



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0051643
(43) 공개일자 2025년04월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/28 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2025-7001435
(22) 출원일자(국제) 2023년06월21일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2025년01월15일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2023/101761
(87) 국제공개번호 WO 2023/246879
국제공개일자 2023년12월28일
(30) 우선권주장
PCT/CN2022/100315 2022년06월22일 중국(CN)

(71) 출원인
라노바 메디신즈 디벨롭먼트 컴퍼니 리미티드
중국 상하이 201203 푸둥 뉴 에이리어 카일룬 로
드 999 빌딩1 플로어5
(72) 발명자
리 룬셴
중국 상하이 201203 푸둥 뉴 에이리어 카일룬 로
드 999 빌딩 1 5층
황 웬타오
중국 상하이 201203 푸둥 뉴 에이리어 카일룬 로
드 999 빌딩 1 5층
리 이판
중국 상하이 201203 푸둥 뉴 에이리어 카일룬 로
드 999 빌딩 1 5층
(74) 대리인
특허법인와이에스장

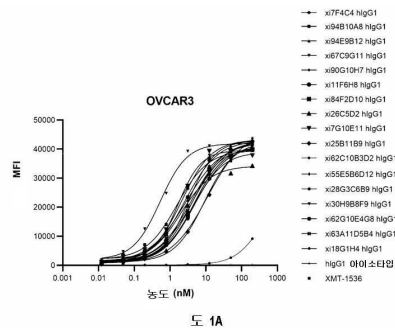
전체 청구항 수 : 총 24 항

(54) 발명의 명칭 항-SLC34A2 단클론성 항체 및 그것의 용도

(57) 요약

인간 용질 운반체 34 A2(SLC34A2) 단백질에 대한 결합 특이성을 갖는 항체 또는 그것의 단편이 제공된다. 이들 항체는 높은 친화도로 SLC34A2에 결합할 수 있고 항체 의존성 세포의 세포독성(ADCC)을 매개할 수 있으며 세포내 이입을 효과적으로 유도할 수 있다. 또한 암을 치료하는 방법 및 암 치료 용도가 제공된다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/33 (2013.01)

C07K 2317/732 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

인간 용질 운반체 34 A2(SLC34A2) 단백질에 대한 결합 특이성을 갖는 항체 또는 그것의 단편으로서, 항체 또는 그것의 단편은 중쇄 상보성 결정 영역 CDRH1, CDRH2, 및 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 상보성 결정 영역 CDRL1, CDRL2, 및 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하며,

- (a) CDRH1은 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하고,
CDRH2는 서열 번호: 52 또는 57의 아미노산 서열을 포함하며,
CDRH3은 서열 번호: 53의 아미노산 서열을 포함하고,
CDRL1은 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함하며,
CDRL2는 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고,
CDRL3은 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하거나,
- (b) CDRH1은 서열 번호: 66의 아미노산 서열을 포함하고,
CDRH2는 서열 번호: 67 또는 72의 아미노산 서열을 포함하며,
CDRH3은 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하고,
CDRL1은 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하며,
CDRL2는 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하고,
CDRL3은 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함하거나,
- (c) CDRH1은 서열 번호: 81의 아미노산 서열을 포함하고,
CDRH2는 서열 번호: 82 또는 87의 아미노산 서열을 포함하며,
CDRH3은 서열 번호: 83의 아미노산 서열을 포함하고,
CDRL1은 서열 번호: 84의 아미노산 서열을 포함하며,
CDRL2는 서열 번호: 85의 아미노산 서열을 포함하고,
CDRL3은 서열 번호: 86의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는
- (d) CDRH1은 서열 번호: 96의 아미노산 서열을 포함하고,
CDRH2는 서열 번호: 97 또는 102의 아미노산 서열을 포함하며,
CDRH3은 서열 번호: 98 또는 103의 아미노산 서열을 포함하고,
CDRL1은 서열 번호: 99의 아미노산 서열을 포함하며,
CDRL2는 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하고,
CDRL3은 서열 번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 그것의 단편.

청구항 2

제1항에 있어서, CDRH1은 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하고, CDRH2는 서열 번호: 52의 아미노산 서열을 포함하며, CDRH3은 서열 번호: 53의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL1은 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함하며, CDRL2는 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL3은 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 또는 그것의 단편.

청구항 3

제2항에 있어서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 1 및 58-61로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 2 및 62-65로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 또는 그것의 단편.

청구항 4

제2항에 있어서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호:59의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호:62의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 또는 그것의 단편.

청구항 5

제1항에 있어서, CDRH1은 서열 번호: 66의 아미노산 서열을 포함하고, CDRH2는 서열 번호: 67 또는 72의 아미노산 서열을 포함하며, CDRH3은 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL1은 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하며, CDRL2는 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL3은 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 또는 그것의 단편.

청구항 6

제5항에 있어서, CDRH2는 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 또는 그것의 단편.

청구항 7

제5항에 있어서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 3 및 73-76으로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 4 및 77-80으로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 또는 그것의 단편.

청구항 8

제5항에 있어서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호:76의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호:79의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 또는 그것의 단편.

청구항 9

제1항에 있어서, CDRH1은 서열 번호: 81의 아미노산 서열을 포함하고, CDRH2는 서열 번호: 82 또는 87의 아미노산 서열을 포함하며, CDRH3은 서열 번호: 83의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL1은 서열 번호: 84의 아미노산 서열을 포함하며, CDRL2는 서열 번호: 85의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL3은 서열 번호: 86의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 또는 그것의 단편.

청구항 10

제9항에 있어서, CDRH2는 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 또는 그것의 단편.

청구항 11

제9항에 있어서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 5 및 88-91로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 6 및 92-95로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 또는 그것의 단편.

청구항 12

제9항에 있어서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호:90의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호:92의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 또는 그것의 단편.

청구항 13

제1항에 있어서, CDRH1은 서열 번호: 96의 아미노산 서열을 포함하고, CDRH2는 서열 번호: 97 또는 102의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 또는 그것의 단편.

노산 서열을 포함하며, CDRH3은 서열 번호: 98 또는 103의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL1은 서열 번호: 99의 아미노산 서열을 포함하며, CDRL2는 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL3은 서열 번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 또는 그것의 단편.

청구항 14

제13항에 있어서, CDRH2는 서열 번호: 97의 아미노산 서열을 포함하고, CDRH3은 서열 번호: 98의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 또는 그것의 단편.

청구항 15

제13항에 있어서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 7 및 104-107로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 8 및 108-111로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 또는 그것의 단편.

청구항 16

제13항에 있어서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 105의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 110의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 또는 그것의 단편.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 인간화된 것을 특징으로 하는 항체 또는 그것의 단편.

청구항 18

항체 또는 그것의 단편으로서, 인간 용질 운반체 34 A2(SLC34A2) 단백질에 대한 결합 특이성을 가지며 제1항의 항체 또는 그것의 단편과 동일한 SLC34A2 단백질 상의 에피토프에 결합하거나, 또는 SLC34A2 단백질에 대한 결합에서 제1항의 항체 또는 그것의 단편과 경쟁하는, 항체 또는 그것의 단편.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 항체 또는 그것의 단편 및 제약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물.

청구항 20

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 항체 또는 그것의 단편을 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드.

청구항 21

제20항의 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 세포.

청구항 22

필요로 하는 환자에서 암을 치료하는 방법으로서, 제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 항체 또는 그것의 단편을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 23

암 치료를 위한 의약의 제조를 위한 제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 항체 또는 그것의 단편의 용도.

청구항 24

제22항 또는 제23항에 있어서, 암은 방광암, 간암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 백혈병, 림프종, 췌장암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 유방암, 요도암, 두경부암, 위장암, 위암, 식도암, 난소암, 신장암, 흑색종, 전립선암 및 갑상선암으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법 또는 용도.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 항-SLC34A2 단클론성 항체 및 그것의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 글루코스 수송체 GLUT, ATP 결합 카세트 수송체 ABC, 및 용질 운반 수송체 SLC 패밀리에 속하는 수송체와 같은 세포막 수송체 단백질은 인접한 정상 세포와 비교하여 암 세포 상에서 자주 상향조절된다. 높은 수준의 수송체가 광범위한 고형 종양에서 발견되며, 이는 낮은 생존율과 상관관계가 있다. 잠재적 분자 종양 마커 중 하나는 SLC34A2(용질 운반체 34 A2) 유전자에 의해 암호화된 나트륨 의존성 인산염 수송체 NaPi2b일 수 있다.

[0003] SLC34A2는 세포간 무기 인산염 흡수를 담당하는 다중 막관통 나트륨 의존성 인산염 수송체인 유형 II Na/Pi 공동수송체(NaPi2b)를 암호화한다. NaPi2b는 소장외 브러시-경계막(brush-border membrane)에 매우 풍부한데, 그곳에서 상피 세포의 정단막을 통해 무기 인산염의 세포간 플럭스에 관여한다. 나트륨 의존성 인산염 수송체 NaPi2b의 변화된 발현이 난소암(ovarian cancer), 폐암(lung cancer), 위암(gastric cancer), 갑상선암(thyroid cancer), 및 기타 암에서 보고되었다.

[0004] 현재, NaPi2b는 난소암과 폐암의 치료를 위한 임상 시험 중인 치료 항체 XMT-1536 및 RG-7599에 대한 표적이다. 이 단백질을 표적으로 하는 보다 효능이 있고 안전한 임상 후보를 개발할 필요성이 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 항-SLC34A2 항체는 인간 SLC34A2 단백질에 대해 매우 높은 결합 친화도를 가졌으며 항체 의존성 세포의 세포독성(ADCC)을 매개하고, 세포독성을 유도하는데 효율적인 것으로 본원에서 발견되었다. 2개의 벤치마크 항체인 XMT-1536 및 RG-7599와 비교할 때, 본 발명에서 발견된 항체는 더 높은 일반적인 결합 친화성, 훨씬 개선된 중간 반응성, 보다 강력한 ADCC 및 세포독성을 나타냈다. 그러므로, 이들 항체는 암과 같은 질환을 치료하기 위해 적합하게 사용될 수 있다.

과제의 해결 수단

[0006] 한 구체예에서, 인간 SLC34A2 단백질에 대해 특이성을 가진 항체 또는 그것의 단편이 제공된다. 일부 구체예에서, 항체 또는 그것의 단편은 중쇄 상보성 결정 영역 CDRH1, CDRH2, 및 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 상보성 결정 영역 CDRL1, CDRL2, 및 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0007] 또한, 일부 구체예에서, 항체 또는 단편을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드, 및 항체 또는 그것의 단편 및 제약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물이 제공된다.

[0008] 질환 및 병태의 치료를 위한 방법 및 용도가 또한 제공된다. 한 구체예에서, 본 개시의 항체 또는 그것의 단편을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 필요로 하는 환자에서 암을 치료하는 방법이 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0009] 도 1A-B는 OVCAR3 세포 상에서 내인적으로 발현된 SLC34A2에 대한 키메라 항체의 결합 친화도를 도시한다.

도 2A-B는 HEK293 세포 상에서 발현된 인간 SLC34A2에 대한 키메라 항체의 결합 친화도를 도시한다.

도 3은 RMG-1 세포 상에서 인간 SLC34A2에 대한 키메라 항체의 결합 친화도를 도시한다.

도 4는 HEK293 세포 상에서 발현된 리서스(Rhesus) SLC34A2에 대한 키메라 항체의 결합 친화도를 도시한다.

도 5는 CHC-K1 세포 상에서 발현된 시노(Cyno) SLC34A2에 대한 키메라 항체의 결합 친화도를 도시한다.

도 6A-B는 HEK293 세포 상에서 발현된 래트(6A) 및 마우스(6B) SLC34A2에 대한 키메라 항체의 결합 친화도를 도시한다.

도 7A-B는 인간 SLC34A2를 발현하는 HEK293 세포에 대한 키메라 항체의 ADCC 활성을 도시한다.

도 8A-B는 인간 SLC34A2를 발현하는 HEK293 세포에 대한 키메라 항체의 세포독성 활성을 도시한다.

도 9A-C는 인간 SLC34A2를 발현하는 HEK293 세포에 대한 PTM 위험제거 항체의 결합 활성을 도시한다.

도 10은 OVCAR3 세포 상에서 내인적으로 발현된 SLC34A2에 대한 PTM 위험제거 항체의 결합 활성을 도시한다.

도 11은 HEC293 세포 상에서 발현된 리서스 SLC34A2에 대한 PTM 위험제거 항체의 결합 활성을 도시한다.

도 12A-D는 OVCAR3 세포 상에서 내인적으로 발현된 SLC34A2에 대한 인간화된 항체의 결합 활성을 도시한다.

도 13A-D는 상이한 유형의 세포 상에서 인간 SLC34A2에 대한 인간화된 항체의 결합 활성을 도시한다.

도 14는 HEC293 세포 상에서 발현된 리서스 SLC34A2에 대한 인간화된 항체의 결합 활성을 도시한다.

도 15는 HEC293 세포 상에서 발현된 래트 SLC34A2에 대한 인간화된 항체의 결합 활성을 도시한다.

도 16은 HEC293 세포 상에서 발현된 마우스 SLC34A2에 대한 인간화된 항체의 결합 활성을 도시한다.

도 17은 인간 SLC34A2를 발현하는 HEC293 세포에 대한 인간화된 항체의 ADCC 활성을 도시한다.

도 18은 상이한 세포주 상에서 SLC34A2 결합과 관련하여 선택된 인간화된 항체를 벤치마킹하는 항체와 비교한 것을 도시한다.

도 19는 선택된 인간화된 항체의 교차 반응성을 벤치마킹하는 것과 비교한 것을 도시한다.

도 20A-B는 상이한 세포에 대한 ADCC 활성과 관련하여 선택된 인간화된 항체를 벤치마킹하는 항체와 비교한 것을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

정의

하나의 실체를 나타내는 용어("a" 또는 "an"으로 수식됨)는 하나 이상의 그 실체를 나타내는 것에 유의해야 한다; 예를 들어, "항체"는 하나 이상의 항체를 나타내는 것으로 이해된다. 따라서, 하나를 가리키는 용어("a" 또는 "an"으로 수식됨), "하나 이상", 및 "적어도 하나"는 본원에서 상호교환적으로 사용될 수 있다.

본원에서 사용되는 바, 용어 "폴리펩타이드"는 단수형 "폴리펩타이드"뿐만 아니라 복수형 "폴리펩타이드"를 포함하는 것으로 의도되며 아미드 결합(또한 펩타이드 결합으로도 알려짐)에 의해 선형으로 연결된 단량체(아미노산)로 구성된 분자를 지칭한다. 용어 "폴리펩타이드"는 2개 이상의 아미노산의 임의의 사슬 또는 사슬들을 지칭하며, 특정 길이의 생성물을 지칭하지 않는다. 그러므로, 펩타이드, 다이펩타이드, 트라이펩타이드, 올리고펩타이드, "단백질", "아미노산 사슬", 또는 2개 이상의 아미노산의 사슬 또는 사슬들을 지칭하기 위해 사용된 임의의 다른 용어는 "폴리펩타이드"의 정의 내에 포함되며, 용어 "폴리펩타이드"는 이들 용어 중 어느 것 대신, 또는 상호교환적으로 사용될 수 있다. 용어 "폴리펩타이드"는 또한 제한 없이 글리코실화, 아세틸화, 인산화, 아미드화, 공지된 보호기/차단기에 의한 유도체화, 단백질 가수분해성 절단, 또는 비-자연 발생적인 아미노산에 의한 변형을 포함한, 폴리펩타이드의 발현후 변형의 생성물을 지칭하는 것으로 의도된다. 폴리펩타이드는 자연적인 생물학적 공급원으로부터 유도되거나 또는 재조합 기술에 의해 생성될 수 있지만, 반드시 지정된 핵산 서열로부터 번역되는 것은 아니다. 화학적 합성에 의한 것을 포함한, 임의의 방식으로 생성될 수 있다.

"상동성" 또는 "동일성" 또는 "유사성"은 2개의 펩타이드 사이 또는 2개의 핵산 분자 사이의 서열 유사성을 지칭한다. 상동성은 비교 목적으로 정렬될 수 있는 각 서열의 위치를 비교함으로써 결정될 수 있다. 비교된 서열의 위치가 동일한 염기 또는 아미노산에 의해 차지될 때, 그 분자는 그 위치에서 상동하다. 서열간 상동성 정도는 서열에 의해 공유된 일치하거나 상동하는 위치의 수의 함수이다. "무관한" 또는 "비상동성" 서열은 본 개시의 서열 중 하나와 40% 미만의 동일성을 공유하지만, 바람직하게는 25% 미만의 동일성을 공유한다.

폴리뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 영역(또는 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드 영역)은 다른 서열에 대해 특정 백분율(예를 들어, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%)의 "서열 동일성"을 가지며, 이것은 정렬될 때 그 백분율의 염기(또는 아미노산)가 비교되는 두 서열에서 동일한 것을 의미한다.

용어 "동등한 핵산 또는 폴리뉴클레오타이드"는 핵산 또는 그것의 보체의 뉴클레오타이드 서열과 특정 정도의 상동성, 또는 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 갖는 핵산을 지칭한다. 이중 가닥 핵산의 상동체는 그것과 또는 그것의 보체와 특정 정도의 상동성을 가지는 뉴클레오타이드 서열을 갖는 핵산을 포함하는 것으로 의도된다. 한 측면으로, 핵산의 상동체는 핵산 또는 그것의 보체에 혼성화될 수 있다. 마찬가지로, "동등한 폴리펩타이드"는 참조 폴리펩타이드의 아미노산 서열과 특정 정도의 상동성, 또는 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 지칭한다. 일부 측면으로, 서열 동일성은 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 또는 99%이다. 일

부 측면으로, 동등한 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오타이드는 참조 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오타이드와 비교하여 1, 2, 3, 4 또는 5개의 첨가, 결실, 치환 및 이들의 조합을 가진다. 일부 측면으로, 동등한 서열은 참조 서열의 활성(예컨대, 에피토프 결합) 또는 구조(예컨대, 염 가교)를 유지한다.

[0016] 본원에서 사용되는 바, "항체" 또는 "항원 결합 폴리펩타이드"는 항원을 특이적으로 인식하여 결합하는 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드 복합체를 지칭한다. 항체는 전체 항체 및 그것의 임의의 항원 결합 단편 또는 단일 사슬일 수 있다. 그러므로 용어 "항체"에는 항원에 결합하는 생물학적 활성을 갖는 면역글로불린 분자의 적어도 일부를 포함하는 분자를 함유한 임의의 단백질 또는 펩타이드가 포함된다. 그러한 것의 예로는, 한정하는 것은 아니지만, 중쇄 또는 경쇄의 상보성 결정 영역(CDR) 또는 그것의 리간드 결합 부분, 중쇄 또는 경쇄 가변 영역, 중쇄 또는 경쇄 불변 영역, 프레임워크(FR) 영역, 또는 그것의 임의의 일부, 또는 결합 단백질의 적어도 한 부분을 들 수 있다.

[0017] 용어 "항체 단편" 또는 "항원 결합 단편"은, 본원에서 사용되는 바, $F(ab')_2$, $F(ab)_2$, Fab' , Fab , Fv , $scFv$ 등과 같은 항체의 일부분이다. 구조와 관계없이, 항체 단편은 온전한 항체에 의해 인식되는 것과 동일한 항원과 결합한다. 용어 "항체 단편"에는 애타머, 스피겔머, 및 디아바디가 포함된다. 용어 "항체 단편"에는 또한 특정 항원에 결합하여 복합체를 형성함으로써 항체처럼 작용하는 임의의 합성 또는 유전자 조직된 단백질이 포함된다.

[0018] "단일 사슬 가변 단편" 또는 " $scFv$ "는 면역글로불린의 중쇄의 가변 영역(V_H) 및 경쇄의 가변 영역(V_L)의 융합 단백질을 지칭한다. 일부 측면으로, 영역들은 10 내지 약 25개 아미노산의 짧은 링커 펩타이드로 연결된다. 링커는 유연성을 위해 글리신이 풍부할뿐만 아니라, 용해도를 위해 세린 또는 트레오닌이 풍부하며 V_H 의 N 말단을 V_L 의 C 말단과 연결시키거나, 또는 그 역도 가능할 수 있다. 이 단백질은 불변 영역의 제거 및 링커의 도입에도 불구하고 원래의 면역글로불린의 특이성을 유지한다. $ScFv$ 분자는 기술분야에 알려져 있고 예컨대 미국 특허 제 5,892,019호에 기술되어 있다.

[0019] 용어 항체는 생화학적으로 구별될 수 있는 다양한 광범위한 부류의 폴리펩타이드를 포함한다. 기술분야에 숙련된 사람들은 중쇄가 감마, 뮤, 알파, 델타, 또는 엡실론(γ , μ , α , δ , ϵ)으로서 분류되며 이들 중 일부 하위부류(예컨대, $\gamma 1$ - $\gamma 4$)가 있음을 인지할 것이다. 항체의 "부류"를 각각 IgG , IgM , IgA , IgG , 또는 IgE 로서 결정하는 것은 바로 이 사슬의 성질이다. 면역글로불린 하위부류(아이소타입), 예컨대, IgG_1 , IgG_2 , IgG_3 , IgG_4 , IgG_5 , 등은 잘 특성화되어 있고 기능적 특수화를 부여하는 것으로 알려져 있다. 이들 부류 및 아이소타입의 각각의 변형 버전은 본 개시의 관점에서 숙련된 기술자에게 쉽게 식별될 수 있고, 따라서, 본 개시의 범주 내에 있다. 모든 면역글로불린 부류는 분명하게 본 개시의 범주 내에 있으며, 다음의 논의는 일반적으로 면역글로불린 분자의 IgG 부류에 대해 다뤄질 것이다. IgG 와 관련하여, 표준 면역글로불린 분자는 분자량이 대략 23,000 달톤인 2개의 동일한 경쇄 폴리펩타이드, 및 분자량이 53,000-70,000인 2개의 동일한 중쇄 폴리펩타이드를 포함한다. 4개의 사슬은 전형적으로 "Y"자 구성으로 이황화 결합에 의해 연결되는데, 여기서 경쇄는 "Y"의 입구에서 시작하여 가변 영역까지 계속되는 중쇄를 팔호로 묶는다.

[0020] 본 개시의 항체, 그것의 항원 결합 폴리펩타이드, 변이체, 또는 유도체에는, 한정하는 것은 아니지만, 다클론성, 단클론성, 다중특이적, 인간, 인간화된, 영장류화된, 또는 키메라 항체, 단일 사슬 항체, 에피토프 결합 단편, 예컨대, Fab , Fab' 및 $F(ab')_2$, Fd , Fv , 단일 사슬 $Fv(scFv)$, 단일 사슬 항체, 이황화 결합 $Fv(sdFv)$, VK 또는 VH 도메인을 포함하는 단편, Fab 발현 라이브러리에 의해 생성된 단편, 및 항-이디오타입(항-Id) 항체(예컨대, 본원에 개시된 LIGHT 항체에 대한 항-Id 항체 포함)가 포함된다. 개시의 면역글로불린 또는 항체 분자는 면역글로불린 분자의 임의의 유형의 것(예컨대, IgG , IgE , IgM , IgD , IgA , 및 IgY), 부류의 것(예컨대, IgG_1 , IgG_2 , IgG_3 , IgG_4 , IgA_1 및 IgA_2) 또는 하위부류의 것일 수 있다.

[0021] 경쇄는 카파 또는 람다(K , λ)로서 분류된다. 각각의 중쇄 부류는 카파 또는 람다 경쇄와 결합될 수 있다. 일반적으로, 경쇄 및 중쇄는 서로 공유 결합되며, 두 중쇄의 "꼬리" 부분은 면역글로불린이 하이브리도마, B 세포 또는 유전자 조작된 숙주 세포에 의해 생성될 때 공유 이황화 결합 또는 비공유 결합에 의해 서로 결합된다. 중쇄에서, 아미노산 서열은 Y자 구성의 갈라진 단부에서 N 말단으로부터 시작하여 각 사슬의 바닥에 있는 C 말단까지 계속된다.

[0022] 경쇄 및 중쇄 모두는 구조적 및 기능적 상동성 영역으로 나누어진다. 용어 "불변" 및 "가변"은 기능적으로 사용된다. 이 관점에서, 경쇄 부분의 가변 도메인(VK) 및 중쇄 부분의 가변 도메인(VH) 모두 항원 인식 및 특이성을

결정하는 것이 인지될 것이다. 역으로, 경쇄의 불변 도메인(CK) 및 중쇄의 불변 도메인(CH1, CH2 또는 CH3)은 분비, 경태반 이동성, Fc 수용체 결합, 보체 결합, 등과 같은 중요한 생물학적 특성을 부여한다. 관례에 따라 불변 영역 도메인의 넘버링은 도메인이 항체의 항원 결합 부위 또는 아미노 말단으로부터 멀어짐에 따라 증가한다. N 말단 부분은 가변 영역이고 C 말단 부분에는 불변 영역이 있다; CH3 및 CK 도메인은 실제로 각각 중쇄 및 경쇄의 카르복시 말단을 포함한다.

[0023] 위에서 나타난 것과 같이, 가변 영역은 항체가 항원 상의 에피토프를 선택적으로 인식하여 특이적으로 결합하도록 허용한다. 즉, 항체의 VK 도메인 및 VH 도메인, 또는 상보성 결정 영역(CDR)의 하위세트는 결합하여 3차원 항원 결합 부위를 규정하는 가변 영역을 형성한다. 이런 4차 항체 구조는 Y의 각 아암 끝에 존재하는 항원 결합 부위를 형성한다. 보다 구체적으로, 항원 결합 부위는 VH 및 VK 사슬 각각에 있는 3개의 CDR(즉 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3)에 의해 정의된다. 일부 경우에, 예컨대, 특정 면역글로불린 분자는 낙타과 종으로부터 유래되거나 또는 낙타과 면역글로불린을 기반으로 조작되며, 완전한 면역글로불린 분자는 경쇄 없이 중쇄로만 이루어질 수 있다. 예컨대, 문헌[Hamers-Casterman *et al.*, *Nature* 363:446-448 (1993)]을 참고한다.

