

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0170721

(43) 공개일자 2023년12월19일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2878 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2023-7038699
- (22) 출원일자(국제) 2022년04월14일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2023년11월09일
- (86) 국제출원번호 PCT/CN2022/086842
- (87) 국제공개번호 WO 2022/218380
국제공개일자 2022년10월20일
- (30) 우선권주장
202110405638.3 2021년04월15일 중국(CN)

- (71) 출원인
치아타이 티안펑 파마수티컬 그룹 주식회사
중국 지양수 프로빈스 222062 헨원강 시티 위저우
사우스 로드 넘버 369
- (72) 발명자
장, 빙
중국 211100 장수 난징 지양닝 디스트릭트 지양닝
하이-테크 존 푸잉 로드 넘버 1099
- 자오, 웨이
중국 211100 장수 난징 지양닝 디스트릭트 지양닝
하이-테크 존 푸잉 로드 넘버 1099
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 이상영

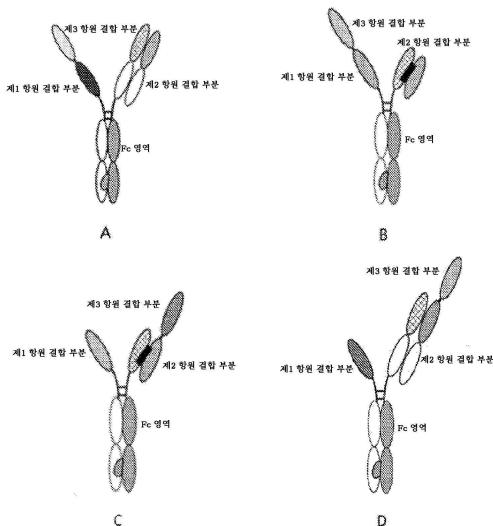
전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 BCMA를 표적으로 하는 다중 특이성 항체

(57) 요약

BCMA를 표적으로 하는 다중 특이성 항체를 제공한다. 구체적으로는, 다중 특이성 항체, 이들을 코딩하는 핵산, 당해 핵산을 포함하는 벡터, 당해 벡터를 포함하는 세포, 이들을 포함하는 의약 조성물을 제공하고, 또한, BCMA 발현에 관련하는 질환을 갖는 피험자를 치료하기 위한 이들의 사용을 제공한다.

대표도 - 도5



(52) CPC특허분류

C07K 16/2809 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/21 (2013.01)
C07K 2317/31 (2013.01)
C07K 2317/33 (2013.01)
C07K 2317/52 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

루, 야민

중국 211100 장수 난징 지양닝 디스트릭트 지양닝
하이-테크 존 푸잉 로드 넘버 1099

두, 민

중국 211100 장수 난징 지양닝 디스트릭트 지양닝
하이-테크 존 푸잉 로드 넘버 1099

전, 지평

중국 211100 장수 난징 지양닝 디스트릭트 지양닝
하이-테크 존 푸잉 로드 넘버 1099

시에, 메이취엔

중국 211100 장수 난징 지양닝 디스트릭트 지양닝
하이-테크 존 푸잉 로드 넘버 1099

왕, 신

중국 211100 장수 난징 지양닝 디스트릭트 지양닝
하이-테크 존 푸잉 로드 넘버 1099

시, 준샤오

중국 211100 장수 난징 지양닝 디스트릭트 지양닝
하이-테크 존 푸잉 로드 넘버 1099

송, 신

중국 211100 장수 난징 지양닝 디스트릭트 지양닝
하이-테크 존 푸잉 로드 넘버 1099

두, 시우전

중국 211100 장수 난징 지양닝 디스트릭트 지양닝
하이-테크 존 푸잉 로드 넘버 1099

명세서

청구범위

청구항 1

- (i) 제1 항원에 결합하는 제1 항원 결합 부분과,
- (ii) 제2 항원에 결합하는 제2 항원 결합 부분과,
- (iii) 제1 항원에 결합하는 제3 항원 결합 부분을 포함하는 다중 특이성 항체로서,
상기 제1 항원은 BCMA이며, 상기 제2 항원은 T 세포 활성화 항원이며, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은 모두, 단일 가변 도메인이며, 각각 독립적으로,
- (b) 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- (c) 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- (a) 서열 번호 7로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 8로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 9로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 혹은,
- (d) 서열 번호 16으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 17로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 18로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 중 어느 하나를 포함하는, 다중 특이성 항체.

청구항 2

- 제1항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은, 각각 독립적으로,
- (b) 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 혹은,
- (c) 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 중 어느 하나를 포함하는, 다중 특이성 항체.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 상보성 결정 영역으로서, 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고, 또한, 상기 제3 항원 결합 부분은, 상보성 결정 영역으로서, 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는, 다중 특이성 항체.

청구항 4

제2항에 있어서, 상기 제3 항원 결합 부분은, 상보성 결정 영역으로서, 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고, 또한, 상기 제1 항원 결합 부분은, 상보성 결정 영역으로서, 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는, 다중 특이성 항체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 21, 37 또는 38로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖

는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 23, 39 또는 40으로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 혹은

상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 37로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 39로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 다중 특이성 항체.

청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 23, 39 또는 40으로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 21, 37 또는 38로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 혹은

상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 39로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 37로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 다중 특이성 항체.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은,

- (1) 서열 번호 21로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분 및 서열 번호 23, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분;
- (2) 서열 번호 37로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분 및 서열 번호 23, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분;
- (3) 서열 번호 38로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분 및 서열 번호 23, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분;
- (4) 서열 번호 21로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분 및 서열 번호 23, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분;
- (5) 서열 번호 37로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분 및 서열 번호 23, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분;
- (6) 서열 번호 38로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분 및 서열 번호 23, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분;
- (7) 서열 번호 41로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분 및 서열 번호 42로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분;
- (8) 서열 번호 42로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분 및 서열 번호 41로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분;
- (9) 서열 번호 37로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분 및 서열 번호 39로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분; 혹은,
- (10) 서열 번호 39로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분 및 서열 번호 37로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분으로부터 선택되는 어느 1항인, 다중 특이성 항체.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 T 세포 활성화 항원은 CD3인, 다중 특이성 항체.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 항원 결합 부분은, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 상기 중쇄 가변 영역은, 상보성 결정 영역으로서, 서열 번호 43으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열 번호 44로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2 및 서열 번호 45로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 46으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, 서열 번호 47로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2 및 서열 번호 48로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함하거나; 혹은

상기 중쇄 가변 영역은, 서열 번호 49로 표시되는 가변 영역의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 50으로 표시되는 가변 영역의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는, 다중 특이성 항체.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 항원 결합 부분은, 서열 번호 49로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열의 중쇄 가변 영역과, 서열 번호 50으로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열의 경쇄 가변 영역을 포함하거나; 혹은 상기 제2 항원 결합 부분의 중쇄 가변 영역은, 서열 번호 49로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 그 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 50으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는, 다중 특이성 항체.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, (iv) 2개의 Fc 폴리펩티드로 구성되는 Fc 영역을 더 포함하는, 다중 특이성 항체.

청구항 12

제11항에 있어서, (1) 상기 제2 항원 결합 부분은 ScFv이며, 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 제1 항원 결합 부분의 N 말단에 융합되고;

(2) 상기 제2 항원 결합 부분은 ScFv이며, 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 제2 항원 결합 부분의 N 말단에 융합되고;

(3) 상기 제2 항원 결합 부분은 Fab이며, 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은, Fab 중쇄의 C 말단에서, 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 제1 항원 결합 부분의 N 말단에 융합되거나; 혹은,

(4) 상기 제2 항원 결합 부분은 Fab이며, 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은, Fab 중쇄의 C 말단에서, 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 제2 항원 결합 부분의 Fab 경쇄의 N 말단 또는 상기 제2 항원 결합 부분의 Fab 중쇄의 N 말단에 융합되는, 다중 특이성 항체.

청구항 13

제11항 또는 제12항에 있어서, 상기 Fc 영역은 IgG Fc 영역, 인간 IgG Fc 영역, 인간 IgG1 또는 인간 IgG4의 Fc 영역이며,

원한다면, 상기 Fc 영역은, 상기 Fc 영역의 2개의 Fc 폴리펩티드의 회합을 촉진하는 아미노산 치환을 포함해도 되고, 또는/및

상기 Fc 영역은, Fc 수용체에 대한 Fc 영역의 결합 친화성 및/또는 이펙터 기능을 저감시키는 아미노산 치환을

포함해도 되고, 또는/및

상기 Fc 영역은, Fc 영역에 있어서의 하나의 Fc 폴리펩티드의 CH3 영역과 프로테인 A의 결합을 감소 또는 소실시키는 아미노산 치환을 포함해도 되는, 다중 특이성 항체.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, (1) 서열 번호 65로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 67로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄의 2개로 구성되는 것;

(2) 서열 번호 69로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 71로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄의 2개로 구성되는 것;

(3) 서열 번호 59로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 61로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 63으로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄의 3개로 구성되는 것;

(4) 서열 번호 73으로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 61로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 75로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄의 3개로 구성되는 것;

(5) 서열 번호 65로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 67로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄의 2개로 구성되는 것;

(6) 서열 번호 69로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 71로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄의 2개로 구성되는 것;

(7) 서열 번호 59로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 61로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 63으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄의 3개로 구성되는 것; 혹은,

(8) 서열 번호 73으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 61로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 75로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄의 3개로 구성되는 것인, 다중 특이성 항체.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체와, 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 의약 조성물.

청구항 16

피험자에 있어서의 BCMA 발현에 관련하는 질환을 치료하기 위한 방법이며, 상기 피험자에게 대하여 치료 유효량의 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체 또는 제15항에 기재된 의약 조성물을 투여하는 것을 포함하고, 상기 질환은, 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, 전신성 에리테마토데스 또는 관절 류머티즘인, 상기 방법.

청구항 17

단일 가변 도메인을 포함하는 BCMA 결합 항체이며, 상기 단일 가변 도메인은,

(2) 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(3) 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(1) 서열 번호 7로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 8로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 9로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 혹은,

(4) 서열 번호 16으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 17로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 18로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는, BCMA 결합 항체.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 다중 특이성 항체, 특히 BCMA를 표적으로 하는 다중 특이성 항체에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] B 세포 성숙 항원(BCMA)은 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리의 멤버17(TNFRS17)로서도 알려져 있고, 인간의 TNFRSF17 유전자에 의해 코드되는 단백질이다.

[0003] BAFF, APRIL은 BCMA의 리간드이다. 그 중, BAFF(BLyS, TALL-1, THANK, zTNF4, TNFSF20, D8Ert387e라고도 불린다.)는 BCMA의 고친화성 리간드이며, APRIL(증식 유도 리간드이며, TNFSF13, TALL-2, TRDL-1이라고도 불린다.)은 BCMA의 저친화성 리간드이다. 또한, BAFF, APRIL은, 종양 괴사 인자 수용체(TNFR) 슈퍼패밀리의 멤버인 B 세포 활성화 인자 수용체(B-cell activation factor receptor; BAFF-R), 막 관통 활성화 인자 및 CAML 상호 작용 인자(transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor; TACI)의 리간드이기도 하다. BCMA는 BAFF-R, TACI와 함께, B 세포의 증식, 생존, 성숙 및 분화를 제어한다.

[0004] 다발성 골수종은 악성의 형질 세포 질환이다. 다발성 골수종 세포에서는, BCMA의 발현 레벨이 현저하게 증가한다. BCMA는, 다발성 골수종에 대한 면역 요법제의 적절한 종양 항원 표적이 될 수 있다. BCMA 결합 항체 등의 면역 요법제는, BCMA와 그의 천연 리간드인 BAFF 또는/및 APRIL의 결합을 차단할 수 있다.

[0005] 낙타과 동물의 IgG 항체에는, 경쇄 및 중쇄를 포함하는 종래 4분쇄 항체 IgG1에 추가로, 경쇄를 포함하지 않는 중쇄만의 항체(HcAb) IgG2 및 IgG3도 천연적으로 존재한다. 중쇄만의 항체에 있어서의 단일 가변 영역 도메인(V_H 또는 단일 가변 도메인)은 항원에 특이적으로 결합한다고 하는 특징을 가짐과 함께, 항원에 대한 높은 친화성을 갖는다. 이 특성으로부터, V_H 도메인을 단독으로, 또는 큰 항원 결합 분자의 일부분으로서 사용하는 경우, 종래의 scFv, 항체 프래그먼트 Fab 등과 비교하여 현저한 이점이 있고, 예를 들어, 항원에 대하여 높은 친화성으로 특이적으로 결합하기 위하여 필요한 도메인이 1개만인 것, 다거나 다중 특이성의 형태로 변환 가능한 것, V_H 도메인의 가용성이 높고, 응집하는 경향이 없는 것, 분자가 작기 때문에 높은 조직 투과성을 나타내는 것, 단일 도메인의 항체이며 경쇄와의 대합이 불필요한 것, 다중 특이성 항체를 형성할 때에 경쇄와 중쇄의 오대합이 없는 것 등의 이점을 들 수 있다.

[0006] B 세포 성숙 항원(BCMA) 및 T 세포 CD3 수용체를 표적으로 하는 다중 특이성 항체는, CD3 발현 T 세포를 BCMA 발현 골수종 세포에 리다이렉트함으로써, 표적 세포에 대한 세포 독성을 유도할 수 있다.

[0007] 잠재적인 치료 표적으로서, BCMA를 표적으로 하는 항체는 개발되어 있지만, 아직 충분하지 않고, 보다 많은 이용 가능한 선택지가 요구되고 있다.

발명의 내용

[0008] 본 발명은 BCMA를 표적으로 하는 항체, 특히, BCMA와, CD3 등의 T 세포 활성화 항원을 표적으로 하는 다중 특이성 항체를 제공한다. 본 발명은 또한, 제공하는 항체를 코드 가능한 핵산, 벡터, 세포, 조성물, 제조 방법 및 사용을 제공한다.

- [0009] 일 측면에 있어서, 본 발명은
- [0010] (i) 제1 항원에 결합하는 제1 항원 결합 부분과,
- [0011] (ii) 제2 항원에 결합하는 제2 항원 결합 부분과,
- [0012] (iii) 제1 항원에 결합하는 제3 항원 결합 부분을 포함하는 다중 특이성 항체로서,
- [0013] 상기 제1 항원은 BCMA이며, 상기 제2 항원은 T 세포 활성화 항원이며, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은 모두, 단일 가변 도메인이며, 각각 독립적으로,
- [0014] (a) 서열 번호 7로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 8로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 9로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0015] (b) 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0016] (c) 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 혹은,
- [0017] (d) 서열 번호 16으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 17로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 18로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3
- [0018] 중 어느 하나를 포함하는, 다중 특이성 항체를 제공한다.
- [0019] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은, 각각 독립적으로,
- [0020] (b) 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 혹은,
- [0021] (c) 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3
- [0022] 중 어느 하나를 포함한다.
- [0023] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고, 및 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 또한, 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 41로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 42로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 37로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 39로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0024] 다른 실시 형태에 있어서, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고, 및 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 또한, 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 42로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 41로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 39로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 37로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0025] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분과 제3 항원 결합 부분은, BCMA의 다른 에피토프에 결합한다.
- [0026] 상기 제2 항원 결합 부분은, T 세포 활성화 항원에 결합하는 능력을 가져온다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제2 항원 결합 부분은, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 상기 중쇄 가변 영역은, 상보성 결정 영역으로서, 서열 번호 43으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열 번호 44로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2 및 서열 번호 45로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함하고, 상기 경쇄

가변 영역은, 서열 번호 46으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, 서열 번호 47로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2 및 서열 번호 48로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함한다. 보다 구체적인 실시 형태에 있어서, 상기 제2 항원 결합 부분의 중쇄 가변 영역은, 서열 번호 49로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 그 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 50으로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0027] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 다중 특이성 항체는 또한, 2개의 Fc 폴리펩티드로 구성되는 Fc 영역을 포함한다.

[0028] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 다중 특이성 항체에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고, 및 상기 제2 항원 결합 부분은, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 상기 중쇄 가변 영역은, 상보성 결정 영역으로서, 서열 번호 43으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열 번호 44로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2 및 서열 번호 45로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 46으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, 서열 번호 47로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2 및 서열 번호 48로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함한다. 보다 구체적인 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 41로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 42로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 항원 결합 부분의 중쇄 가변 영역은, 서열 번호 49로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 그 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 50으로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다. 보다 구체적인 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 37로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 39로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 항원 결합 부분의 중쇄 가변 영역은, 서열 번호 49로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 그 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 50으로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다. 이들 실시 형태에 있어서, 선택 가능한 일 구성 형태로서, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은 모두, 단일 가변 도메인이며, 상기 제2 항원 결합 부분은 ScFv이며, 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 제2 항원 결합 부분의 N 말단에 융합된다. 보다 구체적인 실시 형태에 있어서, 다중 특이성 항체는 2개의 폴리펩티드체로 구성되고, 그 중, 제1 폴리펩티드체는, 상기 제1 항원 결합 부분 및 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드를 함유하고, 제2 폴리펩티드체는, 상기 제2 항원 결합 부분, 제3 항원 결합 부분 및 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드를 함유한다.

[0029] 다른 실시 형태에 있어서, 다중 특이성 항체에 있어서, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고, 및 상기 제2 항원 결합 부분은, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 상기 중쇄 가변 영역은, 상보성 결정 영역으로서, 서열 번호 43으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열 번호 44로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2 및 서열 번호 45로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 46으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, 서열 번호 47로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2 및 서열 번호 48로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함한다. 보다 구체적인 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 42로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 41로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 항원 결합 부분의 중쇄 가변 영역은, 서열 번호 49로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 그 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 50으로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다. 보다 구체적인 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 39로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 37로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 항원 결합 부분의 중쇄 가변 영역은, 서열 번호 49로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 그 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 50으로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다. 이들 실시 형태에 있어서, 선택 가능한 일 구성 형태로서, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은 모두, 단일 가변 도메인이며, 상기 제2 항원 결합 부분은 Fab이며, 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은, Fab 중쇄의 C 말단에서, 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합

되고, 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 제1 항원 결합 부분의 N 말단에 융합된다. 이 실시 형태에 대해서, 보다 구체적으로는, 다중 특이성 항체는 3개의 폴리펩티드쇄로 구성되고, 그 중, 제1 폴리펩티드쇄는, 상기 제1 항원 결합 부분, 제3 항원 결합 부분 및 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드를 함유하고, 제2 폴리펩티드쇄는, 상기 제2 항원 결합 부분의 Fab 중쇄 및 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드를 함유하고, 제3 폴리펩티드쇄는 상기 제2 항원 결합 부분의 Fab 경쇄이다. 다른 선택 가능한 구성 형태로서, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은 모두, 단일 가변 도메인이며, 상기 제2 항원 결합 부분은 ScFv이며, 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 제1 항원 결합 부분의 N 말단에 융합된다. 이 실시 형태에 대해서, 보다 구체적으로는, 다중 특이성 항체는 2개의 폴리펩티드쇄로 구성되고, 그 중, 제1 폴리펩티드쇄는, 상기 제1 항원 결합 부분, 제3 항원 결합 부분 및 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드를 함유하고, 제2 폴리펩티드쇄는, 상기 제2 항원 결합 부분 및 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드를 함유한다. 다른 선택 가능한 구성 형태로서, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은 모두, 단일 가변 도메인이며, 상기 제2 항원 결합 부분은 Fab이며, 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은, Fab 중쇄의 C 말단에서, 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 제2 항원 결합 부분의 Fab 경쇄의 N 말단에 융합된다. 이 실시 형태에 대해서, 보다 구체적으로는, 다중 특이성 항체는 3개의 폴리펩티드쇄로 구성되고, 그 중, 제1 폴리펩티드쇄는, 상기 제1 항원 결합 부분 및 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드를 함유하고, 제2 폴리펩티드쇄는, 상기 제2 항원 결합 부분의 Fab 중쇄 및 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드를 함유하고, 제3 폴리펩티드쇄는, 상기 제3 항원 결합 부분 및 제2 항원 결합 부분의 Fab 경쇄를 함유한다.

- [0030] 일 측면에 있어서, 본 발명은 상기 다중 특이성 항체를 코드하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는, 단리된 핵산을 제공한다.
- [0031] 일 측면에 있어서, 본 발명은 본 발명에 의한 핵산을 포함하는 벡터를 제공한다.
- [0032] 일 측면에 있어서, 본 발명은 본 발명에 의한 핵산 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다.
- [0033] 다른 측면에 있어서, 본 발명은 상기 숙주 세포를 배양하여 상기 다중 특이성 항체를 발현시키고, 상기 다중 특이성 항체를 세포로부터 단리·정제하는 것을 포함하는, 본 발명에 의한 다중 특이성 항체의 제조 방법을 제공한다.
- [0034] 다른 측면에 있어서, 본 발명은 상기 다중 특이성 항체 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 의약 조성물을 제공한다.
- [0035] 다른 측면에 있어서, 본 발명은 BCMA 발현에 관련하는 질환의 치료약을 제조하기 위한 상기 다중 특이성 항체 또는 상기 의약 조성물의 사용을 제공한다.
- [0036] 다른 측면에 있어서, 본 발명은 피험자에게 치료 유효량의 상기 다중 특이성 항체 또는 상기 의약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 피험자에 있어서의 BCMA 발현에 관련하는 질환을 치료하기 위한 방법을 제공한다.
- [0037] 다른 측면에 있어서, 본 발명은
- [0038] (1) 서열 번호 7로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 8로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 9로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0039] (2) 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0040] (3) 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 혹은,
- [0041] (4) 서열 번호 16으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 17로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 18로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0042] 을 포함하는 단일 가변 도메인을 포함하는 BCMA 결합 항체를 제공한다.
- [0043] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 단일 가변 도메인은, 서열 번호 41 또는 42로 표시되는 아미노산 서열을

포함하지만, 서열 번호 21 또는 23으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하지 않는다.

[0044]

본 발명은 BCMA와, CD3 등의 T 세포 활성화 항원을 표적으로 하는 다중 특이성 항체를 제공한다. 몇 가지의 형태에 있어서, 특정한 단일 가변 도메인을 사용하여 다양한 형태의 다중 특이성 항체를 구축한 결과, 그들은 모두, 종양 세포 용해성이나 안전성 등이 양호한 항종양 효과를 나타냈다.

도면의 간단한 설명

[0045]

도 1a는, 플로 사이토메트리에 의한 항인간 BCMA V_HH-Fc 키메라 항체와 CHO-hBCMA 세포의 결합 곡선의 도면이다.

도 1b는, 플로 사이토메트리에 의한 항인간 BCMA V_HH-Fc 키메라 항체와 U266 세포의 결합 곡선의 도면이다.

도 1c는, 플로 사이토메트리에 의한 항인간 BCMA V_HH-Fc 키메라 항체와 RPMI8226 세포의 결합 곡선의 도면이다.

도 1d는, 플로 사이토메트리에 의한 항인간 BCMA V_HH-Fc 키메라 항체와 HUVEC 세포의 결합 곡선의 도면이다.

도 2는, 플로 사이토메트리에 의한 1A10-Fc, 1A11-Fc 키메라 항체와 HEK293T-CynoBCMA 또는 HEK293T의 결합 곡선의 도면이다.

도 3은, 항인간 BCMA V_HH-Fc 키메라 항체와 리간드 APRIL의 경합 ELISA 측정의 결과를 도시하는 도면이다.

도 4a는, 인간, 게잡이 원숭이의 BCMA의 세포 외 영역에 있어서의 아미노산 서열의 비교를 도시하는 도면이다.

도 4b는, 인간 BCMA의 세포 외 영역의 결정 구조를 도시하는 도면이다.

도 5는, 본 발명에 의한 다특이 항체의 일례의 구조를 도시하는 개략도이다.

도 6은, 일례로서의 항체 BC24, PC1, PC2 및 PC3의 구조를 도시하는 개략도이다.

도 7은, anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체와 NCI-H929 세포의 결합 곡선의 도면이다.

도 8은, anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체와 MM1S 세포의 결합 곡선의 도면이다.

도 9는, anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체와 RPMI-8226 세포의 결합 곡선의 도면이다.

도 10은, anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체와 CD3⁺T 세포의 결합 곡선의 도면이다.

도 11은, 각 농도에서의 anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체가 유도한 이펙터 세포에 의한 NCI-H929 종양 세포의 용해율을 도시하는 도면이다.

도 12는, 각 농도에서의 anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체가 유도한 이펙터 세포에 의한 MM1S 종양 세포의 용해율을 도시하는 도면이다.

도 13은, 각 농도에서의 anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체가 유도한 이펙터 세포에 의한 RPMI-8226 종양 세포의 용해율을 도시하는 도면이다.

도 14는, 표적 세포 NCI-H929의 존재 하에서 T 세포 활성화에 대한 anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체의 영향을 도시하는 도면이다.

도 15는, 표적 세포 MM1S의 존재 하에서의 T 세포 활성화에 대한 anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체의 영향을 도시하는 도면이다.

도 16은, 각 농도에서 anti-BCMA/anti-CD3 항체를 NCI-H929 세포 및 이펙터 세포와 24시간 인큐베이트한 후의 사이토카인 IL-2, IL-6, TNF- α 및 IFN- γ 의 방출량을 도시하는 도면이다.

도 17은, NCI-H929 피하 이식 종양의 성장에 대한 anti-BCMA/anti-CD3 항체의 영향을 도시하는 도면이다.

도 18은, anti-BCMA/anti-CD3 항체 PC1의 LC-MS 분석 결과를 도시하는 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0046]

[용어]

- [0047] 「항체」라고 하는 용어는, 항원 결합 부위를 포함하는 단백질을 가리키고, 여러가지 구조의 천연 항체 및 인공 항체를 포함하고, 모노클로날 항체, 단일 특이성 항체, 다중 특이성 항체(예를 들어, 이중 특이성 항체, 삼중 특이성 항체 등), 단일쇄 항체 등을 예시할 수 있지만, 이들에 한정되지 않는다.
- [0048] 「다중 특이성」이라고 하는 용어는, 항체가, 복수의 다른 항원 결정기에 특이적으로 결합할 수 있고, 예를 들어, 2개 이상의 다른 항원 결정기에 특이적으로 결합할 수 있는 것을 의미한다. 통상적으로, 이중 특이성 항체는, 각각이 다른 항원 결정기에 대하여 특이적인 2개의 항원 결합 부위를 포함한다. 다른 항원 결정기는, 동일한 세포 상 또는 다른 세포 상에 발현할 수 있다. 다른 항원 결정기는, 항원의 종류에 따라 달라질 수도 있고(예를 들어, 항원 CD3, BCMA에 결합하는 것), 동일한 항원 상에 존재할 수도 있다. 항원 결정기는, 항원 물질 분자의 표면이나 다른 부분에 있는, 특정한 조성 및 구조를 갖는 특수한 화학기이며, 대응하는 항체 또는 감각 림프구와 특이적으로 결합할 수 있는 구조이다. 항원 결정기의 일례로서, 항원성 물질인 B 세포 성숙 항원(BCMA)은 구조 확인 완료 또는 구조 불명의 여러가지 항원 결정기를 갖는다. 본 명세서에 있어서, 항원 상의 2개 이상의 다른 항원 결정기에 결합 가능한 항체라면, 다중 특이성 항체라고 불린다.
- [0049] 「N가 항체」라고 하는 용어는, 항체에 N개의 항원 결합 부위가 있는 것을 의미한다. 예를 들어, 「2가 항체」란, 항체에 항원 결합 부위가 2개 있는 것을 의미하고, 「3가 항체」란, 항체에 항원 결합 부위가 3개 있는 것을 의미한다. 천연의 인간 면역 글로불린 분자는 통상적으로, 2개의 항원 결합 부위를 갖는다. Fab는 통상적으로, 하나의 항원 결합 부위를 갖는다. 단일 가변 도메인, ScFv는 통상적으로, 하나의 항원 결합 부위를 갖는다.
- [0050] 「항원 결합 부분」이라고 하는 용어는, 항원 결정기에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드 분자를 의미한다. 구체적인 항원 결합 부분은, Fab, ScFv 또는 단일 가변 도메인일 수 있다. 본 명세서에 있어서의 항원 결정기 및 에피토프와 동의어이다.
- [0051] 「T 세포 활성화 항원」이라고 하는 용어는, 항체와 상호 작용하면, T 세포 활성화를 유도할 수 있는, 세포 상해성 T 림프구 등의 T 림프구의 표면에 발현하는 항원을 가리킨다. 예를 들어, 항체와 T 세포 활성화 항원의 상호 작용은, T 세포 수용체 복합체의 시그널 전달 캐스케이드를 유발함으로써, T 세포 활성화를 유도할 수 있다. 일 실시 형태에 있어서, 상기 T 세포 활성화 항원은 CD3이며, 예를 들어, CD3의 ϵ 쇄이다.
- [0052] 「T 세포 활성화」라고 하는 용어는, 증식, 분화, 사이토카인 분비, 세포 상해성 이펙터 분자 방출, 세포 상해 활성화, 활성화 마커의 발현으로부터 선택되는, 세포 상해성 T 림프구 등의 T 림프구의 하나 이상의 세포성 응답을 가리킨다. 본 발명의 다중 특이성 항체는 T 세포 활성화를 유도할 수 있다. T 세포 활성화를 측정하기 위한 적합한 방법은, 당분야에서 공지이며, 본 명세서에도 기재가 있다.
- [0053] 본 발명에 있어서, 항원 결합 부분, 항원, Fc 폴리펩티드, 펩티드 링커, 폴리펩티드쇄 등에 관한 「제1」, 「제2」 또는 「제3」이라고 하는 용어는, 하나 이상의 각 형의 부분이 존재하는 경우, 구별을 편리하게 하기 위하여 사용된다. 이들 용어의 사용은, 명백하게 기술되지 않는 한, 다중 특이성 항체의 구체적 순서 또는 방향을 부여하는 것으로는 의도되지 않는다.
- [0054] 「융합된다」라고 하는 용어는, 성분(예를 들어, Fab, ScFv, Fc 폴리펩티드 등)이 직접, 또는 하나 이상의 펩티드 링커를 통하여, 펩티드 결합에 의해 연결되는 것을 의미한다.
- [0055] 「가변 도메인」 또는 「가변 영역」이라고 하는 용어는, 항체에 있어서의 당해 항체와 항원의 결합에 관여하는 도메인을 가리킨다. 예를 들어, 천연적으로 4쇄 항체(예를 들어, 인간, 쥐 등에서 유래하는 것)는 중쇄 가변 영역(VH) 및 경쇄 가변 영역(VL)을 갖고, 낙타과나 상어 등의 동물에서 유래되는 중쇄만의 항체는, 단일 가변 도메인을 갖는다. 천연 항체의 각 가변 도메인은, 일반적으로, 4개의 「프레임워크 영역」과, 3개의 「상보성 결정 영역」으로 구성된다. 4개의 프레임워크 영역은 각각, 프레임워크 영역 1(또는 FR1), 프레임워크 영역 2(또는 FR2), 프레임워크 영역 3(또는 FR3) 및 프레임워크 영역 4(또는 FR4)라고 불린다. 상기 프레임워크 영역은, 당분야 및 후술에 있어서 각각 상보성 결정 영역 1(또는 CDR1), 상보성 결정 영역 2(또는 CDR2) 및 상보성 결정 영역 3(또는 CDR3)이라고 불리는 3개의 상보성 결정 영역(또는 CDR)에 의해 분리되어 있다. 따라서, 가변 도메인의 일반적인 구조는, FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4로 나타낼 수 있다. 가변 도메인은, 항원 결합 부위를 가짐으로써, 항원에 대한 특이성을 항체에 부여한다.
- [0056] 「단일 가변 도메인」이라고 하는 용어는, 다른 가변 도메인과 대합하지 않고, 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있는 가변 도메인을 가리킨다. 단일 가변 도메인은 통상적으로, 하나의 도메인에 존재하는 3개의 CDR(CDR1, CDR2 및 CDR3)을 갖는다. 경우에 따라서는, 단일의 항원 결합 단위(즉, 실질적으로 단일 가변 도메인을 포함하

는 기능적 항원 결합 단위)를 형성 가능한 한(이 경우, 단일 항원 결합 도메인은, 다른 가변 도메인과 상호 작용하지 않고, 기능적 항원 결합 단위를 형성할 수 있다), 단일 가변 도메인은 중쇄 가변 도메인(예를 들어, V_H)이어도 된다. 단일 가변 도메인의 다른 실례는 낙타과의 「VHH 도메인」(또는 「VHH」 혹은 「V_HH」라고 약칭한다.)이다.

[0057] 「CDR」(상보성 결정 영역)은 「초가변 영역(HVR)」이라고도 불리고, 일반적으로, 서열이 고빈도로 바뀌거나, 및/또는 구조적으로 규정된 루프를 형성하는 항체 가변 영역의 각각의 영역을 가리킨다. 천연적으로 4본쇄 항체는 일반적으로, 6개의 CDR; 중쇄 가변 영역에 있어서 3개(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3), 경쇄 가변 영역에 있어서(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3) 3개를 포함한다. 중쇄만의 항체 또는 단일 가변 도메인은 일반적으로, 3개의 CDR(CDR1, CDR2 및 CDR3)을 갖는다.

[0058] CDR을 정의하여 분류하는 방법은 복수 보고되어 있다. 그 중, Kabat의 정의는, 서열의 가변성에 기초하여 CDR을 분류하는 것이며, 가장 많이 사용되고 있다(Elvin A.Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.(1991)). Chothia의 정의는, 구조 루프의 위치에 기초하고 있다(Cyrus Chothia, et al, Canonical Structures for the Hypervariable Regions of Immunoglobulins, J.Mol.Biol.196: 901-917(1987)). AbM의 정의는, Kabat의 정의와 Chothia의 정의를 절충한 것이며, Oxford Molecular의 AbM 항체 구조 모델링용 소프트웨어에 사용되고 있다. CDR의 「접촉(contact)」 정의는, 이용 가능한 복합 결정 구조의 해석에 기초하고 있다. 단, 동일한 항체 가변 영역의 CDR의 경계는, 정의 및 분류의 방법에 따라 다를 경우가 있다. 즉, 다른 방법으로 분류·정의되는 동일한 항체 가변 영역의 CDR 서열이 다른 경우가 있다. 그 때문에, 본 발명에 있어서 분류·정의되는 특정한 CDR 서열을 사용하여 항체를 규정하는 경우, 그 항체의 범위에는, 다른 임의의 정의(예를 들어, Chothia, AbM의 정의 등)로 변환된 CDR 서열에 의해 규정되는 항체도 포함된다.

[0059] 본 명세서에 기재된 CDR 서열은, 일반적으로, Kabat의 정의(Elvin A.Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed.Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.(1991))에 의한 것이다.

[0060] 「프레임워크 영역」 또는 「FR」이라고 하는 용어는, 본 명세서에서 정의된 CDR 잔기 이외의 가변 도메인의 아미노산 잔기를 가리킨다.

[0061] 「Fab」라고 하는 용어는, 면역 글로불린의 중쇄 VH 및 CH1과, 경쇄의 VL 및 CL 도메인을 포함하는 단백질을 가리킨다. 본 명세서에 있어서, Fab란, 중쇄 가변 영역 VH 및 정상 영역 CH1를 포함하는 Fab 중쇄(VH-CH1, N으로부터 C 말단 방향)와, 경쇄 가변 영역 및 정상 영역 CL를 포함하는 Fab 경쇄(VL-CL, N으로부터 C 말단 방향)를 포함하는 천연형 Fab 분자를 의미한다.

[0062] 「scFv」라고 하는 용어에는, 면역 글로불린의 VH 및 VL 도메인이 포함되고, 이들 도메인은 단일의 폴리펩티드쇄에 존재한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, scFv는, 항원 결합에 필요한 구조를 형성할 수 있도록, VH와 VL 도메인 사이에 있는 펩티드 링커도 포함한다.

