



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0102947
(43) 공개일자 2024년07월03일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2023.01) A61P 31/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2809 (2013.01)
A61P 29/00 (2023.02)
- (21) 출원번호 10-2024-7012717
(22) 출원일자(국제) 2022년09월16일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2024년04월17일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/076522
(87) 국제공개번호 WO 2023/044402
국제공개일자 2023년03월23일
- (30) 우선권주장
63/245,499 2021년09월17일 미국(US)
- (71) 출원인
아디맵 엘엘씨
미국 뉴햄프셔 레바논 루센트 드라이브 7 (우편번호: 03766)
- (72) 발명자
배틀스, 마이클, 벤자민
미국 03766 뉴 햄프셔 레바논 아디맵 엘엘씨 내
리우, 캐서린, 유에
미국 03766 뉴 햄프셔 레바논 아디맵 엘엘씨 내
- (74) 대리인
양영준, 이상남

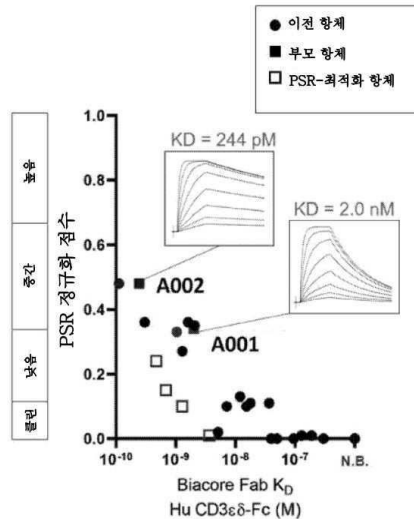
전체 청구항 수 : 총 27 항

(54) 발명의 명칭 항-CD3 항체

(57) 요약

본 개시는 항-CD3 결합 도메인 및 이러한 도메인을 포함하는 항체 및/또는 항원-결합 단편을 포함한다. 또한, 다중특이적 항체 및 항체 단편을 포함한다. 본 개시는 상기 항체 또는 항체 단편을 암호화하는 핵산 및 벡터, 및 상기 핵산을 포함하는 세포를 추가로 포함한다. 상기 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편에 관련된 약학적 조성물, 생체 내 방법, 및 제조 방법이 추가로 포함된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 31/00 (2018.01)

A61P 35/00 (2018.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

A61K 2039/545 (2013.01)

C07K 2317/55 (2013.01)

C07K 2317/56 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

C07K 2317/94 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

항-분화 클러스터 3(CD3) 항체 또는 항원 결합 단편으로서,

- (i) 표 1A 또는 표 1B에 열거된 가변 도메인 서열 중 어느 하나에 함유된 CDR의 아미노산 서열; 및/또는
- (ii) 표 2A 또는 표 2B에 열거된 것들 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는, 항-분화 클러스터 3(CD3) 항체 또는 항원 결합 단편.

청구항 2

항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편으로서:

(A) 중쇄 가변 도메인(VH) 폴리펩티드이되:

(a) VH CDR1(CDRH1)로서:

- (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 CDRH1;
- (ii) 서열번호 210, 310, 410, 510, 610, 710, 810, 910, 1010, 1110, 1210, 1310, 1410, 1510, 1610, 1710, 1810, 1910, 2110, 2210, 2310, 2410, 및 2510 중 어느 하나에 함유된 CDRH1;
- (iii) $FX_1X_2X_3DYMH$ (서열번호 112)(식 중 X_1 은 N 또는 D이고, X_2 은 I 또는 D이고, X_3 은 K 또는 D임); 및/또는
- (iv) 서열번호 212, 312, 412, 512, 612, 712, 812, 912, 1012, 1112, 1212, 1312, 1412, 1512, 1612, 1712, 1812, 1912, 2112, 2212, 2312, 2412, 및 2512 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, VH CDR1(CDRH1);

(b) VH CDR2(CDRH2)로서:

- (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 CDRH2;
- (ii) 서열번호 210, 310, 410, 510, 610, 710, 810, 910, 1010, 1110, 1210, 1310, 1410, 1510, 1610, 1710, 1810, 1910, 2110, 2210, 2310, 2410, 및 2510 중 어느 하나에 함유된 CDRH2;
- (iii) $WIX_4LEX_5X_6X_7TX_8X_9DAKFQX_{10}$ (서열번호 114)(식 중, X_4 은 D 또는 E이고, X_5 은 N 또는 E이고, X_6 은 A, D, 또는 G이고, X_7 은 N, E, 또는 D이고, X_8 은 I 또는 V이고, X_9 은 Y 또는 D이고, X_{10} 은 G 또는 D임); 및/또는
- (iv) 서열번호 214, 314, 414, 514, 614, 714, 814, 914, 1014, 1114, 1214, 1314, 1414, 1514, 1614, 1714, 1814, 1914, 2114, 2214, 2314, 2414, 및 2514 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, VH CDR2(CDRH2); 및/또는

(b) VH CDR3(CDRH3)으로서:

- (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 CDRH3;
- (ii) 서열번호 210, 310, 410, 510, 610, 710, 810, 910, 1010, 1110, 1210, 1310, 1410, 1510, 1610, 1710, 1810, 1910, 2110, 2210, 2310, 2410, 및 2510 중 어느 하나에 함유된 CDRH3;
- (iii) $X_{11}RDX_{12}YGRYFYDX_{13}$ (서열번호 116)(식 중, X_{11} 은 A 또는 G이고, X_{12} 은 A 또는 Q이고, X_{13} 은 V 또는 E임); 및/또는
- (iv) 서열번호 216, 316, 416, 516, 616, 716, 816, 916, 1016, 1116, 1216, 1316, 1416, 1516, 1616, 1716, 1816, 1916, 2116, 2216, 2316, 2416, 및 2516 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, VH CDR3(CDRH3)을 포함하는, 중쇄 가변 도메인(VH) 폴리펩티드; 및/또는

(B) 경쇄 가변 도메인(VL) 폴리펩티드이되:

(a) VL CDR1(CDRL1)로서:

- (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 CDRL1;
- (ii) 서열번호 220, 320, 420, 520, 620, 720, 820, 920, 1020, 1120, 1220, 1320, 1420, 1520, 1620, 1720, 1820, 1920, 2120, 2220, 2320, 2420, 및 2520 중 어느 하나에 함유된 CDRL1; 및/또는
- (iii) 서열번호 122, 222, 322, 422, 522, 622, 722, 822, 922, 1022, 1122, 1222, 1322, 1422, 1522, 1622, 1722, 1822, 1922, 2122, 2222, 2322, 2422, 및 2522 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, VL CDR1(CDRL1);

(b) VL CDR2(CDRL2)로서:

- (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 CDRL2;
- (ii) 서열번호 220, 320, 420, 520, 620, 720, 820, 920, 1020, 1120, 1220, 1320, 1420, 1520, 1620, 1720, 1820, 1920, 2120, 2220, 2320, 2420, 및 2520 중 어느 하나에 함유된 CDRL2;
- (iii) WASTRX₁₄S(서열번호 124)(식 중, X₁₄는 E 또는 S임); 및/또는
- (iv) 서열번호 224, 324, 424, 524, 624, 724, 824, 924, 1024, 1124, 1224, 1324, 1424, 1524, 1624, 1724, 1824, 1924, 2124, 2224, 2324, 2424, 및 2524 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, VL CDR2(CDRL2); 및/또는

(c) VL CDR3(CDRL3)으로서:

- (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 CDRL3;
- (ii) 서열번호 220, 320, 420, 520, 620, 720, 820, 920, 1020, 1120, 1220, 1320, 1420, 1520, 1620, 1720, 1820, 1920, 2120, 2220, 2320, 2420, 및 2520 중 어느 하나에 함유된 CDRL3;
- (iii) X₁₅QSYX₁₆X₁₇RT(서열번호 126)(식 중, X₁₅는 K 또는 V이고, X₁₆은 S 또는 F이고, X₁₇은 R 또는 L임); 및/또는
- (iv) 서열번호 226, 326, 426, 526, 626, 726, 826, 926, 1026, 1126, 1226, 1326, 1426, 1526, 1626, 1726, 1826, 1926, 2126, 2226, 2326, 2426, 및 2526 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, VL CDR3(CDRL3), 또는 상기 CDR 중 하나 이상의 조합을 포함하는 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편을 포함하되, 선택적으로, 상기 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은:

(I):

- (i) A001에 함유된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3 중 적어도 하나; 또는
- (ii) 서열번호 2112, 2114, 2116, 2122, 2124, 및 2126 중 적어도 하나를 포함하지 않고, 추가 선택적으로:

- (i) A001에 함유된 CDRH1 및 CDRH2 중 적어도 하나; 또는
- (ii) 서열번호 2112 및 2114 중 적어도 하나를 포함하지 않고;

(II):

- (i) A002에 함유된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3 중 적어도 하나; 또는
- (ii) 서열번호 2212, 2214, 2216, 2222, 2224, 및 2226 중 적어도 하나를 포함하지 않고, 추가 선택적으로:

- (i) A002에 함유된 CDRH1 및 CDRH2 중 적어도 하나; 또는
- (ii) 서열번호 2212 및 2214 중 적어도 하나를 포함하지 않고;

(III):

- (i) A003에 함유된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3 중 적어도 하나; 또는

(ii) 서열번호 2312, 2314, 2316, 2322, 2324, 및 2326 중 적어도 하나를 포함하지 않고,
추가 선택적으로:

- (i) A003에 함유된 CDRH1 및 CDRH2 중 적어도 하나; 또는
 - (ii) 서열번호 2312 및 2314 중 적어도 하나를 포함하지 않고;
- (IV):

- (i) A004에 함유된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3 중 적어도 하나; 또는
 - (ii) 서열번호 2412, 2414, 2416, 2422, 2424, 및 2426 중 적어도 하나를 포함하지 않고,
- 추가 선택적으로:

- (i) A004에 함유된 CDRH1 및 CDRH2 중 적어도 하나; 또는
 - (ii) 서열번호 2412 및 2414 중 적어도 하나를 포함하지 않고;
- (V):

- (i) A005에 함유된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3 중 적어도 하나; 또는
 - (ii) 서열번호 2512, 2514, 2516, 2522, 2524, 및 2526 중 적어도 하나를 포함하지 않고,
- 추가 선택적으로:

- (i) A005에 함유된 CDRH1 및 CDRH2 중 적어도 하나; 또는
- (ii) 서열번호 2512 및 2514 중 적어도 하나를 포함하지 않는, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편.

청구항 3

제2항에 있어서:

- (A) 상기 CDRH1, 상기 CDRH2, 및 상기 CDRH3을 포함하는 VH 폴리펩티드; 및/또는
- (B) 상기 CDRL1, 상기 CDRL2, 및 상기 CDRL3을 포함하는 VL 폴리펩티드를 포함하는, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편.

청구항 4

제2항에 있어서:

- (A) 상기 CDRH1, 상기 CDRH2, 및 상기 CDRH3을 포함하는 VH 폴리펩티드; 및
- (B) 상기 CDRL1, 상기 CDRL2, 및 상기 CDRL3을 포함하는 VL 폴리펩티드를 포함하는, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편.

청구항 5

제2항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서:

- (I) (i) 항체 번호 V002에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는
- (ii) 서열번호 212를 포함하는 CDRH1, 서열번호 214를 포함하는 CDRH2, 서열번호 216을 포함하는 CDRH3, 서열번호 222를 포함하는 CDRL1, 서열번호 224를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 226을 포함하는 CDRL3;
- (II) (i) 항체 번호 V003에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는
- (ii) 서열번호 312를 포함하는 CDRH1, 서열번호 314를 포함하는 CDRH2, 서열번호 316을 포함하는 CDRH3, 서열번호 322를 포함하는 CDRL1, 서열번호 324를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 326을 포함하는 CDRL3;
- (III) (i) 항체 번호 V004에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는
- (ii) 서열번호 412를 포함하는 CDRH1, 서열번호 414를 포함하는 CDRH2, 서열번호 416을 포함하는 CDRH3, 서열번호