[0024] 자연적으로 발생하는 항체에서, 각각의 항원 결합 도메인에 존재하는 6개의 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"은 항체가 수성 환경에서 3차원 형태를 취함에 따라 항원 결합 도메인을 형성하도록 특별하게 배치된 짧고, 비연속적인 아미노산 서열이다. "프레임워크" 영역으로 언급되는 항원 결합 도메인의 나머지 아미노산은 더 적은 분자간 가변성을 보인다. 프레임워크 영역은 대부분 β -시트 형태를 채택하며 CDR은 β -시트 구조를 연결시키고, 일부 경우에는 그것의 일부를 형성하는 루프를 형성한다. 그러므로, 프레임워크 영역은 사슬간, 비공유 상호작용에 의해 정확한 방향으로 CDR을 위치시키는 스캐폴드를 형성하는 작용을 한다. 배치된 CDR에 의해 형성된 항원 결합 도메인은 면역반응성 항원 상의 에피토프에 상보적인 표면을 정의한다. 이런 상보적인 표면은 항체의 그것의 동족 에피토프에의 비공유 결합을 촉진한다. CDR 및 프레임워크 영역을 각각 포함하는 아미노산은 그것이 정확하게 정의되었기 때문에 기술분야에 통상적인 지식을 가진 사람에 의해 임의의 주어진 중쇄 또는 경쇄 가변 영역에 대해 쉽게 확인될 수 있다("Sequences of Proteins of Immunological Interest," Kabat, E., *et al.*, U.S. Department of Health and Human Services, (1983); 및 Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.*, 196:901-917 (1987) 참고).

[0025] 기술분야 내에서 사용되고/거나 허용되는 용어에 두 가지 이상의 정의가 있는 경우에, 본원에서 사용되는 용어의 정의는 분명하게 반대로 표시되지 않는 한 모든 그러한 의미를 포함하는 것으로 의도된다. 구체적인 예는 중쇄 및 경쇄 폴리펩타이드 둘 다의 가변 영역 내에서 발견되는 비연속적인 항원 결합 부위를 기술하기 위한 "상보성 결정 영역"("CDR")의 사용이다. 이 특정 영역은 Kabat 등과 Chothia 등에 의해 기술되었다(Kabat *et al.*, U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" (1983) 및 Chothia *et al.*, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987), 이들 문헌은 전체 내용이 참조로 본원에 포함됨). Kabat과 Chothia에 따르는 CDR 정의에는 서로에 대해 비교될 때 아미노산 잔기의 중복부분 또는 하위세트가 포함된다. 그럼에도 불구하고, 항체 또는 그것의 변이체를 언급하기 위해 어느 하나의 정의를 적용하는 것은 본원에서 정의되고 사용되는 용어의 범주 내에 있는 것으로 의도된다. 위에서 인용된 참고문헌 각각에 의해 정의된 CDR을 포함하는 적절한 아미노산 잔기는 비교하기 위해 아래의 표에 제시된다. 특정 CDR을 포함하는 정확한 잔기 번호는 CDR의 서열 및 크기에 따라 달라질 것이다. 기술분야에 숙련된 사람들은 항체의 가변 영역 아미노산 서열이 주어질 때 어떤 잔기가 특정 CDR을 포함하는지를 통상적으로 결정할 수 있다.

	Kabat	Chothia
CDR-H1	31-35	26-32
CDR-H2	50-65	52-58
CDR-H3	95-102	95-102
CDR-L1	24-34	26-32
CDR-L2	50-56	50-52
CDR-L3	89-97	91-96

[0026]

[0027] Kabat 등은 또한 어떠한 항체에도 적용할 수 있는 가변 도메인 서열에 대한 넘버링 시스템을 정의하였다. 기술분야에 통상적인 지식을 가진 사람은 서열 자체 이외의 어떠한 실험 데이터에 의존하지 않고서도 "Kabat 넘버링"의 이 시스템을 임의의 가변 도메인 서열에 명확하게 할당할 수 있다. 본원에서 사용되는 바, "Kabat 넘버링"은 Kabat 등에 의해 제시된 넘버링 시스템을 지칭한다(Kabat *et al.*, U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequence of Proteins of Immunological Interest" (1983)).

- [0028] 위의 표 외에, Kabat 넘버링 시스템은 다음과 같이 CDR 영역을 기술한다: CDR-H1은 대략 아미노산 31(즉, 첫 번째 시스테인 잔기 다음 대략 9개 잔기)에서 시작하고, 대략 5-7개 아미노산을 포함하며, 다음 트립토판 잔기에서 끝난다. CDR-H2는 CDR-H1이 끝난 후 15번째 잔기에서 시작하고, 대략 16-19개 아미노산을 포함하며, 다음 아르기닌 또는 리신 잔기에서 끝난다. CDR-H3은 CDR-H2가 끝난 후 대략 33번째 아미노산 잔기에서 시작하고; 3-25개 아미노산을 포함하며; 서열 W-G-X-G에서 끝나며, 여기서 X는 임의의 아미노산이다. CDR-L1은 대략 잔기 24(즉, 시스테인 잔기 다음)에서 시작하고; 대략 10-17개 잔기를 포함하며; 다음 트립토판 잔기에서 끝난다. CDR-L2는 CDR-L1이 끝난 후 대략 16번째 잔기에서 시작하고 대략 7개 잔기를 포함한다. CDR-L3은 CDR-L2이 끝난 후(즉, 시스테인 잔기 다음) 대략 33번째 잔기에서 시작하고; 대략 7-11개 잔기를 포함하며 서열 F 또는 W-G-X-G에서 끝나며, 여기서 X는 임의의 아미노산이다.
- [0029] 본원에 개시된 항체는 조류 및 포유류를 포함하여 임의의 동물로부터 유래될 수 있다. 바람직하게, 항체는 인간, 쥐과, 당나귀, 토끼, 염소, 기니피그, 낙타, 라마, 말, 또는 닭 항체이다. 다른 구체예에서, 가변 영역은 기원이 콘드릭토이드(condictoid)(예컨대 상어 유래)일 수 있다.
- [0030] 본원에서 사용되는 바, 용어 "중쇄 불변 영역"에는 면역글로불린 중쇄로부터 유래된 아미노산 서열이 포함된다. 중쇄 불변 영역을 포함하는 폴리펩타이드는: CH1 도메인, 힌지(예컨대, 상부, 중간, 및/또는 하부 힌지 영역) 도메인, CH2 도메인, CH3 도메인, 또는 이들의 변이체 또는 단편 중 적어도 하나를 포함한다. 예를 들어, 개시에서 사용하기 위한 항원 결합 폴리펩타이드는 CH1 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬; CH1 도메인, 힌지 도메인의 적어도 일부분, 및 CH2 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬; CH1 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬; CH1 도메인, 힌지 도메인의 적어도 일부분, 및 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬, 또는 CH1 도메인, 힌지 도메인의 적어도 일부분, CH2 도메인, 및 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬을 포함할 수 있다. 또 다른 구체예에서, 개시의 폴리펩타이드는 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬을 포함할 수 있다. 추가로, 개시에서 사용하기 위한 항체는 CH2 도메인의 적어도 일부분(예컨대, CH2 도메인의 전부 또는 일부)이 결합될 수 있다. 위에서 제시된 것과 같이, 기술분야에 통상적인 지식을 가진 사람은 중쇄 불변 영역이 자연적으로 발생하는 면역글로불린 분자와 아미노산 서열이 다를 수 있도록 변형될 수 있다는 것을 이해할 것이다.
- [0031] 본원에서 개시된 항체의 중쇄 불변 영역은 상이한 면역글로불린 분자로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 폴리펩타이드의 중쇄 불변 영역은 IgG₁ 분자로부터 유래된 CH1 도메인 및 IgG₃ 분자로부터 유래된 힌지 영역을 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 중쇄 불변 영역은 부분적으로 IgG₁ 분자로부터 유래되고, 부분적으로 IgG₃ 분자로부터 유래된 힌지 영역을 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 중쇄 부분은 부분적으로 IgG₁ 분자로부터 유래되고, 부분적으로 IgG₄ 분자로부터 유래된 키메라 힌지를 포함할 수 있다.
- [0032] 본원에서 사용되는 바, 용어 "경쇄 불변 영역"에는 항체 경쇄로부터 유래된 아미노산 서열이 포함된다. 바람직하게, 경쇄 불변 영역은 불변 카파 도메인 또는 불변 람다 도메인 중 적어도 하나를 포함한다.
- [0033] "경쇄-중쇄 쌍"은 경쇄의 CL 도메인과 중쇄의 CH1 도메인 사이의 이황화 결합을 통해 이량체를 형성할 수 있는 경쇄 및 중쇄의 집합을 지칭한다.
- [0034] 앞서 표시된 것과 같이, 다양한 면역글로불린 부류의 불변 영역의 하위단위 구조 및 삼차원 입체형태는 잘 알려져 있다. 본원에서 사용되는 바, 용어 "VH 도메인"에는 면역글로불린 중쇄의 아미노 말단 가변 도메인이 포함되고 용어 "CH1 도메인"에는 면역글로불린 중쇄의 첫 번째(맨끝의 아미노 말단) 불변 영역 도메인이 포함된다. CH1 도메인은 VH 도메인에 인접해있고 면역글로불린 중쇄 분자의 힌지 영역에 대해 아미노 말단이다.
- [0035] 본원에서 사용되는 용어 "CH2 도메인"에는 예컨대 종래의 넘버링 체계를 사용하여 항체의 약 잔기 244부터 잔기 360까지 연장되는 중쇄 분자의 부분이 포함된다(잔기 244 내지 360, Kabat 넘버링 시스템; 및 잔기 231-340, EU 넘버링 시스템; Kabat *et al.*, U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" (1983) 참고). CH2 도메인은 다른 도메인과 밀접하게 쌍을 이루지 않는다는 점에서 독특하다. 오히려, 2개의 N-연결된 분지형 탄수화물 사슬이 온전한 천연 IgG 분자의 2개의 CH2 도메인 사이에 끼워져 있다. 또한 CH3 도메인이 CH2 도메인으로부터 IgG 분자의 C 말단까지 연장되고 대략 108개 잔기를 포함하는 것이 잘 문서화되어 있다.
- [0036] 본원에서 사용되는 바, 용어 "힌지 영역"에는 CH1 도메인을 CH2 도메인에 연결시키는 중쇄 분자의 일부분이 포함된다. 이 힌지 영역은 대략 25개 잔기를 포함하고 유연하여, 2개의 N 말단 항원 결합 영역이 독립적으로 움직

일 수 있게 한다. 힌지 영역은 3개의 구별되는 도메인: 상부, 중간, 및 하부 힌지 도메인으로 세분화될 수 있다 (Roux *et al.*, *J. Immunol* 161:4083 (1998)).

[0037] 본원에서 사용되는 용어 "이황화 결합"에는 2개의 황 원자 사이에 형성된 공유 결합이 포함된다. 아미노산 시스템은 티올 기를 포함하여 제2 티올 기와 이황화 결합 또는 가교를 형성할 수 있다. 대부분의 자연 발생적인 IgG 분자에서, CH1 및 CK 영역은 이황화 결합에 의해 연결되고 2개의 중쇄는 Kabat 넘버링 시스템을 사용하여 239 및 242에 상응하는 위치(위치 226 또는 229, EU 넘버링 시스템)에서 2개의 이황화 결합에 의해 연결된다.

[0038] 본원에서 사용되는 바, 용어 "키메릭 항체"는 면역반응성 영역 또는 부위가 제1 종으로부터 얻어지거나 유래되고 불변 영역(온전하거나, 부분적이거나 또는 본 개시에 따라 변형될 수 있음)이 제2 종으로부터 얻어지는 임의의 항체를 의미하는 것으로 간주될 것이다. 특정 구체예에서 표적 결합 영역 또는 부위는 비인간 공급원(예컨대 마우스 또는 영장류)으로부터 유래될 것이고 불변 영역은 인간이다.

[0039] 본원에서 사용되는 바, "퍼센트 인간화"는 인간화된 도메인과 생식선 도메인 사이의 프레임워크 아미노산 차이(즉 비-CDR 차이)의 수를 결정하고, 그 수를 아미노산의 총 수로부터 뺀 후, 아미노산의 총수로 나누고 100을 곱함으로써 계산된다.

[0040] "특이적으로 결합하는" 또는 "~에 대한 특이성을 가지는"이란, 일반적으로 항체가 항원 결합 도메인을 경유하여 에피토프에 결합하고, 결합에 항원 결합 도메인과 에피토프 사이의 약간의 상보성이 수반되는 것을 의미한다. 이 정의에 따르면, 항체는 항원 결합 도메인을 경유하여 그것이 무작위의 무관한 에피토프에 결합할 때보다 더 쉽게 어떤 에피토프에 결합할 때 그 에피토프에 "특이적으로 결합한다"고 말한다. 용어 "특이성"은 본원에서 특정 항체가 특정 에피토프에 결합할 때 상대적인 친화도를 부여하기 위해 사용된다. 예를 들어, 항체 "A"는 항체 "B"보다 주어진 에피토프에 대해 더 높은 특이성을 갖는 것으로 간주되거나, 또는 항체 "A"는 관련된 에피토프 "D"에 대해 가지는 것보다 더 높은 특이성으로 에피토프 "C"에 결합한다고 말할 수 있다.

[0041] 본원에서 사용되는 바, 용어 "치료하다" 또는 "치료"는 치료적 치료 및 예방적 또는 방지적 조치 모두를 지칭하며, 여기서 목적은 원치 않은 생리적 변화 또는 장애, 예컨대 암의 진행을 방지 또는 둔화(경감)시키는 것이다. 유익한 또는 원하는 임상 결과에는, 한정하는 것은 아니지만, 검출할 수 있거나 또는 검출할 수 없거나 간에, 증상의 경감, 질환 정도의 감소, 질환의 안정화된(즉, 악화되지 않은) 상태, 질환 진행의 지연 또는 둔화, 질환 상태의 개선 또는 완화, 및 관해(부분적이거나 전체적임)가 포함된다. "치료"는 또한 치료를 받지 않는 경우 예상된 생존과 비교하여 연장된 생존을 의미할 수 있다. 치료를 필요로 하는 사람에는 이미 병태 또는 장애가 있는 사람들뿐만 아니라 병태 또는 장애에 걸리기 쉬운 사람들 또는 병태 또는 장애가 예방되어야 하는 사람들이 포함된다.

[0042] "대상체" 또는 "개체" 또는 "동물" 또는 "환자" 또는 "포유류"는 진단, 예후, 또는 치료법이 필요한 임의의 대상체, 특히 포유류 대상체를 의미한다. 포유류 대상체에는 인간, 가축 동물, 농장 동물, 및 동물원, 스포츠, 또는 애완 동물, 예컨대 개, 고양이, 기니피그, 토끼, 래트, 마우스, 말, 소, 젖소, 등이 포함된다.

[0043] 본원에서 사용되는 바, "치료를 필요로 하는 환자에게" 또는 "치료를 필요로 하는 대상체"와 같은 구절에는, 예컨대, 검출을 위해, 진단적 절차를 위해 및/또는 치료를 위해 사용된 본 개시의 항체 또는 조성물의 투여로부터 혜택을 받게 될 대상체, 예컨대 포유류 대상체가 포함된다.

[0044] 항-SLC34A2 항체

[0045] 본 개시는 인간 SLC34A2 단백질에 대해 높은 친화도를 가지며, ADCC 및 세포독성을 매개하는데 효능이 있고, 세포내이입을 효과적으로 유도할 수 있는 항-SLC34A2 항체 및 단편을 제공한다.

[0046] 더불어, 이들 항체는 임상 개발 중에 있는 2개의 참조 항체, XMT-1536 및 RG-7599와 비교하여 광범위하게 테스트되었다. 새로운 항체는 일반적인 결합 친화성, 중간 반응성, ADCC 및 세포독성의 측면에서 2개의 참조 항체를 능가하였다. 따라서, 이들 항체는 암과 같이 SLC34A2를 과다발현하는 것이 특징인 다양한 질환을 치료하기에 적합한 작용제이다.

[0047] 그러므로, 본 개시의 한 구체예에 따르면, SLC34A2에 결합할 수 있는 항체 및 그것의 항원 결합 단편이 제공된다. 예시의 항체로는 표 1에 열거된 쥐과 항체 및 항원 결합 단편(예컨대, 30-H9(B8)F9, 62-G10(E4)G8, 63-A11(D5)B4, 91-C9F1, 7-F4C4, 94-B10A8, 94-E9B12, 67-C9G11, 90-G10H7, 11-F6H8, 84-F2D10, 26-C5D2, 7-G10E11, 25-B11B9, 62-C10(B3)D2, 55-E5(B6)D12, 28-G3(C6)B9, 18-G1H4, 16-E5D10, 69-B11D8, 71-F7D4, 78-D1B10, 87-H12B7, 20-H2F1 및 95-H11A1D8), 뿐만 아니라 표 12-15의 인간화된 것들을 들 수 있다. 또한 본원에

서 예시된 것과 동일한 CDR을 포함하는 것들이 포함된다. 일부 구체예에서, 개시된 항체 및 단편에는 본원에서 예시된 것과 동일한 에피토프에 결합하는 것들, 및 SLC34A2에 대한 결합에서 본원에서 개시된 것과 경합하는 것들이 포함된다.

- [0048] 본 개시의 한 구체예에 따르면, 본원에서 개시된 CDR 영역을 가진 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 그것의 단편, 뿐만 아니라 이들의 생물학적 등가물이 제공된다.
- [0049] 한 구체예에서, CDR은 **표 12A**에서 예시된 것과 같이, 30-H9(B8)F9 또는 인간화된 대응물의 것이다. 한 구체예에서, CDRH1은 서열 번호: 51의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하고, CDRH2는 서열 번호: 52 또는 57의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하며, CDRH3은 서열 번호: 53의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하고, CDRL1은 서열 번호: 54의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하며, CDRL2는 서열 번호: 55의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하고, CDRL3은 서열 번호: 56의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함한다.
- [0050] 실험예에서 나타난 것과 같이, 30-H9(B8)F9의 CDRH2(서열 번호: 57)에는 번역후 변형(PTM)이 일어날 가능성이 있는 NG 다이펩타이드가 포함된다. 따라서, N>S 돌연변이는 그러한 PTM을 방지하기 위해 이루어졌고, 돌연변이된 CDRH2는 PTM-위험 제거 CDR로 언급된다. 그러나, 실험 데이터는 PTM-위험 제거 버전이 원래 것만큼 효과적인 것을 입증하였다.
- [0051] 한 구체예에서, CDRH1은 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하고, CDRH2는 서열 번호: 52의 아미노산 서열을 포함하며, CDRH3은 서열 번호: 53의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL1은 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함하며, CDRL2는 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL3은 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함한다. 한 구체예에서, CDRH1은 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하고, CDRH2는 서열 번호: 57의 아미노산 서열을 포함하며, CDRH3은 서열 번호: 53의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL1은 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함하며, CDRL2는 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL3은 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0052] 또한, 일부 구체예에서, 30-H9(B8)F9 또는 그것의 인간화된 대응물과 동일한 CDR을 포함하는 것들이 제공된다. 일부 구체예에서, 개시된 항체 및 단편에는 30-H9(B8)F9 또는 그것의 인간화된 대응물과 동일한 에피토프를 포함하는 것들, 및 SLC34A2에 대한 결합에서 그것들 중 어느 것과 경합하는 것들이 포함된다.
- [0053] 일부 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호:1(마우스 또는 키메라) 및 58-61(인간화된)로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열 번호:1(마우스 또는 키메라) 및 58-61(인간화된)로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 펩타이드를 포함한다.
- [0054] 일부 구체예에서, 경쇄 가변 영역은 서열 번호:2(마우스 또는 키메라) 및 62-65(인간화된)로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열 번호: 2(마우스 또는 키메라) 및 62-65(인간화된)로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 펩타이드를 포함한다.
- [0055] 일부 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호:59의 아미노산 서열을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열 번호:62-65 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 58-61 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호:59의 아미노산 서열을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열 번호:62의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0056] 한 구체예에서, CDR은 **표 13A**에서 예시된 것과 같이, 62-G10(E4)G8 또는 그것의 인간화된 대응물의 것이다. 한 구체예에서, CDRH1은 서열 번호: 66의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하고, CDRH2는 서열 번호: 67 또는 72의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하며, CDRH3은 서열 번호: 68의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하고, CDRL1은 서열 번호: 69의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하며, CDRL2는 서열 번호: 70의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하고, CDRL3은 서열 번호: 71의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가,

치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함한다.

- [0057] CDR 중 하나인 CDRH2는 또한 잠재적 PTM 부위인 NG를 포함하였고, 그것은 따라서 PTM-위험 제거 버전으로서 NA로 돌연변이되었다. 실험 데이터는 PTM-위험 제거 버전이 원래 것과 같이 효과적이었음을 입증하였다.
- [0058] 한 구체예에서, CDRH1은 서열 번호: 66의 아미노산 서열을 포함하고, CDRH2는 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하며, CDRH3은 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL1은 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하며, CDRL2는 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL3은 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함한다. 한 구체예에서, CDRH1은 서열 번호: 66의 아미노산 서열을 포함하고, CDRH2는 서열 번호: 72의 아미노산 서열을 포함하며, CDRH3은 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL1은 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하며, CDRL2는 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL3은 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0059] 또한, 일부 구체예에서, 62-G10(E4)G8 또는 그것의 인간화된 대응물과 동일한 CDR을 포함하는 것들이 제공된다. 일부 구체예에서, 개시된 항체 및 단편에는 62-G10(E4)G8 또는 그것의 인간화된 대응물과 동일한 에피토프에 결합하는 것들, 및 SLC34A2에 대한 결합에서 그것들 중 임의의 것과 경합하는 것들이 포함된다.
- [0060] 일부 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호:3(마우스 또는 키메라) 및 73-76(인간화된)으로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열 번호:3(마우스 또는 키메라) 및 73-76(인간화된)으로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 펩타이드를 포함한다.
- [0061] 일부 구체예에서, 경쇄 가변 영역은 서열 번호:4(마우스 또는 키메라) 및 77-80(인간화된)으로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열 번호: 4(마우스 또는 키메라) 및 77-80(인간화된)으로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 펩타이드를 포함한다.
- [0062] 일부 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호:76의 아미노산 서열을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 77-80 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 73-76 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 79의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호:76의 아미노산 서열을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열 번호:79의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0063] 한 구체예에서, CDR은 표 14A에서 예시된 것과 같이, 63-A11(D5)B4 또는 그것의 인간화된 대응물의 것이다. 한 구체예에서, CDRH1은 서열 번호: 81의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하고, CDRH2는 서열 번호: 82 또는 87의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하며, CDRH3은 서열 번호: 83의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하고, CDRL1은 서열 번호: 84의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하며, CDRL2는 서열 번호: 85의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하고, CDRL3은 서열 번호: 86의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함한다.
- [0064] CDR 중 하나인 CDRH2는 또한 잠재적 PTM 부위인 NG를 포함하였고, 그것은 따라서 PTM-위험 제거 버전으로서 SG로 돌연변이되었다. 실험 데이터는 PTM-위험 제거 버전이 원래 것과 같이 효과적이었음을 입증하였다.
- [0065] 한 구체예에서, CDRH1은 서열 번호: 81의 아미노산 서열을 포함하고, CDRH2는 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하며, CDRH3은 서열 번호: 83의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL1은 서열 번호: 84의 아미노산 서열을 포함하며, CDRL2는 서열 번호: 85의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL3은 서열 번호: 86의 아미노산 서열을 포함한다. 한 구체예에서, CDRH1은 서열 번호: 81의 아미노산 서열을 포함하고, CDRH2는 서열 번호: 87의 아미노산 서열을 포함하며, CDRH3은 서열 번호: 83의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL1은 서열 번호: 84의 아미노산 서열을 포함하며, CDRL2는 서열 번호: 85의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL3은 서열 번호: 86의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0066] 또한, 일부 구체예에서, 63-A11(D5)B4 또는 그것의 인간화된 대응물과 동일한 CDR을 포함하는 것들이 제공된다. 일부 구체예에서, 개시된 항체 및 단편에는 63-A11(D5)B4 또는 그것의 인간화된 대응물과 동일한 에피토프에 결합하는 것들, 및 SLC34A2에 대한 결합에서 그것들 중 임의의 것과 경합하는 것들이 포함된다.
- [0067] 일부 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호:5(마우스 또는 키메라) 및 88-91(인간화된)로 이루어지는 군으로

부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열 번호:5(마우스 또는 키메라) 및 88-91(인간화된)로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 가진 펩타이드를 포함한다.

[0068] 일부 구체예에서, 경쇄 가변 영역은 서열 번호:6(마우스 또는 키메라) 및 92-95(인간화된)로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열 번호: 6(마우스 또는 키메라) 및 92-95(인간화된)로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 가진 펩타이드를 포함한다.

[0069] 일부 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호:90의 아미노산 서열을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 92-95 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 88-91 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 92의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호:90의 아미노산 서열을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열 번호:92의 아미노산 서열을 포함한다.

[0070] 한 구체예에서, CDR은 표 15A에서 예시된 것과 같이, 91-C9F1 또는 그것의 인간화된 대응물의 것이다. 한 구체예에서, CDRH1은 서열 번호: 96의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하고, CDRH2는 서열 번호: 97 또는 102의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하며, CDRH3은 서열 번호: 98 또는 103의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하고, CDRL1은 서열 번호: 99의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하며, CDRL2는 서열 번호: 100의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함하고, CDRL3은 서열 번호: 101의 아미노산 서열 또는 1, 2, 또는 3개의 결실, 첨가, 치환 또는 이들의 조합을 가진 그것의 변이체를 포함한다.

[0071] CDR 중 2개, CDRH2 및 CDRH3은 또한 잠재적 PTM 부위인 NG를 포함하였고, 그것은 따라서 PTM-위험 제거 버전으로서 ND 및 NA로 각각 돌연변이되었다. 실험 데이터는 PTM-위험 제거 버전이 원래 것과 같이 효과적이었음을 입증하였다.