[0063] 「Fc 도메인」, 「Fc」 또는 「Fc 영역」이라고 하는 용어는, 본 명세서에 있어서, 정상 영역의 적어도 일부를 포함하는 면역 글로불린 중쇄의 C 말단 영역을 정의하기 위하여 사용된다. 이 용어에는, 천연 서열 Fc 및 변이체 Fc가 포함된다. Fc의 C 말단 리신(Lys447)은 존재해도 되고, 존재하지 않아도 된다. 특히 별단의 기재가 없는 한, Fc 또는 정상 영역에 있는 아미노산 잔기의 넘버링은, Kabat, E.A 등 Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD(1991), NIH Publication 91-3242에 기재된 바와 같이 EU 인덱스라고도 불리는 EU 넘버링 시스템에 따른다. 본 명세서에서 사용하는 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 「Fc 폴리펩티드」란, 2량체 Fc 도메인을 형성하는 2개의 폴리펩티드 중 1개를 가리킨다. 예를 들어, IgG Fc 영역의 Fc 폴리펩티드는, IgG CH2 및 IgG CH3 정상 영역을 포함한다.

[0064] 「이펙터 기능」이라고 하는 용어는, 항체 아이소타입에 따라 다른 항체 Fc 도메인에 기인하는 생물학적 활성을 가리킨다. 항체 이펙터 기능의 예로서는, C1q 결합 및 보체 의존성 세포 상해(CDC), Fc 수용체 결합, 항체 의존성 세포 상해(ADCC), 항체 의존성 세포 식작용(ADCP) 등을 들 수 있다.

[0065] 「KD」라고 하는 용어는, 본 명세서에서 사용하는 경우, 해리 상수를 가리키고, 몰농도(M)로서 표시된다. 항체의 KD값은 당분야에서 공지된 방법에 의해 측정할 수 있다. 항체의 KD를 측정하는 방법의 일례로서, 표면 플라즈몬 공명(surface plasmon resonance)을 사용하는 방법, 예를 들어, Biacore 시스템 등의 바이오센서 시스템

에 의한 방법을 들 수 있다.

- [0066] 「치료」라고 하는 용어는, 치료를 받고 있는 개체에 있어서의 질환의 자연 경과를 바꾸려고 하는 임상 개입을 가리키고, 예방을 위해서, 또는 임상 병리의 경과 동안에 행할 수 있다. 바람직한 치료 효과에는, 질환의 발생 또는 재발의 예방, 증상의 완화, 질환의 임의의 직접적 또는 간접적인 병리학적 결과의 감소, 전이의 예방, 질환 진행 속도의 저감, 질환 상태의 관해 또는 경감, 및 경제 또는 예후의 개선이 포함되지만, 이들에 한정되지 않는다.
- [0067] 「피험자」라고 하는 용어는, 모든 인간 또는 비인간 동물을 포함한다. 「비인간 동물」은, 포유 동물 및 비포유 동물을 예시할 수 있는 모든 척추동물을 포함하고, 예를 들어, 비인간 영장류, 양, 개, 고양이, 말, 소, 닭, 양서류, 파충류 등을 들 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 피험자는 인간이다. 특별히 명기하지 않는 한, 「환자」 또는 「피험자」는 동일한 의미로 사용된다.
- [0068] 「단리되었다」라고 하는 용어는, 목적으로 하는 화합물(예를 들어, VHH, 다중 특이성 항체, 항체 또는 핵산 등)이 그 천연의 환경으로부터 추출된 것을 의미한다.
- [0069] 아미노산 서열의 「동일성 백분율(%)」이란, 후보 서열과 본 명세서에 나타내지는 구체적인 아미노산 서열을 얼라인먼트하고, 어떠한 보존적 치환도 서열 동일성의 일부로서 고려하지 않고, 최대의 서열 동일성 백분율을 달성하기 위하여 필요에 따라서 갭을 도입한 후의, 본 명세서에 나타내지는 구체적인 아미노산 서열의 아미노산 잔기와 동일한, 후보 서열 중의 아미노산 잔기의 백분율을 의미한다. 아미노산 서열의 동일성은, 당분야에 있어서의 기술의 범위 내인 여러가지 방법으로, 예를 들어, BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 Megalign(DNASTAR) 소프트웨어를 사용하여 실현할 수 있다. 당업자라면 비교되고 있는 서열의 완전 길이에 걸치는 최대 얼라인먼트를 얻는 데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하고, 서열 얼라인먼트에 적합한 파라미터를 결정할 수 있다.
- [0070] 본 발명의 여러가지 측면에 대해서, 이하의 서브섹션에서 더욱 상세하게 설명한다.
- [0071] I. 단일 가변 도메인
- [0072] 본 발명은 BCMA(예를 들어, 인간 BCMA)에 결합하는 단일 가변 도메인을 제공한다. 단일 가변 도메인은, BCMA를 표적으로 하는 약제의 개발 또는 약제 구축을 위하여 이용 가능한 옵션을 또한 제공한다. 상기 단일 가변 도메인은, 인간 BCMA에 대하여 양호한 친화성을 갖고, 타겟팅 특성을 제공할 수 있다. 경우에 따라서는, 상기 단일 가변 도메인은, 증식 유도 리간드 APRIL과 BCMA의 결합을 차단하는 능력을 제공할 수 있다. 특히, 몇 가지의 형태에 있어서, 상기 단일 가변 도메인은, 인간 TACI 및 BAFF-R 단백질에 결합하지 않고, 특이성을 나타낸다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 단일 가변 도메인은 원숭이 BCMA와 교차 반응한다. 원숭이는 약물 독성 실험이 이상적인 실험 동물이기 때문에, 원숭이와의 교차 반응은 약물 독성 실험을 전개함에 있어서 적합하다.
- [0073] 본 발명은
- [0074] (1) 서열 번호 7로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 8로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 9로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0075] (2) 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0076] (3) 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 혹은,
- [0077] (4) 서열 번호 16으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 17로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 18로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0078] 을 포함하는, BCMA에 결합하는 단일 가변 도메인을 제공한다.
- [0079] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 단일 가변 도메인은, 서열 번호 7로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 8로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 9로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 단일 가변 도메인은, 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 단일 가변 도메인은, 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 몇 가지의 실시 형태

에 있어서, 상기 단일 가변 도메인은, 서열 번호 16으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 17로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 18로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 단일 가변 도메인은 낙타과의 동물의 것이다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 단일 가변 도메인은 인간화된 것이다.

[0080] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 단일 가변 도메인은, 서열 번호 19, 21, 23, 25, 37, 38, 39, 40, 41 또는 42로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 몇 가지의 보다 구체적인 실시 형태에 있어서, 상기 단일 가변 도메인은, 서열 번호 19로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함함과 함께, 서열 번호 7로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 8로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 9로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 몇 가지의 보다 구체적인 실시 형태에 있어서, 상기 단일 가변 도메인은, 서열 번호 41로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함함과 함께, 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 몇 가지의 보다 구체적인 실시 형태에 있어서, 상기 단일 가변 도메인은, 서열 번호 37 또는 38로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함함과 함께, 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 몇 가지의 보다 구체적인 실시 형태에 있어서, 상기 단일 가변 도메인은, 서열 번호 42로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함함과 함께, 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 몇 가지의 보다 구체적인 실시 형태에 있어서, 상기 단일 가변 도메인은, 서열 번호 39 또는 40으로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함함과 함께, 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 몇 가지의 보다 구체적인 실시 형태에 있어서, 상기 단일 가변 도메인은, 서열 번호 25로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함함과 함께, 서열 번호 16으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 17로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 18로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열은, 참조 서열과 비교하여 치환(예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 포함하는데, 당해 서열을 포함하는 단일 가변 도메인은 BCMA에 결합하는 능력을 보유한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 서열 번호 19, 41, 42 및 25로부터 선택되는 아미노산 서열은, 합계 1 내지 18, 1 내지 16, 1 내지 14, 1 내지 12, 1 내지 10, 1 내지 9, 1 내지 8, 1 내지 7, 1 내지 6, 1 내지 5, 1 내지 4, 1 내지 3 또는 1 내지 2개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 치환, 삽입 또는 결실은, CDR 이외의 영역(즉, FR)에 있어서 발생한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDR 영역, 예를 들어, CDR1, CDR2, CDR3 중 1개, 2개 또는 3개에 있어서 발생한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 치환, 삽입 또는 결실은, CDR 영역 및 비CDR 영역에 있어서 발생한다.

[0081] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 단일 가변 도메인의 아미노산 서열은, 서열 번호 19, 21, 23, 25, 37, 38, 39, 40, 41 또는 42로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0082] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 단일 가변 도메인의 아미노산 서열은, 서열 번호 19, 21, 23, 25, 37, 38, 39, 40, 41 또는 42로 표시되는 것이다.

[0083] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 단일 가변 도메인은 V_H 이다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, V_H 는 인간화된 것이다. 비인간 유래의 단일 가변 도메인은, 원래의 단일 가변 도메인 서열의 아미노산 서열 중의 하나 이상의 아미노산 잔기를, 인간 항체의 V_H 도메인 중이 대응하는 위치에 존재하는 하나 이상의 아미노산 잔기로 치환함으로써 「인간화」할 수 있다. 인간화에 의해 면역원성이 저하될 것이 기대된다. 단일 가변 도메인은 일반적으로, N 말단부터 C 말단까지, FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4로 표시되는 구조를 갖는다.

[0084] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 본 발명은 본 발명에 의한 단일 가변 도메인의 어느 것과 동일한 에피토프에 결합하는 단일 가변 도메인을 제공한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 서열 번호 19, 21, 23, 25, 37, 38, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 단일 가변 도메인과 같은 에피토프에 결합하는 단일 가변 도메인을 제공한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 동일한 에피토프에 결합하는 단일 가변 도메인은 낙타과의 동물의 것, 또는 인간화된 것이다.

[0085] 당업자에게 알려져 있는 종래의 기술을 사용하여, 동일한 에피토프에 대한 결합의 경합성에 따라서 단일 가변 도메인을 스크리닝할 수 있다. 그 때문에, 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 본 발명은 본 발명에 의한 단일 가변 도메인의 어느 것과 경합하여 BCMA에 결합하는 단일 가변 도메인을 제공한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 서열 번호 19, 21, 23, 25, 37, 38, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 단일 가변 도메인과 경합하여 BCMA에 결합하는 단일 가변 도메인을 제공한다. BCMA에 대한 결합은, ELISA, 플로 사이토메트리, 표면 플라즈몬 공명(SPR) 또는 당분야에서 알려져 있는 다른 임의의 방법에 의해 측정할 수 있다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 BCMA에 경합적으로 결합하는 단일 가변 도메인은, 낙타과의 동물의 것, 또는 인간화된 것이다.

[0086] 본 발명은 BCMA에 결합하는 단일 가변 도메인의 몇 가지의 예를 제공한다. 본 발명에 의한 단일 가변 도메인 예의 CDR(CDR1, CDR2 및 CDR3)의 아미노산 서열을 하기의 표 S1에 나타낸다. 단일 가변 도메인 예의 전체 길이 아미노산 서열을 하기의 표 S2에 나타낸다.

[0087] [표 S1]

단일 가변 도메인의 CDR 서열			
명칭	CDR1	CDR2	CDR3
1A1 단일 가변 도메인	GWNKH (서열 번호 7)	SIFRDGKTAYTDSVKG (서열 번호 8)	DLPGSGLPAF (서열 번호 9)
1A10 단일 가변 도메인	VACMA (서열 번호 10)	TIVADFGTTNYAASVKG (서열 번호 11)	TQGGIDWCDEINY (서열 번호 12)
1A10-V1 단일 가변 도메인	VACMA (서열 번호 10)	TIVADFGTTNYAASVKG (서열 번호 11)	TQGGIDWCDEINY (서열 번호 12)
1A10-V2 단일 가변 도메인	VACMA (서열 번호 10)	TIVADFGTTNYAASVKG (서열 번호 11)	TQGGIDWCDEINY (서열 번호 12)
1A11 단일 가변 도메인	SACMG (서열 번호 13)	RIETGYGGTVYADSVKG (서열 번호 14)	KRSWCTPTWWHELDYNY (서열 번호 15)
1A11-V1 단일 가변 도메인	SACMG (서열 번호 13)	RIETGYGGTVYADSVKG (서열 번호 14)	KRSWCTPTWWHELDYNY (서열 번호 15)
1A11-V2 단일 가변 도메인	SACMG (서열 번호 13)	RIETGYGGTVYADSVKG (서열 번호 14)	KRSWCTPTWWHELDYNY (서열 번호 15)
1B10 단일 가변 도메인	GWNKH (서열 번호 16)	SIFRDGKTAYTDSVKG (서열 번호 17)	DLPGSGLPEF (서열 번호 18)

[0088]

[0089] [표 S2]

단일 가변 도메인의 전체 길이 서열		
명칭	아미노산 서열	서열 번호
1A1 단일 가변 도메인	QVQLVESGGGVSQAGGSLRLSCTASGYTFRGWNKHWRQAPGKE RELVSSIFRDGKTAYTDSVKGRFTISQDNADATVYLMNSLKPEDT AMYCYKYDLPGLPGLPFWGQGLTVTVSS	19
1A10 단일 가변 도메인	QVQLVESGGGVSQAGGSLRLSCTASGYSSNVACMAWYRQAPGKE REWVATIVADFGTTNYAASVKGRFTISQDNKNTVYLMNSLKPE DSAMYYCAATQRRGGIDWCDEINYWGQGLTVTVSS	21
1A11 단일 가변 도메인	QVQLVESGGGVSQAGGSLRLSCTASGYTFNSACMGWFRQAPGKE REGVARIETGYGGTVYADSVKGRFTISRDNKNTVYLMNSLKPE DTAMYYCAAKRSWCTPTWWHELDYNYWGQGTQVTVSS	23
1B10 단일 가변 도메인	EVQLVESGGGVSQAGGSLRLSCTASGYTFRGWNKHWRQAPGKE RELVSSIFRDGKTAYTDSVKGRFTISQDSADATVYLMNSLKPEDT AMYCYKYDLPGLPGLPEFWGQGLTVTVSS	25
1A10-V1 단일 가변 도메인	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGYSSNVACMAWYRQAPGKG LEWVATIVADFGTTNYAASVKGRFTISQDNSKNTVYLMNSLRAE DTAVYYCAATQRRGGIDWCDEINYWGQGLTVTVSS	37
1A10-V2 단일 가변 도메인	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGYSSNVACMAWYRQAPGKE REWVSTIVADFGTTNYAASVKGRFTISQDNSKNTVYLMNSLRAE DTAVYYCAATQRRGGIDWCDEINYWGQGLTVTVSS	38
1A11-V1 단일 가변 도메인	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGYTFNSACMGWFRQAPGKG REGVSRIETGYGGTVYADSVKGRFTISRDNKNTVYLMNSLRAE DTAVYYCAAKRSWCTPTWWHELDYNYWGQGTQVTVSS	39
1A11-V2 단일 가변 도메인	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGYTFNSACMGWFRQAPGKER EGVSRIETGYGGTVYADSVKGRFTISRDNKNTVYLMNSLKAED TAVYYCAAKRSWCTPTWWHELDYNYWGQGTQVTVSS	40

[0090]

[0091] (서열 번호 41의 서열)

[0092] QVQLVESGGGX₁VQX₂GGSLRLSCTASGYSSNVACMAWYRQAPGKX₃X₄EWVX₅TIVADFGTTNYAASVKGRFTISQDNX₆KNTVYLMNSLX₇X₈EDX₉AX₁₀
YYCAATQRRGGIDWCDEINYWGQGLTVTVSS

[0093] 여기서, X₁은 S 또는 L이며, X₂는 P 또는 A이며, X₃은 G 또는 E이며, X₄는 R 또는 L이며, X₅는 A 또는 S이며, X₆은 A 또는 S이며, X₇은 R 또는 K이며, X₈은 A 또는 P이며, X₉는 T 또는 S이며, X₁₀은 V 또는 M이다.

[0094] (서열 번호 42의 서열)

[0095] QVQLVESGGGX₁₁VQX₁₂GGSLRLSCTASGX₁₃TFNSACMGWFRQAPGKX₁₄REGVX₁₅RIETGYGGTVYADSVKGRFTISRDNX₁₆KNTVYLMNSLX₁₇X₁₈EDTA
X₁₉ YYCAAKRSWCTPTWWHELDYNYWGQGTQVTVSS

[0096] 여기서, X₁₁은 S 또는 L이며, X₁₂는 P 또는 A이며, X₁₃은 F 또는 V이며, X₁₄는 E 또는 G이며, X₁₅는 A 또는 S이며, X₁₆은 A 또는 S이며, X₁₇은 R 또는 K이며, X₁₈은 A 또는 P이며, X₁₉는 V 또는 M이다.

[0097] 본 발명은 상기 단일 가변 도메인을 포함하는 BCMA 결합 항체를 제공한다.

[0098] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 BCMA 결합 항체는 단일 특이성 항체 또는 다중 특이성 항체일 수 있다.

[0099] 일 실시 형태에 있어서, 상기 단일 특이성 항체는 Fc 도메인을 포함하고, 바람직하게는, 상기 Fc는 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4의 Fc이다.

[0100] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 단일 특이성 항체는, 서열 번호 27, 29, 31, 33, 51, 53, 55 또는 57로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0101] 본 발명은 단일 특이성 항체의 예(예를 들어, 1A10-V1, 1A10-V1, 1A11-V1, 1A11-V2 등)를 제공한다. 단일 가변 도메인을 인간 IgG1의 Fc와 융합시켜, Fc에 의해 호모 2량체를 형성한다.

[0102] 본 발명은, 본 발명에 의한 BCMA 결합 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는, 단리된 핵산을 제공한다.

[0103] 본 발명은 본 발명에 의한 핵산을 포함하는 벡터를 제공한다.

- [0104] 본 발명은 본 발명에 의한 핵산 또는 본 발명에 의한 벡터를 포함하는, 단리된 숙주 세포를 제공한다.
- [0105] 본 발명은 본 발명에 의한 숙주 세포를 배양하여 상기 BCMA 결합 항체를 발현시키고, 상기 BCMA 결합 항체를 계로부터 단리·정제하는 것을 포함하는, 본 발명에 의한 BCMA 결합 항체의 제조 방법을 제공한다.
- [0106] 본 발명은 본 발명에 의한 BCMA 결합 항체 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 의약 조성물을 제공한다.
- [0107] 본 발명은 피험자에게 치료 유효량의 본 발명에 의한 BCMA 결합 항체 또는 상기 의약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 피험자에 있어서의 BCMA 발현에 관련하는 질환을 치료하기 위한 방법을 제공한다.
- [0108] II. 다중 특이성 항체
- [0109] 본 발명은 종양 세포의 표면에 발현하는 BCMA를 표적으로 할 수 있고, T 세포에 결합하여 T 세포의 살종양 활성을 활성화할 수도 있는, 단일 가변 도메인을 포함하는 다중 특이성 항체를 제공한다.
- [0110] 보다 많은(예를 들어, 2개) Fab를 채용하는 경우와 비교하여, 단일 가변 도메인을 채용하는 경우에는, 경제와 중쇄의 오대합을 경감 또는 회피할 수 있다.
- [0111] 본 발명의 다중 특이성 항체는, 종양 세포의 용해 등의 우수한 항종양 특성도 나타내고 있다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 본 발명의 다중 특이성 항체는, 여러가지 종양 세포에 대한 살상을 유도할 수 있고, 또한, 본 발명의 다중 특이성 항체는, 다른 BCMA 발현 레벨을 갖는 종양 세포에 대하여 양호한 살종양 활성을 나타내고 있다. 특히, BCMA의 발현이 낮은 일부의 종양 세포에 대하여 보다 우수한 살상 특성을 나타내고 있다.
- [0112] 본 발명의 다중 특이성 항체는, 양호한 항종양 특성을 나타냄과 함께, 사이토카인 방출 레벨이 낮기 때문에, CD3 표적 항체에 의해 야기되는 사이토카인 스톱의 리스크를 경감하여, 안전성을 향상시킬 수 있다.
- [0113] 상기 I의 란에 기재된 어느 단일 가변 도메인에 의해 다중 특이성 항체를 구축할 수 있다. 그 때문에, 본 발명은
- [0114] (i) 제1 항원에 결합하는 제1 항원 결합 부분과,
- [0115] (ii) 제2 항원에 결합하는 제2 항원 결합 부분과,
- [0116] (iii) 제1 항원에 결합하는 제3 항원 결합 부분을 포함하는 다중 특이성 항체로서,
- [0117] 상기 제1 항원은 BCMA이며, 상기 제2 항원은 T 세포 활성화 항원이며, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은 모두, 단일 가변 도메인이며, 각각 독립적으로,
- [0118] (a) 서열 번호 7로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 8로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 9로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0119] (b) 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0120] (c) 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 혹은,
- [0121] (d) 서열 번호 16으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 17로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 18로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3
- [0122] 중 어느 하나를 포함하는,
- [0123] 다중 특이성 항체를 제공한다.
- [0124] 본 발명에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은 모두, BCMA에 결합하는 단일 가변 도메인이다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 상기 (a), (b), (c) 또는 (d)에 기재된 상보성 결정 영역을 포함한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제3 항원 결합 부분은, 상기 (a), (b), (c) 또는 (d)에 기재된 상보성 결정 영역을 포함한다. 상기 다중 특이성 항체에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분과 제3 항원 결합 부분은 동일해도 되고, 다르게 되어 있어도 되고, 독립적으로 본 발명에 의한 단일 가변 도메인을 임의로 선택하여 조합할 수 있다. 일 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분과 제3 항원 결합 부분은 동일하다. 다른 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분과 제3 항원 결합 부분은 다르게 되어 있다.
- [0125] 표 S3은, CDR에 의해 특징지어지는 제1 항원 결합 부분과 제3 항원 결합 부분의 여러가지 조합으로 구축되는 다

중 특이성 항체를 예시한다. 일 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 상기 (b)에 기재된 상보성 결정 영역을 포함하고, 상기 제3 항원 결합 부분은, 상기 (c)에 기재된 상보성 결정 영역을 포함하고, 즉, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고, 또한, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 다른 실시 형태에 있어서, 상기 제3 항원 결합 부분은, 상기 (b)에 기재된 상보성 결정 영역을 포함하고, 상기 제1 항원 결합 부분은, 상기 (c)에 기재된 상보성 결정 영역을 포함하고, 즉, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고, 또한, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 보다 구체적인 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 10으로 표시되는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 CDR3을 포함하고, 또한, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 13으로 표시되는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 CDR3을 포함한다. 다른 보다 구체적인 형태에 있어서, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 10으로 표시되는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 CDR3을 포함하고, 또한, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 13으로 표시되는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 CDR3을 포함한다.

[0126] [표 S3]

제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분의 CDR에 의해 특징지어지는
다중 특이성 항체의 예

제1 항원 결합 부분 제3 항원 결합 부분	(a)	(b)	(c)	(d)
(a)	(a)+(a)	(a)+(b)	(a)+(c)	(a)+(d)
(b)	(b)+(a)	(b)+(b)	(b)+(c)	(b)+(d)
(c)	(c)+(a)	(c)+(b)	(c)+(c)	(c)+(d)
(d)	(d)+(a)	(d)+(b)	(d)+(c)	(d)+(d)

[0127]

[0128] (주) 표 중의 「(X)+(Y)」는, 다중 특이성 항체 중의 제3 항원 결합 부분과 제1 항원 결합 부분의 조합의 형태를 나타낸다. 예를 들어, (b)+(a)는 다중 특이성 항체 중의 제3 항원 결합 부분이 (b)에 기재된 상보성 결정 영역을 포함함과 함께, 제1 항원 결합 부분이 (a)에 기재된 상보성 결정 영역을 포함하는 것을 나타낸다.

[0129] 또한, 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은 각각 독립적으로, 서열 번호 19, 41, 42 또는 25로 표시되는 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0130] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 19, 41, 42 또는 25로 표시되는 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 19, 21, 23, 37, 38, 39, 40 또는 25로 표시되는 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 19, 41, 42 또는 25로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다. 몇 가지의 보다 구체적인 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 19, 21, 23, 37, 38, 39, 40 또는 25로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0131] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 19, 41, 42 또는 25로 표시되는 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 19, 21, 23, 37, 38, 39, 40 또는 25로 표시되는 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 19, 41, 42 또는 25로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다. 몇 가지의 보다 구체적인 실시 형태에 있어서, 상기 제3 항원 결합 부분은,

은, 서열 번호 19, 21, 23, 37, 38, 39, 40 또는 25로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.

- [0132] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 41로 표시되는 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 42로 표시되는 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 41로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 42로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다. 몇 가지의 보다 구체적인 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 21, 37 또는 38로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 23, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0133] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 42로 표시되는 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 41로 표시되는 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 42로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 41로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다. 몇 가지의 보다 구체적인 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 23, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 21, 37 또는 38로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0134] 일례로서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 21로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제3 항원 결합 부분은, 21, 23, 37, 38, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0135] 일례로서, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 21로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제1 항원 결합 부분은, 21, 23, 37, 38, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0136] 일례로서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 37로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 39로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0137] 일례로서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 37로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 38로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0138] 일례로서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 37로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0139] 일례로서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 38로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 39로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0140] 일례로서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 38로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0141] 일례로서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 39로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0142] 일례로서, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 37로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 39로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0143] 일례로서, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 37로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 38로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0144] 일례로서, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 37로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 40의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0145] 일례로서, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 38로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 39의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0146] 일례로서, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 38로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 상기 제1 항

원 결합 부분은, 서열 번호 40의 아미노산 서열을 포함한다.

[0147] 일례로서, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 39로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 40의 아미노산 서열을 포함한다.

[0148] 일례로서, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은 모두, 서열 번호 21, 23, 37, 38, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0149] 표 S4는, 전체 길이 아미노산 서열에 의해 특징지어지는 제1 항원 결합 부분과 제3 항원 결합 부분이 여러가지 조합에 의해 구축되는 다중 특이성 항체를 예시한다.

[0150] [표 S4]

제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분의 아미노산 서열에 의해 특징지어지는 다중 특이성 항체의 예

제1 항원 결합 부분 / 제3 항원 결합 부분	1A1 단일 가변 도메인	1A10 단일 가변 도메인	1A11 단일 가변 도메인	1B10 단일 가변 도메인	1A10- V1 단일 가변 도메인	1A10- V2 단일 가변 도메인	1A11- V1 단일 가변 도메인	1A11- V2 단일 가변 도메인
1A1 단일 가변 도메인	1A1+1 A1 단일 가변 도메인	1A1+1A 10 단일 가변 도메인	1A1+1A 11 단일 가변 도메인	1A1+1B 10 단일 가변 도메인	1A1+1A 10-V1 단일 가변 도메인	1A1+1A 10-V2 단일 가변 도메인	1A1+1A 11-V1 단일 가변 도메인	1A1+1 A11-V2 단일 가변 도메인
1A10 단일 가변 도메인	1A10+ 1A1 단일 가변 도메인	1A10+1 A10 단일 가변 도메인	1A10+1 A11 단일 가변 도메인	1A10+1 B10 단일 가변 도메인	1A10+1 A10-V1 단일 가변 도메인	1A10+1 A10-V2 단일 가변 도메인	1A10+1 A11-V1 단일 가변 도메인	1A10+ 1A11- V2 단일 가변 도메인
1A11 단일 가변 도메인	1A11+ 1A1 단일 가변 도메인	1A11+1 A10 단일 가변 도메인	1A11+1 A11 단일 가변 도메인	1A11+1 B10 단일 가변 도메인	1A11+1 A10-V1 단일 가변 도메인	1A11+1 A10-V2 단일 가변 도메인	1A11+1 A11-V1 단일 가변 도메인	1A11+1 A11-V2 단일 가변 도메인
1B10 단일 가변 도메인	1B10+ 1A1 단일 가변 도메인	1B10+1 A10 단일 가변 도메인	1B10+1 A11 단일 가변 도메인	1B10+1 B10 단일 가변 도메인	1B10+1 A10-V1 단일 가변 도메인	1B10+1 A10-V2 단일 가변 도메인	1B10+1 A11-V1 단일 가변 도메인	1B10+1 A11-V2 단일 가변 도메인
1A10-V1 단일 가변 도메인	1A10- V1+1A 1 단일 가변 도메인	1A10- V1+1A1 0 단일 가변 도메인	1A10- V1+1A1 1 단일 가변 도메인	1A10- V1+1B1 0 단일 가변 도메인	1A10- V1+1A1 0-V1 단일 가변 도메인	1A10- V1+1A1 0-V2 단일 가변 도메인	1A10- V1+1A1 1-V1 단일 가변 도메인	1A10- V1+1A 11-V2 단일 가변 도메인
1A10-V2 단일 가변 도메인	1A10- V2+1A 1 단일 가변 도메인	1A10- V2+1A1 0 단일 가변 도메인	1A10- V2+1A1 1 단일 가변 도메인	1A10- V2+1B1 0 단일 가변 도메인	1A10- V2+1A1 0-V1 단일 가변 도메인	1A10- V2+1A1 0-V2 단일 가변 도메인	1A10- V2+1A1 1-V1 단일 가변 도메인	1A10- V2+1A 11-V2 단일 가변 도메인
1A11-V1 단일 가변 도메인	1A11- V1+1A 1 단일 가변 도메인	1A11- V1+1A1 0 단일 가변 도메인	1A11- V1+1A1 1 단일 가변 도메인	1A11- V1+1B1 0 단일 가변 도메인	1A11- V1+1A1 0-V1 단일 가변 도메인	1A11- V1+1A1 0-V2 단일 가변 도메인	1A11- V1+1A1 1-V1 단일 가변 도메인	1A11- V1+1A 11-V2 단일 가변 도메인
1A11-V2 단일 가변 도메인	1A11- V2+1A 1 단일 가변 도메인	1A11- V2+1A1 0 단일 가변 도메인	1A11- V2+1A1 1 단일 가변 도메인	1A11- V2+1B1 0 단일 가변 도메인	1A11- V2+1A1 0-V1 단일 가변 도메인	1A11- V2+1A1 0-V2 단일 가변 도메인	1A11- V2+1A1 1-V1 단일 가변 도메인	1A11- V2+1A 11-V2 단일 가변 도메인

[0151]

[0152] (주) 표 중의 「(X)+(Y)」는, 다중 특이성 항체 중의 제3 항원 결합 부분과 제1 항원 결합 부분의 조합을 나타낸다. 예를 들어, 「1A10+1A1 단일 가변 도메인」은, 다중 특이성 항체 중의 제3 항원 결합 부분이 1A10 단일 가변 도메인의 아미노산 서열임과 함께, 제1 항원 결합 부분이 1A1 단일 가변 도메인의 아미노산 서열인 것을 나타낸다. 상기 표 중의 단일 가변 도메인의 아미노산 서열은 표 S2를 참조하기 바란다.

- [0153] 본 발명에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은 낙타과의 동물의 것이어도 되고, 인간화된 것이어도 된다. 상기 제3 항원 결합 부분은 낙타과의 동물의 것이어도 되고, 인간화된 것이어도 된다. 인간화에 의해, 면역원성을 저감할 수 있다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은 모두, 인간화된 것이다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은 모두, 낙타과의 동물의 것이다.
- [0154] 본 발명의 다중 특이성 항체에 있어서, 상기 제2 항원 결합 부분은, T 세포 활성화 항원을 표적으로 하는 능력을 제공한다. 상기 제2 항원 결합 부분은 Fab, ScFv 또는 ScFab일 수 있다. 일 실시 형태에 있어서, 상기 T 세포 활성화 항원은 CD3이다. 일 형태에 있어서, 상기 제2 항원 결합 부분은 CD3 결합 Fab이다. 다른 형태에 있어서, 상기 제2 항원 결합 부분은 CD3 결합 ScFv이다.
- [0155] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제2 항원 결합 부분은, 마우스 유래의 것, 키메라체, 또는, 인간화된 것이다.
- [0156] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제2 항원 결합 부분은, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 상기 중쇄 가변 영역은, 상보성 결정 영역으로서, 서열 번호 43으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열 번호 44로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2 및 서열 번호 45로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 46으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, 서열 번호 47로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2 및 서열 번호 48로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함한다.
- [0157] 일 형태에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은, 서열 번호 49로 표시되는 가변 영역의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 50으로 표시되는 가변 영역의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함한다.
- [0158] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제2 항원 결합 부분은, 서열 번호 49로 표시되는 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역과, 서열 번호 50으로 표시되는 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일 형태에 있어서, 상기 제2 항원 결합 부분의 중쇄 가변 영역은, 서열 번호 49로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 그 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 50으로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다. 보다 구체적인 일 형태에 있어서, 상기 제2 항원 결합 부분의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 이 순으로 각각 서열 번호 49, 50으로 표시되는 것이다.
- [0159] [표 S5]

제2 항원 결합 부분의 CDR 및 가변 영역 서열의 예

영역	아미노산 서열	서열 번호
CD3-HCDR1	TYAMN	43
CD3-HCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKD	44
CD3-HCDR3	HGNFNGSYVSWFAY	45
CD3-LCDR1	RSSTGAVTTSNYAN	46
CD3-LCDR2	GTNKRAP	47
CD3-LCDR3	ALWYSNLWV	48
CD3-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNTYAMNWVRQAP GKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNNLKTEDTAMYCYVRHGNFNGSYVSWFAYWGQGTLLV TVSS	49
CD3-VL	ELVVTTQEPSTLTSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKP GQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAALTITGVQPED EAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	50

- [0160]
- [0161] 본 발명의 다중 특이성 항체는 Fc 영역을 포함하지 않아도 되고, 제1 항원 결합 부분, 제2 항원 결합 부분, 제3 항원 결합 부분은 적절한 링커에 의해 연결되어 있어도 된다.
- [0162] 본 발명의 다중 특이성 항체는 Fc 영역을 포함해도 되고, Fc 영역은 반감기를 연장하고, Fc 영역 관련 이펙터 등의 기능을 제공할 수 있다.
- [0163] 다중 특이성 항체의 구성

- [0164] 본 발명의 다중 특이성 항체의 각 성분은 여러가지 구조로 서로 융합할 수 있다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 다중 특이성 항체는 또한, (iv) 2개의 Fc 폴리펩티드로 구성되는 Fc 영역을 포함한다.
- [0165] 제3 항원 결합 부분은, 제1 항원 결합 부분 또는 제2 항원 결합 부분과 서로 융합할 수 있다. 패턴 ①의 선택 가능한 실시 형태에 있어서, 상기 제3 항원 결합 부분과 상기 제1 항원 결합 부분은 서로 융합되고, 원한다면 펩티드 링커를 통하여 서로 융합된다. 패턴 ②의 선택 가능한 실시 형태에 있어서, 상기 제3 항원 결합 부분과 상기 제2 항원 결합 부분은 서로 융합되고, 원한다면 펩티드 링커를 통하여 서로 융합된다.
- [0166] 패턴 ①의 선택 가능한 실시 형태에 있어서, 상기 제3 항원 결합 부분과 상기 제1 항원 결합 부분은 서로 융합되고, 원한다면 펩티드 링커를 통하여 서로 융합된다. 보다 구체적인 일 형태에 있어서, 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 제1 항원 결합 부분의 N 말단에 융합된다. 또한, 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은 ScFv이며, 또한 상기 제2 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합된다. 다른 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은 Fab이며, 또한 상기 제2 항원 결합 부분은, Fab 중쇄의 C 말단에서, 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합된다.
- [0167] 일 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은 모두, 단일 가변 도메인이며, 상기 제2 항원 결합 부분은 Fab이며, 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은, Fab 중쇄의 C 말단에서, 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 제1 항원 결합 부분의 N 말단에 융합된다. 이러한 구조는 도 5의 A에 개략적으로 도시한다. 이 실시 형태에 대해서, 보다 구체적으로는, 다중 특이성 항체는 3개의 폴리펩티드쇄를 갖고, 그 중, 제1 폴리펩티드쇄는, 상기 제1 항원 결합 부분, 제3 항원 결합 부분 및 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드를 함유하고, 제2 폴리펩티드쇄는, 상기 제2 항원 결합 부분의 Fab 중쇄 및 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드를 함유하고, 제3 폴리펩티드쇄는 상기 제2 항원 결합 부분의 Fab 경쇄이다.
- [0168] 다른 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은 모두, 단일 가변 도메인이며, 상기 제2 항원 결합 부분은 ScFv이며, 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 제1 항원 결합 부분의 N 말단에 융합된다. 이러한 구조는 도 5의 B에 개략적으로 도시한다. 이 실시 형태에 대해서, 보다 구체적으로는, 다중 특이성 항체는 2개의 폴리펩티드쇄를 갖고, 그 중, 제1 폴리펩티드쇄는, 상기 제1 항원 결합 부분, 제3 항원 결합 부분 및 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드를 함유하고, 제2 폴리펩티드쇄는, 상기 제2 항원 결합 부분 및 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드를 함유한다.
- [0169] 제3 항원 결합 부분의 연결 형태에 대해서, 패턴 ②의 선택 가능한 실시 형태에 있어서, 상기 제3 항원 결합 부분과 상기 제2 항원 결합 부분은 서로 융합되고, 원한다면 펩티드 링커를 통하여 서로 융합된다. 보다 구체적인 일 형태에 있어서, 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 제2 항원 결합 부분의 N 말단에 융합된다. 또한, 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은 ScFv이며, 또한 상기 제2 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합된다. 다른 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은 Fab이며, 또한 상기 제2 항원 결합 부분은, Fab 중쇄의 C 말단에서, 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합된다. 여기서, 상기 제3 항원 결합 부분은, 상기 제2 항원 결합 부분의 Fab 경쇄 또는 Fab 중쇄의 N 말단에 융합된다.
- [0170] 일 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은 모두, 단일 가변 도메인이며, 상기 제2 항원 결합 부분은 ScFv이며, 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 제2 항원 결합 부분의 N 말단에 융합된다. 이러한 구조는 도 5의 C에 개략적으로 도시한다. 이 실시 형태에 대해서, 보다 구체적으로는, 다중 특이성 항체는 2개의 폴리펩티드쇄를 갖고, 그 중, 제1 폴리펩티드쇄는, 상기 제1 항원 결합 부분 및 Fc

영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드를 함유하고, 제2 폴리펩티드쇄는, 상기 제2 항원 결합 부분, 제3 항원 결합 부분 및 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드를 함유한다.

