되며, 본원에 개시된 방법에 유용할 수 있다는 것을 이해할 것이다.

[0179] 에피토프에 "우선적으로 결합하는 (preferentially binds)" 또는 "특이적으로 결합하는 (specifically binds)" (본원에서 상호교환 가능하게 사용됨) 항체는 당해 분야에서 잘 이해되는 용어이고, 이러한 특이적 또는 우선적 결합을 결정하는 방법이 또한 당해 분야에 잘 알려져 있다. 분자가 특정 세포 또는 물질과의 반응 또는 결합이

대체 세포 또는 물질과의 반응 또는 결합보다, 더 빈번하게, 및/또는 더 빠르게, 및/또는 더 큰 지속 시간으로 및/또는 더 큰 친화력으로 반응 또는 결합하는 경우에, 상기 분자는 "특이적 결합" 또는 "우선적 결합"을 나타낸다고 한다. 항체가 표적과의 결합이 다른 물질과의 결합보다, 더 큰 친화도, 및/또는 결합력, 및 /또는 더 용이하게, 및/또는 더 큰 지속 시간으로 결합하는 경우에, 상기 항체는 표적에 "특이적 결합" 또는 "우선적으로 결합"한다. 예를 들어, CFD 에피토프에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하는 항체는 다른 CFD 에피토프 또는 비-CFD 에피토프에 결합하는 것보다, 상기 에피토프에 더 큰 친화도, 및/또는 결합력, 및/또는 더 용이하게, 및 /또는 더 큰 지속 시간으로 결합하는 항체이다. 상기는 또한 예를 들어, 제1 표적에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하는 항체 (또는 모이어티 또는 에피토프)가 제2 표적에 특이적으로 또는 우선적으로 결합할 수 있거나 또는 결합하지 않을 수 있다는 이러한 정의를 읽음으로써 이해된다. 따라서, "특이적 결합" 또는 "우선적 결합"은 전용 결합을 포함할 수 있지만, 반드시 요구되는 것은 아니다. 일반적으로, 반드시 그런 것은 아니지만, 결합에 대한 언급은 우선적 결합을 의미한다.

[0180] 본원에서 사용된, "실질적으로 순수한 (substantially pure)"은 물질이 적어도 50% 순수 (즉, 오염물이 없음), 더 바람직하게는 적어도 90% 순수, 더 바람직하게는 적어도 95% 순수, 더욱 바람직하게는 적어도 98% 순수, 가장 바람직하게는 적어도 99% 순수한 것을 의미한다.

[0181] "숙주 세포 (host cell)"는 폴리뉴클레오티드 삽입체의 혼입을 위한 벡터(들)에 대한 수용체일 수 있거나 또는 수용체였던 개별 세포 또는 세포 배양물을 포함한다. 숙주 세포는 단일 숙주 세포의 후손 (progeny)을 포함하며, 상기 후손은 자연적, 우발적 또는 고의적 돌연변이로 인해 원래의 모체 세포와 완전하게 동일하지 않을 수 있다 (형태 또는 게놈 DNA 보체에서). 숙주 세포는 본 발명의 폴리뉴클레오티드(들)로 인 비보 형질감염된 세포를 포함한다.

[0182] 당해 분야에 알려진 바와 같이, 용어 "Fc 영역"은 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하는데 사용된다. 상기 "Fc 영역"은 네이티브 서열 Fc 영역 또는 변이체 Fc 영역일 수 있다. 면역글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계는 가변될 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 통상 위치 Cys226에서 아미노산 잔기 또는 Pro230으로부터 이의 카복실-말단까지 스트레치되는 것으로 정의된다. 상기 Fc 영역에서 잔기의 넘버링은 Kabat. Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991에서와 같이 EU 인덱스의 넘버링이다. 면역글로불린의 Fc 영역은 일반적으로 2개의 불변 도메인인 CH2 및 CH3을 포함한다. 당해 분야에 알려진 바와 같이, Fc 영역은 이량체 또는 단량체 형태로 존재할 수 있다.

[0183] 본원에서 사용된, "벡터 (vector)"는 숙주 세포에서 하나 이상의 관심 유전자(들) 또는 서열(들)을 전달할 수 있는, 바람직하게는 발현할 수 있는 구조체를 의미한다. 벡터의 예로는 바이러스 벡터, 네이티브 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 플라스미드, 코스미드 또는 파지 벡터, 양이온성 축합제와 결합된 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 리포솜에 캡슐화된 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 및 소정의 진핵 세포, 예컨대 생산 세포를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0184] 본원에서 사용된, "발현 제어 서열 (expression control sequence)"은 핵산의 전사를 지시하는 핵산 서열을 의미한다. 발현 제어 서열은 프로모터, 예컨대 구성적 또는 유도성 프로모터, 또는 인핸서일 수 있다. 상기 발현 제어 서열은 전사될 핵산 서열에 작동 가능하게 연결된다.

[0185] 본원에서 사용된, "약학적으로 허용 가능한 담체 (pharmaceutically acceptable carrier)" 또는 "약학적으로 허용 가능한 부형제 (pharmaceutical acceptable excipient)"는 활성 성분과 조합되는 경우 상기 성분의 생물학적 활성을 유지하고 대상체의 면역계와는 비-반응성인 임의의 물질을 포함한다. 예로는 임의의 표준 약학적 담체 예컨대 포스페이트 완충된 식염수 용액, 물, 에멀전 예컨대 오일/물 에멀전, 다양한 타입의 습윤제, 응집을 방지하기 위한 세제 예컨대 폴리소르베이트 20, 및 동결 보호제로서 당 예컨대 수크로스를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 에어로졸 또는 비경구 투여에 바람직한 희석제로는 포스페이트 완충된 식염수 (PBS) 또는 일반 식염수 (0.9%)가 있다. 이러한 담체를 포함하는 조성물은 잘 알려진 통상적인 방법에 의해 제제화된다 (예를 들어, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, A. Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1990; and Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. Mack Publishing, 2000 참조).

[0186] 본원에서 사용된, 용어 " k_{on} "은 항체 (또는 생체접합체)의 항원과의 결합에 대한 속도 상수 (rate constant)를 지칭한다. 구체적으로, 상기 속도 상수 (k_{on} 및 k_{off}) 및 평형 해리 상수는 전장 항체 및/또는 Fab 항체 단편

(즉, 1가) 및 CFD를 사용하여 측정된다.

- [0187] 본원에서 사용된, 용어 " k_{off} "는 항체 (또는 생체접합체)의 항체/항원 복합체로부터의 해리에 대한 속도 상수를 지칭한다.
- [0188] 본원에서 사용된, 용어 " K_D "는 항체-항원 (또는 생체접합체-항원) 상호작용의 평형 해리 상수를 지칭한다.
- [0189] 본원에서 사용된, 용어 "치료하는 (treating)" 또는 "치료 (treatment)" (및 당해 분야에서 잘 이해되는 바와 같음)는 임상 결과를 포함하여 대상체의 병태에서 유익하거나 또는 원하는 결과를 수득하기 위한 접근방식을 의미한다. 유익하거나 또는 원하는 임상 결과에는 하나 이상의 증상 또는 병태의 완화 또는 개선, 질병 정도의 감소, 질병 상태의 안정화 (즉, 악화되지 않음), 질병의 전파 또는 확산의 방지, 질병 진행의 지연 또는 감속, 질병 상태의 개선 또는 완화, 질병 재발의 감소, 및 관해 (remission) (부분적인지 또는 전체적인지 여부 및 검출 가능한지 또는 검출 불가능한지 여부)를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 본원에서 사용된 "치료하는" 및 "치료"에는 또한 예방적 치료를 포함한다. 치료 방법은 대상체에게 활성제를 치료적으로 유효한 양으로 투여하는 단계를 포함한다. 상기 투여 단계는 단일 투여로 구성될 수 있거나 또는 일련의 투여를 포함할 수 있다. 상기 조성물은 환자를 치료하기에 충분한 양 및 기간 동안 대상체에게 투여된다. 치료 기간의 길이는 다양한 요인, 예컨대 병태의 중증도, 환자의 연령 및 유전적 프로파일, 활성제의 농도, 치료에 사용된 조성물의 활성, 또는 이들의 조합에 따라 좌우된다. 또한, 치료 또는 예방에 사용되는 활성제의 유효 투여량은 특정 치료 또는 예방 요법의 과정에 걸쳐 증가되거나 또는 감소될 수 있음을 이해할 것이다. 투여량의 변화는 당해 분야에 알려진 표준 진단 분석법에 의해 유도될 수 있고, 명백해질 수 있다. 일부 구체예에서, 만성 투여가 필요할 수 있다.
- [0190] 용어 "투여하는 (administering)"은 경구 투여, 국소 접촉, 좌약 투여, 정맥내, 복강내, 근육내, 병변내, 척추강내, 비강내 또는 피하 투여, 또는 서방성 장치, 예컨대 미니-삼투 펌프 (mini-osmotic pump)의 대상체에게의 이식을 포함한다. 투여는 비경구 및 경점막 (예: 협측, 설하, 구개, 치은, 비강, 질, 직장 또는 경피)을 포함하는 임의의 경로로 수행된다. 비경구 투여는 예컨대 정맥내, 근육내, 세동맥내 (intra-arteriole), 피부내, 피하, 복강내, 뇌실내 및 두개내를 포함한다. 다른 전달 방식에는 리포솜 제제, 정맥내 주입, 경피 패치 등의 사용을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. "병용-투여 (co-administer)"는 본원에 기재된 제1 화합물이 본원에 기재된 제2 화합물의 투여와 동시에, 투여 직전에, 또는 투여 직후에 투여되는 것을 의미한다.
- [0191] 본원에서 사용된, 용어 "치료 표적 (therapeutic target)"은 유전자 또는 유전자 산물의 활성의 조절 시에 (예: 발현, 생물학적 활성 등의 조절에 의해), 질병 표현형 (예: 섬유증 또는 암)의 조절을 제공할 수 있는 유전자 또는 유전자 산물을 의미한다. 전체에 걸쳐 사용되는, "조절 (modulation)"은 표시된 현상의 증가 또는 감소를 지칭하는 것을 의미한다 (예: 생물학적 활성의 조절은 생물학적 활성의 증가 또는 생물학적 활성의 감소를 지칭한다).
- [0192] 용어 "암 (cancer)", "신생물 (neoplasm)", "종양 (tumor)", 및 "암종 (carcinoma)"은 본원에서 상호교환 가능하게 사용되고, 상대적으로 자율적인 성장을 나타내어, 세포 증식 조절의 상당한 손실을 특징으로 하는 비정상적인 성장 표현형을 나타내는 세포를 지칭한다. 일반적으로, 본 출원에서 검출 또는 치료를 위한 관심 세포는 전암성 (precancerous) (예: 양성), 악성 (malignant), 전-전이성 (pre-metastatic), 전이성 (metastatic) 및 비-전이성 (non-metastatic) 세포를 포함한다. 양성 세포의 검출은 특히 중요하다. "정상 세포 (normal cell)"의 맥락에서 사용되는 용어 "정상 (normal)"은 비-형질전환된 표현형을 가진 세포, 또는 검사되는 조직 타입의 비-형질전환된 세포의 형태를 나타내는 세포를 지칭한다. "암성 표현형 (cancerous phenotype)"은 일반적으로 양성 세포의 특징인 다양한 생물학적 현상을 지칭하며, 이러한 현상은 암의 타입에 따라 가변될 수 있다. 상기 암성 표현형은 일반적으로 예를 들어, 세포 성장 또는 증식 (예: 제어되지 않는 성장 또는 증식), 세포 주기의 조절, 세포 이동성, 세포-세포 상호작용, 또는 전이 등의 이상에 의해 확인된다.
- [0193] 용어 "종양 미세환경 (tumor microenvironment)"은 종양 세포 및 주변 혈관, 면역 세포, 섬유모세포, 골수-유래 염증 세포, 림프구, 신호전달 분자 및 세포외 기질을 포함하는, 종양이 존재하는 세포 환경을 지칭한다.
- [0194] 용어 "면역 세포 (immune cells)"는 항원의 특이적 인식에 관여하는 조혈 기원 (hematopoietic origin)의 세포를 지칭한다. 면역 세포에는 항원 제시 세포 (antigen presenting cells: APCs), 예컨대 수지상 세포 또는 마크로파지, B 세포, T 세포, 자연 살해 세포, 및 골수성 세포, 예컨대 단핵구, 마크로파지, 호산구, 비만 세포, 호염기구 및 과립구를 포함한다.

- [0195] 용어 "면역 반응 (immune response)"은 T 세포-매개, NK 세포-매개, 마크로파지-매개, 및/또는 B 세포-매개 면역 반응을 지칭한다. 예시되는 면역 반응에는 B 세포 반응 (예: 항체 생성), NK 세포 반응 또는 T 세포 반응 (예: 사이토카인 생성 및 세포성 세포독성) 및 사이토카인 반응성 세포, 예컨대 마크로파지의 활성화를 포함한다. 상기 용어 "면역 반응 활성화"는 당업자에게 알려진 방법을 사용하여, T-세포-매개 및/또는 B 세포-매개 면역 반응의 수준을 향상시키는 것을 나타낸다. 일부 구체예에서, 향상 수준은 적어도 20-50%, 대안으로서 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 100%, 적어도 120%, 적어도 150%, 또는 적어도 200%이다.
- [0196] 본원에서 사용된, 용어 "전환 성장 인자 베타 수용체" (transforming growth factor beta receptor: TGF- β receptor)는 단백질 전환 성장 인자 베타 (TGF- β)에 특이적인 세포 표면에서 발현되는 세린/트레오닌 키나제 수용체 패밀리를 지칭한다. TGF- β 및 수용체 간의 상호작용은 세포 성장, 분화 (예: 줄기세포, 면역 세포), 아포토시스, 항상성, 화학주성, 염증, 및 면역 세포 활성화를 포함하지만, 이에 한정되지 않는 많은 기능을 담당하는 신호전달 경로를 유발한다.
- [0197] 본원에서 사용된, 용어 "섬유증 (fibrosis)"은 콜라겐 단백질과 같은 세포외 기질의 조절되지 않는 생성의 결과로 조직 또는 장기가 경화되거나 또는 흉터가 발생하는 의학적 병태를 지칭한다. 섬유증은 면역 세포 예컨대 마크로파지가 섬유모세포에 신호를 전달하여 반응으로서 세포외 기질 단백질을 발현하는, 만성 염증과 관련이 있다. 이러한 신호전달은 TGF- β 경로와 같은 경로를 통해 수행되지만, 다른 섬유화 유발 경로가 또한 존재한다. 섬유증에는 간 섬유증, 가교 섬유증 (bridging fibrosis), 경화증 (cirrhosis), 신장 섬유증, 폐 섬유증, 특발성 폐 섬유증, 낭포성 섬유증, 심혈관 섬유증, 동맥 섬유증, 정맥 혈전증, 심장 섬유증, 폐동맥 섬유증, 관절 섬유증, 크론병 (Crohn's disease), 듀피트렌 구축 (Dupuytren's contracture), 켈로이드, 종격동 섬유증, 골수섬유증, 페이로니병 (Peyronie's disease), 신원성 전신 섬유증 (nephrogenic systemic fibrosis), 진행성 거대종괴성 섬유증 (progressive massive fibrosis), 후복막강 섬유증 (retroperitoneal fibrosis), 또는 전신 경화증 (systemic sclerosis)을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.
- [0198] 용어 "% w/w" 또는 "% wt/wt"는 조성물의 총 중량에 대한 성분 또는 활성제의 중량에 100을 곱하여 표시되는 퍼센트를 의미한다.
- [0199] 일부 구체예에서, 본원에는 Gal3-발현 세포 및 TIM-3 발현 세포를 포함하는 복수의 세포에 항-Gal3 항체를 접촉시키는 단계를 포함하는, 면역 활성화를 유도하는 방법이 개시된다. 일부 구체예에서, 본원에는 Gal3-발현 세포 및 적어도 하나의 섬유증 바이오마커를 포함하는 조직을 항-Gal3 항체와, 상기 조직에서 적어도 하나의 섬유증 바이오마커의 발현을 감소시키기에 충분한 시간 동안 접촉시키는 단계를 포함하는, 섬유증을 감소시키는 방법이 개시된다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 콜라겐을 포함하지만 이에 한정되지 않는, 조직에서 하나 이상의 세포외 기질 단백질의 축적을 감소시킨다.
- [0200] 일부 경우에, 상기 Gal3-발현 세포는 상기 항-Gal3 항체에의 결합 시에 면역 활성화를 유도하는 사이토카인을 발현한다. 일부 경우에, 상기 사이토카인은 인터페론이다. 일부 경우에, 상기 인터페론은 IFN γ 이다. 일부 경우에, 상기 IFN γ 생성은 이소타입 항체에 의한 IFN γ 생성의 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, 160%, 170%, 180%, 190%, 200%, 300%, 400%, 500%, 600%, 또는 초과이다. 일부 경우에, 상기 IFN γ 생성은 이소타입 항체에 의한 IFN γ 생성의 150%이다. 일부 경우에, 상기 IFN γ 생성은 이소타입 항체에 의한 IFN γ 생성의 160%이다. 일부 경우에, 상기 IFN γ 생성은 이소타입 항체에 의한 IFN γ 생성의 170%이다. 일부 경우에, 상기 IFN γ 생성은 이소타입 항체에 의한 IFN γ 생성의 180%이다. 일부 경우에, 상기 IFN γ 생성은 이소타입 항체에 의한 IFN γ 생성의 190%이다. 일부 경우에, 상기 IFN γ 생성은 이소타입 항체에 의한 IFN γ 생성의 200%이다. 일부 경우에, 상기 IFN γ 생성은 이소타입 항체에 의한 IFN γ 생성의 200% 초과이다. 일부 경우에, 상기 IFN γ 생성은 이소타입 항체에 의한 IFN γ 생성의 300% 초과이다. 일부 경우에, 상기 IFN γ 생성은 이소타입 항체에 의한 IFN γ 생성의 400% 초과이다. 일부 경우에, 상기 IFN γ 생성은 이소타입 항체에 의한 IFN γ 생성의 500% 초과이다. 일부 경우에, 상기 사이토카인은 인터루킨이다. 일부 경우에, 상기 인터루킨은 IL-2이다.
- [0201] 일부 경우에, 상기 면역 활성화는 CD3+ T 림프구, CD4+ T 헬퍼 세포, CD8+ 세포독성 T 세포, 자연 살해 (NK) 세포, 또는 이들의 조합의 증식을 포함한다. 일부 경우에, 상기 면역 활성화는 CD3+ T 림프구의 증식을 포함한다. 일부 경우에, 상기 면역 활성화는 CD4+ T 헬퍼 세포의 증식을 포함한다. 일부 경우에, 상기 면역 활성화는 CD8+ 세포독성 T 세포의 증식을 포함한다. 일부 경우에, 상기 면역 활성화는 NK 세포의 증식을 포함한다. 일부 경우에, 상기 면역 활성화는 T 세포 및 NK 세포의 증식을 포함한다.
- [0202] 일부 경우에, 상기 면역 활성화는 상기 복수의 세포 내 M1 마크로파지 집단의 증가를 포함한다. 일부 경우에,

상기 면역 활성화는 상기 복수의 세포 내 M2 마크로파지 집단의 감소를 포함한다. 일부 경우에, 상기 면역 활성화는 상기 복수의 세포 내 M1 마크로파지 집단의 증가 및 상기 복수 세포 내 M2 마크로파지 집단의 감소를 포함한다.

[0203] 일부 경우에, 항-Gal3 항체는 Gal3에 결합하여, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해한다. 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용의 방해는 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용의 부분적 억제를 포함한다. 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용의 방해는 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용의 완전한 억제를 포함한다. 일부 경우에, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용은 99% 미만, 95% 미만, 90% 미만, 85% 미만, 80% 미만, 75% 미만, 70% 미만, 65% 미만, 60% 미만, 59% 미만, 55% 미만, 50% 미만, 45% 미만, 40% 미만, 34% 미만, 30% 미만, 25% 미만, 20% 미만, 14% 미만, 10% 미만, 7% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 또는 1% 미만으로 감소된다. 일부 경우에, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용은 70% 미만으로 감소된다. 일부 경우에, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용은 60% 미만으로 감소된다. 일부 경우에, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용은 59% 미만으로 감소된다. 일부 경우에, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용은 50% 미만으로 감소된다. 일부 경우에, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용은 40% 미만으로 감소된다. 일부 경우에, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용은 34% 미만으로 감소된다. 일부 경우에, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용은 30% 미만으로 감소된다. 일부 경우에, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용은 20% 미만으로 감소된다. 일부 경우에, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용은 14% 미만으로 감소된다. 일부 경우에, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용은 10% 미만으로 감소된다. 일부 경우에, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용은 7% 미만으로 감소된다. 일부 경우에, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용은 5% 미만으로 감소된다. 일부 경우에, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용은 4% 미만으로 감소된다. 일부 경우에, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용은 1% 미만으로 감소된다.

[0204] 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용은 영역 145-168, 160-177, 또는 165-184로부터 선택된 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 1**의 위치 145-168, 160-177, 또는 165-184에 해당한다. 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용은 영역 145-168로부터의 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 1**의 위치 145-168에 해당한다. 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용은 영역 160-177로부터의 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 1**의 위치 160-177에 해당한다. 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용은 영역 165-184로부터의 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 1**의 위치 165-184에 해당한다. 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용은 영역 149-156, 152-168, 163-169, 또는 163-171로부터 선택된 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 1**의 위치 149-156, 152-168, 163-169, 또는 163-171에 해당한다. 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용은 영역 149-156으로부터의 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 1**의 위치 149-156에 해당한다. 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용은 영역 152-168로부터의 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 1**의 위치 152-168에 해당한다. 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용은 영역 163-169로부터의 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 1**의 위치 163-169에 해당한다. 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용은 영역 163-171로부터의 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 1**의 위치 163-171에 해당한다.

[0205] 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용은 영역 91-111 또는 82-111로부터 선택된 TIM-3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 2**의 위치 91-111 또는 82-111에 해당한다. 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용은 영역 91-111로부터의 TIM-3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 2**의 위치 91-111에 해당한다. 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용은 영역 82-111로부터의 TIM-3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 2**의 위치 82-111에 해당한다. 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용은 영역 91-111, 107-117, 96-102, 100-106, 또는 92-119로부터 선택된 TIM-3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 2**의 위치 91-111, 107-117, 96-102, 100-106, 또는 92-119에 해당한다. 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용은 영역 91-111로부터의 TIM-3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 2**의 위치 91-111에 해당한다. 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용은 영역 107-117로부터의 TIM-3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 2**의 위치 107-117에 해당한다. 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용은 영역 96-102로부터의 TIM-3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 2**의 위치 96-102에 해당한다. 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용은 영역 100-106으로부터의 TIM-3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 2**의 위치 100-106에 해당한다. 일부 경우에, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용은 영역 92-119로부터의 TIM-3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기의 위치는 **서열번호: 2**의 위

치 92-119에 해당한다. 일부 경우에, TIM-3은 인간 TIM-3이다.

- [0206] 일부 구체예에서, 본원에는 T 세포, NK 세포, 및 Gal3-발현 세포를 포함하는 복수의 세포를 항-Gal3 항체와, 상기 복수의 세포에서 T 세포 또는 NK 세포의 증식을 촉진하기에 충분한 시간 동안 접촉시키는 단계를 포함하는, T 세포 및 자연 살해 (NK) 세포 증식을 촉진하는 방법이 개시된다. 일부 구체예에서, 본원에는 T 세포, NK 세포, 및 Gal3-발현 세포를 포함하는 복수의 세포를 항-Gal3 항체와, 상기 복수의 세포에서 T 세포 및 NK 세포의 증식을 촉진하기에 충분한 시간 동안 접촉시키는 단계를 포함하는, T 세포 및 자연 살해 (NK) 세포 증식을 촉진하는 방법이 개시된다. 일부 구체예에서, 상기 복수의 세포는 TIM-3 발현 세포를 추가로 포함한다. 일부 구체예에서, 항-Gal3 항체는 Gal3에 결합하고, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해한다. 일부 구체예에서, 항-Gal3 항체는 Gal3에 결합하고, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 Gal3에 결합하고, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 25% 초과, 50% 초과, 100% 초과, 또는 200% 초과로 방해한다.
- [0207] 일부 구체예에서, 상기 복수의 세포는 종양-침윤 림프구 (TIL)를 추가로 포함한다. 일부 경우에, 상기 복수의 세포는 CD3+ T 림프구, CD4+ T 헬퍼 세포, CD8+ 세포독성 T 세포, 또는 이들의 조합을 추가로 포함한다. 일부 경우에, 상기 복수의 세포는 CD3+ T 림프구를 추가로 포함한다. 일부 경우에, 상기 복수의 세포는 CD4+ T 헬퍼 세포를 추가로 포함한다. 일부 경우에, 상기 복수의 세포는 CD8+ 세포독성 T 세포를 추가로 포함한다. 일부 경우에, 상기 복수의 세포는 CD3+ T 림프구 및 CD4+ T 헬퍼 세포를 추가로 포함한다. 일부 경우에, 상기 복수의 세포는 CD3+ T 림프구 및 CD8+ 세포독성 T 세포를 추가로 포함한다. 일부 경우에, 상기 복수의 세포는 CD4+ T 헬퍼 세포, CD8+ 세포독성 T 세포를 추가로 포함한다. 일부 경우에, 상기 복수의 세포는 CD3+ T 림프구, CD4+ T 헬퍼 세포, 및 CD8+ 세포독성 T 세포를 추가로 포함한다.
- [0208] 일부 구체예에서, 상기 접촉시키는 단계는 TIL 증식을 추가로 유도한다. 일부 경우에, 상기 접촉시키는 단계는 CD3+ T 림프구, CD4+ T 헬퍼 세포, CD8+ 세포독성 T 세포, 또는 이들의 조합의 증식을 추가로 유도한다. 일부 경우에, 상기 접촉시키는 단계는 CD3+ T 림프구의 증식을 추가로 유도한다. 일부 경우에, 상기 접촉시키는 단계는 CD4+ T 헬퍼 세포의 증식을 추가로 유도한다. 일부 경우에, 상기 접촉시키는 단계는 CD8+ 세포독성 T 세포의 증식을 추가로 유도한다. 일부 경우에, 상기 접촉시키는 단계는 CD3+ T 림프구 및 CD4+ T 헬퍼 세포의 증식을 추가로 유도한다. 일부 경우에, 상기 접촉시키는 단계는 CD3+ T 림프구 및 CD8+ 세포독성 T 세포의 증식을 추가로 유도한다. 일부 경우에, 상기 접촉시키는 단계는 CD4+ T 헬퍼 세포 및 CD8+ 세포독성 T 세포의 증식을 추가로 유도한다. 일부 경우에, 상기 접촉시키는 단계는 CD3+ T 림프구, CD4+ T 헬퍼 세포, 및 CD8+ 세포독성 T 세포의 증식을 추가로 유도한다.
- [0209] 일부 구체예에서, 상기 접촉시키는 단계는 M1 마크로파지 증식의 증가를 추가로 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 접촉시키는 단계는 TME 내 M2 마크로파지 집단의 감소를 추가로 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 접촉시키는 단계는 TME 내 M1 마크로파지 증식의 증가 및 M2 마크로파지 집단의 감소를 추가로 포함한다.
- [0210] 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 1-20에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 41-91에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 41-71에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 71-91에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 펩티드₁, 펩티드₄, 펩티드₅, 펩티드₆, 펩티드₇, 또는 펩티드₈ 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 펩티드₁ 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 펩티드₄ 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 펩티드₅ 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 펩티드₆ 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 펩티드₇ 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 펩티드₈ 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다.
- [0211] 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 1nM 미만, 1.2nM 미만, 2nM 미만, 5nM 미만, 10nM 미만, 13.5nM 미만, 15nM 미만, 20nM 미만, 25nM 미만, 또는 30nM 미만의 결합 친화도 (K_D)를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 1nM 미만의 K_D 를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 1.2nM 미만의 K_D 를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 2nM 미만의 K_D 를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 5nM

미만의 K_D 를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 10nM 미만의 K_D 를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 13.5nM 미만의 K_D 를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 15nM 미만의 K_D 를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 20nM 미만의 K_D 를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 25nM 미만의 K_D 를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 30nM 미만의 K_D 를 포함한다.

[0212] 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 인간화 항체 (humanized antibody)를 포함한다. 다른 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 키메라 항체를 포함한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 전장 항체 또는 이의 결합 단편을 포함한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 이중특이적 항체 또는 이의 결합 단편을 포함한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 1가 Fab', 2가 Fab2, 단일-사슬 가변 단편 (scFv), 디아바디, 미니바디, 나노바디, 단일-도메인 항체 (sdAb), 또는 카멜리드 항체 또는 이의 결합 단편을 포함한다.

[0213] 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 이중특이적 항체 또는 이의 결합 단편이다. 예시되는 이중특이성 항체 형식은 Knobs-into-Holes (KiH), ART-Ig (Asymmetric Re-engineering Technology-immunoglobulin), Triomab quadroma, 이중특이적 모노클로날 항체 (BiMab, BsmAb, BsAb, bsMab, BS-Mab, 또는 Bi-MAb), Azymetric, BEAT (Bispecific Engagement by Antibodies based on the T-cell receptor), BiTE (Bispecific T-cell Engager), 바이클로닉스 (Biclonics), Fab-scFv-Fc, Two-in-one/Dual Action Fab (DAF), FinomAb, scFv-Fc-(Fab)-융합, DNL (Dock-aNd-Lock), Adaptir (이전에 SCORPION), TandAb (Tandem diAbody), DART (Dual-affinity-ReTargeting), 나노바디, 트리플바디 (triplebody), taFv (tandems scFv), 트리플 헤드 (triple heads), tandem dAb/VHH, 트리플 dAb/VHH, 또는 4가 dAb/VHH를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 Brinkmann and Kontermann, "The making of bispecific antibodies," *MABS* 9(2): 182-212 (2017)의 도 2에 예시된 이중특이적 항체 형식을 포함하는, 이중특이적 항체 또는 이의 결합 단편이다.

[0214] 일부 구체예에서, 항-Gal3 항체는 IgM, IgG (예: IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4), IgA, 또는 IgE로부터 선택된 프레임워크 영역을 포함한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 IgM 프레임워크를 포함한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 IgG (예: IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4) 프레임워크를 포함한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 IgG1 프레임워크를 포함한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 IgG2 프레임워크를 포함한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 IgG4 프레임워크를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 Fc 돌연변이를 추가로 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 도 37에서 Fc 영역 또는 카파 영역들 중 임의의 하나 이상은 도 35a-36b를 포함하는, 본원의 임의의 CDR, VH/VL 서열과 페어링될 수 있다.

[0215] 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 프레임워크 영역, 예컨대 CH1 도메인, CH2 도메인, CH3 도메인, 힌지 영역, 또는 이들의 조합 영역내 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 일부 경우에, 상기 하나 이상의 돌연변이는 Fc 수용체 상호작용을 조절하여, 예를 들어 Fc 이펙터 기능 예컨대 ADCC 및/또는 보체-의존성 세포독성 (CDC)을 증가시킨다. 일부 경우에, 상기 하나 이상의 돌연변이는 항체를 안정화시키고 및/또는 상기 항체의 반감기를 증가시킨다. 추가의 경우에, 상기 하나 이상의 돌연변이는 글리코실화를 조절한다.

[0216] 일부 구체예에서, 상기 Fc 영역은 Fc 수용체 상호작용을 조절하여, 예를 들어 이펙터 기능 예컨대 ADCC 및/또는 CDC를 증진시키는 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 이러한 구체예에서, 돌연변이되어 이펙터 기능을 조절하는 경우 예시되는 잔기는 S228, S239, K326, A330, I332, 또는 E333을 포함하고, 여기서 상기 잔기 위치는 IgG1에 해당하고, 상기 잔기 넘버링은 Kabat 넘버링 (EU index of Kabat et al 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest)에 따른다. 일부 구체예에서, 상기 하나 이상의 돌연변이는 S228P, S239D, K326W, A330L, I332E, E333A, E333S, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 경우에, 상기 하나 이상의 돌연변이는 S228P, S239D, I332E, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 경우에, 상기 하나 이상의 돌연변이는 S228P, S239D, A330L, I332E, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 경우에, 상기 하나 이상의 돌연변이는 K326W, E333S, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 경우에, 상기 돌연변이는 E333A를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 Fc 영역은 IgG4 Fc 영역이다. 일부 구체예에서, 상기 S228P 돌연변이는 IgG4의 힌지 영역 내에 있다. 일부 구체예에서, 상기 S228P 돌연변이는 Fab 암 교환 (Fab arm exchange)을 방지함으로써 IgG4의 안정성을 증진시킨다.

[0217] 일부 구체예에서, 항-Gal3 항체는 IMGT 큐레이트된 인간 생식계열 항체 (IMGT curated human germline antibody)와 비교하여 인간화 항체의 전체 서열 유사도로서 정량화된 인간화 스코어 (humanization score)를 포함한다. 일부 구체예에서, 항-Gal3 항체는 70 초과, 80 초과, 81 초과, 82 초과, 83 초과, 84 초과, 85 초과, 86 초과, 87 초과, 88 초과, 89 초과, 90 초과, 또는 95 초과인 인간화 스코어를 포함한다. 일부 구체예에서,

상기 항-Gal3 항체는 80 초과와 인간화 스코어를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 83 초과와 인간화 스코어를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 85 초과와 인간화 스코어를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 87 초과와 인간화 스코어를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 90 초과와 인간화 스코어를 포함한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 70 초과, 80 초과, 81 초과, 82 초과, 83 초과, 84 초과, 85 초과, 86 초과, 87 초과, 88 초과, 89 초과, 90 초과, 또는 95 초과, 선택적으로 80 초과, 85 초과, 또는 87 초과와 중쇄의 인간화 스코어를 포함한다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 70 초과, 80 초과, 81 초과, 82 초과, 83 초과, 84 초과, 85 초과, 86 초과, 87 초과, 88 초과, 89 초과, 90 초과, 또는 95 초과, 선택적으로 80 초과, 83 초과, 또는 85 초과와 경쇄의 인간화 스코어를 포함한다.

[0218] 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 본원에 제공된 바와 같은 상보성 결정 영역 (CDR)을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 CDR은 항체의 중쇄 (VH)의 일부이다. 일부 구체예에서, 상기 CDR은 경쇄 (VL)의 일부이다. 일부 구체예에서, 상기 VH는 VH CDR1, VH CDR2, 및/또는 VH CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 VH CDR1은 서열번호: 37-64의 서열들 중 하나를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 VH CDR2는 서열번호: 65-92의 서열들 중 하나를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 VH CDR3은 서열번호: 93-120의 서열들 중 하나를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 VL은 VL CDR1, VL CDR2, 및/또는 VL CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 VL CDR1은 서열번호: 121-148의 서열들 중 하나를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 VL CDR2는 서열번호: 149-176의 서열들 중 하나를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 VL CDR3은 서열번호: 177-204의 서열들 중 하나를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 VH는 서열번호: 205-232의 서열들 중 하나를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 VL은 서열번호: 233-260의 서열들 중 하나를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 hIgG4 불변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 hIgG4 불변 영역은 서열번호: 261, 263, 265, 또는 267 내의 hIgG4 불변 영역 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 hKappa 불변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 hKappa 불변 영역은 서열번호: 262, 264, 266, 또는 268 내의 hKappa 불변 영역 서열을 포함한다.

[0219] 일부 구체예에서, 상기 항-Ga13은 도 35a-b, 36a-b, 또는 37에 도시된 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Ga13 항체는 2D10.2B2, 3B11.2G2, 4A11.2B5, 4G2.2G6, 6H6.2D6, 7D8.2D8, 12G5.D7, 13A12.2E5, 13G4.2F8, 13H12.2F8, 14H10.2C9, 15F10.2D6, 15G7.2A7, 19B5.2E6, 19D9.2E5, 20D11.2C6, 20H5.A3, 23H9.2E4, 24D12.2H9, 846.1F5, 846.2H3, 846T.1H2, 9H2.2H10, IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, IMT006-8, 및 mIMT001 (IMT001)로 구성된 그룹으로부터 선택된다. 일부 구체예에서, 상기 항-Ga13 항체는 2D10.2B2, 3B11.2G2, 4A11.2B5, 4G2.2G6, 6H6.2D6, 7D8.2D8, 12G5.D7, 13A12.2E5, 13G4.2F8, 13H12.2F8, 14H10.2C9, 15F10.2D6, 15G7.2A7, 19B5.2E6, 19D9.2E5, 20D11.2C6, 20H5.A3, 23H9.2E4, 24D12.2H9, 846.1F5, 846.2H3, 846T.1H2, 9H2.2H10, IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, IMT006-8, 또는 mIMT001, 또는 이들의 임의의 조합이다. 일부 구체예에서, 상기 항-Ga13 항체는 mIMT001 (IMT001)이다. 일부 구체예에서, 상기 항-Ga13 항체는 mIMT001 (IMT001)이 아니다. 일부 구체예에서, 상기 항-Ga13 항체는 4A11.2B5이다. 일부 구체예에서, 상기 항-Ga13 항체는 mIMT001 및/또는 4A11.2B5이다. 일부 구체예에서, 상기 항-Ga13 항체는 mIMT001 및/또는 4A11.2B5로부터 1, 2, 또는 3개의 HCDR을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Ga13 항체는 mIMT001 및/또는 4A11.2B5로부터 1, 2 또는 3개의 LCDR을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Ga13 항체는 mIMT001 및/또는 4A11.2B5로부터 1, 2 또는 3개의 HCDR, 및 mIMT001 및/또는 4A11.2B5로부터 1, 2 또는 3개의 LCDR을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Ga13 항체는 mIMT001 및/또는 4A11.2B5로부터 1, 2 또는 3개의 HCDR, 및 mIMT001 및/또는 4A11.2B5로부터 1, 2 또는 3개의 LCDR을 포함하고, 대안으로서 이에 대해 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 아미노산 치환을 갖는다. 일부 구체예에서, 상기 항-Ga13 항체는 mIMT001 및/또는 4A11.2B5로부터 1, 2 또는 3개의 HCDR, 및 mIMT001 및/또는 4A11.2B5로부터 1, 2 또는 3개의 LCDR을 포함하고, 상기 mIMT001 및/또는 4A11.2B5 VH 및 VL 서열들(도 36a 및 36b에 도시된 바와 같음) 또는 상기 VH 및 VL 서열에 대해 적어도 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일한 서열을 추가로 포함한다.

[0220] 일부 구체예에서, 상기 항-Ga13 항체는 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 또는 IMT006-8 중 어느 하나이다. 일부 구체예에서, 상기 항-Ga13 항체는 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 및/또는 IMT006-8 중 어느 하나이다. 일부 구체예에서, 상기 항-Ga13 항체는 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 및/또는 IMT006-8 중 어느 하나로부터 1, 2, 또는 3개의 HCDR을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Ga13 항체는 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 및/또는 IMT006-8 중 어느 하나로부터 1, 2, 또는 3개의 LCDR을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Ga13 항체는 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 및/또는 IMT006-8 중 어느 하나로부터 1, 2, 또는 3개의 HCDR, 및 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 및/또는 IMT006-8 중 어느 하나로부터 1, 2, 또는 3개의 LCDR을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Ga13 항체는 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 및/또는 IMT006-8 중 어느 하나로부터 1, 2, 또는 3개의 HCDR, 및 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 및/또는 IMT006-8 중 어느 하나로부터 1, 2, 또는 3개의 LCDR

을 포함하고, 대안으로서 이에 대해 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 아미노산 치환을 갖는다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 및/또는 IMT006-8 중 어느 하나로부터 1, 2, 또는 3개의 HCDR, 및 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 및/또는 IMT006-8 중 어느 하나로부터 1, 2, 또는 3개의 LCDR을 포함하고, IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 및/또는 IMT006-8 VH 및 VL 서열들 (도 36a 및 36b에 도시된 바와 같음) 또는 상기 VH 및 VL 서열에 대해 적어도 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일한 서열을 추가로 포함한다.

[0221] 일부 구체예에서, 상기 항-GAL3 항체는 하기 중 하나 이상과 결합에 대해 경쟁한다: 2D10.2B2, 3B11.2G2, 4A11.2B5, 4G2.2G6, 6H6.2D6, 7D8.2D8, 12G5.D7, 13A12.2E5, 13G4.2F8, 13H12.2F8, 14H10.2C9, 15F10.2D6, 15G7.2A7, 19B5.2E6, 19D9.2E5, 20D11.2C6, 20H5.A3, 23H9.2E4, 24D12.2H9, 846.1F5, 846.2H3, 846T.1H2, 9H2.2H10, IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, IMT006-8, 및 mIMT001 (IMT001).

[0222] 일부 구체예에서, 상기 항-GAL3 항체는 도 35a-36b의 항체들 중 어느 하나의 항체 내의 HCDR3을 적어도 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-GAL3 항체는 도 35a-36b의 항체들 중 어느 하나의 항체 내의 3개의 HCDR3 모두를 추가로 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-GAL3 항체는 도 35a-36b의 항체들 중 어느 하나의 항체 내의 3개의 LCDR3 모두를 추가로 포함한다.

[0223] 일부 구체예에서, 상기 항-GAL3 항체는 도 36a 내의 중쇄 서열들 중 어느 하나, 또는 이에 대해 적어도 80% 동일한, 예컨대 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100% 동일한 서열을 포함한다.

[0224] 일부 구체예에서, 상기 항-GAL3 항체는 도 36b 내의 경쇄 서열들 중 어느 하나, 또는 이에 대해 적어도 80% 동일한, 예컨대 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-GAL3 항체는 도 36a 내의 중쇄 서열들 중 어느 하나, 또는 이에 대해 적어도 80% 동일한, 예컨대 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100% 동일한 서열을 추가로 포함한다.

[0225] 일부 구체예에서, 상기 항-GAL3 항체는 6개의 CDR을 포함하고, 여기서 상기 6개의 CDR은 이들의 조합된 서열에 걸쳐, 도 35a 및 35b 내의 6개의 CDR들의 임의의 세트에 대해 적어도 80% 동일한, 예컨대 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100% 동일하다.

[0226] 일부 구체예에서, 상기 항-GAL3 항체는 도 38로부터의 CDR들 중 적어도 하나를 포함한다 (1, 2, 또는 3개의 아미노산 보존적 치환을 포함). 항-GAL3 항체는 도 38로부터의 CDR들 중 적어도 2개를 포함한다 (1, 2, 또는 3개의 아미노산 보존적 치환을 포함). 항-GAL3 항체는 도 38로부터의 CDR들 중 적어도 3개를 포함한다 (1, 2, 또는 3개의 아미노산 보존적 치환을 포함). 항-GAL3 항체는 도 38로부터의 CDR들 중 적어도 4개를 포함한다 (1, 2, 또는 3개의 아미노산 보존적 치환을 포함). 항-GAL3 항체는 도 38로부터의 CDR들 중 적어도 5개를 포함한다 (1, 2, 또는 3개의 아미노산 보존적 치환을 포함). 항-GAL3 항체는 도 38로부터의 CDR들 중 6개를 포함한다 (1, 2, 또는 3개의 아미노산 보존적 치환을 포함). 일부 구체예에서, 상기 항-GAL3 항체는 도 38로부터의 CDR들 중 6개를 포함하고, 여기서 6개 모두는 단일 빈 (single bin)으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 상기 항-GAL3 항체는 도 38로부터의 CDR들 중 6개, 또는 이들 전체 서열에 걸쳐, 이에 대해 적어도 80% 동일한 6개의 CDR들의 세트를 포함한다.

[0227] 일부 구체예에서, Gal3-발현 세포 및 TIM-3-발현 세포를 포함하는 복수의 세포를 항체와, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해하는 조건하에 접촉시키는 단계를 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는, 면역 활성화를 유도하는 방법이고, 상기 항체는 Gal3에 특이적으로 결합하고, 상기 Gal3-발현 세포는 상기 항체에 결합 시에 면역 활성화를 유도하는 사이토카인을 발현한다. 일부 구체예에서, 상기 사이토카인은 인터페론 또는 인터루킨이다. 일부 구체예에서, 상기 사이토카인은 IFN γ 또는 IL-2이다. 일부 구체예에서, 상기 면역 활성화는 CD3+ T 림프구, CD4+ T 헬퍼 세포, CD8+ 세포독성 T 세포, 자연 살해 세포, 또는 이들의 조합의 증식을 포함한다. 일부 구체예는 T 세포, NK 세포, 및 Gal3-발현 세포를 포함하는 복수의 세포를 항체와, 상기 복수의 세포에서 T 세포 및/또는 NK 세포의 증식에 영향을 주는 조건하에 접촉시키는 단계를 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 T 세포 또는 NK 세포 증식을 촉진하는 방법이고, 상기 항체는 Gal3에 특이적으로 결합한다. 일부 구체예는 Gal3-발현 세포 및 TIM-3-발현 세포를 포함하는 복수의 세포를 항체와, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해하는 조건하에 접촉시키는 단계를 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된 면역 활성화를 유도하는 방법이고, 상기 항체는 Gal3에 특이적으로 결합하고, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용은 70% 미만, 60% 미만, 59% 미만, 50% 미만, 40% 미만, 34% 미만, 30% 미만, 20% 미만, 14% 미만, 10% 미만, 7% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 또는 1% 미만으로 감소된다. 일부 구체예는 조직을 항-Gal3 항체에 특이적으로 결합하는 항체와, 상기 조직에서 섬유증 바이오마커의 발현 수준이 감소되는 조건하에 접촉

시키는 단계를 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된, 조직에서 섬유증 또는 이의 경향을 감소시키는 방법이다. 일부 구체예는 대상체에서 면역 관련 질병의 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체이고, 상기 항-Gal3 항체는 면역계의 활성화를 유도한다. 일부 구체예 또는 이전 구체예들 중 임의의 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 2D10.2B2, 3B11.2G2, 4A11.2B5, 4G2.2G6, 6H6.2D6, 7D8.2D8, 12G5.D7, 13A12.2E5, 13G4.2F8, 13H12.2F8, 14H10.2C9, 15F10.2D6, 15G7.2A7, 19B5.2E6, 19D9.2E5, 20D11.2C6, 20H5.A3, 23H9.2E4, 24D12.2H9, 846.1F5, 846.2H3, 846T.1H2, 9H2.2H10, IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, IMT006-8, 및 mIMT001 (IMT001)로 구성된 그룹으로부터 선택된다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 2D10.2B2, 3B11.2G2, 4A11.2B5, 4G2.2G6, 6H6.2D6, 7D8.2D8, 12G5.D7, 13A12.2E5, 13G4.2F8, 13H12.2F8, 14H10.2C9, 15F10.2D6, 15G7.2A7, 19B5.2E6, 19D9.2E5, 20D11.2C6, 20H5.A3, 23H9.2E4, 24D12.2H9, 846.1F5, 846.2H3, 846T.1H2, 9H2.2H10, IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, IMT006-8, 또는 mIMT001, 또는 이들의 임의의 조합이다. 일부 구체예 또는 이전 구체예들 중 임의의 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 mIMT001 (IMT001)이다. 일부 구체예 또는 이전 구체예들 중 임의의 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 mIMT001 (IMT001)이 아니다. 일부 구체예 또는 이전 구체예들 중 임의의 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 4A11.2B5, IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 및/또는 IMT006-8이다. 일부 구체예 또는 이전 구체예들 중 임의의 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 mIMT001, 4A11.2B5, IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 및/또는 IMT006-8이다. 일부 구체예 또는 이전 구체예들 중 임의의 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 또는 IMT006-8 중 하나 이상이다. 일부 구체예 또는 이전 구체예들 중 임의의 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 mIMT001 (IMT001)이 아니다. 일부 구체예 또는 이전 구체예들 중 임의의 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 및/또는 IMT006-8이다.

[0228] 다양한 항체들의 성질과 관련하여, IMT001-4, IMT006-1, 및 IMT006-5는 인간화 항체임을 주목한다. mIMT001은 IMT001이 유래되는 쥐 항체 (murine antibody)이다. 4A11.2B5는 IMT006-1 및 IMT006-5가 유래되는 원래의 쥐 항체이다. mIMT001, 2D10.2B2, 3B11.2G2, 4A11.2B5, 4G2.2G6, 6H6.2D6, 7D8.2D8, 12G5.D7, 13A12.2E5, 13G4.2F8, 13H12.2F8, 14H10.2C9, 15F10.2D6, 15G7.2A7, 19B5.2E6, 19D9.2E5, 20D11.2C6, 20H5.A3, 23H9.2E4, 24D12.2H9, 846.1F5, 846.2H3, 846T.1H2, 9H2.2H10은 모두 쥐 항체이다. IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 및 IMT006-8은 모두 인간화 항체이다.

[0229] 치료 방법

[0230] 본원에는 일부 구체예에서, Gal3-발현 세포 및 TIM-3-발현 세포를 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 복수의 세포를 항체와, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해하는 조건하에 접촉시키는 단계를 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성되는 면역 활성화를 유도하는 방법이 개시된다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 항-Gal3 항체이다.

[0231] 일부 구체예에서, 본원에는 Gal3-발현 세포 및 적어도 하나의 섬유증 바이오마커를 포함하는 조직을 항-Gal3 항체와, 상기 조직에서 적어도 하나의 섬유증 바이오마커의 발현을 감소시키기에 충분한 시간 동안 접촉시키는 단계를 포함하는, 섬유증을 감소시키는 방법이 개시된다. 일부 예에서, 상기 항-Gal3 항체는 콜라겐을 포함하지 만, 이에 한정되지 않는, 상기 조직에서 하나 이상의 세포의 기질 단백질의 축적을 감소시킨다.

[0232] 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 IMT001이 아니다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 IMT001이다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 4A11.2B5이다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 또는 IMT006-8이다.

[0233] 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 Gal3 및 TIM-3의 상호작용을 억제하거나 또는 방해한다. 일부 구체예에서, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용은 99%, 95%, 90%, 80%, 78%, 70%, 66%, 60%, 56%, 52%, 50%, 40%, 30%, 29%, 27%, 20%, 19%, 17%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0%, 약 99%, 약 95%, 약 90%, 약 80%, 약 78%, 약 70%, 약 66%, 약 60%, 약 56%, 약 52%, 약 50%, 약 40%, 약 30%, 약 29%, 약 27%, 약 20%, 약 19%, 약 17%, 약 10%, 약 5%, 약 4%, 약 3%, 약 2%, 약 1%, 약 0%, 99% 미만, 95% 미만, 90% 미만, 80% 미만, 78% 미만, 70% 미만, 66% 미만, 60% 미만, 56% 미만, 52% 미만, 50% 미만, 40% 미만, 30% 미만, 29% 미만, 27% 미만, 20% 미만, 19% 미만, 17% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 또는 1% 미만으로 감소된다.

[0234] 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 억제하거나 또는 방해하지 않는다.

[0235] 일부 구체예에서, 상기 상호작용은 영역 145-168, 160-177, 또는 165-184로부터 선택된 GAL3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기 위치는 서열번호: 1의 위치 145-168, 160-177, 또는 165-184에 해당한다. 일부 구

체예에서, 상기 상호작용은 영역 149-156, 152-168, 163-169, 또는 163-171로부터 선택된 GAL3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기 위치는 서열번호: 1의 위치 149-156, 152-168, 163-169, 또는 163-171에 해당한다. 일부 구체예에서, 상기 상호작용은 영역 90-122 또는 82-111로부터 선택된 TIM-3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기 위치는 서열번호: 2의 위치 90-122 또는 82-111에 해당한다. 일부 구체예에서, 상기 상호작용은 영역 91-111, 107-117, 96-102, 100-106, 또는 92-119로부터 선택된 TIM-3의 하나 이상의 잔기에서 발생하고, 상기 잔기 위치는 서열번호: 2의 위치 91-111, 107-117, 96-102, 100-106, 또는 92-119에 해당한다.

[0236] 일부 구체예에서, 상기 Gal3-발현 세포는 상기 항체에 결합 시에 면역 활성화를 유도하는 사이토카인을 발현한다. 본원에서 사용된, 용어 "사이토카인 (cytokine)"은 세포 신호전달에 관여하는 소 단백질, 폴리펩티드, 또는 펩티드를 지칭한다. 사이토카인에는 케모카인, 인터페론, 인터루킨, 림포카인, 종양 괴사 인자, CCL1, CC12, CCL3, CCL4, CCL5, CCL6, CCL7, CCL8, CCL9, CCL11, CCL12, CCL13, CCL14, CCL15, CCL16, CCL17, CCL18, CCL19, CCL20, CCL21, CCL22, CCL23, CCL24, CCL25, CCL26, CCL27, CCL28, CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL4, CXCL5, CXCL6, CXCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CXCL14, CXCL15, CXCL16, CXCL17, CX3CL1, XCL1, XCL2, INF α , INF β , INF γ , IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IL-34, IL-35, IL-36, IL-37, IL-38, GM-CSF, TNF α , TNF β , TNF γ , TNFSF4, TNFSF5, TNFSF6, TNFSF7, TNFSF8, TNFSF9, TNFSF10, TNFSF11, TNFSF12, TNFSF13, TNFSF13B, TNFSF14, TNFSF15, TNFSF18, 또는 TNFSF19, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0237] 일부 구체예에서, 상기 사이토카인은 인터페론이다. 일부 구체예에서, 상기 인터페론은 IFN γ 이다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 이소타입 항체로부터의 IFN γ 생성의 100%, 150%, 160%, 170%, 180%, 190%, 200%, 300%, 400%, 500%, 600%, 700%, 800%, 900%, 1000% 또는 초과인 IFN γ 생성을 초래한다. 일부 구체예에서, 상기 사이토카인은 인터루킨이다. 일부 구체예에서, 상기 인터루킨은 IL-2이다.

[0238] 일부 구체예에서, 상기 면역 활성화 또는 면역계의 활성화는 CD3+ T 림프구, CD4+ T 헬퍼 세포, CD8+ 세포독성 T 세포, TFH 세포, Th3 세포, Th17 세포, 자연 살해 T (NKT) 세포, 또는 자연 살해 (NK) 세포, 또는 이들의 조합의 증식을 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 일부 구체예에서, 상기 면역 활성화 또는 면역계의 활성화는 T 세포 또는 NK 세포 증식을 촉진하는 것을 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 일부 구체예에서, 상기 면역 활성화 또는 면역계의 활성화는 상기 복수의 세포내 M1 마크로파지, 호중구, 비만 세포, 호산구, 호염기구, 또는 수지상 세포 집단의 증가를 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 일부 구체예에서, 상기 면역 활성화 또는 면역계의 활성화는 상기 복수의 세포내 M2 마크로파지 집단의 감소를 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다.

[0239] 일부 구체예에서, 상기 TIM-3은 인간 TIM-3이다.

[0240] 일부 구체예에서, 상기 복수의 세포는 종양 세포를 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 일부 구체예에서, 상기 복수의 세포는 종양 미세환경 (TME) 내에 위치하고, 종양 세포 및 면역 세포를 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 일부 구체예에서, 상기 TME는 종양 세포, 면역 세포, 암종 관련 섬유모세포, 골수-유래 억제 세포 (myeloid-derived suppressor cells), 호중구, 종양 침윤 림프구 (TIL), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 복수의 세포는 CD3+ T 림프구, CD4+ T 헬퍼 세포, CD8+ 세포독성 T 세포, TFH 세포, Th3 세포, Th17 세포, 자연 살해 T (NKT) 세포, 자연 살해 (NK) 세포, M1 매크로파지, 호중구, 비만 세포, 호산구, 호염기구, 또는 수지상 세포를 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 일부 구체예에서, 상기 항-TIM-3 항체는 상기 TME 내 종양 세포의 감소를 유도한다.

[0241] 일부 구체예에서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 1-20에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 41-91에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 41-71에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 71-91에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다.

[0242] 일부 구체예에서, 상기 항체는 펩티드_1, 펩티드_2, 펩티드_3, 펩티드_4, 펩티드_5, 펩티드_6, 펩티드_7, 펩티드_8, 펩티드_9, 펩티드_10, 펩티드_11, 펩티드_12, 펩티드_13, 펩티드_14, 펩티드_15, 펩티드_16, 펩티드_17, 펩티드_18, 펩티드_19, 펩티드_20, 펩티드_21, 펩티드_22, 펩티드_23, 또는 펩티드_24, 또는 이들의 임의의 조

합 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다.

- [0243] 일부 구체예에서, 상기 항체는 1 fM, 10 fM, 100 fM, 1 pM, 10 pM, 100 pM, 1 nM, 1.2 nM, 2nM, 5nM, 10nM, 13.5nM, 15nM, 20nM, 25nM, 30nM, 100 nM, 200 nM, 300 nM, 400 nM, 500 nM, 1 μ M, 10 μ M, 100 μ M, 약 1 fM, 약 10 fM, 약 100 fM, 약 1 pM, 약 10 pM, 약 100 pM, 약 1 nM, 약 1.2 nM, 약 2nM, 약 5nM, 약 10nM, 약 13.5nM, 약 15nM, 약 20nM, 약 25nM, 약 30nM, 약 100 nM, 약 200 nM, 약 300 nM, 약 400 nM, 약 500 nM, 약 1 μ M, 약 10 μ M, 약 100 μ M, 1 fM 미만, 10 fM 미만, 100 fM 미만, 1 pM 미만, 10 pM 미만, 100 pM 미만, 1 nM 미만, 1.2 nM 미만, 2nM 미만, 5nM 미만, 10nM 미만, 13.5nM 미만, 15nM 미만, 20nM 미만, 25nM 미만, 30nM 미만, 100 nM 미만, 200 nM 미만, 300 nM 미만, 400 nM 미만, 500 nM 미만, 1 μ M 미만, 10 μ M 미만, 또는 100 μ M 미만의 KD를 포함한다.
- [0244] 일부 구체예에서, 상기 항체는 인간화 항체를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 전장 항체 또는 이의 결합 단편을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 이중특이적 항체 또는 이의 결합 단편을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 1가 Fab', 2가 Fab2, 단일-사슬 가변 단편 (scFv), 디아바디, 미니바디, 나노바디, 단일-도메인 항체 (sdAb), 또는 카멜리드 항체 또는 이의 결합 단편을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 IgG 프레임워크를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 IgG1, IgG2, 또는 IgG4 프레임워크를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 Fc 돌연변이를 추가로 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 키메라 항체를 포함한다.
- [0245] 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 2D10.2B2, 3B11.2G2, 4A11.2B5, 4G2.2G6, 6H6.2D6, 7D8.2D8, 12G5.D7, 13A12.2E5, 13G4.2F8, 13H12.2F8, 14H10.2C9, 15F10.2D6, 15G7.2A7, 19B5.2E6, 19D9.2E5, 20D11.2C6, 20H5.A3, 23H9.2E4, 24D12.2H9, 846.1F5, 846.2H3, 846T.1H2, 9H2.2H10, IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, IMT006-8, 및 mIMT001 (IMT001)로 구성된 그룹으로부터 선택된다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 mIMT001 (IMT001)이다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 mIMT001 (IMT001)이 아니다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 4A11.2B5이다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 mIMT001 및/또는 4A11.2B5이다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 Gal3에의 결합에 대해 하나 이상의 이들 항체 (IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 및/또는 IMT006-8 중 어느 하나를 포함)와 경쟁한다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 또는 IMT006-8 중 하나 이상이다. 일부 구체예에서, 상기 방법을 위한 항체는 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 또는 IMT006-8 중 하나 이상으로부터의 CDR들 중 하나 이상을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 방법을 위한 항체는 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 또는 IMT006-8 중 하나 이상으로부터의 VH, VL, 또는 VH 및 VL 중 하나 이상을 포함한다.
- [0246] 일부 구체예에서, 상기 방법은 상기 접촉시키는 단계 전에 상기 항-Gal3 항체를 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0247] 일부 구체예에서, 상기 대상체는 암으로 진단된다.
- [0248] 일부 구체예에서, 상기 암은 고형 종양이다. 일부 구체예에서, 상기 암은 유방암, 결장직장암, 신장암, 간암, 폐암, 전립선암, 흑색종, 방광암, 자궁암, 췌장암, 갑상선암, 뇌암, 골암, 육종, 또는 위암이다. 일부 구체예에서, 상기 폐암은 비-소세포 폐암 (NSCLC), 폐 선암종, 편평 세포 암종, 대세포 암종 (large cell carcinoma), 또는 소세포 폐암 (SCLC)이다.
- [0249] 일부 구체예에서, 상기 암은 혈액 악성종양이고, 백혈병, 비-호지킨 림프종, 호지킨 림프종, 다발성 골수종, 급성 림프구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 급성 단핵구 백혈병, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.
- [0250] 일부 구체예에서, 상기 암은 전이 암이다. 일부 구체예에서, 상기 암은 재발성 또는 불응성 암이다. 암 또는 종양의 병기 (staging)는 환자내 상기 암 또는 종양의 확산 진행을 결정하기 위해 사용된다. 고형 종양의 분류를 위해 일반적으로 인정되는 표준은 TNM 분류 표준이고, 이는 종양 크기 (T), 림프절로의 확산 정도 (N) 및 전이 (M)에 기반하여 종양을 구별한다. 이러한 분류는 단계로 추가로 그룹화되고, 여기서 단계 0 성장은 비-악성 신생물이고, 단계 I 및 II 종양은 국소로 포함되어 있으며, 단계 III 종양은 인근 림프절로 확산되고, 단계 IV 종양은 전이된다. 상기 TNM 표준은 널리 사용되는 분류 방법이지만, 특정 암 타입의 거동을 나타낼 수 있는 대체 또는 수정된 표준이 또한 사용될 수 있다. 따라서, 이러한 표준은 진행을 결정하는데 유용하지만, 암 또는 종양의 초기 또는 후기 단계의 예후는 특정 분류와는 무관하다.
- [0251] 본원에는 일부 구체예에서, 조직을 항체와 접촉시킴으로써 대상체의 조직에서 섬유증 또는 이의 경향을 감소시

키는 방법이 개시된다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 Gal3에 특이적으로 결합하거나 또는 항-Gal3 항체이다. 일부 구체예에서, 상기 접촉시키는 단계는 상기 조직에서 적어도 하나의 섬유증 바이오마커의 발현 수준을 감소시킨다. 일부 구체예에서, 상기 조직은 적어도 하나의 TIM-3 발현 세포를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 Gal3 및 TIM-3의 상호작용을 방해한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 Gal3 및 TIM-3의 상호작용을 방해하지 않는다.

[0252] 일부 구체예에서, 조직에서 섬유증 또는 이의 경향을 감소시키는 것은 섬유증이 정상 조직에서의 발생을 방지하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 조직에서 섬유증 또는 이의 경향을 감소시키는 것은 섬유증 조직에서 섬유증의 진행을 지연 또는 정지시키는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 조직에서 섬유증 또는 이의 경향을 감소시키는 것은 섬유증 조직에서 섬유증 정도의 양을 감소시키는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 조직에서 섬유증 또는 이의 경향을 감소시키는 것은 섬유증 조직에서 섬유증을 제거하는 것을 포함한다.

[0253] 일부 구체예에서, 또한 본원에는 하나 이상의 섬유증 바이오마커를 모니터링함으로써 조직 섬유증의 진행을 모니터링하는 방법이 개시된다. 일부 구체예에서, 본원에는 조직 섬유증을 항-Gal3 항체로 치료하는 방법이 개시되고, 상기 항-Gal3 항체는 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해한다.

