(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0136952
(43) 공개일자 2024년09월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2878 (2013.01)
A61P 35/02 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2024-7022135
(22) 출원일자(국제) 2022년12월07일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년07월02일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2022/137266
(87) 국제공개번호 WO 2023/104100
국제공개일자 2023년06월15일
(30) 우선권주장
202111487287.1 2021년12월07일 중국(CN)

(71) 출원인
이노벤트 바이오로직스 (쑤저우) 컴퍼니, 리미티드
중국 215123 장쑤 쑤저우 쑤저우 인더스트리얼 파크 동핑 스트리트 168
(72) 발명자
웨이 후아펭
중국, 지앙수 215123, 수저우, 차이나 (지앙수) 파일럿 프리 트레이드 존, 수저우 에어리어, 수저우 인더스트리얼 파크, 168 동핑 스트리트, 빌딩 에이2
수 단
중국, 지앙수 215123, 수저우, 차이나 (지앙수) 파일럿 프리 트레이드 존, 수저우 에어리어, 수저우 인더스트리얼 파크, 168 동핑 스트리트, 빌딩 에이2
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인한얼

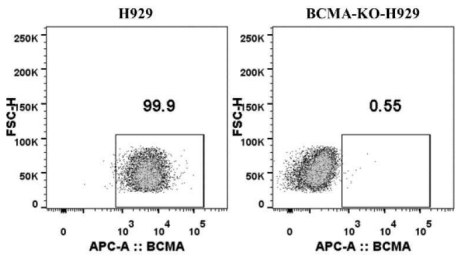
전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 **BCMA에 결합하는 항체 및 이의 용도**

(57) 요 약

본 발명은 BCMA에 특이적으로 결합하는 친화력이 향상된 항체와 이의 P329G 돌연변이를 포함하는 항체 및 상기 항체를 포함하는 접합체, 융합물, 이중특이성 항체 또는 약학적 조성물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 상기 항체를 코딩하는 핵산 및 상기 핵산을 포함하는 숙주 세포, 및 상기 항체를 제조하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 이들 BCMA에 결합하는 항체의 치료 및 진단 용도에 관한 것이다.

대 표 도



도 1

(52) CPC특허분류
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/31 (2013.01)
C07K 2317/54 (2013.01)
C07K 2317/55 (2013.01)
C07K 2317/56 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/732 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)
(72) 발명자
다로브스키 다이아나 비니아
중국, 지앙수 215123, 수저우, 차이나 (지앙수) 파일럿 프리 트레이드 존, 수저우 에어리어, 수저우 인더스트리얼 파크, 168 동핑 스트리트, 빌딩 에이2
프린츠 비앙카
중국, 지앙수 215123, 수저우, 차이나 (지앙수) 파일럿 프리 트레이드 존, 수저우 에어리어, 수저우 인더스트리얼 파크, 168 동핑 스트리트, 빌딩 에이2
볼랜드 나드타카른
중국, 지앙수 215123, 수저우, 차이나 (지앙수) 파일럿 프리 트레이드 존, 수저우 에어리어, 수저우 인더스트리얼 파크, 168 동핑 스트리트, 빌딩 에이2
지오게간 제임스
중국, 지앙수 215123, 수저우, 차이나 (지앙수) 파일럿 프리 트레이드 존, 수저우 에어리어, 수저우 인더스트리얼 파크, 168 동핑 스트리트, 빌딩 에이2

명 세 서

청구범위

청구항 1

BCMA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 이는

(a) 서열 번호: 27에 제시된 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열 중 3개의 CDR 및 서열 번호: 36에 제시된 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 중 3개의 CDR; 또는 상기 6개의 CDR 영역 내에 단일 CDR 또는 복수 CDR을 갖고 각 CDR 영역에 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체;

(b) 서열 번호: 45에 제시된 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열 중 3개의 CDR 및 서열 번호: 54에 제시된 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 중 3개의 CDR; 또는 상기 6개의 CDR 영역 내에 단일 CDR 또는 복수 CDR을 갖고 각 CDR 영역에 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체;

(c) 서열 번호: 81에 제시된 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열 중 3개의 CDR 및 서열 번호: 90에 제시된 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 중 3개의 CDR; 또는 상기 6개의 CDR 영역 내에 단일 CDR 또는 복수 CDR을 갖고 각 CDR 영역에 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; 또는

(d) 서열 번호: 99에 제시된 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열 중 3개의 CDR 및 서열 번호: 108에 제시된 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 중 3개의 CDR; 또는 상기 6개의 CDR 영역 내에 단일 CDR 또는 복수 CDR을 갖고 각 CDR 영역에 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하며;

상기 아미노산 변화는 아미노산의 첨가, 결실 또는 치환인, BCMA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 2

BCMA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 이는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서:

(a) 상기 중쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 GSI**V**SSSYYW**T**(서열 번호: 19)에 제시된 HCDR1, 또는 상기 HCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; SI**SIA**GSTYYNPSLKS(서열 번호: 20)에 제시된 HCDR2, 또는 상기 HCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; ARDRGDTILDV(서열 번호: 21)에 제시된 HCDR3, 또는 상기 HCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 RASQSIS**R**YLN(서열 번호: 28)에 제시된 LCDR1, 또는 상기 LCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; AASSLQS(서열 번호: 29)에 제시된 LCDR2, 또는 상기 LCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; 및 QQKYFDIT(서열 번호: 30)에 제시된 LCDR3, 또는 상기 LCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하며;

(b) 상기 중쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 GSI**V**SSSYYW**T**(서열 번호: 37)에 제시된 HCDR1, 또는 상기 HCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; SI**SIA**GSTYYNPSLKS(서열 번호: 38)에 제시된 HCDR2, 또는 상기 HCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; ARDRGDQILDV(서열 번호: 39)에 제시된 HCDR3, 또는 상기 HCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 RASQSIS**R**YLN(서열 번호: 46)에 제시된 LCDR1, 또는 상기 LCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; AASSLQS(서열 번호: 47)에 제시된 LCDR2, 또는 상기 LCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; 및 QQKYFDIT(서열 번호: 48)에 제시된 LCDR3, 또는 상기 LCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하며;

(c) 상기 중쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 GTFSNDVIS(서열 번호: 73)에 제시된 HCDR1, 또는 상기 HCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; VIIPIFGIANYAQKFQG(서열 번호: 74)에 제시된 HCDR2, 또는 상기 HCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; ARGRGYYSSWLLDI(서열 번호: 75)에 제시된 HCDR3, 또는 상기 HCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하고; 상기 경

쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 QASQDITNYLN(서열 번호: 82)에 제시된 LCDR1, 또는 상기 LCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; DASNLET(서열 번호: 83)에 제시된 LCDR2, 또는 상기 LCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; 및 QQAFDLIT(서열 번호: 84)에 제시된 LCDR3, 또는 상기 LCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하며; 또는

(d) 상기 중쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 GTFSNDVIS(서열 번호: 91)에 제시된 HCDR1, 또는 상기 HCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; VIIPIFGIANYAQKFQG(서열 번호: 92)에 제시된 HCDR2, 또는 상기 HCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; ARGRGYYSSWLHDI(서열 번호: 93)에 제시된 HCDR3, 또는 상기 HCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 QASQDITNYLN(서열 번호: 100)에 제시된 LCDR1, 또는 상기 LCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; DASNLET(서열 번호: 101)에 제시된 LCDR2, 또는 상기 LCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; 및 QQAFDLIT(서열 번호: 102)에 제시된 LCDR3, 또는 상기 LCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하며;

상기 아미노산 변화는 아미노산의 첨가, 결실 또는 치환인, BCMA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 3

제2항에 있어서, 이는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서

(a) 상기 중쇄 가변 영역은 GSI**V**SSSYYW**T**(서열 번호: 19)에 제시된 HCDR1; SI**SIA**GSTYYNPSLKS(서열 번호: 20)에 제시된 HCDR2; 및 ARDRGDTILDV(서열 번호: 21)에 제시된 HCDR3을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 RASQSIS**R**YLN(서열 번호: 28)에 제시된 LCDR1; AASSLQS(서열 번호: 29)에 제시된 LCDR2; 및 QQKYFDIT(서열 번호: 30)에 제시된 LCDR3을 포함하며;

(b) 상기 중쇄 가변 영역은 GSI**V**SSSYYW**T**(서열 번호: 37)에 제시된 HCDR1; SI**SIA**GSTYYNPSLKS(서열 번호: 38)에 제시된 HCDR2; 및 ARDRGDQILDV(서열 번호: 39)에 제시된 HCDR3을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 RASQSIS**R**YLN(서열 번호: 46)에 제시된 LCDR1; AASSLQS(서열 번호: 47)에 제시된 LCDR2; 및 QQKYFDIT(서열 번호: 48)에 제시된 LCDR3을 포함하며;

(c) 상기 중쇄 가변 영역은 GTFSNDVIS(서열 번호: 73)에 제시된 HCDR1; VIIPIFGIANYAQKFQG(서열 번호: 74)에 제시된 HCDR2; ARGRGYYSSWLLDI(서열 번호: 75)에 제시된 HCDR3을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 QASQDITNYLN(서열 번호: 82)에 제시된 LCDR1; DASNLET(서열 번호: 83)에 제시된 LCDR2; 및 QQAFDLIT(서열 번호: 84)에 제시된 LCDR3을 포함하며; 또는

(d) 상기 중쇄 가변 영역은 GTFSNDVIS(서열 번호: 91)에 제시된 HCDR1; VIIPIFGIANYAQKFQG(서열 번호: 92)에 제시된 HCDR2; ARGRGYYSSWLHDI(서열 번호: 93)에 제시된 HCDR3을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 QASQDITNYLN(서열 번호: 100)에 제시된 LCDR1; DASNLET(서열 번호: 101)에 제시된 LCDR2; 및 QQAFDLIT(서열 번호: 102)에 제시된 LCDR3을 포함하는, BCMA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 이는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서

(a) 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 27에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 36에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하며;

(b) 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 45에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 54에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하며;

(c) 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 81에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 90에 제시된 서열 또는 이

와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하며; 또는

(d) 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 99에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 108에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, BCMA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 5

제4항에 있어서, 이는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은

(a) 서열 번호: 27에 제시된 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 36에 제시된 경쇄 가변 영역;

(b) 서열 번호: 45에 제시된 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 54에 제시된 경쇄 가변 영역;

(c) 서열 번호: 81에 제시된 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 90에 제시된 경쇄 가변 영역; 또는

(d) 서열 번호: 99에 제시된 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 108에 제시된 경쇄 가변 영역을 포함하는, BCMA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 이는 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체이고; 선택적으로 이는 IgG1 또는 IgG4 항체이고; 선택적으로 이는 IgG1 항체인, BCMA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원 결합 단편은 Fab, Fab', F(ab')2, Fv, 단쇄 Fv, 단쇄 Fab 또는 디아바디(diabody)인, BCMA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 8

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 이는 또한 돌연변이 Fc 도메인을 포함하고, 여기서 EU 넘버링에 따른 P329 위치에 있는 아미노산 돌연변이는 글라이신(G)이고, 돌연변이되지 않은 모항체의 Fc 도메인의 Fcɣ 수용체 결합과 비교 시, 돌연변이 Fc 도메인의 Fcɣ 수용체 결합이 감소되고; 예를 들어 상기 돌연변이 Fc 도메인은 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체의 돌연변이 Fc 도메인이고, 바람직하게는, 상기 돌연변이 Fc 도메인은 IgG1 또는 IgG4 항체의 돌연변이 Fc 도메인이고; 보다 바람직하게는, 상기 돌연변이 Fc 도메인은 IgG1 항체의 돌연변이 Fc 도메인이며;

예를 들어, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호: 111에 제시된 중쇄 불변 영역 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 여기서 EU 넘버링에 따른 P329 위치에 있는 아미노산 돌연변이가 G이며;

예를 들어, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호: 111에 제시된 중쇄 불변 영역 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 여기서 EU 넘버링에 따른 P329 위치에 있는 아미노산 돌연변이가 G이고; 및 서열 번호: 112에 제시된 경쇄 불변 영역 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하며;

예를 들어, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호: 111에 제시된 중쇄 불변 영역 서열 및 서열 번호: 112에 제시된 경쇄 불변 영역 서열을 포함하는, BCMA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 이는 이하 특성 중 하나 이상을 가지며:

(1) 높은 친화력으로 인간 BCMA, 시노몰구스 원숭이 BCMA 및 마우스 BCMA와 같은 BCMA에 결합하고, 예를 들어, 상기 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 BCMA 사이의 결합 K_D는 ForteBio 약동학적 결합 측정법으로 측정 시 약 10^{-9}M 내지 약 10^{-12}M이며;

(2) 세포 표면에 발현된 BCMA에 특이적으로 결합하며;

(3) BCMA를 발현하는 세포에 대해 ADCC 세포 독성 사멸 효과가 있으며;

(4) BCMA를 발현하는 세포에 대해 ADCP 사멸 효과가 있으며;

(5) 인간 BCMA를 발현하는 세포(특히 다발성 골수종 세포)의 성장을 차단, 억제하고 및/또는 상기 세포를 사멸시키며; 및

(6) BCMA를 발현하는 종양에 대해 생체내 항종양 효과가 있으며 유의한 독성 및 부작용이 없는, BCMA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 따른 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 단리된 핵산.

청구항 11

제10항에 따른 핵산을 포함하는 벡터로서, 바람직하게는 상기 벡터는 발현 벡터인, 벡터.

청구항 12

제10항에 따른 핵산 또는 제11항에 따른 벡터를 포함하는 숙주 세포로서, 바람직하게는, 상기 숙주 세포는 원핵 또는 진핵 세포이고, 보다 바람직하게는 대장균 세포, 효모 세포, 포유동물 세포, 또는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제조하기에 적합한 기타 세포로부터 선택되고, 가장 바람직하게는, 상기 숙주 세포는 HEK293 세포 또는 CHO 세포인, 숙주 세포.

청구항 13

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 따른 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제조하는 방법으로서, 상기 방법은 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 따른 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 핵산 발현에 적합한 조건 하에서 제12항에 따른 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하고, 선택적으로 상기 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 단리하고, 선택적으로 상기 방법은 또한 상기 숙주 세포로부터 상기 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 회수하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 14

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 따른 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 접합체, 융합물 또는 이중특이성 항체.

청구항 15

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 따른 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 제14항에 따른 접합체,

융합물 또는 이중특이성 항체, 및 선택적으로 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 16

피험자에서 B 세포 관련 질환을 예방 또는 치료하기 위한 약물의 제조 시의, 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 따른 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 제14항에 따른 접합체, 융합물 또는 이중특이성 항체, 또는 제15항에 따른 약학적 조성물의 용도로서, 예를 들어, 상기 B 세포 관련 질환은 B 세포 악성종양, 형질세포 악성종양 및 자가면역 질환으로부터 선택되고, 바람직하게는 다발성 골수종, 비호지킨 림프종, 불확실한 악성 가능성의 B 세포 증식, 림프종양 육아종증, 이식 후 림프증식성 질환, 면역조절 질환, 류마티스 관절염, 중증 근무력증, 특발성 혈소판 감소성 자반증, 항인지질 증후군, 샤가스병, 그레이브스병, 베게너 육아종증, 결절성 다발동맥염, 쇼그렌 증후군, 심상성 천포창, 공피증, 다발성 경화증, ANCA 관련 혈관염, 굿파스처병, 가와사키병, 자가면역성 용혈성 빈혈 및 급속 진행성 사구체신염, 중쇄병, 원발성 또는 면역 세포 관련 아밀로이드증 또는 의미 불명 단클론 감마병증으로부터 선택되고, 바람직하게는 상기 B 세포 관련 질환은 B 세포 악성종양이고, 보다 바람직하게는, 다발성 골수종(MM) 또는 비호지킨 림프종(NHL)인, 용도.

청구항 17

샘플의 BCMA를 검출하는 키트로서, 상기 키트는 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 따른 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하고, 이하 단계:

(a) 샘플을 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 따른 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 접촉시키는 단계; 및

(b) 상기 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 BCMA 사이의 복합체의 형성을 검출하는 단계를 수행하기 위해 사용되며; 선택적으로 상기 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 검출 가능하게 표지되는, 키트.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 항체 약물 분야에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 B 세포 성숙 항원(BCMA)에 특이적으로 결합하는 친화력이 향상된 항체와 이의 P329G 돌연변이를 포함하는 항체 및 상기 항체를 함유하는 조성물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 상기 항체를 코딩하는 핵산 및 상기 핵산을 포함하는 숙주 세포, 및 상기 항체를 제조하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 이들 BCMA에 결합하는 항체의 치료 및 진단 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] B 세포 성숙 항원(BCMA, 즉 CD269, TNFRSF17)은 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리(TNFRSF)의 구성원이다. BCMA는 III형 막관통 단백질로, 세포외 도메인(ECD)에서 TNFR 패밀리 구성원의 특징인 시스테인이 풍부한 도메인(CRD)을 갖고, 해당 도메인은 리간드 결합 모티프를 형성한다. BCMA의 리간드는 B 세포 활성화 인자(BAFF)와 B 세포 증식 유도 리간드(APRIL)가 포함되며, 여기서 B 세포 증식 유도 리간드(APRIL)는 BCMA와 더 높은 친화력으로 결합하여 종양 *세포 증식*을 촉진한다.

[0003] BCMA는 주로 성숙한 B세포, 즉 형질세포의 표면에서 발현되고, 정상적인 조혈줄기세포와 비혈액 유래 조직에는 발현되지 않으며, BCMA 신호는 지속적으로 작용하는 골수 형질세포의 생존에 필수적이나 전반적인 B 세포 항상성에 필수적이지는 않다. 막 표면의 BCMA는 γ-세크레타제에 의해 절단되어 탈락될 수 있으며, 생성된 가용성 BCMA(sBCMA)는 BAFF/APRIL 리간드 결합을 차단하여 막 표면의 BCMA 신호 전달을 감소시킬 수 있다. BCMA는 전임상 모델 및 인간 종양의 다발성 골수종(Multiple Myeloma, MM) 세포에서 과발현되는 것으로 밝혀졌으며, 이는 고전적 및 비고전적 NF-κB 신호 전달을 상향 조절하고 MM 세포 성장, 생존 및 접착을 촉진하고 파골세포 활성화, 혈관 생성, 전이 및 면역억제 등을 유도하고, BCMA 발현은 이미 MM을 진단하는 중요한 마커가 되었다. 또한, MM 환자의 혈청 내 sBCMA 수준은 증가하는데, 이는 골수 내 MM 세포 수에 정비례하며, 이의 농도 변화는 MM의 예후 및 치료 반응과 밀접한 관련이 있다.

[0004] 형질세포종 또는 칼러병이라도 칭한 다발성 골수종은 형질세포의 비정상적인 증식을 특징으로 하는 난치성 B세포 악성종양이다. BCMA는 형질세포에서만 발현되고 천연 및 기억 B 세포에서는 발현되지 않는다는 특성을 고려할 때 BCMA는 B 세포 악성종양, 특히 다발성 골수종을 치료하는 인기 있는 표적이 되었다. 새로운 BCMA 특이적 결합 분자에 대한 필요성이 당업계에 존재한다. 본 발명은 높은 표적 특이성과 높은 친화력으로 BCMA, 특히 종양 세포 표면에 발현된 BCMA에 결합하는 항체를 제공함으로써 이 측면의 요구를 충족시킨다.

발명의 내용

[0005] 연구를 통해, 본 발명자는 BCMA에 높은 친화력 결합을 갖는 새로운 항BCMA 항체 그룹을 개발한다. 본 발명의 BCMA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 다음 중 하나 이상의 특성을 갖는다:

[0006] (1) 높은 친화력으로 인간 BCMA, 시노몰구스 원숭이 BCMA 및 마우스 BCMA와 같은 BCMA에 결합하고, 예를 들어, 상기 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 BCMA 사이의 결합 K_D는 ForteBio 약동학적 결합 측정법으로 측정 시 약 10^{-9}M 내지 약 10^{-12}M이며;

[0007] (2) 세포 표면에 발현된 BCMA에 특이적으로 결합하며;

[0008] (3) BCMA를 발현하는 세포에 대해 ADCC 세포 독성 사멸 효과가 있으며;

[0009] (4) BCMA를 발현하는 세포에 대해 ADCP 사멸 효과가 있으며;

[0010] (5) 인간 BCMA를 발현하는 세포(특히 다발성 골수종 세포)의 성장을 차단, 억제하고 및/또는 상기 세포를 사멸시키며; 및

[0011] (6) BCMA를 발현하는 종양에 대해 생체내 항종양 효과가 있으며 유의한 독성 및 부작용이 없다.

[0012] 첫 번째 측면에서, 본 발명은 BCMA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공하며, 이는 다음을 포함한다

[0013] (a) 서열 번호: 27에 제시된 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열 중 3개의 CDR 및 서열 번호: 36에 제시된 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 중 3개의 CDR; 또는 상기 6개의 CDR 영역 내에 단일 CDR 또는 복수 CDR을 갖고 각 CDR 영역에 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체;

[0014] (b) 서열 번호: 45에 제시된 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열 중 3개의 CDR 및 서열 번호: 54에 제시된 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 중 3개의 CDR; 또는 상기 6개의 CDR 영역 내에 단일 CDR 또는 복수 CDR을 갖고 각 CDR 영역에 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체;

[0015] (c) 서열 번호: 81에 제시된 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열 중 3개의 CDR 및 서열 번호: 90에 제시된 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 중 3개의 CDR; 또는 상기 6개의 CDR 영역 내에 단일 CDR 또는 복수 CDR을 갖고 각 CDR 영역에 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; 또는

[0016] (d) 서열 번호: 99에 제시된 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열 중 3개의 CDR 및 서열 번호: 108에 제시된 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 중 3개의 CDR; 또는 상기 6개의 CDR 영역 내에 단일 CDR 또는 복수 CDR을 갖고 각 CDR 영역에 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체;

[0017] 여기서 상기 아미노산 변화는 아미노산의 첨가, 결실 또는 치환이다.