[0171] 다른 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은 모두, 단일 가변 도메인이며, 상기 제2 항원 결합 부분은 Fab이며, 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은, Fab 중쇄의 C 말단에서, 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 제2 항원 결합 부분의 Fab 중쇄의 N 말단에 융합된다. 이 실시 형태에 대해서, 보다 구체적으로는, 다중 특이성 항체는 3개의 폴리펩티드쇄를 갖고, 그 중, 제1 폴리펩티드쇄는, 상기 제1 항원 결합 부분 및 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드를 함유하고, 제2 폴리펩티드쇄는, 상기 제2 항원 결합 부분의 Fab 중쇄 및 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드를 함유하고, 제3 폴리펩티드쇄는, 상기 제3 항원 결합 부분 및 제2 항원 결합 부분의 Fab 중쇄를 함유한다. 원한다면, 다중 특이성 항체는 3개의 폴리펩티드쇄를 갖고, 그 중, 제1 폴리펩티드쇄는, 상기 제1 항원 결합 부분 및 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드를 함유하고, 제2 폴리펩티드쇄는, 상기 제2 항원 결합 부분의 Fab 중쇄, 제3 항원 결합 부분 및 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드를 함유하고, 제3 폴리펩티드쇄는, 상기 제2 항원 결합 부분의 Fab 중쇄를 함유한다.

[0172] 상기 제2 항원 결합 부분이 ScFv인 경우, 이것에 포함되는 중쇄 가변 영역(VH)과 경쇄 가변 영역(VL)의 배열순은 임의인데, 예를 들어, 일 실시 형태에 있어서, 상기 제2 항원 결합 부분의 VH 및 VL은 N 말단으로부터 C 말단으로 VL-VH가 차례로 배열된다. 다른 실시 형태에 있어서, 상기 제2 항원 결합 부분의 VH 및 VL은 N 말단으로부터 C 말단으로 VH-VL이 차례로 배열된다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제2 항원 결합 부분의 VH 및 VL은 펩티드 링커를 통하여 융합됨으로써 ScFv를 형성한다.

[0173] 상기 실시 형태의 어느 것에 있어서, 다중 특이성 항체의 각 성분의 실현 가능한 연결, 예를 들어, 직접적인 연결, 또는 본 명세서에 기재되거나 혹은 당분야에서 공지된 여러가지 펩티드 링커(예를 들어, 1개 이상의 아미노산, 일반적으로 약 1 내지 50개의 아미노산을 포함하는 펩티드 링커)에 의한 연결, 힌지 융합에 대해서는, 당업자라면 적절히 선택할 수 있다.

[0174] 상기 제3 항원 결합 부분은, 직접, 또는, 펩티드 링커를 통하여, 제1 항원 결합 부분 또는 제2 항원 결합 부분에 융합 가능하다. 일 실시 형태에 있어서, 상기 제3 항원 결합 부분은, 펩티드 링커를 통하여, 제1 항원 결합 부분 또는 제2 항원 결합 부분에 융합된다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제2 항원 결합 부분이 ScFv 구조인 경우, 그 경쇄 가변 영역과 중쇄 가변 영역은 펩티드 링커를 통하여 연결된다.

[0175] 각 펩티드 링커는 각각 독립적으로, 예를 들어, 하전 및/또는 유연 링커 폴리펩티드 등의 임의의 적절한 것을 채용할 수 있다. 구체적인 실시 형태에 있어서, 펩티드 링커는, 펩티드 결합에 의해 연결한 1 내지 50개의 아미노산을 포함하고, 상기 아미노산은, 20개의 천연 아미노산으로 선택된다. 보다 바람직한 실시 형태에 있어서, 1 내지 50개의 아미노산은, 글리신, 알라닌, 프롤린, 세린, 아스파라긴, 글루타민 및 리신으로부터 선택된다. 따라서, 펩티드 링커의 일례로서, 폴리글리신(특히 (Gly)4, (Gly)5), 폴리(Gly-Ser), (Gly)3AsnGlySer(Gly)2, (Gly)3Cys(Gly)4, GlyProAsnGlyGly, 또는 특허 출원 W02019195535의 표 4에 개시된 것들을 들 수 있다.

[0176] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 펩티드 링커는, 글리신과 세린을 포함하는 펩티드 링커여도 된다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 펩티드 링커에 포함되는 아미노산의 수는 0개, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개여도 되고, 또는 20개 이상이어도 된다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 펩티드 링커는, GGGGS를 반복하여 포함하는 펩티드 링커, GSGSGSGSGSGSGG(서열 번호 2)를 포함하는 펩티드 링커, 또는, GGPGGKR를 포함하는 펩티드 링커이다. 바람직하게는, 상기 GGGGS를 반복하는 펩티드 링커는 (GGGGS) n 이다. 여기서, n 은 1 내지 10의 임의의 수, 즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10, 또는 상기 숫자의 어느 2개로 한정된 임의의 범위, 예를 들어, 1 내지 5, 2 내지 5, 3 내지 6, 2 내지 4, 1 내지 4 등이다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 펩티드 링커는, GGGGS, (GGGGS)2, (GGGGS)3 또는 (GGGGS)4를 포함하는 링커 폴리펩티드이다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제3 항원 결합 부분은, 펩티드 링커 GGGGS(서열 번호 1) 또는 (GGGGS)2 또는 (GGGGS)3을 통하여, 제1 항원 결합 부분 또는 제2 항원 결합 부분에 융합된다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제2 항원 결합 부분이 ScFv 구조인 경우, 그 경쇄 가변 영역 및 중쇄 가변 영역은, 펩티드 링커 GGGGS 또는 (GGGGS)2 또는 (GGGGS)3을 통하여 연결된다.

- [0177] Fc와 융합되는 경우, 전형적으로는, 힌지 영역을 통하여 융합된다. 일 실시 형태에 있어서, 상기 제1 항원 결합 부분은, 제1 힌지를 통하여 Fc 영역에 있어서의 Fc 폴리펩티드 중 1개에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은, 제2 힌지를 통하여 Fc 영역에 있어서의 Fc 폴리펩티드 중 1개에 융합된다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 제1 힌지와 제2 힌지는, 서로 디설피드 결합 등의 공유 결합을 형성할 수 있다. 제1 힌지 또는/및 제2 힌지는, 인간 IgG의 힌지 영역의 아미노산을 포함해도 되고, 인간 IgG의 힌지 영역은 천연의 힌지 영역 또는 그의 변이체를 포함한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 제1 힌지 또는/및 제2 힌지는, 인간 IgG1의 힌지 영역의 아미노산을 포함한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 제1 힌지 또는/및 제2 힌지는, 인간 IgG4의 힌지 영역의 아미노산을 포함한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 제1 힌지는, GEPKSSDKTHTCPPCP(서열 번호 3)를 포함하고, 제2 힌지는, EPKSCDKTHTCPPCP(서열 번호 4)를 포함한다. 다른 실시 형태에 있어서, 제1 힌지는, EPKSCDKTHTCPPCP를 포함하고, 제2 힌지는, GEPKSSDKTHTCPPCP를 포함한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 제1 힌지와 제2 힌지는 모두, GEPKSSDKTHTCPPCP 또는 EPKSCDKTHTCPPCP를 포함한다.
- [0178] Fc 영역
- [0179] 다중 특이성 항체의 Fc 영역은, 면역 글로불린 분자의 중쇄 도메인을 포함하는 1쌍의 폴리펩티드쇄로 구성된다. 예를 들어, 면역글로불린 G(IgG) 분자의 Fc 영역은 2량체이며, 각 Fc 폴리펩티드에 IgG 중쇄 정상 영역의 CH2 및 CH3이 포함된다. Fc 영역의 2개의 Fc 폴리펩티드는, 서로 안정적으로 회합할 수 있다. 일 실시 형태에 있어서, 본 발명의 다중 특이성 항체는 하나의 Fc 영역을 포함한다.
- [0180] 일 실시 형태에 있어서, 다중 특이성 항체의 Fc 영역은 IgG Fc 영역이다. 일 실시 형태에 있어서, Fc 영역은 IgG1 Fc 영역이다. 다른 실시 형태에 있어서, Fc 영역은 IgG4 Fc 영역이다. 보다 구체적인 일 실시 형태에 있어서, Fc 영역은, S228 위치에 아미노산 치환, 특히 아미노산 치환 S228P를 포함하는 IgG4 Fc 영역이며, 이 아미노산 치환에 의해, IgG4 항체의 인 비보 Fab 암 교환이 감소한다. 다른 실시 형태에 있어서, Fc 영역은 인간 Fc 영역이다. 보다 구체적인 일 실시 형태에 있어서, Fc 영역은 인간 IgG 1Fc 영역이다.
- [0181] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 Fc 영역은, 아미노산 치환 등의 수식을 포함한다. 상기 수식으로서, 예를 들어, 헤테로 2량화를 촉진하는 수식, 이펙터 기능을 변화시키는 수식, 프로테인 A에 대한 결합능을 변화시키는 수식 등의 수식을 들 수 있다.
- [0182] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 Fc는 헤테로 2량화를 촉진하는 수식을 포함한다.
- [0183] 본 발명의 다중 특이성 항체는, Fc 영역에 있어서의 2개의 Fc 폴리펩티드 중 한쪽 또는 다른 쪽에 융합된, 다른 항원 결합 부분을 포함하기 때문에, 2개의 Fc 폴리펩티드는, 통상적으로, 2개의 다른 폴리펩티드쇄에 포함된다. 이들 폴리펩티드의 재조합 공발현과 그에 이어지는 2량체화에 의해, 2개의 폴리펩티드의 몇 가지의 생각할 수 있는 조합이 얻어진다. 재조합 산생에 있어서의 다중 특이성 항체의 수율 및 순도를 향상시키기 위해서, 당해 다중 특이성 항체의 Fc 영역에 원하는 폴리펩티드의 회합을 촉진하는 수식을 도입하는 것이 적합하다. 따라서, 구체적인 실시 형태에 있어서, 상기 Fc 영역은, 상기 Fc 영역의 2개의 Fc 폴리펩티드의 회합을 촉진하는 아미노산 치환을 포함한다.
- [0184] 인간 IgG Fc 영역의 2개의 Fc 폴리펩티드 사이의 가장 광범위한 단백질 간 상호 작용의 부위는 Fc 영역의 CH3 도메인에 있다. 따라서, 일 실시 형태에 있어서, 이 수식은 Fc 영역의 CH3 도메인에 있다.
- [0185] 구체적인 실시 형태에 있어서, 이 수식은, 소위 「노브 인투 홀(knob-into-hole)」 수식이며, Fc 영역에 2개의 Fc 폴리펩티드 중 한쪽에 있어서의 「노브」 수식과, Fc 영역에 2개의 Fc 폴리펩티드 중 다른 쪽에 있어서의 「홀」 수식을 포함한다. 통상적으로, 이 방법은, 돌기(「노브」)를 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 접측면에 도입함과 함께, 대응하는 공동(「홀」)을 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 접측면에 도입하고, 당해 돌기를 당해 공동에 위치 결정함으로써, 헤테로 2량체의 형성을 촉진하고, 호모 2량체의 형성을 방해한다. 돌기는, 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 접측면에서 유래하는 작은 아미노산 측쇄를 보다 큰 측쇄(예를 들어, 티로신 또는 트립토판 등)에 의해 치환함으로써 구축된다. 돌기와 동일 또는 유사한 사이즈의 상보적 공동은, 큰 아미노산 측쇄를 보다 작은 아미노산 측쇄(예를 들어, 알라닌 또는 트레오닌 등)에 의해 치환함으로써, 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 접측면에 생성된다.
- [0186] 따라서, 구체적인 실시 형태에 있어서, 당해 다중 특이성 항체의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 CH3 도메인에 있어서, 아미노산 잔기를 이것보다 큰 측쇄 체적을 갖는 아미노산 잔기에 의해 치환함으로써, 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 CH3 도메인 내의 공동에 위치 결정 가능한 돌기를 당해 Fc 폴리펩티드의 CH3 도메인 내에 발생시킨다. 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 CH3 도메인에 있어서, 아미노산 잔기를 이것보다 작은 측쇄 체적을 갖는 아미노산 잔기에

의해 치환함으로써, 당해 Fc 폴리펩티드의 CH3 도메인 내에 공동을 발생시킨다.

- [0187] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, Fc 영역의 한쪽의 Fc 폴리펩티드는 T366Y/W 또는/및 S354C를 포함하고, 또한, 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드는 Y407T/V, Y349C, T366S 또는/및 L368A를 포함한다. 보다 구체적인 일례로서, 상기 Fc 영역에 있어서의 Fc 폴리펩티드 중 한쪽은 아미노산 치환 T366Y/W 및 S354C를 포함하고, 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드는 아미노산 치환 Y407T/V, Y349C, T366S 및 L368A를 포함한다. 보다 구체적인 일례에 있어서, Fc는 인간 IgG1의 Fc일 수 있다.
- [0188] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 Fc 영역은, 이펙터 기능을 변화시키는 수식을 포함한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 당해 다중 특이성 항체의 Fc 영역은, 수식 전의 Fc와 비교하여, Fc 수용체에 대한 Fc 영역의 결합 친화성 및/또는 이펙터 기능을 저감시키는 수식이 행해졌다. Fc 수용체에 대한 Fc 영역의 결합 친화성 및/또는 이펙터 기능을 저감시키는 것은, 사이토카인 방출 및 부작용을 개선하는 데 유리하다.
- [0189] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, Fc 수용체에 대한 Fc 영역의 결합 친화성 및/또는 이펙터 기능을 저감시키는 수식은 아미노산 치환이다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 당해 Fc 영역은, E233, L234, L235, N297, P331 및 P329로부터 선택되는 하나 이상의 위치에 아미노산 치환을 포함한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 당해 Fc 영역은, L234, L235 및 P329로부터 선택되는 하나 이상의 위치에 아미노산 치환을 포함한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 당해 Fc 영역은 아미노산 치환 L234A 및 L235A를 포함한다. 이러한 하나의 실시 형태에 있어서, 당해 Fc는 IgG1 Fc, 특히 인간 IgG1 Fc이다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 당해 Fc 영역은 P329 위치에 아미노산 치환을 포함한다. 보다 구체적인 실시 형태에 있어서, 당해 아미노산 치환은 P329A, P329R 또는 P329G이다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 당해 Fc 영역은, P329 위치의 아미노산 치환과, E233, L234, L235, N297 및 P331로부터 선택되는 위치에 있어서의 다른 아미노산 치환을 포함한다. 보다 구체적인 실시 형태에 있어서, 상기 다른 아미노산 치환은 E233P, L234A, L235A, L235E, N297A, N297D 또는 P331S이다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 당해 Fc 영역은 P329, L234 및 L235 위치에 아미노산 치환을 포함한다. 보다 구체적인 실시 형태에 있어서, 당해 Fc 영역은 아미노산 치환 L234A, L235A 및 P329G(「P329G LALA」)를 포함한다. 다른 보다 구체적인 실시 형태에 있어서, 당해 Fc 영역은 아미노산 치환 L234A, L235A 및 P329A(「P329A LALA」)를 포함한다. 이러한 하나의 실시 형태에 있어서, 당해 Fc는 IgG1 Fc, 특히 인간 IgG1 Fc이다.
- [0190] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 Fc 영역은 아미노산 치환 L234A, L235A 및 P329A/G/R을 포함하는 인간 IgG1 Fc 도메인이다.
- [0191] 상술한 Fc 수용체에 대한 Fc 영역의 결합 친화성 및/또는 이펙터 기능을 저감시키는 아미노산 치환은, Fc 영역의 2개의 폴리펩티드쇄에 있어서 발생한다.
- [0192] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 Fc 영역은, Fc 영역에 있어서의 하나의 Fc 폴리펩티드의 CH3 영역과 프로테인 A(황색포도구균으로부터의 프로테인 A(Protein A from *Staphylococcus aureus*))의 결합을 감소 또는 소실시키는 수식을 포함한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 당해 수식은 아미노산 치환이다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 Fc 영역은 아미노산 치환 H435R 또는/및 Y436F를 포함하고, 당해 아미노산 치환은 한쪽의 Fc 폴리펩티드에 있어서만 발생하는 것이며, 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드에 있어서는 발생하지 않는다. 일 실시 형태에 있어서, 상기 Fc 영역은, 한쪽의 Fc 폴리펩티드에 있어서만 발생하는 아미노산 치환 H435R 또는/및 Y436F를 포함한다. 이러한 하나의 실시 형태에 있어서, 당해 Fc는 IgG1 Fc, 특히 인간 IgG1 Fc이다.
- [0193] 본 발명의 다중 특이성 항체에 있어서, 상기 Fc 영역은, 헤테로 2량화를 촉진하는 수식, 이펙터 기능을 변화시키는 수식, Fc에 있어서의 하나의 Fc 폴리펩티드의 CH3 영역과 프로테인 A의 결합을 감소 또는 소실시키는 수식 중 1개, 2개 또는 3개를 포함할 수 있다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 Fc는, 2개의 Fc 폴리펩티드의 회합을 촉진하는 수식, 상기 Fc 수용체에 대한 Fc 영역의 결합 친화성 및/또는 이펙터 기능을 저감시키는 수식 및 Fc에 있어서의 하나의 Fc 폴리펩티드의 CH3 영역과 프로테인 A의 결합을 감소 또는 소실시키는 수식을 포함한다. 상기 각 타입의 수식의 구체적인 형태는 조합 가능하다. 예를 들어, 일 실시 형태에 있어서, 상기 Fc 영역은, 아미노산 치환으로서,
- [0194] i. Y407T/V, Y349C, T366S, L368A, T366Y/W 및 S354C(여기서, 아미노산 치환 T366Y/W 및 S354C는 동일한 Fc 폴리펩티드에 있고, 또한 (i.)에 있어서의 다른 아미노산 치환과는 다른 Fc 폴리펩티드에 있다)와,
- [0195] ii. L234A, L235A 및 P329A와,
- [0196] iii. 한쪽의 Fc 폴리펩티드에 있어서만 발생하는 H435R 및 Y436F를 포함한다.

- [0197] 보다 구체적인 일 실시 형태에 있어서, EU 번호에 기초하여, 상기 Fc 영역에 있어서의 Fc 폴리펩티드 중 하나는, 아미노산 치환 L234A, L235A, P329A, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V를 포함하고, 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드는, 아미노산 치환 L234A, L235A, P329A, S354C, T366W, H435R 및 Y436F를 포함한다. 이러한 실시 형태에 있어서, 당해 Fc는 IgG1 Fc, 특히 인간 IgG1Fc이다.
- [0198] 본 발명의 기재에 있어서, 아미노산 치환은, 원래의 아미노산-위치-치환 아미노산의 형으로 나타내지고, 아미노산 잔기는 3문자 기호(Xaa) 또는 1문자 기호(X)에 의해 나타내진다. 따라서, 예를 들어, 「H435R」은, 위치 435에 있어서의 아미노산 H가 아미노산 R로 치환된 것을 의미한다. 치환 아미노산은 복수 포함되어도 되고, 예를 들어, T366Y/W는, 위치 366에 있어서의 아미노산 T가 아미노산 Y 또는 W로 치환된 것을 의미한다.
- [0199] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 본 발명에 의한 다중 특이성 항체는 3개의 것이고, 즉, 제1 항원 결합 부분, 제2 항원 결합 부분, 제3 항원 결합 부분은 모두, 대응하는 항원에 대한 1가의 결합을 제공한다.
- [0200] 본 발명은 3가 다중 특이성 항체의 예를 제공한다.
- [0201] 일례로서, 다중 특이성 항체는, 각각 서열 번호 65 및 서열 번호 67로 표시되는 2개의 폴리펩티드쇄로 구성된다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 2개의 폴리펩티드쇄를 코드하는 뉴클레오티드 서열은 각각, 서열 번호 66 및 서열 번호 68로 표시되는 것이다.
- [0202] 일례로서, 다중 특이성 항체는, 각각 서열 번호 69 및 서열 번호 71로 표시되는 2개의 폴리펩티드쇄로 구성된다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 2개의 폴리펩티드쇄를 코드하는 뉴클레오티드 서열은 각각, 서열 번호 70 및 서열 번호 72로 표시되는 것이다.
- [0203] 일례로서, 다중 특이성 항체는, 각각 서열 번호 59, 서열 번호 61 및 서열 번호 63으로 표시되는 3개의 폴리펩티드쇄로 구성된다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 3개의 폴리펩티드쇄를 코드하는 뉴클레오티드 서열은 각각, 서열 번호 60, 서열 번호 62 및 서열 번호 64로 표시되는 것이다.
- [0204] 일례로서, 다중 특이성 항체는, 각각 서열 번호 73, 서열 번호 61 및 서열 번호 75로 표시되는 3개의 폴리펩티드쇄로 구성된다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 3개의 폴리펩티드쇄를 코드하는 뉴클레오티드 서열은 각각, 서열 번호 74, 서열 번호 62 및 서열 번호 76으로 표시되는 것이다.
- [0205] 조성물
- [0206] 본 발명은 다중 특이성 항체와, 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 의약 조성물을 제공한다. 약학적으로 허용되는 담체로서는, 예를 들어, 부형제, 희석제, 봉입 재료, 충전제, 완충제 또는 다른 첨가제를 들 수 있다.
- [0207] 단리된 핵산
- [0208] 본 발명은 본 발명에 의한 다중 특이성 항체를 코드하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는, 단리된 핵산을 제공한다. 몇 가지의 다중 특이성 항체의 핵산 서열을 서열표에 예시한다.
- [0209] 벡터
- [0210] 본 발명은 상기 핵산을 포함하는 벡터를 제공한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 벡터는 클로닝 벡터이다. 다른 실시 형태에 있어서, 상기 벡터는 발현 벡터이다. 구체적인 일례로서, 발현 벡터는 pcDNA3.1(+)이다. 상기 발현 벡터는, 본 명세서에 기재된 다중 특이성 항체를 발현할 수 있는 임의의 발현 벡터일 수 있다.
- [0211] 숙주 세포
- [0212] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 본 발명은 상기 본 발명에 관계되는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 숙주 세포는, 다중 특이성 항체의 클로닝 또는 발현을 위한 적절한 숙주 세포이다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 숙주 세포는 원핵 세포이다. 다른 실시 형태에 있어서, 숙주 세포는 진핵 세포이다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 숙주 세포는, 효모 세포, 포유 동물 세포, 또는, 다중 특이성 항체를 제작하기에 적합한 다른 세포로부터 선택된다. 포유 동물 세포로서는, 예를 들어, 차이나이즈 햄스터 난소(CHO) 세포, CHO-S 세포를 들 수 있다.
- [0213] 다중 특이성 항체의 제조 방법

- [0214] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 본 발명은 상기 숙주 세포를 배양하여 상기 다중 특이성 항체를 발현시키고, 상기 다중 특이성 항체를 계로부터 단리·정제하는 것을 포함하는 다중 특이성 항체의 제조 방법을 제공한다. 상기 다중 특이성 항체를 산생시키기 위해서, 상기 다중 특이성 항체를 코딩하는 핵산을 단리함과 함께, 숙주 세포에서의 더한층의 클로닝 또는/및 발현을 위하여 하나 이상의 벡터를 삽입한다. 상기 핵산은, 유전자 스플라이싱, 화학 합성 등의 당분야에서 주지인 여러가지 방법에 의해 얻을 수 있다.
- [0215] 사용
- [0216] 본 발명은 다중 특이성 항체의 사용을 제공한다. 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 사용되는 다중 특이성 항체는, BC24, PC1, PC2 및/또는 PC3일 수 있다.
- [0217] 본 발명은 BCMA 발현에 관련하는 질환의 치료약을 제조하기 위한 상기 다중 특이성 항체 또는 상기 의약 조성물의 사용을 제공한다.
- [0218] 본 발명은 피험자에게 치료 유효량의 상기 다중 특이성 항체 또는 상기 의약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 피험자에 있어서의 BCMA 발현에 관련하는 질환을 치료하기 위한 방법을 제공한다.
- [0219] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 질환은 종양 또는 자기 면역 질환이다.
- [0220] 몇 가지의 실시 형태에 있어서, 상기 질환은, 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, 전신성 에리테마토데스 또는 관절 류머티즘이다.
- [0221] 본 발명은 실시 형태의 예도 제공한다.
- [0222] [실시 형태 1]
- [0223] (i) 제1 항원에 결합하는 제1 항원 결합 부분과,
- [0224] (ii) 제2 항원에 결합하는 제2 항원 결합 부분과,
- [0225] (iii) 제1 항원에 결합하는 제3 항원 결합 부분을 포함하는 다중 특이성 항체로서,
- [0226] 상기 제1 항원은 BCMA이며, 상기 제2 항원은 T 세포 활성화 항원이며, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은 모두, 단일 가변 도메인이며, 각각 독립적으로,
- [0227] (a) 서열 번호 7로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 8로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 9로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0228] (b) 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0229] (c) 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 혹은,
- [0230] (d) 서열 번호 16으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 17로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 18로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3
- [0231] 중 어느 하나를 포함하는, 다중 특이성 항체.
- [0232] [실시 형태 2]
- [0233] 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은, 각각 독립적으로,
- [0234] (b) 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 혹은,
- [0235] (c) 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3
- [0236] 중 어느 하나를 포함하는, 실시 형태 1에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0237] [실시 형태 3]
- [0238] 상기 제1 항원 결합 부분은, 상보성 결정 영역으로서, 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을

포함하는 CDR3을 포함하고, 또한,

- [0239] 상기 제3 항원 결합 부분은, 상보성 결정 영역으로서, 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는, 실시 형태 2에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0240] [실시 형태 4]
- [0241] 상기 제3 항원 결합 부분은, 상보성 결정 영역으로서, 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고, 또한,
- [0242] 상기 제1 항원 결합 부분은, 상보성 결정 영역으로서, 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는, 실시 형태 2에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0243] [실시 형태 5]
- [0244] 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은, 각각 독립적으로, 서열 번호 19, 21, 23, 25, 37, 38, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 단일 가변 도메인의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하고, 바람직하게는, 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은, 각각 독립적으로, 서열 번호 37 또는 39로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 단일 가변 도메인의 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는,
- [0245] 실시 형태 1에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0246] [실시 형태 6]
- [0247] 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은, 각각 독립적으로, 서열 번호 19, 41, 42 또는 25로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 실시 형태 1 내지 5의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0248] [실시 형태 7]
- [0249] 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 41로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 실시 형태 1 내지 6의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0250] [실시 형태 8]
- [0251] 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 21, 37 또는 38로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 바람직하게는, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 37로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 실시 형태 7에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0252] [실시 형태 9]
- [0253] 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 42로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 실시 형태 1 내지 8의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0254] [실시 형태 10]
- [0255] 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 23, 39 또는 40으로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 바람직하게는, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 39로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 실시 형태 9에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0256] [실시 형태 11]
- [0257] 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 42로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95

%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 실시 형태 1 내지 6의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.

[0258] [실시 형태 12]

[0259] 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 23, 39 또는 40으로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 바람직하게는, 상기 제1 항원 결합 부분은, 서열 번호 39로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 실시 형태 11에 기재된 다중 특이성 항체.

[0260] [실시 형태 13]

[0261] 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 41로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 실시 형태 1 내지 6, 11 내지 12의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.

[0262] [실시 형태 14]

[0263] 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 21, 37 또는 38로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 바람직하게는, 상기 제3 항원 결합 부분은, 서열 번호 37로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 실시 형태 13에 기재된 다중 특이성 항체.

[0264] [실시 형태 15]

[0265] 상기 제1 항원 결합 부분 및 제3 항원 결합 부분은,

[0266] (1) 서열 번호 21로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분 및 서열 번호 23, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분;

[0267] (2) 서열 번호 37로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분 및 서열 번호 23, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분;

[0268] (3) 서열 번호 38로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분 및 서열 번호 23, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분;

[0269] (4) 서열 번호 21로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분 및 서열 번호 23, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분;

[0270] (5) 서열 번호 37로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분 및 서열 번호 23, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분;

[0271] (6) 서열 번호 38로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분 및 서열 번호 23, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분;

[0272] (7) 서열 번호 41로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분 및 서열 번호 42로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분;

[0273] (8) 서열 번호 42로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분 및 서열 번호 41로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분;

[0274] (9) 서열 번호 37로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분 및 서열 번호 39로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분; 혹은,

[0275] (10) 서열 번호 39로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제3 항원 결합 부분 및 서열 번호 37로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 제1 항원 결합 부분;

[0276] 으로부터 선택되는 어느 하나인, 실시 형태 1 내지 5의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.

[0277] [실시 형태 16]

- [0278] 상기 단일 가변 도메인은 낙타과의 동물의 것, 또는 인간화된 것인, 실시 형태 1 내지 15의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0279] [실시 형태 17]
- [0280] 상기 제1 항원 결합 부분과 제3 항원 결합 부분은 동일한, 실시 형태 1 내지 16의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0281] [실시 형태 18]
- [0282] 상기 제1 항원 결합 부분과 제3 항원 결합 부분은 다르게 되어 있는, 실시 형태 1 내지 16의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0283] [실시 형태 19]
- [0284] 상기 제2 항원 결합 부분은 Fab, ScFv 또는 ScFab인, 실시 형태 1 내지 18의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0285] [실시 형태 20]
- [0286] 상기 T 세포 활성화 항원은 CD3인, 실시 형태 1 내지 19의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0287] [실시 형태 21]
- [0288] 상기 제2 항원 결합 부분은, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 상기 중쇄 가변 영역은, 상보성 결정 영역으로서, 서열 번호 43으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열 번호 44로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2 및 서열 번호 45로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 46으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, 서열 번호 47로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2 및 서열 번호 48로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함하는,
- [0289] 실시 형태 1 내지 20의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0290] [실시 형태 22]
- [0291] 상기 제2 항원 결합 부분은, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 상기 중쇄 가변 영역은, 서열 번호 49로 표시되는 가변 영역의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 50으로 표시되는 가변 영역의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는, 실시 형태 1 내지 20의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0292] [실시 형태 23]
- [0293] 상기 제2 항원 결합 부분은, 서열 번호 49로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열의 중쇄 가변 영역과, 서열 번호 50으로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열의 경쇄 가변 영역을 포함하고, 바람직하게는, 상기 제2 항원 결합 부분의 중쇄 가변 영역은, 서열 번호 49로 표시되는 아미노산 서열을 포함하고, 또한, 그 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 50으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는, 실시 형태 1 내지 22의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0294] [실시 형태 24]
- [0295] 상기 제2 항원 결합 부분은, 마우스 유래의 것, 키메라체, 또는, 인간화된 것인, 실시 형태 1 내지 23의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0296] [실시 형태 25]
- [0297] 상기 제3 항원 결합 부분과 상기 제1 항원 결합 부분은 서로 융합되고, 원한다면 펩티드 링커를 통하여 서로 융합되는, 실시 형태 1 내지 24의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0298] [실시 형태 26]
- [0299] 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 제1 항원 결합 부분의 N 말단에 융합되는, 실시 형태 25에 기재된 다중 특이성 항체.

- [0300] [실시 형태 27]
- [0301] 상기 제3 항원 결합 부분과 상기 제2 항원 결합 부분은 서로 융합되고, 원한다면 펩티드 링커를 통하여 서로 융합되는, 실시 형태 1 내지 24의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0302] [실시 형태 28]
- [0303] 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 제2 항원 결합 부분의 N 말단에 융합되는, 실시 형태 27에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0304] [실시 형태 29]
- [0305] (iv) 2개의 Fc 폴리펩티드로 구성되는 Fc 영역을 더 포함하는, 실시 형태 1 내지 28의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0306] [실시 형태 30]
- [0307] 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은 ScFv이며, 또한 상기 제2 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되는, 실시 형태 29에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0308] [실시 형태 31]
- [0309] 상기 제2 항원 결합 부분은, N 말단부터 C 말단의 구조가 VL-VH 또는 VH-VL인, 실시 형태 30에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0310] [실시 형태 32]
- [0311] 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은 Fab이며, 또한 상기 제2 항원 결합 부분은, Fab 중쇄의 C 말단에서, 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되는, 실시 형태 29에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0312] [실시 형태 33]
- [0313] 상기 제3 항원 결합 부분은, 상기 제2 항원 결합 부분의 Fab 경쇄 또는 Fab 중쇄의 N 말단에 융합되는, 실시 형태 32에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0314] [실시 형태 34]
- [0315] 상기 제2 항원 결합 부분은 ScFv이며, 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 제1 항원 결합 부분의 N 말단에 융합되는, 실시 형태 29에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0316] [실시 형태 35]
- [0317] 상기 제2 항원 결합 부분은 ScFv이며, 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 제2 항원 결합 부분의 N 말단에 융합되는, 실시 형태 29에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0318] [실시 형태 36]
- [0319] 상기 제2 항원 결합 부분은 Fab이며, 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은, Fab 중쇄의 C 말단에서, 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 제1 항원 결합 부분의 N 말단에 융합되는, 실시 형태 29에 기재된 다중 특이성 항체.
- [0320] [실시 형태 37]
- [0321] 상기 제2 항원 결합 부분은 Fab이며, 상기 제1 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제2 항원 결합 부분은, Fab 중쇄의 C 말단에서, 상기 Fc 영역에 있어서의 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드의 N 말단에 융합되고, 상기 제3 항원 결합 부분은, C 말단에서 상기 제2 항원 결

합 부분의 Fab 경쇄의 N 말단 또는 상기 제2 항원 결합 부분의 Fab 중쇄의 N 말단에 융합되는, 실시 형태 29에 기재된 다중 특이성 항체.

[0322] [실시 형태 38]

[0323] 상기 Fc 영역은 IgG Fc 영역인, 실시 형태 29 내지 37의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.

