(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0162798
(43) 공개일자 2023년11월28일

(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 10-2023-7036278
(22) 출원일자(국제) 2022년03월25일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년10월23일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/021945
(87) 국제공개번호 WO 2022/204514
국제공개일자 2022년09월29일
(30) 우선권주장
63/166,663 2021년03월26일 미국(US)
63/294,436 2021년12월29일 미국(US)

(71) 출원인
압큐로, 인크.
미국 02458 매사추세츠 뉴턴 채플 스트리트 55 스위트 200
(72) 발명자
굴라, 스테파노, 브이.
미국 02458 매사추세츠 뉴턴 브릿지 스트리트 90
톰슨, 케네스, 에반
미국 02458 매사추세츠 뉴턴 브릿지 스트리트 90
(74) 대리인
양영준, 이상남

전체 청구항 수 : 총 24 항

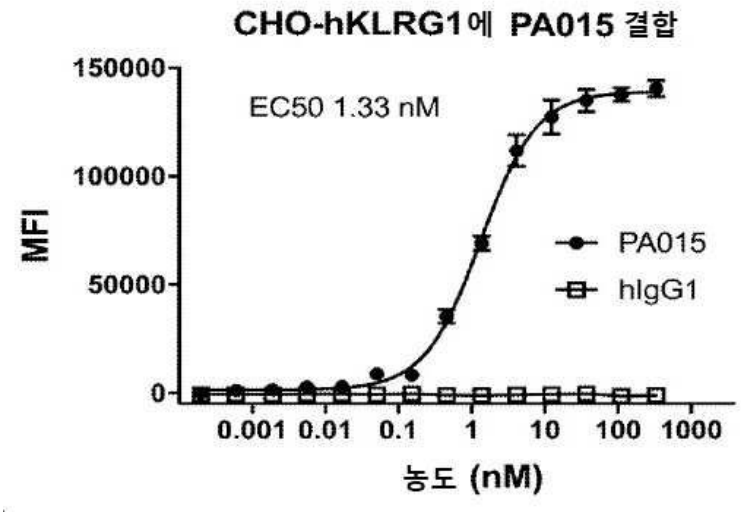
(54) 발명의 명칭 **항-KLRG1 항체**

(57) 요 약

본 명세서의 요약서

본 명세서는 킬러 세포 렉틴-유사 수용체 G1 (KLRG1)에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편들에 관계한다. 이러한 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 암 치료 및 백신의 유효성 증가를 포함하는 다양한 치료 또는 진단 목적에 유용하다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)
C07K 2317/94 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

서열 식별 번호: 4를 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, KLRG1의 세포외 도메인에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 서열 식별 번호: 13, 서열 식별 번호: 19, 서열 식별 번호: 25, 서열 식별 번호: 31, 및 서열 식별 번호: 37로 구성된 군에서 선택된 CDR-L1; 서열 식별 번호: 14, 서열 식별 번호: 20, 서열 식별 번호: 26, 서열 식별 번호: 32, 및 서열 식별 번호: 38로 구성된 군에서 선택된 CDR-L2; 그리고 서열 식별 번호: 15, 서열 식별 번호: 21, 서열 식별 번호: 27, 서열 식별 번호: 33, 및 서열 식별 번호: 39로 구성된 군에서 선택된 CDR-L3을 포함하는 경쇄를 더 포함하는, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 3

청구항 2에 있어서, 이때 상기 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 차례로, 서열 식별 번호: 13, 서열 식별 번호: 14 및 서열 식별 번호: 15; 차례로, 서열 식별 번호: 19, 서열 식별 번호: 20 및 서열 식별 번호: 21; 차례로, 서열 식별 번호: 25, 서열 식별 번호: 26 및 서열 식별 번호: 27; 차례로, 서열 식별 번호: 31, 서열 식별 번호: 32 및 서열 식별 번호: 33; 또는 차례로, 서열 식별 번호: 37, 서열 식별 번호: 38 및 서열 식별 번호: 39인, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 4

서열 식별 번호: 5를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, KLRG1의 세포외 도메인에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 5

청구항 4에 있어서, 서열 식별 번호: 10, 서열 식별 번호: 16, 서열 식별 번호: 22, 서열 식별 번호: 28, 서열 식별 번호: 34로 구성된 군에서 선택된 CDR-L1; 서열 식별 번호: 11, 서열 식별 번호: 17, 서열 식별 번호: 23, 서열 식별 번호: 29, 서열 식별 번호: 35로 구성된 군에서 선택된 CDR-L2; 그리고 서열 식별 번호: 12, 서열 식별 번호: 18, 서열 식별 번호: 24, 서열 식별 번호: 30, 서열 식별 번호: 36로 구성된 군에서 선택된 CDR-L3을 포함하는 중쇄를 더 포함하는, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 6

청구항 5에 있어서, 이때 상기 CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3은 차례로, 서열 식별 번호: 10, 서열 식별 번호: 11 및 서열 식별 번호: 12; 차례로, 서열 식별 번호: 16, 서열 식별 번호: 17 및 서열 식별 번호: 18; 차례로, 서열 식별 번호: 22, 서열 식별 번호: 23 및 서열 식별 번호: 24; 차례로, 서열 식별 번호: 28, 서열 식별 번호: 29 및 서열 식별 번호: 30; 또는 차례로, 서열 식별 번호: 34, 서열 식별 번호: 35 및 서열 식별 번호: 36인, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 7

KLRG1의 세포외 도메인에 특이적으로 결합하고, 다음을 포함하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편:

(a) 서열 식별 번호: 4를 포함하는 중쇄 가변 영역, 그리고

(b) 서열 식별 번호: 5를 포함하는 경쇄 가변 영역.

청구항 8

서열 식별 번호: 8을 포함하는 중쇄를 포함하는, KLRG1의 세포외 도메인에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 이

의 항원-결합 단편.

청구항 9

서열 식별 번호: 9를 포함하는 경쇄를 포함하는, KLRG1의 세포외 도메인에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 10

KLRG1의 세포외 도메인에 특이적으로 결합하고, 다음을 포함하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편:

(a) 서열 식별 번호: 8을 포함하는 중쇄, 그리고

(b) 서열 식별 번호: 9를 포함하는 경쇄.

청구항 11

청구항 1-7 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 전술한 항원-결합 단편은 F(ab) 단편인, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 12

청구항 1-7 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 전술한 항원-결합 단편은 $F(ab_2)$ 단편인, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 13

전술한 청구항들 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 전술한 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 이중-특이적인, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 14

암 환자에게 전술한 청구항들 중 임의의 한 항에 따른 항체, 또는 이의 항원-결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 암 치료 방법.

청구항 15

청구항 14에 있어서, 체크포인트 억제제를 전술한 암 환자에게 투여하는 것을 더 포함하는, 방법.

청구항 16

상기 방법 청구항 15에 있어서, 이때 전술한 상기 체크포인트 억제제의 투여는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편 투여와 동시에 수행되는, 방법.

청구항 17

청구항 15에 있어서, 이때 상기 체크포인트 억제제는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여된 후 하루, 일주 또는 한 달 이내에 투여되는, 방법.

청구항 18

청구항 14-17 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 전술한 암은 유방암, 전립선암, 림프종, 피부암, 췌장암, 결장암, 흑색종, 악성 흑색종, 난소암, 뇌암, 원발성 뇌암종, 두경부암, 신경교종, 교모세포종, 간암, 방광암, 비소형 세포 폐암, 두경부 암종, 유방암, 난소 암종, 폐암종, 소세포폐암종, 윌름스종양, 자궁경부암종, 고환암종, 방광암종, 췌장암종, 위암종, 대장암종, 전립선암종, 비뇨생식기암종, 갑상선암종, 식도암종, 골수종, 다발성 골수종, 부신암종, 신장 세포 암종, 자궁 내막 암종, 부신 피질 암종, 악성 췌장 인슐린종, 악성 카르시노이드 암종, 융모상피암종, 균상식육종, 악성 고칼슘혈증, 자궁경부 증식증, 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 과립구성 백혈병, 급성 과립구성 백혈병, 털세포백혈병, 신경모세포종, 횡문근육종, 카포시 육종, 진성적혈구증가증, 본태혈소판증가증, 호지킨병, 비-지킨 림프종, 연조직 육종, 골형성 육종, 원발성 거대글로불린혈증, 그리고 막모세포종 중 하나 또는 그 이상인, 방

법.

청구항 19

체크포인트 억제제로 치료를 받고 있는 대상체에게 청구항 1 내지 13 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 투여하여 보조 요법을 수행하는 것을 포함하는 보조 요법.

청구항 20

청구항 1-13 중 임의의 한 항에 따른 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 인코드하는 단리된 핵산.

청구항 21

청구항 20에 있어서, 서열 식별 번호: 40을 포함하는 단리된 핵산.

청구항 22

청구항 20에 있어서, 서열 식별 번호: 41을 포함하는 단리된 핵산.

청구항 23

청구항 20-22 중 임의의 하나에 따른 핵산을 포함하는 발현 벡터.

청구항 24

청구항 23의 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **기술 분야**

[0002] 기술 분야는 림프구 공동-억제성 수용체 킬러 세포 렉틴-유사 수용체 하위패밀리 G 구성원 1의 억제에 관한 것이다.

[0003] **관련 출원에 대한 교차 참조**

[0004] 본 출원은 2021년 3월 26일자로 제출된 미국 가특허 출원 번호 63/166,663, 그리고 2021년 12월 29일자로 제출된 미국 가특허 출원 63/294,436에 대해 우선권을 주장하며, 이들 출원은 이들 전문이 여기에 참고자료로 편입된다.

[0005] **서열 목록에 대한 참조**

[0006] 이 출원은 컴퓨터 판독 가능한 형식의 서열 목록을 담고 있다. 컴퓨터 판독 가능 형식은 본 문서에 참조로 편입되어 있다. 2022년 3월 1일에 작성된 상기 ASCII 사본은 파일명을 "770808_000043_SL.txt"라고 하고, 크기는 32,100 바이트이다.

배 경 기 술

[0007] **배경**

[0008] 림프구 공동-억제성 수용체들은 적응 면역체계의 작용을 조절한다 (가령, WO2020/060781 참고). 공동-억제성 수용체의 작용은 일반적으로 공동억제 수용체의 세포외 도메인에 리간드를 결합시킨 후, 이 공동-억제성 수용체의 세포내 도메인에 위치한 면역수용체 티로신 기반 억제 모티프(ITIM)에 의해 세포내 포스파타제를 취합함으로써 수행된다. 공동-억제성 수용체의 작용은 일반적으로 T-세포 수용체 (TCR) 고용된 면역 반응을 꺾는 것이다. 최근 몇 년 동안, 공동-억제 수용체의 활성을 차단하는 제제가 암 및 감염성 질환에 대한 효과적인 치료법으로 사용될 수 있는 것으로 나타났다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] **발명의 요약**

[0010] 한 측면에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 4를 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, KLRG1의 세포외 도메인에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편에 관계한다. 상기 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 식별 번호: 13, 서열 식별 번호: 19, 서열 식별 번호: 25, 서열 식별 번호: 31, 및 서열 식별 번호: 37로 구성된 군에서 선택된 CDR-L1; 서열 식별 번호: 14, 서열 식별 번호: 20, 서열 식별 번호: 26, 서열 식별 번호: 32, 및 서열 식별 번호: 38로 구성된 군에서 선택된 CDR-L2; 그리고 서열 식별 번호: 15, 서열 식별 번호: 21, 서열 식별 번호: 27, 서열 식별 번호: 33, 및 서열 식별 번호: 39로 구성된 군에서 선택된 CDR-L3을 포함하는 경쇄를 더 포함할 수 있다. 상기 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 차례로, 서열 식별 번호: 13, 서열 식별 번호: 14 및 서열 식별 번호: 15; 차례로, 서열 식별 번호: 19, 서열 식별 번호: 20 및 서열 식별 번호: 21; 차례로, 서열 식별 번호: 25, 서열 식별 번호: 26 및 서열 식별 번호: 27; 차례로, 서열 식별 번호: 31, 서열 식별 번호: 32 및 서열 식별 번호: 33; 또는 차례로, 서열 식별 번호: 37, 서열 식별 번호: 38 및 서열 식별 번호: 39일 수 있다.

[0011] 또다른 측면에서, 본 명세서는 서열 식별 번호: 5 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, KLRG1의 세포외 도메인에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편에 관계한다. 청구항 4의 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 식별 번호: 10, 서열 식별 번호: 16, 서열 식별 번호: 22, 서열 식별 번호: 28, 서열 식별 번호: 34로 구성된 군에서 선택된 CDR-L1; 서열 식별 번호: 11, 서열 식별 번호: 17, 서열 식별 번호: 23, 서열 식별 번호: 29, 서열 식별 번호: 35로 구성된 군에서 선택된 CDR-L2; 그리고 서열 식별 번호: 12, 서열 식별 번호: 18, 서열 식별 번호: 24, 서열 식별 번호: 30, 서열 식별 번호: 36로 구성된 군에서 선택된 CDR-L3을 포함하는 중쇄를 더 포함할 수 있다. 상기 CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3은 차례로, 서열 식별 번호: 10, 서열 식별 번호: 11 및 서열 식별 번호: 12; 차례로, 서열 식별 번호: 16, 서열 식별 번호: 17 및 서열 식별 번호: 18; 차례로, 서열 식별 번호: 22, 서열 식별 번호: 23 및 서열 식별 번호: 24; 차례로, 서열 식별 번호: 28, 서열 식별 번호: 29 및 서열 식별 번호: 30; 또는 차례로, 서열 식별 번호: 34, 서열 식별 번호: 35 및 서열 식별 번호: 36일 수 있다.

[0012] 한 측면에서, 본 명세서는 (a) 서열 식별 번호: 4를 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 (b) 서열 식별 번호: 5를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, KLRG1의 세포외 도메인에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편에 관계한다. 상기 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 식별 번호: 8을 포함하는 중쇄를 포함할 수 있다. 상기 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 식별 번호: 9를 함하는 경쇄를 포함할 수 있다. 상기 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 (a) 서열 식별 번호: 8을 포함하는 중쇄, 및 (b) 서열 식별 번호: 9를 포함하는 경쇄를 포함할 수 있다.

[0013] 상기 항원-결합 단편은 F(ab) 단편일 수 있다. 상기 항원-결합 단편은 $F(ab_2)$ 단편일 수 있다. 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 이중-특이적일 수 있다.

[0014] 한 측면에서, 본 명세서는 환자에게 본원에 기술된 항체 또는 항원-결합 단편들을 투여하는 것을 포함하는, 암 치료 방법에 관계한다. 상기 방법에는 체크포인트 억제제를 상기 암 환자에게 투여하는 것이 또한 내포될 수 있다. 상기 체크포인트 억제제는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여될 때 동시 투여될 수 있다. 상기 체크포인트 억제제는 기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여된 후 하루, 일주 또는 한 달 이내에 투여될 수 있다. 상기 암은 유방암, 전립선암, 림프종, 피부암, 췌장암, 결장암, 흑색종, 악성 흑색종, 난소암, 뇌암, 원발성 뇌암종, 두경부암, 신경교종, 교모세포종, 간암, 방광암, 비소형 세포 폐암, 두경부 암종, 유방암, 난소 암종, 폐암종, 소세포폐암종, 윌름스종양, 자궁경부암종, 고환암종, 방광암종, 췌장암종, 위암종, 대장암종, 전립선암종, 비뇨생식기암종, 갑상선암종, 식도암종, 골수종, 다발성 골수종, 부신암종, 신장 세포 암종, 자궁 내막암종, 부신 피질 암종, 악성 췌장 인슐린종, 악성 카르시노이드 암종, 융모상피암종, 균상식육종, 악성 고칼슘혈증, 자궁경부 증식증, 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 과립구성 백혈병, 급성 과립구성 백혈병, 털세포백혈병, 신경모세포종, 횡문근육종, 카포시 육종, 진성적혈구증가증, 본태혈소판증가증, 호지킨병, 비-지킨 림프종, 연조직 육종, 골형성 육종, 원발성 거대글로불린혈증, 그리고 망막모세포종 중 하나 또는 그 이상일 수 있다.

[0015] 본 명세서는 체크포인트 억제제로 치료를 받고 있는 대상체에게 본원에 개시된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 투여하고, 이로써 상기 보조 요법을 수행하는 것을 포함하는 보조 요법(adjunct therapy)에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0016] **도면의 간단한 설명**

본 명세서는 첨부된 도면과 함께 취해진 다음의 상세한 설명으로부터 더 완전하게 이해될 것이다.

도 1은 인간 KLRG1을 발현시키는 CHOK1 세포에 결합하는 PA015을 보여주는 그래프다.

도 2는 상대적 결합 분석에서 KLRG1을 발현시키는 CHOK1 세포에 결합하는 E-캐드헤린의 PA015 억제를 보여주는 그래프다.

도 3은 상대적 결합 분석에서 HG1N01 및 HG1N02와 비교하였을 때, KLRG1을 발현시키는 CHOK1 세포에 결합하는 E-캐드헤린의 PA015 억제를 보여주는 그래프다.

도 4는 FACS 결합 분석에서 HG1N02와 비교하였을 때, 두 명의 공여자의 인간 CD8+ T 세포에 결합하는 PA015을 보여주는 그래프다.

도 5는 실시예 9에서 기술된 시노몰구스 원숭이 약동학 분석에서 시간 경과에 따른 PA015의 혈청 농도를 나타내는 그래프다.

도 6은 실시예 9에서 기술된 시노몰구스 원숭이 약동학 분석에서 시간 경과에 따른 HG1N01의 혈청 농도를 나타내는 그래프다.

도 7은 HG1N02와 비교하였을 때, PA015의 특정 경쇄 (LC) 잔기들 및 중쇄 (HC) 잔기들의 탈아마드화 그래프를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] **상세한 설명**

[0018] 특정 예시적 구체예들은 본원에 개시된 항체, 이의 단편, 물질의 조성물, 키트 및 관련 방법 및 치료법의 구조, 기능, 제조 및 사용의 원리에 대한 전반적인 이해를 제공하기 위해 기술된다.

[0019] 킬러 세포 렉틴-유사 수용체 G1 (KLRG1)은 T 세포 및 NK 세포의 활성을 조절하여, 공동-억제성 수용체로 기능할 수 있는 유형 II 막횡단 단백질이다. KLRG1의 세포외 부분에는 공지의 리간드가 카드헤린인 C-형 렉틴 도메인을 함유한다. KLRG1의 세포내 부분에는 T 세포 수용체 (TCR) 매개된 신호전달의 공동-억제를 담당하는 면역수용체 티로신- 기반된 억제 모티프(ITIM) 도메인을 함유한다. KLRG1 리간드들에는 E-캐드헤린, N-캐드헤린, R-캐드헤린, 및 이의 조합이 내포된다.

[0020] 인간에서, KLRG1 발현은 일반적으로 면역체계의 세포, 구체적으로, CD8 양성 T 세포, NK 세포에 일반적으로 국한되고, 다소 정도는 덜하지만 CD4 양성 T 세포에도 국한된다. KLRG1 발현은 후기 분화된 표현형과 연합되어 있다. 항원 특이적 T 세포가 분화됨에 따라, 세포독성 분자의 발현된 발현을 획득할 수 있고, 따라서 세포독성 잠재력이 증가될 수 있다. KLRG1의 생물학적 기능은 특정 상황에서 이러한 T 세포의 세포 독성과 증식을 억제하는 것이다. 뮤린 암 모델에서, KLRG1과 이의 리간드 간의 상호작용을 차단하면 종양 성장이나 전이를 조절하는 데 유익한 것으로 나타났다.

[0021] 다르게 정의되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 개시가 속하는 기술 분야의 당업자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서의 설명에 사용된 용어는 단지 특정 실시예를 설명하기 위한 목적으로 사용된 것이며, 본 명세서 및 본 명세서에 설명되거나 제공된 임의의 발명(들)을 제한하려는 의도가 아니다.

[0022] 본 명세서에서 아미노산은 한 글자 코드 또는 세 글자 코드로 표시되며, 이들 모두 다 37 C.F.R. §1.822 및 확립된 사용법이다.

[0023] 본 명세서에 인용된 모든 간행물, 특허 출원, 특허, 특허 간행물 및 기타 참고문헌은 해당 참고문헌이 제시된 문장 및/또는 단락과 관련된 교시에 대한 전체 내용이 참고자료에 편입된다.

[0024] 정의

[0025] 본 명세서 및 첨부 청구항에서 사용된 바와 같이, 단수("a", "an" 및 "the")는 다른 명시적인 언급이 없는 한, 복수 형태를 또한 포함한다.

[0026] 본 명세서에 사용된 바와 같이, "*및/또는*"이 대안 ("또는")으로 해석될 때, 연관된 나열된 항목 중 하나 또는 이상의 모든 가능한 조합을 포괄하고, 뿐만 아니라 조합의 결여도 지칭한다.