[0018] 일부 실시양태에서, 본 발명의 BCMA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서:

[0019] (a) 상기 중쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 GSIVSSSYYWT(서열 번호: 19)에 제시된 HCDR1, 또는 상기 HCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; SISIAGSTYYNPSLKS(서열 번호: 20)에 제시된 HCDR2, 또는 상기 HCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; ARDRGDTILDV(서열 번호: 21)에 제시된 HCDR3, 또는 상기 HCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 RASQSISRYLN(서열 번호: 28)에 제시된 LCDR1, 또는 상기 LCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; AASSLQS(서열 번호: 29)에 제시된 LCDR2, 또는 상기 LCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; 및 QQKYFDIT(서열 번호: 30)에 제시된 LCDR3, 또는 상기 LCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하며;

[0020] (b) 상기 중쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 GSIVSSSYYWT(서열 번호: 37)에 제시된 HCDR1, 또는 상기 HCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; SISIAGSTYYNPSLKS(서열 번호: 38)에 제시된 HCDR2, 또는 상기 HCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; ARDRGDQILDV(서열 번호: 39)에 제시된 HCDR3, 또는 상기 HCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 RASQSISRYLN(서열 번호: 46)에 제시된 LCDR1, 또는 상기 LCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; AASSLQS(서열 번호: 47)에 제시된 LCDR2, 또는 상기 LCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; 및 QQKYFDIT(서열 번호: 48)에 제시된 LCDR3, 또는 상기 LCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하며;

[0021] (c) 상기 중쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 GTFSNDVIS(서열 번호: 73)에 제시된 HCDR1, 또는 상기 HCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; VIIPIFGIANYAQKFQG(서열 번호: 74)에 제시된 HCDR2, 또는 상기 HCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; ARGRGYYSSWLLDI(서열 번호: 75)에 제시된 HCDR3, 또는 상기 HCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 QASQDITNYLN(서열 번호: 82)에 제시된 LCDR1, 또는 상기 LCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; DASNLET(서열 번호: 83)에 제시된 LCDR2, 또는 상기 LCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; 및 QQAFDLIT(서열 번호: 84)에 제시된 LCDR3, 또는 상기 LCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하며; 또는

[0022] (d) 상기 중쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 GTFSNDVIS(서열 번호: 91)에 제시된 HCDR1, 또는 상기 HCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; VIIPIFGIANYAQKFQG(서열 번호: 92)에 제시된 HCDR2, 또는 상기 HCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; ARGRGYYSSWLHDI(서열 번호: 93)에 제시된 HCDR3, 또는 상기 HCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 QASQDITNYLN(서열 번호: 100)에 제시된 LCDR1, 또는 상기 LCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; DASNLET(서열 번호: 101)에 제시된 LCDR2, 또는 상기 LCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; 및 QQAFDLIT(서열 번호: 102)에 제시된 LCDR3, 또는 상기 LCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하며;

[0023] 여기서 상기 아미노산 변화는 아미노산의 첨가, 결실 또는 치환이다.

[0024] 일부 실시양태에서, 본 발명의 BCMA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서

[0025] (a) 상기 중쇄 가변 영역은 GSIVSSSYYWT(서열 번호: 19)에 제시된 HCDR1; SISIAGSTYYNPSLKS(서열 번호: 20)에 제시된 HCDR2; 및 ARDRGDTILDV(서열 번호: 21)에 제시된 HCDR3을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 RASQSISRYLN(서열 번호: 28)에 제시된 LCDR1; AASSLQS(서열 번호: 29)에 제시된 LCDR2; 및 QQKYFDIT(서열 번호: 30)에 제시된 LCDR3을 포함하며;

[0026] (b) 상기 중쇄 가변 영역은 GSIVSSSYYWT(서열 번호: 37)에 제시된 HCDR1; SISIAGSTYYNPSLKS(서열 번호: 38)에 제시된 HCDR2; 및 ARDRGDQILDV(서열 번호: 39)에 제시된 HCDR3을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 RASQSISRYLN(서열 번호: 46)에 제시된 LCDR1; AASSLQS(서열 번호: 47)에 제시된 LCDR2; 및 QQKYFDIT(서열 번호: 48)에 제시된 LCDR3을 포함하며;

[0027] (c) 상기 중쇄 가변 영역은 GTFSNDVIS(서열 번호: 73)에 제시된 HCDR1; VIIPIFGIANYAQKFQG(서열 번호: 74)에 제시된 HCDR2; ARGRGYYSSWLLDI(서열 번호: 75)에 제시된 HCDR3을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 QASQDITNYLN(서열 번호: 82)에 제시된 LCDR1; DASNLET(서열 번호: 83)에 제시된 LCDR2; 및 QQAFDLIT(서열 번호: 84)에 제시된 LCDR3을 포함하며; 또는

[0028] (d) 상기 중쇄 가변 영역은 GTFSNDVIS(서열 번호: 91)에 제시된 HCDR1; VIIPIFGIANYAQKFQG(서열 번호: 92)에 제시된 HCDR2; ARGRGYYSSWLHDI(서열 번호: 93)에 제시된 HCDR3을 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 QASQDITNYLN(서열 번호: 100)에 제시된 LCDR1; DASNLET(서열 번호: 101)에 제시된 LCDR2; 및 QQAFDLIT(서열 번호: 102)에 제시된 LCDR3을 포함한다.

[0029] 일부 실시양태에서, 본 발명의 BCMA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서

[0030] (a) 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 27에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%,

97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 36에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하며;

[0031] (b) 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 45에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 54에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하며;

[0032] (c) 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 81에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 90에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하며; 또는

[0033] (d) 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 99에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 108에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0034] 일부 실시양태에서, 본 발명의 BCMA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 다음을 포함한다

[0035] (a) 서열 번호: 27에 제시된 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 36에 제시된 경쇄 가변 영역;

[0036] (b) 서열 번호: 45에 제시된 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 54에 제시된 경쇄 가변 영역;

[0037] (c) 서열 번호: 81에 제시된 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 90에 제시된 경쇄 가변 영역; 또는

[0038] (d) 서열 번호: 99에 제시된 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 108에 제시된 경쇄 가변 영역.

[0039] 일부 실시양태에서, 본 발명의 BCMA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체이고; 선택적으로, 이는 IgG1 또는 IgG4 항체이고; 선택적으로, 이는 IgG1항체이다. 일부 실시양태에서, 상기 항원 결합 단편은 Fab, Fab', F(ab')2, Fv, 단쇄 Fv, 단쇄 Fab 또는 디아바디(diabody)이다.

[0040] 일부 실시양태에서, 본 발명의 BCMA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 또한 돌연변이 Fc 도메인을 포함하고, 여기서 EU 넘버링에 따른 P329 위치에 있는 아미노산 돌연변이는 글라이신(G)이고, 돌연변이되지 않은 모항체의 Fc 도메인의 Fcɣ 수용체 결합과 비교 시, 돌연변이 Fc 도메인의 Fcɣ 수용체 결합이 감소되고; 예를 들어 상기 돌연변이 Fc 도메인은 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체의 돌연변이 Fc 도메인이고, 바람직하게는, 상기 돌연변이 Fc 도메인은 IgG1 또는 IgG4 항체의 돌연변이 Fc 도메인이고; 보다 바람직하게는, 상기 돌연변이 Fc 도메인은 IgG1 항체의 돌연변이 Fc 도메인이며;

[0041] 예를 들어, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호: 111에 제시된 중쇄 불변 영역 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 여기서 EU 넘버링에 따른 P329 위치에 있는 아미노산 돌연변이가 G이며;

[0042] 예를 들어, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호: 111에 제시된 중쇄 불변 영역 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 여기서 EU 넘버링에 따른 P329 위치에 있는 아미노산 돌연변이가 G이고; 및 서열 번호: 112에 제시된 경쇄 불변 영역 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하며;

[0043] 예를 들어, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호: 111에 제시된 중쇄 불변 영역 서열 및 서열 번호: 112에 제시된 경쇄 불변 영역 서열을 포함한다.

[0044] 두 번째 측면에서, 본 발명은 본 발명의 첫 번째 측면의 항체를 코딩하는 핵산, 상기 항체를 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터, 상기 핵산 분자 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포, 및 상기 항체를 제조하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 본 발명의 첫 번째 측면에 상기 BCMA 분자에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 핵산을 발현하기에 적합한 조건 하에서, 첫 번째 측면에 상기 BCMA 분자에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편을 코딩하는 핵산의 발현 벡터가 도입된 숙주 세포를 배양하고, 상기 BCMA 분자에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편을 단리하는 단계를 포함하고, 선택적으로 상기 방법은 또한 상기 숙주 세포로부터 상기 BCMA 분자에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편을 회수하는 단계를 포함한다. 바람직하게는, 상기 숙주 세포는 원핵 또는 진핵이고, 보다 바람직하게는 대장균 세포, 효모 세포, 포유동물 세포, 또는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제조하기에 적합한 기타 세포로부터 선택되고, 가장 바람직하게는, 상기 숙주 세포는 HEK293 세포 또는 CHO 세포이다.

[0045] 세 번째 측면에서, 본 발명은 본 발명의 첫 번째 측면의 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 접합체, 융합물 또는 이중특이성 항체에 관한 것이다.

[0046] 네 번째 측면에서, 본 발명은 본 발명의 첫 번째 측면의 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 본 발명의 세 번째 측면의 접합체, 융합물 또는 이중특이성 항체를 포함하는 약학적 조성물, 및 선택적으로 약학적으로 허용 가능한 담체에 관한 것이다.

[0047] 다섯 번째 측면에서, 본 발명은 피험자에서 B 세포 관련 질환을 예방 또는 치료하기 위한 약물의 제조 시의, 본 발명의 첫 번째 측면의 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 본 발명의 세 번째 측면의 접합체, 융합물 또는 이중특이성 항체, 또는 본 발명의 네 번째 측면의 약학적 조성물의 용도에 관한 것으로, 예를 들어, 상기 B 세포 관련 질환은 B 세포 악성종양, 형질세포 악성종양 및 자가면역 질환으로부터 선택되고, 바람직하게는 다발성 골수종, 비호지킨 림프종, 불확실한 악성 가능성의 B 세포 증식, 림프종양 육아종증, 이식 후 림프증식성 질환, 면역조절 질환, 류마티스 관절염, 중증 근무력증, 특발성 혈소판 감소성 자반증, 항인지질 증후군, 샤가스병, 그레이브스병, 베게너 육아종증, 결절성 다발동맥염, 쇼그렌 증후군, 심상성 천포창, 공피증, 다발성 경화증, ANCA 관련 혈관염, 굿파스처병, 가와사키병, 자가면역성 용혈성 빈혈 및 급속 진행성 사구체신염, 중쇄병, 원발성 또는 면역 세포 관련 아밀로이드증 또는 의미 불명 단클론 감마병증으로부터 선택되고, 바람직하게는, 상기 B 세포 관련 질환은 B 세포 악성종양이고, 보다 바람직하게는, 다발성 골수종(MM) 또는 비호지킨 림프종(NHL)이다.

[0048] 여섯 번째 측면에서, 본 발명은 샘플의 BCMA를 검출하기 위한 키트를 제공하며, 상기 키트는 본 발명의 첫 번째 측면의 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하며, 이하 단계를 수행하기 위해 사용된다:

[0049] (a) 샘플을 본 발명의 첫 번째 측면의 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 접촉시키는 단계; 및

[0050] (b) 상기 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 BCMA 사이의 복합체의 형성을 검출하는 단계; 선택적으로 상기 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 검출 가능하게 표지된다.

도면의 간단한 설명

[0051] 이하 첨부된 도면들과 결합해서 읽을 때는, 이하 상세히 설명된 본 발명의 바람직한 실시양태를 보다 더 잘 이해할 것이다. 본 발명의 목적을 설명하기 위해, 도면에는 현재 바람직한 실시양태를 나타낸다. 그러나, 본 발명은 도면에 도시된 실시양태의 정확한 배치 및 수단에 한정되지 않는 것으로 이해해야 할 것이다.

도 1은 ADI-38497 항체가 BCMA 항원을 발현하는 H929 세포에만 결합하고 BCMA 유전자 녹아웃 BCMA-KO-H929 세포에 결합하지 않음을 나타낸다.

도 2A는 표면 플라즈몬 공명(SPR)을 채택하여 항체 친화력을 측정하는 방법의 개략도를 나타낸다.

도 2B는 SPR을 채택하여 측정한 재조합 인간, 시노몰구스 원숭이, 마우스, 래트 및 토끼의 BCMA 단백질에 대한 ADI-38497 PG 항체의 대표적인 친화력 프로파일을 나타낸다.

도 2C는 인간, 시노몰구스 원숭이 및 마우스 BCMA를 안정적으로 발현하는 CHO-GS 세포에 대한 P329G BCMA 항체의 결합 능력을 나타낸다.

도 2D는 BCMA를 발현하는 양성 다발성 골수종 세포주 MM.1s, RPMI8226, U266, H929, L363 및 AMO1에 대한 P329G BCMA 항체의 결합 활성을 나타낸다.

도 3A는 ADCC 사멸을 매개하는 ADI-38497 WT 항체 및 ADI-38497 PG 항체의 능력을 나타낸다.

도 3B는 ADCP 사멸을 매개하는 ADI-38497 WT 항체 및 ADI-38497 PG 항체의 능력을 나타낸다.

도 3C는 표적 세포 용해를 매개하는 ADI-38497 PG 항체의 능력을 나타낸다.

도 4A 및 4B는 마우스에서 ADI-38497 PG 항체의 약동학적 실험 결과를 나타낸다.

도 5A는 인간 H929 고발현 BCMA 종양 세포를 피하에 접종한 면역결핍 종양 보유 마우스에서 ADI-38497 PG 항체의 치료 효과를 나타낸다.

도 5B는 인간 H929 고발현 BCMA 종양 세포를 피하에 접종한 면역결핍 종양 보유 마우스에서 ADI-38497 PG 항체를 사용하여 치료 시 마우스의 체중 변화를 나타낸다.

도 6A는 인간 H929-luc 종양 세포를 꼬리 정맥에 접종한 면역결핍 종양 보유 마우스에서 다른 용량의 ADI-38497 PG 항체의 항종양 약효를 나타낸다.

도 6B는 인간 H929-luc 종양 세포를 꼬리 정맥에 접종한 면역결핍 종양 보유 마우스에서 ADI-38497 PG 항체를 사용하여 치료 시 마우스의 체중 변화를 나타낸다.

도 7A는 인간 H929 종양 세포를 피하에 접종한 면역결핍 종양 보유 마우스에서 ADI-38497 PG 항체의 치료 효과를 나타낸다.

도 7B는 인간 H929 종양 세포를 피하에 접종한 면역결핍 종양 보유 마우스에서 ADI-38497 PG 항체를 사용하여 치료 시 마우스의 체중 변화를 나타낸다.

도 7C 및 도 7D는 인간 H929 종양 세포를 피하에 접종한 면역결핍 종양 보유 마우스에서 ADI-38497 PG 항체를 사용하여 치료 시 마우스 혈액학 및 혈액 생화학적 검출 결과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0052] 별도로 한정하지 않는 한, 본원에 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 분야의 당업자가 통상적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 언급된 모든 출판물, 특허 출원, 특허 및 기타 참고문헌은 인용방식을 통해 내용이 완전히 본원에 통합된다. 또한, 본원에 기재된 재료, 방법 및 예로는 단지 설명을 위한 것이뿐이고, 제한하려는 것은 아니다. 본 발명의 다른 특징, 목적 및 이점은 본 명세서 및 도면, 그리고 첨부된 청구범위로부터 자명할 것이다.

[0053] **I. 정의**

[0054] 본 명세서를 설명하기 위해, 이하 정의를 사용할 것이며, 적절한 경우 단수로 사용된 용어는 복수를 포함할 수도 있고 그 반대의 경우도 마찬가지이다. 본원에 사용된 용어는 단지 구체적인 실시양태를 설명하기 위한 것이며 제한하려는 의도가 아니라는 점을 이해해야 한다.

[0055] 용어 "약"은 숫자의 수치와 함께 사용한 경우, 지정된 숫자의 수치보다 5% 작은 하한과 지정된 숫자의 수치보다 5% 큰 상한 범위 내의 숫자의 수치를 망라하는 것을 의미한다.

[0056] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "및/또는"은 옵션 중 임의의 하나 또는 옵션 중 둘 이상을 의미한다.

[0057] 본원에서, 용어 "포함" 또는 "포함한다"를 사용되는 경우, 별도로 명시하지 않는 한, 언급된 요소, 정수 또는 단계로 이루어진 상황도 망라된다. 예를 들어, 특정 구체적인 서열의 항체 가변 영역을 "포함한다"고 언급된 경우, 이 해당 구체적인 서열로 이루어진 항체 가변 영역도 망라하도록 의도된다.

[0058] 용어 "BCMA" 및 "B 세포 성숙 항원"은 상호 교환적으로 사용될 수 있으며 이는 BCMA의 변이체, 동종형 및 종 동족체 및 BCMA(예를 들어, 인간 BCMA)가 적어도 하나의 동일한 에피토프를 갖는 유사체를 포함한다. BCMA 단백질은 또한 세포외 도메인과 같은 BCMA의 단편, 및 세포외 도메인의 단편, 예를 들어 본 발명의 임의의 항체에 결합하는 능력을 유지하는 단편을 포함할 수 있다.

[0059] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "BCMA 항체", "BCMA에 대한 항체", "BCMA에 특이적으로 결합하는 항체", "BCMA를 특이적으로 표적하는 항체", "BCMA를 특이적으로 인식하는 항체"는 상호 교환적으로 사용될 수 있으며, B 세포 성숙 항원(BCMA)에 특이적으로 결합할 수 있는 항체를 의미한다.

[0060] 용어 "항체"는 본원에서 가장 광범위한 의미로 사용되며, 단클론 항체, 다클론 항체, 다중특이성 항체(예를 들어 이중특이성 항체), 단쇄 항체, 온전한 항체 및 항체 단편를 포함하나 이에 한정되지 않는 다양한 구조의 천연 항체 및 인공 항체를 망라하는 항원 결합 부위를 포함하는 단백질을 가리킨다. 바람직하게는, 본 발명의 항체는 단일 도메인 항체 또는 중쇄 항체이다.

[0061] "항체 단편" 또는 "항원 결합 단편"은 본원에서 상호 교환적으로 사용될 수 있으며, 온전한 항체의 일부를 포함하고 온전한 항체가 결합하는 항원에 결합하는, 온전한 항체와 상이한 분자를 가리킨다. 항체 단편의 예로는 Fab, Fab', F(ab')2, Fv, 단쇄 Fv, 단쇄 Fab 또는 디아바디(diabody)가 포함되나 이에 한정되지 않는다.

[0062] 참조 항체와 동일하거나 유사한 결합 친화력 및/또는 특이성을 나타내는 항체는 이러한 항체를 가리키며, 이는 참조 항체의 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상의 결합 친화력 및/또는 특이성을 가질 수 있다. 이는 당업계에 알려진 임의의 결합 친화력 및/또는 특이성을 측정하는 방법을 통해 측정될 수 있다.

[0063] "상보성 결정 영역" 또는 "CDR 영역" 또는 "CDR"은 항체 가변 도메인 중 서열에서 초가변적이고 구조적으로 확정된 루프("초가변 루프")를 형성하고 및/또는 항원 접촉 잔기("항원 접촉점")를 함유하는 영역이다. CDR은 주로 항원 에피토프에 결합하는 역할을 담당한다. 중쇄의 CDR은 통상적으로 CDR1, CDR2 및 CDR3이라고 칭하며, N-단으로부터 순차적으로 번호를 매긴다. 주어진 중쇄 가변 영역 아미노산 서열에서, 각 CDR에 대한 정확한 아미노산 서열 경계는 많이 공지된 항체 CDR 할당 시스템의 임의의 하나 또는 이의 조합을 사용하여 확정할 수 있는 것으로, 상기 할당 시스템은 예를 들어 항체의 삼차원 구조 및 CDR 루프의 토폴로지학에 기반한 Chothia(Chothia 등(1989) Nature 342: 877-883, Al-Lazikani 등, "Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins", Journal of Molecular Biology, 273, 927-948(1997)), 항체 서열 가변성에 기반한 Kabat(Kabat 등, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 제4판, U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health(1987)), AbM(University of Bath), Contact(University College London), International ImMunoGeneTics database(IMGT)(http://imgt.cines.fr/), 및 대량의 결정 구조를 이용한 유사도 전파 클러스터링(affinity propagation clustering)에 기반한 North CDR 정의를 포함한다.

[0064] 별도로 설명하지 않는 한, 본 발명에서 용어 "CDR" 또는 "CDR 서열"은 상술한 임의의 하나의 방식으로 확정하는 CDR 서열을 망라한다.

[0065] CDR은 또한 참조 CDR 서열(예를 들어, 본원에 예시된 임의의 CDR)과 동일한 Kabat 넘버링 위치를 갖는 것에 기반하여 결정될 수 있다. 본 발명에서, 항체 가변 영역 및 구체적인 CDR 서열(중쇄 가변 영역 잔기 포함)이 언급된 경우, Kabat 넘버링 시스템에 따른 넘버링 위치를 가리킨다.

[0066] 비록 CDR이 항체와 항체 사이에서는 다르지만, CDR 내에 단지 제한적인 수량의 아미노산 위치만 항원 결합에 직접적으로 관여한다. Kabat, Chothia, AbM 및 Contact 방법 중 적어도 두 가지를 사용하여 최소 중첩 영역을 결정함으로써, 항원 결합을 위한 "최소 결합 단위"를 제공할 수 있다. 최소 결합 단위는 CDR의 하나의 서브 부분일 수 있다. 당업자가 명백한 바와 같이, 항체 구조 및 단백질 접힘을 통해 CDR 서열의 나머지 부분의 잔기를 결정할 수 있다. 따라서, 본 발명은 본원에 제공된 임의의 CDR의 변이체를 고려될 것이다. 예를 들어 하나의 CDR의 변이체에서, 최소 결합 단위의 아미노산 잔기는 변하지 않고 유지될 수 있으나, Kabat 또는 Chothia 또는 AbM에 따라 정의된 나머지 CDR 잔기는 보존적 아미노산 잔기에 의해 대체될 수 있다.

[0067] "인간화" 항체는 비인간 CDR로부터 유래된 아미노산 잔기 및 인간 FR로부터 유래된 아미노산 잔기를 포함하는 키메라 항체를 가리킨다. 일부 실시양태에서, 인간화 항체의 모든 또는 실질적으로 모든 CDR(예를 들어, CDR)은 비인간 항체의 것에 대응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 인간 항체의 것에 대응한다. 인간화 항체는 선택적으로 인간 항체로부터 유래된 항체 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 항체(예를 들어, 비인간 항체)의 "인간화 형태"는 인간화된 항체를 가리킨다.

