(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0058406
(43) 공개일자 2020년05월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 47/65 (2017.01) *A61K 47/68* (2017.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2803 (2013.01)
A61K 47/65 (2017.08)
(21) 출원번호 10-2020-7008316
(22) 출원일자(국제) 2018년08월30일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2020년03월20일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/048965
(87) 국제공개번호 WO 2019/046652
국제공개일자 2019년03월07일
(30) 우선권주장
62/552,345 2017년08월30일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
싸이톰스 테라퓨틱스, 인크.
미국 94080 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 스위트 400 오이스터 포인트 블러바드 151
(72) 발명자
카르맨 로리
미국 캘리포니아주 94080 사우스 샌프란시스코 151 오이스터 포인트 불러바드 스위트 400
험프리 레이첼
미국 캘리포니아주 94080 사우스 샌프란시스코 151 오이스터 포인트 불러바드 스위트 400
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인아주김장리

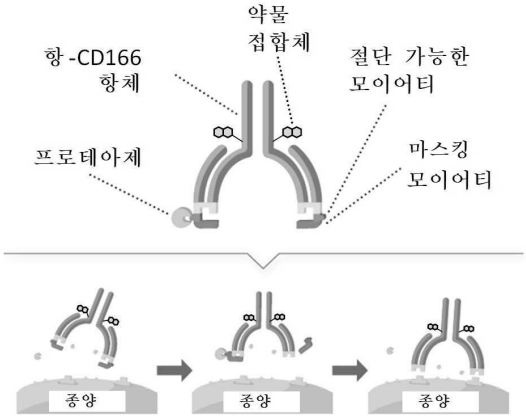
전체 청구항 수 : 총 86 항

(54) 발명의 명칭 **활성화 가능한 항-CD166 항체 및 이의 사용 방법**

(57) 요 약

본 명세서에서 CD166에 특이적으로 결합하는 활성화 가능한 항체 및 CD166에 특이적으로 결합하는 접합된 활성화 가능한 항체가 제공된다. 또한 다양한 치료적, 진단적 및 예방적 적응증에서 이들 활성화 가능한 항체를 제조하고 이용하는 방법이 제공된다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 47/6803 (2017.08)
A61K 47/6849 (2017.08)
A61K 47/6889 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/77 (2013.01)
C07K 2317/90 (2013.01)
C07K 2319/31 (2013.01)
C07K 2319/50 (2013.01)

(72) 발명자
캐버노 더블유. 마이클
미국 캘리포니아주 94080 사우스 샌프란시스코 151 오이스터 포인트 불러바드 스위트 400
테렛 조나단
미국 캘리포니아주 94080 사우스 샌프란시스코 151 오이스터 포인트 불러바드 스위트 400
위버 애니 양
미국 캘리포니아주 94080 사우스 샌프란시스코 151 오이스터 포인트 불러바드 스위트 400
윌 마티아스
미국 캘리포니아주 94080 사우스 샌프란시스코 151 오이스터 포인트 불러바드 스위트 400

(30) 우선권주장
62/553,098 2017년08월31일 미국(US)
62/554,919 2017년09월06일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

대상체에서 암을 치료하거나 암의 증상을 완화시키거나 또는 암의 진행을 지연시키는 방법으로서,

암의 치료, 완화, 지연이 필요한 대상체에게 제제에 접합된 치료적 유효량의 활성화 가능한 항체(activatable antibody: AA)를 투여하는 단계를 포함하되,

상기 AA는,

a. 포유류 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB)으로서, 상기 AB는 서열번호 480의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 240의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편;

b. 상기 AB에 결합되는 마스킹 모이어티(masking moiety: MM)로서, 상기 AA가 비절단 상태일 때 상기 MM은 포유류 CD166에 대한 상기 AB의 상기 결합을 저해하고, 상기 MM은 서열번호 222의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 마스킹 모이어티; 및

c. 상기 AB에 결합된 절단 가능한 모이어티(cleavable moiety: CM)로서, 상기 CM은 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 폴리펩타이드이고, 상기 CM은 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 절단 가능한 모이어티

를 포함하는, 암을 치료하거나 암의 증상을 완화시키거나 또는 암의 진행을 지연시키는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 암은 유방암종, 거세-저항성 전립선 암종, 담관암종, 자궁내막암종, 상피성 난소 암종, 두경부암 편평세포 암종, 또는 비소세포 폐암인, 암을 치료하거나 암의 증상을 완화시키거나 또는 암의 진행을 지연시키는 방법.

청구항 3

대상체에서 CD166을 발현시키는 세포의 성장, 증식 또는 전이를 저해하거나 또는 감소시키는 방법으로서,

세포의 성장, 증식 또는 전이의 저해 또는 감소가 필요한 대상체에게 제제에 접합된 치료적 유효량의 활성화 가능한 항체(AA)를 투여하는 단계를 포함하되,

상기 AA는,

a. 포유류 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB)으로서, AB는 서열번호 480의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 240의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편;

b. 상기 AB에 결합되는 마스킹 모이어티(MM)로서, 상기 AA가 비절단 상태일 때 상기 MM은 포유류 CD166에 대한 AB의 상기 결합을 저해하고, 상기 MM은 서열번호 222의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 마스킹 모이어티; 및

c. 상기 AB에 결합된 절단 가능한 모이어티(CM)로서, 상기 CM은 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 폴리펩타이드이고, 상기 CM은 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 절단 가능한 모이어티

를 포함하는, CD166을 발현시키는 세포의 성장, 증식 또는 전이를 저해하거나 또는 감소시키는 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 대상체는 유방암종, 거세-저항성 전립선 암종, 담관암종, 자궁내막암종, 상피성 난소 암종, 두경부암 편평세포 암종, 또는 비소세포 폐암을 앓고 있는, CD166을 발현시키는 세포의 성장, 증식 또는 전이를 저해하거나 또는 감소시키는 방법.

청구항 5

제3항에 있어서, 상기 세포는 유방 세포, 전립선 세포, 자궁내막 세포, 난소 세포, 두경부 편평 세포, 담관 세포 또는 폐 세포인, CD166을 발현시키는 세포의 성장, 증식 또는 전이를 저해하거나 또는 감소시키는 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제제는 메이탄시노이드 또는 이의 유도체인, 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제제는 DM4인, 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 DM4는 링커를 통해 상기 AA에 접합된, 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 링커는 SPBD 모이어티를 포함하는, 방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 AB는 상기 CM에 연결되는, 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 AA가 비절단 상태에서 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열: MM-CM-AB 또는 AB-CM-MM을 포함하도록 상기 MM이 상기 CM에 연결되는, 방법.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 AA는 상기 MM과 상기 CM 사이에 연결 펩타이드를 포함하는, 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 AA는 상기 CM과 AB 사이에 연결 펩타이드를 포함하는, 방법.

청구항 14

제12항에 있어서, 연결 펩타이드는 서열번호 479의 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 AA는 상기 CM과 상기 AB 사이에 연결 펩타이드를 포함하는, 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 연결 펩타이드는 15의 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 AA는 제1 연결 펩타이드(LP1)와 제2 연결 펩타이드(LP2)를 포함하되, 상기 AA는 비절단 상태에서 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열: MM-LP1-CM-LP2-AB 또는 AB-LP2-CM-LP1-MM을 갖는, 방법.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 경쇄는 그의 N-말단에서 스페이서에 연결되는, 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 스페이서는 서열번호 305의 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MM 및 CM은 상기 경쇄에 연결되는, 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 AA가 비절단 상태에서 그의 경쇄 상의 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열: 스페이서-MM-LP1-CM-LP2-경쇄를 포함하도록, 상기 MM이 CM에 연결되는, 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 스페이서는 서열번호 305의 아미노산 서열을 포함하고, LP1은 서열번호 479의 아미노산 서열을 포함하며, LP2는 GGS의 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 AA의 상기 경쇄는 서열번호 314의 서열을 포함하는, 방법.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 AA의 상기 경쇄는 서열번호 246의 서열을 포함하는, 방법.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 적어도 18세인, 방법 또는 용도.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 ECOG 수행능력 평가가 0 내지 1인, 방법.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 활성 전이성 암의 조직학적으로 확인된 진단을 갖는, 방법.

청구항 28

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 국소로 진행된 절단 가능하지 않은 고형 종양의 조직학적으로 확인된 진단을 갖는, 방법.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 투여 또는 사용 시 기대 수명이 적어도 3개월인, 방법.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 유방암종을 가진, 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 유방암종은 ER+인, 방법.

청구항 32

제30항 또는 제31항에 있어서, 사전 항-호르몬 요법을 받았거나 질환 진행을 경험한, 방법.

청구항 33

제30항에 있어서, 상기 대상체는 삼중 음성 유방암을 가지고, 적어도 2회의 사전 계통(prior line) 요법을 받은, 방법.

청구항 34

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 거세-저항성 전립선 암종을 가진, 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 대상체는 적어도 1회의 사전 요법을 받은, 방법.

청구항 36

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 담관암종을 가진, 방법.

청구항 37

제36항에 있어서, 상기 대상체는 적어도 1회의 사전 계통의 겜시타빈(gemcitabine)-함유 요법에 실패한, 방법.

청구항 38

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 자궁내막암종을 가진, 방법.

청구항 39

제38항에 있어서, 상기 대상체는 자궁외 또는 진행된 질환에 대해 적어도 1회의 백금-함유 요법을 받은, 방법.

청구항 40

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 상피성 난소 암종을 가진, 방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 대상체는 백금-저항성 암종을 가진, 방법.

청구항 42

제40항에 있어서, 상기 대상체는 백금 난치성 난소 암종을 가진, 방법.

청구항 43

제40항에 있어서, 상기 대상체는 BRCA 돌연변이를 가지고, PARP 저해제에 대해 난치성이거나 또는 달리 부적격인, 방법.

청구항 44

제40항에 있어서, 상기 대상체는 비-BRCA 돌연변이를 가진, 방법.

청구항 45

제1항 내지 제29항 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 두경부 소세포 암종(head and neck small cell carcinoma: HNSCC)을 가진, 방법.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 대상체는 적어도 1회의 백금-함유 요법을 받은, 방법.

청구항 47

제45항에 있어서, 상기 대상체는 적어도 1회의 PD-1/PD-L1 저해제를 받은, 방법.

청구항 48

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 비소세포 폐암(non-small cell lung cancer: NSCLC)을 가진, 방법.

청구항 49

제48항에 있어서, 상기 대상체는 적어도 1회의 백금-함유 요법을 받은, 방법.

청구항 50

제48항에 있어서, 상기 대상체는 적어도 1회의 면역관문 저해제를 받은, 방법.

청구항 51

제48항에 있어서, 상기 대상체는 적어도 1회의 PD-1/PD-L1 저해제를 받은, 방법.

청구항 52

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 제제에 접합된 AA가 약 0.25㎎/㎏ 내지 약 6㎎/㎏의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 53

제52항에 있어서, 상기 용량은 약 0.25㎎/㎏인, 방법.

청구항 54

제52항에 있어서, 상기 용량은 약 0.5㎎/㎏인, 방법.

청구항 55

제52항에 있어서, 상기 용량은 약 1㎎/㎏인, 방법.

청구항 56

제52항에 있어서, 상기 용량은 약 2㎎/㎏인, 방법.

청구항 57

제52항에 있어서, 상기 용량은 약 4㎎/㎏인, 방법.

청구항 58

제52항에 있어서, 상기 용량은 약 5㎎/㎏인, 방법.

청구항 59

제52항에 있어서, 상기 용량은 약 6㎎/㎏인, 방법.

청구항 60

제52항에 있어서, 상기 용량은 약 0.25㎎/㎏ 내지 0.5㎎/㎏인, 방법.

청구항 61

제52항에 있어서, 상기 용량은 약 0.5㎎/㎏ 내지 1㎎/㎏인, 방법.

청구항 62

제52항에 있어서, 상기 용량은 약 1㎎/㎏ 내지 2㎎/㎏인, 방법.

청구항 63

제52항에 있어서, 상기 용량은 약 2㎎/㎏ 내지 4㎎/㎏인, 방법.

청구항 64

제52항에 있어서, 상기 용량은 약 4㎎/㎏ 내지 5㎎/㎏인, 방법.

청구항 65

제52항에 있어서, 상기 용량은 약 5㎎/㎏ 내지 6㎎/㎏인, 방법.

청구항 66

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 제제에 접합된 AA가 약 10㎎ 내지 약 200㎎의 고정된 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 67

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 제제에 접합된 AA가 약 25㎎ 내지 약 500㎎의 고정된 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 68

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 제제에 접합된 AA가 약 10㎎ 내지 약 25㎎의 고정된 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 69

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 제제에 접합된 AA가 약 20㎎ 내지 약 50㎎의 고정된 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 70

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 제제에 접합된 AA가 약 30㎎ 내지 약 75㎎의 고정된 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 71

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 제제에 접합된 AA가 약 40㎎ 내지 약 100㎎의 고정된 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 72

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 제제에 접합된 AA가 약 50㎎ 내지 약 125㎎의 고정된 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 73

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 제제에 접합된 AA가 약 60㎎ 내지 약 150㎎의 고정된 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 74

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 제제에 접합된 AA가 약 80㎎ 내지 약 200㎎의 고정된 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 75

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 제제에 접합된 AA가 약 100㎎ 내지 약 250㎎의 고정된 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 76

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 제제에 접합된 AA가 약 120㎎ 내지 약 300㎎의 고정된 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 77

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 제제에 접합된 AA가 약 140㎎ 내지 약 350㎎의 고정된 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 78

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 제제에 접합된 AA가 약 160㎎ 내지 약 400㎎의 고정된 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 79

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 제제에 접합된 AA가 약 180㎎ 내지 약 450㎎의 고정된 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 80

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 제제에 접합된 AA가 약 200㎎ 내지 약 500㎎의 고정된 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 81

제1항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 제제에 접합된 AA가 정맥내로 투여되는, 방법.

청구항 82

제1항 내지 제81항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 21일마다 제제에 접합된 AA가 정맥내로 투여되는, 방법.

청구항 83

제52항 내지 제65항, 제81항 및 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 그들의 실제 체중에 기반한 투약량으로 제제에 접합된 AA가 투여되는, 방법.

청구항 84

제52항 내지 제65항, 제81항 및 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 그들의 조절된 이상적 체중에 기반한 투약량으로 제제에 접합된 AA가 투여되는, 방법.

청구항 85

대상체에서 암을 치료하거나 암의 증상을 완화시키거나 또는 암의 진행을 지연시키 데 사용하기 위한 제제에 접합된 활성화 가능한 항체(AA)로서, 상기 AA는,

a. 포유류 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB)으로서, 상기 AB는 서열번호 480의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 240의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편;

b. 상기 AB에 결합되는 마스킹 모이어티(MM)로서, 상기 AA가 비절단 상태일 때 상기 MM은 포유류 CD166에 대한 상기 AB의 상기 결합을 저해하고, 상기 MM은 서열번호 222의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 마스킹 모이어티; 및

c. 상기 AB에 결합된 절단 가능한 모이어티(CM)로서, 상기 CM은 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 폴리펩타이드이고, 상기 CM은 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 절단 가능한 모이어티를 포함하되

상기 AA는 치료가 필요한 대상체에게 치료적 유효량으로 투여하기 위한 것인, 활성화 가능한 항체.

청구항 86

CD166을 발현시키는 세포의 성장, 증식 또는 전이를 저해하거나 또는 감소시키는 데, 대상체에서 암 치료에 사용하기 위한 제제에 접합된 활성화 가능한 항체(AA)로서, 상기 AA는,

a. 포유류 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB)으로서, 상기 AB는 서열번호 480의

아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 240의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편;

b. 상기 AB에 결합되는 마스킹 모이어티(MM)로서, 상기 AA가 비절단 상태일 때 상기 MM은 포유류 CD166에 대한 상기 AB의 상기 결합을 저해하고, 상기 MM은 서열번호 222의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 마스킹 모이어티; 및

c. 상기 AB에 결합된 절단 가능한 모이어티(CM)로서, 상기 CM은 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 폴리펩타이드이고, 상기 CM은 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 절단 가능한 모이어티를 포함하되,,

상기 AA는 치료가 필요한 대상체에게 치료적 유효량으로 투여하기 위한 것인, 활성화 가능한 항체.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원**

[0002] 본 출원은 2017년 8월 30일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/552,345호, 2017년 8월 31일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/553,098호, 및 2017년 9월 6일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/554,919호의 유익을 주장하며, 이들 각각의 내용은 이들의 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용된다.

[0003] **서열목록에 대한 언급**

[0004] 37 C.F.R. § 1.821에 따라 EFS-웹을 통해 컴퓨터 판독 가능한 형태(CFR)로 본 명세서와 함께 전자적으로 제출된 파일명 "CYTM054004WO_30AUG2018_FINAL_ST25.txt"의 "서열목록"이 본 명세서에 참조에 의해 포함된다. 서열목록의 전자적 사본은 2018년 8월 30일자로 생성되었고, 디스크 상의 용량은 49 킬로바이트이다.

[0005] **본 발명의 기술분야**

[0006] 본 발명은 일반적으로 암 치료를 위해 항-CD166 접합된 활성화 가능한 항체를 투여하기 위한 구체적 투약 요법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0007] 항체-기반 요법은 암을 비롯한 몇몇 질환에 대해 효과적인 것으로 증명되었지만, 일부 경우에, 광범위 표적 발현으로 인한 독성은 이들의 치료적 유효성을 제한하였다. 추가로, 항체-기반 치료제는 투여 후 순환으로부터의 빠른 클리어런스(clearance)와 같은 다른 제한을 나타내었다.

[0008] 소분자 치료제 영역에서, 활성 화학적 독립체의 프로드러그를 제공하기 위한 전략이 개발되었다. 이러한 프로드러그는 상대적으로 비활성(또는 유의하게 더 적은 활성) 형태로 투여된다. 일단 투여되면, 프로드러그는 생체내에서 활성 화합물로 대사된다. 이러한 프로드러그 전략은 약물의 의도된 표적에 대한 그리고 유해 사례의 감소에 대한 증가된 선택성을 제공한다.

[0009] 따라서, 소분자 프로드러그의 바람직한 특징을 모방하는 항체에 대한 항체-기반 치료제 분야의 계속된 필요가 있다.

발명의 내용

[0010] 본 발명의 일 양상에서, 본 명세서에서 대상체에서의 암을 치료하거나, 암의 증상을 완화시키거나 또는 암의 진행을 지연시키는 방법이 제공되며, 상기 방법은 이러한 치료, 완화, 지연이 필요한 대상체에게 제제에 접합된 치료적 유효량의 활성화 가능한 항체(activatable antibody: AA)를 투여하는 단계를 포함하되, AA는 (a) 포유류 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB)으로서, AB가 서열번호 480의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 240의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편; (b) AB에 결합된 마스킹 모이어티(masking moiety: MM)로서, AA가 비절단 상태일 때 MM이 포유류 CD166에 대한 AB의 결합을 저해하고, MM은 서열번호 222의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 마스킹 모이어티; 및 (c) AB에 결합된 절단 가능한 모이어티(CM)로서, CM은 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 폴리펩타이드이고, CM은 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 절단 가능한 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 경쇄는 서열번호 314의 서열을 포함하고; 일부 실시형태에서, 경쇄는 서열번호 246의 서열을 포함한다. 일부 실시형

태에서, 암은 유방암종, 거세-저항성 전립선 암종, 담관암종, 자궁내막암종, 상피성 난소 암종, 두경부암 편평세포 암종, 또는 비소세포 폐암이다.

[0011] 본 발명의 관련된 양상에서, 본 명세서에서 대상체에서 CD166을 발현시키는 세포의 성장, 증식 또는 전이를 저해 또는 감소시키는 방법이 제공되며, 이러한 저해 또는 감소가 필요한 대상체에게 제제에 접합된 치료적 유효량의 활성화 가능한 항체(AA)를 투여하는 단계를 포함하되, AA는 (a) 포유류 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB)으로서, AB가 서열번호 480의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 240의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편; (b) AB에 결합된 마스킹 모이어티(MM)로서, AA가 비절단 상태일 때 MM이 포유류 CD166에 대한 AB의 결합을 저해하고, MM은 서열번호 222의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 마스킹 모이어티; 및 (c) AB에 결합된 절단 가능한 모이어티(CM)로서, CM은 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 폴리펩타이드이고, CM은 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 절단 가능한 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 경쇄는 서열번호 314의 서열을 포함하고; 일부 실시형태에서, 경쇄는 서열번호 246의 서열을 포함한다.

[0012] 본 발명의 추가 관련된 양상에서, 본 명세서에서 대상체에서의 암을 치료하거나, 암의 증상을 완화시키거나 또는 암의 진행을 지연시키는 데 사용하기 위한 제제에 접합된 활성화 가능한 항체(AA)가 제공되되, AA는 (a) 포유류 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB)으로서, AB가 서열번호 480의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 240의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편; (b) AB에 결합된 마스킹 모이어티(MM)로서, AA가 비절단 상태일 때 MM이 포유류 CD166에 대한 AB의 결합을 저해하고, MM은 서열번호 222의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 마스킹 모이어티; 및 (c) AB에 결합된 절단 가능한 모이어티(CM)로서, CM은 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 폴리펩타이드이고, CM은 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 절단 가능한 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 경쇄는 서열번호 314의 서열을 포함하고; 일부 실시형태에서, 경쇄는 서열번호 246의 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 암은 유방암종, 거세-저항성 전립선 암종, 담관암종, 자궁내막암종, 상피성 난소 암종, 두경부암 편평세포 암종, 또는 비소세포 폐암이다. AA는 대상체에게 치료적 유효량으로 투여하기 위한 것이다.

[0013] 또한 본 발명의 추가적인 관련된 양상에서, 본 명세서에서 대상체에서의 암의 치료를 위해 CD166을 발현시키는 세포의 성장, 증식 또는 전이를 저해하거나 또는 감소시키는 데 사용하기 위한 제제에 접합된 활성화 가능한 항체(AA)가 제공되되, AA는 (a) 포유류 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB)으로서, AB가 서열번호 480의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 240의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편; (b) AB에 결합된 마스킹 모이어티(MM)로서, AA가 비절단 상태일 때 MM이 포유류 CD166에 대한 AB의 결합을 저해하고, MM은 서열번호 222의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 마스킹 모이어티; 및 (c) AB에 결합된 절단 가능한 모이어티(CM)로서, CM은 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 폴리펩타이드이고, CM은 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 절단 가능한 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 경쇄는 서열번호 314의 서열을 포함하고; 일부 실시형태에서, 경쇄는 서열번호 246의 서열을 포함한다. AA는 치료가 필요한 대상체에게 치료적 유효량으로 투여하기 위한 것이다.

[0014] 일부 실시형태에서, 대상체는 유방암종, 거세-저항성 전립선 암종, 담관암종, 자궁내막암종, 상피성 난소 암종, 두경부암 편평세포 암종 또는 비소세포 폐암을 앓고 있다. 일부 실시형태에서, 세포는 유방 세포, 전립선 세포, 자궁내막 세포, 난소 세포, 두경부 편평 세포, 담관 세포 또는 폐 세포이다.

[0015] 일부 실시형태에서, AA에 접합된 제제는 메이탄시노이드 또는 이의 유도체이고; 예를 들어, AA에 접합된 제제는 DM4이며; 일부 실시형태에서, DM4는 링커를 통해 AA에 접합되고; 일부 실시형태에서, 링커는 SPBD(N-석신이미딜-4-(2-피리딜다이티오) 부타노에이트) 모이어티를 포함한다.

[0016] 일부 실시형태에서, AB는, 예를 들어, 연결 펩타이드를 통해 CM에 연결된다. 일부 실시형태에서, AA가 비절단 상태에서 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열을 포함하도록 MM이 CM에 연결된다: MM-CM-AB 또는 AB-CM-MM. 일부 실시형태에서, AA는 MM와 CM 사이에 연결 펩타이드를 포함하고; 예를 들어, 연결 펩타이드는 서열번호 479의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, AA는 CM와 AB 사이에 연결 펩타이드를 포함하고; 예를 들어, 연결 펩타이드는 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, AA는 CM와 AB 사이에 연결 펩타이드를 포함하고; 예를 들어, 연결 펩타이드는 GGS의 아미노산 서열을 포함한다.

[0017] 일부 실시형태에서, AA는 제1 연결 펩타이드(LP1)와 제2 연결 펩타이드(LP2)를 포함하되, AA는 비절단 상태에서 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열을 가진다: MM-LP1-CM-LP2-AB 또는 AB-LP2-CM-LP1-MM.

[0018] 일부 실시형태에서, 경쇄는 그의 N-말단에서 스페이서에 연결되고; 일부 실시형태에서, 스페이서는 서열번호 305의 아미노산 서열을 포함하며; 일부 실시형태에서, MM 및 CM은 경쇄에 연결되고; 일부 실시형태에서, AA가 비절단 상태에서 그의 경쇄 상의 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열을 포함하도록 MM이 CM에 연결되며: 스페이서-MM-LP1-CM-LP2-경쇄; 일부 실시형태에서, 스페이서는 서열번호 305의 아미노산 서열을 포함하며, LP1은 서열번호 479의 아미노산 서열을 포함하고, LP2는 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 경쇄는 그의 N-말단에서 스페이서에 연결되고; 일부 실시형태에서, 스페이서는 서열번호 305의 아미노산 서열을 포함하며; 일부 실시형태에서, MM 및 CM은 경쇄에 연결되고; 일부 실시형태에서, AA가 비절단 상태에서 그의 경쇄 상의 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열을 포함하도록 MM이 CM에 연결되며: 스페이서-MM-LP1-CM-LP2-경쇄; 일부 실시형태에서, 스페이서는 서열번호 305의 아미노산 서열을 포함하며, LP1은 서열번호 479의 아미노산 서열을 포함하고, LP2는 GGS의 아미노산 서열을 포함한다.

[0019] 일부 실시형태에서, 대상체는 적어도 18세이며; 일부 실시형태에서, 대상체는 ECOG 수행능력 평가(ECOG performance status)가 0 내지 1이고; 일부 실시형태에서, 대상체는 활성 전이성 암의 조직학적으로 확인된 진단을 가지며; 일부 실시형태에서, 대상체는 국소로 진행된 절단 가능하지 않은 고형 종양의 조직학적으로 확인된 진단을 가지고; 일부 실시형태에서, 대상체는 투여 시 기대 수명이 3개월 초과이다.

[0020] 일부 실시형태에서, 대상체는 유방암종을 가지며; 일부 실시형태에서, 유방암종은 ER+이고; 일부 실시형태에서, 대상체는 사전 항-호르몬 요법을 받았으며 질환 진행을 경험하였고; 다른 실시형태에서 대상체는 삼중 음성 유방암을 가지고, 적어도 2회의 사전 계통(prior line)의 요법을 받았다.

[0021] 일부 실시형태에서, 대상체는 거세-저항성 전립선 암종을 가지며, 일부 실시형태에서, 대상체는 적어도 1회의 사전 요법을 받았다.

[0022] 일부 실시형태에서, 대상체는 담관암종을 가진다. 일부 실시형태에서, 대상체는 적어도 1회의 사전 계통의 겜시타빈(gemcitabine)-함유 요법에 실패하였다.

[0023] 일부 실시형태에서, 대상체는 자궁내막암종을 가지며; 일부 실시형태에서, 대상체는 자궁외 또는 진행된 질환에 대해 적어도 한 가지의 백금-함유 요법을 받았다.

[0024] 일부 실시형태에서, 대상체는 상피성 난소 암종을 가진다. 일부 실시형태에서, 대상체는 백금-저항성 암종을 가지며; 일부 실시형태에서, 대상체는 백금 난치성 난소 암종을 가지고; 일부 실시형태에서, 대상체는 BRCA 돌연변이를 가지며, PARP 저해제에 대해 난치성이다. 다른 실시형태에서, 대상체는 비-BRCA 돌연변이를 가진다.

[0025] 일부 실시형태에서, 대상체는 두경부 소세포 암종(head and neck small cell carcinoma: HNSCC)을 가지고; 일부 실시형태에서, 대상체는 1가지 초과의 백금-함유 요법을 받으며; 일부 실시형태에서, 대상체는 1종 초과의 PD-1/PD-L1 저해제를 받았다.

[0026] 일부 실시형태에서, 대상체는 비소세포 폐암(non-small cell lung cancer: NSCLC)을 가지며, 일부 실시형태에서, 대상체는 적어도 1가지의 백금-함유 요법을 받았고; 일부 실시형태에서, 대상체는 적어도 1종의 PD-1/PD-L1 저해제를 받았다. 일부 실시형태에서, 대상체는 적어도 1종의 면역관문 저해제를 받았다.

[0027] 일부 실시형태에서, 대상체에게 약 0.25㎎/㎏ 내지 약 6㎎/㎏의 용량으로 제제에 접합된 AA가 투여되고; 예를 들어, 투여되는 용량은 약 0.25㎎/㎏이며; 투여되는 용량은 약 0.5㎎/㎏이고; 투여되는 용량은 약 1㎎/㎏이며; 투여되는 용량은 약 2㎎/㎏이고; 투여되는 용량은 약 4㎎/㎏이며; 투여되는 용량은 약 5㎎/㎏이고; 투여되는 용량은 약 6㎎/㎏이다.

[0028] 일부 실시형태에서, 대상체에게 제제에 접합된 AA가 약 0.25㎎/㎏ 내지 약 6㎎/㎏의 용량으로 투여되고; 예를 들어, 투여되는 용량은 약 0.25㎎/㎏ 내지 약 0.5㎎/㎏이며; 투여되는 용량은 약 0.5㎎/㎏ 내지 약 1㎎/㎏이고; 투여되는 용량은 약 1㎎/㎏ 내지 약 2㎎/㎏이며; 투여되는 용량은 약 2㎎/㎏ 내지 약 4㎎/㎏이고; 투여되는 용량은 약 4㎎/㎏ 내지 약 5㎎/㎏이며; 투여되는 용량은 약 5㎎/㎏ 내지 약 6㎎/㎏이다.

[0029] 일부 실시형태에서, 대상체에게 제제에 접합된 AA가 약 10㎎ 내지 약 200㎎의 고정된 용량으로 또는 약 25㎎ 내지 약 500㎎의 고정된 용량으로 투여되고; 예를 들어, 투여되는 고정된 용량은 약 10㎎ 내지 약 25㎎이며; 투여되는 고정된 용량은 약 20㎎ 내지 약 50㎎이고; 투여되는 고정된 용량은 약 30㎎ 내지 약 75㎎이며; 투여되는 고정된 용량은 약 40㎎ 내지 약 100㎎이고; 투여되는 고정된 용량은 약 50㎎ 내지 약 125㎎이며; 투여되는 고정된 용량은 약 60㎎ 내지 약 150㎎이고; 투여되는 고정된 용량은 약 80㎎ 내지 약 200㎎이며; 투여되는 고정된 용량은 약 100㎎ 내지 약 250㎎이고; 투여되는 고정된 용량은 약 120㎎ 내지 약 300㎎이며; 투여되는 고정된 용

량은 약 140mg 내지 약 350mg이고; 투여되는 고정된 용량은 약 160mg 내지 약 400mg이며; 투여되는 고정된 용량은 약 180mg 내지 약 450mg이고; 투여되는 고정된 용량은 약 200mg 내지 약 500mg이다.

[0030] 일부 실시형태에서, 대상체에게 제제에 접합된 AA가 정맥내로 투여되고; 일부 실시형태에서, 대상체에게 제제에 접합된 AA가 정맥내로 21일마다 투여된다.

[0031] 일부 실시형태에서, 대상체에게 그들의 실제 체중에 기반한 투약량으로 제제에 접합된 AA가 투여된다. 일부 실시형태에서, 대상체에게 그들의 조절된 이상적인 체중을 기준으로 한 투약량으로 제제에 접합된 AA가 투여된다.

도면의 간단한 설명

[0032] **도 1**은 종양-특이적 프로테아제가 존재하는 종양 미세환경에서 우선적으로 활성화되는 활성화 가능한 항-CD166 항체 약물 접합체를 도시한 도면.

도 2는 면역조직화학(immunohistochemistry: IHC)에 의한 인간 종양 샘플에서의 CD166의 발현을 도시한 도면.

도 3은 TNBC의 마우스 종양 모델에서 활성화 가능한 항-CD166 항체 약물 접합체 및 항-CD166 항체 약물 접합체의 항-종양 활성을 도시한 도면. 또한 면역조직화학(IHC)에 의한 CD166 발현을 나타낸다. (AADC=활성화 가능한 항-CD166 항체 약물 접합체; ADC=항-CD166 약물 접합체)

도 4는 비소세포 폐암의 마우스 종양 모델에서 활성화 가능한 항-CD166 항체 약물 접합체 및 항-CD166 항체 약물 접합체의 항-종양 활성을 도시한 도면. 또한 IHC에 의한 CD166 발현을 나타낸다.

도 5는 난소암에 대한 마우스 환자-유래 이종이식(PDX) 모델에서의 활성화 가능한 항-CD166 항체 약물 접합체 및 항-CD166 항체 약물 접합체의 항-종양 활성을 도시한 도면. 또한 IHC에 의한 CD166 발현을 나타낸다.

도 6은 활성화 가능한 항-CD166 항체 약물 접합체에 대한 파트 A 및 파트 B 임상 시험 설계를 도시한 도면.

도 7A 내지 도 7B는 종양에서 활성화 가능한 항-CD166 항체의 우선적인 활성화를 보여주는 도면.

도 8A 내지 도 8B는 매트립타제(matriptase)(MT-SP1) 또는 MMP14에 의해 부분적으로 활성화된 활성화 가능한 항-CD166 항체 약물 접합체의 무손상 및 활성화된 형태를 보여주는 도면.

도 9a 내지 도 9e는 인간 대상체에서 활성화 가능한 항-CD166 항체 약물 접합체의 투여 후 시간에 따른 다양한 분석물의 혈청 수준의 예시적인 약물동태학적 데이터를 도시한 도면.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0033] 본 발명은 활성화된 백혈구 세포 접착 분자(activated leukocyte cell adhesion molecule: ALCAM)로도 알려진 CD166에 특이적으로 결합하는 활성화 가능한 단클론성 항체를 제공한다. 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 단클론성 항체는 CD166-함유 세포에 의해 내재화된다. CD166은 스캐빈저 수용체 시스테인-풍부(scavenger receptor cysteine-rich: SRCR) 단백질 슈퍼패밀리(SRCR protein superfamily: SRCRSF)에 속하는 세포 표면 수용체인 CD6에 결합하는 세포 접착 분자이다. CD166은 세포-세포 및 세포-기질 상호작용, 세포 접착, 세포 이동 및 T-세포 활성화 및 증식과 연관된 것으로 알려져 있다. CD166 및 CD166-관련 신호전달의 비정상적 발현 및/또는 활성은 다수의 질환 및 장애, 예컨대 암, 염증 및 자가면역의 발병에 연루되었다. 예를 들어, CD166은, 예를 들어, 전립선암, 유방암, 폐암, 예컨대 NSCLC 및/또는 SCLC, 구인두암, 자궁경부암, 및 두경부암, 예컨대 HNSCC와 같은 다양한 암 유형에서 고도로 발현된다.

[0034] 본 개시내용은 비정상적 CD166 발현 및/또는 활성과 연관된 질환 또는 장애를 치료하고/하거나, 예방하고/하거나, 질환 또는 장애의 진행을 지연시키고/시키거나, 질환 또는 장애의 증상을 개선시키고/시키거나 완화시키는 방법에서 유용한 활성화 가능한 항-CD166 항체를 제공한다. 예를 들어, 활성화 가능한 항-CD166 항체는 암 또는 다른 신생물 병태를 치료하고/하거나 예방하고/하거나 이의 진행을 지연시키고/시키거나 이의 증상을 개선시키고/시키거나 완화시키는 방법에서 사용된다.

[0035] 본 개시내용은 CD166을 발현시키는 세포와 연관된 질환 또는 장애를 치료하고/하거나, 예방하고/하거나, 질환 또는 장애의 진행을 지연시키고/시키거나, 질환 또는 장애의 증상을 개선시키고/시키거나 완화시키는 방법에서 유용한 활성화 가능한 항-CD166 항체를 제공한다. 일부 실시형태에서, 세포는 비정상적 CD166 발현 및/또는 활성과 연관된다. 일부 실시형태에서, 세포는 정상적 CD166 발현 및/또는 활성과 연관된다. 예를 들어, 활성화 가능한 항-CD166 항체는 암 또는 다른 신생물 병태를 치료하고/하거나 예방하고/하거나 이의 진행을 지연시키고/

시키거나 이의 증상을 개선시키고/시키거나 완화시키는 방법에서 사용된다.

[0036] 본 개시내용은 질환 세포가 CD166을 발현시키는 질환 또는 장애를 치료하고/하거나, 예방하고/하거나, 질환 또는 장애의 진행을 지연시키고/시키거나, 질환 또는 장애의 증상을 개선시키고/시키거나 완화시키는 방법에서 유용한 활성화 가능한 항-CD166 항체를 제공한다. 일부 실시형태에서, 질환 세포는 비정상적 CD166 발현 및/또는 활성과 연관된다. 일부 실시형태에서, 질환 세포는 정상적 CD166 발현 및/또는 활성과 연관된다. 예를 들어, 활성화 가능한 항-CD166 항체는 암 또는 다른 신생물 병태를 치료하고/하거나 예방하고/하거나 이의 진행을 지연시키고/시키거나 이의 증상을 개선시키고/시키거나 완화시키는 방법에서 사용된다.

[0037] 마스킹 모이어티(MM)의 결합이 CD166에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 능력을 감소시키도록, 활성화 가능한 항-CD166 항체는 MM에 결합된 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함한다. MM은 프로테아제(절단 가능한 모이어티, CM), 예를 들어, 대상체에서의 치료 부위에서 CD166과 공동 국소화된 프로테아제에 대한 기질을 포함하는 서열을 통해 항체/항원-결합 단편에 결합된다.

[0038] 정의

[0039] 달리 정의되지 않는 한, 본 개시내용과 관련하여 사용되는 과학적 및 기술적 용어는 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 의미를 가질 것이다. 단수의 용어 독립체는 하나 이상의 해당 독립체를 지칭한다. 예를 들어, 화합물은 하나 이상의 화합물을 지칭한다. 이렇게 해서, 단수 용어, "하나 이상" 및 "적어도 하나"는 상호 호환적으로 사용될 수 있다. 추가로, 문맥에 의해 달리 요구되지 않는 한, 단수 용어는 복수를 포함하고, 복수 용어는 단수를 포함한다. 일반적으로, 세포 및 조직 배양물, 분자 생물학 및 본 명세서에 기재된 단백질 및 올리고- 또는 폴리뉴클레오타이드 화학 및 혼성화와 관련하여 이용되는 명명법 및 이들의 기법은 당업계에 잘 공지되어 있고 통상적으로 사용되는 것이다. 표준 기법은 재조합 DNA, 올리고뉴클레오타이드 합성 및 조직 배양 및 형질전환을 위해 사용된다(예를 들어, 전기천공법, 리포펙션). 효소 반응 및 정제 기법은 제조업자의 설명서에 따라 또는 당업계에 통상적으로 수행되는 바와 같이 또는 본 명세서에 기재되는 바와 같이 수행된다. 앞서 언급한 기법 및 절차는 당업계에 잘 공지되어 있는 통상적인 방법에 따라 그리고 본 명세서 전체적으로 인용되고 논의되는 다양한 일반적이고 더 구체적인 참고문헌에 기재된 바와 같이 일반적으로 수행된다. 예를 들어, 문헌[Sambrook *et al*. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989))] 참조. 본 명세서에 기재된 분석 화학, 합성 유기 화학 및 의학 및 약제학적 화학과 관련하여 이용되는 명명법 및 이의 실험 절차 및 기법은 당업계에 잘 공지되어 있고 통상적으로 사용되는 것이다. 화학적 합성, 화학적 분석, 약제학적 제제, 제형 및 전달 및 대상체의 치료를 위해 표준 기법이 사용된다.

[0040] 본 개시내용에 따라 이용되는 바와 같이, 다음의 용어는, 달리 표시되지 않는 한, 다음의 의미를 갖는 것으로 이해될 것이다:

[0041] 본 명세서에서 사용되는 용어 "항체"는 면역글로불린 분자 및 면역학적으로 활성인, 예를 들어, 면역글로불린(Ig) 분자, 즉, 항원과 특이적으로 결합하는(면역 상호작용하는) 항원 결합 부위를 함유하는 분자의 항원-결합 부분을 지칭한다. "특이적으로 결합한다" 또는 "와 면역반응한다" 또는 "면역특이적으로 결합한다"는 항체가 목적하는 항원의 하나 이상의 항원 결정소와 반응하고 다른 폴리펩타이드와 반응하지 않거나 또는 훨씬 더 낮은 친화도로(K_d > 10^{-6}) 결합한다는 것을 의미한다. 항체는 다클론성, 단클론성, 키메라, 도메인 항체, 단일쇄, Fab, 및 $F(ab')_2$ 단편, scFv 및 Fab 발현 라이브러리를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0042] 기본 항체 구조 단위는 사량체를 포함하는 것으로 알려져 있다. 각각의 사량체는 폴리펩타이드 쇄의 2개의 동일한 쌍으로 구성되며, 각각의 쌍은 하나의 "경"쇄(약 25kDa) 및 하나의 "중"쇄(약 50 내지 70kDa)를 가진다. 각각의 쇄의 아미노-말단 부분은 주로 항원 인식을 초래하는 약 100 내지 110개 이상의 아미노산의 가변 영역을 포함한다. 각각의 쇄의 카복시-말단 부분은 효과기 기능을 주로 초래하는 불변 영역을 정한다. 일반적으로, 인간으로부터 얻은 항체 분자는 분자에 존재하는 중쇄의 특성에 따라 서로 상이한 클래스 IgG, IgM, IgA, IgE 및 IgD 중 어느 것에 관한 것이다. 특정 부류는 IgG_1, IgG_2 및 기타와 같은 하위 부류도 가진다. 더 나아가, 인간에서, 경쇄는 카파쇄 또는 람다쇄일 수 있다.

[0043] 본 명세서에 사용되는 용어 "단클론성 항체"(mAb) 또는 "단클론성 항체 조성물"은 독특한 경쇄 유전자 산물 및 독특한 중쇄 유전자 산물로 이루어진 항체의 하나의 분자 종만을 함유하는 항체 분자의 집단을 지칭한다. 특히, 단클론성 항체의 상보성 결정 영역(CDR)은 집단의 분자 모두와 동일하다. MAb는 독특한 결합 친화도를 특징으로 하는 항원의 특정 에피토프와 면역반응할 수 있는 항원 결합 부위를 함유한다.

[0044] 용어 "항원-결합 부위" 또는 "결합 부분"은 항원 결합에 참여하는 면역글로불린 분자의 부분을 지칭한다. 항원 결합 부위는 중쇄("H") 및 경쇄("L")의 N-말단 가변("V") 영역의 아미노산 잔기에 의해 형성된다. "초가변 영역"으로서 지칭되는 중쇄 및 경쇄의 V 영역 내에서 3개의 고도로 분기된 신장부는 "프레임워크 영역" 또는 "FR"로서 알려진 더 보존된 측접 신장부 사이에 개재된다. 따라서, 용어 "FR"은 면역글로불린에서 초가변 영역 사이에 그리고 초가변 영역에 인접하여 자연적으로 발견되는 아미노산 서열을 지칭한다. 항체 분자에서, 경쇄의 3개의 초가변 영역 및 중쇄의 3개의 초가변 영역은 3차원 공간에서 서로에 대해 배치되어 항원-결합면을 형성한다. 항원-결합면은 항원의 3차원면에 상보적이며, 중쇄 및 경쇄 각각의 3개의 초가변 영역은 "상보성-결정 영역" 또는 "CDR"로서 지칭된다. 각각의 도메인에 대한 아미노산의 배치는 문헌[Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 and 1991))], 또는 문헌[Chothia & Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987), Chothia *et al*. Nature 342:878-883 (1989)]의 정의에 따른다.

[0045] 본 명세서에서 사용되는 용어 "에피토프"는 면역글로불린, scFv 또는 T-세포 수용체에 특이적으로 결합할 수 있는 임의의 단백질 결정소를 포함한다. 용어 "에피토프"는 면역글로불린 또는 T-세포 수용체에 특이적으로 결합할 수 있는 임의의 단백질 결정소를 포함한다. 에피토프 결정소는 보통 아미노산 또는 당 측쇄와 같은 분자의 화학적으로 활성인 표면기로 이루어지고, 보통 3차원 구조적 특징뿐만 아니라 특정 전하 특징을 가진다. 예를 들어, 항체는 폴리펩타이드의 N-말단 또는 C-말단 펩타이드에 대해 상승될 수 있다. 해리 상수가 1㎛ 이하이고; 일부 실시형태에서, 100nM 이하이며, 일부 실시형태에서, 10nM일 때, 항체는 항원에 특이적으로 결합하는 것으로 언급된다.

[0046] 본 명세서에서 사용되는 용어 "특이적 결합", "면역학적 결합" 및 "면역학적 결합 특성"은 면역글로불린 분자와 면역글로불린에 특이적인 항원 사이에 일어나는 비공유 상호작용을 지칭한다. 면역학적 결합 상호작용의 강도 또는 친화도는 상호작용의 해리 상수(K_d)에 관해 표현될 수 있되, 더 작은 K_d는 더 큰 친화도를 나타낸다. 선택된 폴리펩타이드의 면역학적 결합 특성은 당업계에 잘 공지된 방법을 이용하여 정량화될 수 있다. 한 가지 이러한 방법은 항원-결합 부위/항원 복합체 형성속도 및 해리속도를 측정하는 단계를 수반하되, 해당 속도는 복합체 상대의 농도, 상호작용 친화도 및 방향 둘 다에서 속도에 동등하게 영향을 미치는 기하학적 파라미터에 따른다. 따라서, "온(on) 속도 상수"(K_{on})와 "오프(off) 속도 상수"(K_{off})는 둘 다 농도 및 실제 결합 속도 및 해리 속도의 계산에 의해 결정될 수 있다. (문헌[Nature 361:186-87 (1993)] 참조). K_{off}/K_{on} 비는 친화도와 관련되지 않은 모든 파라미터의 무효화를 가능하게 하며, 해리 상수 K_d와 동일하다. (일반적으로, 문헌[Davies et al. (1990) Annual Rev Biochem 59:439-473] 참조). 방사리간드 결합 분석 또는 당업자에게 공지된 유사한 분석과 같은 분석에 의해 측정하여, 결합 상수(K_d)가 1㎛ 이하, 일부 실시형태에서 100nM 이하, 일부 실시형태에서 10nM 이하, 그리고 일부 실시형태에서 100pM 이하 내지 약 1pM일 때, 본 개시내용의 항체는 표적에 특이적으로 결합하는 것으로 언급된다.

[0047] 본 명세서에서 사용되는 용어 "단리된 폴리뉴클레오타이드"는 그의 유래 때문에 "단리된 폴리뉴클레오타이드"가 (1) "단리된 폴리뉴클레오타이드"가 천연에서 발견되는 폴리뉴클레오타이드의 모두 또는 일부와 결합되지 않거나, (2) 이것이 천연에서 연결되지 않는 폴리뉴클레오타이드에 작동 가능하게 연결되거나, 또는 (3) 천연에서는 더 큰 서열의 부분으로서 발생되지 않는, 게놈, cDNA, 또는 합성 유래 또는 이들의 일부 조합물의 폴리뉴클레오타이드를 의미한다. 본 개시내용에 따른 폴리뉴클레오타이드는 본 명세서에 나타낸 중쇄 면역글로불린 분자를 암호화하는 핵산 분자, 및 본 명세서에 나타낸 경쇄 면역글로불린 분자를 암호화하는 핵산 분자를 포함한다.

[0048] 본 명세서에서 지칭되는 용어 "단리된 단백질"은, 그의 유래, 어원에 의해, "단리된 단백질"은 (1) 천연에서 발견되는 단백질과 결합되지 않거나, (2) 동일한 공급원으로부터의 다른 단백질이 없거나, 예를 들어, 뮤린 단백질이 없거나, (3) 상이한 종으로부터의 세포에 의해 발현되거나, 또는 (4) 천연에서 생기지 않는 cDNA, 재조합 RNA, 또는 합성 유래 또는 이들의 일부 조합의 단백질을 의미한다.

[0049] 용어 "폴리펩타이드"는 본 명세서에서 폴리펩타이드 서열의 천연 단백질, 단편 또는 유사체를 지칭하기 위한 일반적 용어로서 사용된다. 따라서, 천연 단백질 단편, 및 유사체는 폴리펩타이드 속의 종이다. 본 개시내용에 따른 폴리펩타이드는 본 명세서에 나타낸 중쇄 면역글로불린 분자, 및 본 명세서에 나타낸 경쇄 면역글로불린 분자뿐만 아니라 중쇄 면역글로불린 분자를 경쇄 면역글로불린 분자, 예컨대 카파 경쇄 면역글로불린 분자와 함께, 그리고 그 반대로 포함하는 조합에 의해 형성되는 항체 분자, 및 이들의 단편 및 유사체를 포함한다.

[0050] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 대상에 적용되는 용어 "천연 유래"는 대상이 천연에서 발견될 수 있다는 사

실을 지칭한다. 예를 들어, 천연에서 공급원으로부터 단리될 수 있고 실험실에서 사람에 의해 또는 달리 의도적으로 변형되지 않은 유기체(바이러스를 포함)에 존재하는 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 서열은 천연 유래이다.

[0051] 본 명세서에서 사용되는 용어 "작동 가능하게 연결된"은 이렇게 기재된 성분의 위치가 그들의 의도된 방식에서 작용하도록 허용하는 관계에 있음을 지칭한다. 암호 서열에 "작동 가능하게 연결된" 제어 서열은 암호화 서열의 발현이 제어 서열에 적합한 조건 하에 달성되는 방식으로 결찰된다.

[0052] 본 명세서에서 사용되는 용어 "제어 서열"은 그들에 결찰되는 암호화 서열의 발현 및 가공을 달성하는 데 필수적인 폴리뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 이러한 제어 서열의 특성은 원핵생물에서 숙주 유기체에 따라 다르며, 이러한 제어 서열은 일반적으로 진핵생물에서의 프로모터, 리보솜 결합 부위 및 전사 종결 서열을 포함하고, 일반적으로 이러한 제어 서열은 프로모터 및 전사 종결 서열을 포함한다. 용어 "제어 서열"은, 최소한, 발현 및 가공에 존재가 필수적인 모든 성분을 포함하는 것으로 의도되며, 또한 존재가 유리한 추가적인 성분, 예를 들어, 리더 서열 및 융합 상대 서열을 포함할 수 있다. 본 명세서에서 지칭되는 용어 "폴리뉴클레오타이드"는 리보뉴클레오타이드 또는 데옥시뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유형의 변형된 형태의 적어도 10개 길이의 염기인 뉴클레오타이드를 의미한다. 상기 용어는 DNA의 단일 및 이중 가닥 형태를 포함한다.

[0053] 본 명세서에서 지칭되는 올리고뉴클레오타이드라는 용어는 천연 유래 및 비천연 유래 올리고뉴클레오타이드 결합에 의해 함께 연결된 천연 유래, 및 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 올리고뉴클레오타이드는 200개 이하의 염기의 길이를 일반적으로 포함하는 폴리뉴클레오타이드 소집단이다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 10 내지 60개 길이의 염기이고, 일부 실시형태에서, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20 내지 40개 길이의 염기이다. 올리고뉴클레오타이드는 보통, 예를 들어 프로브에 대한, 단일 가닥이지만, 올리고뉴클레오타이드는, 예를 들어, 유전자 돌연변이체의 작제에서 사용하기 위한, 이중 가닥일 수도 있다. 본 개시내용의 올리고뉴클레오타이드는 센스 또는 안티센스 올리고뉴클레오타이드 중 하나이다.

[0054] 본 명세서에서 지칭되는 용어 "천연 유래 뉴클레오타이드"는 데옥시리보뉴클레오타이드 및 리보뉴클레오타이드를 포함한다. 본 명세서에서 지칭되는 용어 "변형된 뉴클레오타이드"는 변형된 또는 치환된 당 기 등을 갖는 뉴클레오타이드를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "올리고뉴클레오타이드 결합"은 올리고뉴클레오타이드 결합, 예컨대 포스포로티오에이트, 포스포로다이티오에이트, 포스포로셀레노에이트, 포스포로다이셀레노에이트, 포스포로아닐로티오에이트, 포스포르아닐라데이트, 포스포로아미데이트 등을 포함한다. 예를 들어, 문헌[LaPlanche *et al*. Nucl. Acids Res. 14:9081 (1986); Stec *et al*. J. Am. Chem. Soc. 106:6077 (1984), Stein *et al*. Nucl. Acids Res. 16:3209 (1988), Zon *et al*. Anti Cancer Drug Design 6:539 (1991); Zon *et al*. Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, pp. 87-108 (F. Eckstein, Ed., Oxford University Press, Oxford England (1991))]; Stec *et al*. 미국 특허 제5,151,510호; 문헌[Uhlmann and Peyman Chemical Reviews 90:543 (1990)] 참조. 올리고뉴클레오타이드는, 필요하다면 검출을 위해 표지를 포함할 수 있다.

[0055] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 20가지의 통상적인 아미노산 및 그들의 약어는 통상적인 용법에 따른다. 문헌[Immunology - A Synthesis (2nd Edition, E.S. Golub and D.R. Green, Eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991))] 참조. 20가지의 통상적인 아미노산, 비천연 아미노산, 예컨대 α-, α-이치환된 아미노산, N-알킬 아미노산, 락트산 및 다른 비통상적 아미노산의 입체이성질체(예를 들어, D-아미노산)은 또한 본 개시내용의 폴리펩타이드에 대한 적합한 성분일 수 있다. 비통상적인 아미노산의 예는 4 하이드록시프롤린, γ-카복시글루타메이트, ε-N,N,N-트라이메틸라이신, ε-N-아세틸라이신, O-포스포세린, N-아세틸세린, N-폼일메티오닌, 3-메틸히스티딘, 5-하이드록시라이신, σ-N-메틸알기닌 및 다른 유사한 아미노산 및 이미노산(예를 들어, 4-하이드록시프롤린)을 포함한다. 본 명세서에 사용되는 폴리펩타이드 표기법에서, 표준 용법 및 관례에 따르면 좌측 방향은 아미노 말단 방향이고, 우측 방향은 카복시-말단 방향이다.

[0056] 유사하게, 달리 구체화되지 않는 한, 단일-가닥 폴리뉴클레오타이드 서열의 좌측은 단부는 5' 단부이고, 이중-가닥 폴리뉴클레오타이드 서열의 우측 방향은 5' 방향으로서 지칭된다. 발생기 RNA 전사체의 5'에서 3'으로의 첨가 방향은 RNA와 동일한 서열을 갖는 DNA 가닥 상의 전사 방향 서열 영역으로서 지칭되고 RNA 전사체의 5'에서 5' 단부는 RNA와 동일한 서열을 갖는 DNA 가닥 상의 서열 영역인 "상류 서열"로서 지칭되며 RNA 전사체의 3'에서 3' 단부는 "하류 서열"로서 지칭된다.

[0057] 폴리펩타이드에 대해 적용되는 용어 "실질적 동일성"은 두 펩타이드 서열이, 예컨대 디폴트 갭 가중치를 이용하는 프로그램 GAP 또는 BESTFIT에 의해 최적으로 정렬될 때, 적어도 80% 서열 동일성, 일부 실시형태에서, 적어

도 90% 서열 동일성, 일부 실시형태에서, 적어도 95% 서열 동일성, 및 일부 실시형태에서, 적어도 99% 서열 동일성을 공유한다는 것을 의미한다.