[0027] 폴리펩티드의 양, 용량, 시간, 온도, 효소 활성 또는 기타 생물학적 활성 등과 같은 측정 가능한 값을 언급할 때, 본원에서 사용된 용어 "*약(about)*" 및 "*대략(approximately)*"은 지정된 양의 ± 20%, ± 10%, ± 5%, ± 1%, + 0.5%, 또는 심지어 ± 0.1%의 변동을 포괄한다.

[0028] "*본질적으로 ~로 구성되는*"이라는 과도기적 문구는 청구의 범위가 청구 범위에 인용된 특정 재료 또는 단계를 포괄하는 것으로 해석되어야 하며, 청구된 발명의 기본적이고 신규한 특성(들)에 실질적으로 영향을 미치지 않는 것을 의미한다. *In re Herz*, 537 F.2d 549, 551-52, 190 USPQ 461, 463 (CCPA 1976) (원작에서의 강조) 참고; 또한 MPEP § 2111.03 참고.

[0029] 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 서열에 적용되는 용어 "본질적으로 구성된다" (및 문법적 변형)는 인용된 서열(예를 들어, 서열 식별 번호) 및 인용된 서열의 N-말단 및/또는 C-말단에 총 10개 또는 그 이하 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개)의 추가 아미노산으로 구성된 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드를 의미하고, 이러한 추가 아미노산들에 의해 해당 폴리펩티드의 기능은 실질적으로 변경되지 않는다. 총 10개 또는 그 미만의 추가 아미노산은 양쪽 말단에 추가된 아미노산의 총 개수를 함께 내포될 수 있다.

[0030] 본 명세서에서 사용된 "*유효량*"은 원하는 효과를 제공하는 양이다. "유효량"이라는 용어는 KLRG1의 활성을 감소시켜 환자의 증상을 완화시키거나 원하는 생물학적 결과, *예를 들면,* KLRG1의 활성 감소, 림프구 동시-억제 반응의 조절, 세포독성 T 세포 및 NK 세포의 활성화 증가 또는 감소, 세포독성 T 세포 또는 NK 세포에 의한 IFNɣ 방출 증가 또는 감소를 달성하기에 충분한 투여량 또는 양을 의미한다.

[0031] 본 명세서에 사용된 "치료요법적으로 효과적인" 양은 대상체에게 어느 정도 개선 또는 이점을 제공하는 양이다. 대안적으로 말하면, "치료요법적으로 효과적인" 양이란 대상체의 적어도 하나의 임상 증상을 어느 정도 완화, 경감 또는 감소시키는 양이다. 당업자는 대상에게 일부 이점이 제공되는 한 치료 효과가 완전하거나 치료적일 필요는 없다는 것을 이해할 것이다.

[0032] "*치료하다*", "*치료하는*" 또는 "*~의 치료*"라는 용어는 대상체의 상태의 중증도가 감소되거나 적어도 부분적으로 개선되거나 수정되고, 그리고 적어도 하나의 임상 증상이 어느 정도 완화, 완화 또는 감소됨을 의미한다.

[0033] 본 명세서에 사용된 용어 "*암*"은 세포의 양성 또는 악성 비정상적 성장을 의미한다. 예시에는 다음이 내포되나, 이에 국한되지 않는다: 유방암, 전립선암, 림프종, 피부암, 췌장암, 결장암, 흑색종, 악성 흑색종, 난소암, 뇌암, 원발성 뇌암종, 두경부암, 신경교종, 교모세포종, 간암, 방광암, 비소형 세포 폐암, 두경부 암종, 유방암, 난소 암종, 폐암종, 소세포폐암종, 윌름스종양, 자궁경부암종, 고환암종, 방광암종, 췌장암종, 위암종, 대장암종, 전립선암종, 비뇨생식기암종, 갑상선암종, 식도암종, 골수종, 다발성 골수종, 부신암종, 신장 세포 암종, 자궁 내막 암종, 부신 피질 암종, 악성 췌장 인슐린종, 악성 카르시노이드 암종, 융모상피암종, 균상식육종, 악성 고칼슘혈증, 자궁경부 증식증, 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 과립구성 백혈병, 급성 과립구성 백혈병, 털세포백혈병, 신경모세포종, 횡문근육종, 카포시 육종, 진성적혈구증가증, 본태혈소판증가증, 호지킨병, 비-지킨 림프종, 연조직 육종, 골형성 육종, 원발성 거대글로불린혈증, 그리고 망막모세포종. 일부 구체예들에서, 암은 종양-형성 암 군으로부터 선택된다. 당업자는 어떤 암이 해당 그룹의 범위에 속하는지 인식할 것이다.

[0034] "*단리된(isolated)*"이라는 용어는 세포 물질, 바이러스 물질 및/또는 배양 배지(재조합 DNA 기술에 의해 생산되는 경우) 또는 화학적 전구체 또는 기타 화학 물질(화학적으로 합성되는 경우)이 실질적으로 없는 폴리펩티드를 지칭할 수 있다. 더욱이, "단리된 단편"은 단편으로서 자연적으로 발생하지 않고, 자연 상태에서는 발견되지 않는 폴리펩티드의 단편이다. "*단리된*"이란 조제물(preparation)이 기술적으로 순수(균질)하다는 의미는 아니지만, 의도된 목적에 사용될 수 있는 형태로 폴리펩티드 또는 핵산을 제공할 만큼 충분히 순수하다는 의미다. 따라서, "단리된"이라는 용어는 자연 환경이 실질적으로 없는 분자를 의미한다. 예를 들어, 단리된 단백질에는 이것이 유래된 세포 또는 조직 공급원의 세포 물질이나 또는 기타 단백질이 실질적으로 없다. "단리된"이라는 용어는 또한 분리된 단백질이 약제학적 조성물로 투여될 만큼 충분히 순수하거나, 또는 또는 대략적으로 적어도 70-80% (w/w) 순수, 더욱 바람직하게는, 대략적으로 적어도 80-90% (w/w) 순수, 더 더욱 바람직하게는, 대략적으로 90-95% 순수; 그리고, 가장 바람직하게는, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 적어도 100% (w/w) 순수한 조제물을 의미한다.

[0035] 폴리펩티드에 적용되는 용어 "*단편*"은 참조 폴리펩티드 또는 아미노산 서열에 비해 길이가 감소된 아미노산 서

열을 의미하고, 기준 폴리펩티드 또는 아미노산 서열과 동일하거나 거의 동일한 (예를 들어, 대략적으로 90%, 대략적으로 92%, 대략적으로 95%, 대략적으로 98%, 대략적으로 99% 동일한) 연속 아미노산의 아미노산 서열을 포함하는, 이것으로 본질적으로 구성된 및/또는 이것으로 구성된 폴리펩티드 또는 아미노산 서열로 이해될 것이다. 본 명세서에 따른 이러한 폴리펩티드 단편은 적절한 경우, 그것이 구성요소인 더 큰 폴리펩티드에 내포될 수 있다. 일부 구체예들에서, 이러한 단편은 본 명세서에 따른 폴리펩티드 또는 아미노산 서열의 적어도 약 4개, 약 6개, 약 8개, 약 10개, 약 12개, 약 15개, 약 20개, 약 25개, 약 30개, 약 35개, 약 40개, 약 45개, 약 50개, 약 75개, 약 100개, 약 150개, 약 200개, 또는 그 이상의 구성적 아미노산개의 길이를 갖는 펩티드를 포함하거나, 본질적으로 구성되거나, 구성될 수 있다.

[0036] 본원에 사용된 용어 "*단백질*" 및 "*폴리펩티드*"는 상호교환적으로 사용되며 달리 표시되지 않는 한 펩티드와 단백질 모두를 포괄한다.

[0037] 본 명세서에서 사용된 용어 "*항체*" 또는 "*항체들*"은 IgG, IgM, IgA, IgD 및 IgE를 포함한 모든 유형의 면역글로불린을 의미한다. 상기 항체는 단클론성 또는 다클론성일 수 있고, 예를 들어, 마우스, 쥐, 토끼, 말, 염소, 양, 낙타 또는 인간을 포함하는 임의의 기원 종일 수 있거나 또는 키메라 항체일 수 있다. 상기 항체는 예를 들어, 미국 특허 번호 4,474,893 또는 미국 특허 번호 4,816,567에 개시된 방법에 따라 생산된 재조합 단일클론 항체일 수 있다. 상기 항체는 또한 예를 들어, 미국 특허 번호 4,676,980에 개시된 방법에 따라 화학적으로 구축될 수 있다.

[0038] 용어 "*항원-결합 도메인*", "*항원-결합 단편*", 및 "*결합단편*"이란 항체와 항원 사이의 특이적 결합을 담당하는 아미노산을 포함하는 항체 분자의 일부를 지칭한다. 항원이 큰 경우, 상기 항원-결합 도메인은 이 항원의 일부에만 결합할 수 있다. 항원 결합 도메인과의 특이적 상호작용을 담당하는 항원 분자의 일부는 "*에피토프*" 또는 "*항원 결정자*"로 지칭된다.

[0039] 비록 항원-결합 도메인은 전형적으로 항체 경쇄 가변 영역 (VL) 및 항체 중쇄 가변 영역 (VH)을 포함하지만, 반드시 둘 다를 포함할 필요는 없다. 예를 들면, Fd 항체 단편은 오로지 VH 도메인으로만 구성되지만, 여전히 온전한 항체의 일부 항원 결합 기능을 유지한다.

[0040] 항-KLRG1 항체는 항체 불변 영역 또는 이의 일부분을 포함한다. 예를 들면, VL 도메인은 이의 C 말단에서 인간 Cκ 쇄 또는 Cλ 쇄를 비롯한 항체 경쇄 불변 도메인에 부착되어 있을 수 있다. 유사하게, VH 도메인에 기반된 특이적 항원-결합 도메인은 임의의 항체 동위원소, *예를 들면,* IgG, IgA, IgE, 및 IgM 그리고 IgG1 및 IgG4를 비롯한 이들 동위원소 하위-클래스들 중 임의의 것으로부터 유래된 면역글로불린 중쇄의 전부 또는 일부분에 부착되어 있을 수 있다. C-말단 단편에 대한 DNA 및 아미노산 서열은 당업계에 잘 알려져 있다.

[0041] 용어 "*특이적 상호작용*" 및 "*특이적 결합*"이란 생리적 조건 하에서 상대적으로 안정한 복합체를 형성하는 두 분자를 의미한다. 특이적 결합은 일반적으로 중간에서 높은 효능으로 낮은 친화력을 갖는 비-특이적 결합과 구별되는 높은 친화력과 낮거나 중간 정도의 효능을 특징으로 할 수 있다. 전형적으로, 결합은 친화력 상수 KA가 대략적으로 10^6 M^{-1} 보다 더 크거나, 또는 더욱 바람직하게는 대략적으로 10^8 M^{-1} 보다 더 클 때, 특이적으로 간주된다. 필요한 경우, 예를 들어, 결합 조건을 변경함으로써 특이적 결합에 실질적으로 영향을 주지 않으면서, 비-특이적 결합을 감소시킬 수 있다. 항체 농도, 용액의 이온 강도, 온도, 결합에 허용된 시간, 차단제(*예를 들면,* 혈청 알부민, 우유 카세인)의 농도 등과 같은 적절한 결합 조건은 숙련된 기술자가 일상적인 기법을 사용하여 최적화할 수 있다.

[0042] 특정 구체예들에서, 상기 항체는 인간 또는 원숭이 KLRG1의 세포외 도메인 (ECD) 내 에피토프에 적어도 약 2nM, 약 1nm, 약 100pM, 약 10pM, 또는 약 5pM의 KD로 표현되는 친화력으로 특이적으로 결합할 수 있다. 인간 및 시노몰구스 KLRG1의 ECDs의 아미노산 서열은 서열 식별 번호: 1 및 서열 식별 번호: 2로 제시되며, 인간 E-캐드헤린의 아미노산 서열은 하기에서 서열 식별 번호: 3으로 제시된다.

[0043] 항체 및 조성물

[0044] 본 명세서는 E-캐드헤린, R-캐드헤린, 및/또는 N-캐드헤린이 KLRG1의 세포외 도메인에 결합하는 것을 간섭함으로써, 세포의 KLGR1의 세포외 도메인에 특이적으로 결합하는 항체 및 이의 단편들을 기술한다. E-캐드헤린, R-캐드헤린, 및/또는 N-캐드헤린 리간드가 KLRG1에 결합하는 것을 간섭함으로써, 이러한 항체는 세포 표면 상에 KLRG1을 품고 있는 T-세포 및 NK-세포의 세포독성을 연장시킨다. 본원에서 기술된 항체는 단독요법으로 또는 다른 면역요법제 (이를 테면, 체크포인트 억제제, 예를 들면, 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체, 또는 항-CTLA4 항체)와 병용하여, 또는 화학요법제, 또는 암 백신과 병용하여, 암 치료에 효과적인 치료제로 사용될 수 있다. 이

러한 항체, 또는 이의 단편들은 암세포가 KLRG1을 발현하는지 여부에 관계없이, 암 치료를 위한 보조 요법으로 사용할 수 있다.

[0045] 상이한 부류의 면역 글로불린의 하위단위 구조 및 3-차원 배열은 당분야에 잘 알려져 있다. 간략하게 설명하자면, 각 경쇄는 N-말단 가변 도메인 (VL) 및 불변 도메인 (CL)으로 구성될 수 있다. 각 중쇄는 N-말단 가변 도메인 (VH), 3개 또는 4개의 불변 도메인 (CH), 및 힌지 영역으로 구성될 수 있다. VH에 가장 가까운 CH 도메인은 CH1로 지정된다. VH 및 VL 도메인은 프레임워크 영역(FR1, FR2, FR3 및 FR4)이라고 불리는 상대적으로 보존된 서열의 4개 영역으로 구성되며, 이는 상보성 결정 영역(CDRs)이라고 불리는 초가변 서열의 3개 영역에 대한 스캐폴드를 형성한다. 상기 CDRs는 항원과의 특정 상호작용을 담당하는 대부분의 잔기를 함유할 수 있다. 이들 3개 CDR을 CDR1, CDR2, 및 CDR3이라고 부른다. 따라서 중쇄 상의 CDR 구성요소를 H1, H2, H3이라고 하고, 경쇄 상의 CDR 구성요소를 L1, L2, L3이라고 한다. CDR3, 특히 H3은 항원 결합 도메인 내 분자 다양성의 가장 큰 원천이다. 예를 들면, H3은 2개의 아미노산 잔기로 짧을 수도 있거나, 또는 26개보다 클 수도 있다.

[0046] Fab 단편 (단편 항원-결합), 또는 F(ab)는 VH-CH1 도메인과 VL-CL 도메인으로 구성되거나, 또는 이를 포함하며, 이들은 불변 영역 사이에 이황화 결합에 의해 공유적으로 연계된다. 당업자에게 공지된 Fab(50,000 달톤)는 분자내 이황화 결합에 의해 연결된 VH, CH1 및 VL, CL 영역으로 구성되거나 또는 이를 포함하는 IgG 및 IgM으로부터 생성되는 1가 단편이다. Fv에서 비-공유적으로 연결된 VH 및 VL 도메인이 숙주 세포에서 공동-발현될 때 해리되는 경향을 극복하기 위해, 소위 단일 사슬(sc) Fv 단편(scFv)이 구축될 수 있다. scFv에서, 유연하고 적절하게 긴 폴리펩티드는 VH의 C-말단을 VL의 N-말단에 연결하거나 또는 VL의 C-말단을 VH의 N-말단에 연계한다. 가장 일반적으로, 15개-잔기(Gly4Ser)3 펩티드(서열 식별 번호: 42)가 링커로 사용될 수 있지만, 다른 링커도 당업계에 알려져 있다.

[0047] 항체 다양성은 가변 영역과 다양한 체세포 사건을 암호화하는 여러 생식계열 유전자의 조합적 조립의 결과다. 체세포 이벤트에는 다양성을 갖는 가변 유전자 세그먼트의 재조합(D), 완전한 VH 영역을 만들기 위한 결합(J) 유전자 세그먼트, 그리고 완전한 VL 영역을 만들기 위한 가변 유전자 세그먼트와 결합 유전자 분절의 재조합이 내포될 수 있다. 상기 재조합 과정 자체가 부정확하여, V(D)J 경선에서 아미노산이 손실되거나 또는 추가된다. 이러한 다양성 메커니즘은 항원 노출 이전에 발달 중인 B 세포에서 발생한다. 항원 자극 후, B 세포에서 발현된 항체 유전자는 체세포 돌연변이를 겪을 수 있다.

[0048] 생식계열 유전자 세그먼트의 추정된 수, 이들 세그먼트의 무작위 재조합 및 무작위 VH-VL 쌍을 기반으로, 최대 약 1.6×10^{7}개의 서로 다른 항체가 Fundamental Immunology, 3rd ed., ed. Paul, Raven Press, New York, N.Y., 1993에 따라 만들어질 수 있다. 항체 다양성에 기여하는 다른 과정(예를 들어, 체세포 돌연변이)을 고려할 때, 대략적으로 1×10^{10}개 이상의 서로 상이한 항체가 잠재적으로 생성될 수 있는 것으로 생각되며, 이는 Immunoglobulin Genes, 2nd ed., eds. Jonio et al., Academic Press, San Diego, Calif., 1995에 의해 뒷받침된다. 항체 다양성과 관련된 많은 과정으로 인해 독립적으로 생성된 항체가 CDRs에서 동일한 아미노산 서열을 가질 가능성은 거의 없다.

[0049] 본 명세서는 인간 면역글로불린 유전자 라이브러리로부터 유래된 신규한 항체 가변 중쇄 및 경쇄 영역(VH 및 VL) 및 항체 중쇄 및 경쇄를 제공하며, 이는 세포 표면 KLGR1을 발현하는 세포에서 KLRG1 신호 전달을 차단하는데 효과적이다. 이들 중쇄 및 경쇄, 그리고 이들의 가변 영역은 CDRs을 운반하기 위한 스케폴드 구조를 제공한다. CDR은 일반적으로 항체 중쇄 또는 경쇄, 또는 이의 일부일 수 있지만, 이에 국한되지는 않고, 이때 CDR은 자연 발생 VH 및 VL의 CDR에 상응하는 위치에 위치한다. 면역글로불린 가변 도메인의 구조 및 위치는 예를 들어, Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, No. 91-3242, National Institutes of Health Publications, Bethesda, Md., 1991에 설명된 대로 결정될 수 있다.

[0050] **표 1. 인간 및 시노몰구스 KLRG1 ECD 및 인간 E-캐드헤린의 아미노산 서열**

서열 식별 번호:	단백질	아미노산 서열
서열 식별 번호: 1	인간 KLRG1 ECD	LCQGSNYSTCASCPSCPDRWMKYGNHCYYF SVEEKDWNSSLEFCLARDSHLLVITDNQEMS LLQVFLSEAFCWIGLRNNSGWRWEDGSPLN FSRISSNSFVQTCGAINKNGLQASSCEVPLH WVCKKVRL
서열 식별 번호: 2	시노몰구스 KLRG1 ECD	LCQGSKYSTCASCPSCPDHWMKYGNHCYY FSVEKKDWISSLEFCLARDSHLLMITDKQEM SLLQDFLSEAFHWVGLRNNSGWRWEDGSPL NFSRIYSNSLVQTCGAINKNSLQASSCEVSLQ WVCKKVSP
서열 식별 번호: 3	인간 E-캐드헤린	DWVIPPISCPENEKGPFPKNLVQIKSNKDKEG KVFYSITGQGADTPPVGVFIIERETGWLKVT EPLDRERIATYTLFSHAVSSNGNAVEDPMEI LITVTDQNDNKPEFTQEVFKGSVMEGALPGT SVMEVTATDADDDVNTYNAAIAYTILSQDP ELPDKNMFTINRNTGVISVVTTGLDRESFPT YTLVVQAADLQGEGLSTTATAVITVTDTND NPPIFNPTTYKGQVPENEANVVITTLKVTDA DAPNTPAWEAVYTILNDDGGQFVVTTNPVN NDGILKTAKGLDFEAKQQYILHVAVTNVVP FEVSLTTSTATVTVDVLDVNEAPIFVPPEKR VEVSEDFGVGQEITSYTAQEPDTFMEQKITY RIWRDTANWLEINPDTGAISTRAELDREDFE HVKNSTYTALIIATDNGSPVATGTGTLLLILS DVNDNAPIPEPRTIFFCERNPKPQVINIIDADL PPNTSPFTAELTHGASANWTIQYNDPTQESII LKPKMALEVGDYKINLKLMDNQNKDQVTT LEVSVCDCEGAAGVCRKAQPVEAGLQIPAIL GILGGILALLILILLLLLFLRRRAVVKEPLLPP EDDTRDNVYYYDEEGGGEEDQDFDLSQLHR GLDARPEVTRNDVAPTLMSVPRYLPRPANP DEIGNFIDENLKAADTDPTAPPYDSLLVFDY EGSGSEAASLSSLNSSESDKDQDYDYLNEW GNRFKKLADMYGGGEDD

[0051]

[0052] 항체 결합 특이성

[0053] 본 명세서의 항체는 예를 들어, KLRG1의 전부 또는 일부를 포함하는 재조합 단백질을 비롯한 다른 단백질과도 결합할 수 있는 것으로 고려된다.