[0068] "인간 항체"는 이러한 아미노산 서열을 갖는 항체를 가리키며, 상기 아미노산 서열은 하기 항체의 아미노산 서열에 대응하고, 상기 항체는 인간 또는 인간 세포에 의해 생성되거나 비인간 공급원으로부터 유래되고, 이는 인간 항체 라이브러리 또는 기타 인간 항체 코딩 서열을 이용한다. 인간 항체의 이러한 정의는 비인간 항원 결합 잔기를 포함하는 인간화 항체를 명확히 배제한다.

[0069] 용어 "Fc 영역"은 적어도 일부 불변 영역을 포함하는 면역글로불린 중쇄의 C 단 영역을 정의하기 위한 것이다. 해당 용어는 천연 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 Cys226 또는 Pro230으로부터 중쇄의 카르보닐 단까지 연장된다. 그러나 Fc 영역의 C-말단 라이신(Lys447)은 존재할 수 있거나, 또는 존재하지 않을 수 있다. 별도로 설명하지 않는 한, Fc 영역 또는 불변 영역의 아미노산 잔기의 넘버링은 Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed.Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991에 기재된 바와 같이, EU 인덱스라고도 하는 EU 넘버링 시스템을 따른 것이다.

[0070] 특정 실시양태에서, 면역글로불린의 Fc 영역은 2개의 불변 도메인, 즉 CH2 및 CH3을 포함하고, 다른 일부 실시양태에서, 면역글로불린의 Fc 영역은 3개의 불변 도메인, 즉 CH2, CH3 및 CH4를 포함한다.

[0071] IgG가 Fcγ 수용체 또는 C1q와의 결합은 힌지 영역 및 CH2 도메인에 위치한 잔기에 의존한다. CH2 도메인의 두 영역은 FcγR 및 보체 C1q 결합에 중요하며 IgG2 및 IgG4에 유일한 서열을 가지고 있다. 인간 IgG1 및 IgG2의 233-236번째 위치를 치환된 잔기 및 인간 IgG4의 327, 330 및 331번째 위치를 치환된 잔기는 ADCC 및 CDC 활성을 대폭 감소시키는 것으로 나타났다(Armour et al., Eur. J. Immunol. 29(8), 1999, 2613-2624; Shields et

al., Biol. Chem. 276(9), 2001, 6591-6604).

[0072] "기능성 Fc 영역" 및 "기능이 있는 Fc 영역" 등 유사한 용어는 상호 교환적으로 사용될 수 있으며, 야생형 Fc 영역의 이펙터 기능을 갖는 Fc 영역을 가리킨다.

[0073] "변이체 Fc 영역", "Fc 돌연변이체", "돌연변이를 보유하는 Fc 영역", "돌연변이 Fc 영역", "Fc 영역 변이체", "Fc 변이체", "변이체 Fc 영역" 및 "돌연변이된 Fc 영역" 등 유사한 용어는 상호 교환적으로 사용될 수 있으며, 천연 서열 Fc 영역/야생형 Fc 영역과 구별되는 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하는 Fc 영역을 가리킨다.

[0074] 일부 실시양태에서, 변이체 Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역의 아미노산 서열과 하나 이상의 아미노산 치환, 결실 또는 첨가로 차이가 있는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 변이체 Fc 영역은 야생형 IgG의 Fc 영역과 비교하여 적어도 하나의 아미노산 치환을 가지며, 상기 적어도 하나의 아미노산 치환은 EU 넘버링에 따른 P329 위치에 있는 아미노산에 의해 글라이신(G)으로 치환된다.

[0075] "Fc 수용체" 또는 "FcR"은 항체 Fc 영역에 결합하는 분자를 가리킨다. 일부 실시양태에서, FcR은 천연 인간 FcR이다. 일부 실시양태에서, FcR은 IgG 항체에 결합하는 수용체, 즉 FcγR이며, FcγRI(CD64), FcγRII(CD32) 및 FcγRIII(CD16) 3개의 수용체, 및 이들 수용체의 대립 변이체 및 가변 스플라이스를 포함한다. FcγRII 수용체는 FcγRIIA 및 FcγRIIB가 포함되고, FcγRIII 수용체는 FcγRIIIA 및 FcγRIIIB가 포함된다.

[0076] 용어 "이펙터 기능"은 면역글로불린 동종형에 따라 변동되는 면역글로불린의 Fc 영역에 기인하는 생물학적 활성을 가리킨다. 면역글로불린 이펙터 기능의 예로는 Fc 수용체 결합 작용, 항체 의존성 세포 매개 세포 독성(ADCC), 항체 의존성 세포 식균 작용(ADCP), 사이토카인 분비, 면역 복합체에 의해 매개된 항원 제시 세포의 항원 섭취, C1q 결합 및 보체 의존적 세포 독성(CDC), 세포 표면 수용체(예를 들어, B 세포 수용체)의 하향 조절 및 B 세포 활성화를 포함한다.

[0077] 용어 "항체 의존성 세포 매개 세포 독성(ADCC)"은 천연 살멸(NK) 세포와 같은 특정 세포 독성 이펙터 세포가 표적 세포 및 외부 숙주 세포의 살멸을 매개하는 주요 메커니즘 중 하나이다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체는 T 림프구의 항체 의존성 세포 독성 작용을 제공하고 NK 세포의 항체 의존성 세포 독성 작용을 향상시킨다.

[0078] 용어 "항체 의존성 세포 식균 작용(ADCP)"은 표적 세포에 결합하는 항체가 대식세포 표면의 FcγRIIIa에 결합하여 대식세포의 활성화가 유도되어 표적 세포 내재화 및 식세포에 의해 산화 분해되는 세포 반응을 가리킨다. ADCP는 FcγRIIa 및 FcγRI에 의해 매개될 수도 있지만 그 비율은 상대적으로 적다.

[0079] 용어 "보체 의존적 세포 독성(CDC)"은 보체 존재 하에 표적 세포가 용해되는 것을 가리킨다. 보체 시스템은 일련의 단백질로 이루어진 선천성 면역 시스템의 일부이다. 보체 시스템의 단백질을 "보체"라고 하며 약어 C1, C2, C3 등으로 표시되며, 이는 인간이나 척추동물의 혈청 및 조직액에 존재하고 활성화 후 효소 활성을 갖는 비내열성 단백질 그룹이다. C1q는 보체 의존성 세포 독성(CDC) 경로의 첫 번째 성분이며, 이는 6개의 항체에 결합할 수 있지만 2개의 IgG에 결합하면 보체 캐스케이드를 활성화하기에 충분한다. 고전적 보체 경로의 활성화는 보체 시스템의 첫 번째 성분(C1q)가 관련 항원에 결합하는 항체(적절한 서브클래스)에 결합하여 가동되고, 일련의 보체 캐스케이드를 활성화하고 표적 세포막에 구멍을 형성함으로써 표적 세포의 사멸을 유도한다. 보체 활성화를 평가하기 위해, CDC 분석은 예를 들어 Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163(1996)에 기재된 방법에 의해 수행될 수 있다.

[0080] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항원와 항체의 결합에 참여하는 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 가리킨다. 천연 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인은 통상적으로 유사한 구조를 가지며, 여기서 각 도메인은 4개의 보존된 프레임워크 영역(FR) 및 3개의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. (예를 들어, Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H.Freeman and Co. 91 페이지(2007) 참조). 단일 VH 또는 VL 도메인은 항원 결합 특이성을 투여하기에 충분할 수 있다.

[0081] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "결합" 또는 "특이적 결합"은 결합 작용이 항원에 대해 선택적이고, 원하지 않거나 비특이적인 상호작용과 구별될 수 있음을 의미한다. 특정 항원에 결합하는 항체의 능력은 효소 결합 면역흡착 측정법(ELISA), SPR 또는 생체층 간섭측정법 또는 당업계에 알려진 기타 일반적인 결합 측정법으로 측정될 수 있다.

[0082] "접합체"는 하나 이상의 기타 물질(세포 독성제 또는 표지를 포함하나 이에 한정되지 않음)에 접합된 항체이다.

[0083] 용어 "억제" 또는 "차단"은 주어진 분자의 특정 파라미터(예를 들어, 활성)를 감소시키는 것을 가리킨다. 예를

들어, 이 용어는 주어진 분자(예를 들어, BCMA)는 활성을 적어도 5%, 10%, 20%, 30%, 40% 또는 그 이상 억제하는 물질이 포함된다. 따라서 억제 작용이 100%이어야 하는 것은 아니다.

[0084] 용어 "개체" 또는 "피험자"는 상호 교환적으로 사용될 수 있으며 포유동물을 포함한다. 포유동물은 사육 동물(예를 들어, 소, 양, 고양이, 개 및 말), 영장류(예를 들어, 인간 및 원숭이와 같은 비인간 영장류), 토끼 및 설치류(예를 들어, 마우스 및 래트)가 포함되나 이에 한정되지 않는다. 특히, 개체 또는 피험자는 인간이다.

[0085] 용어 "종양" 및 "암"은 본원에서 상호 교환적으로 사용되며, 고형 종양과 액체 종양을 망라한다.

[0086] 용어 "암" 및 "암성"은 포유동물 중에서 세포 성장이 제어되지 않는 생리 질환을 가리킨다.

[0087] 용어 "종양"은 악성이든 양성이든 모든 신생물성(neoplastic) 세포 성장 및 증식, 및 모든 전암성 및 암성 세포 및 조직을 가리킨다. 본원에 언급된 용어 "암", "암성" 및 "종양"은 상호 배타적이지 않다.

[0088] 본원에 사용된 용어 "표지"는 제제(예를 들어, 항체)에 직접 또는 간접적으로 접합되거나 융합되고, 이의 접합되거나 융합되는 제제의 검출을 촉진시키는 화합물 또는 조성물을 가리킨다. 표지 자체로 검출할 수 있거나(예를 들어, 방사성 동위원소 표지 또는 형광 표지), 또는 효소 촉진 표지의 경우, 검출할 수 있는 기질 화합물 또는 조성물의 화학적 변화를 촉매할 수 있다. 용어는 검출 가능한 물질을 프로브 또는 항체에 커플링(즉, 물리적으로 연결)함으로써 프로브 또는 항체를 직접 표지하고 직접 표지되는 다른 시약과 반응하여 프로브 또는 항체를 간접적으로 표지하는 것을 망라한다. 간접 표지의 예시로는 형광 표지된 2차 항체를 사용하여 1차 항체를 검출하는 것과 형광 표지된 스트렙타비딘 항생제 단백질로 검출할 수 있도록 DNA 프로브를 비오틴으로 말단 표지하는 것이 포함된다.

[0089] "단리된" 항체는 천연 환경의 성분으로부터 단리된 항체를 가리킨다. 일부 실시양태에서, BCMA 항체는 예를 들어 전기영동(예를 들어, SDS-PAGE, 등전 포커싱(IEF), 모세관 전기영동) 또는 크로마토그래피(예를 들어, 이온 교환 또는 역상 HPLC)를 통해 95% 또는 99%를 초과하는 순도로 정제된다. 항체 순도를 평가하는 방법에 대한 검토는 예를 들어, Flatman et al., J.Chromatogr.B848: 79-87(2007)을 참조한다.

[0090] "단리된" 핵산은 이의 천연 환경의 성분으로부터 단리된 핵산 분자를 가리킨다. 단리된 핵산은 통상적으로 해당 핵산 분자를 포함하는 세포의 핵산 분자를 포함하지만, 염색체 외에 또는 이의 천연 염색체 위치와 다른 염색체 위치에 존재하는 해당 핵산 분자를 포함한다. "BCMA 항체를 코딩하는 단리된 핵산"은 BCMA 항체의 사슬 또는 이의 단편을 코딩하는 하나 이상의 핵산 분자를 가리키며, 단일 벡터 또는 별도의 벡터의 핵산 분자 및 숙주 세포의 하나 이상의 위치에 존재하는 이러한 핵산 분자를 포함한다.

[0091] 서열 간 서열 동일성에 대해 다음과 같이 계산한다.

[0092] 2개의 아미노산 서열 또는 2개의 핵산 서열의 동일성 백분율을 확정하기 위하여, 최적의 비교 목적을 위해 상기 서열을 정렬한다(예를 들어, 최적의 정렬을 위해 제1 및 제2 아미노산 서열 또는 핵산 서열 중의 하나 또는 둘 내에 갭을 도입되거나, 또는 비교 목적을 위해서는 비상동 서열은 폐기될 수 있음). 바람직한 일 실시양태에서, 비교의 목적을 위해, 정렬된 참조 서열의 길이는 적어도 30%이고, 바람직하게는 적어도 40%이며, 보다 바람직하게는 적어도 50%, 60% 및 심지어 보다 더 바람직하게는 적어도 70%, 80%, 90%, 100%의 참조 서열 길이이다. 이어서, 대응하는 아미노산 위치 또는 뉴클레오티드 위치의 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드를 비교한다. 제1 서열의 위치가 제2 서열 중 대응하는 위치의 동일 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드에 의해 차지되는 경우, 상기 분자는 해당 위치에서는 동일한 것이다.

[0093] 수학 알고리즘을 이용하여 2개의 서열 간의 서열 비교와 동일성 백분율에 대한 계산을 구현할 수 있다. 바람직한 일 실시양태에서, GCG 소프트웨어 패키지에 이미 통합된 GAP 프로그램의 Needlema 및 Wunsch((1970) J. Mol. Biol. 48:444-453) 알고리즘(http://www.gcg.com에서 획득 가능)을 사용하고, Blossum 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스 및 갭 가중치 16, 14, 12, 10, 8, 6 또는 4 및 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5 또는 6을 사용하여, 2개의 아미노산 서열 간의 동일성 백분율을 결정한다. 바람직한 또 다른 일 실시양태에서, GCG 소프트웨어 패키지의 GAP 프로그램(http://www.gcg.com에서 획득 가능)을 사용하고, NWSgapdna.CMP 매트릭스 및 갭 가중치 40, 50, 60, 70 또는 80 및 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5 또는 6을 사용하여, 2개의 뉴클레오티드 서열 간의 동일성 백분율을 결정한다. 특히 바람직한 파라미터 집합(및 별도로 설명하지 않는 한 사용해야 하는 하나의 파라미터 집합)은 갭 페널티 12, 갭 확장 페널티 4 및 프레임시프트 갭 페널티 5의 Blossum 62을 채택하여 매트릭스를 평가한다.

[0094] 또한, PAM120 가중화 잔기 표, 갭 길이 페널티 12, 갭 패널티 4를 사용하고, ALIGN 프로그램(2.0 버전)에 이미

통합된 E. Meyers 및 W. Miller 알고리즘을 이용하여, ((1989) CABIOS, 4:11-17) 2개의 아미노산 서열 또는 뉴클레오티드 서열 간의 동일성 백분율을 결정한다.

[0095] 추가적으로 또는 대안적으로, 본원에 기재된 핵산 서열 및 단백질 서열을 추가로 예를 들어, 기타 패밀리 구성원 서열 또는 관련 서열을 감정하기 위해 공개 데이터베이스에 대해 검색을 수행하기 위한 "검색 서열"로서 사용될 수 있다.

[0096] 용어 "아미노산 변화" 및 "아미노산 변형"은 상호 교환적으로 사용될 수 있으며 아미노산의 첨가, 결실, 치환 및 기타 변형을 가리킨다. 최종 폴리펩티드 서열이 원하는 특성을 갖는다면 아미노산의 첨가, 결실, 치환 및 기타 변형의 임의의 조합을 수행할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체의 아미노산 치환은 Fc 수용체에 대한 항체의 결합을 감소시킨다. 예를 들어, Fc 영역의 결합 특성을 변화시킬 목적으로, 비보존적 아미노산 치환, 즉 하나의 아미노산을 다른 구조적 및/또는 화학적 특성을 갖는 다른 아미노산에 의해 치환하는 것이 특히 바람직하다. 아미노산 치환은 비천연적으로 존재하는 아미노산 또는 20가지 표준 아미노산의 천연적으로 존재하는 아미노산 유도체(예를 들어, 4-히드록시프롤린, 3-메틸히스티딘, 오르니틴, 호모세린, 5-히드록시라이신)에 의한 치환을 포함한다. 아미노산 변화는 당업계에 공지된 유전적 또는 화학적 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 유전적 방법은 위치 지정 돌연변이 유발, PCR, 유전자 합성 등이 포함될 수 있다. 유전 공학을 제외하는 방법(예를 들어, 화학적 변형)을 통해 아미노산 측쇄 그룹을 변화시키는 방법을 유용할 수 있는 것으로 예상된다. 본원에서는 다양한 명칭을 사용하여 동일한 아미노산 변화를 나타낼 수 있다. 예를 들어, Fc 도메인의 329번째 위치의 프롤린에서 글라이신으로의 치환은 329G, G329, G_{329} , P329G Pro329Gly 또는 "PG"의 약어로 나타낼 수 있다.

[0097] 용어 "보존적 서열 변형" 및 "보존적 서열 변화"는 아미노산 서열을 함유하는 항체 또는 항체 단편의 결합 특성에 현저한 영향을 미치지 않거나 변화시키지 않는 아미노산 변형 또는 변화를 가리킨다. 이와 같은 보존적 변형은 아미노산 치환, 첨가 및 결실이 포함된다. 위치 지정 돌연변이 유발 및 PCR에 의해 매개된 돌연변이 유발과 같은 당업계에 공지된 표준 기술에 의해 본 발명의 항체 또는 항체 단편에 변형을 도입할 수 있다. 보존적 치환은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기에 의해 치환되는 아미노산 치환이다. 유사한 아미노산 잔기의 패밀리를 당업계에서는 이미 정의되어 있다. 이러한 패밀리에는 염기성 측쇄(예를 들어, 라이신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 전하를 띠지 않은 극성 측쇄(예를 들어, 글라이신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 트립토판), 비극성 측쇄(예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌), β-측쇄(예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄(예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 갖는 아미노산이 포함된다.

[0098] 용어 "약학적 조성물"은, 그 중에 포함되는 활성성분의 생물학적 활성이 유효한 형태로 존재하도록 허용되고, 또한 상기 조합물이 투여되는 피험자에게 허용될 수 없는 독성을 갖는 다른 성분을 포함하지 않는 조합물을 가리킨다.

[0099] 용어 "약학적으로 허용 가능한 담체(carrier)"는 활성물질과 함께 투여되는 희석제, 보조제(프로인트 보조제(완전 및 불완전) 등), 부형제, 완충제 또는 안정제 등을 가리킨다.

[0100] 용어 "BCMA 관련 질환"은 BCMA의 증가된 발현 또는 활성에 의해 유발, 악화되거나, 기타 방식으로 이와 관련된 임의의 병증을 가리킨다.

[0101] 본원에 사용된 "치료"는 기존 증상, 병증, 병세 또는 질환의 진행 또는 중증도를 둔화, 중단, 차단, 완화, 정지, 감소, 역전시키는 것을 가리킨다. 원하는 치료 효과는 질환의 발병 또는 재발 방지, 증상의 경감, 질환의 직간접적 병리학적 결과의 감소, 전이 방지, 질환의 진행 속도 감소, 질환 상태의 개선 또는 경감, 예후를 완화하거나 개선하는 것이 포함되나 이에 한정되지 않는다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체 분자는 질환 발전을 지연하거나 질환의 진행을 늦추기 위해 사용된다.

[0102] 본원에 사용된 "예방"은 질환이나 병증 또는 특정 질환이나 병증의 증상의 발병 또는 진행을 억제하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 암 가족력을 갖는 피험자는 예방적 방안의 후보이다. 통상적으로, 암과 관련하여 용어 "예방"은 암의 징후 또는 증상이 발병되기 전, 특히 암 위험이 있는 피험자에서 암 증상이 발병되기 전에 약물을 투여하는 단계를 가리킨다.

[0103] 용어 "유효량"은 본 발명의 항체 또는 조성물의 양 또는 용량을 가리키며, 이는 치료 또는 예방이 필요한 환자에게 단일 또는 여러 번 용량으로 투여 후 원하는 효과를 생성한다. 유효량은 하기 다양한 요인을 고려하여 당업자로서 주치의가 쉽게 결정할 수 있다: 포유동물의 종; 체중, 연령 및 일반적인 건강 상태; 관련된 특정 질환; 질환의 정도 또는 중증도; 개별 환자의 반응; 투여한 특정 항체; 투여 방식; 투여 제제의 생체 이용률 특

성; 선택된 투약 방안; 및 임의의 병용 요법의 사용.

[0104] "치료 유효량"은 필요한 용량과 필요한 기간 동안 원하는 치료 결과를 구현하는 데 효과적인 양을 가리킨다. 항체 또는 항체 단편 또는 이의 조성물의 치료 유효량은 질환 상태, 개체의 연령, 성별 및 체중, 및 항체 또는 항체 부분이 개체에서 원하는 반응을 자극하는 능력과 같은 다양한 요인에 따라 달라질 수 있다. 치료 유효량은 또한 항체 또는 항체 단편 또는 이의 조성물의 임의의 독성 또는 유해한 효과보다 치료적으로 유익한 효과가 더 큰 이러한 양이다. "치료 유효량"은 바람직하게는 측정 가능한 파라미터(예를 들어, 종양 성장률, 종양 부피 등)를 치료받지 않은 대상체와 비교하여 적어도 약 20%, 보다 바람직하게는 적어도 약 40%, 심지어 보다 바람직하게는 적어도 약 50%, 60% 또는 70%, 더욱 바람직하게는 적어도 약 80% 또는 90% 억제한다. 측정 가능한 파라미터(예를 들어, 암)를 억제하는 화합물의 능력은 인간 종양에서의 효능을 예측하는 동물 모델 시스템에서 평가될 수 있다.

[0105] "예방 유효량"은 필요한 용량과 필요한 기간 동안 원하는 예방 결과를 구현하는 데 효과적인 양을 가리킨다. 통상적으로, 예방적 용량은 질환의 초기 단계 이전 또는 초기 단계에서 대상체에게 투여되기 때문에 예방 유효량은 치료 유효량보다 적다.