[0058] 일부 실시형태에서, 동일하지 않은 잔기 위치는 보존적 아미노산 치환만큼 다르다.

[0059] 본 명세서에서 논의되는 바와 같은, 항체 또는 면역글로불린 분자의 아미노산 서열에서의 작은 변화는 본 개시내용에 의해 포함되는 것으로 상정되며, 단, 아미노산 서열에서의 변화는 적어도 75%, 일부 실시형태에서, 적어도 80%, 90%, 95%, 및 일부 실시형태에서, 99% 유지된다. 특히, 보존적 아미노산 대체가 상정된다. 보존적 대체는 그들의 측쇄와 관련된 아미노산의 패밀리 내에서 일어나는 것이다. 유전적으로 암호화된 아미노산은 일반적으로 다음의 패밀리로 나누어진다: (1) 산성 아미노산은 아스파르테이트, 글루타메이트이고; (2) 염기성 아미노산은 라이신, 알기닌, 히스티딘이며; (3) 비극성 아미노산은 알라닌, 발린, 류신, 아이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판이고, (4) 비하전 극성 아미노산은 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 시스테인, 세린, 트레오닌, 타이로신이다. 친수성 아미노산은 알기닌, 아스파라긴, 아스파르테이트, 글루타민, 글루타메이트, 히스티딘, 라이신, 세린 및 트레오닌을 포함한다. 소수성 아미노산은 알라닌, 시스테인, 아이소류신, 류신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 트립토판, 타이로신 및 발린을 포함한다. 아미노산의 다른 패밀리는 (i) 지방족-하이드록시 패밀리인 세린 및 트레오닌; (ii) 아마이드 함유 패밀리인 아스파라긴 및 글루타민; (iii) 지방족 패밀리인 알라닌, 발린, 류신 및 아이소류신; 및 (iv) 방향족 패밀리인 페닐알라닌, 트립토판 및 타이로신을 포함한다. 예를 들어, 특히 대체가 프레임워크 부위 내에서 아미노산을 수반하지 않는다면, 류신의 아이소류신 또는 발린으로의, 아스파르테이트의 글루타메이트로의, 트레오닌의 세린으로의 단리된 대체, 또는 아미노산의 구조적으로 관련된 아미노산으로의 유사한 대체가 얻어진 분자의 결합 또는 특성에 대해 주된 효과를 갖지 않는다는 것을 예상하는 것은 합리적이다. 아미노산 변화가 기능성 펩타이드를 초래하는지의 여부는 폴리펩타이드 유도체의 구체적 활성을 분석함으로써 용이하게 결정될 수 있다. 분석은 본 명세서에 상세하게 기재되어 있다. 항체 또는 면역글로불린 분자의 단편 또는 유사체는 당업자에 의해 용이하게 제조될 수 있다. 단편 또는 유사체의 적합한 아미노- 및 카복시-말단은 기능성 도메인의 경계 근처에서 생긴다. 구조적 및 기능성 도메인은 공공의 또는 등록상표 서열 데이터베이스에 대한 뉴클레오타이드 및/또는 아미노산 서열 데이터의 비교에 의해 확인될 수 있다. 일부 실시형태에서, 컴퓨터 계산된 비교 방법은 공지된 구조 및/또는 기능의 다른 단백질에서 생기는 서열 모티프 또는 예측된 단백질 입체형태 도메인을 확인하기 위해 사용된다. 알려진 3차원 구조로 폴딩되는 단백질 서열을 확인하는 방법은 공지되어 있다. 문헌[Bowie *et al*. Science 253:164 (1991)]. 따라서, 앞서 언급한 예는 당업자는 본 개시내용에 따라 구조적 및 기능적 도메인을 정하기 위해 사용될 수 있는 서열 모티프 및 구조적 입체형태를 인식할 수 있다는 것을 입증한다.

[0060] 적합한 아미노산 치환은 하기의 것이다: (1) 단백질분해에 대한 감수성을 감소시키고, (2) 산화에 대한 감수성을 감소시키며, (3) 형성하는 단백질 복합체에 대한 결합 친화도를 변경시키며, (4) 결합 친화도를 변경시키고, 그리고 (5) 이러한 유사체의 다른 물리화학적 또는 기능적 특성을 부여하거나 또는 변경시키는 것. 유사체는 천연 유래 펩타이드 서열 이외의 서열의 다양한 돌연변이 단백질(mutein)을 포함할 수 있다. 예를 들어, 단일 또는 다중 아미노산 치환(예를 들어, 보존적 아미노산 치환)은 천연 유래 서열에서(예를 들어, 분자간 접촉을 형성하는 도메인(들) 외부의 폴리펩타이드 부분에서) 만들어질 수 있다. 보존적 아미노산 치환은 모 서열의 구조적 특징을 실질적으로 변화시켜서는 안 된다(예를 들어, 대체 아미노산은 모 서열에서 생기는 나선을 파손시키는 경향이 없어야 하거나, 모 서열을 특징짓는 다른 유형 2차 구조를 붕괴시키지 않아야 한다). 당업계에 인식된 폴리펩타이드 2차 및 3차 구조의 예는 문헌[Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984)); Introduction to Protein Structure (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991)); 및 Thornton et at. Nature 354:105 (1991)]에 기재되어 있다.

[0061] 본 명세서에서 사용되는 용어 "폴리펩타이드 단편"은 아미노 말단 및/또는 카복시-말단의 결실 및/또는 하나 이상의 내부 결실(들)을 갖지만, 남아있는 아미노산 서열은 추론된 천연 유래 서열에서, 예를 들어, 전장 cDNA 서열로부터 대응하는 위치와 동일한, 폴리펩타이드를 지칭한다. 단편은 전형적으로 적어도 5, 6, 8 또는 10개의 아미노산 길이, 일부 실시형태에서, 적어도 14개의 아미노산 길이, 일부 실시형태에서, 적어도 20 아미노산 길이, 보통 적어도 50개의 아미노산 길이, 일부 실시형태에서, 적어도 70개의 아미노산 길이이다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "유사체"는 추론된 아미노산 서열의 일부에 대해 실질적인 동일성을 갖고 적합한 결합 조건 하에 표적에 대해 특이적 결합을 갖는 적어도 25개의 아미노산의 세그먼트를 포함하는 폴리펩타이드를 지칭한다. 전형적으로, 폴리펩타이드 유사체는 천연 유래 서열에 대해 보존적 아미노산 치환(또는 첨가 또는 결실)을 포함한다. 유사체는 전형적으로 적어도 20 아미노산 길이, 일부 실시형태에서, 적어도 50개 또는 더 긴 아미노산 길이

이며, 종종 전장 천연 유래 폴리펩타이드만큼 길 수 있다.

[0062] 용어 "제제"는 본 명세서에서 화학적 화합물, 화학적 화합물의 혼합물, 생물학적 거대분자 또는 생물학적 물질로부터 만들어진 추출물을 의미하기 위해 사용된다.

[0063] 본 명세서에서 사용되는 용어 "표지" 또는 "표지된"은, 예를 들어, 표시된 아비딘(예를 들어, 광학적 또는 열량 측정 방법에 의해 검출될 수 있는 형광 마커 또는 효소 활성을 함유하는 스트렙타비딘)에 의해 검출될 수 있는 바이오틴일 모이어티의 폴리펩타이드에 대한 방사성표지된 아미노산의 편입 또는 부착에 의한 검출 가능한 마커의 혼입을 지칭한다. 특정 상황에서, 표지 또는 마커는 또한 치료적일 수 있다. 폴리펩타이드 및 당단백질을 표지하는 다양한 방법은 당업계에 공지되어 있고, 사용될 수 있다. 폴리펩타이드에 대한 표지의 예는 다음을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다: 방사성동위원소 또는 방사성핵종(예를 들어, ^{3}H, ^{14}C, ^{15}N, ^{35}S, ^{90}Y, ^{99}Tc, ^{111}In, ^{125}I, ^{131}I), 형광 표지(예를 들어, FITC, 로다민, 란탄족 인광체), 효소 표지(예를 들어, 겨자무과산화효소, β-갈락토시다제, 루시퍼라제, 알칼리성 포스파타제), 화학발광, 바이오틴일기, 2차 리포터에 의해 인식되는 사전 결정된 폴리펩타이드 에피토프(예를 들어, 류신 지퍼쌍 서열, 2차 항체에 대한 결합 부위, 금속 결합 도메인, 에피토프 태그). 일부 실시형태에서, 표지는 잠재적 입체장애를 감소시키기 위해 다양한 길이의 스페이서 아암에 의해 부착된다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "약제학적 제제 또는 약물"은 대상체에게 적절하게 투여될 때 목적하는 치료 효과를 유도할 수 있는 화학적 화합물 또는 조성물을 지칭한다.

[0064] 본 명세서의 다른 화학 용어는 문헌[The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (Parker, S., Ed., McGraw-Hill, San Francisco (1985))]에 의해 예시되는 당업계의 통상적인 용법에 따라 사용된다.

[0065] 본 명세서에서 사용되는, "실질적으로 순수한"은 대상 종이 존재하는 우세한 종이고(즉, 몰 비를 기준으로 조성물 중의 임의의 다른 개개 종보다 더 흔함), 일부 실시형태에서, 실질적으로 정제된 분획은 조성물이되, 대상 종은 존재하는 모든 거대분자 종의 적어도 약 50%(몰 기준)를 포함한다.

[0066] 일반적으로, 실질적으로 순수한 조성물은 조성물에 존재하는 모든 거대분자 종의 약 80% 초과, 일부 실시형태에서, 약 85%, 90%, 95% 및 99% 초과를 포함할 것이다. 일부 실시형태에서, 대상 종은 본질적으로 균질하게 정제되되(오염 종은 통상적인 검출 방법에 의해 조성물에서 검출될 수 없음), 조성물은 단일 거대분자 종으로 본질적으로 이루어진다.

[0067] 용어 대상체 인간 및 수의학적 대상체.

[0068] 활성화 가능한 항체(AA)

[0069] 본 개시내용은 포유류 CD166(AB)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 AA를 제공한다.

[0070] 일부 실시형태에서, 포유류 CD166은 인간 CD166 및 사이노몰거스 원숭이 CD166으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, AB는 인간 CD166 또는 사이노몰거스 원숭이 CD166에 1nM 미만의 해리 상수로 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 포유류 CD166은 인간 CD166이다. 일부 실시형태에서, 포유류 CD166은 사이오몰거스 CD166이다. 일부 실시형태에서, AB는 다음의 특징 중 하나 이상을 가진다: (a) AB가 인간 CD166에 특이적으로 결합함; 및 (b) AB가 인간 CD166 및 사이노몰거스 원숭이 CD166에 특이적으로 결합함. 일부 실시형태에서, AB는 다음의 특징 중 하나 이상을 가진다: (a) AB가 인간 CD166 및 사이노몰거스 원숭이 CD166에 특이적으로 결합함; (b) AB가 포유류 CD166에 대한 포유류 CD6의 결합을 저해함; (c) AB는 인간 CD166에 대한 인간 CD6의 결합을 저해함; 및 (d) AB는 사이노몰거스 원숭이 CD166에 대한 사이노몰거스 원숭이 CD6의 결합을 저해함.

[0071] 일부 실시형태에서, AB는 5nM 이하, 10nM 이하, 50nM 이하, 100nM 이하, 500nM 이하 및/또는 1000nM 이하의 EC50으로 포유류 CD166에 결합하는 천연 리간드 또는 수용체의 능력을 차단한다. 일부 실시형태에서, AB는 5nM 이하, 10nM 이하, 50nM 이하, 100nM 이하, 500nM 이하 및/또는 1000nM 이하의 EC50으로 포유류 CD166에 결합하는 포유류 CD6의 능력을 차단한다. 일부 실시형태에서, CD166의 천연 리간드 또는 수용체는 CD6이다.

[0072] 일부 실시형태에서, AB는 5nM 내지 1000nM, 5nM 내지 500nM, 5nM 내지 100nM, 5nM 내지 50nM, 5nM 내지 10nM, 10nM 내지 1000nM, 10nM 내지 500nM, 10nM 내지 100nM, 10nM 내지 50nM, 50nM 내지 1000nM, 50nM 내지 500nM, 50nM 내지 100nM, 100nM 내지 1000nM, 100nM 내지 500nM, 150nM 내지 400nM, 200nM 내지 300nM, 500nM 내지 1000nM의 EC50으로 포유류 CD166에 결합하는 천연 리간드의 능력을 차단한다. 일부 실시형태에서, AB는 5nM 내지 1000nM, 5nM 내지 500nM, 5nM 내지 100nM, 5nM 내지 50nM, 5nM 내지 10nM, 10nM 내지 1000nM, 10nM 내지

500nM, 10nM 내지 100nM, 10nM 내지 50nM, 15nM 내지 75nM, 30nM 내지 80nM, 40nM 내지 150nM, 50nM 내지 1000nM, 50nM 내지 500nM, 50nM 내지 100nM, 100nM 내지 1000nM, 100nM 내지 500nM, 150nM 내지 400nM, 200nM 내지 300nM, 500nM 내지 1000nM의 EC50으로 포유류 CD166에 결합하는 포유류 CD6의 능력을 차단한다. 일부 실시형태에서, CD166의 천연 리간드 또는 수용체는 CD6이다.

[0073] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 AB는 포유류 CD166을 발현시키는 세포의 성장, 증식 및/또는 전이를 저해하거나 또는 감소시킨다. 임의의 이론에 의해 구속되도록 의도하지는 않지만, 본 개시내용의 AB는 CD166에 특이적으로 결합함으로써 그리고 포유류 CD166에 대한 천연 리간드 또는 리포터의 결합을 저해하고/하거나 차단하고/하거나 방지함으로써 포유류 CD166을 발현시키는 세포의 성장, 증식 및/또는 전이를 저해하거나 또는 감소시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, 포유류 CD166의 천연 리간드 또는 수용체는 포유류 CD6이다.

[0074] 마스킹 모이어티(MM)의 결합이 CD166에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 능력을 감소시키도록 AA의 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 MM에 결합된다. 일부 실시형태에서, MM은 프로테아제, 예를 들어, 질환 조직에서 활성인 프로테아제 및/또는 대상체에서의 치료 부위에서 CD166와 공동 국소화된 프로테아제에 대한 기질을 포함하는 서열을 통해 결합된다. 본 명세서에서 항-CD166 AA 또는 CD166 활성화 가능한 항체로서도 상호 호환적으로 지칭되는 본 명세서에 제공된 활성화 가능한 항-CD166 항체는 순환 시 안정하고, 치료 및/또는 진단의 의도된 부위에서 활성화되지만, 정상, 예를 들어, 건강한 조직 또는 치료 및/또는 진단에 대해 표적화되지 않은 다른 조직에서는 안정하지 않으며, 활성화될 때, 본 명세서에서 모 항체로서도 지칭되는 대응하는, 비변형 항체와 적어도 비슷한 CD166에 대한 결합을 나타낸다.

[0075] 본 개시내용은 AA에서 사용하기 위해 포유류 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편(AB)을 제공한다. 일부 실시형태에서, 항체는 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD166에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 단클론성 항체, 도메인 항체, 단일쇄, Fab 단편, $F(ab')_2$ 단편, scFv, scAb, dAb, 단일 도메인 중쇄 항체, 또는 단일 도메인 경쇄 항체이다. 일부 실시형태에서, CD166에 결합하는 이러한 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 마우스, 다른 설치류, 키메라, 인간화된 또는 완전 인간 단클론성 항체이다.

[0076] 따라서, 본 명세서에서 (1) 포유류 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB), AB에 결합된 마스킹 모이어티(MM)를 포함하는 활성화 가능한 항체(AA) 및 AB에 결합된 절단 가능한 모이어티(CM)가 제공되되, MM은 AA가 비절단 상태일 때 포유류 CD166에 대한 AB의 결합을 저해하고, CM은 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 폴리펩타이드이다.

[0077] 본 개시내용의 AA의 항체(AB)는 CD166 표적, 예컨대, 포유류 CD166, 및/또는 인간 CD166에 특이적으로 결합한다.

[0078] 일부 실시형태에서, AB는 포유류 CD166에 대한 결합에 대해 해리 상수가 약 100nM 이하이다. 일부 실시형태에서, AB는 포유류 CD166에 대한 결합에 대해 해리 상수가 약 10nM 이하이다. 일부 실시형태에서, AB는 CD166에 대한 결합에 대해 해리 상수가 약 5nM 이하이다. 일부 실시형태에서, AB는 CD166에 대한 결합에 대해 해리 상수가 약 1nM 이하이다. 일부 실시형태에서, AB는 CD166에 대한 결합에 대해 해리 상수가 약 0.5nM 이하이다. 일부 실시형태에서, AB는 CD166에 대한 결합에 대해 해리 상수가 약 0.1nM 이하이다. 일부 실시형태에서, AB는 포유류 CD166에 대한 결합에 대해 해리 상수가 0.01nM 내지 100nM, 0.01nM 내지 10nM, 0.01nM 내지 5nM, 0.01nM 내지 1nM, 0.01 내지 0.5nM, 0.01 nm 내지 0.1nM, 0.01 nm 내지 0.05nM, 0.05nM 내지 100nM, 0.05nM 내지 10nM, 0.05nM 내지 5nM, 0.05nM 내지 1nM, 0.05 내지내지0.5nM, 0.05 nm 내지 0.1nM, 0.1nM 내지 100nM, 0.1nM 내지 10nM, 0.1nM 내지 5nM, 0.1nM 내지 1nM, 0.1 내지 0.5nM, 0.5nM 내지 100nM, 0.5nM 내지 10nM, 0.5nM 내지 5nM, 0.5nM 내지 1nM, 1nM 내지 100nM, 1nM 내지 10nM, 1nM 내지 5nM, 5nM 내지 100nM, 5nM 내지 10nM, 또는 10nM 내지 100nM이다.

[0079] 일부 실시형태에서, AA는 비절단 상태에서, 1nM 이하, 5nM 이하, 10nM 이하, 15nM 이하, 20nM 이하, 25nM 이하, 50nM 이하, 100nM 이하, 150nM 이하, 250nM 이하, 500nM 이하, 750nM 이하, 1000nM, 및 122 및/또는 2000nM 이하의 해리 상수로 포유류 CD166에 특이적으로 결합한다.

[0080] 일부 실시형태에서, AA는 비절단 상태에서 1nM 이상, 5nM 이상, 10nM 이상, 15nM 이상, 20nM 이상, 25nM 이상, 50nM 이상, 100nM 이상, 150nM 이상, 250nM 이상, 500nM 이상, 750nM 이상, 1000nM, 및 122 이상 및/또는 2000nM 이상의 해리 상수로 포유류 CD166에 특이적으로 결합한다.

[0081] 일부 실시형태에서, AA는 비절단 상태에서 1nM 내지 2000nM, 1nM 내지 1000nM, 1nM 내지 750nM, 1nM 내지

500nM, 1nM 내지 250nM, 1nM 내지 150nM, 1nM 내지 100nM, 1nM 내지 50nM, 1nM 내지 25nM, 1nM 내지 15nM, 1nM 내지 10nM, 1nM 내지 5nM, 5nM 내지 2000nM, 5nM 내지 1000nM, 5nM 내지 750nM, 5nM 내지 500nM, 5nM 내지 250nM, 5nM 내지 150nM, 5nM 내지 100nM, 5nM 내지 50nM, 5nM 내지 25nM, 5nM 내지 15nM, 5nM 내지 10nM, 10nM 내지 2000nM, 10nM 내지 1000nM, 10nM 내지 750nM, 10nM 내지 500nM, 10nM 내지 250nM, 10nM 내지 150nM, 10nM 내지 100nM, 10nM 내지 50nM, 10nM 내지 25nM, 10nM 내지 15nM, 15nM 내지 2000nM, 15nM 내지 1000nM, 15nM 내지 750nM, 15nM 내지 500nM, 15nM 내지 250nM, 15nM 내지 150nM, 15nM 내지 100nM, 15nM 내지 50nM, 15nM 내지 25nM, 25nM 내지 2000nM, 25nM 내지 1000nM, 25nM 내지 750nM, 25nM 내지 500nM, 25nM 내지 250nM, 25nM 내지 150nM, 25nM 내지 100nM, 25nM 내지 50nM, 50nM 내지 2000nM, 50nM 내지 1000nM, 50nM 내지 750nM, 50nM 내지 500nM, 50nM 내지 250nM, 50nM 내지 150nM, 50nM 내지 100nM, 100nM 내지 2000nM, 100nM 내지 1000nM, 100nM 내지 750nM, 100nM 내지 500nM, 100nM 내지 250nM, 100nM 내지 150nM, 150nM 내지 2000nM, 150nM 내지 1000nM, 150nM 내지 750nM, 150nM 내지 500nM, 150nM 내지 250nM, 250nM 내지 2000nM, 250nM 내지 1000nM, 250nM 내지 750nM, 250nM 내지 500nM, 500nM 내지 2000nM, 500nM 내지 1000nM, 500nM 내지 750nM, 500nM 내지 500nM, 500nM 내지 250nM, 500nM 내지 150nM, 500nM 내지 100nM, 500nM 내지 50nM, 750nM 내지 2000nM, 750nM 내지 1000nM, 또는 1000nM 내지 2000nM 범위의 해리 상수로 포유류 CD166에 특이적으로 결합한다.

[0082] 일부 실시형태에서, AA는 활성화된 상태에서 0.01nM, 0.05nM, 0.1nM, 0.5nM, 1nM, 5nM, 또는 10nM 이하의 해리 상수로 포유류 CD166에 특이적으로 결합한다.

[0083] 일부 실시형태에서, AA는 활성화된 상태에서 0.01nM, 0.05nM, 0.1nM, 0.5nM, 1nM, 5nM, 또는 10nM 이상의 해리 상수로 포유류 CD166에 특이적으로 결합한다.

[0084] 일부 실시형태에서, AA는 활성화된 상태에서 0.01nM 내지 100nM, 0.01nM 내지 10nM, 0.01nM 내지 5nM, 0.01nM 내지 1nM, 0.01 내지 0.5nM, 0.01 nm 내지 0.1nM, 0.01nm 내지 0.05nM, 0.05nM 내지 100nM, 0.05nM 내지 10nM, 0.05nM 내지 5nM, 0.05nM 내지 1nM, 0.05 내지 0.5nM, 0.05nm 내지 0.1nM, 0.1nM 내지 100nM, 0.1nM 내지 10nM, 0.1nM 내지 5nM, 0.1nM 내지 1nM, 0.1 내지 0.5nM, 0.5nM 내지 100nM, 0.5nM 내지 10nM, 0.5nM 내지 5nM, 0.5nM 내지 1nM, 1nM 내지 100nM, 1nM 내지 10nM, 1nM 내지 5nM, 5nM 내지 100nM, 5nM 내지 10nM, 또는 10nM 내지 100nM 범위의 해리 상수로 포유류 CD166에 특이적으로 결합한다.

[0085] 본 발명의 예시적인 활성화 가능한 항-CD166 항체는, 예를 들어, 이하에 나타내는 중쇄 및 경쇄 가변 아미노산 서열을 포함하거나, 이로부터 유래된 중쇄 및 경쇄를 포함하는 활성화 가능한 항체(AA)를 포함한다:

[0086]

인간 αCD166 중쇄
HuCD166_HcC
QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTYGMGVGWIRQPPGKALEWLANIWWSEDK
HYSPSLKSRLTITKDTSKNQVVLTITNVDPVDTATYYCVQIDYGNDYAFTYWGQGTLVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 239)

인간 αCD166 중쇄
HuCD166_HcC Des-HC
QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTYGMGVGWIRQPPGKALEWLANIWWSEDK
HYSPSLKSRLTITKDTSKNQVVLTITNVDPVDTATYYCVQIDYGNDYAFTYWGQGTLVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (서열번호 480)

인간 αCD166 경쇄 VL 도메인
HuCD166_Lc1
DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLAS
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 240)

[0087]

[0088] 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 대응하는 항체의 혈청 반감기보다 길고; 예를 들어, AA의 pK는 대응하는 항체의 pK보다 길다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 대응하는 항체의 혈청 반감기와 유사하다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 15일이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 12일이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 11일이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 10일이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 9일이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 8일이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 7일이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 6일이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 5일이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 4일이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 3일이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 2일이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 24시간이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 20시간이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 18시간이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 16시간이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 14시간이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 12시간이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 10시간이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 8시간이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 6시간이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 4시간이다. 일부 실시형태에서, AA의 혈청 반감기는 유기체에게 투여될 때 적어도 3시간이다.

[0089] 예시적인 활성화 가능한 항체

[0090] 예시적인 실시형태에서, 본 개시내용의 AA는 다음의 서열 중 임의의 하나 이상을 포함한다:

서열번호 239 인간 αCD166 중쇄 (HuCD166_HcC) – 아미노산 서열 (상기 제공됨)

[0091]

서열번호 **480**
인간 **αCD166** 중쇄 **(HuCD166_HcC) – Des-HC - 아미노산 서열**
(상기 제공됨)

서열번호 **240**
인간 **aCD166** 경쇄 **VL** 도메인
HuCD166_Lcl
(상기 제공됨)

서열번호 **246 아미노산 서열**
인간 **αCD166** 경쇄 (스페이서**-MM-LP1-CM-LP2-Ab)**
[스페이서 (서열번호 **305)] [huCD166Lcl_7614.6_3001** (서열번호 **314)]**
[QGQSGQG] [LCHPAVLSAWESCSSGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGSDIVMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTLK
ISRVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP
REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC]

서열번호 **314 아미노산 서열**
인간 **aCD166** 경쇄 **(MM-LP1-CM-LP2-Ab)**
huCD166Lcl_7614.6_3001
LCHPAVLSAWESCSSGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGSDIVMTQSPLSLP
VTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTLK
ISRVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP
REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS
FNRGEC

서열번호 **305 아미노산 서열**
스페이서
QGQSGQG

[0092]

서열번호 **222**
마스킹 모이어티 **7614.6**
LCHPAVLSAWESCSS

서열번호 **76**
절단 가능한 모이어티 **3001**
AVGLLAPPGGLSGRSDNH

서열번호 **479**
연결 펩타이드 **1 (LP1)**
GGGSSGGS

연결 펩타이드 **2 (LP2)**
GGS

[0093]

[0094] 예시적인 실시형태에서, AA는: (a) 포유류 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB)으

로서, AB가 서열번호 480의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 240의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편; (b) AB에 결합된 마스킹 모이어티(MM)로서, AA가 비절단 상태일 때 MM이 포유류 CD166에 대한 AB의 결합을 저해하고, MM은 서열번호 222의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 마스킹 모이어티; 및 (c) AB에 결합된 절단 가능한 모이어티(CM)로서, CM은 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 폴리펩타이드이고, CM은 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 절단 가능한 모이어티를 포함하는, 상기 절단 가능한 모이어티를 포함한다.

[0095] 예시적인 실시형태에서, AA는: (a) 포유류 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB)을 포함하되, AB는 서열번호 480의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 246의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고, spdb 링커(이 예시적인 접합된 AA는 본 명세서에서 "조합 55"로도 지칭되는 "스페이서-7614.6-3001-HcCD166-SPDB-DM4"로 지칭됨)를 통해 DM4에 접합된다. 링커 독소 SPDB-DM4는 또한 N-석신이미딜 4-(2-피리딜다이티오) 부타노에이트-N2'-데아세틸-N2'-(4-머캅토-4-메틸-1-옥소펜틸)-메이탄신으로 알려져 있다.

[0096] 다른 예시적인 실시형태에서, AA는: (a) 포유류 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB)을 포함하되, AB는 서열번호 480의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 314의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하고, 추가로 spdb 링커(이 예시적인 접합된 AA는 본 명세서에서 "조합 60"으로도 지칭되는 "7614.6-3001-HcCD166-SPDB-DM4"로 지칭됨)를 통해 DM4에 접합된다.

[0097] 마스킹 모이어티(MM)

[0098] 본 명세서에 기재된 활성화 가능한 항-CD166 항체는 항체 치료제, 특히 생체내에서 적어도 어느 정도로 독성인 것으로 알려진 항체 치료제의 한계를 극복한다. 표적-매개 독성은 치료적 항체의 발생을 위한 주된 한계를 구성한다. 본 명세서에 제공된 활성화 가능한 항-CD166 항체는 전통적 치료 항체에 의해 정상 조직에서 표적의 저해와 연관된 독성을 처리하도록 설계된다. 이들 활성화 가능한 항-CD166 항체는 질환 부위에서 단백질 분해에 의해 활성화될 때까지 현저하게 남아있다. 모 치료 항체로서 항-CD166 항체를 이용하여 시작하여, 본 발명의 활성화 가능한 항-CD166 항체는 프로테아제 기질(CM)을 편입시키는 링커를 통해 저해 마스크(마스킹 모이어티, MM)에 항체를 결합시킴으로써 조작되었다.

[0099] 따라서, 본 명세서에 제공된 활성화 가능한 항-CD166 항체는 마스킹 모이어티(MM)를 포함한다. 일부 실시형태에서, MM은 항-CD166 항체에 결합되거나 또는 달리 부착된 아미노산 서열이고, MM이 CD166에 특이적으로 결합하는 항-CD166 항체의 능력을 감소시키도록 활성화 가능한 항-CD166 항체 작제물 내에 위치된다. 적합한 마스킹 모이어티는 임의의 다양한 공지된 기법을 이용하여 확인된다. 예를 들어, 펩타이드 마스킹 모이어티는 Daugherty 등의 국제 특허 출원 공개 WO 2009/025846에 기재되어 있는 방법을 이용하여 확인되며, 이의 내용은 본 명세서에 전문이 참고로 포함된다.

[0100] 일부 실시형태에서, 예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 포함된 국제특허 공개 WO 2010/081173에 기재된 분석과 같은 표적 변위 분석을 이용하여 시험관내에서 분석될 때, CM이 절단되는 경우에 비해 CM이 비절단인 때에, CD166의 존재 하에서, MM은 AB가 CD166에 결합하는 능력을 적어도 90%만큼 감소시킨다.

[0101] 일부 실시형태에서, MM은 약 2 내지 40개의 아미노산 길이의 폴리펩타이드이다. 일부 실시형태에서, MM은 약 40개까지의 아미노산 길이의 폴리펩타이드이다.

[0102] 일부 실시형태에서, MM 폴리펩타이드 서열은 CD166의 서열과 상이하다. 일부 실시형태에서, MM 폴리펩타이드 서열은 AB의 임의의 천연 결합 상대와 50% 이하로 동일하다. 일부 실시형태에서, MM 폴리펩타이드 서열은 CD166의 서열과 상이하고, AB의 임의의 천연 결합 상태와 40%, 30%, 25%, 20%, 15% 또는 10% 이하로 동일하다.

[0103] 하나의 예시적인 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 AA는 아미노산 서열이 제시된 MM을 포함한다:

[0104]

마스킹 모이어티 **7614.6**
LCHPAVLSAWESCSS (서열번호 222)

[0105] AB가 MM에 의해 변형되고 표적의 존재 하에 있을 때, AB의 표적에 대한 특이적 결합은 MM에 의해 변형되지 않은 AB의 특이적 결합 또는 모 AB의 표적에 대한 특이적 결합에 비해 감소되거나 또는 저해된다.

[0106] 표적을 향한 MM에 의해 변형된 AB의 K_d는 MM에 의해 변형되지 않은 AB의 또는 표적을 향한 모 AB의 K_d보다 적어

도 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1,000, 2,500, 5,000, 10,000, 50,000, 100,000, 500,000, 1,000,000, 5,000,000, 10,000,000, 50,000,000 이상, 또는 5 내지 10, 10 내지 100, 10 내지 1,000, 10 내지 10,000, 10 내지 100,000, 10 내지 1,000,000, 10 내지 10,000,000, 25 내지 50, 50 내지 250, 100 내지 1,000, 100 내지 10,000, 100 내지 100,000, 100 내지 1,000,000, 100 내지 10,000,000, 500 내지 2,500, 1,000 내지 10,000, 1,000 내지 100,000, 1,000 내지 1,000,000, 1000 내지 10,000,000, 2,500 내지 5,000, 5,000 내지 50,000, 10,000 내지 100,000, 10,000 내지 1,000,000, 10,000 내지 10,000,000, 50,000 내지 5,000,000, 100,000 내지 1,000,000 또는 100,000 내지 10,000,000배 더 크다. 대조적으로, 표적을 향한 MM에 의해 변형된 AB의 결합 친화도는 MM에 의해 변형되지 않은 AB의 또는 표적을 향한 모 AB의 결합 친화도보다 적어도 2, 3, 4, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1,000, 2,500, 5,000, 10,000, 50,000, 100,000, 500,000, 1,000,000, 5,000,000, 10,000,000, 50,000,000 이상, 또는 5 내지 10, 10 내지 100, 10 내지 1,000, 10 내지 10,000, 10 내지 100,000, 10 내지 1,000,000, 10 내지 10,000,000, 25 내지 50, 50 내지 250, 100 내지 1,000, 100 내지 10,000, 100 내지 100,000, 100 내지 1,000,000, 100 내지 10,000,000, 500 내지 2,500, 1,000 내지 10,000, 1,000 내지 100,000, 1,000 내지 1,000,000, 1000 내지 10,000,000, 2,500 내지 5,000, 5,000 내지 50,000, 10,000 내지 100,000, 10,000 내지 1,000,000, 10,000 내지 10,000,000, 50,000 내지 5,000,000, 100,000 내지 1,000,000, 또는 100,000 내지 10,000,000배 더 낮다.

[0107] 일부 실시형태에서, CD166을 향하는 MM에 결합되는 경우의 AB의 해리 상수(K_d)가 CD166으로 향하는 MM에 결합되지 않는 경우의 AB의 K_d보다 적어도 2배 더 크도록 AB에 대한 MM의 결합은 AB가 CD166에 결합하는 능력을 감소시킨다.

[0108] 일부 실시형태에서, CD166을 향하는 MM에 결합되는 경우의 AB의 해리 상수(K_d)가 CD166으로 향하는 MM에 결합되지 않는 경우의 AB의 K_d보다 적어도 5배 더 크도록 AB에 대한 MM의 결합은 AB가 CD166에 결합하는 능력을 감소시킨다.

[0109] 일부 실시형태에서, CD166을 향하는 MM에 결합되는 경우의 AB의 해리 상수(K_d)가 CD166으로 향하는 MM에 결합되지 않는 경우의 AB의 K_d보다 적어도 10배 더 크도록 AB에 대한 MM의 결합은 AB가 CD166에 결합하는 능력을 감소시킨다.

[0110] 일부 실시형태에서, CD166을 향하는 MM에 결합되는 경우의 AB의 해리 상수(K_d)가 CD166으로 향하는 MM에 결합되지 않는 경우의 AB의 K_d보다 적어도 20배 더 크도록 AB에 대한 MM의 결합은 AB가 CD166에 결합하는 능력을 감소시킨다.

[0111] 일부 실시형태에서, CD166을 향하는 MM에 결합되는 경우의 AB의 해리 상수(K_d)가 CD166으로 향하는 MM에 결합되지 않는 경우의 AB의 K_d보다 적어도 40배 더 크도록 AB에 대한 MM의 결합은 AB가 CD166에 결합하는 능력을 감소시킨다.

[0112] 일부 실시형태에서, CD166을 향하는 MM에 결합되는 경우의 AB의 해리 상수(K_d)가 CD166으로 향하는 MM에 결합되지 않는 경우의 AB의 K_d보다 적어도 100배 더 크도록 AB에 대한 MM의 결합은 AB가 CD166에 결합하는 능력을 감소시킨다.

[0113] 일부 실시형태에서, CD166을 향하는 MM에 결합되는 경우의 AB의 해리 상수(K_d)가 CD166으로 향하는 MM에 결합되지 않는 경우의 AB의 K_d보다 적어도 1000배 더 크도록 AB에 대한 MM의 결합은 AB가 CD166에 결합하는 능력을 감소시킨다.

[0114] 일부 실시형태에서, CD166을 향하는 MM에 결합되는 경우의 AB의 해리 상수(K_d)가 CD166으로 향하는 MM에 결합되지 않는 경우의 AB의 K_d보다 적어도 10,000배 더 크도록 AB에 대한 MM의 결합은 AB가 CD166에 결합하는 능력을 감소시킨다.

[0115] AB로 향하는 MM의 해리 상수(K_d)는 일반적으로 표적으로 향하는 AB의 K_d보다 크다. AB로 향하는 MM의 K_d는 표적으로 향하는 AB의 K_d보다 적어도 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1,000, 2,500, 5,000, 10,000, 100,000, 1,000,000 또는 심지어 10,000,000배 더 클 수 있다. 정반대로, AB로 향하는 MM의 결합 친화도는 일반적으로 표

적으로 향하는 AB의 결합 친화도보다 더 낮다. AB로 향하는 MM의 결합 친화도는 표적으로 향하는 AB의 결합 친화도보다 적어도 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1,000, 2,500, 5,000, 10,000, 100,000, 1,000,000 또는 심지어 10,000,000배 더 낮을 수 있다.

[0116] 일부 실시형태에서, AB로 향하는 MM의 해리 상수(Kd)는 표적으로 향하는 AB의 Kd와 거의 동일하다. 일부 실시형태에서, AB로 향하는 MM의 해리 상수(Kd)는 표적으로 향하는 AB의 해리 상수 이하이다.

[0117] 일부 실시형태에서, AB로 향하는 MM의 해리 상수(Kd)는 표적으로 향하는 AB의 해리 상수 미만이다.

[0118] 일부 실시형태에서, AB로 향하는 MM의 해리 상수(Kd)는 표적으로 향하는 AB의 해리 상수 초과이다.

[0119] 일부 실시형태에서, MM은 AB에 대한 Kd가 표적에 대한 AB의 결합에 대한 Kd 이하이다.

[0120] 일부 실시형태에서, MM은 AB에 대한 Kd가 표적에 대한 AB의 결합에 대한 Kd 미만이다.

[0121] 일부 실시형태에서, MM은 AB에 대한 Kd가 표적에 대한 AB의 결합에 대한 Kd와 거의 동일하다.

[0122] 일부 실시형태에서, MM은 AB에 대한 Kd가 표적에 대한 AB의 결합에 대한 Kd 이상이다.

[0123] 일부 실시형태에서, MM은 AB에 대한 Kd가 표적에 대한 AB의 결합에 대한 Kd 초과이다.

[0124] 일부 실시형태에서, AB에 대한 MM의 해리 상수(K_d)는 표적에 대한 AB의 결합에 대한 Kd보다 2 이하, 3, 4, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1,000, 2,500, 5,000, 10,000, 50,000, 100,000, 500,000, 1,000,000, 5,000,000, 10,000,000, 50,000,000배 이상, 또는 1 내지 5, 5 내지 10, 10 내지 100, 10 내지 1,000, 10 내지 10,000, 10 내지 100,000, 10 내지 1,000,000, 10 내지 10,000,000, 25 내지 50, 50 내지 250, 100 내지 1,000, 100 내지 10,000, 100 내지 100,000, 100 내지 1,000,000, 100 내지 10,000,000, 25 내지 500, 500 내지 2,500, 1,000 내지 10,000, 1,000 내지 100,000, 1,000 내지 1,000,000, 1000 내지 10,000,000, 2,500 내지 5,000, 5,000 내지 50,000, 10,000 내지 100,000, 10,000 내지 1,000,000, 10,000 내지 10,000,000, 50,000 내지 5,000,000, 100,000 내지 1,000,000, 또는 100,000 내지 10,000,000배 초과이다. 일부 실시형태에서, MM은 AB에 대한 Kd가 표적에 대한 AB의 결합에 대한 Kd보다 1 내지 5, 2 내지 5, 2 내지 10, 5 내지 10, 5 내지 20, 5 내지 50, 5 내지 100, 10 내지 100, 10 내지 1,000, 20 내지 100, 20 내지 1000, 또는 100 내지 1,000배 초과이다.

[0125] 일부 실시형태에서, MM은 AB에 대한 친화도가 표적에 대한 AB의 결합에 대한 친화도 미만이다.

[0126] 일부 실시형태에서, MM은 AB에 대한 친화도가 표적에 대한 AB의 결합에 대한 친화도 이하이다.

[0127] 일부 실시형태에서, MM은 AB에 대한 친화도가 표적에 대한 AB의 결합에 대한 친화도와 거의 동일하다.

[0128] 일부 실시형태에서, MM은 AB에 대한 친화도가 표적에 대한 AB의 결합에 대한 친화도 이상이다.

[0129] 일부 실시형태에서, MM은 AB에 대한 친화도가 표적에 대한 AB의 결합에 대한 친화도 초과이다.

[0130] 일부 실시형태에서, MM은 AB에 대한 친화도가 표적에 대한 AB의 결합에 대한 친화도의 2, 3, 4, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 또는 1,000배 미만이다. 일부 실시형태에서, MM은 AB에 대한 친화도가 표적에 대한 AB의 결합에 대한 친화도보다 1 내지 5, 2 내지 5, 2 내지 10, 5 내지 10, 5 내지 20, 5 내지 25, 5 내지 50, 5 내지 100, 10 내지 100, 10 내지 1,000, 20 내지 100, 20 내지 1000, 25 내지 250, 50 내지 500 또는 100 내지 1,000배 미만이다. 일부 실시형태에서, MM은 AB에 대한 친화도가 표적에 대한 AB의 결합에 대한 친화도의 2 내지 20배 미만이다. 일부 실시형태에서, AB에 공유 결합되지 않고 AB에 대해 등몰 농도인 MM은 표적에 대한 AB의 결합을 저해하지 않는다.

[0131] AB가 MM에 의해 변형되고 표적의 존재 하에 있을 때, AB의 표적에 대한 특이적 결합은 MM에 의해 변형되지 않은 AB의 특이적 결합 또는 모 AB의 표적에 대한 특이적 결합에 비해 감소되거나 또는 저해된다. MM에 의해 변형되지 않는 AB의 결합 또는 표적에 대한 모 AB의 결합에 비교할 때, MM에 의해 변형되는 경우 표적에 결합하는 AB의 능력은 생체내 또는 시험관내 분석에서 측정될 때 적어도 2, 4, 6, 8, 12, 28, 24, 30, 36, 48, 60, 72, 84 또는 96시간, 또는 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 또는 180일, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12개월 이상 동안 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 심지어 100% 만큼 감소될 수 있다.

[0132] MM은 표적에 대한 AB의 결합을 저해한다. MM은 AB의 항원 결합 도메인에 결합하며, AB의 표적에 대한 결합을 저

해한다. MM은 표적에 대한 AB의 결합을 입체구조적으로 저해할 수 있다. MM은 AB의 표적에 대한 결합을 다른자리 입체적으로 저해할 수 있다. 이들 실시형태에서, AB가 MM에 의해 변형되거나 또는 결합될 때 또는 표적의 존재하에서, 표적에 대한 AB의 결합은 없거나, 실질적으로 없거나, 또는 표적에 대해 MM에 의해 변형되지 않은 AB, 모 AB, 또는 MM에 결합되지 않은 AB의 결합에 비해, 생체내 또는 시험관내 분석에서 측정될 때 적어도 2, 4, 6, 8, 12, 28, 24, 30, 36, 48, 60, 72, 84 또는 96시간, 또는 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 또는 180일, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12개월 이상 동안 표적에 대한 AB의 0.001%, 0.01%, 0.1%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40% 또는 50% 이하의 결합이다.

[0133] AB가 MM에 결합되거나 또는 MM에 의해 결합될 때, MM '마스크'는 표적에 대한 AB의 특이적 결합을 감소시키거나 또는 달리 저해한다. AB가 MM에 결합되거나 또는 MM에 의해 결합될 때, 이러한 결합 또는 변형은 AB가 표적에 특이적으로 결합하는 능력을 감소시키거나 저해하는 구조적 변화를 달성할 수 있다.

[0134] MM에 결합되거나 MM에 의해 변형된 AB는 다음의 식으로 (아미노(N) 말단 영역으로부터 카복실(C) 말단 영역까지의 순서로) 나타낼 수 있다:

(MM)-(AB)
(AB)-(MM)
(MM)-L-(AB)
[0135] (AB)-L-(MM)

[0136] 여기서, MM은 마스킹 모이어티이고, AB는 항체 또는 이의 항체 단편이며, L은 링커이다. 다수의 실시형태에서, 가요성을 제공하기 위해 하나 이상의 링커, 예를 들어, 가요성 링커를 조성물에 삽입하는 것이 바람직할 수 있다.

[0137] 특정 실시형태에서, MM은 AB의 천연 결합 상대가 아니다. 일부 실시형태에서, MM은 AB의 임의의 천연 결합 상대에 대한 상동성을 함유하지 않거나 또는 실질적으로 함유하지 않는다. 일부 실시형태에서, MM은 AB의 임의의 천연 결합 상태에 대해 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% 또는 80% 이하로 유사하다. 일부 실시형태에서, MM은 AB의 임의의 천연 결합 상태에 대해 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% 또는 80% 이하로 동일하다. 일부 실시형태에서, MM은 AB의 임의의 천연 결합 상대에 대해 25% 이하로 동일하다. 일부 실시형태에서, MM은 AB의 임의의 천연 결합 상대에 대해 50% 이하로 동일하다. 일부 실시형태에서, MM은 AB의 임의의 천연 결합 상대에 대해 20% 이하로 동일하다. 일부 실시형태에서, MM은 AB의 임의의 천연 결합 상대에 대해 10% 이하로 동일하다.

[0138] 절단 가능한 모이어티(CM)

[0139] 본 명세서에 제공된 활성화 가능한 항-CD166 항체는 절단 가능한 모이어티(CM)를 포함한다. 일부 실시형태에서, CM은 프로테아제, 보통 세포외 프로테아제에 대한 기질인 아미노산 서열을 포함한다. 적합한 기질은 임의의 다양한 공지된 기법을 이용하여 확인될 수 있다. 예를 들어, 펩타이드 기질은 Daugherty 등의 미국 특허 제7,666,817호; Stagliano 등의 미국 특허 제8,563,269호; 및 La Porte 등의 국제 특허 출원 공개 WO 2014/026136에 기재된 방법을 이용하여 확인되며, 이들 각각의 내용은 전문이 본 명세서에 참고로 포함된다. (또한 문헌[Boulware et al. "Evolutionary optimization of peptide substrates for proteases that exhibit rapid hydrolysis kinetics." Biotechnol Bioeng. 106.3 (2010): 339-46] 참조).

[0140] 일부 실시형태에서, CM을 절단하는 프로테아제는 질환 조직에서 활성이며, 예를 들어, 상향조절되거나 또는 달리 조절되지 않고, AA가 프로테아제에 노출될 때 프로테아제는 AA에서 CM을 절단한다. 일부 실시형태에서, 프로테아제는 조직에서 CD166과 공동 국소화되고, AA가 프로테아제에 노출될 때 프로테아제는 AA에서 CM을 절단한다. 도 1은 종양-특이적 프로테아제가 존재하는 종양 미세환경에서 우선적으로 활성화되는 활성화 가능한 항-CD166 항체 약물 접합체를 도시한다.

[0141] 일부 실시형태에서, AA는 MM에 의해 변형되고 또한 하나 이상의 절단 가능한 모이어티(CM)를 포함하는 AB를 포함한다. 이러한 AA는 AB의 표적에 대한 활성화 가능한/전환 가능한 결합을 나타낸다. AA는 일반적으로 마스킹 모이어티(MM) 및 변화 가능한 또는 절단 가능한 모이어티(CM)에 의해 변형되거나 또는 이에 결합된 항체 또는 항체 단편(AB)을 포함한다. 일부 실시형태에서, CM은 적어도 1종의 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 아미노산 서열을 함유한다.

[0142] 일부 실시형태에서, CM은 약 15개까지의 아미노산 길이의 폴리펩타이드이다.

[0143] 일부 실시형태에서, CM은 적어도 1종의 기질 금속프로테아제(MMP)에 대한 기질인 제1의 절단 가능한 모이어티(CM1) 및 적어도 1종의 세린 프로테아제(SP)에 대한 기질인 제2의 절단 가능한 모이어티(CM2)를 포함하는 폴리펩타이드이다. 일부 실시형태에서, CM1-CM2 기질의 CM1 기질 서열 및 CM2 기질 서열의 각각은 독립적으로 15개까지의 아미노산 길이의 폴리펩타이드이다.

[0144] 일부 실시형태에서, CM은 아미노산 서열이 제시된 CM1-CM2 기질이다:

절단 가능한 모이어티 3001 (기질 **3001**)
AVGLLAPPGGLSGRSDNH (서열번호 76)

[0145]

[0146] 절단된(또는 상대적으로 활성인) 상태에서 그리고 표적의 존재 하에, AB가 표적에 결합하는 한편, AA가 표적의 존재 하에 비절단(또는 상대적으로 비활성인) 상태가 되고, 표적에 대한 AB의 특이적 결합이 감소되거나 또는 저해되도록 MM 및 CM이 위치되게 AA의 요소가 배열된다. AB가 그의 표적에 특이적으로 결합하는 능력이 MM에 의해 저해 또는 마스킹되는 것 때문에 표적에 대한 AB의 특이적 결합이 감소될 수 있다.

[0147] 표적을 향한 MM 및 CM에 의해 변형된 AB의 K_d는 표적을 향한 MM 및 CM에 의해 변형되지 않은 AB의 또는 표적을 향한 모 AB의 K_d의 적어도 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1,000, 2,500, 5,000, 10,000, 50,000, 100,000, 500,000, 1,000,000, 5,000,000, 10,000,000, 50,000,000 이상, 또는 5 내지 10, 10 내지 100, 10 내지 1,000, 10 내지 10,000, 10 내지 100,000, 10 내지 1,000,000, 10 내지 10,000,000, 25 내지 50, 50 내지 250, 100 내지 1,000, 100 내지 10,000, 100 내지 100,000, 100 내지 1,000,000, 100 내지 10,000,000, 25 내지 500, 500 내지 2,500, 1,000 내지 10,000, 1,000 내지 100,000, 1,000 내지 1,000,000, 1000 내지 10,000,000, 2,500 내지 5,000, 5,000 내지 50,000, 10,000 내지 100,000, 10,000 내지 1,000,000, 10,000 내지 10,000,000, 50,000 내지 5,000,000, 100,000 내지 1,000,000, 또는 100,000 내지 10,000,000배 초과이다. 대조적으로, 표적을 향한 MM 및 CM에 의해 변형된 AB의 결합 친화도는 표적을 향한 MM 및 CM에 의해 변형되지 않은 AB의 또는 표적을 향한 모 AB의 결합 친화도의 적어도 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1,000, 2,500, 5,000, 10,000, 50,000, 100,000, 500,000, 1,000,000, 5,000,000, 10,000,000, 50,000,000 이상, 또는 5 내지 10, 10 내지 100, 10 내지 1,000, 10 내지 10,000, 10 내지 100,000, 10 내지 1,000,000, 10 내지 10,000,000, 25 내지 50, 50 내지 250, 100 내지 1,000, 100 내지 10,000, 100 내지 100,000, 100 내지 1,000,000, 100 내지 10,000,000, 25 내지 500, 500 내지 2,500, 1,000 내지 10,000, 1,000 내지 100,000, 1,000 내지 1,000,000, 1000 내지 10,000,000, 2,500 내지 5,000, 5,000 내지 50,000, 10,000 내지 100,000, 10,000 내지 1,000,000, 10,000 내지 10,000,000, 50,000 내지 5,000,000, 100,000 내지 1,000,000, 또는 100,000 내지 10,000,000배 더 낮다.

[0148] AB가 MM 및 CM으로 변형될 때 그리고 표적의 존재 하에 있지만 변형제(예를 들어, 적어도 1종의 프로테아제)의 존재 하에 있지 않을 때, MM 및 CM에 의해 변형되지 않은 AB의 특이적 결합 또는 표적에 대한 모 AB의 특이적 결합에 비해 표적에 대한 AB의 특이적 결합은 감소되거나 또는 저해된다. 표적에 대한 모 AB의 결합 또는 MM 및 CM에 의해 변형되지 않은 AB의 결합에 비교할 때, MM 및 CM에 의해 변형되는 경우 표적에 결합하는 AB의 능력은 생체내 또는 시험관내 분석에서 측정하였을 때 적어도 2, 4, 6, 8, 12, 28, 24, 30, 36, 48, 60, 72, 84 또는 96시간 또는 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 또는 180일, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12개월 이상 동안 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 심지어 100% 만큼 감소될 수 있다.

[0149] 본 명세서에서 사용되는 용어 "절단된 상태"는 적어도 1종의 프로테아제에 의한 CM의 변형 후 AA의 상태를 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "절단되지 않은 상태"는 프로테아제에 의한 CM 절단의 부재 하의 AA의 상태를 지칭한다. 상기 논의한 바와 같은 용어 "활성화 가능한 항체"는 본 명세서에서 그의 절단되지 않은(천연) 상태에서 뿐만 아니라 그의 절단 상태에서의 AA를 지칭하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서 절단된 AA는 프로테아제에 의한 CM의 절단때문에 MM을 결여하여, 적어도 MM의 방출을 초래할 수 있다는 것은 당업자에게 분명할 것이다(예를 들어, MM이 공유 결합(예를 들어, 시스테인 잔기 사이의 이황화 결합)에 의해 AA에 결합되지 않는 경우).

[0150] 활성화 가능한 또는 전환 가능한은 AA가 저해되거나, 마스킹되거나 또는 절단되지 않은 상태(즉, 제1 입체형태)일 때 표적에 대한 결합의 제1 수준, 및 저해되지 않고/않았거나 마스킹되지 않고/않았거나 절단된 상태(즉, 제2 입체형태)에서 표적에 대한 결합의 제2 수준을 AA가 나타내며, 표적 결합의 제2 수준은 결합의 제1 수준보

다 더 크다는 것을 의미한다. 일반적으로, AA의 AB에 대한 표적의 접근은 이러한 절단제의 부재 하에서보다 CM을 절단할 수 있는 절단제, 즉, 프로테아제의 존재 하에서 더 크다. 따라서, AA가 절단되지 않은 상태일 때, AB는 표적 결합으로부터 저해되고 표적 결합으로부터 마스킹될 수 있으며(즉, AB가 표적에 결합할 수 없는 제1 입체형태), 절단된 상태에서, AB는 표적 결합에 대해 저해되지 않거나 또는 마스킹되지 않는다.

[0151] AB가 주어진 표적에 대한 결합 모이어티를 나타내고, CM이 프로테아제에 대한 기질을 나타내도록 AA의 CM 및 AB가 선택된다. 일부 실시형태에서, 프로테아제는 대상체에서의 치료 부위 또는 진단 부위에서 표적과 공동 국소화된다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 공동 국소화는 동일한 부위에 있거나 또는 상대적으로 거의 근접한 것을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 프로테아제는 CM을 절단하여 절단 부위 근처에 위치된 표적에 결합하는 활성화된 항체를 얻는다. 본 명세서에 개시된 AA는 특정 용도를 발견하며, 여기서, 예를 들어, CM에서의 부위를 절단할 수 있는 프로테아제, 즉, 프로테아제는 비치료 부위의 조직에서(예를 들어, 건강한 조직에서)보다 치료 부위 또는 진단 부위의 표적-함유 조직에서 상대적으로 더 높은 수준으로 존재한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 CM은 또한 하나 이상의 다른 프로테아제에 의해 절단된다. 일부 실시형태에서, 이는 표적과 공동 표적화되고 생체내에서 CM의 절단을 초래하는 하나 이상의 다른 프로테아제이다.

[0152] 일부 실시형태에서, AB가 표적에 대한 결합으로부터 마스킹 또는 달리 저해되지 않다면 AA는 비치료 부위에서 AB의 결합으로부터 달리 초래될 수 있는 감소된 독성 및/또는 유해한 부작용을 제공한다.