[0054] KLRG1 항체는 다중특이적, 이를 테면, 이중-특이적 항체 또는 사중-특이적 항체, 디아바디 또는 유사한 분자일 수도 있다 (예를 들면, 디아바디에 관한 설명은 PNAS USA 90(14), 6444-8 (1993)을 참고). 실제로, 본 발명에 의해 제공되는 이중-특이적 항체, 디아바디, 등은 KLRG1의 일부 외에 임의의 적합한 표적과 결합할 수 있다. 예를 들면, 한 구체예에서, 이중-특이적 항체는 KLRG1과 HER2에 결합할 수 있으며, 이는 KLRG1+ T 세포 및 NK 세포를 활성화하고, HER2+ 암세포로 재-지향된다. 또다른 구체예에서, 이중-특이적 항체는 KLRG1과 PD-1에 결합하며, 이는 두 개의 체크포인트 수용체 (KLRG1 및 PD-1)를 차단하여, T 세포 및 NK 세포를 활성화시킨다.

[0055] 본 명세서는 관심대상의 항원에 대해 제1 특이성을 가진 항체 부분, 예를 들어, Fab 또는 Fab' 단편을 포함하는 다중-특이적 항체 융합 단백질을 제공하는데, 그리고 관심대상의 제2 항원에 대해 특이성을 갖는 적어도 하나의 단일 도메인 항체를 추가로 포함한다. 다중-특이적 항체 융합은 두 개 또는 그 이상의 관심대상 항원에 선택적으로 결합할 수 있다.

[0056] 한 구체예에서, 제1 및 제2 항원은 동일한 항원이다.

[0057] 한 구체예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 의해 결합된 관심 항원은 세포 결합 단백질, 예를 들어 박테

리아 세포, 효모 세포, T 세포, 내피 세포 또는 종양 세포와 같은 세포 상의 세포 표면 단백질일 수 있거나, 수용성 단백질이 될 수 있다. 관심대상 항원은 질환이나 감염 중에 상향 조절되는 단백질, 예를 들어, 수용체 및/또는 이에 상응하는 리간드와 같은 의학적으로 관련된 단백질일 수도 있다. 세포 표면 단백질의 특정 예시에는 흡착 분자, 예를 들면 인테그린, 이를 테면, 131개 인테그린 가령, VLA-4, E-세렉틴, P 세렉틴 또는 L-세렉틴, CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD11a, CD11b, CD18, CD19, CD20, CD23, CD25, CD33, CD38, CD40, CD45, CDW52, CD69, CD134 (OX40), ICOS, BCMP7, CD137, CD27L, CDCP1, DPCR1, DPCR1, 두둘린2, FLJ20584, FLJ40787, HEK2, KIAA0634, KIAA0659, KIAA1246, KIAA1455, LTBP2, LTK, MAL2, MRP2, 넥틴-유사2, NKCCI, PTK7, RAIG1, TCAM1, SC6, BCMP101, BCMP84, BCMP11, DTD, 암배아성 항원 (CEA), 인간 젖 지방 글로불린 (HMFG1 및 2), MHC 클래스 I 항원 및 MHC 클래스 II 항원, 및 VEGF, 그리고 적절한 경우, 이의 수용체들이 내포된다. 가용성 항원에는 인터루킨, 이를 테면 IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, IL-15, IL-16 또는 IL-17, 바이러스성 항원 예를 들면, 호흡기 합포체 바이러스 또는 사이토메갈로바이러스 항원, 면역글로불린, 이를 테면 IgE, 인터페론 이를 테면 인터페론 a, 인터페론 p 또는 인터페론 y, 종양 괴사 인자-a, 종양 괴사 인자-I3, 콜로니 자극 인자, 이를 테면, G-CSF 또는 GM-CSF, 및 혈소판 유래 성장 인자, 이를 테면 PDGF-a, 및 PDGF-I3 그리고 적절한 경우, 이의 수용체들이 내포된다. 기타 항원에는 세균 세포 표면 항원, 세균 독소, 인플루엔자, EBV, HepA, B 및 C와 같은 바이러스, 생물 테러 물질, 방사성 핵종 및 중금속, 뱀 및 거미 독 및 독소가 내포된다. 특정 구체예에서, 관심대상 항원에는 IL-2, 가용성 IL-15 또는 막-결합 IL-15Ra/IL-15 복합체 및 IL-12가 내포된다.

[0058] 당업자는 본 개시내용의 항체가 KLRG1과 다소 상이한 단백질을 검출, 측정 및 억제하는 데 사용될 수 있음을 인식할 것이다. 서열 식별 번호: 1 또는 서열 식별 번호: 2에서 제시된 아미노산 서열에서 적어도 약 130개, 약 100개, 약 80개, 약 60개, 약 40개, 또는 약 20개의 연속 아미노산중 임의의 서열에 대해 어도 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 95%, 또는 그 이상의 동일한 서열을 포함하는 한, 이 항체는 결합 특이성을 유지할 것으로 예상된다. 동일성 백분율은 표준 정렬 알고리즘, 예를 들어, Altshul et al. (1990) J. Mol. Biol., 215: 403-410에서 기술된 Basic Local Alignment Tool(BLAST), Needleman et al. (1970) J. Mol. Biol., 48: 444-453 알고리즘, 또는 Meyers et al. (1988) Comput. Appl. Biosci., 4: 11-17의 알고리즘에 의해 결정된다.

[0059] 서열 상동성 분석에 더하여, 에피토프 맵핑 (*예를 들면,* Epitope Mapping Protocols, ed. Morris, Humana Press, 1996 참고) 및 개시된 항체 및 항원과의 복합체에 의해 추정되는 특정 3D 구조를 확인하기 위해 2차 및 3차 구조 분석이 수행될 수 있다. 이러한 방법에는 X-선 결정학(Engstom (1974) Biochem. Exp. Biol., 11:7-13) 및 현재 개시된 항체의 가상 표현의 컴퓨터 모델링이 내포되지만, 이에 국한되지는 않는다(Fletterick et al. (1986) Computer Graphics and Molecular Modeling, in Current Communications in Molecular Biology, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.).

[0060] 항체 변이체들

[0061] 본 명세서는 KLRG1에 특이적인 항체를 얻는 방법을 또한 제공한다. 이러한 항체의 상보성 결정 영역(CDRs)은 아래 실시예에서 확인된 VH 및 VL의 특정 서열로 제한되지 않고, KLRG1에 특이적으로 결합하는 능력을 유지하는 이들 서열의 변이체들이 내포될 수 있다. 이러한 변이체들은 당업계에 잘 알려진 기술을 사용하여 숙련된 기술자에 의해 실시예에 나열된 서열로부터 유래될 수 있다. 예를 들면, 아미노산 치환, 결실 또는 첨가는 프레임워크 영역(FRs) 및/또는 CDRs에서 이루어질 수 있다. FRs의 변화는 일반적으로 항체의 안정성과 면역원성을 개선하도록 설계될 수 있는 반면, CDRs의 변화는 일반적으로 표적에 대한 항체의 친화성을 증가시키도록 설계될 수 있다.

[0062] FRs에 대한 변경에는 비-인간 유래 항체를 인간화하거나, 또는 항원 접촉 또는 결합 부위 안정화에 중요한 특정 프레임워크 잔기를 조작, 예를 들어, 불변 영역의 클래스 또는 하위클래스 변경, Fc 수용체 결합과 같은 작동체 기능을 변경할 수 있는 특정 아미노산 잔기 변경하는 것(*예를 들면,* U.S. 특허 번호 5,624,821 및 5,648,260, 그리고 Lund et al. (1991) J. Immun. 147: 2657-2662 그리고 Morgan et al. (1995) Immunology 86: 319-324에서 기술된 것과 같은), 또는 불변 영역이 파생되는 종을 변경시키는 것이 포함되지만 이에 국한되지는 않는다.

[0063] FRs의 변이체들에는 자연적으로 발생하는 면역글로불린 동종이형도 또한 내포된다. 이러한 친화도-증가시키는 변화는 CDR을 변경하고, 이의 표적에 대한 친화도 항체를 테스트하는 것과 관련된 일상적인 기술에 의해 경험적으로 결정될 수 있다. 예를 들면, 보존적 아미노산 치환은 개시된 CDRs 중 어느 하나 내에서 이루어질 수 있다. 예를 들면, Antibody Engineering, 2nd ed., Oxford University Press, ed. Borrebaeck, 1995에서 설명된 방법

에 따라 다양한 변경이 이루어질 수 있다. 여기에는 서열 내의 기능적으로 동등한 아미노산 잔기를 인코딩하는 상이한 코돈의 치환에 의해 변경되어, "침묵" 변화를 생성하는 뉴클레오티드 서열이 내포되지만, 이에 국한되지는 않는다. 예를 들면, 비극성 아미노산에는 알라닌, 류신, 이소류신, 발린, 프롤린, 페닐알라닌, 트립토판 및 메티오닌이 내포된다. 극성 중성 아미노산에는 글리신, 세린, 트레오닌, 시스테인, 티로신, 아스파라긴 및 글루타민이 내포된다. 양으로 전하된(염기성) 아미노산에는 라이신, 아르기닌 및 히스티딘이 내포된다. 음으로 하전된(산성) 아미노산에는 아스파르트산과 글루탐산이 내포된다. 서열 내의 아미노산에 대한 대체물은 아미노산이 속하는 부류의 다른 구성원으로부터 선택될 수 있다. 더욱이, 폴리펩티드의 어떤 천연 잔기도 알라닌으로 치환될 수 있다 (*예를 들면,* MacLennan et al. (1998) Acta Physiol. Scand. Suppl. 643:55-67; Sasaki et al. (1998) Adv. Biophys. 35:1-24 참고).

[0064] "*실질적으로 제시된 바와 같은*"이라는 어구는 본 명세서의 관련 CDR, VH 또는 VL 도메인이 서열이 설정된 특정 영역(예를 들어, CDR)과 동일하거나 그 영역에서 미미한 차이만을 가질 것임을 의미한다. 미미한 차이에는 특정 영역의 서열에서 사소한 아미노산 변화, 이를 테면, 임의의 5개의 아미노산 중 하나(1) 또는 두 개(2)의 아미노산이 치환이 내포된다.

[0065] 용어 "*KLRG1 활성*"이란 KLRG1과 관련된 하나 또는 그 이상의 림프구 공동-억제성 활동을 나타낸다. 예를 들면, KLRG1 활성은 세포독성 T 세포 및 NK 세포 활성화의 조절을 의미할 수 있다.

[0066] 용어 "*조절하다*" 및 이의 동족어는 항-KLRG1 항체와의 상호작용으로 인해 T 세포 및 NK 세포의 활성화와 관련된 KLRG1 활성의 감소 또는 증가를 의미하고, 이때 이러한 감소 또는 증가는 동일한 항체의 부재 하에서의 KLRG1의 활성에 상대적이다. 활성의 감소 또는 증가는 바람직하게는 적어도 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 또는 그 이상이다. KLRG1 활성이 감소되면, "*조절성*" 및 "*조절하다*"라는 용어는 "*억제성*" 및 "*억제하다*"라는 용어와 상호 교환 가능하다. KLRG1 활성이 증가되면, "*조절성*" 및 "*조절하다*"라는 용어는 "*활성화*" 및 "*활성화되다*"라는 용어와 상호 교환 가능하다.

[0067] 본원에 사용된 용어 "*서열 동일성 퍼센트(%)*"란 최대 서열 동일성 백분율이 달성되도록, 서열을 정렬하고 필요한 경우 간격을 도입한 후, 참조 핵산 서열의 뉴클레오티드 또는 아미노산과 동일한 후보 서열의 뉴클레오티드 또는 아미노산의 백분율을 의미한다. 동일성 백분율을 결정하기 위한 정렬은 공개적으로 이용가능한 컴퓨터 소프트웨어, 예를 들어, 이를 테면 ClustalW, Clustal Omega, BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2 또는 Megalign (DNASTAR) 소프트웨어를 사용하여 당업계의 기술 범위 내에 있는 다양한 방법으로 성취될 수 있다.

[0068] 본 명세서 범위 내에 내포된 항체 단편들에는 예를 들면, 다음의 것들이 내포된다: Fab, Fab', F(ab')2, 및 Fv 단편s; 도메인 항체, 디아바디; 백시바디(vaccibodies), 선형 항체; 단일-쇄 항체 (ScFv) 분자; 그리고 항체 단편들에서 형성된 다중특이적 (예를 들면, 이중-특이적, 사중-특이적) 항체. 이러한 단편들은 공지의 기법으로 만들어질 수 있다. 예를 들면, F(ab')2 단편들은 항체 분자의 펩신 절단에 의해 생성될 수 있고, Fab 단편은 F(ab')2 단편의 이황화 가교를 환원시킴으로써 생성될 수 있다. 대안으로, Fab 발현 라이브러리를 구축하여 원하는 특이성을 지닌 단클론 Fab 단편을 빠르고 쉽게 식별할 수 있다 (Huse et al, Science 1989 Dec 8;246(4935):1275-1281 참고).

[0069] 본 명세서의 항체는 비-인간 (*예를 들면,* 뮤린) 항체의 인간화된 형태이며, 인간이-아닌 면역글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 면역글로불린, 면역글로불린 쇄 또는 이의 단편들 (이를 테면, Fv, Fab, Fab1, F(ab')2 또는 항체들의 기타 항원-결합 하위서열)이 내포된다. 인간화된 항체에는 수령자의 상보성 결정 영역(CDR)의 잔기가 원하는 특이성, 친화력, 그리고 능력(capacity)을 보유한, 인간이-아닌 종 (공여자 항체) 이를 테면 마우스, 렛(rat) 또는 토끼의 CDR 잔기로 대체된, 인간 면역글로불린 (수령자 항체)이 내포된다. 일부 경우에서, 인간 면역글로블린의 Fv 프레임워크 영역 잔기는 대응하는 비-인간 잔기로 대체될 수 있다. 인간화 항체들은 수령자 항체 또는 수입된 CDR 또는 틀구조 서열에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 일반적으로, 상기 인간화된 항체는 실질적으로 최소한 하나의, 그리고 전형적으로 2개의 가변 도메인을 모두 포함할 수 있는데, 이때 CDR 영역의 모든 또는 실질적으로 모든 것은 비-인간 면역글로블린에 대응하며, 프레임워크 (FR) 영역(가령, CDR 영역 사이의 서열)의 모든 또는 실질적으로 모든 것은 인간 면역글로블린의 서열에 대응한다. 상기 인간화된 항체는 최적으로 면역글로블린 불변 영역 (Fc)의 적어도 일부분, 전형적으로 인간 면역글로블린의 것을 포함할 것이다.

[0070] 특정 구체예들에서, VH 도메인 및/또는 VL 도메인은 생식계열화될 수 있는데, 즉, 이들 도메인의 프레임워크 영역(FRs)은 생식계열 세포에 의해 생성된 것과 일치하도록 기존의 분자 생물학 기술을 사용하여 돌연변이된다. 기타 구체예들에서, 프레임워크 서열은 공통 배선 서열로부터 분기된 상태로 유지된다.

[0071] 비-인간 항체를 인간화하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 본 명세서, 및 본 명세서에 제공된 임의의 발명(들)은 임의의 특정 공급원, 원산지 종 또는 생산 방법에 국한되지 않는다.

[0072] 본 명세서를 수행하는데 사용되는 단일클론 항체는 Kohler and Milstein, Nature 265:495 (1975)의 기술에 따라 하이브리도마 세포주에서 생산될 수 있다. 예를 들면, 적절한 항원을 함유한 용액을 마우스에 주사하고, 충분한 시간 후에 마우스를 희생시켜 비장 세포를 얻을 수 있다. 이어서, 비장 세포를 예를 들어, 골수종 세포 또는 림프종 세포와 전형적으로 폴리에틸렌 글리콜의 존재 하에 융합시켜 불멸화시켜 하이브리도마 세포를 생성할 수 있다. 그 다음, 하이브리도마 세포를 적합한 배지에서 성장시키고, 상청액에서 원하는 특이성을 갖는 단일클론 항체를 스크리닝할 수 있다. 단일클론 Fab 단편들은 당업자에게 공지된 재조합 기술에 의해 대장균(E. coli)에서 생산될 수 있다. 표적 폴리펩티드에 특이적인 항체는 또한 당업계에 공지된 파아지 디스플레이 기술에 의해 획득될 수 있다.

[0073] KLRG1의 세포외 도메인에 대해 원하는 특이성을 갖는 항체를 확인하기 위한 스크리닝에 다양한 면역검정이 사용될 수 있다. 확립된 특이성을 갖는 단일클론 항체를 사용하는 경쟁적 결합 또는 면역방사성 분석을 위한 수많은 프로토콜이 해당 분야에 잘 알려져 있다. 이러한 면역분석법에는 일반적으로, 항원과 특정 항체 사이의 복합체 형성(예를 들면, 항원/항체 복합체 형성) 측정이 연루된다. 경쟁적 결합 검정 뿐만 아니라, 본 명세서의 폴리펩티드 또는 펩티드 상의 2개의 비-간섭 에피토프에 반응성인 단일클론 항체를 활용하는 2-부위, 단일클론-기반 면역검정이 사용될 수 있다.

[0074] 상기 기재된 접합체에 추가로, 본원에 기재된 항-KLRG1 항체는 공지된 기술에 따라 고체 지지체 (예를 들어, 라텍스 또는 폴리스티렌과 같은 물질로부터 형성된 비드, 플레이트, 슬라이드 또는 웰)에 접합될 수 있다. 본원에 기술된 항-KLRG1 항체는 공지의 기법에 따라, 검출가능한 기, 이를 테면, 방사능라벨 (*예를 들면,* 통상적인 화학을 이용하여 항체에 또한 부착될 수 있는, ^{35}S, ^{125}I, ^{131}I 또는 ^{99m}Tc), 효소 라벨 (*예를 들면,* 양고추냉이 과산화효소, 알칼리성 인산분해효소), 및 형광 라벨 (*예를 들면,* 플루오레세인)에 접합될 수 있다. 검출가능한 라벨에는 특정 동족의 검출가능한 부분, 예를 들어, 라벨된 아비딘에 대한 결합을 통해 검출될 수 있는 비오틴과 같은 화학적 부분이 추가로 내포된다. 본 명세서의 방법에서 항체/항원 복합체 형성의 결정은 예를 들어, 침전, 응집, 방사능활성, 발색 또는 변화, 형광, 발광 등의 검출에 의해 이루어질 수 있으며, 이러한 방법은 기술 분야에 잘 알려져 있다.

[0075] 상기 기재된 바와 같이, 본원에 기재된 항-KLRG1 항체는 또 다른 기능성 분자, 예를 들어, 또다른 펩티드 또는 단백질 (알부민, 또 다른 항체 등), 독소, 방사성 동위원소, 세포독성제 또는 세포증식억제제에 연계될 수 있다. 본원에 기술된 항체는 독소에 접합될 수 있다. 항체-의존성 세포 식균작용(ADCP), 항체 의존성 세포 독성(ADCC) 및 보체 의존성 세포 독성(CDC)은 표적 세포를 죽이는 세 가지 잘 알려진 항체 매개 기전이다.

[0076] 예를 들면, 항체는 화학적-가교 또는 재조합 방법으로 연계될 수 있다. 항체는 U.S. 특허 번호 4,640,835, 4,496,689, 4,301,144, 4,670,417, 4,791,192, 및 4,179,337에서 제시된 방법으로, 다양한 비-단백질성 중합체, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜 또는 폴리옥시알킬렌 중 하나에 또한 연계될 수 있다. 항체는 예를 들어, 순환-반감기를 증가시키기 위해 중합체에 공유적 콘쥬게이션에 의해 화학적으로 변형될 수 있다. 예시적인 중합체 및 이들을 부착시키는 방법들 또한 U.S. 특허 번호 4,766,106, 4,179,337, 4,495,285, 및 4,609,546에서 나타낸다.

[0077] PA015 조성물

[0078] 일부 구체예들에서, 항-KLRG1 항체는 본원에서 기술된 항체들 중 임의의 하나의 임의의 6개 CDRs의 조합을 포함한다. 일부 구체예들에서, 항-KLRG1 항체는 (i) 표 2의 3개 중쇄 CDRs (가령, CDR1, CDR2, 및 CDR3), 그리고 (ii) 표 2의 3개 경쇄 CDRs를 포함한다.