[0106] 본원에서 핵산을 언급할 때 사용된 용어 "벡터(vector)"는 이에 연결된 또 다른 핵산을 증식시킬 수 있는 핵산 분자를 가리킨다. 해당 용어는 자가 복제 핵산 구조인 벡터 및 벡터가 도입된 숙주 세포 게놈에 결합된 벡터를 포함한다. 일부 벡터는 작동 가능하게 연결된 핵산의 발현을 가이드할 수 있다. 본원에서는 이러한 벡터는 "발현 벡터"라고 한다.

[0107] 용어 "숙주 세포"는 외인성 폴리뉴클레오티드가 이미 도입된 세포를 가리키며, 이와 같은 세포의 자손이 포함된다. 숙주 세포는 계대 횟수에 관계없이 일차 형질전환된 세포 및 이로부터 유래된 자손을 포함하는 "형질전환체" 및 "형질전환된 세포"를 포함한다. 자손의 핵산 내용물이 모체 세포와 완전히 동일하지 않을 수 있지만, 돌연변이를 포함할 수 있다. 본원에서는 최초 형질전환 세포로부터 스크리닝 또는 선택된 세포와 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이체 자손을 포함한다. 숙주 세포는 본 발명의 항체 분자를 생성하기 위한 사용될 수 있는 임의의 유형의 세포 시스템이며, 포유동물 세포, 곤충 세포, 효모 세포와 같은 진핵 세포, 및 대장균 세포와 같은 원핵 세포를 포함한다. 숙주 세포는 배양된 세포를 포함하고 형질전환 동물, 형질전환 식물, 또는 배양된 식물 조직 또는 동물 조직 내의 세포도 포함된다.

[0108] "피험자/환자 샘플"은 환자 또는 피험자로부터 얻은 세포, 조직 또는 체액의 집합을 가리킨다. 조직 또는 세포 샘플의 공급원은 신선, 냉동 및/또는 보존된 기관 또는 조직 샘플, 또는 생검 샘플 또는 천자 샘플과 같은 고체 조직; 혈액 또는 임의의 혈액 성분; 뇌척수액, 양막액(양수), 복막액(복수) 또는 간질액과 같은 체액; 피험자의 임신 또는 임의의 발달 시점의 세포가 될 수 있다. 조직 샘플은 방부제, 항응고제, 완충제, 고정제, 영양제, 항생제 등등과 같은 천연적으로 조직과 섞이지 않는 화합물이 포함될 수 있다. 본원의 종양 샘플의 예로는 종양 생검, 미세 바늘 흡인물, 기관지 세척액, 흉막액(흉수), 가래, 소변, 수술 표본, 순환 종양 세포, 혈청, 혈장, 순환 혈장 단백질, 복수, 종양으로부터 유래되거나 종양과 유사한 특성을 나타내는 일차 세포 배양 또는 세포주, 및 포르말린 고정, 파라핀 포매 종양 샘플 또는 냉동 종양 샘플과 같은 보존된 종양 샘플이 포함되나 이에 한정되지 않는다.

[0109] **II. 본 발명의 BCMA 분자에 특이적으로 결합하는 항체 및 이의 돌연변이 Fc 도메인을 포함하는 항체**

[0110] 본 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는, 높은 표적 특이성 및 높은 친화성으로 BCMA에 결합하는 항체를 제공하며, 여기서:

[0111] (a) 상기 중쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 GSI**V**SSSYYW**T**(서열 번호: 19)에 제시된 HCDR1, 또는 상기 HCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; SI**SIA**GSTYYNPSLKS(서열 번호: 20)에 제시된 HCDR2, 또는 상기 HCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; ARDRGDTILDV(서열 번호: 21)에 제시된 HCDR3, 또는 상기 HCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 RASQSIS**R**YLN(서열 번호: 28)에 제시된 LCDR1, 또는 상기 LCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; AASSLQS(서열 번호: 29)에 제시된 LCDR2, 또는 상기 LCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; 및 QQKYFDIT(서열 번호: 30)에 제시된 LCDR3, 또는 상기 LCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하며;

[0112] (b) 상기 중쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 GSI**V**SSSYYW**T**(서열 번호: 37)에 제시된 HCDR1, 또는 상기 HCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; SI**SIA**GSTYYNPSLKS(서열 번호: 38)에 제시된

HCDR2, 또는 상기 HCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; ARDRGDQILDV(서열 번호: 39)에 제시된 HCDR3, 또는 상기 HCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 RASQSIS**R**YLN(서열 번호: 46)에 제시된 LCDR1, 또는 상기 LCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; AASSLQS(서열 번호: 47)에 제시된 LCDR2, 또는 상기 LCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; 및 QQKYFDIT(서열 번호: 48)에 제시된 LCDR3, 또는 상기 LCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하며;

[0113] (c) 상기 중쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 GTFSNDVIS(서열 번호: 73)에 제시된 HCDR1, 또는 상기 HCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; VIIPIFGIANYAQKFQG(서열 번호: 74)에 제시된 HCDR2, 또는 상기 HCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; ARGRGYYSSWLLDI(서열 번호: 75)에 제시된 HCDR3, 또는 상기 HCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 QASQDITNYLN(서열 번호: 82)에 제시된 LCDR1, 또는 상기 LCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; DASNLET(서열 번호: 83)에 제시된 LCDR2, 또는 상기 LCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; 및 QQAFDLIT(서열 번호: 84)에 제시된 LCDR3, 또는 상기 LCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하며; 또는

[0114] (d) 상기 중쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 GTFSNDVIS(서열 번호: 91)에 제시된 HCDR1, 또는 상기 HCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; VIIPIFGIANYAQKFQG(서열 번호: 92)에 제시된 HCDR2, 또는 상기 HCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; ARGRGYYSSWLHDI(서열 번호: 93)에 제시된 HCDR3, 또는 상기 HCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하고; 상기 경쇄 가변 영역은 Kabat 넘버링에 따른 QASQDITNYLN(서열 번호: 100)에 제시된 LCDR1, 또는 상기 LCDR1의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; DASNLET(서열 번호: 101)에 제시된 LCDR2, 또는 상기 LCDR2의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체; 및 QQAFDLIT(서열 번호: 102)에 제시된 LCDR3, 또는 상기 LCDR3의 아미노산 변화가 2개 또는 1개를 초과하지 않는 변이체를 포함하며;

[0115] 여기서 상기 아미노산 변화는 아미노산의 첨가, 결실 또는 치환이다.

[0116] 일부 실시양태에서, 본 발명의 BCMA 분자에 결합하는 항체는 인간, 시노몰구스 원숭이, 마우스, 래트 및 토끼 BCMA와 같은 포유동물 BCMA에 결합한다.

[0117] 일부 실시양태에서, 본 발명의 BCMA 분자에 결합하는 항체는 BCMA에 특이적으로 결합하는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서:

[0118] (a) 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 27에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 36에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하며;

[0119] (b) 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 45에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 54에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하며;

[0120] (c) 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 81에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 90에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하며; 또는

[0121] (d) 중쇄 가변 영역은 서열 번호: 99에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호: 108에 제시된 서열 또는 이와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하며;

[0122] 여기서 상기 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성의 서열의 아미노산 변화는 바람직하게는 아미노산 치환이고, 보다 바람직하게는 아미노산 보존적 치환이고, 바람직하게는, 상기 아미노산 변화가 CDR 영역에서 발생하지 않는다.

[0123] 일부 실시양태에서, 본 발명의 BCMA에 결합하는 항체는 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체이고; 바람직하게는 이의 IgG1 또는 IgG4 항체이고; 보다 바람직하게는 이의 IgG1 항체이며, 예를 들어 인간 IgG1 항체이다.

[0124] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 BCMA 분자에 결합하는 항체는 돌연변이 Fc 도메인을 포함하며, 여기서 EU 넘버링에 따른 P329 위치에 있는 아미노산 돌연변이는 글라이신(G)이고, 돌연변이되지 않은 모항체의 Fc 도메인의

Fcɣ 수용체 결합과 비교 시, 돌연변이 Fc 도메인의 Fcɣ 수용체 결합이 감소되고; 예를 들어 상기 돌연변이 Fc 도메인은 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체의 돌연변이 Fc 도메인이고, 바람직하게는 상기 돌연변이 Fc 도메인은 IgG1 또는 IgG4 항체의 돌연변이 Fc 도메인이고; 보다 바람직하게는 상기 돌연변이 Fc 도메인은 IgG1 항체의 돌연변이 Fc 도메인이고, 예를 들어, 상기 돌연변이 Fc 도메인은 인간 IgG1 항체의 돌연변이 Fc 도메인이다.

[0125] BCMA 분자에 결합하는 P329G 돌연변이 Fc 도메인을 포함하는 항체는 Fcɣ 수용체에 결합하여 항체 의존성 세포 독성을 발휘할 수 없으며 항체 의존성 세포 식균 작용(ADCP)도 발휘할 수 없다.

[0126] 일부 실시양태에서, 본 발명의 BCMA 분자에 결합하는 항체는 이하 하나 이상의 특성을 갖는다:

[0127] (1) 높은 친화력으로 인간 BCMA, 시노몰구스 원숭이 BCMA 및 마우스 BCMA와 같은 BCMA에 결합하고, 예를 들어, 상기 항BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 BCMA 사이의 결합 K_D는 ForteBio 약동학적 결합 측정법으로 측정 시 약 10^{-9}M 내지 약 10^{-12}M이며;

[0128] (2) 세포 표면에 발현된 BCMA에 특이적으로 결합하며;

[0129] (3) BCMA를 발현하는 세포에 대해 ADCC 세포 독성 사멸 효과가 있으며;

[0130] (4) BCMA를 발현하는 세포에 대해 ADCP 사멸 효과가 있으며;

[0131] (5) 인간 BCMA를 발현하는 세포(특히 다발성 골수종 세포)의 성장을 차단, 억제하고 및/또는 상기 세포를 사멸시키며; 및

[0132] (6) BCMA를 발현하는 종양에 대해 생체내 항종양 효과가 있으며 유의한 독성 및 부작용이 없다.

[0133] 일부 실시양태에서, 본 발명은 BCMA 분자에 결합하는 임의의 이상 항체, 또는 이의 단편, 또는 이의 임의의 사슬을 코딩하는 핵산을 제공한다. 일 실시양태에서, 상기 핵산을 포함하는 벡터를 제공한다. 일 실시양태에서, 벡터는 발현 벡터이다. 일 실시양태에서, 상기 핵산 또는 상기 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 일 실시양태에서, 숙주 세포는 진핵 세포이다. 다른 일 실시양태에서, 숙주 세포는 효모 세포, 포유동물 세포(예를 들어, CHO 세포 또는 HEK293 세포) 또는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제조하기에 적합한 기타 세포로부터 선택된다. 다른 일 실시양태에서, 숙주 세포는 원핵 세포이다.

[0134] 예를 들어, 본 발명의 핵산은 본 발명의 BCMA 분자에 결합하는 항체를 코딩하는 핵산이 포함된다. 일부 실시양태에서, 상기 핵산을 포함하는 하나 이상의 벡터를 제공한다. 일 실시양태에서, 벡터는 발현 벡터인 것으로, 예를 들어 진핵 발현 벡터이다. 벡터는 바이러스, 플라스미드, 코스미드, λ파지 또는 효모 인공 염색체(YAC)를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 일 실시양태에서, 벡터는 pcDNA3.4 발현 벡터이다.

[0135] 발현을 위한 발현 벡터 또는 DNA 서열은 일단 제조되었다면, 발현 벡터를 적합한 숙주 세포 내에 형질감염시키거나 또는 도입시킬 수 있다. 이 목적을 구현하기 위해 다양한 기술, 예를 들어 원형질체 융합, 인산칼슘 침전, 전기천공, 레트로바이러스 형질도입, 바이러스 형질감염, 유전자총, 지질 기반 형질감염 또는 기타 일반적인 기술이 사용될 수 있다. 원형질체 융합의 경우, 세포를 배지에서 인큐베이션시키고 적합한 활성을 스크리닝한다. 생성된 형질감염된 세포를 배양하고 생성된 항체 분자를 회수하기 위한 방법 및 조건은 당업자에게 알려져 있고, 또한 본 명세서 및 종래기술의 알려진 방법에 기반하여, 사용한 특정 발현 벡터 및 포유동물 숙주 세포에 따라 달라지거나 또는 최적화시킬 수 있다.

[0136] 또한, 형질감염된 숙주 세포의 선택을 허용하는 하나 이상의 마커를 도입하는 것을 통해, 이미 DNA를 이의 염색체에 안정적으로 혼입시킨 세포를 선택할 수 있다. 마커는 예를 들어 영양 결함형 숙주에 원영양성, 살생물 저항성(예를 들어, 항생제) 또는 중금속(예컨대, 구리) 저항성 등을 제공할 수 있다. 선택 가능한 마커 유전자는 발현 대상 DNA 서열에 직접 연결될 수거나 공동 형질전환을 통해 동일한 세포 내에 도입될 수 있다. 또한, mRNA의 최적 합성을 위해 추가의 요소가 필요할 수도 있다. 이러한 요소는 스플라이스 신호 및 전사 촉진자, 인핸서 및 종료 신호가 포함될 수 있다.

[0137] 일 실시양태에서, 본 발명의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 효모 세포, 포유동물 세포 또는 항체를 제조하기에 적합한 기타 세포로부터 선택된다. 적합한 숙주 세포는 대장균과 같은 원핵 미생물이 포함된다. 숙주 세포는 또한 사상 진균 또는 효모와 같은 진핵 미생물, 또는 곤충 세포 등과 같은 다양한 진핵 세포일 수 있다. 또한, 척추 동물 세포를 숙주로 사용될 수도 있다. 예를 들어, 현탁 성장에 적합하기 위해 개조된 포유동물 세포주를 사용할 수 있다. 유용한 포유동물 숙주 세포주의 예로는 SV40 형질전환된 원숭이 신장

CV1 세포주(COS-7); 인간 배아 신장 세포주(HEK293 또는 293F 세포), 아기 햄스터 신장 세포(BHK), 원숭이 신장 세포(CV1), 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포(VERO-76), 인간 자궁경부암 세포(HELA), 견 신장 세포(MDCK), 버팔로 래트 간 세포(BRL 3A), 인간 폐세포(W138), 인간 간세포(HepG2), 중국 햄스터 난소 세포(CHO 세포), CHO-S 세포, NS0 세포, 및 Y0, NS0, P3X63 및 Sp2/0 등과 같은 골수종 세포주를 포함한다. 단백질 생성에 적합한 포유동물 숙주 세포주에 대한 검토는, 예를 들어 Yazaki 및 Wu, Methods in Molecular Biology, 제248권(B.K.C. Lo, 편집, Humana Press, Totowa, NJ), 제255-268페이지(2003)를 참조한다. 바람직한 일 실시양태에서, 상기 숙주 세포는 CHO 세포 또는 HEK293 세포이다.

[0138] 일 실시양태에서, 본 발명은 BCMA 분자에 결합하는 항체(P329G 돌연변이 항체 포함)를 제조하는 방법을 제공하는 것으로, 여기서 상기 방법은, 상기 BCMA 분자에 결합하는 항체(P329G 돌연변이 항체 포함)를 코딩하는 핵산 발현에 적합한 조건 하에서 상기 BCMA 분자에 결합하는 항체(P329G 돌연변이 항체 포함)를 코딩하는 핵산을 포함하거나 또는 상기 핵산의 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포를 배양하고, 및 선택적으로 상기 BCMA 분자에 결합하는 항체(P329G 돌연변이 항체 포함)를 단리시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 또한 상기 숙주 세포(또는 숙주 세포 배지)로부터 BCMA 분자에 결합하는 항체(P329G 돌연변이 항체 포함)를 회수하는 것을 포함한다.

[0139] 본원에 기재된 바와 같이 제조된 본 발명의 BCMA 분자에 결합하는 항체(P329G 돌연변이 항체 포함)는 고성능 액체 크로마토그래피, 이온교환 크로마토그래피, 겔 전기영동, 친화 크로마토그래피, 크기 배제 크로마토그래피 등과 같은 알려진 종래기술에 의해 정제될 수 있다. 특정 단백질을 정제하기 위해 사용되는 실제 조건은 또한 순전하, 소수성, 친수성 등 요인에 따라 결정되며, 이들은 당업자에게 자명할 것이다. 다양한 잘 알려진 분석 방법 중 임의의 하나의 방법을 통해 본 발명의 BCMA 분자에 결합하는 항체(P329G 돌연변이 항체 포함)의 순도를 결정할 수 있고, 상기 잘 알려진 분석 방법은 크기 배제 크로마토그래피, 겔 전기영동, 고성능 액체 크로마토그래피 등이 포함된다.

[0140] 당업계에 알려진 다양한 측정법을 통해 본원에 제공된 BCMA 분자에 결합하는 항체(P329G 돌연변이 항체 포함)에 대해 감정, 스크리닝하거나 또는 이의 물리적/화학적 특성 및/또는 생물학적 활성을 특성화할 수 있다. 일 측면에서, 본 발명의 BCMA 분자에 결합하는 항체(P329G 돌연변이 항체 포함)는 예를 들어 FACS, ELISA 또는 Western 블롯팅과 같은 알려진 방법을 통해 이의 항원 결합 활성을 시험한다. BCMA에 대한 결합은 당업계에 알려진 방법을 사용하여 측정할 수 있으며, 본원은 예시적인 방법을 개시한다. 일부 실시양태에서, FACS를 사용하여 세포 표면 BCMA(예를 들어, 인간 BCMA)에 대한 본 발명의 BCMA 분자에 결합하는 항체(P329G 돌연변이 항체 포함)의 결합을 측정한다.

[0141] 본 발명은 또한 생물학적 활성을 갖는 BCMA 분자에 결합하는 항체(P329G 돌연변이 항체 포함)를 감정하기 위한 특정법을 제공한다. 생물학적 활성은 예를 들어 ADCC 작용, CDC 작용 등이 포함될 수 있다.

[0142] 임의의 상술한 체외 측정법에 사용하는 세포는 BCMA를 천연적으로 발현하거나 BCMA를 발현하도록 개조된 세포주가 포함된다. 상기 BCMA를 발현하도록 개조된 세포주는 정상적인 상황에서는 BCMA를 발현하지 않으나, BCMA를 코딩하는 DNA를 세포에 형질감염시킨 후 BCMA를 발현하는 세포주이다.

[0143] **III. 융합물 및 접합체**

[0144] 본 발명은 본 발명의 항체를 포함하는 융합물 또는 접합체를 제공한다. 본 발명의 항체를 이종 분자에 융합 또는 접합시킴으로써 융합물 또는 접합체를 생성할 수 있다.

[0145] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체 폴리펩티드는 하나 이상의 이종 분자에 융합되거나 접합될 수 있고, 여기서 상기 이종 분자는 단백질/폴리펩티드/펩티드, 마커, 약물 및 세포 독성제를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드 또는 화학 분자를 항체에 융합시키거나 접합시키는 방법은 당업계에 알려진 것이다. 예를 들어 US 5,336,603, US 5,622,929 및 EP 367,166을 참조한다.

[0146] 일 실시양태에서, 본 발명의 항체는 이종 단백질 또는 폴리펩티드 또는 펩티드에 재조합적으로 융합되어 융합 단백질을 형성한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체는 단백질 분자 또는 비단백질 분자에 접합되어 접합체를 생성한다.

[0147] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체는 전장 항체 또는 항체 단편의 형태로 이종 분자에 융합되거나 접합될 수 있다.

[0148] 링커는 본 발명의 융합물 및/또는 접합체에서 다른 엔티티를 공유적으로 연결하기 위한 사용될 수 있다. 링커는

화학적 링커 또는 단쇄 펩티드 링커가 포함된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체는 펩티드 링커를 통해 기타 펩티드 또는 단백질에 융합된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체는 화학적 링커를 통해 마커 또는 약물 분자와 같은 기타 분자에 접합된다.

[0149] 본 발명의 펩티드 링커는 아미노산 잔기로 이루어진 펩티드를 포함한다. 이러한 링커 펩티드는 통상적으로 유연성이 있어 이와 연결된 항원 결합 부분이 독립적으로 움직일 수 있다. 링커 펩티드의 길이는 실제 조건에 따라 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있으며, 예를 들어 적어도 4~15개의 아미노산, 또는 그 이상, 예를 들어 약 20~25개의 아미노산이다.

[0150] **IV. 진단 및 검출에 사용되는 방법 및 조성물**

[0151] 본 발명은 진단 및 검출에 있어서 본 발명의 항BCMA 항체, 융합물 또는 접합체의 용도를 제공한다. 본원에 제공된 임의의 항BCMA 항체, 융합물 또는 접합체를 사용하여 생물학적 샘플에서 인간 BCMA의 존재를 검출할 수 있다.

[0152] 본원에서 사용된 용어 "검출"은 정량적 또는 정성적 검출을 포함한다. 예시적인 검출 방법은 면역조직화학, 면역세포화학, 유세포법(예를 들어, FACS), 항체 분자와 복합된 자기 비드, ELISA 측정법, PCR 기술(예를 들어, RT-PCR)이 포함되나 이에 한정되지 않는다. 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플은 체액, 세포 또는 조직이 포함된다. 특정 실시양태에서, 생물학적 샘플은 혈액, 혈청 또는 생물학적 공급원의 기타 액체 샘플이다.

[0153] 일 실시양태에서, 항BCMA 항체, 융합물 또는 접합체를 제공하여 진단 또는 검출 방법에 사용한다. 추가적인 측면에서, 생물학적 샘플에서 BCMA의 존재를 검출하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 해당 방법은 항BCMA 항체, 융합물 또는 접합체가 BCMA에 결합하도록 허용하는 조건 하에서 생물학적 샘플을 본원에 기재된 항BCMA 항체, 융합물 또는 접합체와 접촉시키며, 항BCMA 항체, 융합물 또는 접합체 및 BCMA 사이에 복합체가 형성되는지 여부를 검출하는 것을 포함한다. 이러한 방법은 체외 또는 생체내 방법일 수 있다.