[0254] 일부 구체예에서, 상기 적어도 하나의 섬유증 바이오마커는 α -평활근 액틴 (α -SMA), 피브로넥틴, 콜라겐, 콜라겐 I, 콜라겐 III, 콜라겐 IV, 엘라스틴, 라미닌, 히알루론산, 또는 프로테오글리칸, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 일부 구체예에서, 상기 적어도 하나의 섬유증 바이오마커는 α -평활근 액틴 (α -SMA)을 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 일부 구체예에서, 상기 적어도 하나의 섬유증 바이오마커는 피브로넥틴을 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 일부 구체예에서, 상기 적어도 하나의 섬유증 바이오마커는 α -평활근 액틴 (α -SMA) 및 피브로넥틴을 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다.

[0255] 일부 구체예에서, 상기 조직은 간 조직, 신장 조직, 피부 조직, 폐 조직, 심장 조직, 뇌 조직, 결장직장 조직, 장 조직, 골수 조직, 유방 조직, 전립선 조직, 방광 조직, 자궁 조직, 췌장 조직, 갑상선 조직, 근육 조직, 위 조직, 및 연조직으로 구성된 그룹으로부터 선택된다. 일부 구체예에서, 상기 조직은 신장 조직 또는 간 조직이다.

[0256] 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체로 치료된 조직에서 적어도 하나의 섬유증 바이오마커의 발현은 mIgG2b 항체로 치료된 대조군 조직에서 적어도 하나의 섬유증 바이오마커의 발현보다 적다.

[0257] 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 조직에서 세포외 기질 (ECM) 단백질의 축적을 감소시킨다. 일부 구체예에서, 상기 세포외 기질은 아그린, 니도겐, 카드헤린, 클라트린, 콜라겐, 데펜신, 엘라스틴, 엔타틴, 피브릴린, 피브로넥틴, 케라틴, 라미닌, 미세소관-액틴 가교 인자 1, SPARC-유사 단백질, 네스프린 (네스프린-1, 네스프린-2, 네스프린-3), 섬유초-상호작용 단백질, 미오메신, 네불린, 플라코필린, 인테그린, 탈린, 엑스포틴, 트랜스포틴, 테나신, 펠레칸, 소르틸린-관련 수용체, 텐신, 또는 티틴 또는 이들의 임의의 조합을 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 일부 구체예에서, 상기 세포외 기질 단백질은 콜라겐을 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 일부 구체예에서, 상기 조직은 콜라겐-생성 세포를 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 또는 이로 구성된다. 일부 구체예에서, 상기 콜라겐-생성 세포는 섬유모세포이다. 일부 구체예에서, 상기 섬유모세포는 섬유성 사이토카인에 의해 활성화된다. 일부 구체예에서, 상기 섬유성 사이토카인은 TGF- β , TGF- β 1, IL-1 β , TNF- α , 또는 GM-CSF이다. 일부 구체예에서, 상기 조직은 증가된 섬유성 사이토카인 발현을 갖는다.

[0258] 일부 구체예에서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 1-20에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 41-91에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 41-71에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 71-91에 해당하는 Gal3 영역 내의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 결합한다.

[0259] 일부 구체예에서, 상기 대상체는 섬유성 질환 또는 섬유증으로 진단된다. 일부 구체예에서, 상기 대상체는 섬유성 질환으로 진단된다. 일부 구체예에서, 상기 섬유성 질환은 신장 섬유증이다. 일부 구체예에서, 상기 섬유성 질환은 간 섬유증이다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 전신 투여용으로 제제화된다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 비경구 투여용으로 제제화된다. 일부 구체예에서, 상기 대상체는 포유동물이다.

[0260] 일부 구체예에서, 상기 섬유성 질환 또는 섬유증은 간 섬유증, 가교 섬유증, 경화증, 신 (신장) 섬유증, 폐 섬유증, 또는 기타 섬유성 질환을 포함한다.

유증, 특발성 폐 섬유증, 낭포성 섬유증, 심혈관 섬유증, 동맥 섬유증, 정맥 혈전증, 관절 섬유증, 크론병, 듀피트렌 구축, 켈로이드, 종격동 섬유증, 골수섬유증, 페이로니병, 신원성 전신 섬유증, 진행성 거대종괴성 섬유증, 후복막강 섬유증, 또는 전신 경화증이다. 일부 구체예에서, 상기 섬유성 질환은 신 (신장) 섬유증이다. 일부 구체예에서, 상기 섬유성 질환은 간 섬유증이다.

- [0261] 일부 구체예에서, 상기 방법은 Gal3에 결합하지만, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해하는 항체를 포함한다. 이는 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용 영역의 직접적인 방해, 또는 Gal3의 입체형태적 변화를 초래하여 TIM-3에 더 이상 결합하지 않거나 또는 이에 대해 활성화되지 않는 결합과 같이 간접적인 변경일 수 있다. 또한, 상기 항체의 일부 다른 부분이 Gal3 및 TIM-3의 상호작용을 방해하거나 또는 변경하는 경우, 이는 Gal3의 제1 섹션에 결합함으로써 초래될 수 있다.
- [0262] 일부 구체예에서, 의약 또는 조성물의 제조에 있어서, 항-Gal3 항체의 용도가 개시된다. 일부 구체예에서, 상기 의약 또는 조성물은 면역 관련 질병의 치료에 사용된다. 일부 구체예에서, 상기 의약 또는 조성물은 암 치료에 사용된다. 일부 구체예에서, 상기 의약 또는 조성물은 섬유성 질환 또는 섬유증의 치료에 사용된다.
- [0263] 일부 구체예에서, 대상체에서 질병 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체이다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 억제한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 억제하지 않는다.
- [0264] 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 질병 치료에 사용하기 위한 것이고, 상기 질병은 면역과 관련되고, 상기 항-Gal3 항체는 대상체의 면역계의 활성화를 유도한다. 일부 구체예에서, 상기 면역 관련 질병은 자가면역 질환이다. 일부 구체예에서, 상기 면역 관련 질병은 면역결핍이다. 일부 구체예에서, 상기 면역결핍은 면역노화 (immunosenescence), 체액성 면역결핍 (humoral immunodeficiency), B 세포 결핍, T 세포 결핍, 호중구감소증 (neutropenia), 무비증 (asplenia), 또는 보체 결핍 (complement deficiency)이다. 일부 구체예에서, 상기 면역계의 활성화는 CD3+ T 림프구, CD4+ T 헬퍼 세포, CD8+ 세포독성 T 세포, T_H 세포, T_H3 세포, T_H17 세포, 자연 살해 T (NKT) 세포, NK 세포, 또는 M1 마크로파지, 또는 이들의 조합의 증식을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 면역계의 활성화는 M2 마크로파지의 감소를 포함한다.
- [0265] 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 질병 치료에 사용하기 위한 것이고, 상기 질병은 암이고, 상기 항-TIM-3 항체는 암 치료에 사용하기 위한 것이다.
- [0266] 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 질병 치료에 사용하기 위한 것이고, 상기 질병은 섬유성 질환 또는 섬유증이다. 일부 구체예에서, 상기 질병 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체는 조직에서 세포의 기질 단백질의 축적을 감소시킨다.
- [0267] 일부 구체예에서, 상기 질병 치료에 사용하기 위한 항-Gal3 항체는 추가의 치료제, 예컨대 면역 체크포인트 조절제, 화학요법제, 표적 치료제, 호르몬 치료제, 줄기세포-기반 치료제, 수술, 또는 방사선 요법과 조합하여 투여된다.
- [0268] 일부 구체예에서, 상기 항체는 전신 투여용으로 제제화된다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 비경구, 피하, 근육내, 피부내, 또는 정맥내 투여, 또는 이들의 임의의 조합을 위해 제제화된다.
- [0269] 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 추가의 치료제와 조합하여 대상체에게 투여된다. 일부 구체예에서, 상기 추가의 치료제는 면역치료제를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 추가의 치료제는 면역 체크포인트 조절제를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 추가의 치료제는 화학요법제, 표적 치료제, 호르몬 치료제, 또는 줄기세포-기반 치료제를 포함한다.
- [0270] 일부 구체예에서, 상기 추가의 치료제는 면역치료제를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 면역요법은 입양 세포 요법 (adoptive cell therapy)이다. 예시되는 입양 세포 요법은 Adaptimmune의 AFP TCR, MAGE-A10 TCR, 또는 NY-ESO-TCR; Unum Therapeutics의 ACTR087/리툽시맙 (rituximab); Juno Therapeutics의 항-BCMA CAR-T 세포 요법, 항-CD19 "armored" CAR-T 세포 요법, JCAR014, JCAR018, JCAR020, JCAR023, JCAR024, 또는 JTCR016; Celgene/Juno Therapeutics의 JCAR017; Intrexon의 항-CD19 CAR-T 세포 요법; Kite Pharma의 항-CD19 CAR-T 세포 요법, 악시카브타겐 실로루셀 (axicabtagene ciloleucel), KITE-718, KITE-439, 또는 NY-ESO-1 T-세포 수용체 요법; Sorrento Therapeutics의 항-CEA CAR-T 요법; TNK Therapeutics/Sorrento Therapeutics의 항-PSMA CAR-T 세포 요법; Atara Biotherapeutics의 ATA520; Aurora BioPharma의 AU101 및 AU105; Cell Medica의 발탈루셀-T (baltaleucel-T) (CMD-003); bluebird bio의 bb2121; Bellicum Pharmaceuticals의 BPX-501, BPX-601,

또는 BPX-701; Kiromic의 BSK01; Immunocore의 IMCgp100; Jounce Therapeutics의 JTX-2011; Lion Biotechnologies의 LN-144 또는 LN-145; Mustang Bio의 MB-101 또는 MB-102; Celyad의 NKR-2; Celgene의 PNK-007; Novartis Pharmaceuticals의 tisagenlecleucel-T; 또는 Tessa Therapeutics의 TT12를 포함한다.

[0271] 일부 구체예에서, 상기 면역요법은 수지상 세포-기반 요법이다.

[0272] 일부 구체예에서, 상기 면역요법은 예를 들어 인터루킨 (IL) 예컨대 IL-2, IL-15, 또는 IL-21, 인터페론 (IFN)- α , 또는 과립구 마크로파지 콜로니-자극 인자 (GM-CSF)를 포함하는, 사이토카인-기반 요법을 포함한다.

[0273] 일부 구체예에서, 상기 면역요법은 면역 체크포인트 조절제를 포함한다. 예시되는 면역 체크포인트 조절제는 PD-1 조절제 예컨대 Bristol-Myers Squibb의 니볼루맵 (nivolumab) (Opdivo), Merck의 펌브롤리주맵 (pembrolizumab) (Keytruda), Agenus의 AGEN 2034, BeiGene의 BGB-A317, Boehringer-Ingelheim Pharmaceuticals의 BI-754091, CBT Pharmaceuticals의 CBT-501 (genolimzumab), Incyte의 INCSHR1210, Janssen Research & Development의 JNJ-63723283, MedImmune의 MEDI0680, MacroGenics의 MGA 012, Novartis Pharmaceuticals의 PDR001, Pfizer의 PF-06801591, Regeneron Pharmaceuticals/Sanofi의 REGN2810 (SAR439684), 또는 TESARO의 TSR-042; CTLA-4 조절제 예컨대 Agenus의 이필리무맵 (ipilimumab) (Yervoy), 또는 AGEN 1884; PD-L1 조절제 예컨대 AstraZeneca의 두르발루맵 (durvalumab) (Imfinzi), Genentech의 아테졸리주맵 (atezolizumab) (MPDL3280A), EMD Serono/Pfizer의 아벨루맵 (avelumab), CytoX Therapeutics의 CX-072, Novartis Pharmaceuticals의 FAZ053, 3D Medicine/Alphamab의 KN035, Eli Lilly의 LY3300054, 또는 EMD Serono의 M7824 (항-PD-L1/TGF β trap); LAG3 조절제 예컨대 Bristol-Myers Squibb의 BMS-986016, Novartis Pharmaceuticals의 IMP701, Novartis Pharmaceuticals의 LAG525, 또는 Regeneron Pharmaceuticals의 REGN3767; OX40 조절제 예컨대 Bristol-Myers Squibb의 BMS-986178, GlaxoSmithKline의 GSK3174998, Agenus/Incyte의 INCAGN1949, MedImmune의 MEDI0562, Pfizer의 PF-04518600, 또는 Genentech의 RG7888; GITR 조절제 예컨대 Novartis Pharmaceuticals의 GWN323, Agenus/Incyte의 INCAGN1876, MedImmune의 MEDI1873, Merck의 MK-4166, 또는 Leap Therapeutics의 TRX518; KIR 조절제 예컨대 Bristol-Myers Squibb의 리릴루맵 (lirilumab); 또는 TIM 조절제 예컨대 Novartis Pharmaceuticals의 MBG453 또는 Tesaro의 TSR-022를 포함한다.

[0274] 일부 구체예에서, 상기 추가의 치료제는 화학요법제를 포함한다. 예시되는 화학요법제는 알킬화제 (alkylating agents) 예컨대 사이클로포스파미드, 메플로레타민, 클로람부실, 멜팔란, 다카바진 또는 니트로소우레아; 안트라사이클린 (anthracyclines) 예컨대 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 이다루비신, 미톡산트론 또는 발루비신; 세포골격 교란물질 (cytoskeletal disruptors) 예컨대 파클리탁셀, 도세탁셀, 아브라칸 또는 탁소테레; 에포틸론 (epothilones); 히스톤 데아세틸라제 억제제 (histone deacetylase inhibitors) 예컨대 보리노스타트 또는 로미렙신; 토포이소머라제 I 억제제 (topoisomerase I inhibitors) 예컨대 이리노테칸 또는 토포테칸; 토포이소머라제 II 억제제 (topoisomerase II inhibitors) 예컨대 에토포사이드, 테니포사이드 또는 타플루포사이드; 키나제 억제제 (kinase inhibitors) 예컨대 보르테조미, 에를로티닙, 게피티닙, 이마티닙, 베무라페닙 또는 비스모데닙; 뉴클레오티드 유사체 및 전구체 유사체 예컨대 아자시티딘, 아자티오프린, 카페시타빈, 시타라빈, 독시플루리딘, 플루오로우라실, 겐시타빈, 하이드로지우레아, 머캅토프린, 메토티렉세이트 또는 티오구아닌; 백금계 제제 (platinum-based agents) 예컨대 카보플라틴, 시스플라틴 또는 옥살리플라틴; 레티노이드 (retinoids) 예컨대 트레티노인, 알리트레티노인 또는 백사로텐; 또는 빈카 알칼로이드 (vinca alkaloids) 및 유도제 예컨대 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신 또는 비노렐빈을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0275] 일부 구체예에서, 상기 추가의 치료제는 호르몬-기반 치료제를 포함한다. 예시되는 호르몬-기반 치료제는 아로마타제 억제제 (aromatase inhibitors) 예컨대 레트로졸, 아나스트로졸, 엑세메스탄 또는 아미노글루테티미드; 성선 자극 호르몬-분비 호르몬 (gonadotropin-releasing hormone: GnRH) 유사체 예컨대 류프로렐린 또는 고세렐린; 선택적 에스트로겐 수용체 조절제 (selective estrogen receptor modulators: SERMs) 예컨대 타목시펜, 탈록시펜, 토레미펜 또는 풀베스트란트; 항안드로겐 (antiandrogens) 예컨대 플루타미드 또는 비칼루타미드; 프로게스테론 (progestogens) 예컨대 메게스트롤 아세테이트 또는 메드록시프로게스테론 아세테이트; 안드로겐 (androgens) 예컨대 플루옥시메스테론; 에스트로겐 (estrogens) 예컨대 에스트로겐 디에틸stil베스트롤 (DES), 에스트레이스 (Estrace), 또는 폴리에스트라디올 포스페이트; 또는 소마토스타틴 유사체 (somatostatin analogs) 예컨대 옥트레오타이드를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0276] 일부 구체예에서, 상기 추가의 치료제는 1차 (first-line) 치료제이다.

[0277] 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체 및 추가의 치료제는 동시에 투여된다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체 및 추가의 치료제는 순차적으로 투여된다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 상기 추가의 치료제를 투

여하기 전에 대상체에게 투여된다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 상기 추가의 치료제가 투여된 후에 대상체에게 투여된다.

[0278] 일부 구체예에서, 상기 추가의 치료제 및 상기 항-Gal3 항체는 별도의 투여량으로 제제화된다.

[0279] 일부 구체예에서, 상기 대상체는 수술을 받았다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체 및 선택적으로 상기 추가의 치료제는 수술 전에 대상체에게 투여된다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체 및 선택적으로 추가의 치료제는 수술 후에 대상체에게 투여된다.

[0280] 일부 구체예에서, 상기 대상체는 방사선 치료를 받았다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체 및 선택적으로 추가의 치료제는 방사선 치료 중에 또는 후에 대상체에게 투여된다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체 및 선택적으로 추가의 치료제는 방사선 치료를 받기 전에 대상체에게 투여된다.

[0281] 일부 구체예에서, 상기 대상체는 포유동물이다. 일부 구체예에서, 상기 대상체는 인간이다.

[0282] 본원에는 일부 구체예에서, 조직을 Gal3에 특이적으로 결합하는 항체와 접촉시킴으로써 조직에서 섬유증 또는 이의 경향을 감소시키는 방법이 개시된다. 일부 구체예에서, 또한 본원에는 조직에서 하나 이상의 섬유증 바이오마커의 발현을 감소시키는 조건하에, Gal3에 특이적으로 결합하는 항체에 의해 Gal3-TIM-3 상호작용을 방해하는 방법이 개시된다.

[0283] 본원에는 소정의 구체예에서, 조직을 Gal3 항체에 특이적으로 결합하는 항체와, 상기 조직에서 섬유증 바이오마커의 발현 수준이 감소되는 조건하에 접촉시키는 단계를 포함하는, 조직에서 섬유증 또는 이의 경향을 감소시키는 방법이 개시된다. 일부 구체예에서, 상기 조직은 TIM-3 발현 세포를 추가로 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 Gal3 및 TIM-3의 상호작용을 추가로 방해한다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 Gal3 및 TIM-3의 상호작용을 방해하지 않는다. 일부 구체예에서, 상기 적어도 하나의 섬유증 바이오마커는 α -평활근 액틴 (α -SMA)을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 적어도 하나의 섬유증 바이오마커는 피브로넥틴을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 적어도 하나의 섬유증 바이오마커는 α -평활근 액틴 (α -SMA) 및 피브로넥틴을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 조직은 신장 조직 또는 간 조직이다. 일부 구체예에서, 상기 조직은 간 조직, 신장 조직, 피부 조직, 폐 조직, 심장 조직, 뇌 조직, 장 조직, 골수 조직, 및 연조직으로 구성된 그룹으로부터 선택된다. 일부 구체예에서, 상기 항체로 치료된 조직에서 적어도 하나의 섬유증 바이오마커의 발현은 mIgG2b 항체로 치료된 대조군 조직에서 적어도 하나의 섬유증 바이오마커의 발현보다 적다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 조직에서 세포의 기질 단백질의 축적을 감소시킨다. 일부 구체예에서, 상기 세포의 기질 단백질은 콜라겐을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 조직은 콜라겐-생성 세포를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 콜라겐-생성 세포는 섬유모세포이다. 일부 구체예에서, 상기 섬유모세포는 섬유성 사이토카인에 의해 활성화된다. 일부 구체예에서, 상기 섬유성 사이토카인은 TGF- β 1이다. 일부 구체예에서, 상기 조직은 상승된 TGF- β 1 발현을 갖는다.

[0284] 항체 생성

[0285] 일부 구체예에서, 항-Gal3 항체는 항원성 조성물을 생산 동물에게 주사함으로써 표준 프로토콜에 의해 생성된다. 예를 들어, Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988을 참조한다. 전체 단백질, 또는 상기 단백질의 더 큰 부분을 이용할 경우, 항체는 단백질 및 적합한 아주 반트 (예: Freund's, Freund's 완전, 수중유 에멀전 등)로 생산 동물을 면역화함으로써 생성될 수 있다. 더 작은 펩티드를 이용할 경우, 상기 펩티드를 더 큰 분자와 접합시켜서 면역자극성 접합체를 만드는데 유리하다. 이러한 용도로 상업적으로 이용 가능한 통상적으로 사용되는 접합체 단백질에는 우혈청 알부민 (BSA) 및 KLH (keyhole limpet hemocyanin)를 포함한다. 특정 에피토프에 대한 항체를 생성하기 위해, 전장 서열로부터 유래된 펩티드를 사용할 수 있다. 대안으로서, 단백질 표적의 비교적 짧은 펩티드 부분에 대한 항체를 생성하기 위해, 상기 폴리펩티드가 담체 단백질 예컨대 오발부민 (ovalbumin), BSA 또는 KLH에 결합되는 경우 우수한 면역 반응이 유발될 수 있다.

[0286] 폴리클로날 또는 모노클로날 항-Gal3 항체는 인간 면역글로불린을 생성하도록 유전자 변경된 동물로부터 생성될 수 있다. 유전자이식 동물은 처음에 상기 동물의 천연 항체를 생성하지 않는 "녹아웃 (knock-out)" 동물을 생산하고, 상기 동물을 인간 항체 유전자좌로 안정적으로 형질전환시킴으로써 생성될 수 있다 (예: 인간 인공 염색체의 사용). 이러한 경우에, 상기 동물은 인간 항체 만을 만든다. 이러한 동물을 생성하고, 이로부터 항체를 유도하는 기술은 미국 특허 제6,162,963호 및 제6,150,584호에 기재되어 있고, 이들은 전체가 본원에 참조로 통합된다. 이러한 항체는 인간 이종 항체 (human xenogenic antibodies)로 지칭될 수 있다.

- [0287] 대안으로서, 항-Gal3 항체는 인간 가변 영역을 함유하는 파지 라이브러리로부터 생성될 수 있다. 미국 특허 제 6,174,708호를 참조하고, 이는 전체가 본원에 참조로 통합된다.
- [0288] 본원에 개시된 일부 구체예의 일부 양상에서, 항-Gal3 항체는 하이브리도마 (hybridoma)에 의해 생성된다.
- [0289] 모노클로날 항-Gal3 항체의 경우, 하이브리도마는 접종된 동물의 비장으로부터의 자극된 면역 세포를 단리함으로써 형성될 수 있다. 그 다음에 이러한 세포는 세포 배양에서 무한정 복제할 수 있는 불멸화 세포 (immortalized cells) 예컨대 골수종 세포 또는 형질전환된 세포에 융합되고, 이에 의해 불멸의 면역글로불린-분비 세포주를 생성할 수 있다. 사용되는 불멸 세포주는 소정의 영양소의 이용에 필요한 효소가 결핍된 것으로 선택될 수 있다. 많은 이러한 세포주 (예: 골수종)는 당업자에게 알려져 있으며, 예를 들어 티미딘 키나제 (TK) 또는 하이포크산틴-구아닌 포스포리보실 트랜스퍼라제 (HGPRT)를 포함한다. 이러한 결핍으로 인해, 예를 들어 하이포크산틴 아미노프테린티미딘 배지 (HAT)에서 성장할 수 있는 이들의 능력에 따라 융합된 세포를 선택할 수 있다.
- [0290] 또한, 상기 항-Gal3 항체는 유전 공학에 의해 생성될 수 있다.
- [0291] 본원에 개시된 항-Gal3 항체는 인간에서 바람직하지 않은 면역 반응, 예를 들어 아나필락시스 쇼크 (anaphylactic shock)를 유도하는 경향이 감소될 수 있고, 또한 면역 반응을 프라이밍하는 경향을 감소시켜서 항체 치료제 또는 영상화제 (예: 인간-항-뮤린-항체 "HAMA" 반응)로 반복 투여를 방지할 수 있는 것으로 나타났다. 이러한 항-Gal3 항체는 인간화, 키메라 또는 이중 인간 항-Gal3 항체를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.
- [0292] 키메라 항-Gal3 항체는 예를 들어 주로 인간 도메인을 가진 항체를 생성하기 위해, 뮤린 (또는 다른 동물-유래) 하이브리도마 클론으로부터 수득된 뮤린 가변 경쇄 및 중쇄 영역 (VK 및 VH)을 인간 불변 경쇄 및 중쇄 영역과 조합시키는 재조합 수단에 의해 제조될 수 있다. 이러한 키메라 항체의 생성은 당해 분야에 잘 알려져 있고, 표준 수단에 의해 달성될 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 제5,624,659호에 기재된 바와 같고, 이는 전체가 본원에 참조로 통합됨).
- [0293] 비-인간 (예: 설치류 또는 영장류) 항체에 적용되는 용어 "인간화 (humanized)"는 비-인간 면역글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 혼성 면역글로불린, 면역글로불린 사슬 또는 이의 단편이다. 대부분의 경우, 인간화 항체는 인간 면역글로불린 (수혜자 항체)이고, 여기서 상기 수혜자의 상보성 결정 영역 (CDR)의 잔기가 원하는 특이성, 친화도 및 용량을 갖는 비-인간 중 (공여자 항체) 예컨대 마우스, 래트, 토끼 또는 영장류의 CDR로부터의 잔기로 대체된다. 일부 구체예에서, 상기 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 영역 (FR) 잔기는 상응하는 비-인간 잔기로 대체된다. 또한, 상기 인간화 항체는 수혜자 항체에서도 도입된 CDR 또는 프레임워크 서열에서도 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이러한 변형으로 항체 성능을 추가로 개선 및 최적화하고, 인체에 도입되는 경우 면역원성을 최소화하였다. 일부 예에서, 상기 인간화 항체는 적어도 하나, 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 전부 포함할 것이며, 여기서 상기 CDR 영역의 전부 또는 실질적으로 전부는 비-인간 면역글로불린의 것에 해당하고, 상기 FR 영역의 전부 또는 실질적으로 전부는 인간 면역글로불린 서열의 것이다. 상기 인간화 항체는 또한 면역글로불린 불변 영역 (Fc), 전형적으로 인간 면역글로불린 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다.
- [0294] 인간화 항체는 인간-유사 면역글로불린 도메인을 함유하고, 동물-유래 항체의 상보성-결정 영역만을 포함하도록 조작될 수 있다. 이는 모노클로날 항원 결합 유닛 또는 모노클로날 항체의 가변 영역의 초-가변 루프의 서열을 주의 깊게 조사하고, 인간 항원 결합 유닛 또는 인간 항체 사슬의 구조에 이를 피팅함으로써 수행될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제6,187,287호를 참조하고, 이는 전체가 본원에 참조로 통합된다.
- [0295] 비-인간 항체를 인간화하는 방법이 당해 분야에 잘 알려져 있다. "인간화 (humanized)" 항체는 서열의 적어도 일부가 이의 초기 형태로부터 인간 면역글로불린과 더 유사하게 변경된 항체이다. 일부 버전에서, 상기 중쇄 (H) 및 경쇄 (L) 불변 (C) 영역이 인간 서열로 대체된다. 이는 가변 (V) 영역 및 이중 면역글로불린 C 영역을 포함하는 융합 폴리펩티드일 수 있다. 일부 버전에서, 상기 상보성 결정 영역 (CDR)은 비-인간 항체 서열을 포함하는 반면에, 상기 V 프레임워크 영역은 또한 인간 서열로 전환된다. 예를 들어, EP 0329400을 참조한다. 일부 버전에서, V 영역은 인간 및 마우스 V 영역의 컨센서스 서열을 디자인하고, 상기 컨센서스 서열들 간에 상이한 CDR 외부의 잔기를 전환함으로써 인간화된다.
- [0296] 대체적으로, 인간화 항체로부터의 프레임워크 서열은 CDR 그래프팅 (CDR grafting)을 위한 주형으로 제공될 수 있지만; 그러나 이러한 프레임워크로의 직접적인 CDR 대체는 항원에 대한 결합 친화도의 상당한 손실을 초래할

수 있음이 입증되었다. Glaser et al. (1992) *J. Immunol.* 149:2606; Tempest et al. (1992) *Biotechnology* 9:266; and Shalaby et al. (1992) *J. Exp. Med.* 17:217. 인간 항체 (HuAb)가 원래 무린 항체 (muAb)에 대해 더 상동성일수록, 인간 프레임워크에 친화도를 감소시킬 수 있는 무린 CDR에 왜곡 (distortions)이 도입될 가능성이 적어진다. 항체 서열 데이터베이스에 대한 서열 상동성 검색을 기반으로, 상기 HuAb IC4는 muM4TS.22에 대한 우수한 프레임워크 상동성을 제공하며, 비록 다른 고도로 상동성인 HuAb, 특히 인간 서브그룹 I로부터의 카파 L 사슬 또는 인간 서브그룹 III으로부터의 H 사슬이 또한 적합할 것이다. Kabat et al. (1987). 다양한 컴퓨터 프로그램 예컨대 ENCAD (Levitt et al. (1983) *J. Mol. Biol.* 168:595)는 V 영역에 대한 이상적인 서열을 예측하는데 이용 가능하다. 따라서, 본 발명은 상이한 가변 (V) 영역을 가진 HuAb를 포함한다. 적합한 V 영역 서열을 결정하고, 이들 서열을 최적화하는 것은 당업자의 기술 범위 내에 있다. 번역원성이 감소된 항체를 수득하는 방법이 미국 특허 제5,270,202호 및 EP 699,755에 기재되어 있다.

[0297] 인간화 항체는 모체 서열 및 인간화 서열의 3차원 모델을 사용하여 모체 서열 및 다양한 개념적 인간화 산물의 분석 과정에 의해 제조될 수 있다. 3차원 번역글로불린 모델은 당업자에게 친숙하다. 선택된 후보 번역글로불린 서열의 가능한 3차원 입체 구조를 예시하고 표시하는 컴퓨터 프로그램을 이용 가능하다. 이러한 디스플레이의 검사로, 후보 번역글로불린 서열의 기능에 있어서 잔기의 가능한 역할의 분석, 즉 상기 후보 번역글로불린의 이의 항원에 결합하는 능력에 영향을 미치는 잔기의 분석을 허용한다. 이러한 방식으로, 표적 항원(들)에 대한 친화도 증가와 같은 원하는 항체 특성이 수득되도록, 컨센서스 및 도입 서열로부터 FR 잔기들이 선택되고 조합될 수 있다.

[0298] 대상 항원 결합 유닛의 인간화 과정은 하기와 같을 수 있다. 최적의 생식계열 수용체 중쇄 및 경쇄 가변 영역은 그래프팅을 위한 인간 항체 생식계열의 상동성, 표준 구조 및 물리적 특성에 기반하여 선택된다. mVH/VL 대 그래프팅된 hVH/VL의 컴퓨터 모델링이 수행되고, 프로토타입 인간화 항체 서열이 생성된다. 모델링이 프레임워크 역-돌연변이의 필요성을 나타내는 경우, 표시된 FW 변경을 가진 제2 변이체가 생성된다. 선택된 생식계열 프레임워크 및 무린 CDR을 코딩하는 DNA 단편이 합성된다. 상기 합성된 DNA 단편을 IgG 발현 벡터로 서브클로닝하고, DNA 시퀀싱으로 서열을 확인하였다. 상기 인간화 항체가 293F와 같은 세포에서 발현되고, 예를 들어 MDM 식세포작용 분석 및 항원 결합 분석에서 단백질이 테스트된다. 상기 인간화 항원 결합 유닛은 항원 결합 친화도에 있어서 표적 항원을 발현하는 세포에서 예를 들어 FACS에 의해 모체 항원 결합 유닛과 비교된다. 상기 친화도가 모체 항원 결합 유닛보다 2배 이상 더 적은 경우, 인간화 변이체의 제2 라운드가 상기 기재된 바와 같이 생성되고, 테스트될 수 있다.

[0299] 상기 언급된 바와 같이, 항-Gal3 항체는 "1가" 또는 "다가"일 수 있다. 전자는 항원-결합 유닛당 1개의 결합 부위를 갖는 반면, 후자는 동일하거나 또는 상이한 종류의 1개 초과 항원에 결합할 수 있는 다수의 결합 부위를 함유한다. 항원 결합 유닛은 결합 부위의 수에 따라 2가 (2개의 항원-결합 부위를 가짐), 3가 (3개의 항원-결합 부위를 가짐), 4가 (4개의 항원-결합 부위를 가짐) 등일 수 있다.

[0300] 다가 항-Gal3 항체는 이의 결합 특이성에 기반하여 추가로 분류될 수 있다. "단일특이성 (monospecific)" 항-Gal3 항체는 동일한 종류의 1개 이상의 항원에 결합할 수 있는 분자이다. "다중특이성 (multispecific)" 항-Gal3 항체는 적어도 2개의 상이한 항원에 대한 결합 특이성을 갖는 분자이다. 이러한 분자는 통상 2개의 별개의 항원 (즉, 이중특이성 항-Gal3 항체)에만 결합할 것이지만, 삼중특이성 항체와 같은 추가의 특이성을 갖는 항체는 본원에서 사용되는 경우 이러한 발현에 포함된다. 본 개시내용은 다중특이적 항-Gal3 항체를 추가로 제공한다. 다중특이적 항-Gal3 항체는 적어도 2개의 별개의 항원에 결합할 수 있는 다가 분자, 예컨대 각각 2개 및 3개의 별개의 항원에 대한 결합 특이성을 나타내는 이중특이적 및 삼중특이적 분자이다.

[0301] 모노클로날 항체는 항원, 예컨대 Gal3 또는 이의 에피토프를 포함하는 조성물을 마우스에게 주사하는 단계, B-림프구를 수득하기 위해 비장을 꺼내는 단계, 상기 B-림프구를 골수종 세포와 융합시켜서 하이브리도마를 생성하는 단계, 상기 하이브리도마를 클로닝하는 단계, 상기 항원에 대해 항체를 생성하는 양성 클론을 선택하는 단계, 상기 항원에 대해 항체를 생성하는 클론을 배양하는 단계, 및 상기 하이브리도마 배양물로부터 상기 항체를 단리하는 단계에 의해 수득될 수 있다.

[0302] 생성된 모노클로날 항체는 다양한 잘 확립된 기술에 의해 하이브리도마 배양물로부터 단리 및 정제될 수 있다. 이러한 단리 기술에는 단백질-A 세파로스를 사용한 친화도 크로마토그래피, 크기-배제 크로마토그래피, 및 이온-교환 크로마토그래피를 포함한다. 예를 들어, Coligan at pages 2.7.1-2.7.12 and pages 2.9.1-2.9.3을 참조한다. 또한, Baines et al., "Purification of Immunoglobulin G (IgG)," in METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, VOL. 10, pages 79-104 (The Humana Press, Inc. 1992)를 참조한다. 표적 단백질에 대한 항체의 초기 생성 후

에, 상기 항체를 시퀀싱하고, 후속하여 재조합 기술에 의해 제조할 수 있다. 무관 항체 및 항체 단편의 인간화 및 키메라화는 당업자에게 잘 알려져 있다. 예를 들어, Leung et al. Hybridoma 13:469 (1994); US20140099254 A1를 참조하고, 이들 각각은 그 전체가 참조로 본원에 명시적으로 통합된다.

[0303] 표적 단백질을 사용한 항원 챌린지 (antigenic challenge)에 반응하여 특이적 인간 항체를 생성하도록 유전자 조작된 유전자이식 마우스를 사용하여 인간 항체가 생성될 수 있다. Green et al., Nature Genet. 7: 13 (1994), Lonberg et al., Nature 368:856 (1994)를 참조한다. 표적 단백질에 대한 인간 항체는 유전자 또는 염색체 형질감염 방법, 파지 디스플레이 기술, 또는 인 비트로 활성화된 B 세포에 의해 구성될 수도 있다. 예를 들어, McCafferty et al., 1990, Nature 348: 552-553; 미국 특허 제5,567,610호 및 제5,229,275호를 참조하고, 이들 각각은 그 전체가 참조로 본원에 명시적으로 통합된다.

[0304] 일부 구체예에서, 상기 Gal3-TIM-3 상호작용은 70% 미만, 60% 미만, 59% 미만, 50% 미만, 40% 미만, 34% 미만, 30% 미만, 20% 미만, 14% 미만, 10% 미만, 7% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 또는 1% 미만으로 감소될 수 있다.

[0305] 폴리뉴클레오티드 및 벡터

[0306] 일부 구체예에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 임의의 항-Gal3 항체를 코딩하는 단리된 핵산을 제공한다. 일부 구체예에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 임의의 항-Gal3 항체를 코딩하는 핵산 서열을 포함하는 벡터를 제공한다. 일부 구체예에서, 본 발명은 본원에 개시된 항-Gal3 항체의 경쇄 CDR 및 중쇄 CDR을 코딩하는 단리된 핵산을 제공한다.

[0307] 대상 항-Gal3 항체는 재조합 DNA 기술, 합성 화학 기술, 또는 이들의 조합에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 경쇄 CDR 및 중쇄 CDR을 포함하는, 항-Gal3 항체의 원하는 성분들을 코딩하는 서열들이 전형적으로 조립되고, 당해 분야에 알려진 표준 분자 기술을 사용하여 발현 벡터로 클로닝된다. 이들 서열들은 원하는 단백질 서열을 코딩하는 다른 벡터로부터, 각각의 주형 핵산을 사용하는 PCR-생성 단편으로부터, 또는 원하는 서열을 코딩하는 합성 올리고뉴클레오티드의 조립에 의해 조립될 수 있다. 발현 시스템은 관심 항-Gal3 항체를 포함하는 발현 벡터로 적절한 세포를 형질감염시킴으로써 형성될 수 있다.

[0308] 기존 항체의 경쇄 또는 중쇄의 다양한 영역에 해당하는 뉴클레오티드 서열이 용이하게 획득되고, 혼성화, PCR 및 DNA 시퀀싱을 포함하지만 이에 한정되지 않는 통상적인 기술을 사용하여 시퀀싱될 수 있다. 모노클로날 항체를 생성하는 하이브리도마 세포는 항체 뉴클레오티드 서열의 바람직한 공급원으로서 제공된다. 모노클로날 항체 어레이를 생성하는 수 많은 하이브리도마 세포는 공공 또는 사적 보관소로부터 입수할 수 있다. 가장 큰 기탁 기관은 특성이 잘 규명된 하이브리도마 세포주의 다양한 컬렉션을 제공하는 American Type Culture Collection (atcc.org)이다. 대안으로서, 항체 뉴클레오티드는 면역화되거나 또는 면역화되지 않은 설치류 또는 인간으로부터 획득될 수 있고, 비장 및 말초 혈액 림프구와 같은 장기로부터 형성할 수 있다. 항체 뉴클레오티드를 추출하고 합성하는데 적용 가능한 특정 기술은 Orlandi et al.(1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 86: 3833-3837; Larrick et al. (1989) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 160:1250-1255; Sastry et al. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.* 86: 5728-5732; and U.S. Pat. No. 5,969,108에 기재되어 있다.

[0309] 항-Gal3 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드는 또한 예를 들어 상동성 비-인간 서열 대신에 인간 중쇄 및 경쇄 불변 영역에 대한 코딩 서열을 치환함으로써 변형될 수 있다. 이러한 방식으로, 원래의 항-Gal3 항체의 결합 특이성을 유지하는 키메라 항체가 제조된다.

[0310] 항체 생성을 위한 숙주 세포

[0311] 일부 구체예에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 항-Gal3 항체들 중 어느 하나를 발현하는 숙주 세포를 제공한다. 대상 숙주 세포는 전형적으로 본원에 개시된 항-Gal3 항체들 중 어느 하나를 코딩하는 핵산을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 숙주 세포는 CHO (Chinese hamster ovary) 세포이다. 일부 구체예에서, 상기 숙주 세포는 NSO 세포이다.

[0312] 본 발명은 상기 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 또는 벡터의 라이브러리로 형질감염된 숙주 세포를 제공한다. 상기 벡터는 전기천공, 미세사출 충격 (microprojectile bombardment); 리포펙션, 감염 (벡터가 감염원에 결합된 경우), 염화칼슘, 염화루비듐, 인산칼슘, DEAE-덱스트란 또는 기타 물질을 사용한 형질감염을 포함하는 다수의 적절한 수단들 중 어느 하나에 의해 적절한 원핵 또는 진핵 세포로 도입될 수 있다. 벡터를 도입하기 위한 수단의 선택은 종종 숙주 세포의 특징에 좌우될 것이다.

[0313] 대부분의 동물 세포의 경우, 상기 언급된 방법들 중 임의의 방법이 벡터 전달에 적합하다. 바람직한 동물 세포

는 외인성으로 도입된 유전자 산물을 다량으로, 예를 들어 밀리그램 수준으로 발현할 수 있는 척추동물 세포, 바람직하게는 포유동물 세포이다. 바람직한 세포의 비-제한적인 예로는 NIH3T3 세포, COS, HeLa, 및 CHO 세포가 있다.

[0314] 적절한 숙주 세포로 도입되면, 상기 항-Gal3 항체의 발현은 당해 분야에 알려진 임의의 핵산 또는 단백질 분석을 사용하여 결정될 수 있다. 예를 들어, 경쇄 CDR 또는 중쇄 CDR의 전사된 mRNA, 또는 상기 항-Gal3 항체의 존재는 상기 항-Gal3 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드의 임의의 영역에 상보적인 프로브를 사용하는, 통상적인 혼성화 분석법 (예: 노던 블롯 분석), 증폭 절차 (예: RT-PCR), SAGE (미국 특허 제5,695,937호), 및 어레이-기반 기술 (예: 미국 특허 제5,405,783호, 제5,412,087호 및 제5,445,934호)에 의해 검출 및/또는 정량화될 수 있다.

[0315] 상기 벡터의 발현은 또한 발현된 항-Gal3 항체를 조사함으로써 결정될 수 있다. 단백질 분석을 위한 다양한 기술이 당해 분야에서 이용 가능하다. 여기에는 방사면역측정법 (radioimmunoassay), ELISA (enzyme linked immunoradiometric assays), "샌드위치" 면역분석, 면역방사계수측정법 (immunoradiometric assay), 인 시투 면역분석 (예: 콜로이드 금, 효소 또는 방사성 동위원소 표지 사용), 웨스턴 블롯 분석, 면역침강 분석, 면역형광 분석, 및 SDS-PAGE를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0316] 페이로드

[0317] 일부 구체예에서, 항-Gal3 항체는 페이로드 (payload)를 추가로 포함한다. 일부 경우에, 상기 페이로드는 소분자, 단백질 또는 이의 기능적 단편, 펩티드, 또는 핵산 폴리머를 포함한다.

[0318] 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체에 접합된 페이로드의 수 (예: 약물-대-항체 비율 (drug-to-antibody ratio) 또는 DAR)는 약 1:1로, 하나의 페이로드 대 하나의 항-Gal3 항체이다. 일부 경우에, 상기 페이로드 대 항-Gal3 항체의 비율은 약 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 11:1, 12:1, 13:1, 14:1, 15:1, 16:1, 17:1, 18:1, 19:1, 또는 20:1이다. 일부 경우에, 상기 페이로드 대 항-Gal3 항체의 비율은 약 2:1이다. 일부 경우에, 상기 페이로드 대 항-Gal3 항체의 비율은 약 3:1이다. 일부 경우에, 상기 페이로드 대 항-Gal3 항체의 비율은 약 4:1이다. 일부 경우에, 상기 페이로드 대 항-Gal3 항체의 비율은 약 6:1이다. 일부 경우에, 상기 페이로드 대 항-Gal3 항체의 비율은 약 8:1이다. 일부 경우에, 상기 페이로드 대 항-Gal3 항체의 비율은 약 12:1이다.

[0319] 일부 구체예에서, 상기 페이로드는 소분자이다. 일부 구체예에서, 상기 소분자는 세포독성 페이로드이다. 예시되는 세포독성 페이로드는 미세소관 차단제 (microtubule disrupting agent), DNA 변형제, 또는 Akt 억제제를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0320] 일부 구체예에서, 상기 페이로드는 미세소관 차단제를 포함한다. 예시되는 미세소관 차단제에는 2-메톡시에스트라디올, 아우리스타틴, 칼콘, 콜히친, 콤프레타스타틴, 크립토피신, 디티오스타틴, 디스코더몰라이드, 돌라스테인, 엘류테로빈, 에포틸론, 할리콘드린, 라우리말라이드, 마이탄신, 노스카피노이드, 파클리탁셀, 펠로루사이드, 포몹신, 포도필로톡신, 리족신, 스폰지스타틴, 탁산, 튜블리신, 빈카 알칼로이드, 비노렐빈, 또는 이의 유도체 또는 유사체를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0321] 일부 구체예에서, 상기 마이탄신은 마이탄시노이드이다. 일부 구체예에서, 상기 마이탄시노이드는 DM1, DM4, 또는 안사미토신이다. 일부 구체예에서, 상기 마이탄시노이드는 DM1이다. 일부 구체예에서, 상기 마이탄시노이드는 DM4이다. 일부 구체예에서, 상기 마이탄시노이드는 안사미토신이다. 일부 구체예에서, 상기 마이탄시노이드는 미국 특허 제5208020호, 제5416064호, 제7276497호, 및 제6716821호 또는 미국 공개 제2013029900호 및 제US20130323268호에 기재된 바와 같은 마이탄시노이드 유도체 또는 유사체이다.

[0322] 일부 구체예에서, 상기 페이로드는 돌라스타틴, 또는 이의 유도체 또는 유사체이다. 일부 구체예에서, 상기 돌라스타틴은 돌라스타틴 10 또는 돌라스타틴 15, 또는 이의 유도체 또는 유사체이다. 일부 구체예에서, 상기 돌라스타틴 10 유사체는 아우리스타틴, 소블리도틴, 심플로스타틴 1, 또는 심플로스타틴 3이다. 일부 구체예에서, 상기 돌라스타틴 15 유사체는 세마도틴 또는 타시도틴이다.

[0323] 일부 구체예에서, 상기 돌라스타틴 10 유사체는 아우리스타틴 또는 아우리스타틴 유도체이다. 일부 구체예에서, 상기 아우리스타틴 또는 아우리스타틴 유도체는 아우리스타틴 E (AE), 아우리스타틴 F (AF), 아우리스타틴 E5-벤조일발레르산 에스테르 (AEVB), 모노메틸 아우리스타틴 E (MMAE), 모노메틸 아우리스타틴 F (MMAF), 또는 모노메틸 아우리스타틴 D (MMAD), 아우리스타틴 PE, 또는 아우리스타틴 PYE이다. 일부 구체예에서, 상기 아우리스타틴 유도체는 모노메틸 아우리스타틴 E (MMAE)이다. 일부 구체예에서, 상기 아우리스타틴

유도체는 모노메틸 아우리스타틴 F (MMAF)이다. 일부 구체예에서, 상기 아우리스타틴은 미국 특허 제6884869호, 제7659241호, 제7498298호, 제7964566호, 제7750116호, 제8288352호, 제8703714호, 및 제8871720호에 기재된 것과 같은 아우리스타틴 유도체 또는 유사체이다.

[0324] 일부 구체예에서, 상기 페이로드는 DNA 변형제를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 DNA 변형제는 DNA 절단제, DNA 삽입제, DNA 전사 억제제, 또는 DNA 가교제를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 DNA 절단제는 블레오마이신 A2, 칼리케아미신, 또는 이의 유도체 또는 유사체를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 DNA 삽입제는 독소루비신, 에피루비신, PNU-159682, 듀오카르마이신, 피롤로벤조디아제핀, 올리고마이신 C, 다우노루비신, 발루비신, 토포테칸, 또는 이의 유도체 또는 유사체를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 DNA 전사 억제제는 닥티노마이신을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 DNA 가교제는 미토마이신 C를 포함한다.

[0325] 일부 구체예에서, 상기 DNA 변형제는 암사크린, 안트라사이클린, 캄프토테신, 독소루비신, 듀오카르마이신, 엔디인 (enediynes), 에토포사이드, 인돌리노벤조디아제핀, 네트롭신, 테니포사이드, 또는 이의 유도체 또는 유사체를 포함한다.

[0326] 일부 구체예에서, 상기 안트라사이클린은 독소루비신, 다우노루비신, 에피루비신, 이다루비신, 미토마이신-C, 닥티노마이신, 미트라마이신, 네모루비신, 픽산트론, 사바루비신, 또는 발루비신이다.

[0327] 일부 구체예에서, 상기 캄프토테신의 유사체는 토포테칸, 이리노테칸, 실라테칸, 코시테칸, 엑사테칸, 루르토테칸, 기마테칸, 벨로테칸, 루비테칸, 또는 SN-38이다.

[0328] 일부 구체예에서, 상기 듀오카르마이신은 듀오카르마이신 A, 듀오카르마이신 B1, 듀오카르마이신 B2, 듀오카르마이신 C1, 듀오카르마이신 C2, 듀오카르마이신 D, 듀오카르마이신 SA, 또는 CC-1065이다. 일부 구체예에서, 상기 엔디인은 칼리케아미신, 에스페라미신, 또는 다이네미신 A이다.

[0329] 일부 구체예에서, 상기 피롤로벤조디아제핀은 안트라마이신, 아베이마이신, 치카마이신, DC-81, 마제트라마이신, 네오텐트라마이신 A, 네오텐트라마이신 B, 포르트라마이신, 포르트라카르신, 시바노미신 (DC-102), 시비로마이신, 또는 토마이마이신이다. 일부 구체예에서, 상기 피롤로벤조디아제핀은 미국 특허 제8404678호 및 제8163736호에 기재된 토마이마이신 유도체이다. 일부 구체예에서, 상기 피롤로벤조디아제핀은 미국 특허 제8426402호, 제8802667호, 제8809320호, 제6562806호, 제6608192호, 제7704924호, 제7067511호, US7612062, 제7244724호, 제7528126호, 제7049311호, 제8633185호, 제8501934호, 및 제8697688호 및 미국 공개 제US20140294868호에 기재된 것이다.

[0330] 일부 구체예에서, 상기 피롤로벤조디아제핀은 피롤로벤조디아제핀 이량체이다. 일부 구체예에서, 상기 PBD 이량체는 대칭 이량체 (symmetric dimer)이다. 상기 대칭 PBD 이량체의 예로는 SJG-136 (SG-2000), ZC-423 (SG2285), SJG-720, SJG-738, ZC-207 (SG2202), 및 DSB-120을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 일부 구체예에서, 상기 PBD 이량체는 비대칭 이량체 (unsymmetrical dimer)이다. 상기 비대칭 PBD 이량체의 예로는 미국 특허 제8697688호 및 제9242013호 및 미국 공개 제20140286970호에 기재된 것과 같은 SJG-136 유도체를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0331] 일부 구체예에서, 상기 페이로드는 Akt 억제제를 포함한다. 일부 경우에, 상기 Akt 억제제는 이파타세르티프 (GDC-0068) 또는 이의 유도체를 포함한다.

[0332] 일부 구체예에서, 상기 페이로드는 폴리머라제 억제제를 포함하고, 이는 폴리머라제 II 억제제 예컨대 α -아마니틴 및 폴리(ADP-리보스) 폴리머라제 (PARP) 억제제를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 예시되는 PARP 억제제는 이니파립 (BSI 201), 탈라조파립 (BMN-673), 올라파립 (AZD-2281), 올라파립, 루카파립 (AG014699, PF-01367338), 벨리파립 (ABT-888), CEP 9722, MK 4827, BGB-290, 또는 3-아미노벤즈아미드를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0333] 일부 구체예에서, 상기 페이로드는 검출 가능한 모이어티를 포함한다. 예시되는 검출 가능한 모이어티는 형광 염료; 효소; 기질; 화학발광 모이어티; 특이적 결합 모이어티 예컨대 스트렙타비딘, 아비딘 또는 바이오틴; 또는 방사성 동위원소를 포함한다.

[0334] 일부 구체예에서, 상기 페이로드는 면역조절제를 포함한다. 유용한 면역조절제는 종양에 대한 호르몬 작용을 차단하는 항-호르몬, 및 사이토카인 생성을 억제하거나, 자기-항원 발현을 하향-조절하거나, 또는 MHC 항원을 차단하는 면역억제제를 포함한다. 대표적인 항-호르몬에는 예를 들어 타목시펜, 팔록시펜, 아로마타제 억제제 4(5)-이미다졸, 4-하이드록시타목시펜, 트리옥시펜, 케옥시펜, LY 117018, 오나프리스톤 (onapristone), 및 토레

미펜을 포함하는 항-에스트로겐; 및 플루타미드, 닐루타미드, 비칼루타미드, 류프롤라이드 및 고세렐린과 같은 항-안드로겐; 및 항-부신 제제 (anti-adrenal agents)를 포함한다. 예시되는 면역억제제는 2-아미노-6-아릴-5-치환된 피리미딘, 아자티오프린, 사이클로포스파미드, 브로모크립틴, 다나졸, 답손, 글루타르알데히드, MHC 항원 및 MHC 단편에 대한 항-이디오타입 항체 (anti-idiotypic antibodies), 사이클로스포린 A, 스테로이드 예컨대 글루코코르티코스테로이드, 스트렙토키나제, 또는 라파마이신을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0335] 일부 구체예에서, 상기 페이로드는 면역 조절제를 포함한다. 예시되는 면역 조절제는 간시클로비에, 에타너셉트, 타크롤리무스, 시롤리무스, 보클로스포린, 사이클로스포린, 라파마이신, 사이클로포스파미드, 아자티오프린, 미코페놀게이트 모페틸, 메토타렉트레이트, 글루코코르티코이드 및 이의 유사체, 크산틴, 줄기세포 성장 인자, 림프톡신, 조혈 인자, 종양 괴사 인자 (TNF) (예: TNF α), 인터루킨 (예: 인터루킨-1 (IL-1), IL-2, IL-3, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, 및 IL-21), 콜로니 자극 인자 (예: 과립구-콜로니 자극 인자 (G-CSF) 및 과립구 마크로파지-콜로니 자극 인자 (GM-CSF)), 인터페론 (예: 인터페론-알파, 인터페론-베타, 인터페론-감마), "S1 인자"로 명명된 줄기세포 성장 인자, 에리트로포이에틴 및 트롬보포이에틴, 또는 이들의 조합을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0336] 일부 구체예에서, 상기 페이로드는 면역독소를 포함한다. 상기 면역독소에는 리신, 방사성 핵종, 자리공 (pokeweed) 항바이러스 단백질, 슈도모나스 외독소 A, 디프테리아 독소, 리신 A 사슬, 진균 독소 예컨대 레스트릭톡신 (restrictocin) 및 포스포리파제 효소를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 일반적으로, "Chimeric Toxins," Olsnes and Pihl, *Pharmac. Ther.* 15:355-381 (1981); and "Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy," eds. Baldwin and Byers, pp. 159-179, 224-266, Academic Press (1985)를 참조한다.

[0337] 일부 구체예에서, 상기 페이로드는 핵산 폴리머를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 핵산 폴리머는 짧은 간섭 핵산 (siNA), 짧은 간섭 RNA (siRNA), 이중가닥 RNA (dsRNA), 마이크로-RNA (miRNA), 짧은 헤어핀 RNA (shRNA), 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 핵산 폴리머는 예를 들어 세포독성 단백질 또는 펩티드 또는 아포토시스 유발 단백질 또는 펩티드를 코딩하는 mRNA를 포함한다. 예시되는 세포독성 단백질 또는 펩티드는 박테리아 세포독소 예컨대 알파-기공 형성 독소 (alpha-pore forming toxin) (예: 대장균 유래의 세포용해소 A (cytolysin A)), 베타-기공 형성 독소 (예: α -헤모리신, PVL - panton Valentine leukocidin, 에어로리신, 클로스트리디움 (clostridial) 엡실론-독소, 클로스트리디움 퍼프린겐스 (clostridium perfringens) 장독소), 이원 독소 (탄저균 독소 (anthrax toxin), 부종 독소 (edema toxin), C. 보툴리눔 (C. botulinum) C2 독소, C 스피로폼 (C spirofome) 독소, C. 퍼프린겐스 (C. perfringens) 이오타 독소, C. 디피실리 (C. difficile) 세포-치사 독소 (A 및 B)), 프리온, 파라스포린, 콜레스테롤-의존성 세포용해소 (예: 뉴몰리신), 작은 기공-형성 독소 (예: 그라미시딘 A), 시아노톡신 (예: 마이크로시스티닌, 노둘라린), 혈액독 (hemotoxin), 신경독 (예: 보툴리눔 신경독), 세포독소 (cytotoxin), 콜레라 독소, 디프테리아 독소, 슈도모나스 외독소 A, 파상풍 독소, 또는 면역독소 (이다루비신, 리신 A, CRM9, 자리공 항바이러스 단백질, DT)를 포함한다. 예시되는 아포토시스 유발 단백질 또는 펩티드는 아포토시스 프로테아제 활성화 인자-1 (Apaf-1), 사이토크롬-c, 카스파제 개시제 단백질 (CASP2, CASP8, CASP9, CASP10), 아포토시스 유도 인자 (AIF), p53, p73, p63, Bcl-2, Bax, 그랜자임 B, 폴리-ADP 리보소 폴리머라제 (PARP), 및 P 21-활성화 키나제 2 (PAK2)를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 핵산 폴리머는 핵산 디코이 (nucleic acid decoy)를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 핵산 디코이는 단백질-결합 핵산의 모방체 예컨대 RNA-기반 단백질-결합 모방체이다. 예시되는 핵산 디코이는 트랜스활성화 영역 (transactivating region: TAR) 디코이 및 Rev 반응 요소 (Rev response element: RRE) 디코이를 포함한다.

[0338] 일부 경우에, 상기 페이로드는 압타머 (aptamer)이다. 압타머는 특정 표적 분자에 결합하는 소 올리고뉴클레오타이드 또는 펩티드 분자이다. 예시되는 핵산 압타머는 DNA 압타머, RNA 압타머, 또는 하나 이상의 비천연 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA 및/또는 DNA 압타머인 XNA 압타머를 포함한다. 예시되는 핵산 압타머는 ARC19499 (Archemix Corp.), REG1 (Regado Biosciences), 및 ARC1905 (Ophthotech)를 포함한다.

[0339] 본원에 기재된 일부 구체예에 따른 핵산은 선택적으로 자연 발생 핵산, 또는 하나 이상의 뉴클레오타이드 유사체를 포함하거나, 또는 자연 발생 핵산의 구조와 상이한 구조를 갖는다. 예를 들어, 2'-변형에는 할로, 알콕시, 및 알릴옥시 기를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 2'-OH 기는 H, OR, R, 할로, SH, SR, NH₂, NHR, NR₂ 또는 CN으로부터 선택된 기로 대체되고, 여기서 R은 C₁-C₆ 알킬, 알케닐, 또는 알킬닐이고, 할로는 F, Cl, Br, 또는 I이다. 변형된 연결의 예로는 포스포로티오에이트 및 5'-N-포스포르아미다이트 연결을 포함한다.

- [0340] 다양한 상이한 뉴클레오타이드 유사체, 변형된 백본, 또는 비-자연 발생 뉴클레오타이드간 연결을 갖는 핵산은 본원에 기재된 일부 구체예에 따라 사용된다. 일부 경우에, 핵산은 천연 뉴클레오타이드 (즉, 아데노신, 티미딘, 구아노신, 시티딘, 우라딘, 테옥시아데노신, 테옥시티미딘, 테옥시구아노신, 및 테옥시시티딘) 또는 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 변형된 뉴클레오타이드의 예로는 염기 변형된 뉴클레오타이드 (예: 아라시티딘, 이노신, 이소구아노신, 네볼라린, 슈도우리딘, 2,6-디아미노퓨린, 2-아미노퓨린, 2-티오티미딘, 3-테아자-5-아자시티딘, 2'-테옥시우리딘, 3-니트로피콜, 4-메틸인돌, 4-티오우리딘, 4-티오티미딘, 2-아미노아데노신, 2-티오티미딘, 2-티오우리딘, 5-브로모시티딘, 5-요오도우리딘, 이노신, 6-아자우리딘, 6-클로로퓨린, 7-테아자아데노신, 7-테아자구아노신, 8-아자아데노신, 8-아지도아데노신, 벤즈이미다졸, M1-메틸아데노신, 피롤로-피리미딘, 2-아미노-6-클로로퓨린, 3-메틸 아데노신, 5-프로피닐시티딘, 5-프로피닐우리딘, 5-브로모우리딘, 5-플루오로우리딘, 5-메틸시티딘, 7-테아자아데노신, 7-테아자구아노신, 8-옥소아데노신, 8-옥소구아노신, O(6)-메틸구아닌, 및 2-티오시티딘), 화학적 또는 생물학적으로 변형된 염기 (예: 메틸화 염기), 변형된 당 (예: 2'-플루오로리보스, 2'-아미노리보스, 2'-아지도리보스, 2'-O-메틸리보스, L-거울상이성질체 뉴클레오타이드 아라비노스 및 핵소스), 변형된 포스포에이트 기 (예: 포스포로티오에이트 및 5'-N-포스포르아미다이트 연결), 및 이들의 조합을 포함한다. 핵산의 화학적 합성을 위한 천연 및 변형된 뉴클레오타이드 단량체는 쉽게 입수 가능하다. 일부 경우에, 이러한 변형을 포함하는 핵산은 자연 발생 뉴클레오타이드 단독으로 구성된 핵산에 비해 개선된 특성을 나타낸다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 핵산 변형은 뉴클레아제 (예: 엑소뉴클레아제, 엔도뉴클레아제 등)에 의한 소화를 감소 및/또는 방지하는데 이용된다. 예를 들어, 핵산의 구조는 소화를 줄이기 위해 한 가닥 또는 두 가닥 모두의 3' 말단에 뉴클레오타이드 유사체를 포함함으로써 안정화될 수 있다.
- [0341] 상이한 뉴클레오타이드 변형 및/또는 백본 구조는 핵산내 다양한 위치에 존재할 수 있다. 이러한 변형에는 모리폴리노, 펩티드 핵산 (PNA), 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드, 티올포스포네이트 뉴클레오타이드, 2'-플루오로 N3-P5'-포스포르아미다이트, 1',5'-안하이드로핵시톨 핵산 (HNA), 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0342] 접합 화학
- [0343] 일부 구체예에서, 상기 페이로드는 본원에 기재된 항-Gal3 항체에 네이티브 결합에 의해 접합된다. 일부 구체예에서, 상기 접합은 Dawson, et al. "Synthesis of proteins by native chemical ligation," *Science* 1994, 266, 776-779; Dawson, et al. "Modulation of Reactivity in Native Chemical Ligation through the Use of Thiol Additives," *J. Am. Chem. Soc.* 1997, 119, 4325-4329; Hackeng, et al. "Protein synthesis by native chemical ligation: Expanded scope by using straightforward methodology.," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999, 96, 10068-10073; 또는 Wu, et al. "Building complex glycopeptides: Development of a cysteine-free native chemical ligation protocol," *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, 4116-4125에 기재된 바와 같다. 일부 구체예에서, 상기 접합은 미국 특허 제8,936,910호에 기재되어 있다.
- [0344] 일부 구체예에서, 상기 페이로드는 본원에 기재된 항-Gal3 항체에, "무흔 (traceless)" 커플링 기술 (Philochem)을 사용하는 부위-지정 방법에 의해 접합된다. 일부 구체예에서, 상기 "무흔" 커플링 기술은 결합 모이어티에 N-말단 1,2-아미노티올 기를 이용한 다음에 알데히드 기를 함유하는 다중핵산 분자와 접합된다. (Casi et al., "Site-specific traceless coupling of potent cytotoxic drugs to recombinant antibodies for pharmacodelivery," *JACS* 134(13): 5887-5892 (2012) 참조).
- [0345] 일부 구체예에서, 상기 페이로드는 본원에 기재된 항-Gal3 항체에, 결합 모이어티에 혼입된 비천연 아미노산을 이용하는 부위-지정 방법에 의해 접합된다. 일부 구체예에서, 상기 비천연 아미노산은 *p*-아세틸페닐알라닌 (pAcPhe)을 포함한다. 일부 구체예에서, pAcPhe의 케토 기는 알콕시-아민 유도된 접합 모이어티에 선택적으로 커플링되어 옥심 결합을 형성한다. (Axup et al., "Synthesis of site-specific antibody-drug conjugates using unnatural amino acids," *PNAS* 109(40): 16101-16106 (2012) 참조).
- [0346] 일부 구체예에서, 상기 페이로드는 본원에 기재된 항-Gal3 항체에, 효소-촉매화 과정을 이용하는 부위-지정 방법에 의해 접합된다. 일부 구체예에서, 상기 부위-지정 방법은 SMARTag™ 기술 (Redwood)을 활용한다. 일부 구체예에서, 상기 SMARTag™ 기술은 알데히드 태그의 존재 하에 산화 과정을 통해 포르밀글리신-생성 효소 (FGE)에 의해 시스테인으로부터 포르밀글리신 (FGly) 잔기를 생성하고, 후속하여 HIPS (hydrazino-Pictet-Spengler) 결합을 통해 FGly를 알킬하이드레인-관능화된 다중핵산 분자에 접합시키는 것을 포함한다. (Wu et al., "Site-specific chemical modification of recombinant proteins produced in mammalian cells by using the genetically encoded aldehyde tag," *PNAS* 106(9): 3000-3005 (2009); Agarwal, et al., "A Pictet-Spengler ligation for protein chemical modification," *PNAS* 110(1): 46-51 (2013) 참조).