[0072] 한 구체예에서, CDRH1은 서열 번호: 96의 아미노산 서열을 포함하고, CDRH2는 서열 번호: 97의 아미노산 서열을 포함하며, CDRH3은 서열 번호: 98 또는 103의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL1은 서열 번호: 99의 아미노산 서열을 포함하며, CDRL2는 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL3은 서열 번호: 101의 아미노산 서열을 포함한다. 한 구체예에서, CDRH1은 서열 번호: 96의 아미노산 서열을 포함하고, CDRH2는 서열 번호: 97 또는 102의 아미노산 서열을 포함하며, CDRH3은 서열 번호: 98의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL1은 서열 번호: 99의 아미노산 서열을 포함하며, CDRL2는 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL3은 서열 번호: 101의 아미노산 서열을 포함한다. 한 구체예에서, CDRH1은 서열 번호: 96의 아미노산 서열을 포함하고, CDRH2는 서열 번호: 97의 아미노산 서열을 포함하며, CDRH3은 서열 번호: 98의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL1은 서열 번호: 99의 아미노산 서열을 포함하며, CDRL2는 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하고, CDRL3은 서열 번호: 101의 아미노산 서열을 포함한다.

[0073] 또한, 일부 구체예에서, 91-C9F1 또는 그것의 인간화된 대응물과 동일한 CDR을 포함하는 것들이 제공된다. 일부 구체예에서, 개시된 항체 및 단편에는 91-C9F1 또는 그것의 인간화된 대응물과 동일한 에피토프에 결합하는 것들, 및 SLC34A2에 대한 결합에서 그것들 중 임의의 것과 경합하는 것들이 포함된다.

[0074] 일부 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호:7(마우스 또는 키메라) 및 104-107(인간화된)로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열 번호:7(마우스 또는 키메라) 및 104-107(인간화된)로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 가진 펩타이드를 포함한다.

[0075] 일부 구체예에서, 경쇄 가변 영역은 서열 번호:8(마우스 또는 키메라) 및 108-111(인간화된)로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열 번호: 8(마우스 또는 키메라) 및 108-111(인간화된)로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 가진 펩타이드를 포함한다.

[0076] 일부 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호:105의 아미노산 서열을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 108-111 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 104-107 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 110의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호:105의 아미노산 서열을 포함하고 경쇄 가변 영역은 서열 번호:110의 아미노산 서열을 포함한다.

[0077] CDR은 1, 2 또는 3개의 아미노산 첨가, 결실 및/또는 치환을 가진 것들을 포함하도록 변형될 수 있는 것이 인지

된다. 일부 구체예에서, 치환은 보존성 치환일 수 있다.

[0078] "보존성 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 가진 아미노산 잔기로 대체되는 것이다. 유사한 측쇄를 가진 아미노산 잔기의 패밀리는 염기성 측쇄(예컨대, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예컨대, 아스파르트산, 글루탐산), 비전하 극성 측쇄(예컨대, 글리신, 아스파라긴, 글루타메이트, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄(예컨대, 알라닌, 발린, 류신, 아이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타 분지형 측쇄(예컨대, 트레오닌, 발린, 아이소류신) 및 방향족 측쇄(예컨대, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 포함하여 기술분야에서 정의되었다. 그러므로, 번역글로불린 폴리펩타이드 내 비필수 아미노산 잔기는 바람직하게 동일한 측쇄 패밀리로부터의 또 다른 아미노산 잔기로 대체된다. 또 다른 구체예에서, 아미노산 문자열은 측쇄 패밀리 구성원의 순서 및/또는 구성이 상이한 구조적으로 유사한 문자열로 대체될 수 있다.

[0079] 보존성 아미노산 치환의 비제한적인 예가 아래의 표에 제공되며, 표에서 0 또는 더 높은 유사성 점수는 두 아미노산 사이의 보존성 치환을 나타낸다.

표 A. 아미노산 유사성 매트릭스

	C	G	P	S	A	T	D	E	N	Q	H	K	R	V	M	I	L	F	Y	W
W	-8	-7	-6	-2	-6	-5	-7	-7	-4	-5	-3	-3	2	-6	-4	-5	-2	0	0	17
Y	0	-5	-5	-3	-3	-3	-4	-4	-2	-4	0	-4	-5	-2	-2	-1	-1	7	10	
F	-4	-5	-5	-3	-4	-3	-6	-5	-4	-5	-2	-5	-4	-1	0	1	2	9		
L	-6	-4	-3	-3	-2	-2	-4	-3	-3	-2	-2	-3	-3	2	4	2	6			
I	-2	-3	-2	-1	-1	0	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	4	2	5				
M	-5	-3	-2	-2	-1	-1	-3	-2	0	-1	-2	0	0	2	6					
V	-2	-1	-1	-1	0	0	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	4						
R	-4	-3	0	0	-2	-1	-1	-1	0	1	2	3	6							
K	-5	-2	-1	0	-1	0	0	0	1	1	0	5								
H	-3	-2	0	-1	-1	-1	1	1	2	3	6									
Q	-5	-1	0	-1	0	-1	2	2	1	4										
N	-4	0	-1	1	0	0	2	1	2											
E	-5	0	-1	0	0	0	3	4												
D	-5	1	-1	0	0	0	4													
T	-2	0	0	1	1	3														
A	-2	1	1	1	2															
S	0	1	1	1																
P	-3	-1	6																	
G	-3	5																		
C	12																			

[0080]

표 B. 보존성 아미노산 치환

다음 아미노산에 대해	치환 아미노산
알라닌	D-Ala, Gly, Aib, β-Ala, L-Cys, D-Cys
아르기닌	D-Arg, Lys, D-Lys, Orn D-Orn
아스파라긴	D-Asn, Asp, D-Asp, Glu, D-Glu Gln, D-Gln
아스파르트산	D-Asp, D-Asn, Asn, Glu, D-Glu, Gln, D-Gln
시스테인	D-Cys, S-Me-Cys, Met, D-Met, Thr, D-Thr, L-Ser, D-Ser
글루타민	D-Gln, Asn, D-Asn, Glu, D-Glu, Asp, D-Asp
글루탐산	D-Glu, D-Asp, Asp, Asn, D-Asn, Gln, D-Gln
글리신	Ala, D-Ala, Pro, D-Pro, Aib, β-Ala
아이소류신	D-Ile, Val, D-Val, Leu, D-Leu, Met, D-Met
류신	Val, D-Val, Met, D-Met, D-Ile, D-Leu, Ile
리신	D-Lys, Arg, D-Arg, Orn, D-Orn
메티오닌	D-Met, S-Me-Cys, Ile, D-Ile, Leu, D-Leu, Val, D-Val
페닐알라닌	D-Phe, Tyr, D-Tyr, His, D-His, Trp, D-Trp
프롤린	D-Pro
세린	D-Ser, Thr, D-Thr, allo-Thr, L-Cys, D-Cys
트레오닌	D-Thr, Ser, D-Ser, allo-Thr, Met, D-Met, Val, D-Val
티로신	D-Tyr, Phe, D-Phe, His, D-His, Trp, D-Trp
발린	D-Val, Leu, D-Leu, Ile, D-Ile, Met, D-Met

[0081]

[0082] 또한 기술분야에 통상적인 사람은 본원에서 개시된 항체가 그것이 유래된 자연 발생적인 결합 폴리펩타이드와

아미노산 서열이 달라지도록 변형될 수 있다는 것을 이해할 것이다. 예를 들어, 지정된 단백질로부터 유래된 폴리펩타이드 또는 아미노산 서열은 유사할 수 있는데, 예컨대, 출발 서열에 대해 특정 퍼센트의 동일성을 가질 수 있고, 예컨대, 출발 서열에 대해 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 또는 99% 동일할 수 있다.

[0083] 특정 구체예에서, 항체는 항체와 정상적으로 회합되지 않은 아미노산 서열 또는 하나 이상의 모이어티를 포함한다. 예시의 변형은 아래에서 보다 상세하게 기술된다. 예를 들어, 개시의 항체는 유연한 링커 서열을 포함하거나, 또는 기능성 모이어티(예컨대, PEG, 약물, 독소, 또는 라벨)가 추가되도록 변형될 수 있다.

[0084] 개시의 항체, 변이체, 또는 유도체에는 변형되는, 즉, 공유 부착이 항체가 에피토프에 결합하는 것을 방지하지 못하도록 항체에 대한 임의의 유형의 분자의 공유 부착에 의해 변형된 유도체가 포함된다. 예를 들어, 한정하는 것은 아니지만, 항체는, 예컨대, 글리코실화, 아세틸화, 페닐화, 인산화, 인산화, 아미드화, 알려져 있는 보호/차단기에 의한 유도체화, 단백질 가수분해 절단, 세포 리간드 또는 다른 단백질에의 결합, 등에 의해 변형될 수 있다. 많은 화학적 변형 중 어느 것이든지, 한정하는 것은 아니지만 특정 화학적 절단, 아세틸화, 포르밀화, 튜니카마이신의 대사적 합성, 등을 포함한 공지된 기법에 의해 수행될 수 있다. 추가적으로, 항체는 하나 이상의 비고전적 아미노산을 함유할 수 있다.

[0085] 항체는 화학발광 화합물에 항체를 커플링시킴으로써 검출 가능하게 표지화될 수 있다. 그 후에 화학발광 태그가 부착된 항원 결합 폴리펩타이드의 존재가 화학적 반응 과정 동안 발생하는 발광의 존재를 검출함으로써 결정된다. 특히 유용한 화학발광 표지화 화합물의 예는 루미놀, 아이소루미놀, 테로마틱 아크리디늄 에스테르, 이미다졸, 아크리디늄 염 및 옥살레이트 에스테르이다.

[0086] 항체는 또한 ¹⁵²Eu와 같은 형광 방출 금속, 또는 란타넘 계열의 다른 금속을 사용하여 검출 가능하게 표지화될 수 있다. 이들 금속은 다이에틸렌트라이아민펜타아세트산(DTPA) 또는 에틸렌다이아민테트라아세트산(EDTA)과 같은 금속 킬레이트화 그룹을 사용하여 항체에 부착될 수 있다. 다양한 분자를 항체에 콘쥬게이션시키는 기법은 기술 분야에 잘 알려져 있고, 예컨대, 문헌을 참고한다[Arnon *et al.*, "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", in Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld *et al.* (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. (1985); Hellstrom *et al.*, "Antibodies For Drug Delivery", in Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson *et al.*, (eds.), Marcel Dekker, Inc., pp. 623- 53 (1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", in Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, Pinchera *et al.* (eds.), pp. 475-506 (1985); "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", in Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin *et al.* (eds.), 및 Academic Press pp. 303-16 (1985)].

[0087] 이중기능성 분자 및 병용 요법

[0088] SLC34A2는 종양 세포에서 과다발현된다. 종양 항원 표적화 분자로서, SLC34A2에 대해 특이적인 항체 또는 항원 결합 단편은 면역 세포에 대해 특이적인 제2 항원 결합 단편, 또는 면역 체크포인트에 대해 특이적인 항원 결합 단편과 조합되어 병용 요법 또는 이중특이적 항체가 생성될 수 있다.

[0089] 일부 구체예에서, 면역 세포는 T 세포, B 세포, 단핵세포, 대식세포, 호중구, 수지상 세포, 식세포, 천연 살해 세포, 호산성 세포, 및 비만 세포로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 표적화될 수 있는 면역 세포 상의 분자에는, 예를 들어, CCL1, CD3, CD16, CD19, CD28, 및 CD64가 포함된다. 다른 예로는 PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG-3(CD223으로도 알려져 있음), CD28, CD122, 4-1BB(CD137로도 알려져 있음), TIM3, OX-40 또는 OX40L, CD40 또는 CD40L, LIGHT, ICOS/ICOSL, GITR/GITRL, TIGIT, CD27, VISTA, B7H3, B7H4, HEVM 또는 BTLA(CD272로도 알려져 있음), 살해 세포 면역글로불린 유사 수용체(KIR), 및 CD47을 들 수 있다.

[0090] 상이한 형식의 이중특이적 항체가 또한 제공된다. 일부 구체예에서, 항-SLC34A2 단편의 각각 및 제2 항체 각각은 Fab 단편, 단일 사슬 가변 단편(scFv), 또는 단일 도메인 항체로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구체예에서, 이중특이적 항체는 또한 Fc 단편을 포함한다.

[0091] 항체 또는 항원 결합 단편만을 포함하지 않는 이중기능성 분자가 또한 제공된다. 종양 항원 표적화 분자로서, SLC34A2에 대해 특이적인 항체 또는 항원 결합 단편, 예컨대 본원에서 기술된 것들은 선택적으로 펩타이드 링커를 통해 면역 사이토카인 또는 리간드와 조합될 수 있다. 연결된 면역 체크포인트 또는 리간드에는, 한정하는 것은 아니지만, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, GM-CSF, TNF-α, CD40L, OX40L, CD27L, CD30L, 4-1BBL, LIGHT 및 GITRL이 포함된다. 그러한 이중기능성 분자는 면역 체크포인트 차단

효과를 종양 부위 국소 면역 조절과 조합시킬 수 있다.

[0092] **항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 및 항체 제조 방법**

[0093] 본 개시는 또한 개시의 항체, 그것의 변이체 또는 유도체를 암호화하는 분리된 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산 분자를 제공한다. 본 개시의 폴리뉴클레오타이드는 동일한 폴리뉴클레오타이드 분자에 있는 또는 별도의 폴리뉴클레오타이드 분자에 있는 항원 결합 폴리펩타이드, 그것의 변이체 또는 유도체의 전체 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 암호화할 수 있다. 추가적으로, 본 개시의 폴리뉴클레오타이드는 동일한 폴리뉴클레오타이드 분자에 있는 또는 별도의 폴리뉴클레오타이드 분자에 있는 항원 결합 폴리펩타이드, 그것의 변이체 또는 유도체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 일부분을 암호화할 수 있다.

[0094] 항체 제조 방법은 기술분야에 잘 알려져 있고 본원에서 기술된다. 특정 구체예에서, 본 개시의 항원 결합 폴리펩타이드의 가변 및 불변 영역 모두는 완전히 인간이다. 완전히 인간 항체는 기술분야에 기술된 기법을 사용하여 본원에서 기술된 것과 같이 만들어질 수 있다. 예를 들어, 특정 항원에 대한 완전히 인간 항체는 항원을 항원성 도전에 대한 반응으로 그러한 항체를 생성하도록 변형되어 있지만, 내인성 유전자좌는 비활성화되어 있는 형질도입 동물에게 투여함으로써 제조될 수 있다. 그러한 항체를 제조하기 위해 사용될 수 있는 예시의 기법은 미국 특허: 제6,150,584호; 제6,458,592호; 제6,420,140호에 기술되어 있고, 이들은 전체 내용이 참조로 포함된다.

[0095] **치료 방법**

[0096] 본원에서 기술되는 것과 같이, 본 개시의 항체, 변이체 또는 유도체는 특정 치료 및 진단 방법에 사용될 수 있다.

[0097] 본 개시는 본원에 기술된 장애 또는 병태 중 하나 이상을 치료하기 위하여 동물, 포유류, 및 인간과 같은 환자에게 개시의 항체를 투여하는 것을 포함하는 항체 기반 치료법에 추가로 관련된다. 개시의 치료 화합물에는, 한정하는 것은 아니지만, 개시의 항체(본원에 기술된 그것의 변이체 및 유도체 포함함) 및 개시의 항체(본원에 기술된 그것의 변이체 및 유도체 포함함)를 암호화하는 핵산 또는 폴리뉴클레오타이드가 포함된다.

[0098] 개시의 항체는 또한 암을 치료 또는 억제하기 위해 사용될 수 있다. 일부 구체예에서, 환자의 암 세포는 SLC34A2를 발현 또는 과다발현한다. 위에서 제공된 것과 같이, SLC34A2는 종양 세포, 특히 위, 췌장, 식도, 난소, 및 폐 종양에서 과다발현될 수 있다. SLC34A2의 억제는 종양 치료에 유용한 것으로 나타났다.

[0099] 따라서, 일부 구체예에서, 필요로 하는 환자에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 한 구체예에서, 방법에는 환자에게 본 개시의 항체의 유효량을 투여하는 것이 수반된다. 일부 구체예에서, 환자의 암 세포 중 적어도 한 가지(예컨대, 간질 세포)는 SLC34A2를 과다발현한다.

[0100] 세포 요법, 예컨대 키메라 항원 수용체(CAR) T 세포 요법이 또한 본 개시에서 제공된다. 본 개시의 항-SLC34A2 항체와 접촉하게 되는(또는 대안적으로는 본 개시의 항-SLC34A2 항체를 발현하도록 조작된) 적합한 세포가 사용될 수 있다. 일부 구체예에서, 항체는 키메라 항원 수용체(CAR)로 제공된다. 그러한 접촉 또는 조작시에, 세포는 그 후에 치료를 필요로 하는 암 환자에게 도입될 수 있다. 암 환자는 본원에서 개시된 유형 중 어느 것의 암을 가질 수 있다. 예를 들어, 세포(예컨대, T 세포)는, 제한 없이, 종양 침윤 T 림프구, CD4+ T 세포, CD8+ T 세포, 또는 이것들의 조합일 수 있다.

[0101] 일부 구체예에서, 세포는 암 환자 자신(그 또는 그녀)으로부터 분리될 수 있다. 일부 구체예에서, 세포는 공여자에 의해 또는 세포 은행으로부터 제공될 수 있다. 세포가 암 환자로부터 분리될 때, 원치 않는 면역 반응이 최소화될 수 있다.

[0102] 암의 비제한적인 예로는 방광암(bladder cancer), 유방암(breast cancer), 대장암(colorectal cancer), 자궁내막암(endometrial cancer), 식도암(esophageal cancer), 두경부암(head and neck cancer), 신장암(kidney cancer), 백혈병(leukemia), 간암(liver cancer), 폐암, 림프종(lymphoma), 흑색종(melanoma), 췌장암(pancreatic cancer), 전립선암(prostate cancer), 및 갑상선암을 들 수 있다. 일부 구체예에서, 암은 위암, 췌장암, 식도암, 난소암, 및 폐암 중 하나 이상이다.

[0103] 본 개시의 항체 또는 변이체, 또는 그것의 유도체로 치료, 예방, 진단 및/또는 예측될 수 있는, 증가된 세포 생존과 연관된 추가 질환 또는 병태로는, 한정하는 것은 아니지만, 백혈병(급성 백혈병(예컨대, 급성 림프구성 백혈병(acute lymphocytic leukemia), 급성 골수구성 백혈병(acute myelocytic leukemia)(골수모세포성(myeloblastic), 전골수구성(promyelocytic), 골수단핵세포성(myelomonocytic), 단핵세포성(monocytic), 및 적

백혈병(erythroleukemia 포함) 및 만성 백혈병(예컨대, 만성 골수구성(과립구성) 백혈병 및 만성 림프구성 백혈병 포함), 진성적혈구 증가증(polycythemia vera), 림프종(예컨대, 호지킨병(Hodgkin's disease) 및 비호지킨병(non-Hodgkin's disease)), 다발성 골수종(multiple myeloma), 발텐스트롬 거대글로불린형증(Waldenstrom's macroglobulinemia), 중쇄 질환(중쇄 disease)과 같은 악성 종양 및 관련 장애, 및 한정하는 것은 아니지만, 육종(sarcoma) 및 암종(carcinoma), 예컨대 섬유육종(fibrosarcoma), 근육육종(myxosarcoma), 지방육종(liposarcoma), 연골육종(chondrosarcoma), 골육종(osteogenic sarcoma), 척삭종(chordoma), 혈관육종(angiosarcoma), 내피육종(endotheliosarcoma), 림프관육종(lymphangiosarcoma), 림프관내피육종(lymphangioendotheliosarcoma), 활막종(synovioma), 중피종(mesothelioma), 유잉 종양(Ewing's tumor), 평활근육종(leiomyosarcoma), 횡문근 육종(rhabdomyo sarcoma), 결장 암종(colon carcinoma), 췌장암, 유방암, 난소암, 전립선암, 편평 세포 암종(squamous cell carcinoma), 기저 세포 암종(basal cell carcinoma), 선암종(adenocarcinoma), 땀샘 암종(sweat gland carcinoma), 피지선 암종(sebaceous gland carcinoma), 유두 암종(papillary carcinoma), 유두 선암종(papillary adenocarcinomas), 낭샘암종(cystadenocarcinoma), 수질 암종(medullary carcinoma), 기관지원성 암종(bronchogenic carcinoma), 신장 세포 암종(renal cell carcinoma), 간세포종(hepatoma), 담관 암종(bile duct carcinoma), 융모막 암종(choriocarcinoma), 정소피종(seminoma), 배아 암종(embryonal carcinoma), 윌름즈 종양(Wilm's tumor), 자궁경부암(cervical cancer), 고환 종양(testicular tumor), 폐 암종(lung carcinoma), 소세포 폐 암종(small cell lung carcinoma), 방광 암종(bladder carcinoma), 상피 암종(epithelial carcinoma), 신경교종(glioma), 성상세포종(astrocytoma), 수모세포종(medulloblastoma), 두개인두종(craniopharyngioma), 상의세포종(ependymoma), 송과체종(pinealoma), 혈관모세포종(hemangioblastoma), 청신경종(acoustic neuroma), 희소돌기아교세포종(oligodendroglioma), 뇌수막종(menangioma), 흑색종, 신경모세포종(neuroblastoma) 및 망막모세포종(retinoblastoma)을 포함한 고형 종양의 진행, 및/또는 전이를 들 수 있다.

[0104] 임의의 특정 환자에 대한 특정 투여량 및 치료 체제는 사용된 특정 항체, 그것의 변이체 또는 유도체, 환자의 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별, 및 식단, 및 투여 시기, 배설 속도, 약물 조합, 및 치료되는 특정 질환의 중증도를 포함한 다양한 요인에 따라 좌우될 것이다. 의료진에 의한 그러한 요인의 판단은 해당 분야의 통상적인 기술 내에 있다. 양은 또한 치료될 개별 환자, 투여 경로, 제형의 유형, 사용된 화합물의 특징, 질환의 중증도, 및 원하는 효과에 따라 좌우될 것이다. 사용된 양은 기술분야에 잘 알려져 있는 약리학적 및 약동학적 원리에 의해 결정될 수 있다.

[0105] 항체, 변이체의 투여 방법에는 한정하는 것은 아니지만 피내, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하, 비강내, 경막외, 및 경구 경로가 포함된다. 항원 결합 폴리펩타이드 또는 조성물은 임의의 편리한 경로에 의해, 예를 들어 주입 또는 볼루스 주사에 의해, 상피 또는 피부점막 라이닝(예컨대, 구강 점막, 직장 및 소장 점막, 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고 다른 생물학적으로 활성인 작용제와 함께 투여될 수 있다. 그러므로, 본 개시의 항원 결합 폴리펩타이드를 함유하는 제약학적 조성물은 경구로, 직장으로, 비경구로, 낭내로, 질내로, 복강내로, 국소적으로(분말, 연고, 점적액 또는 경피용 패치에 의해서와 같음), 흡입으로, 또는 경구용 또는 비강용 스프레이로서 투여될 수 있다.

[0106] 본원에서 사용되는 용어 "비경구"는 정맥내, 근육내, 복강내, 흉골내, 피하 및 관절내 주사 및 주입을 포함한 투여 방식을 지칭한다.

[0107] 투여는 전신적이거나 국소적일 수 있다. 더불어, 개시의 항체는 뇌실내 및 척추강내 주사를 포함한 임의의 적합한 경로에 의해 중추신경계에 도입되는 것이 바람직할 수 있다; 뇌실내 주사는 예를 들어, 저장소, 예컨대 오마야 저장소(Ommaya reservoir)에 부착된 뇌실내 카테터에 의해 용이해질 수 있다. 폐 투여는 또한, 예컨대, 흡입기 또는 분무기를 사용함으로써, 그리고 에어로졸화제와 함께 제형화됨으로써 사용될 수 있다.

[0108] 개시의 항원 결합 폴리펩타이드 또는 조성물을 치료를 필요로 하는 영역에 국소적으로 투여하는 것이 바람직할 수 있다; 이것은, 예를 들어, 제한하는 것이 아니라, 수술 중 국소 투입에 의해, 국지적 적용에 의해, 예컨대 수술 후 상처 드레싱과 함께, 주사에 의해, 카테터에 의해, 좌약에 의해, 또는 임플란트에 의해 이루어질 수 있고, 상기 임플란트는 막, 예컨대 시알라스틱 막(sialastic membrane), 또는 섬유를 포함한 다공성, 비다공성, 또는 젤라틴성 물질의 것이다. 바람직하게, 개시의 항체를 포함한 단백질을 투여할 때, 단백질이 흡수되지 않는 물질을 사용하도록 주의해야 한다.

[0109] 면역 또는 악성 질환, 장애 또는 병태의 치료, 억제 및 예방에 효과적일 개시의 항체의 양은 표준 임상 기법에 의해 결정될 수 있다. 더불어, 최적의 투여량 범위를 확인하는 것을 돕기 위해 시험관내 검정이 선택적으로 사

용될 수 있다. 제형에 사용될 정확한 용량은 또한 투여 경로, 및 질환, 장애 또는 병태의 심각성에 따라 달라질 것이고, 의료인의 판단 및 각 환자의 상황에 따라 결정되어야 한다. 유효 용량은 시험관내 또는 동물 모델 테스트 시스템으로부터 파생된 용량 반응 곡선으로부터 외삽될 수 있다.

[0110] 일반적인 제안으로서, 본 개시의 항원 결합 폴리펩타이드의 환자에게 투여되는 투여량은 전형적으로 0.1 mg/kg 내지 100 mg/kg 환자의 체중, 0.1 mg/kg 내지 20 mg/kg 환자의 체중, 또는 1 mg/kg 내지 10 mg/kg 환자의 체중이다. 일반적으로, 인간 항체는 외래 폴리펩타이드에 대한 면역 반응으로 인해 다른 종으로부터의 항체보다 인체 내에서 더 긴 반감기를 갖는다. 그러므로, 낮은 투여량의 인간 항체 및 덜 빈번한 투여가 종종 가능하다. 추가로, 개시의 항체의 투여량 및 투여 횟수는 예를 들어, 지질화와 같은 변형에 의해 항체의 (예컨대, 너로의) 흡수 및 조직 침투를 향상시킴으로써 감소될 수 있다.

[0111] 추가 구체예에서, 개시의 조성물은 사이토카인과 함께 투여된다. 개시의 조성물과 함께 투여될 수 있는 사이토카인으로는, 한정되는 것은 아니지만, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, 항-CD40, CD40L, 및 TNF- α 를 들 수 있다.

[0112] 추가 구체예에서, 개시의 조성물은 다른 치료 또는 예방 체제, 예컨대 예를 들어, 방사선 요법과 함께 투여된다.