[0154] 일 실시양태에서, 항BCMA 항체, 융합물 또는 접합체는 예를 들어 BCMA가 환자 선택을 위한 사용되는 바이오마커인 경우, 항BCMA 항체를 사용한 치료에 적합한 피험자를 선택하기 위한 사용된다. 본 발명의 항체, 융합물 또는 접합체를 사용하여 진단할 수 있는 예시적인 병증은 다발성 골수종과 같은 B 세포 관련 병증이 포함된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체, 융합물 또는 접합체로 다발성 골수종(MM) 환자를 계층화하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 상기 환자의 B 세포, 바람직하게는 악성 B 세포가 상기 B 세포의 표면에서 BCMA 단백질을 발현하는지 여부를 결정하는 것을 포함하고, 여기서 상기 B 세포가 표면에서 BCMA 단백질을 발현하는 경우, 상기 환자는 BCMA를 표적으로 하는 치료제(예를 들어, 항BCMA 항체)에 반응하고 사용하고 치료를 받을 수 있다. 일부 실시양태에서, 항BCMA 항체는 진단제 또는 검출 가능한 작용제에 접합될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 임의의 항BCMA 항체, 융합물 또는 접합체를 포함하는 진단 또는 검출에 사용되는 키트를 제공한다.

[0155] **V. 치료에 사용되는 방법 및 조성물**

[0156] 본 발명은 B 세포 관련 병증을 치료하는 방법을 제공하는 것으로, 이는 상기 피험자에게 유효량의 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 본 발명의 융합물 또는 접합체를 투여하는 단계를 포함한다.

[0157] B 세포 관련 질환은 비정상적인 B 세포 활성과 관련된 병증이며, B 세포 악성종양, 형질세포 악성종양 및 자가면역 질환을 포함하나 이에 한정되지 않는다. BCMA 항체를 사용하여 치료될 수 있는 예시적인 질환은 예를 들어 다발성 골수종, 비호지킨 림프종, 불확실한 악성 가능성의 B세포 증식, 림프종양 육아종증, 이식 후 림프증식성 질환, 면역조절 질환, 류마티스 관절염, 중증 근무력증, 특발성 혈소판 감소성 자반증, 항인지질 증후군, 샤가스병, 그레이브스병, 베게너 육아종증, 결절성 다발동맥염, 쇼그렌 증후군, 심상성 천포창, 공피증, 다발성 경화증, ANCA 관련 혈관염, 굿파스처병, 가와사키병, 자가면역성 용혈성 빈혈 및 급속 진행성 사구체신염, 중쇄병, 원발성 또는 면역 세포 관련 아밀로이드증 또는 의미 불명 단클론 감마병증, 전신성 홍반루푸스, 류마티스 관절염이 포함된다.

[0158] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체, 융합물 및 접합체는 B 세포 악성종양, 바람직하게는, 다발성 골수종(MM) 또는 비호지킨 림프종(NHL)과 같은 인간의 B 세포 관련 병증을 치료하기 위한 사용된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항BCMA 항체, 융합물 및 접합체는 항종양 효과를 갖고, 예를 들어 종양 부피 감소, 종양 세포 수 감소, 종양 세포 증식 감소 또는 종양 세포 생존 감소를 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0159] 본 발명의 BCMA 항체, 융합물 및 접합체는 종양과 같은 상기 질환을 치료하기 위한 기타 치료 형태와 조합하여 투여될 수 있는 것으로 이해된다. 상기 기타 치료 형태는 치료제, 방사선 요법, 화학 요법, 이식, 면역 요법 등

이 포함된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체 분자, 융합물 및 접합체는 기타 치료제와 함께 사용된다. 예시적인 치료제는 사이토카인, 성장 인자, 스테로이드, NSAID, DMARD, 항염증제, 화학요법제, 방사선치료제, 치료용 항체, 또는 기타 활성제 및 보조제, 예를 들어 항종양 약물이 포함된다.

[0160] 본 발명에 대한 이해를 돕기 위해 이하 실시예를 설명한다. 그 어떠한 방식으로든 실시예를 본 발명의 보호범위를 제한하는 것으로 해석하고자 의도하는 것도 아니고 의도해서도 안된다.

[0161] **실시예**

[0162] **실시예 1 BCMA 친화력 개선 항체의 생성 및 발현**

[0163] BCMA 모항체 ADI-34861의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역 서열(각각 서열 번호: 9에 제시된 VH 및 서열 번호: 18에 제시된 VL 서열임) 및 BCMA 모항체 ADI-34857의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역 서열(각각 서열 번호: 63에 제시된 VH 및 서열 번호: 72에 제시된 VL 서열임)은 국제 출원 번호 PCT/CN2019/074419(BCMA 항체 관련 특허)로부터 획득하였다.

[0164] BCMA에 대해 개선된 친화력을 갖는 항체를 얻기 위해, 본 실시예에서는 BCMA 모항체 ADI-34861 및 ADI-34857에 대한 친화력 변이체 설계 및 기능 측정을 진행하였다.

[0165] 모항체 ADI-34861 및 ADI-34857로부터 유래된 친화력 성숙 Fab의 생성은 표준 프로토콜(Silacci et al., (2005), Proteomics 5, 2340-50)을 사용하여 파지 디스플레이 방법을 통해 실시되었다. 모항체 ADI-34861의 경우, 여러 라운드의 패닝 후에 친화력 성숙 항체 ADI-38491(이는 서열 번호: 27에 제시된 VH, 서열 번호: 36에 제시된 VL 서열을 가짐) 및 항체 ADI-38497(이는 서열 번호: 45에 제시된 VH, 서열 번호: 54에 제시된 VL 서열을 가짐)을 초보 획득하였고; 모항체 ADI-34857의 경우, 여러 라운드의 패닝 후에 친화력 성숙 항체 ADI-38481(이는 서열 번호: 81에 제시된 VH 및 서열 번호: 90에 제시된 VL 서열을 가짐) 및 항체 ADI-38484(이는 서열 번호: 99에 제시된 VH 및 서열 번호: 108에 제시된 VL 서열을 가짐)를 초보 획득하였다

[0166] 각각 항체 ADI-38491의 중쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열(서열 번호: 26) 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열(서열 번호: 35), 항체 ADI-38497의 중쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열(서열 번호:44) 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열(서열 번호: 53), 항체 ADI-38481의 중쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열(서열 번호: 80) 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열(서열 번호: 89), 항체 ADI-38484의 중쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열(서열 번호: 98) 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열(서열 번호: 107)을 코딩하여 경쇄 및 중쇄 불변 영역 단편을 함유하는 개조된 진핵 발현 벡터 플라스미드 pcDNA3.3(Invitrogen)에 구축하고, 제조사의 설명에 따라 ExpiCHO 일시적 발현 시스템(Thermo Fisher, A29133)을 사용하여 CHO-K 세포에서 항체의 전장 중쇄 및 경쇄를 공동 발현시킨 다음, 단백질 A 친화 크로마토그래피를 통해 정제하여 항체 ADI-38491, 항체 ADI-38497, 항체 ADI-38481, 항체 ADI-38484를 얻었다.

[0167] **실시예 2 Fortebio의 항체 친화력 검출**

[0168] Fortebio사의 Octet QKe 시스템 기기를 이용하여, 항인간 항체 Fc 단에 대한 포획 항체(AHC) 생물학적 프로브를 채택하여 항체의 Fc 단을 포획함으로써 항체 친화력을 측정하였다. 구체적인 조작은 다음과 같다.

[0169] 항체 ADI-34861, 항체 ADI-38491, 항체 ADI-38497, 항체 ADI-34857, 항체 ADI-38481 및 항체 ADI-38484를 각각 PBS 완충액으로 4μg/mL로 희석하고 AHC 프로브(Cat: 18-0015, PALL) 표면에 통과시키고, 시간은 120초이다. 인간, 시노몰구스 원숭이 및 마우스 BCMA(60nM)를 이동상으로 사용하고 결합 시간은 180초, 해리 시간은 180초이다. 실험 완료 후 블랭크 대조(PBS 완충액)의 반응 값을 빼고 소프트웨어로 1:1 Langmuir 결합 모델을 피팅하여 항원-항체 결합의 약동학 상수를 계산한다. 약동학 상수는 하기 표 1에 나타난 바와 같다.

[0170] 결과는 상응하는 모항체 ADI-34861과 비교하여, 돌연변이된 항체 ADI-38491 및 항체 ADI-38497의 친화력이 현저히 향상되었고; 상응하는 모항체 ADI-34857과 비교하여, 돌연변이된 항체 ADI-38481 및 항체 ADI-38484의 친화력이 현저히 향상되었음을 보여준다.

표 1

표 1: 각 항체와 BCMA의 결합 친화력

항체	ForteBio IgG K_D 용액 내 인간 BCMA-IHM (100nM) [단가]	ForteBio IgG K_D 용액 내 인간 BCMA 단량체 (100nM) [단가]	ForteBio IgG K_D 용액 내 시노몰구스 원숭이 BCMA-Fc(100nM) [Avid]	ForteBio IgG K_D 용액 내 마우스 BCMA-Fc(100nM) [Avid]
ADI-34861	5.14E-08	1.73E-08	2.11E-09	3.68E-09
ADI-38491	2.62E-09	1.02E-09	1.27E-09	3.04E-09
ADI-38497	1.02E-09	6.21E-10	6.02E-10	5.03E-10
ADI-34857	4.40E-08	3.59E-08	1.47E-09	2.41E-09
ADI-38481	4.96E-10	1.00E-10	8.97E-10	2.44E-09
ADI-38484	5.39E-10	7.94E-11	1.07E-09	8.50E-10

[0171]

[0172] **실시예 3: 세포 기반 항체 기능 측정**

[0173] 세포 표면에 발현된 BCMA에 대한 항체의 결합 친화력을 시험하기 위해 세 가지 유형의 세포(NCI-H929 세포, BCMA-KO-H929 세포 및 인간 BCMA CHO-S 세포)를 사용하여 측정을 진행하였다. NCI-H929 세포(본원에서는 H929 세포 약어로도 함)(Nanjing Kebai Biotechnology Co., Ltd.로부터 구입)는 세포 표면에서 BCMA 분자를 천연적으로 발현하는 인간 다발성 골수종 세포주이고, BCMA-KO-H929 세포는 H929 세포를 기반으로 CRISPR-Cas9 기술을 이용하여 BCMA 유전자를 특이적으로 표적으로 하여 프레임시프트 돌연변이를 일으켜 BCMA 분자의 세포주(Nanjingjinsirui Science & Technology Biology Corp에서 구축 위탁)를 정상적으로 발현할 수 없게 하고, 인간 BCMA CHO-S 세포는 외인성 인간 BCMA를 CHO-S 세포에 도입하여 제조되었다. 인간 BCMA CHO-S 세포의 제조 방법은 다음과 같다: 인간 BCMA(NP_001183.2, 서열 번호: 109)를 코딩하는 서열을 pcDNA3.3(Invitrogen) 벡터의 다클론 부위에 클로닝하여 인간 BCMA를 발현하는 발현 벡터를 얻은 다음; 해당 인간 BCMA를 발현하는 발현 벡터를 진핵 발현을 위해 CHO-S 세포(ATCC)에 도입하고, 세포 표면에 인간 BCMA를 발현하는 CHO-S 세포를 얻었다.

[0174] 인간 BCMA CHO-S 세포 또는 H929 세포를 96-웰 플레이트에 1.0×10^5세포/웰로 접종하고, 희석된 10nM의 각 항체(항체 ADI-34861, 항체 ADI-38491, 항체 ADI-38497, 항체 ADI-34857, 항체 ADI-38481, 항체 ADI-38484)를 첨가하였다. 4℃에서 30분 동안 인큐베이션한 후, 세포를 세척하고 100μL의 APC-표지된 염소 항-인간 IgG 2차 항체(Jackson ImmunoResearch Inc, 카달로그 번호: 109-136-097, 알로피코시아닌-표지된 특이적 결합 $F(ab')_2$ 단편의 염소 항-인간 IgG 2차 항체 $F(ab')_2$ 단편(Allophycocyanin(APC) AffiniPure $F(ab')_2$ Fragment Goat Anti-Human IgG, $F(ab')_2$ fragment specific))를 첨가하고, 4℃에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 그 다음, 세포를 세척하고, 세포 표면에 발현된 BCMA 분자에 대한 각 항체의 결합을 유세포법(Beckman Coulter)를 통해 검출하였다. CHO-S 세포는 음성 대조로 사용되었다.

표 2

표 2. 세포 표면에 발현된 BCMA에 대한 각 항체의 결합

항체	CHO-S 세포 MFI(중앙 형광 강도)	인간 BCMA CHO-S 세포 MFI	인간 BCMA CHO-S 세포 (FOB, 백그라운드 대비 배수)	인간 BCMA H929 세포 MFI	인간 BCMA H929 세포 (FON, 음성 대비 배수)
ADI-34861	252	1001	4	1397	6
ADI-38491	247	996	4	1098	5
ADI-38497	276	2316	8	5671	26
ADI-34857	304	877	3	2275	10
ADI-38481	270	2622	10	6659	31
ADI-38484	252	2725	11	7718	35

[0175]

[0176] 표 2에서 알 수 있듯이, 항체 ADI-34861, 항체 ADI-38491, 항체 ADI-38497은 모두 세포 표면에 발현된 BCMA에 결합하며, 세포 표면에 발현된 BCMA에 대한 항체 ADI-38497의 결합 친화력은 현저히 향상하였다. 항체 ADI-34857, 항체 ADI-38481 및 항체 ADI-38484는 모두 세포 표면에 발현된 BCMA에 결합하며, 세포 표면에 발현된 BCMA에 대한 항체 ADI-38481 및 ADI-38484의 결합 친화력은 현저히 향상하였다.

[0177] 추가로, H929 세포와 BCMA-KO-H929 세포를 3.0×10^5세포/웰로 96웰 플레이트에 접종하고, 희석된 ADI-38497 항체(1μg/웰)를 첨가하고, 음성 대조 웰에는 항체를 첨가하지 않는다. 4℃에서 30분 동안 인큐베이션한 후, 세포를 세척하고, APC-표지된 염소 항-인간 IgG 2차 항체(Jackson ImmunoResearch Inc, 카달로그 번호: 109-136-097) 100μL를 모든 세포 웰에 첨가하고, 4℃에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 그 다음, 세포를 세척하고, 각 세포의 표면에 발현된 BCMA 분자에 대한 항체 ADI-38497 항체의 결합을 유세포법을 통해 검출하였다.

[0178] 도 1에서 알 수 있듯이, ADI-38497 항체는 BCMA 항원을 발현하는 H929 세포에만 결합하고 BCMA 유전자 녹아웃 BCMA-KO-H929 세포에 결합하지 않으며 따라서 ADI-38497 항체는 BCMA 항원에 특이적으로 결합할 수 있다.

[0179] **실시예 4 ADI-38497 WT 항체, ADI-38497 PG 항체, ADI-38484 WT 항체 및 ADI-38484 PG 항체의 제조 및 항원 결합활성 검출**

[0180] **4.1 ADI-38497 WT 항체, ADI-38497 PG 항체, ADI-38484 WT 항체 및 ADI-38484 PG 항체의 제조**

[0181] GSK사의 BCMA 항체 클론 J6M0의 경쇄 및 중쇄 가변 영역 서열은 US9273141B2 특허로부터 대조 항체(GSK IgG)로 획득하였다.

[0182] GSK IgG, ADI-38497, ADI-38484 항체 경쇄 및 중쇄 가변 영역 서열의 전체 유전자 합성을 채택하며, WT를 함유하는 인간화 IgG1 중쇄 불변 영역(서열 번호: 110) 또는 P329G 점 돌연변이를 함유하는 인간화 IgG1 중쇄 불변 영역(서열 번호: 111) 및 κ경쇄 불변 영역(서열 번호: 112)의 pcDNA3.4 발현 벡터(Shanghai Bio-Innovation로부터 구입)에 들어갔다. HEK293 세포에 경쇄 및 중쇄 발현 벡터를 PEI를 통해 2:3의 몰비로 공동 형질감염시키고, 5~7일 동안 배양한 후 배지 상청액을 수집하였다. 항체가 함유된 상청액 배지를 Protein A 컬럼을 통해 한 단계 정제한 후 PBS로 투석하였다. NanoDrop 기기를 채택하여 280nm에서 흡광도 값을 판독하여 농도를 검출하였고, SDS-PAGE 및 SEC-HPLC 방법으로 샘플의 순도를 검출하였다. GSK WT 항체, GSK PG 항체; ADI-38497 WT 항체, ADI-38497 PG 항체; ADI-38484 WT 항체, ADI-38484 PG 항체를 얻었다.

[0183] **4.2 ADI-38497 PG 항체의 친화력 검출**

[0184] 다른 종의 BCMA에 대한 ADI-38497 PG 항체의 친화력은 Biacore T200을 통해 측정되었고, 도 2A는 표면 플라즈몬 공명(SPR)을 채택하여 항체 친화력을 측정하는 방법의 개략도를 나타낸다.

[0185] 구체적인 방법은 다음과 같다: 항-인간 Fc IgG(Ab97221, Abcam)를 CM5 칩(29149603, Cytiva) 표면에 커플링한 후, 칩 표면에서 ADI-38497 PG 항체를 포획하고, 칩 표면 항체와 이동상의 BCMA 항원 사이의 결합과 해리를 검출하여 친화력 및 약동학 상수를 얻었다. 측정과정에서는 실험용 완충액으로 10배 희석한 10×HBS-EP+(BR-1006-69, Cytiva)를 사용하였다. 친화력 검출의 각 주기는 ADI-38497 PG 항체 포획, 한 농도의 항원 결합 및 칩 재생이 포함된다. 구배 희석된 항원(항원 농도 구배는 1.25~40nM, 2배 희석)은 30μL/분의 유속으로 저농도에서 고농도로 순착적으로 칩 표면을 흐르고, 결합 시간은 180초, 적절한 해리 시간(900초 또는 600초 또는 60초)를 설정하였다. 마지막으로, 10mM 글라이신-HCl, pH 1.5(BR-1003-54, Cytiva)를 사용하여 칩을 재생하였다.

[0186] 데이터 결과는 1:1 결합 모델을 사용하여 Biacore T200 분석 소프트웨어(버전 3.1)를 통해 분석되었다.

[0187] 도 2B는 SPR을 채택하여 측정한 재조합 인간, 시노몰구스 원숭이, 마우스, 래트 및 토끼 BCMA 단백질에 대한 ADI-38497 PG 항체의 대표적인 친화력 프로파일을 보여준다. 결과는 ADI-38497 PG 항체가 상술한 다른 종으로부터 유래된 BCMA 단백질에 모두 결합할 수 있음을 나타내며, 여기서 결합 활성의 순서는 순착적으로 인간 BCMA > 원숭이 BCMA > 마우스 BCMA > 래트 BCMA > 토끼 BCMA이다.

표 3

표 3: ADI-38497 PG 항체와 다른 종으로부터 유래된 BCMA 단백질의 결합 친화력

항원	항체	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
인간 BCMA	ADI-38497 PG 항체	2.878E+5	1.756E-5	6.101E-11
시노몰구스 원숭이 BCMA		3.402E+5	1.025E-5	3.012E-11
마우스 BCMA		4.920E+5	8.716E-4	1.772E-9
래트 BCMA		1.001E+6	8.314E-2	8.306E-8
토끼 BCMA		5.830E+4	5.309E-2	9.106E-7

[0188]

[0189] **4.3 다른 종으로부터 유래된 BCMA 항원에 대한 P329G BCMA 항체의 결합 활성 검출**

[0190] 먼저, 서로 다른 종으로부터 유래된 BCMA 항원을 발현하는 CHO GS 세포를 제조하였다. 구체적으로, 인간, 마우스, 시노몰구스 원숭이 유래의 BCMA 유전자를 합성하여 렌티바이러스 벡터에 클로닝하고, 이어서 다른 종으로부터 유래된 BCMA 유전자가 함유된 렌티바이러스를 패키징하고, 이 렌티바이러스로 CHO GS 세포를 감염시킨 후 유세포법을 통해 선별하여 다른 종으로부터 유래된 BCMA 항원을 발현하는 CHO GS 세포주, 즉 hBCMA-CHO GS, mBCMA-CHO GS 및 cynoBCMA-CHO GS 세포를 얻었다.

[0191] 그 다음 FACS 완충액으로 ADI-38497 PG 항체 및 GSK로부터 유래된 BCMA 항체(즉, GSK PG IgG가 Benchmark로 사용됨)를 10배 구배 희석된 다른 농도 항체 용액으로 배합하고, 각각 1E5개 제조된 다른 종으로부터 유래된 BCMA 항원을 발현하는 CHO GS 세포와 4℃에서 30분 동안 인큐베이션하고, FACS 완충액으로 세척한 후 Fcγ 단편 특이적인 APC-염소 항-인간 IgG(Jackson ImmunoResearch, 109-136-098)와 4℃에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 유세포법을 채택하여 세포에 결합된 P329G 항체를 검출하고, APC 채널 MFI를 분석하고, 항체 농도를 X축으로, APC 채널 MFI를 Y축으로 플로팅하여 결합 EC50을 계산하였다.

[0192] 도 2C는 인간, 시노몰구스 원숭이 및 마우스 BCMA를 안정적으로 발현하는 CHO-GS 세포에 대한 다른 농도의 P329G BCMA 항체의 결합 능력을 나타낸다. 도 2C에서 볼 수 있듯이, ADI-38497 PG IgG 항체는 세포 표면에 발현된 다른 종의 BCMA에 결합할 수 있는 반면, GSK로부터 유래된 BCMA 항체(Benchmark)는 종 BCMA 특이성이 높고 마우스 BCMA를 인식하지 못하고 해당 결과는 SPR 검출 결과와 일치한다.

표 4

표 4: 다른 종의 BCMA를 발현하는 CHO-GS 세포에 대한 P329G BCMA 항체의 결합 EC50 값

세포주	항체의 EC50(nM)	
	ADI-38497 PG IgG	GSK PG IgG
hBCMA-CHO-GS	1.490	5.002
mBCMA-CHO-GS	1.183	131.9
cynoBCMA-CHO-GS	1.692	10.01

[0193]

[0194] **4.4 종양 세포 표면의 BCMA 항원에 대한 P329G BCMA 항체의 결합 활성 검출**

[0195] 로그 성장기의 종양 세포를 적당량 취하여 FACS 완충액으로 2회 세척한 후 ADI-38497 PG 항체, ADI-38484 PG 항체 및 Benchmark로 사용한 GSK PG IgG를 첨가하고, 염색 대조로 사용된 세포에 동종형 hIgG1 항체를 첨가하고, 4℃에서 30분 동안 염색한 후 2회 세척하고, APC-F(ab')$_2$ 단편의 염소 항인간 IgG 항체를 첨가하고, 4℃에서 30분 동안 염색하고 세포를 2회 세척한 후 FACS 완충액으로 재현탁하고, 유세포법을 채택하여 검출하였다.