[0324] [실시 형태 39]

[0325] 상기 IgG Fc 영역은 인간 IgG Fc 영역이며, 바람직하게는 인간 IgG1 또는 인간 IgG4의 Fc 영역인, 실시 형태 38에 기재된 다중 특이성 항체.

[0326] [실시 형태 40]

[0327] 상기 Fc 영역은, 상기 Fc 영역의 2개의 Fc 폴리펩티드의 회합을 촉진하는 아미노산 치환을 포함하는, 실시 형태 29 내지 39의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.

[0328] [실시 형태 41]

[0329] EU 번호에 기초하여, 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드는, 아미노산 치환 T366Y/W 및 S354C를 포함하고, 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드는, 아미노산 치환 Y407T/V, Y349C, T366S 및 L368A를 포함하는, 실시 형태 29 내지 40의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.

[0330] [실시 형태 42]

[0331] 상기 Fc 영역은, Fc 수용체에 대한 Fc 영역의 결합 친화성 및/또는 이펙터 기능을 저감시키는 아미노산 치환을 포함하는, 실시 형태 29 내지 41의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.

[0332] [실시 형태 43]

[0333] EU 번호에 기초하여, Fc 수용체에 대한 Fc 영역의 결합 친화성 및/또는 이펙터 기능을 저감시키는 아미노산 치환은, L234, L235 및 P329로부터 선택되는 하나 이상의 위치에 있고, 바람직하게는, 상기 Fc 영역의 2개의 Fc 폴리펩티드는 모두, 아미노산 치환 L234A, L235A 및 P329G를 포함하거나; 혹은 모두, 아미노산 치환 L234A, L235A 및 P329A를 포함하는, 실시 형태 42에 기재된 다중 특이성 항체.

[0334] [실시 형태 44]

[0335] 상기 Fc 영역은, Fc 영역에 있어서의 하나의 Fc 폴리펩티드의 CH3 영역과 프로테인 A의 결합을 감소 또는 소실시키는 아미노산 치환을 포함하는, 실시 형태 29 내지 41의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.

[0336] [실시 형태 45]

[0337] EU 번호에 기초하여, 상기 Fc 영역은, 하나의 Fc 폴리펩티드에 있어서만 발생하는 아미노산 치환 H435R 또는/및 Y436F를 포함하는, 실시 형태 44에 기재된 다중 특이성 항체.

[0338] [실시 형태 46]

[0339] EU 번호에 기초하여, 상기 Fc 영역에 있어서의 한쪽의 Fc 폴리펩티드는, 아미노산 치환 L234A, L235A, P329A, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V를 포함하고, 다른 쪽의 Fc 폴리펩티드는, 아미노산 치환 L234A, L235A, P329A, S354C, T366W, H435R 및 Y436F를 포함하는, 실시 형태 29 내지 39의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.

[0340] [실시 형태 47]

[0341] 3가인 실시 형태 1 내지 46의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.

[0342] [실시 형태 48]

[0343] (1) 서열 번호 65로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 67로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄의 2개로 구성되는 것;

[0344] (2) 서열 번호 69로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 71로 표시되는 서열과

적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄의 2개로 구성되는 것;

[0345] (3) 서열 번호 59로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 61로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 63으로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄의 3개로 구성되는 것; 혹은,

[0346] (4) 서열 번호 73으로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 61로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 75로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄의 3개로 구성되는 것

[0347] 인 실시 형태 1 내지 46의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체.

[0348] [실시 형태 49]

[0349] (1) 서열 번호 65로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 67로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄의 2개로 구성되는 것;

[0350] (2) 서열 번호 69로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 71로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄의 2개로 구성되는 것;

[0351] (3) 서열 번호 59로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 61로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 63으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄의 3개로 구성되는 것; 혹은,

[0352] (4) 서열 번호 73으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 61로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄와, 서열 번호 75로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드쇄의 3개로 구성되는 것

[0353] 인 실시 형태 1에 기재된 다중 특이성 항체.

[0354] [실시 형태 50]

[0355] 실시 형태 1 내지 49의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는, 단리된 핵산.

[0356] [실시 형태 51]

[0357] 실시 형태 50에 기재된 핵산을 포함하는 벡터.

[0358] [실시 형태 52]

[0359] 실시 형태 50에 기재된 핵산, 또는, 실시 형태 51에 기재된 벡터를 포함하는 숙주 세포.

[0360] [실시 형태 53]

[0361] 실시 형태 1 내지 49의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체의 제조 방법이며, 실시 형태 52에 기재된 숙주 세포를 배양하여 상기 다중 특이성 항체를 발현시키고, 상기 다중 특이성 항체를 계로부터 단리·정제하는 것을 포함하는, 다중 특이성 항체의 제조 방법.

[0362] [실시 형태 54]

[0363] 실시 형태 1 내지 49의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체와, 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 의약 조성물.

[0364] [실시 형태 55]

- [0365] 상기 피험자에게 대하여 치료 유효량의 실시 형태 1 내지 49의 어느 한 항에 기재된 다중 특이성 항체 또는 실시 형태 54에 기재된 의약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 피험자에 있어서의 BCMA 발현에 관련하는 질환을 치료하기 위한 방법.
- [0366] [실시 형태 56]
- [0367] 상기 질환은, 림프종, 다발성 골수종, 백혈병, 전신성 에리테마토데스 또는 관절 류머티즘인, 실시 형태 55에 기재된 방법.
- [0368] [실시 형태 57]
- [0369] (1) 서열 번호 7로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 8로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 9로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0370] (2) 서열 번호 10으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 11로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 12로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0371] (3) 서열 번호 13으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 14로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 15로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 혹은,
- [0372] (4) 서열 번호 16으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호 17로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호 18로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0373] 을 포함하는 단일 가변 도메인을 포함하는, BCMA 결합 항체.
- [0374] [실시 형태 58]
- [0375] 상기 단일 가변 도메인은, 서열 번호 19, 21, 23, 25, 37, 38, 39, 40, 41 또는 42로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 실시 형태 57에 기재된 BCMA 결합 항체.
- [0376] [실시 형태 59]
- [0377] 상기 단일 가변 도메인은, 서열 번호 37, 38, 39 또는 40으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는, 실시 형태 58에 기재된 BCMA 결합 항체.
- [0378] [실시 형태 60]
- [0379] 상기 단일 가변 도메인은 낙타과의 동물의 것, 또는 인간화된 것인, 실시 형태 57 내지 59의 어느 한 항에 기재된 BCMA 결합 항체.
- [0380] [실시 형태 61]
- [0381] 서열 번호 27, 29, 31, 33, 51, 53, 55 또는 57로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 실시 형태 57 내지 60의 어느 한 항에 기재된 BCMA 결합 항체.
- [0382] [실시예]
- [0383] (실시예 1) 항 BCMA 단일 도메인 항체 파지 디스플레이 라이브러리의 구축
- [0384] 제조합 인간 BCMA-Fc 융합 단백질(ACRO, 카탈로그 번호 BC7-H5254)과 완전 프로인트 아췌반트를 체적비 1:1로 혼합 유효화하고, 쌍봉낙타를 첫회의 피하 다점 주사에 의해 면역화한 후, 2주일마다, 제조합 인간 BCMA-Fc 융합 단백질과 불완전 프로인트 아췌반트를 체적비 1:1로 혼합 유효화한 후, 추가 면역화를 행하였다. 4회째 또는 5회째의 면역화 후, 혈청을 채취하고, 항인간 BCMA 항체의 역가를 측정하였다. 복수회의 면역화 후, 쌍봉낙타의 말초혈을 채취하고, 말초혈 단핵구(PBMC)를 분리하였다. PBMC의 RNA를 추출한 후, cDNA에 역전사하고, 낙타 항체의 V_H 코드 단편을 증폭하였다.
- [0385] 증폭된 V_H 코드 단편을 PstI/NotI 엔도뉴클레아제로 처리한 후, 파지미드벡터 pMECS(NTCC 플라스미드 벡터 배양 세포 유전자 임치 센터, 카탈로그 번호 pMECS)에 삽입하여 제조합 벡터를 구축하고, 대장균 TG1(Lucigen, 카탈로그 번호 60502-1) 중에 일렉트로포레이션하여, 라이브러리 발현주를 구축하였다. V_H 발현주를 대수 증식

기까지 배양하고, 헬퍼 파지 M13K07(New England Biolabs, 카탈로그 번호 N0315S)을 첨가하여 라이브러리를 증폭하고, 28℃, 200rpm으로 밤새 진탕하였다. 세균 용액을 원심 처리하여 상청을 취하고, 상청의 1/4량의 PEG6000/NaCl 용액(20% PEG6000(w/v), 2.5M NaCl)을 첨가하고, 얼음 상에서 1 내지 2시간 인큐베이트하여 파지를 침전시키고, 파지 침전물을 원심 처리에 의해 회수하고, PBS를 사용하여 재현탁한 후, 20% 글리세린을 첨가한 것을, 단일 도메인 항체 파지 디스플레이 라이브러리로서 -80℃에서 보존하였다.

[0386] (실시예 2) 항인간 BCMA 단일 도메인 항체의 스크리닝

고상 패닝법에 의해, 단일 도메인 항체 파지 디스플레이 라이브러리를 패닝 하였다. 패닝에 의해 얻어진 단클론을 배양하고, 이소프로필-β-D-티오갈락토피라노시드(IPTG)로 발현 유도하여 상청을 조제하였다.

인간 BCMA-His(ACRO, 카탈로그 번호 BCA-H522y)에 대한 간접 ELISA에 의해, 선택된 클론의 양성 검정을 행하였다. 인간 BCMA-His에만 결합하고, 비교적 높은 시그널값을 갖는 양성 클론을 선택하여 보존하고, 서열 결정하였다. 양성 클론 1A1, 1A10, 1A11 및 1B10을 선별하였다. 서열 해석의 결과, 1A1은, V_HH 뉴클레오티드 서열이 서열 번호 20이며, 아미노산 서열이 서열 번호 19였다. 1A10은, V_HH 뉴클레오티드 서열이 서열 번호 22이며, 아미노산 서열이 서열 번호 21이었다. 1A11은, V_HH 뉴클레오티드 서열이 서열 번호 24이며, 아미노산 서열이 서열 번호 23이었다. 1B10은, V_HH 뉴클레오티드 서열이 서열 번호 26이며, 아미노산 서열이 서열 번호 25였다.

[0389] (실시예 3) 항인간 BCMA V_HH-Fc 키메라 항체의 조제

3.1 V_HH-Fc 키메라 항체의 조제

선별된 양성 클론의 V_HH 서열을 인간 Fc 영역에 연결하여, V_HH-Fc 키메라 항체를 구축하였다. 구체적으로는, 얻어진 V_HH 서열 또는 항인간 BCMA V_HH 대조 항체(BM) 서열(아미노산 서열은 CN109153731A의 서열 번호 125와 동일하다)을 인간 IgG1 정상 영역(아미노산 서열은 서열 번호 5)을 포함하는 pCDNA3.1 진핵생물 발현 벡터에 삽입하고, 일과성 발현 시스템 Expifectamine™ CHO Transfection Kit(Thermo Fisher Scientific Inc., 카탈로그 번호 A29129)에 의해, 이들 V_HH-Fc 키메라 항체(BM-Fc는 대조)를 발현시켰다. 프로테인 A 어피니티 칼럼에 의해 정제한 후, 항체와 인간 TACI, BAFF-R 단백질의 결합 상황을 표면 플라즈몬 공명법에 의해 분석했다(방법은 3.2를 참조). 분석의 결과, 1A1-Fc, 1A10-Fc, 1A11-Fc 및 1B10-Fc는 모두, BCMA-His 단백질에 특이적으로 결합할 수 있지만, 인간 TACI, BAFF-R 단백질에는 결합할 수 없었다. 서열 해석의 결과, 1A1-Fc는, 전체 길이 아미노산 서열이 서열 번호 27과 같으며, 뉴클레오티드 서열이 서열 번호 28과 같았다. 1A10-Fc는, 전체 길이 아미노산 서열이 서열 번호 29와 같으며, 뉴클레오티드 서열이 서열 번호 30과 같았다. 1A11-Fc는, 전체 길이 아미노산 서열이 서열 번호 31과 같으며, 뉴클레오티드 서열이 서열 번호 32와 같았다. 1B10-Fc는, 전체 길이 아미노산 서열이 서열 번호 33과 같으며, 뉴클레오티드 서열이 서열 번호 34와 같았다.

3.2 표면 플라즈몬 공명법에 의한 항체와 인간 TACI, BAFF-R 단백질의 결합의 분석

생체 분자 상호 작용 해석 시스템(GE, Biacore T200)을 사용하여, 항인간 BCMA V_HH-Fc 키메라 항체의 특이성을 시험하였다. Anti-hIgG(Fc) 항체(GE, 카탈로그 번호 BR-1008-39)를 센서 칩 CM5에 아민 커플링하고, 항인간 BCMA V_HH-Fc 키메라 항체를 런닝 버퍼(137mM NaCl, 2.7mM KCl, 10mM Na₂HPO₄ · 12H₂O, 1.8mM KH₂PO₄, 0.05% 계면활성제 P-20(w/v), pH7.4)에 의해 2 μg/ml에 희석하고, 유속 30 μl/분으로, 90s 실험 채널을 통하여 포착하였다. 인간 TACI 또는 BAFF-R 단백질을 런닝 버퍼에 의해 100nM에 희석하고, 유속 50 μl/분으로 결합시켜, 결합 시그널 곡선을 관찰하였다. 1A1-Fc, 1A10-Fc, 1A11-Fc 및 1B10-Fc는 모두, 결합 곡선이 관찰되지 않았다. TACI, BAFF-R 단백질과 모두 비결합이었다.

(실시예 4) 항인간 BCMA V_HH-Fc 키메라 항체와 인간 · 게잡이 원숭이 BCMA의 친화성

4.1 표면 플라즈몬 공명법에 의한 항체와 인간 · 게잡이 원숭이 BCMA의 친화성의 측정

생체 분자 상호 작용 해석 시스템(GE, Biacore T200)을 사용하여, 항인간 BCMA V_HH-Fc 키메라 항체의 친화성을 시험하였다. 시험의 결과, 1A1-Fc, 1A10-Fc, 1A11-Fc 및 1B10-Fc는 모두, 인간 BCMA 단백질에 대한 높은 친화성을 갖고, 이 중 1A10-Fc 및 1A11-Fc는, 게잡이 원숭이 BCMA 단백질에 대한 교차 반응성을 나타냈지만, 1A1-Fc, 1B10-Fc 및 BM-Fc는, 게잡이 원숭이 BCMA 단백질에 대한 결합을 나타내지 않았다.

[0397] 4.2 플로 사이토메트리에 의한 항체와 세포의 결합의 측정

[0398] 플로 사이토메트리에 의해, 항인간 BCMA V_{HH} -Fc 키메라 항체의, 다른 BCMA 발현 레벨을 갖는 표적 세포에 대한 결합을 확인하였다. 여기서, CHO-hBCMA 세포(애강득 생물 의학 기술(쑤저우) 유한공사, 카탈로그 번호 AKD001A)는, BCMA를 고발현하는 안정 발현 세포주이며, U266 세포(중국 의학 과학원 기초 의학 연구소 기초 의학 세포 센터, 카탈로그 번호 3111C0001CCC000684)는, BCMA 발현 레벨이 중정도인 천연 인간 골수종 세포주이며, PRMI8226 세포(중국 의학 과학원 기초 의학 연구소 기초 의학 세포 센터, 카탈로그 번호 3111C0001CCC000083)는, BCMA 발현 레벨이 낮은 천연 인간 골수종 세포주이며, HUVEC 세포(ScienCell Research Laboratories, 카탈로그 번호 AKD001A 8000)는, BCMA를 발현하지 않는 인간 태줄 정맥 내피 세포주이다. 구매 희석(초기 농도 126nM, 5배 구매 희석, 6농도)한 항인간 BCMA V_{HH} -Fc 키메라 항체에서 2×10^5 개의 표적 세포를 인큐베이트하고, 얼음 상에서 1시간 인큐베이트 후, 세포를 세정하고, PE 표지 항인간 IgG Fc 항체(Jackson Immuno Research, 카탈로그 번호 109-116-170)를 첨가하고, 얼음 상에서 0.5시간 인큐베이트하고, 세포를 세정한 후, 플로 사이토미터(Thermo Fisher Scientific Inc., Attune NXT)로 분석하였다.

[0399] 도 1a 내지 1c, 표 1에 나타내는 바와 같이, 1A1-Fc, 1A10-Fc, 1A11-Fc 및 1B10-Fc는 모두, BCMA 발현 레벨이 높은 CHO-hBCMA 세포 및 BCMA 발현 레벨이 중정도인 U266 세포를 효과적으로 표적으로 하여 결합할 수 있고, BCMA 발현 레벨이 낮은 RPMI8226 세포에 대해서도 명확한 결합을 나타냈다. 1A10-Fc 및 1A11-Fc는, BM-Fc보다도 U266 세포에 대한 결합이 우수하였다. 도 1d에 도시하는 바와 같이, 1A10-Fc 및 1A11-Fc는, BCMA를 발현하지 않는 HUVEC 세포에 대한 결합을 나타내지 않았지만, 1A1-Fc 및 1B10-Fc는, BCMA를 발현하지 않는 HUVEC 세포에 대한 결합을 나타냈다.

[0400] [표 1]

항 인간 BCMA V_{HH} -Fc 키메라 항체와 표적 세포의 친화성		
V_{HH} -Fc 키메라 항체	CHO-hBCMA 세포 EC50(nM)	U266 세포 EC50(nM)
1A1-Fc	3.04	2.77
1A10-Fc	4.28	4.64
1A11-Fc	2.08	1.26
1B10-Fc	2.51	1.72
BM-Fc	4.06	6.02

[0401]

[0402] 4.3 플로 사이토메트리에 의한 항체와 게잡이 원숭이 BCMA 일과성 HEK293T 세포의 결합의 측정

[0403] 게잡이 원숭이 BCMA 전체 길이(서열 번호 6) 유전자를 시험관 내에서 합성하고, pCDNA3.1 진핵생물 발현 벡터에 삽입하였다. 메이커의 프로토콜에 기초하여, Lipofectamine™ 3000(Thermo Fisher Scientific Inc., 카탈로그 번호 L3000015)에 의해 발현 벡터를 HEK293T 세포에 형질 감염시켰다. 간단히 설명하면 HEK293T 세포를 5×10^5 /웰에서 6웰 플레이트에 파종하였다. 약 24시간 후, 소태아 혈청을 포함하는 배지를 흡인하고, 세포를 PBS로 세정한 후, 형질 감염 시약을 DNA:Lipo3000=5 μ g:7.5 μ l의 비율이 되도록 각 웰에 첨가하였다. 약 6시간 후, 소태아 혈청(v/v)을 10% 포함하는 배지로 교환하였다. 형질 감염의 약 24시간 후, 세포를 플로 사이토메트리로 분석하였다.

[0404] 1A10-Fc, 1A11-Fc 및 BM-Fc 항체를 구매 희석하고(초기 농도 126nM, 5배 구매 희석, 5 농도, 시료 희석액을 음성 대조군으로 했다), 게잡이 원숭이 BCMA를 일과적으로 형질 감염한 HEK293T 세포와, 형질 감염되어 있지 않은 HEK293T 세포를 각각 2×10^5 개 인큐베이트하고, 얼음 상에서 1시간 인큐베이트 후, 세포를 세정하고, PE 표지 항인간 IgG Fc 항체(Jackson Immuno Research, 카탈로그 번호 109-116-170), 얼음 상에서 0.5시간 인큐베이트하고, 세포를 세정한 후, 플로 사이토미터(Thermo Fisher Scientific Inc., Attune NXT)로 분석하였다. 도 2 중의 A는, 게잡이 원숭이 BCMA를 일과적으로 형질 감염한 HEK293T 세포(HEK293T-CynoBCMA)를 사용한 것이며, 도 2 중의 B는, 게잡이 원숭이 BCMA를 형질 감염하고 있지 않은 HEK293T 세포를 사용한 것이다. Fc 키메라 항체와, 게잡이 원숭이 BCMA를 일과적으로 형질 감염한 HEK293T 세포의 결합의 EC50값 및 최대 결합 MFI값(Bmax)을 표 2에 나타낸다. 결과에 따르면, 1A10-Fc, 1A11-Fc는 세포의 게잡이 원숭이 BCMA에 결합했지만, BM-Fc 항체는 게잡이 원숭이 BCMA에 대하여 비결합이었다.

[0405] [표 2]

항 인간 BCMA V _H H-Fc 키메라 항체와 게잡이 원숭이 BCMA 일과성 HEK293T 세포의 결합		
V _H H-Fc 키메라 항체	EC50(nM)	Bmax(MFI)
1A10-Fc	2.02	2475.0
1A11-Fc	10.36	501.8
BM-Fc	/	217.0
음성 대조	/	157.0

[0406]

[0407] (실시예 5) 항인간 BCMA V_HH-Fc 키메라 항체에 의한 APRIL과 BCMA의 결합의 차단

[0408]

단계 희석(초기 농도 252 nM, 5배 단계 희석, 7 농도)한 항인간 BCMA V_HH-Fc 키메라 항체 1A10-Fc, 1A11-Fc 및 BM-Fc 각각을, 100ng/ml의 비오틴 표지 재조합 BCMA-His 단백질(ACRO, 카탈로그 번호 BCA-H522y)과 1:1의 체적 비로 혼합하고, 실온에서 1시간 인큐베이트한 후, 재조합 APRIL 단백질(ACRO, 카탈로그 번호 APL-H5244)이 고정화된 ELISA 플레이트에 첨가하였다. 또한, 50ng/ml의 비오틴 표지 재조합 BCMA-His 단백질만 첨가한 것을 대조군으로 하였다. 37℃에서 1시간 인큐베이트하고, 결합하지 않은 비오틴 표지 BCMA-His 단백질을 씻어 버리고, HRP 표지 스트렙트아비딘(eBioscience, 카탈로그 번호 18-4100-51)을 첨가하고, 플레이트를 5회 세정하고 나서 발색시켰다. 파장 450nm 및 참조 파장 650nm에서의 흡광 시그널값을 측정하였다. BCMA와 APRIL의 결합의 시그널값에 대한 각 항체의 각 농도 시료의 차단율을 하기 식에 의해 구하고, 커브 피팅을 행하였다.

[0409]

차단율=(대조군의 시그널값-시료의 시그널값)/대조군의 시그널값×100%

[0410]

그 결과, 도 3 및 표 3에 나타내는 바와 같이, 1A1-Fc, 1B10-Fc, 1A10-Fc 및 1A11-Fc는 모두, APRIL과 BCMA의 결합을 효과적으로 차단할 수 있었다.

[0411]

도 4a에 도시하는 바와 같이, 인간 BCMA 세포 외 영역(서열 번호 35)과 게잡이 원숭이 BCMA 세포 외 영역(서열 번호 36)의 아미노산 서열은, Gly6, Ala20, Ile22, Asn31, Val45 및 Thr52에 차이가 있다. 클론 1A10 및 1A11이 게잡이 원숭이 BCMA 단백질과의 교차 반응성을 나타낸 것으로부터, 이들 클론의 생각할 수 있는 에피토프는, Gln7 내지 His19, 및/또는 Pro23 내지 Ser30, 및/또는 Asn31 내지 Ser44, 및/또는 Thr46 내지 Gly51에 위치한다고 추측된다. 도 4b는, PDB 데이터베이스에 있어서의 인간 BCMA의 세포 외 영역 구조(PDB 번호: 2kn1)를 나타내는 것이다. 도 4a, 4b에 도시하는 바와 같이, 인간 BCMA의 세포 외 영역은, Cys8-Cys21과, Cys24-Cys37과, Cys28-Cys41의 3쌍의 디설피드 결합을 포함한다. 인간 BCMA와 APRIL의 주된 결합은 β-헤어핀 구조에 있기 때문에(Bossen, C. et al. Semin. Immunol. 2006, 18(5): 263-275), 클론 1A10-Fc 및 1A11-Fc의 주된 결합 부위는, Gln7 내지 His19의 사이, 및/또는 Pro23 내지 Ser30의 사이, 및/또는 Asn31 내지 Ser44의 사이에 있는 것으로 생각된다.

[0412]

[표 3]

항 인간 BCMA V _H H-Fc에 의한 APRIL과 BCMA의 결합의 차단	
V _H H-Fc키메라 항체	IC50(nM)
1A1-Fc	0.34
1A10-Fc	0.41
1A11-Fc	0.76
1B10-Fc	0.26

[0413]

[0414] (실시예 6) 항인간 BCMA V_HH의 각 클론의 에피토프 차이에 관한 분석

[0415]

6.1 ELISA(체커보드법)에 의한 항인간 BCMA V_HH의 각 클론 사이의 경합 관계의 분석

[0416]

항인간 BCMA V_HH-Fc 키메라 항체를 2 μg/ml에 희석하고, 고흡착 ELISA 플레이트에 코팅하고, 플레이트를 세정하여 블록하였다. 20 μg/ml의 항인간 BCMA V_HH-Fc 키메라 항체와 비오틴 표지 BCMA-His 단백질(ACRO, 카탈로그 번호 BCA-H522y)을 실온에서 0.5시간 인큐베이트하여, 항원 항체 혼합물을 얻었다. 인큐베이트된 항체 항원 혼합물, 또는, 비오틴 표지 BCMA-His 단백질(대조군)만을 체커보드 배치법에 따라서, 웰 플레이트에 100 μl/웰로 첨가하고, 37℃에서 1시간 인큐베이트하였다. 결합하지 않은 비오틴 표지 BCMA-His 단백질을 씻어 버리고, HRP

표지 스트렙타비딘(eBioscience, 카탈로그 번호 18-4100-51)을 첨가하고, 플레이트를 5회 세정하고 나서 발색 시켰다. 파장 450nm 및 참조 파장 650nm에서의 흡광 시그널값을 측정하였다. 1 항체에 의한 다른 항체와 BCMA-Bio의 결합의 시그널에 대한 차단율을 하기 식에 의해 구하였다.

차단율=(대조군의 시그널값-시료의 시그널값)/대조군의 시그널값×100%

그 결과, 표 4에 나타내는 바와 같이, 체커보드의 대각선 「\」(회색)은 항체 자기 결합의 양성 대조군이며, 차단율은 모두 99% 이상이였다. 1A11-Fc와 인간 BCMA의 결합에 대한 1A10-Fc의 차단율(32.6%)은 50% 미만이고, 1A10-Fc와 인간 BCMA의 결합에 대한 1A11-Fc의 차단율(21.6%)도 50% 미만이었던 것으로부터, 1A10-Fc와 1A11-Fc 간에 명확한 결합 관계가 없어, 1A10-Fc와 1A11-Fc는 BCMA 단백질 상의 다른 에피토프에 동시에 결합할 수 있을 것으로 생각된다. 마찬가지로, 1A10-Fc와 1A1-Fc 간, 1A10-Fc와 1B10-Fc 간에도 명확한 결합 관계가 없어, 1A10-Fc와 1A1-Fc는 BCMA 단백질 상의 다른 에피토프에 동시에 결합할 수 있고, 1A10-Fc와 1B10-Fc는 BCMA 단백질 상의 다른 에피토프에 동시에 결합할 수 있을 것으로 생각된다. 1A1-Fc, 1A11-Fc 및 1B10-Fc 간의 상호의 차단율은 모두, 99%를 초과하였다.

[표 4]

ELISA(체커보드법)에 의한 에피토프 결합 분석				
체커보드법	1A1-Fc	1A10-Fc	1A11-Fc	1B10-Fc
1A1-Fc	100.1%	7.6%	99.4%	101.2%
1A10-Fc	36.9%	100.4%	32.6%	46.4%
1A11-Fc	100.6%	21.6%	99.7%	99.4%
1B10-Fc	100.3%	26.7%	99.5%	100.6%

6.2 표면 플라즈몬 공명법에 의한 에피토프의 차이의 분석

생체 분자 상호 작용 해석 시스템(GE, Biacore T200)에 의해, 에피토프 결합 관계를 분석하였다. Anti-His 항체(GE, 카탈로그 번호 28995056)를 센서 칩 CM5에 아민 커플링하고, BCMA-His 단백질(ACRO, 카탈로그 번호 BCA-H522y)을 런닝 버퍼에 의해 1μg/ml 정도로 희석하고, 유속 30μl/분으로 실험 채널을 통하여 포착하고, 결합 시간을 조정함으로써 포착 시그널을 180RU 내지 190RU로 하였다. 항인간 BCMA V_HH-Fc 키메라 항체 V_HH-Fc 1을 런닝 버퍼에 의해 10μg/ml(포화 농도. 농도가 증가하더라도 결합 시그널값은 변화하지 않는다.)로 희석하고, 시그널이 플랫폼에 도달할 때까지 주입하였다. 주입이 끝나면, 다른 항인간 BCMA V_HH-Fc 키메라 항체 V_HH-Fc2를 즉시 주입하였다. 항체 결합 곡선을 관찰하고, 2개의 항체의 결합 시그널값을 각각 기록하였다. 시그널값의 변화를 표 5에 나타낸다. 1A10-Fc 항체와 BCMA의 결합이 포화에 달했을 때의 시그널값은 472.5RU이며, 이 시점에서 1A11-Fc를 또한 주입하면, 포화 시그널값은 579.0RU가 되고, 1A11-Fc를 단독으로 주입했을 때의 포화 시그널값 653.1RU와 동등해졌다. 역도 마찬가지이며, 정순서 주입과 역순서 주입의 측정 시그널값은 유사하였다. 이와 같이, 1A10-Fc와 1A11-Fc는 BCMA 단백질 상의 다른 에피토프에 동시에 결합할 수 있을 것으로 생각된다.

[표 5]

V _H H-Fc 항체의 SPR 시그널값의 변화 및 분석						
	BCMA 포착 시그널 (RU)	VHH-Fc1	VHH-Fc2	VHH-Fc1 결합 시그널 (RU)	VHH-Fc2 결합 시그널 (RU)	누적 시그널값 (RU)
RUN1	184.0	1A10-Fc	A11-Fc	472.5	579.0	1051.5
RUN2	184.6	1A11-Fc	A10-Fc	653.1	405.5	1058.6

6.3 플로 사이토메트리에 의한 에피토프의 차이의 분석

세포막 상에 발현된 BCMA 단백질은, 에피토프의 유효한 노출에 대하여 유리 단백질과는 상이할 가능성이 있기 때문에, 1A10, 1A11과의 2개의 클론이 세포막 상의 BCMA 단백질에 동시에 결합할 수 있을지를 플로 사이토메트리에 의해 또한 확인하였다. U266 세포를 표적 세포로 하였다. 2×10⁵개의 표적 세포를, 20μg/ml 또는 10μg/ml의 항체 1A10-Fc, 1A11-Fc 단독으로, 또는, 20μg/ml의 항체 1A10-Fc와 20μg/ml의 항체 1A11-Fc를 1:1의

체적비로 혼합한 것을 사용하여 인큐베이트하고, 얼음 상에서 1시간 인큐베이트 후, 세포를 세정하고, PE 표지 항인간 IgG Fc 항체(Jackson Immuno Research, 카탈로그 번호 109-116-170)를 첨가하고, 얼음 상에서 0.5시간 인큐베이트하고, 세포를 세정한 후, 플로 사이토미터(Thermo Fisher Scientific Inc., Attune NXT)로 분석하였다. 결과를 표 6에 나타낸다. 동일한 항체를 10 µg/ml 추가하면, 1A10-Fc 시료의 평균 형광 증가는 902.0/823.5-1=9.5%가 되고, 1A11-Fc 시료의 평균 형광 증가는 702.0/697.5-1=0.6%가 된 것으로부터, 2개의 항체는 모두 10 µg/ml가 포화 농도에 가까운 것으로 생각된다. 한편, 이것에 추가로 다른 항체를 10 µg/ml 추가하면, 즉, 10 µg/ml의 1A10-Fc에 10 µg/ml의 1A11-Fc를 첨가하면, 평균 형광 증가는 1443.5/823.5-1=75.3%가 되고, 10 µg/ml의 1A11-Fc에 10 µg/ml의 1A10-Fc를 첨가하면, 평균 형광 증가는 1443.5/697.5-1=107.0%가 되었다. 이와 같이, 2개의 항체 1A10-Fc, 1A11-Fc는, 세포막 상의 BCMA 단백질의 다른 에피토프에 동시에 결합할 수 있을 것으로 생각된다.

[0427] [표 6]

항 인간 BCMA VHH 키메라 항체와 U266 세포의 결합		
번호	VHH-Fc 키메라 항체	형광 평균값(MFI)
a	1A10-Fc, 10 µg/ml+ 1A11-Fc, 10 µg/ml	1443.5
b	1A10-Fc, 20 µg/ml	902.0
c	1A11-Fc, 20 µg/ml	702.0
d	1A10-Fc, 10 µg/ml	823.5
e	1A11-Fc, 10 µg/ml	697.5

[0428]

[0429] (실시예 7) 항인간 BCMA V_{HH}-Fc 키메라 모노클로날 항체 및 그 인간화 모노클로날 항체의 구축, 발현, 정제

[0430] V_{HH}-Fc 키메라 항체 1A10-Fc 및 1A11-Fc를 각각 인간화하였다. 그 중, 키메라 항체 1A10-Fc의 인간화에 의해, 1A10-V1 및 1A10-V2라고 하는 2개의 인간화 항체가 얻어졌다. 키메라 항체 1A11-Fc의 인간화에 의해, 1A11-V1 및 1A11-V2라고 하는 2개의 인간화 항체가 얻어졌다. 상기 항체의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열을 표 7에 나타낸다.

[0431] 항인간 BCMA V_{HH}-Fc 키메라 항체 및 그의 인간화 항체를 코드하는 DNA 서열(서열 번호 30, 52, 54, 32, 56, 58. 대응하는 명칭을 표 7에 나타낸다.)을 합성하고, 각각 pcDNA3.1(+) 발현 벡터에 클로닝하였다. ExpiCHO 발현 키트(Thermo Fisher, 카탈로그 번호 A29133)를 사용하여 각 항체를 발현시켰다. 먼저, 구축한 항체 DNA 서열을 포함하는 발현 벡터를 ExpiCHO 세포(CHO-S, Thermo사)에 형질 감염시켰다. 이어서, 세포를 ExpiCHO 발현 배지 중에서, 37℃, 8% CO₂를 포함하는 습윤 분위기의 인큐베이터 내에서, 130rpm으로 회전하는 오비탈 셰이커 상에서 배양하였다. 배양 상청을 회수하고, 단백질 A 자기 비즈(Genscript, 카탈로그 번호 L00273)를 사용하여 단백질을 정제를 행하였다. UV-Vis 분광 광도계(NanoDrop lite, Thermo Scientific)에 의해 단백질 농도를 측정하였다.