[0113] 진단 방법

[0114] SLC34A2의 과다발현은 특정 종양 샘플에서 관찰되며, SLC34A2 과다발현 세포를 가진 환자는 본 개시의 항-SLC34A2 항체를 사용한 치료에 반응할 가능성이 있다. 따라서, 본 개시의 항체는 또한 진단 및 예후 목적으로 사용될 수 있다.

[0115] 바람직하게 세포가 포함된 샘플은 환자로부터 얻어질 수 있는데, 환자는 암 환자이거나 진단이 바람직한 환자일 수 있다. 세포는 종양 조직 또는 종양 블록, 혈액 샘플, 소변 샘플 또는 환자로부터의 임의의 샘플의 세포일 수 있다. 샘플의 선택적인 전처리시에, 샘플은 항체가 샘플에 잠재적으로 존재하는 SLC34A2 단백질과 상호작용하는 것을 허용하는 조건 하에서 본 개시의 항체와 함께 인큐베이션될 수 있다. 샘플 내 SLC34A2 단백질의 존재를 검출하기 위하여, 항-SLC34A2 항체의 장점을 취하는 ELISA와 같은 방법이 사용될 수 있다.

[0116] 샘플 내 SLC34A2 단백질의 존재(선택적으로 양 또는 농도와 함께)는 환자가 항체를 사용한 치료에 적합하다는 지표로서, 또는 환자가 암 치료에 반응한(또는 하지 않은) 지표로서 암 진단에 사용될 수 있다. 진단 방법의 경우, 검출은 치료의 진행을 나타내기 위해 암 치료가 시작할 때 한번, 2회 이상, 특정 단계에서 실시될 수 있다.

[0117] 조성물

[0118] 본 개시는 또한 제약학적 조성물을 제공한다. 그러한 조성물은 유효량의 항체, 단편, 및 허용 가능한 담체를 포함한다. 일부 구체예에서, 조성물은 제2 항암제(예컨대, 면역 체크포인트 억제제)를 추가로 포함한다.

[0119] 특정 구체예에서, 용어 "제약학적으로 허용 가능한"은 동물, 보다 구체적으로는 인간에서 사용하도록 미국의 연방 또는 주 정부의 규제 기관에 의해 승인되거나 미국 약전 또는 다른 일반적으로 인정된 약전에서 게재된 것을 의미한다. 추가로, "제약학적으로 허용 가능한 담체"는 일반적으로 무독성 고체, 반고체 또는 액체 충전제, 희석제, 캡슐화 물질 또는 임의의 유형의 제형 보조제일 것이다.

[0120] 용어 "담체"는 치료제와 함께 투여되는 희석제, 보조제, 부형제, 또는 비히클을 지칭한다. 그러한 제약학적 담체는 석유, 동물성, 식물성 또는 합성 기원의 것을 포함한 멸균된 액체, 예컨대 물 및 오일, 예컨대 땅콩 기름, 대두유, 미네랄 오일, 참기름 등일 수 있다. 제약학적 조성물이 정맥내로 투여될 때 물이 바람직한 담체이다. 식염수 용액 및 수성 텍스트로스 및 글리세롤 용액이 또한 액체 담체로서, 특히 주사용 용액으로 사용될 수 있다. 적합한 제약학적 부형제에는 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 초크, 실리카겔, 스테아르산 나트륨, 글리세롤 모노스테아레이트, 탈크, 염화나트륨, 건조분유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등이 포함된다. 필요에 따라 조성물은 또한 미량의 습윤제 또는 유화제, 또는 아세테이트, 시트레이트 또는 포스페이트와 같은 pH 완충제를 함유할 수 있다. 벤질 알코올 또는 메틸 파라벤과 같은 향균제; 아스코르브산 또는 중아황산나트륨과 같은 항산화제; 에틸렌디아민테트라아세트산과 같은 킬레이트화제; 및 염화나트륨 또는 텍스트로스나와 같은 조성 조절제가 또한 구상된다. 이들 조성물은 용액, 현탁액, 에멀션, 정제, 알약, 캡슐, 분말, 지속성 방출 제형 등의 형태를 취할 수 있다. 조성물은 관례적인 결합제 및 트라이글리세라이드와 같은 담체와 함께 좌약으로서 제형화될 수 있다. 경구용 제형에는 제약 등급의 만니톨, 락토스, 전분, 스테아르산 마그네슘, 나트륨 사카린, 셀룰로스, 탄산 마그네슘, 등과 같은 표준 담체가 포함될

수 있다. 적합한 제약학적 담체의 예는 본원에 참조로 포함되는 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences by E. W. Martin]에 기술되어 있다. 그러한 조성물은 치료적 유효량의, 바람직하게는 정제된 형태의 항원 결합 폴리펩타이드를, 환자에게 적절하게 투여하기 위한 형태를 제공하기 위한 적합한 양의 담체와 함께 함유할 것이다. 제형은 투여 방식과 적합해야 한다. 비경구 제제는 유리 또는 플라스틱으로 만들어진 앰플, 일회용 주사기 또는 다중 용량 바이알에 담길 수 있다.

[0121] 구체예에서, 조성물은 인간에게 정맥내 투여하기 위해 적응된 제약학적 조성물로서 일상적인 과정에 따라 제형화된다. 전형적으로, 정맥내 투여용 조성물은 멸균된 등장성 수성 완충액 중의 용액이다. 필요에 따라, 조성물에는 또한 가용화제 및 주사 부위에서의 통증을 덜기 위해 리그노케인과 같은 국소 마취제가 포함될 수 있다. 일반적으로, 성분들은 별도로 또는 단위 투여 형태에 함께 혼합되어, 예를 들어, 활성 작용제의 양이 표시되는 앰플 또는 사세와 같은 밀폐 밀봉 용기 중의 건조 동결건조 분말 또는 수분 없는 농축물로서 공급된다. 조성물이 주입에 의해 투여되는 것인 경우에, 멸균된 제약학적 등급의 물 또는 식염수를 함유한 주입 병으로 분배된다. 조성물이 주사에 의해 투여되는 경우에, 성분들이 투여 전에 혼합될 수 있도록 주사용 멸균수 또는 식염수의 앰플이 제공될 수 있다.

[0122] 개시의 화합물은 중성 또는 염 형태로서 제형화될 수 있다. 제약학적으로 허용 가능한 염에는 염산, 인산, 아세트산, 옥살산, 타르타르산, 등으로부터 파생된 것과 같은 음이온으로 형성된 염과, 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘, 철 수산화물, 아이소프로필아민, 트라이에틸아민, 2-에틸아미노 에탄올, 히스티딘, 프로카인, 등으로부터 파생된 것과 같은 양이온으로 형성된 염이 포함된다.

[0123] 실시예

[0124] 실시예 1: 인간 SLC34A2에 대한 쥐과 단클론성 항체의 생성

[0125] 인간 SLC34A2 단백질을 사용하여 마우스의 상이한 스트레인을 면역화하였고, 따라서 하이브리도마를 생성하였다. SLC34A2 양성 결합자를 선택하여 하위클로닝하였다. 후속해서, 시험관내 결합 및 기능성 스크리닝을 수행하였고 가장 높은 결합 친화도 및 가장 강력한 기능성 효능을 가진 리드 항체를 확인하였다.

[0126] 25개의 리드 쥐과 항체의 VH/VL 서열을 아래의 표 1에 제공한다.

표 1

리드 쿼과 항체의 VH/VL 서열

항체 사슬	서열(CDR은 밑줄로 표시됨)	서열 번호:
30-H9(B8)F9 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTFTN NMHWVKQTPGQGLEWIGAIYPGNGATAYNOKFKGKATLTADKSSS TAYMQLSSLTSEASAVYYCARGMYGHGAMDYWGQGTSTIVSS	1
30-H9(B8)F9 VL	DIVMTQSHKFMRSVGDVRITCKASODVGTAVAWYQQKPGQSPKL LIYWATRHS GVPDRFTGSGSGTDFITISNVQSEDLADYFCQOYSSN PLTFGAGTKLELK	2
62-G10(E4)G8 VH	QVQLQQSGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFPSYITHWVKQTPGQGL EWIGAIYPGNGDTSYIOKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSA VYYCARGTYGTSAWFTYWGQGTSLVTVSA	3
62-G10(E4)G8 VL	DIVLTQSPATLSVTPGDSVLSRCRARNIGNNLYWYQQKSHESPRLLI KYASQSIGPSRFRSGSGTDFLTINSVETEDFGVYFCQOQSFWSPLT FGAGTKLELK	4
63-A11(D5)B4 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFITY NMHWVKQTPGQGREWIGAIYPGNGDTSYNOKFKGKATLTADKSSS TAYMQLNSLTSEDSAVYYCSISTHITGAVDYWGQGTSTVTAS	5
63-A11(D5)B4 VL	DIVMTQSHKFMSTSVGDVSITCKASODVGTAVAWYQQKAGQSPKL LIYWTSTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLIIRSLQSEDLADYFCQOYSRI PLTFGSGTKLELK	6
91-C9F1 VH	EVQLQQSGPELVKPGTSVKISCKTSGFFFTFYIHWVKQSHGRSLEWI GGIIPNNGVTNYKONFRGKAALTADKSSNTAYMELRSLTSEDSAVY YCARWRNGYYSAMDSWGQGTSTVTSS	7
91-C9F1 VL	DIVVTQSHKFMSTSLGDRVSITCTASODVGTAVAWYQQKPGHSPKLL IYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFLTITNVQSEDLADYFCQOYRTS PLTFGVGKLELK	8
7-F4C4 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNIHWVKQTPGQGL EWIGAVYPGNGDTSYNOKFRGKATLTADKSSNTAYMQLSSLTSEDS AVFYCARGIYGHGAMDSWGQGTSTVTSS	9
7-F4C4 VL	DIVMTQSHKFMSTSLGARVSITYKASODVGTAVAWYQQKPGQSPKL LIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFLTISNVQSEDLADYFCQOYSS NPLTFGAGTKLELK	10
94-B10A8 VH	QVQLQQTGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTGYIHWIKRPGQGLE WIGAIYPGNGDTSYNOKIKGRATLTADKSSNTAYMQLSSLTSEDSA VYYCARGDYGNPAWFAYWGQGTSLVTVSA	11
94-B10A8 VL	DVVLTSQSPATLSVTPGDRVSLSCRASOSISNYLYWYQQKAHESPRLLI KFAOSISGIPSRFRSGSGTDFLTLSINSVETEDFGMYFCQOSNKWPL TFGAGTKLELK	12
94-E9B12 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSY NMQWVKQTYGQGLEWIGAIISPGSGETSYNONFKVKATLTADKISS TAYMQLSSLTSEDSAVYYCARAARAEGWFAYWGQGTSLVTVSA	13

[0127]

94-E9B12 VL	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITC <u>KASODVGHAVV</u> WYQQKPGQFPK LLIY <u>WASTRHA</u> GVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFC <u>QOFR</u> <u>SIPLTF</u> GSGTKLEIK	14
67-C9G11 VH	DVKLVESGGGLVKLGSLKLSAASGFTFS <u>SYFMS</u> WIRQTPEKRV LVAV <u>INSNGGSTYSPDTVKG</u> RFTISRDNANTLYLQMTSLKSEDTA LYYC <u>ARHFYSYDGAWF</u> PYWGQGLTVTVSA	15
67-C9G11 VL	DIVMTQSHKFMSTLVGDRVSITC <u>KASODVSTSA</u> WYQQKPGQSPKL LIY <u>WASTRHT</u> GVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDLALYYC <u>QOHH</u> <u>STPITF</u> GVGKLEIK	16
90-G10H7 VH	QVQLQQPGAVLVKPGASVKMSCKASGYTFTS <u>SYIHH</u> WVKQTPGQGLE WVG <u>AIYPGNGDASSIOKFKG</u> KATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSADSA VYYC <u>ARGHYYGSAAWFAY</u> WGQGLTVTVSA	17
90-G10H7 VL	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSC <u>RASONIGTGHH</u> WYQQRNGSLRLLIK <u>YASESIS</u> GIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYC <u>QOSNSWPLTF</u> GAGTKLEIK	18
11-F6H8 VH	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSGFTFT <u>EYTMH</u> WVKQSHGKSLE WIG <u>GINPNNGISSYNONFKG</u> KATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSTV YYC <u>ARCRYYDTSYYDMDY</u> WGQGSVTVSS	19
11-F6H8 VL	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCR <u>ASODIRNFLN</u> WYQQKPDGTVKLL IY <u>YTSRLHSGVPSRFSGSGSDYSLTISNLEED</u> DIATYFC <u>QOSNTLP</u> <u>WTFGGG</u> TKLEIK	20
84-F2D10 VH	QVQLQQPGAVLVKPGASVKMSCKASGYTFTS <u>SYNLH</u> WVKQTPGQGL EWIG <u>AIYPGNGDTSYIOKFKG</u> KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSA VYYC <u>ARGKYGNYEGFAY</u> WGQGLTVTVSA	21
84-F2D10 VL	DILLTQSPAILSVSPGERVSISC <u>RASOSIGTSIY</u> WYQQRNGSPRLLIK <u>ASESIS</u> GIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYC <u>QONNRWPF</u> GSGTKLEIK	22
26-C5D2 VH	QVQLQPGAEVLKPGASVLMSCKTSGYTFTT <u>Y</u> <u>NMH</u> WVKQTPGQGLEWTGVISPGNGATSYTOKFKGKATLTADKSS NTVYMQLRSLTSEDSAVYNCAR <u>GYGNTGAMDH</u> WGQGSVTVSS	23
26-C5D2 VL	DIVMTQSHKFISTSVGERVIITC <u>KASODVGTAVT</u> WYQRKPRQSPKLLI <u>SWASTRHT</u> GVPDRFTGSGSGTDFTTINNVSQSEDLADYFC <u>QOYRAI</u> <u>PLTF</u> GAGTKLEIK	24
7-G10E11 VH	DVKLVESGGGLIKLGSLKLSAASGFTFS <u>GYYMS</u> WFRQTPEKRLEL VAV <u>INSNGGSTYYAVTVKG</u> RFTISRDNANTLYLQMSSLKSEDTALY YC <u>ARHEGSQAWFAH</u> WGQGLTVTVSA	25
7-G10E11 VL	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITC <u>KASODVTTAVA</u> WYQQKPGQSPKL LIY <u>WASTRHT</u> GVPDRFTGSGSGTDYTLTISVQAEDLALYYC <u>QOHH</u> <u>TPLTF</u> GAGTKLEIK	26
25-B11B9 VH	DVKLVESGGGLVRLGGSLKLSAASGFTFS <u>SHYMS</u> WVRQTPKKRLE LVAT <u>INSSGGNTYYPDTVKG</u> RFTISRDNARNTLFLQMTSLKSEDTAL YYC <u>ARQPINTVAYFDY</u> WGQGTTLTVSS	27
25-B11B9 VL	DIVMTQSHEFMSTSVGARVSITC <u>KASODLTTAVA</u> WYQQKPGQSPKLL IY <u>WASTRHIG</u> VDPDRFTGSGSGADYTLTISVQAEDLALYYC <u>QOYHST</u>	28

[0128]

	<u>PLTFGAGTKLELK</u>	
62-C10(B3)D2 VH	QVHQQQSGPELVKPGASVRISCKASGYTFTS <u>SYIIH</u> WVKQRPQGQLE WIG <u>CIYPGNLF</u> <u>TKYNEKFKD</u> KATLTADTSSTAYMHLSSLTSEDSAV YFCAR <u>FLNWN</u> <u>AWYFDV</u> WGAGTTVS	29
62-C10(B3)D2 VL	DVLMQTPLSLPVSLGDQASISCR <u>SSOSIEHSNGNTNLE</u> WYLQKPG QSPRLLIY <u>KVSNRFS</u> GVDPDRFSGSGGTDFTLKITGVEAEDLGYYC <u>FOGSHFPWT</u> FGGGTKLEIK	30
55-E5(B6)D12 VH	QVQLQQSGAEVNVNSGASVKMSCKASGYTFTT <u>TY</u> <u>NMH</u> WVKQTPGQGLEWIG <u>AIYPGNGDTSYNOREFKG</u> KATFTADRSG TAYMQLSSLPSSEDSAVYYCARG <u>GGYANGALVD</u> WGQGT	31
55-E5(B6)D12 VL	DILMTQSHKFMSTSVGDRVTITC <u>KASODVGTAVA</u> WYQNKPGQSPKL LIF <u>WTSTRHT</u> GVDPDRFTGSGGTDFLTISNVQSEDLADYFC <u>QOYSR</u> <u>QPLTF</u> GGGTKEIK	32
28-G3(C6)B9 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTS <u>SYIIH</u> WVKQAPGQGL EWIG <u>AIYPGNGDTSYSOREFKG</u> KAKLTADKSSSTAYMQLNSLTSEDS VYYCARG <u>NNYGSPAWFGY</u> WGQGT	33
28-G3(C6)B9 VL	DIVLTQSPVTLSTPTGDRVSLSC <u>RASOSIGNFLY</u> WYQKSHSPRLLI <u>KYASOSMS</u> GIPSRFSGSGGTDFLTISRVEDDFGMFYC <u>QOSNSWP</u> <u>VT</u> FGAGTKLELK	34
18-G1H4 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVRMSCKASAYTFTT <u>TYNLH</u> WVKQTPGQGL EWIG <u>AI</u> <u>SPGNGVTSYNOKFRG</u> KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSA VYYCARG <u>YGYSVGAMDY</u> WGQGT	35
18-G1H4 VL	DIQMTQTSSLSASLGDRVNISCS <u>SASOGIGNFLN</u> WYQKPDGTVKLL IY <u>YTSSLHS</u> GVPPRFSGSGGTDFLTISNLEPEDLATYYC <u>QOYHKLP</u> <u>LT</u> FGAGTKLELK	36
16-E5D10 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVMMSCASGYTFTS <u>NHNLH</u> WLKKTTPGQG LDWIG <u>AIYPGNGDTSYNOKFKGR</u> ATLTVDKSSNTAYMQFSSLTSED SAVFYCARG <u>KYGN</u> <u>GAMDY</u> WGQGT	37
16-E5D10 VL	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITC <u>RASODVGTAVV</u> WYQKLGQSPKL LFD <u>WASSRHT</u> GVDPDRFTGSGGTDFLTITDVQSEDLADYFC <u>QOYSR</u> <u>QPLTF</u> FGAGTKLELK	38
69-B11D8 VH	EVQLQQSGPELVKPGAAVKISCKTSGYTFTT <u>DYTMH</u> WVRQSHGKSLE WIG <u>GIHPNNGGTGYNOKLRG</u> KATLTVDKSSSTAYMELRSLTSDDSA VYYCARG <u>RES</u> <u>DGWFTY</u> WGQGT	39
69-B11D8 VL	DVHMTQTSSLSASLGDRVTITC <u>SASOGIGNSLN</u> WYQQPDGTVKL LIY <u>YTSRLHS</u> GVPSRFSGSGGTDFLTISNLEPEDLATYYC <u>QOYSRF</u> <u>PPT</u> FGGGTKLEIK	40
71-F7D4 VH	DVKLVESGGDLVKLGSLKLSAASGFTFS <u>NYYMS</u> WVRQTPEKRLE LVA <u>VINSNGGTTYYPD</u> <u>NMKGR</u> FTISRDNKNTLYLQTSSLSKSEDALYYCGR <u>HEHYVGTNIA</u> <u>WFAY</u> WGQGT	41
71-F7D4 VL	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITC <u>KASODVTTAVA</u> WYQKPGQSPKL LIY <u>WASTRHT</u> GVDPDRFTGSGGTDFLTISVQAEDLALYYC <u>QOHYS</u> <u>TPVT</u> FGGGTKLEIK	42

[0129]

78-D1B10 VH	QVQLQQPGADLVKPGASVKLSCKASGFTFTSYIHVWVKQTPGQGLEWIGAIYPGNGDTSYIOKFKGRAITLTADKSSSTAYMQLGGLTSEDSA VYYCARGTYGSSAWFVYWGQGTLLVTVSA	43
78-D1B10 VL	DIVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCRASOSISNNLYWYQQKSHPRLLIK YASOSISGIPSRFRSGSGTDFTLINSVETEDFGMYFCQOSNSWPLT FGAGTKLELK	44
87-H12B7 VH	QVQLQQPGAELVVRPGASVKMSCKASGYTFTSYIVHWVKQPPGQGLEWIGAIYPGNGDTSYIOKFKGRAITLTADKSSSTVYMQLSSLTSEDSA VYYCARGHYGSAWFGFWGQGTLLVTVSA	45
87-H12B7 VL	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASONIGTSIHVWYQRTNDSPRLLM RYASESVSGIPSRFRSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQOSNTWPL TFGAGTKLELK	46
20-H2F1 VH	EVKLVESGGNLVKGPGSLKLSAASGFTFSYAMSWVRQTPEKRLEWVA SISNGGTTYYPDSVKGRFTISRDAVARNILYQMTSLRSEDATAMYYCAR THYRDFVYWGQGTLLVTVSA	47
20-H2F1 VL	EIVLTQAAFSNPVTLTGTSASISCRSSKSLHNSGITYLYWYLQKPGQS PQLLIYQMSNLASGVPDRFSCSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYCAQ NLEFPWTFGGGKLEIK	48
95-H11A1D8 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFTTN NMHWVKQTPGQGLEWIGAIYPGNGATAYNOKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEASAVYYCARGMYHGAMDYWGQGTSTVIVSS	49
95-H11A1D8 VL	DIVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCRARONIGNNNLYWYQQKSHPRLLIK KYASOSISGIPSRFRSGSGTDFTLTINSVETEDFGVYFCQOSFSWPLT FGAGTKLELK	50

[0130]

[0131]

실시예 2. 인간 SLC34A2에 대한 키메릭 Ab의 FACS 결합

[0132]

이 실시예에서, 인간 SLC34A2 발현 세포 상에서 쥐과 항체로부터 제조된 키메릭 항체(hIgG1)의 세포 기반 결합을 유세포분석을 사용하여 평가하였다.

[0133]

간단히 설명하면, 인간 SLC34A2를 발현하는 OVCAR3 세포 또는 HEK293 세포를 키메릭 항체와 함께(200 nM로부터, 4배 희석, 8개 지점) 인큐베이션하였다. 4℃에서 60분 동안 인큐베이션한 후, 세포를 FACS 완충액으로 2회 세척한 후, 형광 콘주게이션된 이차 항체로 4℃에서 30분 동안 염색하였다. 그 세포를 2회 세척한 후 유세포분석에 의해 분석하였다.

[0134]

연구 결과(도 1A-B 및 2A-B 및 표 2-3)는 모든 키메릭 항체가 높은 친화도로 인간 SLC34A2에 결합할 수 있으며, 단 참조 항체 XMT-1536과 비교하여 가장 높은 농도에서 키메릭 62-C10(B3)D2 및 95-H11A1D8은 약간 감소한 것을 나타냈다.

표 2

OVCAR3 세포에 대한 키메릭 항체의 결합 친화도

[0135]

항체(제1 배치)	EC ₅₀ (nM)	상단(MFI)
xi7F4C4 hIgG1	4.49	39014
xi94B10A8 hIgG1	1.57	39619
xi94E9B12 hIgG1	11.01	46222
xi67C9G11 hIgG1	4.67	41042
xi90G10H7 hIgG1	2.14	43252
xi11F6H8 hIgG1	4.90	41330
xi84F2D10 hIgG1	3.84	40519
xi26C5D2 hIgG1	1.99	34227
xi7G10E11 hIgG1	1.68	39625
xi25B11B9 hIgG1	9.06	42516
xi62C10B3D2 hIgG1	408.50	29476
xi55E5B6D12 hIgG1	3.31	42934
xi28G3C6B9 hIgG1	4.27	42993
xi30H9B8F9 hIgG1	0.53	41946
xi62G10E4G8 hIgG1	2.55	43000

xi63A11D5B4 hIgG1	3.85	42986
xi18G1H4 hIgG1	2.75	42473
hIgG1 Isotype	~ 2895	~ 1566
XMT-1536	4.31	40189
항체(제2 배치)		
xi16E5D10 hIgG1	4.66	27607
xi69B11D8 hIgG1	2.12	27681
xi71F7D4 hIgG1	7.86	28910
xi78D1B10 hIgG1	2.52	27502
xi91C9F1 hIgG1	1.64	26417
xi87-H12B7 hIgG1	5.43	27824
xi20H2F1 hIgG1	2.73	26495
xi95H11A1D8VH-1 hIgG1	NA	NA
hIgG1 Isotype	NA	NA
XMT-1536	3.99	26673

표 3

인간 SLC34A2를 발현하는 HEK293 세포에 대한 키메라 항체의 결합 친화도

항체(제1 배치)	EC ₅₀ (nM)	상단(MFI)
xi7F4C4 hIgG1	2.27	88468
xi94B10A8 hIgG1	1.17	91255
xi94E9B12 hIgG1	2.48	105603
xi67C9G11 hIgG1	2.82	107055
xi90G10H7 hIgG1	1.52	114272
xi11F6H8 hIgG1	1.92	111432
xi84F2D10 hIgG1	1.37	109026
xi26C5D2 hIgG1	1.20	100725
xi7G10E11 hIgG1	1.72	108524
xi25B11B9 hIgG1	2.51	105605
xi62C10B3D2 hIgG1	378.40	127984
xi55E5B6D12 hIgG1	1.80	115440
xi28G3C6B9 hIgG1	1.88	106874
xi30H9B8F9 hIgG1	0.96	107226
xi62G10E4G8 hIgG1	1.28	100511
xi63A11D5B4 hIgG1	1.50	102578
xi18G1H4 hIgG1	0.86	106260
XMT-1536	--	---
항체(제2 배치)		
xi16E5D10 hIgG1	2.29	47483
xi69B11D8 hIgG1	1.19	48044
xi71F7D4 hIgG1	2.11	47863
xi78D1B10 hIgG1	1.26	47662
xi91C9F1 hIgG1	1.06	44788
xi87-H12B7 hIgG1	1.62	44894
xi20H2F1 hIgG1	1.31	41969
xi95H11A1D8VH-1 hIgG1	63.4	12705
hIgG1	NA	NA
117-BMK	1.67	46062

[0137] 전술한 세포 기반 결합 결과를 토대로, 유세포분석을 사용하여 인간 SLC34A2 발현 세포에 대한 추후 세포 기반 결합을 위해 키메라 항체의 일부를 선택하였다. RMG-1 세포를 선택된 키메라 항체와 함께(200 nM로부터, 4배 희석, 8개 지점) 인큐베이션하였다. 4℃에서 60분 동안 인큐베이션한 후, 세포를 FACS 완충액으로 2회 세척한 후, 형광 콘쥬게이션된 이차 항체로 4℃에서 30분 동안 염색하였다. 세포를 2회 세척한 후 유세포분석에 의해 분석

하였다.