- (XVII) (i) 항체 번호 V018에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는
- (ii) 서열번호 1812를 포함하는 CDRH1, 서열번호 1814를 포함하는 CDRH2, 서열번호 1816을 포함하는 CDRH3, 서열번호 1822를 포함하는 CDRL1, 서열번호 1824를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 1826을 포함하는 CDRL3; 또는
- (XVIII) (i) 항체 번호 V019에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는
- (ii) 서열번호 1912를 포함하는 CDRH1, 서열번호 1914를 포함하는 CDRH2, 서열번호 1916을 포함하는 CDRH3, 서열번호 1922를 포함하는 CDRL1, 서열번호 1924를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 1926을 포함하는 CDRL3을 포함하는, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편.

청구항 6

제2항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서:

(A) VH 폴리펩티드는:

(a) VH 프레임워크 영역 1(FRH1)로서:

(i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 FRH1;

(ii) 서열번호 210, 310, 410, 510, 610, 710, 810, 910, 1010, 1110, 1210, 1310, 1410, 1510, 1610, 1710, 1810, 1910, 2110, 2210, 2310, 2410, 및 2510 중 어느 하나에 함유된 FRH1; 및/또는

(iii) 서열번호 111, 211, 311, 411, 511, 611, 711, 811, 911, 1011, 1111, 1211, 1311, 1411, 1511, 1611, 1711, 1811, 1911, 2111, 2211, 2311, 2411, 및 2511 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, VH 프레임워크 영역 1(FRH1);

(b) VH 프레임워크 영역 2(FRH2)로서:

(i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 FRH2;

(ii) 서열번호 210, 310, 410, 510, 610, 710, 810, 910, 1010, 1110, 1210, 1310, 1410, 1510, 1610, 1710, 1810, 1910, 2110, 2210, 2310, 2410, 및 2510 중 어느 하나에 함유된 FRH2;

(iii) WVRQAPGQRLEWX₁₈G(서열번호 113)(식 중, X₁₈은 M 또는 I임); 및/또는

(iv) 서열번호 213, 313, 413, 513, 613, 713, 813, 913, 1013, 1113, 1213, 1313, 1413, 1513, 1613, 1713, 1813, 1913, 2113, 2213, 2313, 2413, 및 2513 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는. VH 프레임워크 영역 2(FRH2);

(c) VH 프레임워크 영역 3(FRH3)으로서:

(i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 FRH3;

(ii) 서열번호 210, 310, 410, 510, 610, 710, 810, 910, 1010, 1110, 1210, 1310, 1410, 1510, 1610, 1710, 1810, 1910, 2110, 2210, 2310, 2410, 및 2510 중 어느 하나에 함유된 FRH3; 및/또는

(iii) 서열번호 115, 215, 315, 415, 515, 615, 715, 815, 915, 1015, 1115, 1215, 1315, 1415, 1515, 1615, 1715, 1815, 1915, 2115, 2215, 2315, 2415, 및 2515 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는. VH 프레임워크 영역 3(FRH3); 및/또는

(d) VH 프레임워크 영역 4(FRH4)로서:

(i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 FRH4;

(ii) 서열번호 210, 310, 410, 510, 610, 710, 810, 910, 1010, 1110, 1210, 1310, 1410, 1510, 1610, 1710, 1810, 1910, 2110, 2210, 2310, 2410, 및 2510 중 어느 하나에 함유된 FRH4; 및/또는

(iii) 서열번호 117, 217, 317, 417, 517, 617, 717, 817, 917, 1017, 1117, 1217, 1317, 1417, 1517, 1617, 1717, 1817, 1917, 2117, 2217, 2317, 2417, 및 2517 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는. VH 프레임워크 영역 4(FRH4)를 포함하고/하거나;

(B) VL 폴리펩티드는:

(a) VL 프레임워크 영역 1(FRL1)로서:

(i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 FRL1;