- [0347] 일부 구체예에서, 상기 효소-촉매화 과정은 미생물 트란스글루타미나제 (mTG)를 포함한다. 일부 경우에, 상기 페이로드는 미생물 트란스글루타미나제 촉매화 과정을 사용하여 항-Gal3 항체에 접합된다. 일부 구체예에서, mTG는 인식 서열 내의 글루타민의 아미드 측쇄 및 관능화된 다중핵산 분자의 1차 아민 간의 공유 결합 형성을 촉매화한다. 일부 구체예에서, mTG는 스트렙토마이세스 모바렌시스 (*Streptomyces mobarensis*)로부터 생성된다. (Strop *et al.*, "Location matters: site of conjugation modulates stability and pharmacokinetics of antibody drug conjugates," *Chemistry and Biology* 20(2) 161-167 (2013) 참조).
- [0348] 일부 구체예에서, 상기 페이로드는 PCT 공개 번호 W02014/140317에 기재된 방법에 의해 항-Gal3 항체에 접합되고, 이는 서열-특이적 트란스펩티다제를 이용한다.
- [0349] 일부 구체예에서, 상기 페이로드는 미국 특허 공개 제2015/0105539호 및 제2015/0105540호에 기재된 방법에 의해 본원에 기재된 항-Gal3 항체에 접합된다.
- [0350] 링커
- [0351] 일부 구체예에서, 상기 기재된 링커는 2차원 또는 3차원으로, 분지형 또는 비분지형 모노머의 장쇄, 및/또는 모노머의 가교된 네트워크로 구성된, 천연 또는 합성 폴리머를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 링커는 폴리사카라이드, 리그닌, 고무, 또는 폴리알킬렌 옥사이드 (예: 폴리에틸렌 글리콜)를 포함한다.
- [0352] 일부 구체예에서, 상기 링커는 알파-, 오메가-디하이드록실폴리에틸렌글리콜, 생분해성 락톤-기반 폴리머, 예컨대 폴리아크릴산, 폴리락티드산 (PLA), 폴리(글리콜산) (PGA), 폴리프로필렌, 폴리스티렌, 폴리올레핀, 폴리아미드, 폴리시아노아크릴레이트, 폴리이미드, 폴리에틸렌테레프탈레이트 (PET, PETG), 폴리에틸렌 테레프탈레이트 (PETE), 폴리테트라메틸렌 글리콜 (PTG), 또는 폴리우레탄 및 이들의 혼합물을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 본원에서 사용된, 혼합물은 블록 코폴리머에 대한 지칭뿐만 아니라 동일한 화합물내 상이한 폴리머들의 사용을 지칭한다. 일부 경우에, 블록 코폴리머는 폴리머의 적어도 하나의 섹션이 다른 폴리머의 모노머로부터 축적되는 폴리머이다. 일부 구체예에서, 상기 링커는 폴리알킬렌 옥사이드를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 링커는 PEG를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 링커는 폴리에틸렌 이미드 (PEI) 또는 하이드록시 에틸 전분 (HES)을 포함한다.
- [0353] 일부 경우에, 상기 폴리알킬렌 옥사이드 (예: PEG)는 다분산 또는 단분산 화합물이다. 일부 구체예에서, 다분산 물질은 평균 중량 (중량 평균) 크기 및 분산도를 특징으로 하는, 물질의 상이한 분자량의 분산 분포 (disperse distribution)를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 단분산 PEG는 하나의 크기의 분자를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 링커는 다분산 또는 단분산 폴리알킬렌 옥사이드 (예: PEG)이고, 표시된 분자량은 폴리알킬렌 옥사이드, 예컨대 PEG, 분자의 분자량의 평균을 나타낸다.
- [0354] 일부 구체예에서, 상기 링커는 폴리알킬렌 옥사이드 (예: PEG)를 포함하고, 폴리알킬렌 옥사이드 (예: PEG)의 분자량은 약 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1450, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2100, 2200, 2300, 2400, 2500, 2600, 2700, 2800, 2900, 3000, 3250, 3350, 3500, 3750, 4000, 4250, 4500, 4600, 4750, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 10,000, 12,000, 20,000, 35,000, 40,000, 50,000, 60,000, 또는 100,000 Da이다.
- [0355] 일부 구체예에서, 상기 폴리알킬렌 옥사이드 (예: PEG)는 별개의 PEG이고, 여기서 상기 별개의 PEG는 반복하는 에틸렌 옥사이드 단위를 1개 초과로 포함하는 폴리머 PEG이다. 일부 구체예에서, 별개의 PEG (dPEG)는 반복하는 에틸렌 옥사이드 단위를 2 내지 60개, 2 내지 50개, 또는 2 내지 48개 포함한다. 일부 구체예에서, dPEG는 반복하는 에틸렌 옥사이드 단위를 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 35, 40, 42, 48, 50개 또는 초과로 포함한다. 일부 구체예에서, dPEG는 반복하는 에틸렌 옥사이드 단위를 약 2개 이상 포함한다. 일부 경우에, dPEG는 단계적 방식 (step-wise fashion)으로 순수한 (예: 약 95%, 98%, 99%, 또는 99.5%) 출발 물질로부터 단일 분자량 화합물로서 합성된다. 일부 경우에, dPEG는 평균 분자량이 아닌, 특정 분자량을 갖는다. 일부 경우에, 본원에 기재된 dPEG는 Quanta Biodesign, LMD의 dPEG이다.
- [0356] 일부 구체예에서, 상기 링커는 반복하는 에틸렌 옥사이드 단위를 2 내지 60개, 2 내지 50개, 또는 2 내지 48개 선택적으로 포함하는, 별개의 PEG이다. 일부 경우에, 상기 링커는 반복하는 에틸렌 옥사이드 단위를 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 35, 40, 42, 48, 50개 또는 초과로 포함하는 dPEG를 포함한다. 일부 경우에, 상기 링커는 Quanta Biodesign, LMD의 dPEG이다.

- [0357] 일부 구체예에서, 상기 링커는 폴리펩티드 링커이다. 일부 구체예에서, 상기 폴리펩티드 링커는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100개, 또는 초과인 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 폴리펩티드 링커는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8개, 또는 초과인 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 폴리펩티드 링커는 최대 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8개, 또는 미만의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 경우에, 상기 폴리펩티드 링커는 절단 가능한 폴리펩티드 링커 (예: 효소적 또는 화학적)이다. 일부 경우에, 상기 폴리펩티드 링커는 비-절단 가능한 폴리펩티드 링커이다. 일부 구체예에서, 상기 폴리펩티드 링커는 Val-Cit (발린-시트룰린), Gly-Gly-Phe-Gly, Phe-Lys, Val-Lys, Gly-Phe-Lys, Phe-Phe-Lys, Ala-Lys, Val-Arg, Phe-Cit, Phe-Arg, Leu-Cit, Ile-Cit, Trp-Cit, Phe-Ala, Ala-Leu-Ala-Leu, 또는 Gly-Phe-Leu-Gly를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 폴리펩티드 링커는 펩티드 예컨대: Val-Cit (발린-시트룰린), Gly-Gly-Phe-Gly, Phe-Lys, Val-Lys, Gly-Phe-Lys, Phe-Phe-Lys, Ala-Lys, Val-Arg, Phe-Cit, Phe-Arg, Leu-Cit, Ile-Cit, Trp-Cit, Phe-Ala, Ala-Leu-Ala-Leu, 또는 Gly-Phe-Leu-Gly를 포함한다. 일부 경우에, 상기 폴리펩티드 링커는 L-아미노산, D-아미노산, 또는 L- 및 D-아미노산들 모두의 혼합물을 포함한다.
- [0358] 일부 구체예에서, 상기 링커는 동종이관능성 링커를 포함한다. 예시되는 동종이관능성 링커는 로망 시약 (Lomant's reagent)인 디티오비스(숙신이미딜프로피오네이트) DSP, 3'3'-디티오비스(설포숙신이미딜 프로프리오네이트) (DTSSP), 디숙신이미딜 수베레이트 (DSS), 비스(설포숙신이미딜)수베레이트 (BS), 디숙신이미딜 타르트레이트 (DST), 디설포숙신이미딜 타르트레이트 (설포 DST), 에틸렌 글리코비스(숙신이미딜숙시네이트) (EGS), 디숙신이미딜 글루타레이트 (DSG), N,N'-디숙신이미딜 카보네이트 (DSC), 디메틸 아디피메이트 (DMA), 디메틸 피멜리메이트 (DMP), 디메틸 수베리메이트 (DMS), 디메틸-3,3'-디티오비스프로피오네이트 (DTBP), 1,4-디-3'-(2'-피리딜디티오)프로피오나미드)부탄 (DPDPB), 비스말레이미도헥산 (BMH), 아릴 할라이드-함유 화합물 (DFDNB), 가령 예컨대 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠 또는 1,3-디플루오로-4,6-디니트로벤젠, 4,4'-디플루오로-3,3'-디니트로페닐설폰 (DFDNPS), 비스-[β-(4-아지도살리실아미도)에틸]디설파이드 (BASED), 포르말데히드, 글루타르알데히드, 1,4-부탄디올 디글리시딜 에테르, 아디프산 디하이드라지드, 카보하이드라지드, o-톨루이딘, 3,3'-디메틸벤지딘, 벤지딘, α, α'-p-디아미노디페닐, 디요오도-p-크실렌 설폰산, N,N'-에틸렌-비스(요오도아세트아미드), 또는 N,N'-헥사메틸렌-비스(요오도아세트아미드)를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.
- [0359] 일부 구체예에서, 상기 링커는 이종이관능성 링커를 포함한다. 예시되는 이종이관능성 링커는 아민-반응성 및 설포하이드릴 가교제 예컨대 N-숙신이미딜 3-(2-피리딜디티오)프로피오네이트 (sPDP), 장쇄 N-숙신이미딜 3-(2-피리딜디티오)프로피오네이트 (LC-sPDP), 수-용해성-장쇄 N-숙신이미딜 3-(2-피리딜디티오)프로피오네이트 (설포-LC-sPDP), 숙신이미딜옥시카보닐-α-메틸-α-(2-피리딜디티오)톨루엔 (sMPT), 설포숙신이미딜-6-[α-메틸-α-(2-피리딜디티오)톨루아미드]헥사노에이트 (설포-LC-sMPT), 숙신이미딜-4-(N-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카복실레이트 (sMCC), 설포숙신이미딜-4-(N-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카복실레이트 (설포-sMCC), m-말레이미도벤조일-N-하이드록시숙신이미드 에스테르 (MBs), m-말레이미도벤조일-N-하이드록시설포숙신이미드 에스테르 (설포-MBs), N-숙신이미딜(4-요오도아세틸)아미노벤조에이트 (sIAB), 설포숙신이미딜(4-요오도아세틸)아미노벤조에이트 (설포-sIAB), 숙신이미딜-4-(p-말레이미도페닐)부티레이트 (sMPB), 설포숙신이미딜-4-(p-말레이미도페닐)부티레이트 (설포-sMPB), N-(γ-말레이미도부티릴옥시)숙신이미드 에스테르 (GMBs), N-(γ-말레이미도부티릴옥시)설포숙신이미드 에스테르 (설포-GMBs), 숙신이미딜 6-((요오도아세틸)아미노)헥사노에이트 (sIAX), 숙신이미딜 6-[6-(((요오도아세틸)아미노)헥사노일)아미노]헥사노에이트 (sIAXX), 숙신이미딜 4-(((요오도아세틸)아미노)메틸)사이클로헥산-1-카복실레이트 (sIAC), 숙신이미딜 6-(((4-요오도아세틸)아미노)메틸)사이클로헥산-1-카보닐)아미노)헥사노에이트 (sIACX), p-니트로페닐 요오도아세테이트 (NPIA), 카보닐-반응성 및 설포하이드릴-반응성 가교제 예컨대 4-(4-N-말레이미도페닐)부티르산 하이드라지드 (MPBH), 4-(N-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카복실-하이드라지드-8 (M₂C₈H), 3-(2-피리딜디티오)프로피오닐 하이드라지드 (PDPH), 아민-반응성 및 광반응성 가교제 예컨대 N-하이드록시숙신이미딜-4-아지도살리실산 (NHs-AsA), N-하이드록시설포숙신이미딜-4-아지도살리실산 (설포-NHs-AsA), 설포숙신이미딜-(4-아지도살리실아미도)헥사노에이트 (설포-NHs-LC-AsA), 설포숙신이미딜-2-(p-아지도살리실아미도)에틸-1,3'-디티오프로피오네이트 (sAsD), N-하이드록시숙신이미딜-4-아지도벤조에이트 (HsAB), N-하이드록시설포숙신이미딜-4-아지도벤조에이트 (설포-HsAB), N-숙신이미딜-6-(4'-아지도-2'-니트로페닐아미노)헥사노에이트 (sANPAH), 설포숙신이미딜-6-(4'-아지도-2'-니트로페닐아미노)헥사노에이트 (설포-sANPAH), N-5-아지도-2-니트로벤조일옥시숙신이미드 (ANB-NOs), 설포숙신이미딜-2-(m-아지도-o-니트로벤즈아미도)-에틸-1,3'-디티오프로피오네이트 (sAND), N-숙신이미딜-4(4-아지도페닐)1,3'-디티오프로피오네이트 (sADP), N-설포숙신이미딜(4-아지도페닐)-1,3'-디티오프로피오네이트 (설포-sADP), 설포숙신이미딜 4-(p-아지도페닐)부티레이트 (설포-sAPB), 설포숙신이미딜 2-(7-아지도-4-메틸쿠마린-3-아세트아미드)에틸-1,3'-디티오프로피오네이트 (sAED), 설포숙신이미딜 7-아지도-4-메틸쿠마린-3-아세트에이트 (설포-sAMCA), p-니트로페닐 디

아조피루베이트 (p NPDP), p -니트로페닐-2-디아조-3,3,3-트리플루오로프로피오네이트 (PNP-DTP), 설프하이드릴-반응성 및 광반응성 가교제 예컨대 1-(p -아지도살리실아미도)-4-(요오도아세트아미도)부탄 (AsIB), N-[4-(p -아지도살리실아미도)부틸]-3'-(2'-피리딜디티오)프로피온아미드 (APDP), 벤조페논-4-요오도아세트아미드, 벤조페논-4-말레이미드 카보닐-반응성 및 광반응성 가교제 예컨대 p -아지도벤조일 하이드라지드 (ABH), 카복실레이트-반응성 및 광반응성 가교제 예컨대 4-(p -아지도살리실아미도)부틸아민 (AsBA), 및 아르기닌-반응성 및 광반응성 가교제 예컨대 p -아지도페닐 글리옥살 (APG)을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0360] 일부 구체예에서, 상기 링커는 벤조산 기, 또는 이의 유도체를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 벤조산 기 또는 이의 유도체는 파라아미노벤조산 (PABA)을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 벤조산 기 또는 이의 유도체는 감마-아미노부티르산 (GABA)을 포함한다.

[0361] 일부 구체예에서, 상기 링커는 말레이미드 기, 펩티드 모이어티, 및/또는 벤조산 기 중 하나 이상을 임의의 조합으로 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 링커는 말레이미드 기, 펩티드 모이어티, 및/또는 벤조산 기의 조합을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 말레이미드 기는 말레이미도카프로일 (mc)이다. 일부 구체예에서, 상기 펩티드 기는 val-cit이다. 일부 구체예에서, 상기 벤조산 기는 PABA이다. 일부 구체예에서, 상기 링커는 mc-val-cit 기를 포함한다. 일부 경우에, 상기 링커는 val-cit-PABA 기를 포함한다. 추가 경우에, 상기 링커는 mc-val-cit-PABA 기를 포함한다.

[0362] 일부 구체예에서, 상기 링커는 자기-희생 링커 (self-immolative linker) 또는 자기-제거 링커 (self-elimination linker)이다. 일부 경우에, 상기 링커는 자기-희생 링커이다. 다른 경우에, 상기 링커는 자기-제거 링커 (예: 고리화 자기-제거 링커)이다. 일부 구체예에서, 상기 링커는 미국 특허 제9,089,614호 또는 PCT 공개 번호 W02015038426에 기재된 링커를 포함한다.

[0363] 일부 구체예에서, 상기 링커는 수지상 타입 링커이다. 일부 구체예에서, 상기 수지상 타입 링커는 분지형, 다관능성 링커 모이어티를 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 수지상 타입 링커는 PAMAM 덴드리머를 포함한다.

[0364] 일부 구체예에서, 상기 링커는 무흔 링커, 또는 절단 후에 항체 또는 페이로드에 대한 링커 모이어티 (예: 원자 또는 링커 그룹)를 남기지 않는 링커이다. 예시되는 무흔 링커는 게르마늄 링커, 규소 링커, 황 링커, 셀레늄 링커, 질소 링커, 인 링커, 붕소 링커, 크롬 링커, 또는 페닐하이드라지드 링커를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 일부 경우에, 상기 링커는 Hejesen, *et al.*, "A traceless aryl-triazene linker for DNA-directed chemistry," *Org Biomol Chem* **11**(15): 2493-2497 (2013)에 기재된 바와 같은 무흔 아릴-트리아젠 링커이다. 일부 구체예에서, 상기 링커는 Blaney, *et al.*, "Traceless solid-phase organic synthesis," *Chem. Rev.* **102**: 2607-2024 (2002)에 기재된 무흔 링커이다. 일부 구체예에서, 상기 링커는 미국 특허 제6,821,783호에 기재된 무흔 링커이다.

[0365] 약학적 조성물

[0366] 일부 구체예에서, 조직 섬유증을 감소시키기 위한 약학적 제제는 상기 기재된 항-Gal3 항체를 포함할 수 있다. 상기 항-Gal3 항체는 전신 투여용으로 제제화될 수 있다. 대안으로서, 상기 항-Gal3 항체는 비경구 투여용으로 제제화될 수 있다.

[0367] 일부 구체예에서, 항-Gal3 항체는 약학적 조성물로서 추가로 제제화된다. 일부 구체예에서, 상기 약학적 조성물은 비경구 (예: 정맥내, 피하, 근육내, 동맥내, 피부내, 복강내, 유리체내, 뇌내, 또는 뇌실내), 경구, 비강내, 협측, 직장, 또는 경피 투여 경로를 포함하지만 이에 한정되지 않는 다수의 투여 경로로 대상체에게 투여하기 위해 제제화된다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 약학적 조성물은 비경구 (예: 정맥내, 피하, 근육내, 동맥내, 피부내, 복강내, 유리체내, 뇌내, 또는 뇌실내) 투여를 위해 제제화된다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 약학적 조성물은 경구 투여용으로 제제화된다. 또 다른 구체예에서, 본원에 기재된 약학적 조성물은 비강내 투여용으로 제제화된다.

[0368] 일부 구체예에서, 상기 약학적 제제는 수성 액체 분산액, 자기-유화 분산액, 고체 용액, 리포솜 분산액, 에어로졸, 고체 투여 형태, 분말, 즉시 방출 제제, 제어 방출 제제, 급속 용융 제제 (fast melt formulation), 정제, 캡슐, 환제, 지연 방출 제제, 연장 방출 제제, 박동성 방출 제제, 다중 미립자 제제 (예: 나노입자 제제), 및 혼합 즉시 및 제어 방출 제제를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0369] 일부 구체예에서, 상기 약학적 조성물은 아세트산, 붕산, 시트르산, 락트산, 인산 및 염산과 같은 산; 수산화나트륨, 인산나트륨, 붕산나트륨, 시트르산 나트륨, 아세트산 나트륨, 락트산 나트륨 및 트리스-하이드록시메틸아미노메탄과 같은 염기; 및 버퍼 예컨대 시트레이트/텍스트로스, 중탄산 나트륨 및 염화 암모늄을 포함하는 pH

조정제 또는 완충제를 추가로 포함한다. 이러한 산, 염기 및 버퍼는 조성물의 pH를 허용 가능한 범위로 유지하는데 필요한 양으로 포함된다.

[0370] 일부 구체예에서, 상기 약학적 조성물은 하나 이상의 염을 조성물의 삼투질농도를 허용 가능한 범위로 유도하는데 필요한 양으로 포함한다. 이러한 염은 나트륨, 칼륨 또는 암모늄 양이온 및 클로라이드, 시트레이트, 아스코르베이트, 보레이트, 포스페이트, 비카보네이트, 설페이트, 티오설페이트 또는 비설페이트 음이온을 갖는 염을 포함하고; 적합한 염은 염화나트륨, 염화칼륨, 티오황산나트륨, 중아황산나트륨 및 황산암모늄을 포함한다.

[0371] 일부 구체예에서, 상기 약학적 조성물은 화합물을 안정화시키는데 사용되는 희석제를 추가로 포함하고, 이들은 보다 안정한 환경을 제공할 수 있기 때문이다. 완충 용액에 용해된 (또한 pH 조절 또는 유지를 제공할 수 있는) 염이 당해 분야에서 희석제로서 이용되고, 이는 인산염 완충 식염수 용액을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 소정의 구체예에서, 희석제는 압축을 용이하게 하기 위해 조성물의 벌크를 증가시키거나 또는 캡슐 충전을 위한 균질한 블렌드에 충분한 벌크를 형성한다. 이러한 화합물은 예를 들어 락토스, 전분, 만니톨, 소르비톨, 텍스트로스, 미세결정 셀룰로스 예컨대 Avicel®; 이염기성 인산칼슘, 인산이칼슘 이수화물; 인산삼칼슘, 인산칼슘; 무수 락토스, 분무-건조된 락토스; 전호화 전분, 압축당 (compressible sugar), 예컨대 Di-Pac® (Amstar); 만니톨, 하이드록시프로필메틸셀룰로스, 하이드록시프로필메틸셀룰로스 아세테이트 스테아레이트, 수크로스-기반 희석제, 가루 설탕 (confectioner's sugar); 일염기성 황산칼슘 이수화물, 황산칼슘 이수화물; 락트산 칼슘 삼수화물, 텍스트레이트; 가수분해된 곡물 고형물, 아밀로스; 분말 셀룰로스, 탄산칼슘; 글리신, 카올린; 만니톨, 염화나트륨; 이노시톨, 벤토나이트 등을 포함할 수 있다.

[0372] 일부 구체예에서, 상기 약학적 제제는 추가의 치료제를 추가로 포함할 수 있다. 상기 추가의 치료제는 항-섬유화 효과를 가질 수 있다. 상기 추가의 치료제는 성장 인자, 사이토카인 및 매트릭스 메탈로프로테이나제 (MMP)와 같은 리간드의 억제제일 수 있다. 상기 추가의 치료제는 TGF- β , ALK5, BMP-7, PDGF, 혈소판-유래 성장 인자, VEGF, TNF, HGF, IL-13, 케모카인 (C-C 모티프) 리간드 2; CCR5, MMP, 및 TIMP의 억제제일 수 있다. 상기 추가의 치료제는 SHP-627 (FT011), 하이드로니돈 (F351), PXS-25, 디스테르타이드 (P-144), 프레솔리무맵 (GC-1008), LY2382770, STX-100, CWHM-12, SB-431542, THR-184, PF-06473871, RXI-109, FG-3019, 이마티닙, BOT-191, 닐로티닙 (AMN-107), 다사티닙, 닌테다닙 (BIBF-1120), 소라페닙 (BAY 43-9006), 탈리도마이드, 포말리도마이드, 에타네르셉트, 벨리무맵, 레파날린 (BB-3), 데크트레쿠맵 (QAX-576), 트랄로키누맵, 아나킨라, 릴로나셉트, SAR156597, 카르루맵 (CNTO-888), 빈다리트, 마라비록, RS-504393, 악티몐, 인터페론, 알파 경구용 로젠지, 바티마스타트 (BB-49), 마리마스타트, 마시텐탄, 보센탄, 암브리센탄, 스파르센탄 (RE-021), 아트라센탄, 로사르탄, BMS-986020, SAR-100842, PAR1 길항작용, 쿠르쿠민, 실리마린, β -카리오필렌, 베라프로스트, 일로프로스트, 트레프로스티닐, 아뮵타닐, 시벨레스타트, UK-396082, 세렐락신, PRM-151, 또는 디오신, NTU281일 수 있다.

[0373] 치료 요법

[0374] 일부 구체예에서, 본원에 개시된 항-Ga13 항체는 치료 적용을 위해 수여된다. 일부 구체예에서, 상기 항-Ga13 항체는 1일 1회, 1일 2회, 1일 3회 또는 그 이상 수여된다. 상기 항-Ga13 항체는 일일, 매일, 격일, 1주 5일, 1주 1회, 격주, 1개월당 2주, 1개월당 3주, 1개월 1회, 1개월 2회, 1개월당 3회, 또는 그 이상으로 수여된다. 상기 항-Ga13 항체는 적어도 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 18개월, 2년, 3년, 또는 그 이상 동안 수여된다.

[0375] 환자 상태가 개선되는 경우에, 의사의 재량에 따라 항-Ga13 항체의 투여가 지속적으로 제공되고; 대안으로서, 수여되는 항-Ga13 항체의 용량은 소정의 기간 동안 일시적으로 감소되거나 또는 일시적으로 중단된다 (즉, "휴약기 (drug holiday)"). 일부 구체예에서, 상기 휴약 기간은 2일 내지 1년 사이에서 가변되고, 예를 들어 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 10일, 12일, 15일, 20일, 28일, 35일, 50일, 70일, 100일, 120일, 150일, 180일, 200일, 250일, 280일, 300일, 320일, 350일, 또는 365일을 포함한다. 휴약 기간 동안의 용량 감소는 10%-100%이며, 예를 들어 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%를 포함한다.

[0376] 환자의 병태가 개선되면, 필요한 경우 유지 용량이 수여된다. 후속하여, 수여량 또는 수여 빈도, 또는 이들 모두는 증상의 함수로서, 개선된 질병, 장애 또는 병태가 유지되는 수준으로 감소될 수 있다.

[0377] 일부 구체예에서, 이러한 양에 상응하는 주어진 제제의 양은 특정 화합물, 질병의 중증도, 치료를 필요로 하는 대상체 또는 숙주의 아이덴티티 (identity) (예: 체중)와 같은 요인에 따라 가변되지만, 그럼에도 불구하고, 예

를 들어 투여되는 특정 제제, 투여 경로, 및 치료되는 대상체 또는 숙주를 포함하는 경우를 둘러싼 특정 상황에 따라 당해 분야에 알려진 방식으로 일상적으로 결정된다. 일부 구체예에서, 원하는 용량이 단일 용량으로 또는 동시에 (또는 단기간에 걸쳐) 또는 적절한 간격으로, 예를 들어 1일당 2, 3, 4회 또는 초과와 하위-용량으로 투여되는 분할 용량으로 편리하게 제시된다.

[0378] 개별 치료 요법과 관련된 변수의 수가 많고 이러한 권장 값으로부터 상당한 이탈이 드문 일은 아니기 때문에, 전술한 범위는 단지 암시하는 것이다. 이러한 투여량은 이에 한정되는 것은 아니지만, 사용된 화합물의 활성, 치료할 질병 또는 병태, 투여 방식, 개별 대상의 요건, 치료되는 질병 또는 병태의 중증도, 및 실무자의 판단과 같은 다수의 변수에 따라 변경된다.

[0379] 일부 구체예에서, 이러한 치료 요법의 독성 및 치료 효능은 LD50 (집단의 50%에 치명적인 용량) 및 ED50 (집단의 50%에서 치료적으로 유효한 용량)의 결정을 포함하지만, 이에 한정되지 않는 세포 배양 또는 실험 동물에서 표준 약학적 절차에 의해 결정된다. 독성 효과 및 치료 효과 간의 용량 비율이 치료 지수이고, LD50 및 ED50 간의 비율로 표시된다. 높은 치료 지수를 나타내는 화합물이 바람직하다. 세포 배양 분석 및 동물 연구로부터 수득된 데이터는 인체에 사용하기 위한 용량 범위로 제제화하는데 사용된다. 이러한 화합물의 투여량은 바람직하게는 최소 독성을 갖는 ED50을 포함하는 순환 농도 범위 내에 있다. 상기 투여량은 사용된 투여 형태 및 사용된 투여 경로에 따라 이러한 범위 내에서 가변된다.

[0380] 키트/제품

[0381] 본원에는 일부 구체예에서, 본원에 기재된 조성물들 및 방법들 중 하나 이상과 함께 사용하기 위한 키트 및 제품이 개시된다. 이러한 키트는 바이알, 튜브 등과 같은 하나 이상의 용기를 수용하도록 구획화된 캐리어, 패키지 또는 용기를 포함하며, 각 용기(들)는 본원에 기재된 방법에 사용되는 별도의 요소들 중 하나를 포함한다. 적절한 용기에는 예를 들어 보틀, 바이알, 주사기 및 시험관을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 재료로 형성된다.

[0382] 본원에 제공된 제품은 패키징 재료를 포함한다. 약학적 패키징 재료의 예로는 블리스터 팩, 보틀, 튜브, 팩, 용기, 보틀, 및 선택된 제제 및 의도된 투여 및 치료 방식에 적합한 임의의 패키징 재료를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0383] 예를 들어, 상기 용기(들)는 본원에 개시된 항-Gal3 항체, 본원에 기재된 하나 이상의 항체를 생성하기 위한 숙주 세포, 및/또는 본원에 기재된 항체를 코딩하는 핵산 분자를 포함하는 벡터를 포함한다. 이러한 키트는 선택적으로 본원에 기재된 방법에서 이의 사용과 관련된 식별 설명 또는 라벨 또는 지침을 포함한다.

[0384] 키트는 전형적으로 내용물 및/또는 사용 지침이 나열된 라벨, 및 사용 지침이 있는 패키지 인서트를 포함한다. 전형적으로 지침들 세트가 포함될 것이다.

[0385] 일부 구체예에서, 라벨은 용기 상에 존재하거나 또는 용기와 결합된다. 일부 구체예에서, 라벨을 형성하는 문자, 숫자 또는 기타 캐릭터가 용기 자체에 부착, 성형 또는 에칭되는 경우 상기 라벨은 용기 상에 존재하고; 예를 들어 패키지 인서트와 같이 용기를 보유하는 저장소 (receptacle) 또는 캐리어 내에 라벨이 존재하는 경우 라벨은 용기와 결합된다. 일부 구체예에서, 라벨은 내용물이 특정 치료 적용을 위해 사용될 것임을 표시하기 위해 사용된다. 상기 라벨에 또한 본원에 기재된 방법에서와 같이, 내용물의 사용 지침이 표시된다.

[0386] 일부 구체예에서, 상기 약학적 조성물은 본원에 제공된 화합물을 함유하는 하나 이상의 단위 투여 형태를 함유하는 팩 또는 디스펜서 장치 내에 존재한다. 상기 팩에는 예를 들어, 블리스터 팩과 같은 금속 또는 플라스틱 호일을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 팩 또는 디스펜서 장치에는 투여 지침이 동반된다. 일부 구체예에서, 상기 팩 또는 디스펜서는 또한 의약품의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 정부 기관에 의해 규정된 형식으로, 용기와 결합된 고지를 동반하며, 이러한 고지는 인간 또는 동물 투여용 약물의 형태로 해당 기관의 승인을 반영한다. 이러한 고지는 예를 들어, 미국 식품의약국이 승인한 처방 약물에 대한 라벨링, 또는 승인된 제품 인서트이다. 일부 구체예에서, 적합성 약학적 담체 중에 제제화된 본원에 제공된 화합물을 함유하는 조성물이 또한 제조되고, 적절한 용기에 배치되고, 지시된 병태의 치료에 대해 라벨링된다.

[0387] 섬유증 바이오마커

[0388] 일부 구체예에서, 섬유증은 하나 이상의 바이오마커 예컨대 콜라겐, 세포외 기질 (ECM) 분자 및 효소, 사이토카인, 단백질체 마커 (proteomic markers), 또는 유전자 마커로 특성 규명된다. 일부 경우에, 상기 섬유증 바이오마커는 콜라겐 (I, III 및 IV), 프로콜라겐 N-말단 펩티드, 피브로넥틴, 엘라스틴, 라미닌, 알파-평활근 액틴

(α -SMA), 히알루론산 (HA), 프로테오글리칸, YKL-40, TIMP-1, TIMP-2, MMP-2, MMP-9, TGF β , TNF α , 안지오텐신-II, 미세원섬유-관련 단백질 4 (MFAP-4), 트로포미오신, AZIN1의 SNP, TLR4, TRPM5, AQP2, 또는 STXBP5L을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 소정의 바이오마커의 발현 또는 부재는 하나 이상의 섬유성 질환과 관련이 있다. 항-Gal3 항체로 처리되는 경우 이러한 바이오마커의 증가 또는 감소는 조직 섬유증의 감소를 나타낼 수 있다.

[0389] 일부 구체예에서, 상기 섬유증 바이오마커는 알파-평활근 액틴 (α -SMA)이다. α -SMA는 혈관 평활근 세포 내에서 우세한 42kDa의 액틴 이소형이고, 섬유화 발생 (fibrogenesis)에 관여한다. 근섬유모세포는 평활근 표현형에 대해 부분적으로 분화된 섬유모세포의 형태이다. 특히, 근섬유모세포는 α -SMA를 포함한 세포골격 단백질을 사용하여 수축할 수 있다. 여러 섬유성 질환에서, 근섬유모세포가 축적되어 세포외 기질이 확장되는 것이 관찰되었다. 따라서, α -SMA의 변경된 발현 (예: 발현 상승)은 근섬유모세포의 활성화와 상관관계가 있으며, 추가의 경우에는 섬유증 바이오마커로서 역할을 한다.

[0390] 일부 구체예에서, 상기 섬유증 바이오마커는 피브로넥틴이다. 피브로넥틴은 상기 세포외 기질 내 고분자량 (~440 kDa) 당단백질이고, 인테그린, 콜라겐, 피브린, 및 heparan sulfate 프로테오글리칸에 추가로 결합한다. 피브로넥틴은 세포 부착, 성장, 이동, 및 분화에 주요 역할을 하며, 다수의 기능들 중 상처 치유에 더 관여한다. 피브로넥틴은 가용성 혈장 피브로넥틴 또는 불용성 세포 피브로넥틴일 수 있으며, 타입 I, II 또는 III일 수 있다. 피브로넥틴의 변경된 발현 (예: 발현 감소)은 섬유증과 관련이 있다.

[0391] 일부 구체예에서, 상기 섬유증 바이오마커는 전환 성장 인자 (TGF)-베타 1이다. TGF- β 1은 사이토카인의 TGF-베타 상위패밀리의 폴리펩티드 구성원이고, TGF- β 1은 세포 성장, 세포 증식, 세포 분화, 및 아포토시스에 관여한다. 또한, 콜라겐-생성 세포, 예컨대 섬유모세포는 TGF- β 1과 같은 섬유성 사이토카인에 의해 활성화된다. 섬유증 맥락에서, TGF- β 1은 ECM 합성의 마스터 조절인자이자, 강력한 유도인자인 것으로 제안되었다. 또한, TGF- β 1은 마크로파지, 호중구, 활성화된 폐포 상피 세포, 내피 세포, 섬유모세포 및 근섬유모세포와 같은 다양한 세포에 의해 생성된다. TGF- β 1의 활성화는 염증유발 및 섬유성 사이토카인 예컨대 TNF- α , PDGF, IL-1 β , 및/또는 IL-13의 발현을 증가시켜서, 섬유화 반응을 더욱 증진시키고, 영속화시킨다.

[0392] 일부 구체예에서, 항-Gal3 항체의 관심 조직 부위로의 투여는 하나 이상의 섬유증 바이오마커의 존재 및/또는 발현을 조절한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 콜라겐 (I, III 및 IV), 프로콜라겐 N-말단 펩티드, 피브로넥틴, 엘라스틴, 라미닌, 알파-평활근 액틴 (α -SMA), 히알루론산 (HA), 프로테오글리칸, YKL-40, TIMP-1, TIMP-2, MMP-2, MMP-9, TGF β , TNF α , 안지오텐신-II, 미세원섬유-관련 단백질 4 (MFAP-4), 트로포미오신, AZIN1의 SNP, TLR4, TRPM5, AQP2, 및 STXBP5L로부터 선택되는 하나 이상의 섬유증 바이오마커의 존재 또는 부재 또는 발현을 변경한다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 α -SMA, 피브로넥틴, TGF- β 1, 또는 이들의 조합의 존재 또는 부재 또는 발현을 변경한다. 일부 구체예에서, 항-Gal3 항체의 관심 조직 부위에의 투여는 α -SMA의 발현의 감소를 유도한다. 일부 구체예에서, 항-Gal3 항체의 관심 조직 부위에의 투여는 피브로넥틴의 발현의 증가를 유도한다. 일부 구체예에서, 항-Gal3 항체의 관심 조직 부위에의 투여는 TGF- β 1 발현의 감소를 유도한다.

[0393] 일부 구체예에서, 하나 이상의 섬유증 바이오마커를 사용하여 섬유증의 존재 또는 부재, 또는 섬유증의 진행을 모니터링하였다.

[0394] 일부 경우에, 본원에 개시된 섬유증 바이오마커의 발현 감소는 조직 섬유증의 감소를 나타낼 수 있다.

[0395] 일부 경우에, 항-Gal3 항체로 치료된 조직에서 적어도 하나의 섬유증 바이오마커의 발현은 대조군 항체로 치료된 대조군 조직에서 적어도 하나의 섬유증 바이오마커의 발현과 상이하다. 일부 경우에, 상기 대조군 항체는 상기 기재된 하나 이상의 에피토프에 결합하지 않고 및/또는 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해하지 않는 항-Gal3 항체이다. 일부 경우에, 상기 대조군 항체는 IgG2b 항체, 예컨대 무린 IgG2b (mIgG2b) 항체이다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체로 치료된 조직에서 적어도 하나의 섬유증 바이오마커의 발현은 mIgG2b 항체로 치료된 대조군 조직에서 적어도 하나의 섬유증 바이오마커의 발현보다 적다.

[0396] 섬유성 질환

[0397] 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체가 하나 이상의 섬유성 질환을 치료하기 위해 투여될 수 있다. 상기 섬유성 질환은 간 섬유증일 수 있다. 상기 섬유성 질환은 폐 섬유증일 수 있다. 상기 섬유성 질환은 낭포성 섬유증, 특발성 폐 섬유증, 골수 섬유증, 간질성 폐 질환, 간 섬유증, 진행성 거대종괴성 섬유증, 경화증, 신장 섬유증, 심장 섬유증, 폐렴, 폐 섬유증, 췌장 섬유증, 골수 섬유증, 장 섬유증, 관절 섬유증, 망막 섬유증, C형

간염-관련 섬유증, 또는 신인성 전신 섬유증일 수 있다.

[0398]

일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체가 α -SMA 또는 피브로넥틴의 발현과 관련된 섬유성 질환에 투여될 수 있다. α -SMA 증가와 관련된 섬유성 질환은 신장 섬유증, 간 섬유증, 경화증, C형 간염-관련 섬유증, 심장 섬유증, 폐 섬유증, 간질성 폐 질환, 특발성 폐 섬유증, 폐렴, 골수 섬유증, 관절 섬유증, 망막 섬유증, 또는 신인성 전신 섬유증일 수 있다. 피브로넥틴 발현과 관련된 섬유성 질환은 낭포성 섬유증, 폐 섬유증, 특발성 폐 섬유증, 골수 섬유증, 간질성 폐 질환, 간 섬유증, 진행성 거대종괴성 섬유증, 경화증, 신장 섬유증, 심장 섬유증, 폐렴, 폐 섬유증, 체장 섬유증, 골수 섬유증, 장 섬유증, 관절 섬유증, 망막 피브로넥틴, C형 간염-관련 섬유증, 또는 신인성 전신 섬유증일 수 있다.

[0399]

치료 대상은 섬유성 질환으로 진단될 수 있다. 일부 구체예에서, 상기 치료 대상은 인간, 래트, 마우스, 또는 다른 동물일 수 있다. 일부 구체예에서, 상기 치료 대상은 포유동물일 수 있다. 일부 구체예에서, 상기 포유동물은 인간일 수 있다. 상기 포유동물은 영장류일 수 있다. 상기 영장류는 침팬지 또는 고릴라일 수 있다.

[0400]

일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 Gal3 단백질내 특정 에피토프에 결합한다. 일부 경우에, 항-Gal3 항체는 **서열번호: 1** (hGal3)의 잔기 2-21에 해당하는 Gal3 영역내 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 15, 또는 20개의 아미노산 잔기에 결합할 수 있다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3은 **서열번호: 1**의 잔기 42-71에 해당하는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 15, 또는 20개의 아미노산 잔기에 결합할 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 항-Gal3은 **서열번호: 1**의 잔기 42-91에 해당하는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 15, 20, 30, 40, 또는 50개의 아미노산 잔기에 결합할 수 있다. 대안으로서, 상기 항-Gal3 항체는 **서열번호: 1**의 잔기 72-91에 해당하는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 15, 또는 20개의 아미노산 잔기에 결합할 수 있다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 잔기 2-21 및 42-71; 42-91; 2-21 및 72-91; 또는 2-21 및 42-91에 해당하는 하나 이상의 잔기에서 Gal3에 결합할 수 있다. Gal3 및 TIM-3 서열은 하기 표 1에 열거되어 있다.

표 1

표 1		
	서열번호	서열
갈렉틴-3 (Gal3) 펩티드 서열 이소형 1 (호모 사피엔스) NCBI 참조 번호: NP_002297.2	1	MADNFSLHDALSGSGNPNPQGWPGAWGNQPAGAGGYPGAS YPGAYPGQAPPGAYPGQAPPGAYPGAPGAYPGAPAGVYYPG PPSGPGAYPSSGQPSATGAYPATGPYGPAGAPGLIVPYNLPLPG GVVPRMLITILGTVKPNANRIALDFQRGNDVAFHFNPRFNEN NRRVIVCNTKLDNNWGREERQSVFPFESGKPFKIQVLVEPDH FKVAVNDAHLLQYNHRVKKLNEISKLGISGDIDLTSASYTMI
GAL3 뉴클레오티드 서열 이소형 1 (호모 사피엔스) NCBI 참조 번호: NM_002306.4	35	gcccgcagcacctcctcgcagcagccgtccggagccagccaacgagcggaaaatg gcagacaatttttcgctccatgatgcgttatctgggtctggaacccaaacctcaaggat ggcctggcgcatgggggaaccagcctgctggggcagggggctaccaggggttcct atcctggggcctacccgggcaggcaccccccagggttatcctggacagggcacctcc aggcgccctaccctggagcacctggagcttatccggagcacctgcacctggagctacc cagggccaccagcggccctggggcctaccatcttctggacagccaagtgccaccg

[0401]

		gagcctaccctgccactggccctatggcgccctgctgggactgattgtgccttata acctgcctttgcctggggagtggtgcctcgcagctgataacaattctgggcacggtga agcccaatgcaaacagaattgctttagatttccaaaggaggaalgalgttgccttccacttt aacccacgcttcaatgagaacaacaggagagtcattgttgaatacaaaagctggataat aactggggaagggaagaaagacagtcgggtttccatttgaagtggaaccattcaa aatacaagtactggtgaacctgaccactcaaggttcagtgaaatgatgctcactgtgtgc agtacaatcatcgggttaaaaaactcaatgaaatcagcaaaactgggaatttctggtgacat agacctaccagtgcttcatalaccatgatataatctgaaaggggcagattaaaaaaaaa aaagaatctaaaccttacctgtgtaaagggttcatgttactgtgagtgaaaattttacattc atcaatatccctcttgaagtcacttacttaataaattattacagtgaattacctgtctcaa
TIM-3 펩티드 서열 (호모 사피엔스) NCBI 참조 번호: NP_116171.3	2	MFSHLPFDCVLLLLLLLLLRSSEVEYRAEVGQNAYLPCFYTP AAPGNLVPVCWGKGACPVFECGNVLRTERDVNYWTSRY WLNGDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNL KLVIKPAKVTPAPTRQRDFTAAFPRMLTTRGHGPAETQTLGS LPDINLTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATIRIGIYIGAGICAG LALALIFGALIFKWYSHSKEIKQNLSLISLANLPPSGLANAVAE GIRSEENIYTIENNVYEVEEPNEYCYVSSRQQPSQPLGCRFA MP
TIM-3 뉴클레오티드 서열 (호모 사피엔스) NCBI 참조 번호: NM_032782.5	36	atttggagagttaaaactgtgcctaacagaggtgtcctctgacttttcttctgaagctccat gttttcacatcttcccttgactgtgtcctgctgctgctgctgactacttacaaggtcctca gaagtggaaatagagagcggaggtcggcagaatgcctatctgacctgttctacacccc agccgccccagggaaacctcgtgcccgtctgctggggcaaaggagcctgtcctgtgtttg aatgtggcaacgtggtgctcaggactgatgaaaggatgtgaattattggacatccagat actggctaataagggttccgcaaaggagatgttccctgaccatagagaatgtgactc tagcagacagtggtgatctactgtgcccgatccaaatcccaggcataatgaatgatgaaa aatttaacctgaagtgggtcatcaaacagccaagggtcacccctgcaccgactcggcaga gagacttactgcagcctttccaaggatgcttaccaccaggggacatggccagcagag acacagacactggggagcctcctgatataaatctaacacaaatattccacttggccaat gagttacgggactctagattggccaatgacttaccgggactctggagcaaccatcagaata ggcatctacatcggagcagggatctgtgctgggctggcttggcttcttcttggcgcttt aattttcaaatggtattctcatagcaaagagaagatacagaatttaagcctcatcttttggc caacctcctcctcaggattggcaaatgcagtagcagagggaattcgtcagaagaaa acatctataccattgaagagaacgtataggaaggaggagcccaatgagtattattgctat gtcagcagcaggcagcaacctcacaacctttgggttgcctttgcaatgccatagatc caaccaccttattttgagcttgggttttgccttttgcagaactatgagctgtgtcacctgact ggttttggagggtctgtccactgctatggagcagagttttccattttcagaagataatgact cacatgggaattgaactgggacctgactgaacttaaacaggcatgtcattgcctctgtatt taagccaacagagttaccaaacccagagactgttaatcatggatgttagagctcaaacgg gcttttatatacactaggaattcttgactgtgggtctctggagctccaggaaattcgggcac atcataatgtccatgaaacttcagataaactagggaactgggtgctgaggtgaaagcat aactttttggcacagaaagtctaaaggggccactgattttcaaagagatctgtgatcccttt ttgtttttgttttgagatggagcttctgtctgttggccaggctggagtgaatggcacaatc tcggctactgcaagctccgctcctgggttcaagcgatttccctgcctcagcctcctgag tggctgggattacaggcatgcaccacatgccagctaatttgtgtatttttagtagagac agggtttcaccatgttgccagtggtgtctaaactcctgacctcatgatttgcctgcctcg gcctcccaaaagcactgggattacaggcgtgagccaccacatccagccagtgtatccttaa
		aagattaagagatgactggaccagggtctaccttgatcttgaagattcccttggaaatgtgag atttaggcttatttgagcactgcctgccaactgtcagtgccagtgcatagcccttctttgtc tcccttatgaagactgcctgcagggtgagatgtggcaggagctccagggaacaaac gaagtgcatttgattgtgtgtattggccaagttttgcttgggtgtgcttgaagaaaatc tctgaccaacttctgtatctgtgaccaaactgaagctatattttcacagaagaagaagca gtgacggggacacaaattctgttgcctggtggaagaaggcaaggccttcagcaatct atattaccagcgtggtacctttgacagagagtggtccctaaacttaatttcaagcggta taggcttgatctgtcttattgttggccctgcgcctagcacaattctgacacacaattg gaacttactaaaaatttttttactgtt

[0402]

[0403]

[0404]

일부 구체예에서, 상기 항-Ga13 항체는 하기 표 2 (및 도 11a에 도시됨)에 예시된 펩티드 내의 적어도 1, 2, 3,

4, 5, 6, 10, 15, 또는 20개의 아미노산 잔기에 결합할 수 있다.

표 2

표 2					
hGal3 펩티드 번호	서열번호	서열	hGal3 펩티드 번호	서열번호	서열
1	3	ADNFSLDALSGSGN PNPQG	13	15	LPGGVVPRMLITILGT VKPN
2	4	SGSGNPNPQGWPGA WGNQPA	14	16	ITILGTVKPNANRIAL DFQR
3	5	WPGA WGNQPAGAG GYPGASY	15	17	ANRIALDFQRGNDVA FHFNP
4	6	GAGGYPGASYPGAY PGQAPP	16	18	GNDVAFHFNPFRFEN NRRVI
5	7	PGAYPGQAPPAYPG QAPP	17	19	RFNENNRVIVCNTK LDNNW
6	8	GAYPGQAPPAYPG APGAYP	18	20	VCNTKLDNNWGREE RQSVFP
7	9	AYPGAPGAYPGAPAP GVYPG	19	21	GREERQSVFPFESGK PFKIQ
8	10	GAPAPGVYPGPPSGP GAYPS	20	22	FESGKPFKIQVLVEPD HFKV
9	11	PPSGPGAYPSSGQPSA TGAY	21	23	VLVEPDHFKVAVND AHLQY
10	12	SGQPSATGAYPATGP YGAPA	22	24	AVNDAHLLQYNHRV KKLNEI
11	13	PATGPY GAGAPLIV PYNLP	23	25	NHRVKKLNEISKLGIS GDID
12	14	GPLIVPYNLPLPGGV VPRML	24	26	SKLGISGDIDLTASYS TMI

[0405]

[0406]

일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 펩티드_1 (서열번호: 3), 펩티드_5 (서열번호: 4), 펩티드_6 (서열번호: 5), 또는 펩티드_8 (서열번호: 6) 내의 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 15, 또는 20개의 아미노산 잔기에 결합할 수 있다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 펩티드_1 (서열번호: 3) 내의 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 15, 또는 20개의 아미노산 잔기에 결합할 수 있다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 펩티드_5 (서열번호: 4) 내의 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 15, 또는 20개의 아미노산 잔기에 결합할 수 있다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 펩티드_6 (서열번호: 5) 내의 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 15, 또는 20개의 아미노산 잔기에 결합할 수 있다. 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 펩티드_8 (서열번호: 6) 내의 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 15, 또는 20개의 아미노산 잔기에 결합할 수 있다.

[0407]

일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체는 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 추가로 방해한다. TIM-3은 면역 세포, 특히 T 세포에서 발현되는 분자이고, Gal3과의 상호작용을 통해, 면역 반응, 예컨대 T 세포 신호전달을 억제할 수 있다.

[0408]

일부 구체예에서, 상기 Gal3-TIM-3 항체는 Gal3 및 TIM-3 상호작용이 일어나는 계면에 기반하여 디자인된다. Gal3에 대한 상호작용은 영역 145-168, 149-168, 160-177, 및/또는 165-184로부터 선택된 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있으며, 여기서 상기 영역은 서열번호: 1의 위치 145-168, 149-168, 160-177, 및 165-184에 해당한다. 일부 구체예에서, Gal3에 대한 상호작용은 영역 145-177 내의 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있고, 여기서 상기 영역 145-177은 서열번호: 1의 위치 145-177에 해당한다. 상기 상호작용은 영역 160-184 내의 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있고, 여기서 상기 영역 160-184는 서열번호: 1의 위치 160-184에 해당한다. 일부 구체예에서, 상기 상호작용은 영역 145-184 내의 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있고, 여기서 상기 영역 145-184는 서열번호: 1의 위치 145-168에 해당한다.

[0409]

일부 구체예에서, 상기 Gal3-TIM-3 항체는 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해하며, 여기서 상기 Gal3에 대한

상호작용은 **서열번호: 1**의 영역 145-168, 149-168, 160-177, 및/또는 165-184로부터 선택된 하나 이상의 잔기를 연루시킨다. 상기 Gal3에 대한 상호작용은 **서열번호: 1**의 영역 145-177 내의 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있다. 상기 상호작용은 **서열번호: 1**의 영역 160-184 내의 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있다. 상기 상호작용은 **서열번호: 1**의 영역 145-184 내의 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있다.

[0410] 일부 구체예에서, 상기 상호작용은 영역 149-156, 152-171, 152-169, 152-168, 163-169, 또는 163-171로부터 선택된 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있고, 여기서 상기 영역은 **서열번호: 1**의 위치 149-156, 152-171, 152-169, 152-168, 163-169, 및 163-171에 해당한다. 일부 구체예에서, 상기 Gal3-TIM-3 항체는 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해하고, 여기서 상기 Gal3에 대한 상호작용은 영역 149-156, 152-171, 152-169, 152-168, 163-169, 또는 163-171로부터 선택된 하나 이상의 잔기를 포함하고, 여기서 상기 영역은 **서열번호: 1**의 위치 149-156, 152-171, 152-169, 152-168, 163-169, 및 163-171에 해당한다. 상기 상호작용은 영역 149-156으로부터 선택된 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있고, 여기서 상기 영역은 **서열번호: 1**의 위치 149-156에 해당한다. 상기 상호작용은 영역 163-169 내의 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있고, 여기서 상기 영역은 **서열번호: 1**의 위치 163-169에 해당한다. 상기 상호작용은 영역 163-171 내의 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있고, 여기서 상기 영역은 **서열번호: 1**의 위치 163-171에 해당한다. 상기 상호작용은 영역 152-169 내의 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있고, 여기서 상기 영역은 **서열번호: 1**의 위치 152-169에 해당한다. 상기 상호작용은 영역 152-171 내의 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있고, 여기서 상기 영역은 **서열번호: 1**의 위치 152-171에 해당한다. 상기 상호작용은 영역 163-171 내의 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있고, 여기서 상기 영역은 **서열번호: 1**의 위치 163-171에 해당한다.

[0411] 일부 구체예에서, 상기 Gal3-TIM-3 항체는 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 방해하고, 여기서 상기 Gal3에 대한 상호작용은 **서열번호: 1**의 영역 149-156, 152-171, 152-169, 152-168, 163-169, 또는 163-171로부터 선택된 하나 이상의 잔기를 연루시킨다. 상기 상호작용은 **서열번호: 1**의 영역 149-156 내의 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있다. 상기 상호작용은 **서열번호: 1**의 영역 163-169 내의 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있다. 상기 상호작용은 **서열번호: 1**의 영역 163-171 내의 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있다. 상기 상호작용은 **서열번호: 1**의 영역 152-169 내의 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있다. 상기 상호작용은 **서열번호: 1**의 영역 152-171 내의 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있다. 상기 상호작용은 **서열번호: 1**의 영역 163-171 내의 Gal3의 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있다.

[0412] 상기 Gal3-TIM-3 항체는 본원에 기재된 위치에서 TIM-3과 접하는 Gal3 영역 내의 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 15, 20, 30, 또는 40개의 아미노산 잔기와 상호작용할 수 있다.

[0413] TIM-3에 대한 상호작용은 위치 72-104 및/또는 64-93에 해당하는 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있고, 여기서 상기 잔기는 **서열번호: 2**의 위치 90-122 및 82-111에 해당한다. 대안으로서, TIM-3에 대한 상호작용은 위치 91-111, 107-117, 96-102, 100-106, 및/또는 92-119에서 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있고, 여기서 상기 잔기는 **서열번호: 2**의 위치 91-111, 107-117, 96-102, 100-106, 및 92-119에 해당한다. TIM-3에 대한 상호작용은 위치 91-117, 91-119, 96-117, 100-117, 또는 96-106에서 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있다. 상기 Gal3-TIM-3 차단 항체 (disrupting antibody)는 본원에 기재된 위치에서 Gal3과 접하는 TIM-3 영역 내의 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 15, 20, 30, 또는 40개의 아미노산 잔기와 상호작용하도록 디자인될 수 있다.

[0414] 일부 경우에, 상기 상호작용은 **서열번호: 1**의 영역 149-156, 152-168, 163-169, 및/또는 163-171로부터 선택된 Gal3의 하나 이상의 잔기; 및 **서열번호: 2**의 위치 90-122 및/또는 82-111에 해당하는 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있다. 상기 상호작용은 **서열번호: 1**의 영역 149-156, 152-168, 163-169, 및/또는 163-171로부터 선택된 Gal3의 하나 이상의 잔기; 및 **서열번호: 2**의 위치 91-111, 107-117, 96-102, 100-106, 및/또는 92-119에서 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있다. 상기 Gal3에 대한 상호작용은 **서열번호: 1**의 영역 145-168, 160-177, 및/또는 165-184로부터 선택된 하나 이상의 잔기; 및 **서열번호: 2**의 위치 90-122 및/또는 82-111에 해당하는 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있다. 상기 Gal3에 대한 상호작용은 **서열번호: 1**의 영역 145-168, 160-177, 및/또는 165-184로부터 선택된 하나 이상의 잔기; 및 **서열번호: 2**의 위치 91-111, 107-117, 96-102, 100-106, 및/또는 92-119에서 하나 이상의 잔기에서 발생할 수 있다. 상기 Gal3-TIM-3 차단 항체는 본원에 기재된 위치에서 서로 계면에 있는 Gal3 영역 및 TIM-3에서 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 15, 20, 30, 또는 40개의 아미노산 잔기와 상호작용하도록 디자인될 수 있다.

[0415] 본원에 제공된 임의의 구체예에 있어서, 사용된 항-Gal3 항체는 다른 항-Gal3 항체로 치환될 수 있다. 이러한 항-Gal3 항체는 2D10.2B2, 3B11.2G2, 4A11.2B5, 4G2.2G6, 6H6.2D6, 7D8.2D8, 12G5.D7, 13A12.2E5, 13G4.2F8,

13H12.2F8, 14H10.2C9, 15F10.2D6, 15G7.2A7, 19B5.2E6, 19D9.2E5, 20D11.2C6, 20H5.A3, 23H9.2E4, 24D12.2H9, 846.1F5, 846.2H3, 846T.1H2, 9H2.2H10, IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, IMT006-8, 및 mIMT001 (IMT001)로 구성된 그룹으로부터 선택될 수 있다. 이러한 항-Gal3 항체는 2D10.2B2, 3B11.2G2, 4A11.2B5, 4G2.2G6, 6H6.2D6, 7D8.2D8, 12G5.D7, 13A12.2E5, 13G4.2F8, 13H12.2F8, 14H10.2C9, 15F10.2D6, 15G7.2A7, 19B5.2E6, 19D9.2E5, 20D11.2C6, 20H5.A3, 23H9.2E4, 24D12.2H9, 846.1F5, 846.2H3, 846T.1H2, 9H2.2H10, IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, IMT006-8, 또는 mIMT001, 또는 이들의 임의의 조합일 수 있다. 이러한 항-Gal3 항체는 mIMT001일 수 있다. 이러한 항-Gal3 항체는 mIMT001 이외의 항체일 수 있다. 이러한 항-Gal3 항체는 4A11.2B5일 수 있다. 이러한 항-Gal3 항체는 IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 또는 IMT006-8 중 하나 이상일 수 있다. 이러한 항-Gal3 항체는 4A11.2B5일 수 있다. 이러한 항-Gal3 항체는 하나의 IMT001-4일 수 있다. 이러한 항-Gal3 항체는 IMT006-1일 수 있다. 이러한 항-Gal3 항체는 IMT006-5일 수 있다. 이러한 항-Gal3 항체는 IMT006-8일 수 있다. 일부 구체예에서, 상기 항체는 이들 항체들 중 임의의 하나 이상의 CDRs, VH, 및/또는 VL 중 하나 이상을 포함한다.

[0416] 실시예

[0417] 상기 논의된 구체예들의 일부 양상들이 하기 실시예에서 더 상세히 개시되며, 이는 본 개시내용의 범위를 어떤 방식으로든 제한하려는 의도는 아니다. 당업자는 본원에서 상기 및 청구범위에 기재된 바와 같이, 많은 다른 구체예가 또한 본 발명의 범위 내에 포함된다는 것을 이해할 것이다.

[0418] 실시예 1: Gal3-과발현 세포주의 생성

[0419] ATCC (American Tissue and cell culture Collection, Manassas, VA)로부터 입수한 마우스 B 림프종 세포주인 A20을, Flag-태그된 인간 Gal3 단백질 또는 Flag-태그된 인간 PDL1 단백질을 코딩하는 핵산 구조체로 형질감염시켰다. 상기 구조체는 항생제-내성 마커를 추가로 함유한다. 상기 형질전환된 세포는 Flag-태그된 인간 Gal3 단백질을 안정적으로 발현하는 A20 세포 (A20 Gal3 세포) 또는 Flag-태그된 인간 PDL1 단백질을 안정적으로 발현하는 A20 세포 (A20 hPDL1 세포)를 형성하기 위해 항생제 내성에 기반하여 선택되었다.

[0420] 실시예 2. Gal3은 TIM-3에 특이적으로 결합한다.

[0421] 본 실시예는 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 평가하기 위해 수행된 다양한 분석법을 설명한다.

[0422] 결합 분석법 - 공동-면역침강

[0423] 공동-면역침강 실험은 TIM-3이 Gal3과 특이적으로 상호작용하는지 여부를 테스트하기 위해 수행하였다. 293T 세포를, HA-태그된 TIM-3을 코딩하는 플라스미드, 및 Flag-태그된 Gal3, Flag-태그된 Gal9, 또는 Flag-태그된 CEACAM1을 코딩하는 플라스미드로 공동-형질감염시켰다. 상기 형질감염은 제조사의 프로토콜에 따라 리포팩타민 3000 (Waltham, MA)을 사용하여 수행되었다. 상기 형질감염된 세포를 밤새 성장시킨 다음에, 세척하고, 1 ml의 용해 버퍼 (lysis buffer)에서 용해시켰다. 상기 용해된 세포를 원심분리하고, 상등액 (용해물)을 수집하였다. 상기 용해물을 제조하고, SDS PAGE에서 분리하고, 항-HA (도 1a) 및 항-Flag 항체 (도 1b)로 각각 프로빙 (probing)하였다. 상기 항-Flag 및 항-HA 항체들은 모두 Sigma로부터 구입하였다. 도 1a 및 도 1b에서 화살표는 다양한 단백질의 존재를 나타낸다.