[0138] 연구 결과(도 3 및 표 4)는 키메릭 항체가 참조 항체 XMT-1536과 비교하여 높은 친화도로 인간 SLC34A2에 결합할 수 있음을 나타낸다.

표 4

RMG-1 세포에 대한 선택된 키메릭 항체의 결합 친화도

항체	EC ₅₀ (nM)	상단(MFI)
xi7F4C4 hIgG1	5.03	8461
xi94B10A8 hIgG1	2.58	9373
xi94E9B12 hIgG1	9.05	10003
xi90G10H7 hIgG1	2.77	9922
xi84F2D10 hIgG1	4.33	8596
xi26C5D2 hIgG1	2.52	7062
xi55E5B6D12 hIgG1	3.48	9502
xi28G3C6B9 hIgG1	4.73	9424
xi30H9B8F9 hIgG1	0.99	9470
xi62G10E4G8 hIgG1	3.65	9371
xi63A11D5B4 hIgG1	5.32	9768
xi18G1H4 hIgG1	7.91	9800
xi16E5D10 hIgG1	3.76	9495
xi69B11D8 hIgG1	1.70	9201
xi71F7D4 hIgG1	8.36	10204
xi78D1B10 hIgG1	2.10	9860
xi91C9F1 hIgG1	1.30	9233
xi87H12B7 hIgG1	9.11	9657
hIgG1 아이소타입	NA	NA
XMT-1536	4.87	9114

[0139]

[0140] 실시예 3. 리서스 및 시노플구스 SLC34A2 단백질에 대한 키메릭 Ab의 교차 반응성 결합

[0141] 이 실시예에서, 리서스 및 시노플구스 SLC34A2 발현 세포 상에서 키메릭 Ab의 세포 기반 결합을 유세포분석을 사용하여 평가하였다.

[0142] 간단히 설명하면, 리서스 SLC34A2 발현 HEK293 조작 세포(HEK293/리서스 _SLC34A2)를 키메릭 Ab와 함께(200 nM로부터, 4배 희석, 8개 지점) 인큐베이션하였다. 4℃에서 60분 동안 인큐베이션한 후, 세포를 FACS 완충액으로 2회 세척한 후, 형광 콘주게이션된 이차 항체로 4℃에서 30분 동안 염색하였다. 그 세포를 2회 세척한 후 유세포분석에 의해 분석하였다.

[0143] 연구 결과(도 4 및 표 5)는 대부분의 키메릭 Ab가 높은 친화도로 리서스 SLC34A2에 결합할 수 있음을 나타낸다.

표 5

리서스에 대한 교차 반응성 결합

항체	EC ₅₀ (nM)	상단(MFI)
xi7F4C4 hIgG1	3.09	13074
xi94B10A8 hIgG1	2.24	13671

[0144]

xi94E9B12 hIgG1	2.38	18712
xi90G10H7 hIgG1	2.19	18502
xi84F2D10 hIgG1	46.04	8844
xi26C5D2 hIgG1	NA	NA
xi55E5B6D12 hIgG1	2.46	15942
xi28G3C6B9 hIgG1	3.19	13396
xi30H9B8F9 hIgG1	1.26	17011
xi62G10E4G8 hIgG1	2.53	11975
xi63A11D5B4 hIgG1	2.56	15148
xi18G1H4 hIgG1	2.90	14349
xi16E5D10 hIgG1	2.72	14803
xi69B11D8 hIgG1	1.68	11619
xi71F7D4 hIgG1	NA	~ 5396799
xi78D1B10 hIgG1	1.58	15959
xi91C9F1 hIgG1	0.95	12220
xi87H12B7 hIgG1	2.85	18333
hIgG1 아이소타입	NA	NA
XMT-1536	2.54	11913

[0145] 마찬가지로, 키메릭 항체의 시노물구스 SLC34A2에 대한 결합을 측정하였고, 그 결과를 도 5 및 표 6에 나타낸다. 결과는 대부분의 키메릭 Ab가 높은 친화도로 시노물구스 SLC34A2에 결합할 수 있음을 나타낸다.

표 6

시노물구스에 대한 교차 반응성 결합

항체	EC ₅₀ (nM)	상단(MFI)
xi7F4C4 hIgG1	3.30	3121
xi94B10A8 hIgG1	5.47	3149
xi94E9B12 hIgG1	2.51	3579
xi90G10H7 hIgG1	2.40	4561
xi84F2D10 hIgG1	68.46	1275
xi26C5D2 hIgG1	945.60	1208
xi55E5B6D12 hIgG1	2.70	3541
xi28G3C6B9 hIgG1	2.81	3772
xi30H9B8F9 hIgG1	1.08	4079
xi62G10E4G8 hIgG1	3.33	4016
xi63A11D5B4 hIgG1	5.33	3508
xi18G1H4 hIgG1	4.93	4086
xi16E5D10 hIgG1	3.79	3728
xi69B11D8 hIgG1	88.35	2566
xi71F7D4 hIgG1	NA	NA
xi78D1B10 hIgG1	1.50	4398
xi91C9F1 hIgG1	9.11	2434
xi87H12B7 hIgG1	7.66	4711
hIgG1 아이소타입	NA	NA
XMT-1536	29.31	2052

[0146]

[0147] 실시예 4. 래트 SLC34A2 단백질에 대한 교차 반응성 결합

[0148] 이 실시예에서, 래트 SLC34A2 발현 세포 상에서 키메릭 Ab의 세포 기반 결합을 유세포분석을 사용하여 평가하였다.

[0149] 간단히 설명하면, 래트 및 마우스 SLC34A2 발현 HEK293 조작 세포(HEK293/래트_SLC34A2, HEK293/마우스_SLC34A2)를 키메릭 Ab(10 ug/ml)와 함께 인큐베이션하였다. 4℃에서 60분 동안 인큐베이션한 후, 세포를 FACS 완충액으로 2회 세척한 후, 형광 콘주게이션된 이차 항체로 4℃에서 30분 동안 염색하였다. 그 세포를 2회 세척한 후 유세포분석에 의해 분석하였다.

[0150] 연구 결과(도 6A-B)는 대부분의 키메릭 Ab가 높은 친화도로 설치류 SLC34A2에 결합할 수 있음을 나타낸다.

[0151] 실시예 5. 인간 SLC34A2 발현 세포에 대한 ADCC

[0152] 이 실시예는 키메릭 항체의 항체 의존성 세포독성 활성을 유도하는 능력을 평가하였다.

[0153] 여기서 사용된 ADCC 리포터 생물검정은 ADCC MOA 경로 활성화의 앞선 지점에서 대체 판독: 이펙터 세포에서 NFAT(활성화된 T 세포의 핵 인자) 경로를 통한 유전자 전사 활성화를 사용한다. 더불어, ADCC 리포터 생물검정은 이펙터 세포로서 FcγRIIIa 수용체, V158(높은 친화도) 변이체, 및 반딧불이 루시페라제의 발현을 구동시키는 NFAT 반응 요소를 안정적으로 발현하는 조작된 Jurkat 세포를 사용한다. ADCC MOA에서의 항체 생물학적 활성을 NFAT 경로 활성화의 결과로서 생성된 루시페라제를 통해 정량화한다; 이펙터 세포의 루시페라제 활성은 발광 판독으로 정량화된다. 신호는 높고, 검정 배경값은 낮다.

[0154] 키메릭 Ab의 연속 희석을 6시간 동안 37℃에서 조작된 Jurkat 이펙터 세포(ADCC 생물검정 이펙터 세포)와 함께, ADCC 생물검정 표적 세포(SLC34A2를 발현함)와 함께 인큐베이션하였다. 루시페라제 활성을 ONE-Glo™ 루시페라제 검정 완충 시약을 사용하여 정량화하였다. 결과를 도 7A-B 및 표 7에 나타낸다. 나타낸 바와 같이, 테스트된 모든 키메릭 항체는 강력한 ADCC 유도 활성을 나타냈다.

표 7

키메릭 항체의 ADCC

항체	EC ₅₀ (nM)	상단(MFI)
xi7F4C4 hIgG1	2.5	439624
xi94B10A8 hIgG1	4.0	485769
xi94E9B12 hIgG1	3.3	382205
xi90G10H7 hIgG1	2.3	397344
xi84F2D10 hIgG1	2.5	409115
xi26C5D2 hIgG1	3.0	427014
xi55E5B6D12 hIgG1	3.0	530043
xi28G3C6B9 hIgG1	6.4	569103
xi30H9B8F9 hIgG1	3.1	487349
xi62G10E4G8 hIgG1	4.8	542275
xi63A11D5B4 hIgG1	4.6	216320
xi18G1H4 hIgG1	2.2	227773
xi16E5D10 hIgG1	2.1	237571
xi69B11D8 hIgG1	2.7	216267
xi71F7D4 hIgG1	3.6	247281
xi78D1B10 hIgG1	2.6	211795
xi91C9F1 hIgG1	2.8	215229
xi87H12B7 hIgG1	5.1	194715
hIgG1 아이소타입	NA	NA

[0155] 실시예 6. 인간 SLC34A2 발현 세포에 대한 세포독성 효과

[0156] 이 실시예는 키메릭 항체의 세포독성 효과를 조사하였다.

[0157] 인간 SLC34A2 발현 HEK293 조작 세포(HEK293/H_SLC34A2)를 96-웰 플레이트에 시딩하였다. 세포를 5일 동안 각

각의 농도의 키메릭 Ab 복합체로 처리하였다. 세포 생존력을 CellTiter-Glo 시약에 의해 측정하였다. 루시페라제 활성을 Envision에 의해 검출하였다.

[0159] 결과(도 8A-B 및 표 8)는 이들 키메릭 Ab가 모두 고도로 강력한 살해 활성을 가진 것을 나타낸다.

표 8

세포독성 활성

항체	IC ₅₀ (nM)	억제 %
xi7F4C4 hIgG1	0.67	86.5
xi94B10A8 hIgG1	0.70	97.5
xi94E9B12 hIgG1	0.85	83.6
xi90G10H7 hIgG1	0.28	103.1
xi84F2D10 hIgG1	0.61	101.9
xi26C5D2 hIgG1	1.06	82.9
xi55E5B6D12 hIgG1	0.69	96.7
xi28G3C6B9 hIgG1	0.36	86.4
xi30H9B8F9 hIgG1	0.84	91.7
xi62G10E4G8 hIgG1	0.42	97.2
xi63A11D5B4 hIgG1	0.66	99.0
xi18G1H4 hIgG1	0.36	82.7
xi16E5D10 hIgG1	0.78	93.1
xi69B11D8 hIgG1	0.67	86.9
xi71F7D4 hIgG1	0.83	99.4
xi78D1B10 hIgG1	0.50	94.0
xi91C9F1 hIgG1	0.80	97.4
xi87H12B7 hIgG1	0.35	82.6
hIgG1 아이소타입	NA	92.3
XMT-1536	0.72	100.4

[0160]

[0161] 실시예 7. 번역후 변형을 방지하기 위한 CDR에 대한 돌연변이

[0162] 귀과 항체 중 6개, 즉 90G10H7, 55E5B6D12, 30H9B8F9, 62G10E4G8, 63A11D5B4, 및 91C9F1을, 여기서 PTM 위험 제거 서열로 언급되는 잠재적 번역후 변형(PTM)을 방지하기 위한 인간화 및 아미노산 돌연변이에 대해 선택하였다.

[0163] PTM 위험 제거 VH 사슬을 먼저 표적 결합에 미치는 그것의 영향력에 대해 테스트하였다. 인간 SLC34A2 발현 세포 상에서 PTM Ab의 세포 기반 결합을 유세포분석을 사용하여 평가하였다. 간단히 설명하면, HEK293/H_SLC34A2 세포를 PTM Ab와 함께(200 nM로부터, 4배 희석, 8개 지점) 인큐베이션하였다. 4℃에서 60분 동안 인큐베이션한 후, 세포를 FACS 완충액으로 2회 세척한 후, 형광 콘주게이션된 이차 항체로 4℃에서 30분 동안 염색하였다. 그 세포를 2회 세척한 후 유세포분석에 의해 분석하였다.

[0164] 연구 결과(도 9A-C 및 표 9)는 인간화된/PTM-위험 제거 항체가 높은 친화도로 인간 SLC34A2에 결합할 수 있음을 나타낸다.

표 9

SLC34A2 발현 HEK293에 대한 결합

항체	EC ₅₀ (nM)	상단(MFI)
hIgG1 아이 소타입	NA	NA
XMT-1536	2.50	27716
xi30H9B8F9 hIgG1	1.14	32228
30H9B8F9 VH_P1/VL hIgG1	0.89	31744
30H9B8F9 VH_P2/VL hIgG1	2.04	31036
30H9B8F9 VH_P3/VL hIgG1	0.86	31483
xi62G10E4G8 hIgG1	1.95	30330
62G10E4G8 VH_P1/VL hIgG1	7.31	33356
62G10E4G8 VH_P2/VL hIgG1	2.63	29055
62G10E4G8 VH_P3/VL hIgG1	2.73	30766
xi63A11D5B4 hIgG1	2.13	30449
63A11D5B4 VH_P1/VL hIgG1	1.48	30393
63A11D5B4 VH_P2/VL hIgG1	3.74	30993
63A11D5B4 VH_P3/VL hIgG1	1.26	31638
xi90G10H7 hIgG1	1.14	32228
90G10H7.p1 hIgG1	0.89	31744
90G10H7.p2 hIgG1	2.04	31036
90G10H7.p3 hIgG1	0.86	31483
90G10H7.p4 hIgG1	1.95	30330
90G10H7.p5 hIgG1	7.31	33356
90G10H7.p6 hIgG1	2.63	29055
90G10H7.p7 hIgG1	2.73	30766
90G10H7.p8 hIgG1	2.13	30449
xi55E5B6D12 hIgG1	1.48	30393
55E5B6D12.p1 hIgG1	3.74	30993
55E5B6D12.p2 hIgG1	1.26	31638
xi91C9F1 hIgG1	1.57	28615
91C9F1.p1 hIgG1	0.68	28205
91C9F1.p2 hIgG1	2.07	26916

[0165]

[0166] 유사하게, 단백질을 내인적으로 발현하는 OVCAR3 세포에 대한 이들 인간화된/PTM-위험 제거 항체의 결합을 테스트하였다. 그 결과를 도 10 및 표 10에 나타낸다. 다시 한번, 결과는 이들 항체의 결합 친화성을 확인시켜주었다.

표 10

OVCAR3 세포에 대한 결합

항체	EC ₅₀ (nM)	상단(MFI)
hIgG1 아이소타입	NA	NA
XMT-1536	3.8	58447
xi30H9B8F9 hIgG1	1.1	69144
30H9B8F9 VH_P1/VL hIgG1	1.5	70424
xi62G10E4G8 hIgG1	5.8	71096
62G10E4G8 VH_P3/VL hIgG1	9.1	72506
xi63A11D5B4 hIgG1	9.2	78584
63A11D5B4 VH_P1/VL hIgG1	7.5	75229
xi90G10H7 hIgG1	3.9	72926
90G10H7.p1 hIgG1	2.5	73591
90G10H7.p4 hIgG1	2.2	71848
xi55E5B6D12 hIgG1	5.1	71368
55E5B6D12.p2 hIgG1	28	67983
xi91C9F1 hIgG1	1.6	63258
91C9F1.p1 hIgG1	1	63499

[0167]

[0168]

리서스 SLC34A2에 대한 이들 항체의 결합을 또한 위에서 기술된 과정을 사용하여 테스트하였다. 결과를 도 11 및 표 11에 나타내며, 이들 PTM 위험 제거 서열의 높은 친화성을 확인시켜준다.

표 11

리서스 SLC34A2에 대한 결합

항체	EC ₅₀ (nM)	상단(MFI)
hIgG1 아이소타입	NA	NA
XMT-1536	5.8	27020
xi30H9B8F9 hIgG1	1.9	47919
30H9B8F9 VH_P1/VL hIgG1	2	47355
xi62G10E4G8 hIgG1	3.7	39085
62G10E4G8 VH_P3/VL hIgG1	4.3	36475
xi63A11D5B4 hIgG1	4.6	45513
63A11D5B4 VH_P1/VL hIgG1	3.9	39411
xi90G10H7 hIgG1	3.5	47439
90G10H7.p1 hIgG1	2.4	48938
90G10H7.p4 hIgG1	2.3	48591
xi55E5B6D12 hIgG1	4.9	46426
55E5B6D12.p2 hIgG1	~ 21808	~ 121986
xi91C9F1 hIgG1	3.9	15455
91C9F1.p1 hIgG1	2.8	26430

[0169]

[0170]

실시예 8. 인간화된 항체

[0171]

위의 결과를 토대로, 위의 항체들 중 4개, 즉 30H9B8F9, 62G10E4G8, 63A11D5B4, 및 91C9F1을 계속해서 인간화를 통해 개발하였다.

[0172]

전체적으로 가장 잘 매칭되는 인간 생식선 Ig 유전자 서열을 찾기 위하여 각각의 쥐과 항체의 VH 및 VL의 아미노산 서열을 인간 Ig 유전자 서열의 활용 가능한 데이터베이스에 대해 비교하였다. 쥐과 항체의 CDR을 그 후에 매칭된 인간 서열로 이식하였다. cDNA를 합성하여 인간화된 항체를 생성하는데 사용하였다. 그 후에 쥐과 항체로부터의 특정 역 돌연변이를 다시 인간화된 항체에 도입하였다.

[0173]

인간화된 항체의 아미노산 서열을 아래의 표 12-15에 제공한다.

[0174] 인간화된 및 PTM 위험 제거 서열

[0175] A. 30-H9(B8)F9

【표 12A】 인간화된 서열

항체 사슬	서열(진한색 잔기는 역 돌연변이임; PTM 위험 제거 잔기는 상자로 표시됨)	서열 번호:
30-H9(B8)F9 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFTN <u>NMHWVKQTPGQGLEWIGAIYPGNGATAYNOKFKG</u> KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEASAVYYCARGMYGHGAMDYWGQGTSVIVSS	1
30-H9(B8)F9.p1 VH_1	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCASGYTFTN NMHWVRQAPGQGLEWIMGAIYPG <u>SG</u> ATAYNQKFKGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCASGMYGHGAMDYWGQGTSLTVSS	58
30-H9(B8)F9.p1 VH_2	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCCKTSGYTFTN NMHWVRQAPGQGLEWIGAIYPG <u>SG</u> ATAYNQKFKGRVTMTADTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCARGMYGHGAMDYWGQGTSLTVSS	59
30-H9(B8)F9.p1 VH_3	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCCKTSGYTFTN NMHWVRQAPGQGLEWIGAIYPG <u>SG</u> ATAYNQKFKGRVTLTADKSTSTAYMELSSLRSEATA VYYCARGMYGHGAMDYWGQGTSLTVSS	60
30-H9(B8)F9.p1 VH_4	QVQLVQSGAEVVKPGASVKMSCKTSGYTFTN NMHWVKQAPGQGLEWIGAIYPG <u>SG</u> ATAYNQKFKGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEATA VYYCARGMYGHGAMDYWGQGTSLTVSS	61
30-H9(B8)F9 VL	DIVMTQSHKFMRSRVGDRVRITC <u>KASQDVGTAVA</u> WYQQKPGQSPKLLIY <u>WATTRHS</u> GVDPDRFTGSGSGTDFTISNVQSEDLADYFC <u>QQYSSNP</u> LTFGAGTKLEIK	2
30-H9(B8)F9 VL_1	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCKASQDVGTAVAWYQQKPGKAPKLLIY WATTRHSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSNP LTFG QGTKLEIK	62
30-H9(B8)F9 VL_2	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCKASQDVGTAVAWYQQKPGKSPKLLIY WATTRHSGV <u>DR</u> FSGSGSGTEFT <u>FT</u> ISSLQPEDFATYFCQQYSSNP LTFG QGTKLEIK	63
30-H9(B8)F9 VL_3	DIQMTQSPSFLSASVGDRTITCKASQDVGTAVAWYQQKPGKSPKLLIY WATTRHSGV <u>DR</u> FSGSGSGTEF <u>IFT</u> ISSVQPEDFATYFCQQYSSNP LTF GAGTKLEIK	64
30-H9(B8)F9 VL_4	DIVMTQSPSFLSASVGDRTITCKASQDVGTAVAWYQQKPGKSPKLLIY WATTRHSGV <u>DR</u> FTGSGSGT <u>DFIFT</u> ISSVQPEDFATYFCQQYSSNP LTF FGAGTKLEIK	65

[0176]

【표 12B】 CDR 서열

영역	서열	서열 번호:
VH CDR1	TN NMH	51
VH CDR2	AIYPGNGATAYNQKFKG	57
	AIYPG <u>SG</u> ATAYNQKFKG	52
VH CDR3	GMYGHGAMDY	53
VL CDR1	KASQDVGTAVA	54
VL CDR2	WATTRHS	55
VL CDR3	QQYSSNP LTF	56

[0177]

【표 12C】 인간화된 항체

30-H9(B8)F9.p1	VH_1	VH_2	VH_3	VH_4
VL_1	Z1	Z5	Z9	Z13
VL_2	Z2	Z6	Z10	Z14
VL_3	Z3	Z7	Z11	Z15
VL_4	Z4	Z8	Z12	Z16

B. 62-G10(E4)G8

【표 13A】 인간화된 서열

항체 사슬	서열(진한색 잔기는 역 돌연변이임; PTM 위험 제거 잔기는 상자 로 표시됨)	서열 번호:
62-G10(E4)G8 VH	QVQLQQSGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFPSYITHWVKQTPGQG LEWIGAIYPGNGDTSYIOKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSED SAVYYCARGTYGTS ~~AWFTY~~ WGQGT ~~LVTV~~ SA	3
62- G10(E4)G8.p3 VH_1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFPSYITHWVRQAPGQGL EWMGAIYPG ~~NA~~ DTSYIQKFKGRVTMT ~~RD~~ TSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGTYGTS ~~AWFTY~~ WGQGT ~~LVTV~~ SS	73
62- G10(E4)G8.p3 VH_2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFPSYITHWVRQAPGQGL EWIGAIYPG ~~NA~~ DTSYIQKFKGRVTMTADKSTSTVYMELSSLRSED AVYYCARGTYGTS ~~AWFTY~~ WGQGT ~~LVTV~~ SS	74
62- G10(E4)G8.p3 VH_3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFPSYITHWVKQAPGQGL EWIGAIYPG ~~NA~~ DTSYIQKFKGRVTLTADKSTSTAYMELSSLRSED AVYYCARGTYGTS ~~AWFTY~~ WGQGT ~~LVTV~~ SS	75
62- G10(E4)G8.p3 VH_4	QVQLVQSGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFPSYITHWVKQAPGQG LEWIGAIYPG ~~NA~~ DTSYIQKFKGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGTYGTS ~~AWFTY~~ WGQGT ~~LVTV~~ SS	76
62-G10(E4)G8 VL	DIVLTQSPATLSVTPGDSVSLSC ~~RARONIGNN~~ LYWYQKQSHESPRL LIK ~~YASOSIS~~ GIPSRFSGSGSGTDFLTINSVETEDFGVYFC ~~QOSFSW~~ ~~PLTF~~ GAGTKLEIK	4
62-G10(E4)G8 VL_1	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRARQNIGNNLYWYQKPGQAPRL LIYYASQISGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYC QOSFSWPLTFGQGTKLEIK	77
62-G10(E4)G8 VL_2	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRARQNIGNNLYWYQKPGQSPRL LIK ~~YASQ~~ SISGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYFC QOSFSWPLTFGQGTKLEIK	78
62-G10(E4)G8 VL_3	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRARQNIGNNLYWYQKPGQSPRL IK ~~YASQ~~ SISGIPSRFSGSGSGTDFLTISLQSEDFAVYFC QOSFSWPLTFGQGTKLEIK	79
62-G10(E4)G8 VL_4	EIVLTQSPATLS ~~AS~~ PGERATLSCRARQNIGNNLYWYQKPGQSPRL IK ~~YASQ~~ SISGIPSRFSGSGSGTDFLTISSVQSEDFAVYFC QOSFSWPLTFGAGTKLEIK	80

【표 13B】 CDR 서열

영역	서열	서열 번호:
VH CDR1	SYITH	66
VH CDR2	AIYPGNGDTSYIQKFKG	72
	AIYPG N ADTSYIQKFKG	67
VH CDR3	GTYGTSAWFTY	68
VL CDR1	RARQNIGNNLY	69
VL CDR2	YASQSIG	70
VL CDR3	QQSFSWPLT	71