(ii) 서열번호 220, 320, 420, 520, 620, 720, 820, 920, 1020, 1120, 1220, 1320, 1420, 1520, 1620, 1720, 1820, 1920, 2120, 2220, 2320, 2420, 및 2520 중 어느 하나에 함유된 FRL1;

(iii) DIVMX₁₉QSPDSLAVSLGERATINC(서열번호 121)(식 중, X₁₉는 T 또는 S임); 및/또는

(iv) 서열번호 221, 321, 421, 521, 621, 721, 821, 921, 1021, 1121, 1221, 1321, 1421, 1521, 1621, 1721, 1821, 1921, 2121, 2221, 2321, 2421, 및 2521 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는. VL 프레임워크 영역 1(FRL1);

(b) VL 프레임워크 영역 2(FRL2)로서:

(i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 FRL2;

(ii) 서열번호 220, 320, 420, 520, 620, 720, 820, 920, 1020, 1120, 1220, 1320, 1420, 1520, 1620, 1720, 1820, 1920, 2120, 2220, 2320, 2420, 및 2520 중 어느 하나에 함유된 FRL2; 및/또는

(iii) 서열번호 NOS: 123, 223, 323, 423, 523, 623, 723, 823, 923, 1023, 1123, 1223, 1323, 1423, 1523, 1623, 1723, 1823, 1923, 2123, 2223, 2323, 2423, 및 2523 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는. VL 프레임워크 영역 2(FRL2);

(c) VL 프레임워크 영역 3(FRL3)으로서:

(i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 FRL3;

(ii) 서열번호 220, 320, 420, 520, 620, 720, 820, 920, 1020, 1120, 1220, 1320, 1420, 1520, 1620, 1720, 1820, 1920, 2120, 2220, 2320, 2420, 및 2520 중 어느 하나에 함유된 FRL3; 및/또는

(iii) 서열번호 125, 225, 325, 425, 525, 625, 725, 825, 925, 1025, 1125, 1225, 1325, 1425, 1525, 1625, 1725, 1825, 1925, 2125, 2225, 2325, 2425, 및 2525 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는. VL 프레임워크 영역 3(FRL3); 및/또는

(d) VL 프레임워크 영역 4(FRL4)로서:

(i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 FRL4;

(ii) 서열번호 220, 320, 420, 520, 620, 720, 820, 920, 1020, 1120, 1220, 1320, 1420, 1520, 1620, 1720, 1820, 1920, 2120, 2220, 2320, 2420, 및 2520 중 어느 하나에 함유된 FRL4; 및/또는

(iii) 서열번호 127, 227, 327, 427, 527, 627, 727, 827, 927, 1027, 1127, 1227, 1327, 1427, 1527, 1627, 1727, 1827, 1927, 2127, 2227, 2327, 2427, 및 2527 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, VL 프레임워크 영역 4(FRL4)을 포함하거나,

항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 VH 및 VL 프레임워크 영역의 임의의 조합을 포함하는 VH 및/또는 VL을 포함하는, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편.

청구항 7

제2항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서:

(I) (i) 항체 번호 A001, V002-V007, A003-A005, 및 V014-V019 중 어느 하나에 함유된 FRH1, FRH2, FRH3, FLRH4, FRL1, FRL2, FRL3, 및 FRL4; 및/또는

(ii) 서열번호 111, 211, 311, 411, 511, 611, 711, 1411, 1511, 1611, 1711, 1811, 1911, 2111, 2311, 2411, 및 2511 중 어느 하나를 포함하는 FR-H1, 서열번호 213, 313, 413, 513, 613, 713, 1413, 1513, 1613, 1713, 1813, 1913, 2113, 2313, 2413, 및 2513 중 어느 하나를 포함하는 FR-H2, 서열번호 115, 215, 315, 415, 515, 615, 715, 1415, 1515, 1615, 1715, 1815, 1915, 2115, 2315, 2415, 및 2515 중 어느 하나를 포함하는 FR-H3, 서열번호 117, 217, 317, 417, 517, 617, 717, 1417, 1517, 1617, 1717, 1817, 1917, 2117, 2317, 2417, 및 2517 중 어느 하나를 포함하는 FR-H4, 서열번호 221, 321, 421, 521, 621, 721, 1421, 1521, 1621, 1721,