[0079] 표 2

[0080]

PA015	Chothia	AbM	Kabat	Contact	IMGT
CDR-H1	GFSLSTFGM (서열 식별 번호: 10)	GFSLSTFGMGVG (서열 식별 번호: 16)	TFGMGVG (서열 식별 번호: 22)	STFGMGVG (서열 식별 번호: 28)	GFSLSTFGMG (서열 식별 번호: 34)
CDR-H2	WWDDD (서열 식별 번호: 11)	HIWWDDDKW (서열 식별 번호: 17)	HIWWDDDKWYELALKS (서열 식별 번호: 23)	WLAHIWWDDDKW (서열 식별 번호: 29)	IWWDDDK (서열 식별 번호: 35)
CDR-H3	VIYYGSRSAYYSMDY (서열 식별 번호: 12)	VIYYGSRSAYYSMDY (서열 식별 번호: 18)	VIYYGSRSAYYSMDY (서열 식별 번호: 24)	ARVIYYGSRSAYYSMD (서열 식별 번호: 30)	ARVIYYGSRSAYYSMDY (서열 식별 번호: 36)
CDR-L1	KSSQSIVHSNAHTYLE (서열 식별 번호: 13)	KSSQSIVHSNAHTYLE (서열 식별 번호: 19)	KSSQSIVHSNAHTYLE (서열 식별 번호: 25)	VHSNAHTYLEWY (서열 식별 번호: 31)	QSIVHSNAHTY (서열 식별 번호: 37)
CDR-L2	KVSNRFS (서열 식별 번호: 14)	KVSNRFS (서열 식별 번호: 20)	KVSNRFS (서열 식별 번호: 26)	LLIYKVSNRF (서열 식별 번호: 32)	KV (서열 식별 번호: 38)
CDR-L3	FQGSHVPVT (서열 식별 번호: 15)	FQGSHVPVT (서열 식별 번호: 21)	FQGSHVPVT (서열 식별 번호: 27)	FQGSHVPV (서열 식별 번호: 33)	FQGSHVPVT (서열 식별 번호: 39)

[0081] Kabat (Wu and Kabat, 1970, *J Exp Med.* (1970) 132:211-50.)에서 제시된 것; Kabat EA, Te Wu T, Foeller C, Perry HM, Gottesman KS. *Sequences of Proteins of Immunological Interest*. Diane Publishing Company (1992)); Chothia (1987, Chothia C, Lesk a M. Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins. *J Mol Biol.* (1987) 196:901-17); Al-Lazikani et al., (1997 Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins. *J Mol Biol.* (1997) 273:927-48), Lefranc (IMGT numbering; Lefranc, 1997 Unique database numbering system for immunogenetic analysis. *Immunol Today* (1997) 18:509; Lefranc et al., 2005 IMGT-ONTOLOGY for immunogenetics and immunoinformatics. *In Silico Biol.* (2004) 4:17-29, 그리고 Honegger (Honegger and Plückthun, 2001, Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool. *J Mol Biol.* (2001) 309:657-70)를 비롯한 여러 항체 가변 사슬 번호 지정 체계가 있는데, 이들은 좀 더 복잡하다.

[0082] **Chothia** 및 그의 동료들은 구조, 즉 루프의 위치에 기초하여 CDR을 정의했다(Chothia and Lesk, 1987 supra; Al-Lazikani et al., 1997, 상기 참고).

[0083] **Kabat** 및 Wu는 원래 1970년대 초에 아미노산 서열 가변성 분석을 통해 CDR을 정의했다 (Wu and Kabat, 1970, 상기 참고; Kabat and Wu, 1971, 상기 참고). 그 이후로, 상세한 유전자 분석과 3-차원 구조 분석을 통해 HVL/CDRs 측면에서 항원 결합 부위의 구조적 기초가 더욱 명확하게 정의되어 접촉 잔기의 정의가 이루어졌다 (MacCallum et al., 1996, Antibody-antigen interactions: contact analysis and binding site topography. *J Mol Biol.* (1996) 262:732-745; Martin and Allen, 2007, Bioinformatics tools for antibody engineering. In: Dübel S, editor. *Handbook of Therapeutic Antibodies*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH (2008). p. 95-117).

[0084] Kabat 정의와 Chothia 정의 사이의 절충안인 CDRs의 **AbM** 정의가 AbM 모델링 소프트웨어에 사용되었다 (Martin and Allen, 2007, 상기 참고). Martin과 그의 동료들은 또한 실제 파라토프, 즉, 실제로 항원과 접촉하는 잔기를 기반으로 CDR의 정의를 만들었고 (Martin and Allen, 2007, 상기 참고), Chothia 접근 방식의 수정을 기반으로 가변 사슬 번호 지정 및 CDR 결정을 위한 "Abnum"이라는 자동화된 응용 프로그램을 개발하고 테스트했다 (Abhinandan and Martin, 2008, Analysis and prediction of VH/VL packing in antibodies. *Protein Eng Des Sel.* (2010) 23:689-97).

[0085] CDRs의 **Contact** 정의는 CDR 내의 아미노산 중 20~33%만이 항원과 직접 접촉한다는 관찰에 근거한다 (Padlan EA. Anatomy of the antibody molecule. *Mol Immunol.* (1994) 31:169-217. "특이성 결정 잔기들(SDR)"이라고 명명된 이러한 잔기들은 Padlan et al.(Padlan EA, Abergel C, Tipper JP. Identification of specificity-determining residues in antibodies. *FASEB J OffPubl Fed Am Soc Exp Biol.* (1995) 9:133-9)에 의해 처음 기술되었다. 그 결과는 이러한 SDRs이 항원과의 상호작용에 관여하고, 대부분의 경우들에서 CDRs에 존재하는 가장 가변적인 위치와 일치한다는 것을 보여준다. 이러한 SDR 개념을 사용하여, MacCallum과 그의 동료들은 CDRs을 정의하는 새로운 방법을 제안하고, SDRs의 이름을 "접촉 잔기"로 재명명했다. 그들은 또한 접촉 잔기들이 파라토프의 중심에 더 자주 위치하며, Chothia가 이전에 언급한 것처럼 비-접촉 잔기들이 CDR 루프의 형태를 형성하는 데 역할을 하고, 따라서 효율적이고 구체적인 항원 결합을 위해 접촉 잔기를 최적으로 배향시킨다고 제안했다.

[0086] V-REGION에 대한 IMGT 고유 번호 지정을 통해 **IMGT**에서 각각 CDR-IMGT 및 FR-IMGT로 지정된 상보성 결정 영역

및 프레임워크 영역의 한계를 재정의할 수 있다. V-DOMAIN에 대한 IMGT 고유 번호 지정은 재배열된 V-J-REGION 및 V-D-J-REGION의 CDR3-IMGT 및 FR4-IMGT에 대한 표준화된 번호 지정을 제공한다.

[0087] 상보성 결정 영역 (CDR-IMGT)은 V-도메인에 대한 IMGT 고유 번호 지정에 따라 명확히 규정된 V-DOMAIN (가변 (V) 도메인)의 루프 영역이다 (Lefranc M. et al.(2003) IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains. Dev Comp Immunol 27:55-77). V-DOMAIN에는 3개 CDR-IMGT가 있다: CDR1-IMGT (루프 BC), CDR2-IMGT (루프 C′ C″), 및 CDR3-IMGT (루프 FG).

[0088] V-DOMAIN (면역글로불린 (IG) 또는 항체 및 T 세포 수용체 (TR)의 V 도메인)에서 CDR-IMGT의 아미노산은 항원 (에피토프)에 결합하고, IG 및 TR에 대한 특이성을 부여한다 (Paratope, IMGT-ONTOLOGY, SpecificityType). 처음 2개 CDR-IMGT는 V-REGION (가변 (V) 유전자에 의해 인코드됨)의 일부분이며, 한편 CDR3-IMGT는 V 유전자와 연결 (J) 유전자 사이의 재배열 (V-J 재배열) 또는 V 유전자, 다양성 (D) 유전자 그리고 J 유전자 사이의 재배열 (V-D-J 재배열)의 정션 및 결과에 대응한다 (면역글로불린 합성).

[0089] PA015 서열

[0090] 한 구체예는 항체, 바람직하게는 단일클론 항체, 또는 이의 항원 결합단편을 제공하며, 이들은 다음을 보유한다: (i) 서열 식별 번호: 4의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 그리고 (ii) CDR-L1 (예를 들면, 서열 식별 번호: 13, 서열 식별 번호: 19, 서열 식별 번호: 25, 서열 식별 번호: 31, 서열 식별 번호: 37), CDR-L2 (예를 들면, 서열 식별 번호: 14, 서열 식별 번호: 20, 서열 식별 번호: 26, 서열 식별 번호: 32, 서열 식별 번호: 38) 및 CDR-L3 (예를 들면, 서열 식별 번호: 15, 서열 식별 번호: 21, 서열 식별 번호: 27, 서열 식별 번호: 33, 서열 식별 번호: 39)을 포함하는 경쇄. 더욱 특이적 구체예에서, 상기 중쇄 가변 영역은 프레임워크(FR) 영역을 포함하지만, 이에 국한되지 않는 상보성 결정 영역(CDR) 영역 이외의 영역에서 서열 식별 번호: 4에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는다.

[0091] 한 구체예는 항체, 바람직하게는 단일클론 항체, 또는 이의 항원 결합단편을 제공하며, 이들은 다음을 보유한다: (i) 프레임워크(FR) 영역을 포함하지만, 이에 국한되지 않는 상보성 결정 영역(CDR) 영역 이외의 영역에서 서열 식별 번호: 4의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 그리고 (ii) CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3을 포함하는 경쇄, 이때 상기 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 차례로 서열 식별 번호: 13, 서열 식별 번호: 14, 및 서열 식별 번호: 15; 각각 차례로 서열 식별 번호: 19, 서열 식별 번호: 20, 및 서열 식별 번호: 21; 각각 차례로 서열 식별 번호: 25, 서열 식별 번호: 26, 및 서열 식별 번호: 27; 각각 차례로 서열 식별 번호: 31, 서열 식별 번호: 32, 및 서열 식별 번호: 33; 또는 각각 차례로 서열 식별 번호: 37, 서열 식별 번호: 38, 및 서열 식별 번호: 39이다.

[0092] 한 구체예는 항체, 바람직하게는 단일클론 항체, 또는 이의 항원 결합단편을 제공하며, 이들은 다음을 보유한다: (i) 서열 식별 번호: 4의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역, 그리고 (ii) CDR-L1 (식별 번호:13), CDR-L2 (서열 식별 번호: 14) 및 CDR-L3 (서열 식별 번호: 15)을 포함하는 경쇄. 더욱 특이적 구체예에서, 프레임워크(FR) 영역을 포함하지만, 이에 국한되지 않는 상보성 결정 영역(CDR) 영역 이외의 영역에서 서열 식별 번호: 4의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 상기 중쇄 가변 영역.

[0093] 한 구체예는 항체, 바람직하게는 단일클론 항체, 또는 이의 항원 결합단편을 제공하며, 이들은 다음을 보유한다: (i) 서열 식별 번호: 8의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄, 그리고 (ii) CDR-L1 (예를 들면, 서열 식별 번호: 13, 서열 식별 번호: 19, 서열 식별 번호: 25, 서열 식별 번호: 31, 서열 식별 번호: 37), CDR-L2 (예를 들면, 서열 식별 번호: 14, 서열 식별 번호: 20, 서열 식별 번호: 26, 서열 식별 번호: 32, 서열 식별 번호: 38) 및 CDR-L3 (예를 들면, 서열 식별 번호: 15, 서열 식별 번호: 21, 서열 식별 번호: 27, 서열 식별 번호: 33, 서열 식별 번호: 39)을 포함하는 경쇄. 더욱 특이적 구체예에서, 프레임워크(FR) 영역을 포함하지만, 이에 국한되지 않는 상보성 결정 영역(CDR) 영역 이외의 영역에서 서열 식별 번호: 8에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역.

[0094] 한 구체예는 항체, 바람직하게는 단일클론 항체, 또는 이의 항원 결합단편을 제공하며, 이들은 다음을 보유한다: (i) 프레임워크(FR) 영역을 포함하지만, 이에 국한되지 않는 상보성 결정 영역(CDR) 영역 이외의 영역에서 서열 식별 번호: 8의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄, 그리고 (ii) CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3을 포함하는 경쇄, 이때 상기 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3은 각각 차례로 서열 식별 번호: 13, 서열 식별 번호: 14, 및 서열 식별 번호: 15; 각각 차례로 서열 식별 번호: 19, 서열 식별 번호: 20, 및 서열 식별 번호: 21; 각각 차례로 서열 식별 번호: 25, 서열 식별 번호: 26, 및 서열 식별 번호: 27; 각각 차례로 서열 식별 번호: 31, 서열 식별 번호: 32, 및 서열 식별 번호: 33; 또는 각각 차례로 서열 식별 번호: 37, 서열 식별 번호: 38, 및 서열 식별 번호: 39이다.

[0095] 한 구체예는 항체, 바람직하게는 단일클론 항체, 또는 이의 항원 결합단편을 제공하며, 이들은 다음을 보유한다: (i) 서열 식별 번호: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역, 그리고 (ii) CDR-H1 (예를 들면, 서열 식별 번호: 10, 서열 식별 번호: 16, 서열 식별 번호: 22, 서열 식별 번호: 28, 서열 식별 번호: 34), CDR-H2 (예를 들면, 서열 식별 번호: 11, 서열 식별 번호: 17, 서열 식별 번호: 23, 서열 식별 번호: 29, 서열 식별 번호: 35) 및 CDR-H3 (예를 들면, 서열 식별 번호: 12, 서열 식별 번호: 18, 서열 식별 번호: 24, 서열 식별 번호: 30, 서열 식별 번호: 36)을 포함하는 중쇄. 더욱 특이적 구체예에서, 상기 경쇄 가변 영역은 프레임워크(FR) 영역을 포함하지만, 이에 국한되지 않는 상보성 결정 영역(CDR) 영역 이외의 영역에서 서열 식별 번호: 5에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는다.

[0096] 한 구체예는 항체, 바람직하게는 단일클론 항체, 또는 이의 항원 결합단편을 제공하며, 이들은 다음을 보유한다: (i) 서열 식별 번호: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역, 그리고 (ii) CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3을 포함하는 중쇄, 이때 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3은 각각 차례로 서열 식별 번호: 10, 서열 식별 번호: 11, 및 서열 식별 번호: 12; 각각 차례로 서열 식별 번호: 16, 서열 식별 번호: 17, 및 서열 식별 번호: 18; 각각 차례로 서열 식별 번호: 22, 서열 식별 번호: 23, 및 서열 식별 번호: 24; 각각 차례로 서열 식별 번호: 28, 서열 식별 번호: 29, 및 서열 식별 번호: 30; 또는 각각 차례로 서열 식별 번호: 34, 서열 식별 번호: 35, 및 서열 식별 번호: 36이다.

[0097] 한 구체예는 항체, 바람직하게는 단일클론 항체, 또는 이의 항원 결합단편을 제공하며, 이들은 다음을 보유한다: (i) 서열 식별 번호: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역, 그리고 (ii) CDR-H1 (서열 식별 번호: 10), CDR-H2 (서열 식별 번호: 11) 및 CDR-H3 (서열 식별 번호: 12)을 포함하는 중쇄. 더욱 특이적 구체예에서, 상기 경쇄 가변 영역은 프레임워크(FR) 영역을 포함하지만, 이에 국한되지 않는 상보성 결정 영역(CDR) 영역 이외의 영역에서 서열 식별 번호: 5에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는다.

[0098] 한 구체예는 항체, 바람직하게는 단일클론 항체, 또는 이의 항원 결합단편을 제공하며, 이들은 다음을 보유한다: (i) 서열 식별 번호: 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄, 그리고 (ii) CDR-H1 (예를 들면, 서열 식별 번호: 10, 서열 식별 번호: 16, 서열 식별 번호: 22, 서열 식별 번호: 28, 서열 식별 번호: 34), CDR-H2 (예를 들면, 서열 식별 번호: 11, 서열 식별 번호: 17, 서열 식별 번호: 23, 서열 식별 번호: 29, 서열 식별 번호: 35) 및 CDR-H3 (예를 들면, 서열 식별 번호: 12, 서열 식별 번호: 18, 서열 식별 번호: 24, 서열 식별 번호: 30, 서열 식별 번호: 36)을 포함하는 중쇄. 더욱 특이적 구체예에서, 상기 경쇄는 프레임워크(FR) 영역을 포함하지만, 이에 국한되지 않는 상보성 결정 영역(CDR) 영역 이외의 영역에서 서열 식별 번호: 9에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는다.

[0099] 특정 구체예는 항체, 바람직하게는 단일클론 항체, 또는 이의 항원 결합단편을 제공하는데, 이는 다음을 보유한다: (i) 상보성 결정 영역(CDR) 영역 이외의 영역은 프레임워크(FR) 영역을 포함하지만 이에 국한되지 않는 영역에서 서열 식별 번호: 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄, 그리고 (ii) CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3을 포함하는 중쇄, 이때 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3은 각각 차례로 서열 식별 번호: 10, 서열 식별 번호:

11, 및 서열 식별 번호: 12; 각각 차례로 서열 식별 번호: 16, 서열 식별 번호: 17, 및 서열 식별 번호: 18; 각각 차례로 서열 식별 번호: 22, 서열 식별 번호: 23, 및 서열 식별 번호: 24; 각각 차례로 서열 식별 번호: 28, 서열 식별 번호: 29, 및 서열 식별 번호: 30; 또는 각각 차례로 서열 식별 번호: 34, 서열 식별 번호: 35, 및 서열 식별 번호: 36이다.

[0100] 한 구체예는 항체, 바람직하게는 단일클론 항체, 또는 이의 항원 결합단편을 제공하며, 이들은 다음을 보유한다: (i) 서열 식별 번호: 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄, 그리고 (ii) CDR-H1 (서열 식별 번호: 10), CDR-H2 (서열 식별 번호: 11) 및 CDR-H3 (서열 식별 번호: 12)을 포함하는 중쇄. 더욱 특이적 구체예에서, 상기 경쇄는 프레임워크(FR) 영역을 포함하지만, 이에 국한되지 않는 상보성 결정 영역(CDR) 영역 이외의 영역에서 서열 식별 번호: 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는다.

[0101] 한 구체예는 항체, 바람직하게는 단일클론 항체, 또는 이의 항원 결합단편을 제공하며, 이들은 다음을 보유한다: (i) 서열 식별 번호: 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄, 그리고 (ii) 서열 식별 번호: 8의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄. 더욱 특이적 구체예에서, 상기 경쇄는 상보성 결정 영역(CDR) 영역 이외의 영역은 프레임워크(FR) 영역을 포함하지만 이에 국한되지 않는 영역에서 서열 식별 번호: 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 보유하고; 그리고 중쇄는 상보성 결정 영역(CDR) 영역 이외의 영역은 프레임워크(FR) 영역을 포함하지만 이에 국한되지 않는 영역에서 서열 식별 번호: 8의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는다.

[0102] 한 구체예는 항체, 바람직하게는 단일클론 항체, 또는 이의 항원 결합단편을 제공하며, 이들은 다음을 보유한다: (i) 상보성 결정 영역(CDR) 영역 이외의 영역은 프레임워크(FR) 영역을 포함하지만 이에 국한되지 않는 영역에서 서열 식별 번호: 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역, 그리고 (ii) 상보성 결정 영역(CDR) 영역 이외의 영역은 프레임워크(FR) 영역을 포함하지만 이에 국한되지 않는 영역에서 서열 식별 번호: 8의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄.

[0103] 한 구체예는 항체, 바람직하게는 단일클론 항체, 또는 이의 항원 결합단편을 제공하며, 이들은 다음을 보유한다: (i) 차례로 서열 식별 번호: 13, 14, 및 15의 아미노산 서열을 갖는 CDRs (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3)을 함유하는 경쇄 가변 영역; (ii) 서열 식별 번호: 10, 11, 및 12의 아미노산 서열을 갖는 CDRs (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3)을 함유하는 중쇄 가변 영역; (iii) 서열 식별 번호: 6의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 불변 영역, 그리고 (iv) 서열 식별 번호: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 불변 영역.

[0104] 한 구체예는 항체, 바람직하게는 단일클론 항체, 또는 이의 항원 결합단편을 제공하며, 이들은 다음을 보유한다: (i) 차례로 서열 식별 번호: 13, 14, 및 15의 아미노산 서열을 갖는 CDRs (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3)을 함유하는 경쇄 가변 영역; (ii) 서열 식별 번호: 10, 11, 및 12의 아미노산 서열을 갖는 CDRs (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3)을 함유하는 중쇄 가변 영역; (iii) 서열 식별 번호: 8의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄, 그리고 (iv) 서열 식별 번호: 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄.