[0153] 일반적으로, 입체형태적으로 제한될 때, MM이 AB의 마스킹 또는 표적에 대한 AB의 결합 감소를 제공하도록, 관심 대상의 AB를 선택함으로써 그리고 AA의 나머지를 구성함으로써 AA가 설계될 수 있다. 구조적 설계 기준은 이런 기능적 특징을 제공하도록 고려되어야 할 수 있다.

[0154] 비저해 입체형태에 비해 저해된 입체형태에서 표적 결합에 대해 목적하는 동적 범위의 전환 가능한 표현형을 나타내는 AA가 제공된다. 동적 범위는 일반적으로 (a) 조건의 제1 세트 하의 파라미터의 최대 검출 수준 대 (b) 조건의 제2 세트 하의 파라미터의 최소 검출 수준의 비를 지칭한다. 예를 들어, 활성화 가능한 항체와 관련하여, 동적 범위는 (a) AA의 CM을 절단할 수 있는 적어도 1종의 프로테아제의 존재 하에 AA에 대한 표적 단백질 결합의 최대 검출 수준 대 (b) 프로테아제의 부재 하에서 AA에 대한 표적 단백질 결합의 최소 검출 수준의 비를 지칭한다. AA의 동적 범위는 AA 절단제(예를 들어, 효소) 치료의 해리 상수 대 AA 절단제 치료의 해리 상수의 비로서 계산될 수 있다. 활성화 가능한 항체의 동적 범위가 클수록, 활성화 가능한 항체의 전환 가능한 표현형이 양호하다. AA에 의한 표적 단백질 결합이 절단제의 부재 하에서보다 AA의 CM을 절단할 수 있는 절단제(예를 들어, 효소)의 존재 하에서 더 큰 정도로 일어나도록(예를 들어, 우세하게 일어나도록) 상대적으로 더 높은 동적 범위 값(예를 들어, 1 초과)을 갖는 AA는 더 바람직한 전환 표현형을 나타낸다.

[0155] CM은 적어도 1종의 프로테아제에 의해 약 0.001 내지 $1500\times10^{4}M^{-1}S^{-1}$ 또는 적어도 0.001, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 200, 250, 500, 750, 1000, 1250 또는 1500×10^{4} $M^{-1}S^{-1}$의 속도로 특이적으로 절단된다. 일부 실시형태에서, CM은 약 100,000 $M^{-1}S^{-1}$의 속도로 특이적으로 절단된다. 일부 실시형태에서, CM은 약 1×10E2 내지 약 1×10E6 $M^{-1}S^{-1}$(즉, 약 1×10^{2} 내지 약 1×10^{6} $M^{-1}S^{-1}$)의 속도로 특이적으로 절단된다.

[0156] 효소에 의한 특정 절단을 위해, 효소와 CM 사이의 접점이 만들어진다. MM 및 CM에 결합되는 AB를 포함하는 AA가 표적 및 충분한 효소 활성의 존재하에 있을 때, CM은 절단될 수 있다. 충분한 효소 활성은 CM와의 접촉을 만들고 절단을 달성하는 효소의 능력을 지칭할 수 있다. 효소는 CM 근처에 있을 수 있지만 다른 세포 인자 또는 효소의 단백질 변형 때문에 절단할 수 없다는 것이 용이하게 생각될 수 있다.

[0157] 활성화 가능한 항체의 구조적 입체배치

[0158] 본 개시내용의 AA는 다양한 구조적 입체배치로 제공될 수 있다. AA에 대한 예시적인 식을 이하에 제공한다. AB, MM 및 CM의 N-말단에서 C-말단의 순서는 활성화 가능한 항체 내에서 반전될 수 있다는 것이 상정된다. 또한, 예를 들어, CM이 MM 내에 함유되도록 CM 및 MM은 아미노산 서열에서 중복될 수 있다는 것이 구체적으로 상정된다.

[0159] 예를 들어, AA는 다음의 식으로 (아미노(N) 말단 영역으로부터 카복실(C) 말단 영역까지의 순서로) 나타낼 수 있다:

(MM)-(CM)-(AB)

[0160] (AB)-(CM)-(MM)

[0161] 여기서, MM은 마스킹 모이어티이고, CM은 절단 가능한 모이어티이며, AB는 항체 또는 이의 단편이다. MM 및 CM이 상기 식에서 별개의 성분으로서 표시되지만, 본 명세서에 개시된 모든 예시적 실시형태(식을 포함)에서, 예를 들어, CM이 MM 내에 완전히 또는 부분적으로 함유되도록, MM 및 CM의 아미노산 서열이 중복될 수 있다는 것이 상정된다는 것이 언급되어야 한다. 추가로, 상기 식은 AA 요소에 대해 N-말단 또는 C-말단에 위치될 수 있는 추가적인 아미노산 서열을 제공한다.

[0162] 다수의 실시형태에서, MM-CM 접합부, CM-AB 접합부 또는 둘 다의 하나 이상에서 가요성을 제공하도록 하나 이상의 링커, 예를 들어, 가요성 링커를 AA 작제물에 삽입하는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, AB, MM 및/또는 CM은 목적하는 가요성을 제공하기에 충분한 수의 잔기(예를 들어, Gly, Ser, Asp, Asn, 특히 Gly 및 Ser, 특히 Gly)를 함유하지 않을 수도 있다. 이렇게 해서, 이러한 AA 작제물의 전환 가능한 표현형은 가요성 링커를 제공하는 데 하나 이상의 아미노산의 도입이 유리할 수 있다. 추가로, 이하에 기재하는 바와 같이, AA가 입체형태적으로 부자연스러운 작제물로서 제공되는 경우에, 절단되지 않은 활성화 가능한 항체에서 환식 구조의 형성 및 유지를 용이하게 하기 위해 가요성 링커가 작동 가능하게 삽입될 수 있다.

[0163] 일부 실시형태에서, AA는 제1 연결 펩타이드(LP1)와 제2 연결 펩타이드(LP2)를 포함하되, AA는 비절단 상태에서 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열을 가진다: MM-LP1-CM-LP2-AB 또는 AB-LP2-CM-LP1-MM. 일부 실시형태에서, 2개의 연결 펩타이드가 서로 동일할 필요는 없다.

[0164] 일부 실시형태에서, LP1 또는 LP2 중 적어도 하나는 $(GS)_n$, $(GGS)_n$,$(GSGGS)_n$(서열번호 1) 및 $(GGGS)_n$(서열번호 2)로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하며, n은 적어도 1의 정수이다.

[0165] 일부 실시형태에서, LP1 또는 LP2 중 적어도 하나는 GGSG (서열번호 3), GGSGG (서열번호 4), GSGSG (서열번호 5), GSGGG (서열번호 6), GGGSG (서열번호 7) 및 GSSSG (서열번호 8)로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0166] 일부 실시형태에서, LP1은 아미노산 서열 GSSGGSGGSGGSG (서열번호 9), GSSGGSGGSGG (서열번호 10), GSSGGSGGSGGS (서열번호 11), GSSGGSGGSGGSGGGS (서열번호 12), GSSGGSGGSG (서열번호 13) 또는 GSSGGSGGSGS (서열번호 14)을 포함한다.

[0167] 일부 실시형태에서, LP2는 아미노산 서열 GSS, GGS, GGGS (서열번호 15), GSSGT (서열번호 16) 또는 GSSG (서열번호 17)를 포함한다.

[0168] 일부 실시형태에서, AB는 CD166에 대한 결합에 대해 해리 상수가 약 100nM 이하이다.

[0169] 예를 들어, 특정 실시형태에서, AA는 다음의 식 중 하나를 포함한다(여기서 이하의 식은 N-말단에서 C-말단 방향 또는 C-말단에서 N-말단 방향으로 아미노산 서열을 나타냄):

(MM)-LP1-(CM)-(AB)

(MM)-(CM)-LP2-(AB)

[0170] (MM)-LP1-(CM)-LP2-(AB)

[0171] 여기서, MM, CM 및 AB는 상기 정의된 바와 같고; LP1 및 LP2는 각각 독립적이고 선택적으로 존재하거나 또는 부재이고, 적어도 1개의 가요성 아미노산(예를 들어, Gly)을 포함하는 동일 또는 상이한 가요성 링커이다. 추가로, 상기 식은 AA 요소에 대해 N-말단 또는 C-말단에 위치될 수 있는 추가적인 아미노산 서열을 제공한다. 예는 표적화 모이어티(예를 들어, 표적 조직에 존재하는 세포의 수용체에 대한 리간드) 및 혈청 반감기 연장 모이어티(예를 들어, 혈청 단백질, 예컨대 면역글로불린(예를 들어, IgG) 또는 혈청 알부민(예를 들어, 인간 혈청 알부민(HAS)에 결합하는 폴리펩타이드)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0172] 일부 실시형태에서, 활성화된 또는 절단된 상태에서, 프로테아제가 CM을 절단한 후에 활성화된 항체가 LP2 및/또는 CM 서열의 적어도 일부를 포함하는 경쇄 아미노산 서열을 포함하도록, AA는 프로테아제에 노출되고 이에 의해 절단된다.

[0173] 본 명세서에 기재된 조성물에서 사용하기에 적합한 링커는 일반적으로 표적에 대한 AB 결합의 저해를 용이하게 하기 위해 변형된 AB 또는 AA의 가요성을 제공하는 것이다. 이러한 링커는 일반적으로 가요성 링커로서 지칭된

다. 적합한 링커가 용이하게 선택될 수 있으며, 임의의 적합한 상이한 길이, 예컨대 1개의 아미노산(예를 들어, Gly) 내지 20개의 아미노산, 2개의 아미노산 내지 15개의 아미노산, 3개의 아미노산 내지 12개의 아미노산, 예를 들어 4개의 아미노산 내지 10개의 아미노산, 5개의 아미노산 내지 9 아미노산, 6개의 아미노산 내지 8개의 아미노산, 또는 7개의 아미노산 내지 8개의 아미노산을 가질 수 있고, 길이가 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 아미노산일 수 있다.

[0174] 예시적인 가요성 링커는 글리신 중합체(G)n, 글리신-세린 중합체(예를 들어: (GS)n, (GSGGS)n (서열번호 1) 및 (GGGS)n (서열번호 2)를 포함하며, n은 적어도 1의 정수임), 글리신-알라닌 중합체, 알라닌-세린 중합체 및 당업계에 공지된 다른 가요성 링커를 포함한다. 글리신 및 글리신-세린 중합체는 상대적으로 비구조화되어 있으며, 따라서, 성분 사이의 중성 테더(neutral tether)로서 작용할 수 있다. 글리신은 심지어 알라닌보다 유의하게 더 파이-사이 공간에 접근하며, 더 긴 측쇄를 갖는 잔기보다 훨씬 덜 제한되어 있다(문헌[Scheraga, Rev. Computational Chem. 11173-142 (1992)] 참조). 예시적인 가요성 링커는 Gly-Gly-Ser-Gly (서열번호 3), Gly-Gly-Ser-Gly-Gly (서열번호 4), Gly-Ser-Gly-Ser-Gly (서열번호 5), Gly-Ser-Gly-Gly-Gly (서열번호 6), Gly-Gly-Gly-Ser-Gly (서열번호 7), Gly-Ser-Ser-Ser-Gly(서열번호 8) 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 당업자는 링커가 가요성 링커뿐만 아니라 목적하는 AA 구조를 제공하기 위해 덜 가요성인 구조를 부여하는 하나 이상의 부분을 포함할 수 있도록 AA의 설계가 모든 또는 부분적으로 가요성인 링커를 포함할 수 있다는 것을 인식할 것이다.

[0175] 일부 실시형태에서, AA는 또한 신호 펩타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 신호 펩타이드는 스페이서를 통해 AA에 접합된다. 일부 실시형태에서, 스페이서는 신호 펩타이드의 부재 하에 AA에 접합된다. 일부 실시형태에서, 스페이서는 활성화 가능한 항체의 MM에 직접적으로 결합된다. 일부 실시형태에서, 스페이서는 스페이서-MM-CM-AB의 N-말단으로부터 C-말단까지의 구조적 배열에서 AA의 MM에 직접적으로 결합된다. AA의 MM의 N-말단에 직접적으로 결합된 스페이서의 예는 QGQSGQ(서열번호 88)이다. AA의 MM의 N-말단에 직접적으로 결합된 스페이서의 다른 예는 QGQSGQG (서열번호 305), QGQSG (서열번호 306), QGQS (서열번호 307), QGQ, QG 및 Q를 포함한다. AA의 MM의 N-말단에 직접적으로 결합된 스페이서의 다른 예는 GQSGQG (서열번호 359), QSGQG (서열번호 360), SGQG(서열번호 361), GQG 및 G를 포함한다. 일부 실시형태에서, 스페이서는 MM의 N-말단에 결합되지 않는다. 일부 실시형태에서, 스페이서는 적어도 아미노산 서열 QGQSGQ(서열번호 88)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 스페이서는 적어도 아미노산 서열 QGQSGQG(서열번호 305)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 스페이서는 적어도 아미노산 서열 QGQSG(서열번호 306)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 스페이서는 적어도 아미노산 서열 QGQS(서열번호 307)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 스페이서는 적어도 아미노산 서열 QGQ를 포함한다. 일부 실시형태에서, 스페이서는 적어도 아미노산 서열 QG를 포함한다. 일부 실시형태에서, 스페이서는 적어도 아미노산 잔기 Q를 포함한다. 일부 실시형태에서, 스페이서는 적어도 아미노산 서열 GQSGQG (서열번호 359)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 스페이서는 적어도 아미노산 서열 QSGQG(서열번호 360)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 스페이서는 적어도 아미노산 서열 SGQG(서열번호 361)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 스페이서는 적어도 아미노산 서열 GQG를 포함한다. 일부 실시형태에서, 스페이서는 적어도 아미노산 서열 G를 포함한다. 일부 실시형태에서, 스페이서는 없다.

[0176] 접합된 활성화 가능한 항체

[0177] 본 명세서에 제공된 AA 조성물 및 방법은 활성화 가능한 항-CD166 항체의 활성(예를 들어, 마스킹, 활성화 또는 결합 활성)을 손상시키는 일 없이 AB에서 하나 이상의 시스테인 잔기(예를 들어, 시스테인, 라이신)에 대한 하나 이상의 제제의 부착을 가능하게 한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 조성물 및 방법은 MM 내에서 하나 이상의 이황화결합을 환원시키거나 또는 달리 파괴하는 일 없이 AB에서 하나 이상의 시스테인 잔기에 대한 하나 이상의 제제의 부착을 가능하게 한다. 본 명세서에 제공된 조성물 및 방법은, 예를 들어, 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 항-CD166 항체의 MM에 접합되는 임의의 제제(들) 없이 하나 이상의 제제, 예를 들어, 임의의 다양한 치료제, 진단제 및/또는 예방제에 접합되는 활성화 가능한 항-CD166 항체를 생성한다. 본 명세서에 제공된 조성물 및 방법은, AA가 비절단 상태일 때 AB를 효과적으로 그리고 효율적으로 마스킹하는 능력을 MM이 보유하는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체를 생성한다. 본 명세서에 제공된 조성물 및 방법은 CM을 절단할 수 있는 프로테아제의 존재 하에 AA가 여전히 활성화, 즉 절단되는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체를 생성한다.

[0178] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 AA는 또한 활성화 가능한 항체에 접합된 제제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 접합된 제제는 치료제, 예컨대 항-염증 및/또는 항신생물제이다. 이러한 실시형태에서, 제제는 활성화 가능한 항체의 탄수화물 모이어티에 접합되며, 예를 들어, 일부 실시형태에서, 탄수화물 모이어티는 활성화 가

능한 항체에서 항체 또는 항원-결합 단편의 항원-결합 영역 외부에 위치된다. 일부 실시형태에서, 제제는 활성화 가능한 항체에서 항체 또는 항원-결합 단편의 설프하이드릴기에 접합된다.

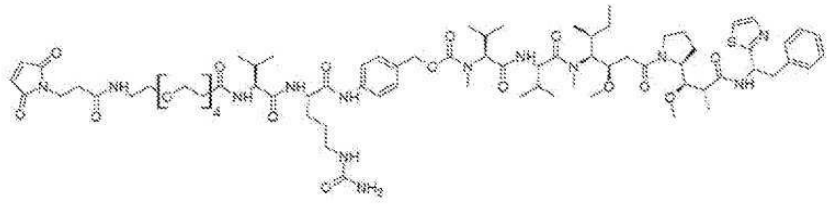
[0179] 일부 실시형태에서, 제제는 세포독성제, 예컨대 독소(예를 들어, 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 유래의 효소적으로 활성인 독소, 또는 이의 단편), 또는 방사성 동위원소(즉, 방사성접합체)이다.

[0180] 일부 실시형태에서, 제제는 검출 가능한 모이어티, 예를 들어, 표지 또는 다른 마커이다. 예를 들어, 제제는 표시된 아비딘(예를 들어, 광학 또는 표색 방법에 의해 검출될 수 있는 형광 마커 또는 효소 활성을 함유하는 스트렙타비딘), 하나 이상의 방사성동위원소 또는 방사성핵종, 하나 이상의 형광 표지, 하나 이상의 효소 표지 및/또는 하나 이상의 화학발광제에 의해 검출될 수 있는 하나 이상의 바이오틴일 모이어티, 방사성표지된 아미노산이거나 또는 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 검출 가능한 모이어티는 스페이서 분자에 의해 부착된다.

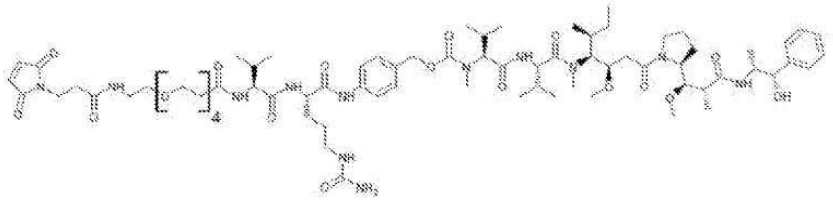
[0181] 본 개시내용은 또한 세포독성제, 예컨대 독소(예를 들어, 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 유래의 효소적으로 활성인 독소, 또는 이의 단편), 또는 방사성 동위원소(즉, 방사성접합체)에 접합된 항체를 포함하는 면역접합체에 관한 것이다. 적합한 세포독성제는, 예를 들어, 돌라스타틴 및 이의 유도체(예를 들어, 아우리스타틴 E, AFP, MMAF, MMAE, MMAD, DMAF, DMAE)를 포함한다. 예를 들어, 제제는 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE) 또는 모노메틸 아우리스타틴 D(MMAD)이다. 일부 실시형태에서, 제제는 표 1에 열거된 그룹으로부터 선택되는 제제이다. 일부 실시형태에서, 제제는 돌라스타틴이다. 일부 실시형태에서, 제제는 아우리스타틴 또는 이의 유도체이다. 일부 실시형태에서, 제제는 아우리스타틴 E 또는 이의 유도체이다. 일부 실시형태에서, 제제는 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE)이다. 일부 실시형태에서, 제제는 모노메틸 아우리스타틴 D(MMAD)이다. 일부 실시형태에서, 제제는 메이탄시노이드 또는 메이탄시노이드 유도체이다. 일부 실시형태에서, 제제는 DM1 또는 DM4이다. 일부 실시형태에서, 제제는 듀오카마이신 또는 이의 유도체이다. 일부 실시형태에서, 제제는 칼리케아마이신 또는 이의 유도체이다. 일부 실시형태에서, 제제는 피롤로벤조다이아제핀이다. 예시적인 실시형태에서, 제제는 DM4이다.

[0182] 일부 실시형태에서, 제제는 말레이미드 카프로일-발린-시트룰린 링커 또는 말레이미드 PEG-발린-시트룰린 링커를 이용하여 AB에 연결된다. 일부 실시형태에서, 제제는 말레이미드 카프로일-발린-시트룰린 링커를 이용하여 AB에 연결된다. 일부 실시형태에서, 제제는 말레이미드 PEG-발린-시트룰린 링커를 이용하여 AB에 연결된다. 일부 실시형태에서, 제제는 말레이미드 PEG-발린-시트룰린-파라-아미노벤질옥시카보닐 링커를 이용하여 AB에 연결되는 모노메틸 아우리스타틴 D(MMAD)이고, 이 링커 페이로드 작제물은 본 명세서에서 "vc-MMAD"로서 지칭된다. 일부 실시형태에서, 제제는 말레이미드 PEG-발린-시트룰린-파라-아미노벤질옥시카보닐 링커를 이용하여 AB에 연결된 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE)이고, 이 링커 페이로드 작제물은 본 명세서에서 "vc-MMAE"로서 지칭된다. 일부 실시형태에서, 제제는 말레이미드 PEG-발린-시트룰린 링커를 이용하여 AB에 연결된다. 일부 실시형태에서, 제제는 말레이미드 비스-PEG-발린-시트룰린-파라-아미노벤질옥시카보닐 링커를 이용하여 AB에 연결되는 모노메틸 아우리스타틴 D(MMAD)이고, 이 링커 페이로드 작제물은 본 명세서에서 "PEG2-vc-MMAD"로서 지칭된다. vc-MMAD, vc-MMAE 및 PEG2-vc-MMAD의 구조를 이하에 나타낸다:

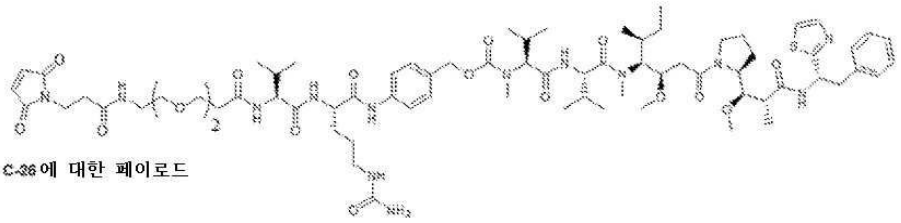
vc-MMAD:

[0183] 

vc-MMAE:



PEG2-vc-MMAD:

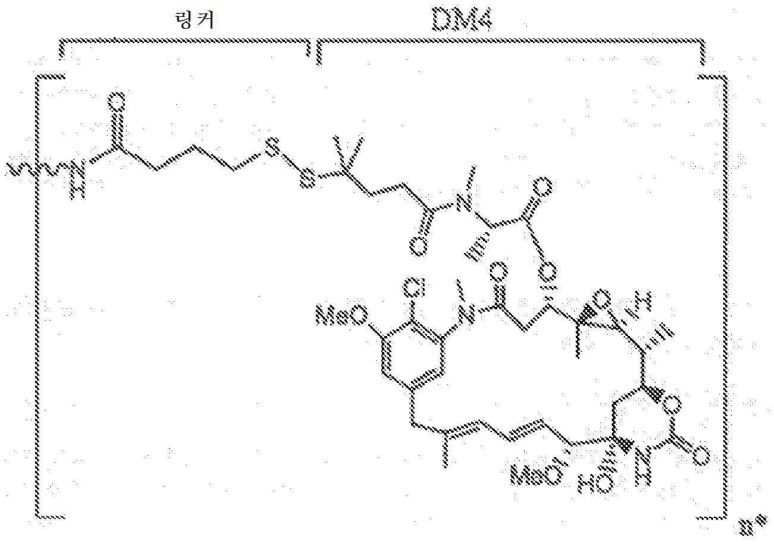


c-38에 대한 페이로드

[0184]

[0185] 예시적인 실시형태에서, 제제는 라이신을 통해 AA에 접합된다. 예시적인 실시형태에서, SPDB-DM4는 AA 상의 라이신의 엡실론-아미노기, 예를 들어, 라이신의 엡실론-아미노기를 통해 활성화 가능한 항체에 부착된다.

[0186] 예시적인 실시형태에서, 제제는 DM4이고, 링커-DM은 다음과 같다:



[0187]

[0188] 본 개시내용은 또한 모노메틸 아우리스타틴 D(MMAD) 페이로드에 연결된 AA를 포함하는 접합된 AA를 제공하되, AA는 표적에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB), 비절단 상태에서 AA의 AB가 표적에 결합하는 것을 저해하는 마스킹 모이어티(MM), 및 AB에 결합된 절단 가능한 모이어티(CM)를 포함하고, CM은 적어도 하나의 MMP 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 폴리펩타이드이다.

[0189] 일부 실시형태에서, MMAD-접합된 AA는 AB에 제제를 부착하기 위한 임의의 몇몇 방법을 이용하여 접합될 수 있다: (a) AB의 탄수화물 모이어티에 대한 부착, 또는 (b) AB의 설프하이드릴기에 대한 부착, 또는 (c) AB의 아미노기에 대한 부착, 또는 (d) AB의 카복실레이트기에 대한 부착.

[0190] 일부 실시형태에서, MMAD 페이로드는 링커를 통해 AB에 접합된다. 일부 실시형태에서, MMAD 페이로드는 링커를 통해 AB에서 시스테인에 접합된다. 일부 실시형태에서, MMAD 페이로드는 링커를 통해 AB에서 라이신에 접합된다. 일부 실시형태에서, MMAD 페이로드는 링커를 통해 AB의 다른 잔기, 예컨대 본 명세서에 개시된 해당 잔기에 접합된다. 일부 실시형태에서, 링커는 티올-함유 링커이다. 일부 실시형태에서, 링커는 절단 가능한 링커이다. 일부 실시형태에서, 링커는 절단 가능하지 않은 링커이다. 일부 실시형태에서, 링커는 표 6 및 표 7에 나타낸 링커로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, AA 및 MMAD 페이로드는 말레이미드 카프로일

-발린-시트룰린 링커를 통해 연결된다. 일부 실시형태에서, AA 및 MMAD 페이로드는 말레이미드 PEG-발린-시트룰린 링커를 통해 연결된다. 일부 실시형태에서, AA 및 MMAD 페이로드는 말레이미드 카프로일-발린-시트룰린-파라-아미노벤질옥시카보닐 링커를 통해 연결된다. 일부 실시형태에서, AA 및 MMAD 페이로드는 말레이미드 PEG-발린-시트룰린-파라-아미노벤질옥시카보닐 링커를 통해 연결된다. 일부 실시형태에서, MMAD 페이로드는 본 명세서에 개시된 부분적 환원 및 접합을 이용하여 AB에 접합된다.

[0191] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 링커의 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 성분은 2개의 에틸렌 글리콜 단량체, 3개의 에틸렌 글리콜 단량체, 4개의 에틸렌 글리콜 단량체, 5개의 에틸렌 글리콜 단량체, 6개의 에틸렌 글리콜 단량체, 7개의 에틸렌 글리콜 단량체, 8개의 에틸렌 글리콜 단량체, 9개의 에틸렌 글리콜 단량체, 또는 적어도 10개의 에틸렌 글리콜 단량체로부터 형성된다. 본 개시내용의 일부 실시형태에서, PEG 성분은 분지된 중합체이다. 본 개시내용의 일부 실시형태에서, PEG 성분은 비분지 중합체이다. 일부 실시형태에서, PEG 중합체 성분은 아미노기 또는 이의 유도체, 카복실기 또는 이의 유도체, 또는 아미노기 또는 이의 유도체와 카복실기 또는 이의 유도체 둘 다에 의해 작용기화된다.

[0192] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 링커의 PEG 성분은 아미노-테트라-에틸렌 글리콜-카복실기 또는 이의 유도체이다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 링커의 PEG 성분은 아미노-트라이-에틸렌 글리콜-카복실기 또는 이의 유도체이다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 링커의 PEG 성분은 아미노-다이-에틸렌 글리콜-카복실기 또는 이의 유도체이다. 일부 실시형태에서, 아미노 유도체는 접합되는 아미노기와 카복실기 사이의 아마이드 결합의 형성이다. 일부 실시형태에서, 카복실 유도체는 접합되는 카복실기와 아미노기 사이의 아마이드 결합의 형성이다. 일부 실시형태에서, 카복실 유도체는 접합되는 카복실기와 하이드록실기 사이의 에스터 결합의 형성이다.

[0193] 사용될 수 있는 효소적으로 활성인 독소 및 이의 단편은 디프테리아 A 쇄, 디프테리아 독소의 비결합 활성 단편, 외독소 A 쇄(슈도모나스 아에루기노사(Pseudomonas aeruginosa)로부터 유래), 리신 A 쇄, 아브린 A 쇄, 모데신 A 쇄, 알파-사르신, 유동(Aleurites fordii) 단백질, 디안틴 단백질, 미국자리공(Phytolaca americana) 단백질(PAPI, PAPII 및 PAP-S), 여주(momordica charantia) 저해제, 쿠르신(curcin), 크로틴(crotin), 비누풀(sapaonaria officinalis) 저해제, 겔로닌(gelonin), 미토겔린(mitogellin), 레스트릭토신(restrictocin), 페노마이신(phenomycin), 에노마이신(enomycin) 및 트리코세신(tricothecenes)을 포함한다. 방사성접합 항체의 생성을 위해 다양한 방사성핵종이 이용 가능하다. 예는 ^{212}Bi, ^{131}I, ^{131}In, ^{90}Y 및 ^{186}Re를 포함한다.

[0194] 항체 및 세포독성제의 접합체는 다양한 2작용성 단백질-결합제, 예컨대 N-석신이미딜-3-(2-피리딜다이티올) 프로피오네이트(SPDP), 이미노티올란(IT), 이미도에스터의 2작용성 유도체(예컨대 다이메틸 아디피미데이트 HCL), 활성 에스터(예컨대 다이석신이미딜 수베레이트), 알데하이드(예컨대 글루타르알데하이드), 비스-아지도 화합물(예컨대 비스(p-아지도아지도벤조일) 헥산다이아민), 비스-다이아조늄 유도체(예컨대 비스-(p-다이아조늄벤조일)-에틸렌다이아민), 다이아이소사이아네이트(예컨대 톨루엔 2,6-다이아이소사이아네이트) 및 비스-활성 플루오린 화합물(예컨대 1,5-다이플루오로-2,4-다이나이트로벤젠)을 이용하여 만들어졌다. 예를 들어, 리신 면역독소는 문헌[Vitetta et al., Science 238: 1098 (1987)]에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다. 탄소-14-표지된 1-아이소티오사이아네이토벤질-3-메틸다이에틸렌 트라이아민펜타아세트산(MX-DTPA)은 항체에 대한 방사성뉴클레오타이드의 접합을 위한 예시적인 킬레이트제이다. (WO94/11026 참조).

[0195] 표 1은 본 명세서에 기재된 개시내용에서 사용될 수 있는 예시적인 약제학적 제제의 일부를 열거하지만, 배타적인 목록인 것을 의미하지는 않는다.

표 1

접합을 위한 예시적인 약제학적 제제

세포독성제	
아우리스타틴	터보스타틴
아우리스타틴 E	펜스타틴
모노메틸 아우리스타틴 D(MMAD)	하이드록시펜스타틴
모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE)	스펀지스타틴 5
데스메틸 아우리스타틴 E (DMAE)	스펀지스타틴 7
아우리스타틴 F	할리스타틴 1
모노메틸 아우리스타틴 F(MMAF)	할리스타틴 2
데스메틸 아우리스타틴 F(DMAF)	할리스타틴 3
아우리스타틴 유도체, 예를 들어, 이의 아마이드	변형된 브리오스타틴
아우리스타틴 티라민	할로컴스타틴
아우리스타틴 퀴놀린	피롤로벤지미다졸(PBI)
돌라스타틴	시브로스타틴 6
돌라스타틴 유도체	독살리폼
돌라스타틴 16 DmJ	안트라사이클린 유사체
돌라스타틴 16 Dpv	
메이탄시노이드, 예를 들어, DM-1; DM-4	
메이탄시노이드 유도체	세마도틴 유사체(CemCH2-SH)
듀오카마이신	슈도모나스 독소 A(PE38) 변이체
듀오카마이신 유도체	슈도모나스 독소 A (ZZ-PE38) 변이체

[0196]

알파-아마니틴
안트라사이클린
독소루비신

다우노루비신
브리오스타틴
캄토테신
캄토테신 유도체
7-치환된 캄토테신
10, 11- 다이플루오로메틸렌다이옥시캄토테신

콤브레스타틴
데브로모아플리시아톡신
카할라이드-F
디스코덜모라이드
에크테이나스시딘
항바이러스

아시클로비어
비라 A
시메트렐
항진균제
니스타틴

ZJ-101
OSW-1
06-벤질구아닌의 4- 나이트로벤질옥시카보닐 유도체

토포아이소머라제 저해제
헤미아스털린
세팔로탁신
호모하링토닌
피롤로벤조다이아제핀 이량체(PBD)
작용기화된 피롤로벤조다이아제펜

칼리케아마이신
포도필로톡신
탁산
빈카 알칼로이드
접합 가능한 검출 시약
플루오레세인 및 이의 유도체
플루오레세인 아이소티오사이아네이트(FITC)
방사성 의약품
^{125}I
^{131}I
^{89}Zr

[0197]

[0198]

	^{111}In
추가적인 항-신생물제	^{123}I
아드리아마이신	^{131}I
세루비딘	^{99m}Tc
블레오마이신	^{201}Tl
알케란	^{133}Xe
벨반	^{11}C
온코빈	^{62}Cu
플루오로유라실	^{18}F
메토트렉세이트	^{68}Ga
티오테파	^{13}N
비산트렌	^{15}O
노반트론	^{38}K
티오구아닌	^{82}Rb
프로카라비진	^{99m}Tc(테크네튬)
사이타라빈	
	중금속
항박테리아제	바륨
아미노글리코사이드	금
스트렙토마이신	백금
네오마이신	
카나마이신	**항-마이코플라즈마**
아미카신	틸로신
젠타마이신	스펙티노마이신
토브라마이신	

[0199]

스트렙토마이신 B	
스펙티노마이신	
암피실린	
설파닐아마이드	
폴리믹신	
클로람페니콜	

[0200] 당업자는 매우 다양한 가능한 모이어티가 본 개시내용의 얻어진 항체에 결합될 수 있다는 것을 인식할 것이다. (예를 들어, 문헌["Conjugate Vaccines", Contributions to Microbiology and Immunology, J. M. Cruse and R. E. Lewis, Jr (eds), Carger Press, New York, (1989)]을 참조하며, 이의 전체 내용은 본 명세서에 참고로 포함됨).

[0201] 일부 실시형태에서, AA는 1당량 이상의 제제에 접합된다. 일부 실시형태에서, AA는 1당량의 제제에 접합된다. 일부 실시형태에서, AA는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 당량 이상의 제제에 접합된다. 일부 실시형태에서, AA는

균일한 당량 수의 접합된 제제를 갖는 AA 혼합물의 부분이다. 일부 실시형태에서, AA는 불균일한 당량 수의 접합된 제제를 갖는 AA의 혼합물의 부분이다. 일부 실시형태에서, AA의 혼합물은 각각의 AA에 접합된 제제의 평균 수는 0 내지 1, 1 내지 2, 2 내지 3, 3 내지 4, 4 내지 5, 5 내지 6, 6 내지 7, 7 내지 8, 8 내지 9, 9 내지 10 및 10 이상인 것이다. 일부 실시형태에서, AA의 혼합물은 각각의 AA에 접합된 제제의 평균 수가 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 이상인 것이다. 일부 실시형태에서, 각각의 AA에 접합된 제제의 평균 수가 3 내지 4가 되는 AA의 혼합물이 있다. 일부 실시형태에서, 각각의 AA에 접합된 제제의 평균 수가 3.4 내지 3.8이 되는 AA의 혼합물이 있다. 일부 실시형태에서, 각각의 AA에 접합된 제제의 평균 수가 3.4 내지 3.6이 되는 AA의 혼합물이 있다. 일부 실시형태에서, 라이신 및/또는 시스테인 잔기의 수가 활성화 가능한 항체의 본래의 아미노산 서열에 대해 증가되거나 또는 감소되고, 그에 따라 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 항체에 접합될 수 있는 제제 수가 상응하여 증가되거나 감소되거나, 또는 일부 실시형태에서 부위-특이적 방식으로 AA에 대한 제제의 접합을 제한하도록, AA는 하나 이상의 부위-특이적 아미노산 서열 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변형된 AA는 부위 특이적 방식으로 하나 이상의 비천연 아미노산으로 변형되고, 그에 따라 일부 실시형태에서 비천연 아미노산의 부위에 대해서만 제제의 접합을 제한한다.

[0202] 접합된 활성화 가능한 항체를 생성하는 조성물 및 방법

[0203] 활성화 가능한 항-CD166 항체는 (접합된 AA를 생성하기 위한) 제제에 대한 적어도 하나의 접합 지점을 가진다. 일부 실시형태에서, 모든 가능한 접합 지점이 사용되지는 않는다. 일부 실시형태에서, 일부 자연적 접합 지점은 제제에 대한 접합을 위해 더 이상 이용 가능하지 않도록 변형되거나 또는 제거된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 접합 지점은 질소 원자, 예컨대 라이신의 엡실론 아미노기이다.

[0204] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 접합 지점은 이황화결합에 연루된 황 원자이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 접합 지점은 쇄간 이황화결합에 연루된 황 원자이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 접합 지점은 쇄간 이황화결합에 연루된 황 원자이지만, 쇄내 이황화결합에 연루된 황 원자는 아니다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 접합 지점은 시스테인 또는 황 원자를 함유하는 다른 아미노산 잔기의 황 원자이다. 이러한 잔기는 항체 구조에서 자연적으로 생길 수 있거나 또는 부위지정 돌연변이유발, 화학적 전환 또는 비천연 아미노산의 부정 편입(mis-incorporation)에 의해 항체 내로 편입될 수 있다.

[0205] 또한 AB에서 하나 이상의 쇄간 이황화결합 및 MM에서 하나 이상의 쇄내 이황화결합을 갖는 활성화 가능한 항-CD166 항체의 접합체를 제조하는 방법이 제공되며, 유리 티올과 반응성인 약물이 제공된다. 상기 방법은 일반적으로 환원제, 예를 들어, TCEP를 이용하여 AA에서 쇄간 이황화결합을 부분적으로 환원시키는 단계; 및 유리 티올과 반응성인 약물을 부분적으로 환원된 활성화 가능한 항체에 접합시키는 단계를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 부분적 환원은 활성화 가능한 항-CD166 항체가 환원제와 접촉되고 모든 이황화결합보다 적게, 예를 들어 모든 가능한 접합 부위보다 적게 환원되는 상황을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 모든 가능한 접합 부위의 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% 미만 또는 5% 미만이 환원된다.

[0206] 또 다른 실시형태에서, 제제, 예를 들어, 약물을 환원시키고 활성화 가능한 항-CD166 항체에 접합시켜 제제 배치에서 선택성을 야기하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 일반적으로 AA의 마스킹 모이어티 또는 다른 비-AB 부분에서의 임의의 접합 부위가 환원되지 않도록 환원제를 이용하여 활성화 가능한 항-CD166 항체를 부분적으로 환원시키는 단계, 및 AB에서 쇄간 티올에 제제를 접합시키는 단계를 포함한다. 목적하는 부위에서 접합이 일어나게 하는 제제의 목적한 배치를 가능하게 하기 위한 접합 부위(들)가 선택된다. 환원제는, 예를 들어, TCEP이다. MM이 비절단 상태에서 AA의 AB를 효과적이고 효율적으로 마스킹하는 능력을 보유하는 접합된 AA를 생성하는 조건을 확인함으로써 환원 반응 조건, 예를 들어, 환원제 대 활성화 가능한 항체의 비, 인큐베이션 길이, 인큐베이션 동안의 온도, 환원 반응 용액의 pH 등이 결정된다. 환원제 대 활성화 가능한 항-CD166 항체의 비는 활성화 가능한 항체에 따라 다를 것이다. 일부 실시형태에서, 환원제 대 활성화 가능한 항-CD166 항체의 비는 약 20:1 대 1:1, 약 10:1 대 1:1, 약 9:1 대 1:1, 약 8:1 대 1:1, 약 7:1 대 1:1, 약 6:1 대 1:1, 약 5:1 대 1:1, 약 4:1 대 1:1, 약 3:1 대 1:1, 약 2:1 대 1:1, 약 20:1 대 1:1.5, 약 10:1 대 1:1.5, 약 9:1 대 1:1.5, 약 8:1 대 1:1.5, 약 7:1 대 1:1.5, 약 6:1 대 1:1.5, 약 5:1 대 1:1.5, 약 4:1 대 1:1.5, 약 3:1 대 1:1.5, 약 2:1 대 1:1.5, 약 1.5:1 대 1:1.5, 또는 약 약 1:1 대 1:1.5의 범위일 것이다. 일부 실시형태에서, 비는 약 5:1 대 1:1의 범위이다. 일부 실시형태에서, 비는 약 5:1 대 1.5:1의 범위이다. 일부 실시형태에서, 비는 약 4:1 대 1:1의 범위이다. 일부 실시형태에서, 비는 약 4:1 대 1.5:1의 범위이다. 일부 실시형태에서, 비는 약 8:1 내지 약 1:1의 범위이다. 일부 실시형태에서, 비는 약 2.5:1 대 1:1의 범위이다.

[0207] 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 항-CD166 항체의 AB에서 쇄간 이황화결합을 환원시키고, 얻어진 쇄간 티올에 제제, 예를 들어, 티올-함유제, 예컨대 약물을 접합시켜 AB 상에 제제(들)를 선택적으로 위치시키는 방법이 제공된다. 상기 방법은 일반적으로 활성화 가능한 항체에서 모든 가능한 쇄간 티올을 형성하는 일 없이 환원제를 이용하여 AB를 부분적으로 환원시켜 적어도 2개의 쇄간 티올을 형성하는 단계; 및 부분적으로 환원된 AB의 쇄간 티올에 제제를 접합시키는 단계를 포함한다. 예를 들어, AA의 AB는 환원제:활성화 가능한 항체의 목적하는 비에서 약 37° C에서 약 1시간 동안 부분적으로 환원된다. 일부 실시형태에서, 환원제 대 AA의 비는 약 20:1 대 1:1, 약 10:1 대 1:1, 약 9:1 대 1:1, 약 8:1 대 1:1, 약 7:1 대 1:1, 약 6:1 대 1:1, 약 5:1 대 1:1, 약 4:1 대 1:1, 약 3:1 대 1:1, 약 2:1 대 1:1, 약 20:1 대 1:1.5, 약 10:1 대 1:1.5, 약 9:1 대 1:1.5, 약 8:1 대 1:1.5, 약 7:1 대 1:1.5, 약 6:1 대 1:1.5, 약 5:1 대 1:1.5, 약 4:1 대 1:1.5, 약 3:1 대 1:1.5, 약 2:1 대 1:1.5, 약 1.5:1 대 1:1.5, 또는 약 약 1:1 대 1:1.5의 범위일 것이다. 일부 실시형태에서, 비는 약 5:1 대 1:1의 범위이다. 일부 실시형태에서, 비는 약 5:1 대 1.5:1의 범위이다. 일부 실시형태에서, 비는 약 4:1 대 1:1의 범위이다. 일부 실시형태에서, 비는 약 4:1 대 1.5:1의 범위이다. 일부 실시형태에서, 비는 약 8:1 내지 약 1:1의 범위이다. 일부 실시형태에서, 비는 약 2.5:1 대 1:1의 범위이다.

[0208] 티올-함유 시약은, 예를 들어, 시스테인 또는 N-아세틸 시스테인일 수 있다. 환원제는, 예를 들어, TCEP일 수 있다. 일부 실시형태에서, 환원된 AA는, 예를 들어, 칼럼 크로마토그래피, 투석 또는 정용여과를 이용하여 접합 전에 정제될 수 있다. 대안적으로, 환원된 항체는 부분적 환원 후에 그리고 접합 전에 정제되지 않는다.

[0209] 본 발명은 또한 AA에서 적어도 하나의 쇄간 이황화결합이 활성화 가능한 항체에서 임의의 쇄내 이황화결합을 파괴하는 일 없이 환원제에 의해 감소된 부분적으로 환원된 활성화 가능한 항-CD166 항체를 제공하되, AA는 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB), 비절단 상태에서 AA의 AB가 CD166 표적에 결합하는 것을 저해하는 마스킹 모이어티(MM), 및 AB에 결합된 절단 가능한 모이어티(CM)를 포함하고, CM은 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 폴리펩타이드이다. 일부 실시형태에서, MM은 CM을 통해 AB에 결합된다. 일부 실시형태에서, AA의 하나 이상의 쇄내 이황화결합(들)은 환원제에 의해 파괴되지 않는다. 일부 실시형태에서, AA 내의 MM의 하나 이상의 쇄내 이황화결합(들)은 환원제에 의해 파괴되지 않는다. 일부 실시형태에서, AA는 비절단 상태에서 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열을 가진다: MM-CM-AB 또는 AB-CM-MM. 일부 실시형태에서, 환원제는 TCEP이다.

[0210] 본 개시내용은 또한 AA에서 적어도 하나의 쇄간 이황화결합이 활성화 가능한 항체에서 임의의 쇄내 이황화결합을 파괴하는 일 없이 환원제에 의해 감소된 부분적으로 환원된 AA를 제공하되, AA는 표적, 예를 들어, CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB), 비절단 상태에서 AA의 AB가 표적에 결합하는 것을 저해하는 마스킹 모이어티(MM), 및 AB에 결합된 절단 가능한 모이어티(CM)를 포함하고, CM은 적어도 1종의 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 폴리펩타이드이다. 일부 실시형태에서, MM은 CM을 통해 AB에 결합된다. 일부 실시형태에서, AA의 하나 이상의 쇄내 이황화결합(들)은 환원제에 의해 파괴되지 않는다. 일부 실시형태에서, AA 내의 MM의 하나 이상의 쇄내 이황화결합(들)은 환원제에 의해 파괴되지 않는다. 일부 실시형태에서, AA는 비절단 상태에서 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열을 가진다: MM-CM-AB 또는 AB-CM-MM. 일부 실시형태에서, 환원제는 TCEP이다.

[0211] 또 다른 실시형태에서, 제제, 예를 들어, 약물을 환원시키고, 정해진 수 및 위치의 라이신 및/또는 시스테인 잔기를 갖는 활성화 가능한 항-CD166 항체를 제공함으로써 활성화 가능한 항-CD166 항체에 접합시켜 제제 배치에서 선택성을 야기하는 방법이 제공된다. 일부 실시형태에서, 라이신 및/또는 시스테인 잔기의 정해진 수는 모 항체 또는 활성화 가능한 항체의 아미노산 서열에서 대응하는 잔기의 수보다 더 많거나 또는 더 적다. 일부 실시형태에서, 정해진 수의 라이신 및/또는 시스테인 잔기는 항-CD166 항체 또는 활성화 가능한 항-CD166 항체에 접합될 수 있는 정해진 수의 제제 등가물을 초래할 수 있다. 일부 실시형태에서, 정해진 수의 라이신 및/또는 시스테인 잔기는 부위-특이적 방식으로 항-CD166 항체 또는 활성화 가능한 항-CD166 항체에 접합될 수 있는 정해진 수의 제제 등가물을 초래할 수 있다. 일부 실시형태에서, 변형된 A는 부위 특이적 방식으로 하나 이상의 비천연 아미노산으로 변형되고, 그에 따라 일부 실시형태에서 비천연 아미노산의 부위에 대해서만 제제의 접합을 제한한다. 일부 실시형태에서, 정해진 수 및/또는 위치의 라이신 및/또는 시스테인 잔기를 갖는 항-CD166 항체 또는 활성화 가능한 항-CD166 항체는 본 명세서에서 논의되는 환원제에 의해 부분적으로 환원되어 마스킹 모이어티 또는 AA의 다른 비-AB 부위에서 임의의 접합 부위가 감소되지 않고, AB에서 쇄간 티올에 제제를 접합시킬 수 있다.

[0212] 항체 및 다른 모이어티가 그들 각각의 활성을 보유한다면, 2개의 분자에 결합하는 임의의 화학 반응에 의해 결합이 달성될 수 있다. 이 결합은 다수의 화학 메커니즘, 예를 들어, 공유결합, 친화도 결합, 개재

(intercalation), 배위결합 및 착물화를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 그러나, 결합은 공유결합이다. 공유결합은 존재하는 측쇄의 직접적 축합에 의해 또는 외부 브리징 분자의 편입에 의해 달성될 수 있다. 다수의 2가 또는 다가 연결제는 단백질 분자, 예컨대 본 개시내용의 항체를 다른 분자에 결합시키는 데 유용하다. 예를 들어, 대표적인 결합제는 유기 화합물, 예컨대 티오에스터, 카보다이이미드, 석신이미드 에스터, 다이아이소사이아네이트, 글루타르알데하이드, 다이아조벤젠 및 헥사메틸렌 다이아민을 포함할 수 있다. 이 목록은 당업계에 공지되어 있는 다양한 부류의 결합제를 제외하려는 의도가 아니며, 더 통상적인 결합제의 예시이다. (문헌 [Killen and Lindstrom, Jour. Immun. 133:1335-2549 (1984); Jansen et al., Immunological Reviews 62:185-216 (1982); 및 Vitetta et al., Science 238:1098 (1987)] 참조).

[0213] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 조성물 및 방법에 추가로, 접합된 AA는 또한 AA 서열에 삽입되거나 또는 달리 포함된 변형된 아미노산 서열을 통해 부위-특이적 접합을 위해 변형될 수 있다. 이들 변형된 아미노산 서열은 접합된 활성화 가능한 항체 내에서 접합된 제제의 제어된 배치 및/또는 투약량을 허용하도록 설계된다. 예를 들어, AA는 반응성 티올기를 제공하고 단백질 폴딩 및 조립에 부정적으로 영향을 미치지도 않고 항원 결합을 변경시키지도 않는 경쇄 및 중쇄 상의 위치에서 시스테인 치환을 포함하기 위해 조작될 수 있다. 일부 실시형태에서, AA는 접합을 위한 적합한 부위를 제공하기 위해 AA 내에 하나 이상의 비천연 아미노산 잔기를 포함하거나 또는 달리 도입하도록 조작될 수 있다. 일부 실시형태에서, AA는 AA 서열 내에서 활성화 가능한 펩타이드 서열을 효소적으로 포함하거나 또는 달리 도입하기 위해 조작될 수 있다.

[0214] 적합한 링커는 문헌에 기재되어 있다. (예를 들어, MBS(M-말레이미도벤조일-N-하이드록시석신이미드 에스터)의 사용을 기재하는 문헌[Ramakrishnan, S. et al., Cancer Res. 44:201-208 (1984)] 참조). 또한, 올리고펩타이드 링커의 방법에 의해 항체에 결합된 할로겐화된 아세틸 하이드라자이드 유도체의 사용을 기재하는 미국 특허 제5,030,719호. 일부 실시형태에서, 적합한 링커는 (i) EDC(1-에틸-3-(3-다이메틸아미노-프로필) 카보다이이미드 염산염; (ii) SMPT(4-석신이미딜옥시카보닐-알파-메틸-알파-(2-피리딜-다이티오)-톨루엔(피어스 켐. 코포레이션(Pierce Chem. Co.), 카탈로그 (21558G); (iii) SPDP(석신이미딜-6 [3-(2-피리딜다이티오) 프로피온아미도]헥사노에이트(피어스 켐. 코포레이션, 카탈로그 번호 21651G); (iv) 설포-LC-SPDP(설포석신이미딜 6 [3-(2-피리딜다이티오)-프로피온아마이드] 헥사노에이트(피어스 켐. 코포레이션 카탈로그 번호 2165-G); 및 (v) EDC에 접합된 설포-NHS(N-하이드록시설포-석신이미드: 피어스 켐. 코포레이션, 카탈로그 번호 24510)를 포함한다. 추가적인 링커는 SMCC((석신이미딜 4-(N-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카복실레이트), 설포-SMCC(설포석신이미딜 4-(N-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카복실레이트), SPDB(N-석신이미딜-4-(2-피리딜다이티오) 부타노에이트), 또는 설포-SPDB(N-석신이미딜-4-(2-피리딜다이티오)-2-설포 부타노에이트)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0215] 상기 기재한 링커는 상이한 속성을 갖는 성분을 함유하고, 따라서 물리-화학적 특성이 다른 접합체를 야기한다. 예를 들어, 알킬 카복실레이트의 설포-NHS 에스터는 방향족 카복실레이트의 설포-NHS 에스터보다 더 안정하다. NHS-에스터 함유 링커는 설포-NHS 에스터보다 덜 가용성이다. 추가로, 링커 SMPT는 입체장애가 있는 이황화결합을 함유하고, 증가된 안정성을 갖는 접합체를 형성할 수 있다. 이황화결합은, 일반적으로, 이황화결합은 시험관내에서 절단되기 때문에 다른 결합보다 덜 안정하고, 이용 가능한 접합체가 더 적어지게 된다. 설포-NHS는, 특히, 카보다이이미드 결합의 안정성을 향상시킬 수 있다. 카보다이이미드 결합(예컨대 EDC)은 설포-NHS와 접합되어 사용될 때, 카보다이이미드 결합 반응 단독보다 가수분해에 대해 더 저항성인 에스터를 형성한다. 예시적인 실시형태에서, 링커는 SPDB이다. 다른 예시적인 실시형태에서, 링커는 SPDB이고, 제제는 DM4이다.

[0216] 일부 실시형태에서, 링커는 절단 가능하다. 일부 실시형태에서, 링커는 절단 가능하지 않다. 일부 실시형태에서, 2개 이상의 링커가 존재한다. 2개 이상의 링커는 모두 동일하며, 즉, 절단 가능한 또는 절단 가능하지 않으며, 또는 2개 이상의 링커는 상이하며, 즉, 적어도 하나의 절단 가능하고 적어도 하나의 절단 가능하지 않다.

[0217] 본 개시내용은 AB에 제제를 부착하기 위해 몇몇 방법을 이용한다: (a) AB의 탄수화물 모이어티에 대한 부착, 또는 (b) AB의 설프하이드릴기에 대한 부착, 또는 (c) AB의 아미노기에 대한 부착, 또는 (d) AB의 카복실레이트기에 대한 부착. 본 개시내용에 따르면, AB는 하나의 반응기가 AB와 반응하고 하나의 반응기는 제제와 반응하는 적어도 2개의 반응기를 갖는 중간 링커를 통해 제제에 공유적으로 부착될 수 있다. AB(또는 제제)와의 반응이 AB 반응성 및 선택성에 유해하게 영향을 미치지 않도록 임의의 호환 가능한 유기 화합물을 포함할 수 있는 링커가 선택될 수 있다. 더 나아가, 제제에 대한 링커의 부착은 제제의 활성을 파괴하지 않을 수도 있다. 산화된 항체 또는 산화된 항체 단편과의 반응을 위한 적합한 링커는 1차 아민, 2차 아민, 하이드라진, 하이드라자이드, 하이드록실아민, 페닐하이드라진, 세미카바자이드 및 티오세미카바자이드 기로 이루어진 군으로부터 선택되는

아민을 함유하는 것을 포함한다. 이러한 반응성 작용기는 링커 구조의 부분으로서 존재할 수 있거나, 이러한 기를 함유하지 않는 링커의 적합한 화학적 변형에 의해 도입될 수 있다.