[0432] [표 7]

항 인간 BCMA V_HH-Fc 키메라 모노클로날 항체 및 그의 인간화 모노클로날 항체의 서열 정보

명칭	아미노산 서열(서열 번호)	코드 DNA 서열(서열 번호)	비고
1A10-Fc	QVQLVESGGGVSQAGGSLRLSCAASGYSSNVACMAWYRQ APGKEREWVATVADFGTTNYAASVKGRFTISQDNKNTV YLQMNSLKPEDSAMYCYCAATQGGIDWCDEINYWGQGT LTVSSSEPKSKDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKTP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV KSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK 서열 번호 29	서열 번호 30	인간-낙타 키메라 항체
1A10-V1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSSNVACMAWYRQ APGKGLEWVATVADFGTTNYAASVKGRFTISQDNKNTV YLQMNSLRAEDTAVYCYCAATQGGIDWCDEINYWGQGT LTVSSSEPKSKDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKTP PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK 서열 번호 51	서열 번호 52	인간화 항체
1A10-V2	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSSNVACMAWYRQ APGKEREWVSTVADFGTTNYAASVKGRFTISQDNKNTV YLQMNSLRAEDTAVYCYCAATQGGIDWCDEINYWGQGT LTVSSSEPKSKDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKTP PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK 서열 번호 53	서열 번호 54	인간화 항체
1A11-Fc	QVQLVESGGGVSQAGGSLRLSCAASGVTFNSACMGWFRQ APGKEREGVARIETGYGGTVYADSVKGRFTISRDNKNTV YLQMNSLKPEDTAMYYCAAKRSWCTPTWWHELDYNYW GQGTQVTVSSSEPKSKDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPK KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK 서열 번호 31	서열 번호 32	인간-낙타 키메라 항체
1A11-V1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGVTFNSACMGWFRQ APGKREGVSRITGYGGTVYADSVKGRFTISRDNKNTV YLQMNSLRAEDTAVYCYCAAKRSWCTPTWWHELDYNYW GQGTQVTVSSSEPKSKDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG K 서열 번호 55	서열 번호 56	인간화 항체
1A11-V2	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGVTFNSACMGWFRQ APGKEREGVSRITGYGGTVYADSVKGRFTISRDNKNTV YLQMNSLKAEDTAVYCYCAAKRSWCTPTWWHELDYNYW GQGTQVTVSSSEPKSKDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG K 서열 번호 57	서열 번호 58	인간화 항체

[0433]

[0434] (실시예 8) 항인간 BCMA V_HH-Fc 키메라 항체 및 그의 인간화 항체와, 항원인 인간 BCMA의 결합

[0435] Biacore T200(GE)에 의해, 인간 BCMA 단백질에 대한 피험 항체의 친화성 측정을 이하와 같이 실시하였다.

[0436] Anti-hIgG(Cytiva, 카탈로그 29234600)를 커플링한 칩 CM5(Cytiva, 카탈로그 29149603)를 사용하여, 일정량의 피험 항체(1A10-Fc, 1A11-Fc, 1A10-V1, 1A10-V2, 1A11-V1, 1A11-V2를 포함한다.)를 포착한 후, 인간 BCMA를 칩 표면에 흘리고, 소프트웨어 Biacore에 의해 반응 시그널을 실시간으로 검출함으로써, 결합 곡선 및 해리 곡선을 얻었다. 실험에서 사용한 버퍼는, Biacore 범용 버퍼(137mM NaCl, 2.7mM KCl, 10mM Na₂HPO₄ · 12H₂O, 1.8mM KH₂PO₄, 0.05% 계면 활성제 P-20(w/v), pH7.4)였다. 칩 CM5의 표면에 커플링한 Anti-hIgG의 반응값이 9000RU 정도에 달하고, 피험 항체(1A10-Fc, 1A11-Fc, 1A10-V1, 1A10-V2, 1A11-V1, 1A11-V2를 포함한다.)를 약 200RU 포착한 후, 각 농도의 인간 BCMA(100nM, 50nM, 25nM, 12.5nM, 6.25nM, 3.125nM)와 피험 항체(1A10-Fc, 1A11-Fc, 1A10-V1, 1A10-V2, 1A11-V1, 1A11-V2를 포함한다.)의 상호 작용의 시그널값을 측정하였다. 플로 셀의 유

속은 50 μ l/분으로 하고, 결합 시간은 240s로 하고, 해리 시간은 1400s로 하고, 3M $MgCl_2$ (GE)에 의한 재생은 60s로 하고, 베이스 라인은 안정되어 있었다. biacore evaluation software의 affinity and kinetics 1:1의 결합 모델에 의해 계산하여 결과를 얻었다. 항인간 BCMA V_H -Fc 키메라 항체 및 그의 인간화 항체(1A10-Fc, 1A11-Fc, 1A10-V1, 1A10-V2, 1A11-V1, 1A11-V2를 포함한다.)의 인간 BCMA에 대한 친화성을 표 8에 나타낸다.

[표 8]

항 인간 BCMA V_H -Fc 키메라 항체 및 인간화 항체의 인간 BCMA에 대한 결합 친화성

명칭	비고	항원 BCMA(KD)
1A10-Fc	인간-나타 키메라 항체	0.94 nM
1A10-V1	인간화 항체	0.337 nM
1A10-V2	인간화 항체	1.31 nM
1A11-Fc	인간-나타 키메라 항체	3.96 nM
1A11-V1	인간화 항체	5.05 nM
1A11-V2	인간화 항체	4.37 nM

(실시예 9) 항 BCMA/항CD3 다중 특이성 항체의 구축, 발현, 정제

Knobs-into-holes(Ridgway, et al., 1996) 기술을 이용한 Fc 개변에 의해, 인간 IgG1로서 anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체를 제작하였다. 다중 특이성 항체의 구축 중에 형성된 호모 2량체를 프로테인 A 어피니티 정제에 있어서 제거하기에 적합한 것으로부터, Fc 영역에 있어서의 폴리펩티드 서열 중 한쪽은, 프로테인 A에 대한 Fc의 친화성을 저하시키는 H435R, Y436F 변이(Jendeborg et al., 1997)를 포함하도록 설계되었다.

본 실시예에 있어서, 본 발명의 4개의 anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체를 구축하고, 각각 BC24, PC1, PC2 및 PC3이라고 명명하였다. 그 중, BC24의 구성은 도 6의 A에 나타내는 바와 같고, PC1의 구성은 도 6의 B에 나타내는 바와 같고, PC2의 구성은 도 6의 C에 나타내는 바와 같고, PC3의 구성은 도 6의 D에 나타내는 바와 같다. 구축된 다중 특이성 항체에 있어서, BCMA에 결합하는 항원 결합 도메인은, 항인간 BCMA V_H -Fc 키메라 항체 및 그의 인간화 항체에서 유래되는 것이며, CD3에 결합하는 항원 결합 도메인은, sp34 항체(Silvana Pessano, et al., The T3/T cell receptor complex: antigenic distinction between the two 20-kd T3(T3-delta and T3-epsilon) subunits, EMBO J. 1985 Feb; 4(2): 337-344.)를 인간화함으로써 얻어진 것이다.

anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체 BC24는 3개의 폴리펩티드쇄를 갖고, 이들 폴리펩티드쇄 중 1개(A10-linker-A11-Fc라 명명)는 1A10-Fc 및 1A11-Fc의 단일 가변 도메인에 각각 유래하는 2개의 BCMA에 결합하는 항원 결합 도메인을 탠덤으로 포함한다. 당해 폴리펩티드쇄 A10-linker-A11의 아미노산 서열은 서열 번호 59로 표시되는 것이며, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호 60으로 표시되는 것이다. anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체 BC24의 나머지 2개의 폴리펩티드쇄는, CD3에 결합하는 Fab형 항원 결합 도메인을 포함하도록 형성되고, 이들 2개의 폴리펩티드쇄는 각각, anti-CD3-HC-Fc(아미노산 서열은 서열 번호 61로 표시되는 것이며, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호 62로 표시되는 것이다.)와, anti-CD3-LC(아미노산 서열은 서열 번호 63으로 표시되는 것이며, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호 64로 표시되는 것이다.)로 명명되었다.

anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체 PC1은 2개의 폴리펩티드쇄를 갖고, 이들 폴리펩티드쇄 중 한쪽(anti-BCMA-A10-v1-linker-A11-v1-Fc라 명명)은 인간화 항체 1A10-V1 및 1A11-V1의 단일 가변 도메인에 각각 유래하는 2개의 BCMA에 결합하는 항원 결합 도메인을 탠덤으로 포함한다. Fc에 있어서의 한쪽의 폴리펩티드쇄의 N 말단은, BCMA에 결합하는 항원 결합 도메인(1A11-V1 유래)과 융합되어 있다. 당해 폴리펩티드쇄 anti-BCMA-A10-v1-linker-A11-v1-Fc의 아미노산 서열은 서열 번호 65로 표시되는 것이며, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호 66으로 표시되는 것이다. anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체 PC1의 다른 쪽의 폴리펩티드쇄(anti-CD3-scFv-Fc라 명명)는 CD3에 결합하는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 탠덤으로 포함하는 ScFv 구조로 되는, CD3에 결합하는 항원 결합 도메인을 포함한다. Fc에 있어서의 다른 쪽의 폴리펩티드쇄의 N 말단은, CD3에 결합하는 항원 결합 도메인과 융합되어 있다. 당해 폴리펩티드쇄 anti-CD3-scFv-Fc의 아미노산 서열은 서열 번호 67로 표시되는 것이며, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호 68로 표시되는 것이다.

anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체 PC2는 2개의 폴리펩티드쇄를 갖고, 이들 폴리펩티드쇄 중 한쪽(anti-BCMA-A10-v1-Fc라 명명)은 인간화 항체 1A10-v1의 단일 가변 도메인에서 유래되는 하나의 BCMA에 결합하는 항원

결합 도메인을 포함한다. Fc에 있어서의 한쪽의 폴리펩티드쇄의 N 말단은, BCMA에 결합하는 항원 결합 도메인과 융합되어 있다. 당해 폴리펩티드쇄 anti-BCMA-A10-v1-Fc의 아미노산 서열은 서열 번호 69로 표시되는 것이며, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호 70으로 표시되는 것이다. anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체 PC2의 다른 쪽 폴리펩티드쇄(anti-BCMA-A11-v1-linker-anti-CD3-scFv-Fc라 명명)는 CD3에 결합하는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 탠덤으로 포함하는 ScFv 구조로 되는, CD3에 결합하는 항원 결합 도메인과, 인간화 항체 1A11-v1의 단일 가변 도메인에서 유래되는 BCMA에 결합하는 항원 결합 도메인을 탠덤으로 포함한다. Fc에 있어서의 다른 쪽의 폴리펩티드쇄의 N 말단은, CD3에 결합하는 항원 결합 도메인과 융합되어 있다. 당해 폴리펩티드쇄 anti-BCMA-A11-v1-linker-anti-CD3-scFv-Fc의 아미노산 서열은 서열 번호 71로 표시되는 것이며, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호 72로 표시되는 것이다.

[0445] anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체 PC3은 3개의 폴리펩티드쇄를 갖고, 이들 폴리펩티드쇄 중 1개(anti-BCMA-A11-v1-Fc)는 인간화 항체 1A11-v1의 단일 가변 도메인에서 유래되는 하나의 BCMA에 결합하는 항원 결합 도메인을 포함한다. Fc에 있어서의 한쪽의 폴리펩티드쇄의 N 말단은, BCMA에 결합하는 항원 결합 도메인과 융합되어 있다. 당해 폴리펩티드쇄 anti-BCMA-A11-v1-Fc의 아미노산 서열은 서열 번호 73으로 표시되는 것이며, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호 74로 표시되는 것이다. anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체 PC3의 나머지 2개의 폴리펩티드쇄는, CD3에 결합하는 Fab 형식의 항원 결합 도메인을 포함하도록 형성되어 있다. Fab 경쇄의 N 말단은, 인간화 항체 1A10-v1의 단일 가변 도메인에서 유래되는 BCMA에 결합하는 항원 결합 도메인과 융합되어 있다. Fc에 있어서의 다른 쪽의 폴리펩티드쇄의 N 말단은, CD3에 결합하는 항원 결합 도메인의 Fab 중쇄와 융합되어 있다. 이들 2개의 폴리펩티드쇄는 각각, anti-CD3-HC-Fc(아미노산 서열은 서열 번호 61로 표시되는 것이며, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호 62로 표시되는 것이다.)와, anti-BCMA-A10-v1-linker-anti-CD3-VL(아미노산 서열은 서열 번호 75로 표시되는 것이며, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호 76으로 표시되는 것이다.)로 명명되었다.

[0446] 본 실시예에 있어서, 셀진사의 anti-BCMA/anti-CD3 이중 특이성 항체를 대조 항체(서열은 US20190263920A1에 기재)로서 사용하였다. 본 실시예에서 사용한 anti-BCMA/anti-CD3 이중 특이성 대조 항체 Benchmark(이하, 셀진 BM 또는 celgene BM이라고 한다.)는 BCMA에 결합하는 Fab형 항원 결합 도메인 2개와, CD3에 결합하는 Fab형 항원 결합 도메인 1개를 포함한다. 그 한쪽의 anti-BCMA 암은 anti-BCMA-Fab-Fc 구조의 것이고, 폴리펩티드쇄 anti-BCMA-HC-Fc(아미노산 서열은 서열 번호 77로 표시되는 것이며, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호 78로 표시되는 것이다.)와, anti-BCMA-LC(아미노산 서열은 서열 번호 79로 표시되는 것이며, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호 80으로 표시되는 것이다.)를 포함함과 함께, 정제 공정의 수율을 높이기 위하여 anti-BCMA-HC-Fc(서열 번호 77)에 H435R 및 Y436F 변이를 첨가한 것이다. anti-BCMA/anti-CD3 이중 특이성 대조 항체 BM의 다른 쪽의 anti-BCMA/anti-CD3 암의 구조는 anti-BCMA-Fab-CD3-Fab-Fc 구조이며, 폴리펩티드쇄 anti-BCMA-VH-anti-CD3-VL-Fc(아미노산 서열은 서열 번호 81, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호 82로 표시되는 것이다.)와, anti-CD3-VH-CL(아미노산 서열은 서열 번호 83, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호 84로 표시되는 것이다.)과, anti-BCMA-LC(아미노산 서열은 서열 번호 79로 표시되는 것이며, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호 80으로 표시되는 것이다.)를 포함한다.

[0447] 각 anti-BCMA/anti-CD3 항체에 대해서, 항체를 구성하는 각 폴리펩티드쇄를 코드하는 DNA 서열을 각각 pCDNA3.1(+) 벡터에 삽입하고, 대응하는 폴리펩티드쇄를 발현하는 발현 벡터를 얻었다. 단백질의 발현은, CMV 프로모터에 의해 구동된다. 폴리아데닐화는, CDS의 3' 말단에 위치하는 합성 polyA 시그널 서열에 의해 구동된다. 또한, 각 벡터에는 자율 복제를 위한 Ori 서열이 포함되어 있다.

[0448] 이들 항체 분자를 생성시키기 위해서, ExpichO 발현 키트(Thermo Fisher, 카탈로그 번호 A29133)를 사용하여 각 항체의 조합을 발현시켰다. 먼저, 대응하는 발현 벡터를 특정한 비율(PC1에 있어서의 형질 감염 비율은, 벡터(anti-BCMA-A10-v1-linker-A11-v1-Fc):벡터(anti-CD3-scFv-Fc)가 1:1.5이며, PC2에 있어서의 형질 감염 비율은, 벡터(anti-BCMA-A10-v1-Fc):벡터(anti-BCMA-A11-v1-linker-anti-CD3-scFv-Fc)가 1:1.5이며, PC3에 있어서의 형질 감염 비율은, 벡터(anti-BCMA-A11-v1-Fc):벡터(anti-CD3-HC-Fc):벡터(anti-BCMA-A10-v1-linker-anti-CD3-VL)가 1:1.5:1.5이며, celgene BM의 형질 감염 비율은, 벡터(anti-BCMA-HC-Fc):벡터(anti-BCMA-LC):벡터(anti-BCMA-VH-anti-CD3-VL-Fc):벡터(anti-CD3-VH-CL)가 1:2:1:1.5이며, BC24에 있어서의 형질 감염 비율은, 벡터(A10-linker-A11-Fc):벡터(anti-CD3-HC-Fc):벡터(anti-CD3-LC)가 1:1.5:2이다.)에서, ExpichO 세포(CHO-S, Thermo사)에 형질 감염시켰다. 이어서, 세포를 ExpichO 발현 배지 중에서, 37℃, 8% CO₂ 함유 습윤 분위기에서의 인큐베이터 내에서, 130rpm으로 회전하는 오비탈 셰이커 상에서 배양하였다. 10 내지 14일간 배양한 후, 세포 배양 상청을 회수하고, 원심 처리에 의해 세포를 제거하였다. 상청을 AKTA purifier 100(GE) 시

시스템에서 친화성 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피 및 겔 크로마토그래피에 의해 정제하였다.

[0449] 정제한 단백질 시료의 단백질 농도는, 아미노산 서열에 기초하여 산출된 몰 흡광 계수를 사용하여 280nm에서의 광학 밀도(OD)를 측정함으로써 구하였다.

[0450] 사이즈 배제 크로마토그래피(size exclusion chromatography; SEC)에 의해, 각 튜브에 수집된 시료의 순도를 검출하였다. 구체적으로는, 분석용 사이즈 배제 칼럼 ACQUITY UPLC Protein BEH SEC column(WATERS)을 사용하여, 25℃, 16mM NaH₂PO₄, 34mM Na₂HPO₄, 200mM NaCl, pH7.0의 런닝 버퍼 중에서 분자의 응집 함유량을 분석하였다. SEC 결과에 기초하여, 95%를 초과한 순도를 갖는 시료를 합쳤다.

[0451] Waters LC-MS 시스템(Waters, Singapore, USA, UK)을 사용하여 완전 분자량 분석을 하였다. MAbPac RP 4μm 2.1×50mm(Thermo, USA) 칼럼을 채용하고, A상(0.1% 포름산 수용액), B상(0.1% 포름산아세트니트릴 용액)을 이동상으로 하고, 측정 파장을 280nm로 하였다. 1μg의 단백질을 액체 질량 분석계에 주입하고, 구배는 5.5분 이내에서 5% B 내지 100% B로 하였다. 질량 분석계는 양이온 모드로 하고, 스캔 범위는 200 내지 4000m/z로 하였다. MassLynx 4.1에 의해 데이터를 수집하고, UNIFI 1.8.2.169에 의해 데이터 처리를 행하였다. LC-MS 분석은, 상술한 각 anti-BCMA/anti-CD3 항체 시료의 측정 분자량이 이론적 분자량과 일치하고 있는 것을 나타냈다. 도 18은, PC1의 완전 분자량의 측정 결과를 나타낸다. 시료의 메인 피크 분자량은 108516Da이며, PC1의 이론적 분자량과 일치하고 있다. 상동의 불순물의 피크는 관찰되지 않았다.

[0452] [표 9]

anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체의 서열 정보			
명칭	조성	아미노산 서열 (서열 번호)	뉴클레오타이드 (서열 번호)

[0453]

BC24	A10-linker-A11-Fc	QVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGYSSN VACMAWYRQAPGKEREWVATVADFGTTNY AASVKGRFTISQDNAKNTVYLQMNSLKPED SAMYCAATQRRGGIDWCDEINYWGQGLV TVSSGGGSGGGGSQVQLVESGGGSVQAGG SLRLSCAASGVTFNSACMGWFRQAPGKERE GVARIETGYGGTVYADSVKGRFTISRDNKN TVYLQMNSLKPEDTAMYYCAAKRSWCPTP WWHELDYNYWGQGTQVTVSSGEPKSSDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPRE PQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLV SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHAEALHNHY TQKSLSLSPGK 서열 번호 59	서열 번호 60
	anti-CD3-HC-Fc	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNT YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKT EDTAMYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGT LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREE MTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHAEALHNRFTQKSLSLSPGK 서열 번호 61	서열 번호 62
	anti-CD3-LC	ELVVTTQEPSTLTPSGGTVLTCSRSTGAVTTS NYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPA RFSGSLLGGKAALTITGVQPEDEAEYYCALW YSNLWVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADG SPVKAGVETTKPSKQSNKYYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS 서열 번호 63	서열 번호 64
PC1	anti-BCMA-A10-v1-linker-A11-v1-Fc	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSSN VACMAWYRQAPGKGLEWVATVADFGTTNY AASVKGRFTISQDNSKNTVYLQMNSLRAED TAVYYCAATQRRGGIDWCDEINYWGQGLVT VSSGGGSGGGGSQVQLVESGGGLVQPGGS I.RI.SCAASGFTFNSACMGWFRQAPGKGREG VSRIETGYGGTVYADSVKGRFTISRDNKNT VYLQMNSLRAEDTAVYYCAAKRSWCPTW WHELDYNYWGQGTQVTVSSGEPKSSDKTH TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREP QVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLV	서열 번호 66

[0454]

		KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK 서열 번호 65	
	anti-CD3-scFv- Fc	ELVVTQEPLTTPGGTIVTLTCSRSTGAVTTS NYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTFA RFGSLLGGKAALTITGVQPEDEAEYYCALW YSNLWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGSGGG GSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF NTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNY ATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNL KTEDTAMYVCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQ GTLVTVSSGEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNRTQKSLSLSPGK 서열 번호 67	서열 번호 68
	anti-BCMA- A10-v1-Fc	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSSN VACMAWYRQAPGKGLEWVATVADFGTNY AASVKGRFTISQDNSKNTVYLQMNSLRAED TAVYYCAATQRRGIDWCDEINYWGQTLVT VSSGEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIE KTISKAKGQPREPQVCTLPSPREEMTKNQVS LSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK 서열 번호 69	서열 번호 70
PC2	anti-BCMA- A11-v1-linker- anti-CD3-scFv- Fc	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNS ACMGWFRQAPGKGREGVSRITGYGGTVY ADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRAED TAVYYCAAKRSWCTPTWWHELDYNYWGQ GTQVTVSSGGGGSELVVTQEPLTTPGGTIV TLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRG LIGGTNKRAPGTAPRFGSLLGGKAALTITGV QPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL GGSGGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKLE WVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAMYVCVRHGNFGN SYVSWFAYWGQTLVTVSSGEPKSSDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNRTQK SLSLSPGK 서열 번호 71	서열 번호 72

[0455]

PC3	anti-BCMA-A11-v1-Fc	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNS ACMGWFRQAPGKGREGVSRIETGYGGTVY ADSVKGRFTISRDN SKNTVYLQMNSLRAED TAVYYCAAKRSWCTPTWWHLDYNYWGQ GTQVTVSSGEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LAAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSREEMT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSYMHEALHNHYTQKSLSLSPGK 서열 번호 73	서열 번호 74
	anti-CD3-HC-Fc	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNT YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKT EDTAMYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREE MTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSYMHEALHNRTQKSLSLSPGK 서열 번호 61	서열 번호 62
	anti-BCMA-A10-v1-linker-anti-CD3-VL	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSSN VACMAWYRQAPGKGLEWVATVADFGTTNY AASVKGRFTISQDNSKNTVYLQMNSLRAED TAVYYCAATQGGIDWCDEINYWGQGTILVT VSSGGGGSELVVTQEPLTTPGGTVTLTCRS STGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTN KRAPGTPARFSGSLLGGKAALTITGVQPEDE AEYYCALWYSNLVVFGGGKLTVLGQPKA NPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA VTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEK TVAPTECS 서열 번호 75	서열 번호 76
셀진 BM	anti-BCMA-HC-Fc	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGGGSTYYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKVLGWFDYWGQGTILVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVIQSSGLYSLSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVE PKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT LHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSYMHE ALHNRTQKSLSLSPGK	서열 번호 78

[0456]

		서열 번호 77	
	anti-BCMA-LC	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGYPPDFTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDRK LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 서열 번호 79	서열 번호 80
	anti-BCMA-VH-anti-CD3-VL-Fc	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSASISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSTNTLYLQMNSLRADTA VYYCAKVLGWFDYWGQGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVE PKSCDGGGSGGGGSAVVTQEPSTLTVSPGG TVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAF RGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGKKAALT LSGAQPEDEAEYYCALWYSLNWVFGGGTKLT VLSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL GAPIETISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK 서열 번호 81	서열 번호 82
	anti-CD3-VH-CL	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIISKYNNYAT YYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCVRHGFNGFSYVSWFAYWGQGT LTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC 서열 번호 83	서열 번호 84

[0457]

[0458] (실시예 10) Anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체와 항원의 결합 SPR

[0459] Biacore T200(GE)에 의해, 인간 CD3e 또는 인간 BCMA 단백질에 대한 피험 항체의 친화성 측정을 이하와 같이 실시하였다.

[0460] Anti-hIgG(Cytiva, 카탈로그 29234600)를 커플링한 칩 CM5(Cytiva, 카탈로그 29149603)를 사용하여, 일정량의 anti-BCMA/anti-CD3 항체(BC24, PC1, PC2, PC3, 셀진 BM을 포함한다.)를 포착하고, 인간 CD3e(Acro, 제품 번호 CDE-H5223) 또는 인간 BCMA를 칩 표면에 흘리고, 소프트웨어 Biacore에 의해 반응 시그널을 실시간으로 검출함으로써, 결합 곡선 및 해리 곡선을 얻었다. 실험에서 사용한 버퍼는, Biacore 범용 버퍼(137mM NaCl, 2.7mM KCl, 10mM Na₂HPO₄ · 12H₂O, 1.8mM KH₂PO₄, 0.05% 계면 활성제 P-20(w/v), pH7.4)였다. 칩 CM5의 표면에 커플링한 Anti-hIgG의 반응값이 9000RU 정도에 달하고, anti-BCMA/anti-CD3 항체(BC24, PC1, PC2, PC3, 셀진 BM을 포함한다.)를 약 200RU 포착한 후, 각 농도의 인간 CD3e 단백질(100nM, 50nM, 25nM, 12.5nM, 6.25nM, 3.125nM) 또는 인간 BCMA(100nM, 50nM, 25nM, 12.5nM, 6.25nM, 3.125nM)와 anti-BCMA/anti-CD3 항체(BC24, PC1, PC2, PC3, 셀진 BM을 포함한다.)의 상호 작용의 시그널값을 측정하였다. 플로우 셀의 유속은 50 µl/분으로 하고, 결합 시간은 240s로 하고, 해리 시간은 1400s로 하고, 3M MgCl₂(GE)에 의한 재생은 60s로 하고, 베이스 라인은 안정되어 있었다. biacore evaluation software의 affinity and kinetics 1:1의 결합 모델에 의해 계산하여 결과를 얻었다. anti-BCMA/anti-CD3 항체(BC24, PC1, PC2, PC3, 셀진 BM을 포함한다.)의 인간 CD3e 단백질 또는 인간 BCMA에 대한 친화성을 표 10에 나타낸다.

[0461] [표 10]

anti-BCMA/anti-CD3 항체의 인간 CD3e 또는 인간 BCMA 단백질에 대한 친화성

명칭	항원 hBCMA(KD)	항원 hCD3e(KD)
BC24	0.0627 nM	0.286 nM
PC1	0.0396 nM	1.43 nM
PC2	0.0185 nM	1.33 nM
PC3	0.0347 nM	1.17 nM
셀진 BM	0.821 nM	1.60 nM

[0462]

[0463] (실시예 11) Anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체와 다발성 골수종 세포 표면 BCMA의 결합

[0464] 플로 사이토메트리에 의해, Anti-BCMA/anti-CD3 항체(BC24, PC1, PC2, PC3, Celgene BM을 포함한다.)와, BCMA를 발현한 NCI-H929 세포(BCMA 고발현 세포주, 남경 과백 생물로부터 입수), MM1S 세포(BCMA 중발현 세포주, 북남 생물로부터 입수) 및 RPMI-8226 세포(BCMA 저발현 세포주, 중국 의학 과학원 기초 의학 연구소 세포 자원 센터로부터 입수) 상의 BCMA와의 결합을 분석하였다. 음성 대조는 트라스투주맙을 사용하였다.

[0465] 상세한 실험 수순은 이하와 같다.

[0466] 대수 증식기의 NCI-H929 세포(BCMA+++), MM1S 세포(BCMA++) 및 RPMI-8226 세포(BCMA+) 각각을, 2% FBS(소태아 혈청)를 포함하는 RPMI 배지(Hyclon, 카탈로그 번호 SH30809.01)를 사용하여, 세포 밀도가 5×10^6 내지 10×10^6 cells/ml이 되도록 조정하고, 96웰 U자형 세포 배양 플레이트(Costar, 카탈로그 번호 : 3799)에 1웰당 50 μ l 씩 파종하였다. 상기 배지를 사용하여 여러가지 농도의 피험 항체를 조제하고, BCMA 고발현 및 중발현의 세포에 대해서는, 항체 농도는 최대 440nM이고, 5배 단계 희석하여 합계 9 농도 단계로 하고, BCMA 저발현 세포에 대해서는, 항체 농도는 최대 2200nM이고, 5배 단계 희석하여 합계 10 농도 단계로 하였다. 각 농도의 항체를 상기 96웰 세포 배양 플레이트에 1웰당 50 μ l씩 첨가하고, 잘 섞은 후, 4℃에서 1시간 인큐베이트하였다. 예랭한 런닝 버퍼(MACS, 카탈로그 번호 130-091-221)를 첨가하여 세포를 세정한 후, 상청을 버리고, 예랭한 형광 표지 양 항인간 IgG 항체(Jackson, 카탈로그 번호 109-116-170)를 1웰당 100 μ l씩 첨가하여 재현탁시키고, 잘 섞은 후, 4℃에서 30분간 인큐베이트하였다. 세정 후, 예랭한 런닝 버퍼 100 μ l을 첨가하여 세포를 재현탁시키고, 잘 섞은 후, 플로 사이토미터 Attune TM NxT로 플로 콜렉션을 행하고, 소프트웨어 Graphpad Prism5에 의해 데이터 분석을 하였다.

[0467] 도 7 내지 9, 표 11은, NCI-H929 세포(BCMA+++), MM1S 세포(BCMA++) 및 RPMI-8226 세포(BCMA+)에 대한 Anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체의 결합 능력을 나타낸다. 결과에 따르면, BCMA량·중 발현의 표적 세포에 있어서, PC1, PC2, PC3 및 BC24는 모두, Celgene BM보다도, 표적 항원에 대한 최대 결합량이 우수하였다. BCMA 저발현의 표적 세포에 있어서, PC3 및 BC24는, 다른 시료보다도, 표적 항원에 대한 결합이 우수하였다.

[0468] [표 11]

각 세포에 있어서의 각 피험 시료의 표적 세포에 대한 결합의 EC50값 및 최대 결합량

시료명	NCI-H929		MM1S	
	EC ₅₀ (nM)	Top(MFI)	EC ₅₀ (nM)	Top(MFI)
셀진 BM	0.8207	165553	0.3808	71438
BC24	1.556	185797	0.535	106924
PC1	1.261	226017	0.3503	100056.5
PC2	1.035	233759	0.311	114684
PC3	0.8366	222679.5	0.3378	123519
음성 대조	67.32	4046	/	7405

[0469]

[0470] (실시예 12) Anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체와 T 세포 표면 CD3의 결합

[0471] 플로 사이토메트리에 의해, Anti-BCMA/anti-CD3 항체(BC24, PC1, PC2, PC3, Celgene BM을 포함한다.)와 T 세포 표면 CD3의 결합을 분석하였다. 음성 대조는 트라스투주맙을 사용하였다.

[0472] 상세한 실험 수순은 이하와 같다.

[0473] 인간 PBMC 세포는, 이하와 같이, CD3 자기 비즈(Miltenyi, 카탈로그 번호 130-097-043)에 의한 CD3⁺T 세포의 분리를 행하였다. 동결 보존한 PBMC을 일으키고, 2회 원심 세정하여 계수하였다. 10⁷개의 세포당 80 μl의 런닝 버퍼(MACS, 카탈로그 번호 130-091-221)의 비율로 버퍼를 첨가하고, 10⁷개의 세포당 20 μl의 CD3 자기 비즈를 첨가하고, 잘 섞은 후, 4℃에서 15분간 인큐베이트하였다. 10⁷개의 세포당 1 내지 2ml의 버퍼를 첨가하여 세포를 세정하고, 원심 처리하여 상청을 버린 후, 500 μl의 버퍼를 첨가하여 세포 펠렛을 재현탁시켰다. LS 분리 칼럼(Miltenyi, 카탈로그 번호 130-042-401)을 MidiMACS Starting Kit(LS) 자기 스탠드(Miltenyi, 카탈로그 번호 130-091-051)에 설치하고, 행군 후, 세포 현탁액을 첨가하고, 3회 세정하였다. LS 분리 칼럼을 자기 스탠드로부터 분리하고, 청결한 원심관에 두고, 5ml의 버퍼를 첨가하고, 분리에 의해 얻어진 CD3⁺T 세포를 회수하였다. 계수 후, 2% FBS(소 태아 혈청)를 포함하는 RPMI 배지(Hyclone, 카탈로그 번호 SH30809.01)를 사용하여, CD3⁺T 세포를 세포 밀도가 5×10⁶ 내지 10×10⁶ cells/ml이 되도록 조정하고, 96웰 U자형 세포 배양 플레이트(Costar, 카탈로그 번호 : 3799)에 1웰당 50 μl씩 파종하였다. 상기 배지를 사용하여 여러가지 농도의 피험 항체를 조제하고, 항체 농도는 최대 2200nM이고, 5배 단계 희석하여 합계 10 농도 단계로 하였다. 각 농도의 항체를 상기 96웰 세포 배양 플레이트에 1웰당 50 μl씩 첨가하고, 잘 섞은 후, 4℃에서 1시간 인큐베이트하였다. 예랭한 런닝 버퍼(MACS, 카탈로그 번호 130-091-221)를 첨가하여 세포를 세정한 후, 상청을 버리고, 예랭한 형광 표지 양 항인간 IgG 항체(Jackson, 카탈로그 번호 109-116-170)를 1웰당 100 μl씩 첨가하여 재현탁시키고, 잘 섞은 후, 4℃에서 30분간 인큐베이트하였다. 세정 후, 예랭한 런닝 버퍼 100 μl을 첨가하여 세포를 재현탁시키고, 잘 섞은 후, 플로 사이토미터 Attune TM NxT로 플로 컬렉션을 행하고, 소프트웨어 Graphpad Prism5에 의해 데이터 분석을 하였다.

[0474] 도 10, 표 12는, CD3⁺T 세포에 대한 Anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체의 결합 능력을 나타낸다. 결과에 따르면, 각 Anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체는 모두, CD3⁺T 세포에 결합 가능하였다.

[0475] [표 12]

CD3 ⁺ T 세포에 대한 피험 항체의 결합의 EC50 및 최대 결합량		
시료명	EC ₅₀ (nM)	Top(MFI)
셀진 BM	18.12	93499
BC24	38.34	162535
PC1	485.4	92854
PC2	~461.6	37242
PC3	85.81	98353
음성 대조	NA	5980

[0476]

[0477] (실시예 13) Anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체에 의한 다발성 골수종 표적 세포 NCI-H929의 살상

[0478] 인간 PBMC(말초혈 단핵구)로 T 세포를 부여하고, 항체(BC24, PC1, PC2, PC3, Celgene BM을 포함한다.)에 의해 유도되는 표적 세포(NCI-H929 BCMA+++, 남경 과백 생물로부터 입수)에 대한 살상 효과를 연구하였다. 음성 대조는 트라스투주맙을 사용하였다.

[0479] 상세한 실험 수순은 이하와 같다.

[0480] 표적 세포 NCI-H929 세포 2% FBS(소 태아 혈청)를 포함하는 1640 실험용 배지를 사용하여, 세포 밀도가 5×10⁵ cells/ml이 되도록 조정하고, 96웰 세포 배양 플레이트(eppendorf, 카탈로그 번호 : 0030730199)에 1웰당 50 μl씩 파종하였다. 실험용 배지를 사용하여 여러가지 농도의 피험 항체를 조제하고, 항체 농도는 최대 8nM이고, 5배 단계 희석하여 합계 10 농도 단계로 하였다. 각 농도의 항체를 상기 96웰 세포 배양 플레이트에 1웰당 50 μl로 첨가하였다. 이펙터 세포인 인간 PBMC을, 실험용 배지를 사용하여, 세포 밀도가 2.5×10⁶ cells/ml이 되도록 조정하고, 1웰당 100 μl씩 첨가하였다. 투여군(표적 세포 50 μl+이펙터 세포 100 μl+항체 50 μl), 표적 세포군(표적 세포 50 μl+배지 150 μl), 이펙터 세포군(인간 PBMC 100 μl+배지 100 μl), 표적 세포+이펙터 세포군(표적 세포 50 μl+이펙터 세포 100 μl+배지 50 μl), 블랭크 대조군(배지 200 μl) 및 용해액

대조군(배지 200 μ l+용해액 20 μ l), 표적 세포 최대 방출군(표적 세포 50 μ l+배지 150 μ l+용해액 20 μ l)을 마련하고, 이펙터 세포와 표적 세포의 비를 10:1로 하고, 24시간 공배양하였다. 측정의 45분 전에, 표적 세포 최대 방출군 및 용해액 대조군에 용해액(Promega, 카탈로그 번호 G182A)을 20 μ l/웰로 첨가하였다. CytoTox96[®] 비 방사성 세포 독성 어레이 키트 CytoTox96[®] (cytotox 96 nonradioactive cytotoxicity assay, Promega, G1780)을 사용하여 세포 용해율을 측정하였다.

$$\text{용해율}(\%) = (\text{OD}_{\text{투여군}} - \text{OD}_{\text{표적 세포+이펙터 세포군}}) / (\text{OD}_{\text{표적 세포 최대 방출군}} - \text{OD}_{\text{표적 세포군}}) \times 100\%$$

도 11, 표 13은, Anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체가 유도한 이펙터 세포에 의한 NCI-H929/BCMA+++ 종양 세포의 용해율을 나타낸다. anti-BCMA/anti-CD3 항체 PC1은, PC2 및 PC3보다도 우수한 세포 살상 효과를 유도하였다. PC1의 EC50은 약 0.067nM이며, PC2 및 PC3의 EC50은 각각 약 0.53nM 및 0.19nM이었다. BC24 및 Celgene BM은, PC1, PC2 및 PC3보다도 NCI-H929에 대한 살상 효과가 우수하였다. BC24의 EC50은 약 0.022nM이며, Celgene BM의 EC50은 약 0.044nM이었다.