[0105] 일부 구체예들에서, 상기 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 (i) 차례로 서열 식별 번호: 10, 11, 또는 12의 아미노산 서열을 갖는 적어도 하나, 둘, 또는 세 개의 CDR (예를 들면, CDR-H1, CDR-H2, 또는 CDR-H3), 또는 이의 일부분이 내포된 중쇄 가변 영역, 그리고 (ii) 서열 식별 번호: 13, 14, 또는 15의 아미노산 서열을 갖는 적어도 하나, 둘, 또는 세 개 CDR (예를 들면, CDR-L1, CDR-L2, 또는 CDR-L3), 또는 이의 일부분이 내포된 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0106] 한 구체예는 항체, 바람직하게는 단일클론 항체, 또는 이의 항원 결합단편을 제공하며, 이들은 다음을 보유한다: 상보성 결정 영역(CDR) 이외의 영역은 프레임워크(FR) 영역을 포함하지만 이에 국한되지 않는 영역에서 서열 식별 번호: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역.

[0107] 한 구체예는 항체, 바람직하게는 단일클론 항체, 또는 이의 항원 결합단편을 제공하며, 이들은 다음을 보유한다: CDR 영역 이외의 영역은 FR 영역을 포함하지만 이에 국한되지 않는 영역에서 서열 식별 번호: 4의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역.

[0108] 한 구체예는 항체, 바람직하게는 단일클론 항체, 또는 이의 항원 결합단편을 제공하며, 이들은 다음을 보유한다: (i) CDR 영역 이외의 영역은 프레임워크(FR) 영역을 포함하지만 이에 국한되지 않는 영역에서 서열 식별 번호: 5의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역, 그리고 (ii) CDR 영역 이외의 영역은 FR 영역을 포함하지만 이에 국한되지 않는 영역에서 서열 식별 번호: 4의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄.

[0109] 한 구체예는 항체, 바람직하게는 단일클론 항체, 또는 이의 항원 결합단편을 제공하며, 이들은 다음을 보유한다: (i) 차례로 서열 식별 번호: 13, 14 및 15의 아미노산 서열을 갖는 CDRs (CDR1, CDR2, CDR3)을 함유하는 경쇄 가변 영역; (ii) 차례로 서열 식별 번호: 10, 11 및 12의 아미노산 서열을 갖는 CDRs (CDR1, CDR2, CDR3)을 함유하는 중쇄 가변 영역; (iii) 서열 식별 번호: 6의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 불변 영역, 그리고 (iv) 서열 식별 번호: 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 불변 영역.

[0110] 전술한 모든 실시 형태의 특정 측면에서, 경쇄 또는 중쇄, 가변 영역 또는 불변 영역이 참조 서열 식별 번호와 특정 백분율의 서열 동일성을 갖는 것으로 언급되는 경우, 이러한 동일성은 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%이다.

[0111] 면역독소

[0112] 일부 측면에서, 본 명세서에 의해 제공된 항체 및/또는 그의 항원 결합 단편은 독성제에 접합된다. 하나 또는 그 이상의 세포독소를 포함하는 면역접합체를 "면역독소"라고 한다. 세포독성제, 약물 및 이와 유사한 것에 접합된 항체는 항체-약물 접합체(ADC)라고도 알려져 있다. 면역접합체는 항체-약물 접합체가 내재화되고, 분해되고, 방출된 독소에 의해 세포 사멸을 유도하기에 충분한 기간의 반감기를 가질 수 있다. 세포독소 또는 세포독성제는 세포에 해로운(예를 들어, 죽이는) 임의의 물질이 내포될 수 있다. 본 명세서의 면역접합체를 형성하는데 적합한 세포독성제에는 탁솔, 튜부리신, 듀오스타틴, 시토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에티듐 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포사이드, 테노포사이드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜히신, 독소루비신, 다우노루비신, 디하이드록시 안트라신 디온, 메이탄신 또는 이들의 유사체 또는 유도체, 미톡산트론, 미트라마이신, 악티노마이신 D, 1-디하이드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤 및 퓨로마이신; 칼리케아미신 또는 이의 유사체 또는 유도체, 항대사물질 (이를 테면, 메토트렉세이트, 6-머캅토퓨린, 6-티오구아닌, 시타라빈, 플루다라빈, 5-플루오로우라실, 데카바진, 하이드록시우레아, 아스파라기나제, 젬시타빈, 클라드리빈), 알킬화제(예를 들어, 메클로레타민, 티오에파, 클로람부실, 멜팔란, 카르무스틴(BSNU), 로무스틴(CCNU), 시클로포스파미드, 부술판, 디브로모만니톨, 스트렙토조토신, 다카르바진(DTIC), 프로카르바진, 미토마이신 C, 시스플라틴 및 기타 백금 유도체, 예컨대 카르보플라틴; 뿐만 아니라; 뿐만 아니라 듀오카르마이신 A, 듀오카르마이신 SA, CC-1065 (일명, 라첼리마이신), 또는 CC-1065의 유사체 또는 유도체), 돌라스타틴, 아우리스타틴, 피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀 (PDBs), 인돌리노벤조디아제핀(IGN) 또는 이의 유사체들, 항생제(이를 테면, 닥티노마이신(이전의 악티노마이신), 블레오마이신, 다우노루비신(이전의 다우노마이신), 독소루비신, 이다루비신, 미트라마이신, 미토마이신, 미톡산트론, 플리카마이신, 안트라마이신(AMC)), 항-유사분열제(예를 들면, 투블린-표적화제), 이를 테면, 디프테리아 독소 및 관련 분자 (이를 테면, 디프테리아 A 쇄 및 이의 활성 단편들 그리고 하이브리드 분자); 리친 독소 (이를 테면, 리친 A 또는 탈글리코실화된 리친 A 쇄 독소), 콜레라 독소, Shiga-유사 독소 (SLT-I, SLT-II, SLT-IIV), LT 독소, C3 독소, Shiga 독소, 백일해 독소, 파상풍 독소, 대두 Bowman-Birk 프로테아제 억제제, 슈도모나스 외독소, 알로린, 사포린, 모데신, 젤라닌, 아브

린 A 쇄, 모데신 A 사슬, 알파-르신, 알레우리테스 포르디(Aleurites fordii)단백질, 디안틴 단백질, 피토라카 아메리카나(Phytolacca americana) 단백질 (PAPI, PAPII, 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아(momordica charantia) 억제제, 커신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스 억제제, 젤로닌, 미토겔린, 제한소신, 페노마이신 및 에노마이신 독소가 내포된다. 기타 적합한 접합된 분자에는 항균/용해성 펩티드, 이를 테면, CLIP, Magainin 2, 멜린틴, Cecropin 및 P18; 리보뉴클레아제(RNase), DNase I, 포도구균(Staphylococcal) 장독소-A, 국화과 항바이러스 단백질, 디프테리아 독소 및 슈도모나스(Pseudomonas) 내독소들이 내포된다.

[0113] 추가 치료요법제들

[0114] 본 명세서의 항체 (이의 단편 및 이의 접합체를 포함하는)는 선택적으로 다른 치료제와 함께 환자에게 전달될 수 있다. 추가 치료요법제들은 본 명세서의 항체의 전달 이전, 전달과 동시에 또는 전달 이후에 전달될 수 있다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, "동시에"라는 단어는 조합된 효과를 생성하기에 충분히 가까운 시간을 의미한다 (즉, 동시에 동시에 발생할 수 있거나 또는 서로 앞이나 뒤의 짧은 기간 내에 발생하는 두 개 이상의 이벤트일 수 있음).

[0115] 일부 구체예들에서, 본 명세서의 항체는 다음과 같은 항암제들과 함께 투여될 수 있는데, 이를 테면: 1) 빈카 알칼로이드(예를 들어, 빈블라스틴, 빈크리스틴); 2) 에피포도필로톡신(예를 들어, 에토포시드 및 테니포시드); 3) 항생제(예를 들어, 닥티노마이신(액티노마이신 D), 다우노루비신(다우노마이신; 루비도마이신), 독소루비신, 블레오마이신, 플리카마이신(미트라마이신) 및 미토마이신(미토마이신 C)); 4) 효소(예를 들어, L-아스파라기나제); 5) 생물학적 반응 조절제(예를 들어, 인터페론-알파); 6) 백금 배위 복합체(예를 들어, 시스플라틴 및 카르보플라틴); 7) 안트라세네디온(예를 들어, 미톡산트론); 8) 치환된 우레아(예를 들어, 하이드록시우레아); 9) 메틸히드라진 유도체(예를 들어, 프로카르바진(N-메틸히드라진; MIH)); 10) 부신피질 억제제(예를 들어, 미토탄(o,p'-DDD) 및 아미노글루테티미드); 11) 부신피질호르몬제(예를 들어, 프레드니손); 12) 프로게스틴(예를 들어, 하이드록시프로게스테론 카프로에이트, 메드록시프로게스테론 아세테이트 및 메게스트롤 아세테이트); 13) 에스트로겐(예를 들어, 디에틸스틸베스트롤 및 에티닐 에스트라디올); 14) 항에스트로겐(예를 들어, 타목시펜); 15) 안드로겐(예를 들어, 테스토스테론 프로피오네이트 및 플루옥시메스테론); 16) 항안드로겐제(예를 들어, 플루타미드): 및 17) 성선 자극 호르몬 방출 호르몬 유사체(예를 들어, 류프롤리드). 일부 구체예들에서, 본 명세서의 항체는 항혈관신생제, 이를 테면, VEGF에 대한 항체 (*예를 들면,* 베바시주맙 (AVASTIN), 라니비주맙 (LUCENTIS)) 및 기타 혈관신생 촉진제 (*예를 들면,* bFGF, 앙지오포에틴-1), 알파-v/베타-3 혈관 인테그린에 대한 항체 (*예를 들면,* VITAXIN), 안지오스타틴, 엔도스타틴, 달테파린, ABT-510, CNGRC 펩티드 (서열 식별 번호: 43) TNF 알파 접합체, 사이클로포스파미드, 콤브레타스타틴 A4 인산염, 디메틸크산테논 아세트산, 도세탁셀, 레날리도마이드, 엔자스타우린, 파클리탁셀, 파클리탁셀 알부민 안정화 나노입자 제형 (Abraxane), 콩 이소플라본 (Genistein), 타목시펜 구연산염, 탈리도마이드, ADH-1 (EXHERIN), AG-013736, AMG-706, AZD2171, 소라페닙 토실레이트, BMS-582664, CHIR-265, 파조파닙, PI-88, 바탈라닙, 에베롤리무스, 수라민, 수니티닙 말레이트, XL184, ZD6474, ATN-161, 실렌기타이드, 및 셀레콕시브와 함께 투여될 수 있다.

[0116] 일부 구체예들에서, 본 명세서의 항체는 면역억제제, 예를 들면, 사이클로스포린 A, 라파마이신, 글루코코르티코이드, 아자티오프린, 미조리빈, 아스피린 유도체, 하이드록시클로로퀸, 메토트렉세이트, 사이클로포스파미드 및 FK506(타크로리무스)를 비롯한 면역억제제 함께 투여될 수 있다.

[0117] 핵산, 클로닝 및 발현 시스템

[0118] 본 명세서는 개시된 항체를 코딩하는 단리된 핵산을 추가로 제공한다. 상기 핵산은 DNA 또는 RNA를 포함할 수 있으며, 전체적으로 또는 부분적으로 합성되거나 재조합될 수 있다. 본 명세서에 제시된 뉴클레오티드 서열에 대한 언급은 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 특정 서열을 갖는 DNA 분자를 포함하며, U가 T를 대체하는 특정 서열을 갖는 RNA 분자를 포괄한다.

[0119] 본 명세서에 제공된 핵산은 본 명세서에 개시된 CDR, VH 도메인 및/또는 VL 도메인에 대한 코딩 서열을 포함한다. 본 명세서는 본원에 개시된 CDR, VH 도메인 및/또는 VL 도메인을 코딩하는 적어도 하나의 핵산을 포함하는 플라스미드, 벡터, 파지미드, 전사 또는 발현 카세트 형태의 구조체를 제공한다. 본 명세서는 상기와 같은 하나 또는 그 이상의 구조체를 포함하는 숙주 세포를 추가로 제공한다.

[0120] 일부 구체예들에서, 중쇄의 코딩 서열은 서열 식별 번호: 40의 뉴클레오티드 서열이다.

[0121] 일부 구체예들에서, 경쇄의 코딩 서열은 서열 식별 번호: 41의 뉴클레오티드 서열이다.

[0122] 상이한 다양한 숙주 세포에서 폴리펩티드의 클로닝 및 발현을 위한 시스템은 당업계에 잘 알려져 있다. 항체 생

산에 적합한 세포에 대해서는 Gene Expression Systems, Academic Press, eds. Fernandez et al., 1999 참조. 간략하게 설명하자면, 적합한 숙주 세포에는 박테리아, 식물 세포, 포유동물 세포, 효모 및 배큘로바이러스 시스템이 내포된다. 이종폴리펩티드의 발현을 위해 당업계에서 이용가능한 포유동물 세포주는 차이니즈 햄스터 난소 세포, HeLa 세포, 새끼 햄스터 신장 세포, NSO 마우스 골수종 세포 및 기타 다수가 내포된다. 일반적인 박테리아 숙주는 대장균(E. coli)이다. 본 발명에 적합한 임의의 단백질 발현 시스템을 사용하여 개시된 항체를 생성할 수 있다. 적합한 발현 시스템에는 Gene Expression Systems, Academic Press, eds. Fernandez et al., 1999에서 기술된 유전자도입된 동물이 내포된다.

[0123] 적합한 벡터는 프로모터 서열, 종료 서열, 폴리아데닐화 서열, 인핸서 서열, 마커 유전자 및 기타 적절한 서열을 비롯한 적절한 조절 서열을 함유하도록 선택되거나 또는 구성될 수 있다. 벡터는 적절한 경우 플라스미드 또는 바이러스성(예를 들면, 파아지 또는 파지미드)일 수 있다. 더 상세한 내용은 예를 들면, Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989를 참고한다. 예를 들어, 핵산 구조의 제조, 돌연변이 유발, 서열 분석, 세포 내로의 DNA 도입 및 유전자 발현, 단백질 분석 등 핵산 조작을 위한 많은 공지 기술 및 프로토콜이 Current Protocols in Molecular Biology, 2nd Edition, eds. Ausubel et al., John Wiley & Sons, 1992에 상세하게 기술되어 있다.

[0124] 본 명세서의 추가 측면은 본 명세서에 개시된 바와 같은 핵산을 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 또 다른 측면은 이러한 핵산을 숙주 세포에 도입하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 이러한 도입에는 임의의 이용가능한 기법이 이용될 수 있다. 진핵 세포의 경우, 적합한 기술에는 인산칼슘 형질감염, DEAE-덱스트란, 전기천공, 리포솜-매개된 형질감염 및 레트로바이러스 또는 다른 바이러스(예를 들면, 백시니아 또는 곤충 세포의 경우 바큘로바이러스)를 사용한 형질도입이 내포될 수 있다. 박테리아 세포의 경우, 적합한 기술에는 염화칼슘 형질전환, 전기천공 및 박테리오파지를 사용한 형질감염이 내포될 수 있다. 예를 들어, 유전자 발현을 위한 조건 하에서 숙주 세포를 배양함으로써 핵산으로부터 발현을 유발하거나 허용하여, 세포 내로 핵산이 도입될 수 있다.

[0125] 치료 방법

[0126] 개시된 항-KLRG1 항체는 KLRG1 관련 면역 반응을 조절할 수 있다. 특정 구체예들에서, 세포독성 T 세포 및 NK 세포의 활성화는 KLRG1 신호전달의 조절에 의해 매개된다. 개시된 항체는 그의 사용 방법에 따라 KLRG1의 효현제 또는 길항제로서 작용할 수 있다. 상기 항체는 포유동물, 특히 인간의 의학적 장애를 예방, 진단 또는 치료하는 데 사용될 수 있다. 본 명세서의 항체는 KLRG1 또는 KLRG1-발현 세포를 단리하는데 또한 사용될 수 있다. 더욱이, 상기 항체는 비정상적 KLRG1 발현 또는 기능과 연관된 장애에 걸릴 위험이 있거나 또는 이에 걸리기 쉬운 대상체, 또는 장애를 갖는 대상체를 치료하는데 사용될 수 있다.

[0127] 본 명세서의 항체는 세포독성 T 세포 및 NK 세포 활성화의 조절이 바람직할 수 있는 상태, 예를 들어 특정 유형의 암 및 감염성 질환에서 사용될 수 있다.

[0128] 특정 상황에서, 암이나 감염성 질환을 치료하기 위해, 환자의 면역 반응을 유도하거나 강화하는 것이 바람직할 수 있다. 개시된 방법에 의해 치료 또는 예방되는 장애에는 미생물(예를 들면, 박테리아), 바이러스(예를 들면, 인플루엔자와 같은 전신 바이러스 감염, 헤르페스 또는 대상포진과 같은 바이러스성 피부 질환) 또는 기생충에 의한 감염; 및 암(예를 들면, 흑색종 및 전립선암)이 내포되나, 이에 국한되지 않는다. 본원에 개시된 항-KLRG1 항체를 이용한 세포독성 T 및 NK 세포 활성화는 T 세포 및 NK 세포 반응을 향상시킨다. 그러한 경우, 돌연변이는 KLRG1의 길항제 역할을 한다. 따라서, 일부 구체예들에서, 상기 항체는 KLRG1과 연관된 하향조절 활성, 즉, 세포독성 T 세포 및 NK 세포 활성화의 하향조절과 연관된 활성을 억제하거나 또는 감소시키기 위해 사용될 수 있다.

[0129] 실시예에서 입증된 바와 같이, 길항성 항-KLRG1 항체와 KLRG1/E-카드헤린 상호작용의 차단은 이들 세포에 의한 강화된 T 세포 증식 반응 및 IFNγ 분비를 유도하며, 이는 세포독성 T 세포 및 NK 세포에서 KLRG1 경로에 대한 하향조절 역할과 일치한다. 다양한 구체예들에서, 상기 항체는 약 50nM 미만, 보다 바람직하게는 약 40, 30, 20, 10 또는 5nM 미만의 IC50으로 E-카드헤린과 KLRG1의 결합을 억제한다. E-카데린 결합의 억제는 당업계에 공지된 기술을 사용하여 측정될 수 있다.

[0130] 본 명세서의 항체 또는 항체 조성물은 치료요법적 유효량으로 투여된다. 일반적으로, 치료요법적 유효량은 대상의 연령, 상태, 성별은 물론, 대상의 의학적 상태의 중증도에 따라 달라질 수 있다. 항체의 치료요법적 유효량이란 체중 당 약 0.001 ~ 약 30mg/kg(체중), 바람직하게는 약 0.01 ~ 약 25mg/kg(체중), 약 0.1 ~ 약 20mg/kg(체중), 또는 약 1 ~ 약 10mg/kg(체중) 범위다. 상기 투여량은 관찰된 치료 효과에 맞게 필요에 따라 조정될 수

있다.

[0131] 적절한 용량은 치료 의사의 임상 징후에 따라 선택된다. 상기 항체는 투여 후 가장 긴 시간 동안 순환하는 항체 수준을 최대화하기 위해 볼루스(bolus) 투여로 투여될 수 있다. 볼루스 투여 후에 연속 주입을 사용할 수도 있다.

[0132] 면역 세포 (예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)는 또한 환자로부터 분리되어, 본 개시내용의 항체와 함께 생체외에서 항온처리될 수 있다. 일부 구체예들에서, T 세포 및 NK 세포 활성화는 대상체로부터 면역 세포를 제거하고, 시험관 내에서 면역 세포를 본 명세서의 항-KLRG1 항체와 접촉시킴으로써 조절될 수 있다. 이러한 구체예들에서, 항-KLRG1 항체는 면역 세포 표면의 KLRG1 분자가 이러한 항체에 결합할 때 "가교결합"되도록 다가(multivalent) 형태로 사용될 수 있다. 예를 들면, 항-KLRG1 항체는 비드와 같은 고체 지지체에 결합되거나, 또는 2차 항체를 통해 가교결합될 수 있다. 그 다음, 면역 세포는 당업계에 공지된 방법을 사용하여 단리되고, 환자에게 재이식될 수 있다.

[0133] 본 명세서의 항체는 생물학적 샘플에서 KLRG1의 존재를 검출하는데 또한 사용될 수 있다. 검출된 KLRG1의 양은 KLRG1의 발현 수준과 상관관계가 있을 수 있으며, 이는 결국 대상체의 면역 세포 (예를 들면, 활성화된 T 세포 또는 NK 세포)의 활성화 상태와 상관관계가 있다.