【표 13C】 인간화된 항체

62-G10(E4)G8.p3	VH_1	VH_2	VH_3	VH_4
VL_1	Z1	Z5	Z9	Z13
VL_2	Z2	Z6	Z10	Z14
VL_3	Z3	Z7	Z11	Z15
VL_4	Z4	Z8	Z12	Z16

[0183] C. 63-A11(D5)B4

【표 14A】 인간화된 서열

항체 사슬	서열(진한색 잔기는 역 돌연변이임; PTM 위험 제거 잔기는 상자로 표시됨)	서열 번호:
63-A11(D5)B4 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCRTSGYTFITY NMHWVKQTPGQG REWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLNSLTSED SAVYYCSISTIIITGAVDYGQGTSLTVSS	5
63-A11(D5)B4 p1 VH_1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFITY NMHWVRQAPGQG LEWMGAIYPGSGDTSYNQKFKGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCASSTIIITGAVDYGQGTSLTVSS	88
63-A11(D5)B4 p1 VH_2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKCTSGYTFITY NMHWVRQAPGQGL EWIGAIYPGSGDTSYNQKFKGRVTMTADTSTSTVYMELSSLRSED AVYYCSISTIIITGAVDYGQGTSLTVSS	89
63-A11(D5)B4 p1 VH_3	QVQLVQSGAEVVKPGASVKMSCKTSGYTFITY NMHWVRQAPGQG LEWIGAIYPGSGDTSYNQKFKGRVTLTADKSTSTAYMELSSLRSED AVYYCSISTIIITGAVDYGQGTSLTVSS	90
63-A11(D5)B4 p1 VH_4	QVQLQQSGAEVVKPGASVKMSCKTSGYTFITY NMHWVKQAPGQG REWIGAIYPGSGDTSYNQKFKGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCSISTIIITGAVDYGQGTSLTVSS	91
63-A11(D5)B4 VL	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVGTAWYQQKAGQSPK LLIYWTSTRHTGVPRFTGSGSGTDFTLIRSLQSEDLADYFCQQOYS RIPLTFGSGTKLEIK	6
63-A11(D5)B4 VL_1	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCKASQDVGTAWYQQKPGKVPKLL IYWTSTRHTGVPSRFTGSGSGTDFTLISLQPEDVATYYC QQYSRIPLTFGGGTKVEIK	92
63-A11(D5)B4 VL_2	DIQMTQSPSSLSTSVGDRTITCKASQDVGTAWYQQKPGKSPKLL IYWTSTRHTGVPSRFTGSGSGTDFTLISLQPEDVATYYC QQYSRIPLTFGGGTKVEIK	93
63-A11(D5)B4 VL_3	DIQMTQSPSSLSTSVGDRTITCKASQDVGTAWYQQKPGQSPKLL IYWTSTRHTGVPRFTGSGSGTDFTLIRSLQPEDVATYFC QQYSRIPLTFGGGTKVEIK	94
63-A11(D5)B4 VL_4	DIVMTQSPSSLSTSVGDRTITCKASQDVGTAWYQQKPGQSPKLL IYWTSTRHTGVPRFTGSGSGTDFTLIRSLQPEDVATYFC QQYSRIPLTFGSGTKVEIK	95

【표 14B】 CDR 서열

영역	서열	서열 번호:
VH CDR1	TY NMH	81
VH CDR2	AIYPGNGDTSYNQKFKG	87
	AIYPGSGDTSYNQKFKG	82
VH CDR3	STIIITGAVDY	83
VL CDR1	KASQDVGTAVA	84
VL CDR2	WTSTRHT	85
VL CDR3	QQYSRIPLT	86

【표 14C】 인간화된 항체

63-A11(D5)B4.p1	VH_1	VH_2	VH_3	VH_4
VL_1	Z1	Z5	Z9	Z13
VL_2	Z2	Z6	Z10	Z14
VL_3	Z3	Z7	Z11	Z15
VL_4	Z4	Z8	Z12	Z16

D. 91-C9F1

【표 15A】 인간화된 서열

항체 사슬	서열(진한색 잔기는 역 돌연변이임; PTM 위험 제거 잔기는 상자로 표시됨)	서열 번호:
91-C9F1 VH	EVQLQQSGPELVKPGTSVKISCKTSGFFFT EYIIH WVKQSHGRSLEWIG GII PNN GV T NY K ONFR GKAALTADKSSNTAYMELRSLTSEDSAVYYC ARWR NG YYSAMDSWGQGTSTVTVSS	7
91-C9F1.p1 VH_1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGFFFT EYIIH WVRQAPGQGLEW MG GI PN ND VTNYKQNFGRVTTITADESTSTAYMELSSLRSEDATVYYC ARWR NA YYSAMDSWGQGTSTVTVSS	104
91-C9F1.p1 VH_2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKTSGFFFT EYIIH WVRQAPGQGLEW I GGI PN ND VTNYKQNFGRVTLTAD K STSTAYMELSSLRSEDATVYYC ARWR NA YYSAMDSWGQGTSTVTVSS	105
91-C9F1.p1 VH_3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKTSGFFFT EYIIH WVRQSPGQGLEW I GGI PN ND VTNYKQNFGRATLTAD K STSTAYMELSSLRSEDATVYYC ARWR NA YYSAMDSWGQGTSTVTVSS	106
91-C9F1.p1 VH_4	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKTSGFFFT EYIIH WVKQSPGQGLEW I GGI PN ND VTNYKQNFGRATLTAD K STNTAYMELRSSLRSEDATVYYC CARWR NA YYSAMDSWGQGTSTVTVSS	107
91-C9F1 VL	DIVVTQSHKFMSTSLGDRVSITC TASODVGTAVA WYQKPGHSPKLLI YW AST RHT GVPERFTGSGSGTDFTLTITNVQSEDLADYFC QOYRTSPL I FGVGTKLELK	8
91-C9F1 VL_1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCTASQDVGTAVAWYQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQYRTSPLTFG GGTKVEIK	108
91-C9F1 VL_2	DIQMTQSPSSLSVSGDRVTTITCTASQDVGTAVAWYQKPGKSPKLLIY WASTRHTGVPERFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYFCQYRTSPLTFG GGTKVEIK	109
91-C9F1 VL_3	DIQVTQSPSSLSVSGDRVTTITCTASQDVGTAVAWYQKPGKSPKLLIY WASTRHTGVPERFTGSGSGTDFTLTISVQPEDVATYFCQYRTSPLTF GVGKVEIK	110
91-C9F1 VL_4	DIVVTQSPSSLSVSGDRVTTITCTASQDVGTAVAWYQKPGKSPKLLIY WASTRHTGVPERFTGSGSGTDFTLTISVQPEDVATYFCQYRTSPLTF GVGKLELK	111

【표 15B】 CDR 서열

영역	서열	서열 번호:
VH CDR1	EYIIH	96
VH CDR2	GIIPNNGVTNYKQNFRG	102
	GIIPNNDVTNYKQNFRG	97
VH CDR3	WRNGYYSAMDS	103
	WRNAYYSAMDS	98
VL CDR1	TASQDVGTAVA	99
VL CDR2	WASTRHT	100
VL CDR3	QQYRTSPLT	101

【표 15C】 인간화된 항체

91-C9F1.p1	VH_1	VH_2	VH_3	VH_4
VL_1	Z1	Z5	Z9	Z13
VL_2	Z2	Z6	Z10	Z14
VL_3	Z3	Z7	Z11	Z15
VL_4	Z4	Z8	Z12	Z16

OVCA3 세포에 대한 이들 인간화된 항체의 결합을 위에서 기술한 것과 같이 평가하고, 그 결과를 도 12A-D 및 표 16A-D에 나타낸다.

【표 16A】

VCAR3 - 30H9B8F9에 대한 인간화된 항체의 결합

항체	EC ₅₀ (nM)	상단(MFI)
hIgG1 아이소타입	NA	NA
XMT-1536	6.87	28971
xi30H9B8F9 hIgG1	1.19	29312
30H9B8F9.p1 hIgG1	0.68	28737
30H9B8F9.p1.z1 hIgG1	2.75	27108
30H9B8F9.p1.z2 hIgG1	3.09	25230
30H9B8F9.p1.z3 hIgG1	2.38	19581
30H9B8F9.p1.z4 hIgG1	2.76	20368
30H9B8F9.p1.z5 hIgG1	1.43	26938
30H9B8F9.p1.z6 hIgG1	1.62	28382
30H9B8F9.p1.z7 hIgG1	1.69	26723
30H9B8F9.p1.z8 hIgG1	1.90	26229
30H9B8F9.p1.z9 hIgG1	1.59	29362
30H9B8F9.p1.z10 hIgG1	1.93	30701
30H9B8F9.p1.z11 hIgG1	1.43	26954
30H9B8F9.p1.z12 hIgG1	1.40	27646
30H9B8F9.p1.z13 hIgG1	1.03	28350
30H9B8F9.p1.z14 hIgG1	1.31	27280
30H9B8F9.p1.z15 hIgG1	1.05	26470
30H9B8F9.p1.z16 hIgG1	1.41	26538

【표 16B】

*OVCAR3 - 62G10E4G8*에 대한 인간화된 항체의 결합

항체	EC ₅₀ (nM)	상단(MFI)
hIgG1 아이소타입	NA	NA
XMT-1536	6.82	28971
xi62G10E4G8 hIgG1	3.73	27650
62G10E4G8.p3 hIgG1	6.98	30347
62G10E4G8.p3.z1 hIgG1	943.80	87738
62G10E4G8.p3.z2 hIgG1	32.88	29698
62G10E4G8.p3.z3 hIgG1	17.33	31289
62G10E4G8.p3.z4 hIgG1	16.27	29908
62G10E4G8.p3.z5 hIgG1	~ 1361	~ 230025
62G10E4G8.p3.z6 hIgG1	8.06	28157
62G10E4G8.p3.z7 hIgG1	6.08	26810
62G10E4G8.p3.z8 hIgG1	8.61	29963
62G10E4G8.p3.z9 hIgG1	24.07	31332
62G10E4G8.p3.z10 hIgG1	4.87	27396
62G10E4G8.p3.z11 hIgG1	4.32	28200
62G10E4G8.p3.z12 hIgG1	2.96	25440
62G10E4G8.p3.z14 hIgG1	4.58	27907
62G10E4G8.p3.z15 hIgG1	3.76	27300
62G10E4G8.p3.z16 hIgG1	10.95	31916

【표 16C】

*OVCAR3 - 63A11D5B4*에 대한 인간화된 항체의 결합

항체	EC ₅₀ (nM)	상단(MFI)
hIgG1 아이소타입	NA	NA
XMT-1536	6.82	28971
xi63A11D5B4 hIgG1	10.48	32147
63A11D5B4.p1 hIgG1	4.03	28244
63A11D5B4.p1.z1 hIgG1	19.58	28022
63A11D5B4.p1.z2 hIgG1	20.55	28738
63A11D5B4.p1.z3 hIgG1	17.90	28559
63A11D5B4.p1.z4 hIgG1	18.15	29017
63A11D5B4.p1.z5 hIgG1	13.46	28246
63A11D5B4.p1.z6 hIgG1	36.79	34614
63A11D5B4.p1.z7 hIgG1	61.13	40970
63A11D5B4.p1.z8 hIgG1	14.17	27880
63A11D5B4.p1.z9 hIgG1	9.12	26528
63A11D5B4.p1.z10 hIgG1	12.27	29808
63A11D5B4.p1.z11 hIgG1	10.26	27701
63A11D5B4.p1.z12 hIgG1	11.74	31674
63A11D5B4.p1.z13 hIgG1	16.42	32592
63A11D5B4.p1.z14 hIgG1	16.09	32605
63A11D5B4.p1.z15 hIgG1	9.23	30225
63A11D5B4.p1.z16 hIgG1	11.43	29478

【표 16D】

OVCAR3 - 91C9F1 에 대한 인간화된 항체의 결합

항체	EC ₅₀ (nM)	상단(MFI)
hIgG1 아이소타입	NA	NA
XMT-1536	2.68	32389
xi91C9F1 hIgG1	1.77	32062
91C9F1.p1 hIgG1	2.29	32342
91C9F1.p1.z1 hIgG1	3.78	34220
91C9F1.p1.z2 hIgG1	3.32	34537
91C9F1.p1.z3 hIgG1	4.04	35456
91C9F1.p1.z4 hIgG1	1.12	34629
91C9F1.p1.z5 hIgG1	2.95	36861
91C9F1.p1.z6 hIgG1	1.72	36117
91C9F1.p1.z7 hIgG1	1.67	37440
91C9F1.p1.z8 hIgG1	2.13	35657
91C9F1.p1.z9 hIgG1	2.72	37027
91C9F1.p1.z10 hIgG1	2.32	38122
91C9F1.p1.z11 hIgG1	1.41	30997
91C9F1.p1.z12 hIgG1	1.77	34468
91C9F1.p1.z14 hIgG1	3.87	36194

[0195]

[0196]

또 다른 테스트에서, hu Ab의 인간 SLC34A2 발현 세포 상에서의 세포 기반 결합을 유세포분석을 사용하여 평가하였다. 간단히 설명하면, HEK293/H_SLC34A2, OVCAR3 및 RMG-1 세포를 hu Ab와 함께 인큐베이션하였다. 4℃에서 60분 동안 인큐베이션한 후, 세포를 FACS 완충액으로 2회 세척한 후, 형광 콘주게이션된 이차 항체로 4℃에서 30분 동안 염색하였다. 그 세포를 2회 세척한 후 유세포분석에 의해 분석하였다.

[0197]

연구 결과(도 13A-D 및 표 17A-D)는 hu Ab가 높은 친화도로 인간 SLC34A2에 결합할 수 있음을 나타낸다.

【표 17A】

세포주에 대한 결합 - 30H9B8F9

클론 목록	HEK293/H SLC34AA2		OVCAR3		RMG-1	
	EC50	상단	EC50	상단	EC50	상단
XMT-1536	4.05	34736	6.82	28971	7.17	9935
xi30H9B8F9 hIgG1	1.63	40795	0.74	29312	1.19	11535
30H9B8F9.p1 hIgG1	1.18	35742	0.37	28737	1.09	11137
30H9B8F9.p1.z5 hIgG1	1.55	35156	0.94	26938	1.39	10920
30H9B8F9.p1.z6 hIgG1	1.94	33613	1.10	28382	1.78	10416
30H9B8F9.p1.z9 hIgG1	1.81	34196	1.08	29362	1.40	11618
30H9B8F9.p1.z13 hIgG1	1.05	33013	0.62	28350	0.73	10895

【표 17B】

세포주에 대한 결합 - 62G10E4G8

클론 목록	HEK293/H SLC34AA2		OVCAR3		RMG-1	
	EC50	상단	EC50	상단	EC50	상단
XMT-1536	4.05	34736	6.82	28971	7.17	9935
xi62G10E4G8 hIgG1	4.26	32706	3.73	27650	7.97	11293
62G10E4G8.p3 hIgG1	9.08	35676	6.98	30347	14.82	11229
62G10E4G8.p3.z8 hIgG1	4.42	31469	8.61	29963	11.05	10902
62G10E4G8.p3.z11 hIgG1	5.07	31855	4.32	28200	11.38	11254
62G10E4G8.p3.z15 hIgG1	2.34	33628	3.76	27300	3.69	10772

[0198]

【표 17C】

세포주에 대한 결합 - 63A11D5B4

클론 목록	HEK293/H SLC34AA2		OVCAR3		RMG-1	
	EC50	상단	EC50	상단	EC50	상단
XMT-1536	4.05	34736	6.82	28971	7.17	9935
xi63A11D5B4 hIgG1	5.21	35560	10.48	32147	14.40	11224
63A11D5B4.p1 hIgG1	2.79	35551	4.03	28244	12.51	11703
63A11D5B4.p1.z5 hIgG1	4.80	35866	13.46	28246	36.23	11839
63A11D5B4.p1.z9 hIgG1	5.49	36832	9.12	26528	28.28	12195
63A11D5B4.p1.z15 hIgG1	7.12	37020	9.23	30225	40.59	13248

【표 17D】

세포주에 대한 결합 - 91C9F1

클론 목록	HEK293/H SLC34AA2		OVCAR3		RMG-1	
	EC50	상단	EC50	상단	EC50	상단
XMT-1536	2.68	32389	10.32	22452	7.17	9935
xi91C9F1 hIgG1	1.77	32062	2.50	20996	1.76	9733
91C9F1.p1 hIgG1	2.29	32342	1.10	19527	1.09	9692
91C9F1.p1.z4 hIgG1	1.12	34629	2.71	20185	3.22	9817
91C9F1.p1.z6 hIgG1	1.72	36117	2.86	20347	3.03	9560
91C9F1.p1.z7 hIgG1	1.67	37440	2.41	20461	2.25	9725
91C9F1.p1.z10 hIgG1	2.32	38122	3.96	22335	3.91	9592

추가 검정에서, 위에서 기술된 방법으로, 이들 항체를 리서스/랫트/마우스 SLC34A2에 대한 그것의 결합 친화도에 대해 평가하였다. 도 14-16 및 표 18에서 나타난 것과 같이, 이들 인간화된 항체는 높은 친화도를 유지하였다.

표 18

리서스 SLC34A2에 대한 결합

항체	EC ₅₀ (nM)	상단(MFI)
hIgG1 아이소타입	NA	NA
XMT-1536	2.6	11488
xi30H9B8F9 hIgG1	0.9	17418
30H9B8F9.p1 hIgG1	0.8	17001
30H9B8F9.p1.z5 hIgG1	0.7	15993
30H9B8F9.p1.z6 hIgG1	1.1	15133
30H9B8F9.p1.z9 hIgG1	0.9	16265
30H9B8F9.p1.z13 hIgG1	0.8	15597
xi62G10E4G8 hIgG1	1.8	13309
62G10E4G8.p3 hIgG1	5	14367
62G10E4G8.p3.z8 hIgG1	2.5	12206
62G10E4G8.p3.z11 hIgG1	3.4	14730
62G10E4G8.p3.z15 hIgG1	1.4	14363
xi63A11D5B4 hIgG1	2.3	15157
63A11D5B4.p1 hIgG1	0.7	13775
63A11D5B4.p1.z5 hIgG1	3.9	11134
63A11D5B4.p1.z9 hIgG1	1.6	11777
63A11D5B4.p1.z15 hIgG1	4.7	10342
xi91C9F1 hIgG1	1.2	11351
91C9F1.p1 hIgG1	0.8	7973
91C9F1.p1.z4 hIgG1	3.2	6719
91C9F1.p1.z6 hIgG1	8.8	8156
91C9F1.p1.z7 hIgG1	4.2	9495
91C9F1.p1.z10 hIgG1	4.2	9233

실시예 8. 인간화된 항체의 ADCC

이 실시예는 인간화된 항체의 항체 의존성 세포의 세포독성(ADCC)을 측정하였다.

[0204] ADCC 리포터 생물검정은 ADCC MOA 경로 활성화의 앞선 지점에서 대체 판독: 이펙터 세포에서 NFAT(활성화된 T 세포의 핵 인자) 경로를 통한 유전자 전사의 활성화를 사용한다. 더불어, ADCC 리포터 생물검정은 이펙터 세포로서 Fc γ RIIIa 수용체, V158(높은 친화도) 변이체, 및 반딧불이 루시페라제의 발현을 구동시키는 NFAT 반응 요소를 안정적으로 발현하는 조작된 Jurkat 세포를 사용한다. ADCC MOA에서의 항체 생물학적 활성을 NFAT 경로 활성화의 결과로서 생성된 루시페라제를 통해 정량화한다; 이펙터 세포의 루시페라제 활성은 발광 판독으로 정량화된다. 신호는 높고, 검정 배경값은 낮다.

[0205] hu Ab의 연속 희석을 6시간 동안 37°C에서 조작된 Jurkat 이펙터 세포(ADCC 생물검정 이펙터 세포)와 함께, ADCC 생물검정 표적 세포(SLC34A2를 발현함)와 함께 인큐베이션하였다. 루시페라제 활성을 ONE-Glo™ 루시페라제 검정 완충 시약을 사용하여 정량화하였다.

[0206] 결과를 도 17 및 표 19에 나타내며, 이들 인간화된 항체의 강력한 ADCC 유도 활성을 확인시켜준다.

표 19

ADCC 활성

항체	EC ₅₀ (nM)	상단(MFI)
hIgG1 아이소타입	~ 33.32	14765
XMT-1536	0.76	126843
RG-7599	~ 1.310	15689
xi30H9B8F9 hIgG1	1.26	108750
30H9B8F9.p1 hIgG1	2.52	126415
30H9B8F9.p1.z5 hIgG1	0.72	135100
30H9B8F9.p1.z6 hIgG1	1.25	134931
30H9B8F9.p1.z9 hIgG1	1.53	144513
30H9B8F9.p1.z13 hIgG1	0.96	142916
xi62G10E4G8 hIgG1	4.56	100880
62G10E4G8.p3 hIgG1	4.23	122270
62G10E4G8.p3.z11 hIgG1	3.78	116421
62G10E4G8.p3.z15 hIgG1	5.39	122634
63A11D5B4.p1 hIgG1	2.83	113949
63A11D5B4.p1.z5 hIgG1	0.95	116223
63A11D5B4.p1.z9 hIgG1	1.69	116236
63A11D5B4.p1.z15 hIgG1	1.47	121606
xi91C9F1 hIgG1	1.96	132927
91C9F1.p1 hIgG1	3.31	143117
91C9F1.p1.z4 hIgG1	3.14	137231
91C9F1.p1.z6 hIgG1	1.77	125245
91C9F1.p1.z7 hIgG1	2.12	123589
91C9F1.p1.z10 hIgG1	2.37	138028

[0207]

[0208] 실시예 9. 선택된 인간화된 항체의 테스트

[0209] 이전 결과를 토대로, 30-H9(B8)F9.p1.z5, 62-G10(E4)G8.p3.z15, 63-A11(D5)B4.p1.z9, 및 91-C9F1.p1.z7을 포함한 4개의 인간화된 항체를 추후 개발을 위해 선택하였다.

[0210] 후보 항체를 벤치마크 항체인 XMT-1536 및 RG-7599와 비교하여 추가로 테스트하였다. 도 18은 상이한 세포 유형에서 인간 SLC34A2에 대한 결합을 비교한 것을 도시한다. 도 19는 상이한 종으로부터의 SLC34A2 단백질에 대한 교차 반응성에 대해 항체를 비교한다. 도 20A-B는 ADCC 유도 활성을 비교한다.

[0211] 위의 결과를 표 20에 요약하는데, 이는 본 발명에서 개발된 항체가 많은 종에서 상당히 벤치마크(XMT-1536 및 RG-7599)를 능가한 것을 보여준다.

표 20

비교 요약

검정	30H9B8F9	62G10E4G8	63A11D5B4	91C9F1	BMK-01 (XMT-1536)	BMK-02 (RG-7599)
결합-HEK293	2.40 nM	2.86 nM	5.87 nM	2.72 nM	4.27 nM	8.25 nM
결합-OVCAR3	0.90 nM	3.80 nM	9.10 nM	2.40 nM	6.80 nM	
결합-RMG-1	1.40 nM	3.70 nM	28.30 nM	2.30 nM	7.20 nM	
결합-MDAH2774	1.28 nM	2.82 nM	15.14 nM	2.06 nM	7.09 nM	8.74 nM
종간-시노	0.97 nM	1.63 nM	4.45 nM	45.67 nM	3.72 nM	1080.00 nM
종간-리서스	0.7 nM	1.4 nM	1.6 nM	4.2 nM	2.6 nM	
종간-랫트	1.81 nM	4.04 nM	3.04 nM	2.62 nM	4.48 nM	714.80 nM
종간-마우스	2.06 nM	5.74 nM	5.38 nM	3.34 nM	6.13 nM	411.70 nM
ADCC-HEK293	1.40 nM	1.55 nM	0.52 nM	0.75 nM	0.76 nM	2.02 nM
ADCC-OVCAR3	0.16 nM	0.56 nM	0.30 nM	0.15 nM	0.25 nM	2.97 nM
세포독성 효과 - MDAH-2774	0.21 nM	0.24 nM	1.50 nM	0.39 nM	0.28 nM	6.83 nM
세포독성 효과 - OVCAR3	0.020 nM	0.025 nM	0.060 nM	0.014 nM	0.029 nM	0.325 nM

[0212]

[0213]

* * *

[0214]

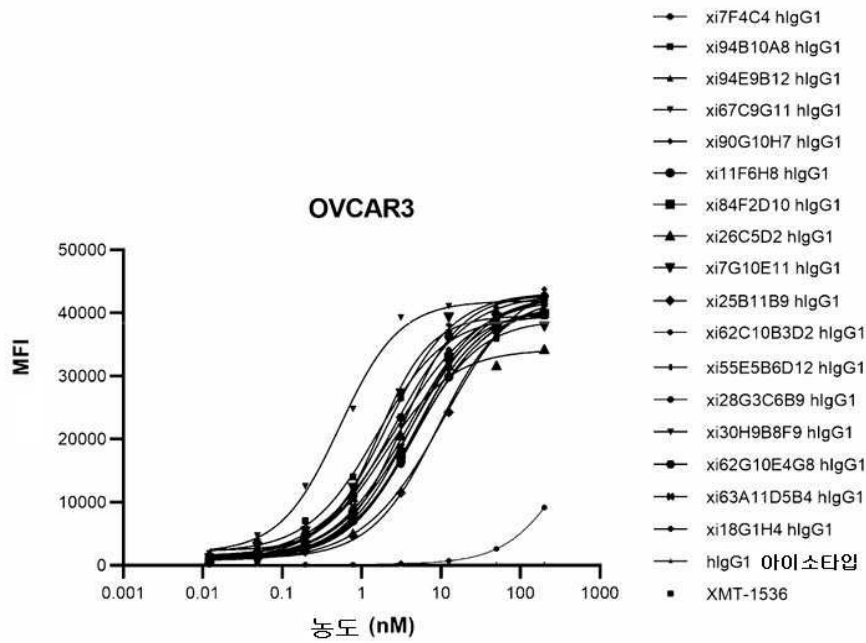
본 개시는 개시의 개별 측면의 단일 설명으로서 의도된 기술된 특정 구체예에 의해 범주가 제한되지 않으며, 기능적으로 동등한 임의의 조성물 또는 방법은 본 개시의 범주 내에 있다. 기술분야에 숙련된 사람들에게 다양한 변형 및 변화가 개시의 사상 또는 범주로부터 벗어나지 않으면서 본 개시의 방법 및 조성물에서 이루어질 수 있다는 것이 분명한 것이다. 그러므로, 본 개시는 본 개시의 변형 및 변화가 첨부된 청구범위 및 그것의 동등물의 범주 내에 포함된다면 그것들을 포함하는 것으로 의도된다.

[0215]

본 명세서에서 언급된 모든 출판물 및 특허 출원은 각각의 개별적인 출판물 또는 특허 출원이 구체적이고 개별적으로 참조로 포함되는 것으로 표시된 것과 같은 정도로 참조로 본원에 포함된다.