[0196] 도 2D는 다른 농도의 P329G BCMA 항체와 BCMA를 발현하는 양성 다발성 골수종 세포주 MM.1s, RPMI8226, U266,

H929, L363 및 AMO1(MM.1s는 Nanjing Kebai Biotechnology Co., Ltd.로부터 구입, CBP60239; RPMI8226은 Nanjing Kebai Biotechnology Co., Ltd.로부터 구입, CBP60244; U266은 Wuhan Pricella Biotechnology Co., Ltd.로부터 구입, CL-0510; H929는 Nanjing Kebai Biotechnology Co., Ltd.로부터 구입, CBP60243; L363은 Nanjing Kebai Biotechnology Co., Ltd.로부터 구입, CBP6024; AMO1은 Nanjing Kebai Biotechnology Co., Ltd.로부터 구입, CBP60242)의 결합 활성을 나타내며, ADI-38497 PG 항체, ADI-38484 PG 항체는 BCMA 발현 양성 종양 세포에 결합하고 농도 의존성을 나타낸다. 상기 BCMA를 발현하는 양성 종양 세포 중에서 MM.1s 세포는 BCMA 발현 수준이 가장 높았고, RPMI8226, U266 및 H929 세포는 BCMA를 중간 수준으로 발현했으며, L363 및 AMO1 세포는 BCMA를 낮은 수준으로 발현하였다.

표 5

표 5: BCMA를 발현하는 양성 종양 세포에 대한 P329G BCMA 항체의 결합 EC50 값

[0197]

	항체의 EC50(nM)		
세포주 명칭	ADI-38497 PG IgG	ADI-38484 PG IgG	GSK PG IgG
MM.1s	1.007	1.953	7.535
RPMI8226	2.117	0.428	5.972
U266	1.795	2.789	8.736
H929	~1.713	~1.548	~7.686
L363	5.113	0.9341	10.39
AMO1	2.428	4.250	12.92

[0198] **실시예 5 ADI-38497 WT 항체 및 ADI-38497 PG 항체의 생물학적 기능 검출**

[0199] **5.1 ADCC 이펙터 기능 검출**

[0200] 공여자 3의 PBMC 세포(Peripheral Blood Mononuclear Cells, 말초 혈액 단핵 세포)를 소생시키고, 10% 소태아 혈청을 함유하는 RPMI 1640 배지로 재현탁시킨 후 37℃에서 1~2시간 동안 안정화시켰다. PBMC와 표적 세포를 이펙터-표적 비율 25:1로 혼합하고, 다른 농도의 BCMA 항체와 혼합하고 37℃에서 각각 4시간, 24시간 동안 계속 배양한 후, 표적 세포에 대한 PBMC의 항체에 의해 매개된 사멸 효과는 LDH 검출 키트(Promega, G1780)로 검출하고 항체 농도를 X축으로, 세포 용해 비율을 Y축으로 하여 플로팅 및 분석하였다. 동시에 세포를 수집하고 FACS 완충액으로 2회 세척한 다음, CD3, CD56, CD16 및 CD107a 항체를 첨가하고, 여기서 CD107a 항체를 미리 첨가해야 하고 37℃에서 1시간 동안 세포와 공동 인큐베이션하였다. 상술한 세포 항체 혼합액을 4℃에서 30분 동안 염색하고, 2회 세척한 후, FACS 완충액으로 재현탁시키고, 유세포법을 채택하여 검출하였다.

[0201] 도 3A는 ADCC 사멸을 매개하는 ADI-38497 WT 항체 및 ADI-38497 PG 항체의 능력을 나타내고, 결과는 다른 인큐베이션 시간(4시간, 24시간)을 시험하고 다른 검출 지표(표적 세포에 대한 세포 독성, CD3, CD56, CD16 및 CD107a의 발현에 대한 영향)를 사용할 때, 모두 WT 항체만이 BCMA를 발현하는 양성 H929 종양 세포에 대한 ADCC 세포 독성 사멸 효과를 매개하는 반면, P329G 돌연변이 항체는 ADCC 효과를 유도하는 능력이 결여된 것을 보여준다.

[0202] **5.2 ADCP 이펙터 기능 검출**

[0203] 로그 성장기의 ADCP 리포터 세포주(Promega, G9871) 및 H929 세포를 취하여 이펙터-표적 비율 2:1, 5:1로 ADCP 리포터 세포와 H929 표적 세포를 혼합하고, 다른 농도의 BCMA 항체와 혼합하고 37℃에서 20시간 동안 계속 배양하였고, 루시페라아제 검출 키트(Promega, E2620)로 항체에 의해 매개된 표적 세포 의존적 리포터 세포 활성화 효과를 검출하였고, 항체 농도를 X축으로, 형광 판독값 변화를 Y축으로 하여 플롯팅 및 분석하였다.

[0204] 도 3B는 ADCP 사멸을 매개하는 ADI-38497 WT 항체 및 ADI-38497 PG 항체의 능력을 나타낸다. 결과는 다른 이펙터-표적 비율(2:1 또는 5:1)을 시험한 경우, 모두 ADI-38497 WT 항체만이 BCMA 발현 양성 H929 종양 세포에 대한 ADCP 사멸 효과를 매개한 반면, P329G 돌연변이 항체는 ADCP 사멸 효과를 유도하는 능력이 결여됨을 나타낸다.

[0205] **5.3 P329G 돌연변이 항체의 항증식 기능 검출**

[0206] 로그 성장기의 H929 세포 및 L363 세포를 취하여 웰 플레이트에 일정량을 도말하고; 로그 성장기의 H929 세포 및 L363 세포의 일부를 표적 세포로 미토마이신 C로 처리하고 양성 대조로 사용하였다. 이어서 다른 농도의 ADI-38497 PG 항체를 첨가하여 혼합하고, 37℃에서 각각 48시간, 72시간 및 120시간 동안 계속 배양하여 CellTiter-Glo(Promega, G9242)로 생세포의 비율을 검출하고, 공동 인큐베이션 시간을 X축, 형광 판독값은 Y축으로 하여 플로팅 및 분석하였다.

[0207] 도 3C는 ADI-38497 PG 항체가 종양 세포 증식을 억제하는 능력을 가지고 있는지 여부를 나타내고, 결과는 시험된 다른 인큐베이션 시간(48시간, 72시간 및 120시간) 및 다른 ADI-38497 PG 항체 농도(5μg/mL, 50μg/mL) 모두 ADI-38497 PG 항체 자체는 종양 세포 증식을 억제하는 능력이 결여됨을 보여준다.

[0208] **실시예 6 ADI-38497 PG 항체의 생체내 약동학적 연구**

[0209] **6.1 항체 주입 및 샘플링**

[0210] BALB/c 마우스(4~6주령, 체중 15~17g, 암컷)를 3개 그룹, 즉 ADI-38497 **PG** 항체, 1mg/kg 항체 그룹; ADI-38497 **PG** 항체, 10mg/kg 항체 그룹; 및 ADI-38497 **PG 항체**, 200mg/kg 항체 그룹으로 나누고, 각 그룹당 마우스는 9마리이고; 1×PBS로 항체를 각각 0.1mg/mL, 1mg/mL 및 20mg/mL로 희석하고, 각 마우스의 투약 부피는 10mL/kg, 즉 항체 투약 용량은 각각 1mg/kg, 10mg/mL 및 200mg/mL이며, 투약 방식은 정맥 주사이고 투약 빈도는 1회이다. 항체 투약 후 5분, 30분, 2시간, 6시간, 24시간, 48시간, 96시간, 168시간, 336시간 및 504시간에 마우스의 안와 후 정맥총에서 혈액 샘플 100μL를 채취하였고, 3000g에서 원심분리하고 상청액을 흡취하여 혈중 약물 농도를 측정하기 위한 사용하였다.

[0211] **6.2 ADI-38497 PG 항체 검출**

[0212] 96웰 엘리사 플레이트를 하루 전에 코팅하였다. 코팅액(탄산염(Thermo, 28382) 분말 1팩을 취하여, 초순수 400mL에 용해시키고 500mL로 정용하고 균일하게 혼합하여 코팅액임)으로 BCMA 항원을 1μg/mL로 희석하고, 각 웰은 100μL이고, 플레이트를 밀봉 필름으로 밀봉한 후 실온에서 밤새 방치하였다. 코팅 용액을 붓고 흡수지에 두드려 건조시킨 다음, 각 웰에 세척액 300μL를 첨가하고 10초 동안 진탕하여 균일하게 혼합하고 세척액을 두드려 건조시킨 후 세척을 3회 반복하였다. 멀티 채널 피펫으로 블로킹 용액을 첨가하고, 각 웰은 200μL이고, 플레이트를 밀봉 필름으로 밀봉한 다음 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서 플레이트를 1회 세척하였다. 희석된 표준 곡선(알려진 농도의 BCMA 항체를 구배 희석하여 표준 곡선 제조, 예를 들어, 알려진 농도의 ADI-38497 PG 항체를 사용하여 표준 곡선 제조), 품질 관리 샘플 및 시험 대상 샘플을 각 웰 100μL이고 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 코팅 용액을 사전 붓고 흡수지에 두드려 건조시킨 다음, 각 웰에 세척액 300μL를 첨가하고 10초 동안 진탕하여 균일하게 혼합하고 세척액을 두드려 건조시킨 후 3회 반복 세척하였다. 1회 반복하였다. 염소 항인간 IgG-Fc-HRP 항체(BETHYL)를 1:100000으로 희석하고 각 웰에 100μL를 첨가하고 차광하면서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서 플레이트를 1회 세척하였다. TMB 기질을 96웰 엘리사 플레이트에 각 웰 100μL를 첨가하고 차광하면서 실온에서 5분 동안 발색하였다. 각 웰에 ELISA 정지액 50μL를 첨가하고 10초 동안 진탕한 후 30분 이내에 OD450nm 및 OD620nm 값을 판독하였다.

[0213] 도 4A 및 4B는 마우스에서 ADI-38497 **PG** 항체(다음 마우스 생체내 실험에서는 PG Ab 약어로도 함)의 약동학적 실험 결과를 나타낸다. 마우스에 ADI-38497 PG 항체 1mg/kg, 10mg/kg, 200mg/kg을 정맥 주사한 후, 혈청의 ADI-38497 PG 항체 노출량(Cmax 및 AUClast)은 용량 의존적 효과를 나타냈으며, 기타 약동학적 파라미터는 유의한 차이가 없으며. 표 6에 나타난 바와 같이, ADI-38497 **PG** 항체 1mg/kg: AUC0-inf, Cmax, CL, T1/2는 각각 2480μg×h/mL, 30ug/mL, 0.40mL/kg/h, 145h이고; ADI-38497 PG 항체 10mg/kg: AUC0-inf, Cmax, CL, T1/2는 각각 24720μg×h/mL, 187ug/mL, 0.32mL/kg/h, 219h이며; ADI-38497 PG 항체 200mg/kg: AUC0-inf, Cmax, CL, T1/2는 각각 397734μg×h/mL, 3895ug/mL, 0.43mL/kg/h, 197h이고, ADI-38497 PG 항체 1mg/kg의 반감기는 ADI-38497 PG 항체 10mg/kg 및 200mg/kg의 반감기보다 약간 짧았다.

표 6

표 6 ADI-38497 PG 항체 약동학적 실험 결과

그룹별	C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-t} (μg*h/mL)	AUC_{0-inf_obs} (μg*h/mL)	MRT_{0-inf_obs} (h)	$t_{1/2}$ (h)	CL (mL/kg/h)	V_{ss} (mL/kg)
ADI-38497 PG 항체, 1mg/kg	30	2273	2480	186	145	0.40	75
ADI-38497 PG 항체, 10mg/kg	187	24720	30837	305	219	0.32	99
ADI-38497 PG 항체, 200mg/kg	3895	397734	460828	229	197	0.43	100

[0214]

[0215] **실시예 7 ADI-38497 PG 항체의 생체내 항종양 효과**

[0216] 마우스 종양 접종 및 처리를 진행하였다. 구체적으로, H929 세포를 1×PBS로 재현탁시켜 세포 농도가 5×10^6개/mL인 세포 현탁액을 제조하였다. NOG 마우스(4~6주령, 체중 15~17g, 암컷)의 오른쪽 등 부분의 털을 면도하고, H929 세포 현탁액을 0.2mL/마리의 주사 부피로 피하에 주사하였고, 즉, 접종량은 1×10^6세포/마리이다. 종양 세포 접종 7일 후, 마우스 종양 부피가 50.82~104.36mm^3인 마우스를 각각 PBS 담체 그룹 및 ADI-38497 PG 항체 그룹(본원은 "PG Ab 그룹" 약어로도 함)으로 각 그룹에 7마리씩 그룹을 나누었다. 그룹화 완료 후, 7일째에 항체 투약을 진행하였고, 투약 부피는 각 마우스 10mL/kg으로 투약 빈도는 매주 1회이고, 투약 방식은 복강 주사이다. 마우스 체중, 종양 조직의 최대 장축(L) 및 최대 폭 축(W)을 주 2회 모니터링하였다.

[0217] 도 5A는 인간 BCMA 발현 양성 H929 종양 세포를 피하에 접종한 면역결핍 종양 보유 마우스에서 ADI-38497 PG 항체의 치료 효과를 나타낸다. 결과는 PG 항체의 투여가 BCMA를 고발현하는 H929 종양 모델에서 현저한 항종양 효과를 생성됨을 나타낸다.

[0218] 도 5B는 해당 실험에서 마우스의 체중 변화를 나타낸다. 결과는 BCMA를 고발현하는 H929 종양 모델에서 PG 항체를 투여한 후 마우스의 체중이 현저히 변화가 없음을 나타낸다.

[0219] 따라서, ADI-38497 PG 항체는 현저한 항BCMA 고발현 종양 효과를 가지며 유의한 독성 부작용이 없다.

[0220] **실시예 8 ADI-38497 PG 항체의 생체내 항전신성 종양 효과에 대한 연구**

[0221] 먼저, H929-luc 세포를 제조하였다. 구체적으로, H929 세포(Nanjing Kebai Biotechnology Co., Ltd.로부터 구입)로 GFP-루시페라아제 유전자가 함유된 렌티바이러스를 패키징하고, 얻어진 렌티바이러스로 H929 세포를 감염시킨 후 유세포법을 통해 선별하여 GFP 및 루시페라아제 이중 발현된 H929-luc 세포주를 얻었다.

[0222] 그 다음, H929-luc 세포를 1×PBS로 재현탁시켜 세포 농도가 25×10^6개/mL인 세포 현탁액을 제조하였다. NOG 마우스(4~6주령, 체중 15~17g, 암컷)에게 H929-luc 세포 현탁액을 꼬리 정맥에 0.2mL/마리의 주사 부피로 주입하였다. 종양 세포 접종 14일 후, 기질 D-Luciferin(15mg/mL)을 10mL/kg/마리의 주사 부피로 복강 주사하였고, 기질 주사 10분 후 IVIS spectrum으로 이미징 분석하였다. 1.17×10^7~1.43×10^8 photons/sec의 형광 신호를 갖는 마우스를 각각 담체 그룹, PG Ab, 0.3mg/kg 그룹 및 PG Ab, 3 mg/kg 그룹으로 각 그룹에 6~7마리씩 그룹을 나누었다. 각각 0.03mg/mL 및 0.3mg/mL 농도의 항체를 배합하고, 그룹화 완료 후 14일째에 항체 투약을 진행하였고, 투약 부피는 각 마우스 10mL/kg으로 투약 빈도는 매주 1회, 투약 방식은 복강 주사이다.

[0223] 도 6A는 꼬리 정맥에 인간 H929-luc 종양 세포를 접종한 면역결핍 종양 보유 마우스에서 다른 용량의 PG 항체의 항종양 약효를 나타낸다. 결과는, 전신 종양 모델에서 PG 항체는 투약 후 약 1주일부터 항종양 약효가 나타나기 시작하였고, 용량 의존성을 나타내며; 약효가 2주 동안 유지된 후에 점차 약화되는 것으로 나타난다.

[0224] 도 6B는 상술한 실험에서 마우스 체중의 변화를 나타낸다. 결과는, 각 처리 그룹에서 마우스의 체중은 치료 기간 동안 꾸준히 상승하는 것으로 나타났으며, 이는 PG 항체 치료가 유의한 독성을 유발하지 않았음을 나타낸다.

[0225] **실시예 9 ADI-38497 PG 항체의 생체내 독성학 연구**

[0226] 마우스 종양 접종 및 처리를 진행하였다. 구체적으로, H929 세포를 1×PBS로 재현탁시켜 세포 농도가 5×10^6개/mL인 세포 현탁액을 제조하였다. NOG 마우스(4~6주령, 체중 15~17g, 암컷)의 오른쪽 등 부분의 털을 면도하고, H929 세포 현탁액을 5×10^6개/mL로 0.2mL/마리의 주사 부피로 피하에 주사하였다. 종양 세포 접종 6일 후, 마우스 종양 부피는 38.49~104.77㎣인 마우스를 표 7에 나타난 바와 같이 각각 종양 미보유 담체 그룹, 종양 보유 담체 그룹, PG Ab 그룹으로 각 그룹에는 24마리씩 그룹을 나누었다. 1mg/mL 농도의 항체를 배합하고, 그룹화 완료 후 항체를 투약하고, 투약 부피는 각 마우스 10mL/kg으로 투약 빈도는 매주 1회, 투약 횟수 3회, 투약 방식은 복강 주사이다. 마우스 체중, 종양 조직의 최대 장축(L) 및 최대 폭 축(W)을 주 2회 모니터링하였다. 1차 항체 투약 전, 3차 항체 투약 전,및 실험 종료 시점에 혈액학 및 혈액 생화학적 검사를 위한 사용되는 각 그룹 4마리씩 말초 혈액을 취하였다.

표 7

[0227] 표 7 각 그룹의 치료 및 투야 용량

그룹별	세포주	처리	농도
1	종양 부하 없음	담체	N/A
2	H929	담체	N/A
3	H929	PG 항체	10mg/kg (QW×3)

[0228] 도 7A는 인간 H929 종양 세포를 피하에 접종한 면역결핍 종양 보유 마우스에서 PG 항체의 치료 효과를 나타낸다. 결과는 PG 항체는 항종양 효과를 갖는다.

[0229] 도 7B는 본 실험에서 마우스의 체중 변화를 나타낸다. 결과는, PG 항체 치료 기간 동안 마우스의 체중은 대조 마우스에 비해 유의한 변화가 없음을 나타내며, PG 항체가 유의한 독성 반응을 유발하지 않음을 제시한다.

[0230] 도 7C 및 도 7D는 상술한 실험에서 마우스 혈액학적 및 혈액 생화학적 검사 결과를 나타낸다. 결과는, PG 항체 치료 기간 동안 마우스의 혈액학적 및 혈액 생화학적 지표는 대조 마우스에 비해 유의한 변화가 없으며, 이는 PG 항체 치료가 독성 반응을 생성하지 않음을 나타낸다.

[0231] 위에 본 발명의 예시적인 실시양태를 설명한 것으로, 당업자는 이러한 개시 내용이 단지 예시일 뿐이며 다양한 기타 대체, 적용 및 수정이 본 발명의 범위 내에서 이루어질 수 있음을 이해해야 한다. 따라서, 본 발명은 본원에 열거된 구체적인 실시양태에 한정되지 않는다.