[0134] 항체를 사용하는 검출 방법은 예를 들어, ELISA, 방사성면역검정, 면역블롯, 웨스턴 블롯, 면역형광, 면역침강을 비롯하여, 당업계에 잘 알려져 있다. 상기 항체는 KLRG1을 검출하기 위해 이러한 기술 중 하나 이상을 통합하는 진단 키트에 제공될 수 있다. 이러한 키트에는 단백질 검출에 도움이 되는 기타 구성 요소, 포장, 지침 또는 기타 물질들이 함유될 수 있다.

[0135] 상기 항체가 진단 목적으로 의도된 경우, 예를 들어 리간드 그룹(이를 테면, 비오틴) 또는 검출 가능한 마커 그룹(이를 테면, 형광 그룹, 방사성 동위원소 또는 효소)을 사용하여 항체를 변형하는 것이 바람직할 수 있다. 원하는 경우, 본 명세서의 항체는 통상적인 기술을 사용하여 표지될 수 있다. 적합한 검출가능한 라벨에는 예를 들어, 형광단, 발색단, 방사성 원자, 전자 밀도 시약, 효소 및 특정 결합 파트너를 갖는 리간드가 내포된다. 효소는 일반적으로 이의 활성을 통해 감지된다. 예를 들면, 양고추냉이 과산화효소는 테트라메틸벤지딘(TMB)을 파란색 색소로 전환하는 능력으로 검출할 수 있으며, 분광 광도계로 정량화시킬 수 있다. 검출을 위해, 적합한 결합 파트너에는 비오틴 및 아비딘 또는 스트렙타비딘, IgG 및 단백질 A, 그리고 당업계에 공지된 수많은 수용체-리간드 쌍이 내포되지만, 이에 국한되지는 않는다. 다른 순열 및 가능성은 당업자에게 쉽게 명백할 것이며, 본 명세서의 범위 내에서 균등한 것으로 간주된다.

[0136] 본 명세서의 항체는 치료제로서 효과적인 KLRG1 경로의 억제제를 확인하기 위한 스크리닝 방법에 사용될 수 있다. 이러한 스크리닝 분석에서, KLRG1과 본 개시내용의 항체를 조합함으로써 제1 결합 혼합물이 형성되고; 제1 결합 혼합물(MO) 내 결합량을 측정한다. 또한, KLRG1, 항체, 및 스크리닝할 화합물 또는 작용제를 조합하여 제2 결합 혼합물을 형성하고, 제2 결합 혼합물(M1)에서의 결합량을 측정한다. 시험할 화합물은 실시예에 예시된 바와 같이 또 다른 항-KLRG1 항체일 수 있다. 그 다음, 예를 들어, M1/MO 비율을 산출함으로써 제1 결합 혼합물과 제2 결합 혼합물의 결합 양을 비교한다. 화합물 또는 제제는 제1 결합 혼합물과 비교하여 제2 결합 혼합물에서의 결합 감소가 관찰되는 경우, 면역 반응의 KLRG1 관련 하향조절을 조절할 수 있는 것으로 간주된다.

[0137] 결합 혼합물의 제형화 및 최적화는 당업자의 수준 내에 있으며, 이러한 결합 혼합물은 또한 결합을 향상시키거나 최적화하는 데 필요한 완충제 및 염을 함유할 수 있으며, 추가적인 대조군 분석이 본 명세서의 스크리닝 분석에 내포될 수 있다. KLRG1-항체 결합을 적어도 약 10% (즉, M1/MO <0.9), 바람직하게는 약 30% 이상 감소시키는 것으로 확인된 화합물이 식별될 수 있고, 그런 다음, 원하는 경우, 아래 설명된 대로 다른 분석 또는 동물 모델에서 장애를 개선하는 능력에 대해 이차적으로 스크리닝된다. KLRG1과 항체 사이의 결합 강도는 예를 들어, 효소 결합 면역흡착 분석법(ELISA), 방사선 면역분석법(RIA), 표면 플라스몬 공명 기반 기술(예를 들어, Biacore)을 사용하여 측정할 수 있고, 이들은 모두 당분야에 공지된 기법이다.

[0138] 이어서, 화합물을 실시예에 기재된 바와 같이, 시험관내 또는 동물 모델에서 시험할 수 있다. 예를 들어, 동물 시험에 따라 결정된 예비 투여량 및 인간 투여를 위한 투여량의 규모 조정은 해당 분야에서 허용되는 관행에 따라 수행된다. 독성 및 치료 효능은 세포 배양 또는 실험 동물의 표준 약학 절차에 의해 결정될 수 있다. 세포 배양 분석이나 동물 연구에서 얻은 데이터는 인간에게 사용할 수 있는 다양한 용량을 공식화하는 데 사용될 수 있다.

[0139] 한 동물 모델에서 달성된 치료 유효 투여량은 당업계에 공지된 전환 인자를 사용하여 인간을 포함한 다른 동물

에서 사용하기 위해 전환될 수 있다 (예를 들면, Freireich et al. (1966) Cancer Chemother. Reports, 50(4): 219-244 참고)

[0140] 약제학적 조성물

[0141] 본 명세서는 항-KLRG1 항체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 이러한 조성물은 약제학적 용도 및 환자에 대한 투여에 적합할 수 있다. 상기 조성물은 전형적으로 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 항체 및 제약상 허용되는 부형제를 포함한다. "약학적으로 허용되는 부형제"라는 문구에는 약학적 투여에 적합한 임의의, 그리고 모든 용매, 분산 매질, 코팅, 항균제 및 항진균제, 등장화제 및 흡수 지연제 및 이와 유사한 것들이 내포된다. 약학적으로 활성인 물질용 이러한 매질 및 물질의 이용은 당업계에 공지되어 있다. 상기 조성물은 또한 보충적, 추가적인 또는 강화된 치료 기능을 제공하는 다른 활성 화합물을 함유할 수 있다. 상기 약제학적 조성물은 투여 지침과 함께 용기, 팩 또는 디스펜서에 또한 내포될 수 있다.

[0142] 본 명세서의 약학 조성물은 의도된 투여 경로에 양립될 수 있도록 제형화된다. 투여를 수행하는 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 투여는 예를 들어, 정맥내, 복강내, 근육내, 강내, 피하 또는 경피일 수 있다. 국소적으로 또는 경구적으로 투여될 수 있거나, 또는 점막을 통해 전달될 수 있는 조성물을 얻는 것도 가능할 수 있다.

[0143] 비경구, 피내 또는 피하 적용에 사용되는 용액 또는 현탁액에는 전형적으로 하기 성분들중 하나 또는 그 이상이 내포될 수 있다: 주사용수, 식염수, 고정 유, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 다른 합성 용매와 같은 멸균 희석제, 이를 테면, 주사용수, 염수, 고정 오일, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 다른 합성 용매; 항균제, 이를 테면, 벤질 알콜 또는 메틸 파라벤; 항산화제, 이를 테면, 아스코르브산 또는 중아황산 나트륨; 킬레이팅 물질, 이를 테면, 에틸렌디아민테트라아세트산; 완충제, 이를 테면, 아세테이트, 구연산 또는 인산염, 그리고 등장성 조절제, 이를 테면, 염화 나트륨 또는 덱스트로스. pH는 염산 또는 수산화 나트륨과 같은 산 또는 염기로 조절될 수 있다. 이러한 조제물들은 유리 또는 플라스틱으로 제조된 앰풀, 일회용 주사기 또는 다중 용량 바이알에 넣을 수 있다.

[0144] 주사용으로 적합한 약제학적 조성물에는 멸균 주사 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 수용액 또는 분산액이 내포된다. 정맥내 투여를 위해, 적합한 담체는 생리 염수, 정균수, Cremophor EL (BASF, Parsippany, N.J.) 또는 인산 완충된 염수 (PBS)를 포함한다. 모든 경우에 있어서, 조성물은 무균이어야 하며, 주사의 용이성이 존재할 정도로 유동적이어야 한다. 이것은 제조 및 저장 조건 하에서 안정적일 수 있고, 박테리아 및 곰팡이와 같은 미생물의 오염 작용에 대항하여 보존되어야 한다. 미생물의 작용의 예방은 예를 들면, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀 아스크르빈산, 티메로졸 및 이와 유사한 것들과 같은 다양한 항박테리아 및 항진균제를 포함시킴으로써 확보될 수 있다. 많은 경우들에 있어서, 등장성 물질들, 예를 들면, 슈가, 다가알코올, 이를 테면, 만니톨, 소르비톨, 그리고 염화나트륨이 조성물에 포함되는 것이 바람직할 것이다. 상기 담체는 예를 들면, 물, 에탄올, 폴리올 (가령, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 및 이와 유사한 것들), 그리고 이들의 적합한 혼합물들이 포함된 용매 또는 분산액 매질이 될 수 있다. 예를 들면, 피복제, 이를 테면, 레시틴의 이용에 의해, 분산액의 경우 요구되는 입자 크기의 유지에 의해, 및/또는 계면활성제의 이용에 의해 적절한 유동성이 유지될 수 있다. 흡수를 지연시키는 물질, 이를 테면, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴과 같은 물질이 조성물에 포함됨으로써 주사가능한 조성물의 연장된 흡수를 가져올 수 있다.

[0145] 투여 및 용량

[0146] 투여를 수행하는 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 투여는 예를 들어, 비경구 투여(예를 들어 정맥내, 복강내, 근육내, 피하)일 수 있다.

[0147] 전신 투여는 또한 경점막 또는 경피 수단에 의한 투여일 수 있다. 경점막 또는 경피 투여를 위해, 침투되는 장벽에 적합한 침투제가 제형에 사용된다. 이러한 침투제는 당업계에 일반적으로 공지되어 있으며, 예를 들어, 세제, 담즙 염 및 푸시딘산(fusidic acid) 유도체들이 내포된다. 경점막 투여는 예를 들어, 로젠지(lozenges), 비강 스프레이, 흡입기 또는 좌약의 사용을 통해 수행될 수 있으며; 예를 들어, Fc 부분을 포함하는 항체의 경우, 조성물은 장, 입 또는 폐의 점막을 통해 (예를 들면, U.S. 특허 번호 6,030,613에 기술된 바와 같이 FcRn 수용체-매개된 경로를 경유하여) 전달될 수 있다. 경피 투여를 위해, 활성 화합물은 당업계에 일반적으로 공지된 바와 같이 연고, 살베(salves), 겔 또는 크림으로 제형화될 수 있다. 흡입 투여 용으로, 상기 항체는 적절한 추진체, 예를 들어 이산화탄소와 같은 가스를 함유하는 압력 용기 또는 디스펜서, 또는 네불라이져(nebulizer)로부터의 에어로졸 분무 형태로 전달될 수 있다.

[0148] 특정 구체예들에서, 본원에서 기술된 항체들은 화합물이 신체로부터 신속하게 제거되는 것으로부터 이 화합물을

보호하는 운반체와 함께 만들어질 수 있는데, 이를 테면 임플란트 및 미소포집 운반시스템이 포함된 방출 제어 제형이 된다. 생분해가능한, 생체적합성 폴리머, 이를 테면, 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리안하이드리드, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르소에스테르, 및 폴리락트산이 이용될 수 있다. 이러한 제재를 준비하는 방법은 당업계 숙련자들에게 잘 알려져 있을 것이다. 본원에서 기술된 항체를 함유하는 리포좀 현탁액은 또한 약제학적으로 수용가능한 담체로 이용될 수 있다. 이들은 예를 들어, 미국 특허 번호 4,522,811에 기재된 바와 같이 당업자에게 공지 된 방법에 따라 제조될 수 있다.

[0149] 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 투약 형태로 비경구 조성물을 제형화하는 것이 유익할 수 있다. 본원에 사용된 투여용량 단위 형태는 치료하고자 하는 대상에 대한 단일 투여량으로 적합한 물리적으로 분리된 (discrete) 단위를 의미하고; 각 단위는 필요한 약제학적 담체와 관련하여 원하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 사전결정된 양의 활성 화합물을 함유한다.

[0150] 본원에 기술된 조성물의 독성 및 치료 효능은 가령, LD50을(집단의 50%가 치사하게 되는 용량) 및 ED50 (집단의 50%에서 치료 효과가 있는 용량)을 결정하기 위한 세포 배양 또는 실험 동물에서 표준 제약 절차에 의해 결정될 수 있다. 독성과 치료 효과 사이의 용량 비율이 치료 지수이며, 이는 LD50/ED50의 비율로 표현될 수 있다.

[0151] 치료 지수가 큰 조성물이 바람직하다. 본 명세서에 사용된 임의의 조성물에 대해, 치료요법적 유효 용량은 세포 배양 검정으로부터 초기에 추정될 수 있다. 적합한 생물학적 분석의 예에는 DNA 복제 분석, 사이토카인 방출 분석, 전사 기반 분석, KLRG1/카드헤린 결합 분석, 면역학적 분석, 예를 들어, 실시예에 설명된 기타 분석이 내포된다. 세포 배양 분석이나 동물 연구에서 얻은 데이터는 인간에게 사용할 수 있는 다양한 용량을 공식화하는 데 사용될 수 있다. IC50을 포함하는 순환 혈장 농도 범위 (즉, 증상의 최대 억제율의 절반을 달성하는 항체의 농도)를 달성하기 위해 동물 모델에서 용량을 제형화할 수 있다. 혈장 내 순환 수준은 예를 들어, 고성능 액체 크로마토그래피로 측정할 수 있다. 임의의 특정 용량의 효과는 적합한 생물학적 검정을 통해 모니터링할 수 있다. 상기 용량은 독성이 거의 또는 전혀 없는 순환 농도 범위 내에 있는 것이 바람직하다. 상기 용량은 사용된 투여 형태 및 사용된 투여 경로에 따라 달라질 수 있다.

[0152] 다음 실시예들은 어떤 방식으로든 본 개시의 범위를 제한하지 않는다. 당업자는 본 개시의 정신 또는 범위를 변경하지 않고, 수행될 수 있는 다양한 수정 및 변형을 인식할 것이다. 그러한 수정 및 변형은 본 개시의 범위 내에 내포된다. 본 출원 전반에 걸쳐 인용된 모든 참고문헌, 특허 및 공개된 특허 출원의 전체 내용은 본 명세서에 참고자료에 편입된다.

[0153] 인간 KLRG1 ECD (서열 식별 번호: 1), 시노몰구스 KLRG1 ECD (서열 식별 번호: 2), 및 인간 E-캐드헤린 (서열 식별 번호: 3) (이들 아미노산 서열은 당업계에 공지되어 있고 PCT 공개 WO2020060781에 개시되어 있음, 이의 전문이 참조로 편입되어 있음)을 비롯한 재조합 단백질은 표준 분자 복제 및 발현 프로토콜에 의해 생산되었다. 재조합 단백질은 각각의 cDNA를 pCDNA4 벡터(Invitrogen)로 클로닝하고, 포유류 HEK293에서 일시적인 형질감염을 통해 FC 융합 또는 HIS 태그된 형태로 생산되었다. 발현된 단백질의 정제는 FC 융합 버전의 경우 단백질 A 친화성 수지를 사용하였고, HIS 태그가 지정된 단백질의 경우 니켈-NTA 수지를 사용하여 크로마토그래피로 수행되었다. 모든 정제된 단백질은 SDS-PAGE 전기영동으로 특성화하여 순도와 분자량을 확인했다.

[0154] 예시적인 서열

[0155] PA015 중쇄 가변 영역 서열

[0156] > PA015_VH (서열 식별 번호: 4)

[0157] QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTVSGFSLSTFGMGVGWIRQPPGKALEWLAHIWWDDDKWYELALKSRLTISKDTSKNQVVLTITNMDPVDTATYYCARVIYYGSRSAYYSMDYWGQGTTVTVSS

[0158] PA015 경쇄 가변 영역 서열

[0159] >PA015_VL (서열 식별 번호: 5)

[0160] DVVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSIVHSNAHTYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHVPVTFGQGTKLEIKRTV

[0161] PA015 중쇄 불변 영역 서열

[0162] >PA015_중쇄 불변 영역 (서열 식별 번호: 6)

[0163] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
CDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0164] PA015 경쇄 불변 영역 서열

[0165] >PA015_경쇄 불변 영역 (서열 식별 번호: 7)

[0166] AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC

[0167] PA015 중쇄 서열

[0168] >PA015_HC (서열 식별 번호: 8)

[0169] QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTVSGFSLSTFGMGVGWIRQPPGKALEWLAHIWWDDDKWYELALKSRLTISKDTSKNQVVLTITNMDPVDTATYYCARVIY
YGSRSAYYSMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS
DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0170] PA015 경쇄 서열

[0171] >PA015_LC (서열 식별 번호: 9)

[0172] DVVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSIVHSNAHTYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHVPVT
FGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

[0173] >PA015_VH_CDR1 (서열 식별 번호: 10)-Chothia 포멧

[0174] GFSLSTFGM

[0175] >PA015_VH_CDR2 (서열 식별 번호: 11)- Chothia 포멧

[0176] WWDDD

[0177] >PA015_VH_CDR3 (서열 식별 번호: 12)- Chothia 포멧

[0178] VIYYGSRSAYYSMDY

[0179] >PA015_VL_CDR1 (서열 식별 번호: 13)-Chothia 포멧

[0180] KSSQSIVHSNAHTYLE

[0181] >PA015_VL_CDR2 (서열 식별 번호: 14)-Chothia 포멧

[0182] KVSNRFS

[0183] >PA015_VL_CDR3 (서열 식별 번호: 15)-Chothia 포멧

[0184] FQGSHVPVT

[0185] >PA015_HC (서열 식별 번호: 40)

[0186] ATGGGCTGGTCCTGCATCATTCTGTTTCTGGTGGCTACCGCCACCGGCGCTCATTCTCAAGTGACACTGAGAGAGTCTGGCCCCGCTCTGGTCAAGCCTACA
CAGACCCTGACACTGACCTGCACCGTGTCTGGCTTCTCCCTGTCTACCTTTGGCATGGGCGTCGGCTGGATTAGACAGCCTCCTGGAAAAGCCCTGGAATGG
CTGGCCCACATTTGGTGGGACGACGACAAGTGGTACGAGCTGGCTCTGAAGTCCCGGCTGACCATCTCCAAGGACACCTCCAAGAATCAGGTGGTGCTGACA
ATCACCAACATGGACCCTGTGGACACCGCCACCTACTACTGCGCCAGAGTGATCTACTACGGCTCCAGATCCGCCTACTACTCCATGGATTATTGGGGCCAG
GGCACCACCGTGACCGTGTCCTCTGCTTCTACAAAGGGCCCCTCTGTGTTCCCTCTGGCTCCTTCCTCTAAATCCACCTCTGGCGGAACCGCTGCTCTGGGC
TGTCTCGTGAAGGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCCTGGAATAGCGGTGCTCTGACATCCGGCGTGCACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAGTCCTCT
GGCCTGTACTCTCTGTCCTCTGTCGTGACAGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTG
GACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCTCCATGTCCTGCTCCAGAAGCTGCTGGCGCTCCCTCCGTGTTTCTGTTCCCTCCA

AAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGATCCCGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTG
GACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACTCCACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGG
CTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCTAAGGGCCAGCCTCGGGAACCTCAG
GTTTACACCCTGCCTCCATCTCGGGAAGAGATGACAAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAGGGCTTCTACCCTTCCGACATTGCCGTGGAATGG
GAGTCCAATGGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTTCCTGTACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCT
CGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGTTCTGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTCTGTCCCCTGGCAAGTGATGA

[0187] > PA015_LC (서열 식별 번호: 41)

[0188] ATGGGCTGGTCCTGCATCATTCTGTTTCTGGTGGCTACCGCCACCGGCGCTCATTCTGATGTGGTCATGACACAGACCCCTCTGAGCCTGTCTGTGACACCT
GGACAGCCTGCCTCCATCTCCTGCAAGTCCTCTCAGTCCATCGTGCACAGCAACGCCCACACCTACCTGGAATGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCTCCT
CAGCTGCTGATCTACAAGGTGTCCAACAGATTCTCTGGCGTGCCCGACAGATTCAGCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCTCTAGAGTG
GAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGTTTCCAAGGCTCTCACGTGCCCGTGACCTTTGGCCAGGGAACAAAGCTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCT
CCTTCCGTGTTCATCTTTCCACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACAGCTTCTGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCTCGGGAAGCCAAGGTG
CAGTGGAAAGTGGATAATGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACTCTACCTACTCTCTGTCCTCCACACTGACC
CTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAAGTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTCAACCGGGGCGAGTGC
TGATGA

[0189] **실시예**

[0190] 실시예 1: 항-KLRG1 항체 생산

[0191] PA015 항체는 KLRG1의 세포외 도메인에 대한 인간화된 IgG1 항체다. 인간 KLRG1에 대한 마우스 단일클론 항체(MAB)는 인간 및 시노몰구스 KLRG1을 이용한 B ALB/c 암컷 마우스 및 SJL 마우스의 표준 면역화 및 후속적인 하이브리도마 스크리닝에 의해 생성되었다. 다양한 수의 항체 히트(hits)를 생성하기 위해 여러 면역화 전략이 사용되었다. 간략하게 설명하자면, SJL 및 Balb/c 마우스를 cDNA, 재조합 항원 또는 관심대상 항원을 발현시키는 CHO 세포로 반복적으로 면역화시켰다. 항원 특이적 항체 역가를 ELISA로 주기적으로 모니터링하였고, 적절한 역가(보통 1:1000과 1:10000 희석 인자 사이)에 도달하면 동물을 희생시켰다. 희생된 마우스의 비장세포를 마우스 골수종 세포와 융합하여 하이브리도마 세포를 생성한 다음, 나중에 배양하여 단일 세포로 서브클로닝했다. 안정한 클론을 규모 확대하고 조건 배지를 수집하여 ELISA 및 FACS를 통해 항-KLRG1 항체 발현에 대해 테스트했다.