[표 13]

각 피험 시료에 의한 NCI-H929 세포의 용해의 EC50값 및 최대 용해율

시료명	EC ₅₀ (nM)	최대 용해율
PC1	0.06736	36%
PC2	0.5268	38%
PC3	0.1871	35%
BC24	0.02177	40%
셀진 BM	0.04435	41%

(실시예 14) Anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체에 의한 다발성 골수종 표적 세포 MM1S에 대한 살상

인간 PBMC(말초혈 단핵구)로 T 세포를 부여하고, 항체(BC24, PC1, PC2, PC3, Celgene BM을 포함한다.)에 의해 유도되는 표적 세포(MM1S BCMA++, 복납 생물로부터 입수)에 대한 살상 효과를 연구하였다. 음성 대조는 트라스 투주맵을 사용하였다.

상세한 실험 수순은 이하와 같다.

표적 세포인 MM1S 세포를, 2% FBS(소 태아 혈청)를 포함하는 1640 실험용 배지를 사용하여, 세포 밀도가 5×10^5 cells/ml이 되도록 조정하고, 96웰 세포 배양 플레이트(ependorf, 카탈로그 번호 : 0030730199)에 1웰당 50 μ l씩 파종하였다. 실험용 배지를 사용하여 여러가지 농도의 피험 항체를 조제하고, 항체 농도는 최대 8nM이고, 5배 단계 희석하여 합계 10 농도 단계로 하였다. 각 농도의 항체를 상기 96웰 세포 배양 플레이트에 1웰당 50 μ l로 첨가하였다. 이펙터 세포인 인간 PBMC를, 실험용 배지를 사용하여, 세포 밀도가 2.5×10^6 cells/ml이 되도록 조정하고, 1웰당 100 μ l씩 첨가하였다. 투여군(표적 세포 50 μ l+이펙터 세포 100 μ l+항체 50 μ l), 표적 세포군(표적 세포 50 μ l+배지 150 μ l), 이펙터 세포군(인간 PBMC 100 μ l+배지 100 μ l), 표적 세포+이펙터 세포군(표적 세포 50 μ l+이펙터 세포 100 μ l+배지 50 μ l), 블랭크 대조군(배지 200 μ l) 및 용해액 대조군(배지 200 μ l+용해액 20 μ l), 표적 세포 최대 방출군(표적 세포 50 μ l+배지 150 μ l+용해액 20 μ l)을 마련하고, 이펙터 세포와 표적 세포의 비를 10:1로 하고, 24시간 공배양하였다. 측정의 45분 전에, 표적 세포 최대 방출군 및 용해액 대조군에 용해액(Promega, 카탈로그 번호 G182A)을 20 μ l/웰로 첨가하였다. CytoTox96[®] 비 방사성 세포 독성 어레이 키트 CytoTox96[®] (cytotox 96 nonradioactive cytotoxicity assay, Promega, G1780)을 사용하여 세포 용해율을 측정하였다.

$$\text{용해율}(\%) = (\text{OD}_{\text{투여군}} - \text{OD}_{\text{표적 세포+이펙터 세포군}}) / (\text{OD}_{\text{표적 세포 최대 방출군}} - \text{OD}_{\text{표적 세포군}}) \times 100\%$$

도 12, 표 14는, Anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체가 유도한 이펙터 세포에 의한 MM1S/BCMA++ 종양 세포의 용해율을 나타낸다. anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체 PC1은, PC2 및 PC3보다도 우수한 세포 살상을 유도하였다. PC1의 EC50은 약 0.0084nM이며, PC2 및 PC3의 EC50은 각각 약 0.061nM 및 0.041nM이었다. PC3은, 보다 나은 최대 용해율을 나타냈다. Celgene BM은, MM1S에 대한 살상 효과가 가장 약하고, EC50이 약 0.085nM이며, 최대 용해율이 23%였다.

[0491] [표 14]

각 시험 시료에 의한 MM1S 세포의 용해의 EC50값 및 최대 용해율

시료명	EC ₅₀ (nM)	최대 용해율
PC1	0.008398	26%
PC2	0.06052	28%
PC3	0.04069	36%
BC24	0.009373	21%
셀진 BM	0.08465	23%

[0492]

[0493] (실시예 15) Anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체에 의한 다발성 골수종 표적 세포 RPMI-8226에 대한 살상

[0494] 인간 PBMC(말초혈 단핵구)로 T 세포를 부여하고, 항체(BC24, PC1, PC2, PC3, Celgene BM을 포함한다.)에 의해 유도되는 표적 세포(RPMI-8226 BCMA+, 중국 의학 과학원 기초 의학 연구소 기초 의학 세포 센터로부터 입수)에 대한 살상 작용을 연구하였다. 음성 대조는 트라스투주맙을 사용하였다.

[0495] 상세한 실험 수순은 이하와 같다.

[0496] 표적 세포인 RPMI-8226 세포를, 2% FBS(소 태아 혈청)를 포함하는 1640 실험용 배지를 사용하여, 세포 밀도가 5×10^5 cells/ml이 되도록 조정하고, 96웰 세포 배양 플레이트(ependorf, 카탈로그 번호 : 0030730199)에 1웰당 50 μ l씩 파종하였다. 실험용 배지를 사용하여 여러가지 농도의 시험 항체를 조제하고, 항체 농도는 최대 8nM이고, 5배 단계 희석하여 합계 10 농도 단계로 하였다. 각 농도의 항체를 상기 96웰 세포 배양 플레이트에 1웰당 50 μ l로 첨가하였다. 이펙터 세포인 인간 PBMC를, 실험용 배지를 사용하여, 세포 밀도가 2.5×10^6 cells/ml이 되도록 조정하고, 1웰당 100 μ l씩 첨가하였다. 투여군(표적 세포 50 μ l+이펙터 세포 100 μ l+항체 50 μ l), 표적 세포군(표적 세포 50 μ l+배지 150 μ l), 이펙터 세포군(인간 PBMC 100 μ l+배지 100 μ l), 표적 세포+이펙터 세포군(표적 세포 50 μ l+이펙터 세포 100 μ l+배지 50 μ l), 블랭크 대조군(배지 200 μ l) 및 용해액 대조군(배지 200 μ l+용해액 20 μ l), 표적 세포 최대 방출군(표적 세포 50 μ l+배지 150 μ l+용해액 20 μ l)을 마련하고, 이펙터 세포와 표적 세포의 비율 10:1로 하고, 24시간 공배양하였다. 측정의 45분 전에, 표적 세포 최대 방출군 및 용해액 대조군에 용해액(Promega, 카탈로그 번호 G182A)을 20 μ l/웰로 첨가하였다. CytoTox96[®] 비방사성 세포 독성 어세이 키트 CytoTox96[®] (cytotox 96 nonradioactive cytotoxicity assay, Promega, G1780)을 사용하여 세포 용해율을 측정하였다.

[0497] 용해율(%) = $(OD_{\text{투여군}} - OD_{\text{표적 세포+이펙터 세포군}}) / (OD_{\text{표적 세포 최대 방출군}} - OD_{\text{표적 세포군}}) \times 100\%$

[0498] 도 13, 표 15는, Anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체가 유도한 이펙터 세포에 의한 RPMI-8226/BCMA+ 종양 세포의 용해율을 나타낸다. Anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체 PC1은, BC24와 비교하여, RPMI-8226에 대한 최대 용해율이 동등했지만, 더 낮은 EC50을 나타냈다. PC2와 PC3은, RPMI-8226에 대한 살상 효과가 동등하며, PC2 및 PC3의 EC50이 각각 0.0185nM 및 0.0142nM이며, 최대 용해율이 모두 39%였다. Celgene BM은, RPMI-8226에 대한 살상 효과가 가장 약하고, EC50이 0.27nM이며, 최대 용해율이 29%였다.

[0499] [표 15]

각 시험 시료에 의한 RPMI-8226 세포의 용해의 EC50값 및 최대 용해율

시료명	EC ₅₀ (nM)	최대 용해율
PC1	0.0070	29%
PC2	0.0185	39%
PC3	0.01419	39%
BC24	0.01129	29%
셀진 BM	0.2712	29%

[0500]

[0501] (실시예 16) Anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체에 의해 유도되는 T 세포 활성화

[0502] CD69 및 CD25는 T 세포 활성화 마커이다. 본 실시예는, 골수종 표적 세포의 존재 하에서 다중 특이성 항체(BC24, PC1, PC2, PC3, Celgene BM을 포함한다.)에 의한 T 세포의 활성화 분석에 관한 것이다. 음성 대조(NC)는 트라스투주맙을 사용하였다.

- [0503] 상세한 실험 수준은 이하와 같다.
- [0504] 표적 세포인 NCI-H929 세포 및 MM1S를 각각, 2% FBS(소 태아 혈청)를 포함하는 1640 실험용 배지를 사용하여, 세포 밀도가 5×10^5 cells/ml이 되도록 조정하고, 96웰 세포 배양 플레이트(eppendorf, 카탈로그 번호 : 0030730199)에 1웰당 50 μ l씩 파종하였다. 실험용 배지를 사용하여 여러가지 농도의 피험 항체를 조제하고, 항체 농도는 최대 8nM이고, 5배 단계 희석하여 합계 10 농도 단계로 하였다. 각 농도의 항체를 상기 96웰 세포 배양 플레이트에 1웰당 50 μ l로 첨가하였다. 이펙터 세포인 인간 PBMC을, 실험용 배지를 사용하여, 세포 밀도가 2.5×10^6 cells/ml이 되도록 조정하고, 1웰당 100 μ l씩 첨가하였다. 투여군(표적 세포 50 μ l+이펙터 세포 100 μ l+항체 50 μ l), 비투여군(배지 50 μ l+이펙터 세포 100 μ l+항체 50 μ l), 표적 세포군(표적 세포 50 μ l+배지 150 μ l), 이펙터 세포군(인간 PBMC 100 μ l+배지 100 μ l), 표적 세포+이펙터 세포군(표적 세포 50 μ l+이펙터 세포 100 μ l+배지 50 μ l), 블랭크 대조군(배지 200 μ l)을 마련하고, 음성 대조 항체 NC로서 트라스투주맙을 사용하여, 이펙터 세포와 표적 세포의 비를 10:1로 하고, 24시간 공배양하였다. 원심 처리하여 상청을 제거하고, 예랭한 런닝 버퍼(MACS, 카탈로그 번호 130-091-221)를 사용하여 세포를 원심 세정하고, 상청의 제거 후에 런닝 버퍼를 1웰당 100 μ l씩 첨가하고, 세포를 잘 섞고, CD4-BV421(BD, 카탈로그 번호 564713), CD8-PE-Cy7(BD, 카탈로그 번호 557746), CD25-APC(BD, 카탈로그 번호 555434), CD69-FITC(BD, 카탈로그 번호 555530)를 각각 1웰당 2.5 μ l 첨가하고, 얼음 상에서 30분간 인큐베이트하였다. 예랭한 런닝 버퍼로 세포를 세정하고, 런닝 버퍼를 75 μ l/웰로 첨가하여 세포를 재현탁시키고, 잘 섞은 후, 플로 사이토미터로 분석하였다.
- [0505] 도 14, 15는, Anti-BCMA/anti-CD3 항체 농도가 8nM이었을 때의, 표적 세포 NCI-H929 또는 MM1S의 존재 하 및 비존재 하에서의 T 세포의 활성화도를 나타내고, 종축은, 활성화 마커 CD25 또는 CD69가 양성인 CD8 또는 CD4 세포의 비율을 나타내고, 횡축은 군별을 나타낸다. 도면 중, CD4+CD25+/CD4+은, 어떤 군의 CD4 세포 중 CD25가 양성인 CD4 세포가 차지하는 비율을 나타내고, CD4+CD69+/CD4+은, 어떤 군의 CD4 세포 중 CD69가 양성인 CD4 세포가 차지하는 비율을 나타내고, CD8+CD25+/CD8+은, 어떤 군의 CD8 세포 중 CD25가 양성인 CD8 세포가 차지하는 비율을 나타내고, CD8+CD69+/CD8+은, 어떤 군의 CD8 세포 중 CD69가 양성인 CD8 세포가 차지하는 비율을 나타낸다. 결과에 따르면, 표적 세포의 비존재 하에서는, T 세포는 거의 활성화되지 않았지만, 표적 세포의 존재 하에서는, 항체 BC24, PC1, PC2, PC3은 T 세포를 활성화할 수 있었다.
- [0506] (실시예 17) Anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체에 의해 유도되는 사이토카인의 방출
- [0507] IL-2, IL-6, TNF- α 및 IFN- γ 의 함유량을 측정함으로써, 표적 세포의 존재 하에서 다중 특이성 항체에 의해 유도되는 사이토카인의 방출을 연구하였다. 사이토카인 방출량에 의해 다중 특이성 항체의 안전성을 평가하였다.
- [0508] 상세한 실험 수준은 이하와 같다.
- [0509] 표적 세포인 NCI-H929 세포를, 2% FBS(소 태아 혈청)를 포함하는 1640 실험용 배지를 사용하여, 세포 밀도가 5×10^5 cells/ml이 되도록 조정하고, 96웰 세포 배양 플레이트(eppendorf, 카탈로그 번호 : 0030730199)에 1웰당 50 μ l씩 파종하였다. 실험용 배지를 사용하여 여러가지 농도의 피험 항체를 조제하고, 항체 농도는 최대 8nM이고, 5배 단계 희석하여 합계 10 농도 단계로 하였다. 각 농도의 항체를 상기 96웰 세포 배양 플레이트에 1웰당 50 μ l로 첨가하였다. 이펙터 세포인 인간 PBMC을, 실험용 배지를 사용하여, 세포 밀도가 2.5×10^6 cells/ml이 되도록 조정하고, 1웰당 100 μ l씩 첨가하였다. 표준품군, 투여군(표적 세포 50 μ l+이펙터 세포 100 μ l+항체 50 μ l), 표적 세포군(표적 세포 50 μ l+배지 150 μ l), 이펙터 세포군(인간 PBMC 100 μ l+배지 100 μ l), 표적 세포+이펙터 세포군(표적 세포 50 μ l+이펙터 세포 100 μ l+배지 50 μ l), 이펙터 세포+항체군(이펙터 세포 100 μ l+항체 50 μ l+배지 50 μ l), 블랭크 대조군(배지 200 μ l)을 마련하고, 이펙터 세포와 표적 세포의 비를 10:1로 하고, 24시간 공배양하였다. 원심 처리하여 상청을 취하고, human-IL2 kit(Cisbio, 카탈로그 번호 62HIL02PEG), human-IL6 kit(Cisbio, 카탈로그 번호 62HIL06PEG), human-TNF- α kit(Cisbio, 카탈로그 번호 62HTNFAPEG), human-IFN- γ kit(Cisbio, 카탈로그 번호 62HIFNGPEG) 어세이 키트를 사용하여, 키트의 설명서에 따라서 시료를 처리하고, 마이크로플레이트 리더(Molecular Devices, 제품 번호 Paradigm)를 사용하여 측정 분석을 하였다.
- [0510] 전체 시료의 Ratio값을 구하고, 표준품 Ratio(Net)를 Y축으로 하고, Log(표준품의 농도값)를 X축으로 하고, Graph Pad Prism을 사용하여 4 파라미터 피팅을 행하고, 표준품 및 피험품의 Ratio(Net)값을 각각 대입하여 그의 log(농도 측정값)를 얻고, 피험품의 각 사이토카인의 농도 측정값을 산출하였다.
- [0511] 도 16, 표 16은, 각 농도의 Anti-BCMA/anti-CD3 항체와 NCI-H929 세포와 이펙터 세포의 24시간 공배양 후의 사이토카인 IL-2, IL-6, TNF- α 및 IFN- γ 의 방출량을 나타낸다. 각 피험 항체는 모두, IL-2의 방출이 낮았다.

본 발명의 BC24, PC1, PC2 및 PC3 다중 특이성 항체는, Celgene BM보다도 낮은 사이토카인 IL-6, TNF- α 및 IFN- γ 의 방출 레벨을 갖고, 보다 나은 안전성을 나타냈다.

[표 16]

각 시험 항체의 사이토카인 최대 방출량				
시료명	IL-2(pg/ml)	IL-6(pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	IFN- γ (pg/ml)
PC1	112.06	964.63	302.56	5463.63
PC2	82.49	1	42.69	2841.61
PC3	97.51	3045.68	371.69	14391.37
BC24	88.07	260.3	200.25	4753.13
셀진 BM	117.37	3040.77	464.18	21552.72

(실시예 18) 마우스 종양 모델에 있어서의 Anti-BCMA/anti-CD3 이중 항체에 의한 다발성 골수종 표적 세포 NCI-H929의 증식 저해

인간 골수종 NCI-H929 세포 마우스 모델을 사용하여, Anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체의 항종양 활성을 분석하였다. NCI-H929 세포가 7.5×10^6 개/마리, hPBMc 인간 말초 림프구가 0.5×10^6 개/마리가 되도록, 양자를 혼합한 후, 멸균 조건 하에서 8 내지 10주령의 암형 B-NDG 마우스(Biocytogen사로부터 입수. 증명서 번호: 320726200100179034)의 우측 겨드랑이에 접종하였다. 피하 이식 종양의 접종 후, 종양 체적이 100 내지 300mm³에 달한 시점에서, 동물을 랜덤하게 ① 모델군(블랭크 대조군, 생리 식염수)과, ② PC1군(시험 항체 PC1)의 2군으로 나누었다. 0일째에 마우스를 군 분류하고, 주 2회로 1주일 투여하고, 투여량은 1.5mpk, 투여 체적은 10ml/kg로 하였다. 3일마다 체중 및 종양 직경을 측정하고, 동물의 상태를 매일 관찰하고, 17일째에 관찰을 중지하였다. 실험 중, 각각 0, 4, 8, 11, 14, 17일째에 종양 체적을 측정하였다. 하기의 식에 의해 종양 체적 및 종양 저해율을 산출하였다.

종양 체적(TV)=(길이 $\times$ 폭²)/2

상대적 종양 체적(RTV)=TV_t/TV₀

(식 중, TV₀은 군 분류 시의 종양 체적이며, TV_t는 각 측정 시의 종양 체적이다.)

상대적 종양 성장률 T/C(%)=(T_{RTV}/C_{RTV}) $\times$ 100%

(식 중, T_{RTV}는 치료군의 RTV이며, C_{RTV}는 블랭크 대조군의 RTV이다.)

종양 저해율(TGI)=(1-T/C) $\times$ 100%.

실험 결과를 도 17에 도시한다. 모델군과 비교하여, PC1 항체 투여군은 인간 다발성 골수종 NCI-H929 피하 이식 종양의 성장을 현저하게 저해하였다. PC1 항체는, 8, 11, 14, 17일째의 종양 저해율이 각각 84.4%, 90.9%, 94.2%, 95.5%였다.

(실시예 19) 게잡이 원숭이에 있어서의 Anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체에 1회의 정맥 내 주사의 약물 동태

게잡이 원숭이(번호 1M01-1M03, 2M01-2M03, 1용량군당 3마리, 수형, 체중: 2 내지 3kg)에 PC1 주사액을 1회 정맥 내 주입하였다. PC1 다중 특이성 항체의 투여량은 1 또는 9mg/kg으로 하고, 정맥 내 주입 시간은 30분으로 하였다. 투여 전 및 투여 후의 각 시점에서 혈액 샘플을 채취하고, 1시간 이내에 혈액 샘플을 4000rpm으로 약 10분간(2 내지 8℃) 원심 처리하여 혈청을 분리하였다. ELISA법에 의해 각 시점의 혈액 샘플 중의 약물 농도를 측정하였다. 샘플링은, 0시간(투여 전), 투여 완료로부터 0.5, 4, 24, 48, 96, 168, 240, 336시간 후에 행하였다.

각 파라미터는 이하와 같다.

C_{max}: 관찰된 최대 약물 농도

AUC: 혈장 중 농도-시간 곡선 하 면적

[0528]

$T_{1/2}$: 반감기

[0529]

Cl: 클리어런스

[0530]

MRT: 약물 유지 시간

[0531]

실험 결과에 따르면, Anti-BCMA/anti-CD3 다중 특이성 항체를 1mg/kg, 9mg/kg로 1회 정맥 내 주입한 결과, 약물의 최종 소실 반감기 $t_{1/2}$ 는 각각 105시간, 112시간이며, C_{max} 는 각각 19, 200 $\mu\text{g/mL}$ 이며, AUC_{last} 는 각각 700h $\cdot \mu\text{g/mL}$, 7200h $\cdot \mu\text{g/mL}$ 였다. 혈청 중의 본 약제의 폭로량은 실질적으로 용량에 비례하여 증가함을 알았다.

[0532]

[표 17]

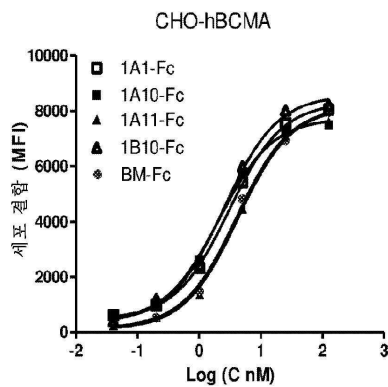
계잡이 원숭이에 있어서의 PC1 주사액 1, 9mg/kg의 1회의 정맥 내 주사 후의 주된 평균 약물 동태 파라미터

군	C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	AUC_{last} (h $\cdot\mu\text{g/mL}$)	$t_{1/2}$ (h)	Cl (mL/h/kg)	MRT_{last} (h)
1 mg/kg	19	700	105	1.417	70
9 mg/kg	200	7200	112	1.174	66

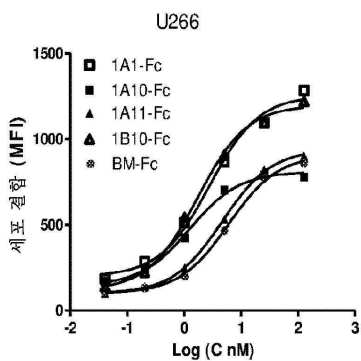
[0533]

도면

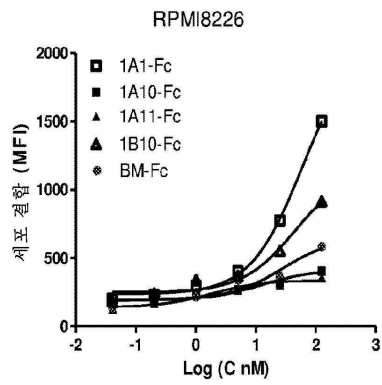
도면1a



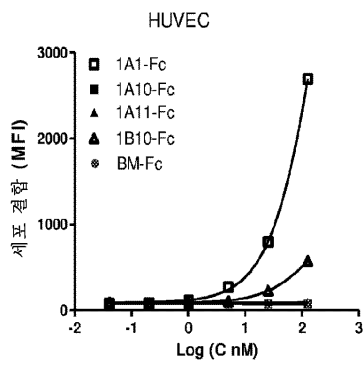
도면1b



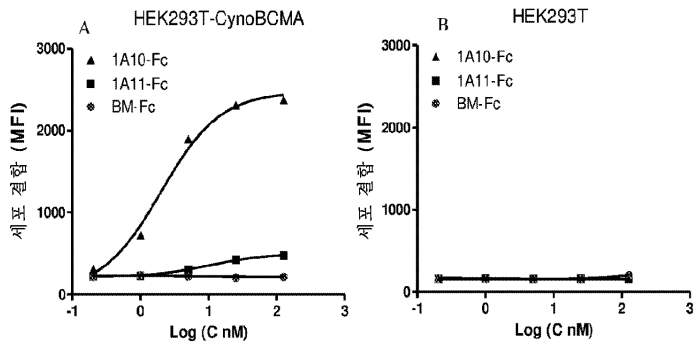
도면1c



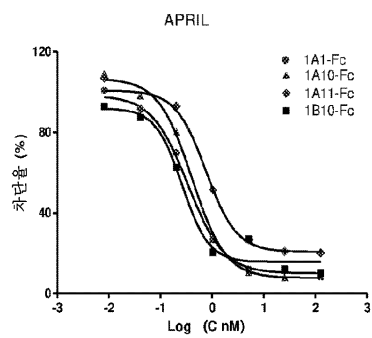
도면1d



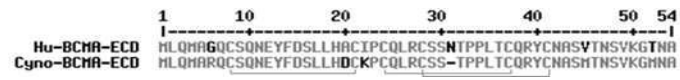
도면2



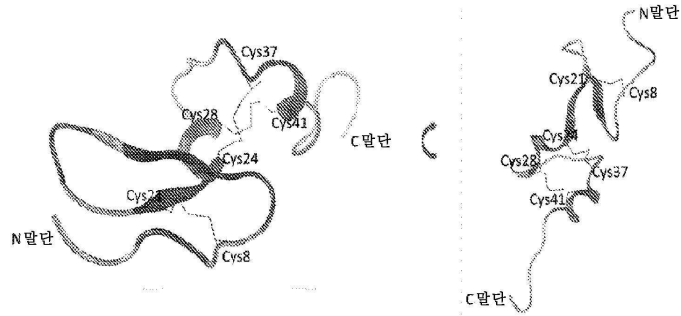
도면3



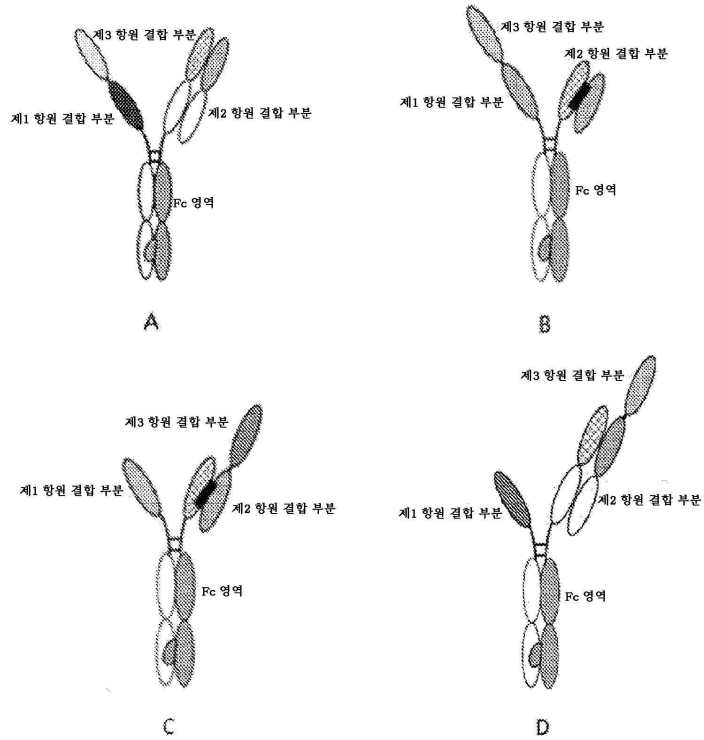
도면4a



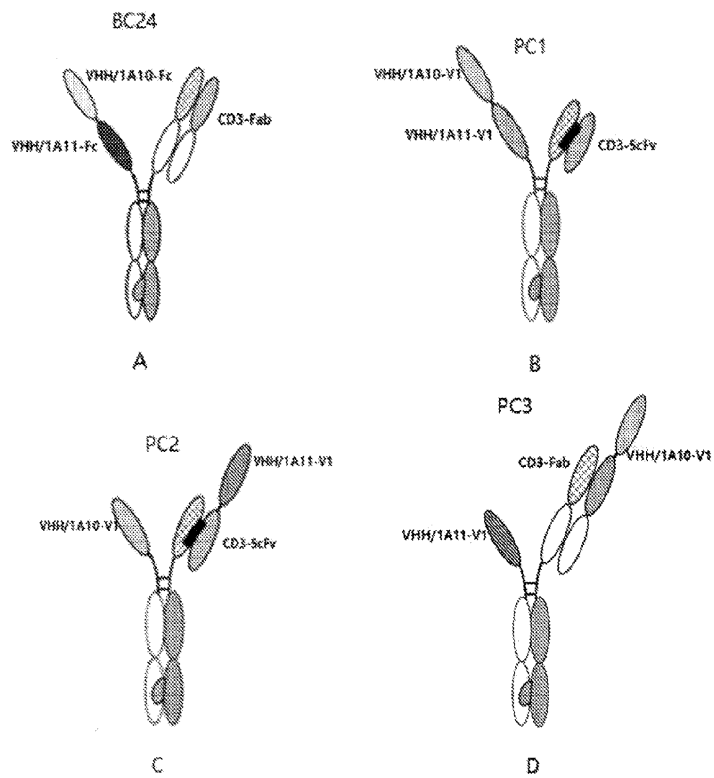
도면4b



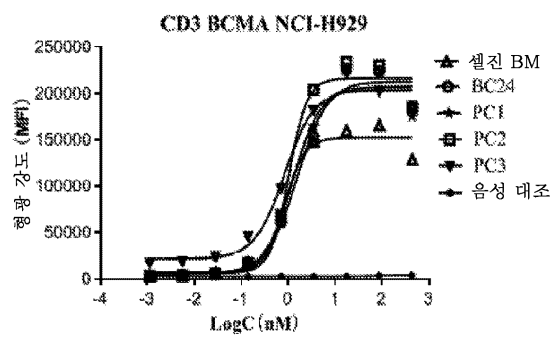
도면5



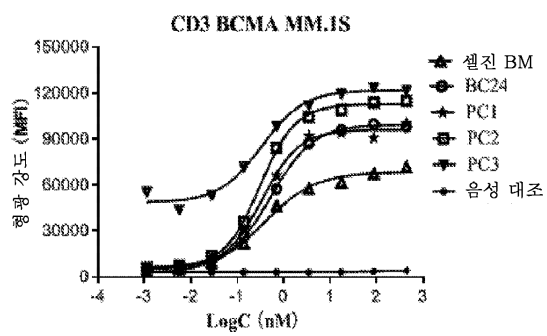
도면6



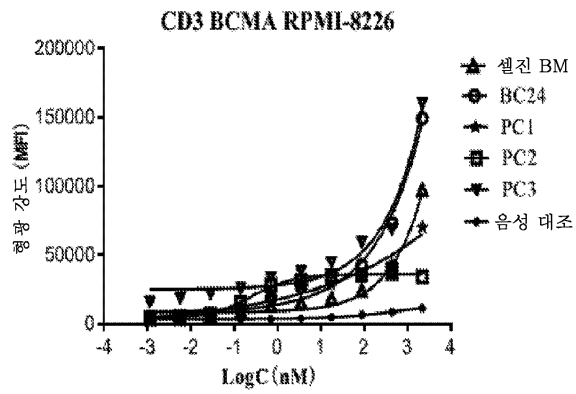
도면7



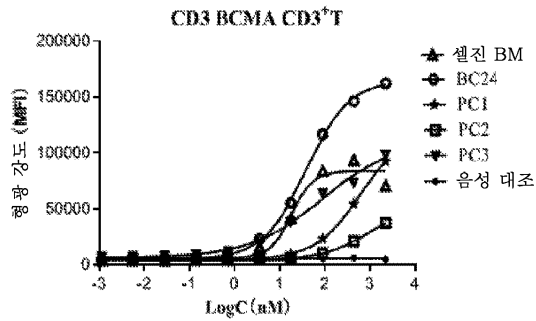
도면8



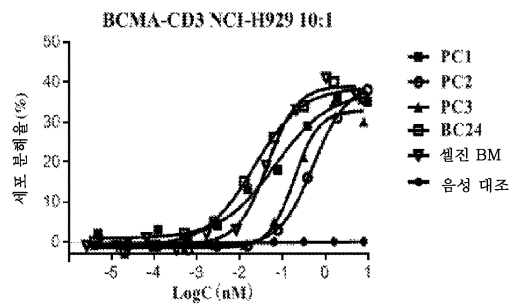
도면9



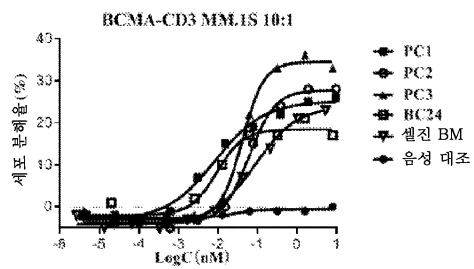
도면10



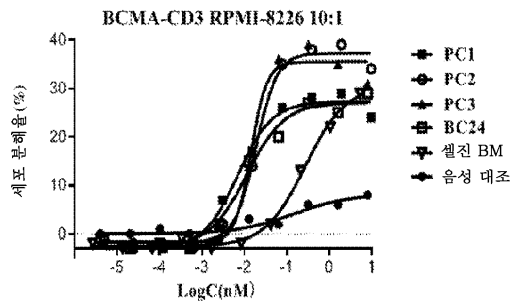
도면11



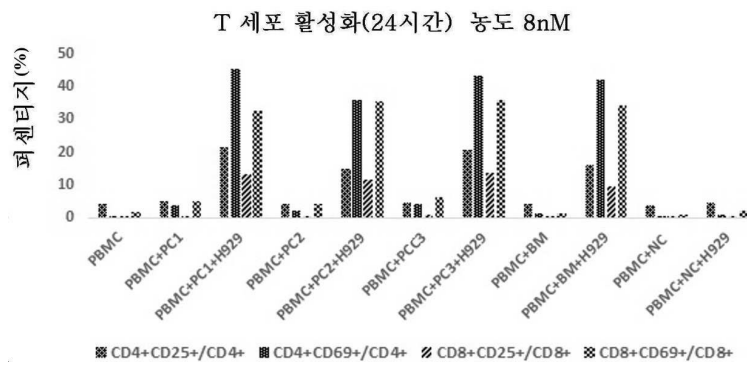
도면12



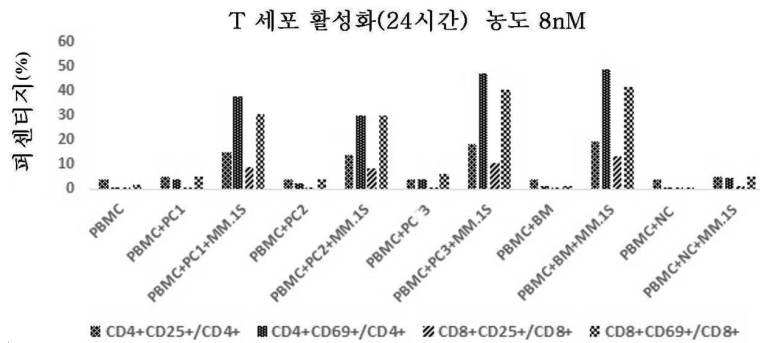
도면13



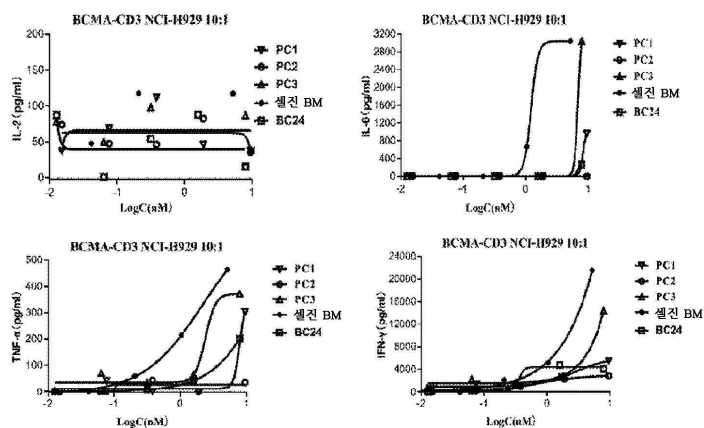
도면14



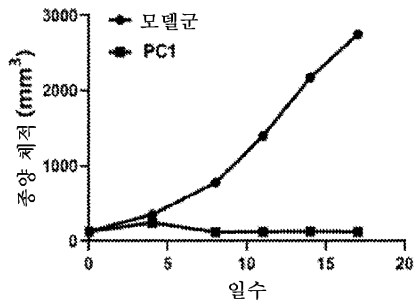
도면15



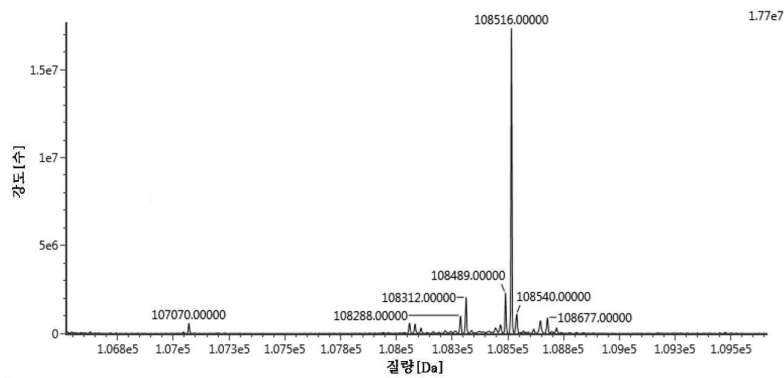
도면16



도면17



도면18



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> CHIA TAI TIANQING PHARMACEUTICAL GROUP CO., LTD.