[0218] 본 개시내용에 따르면, 감소된 AB에 대한 부착을 위한 적합한 링커는 감소된 항체 또는 단편의 설프하이드릴기와 반응할 수 있는 특정 반응기를 갖는 것을 포함한다. 이러한 반응기는 반응성 할로알킬기(예를 들어, 할로아세틸기를 포함), p-머큐리벤조에이트기 및 마이클형(Michael-type) 첨가 반응을 할 수 있는 기(예를 들어, 문헌[Mitra and Lawton, 1979, J. Amer. Chem. Soc. 101: 3097-3110]에 의해 기재된 유형의 기 및 말레이미드를 포함)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0219] 본 개시내용에 따르면, 산화 또는 환원되지 않은 Ab에 대한 부착에 적합한 링커는 Ab에서 비변형된 라이신 잔기에 존재하는 1차 아미노기와 반응할 수 있는 특정 작용기를 갖는 것을 포함한다. 이러한 반응기는 NHS 카복실 또는 카보닉 에스터, 설포-NHS 카복실 또는 카보닉 에스터, 4-나이트로페닐 카복실산 또는 카보닉 에스터, 펜타플루오로페닐 카복실 또는 카보닉 에스터, 아실 이미다졸, 아이소사이아네이트 및 아이소티오사이아네이트를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0220] 본 개시내용에 따르면, 산화 또는 환원되지 않은 Ab에 대한 부착에 적합한 링커는 적합한 시약에 의해 활성화된 Ab에서 아스파르테이트 또는 글루타메이트 잔기에 존재하는 카복실산과 반응할 수 있는 특정 작용기를 갖는 것을 포함한다. 적합한 활성화 시약은 첨가된 NHS 또는 설포-NHS와 함께 또는 없이 EDC, 및 카보스아마이드 형성을 위해 이용되는 다른 탈수제를 포함한다. 이들 예에서, 적합한 링커에 존재하는 작용기는 1차 및 2차 아민, 하이드라진, 하이드록실아민 및 하이드라자이드를 포함한다.

[0221] 링커가 AB에 부착되기 전에 또는 후에 제제가 링커에 부착될 수 있다. 특정 적용에서, 링커가 결합된 제제가 없는 AB-링커 중간체를 처음 생성하는 것이 바람직할 수 있다. 특정 적용에 따라서, 이어서, 특정 제제가 링커에 공유적으로 부착될 수 있다. 일부 실시형태에서, AB는 MM, CM 및 결합된 링커에 처음 부착되고, 이어서, 접합 목적을 위해 링커에 부착된다.

[0222] *분지된 링커*: 구체적 실시형태에서, 제제의 부착을 위해 다중 부위를 갖는 분지된 링커가 이용된다. 다중 부위 링커에 대해, AB에 대한 단일 공유 부착은 다수 부위에서 결합할 수 있는 AB-링커 중간체를 생성할 것이다. 부위는 알데하이드 또는 설프하이드릴기일 수 있거나 또는 제제가 부착되는 임의의 화학적 부위일 수 있다.

[0223] 일부 실시형태에서, 더 높은 특이적 활성(또는 제제 대 AB의 더 높은 비)은 AB 상의 복수의 부위에서 단일 부위 링커의 부착에 의해 달성될 수 있다. 이런 복수의 부위는 2가지 방법 중 하나에 의해 AB에 도입될 수 있다. 첫째로, 동일한 AB에서 다중 알데하이드기 및/또는 설프하이드릴기를 생성할 수 있다. 둘째로, 링커에 대한 후속적 부착을 위해 다수의 작용 부위를 갖는 "분지된 링커"를 AB의 알데하이드 또는 설프하이드릴에 부착할 수 있다. 분지된 링커 또는 다수 부위 링커의 작용 부위는 알데하이드 또는 설프하이드릴기일 수 있거나, 링커가 부착될 수 있는 임의의 화학 부위일 수 있다. 이들 두 접근을 조합함으로써, 즉, AB 상의 몇몇 부위에서 다중 부위 링커를 부착함으로써 훨씬 더 높은 특이적 활성이 얻어질 수 있다.

[0224] *절단 가능한 링커*: u-플라스미노겐 활성체, 조직 플라스미노겐 활성체, 트립신, 플라스민, 또는 단백질 분해 활성을 갖는 다른 효소와 같지만, 이들로 제한되지 않는 상보체 시스템의 효소에 의한 절단이 쉬운 펩타이드 링커가 본 개시내용의 일 실시형태에서 사용될 수 있다. 본 개시내용의 한 가지 방법에 따르면, 제제는 상보체에 의한 절단이 쉬운 링커를 통해 부착된다. 항체는 상보체를 활성화시킬 수 있는 부류로부터 선택된다. 따라서 항체 제제 접합체는 상보체 캐스케이드를 활성화시키고, 표적 부위에서 제제를 방출한다. 본 개시내용의 다른 방법에 따르면, 제제는 단백질 분해 활성을 갖는 효소, 예컨대 u-플라스미노겐 활성체, 조직 플라스미노겐 활성체, 플라스민 또는 트립신에 의한 절단이 쉬운 링커를 통해 부착된다. 이들 절단 가능한 링커는 세포외 독소, 예를 들어, 비제한적 예로서, 표 1에 나타낸 임의의 세포외 독소를 포함하는 접합된 AA에서 유용하다.

[0225] 절단 가능한 링커 서열의 비제한적 예는 표 2에 제공된다.

표 2

접합을 위한 예시적인 링커 서열

절단 가능한 서열의 유형	아미노산 서열
플라스민 절단 가능한 서열	
프로-유로키나제	PRFKIIGG (서열번호 89)
	PRFRIIGG (서열번호 90)
TGFβ	SSRHRRALD (서열번호 91)
플라스미노겐	RKSSIIIRMRDVVL (서열번호 92)
스타필로키나제	SSSFDKGKYKKGDDA (서열번호 93)
	SSSFDKGKYKRGDDA (서열번호 94)
인자 Xa 절단 가능 서열	IEGR (서열번호 95)
	IDGR (서열번호 96)
	GGSIDGR (서열번호 97)
MMP 절단 가능 서열	
젤라티나제 A	PLGLWA (서열번호 98)
콜라게나제 절단 가능 서열	
송아지 피부 콜라겐(α1(I) 쇄)	GPQGIAGQ (서열번호 99)
송아지 피부 콜라겐(α2(I) 쇄)	GPQGLLGA (서열번호 100)
소 연골 콜라겐(α1(II) 쇄)	GIAGQ (서열번호 101)
인간 간 콜라겐(α1(III) 쇄)	GPLGIAGI (서열번호 102)
인간 α_2M	GPEGLRVG (서열번호 103)
인간 PZP	YGAGLGVV (서열번호 104)
	AGLGVVER (서열번호 105)

[0226]

	AGLGISST (서열번호 106)
래트 α1M	EPQALAMS (서열번호 107)
	QALAMSAI (서열번호 108)
래트 α2M	AAYHLVSQ (서열번호 109)
	MDAFLESS (서열번호 110)
래트 α1I3(2J)	ESLPVVAV (서열번호 111)
래트 α1I3(27J)	SAPAVESE (서열번호 112)
인간 섬유아세포 콜라게나제	DVAQFVLT (서열번호 113)
(자가융해 절단)	VAQFVLTE (서열번호 114)
	AQFVLTEG (서열번호 115)
	PVQPIGPQ (서열번호 116)

[0227]

[0228] 추가로, 제제는 이황화결합(예를 들어, 시스테인 분자 상의 이황화결합)을 통해 AB에 부착될 수 있다. 다수의 종양이 고수준의 글루타티온(환원제)을 자연적으로 방출하기 때문에, 이는 전달 부위에서의 제제의 후속적 방출과 함께 이황화결합을 환원시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, CM을 변형시키는 환원제는 또한 접합된 활성화 가능한 항체의 링커를 변형시킬 것이다.

[0229] *스페이서 및 절단 가능한 요소*: 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 항체의 제제와 AB 사이의 공간을 최적화하기 위한 방법에서 링커를 작제하는 것이 필수적일 수 있다. 이는 일반적 구조의 링커의 사용에 의해 달성될 수 있다:

[0230] $W - (CH_2)n - Q$

[0231] 여기서

[0232] W는 $--NH--CH_2--$ 또는 $--CH_2--$이고;

[0233] Q는 아미노산, 펩타이드이며; 그리고

[0234] n은 0 내지 20의 정수이다.

[0235] 일부 실시형태에서, 링커는 스페이서 요소 및 절단 가능한 요소를 포함할 수 있다. 절단 가능한 요소가 절단을 초래하는 효소에 대해 더 접근 가능하도록 스페이서 요소는 AB의 코어로부터 떨어져서 절단 가능한 요소를 위치시키는 작용을 한다. 상기 기재한 특정의 분지된 링커는 스페이서 요소로서 작용할 수 있다.

[0236] 본 논의 전체적으로, 제제에 대한 링커의(또는 절단 가능한 요소에 대한 스페이서 요소, 또는 제제에 대한 절단 가능한 요소의) 부착은 특정 부착 방식 또는 반응일 필요는 없다는 것이 이해되어야 한다. 적합한 안정성 및 생물학적 적합성의 산물을 제공하는 임의의 반응이 허용 가능하다.

[0237] *링커의 혈청 상보체 및 선택:* 본 개시내용의 일 방법에 따르면, 제제의 방출이 요망될 때, 상보체를 활성화시킬 수 있는 부류의 항체인 AB가 사용된다. 얻어진 접합체는 항원에 결합하고 상보체 캐스케이드를 활성화시키는 능력을 보유한다. 따라서, 본 개시내용의 본 실시형태에 따르면, 제제는 절단 가능한 링커 또는 절단 가능한 요소의 하나의 단부에 결합되고 링커 기의 다른 단부는 AB 상의 특정 부위에 부착된다. 예를 들어, 제제가 하이드록시기 또는 아미노기를 가진다면, 각각 에스터 또는 아마이드 결합을 통해 펩타이드, 아미노산 또는 다른 적합하게 선택된 링커의 카복시 말단에 부착될 수 있다. 예를 들어, 이러한 제제는 카보다이이미드 반응을 통해 링커 펩타이드에 부착될 수 있다. 제제가 링커에 대한 부착을 방해하는 작용기를 함유한다면, 이들 방해하는 작용기는 부착 전에 차단될 수 있고, 생성물 접합체 또는 중간체가 일단 만들어지면 차단되지 않을 수 있다. 이어서, 링커의 반대 또는 아미노 말단은 상보체를 활성화시킬 수 있는 AB에 결합을 위해 직접적으로 또는 추가적인 변형 후에 사용된다.

[0238] 링커(또는 링커의 스페이서 요소)는 활성화 가능한 항체의 AB 상의 특정 부위에 공유적으로 부착될 수 있는 임의의 목적하는 길이의 하나의 말단을 가질 수 있다. 링커 또는 스페이서 요소의 다른 단부는 아미노산 또는 펩타이드 링커에 부착될 수 있다.

[0239] 따라서 이들 접합체가 상보체의 존재 하에 항원에 결합할 때, 링커에 제제를 부착하는 아마이드 또는 에스터 결합은 절단되어 제제가 그의 활성 형태로 방출되도록 초래한다. 이들 접합체는 대상체에게 투여될 때, 표적 부위에서 제제의 전달 및 방출을 달성하고, 표 1에 제시된 것을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 약제학적 제제, 항생제, 항대사물질, 항증식제 등의 생체내 전달에 특히 효과적이다.

[0240] *상보체 활성화 없이 방출을 위한 링커* 표적화된 전달의 또 다른 적용에서, 상보체 캐스케이드의 활성화가 표적 세포를 궁극적으로 용해시키기 때문에 상보체 활성화가 없는 제제의 방출이 요망된다. 따라서, 이 접근은 표적 세포를 사멸시키는 일 없이 제제의 전달 및 방출이 달성되어야 할 때 유용하다. 이는 표적 세포에 대한 세포 매체체, 예컨대 호르몬, 효소, 코티코스테로이드, 신경전달물질, 유전자 또는 효소의 전달이 요망될 때의 목표이다. 이들 접합체는 혈청 프로테아제에 의한 절단이 약간 쉬운 링커를 통해 상보체를 활성화시킬 수 없는 AB에 제제를 부착함으로써 제조될 수 있다. 이 접합체가 개체에게 투여될 때, 항원-항체 복합체는 빠르게 형성되는 반면, 제제의 절단은 느리게 일어나며, 따라서, 표적 부위에서 화합물의 방출을 야기한다.

[0241] *생화학적 가교 링커*: 일부 실시형태에서, AA는 특정 생화학적 가교 링커를 이용하여 하나 이상의 치료제에 접합될 수 있다. 가교 시약은 두 상이한 분자의 작용기를 함께 묶는 분자 브리지를 형성한다. 단계적 방식으로 두 상이한 단백질을 연결하기 위해, 원치않는 동종중합체 형성을 제거하는 이형-2작용성 가교 링커가 사용될 수 있다.

[0242] 라이소좀 프로테아제에 의해 절단 가능한 펩타이딜 링커, 예를 들어, Val-Cit, Val-Ala 또는 다른 다이펩타이드가 유용하다. 추가로, 라이소좀의 낮은 pH 환경에서 절단 가능한 산-불안정 링커, 예를 들어: 비스-시알릴 에터가 사용될 수 있다. 다른 적합한 링커는 카텝신-불안정 기질, 특히 산성 pH에서 최적의 작용을 나타내는 것을 포함한다.

[0243] 예시적인 이형-2작용성 가교-링커가 표 3에 언급된다.

표 3

예시적인 이형-2작용성 가교 링커

이형-2작용성 가교 링커			
링커	반응성	이점 및 적용	가교 후 스페이서 아암 길이 (옹스트롬)
SMPT	1차 아민	보다 큰 안정성	11.2 Å
	설프하이드릴		
SPDP	1차 아민	티올화	6.8 Å
	설프하이드릴	절단 가능한 가교	
LC-SPDP	1차 아민	연장된 스페이서 아암	15.6 Å
	설프하이드릴		
설포-LC-SPDP	1차 아민	증량제 스페이서 아암	15.6 Å
	설프하이드릴	수용성	
SMCC	1차 아민	안정한 말레이미드 반응기	11.6 Å
	설프하이드릴	효소-항체 접합	

[0244]

		합텐-운반체 단백질 접합	
설포-SMCC	1 차 아민	안정한 말레이미드 반응기	11.6 Å
	설프하이드릴	수용성	
		효소-항체 접합	
MBS	1 차 아민	효소-항체 접합	9.9 Å
	설프하이드릴	합텐-운반체 단백질 접합	
설포-MBS	1 차 아민	수용성	9.9 Å
	설프하이드릴		
SIAB	1 차 아민	효소-항체 접합	10.6 Å
	설프하이드릴		
설포-SIAB	1 차 아민	수용성	10.6 Å
	설프하이드릴		
SMPB	1 차 아민	연장된 스페이서 아암	14.5 Å
	설프하이드릴	효소-항체 접합	
설포-SMPB	1 차 아민	연장된 스페이서 아암	14.5 Å
	설프하이드릴	수용성	
EDE/설포-NHS	1 차 아민	합텐-운반체 접합	0
	카복실기		
ABH	탄수화물	당기와 반응	11.9 Å
	비선택적		

[0245]

[0246] *절단 가능하지 않은 링커 또는 직접 부착*: 본 개시내용의 일부 실시형태에서, 제제가 표적에 전달되지만 방출되지 않도록 접합체가 설계될 수 있다. 이는 직접적으로 또는 절단 가능하지 않은 링커를 통해 AB에 제제를 부착시킴으로써 달성될 수 있다.

[0247] 이들 절단 가능하지 않은 링커는 후속적으로 본 명세서에 기재된 방법에 의해 AB에 대한 부착에서 이용될 수 있는 작용기를 포함하도록 변형될 수 있는 아미노산, 펩타이드, D-아미노산 또는 다른 유기 화합물을 포함할 수 있다. 이러한 유기 링커에 대한 일반식은 하기와 같을 수 있다,

[0248] $W - (CH_2)n - Q$

[0249] 여기서

[0250] W는 $--NH--CH_2--$ 또는 $--CH_2--$이고;

[0251] Q는 아미노산, 펩타이드이며; 그리고

[0252] n은 0 내지 20의 정수이다.

[0253] *절단 가능하지 않은 접합체*: 일부 실시형태에서, 화합물은 상보체를 활성화시키지 않는 AB에 부착될 수 있다. 상보체를 활성화시킬 수 없는 AB를 이용할 때, 이 부착은 활성화되는 상보체에 의한 절단이 쉬운 링커를 이용하여 또는 활성화된 상보체에 의한 절단이 쉽지 않은 링커를 이용하여 달성될 수 있다.

[0254] 본 명세서에 개시된 항체는 또한 면역리포좀으로서 제형화될 수 있다. 항체를 함유하는 리포좀은 문헌[Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985); Hwang et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA, 77: 4030

(1980)]; 및 미국 특허 제4,485,045호 및 제4,544,545호에 기재된 것과 같은 당업계에 공지된 방법에 의해 제조된다. 향상된 순환 시간을 갖는 리포좀은, 미국 특허 제5,013,556호에 개시되어 있다.

[0255] 특히 유용한 리포좀은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 PEG-유도체화된 포스파티딜에탄올아민(PEG-PE)을 포함하는 지질 조성물을 이용하는 역상 증발 방법에 의해 생성될 수 있다. 리포좀은 목적하는 직경을 갖는 리포좀을 수득하기 위해 정해진 기공 크기의 필터를 통해 압출된다. 본 개시내용 항체의 Fab' 단편은 문헌[Martin et al., J. Biol. Chem., 257: 286-288 (1982)]에 기재된 바와 같이 이황화물 교환 반응을 통해 리포좀에 접합될 수 있다.

[0256] 다중특이성 활성화 가능한 항체

[0257] 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체는 단일특이성이다.

[0258] 본 개시내용은 또한 다중특이성 항-CD166 활성화 가능한 항체를 제공한다. 따라서, 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체는 다중특이성, 예를 들어, 비제한적 예로서, 이중특이성 또는 삼중특이성이다. 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체는 프로-이중특이성 T 세포 관여자(BITE) 분자의 부분으로서 제형화된다. 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체는 프로-키메라 항원 수용체(CAR) 변형된 T 세포 또는 다른 조작된 수용체의 부분으로서 제형화된다.

[0259] 일부 실시형태에서, AA 또는 이의 항원-결합 단편은 다중특이성 AA 또는 이의 항원-결합 단편에 편입되며, 여기서 다중특이성 AA의 적어도 하나의 아암은 CD166에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, AA 또는 이의 항원-결합 단편은 이중특이성 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 편입되며, 여기서 이중특이성 AA의 적어도 하나의 아암은 CD166에 특이적으로 결합한다.

[0260] 본 명세서에 제공된 다중특이성 AA는 CD166 및 적어도 하나 이상의 상이한 항원 또는 에피토프를 인식하며, 항원 또는 에피토프-결합 도메인이 그의 표적에 결합하는 능력을 MM 결합이 감소시키도록 다중특이성 항체의 적어도 하나의 항원- 또는 에피토프-결합 도메인에 연결된 적어도 하나의 마스킹 모이어티(MM)를 포함하는, 다중특이성 항체이다. 일부 실시형태에서, MM은 적어도 1종의 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 절단 가능한 모이어티(CM)를 통해 다중특이성 항체의 항원- 또는 에피토프-결합 도메인에 결합된다. 본 명세서에 제공된 활성화 가능한 다중특이성 항체는 순환 시 안정하고, 치료 및/또는 진단의 의도된 부위에서 활성화되지만, 정상, 즉, 건강한 조직 또는 치료 및/또는 진단에 대해 표적화되지 않은 다른 조직에서는 안정하지 않으며, 활성화될 때, 대응하는, 비변형 항체와 적어도 비슷한 표적에 대한 결합을 나타낸다.

[0261] 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA는 본 명세서에서 다중특이성 활성화 가능한 항체에 맞물리는 면역-효과기 세포로도 지칭되는 면역 효과기 세포에 맞물리도록 설계된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA는 본 명세서에서 다중특이성 활성화 가능한 항체에 맞물리는 백혈구로도 지칭되는 백혈구에 맞물리도록 설계된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA는 본 명세서에서 다중특이성 활성화 가능한 항체에 맞물리는 T 세포로도 지칭되는 T 세포에 맞물리도록 설계된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA는 백혈구 상에서, 예컨대 T 세포 상에서, 자연 살해(NK) 세포 상에서, 골수성 단핵 세포 상에서, 거대세포 상에서 및/또는 다른 면역 효과기 세포 상에서 표면 항원에 맞물릴 수 있다. 일부 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 백혈구이다. 일부 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 T 세포이다. 일부 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 NK 세포이다. 일부 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 단핵 세포, 예컨대 골수성 단핵 세포이다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA는 본 명세서에서 다중-항원 표적화 활성화 가능한 항체로도 지칭되는 하나 초과의 표적 및/또는 하나 초과의 에피토프와 결합하거나 또는 달리 상호작용하도록 설계된다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "표적" 및 "항원"은 상호 호환적으로 사용된다.

[0262] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 다중특이성 AA와 맞물리는 면역 효과기 세포는 항체 또는 이의 항원-결합 부분과 맞물리는 CD166 및 면역 효과기 세포에 결합하는 표적화 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하며, 항체 또는 이의 항원-결합 부분에 맞물리는 표적화 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및/또는 면역 효과기 세포 중 적어도 하나는 마스킹된다. 일부 실시형태에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 맞물리는 면역 효과기 세포는 제1의, 표적에 맞물리는 면역 효과기 세포에 결합하는 제1 항체 또는 이의 항원-결합 단편(AB1)을 포함하며, 여기서, 마스킹 모이어티(MM1)의 결합이 제1 표적에 결합하는 AB1의 능력을 감소시키도록 AB1은 MM1에 부착된다. 일부 실시형태에서, 표적화 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 CD166에 결합하는 제2 항체 또는 이의 항원-결합 단편(AB2)을 포함하는 제2 항체 또는 이의 단편을 포함하며, 여기서 마스킹 모이어티(MM2)의 결합이 CD166에 결

합하는 AB2의 능력을 감소시키도록 AB2는 MM2에 부착된다. 일부 실시형태에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 맞물리는 면역 효과기 세포는 제1의, 표적에 맞물리는 면역 효과기 세포에 결합하는 제1 항체 또는 이의 항원-결합 단편(AB1)을 포함하며, 여기서, 마스킹 모이어티(MM1)의 결합이 제1 표적에 결합하는 AB1의 능력을 감소시키도록 AB1은 MM1에 부착되고, 표적화 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 CD166에 결합하는 제2 항체 또는 이의 항원-결합 단편(AB2)을 포함하는 제2 항체 또는 이의 단편을 포함하며, 여기서 마스킹 모이어티(MM2)의 결합이 CD166에 결합하는 AB2의 능력을 감소시키도록 AB2는 MM2에 부착된다. 일부 실시형태에서, 항체에 맞물리는 비-면역 효과기 세포는 암 표적화 항체이다. 일부 실시형태에서, 비-면역 세포 효과기 항체는 IgG이다. 일부 실시형태에서, 항체에 맞물리는 면역 효과기 세포는 scFv이다. 일부 실시형태에서, CD166-표적화 항체(예를 들어, 비면역 세포 효과기 항체)는 IgG이고, 항체에 맞물리는 면역 효과기 세포는 scFv이다. 일부 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 백혈구이다. 일부 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 T 세포이다. 일부 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 NK 세포이다. 일부 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 골수성 단핵 세포이다.

[0263] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 다중특이성 AA에 맞물리는 T-세포는 항체 또는 이의 항원-결합 부분에 맞물리는 CD166-표적화 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 T-세포를 포함하며, 항체 또는 이의 항원-결합 부분에 맞물리는 CD166-표적화 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및/또는 T-세포 중 적어도 하나는 마스킹된다. 일부 실시형태에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 맞물리는 T-세포는 제1의, 표적에 맞물리는 T-세포에 결합하는 제1 항체 또는 이의 항원-결합 단편(AB1)을 포함하며, 여기서, 마스킹 모이어티(MM1)의 결합이 제1 표적에 결합하는 AB1의 능력을 감소시키도록 AB1은 MM1에 부착된다. 일부 실시형태에서, 표적화 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 CD166에 결합하는 제2 항체 또는 이의 항원-결합 단편(AB2)을 포함하는 제2 항체 또는 이의 단편을 포함하며, 여기서 마스킹 모이어티(MM2)의 결합이 CD166에 결합하는 AB2의 능력을 감소시키도록 AB2는 MM2에 부착된다. 일부 실시형태에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 맞물리는 T-세포는 제1의, 표적에 맞물리는 T-세포에 결합하는 제1 항체 또는 이의 항원-결합 단편(AB1)을 포함하며, 여기서, 마스킹 모이어티(MM1)의 결합이 제1 표적에 결합하는 AB1의 능력을 감소시키도록 AB1은 MM1에 부착되고, 표적화 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 CD166에 결합하는 제2 항체 또는 이의 항원-결합 단편(AB2)을 포함하는 제2 항체 또는 이의 단편을 포함하며, 여기서 마스킹 모이어티(MM2)의 결합이 CD166에 결합하는 AB2의 능력을 감소시키도록 AB2는 MM2에 부착된다.

[0264] 다중특이성 활성화 가능한 항체에 맞물리는 면역 효과기 세포의 일부 실시형태에서, 하나의 항원은 CD166이고, 다른 항원은 전형적으로 T-세포, 자연 살해(NK) 세포, 골수성 단핵 세포, 대식세포, 및/또는 다른 면역 효과기 세포의 표면 상에 존재하는 자극 또는 저해 수용체, 예컨대, 이하로 제한되는 것은 아니지만, B7-H4, BTLA, CD3, CD4, CD8, CD16a, CD25, CD27, CD28, CD32, CD56, CD137, CTLA-4, GITR, HVEM, ICOS, LAG3, NKG2D, OX40, PD-1, TIGIT, TIM3 또는 VISTA이다. 일부 실시형태에서, 항원은 T 세포 또는 NK 세포 표면 상에 존재하는 자극 수용체이며; 이러한 자극 수용체의 예는 CD3, CD27, CD28, CD137(또한 4-1BB로서 지칭됨), GITR, HVEM, ICOS, NKG2D 및 OX40을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 항원은 T-세포의 표면 상에 존재하는 저해 수용체이며; 이러한 저해 수용체의 예는 BTLA, CTLA-4, LAG3, PD-1, TIGIT, TIM3, 및 NK-발현 KIR을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. T-세포 표면 항원에 특이성을 부여하는 항체 도메인은 또한 T-세포 수용체, NK-세포 수용체, 대식세포 수용체, 및/또는 다른 면역 효과기 세포 수용체, 예컨대, 이하로 제한되는 것은 아니지만, B7-1, B7-2, B7H3, PDL1, PDL2 또는 TNFSF9에 결합하는 리간드 또는 리간드 도메인에 의해 치환될 수 있다.

[0265] 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA에 맞물리는 T-세포는 항-CD3 엡실론(CD3ε, 또한 본 명세서에서 CD3e 및 CD3으로 지칭됨) scFv 및 표적화 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하며, 여기서 항-CD3ε scFv 및/또는 표적화 항체 또는 이의 항원-결합 부분 중 적어도 하나는 마스킹된다. 일부 실시형태에서, CD3ε scFv는 CD3ε에 결합하는 제1 항체 또는 이의 항원-결합 단편(AB1)을 포함하며, 여기서, MM1의 결합이 CD3ε에 결합하는 AB1의 능력을 감소시키도록 AB1은 마스킹 모이어티(MM1)에 부착된다. 일부 실시형태에서, 표적화 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 CD166에 결합하는 제2 항체 또는 이의 항원-결합 단편(AB2)을 포함하는 제2 항체 또는 이의 단편을 포함하며, 여기서 마스킹 모이어티(MM2)의 결합이 CD166에 결합하는 AB2의 능력을 감소시키도록 AB2는 MM2에 부착된다. 일부 실시형태에서, CD3ε scFv는 CD3ε에 결합하는 제1 항체 또는 이의 항원-결합 단편(AB1)을 포함하며, 여기서, 마스킹 모이어티(MM1)의 결합이 CD3ε에 결합하는 AB1의 능력을 감소시키도록 AB1은 MM1에 부착되고, 표적화 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 CD166에 결합하는 제2 항체 또는 이의 항원-결합 단편(AB2)을 포함하는 제2 항체 또는 이의 단편을 포함하며, 여기서 마스킹 모이어티(MM2)의 결합이 CD166에 결합하는 AB2의 능력을 감소시키도록 AB2는 MM2에 부착된다.

[0266] 일부 실시형태에서, 다중-항원 표적화 항체 및/또는 다중-항원 표적화 AA는 제1 표적 및/또는 제1 에피토프에 결합하는 적어도 제1 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 제2 표적 및/또는 제2 에피토프에 결합하는 제2 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 일부 실시형태에서, 다중-항원 표적화 항체 및/또는 다중-항원 표적화 AA는 2개 이상의 상이한 표적에 결합한다. 일부 실시형태에서, 다중-항원 표적화 항체 및/또는 다중-항원 표적화 AA는 동일한 표적 상의 2개 이상의 상이한 에피토프에 결합한다. 일부 실시형태에서, 다중-항원 표적화 항체 및/또는 다중-항원 표적화 AA는 2개 이상의 상이한 표적 및 동일한 표적 상의 2개 이상의 상이한 에피토프의 조합에 결합한다.

[0267] 일부 실시형태에서, IgG를 포함하는 다중특이성 AA는 마스킹된 IgG 가변 도메인을 가진다. 일부 실시형태에서, scFv를 포함하는 다중특이성 AA는 마스킹된 scFv 가변 도메인을 가진다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA는 IgG 가변 도메인과 scFv 도메인을 둘 다 가지며, IgG 가변 도메인 중 적어도 하나는 마스킹 모이어티에 결합된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA는 IgG 가변 도메인과 scFv 도메인을 둘 다 가지며, scFv 가변 도메인 중 적어도 하나는 마스킹 모이어티에 결합된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA는 IgG 가변 도메인과 scFv 도메인을 둘 다 가지며, IgG 가변 도메인 중 적어도 하나가 마스킹 모이어티에 결합되고 scFv 도메인 중 적어도 하나가 마스킹 모이어티에 결합된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA는 IgG 가변 도메인과 scFv 도메인을 둘 다 가지며, IgG 가변 도메인 및 scFv 도메인 각각은 그 자체의 마스킹 모이어티에 결합된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA의 하나의 항체 도메인은 표적 항원에 대해 특이성을 가지며, 다른 항체 도메인은 T-세포 표면 항원에 대해 특이성을 가진다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA의 하나의 항체 도메인은 표적 항원에 대해 특이성을 가지며, 다른 항체 도메인은 다른 표적 항원에 대해 특이성을 가진다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA의 하나의 항체 도메인은 표적 항원의 에피토프에 대해 특이성을 가지며, 다른 항체 도메인은 표적 항원의 다른 에피토프에 대해 특이성을 가진다.

[0268] 다중특이성 활성화 가능한 항체에서, scFv는 IgG 활성화 가능한 항체의 중쇄의 카복실 말단에, IgG 활성화 가능한 항체의 경쇄의 카복실 말단에, 또는 IgG 활성화 가능한 항체의 중쇄와 경쇄 둘 다의 카복실 말단에 융합될 수 있다. 다중특이성 활성화 가능한 항체에서, scFv는 IgG 활성화 가능한 항체의 중쇄의 아미노 말단에, IgG 활성화 가능한 항체의 경쇄의 아미노 말단에, 또는 IgG 활성화 가능한 항체의 중쇄와 경쇄 둘 다의 아미노 말단에 융합될 수 있다. 다중특이성 활성화 가능한 항체에서, scFv는 IgG 활성화 가능한 항체의 하나 이상의 카복실 말단 및 하나 이상의 아미노 말단의 임의의 조합에 융합될 수 있다. 일부 실시형태에서, 절단 가능한 모이어티(CM)에 연결된 마스킹 모이어티(MM)는 IgG의 항원 결합 모이어티에 부착되고 항원 결합 도메인을 가린다. 일부 실시형태에서, 절단 가능한 모이어티(CM)에 연결된 마스킹 모이어티(MM)는 적어도 하나의 scFv의 항원 결합 모이어티에 부착되고 항원 결합 도메인을 가린다. 일부 실시형태에서, 절단 가능한 모이어티(CM)에 연결된 마스킹 모이어티(MM)는 IgG의 항원 결합 도메인에 부착되거나 이를 마스킹하고, 절단 가능한 모이어티(CM)에 연결된 마스킹 모이어티(MM)는 적어도 하나의 scFv의 항원 결합 도메인에 부착되고 이를 가린다.

[0269] 본 개시내용은 다음을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 다중특이성 AA 구조의 예를 제공한다: $(VL\text{-}CL)_2$:$(VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3\text{-}L4\text{-}VH*\text{-}L3\text{-}VL*\text{-}L2\text{-}CM\text{-}L1\text{-}MM)_2$; $(VL\text{-}CL)_2$:$(VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3\text{-}L4\text{-}VL*\text{-}L3\text{-}VH*\text{-}L2\text{-}CM\text{-}L1\text{-}MM)_2$; $(MM\text{-}L1\text{-}CM\text{-}L2\text{-}VL\text{-}CL)_2$:$(VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3\text{-}L4\text{-}VH*\text{-}L3\text{-}VL*)_2$; $(MM\text{-}L1\text{-}CM\text{-}L2\text{-}VL\text{-}CL)_2$:$(VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3\text{-}L4\text{-}VL*\text{-}L3\text{-}VH*)_2$; $(VL\text{-}CL)_2$:$(MM\text{-}L1\text{-}CM\text{-}L2\text{-}VL*\text{-}L3\text{-}VH*\text{-}L4\text{-}VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3)_2$; $(VL\text{-}CL)_2$:$(MM\text{-}L1\text{-}CM\text{-}L2\text{-}VH*\text{-}L3\text{-}VL*\text{-}L4\text{-}VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3)_2$; $(MM\text{-}L1\text{-}CM\text{-}L2\text{-}VL\text{-}CL)_2$:$(VL*\text{-}L3\text{-}VH*\text{-}L4\text{-}VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3)_2$; $(MM\text{-}L1\text{-}CM\text{-}L2\text{-}VL\text{-}CL)_2$:$(VH*\text{-}L3\text{-}VL*\text{-}L4\text{-}VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3)_2$; $(VL\text{-}CL\text{-}L4\text{-}VH*\text{-}L3\text{-}VL*\text{-}L2\text{-}CM\text{-}L1\text{-}MM)_2$:$(VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3)_2$; $(VL\text{-}CL\text{-}L4\text{-}VL*\text{-}L3\text{-}VH*\text{-}L2\text{-}CM\text{-}L1\text{-}MM)_2$:$(VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3)_2$; $(MM\text{-}L1\text{-}CM\text{-}L2\text{-}VL*\text{-}L3\text{-}VH*\text{-}L4\text{-}VL\text{-}CL)_2$:$(VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3)_2$; $(MM\text{-}L1\text{-}CM\text{-}L2\text{-}VH*\text{-}L3\text{-}VL*\text{-}L4\text{-}VL\text{-}CL)_2$:$(VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3)_2$; $(VL\text{-}CL\text{-}L4\text{-}VH*\text{-}L3\text{-}VL*\text{-}L2\text{-}CM\text{-}L1\text{-}MM)_2$: $(MM\text{-}L1\text{-}CM\text{-}L2\text{-}VL*\text{-}L3\text{-}VH*\text{-}L4\text{-}VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3)_2$; $(VL\text{-}CL\text{-}L4\text{-}VH*\text{-}L3\text{-}VL*\text{-}L2\text{-}CM\text{-}L1\text{-}MM)_2$: $(MM\text{-}L1\text{-}CM\text{-}L2\text{-}VH*\text{-}L3\text{-}VL*\text{-}L4\text{-}VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3)_2$; $(VL\text{-}CL\text{-}L4\text{-}VL*\text{-}L3\text{-}VH*\text{-}L2\text{-}CM\text{-}L1\text{-}MM)_2$: $(MM\text{-}L1\text{-}CM\text{-}L2\text{-}VL*\text{-}L3\text{-}VH*\text{-}L4\text{-}VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3)_2$; $(VL\text{-}CL\text{-}L4\text{-}VL*\text{-}L3\text{-}VH*\text{-}L2\text{-}CM\text{-}L1\text{-}MM)_2$: $(MM\text{-}L1\text{-}CM\text{-}L2\text{-}VH*\text{-}L3\text{-}VL*\text{-}L4\text{-}VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3)_2$; $(VL\text{-}CL\text{-}L4\text{-}VH*\text{-}L3\text{-}VL*)_2$: $(MM\text{-}L1\text{-}CM\text{-}L2\text{-}VL*\text{-}L3\text{-}VH*\text{-}L4\text{-}VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3)_2$; $(VL\text{-}CL\text{-}L4\text{-}VH*\text{-}L3\text{-}VL*)_2$: $(MM\text{-}L1\text{-}CM\text{-}L2\text{-}VH*\text{-}L3\text{-}VL*\text{-}L4\text{-}VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3)_2$; $(VL\text{-}CL\text{-}L4\text{-}VL*\text{-}L3\text{-}VH*)_2$: $(MM\text{-}L1\text{-}CM\text{-}L2\text{-}VL*\text{-}L3\text{-}VH*\text{-}L4\text{-}VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3)_2$; $(VL\text{-}CL\text{-}L4\text{-}VL*\text{-}L3\text{-}VH*)_2$: $(MM\text{-}L1\text{-}CM\text{-}L2\text{-}VH*\text{-}L3\text{-}VL*\text{-}L4\text{-}VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3)2$; $(VL\text{-}CL\text{-}L4\text{-}VH*\text{-}L3\text{-}VL*\text{-}L2\text{-}CM\text{-}L1\text{-}MM)_2$: $(VL*\text{-}L3\text{-}VH*\text{-}L4\text{-}VH\text{-}CH1\text{-}CH2\text{-}CH3)_2$; $(VL\text{-}CL\text{-}L4\text{-}$

VH*-L3-VL*-L2-CM-L1-MM)$_2$: (VH*-L3-VL*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)$_2$; (VL-CL-L4-VL*-L3-VH*-L2-CM-L1-MM)$_2$: (VL*-L3-VH*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)$_2$; 또는 (VL-CL-L4-VL*-L3-VH*-L2-CM-L1-MM)$_2$: (VH*-L3-VL*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)$_2$, 여기서: VL 및 VH는 IgG에 함유된 제1 특이성의 경쇄 및 중쇄 가변 도메인을 나타내고; VL* 및 VH*는 scFv에 함유된 제2 특이성의 가변 도메인을 나타내며; L1은 마스킹 모이어티(MM)와 CM(CM)을 연결하는 링커 펩타이드이고; L2는 CM(CM)과 항체를 연결하는 링커 펩타이드이며; L3은 scFv의 가변 도메인을 연결하는 링커 펩타이드이고; L4는 제1 특이성의 항체를 제2 특이성의 항체에 연결하는 링커 펩타이드이며; CL은 경쇄 불변 도메인이고; CH1, CH2, CH3은 중쇄 불변 도메인이다. 제1 특이성 및 제2 특이성은 임의의 항원 또는 에피토프로 향할 수 있다.

[0270] 다중특이성 활성화 가능한 항체에 맞물리는 T 세포의 일부 실시형태에서, 하나의 항원은 CD166이고, 다른 항원은 전형적으로 T-세포, 자연 살해(NK) 세포, 골수성 단핵 세포, 대식세포, 및/또는 다른 면역 효과기 세포의 표면 상에 존재하는 자극(또한 본 명세서에서 활성화로서 지칭됨) 또는 저해 수용체, 예컨대, 이하로 제한되는 것은 아니지만, B7-H4, BTLA, CD3, CD4, CD8, CD16a, CD25, CD27, CD28, CD32, CD56, CD137(또한 TNFRSF9로서 지칭됨), CTLA-4, GITR, HVEM, ICOS, LAG3, NKG2D, OX40, PD-1, TIGIT, TIM3 또는 VISTA이다. T-세포 표면 항원에 특이성을 부여하는 항체 도메인은 또한 T-세포 수용체, NK-세포 수용체, 대식세포 수용체, 및/또는 다른 면역 효과기 세포 수용체에 결합하는 리간드 또는 리간드 도메인에 의해 치환될 수 있다.

[0271] 일부 실시형태에서, 표적화 항체는 본 명세서에 개시된 항-CD166 항체이다. 일부 실시형태에서, 표적화 항체는 활성화 가능한 항체의 형태일 수 있다. 일부 실시형태에서, scFv(들)은 프로-scFv의 형태일 수 있다(예를 들어, WO 2009/025846, WO 2010/081173 참조).

[0272] 일부 실시형태에서, scFv는 CD3ε에 결합하는데 특이적이고, CD3ε에 결합하는 항체 또는 이의 단편, 예를 들어, CH2527, FN18, H2C, OKT3, 2C11, UCHT1, 또는 V9를 포함하거나 이로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, scFv는 CTLA-4(또한 본 명세서에서 CTLA 및 CTLA4로서 지칭됨)에 결합하는 데 특이적이다.

[0273] 일부 실시형태에서, 항-CTLA-4 scFv는 하기의 아미노산 서열을 포함한다:

항 -CTLA-4 scFv

GGGSGGGGSGSGGGSGGGGSGGGEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW
YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPL
TFGGGTKVEIKRSGGSTITSYNVYYTKLSSSGTQVQLVQTGGGVVQPGRSLRLSCAAS
GSTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM
NSLRAEDTAVYYCATNSLYWYFDLWGRGTLVTVSSAS (서열번호 117)

[0274]

[0275] 일부 실시형태에서, 항-CTLA-4 scFv는 서열번호 117의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0276] 일부 실시형태에서, 항-CD3ε scFv는 하기의 아미노산 서열을 포함한다:

항 -CD3ε scFv

GGGSGGGGSGSGGGSGGGGSGGGQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTM
HWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSA
VYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQIVLTQSPAIMSASP
GEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTSYSLTI
SGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEINR (서열번호 118)

[0277]

[0278] 일부 실시형태에서, 항-CD3ε scFv는 서열번호 118의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0279] 일부 실시형태에서, scFv는 하나 이상의 T-세포, 하나 이상의 NK-세포 및/또는 하나 이상의 대식세포에 결합하는 데 특이적이다. 일부 실시형태에서, scFv는 B7-H4, BTLA, CD3, CD4, CD8, CD16a, CD25, CD27, CD28, CD32, CD56, CD137, CTLA-4, GITR, HVEM, ICOS, LAG3, NKG2D, OX40, PD-1, TIGIT, TIM3 또는 VISTA로 이루어진 군으로부터 선택된 표적에 결합하는 데 특이적이다.

[0280] 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA는 또한 AB에 접합되는 제제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제제는 치료제이다. 일부 실시형태에서, 제제는 항신생물제이다. 일부 실시형태에서, 제제는 독소 또는 이의 단편이다. 일부 실시형태에서, 제제는 링커를 통해 다중특이성 AA에 접합된다. 일부 실시형태에서, 제제는 절단 가능한 링커를 통해 AB에 접합된다. 일부 실시형태에서, 링커는 절단 가능하지 않은 링커이다. 일부 실시형태에서, 제제는 미세소관 저해제이다. 일부 실시형태에서, 제제는 핵산 손상제, 예컨대 DNA 알킬화제 또는 DNA 삽입제(intercalator) 또는 다른 DNA 손상제이다. 일부 실시형태에서, 링커는 절단 가능한 링커이다. 일부 실시형태에서, 제제는 표 1에 열거된 그룹으로부터 선택되는 제제이다. 일부 실시형태에서, 제제는 돌라스타틴이다. 일부 실시형태에서, 제제는 아우리스타틴 또는 이의 유도체이다. 일부 실시형태에서, 제제는 아우리스타틴 E 또는 이의 유도체이다. 일부 실시형태에서, 제제는 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE)이다. 일부 실시형태에서, 제제는 모노메틸 아우리스타틴 D(MMAD)이다. 일부 실시형태에서, 제제는 메이탄시노이드 또는 메이탄시노이드 유도체이다. 일부 실시형태에서, 제제는 DM1 또는 DM4이다. 일부 실시형태에서, 제제는 듀오카마이신 또는 이의 유도체이다. 일부 실시형태에서, 제제는 칼리케아마이신 또는 이의 유도체이다. 일부 실시형태에서, 제제는 피롤로벤조다이아제핀이다. 일부 실시형태에서, 제제는 피롤로벤조다이아제핀 이량체이다.

[0281] 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA는 또한 검출 가능한 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 검출 가능한 모이어티는 진단제이다.

[0282] 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA는 하나 이상의 이황화결합을 자연적으로 함유한다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA는 하나 이상의 이황화결합을 포함하도록 조작될 수 있다.

[0283] 본 개시내용은 또한 본 명세서에 기재된 다중특이성 AA를 암호화하는 단리된 핵산 분자뿐만 아니라 이들 단리된 핵산 서열을 포함하는 벡터를 제공한다. 본 개시내용은 활성화 가능한 항체의 발현을 야기하는 조건 하에 세포를 배양시킴으로써 다중특이성 AA를 생성하는 방법을 제공하되, 세포는 이러한 핵산 분자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포는 이러한 벡터를 포함한다.

[0284] 본 개시내용은 또한 (a) 다중특이성의 활성화 가능한 발현을 유도하는 조건 하에 다중특이성 AA를 암호화하는 핵산 작제물을 포함하는 세포를 배양시키는 단계, 및 (b) 다중특이성 활성화 가능한 항체를 회수하는 단계에 의해 본 개시내용의 다중특이성 AA를 제조하는 방법을 제공한다. 적합한 AB, MM 및/또는 CM은 본 명세서에 개시된 임의의 AB, MM 및/또는 CM을 포함한다.

[0285] 본 개시내용은 또한 제1 표적 또는 제1 에피토프에 특이적으로 결합하는 적어도 제1 항체 또는 이의 항원-결합 단편(AB1) 및 제2 표적 또는 제2 에피토프에 특이적으로 결합하는 적어도 제2 항체 또는 이의 항원-결합 단편(AB2)을 포함하는 다중특이성 AA 및/또는 다중특이성 AA 조성물을 제공하며, AB1이 표적에 결합하는 능력을 MM1의 결합이 감소시키도록 적어도 AB1은 마스킹 모이어티(MM1)에 결합되거 또는 달리 부착된다. 일부 실시형태에서, MM1은 프로테아제, 예를 들어, 대상체에서의 치료 부위 또는 진단 부위에서 AB1의 표적과 공동 국소화되는 프로테아제에 대한 기질을 포함하는 제1 절단 가능한 모이어티(CM1) 서열을 통해 AB1에 결합된다. 본 명세서에 제공된 다중특이성 AA는 순환 시 안정하고, 치료 및/또는 진단의 의도된 부위에서 활성화되지만, 정상, 즉, 건강한 조직 또는 치료 및/또는 진단에 대해 표적화되지 않은 다른 조직에서는 안정하지 않으며, 활성화될 때, 대응하는, 비변형 항체와 적어도 비슷한 AB1의 표적에 대한 결합을 나타낸다. 적합한 AB, MM 및/또는 CM은 본 명세서에 개시된 임의의 AB, MM 및/또는 CM을 포함한다.

[0286] 본 개시내용은 또한 표적에 특이적으로 결합하는 적어도 제1 항체 또는 항체 단편(AB1) 및 제2 항체 또는 항체 단편(AB2)을 포함하는 다중특이성 AA를 포함하는 조성물 및 방법을 제공하며, 다중특이성 AA에서 적어도 제1 AB는 AB1이 표적에 결합하는 능력을 감소시키는 마스킹 모이어티(MM1)에 결합된다. 일부 실시형태에서, AB가 각각의 표적에 대응하는 능력을 감소시키는 MM에 각각의 AB가 결합된다. 예를 들어, 이중특이성 AA 실시형태에서, AB1은 AB1이 표적에 결합하는 능력을 감소시키는 제1 마스킹 모이어티(MM1)에 결합되고, AB2는 AB2가 표적에 결합하는 능력을 감소시키는 제2 마스킹 모이어티(MM2)에 결합된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA는 2개 초과의 AB 영역을 포함하고; 이러한 실시형태에서, AB1이 표적에 결합하는 능력을 감소시키는 제1 마스킹 모이어티(MM1)에 AB1이 결합되고, AB2가 표적에 결합하는 능력을 감소시키는 제2 마스킹 모이어티(MM2)에 AB2가 결합되며, AB3이 표적에 결합하는 능력을 감소시키는 제3 마스킹 모이어티(MM3)에 AB3이 결합되고, 이후에도 다중특이성 활성화 가능한 항체에서 각각의 AB에 대해 같은 방식이 적용된다. 적합한 AB, MM 및/또는 CM은 본 명세서에 개시된 임의의 AB, MM 및/또는 CM을 포함한다.

[0287] 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA는 추가로 프로테아제에 대한 기질인 적어도 하나의 절단 가능한 모이어티(CM)를 포함하며, 여기서 CM은 MM을 AB에 연결한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA는 표적에 특

이적으로 결합하는 적어도 제1 항체 또는 항체 단편(AB1) 및 제2 항체 또는 항체 단편(AB2)을 포함하며, 다중특이성 AA에서 적어도 제1 AB는 제1 절단 가능한 모이어티(CM1)를 통해, AB1을 표적에 결합하는 능력을 감소시키는 마스킹 모이어티(MM1)에 결합된다. 일부 이중특이성 AA 실시형태에서, AB1은 CM1을 통해 MM1에 결합되고, 제2 절단 가능한 모이어티(CM2)를 통해 표적에 결합하는 AB2의 능력을 감소시키는 제2 마스킹 모이어티(MM2)에 AB2가 결합된다. 일부 실시형태에서, 다중특이성 AA는 2개 초과의 AB 영역을 포함하고; 일부 이들 실시형태에서, AB1는 CM1을 통해 MM1에 결합되며, AB2는 CM2를 통해 MM2에 결합되고, AB3이 표적에 결합하는 능력을 감소시키는 제3 마스킹 모이어티(MM3)에 제3 절단 가능한 모이어티(CM3)를 통해 AB3이 결합되고, 이후에도 다중특이성 활성화 가능한 항체에서 각각의 AB에 대해 같은 방식이 적용된다. 적합한 AB, MM 및/또는 CM은 본 명세서에 개시된 임의의 AB, MM 및/또는 CM을 포함한다.

[0288] 비결합 입체장애 모이어티 또는 비결합 입체장애 모이어티에 대한 결합 상태를 갖는 활성화 가능한 항체

[0289] 본 개시내용은 또한 비-결합 입체 모이어티(non-binding steric moiety: NB) 또는 비결합 입체장애 모이어티에 대한 결합 상대(binding partner: BP)를 포함하는 AA를 제공하며, 여기서 BP는 활성화 가능한 항체에 대해 NB를 보충하거나 달리 끌어당긴다. 본 명세서에 제공된 AA는, 예를 들어, 비결합 입체장애 모이어티(NB), 절단 가능한 링커(CL) 및 표적에 결합하는 항체 또는 항체 단편(AB)을 포함하는 AA; 비결합 입체장애 모이어티(BP), CL 및 AB에 대한 결합 상대를 포함하는 AA; 및 NB에 보충된 BP, CL 및 표적에 결합하는AB를 포함하는 AA를 포함한다. NB가 AA의 CL 및 AB에 공유적으로 연결된 AA는 AA의 CL 및 AB에 공유적으로 연결된 BP와의 상호작용에 의해 결합되고, 본 명세서에서 "NB-함유 활성화 가능한 항체"로서 지칭된다. 활성화 가능한 또는 전환 가능한은 AA가 저해되거나, 마스킹되거나 또는 절단되지 않은 상태(즉, 제1 입체형태)일 때 표적에 대한 결합의 제1 수준, 및 AA가 저해되지 않고/않았거나 마스킹되지 않고/않았거나 절단된 상태(즉, 제2 입체형태, 즉, 활성화된 항체)일 때 표적에 대한 결합의 제2 수준을 AA가 나타내며, 표적 결합의 제2 수준은 표적 결합의 제1 수준보다 더 크다는 것을 의미한다. AA 조성물은 통상적인 항체 치료제에 비해 증가된 생체이용 가능성 및 더 바람직한 생체분포를 나타낼 수 있다.

[0290] 일부 실시형태에서, AB가 이러한 부위에 대한 결합으로부터 마스킹 또는 달리 저해되지 않는다면, AA는 비치료 부위 및/또는 비진단 부위에서의 결합으로부터 달리 초래될 수 있는 감소된 독성 및/또는 유해한 부작용을 제공한다.

[0291] 비결합 입체 모이어티(NB)를 포함하는 항-CD166 AA는 국제 특허 출원 공개 WO 2013/192546에 제시된 방법을 이용하여 생성될 수 있으며, 이의 내용은 전문이 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0292] 활성화 가능한 항체의 생성

[0293] 본 개시내용은 또한 폴리펩타이드의 발현을 유도하는 조건 하에 세포를 배양시킴으로써 활성화 가능한 항-CD166 항체 폴리펩타이드를 생성하는 방법을 제공하되, 세포는 본 명세서에 기재된 항체 및/또는 AA를 암호화하는 단리된 핵산 분자, 및/또는 이들 단리된 핵산 서열을 포함하는 벡터를 포함한다. 본 개시내용은 항체 및/또는 활성화 가능한 항체의 발현을 유도하는 조건 하에 세포를 배양시킴으로써 항체 및/또는 AA를 생성하는 방법을 제공하되, 세포는 본 명세서에 기재된 항체 및/또는 AA를 암호화하는 단리된 핵산 분자, 및/또는 이들 단리된 핵산 서열을 포함하는 벡터를 포함한다.

[0294] 본 발명은 또한 (a) 활성화 가능한 항체의 발현을 유도하는 조건 하에 AA를 암호화하는 핵산 작제물을 포함하는 세포를 배양시키는 단계로서, AA는 마스킹 모이어티(MM), 절단 가능한 모이어티(CM), 및 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB)을 포함하되, (i) CM은 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 폴리펩타이드이고; (ii) AA가 비절단 상태일 때, AB가 CD166에 특이적으로 결합하는 것을 MM이 방해하고, 절단 상태에서, AB가 CD166에 특이적으로 결합하는 것을 MM이 방해하지 않거나 또는 경쟁하지 않도록, CM은 AA에 위치되는, 상기 배양시키는 단계; 및 (b) 활성화 가능한 항체를 회수하는 단계에 의해 CD166에 활성화 상태에서 결합하는 AA를 제조하는 방법을 제공한다. 적합한 AB, MM 및/또는 CM은 본 명세서에 개시된 임의의 AB, MM 및/또는 CM을 포함한다.

[0295] 다음의 예시적인 뉴클레오타이드 서열은 본 명세서에 제공된 AA 및 접합된 AA를 제조하고 사용하기 위한 용도를 위해 제공된다. 또한 이하에 제공되는 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 90%, 95%, 또는 심지어 99% 상동성인 뉴클레오타이드 서열이 제공된다.