[0192] 실시예 2: 인간 KLRG1을 발현시키는 CHOK1 세포에 PA015 결합

[0193] 세포 발현된 인간 및 시노몰구스-KLRG1에 대한 항-KLRG1 단일클론 항체의 결합은 FACS에 의해 수행된다. 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포를 안정적으로 형질감염시켜 전장 인간 KLRG1(CHOK1-hKLRG1))을 발현시켰다. 다양한 농도의 PA015 또는 대조군 인간 IgG1과 함께 CHOK1-hKLRG1 발현 세포를 배양했다. 그런 다음 세포를 원심분리하고 상청액을 버리고 인큐베이션 완충액으로 세척했다. (HBSS + 2% FBS + 10mM Ca2+) 세포를 재현탁시켰고, 항-인간 IgG-Alexa 488과 함께 배양하고, 세척하고, 재현탁하고, FACS 연구를 수행했다. PA015 및 대조군 인간 IgG1과 함께 항온처리된 세포의 평균 형광 강도(MFI)를 도 1에 나타내었다. PA015의 EC50은 1.33nM이었다.

[0194] 실시예 3: 상대 결합 분석에서 KLRG1을 발현하는 CHOK1 세포에 대한 E-캐드헤린 결합의 PA015 억제.

[0195] E-캐드헤린/KLRG1 결합을 억제하는 단일클론 항체의 능력은 FACS에 의해 측정된다.

[0196] 다양한 농도의 PA015 또는 대조군 인간 IgG1과 함께 CHOK1-hKLRG1 발현 세포를 배양했다. 그런 다음, 0.3 μM의 재조합 인간 E-캐드헤린-ECD-FC-비오틴을 첨가하였고, 항온처리했다. 그런 다음 세포를 원심분리하고 상청액을 버리고 인큐베이션 완충액으로 세척했다. (HBSS + 2% FBS + 10mM Ca2+) 세포를 재현탁시켰고, Streptavidin-Alexa 488과 함께 배양하고, 세척하고, 재현탁하고, FACS 연구를 수행했다. PA015 및 대조군 인간 IgG1과 함께 항온처리된 세포의 평균 형광 강도(MFI)를 도 2에 나타내었다. IC50 값은 단일클론 항체의 농도를 0.1에서 100nM까지 변화시키는 함수로서 E-캐드헤린 결합의 손실을 모니터링하여 결정된다. E-캐드헤린 결합의 PA015 억제에 대한 IC50은 8.05nM이었다.

[0197] 실시예 4: HG1N02와 비교하였을 때, PA015의 순도가 우수함

[0198] 실시예 4-6은 본원에 기술된 항체 PA015 및 HG1N02로 지정된 항체를 지칭한다. HG1N02는 WO 2020/060781에서 기술된 항-KLRG1 항체다.

[0199] PA015 및 HG1N02는 ExpiCho 발현 시스템(Thermo Fisher)을 사용하여 1L 규모로 생산되었다. 환원 모세관 전기

영동(rCE)과 비-환원 모세관 전기영동(nrCE)을 수행하였고, 3번의 독립적인 실험을 통해 주요 피크의 백분율을 측정했다. 결과는 HG1N02에 비해 PA015의 CHO 세포 생산 중 우수한 순도를 보여준다(표 3).

[0200] **표 3. HG1N02와 비교한 PA015의 순도**

순도	rCE 주요 피크		nrCE 주요 피크	
시험	PA015	HG1N02	PA015	HG1N02
시험 1	95.7%	91.8%	96.7%	97.1%
시험 2	96.7%	95.0%	98.4%	92.8%
시험 3	97.0%	96.7%	97.3%	96.9%
평균	96.5%	94.5%	97.5%	95.6%

[0201]

[0202] 실시예 5: HG1N02에 비해 PA015의 우수한 열 특성 (용해 및 응집 온도)

[0203] PA015 및 HG1N02는 ExpiCho 발현 시스템(Thermo Fisher)을 사용하여 1L 규모로 생산되었다. 용융온도(Tm)는 풀-스펙트럼 형광법으로 측정하였고, 소분자 응집체 형성(Tagg 266)과 고분자 응집체 형성(Tagg 473)은 UNCLE(Unchained Labs, Inc.)을 이용하여 4시간, 7일, 28일 시점에서 3개의 독립적인 실험에서 정적 광 산란(SLS)으로 측정하였다. 결과는 HG1N02에 비해 PA015의 열적 특성(더 높은 융점 및 응집 온도)이 더 우수하다는 것을 보여준다 (표 4).

[0204] **표 4. HG1N02와 비교한 PA015의 열적 특성.** 온도(섭씨로 표시됨)

열	Tm1		Tagg 266		Tagg 473	
시험	PA015	HG1N02	PA015	HG1N02	PA015	HG1N02
시험 1	69.3	68.3	73.8	70.9	75.0	71.9
시험 2	69.5	68.9	73.3	71.0	74.1	71.7
시험 3	69.3	68.7	74.0	71.6	74.8	72.4
평균	69.4	68.6	73.7	71.2	74.6	72.0

[0205]

[0206] 실시예 6: HG1N02에 비해 PA015의 스트레스 테스트 후 우수한 열 특성 (용융 및 응집 온도)

[0207] PA015와 HG1N02는 4시간, 7일, 28일 동안 열 스트레스, 낮은 pH, 높은 pH 스트레스로 스트레스 테스트를 거쳤다. 용융온도(Tm)는 풀-스펙트럼 형광법으로 측정하였고, 소분자 응집체 형성(Tagg 266)과 고분자 응집체 형성(Tagg 473)은 UNCLE(Unchained Labs, Inc.)을 이용하여 4시간, 7일, 28일 시점에서 정적 광 산란(SLS)으로 측정하였다. 결과는 HG1N02와 비교하여, PA015에 대한 스트레스 테스트 후 열 특성의 우수한 안정성(더 높은 융점 및 응집 온도)을 보여준다(표 5-7).

[0208] 표 5. PA015 및 HG1N02의 40℃일트레스 후 열적 특성.

온도(섭씨로 표시됨)

40°C	Tm1		Tagg 266		Tagg 473	
시점	PA015	HG1N02	PA015	HG1N02	PA015	HG1N02
4 시간	69.6	68.8	73.6	71.2	74.8	72.4
7 일차	65.7	64.7	72.0	69.7	73.3	71.7
28 일차	69.1	68.3	73.8	71.3	75.0	72.5

[0209]

[0210] 표 6. PA015 및 HG1N02의 낮은 pH(3.5) 스트레스 후 열적 특성 온도 (섭씨로 표시).

pH 3.5	Tm1		Tagg 266		Tagg 473	
시점	PA015	HG1N02	PA015	HG1N02	PA015	HG1N02
4 시간	69.0	67.8	73.4	70.5	74.5	71.8
7 일차	68.9	68.1	72.8	69.8	74.3	71.9
28 일차	68.4	68.8	73.1	70.3	74.5	71.1

[0211]

[0212] 표 7. PA015 및 HG1N02의 높은 pH(8.5) 스트레스 후 열적 특성 온도 (섭씨로 표시).

pH 8.5	Tm1		Tagg 266		Tagg 473	
시점	PA015	HG1N02	PA015	HG1N02	PA015	HG1N02
4 시간	69.3	69.1	73.5	70.9	74.1	72.2
7 일차	69.2	68.3	73.2	70.4	74.4	72.2
28 일차	69.4	68.0	73.8	70.9	74.2	71.8

[0213]

[0214] 실시예 7: PA015는 상대적 결합 분석에서 KLRG1을 발현시키는 CHOK1 세포에 대해 E-캐드헤린의 HG1N01 및 HG1N02에 비해 우수한 차단 효과를 나타냈다.

[0215] 다양한 농도의 PA015, HG1N01, HG1N02 또는 대조군 인간 IgG1과 함께 CHOK1-hKLRG1 발현 세포를 배양했다. 그런 다음, 0.3 μM의 재조합 인간 E-캐드헤린-ECD-FC-비오틴을 첨가하였고, 항온처리했다. 세포를 원심분리하고 상청액을 버리고 인큐베이션 완충액으로 세척했다. (HBSS + 2% FBS + 10mM Ca2+) 세포를 재현탁시켰고, Streptavidin-Alexa 488과 함께 배양하고, 세척하고, 재현탁하고, FACS 연구를 수행했다. 항체와 함께 배양된 세포의 평균 형광 강도(MFI)를 도 3에 나타내었다. PA015의 IC50은 5.3nM이었고, HG1N01의 경우 8.3nM이었으며, HG1N02의 경우 7.9nM이었다.

[0216] 실시예 8: PA015는 FACS 결합 분석에서 HG1N02에 비해 인간 CD8+ T 세포에 대한 결합이 우수하다.

[0217] 인간 CD8+ T 세포는 3명의 건강한 공여자로부터 자기(magnetic) 분리에 의해 분리되었고, 다양한 농도의 PA015, HG1N02 또는 대조 인간 IgG1과 함께 항온처리되었으며, 형광 표지된 항-인간-IgG 2차 항체로 검출되었다. 양성 세포의 비율과 EC50 값을 도 4에 나타내었다.

[0218] 실시예 9: PA015는 비인간 영장류에서 HG1N01에 비해 우수한 약동학적 특성을 가지고 있다.

[0219] PA015 및 HG1N01(3mg/kg)을 각각 두 마리의 시노몰구스 원숭이에게 정맥 내로 단일 용량으로 투여했다. 각 항체의 혈청 농도는 42일에 걸쳐 측정되었다 (도 5 및 도 6). HG1N01과 비교하여, PA015는 우수한 청소율(6.99 vs 38.6mL/일/kg), 곡선 하 면적(AUC; 429 vs 77.6일*ug/mL) 및 베타 반감기(6.23 vs 4.7일)를 보여준다 (표 8 및 표 9).

[0220] **표 8. PA015 약동학 매개변수**

PA015 PK 매개변수	단위	원숭이#5	원숭이#6	평균
CL	mL/일/kg	6.97	7.01	6.99
Vss	mL/kg	64.6	58.9	61.7
V1	mL/kg	44.2	40.9	42.6
알파 $t_{1/2}$	일	0.414	0.0173	0.216
베타 $t_{1/2}$	일	6.64	5.83	6.23
AUC	일*μg/mL	431	428	429
MRT	일	9.27	8.4	8.84

[0221]

[0222] **표 9. HG1N01 약동학 매개변수**

HG1N01 PK 매개변수	단위	원숭이#1	원숭이#2	평균
CL	mL/일/kg	38.8	38.5	38.6
Vss	mL/kg	63.8	62.6	63.2
V1	mL/kg	42	43.1	42.6
알파 $t_{1/2}$	일	0.679	0.704	0.692
베타 $t_{1/2}$	일	4.82	4.58	4.7
AUC	일*μg/mL	77.4	77.9	77.6
MRT	일	1.65	1.63	1.64

[0223]

[0224] 실시예 10: PA015는 HG1N02에 비해 개선된 탈아미드화 속성을 갖는다.

[0225] HG1N02에는 이론적인 탈아미드화 위험(경쇄 잔기 N33에서 NG)이 있다. 그러나 임상적으로 승인된 131개의 치료용 mAb에 대한 연구에서 (Lu Y et al. MAbs. 2019 Jan;11(1):45-57), CDR NG 부위의 48%(13/27)는 실제로 스트레스 조건 하에서 탈아미드화가 발생하지 않았고, 따라서 시퀀스는 실제로 탈아미드화의 진행을 예측하지 않는다. 스트레스가 없는 PA015 및 HG1N02의 트립신 펩티드 매핑은 PA015가 주요 N33 경쇄 CDR 잔기에서 HG1N02보다 탈아미드화가 적다는 것을 보여주었다 (도 7). 참고자료 편입

[0226] 본 명세서에 언급된 각각의 모든 U.S. 및 외국 특허 및 계류 중인 특허 출원 및 간행물의 개시 내용은 서열 목록 및 도면의 내용과 마찬가지로 그 전체가 참고로 본 명세서에 구체적으로 편입된다. PCT/US2019/050110(WO2020060781로 공개됨)의 교시 내용은 그 전체가 참조로 본원에 편입된다.

[0227] 등가물(EQUIVALENTS)

[0228] 당업자는 본 명세서에 기술되고 첨부 도면에 도시된 개시 내용이 비제한적인 예시적 실시예이며, 본 개시 내용의 범위가 청구범위에 의해서만 정의된다는 것을 이해할 것이다. 하나의 예시적인 실시예와 관련하여 도시되거나 설명된 특징은 다른 실시예의 특징과 결합될 수 있다. 이러한 수정 및 변형은 본 개시의 범위 내에 포함되도록 의도된다. 당업자는 일상적인 실험을 사용하여 본 명세서에 기재된 특정 구체예에 대한 많은 등가물을 인식하거나 또는 확인할 수 있을 것이다. 이러한 등가물은 다음의 청구범위에 포괄된다. 임의의 복수의 종속항 또는 실시예에 개시된 실시예의 임의의 조합은 본 개시의 범위 내에 있는 것으로 고려된다.

[0229] 기타 구체예들

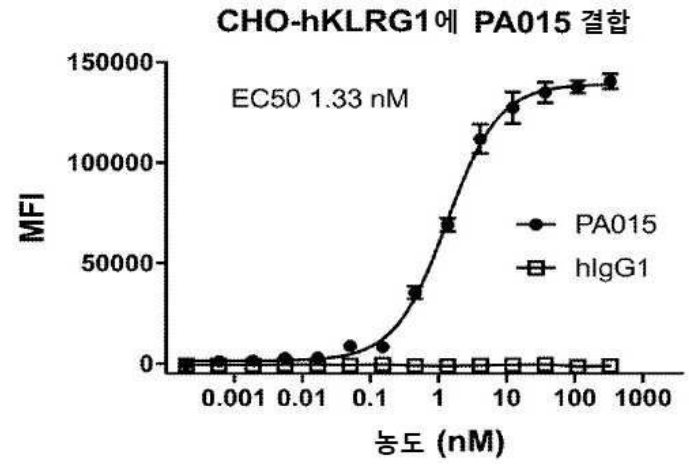
[0230] 전술한 설명으로부터, 다음을 갖는 본 발명의 항체를 발현하기 위한 다양한 신호 서열 및 핵산 서열의 사용을 포함하여, 다양한 용도 및 조건에 이를 채택하기 위해 본 명세서에 기술된 본 발명에 변형 및 변형이 이루어질 수 있다는 것이 명백할 것이며, 동일하거나 유사한 단백질 서열은 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 간주된다. 본 발명에 따른 다른 구체예들은 다음의 청구범위 내에 있다.

[0231] 본 명세서에서 변수의 정의에 있는 요소 목록을 언급하는 것은 나열된 요소의 임의의 단일 요소 또는 조합(또는 하위 조합)으로서의 변수의 정의를 내포한다. 본 명세서의 구체예들에 대한 언급에는 임의의 단일 구체예로서의 구체예 또는 임의의 다른 구체예 또는 그 부분과의 조합들이 내포된다.

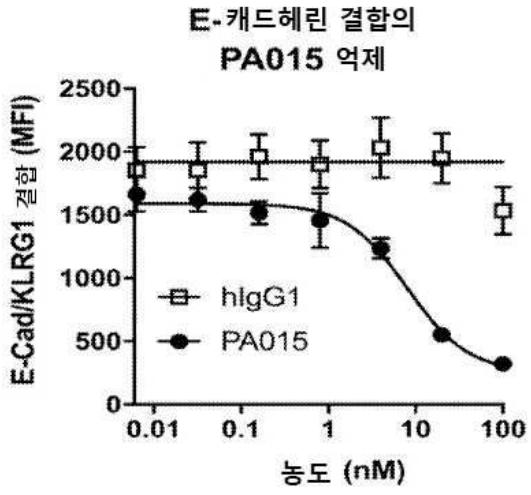
[0232] 명세서에 언급된 모든 간행물 및 특허 출원은 본 명세서에 속하는 기술 분야의 숙련자의 기술 수준을 나타낸다.

도면

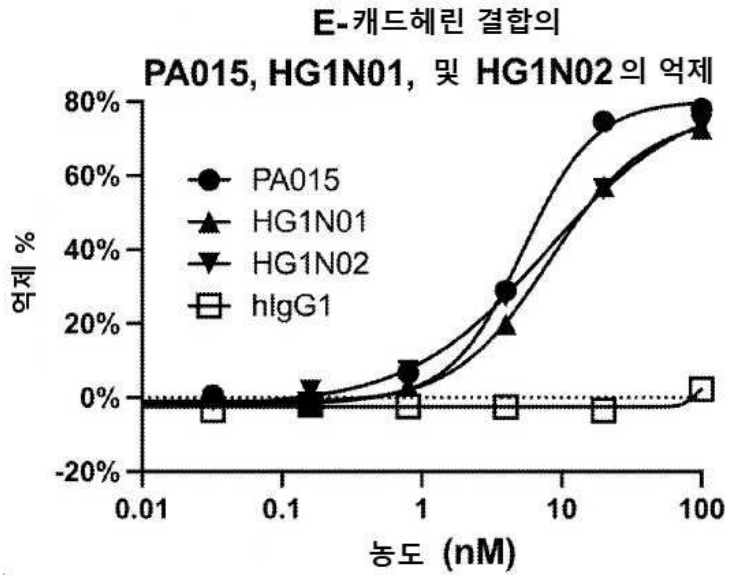
도면1


CHO-hKLRG1에 PA015 결합
EC50 1.33 nM
MFI
150000
100000
50000
0
PA015
hIgG1
0.001 0.01 0.1 1 10 100 1000
농도 (nM)

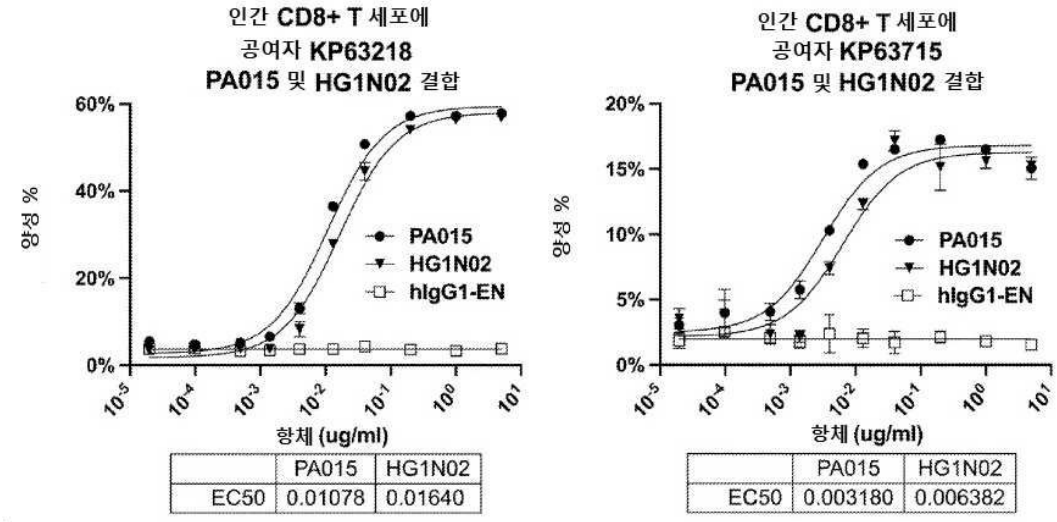
도면2


E-캐드헤린 결합의
PA015 억제
E-Cad/KLRG1 결합 (MFI)
2500
2000
1500
1000
500
0
hIgG1
PA015
0.01 0.1 1 10 100
농도 (nM)