1821, 1921, 2121, 2321, 2421, 및 2521 중 어느 하나를 포함하는 FR-L1, 서열번호 123, 223, 323, 423, 523, 623, 723, 1423, 1523, 1623, 1723, 1823, 1923, 2123, 2323, 2423, 및 2523 중 어느 하나를 포함하는 FR-L2, 서열번호 125, 225, 325, 425, 525, 625, 725, 1425, 1525, 1625, 1725, 1825, 1925, 2125, 2325, 2425, 및 2525 중 어느 하나를 포함하는 FR-L3, 서열번호 127, 227, 327, 427, 527, 627, 727, 1427, 1527, 1627, 1727, 1827, 1927, 2127, 2327, 2427, 및 2527 중 어느 하나를 포함하는 FR-L4를 포함하거나;

(II) (i) 항체 번호 A002, 및 V008-V013 중 어느 하나에 함유된 FRH1, FRH2, FRH3, FLRH4, FRL1, FRL2, FRL3, 및 FRL4; 및/또는

(ii) 서열번호 111, 811, 911, 1011, 1111, 1211, 1311, 및 2211 중 어느 하나를 포함하는 FR-H1, 서열번호 813, 913, 1013, 1113, 1213, 1313, 및 2213 중 어느 하나를 포함하는 FR-H2, 서열번호 115, 815, 915, 1015, 1115, 1215, 1315, 및 2215 중 어느 하나를 포함하는 FR-H3, 서열번호 117, 817, 917, 1017, 1117, 1217, 1317, 및 2217 중 어느 하나를 포함하는 FR-H4, 서열번호 821, 921, 1021, 1121, 1221, 1321, 및 2221 중 어느 하나를 포함하는 FR-L1, 서열번호 123, 823, 923, 1023, 1123, 1223, 1323, 및 2223 중 어느 하나를 포함하는 FR-L2, 서열번호 125, 825, 925, 1025, 1125, 1225, 1325, 및 2225 중 어느 하나를 포함하는 FR-L3, 서열번호 127, 827, 927, 1027, 1127, 1227, 1327, 및 2227 중 어느 하나를 포함하는 FR-L4를 포함하는, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편.

청구항 8

제2항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서:

(I) (i) 항체 번호 V002에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는

(ii) 서열번호 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 및 227을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4;

(II) (i) 항체 번호 V003에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는

(ii) 서열번호 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 및 327을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4;

(III) (i) 항체 번호 V004에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는

(ii) 서열번호 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 및 427을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4;

(IV) (i) 항체 번호 V005에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는

(ii) 서열번호 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 및 527을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4;

(V) (i) 항체 번호 V006에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는

(ii) 서열번호 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 621, 622, 623, 624, 625, 626, 및 627을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4;

(VI) (i) 항체 번호 V007에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는

(ii) 서열번호 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 및 727을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4;

(VII) (i) 항체 번호 V008에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는

(ii) 서열번호 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 및 827을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4;

(VIII) (i) 항체 번호 V009에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는

(ii) 서열번호 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 및 927을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4;

(IX) (i) 항체 번호 V010에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는

(ii) 서열번호 1011, 1012, 1013, 1014, 1015, 1016, 1017, 1021, 1022, 1023, 1024, 1025, 1026, 및 1027을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4;

(X) (i) 항체 번호 V011에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는

(ii) 서열번호 1111, 1112, 1113, 1114, 1115, 1116, 1117, 1121, 1122, 1123, 1124, 1125, 1126, 및 1127을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4;

(XI) (i) 항체 번호 V012에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는

(ii) 서열번호 1211, 1212, 1213, 1214, 1215, 1216, 1217, 1221, 1222, 1223, 1224, 1225, 1226, 및 1227을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4;

(XII) (i) 항체 번호 V013에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는

(ii) 서열번호 1311, 1312, 1313, 1314, 1315, 1316, 1317, 1321, 1322, 1323, 1324, 1325, 1326, 및 1327을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4;