[0232] **예시적인 서열**

서열 번호 (서열 번호:)	설명	아미노산 서열/뉴클레오티드 서열
1	ADI-34861 항체 VH CDR1	GSISSSSYYWG
2	ADI-34861 항체 VH CDR2	SISYSGSTYYNPSLKS
3	ADI-34861 항체 VH CDR3	ARDRGDTILDV
4	ADI-34861 항체 VH FR1	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSG
5	ADI-34861 항체 VH FR2	WIRQPPGKGLEWIG
6	ADI-34861 항체 VH FR3	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC
7	ADI-34861 항체 VH FR4	WGQGTMVTVSS
8	ADI-34861 항체 VH DNA	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGTAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTCCTATAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCCGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGATCGTGGAGACACCATACTACTAGACGTATGGGGTCAGGGTACAATGGTCACCGTCTCCTCA
9	ADI-34861 항체 VH 아미노산	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSISYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDRGDTILDVWGQGTMVTVSS
10	ADI-34861 항체 VL CDR1	RASQSISRYLN
11	ADI-34861 항체 VL CDR2	AASSLQS
12	ADI-34861 항체 VL CDR3	QQKYFDIT
13	ADI-34861 항체 VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
14	ADI-34861 항체 VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
15	ADI-34861 항체 VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
16	ADI-34861 항체 VL FR4	FGGGTKVEIK
17	ADI-34861 항체 VL DNA	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAGCAAAAATACTTCGACATCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
18	ADI-34861 항체 VL 아미노산	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISRYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQKYFDITFGGGTKVEIK
19	ADI-38491 항체 VH CDR1	GSIVSSSYYWT
20	ADI-38491 항체 VH CDR2	SISIAGSTYYNPSLKS

[0233]

21	ADI-38491 항체 VH CDR3	ARDRGDTILDV
22	ADI-38491 VH FR1	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSG
23	ADI-38491 항체 VH FR2	WIRQPPGKGLEWIG
24	ADI-38491 항체 VH FR3	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC
25	ADI-38491 항체 VH FR4	WGQGTMVTVSS
26	ADI-38491 항체 VH DNA	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCGTCAGTAGTAGTTACTACTGGACCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTCCATAGCAGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCCGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGATCGTGGAGACACCATACTAGACGTATGGGGTCAGGGTACAATGGTCACCGTCTCCTCA
27	ADI-38491 항체 VH 아미노산	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIVSSSYYWTWIRQPPGKGLEWIGSISIAGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDRGDTILDVWGQGTMVTVSS
28	ADI-38491 항체 VL CDR1	RASQSISRYLN
29	ADI-38491 항체 VL CDR2	AASSLQS
30	ADI-38491 항체 VL CDR3	QQKYFDIT
31	ADI-38491 항체 VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
32	ADI-38491 항체 VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
33	ADI-38491 항체 VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
34	ADI-38491 항체 VL FR4	FGGGTKVEIK
35	ADI-38491 항체 VL DNA	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAGCAAAAATACTTCGACATCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
36	ADI-38491 항체 VL 아미노산	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISRYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQKYFDITFGGGTKVEIK
37	ADI-38497 항체 VH CDR1	GSIVSSSYYWT
38	ADI-38497 항체 VH CDR2	SISIAGSTYYNPSLKS
39	ADI-38497 항체 VH CDR3	ARDRGDQILDV
40	ADI-38497 항체 VH FR1	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSG
41	ADI-38497 항체 VH FR2	WIRQPPGKGLEWIG
42	ADI-38497 항체 VH FR3	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC
43	ADI-38497 항체	WSQGTMVTVSS

[0234]

	VH FR4	
44	ADI-38497 항체 VH DNA	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGA GACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCGTCAGTAG TAGTTACTACTGGACCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGG AGTGGATTGGGAGTATCTCCATAGCAGGGAGCACCTACTACAACCCG TCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCCGTAGACACGTCCAAGAACCA GTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCGGTGT ACTACTGCGCCAGAGATCGTGGAGACCAGATTCTAGACGTATGGAGT CAGGGTACAATGGTCACCGTCTCCTCA
45	ADI-38497 항체 VH 아미노산	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIVSSSYYWTWIRQPPGKGLEWI GSISIAGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARD RGDQILDVWSQGTMVTVSS
46	ADI-38497 항체 VL CDR1	RASQSISRYLN
47	ADI-38497 항체 VL CDR2	AASSLQS
48	ADI-38497 항체 VL CDR3	QQKYFDIT
49	ADI-38497 항체 VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
50	ADI-38497 항체 VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
51	ADI-38497 항체 VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
52	ADI-38497 항체 VL FR4	FGGGTKVEIK
53	ADI-38497 항체 VL DNA	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGA GACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGATA TTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGA TCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGT GGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCA ACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAGCAAAAATACTTCGACA TCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
54	ADI-38497 항체 VL 아미노산	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISRYLNWYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQKYFDITFGGGT KVEIK
55	ADI-34857 모항체 VH CDR1	GTFSNYAIS
56	ADI-34857 모항체 VH CDR2	GIIPIFGTANYAQKFQG
57	ADI-34857 모항체 VH CDR3	ARGRGYYSSWLFDI
58	ADI-34857 모항체 VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG
59	ADI-34857 모항체 VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
60	ADI-34857 모항체 VH FR3	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC
61	ADI-34857 모항체 VH FR4	WGQGTMVTVSS
62	ADI-34857 모항체 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTC CTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAACT ATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGG ATGGGAGGGATCATCCCTATCTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGAA GTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACGAATCCACGAGCACA GCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGTGTA CTACTGCGCCAGAGGCAGGGGATACTACTCAAGCTGGCTATTCGACA TATGGGGTCAGGGTACAATGGTCACCGTCTCCTCA
63	ADI-34857 모항체	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNYAISWVRQAPGQGLEW

[0235]

[0236]

	VH 아미노산	MGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA RGRGYYSSWLFDIWGQGTMVTVSS
64	ADI-34857 항체 VL CDR1	QASQDITNYLN
65	ADI-34857 항체 VL CDR2	DASNLET
66	ADI-34857 항체 VL CDR3	QQAFDLIT
67	ADI-34857 항체 VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
68	ADI-34857 항체 VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
69	ADI-34857 항체 VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC
70	ADI-34857 항체 VL FR4	FGGGTKVEIK
71	ADI-34857 항체 VL DNA	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGA GACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTACCAACTA TTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGA TCTACGATGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCCCATCAAGGTTCAGT GGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGCCTGCA GCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGTCAGCAGGCCTTCGACCTCA TCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
72	ADI-34857 항체 VL 아미노산	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDITNYLNWYQQKPGKAPKLLIYD ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQAFDLITFGGGT KVEIK
73	ADI-38481 항체 VH CDR1	GTFSNDVIS
74	ADI-38481 항체 VH CDR2	VIIPIFGIANYAQKFQG
75	ADI-38481 항체 VH CDR3	ARGRGYYSSWLLDI
76	ADI-38481 항체 VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG
77	ADI-38481 항체 VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
78	ADI-38481 항체 VH FR3	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC
79	ADI-38481 항체 VH FR4	WGQGTMVTVSS
80	ADI-38481 항체 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTC CTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAACG ACGTCATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGG ATGGGAGTCATCATCCCTATCTTCGGTATAGCAAACTACGCACAGAA GTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACGAATCCACGAGCACA GCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGTGTA CTACTGCGCCAGAGGCAGGGGATACTACTCAAGCTGGCTTTTGGACA TATGGGGTCAGGGTACAATGGTCACCGTCTCCTCA
81	ADI-38481 항체 VH 아미노산	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNDVISWVRQAPGQGLEW MGVIIPIFGIANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA RGRGYYSSWLLDIWGQGTMVTVSS
82	ADI-38481 항체 VL CDR1	QASQDITNYLN
83	ADI-38481 항체 VL CDR2	DASNLET
84	ADI-38481 항체 VL CDR3	QQAFDLIT
85	ADI-38481 항체	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC

	VL FR1	
86	ADI-38481 항체 VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
87	ADI-38481 항체 VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC
88	ADI-38481 항체 VL FR4	FGGGTKVEIK
89	ADI-38481 항체 VL DNA	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGA GACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTACCAACTA TTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGA TCTACGATGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCCCATCAAGGTTCAGT GGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGCCTGCA GCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGTCAGCAGGCCTTCGACCTCA TCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
90	ADI-38481 항체 VL 아미노산	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDITNYLNWYQQKPGKAPKLLIYD ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQAFDLITFGGGT KVEIK
91	ADI-38484 항체 VH CDR1	GTFSNDVIS
92	ADI-38484 항체 VH CDR2	VIIPIFGIANYAQKFQG
93	ADI-38484 항체 VH CDR3	ARGRGYYSSWLHDI
94	ADI-38484 항체 VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG
95	ADI-38484 항체 VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
96	ADI-38484 항체 VH FR3	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC
97	ADI-38484 항체 VH FR4	WGQGTMVTVSS
98	ADI-38484 항체 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTC CTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAACG ACGTCATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGG ATGGGAGTCATCATCCCTATCTTCGGTATAGCAAACTACGCACAGAA GTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACGAATCCACGAGCACA GCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGGTGTA CTACTGCGCCAGAGGCAGGGGATACTACTCAAGCTGGCTGCATGACA TATGGGGTCAGGGTACAATGGTCACCGTCTCCTCA
99	ADI-38484 항체 VH 아미노산	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNDVISWVRQAPGQGLEW MGVIIPIFGIANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA RGRGYYSSWLHDIWGQGTMVTVSS
100	ADI-38484 항체 VL CDR1	QASQDITNYLN
101	ADI-38484 항체 VL CDR2	DASNLET
102	ADI-38484 항체 VL CDR3	QQAFDLIT
103	ADI-38484 항체 VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
104	ADI-38484 항체 VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
105	ADI-38484 항체 VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC
106	ADI-38484 항체 VL FR4	FGGGTKVEIK
107	ADI-38484 항체 VL DNA	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGA GACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTACCAACTA

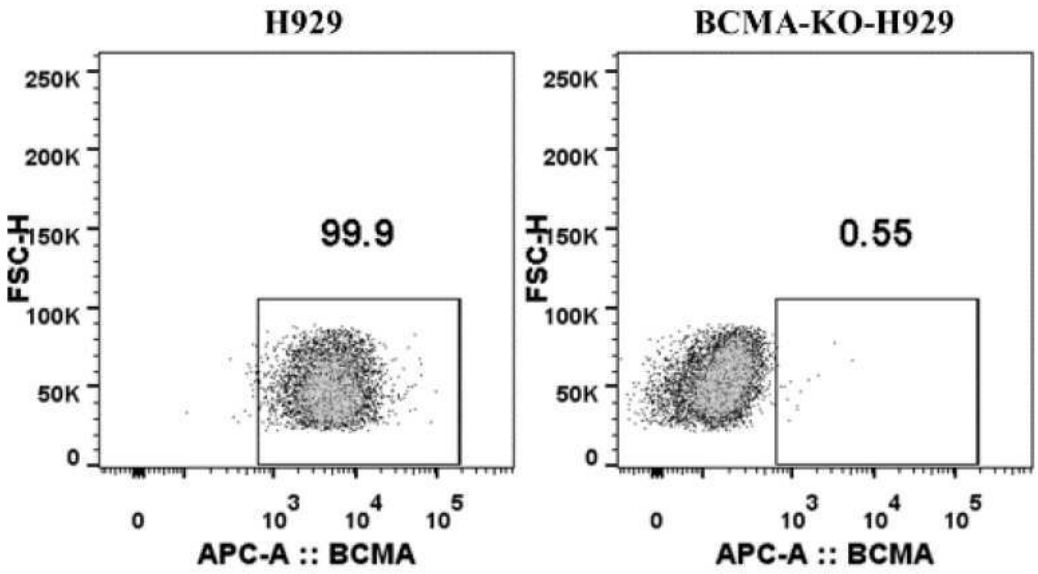
[0237]

		TTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGA TCTACGATGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCCCATCAAGGTTCAGT GGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGCCTGCA GCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGTCAGCAGGCCTTCGACCTCA TCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA
108	ADI-38484 항체 VL 아미노산	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDITNYLNWYQQKPGKAPKLLIYD ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQAFDLITFGGGT KVEIK
109	인간 BCMA 코딩 서열	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSNTPPLTCQRYCNASVTNSV KGTNAILWTCLGLSLIISLAVFVLMFLLRKINSEPLKDEFKNTGSGLLGM ANIDLEKSRTGDEIILPRGLEYTVEECTCEDCIKSKPKVDSDHCFPLPAME EGATILVTTKTNDYCKSLPAALSATEIEKSISAR
110	WT IgG1 중쇄 불변 영역 아미노산 서열	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
111	P329G IgG1 중쇄 불변 영역 아미노산 서열	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
112	κ 경쇄 불변 영역 아미노산 서열	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC

[0238]