서열번호 239의 아미노산 서열을 암호화하는 서열번호 241

인간 **αCD166** 중쇄 **(HuCD166_HcC)** - 뉴클레오타이드 서열

CAGATCACCCTGAAAGAGTCCGGCCCCACCCTGGTGAAACCCACCCAGACCCTGAC
CCTGACATGCACCTTCTCCGGCTTCAGCCTGTCCACCTACGGCATGGGCGTGGGCTG
GATCAGGCAGCCTCCTGGCAAGGCCCTGGAATGGCTGGCCAACATCTGGTGGTCCG
AGGACAAGCACTACTCCCCCAGCCTGAAGTCCCGGCTGACCATCACCAAGGACACC
TCCAAGAACCAGGTGGTGCTGACAATCACAAACGTGGACCCCGTGGACACCGCCAC
CTACTACTGCGTGCAGATCGACTACGGCAACGACTACGCCTTCACCTACTGGGGCCA
GGGCACACTGGTGACAGTGTCCTCCGCCTCCACCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCTCT
GGCCCCTTCCAGCAAGTCCACCTCTGGCGGCACAGCTGCCCTGGGCTGCCTGGTGAA
AGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGCGG
AGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTG
GTGACCGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCAC
AAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGA
CCCACACCTGTCCCCCCTGCCCTGCCCCTGAACTGCTGGGCGGACCTTCCGTGTTTCT
GTTCCCCCCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCT
GCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTG
GACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTACAACT
CCACCTACCGGGTGGTGTCTGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGC
AAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGAC
CATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCTCAGGTGTACACACTGCCCCCTA
GCCGGGAAGAGATGACCAAGAATCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAAGGCTTC
TACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTA
CAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTTCCTGTACTCCAAGCT
GACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCAGCGTGATGC
ACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGCAAG

[0296]

서열번호 480의 아미노산 서열을 암호화하는 서열번호 481

인간 **αCD166** 중쇄 **(HuCD166_HcC) – Des-HC** 뉴클레오타이드 서열

CAGATCACCCTGAAAGAGTCCGGCCCCACCCTGGTGAAACCCACCCAGACCCTGAC
CCTGACATGCACCTTCTCCGGCTTCAGCCTGTCCACCTACGGCATGGGCGTGGGCTG
GATCAGGCAGCCTCCTGGCAAGGCCCTGGAATGGCTGGCCAACATCTGGTGGTCCG
AGGACAAGCACTACTCCCCCAGCCTGAAGTCCCGGCTGACCATCACCAAGGACACC
TCCAAGAACCAGGTGGTGCTGACAATCACAAACGTGGACCCCGTGGACACCGCCAC
CTACTACTGCGTGCAGATCGACTACGGCAACGACTACGCCTTCACCTACTGGGGCCA
GGGCACACTGGTGACAGTGTCCTCCGCCTCCACCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCTCT
GGCCCCTTCCAGCAAGTCCACCTCTGGCGGCACAGCTGCCCTGGGCTGCCTGGTGAA
AGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGCGG
AGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTG
GTGACCGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCAC
AAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGA
CCCACACCTGTCCCCCCTGCCCTGCCCCTGAACTGCTGGGCGGACCTTCCGTGTTTCT
GTTCCCCCCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCT
GCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTG
GACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTACAACT
CCACCTACCGGGTGGTGTCTGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGC
AAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGAC
CATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCTCAGGTGTACACACTGCCCCCTA
GCCGGGAAGAGATGACCAAGAATCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAAGGCTTC
TACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTA
CAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTTCCTGTACTCCAAGCT
GACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCAGCGTGATGC
ACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGC

서열번호 246의 아미노산 서열을 암호화하는 서열번호 247

인간 **αCD166** 경쇄 (스페이서 **-MM-LP1-CM-LP2-Ab)**

[스페이서 (서열번호 **319**)] **[huCD166Lc1_7614.6_3001** (서열번호 **315**)]

[CAGGGACAGTCTGGCCAGGGC][CTGTGTCACCCTGCTGTGCTGTCTGCCTGGGAGT
CCTGTTCCAGCGGCGGAGGCTCCTCTGGCGGCTCTGCTGTGGGCCTGCTGGCTCCAC

[0297]

CTGGCGGCCTGTCCGGCAGATCTGACAACCACGGCGGCTCCGACATCGTGATGACC
CAGTCCCCCCTGTCCCTGCCCGTGACTCCTGGCGAGCCTGCCTCCATCTCCTGCCGG
TCCTCCAAGTCCCTGCTGCACTCCAACGGCATCACCTACCTGTACTGGTATCTGCAG
AAGCCCGGCCAGTCCCCTCAGCTGCTGATCTACCAGATGTCCAACCTGGCCTCCGGC
GTGCCCGACAGATTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCTCC
CGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCGCCCAGAACCTGGAACTGCC
CTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCTCCCT
CCGTGTTCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGG
TCTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGAC
AACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTCACCGAGCAGGACTCCAAGGA
CAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCA
CAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGACTGAGCAGCCCCGTGACCAAGT
CCTTCAACCGGGGCGAGTGC]

서열번호 314의 아미노산 서열을 암호화하는 서열번호 315
인간 **aCD166** 경쇄 **(MM-LP1-CM-LP2-Ab)**
huCD166Lcl_7614.6_3001
CTGTGTCACCCTGCTGTGCTGTCTGCCTGGGAGTCCTGTTCCAGCGGCGGAGGCTCC
TCTGGCGGCTCTGCTGTGGGCCTGCTGGCTCCACCTGGCGGCCTGTCCGGCAGATCT
GACAACCACGGCGGCTCCGACATCGTGATGACCCAGTCCCCCCTGTCCCTGCCCGTG
ACTCCTGGCGAGCCTGCCTCCATCTCCTGCCGGTCCTCCAAGTCCCTGCTGCACTCC
AACGGCATCACCTACCTGTACTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCTCAGCTG
CTGATCTACCAGATGTCCAACCTGGCCTCCGGCGTGCCCGACAGATTCTCCGGCTCT
GGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCTCCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGG
CGTGTACTACTGCGCCCAGAACCTGGAACTGCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCA
AGCTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTCATCTTCCCACCCTCCG
ACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACTTCTACC
CCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCC
CAGGAATCCGTCACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCAC
CCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGA
CCCACCAGGGACTGAGCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGCGAGTGC

[0298]

서열번호 305 스페이서를 암호화하는 서열번호 319 뉴클레오타이드 서열
CAGGGACAGTCTGGCCAGGGC

[0299]

[0300] 활성화 가능한 항체, 및 접합된 활성화 가능한 항체의 치료적 용도

[0301] 본 개시내용은 CD166에 결합하는 AA, 특히 CD166 및/또는 CD166-매개 신호전달의 적어도 하나의 생물학적 활성에 결합하고 중화시키거나 달리 저해하는 AA를 이용하여 대상체에서의 CD166의 비정상적 발현 및/또는 활성과 연관된 증상을 치료하고/하거나 예방하고/하거나 이의 개시 또는 진행을 지연시키거나, 완화시키는 방법을 제공한다.

[0302] 본 개시내용은 또한 CD166에 결합하는 AA, 특히 CD166을 발현시키거나 또는 비정상적으로 발현시키는 세포의 적어도 하나의 생물학적 활성에 결합하거나, 표적화하거나, 중화시키거나, 사멸시키거나 또는 달리 저해하는 AA를 이용하여 대상체에서 CD166을 발현시키거나 또는 CD166을 비정상적으로 발현시키는 세포의 존재, 성장, 증식, 전이 및/또는 활성을 치료하고/하거나 예방하고/하거나 이의 개시 또는 진행을 지연시키는 방법을 제공한다.

[0303] 본 개시내용은 또한 CD166에 결합하는 AA, 특히 CD166을 발현시키는 세포의 적어도 하나의 생물학적 활성에 결합하거나, 표적화하거나, 중화시키거나, 사멸시키거나 또는 달리 저해하는 AA를 이용하여 대상체에서 CD166을

발현시키는 세포의 존재, 성장, 증식, 전이 및/또는 활성을 치료하고/하거나 예방하고/하거나 이의 개시 또는 진행을 지연시키는 방법을 제공한다.

[0304] 본 개시내용은 또한 CD166에 결합하는 AA, 특히 CD166을 비정상적으로 발현시키는 세포의 적어도 하나의 생물학적 활성에 결합하거나, 표적화하거나, 중화시키거나, 사멸시키거나 또는 달리 저해하는 AA를 이용하여 대상체에서 CD166을 비정상적으로 발현시키는 세포의 존재, 성장, 증식, 전이 및/또는 활성을 치료하고/하거나 예방하고/하거나 이의 개시 또는 진행을 지연시키는 방법을 제공한다.

[0305] 본 개시내용은 또한 암 치료가 필요한 대상체에게 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 항-CD166 항체, 접합된 항-CD166 항체, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체를 투여함으로써 대상체에서 암을 예방하거나, 진행을 지연시키거나, 치료하거나, 암의 증상을 완화시키거나 또는 달리 개선시키는 방법을 제공한다.

[0306] 본 개시내용은 또한 대상체에서 CD166의 비정상적 발현 및/또는 활성과 연관된 증상을 치료하고/하거나 예방하고/하거나 개시 또는 진행을 지연시키거나 또는 완화시키는 데 사용하기 위한, CD166에 결합하는 AA, 특히 CD166의 적어도 하나의 생물학적 활성 및/또는 CD166 신호전달에 결합하고, 중화시키거나 또는 달리 저해하는 AA를 제공한다.

[0307] 본 개시내용은 또한 대상체에서 CD166을 발현시키거나 또는 비정상적으로 발현시키는 세포의 존재, 성장, 증식, 전이 및/또는 활성과 연관된 증상을 치료시키고/시키거나 예방하고/하거나 개시 또는 진행을 지연시키거나, 완화시키는 데 사용하기 위한, CD166에 결합하는 AA, 특히 CD166을 발현시키거나 또는 비정상적으로 발현시키는 세포의 적어도 하나의 생물학적 활성에 결합하거나, 표적화하거나, 중화시키거나, 사멸시키거나 또는 달리 저해하는 AA를 제공한다.

[0308] 본 개시내용은 또한 대상체에서 암을 예방하거나, 진행을 지연시키거나, 치료하거나, 증상을 완화시키거나 또는 달리 개선시키는 데 사용하기 위한 본 명세서에 기재된 항-CD166 항체, 접합된 항-CD166 항체, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체를 제공하되, 항체는 투여를 위한 치료적 유효량이다.

[0309] 비제한적 예로서, 본 개시내용의 AA는 상피 또는 편평세포암, 카르시노이드 및/또는 신경내분비암의 개시 또는 진행을 치료하고/하거나 예방하고/하거나 개시 또는 진행을 지연시키기 위해 사용될 수 있다. 암의 예는 선암종, 담관(담즙)암, 방광암, 유방암, 예를 들어, 삼중-음성 유방암, Her2-음성 유방암, 에스트로겐 수용체-양성 유방암; 카르시노이드암; 자궁경부암; 담관암종; 직장결장; 자궁내막; 신경교종; 두경부암, 예를 들어, 두경부 편평세포암; 백혈병; 간암; 폐암, 예를 들어, NSCLC, SCLC; 림프종; 흑색종; 구인두암; 난소암; 췌장암; 전립선암, 예를 들어, 전이성 거세-저항성 전립선 암종; 신장암; 피부암; 편평세포암; 위암; 고환암; 갑상선암; 및 요로상피암을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0310] 일부 실시형태에서, 암은 임의의 상피 또는 편평세포암이다. 일부 실시형태에서, 암은 전립선암, 유방암, 폐암, 자궁경부암, 구인두암 및/또는 두경부암이다.

[0311] 일부 실시형태에서, 암은 방광암, 골암, 유방암, 카르시노이드, 자궁경부암, 직장결장암, 결장암, 자궁내막암, 상피암, 신경교종, 두경부암, 간암, 폐암, 흑색종, 구인두암, 난소암, 췌장암, 전립선암, 신장암, 육종, 피부암, 위암, 고환암, 갑상선암, 비뇨생식기암 및/또는 요로상피암이다.

[0312] 일부 실시형태에서, 암은 삼중 음성 유방암(TNBC), 비소세포 폐암(NSCLC), 소세포 폐암(SCLC), Ras 돌연변이체 직장결장 암종, 희귀 상피암, 구인두암, 자궁경부암, 두경부암 편평세포 암종(HNSCC), 및/또는 전립선암으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 암은 CD166-발현 종양과 연관된다. 일부 실시형태에서, 암은 CD166-발현 종양에 기인한다.

[0313] 이들 방법 및 용도의 임의의 실시형태에서 사용되는 항-CD166 항체, 접합된 항-CD166 항체, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체는 질환의 임의의 병기에 투여될 수 있다. 예를 들어, 이러한 항-CD166 항체, 접합된 항-CD166 항체, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체는 초기로부터 전이까지의 임의의 병기의 암을 앓고 있는 대상체에게 투여될 수 있다.

[0314] 예시적인 실시형태에서, 대상체는 유방암종, 거세-저항성 전립선암(CPRC), 담관암종, 자궁내막암종, 상피성 난소 암종, 두경부암 편평세포 암종(HNSCC) 및 비소세포 폐암(NSCLC)을 앓고 있거나 또는 이들을 앓고 있는 것으로 의심된다.

[0315] 본 명세서에서 제공되는 바와 같은, 치료될 대상체는 포유류, 예컨대 인간, 비-인간 영장류, 반려 동물(예를 들어, 고양이, 개, 말), 농장 동물, 사역동물 또는 동물원 동물이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 인간이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 반려 동물이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 수의사가 관리 중인 동물이다.

[0316] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 AA, 예를 들어, 조합 55 또는 조합 60을 받는 유방암종을 앓고 있거나 또는 유방암종으로 의심되는 대상체는 에스트로겐 수용체 발현(ER+) 종양을 가지고, 항-호르몬 요법을 받았어야 하며 본 개시내용의 AA로 치료되기 전에 질환 진행을 경험하였다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 AA, 예를 들어, 조합 55 또는 조합 60을 받은 유방암종을 앓고 있거나 또는 유방암종으로 의심되는 대상체는 삼중 음성 유방암종(TNBC)을 가지며, 본 개시내용의 AA로 치료하기 전에 2회의 사전 계통의 요법을 받았다.

[0317] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 AA, 예를 들어, 조합 55 또는 조합 60을 받은 거세-저항성 전립선 암종을 앓고 있거나 또는 거세-저항성 전립선 암종으로 의심되는 대상체는 본 개시내용의 AA로 치료하기 전에 1회 초과의 사전 계통의 요법을 받았다.

[0318] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 AA, 예를 들어, 조합 55 또는 조합 60을 받은 담관암종을 앓고 있거나 또는 담관암종으로 의심되는 대상체는 본 개시내용의 AA로 치료하기 전에 1회 초과의 사전 계통의 겜시타빈-함유 요법에 실패하였다.

[0319] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 AA, 예를 들어, 조합 55 또는 조합 60을 받은 자궁내막암종을 앓고 있거나 또는 자궁내막암종으로 의심되는 대상체는 본 개시내용의 AA로 치료하기 전에 자궁외 또는 진행된 질환에 대해 1회 이상의 백금-함유 요법을 받았다.

[0320] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 AA, 예를 들어, 조합 55 또는 조합 60을 받은 상피성 난소 암종을 앓고 있거나 또는 상피성 난소 암종으로 의심되는 대상체는 비-유방암(BRCA) 돌연변이(생식세포계열 또는 체세포)를 가지거나, 알려지지 않은 BRCA 돌연변이 상태를 가지고 백금-저항성 또는 백금 난치성 난소 암종을 가진다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 AA, 예를 들어, 조합 55 또는 조합 60을 받은 상피성 난소 암종을 앓고 있거나 또는 상피성 난소 암종으로 의심되는 대상체는 BRCA 돌연변이를 가지고, PARP 저해제에 대해 난치성이거나 또는 달리 부적격이다.

[0321] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 AA, 예를 들어, 조합 55 또는 조합 60을 받은 HNSCC를 앓고 있거나 또는 HNSCC로 의심되는 대상체는 본 개시내용의 AA로 치료하기 전에 (대상체의 적응증 및 지역에 대해 승인된다면) 1회 이상의 백금-함유 요법 및 PD-1/PD-L1 저해제를 받았다.

[0322] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 AA, 예를 들어, 조합 55 또는 조합 60을 받은 NSCLC을 앓고 있거나 또는 NSCLC로 의심되는 대상체는 본 개시내용의 AA로 치료하기 전에 1회 이상의 백금-함유 요법을 받았다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 AA, 예를 들어, 조합 55 또는 조합 60을 받은 NSCLC를 앓고 있거나 또는 NSCLC로 의심되는 대상체는 본 개시내용의 AA로 치료하기 전에 (대상체의 지역에서 적응증에 대해 승인된다면) 관문 저해제가 이전에 투여되었다.

[0323] 일부 실시형태에서, 다음 중 어느 것을 가지는 대상체는 유방암종, 거세-저항성 전립선암(CPRC), 담관암종, 자궁내막암종, 상피성 난소 암종, HNSCC 및 NSCLC의 치료를 위해 본 개시내용의 AA를 받을 자격이 없을 수도 있다: 활성 또는 만성 각막 장애, 각막 이식의 병력, 활성 포진성 각막염, 및 진행 중인 치료/모니터링을 필요로 하는 활성의 눈 병태; 임상적으로 적절한 활성 감염을 포함하는 심각한 동시발생 질병; 자가면역 질환의 병력 또는 현재의 활성 자가면역 질환; 유의미한 심장 질환, 예컨대 최근의 심근경색증; 다발성 경화증 또는 다른 탈수초성 질환의 병력, 이튼-람베르트 증후군(파라-신생물 증후군), 마지막 6개월 내의 출혈 또는 허혈성 뇌졸중의 병력, 또는 알코올성 간 질환; 기저 신생물에 의해 야기되는 궤양성 병변을 제외한 비치유 상처(들) 또는 궤양(들); 이전의 단클론성 항체 요법에 대한 중증의 알레르기 또는 과민증 반응의 병력; 와파린을 이용한 현재 받고 있는 항응고 요법; 또는 투약 전 3개월 이내의 대수술(일반적인 마취를 필요로 함).

[0324] 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체 및 이의 치료적 제형은 비정상적 CD166 발현 및/또는 활성과 연관된 질환과 연관된 질환 또는 장애로 앓고 있거나 또는 이의 여지가 있는 대상체에게 투여된다. 비정상적 CD166 발현 및/또는 활성과 관련된 질환 또는 병태를 앓고 있거나 또는 이의 여지가 있는 대상체는 당업계에 공지된 임의의 다양한 방법을 이용하여 확인된다. 예를 들어, 암 또는 다른 신생물 병태를 앓고 있는 대상체는 건강 상태를 평가하기 위해 임의의 다양한 임상 및/또는 실험 검사, 예컨대, 신체검사 및 혈액, 소변 및/또는 분변 검사를 이용하여 확인된다. 예를 들어, 염증 및/또는 염증 장애를 앓고 있는 대상체는 건강 상태를 평가하기 위해 임의의 다양한 임상 및/또는 실험 검사, 예컨대, 신체검사 및/또는 체액 분석,

예를 들어, 혈액, 소변 및/또는 분변 검사를 이용하여 확인된다.

[0325] 임의의 다양한 실험 또는 임상 목적이 달성된다면, 비정상적 CD166 발현 및/또는 활성과 연관된 질환 또는 장애를 앓고 있는 대상체에게 항-CD166 항체, 접합된 항-CD166 항체, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체의 투여는 성공적인 것으로 간주된다. 질환 또는 장애와 연관된 증상 중 하나 이상이 완화되거나, 감소되거나, 저해되거나 또는 추가로, 즉, 악화된 상태로 진행되지 않는다면, 예를 들어, 비정상적 CD166 발현 및/또는 활성과 연관된 질환 또는 장애를 앓고 있는 대상체에게 항-CD166 항체, 접합된 항-CD166 항체, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체의 투여는 성공적인 것으로 간주된다. 질환 또는 장애가 관해로 들어가거나 또는 추가로, 즉, 악화된 상태로 진행되지 않는다면, 비정상적 CD166 발현 및/또는 활성과 연관된 질환 또는 장애를 앓고 있는 대상체에게 항-CD166 항체, 접합된 항-CD166 항체, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체의 투여는 성공적인 것으로 간주된다.

[0326] 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체 및 이의 치료적 제형은 질환 또는 장애를 앓고 있거나 또는 여지가 있는 대상체, 예컨대 암 또는 다른 신생물 병태를 앓고 있는 대상체에게 투여되되, 대상체의 질환 세포는 발현 CD166이다. 일부 실시형태에서, 질환 세포는 비정상적 CD166 발현 및/또는 활성과 연관된다. 일부 실시형태에서, 질환 세포는 정상적 CD166 발현 및/또는 활성과 연관된다. 대상체의 질환 세포가 CD166을 발현시키는 질환 또는 장애를 앓고 있거나 또는 여지가 있는 대상체는 당업계에 공지된 임의의 다양한 방법을 이용하여 확인된다. 예를 들어, 암 또는 다른 신생물 병태를 앓고 있는 대상체는 건강 상태를 평가하기 위해 임의의 다양한 임상 및/또는 실험 검사, 예컨대, 신체검사 및 혈액, 소변 및/또는 분변 검사를 이용하여 확인된다. 예를 들어, 염증 및/또는 염증 장애를 앓고 있는 대상체는 건강 상태를 평가하기 위해 임의의 다양한 임상 및/또는 실험 검사, 예컨대, 신체검사 및/또는 체액 분석, 예를 들어, 혈액, 소변 및/또는 분변 검사를 이용하여 확인된다.

[0327] 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체 및 이의 치료적 제형은 CD166을 발현시키는 세포 또는 이러한 세포의 존재, 성장, 증식, 전이 및/또는 활성과 연관된 질환 또는 장애를 앓고 있거나 또는 여지가 있는 대상체, 예컨대 암 또는 다른 신생물 병태를 앓고 있는 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 세포는 비정상적 CD166 발현 및/또는 활성과 연관된다. 일부 실시형태에서, 세포는 정상적 CD166 발현 및/또는 활성과 연관된다. CD166을 발현시키는 세포와 연관된 질환 또는 장애를 앓고 있거나 또는 여지가 있는 대상체는 당업계에 공지된 임의의 다양한 방법을 이용하여 확인된다. 예를 들어, 암 또는 다른 신생물 병태를 앓고 있는 대상체는 건강 상태를 평가하기 위해 임의의 다양한 임상 및/또는 실험 검사, 예컨대, 신체검사 및 혈액, 소변 및/또는 분변 검사를 이용하여 확인된다. 예를 들어, 염증 및/또는 염증 장애를 앓고 있는 대상체는 건강 상태를 평가하기 위해 임의의 다양한 임상 및/또는 실험 검사, 예컨대, 신체검사 및/또는 체액 분석, 예를 들어, 혈액, 소변 및/또는 분변 검사를 이용하여 확인된다.

[0328] 임의의 다양한 실험 또는 임상 목적이 달성된다면, CD166을 발현시키는 세포와 연관된 질환 또는 장애를 앓고 있는 대상체에게 항-CD166 항체, 접합된 항-CD166 항체, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체의 투여는 성공적인 것으로 간주된다. 예를 들어, 질환 또는 장애와 연관된 증상 중 하나 이상이 완화되거나, 감소되거나, 저해되거나 또는 추가로, 즉, 악화된 상태로 진행되지 않는다면, CD166을 발현시키는 세포와 연관된 질환 또는 장애를 앓고 있는 대상체에게 항-CD166 항체, 접합된 항-CD166 항체, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체의 투여는 성공적인 것으로 간주된다. 질환 또는 장애가 관해로 들어가거나 또는 추가로, 즉, 악화된 상태로 진행되지 않는다면, CD166을 발현시키는 세포와 연관된 질환 또는 장애를 앓고 있는 대상체에게 항-CD166 항체, 접합된 항-CD166 항체, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체의 투여는 성공적인 것으로 간주된다.

[0329] 일부 실시형태에서, 1종 이상의 추가적인 제제, 예를 들어, 화학치료제, 항-염증제 및/또는 면역억제제와 병용하여 치료하는 동안 그리고/또는 치료 후에 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체가 투여된다. 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체 및 추가적인 제제(들)는 동시에 투여된다. 예를 들어, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체 및 추가적인 제제(들)는 단일 조성물로 제형화되거나 또는 2개 이상의 별개의 조성물로서 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체 및 추가적인 제제(들)는 순차적으로 투여된다.

[0330] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166

항체는 하나 이상의 추가적인 제제 또는 추가적인 제제의 조합물과 함께 사용된다. 적합한 추가적인 제제는 의도된 적용분야, 예를 들어, 암에 대한 현재의 약제학적 및/또는 수술적 요법을 포함한다. 예를 들어, 항-CD166 항체, 접합된 항-CD166 항체, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체는 추가적인 화학치료제 또는 항-신생물제와 함께 사용될 수 있다.

[0331] 일부 실시형태에서, 추가적인 제제(들)는 화학치료제, 예컨대 도세탁셀, 파클리탁셀, 아브락산(즉, 알부민-접합 파클리탁셀), 독소루비신, 옥살리플라틴, 카보플라틴, 시스플라틴, 이리노테칸 및 겜시타빈으로 이루어진 군으로부터 선택된 화학치료제이다.

[0332] 일부 실시형태에서, 추가적인 제제(들)는 관문 저해제, 키나제 저해제, 종양 미세환경 및/또는 T 세포에서 저해제를 표적화하는 제제 또는 NK 작용제이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 제제(들)는 단독이거나 또는 다른 추가적인 제제(들), 예컨대 화학치료제 또는 항-신생물제와 병용되는 방사선요법이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 제제(들)는 백신, 발암바이러스, 및/또는 DC-활성화제, 예컨대, 비제한적 예로서, 톨-유사 수용체(toll-like receptor: TLR) 작용제 및/또는 α-CD40이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 제제(들)는 ADCC를 통해 또는 독소(예를 들어, 항체 약물 접합체(ADC))에 대한 직접 접합을 통해 종양을 사멸시키도록 설계된 종양-표적화 항체이다.

[0333] 일부 실시형태에서, 관문 저해제는 CTLA-4, LAG-3, PD-1, CD166, TIGIT, TIM-3, B7H4 및 Vista로 이루어진 군으로부터 선택된 표적의 저해제이다. 일부 실시형태에서, 키나제 저해제는 B-RAFi, MEKi 및 Btk 저해제, 예컨대 이브루티닙으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 키나제 저해제는 크리조티닙(crizotinib)이다. 일부 실시형태에서, 종양 미세환경 저해제는 IDO 저해제, α-CSF1R 저해제, α-CCR4 저해제, TGF-베타, 골수성-유래 억제 세포 또는 T-조절 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 작용제는 Ox40, GITR, CD137, ICOS, CD27 및 HVEM으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0334] 일부 실시형태에서, 저해제는 CTLA-4 저해제이다. 일부 실시형태에서, 저해제는 LAG-3 저해제이다. 일부 실시형태에서, 저해제는 PD-1 저해제이다. 일부 실시형태에서, 저해제는 CD166 저해제이다. 일부 실시형태에서, 저해제는 TIGIT 저해제이다. 일부 실시형태에서, 저해제는 TIM-3 저해제이다. 일부 실시형태에서, 저해제는 B7H4 저해제이다. 일부 실시형태에서, 저해제는 Vista 저해제이다. 일부 실시형태에서, 저해제는 B-RAFi 저해제이다. 일부 실시형태에서, 저해제는 MEKi 저해제이다. 일부 실시형태에서, 저해제는 Btk 저해제이다. 일부 실시형태에서, 저해제는 이브루티닙이다. 일부 실시형태에서, 저해제는 크리조티닙이다. 일부 실시형태에서, 저해제는 IDO 저해제이다. 일부 실시형태에서, 저해제는 α-CSF1R 저해제이다. 일부 실시형태에서, 저해제는 α-CCR4 저해제이다. 일부 실시형태에서, 저해제는 TGF-베타이다. 일부 실시형태에서, 저해제는 골수성-유래 억제 세포이다. 일부 실시형태에서, 저해제는 T-조절 세포이다.

[0335] 일부 실시형태에서, 작용제는 Ox40이다. 일부 실시형태에서, 작용제는 GITR이다. 일부 실시형태에서, 작용제는 CD137이다. 일부 실시형태에서, 작용제는 ICOS이다. 일부 실시형태에서, 작용제는 CD27이다. 일부 실시형태에서, 작용제는 HVEM이다.

[0336] 일부 실시형태에서, 1종 이상의 추가적인 제제, 예를 들어, 화학치료제, 항-염증제 및/또는 면역억제제와 병용하여 치료하는 동안 그리고/또는 치료 후에 AA 및/또는 접합된 AA 항체가 투여된다. 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체 및 추가적인 제제는 단일 치료적 조성물에 제형화되고, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체 및 추가적인 제제는 동시에 투여된다. 대안적으로, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체 및 추가적인 제제는 서로 별개이고, 예를 들어, 각각은 별개의 치료적 조성물에 제형화되고, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체 및 추가적인 제제는 동시에 투여되거나, 또는 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체 및 추가적인 제제는 치료 요법 동안 상이한 시간에 투여된다. 예를 들어, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체는 추가적인 제제의 투여 전에 투여되고, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체는 추가적인 제제의 투여에 후속적으로 투여되거나, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체 및 추가적인 제제는 교번 방식으로 투여된다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체 및 추가적인 제제는 단일 용량으로 또는 다회 용량으로 투여된다.

[0337] 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체 및 추가적인 제제(들)는 동시에 투여된다. 예를 들어, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166

항체 및 추가적인 제제(들)는 단일 조성물로 제형화되거나 또는 2개 이상의 별개의 조성물로서 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체 및 추가적인 제제(들)는 순차적으로 투여되거나, 또는 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체 및 추가적인 제제는 치료 요법 동안 상이한 시간에 투여된다.

[0338] 일부 실시형태에서, 1종 이상의 추가적인 제제, 예컨대, 비제한적 예로서, 화학치료제, 항-염증제 및/또는 면역억제제, 예컨대 알킬화제, 항-대사물질, 항-미세소관제, 토포아이소머라제 저해제, 세포독성 항생제 및/또는 임의의 다른 핵산 손상제와 병용하여 치료하는 동안 그리고/또는 치료 후에 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체가 투여된다. 일부 실시형태에서, 추가적인 제제는 탁산, 예컨대 파클리탁셀(예를 들어, 아브락산(Abraxane)(등록상표))이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 제제는 항-대사물질, 예컨대 겜시타빈이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 제제는 알킬화제, 예컨대 백금 기반 화학요법, 예컨대 카보플라틴 또는 시스플라틴이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 제제는 표적화된 제제, 예컨대 키나제 저해제, 예를 들어, 소라페닙 또는 에를로티닙이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 제제는 표적화된 제제, 예컨대 다른 항체, 예를 들어, 단클론성 항체(예를 들어, 베바시주맙), 이중특이성 항체, 또는 다중특이성 항체이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 제제는 프로테오좀 저해제, 예컨대 보르테조밉 또는 카르필조밉이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 제제는 면역조절제, 예컨대 레놀리도민드(lenolidominde) 또는 IL-2이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 제제는 방사선이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 제제는 당업자에 의해 관리 표준으로 고려되는 제제이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 제제는 당업자에게 잘 공지되어 있는 화학치료제이다.

[0339] 일부 실시형태에서, 추가적인 제제는 다른 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 다른 접합된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 다른 AA 또는 이의 항원-결합 단편 및/또는 다른 접합된 AA 또는 이의 항원-결합 단편이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 제제는 제1 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제1 접합된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, AA 또는 이의 항원-결합 단편 및/또는, 예를 들어, CD166에 대한 접합된 AA 또는 이의 항원-결합 단편과 동일한 표적에 대한 다른 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 다른 접합된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 다른 AA 또는 이의 항원-결합 단편 및/또는 다른 접합된 AA 또는 이의 항원-결합 단편이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 제제는 제1 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 제1 접합된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, AA 또는 이의 항원-결합 단편 및/또는 접합된 AA 또는 이의 항원-결합 단편의 표적과 상이한 표적에 대한 다른 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 다른 접합된 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 다른 AA 또는 이의 항원-결합 단편 및/또는 다른 접합된 AA 또는 이의 항원-결합 단편이다.

[0340] 일부 실시형태에서, 추가적인 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 접합된 항체 또는 이의 항원 결합 단편, AA 또는 이의 항원 결합 단편, 및/또는 접합된 AA 또는 이의 항원 결합 단편은 단클론성 항체, 도메인 항체, 단일쇄, Fab 단편, $F(ab')_2$ 단편, scFv, scAb, dAb, 단일 도메인 중쇄 항체 또는 단일 도메인 경쇄 항체이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 접합된 항체 또는 이의 항원 결합 단편, AA 또는 이의 항원 결합 단편, 및/또는 접합된 AA 또는 이의 항원 결합 단편은 마우스, 다른 설치류, 키메라, 인간화된 또는 완전 인간 단클론성 항체이다.

[0341] 본 개시내용에 따른 치료적 독립체의 투여는 개선된 이동, 전달, 용인 등을 제공하기 위해 제형에 편입된 적합한 담체, 부형제 및 다른 제제와 함께 투여될 수 있다는 것이 인식될 것이다. 다수의 적절한 제형이 모든 약제 화학자에게 공지된 제형에서 발견될 수 있다: 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences (15th ed, Mack Publishing Company, Easton, PA (1975))], 특히 이의 Blaug, Seymour에 의한 Chapter 87. 이들 제형은, 예를 들어, 분말, 페이스트, 연고, 젤리, 왁스, 오일, 지질들, 지질(양이온성 또는 음이온성) 함유 소수포(예컨대 리포펙틴(Lipofectin)(상표명)), DNA 접합체, 무수 흡수 페이스트, 수중유 및 유중수 에멀션, 에멀션 카보왁스(다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜), 반고형 겔, 및 카보왁스를 함유하는 반고형 혼합물을 포함한다. 임의의 앞서 언급한 혼합물은 본 개시내용에 따른 치료 및 요법에 적절할 수 있으며, 단, 제형에서 활성 성분은 제형에 의해 비활성화되지 않고, 제형은 생리적으로 적합하며 투여 경로에 의해 용인 가능하다. 또한 약제 화학자에게 잘 공지된 제형, 부형제 및 담체와 관련된 추가적인 정보에 대해 문헌[Baldrick P. "Pharmaceutical excipient development: the need for preclinical guidance." Regul. Toxicol Pharmacol. 32(2):210-8 (2000), Wang W. "Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals." Int. J. Pharm. 203(1-2):1-60 (2000), Charman WN "Lipids, lipophilic drugs, and oral drug delivery-some emerging concepts." J Pharm Sci.89(8):967-78 (2000), Powell *et al*. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA J Pharm Sci Technol. 52:238-311 (1998)] 및 이들의 인용문헌을 참조.

[0342] 활성화 가능한 항-CD166 항체, 예컨대 비제한적 예로서, AA 및/또는 접합된 AA를 포함하는 본 개시내용의 치료적 제형은 비정상적 표적 발현 및/또는 활성과 관련된 질환 또는 장애를 예방하거나, 치료하거나 또는 달리 개선시키기 위해 사용된다. 예를 들어, AA 및/또는 접합된 활성화 가능한 항체를 포함하는 본 개시내용의 치료적 항체는 암 또는 다른 신생물 병태, 염증, 염증 장애 및/또는 자가면역 질환을 치료하거나 또는 달리 개선시키기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 암은 표적이 발현되는 고형 종양 또는 혈액학적 악성종양이다. 일부 실시형태에서, 암은 표적이 발현되는 고형 종양이다. 일부 실시형태에서, 암은 표적이 발현되는 혈액학적 악성종양이다. 일부 실시형태에서, 표적은 실질(예를 들어, 암에서 기관 또는 조직의 기능(들)을 수행하는 기관 또는 조직의 일부) 상에서 발현된다. 일부 실시형태에서, 표적은 세포, 조직 또는 기관 상에서 발현된다. 일부 실시형태에서, 표적은 기질(즉, 세포, 조직 또는 기관의 결합 지지틀) 상에서 발현된다. 일부 실시형태에서, 표적은 조골세포 상에서 발현된다. 일부 실시형태에서, 표적은 내피(맥관구조) 상에서 발현된다. 일부 실시형태에서, 표적은 암 줄기 세포 상에서 발현된다. 일부 실시형태에서, AA가 접합되는 제제는 미세소관 저해제이다. 일부 실시형태에서, AA가 접합되는 제제는 핵산 손상제이다.

[0343] 예방, 개선 또는 치료의 효능은 표적 발현 및/또는 활성, 예를 들어, 비정상적 표적 발현 및/또는 활성과 연관된 질환 또는 장애를 진단하거나 또는 치료하기 위한 임의의 공지된 방법과 관련하여 결정된다. 대상체의 생존을 연장시키는 것 또는 대상체에서 표적 발현 및/또는 활성, 예를 들어, 비정상적 표적 발현 및/또는 활성과 관련된 질환 또는 장애의 진행을 달리 지연시키는 것은 AA 및/또는 접합된 AA가 임상적 이점을 부여한다는 것을 나타낸다.

[0344] AA 및/또는 접합된 AA는 약제학적 조성물의 형태로 투여될 수 있다. 이러한 조성물을 제조하는 데 연루된 원칙 및 고려사항뿐만 아니라 성분의 선택에서의 가이드는, 예를 들어, 문헌[Remington : The Science And Practice Of Pharmacy 19th ed. (Alfonso R. Gennaro, et al., editors) Mack Pub. Co., Easton, Pa.: 1995; Drug Absorption Enhancement: Concepts, Possibilities, Limitations, And Trends, Harwood Academic Publishers, Langhorne, Pa., 1994; 및 Peptide And Protein Drug Delivery (Advances In Parenteral Sciences, Vol. 4), 1991, M. Dekker, New York]에 제공된다.

[0345] 일부 실시형태에서, 항체 단편이 사용되는 경우, 표적 단백질의 결합 도메인에 특이적으로 결합하는 가장 작은 단편이 선택된다. 예를 들어, 항체의 가변 영역 서열에 기반하여, 표적 단백질 서열에 결합하는 능력을 보유하는 펩타이드 분자가 설계될 수 있다. 이러한 펩타이드는 재조합 DNA 기술에 의해 화학적으로 합성되고/되거나 생성될 수 있다. (예를 들어, 문헌[Marasco et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 7889-7893 (1993)] 참조). 제형은 또한 치료 중인 특정 적응증, 예를 들어, 일부 실시형태에서, 서로 유해하게 영향을 미치지 않는 상보적 활성을 갖는 것에 대해 필요하다면 1종 초과의 활성 화합물을 함유할 수 있다. 일부 실시형태에서, 또는 추가로, 조성물은 기능을 향상시키는 제제, 예를 들어, 세포독성제, 사이토카인, 화학치료제 또는 성장-저해제를 포함할 수 있다. 이러한 분자는 의도되는 목적에 효과적인 양과 조합하여 적합하게 존재한다.

[0346] 활성 성분은 또한 콜로이드 약물 전달 시스템(예를 들어, 리포좀, 알부민 마이크로스피어, 마이크로에멀션, 나노입자 및 나노캡슐)에서 또는 마이크로에멀션에서, 예를 들어, 코아세르베이션 기법에 의해 또는 계면 중합에 의해 제조되는 마이크로캡슐, 예를 들어, 하이드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐에 각각 포집될 수 있다.

[0347] 생체내 투여를 위해 사용될 제형은 멸균이어야 한다. 이는 멸균여과막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성된다.

[0348] 지속-방출 제제가 제조될 수 있다. 지속 방출 제제의 적합한 예는 항체를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반침투성 기질을 포함하며, 이 기질은 성형 물품, 예를 들어, 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다. 지속 방출 기질의 예는 폴리에스터, 하이드로겔(예를 들어, 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트) 또는 폴리(비닐알코올)), 폴리락타이드(미국 특허 제3,773,919호), L-글루탐산과 γ 에틸-L-글루타메이트의 공중합체, 비분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해 가능한 락트산-글리콜산 공중합체, 예컨대 루프론 데포(LUPRON DEPOT)(상표명)(락트산-글리콜산 공중합체 및 류프롤라이드 아세테이트로 구성된 주사 가능한 마이크로스피어), 및 폴리-D-(-)-3-하이드록시뷰티르산을 포함한다. 에틸렌-비닐 아세테이트 및 락트산-글리콜산과 같은 중합체가 100일에 걸쳐 분자의 방출을 가능하게 하지만, 특정 하이드로겔은 더 단기간 동안 단백질을 방출한다.

[0349] 진단 용도

[0350] 본 발명은 또한 다양한 진단 및/또는 예방적 적응증에서 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체를 이용하기 위한 방법 및 키트를 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 (i) 대상체 또는 샘플

을 항-CD166 활성화 가능한 항체와 접촉시키는 단계로서, 항-CD166 AA는 마스킹 모이어티(MM), 절단제에 의해 절단되는 절단 가능한 모이어티(CM) 및 관심 대상의 표적에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인 또는 이의 단편(AB)을 포함하고, 항-CD166 AA는 비절단, 비활성화 상태에서 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열: MM-CM-AB 또는 AB-CM-MM을 포함하며; (a) MM은 CD166에 대한 AB의 결합을 저해하는 펩타이드이고, MM은 AB의 천연 유래 결합 상대의 아미노산 서열을 갖지 않고 AB의 천연 결합 상태의 변형된 형태가 아니며; (b) AB가 비절단, 비활성화 상태일 때, MM은 CD166에 대한 AB의 특이적 결합을 방해하고, AB가 절단, 활성화된 상태일 때, MM은 CD166에 대한 AB의 특이적 결합을 방해하지 않거나 경쟁하지 않는, 상기 접촉시키는 단계; (ii) 대상체 또는 샘플에서 활성화된 항-CD166 AA의 수준을 측정하는 단계로서, 대상체 또는 샘플에서 활성화된 항-CD166 AA의 검출 가능한 수준은 절단제 및 CD166이 대상체 또는 샘플에 존재한다는 것을 나타내고, 대상체 또는 샘플에서 활성화된 항-CD166 AA의 검출 가능한 수준이 없음은 절단제, CD166 또는 절단제와 CD166이 둘 다 대상체 또는 샘플에 없다는 것을 나타내는, 상기 측정하는 단계에 의해 대상체 또는 샘플에서의 관심 대상의 절단제 및 표적의 존재를 검출하는 방법 및 키트를 제공한다.

[0351] 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 항-CD166 항체는 치료제가 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체이다. 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 항-CD166 항체는 제제에 접합되지 않는다. 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 항-CD166 항체는 검출 가능한 표지를 포함한다. 일부 실시형태에서, 검출 가능한 표지는 AB 상에 위치된다. 일부 실시형태에서, 대상체 또는 샘플에서 활성화 가능한 항-CD166 항체 수준을 측정하는 것은 활성화된 항체에 특이적으로 결합하는 2차 시약을 이용하여 달성되되, 시약은 검출 가능한 표지를 포함한다. 일부 실시형태에서, 2차 시약은 검출 가능한 표지를 포함하는 항체이다.

[0352] 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 활성화 가능한 항-CD166 항체는 검출 가능한 표지를 포함한다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 검출 가능한 표지는 영상화제, 조영제, 효소, 형광 표지, 발색단, 염료, 하나 이상의 금속 이온 또는 리간드 기반 표지를 포함한다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 영상화제는 방사성표지를 포함한다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 방사성동위원소는 인듐 또는 테크네튬이다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 조영제는 아이오딘, 가돌리늄 또는 산화철을 포함한다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 효소는 겨자무과산화효소, 알칼리성 포스파타제 또는 β-갈락토시다제를 포함한다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 형광 표지는 황색 형광 단백질(YFP), 시안 형광 단백질(CFP), 녹색 형광 단백질(GFP), 변형된 적색 형광 단백질(mRFP), 적색 형광 단백질 t다이머2(RFP tdimer2), HCRED, 또는 유로퓸 유도체를 포함한다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 발광 표지는 N-메틸아크리디늄 유도체를 포함한다. 이들 방법의 일부 실시형태에서, 표지는 알렉사 플루오르(Alexa Fluor)(등록상표) 표지, 예컨대 알렉사 플루오르(등록상표) 680 또는 알렉사 플루오르(등록상표) 750을 포함한다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 리간드-기반 표지는 바이오틴, 아비딘, 스트렙타비딘 또는 하나 이상의 합텐을 포함한다.

[0353] 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 대상체는 포유류이다. 이들 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 인간이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 비-인간 포유류, 예컨대 비-인간 영장류, 반려 동물(예를 들어, 고양이, 개, 말), 농장 동물, 사역 동물 또는 동물원 동물이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 설치류이다.

[0354] 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 상기 방법은 생체내 방법이다. 이들 방법의 일부 실시형태에서, 상기 방법은 인시추 방법이다. 이들 방법의 일부 실시형태에서, 상기 방법은 생체외 방법이다. 이들 방법의 일부 실시형태에서, 상기 방법은 시험관내 방법이다.

[0355] 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 상기 방법은 본 개시내용의 항-CD166 AA를 이용한 치료 다음에 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체를 치료가 필요한 대상체에게 투여하는 것에 의한 치료에 의해 치료에 적합한 환자 집단을 확인하거나 또는 달리 개선하는 데 사용된다. 예를 들어, 이들 방법에서 시험 중인 항-CD166 AA의 CM(CM)에서 기질을 절단하는 표적(예를 들어, CD166)과 프로테아제 둘 다에 양성 반응인 환자는 이러한 CM을 포함하는 이러한 항-CD166 AA에 의한 치료를 위한 적합한 후보로서 확인되며, 이어서, 환자는 시험한 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합된 활성화 가능한 항-CD166 항체의 치료적 유효량이 투여된다. 마찬가지로, 이들 방법을 이용하여 시험 중인 AA에서의 CM에서 기질을 절단하는 프로테아제와 표적(예를 들어, CD166) 중 하나 또는 둘 다에 대해 음성 반응인 환자는 요법의 다른 형태에 대한 적합한 후보로서 확인될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 환자는 치료를 위한 적합한 항-CD166 AA가 확인될 때까지 다른 항-CD166 AA(예를 들어, 질환 부위에서 환자에 의해 절단된 CM을 포함하는 항-CD166 AA)로 시험될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이어서, 환자에 대해 양성 반응을 나타낸 치료적 유효량의 활성화 가능한 항-CD166 항체 및/또는 접합체가 환자에게 투여된다. 적합한 AB, MM 및/또는 CM은 본 명세서에 개시된 임의의 AB, MM 및/또는 CM

을 포함한다.

[0356] 일부 실시형태에서, AA 및/또는 접합된 AA는 검출 가능한 표지를 함유한다. 무손상 항체 또는 이의 단편(예를 들어, Fab, scFv 또는 $F(ab)_2$)이 사용된다. 프로브 또는 항체에 관해 용어 "표지된"은 프로브 또는 항체에 검출 가능한 물질을 결합시키는 것에 의한(즉, 물리적으로 연결시킴) 프로브 또는 항체의 직접적 표지뿐만 아니라 간접적으로 표지된 다른 시약과의 반응성에 의한 프로브 또는 항체의 간접적 표지를 포함하는 것으로 의도된다. 간접적 표지의 예는 형광 표지된 2차 항체를 이용하는 1차 항체의 검출 및 형광 표지된 스트렙타비딘에 의해 검출될 수 있도록 바이오틴에 의한 DNA 프로브의 말단 표지를 포함한다. 용어 "생물학적 샘플"은 대상체로부터 단리된 조직, 세포 및 생물학적 유체뿐만 아니라 대상체에 존재하는 조직, 세포 및 유체를 포함하는 것으로 의도된다. 따라서 용어 "생물학적 샘플"은 용도 내에, 혈액 및, 혈액 혈청, 혈액 혈장 또는 림프를 포함하는 혈액의 분획 또는 성분이 포함된다. 즉, 본 개시내용의 검출 방법은 시험관내뿐만 아니라 생체내 생물학적 샘플에서 분석물 mRNA, 단백질 또는 게놈 DNA를 검출하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 분석물 mRNA의 검출을 위한 시험관내 기법은 노던 혼성화 및 인시추 혼성화를 포함한다. 분석물 단백질의 검출을 위한 시험관내 기법은 효소 결합 면역흡착 분석(ELISA), 웨스턴 블롯, 면역침전법, 면역화학 염색 및 면역형광을 포함한다. 분석물 게놈 DNA의 검출을 위한 시험관내 기법은 서던 혼성화(Southern hybridization)를 포함한다. 면역분석을 수행하기 위한 절차는, 예를 들어 문헌["ELISA: Theory and Practice: Methods in Molecular Biology", Vol. 42, J. R. Crowther (Ed.) Human Press, Totowa, NJ, 1995; "Immunoassay", E. Diamandis and T. Christopoulus, Academic Press, Inc., San Diego, CA, 1996; 및 "Practice and Theory of Enzyme Immunoassays", P. Tijssen, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1985]에 기재되어 있다. 더 나아가, 분석물 단백질의 검출을 위한 생체내 기법은 대상체에 표지된 항-분석물 단백질 항체를 도입하는 것을 포함한다. 예를 들어, 항체는 대상체 내 존재 및 위치가 표준 영상화 기법에 의해 검출될 수 있는 방사성 마커로 표지될 수 있다.

[0357] 따라서, AA 및 본 개시내용의 접합된 AA는 또한 다양한 진단 및 예방적 제형에서 유용하다. 일 실시형태에서, AA 및/또는 접합된 AA는 앞서 언급한 장애 중 하나 이상이 발생하였거나 발생할 위험에 있는 대상체에게 투여된다. 앞서 언급한 장애 중 하나 이상에 대한 대상체의 또는 기관의 소인은 유전자형, 혈청학적 또는 생화학적 마커를 이용하여 결정될 수 있다.

[0358] 본 개시내용의 일부 실시형태에서, AA 및/또는 접합된 AA는 앞서 언급한 장애 중 하나 이상과 연관된 임상 적응증으로 진단된 인간 개체에게 투여된다. 진단 시, AA 및/또는 접합된 AA는 임상 적응증의 효과를 완화시키거나 또는 반전시키기 위해 투여된다.

[0359] 본 개시내용의 활성화 가능한 항체, 및/또는 접합된 AA는 대상체 샘플에서 표적 검출에 유용하며, 따라서 진단제로서 유용하다. 예를 들어, 본 개시내용의 항체 및/또는 활성화 가능한 항체, 및 이의 접합된 형태는 대상체 샘플 내 표적 수준을 검출하기 위해 시험관내 분석, 예를 들어, ELISA에서 사용된다.

[0360] 일 실시형태에서, 본 개시내용의 AA 및/또는 접합된 AA는 고체 지지체(예를 들어, 미량정량판의 웰(들)) 상에 고정된다. 고정된 AA 및/또는 접합된 AA는 시험 샘플에 존재할 수 있는 임의의 표적에 대한 포획 항체로서 작용한다. 고정된 활성화 가능한 항체, 및/또는 이의 접합된 형태를 대상체 샘플과 접촉시키기 전에, 고체 지지체는 분석물의 비특이적 흡착을 방지하기 위해 유즙단백질 또는 알부민과 같은 차단제로 린스되고 처리된다.

[0361] 후속적으로 웰은 항원을 함유하는 것으로 의심되는 시험 샘플로, 또는 표준량의 항원을 함유하는 용액으로 처리된다. 이러한 샘플은, 예를 들어 병리의 진단인 것으로 간주되는 순환 항원 수준을 갖는 것으로 의심되는 대상체로부터의 혈청 샘플이다. 시험 샘플 또는 표준을 린스한 후에, 고체 지지체는 검출 가능하게 표지된 제2 항체로 처리된다. 표지된 제2 항체는 검출 항체로서 작용한다. 검출 가능한 표지의 수준이 측정되며, 시험 샘플 내 표적 항원의 농도는 표준 샘플로부터 생성된 표준 곡선과의 비교에 의해 결정된다.

[0362] 시험관내 분석에서 본 개시내용의 AA 및 이의 접합된 형태를 이용하여 얻은 결과에 기반하여, 표적 항원의 발현 수준에 기반한 대상체에서의 병기를 정할 수 있다는 것이 인식될 것이다. 주어진 질환에 대해, 혈액 샘플은 질환 진행의 다양한 병기에서 그리고/또는 질환의 치료적 처치에서의 다양한 시점에서 진단되는 대상체로부터 취한다. 진행 또는 요법의 각각의 단계에 대한 통계학적으로 유의한 결과를 제공하는 샘플 집단을 이용하여, 각각의 병기의 특징이 되는 것으로 간주될 수 있는 항원의 다양한 농도가 표기된다.

[0363] AA 및/또는 접합된 AA는 또한 진단 및/또는 영상화 방법에서 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 방법은 시험관내 방법이다. 일부 실시형태에서, 이러한 방법은 생체내 방법이다. 일부 실시형태에서, 이러한 방법은 인시추 방법이다. 일부 실시형태에서, 이러한 방법은 생체외 방법이다. 예를 들어, 효소적으로 절단 가능한 CM

을 갖는 AA는 CM을 절단할 수 있는 효소의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 사용될 수 있다. 이러한 AA는 주어진 숙주 유기체의 주어진 세포 또는 조직에서 활성화된 항체(즉, 활성화 가능한 항체의 절단으로부터 초래되는 항체)의 측정된 축적을 통해 효소 활성(또는 일부 실시형태에서, 이황화결합의 환원을 제공할 수 있는 것과 같은 증가된 환원 전위의 환경)의 생체내 검출(예를 들어, 정성적 또는 정량적)을 포함할 수 있는 진단에서 사용될 수 있다. 활성화된 항체의 이러한 축적은 조직이 효소 활성(또는 CM 특성에 따라서 증가된 환원 전위)을 발현시킬 뿐만 아니라 조직이 활성화된 항체가 결합하는 표적을 발현시킨다는 것을 나타낸다.

[0364] 예를 들어, CM은 종양 부위에서, 바이러스 또는 박테리아 감염 부위에서, 생물학적으로 국한된 부위(예를 들어, 농양에서, 기관에서 등) 등에서 발견되는 적어도 1종의 프로테아제에 대한 기질이 되도록 선택될 수 있다. AB는 표적 항원에 결합하는 것일 수 있다. 본 명세서에 개시된 바와 같은 방법 또는 적절한 경우, 당업자에게 익숙한 방법을 이용하여, 검출 가능한 표지(예를 들어, 형광 표지 또는 방사성 표지 또는 방사성 트레이서)는 항체 및/또는 활성화 가능한 항체의 AB 또는 다른 영역에 접합될 수 있다. 적합한 검출 가능한 표지는 상기 선별 방법과 관련하여 논의되며, 추가적인 특정 실시예를 이하에 제공한다. 질환 상태의 단백질 또는 펩타이드에 특이적인 AB를 이용하여, 관심 대상의 질환 조직에서 활성이 상승되는 적어도 1종의 프로테아제와 함께, AA는 CM 특이적 효소가 검출 가능한 수준으로 존재하지 않거나 또는 질환 조직에서보다 더 적은 수준으로 존재하거나 또는 (예를 들어, 효소원 형태로 또는 저해제와의 복합체에서) 비활성인 조직에 비해 질환 조직에 대해 증가된 비율의 결합을 나타낼 것이다. 작은 단백질 및 펩타이드가 신장 여과 시스템에 의해 빠르게 청소되기 때문에, 그리고 CM에 특이적인 효소가 검출 가능한 수준으로 존재하지 않기 때문에(또는 비질환 조직에서 더 낮은 수준으로 존재하거나 또는 비활성 입체형태로 존재하기 때문에), 질환 조직에서 활성화된 항체의 축적은 비질환 조직에 비해 향상된다.

[0365] 다른 예에서, AA는 샘플 내 절단제의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, AA가 효소에 의해 절단될 여지가 있는 CM을 함유하는 경우에, AA는 샘플 내 효소의 존재를 (정성적으로 또는 정량적으로) 검출하는 데 사용될 수 있다. 다른 예에서, AA가 환원제에 의해 절단될 여지가 있는 CM을 함유하는 경우에, AA는 샘플 내 환원 조건의 존재를 (정성적으로 또는 정량적으로) 검출하는 데 사용될 수 있다. 이들 방법에서 분석을 용이하게 하기 위해, AA는 검출 가능하게 표지될 수 있고, 지지체(예를 들어, 고체 지지체, 예컨대 슬라이드 또는 비드)에 결합될 수 있다. 검출 가능한 표지는 절단 후에 방출되지 않은 AA의 부분 상에 위치될 수 있고, 예를 들어, 검출 가능한 표지는 형광 표지 또는 절단이 일어날 때까지 검출 가능하지 않은 다른 표지로 퀀칭(quenched)될 수 있다. 분석은, 예를 들어, 고정된, 검출 가능하게 표지된 AA를 절단이 일어나기에 충분한 시간 동안 효소 및/또는 환원제를 함유하는 것으로 의심되는 샘플과 접촉시키고, 이어서, 과량의 샘플 및 오염물질을 제거하기 위해 세척함으로써 수행될 수 있다. 이어서, 샘플 내 절단제(예를 들어, 효소 또는 환원제)의 존재 또는 부재는, 이어서, 샘플과 접촉시키기 전에 AA의 검출 가능한 신호의 변화, 예를 들어, 샘플 내 절단제에 의한 절단에 기인하는 검출 가능한 신호의 존재 및/또는 증가에 의해 평가된다.