[0424] 면역침강을 위해, 항-Flag 아가로스 비드 (Abcam, Cambridge, MA)를 상기에서 제조된 상등액 (용해물)에 부가하였다. 상기 비드 및 용해물을 4℃에서 밤새 회전하면서 인큐베이션하여 상기 Flag-태그된 단백질이 부착되도록 하였다. 그 다음에 상기 비드를 용해 버퍼로 3회 세척하고, 1x SDS PAGE 샘플 버퍼와 혼합하고, 끓이고, SDS-PAGE에서 분리하였다. 상기 SDS-PAGE 겔을 항-HA 항체로 프로빙된 멤브레인 상에 전달하였다 (도 1c). 도 1a-c에서, 레인 (lanes) 1-3은 세포들로부터 생성된 용해물로부터의 결과를 나타내며, 상기 세포들은 각각 HA-태그된 TIM-3을 코딩하는 플라스미드 및 Flag-태그된 Gal3을 코딩하는 플라스미드로 공동-형질감염된 세포; HA-태그된 TIM-3을 코딩하는 플라스미드 및 Flag-태그된 Gal9를 코딩하는 플라스미드로 공동-형질감염된 세포, 또는 HA-태그된 TIM-3을 코딩하는 플라스미드 및 Flag-태그된 CEACAM1을 코딩하는 플라스미드로 공동-형질감염된 세포이다.

[0425] 도 1a-c에 나타난 바와 같이, 결과는 인간 Gal3이 인간 TIM-3을 특이적으로 풀다운한 반면에, 인간 CEACAM1은 HA-태그된 인간 TIM-3을 풀다운할 수 없음을 나타낸다. 인간 Gal9가 또한 인간 TIM-3을 풀다운하는 것으로 나타났다 (도 1c의 레인 2), 이는 Gal9 단백질 응집으로 인해 비-특이적인 것으로 나타났다 - Gal9의 분자량은 40kDa의 이의 실제 크기보다 훨씬 더 큰 것으로 나타났다. Gal9 및 TIM-3 간의 상호작용이 본질적으로 비-특이

적이라는 결론은 또한 하기 도 5b에 도시된 증거에 의해 뒷받침된다.

[0426] 추가의 공동-면역침강 실험은 Gal3이 TIM-3과 특이적으로 상호작용하는지를 테스트하기 위해 수행하였다. Flag-인간 Gal3 플라스미드 (OriGene, Rockville, MD)를 293T 세포로 형질감염시키고, 상기 세포는 80%의 컨플루언시 (confluency)에 있었다. 상기 형질감염은 상기 기재된 바와 같이 리포펙타민 3000을 사용하여 10 cm의 플레이트에서 수행하였다. 밤새 형질감염시킨 후에, 상기 세포는 인간 Fc, 인간 PD1-Fc, 또는 인간 TIM-3 Fc로 3시간 동안 코팅시킨 10 cm의 플레이트로 교체하였다. 상기 세포를 1x PBS로 1회 세척한 다음에, 1 ml의 용해 버퍼에서 용해시켰다. 세포 용해물을 수집하고, 원심분리하였다. 단백질을 G 비드를 원심분리 후에 형성된 상등액에 부가하고, 4℃에서 4시간 동안 회전시켜서 인큐베이션하였다. 그 다음에, 상기 비드를 용해 버퍼로 3회 세척한 다음에, 1x SDS PAGE 샘플 버퍼를 부가하였다. 상기 비드를 함유하는 샘플을 끓이고, SDS-PAGE에서 분리하고, 멤브레인 상에 전달하였다. 그 다음에 상기 멤브레인을 항-Flag 항체로 프로빙하였다. 도 2에 도시된 바와 같이, 인간 TIM-3은 Flag-태그된 Gal3을 특이적으로 폴다운하였다. 대조적으로, 인간 Fc 또는 인간 PD1 Fc 모두 TIM-3을 폴다운할 수 없었다. 이는 Gal3이 Fc 또는 PD1 Fc에 결합하지 않고, Gal3 및 TIM-3 간의 결합이 특이적임을 나타낸다.

[0427] 결합 분석법 - 세포 부착 분석법

[0428] 다음, 세포 부착 분석법은 Gal3 및 TIM-3의 결합을 확인하기 위해 수행하였다. 본 실험에서, 96-웰 플레이트를 4℃에서 밤새 인간 Fc, 인간 PD1-Fc, 인간 VISTA-Fc, 인간 TIM-3-Fc로 코팅한 다음에, 37℃에서 2시간 동안 PBS 중 2% BSA로 차단하였다. A20, 인간 Gal3을 과발현하는 A20 세포 (A20 Gal3), 또는 인간 PDL1을 과발현하는 A20 세포 (A20 PDL1) 세포를, 상기 기재된 바와 같이 다양한 Fc 단백질로 코팅된 웰에 시딩하였다. 그 다음에 상기 플레이트를 720 rpm으로 원심분리한 다음에 정지시켰다. 상기 플레이트를 37℃에서 30분 동안 인큐베이션한 다음에, PBS에 담그었다. 상기 플레이트를 천천히 180도 뒤집고, 뒤집힌 위치에서 30분 동안 유지하였다. 상기 플레이트를 다시 뒤집어 PBS로부터 꺼낸 후에, 각 웰로부터 200 µl의 용액을 꺼내고, 버리고, 나머지 용액인 부피 약 100 µl를 96-웰 플레이트에 전달하였다. 상기 세포를 유세포 분석에 의해 계수하였다.

[0429] 결과 (도 3)로부터, 인간 TIM-3 Fc 코팅된 플레이트에 부착된 인간 Gal3을 발현하는 A20 (A20 Gal3) 세포의 수가 인간 VISTA Fc 또는 인간 PD1 Fc로 코팅된 플레이트에 부착된 세포의 수보다 유의미하게 더 많음을 나타낸다. 예상대로, PDL1은 PD1에 대해 알려진 리간드이기 때문에, hPD1 Fc에 부착되는 것으로 나타난 A20 PDL1 세포의 수는 인간 VISTA Fc 또는 인간 TIM-3 Fc로 코팅된 플레이트에 부착된 세포의 수보다 유의미하게 많았다. 이러한 결과는 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용이 특이적임을 추가로 확인하였다.

[0430] 차단 분석법 - 유세포 분석

[0431] 유세포 분석은 A20 세포를 사용하여 TIM-3 및 Gal3 간의 결합을 평가하기 위해 수행하였다. A20 Gal3 세포를 얼음 위에서 마우스 TIM-3 Fc를 함유하거나 또는 함유하지 않는 10% FBS HBSS 용액과 함께 20분 동안 인큐베이션하였다. 여기에는 5개의 실험 그룹이 있다: 그룹 1에서, A20 Gal3 세포는 대조군으로서 mTIM-3 Fc 단백질 없이 인큐베이션되었고; 그룹 2에서, A20 Gal3 세포는 mTIM-3 Fc 단백질과 함께 인큐베이션되었으며; 그룹 3, 4, 5에서, mTIM-3 Fc 단백질에 추가하여, 항-마우스 TIM-3 폴리클로날 항체 (R&D System, Minneapolis, MN) (그룹 3), 모노클로날 항체 RMT3-23 (Bio X cell, West Lebanon, NH) (그룹 4), 모노클로날 항체 215015 (R&D Systems) (그룹 5)가 또한 Gal3 및 TIM-3 결합을 차단할 수 있는지를 테스트하기 위해 이들 항체를 부가하였다. 차단을 위해, 세포를 언급된 항체를 함유하는 10% FBS HBSS와 함께 인큐베이션한 다음에, mTIM-3 Fc를 함유하는 10% FBS HBSS를 20분 동안 부가하였다. 샘플을 원심분리하고, 펠렛에 APC 접합된 항-hFc 항체 (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA)를 함유하는 10% FBS HBSS를 20분 동안 부가하였다. 회전 후에, 살아있는/죽은 세포 (live/dead cells)를 Violet 사세포 염색 키트 (Life Technologies)로 염색하였다. 염색된 세포는 유동 분석 (flow analysis)을 수행하였다.

[0432] 도 4는 mTIM-3이 죽은 세포 및 살아 있는 세포 상의 Gal 3 단백질에 결합할 수 있고, Gal3 및 죽은 세포는 TIM-3 상의 상이한 에피토프에 결합하는 것을 보여주었다. 도 4a는 유세포 분석에 의해 살아있는 A20 세포 (좌측 피크) 및 죽은 A20 세포 (우측 피크)를 보여준다. 본 분석에서, TIM-3 Fc는 죽은 세포 (도 4c, 2행) 및 살아있는 세포에서 발현된 Gal3 (도 4b, 2행) 모두에 결합한다. 그러나, mTIM-3 모노클로날 항체 RMT3-23은 TIM-3의 죽은 세포에의 결합을 차단했지만 (도 4c, 4행), 살아있는 세포에서 발현된 Gal3에의 결합을 차단하지 않았다 (도 4b, 4행). 이는 상기 Gal3 및 죽은 세포가 TIM-3 상의 상이한 에피토프에 결합한다는 것을 보여준다. 대조군으로서, mTIM-3 폴리클로날 항체 또는 모노클로날 항체 215015 (R&D System, Minneapolis, MN) 어느 것도 TIM-3의 Gal3에의 결합 (도 4b, 3행 및 5행) 또는 이의 죽은 세포에의 결합 (도 4c, 3행 및 5행)에 어떠한 영향

도 미치지 않았다.

[0433] 차단 분석법 - ELISA

[0434] ELISA 분석법은 또한 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 테스트하기 위해 수행하였다. 96 웰 ELISA 플레이트 (ThermoFisher Scientific)를, PBS 중 마우스 Gal3 단백질 (BioLegend, San Diego, CA) 또는 PBS 중 인간 Gal9 단백질 (R&D systems) 또는 에탄올 중 포스포티딜세린 (PS) (Sigma)으로 코팅하고, 4℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 상기 플레이트를 TBST로 3회 세척한 다음에, 2% BSA를 함유하는 PBS 버퍼로 실온에서 1시간 동안 차단하였다. 도 5a에서, 상이한 항 Gal3 항체들, 즉 mGal3 폴리클로날 항체 (R&D systems), mAb IMT001 (또한, WO 2019/023247에 기재되고, 이의 전문이 참조로 본원에 명시적으로 통합됨), mAb M3/38 (ThermoFisher Scientific) (도 5a)을 Gal3으로 코팅된 웰에 부가하였다. 상기 항체를 10분 동안 인큐베이션한 다음에, 마우스 TIM-3 Fc를 상기 플레이트에 부가하고, 추가 1시간 동안 인큐베이션하였다. 그 다음에 상기 플레이트를 3회 세척하고, 항-인간-IgG-HRP (Jackson ImmunoResearch)와 함께 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. TBST로 3회 세척한 후에 TMB Substrate (GeneTex, Irvine, CA)로 색상을 발색하고, 상기 반응을 1N HCl로 종료시켰다. 광학 밀도 (OD)를 450 nm에서 판독하였다. 결과는 중복 실험의 평균 OD $\pm$ SD로 표시하였다. 결과는 도 5a에서 테스트된 모든 항체들 중에, 마우스 Gal3 폴리클로날 항체 및 모노클로날 항체 IMT001이 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 차단하였음을 보여주었다 (도 5a).

[0435] 도 5b에서, PBS 중 마우스 Gal3 단백질 (BioLegend) (그룹 1 및 2) 또는 에탄올 중 PS (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) (그룹 3 및 4)를 상기 플레이트 상에 코팅하고, 4℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 항 mTIM-3 마우스 항체인, mAb RMT3-23 (Bio X cell)을 그룹 2 및 4에 대해서만 코팅된 플레이트에 부가하였다. 2차 항 인간-IgG-HRP 항체 및 기질을 상기 기재된 바와 같이 부가하여 상기 mTIM-3의 mGal3 또는 PS에의 결합을 검출하였다. 결과는 그룹 3과 비교하여 그룹 4에서 신호의 극적인 감소를 보여주었고, 이는 PS가 TIM-3에 결합하는 것을 RMT3-23이 차단하였음을 나타내었고; 한편 결과에서 그룹 1과 비교하여 그룹 2에서 신호의 유의미한 감소를 보여주지 않았고, 이는 Gal3이 TIM-3에 결합하는 것을 RMT3-23이 차단하지 않았음을 나타낸다. TIM-3은 PS와의 상호작용을 통해 죽은 세포에 결합하여 죽은 세포 표면에서 외부로 노출되었기 때문에, 본 실험에서 Gal3 및 PS가 TIM-3 상의 상이한 에피토프에 결합한다는 것을 도 4a-도 4c의 관찰에서 확증하였다.

[0436] 당-의존성 분석 (sugar-dependence assay)을 위해, ELISA 플레이트를 mGal3 (그룹 1 및 2) 또는 hGal9 (그룹 3 및 4)로 코팅하였다. 마우스 TIM-3 Fc 단백질 (R&D systems)을 실온에서 1시간 동안 25 mM의 α -락토스 (Sigma-Aldrich)로 코팅된 (그룹 2 및 4) 또는 이로 코팅되지 않은 (그룹 1 및 3) ELISA 플레이트에 부가하였다. 2차 항 인간-IgG-HRP 항체 및 기질을 상기 기재된 바와 같이 부가하여, mTIM-3-Fc의 mGal3 또는 hGal9에의 결합을 검출하였다. 도 5c는 그룹 3 (락토스가 존재하지 않음)과 비교하여 그룹 4 (락토스가 존재함)에서 신호가 극적으로, 10배 초과로 감소되는 바와 같이, Gal9가 TIM-3에의 결합을 락토스가 차단하였음을 보여주었고, 이는 Gal9 및 TIM-3 간의 결합이 당-의존적 결합임을 나타낸다. 대조적으로, Gal3의 TIM-3에의 결합에 있어서 락토스의 차단 효과는 미미하였고 - 그룹 2 (락토스가 존재함) 및 그룹 1 (락토스가 존재하지 않음) 간에 TIM-3 및 Gal3의 결합으로 발생된 신호에는 유의미한 차이가 없었다. 이는 Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용이 당의 존재에 의해 영향을 받지 않았음을 보여주며, 즉 상기 상호작용은 당-비의존성이었다.

[0437] 실시예 3. 과발현된 Gal3은 T 세포 활성화를 억제한다.

[0438] 본 실시예는 A20 세포에서 Gal3의 과발현의 기능적 특성을 평가하기 위해 수행된 실험을 설명한다.

[0439] hGal3을 안정적으로 과발현하는 A20 클론들, #41, #31, 및 #15를 상기 기재된 바와 같이 생성하였다. 도 6a는 이러한 클론들에서 hGal3 발현 수준을 보여주는 유세포 분석의 결과를 나타낸다. A20 또는 A20 Gal3 클론들의 세포들을 마우스 D011.10 T 세포와 혼합하였다. 상기 혼합물을 평판한 96-웰 플레이트의 각 웰에 배치한 다음에, OVA323-339 펩티드 (Invivogen, San Diego, CA)를 상기 플레이트에 부가하였다. 밤새 인큐베이션한 후에, 상등액은 ELISA (Thermo Fisher Scientific)에 의해 T 세포의 IL-2 생성을 측정하는데 사용하였다. 도 6b에 나타난 바와 같이, 상기 마우스 D011.10 T 세포에 의한 IL-2 생성은, T 세포가 모체 A20 세포와 혼합된 경우와 비교하여 3개의 마우스 A20 세포 클론들 중 어느 하나와 혼합되는 경우에 유의미하게 감소되었다 (도 6b).

[0440] 실시예 4. 항-Gal3 항체는 마우스의 폐 전이 모델에서 항-종양 활성을 나타낸다.

[0441] 본 실시예의 실험은 인 비보에서 Gal3:TIM-3 억제제의 항-종양 효능을 평가하기 위해 수행하였다. 동물 실험은 the Molecular Medicine Research Institute Institutional Animal Care and Use Committee가 승인한 프로토콜에 따라 수행되었다. C57BL/6 마우스는 도착 시에 the Association for Assessment and Accreditation of

Laboratory Animal Care가 인증한 시설에 배치하였다. 36마리의 7주령 암컷 마우스를 무작위로 3개의 그룹으로 나누었다 (n=12). 0일차에, B16F10 세포 (0.1 mL의 PBS 중 2×10^5)를 세척하고, PBS 중에 재현탁한 후에, 27-ga 바늘을 가진 주사기를 사용하여 마우스의 꼬리 정맥에 주사하였다. 상기 B16F10 세포를 주사한 후에, 상기 동물에게 0, 3, 7 및 10일에 마우스 IgG2b (Bio X Cell, West Lebanon, NH), 0, 3 및 7일에 mPD1 항체 (Bio X Cell, West Lebanon, NH), 또는 0, 3, 7, 10 및 15일에 Gal3 항체 IMT001을 10 mg/Kg으로 복강내로 투여하였다. 본 실험에 사용된 Gal3 항체 클론 IMT001은 Gal3 상의 펩티드₅ (PGAYPGQAPPAYPGQAPPG, 서열번호: 7)에 해당하는 에피토프를 인식한다. 21일차에, 상기 동물을 인도적으로 희생시키고, 폐 조직을 꺼내고, 10% 완충된 포름알데히드 용액 중에 고정시켰다. 좌측 폐엽의 한쪽 표면에 있는 흑색 전이성 콜로니의 수를 계수하였다 (도 7b). 결과는 평균 $\pm$ SEM으로 표시하였다. 통계 분석은 일원 ANOVA를 사용하여 IgG 대조군 그룹과 비교하여 수행하였다.

[0442] 도 7a는 항-mGal3 항체로 염색된 B16F10 세포의 평균 형광 세기 (mean fluorescence intensity: MFI)가 이소타입 대조군 항체로 염색된 세포의 평균 형광 세기 (MFI)보다 거의 10배 더 높음을 보여준다. 구체적으로, B16F10 세포를 얼음 상에서 대조군 래트 IgG PE 또는 래트 항 마우스 Gal3 PE 항체 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)를 함유하는 10% FBS HBSS 용액과 20분 동안 인큐베이션하였다. 회전 후에, 살아 있는/죽은 세포를 Violet 사세포 염색 키트 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)로 염색하였다. 염색된 세포는 유동 분석을 수행하였다. 도 7b는 3개의 치료 그룹으로부터의 전체 폐의 대표적인 이미지를 보여준다. 도 7c는 좌측 폐엽의 표면에서 전이성 콜로니의 수를 보여준다 (평균 $\pm$ SEM). 도 7d 및 도 7e는 상이한 치료 그룹의 폐 중량 및 체중을 보여준다 (평균 $\pm$ SEM). 이소타입 대조군 그룹과 비교하여, 상기 Gal3 항체 치료 그룹은 흑색 전이성 콜로니의 수로 표시되는 바와 같이, 종양 수의 유의미한 (약 46%) 감소 ($p < 0.01$)를 나타내었다. 그러나, 이소타입 대조군 그룹과 비교하여, 항-마우스 PD1 항체 29F는 이러한 폐 전이 모델에서 유의미한 항-종양 효과를 보이지 않았다 ($p > 0.05$).

[0443] 실시예 5. 항-Gal3 항체는 4T1 동소 종양 유도 폐 전이 모델에서 항-종양 활성을 나타낸다.

[0444] 동물 실험은 the Molecular Medicine Research Institute Institutional Animal Care and Use Committee가 승인한 프로토콜을 따랐다. 7주령의 암컷 Balb/c 마우스는 도착 시에 the Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care가 인증한 시설에 배치하였다. 종양 이식 당일, 4T1 세포를 수집하고, 세척하고, PBS 중에 재현탁시켰다. 마우스를 흡입 마취제 (의료 등급의 공기 중 3 내지 5%의 이소플루란)로 마취하였다. 0.1 mL의 PBS 중 2×10^5 세포를 25-ga 바늘을 가진 주사기를 사용하여 유선에 피하로 주사하였다. 마우스를 무작위로 두 그룹 (n=10)으로 배정하였다. 상기 4T1 세포를 주사한 후에, 상기 마우스에게 0, 3 및 7일에 마우스 IgG2b (Bio X Cell) 또는 0, 3, 7, 10 및 14일에 Gal3 항체 IMT001을 10 mg/Kg으로 복강내로 투여하였다. 종양 부피 및 체중을 매주 2회 모니터링하였다. 30일차에, 상기 마우스를 인도적으로 희생시키고, 폐 조직을 30% 수크로스로 팽창시키고, 꺼내고, Bouin 용액 (Sigma-Aldrich) 중에 고정시켰다. 좌측 폐엽에서 하나의 표면에 있는 전이성 콜로니의 수를 계수하였다. 결과는 평균 $\pm$ SEM으로 표시하였다. 통계 분석은 unpaired T 테스트를 이용하여 IgG 대조군 그룹과 비교하여 수행하였다.

[0445] 도 8a는 치료 그룹으로부터 전체 폐의 대표적인 이미지를 나타낸다. 도 8b는 상이한 치료 그룹의 체중을 나타낸다 (평균 $\pm$ SEM). 도 8c는 좌측 폐엽의 하나의 표면에서 전이성 콜로니의 수를 보여준다 (평균 $\pm$ SEM). 이소타입 대조군 항체로 치료된 마우스와 비교하여, 모노클로날 항-인간 Gal3 항체로 치료된 동물은 폐 전이 수의 유의미한 감소를 나타내었다 ($p < 0.05$).

[0446] 실시예 6. 항-Gal3 항체는 원발성 마우스 RENCA 신장 종양 모델에서 항-종양 활성을 나타낸다.

[0447] 본 실험은 원발성 종양 모델에서 Gal3:TIM-3 억제제의 항-종양 효능을 평가하기 위해 수행하였다 (도 9). 본 동물 실험은 the Molecular Medicine Research Institute Institutional Animal Care and Use Committee가 승인한 프로토콜에 따라 수행하였다. Balb/c 마우스는 도착 시에 the Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care가 인증한 시설에 배치하였다. 7주령의 암컷 마우스를 무작위로 세 그룹 (n=15)으로 배정하였다. 종양 이식 당일, 마우스를 흡입 마취제 (의료 등급의 공기 중 3 내지 5%의 이소플루란)로 마취하고, Renca 세포를 세척하고, PBS 중에 재현탁한 후에 25-ga 바늘을 가진 주사기를 사용하여 0.1 mL의 PBS 중 2×10^5 세포를 피하로 주사하였다. 상기 Renca 세포를 주사한 후에, 마우스에게 0, 3 및 7일에 마우스 IgG2b (Bio X Cell) 또는 mPD1 항체 (BioXCell), 또는 0, 3, 7, 10 및 14일에 Gal3 항체 IMT001 항체를 10 mg/Kg으로 i.p. 투여하였다. 상기 동물들은 대조군 그룹에서 종양 부피가 2000-2500 mm³에 도달한 경

우 인도적으로 희생시켰다. 결과는 평균 $\pm$ SEM으로 표시하였다. 통계 분석은 unpaired t 테스트를 이용하여 IgG2b 대조군 그룹과 비교하여 수행하였다.

[0448] 결과는 신장 암성 모델 (renal carcinoma model)에서 Gal3 항체 (IMT001)의 항-종양 활성을 나타낸다. 이소타입 대조군 그룹과 비교하여, 상기 항-Gal3 항체 치료 그룹은 종양 성장의 유의미한 (약 35%) 감소 ($p < 0.05$)를 보인 반면에, 항-PD-1 항체는 효과가 없었다 (도 9).

[0449] 실시예 7. 항-Gal3 항체는 원발성 마우스 MC38 결장 종양 모델에서 항-종양 활성을 나타낸다.

[0450] 동물 실험은 the Molecular Medicine Research Institute Institutional Animal Care and Use Committee가 승인한 프로토콜을 따랐다. 7주령의 암컷 C57BL/6 마우스는 도착 시에 the Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care가 인증한 시설에 배치하였다. 종양 이식 당일, MC38 유린 결장 선암종 세포를 수집하고, 세척하고, PBS 중에 재현탁시켰다. 마우스를 흡입 마취제 (의료 등급의 공기 중 3 내지 5%의 이소플루란)로 마취하였다. 0.1 mL의 PBS 중 5×10^5 세포를 25-ga 바늘을 가진 주사기를 사용하여 마우스의 우측 옆구리에 피하로 주사하였다. 7일차에, 종양 부피를 측정하고, 마우스를 무작위로 두 그룹 ($n=8$)으로 배정하였다. 상기 마우스에게 7, 10, 14, 17 및 22일에 마우스 IgG2b (BioXCell) 또는 Gal3 항체 IMT001을 10 mg/Kg으로 복강내로 투여하였다. 종양 부피 및 체중을 매주 2회 모니터링하였다. 상기 동물은 종양 부피가 3000 mm³에 도달한 경우 인도적으로 희생시켰다. 결과는 평균 $\pm$ SEM으로 표시하였다. 통계 분석은 unpaired T 테스트를 이용하여 IgG 대조군 그룹과 비교하여 수행하였다.

[0451] 결과는 도 10에서 IMT001 항체가 MC38 결장암 모델에서 항-종양 활성을 갖는 것을 보여주었다. 이소타입 대조군 항체로 치료된 마우스와 비교하여, IMT001 항체 치료된 마우스는 24일차에 종양 부담의 유의미한 감소 (약 33%)를 나타내었다 ($p < 0.05$).

[0452] 실시예 8. Gal3 항체 클론 IMT001의 에피토프 결합

[0453] 10개의 아미노산에 의해 중첩되고 전체 인간 Gal3 단백질 서열을 커버하는 20개의 아미노산 펩티드 24개를 함유하는 펩티드 어레이를 합성하였다 (Genscript, Piscataway, NJ) (도 11a). 각 펩티드 20 μ g를 멤브레인 상에 도트 블롯팅 (dot blotted)하였다. PBS 중 5% 우유로 차단시킨 후에, 상기 멤브레인을 4°C에서 밤새 1 μ g/mL의 IMT001 항체와 인큐베이션하였다. 3회 세척한 후에, 상기 멤브레인을 1:8000으로 희석된 항 mIgG HRP 항체 (Southern Biotech, Birmingham, AL)와 1시간 동안 인큐베이션하였다. 3회 세척한 후에, 상기 멤브레인을 Western ECL 블로팅 기질 (Bio-Rad, Hercules, CA)과 인큐베이션하고, 발색시켰다 (도 11b). 펩티드 5 (서열번호: 7) 및 6 (서열번호: 8)은 양호한 신호를 보여주었고, 이는 IMT001이 결합하는 hGal3 상의 에피토프가 PGAYPGQAPPQAYPGQAPPQAYPGAPGAYP임을 나타낸다.

[0454] 상기 펩티드에 대한 IMT001의 결합 에피토프를 추가로 정의하기 위해, 이로부터 유래된 8개의 더 짧은 펩티드를 합성하였고 (Genscript, Piscataway, NJ) (도 11c), IMT001에 의한 이들의 결합을 ELISA로 결정하였다 (도 11d). 96 웰 Elisa 플레이트 (Thermo Scientific)를 PBS 버퍼 중 이들 펩티드로 코팅하고, 4°C에서 밤새 인큐베이션하였다. 상기 플레이트를 TBST로 3회 세척한 다음에, 2% BSA를 함유하는 PBST 버퍼로 실온에서 1시간 동안 차단하였다. 10 μ g/mL의 IMT001을 상기 코팅된 Elisa 플레이트에서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 상기 플레이트를 3회 세척한 다음에, 항-마우스-IgG-HRP의 1:8000 희석액과 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. TBST로 3회 세척한 후에 100 μ L의 TMB substrate (GeneTex)로 색상을 발색시키고, 50 μ L의 1N HCl로 정지시켰다. 광학 밀도 (OD)는 450 nm에서 판독하였다. 결과는 중복 실험의 평균 OD $\pm$ SD로 표시하였다. Pep-2는 양호한 신호를 보여주었고, 이는 IMT001의 인간 Gal3에서의 결합 에피토프가 GQAPPQAYPG임을 나타내었다.

[0455] 실시예 9. B16F10 폐 전이 마우스 종양의 면역 프로파일링

[0456] 마우스에게 100만개의 B16F10 세포를 I.V.로 이식하였다. 그 다음에 상기 마우스를 0, 1, 3 및 7일에 IMT001 또는 이소타입 대조군 (10mg/kg I.P.)으로 치료하고, 8일차에 폐 면역 세포 분리 및 표현형 분석을 위해 희생시켰다. 세포를 페로부터 분리시킨 다음에, 림프구 마커들 CD3, CD4, CD8, CD19, DX5에 대한 형광 표지된 항체로 염색하고, 유세포 분석으로 분석하였다. 결과는 도 12에서 상기 항-Gal3 항체 IMT001 치료로 이소타입 대조군 항체 치료와 비교하여, 상기 종양을 가진 폐에서 CD3 T 림프구, CD4 T 헬퍼, CD8 세포독성 T 세포, CD19 B 세포 및 DX5 자연 살해 세포를 비롯한 다양한 면역 이펙터 세포의 수가 증가되었음을 보여주었다. 이는 상기 항-Gal3 항체가 면역 세포를 활성화시킬 수 있었음을 나타낸다.

- [0457] 실시예 10. Gal3 발현이 인간 폐암 관련 마크로파지에서 검출되었다.
- [0458] 면역조직화학 (IHC) 실험을 수행하여 인간 폐암에서 Gal3 발현을 검출하였다. 인간 폐암의 냉동 조직 슬라이드 (US Biomax Inc.)를 실온에서 10분 동안 10% 중성 완충된 포르말린 (Fisher Scientific) 중에 고정시키고, PBS에서 5분 동안 2회 세척하였다. 내인성 퍼옥시다제는 상기 슬라이드를 실온에서 3% H₂O₂에 10분 동안 침지시켜서 차단하였다. PBS에서 5분 동안 2회 세척한 후에, 상기 슬라이드를 실온에서 15분 동안 스트렙타비딘 시약 (Molecular Probes)에서 인큐베이션한 다음에, PBS로 철저히 행구고, 바이오틴 시약 (Molecular Probes)에서 15분 동안 인큐베이션하고, PBS에서 다시 행구어서 내인성 바이오틴 배경을 차단하였다. 상기 슬라이드를 10% FBS, 200 µg/mL mIgG 및 200 µg/mL hIgG로 1시간 동안 차단하고, 1차 항체 IMT001-바이오틴 (5 µg/mL)과 4℃에서 밤새 인큐베이션하고, 3회 세척한 다음에, 1:100의 2차 항체 HRP 아비딘 (BioLegend)과 1시간 동안 인큐베이션하고, 3회 세척하였다. DAB 기질 (Vector Laboratories)과 인큐베이션하여 염색을 전개하고, 슬라이드를 증류수에 담가 정지시켰다. 인간 폐암 슬라이드를 최종적으로 헤마톡실린 QS (Vector Laboratories)에서 대조염색하고, 증류수로 세척하고, 일련의 에탄올 및 크실렌 용액에서 탈수시키고, VectaMount™ 봉입 배지 (Mounting Medium) (Vector Laboratories)에 봉입하였다.
- [0459] 결과는 도 13a-b에서 이러한 인간 폐암 슬라이드 (편평 세포 암종 및 선암종)에서 캐노피 형태의 종양 관련 마크로파지가 IMT001에 의한 이들의 양성 염색에 의해 입증된 바와 같이, Gal3을 발현하는 것을 보여주었다.
- [0460] 실시예 11. 인간 M2 마크로파지에서 Gal3 발현
- [0461] 먼저 인간 CD14 단핵구를 CD14 세포 양성 선택 키트 (Miltenyi, Auburn, CA)를 사용하여 말초혈액 단핵 세포 (PBMC)로부터 분리시키고, GM-CSF + IL-4, 또는 GM-CSF, 또는 M-CSF ((Rocky Hill, NJ) 각각의 존재하에, 수지상 세포 (DC), 또는 M1 마크로파지, 또는 M2 마크로파지로 분화시켰다. 그 다음에 유세포 분석을 수행하여 인간 수지상 세포 (DC), M1 및 M2 마크로파지 세포에서 Gal3 발현을 검출하였다. 구체적으로, 100,000개의 DC, M1 또는 M2 세포를, 10 µg/mL의 대조군 mIgG-바이오틴 (BioLegend) 또는 IMT001-바이오틴을 함유하는 10% FBS HBSS 용액 100 µl와 얼음 상에서 20분 동안 인큐베이션하였다. 그 다음에, 세포를 세척하고, PE-스트렙타비딘 (BioLegend)과 1:1000으로 얼음 상에서 20분 동안 인큐베이션하였다. 회전 후에, 살아 있는/죽은 세포를 Violet 사세포 염색 키트 (Life Technologies)로 염색하였다. 염색된 세포는 유동 분석을 수행하였다. 결과는 도 14c에서 IMT001로 염색된 M2 세포의 평균 형광 세기 (MFI)가 이소타입 대조군 항체로 염색된 세포의 평균 형광 세기 (MFI)보다 훨씬 더 높은 것을 보여주었고, 이는 IMT001 및 M2 세포의 특이적 결합을 나타내는 반면에, 수지상 세포 (도 14a) 및 M1 마크로파지 (도 14b)는 염색될 수 없었다.
- [0462] 실시예 12. 항-Gal3 항체는 마크로파지/T 세포 반응에서 마우스 T 세포 활성을 증진시킨다.
- [0463] 마우스 마크로파지에서 Gal3의 발현은 IHC 및 유세포 분석 모두에 의해 검출되었다. IHC의 세부 사항에서, 웰당 100,000개의 세포를 밤새 시딩하였다. 2일차에, 세포를 PBS로 1회 세척하고, 3% 포름알데히드로 실온에서 10분 동안 고정한 다음에, PBS로 2회 세척하고, 10% FBS 및 200 µg/mL를 함유하는 PBS에서 실온에서 1시간 동안 차단하였다. 차단 후에, 세포를 10 µg/mL의 1차 항체 mIgG-바이오틴 (BioLegend) 또는 IMT001-바이오틴과 4℃에서 밤새 인큐베이션하고, PBST로 3회 세척하고, 실온에서 아비딘-HRP (1:1000)로 1시간 동안 염색한 다음에, PBST로 다시 3회 세척하였다. 상기 염색은 퍼옥시다제 기질을 사용하여 전개하였고, 헤마톡실린 QS (Vector Laboratories)로 대조염색하였다. 결과는 mIgG 대조군 (도 15a)과 비교하여, IMT001이 마크로파지에서 Gal3 발현을 명확하게 검출하였음을 보여주었다 (도 15b).
- [0464] 유세포 분석의 실험에서, 100,000개의 RAW 세포를 얼음 상에서 10% FBS + 200 µg/mL의 hIgG로 20분 동안 차단한 다음, 대조군 mIgG (BD Biosciences) 또는 IMT001을 10 µg/mL로 함유하는 10% FBS HBSS 용액 100 µl와 얼음 상에서 20분 동안 인큐베이션하였다. 그 다음에 세포를 세척하고, APC 접합된 항-mFc 항체 (Jackson ImmunoResearch)와 1:100으로 얼음 상에서 20분 동안 인큐베이션하였다. 회전 후에, 살아 있는/죽은 세포를 Violet 사세포 염색 키트 (Life Technologies)로 염색하였다. 염색된 세포는 유동 분석을 수행하였다. 도 15c는 이소타입 대조군 항체로 염색된 세포의 평균 형광 세기 (MFI)와 비교하여, IMT001로 염색된 RAW 세포의 평균 형광 세기 (MFI)가 10배 더 높음을 보여주었다.
- [0465] IMT001의 T 세포를 활성화시키는 능력은 혼합 림프구 반응 (Mixed Lymphocyte Reaction: MLR) 분석법에 의해 입증되었다. RAW 마우스 마크로파지 세포를 DO11 마우스 T 세포와 1:1 비율로 혼합하고, OVA 펩티드로 처리하고, mIgG (BD Biosciences), 항 mPD1 항체 29F (BioXCell) 또는 IMT001의 10 µg/mL의 존재하에 밤새 37℃에서 배양하였다. mIL-2 측정을 위해, 50 µl의 배양 배지를 채취하였다. 상기 mIL-2 생성은 eBioscience의 상업용

키트 마우스 IL-2 Elisa Ready-SET-Go에 따라 측정하였다.

[0466] 도 15d는 mIgG 또는 mPD1 항체 처리된 세포와 비교하여, 마우스 PD-1 항체 29F가 아닌 IMT001 항체가 IL-2의 생성을 증진시키는 것을 보여주었고, 이는 마크로파지 유도된 T-세포 불활성화의 복귀 (reversion)를 나타낸다.

[0467] 실시예 13: Gal3-TIM-3 상호작용을 차단하는 항체 확인

[0468] Gal3 및 TIM-3의 상호작용을 차단하는 능력을 가진 Gal3-표적 항체를 확인하기 위해, 정제된 Gal3 및 TIM-3 단백질을 다양한 Gal3-표적 또는 대조군 항체의 존재 (또는 부재) 하에, 또는 항체 없이 인큐베이션하였고, 단백질 상호작용을 ELISA로 평가하였다.

[0469] 인간 Gal3 단백질 (Acro Biosystems, GA3-H5129)을 포스페이트 완충된 식염수 (PBS) (Corning)에서 0.5 µg/ml의 농도로 희석하고, 희석된 hGal3 100 µl를 96-웰 ELISA 플레이트 (Thermo Fisher, 44-2404-21)의 각 웰에 추가하였다. 상기 플레이트를 4°C에서 밤새 인큐베이션한 후에, 상기 플레이트를 웰당 0.05% TWEEN (VWR) (PBST)이 포함된 PBS 300 µl로 3회 세척하였다. 그 다음에 상기 플레이트를 실온에서 웰당 PBST 중 2% 우혈청 알부민 (BSA) (Sigma) 200 µl로, 부드럽게 흔들면서 1시간 동안 차단하였다. 그 후에, PBST 중 2% BSA를 제거하고, PBST 중 2% BSA 중 20 µg/ml의 항-Gal3 항체 50 µl를 상기 웰에 추가하고, 실온에서 10분 동안 부드럽게 흔들면서 인큐베이션하였다. 항체들, mab1, mab2, mab3, mab4, mab5, mab6, 및 mab7을 본 실험에서 사용하였다. 사용된 항체는 하기 표 3에 열거되어 있다.

[0470] 그 후에, PBST 중 2% BSA 중에 1 µg/ml의 인간 TIM-3 세포의 도메인 단백질 (Acro Biosystems, TM3-H5229) 50 µl를 상기 웰에 추가하였다. 상기 플레이트를 부드럽게 흔들면서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 그 다음에 상기 플레이트를 웰당 PBST 300 µl로 3회 세척하고, PBST 중 2% BSA에 용해된 0.3 µg/ml의 항-인간 TIM-3 바이오틴화 항체 (R&D Systems, BAF2365) 100 µl를 각 웰에 추가하였다. 상기 플레이트를 부드럽게 흔들면서 1시간 동안 인큐베이션한 다음에, 웰당 PBST 300 µl로 3회 세척하였다. 그 다음에 아비딘-HRP (1:1000) (Jackson ImmunoResearch) 100 µl를 각 웰에 추가하고, 상기 플레이트를 실온에서 부드럽게 흔들면서 30분 동안 인큐베이션하였다. 후속하여 상기 플레이트를 웰당 PBST 300 µl로 3회 세척하고, TMB 기질 (Fisher Scientific, 34029) 100 µl를 각 웰에 추가하였다. 상기 반응을 웰당 1M HCl (VWR) 50µl로 정지시켰다. 상기 플레이트를 450 nm의 흡광도에서 플레이트 판독기 (Molecular Devices)를 사용하여 판독하였다. Gal3-TIM-3 상호작용의 차단 퍼센트는 배경 신호를 차감한 항체의 부재 하에 수득된 신호의 비율로서 계산하였다.

[0471] 도 16에 나타낸 바와 같이, 항-Gal3 항체는 Gal3 및 TIM-3의 상호작용을 차단하는 차단 능력을 나타내었다. 상기 항체들 mab1, mab2, mab4 및 IMT001 각각은 Gal3-TIM-3 결합을 방해하여, Gal3-TIM-3 결합에서 차단되지 않은 대조군 (항체 없음)의 14%, 4%, 10% 및 7%로 각각 감소시켰다. 항체들 mab3 및 mab5는 Gal3-TIM-3 결합을 적당히 방해하여, 상기 상호작용을 차단되지 않은 대조군의 34% 및 59%로 각각 감소시켰다. 마지막으로, mab6 및 mab7은 Gal3-TIM-3 결합에 영향을 미치지 않았다. 그 결과, 항체들 mab1, mab2, mab3, mab4, mab5 및 IMT001 모두는 Gal3-TIM-3의 상호작용을 어느 정도 차단하는 것을 보여주었다. 또한, Gal3 결합만으로는 Gal3 및 TIM-3의 상호작용을 방해하기에 충분하지 않았고, 이러한 방해 활성을 위해서는 특이적 특성이 필요하다는 것이 입증되었다.

표 3

표 3		
항체	제조사	카탈로그 번호
mab1	R&D Systems	MAB11542
mab2	Santa Cruz Biotechnology	sc-32790
mab3	R&D Systems	MAB1197
mab4	R&D Systems	MAB1154
mab5	R&D Systems	MAB11541
mab6	BioLegend	677301
mab7	BioLegend	126702
IMT001	Immatics	IMT001

[0472]

- [0473] 실시예 14: Gal3의 별개의 에피토프에 결합하는 항체 확인
- [0474] Gal3-TIM-3 항체 차단 부위와 관련된 Gal3 상의 에피토프를 결정하기 위해, 상기 Gal3-TIM-3 차단 활성을 갖거나 또는 갖지 않는 항-Gal3 항체를 Gal3 펩티드에 적용하여 ELISA 분석법을 수행하였다.
- [0475] hGal3 (서열번호: 1)의 소정의 영역을 각각 나타내는 20개의 아미노산 펩티드의 라이브러리를 생성하였다. 50 μ l의 PBS 중 적어도 2 μ g/ml의 생성된 hGal3 펩티드: 펩티드 1 (서열번호: 3), 5 (서열번호: 7), 6 (서열번호: 8), 8 (서열번호: 10), 또는 23 (서열번호: 25)을 96-웰 ELISA 플레이트 (Thermo Fisher, 44-2404-21)의 웰에 부가하였다. 양성 대조군으로서, 100 μ l의 PBS 중에 0.1 μ g/ml의 전장 인간 갈렉틴-3 단백질 (Acro Biosystems, GA3-H5129)을 상기 ELISA 플레이트의 웰에 부가하였다. 상기 플레이트를 4℃에서 밤새 인큐베이션한 후에, 상기 플레이트를 웰당 PBST 300 μ l로 3회 세척하였다. 그 다음에 상기 플레이트를 실온에서 부드럽게 흔들면서 웰당 PBST 중 2% BSA 200 μ l로 1시간 동안 차단하였다. 그 후에, PBST 중 2% BSA를 제거하고, PBST 중 2% BSA 중에 0.1 μ g/ml의 항체 100 μ l를 상기 웰에 부가하였다 (도 17a-b). 음성 대조군 그룹의 경우, 상기 항체를 상기 hGal3 펩티드 또는 hGal3 단백질 없이 적용하였다.
- [0476] 상기 플레이트를 부드럽게 흔들면서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션한 다음에, 웰당 PBST 300 μ l로 3회 세척하였다. 후속하여, HRP 접합된 2차 항체를 상기 웰에 부가하고, 실온에서 부드럽게 흔들면서 30분 동안 인큐베이션하였다. 상기 플레이트를 웰당 PBST 300 μ l로 3회 세척한 후에, 100 μ l의 TMB 기질 (Fisher Scientific, 34029)을 각 웰에 부가하였다. 상기 반응을 웰당 1M HCl (VWR) 50 μ l로 정지시키고, 상기 플레이트를 플레이트 판독기 (Molecular Devices)를 사용하여 450 nm의 흡광도에서 판독하였다.
- [0477] 알려진 Gal3-TIM-3 차단 활성을 가진 항-Gal3 항체인, mab1, mab3, mab4 및 IMT001은 hGal3 펩티드 5 (서열번호: 7), 6 (서열번호: 8) 및 8 (서열번호: 10)에 다양한 정도로 결합하였고 (도 17a), 이는 이러한 Gal3-TIM-3 차단 항체가 Gal3 상의 일부 공통 에피토프를 공유하는 것을 시사한다. 부분적인 Gal3-TIM-3 차단 활성을 가진 항체인, 항체 mab5는 또한 이러한 영역에 결합하였다. 강한 Gal3-TIM-3 차단 활성을 가진 항체인, 항체 mab2는 별개의 Gal3 펩티드인 펩티드 1 (서열번호: 3)에 결합하였다 (도 17b). 대조적으로, Gal3-TIM-3 차단 활성을 갖지 않는 항-Gal3 항체 mab7은 펩티드 10 (서열번호: 12) 및 23 (서열번호: 25)에 대한 결합 활성을 나타내었고, 반면에 mab6은 임의의 펩티드에 대한 실질적인 결합을 나타내지 못하였지만, hGal3 단백질에 대한 결합을 보였고, 이는 이러한 항체에 대한 비-선택적 결합 에피토프를 시사한다. 임의의 Gal3 항체에 결합하지 못한 펩티드는 명확성을 위해 표시되지 않았다. 전반적으로, 이러한 관찰은 펩티드 1 (서열번호: 3), 5 (서열번호: 7), 6 (서열번호: 8), 및 8 (서열번호: 10)로 표시되는 서열을, Gal3-TIM-3 차단 활성을 예측하는 특성으로서 확인되었다. 이들 펩티드는 Gal3의 처음 2-21개의 N-말단 아미노산 및 hGal3의 잔기 52-71 및 72-91 (서열번호: 1)에 해당하였다.
- [0478] 실시예 15: 항-Gal3 항체의 결합 도메인
- [0479] Gal3-TIM-3 차단 활성을 가진 항-Gal3 항체가 상기 Gal3 분자의 동일 또는 중첩 영역에 결합하는지 여부를 평가하기 위해, 에피토프 비닝 분석법 (epitope binning assay)은 상기 항체가 Gal3에 동시에 결합하는 능력을 평가하기 위해 수행하였다.
- [0480] 0.1 μ g/ml의 hGal3 (Acro Biosystems, GA3-H5129) 100 μ l를, 대조군인 "no coat"를 제외한 96-웰 ELISA 플레이트 (Thermo Fisher, 44-2404-21)의 각 웰에 부가하였다. 상기 플레이트를 4℃에서 밤새 인큐베이션한 후에, 상기 플레이트를 웰당 PBST 300 μ l로 3회 세척하였다. 상기 플레이트를 실온에서 부드럽게 흔들면서 웰당 PBST 중 2% BSA 200 μ l로 1시간 동안 차단하고, PBST 중 2% BSA를 제거하였다. PBST 중 2% BSA 중에 항-hGal3 항체: mab1, mab4, 또는 mab5 (4.2 μ g/ml) 50 μ l를 상기 웰에 부가하여 실온에서 부드럽게 흔들면서 10분 동안 사전 인큐베이션하였다. 항체를 제2 대조군 그룹의 웰에 부가하지 않고 ("no ab") 사전 인큐베이션하였다.
- [0481] 항-Gal3 항체와 함께 또는 항-Gal3 항체 없이 사전 인큐베이션 후에, PBST 중 2% BSA 중에 바이오틴화 항-Gal3 항체: mab1, mab4 및 mab5 (0.2 μ g/ml) 50 μ l를 상기 웰에 함께 부가하고, 부드럽게 흔들면서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 상기 항체를 제3 대조군의 웰에 부가되지 않고 ("blank") 인큐베이션하였다. 그 후에, 상기 플레이트를 웰당 PBST 300 μ l로 3회 세척한 다음에, 100 μ l의 아비딘-HRP (1:1000) (Jackson ImmunoResearch)를 각 웰에 부가하였다. 상기 플레이트를 부드럽게 흔들면서 실온에서 30분 동안 다시 인큐베이션한 다음에, 웰당 PBST 300 μ l로 3회 세척하였다. 그 다음에 100 μ l의 TMB 기질 (Fisher Scientific, 34029)을 각 웰에 부가하였다. 상기 반응을 웰당 1 M HCl (VWR) 50 μ l로 정지시키고, 상기 플레이트는 플레이트

트 판독기 (Molecular Devices)를 사용하여 450 nm의 흡광도에서 판독하였다.

[0482] 도 18에 나타낸 바와 같이, 차단되지 않은 대조군의 퍼센트로서 플로팅된 항체 결합으로, mab1과의 사전 인큐베이션은 이소타입 대조군과의 사전 인큐베이션과 비교하여, hGal3에 대한 mab1, mab4 및 mab5의 결합을 감소시키는 것을 입증하였고, 이는 이들 항체가 일부 중첩된 결합 도메인을 공유하는 것을 나타낸다. 유사하게, mab4 사전 인큐베이션은 mab1, mab4 및 mab5의 이후 결합을 크게 감소시켰다. mab5 사전 인큐베이션은 mab5의 결합을 감소시켰지만, 이는 mab1 및 mab4의 결합에 최소한으로 영향을 미쳤으며, 이는 경쟁이 비대칭적이었고, 이는 종종 낮은 친화도 항체의 결과임을 나타낸다.

[0483] 실시예 16. Gal3-TIM-3 차단 항체는 별개의 생물물리학적 특성을 나타낸다.

[0484] Gal3 결합 항체의 생물물리학적 특성을 결정하기 위해, 생물층 간섭계 평가 (biolayer interferometry assessments)는 정제된 Gal3 단백질 및 다양한 항체를 사용하여 수행하였다. 정제된 항체를 Gator (Probe Life, East Palo Alto, CA)를 사용하여 항-인간 Fc 프로브 상에 10 ug/mL로 180초 동안 로딩하였다. 분석 버퍼에서 30초 동안 밸런싱한 후에, 결합을 위해 500 nM로 시작하여, 1:2의 계열 희석을 사용하여 인간 Gal-3에 로딩된 프로브를 침지하였다. 평형화가 될 때까지 300초 동안 결합을 관찰하였다. 그 다음에 해리를 위해, 300초 동안 분석 버퍼에 프로브를 침지하였다.

[0485] Gal3-결합 항체 결합 및 해리의 실시간 플롯은 도 19a-c에 도시되어 있다. 항체 mab4는 1.2nM의 K_D 를 갖는 가장 강한 친화도를 갖는 것으로 나타났고, 여기서 k_{on} 은 $1.05E+6 \text{ M}^{-1}\text{sec}^{-1}$ 이고, k_{off} 는 $1.32E-3 \text{ sec}^{-1}$ 이다 (도 19b). 항체 mab1은 13.5 nM의 K_D 를 갖는 두 번째로 강한 친화도를 나타내었고, 여기서 k_{on} 은 $1.7E+6 \text{ M}^{-1}\text{sec}^{-1}$ 이고, k_{off} 는 $2.29E-2 \text{ sec}^{-1}$ 이다. 항체 mab5는 32.3 nM의 K_D 를 갖는 가장 약한 친화도를 나타내었고, 여기서 k_{on} 은 $1.41E+6 \text{ M}^{-1}\text{sec}^{-1}$ 이고, k_{off} 는 4.57 sec^{-1} 이다. 이들 결합 친화도는 실시예 15의 항체 비닝 연구로부터 예측된 상대 친화도와 정성적으로 일치하였다.

[0486] 실시예 17. Gal3-TIM-3 차단 활성을 가진 Gal3-표적 항체는 항원-매개 T-세포 반응을 활성화한다.

[0487] Gal3-TIM-3 차단 활성을 가진 Gal3-표적 항체가 T-세포 매개 반응을 증진시키는 능력을 평가하기 위해, CMV 항원 리콜 분석법 (CMV antigen recall assay)을 사용하였다. 인간 말초혈액 단핵 세포 (PBMC) (Astarte, donor ID 230)를 37°C 수조에서 신속하게 해동하고, 10% FBS가 포함된 RPMI 배지 20 ml 중에 재현탁시키고, 1500 RPM으로 5분 동안 원심분리하였다. 배지를 버리고, 펠렛을 20 ml 배지 중에 재현탁하고, H&E 배제에 의해 계수하고, 무혈청 배지 (Lonza)에서 4백만/ml의 최종 농도로 희석하였다. 50ul의 배지 플러스 세포 (200,000개 세포/웰)를 96웰 둥근 바닥 플레이트의 60개의 내부 웰에 부가하고, 37°C에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 항체를 4 X 최종 농도 (40ug/ml)의 스톡 농도로 무혈청 배지에 부가하였다. 4X 농도의 항체 50ul를 PBMC에 직접 부가하고, 37°C에서 30분 동안 인큐베이션하였다. PBMC를 30분 동안 항체와 인큐베이션한 후에, 2X 농도 (1ug/ml)의 CMV (Astarte Biologics, Cat. # 1004) 100ul를 상기 세포에 직접 부가하고, 37°C에서 4일 동안 인큐베이션하였다. 4일차에, 인간 IFN-감마 ELISA 키트 (Invitrogen)를 통해 ELISA에 의해 인간 IFN 감마 농도를 측정하기 위해 세포 상등액 10ul를 수집하였다.

[0488] 도 20에 나타낸 바와 같이, TIM-3-Gal3 차단 활성을 갖지 않는 Gal3-표적 항체, mab6 및 mab7로 처리된 샘플은 이소타입-대조군 처리된 샘플에서와 유사한 수준의 인터페론- γ 분비를 유도하였다. 대조적으로, TIM-3-Gal3 차단 활성을 가진 Gal3-표적 항체, mab1, mab2, mab4 및 인간화 항체 IMT001은 인터페론-감마 분비를 유의미하게 증가된 수준으로 나타내었다. 참고로, 부분적으로 Gal3-TIM-3 차단 활성을 갖지만, Gal3에 대한 친화도가 상대적으로 낮은 항체인 mab5는 상당한 인터페론-감마 분비를 유도하지 못하였고, 이는 Gal3-표적 항체의 면역 활성화 특성에 친화도 역치가 필요하다는 것을 나타낸다. 유사하게, 부분적인 Gal3-TIM-3 차단 활성을 가진 항체인 mab3은 이러한 T-세포 활성화 분석법에서 불분명한 결과를 제시하였다. 종합적으로, 이들 데이터로부터 상기 Gal3-표적 항체는 항원-특이적 T-세포 활성화를 증진시킬 수 있고, TIM-3-Gal3 상호작용을 차단하는 능력을 가진 항체만이 이러한 활성을 보유한다는 것을 입증하였다.

[0489] 실시예 18: Gal3-TIM-3 결합 표면

[0490] Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 매개하는 아미노산 잔기를 확인하기 위해, 가교된 질량 분광법을 수행하였다. 5 ul의 정제된 Gal3 (4.62 uM) 및 TIM-3 (3.74 uM)을 K200 MALDI MS 분석 키트 (CovalX)로 가교시켰다. 9 μ l

의 가교 혼합물에 1 μ l의 K200 안정화제 시약 (2 mg/ml)을 부가하고, 실온에서 3시간 동안 인큐베이션하였다. 상기 인큐베이션된 샘플을 결정화 직후 High-Mass MALDI 분석에 의해 분석하였다. 상기 분석을 위해, 하기 파라미터를 적용하였다: 질량 분광분석기: 선형 및 포지티브 모드, 이온 소스 1: 20 kV, 이온 소스 2: 17 kV, 렌즈: 12 kV, 펄스 이온 추출: 400 ns HM4, 이득 전압 (Gain Voltage): 3.14 kV, 가속 전압: 20 kV. 가교된 Gal3-TIM-3 산물을 MH+= 26.886 kDa 및 MH+= 34.397 kDa로 확인하였다. 상기 가교된 단백질을 트립신, 키모트립신, ASPN-N, 엘라스타제, 또는 서모리신으로 소화하여, 개별의 가교된 펩티드를 형성하였다 (도 21a). 연결된 부위에서 가교된 펩티드의 서열을 결정하였다 (도 21a-c). Gal3의 Gal3-TIM-3 차단 에피토프는 이러한 영역의 고유한 구조화되지 않은 특징으로 인해 Gal3의 결정 구조 모델에 포함되지 않았다. 도 21a에 도시된 아미노산 넘버링은 신호 펩티드 처리 후에 성숙한 단백질의 아미노산 번호를 반영한다는 점에 유의한다. **서열번호: 2**에 해당하는 아미노산 넘버링을 나타내는 표 4를 참조한다.

[0491] 위치 73-101에서 TIM-3 아미노산 부근의 아미노산 잔기는 145-184에서 Gal3 아미노산 부근의 잔기에 가교된 것으로 밝혀졌다 (도 21a-c). 이러한 아미노산들은 각 분자의 노출된 영역에 위치하고, 이는 이러한 영역이 Gal3 및 TIM-3의 단백질-단백질 상호작용에 관여하는 것을 시사한다. 중요하게는, 상기 항-Gal3 항체들, mab1, mab2, mab3, mab4 및 mab5는 실시예 14에 기재된 바와 같이 Gal3의 처음 2-21개의 N-말단 아미노산 및 hGal3의 잔기 52-71 및 72-91 (**서열번호: 1**)에 해당하는 펩티드 결합 분석에서 확인된 바와 같이 별개의 에피토프에 결합하는 것으로 나타났고, 이는 2차 또는 3차 구조가 Gal3의 N-말단 영역과 관련될 수 있음을 시사하며, 상기 영역은 Gal-TIM-3 계면을 매개하고, Gal3-TIM-3 차단 항체에 결합한다.

[0492] 하기 표 4는 도 21a 및 **서열번호: 2**로부터의 각각의 아미노산 넘버링을 보여준다.

표 4

도 21a로부터 잔기 넘버링	서열번호: 2의 상응하는 잔기
73-93	91-111
89-99	107-117
64-93	82-111
78-84	96-102
72-104	90-122
82-88	100-106
74-101	92-119

[0493]

[0494] 실시예 19: 항-Gal3 항체에 의한 류린 신장 섬유증의 감소

[0495] 신장 섬유증에 대한 Gal3 억제의 영향을 평가하기 위해, IMT001을 류린 신장 섬유성 질환 모델에 투여하였다. IMT001은 또한 Gal3-TIM-3 차단 활성을 나타내기 때문에, 이러한 연구는 또한 신장 섬유증에 대한 Gal3-TIM-3 방해의 효과를 보여주었다.

[0496] 8주령의 수컷 C57BL/6 마우스를 사용하여 일측성 요관 폐쇄 (UUO) 마우스 모델을 형성하였다. 상기 동물을 무작위로 세 그룹 (n=5)인, sham, 마우스 IgG2b 대조군 및 IMT001로 배정하였다. 모든 동물 연구는 the Molecular Medicine Research Institute Institutional Animal Care and Use Committee가 승인한 프로토콜에 따라 수행하였다. 0일차에, 각 동물에서 좌측 요관을 결찰하기 위한 수술을 수행하였다. 상기 수술 후에, 상기 동물에게 1, 5 및 10일에 mIgG2b (BioXCell) 또는 IMT001을 10 mg/kg으로 복강내로 투여하였다. 상기 sham 그룹의 동물은 치료하지 않고 두었다. 4, 8 및 15일차에, 상기 동물을 인도적으로 희생시키고, 좌측 신장 조직을 외과적으로 꺼내고, 웨스턴 블롯 분석을 위해 급속 동결시켰다.

[0497] 14일간의 치료 UUO 그룹으로부터 30 mg의 급속 동결된 신장 조직을 500 μ l의 RIPA 버퍼 (Thermo Scientific) 중에 균질화하였다. 상기 균질물을 얼음 상에서 10분 동안 정치시킨 다음에, 1.5 mL의 에펜도르프 튜브에서 4 $^{\circ}$ C에서 12000rpm으로 10분 동안 원심분리하였다. 단백질을 함유하는 상등액을 수집하고, Nanodrop (ThermoFisher)을 사용하여 A280 흡광도에 의해 정량분석하였다. 단백질 샘플을 β -머캅토에탄올 (Bio-Rad)을 함유하는 4X 샘플 버퍼에서 10분 동안 끓였다. 동량의 단백질 용해물 (20 μ l/웰; 10 μ g/ μ l)을 미리 주조된 SDS-PAGE 겔 (Bio-Rad)에 로딩하고, 전기영동으로 분리하였다. 분리된 단백질을 폴리비닐리덴 디플루오라이드

멤브레인으로 전달한 다음에, 0.5% TWEEN (PBST)이 포함된 포스페이트 완충된 식염수 (Fisher Scientific MT21030CM) 중에 5% 무지방 분유로 차단하였다. 상기 멤브레인을 α -평활근 액틴 (SMA) (1:2000 희석) (Sigma A5228) 및 피브로넥틴 Fn-EIIIA (1:1000 희석) (Abcam ab6328)에 대해 표적화된 1차 항체와 4°C에서 밤새 인큐베이션하였다. 웨스턴 블롯 데이터를 GAPDH (1:5000 희석) (Abcam ab181602)로 정규화하였다. PBST로 3회 세척한 후에, 상기 멤브레인을 1:5000으로 희석된 horseradish 퍼옥시다제 (horseradish peroxidase)에 접합된 각각의 2차 항체와 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 상기 멤브레인을 PBST로 3회 세척하고, 제조사 (Bio-Rad)에서 권장하는 표준 ECL 검출 방법을 사용하여 증진된 화학발광에 의해 단백질 밴드를 검출하고, 전개하였다. GAPDH는 로딩 대조군 기준으로 사용되었다.

[0498] 도 22에 예시된 바와 같이, 요관 결찰을 받고, 비-특이적 이소타입 대조군 항체인 mIgG2b로 치료된 동물은 sham 수술로 치료된 동물과 비교하여 섬유증 마커인 평활근 액틴 (α -SMA) 및 피브로넥틴의 유도를 나타내었다 (레인 1-3 대 레인 7-9). 대조적으로, 요관 결찰을 받고 IMT001로 치료된 동물은 IgG2b 대조군 (레인 7-9)에 비해 섬유성 마커들 모두 (레인 4-6)의 감소된 발현을 나타내었고, 이는 sham-치료된 동물과 더 유사하게 나타났다. 이러한 관찰은 Gal3을 차단하고 Gal3-TIM-3 상호작용을 방해하면 신장 섬유증을 감소시킬 수 있음을 시사하였다.

[0499] 실시예 20: 항-Gal3 항체에 의한 무린 간 섬유증의 감소

[0500] 상기 Gal3-TIM-3 차단 항체 IMT001은 간 섬유증에 대한 Gal3 억제 효과를 연구하기 위해 섬유증의 비-비만 당뇨병 및 염증 (non-obese diabetic and inflammation: N-IF) 마우스 유전자 모델에 사용되었다.

[0501] 24 α β NOD 마우스 및 NOD.Rag2^{-/-} 마우스 군주들을 교배시켜 N-IF 마우스를 생성하였다. 상기 N-IF 마우스는 10세대 동안 B6.Rag2^{-/-} 마우스 군주로 역교배하였다. 마우스 (수컷 및 암컷)를 IMT001 항체 치료 그룹 및 mIgG2b 항체 대조군 그룹의 두 그룹으로 분리하였다. 항체를 40일 동안 4일마다 10 mg/kg 체중으로 상기 동물에게 투여한 후에, 상기 동물을 희생시켰다. 고통을 최소화하기 위한 모든 노력을 기울였다. 간 및 신장 조직을 수집하고, 웨스턴 블롯 분석을 위해 액체 질소에서 급속 동결시켰다. 조직 처리 및 웨스턴 블롯 분석을 실시예 19에서와 같이 수행하였다. GAPDH는 로딩 대조군 기준으로 사용되었다.