<120> MULTI-SPECIFIC ANTIBODY TARGETING BCMA

<150> CN202110405638.3

<151> 2021-04-15

<160> 84

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide linker

<400> 1

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 2

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide linker

<400> 2

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

1 5 10

<210> 3

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hinge region

<400> 3

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

1 5 10 15

<210> 4

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hinge region

<400> 4

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

1 5 10 15

<210> 5

<211> 232

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Human IgG1 constant region

<400> 5

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

50 55 60
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
65 70 75 80
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
85 90 95
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
100 105 110
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

115 120 125
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
130 135 140
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
165 170 175
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

180 185 190
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
210 215 220
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

225 230

<210> 6

<211> 183

<212> PRT

<213> Macaca fascicularis

<220><223> Full-length cynomolgus monkey BCMA

<400> 6

Met Leu Gln Met Ala Arg Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser
 1 5 10 15
 Leu Leu His Asp Cys Lys Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Thr Pro
 20 25 30
 Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Met Thr Asn Ser Val
 35 40 45
 Lys Gly Met Asn Ala Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu Ser Leu Ile
 50 55 60

Ile Ser Leu Ala Val Phe Val Leu Thr Phe Leu Leu Arg Lys Met Ser
 65 70 75 80
 Ser Glu Pro Leu Lys Asp Glu Phe Lys Asn Thr Gly Ser Gly Leu Leu
 85 90 95
 Gly Met Ala Asn Ile Asp Leu Glu Lys Gly Arg Thr Gly Asp Glu Ile
 100 105 110
 Val Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys Thr Cys Glu
 115 120 125

Asp Cys Ile Lys Asn Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp His Cys Phe Pro
 130 135 140
 Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile Leu Val Thr Thr Lys Thr
 145 150 155 160
 Asn Asp Tyr Cys Asn Ser Leu Ser Ala Ala Leu Ser Val Thr Glu Ile
 165 170 175
 Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg
 180

<210> 7

<211> 5

<212> PRT

<213> Camelus bactrianus

<220><223> 1A1 single variable domain CDR1

<400> 7

Gly Trp Asn Lys His

1 5

<210> 8
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Camelus bactrianus
 <220><223> 1A1 single variable domain CDR2
 <400> 8
 Ser Ile Phe Arg Asp Gly Lys Thr Ala Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 9
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Camelus bactrianus
 <220><223> 1A1 single variable domain CDR3
 <400> 9
 Asp Leu Pro Gly Ser Gly Leu Pro Ala Phe

1 5 10
 <210> 10
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Camelus bactrianus
 <220><223> 1A10 single variable domain CDR1
 <400> 10
 Val Ala Cys Met Ala

1 5
 <210> 11
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Camelus bactrianus
 <220><223> 1A10 single variable domain CDR2
 <400> 11
 Thr Ile Val Ala Asp Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Ala Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 12
<211> 14
<212> PRT

<213> Camelus bactrianus
<220><223> 1A10 single variable domain CDR3
<400> 12

Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr

1 5 10

<210> 13
<211> 5
<212> PRT

<213> Camelus bactrianus
<220><223> 1A11 single variable domain CDR1
<400> 13

Ser Ala Cys Met Gly

1 5

<210> 14
<211> 17
<212> PRT

<213> Camelus bactrianus
<220><223> 1A11 single variable domain CDR2
<400> 14

Arg Ile Glu Thr Gly Tyr Gly Gly Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 15
<211> 17
<212> PRT

<213> Camelus bactrianus
<220><223> 1A11 single variable domain CDR3
<400> 15

Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp Trp His Glu Leu Asp Tyr Asn

1 5 10 15

Tyr

<210> 16

<211> 5

<212> PRT

<213> Camelus bactrianus

<220><223> 1B10 single variable domain CDR1

<400> 16

Gly Trp Asn Lys His

1 5

<210> 17

<211> 16

<212> PRT

<213> Camelus bactrianus

<220><223> 1B10 single variable domain CDR2

<400> 17

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

1 5 10 15

<210> 18

<211> 10

<212> PRT

<213> Camelus bactrianus

<220><223> 1B10 single variable domain CDR3

<400> 18

Asp Leu Pro Gly Ser Gly Leu Pro Glu Phe

1 5 10

<210> 19

<211> 118

<212> PRT

<213> Camelus bactrianus

<220><223> 1A1 single variable domain

<400> 19

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Arg Gly Trp
 20 25 30
 Asn Lys His Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Phe Arg Asp Gly Lys Thr Ala Tyr Thr Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ala Asp Ala Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Lys
 85 90 95
 Tyr Asp Leu Pro Gly Ser Gly Leu Pro Ala Phe Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 20

<211> 354

<212> DNA

<213> Camelus bactrianus

<220><223> 1A1 single variable domain

<400> 20

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc tcggtgcagg ccggagggtc tctgagactc 60
 tcctgtacag cctctggata caccttcagg ggctggaaca agcactggta ccgccaggct 120
 ccagggaagg agcgcgagtt ggtctcgagc atctttcgtg atgggaagac agcctataca 180
 gactccgtga agggccgatt caccatctct caagacaacg ccgacgcaac ggtgtatctg 240
 caaatgaaca gcctgaaacc tgaggacacg gccatgtatt actgtaaata cgatctgcct 300
 ggatctggtc ttctgcatt ctggggccag gggaccctgg tcaactgtctc atca 354

<210> 21

<211> 123

<212> PRT

<213> Camelus bactrianus

<220><223> 1A10 single variable domain

<400> 21

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ser Asn Val Ala

20 25 30

Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 22

<211> 369

<212> DNA

<213> Camelus bactrianus

<220><223> 1A10 single variable domain

<400> 22

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc tcggtgcagg ctggagggtc gctgagactc 60

tcctgtgccg cctccggata cagcagtaat gtggcatgca tggcctggta cgccaggct 120

ccagggaagg agcgcgagtg ggtcgcaact attgttgctg atttcggtac caciaactat 180

gccgcctccg tgaagggccg attcaccatc tccaagaca acgccaagaa cacggtgtat 240

ctgcaaatga acagcctgaa acctgaggac tctgcatgt actactgtgc ggcaaccag 300

agggggggta ttgactggtg tgatgaaatt aattactggg gccaggggac cctgggtcact 360

gtctcatca 369

<210> 23

<211> 126

<212> PRT

<213> Camelus bactrianus

<220><223> 1A11 single variable domain

<400> 23

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val

35 40 45

Ala Arg Ile Glu Thr Gly Tyr Gly Gly Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp Trp His Glu Leu Asp

100 105 110

Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 24

<211> 378

<212> DNA

<213> Camelus bactrianus

<220><223> 1A11 single variable domain

<400> 24

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc tcggtgcagg ctggagggtc tctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggagt cacttttaat agcgcagtga tgggttggtt ccgccaggct 120

ccaggaagg agcgcgaggg ggtcgacagt attgaaactg gttatggtgg cactgtctat 180

gccgactccg tgaagggacg attcaccatc tcccagagaca acgccaagaa cacgggtgtat 240

ctgcaaatga acagcctaaa acctgaggac actgccatgt actactgtgc ggctaagaga 300

tcctggtgta ctctacgtg gtggcacgaa cttgactata actactgggg acaggggacc 360
caggtcactg tctcatca 378

<210> 25
<211> 118
<212> PRT
<213> Camelus bactrianus

<220><223> 1B10 single variable domain
<400> 25

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Arg Gly Trp
20 25 30
Asn Lys His Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Val
35 40 45
Ser Ser Ile Phe Arg Asp Gly Lys Thr Ala Tyr Thr Asp Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Ser Ala Asp Ala Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Lys
85 90 95
Tyr Asp Leu Pro Gly Ser Gly Leu Pro Glu Phe Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 26
<211> 354
<212> DNA
<213> Camelus bactrianus
<220><223> 1B10 single variable domain
<400> 26

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc tcggtgcagg ccggagggtc tctgagactc 60
tcctgtacag cctctggata caccttcagg ggctggaaca agcactggtg ccgccaggct 120

ccaggaagg agcgcgagtt ggtctcgagt atctttctgt atgggaagac agcctataca 180
gactccgtga agggccgatt caccatctct caagacagcg cgcacgaac ggtgtatctg 240
caaatgaaca gcctgaaacc tgaggacacg gccatgtatt actgtaaata cgatctgcct 300
ggatctggtc ttcttgagtt ctggggccag gggaccctgg tcactgtctc atca 354

<210> 27

<211> 350

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1A1-Fc

<400> 27

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Arg Gly Trp

20 25 30

Asn Lys His Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Val

35 40 45

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

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ala Asp Ala Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Lys

85 90 95

Tyr Asp Leu Pro Gly Ser Gly Leu Pro Ala Phe Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

145 150 155 160

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

165 170 175

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

180 185 190
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
195 200 205
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
210 215 220
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
225 230 235 240
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

245 250 255
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
260 265 270
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
275 280 285
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
290 295 300
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

305 310 315 320
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
325 330 335
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
340 345 350

<210> 28

<211> 1050

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1A1-Fc

<400> 28

caagtgaac tgggtggagtc tggaggcggg tccgtgcagg ccggcggctc cctgagactg 60

tcctgcaccg cttccggcta caccttcaga ggctggaaca agcactggta tcggcaggct 120

cctggcaaag aaagagagct ggtgtcctcc atcttcggg acggcaagac cgcctacacc 180

gactccgtga agggcagatt caccatctct caggacaacg ccgacgccac agtgtacctg 240
 cagatgaact ctctgaagcc cgaggacacc gccatgtact actgcaagta cgacctgcct 300
 ggatctggcc tgcccgcctt ctggggccaa ggcacctgg taaccgtgtc gtccgagccc 360
 aagtcttgcg acaagaccca caccgtcct ccttgtcctg ctccggaact gctgggcggc 420
 ccttcctgtt tctgtttcc tccaaagcct aaggacacac tgatgatcag ccggaccctt 480
 gaggtgacct gcgtggtcgt ggatgtctct cagaggatc ctgaggtgaa gttcaactgg 540

tacgtggatg gagtgggaagt gcataacgct aaaaccaagc ctagagaaga gcagtacaac 600
 tccacctaca gagtgggtgc cgtgtgacc gtgtgcacc aggattggct gaacggcaaa 660
 gagtacaagt gcaagggtgc caacaaggct ctgcctgccc ctatcgagaa gaccatctcc 720
 aaggccaagg gccagcctcg ggagcctcaa gtgtacacc tgcctccttc tcgcgacgag 780
 ctgaccaaga accagggtgc tctgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc ctccgacatc 840
 gccgtggaat gggagtccea tggccagccc gagaacaact acaagaccac cccacctgtg 900
 ctggactctg atggctcctt cttcctgtac tccaagctga ccgtggacaa gtccagatgg 960

cagcagggca acgtgttctc ctgttctgtg atgcacgagg cctgcacaa cactacaca 1020
 cagaagtccc tgagcctgtc tcctggcaag 1050

<210> 29

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1A10-Fc

<400> 29

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ser Asn Val Ala

20 25 30

Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Met Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr

100

105

110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys

115

120

125

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

130

135

140

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

145

150

155

160

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

165

170

175

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

180

185

190

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

195

200

205

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

210

215

220

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

225

230

235

240

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

245

250

255

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

260

265

270

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

275

280

285

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

290

295

300

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

305

310

315

320

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

325

330

335

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

340

345

350

Pro Gly Lys

355

<210> 30

<211> 1065

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1A10-Fc

<400> 30

caggtgcaac tgggtggagtc tggcggcgga tctgtgcaag ctggcggatc cctgagactg 60
tcttgtgccg cticcggcta ctccctaac gtggcctgta tggcctggta cagacaggcc 120
cctggcaaag aaagagagtg ggtcgccacc atcgtggccg atttcggcac caccaattac 180
gccgcttcg tgaaggcgag attcaccatc tctcaggaca acgccaagaa caccgtgtac 240
ctgcagatga actccctgaa gcctgaggac tccgcatgt actactgcgc cgctacacag 300

cgcgaggca ttgattggtg cgacgagatt aactactggg gccaaaggcac cctggttacc 360
gtgtcctctg agcccaagtc ctgcgacaag acccacacct gtccacctg tctgcccc 420
gaactgctgg gcggtcccag cgtgttctctg tccccccca agcctaagga cacactgatg 480
atctctagaa cccctgaagt gacctgcgtg gtggtcgatg tatctcacga ggatcctgag 540
gtcaagtta actggtacgt ggacggagtg gaagtgcata atgctaagac caagcctaga 600
gaggaaacagt acaactccac ctacagagtg gtgtccgtgc tgaccgtgct gcaccaggat 660
tggctgaacg gcaaggagta caagtgaag gtgtccaaca aggtcttgcc tgcctctatc 720

gagaagacca tcagcaaggc caagggccag cctcgggagc ctcaagtga caccctgcct 780
ccttctcggg acgagctgac caagaaccag gtgtctctta catgcctggt gaaaggcttc 840
tacccttcg acatgcctgt ggaatgggag tccaatggcc agcccgagaa caactacaag 900
accacacctc ctgtgctgga ctctgacggc tccttcttcc tgtactcaa gctgacagtg 960
gataagtcca gatggcagca gggcaacgtg ttctctgct cctgatgca cgaggccctg 1020
cacaaccact acaccagaa gtctctgagc ctgtccctg gaaaa 1065

<210> 31

<211> 358

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1A11-Fc

<400> 31

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val

35 40 45

Ala Arg Ile Glu Thr Gly Tyr Gly Gly Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp Trp His Glu Leu Asp

100 105 110

Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu Pro

115 120 125

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

130 135 140

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 225 230 235 240
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 245 250 255

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
 260 265 270
 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 275 280 285
 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 290 295 300
 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 305 310 315 320

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 325 330 335
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 340 345 350
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 355

<210> 32

<211> 1074

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1A11-Fc

<400> 32

caggtgcagt tgggtgaatc tggcggcgga tctgtgcagg ctggcggatc tctgagactg 60
 tcctgtgccg ctccggcggt caccttcaac tccgcttgca tgggatgggt cagacaggcc 120

cctggcaaag agagagaggg cgctgctagg atcgagaccg gctatggcgg aaccgtctac 180
 gccgactccg tcaagggcag gttcaccatc agcagagaca acgccaagaa caccgtgtac 240
 ctgcagatga actccctgaa gcccgaggac accgcatgt actactgtgc tgccaagaga 300
 agctggtgca cccctacctg ttggcacgag ctggactaca actactgggg ccagggcaca 360
 caggtcaccg tgcctctga gcctaagtcc tgcgacaaga cccacacctg tcctccatgt 420
 cctgctccag aactgctcgg cggaccttcc gtgttctgt ttcctccaaa gcctaaggat 480

accctgatga tcctcggac ccctgaagtg acctgcgtgg tgggggatgt gtctcacgag 540

gatcccgaag tgaagttcaa ttggtacgtg gacggcgtgg aagtcacaa tgctaagacc 600

aagcctagag aggaacagta caactccacc tatagagtgg tgtccgtgct gaccgtgctg 660

caccaggatt ggctgaacgg caaagagtac aagtgaagg tgtccaacaa ggccctgcct 720

gctctatcg aaaagaccat ctccaaggcc aagggccagc ctaggaacc ccaggtttac 780

accttgcctc catctcgga cgagctgacc aagaaccagg tgtccctgac ctgtctggtc 840

aagggttctt acccctccga tatgccgtg gaatgggagt ctaatggcca gccagagaac 900

aactacaaga caacccctcc tgtgtggac tccgacggct cattcttctt gtactccaag 960

ctgacagtgg acaagtccag atggcagcag ggcaacgtgt tctcctgctc cgtgatgcac 1020

gaggccctgc acaatcacta caccagaag tcctgtctc tgagccccgg caaa 1074

<210> 33

<211> 350

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1B10-Fc

<400> 33

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Arg Gly Trp

20 25 30

Asn Lys His Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Val

35 40 45

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

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Ser Ala Asp Ala Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Lys

85 90 95

Tyr Asp Leu Pro Gly Ser Gly Leu Pro Glu Phe Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 130 135 140
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 145 150 155 160

 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 165 170 175
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 180 185 190
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 195 200 205
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 210 215 220

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

 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 290 295 300
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 305 310 315 320
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 325 330 335
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 340 345 350

<210> 34

<211> 1050

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1B10-Fc

<400> 34

gaggtgcaac tgggtggagtc tggaggcggc tccgtgcagg ccggcggctc cctgagactg	60
tccctgcaccg cttccggcta caccttcaga ggcctggaaca agcactggta tcggcaggct	120
cctggcaaag aaagagagct ggtgtcctcc atcttcggg acggcaagac cgcctacacc	180
gactccgtga agggcagatt caccatctct caggactctg ccgacgccac agtgtacctg	240
cagatgaact ctctgaagcc cgaggacacc gccatgtact actgcaagta cgacctgcct	300
ggatctggcc tgcccagatt ctggggccaa ggaccctgg taaccgtgtc gtccgagccc	360
aagtcttgcg acaagaccca cacctgtcct ccttgtcctg ctccggaact gctgggcggc	420
ccttcctgtgt ttctgtttcc tccaaagcct aaggacacac tgatgatcag ccggaccctt	480
gaggtgacct gcgtggctgt ggatgtctct caccaggatc ctgaggtgaa gttcaactgg	540
tacgtggatg gagtgggaagt gcataacgct aaaaccaagc ctagagaaga gcagtacaac	600
tccacctaca gagtgggtgc cgtgtctgacc gtgctgcacc aggattggct gaacggcaaa	660
gagtacaagt gcaaggtgtc caacaaggct ctgcctgccc ctatcgagaa gaccatctcc	720
aaggccaagg gccagcctcg ggagcctcaa gtgtacaccc tgctctcttc tcgcgacgag	780
ctgaccaaga accaggtgtc tctgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc ctccgacatc	840
gccgtggaat gggagtccaa tggccagccc gagaacaact acaagaccac cccacctgtg	900
ctggactctg atggctcctt cttcctgtac tccaagctga ccgtggacaa gtccagatgg	960
cagcagggca acgtgttctc ctgttctgtg atgcacgagg cctgcacaa ccactacaca	1020
cagaagtcctc tgagcctgtc tcttggaag	1050

<210> 35

<211> 54

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Human BCMA extracellular region

<400> 35

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser

1	5	10	15
Leu	Leu	His	Ala
Cys	Ile	Pro	Cys
Gln	Leu	Arg	Cys
Ser	Ser	Asn	Thr
20	25	30	

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser
35 40 45

Val Lys Gly Thr Asn Ala
50

<210> 36

<211> 53

<212> PRT

<213> *Macaca fascicularis*

<220><223> Cynomolgus monkey BCMA extracellular region

<400>

> 36

Met Leu Gln Met Ala Arg Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser
1 5 10 15

Leu Leu His Asp Cys Lys Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Thr Pro
20 25 30

Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Met Thr Asn Ser Val
35 40 45

Lys Gly Met Asn Ala
50

<210> 37

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1A10-V1 single variable domain

<400> 37

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ser Asn Val Ala
20 25 30

Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

50

55

60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 38

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1A10-V2 single variable domain

<400> 38

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ser Asn Val Ala
20 25 30
Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Trp Val
35 40 45

Ser Thr Ile Val Ala Asp Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Ala Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 39

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1A11-V1 single variable domain

<400> 39

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Ala

20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Gly Val

35 40 45

Ser Arg Ile Glu Thr Gly Tyr Gly Gly Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp Trp His Glu Leu Asp

100 105 110

Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 40

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1A11-V2 single variable domain

<400> 40

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Ala

20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val

35 40 45

Ser Arg Ile Glu Thr Gly Tyr Gly Gly Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

<210> 41

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> UNSURE

<222> (11)

<223> Xaa is S or L

<220><221> UNSURE

<222> (14)

<223> Xaa is P or A

<220><221> UNSURE

<222> (44)

<223> Xaa is G or E

<220><221> UNSURE

<

222> (45)

<223> Xaa is R or L

<220><221> UNSURE

<222> (49)

<223> Xaa is A or S

<220><221> UNSURE

<222> (75)

<223> Xaa is A or S

<220><221> UNSURE

<222> (87)

<223> Xaa is R or K

<220><221> UNSURE

<222> (88)

<223> Xaa is A or P

<220><221> UNSURE

<222> (91)

<223> Xaa is T or S

<220><221> UNSURE

<222> (93)

<223> Xaa is V or M

<220><223> BCMA-binding single variable domain

<400> 41

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Xaa Val Gln Xaa Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ser Asn Val Ala
20 25 30

Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Xaa Xaa Glu Trp Val
35 40 45

Xaa Thr Ile Val Ala Asp Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Ala Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Xaa Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Xaa Xaa Glu Asp Xaa Ala Xaa Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 42

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> UNSURE

<222> (11)

<223> Xaa is S or L

<220><221> UNSURE

<222> (14)

<223> Xaa is P or A

<220><221> UNSURE

<222> (27)

<223> Xaa is F or V

<220><221> UNSURE

<222> (44)

<223> Xaa is E or G

<220><221> UNSURE

<222> (49)

<223> Xaa is A or S

<220><221> UNSURE

<222> (75)

<223> Xaa is A or S

<220><221> UNSURE

<222> (87)

<223> Xaa is R or K

<220><221> UNSURE

<222> (88)

<223> Xaa is A or P

<220><221> UNSURE

<222> (93)

<223> Xaa is V or M

<220><223> BCMA-binding single variable domain

<400> 42

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Xaa Val Gln Xaa Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Xaa Thr Phe Asn Ser Ala

20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Xaa Arg Glu Gly Val

35 40 45

Xaa Arg Ile Glu Thr Gly Tyr Gly Gly Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Xaa Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Xaa Xaa Glu Asp Thr Ala Xaa Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp Trp His Glu Leu Asp

100 105 110

Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 43

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD3-HCDR1

<400> 43

Thr Tyr Ala Met Asn

1 5

<210> 44

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD3-HCDR2

<400> 44

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 45

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD3-HCDR3

<400> 45

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 46

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD3-LCDR1

<400> 46

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn

1 5 10

<210> 47

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD3-LCDR2

<400> 47

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro

1 5

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD3-LCDR3

<400> 48

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val

1 5

<210> 49

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD3-VH

<400> 49

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

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

115 120 125

<210> 50

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD3-VL

<400> 50

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

1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser

20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Val
65 70 75 80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 51

<211> 356

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1A10-V1

<400> 51

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ser Asn Val Ala
20 25 30
Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Thr Ile Val Ala Asp Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Ala Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Pro Lys Ser
115 120 125
Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
130 135 140
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
145 150 155 160

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
165 170 175

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
180 185 190

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
195 200 205

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
210 215 220

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
225 230 235 240

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
245 250 255

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
260 265 270

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
275 280 285

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
290 295 300

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
305 310 315 320

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
325 330 335

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
340 345 350

Ser Pro Gly Lys
355

<210> 52

<211> 1068

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223>

1A10-V1

<400> 52

caggtgcagc tggatggagtc cggcggcgga ctggtgcagc ctggaggatc tctgcggctg 60
tcttgcgccg ccagcggata ctccagcaac gtggcttgca tggcctggta tcggcaggcc 120
cctggcaagg gcctggagtg ggtggctacc atcgtggctg acttcggcac caccaattat 180
gccgctagcg tgaaggcg gttcaccatc agccaggata actccaagaa taccgtgtat 240
ctgcagatga atagcctcgc ggccgaggat accgccgtgt attattgtgc cgctaccag 300
cggggcggca tcgactgggtg tgatgagatc aactattggg gccagggcac cctggtgacc 360
gtgtcctccg gcgagcctaa gtcctccgac aagaccaca cctgcctcc ttgtcccgcc 420

cctgagctgc tggcgggacc atctgtgttc ctgttccctc ccaagcccaa ggacaccctg 480
atgatctcca ggaccctga ggtgacctgc gtggtggtgg atgtgtcca cgaggacct 540
gaggtgaagt tcaactggta cgtggacggc gtggaggtgc acaatgctaa gaccaagccc 600
cgggaggagc agtataacag cacctaccgg gtggtgagcg tgctgacctg gctgcaccag 660
gattggctga atggcaagga gtacaagtgt aagggtgtcca acaaggctct gcctgcccc 720
atcgagaaga ccatctccaa ggccaaggcg cagcctcggg agccccaggt gtataccctg 780
ccccctcca gggacgagct gaccaagaac caggtgagcc tgacctgtct ggtgaagggc 840

ttctatcctt ccgacatcgc cgtggagtgg gagtccaacg gccagcctga gaataactac 900
aagaccaccc cccctgtgct ggatagcgac ggctccttct tctgtattc caagctgacc 960
gtggataagt cccggtggca gcagggcaat gtgttcagct gttccgtgat gcacaggct 1020
ctgcacaacc actataccca gaagtcctg tccctgagcc ccggcaag 1068

<210> 53

<211> 356

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1A10-V2

<400> 53

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ser Asn Val Ala

20 25 30

Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Trp Val

35 40 45

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

50					55					60									
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Gln	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr				
65					70					75					80				
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
85					90					95									
Ala	Ala	Thr	Gln	Arg	Gly	Gly	Ile	Asp	Trp	Cys	Asp	Glu	Ile	Asn	Tyr				
100					105					110									
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Glu	Pro	Lys	Ser				
115					120					125									
Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu				
130					135					140									
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu				
145					150					155					160				
Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser				
165					170					175									
His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu				
180					185					190									
Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr				
195					200					205									
Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn				
210					215					220									
Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro				
225					230					235					240				
Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln				
245					250					255									
Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val				
260					265					270									
Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val				
275					280					285									
Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro				
290					295					300									

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 305 310 315 320
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 325 330 335

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 340 345 350
 Ser Pro Gly Lys
 355

<210> 54

<211> 1068

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1A10-V2

<400> 54

caggtgcagc tgggtggagtc cggcggcgga ctggtgcagc ctggaggatc tctgcggctg	60
tcctgcgcgc ccagcggata ctccagcaac gtggcttgca tggcctggta tcggcaggcc	120
cctggcaagg agcgggagtg ggtgagcacc atcgtggctg acttcggcac caccaattat	180
gccgctagcg tgaagggccg gttcaccatc agccaggata actccaagaa taccgtgtat	240
ctgcagatga atagcctgcg ggccgaggat accgccgtgt attattgtgc cgctaccag	300
cggggcggca tcgactgggt tgatgagatc aactattggg gccagggcac cctggtgacc	360
gtgtcctccg gcgagcctaa gtccctccgac aagaccaca cctgccctcc ttgtcccgcc	420
cctgagctgc tgggcggacc atctgtgttc ctgttccctc ccaagcccaa ggacaccctg	480
atgatctcca ggaccctga ggtgacctgc gtggtggtgg atgtgtccca cgaggaccct	540
gaggtgaagt tcaactggta cgtggacggc gtggaggtgc acaatgctaa gaccaagccc	600
cgggaggagc agtataacag cacctaccgg gtggtgagcg tgctgaccgt gctgcaccag	660
gattggctga atggcaagga gtacaagtgt aaggtgtcca acaaggctct gcctgcccc	720
atcgagaaga ccatctccaa ggccaagggc cagcctcggg agccccaggt gtataccctg	780
ccccctcca gggacgagct gaccaagaac caggtagacc tgacctgtct ggtgaagggc	840
ttctatcctt ccgacatcgc cgtggagtgg gattccaacg gccagcctga gaataactac	900
aagaccaccc cccctgtgct ggatagcgac ggctccttct tectgtattc caagctgacc	960
gtggataagt cccggtggca gcagggcaat gtgttcagct gttccgtgat gcacaggct	1020

ctgcacaacc actataacca gaagtccttg tccctgagcc cggcaag

1068

<210> 55

<211> 359

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1A11-V1

<400> 55

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Ala

20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Gly Val

35 40 45

Ser Arg Ile Glu Thr Gly Tyr Gly Gly Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp Trp His Glu Leu Asp

100 105 110

Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Glu

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 195 200 205
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 210 215 220
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 225 230 235 240
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

245 250 255
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
 260 265 270
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 275 280 285
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 290 295 300
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

305 310 315 320
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 325 330 335
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 340 345 350
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

355

<210> 56

<211> 1077

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1A11-V1

<400> 56

cagggtgcagc tgggtggagtc cggcggcgga ctggtgcagc caggaggatc tctgcggctg 60

tcctgtgccg cttccggctt caccttcaat tccgcttgca tgggctggtt caggcaggcc 120

cctggcaagg gcagggaggg agtgtccagg atcgagaccg gctacggcgg caccgtgtac 180

gctgacacgc tgaagggccg gttcaccatc agccgggata actccaagaa caccgtgtat 240

ctgcagatga atagcctgag ggctgaggat accgccgtgt actattgtgc tgctaagcgg 300
tcctggtgta cccccacctg gtggcacgag ctggactaca attactgggg ccagggcacc 360
caggtgaccg tgagctccgg cgagcctaag tcctccgaca agaccacac ctgccctcct 420
tgtcccgccc ctgagctgct gggcggacca tctgtgttcc tgttcctcc caagcccaag 480

gacacctga tgatctccag gaccttgag gtgacctgcg tgggtgtgga tgtgtccac 540
gaggacctg aggtgaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca caatgctaag 600
accaagcccc gggaggagca gtataacagc acctaccggg tggtgagcgt gctgaccgtg 660
ctgcaccagg attggtgaa tggcaaggag tacaagtga aggtgtccaa caaggctctg 720
cctgccccca tcgagaagac catctccaag gccaagggcc agcctcgga gccccaggtg 780
tataacctgc cccctccag ggacgagctg accaagaacc aggtgagcct gacctgtctg 840
gtgaagggt tctatcttc cgacatgcc gtggagtggg agtccaacgg ccagcctgag 900

aataactaca agaccacccc ccctgtgctg gatagcgacg gctccttctt cctgtattcc 960
aagctgaccg tgataagtc ccggtggcag cagggcaatg tgttcagctg ttccgtgatg 1020
cacgaggtc tgcacaacca ctatacccag aagtcctgt ccctgagccc cggcaag 1077

<210> 57

<211> 359

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 1A11-V2

<400> 57

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Ala

20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val

35 40 45

Ser Arg Ile Glu Thr Gly Tyr Gly Gly Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95
 Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp Trp His Glu Leu Asp
 100 105 110
 Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Glu
 115 120 125
 Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 130 135 140
 Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

 145 150 155 160
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 165 170 175
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 180 185 190
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 195 200 205
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

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

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

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

340	345	350	
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
355			
<210>	58		
<211>	1077		
<212>	DNA		
<213>	Artificial Sequence		
<220><223>	1A11-V2		
<400>	58		
caggtgcagc	tggtggagtc	ggcgggcgga	ctggtgcagc caggaggatc tctgcggctg 60
tcctgtgccg	cttccggctt	caccttcaat	tccgcttgca tgggctgggt caggcaggcc 120
cctggcaagg	agagggaggg	agtgtccagg	atcgagaccg gctacggcgg caccgtgtac 180
gctgacagcg	tgaaggggcg	gttcaccatc	agccgggata actccaagaa caccgtgtat 240
ctgcagatga	atagccctgaa	ggctgaggat	accgccgtgt actattgtgc tgctaagcgg 300
tcctgggtgta	ccccacctg	gtggcacgag	ctggactaca attactgggg ccagggcacc 360
caggtgaccg	tgagctccgg	cgagcctaag	tcttccgaca agaccacac ctgcectcct 420
tgtccgccc	ctgagctgct	gggcggacca	tctgtgttcc tgttcctcc caagcccaag 480
gacaccctga	tgatctccag	gaccctgag	gtgacctgcg tgggtggtgga tgtgtccac 540
gaggaccctg	aggtgaagtt	caactggtag	gtggacggcg tggaggtgca caatgctaag 600
accaagcccc	gggaggagca	gtataacagc	acctaccggg tggtagcgt gctgaccgtg 660
ctgcaccagg	attggctgaa	tggcaaggag	tacaagtgtg aggtgtccaa caaggtctg 720
cctgccccca	tcgagaagac	catctccaag	gccaagggcc agcctcgga gccccagggtg 780
tataccctgc	ccccctccag	ggacgagctg	accaagaacc aggtgagcct gacctgtctg 840
gtgaagggt	tctatccttc	cgacatcgcc	gtggagtggg agtccaacgg ccagcctgag 900
aataactaca	agaccacccc	ccctgtgctg	gatagcgacg gctccttctt cctgtattcc 960
aagctgaccg	tggataagtc	ccggtggcag	cagggcaatg tgttcagctg ttccgtgatg 1020
cacgaggctc	tgcacaacca	ctatacccag	aagtcctgt ccctgagccc cggcaag 1077
<210>	59		
<211>	492		
<212>	PRT		

<213> Artificial Sequence

<220><223> A10-linker-A11-Fc

<400> 59

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ser Asn Val Ala

20 25 30

Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser

130 135 140

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val

145 150 155 160

Thr Phe Asn Ser Ala Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys

165 170 175

Glu Arg Glu Gly Val Ala Arg Ile Glu Thr Gly Tyr Gly Gly Thr Val

180 185 190

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala

195 200 205

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr

210 215 220

Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp

225 230 235 240
 Trp His Glu Leu Asp Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr

 245 250 255
 Val Ser Ser Gly Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 260 265 270
 Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 275 280 285
 Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 290 295 300
 Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe

 305 310 315 320
 Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 325 330 335
 Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 340 345 350
 Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 355 360 365
 Ser Asn Lys Ala Leu Ala Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala

 370 375 380
 Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 385 390 395 400
 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly
 405 410 415
 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 420 425 430
 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser

 435 440 445
 Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 450 455 460
 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 465 470 475 480