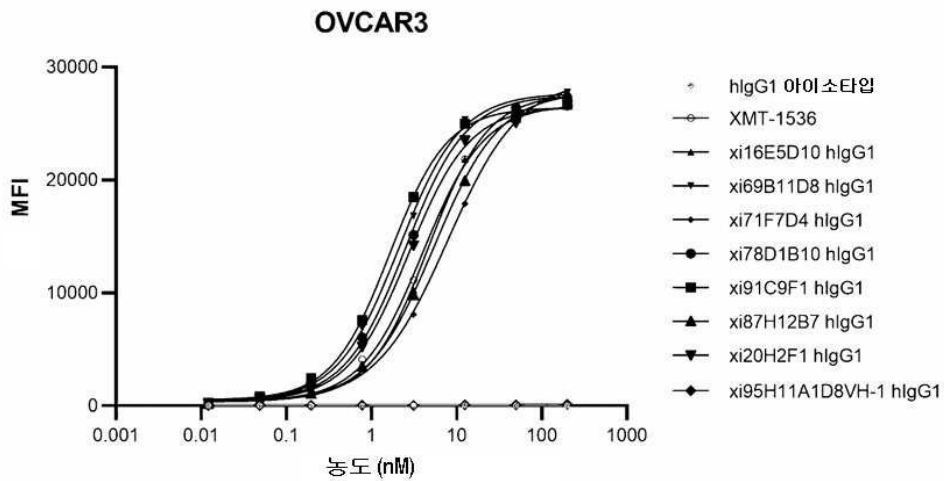
도면

도면1a



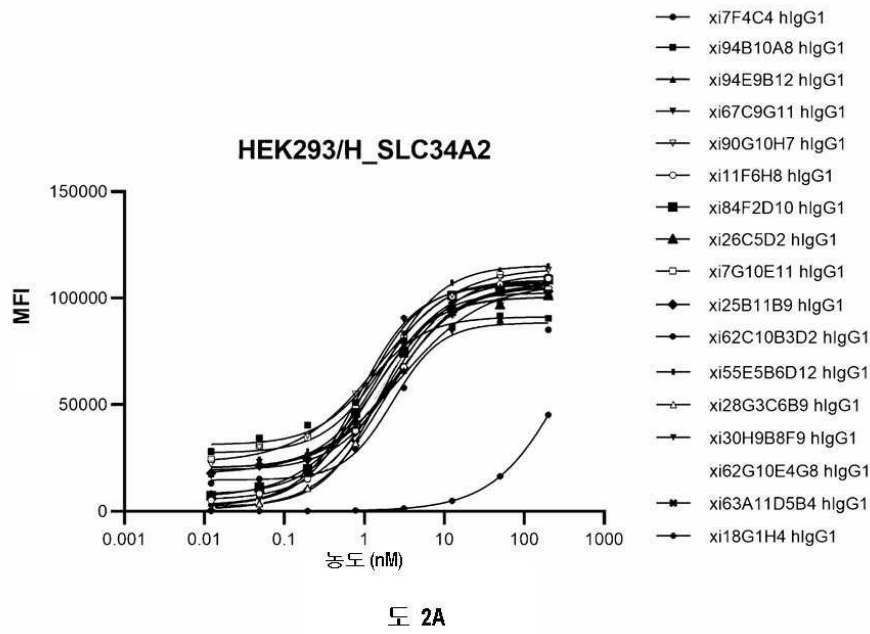
도 1A

도면1b

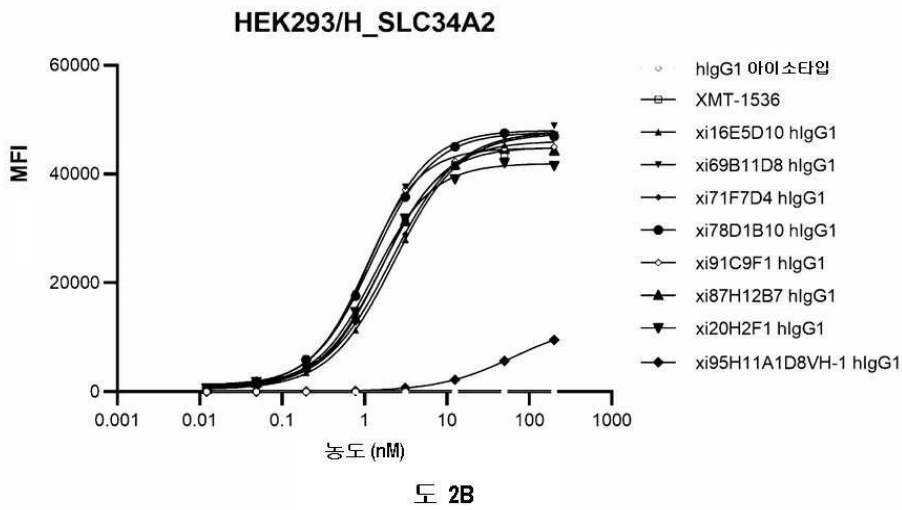


도 1B

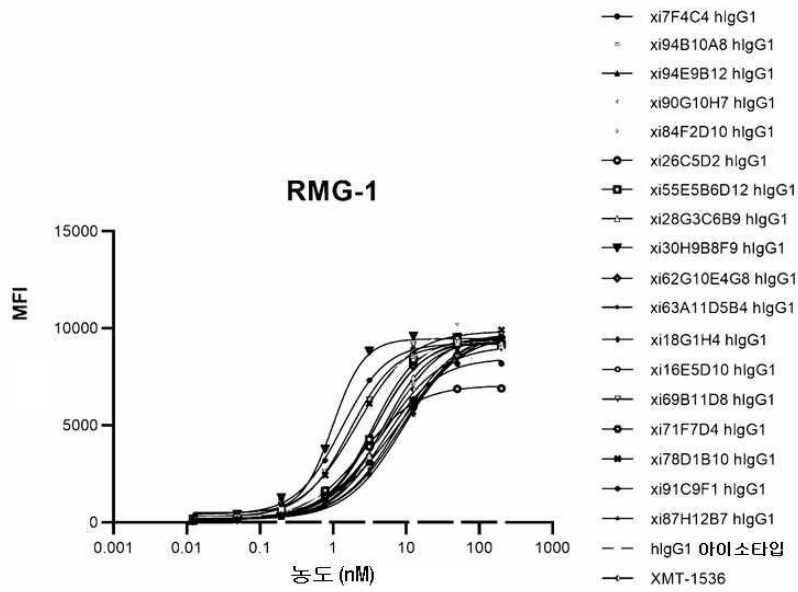
도면2a



도면2b

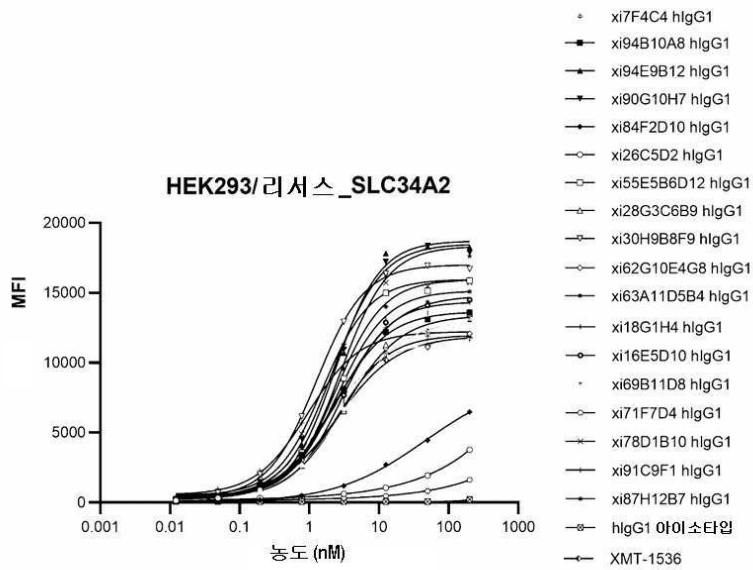


도면3



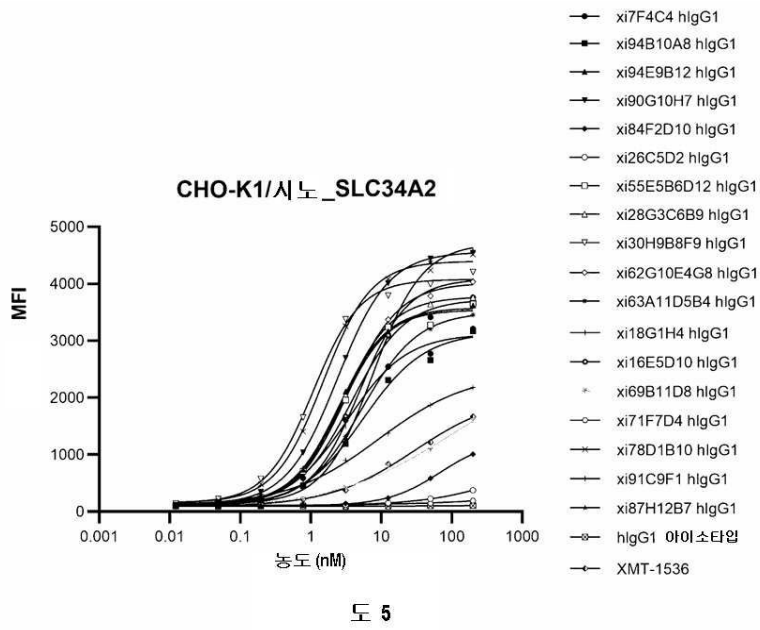
도 3

도면4

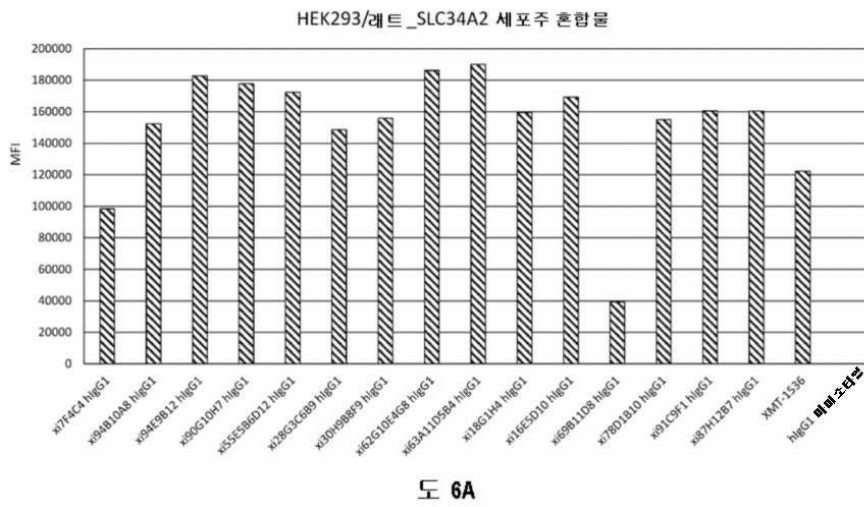


도 4

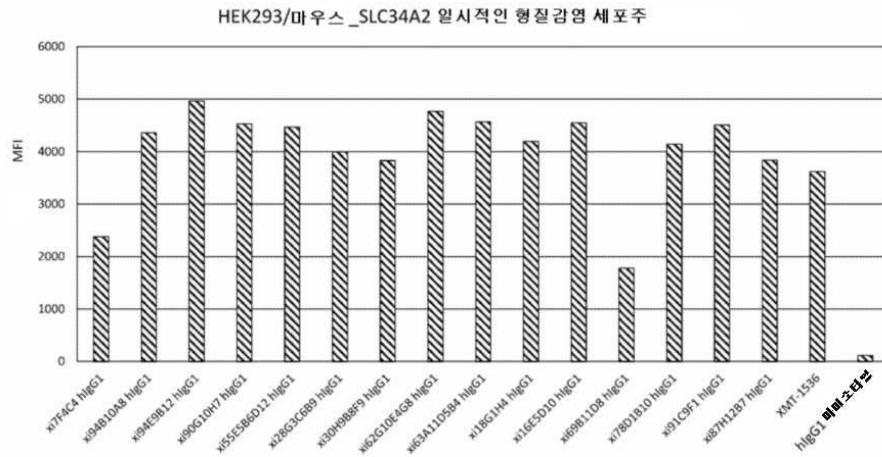
도면5



도면6a

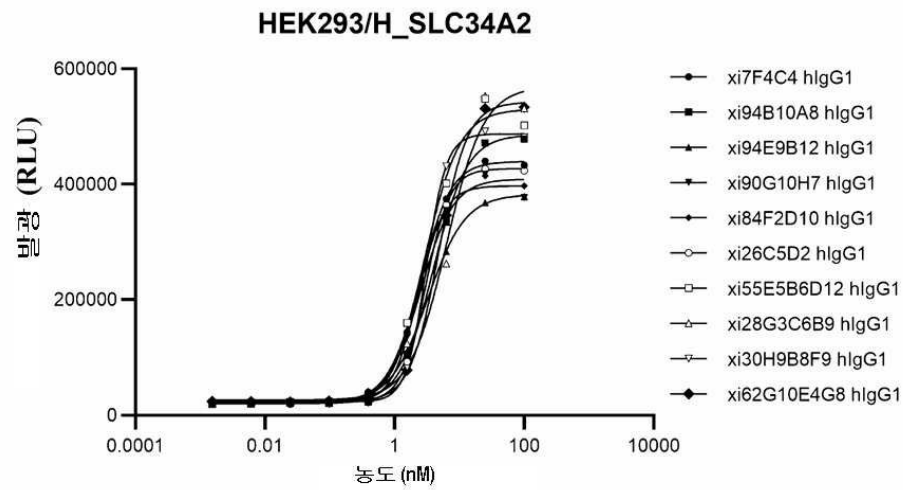


도면6b



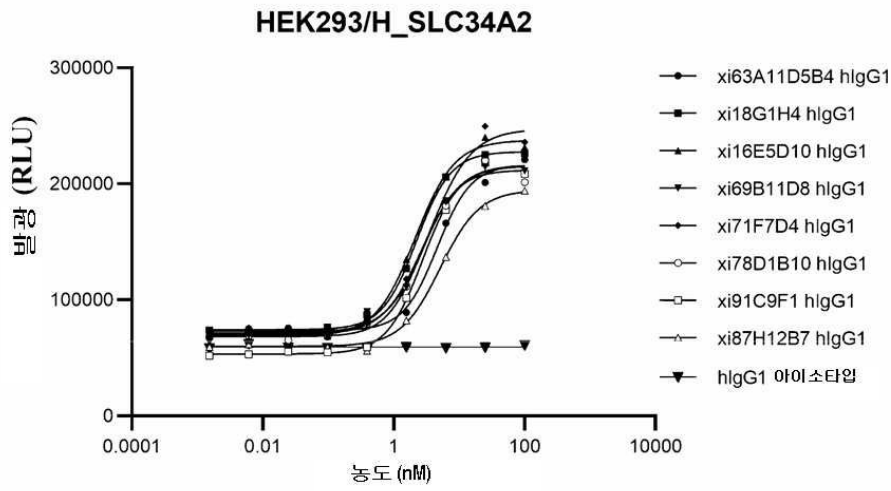
도 6B

도면7a



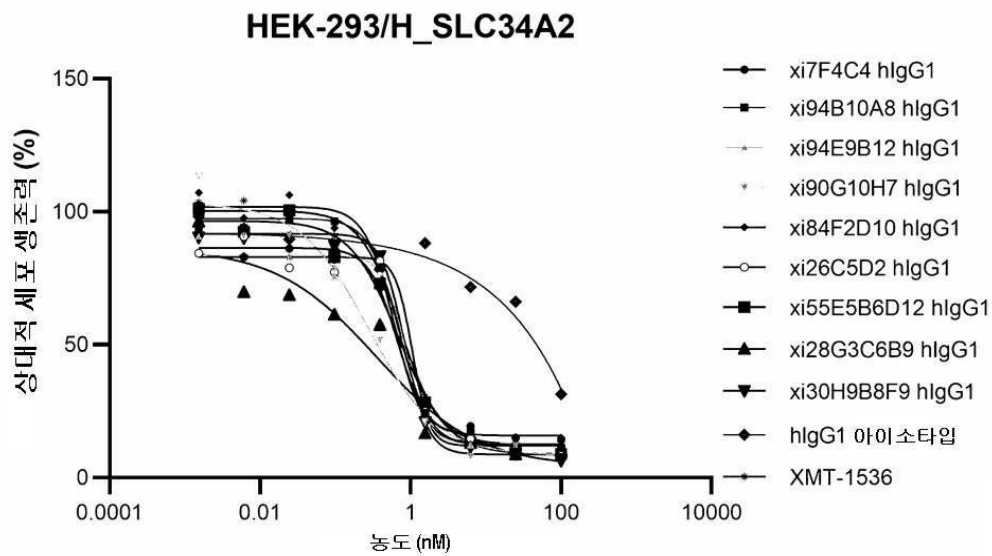
도 7A

도면7b



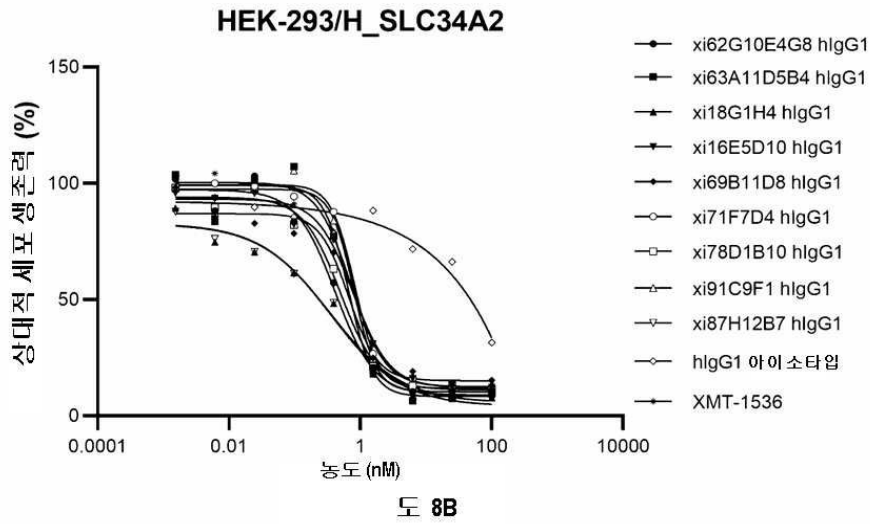
도 7B

도면8a

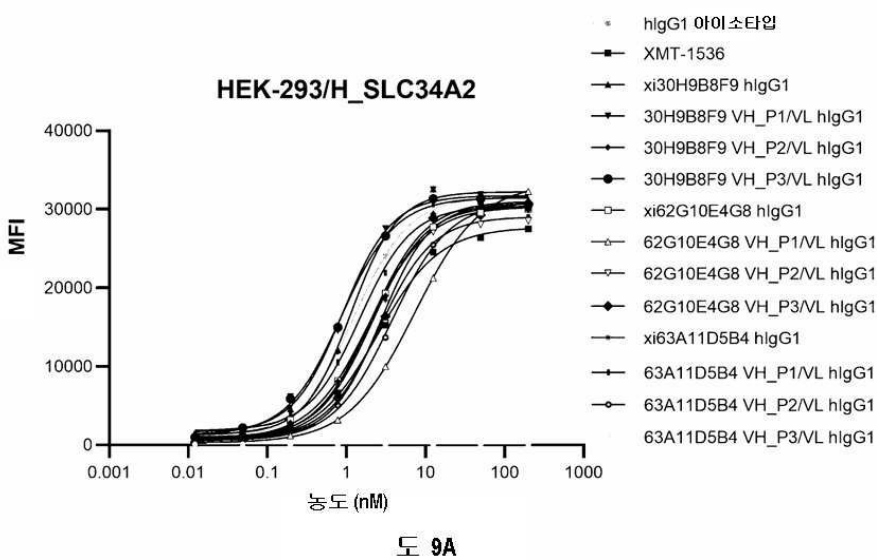


도 8A

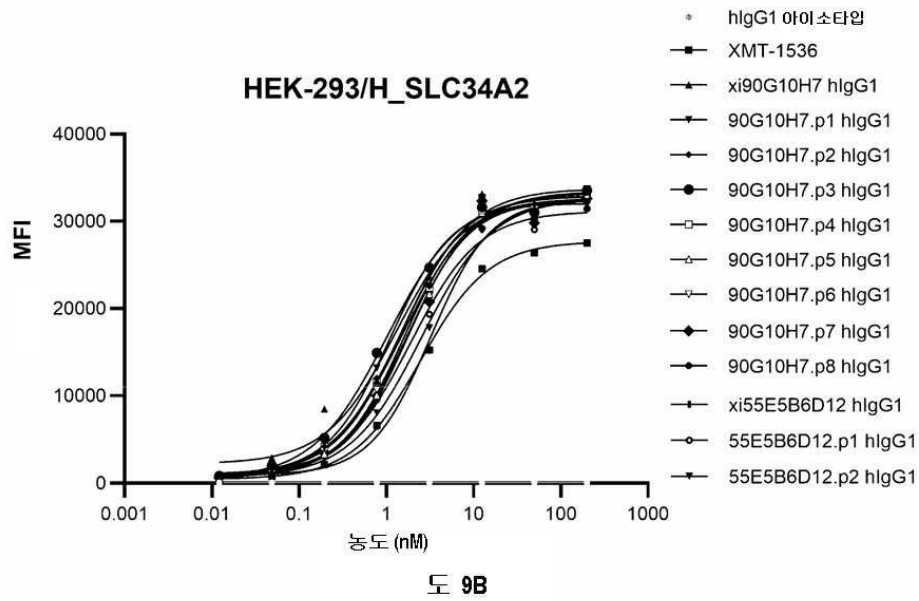
도면8b



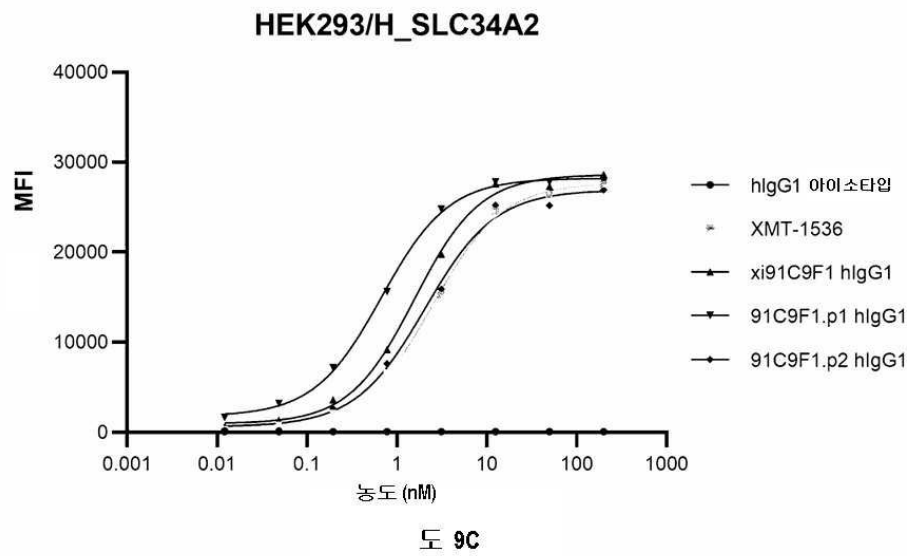
도면9a



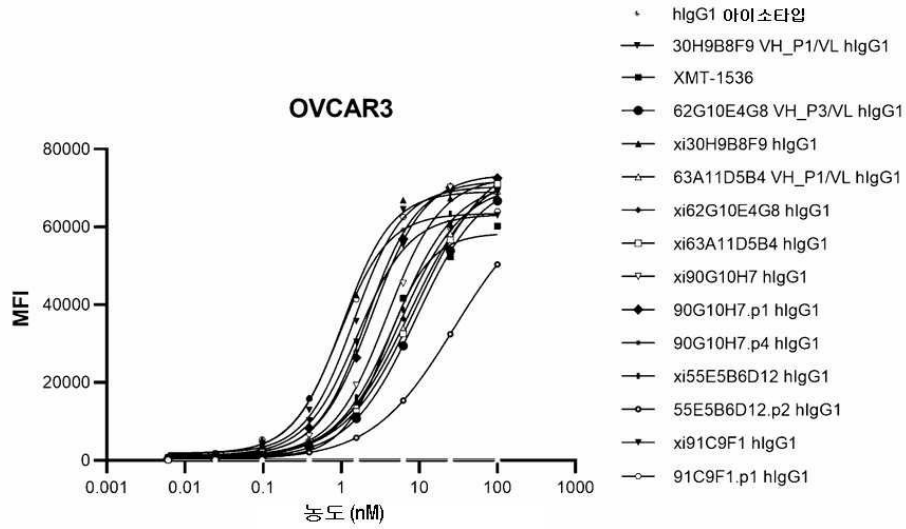
도면9b



도면9c

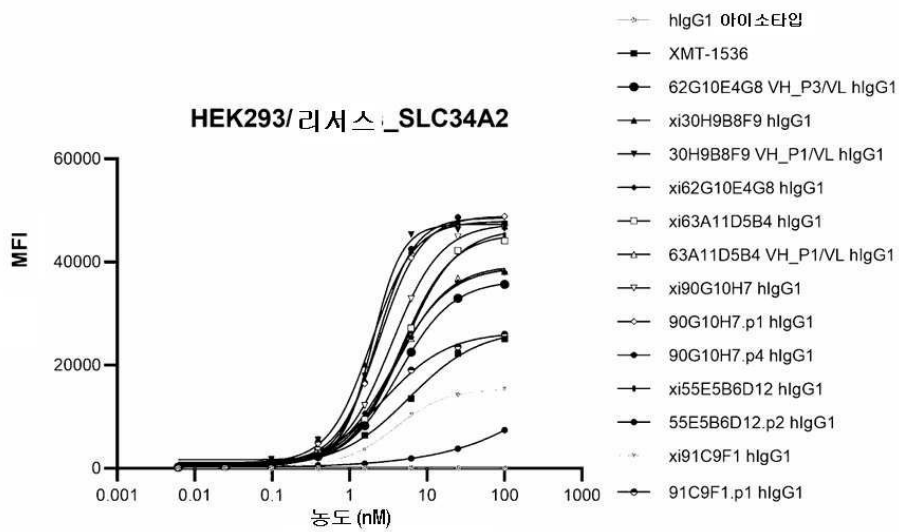


도면10



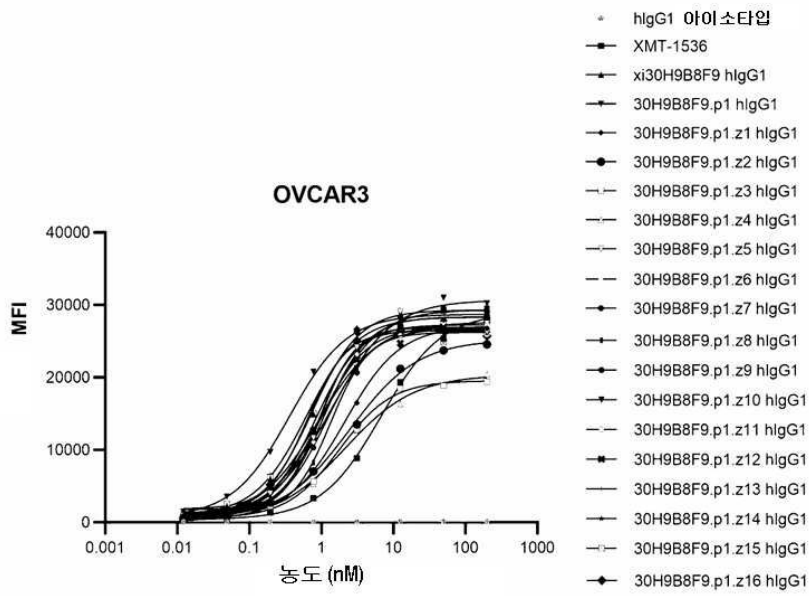
도 10

도면11



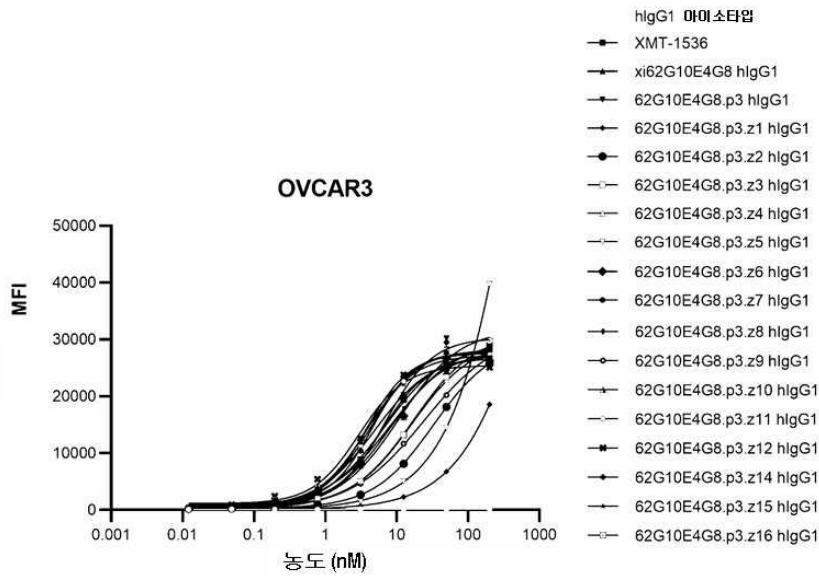
도 11

도면 12a



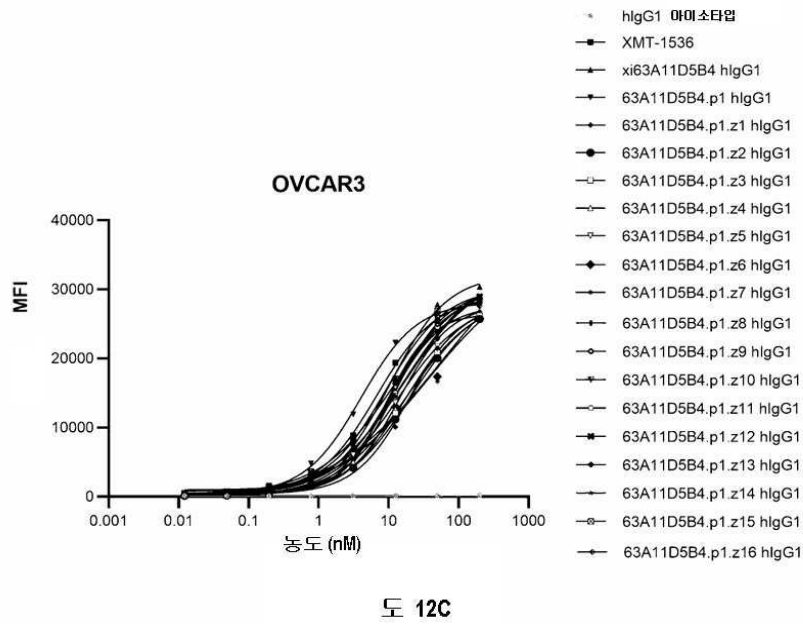
도 12A

도면 12b

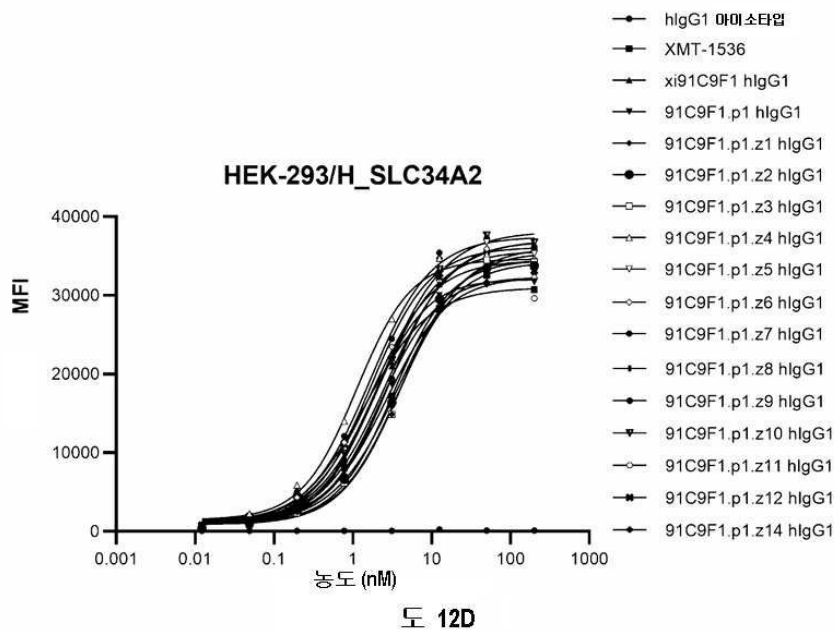


도 12B

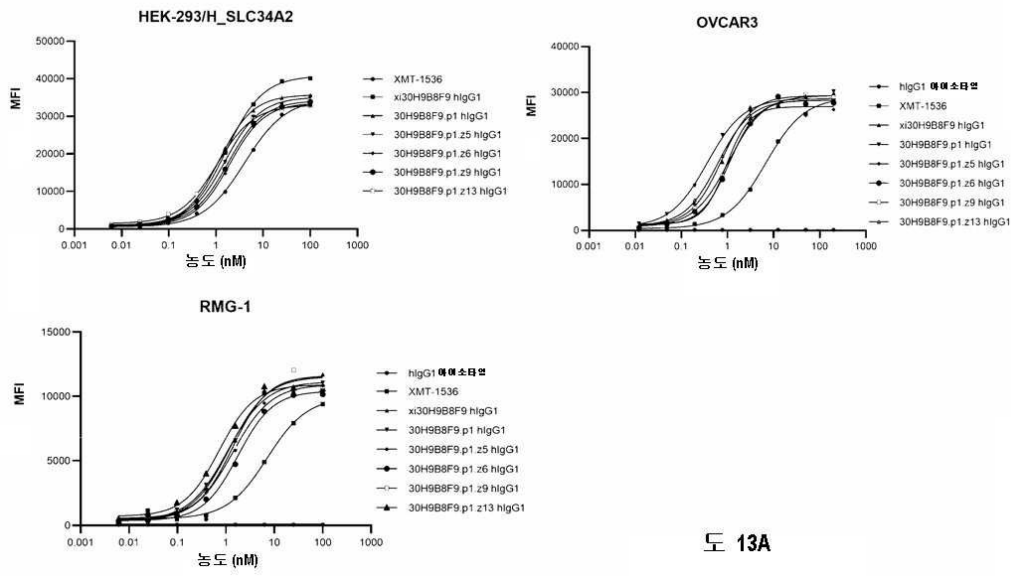