[0502] Gal3-TIM-3 차단 항체, IMT001로 치료된 동물은 mIgG2b 이소타입 대조군으로 치료된 동물에 비해 섬유증 마커 α -SMA 및 피브로넥틴의 발현이 유의미하게 감소하였다 (도 23). 이러한 데이터는 IMT001에 의한 Gal3-TIM-3 차단이 N-IF 모델에서 간 섬유증을 감소시켰음을 시사하였다.

[0503] 실시예 21: Gal3-TIM-3 방해 특성을 갖거나/갖지 않는 항-Gal3 항체의 섬유증에 대한 효과

[0504] Gal3-TIM-3 차단 활성을 갖거나 또는 이를 갖지 않는 항-Gal3 항체의 섬유증에 대한 효과를 평가하기 위해, 인 비트로 세포 배양-기반 연구를 수행하였다.

[0505] 정상 래트 신장 섬유모세포 (NRK-49F)를 10% 우태아 혈청 및 페니실린/스트렙토마이신 항생제를 함유하는 RPMI 배지에서 80% 컨플루언스 (confluence)까지 성장시켰다. 상기 배양 배지를 제거하고, 페니실린/스트렙토마이신을 포함하지만 우태아 혈청을 포함하지 않는 RPMI로 교체하여 24시간 동안 혈청 기아 (serum starvation)를 유도한 후에, 정지 세포 (quiescent cells)를 대조군 mIgG2b (10 mg/ml), TGF- β 1 (1 ng/ml) 또는 갈렉틴-3 항체 IMT001 (10 mg/ml)로 처리하고, 단백질 추출 버퍼 중에 용해시켰다. 상기 용해물은 로딩 대조군 참조로서 GAPDH를 사용하여, α -SMA 및 피브로넥틴을 포함한, 섬유성 질환의 섬유모세포-대-근모세포 마커의 유도에 대해 Western 블롯팅으로 분석하였다. 유사하게, 정상 인간 신장 근위 관형 세포 (HK-2) (ATCC; Rockville, MD)를 5% CO₂, 37°C의 가습 인큐베이터에서 각질형성세포 배지에서 성장시켰다. 상기 배양된 세포를 mIgG2b (10 mg/ml), TGF- β 1 (1 ng/ml) 또는 IMT001 (10 mg/ml)로 처리하고, Western 블롯팅으로 평가하였다.

[0506] 실시예 22: 섬유성 질환 환자의 치료

[0507] 황달 및 체액 저류 (fluid retention)를 나타내는 환자가 의사를 방문하였다. 의사는 상기 환자를 간 섬유증으로 진단하고, 항-Gal3 항체를 포함하는 요법을 처방하였다. 상기 요법을 환자의 체중 1 kg당 약 10 mg/kg으로 1개월 동안 매일 환자에게 경구 투여하였다. 일부 경우에, 상기 항-Gal3 항체는 또한 Gal3-TIM-3 차단 특성을 갖는다.

[0508] 실시예 23: 항-Gal3 항체를 사용한 인간 대상체에서 면역계 활성화의 유도.

[0509] 인간 대상체 또는 환자는 면역계 불순 (immune system irregularity), 자가면역 질환, 면역결핍, 면역억제, 암

또는 섬유증과 같은 기준에 따라 선택적으로 선별된다. 항-Gal3 항체를 비경구, 정맥내, 근육내, 동맥내, 피부내, 피하, 복강내, 뇌실내, 또는 두개내 경로를 통해 전신 투여된다. 면역계 불순, 자가면역 질환, 면역결핍, 면역억제, 암 또는 섬유증에 대한 효과에 대해 대상체를 모니터링하였다. 또한, 사이토카인 예컨대 IFN γ , TGF- β , TGF- β 1, IL-1 β , IL-2, TNF- α , 또는 GM-CSF의 혈중, 혈장 또는 혈청 수준을 당해 분야에 알려진 방법, 예컨대 기체 크로마토그래피, 액체 크로마토그래피, 질량 분광분석법, 또는 효소-결합 면역흡착 분석법(ELISA)을 사용하여 측정함으로써 대상체를 모니터링하였다.

[0510] 대안으로서, 백혈구 또는 TIM-3-풍부 백혈구는 원심분리 및 형광-활성화 세포 분류와 같은 당해 분야에 알려진 기술을 사용하여 대상체로부터 분리된다. 분리된 백혈구 또는 TIM-3-풍부 백혈구를 항-Gal3 항체와 접촉하여, 적어도 하나의 사이토카인을 생성하고 면역 활성화를 유도하였다. 접촉된 백혈구 또는 TIM-3-풍부 백혈구는 암 또는 섬유증과 같은 면역 관련 질병을 치료하기 위해 대상체에게 자가 회수될 수 있다. 상기 치료 효과는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24시간, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7일, 또는 1, 2, 3, 4주, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12개월, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10년 내에 볼 수 있다.

[0511] 일부 구체예에서, 상기 항-Gal3 항체의 대상체에게의 투여, 또는 백혈구 또는 TIM-3-풍부 백혈구를 상기 항-Gal3 항체와 접촉시킴으로써, Gal3 및 TIM-3 간의 상호작용을 정상의 99% 미만, 95% 미만, 90% 미만, 80% 미만, 78% 미만, 70% 미만, 66% 미만, 60% 미만, 56% 미만, 52% 미만, 50% 미만, 40% 미만, 30% 미만, 29% 미만, 27% 미만, 20% 미만, 19% 미만, 17% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 또는 1% 미만으로 감소시킬 수 있다.

[0512] 상기 항-Gal3 항체는 멸균 조건 하에 및 조절되거나 또는 제어된 절차 하에 생성 및 제조될 수 있다. 이러한 과정에서, 상기 항-Gal3 항체는 약제 또는 조성물의 제조에 사용된다. 상기 제조된 항-Gal3 항체는 면역 관련 질병 예컨대 암 또는 섬유증의 치료에 사용된다.

[0513] 무균성 (sterility)을 유지 및 보장하는 방법은 GMP (good manufacturing practice), GTP (good tissue practice), GLP (good laboratory practice), 및 GDP (good distribution practice) 표준을 준수할 수 있다. 무균성을 유지 및 보장하는 방법에는 HEPA (high-efficiency particulate air) 여과, 습열 또는 건열, 방사선, 예컨대 X-선, 감마선 또는 UV 광선, 살균제 또는 훈증제, 예컨대 에틸렌 옥사이드, 이산화질소, 오존, 글루타르알데히드, 포름알데히드, 과아세트산, 이산화염소, 또는 과산화수소, 멸균 용기의 무균 충전, 플라스틱 필름 또는 랩 포장, 또는 진공 밀봉을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0514] 실시예 24: GAL3-TIM3 차단 활성을 가진 항체의 발견

[0515] 원래의 항체들 패널로 이루어진 관찰을 확장하기 위해, GAL3 및 TIM3의 조립을 차단하는 능력을 가진 추가의 GAL3-결합 항체를 확인하기 위한 항체 발견 캠페인 (antibody discovery campaign)을 수행하였다. Balb/C, FVB 및 CD-1F 마우스에게 TLR 효능제 아췌반트 믹스 (50 μ g MPL, 20 μ g CpG, 10 μ g Poly(I:C) 및 10 μ g R848)와 조합된 링커-이격된 6-히스티딘 태그인 GAL3-ECD-His (Acro GA3-H5129; Lot# 819-43PS1-5E.)와 융합된 GAL3 단백질 50 μ g을 7일 간격으로 3회 반복으로 접촉한 후에, 50 μ g의 GAL3-His 단독 접촉을 서혜부, 목의 뒤쪽 및 꼬리 부위의 겨저뿐만 아니라 비절 및 복강내 부위에 피하로 투여하였다. 동물들을 IACUC 프로토콜에 따라 희생시켰고, 비장, 대퇴골 및 림프절 (액와 (axillary), 액와부 (accessory axillary), 종격동 (mediastinal), 표재 서혜공 (superficial inguinal), 장골 (iliac), 천골 (sacral) 및 슬와 (popliteal))을 수확하였다. 면역화된 림프절 (LN), 비장 및 골수 세포의 단일 세포 현탁액을 15 mL의 DMEM이 있는 조직 배양 페트리 디쉬에서 2개의 멸균 프로스티드 유리 슬라이드 (sterile frosted glass slides)를 사용하여 수득하였다. 골수는 18-게이지 바늘이 장착된 5 mL의 주사기로 말단 캡 플러싱 (end-cap flushing)을 통해 대퇴골로부터 추출하였다. 3 마리 동물들로부터의 세포를 1200 RPM으로 5분간 원심분리하여 펠렛화하고, 10 mL의 DMEM (GIBCO 10564-011) 중에 재현탁하고, 유핵 세포 (nucleated cells)를 혈구계 카운트 (hemocytometer count)로 계수하였다. 세포를 1200 RPM으로 펠렛화하고, SC-버퍼 (PBS, 2%FBS 및 1mM EDTA) 중에 재현탁하고, 혈장 세포 (plasma cells)를 제조자 권장 프로토콜에 따라 EasySep™ 마우스 CD138 양성 선택 키트 (StemCell Technologies)로 분리하였다. 농축된 CD138-양성 세포를 1200 RPM으로 5분간 원심분리하여 펠렛화하고, 50 mL의 전기융합 버퍼 (Eppendorf 940-00-220-6) 중에 재현탁하고, 계수하였다. 별도로, SP2/0-mIL6 골수종 세포 (ATCC CRL2016)를 1200 RPM으로 5분간 원심분리하여 펠렛화하고, 50 mL의 전기융합 버퍼 중에 재현탁하고, 계수하였다. 골수종 세포 및 CD138-양성 혈장 세포를 1:1 비율로 조합하고, 부피를 전기융합 버퍼를 사용하여 50 mL로 증량시키고, 세포를 1200 RPM으로 5분간 원심분리하여 펠렛화하고, 상등액을 버렸다. 전기융합 버퍼에서 세척 및 펠렛화

단계를 반복한 후에, 세포를 10×10^6 세포/ml의 농도로 전기융합 버퍼 중에 재현탁하고, 세포 현탁액의 최대 9 mL을 BTX 전기융합 챔버에 부가하고, 세포를 800V 전기융합 프로토콜을 사용하여 융합시켰다. 융합된 세포를 5 분 동안 휴지시키고, 40 mL의 배지 MM (DMEM, 15% FBS, 1% 글루타맥스 및 1% Pen/Strep)을 함유하는 조직 배양 디쉬로 전달하고, 37°C, 8% CO₂에서 1시간 동안 인큐베이션하고, 피펫을 사용하여 재현탁시키고, 1200 RPM으로 5분간 원심분리하여 펠릿화하고, ClonaCell HY Liquid HAT 선택 배지 (StemCell Technologies) 중에 재현탁시키고, 96-웰 조직 배양 평판 바닥 플레이트에 플레이팅하였다. 10일 후에, 상등액을 샘플링하고, 단리된 GAL3에의 결합에 대해 ELISA로 평가하였다. 희석제 (0.5% BSA를 포함하는 PBS) 중에 재현탁된 0.1 ug/mL GAL3-ECD-His, (Acro GA3-H5129; Lot# 819-43PS1-5E) 50 uL를 각 웰에 45분 동안 부가하고, 상등액을 버리고, 플레이트를 0.05% Tween20이 포함된 포스페이트 완충된 식염수 (PBS)로 세척하였다. 희석제 중 하이브리도마 상등액의 1:5 희석액 50uL를 각 웰에 1시간 동안 부가한 다음에, PBS/0.05% Tween20 300uL를 연속적으로 5회 세척한 후에, 50 uL의 희석제 중에 horseradish 퍼옥시다제 (Novex A16090)에 접합된 염소 항-마우스 Fc-특이적 항체의 1:3000 희석액을 각 웰에 1시간 동안 부가한 후에, PBS/0.05% Tween20 300 uL를 연속적으로 5회 세척하였다. 세척 후에, 405 nm의 흡광도에서 분광 광도계 (Molecular Devices)에서 판독하기 전에, 50 uL의 ABTS (Novex #00-202-4)를 20-30분 동안 각 웰에 부가하였다.

[0516]

GAL3-결합 항체는 이의 결합 친화도에 대해 SPR로 평가하였다. 역학 실험 (Kinetics experiments)은 25°C에서 고성능 모드로 BiacoreT200에서 수행하였다. 항-인간 Fc 또는 항-마우스 Fc 항체와 결합된 CM5 칩에 리간드 단백질인, 정제된 항체를 포획하고, 3개의 항체를 유세포 #2, 3 및 4 각각에 한 번에 로딩하고, 여기서 유세포 #1을 참조로 사용하였다. HBS-EP 버퍼 중에 분석물인 갈락틴-3을 모두 4개의 유세포 상에 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 및 0 nM의 농도로 30 μ L/분의 유속으로 주입하였다. 상기 복합체는 각각 240초 및 300초 동안 결합 및 해리되도록 하였다. 10 mM 글리신 pH 1.7 (유속 30 μ L/분)을 30초간 주입하여 표면을 재생시켰다. BiacoreT200 평가 소프트웨어 V2.0 내 이용 가능한 글로벌 데이터 분석 옵션 (global data analysis option)을 사용하여 단순 1:1 상호작용 모델에 데이터를 피팅하였다. Gal3 모노클로날 항체의 친화도는 연구된 모든 항체에 대해 30nM보다 더 큰 것으로 확인되었다 (표 24.1). 추가적 특성 규명을 위해 $2E-7$ 미만의 친화도를 갖는 항체를 선택하였다.

표 24.1

항체	GAL3-TIM3 차단 @ 3 μ g/mL	hGal-3 KD (M)	빈	에피토프 맵핑
mIMT001	80%	1.67E-9	1	5, 6
846T.1H2	81%	2.82E-09	1	5, 6
13H12.2F8	57%	6.07E-09	2	6, 7
19D9.2E5	34%	<1.0E-09	2	6, 7
14H10.2C9	44%	5.62E-10	2	6, 7
2D10.2B2	86%	7.53E-10	3	6
4A11.2B5	48%	5.22E-09	3	6
846.2H3	100%	1.02E-08	3	6
846.1F5	90%	2.73E-09	3	6
6H6.2D6	82%	4.86E-09	4	1, 7
20H5.A3	81%	3.95E-09	4	1, 7
19B5.2E6	61%	<1.0E-09	4	1, 7
23H9.2E4	80%	4.26E-09	4	1, 7
20D11.2C6	40%	2.78E-08	5	1, 7, 8
15G7.2A7	48%	1.13E-08	5	1, 7, 8
4G2.2G6	48%	<1.0E-09	6	4
3B11.2G2	33%	<1.0E-09	7	4, 6
13A12.2E5	35%	8.20E-9	7	4, 6

7D8.2D8	12%	2.49E-09	8	2, 7
15F10.2D6	19%	2.06E-09	8	2, 7
12G5.D7	12%	1.9E-09	10	비-선형
24D12.2H9	0%	4.13E-09	11	비-선형
13G4.2F8	0%	2.53E-09	12	비-선형
9H2.2H1	6%	1.84E-08	12	비-선형

GAL3 및 TIM3의 결합을 차단하는 능력에 대해 양성 스코어링 웰 (Positively scoring wells)을 평가하였다. GAL3 및 TIM3의 상호작용을 차단하는 능력을 가진 GAL3-표적 항체를 확인하기 위해, 정제된 GAL3 및 TIM3 단백질을 상기 기재된 GAL3-면역화 하이브리도마 상등액의 존재 하에 또는 항체 없이 인큐베이션하였고, 단백질 상호작용을 ELISA로 평가하였다. 인간 갈렉틴-3 단백질 (Acro Biosystems, GA3-H5129)을 PBS (Corning, 21-030-CM) 중에 3 μ g/ml의 농도로 희석하고, 96-웰 ELISA 플레이트 (Thermo Fisher, 44-2404-21)의 웰에 부가하였다. 상기 플레이트를 4℃에서 밤새 인큐베이션한 후에, 상기 플레이트를 PBST (0.05% Tween 20이 포함된 PBS [VWR, 0777])로 3회 세척하였다. 그 다음에 상기 플레이트를 실온에서 부드럽게 흔들면서 PBST 중 2% BSA (EMD Millipore, 126609)로 1시간 동안 차단하였다. 그 후에, PBST 중 2% BSA를 버리고, PBST 중 2% BSA 중에 항체 또는 억제제 (20 μ g/ml로부터 시작하는 3배 희석, 60 μ g/ml 또는 180 μ M)를 상기 웰에 부가하였다. 그 후에, PBST 중 2% BSA 중에 용해된 인간 TIM3 (Aero Biosystems, TM3-H5229) 2 μ g/ml를 상기 웰의 항체 또는 억제제에 1:1 비율로 부가하였다. 상기 플레이트를 부드럽게 흔들면서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 그 후에, 상기 플레이트를 PBST로 3회 세척하고, PBST 중 2% BSA에 녹인 인간 TIM3 바이오틴화 항체 (R&D Systems, BAF2365) 0.3 μ g/ml를 상기 웰에 부가하였다. 상기 플레이트를 부드럽게 흔들면서 1시

간 동안 인큐베이션한 다음에, PBST로 3회 세척하였다. 그 다음에, 아비딘-HRP (1:2000)를 상기 웰에 부가하였다. 상기 플레이트를 부드럽게 흔들면서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션한 다음에, PBST로 3회 세척하였다. 그 다음에, TMB 기질 (Thermo Scientific, 34029)을 각 웰에 부가하였다. 상기 반응을 1M HCl (JT Baker, 5620-02)로 정지시키고, 450 nm의 흡광도에서 플레이트 판독기 (Molecular Devices)를 사용하여 판독하였다.

[0520] 도 24에 나타난 바와 같이, GAL3-결합 항체는 GAL3 및 TIM3의 결합을 차단하는 가변 능력을 나타내었다. 일부 항체는 GAL3 및 TIM3의 조립을, 846.2H3을 비롯한, GAL3-표적 항체가 존재하지 않는 경우 관찰된 수준의 5% 미만으로 차단할 수 있었다. 다른 GAL3-결합 항체는 GAL3 및 TIM3의 조립을, mIMT001, 846.1F5, 2D10.2B2, 6H6.2D6, 20H5.A3, 및 846T.1H2를 비롯한, GAL3-표적 항체가 존재하지 않는 경우 관찰된 수준의 5-20%로 차단하였다. 다른 GAL3-결합 항체는 GAL3 및 TIM3의 조립을, 19B5.2E6, 13H12.2F8, 및 23H9.2E4를 비롯한, GAL3-표적 항체가 존재하지 않는 경우 관찰된 수준의 20-50%로 차단하였다. 다른 GAL3-결합 항체는 GAL3 및 TIM3의 조립을, 15G7.2A7, 4G2.2G6, 4A11.2B5, 14H10.2C9, 20D11.2C6, 19D9.2E5, 13A12.2E5, 및 3B11.2G2를 비롯한, GAL3-표적 항체가 존재하지 않는 경우 관찰된 수준의 50-75%로 차단하였다. 다른 GAL3-결합 항체는 GAL3 및 TIM3의 조립에 대한 최소 차단 활성을 보여주었고, 12G5.D7, 7D8.2D8, 9H2.2H1, 13G4.2F8, 및 24D12.2H9를 비롯한, GAL3-표적 항체가 존재하지 않는 경우 TIM3 및 GAL3의 결합을 25% 이하로 감소시켰다.

[0521] 실시예 25. Gal3-TIM3 차단 활성을 갖거나 또는 이를 갖지 않는 Gal3-표적 항체는 Gal3의 별개의 에피토프에 결합한다.

[0522] Gal3-TIM3 차단 활성을 갖거나 또는 이를 갖지 않는 Gal3 항체가 결합하는 에피토프를 확인하기 위해, 표 24.1에 요약된 Gal3의 일부를 나타내는 20개의 아미노산 펩티드의 라이브러리를 생성하고, Gal3 항체에 결합하는 능력을 ELISA로 평가하였다.

[0523] 50 µl의 PBS 중 적어도 2 µg/ml의 hGal3 펩티드 또는 0.1 µg/ml의 전장 인간 Gal3 단백질 (GenScript) 및 인간 갈락틴-3 단백질 (Acro Biosystems, GA3-H5129)을 PBS (Corning, 21-030-CM) 중에 각각 적어도 2 µg/ml 또는 0.1 µg/ml의 농도로 희석하고, 96-웰 ELISA 플레이트 (Thermo Fisher, 44-2404-21)의 웰에 부가하였다. 상기 플레이트를 4°C에서 밤새 인큐베이션한 후에, 상기 플레이트를 PBST (0.05% Tween 20이 포함된 PBS [VWR, 0777])로 3회 세척하였다. 그 다음에 상기 플레이트를 실온에서 부드럽게 흔들면서 PBST 중 2% BSA (EMD Millipore, 126609)로 1시간 동안 차단하였다. 그 후에, PBST 중 2% BSA를 버리고, 인간 갈락틴-3 하이브리도마 상등액 또는 항체를 PBST 중 2% BSA에서 적어도 0.1 µg/ml의 농도로 희석하고, 상기 웰에 부가하였다. 상기 플레이트를 실온에서 부드럽게 흔들면서 1시간 동안 인큐베이션한 다음에, PBST로 3회 세척하였다. 그 후에, PBST 중 2% BSA에 희석된 (1:4000) 염소 항-마우스 IgG-HRP (Jackson ImmunoResearch, 115-036-1461) 또는 염소 항-랫 IgG HRP (abcam, ab205720)를 상기 웰에 부가하였다. 상기 플레이트를 실온에서 부드럽게 흔들면서 30 분 내지 1시간 동안 인큐베이션한 다음에, PBST로 3회 세척하였다. 그 다음에 TMB 기질 (Thermo Scientific, 34029)을 각 웰에 부가하였다. 상기 반응을 1M HCl (JT Baker, 5620-02)로 정지시키고, 450 nm의 흡광도에서 플레이트 판독기 (Molecular Devices)를 사용하여 판독하였다.

[0524] Gal3-결합 항체의 펩티드 어레이에의 결합은 다수의 위치에서 관찰되었고, 대부분의 결합은 펩티드 1-8에서 관찰되었으며, 이는 표 25.1에 요약되어 있다. 유의미하게, 강한 TIM3-Gal3 차단 활성을 가진 모든 Gal3-결합 항체는 Gal3의 N-말단 도메인의 펩티드 서열에 상응하는, 펩티드 4, 5, 6 또는 7에 결합하는 능력을 나타내었다. 구체적으로, Gal3-TIM3 차단 활성을 가진 6개의 개별의 Gal3-결합 항체 (6H6.2D6, 20H5.A3, 20D11.2C6, 19B5.2E6, 15G7.2A7, 23H9.2E4) 모두는 Gal3의 아미노산 1-20, ADNFSLDALSGSGNPQPQ (서열번호: 3)에 해당하는, Gal3의 펩티드 1에 결합하였다. 반대로, 펩티드 1에 결합하는, Gal3-TIM3 차단 활성이 떨어지는 Gal3-표적 항체는 관찰되지 않았다. 종합하면, 이들 데이터는 Gal3 펩티드 1에의 결합이 Gal3의 TIM3과의 상호작용을 차단하는 능력을 예측한다는 것을 나타낸다. 유사하게, Gal3-TIM3 차단 활성을 가진 3개의 개별의 Gal3-결합 항체 (4G2.2G6, 3B11.2G2, 및 13A12.2E5)는 Gal3의 아미노산 31-50, GAGGYPGASYPGAYPGQAPP (서열번호: 6)에 해당하는, Gal3의 펩티드 4에 결합하였다. 반대로, 펩티드 4에 결합하는, Gal3-TIM3 차단 활성이 떨어지는 Gal3-표적 항체는 관찰되지 않았다. 종합하면, 이들 데이터는 Gal3 펩티드 4에의 결합이 Gal3의 TIM3과의 상호작용을 차단하는 능력을 예측한다는 것을 나타낸다. 또한, Gal3-TIM3 차단 활성을 가진 13개의 Gal3-결합 항체 (mIMT001, 846T.1H2, 13H12.2F8, 19D9.2E5, 14H10.2C9, 2D10.2B2, 4A11.2B5, 846.2H3, 846.1F5, 3B11.2D2, 및 13A12.2E5) 모두는 Gal3의 아미노산 51-70, GAYPGQAPPAYPGAPGAYP (서열번호: 8)에 해당하는, Gal3의 펩티드 6에 결합하였다. 반대로, 펩티드 6에 결합하는, Gal3-TIM3 차단 활성이 떨어지는 Gal3-표적 항체는 관찰되지 않았다. 종합하면, 이들 데이터는 Gal3 펩티드 6에의 결합이 Gal3의 TIM3과의 상호작용을 차단하는 능력을 예측한다는 것을 나타낸다. 또한, Gal3-TIM3 차단 활성을 가진 11개의 Gal3-결합 항체 (6H6.2D6, 20H5.A3,

20D11.2C6, 13H12.2F8, 19B5.2E6, 23H9.2E4, 15G7.2A7, 19D9.2E5, 14H10.2C9, 7D8.2D8, 15F10.2D6 및 846.14A2) 모두는 Gal3의 아미노산 61-80, AYPGAPGAYPGAPAGVYPG (서열번호: 9)에 해당하는, Gal3의 펩티드 7에 결합하였다. 반대로, 펩티드 7에 결합하는, Gal3-TIM3 차단 활성이 떨어지는 Gal3-표적 항체는 관찰되지 않았다. 종합하면, 이들 데이터는 Gal3 펩티드 7에의 결합이 Gal3의 TIM3과의 상호작용을 차단하는 능력을 예측한다는 것을 나타낸다. 전체적으로, 이들 데이터는 Gal3 및 TIM3의 상호작용을 차단하는 능력의 예측으로서 항-Gal3 항체의 Gal3 펩티드 1, 4, 5, 6 및 7에의 결합을 나타낸다.

[0525]

도 25에 예시된 바와 같이, 펩티드 4, 5, 6 및 7은 프롤린-글리신 (PG) 및 티로신-프롤린-글리신 (YPG)으로 이루어진 반복되는 아미노산 서열을 공유하며, 이는 Gal3-표적 항체가 다수의 Gal3 펩티드에 결합하는 능력을 설명할 수 있는 공통 특징을 나타낸다. 또한, 상기 아미노산 서열 글리신-x-티로신-프롤린-글리신 (GxYPG) (여기서 x는 아미노산 알라닌 (A), 글리신 (G) 또는 발린 (V)일 수 있음)은 펩티드 4, 6, 및 7에서 공유되며, 각각은 3개의 아미노산에 의해 분리된 2개의 이러한 서열을 보유한다. 따라서, 가까운 위치에 있는 2개의 GxYPG 서열의 존재는 Gal3 및 TIM3을 차단하는 능력으로 Gal3-표적 항체에 결합하는 능력을 예측할 가능성이 있다. 또한, 알라닌, 글리신 및 발린의 Grantham 거리는 Ala-Val: 64, Ala-Gly: 60, Val-Gly: 109이므로, 프롤린 및 트레오닌을 포함하는, 유사하게 낮은 Grantham 거리를 가진 아미노산이 가변 영역에서 유사하게 치환될 수 있음을 예측한다.

표 25.2. 갈렉틴-3 펩티드 서열

서열번호:	펩티드 번호	아미노산 서열
3	1	ADNFSLHLDALSGSGNPNPQG
4	2	SGSGNPNPQGWPGAWGNQPA
5	3	WPGAWGNQPAGAGGYPGASY
6	4	GAGGYPGASYPGAYPGQAPP
7	5	PGAYPGQAPPGAYPGQAPPG
8	6	GAYPGQAPPGAYPGAPGAYP
9	7	AYPGAPGAYPGAPAGVYPG
10	8	GAPAPGVYPGPPSGPGAYPS
11	9	PPSGPGAYPSSGQPSATGAY
12	10	SGQPSATGAYPATGPYGA
13	11	PATGPYGAAGPLIVPYNLP
14	12	GPLIVPYNLPLPGGVVPRML
15	13	LPGGVVPRMLITILGTVKPN

[0526]

16	14	ITILGTVKPNANRIALDFQR
17	15	ANRIALDFQRGNDVAFHFNP
18	16	GNDVAFHFNPFRNENNRVI
19	17	RFNENNRVIVCNTKLDNNW
20	18	VCNTKLDNNWGREERQSVFP
21	19	GREERQSVFPFESGKPFKIQ
22	20	FESGKPFKIQLVEPDHFKV
23	21	VLVEPDHFKVAVNDAHLLQY
24	22	AVNDAHLLQYNHRVKKLNEI
25	23	NHRVKKLNEISKLGISGDID
26	24	SKLGISGDIDLTASASYTMI

[0527]

- [0528] 실시예 26. 차단 활성을 가진 Gal3-TIM3 항체는 Gal3에의 결합과 경쟁한다.
- [0529] Gal3-TIM3 차단 활성을 가진 Gal3-결합 항체가 상기 Gal3 분자의 동일 또는 중첩 영역에 결합하는지 여부를 결정하기 위해, 항체 비닝 분석법 (antibody binning assays)을 수행하여 항체가 Gal3에 동시에 결합하는 능력을 평가하였다. 아민-반응성 프로브를 Gator 바이오센서 (Probe Life, Palo Alto, CA)에 로딩하고, dH2O에서 60 초 동안 평형화하고, 100 μ l의 EDC 0.2M/NHS 0.05M 활성화 버퍼로 30초 동안 침지시킨 다음에, 10 mM NaOAc 버퍼, pH 5에서 20 μ g/ μ l의 인간 Gal3-His의 용액으로 결합이 포화될 때까지 침지시키고, 1M 에탄올아민 pH 8.5에서 300초 동안 켄칭하였다. Gal3-His 로딩 후에, 틱을 20 μ g/mL의 포화 항체 (saturating antibody)에 침지시킨 다음에, 연속하여 5 μ g/mL의 경쟁 항체 (competing antibody)에 침지시켰다. 도 26에 도시된 바와 같이, 경쟁적 결합 프로파일을 가진 항체를 빈에 배정하고, 차단 활성에 대한 연관성을 만들었다. 초기 빈 배정 후에, 빈 1 및 3의 추가 구성원을 확인하기 위해 기재된 바와 같이 설정한 빈으로부터의 대표적인 종을 사용하여 후속 경쟁 실험을 수행하였다.
- [0530] Gal3에 대한 경쟁적 항체 결합 패턴의 12개의 개별 빈을 수립하였다. 유의미하게, 빈 및 차단 Gal3-TIM3 차단 활성 간의 강한 연관성을 관찰하였다. 빈 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터의 모든 항체는 표 25.1에 요약된 바와 같이 Gal3의 TIM3에의 결합을 유의미하게 억제하였다. 대조적으로, 빈 7 및 빈 8의 항체는 Gal3에 대한 강한 친화도를 보유함에도 불구하고, Gal3의 TIM3에의 차단의 다소 더 약한 차단제였다. 빈 10, 11 및 12의 항체는 Gal3 및 TIM3의 결합을 유의미하게 억제하는 능력을 균일하게 갖지 않았다. 따라서, 1, 2, 3, 4, 5 및 6의 경쟁적 결합 빈은 Gal3 및 TIM3의 조립을 차단하는 Gal3-결합 항체의 능력을 확인할 수 있다.
- [0531] 실시예 27: 인간화 GAL3-TIM3 차단 항체는 GAL3-TIM3 결합을 차단한다.
- [0532] GAL3-TIM3 차단 항체의 인간화 변이체는 도 27에 예시된, ELISA에 의해 평가된 바와 같이 정제된 GAL3 및 TIM3의 상호작용을 차단하는 능력을 유사하게 나타내었다. IMT001-4, IMT006-1, IMT006-5, 및 IMT006-8은 각각 5.6 nM, 26.5 nM, 4.1 nM, 및 2.8 nM의 IC50을 나타내었다.
- [0533] 실시예 28: GAL3-TIM3 차단 항체는 항-PD1 또는 항-PD-L1 항체와 복합 항-종양 활성을 나타낸다.
- [0534] GAL3-TIM3 차단 항체가 종양 생물학에 영향을 미칠 가능성을 평가하기 위해, 면역조절 체크포인트 분자 PD-1 및 PD-L1을 표적으로 하는 다른 항체와 조합하여 MBT-2 방광 종양 이종이식편을 보유하는 마우스에서 연구를 수행하였다. 간단히 말해서, 7주령의 암컷 C3H/HeJ 마우스 (Jackson Laboratory)를 흡입 마취제 (의료 등급 공기 중 3 내지 5% 이소플루란)로 마취하고, 0.1 mL의 PBS 중에 1×10^6 MBT-2 세포 (Sekisui XenoTech, LLC)를, 25-ga 바늘을 가진 주사기를 사용하여 우측 옆구리에 피하로 주사하였다. 종양 이식 7일 후에, 마우스를 무작위로 6개 그룹 (n=9-10)으로 배정하였다. 마우스에게 이소타입 대조군 mIgG2b (BioXCell), 항-Gal3 (mIMT001), 항-PD1 (RMP1-14, BioXCell) 플러스 mIgG2b, 항-PD1 (RMP1-14) 플러스 mIMT001, 항-PDL1 (10F.9G2, BioXCell) 플러스 mIgG2b, 및 항-PDL1 (10F.9G2) 플러스 mIMT001을 복강내로 투여하였다. 이소타입 대조군 및 항-Gal3 항체들을 7, 9, 12, 14 및 16일에 20 mg/Kg으로 투여하였고; 항-PD1 (RMP1-14 10 mg/Kg) 또는 항-PDL1 (10F.9G2, 5 mg/Kg)을 8, 12, 및 15일에 투여하였다. 종양 부피 및 체중은 1주당 2회 모니터링하였다. 상기 동물들은 종양 부피 또는 동물 건강이 IACUC-정의된 엔드포인트에 도달한 경우 인도적으로 희생시켰다. 결과는 평균 $\pm$ SEM으로 표시하였고, 여기서 통계 분석은 양방향 ANOVA로 수행하였다.
- [0535] mIMT001 또는 huIgG4로 치료한 동물은 종양 부피의 유의미한 감소를 나타내지 않았다 (데이터는 개시되지 않음). 대조적으로, 도 28에 도시된 바와 같이, 항-PD-L1 항체로 치료한 동물들 10 마리 중 3마리는 치료 후에 종양 부피의 감소에 의해 반영되는 바와 같이, 강한 항-종양 반응을 나타내었다 (도 28a-b). 유의미하게, mIMT001 및 항-PD-L1 항체의 조합으로 치료한 동물들 10 마리 중 5마리는 강한 항-종양 반응을 나타내었고, 이는 항-PD-L1 항체 단독으로 치료한 동물에 비해 반응율이 66% 증가하는 것으로 나타났다. 이러한 데이터는 GAL3 및 TIM3를 차단하는 항체와 항-PD-L1 항체의 조합이 항-PD-L1 항체가 단독으로 수행하는 것보다 항-종양 활성이 유의미하게 증가되었음을 나타낸다.
- [0536] 피하 MBT-2 종양이 이식된 마우스에서 항-PD-1 항체와 조합된 mIMT001의 활성을 평가하기 위해 별도의 연구를 수행하였다. 상기 PD-1 연구에서와 같이, 이소타입 대조군 또는 mIMT001 단독 치료는 종양 부피를 감소시키지 않았다 (데이터는 개시되지 않음). 대조적으로, 항-PD-1 항체를 사용한 치료는 종양 부피의 상당한 감소로 나타난 바와 같이, 동물들 10 마리 중 3마리에서 항-종양 반응을 유도하였다 (도 28c-d). 유의미하게, mIMT001 및 항-PD-1 항체의 조합으로 치료한 동물들 10 마리 중 6마리는 강한 항-종양 반응을 나타내었고, 이는 항-PD-1 항체 단독으로 치료한 동물에 비해 반응율이 100% 증가하는 것으로 나타났다. 이러한 데이터는 GAL3 및 TIM3를

차단하는 항체와 항-PD-1 항체의 조합이 항-PD-1 항체가 단독으로 수행하는 것보다 항-종양 활성이 유의미하게 증가하는 것으로 나타났다. 상기 PD-L1 조합 연구와 함께, 이러한 데이터는 GAL3-TIM3의 상호작용을 차단할 수 있는 GAL3-표적 항체가 PD-1-PD-L1 체크포인트의 중단에 의해 유도된 항-종양 활성을 보다 일반적으로 증가시키는 능력을 갖는다는 것을 나타낸다.

[0537] 실시예 29: GAL3-TIM3 차단 항체는 HCC에서 단일-작용제 항-종양 활성을 나타낸다.

[0538] GAL3-TIM3 차단 항체의 활성을 평가하는 추가 연구는 STAM-CDAA 마우스에서 유도된 자발적 HCC (spontaneous hepatocellular carcinoma) 모델의 설정에서 평가되었다. 간단히 말해서, 2일령의 수컷 C57B1/6 마우스에게 200 ug의 스트렙토조토신을 단일 피하 주사하여 섬 (islet) 파괴를 유발시킨 다음에, 4주령부터 시작하여 각 연구의 전체 기간 동안 계속하여 CDAA-고지방 식이 (Research Diet# A06071302)를 급식하였다. 8주령에, 마우스를 두 그룹 (각각 7마리)으로 나누었다. 마우스를 인간 항-mIgG4 이소타입 대조군 (hIgG4, 10mg/kg) 또는 인간 항-Gal3 항체 (IMT001-4, 10mg/kg)로 4주 동안 주 2회 복강내 주사로 치료하였다. 모든 동물의 관리 및 절차는 the Immutics IACUC가 승인하였다.

[0539] 도 29a-b에 도시된 바와 같이, 정상 식이를 유지한 동물에서는 종양이 관찰되지 않은 반면에, 이소타입 대조군 항체로 치료한 STAM-CDAA 동물은 육안 검사에 의해 명백한 바와 같이 다초점 종양 생성의 징후를 나타내었고, 여기서 심각한 (간 (liver)에 대해 >5개의 종양) 형성은 7마리의 동물 중 4마리에서 관찰되었고, 중등의 형성 (간에 대해 3-5개의 종양)은 7마리의 동물 중 2마리에서 관찰되었으며, 반면에 7마리의 동물 중 1마리만이 육안으로 종양이 없는 것으로 관찰되었다. 대조적으로, IMT001-4로 치료한 동물에서, 종양 형성은 유의미하게 감소되었으며, 7마리의 동물 중 1마리만이 심각한 종양 형성을 나타내었고, 이는 심각한 종양 형성에서 75% 감소를 나타내며, 7마리의 동물 중 1마리는 중등의 종양 형성을 나타내었고, 이는 중등의 종양 형성에서 50% 감소를 나타낸다. 상응하게, IMT001-4로 치료한 동물은 7마리의 동물 중 5마리에서 종양 형성의 육안적 징후를 나타내지 않았으며, 이는 명백히 종양이 없는 동물에서 400% 증가를 나타낸다.

[0540] 헤마톡실린 및 에오신으로 염색된 종양 표본의 현미경 검사는 관찰된 종양의 조직학 (histology)을 평가하기 위해 수행하였다. 간단히 말해서, 간을 4% 파라포름알데히드 (Electron Microscopy Sciences, Cat #15710S)에서 24시간 동안 고정시키고, 70% EtOH로 72시간 동안 전달하고, 샘플을 후속하여 파라핀에 포매하였다. 5mM 샘플을 절단하여, Apex Superior Adhesive 슬라이드 (Leica, Cat# 3800080)에 장착한 후에, 탈파라핀화, 계열 에탄올을 욕조에서 재수화, 헤마톡실린 (Cat# HHS32-1L, MilliporeSigma)에서 5분간, Define (Leica, Cat# 3803590)에서 1분간, 블루잉 버퍼 (bluing buffer) (Leica, Cat# 3802916)에서 1분간 및 알콜성 에오신 Y515 (Leica, Cat# 3801616)에서 30초간 염색하고, 이들의 탈수화 전에, 세정하고, 커버슬리핑 (coverslipping) (Sakura Finetek, Cat# 6500)하였다. Revolve 현미경 (Discover Echo, Inc.) 하에 명시야 이미지 (brightfield images)를 획득하였다.

[0541] 이소타입-대조군 치료한 동물로부터 간에서 육안으로 관찰된 종양과 일치하게, 조직 절편은 지방간의 지방증 영역으로 둘러싸인 이형성 간세포의 큰 다초점 영역을 나타내었다 (도 29c). 투여된 식이의 결과로서 지방증이 예상되었다. IMT001-4 치료한 동물로부터의 간 절편은 이형성 간세포 플라크의 상당히 더 적은 영역을 나타내었고, 도 29c에 대표적인 영역이 드물게 도시되어 있다. 종양 플라크의 희귀성 (rarity) 증가에 추가하여, IMT001-4 치료한 동물에서 종양 영역의 크기가 또한 대조군-치료한 동물보다 유의미하게 더 작은 것에 주목하였다.

[0542] STAM-CDAA 마우스에서 HCC의 풍도 (abundance)를 보다 체계적으로 평가하기 위해, HCC 출현의 인간 임상 바이오마커인 알파-태아단백질 (alpha-fetoprotein: AFP)의 혈청 수준을 이소타입- 및 IMT001-4 치료된 동물에서 평가하였다. 혈청 AFP는 제조사의 지침에 따라 ELISA (R&D systems #MAFP00)로 분석하였다.

[0543] 정상 마우스는 혈청 중에 낮은 수준의 AFP를 나타내었지만, AFP는 이소타입 대조군으로 치료한 STAM-CDAA 마우스에서 유의미하게 상승되었으며, 여기서 6마리의 동물 중 3마리는 >2000 ng AFP/mL를 나타내고, 6마리의 동물 중 6마리는 >1000 ng AFP/mL을 나타낸다 (도 29d). 대조적으로, IMT001-4 치료된 동물은 이소타입 치료된 동물에 비해 유의미하게 감소된 AFP 수준을 나타내었으며, 여기서 6마리의 동물 중 1마리만이 >2000 ng AFP/mL를 나타내는, 66% 감소를 나타내고, 6마리의 동물 중 2마리는 >1000 ng AFP/mL을 나타내는, 66% 감소를 나타낸다. 이들 데이터는 도 29a에서 육안으로 관찰된 바와 같이 종양 형성의 관찰된 빈도 및 중증도와 일치한다.

[0544] 종합하면, 이들 데이터로부터 인간화 GAL3-TIM3 차단 항체가 HCC 종양 부담을 유의미하게 감소시킬 수 있고, 이들 항체가 단일 제제로서 항-종양 활성을 가질 수 있음을 입증하였다.

- [0545] 실시예 30: IMT001은 NASH 섬유증의 메티오닌/콜린 결핍 모델에서 지방증, 팽창 및 염증을 감소시킨다.
- [0546] GAL3-TIM3 차단 항체가 간 섬유증에 영향을 미치는 능력을 추가로 조사하기 위해, 간 섬유증의 메티오닌-콜린 결핍 (methionine-choline deficient: MCD) 마우스 모델을 사용하였다. 간단히 말해서, 6주령의 수컷 C57Bl/6 마우스 (Jackson Laboratory)에게 정상 식이 (Envigo, #2020X; n=5 마우스); 또는 MCD 식이 (Fisher Scientific, #MP296043910, n=25)를 8주 동안 그리고 연구의 나머지 기간 동안 계속하여 급식하였다. 마우스를 3가지 그룹 (각각 7마리의 마우스)으로 나누고, ALT 스코어에 기반하여 무작위 배정하였다. 그룹 1 및 2는 마우스 항-mIgG2aLala 이소타입 대조군 (mISO, 10mg/kg) 또는 마우스 항-Gal3 항체 (mIMT001, 10mg/kg)로 4주 동안 1주 2회 IP 주사로 치료하였고, 이때 동물을 희생시키고, 간 표본을 수집하고, 4% 파라포름알데히드 (Electron Microscopy Sciences, Cat #15710S)에 24시간 동안 고정시키고, 70% EtOH로 72시간 동안 전달하고, 샘플을 후속하여 파라핀에 포매하였다. 5mM 샘플을 절단하여, Apex Superior Adhesive 슬라이드 (Leica, Cat# 3800080)에 장착한 후에, 탈파라핀화, 계열 에탄올 욕조에서 재수화, 헤마톡실린 (Cat# HHS32-1L, MilliporeSigma)에서 5분간, Define (Leica, Cat# 3803590)에서 1분간, 블루잉 버퍼 (Leica, Cat# 3802916)에서 1분간 및 알콜성 에오신 Y515 (Leica, Cat# 3801616)에서 30초간 염색하고, 이들의 탈수화 전에, 세정하고, 커버슬립 (Sakura Finetek, Cat# 6500)하였다. Revolve 현미경 (Discover Echo, Inc.) 하에 명시야 이미지를 획득하였다.
- [0547] 이소타입 대조군 항체로 치료한 MCD 마우스는 이러한 모델에 대해 전형적인 간 손상 징후를 나타내었고, 이에 헤마톡실린 및 에오신 (H&E) 염색된 간 표본에 존재하는 큰 백색 영역에 의해 명백한 지방증, 공포화된 아포토시스 세포 (vacuolated apoptotic cells)에 의해 명백한 간세포 팽창, 및 세포질을 거의 갖지 않는 대부분의 핵 세포의 클러스터로서 명백한 침윤성 면역 세포의 존재를 포함한다 (도 30a). mIMT001-치료된 MCD 마우스로부터의 간 표본은 이러한 각 손상 측정에서 상당한 감소를 나타내었다. 상기 차이를 정량분석하기 위해, 이미지-기반 정량분석을 수행하고, 이는 지방증에 있어서 대조군-치료 표본 1.17에서 mIMT001-치료 표본 1로 중간이지만, 통계적으로 유의미한 감소, 즉 15% 감소를 나타내었다 (도 30b). 또한, 아포토시스 팽창 세포의 존재는 대조군-치료 표본 1.34에서 mIMT001-치료 표본 0.98로, 즉 27% 감소하였다. 또한, 침윤 소엽 면역 세포 (infiltrating lobular immune cells)의 존재는 대조군-치료 표본 1.78에서 mIMT001-치료 표본 0.73으로, 즉 59% 감소하였다. 통합 NAS 스코어는 이러한 측정으로 생성되었고, mIMT001-치료된 동물은 NAS 스코어가 2.72로, 이소타입 대조군 치료된 스코어 4.29에 비해 유의미하게 감소, 즉 43% 감소를 나타내었다. T-테스트로부터 이러한 관찰은 개별 관찰 및 통합 NAS 스코어 모두에서 통계적으로 유의한 것으로 나타났다.
- [0548] 이들 표본에서 섬유증을 평가하기 위해, 조직 절편은 picosirius 레드 염색에 의한 섬유성 콜라겐 침착물의 부착에 대해 평가하였다. 간단히 말해서, 탈파라핀화 후에, 이소타입 대조군- 또는 IMT001-치료된 MCD 마우스로부터의 간 표본을 계열 에탄올 욕조에서 재수화하고, 절편을 포화 피크르산 수용액 (saturated picric aqueous solution) 중 0.01% Fast green FCF 용액 (Cat# 1.04022.0025 MilliporeSigma)에서 실온에서 15분 동안 염색한 후에, 포화 피크르산 수용액 중 0.04% Fast green FCF /0.1% Sirius red에서 실온에서 1시간 인큐베이션하고, 이들의 탈수화 전에, 세정하고, 장착하였다. 이미지는 ImageJ 소프트웨어 (Rasband, W.S., ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, world wide web .imagej.nih.gov/ij/)를 사용하여 정량분석하였다.
- [0549] 도 30b에 도시된 바와 같이, 이들 표본에서 과다 picosirius 레드-양성 콜라겐 네트워크의 존재에 의해 표시된 바와 같이, 이소타입 대조군으로 치료된 MCD 마우스의 간 절편에서 상당한 섬유증이 확인하였다. 대조적으로, mIMT001로 치료된 MCD 마우스의 간 절편은 picosirius-레드 염색된 콜라겐 침착물의 감소된 수준을 나타내었다. picosirius 레드 절편의 이미지-기반 정량분석으로부터 염색은 이소타입-대조군 치료된 동물 부위로부터의 표본에서 조직 면적의 4.3%에서 mIMT001-치료된 표본의 면적의 1.25%로, 즉 71% 감소한 것으로 나타났다 (도 30d).
- [0550] 이들 데이터는 GAL3-TIM3 차단 항체가 간 섬유증의 무린 MCD 모델에서 간 섬유증을 감소시킬 수 있음을 나타낸다.
- [0551] 실시예 31: IMT001-4는 CDAA-HFD STAM 마우스에서 간 섬유증을 감소시킨다.
- [0552] 상기 MCD 마우스 모델에서 관찰된 간 섬유증의 감소가 이러한 설정에 대해 고유하지 않다는 것을 확인하기 위해, 간 섬유증의 STAM HFD-CDAA 마우스 모델에서 mIMT001의 활성을 조사하였다. 간단히 말해서, 2일령의 수컷 C57Bl/6 마우스에게 200 ug의 스트렙토조토신을 단일 피하 주사하여 섬 파괴를 유발한 다음에, 4주령부터 시작하여 각 연구의 전체 기간 동안 계속하여 CDAA-고지방 식이 (Research Diet# A06071302)를 급식하였다. 8주령에, 마우스를 ALT 스코어에 기반하여 두 그룹 (각각 7마리의 마우스)으로 나누었다. 마우스를 인간 항-mIgG4

이소타입 대조군 (hIgG4, 10mg/kg) 또는 인간 항-Gal3 항체 (IMT001-4, 10mg/kg)로 4주 동안 1주 2회 복강내 주사로 치료하였다. 모든 동물 관리 및 절차는 Immutics IACUC가 승인하였다.

[0553] 이소타입 대조군 항체로 치료된 STAM CDAA-HFD 마우스는 picosirius-레드 염색된 간 절편에서 입증된 바와 같이, 이러한 모델의 전형적인 간 손상 징후를 나타내었고, 이는 상당한 지방증 및 과다 섬유성 콜라겐 침착물의 존재를 나타내었다 (도 31a). IMT001-4 치료된 동물로부터의 간 표본은 대조군 치료된 동물과 비교하여 유사한 수준의 지방증을 나타내었지만, picosirius 레드-양성 섬유성 콜라겐 침착물의 수준은 실질적으로 감소하였다. picosirius 레드 염색의 이미지 정량분석으로부터 이소타입 대조군 항체로 치료된 STAM CDAA-HFD는 5.1% 면적의 picosirius 레드 염색을 나타내는 반면에, 이는 IMT001-치료된 동물로부터의 표본에서 1.66%로, 즉 67% 감소하였음을 보여주었다 (도 31b). 이들 데이터는 GAL3-TIM3 차단 항체가 간 섬유증의 무린 STAM CDAA-HFD 모델에서 간 섬유증을 감소시킬 수 있음을 나타내며, 간 섬유증의 MCD 모델로부터의 유사한 관찰과 함께 고려할 때, TIM3- GAL3 차단 활성을 가진 항-GAL3 항체는 인간 섬유성 질환에서 치료 가능성을 갖는 것을 강하게 시사한다.

[0554] 실시예 32: 인간화 항-Gal3 항체는 UUO 마우스 모델에서 신장 섬유증을 억제한다.

[0555] 섬유증에 영향을 미치는 TIM3-GAL3 조립을 차단하는 능력을 가진 GAL3-표적 항체의 능력을 추가로 평가하기 위해, 본 발명자들은 신장 섬유증의 마우스 UUO (unilateral ureteral obstruction) 모델에서 인간화 IMT001-4 및 IMT006-1의 영향을 평가하였다. 간단히 말해서, 8주령의 C57BL/6J 수컷 마우스를, sham, HuIgG4-에 의한 UUO, 및 HuIMT001-4에 의한 UUO, HuIMT006-1에 의한 UUO, 및 메트포르민-치료에 의한 UUO로 나누었다. HuIgG4, HuIMT001-4 및 HuIMT006-1 각각을 10 mg/kg Q2Dx3으로 복강내 경로로 투여하였고, 반면에 메트포르민 (500 mg/kg/day)은 음료수에 용해시켜서 마우스에게 투여하였다. 일부 설정에서, 치료 항체 또는 메트포르민을 UUO 1일 전에 투여한 반면에, 다른 실험에서 치료 항체 또는 메트포르민을 UUO 1일 후에 투여하였다. UUO 수술 7일 후에, 마우스를 희생시키고, 좌측 신장을 수확하고, 면역조직화학 (IHC)을 위해 4% 파라포름알데히드로 고정시키고, 혈액 생화학 분석 (blood biochemistry analysis)을 위해 헤파린-EDTA 튜브에 혈액을 수집하였다. 혈장 마우스 TIM-1/KIM-1/HAVCR의 수준은 제조자가 제공한 프로토콜에 따라 상업용 ELISA 키트 (Catalog # MKM100; R&D Systems, Minneapolis, MN)를 사용하여 측정하였다. 혈장 마우스 리포칼린-2/NGAL의 수준은 제조자가 제공한 프로토콜에 따라 상업용 ELISA 키트 (Catalog # DY1857; R&D Systems, Minneapolis, MN)를 사용하여 측정하였다. 상기 간 표본에 대해 기재된 바와 같이, 고정된 신장 표본의 5 um 절편을 생성하고, picosirius 레드 염색을 수행하였다.

[0556] 초기 UUO 실험에서, 동물을 UUO 1일 전에 이소타입 대조군 항체, IMT001-4, IMT006-1, 또는 임상적으로 입증된 신장 섬유증 조절제인 메트포르민으로 치료하였다. 신장 섬유증과 관련된 신장 손상 마커인 KIM-1의 평가로부터 Sham-수술 치료된 동물에 비해 이소타입 대조군 항체로 치료된 UUO 표본에서 KIM-1의 강한 상향 조절을 나타낸 반면에, IMT001-4 또는 IMT006-1로 치료한 동물은 KIM-1 수준이 대조군에 비해 유의미하게 감소되었다 (도 32a). 메트포르민은 또한 KIM-1의 수준을 감소시켰지만, 이러한 그룹내 동물간 다양성으로 인해 상기 감소는 통계적으로 유의미하지 않았다. 또 다른 전신 신장 손상 마커인 혈청 NGAL의 평가로부터 유사한 패턴을 보여주었으며, 여기서 이소타입-대조군 치료된 UUO 동물은 sham-치료된 동물에 비해 유의미하게 상승된 수준을 나타내었고, IMT001-4 및 IMT006-1 치료된 UUO 동물은 이소타입-치료된 UUO 동물에 비해 혈청 NGAL 수준의 유의미한 감소를 나타내었다. 이러한 설정에서, 메트포르민은 NGAL 수준에 유의미한 영향을 미치는 것으로 입증되었다.

[0557] 상기 UUO 모델에서 신장 섬유증을 직접 평가하기 위해, 상기와 같이 치료된 동물로부터의 신장을, picosirius 레드 염색으로 섬유성 침착물에 대해 평가하였다. 이소타입 항체로 치료된 UUO 동물은 picosirius 레드 염색의 특징적인 패턴을 나타내었다 (도 32b). 대조적으로, IMT001-4, IMT001-6 또는 메트포르민으로 치료된 UUO 마우스로부터의 신장 표본은 picosirius 레드 염색에서 실질적인 감소를 보였다. 절편의 이미지 정량분석으로부터 이소타입으로 치료된 UUO로부터의 표본은 2.65%의 picosirius 레드 염색을 나타내었고, IMT001-4, IMT006-1 및 메트포르민 치료된 동물로부터의 표본은 picosirius 레드 염색이 각각 1.75%, 1.26% 및 1.83%로 유의미하게 감소되는 것으로 나타났다 (도 32c).

[0558] 종합하면, 이들 관찰로부터 GAL3-TIM3 차단 활성을 가진 인간화 항체는 신장 섬유증에서 항-섬유증 활성을 가지며, GAL3-TIM3 차단 항체에 대한 항-섬유증 활성 범위가 간 섬유증을 넘어 확장되는 것으로 나타났다.

[0559] 신장 섬유증 감소에서 TIM3-GAL3 차단 항체의 견고성 (robustness)을 평가하기 위해, mIMT001이 UUO 수술 1일 후에 투여되는 경우 섬유증을 억제하는 능력을 평가하였다. UUO 수술 및 이소타입 또는 대조군 항체로 치료한 후에, 신장 표본을 수확하고, 신장 섬유증의 마커인 콜라겐 1a1 (Colla1)에 대해 IHC로 염색하였다. 도 33a에

나타낸 바와 같이, mIMT001로 치료된 동물은 이소타입 대조군으로 치료된 동물로부터의 표본보다 감소된 수준의 Col1a1 염색을 나타내었다. 이미지 정량분석으로부터 Col1a1 염색은 sham 대조군과 비교하여 이소타입-대조군 치료된 UUO 신장 표본에서 유의미하게 상승한 것으로 나타났고, 즉 전자에서 5.48의 세기 단위 및 후자에서 17.75의 세기 단위로 측정되었다. 반대로, mIMT001-치료된 동물로부터의 신장 표본은 9.17 세기 단위로 유의미하게 감소된 것으로 관찰되었고, 이는 이러한 섬유증 마커에서 48%의 전체 감소를 나타낸다 (도 33b).

[0560] 따라서, GAL3-TIM3 차단 항체는 신장 섬유증에서 예방적 유익뿐만 아니라 치료적 유익을 제공한다.

[0561] 실시예 33: 항-Gal3 항체는 마우스 블레오마이신-유도 손상 모델에서 폐 섬유증을 억제한다.

[0562] 폐 섬유증은 인간의 건강에 상당한 영향을 미치는 섬유성 질환의 추가의 중요한 형태를 나타낸다. GAL3-TIM3 차단의 항섬유증 효과가 폐 섬유증 환경으로 확장되는지를 평가하기 위해, 마우스 블레오마이신-유도된 폐 섬유증 모델을 mIMT001에 대한 민감도 (sensitivity)에 대해 평가하였다. 간단히 말해서, C57Blk/6 수컷 마우스에게 50ul의 PBS 중에 재구성된 30 ug의 블레오마이신 설페이트 (MP biomedical, cat# 190306)를 기관내 주사하였다. 상기 마우스를 18, 20, 22 및 24일에, mIgG2b 이소타입 대조군, 항-GAL3 항체 (mIMT001) (10mg/kg)로 꼬리 정맥 주사로 치료하거나, 또는 50ul의 Captisol (Med Chem Express, cat# HY-17031) 중 소분자 TD139 (Med Chem Express, cat# HY-19940) 10uM로 기관내 주사하였다. 마우스를 27일차에 희생시키고, 폐를 외과적으로 절개하고, 4% 파라포름알데하이드에 24시간 동안 고정하고, 70% 에탄올로 교체하고, 파라핀에 포매하였다. 폐 섬유증의 고정된 표본을 Electron Microscopy Sciences (Hatfield, PA)의 Masson 삼색 염색 키트 (26367)로 평가하였다. 5uM 폐 절편을 유리 슬라이드에 고정시키고, 탈파라핀화 후에, 계열 에탄올 욕조에서 재수화하였다. 염색은 56도에서 Bouin's 고정액 (Bouin's fixative)에서 1시간 동안 인큐베이션하여 수행되었고, Briebrich Scarlet/acid fuchsin, 포스포몰리브덴산-포스포텅스텐산 (Phosphomolybdic Acid-Phosphotungstic Acid) 및 아닐린 블루 (Aniline Blue)로 염색한 다음에, 아세트산 중에 분화시키고, 이들의 탈수화 전에, 세정 및 장착하였다.

[0563] 이소타입-대조군 치료된 마우스로부터의 블레오마이신-손상된 폐는 실질적인 폐 섬유증 및 명백한 폐포 흉터형성과 함께, 이 모델에서 폐 손상의 전형적인 형태를 나타내었다 (도 34a). 대조적으로, mIMT001로 치료된 블레오마이신 손상된 동물로부터의 폐에 손상 증거가 존재하였지만, 섬유증은 이소타입 대조군에 비해 실질적으로 감소하였다. 폐 손상은 Ashcroft 스코어에 의해 정량화되었고, 이소타입-대조군 치료된 동물로부터의 표본에서 폐에 대해 평균 스코어가 5.74이고, mIMT001-치료된 동물로부터의 표본에서 4.09인 것으로 나타났으며, 이는 섬유성 손상에서 29%의 감소를 나타내는, 통계적으로 유의미한 감소를 나타낸다 (도 34b). 이러한 데이터로부터 GAL3-표적화된 GAL3-TIM3 차단 항체는 폐 섬유증에서 섬유성 질환을 개선할 수 있어서, 신장 및 간 섬유증에서 이루어진 유사한 이전 관찰을 확장하였다.

[0564] 실시예 34: 항-Gal3 항체의 서열

[0565] 본원에 개시된 항-Gal3에 대한 상보성-결정 영역 (CDR) 서열을 결정하였다. CDR은 IMGT (world wide web.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/align.html)를 사용하여 맵핑하였다. 중쇄 CDR (VH)은 도 35a에 제공되고, 경쇄 CDR (VL)은 도 35b에 제공된다. 전장 VH 서열은 도 36a에 제공되고, 전장 VL 서열은 도 36b에 제공된다. 불변 영역에 대한 서열은 도 37에 제공된다.

[0566] 다양한 빈으로부터의 GAL3 결합 항체의 상보성 결정 영역을 Clustal Omega를 사용하여 정렬하였다 (도 38). Bin 1 항체는 VH CDR1 및 CDR2뿐만 아니라 VL CDR1 및 CDR3의 영역에서 상당한 상동성을 공유하였다. Bin 2 항체는 조사된 모든 CDR에서 상당한 상동성을 공유하였고, 상대적으로 보존적 A/S, V/T, H/D, 및 L/F 치환들이 관찰되었다. Bin 3 항체는 CDR1에서 상당한 서열 상동성과 함께 다소 더 다양했지만, 다른 CDR 영역에서는 상대적으로 분기하였다. Bin 4 항체는 조사된 모든 CDR에서 상당한 상동성을 공유하였고, 상대적으로 보존적 A/T, I/V, D/G, S/N, QK 및 V/L 치환이 관찰되었다. Bin 5 항체는 또한 덜 보존적 T/I, N/Y 치환에 추가하여 비교적 보존적 Y/F, N/K 치환이 관찰되는, 모든 CDR에서 상당한 상동성을 공유하였다. 마지막으로, Bin 7 항체 CDR은 3B11.2G2를 13A12.2E5와 구별하는 VL CDR2의 단일 V/L 치환과 함께, 거의 동일한 것으로 관찰되었다. 도 35a-b, 36a-b, 37, 또는 38에 제공된 임의의 다른 서열들과의 정렬은 당해 분야에 알려진 기술로 수행될 수 있다.

[0567] 앞서 기재된 구체예의 적어도 일부에서, 구체예에서 사용된 하나 이상의 요소는 또 다른 구체예에서 상호교환 가능하게 사용될 수 있지만, 이러한 대체는 기술적으로 실현 가능해야 한다. 당업자라면 청구된 주제의 범위를 벗어나지 않고 상기에 기재된 방법 및 구조에 대해 다양한 기타 생략, 추가 및 수정이 이루어질 수 있다는 것을

이해할 것이다. 이러한 모든 수정 및 변경은 첨부된 청구범위에 의해 정의된 바와 같이 주제의 범위 내에 속하는 것으로 의도된다.