[0366] 이러한 검출 방법은 또한 절단될 때 AA의 AB에 결합할 수 있는 표적의 존재 또는 부재의 검출을 제공하기에 적합할 수 있다. 따라서, 분석은 절단제의 존재 또는 부재 및 관심 대상의 표적의 존재 또는 부재를 평가하기에 적합할 수 있다. 절단제의 존재 또는 부재는 상기 기재한 바와 같은 AA의 검출 가능한 표지의 존재 및/또는 증가에 의해 검출될 수 있고, 표적의 존재 또는 부재는 표적-AB 복합체의 검출에 의해, 예를 들어, 검출 가능하게 표지된 항-표적 항체의 사용에 의해 검출될 수 있다.

[0367] AA는 또한, 예를 들어, 프로테아제 절단 및 특정 표적에 대한 결합에 의해 AA 활성화의 확인을 위한 인시추 영상화에서 유용하다. 인시추 영상화는 생물학적 샘플, 예컨대 세포 배양물 또는 조직 절편에서 단백질분해 활성 및 표적의 국소화를 가능하게 하는 기법이다. 이 기법을 이용하여, 검출 가능한 표지(예를 들어, 형광 표지)의 존재에 기반하여 주어진 표적에 대한 결합과 단백질분해 활성을 확인할 수 있다.

[0368] 이들 기법은 질환 부위(예를 들어, 종양 조직) 또는 건강한 조직으로부터 유래된 임의의 냉동 세포 또는 조직에 의해 유용하다. 이들 기법은 또한 새로운 세포 또는 조직 샘플에 의해 유용하다.

[0369] 이들 기법에서, AA는 검출 가능한 표지로 표지된다. 검출 가능한 표지는 형광 염료, (예를 들어, 형광단, 플루오레세인 아이소티오사이아네이트(FITC), 로다민 아이소티오사이아네이트(TRITC), 알렉사 플루오르(Alexa Fluor)(등록상표) 표지), 근적외선(NIR) 염료(예를 들어, Qdot(등록상표) 나노결정), 콜로이드 금속, 합텐, 방사성 마커, 바이오틴 및 증폭 시약, 예컨대 스트렙타비딘, 또는 효소(예를 들어, 겨자무과산화효소 또는 알칼리성 포스파타제)일 수 있다.

[0370] 표지된 AA와 함께 인큐베이션된 샘플 내 표지의 검출은 샘플이 표적을 함유하고, 활성화 가능한 항체의 CM에 특

이적인 프로테아제를 함유한다는 것을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 프로테아제의 존재는 본 명세서에 기재된 것과 같은 광범위 프로테아제 저해제를 이용함으로써, 그리고/또는 프로테아제에 특이적인 제제, 예를 들어, 프로테아제 매트립타제에 특이적이고 매트립타제의 단백질분해 활성을 저해하는 A11과 같은 항체를 이용함으로써 확인될 수 있고; 예를 들어, 2010년 11월 11일자로 공개된 국제특허출원 공개 WO 2010/129609를 참조한다. 광범위 프로테아제 저해제, 예컨대 본 명세서에 기재된 것을 이용하고/하거나 더 선택적인 저해 제제를 이용하는 동일한 접근은 활성화 가능한 항체의 CM에 특이적인 프로테아제를 확인하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적의 존재는 표적에 특이적인 항체, 예를 들어 다른 항체를 이용하여 확인될 수 있거나, 또는 검출 가능한 표지는 비표지 표적과 경쟁할 수 있다. 일부 실시형태에서, 비표지 AA는 표지된 2차 항체 또는 더 복잡한 검출 시스템에 의한 검출과 함께 사용될 수 있다.

[0371] 유사한 기법은 또한, 대상체, 예를 들어, 인간을 포함하는 포유류에서 형광 신호의 검출이 질환 부위가 표적을 함유하고 활성화 가능한 항체의 CM에 특이적인 프로테아제를 함유한다는 것을 나타내는 생체내 영상화에 유용하다.

[0372] 이들 기법은 또한 활성화 가능한 항체에서 프로테아제-특이적 CM에 기반하여 다양한 세포, 조직 및 유기체에서의 프로테아제 활성의 검출, 확인 또는 특성규명을 위한 키트에서 그리고/또는 시약으로서 유용하다.

[0373] 본 개시내용은 다양한 진단적 및/또는 예방적 적응증에서 AA를 이용하는 방법을 제공한다. 예를 들어, 본 개시내용은 (i) 대상체 또는 샘플을 활성화 가능한 항체와 접촉시키는 단계로서, AA는 마스킹 모이어티(MM), 절단제, 예를 들어, 프로테아제에 의해 절단되는 절단 가능한 모이어티(CM) 및 관심 대상의 표적에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인 또는 이의 단편(AB)을 포함하되, AA는 비절단, 비활성화 상태에서 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열: MM-CM-AB 또는 AB-CM-MM을 포함하며; (a) MM은 표적에 대한 AB의 결합을 저해하는 펩타이드이고, MM은 AB의 천연 유래 결합 상대의 아미노산 서열을 갖지 않고 AB의 천연 결합 상태의 변형된 형태가 아니며; (b) 비절단, 비활성화 상태일 때, MM은 표적에 대한 AB의 특이적 결합을 방해하고, AB가 절단, 활성화된 상태일 때, MM은 표적에 대한 AB의 특이적 결합을 방해하지 않거나 경쟁하지 않는, 상기 접촉시키는 단계; (ii) 대상체 또는 샘플에서 활성화된 AA의 수준을 측정하는 단계로서, 대상체 또는 샘플에서 활성화된 AA의 검출 가능한 수준은 절단제 및 표적이 대상체 또는 샘플에 존재한다는 것을 나타내고, 대상체 또는 샘플에서 활성화된 AA의 검출 가능한 수준이 없음은 절단제, 표적 또는 절단제와 표적이 둘 다 대상체 또는 샘플에 없고/없거나 충분히 존재하지 않는다는 것을 나타내는, 상기 측정하는 단계에 의해 대상체 또는 샘플에서의 관심 대상의 절단제 및 표적의 존재를 검출하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, AA는 치료제가 접합된 AA이다. 일부 실시형태에서, AA는 제제에 접합되지 않는다. 일부 실시형태에서, AA는 검출 가능한 표지를 포함한다. 일부 실시형태에서, 검출 가능한 표지는 AB 상에 위치된다. 일부 실시형태에서, 대상체 또는 샘플에서 AA 수준을 측정하는 것은 활성화된 항체에 특이적으로 결합하는 2차 시약을 이용하여 달성되되, 시약은 검출 가능한 표지를 포함한다. 일부 실시형태에서, 2차 시약은 검출 가능한 표지를 포함하는 항체이다.

[0374] 본 개시내용은 또한 (i) 관심 대상의 표적, 예를 들어, 표적의 존재 하에 대상체 또는 샘플을 AA와 접촉시키는 단계로서, AA는 마스킹 모이어티(MM), 절단제, 예를 들어, 프로테아제에 의해 절단되는 절단 가능한 모이어티(CM) 및 관심 대상의 표적에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인 또는 이의 단편(AB)을 포함하고, AA는 비절단, 비활성화 상태에서 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열: MM-CM-AB 또는 AB-CM-MM을 포함하며; (a) MM은 표적에 대한 AB의 결합을 저해하는 펩타이드이고, MM은 AB의 천연 유래 결합 상대의 아미노산 서열을 갖지 않고 AB의 천연 결합 상태의 변형된 형태가 아니며; (b) 비절단, 비활성화 상태일 때, MM은 표적에 대한 AB의 특이적 결합을 방해하고, AB가 절단, 활성화된 상태일 때, MM은 표적에 대한 AB의 특이적 결합을 방해하지 않거나 경쟁하지 않는, 상기 접촉시키는 단계; (ii) 대상체 또는 샘플에서 활성화된 AA의 수준을 측정하는 단계로서, 대상체 또는 샘플에서 활성화된 AA의 검출 가능한 수준은 절단제가 대상체 또는 샘플에 존재한다는 것을 나타내고, 대상체 또는 샘플에서 활성화된 AA의 검출 가능한 수준이 없음은 절단제가 대상체 또는 샘플에 없고/없거나 충분히 존재하지 않는다는 것을 나타내는, 상기 접촉시키는 단계에 의해 대상체 또는 샘플에서의 관심 대상의 절단제 및 표적의 존재를 검출하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, AA는 치료제가 접합된 AA이다. 일부 실시형태에서, AA는 제제에 접합되지 않는다. 일부 실시형태에서, AA는 검출 가능한 표지를 포함한다. 일부 실시형태에서, 검출 가능한 표지는 AB 상에 위치된다. 일부 실시형태에서, 대상체 또는 샘플에서 AA 수준을 측정하는 것은 활성화된 항체에 특이적으로 결합하는 2차 시약을 이용하여 달성되되, 시약은 검출 가능한 표지를 포함한다. 일부 실시형태에서, 2차 시약은 검출 가능한 표지를 포함하는 항체이다.

[0375] 본 개시내용은 또한 대상체 또는 샘플에서 절단제 및 표적의 존재 또는 부재를 검출하는 방법에서 사용하기 위한 키트를 제공하며, 키트는 마스킹 모이어티(MM), 절단제, 예를 들어, 프로테아제에 의해 절단되는 절단 가능

한 모이어티(CM), 및 관심 대상의 표적에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인 또는 이의 단편(AB)을 포함하는 적어도 AA를 포함하되, AA는 비절단, 비활성화 상태에서 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열: MM-CM-AB 또는 AB-CM-MM을 포함하고; (a) MM은 표적에 대한 AB의 결합을 저해하는 펩타이드이고, MM은 AB의 천연 유래 결합 상대의 아미노산 서열을 갖지 않고 AB의 천연 결합 상태의 변형된 형태가 아니며; (b) 비절단, 비활성화 상태일 때, MM은 표적에 대한 AB의 특이적 결합을 방해하고, AB가 절단, 활성화된 상태일 때, MM은 표적에 대한 AB의 특이적 결합을 방해하지 않거나 경쟁하지 않으며; (ii) 대상체 또는 샘플에서 활성화된 AA의 수준을 측정하되, 대상체 또는 샘플에서 활성화된 AA의 검출 가능한 수준은 절단제가 대상체 또는 샘플에 존재한다는 것을 나타내고, 대상체 또는 샘플에서 활성화된 AA의 검출 가능한 수준이 없음은 절단제가 대상체 또는 샘플에 없고/없거나 충분히 존재하지 않는다는 것을 나타낸다. 일부 실시형태에서, AA는 치료제가 접합된 AA이다. 일부 실시형태에서, AA는 제제에 접합되지 않는다. 일부 실시형태에서, AA는 검출 가능한 표지를 포함한다. 일부 실시형태에서, 검출 가능한 표지는 AB 상에 위치된다. 일부 실시형태에서, 대상체 또는 샘플에서 AA 수준을 측정하는 것은 활성화된 항체에 특이적으로 결합하는 2차 시약을 이용하여 달성되되, 시약은 검출 가능한 표지를 포함한다. 일부 실시형태에서, 2차 시약은 검출 가능한 표지를 포함하는 항체이다.

[0376] 본 개시내용은 또한 (i) 대상체 또는 샘플을 활성화 가능한 항체와 접촉시키는 단계로서, AA는 마스킹 모이어티(MM), 절단제, 예를 들어, 프로테아제에 의해 절단되는 절단 가능한 모이어티(CM), 표적에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인(AB) 및 검출 가능한 표지를 포함하고, AA는 비절단, 비활성화 상태에서 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열: MM-CM-AB 또는 AB-CM-MM을 포함하며; MM은 표적에 대한 AB의 결합을 저해하는 펩타이드이고, MM은 AB의 천연 유래 결합 상대의 아미노산 서열을 갖지 않고 AB의 천연 결합 상태의 변형된 형태가 아니며; 비절단, 비활성화 상태일 때, MM은 표적에 대한 AB의 특이적 결합을 방해하고, AB가 절단, 활성화된 상태일 때, MM은 표적에 대한 AB의 특이적 결합을 방해하지 않거나 경쟁하지 않고; 검출 가능한 표지는 CM의 절단 후에 방출되는 AA의 부분 상에 위치되는, 상기 접촉시키는 단계; (ii) 대상체 또는 샘플에서 검출 가능한 표지의 수준을 측정하는 단계로서, 대상체 또는 샘플에서 검출 가능한 표지의 검출 가능한 수준은 절단제가 대상체 또는 샘플에 없고/없거나 충분하게 존재하지 않는다 것을 나타내고, 대상체 또는 샘플에서 검출 가능한 표지의 검출 가능한 수준이 없음은 절단제가 대상체 또는 샘플에 존재한다는 것을 나타내는, 상기 측정하는 단계에 의해 대상체 또는 샘플에서의 절단제의 존재를 검출하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, AA는 치료제가 접합된 AA이다. 일부 실시형태에서, AA는 제제에 접합되지 않는다. 일부 실시형태에서, AA는 검출 가능한 표지를 포함한다. 일부 실시형태에서, 검출 가능한 표지는 AB 상에 위치된다. 일부 실시형태에서, 대상체 또는 샘플에서 AA 수준을 측정하는 것은 활성화된 항체에 특이적으로 결합하는 2차 시약을 이용하여 달성되되, 시약은 검출 가능한 표지를 포함한다. 일부 실시형태에서, 2차 시약은 검출 가능한 표지를 포함하는 항체이다.

[0377] 본 개시내용은 또한 대상체 또는 샘플에서 절단제 및 표적의 존재 또는 부재를 검출하는 방법에서 사용하기 위한 키트를 제공하며, 키트는 대상체 또는 생물학적 샘플을 접촉시키는 데 사용하기 위해 본 명세서에 기재된 적어도 AA 및/또는 접합된 AA(예를 들어, 치료제에 접합된 AA) 및 대상체 또는 생물학적 샘플에서 활성화된 AA 및/또는 접합된 AA의 수준을 검출하기 위한 수단을 포함하되, 대상체 또는 생물학적 샘플에서 활성화된 AA의 검출 가능한 수준은 절단제 및 표적이 대상체 또는 생물학적 샘플에 존재한다는 것을 나타내고, 대상체 또는 생물학적 샘플에서 활성화된 AA의 검출 가능한 수준이 없음은 절단제, 표적 또는 절단제와 표적이 둘 다 대상체 또는 샘플에 없고/없거나 충분히 존재하지 않으므로, AA의 표적 결합 및/또는 프로테아제 절단이 대상체 또는 생물학적 샘플에서 검출될 수 없다는 것을 나타낸다.

[0378] 본 개시내용은 또한 (i) 표적의 존재 하에 대상체 또는 생물학적 샘플을 AA와 접촉시키는 단계, 및 (ii) 대상체 또는 생물학적 샘플에서 활성화된 AA의 수준을 측정하는 단계에 의해 대상체 또는 샘플에서 절단제의 존재 또는 부재를 검출하는 방법을 제공하되, 대상체 또는 생물학적 샘플에서 활성화된 AA의 검출 가능한 수준은 절단제가 대상체 또는 생물학적 샘플에 존재한다는 것을 나타내고, 대상체 또는 생물학적 샘플에서 활성화된 AA의 검출 가능한 수준이 없음은 절단제가 대상체 또는 샘플에 없고/없거나 검출 가능한 수준으로 충분히 존재하지 않으므로, AA의 프로테아제 절단이 대상체 또는 생물학적 샘플에서 검출될 수 없다는 것을 나타낸다. 이러한 AA는 마스킹 모이어티(MM), 절단제, 예를 들어, 프로테아제에 의해 절단되는 절단 가능한 모이어티(CM), 및 표적에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인 또는 이의 단편(AB)을 포함하되, AA는 비절단(즉, 비활성화) 상태에서 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열: MM-CM-AB 또는 AB-CM-MM을 포함하고; (a) MM은 표적에 대한 AB의 결합을 저해하는 펩타이드이고, MM은 AB의 천연 유래 결합 상대의 아미노산 서열을 갖지 않으며; 그리고 (b) 비절단 상태에서 AA의 MM은 표적에 대한 AB의 특이적 결합을 방해하며, 절단된(즉, 활성화된) 상태에서 AA의 MM은 표적에 대한 AB의 특이적 결합을 방해하지 않거나 또는 경쟁하지 않는다. 일부 실시형태에서, AA는 치료제가 접합된 AA이다. 일부 실시형태에서, AA는 제제에 접합되지 않는다. 일부 실시형태에서, 검출 가능한 표

지는 마스킹 모이어티에 부착된다. 일부 실시형태에서, 검출 가능한 표지는 프로테아제 절단 부위에 대해 CM N-말단에 부착된다. 일부 실시형태에서, AB의 단일 항원 결합 부위는 마스킹된다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항체는 적어도 2개의 항원 결합 부위를 가지고, 적어도 1개의 항원 결합 부위는 마스킹되며, 적어도 1개의 항원 결합 부위는 마스킹되지 않는다. 일부 실시형태에서, 모든 항원 결합 부위는 마스킹된다. 일부 실시형태에서, 측정하는 단계는 검출 가능한 표지를 포함하는 2차 시약의 사용을 포함한다.

[0379] 본 개시내용은 또한 대상체 또는 샘플에서 절단제 및 표적의 존재 또는 부재를 검출하는 방법에서 사용하기 위한 키트를 제공하며, 키트는 표적의 존재 하에 대상체 또는 생물학적 샘플을 AA와 접촉시키고, 대상체 또는 생물학적 샘플에서 활성화된 AA의 수준을 측정하는 데 사용하기 위한 본 명세서에 기재된 적어도 AA 및/또는 접합된 AA를 포함하되, 대상체 또는 생물학적 샘플에서 활성화된 AA의 검출 가능한 수준은 절단제가 대상체 또는 생물학적 샘플에 존재한다는 것을 나타내고, 대상체 또는 생물학적 샘플에서 활성화된 AA의 검출 가능한 수준이 없음은 절단제가 대상체 또는 샘플에 없고/없거나 검출 가능한 수준으로 충분히 존재하지 않으므로, AA의 프로테아제 절단이 대상체 또는 생물학적 샘플에서 검출될 수 없다는 것을 나타낸다. 이러한 AA는 마스킹 모이어티(MM), 절단제, 예를 들어, 프로테아제에 의해 절단되는 절단 가능한 모이어티(CM), 및 표적에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인 또는 이의 단편(AB)을 포함하되, AA는 비절단(즉, 비활성화) 상태에서 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열: MM-CM-AB 또는 AB-CM-MM을 포함하며; (a) MM은 표적에 대한 AB의 결합을 저해하는 펩타이드이고, MM은 AB의 천연 유래 결합 상대의 아미노산 서열을 갖지 않으며; 그리고 (b) 비절단 상태에서 AA의 MM은 표적에 대한 AB의 특이적 결합을 방해하며, 절단된(즉, 활성화된) 상태에서 AA의 MM은 표적에 대한 AB의 특이적 결합을 방해하지 않거나 또는 경쟁하지 않는다. 일부 실시형태에서, AA는 치료제가 접합된 AA이다. 일부 실시형태에서, AA는 제제에 접합되지 않는다. 일부 실시형태에서, 검출 가능한 표지는 마스킹 모이어티에 부착된다. 일부 실시형태에서, 검출 가능한 표지는 프로테아제 절단 부위에 대해 CM N-말단에 부착된다. 일부 실시형태에서, AB의 단일 항원 결합 부위는 마스킹된다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항체는 적어도 2개의 항원 결합 부위를 가지고, 적어도 1개의 항원 결합 부위는 마스킹되며, 적어도 1개의 항원 결합 부위는 마스킹되지 않는다. 일부 실시형태에서, 모든 항원 결합 부위는 마스킹된다. 일부 실시형태에서, 측정하는 단계는 검출 가능한 표지를 포함하는 2차 시약의 사용을 포함한다.

[0380] 본 개시내용은 또한 대상체 또는 샘플에서 절단제의 존재 또는 부재를 검출하는 방법에서 사용하기 위한 키트를 제공하며, 키트는 생물학적 샘플을 접촉시키는 데 사용하기 위한 본 명세서에 기재된 AA 및/또는 접합된 AA 및 대상체 또는 생물학적 샘플에서 활성화된 적어도 AA 및/또는 접합된 AA의 수준을 검출하기 위한 수단을 포함하되, AA는 CM의 절단 후에 방출된 AA의 부분 상에 위치되는 검출 가능한 표지를 포함하고, 대상체 또는 생물학적 샘플에서 활성화된 AA의 검출 가능한 수단은 AA의 표적 결합 및/또는 프로테아제 절단이 대상체 또는 생물학적 샘플에서 검출될 수 없도록 절단제가 대상체 또는 생물학적 샘플에 없고/없거나 충분히 존재하지 않다는 것을 나타내고, 대상체 또는 생물학적 샘플에서 활성화된 AA의 검출 가능한 수단이 없음은 절단제가 대상체 또는 생물학적 샘플에서 검출 가능한 수단으로 존재한다는 것을 나타낸다.

[0381] 본 개시내용은 (i) 대상체 또는 생물학적 샘플을 활성화 가능한 항체와 접촉시키는 단계로서, AA는 CM의 절단 후에 방출되는 AA의 부분 상에 위치되는 검출 가능한 표지를 포함하는, 상기 접촉시키는 단계 및 (ii) 대상체 또는 생물학적 샘플에서 활성화된 AA의 수준을 측정하는 단계로서, 대상체 또는 생물학적 샘플에서 활성화된 AA의 검출 가능한 수준은 절단제, 표적 또는 절단제와 표적이 둘 다 없고/없거나 대상체 또는 생물학적 샘플에 충분히 존재하지 않으므로, AA의 표적 결합 및/또는 프로테아제는 대상체 또는 생물학적 샘플에서 검출될 수 없다는 것을 나타내고, 대상체 또는 생물학적 샘플에서 활성화된 AA의 감소된 검출 가능한 수준은 절단제 및 표적이 대상체 또는 생물학적 샘플에 존재한다는 것을 나타내는, 상기 측정하는 단계에 의해 대상체 또는 샘플에서 절단제 및 표적의 존재 또는 부재를 검출하는 방법을 제공한다. 검출 가능한 표지의 감소된 수준은, 예를 들어, 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95% 및/또는 약 100%의 감소이다. 이러한 AA는 마스킹 모이어티(MM), 절단제에 의해 절단되는 절단 가능한 모이어티(CM), 및 표적에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인 또는 이의 단편(AB)을 포함하되, AA는 비절단(즉, 비활성화) 상태에서 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열: MM-CM-AB 또는 AB-CM-MM을 포함하며; (a) MM은 표적에 대한 AB의 결합을 저해하는 펩타이드이고, MM은 AB의 천연 유래 결합 상대의 아미노산 서열을 갖지 않으며; 그리고 (b) 비절단 상태에서 AA의 MM은 표적에 대한 AB의 특이적 결합을 방해하며, 절단된(즉, 활성화된) 상태에서 AA의 MM은 표적에 대한 AB의 특이적 결합을 방해하지 않거나 또는 경쟁하지 않는다. 일부 실시형태에서, AA는 치료제가 접합된 AA이다. 일부 실시형태에서, AA는 제제에 접합되지 않는다. 일부 실시형태에서, AA는 검출 가능한 표지를 포함한다. 일부 실시형태에서, 검출 가능한 표지는 AB 상에 위치된다. 일부 실시형태에서, 대상체 또는 샘플에서 AA 수준을 측정하는 것은 활성

화된 항체에 특이적으로 결합하는 2차 시약을 이용하여 달성되되, 시약은 검출 가능한 표지를 포함한다. 일부 실시형태에서, 2차 시약은 검출 가능한 표지를 포함하는 항체이다.

[0382] 본 개시내용은 또한 대상체 또는 샘플에서 절단제 및 표적의 존재 또는 부재를 검출하는 방법에서 사용하기 위한 키트를 제공하며, 키트는 대상체 또는 생물학적 샘플을 접촉시키는 데 사용하기 위해 본 명세서에 기재된 적어도 AA 및/또는 접합된 AA 및 대상체 또는 생물학적 샘플에서 활성화된 AA 및/또는 접합된 AA 수준을 검출하기 위한 수단을 포함하되, 대상체 또는 생물학적 샘플에서 활성화된 AA의 검출 가능한 수단은 절단제, 표적 또는 절단제와 표적 둘 다가 대상체 또는 생물학적 샘플에 없고/없거나 충분히 존재하지 않으므로, AA의 표적 결합 및/또는 프로테아제 절단은 대상체 또는 생물학적 샘플에서 검출될 수 없다는 것을 나타내고, 대상체 또는 생물학적 샘플에서 활성화된 AA의 감소된 검출 가능한 수준은 절단제 및 표적이 대상체 또는 생물학적 샘플에 존재한다는 것을 나타낸다. 검출 가능한 표지의 감소된 수준은, 예를 들어, 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95% 및/또는 약 100%의 감소이다.

[0383] 본 개시내용은 또한 (i) 대상체 또는 생물학적 샘플을 활성화 가능한 항체와 접촉시키는 단계로서, AA는 CM의 절단 후에 방출되는 AA의 부분 상에 위치되는 검출 가능한 표지를 포함하는, 상기 접촉시키는 단계; 및 (ii) 대상체 또는 생물학적 샘플에서 검출 가능한 표지 수준을 측정하는 단계로서, 대상체 또는 생물학적 샘플에서 검출 가능한 표지의 검출 가능한 수준은 절단제가 없고/없거나 검출 가능한 수준에서 대상체 또는 생물학적 샘플에 충분히 존재하지 않으므로, AA의 프로테아제 절단은 대상체 또는 생물학적 샘플에서 검출될 수 없다는 것을 나타내고, 대상체 또는 생물학적 샘플에서 검출 가능한 표지의 감소된 검출 가능한 수준은 절단제가 대상체 또는 생물학적 샘플에 존재한다는 것을 나타내는, 상기 측정하는 단계에 의해 대상체 또는 샘플에서 절단제의 존재 또는 부재를 검출하는 방법을 제공한다. 검출 가능한 표지의 감소된 수준은, 예를 들어, 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95% 및/또는 약 100%의 감소이다. 이러한 AA는 마스킹 모이어티(MM), 절단제에 의해 절단되는 절단 가능한 모이어티(CM), 및 표적에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인 또는 이의 단편(AB)을 포함하되, AA는 비절단(즉, 비활성화) 상태에서 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열: MM-CM-AB 또는 AB-CM-MM을 포함하며; (a) MM은 표적에 대한 AB의 결합을 저해하는 펩타이드이고, MM은 AB의 천연 유래 결합 상대의 아미노산 서열을 갖지 않으며; 그리고 (b) 비절단 상태에서 AA의 MM은 표적에 대한 AB의 특이적 결합을 방해하며, 절단된(즉, 활성화된) 상태에서 AA의 MM은 표적에 대한 AB의 특이적 결합을 방해하지 않거나 또는 경쟁하지 않는다. 일부 실시형태에서, AA는 치료제가 접합된 AA이다. 일부 실시형태에서, AA는 제제에 접합되지 않는다. 일부 실시형태에서, AA는 검출 가능한 표지를 포함한다. 일부 실시형태에서, 검출 가능한 표지는 AB 상에 위치된다. 일부 실시형태에서, 대상체 또는 샘플에서 AA 수준을 측정하는 것은 활성화된 항체에 특이적으로 결합하는 2차 시약을 이용하여 달성되되, 시약은 검출 가능한 표지를 포함한다. 일부 실시형태에서, 2차 시약은 검출 가능한 표지를 포함하는 항체이다.

[0384] 본 개시내용은 또한 대상체 또는 샘플에서 관심 대상의 절단제의 존재 또는 부재를 검출하는 방법에서 사용하기 위한 키트를 제공하며, 키트는 대상체 또는 생물학적 샘플을 접촉시키는 데 사용하기 위해 본 명세서에 기재된 적어도 AA 및/또는 접합된 AA 및 대상체 또는 생물학적 샘플에서 활성화된 AA 및/또는 접합된 AA 수준을 검출하기 위한 수단을 포함하되, AA는 CM의 절단 후에 방출된 AA의 부분 상에 위치된 검출 가능한 표지를 포함하고, 대상체 또는 생물학적 샘플에서 검출 가능한 표지의 검출 가능한 수준은 절단제, 표적 또는 절단제와 표적 둘 다가 대상체 또는 생물학적 샘플에 없고/없거나 충분히 존재하지 않으므로, AA의 표적 결합 및/또는 프로테아제 절단은 대상체 또는 생물학적 샘플에서 검출될 수 없다는 것을 나타내고, 대상체 또는 생물학적 샘플에서 검출 가능한 표지의 감소된 검출 가능한 수준은 절단제 및 표적이 대상체 또는 생물학적 샘플에 존재한다는 것을 나타낸다. 검출 가능한 표지의 감소된 수준은, 예를 들어, 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95% 및/또는 약 100%의 감소이다.

[0385] 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, AA는 검출 가능한 표지를 포함한다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 검출 가능한 표지는 영상화제, 조영제, 효소, 형광 표지, 발색단, 염료, 하나 이상의 금속 이온 또는 리간드 기반 표지를 포함한다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 영상화제는 방사성표지를 포함한다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 방사성동위원소는 인듐 또는 테크네튬이다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 조영제는 아이오딘, 가돌리늄 또는 산화철을 포함한다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 효소는 겨자무과산화효소, 알칼리성 포스파타제 또는 β-갈락토시다제를 포함한다. 이들 방법 및 키트의 일부

실시형태에서, 형광 표지는 황색 형광 단백질(YFP), 시안 형광 단백질(CFP), 녹색 형광 단백질(GFP), 변형된 적색 형광 단백질(mRFP), 적색 형광 단백질 t다이머2(RFP tdimer2), HCRED, 또는 유로퓸 유도체를 포함한다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 발광 표지는 N-메틸아크리디늄 유도체를 포함한다. 이들 방법의 일부 실시형태에서, 표지는 알렉사 플루오르(Alexa Fluor)(등록상표) 표지, 예컨대 알렉사 플루오르(등록상표) 680 또는 알렉사 플루오르(등록상표) 750을 포함한다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 리간드-기반 표지는 바이오틴, 아비딘, 스트렙타비딘 또는 하나 이상의 합텐을 포함한다.

[0386] 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 대상체는 포유류이다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 대상체는 인간이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 비-인간 포유류, 예컨대 비-인간 영장류, 반려 동물(예를 들어, 고양이, 개, 말), 농장 동물, 사역 동물 또는 동물원 동물이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 설치류이다.

[0387] 이들 방법의 일부 실시형태에서, 상기 방법은 생체내 방법이다. 이들 방법의 일부 실시형태에서, 상기 방법은 인시추 방법이다. 이들 방법의 일부 실시형태에서, 상기 방법은 생체외 방법이다. 이들 방법의 일부 실시형태에서, 상기 방법은 시험관내 방법이다.

[0388] 일부 실시형태에서, 인시추 영상화 및/또는 생체내 영상화는 치료할 대상체를 확인하는 방법에서 유용하다. 예를 들어, 인시추 영상화에서, AA는 적절한 위치에서, 예를 들어, 종양 부위에서 적절한 프로테아제(들) 및 표적(들)을 갖는 해당 대상체를 확인하기 위해 대상체 샘플을 선별하는 데 사용된다.

[0389] 일부 실시형태에서 인시추 영상화는 본 개시내용의 AA에 의한 치료에 적합한 대상체 집단을 확인하거나 또는 달리 개선시키는 데 사용된다. 예를 들어, 시험 중인 AA의 CM(CM)에서 기질을 절단하는(예를 들어, 질환 부위에서 활성화된 항체를 축적하는) 프로테아제와 표적(예를 들어, 표적) 둘 다에 양성 반응인 대상체는 이러한 CM을 포함하는 이러한 AA에 의한 치료에 대한 적합한 후보로서 확인된다. 마찬가지로, 이들 방법을 이용하여 시험 중인 AA에서의 CM에서 기질을 절단하는 프로테아제와 표적(예를 들어, 표적) 중 하나 또는 둘 다에 대해 음성 반응인 대상체는 요법의 다른 형태에 대한 적합한 후보로서 확인될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 AA에 관해 음성 반응을 나타내는 이러한 대상체는 치료에 적합한 AA(예를 들어, 질환 부위에서 대상체에 의해 절단된 CM을 포함하는 AA)가 확인될 때까지 상이한 CM을 포함하는 다른 AA로 시험될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이어서, 대상체에 대해 양성 반응을 나타낸 치료적 유효량의 AA가 대상체에게 투여된다.

[0390] 일부 실시형태에서, 생체내 영상화는 본 개시내용의 AA에 의한 치료에 적합한 대상체 집단을 확인하거나 또는 달리 개선시키는 데 사용된다. 예를 들어, 시험 중인 AA의 CM(CM)에서 기질을 절단하는(예를 들어, 질환 부위에서 활성화된 항체를 축적하는) 프로테아제와 표적(예를 들어, 표적) 둘 다에 양성 반응인 대상체는 이러한 CM을 포함하는 이러한 AA에 의한 치료에 대한 적합한 후보로서 확인된다. 마찬가지로, 음성 반응인 대상체는 다른 형태의 요법에 대한 적합한 후보로서 확인될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 AA에 관해 음성 반응을 나타내는 이러한 대상체는 치료에 적합한 AA(예를 들어, 질환 부위에서 대상체에 의해 절단된 CM을 포함하는 AA)가 확인될 때까지 상이한 CM을 포함하는 다른 AA로 시험될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이어서, 대상체에 대해 양성 반응을 나타낸 치료적 유효량의 AA가 대상체에게 투여된다.

[0391] 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 방법 또는 키트는 본 개시내용의 AA에 의한 치료에 적합한 대상체 집단을 확인하거나 또는 달리 개선시키는 데 사용된다. 예를 들어, 이들 방법에서 시험 중인 AA의 CM(CM)에서 기질을 절단하는 프로테아제와 표적(예를 들어, 표적) 둘 다에 양성 반응인 대상체는 이러한 CM을 포함하는 이러한 AA에 의한 치료에 대한 적합한 후보로서 확인된다. 마찬가지로, 이들 방법을 이용하여 시험 중인 AA에서의 CM에서 기질을 절단하는 프로테아제와 표적(예를 들어, 표적) 둘 다에 대해 음성 반응인 대상체는 요법의 다른 형태에 대한 적합한 후보로서 확인될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 대상체는 치료에 적합한 AA(예를 들어, 질환 부위에서 대상체에 의해 절단된 CM을 포함하는 AA)가 확인될 때까지 다른 AA로 시험될 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적(예를 들어, 표적) 중 하나에 음성 반응인 대상체는 이러한 CM을 포함하는 이러한 AA에 의한 치료를 위한 적합한 후보로서 확인된다. 일부 실시형태에서, 표적(예를 들어, 표적) 중 하나에 음성 반응인 대상체는 이러한 CM을 포함하는 이러한 AA에 의한 치료를 위한 적합하지 않은 후보로서 확인된다. 일부 실시형태에서, 이러한 대상체는 치료에 적합한 AA(예를 들어, 질환 부위에서 대상체에 의해 절단된 CM을 포함하는 AA)가 확인될 때까지 다른 AA로 시험될 수 있다. 일부 실시형태에서, AA는 치료제가 접합된 AA이다. 일부 실시형태에서, AA는 제제에 접합되지 않는다. 일부 실시형태에서, AA는 검출 가능한 표지를 포함한다. 일부 실시형태에서, 검출 가능한 표지는 AB 상에 위치된다. 일부 실시형태에서, 대상체 또는 샘플에서 AA 수준을 측정하는 것은 활성화된 항체에 특이적으로 결합하는 2차 시약을 이용하여 달성되되, 시약은 검출 가능한 표지를 포함한다. 일부 실시형태에서, 2차 시약은 검출 가능한 표지를 포함하는 항체이다.

[0392] 일부 실시형태에서, 방법 또는 키트는 본 개시내용의 항-표적 AA 및/또는 접합된 AA(예를 들어, 치료제에 접합된 AA)에 의한 치료 다음에 AA 및/또는 접합된 AA를 치료가 필요한 대상체에게 투여하는 치료에 적합한 대상체 집단을 확인하거나 또는 달리 개선시키기 위해 사용된다. 예를 들어, 이들 방법에서 시험 중인 AA 및/또는 접합된 AA의 CM(CM)에서 기질을 절단하는 프로테아제와 표적(예를 들어, 표적) 둘 다에 대해 양성 반응인 대상체는 이러한 CM을 포함하는 이러한 항체 및/또는 이러한 접합된 AA에 의한 치료를 위한 적합한 후보로서 확인되며, 이어서, 대상체에게 시험된 치료적 유효량의 AA 및/또는 접합된 AA가 투여된다. 마찬가지로, 이들 방법을 이용하여 시험 중인 AA에서의 CM에서 기질을 절단하는 프로테아제와 표적(예를 들어, 표적) 중 하나 또는 둘 다에 대해 음성 반응인 대상체는 요법의 다른 형태에 대한 적합한 후보로서 확인될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 대상체는 치료에 적합한 항체 및/또는 접합된 AA(예를 들어, 질환 부위에서 대상체에 의해 절단된 CM을 포함하는 AA 및/또는 접합된)가 확인될 때까지 다른 항체 및/또는 접합된 AA로 시험될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이어서, 대상체에 대해 양성 반응을 나타낸 치료적 유효량의 AA 및/또는 접합된 AA가 대상체에게 투여된다.

[0393] 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, MM은 약 4 내지 40개의 아미노산 길이의 펩타이드이다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, AA는 링커 펩타이드를 포함하되, 링커 펩타이드는 MM과 CM 사이에 위치된다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, AA는 링커 펩타이드를 포함하되, 링커 펩타이드는 AB와 CM 사이에 위치된다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, AA는 제1 링커 펩타이드(LP1) 및 제2 링커 펩타이드(LP2)를 포함하되, 제1 링커 펩타이드는 MM과 CM 사이에 위치되고, 제2 링커 펩타이드는 AB와 CM 사이에 위치된다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, LP1 및 LP2의 각각은 약 1 내지 20개의 아미노산 길이의 펩타이드이고, LP1 및 LP2의 각각은 동일한 링커를 필요로 하지 않는다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, LP1 및 LP2 중 하나 또는 둘 다는 글리신-세린 중합체를 포함한다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, LP1 및 LP2 중 적어도 하나는 (GS)n, (GSGGS)n (서열번호 1) 및 (GGGS)n (서열번호 2)로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하되, n은 적어도 1의 정수이다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, LP1 및 LP2 중 적어도 하나는 식 (GGS)n을 갖는 아미노산 서열을 포함하며, n은 적어도 1의 정수이다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, LP1 및 LP2 중 적어도 하나는 Gly-Gly-Ser-Gly (서열번호 3), Gly-Gly-Ser-Gly-Gly (서열번호 4), Gly-Ser-Gly-Ser-Gly (서열번호 5), Gly-Ser-Gly-Gly-Gly (서열번호 6), Gly-Gly-Gly-Ser-Gly (서열번호 7), 및 Gly-Ser-Ser-Ser-Gly (서열번호 8)로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0394] 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, AB는 본 명세서에 제시된 교차 반응성 항체 서열로부터 선택되는 항체 또는 항체 단편 서열을 포함한다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, AB는 Fab 단편, scFv 또는 단일쇄 항체(scAb)를 포함한다.

[0395] 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, 절단제는 대상체 또는 샘플에서 표적화 공동 국소화되는 프로테아제이고 CM은 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 폴리펩타이드이되, AA가 프로테아제에 노출될 때 프로테아제는 AA에서 CM을 절단한다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, CM은 약 15개까지의 아미노산 길이의 폴리펩타이드이다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, CM은 AB의 N-말단에 결합된다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, CM은 AB의 C-말단에 결합된다. 이들 방법 및 키트의 일부 실시형태에서, CM은 AB의 VL 쇄의 N-말단에 결합된다.

[0396] 본 개시내용의 항체, 접합된 항체, AA 및 접합된 AA는 진단적 및 예방적 제형에서 사용된다. 일 실시형태에서, AA는 앞서 언급한 염증, 염증 장애, 암 또는 다른 장애 중 하나 이상이 발생할 위험에 있는 대상체에게 투여된다.

[0397] 앞서 언급한 장애 중 하나 이상에 대한 대상체의 또는 기관의 소인은 유전자형, 혈청학적 또는 생화학적 마커를 이용하여 결정될 수 있다.

[0398] 본 개시내용의 일부 실시형태에서, AA 및/또는 접합된 AA는 앞서 언급한 장애 중 하나 이상과 연관된 임상 적응증으로 진단된 인간 개체에게 투여된다. 진단 시, AA 및/또는 접합된 AA는 임상 적응증의 효과를 완화시키거나 또는 반전시키기 위해 투여된다.

[0399] 본 개시내용의 항체, 접합된 항체, AA 및 접합된 AA는 또한 대상체 샘플에서 표적 검출에 유용하고, 따라서 진단제로서 유용하다. 예를 들어, 본 개시내용의 항체 및/또는 AA 및 접합된 AA는 대상체 샘플에서 표적 수준을 검출하기 위해 시험관내 분석, 예를 들어, ELISA에서 사용된다.

[0400] 일 실시형태에서, 본 개시내용의 항체 및/또는 AA는 고체 지지체(예를 들어, 미량정량판의 웰(들)) 상에 고정된다. 고정된 항체및/또는 AA는 시험 샘플에 존재할 수 있는 임의의 표적에 대한 포획 항체로서 작용한다. 고정된

항체, 및/또는 AA를 대상체 샘플과 접촉시키기 전에, 고체 지지체는 분석물의 비특이적 흡착을 방지하기 위해 유즙단백질 또는 알부민과 같은 차단제로 린스되고 처리된다.

[0401] 후속적으로 웰은 항원을 함유하는 것으로 의심되는 시험 샘플로, 또는 표준량의 항원을 함유하는 용액으로 처리된다. 이러한 샘플은, 예를 들어 병리의 진단인 것으로 간주되는 순환 항원 수준을 갖는 것으로 의심되는 대상체로부터의 혈청 샘플이다. 시험 샘플 또는 표준을 린스한 후에, 고체 지지체는 검출 가능하게 표지된 제2 항체로 처리된다. 표지된 제2 항체는 검출 항체로서 작용한다. 검출 가능한 표지의 수준이 측정되며, 시험 샘플 내 표적 항원의 농도는 표준 샘플로부터 생성된 표준 곡선과의 비교에 의해 결정된다.

[0402] 시험관내 분석에서 본 개시내용의 항체 및/또는 AA를 이용하여 얻은 결과에 기반하여, 표적 항원의 발현 수준에 기반한 대상체에서의 병기를 정할 수 있다는 것이 인식될 것이다. 주어진 질환에 대해, 혈액 샘플은 질환 진행의 다양한 병기에서 그리고/또는 질환의 치료적 처치에서의 다양한 시점에서 진단되는 대상체로부터 취한다. 진행 또는 요법의 각각의 단계에 대한 통계학적으로 유의한 결과를 제공하는 샘플 집단을 이용하여, 각각의 병기의 특징이 되는 것으로 간주될 수 있는 항원의 다양한 농도가 표기된다.

[0403] 항체, 접합된 항체, AA 및 접합된 AA는 또한 진단 및/또는 영상화 방법에서 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 방법은 시험관내 방법이다. 일부 실시형태에서, 이러한 방법은 생체내 방법이다. 일부 실시형태에서, 이러한 방법은 인시추 방법이다. 일부 실시형태에서, 이러한 방법은 생체외 방법이다. 예를 들어, 효소적으로 절단 가능한 CM을 갖는 AA는 CM을 절단할 수 있는 효소의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 사용될 수 있다. 이러한 AA는 주어진 숙주 유기체의 주어진 세포 또는 조직에서 활성화된 항체(즉, 활성화 가능한 항체의 절단으로부터 초래되는 항체)의 측정된 축적을 통해 효소 활성(또는 일부 실시형태에서, 이황화결합의 환원을 제공할 수 있는 것과 같은 증가된 환원 전위의 환경)의 생체내 검출(예를 들어, 정성적 또는 정량적)을 포함할 수 있는 진단에서 사용될 수 있다. 활성화된 항체의 이러한 축적은 조직이 효소 활성(또는 CM 특성에 따라서 증가된 환원 전위)을 발현시킬 뿐만 아니라 조직이 활성화된 항체가 결합하는 표적을 발현시킨다는 것을 나타낸다.

[0404] 예를 들어, CM은 종양 부위에서, 바이러스 또는 박테리아 감염 부위에서, 생물학적으로 국한된 부위(예를 들어, 농양에서, 기관에서 등) 등에서 발견되는 프로테아제에 대한 프로테아제 기질이 되도록 선택될 수 있다. AB는 표적 항원에 결합하는 것일 수 있다. 당업자에게 익숙한 방법을 이용하여, 검출 가능한 표지(예를 들어, 형광 표지 또는 방사성 표지 또는 방사성 트레이서)는 활성화 가능한 항체의 AB 또는 다른 영역에 접합될 수 있다. 적합한 검출 가능한 표지는 상기 선별 방법과 관련하여 논의되며, 추가적인 특정 실시예를 이하에 제공한다. 질환 상태의 단백질 또는 펩타이드에 특이적인 AB를 이용하여, 관심 대상의 질환 조직에서 활성이 상승되는 프로테아제와 함께, AA는 CM 특이적 효소가 검출 가능한 수준으로 존재하지 않거나 또는 질환 조직에서보다 더 적은 수준으로 존재하거나 또는 (예를 들어, 효소원 형태로 또는 저해제와의 복합체에서) 비활성인 조직에 비해 질환 조직에 대해 증가된 비율의 결합을 나타낼 것이다. 작은 단백질 및 펩타이드가 신장 여과 시스템에 의해 빠르게 청소되기 때문에, 그리고 CM에 특이적인 효소가 검출 가능한 수준으로 존재하지 않기 때문에(또는 비질환 조직에서 더 낮은 수준으로 존재하거나 또는 비활성 입체형태로 존재하기 때문에), 질환 조직에서 활성화된 항체의 축적은 비질환 조직에 비해 향상된다.

[0405] 다른 예에서, AA는 샘플 내 절단제의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, AA가 효소에 의해 절단될 여지가 있는 CM을 함유하는 경우에, AA는 샘플 내 효소의 존재를 (정성적으로 또는 정량적으로) 검출하는 데 사용될 수 있다. 다른 예에서, AA가 환원제에 의해 절단될 여지가 있는 CM을 함유하는 경우에, AA는 샘플 내 환원 조건의 존재를 (정성적으로 또는 정량적으로) 검출하는 데 사용될 수 있다. 이들 방법에서 분석을 용이하게 하기 위해, AA는 검출 가능하게 표지될 수 있고, 지지체(예를 들어, 고체 지지체, 예컨대 슬라이드 또는 비드)에 결합될 수 있다. 검출 가능한 표지는 절단 후에 방출되지 않은 AA의 부분 상에 위치될 수 있고, 예를 들어, 검출 가능한 표지는 형광 표지 또는 절단이 일어날 때까지 검출 가능하지 않은 다른 표지로 퀀칭될 수 있다. 분석은, 예를 들어, 고정된, 검출 가능하게 표지된 AA를 절단이 일어나기에 충분한 시간 동안 효소 및/또는 환원제를 함유하는 것으로 의심되는 샘플과 접촉시키고, 이어서, 과량의 샘플 및 오염물질을 제거하기 위해 세척함으로써 수행될 수 있다. 이어서, 샘플 내 절단제(예를 들어, 효소 또는 환원제)의 존재 또는 부재는, 이어서, 샘플과 접촉시키기 전에 AA의 검출 가능한 신호의 변화, 예를 들어, 샘플 내 절단제에 의한 AA의 절단에 기인하는 검출 가능한 신호의 존재 및/또는 증가에 의해 평가된다.

[0406] 이러한 검출 방법은 또한 절단될 때 AA의 AB에 결합할 수 있는 표적의 존재 또는 부재의 검출을 제공하기에 적합할 수 있다. 따라서, 분석은 절단제의 존재 또는 부재 및 관심 대상의 표적의 존재 또는 부재를 평가하기에

적합할 수 있다. 절단제의 존재 또는 부재는 상기 기재한 바와 같은 AA의 검출 가능한 표지의 존재 및/또는 증가에 의해 검출될 수 있고, 표적의 존재 또는 부재는 표적-AB 복합체의 검출에 의해, 예를 들어, 검출 가능하게 표지된 항-표적 항체의 사용에 의해 검출될 수 있다.

[0407] AA는 또한, 예를 들어, 프로테아제 절단 및 특정 표적에 대한 결합에 의해 AA 활성화의 확인을 위한 인시추 영상화에서 유용하다. 인시추 영상화는 생물학적 샘플, 예컨대 세포 배양물 또는 조직 절편에서 단백질분해 활성 및 표적의 국소화를 가능하게 하는 기법이다. 이 기법을 이용하여, 검출 가능한 표지(예를 들어, 형광 표지)의 존재에 기반하여 주어진 표적에 대한 결합과 단백질분해 활성을 확인할 수 있다.

[0408] 이들 기법은 질환 부위(예를 들어, 종양 조직) 또는 건강한 조직으로부터 유래된 임의의 냉동 세포 또는 조직에 의해 유용하다. 이들 기법은 또한 새로운 세포 또는 조직 샘플에 의해 유용하다.

[0409] 이들 기법에서, AA는 검출 가능한 표지로 표지된다. 검출 가능한 표지는 형광 염료, (예를 들어, 플루오레세인 아이소티오사이아네이트(FITC), 로다민 아이소티오사이아네이트(TRITC)), 근적외선(NIR) 염료(예를 들어, Qdot(등록상표) 나노결정), 콜로이드 금속, 합텐, 방사성 마커, 바이오틴 및 증폭 시약, 예컨대 스트렙타비딘, 또는 효소(예를 들어, 겨자무과산화효소 또는 알칼리성 포스파타제)일 수 있다.

[0410] 표지된 AA와 함께 인큐베이션된 샘플 내 표지의 검출은 샘플이 표적을 함유하고, 활성화 가능한 항체의 CM에 특이적인 프로테아제를 함유한다는 것을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 프로테아제의 존재는 본 명세서에 기재된 것과 같은 광범위 프로테아제 저해제를 이용함으로써, 그리고/또는 프로테아제에 특이적인 제제, 예를 들어, 프로테아제 매트립타제에 특이적이고 매트립타제의 단백질분해 활성을 저해하는 A11과 같은 항체를 이용함으로써 확인될 수 있고; 예를 들어, 2010년 11월 11일자로 공개된 국제특허출원 공개 WO 2010/129609를 참조한다. 광범위 프로테아제 저해제, 예컨대 본 명세서에 기재된 것을 이용하고/하거나 더 선택적인 저해 제제를 이용하는 동일한 접근은 활성화 가능한 항체의 CM에 특이적인 프로테아제 또는 프로테아제 부류를 확인하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적의 존재는 표적에 특이적인 항체, 예를 들어 다른 항체를 이용하여 확인될 수 있거나, 또는 검출 가능한 표지는 비표지 표적과 경쟁할 수 있다. 일부 실시형태에서, 비표지 AA는 표지된 2차 항체 또는 더 복잡한 검출 시스템에 의한 검출과 함께 사용될 수 있다.

[0411] 유사한 기법은 또한, 대상체, 예를 들어, 인간을 포함하는 포유류에서 형광 신호의 검출이 질환 부위가 표적을 함유하고 활성화 가능한 항체의 CM에 특이적인 프로테아제를 함유한다는 것을 나타내는 생체내 영상화에 유용하다.

[0412] 이들 기법은 또한 활성화 가능한 항체에서 프로테아제-특이적 CM에 기반하여 다양한 세포, 조직 및 유기체에서의 프로테아제 활성의 검출, 확인 또는 특성규명을 위한 키트에서 그리고/또는 시약으로서 유용하다.

[0413] 일부 실시형태에서, 인시추 영상화 및/또는 생체내 영상화는 치료할 대상체를 확인하는 방법에서 유용하다. 예를 들어, 인시추 영상화에서, AA는 적절한 위치에서, 예를 들어, 종양 부위에서 적절한 프로테아제(들) 및 표적(들)을 갖는 해당 대상체를 확인하기 위해 대상체 샘플을 선별하는 데 사용된다.

[0414] 일부 실시형태에서 인시추 영상화는 본 개시내용의 AA에 의한 치료에 적합한 대상체 집단을 확인하거나 또는 달리 개선시키는 데 사용된다. 예를 들어, 시험 중인 AA의 CM(CM)에서 기질을 절단하는(예를 들어, 질환 부위에서 활성화된 항체를 축적하는) 프로테아제와 표적 둘 다에 양성 반응인 대상체는 이러한 CM을 포함하는 이러한 AA에 의한 치료에 대한 적합한 후보로서 확인된다. 마찬가지로, 이들 방법을 이용하여 시험 중인 AA에서의 CM에서 기질을 절단하는 프로테아제와 표적 중 하나 또는 둘 다에 대해 음성 반응인 대상체는 요법의 다른 형태에 대한 적합한(즉, 치료 중인 AA에 의한 치료에 적합한 하지 않은) 후보로서 확인될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 AA에 관해 음성 반응을 나타내는 이러한 대상체는 치료에 적합한 AA(예를 들어, 질환 부위에서 대상체에 의해 절단된 CM을 포함하는 AA)가 확인될 때까지 상이한 CM을 포함하는 다른 AA로 시험될 수 있다.

[0415] 일부 실시형태에서, 생체내 영상화는 본 개시내용의 AA에 의한 치료에 적합한 대상체 집단을 확인하거나 또는 달리 개선시키는 데 사용된다. 예를 들어, 시험 중인 AA의 CM(CM)에서 기질을 절단하는(예를 들어, 질환 부위에서 활성화된 항체를 축적하는) 프로테아제와 표적 둘 다에 양성 반응인 대상체는 이러한 CM을 포함하는 이러한 AA에 의한 치료에 대한 적합한 후보로서 확인된다. 마찬가지로, 음성 반응인 대상체는 요법의 다른 형태에 대한 적합한(즉, 시험 중인 AA에 의한 치료에 적합하지 않은) 후보로서 확인된다. 일부 실시형태에서, 제1 AA에 관해 음성 반응을 나타내는 이러한 대상체는 치료에 적합한 AA(예를 들어, 질환 부위에서 대상체에 의해 절단된 CM을 포함하는 AA)가 확인될 때까지 상이한 CM을 포함하는 다른 AA로 시험될 수 있다.

[0416] 약제학적 조성물

[0417] 본 개시내용의 AA 및 접합된 AA(본 명세서에서 "활성 화합물"로도 지칭됨), 및 이의 유도체, 단편, 유사체 및 상동체는 투여에 적합한 약제학적 조성물에 혼입될 수 있다. 이러한 조성물은 전형적으로 AA 및/또는 접합된 AA 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "약제학적으로 허용 가능한 담체"는 약제학적 투여에 적합한 임의의 그리고 모든 용매, 분산 매질, 코팅제, 항박테리아제 및 항진균제, 등장제 및 흡수 지연제 등을 포함하는 것으로 의도된다. 적합한 담체는 본 명세서에 참고로 포함된 표준 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences]의 최신판에 기재되어 있다. 이러한 담체 또는 희석제의 적합한 예는 물, 식염수, 링거용액, 덱스트로스 용액 및 5% 인간 혈청 알부민을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 리포좀 및 비수성 비히클, 예컨대 고정유가 또한 사용될 수 있다. 약제학적으로 활성인 물질에 대한 이러한 배지 및 제제의 사용은 당업계에 잘 공지되어 있다. 임의의 통상적인 매질 또는 제제가 활성 화합물에 적합하지 않은 경우를 제외하고, 조성물에서의 이의 사용이 상정된다. 보충적 활성 화합물이 또한 조성물 내로 혼입될 수 있다.