도면3



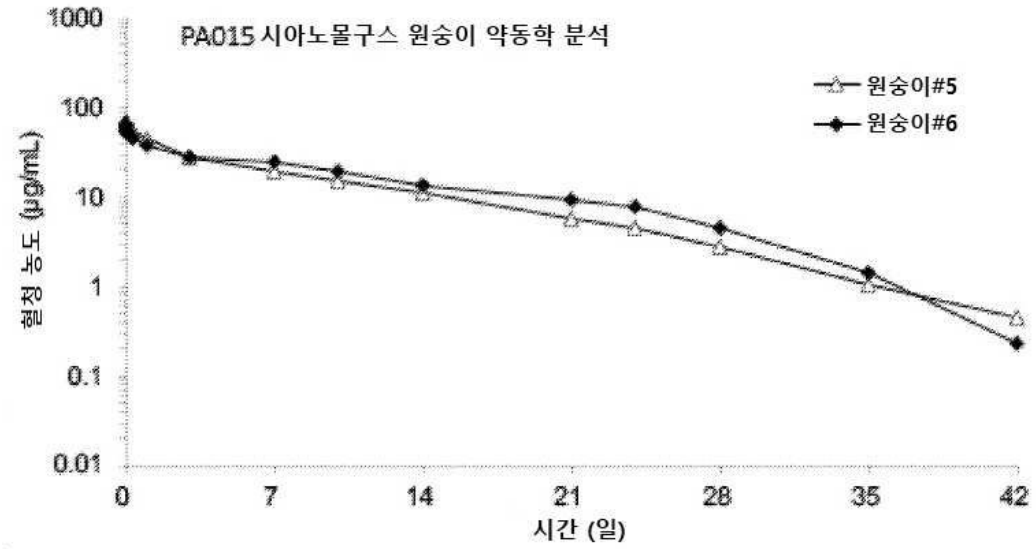
도면4



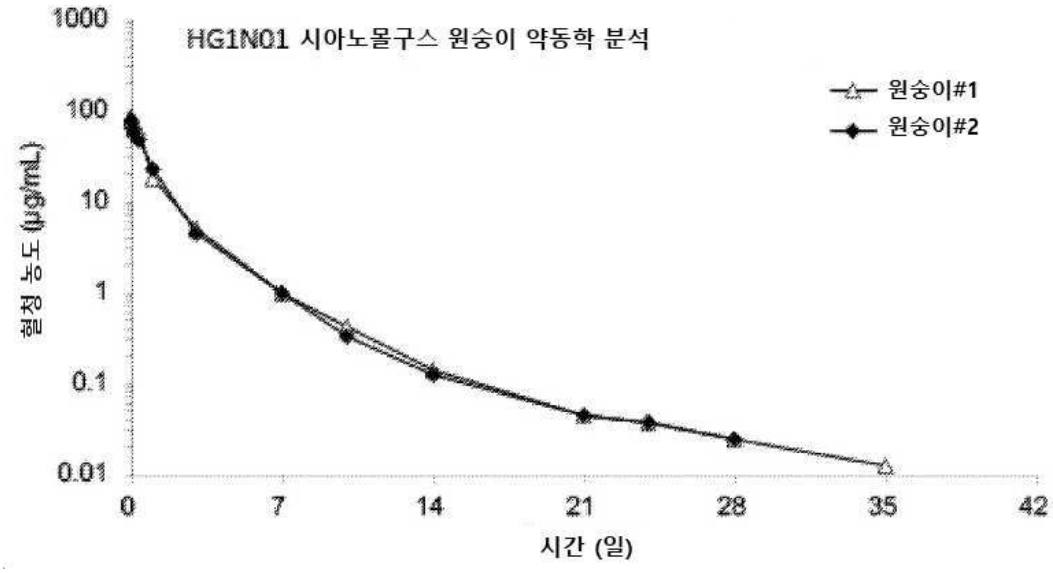
	PA015	HG1N02
EC50	0.01078	0.01640

	PA015	HG1N02
EC50	0.003180	0.006382

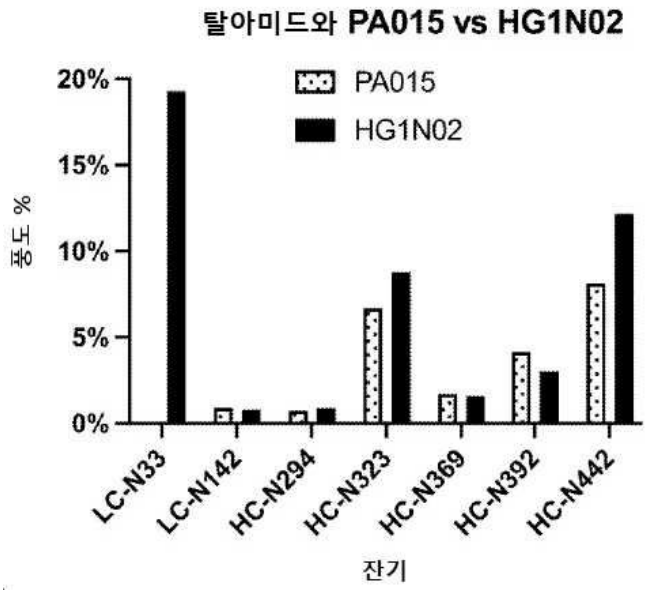
도면5


PA015 시아노몰구스 원숭이 약동학 분석
원숭이#5
원숭이#6
혈청 농도 (μg/mL)
1000
100
10
1
0.1
0.01
0
7
14
21
28
35
42
시간 (일)

도면6


HG1N01 시아노몰구스 원숭이 약동학 분석
원숭이#1
원숭이#2
혈청 농도 (μg/mL)
1000
100
10
1
0.1
0.01
0
7
14
21
28
35
42
시간 (일)

도면7



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> ABCURO, INC.

<120> ANTI-KLRG1 ANTIBODIES

<130> 770808.000043

<140><141><150> 63/294,436

<151> 2021-12-29

<150> 63/166,663

<151> 2021-03-26

<160> 43

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 130

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Leu Cys Gln Gly Ser Asn Tyr Ser Thr Cys Ala Ser Cys Pro Ser Cys

1 5 10 15

Pro Asp Arg Trp Met Lys Tyr Gly Asn His Cys Tyr Tyr Phe Ser Val

20 25 30

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

Ser Asn Ser Phe Val Gln Thr Cys Gly Ala Ile Asn Lys Asn Gly Leu
100 105 110
Gln Ala Ser Ser Cys Glu Val Pro Leu His Trp Val Cys Lys Lys Val
115 120 125
Arg Leu
130

<210> 2
<211> 130
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis
<400> 2
Leu Cys Gln Gly Ser Lys Tyr Ser Thr Cys Ala Ser Cys Pro Ser Cys
1 5 10 15
Pro Asp His Trp Met Lys Tyr Gly Asn His Cys Tyr Tyr Phe Ser Val

20 25 30
Glu Lys Lys Asp Trp Ile Ser Ser Leu Glu Phe Cys Leu Ala Arg Asp
35 40 45
Ser His Leu Leu Met Ile Thr Asp Lys Gln Glu Met Ser Leu Leu Gln
50 55 60
Asp Phe Leu Ser Glu Ala Phe His Trp Val Gly Leu Arg Asn Asn Ser
65 70 75 80
Gly Trp Arg Trp Glu Asp Gly Ser Pro Leu Asn Phe Ser Arg Ile Tyr

85 90 95
Ser Asn Ser Leu Val Gln Thr Cys Gly Ala Ile Asn Lys Asn Ser Leu

100 105 110

Gln Ala Ser Ser Cys Glu Val Ser Leu Gln Trp Val Cys Lys Lys Val

115 120 125

Ser Pro

130

<210> 3

<211> 728

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Asp Trp Val Ile Pro Pro Ile Ser Cys Pro Glu Asn Glu Lys Gly Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

Lys Val Phe Tyr Ser Ile Thr Gly Gln Gly Ala Asp Thr Pro Pro Val

35 40 45

Gly Val Phe Ile Ile Glu Arg Glu Thr Gly Trp Leu Lys Val Thr Glu

50 55 60

Pro Leu Asp Arg Glu Arg Ile Ala Thr Tyr Thr Leu Phe Ser His Ala

65 70 75 80

Val Ser Ser Asn Gly Asn Ala Val Glu Asp Pro Met Glu Ile Leu Ile

85 90 95

Thr Val Thr Asp Gln Asn Asp Asn Lys Pro Glu Phe Thr Gln Glu Val

100 105 110

Phe Lys Gly Ser Val Met Glu Gly Ala Leu Pro Gly Thr Ser Val Met

115 120 125

Glu Val Thr Ala Thr Asp Ala Asp Asp Asp Val Asn Thr Tyr Asn Ala

130 135 140

Ala Ile Ala Tyr Thr Ile Leu Ser Gln Asp Pro Glu Leu Pro Asp Lys

145 150 155 160

Asn Met Phe Thr Ile Asn Arg Asn Thr Gly Val Ile Ser Val Val Thr

165 170 175

Thr Gly Leu Asp Arg Glu Ser Phe Pro Thr Tyr Thr Leu Val Val Gln
180 185 190
Ala Ala Asp Leu Gln Gly Glu Gly Leu Ser Thr Thr Ala Thr Ala Val
195 200 205

Ile Thr Val Thr Asp Thr Asn Asp Asn Pro Pro Ile Phe Asn Pro Thr
210 215 220
Thr Tyr Lys Gly Gln Val Pro Glu Asn Glu Ala Asn Val Val Ile Thr
225 230 235 240
Thr Leu Lys Val Thr Asp Ala Asp Ala Pro Asn Thr Pro Ala Trp Glu
245 250 255
Ala Val Tyr Thr Ile Leu Asn Asp Asp Gly Gly Gln Phe Val Val Thr
260 265 270

Thr Asn Pro Val Asn Asn Asp Gly Ile Leu Lys Thr Ala Lys Gly Leu
275 280 285
Asp Phe Glu Ala Lys Gln Gln Tyr Ile Leu His Val Ala Val Thr Asn
290 295 300
Val Val Pro Phe Glu Val Ser Leu Thr Thr Ser Thr Ala Thr Val Thr
305 310 315 320
Val Asp Val Leu Asp Val Asn Glu Ala Pro Ile Phe Val Pro Pro Glu
325 330 335

Lys Arg Val Glu Val Ser Glu Asp Phe Gly Val Gly Gln Glu Ile Thr
340 345 350
Ser Tyr Thr Ala Gln Glu Pro Asp Thr Phe Met Glu Gln Lys Ile Thr
355 360 365
Tyr Arg Ile Trp Arg Asp Thr Ala Asn Trp Leu Glu Ile Asn Pro Asp
370 375 380
Thr Gly Ala Ile Ser Thr Arg Ala Glu Leu Asp Arg Glu Asp Phe Glu
385 390 395 400

His Val Lys Asn Ser Thr Tyr Thr Ala Leu Ile Ile Ala Thr Asp Asn
405 410 415
Gly Ser Pro Val Ala Thr Gly Thr Gly Thr Leu Leu Leu Ile Leu Ser

420 425 430

Asp Val Asn Asp Asn Ala Pro Ile Pro Glu Pro Arg Thr Ile Phe Phe

435 440 445

Cys Glu Arg Asn Pro Lys Pro Gln Val Ile Asn Ile Ile Asp Ala Asp

450 455 460

Leu Pro Pro Asn Thr Ser Pro Phe Thr Ala Glu Leu Thr His Gly Ala

465 470 475 480

Ser Ala Asn Trp Thr Ile Gln Tyr Asn Asp Pro Thr Gln Glu Ser Ile

485 490 495

Ile Leu Lys Pro Lys Met Ala Leu Glu Val Gly Asp Tyr Lys Ile Asn

500 505 510

Leu Lys Leu Met Asp Asn Gln Asn Lys Asp Gln Val Thr Thr Leu Glu

515 520 525

Val Ser Val Cys Asp Cys Glu Gly Ala Ala Gly Val Cys Arg Lys Ala

530 535 540

Gln Pro Val Glu Ala Gly Leu Gln Ile Pro Ala Ile Leu Gly Ile Leu

545 550 555 560

Gly Gly Ile Leu Ala Leu Leu Ile Leu Ile Leu Leu Leu Leu Leu Phe

565 570 575

Leu Arg Arg Arg Ala Val Val Lys Glu Pro Leu Leu Pro Pro Glu Asp

580 585 590

Asp Thr Arg Asp Asn Val Tyr Tyr Tyr Asp Glu Glu Gly Gly Gly Glu

595 600 605

Glu Asp Gln Asp Phe Asp Leu Ser Gln Leu His Arg Gly Leu Asp Ala

610 615 620

Arg Pro Glu Val Thr Arg Asn Asp Val Ala Pro Thr Leu Met Ser Val

625 630 635 640

Pro Arg Tyr Leu Pro Arg Pro Ala Asn Pro Asp Glu Ile Gly Asn Phe

645 650 655

Ile Asp Glu Asn Leu Lys Ala Ala Asp Thr Asp Pro Thr Ala Pro Pro

660 665 670

Tyr Asp Ser Leu Leu Val Phe Asp Tyr Glu Gly Ser Gly Ser Glu Ala
675 680 685
Ala Ser Leu Ser Ser Leu Asn Ser Ser Glu Ser Asp Lys Asp Gln Asp
690 695 700
Tyr Asp Tyr Leu Asn Glu Trp Gly Asn Arg Phe Lys Lys Leu Ala Asp
705 710 715 720

Met Tyr Gly Gly Gly Glu Asp Asp
725

<210> 4
<211> 125
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence:
Synthetic polypeptide
<400> 4
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe
20 25 30
Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

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

100 105 110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 5

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic polypeptide

<400> 5

Asp Val 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 Gln Ser Ile Val His Ser

20 25 30

Asn Ala His Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln 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 Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

85 90 95

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

100 105 110

Arg Thr Val

115

<210> 6

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic polypeptide

<400> 6

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 7

<211> 104

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic polypeptide

<400> 7

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

1 5 10 15

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg

20 25 30

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn

35 40 45

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys

65 70 75 80

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr

85 90 95

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100

<210> 8

<211> 455

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic polypeptide

<400> 8

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

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe

20 25 30

Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Trp Tyr Glu Leu Ala

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Ile Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Val Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Ala Tyr Tyr Ser Met

100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr

115 120 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser

130 135 140

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu

145 150 155 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His

165 170 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser

180 185 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys

195 200 205

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu

210 215 220

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

225 230 235 240

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

245 250 255

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

260 265 270

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

275 280 285

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

290 295 300

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

305 310 315 320

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

325 330 335

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

340 345 350

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

355 360 365

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

370 375 380

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

385 390 395 400

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

405 410 415

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

420 425 430

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

435 440 445

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

450 455

<210> 9

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:
Synthetic polypeptide

<400> 9

Asp Val 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 Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30

Asn Ala His Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln 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 Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Val Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 10

Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe Gly Met

1 5

<210> 11

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 11

Trp Trp Asp Asp Asp

1 5

<210> 12

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 12

Val Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Ala Tyr Tyr Ser Met Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 13

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 13

Lys Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Ala His Thr Tyr Leu Glu

1 5 10 15

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 14

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 15

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Val Thr

1 5

<210> 16

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 16

Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe Gly Met Gly Val Gly

1 5 10

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 17

His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Trp

1 5

<210> 18

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 18

Val Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Ala Tyr Tyr Ser Met Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 19

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 19

Lys Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Ala His Thr Tyr Leu Glu

1 5 10 15

<210> 20

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 20

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 21

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Val Thr

1 5

<210> 22

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 22

Thr Phe Gly Met Gly Val Gly

1 5

<210> 23

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 23

His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Trp Tyr Glu Leu Ala Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 24

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 24

Val Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Ala Tyr Tyr Ser Met Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 25

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 25

Lys Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Ala His Thr Tyr Leu Glu

1 5 10 15

<210> 26

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 26

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 27

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 27

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Val Thr

1 5

<210> 28

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 28

Ser Thr Phe Gly Met Gly Val Gly

1 5

<210> 29

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 29

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Trp

1 5 10

<210> 30

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 30

Ala Arg Val Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Ala Tyr Tyr Ser Met Asp

1 5 10 15

<210> 31

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 31

Val His Ser Asn Ala His Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr

1 5 10

<210> 32

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 32

Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe

1 5 10

<210> 33

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 33

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Val

1 5

<210> 34

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 34

Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe Gly Met Gly

1 5 10

<210> 35

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 35

Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 36

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 36

Ala Arg Val Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Ala Tyr Tyr Ser Met Asp

1 5 10 15

Tyr

<210> 37

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 37

Gln Ser Ile Val His Ser Asn Ala His Thr Tyr

1 5 10

<210> 38

<211> 2

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 38

Lys Val

1

<210> 39

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 39

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Val Thr

1 5

<210> 40

<211> 1428

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic polynucleotide

<400> 40

atgggctggt cctgcatcat tctgtttctg gtggctaccg ccaccggcgc tcattctcaa 60

gtgacactga gagagtctgg ccccgctctg gtcaagccta cacagaccct gacactgacc 120

tgcaccgtgt ctggcttctc cctgtctacc tttggcatgg gcgtcggctg gattagacag 180

cctcctggaa aagccctgga atggctggcc cacatttggt gggacgacga caagtggtac 240

gagctggctc tgaagtcccg gctgaccatc tccaaggaca cctccaagaa tcaggtggtg 300

ctgacaatca ccaacatgga ccctgtggac accgccacct actactgcgc cagagtgatc 360

tactacggct ccagatccgc ctactactcc atggattatt ggggccaggg caccaccgtg 420

accgtgtcct ctgcttctac aaagggcccc tctgtgttcc ctctggctcc ttcctctaaa 480

tccacctctg gcggaaccgc tgctctgggc tgtctcgtga aggattactt ccctgagcct 540

gtgacagtgt cctggaatag cggtgctctg acatccggcg tgcacacctt tccagctgtg 600

ctgcagtcct ctggcctgta ctctctgtcc tctgtcgtga cagtgccttc cagctctctg 660

ggcacccaga cctacatctg caacgtgaac cacaagcctt ccaacaccaa ggtggacaag 720

aaggtggaac ccaagtcctg cgacaagacc cacacctgtc ctccatgtcc tgctccagaa 780

gctgctggcg ctccctccgt gtttctgttc cctccaaagc ctaaggacac cctgatgatc 840

tctcggaccc ctgaagtgac ctgcgtggtg gtggatgtgt ctcacgagga tcccgaagtg 900

aagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa gtgcacaacg ccaagaccaa gcctagagag 960

gaacagtaca actccaccta cagagtggtg tccgtgctga ccgtgctgca ccaggattgg 1020

ctgaacggca aagagtacaa gtgcaaggtg tccaacaagg ccctgcctgc tcctatcgaa 1080

aagaccatca gcaaggctaa gggccagcct cgggaacctc aggtttacac cctgcctcca 1140

tctcgggaag agatgacaaa gaaccaggtg tccctgacct gcctggtcaa gggcttctac 1200

ccttccgaca ttgccgtgga atgggagtcc aatggccagc ctgagaacaa ctacaagaca 1260

acccctcctg tgctggactc cgacggctca ttcttcctgt actccaagct gacagtggac 1320

aagtctcggt ggcagcaggg caacgtgttc tcctgttctg tgatgcacga ggccctgcac 1380

aaccactaca cccagaagtc cctgtctctg tcccctggca agtgatga 1428

<210> 41

<211> 720

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic polynucleotide

<400> 41

atgggctggt cctgcatcat tctgtttctg gtggctaccg ccaccggcgc tcattctgat 60

gtggtcatga cacagacccc tctgagcctg tctgtgacac ctggacagcc tgcctccatc 120

tcctgcaagt cctctcagtc catcgtgcac agcaacgccc acacctacct ggaatggtat 180

ctgcagaagc ccggccagtc tcctcagctg ctgatctaca aggtgtccaa cagattctct 240

ggcgtgcccg acagattcag cggctctggc tctggcaccg acttcaccct gaagatctct 300

agagtggaag ccgaggacgt gggcgtgtac tactgtttcc aaggctctca cgtgcccgtg 360

acctttggcc agggaacaaa gctggaaatc aagcggaccg tggccgctcc ttccgtgttc 420

atctttccac cttccgacga gcagctgaag tccggcacag cttctgtcgt gtgcctgctg 480

aacaacttct accctcggga agccaaggtg cagtggaaag tggataatgc cctgcagtcc 540

ggcaactccc aagagtctgt gaccgagcag gactccaagg actctaccta ctctctgtcc 600

tccacactga ccctgtccaa ggccgactac gagaagcaca aggtgtacgc ctgtgaagtg 660

acccaccagg gactgtctag ccccgtgacc aagtctttca accggggcga gtgctgatga 720

<210> 42

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 42

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 43

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence:

Synthetic peptide

<400> 43

Cys Asn Gly Arg Cys

1 5