[0568] 본원에서 실질적으로 임의의 복수 및/또는 단수 용어의 사용과 관련하여, 당해 분야의 숙련가는 문맥 및/또는 적용에 적절하게 복수에서 단수로 및/또는 단수에서 복수로 번역할 수 있다. 다양한 단수/복수 순열은 명료함을 위해 본원에서 명시적으로 제시될 수 있다.

[0569] 당업자라면 일반적으로 본원에, 특히 첨부된 청구항 (예: 첨부된 청구항의 바디)에 사용된 용어는 일반적으로 "개방형" 용어 (예: 용어 "포함하는"은 "포함하지만, 이에 한정되지 않음"으로 해석되어야 하고, 용어 "갖는"은 "적어도 갖는"으로 해석되어야 하며, 용어 "포함한다"는 "포함하지만, 이에 한정되지 않는다"로 해석되어야 함)로서 의도되는 것으로 이해할 것이다. 또한 당업자라면 특정 수의 도입된 청구항 인용이 의도되는 경우, 이러한 의도가 청구범위에 명시적으로 인용될 것이며, 이러한 인용이 부재한 경우, 이러한 의도가 존재하지 않는 것으로 이해할 것이다. 예를 들어, 이해를 돕기 위해, 하기 첨부된 청구항에는 청구항 인용을 도입하기 위해 "적어도 하나" 및 "하나 이상"이라는 도입 문구의 사용을 포함할 수 있다. 그러나, 이러한 문구의 사용은 부정관사 "a" 또는 "an"에 의한 청구항 인용의 도입이, 동일한 청구항이 도입 문구 "하나 이상" 또는 "적어도 하나" 및 부정관사 예컨대 "a" 또는 "an" (예: "a" 및/또는 "an"은 "적어도 하나" 또는 "하나 이상"을 의미하는 것으로 해석되어야 함)을 포함하는 경우에도, 이러한 도입된 청구항의 인용을 포함하는 임의의 특정 청구항을 이러한 인용을 단 하나 포함하는 구체예로 제한하는 것을 의미하는 것으로 해석되어서는 안되며; 청구항 인용을 도입하기 위해 사용되는 정관사를 사용하는 경우에도 마찬가지이다. 또한, 특정 수의 도입된 청구항 인용이 명시적으로 인용된 경우에도, 당업자라면 이러한 인용은 인용된 수를 적어도 포함하는 것으로 해석되어야 한다는 것을 이해할 것이다 (예: 다른 수식어 없이, "2개의 인용"의 맨 인용 (bare recitation)은 적어도 2개의 인용, 또는 2개 이상의 인용을 의미한다). 또한, "A, B, C 등 중 적어도 하나"와 유사한 관례가 사용되는 경우, 일반적으로 이러한 구성은 해당 기술 분야의 숙련자가 관례를 이해할 수 있다는 의미에서 의도된다 (예: "A, B, 및 C 등 적어도 하나를 가진 시스템"은 A 단독, B 단독, C 단독, A 및 B 함께, A 및 C 함께, B 및 C 함께, 및/또는 A, B, 및 C 함께 등을 가진 시스템들을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다). "A, B, C 등 중 적어도 하나"와 유사한 관례가 사용되는 경우, 일반적으로 이러한 구성은 해당 기술 분야의 숙련자가 관례를 이해할 수 있다는 의미에서 의도된다 (예: "A, B, 또는 C 중 적어도 하나를 가진 시스템"은 A 단독, B 단독, C 단독, A 및 B 함께, A 및 C 함께, B 및 C 함께, 및/또는 A, B, 및 C 함께 등을 가진 시스템들을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다). 명세서, 청구범위, 또는 도면에서 2 이상의 대체 용어를 제시하는 사실상 모든 이접적 단어 및/또는 문구는 용어들 중 하나, 각 용어, 또는 이들 용어 모두를 포함할 가능성을 고려하는 것으로 이해되어야 한다는 것이 당업자에 의해 추가로 이해될 것이다. 예를 들어, 문구 "A 또는 B"는 "A" 또는 "B" 또는 "A 및 B"의 가능성을 포함하는 것으로 이해될 것이다.

[0570] 또한, 본 개시내용의 특징 또는 양상이 Markush 그룹의 관점에서 기재되는 경우, 당업자는 본 개시내용이 이에 의해 Markush 그룹의 임의의 개별 구성원 또는 구성원들의 서브그룹의 관점에서 기재된다는 것을 이해할 것이다.

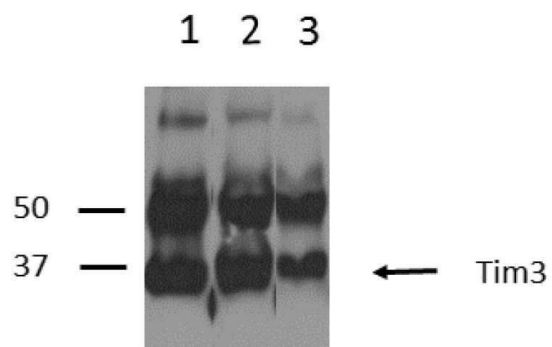
[0571] 당업자가 이해하는 바와 같이, 서면 설명을 제공하는 것과 같은 임의 및 모든 목적을 위해, 본원에 개시된 모든 범위는 또한 임의 및 모든 가능한 하위-범위 및 이들의 하위-범위들의 조합을 포함한다. 나열된 모든 범위는 동일한 범위를 적어도 동일한 1/2, 1/3, 1/4, 1/5, 1/10 등으로 나눌 수 있도록 충분히 설명하는 것으로 쉽게 이해될 수 있다. 비-제한적인 예로서, 본원에 논의된 각 범위는 쉽게 하위 1/3, 중위 1/3 및 상위 1/3 등으로 나눌 수 있다. 당업자에 의해 이해될 수 있는 바와 같이, 모든 언어 예컨대 "최대", "적어도", "초과", "미만" 및 유사어는 인용된 수를 포함하고, 상기에 토의된 바와 같이 후속하여 하위-범위로 나눌 수 있는 범위를 지칭한다. 마지막으로, 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 범위는 각 개별 구성원을 포함한다. 따라서, 예를 들어, 1-3개의 물건을 가진 그룹은 1, 2 또는 3개의 물건을 가진 그룹을 지칭한다. 유사하게, 1-5개의 물건을 가진 그룹은 1, 2, 3, 4 또는 5개의 물건을 가진 그룹을 지칭한다.

[0572] 다양한 양상 및 구체예가 본원에 개시되었지만, 다른 양상 및 구체예가 당업자에게 명백할 것이다. 본원에 개시된 다양한 양상 및 구체예는 예시를 위한 것이며, 제한하려는 것은 아니며, 진정한 범위 및 사상은 하기 청구 범위에 의해 표시된다.

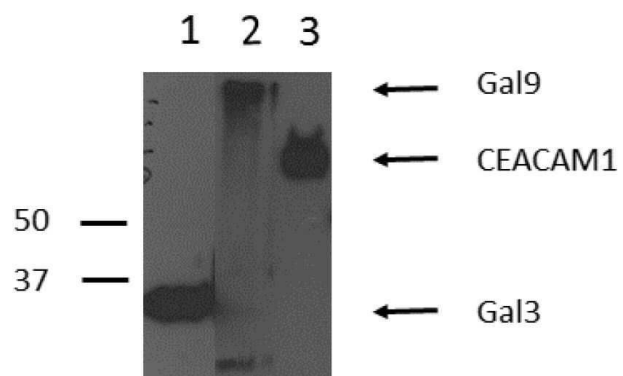
[0573] 본 개시내용에서 인용된 모든 문헌, 특허, 특허 출원 및 기타 간행물은 이들 각각의 전체가 본원에 참조로 통합된다.

도면

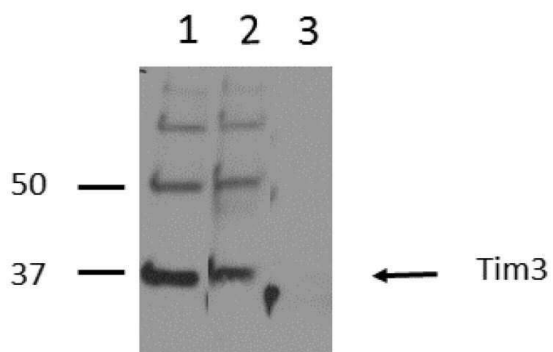
도면1a



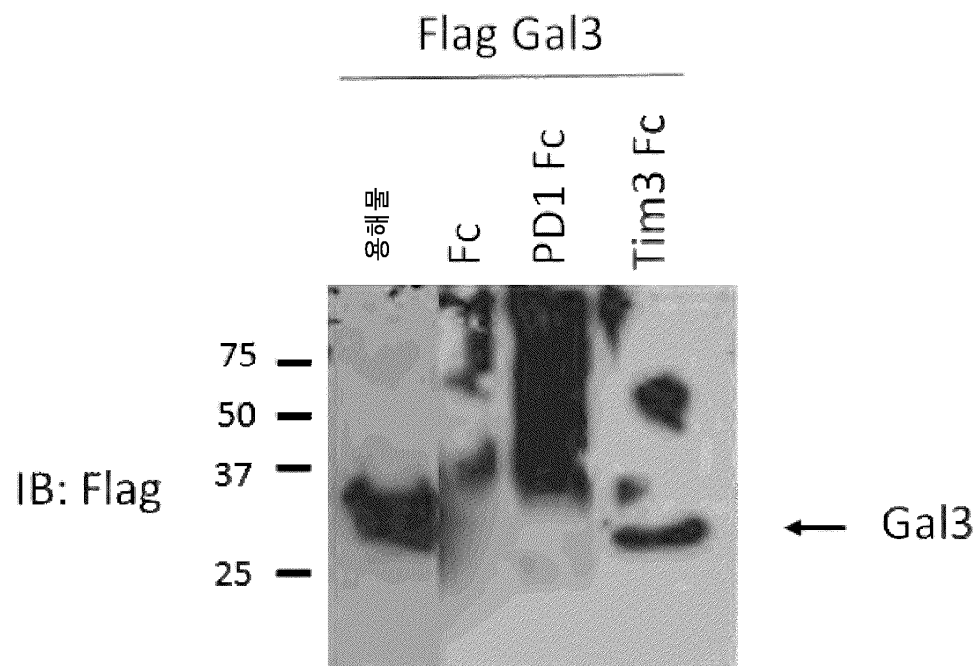
도면1b



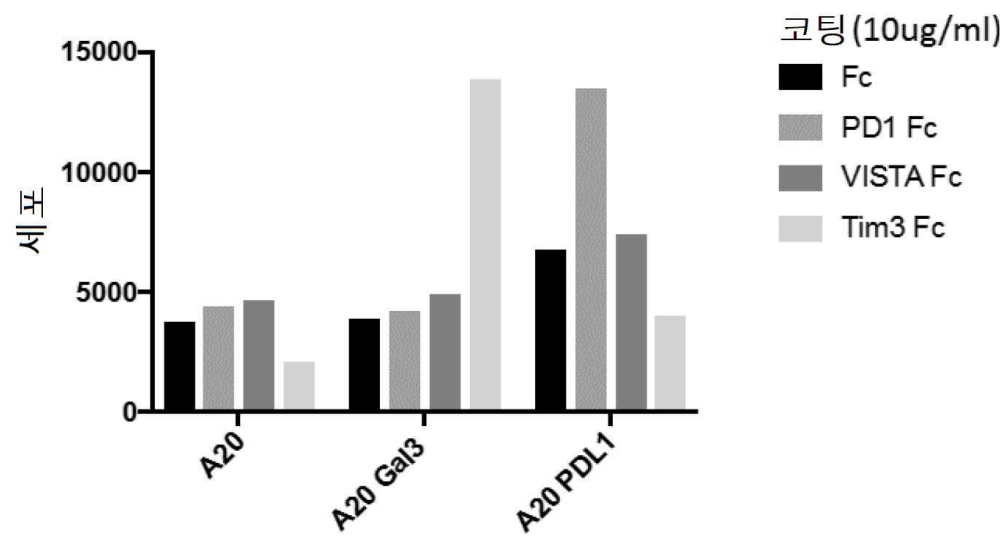
도면1c



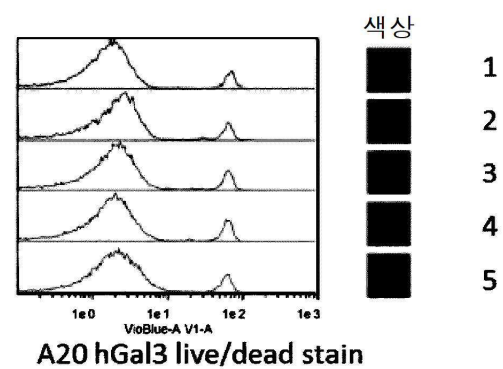
도면2



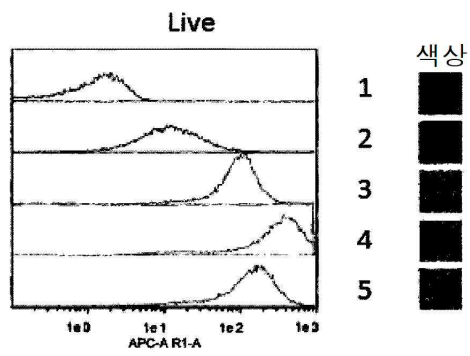
도면3



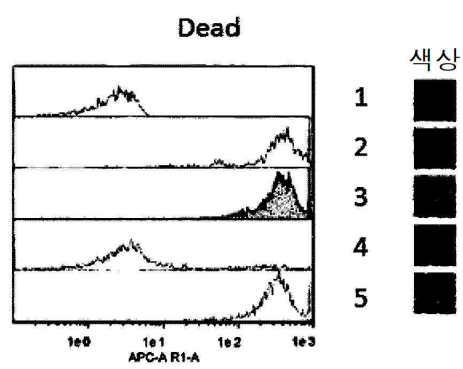
도면4a



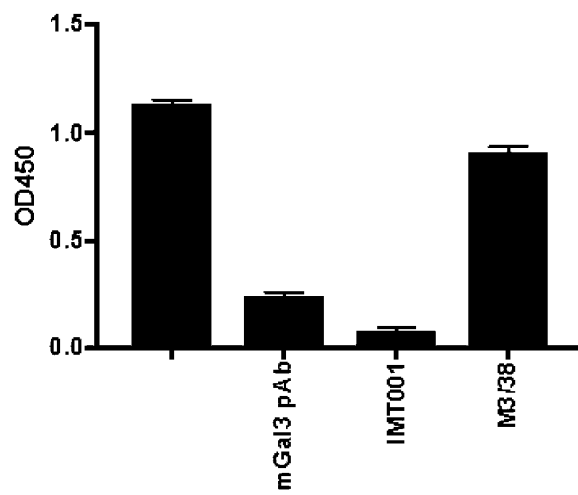
도면4b



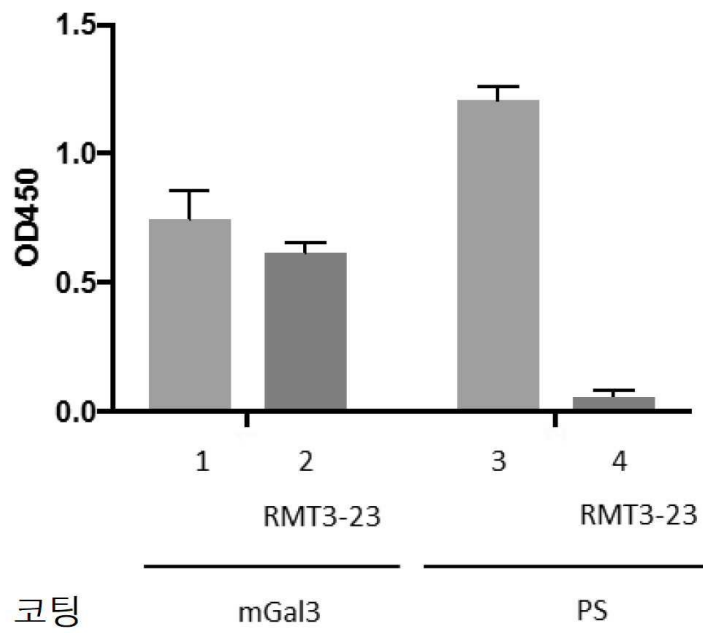
도면4c



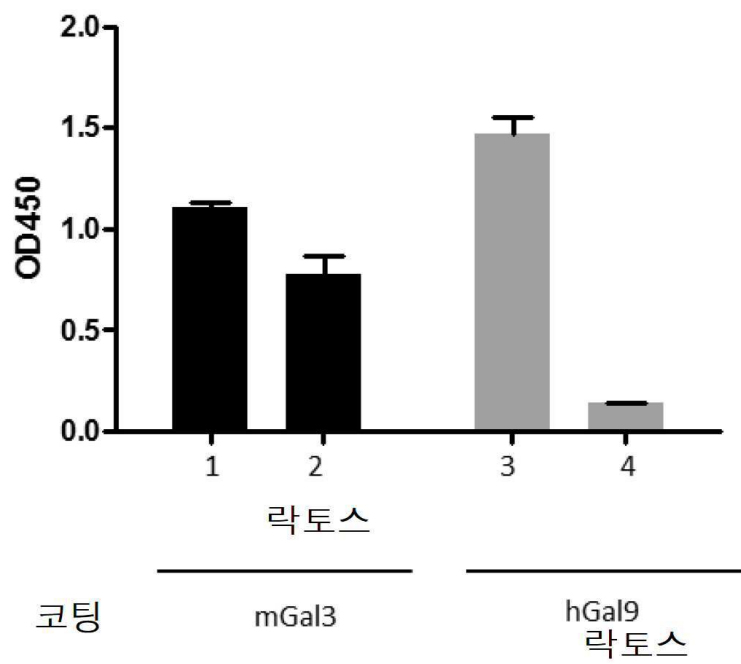
도면5a



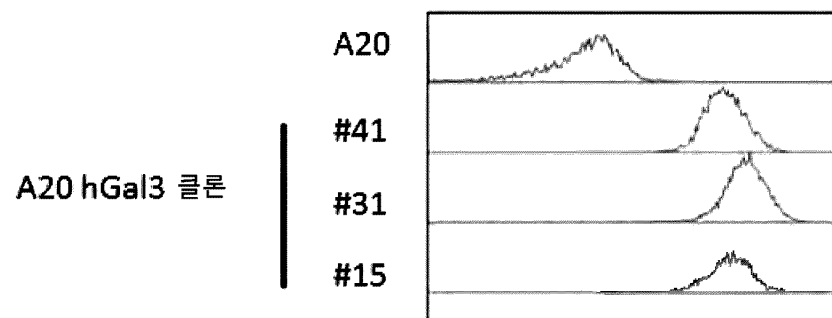
도면5b



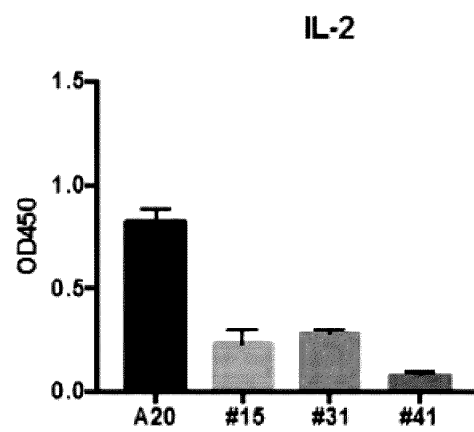
도면5c



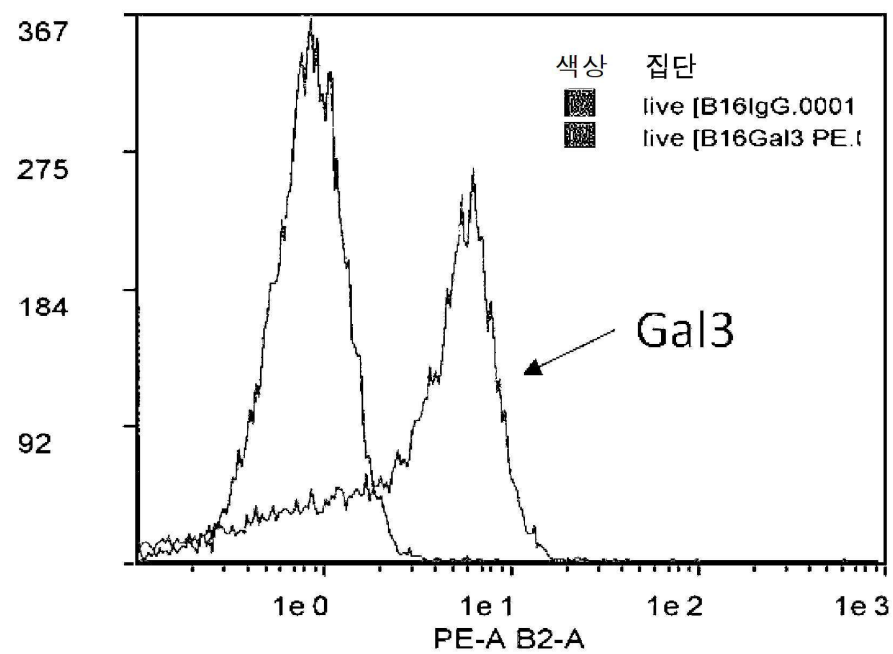
도면6a



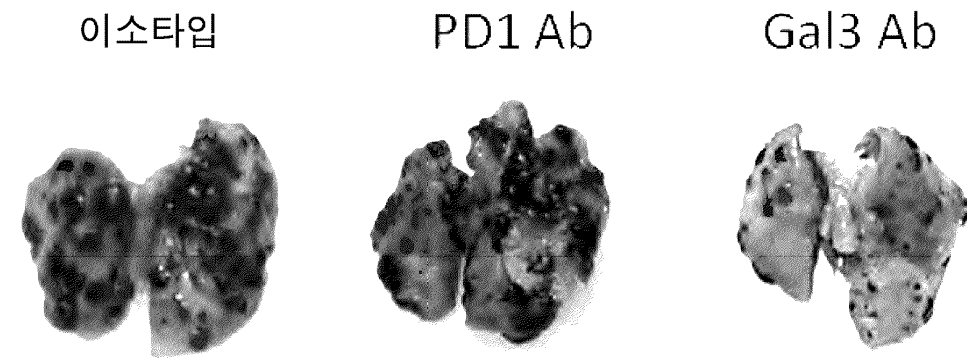
도면6b



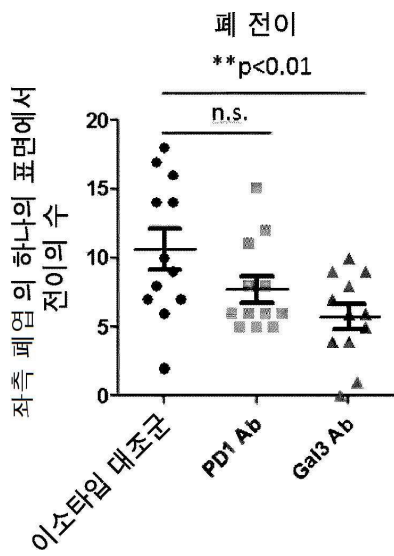
도면7a



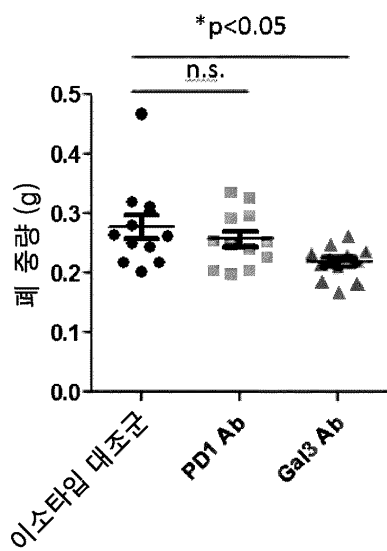
도면7b



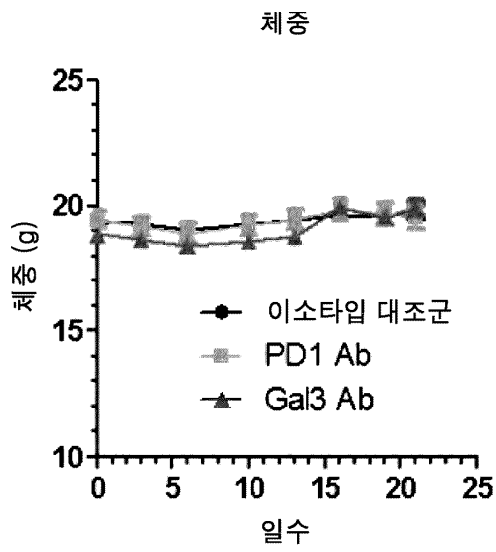
도면7c



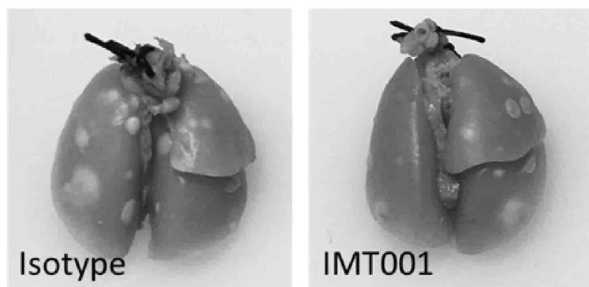
도면7d



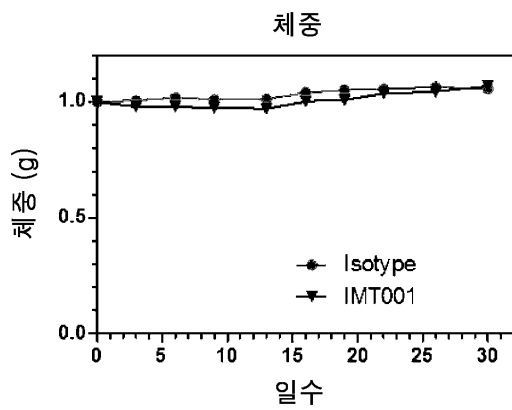
도면7e



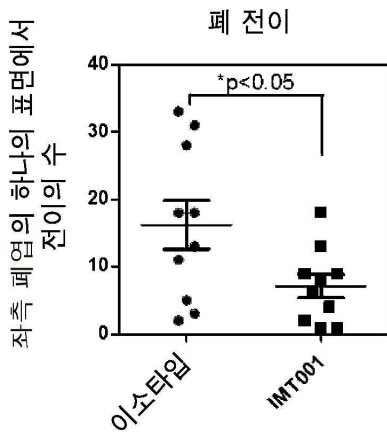
도면8a



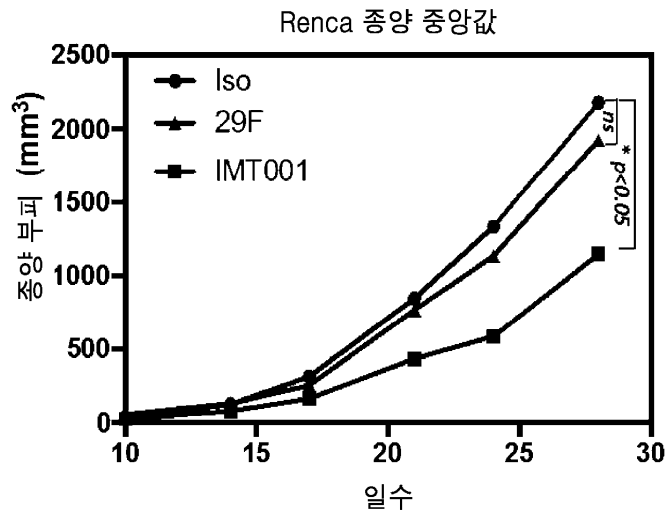
도면8b



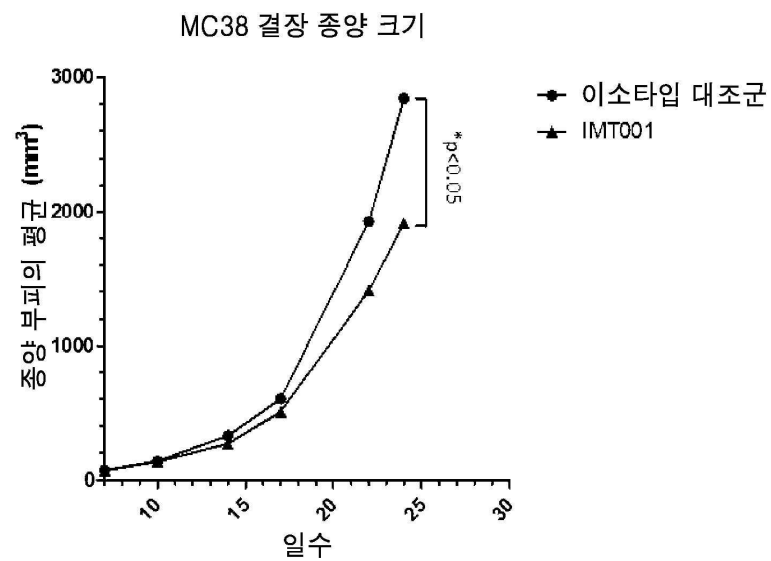
도면8c



도면9



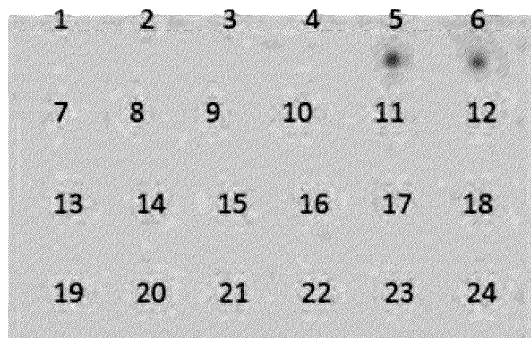
도면10



도면11a

명칭	서열	서열번호
펩티드_1	ADNFSLHDALSGSGNPNPQG	3
펩티드_2	SGSGNPNPQGWPAGWGNQPA	4
펩티드_3	WPGAWGNQPAGAGGYPGASY	5
펩티드_4	GAGGYPGASYPGAYPGQAPP	6
펩티드_5	PGAYPGQAPPAYPGQAPPG	7
펩티드_6	GAYPGQAPPAYPGAPGAYP	8
펩티드_7	AYPGAPGAYPGAPAGVYPG	9
펩티드_8	GAPAGVYPGPPSGPGAYPS	10
펩티드_9	PPSGPGAYPSSGQPSATGAY	11
펩티드_10	SGQPSATGAYPATGPYGAPA	12
펩티드_11	PATGPYGAPAGPLIVPYNLP	13
펩티드_12	GPLIVPYNLPLPGGVVPRML	14
펩티드_13	LPGGVVPRMLITILGTVKPN	15
펩티드_14	ITILGTVKPNANRIALDFQR	16
펩티드_15	ANRIALDFQRGNDVAFHFNP	17
펩티드_16	GNDVAFHFNPFRFNENRRVI	18
펩티드_17	RFNENRRVIVCNTKLDNNW	19
펩티드_18	VCNTKLDNNWGREERQSVFP	20
펩티드_19	GREERQSVFPFESGKPFKIQ	21
펩티드_20	FESGKPFKIQVLVEPDHFKV	22
펩티드_21	VLVEPDHFKVAVNDAHLLQY	23
펩티드_22	AVNDAHLLQYNHRVKKLNEI	24
펩티드_23	NHRVKKLNEISKLGISGDID	25
펩티드_24	SKLGISGDIDLTASAYTMI	26

도면11b

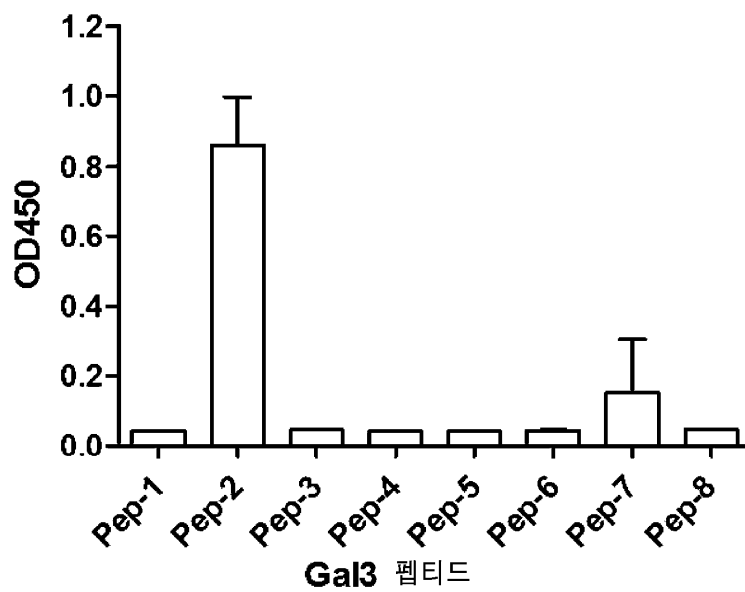


도면11c

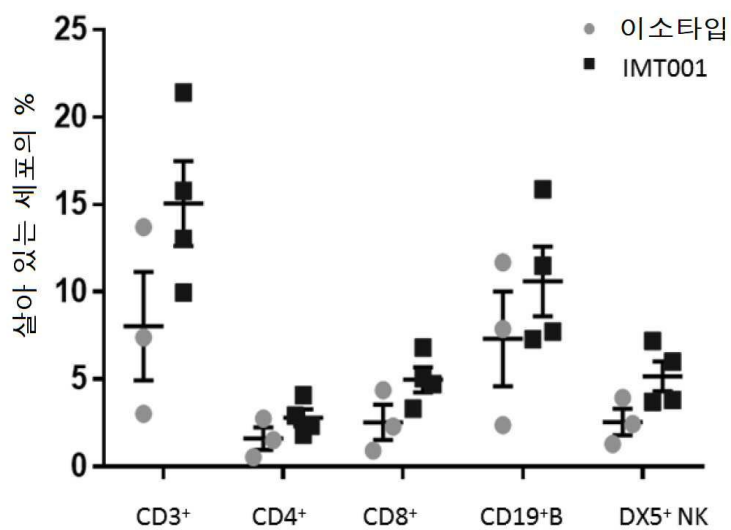
명칭	서열	서열번호
펩티드_25	PGAYPGQAPP	27
펩티드_26	GQAPPGAYPG	28
펩티드_27	GAYPGQAPPGA	29
펩티드_28	APPGAYPGAP	30
펩티드_29	YPGAPGAYP	31
펩티드_30	APPGAY	32
펩티드_31	GAYPGQ	33
펩티드_32	PGQAPP	34

도면11d

IMT001의 Gal3 펩티드와의 결합



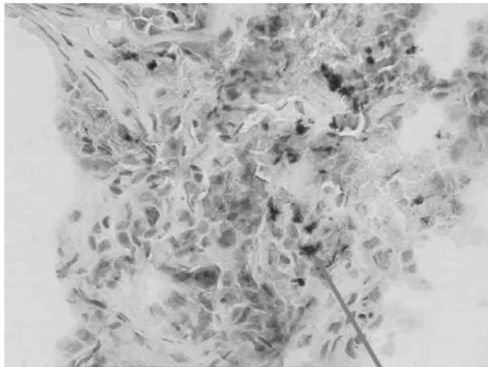
도면12



도면13a

폐암
편평세포 암종

IMT-001

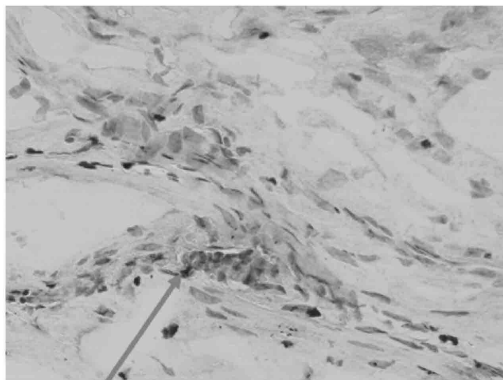


Gal3+
마크로파지

도면13b

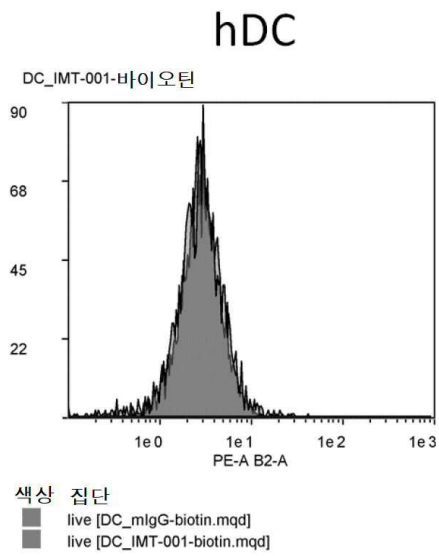
폐암
선암종

IMT-001

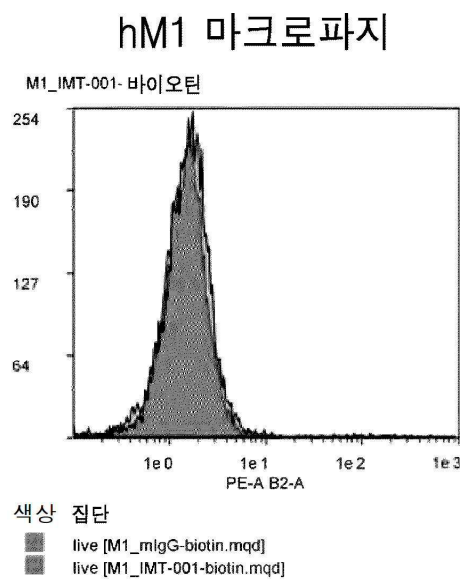


Gal3+
마크로파지

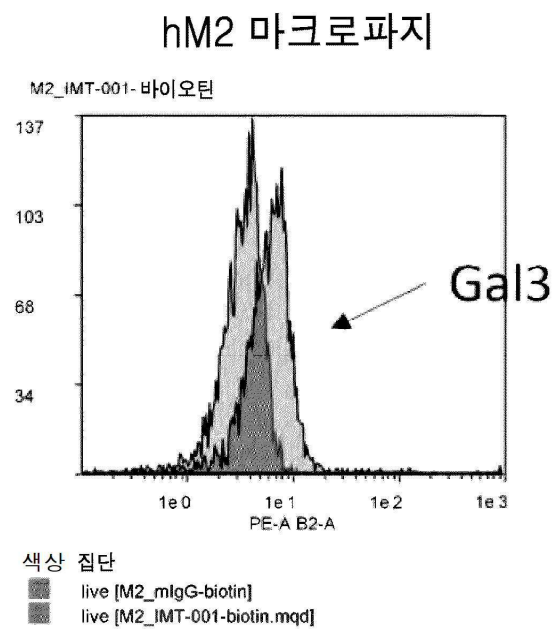
도면14a



도면14b

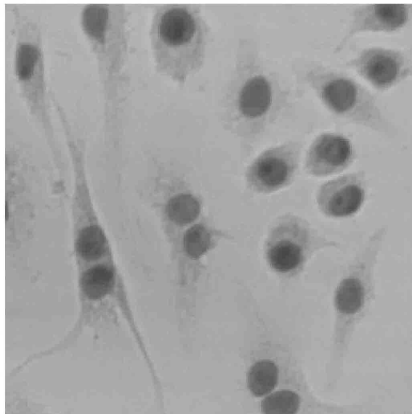


도면14c



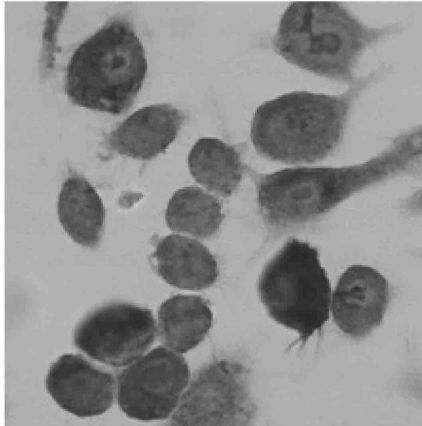
도면15a

mIgG

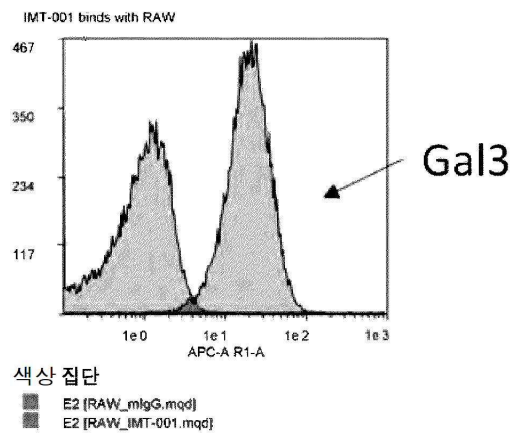


도면15b

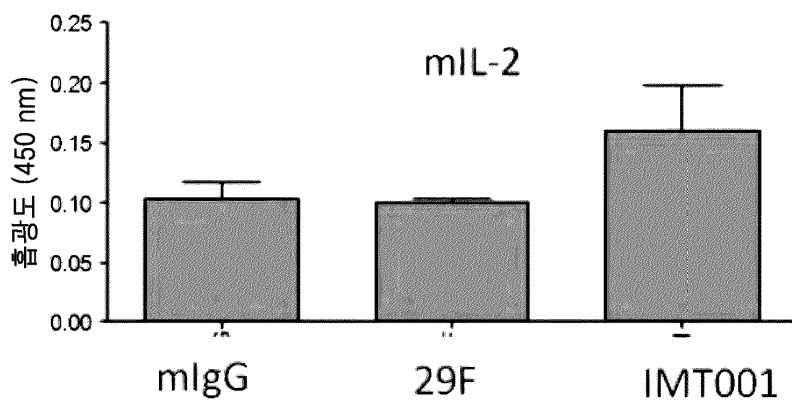
IMT-001/Gal3



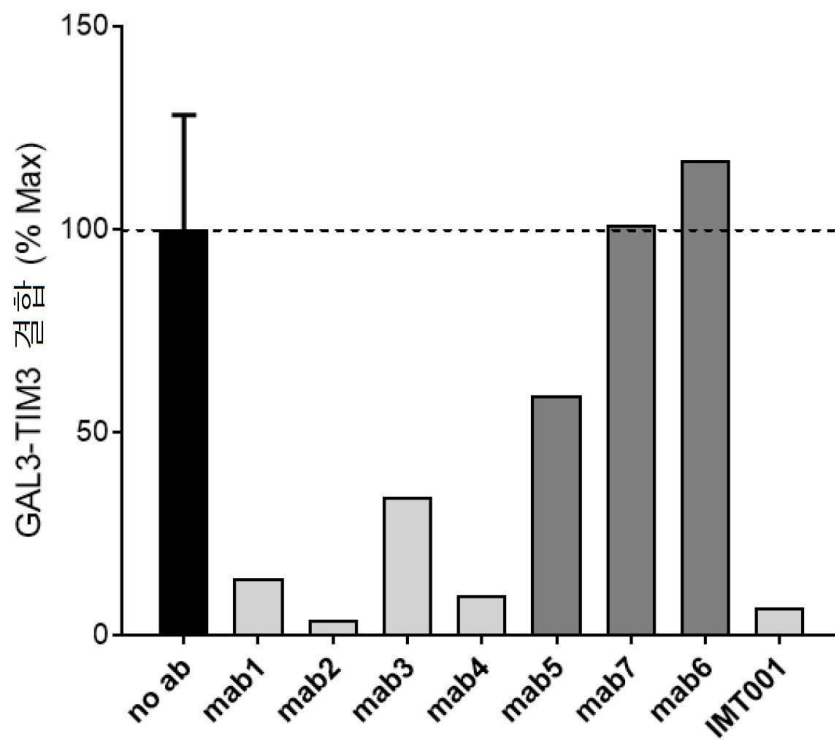
도면15c



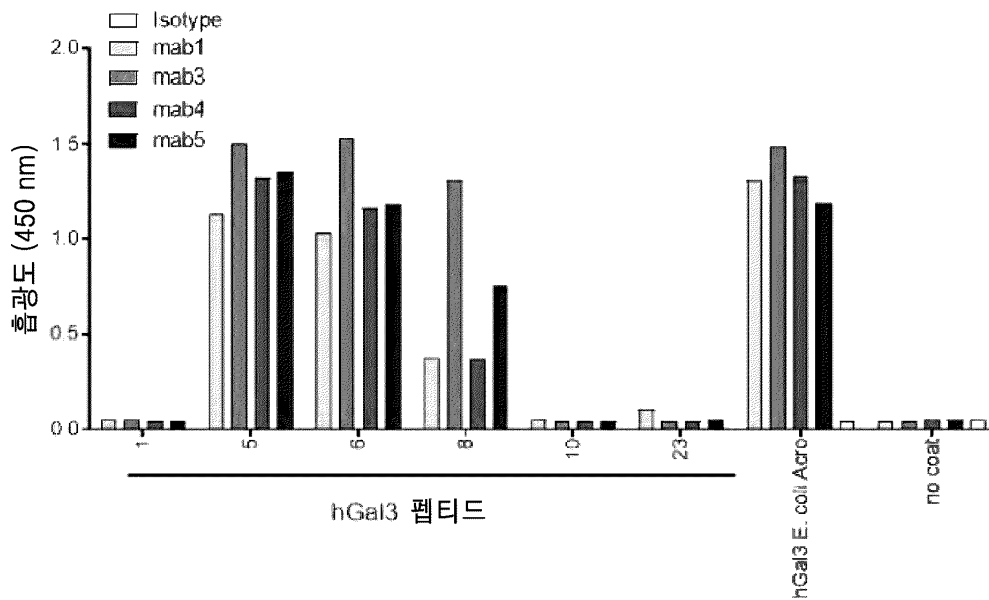
도면15d



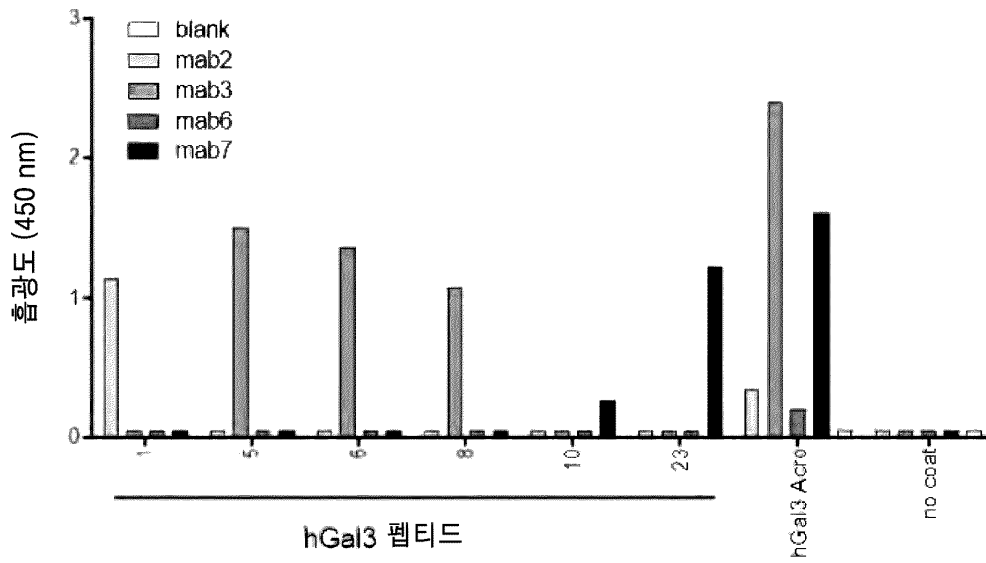
도면16



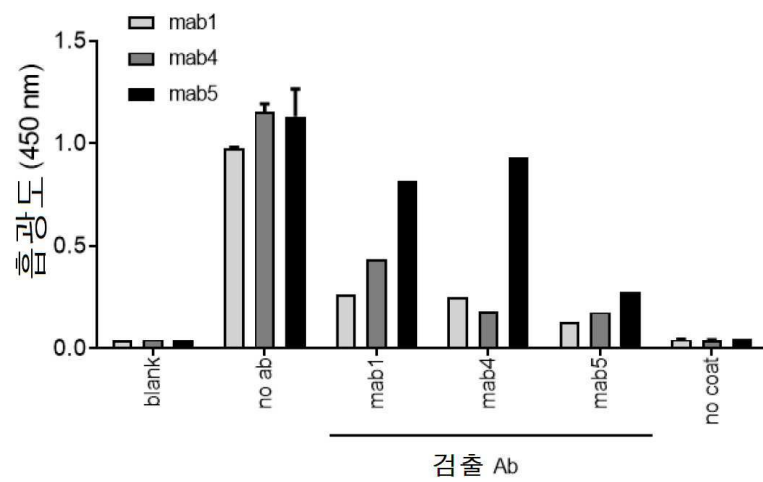
도면17a



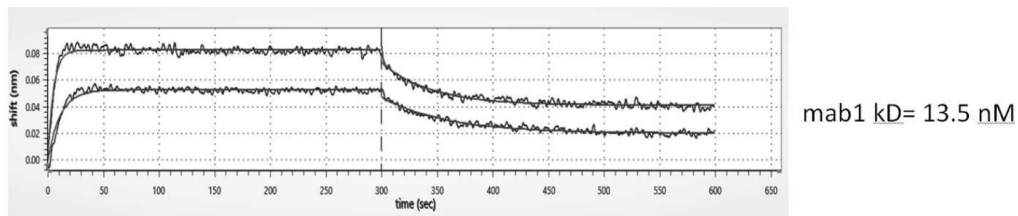
도면17b



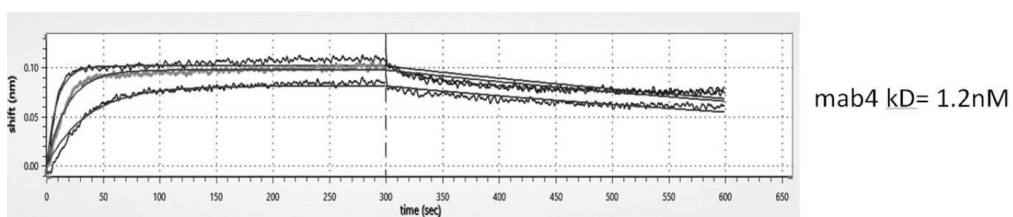
도면18



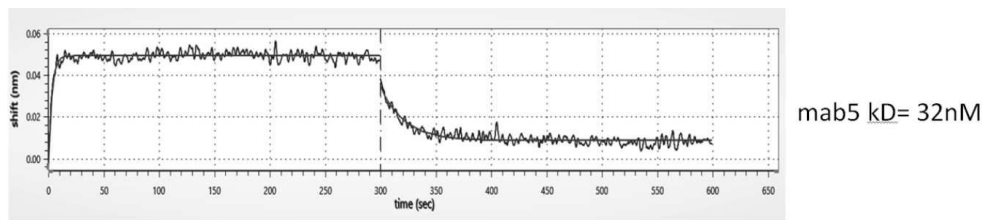
도면19a



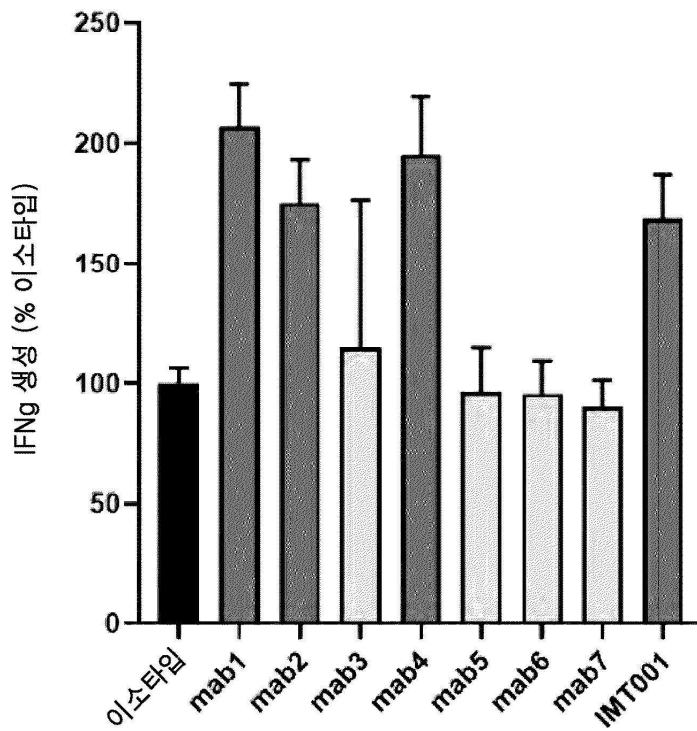
도면19b



도면19c



도면20



도면21a

Trypsin, Chymotrypsin, ASP-N, Elastase and Thermolysin Interlink between Tim-3 and Gal3

Sequence	enzyme	Protein1	Protein2
GDVSLTIENVTLADSGIYCCR-IALDFQRGNDVAFHFNPRFNENNR-a11-b14	Trypsin	Tim-3	Gal3
IYCCR.IQ/PGI-FQRGNDVA-a5-b3	Thermolysin	Tim-3	Gal3
YWLNGDFRKGDSVSLTIENVTLADSGIYCCR-GNDVAFHFNPRFNENNR-a15-b11	Trypsin	Tim-3	Gal3
TIENVTL-NPRFNENNRVIVCNTKL-a6-b9	Chymotrypsin	Tim-3	Gal3
KGDVSLTIENVTLADSGIYCCR.IQ/PGIMNDEK-FNENNR-a12-b6	Trypsin	Tim-3	Gal3
KGDVSLTIENVTLADSGIYCCR.IQ/PGIMNDEK-FNENNR-a22-b6	Trypsin	Tim-3	Gal3
VTADSG-FNENNR-a2-b6	Thermolysin	Tim-3	Gal3
VTADSG-FNENNRV-a2-b6	Thermolysin	Tim-3	Gal3
DVSLTIENVTLADSGIYCCR.IQ/PGIMN-ENNRVIVCNTKLDNNWGRE-a17-b12	ASP-N	Tim-3	Gal3

Trypsin, Chymotrypsin, ASP-N, Elastase and Thermolysin Interlink betwe

Sequence	Sequence Protein 1	Sequence Protein 2
GDVSLTIENVTLADSGIYCCR-IALDFQRGNDVAFHFNPRFNENNR-a11-b14	73-93	145-168
IYCCR.IQ/PGI-FQRGNDVA-a5-b3	89-99	149-156
YWLNGDFRKGDSVSLTIENVTLADSGIYCCR-GNDVAFHFNPRFNENNR-a15-b11	64-93	152-168
TIENVTL-NPRFNENNRVIVCNTKL-a6-b9	78-84	160-177
KGDVSLTIENVTLADSGIYCCR.IQ/PGIMNDEK-FNENNR-a12-b6	72-104	163-169
KGDVSLTIENVTLADSGIYCCR.IQ/PGIMNDEK-FNENNR-a22-b6	72-104	163-169
VTADSG-FNENNR-a2-b6	82-88	163-169
VTADSG-FNENNRV-a2-b6	82-88	163-171
DVSLTIENVTLADSGIYCCR.IQ/PGIMN-ENNRVIVCNTKLDNNWGRE-a17-b12	74-101	165-184

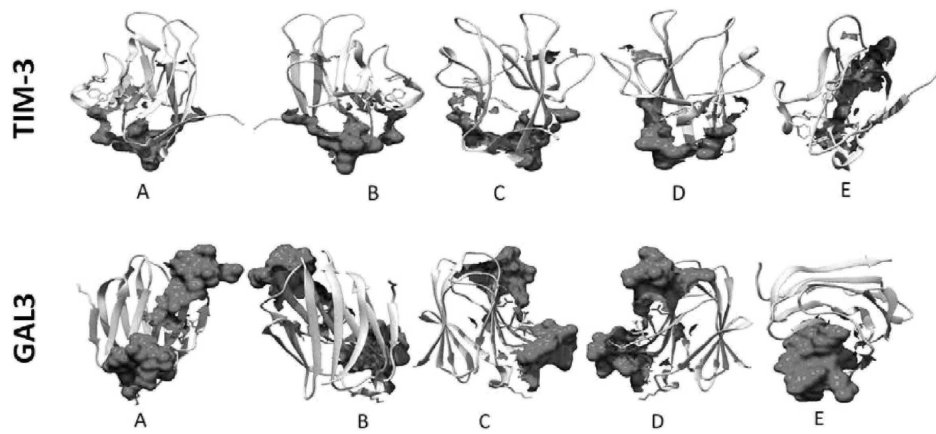
Trypsin, Chymotrypsin, ASP-N, Elastase and Thermolysin Interlink betwe

Sequence	XLType
GDVSLTIENVTLADSGIYCCR-IALDFQRGNDVAFHFNPRFNENNR-a11-b14	inter-protein xl
IYCCR.IQ/PGI-FQRGNDVA-a5-b3	inter-protein xl
YWLNGDFRKGDSVSLTIENVTLADSGIYCCR-GNDVAFHFNPRFNENNR-a15-b11	inter-protein xl
TIENVTL-NPRFNENNRVIVCNTKL-a6-b9	inter-protein xl
KGDVSLTIENVTLADSGIYCCR.IQ/PGIMNDEK-FNENNR-a12-b6	inter-protein xl
KGDVSLTIENVTLADSGIYCCR.IQ/PGIMNDEK-FNENNR-a22-b6	inter-protein xl
VTADSG-FNENNR-a2-b6	inter-protein xl
VTADSG-FNENNRV-a2-b6	inter-protein xl
DVSLTIENVTLADSGIYCCR.IQ/PGIMN-ENNRVIVCNTKLDNNWGRE-a17-b12	inter-protein xl

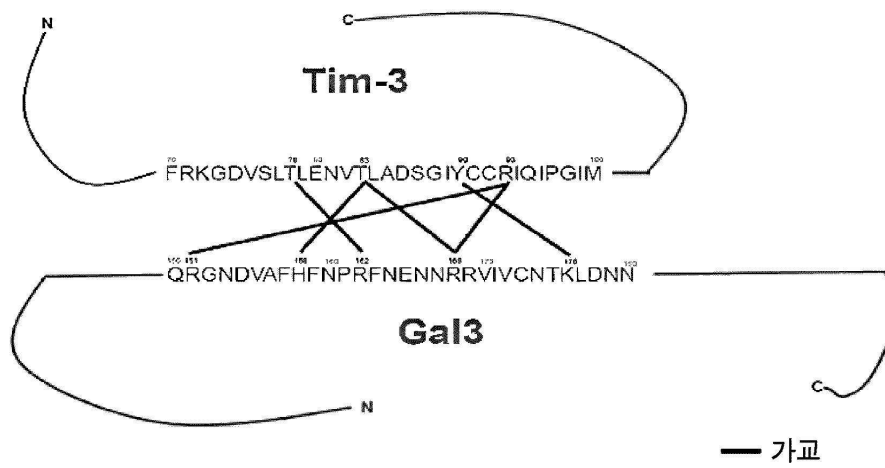
Trypsin, Chymotrypsin, ASP-N, Elastase and Thermolysin Interlink betwe

Sequence	nAA1	nAA2	Identified on StavroX
GDVSLTIENVTLADSGIYCCR-IALDFQRGNDVAFHFNPRFNENNR-a11-b14	83	158	YES
IYCCR.IQ/PGI-FQRGNDVA-a5-b3	93	151	YES
YWLNGDFRKGDSVSLTIENVTLADSGIYCCR-GNDVAFHFNPRFNENNR-a15-b11	78	162	YES
TIENVTL-NPRFNENNRVIVCNTKL-a6-b9	83	168	YES
KGDVSLTIENVTLADSGIYCCR.IQ/PGIMNDEK-FNENNR-a12-b6	83	168	YES
KGDVSLTIENVTLADSGIYCCR.IQ/PGIMNDEK-FNENNR-a22-b6	93	168	YES
VTADSG-FNENNR-a2-b6	83	168	YES
VTADSG-FNENNRV-a2-b6	83	168	YES
DVSLTIENVTLADSGIYCCR.IQ/PGIMN-ENNRVIVCNTKLDNNWGRE-a17-b12	90	176	YES