[0418] 본 개시내용의 약제학적 조성물은 의도된 투여 경로에 적합하게 제형화된다. 투여 경로의 예는 비경구, 예를 들어, 정맥내, 진피내, 경구(예를 들어, 흡입), 경피(즉, 국소), 경점막 및 직장 투여를 포함한다. 예시적인 실시형태에서, 투여 경로는 정맥내이다.

[0419] 비경구, 진피내 또는 피하 적용을 위해 사용되는 용액 또는 현탁액은 다음의 성분을 포함할 수 있다: 멸균 희석제, 예컨대 주사용수, 식염수 용액, 고정유, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 다른 합성 용매; 항박테리아제, 예컨대 벤질 알코올 또는 메틸 파라벤; 항산화제, 예컨대 아스코르브산 또는 중아황산나트륨; 킬레이트제, 예컨대 에틸렌다이아민테트라아세트산(EDTA); 완충제, 예컨대 완충제, 아세트산염, 시트르산염 또는 인산염, 및 등장성 조절을 위한 제제, 예컨대 염화나트륨 또는 덱스트로스. pH는 산 또는 염기, 예컨대 염산 또는 수산화나트륨으로 조절될 수 있다. 비경구 제제는 유리 또는 플라스틱으로 만들어진 앰플, 일회용 주사 또는 다회 용량 바이알에 밀봉될 수 있다.

[0420] 주사 용도에 적합한 약제학적 조성물은 멸균 수용액(수용성) 또는 분산물 및 멸균 주사 용액 또는 분산물의 즉석 제조를 위한 멸균 분말을 포함한다. 정맥내 주사를 위해, 적합한 담체는 생리 식염수, 정균수, 크레모포어 EL(Cremophor EL)(상표명)(뉴저지주 파시패니에 소재한 바스프(BASF)) 또는 인산염 완충 식염수(PBS)를 포함한다. 모든 경우에, 조성물은 멸균이어야 하고 용이한 주사능이 존재하는 정도로 유체이어야 한다. 이는 제조 및 저장 조건 하에 안정하여야 하며, 박테리아 및 진균과 같은 미생물의 오염 작용에 대해 보존되어야 한다. 담체는, 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등) 및 이들의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은, 예를 들어, 레시틴과 같은 코팅의 사용에 의해, 분산물의 경우에 입자 크기의 유지에 의해 그리고 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 미생물 작용의 예방은 다양한 항박테리아제 및 항진균제, 예를 들어, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 아스코르브산, 티메로살 등에 의해 달성될 수 있다. 일부 실시형태에서, 조성물에 등장제, 예를 들어, 당, 폴리알코올, 예컨대 만니톨, 솔비톨, 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 것이다. 주사용 조성물의 장기간 흡수는 조성물에 흡수를 지연시키는 제제, 예를 들어, 모노스테아르산알루미늄 및 젤라틴을 포함시킴으로써 초래될 수 있다.

[0421] 멸균 주사 용액은 상기 열거된 성분 중 하나 또는 조합을 갖는 적절한 용매에서 필요한 양으로 활성 화합물을 혼입한 다음에, 필요하다면 멸균여과시킴으로써 제조될 수 있다. 일반적으로, 분산물은 기본 분산물 배지 및 상기 열거한 것으로부터의 필요한 다른 성분을 함유하는 멸균 비히클에 활성 화합물을 혼입시킴으로써 제조된다. 멸균 주사 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우에, 제조 방법은 활성 성분의 분말 + 이의 이전에 멸균 여과된 용액으로부터의 임의의 추가적인 목적하는 성분(이하 참조)을 수득하는 진공 건조 및 냉동 건조이다.

[0422] 경구 조성물은 일반적으로 비활성 희석제 또는 식용 담체를 포함한다. 그들은 젤라틴 캡슐에 밀봉되거나 또는 정제로 압착될 수 있다. 경구 치료 투여의 목적을 위해, 활성 화합물은 부형제와 함께 혼입되고, 정제, 트로키 또는 캡슐의 형태로 사용될 수 있다. 마우스워시로서의 용도를 위해 유체 담체를 이용하는 경구 조성물이 또한 제조될 수 있되, 유체 담체 중의 화합물은 경구로 적용되어, 가글 후에 뱉어내거나 삼키게 된다. 약제학적으로 적합한 결합제 및/또는 보조 물질은 조성물의 부분으로서 포함될 수 있다. 정제, 알약, 캡슐, 트로키 등은 임의의 다음의 성분, 또는 유사한 특성의 화합물을 함유할 수 있다: 결합제, 예컨대 미정질 셀룰로스, 트래거캔스검 또는 젤라틴; 부형제, 예컨대 전분 또는 락토스, 붕해제, 예컨대 알긴산, 프리모겔 또는 옥수수 전분; 윤활제, 예컨대 스테아르산마그네슘 또는 스테로트(Sterote); 활택제, 예컨대 콜로이드성 이산화규소; 감미제, 예컨대 수크로스 또는 사카린; 또는 향미제, 예컨대 페퍼민트, 메틸 살리실레이트 또는 오렌지향.

[0423] 흡입에 의한 투여를 위해, 화합물은 가압 용기 또는 적합한 추진제, 예를 들어, 이산화탄소와 같은 기체를 함유하는 디스펜서 또는 네뷸라이저로부터 에어로졸 스프레이의 형태로 전달된다.

[0424] 전신 투여는 또한 경점막 또는 경피 수단에 의할 수 있다. 경점막 또는 경피 투여를 위해, 침투될 장벽에 적절한 침투제가 제형에서 사용된다. 이러한 침투제는 일반적으로 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 경점막 투여를 위해, 세정제, 담즙산염 및 푸시딘산 유도체를 포함한다. 경점막 투여는 비강 스프레이 또는 좌약의 사용을 통해 달성될 수 있다. 경피 투여를 위해, 활성 화합물은 당업계에 일반적으로 공지된 바와 같이 연고, 고약, 겔 또는 크림으로 제형화된다.

[0425] 화합물은 또한 좌약의 형태로(예를 들어, 통상적인 좌약 베이스, 예컨대 코코아 버터 및 다른 글리세라이드에 의해) 또는 직장 전달을 위한 정체 관장(retention enema)의 형태로 제조될 수 있다.

[0426] 일 실시형태에서, 활성 화합물은 신체로부터의 빠른 제거에 대해 화합물을 보호하는 담체, 예컨대 이식물 및 마이크로캡슐화된 전달 시스템을 포함하는 제어 방출 제형과 함께 제조된다. 생분해성, 생체적합성 중합체, 예컨대 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리안하이드라이드, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오쏘에스터 및 폴리락트산이 사용될 수 있다. 이러한 제형의 제조 방법은 당업자에게 분명할 것이다. 물질은 또한 알자 코포레이션(Alza Corporation) 및 노바 파마슈티컬스 인코포레이티드(Nova Pharmaceuticals, Inc.)로부터 상업적으로 얻을 수 있다. 리포좀 현택액(감염된 세포에 표적화된 리포좀을 바이러스 항원에 대한 단클론성 항체와 함께 포함)은 또한 약제학적으로 허용 가능한 담체로서 사용될 수 있다. 이들은, 예를 들어, 미국 특허 제4,522,811호에 기재된 바와 같은 당업자에게 공지된 방법에 따라 제조될 수 있다.

[0427] 투여의 용이한 및 투약량의 균일함을 위한 투약 단위 형태로 경구 또는 비경구 제형을 제형화하는 것이 특히 유리하다. 본 명세서에서 사용되는 투약 단위 형태는 치료될 대상체에 대한 단위 투약량으로서 적합한 물리적으로 별개의 단위를 지칭하며; 각각의 단위는 필요한 약제학적 담체와 함께 목적하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 활성 화합물의 사전결정된 양을 함유한다. 본 개시내용의 투약 단위 형태에 대한 세부항목은 활성 화합물의 독특한 특징 및 달성될 특정 치료 효과, 및 조제 분야에 고유한 제한, 예컨대 개체의 치료를 위한 활성 화합물에 의해 지시되고 이들에 직접적으로 의존한다.

[0428] 약제학적 조성물은 투여를 위한 설명서와 함께 용기, 팩 또는 디스펜서에 포함될 수 있다.

[0429] 투약

[0430] 본 명세서에 제공되는 바와 같이, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 1ng/kg 내지 100g/kg 중 어느 것의 용량으로 투여된다. 예시적인 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 0.25mg/kg 내지 약 6mg/kg의 용량으로 투여된다. 일 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 0.25mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 0.5mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 1mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 2mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 3mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 4mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 5mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 6mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 0.25mg/kg 내지 약 0.5mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 0.5mg/kg 내지 약 1mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 0.75mg/kg 내지 약 1.5mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 1mg/kg 내지 약 2mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 1.5mg/kg 내지 약 2.5mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 2mg/kg 내지 약 3mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 2.5mg/kg 내지 약 3.5mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 3mg/kg 내지 약 4mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 3.5mg/kg 내지 약 4.5mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 4mg/kg 내지 약 5mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 4.5mg/kg 내지 약 5.5mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 5mg/kg 내지 약 6mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 10mg/kg 내지 약 200mg의 고정 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 25mg/kg 내지 약 500mg의 고정 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 10mg/kg 내지 약 25mg의 고정 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상

체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 20mg/kg 내지 약 50mg의 고정 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 30mg/kg 내지 약 75mg의 고정 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 40mg/kg 내지 약 100mg의 고정 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 60mg/kg 내지 약 150mg의 고정 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 80mg/kg 내지 약 200mg의 고정 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 100mg/kg 내지 약 250mg의 고정 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 120mg/kg 내지 약 300mg의 고정 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 140mg/kg 내지 약 350mg의 고정 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 160mg/kg 내지 약 400mg의 고정 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 180mg/kg 내지 약 450mg의 고정 용량으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 AA 또는 접합된 AA가 약 200mg/kg 내지 약 500mg의 고정 용량으로 투여된다.

[0431] 일부 실시형태에서, 대상체에게 대상체의 체중을 기준으로 접합된 AA가 투여된다.

[0432] 일부 실시형태에서, mg/kg으로 측정될 때 투약량이 대상체의 실제 체중을 기준으로 하는 접합된 AA가 대상체에게 투여된다.

[0433] 일부 실시형태에서, mg/kg으로 측정될 때 투약량이 대상체의 조절된 이상적 체중(AIBW)을 기준으로 하는 접합된 AA가 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 조절된 이상적 체중은 주어진 대상체의 실제 체중과 대상체에 대응하는 남성 및 여성 대상체에 대한 사전 결정된 이상적 체중(IBW) 사이의 차이에 기반하여 계산된다. 일부 실시형태에서, 주어진 대상체의 이상적 체중은 대상체의 신장에 기반한다. 일부 실시형태에서, 주어진 남성 대상체에 대한 이상적인 체중(IBW)(kg)은 IBW = 0.9 × (신장(cm)) - 88로서 결정되고, 주어진 여성 대상체에 대한 IBW(kg)은 IBW = 0.9 × (신장(cm)) - 92로서 결정된다. 일부 실시형태에서, 주어진 대상체에 대한 조절된 이상적 체중(AIBW)(kg)은 AIBW = IBW + 0.4 × (실제 체중 - IBW)에 의해 결정되고, IBW는 그들의 주어진 신장 및 성별에 기반한다. 일부 실시형태에서, 남성 및 여성 대상체는 인간 대상체이다. 일부 실시형태에서, 인간 대상체의 AIBW는 약 40kg 내지 약 100kg이다.

[0434] 일부 실시형태에서, 대상체는 AA 또는 접합된 AA는 정맥내로 1일마다, 2일마다, 3일마다, 4일마다, 5일마다, 6일마다, 7일마다, 8일마다, 9일마다, 10일마다, 11일마다, 12일마다, 13일마다, 14일마다, 15일마다, 16일마다, 17일마다, 18일마다, 19일마다, 20일마다, 21일마다, 또는 심지어 30일마다 투여된다. 일부 실시형태에서, AA 및/또는 제제가 유효하다면, AA 또는 접합된 AA는 대상체에게 정맥내로 투여된다.

[0435] 일부 실시형태에서, 대상체에게 1일 1회 AA 또는 접합된 AA가 투여된다. 일부 실시형태에서, 하루에 여러 번, 예를 들어, 4시간마다, 6시간마다, 4 내지 6시간마다, 8시간마다 또는 12시간마다 AA 또는 접합된 AA가 대상체에게 투여된다.

[0436] 본 발명은 청구범위에 기재되는 본 발명의 범주를 제한하지 않는 다음의 실시예에서 추가로 기재된다.

[0437] **실시예**

[0438] **실시예 1: CD166에 결합하는 접합된 활성화 가능한 항체의 생성 및 시험**

[0439] 이하에 제시되는 실시예에서 사용되는 AA를 본 명세서에 제공하며, 국제 특허 출원 공개 WO 2016/179285에 개시된 방법을 이용하여 생성되고 특성규명되며, 이의 내용은 본 명세서에 전문이 참고로 포함된다.

[0440] 활성화 가능한 항-CD166 항체 약물 접합체(AADC)(도 1에 도시함)는 인간 이종이식 종양에 의한 마우스 모델에서 항종양 활성을 입증하며 전임상 연구에서 잘 용인된다(Weaver et al. AACR-NCI-EOTRC International Conference 2015). CD166은 도 2, 표 4 및 표 5에서 보여주는 바와 같이 많은 암에서 그리고 건강한 조직에서 광범위하게 발현된다.

표 4

[0441]

암 유형	CD166 발현의 유병률 (IHC ≥2+), %	CD166-음성의 유병률 (IHC <1+), %	시험한 사례의 수
담즙(담관암종)	56.5	11.9	177
유방	87.1	1.7	533
자궁내막	75.2	6.0	315
두경부	81.1	0.8	122
폐	71.0	8.2	465
전립선	98.3	0.8	119
난소	70.5	3.9	129

표 5

[0442]

IHC에 의한 건강한 인간 조직에서의 CD166 발현

조직 유형	인간 CD166 발현	조직 유형	인간 CD166 발현
부신	-/+	신경	+/++
골수	-/+	난소	-/++
유방	+/++	췌장	++/+++
뇌, 대뇌	-/+	전립선	++/+++
뇌, 소뇌	-/+	피부	+/++
자궁경부	+/++	소장	+/+++
결장	++	비장	+/++
식도	+/++	위	+++
눈	+	가로무늬/골격근	-/+
심장	+	고환	-/++
신장	+/+++	갑상선	++/+++
후두	+/++	흉선	+
간	++	자궁	+/+++
폐	+/++		

[0443] 도 3 내지 도 6은 본 발명의 CD166 AA 약물 접합체가 인간 이종이식 종양의 마우스 모델에서 예측된 인간 용량 이하의 용량에서 완전하고 지속 가능한 반응을 생성하였다는 것을 나타낸다.

[0444] **실시예 2: 높은 CD-166 발현 종양을 갖는 대상체에서 활성화 가능한 항-CD166 항체 약물 접합체의 안전성을 결정하기 위한 개방 표지, 다중심, 용량 증량 연구**

[0445] 본 연구에서, 높은 CD166 발현 종양(유방, 폐, 전립선, 난소, 자궁내막, 두경부 및 담즙 암종)을 갖는 대상체에서 단일 요법으로서 투여된 안전성, 최대 내약 용량(MTD), 권장된 2상 용량(RP2D), 용량-제한 독성 및 활성화 가능한 항-CD166 항체 약물 접합체의 예비 항종양 활성의 1차 종말점을 평가한다.

[0446] 2차 종말점은 하기를 포함한다: (1) 고형암 반응평가기준(Response Evaluation in Criteria in Solid Tumors: RECIST) 버전 1.1 또는 적용 가능하다면 종양-특이적 기준에 따른 객관적 반응률을 측정하는 것; (2) 반응에 대한 시간; (3) 반응의 지속기간; (4) 무진행 생존; (5) 전반적 생존; (6) 무손상 AADC, 총 AADC, 총 AADC-접합

된 DM4, 무 DM4, 및 S-메틸 DM4를 분석하는 것을 포함하는 AADC의 약물동태학적 프로파일; 및 (7) 항-약물 항체 형성의 발생률.

[0447] 추가적인 종말점은 (1) 치료를 받기 전에 그리고 치료를 받는 동안에 종양 표본에서 AADC의 임상 활성과 연관된 예측 생체마커, 예컨대 CD166 발현 및 유사분열 마커(예를 들어, Ki-67)의 임상 활성과 연관된 예측적 생체마커의 확인; 및 (2) 치료 중 종양 생검 샘플 및 말초 혈액 각각에서 프로테아제 활성 및 ADCC의 활성화의 특성규명을 포함한다.

[0448] 본 실시예에 제시된 연구는 항-CD166 AADC의 개방표지, 다중심, 용량 증량 및 개념 검증 1/2상 연구이되, 항-CD166 AADC는 본 명세서에서 서열번호 480의 중쇄 서열 및 서열번호 246의 경쇄 서열을 포함하는 조합 55로 지칭되는 항-CD166 활성화 가능한 항체의 DM4-접합된 활성화 가능한 항체를 포함한다.

[0449] 연구는 유방암종, 거세-저항성 전립선암(CPRC), 담관암종, 자궁내막암종, 상피성 난소 암종, 두경부암 편평세포암종(HNSCC) 및 비소세포 폐암(NSCLC)을 갖는 대상체를 포함한다. 대상체에게 활성화 가능한 항-CD166 항체 약물 접합체를 정맥내로 21일마다 치료하고, 다음의 2가지 파트, 즉, 파트 A 및 파트 B에서 연구를 진행시킨다. 또한 도 6에 연구 설계를 도시한다.

[0450] 파트 A(용량 증량)($n \leq 50$)에서, 투여된 항-CD166 ADCC의 가속화된 용량 적정은 전통적인 3+3 설계에 따른다. 3+3 설계는 다음과 같이 기재한다: 3명의 대상체를 항-CD166 AADC의 초회 용량으로 치료하고 유해 효과를 주목한다. 독성이 없다는 것이 관찰되면, 용량을 증가시키고, 추가적인 3명의 대상체를 치료한다. 3명의 대상체 중 1명이 독성을 나타낸다면, 3명의 추가적인 대상체를 초회 용량에 등록한다. 3명의 대상체 중 2명이 독성을 나타낸다면, 해당 용량은 최대 내약 용량으로서 나타낸다(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2684552/에 기재). RP2D를 결정하기 위해 MTD로 치료한 변형된 독성 확률 간격 2(modified toxicity probability interval 2: mTPI-2)-설계 코호트에서 MTD 및 종점을 결정하기 위해 본 연구를 수행한다.

[0451] 연구의 파트 B(용량 확장)는 7가지의 종양 유형(각각 14명까지의 대상체, $n \leq 98$)에서의 RP2D에서 투여한 항-CD166 AADC의 용량 확장상(dose expansion phase) 시험이다.

[0452] 대상체를 진행까지 치료하며; 치료의 지속기간은 약 6개월이며, 대상체가 살아있다면 후속 접촉은 3 내지 6개월마다 또는 다른 1 또는 2년 동안이다.

[0453] 용량 증량 코호트와 확장 코호트 둘 다에서 150명까지의 대상체를 연구에 등록한다. 대상체에 대한 중요한 적격 기준을 표 6에 나타낸다.

표 6

파트 A	• 18세 이상의 연령 • 동부 종양학 협력 그룹(Eastern cooperative Oncology Group: ECOG) 수행 상태 0 내지 1 • 임의의 활성 전이성 또는 국소로 진행된 절단 가능하지 않은 고형 종양의 조직학적으로 확인된 진단 • 항-CD166 AADC의 개시 전 종양 조직(보관, 신규 또는 최근의 획득)을 제공하는 것에 동의 • 3개월 이상의 기대수명
파트 B	• 기준 및 연구 중인 (생검을 수행하는 데 안전하다면) 종양 생검 샘플 및 말초 혈액 샘플을 제공하는 것에 적어도 7명의 대상체(각각의 종양 유형의 적어도 1)로부터의 동의
유방 암종	• 에스트로겐 수용체 발현(ER+) 유방 암종을 갖는 대상체는 항-호르몬 요법을 받고 질환 진행을 경험하여야 함 • TNBC는 2회 이상의 이전 계통의 요법을 받음
거세 저항성 전립선 암종	• 1회 이상의 사전 요법을 받음
담도암종	• 1회 이상의 사전 계통의 겜시타빈-함유 요법에 실패함
자궁 내막 암종	• 자궁외 또는 진행된 질환에 대해 1회 이상의 백금-함유 요법을 받음
상피 난소 암종	• 비-유방암(BRCA) 돌연변이(생식계열 또는 체세포) 대상체 또는 알려지지 않은 BRCA 돌연변이 상태를 갖는 대상체는 백금-저항성 또는 백금 난치성 난소 암종을 가져야 함. • BRCA 돌연변이를 갖는 대상체는 PARP 저해제에 대해 난치성이거나 또는 달리 부적격이어야 한다
HNSCC	• 대상체의 적응증 및 지역에 대해 승인받았다면, 1회 이상의 백금-함유 요법 및 PD-1/PD-L1 저해제를 받음

[0454]

NSCLC	• 1회 이상의 백금 함유 요법을 받음 • 대상체의 지역에서 대상체의 적응증에 대해 승인되었다면, 관문 저해제가 투여되어야 함
제외 기준	• 진행 중인 치료/모니터링이 필요한 활성 또는 만성 각막 장애, 각막 이식 병력, 활성 포진성 각막염, 및 활성 안구 병태 • 임상적으로 적절한 활성 감염을 포함하는 심각한 동시 질환 • 활성 자가면역 질환의 병력 또는 현재의 활성 자가면역 질환 • 유의미한 심장병, 예컨대 최근의 심근경색증 • 다발성 경화증 또는 다른 탈수초성 질환의 병력, 이튼-람베르트 증후군(파라-신생물 증후군), 최근 6개월 이내의 출혈 또는 허혈성 뇌졸중의 병력, 또는 알코올성 간 질환; • 기저 신생물에 의해 야기되는 궤양성 병변을 제외한 비치유 상처(들) 또는 궤양(들); • 이전의 단클론성 항체 요법에 대한 중증의 알레르기 또는 과민증 반응의 병력; • 현재 와파린에 의한 항응고 요법을 받고 있음; • 투약 전 3개월 이내의 대수술(일반적 마취가 필요함).

[0455]

[0456] 용량 증량 코호트와 확장 코호트 둘 다에서 150명까지의 대상체를 연구에 등록한다. 유해 사례 및 동시 의약은 항-CD166 AADC 주기 1의 제1일, 제8일 및 제15일에 평가한 후에, 치료 마지막에 각각의 후속적 치료 주기의 첫날에 평가한다. 선별 시, 각각의 치료 주기의 첫날 및 치료 종료 시 안과 증상 및 ECOG 수행 스코어의 평가를 수행한다. 선별 시 그리고 연구의 특정 시점 동안 모든 대상체에 대해 완전한 안과적 시험을 수행한다. 시력 또는 다른 안과 증상에서 치료와 관련된 변화를 보고하는 대상체는 모든 다른 주기에서의 주입 전에 그리고 임상적으로 표시된 바와 같이 반복 시험을 받을 것이다. 치료 방문 시마다 혈액학 및 혈청 화학을 평가한다. 파트 A에 참여하는 대상체에 대한 기준 시 보관 조직 또는 신선한 생검 샘플을 제공한다. 파트 B에서, 치료 전 및 치료 중 생검 및 말초 혈액 샘플의 수집은 (활성화 가능한 항체의 무손상을 결정하기 위한 부분에서) 적어도 7명의 대상체(각각의 종양 유형의 1명)에 대해 의무적일 수 있다. 일부 예에서, 각각의 종양 유형의 1명 초과의 대상체로부터의 생검을 수집하고, 예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7명 이상의 대상체로부터의 생검을 각각의 종양 유형에 대해 수집한다. 약물동태학적, 약력학 및 생체마커 분석에 대한 혈액샘플을 특정된 시점 전에 얻는다. 종양 반응 평가에 대한 영상화를 항-CD166 AADC의 초회 용량으로부터 8주마다 수행한다. 연구 의약의 마지막 용량 후에, 대상체를 첫해 동안 3개월마다 평가하고, 이어서, 6개월마다 또는 사망까지 평가한다.

[0457] 약물-활성화 가능한 항-CD166 항체 약물 접합체 활성화 및 활성을 평가하기 위한 몇몇 추가적인 방법을 표 7 및 도 7A, 도 7B에 열거한다.

표 7

목표	샘플(들)	분석	방법
활성화 가능한 항-CD166 항체 약물 접합체의 활성화 결정	생검, 혈장	WES(상표명) 분석	마스킹되고 활성화된 AADC를 확인하기 위해 면역검출을 이용하는 모세관 전기영동법
	생검	QZ(상표명) 분석	프로테아제 활성 검출
마커와 활성화 가능한 항-CD166 항체 약물 접합체 활성과의 상관관계	생검	IHC	CD166 발현, Ki-67

[0458]

[0459] **실시예 3. 생물학적 샘플에서 활성화 및 무손상 항-CD166 활성화 가능한 항체의 정량화**

[0460] 본 실시예는 마우스 투여된 7614.6-3001-HuCD166의 혈장 및 이종이식 종양 샘플에서 활성화 및 무손상 항-CD166 활성화 가능한 항체 7614.6-3001-HuCD166을 검출하는 능력을 기재한다.

[0461] 본 명세서에 제시된 연구는 본 명세서에서 7614.6-3001-HuCD166으로 지칭되고, 서열번호 480의 중쇄 서열 및 서열번호 246의 경쇄 서열을 포함하는 HuCD166-7614.6-3001로도 지칭되는, 항-CD166 활성화 가능한 항체를 사용하였다.

[0462] 항-인간 IgG 항체를 이용하는 Wes 시스템(항-인간 IgG(H&L), 아메리칸 퀴렉스(American Qualex) 카탈로그 번호 A110UK)에 의해 활성화 및 항-CD166 활성화 가능한 항체 7614.6-3001-HuCD166의 정량화를 평가하였다. 매트리겔(Matrigel)(상표명)과 1:1로 혼합한 무혈청 배지에서 5x10e6 H292 세포를 누드 마우스에 피하로 이식하였다. 200 내지 500㎣ H292 이종이식편을 보유하는 마우스에 5 mpk의 항-CD166 활성화 가능한 항체 7614.6-3001-HuCD166을 투약하였다. 치료 1일 후에, 종양 및 혈장(헤파린)을 수집하고 나서, 분석 전에 -80℃에서 저장하였다. 바로사이클러(Barocycler)(프레셔 바이오사이언시즈(Pressure Biosciences))를 이용하여 써모 사이언티픽 할트(Thermo Scientific Halt)(상표명) 프로테아제 저해제 일회용 칵테일 키트(카탈로그 번호 78430)를 첨가한 써모 사이언티픽 피어스(Thermo Scientific Pierce)(상표명) IP 용해 완충제(카탈로그 번호 87788)에서 종양 파쇄액을 제조하였다. PBS에서 20분의 1로 희석시킨 HALT 프로테아제 저해제/EDTA 및 혈장 샘플이 있는 IP 용해 완충제에서 1mg/mℓ의 단백질 용해물을 본 명세서에 기재한 바와 같은 Wes 시스템에 의해 분석하였다. 도 7A 및 도 7B는 혈장(도 7A)에 비해 종양(도 7B)에서의 우선적인 활성화를 입증한다.

[0463] **실시예 4. 생물학적 샘플에서 활성화 및 무손상 항-CD166 접합된 활성화 가능한 항체의 정량화**

[0464] 본 실시예는 SPDB 링커를 통해 메이탄시노이드 독소 DM4에 접합된 활성화 및 무손상 항-CD166 활성화 가능한 항체(조합 55)를 검출하는 능력을 기재한다.

[0465] 본 실시예는 링커를 통해 DM4에 접합된 서열번호 480의 중쇄 서열 및 서열번호 246의 경쇄 서열을 포함하는 본 명세서에서 조합 55로 지칭되는 항-CD166 활성화 가능한 항체의 DM4-접합된 활성화 가능한 항체를 사용한다.

[0466] 항-CD166 접합된 활성화 가능한 항체를 2시간 동안 37C에서 80㎍/mℓ의 매트립타제(R&D 시스템즈 카탈로그 번호 3946-SE) 또는 80㎍/mℓ의 MMP14(R&D 시스템즈 카탈로그 번호 918-MP)로 활성화시키고, 무손상 접합된 활성화 가능한 항체와 혼합하였다. 이어서, 항-인간 IgG(H&L)(아메리칸 퀴렉스 카탈로그 번호A110UK)를 이용하여 상기 기재한 바와 같은 Wes 시스템에 의해 혼합물을 분석하였다. 도 8A 및 도 8B는 무손상 접합된 활성화 가능한 항체로부터 매트립타제-활성화된(도 8A) 또는 MMP14-활성화된(도 8B) 접합된 활성화 가능한 항체를 분리시키는 능력을 나타낸다.

[0467] 본 발명은 이의 상세한 설명과 함께 기재되었지만, 앞서 언급한 설명은 첨부하는 청구범위의 범주에 의해 정해지는 본 발명의 범주를 제한하지 않으며 예시하는 것으로 의도된다. 다른 양상, 이점 및 변형은 다음의 범주 내이다.

[0468] **실시예 5. 항-CD166 활성화 가능한 항체를 이용하는 치료 후 대상체에서의 부분적 반응의 증거**

[0469] 본 실시예는 SPDB 링커를 통해 메이탄시노이드 독소 DM4에 접합된 무손상 항-CD166 활성화 가능한 항체(조합 55)의 투여가 대상체에서 부분적 반응을 초래한다는 것을 입증한다.

[0470] 본 실시예에서, 초기 선별 시 표적 병변만을 나타내고 비표적 병변이 없는 대상체는 두경부암 편평세포 암종(HNSCC)이 존재하였다. 대상체는 연구 동안에 임의의 새로운 종양이 발생하는 것이 관찰되지 않았다. 삼(3)주마다 SPDB 링커를 통해 메이탄시노이드 독소 DM4에 접합된 5mg/kg의 무손상 항-CD166 활성화 가능한 항체(조합 55)로 대상체를 치료하였다. 접합된 활성화 가능한 항체의 투여된 투약량은 대상체의 조절된 이상적 체중에 기반한다.

[0471] 대상체는 초기 선별(41㎜)로부터 주기 3 방문(28㎜), 즉, 초회 투여 후 9주까지 종양 부담의 -31.7% 변화를 경험하였다. 주기 6 방문, 즉, 초회 투여 후 18주에, 대상체는 (31.5㎜)의 종양 부담을 가졌다. 따라서, 대상체는 RECIST v1.1 분류에 기반한 초기 선별 이후로 부분적 반응을 경험하였다.

[0472] **실시예 6. 치료 후 인간 대상체에서 총 그리고 무손상의 항-CD166 활성화 가능한 항체 및 대사물질의 약물동태학**

[0473] 본 실시예는 인간 대상체에 대한 투여 후 SPDB 링커를 통해 메이탄시노이드 독소 DM4에 접합된 총 그리고 무손상의 항-CD166 활성화 가능한 항체(조합 55)의 약물동태학을 입증한다.

[0474] 시험의 상기 기재한 용량 증량 부분에서, 접합된 항-CD166 활성화 가능한 항체(조합 55)의 0.25mg/kg 내지 4.0 mg/kg(대상체의 조절된 이상적 체중에 기반)의 용량을 받는 대상체에서 약물동태학적(PK) 및 ADA를 평가하기 위한 연구를 설계하였다. PK 연구를 위해, (1) 접합된 DM4가 있는 그리고 없는 무손상 활성화 가능한 항-CD166 항체, (2) 접합된 DM4가 있는 그리고 없는 총(즉, 무손상과 절단) 항-CD166 활성화 가능한 항체, (3) 접합된 DM4가 있는 총(즉, 무손상과 절단된) 항-CD166 활성화 가능한 항체, (4) 유리 DM4, 및 (5) S-메틸 DM4, 세포독성 DM4 대사물질의 혈청 수준을 결정하는 다중 분석을 사용하였다.

[0475] 무손상 접합된 항-CD166 활성화 가능한 항체(조합 55)를 받는 인간 대상체로부터 회수한 혈액 샘플을 분석함으로써 연구를 수행하였다. 주기 1(즉, 약물의 제1 라운드 투여)에서, 평가한 대상체 사전 주입으로부터, 주입의 종료 시 및 대상체 방문 동안의 2, 3, 4, 8 및 15일째에 혈액 샘플을 회수하도록 연구를 설계하였다. 후속 주기 2, 4, 6, 8에서 그리고 이후의 8 주기마다, 각각의 주기 동안 주입전 혈액 샘플을 뽑아내도록 연구를 설계하였다. 주기 3에서, 주입전, 주입의 종료 시, 대상체 방문의 제8일 및 제15일에 혈액 샘플을 뽑아내도록 연구를 설계하였다. 시험의 종료 시 대상체의 방문 동안 최종 혈액 샘플을 뽑아내도록 연구를 설계하였다.

[0476] 도 9a 내지 도 9e에 나타낸 바와 같이, 조합 55의 표시된 투약량의 투여 후 PK 분석의 예시적인 결과를 도시한다. 각각의 그래프에서, 점선은 각각의 분석에 대한 정량하한(LLOQ)을 나타내고, 이 선 아래의 지점은 LLOQ/2의 값을 부여한다. 도 9a에서, 그래프는 인간 대상체에 대한 표시된 투약량에서 (AIBW에 기반) 조합 55의 투여 후 DM4에 비접합된 또는 접합된 무손상(즉, 비절단) 항-CD166 활성화 가능한 항체의 시간에 따른 혈청 농도를 나타낸다. 도 9b에서, 그래프는 인간 대상체에 대한 표시된 투약량에서 (AIBW에 기반) 조합 55의 투여 후 DM4에 접합된 총(즉, 비절단 및 절단) 항-CD166 활성화 가능한 항체의 시간에 따른 혈청 농도를 나타낸다. 도 9c에서, 그래프는 인간 대상체에 대한 표시된 투약량에서 (AIBW에 기반) 조합 55의 투여 후 유리 DM4의 시간에 따른 혈청 농도를 나타낸다. 도 9d에서, 그래프는 인간 대상체에 대한 표시된 투약량에서 (AIBW에 기반) 조합 55의 투여 후 S-메틸 DM4(DM4-Me)의 시간에 따른 혈청 농도를 나타낸다. 도 9e에서, 그래프는 인간 대상체에 대한 표시된 투약량에서 (AIBW에 기반) 조합 55의 투여 후 DM4에 비접합된 또는 접합된 총(즉, 비절단 및 절단된) 항-CD166 활성화 가능한 항체의 시간에 따른 혈청 농도를 나타낸다.

[0477] 예시적인 PK 데이터는 항-CD166 활성화 가능한 항체가 혈청에서 무손상 형태로 우세하게 순환한다는 것을 나타낸다. 유리 DM4와 DM4-Me은 총 항-CD166 활성화 가능한 항체의 1.9mol% 미만으로서 순환된다. 무손상 항-CD166 활성화 가능한 항체 $t_{1/2}$ 중앙값은 3.71 내지 8.57일의 범위이다. 다회 투약 시, 무손상 항-CD166 활성화 가능한 항체에 대한 최소 혈장 농도(C_{min})(용량 3:용량 1)의 축적 비는 1.34를 초과하지 않았고, 용량에 따른 경향이 없었다.

[0478] 예시적인 데이터는 또한 용량 1 AUC_{0-tau}(투약 간격의 종료까지 평가한 곡선하면적) 및 C_{max}(최대 혈장 농도)에 대한 무손상 대 총 항-CD166 활성화 가능한 항체의 비가 거의 변함없는 것으로 나타났다는 것을 보여준다. AUC_{0-tau}

및 C_{max}에 따라 측정되는 바와 같이 접합된 항-CD166 활성화 가능한 항체의 단일 용량 후 무손상 및 총 항-CD166 활성화 가능한 항체 노출은 일반적으로 용량이 증가함에 따라 증가되었다.

[0479] **예시적인 실시형태**

[0480] 본 발명은 다음의 예시적인 열거된 실시형태를 참조로 하여 정해질 수 있다:

[0481] 실시형태 1. 대상체에서 암을 치료하거나 암의 증상을 완화시키거나 또는 암의 진행을 지연시키는 방법으로서, 상기 방법은 이러한 치료, 완화, 지연이 필요한 대상체에게 제제에 접합된 치료적 유효량의 활성화 가능한 항체(AA)를 투여하는 단계를 포함하되, 상기 AA는:

[0482] a. 포유류 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB)으로서, AB는 서열번호 480의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 240의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편;

[0483] b. AB에 결합되는 마스킹 모이어티(MM)로서, 상기 AA가 비절단 상태일 때 MM은 포유류 CD166에 대한 AB의 결합을 저해하고, 상기 MM은 서열번호 222의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 마스킹 모이어티; 및

[0484] c. 상기 AB에 결합된 절단 가능한 모이어티(CM)로서, 상기 CM은 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 폴리펩타이드이고, 상기 CM은 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 절단 가능한 모이어티를 포함하는 방법,

[0485] 및/또는 실시형태 1을 다르게 언급하면, 대상체에서 암을 치료하거나 증상을 완화시키거나 또는 진행을 지연시키 데 사용하기 위한 제제에 접합된 활성화 가능한 항체(AA)로서, 상기 AA는:

[0486] a. 포유류 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB)으로서, AB는 서열번호 480의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 240의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편;

[0487] b. AB에 결합되는 마스킹 모이어티(MM)로서, 상기 AA가 비절단 상태일 때 MM은 포유류 CD166에 대한 AB의 결합을 저해하고, 상기 MM은 서열번호 222의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 마스킹 모이어티; 및

[0488] c. 상기 AB에 결합된 절단 가능한 모이어티(CM)로서, 상기 CM은 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 폴리펩타이드이고, 상기 CM은 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 절단 가능한 모이어티를 포함하되, AA는 치료가 필요한 대상체에게 치료적 유효량으로 투여하기 위한 것인, 활성화 가능한 항체.

[0489] 실시형태 2. 실시형태 1에 있어서, 암은 유방암종, 거세-저항성 전립선 암종, 담관암종, 자궁내막암종, 상피성 난소 암종, 두경부암 편평세포 암종, 또는 비소세포 폐암인, 방법 또는 용도.

[0490] 실시형태 3. 대상체에서 CD166을 발현시키는 세포의 성장, 증식 또는 전이를 저해하거나 또는 감소시키는 방법으로서, 세포의 성장, 증식 또는 전이의 저해 또는 감소가 필요한 대상체에게 제제에 접합된 치료적 유효량의 활성화 가능한 항체(AA)를 투여하는 단계를 포함하되, 상기 AA는:

[0491] a. 포유류 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB)으로서, AB는 서열번호 480의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 240의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편;

[0492] b. AB에 결합되는 마스킹 모이어티(MM)로서, 상기 AA가 비절단 상태일 때 MM은 포유류 CD166에 대한 AB의 결합을 저해하고, 상기 MM은 서열번호 222의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 마스킹 모이어티; 및

[0493] c. 상기 AB에 결합된 절단 가능한 모이어티(CM)로서, 상기 CM은 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 폴리펩타이드이고, 상기 CM은 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 절단 가능한 모이어티를 포함하는 방법,

[0494] 및/또는 실시형태 3을 다르게 언급하면, CD166을 발현시키는 세포의 성장, 증식 또는 전이를 저해하거나 또는 감소시키는 데, 예를 들어, 대상체에서 암 치료에 사용하기 위한 제제에 접합된 활성화 가능한 항체 (AA)로서, 상기 AA는:

[0495] a. 포유류 CD166에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(AB)으로서, AB는 서열번호 480의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 240의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편;

[0496] b. AB에 결합되는 마스킹 모이어티(MM)로서, 상기 AA가 비절단 상태일 때 MM은 포유류 CD166에 대한 AB의 결합

을 저해하고, 상기 MM은 서열번호 222의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 마스킹 모이어티; 및

[0497] c. 상기 AB에 결합된 절단 가능한 모이어티(CM)로서, 상기 CM은 프로테아제에 대한 기질로서 작용하는 폴리펩타이드이고, 상기 CM은 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는, 상기 절단 가능한 모이어티를 포함하되,

[0498] AA는 치료가 필요한 대상체에게 치료적 유효량으로 투여하기 위한 것인, 활성화 가능한 항체.

[0499] 실시형태 4. 실시형태 3에 있어서, 상기 대상체는 유방암종, 거세-저항성 전립선 암종, 담관암종, 자궁내막암종, 상피성 난소 암종, 두경부암 편평세포 암종, 또는 비소세포 폐암을 앓고 있는, 방법 또는 용도.

[0500] 실시형태 5. 실시형태 3에 있어서, 상기 세포는 유방 세포, 전립선 세포, 자궁내막 세포, 난소 세포, 두경부 편평 세포, 담관 세포 또는 폐 세포인, 방법.

[0501] 실시형태 6. 실시형태 1 내지 5 중 어느 하나에 있어서, 상기 제제는 메이탄시노이드 또는 이의 유도체인, 방법.

[0502] 실시형태 7. 실시형태 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 상기 제제는 DM4인, 방법.

[0503] 실시형태 8. 실시형태 1 내지 7 중 어느 하나에 있어서, 상기 DM4는 링커를 통해 AA에 접합된, 방법.

[0504] 실시형태 9. 실시형태 8에 있어서, 상기 링커는 SPBD 모이어티를 포함하는, 방법.

[0505] 실시형태 10. 실시형태 1 내지 9 중 어느 하나에 있어서, 상기 AB는 CM에 연결되는, 방법.

[0506] 실시형태 11. 실시형태 1 내지 10 중 어느 하나에 있어서, AA가 비절단 상태에서 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열: MM-CM-AB 또는 AB-CM-MM을 포함하도록, 상기 MM이 CM에 연결되는, 방법 또는 용도.

[0507] 실시형태 12. 실시형태 1 내지 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 AA는 MM과 CM 사이에 연결 펩타이드를 포함하는, 방법 또는 용도.

[0508] 실시형태 13. 실시형태 1 내지 12 중 어느 하나에 있어서, 상기 AA는 CM과 AB 사이에 연결 펩타이드를 포함하는, 방법 또는 용도.

[0509] 실시형태 14. 실시형태 12에 있어서, 연결 펩타이드는 서열번호 479의 아미노산 서열을 포함하는, 방법 또는 용도.

[0510] 실시형태 15. 실시형태 1 내지 14 중 어느 하나에 있어서, 상기 AA는 CM과 AB 사이에 연결 펩타이드를 포함하는, 방법 또는 용도.

[0511] 실시형태 16. 실시형태 15에 있어서, 연결 펩타이드는 15의 아미노산 서열을 포함하는, 방법 또는 용도.

[0512] 실시형태 17. 실시형태 1 내지 16 중 어느 하나에 있어서, AA는 제1 연결 펩타이드(LP1)와 제2 연결 펩타이드(LP2)를 포함하되, AA는 비절단 상태에서 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열: MM-LP1-CM-LP2-AB 또는 AB-LP2-CM-LP1-MM을 갖는, 방법 또는 용도.

[0513] 실시형태 18. 실시형태 1 내지 17 중 어느 하나에 있어서, 상기 경쇄는 그의 N-말단에서 스페이서에 연결되는, 방법 또는 용도.

[0514] 실시형태 19. 실시형태 18에 있어서, 상기 스페이서는 서열번호 305의 아미노산 서열을 포함하는, 방법 또는 용도.

[0515] 실시형태 20. 실시형태 1 내지 19 중 어느 하나에 있어서, 상기 MM 및 CM은 경쇄에 연결되는, 방법 또는 용도.

[0516] 실시형태 21. 실시형태 20에 있어서, 상기 AA가 비절단 상태에서 그의 경쇄 상의 N-말단으로부터 C-말단까지 다음과 같은 구조적 배열: 스페이서-MM-LP1-CM-LP2-경쇄를 포함하도록, 상기 MM이 CM에 연결되는, 방법 또는 용도.

[0517] 실시형태 22. 실시형태 21에 있어서, 상기 스페이서는 서열번호 305의 아미노산 서열을 포함하고, LP1은 서열번호 479의 아미노산 서열을 포함하며, LP2는 GGS의 아미노산 서열을 포함하는, 방법 또는 용도.

[0518] 실시형태 23. 실시형태 1 내지 22 중 어느 하나에 있어서, 상기 AA의 상기 경쇄는 서열번호 314의 서열을 포함하는, 방법 또는 용도.

[0519] 실시형태 24. 실시형태 1 내지 23 중 어느 하나에 있어서, 상기 AA의 상기 경쇄는 서열번호 246의 서열을 포함

하는, 방법 또는 용도.

[0520] 실시형태 25. 실시형태 1 내지 24 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 적어도 18세인, 방법 또는 용도.

[0521] 실시형태 26. 실시형태 1 내지 25 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 ECOG 수행능력 평가가 0 내지 1인, 방법 또는 용도.

[0522] 실시형태 27. 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 활성 전이성 암의 조직학적으로 확인된 진단을 갖는, 방법 또는 용도.

[0523] 실시형태 28. 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 국소로 진행된 절단 가능하지 않은 고형 종양의 조직학적으로 확인된 진단을 갖는, 방법 또는 용도.

[0524] 실시형태 29. 실시형태 1 내지 28 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 투여 또는 사용 시 기대 수명이 적어도 3개월인, 방법 또는 용도.

[0525] 실시형태 30. 실시형태 1 내지 29 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 유방암종을 가진, 방법 또는 용도.

[0526] 실시형태 31. 실시형태 30에 있어서, 상기 유방암종은 ER+인, 방법 또는 용도.

[0527] 실시형태 32. 실시형태 30 또는 31에 있어서, 사전 항-호르몬 요법을 받았거나 질환 진행을 경험한, 방법 또는 용도.

[0528] 실시형태 33. 실시형태 30에 있어서, 상기 대상체는 삼중 음성 유방암을 가지고, 적어도 2회의 사전 계통 요법을 받은, 방법 또는 용도.

[0529] 실시형태 34. 실시형태 1 내지 29 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 거세-저항성 전립선 암종을 가진, 방법 또는 용도.

[0530] 실시형태 35. 실시형태 34에 있어서, 상기 대상체는 적어도 1회의 사전 요법을 받은, 방법 또는 용도.

[0531] 실시형태 36. 실시형태 1 내지 29 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 담관암종을 가진, 방법 또는 용도.

[0532] 실시형태 37. 실시형태 36에 있어서, 상기 대상체는 적어도 1회의 사전 계통의 겜시타빈-함유 요법에 실패한, 방법 또는 용도.

[0533] 실시형태 38. 실시형태 1 내지 29 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 자궁내막암종을 가진, 방법 또는 용도.

[0534] 실시형태 39. 실시형태 38에 있어서, 상기 대상체는 자궁외 또는 진행된 질환에 대해 적어도 1회의 백금-함유 요법을 받은, 방법 또는 용도.

[0535] 실시형태 40. 실시형태 1 내지 29 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 상피성 난소 암종을 가진, 방법 또는 용도.

[0536] 실시형태 41. 실시형태 40에 있어서, 상기 대상체는 백금-저항성 암종을 가진, 방법 또는 용도.

[0537] 실시형태 42. 실시형태 40에 있어서, 상기 대상체는 백금 난치성 난소 암종을 가진, 방법 또는 용도.

[0538] 실시형태 43. 실시형태 40에 있어서, 상기 대상체는 BRCA 돌연변이를 가지고, PARP 저해제에 대해 난치성이거나 또는 달리 부적격인, 방법 또는 용도.

[0539] 실시형태 44. 실시형태 40에 있어서, 상기 대상체는 비-BRCA 돌연변이를 가진, 방법 또는 용도.

[0540] 실시형태 45. 실시형태 1 내지 29 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 두경부 소세포 암종(HNSCC)을 가진, 방법 또는 용도.

[0541] 실시형태 46. 실시형태 45에 있어서, 상기 대상체는 적어도 1회의 백금-함유 요법을 받은, 방법 또는 용도.

[0542] 실시형태 47. 실시형태 45에 있어서, 상기 대상체는 적어도 1회의 PD-1/PD-L1 저해제를 받은, 방법 또는 용도.

[0543] 실시형태 48. 실시형태 1 내지 29 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 비소세포 폐암(NSCLC)을 가진, 방법 또는 용도.

[0544] 실시형태 49. 실시형태 48에 있어서, 상기 대상체는 적어도 1회의 백금-함유 요법을 받은, 방법 또는 용도.

[0545] 실시형태 50. 실시형태 48에 있어서, 상기 대상체는 적어도 1회의 관문 저해제를 받은, 방법 또는 용도.

[0546] 실시형태 51. 실시형태 48에 있어서, 상기 대상체는 적어도 1회의 PD-1/PD-L1 저해제를 받은, 방법 또는 용도.

[0547] 실시형태 52. 실시형태 1 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 제제에 접합된 상기 AA는 용량이 약 0.25mg/kg 내지 약 6mg/kg인, 방법 또는 용도.

[0548] 실시형태 53. 실시형태 52에 있어서, 상기 용량은 약 0.25mg/kg인, 방법 또는 용도.

[0549] 실시형태 54. 실시형태 52에 있어서, 상기 용량은 약 0.5mg/kg인, 방법 또는 용도.

[0550] 실시형태 55. 실시형태 52에 있어서, 상기 용량은 약 1mg/kg인, 방법 또는 용도.

[0551] 실시형태 56. 실시형태 52에 있어서, 상기 용량은 약 2mg/kg인, 방법 또는 용도.

[0552] 실시형태 57. 실시형태 52에 있어서, 상기 용량은 약 4mg/kg인, 방법 또는 용도.

[0553] 실시형태 58. 실시형태 52에 있어서, 상기 용량은 약 5mg/kg인, 방법 또는 용도.

[0554] 실시형태 59. 실시형태 52에 있어서, 상기 용량은 약 6mg/kg인, 방법 또는 용도.

[0555] 실시형태 60. 실시형태 52에 있어서, 상기 용량은 약 0.25mg/kg 내지 약 0.5mg/kg인, 방법 또는 용도.

[0556] 실시형태 61. 실시형태 52에 있어서, 상기 용량은 약 0.5mg/kg 내지 약 1mg/kg인, 방법 또는 용도.

[0557] 실시형태 62. 실시형태 52에 있어서, 상기 용량은 약 1mg/kg 내지 약 2mg/kg인, 방법 또는 용도.

[0558] 실시형태 63. 실시형태 52에 있어서, 상기 용량은 약 2mg/kg 내지 약 4mg/kg인, 방법 또는 용도.

[0559] 실시형태 64. 실시형태 52에 있어서, 상기 용량은 약 4mg/kg 내지 약 5mg/kg인, 방법 또는 용도.

[0560] 실시형태 65. 실시형태 52에 있어서, 상기 용량은 약 5mg/kg 내지 약 6mg/kg인, 방법 또는 용도.

[0561] 실시형태 66. 실시형태 1 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 상기 AA는 약 10mg 내지 약 200mg의 고정된 용량인, 방법 또는 용도.

[0562] 실시형태 67. 실시형태 1 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 상기 AA는 약 25mg 내지 약 500mg의 고정된 용량인, 방법 또는 용도.

[0563] 실시형태 68. 실시형태 1 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 제제에 접합된 상기 AA는 약 10mg 내지 약 25mg의 고정된 용량인, 방법 또는 용도.

[0564] 실시형태 69. 실시형태 1 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 제제에 접합된 상기 AA는 약 20mg 내지 약 50mg의 고정된 용량인, 방법 또는 용도.

[0565] 실시형태 70. 실시형태 1 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 제제에 접합된 상기 AA는 약 30mg 내지 약 75mg의 고정된 용량인, 방법 또는 용도.

[0566] 실시형태 71. 실시형태 1 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 제제에 접합된 상기 AA는 약 40mg 내지 약 100mg의 고정된 용량인, 방법 또는 용도.

[0567] 실시형태 72. 실시형태 1 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 제제에 접합된 상기 AA는 약 50mg 내지 약 125mg의 고정된 용량인, 방법 또는 용도.

[0568] 실시형태 73. 실시형태 1 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 제제에 접합된 상기 AA는 약 60mg 내지 약 150mg의 고정된 용량인, 방법 또는 용도.

[0569] 실시형태 74. 실시형태 1 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 제제에 접합된 상기 AA는 약 80mg 내지 약 200mg의 고정된 용량인, 방법 또는 용도.

[0570] 실시형태 75. 실시형태 1 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 제제에 접합된 상기 AA는 약 100mg 내지 약 250mg의 고정된 용량인, 방법 또는 용도.

[0571] 실시형태 76. 실시형태 1 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 제제에 접합된 상기 AA는 약 120mg 내지 약 300mg의 고정된 용량인, 방법 또는 용도.

[0572] 실시형태 77. 실시형태 1 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 제제에 접합된 상기 AA는 약 140mg 내지 약 350mg의 고정된 용량인, 방법 또는 용도.

[0573] 실시형태 78. 실시형태 1 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 제제에 접합된 상기 AA는 약 160mg 내지 약 400mg의 고정된 용량인, 방법 또는 용도.

[0574] 실시형태 79. 실시형태 1 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 제제에 접합된 상기 AA는 약 180mg 내지 약 450mg의 고정된 용량인, 방법 또는 용도.

[0575] 실시형태 80. 실시형태 1 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 제제에 접합된 상기 AA는 약 200mg 내지 약 500mg의 고정된 용량인, 방법 또는 용도.

[0576] 실시형태 81. 실시형태 1 내지 80 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체에게 제제에 접합된 AA가 정맥내로 투여되거나, AA는 정맥내 사용을 위해 제형화되는, 방법 또는 용도.

[0577] 실시형태 82. 실시형태 1 내지 81 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체에게 21일마다 제제에 접합된 AA가 정맥내로 투여되거나, 21일마다 사용을 위해 제형화되는, 방법 또는 용도.

[0578] 실시형태 83. 실시형태 52 내지 65, 81 및 82 중 어느 하나에 있어서, 상기 AA는 대상체의 실제 체중에 기반한 투약량으로 제제에 접합된, 방법 또는 용도.

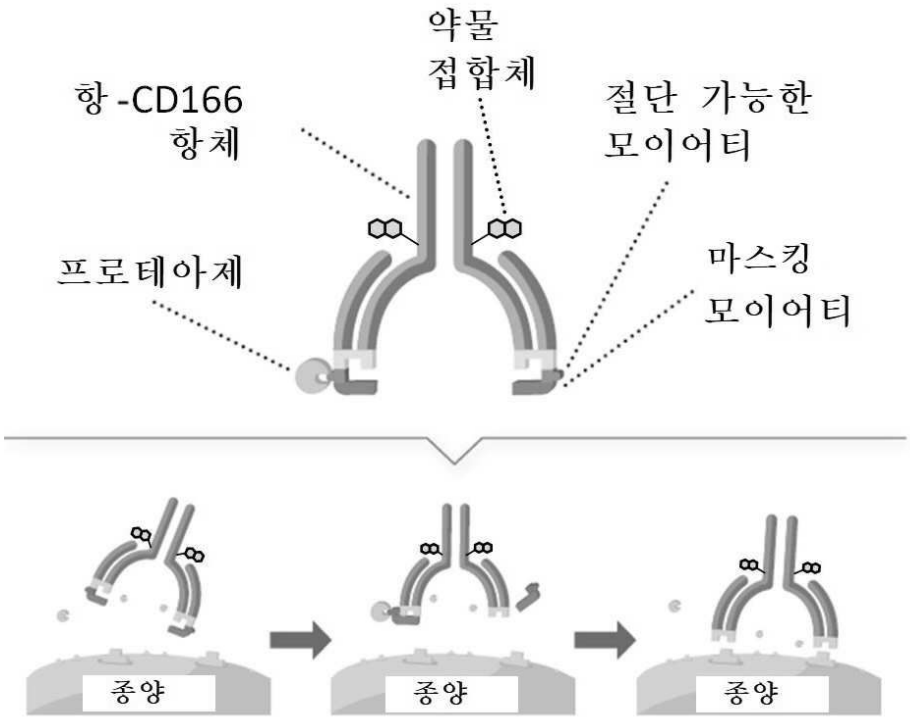
[0579] 실시형태 84. 실시형태 52 내지 65, 81 및 82 중 어느 하나에 있어서, 상기 AA는 대상체의 조절된 이상 체중에 기반한 투약량으로 제제에 접합된, 방법 또는 용도.