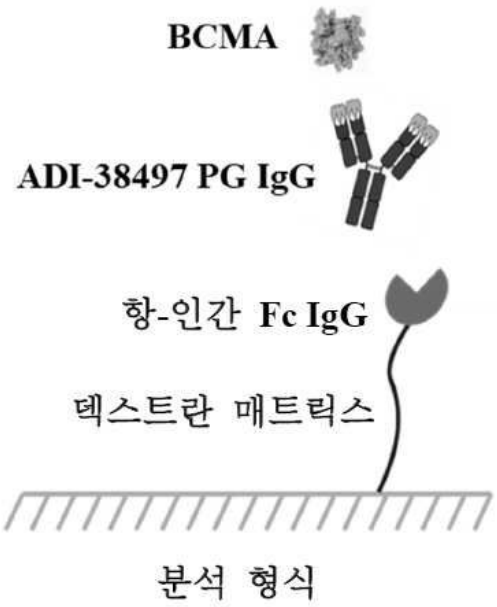
도면

도면1



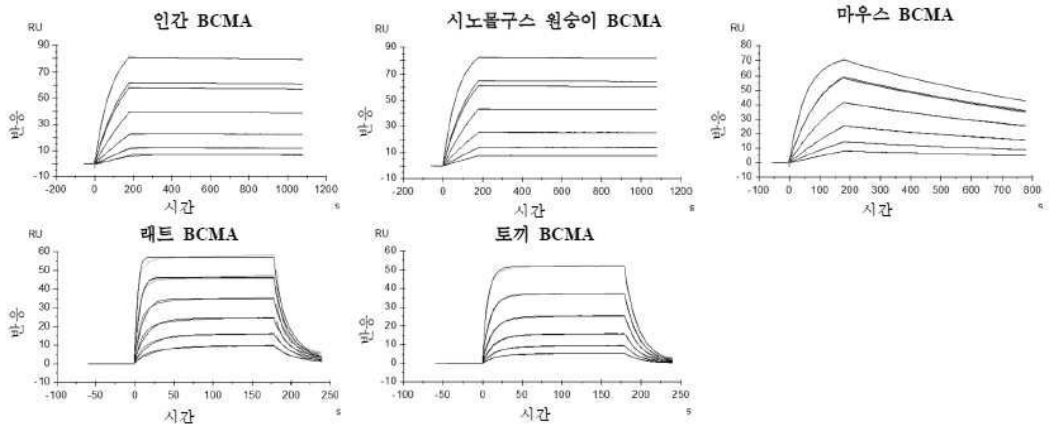
도 1

도면2a



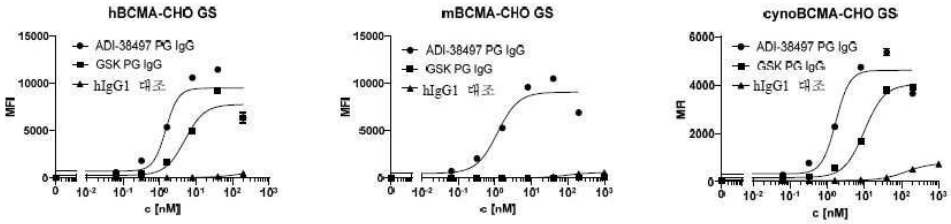
도 2A

도면2b



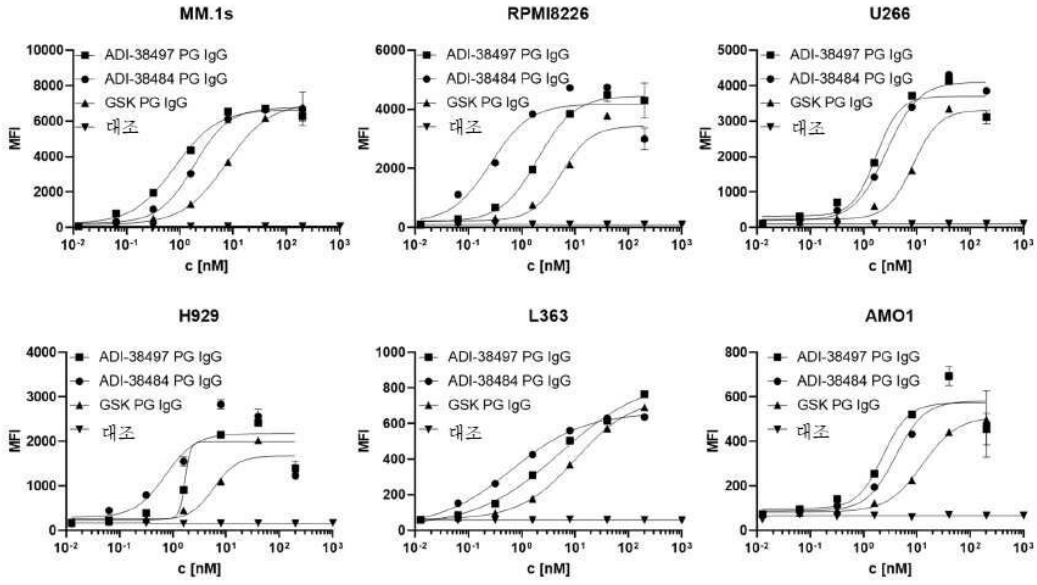
도 2B

도면2c



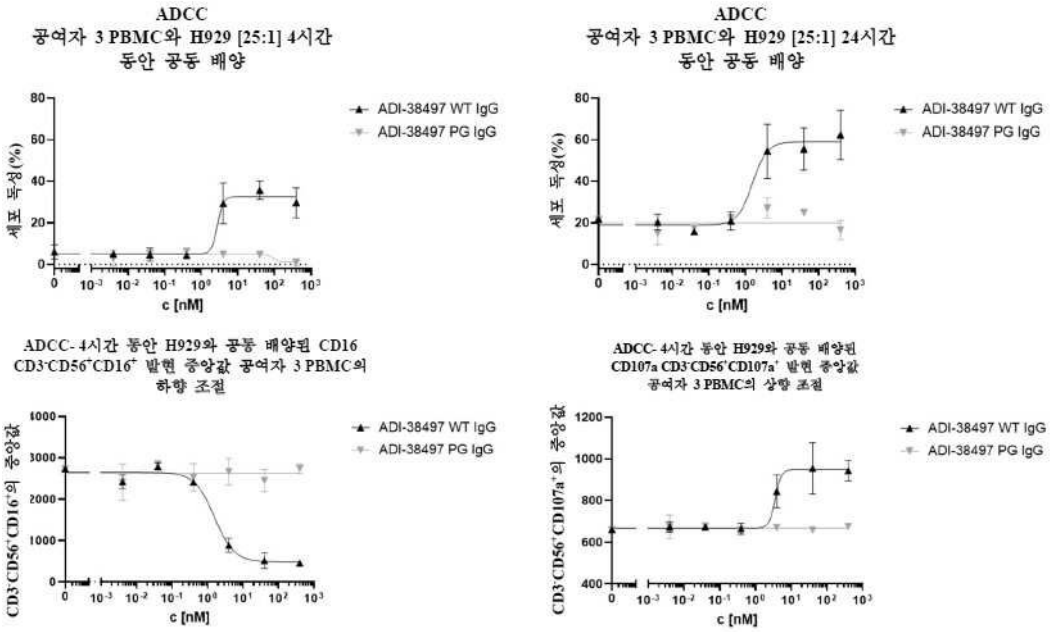
도 2C

도면2d



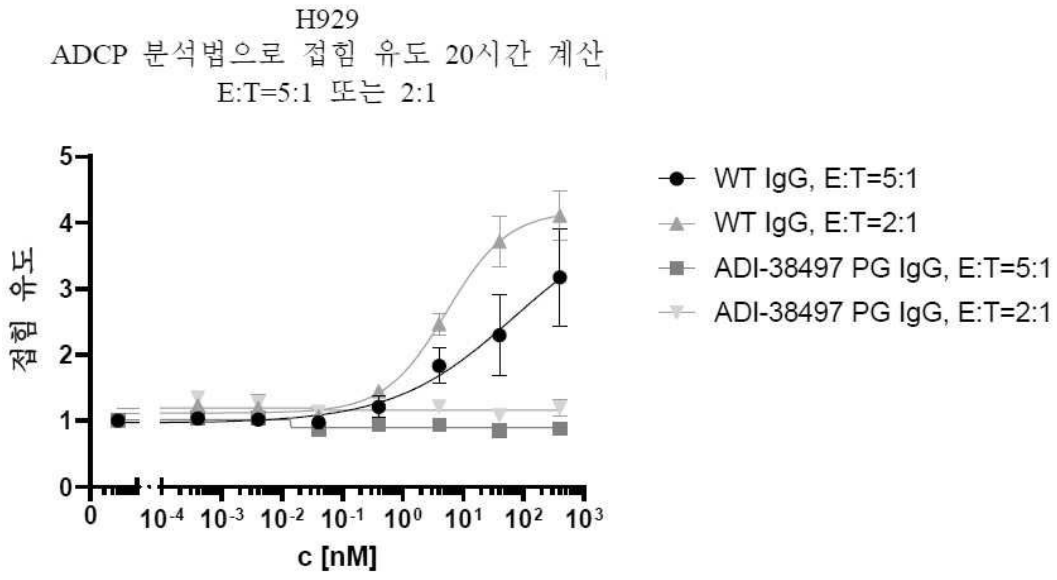
도 2D

도면3a



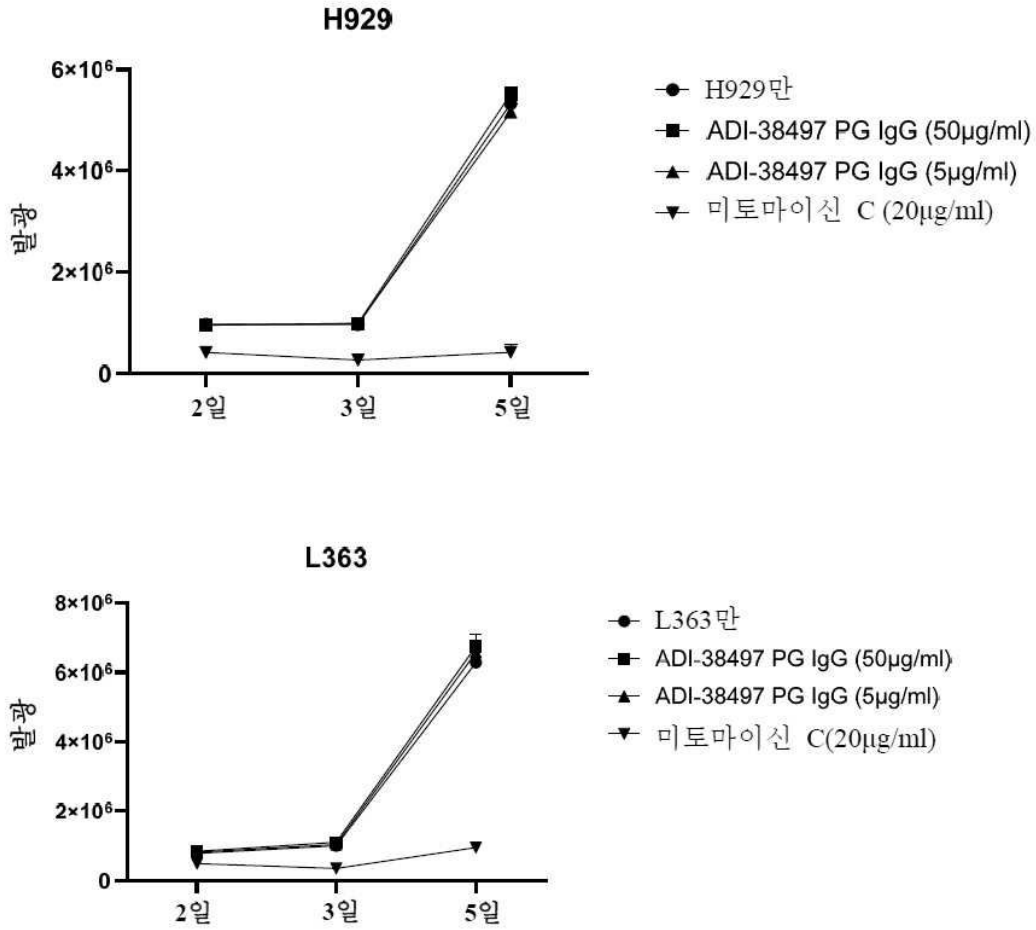
도 3A

도면3b



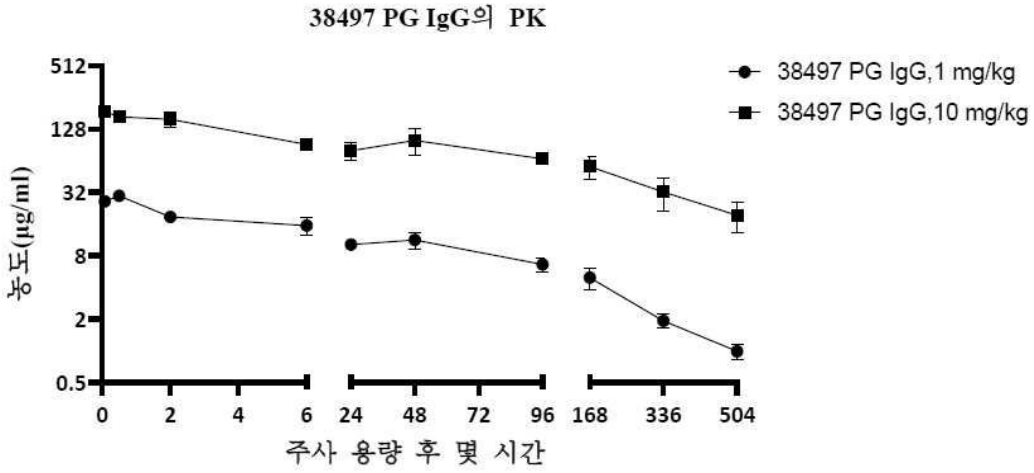
도 3B

도면3c



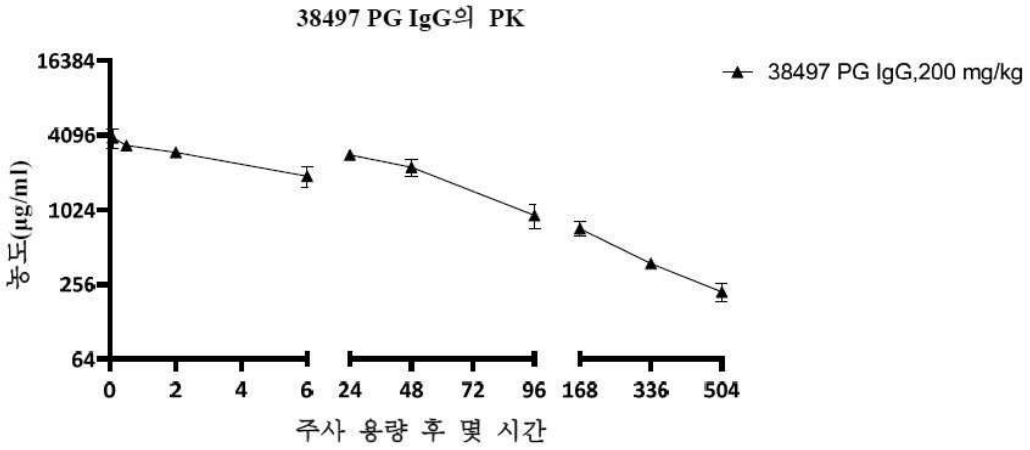
도 3C

도면4a



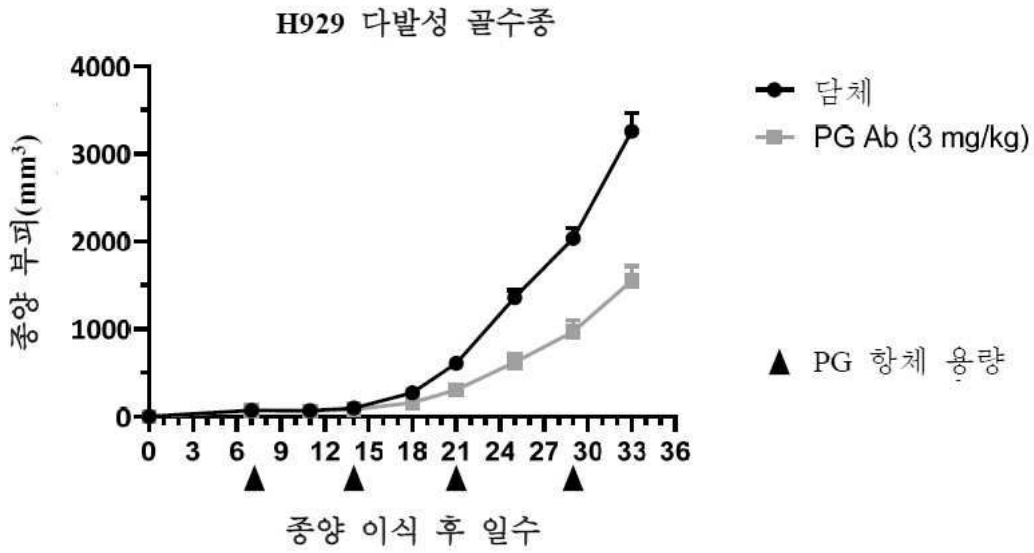
도 4A

도면4b



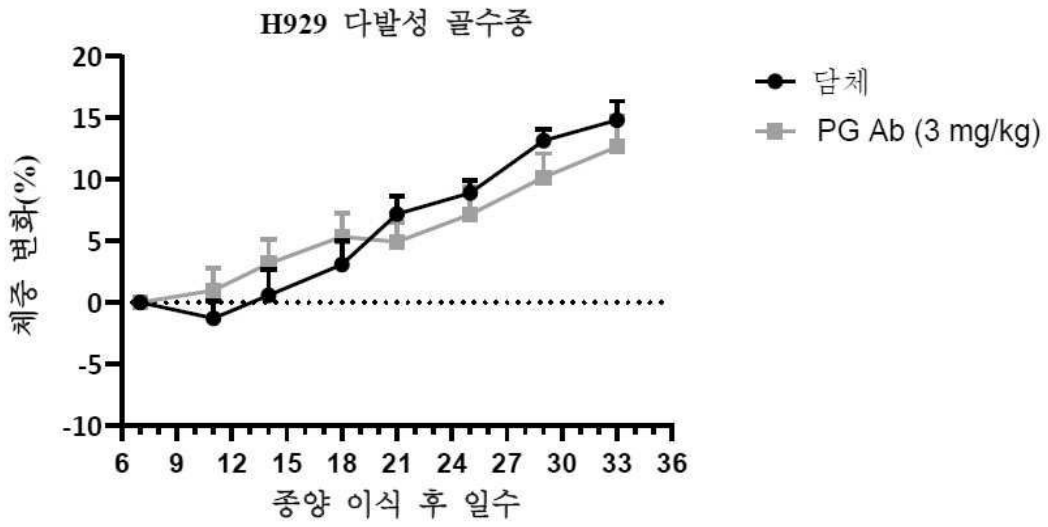
도 4B

도면5a



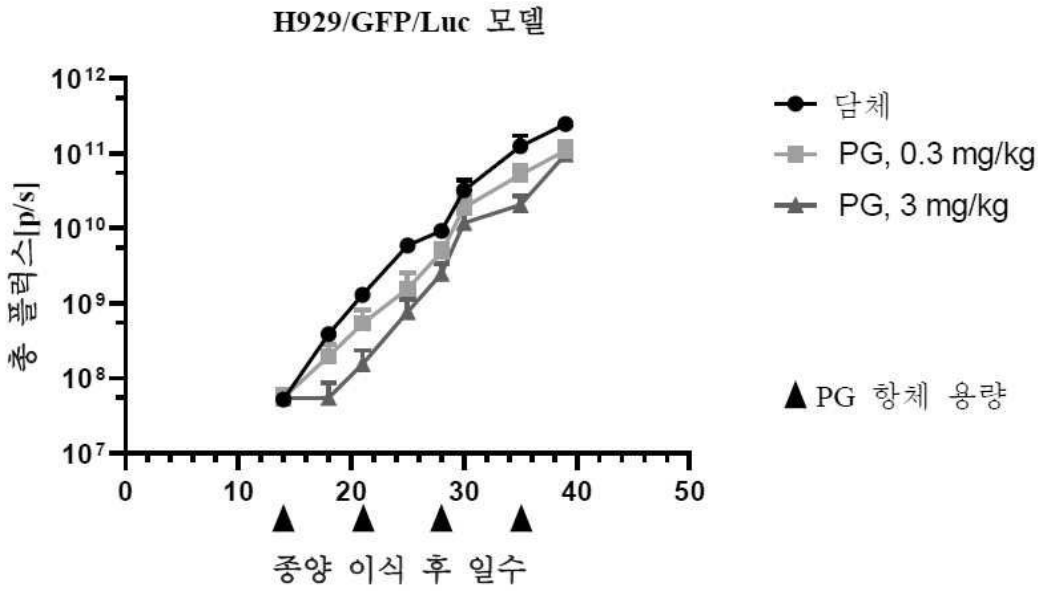
도 5A

도면5b



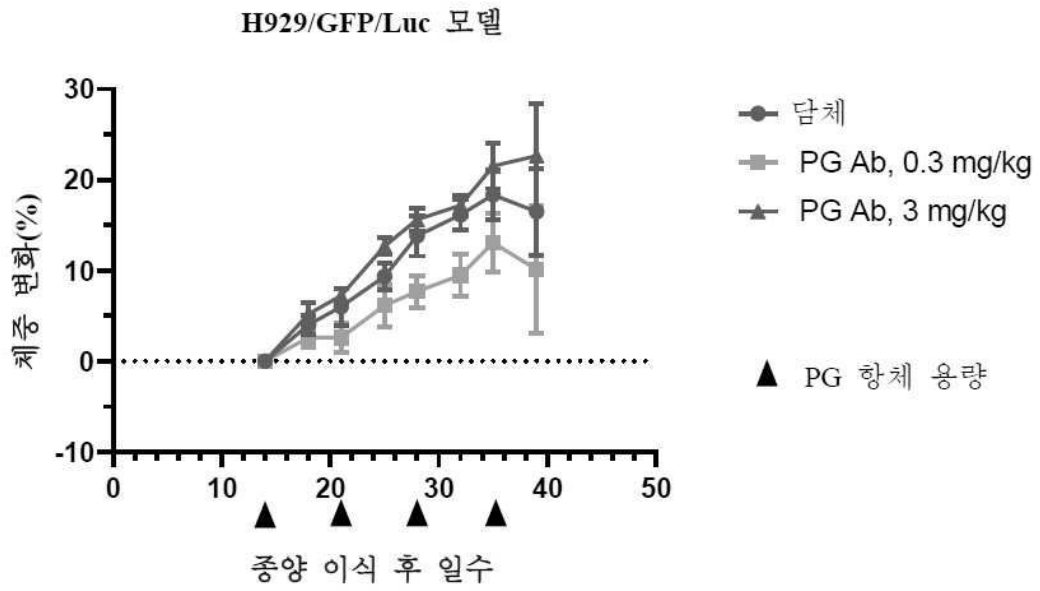
도 5B

도면6a



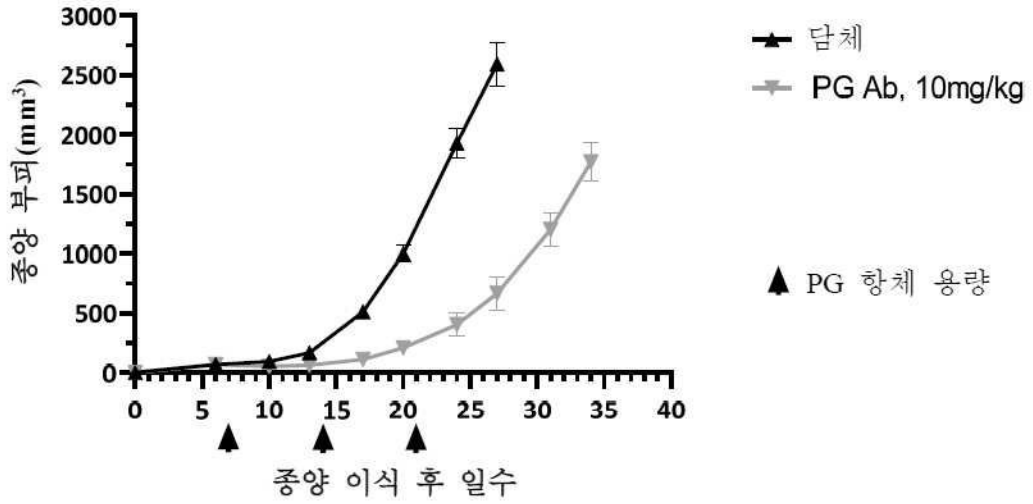
도 6A

도면6b



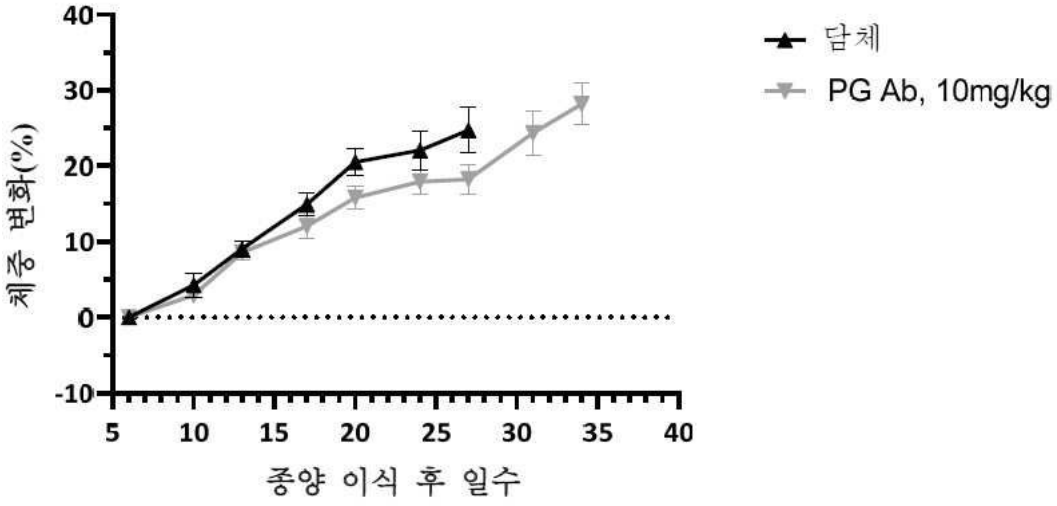
도 6B

도면7a



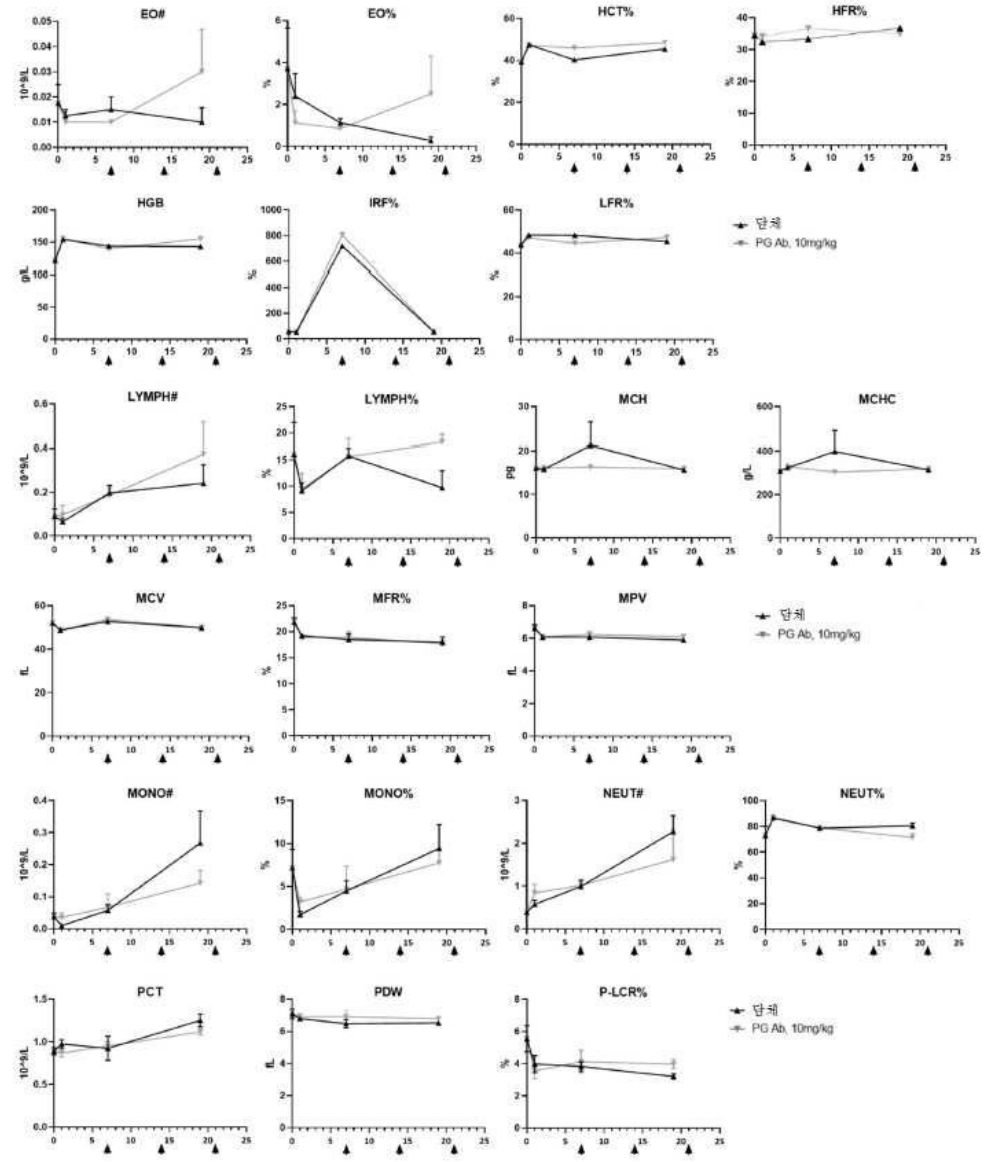
도 7A

도면7b



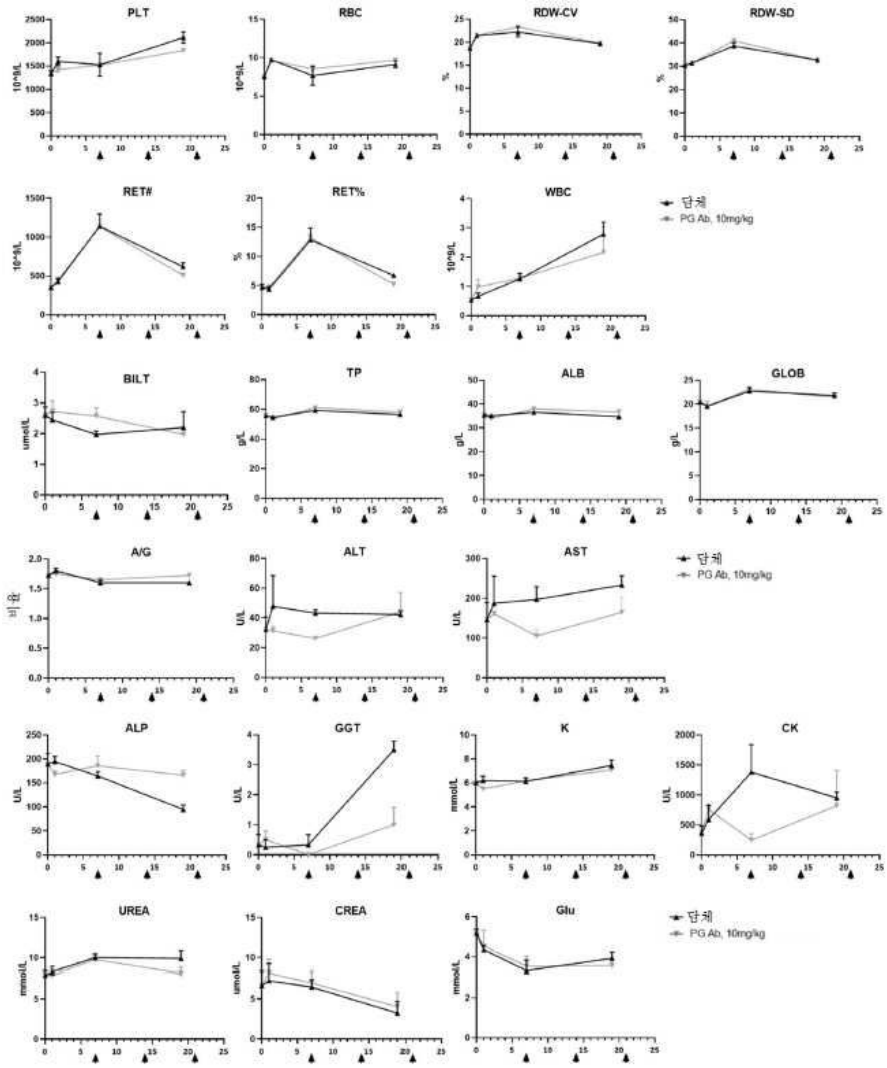
도 7B

도면7ca


EO#
EO%
HCT%
HFR%
HGB
IRF%
LFR%
담체
PG Ab, 10mg/kg
LYMPH#
LYMPH%
MCH
MCHC
MCV
MFR%
MPV
담체
PG Ab, 10mg/kg
MONO#
MONO%
NEUT#
NEUT%
PCT
PDW
P-LCR%
담체
PG Ab, 10mg/kg

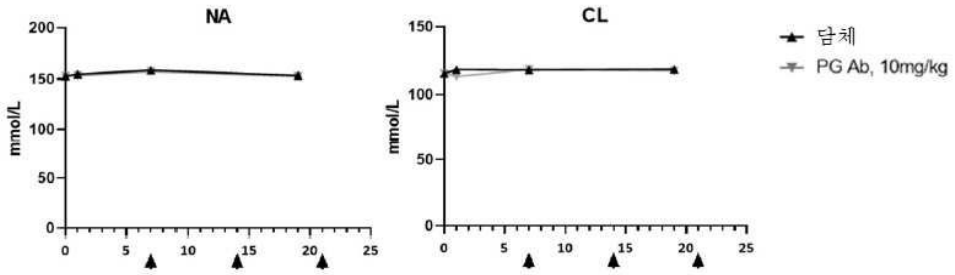
도 7C

도면7cb



도 7C(계속)

도면7d



도 7D

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

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