도면12c



도면12d

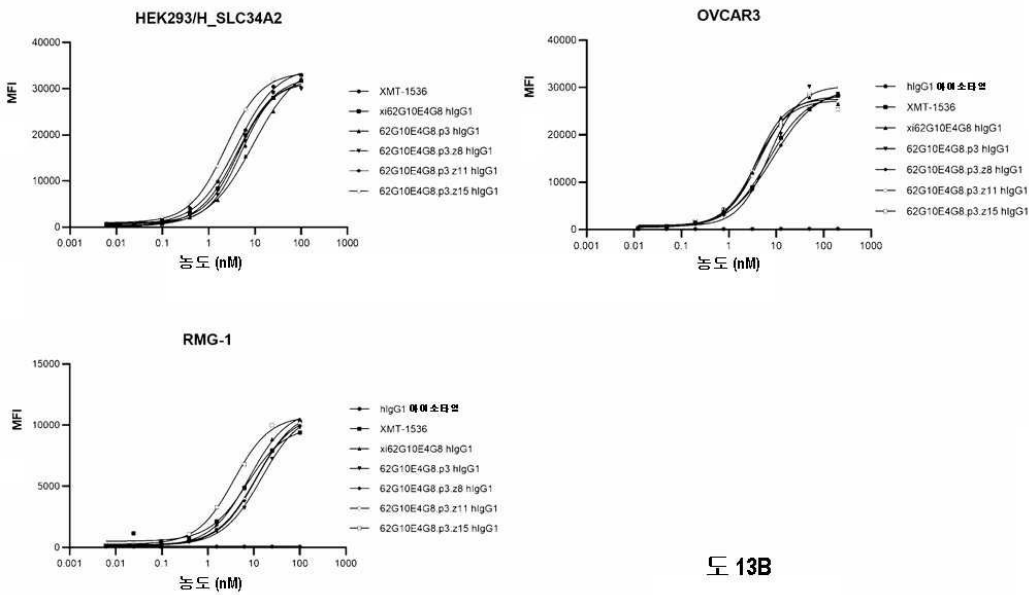


도면13a



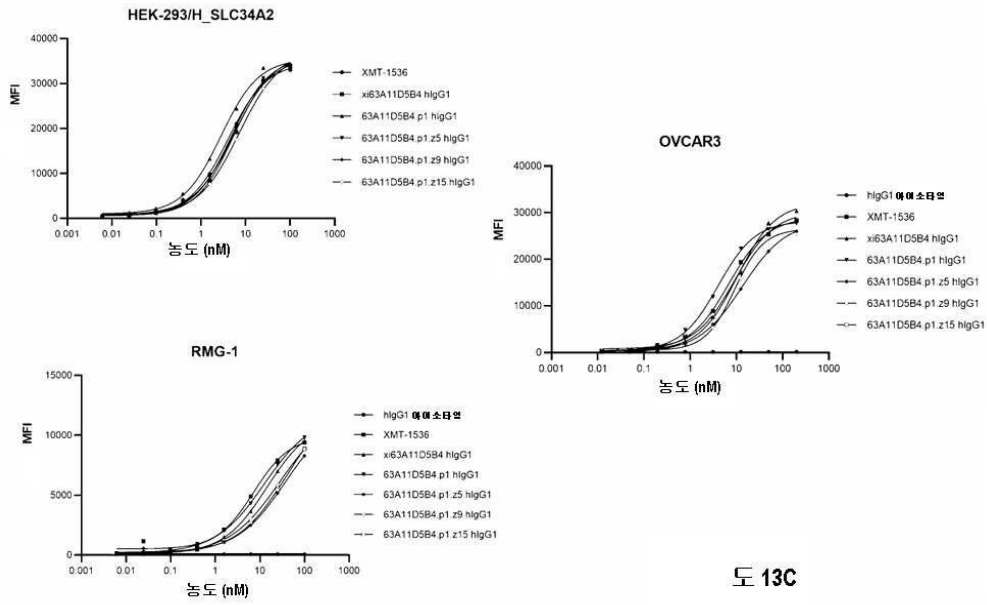
도 13A

도면13b



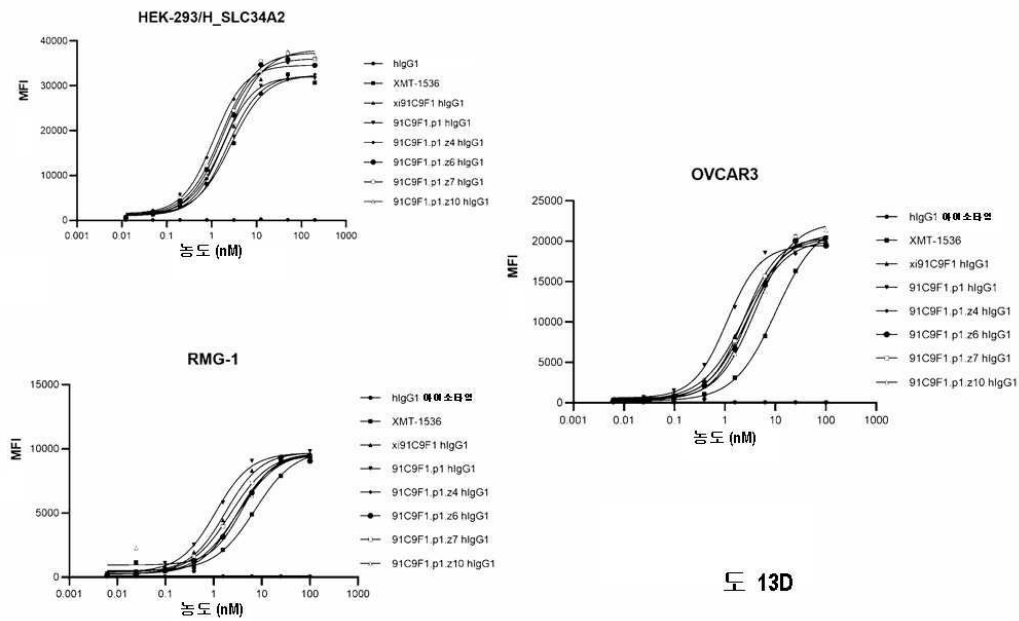
도 13B

도면13c



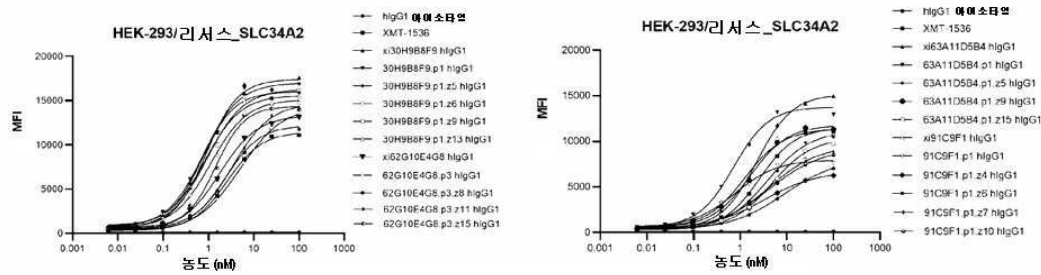
도 13C

도면13d



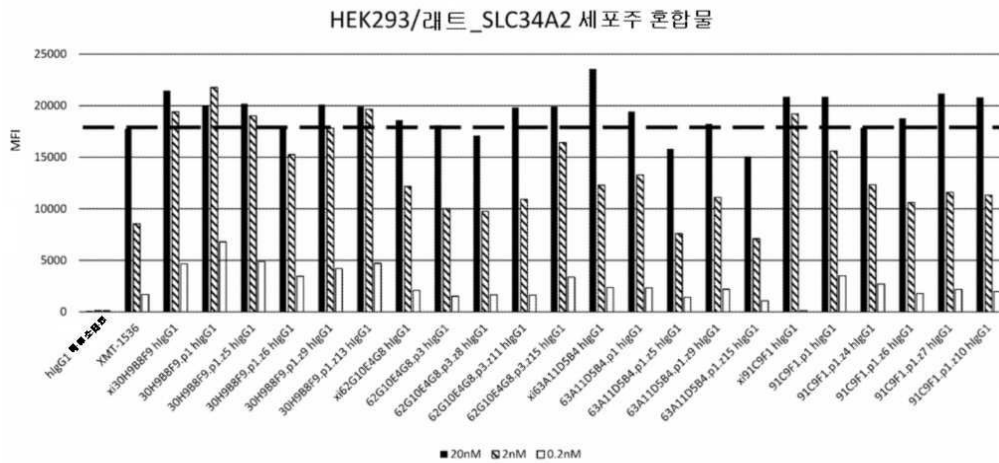
도 13D

도면14



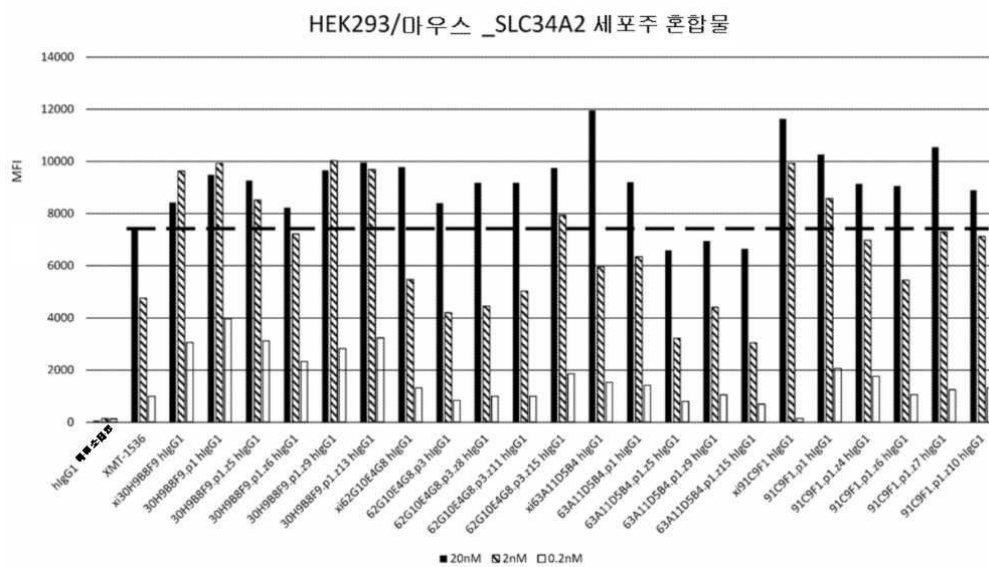
도 14

도면15



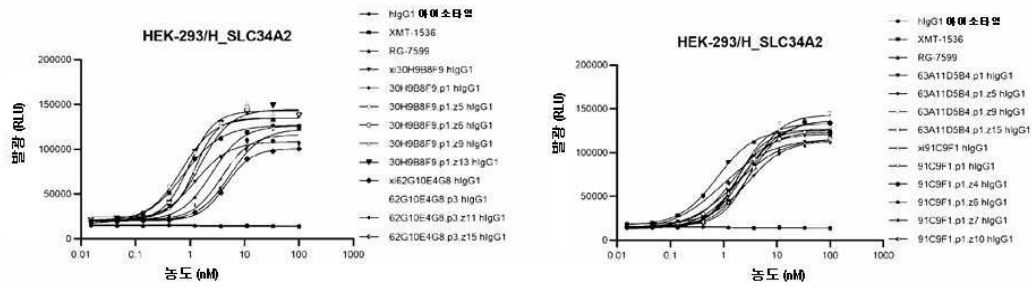
도 15

도면16



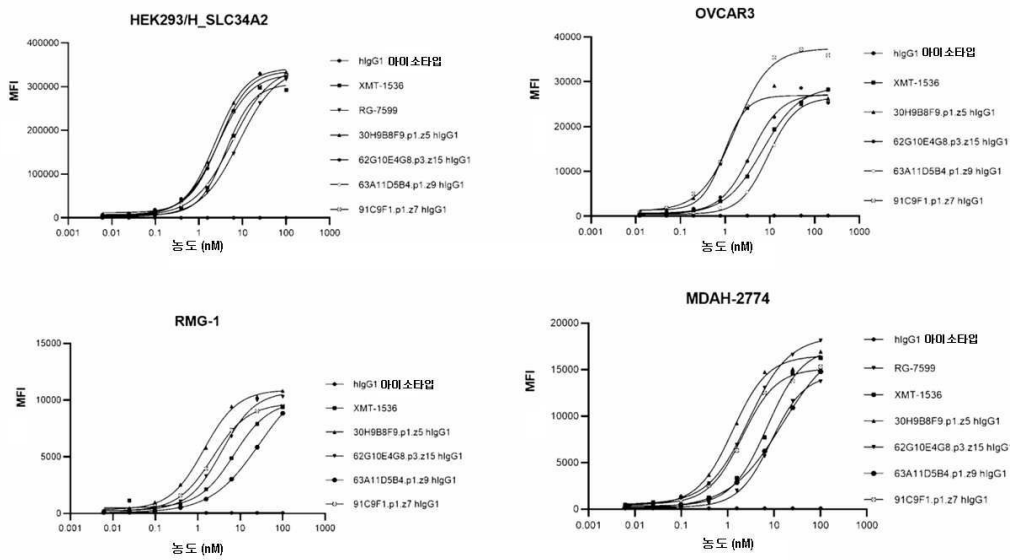
도 16

도면17



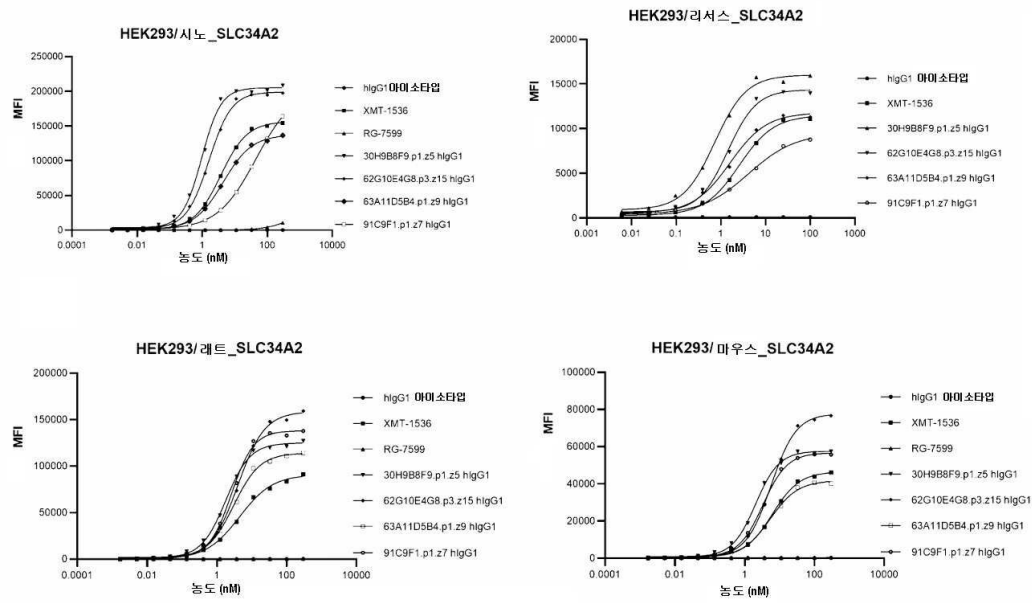
도 17

도면18



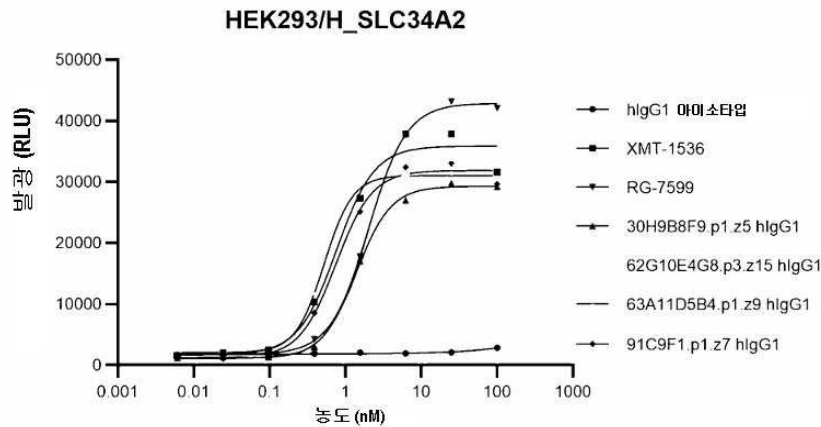
도 18

도면19



도 19

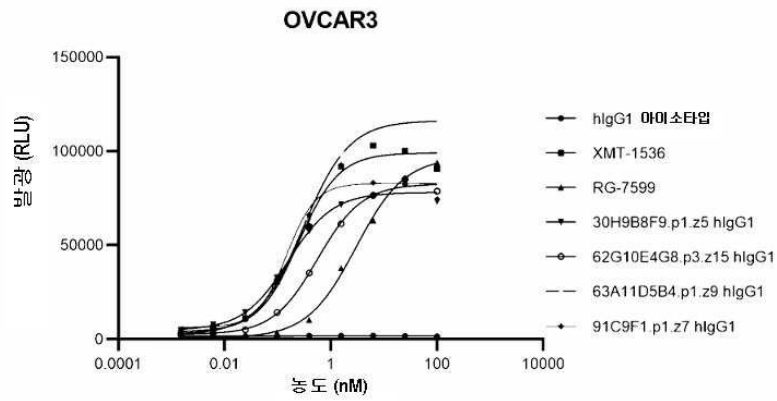
도면20a



항체	EC ₅₀ (nM)	상단 (MFI)
XMT-1536	0.76	35900
RG-7599	2.02	42911
30H9B8F9.p1.z5 hlgG1	1.40	29293
62G10E4G8.p3.z15 hlgG1	1.55	32628
63A11D5B4.p1.z9 hlgG1	0.52	31088
91C9F1.p1.z7 hlgG1	0.75	31899

도 20A

도면20b



항체	EC ₅₀ (nM)	상단 (MFI)
XMT-1536	0.25	99138
RG-7599	2.97	96982
30H9B8F9.p1.z5 hlgG1	0.16	78157
62G10E4G8.p3.z15 hlgG1	0.56	82693
63A11D5B4.p1.z9 hlgG1	0.30	116288
91C9F1.p1.z7 hlgG1	0.15	82991

도 20B

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

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