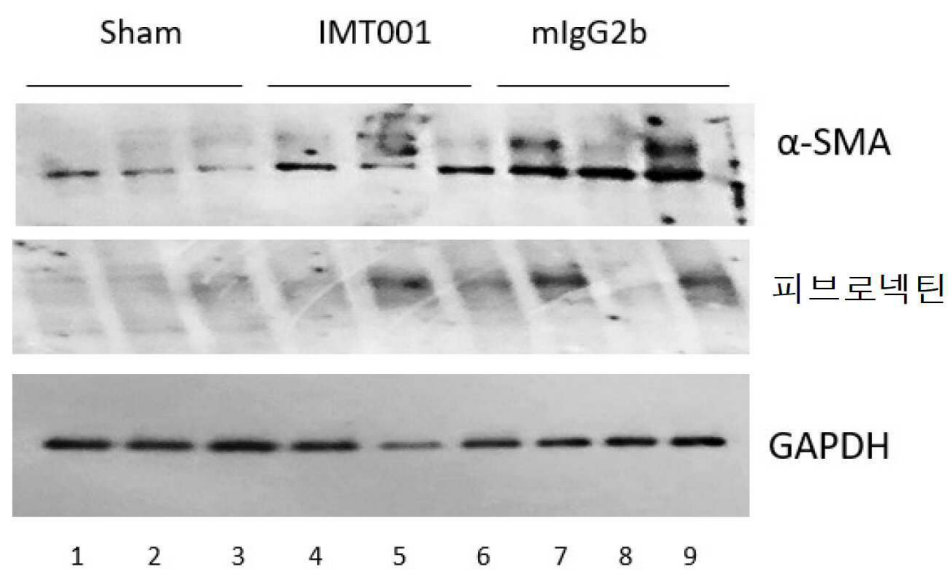
도면21b



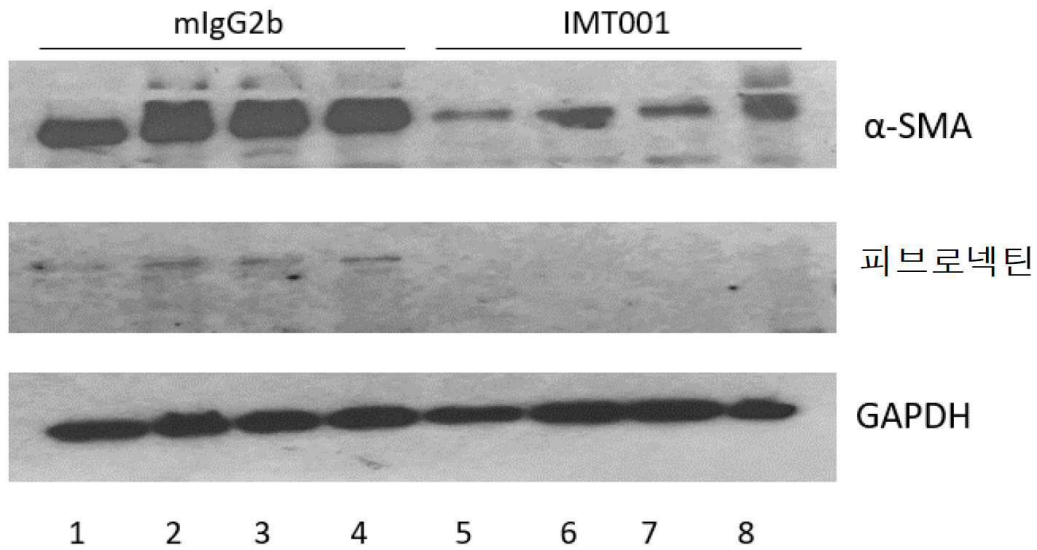
도면21c



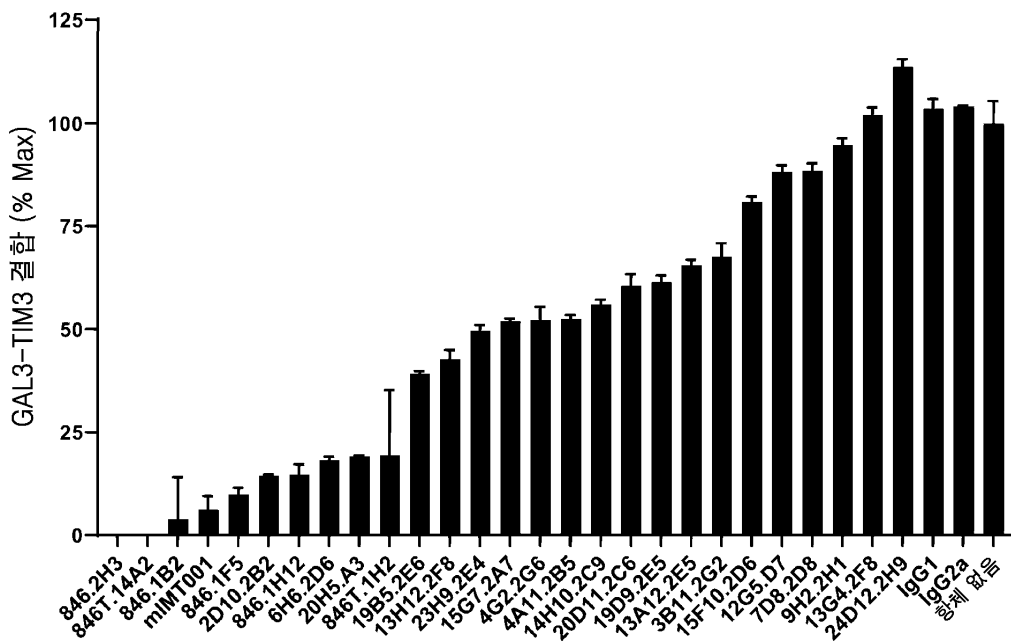
도면22



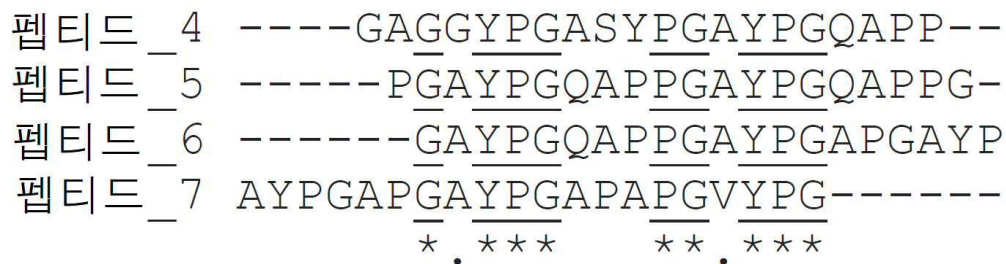
도면23



도면24



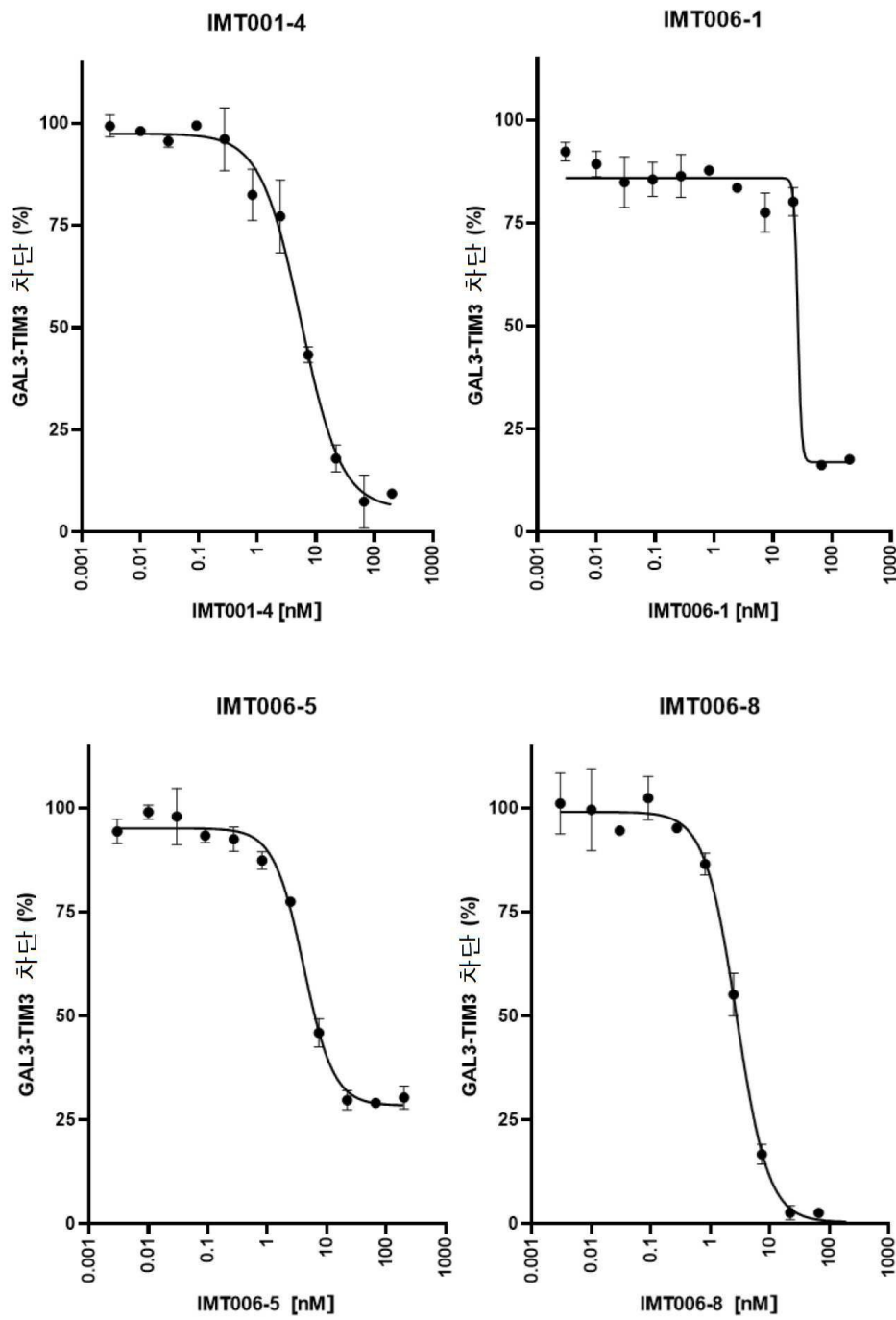
도면25



도면26

	mm1001	1909	2010	4411	23810	646	1567	462	13412	15710	677	1265	683	942	1564	Pearson	
mm1001	10	13	27	30	27	24	45	14	34	43	44	43	44	48	35	1	Bn1
1009,215	41	0	7	7	0	6	71	55	72	81	87	85	83	83	88	0.69	Bn2
2010,282	31	3	0	0	0	5	20	27	67	83	93	91	88	99	87	0.7	Bn3
4411,285	44	0	0	1	0	1	80	48	79	84	88	85	80	92	86	0.7	Bn3
23810,2812	40	1	5	5	0	7	75	49	73	66	77	71	71	74	81	0.67	Bn3
646,206	63	4	7	8	9	2	0	65	91	97	100	102	91	99	93	0.48	Bn4
1567,267	62	45	34	64	70	11	0	54	60	66	68	66	66	65	59	0.12	Bn5
462,266	62	81	79	77	92	66	89	0	8	80	80	83	78	80	85	0.38	Bn6
13412,215	70	70	78	81	94	63	85	0	0	64	86	76	77	82	76	0.34	Bn7
15710,206	81	83	85	72	81	73	85	89	84	2	80	80	71	79	89	-0.28	Bn8
677,4	97	103	104	96	111	84	110	119	101	99	1	74	70	86	76	-0.46	Bn9
1265,07	96	107	101	85	103	88	101	100	93	88	74	0	78	2	6	-0.53	Bn10
683,203	102	109	110	97	109	92	109	114	98	97	91	94	2	2	3	-0.49	Bn11
942,2410	105	104	106	90	94	94	100	105	101	94	79	0	6	0	0	-0.59	Bn12
1564,278	76	78	73	64	68	70	71	71	79	75	44	6	12	8	4	-0.59	Bn12

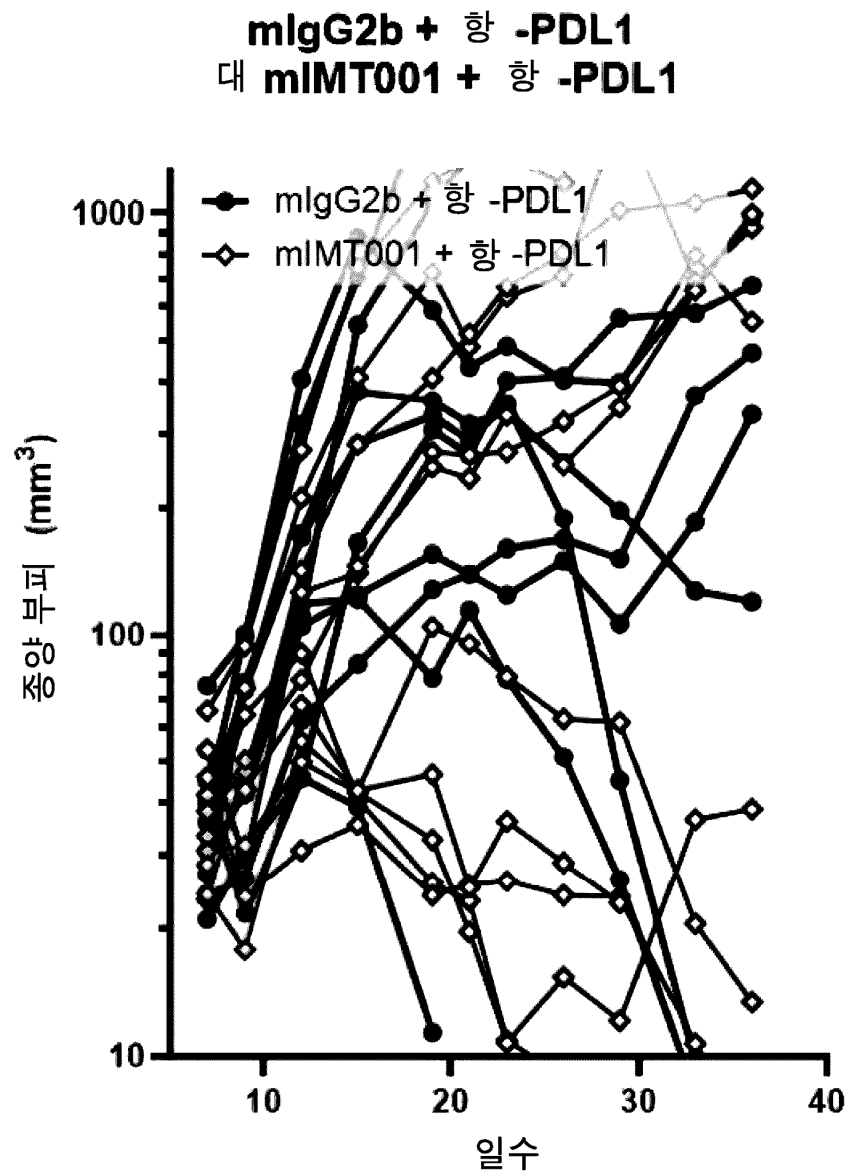
도면27



도면28a

치료	완전 반응
IgG	0/10
mIMT001	0/10
항-PD-L1	3/10
mIMT001 + 항-PD-L1	5/10

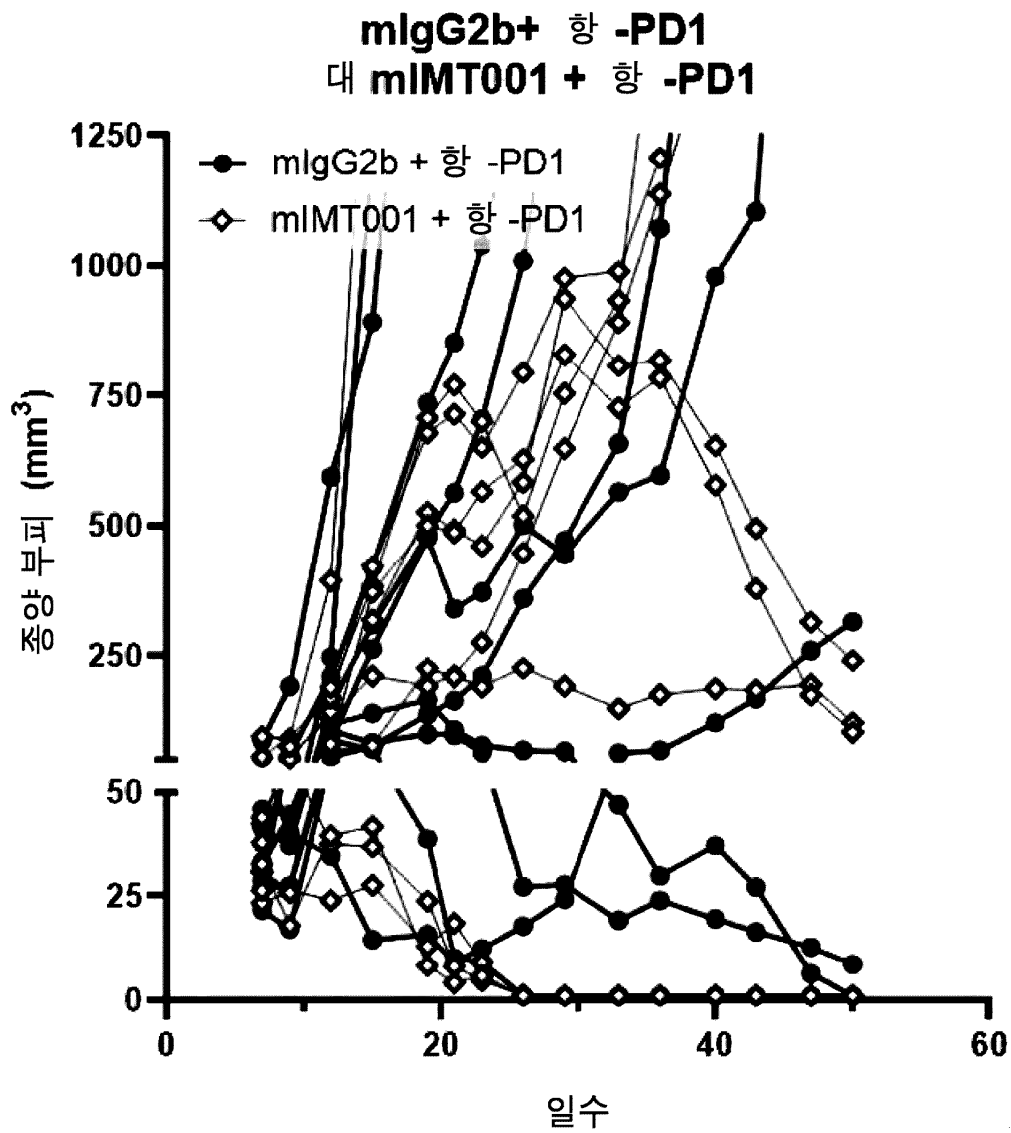
도면28b



도면28c

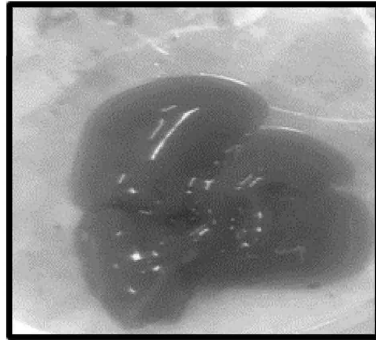
치료	반응율
IgG	0/10
mIMT001	0/10
항-PD1	3/10
mIMT001 + 항-PD1	6/10

도면28d

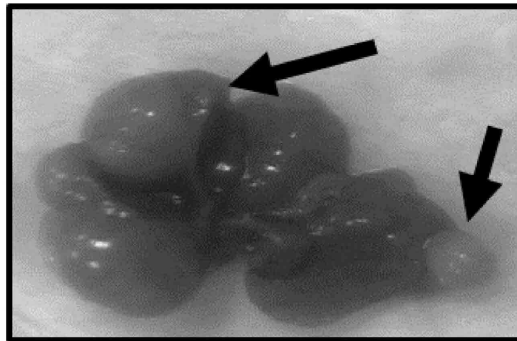


도면29a

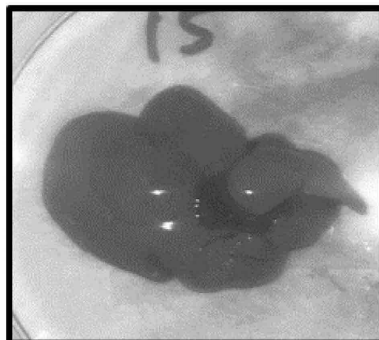
정상 간



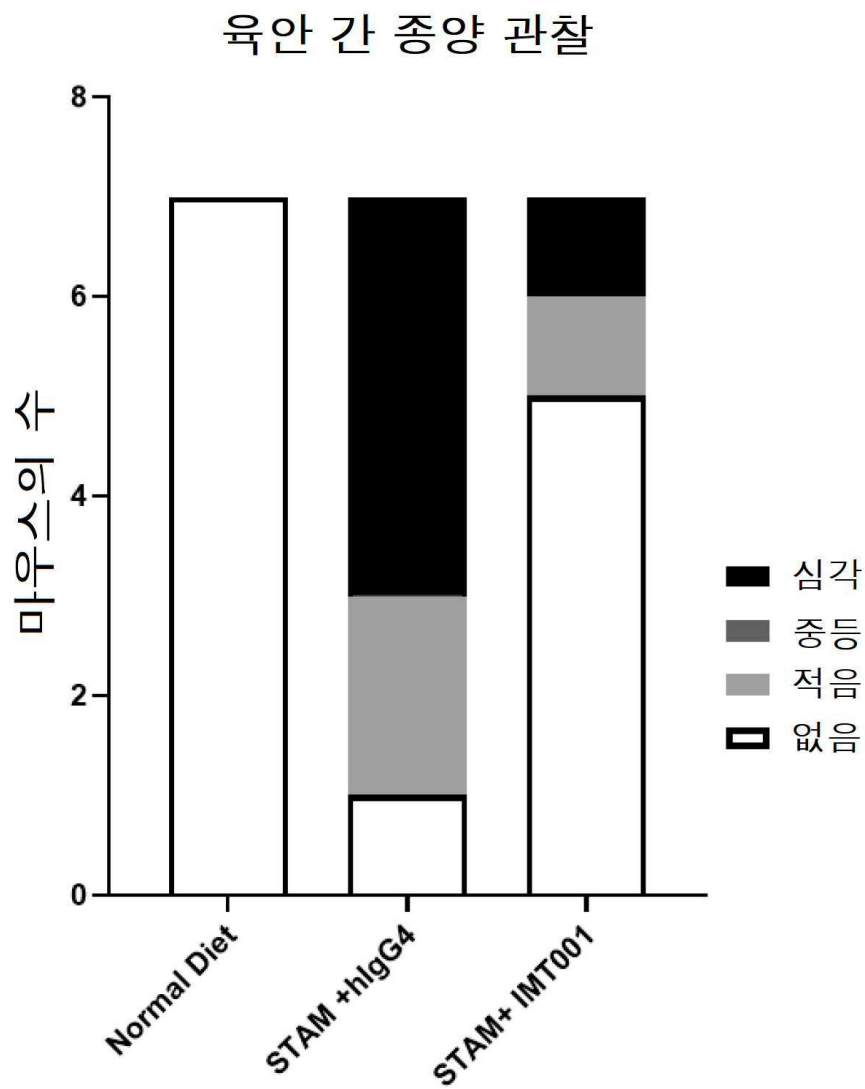
STAM +hlgG4



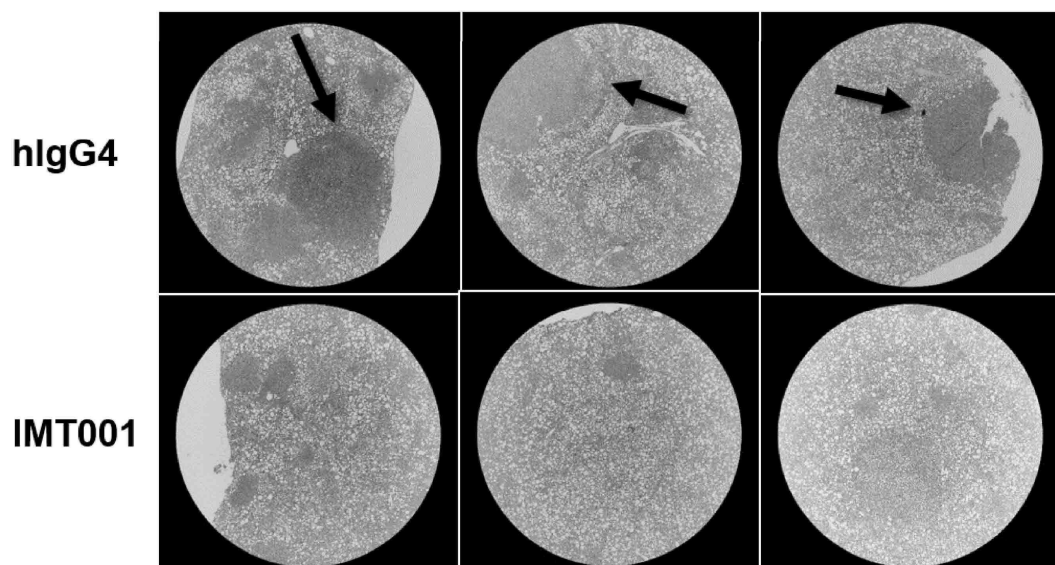
STAM +IMT001



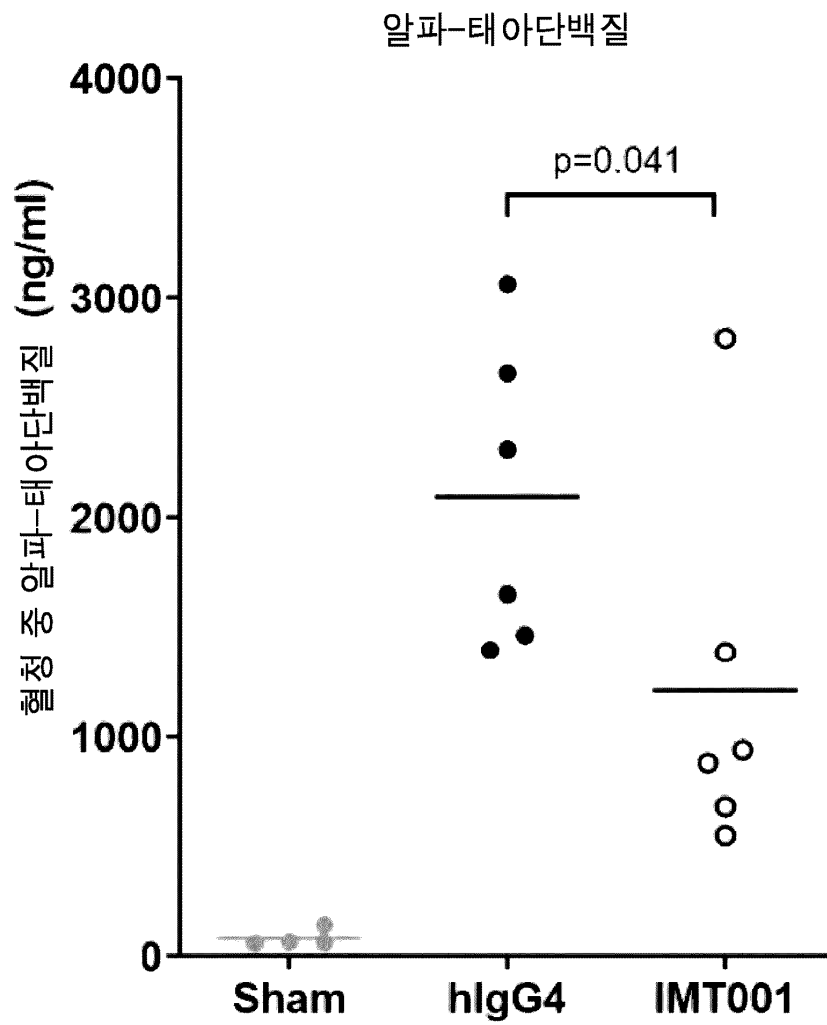
도면29b



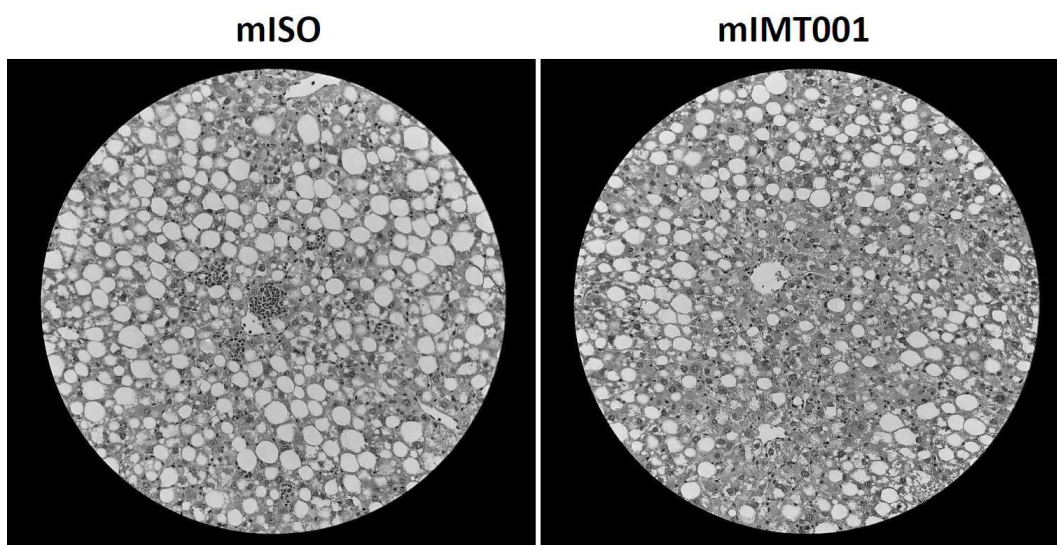
도면29c



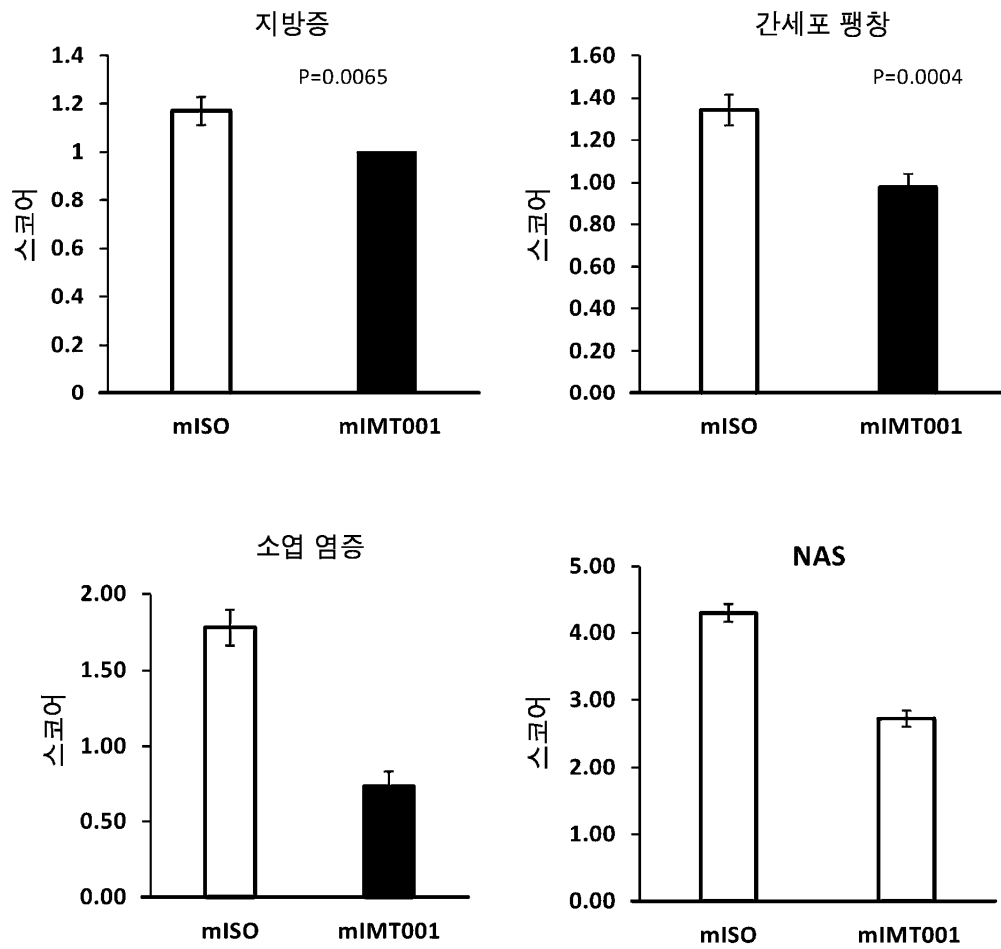
도면29d



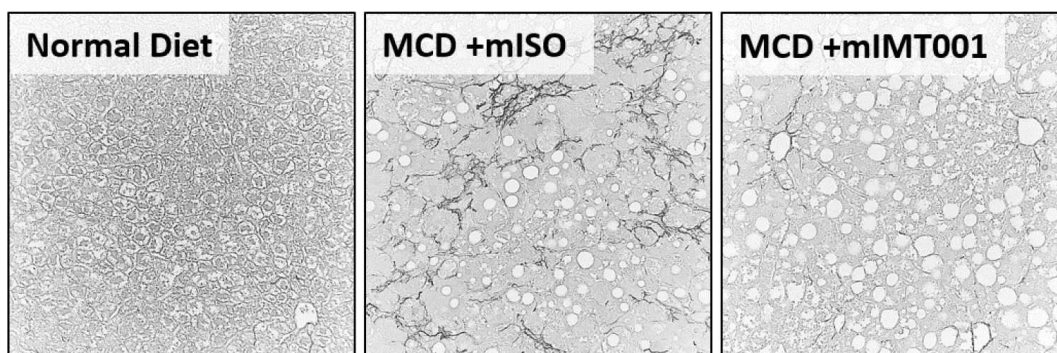
도면30a



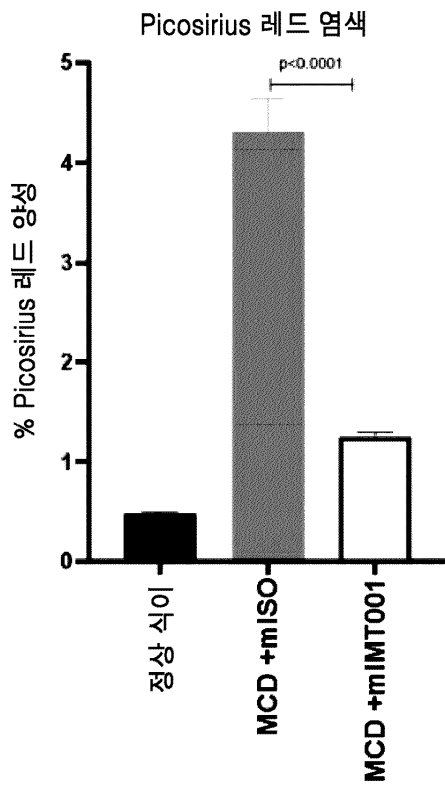
도면30b



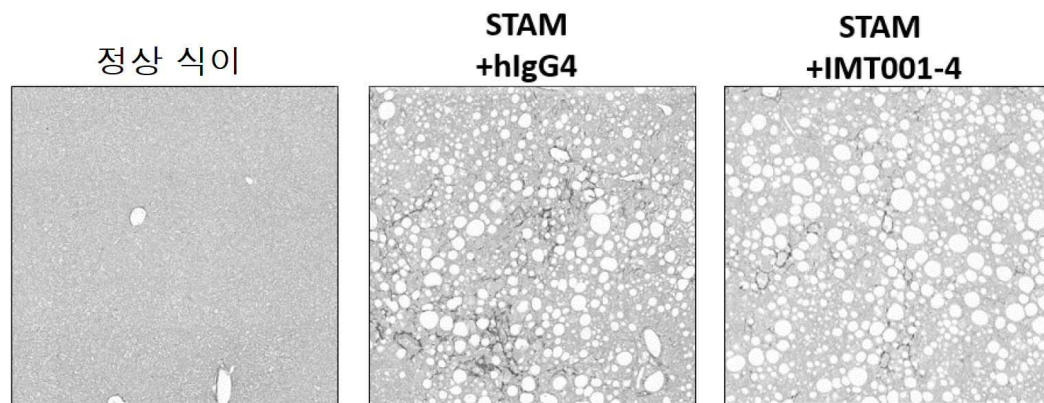
도면30c



도면30d

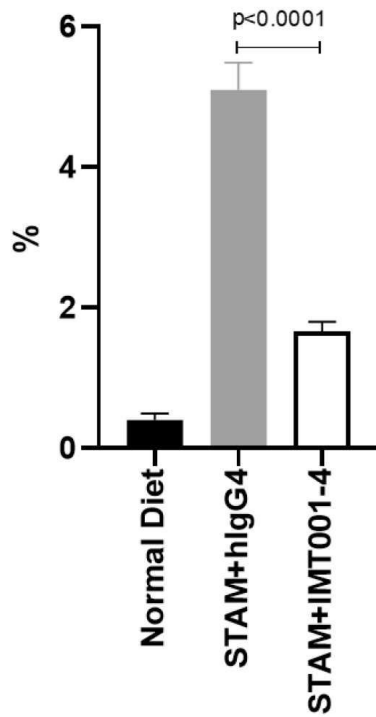


도면31a

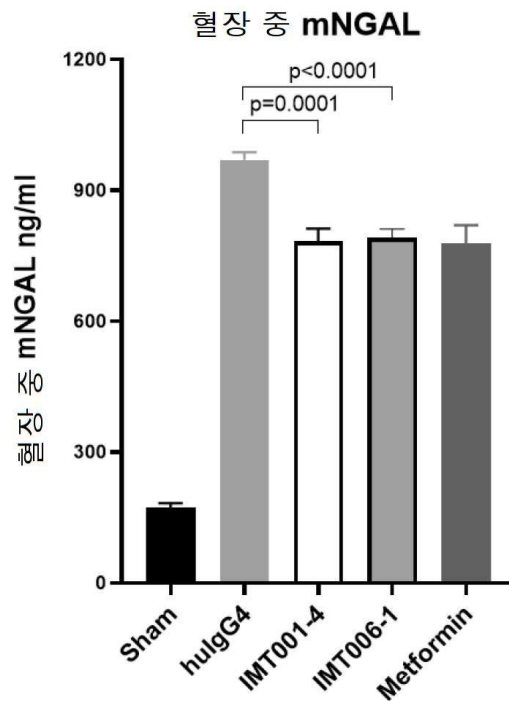
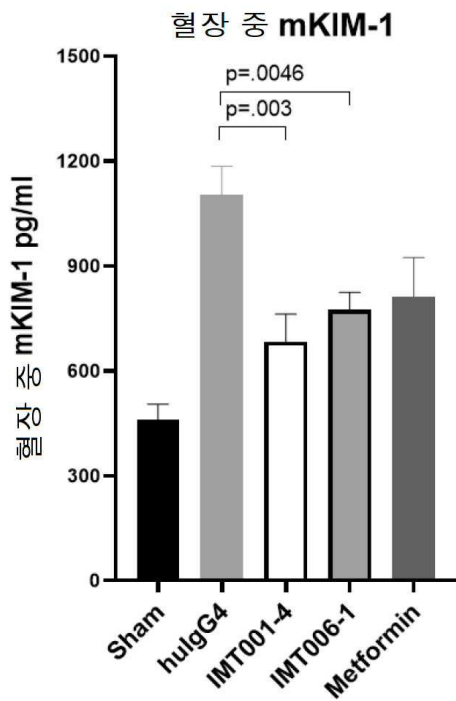


도면31b

Picosirius 레드 염색

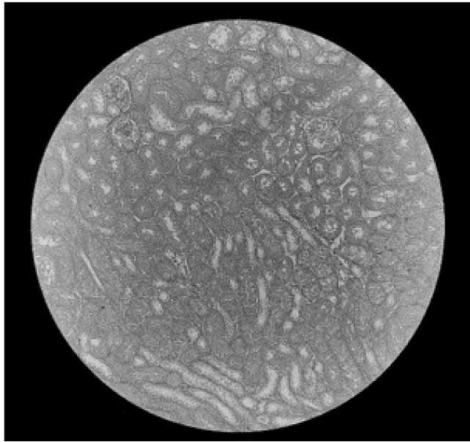


도면32a

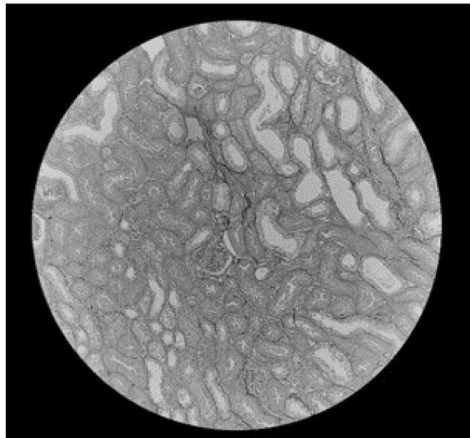
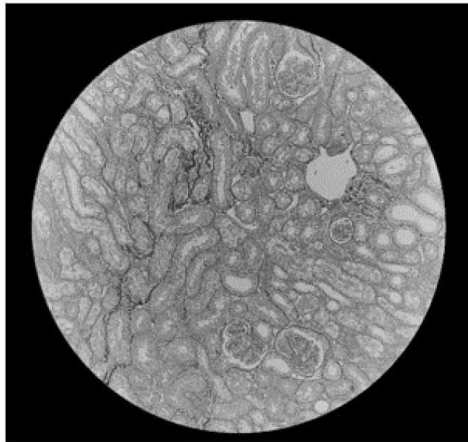


도면32b

Sham



UUO +HulG4

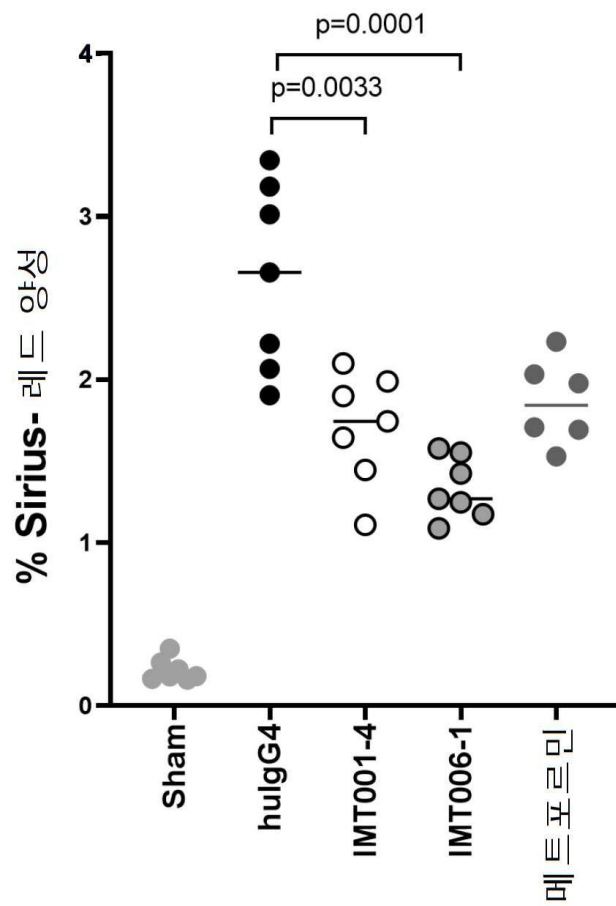


UUO +IMT001-4

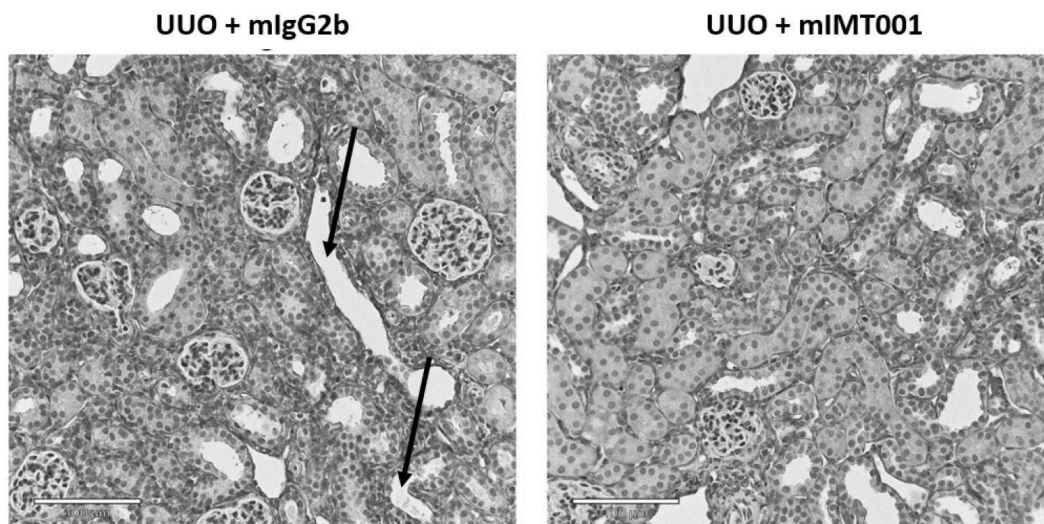


UUO +메트포르민

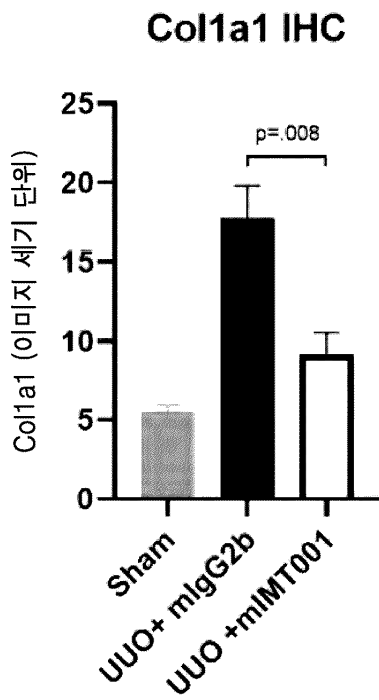
도면32c



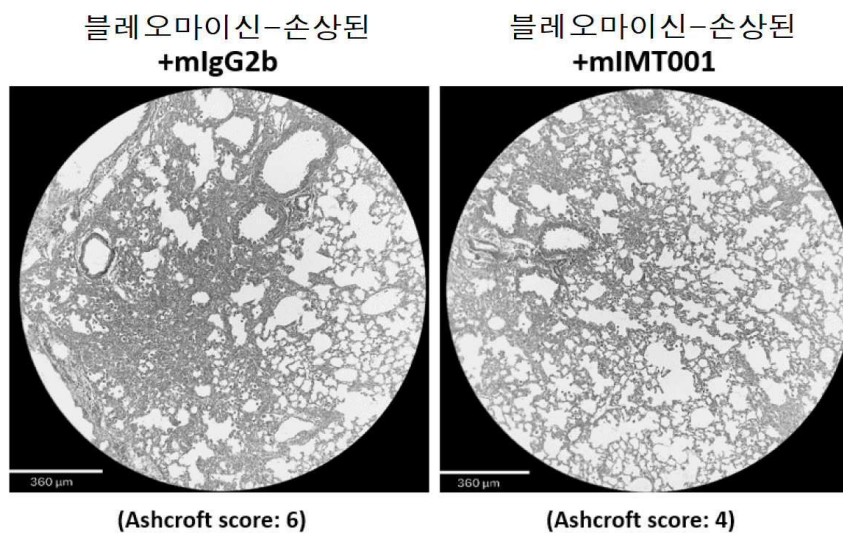
도면33a



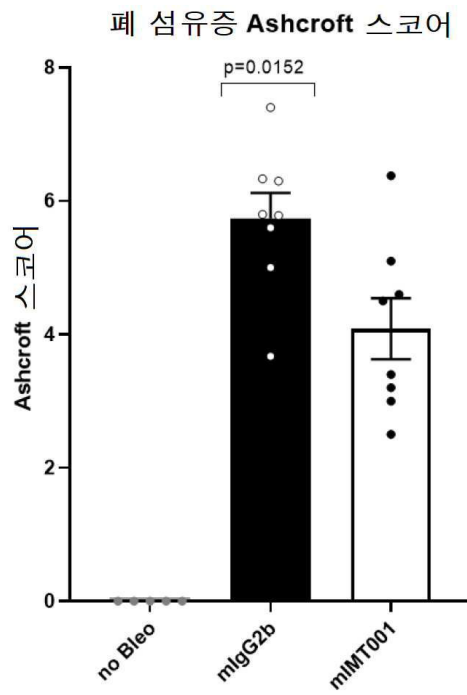
도면33b



도면34a



도면34b



도면35a

ab 명칭	서열 번호:	VH CDR1	서열 번호:	VH CDR2	서열 번호:	VH CDR3
2D10.2B2	37	GYTFTDY	65	IYPGSNDT	93	ANYFGCSGWFFDV
3B11.2G2	38	GYKFKTY	66	INTYSGVP	94	ARDGNYGDPMDY
4A11.2B5	39	GYSFTNY	67	IYPGSGNT	95	STAPGGFDV
4G2.2G6	40	GYTFTTY	68	INTHSGVP	96	TRDGNDGDAMDND
6H6.2D6	41	GYTFTTY	69	INTYSGVP	97	ARGPYAMDY
7D8.2D8	42	GFTFSSY	70	ISDGGIYT	98	VRDGGY
12G5.D7	43	GYTFTDY	71	IYPGTGNT	99	ARFAYYYGSGGYFDY
13A12.2E5	44	GYKFKTY	72	INTYSGVP	100	ARDGNYGDPMDY
13G4.2F8	45	GYTFTSY	73	IHPNSGST	101	TRWGIYYIARDY
13H12.2F8	46	GYTFTTY	74	INTYSGVP	102	AVPYEYDGAY
14H10.2C9	47	GYTFTTY	75	INTYSGVP	103	STPYEYDGAY
15F10.2D6	48	GFAFSSY	76	ISDGGVYT	104	VRDGGY
15G7.2A7	49	GYTFTDY	77	INPNNGGT	105	TSGYGFPY
19B5.2E6	50	GYTFTTY	78	INTYSGVP	106	ARGPYAMDY
19D9.2E5	51	GYTFTTY	79	INTYSGVP	107	ATPYEYDGAY
20D11.2C6	52	GYTFTDF	80	INPKNGGI	108	TSGYGFPY
20H5.A3	53	GYAFTTY	81	VNTYSGVP	109	ARGPYAMDY
23H9.2E4	54	GYTFTTY	82	INTYSGVP	110	ARGPYAMDY
24D12.2H9	55	GFSLTSY	83	IWSGGST	111	AKSPDGYDVAWFGY
846.1F5	56	GYTFTNYG	84	INTYTGE	112	ARWGGYDGDYYAMDY
846.2H3	57	GYTFTNYG	85	INTYTGE	113	ARWGGYDGDYYAMDY
846T.1H2	58	GYTFTNYG	86	INTNTGES	114	QPGGVGTGLTT
9H2.2H10	59	GYTFTNY	87	IDPSDSET	115	ARHGYDY
IMT001-4	60	GYTFTNY	88	NTNTGE	116	APYDNFFAY
IMT006-1	61	GYSFTNY	89	IYPGSGNT	117	STAPGGFDV
IMT006-5	62	GYSFTNY	90	IYPGSGNT	118	STAPGGFDV
IMT006-8	63	GYSFTNY	91	IYPGSGNT	119	STAPGGFDV
mIMT001	64	GYTFTNY	92	NTNTGE	120	APYDNFFAY

도면35b

ab 명칭	서열 번호:	VL CDR1	서열 번호:	VL CDR2	서열 번호:	VL CDR3
2D10.2B2	121	KSLHSDGITY	149	RMS	177	AQMIEFPLT
3B11.2G2	122	QSLLYTNGKTY	150	LVS	178	LQSTHFPLT
4A11.2B5	123	KSLHSDGITY	151	RMS	179	AQMIEFPLT
4G2.2G6	124	QSLLYTDGKTY	152	LVS	180	LQSTHFPLT
6H6.2D6	125	QGISNY	153	YTS	181	QQYSELPYT
7D8.2D8	126	QSIHNSNGNTY	154	KVS	182	FQGSHPVPLT
12G5.D7	127	QGINSN	155	HAT	183	VQYAFPPPT
13A12.2E5	128	QSLLYTNGKTY	156	LLS	184	LQSTHFPLT
13G4.2F8	129	QNVGTN	157	GAS	185	EQYSNFPLT
13H12.2F8	130	QSLFSDGKTY	158	LVS	186	WQGTHFPLT
14H10.2C9	131	QSLFSDGKTY	159	LVS	187	WQGTHFPLT
15F10.2D6	132	QSIHNSNGNTY	160	KVS	188	FQGSHPVPLT
15G7.2A7	133	QNINIW	161	KAS	189	LQGQSYPLT
19B5.2E6	134	QGINNY	162	YAS	190	QQYSQVPYT
19D9.2E5	135	QSLHSDGKTY	163	LVS	191	WQGTHFPLT
20D11.2C6	136	QNIYIW	164	KAS	192	LQGQSYPLT
20H5.A3	137	QDISNY	165	YTS	193	QQYSKLPYT
23H9.2E4	138	QGINNY	166	YAS	194	QQYSQVPYT
24D12.2H9	139	QDVRTA	167	WAS	195	QQYSSYPWT
846.1F5	140	QSVLYSSNQKNY	168	WAS	196	HQYLSSLT
846.2H3	141	QSVLYSSNQKNY	169	WAS	197	HQYLSSLT
846T.1H2	142	QSXKYSXGKTY	170	LVC	198	VQGPHFXHT
9H2.2H10	143	QDVSTA	171	WAS	199	QQHYTTPLT
IMT001-4	144	RSSKSLLYKDGTKYLN	172	LMSTHAS	200	QQLVDYPLT
IMT006-1	145	KSLHSDGITY	173	RMS	201	AQMIEFPLT
IMT006-5	146	KSLHSDGITY	174	RMS	202	AQMIEFPLT
IMT006-8	147	KSLHSDGITY	175	RMS	203	AQMIEFPLT
mIMT001	148	RSSKSLLYKDGTKYLN	176	LMSTHAS	204	QQLVDYPLT

도면36a

서열 번호	ab 명칭	VH 가변
205	2D10.2B2	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYINWVKQRPQGQLEWIGWIYPGSDTKYN EKFKGKATLTVDTSSTAYMQLGSLTSEDSAVYFCANYFGCSGWFFDVWGTGTTVTVSS
206	3B11.2G2	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKTSGYKFTYVMSWVKQAPGKALKWMGWINTYSGVPTYA DDFKGRFAFSLETSASTAYLEIINLNKEDTATYFCARDGNYGDPMDYWGQGSTVTVSS
207	4A11.2B5	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTNYYIHWVKQRPQGQLEWIGWIYPGSGNTNYN EKFKGKATLTADTSSTTNMQLSSLTSEDSAVYYCSTAPGGFDVWGS GTT VT VSS
208	4G2.2G6	QIQLVQSGPDLKKPGETVKISCKASGYTFTTYVMSWVKQAPGKDLKWMGWINTHSGVPTY ADDFKGRFDFSLETSANTAFQLINNKNEDTATYFCTRDGNDGDAMDNDWGQGSTVTVSS
209	6H6.2D6	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTTYGMSWVKQAPGKGLKWMMAWINTYSGVPTYA DDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLTNEDTATYFCARGPYAMDYWGQGSTVTVSS
210	7D8.2D8	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFSSYAMS WVRQTPEKRLEWVATISDGGIYIYTPD NVKGRFTISRDNAKNNLFLQMSHLKSEDTAMYYCVRDGGYWGQGTTLTVSS
211	12G5.D7	QVQLKQSGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTDYINWVKQRPQGQLEWIARIYPTGNTDYN EKFKGRATLTAEKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARFAYYGGGGYFDYWGHGTTLTVSS
212	13A12.2E5	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKTSGYKFTYVMSWVKQAPGKALKWMGWINTYSGVPTYA DDFKGRFAFSLETSASTAYLEIINLNKEDTATYFCARDGNYGDPMDYWGQGSTVTVSS
213	13G4.2F8	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGQLEWIGMIHPNSGSTD YNEFKNKATLNVDKSSSTAYIQLSSLTSEDSAVYYCTRWGIYYARDYWGQGTTLTVSS
214	13H12.2F8	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTTYGMSWVKQAPGKGLKWMGWINTYSGVPTYA DDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNKNEDTATYFCAPPYEYDGAYWGQGTTLTVSA
215	14H10.2C9	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTTYGMGWVKQAPGKDLKWMGWINTYSGVPTY ADDFKGRFAFSLETSASTAYLQISNLKNEDTATYFCSTPYEYDGAYWGQGTTLTVSA
216	15F10.2D6	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFAFSSYAMS WVRQTPEKRLEWVATISDGGVITYTD HVKGRFTISRDNAEDNLYLQMSHLKSEDTAMYYCVRDGGYWGQGTTLTVSS
217	15G7.2A7	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYMNWVKQSHGKSLEWIGDINPNNGGTNY NQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRLTSEDSAVYYCTSGYGFPYWGQGTTLTVSA
218	19B5.2E6	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTTYAMS WVKQAPGKGLKWMGWINTYSGVPTYA DDLKGRFAFSLETSASTAYLQINNKNEDTATYFCARGPYAMDYWGQGSTVTVSS
219	19D9.2E5	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTTYGMGWVKQAPGKGLKWMGWINTYSGVPTY ADDFKGRFAFSLETSTAYLQINNKNEDMATYFCATPYEYDGAYWGQGTTLTVSA
220	20D11.2C6	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDFYINWVKQSHGKSLEWIGDINPKNGGINYP KFKIKATLTVDKSSSTSYMDLRGLTSEDSAVYYCTSGYGFPYWGQGTTLTVSA

도면 36aa

221	20H5.A3	QIQLVQSGPELKKPGESVKISCKASGYAFTTYGMSWVQQAPGKGLKWMGWVNTYSGVP TCADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLRNEDTATYFCARGPYAMDYWGQGSTVTVSS
222	23H9.2E4	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTTYAMSWVKQAPGKGLKWMGWINTYSGVPT YADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLRNEDTATYFCARGPYAMDYWGQGSTVTVSS
223	24D12.2H9	QVQLVQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTSYGVHVVVRQAPGKGLWLGVIWSSGGSTDYN AAFMRLSISKDNSKSQVFFKMNSLQADDTAIYYCAKSPDGYDAWFGYWGQGTTLTVSS A
224	846.1F5	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNVVKQAPGKGLKWMGWINTYTGEPS YADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLRNEDMATYFCARWGGYDGDYAMDYWGQGST VTVSS
225	846.2H3	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNVVKQAPGKGLKWMGWINTYTGEPS YADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLRNEDMATYFCARWGGYDGDYAMDYWGQGST VTVSS
226	846T.1H2	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNVVKQAPGKGLKWMGWINTNTGEP TYAEFFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLRNEDTATYFCATGGGNWDFDYWGQGTTLTVSS
227	9H2.2H10	QVQLVQSGAELVGPSSVKLSCKASGYTFTNYWIHVVQRPLQGLEWIGNIDPSDSETHY NQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARHGYDYWGQGTTLTVSS
228	IMT001-4	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSKASGYTFTNYGMNVVRQAPGQGLKWMGWINTNTGE PTYVEEFTGRFVFSLETSVSTAYLQISSLKAEDTAVYFCAPYDNFFAYWGQGTTLTVSS
229	IMT006-1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFTNYYMHVVRQAPGQGLEWMGWYIPGSGN TNYNEKFQGRVTMTADTSISTAYMELSLRSDTAVYYCSTAPGGFDVWGQGTTLTVSS
230	IMT006-5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFTNYYMHVVRQAPGQRLWWMGWYIPGSGN TNYNEKFQGRVTITADTSASTAYMELSLRSEDVAVYYCSTAPGGFDVWGQGTTLTVSS
231	IMT006-8	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFTNYYIHVVRQAPGQRLWWMGWYIPGSGNT NYNEKFQGRVTLTADTSASTTYMELSLRSEDVAVYYCSTAPGGFDVWGQGTTLTVSS
232	mIMT001	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNVVKQAPGKGLKWMGWINTNTGEP TYVEEFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLRNEDTATYFCAPYDNFFAYWGQGTTLTVSA

도면36b

서열 번호	ab 명칭	VL 가변
233	2D10.2B2	DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKSLHSDGITYLYWYLQRPQGSPQLLIYRMSNLASG VPDRFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYCAQMIEFPLTFGAGTILELK
234	3B11.2G2	DVVMQTQPLTSLVAIGQPASISCKSSQSLTYTNGKTYLNWLLQRPQGSPKRLIYLVSKLDSG VPDRFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDLGYYCLQSTHFPLTFGAGTKLELK
235	4A11.2B5	DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKSLHSDGITYLYWYLQRPQGSPQLLIYRMSNLASG VPDRFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYCAQMIEFPLTFGAGTKLELK
236	4G2.2G6	DVVMQTQPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLTYDNGKTYLSWFLQRPQGSPKRLIYLVSKLDSGV PDRFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDLGYYCLQSTHFPLTFGAGTKLEVK
237	6H6.2D6	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCSASQGINNYLNWYQQKPDGTVKLLIYTSLSHSGVPSRF SGSGSGTDYSLTISNLEPEDIATYYCQYSELPTYFGSGTKLEIK
238	7D8.2D8	DVLMQTQPLSLPVS LGDQASISCRSSQIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKRLIYKVS NRFSG VPDRFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDLGYYCFQGS HVPLTFGAGTKLELK
239	12G5.D7	DILMTQSPSSMSVSLGDTVSITCHASQGINSNMGWLQKPKGSFKGLIYHATNLEDGVPS RFGSGSGGADYSLTISSESEDFADYYCVQYAFPTFGSGTKLEIK
240	13A12.2E5	DVVMQTQPLTSLVAIGQPASISCKSSQSLTYTNGKTYLNWLLQRPQGSPKRLIYLLSKLDSGV PDRFSASGSGTDFTLRISRVEAEDLGYYCLQSTHFPLTFGAGTKLEMK
241	13G4.2F8	DIVMTQSQKFMSTSVGERVSITCKASQNVGTNVAWYQQKAGQSELLIYGASNRHTGVP DRFTGSGSGTDFTLTITNVQSEDMTNYFCEQYSNFPPLTFGAGTKLELK
242	13H12.2F8	DVVMQTQPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLFHS DGKTYLNWLLQRPQGSPKRLIYLVSKLDSG VPDRFTGSGSGTDFTLRISRVEAEDLGYYCWQGT HFPLTFGAGTKLEMK
243	14H10.2C9	DVVMQTQPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLFDS DGKTYLNWLLQRPQGSPKRLIYLVSKLDSG VPDRFTGSGSGTDFTLRISRVEAEDLGYYCWQGT HFPLTFGAGTKLEMK
244	15F10.2D6	DVLMQTQPLSLPVS LGDQASISCRSSQIVHNNGNTYLEWYLQKPGQSPKRLIYKVS NRFSG VPDRFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDLGYYCFQGS HVPLTFGGG TKLELK
245	15G7.2A7	DIQMNQSPSSLSASLGDTISITCRASQININI WLSWYQQKPGNIPQLLIYKASNLHTGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDATYYCLQGQSYPLTFGAGTKLV MK
246	19B5.2E6	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCSASQGINNY LNWYQQKPDGTVKLLIYASSLSHSGVPSRF SGSGSGTDYSLTISNLEPEDIATYYCQYSQV PYTFGSGTKLEIK
247	19D9.2E5	DVVMQTQPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLHSDG KTYLNWLLQRPQGPPKRLMYLVSTLDS GVPDRFTGSGSGTDFTLRISRVEAEDLGYYC WQGT HFPLTFGAGTKPELK

도면36bb

248	20D11.2C6	DIQMNQSPSSLSASLGDTITITCRASQNIYIWSWYQQKPGNIPKLLIYKASNLHTGVPSRFS GSGSGTDFTLTISTLQPEDATYFCLQGQSYPLTFGAGTKLEMK
249	20H5.A3	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTINCSASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSSLLSGVPSRFS GSGSGTDYSLTISNLEPEDATYFCLQGQSYPLTFGSGTHLEIK
250	23H9.2E4	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCSASQGINNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYASSLHSGVPSRF GSGSGTDYSLTISNLEPEDATYFCLQGQSYPLTFGSGTKLEIK
251	24D12.2H9	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVRTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVP DRFTGSGSGTDFTLTLSNVQSEDLADYFCQQYSSYPWTFGGGKLEIK
252	846.1F5	NIMMTQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYWAST RESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQPEDLAVYYCHQYLSSTLTFGAGTKLELK
253	846.2H3	NIMMTQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYWAST RESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQPEDLAVYYCHQYLSSTLTFGAGTKLELK
254	846T.1H2	DVVMQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWLLQRPQGQSPKRLIYLVSKLDSGV PDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYVCVQGFTHFPQTFGGGKLEIK
255	9H2.2H10	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVP DRFTGSGSGTDYTLTISVQAEDELALYYCQHYTTPLTFGAGTKLELK
256	IMT001-4	DIVLTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSKSLLYKDGTKYLNWFLQKPGQSPQLLIYLMSTHASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYVCVQQLVDYPLTFGGGKLEIK
257	IMT006-1	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSKSLHSDGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYRMSNLASG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCAQMLEFPLTFGQGTKEIK
258	IMT006-5	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSKSLHSDGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYRMSNLASG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCAQMLEFPLTFGQGTKEIK
259	IMT006-8	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSKSLHSDGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYRMSNLASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCAQMLEFPLTFGQGTKEIK
260	mIMT001	DIVITQDELSNPVTSGESVSISCRSSKSLLYKDGTKYLNWFLQRPQGQSPQLLIYLMSTHASGV SDRFSGSGSGTDFTLEISRVAEDVGVYVCVQQLVDYPLTFGAGTKLELK