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

485

490

<210> 60

<211> 1476

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> A10-linker-A11-Fc

<400> 60

caggtgcagc tggaggagag cggcggcgga tccgtgcagg ctggaggaag cctgcggctg	60
tcctgtgccg cctccggata ctctccaac gtggcctgta tggcttgta caggcaggct	120
cctggcaagg agcgggagtg ggtggctacc atcgtggcgg acttcggcac caccaattac	180
gctgctagcg tgaaggcgag gttcaccatc agccaggata acgctaagaa taccgtgtac	240
ctgcagatga atagcctgaa gcccaggagc tccgtatgt actattgtgc cgctaccag	300
agggggcgga tcgattggtg cgacgagatc aattattggg gccagggcac cctggtgacc	360
gtgagcagcg gcggaggcgg aagcggagga ggaggaagcc aggtgcagct cgtggagtcc	420
ggcggcgga gcggtcaggc tgggtgaagc ctgaggctgt cctgtgctgc tagcggcgtg	480
accttcaact ccgcttgat gggctgggtc cggcaggctc ccggcaagga gagagagggc	540
gtggccagga tcgagaccgg ctatggcggc accgtgtacg ccgacagcgt gaagggacgg	600
ttcaccatct ccagggataa cgctaaaaac accgtgtatc tgcagatgaa cagcctgaag	660
ccagaggata ccgctatgta ttactgtgct gccaaagcga gctggtgtac ccctacctgg	720
tggcagagc tggactacaa ctattggggc cagggaaccc aggtgaccgt gtccagcggc	780
gagcccaagt ccagcgacaa gaccacacc tgtctctctt gccctgctcc agaggccgt	840
ggcggaccta gcggttctct gttccctcct aagcctaagg acaccctgat gatctccaga	900
acacctgaag tgacctgctt ggtcgtggat gtttctcacg aggacctga ggtgaagtcc	960
aactggtacg tggacggcgt ggaagtgcac aacgccaaga ccaagcctcg ggaggaacag	1020
tacaactcca cctacagagt ggtgtccgtg ctgacctgac tgcaccagga ctggctgaac	1080
ggaaaagagt acaagtgcga ggtgtccaac aaggccctgg ccgctcctat cgagaagact	1140
atctccaagg ctaagggccg gcctagagag cctcaagtgt gcaccctgcc tccatctcgg	1200
gaagagatga ccaagaacca ggtgtctctg tcttgcgccg tcaagggtct ctacccttcc	1260
gacatcgccg tggaaatggga gtctaaccgc cagcctgaga acaactacaa gaccaccct	1320
cctgtgctgg actctgacgg ctctctcttc ctctgttcca agctgaccgt ggacaagtct	1380

cgggtggcagc agggcaacgt gttctcctgc tctgtgatgc acgaggtctt gcacaaccac 1440
 tacaccaga agtcctgtc cctgtcccct ggcaag 1476
 <210> 61
 <211> 455
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> anti-CD3-HC-Fc
 <400> 61
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu 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 Gly 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

Ala 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 Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys
355 360 365

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

435	440	445
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
450	455	
<210> 62		
<211> 1365		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> anti-CD3-HC-Fc		
<400> 62		
gaggtgcagc tgggtggaatc tggcggaggc ctctgtcagc ccggcggctc tctgagactg	60	
tcttgcgccg ctcttggtt taccttcaat acctatgcc aagaattgggt gcggcaggcc	120	
cctggcaagg gcctggaatg ggtcgccaga atcagatcca agtacaaca ctacgccacc	180	
tactacgccg attctgtgaa agacagattc accatctctc gggacgactc taagaacacc	240	
gcctacctgc agatgaacaa cctgaagacc gaggacaccg ctatgtacta ctgcgtgaga	300	
cacggcaact tcggcaactc ctacgtgtcc tggttcgctt actggggcca gggcaccttg	360	
gtcacagttt ctctgcctc taccaagggc ctttccgtgt tccctctggc ccctagcagc	420	
aaaagcacct ccggcggaac cgccgccctg ggctgtcttg tgaaggacta cttccccgag	480	
cctgtgacgg tgtcttgaa ctccggcgct ctgacctctg gcgtgcatac ctttctctgc	540	
gtgtgcagc ccagcggact gtactcctg tcttccgtg tgacagttcc ctctctagc	600	
ctgggcacac agacctacat ctgcaactg aaccacaagc cttctaaca caaagtggac	660	
aagaaggtag aacccaatc ctgcgacaag acacacacct gtcttcttg cctgtctct	720	
gaggccgctg gcggccctag cgtgtttctg tttctccta agcccaagga cacactgatg	780	
atctccagaa cccagaagt gacctgcgtg gtggtagacg tgtccacga ggatcctgag	840	
gtgaagtcca actggtacgt ggatggcgtg gaagtgcaca acgccaagac caagcctaga	900	
gaagagcagt acaactccac ctacagagtg gtgtccgtgc tgaccgtgct gcaccaggac	960	
tggctgaacg gcaaagagta caagtgaag gtgtccaaca aggcctggc tgcctctatc	1020	
gagaagacca tctccaaggc taaggagacg cctcgggaac ctcaagtgt caccctgct	1080	
cctttagag aggaatgac caagaaccag gtgtctctgt ggtgcctggt caagggttc	1140	
taccttctg acatgccgt ggagtgggag tccaacggcc agcctgagaa caactacaaa	1200	
accacccctc cagtgtgga ctccgacggc tcttcttcc tgtactcaa gctgacagt	1260	
gataagtcta gatggcagca gggcaatgtg ttctcctgct ccgtgatgca cgaggctctg	1320	

cacaaccggt tcaccagaa gtccctgtcc ctgtccctg gcaag

1365

<210> 63

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-CD3-LC

<400> 63

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

1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser

20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Val

65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn

85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro

100 105 110

Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu

115 120 125

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

130 135 140

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys Ala

145 150 155 160

Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala

165 170 175

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg

180 185 190

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

195	200	205
Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser		
210	215	
<210> 64		
<211> 645		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> anti-CD3-LC		
<400> 64		
gagctggtgg tgaccagga gccatccctg accacaagcc caggaggaac cgtgacactg	60	
acctgtagat ccagcaccgg cgccgtgacc acaagcaact acgctaattg ggtgcagcag	120	
aagcctggac aggtccaag gggactgac ggaggaacca acaagagagc ccccggaaca	180	
ccagctcggg ttccggcag cctgctggga ggcaaggccg ctctgacaat caccggcgtg	240	
cagccagagg acgaggccga gtactattgc gctctgtggt attctaattc gtgggtgttt	300	
ggaggaggaa caaagctgac cgtgctggga cagcccaagg ctaaccctac agtgaccctg	360	
ttccccctt cttccgagga gctgcaggcc aataaggcca ccctggtgtg cctgatctct	420	
gacttttacc caggagctgt gacagtggct tggaaggctg atggctcccc tgtgaaggct	480	
ggcgtggaga ccacaaagcc aagcaagcag tctaacaata agtacgccgc tagctcttat	540	
ctgtctctga cccccagca gtggaagtcc cacaggtctt attcctgcca ggtgacacat	600	
gagggcagca cagtggagaa gaccgtggcc cctacagagt gttct	645	
<210> 65		
<211> 492		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> anti-BCMA-A10-v1-linker-A11-v1-Fc		
<400> 65		
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
1 5 10 15		
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ser Asn Val Ala		
20 25 30		
Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35 40 45		

Ala Thr Ile Val Ala Asp Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Ala Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
130 135 140

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
145 150 155 160

Thr Phe Asn Ser Ala Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
165 170 175

Gly Arg Glu Gly Val Ser Arg Ile Glu Thr Gly Tyr Gly Gly Thr Val
180 185 190

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser
195 200 205

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
210 215 220

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp
225 230 235 240

Trp His Glu Leu Asp Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser Gly Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
260 265 270

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
275 280 285

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

290 295 300
 Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 305 310 315 320
 Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 325 330 335

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

 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly
 405 410 415
 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 420 425 430
 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 435 440 445
 Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 450 455 460

 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 465 470 475 480
 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 485 490

<210> 66

<211> 1476

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-BCMA-A10-v1-linker-A11-v1-Fc

<400> 66

caagtgcagc tggctcagtc cggcggcgga ctggtgcagc caggcggctc cctccggctg

60

tcctgtgccg cctccggcta ctctctaac gtggcctgca tggcctggta tagacaggct 120

cctggcaagg gcctggaatg ggtggccacc attgtggcgg acttcggcac caccaactac 180

gccgcttccg tcaagggcag attcaccatc tcccaggata actccaagaa caccgtgtac 240

ctgcagatga actccctgag ggctgaagat accgctgtgt actactgtgc tgccacacag 300

agaggcggca tcgattggtg cgacgagatc aactattggg gacagggcac tttggtgacc 360

gtgtccagcg gaggcggcgg ctccggcggg ggcggctctc aggttcagct ggtcagatcc 420

ggcgggtggc tggatgcagc cgccggaagc ctgagactgt cctgcgccgc ctctggcttt 480

acattcaact ctgcctgtat gggctggttt cggcaagccc ctgggaaagg cagagagggc 540

gtgagccgga tcgagacagg ctacggcggc acagtttacg ctgactctgt gaagggaaga 600

ttcaccatca gccgggacaa ttcaaaaat accgtgtacc tgcagatgaa cagcctgcgg 660

gccgaggaca cagctgtcta ctactgcgcg gccaaagggt cttggtgtac ccctacctgg 720

tggcacgagc tggactacaa ctactggggc cagggaactc aggtgaccgt gtcctccggc 780

gagcccaagt cctctgacaa gacacacacc tgcctccat gccctgctcc tgaggccgt 840

ggcggacctt ccgtgttctt gtttctctt aagcccaagg acaccctgat gatctctcgg 900

acccctgagg tgacctgcgt ggtggtggac gtgtctcatg aggatcctga agtgaagtcc 960

aactggtacg tggatggcgt ggaagtgcac aacccaaga ccaagcctag agaagaacag 1020

tacaactcca cctacagagt ggtcagcgtg ctgaccgtgc tgcatcagga ctggctgaac 1080

ggaaaagagt acaagtgcac ggtgtccaac aaggctctgg ctgcccctat cgagaagacc 1140

atctccaagg ccaagggcca gcccgcgag cctcaggtgt gcaccctgcc tccatctaga 1200

gaagagatga ccaagaacca ggtctccctc agctgcgccg tgaagggtct ctacccttct 1260

gacatcgctg tggaatggga aagcaatggc caaccgaga acaactacaa gaccaccccc 1320

cctgtgctgg actccgacgg cagcttcttc ctggtgtcaa agctgacagt ggacaagtec 1380

agatggcagc agggcaacgt gttcagctgc agtgtgatgc acgaggccct gcacaaccac 1440

tacaccaga aatctctgtc tctgtctct ggcaaa 1476

<210> 67

<211> 482

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-CD3-scFv-Fc

<400> 67

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

1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

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

 Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
 100 105 110
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
 115 120 125
 Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
 130 135 140
 Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp
 145 150 155 160

 Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
 165 170 175
 Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
 180 185 190
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
 195 200 205
 Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg
 210 215 220

 His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
 225 230 235 240
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Pro Lys Ser Ser Asp
 245 250 255

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
 260 265 270
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 275 280 285

 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 290 295 300
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 305 310 315 320
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 325 330 335
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 340 345 350

 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Ala Ala Pro Ile Glu
 355 360 365
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 370 375 380
 Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 385 390 395 400
 Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 405 410 415

 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 420 425 430
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 435 440 445
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 450 455 460
 Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 465 470 475 480

 Gly Lys

<210> 68

<211> 1446

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-CD3-scFv-Fc

<400> 68

```

gagctggtcg tcaccaaga gccctctctg accacaagcc ctggcggaac cgtgaccctg      60
acctgtaggt cctccaccgg cgctgtgacc acctcgaact atgccaactg ggtgcaacag      120
aagccccggc aggcaccagg aggcctgatc ggcggcacca acaagcgcgc ccccggcaca      180
cctgccagat tctctggctc tctgtgggc ggaaaggccg ccctgacat caccggcgtc      240
cagcccagg acgaggcca gtactactgc gctctgtgtt actccaacct gtgggtgttt      300

ggcggcgcca ccaagctgac cgtgtgggc ggcggtggct ctggaggagg cgatctgtt      360
ggcggaggct ctgaagtga gctctgtgag agcggcgcg gcctggtgca gcctggcggc      420
tccctgagac tgtcttgcc cgcttccggc ttacattca acacctatgc catgaattgg      480
gtcggcagg cccccggcaa gggactggaa tgggtggcta gaatcagatc caagtacaac      540
aactacgcta cctactacgc cgactctgtg aaggaccggt tcaccatctc tcgggacgac      600
tccaagaaca ccgctacct gcagatgaac aatctgaaga ccgaggatag cgctatgtac      660
tactgtgtgc ggcacggcaa cttcggcaac tcctacgtgt cctggttcgc ctactggggc      720

cagggcactc tcgtgacctg gtccagcggc gagcccaagt cctctgaca gaccacacc      780
tgccctccat gtctgtctcc tgagctgct ggcgccctt ccgtgtttct gtccctcct      840
aagcctaaag atacactgat gatctcccgg acccctgaag ttacatgcgt ggtggtggac      900
gtgtctcacg aggacccga agtgaagttc aactggtatg tggatggcgt ggaagtgcac      960
aatgcaaaa ccaagcctcg ggaggaacag tacaactcta cctacagagt ggtgagcgtg      1020
ctgacctgac tgcaccagga ctggctgaac ggcaaagagt acaagtgaac ggtgtctaac      1080
aaggctctgg ccgcccctat cgagaagaca atttcaagg ccaaggcca gcctagagaa      1140

cctcagggtg acacctgcc tccttgaga gaagagatga ccaagaacca ggttagccta      1200
tggtgcctgg tgaagggttt ctacccttct gacatcgccg tggagtggga gtccaatggc      1260
caaccagaga acaactaca gacaacacca cctgtgtgga actccgatgg ctctctctc      1320
ctgtactcta agctgacagt ggacaagtcc agatggcagc agggcaacgt gttctcctgc      1380
tccgtgatgc atgaagctct gcacaaccgg ttaccaccaga aatccctgag cctgtctcct      1440
ggaaaaa

```

<210> 69

<211> 356

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-BCMA-A10-v1-Fc

<400> 69

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ser Asn Val Ala

20 25 30

Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Pro Lys Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Ala Ala Pro
 225 230 235 240
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 245 250 255

Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 260 265 270
 Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 275 280 285
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 290 295 300
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr
 305 310 315 320

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 325 330 335
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 340 345 350
 Ser Pro Gly Lys

355

<210> 70

<211> 1068

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-BCMA-A10-v1-Fc

<400> 70

caagtccagc tgggtgagtc cggcggaggc ctggtgcagc caggcggctc cctgagactg 60

tcttgtgctg cctctggcta ctctctaat gtggcctgca tggcctgta ccggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggaatg ggtggctact atcggtggccg acttcggcac caccaattat 180

gtgcctctg tgaaggagc gttcaccatc tcccaggaca actccaagaa caccgtgtac 240

ctgcagatga acagcctgag ggccgaggac acagccgtgt actactgtgc cgctacacag 300

agaggcggca tcgactggtg cgacgagatc aactactggg gccaaaggaac cctggtgaca 360

gtgtcttctg gcgagcccaa atcctccgat aaaacacaca cctgtcctcc ttgccctgct 420

cccgaggccg ccggcggccc tagcgtattc ctgtttcccc ctaagcctaa ggacacattg 480
 atgatctctc ggacacccga agtgacctgc gtggtcgtgg acgtgtctca cgaagatcct 540

 gaggtgaagt tcaactggta tgtggatggc gtggaagtgc ataacgcaa gaccaagccc 600
 agagaggaac agtacaactc tacctacaga gtggtgtccg tcctgaccgt gctgcatcag 660
 gattggctga acggcaaaga gtacaagtgc aaggtgtcta acaaggctct ggccgctccc 720
 attgagaaga ccatctccaa ggctaagggt cagcctagag agcctcaagt gtgcaccctg 780
 cctccatcta gagaagagat gaccaagaac caggtcagcc tgtcttgtgc agtgaaaggc 840
 ttctacccaa gcgacatcgc cgtggaatgg gagtctaata gccagcctga aaacaactac 900
 aagaccaccc ctctgtgct cgactccgac ggctccttct tcctgggtgc caagctgacc 960

 gttgacaagt cccgctggca gcagggaac gtgttctcct gctccgtgat gcacgaggct 1020
 ctgcacaacc actacacca gaagagcctg agcctgtccc ctggaaag 1068

 <210> 71
 <211> 613
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> anti-BCMA-A11-v1-linker-anti-CD3-scFv-Fc
 <400> 71
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Ala
 20 25 30

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

 Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp Trp His Glu Leu Asp
 100 105 110

Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
 115 120 125
 Gly Gly Ser Glu Leu Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Thr Ser
 130 135 140
 Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val
 145 150 155 160

 Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
 165 170 175
 Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro
 180 185 190
 Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile
 195 200 205
 Thr Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp
 210 215 220

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

 Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
 290 295 300
 Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
 305 310 315 320
 Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala
 325 330 335
 Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr
 340 345 350

 Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala

355 360 365
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Pro Lys
 370 375 380
 Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala
 385 390 395 400
 Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 405 410 415

 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 420 425 430
 Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 435 440 445
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
 450 455 460
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 465 470 475 480

 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Ala Ala
 485 490 495
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 500 505 510
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 515 520 525
 Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 530 535 540

 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 545 550 555 560
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 565 570 575
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 580 585 590
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 595 600 605

Leu Ser Pro Gly Lys

610

<210> 72

<211> 1839

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-BCMA-A11-v1-linker-anti-CD3-scFv-Fc

<400> 72

caggtgcagc tctgtgaatc cggcggcggc ctggtgcagc ctggcggctc tctgagactg	60
tcttgtgctg cctctggctt tactttcaac tccgcctgca tgggctggtt cagacaggcc	120
cccggaaagg gccgggaggg cgtgtctcgg atcgagacag gctacggcgg taccgtgtac	180
gccgactctg tgaaggcag attcaccatc tccagagaca actccaagaa taccgtctac	240
ctgcagatga atagcctccg cgccgaggac accgctgtgt actactgcgc cgctaagaga	300
tcttggtgca cccccacctg gtggcacgag ctggactaca actactgggg ccagggaacc	360
caggtgaccg tgtccagcgg cggaggcggc tctgaactgg tggtagacca agagccttcc	420
ctgaccacct cccctggcgg cacagtgaca ctgacctgta gatcctccac cggcgccgtg	480
accacctcta actatgctaa ctgggtgcag cagaaacctg gccaggcacc tcggggactg	540
atcggcggca ccaacaagcg ggctcctgga acacctgcta gattctccgg ctccctgctg	600
ggcggcaagg ccgccctgac catcaccggg gtgcaacctg aggacgagc tgagtattac	660
tgcgctctgt ggtactcaa cctgtgggtc tttggcggcg gaaccaagct gaccgtgctg	720
ggcggcggcg gctccggcgg aggcggctcc ggaggaggcg gcagcgaggt gcagctggtc	780
gagtcggcg gcggcctggt gcagcccggc ggctcgctgc ggctgagctg tgccgcctcc	840
ggcttcacat tcaataccta cgccatgaac tgggtcaggc aggtccttg caaaggcctg	900
gaatgggtgg ccagaatccg gagcaagtac aacaactatg ccactacta cgccattct	960
gtgaaggaca gattcacaat ctcccgggac gactctaaga acaccgtta cctgcagatg	1020
aacaacctga agaccgagga tacagctatg tactactgtg tgcggcacgg caacttcggc	1080
aattcctacg tgcctggtt cgcctactgg ggacaaggca ccttggtgac agtttctagc	1140
ggcgagccca agtcttctga caagacacac acctgccctc cttgtcctgc ccctgaggcc	1200
gctggcggac ctctgtgtt tctgtttcca cctaagccta aggatacct gatgatctct	1260
agaaccccc aggtgacctg cgtggtcgtg gacgtgagcc atgaagatcc tgaagtgaag	1320
ttcaactggt atgtggacgg cgtggaagtg cacaatgcca agaccaagcc tagagaagag	1380
cagtacaact ctacctacag agtggtgtcc gtgctgaccg ttctgcatca ggactggctg	1440

aacggcaaag agtacaagtg caaggtgtct aacaaggctc tggctgcccc tatcgagaag 1500
accatttcca aggccaaggg ccagccacgc gaacctcaag tgtacaccct gccaccttgc 1560

agagaggaga tgaccaagaa ccaggtgagc ctgtggtgcc tggtgaaagg cttctacccc 1620
agcgacatcg ccgtggaatg ggagtcacac ggccagcccg agaacaacta caaaaccacc 1680
cctctgtgac tggattctga tggttccttc ttctgtact ctaagctgac cgtggacaag 1740
tcccgtggc agcagggcaa cgtgttcagc tgcctcgtga tgcacgaagc cctgcacaac 1800
cggttcaccg agaaatccct gtctctgtct ccaggcaag 1839

<210> 73

<211> 359

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-BCMA-A11-v1-Fc

<400> 73

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Ala
20 25 30
Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Gly Val
35 40 45
Ser Arg Ile Glu Thr Gly Tyr Gly Gly Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp Trp His Glu Leu Asp
100 105 110
Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Glu
115 120 125
Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

130

135

140

Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 145 150 155 160
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 165 170 175
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 180 185 190
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

 195 200 205
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 210 215 220
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 225 230 235 240
 Ala Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 245 250 255
 Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

 260 265 270
 Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 275 280 285
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 290 295 300
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser
 305 310 315 320
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

 325 330 335
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 340 345 350
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 355

<210> 74

<211> 1077

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-BCMA-A11-v1-Fc

<400> 74

caggtgcagc tgggtggaatc cggcggaggc ctggtccagc ctggaggcag cctgcggctg 60
tcgtgcgctg cctccggatt caccttcaac tccgcctgta tgggctgggt cagacaggcc 120

cctggcaagg gtcgcgaggg cgtagccgg atcgaaacag gctacggcgg aaccgtctac 180
gccgactccg tgaaggcag attcaccatc tctcgggaca attctaagaa taccgtgtac 240
ctgcagatga actctctgag ggccgaggac accgctgtgt actactgcgc cgctaaacgg 300
tcctggtgca ctctacctg gtggcatgag ctggactaca attattgggg ccaaggaaca 360
caagtgcagc tatcctctgg cgagcccaag tctccgata aaaccacac ctgccctcct 420
tgtcctgctc cagaggccgc tggcgccct tccgtgtttc tgtttccacc taagcccaag 480
gacacactga tgatcagcag aaccctgaa gtcacctgtg tggctgtgga cgtgagccat 540

gaagatcctg aggtgaagtt caactggtag gtggacggcg tggaagtgca caacgctaaa 600
accaagccta gagaggaaca gtacaactct acctacagag tgggtgccgt gctgacagtg 660
ctgcaccagg actggctgaa cggcaaagag tacaagtga aggtgagtaa caaggccctg 720
gctgctccca tcgagaagac catctccaag gccaaaggcc agcctcgga gcctcaggtg 780
tgcaccctgc ctccatctag agaagagatg accaagaacc aggtgtccct gtcttgtgcc 840
gtcaagggtc ttacccttc tgacatgcc gtggaatggg agtctaacgg ccagcccgag 900
aacaactata agaccacccc ccccgctgctg gattctgatg gctccttctt cctcgtgtcc 960

aagctgaccg tggacaagtc cagatggcag cagggaacg tgttctcctg ctctgtgatg 1020
cacgaggcac tgcacaacca ctacaccag aagtcctta gccgtgtcc tggcaag 1077

<210> 75

<211> 343

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-BCMA-A10-v1-linker-anti-CD3-VL

<400> 75

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ser Asn Val Ala
20 25 30

Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

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

 Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 115 120 125
 Glu Leu Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Thr Ser Pro Gly Gly
 130 135 140
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 145 150 155 160

 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
 165 170 175
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
 180 185 190
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Val
 195 200 205
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 210 215 220

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

Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
 290 295 300
 Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
 305 310 315 320
 Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
 325 330 335
 Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 340

<210> 76

<211> 1029

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-BCMA-A10-v1-linker-anti-CD3-VL

<400> 76

caagtgcagc tgggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc caggcggctc cctgagactg	60
tcctgtgctg cttctggcta ctctccaac gtggcctgca tggcctggta tcgccaggct	120
cctggcaaag gcctggaatg ggtggtctacc atcgtggcgg acttcggcac tacaaactac	180
gccgcctccg tgaagggcag attcaccatc tctcaggaca actccaagaa caccgtgtac	240
ctgcagatga acagcctcgc ggctgaggac accgccgtgt actactgtgc cgctaccag	300
cggggaggca tcgactggtg cgacgagatc aactactggg gccagggaac cttggttaca	360
gltgtccagcg gcggaggcgg ctccgaactg gtggtgaccc aagagccttc tctgaccacc	420
tcccctggcg gcacagtga cctgacctgt agatcctcta ccggtgccgt gacaacctct	480
aattacgcca actgggtcca gcagaagccc ggccaagccc ctagaggcct gatcggcggg	540
acgaacaagc gggtcctgg caccctgcc cggttcagcg gctctctgct gggcggaag	600
gctgccctga caatcaccgg cgtgcagcct gaggatgagg ccgagtacta ctgcgtctg	660
tggtatagca acctgtgggt gttcggagga ggcacaaagc tgaccgtgct gggccagcct	720
aaggccaatc ctaccgtgac cctgtttcct ccattctctg aagagctgca ggccaacaaa	780
gccaccctcg tgtgcctgat ctccgacttc taccgccggc ctgtgaccgt ggcatggaag	840
gccgatggct cccctgtgaa agctggcgctc gaaaccacca agcctagcaa gcagtccaac	900
aacaagtacg ctgcctcttc ctacctgtct ctgacccccg agcagtggaa gtcccataga	960
agctactctt gccaggtgac ccacgagggc tccaccgtcg agaagaccgt ggccccacc	1020
gagtgtctcc	1029

<210> 77

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-BCMA-HC-Fc

<400> 77

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Lys Val Leu Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140
Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205
 Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

 260 265 270
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

 325 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 78

<211> 1338

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-BCMA-HC-Fc

<400> 78

gaggtgcagc tgctggaatc tggaggcggc ctggtgcaac ccggcggatc tctgagactg	60
tcttgtgccg ctcttggtt caccitttcc tcctaccca tgtcctgggt cagacaggcc	120
cctggaagg gactggaatg ggtgtctgcc atctccggt ctggcggctc tacatactac	180
gccgacagcg tgaagggcag attcaccatc agccgggaca actccaagaa caccctctac	240
ctgcagatga actctctcgc ggccgaggat accgccgtgt actactgcgc caaagtgtg	300
ggatggttcg actactgggg ccaaggcacg ctcgtagccg tgtcctccgc ctccacaaa	360
ggaccttccg tgtttctct ggcccttcc agcaagtcca cctccggcgg taccgtgcc	420
ctgggctgcc tggtcgagga ctacttcct gagcccgta ccgtgtcttg gaactccggc	480
gctctgacct ctggcgta cacttcccc gctgttctgc agtccagcgg cctgtactcc	540
ctgtcctctg tggtagacgt gcctagctct tctctgggca ccagaccta catctgcaac	600
gtgaaccaca agccctcaa caccaagggt gatgagaaag tggaaaccaa gtcttgcgac	660
aagacacata cctgtectcc ttgccctgct cctgaggccg ctggcggccc ttctgtgttc	720
ctgttccac ccaagcctaa ggacacctg atgatctctc ggaccctga ggtcacctgc	780
gtggtcgtgg acgtgtccca tgaagatcct gaagtgaagt tcaactggtc cgtggatggc	840
gtggaagtgc acaacgcaa gaccaagcct cgggaagagc agtacaactc cacatacaga	900
gtggtgagcg tgctgacct gctgcaccag gactggctga acggcaaaga gtacaagtgc	960
aaggtgtcca acaaggtct cggcgcccc atcgagaaga caatctcaa ggccaagggc	1020
cagcctagag agcctcaggt gtgcacctg cctccatctc gcgacgagct gactaagaac	1080
caggtgtccc tgtcctgtgc tgtgaaaggc ttctaccctt ctgacatcgc cgtggagtgg	1140
gagtctaacg gccagccga gaacaactac aagaccacac ctctgtttct ggactccgac	1200
ggctccttct tcttggtgtc taagctgacc gtggacaagt ccagatggca gcagggaac	1260
gtgttctct gtcctgtgat gcacaggct ctgcacaaca gattcacca gaagtctctc	1320
agcctgtccc ctggcaag	1338

<210> 79

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-BCMA-LC

<400> 79

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Tyr Pro Pro

85 90 95

Asp Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val

100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 80

<211> 648

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-BCMA-LC

<400> 80

gagatcgtgc tgacccagtc tcctggaaca ctgtctctgt cccctggcga gagagctacc	60
ctgagctgca gagcctctca gtcctgtgcc tctcctacc tggcctggta ccagcagaag	120
cctggccagg cccctcggct gctgatctac ggcgctagct ctcgggccac cggcatccct	180
gacagattct ccggctccgg ctctggcaca gattttaccc tgaccatctc cagactggaa	240
cctgaggact tcgccgtgta ctactgccag cagtacggct accccccga cttcaccttc	300
ggccaaggca ccaaagtga aatcaagcgg accgtggctg ctcttctgt gttcatcttc	360
ctctcttccg accggaagct gaagcttga accgcctccg tgggtgcct gctgaacaac	420

ttctacccta gagaggccaa ggtgcagtgg aaggtggaca acgcctgca gagcggcaac	480
tcccaagagt ccgtaccga gcaggactct aaggactcca cctactccct gtcctctacc	540
ctgacactgt ccaaggccga ctacgagaag cacaaggtgt acgcctgca ggtgaccac	600
cagggcctgt cttctctgt gaccaagtcc ttcaacagag gcgaatgt	648

<210> 81

<211> 671

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-BCMA-VH-anti-CD3-VL-Fc

<400> 81

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1	5	10	15
---	---	----	----

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50	55	60
----	----	----

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

65				70				75				80			
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85				90				95			
Ala	Lys	Val	Leu	Gly	Trp	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
				100				105				110			
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala
				115				120				125			
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
130				135				140							
Val	Glu	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly
145				150				155				160			
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
				165				170				175			
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu
				180				185				190			
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr
195				200				205							
Lys	Val	Asp	Glu	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Gly	Gly	Gly	Gly
210				215				220							
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ala	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu
225				230				235				240			
Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr
				245				250				255			
Gly	Ala	Val	Thr	Thr	Ser	Asn	Tyr	Ala	Asn	Trp	Val	Gln	Glu	Lys	Pro
260				265				270							
Gly	Gln	Ala	Phe	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Asn	Lys	Arg	Ala	Pro
275				280				285							
Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala
290				295				300							
Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Ala	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys
305				310				315				320			

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
325 330 335

Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
340 345 350

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
355 360 365

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
370 375 380

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
385 390 395 400

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
405 410 415

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
420 425 430

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
435 440 445

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
450 455 460

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
465 470 475 480

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
485 490 495

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
500 505 510

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
515 520 525

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
530 535 540

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
545 550 555 560

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

565 570 575
Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
580 585 590

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
595 600 605
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
610 615 620
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
625 630 635 640
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
645 650 655

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
660 665 670

<210> 82

<211> 2013

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-BCMA-VH-anti-CD3-VL-Fc

<400> 82

gaggtgcagc tgctggaatc aggcggaggc ctctgcagc caggtggcag cctgcggctg 60
tcttctgccg cctctggctt cacttctcc tctacgcca tgtctgggt gcggcaggcc 120
cctggcaagg gactggagtg ggtctccgcc atctctgggt ccggaggctc cacctactac 180
gtgattctg tgaaaggcag attcaccatc tctcgggaca actccaagaa cacactgtac 240

ctgcagatga actccctgag agccgaggac accgccgtgt actactgcgc caaggtgctg 300
ggatggttcg actactgggg ccagggcacc ttagtgaccg tgtcaagcgc cagcacaag 360
ggacctagcg tatttctct ggcccctagc tctaagtcca cctctggtgg caccgcagcc 420
ctgggctgtc tgggtgaaga ctacttcct gaaccctga cagtgtcttg gaactccggc 480
gtctgacat ctggcgtgca cacttccct gctgttctt aatcttccgg cctgtacagc 540
ctgtcctctg ttgtcacagt gccagttct tctctgggca ccagacata catctgtaac 600
gtgaaccaca agccttccaa caccaaagt gacgagaaag tggaacctaa gtcttgcgat 660

ggcggcggcg ggtccggtgg agggggatct caggctgtgg tcaccaaga gcctccctg 720

accgtgtccc ctggcggcac cgtgacactg acctgcggct cttccacagg cgccgtgacc 780
 acctccaact acgccaactg ggtgcaagag aagcctggcc aggccttcag aggcctgac 840
 ggcggaacca acaagcgggc tectggcacc cctgccagat tctctggaag tctgctgggt 900
 ggcaaggctg cactgacctt gtccggcgct caacctgagg atgaggccga gtactactgc 960
 gccctgtggt attccaacct gtgggtcttc ggcggtggca ccaagctgac cgtgctgtct 1020
 tctgcctcca ccaaagcccc ctcggtgttc cctctggctc ctagtccaa gtctacctcc 1080

ggcgggtacag ctgctctggg ctgcctggtc aaggattact tcccagagcc tgtgaccgtg 1140
 tcttggaact cgggcgcctt gactctgga gtgcacacat tccctgctgt gctgcagtc 1200
 tctggcctgt actctctgtc ttccgtctgt acagtgcctt ccagcagcct cggcacacag 1260
 acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaggaggaa 1320
 cccaaatctt gcgacaagac ccacacctgt cctcctgtc ctgccctga ggccgtggc 1380
 ggcccttctg tgttctgtt cccgccaaag cctaaggaca cgctgatgat ctcccgacc 1440
 cctgaggtga cctgcgtggt ggtggatgtg tctcatgagg acctgaagt gaagtcaac 1500

tggtacgtgg acggcgtcga ggtgcacaac gccaaaacca agcccagaga ggaacagtac 1560
 aacagcacct acagagtggg gtccgtgctg accgtgctgc accaggactg gctgaacggc 1620
 aaagagtaca agtgcaaggt gagcaataag gccctgggcg cccctatcga gaagaccatc 1680
 tccaaggcca agggccagcc tagagaacct cagggtgtaca cctgcctcc ttgcagagac 1740
 gagctgacca agaaccaggt ctctctgtgg tgctgtgga agggcttcta cccttctgac 1800
 atgccgtgg aatgggagtc caatggacag cccgagaaca actacaagac cacacctcca 1860
 gtgtggact ccgacggctc cttcttctg tacagcaagc tgacagtgga caagtccaga 1920

tggcagcagg gcaacgtgtt ctctgctcc gtgatgcag aggcctgtga caaccactac 1980
 acccagaagt cctgtccct gtctctgga aag 2013

<210> 83

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-CD3-VH-CL

<400> 83

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr

[illegible]

<220><223> anti-CD3-VH-CL

<400> 84

gaggtgcagc tgctggaatc cggcggagga ctggtccagc ctggcggctc tctgcggctg	60
tcttgtgctg ctctggctt caccttctcc acatatgcca tgaactgggt cagacaggcc	120
cccgcaagg gcctggaatg ggtgtccaga atcagatcca agtacaaca ctacgccacc	180
tactacgccg attccgtgaa gggacggttc accatctccc gggacgactc caagaacaca	240
ctgtacctgc agatgaacag cctgagagcc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcgtgcgg	300
cacggcaact tcggcaatc ctacgtgtcc tggttgcct actggggcca gggcacctg	360
gtcacctgtt ctccgcctc tgtggccgt ccttctgtgt tcatcttccc tccttccgac	420
gagcagctga agtctggcac agcttctgtg gtgtgcctgc tgaacaactt ctaccctaga	480
gaggccaagg tgcagtggaa ggtggacaac gccctgcagt ccggcaactc ccaagagtc	540
gtgaccgagc aggactctaa ggactctacc tactccctgt cctccaccct gaccctgagc	600
aaggccgact acgagaagca caaagtgtac gcctgcgaag tgaccaccca gggcctgtcc	660
tctcctgtga ccaagtcctt caacagaggc gagtgc	696