[0580] **기타 실시형태**

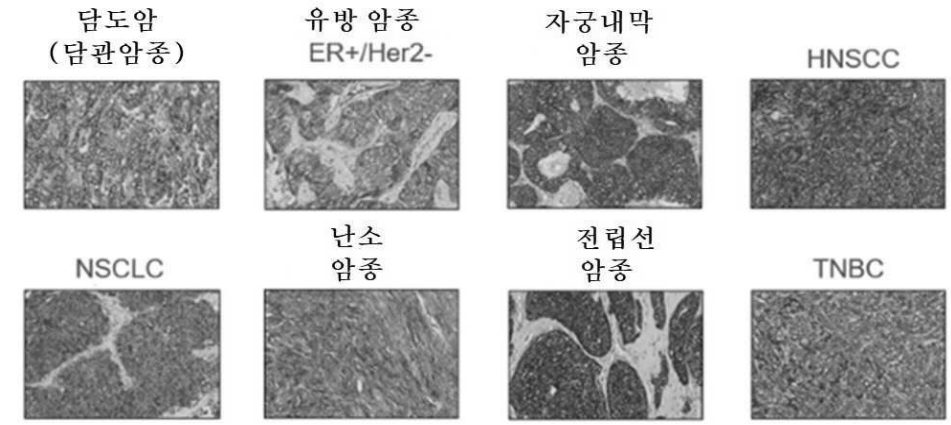
[0581] 본 발명은 이의 상세한 설명과 함께 기재되었지만, 앞서 언급한 설명은 첨부하는 청구범위의 범주에 의해 정해지는 본 발명의 범주를 제한하지 않으며 예시하는 것으로 의도된다. 다른 양상, 이점 및 변형은 다음의 범주 내이다.

도면

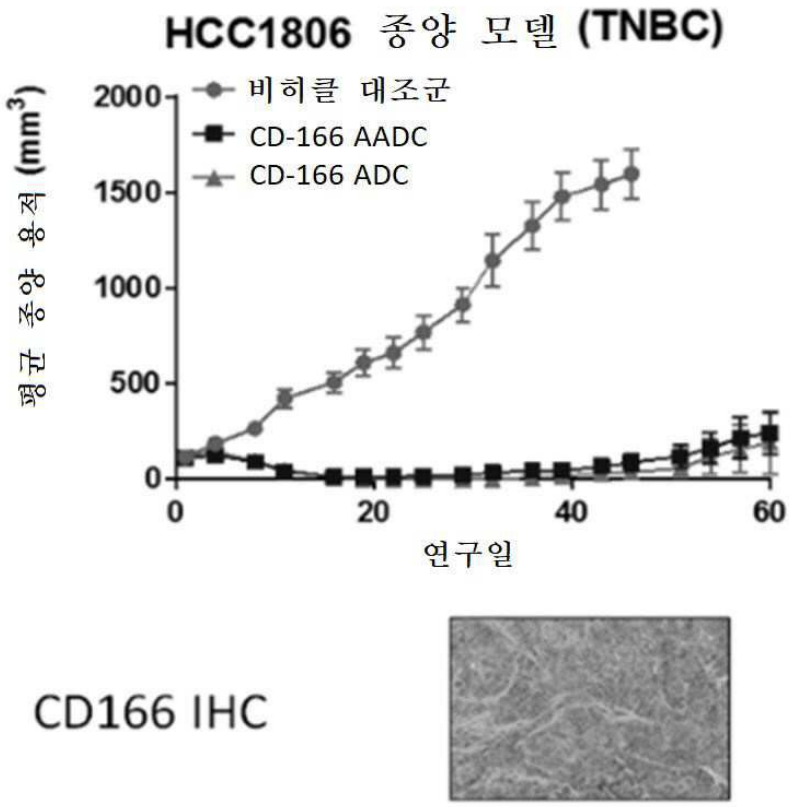
도면1



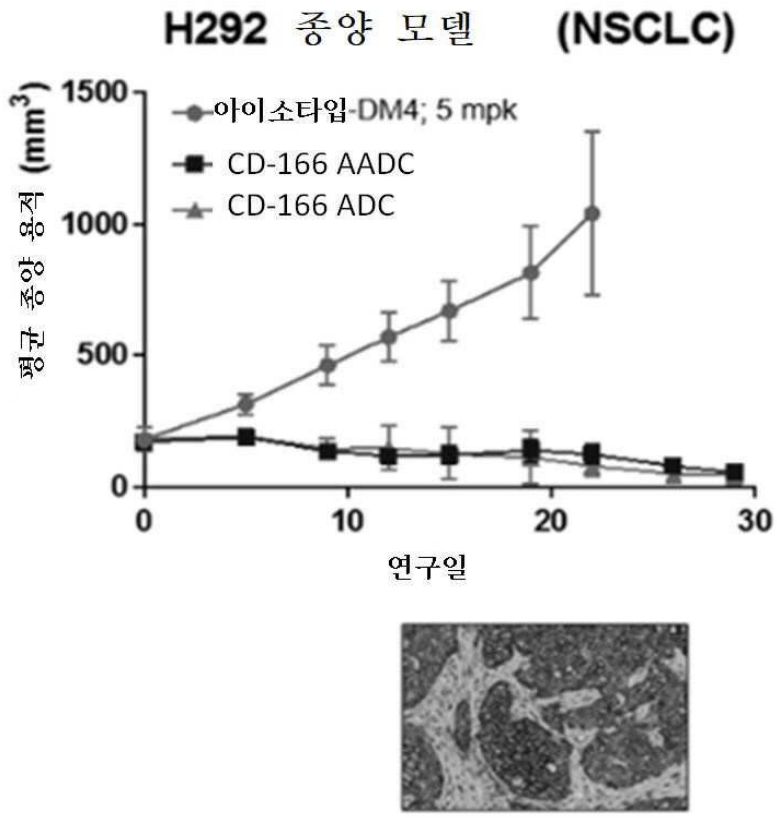
도면2


담도암
(담관암종)
유방 암종
ER+/Her2-
자궁내막
암종
HNSCC
NSCLC
난소
암종
전립선
암종
TNBC

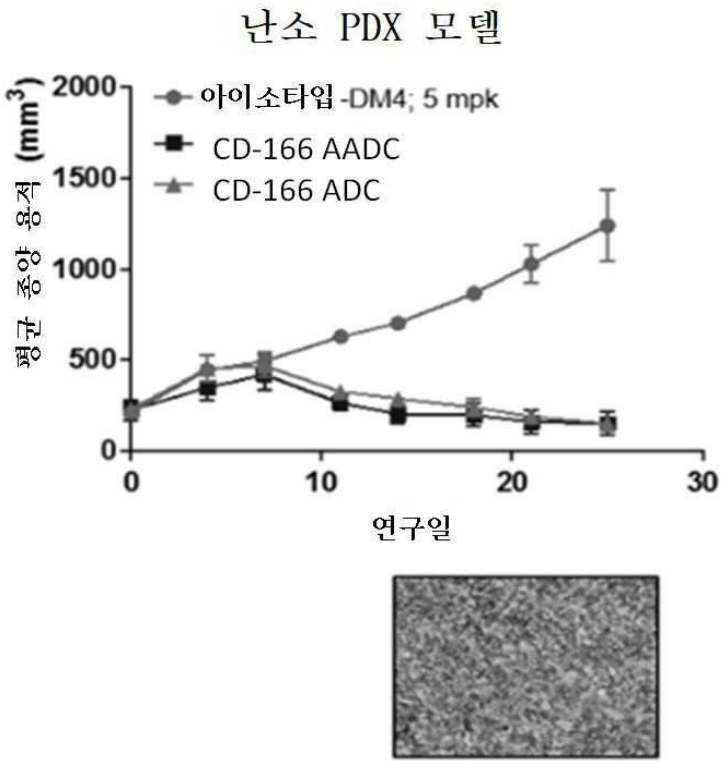
도면3


HCC1806 종양 모델 (TNBC)
비히클 대조군
CD-166 AADC
CD-166 ADC
평균 종양 용적 (mm3)
2000
1500
1000
500
0
0
20
40
60
연구일
CD166 IHC

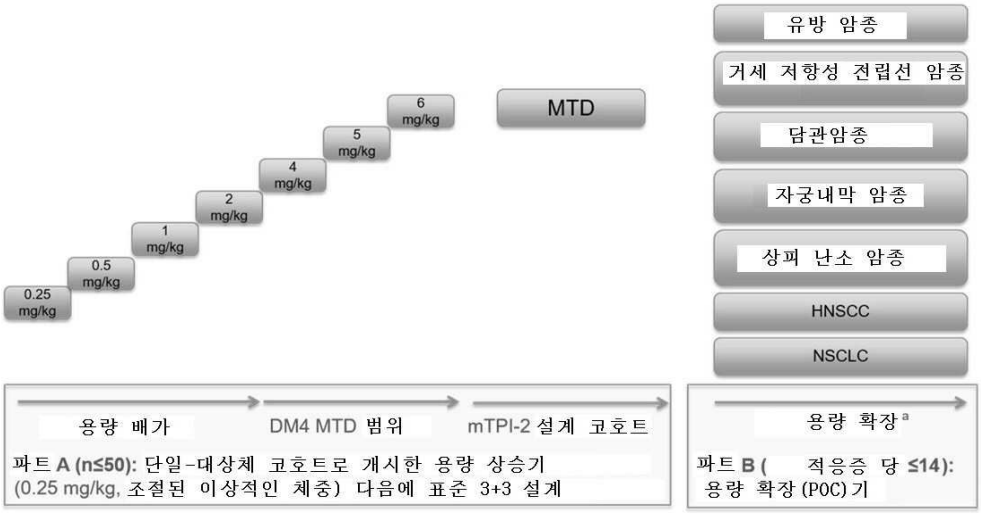
도면4


H292 종양 모델 (NSCLC)
평균 종양 용적 (mm3)
1500
1000
500
0
아이소타입-DM4; 5 mpk
CD-166 AADC
CD-166 ADC
0
10
20
30
연구일

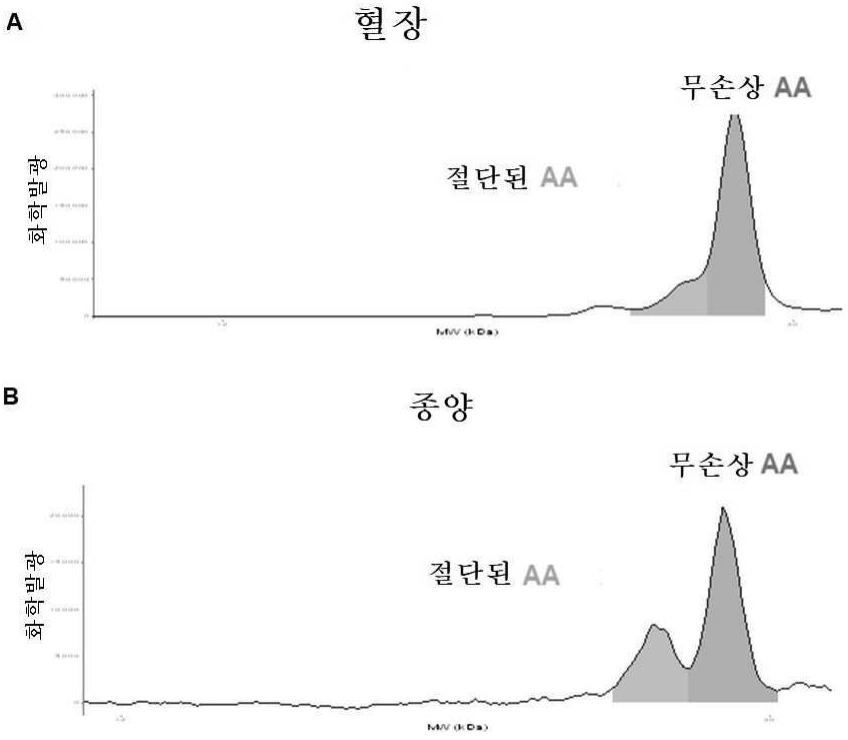
도면5


난소 PDX 모델
평균 종양 용적 (mm3)
2000
1500
1000
500
0
아이소타입-DM4; 5 mpk
CD-166 AADC
CD-166 ADC
0
10
20
30
연구일

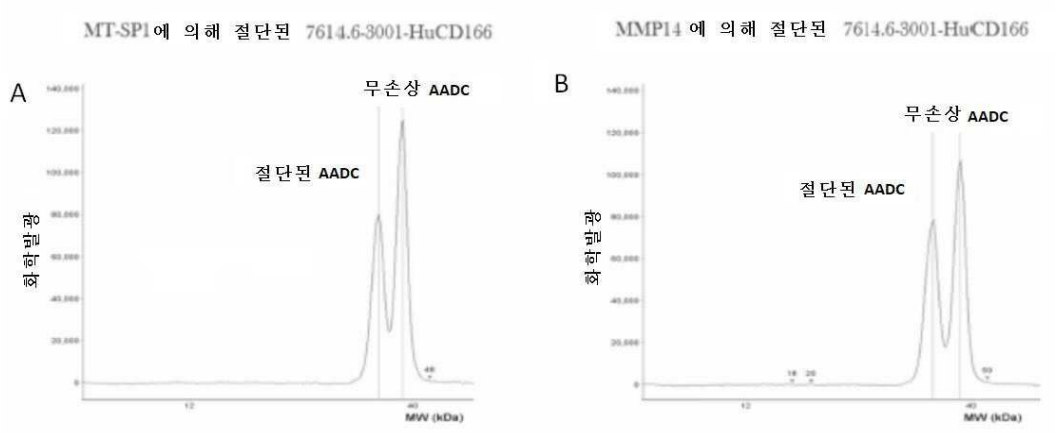
도면6


0.25 mg/kg
0.5 mg/kg
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
5 mg/kg
6 mg/kg
MTD
유방 암종
거세 저항성 전립선 암종
담관암종
자궁내막 암종
상피 난소 암종
HNSCC
NSCLC
용량 배가
DM4 MTD 범위
mTPI-2 설계 코호트
용량 확장 a
파트 A (n≤50): 단일-대상체 코호트로 개시한 용량 상승기
(0.25 mg/kg, 조절된 이상적인 체중) 다음에 표준 3+3 설계
파트 B (적응증 당 ≤14):
용량 확장 (POC) 기

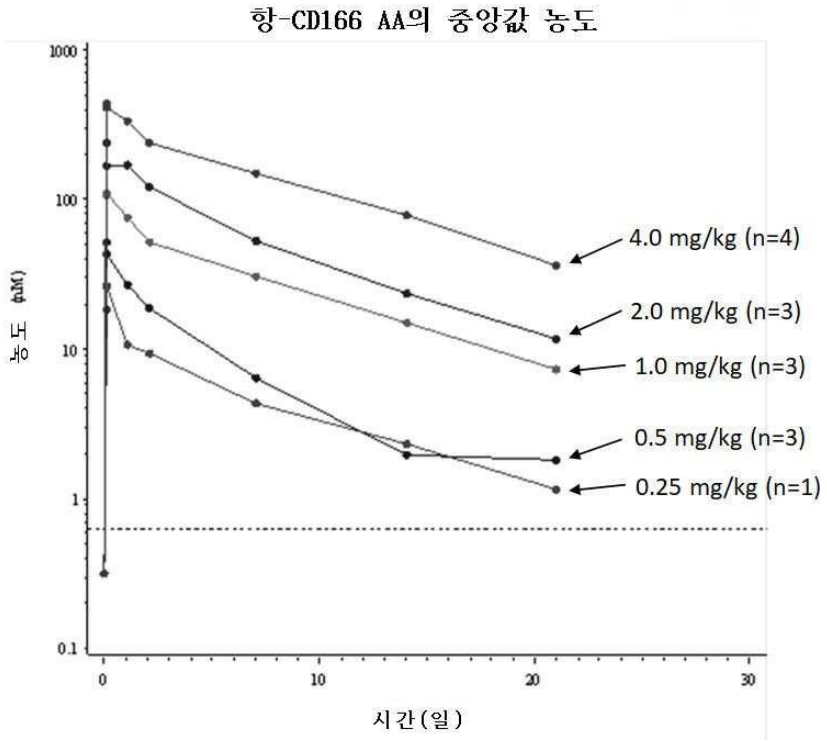
도면7


A
혈장
무손상 AA
절단된 AA
화학발광
B
종양
무손상 AA
절단된 AA
화학발광

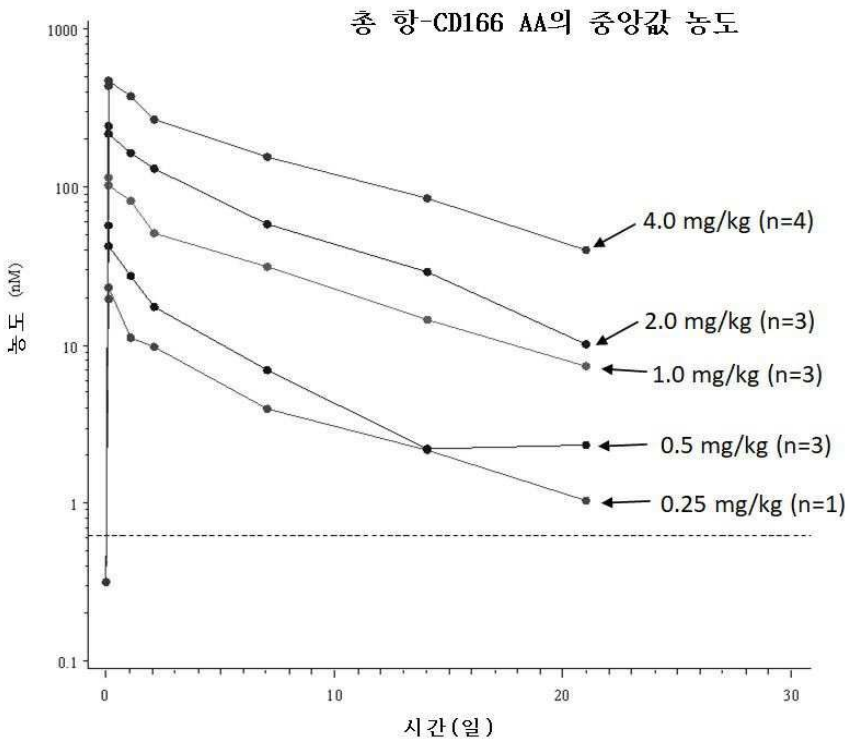
도면8


MT-SP1에 의해 절단된 7614.6-3001-HuCD166
A
무손상 AADC
절단된 AADC
화학발광
MW (kDa)
MMP14 에 의해 절단된 7614.6-3001-HuCD166
B
무손상 AADC
절단된 AADC
화학발광
MW (kDa)

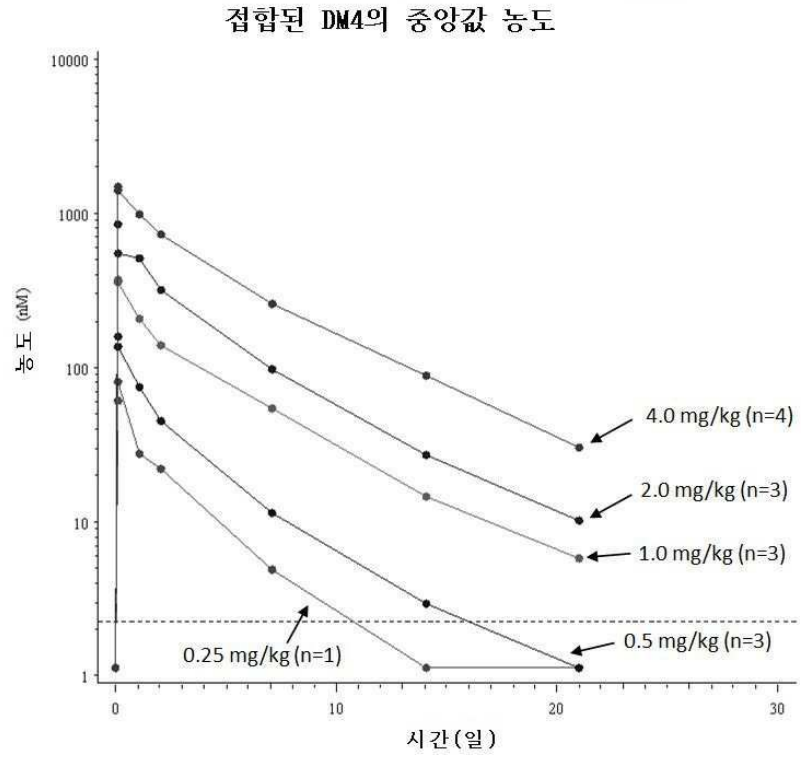
도면9a


항-CD166 AA의 중앙값 농도
농도 (μM)
1000
100
10
1
0.1
0
10
20
30
시간(일)
4.0 mg/kg (n=4)
2.0 mg/kg (n=3)
1.0 mg/kg (n=3)
0.5 mg/kg (n=3)
0.25 mg/kg (n=1)

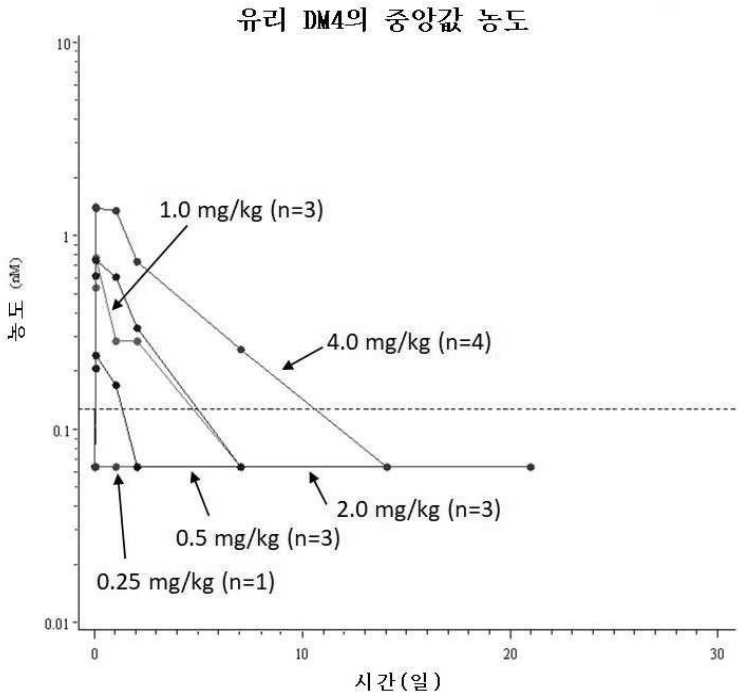
도면9b


총 항-CD166 AA의 중앙값 농도
농도 (nM)
1000
100
10
1
0.1
0
10
20
30
시간(일)
4.0 mg/kg (n=4)
2.0 mg/kg (n=3)
1.0 mg/kg (n=3)
0.5 mg/kg (n=3)
0.25 mg/kg (n=1)

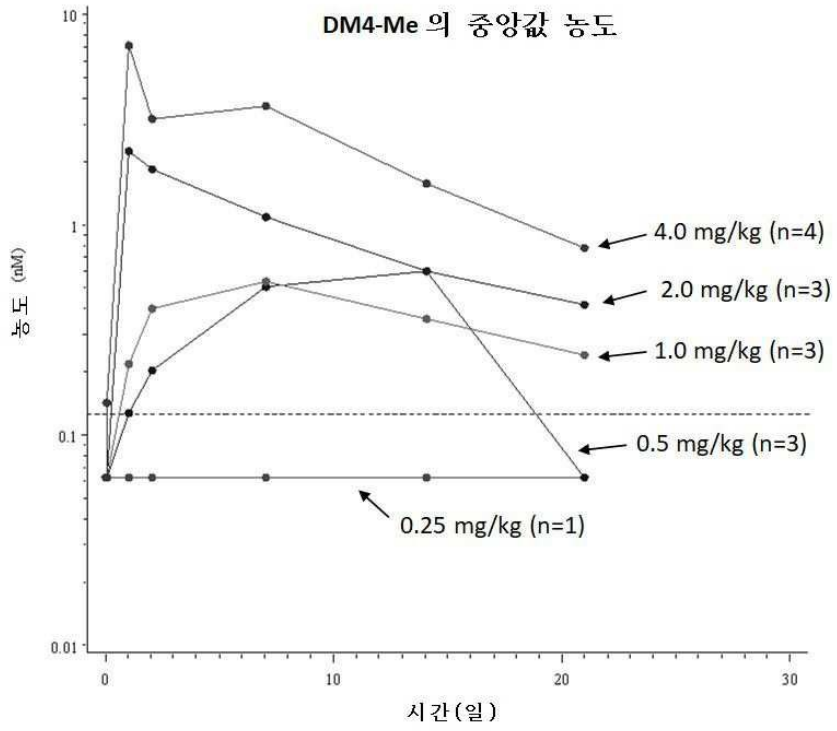
도면9c


접합된 DM4의 중앙값 농도
농도 (nM)
10000
1000
100
10
1
0
10
20
30
시간(일)
4.0 mg/kg (n=4)
2.0 mg/kg (n=3)
1.0 mg/kg (n=3)
0.5 mg/kg (n=3)
0.25 mg/kg (n=1)

도면9d



도면9e



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> CYTOMX THERAPEUTICS, INC.

<120> Activatable Anti-CD166 Antibodies and Methods of Use Thereof

<130> WO/2019/046652

<140> PCT/US2018/048965

<141> 2018-08-30

<150> US 62/552,345

<151> 2017-08-30

<150> US 62/553,098

<151> 2017-08-31

<150> US 62/554,919

<151> 2017-09-06

<160> 481

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linking Peptide

<400> 1

Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 2

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linking Peptide

<400> 2

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 3

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linking Peptide

<400> 3

Gly Gly Ser Gly

1

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linking Peptide

<400> 4

Gly Gly Ser Gly Gly

1 5

<210> 5

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linking Peptide

<400> 5

Gly Ser Gly Ser Gly

1 5

<210> 6

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linking Peptide

<400> 6

Gly Ser Gly Gly Gly

1 5

<210> 7

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linking Peptide

<400> 7

Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 8

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linking Peptide

<400> 8

Gly Ser Ser Ser Gly

1 5

<210> 9

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linking Peptide

<400> 9

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

1 5 10

<210> 10

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linking Peptide

<400> 10

Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

1 5 10

<210> 11

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Linking Peptide

<400> 11

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

1 5 10

<210> 12

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linking Peptide

<400> 12

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

1 5 10 15

<210> 13

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linking Peptide

<400> 13

Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly

1 5 10

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linking Peptide

<400> 14

Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser

1 5 10

<210> 15

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linking Peptide

<400> 15

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 16

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linking Peptide

<400> 16

Gly Ser Ser Gly Thr

1 5

<210> 17

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linking Peptide

<400> 17

Gly Ser Ser Gly

1

<210> 18

<400> 18

000

<210> 19

<400> 19

000

<210> 20

<400> 20

000

<210> 21

<400> 21

000

<210> 22

<400> 22

000

<210> 23

<400> 23

000

<210> 24

<400> 24

000

<210> 25

<400> 25

000

<210> 26

<400> 26

000

<210> 27

<400> 27

000

<210> 28

<400> 28

000

<210> 29

<400

> 29

000

<210> 30

<400> 30

000

<210> 31

<400> 31

000

<210> 32

<400> 32

000

<210> 33

<400> 33

000

<210> 34

<400> 34

000

<210> 35

<400> 35

000

<210> 36

<400> 36

000

<210> 37

<400> 37

000

<210> 38

<400> 38

000

<210> 39

<400> 39

000

<210> 40

<400> 40

000

<210> 41

<400> 41

000

<210> 42

<400> 42

000

<210> 43

<400> 43

000

<210> 44

<400> 44

000

<210> 45

<400> 45

000

<210> 46

<400> 46

000

<210> 47

<400> 47

000

<210> 48

<400> 48

000

<210> 49

<400> 49

000

<210> 50

<400> 50

000

<210> 51

<400> 51

000

<210> 52

<400> 52

000

<210> 53

<400> 53

000

<210> 54

<400> 54

000

<210> 55

<400> 55

000

<210> 56

<400> 56

000

<210> 57

<400> 57

000

<210> 58

<400> 58

000

<210> 59

<400> 59

000

<210> 60

<400> 60

000

<210> 61

<400> 61

000

<210> 62

<400> 62

000

<210> 63

<400> 63

000

<210> 64

<400> 64

000

<210> 65

<400> 65

000

<210> 66

<400> 66

000

<210> 67

<400> 67

000

<210> 68

<400> 68

000

<210> 69

<400> 69

000

<210> 70

<400> 70

000

<210> 71

<400> 71

000

<210> 72

<400> 72

000

<210> 73

<400> 73

000

<210> 74

<400> 74

000

<210> 75

<400> 75

000

<210> 76

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Cleavable moiety

<400> 76

Ala Val Gly Leu Leu Ala Pro Pro Gly Gly Leu Ser Gly Arg Ser Asp

1 5 10 15

Asn His

<210> 77

<400> 77

000

<210> 78

<400> 78

000

<210> 79

<400> 79

000

<210> 80

<400> 80

000

<210> 81

<400> 81

000

<210> 82

<400> 82

000

<210> 83

<400> 83

000

<210> 84

<400> 84

000

<210> 85

<400> 85

000

<210> 86

<400> 86

000

<210> 87

<400> 87

000

<210> 88

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Spacer

<400> 88

Gln Gly Gln Ser Gly Gln

1 5

<210> 89

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Plasmin cleavable sequence

<400> 89

Pro Arg Phe Lys Ile Ile Gly Gly

1 5

<210> 90

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Plasmin cleavable sequence

<400> 90

Pro Arg Phe Arg Ile Ile Gly Gly

1 5

<210> 91

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Plasmin cleavable sequence

<400> 91

Ser Ser Arg His Arg Arg Ala Leu Asp

1 5

<210> 92

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Plasmin cleavable sequence

<400> 92

Arg Lys Ser Ser Ile Ile Ile Arg Met Arg Asp Val Val Leu

1 5 10

<210> 93

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Plasmin cleavable sequence

<400> 93

Ser Ser Ser Phe Asp Lys Gly Lys Tyr Lys Lys Gly Asp Asp Ala

1 5 10 15

<210> 94

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Plasmin cleavable sequence

<400> 94

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

1 5 10 15

<210> 95

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Factor Xa cleavable sequence

<400> 95

Ile Glu Gly Arg

1

<210> 96

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Factor Xa cleavable sequence

<400

> 96

Ile Asp Gly Arg

1

<210> 97

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Factor Xa cleavable sequence

<400> 97

Gly Gly Ser Ile Asp Gly Arg

1 5

<210> 98

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MMP cleavable sequence

<400> 98

Pro Leu Gly Leu Trp Ala

1 5

<210> 99

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Collagenase cleavable sequence

<400> 99

Gly Pro Gln Gly Ile Ala Gly Gln

1 5

<210> 100

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Collagenase cleavable sequence

<400> 100

Gly Pro Gln Gly Leu Leu Gly Ala

1 5

<210> 101

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Collagenase cleavable sequence

<400> 101

Gly Ile Ala Gly Gln

1 5

<210> 102

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Collagenase cleavable sequence

<400> 102

Gly Pro Leu Gly Ile Ala Gly Ile

1 5

<210> 103

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Collagenase cleavable sequence

<400> 103

Gly Pro Glu Gly Leu Arg Val Gly

1 5

<210> 104

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Collagenase cleavable sequence

<400> 104

Tyr Gly Ala Gly Leu Gly Val Val

1 5

<210> 105

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Collagenase cleavable sequence

<400> 105

Ala Gly Leu Gly Val Val Glu Arg

1 5

<210> 106

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Collagenase cleavable sequence

<400> 106

Ala Gly Leu Gly Ile Ser Ser Thr

1 5

<210> 107

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Collagenase cleavable sequence

<400> 107

Glu Pro Gln Ala Leu Ala Met Ser

1 5

<210> 108

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Collagenase cleavable sequence

<400> 108

Gln Ala Leu Ala Met Ser Ala Ile

1 5

<210> 109

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Collagenase cleavable sequence

<400> 109

Ala Ala Tyr His Leu Val Ser Gln

1 5

<210> 110

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Collagenase cleavable sequence

<400> 110

Met Asp Ala Phe Leu Glu Ser Ser

1 5

<210> 111

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Collagenase cleavable sequence

<400> 111

Glu Ser Leu Pro Val Val Ala Val

1 5

<210> 112

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Collagenase cleavable sequence

<400> 112

Ser Ala Pro Ala Val Glu Ser Glu

1 5

<210> 113

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human fibroblast collagenase

<400> 113

Asp Val Ala Gln Phe Val Leu Thr

1 5

<210> 114

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Autolytic cleavage

<400> 114

Val Ala Gln Phe Val Leu Thr Glu

1 5

<210> 115

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Autolytic cleavage

<400> 115

Ala Gln Phe Val Leu Thr Glu Gly

1 5

<210> 116

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Autolytic cleavage

<400> 116

Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln

1 5

<210> 117

<211> 273

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Anti-CTLA-4 scFv

<400> 117

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala

35 40 45

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

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

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

225 230 235 240
Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Asn Ser Leu Tyr Trp
245 250 255
Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
260 265 270
Ser

<210> 118
<211> 264

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Anti-CD3-epsilon scFv

<400> 118

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser

35 40 45

Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro

50 55 60

Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr

65 70 75 80

Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp

85 90 95

Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu

100 105 110

Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys

115 120 125

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

130 135 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Val

145 150 155 160

Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val

165 170 175

Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr

180 185 190

Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser

195 200 205

Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala His Phe Arg Gly Ser Gly Ser Gly

210 215 220

Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Gly Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala

225 230 235 240

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr Phe Gly Ser

245 250 255

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn Arg

260

<210> 119

<400> 119

000

<210> 120

<400> 120

000

<210> 121

<400> 121

000

<210> 122

<400> 122

000

<210> 123

<400> 123

000

<210> 124

<400> 124

000

<210> 125

<400> 125

000

<210> 126

<400> 126

000

<210> 127

<400> 127

000

<210> 128

<400> 128

000

<210> 129

<400> 129

000

<210> 130

<400> 130

000

<210> 131

<400> 131

000

<210> 132

<400> 132

000

<210> 133

<400> 133

000

<210> 134

<400> 134

000

<

210> 135

<400> 135

000

<210> 136

<400> 136

000

<210> 137

<400> 137

000

<210> 138

<400> 138

000

<210> 139

<400> 139

000

<210> 140

<400> 140

000

<210> 141

<400> 141

000

<210> 142

<400> 142

000

<210> 143

<400> 143

000

<210> 144

<400> 144

000

<210> 145

<400> 145

000

<210> 146

<400> 146

000

<210> 147

<400> 147

000

<210> 148

<400> 148

000

<210> 149

<400> 149

000

<210> 150

<400> 150

000

<210

> 151

<400> 151

000

<210> 152

<400> 152

000

<210> 153

<400> 153

000

<210> 154

<400> 154

000

<210> 155

<400> 155

000

<210> 156

<400> 156

000

<210> 157

<400> 157

000

<210> 158

<400> 158

000

<210> 159

<400> 159

000

<210> 160

<400> 160

000

<210> 161

<400> 161

000

<210> 162

<400> 162

000

<210> 163

<400> 163

000

<210> 164

<400> 164

000

<210> 165

<400> 165

000

<210> 166

<400> 166

000

<210>

167

<400> 167

000

<210> 168

<400> 168

000

<210> 169

<400> 169

000

<210> 170

<400> 170

000

<210> 171

<400> 171

000

<210> 172

<400> 172

000

<210> 173

<400> 173

000

<210> 174

<400> 174

000

<210> 175

<400> 175

000

<210> 176

<400> 176

000

<210> 177

<400> 177

000

<210> 178

<400> 178

000

<210> 179

<400> 179

000

<210> 180

<400> 180

000

<210> 181

<400> 181

000

<210> 182

<400> 182

000

<210> 183

<400> 183

000

<210> 184

<400> 184

000

<210> 185

<400> 185

000

<210> 186

<400> 186

000

<210> 187

<400> 187

000

<210> 188

<400> 188

000

<210> 189

<400> 189

000

<210> 190

<400> 190

000

<210> 191

<400> 191

000

<210> 192

<400> 192

000

<210> 193

<400> 193

000

<210> 194

<400> 194

000

<210> 195

<400> 195

000

<210> 196

<400> 196

000

<210> 197

<400> 197

000

<210> 198

<400> 198

000

<210> 199

<

400> 199

000

<210> 200

<400> 200

000

<210> 201

<400> 201

000

<210> 202

<400> 202

000

<210> 203

<400> 203

000

<210> 204

<400> 204

000

<210> 205

<400> 205

000

<210> 206

<400> 206

000

<210> 207

<400> 207

000

<210> 208

<400> 208

000

<210> 209

<400> 209

000

<210> 210

<400> 210

000

<210> 211

<400> 211

000

<210> 212

<400> 212

000

<210> 213

<400> 213

000

<210> 214

<400> 214

000

<210> 215

<400

> 215

000

<210> 216

<400> 216

000

<210> 217

<400> 217

000

<210> 218

<400> 218

000

<210> 219

<400> 219

000

<210> 220

<400> 220

000

<210> 221

<400> 221

000

<210> 222

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Masking moiety

<400> 222

Leu Cys His Pro Ala Val Leu Ser Ala Trp Glu Ser Cys Ser Ser

1 5 10 15

<210> 223

<400> 223

000

<210> 224

<400> 224

000

<210> 225

<400> 225

000

<210> 226

<400> 226

000

<210> 227

<400> 227

000

<210> 228

<400> 228

000

<210> 229

<400> 229

000

<210> 230

<400> 230

000

<210> 231

<400> 231

000

<210> 232

<400> 232

000

<210> 233

<400> 233

000

<210> 234

<400> 234

000

<210> 235

<400> 235

000

<210> 236

<400> 236

000

<210> 237

<400> 237

000

<210> 238

<400> 238

000

<210> 239

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Human alpha-CD166 Heavy Chain

<400> 239

Gln Ile Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr
20 25 30

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

Trp Leu Ala Asn Ile Trp Trp Ser Glu Asp Lys His Tyr Ser Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Ile Thr Asn Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Val Gln Ile Asp Tyr Gly Asn Asp Tyr Ala Phe Thr Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

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

245 250 255

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

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

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

Pro Gly Lys
450

<210> 240
<211> 219
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Human alpha-CD166 Light Chain VL domain

<400> 240

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
85 90 95

Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

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

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

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

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

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

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 241

<211> 1353

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human alpha-CD166 Heavy Chain

<400> 241

cagatcaccc tgaaagagtc cggccccacc ctggtgaaac ccacccagac cctgaccctg 60

acatgcacct tctccggctt cagcctgtcc acctacggca tgggcgtggg ctggatcagg 120

cagcctcctg gcaaggccct ggaatggctg gccaacatct ggtggtccga ggacaagcac 180

tactccccca gcctgaagtc ccggctgacc atcaccaagg acacctccaa gaaccaggtg 240

gtgctgacaa tcacaaacgt ggaccccgtg gacaccgcca cctactactg cgtgcagatc 300

gactacggca acgactacgc cttcacctac tggggccagg gcacactggt gacagtgtcc 360

tccgcctcca ccaagggccc ctccgtgttc cctctggccc cttccagcaa gtccacctct 420

ggcggcacag ctgccctggg ctgcctggtg aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 480

tcctggaact ctggcgccct gaccagcgga gtgcacacct tccctgccgt gctgcagtcc 540

tccggcctgt actccctgtc ctccgtggtg accgtgccct ccagctctct gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc tccaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 660

cccaagtcct gcgacaagac ccacacctgt cccccctgcc ctgcccctga actgctgggc 720

ggaccttccg tgtttctgtt ccccccaaag cctaaggaca ccctgatgat ctcccggacc 780

cccgaagtga cctgcgtggt ggtggacgtg tcccacgagg accctgaagt gaagttcaat 840

tggtacgtgg acggcgtgga agtgcacaac gccaagacca agcccagaga ggaacagtac 900

aactccacct accgggtggt gtctgtgctg accgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960

aaagagtaca agtgcaaggt gtccaacaag gccctgcctg cccccatcga aaagaccatc 1020

tccaaggcca agggccagcc ccgcgagcct caggtgtaca cactgccccc tagccgggaa 1080

gagatgacca agaatcaggt gtccctgacc tgtctggtga aaggcttcta cccctccgat 1140

atcgccgtgg aatgggagtc caacggccag cccgagaaca actacaagac cacccccct 1200

gtgctggact ccgacggctc attcttcctg tactccaagc tgaccgtgga caagtcccgg 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt ctcctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac 1320

acccagaagt ccctgtccct gagccccggc aag 1353

<210> 242

<400> 242

000

<210> 243

<400> 243

000

<210> 244

<400> 244

000

<210> 245

<400> 245

000

<210> 246

<211> 270

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human alpha-CD166 Light Chain

<400> 246

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Gly Leu Cys His Pro Ala Val Leu Ser Ala
1 5 10 15
Trp Glu Ser Cys Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ala Val

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

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

Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu

145 150 155 160

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro

165 170 175

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu

180 185 190

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn

195 200 205

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser

210 215 220

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala

225 230 235 240

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly

245 250 255

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

260 265 270

<210> 247

<211> 810

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human alpha-CD166 Light Chain

<400> 247

cagggacagt ctggccaggg cctgtgtcac cctgctgtgc tgtctgcctg ggagtcctgt 60

tccagcggcg gaggctcctc tggcggctct gctgtgggcc tgctggctcc acctggcggc 120

ctgtccggca gatctgacaa ccacggcggc tccgacatcg tgatgaccca gtccccctg 180

tccctgcccg tgactcctgg cgagcctgcc tccatctcct gccggtcctc caagtccctg 240

ctgcactcca acggcatcac ctacctgtac tggtatctgc agaagcccgg ccagtcccct 300

cagctgctga tctaccagat gtccaacctg gcctccggcg tgcccgacag attctccggc 360

tctggctccg gcaccgactt caccctgaag atctcccggg tggaagccga ggacgtgggc 420

gtgtactact gcgcccagaa cctggaactg ccctacacct tcggccaggg caccaagctg 480

gaaatcaagc ggaccgtggc cgctccctcc gtgttcatct tcccaccctc cgacgagcag 540

ctgaagtccg gcaccgcctc cgtggtctgc ctgctgaaca acttctaccc ccgcgaggcc 600

aaggtgcagt ggaaggtgga caacgccctg cagtccggca actcccagga atccgtcacc 660

gagcaggact ccaaggacag cacctactcc ctgtcctcca ccctgaccct gtccaaggcc 720

gactacgaga agcacaaggt gtacgcctgc gaagtgaccc accagggact gagcagcccc 780

gtgaccaagt ccttcaaccg gggcgagtgc 810

<210> 248

<400> 248

000

<210> 249

<400> 249

000

<210> 250

<400> 250

000

<210> 251

<400> 251

000

<210> 252

<400> 252

000

<210> 253

<400> 253

000

<210> 254

<400> 254

000

<210> 255

<400> 255

000

<210> 256

<400> 256

000

<210> 257

<400> 257

000

<210> 258

<400> 258

000

<210> 259

<400> 259

000

<210> 260

<400> 260

000

<210> 261

<400> 261

000

<210> 262

<400> 262

000

<210> 263

<400> 263

000

<210> 264

<400> 264

000

<210> 265

<400> 265

000

<210> 266

<400> 266

000

<210> 267

<400> 267

000

<210> 268

<400> 268

000

<210> 269

<400> 269

000

<210> 270

<400> 270

000

<210> 271

<400> 271

000

<210> 272

<400> 272

000

<210> 273

<400> 273

000

<210> 274

<400> 274

000

<210> 275

<400> 275

000

<210> 276

<400> 276

000

<210> 277

<400> 277

000

<210> 278

<400> 278

000

<210> 279

<400> 279

000

<210> 280

<400> 280

000

<210> 281

<400> 281

000

<210> 282

<400> 282

000

<210> 283

<400> 283

000

<210> 284

<400> 284

000

<210> 285

<400> 285

000

<210> 286

<400> 286

000

<210> 287

<400> 287

000

<210> 288

<400> 288

000

<210> 289

<400> 289

000

<210> 290

<400> 290

000

<210> 291

<400> 291

000

<210> 292

<400> 292

000

<210> 293

<400> 293

000

<

210> 294

<400> 294

000

<210> 295

<400> 295

000

<210> 296

<400> 296

000

<210> 297

<400> 297

000

<210> 298

<400> 298

000

<210> 299

<400> 299

000

<210> 300

<400> 300

000

<210> 301

<400> 301

000

<210> 302

<400> 302

000

<210> 303

<400> 303

000

<210> 304

<400> 304

000

<210> 305

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Spacer

<400> 305

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Gly

1 5

<

210> 306

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Spacer

<400> 306

Gln Gly Gln Ser Gly

1 5

<210> 307

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Spacer

<400> 307

Gln Gly Gln Ser

1

<210> 308

<400> 308

000

<210> 309

<400> 309

000

<210> 310

<400> 310

000

<210> 311

<400> 311

000

<210> 312

<400> 312

000

<210> 313

<400> 313

000

<210> 314

<211> 263

<212> PRT

<

213> Artificial Sequence

<220><223> Human alpha-CD166 Light Chain

<400> 314

Leu Cys His Pro Ala Val Leu Ser Ala Trp Glu Ser Cys Ser Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ala Val Gly Leu Leu Ala Pro Pro Gly
20 25 30

Gly Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His Gly Gly Ser Asp Ile Val Met
35 40 45

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

50 55 60

Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr
65 70 75 80

Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu
85 90 95

Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
100 105 110

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

115 120 125

Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro

130 135 140

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

260

<210> 315

<211> 789

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human alpha-CD166 Light Chain

<400> 315

ctgtgtcacc ctgctgtgct gtctgcctgg gagtcctgtt ccagcggcgg aggctcctct 60

ggcggctctg ctgtgggcct gctggctcca cctggcggcc tgtccggcag atctgacaac 120

cacggcggct ccgacatcgt gatgacccag tccccctgt ccctgcccgt gactcctggc 180

gagcctgcct ccatctcctg ccggtcctcc aagtccctgc tgcactccaa cggcatcacc 240

tacctgtact ggtatctgca gaagcccggc cagtcccctc agctgctgat ctaccagatg 300

tccaacctgg cctccggcgt gcccgacaga ttctccggct ctggctccgg caccgacttc 360

accctgaaga tctcccgggt ggaagccgag gacgtgggcg tgtactactg cgcccagaac 420

ctggaactgc cctacacctt cggccagggc accaagctgg aaatcaagcg gaccgtggcc 480

gctccctccg tgttcatctt cccaccctcc gacgagcagc tgaagtccgg caccgcctcc 540

gtggtctgcc tgctgaacaa cttctacccc cgcgaggcca aggtgcagtg gaaggtggac 600

aacgccctgc agtccggcaa ctcccaggaa tccgtcaccg agcaggactc caaggacagc 660

acctactccc tgtcctccac cctgaccctg tccaaggccg actacgagaa gcacaaggtg 720

tacgcctgcg aagtgaccca ccagggactg agcagccccg tgaccaagtc cttcaaccgg 780

ggcgagtgc 789

<210> 316

<400> 316

000

<210> 317

<400> 317

000

<210> 318

<400> 318

000

<210> 319

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Spacer

<400> 319

cagggacagt ctggccaggg c 21

<210> 320

<400> 320

000

<210> 321

<400> 321

000

<210> 322

<400> 322

000

<210> 323

<400> 323

000

<210> 324

<400> 324

000

<210> 325

<400> 325

000

<210> 326

<400> 326

000

<210> 327

<400> 327

000

<210> 328

<400> 328

000

<210> 329

<400> 329

000

<210> 330

<400> 330

000

<210> 331

<400> 331

000

<210> 332

<400> 332

000

<210> 333

<400> 333

000

<210> 334

<400> 334

000

<210> 335

<400> 335

000

<210> 336

<

400> 336

000

<210> 337

<400> 337

000

<210> 338

<400> 338

000

<210> 339

<400> 339

000

<210> 340

<400> 340

000

<210> 341

<400> 341

000

<210> 342

<400> 342

000

<210> 343

<400> 343

000

<210> 344

<400> 344

000

<210> 345

<400> 345

000

<210> 346

<400> 346

000

<210> 347

<400> 347

000

<210> 348

<400> 348

000

<210> 349

<400> 349

000

<210> 350

<400> 350

000

<210> 351

<400> 351

000

<210> 352

<400

> 352

000

<210> 353

<400> 353

000

<210> 354

<400> 354

000

<210> 355

<400> 355

000

<210> 356

<400> 356

000

<210> 357

<400> 357

000

<210> 358

<400> 358

000

<210> 359

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Spacer

<400> 359

Gly Gln Ser Gly Gln Gly

1 5

<210> 360

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Spacer

<400> 360

Gln Ser Gly Gln Gly

1 5

<210> 361

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Spacer

<400> 361

Ser Gly Gln Gly

1

<210> 362

<400> 362

000

<210> 363

<400> 363

000

<210> 364

<400> 364

000

<210> 365

<400> 365

000

<210> 366

<400> 366

000

<210> 367

<400> 367

000

<210> 368

<400> 368

000

<210> 369

<400> 369

000

<210> 370

<400> 370

000

<210> 371

<400> 371

000

<210> 372

<400> 372

000

<210> 373

<400> 373

000

<210>

374

<400> 374

000

<210> 375

<400> 375

000

<210> 376

<400> 376

000

<210> 377

<400> 377

000

<210> 378

<400> 378

000

<210> 379

<400> 379

000

<210> 380

<400> 380

000

<210> 381

<400> 381

000

<210> 382

<400> 382

000

<210> 383

<400> 383

000

<210> 384

<400> 384

000

<210> 385

<400> 385

000

<210> 386

<400> 386

000

<210> 387

<400> 387

000

<210> 388

<400> 388

000

<210> 389

<400> 389

000

<210> 390

<400> 390

000

<210> 391

<400> 391

000

<210> 392

<400> 392

000

<210> 393

<400> 393

000

<210> 394

<400> 394

000

<210> 395

<400> 395

000

<210> 396

<400> 396

000

<210> 397

<400> 397

000

<210> 398

<400> 398

000

<210> 399

<400> 399

000

<210> 400

<400> 400

000

<210> 401

<400> 401

000

<210> 402

<400> 402

000

<210> 403

<400> 403

000

<210> 404

<400> 404

000

<210> 405

<400> 405

000

<210> 406

<

400> 406

000

<210> 407

<400> 407

000

<210> 408

<400> 408

000

<210> 409

<400> 409

000

<210> 410

<400> 410

000

<210> 411

<400> 411

000

<210> 412

<400> 412

000

<210> 413

<400> 413

000

<210> 414

<400> 414

000

<210> 415

<400> 415

000

<210> 416

<400> 416

000

<210> 417

<400> 417

000

<210> 418

<400> 418

000

<210> 419

<400> 419

000

<210> 420

<400> 420

000

<210> 421

<400> 421

000

<210> 422

<400

> 422

000

<210> 423

<400> 423

000

<210> 424

<400> 424

000

<210> 425

<400> 425

000

<210> 426

<400> 426

000

<210> 427

<400> 427

000

<210> 428

<400> 428

000

<210> 429

<400> 429

000

<210> 430

<400> 430

000

<210> 431

<400> 431

000

<210> 432

<400> 432

000

<210> 433

<400> 433

000

<210> 434

<400> 434

000

<210> 435

<400> 435

000

<210> 436

<400> 436

000

<210> 437

<400> 437

000

<210> 438

<400>

438

000

<210> 439

<400> 439

000

<210> 440

<400> 440

000

<210> 441

<400> 441

000

<210> 442

<400> 442

000

<210> 443

<400> 443

000

<210> 444

<400> 444

000

<210> 445

<400> 445

000

<210> 446

<400> 446

000

<210> 447

<400> 447

000

<210> 448

<400> 448

000

<210> 449

<400> 449

000

<210> 450

<400> 450

000

<210> 451

<400> 451

000

<210> 452

<400> 452

000

<210> 453

<400> 453

000

<210> 454

<400> 454

000

<210> 455

<400> 455

000

<210> 456

<400> 456

000

<210> 457

<400> 457

000

<210> 458

<400> 458

000

<210> 459

<400> 459

000

<210> 460

<400> 460

000

<210> 461

<400> 461

000

<210> 462

<400> 462

000

<210> 463

<400> 463

000

<210> 464

<400> 464

000

<210> 465

<400> 465

000

<210> 466

<400> 466

000

<210> 467

<400> 467

000

<210> 468

<400> 468

000

<210> 469

<400> 469

000

<210> 470

<400> 470

000

<210> 471

<400> 471

000

<210> 472

<400> 472

000

<210> 473

<400> 473

000

<210> 474

<400> 474

000

<210> 475

<400> 475

000

<210> 476

<400> 476

000

<210> 477

<400> 477

000

<210> 478

<400> 478

000

<210> 479

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linking peptide

<400> 479

Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 480

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human alpha-CD166 Heavy Chain

<400> 480

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

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Cys Val Gln Ile Asp Tyr Gly Asn Asp Tyr Ala Phe Thr Tyr Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

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

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

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

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly

450

<210> 481

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human alpha-CD166 Heavy Chain

<400> 481

cagatcaccc tgaaagagtc cggccccacc ctggtgaaac ccacccagac cctgaccctg 60

acatgcacct tctccggctt cagcctgtcc acctacggca tgggcgtggg ctggatcagg 120

cagcctcctg gcaaggccct ggaatggctg gccaacatct ggtggtccga ggacaagcac 180

tactccccca gcctgaagtc ccggctgacc atcaccaagg acacctccaa gaaccaggtg 240

gtgctgacaa tcacaaacgt ggaccccgtg gacaccgcca cctactactg cgtgcagatc 300

gactacggca acgactacgc cttcacctac tggggccagg gcacactggt gacagtgtcc 360

tccgcctcca ccaagggccc ctccgtgttc cctctggccc cttccagcaa gtccacctct 420

ggcggcacag ctgccctggg ctgcctggtg aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 480

tcctggaact ctggcgccct gaccagcgga gtgcacacct tccctgccgt gctgcagtcc 540

tccggcctgt actccctgtc ctccgtggtg accgtgccct ccagctctct gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc tccaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 660

cccaagtcct gcgacaagac ccacacctgt cccccctgcc ctgcccctga actgctgggc 720

ggaccttccg tgtttctgtt cccccaaaag cctaaggaca ccctgatgat ctcccggacc 780

cccgaagtga cctgcgtggt ggtggacgtg tcccacgagg accctgaagt gaagttcaat 840

tggtacgtgg acggcgtgga agtgcacaac gccaagacca agcccagaga ggaacagtac 900

aactccacct accgggtggt gtctgtgctg accgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960

aaagagtaca agtgcaaggt gtccaacaag gccctgcctg cccccatcga aaagaccatc 1020

tccaaggcca agggccagcc ccgcgagcct caggtgtaca cactgccccc tagccgggaa 1080

gagatgacca agaatcaggt gtccctgacc tgtctggtga aaggcttcta cccctccgat 1140

atcgccgtgg aatgggagtc caacggccag cccgagaaca actacaagac cacccccccc 1200

gtgctggact ccgacggctc attcttcctg tactccaagc tgaccgtgga caagtcccgg 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt ctcctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac 1320

acccagaagt ccctgtccct gagccccggc 1350