도면37a

서열 번호:	항체	불변	아미노산 서열
261	IMT001-4	hIgG4 (S228P)	MGSTAILGLLLAVLQGVCAQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTF TNYGMNWVRQAPGQGLKWMGWINTNTGEPTYVEEFTGRFVFSLET SVSTAYLQISSLKAEDTAVYFCAPYDNFFAYWGQGTTVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPC PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQF NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNGKLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG
262	IMT001-4	hKappa	MDMRVPAQLLGLLLWLRGARCDIVLTQSPLSLPVTGPASISCRSSK SLLYKDGKTYLNWFLQKPGQSPQLLIYLMSTHASGVPDRFSGSGSGTD FTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVDYPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
263	IMT006-1	hIgG4 (S228P)	MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS GYSFTNYMHVVRQAPGQGLEWMGWYIPGSGNTNYNEKFQGRVT MTADTSISTAYMELSRSDDTAVYYCSTAPGGFDVWGQGTTVTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS QEDPEVQFNWWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYCKKVSNGKLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG
264	IMT006-1	hKappa	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSKSL LHSDGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQMLEFPLTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

도면37b

265	IMT006-5	hIgG4 (S228P)	MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYSFTNYYMHVVRQAPGQRLEWMGWIPGSGNTNYNEKFQGRVTI TADTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCSTAPGGFDVWGQGTITVTVSSAS TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESK YGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
266	IMT006-5	hKappa	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSKSL LHSDGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQMLEFPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
267	IMT006-8	hIgG4 (S228P)	MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYSFTNYYIHWVRQAPGQRLEWMGWIPGSGNTNYNEKFQGRVTLT ADTSASTTMEYELSSLRSEDVAVYYCSTAPGGFDVWGQGTITVTVSSAST KGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
268	IMT006-8	hKappa	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCRSSKSL LHSDGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQMLEFPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

도면38a

bi n	ab 영역	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
1	846T.1 H2	GYFTFN YG	INTNTGHS -NTNTGE-	QPGGVGTGLTT APYDNFFAY	--QSLLYSNGKTY- RSSKSLLYKDKGTLYLN	LVS LMSTHAS	VQGTHTFPQT QQLVDYPLT
1	mIMT 001	GYFTFN Y-	-NTNTGE-	QPGGVGTGLTT APYDNFFAY	--QSLLYSNGKTY- RSSKSLLYKDKGTLYLN	LVS LMSTHAS	QQLVDYPLT
	alignm ent	***** *-	***** -	QPGGVGTGLTT APYDNFFAY	--QSLLYSNGKTY- RSSKSLLYKDKGTLYLN	LVS LMSTHAS	QQLVDYPLT
		SEQ ID NO: 269	SEQ ID NO: 270	SEQ ID NO: 271 Xn1Xn2Xn3Xn4Xn5Xn6Xn7X n8Xn9Xn10Xn11Xn12Xn13X n14Xn15	SEQ ID NO: 272 Xn1Xn2Xn3Xn4SLLY Xn5Xn6GKTYXn7Xn8	SEQ ID NO: 273 LXn1SXn2Xn3Xn4X n5	SEQ ID NO: 274 Xn1QXn2Xn3Xn4X n5PXn6T
		GYFTFN YXn1	EXn2 wherein Xn1 = I	wherein Xn1 = Q or absent, Xn2 = P or absent, Xn3 = G or absent, Xn4 = G or absent, Xn5 = V or absent, Xn6 = T or absent, Xn7 = G or A, Xn8 = T or P, Xn9 = L or Y, Xn10 = T or D, Xn11 = T or N, Xn12 = F or absent, Xn13 = F or absent, Xn14 = A or absent, Xn15 = Y or absent	wherein Xn1 = R or absent, Xn2 = S or absent, Xn3 = S or absent, Xn4 = K or Q, Xn5 = S or K, Xn6 = N or D, Xn7 = L or absent, Xn8 = N or absent	wherein Xn1 = V or M, Xn2 = T or absent, Xn3 = H or absent, Xn4 = A or absent, Xn5 = S or absent	wherein Xn1 = V, Q or absent, Xn2 = G or L, Xn3 = T or V, Xn4 = H or D, Xn5 = F or Y, Xn6 = Q or L

bin	ab 명칭	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
2	13H12.2F8	GYTFETTY	GYTFETTY	AVPYEYDGAY	QSLFHSDDGITY	LVS	WQSTHFPLT
2	14H10.2C9	GYTFETTY	INTYSGVP	STPYEYDGAY	QSLFDSDGITY	LVS	WQSTHFPLT
2	19D9.2E5	GYTFETTY	INTYSGVP	ATPYEYDGAY	QSLHSDGITY	LVS	WQSTHFPLT
2	alignment	*****	*****	:.*****	***:.*****	***	*****
		SEQ ID NO: 275 GYTFETTY	SEQ ID NO: 276 GYTFETTY	SEQ ID NO: 277 Xn1Xn2PYEYDGAY wherein Xn1 = A or S, Xn2 = V or T	SEQ ID NO: 278 QSLXn1Xn2SDGITY wherein Xn1 = L or F, Xn2 = D or H	SEQ ID NO: 279 LVS	SEQ ID NO: 280 WQSTHFPLT

도면38b

b i n	ab 명칭	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
3	2D10.2B2	GYTFETDY	IYPGSNDT	ANYFGCSGWFFDV	KSLHSDGITY	RMS	AQMLEPPLT
3	4A11.2B5	GYSTFNYY	IYPGSNT	STAPGGFDV	KSLHSDGITY	RMS	AQMLEPPLT
3	846.1F5	GYTFFNYY	INTYTGEP	ARWGGYDGDYYAMDY	QSVLYSSNQKNY	WAS	HQYLSLT
3	846.2H3	GYTFFNYY	INTYTGEP	ARWGGYDGDYYAMDY	QSVLYSSNQKNY	WAS	HQYLSLT
3	alignment	***:***	--IYPGSNDT --IYPGSNT INTYTGEP-- INTYTGEP--	ARWGGYDGDYYAMDY ARWGGYDGDYYAMDY ANYFGCSGWFFDV-- ---STAPGGFDV--	-KSLHSDGITY -KSLHSDGITY QSVLYSSNQKNY QSVLYSSNQKNY	--* AQMLEPPLT HQYLS-SLT -* :. **	

도면38c

SEQ ID NO: 281	SEQ ID NO: 282	SEQ ID NO: 283	SEQ ID NO: 284	SEQ ID NO: 285	SEQ ID NO: 286
GXXn1FT Xn2YXn3 wherein Xn1 = S or T, Xn2 = D or N, Xn3 = G or absent	Xn1Xn2Xn3YXn4 Gxn5Xn6Xn7Xn8 wherein Xn1 = I or absent, Xn2 = N or absent, Xn3 = I or T, Xn4 = P or T, Xn5 = S or E, Xn6 = N, G, P or absent, Xn7 = N, D or absent, Xn8 = T or absent	Xn1Xn2Xn3Xn4Xn5Xn6Xn7Xn8Xn9 Xn10Xn11Xn12Xn13Xn14Xn15 wherein Xn1 = A or absent, Xn2 = R, N or absent, Xn3 = W, Y or absent, Xn4 = G, F or absent, Xn5 = G or S, Xn6 = Y, C or T, Xn7 = D, S or A, Xn8 = G or P, Xn9 = D, W or G, Xn10 = Y, F or G, Xn11 = Y or F, Xn12 = A, D or absent, Xn13 = M, V or absent, Xn14 = D or absent, Xn15 = Y or absent	Xn1Xn2Xn3LXn4Xn5 SXn6Xn7Xn8Xn9Y wherein Xn1 = Q or absent, Xn2 = K or S, Xn3 = S or V, Xn4 = L or Y, Xn5 = H or S, Xn6 = D or N, Xn7 = G or Q, Xn8 = I or K, Xn9 = T or N	Xn1 NO: 285 Xn1 Xn2 S where rei n Xn1 = W, R or abs ent , Xn2 = A, M or abs ent	Xn1QXn2Xn3X n4Xn5Xn6LT wherein Xn1 = A, H or absent, Xn2 = M or Y, Xn3 = I or L, Xn4 = E or S, Xn5 = F or absent, Xn6 = P or S

도면38d

bin	ab 명칭	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
4	6H6.2D6	GYTFTTY	INTYSGVP	ARGPYAMDY	QGISNY	YTS	QQYSELPLYT
4	19B5.2E6	GYTFTTY	INTYSGVP	ARGPYAMDY	QGINNY	YAS	QQYSQVPYPT
4	20H5.A3	GYAFTTY	VNTYSGVP	ARGPYAMDY	QDISNY	YTS	QQYSKLPLYT
4	23H9.2E4	GYTFTTY	INTYSGVP	ARGPYAMDY	QGINNY	YAS	QQYSQVPYPT
4	alignment	***:****	:*****	*****	*.*.*	*:*	*****:****
		SEQ ID NO: 287	SEQ ID NO: 288	SEQ ID NO: 289	SEQ ID NO: 290	SEQ ID NO: 291	SEQ ID NO: 292
		GYXn1FTTY	Xn1NTYSGVP	ARGPYAMDY	QXn1IXn2NY	YXn1S	QQYXn1Xn2PYT
		wherein Xn1 = A or T	wherein Xn1 = I or V		wherein Xn1 = G or D, Xn2 = S or N	wherein Xn1 = A or T	wherein Xn1 = E, Q or K, Xn2 = L or V

도면38e

bin	ab 명칭	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
5	15G7.2A7	GYTFPTY	INPNNGGT	TSGYGFPY	QININIW	KAS	LQGQSYPLT
5	20D11.2C6	GYTFPTDF	INPKNGGI	TSGYGFPY	QNIYIW	KAS	LQGQSYPLT
5	alignment	*****: SEQ ID NO: 293	***:*** SEQ ID NO: 294	***** SEQ ID NO: 295	*** ** SEQ ID NO: 296	*** SEQ ID NO: 279	***** SEQ ID NO: 298
		GYTFPTDXn1 wherein Xn1 = F or Y	INPXn1NGGI wherein Xn1 = N or K	TSGYGFPY	QNIIXn1IW wherein Xn1 = N or Y	KAS	LQGQSYPLT

bin	ab 명칭	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
7	3B11.2G2	GYKEKTY	INTYSGVP	ARDGNYGDPM DY	QSLLYTNGKTY	LVS	LQSTHFP LT
7	13A12.2E5	GYKEKTY	INTYSGVP	ARDGNYGDPM DY	QSLLYTNGKTY	LIS	LQSTHFP LT
7	alignment	***** SEQ ID NO: 299	***** SEQ ID NO: 300	***** SEQ ID NO: 301	***** SEQ ID NO: 302	*: * SEQ ID NO: 303	***** SEQ ID NO: 304
		GYKEKTY	INTYSGVP	ARDGNYGDPM DY	QSLLYTNGKTY	LXn1S wherein Xn1 = L or V	LQSTHFP LT

서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> Immutics, Inc.
- <120> ANTI-GAL3 ANTIBODIES AND USES THEREOF
- <130> IMMUT.003WO
- <150> 62/798945
- <151> 2019-01-30
- <150> 62/798949
- <151> 2019-01-30

<160> 304

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 250

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Ala Asp Asn Phe Ser Leu His Asp Ala Leu Ser Gly Ser Gly Asn

1 5 10 15

Pro Asn Pro Gln Gly Trp Pro Gly Ala Trp Gly Asn Gln Pro Ala Gly

20 25 30

Ala Gly Gly Tyr Pro Gly Ala Ser Tyr Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Gln

35 40 45

Ala Pro Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Gln Ala Pro Pro Gly Ala Tyr Pro

50 55 60

Gly Ala Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Ala Pro Ala Pro Gly Val Tyr Pro

65 70 75 80

Gly Pro Pro Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Pro Ser Ser Gly Gln Pro Ser

85 90 95

Ala Thr Gly Ala Tyr Pro Ala Thr Gly Pro Tyr Gly Ala Pro Ala Gly

100 105 110

Pro Leu Ile Val Pro Tyr Asn Leu Pro Leu Pro Gly Gly Val Val Pro

115 120 125

Arg Met Leu Ile Thr Ile Leu Gly Thr Val Lys Pro Asn Ala Asn Arg

130 135 140

Ile Ala Leu Asp Phe Gln Arg Gly Asn Asp Val Ala Phe His Phe Asn

145 150 155 160

Pro Arg Phe Asn Glu Asn Asn Arg Arg Val Ile Val Cys Asn Thr Lys

165 170 175

Leu Asp Asn Asn Trp Gly Arg Glu Glu Arg Gln Ser Val Phe Pro Phe

180 185 190

Glu Ser Gly Lys Pro Phe Lys Ile Gln Val Leu Val Glu Pro Asp His

195 200 205
Phe Lys Val Ala Val Asn Asp Ala His Leu Leu Gln Tyr Asn His Arg
210 215 220

Val Lys Lys Leu Asn Glu Ile Ser Lys Leu Gly Ile Ser Gly Asp Ile
225 230 235 240
Asp Leu Thr Ser Ala Ser Tyr Thr Met Ile
245 250

<210> 2

<211> 301

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu
1 5 10 15
Leu Leu Thr Arg Ser Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln
20 25 30

Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu
35 40 45
Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly
50 55 60
Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser
65 70 75 80
Arg Tyr Trp Leu Asn Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr
85 90 95

Ile Glu Asn Val Thr Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile
100 105 110
Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val
115 120 125
Ile Lys Pro Ala Lys Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe
130 135 140
Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala

145 150 155 160
 Glu Thr Gln Thr Leu Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile
 165 170 175
 Ser Thr Leu Ala Asn Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu
 180 185 190
 Arg Asp Ser Gly Ala Thr Ile Arg Ile Gly Ile Tyr Ile Gly Ala Gly
 195 200 205
 Ile Cys Ala Gly Leu Ala Leu Ala Leu Ile Phe Gly Ala Leu Ile Phe
 210 215 220

 Lys Trp Tyr Ser His Ser Lys Glu Lys Ile Gln Asn Leu Ser Leu Ile
 225 230 235 240
 Ser Leu Ala Asn Leu Pro Pro Ser Gly Leu Ala Asn Ala Val Ala Glu
 245 250 255
 Gly Ile Arg Ser Glu Glu Asn Ile Tyr Thr Ile Glu Glu Asn Val Tyr
 260 265 270
 Glu Val Glu Glu Pro Asn Glu Tyr Tyr Cys Tyr Val Ser Ser Arg Gln
 275 280 285

 Gln Pro Ser Gln Pro Leu Gly Cys Arg Phe Ala Met Pro
 290 295 300
 <210> 3
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 3
 Ala Asp Asn Phe Ser Leu His Asp Ala Leu Ser Gly Ser Gly Asn Pro
 1 5 10 15
 Asn Pro Gln Gly
 20
 <210> 4
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4

Ser Gly Ser Gly Asn Pro Asn Pro Gln Gly Trp Pro Gly Ala Trp Gly

1 5 10 15

Asn Gln Pro Ala

20

<210> 5

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Trp Pro Gly Ala Trp Gly Asn Gln Pro Ala Gly Ala Gly Gly Tyr Pro

1 5 10 15

Gly Ala Ser Tyr

20

<210> 6

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Gly Ala Gly Gly Tyr Pro Gly Ala Ser Tyr Pro Gly Ala Tyr Pro Gly

1 5 10 15

Gln Ala Pro Pro

20

<210> 7

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Gln Ala Pro Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Gln

1 5 10 15

Ala Pro Pro Gly

20

<210> 8

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Gly Ala Tyr Pro Gly Gln Ala Pro Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Ala Pro

1 5 10 15

Gly Ala Tyr Pro

20

<210> 9

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Ala Tyr Pro Gly Ala Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Ala Pro Ala Pro Gly

1 5 10 15

Val Tyr Pro Gly

20

<210> 10

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Gly Ala Pro Ala Pro Gly Val Tyr Pro Gly Pro Pro Ser Gly Pro Gly

1 5 10 15

Ala Tyr Pro Ser

20

<210> 11

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Pro Pro Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Pro Ser Ser Gly Gln Pro Ser Ala

1 5 10 15

Thr Gly Ala Tyr

20

<210> 12

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Ser Gly Gln Pro Ser Ala Thr Gly Ala Tyr Pro Ala Thr Gly Pro Tyr

1 5 10 15

Gly Ala Pro Ala

20

<210> 13

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Pro Ala Thr Gly Pro Tyr Gly Ala Pro Ala Gly Pro Leu Ile Val Pro

1 5 10 15

Tyr Asn Leu Pro

20

<210> 14

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Gly Pro Leu Ile Val Pro Tyr Asn Leu Pro Leu Pro Gly Gly Val Val

1 5 10 15

Pro Arg Met Leu

20

<210> 15

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Leu Pro Gly Gly Val Val Pro Arg Met Leu Ile Thr Ile Leu Gly Thr

1 5 10 15

Val Lys Pro Asn

20

<210> 16

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Ile Thr Ile Leu Gly Thr Val Lys Pro Asn Ala Asn Arg Ile Ala Leu

1 5 10 15

Asp Phe Gln Arg

20

<210> 17

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

Ala Asn Arg Ile Ala Leu Asp Phe Gln Arg Gly Asn Asp Val Ala Phe

1 5 10 15

His Phe Asn Pro

20

<210> 18

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

Gly Asn Asp Val Ala Phe His Phe Asn Pro Arg Phe Asn Glu Asn Asn

1 5 10 15

Arg Arg Val Ile

20

<210> 19

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Arg Phe Asn Glu Asn Asn Arg Arg Val Ile Val Cys Asn Thr Lys Leu

1 5 10 15

Asp Asn Asn Trp

20

<210> 20

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

Val Cys Asn Thr Lys Leu Asp Asn Asn Trp Gly Arg Glu Glu Arg Gln

1 5 10 15

Ser Val Phe Pro

20

<210> 21

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Gly Arg Glu Glu Arg Gln Ser Val Phe Pro Phe Glu Ser Gly Lys Pro

1 5 10 15

Phe Lys Ile Gln

20

<210> 22

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

Phe Glu Ser Gly Lys Pro Phe Lys Ile Gln Val Leu Val Glu Pro Asp

1 5 10 15

His Phe Lys Val

20

<210> 23

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Val Leu Val Glu Pro Asp His Phe Lys Val Ala Val Asn Asp Ala His

1 5 10 15

Leu Leu Gln Tyr

20

<210> 24

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Ala Val Asn Asp Ala His Leu Leu Gln Tyr Asn His Arg Val Lys Lys

1 5 10 15

Leu Asn Glu Ile

20

<210> 25

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Asn His Arg Val Lys Lys Leu Asn Glu Ile Ser Lys Leu Gly Ile Ser

1 5 10 15

Gly Asp Ile Asp

20

<210> 26

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Ser Lys Leu Gly Ile Ser Gly Asp Ile Asp Leu Thr Ser Ala Ser Tyr

1 5 10 15

Thr Met Ile

<210> 27

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Gln Ala Pro Pro

1 5 10

<210> 28

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Gly Gln Ala Pro Pro Gly Ala Tyr Pro Gly

1 5 10

<210> 29

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

Gly Ala Tyr Pro Gly Gln Ala Pro Pro Gly Ala

1 5 10

<210> 30

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

Ala Pro Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Ala Pro

1 5 10

<210> 31

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Tyr Pro Gly Ala Pro Gly Ala Tyr Pro

1 5

<210> 32

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

Ala Pro Pro Gly Ala Tyr

1 5

<210> 33

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

Gly Ala Tyr Pro Gly Gln

1 5

<210> 34

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

Pro Gly Gln Ala Pro Pro

1 5

<210> 35

<211> 958

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 35

gcccgagca cctcctgcc agcagccgtc cggagccagc caacgagcgg aaaatggcag 60

acaatttttc gtcctatgat gcgttatctg ggtctggaaa cccaaaccct caaggatggc 120

ctggcgcatg ggggaaccag cctgctgggg cagggggcta cccaggggct tcctatcctg 180

gggcctaccc cgggcaggca cccccagggg cttatcctgg acaggcacct ccaggcgcct 240
accctggagc acctggagct tatcccgag cacctgcacc tggagtctac ccagggccac 300

ccagcggccc tggggcctac ccatcttctg gacagccaag tgccaccgga gcctaccctg 360
ccactggccc ctatggcgcc cctgctgggc cactgattgt gccttataac ctgcctttgc 420
ctgggggagt ggtgcctcgc atgctgataa caattctggg cacggtgaag cccaatgcaa 480
acagaattgc tttagatttc caaagaggga atgatgttgc cttccacttt aacccacgt 540
tcaatgagaa caacaggaga gtcattgttt gcaatacaaa gctggataat aactggggaa 600
gggaagaaag acagtcggtt ttcccatctt aaagtgggaa accattcaaa atacaagtac 660
tggttgaacc tgaccacttc aaggttgcag tgaatgatgc tcacttgttg cagtacaatc 720

atcgggttaa aaaactcaat gaaatcagca aactgggaat ttctggtgac atagacctca 780
ccagtcttc atatacatg atataatctg aaagggcgag attaaaaaaa aaaaaagaat 840
ctaaacctta catgtgtaaa ggtttcatgt tcaactgtgag tgaaaatttt tacattcatc 900
aatatccctc ttgtaagtca tctacttaat aaatattaca gtgaattacc tgtctcaa 958

<210> 36
<211> 2237
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 36

atttggagag ttaaaactgt gcctaacaga ggtgtcctct gacttttctt ctgcaagctc 60
catgttttca catcttcctt ttgactgtgt cctgctgctg ctgctgtac tacttacaag 120

gtcctcagaa gtggaataca gagcggaggt cggtcagaat gcctatctgc cctgcttcta 180
caccaccagc gccccaggga acctcgtgcc cgtctgctgg ggcaaaggag cctgtcctgt 240
gtttgaatgt ggcaactlgg tgctcaggac tgatgaaagg gatgtgaatt attggacatc 300
cagatactgg ctaaatgggg atttccgcaa aggagatgtg tccttgacca tagagaatgt 360
gactctagca gacagtggga tctactgtct cgggatccaa atccaggca taatgaatga 420
tgaaaaattt aacctgaagt tggatcatca accagccaag gtcaccctg caccgactcg 480
gcagagagac ttactgcag cctttccaag gatgcttacc accaggggac atggcccagc 540

agagacacag aacttgggga gcctccctga tataaatcta acacaaatat ccacattggc 600
caatgagtta cgggactcta gattggccaa tgacttacgg gactctggag caaccatcag 660
aataggcatc tacatcgag cagggatctg tgctgggctg gctctggctc ttatcttcgg 720
cgctttaatt ttcaaatggt atttcatag caaagagaag atacagaatt taagcctcat 780

ctctttggcc aacctccctc cctcaggatt ggcaaatgca gtagcagagg gaattcgctc 840
agaagaaaac atctatacca ttgaagagaa cgtatatgaa gtggaggagc ccaatgagta 900
ttattgctat gtcagcagca ggcagcaacc ctcaaacct ttgggttgct gctttgcaat 960

gccatagatc caaccacctt atttttgagc ttggtgtttt gtcittttca gaaactatga 1020
gctgtgtcac ctgactggtt ttggagggtt tgtccactgc tatggagcag agttttccca 1080
ttttcagaag ataatgactc acatgggaat tgaactggga cctgcactga acttaaacag 1140
gcatgtcatt gcctctgtat ttaagccaac agagttaccc aaccagaga ctgttaatca 1200
tggatgttag agctcaaagc ggcttttata tacactagga attcttgacg tggggtctct 1260
ggagctccag gaaattcggg cacatcatat gtccatgaaa cttcagataa actagggaaa 1320
actgggtgct gaggtgaaag cataactttt ttggcacaga aagtctaaag gggccactga 1380

ttttcaaaga gatctgtgat ccccttttgt tttttgtttt tgagatggag tcttgccttg 1440
ttgccaggc tggagtgcga tggcacaatc tcggctcact gcaagctccg cctcctgggt 1500
tcaagcgatt ctctgcctc agcctcctga gtggctggga ttacaggcat gcaccacat 1560
gcccagctaa tttgttgtat ttttagtaga gacagggttt caccatgttg gccagtgtgg 1620
tctcaaactc ctgacctcat gatttgccctg cctcggcctc ccaaagcact gggattacag 1680
gcgtgagcca ccacatccag ccagtatcc ttaaaagatt aagagatgac tggaccaggt 1740
ctaccttgat ctgaagatt cccttggaat gttgagattt aggcttattt gagcactgcc 1800

tgcccaactg tcagtgccag tgcatagccc ttcttttgct tcccttatga agactgcct 1860
gcagggtcga gatgtggcag gagctcccag ggaaaaacga agtgcatctg attggtgtgt 1920
attggccaag ttttgcttgt tgtgtgcttg aaagaaaata tctctgacca acttctgtat 1980
tcgtggacca aactgaagct atatttttca cagaagaaga agcagtgcg gggacacaaa 2040
ttctgttgcc tgggtgaaag aaggcaaagg ccttcagcaa tctatattac cagcgtgga 2100
tcctttgaca gagagtggct cctaaactta aatttcaaga cggtataggc ttgatctgtc 2160
ttgcttattg ttgccccctg cgcctagcac aattctgaca cacaattgga acttactaaa 2220

aatTTTTTTT tactgtt 2237

<210> 37
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> VH CDR1 of 2D10.2B2
<400> 37

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

1 5

<210> 38

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 3B11.2G2

<400> 38

Gly Tyr Lys Phe Lys Thr Tyr

1 5

<210> 39

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 4A11.2B5

<400> 39

Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr

1 5

<210> 40

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 4G2.2G6

<400> 40

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

1 5

<210> 41

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 6H6.2D6

<400> 41

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

1 5

<210> 42

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 7D8.2D8

<400> 42

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

1 5

<210> 43

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 12G5.D7

<400> 43

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

1 5

<210> 44

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 13A12.2E5

<400> 44

Gly Tyr Lys Phe Lys Thr Tyr

1 5

<210> 45

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 13G4.2F8

<400> 45

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

1 5

<210> 46

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 13H12.2F8

<400> 46

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

1 5

<210> 47

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 14H10.2C9

<400> 47

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

1 5

<210> 48

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 15F10.2D6

<400> 48

Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr

1 5

<210> 49

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 15G7.2A7

<400> 49

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

1 5

<210> 50

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 19B5.2E6

<400> 50

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

1 5

<210> 51

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 19D9.2E5

<400> 51

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

1 5

<210> 52

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 20D11.2C6

<400> 52

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Phe

1 5

<210> 53

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 20H5.A3

<400> 53

Gly Tyr Ala Phe Thr Thr Tyr

1 5

<210> 54

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 23H9.2E4

<400> 54

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

1 5

<210> 55

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 24D12.2H9

<400> 55

Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr

1 5

<210> 56

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 846.1F5

<400> 56

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly

1 5

<210> 57

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 846.2H3

<400> 57

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly

1 5

<210> 58

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 846T.1H2

<400> 58

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly

1 5

<210> 59

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of 9H2.2H10

<400> 59

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

1 5

<210> 60

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of IMT001-4

<400> 60

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

1 5

<210> 61

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of IMT006-1

<400> 61

Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr

1 5

<210> 62

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1 of IMT006-5

<400> 62

Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr

1 5
 <210> 63
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH CDR1 of IMT006-8

<400> 63
 Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr

1 5
 <210> 64
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH CDR1 of mIMT001

<400> 64
 Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

1 5
 <210> 65
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH CDR2 of 2D10.2B2

<400> 65
 Ile Tyr Pro Gly Ser Asn Asp Thr

1 5
 <210> 66
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH CDR2 of 3B11.2G2

<400> 66
 Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro

1 5

<210> 67
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH CDR2 of 4A11.2B5
 <400> 67
 Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr
 1 5
 <210> 68
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH CDR2 of 4G2.2G6
 <400> 68
 Ile Asn Thr His Ser Gly Val Pro
 1 5
 <210> 69
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223>
 > VH CDR2 of 6H6.2D6
 <400> 69
 Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro
 1 5
 <210> 70
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH CDR2 of 7D8.2D8
 <400> 70
 Ile Ser Asp Gly Gly Ile Tyr Thr
 1 5
 <210> 71
 <211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR2 of 12G5.D7

<400> 71

Ile Tyr Pro Gly Thr Gly Asn Thr

1 5

<210> 72

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR2 of 13A12.2E5

<400> 72

Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro

1 5

<210> 73

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR2 of 13G4.2F8

<400> 73

Ile His Pro Asn Ser Gly Ser Thr

1 5

<210> 74

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR2 of 13H12.2F8

<400> 74

Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro

1 5

<210> 75

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><223> VH CDR2 of 14H10.2C9
 <400> 75
 Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro
 1 5
 <210> 76
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH CDR2 of 15F10.2D6
 <400> 76
 Ile Ser Asp Gly Gly Val Tyr Thr
 1 5
 <210> 77
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH CDR2 of 15G7.2A7
 <400> 77
 Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr
 1 5
 <210> 78

 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH CDR2 of 19B5.2E6
 <400> 78
 Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro
 1 5
 <210> 79
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH CDR2 of 19D9.2E5

<400> 79

Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro

1 5

<210> 80

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR2 of 20D11.2C6

<400> 80

Ile Asn Pro Lys Asn Gly Gly Ile

1 5

<210> 81

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR2 of 20H5.A3

<400> 81

Val Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro

1 5

<210> 82

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR2 of 23H9.2E4

<400> 82

Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro

1 5

<210> 83

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR2 of 24D12.2H9

<400> 83

Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 84

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR2 of 846.1F5

<400> 84

Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro

1 5

<210> 85

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR2 of 846.2H3

<400> 85

Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro

1 5

<210> 86

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR2 of 846T.1H2

<400> 86

Ile Asn Thr Asn Thr Gly Glu Ser

1 5

<210> 87

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR2 of 9H2.2H10

<400> 87

Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr

1 5

<210> 88

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR2 of IMT001-4

<400> 88

Asn Thr Asn Thr Gly Glu

1 5

<210> 89

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR2 of IMT006-1

<400> 89

Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr

1 5

<210> 90

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR2 of IMT006-5

<400> 90

Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr

1 5

<210> 91

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR2 of IMT006-8

<400> 91

Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr

1 5

<210> 92

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR2 of mIMT001

<400> 92

Asn Thr Asn Thr Gly Glu

1 5

<210> 93

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 2D10.2B2

<400> 93

Ala Asn Tyr Phe Gly Cys Ser Gly Trp Phe Phe Asp Val

1 5 10

<210> 94

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 3B11.2G2

<400> 94

Ala Arg Asp Gly Asn Tyr Gly Asp Pro Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 95

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 4A11.2B5

<400> 95

Ser Thr Ala Pro Gly Gly Phe Asp Val

1 5

<210> 96

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 4G2.2G6

<400> 96

Thr Arg Asp Gly Asn Asp Gly Asp Ala Met Asp Asn

1 5 10

<210> 97

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 6H6.2D6

<400> 97

Ala Arg Gly Pro Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 98

<211> 6

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 7D8.2D8

<400> 98

Val Arg Asp Gly Gly Tyr

1 5

<210> 99

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 12G5.D7

<400> 99

Ala Arg Phe Ala Tyr Tyr Tyr Gly Ser Gly Gly Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 100

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 13A12.2E5

<400> 100

Ala Arg Asp Gly Asn Tyr Gly Asp Pro Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 101

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 13G4.2F8

<400> 101

Thr Arg Trp Gly Ile Tyr Tyr Tyr Ala Arg Asp Tyr

1 5 10

<210> 102

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 13H12.2F8

<400> 102

Ala Val Pro Tyr Glu Tyr Asp Gly Ala Tyr

1 5 10

<210> 103

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 14H10.2C9

<400> 103

Ser Thr Pro Tyr Glu Tyr Asp Gly Ala Tyr

1 5 10

<210> 104

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 15F10.2D6

<400> 104

Val Arg Asp Gly Gly Tyr

1 5

<210> 105

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 15G7.2A7

<400> 105

Thr Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr

1 5

<210> 106

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 19B5.2E6

<400> 106

Ala Arg Gly Pro Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 107

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 19D9.2E5

<400> 107

Ala Thr Pro Tyr Glu Tyr Asp Gly Ala Tyr

1 5 10

<210> 108

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 20D11.2C6

<400> 108

Thr Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr

1 5

<210> 109

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 20H5.A3

<400> 109

Ala Arg Gly Pro Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 110

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 23H9.2E4

<400> 110

Ala Arg Gly Pro Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 111

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 24D12.2H9

<400> 111

Ala Lys Ser Pro Asp Gly Tyr Asp Val Ala Trp Phe Gly Tyr

1 5 10

<210> 112

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 846.1F5

<400> 112

Ala Arg Trp Gly Gly Tyr Asp Gly Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 113

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 846.2H3

<400> 113

Ala Arg Trp Gly Gly Tyr Asp Gly Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 114

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 846T.1H2

<400> 114

Gln Pro Gly Gly Val Thr Gly Thr Leu Thr Thr

1 5 10

<210> 115

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of 9H2.2H10

<400> 115

Ala Arg His Gly Tyr Tyr Asp Tyr

1 5

<210> 116

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3 of IMT001-4

<400> 116

Ala Pro Tyr Asp Asn Phe Phe Ala Tyr

1 5

<210> 117

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH CDR3 of IMT006-1
 <400> 117
 Ser Thr Ala Pro Gly Gly Phe Asp Val
 1 5
 <210> 118
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH CDR3 of IMT006-5
 <400> 118
 Ser Thr Ala Pro Gly Gly Phe Asp Val
 1 5
 <210> 119
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH CDR3 of IMT006-8
 <400> 119
 Ser Thr Ala Pro Gly Gly Phe Asp Val
 1 5
 <210> 120
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VH CDR3 of mIMT001
 <400> 120
 Ala Pro Tyr Asp Asn Phe Phe Ala Tyr
 1 5
 <210> 121
 <211> 11
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 2D10.2B2

<400> 121

Lys Ser Leu Leu His Ser Asp Gly Ile Thr Tyr

1 5 10

<210> 122

<211> 11

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 3B11.2G2

<400> 122

Gln Ser Leu Leu Tyr Thr Asn Gly Lys Thr Tyr

1 5 10

<210> 123

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 4A11.2B5

<400> 123

Lys Ser Leu Leu His Ser Asp Gly Ile Thr Tyr

1 5 10

<210> 124

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 4G2.2G6

<400> 124

Gln Ser Leu Leu Tyr Thr Asp Gly Lys Thr Tyr

1 5 10

<210> 125

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 6H6.2D6

<400> 125

Gln Gly Ile Ser Asn Tyr

1 5

<210> 126

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 7D8.2D8

<400> 126

Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr

1 5 10

<210> 127

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 12G5.D7

<400> 127

Gln Gly Ile Asn Ser Asn

1 5

<210> 128

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 13A12.2E5

<400> 128

Gln Ser Leu Leu Tyr Thr Asn Gly Lys Thr Tyr

1 5 10

<210> 129

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 13G4.2F8

<400> 129

Gln Asn Val Gly Thr Asn

1 5

<210> 130

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> VL CDR1 of 13H12.2F8

<400> 130

Gln Ser Leu Phe His Ser Asp Gly Lys Thr Tyr

1 5 10

<210> 131

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 14H10.2C9

<400> 131

Gln Ser Leu Phe Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr

1 5 10

<210> 132

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 15F10.2D6

<400> 132

Gln Ser Ile Val His Asn Asn Gly Asn Thr Tyr

1 5 10

<210> 133

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 15G7.2A7

<400> 133

Gln Asn Ile Asn Ile Trp

1 5

<210> 134

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 19B5.2E6

<400> 134

Gln Gly Ile Asn Asn Tyr

1 5

<210> 135

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 19D9.2E5

<400> 135

Gln Ser Leu Leu His Ser Asp Gly Lys Thr Tyr

1 5 10

<210> 136

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 20D11.2C6

<400> 136

Gln Asn Ile Tyr Ile Trp

1 5

<210> 137

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 20H5.A3

<400> 137

Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

1 5

<210> 138

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 23H9.2E4

<400> 138

Gln Gly Ile Asn Asn Tyr

1 5

<210> 139

<211

> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 24D12.2H9

<400> 139

Gln Asp Val Arg Thr Ala

1 5

<210> 140

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 846.1F5

<400> 140

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 141

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 846.2H3

<400> 141

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 142

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 846T.1H2

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (7)..(7)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 142

Gln Ser Xaa Lys Tyr Ser Xaa Gly Lys Thr Tyr

1 5 10

<210> 143

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of 9H2.2H10

<400> 143

Gln Asp Val Ser Thr Ala

1 5

<210> 144

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of IMT001-4

<400> 144

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 145

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of IMT006-1

<400> 145

Lys Ser Leu Leu His Ser Asp Gly Ile Thr Tyr

1 5 10

<210> 146

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of IMT006-5

<400> 146

Lys Ser Leu Leu His Ser Asp Gly Ile Thr Tyr

1 5 10

<210> 147

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of IMT006-8

<400> 147

Lys Ser Leu Leu His Ser Asp Gly Ile Thr Tyr

1 5 10

<210> 148

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1 of mIMT001

<400> 148

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 149

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2 of 2D10.2B2

<400> 149

Arg Met Ser

1

<210> 150

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2 of 3B11.2G2

<400> 150

Leu Val Ser

1

<210> 151

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2 of 4A11.2B5

<400> 151

Arg Met Ser

1

<210> 152

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2 of 4G2.2G6

<400> 152

Leu Val Ser

1

<210> 153

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2 of 6H6.2D6

<400> 153

Tyr Thr Ser

1

<210> 154

<211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL CDR2 of 7D8.2D8
 <400> 154
 Lys Val Ser
 1
 <210> 155
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> VL CDR2 of 12G5.D7
 <400> 155
 His Ala Thr
 1
 <210> 156
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL CDR2 of 13A12.2E5
 <400> 156
 Leu Leu Ser
 1
 <210> 157
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL CDR2 of 13G4.2F8
 <400> 157
 Gly Ala Ser
 1
 <210> 158
 <211> 3
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><223> VL CDR2 of 13H12.2F8
 <400> 158
 Leu Val Ser
 1
 <210> 159

<211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL CDR2 of 14H10.2C9
 <400> 159
 Leu Val Ser
 1
 <210> 160
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL CDR2 of 15F10.2D6
 <400> 160
 Lys Val Ser
 1
 <210> 161
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL CDR2 of 15G7.2A7
 <400> 161
 Lys Ala Ser
 1
 <210> 162
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2 of 19B5.2E6

<400> 162

Tyr Ala Ser

1

<210> 163

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2 of 19D9.2E5

<400> 163

Leu Val Ser

1

<210> 164

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2 of 20D11.2C6

<400> 164

Lys Ala Ser

1

<210> 165

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2 of 20H5.A3

<400> 165

Tyr Thr Ser

1

<210> 166

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2 of 23H9.2E4

<400> 166

Tyr Ala Ser

1

<210> 167

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2 of 24D12.2H9

<400> 167

Trp Ala Ser

1

<210> 168

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2 of 846.1F5

<400> 168

Trp Ala Ser

1

<210> 169

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2 of 846.2H3

<400> 169

Trp Ala Ser

1

<210> 170

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2 of 846T.1H2

<400> 170

Leu Val Cys

1

<210> 171

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2 of 9H2.2H10

<400> 171

Trp Ala Ser

1

<210> 172

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2 of IMT001-4

<400> 172

Leu Met Ser Thr His Ala Ser

1 5

<210> 173

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> VL CDR2 of IMT006-1

<400> 173

Arg Met Ser

1

<210> 174

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2 of IMT006-5

<400> 174

Arg Met Ser

1

<210> 175

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2 of IMT006-8

<400> 175

Arg Met Ser

1

<210> 176

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2 of mIMT001

<400> 176

Leu Met Ser Thr His Ala Ser

1

5

<210> 177

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 2D10.2B2

<400> 177

Ala Gln Met Ile Glu Phe Pro Leu Thr

1

5

<210> 178

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 3B11.2G2

<400> 178

Leu Gln Ser Thr His Phe Pro Leu Thr

1

5

<210> 179

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 4A11.2B5

<400> 179

Ala Gln Met Leu Glu Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 180

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 4G2.2G6

<400> 180

Leu Gln Ser Thr His Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 181

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 6H6.2D6

<400> 181

Gln Gln Tyr Ser Glu Leu Pro Tyr Thr

1 5

<210> 182

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 7D8.2D8

<400> 182

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Leu Thr

1 5

<210> 183

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 12G5.D7

<400> 183

Val Gln Tyr Ala Gln Phe Pro Pro Thr

1 5

<210> 184

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 13A12.2E5

<400> 184

Leu Gln Ser Thr His Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 185

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 13G4.2F8

<400> 185

Glu Gln Tyr Ser Asn Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 186

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 13H12.2F8

<400> 186

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 187

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 14H10.2C9

<400> 187

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 188

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 15F10.2D6

<400> 188

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Leu Thr

1 5

<210> 189

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 15G7.2A7

<400> 189

Leu Gln Gly Gln Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 190

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 19B5.2E6

<400> 190

Gln Gln Tyr Ser Gln Val Pro Tyr Thr

1 5

<210> 191

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 19D9.2E5

<400> 191

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 192

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 20D11.2C6

<400> 192

Leu Gln Gly Gln Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 193

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 20H5.A3

<400> 193

Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Tyr Thr

1 5

<210> 194

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 23H9.2E4

<400> 194

Gln Gln Tyr Ser Gln Val Pro Tyr Thr

1 5

<210> 195

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 24D12.2H9

<400> 195

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Trp Thr

1 5

<210> 196

<211> 8

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 846.1F5

<400> 196

His Gln Tyr Leu Ser Ser Leu Thr

1 5

<210> 197

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 846.2H3

<400> 197

His Gln Tyr Leu Ser Ser Leu Thr

1 5

<210> 198

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 846T.1H2

<220><221> misc_feature

<222> (7)..(7)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 198

Val Gln Gly Pro His Phe Xaa His Thr

1 5

<210> 199

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of 9H2.2H10

<400> 199

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Leu Thr

1 5
 <210> 200
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VL CDR3 of IMT001-4
 <400> 200
 Gln Gln Leu Val Asp Tyr Pro Leu Thr

1 5
 <210> 201
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of IMT006-1
 <400> 201
 Ala Gln Met Leu Glu Phe Pro Leu Thr

1 5
 <210> 202
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of IMT006-5
 <400> 202
 Ala Gln Met Leu Glu Phe Pro Leu Thr

1 5
 <210> 203
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of IMT006-8
 <400> 203

Ala Gln Met Leu Glu Phe Pro Leu Thr
 1 5

<210> 204

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3 of mIMT001

<400> 204

Gln Gln Leu Val Asp Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 205

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 2D10.2B2

<400> 205

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Asn Asp Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Gly Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Asn Tyr Phe Gly Cys Ser Gly Trp Phe Phe Asp Val Trp Gly Thr

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 206

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 3B11.2G2

<400> 206

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Lys Phe Lys Thr Tyr

20 25 30

Val Met Ser Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Ala Leu Lys Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Glu Ile Ile Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Gly Asn Tyr Gly Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 207

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 4A11.2B5

<400> 207

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Thr Asn
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ser Thr Ala Pro Gly Gly Phe Asp Val Trp Gly Ser Gly Thr Thr Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 208

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 4G2.2G6

<400> 208

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Asp Leu Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30

Val Met Ser Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Asp Leu Lys Trp Met
 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr His Ser Gly Val Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Asp Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Asn Thr Ala Phe
 65 70 75 80
 Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95

Thr Arg Asp Gly Asn Asp Gly Asp Ala Met Asp Asn Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 209

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 6H6.2D6

<400> 209

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met

35 40 45

Ala Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Thr Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Pro Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 210

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 7D8.2D8

<400> 210

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Thr Ile Ser Asp Gly Gly Ile Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Asn Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Asn Leu Phe
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Ser His Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Val Arg Asp Gly Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser
 100 105 110
 Ser

<210> 211

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 12G5.D7

<400> 211

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30

Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Ala Arg Ile Tyr Pro Gly Thr Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Glu Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95

Ala Arg Phe Ala Tyr Tyr Tyr Gly Ser Gly Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110

Gly His Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 212

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 13A12.2E5

<400> 212

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu

1

5

10

15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Lys Phe Lys Thr Tyr

20

25

30

Val Met Ser Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Ala Leu Lys Trp Met

35

40

45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe

50

55

60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Leu Glu Ile Ile Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85

90

95

Ala Arg Asp Gly Asn Tyr Gly Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100

105

110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 213

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 13G4.2F8

<400> 213

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

1

5

10

15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Met Ile His Pro Asn Ser Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Asn Lys Ala Thr Leu Asn Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Trp Gly Ile Tyr Tyr Tyr Ala Arg Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

115

<210> 214

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 13H12.2F8

<400> 214

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95
Ala Val Pro Tyr Glu Tyr Asp Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ala

115

<210> 215

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 14H10.2C9

<400> 215

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

20 25 30
Gly Met Gly Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Asp Leu Lys Trp Met

35 40 45
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe

50 55 60
Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
Leu Gln Ile Ser Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95
Ser Thr Pro Tyr Glu Tyr Asp Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ala

115

<210> 216

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 15F10.2D6

<400> 216

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Thr Ile Ser Asp Gly Gly Val Tyr Thr Tyr Thr Asp His Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Glu Asp Asn Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Ser His Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Asp Gly Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser
100 105 110
Ser

<210> 217

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 15G7.2A7

<400> 217

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Thr Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100

105

110

Val Ser Ala

115

<210> 218

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 19B5.2E6

<400> 218

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu

1

5

10

15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

20

25

30

Ala Met Ser Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met

35

40

45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Leu

50

55

60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85

90

95

Ala Arg Gly Pro Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val

100

105

110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 219

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 19D9.2E5

<400> 219

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

20 25 30

Gly Met Gly Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Met Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Thr Pro Tyr Glu Tyr Asp Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ala

115

<210> 220

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 20D11.2C6

<400> 220

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Phe

20 25 30

Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asp Ile Asn Pro Lys Asn Gly Gly Ile Asn Tyr Asn Pro Lys Phe

50 55 60

Lys Ile Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ser Tyr
65 70 75 80
Met Asp Leu Arg Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Thr Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ala
115

<210> 221

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 20H5.A3

<400> 221

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Thr Tyr

20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Val Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro Thr Cys Ala Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Ile Asn Asn Leu Arg Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95
Ala Arg Gly Pro Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 222

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 23H9.2E4

<400> 222

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Leu

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Pro Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 223

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 24D12.2H9

<400> 223

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln

1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr

20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe
65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Ala Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95
Lys Ser Pro Asp Gly Tyr Asp Val Ala Trp Phe Gly Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 224

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 846.1F5

<400> 224

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

20 25 30
Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Ser Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Met Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95
Ala Arg Trp Gly Gly Tyr Asp Gly Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 225

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 846.2H3

<400> 225

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Ser Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Met Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Gly Gly Tyr Asp Gly Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 226

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 846T.1H2

<400> 226

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Glu Glu Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Thr Gly Gly Gly Asn Trp Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser

115

<210> 227

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of 9H2.2H10

<400> 227

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Gly Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Trp Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Leu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asn Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Gly Tyr Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 228

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of IMT001-4

<400> 228

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

20 25 30
Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Lys Trp Met

35 40 45
Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Val Glu Glu Phe

50 55 60
Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Glu Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95
Ala Pro Tyr Asp Asn Phe Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

100 105 110
Thr Val Ser Ser

115

<210> 229

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of IMT006-1

<400> 229

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ser Thr Ala Pro Gly Gly Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 230

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of IMT006-5

<400> 230

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ser Thr Ala Pro Gly Gly Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 231

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of IMT006-8

<400> 231

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Thr Tyr

65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Thr Ala Pro Gly Gly Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 232

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH of mIMT001

<400> 232

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Val Glu Glu Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
 Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Pro Tyr Asp Asn Phe Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ala

115

<210> 233

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 2D10.2B2

<400> 233

Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Phe Ser Asn Pro Val Thr Leu Gly

1 5 10 15
 Thr Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile

65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Met
 85 90 95
 Ile Glu Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Ile Leu Glu Leu Lys
 100 105 110

<210> 234

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 3B11.2G2

<400> 234

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Ala Ile Gly
 1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr
 20 25 30
 Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105 110

<210> 235

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 4A11.2B5

<400> 235

Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Phe Ser Asn Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15

Thr Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Met

85 90 95

Leu Glu Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105 110

<210> 236

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 4G2.2G6

<400> 236

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr

20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Ser Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser

85 90 95

Thr His Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Val Lys

100 105 110

<210> 237

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 6H6.2D6

<400> 237

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Glu Leu Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 238

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 7D8.2D8

<400> 238

Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser

20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

85 90 95

Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105 110

<210> 239

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 12G5.D7

<400> 239

Asp Ile Leu Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Ser Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Thr Val Ser Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Gly Ile Asn Ser Asn

20 25 30

Met Gly Trp Leu Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile

35 40 45

Tyr His Ala Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Gln Tyr Ala Gln Phe Pro Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 240

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 13A12.2E5

<400> 240

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Ala Ile Gly

1	5	10	15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr			
20	25	30	
Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser			
35	40	45	
Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Leu Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro			
50	55	60	
Asp Arg Phe Ser Ala Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			

65	70	75	80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser			
85	90	95	
Thr His Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys			
100	105	110	

<210> 241

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 13G4.2F8

<400> 241

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1	5	10	15
Glu Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn			
20	25	30	
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Ala Gly Gln Ser Leu Glu Leu Leu Ile			
35	40	45	
Tyr Gly Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly			
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser			

65						70						75						80	
Glu	Asp	Met	Thr	Asn	Tyr	Phe	Cys	Glu	Gln	Tyr	Ser	Asn	Phe	Pro	Leu				
					85					90					95				
Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys									
					100					105									
<210>	242																		
<211>	112																		
<212>	PRT																		
<213>	Artificial Sequence																		
<220><223>	VL of 13H12.2F8																		
<400>	242																		
Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Thr	Leu	Ser	Val	Thr	Ile	Gly				
1						5	10					15							
Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Phe	His	Ser				
					20					25					30				
Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Leu	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser				
					35					40					45				
Pro	Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Asp	Ser	Gly	Val	Pro				
					50					55					60				
Asp	Arg	Phe	Thr	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile				
65						70	75					80							
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Trp	Gln	Gly				
					85					90					95				
Thr	His	Phe	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Met	Lys				
					100					105					110				
<210>	243																		
<211>	112																		
<212>	PRT																		
<213>	Artificial Sequence																		
<220><223>	VL of 14H10.2C9																		
<400>	243																		
Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Thr	Leu	Ser	Val	Thr	Ile	Gly				

1 5 10 15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asp Ser
20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
100 105 110

<210> 244

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 15F10.2D6

<400> 244

Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Asn
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105 110

<210> 245

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 15G7.2A7

<400> 245

Asp Ile Gln Met Asn Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Thr Ile Ser Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Asn Ile Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Asn Ile Pro Gln Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly Gln Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Val Met Lys

100 105

<210> 246

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 19B5.2E6

<400> 246

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Asn Asn Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Gln Val Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 247

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 19D9.2E5

<400> 247

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Pro

35 40 45

Pro Lys Arg Leu Met Tyr Leu Val Ser Thr Leu Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly

85 90 95

Thr His Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Pro Glu Leu Lys

100 105 110

<210> 248

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 20D11.2C6

<400> 248

Asp Ile Gln Met Asn Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Thr Ile Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Ile Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Asn Ile Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Thr Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Leu Gln Gly Gln Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys

100 105

<210> 249

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 20H5.A3

<400> 249

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Asn Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu Leu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr His Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 250

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 23H9.2E4

<400> 250

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Asn Asn Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Gln Val Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 251

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 24D12.2H9

<400> 251

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Leu Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 252

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 846.1F5

<400> 252

Asn Ile Met Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Pro Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln
85 90 95

Tyr Leu Ser Ser Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105 110

<210> 253

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 846.2H3

<400> 253

Asn Ile Met Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser

20 25 30

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Pro Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln

85 90 95

Tyr Leu Ser Ser Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105 110

<210> 254

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 846T.1H2

<400> 254

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser

20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly

85 90 95

Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 255

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of 9H2.2H10

<400> 255

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105

<210> 256

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of IMT001-4

<400> 256

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1	5	10	15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys			
20	25	30	
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser			
35	40	45	
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr His Ala Ser Gly Val Pro			
50	55	60	
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			

65	70	75	80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu			
85	90	95	
Val Asp Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
100	105	110	

<210> 257

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of IMT006-1

<400> 257

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly

1	5	10	15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser			
20	25	30	
Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser			
35	40	45	
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro			
50	55	60	

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Met
85 90 95

Leu Glu Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 258

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of IMT006-5

<400> 258

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Met

85 90 95

Leu Glu Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 259

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of IMT006-8

<400> 259

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30

Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Met
 85 90 95

Leu Glu Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 260

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL of mIMT001

<400> 260

Asp Ile Val Ile Thr Gln Asp Glu Leu Ser Asn Pro Val Thr Ser Gly
 1 5 10 15
 Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys
 20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr His Ala Ser Gly Val Ser
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Lys Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu
 85 90 95

Val Asp Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105 110

<210> 261

<211> 461

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hIgG4 (S228P) Constant of IMT001-4

<400> 261

Met Gly Ser Thr Ala Ile Leu Gly Leu Leu Leu Ala Val Leu Gln Gly

1 5 10 15

Val Cys Ala Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys

20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe

35 40 45

Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu

50 55 60

Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Val

65 70 75 80

Glu Glu Phe Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Glu Thr Ser Val Ser

85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val

100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Pro Tyr Asp Asn Phe Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

115 120 125

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

130 135 140

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu

145 150 155 160

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

165 170 175

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

180 185 190
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 195 200 205
 Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 210 215 220
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro

 225 230 235 240
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 245 250 255
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 260 265 270
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
 275 280 285
 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

 290 295 300
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 305 310 315 320
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 325 330 335
 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 340 345 350
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

 355 360 365
 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 370 375 380
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 385 390 395 400
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 405 410 415
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

 420 425 430

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

435 440 445

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly

450 455 460

<210> 262

<211> 241

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hKappa Constant of IMT001-4

<400> 262

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp

1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser

20 25 30

Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser

35 40 45

Lys Ser Leu Leu Tyr Lys Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Leu

50 55 60

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr

65 70 75 80

His Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr

85 90 95

Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val

100 105 110

Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Val Asp Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly

115 120 125

Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile

130 135 140

Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val

145 150 155 160

Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys

165 170 175

Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu
180 185 190
Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu
195 200 205

Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr
210 215 220
His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
225 230 235 240
Cys

<210> 263

<211> 466

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hIgG4 (S228P) Constant of IMT006-4

<400> 263

Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser
1 5 10 15

Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly
20 25 30
Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala
35 40 45
Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala
50 55 60
Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly
65 70 75 80

Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ala
85 90 95
Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser
100 105 110
Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Thr Ala Pro Gly Gly Phe Asp
115 120 125

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
145 150 155 160

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
195 200 205

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
210 215 220

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
225 230 235 240

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly
245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser

370 375 380
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 385 390 395 400

 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 405 410 415
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
 420 425 430
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 435 440 445
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 450 455 460

Leu Gly

465

<210> 264

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hKappa Constant of IMT006-4

<400> 264

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15
 Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
 20 25 30
 Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Lys Ser
 35 40 45

Leu Leu His Ser Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys
 50 55 60
 Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala
 65 70 75 80
 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 85 90 95
 Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr

100 105 110

Cys Ala Gln Met Leu Glu Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys

115 120 125

Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro

130 135 140

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu

145 150 155 160

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp

165 170 175

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp

180 185 190

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys

195 200 205

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln

210 215 220

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230 235

<210> 265

<211> 466

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hIgG4 (S228P) Constant of IMT006-5

<400> 265

Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser

1 5 10 15

Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly

20 25 30

Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala

35 40 45

Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala

50 55 60

Pro	Gly	Gln	Arg	Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Trp	Ile	Tyr	Pro	Gly	Ser	Gly
65				70				75				80			
Asn	Thr	Asn	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala
85				90				95							
Asp	Thr	Ser	Ala	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser
100				105				110							
Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ser	Thr	Ala	Pro	Gly	Gly	Phe	Asp
115				120				125							
Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys
130				135				140							
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu
145				150				155				160			
Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro
165				170				175							
Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr
180				185				190							
Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val
195				200				205							
Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn
210				215				220							
Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser
225				230				235				240			
Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly
245				250				255							
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
260				265				270							
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln
275				280				285							
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
290				295				300							
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr

305 310 315 320
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 325 330 335
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
 340 345 350
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 370 375 380
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 385 390 395 400
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 405 410 415
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
 420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 435 440 445
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 450 455 460

Leu Gly

465

<210> 266

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hKappa Constant of IMT006-5

<400> 266

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
 20 25 30

Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Lys Ser

35 40 45
 Leu Leu His Ser Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys
 50 55 60
 Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala
 65 70 75 80

 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 85 90 95
 Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr
 100 105 110
 Cys Ala Gln Met Leu Glu Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
 115 120 125
 Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
 130 135 140

 Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
 145 150 155 160
 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
 165 170 175
 Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
 180 185 190
 Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
 195 200 205

 Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
 210 215 220
 Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235
 <210> 267
 <211> 466
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> hIgG4 (S228P) Constant of IMT006-8
 <400> 267
 Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser

1 5 10 15

 Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly
 20 25 30
 Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala
 35 40 45
 Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala
 50 55 60
 Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly
 65 70 75 80

 Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala
 85 90 95
 Asp Thr Ser Ala Ser Thr Thr Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser
 100 105 110
 Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Thr Ala Pro Gly Gly Phe Asp
 115 120 125
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 130 135 140

 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
 145 150 155 160
 Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 165 170 175
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 180 185 190
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 195 200 205

 Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
 210 215 220
 Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
 225 230 235 240
 Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly
 245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Leu Gly

465

<210> 268

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hKappa Constant of IMT006-8

<400> 268

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro

20 25 30

Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser

35 40 45

Leu Leu His Ser Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys

50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala

65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe

85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr

100 105 110

Cys Ala Gln Met Leu Glu Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys

115 120 125

Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro

130 135 140

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu

145 150 155 160

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp

165 170 175

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp

180 185 190

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys

195 200 205

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln

210 215 220

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

<223> X = Q or absent
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> X = P or absent
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> X = G or absent
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> X = G or absent
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X = V or absent
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)

 <223> X = T or absent
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> X = G or A
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> X = T or P
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> X = L or Y
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> X = T or D
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> X = T or N
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(12)
 <223> X = F or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (13)..(13)

<223> X = F or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (14)..(14)

<223> X = A or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (15)..(15)

<223> X = Y or absent

<400> 271

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5 10 15

<210> 272

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> X = R or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> X = S or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> X = S or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> X = K or Q

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> X = S or K

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> X = N or D

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (15)..(15)

<223> X = L or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> X = N or absent

<400> 272

Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Leu Leu Tyr Xaa Xaa Gly Lys Thr Tyr Xaa Xaa

1 5 10 15

<210> 273

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> X = V or M

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> X = T or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> X = H or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> X = A or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> X = S or absent

<400> 273

Leu Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210

> 274

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> X = V, Q or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> X = G or L

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> X = T or V

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> X = H or D

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> X = F or Y

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> X = Q or L

<400> 274

Xaa Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Thr

1 5

<210> 275

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 275

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

1 5

<210> 276

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 276

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

1 5

<210> 277

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> X = A or S

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> X = V or T

<400> 277

Xaa Xaa Pro Tyr Glu Tyr Asp Gly Ala Tyr

1 5 10

<210> 278

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> X = L or F

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> X = D or H

<400> 278

Gln Ser Leu Xaa Xaa Ser Asp Gly Lys Thr Tyr

1 5 10

<210> 279

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 279

Leu Val Ser

1

<210> 280

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 280

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 281

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> X = S or T

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> X = D or N

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> X = G or absent

<400> 281

Gly Tyr Xaa Phe Thr Xaa Tyr Xaa

1 5

<210> 282

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> X = I or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> X = N or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> X = I or T

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> X = P or T

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> X = S or E

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> X = N, G, P or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> X = N, D or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> X = T or absent

<400> 282

Xaa Xaa Xaa Tyr Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa

1	5	10
<210>	283	
<211>	15	
<212>	PRT	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic	
<220><221>	MISC_FEATURE	
<222>	(1)..(1)	
<223>	X = A or absent	
<220><221>	MISC_FEATURE	
<222>	(2)..(2)	
<223>	X = R, N or absent	
<220><221>	MISC_FEATURE	
<222>	(3)..(3)	
<223>	X = W, Y or absent	
<220><221>	MISC_FEATURE	
<222>	(4)..(4)	
<223>	X = G, F or absent	
<220><221>	MISC_FEATURE	
<222>	(5)..(5)	
<223>	X = G or S	
<220><221>	MISC_FEATURE	
<222>	(6)..(6)	
<223>	X = Y, C or T	
<220><221>	MISC_FEATURE	
<222>	(7)..(7)	
<223>	X = D, S or A	
<220><221>	MISC_FEATURE	
<222>	(8)..(8)	
<223>	X = G or P	
<220>		
><221>	MISC_FEATURE	
<222>	(9)..(9)	
<223>	X = D, W or G	

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> X = Y, F or G

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> X = Y or F

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (12)..(12)

<223> X = A, D or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (13)..(13)

<223> X = M, V or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (14)..(14)

<223> X = D or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (15)..(15)

<223> X = Y or absent

<400> 283

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5 10 15

<210> 284

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> X = Q or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> X = K or S

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> X = S or V
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X = L or Y
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> X = H or S
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222
 > (8)..(8)
 <223> X = D or N
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> X = G or Q
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> X = I or K
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> X = T or N
 <400> 284
 Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr
 1 5 10
 <210> 285
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> X = W, R or absent
 <220
 ><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> X = A, M or absent

<400> 285

Xaa Xaa Ser

1

<210> 286

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> X = A, H or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> X = M or Y

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> X = I or L

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> X = E or S

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> X = F or absent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> X = P or S

<400> 286

Xaa Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Thr

1 5

<210> 287

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> X = A or T

<400> 287

Gly Tyr Xaa Phe Thr Thr Tyr

1 5

<210> 288

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> X = I or V

<400> 288

Xaa Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro

1 5

<210> 289

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 289

Ala Arg Gly Pro Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 290

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> X = G or D

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> X = S or N

<400> 290

Gln Xaa Ile Xaa Asn Tyr

1 5

<210> 291

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> X = A or T

<400> 291

Tyr Xaa Ser

1

<210> 292

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> X = E, Q or K

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> X = L or V

<400> 292

Gln Gln Tyr Ser Xaa Xaa Pro Tyr Thr

1 5

<210> 293

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> X = F or Y

<400> 293

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Xaa

1 5

<210> 294

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> X = N or K

<400> 294

Ile Asn Pro Xaa Asn Gly Gly Ile

1 5

<210> 295

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 295

Thr Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr

1 5

<210> 296

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> X = N or Y

<400> 296

Gln Asn Ile Xaa Ile Trp

1 5

<210> 297

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 297

Lys Ala Ser

1

<

210> 298

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 298

Leu Gln Gly Gln Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 299

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 299

Gly Tyr Lys Phe Lys Thr Tyr

1 5

<210> 300

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 300

Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro

1 5

<210> 301

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 301

Ala Arg Asp Gly Asn Tyr Gly Asp Pro Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 302

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 302

Gln Ser Leu Leu Tyr Thr Asn Gly Lys Thr Tyr

1 5 10

<210> 303

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> X = L or V

<400> 303

Leu Xaa Ser

1

<210> 304

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 304

Leu Gln Ser Thr His Phe Pro Leu Thr

1

5