(XIII) (i) 항체 번호 V014에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는

(ii) 서열번호 1411, 1412, 1413, 1414, 1415, 1416, 1417, 1421, 1422, 1423, 1424, 1425, 1426, 및 1427을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4;

(XIV) (i) 항체 번호 V015에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는

(ii) 서열번호 1511, 1512, 1513, 1514, 1515, 1516, 1517, 1521, 1522, 1523, 1524, 1525, 1526, 및 1527을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4;

(XV) (i) 항체 번호 V016에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는

(ii) 서열번호 1611, 1612, 1613, 1614, 1615, 1616, 1617, 1621, 1622, 1623, 1624, 1625, 1626, 및 1627을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4;

(XVI) (i) 항체 번호 V017에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는

(ii) 서열번호 1711, 1712, 1713, 1714, 1715, 1716, 1717, 1721, 1722, 1723, 1724, 1725, 1726, 및 1727을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4;

(XVII) (i) 항체 번호 V018에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는

(ii) 서열번호 1811, 1812, 1813, 1814, 1815, 1816, 1817, 1821, 1822, 1823, 1824, 1825, 1826, 및 1827을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는

(XVIII) (i) 항체 번호 V019에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는

(ii) 서열번호 1911, 1912, 1913, 1914, 1915, 1916, 1917, 1921, 1922, 1923, 1924, 1925, 1926, 및 1927을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4를 포함하는, 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편.

청구항 9

제5항에 있어서:

(I)에서, (A) VH 폴리펩티드는 서열번호 210과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하고/하거나;

(B) VL 폴리펩티드는 서열번호 220과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(II)에서, (A) VH 폴리펩티드는 서열번호 310과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하고/하거나;

(B) VL 폴리펩티드는 서열번호 320과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(III)에서, (A) VH 폴리펩티드는 서열번호 410과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하고/하거나;

(B) VL 폴리펩티드는 서열번호 420과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(IV)에서, (A) VH 폴리펩티드는 서열번호 510과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하고/하거나;

(B) VL 폴리펩티드는 서열번호 520과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(V)에서, (A) VH 폴리펩티드는 서열번호 610과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하고/하거나;

(B) VL 폴리펩티드는 서열번호 620과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(VI)에서, (A) VH 폴리펩티드는 서열번호 710과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하고/하거나;

94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하고/하거나;

(B) VL 폴리펩티드는 서열번호 1620과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(XVI)에서, (A) VH 폴리펩티드는 서열번호 1710과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하고/하거나;

(B) VL 폴리펩티드는 서열번호 1720과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(XVII)에서, (A) VH 폴리펩티드는 서열번호 1810과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하고/하거나;

(B) VL 폴리펩티드는 서열번호 1820과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(XVIII)에서, (A) VH 폴리펩티드는 서열번호 1910과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하고/하거나;

(B) VL 폴리펩티드는 서열번호 1920과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편.

청구항 10

제2항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, VH 폴리펩티드 및 VL 폴리펩티드는:

(I) 각각, 서열번호 210 및 220;

(II) 각각, 서열번호 310 및 320;

(III) 각각, 서열번호 410 및 420;

(IV) 각각, 서열번호 510 및 520;

(V) 각각, 서열번호 610 및 620;

(VI) 각각, 서열번호 710 및 720;

(VII) 각각, 서열번호 810 및 820;

(VIII) 각각, 서열번호 910 및 920;

(IX) 각각, 서열번호 1010 및 1020;

(X) 각각, 서열번호 1110 및 1120;

(XI) 각각, 서열번호 1210 및 1220;

(XII) 각각, 서열번호 1310 및 1320;

(XIII) 각각, 서열번호 1410 및 1420;

(XIV) 각각, 서열번호 1510 및 1520;

(XV) 각각, 서열번호 1610 및 1620;

(XVI) 각각, 서열번호 1710 및 1720;

(XVII) 각각, 서열번호 1810 및 1820; 또는

(XVIII) 각각, 서열번호 1910 및 1920의 아미노산 서열을 포함하는, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편.

청구항 11

제2항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서:

(i) 선택적으로, 개별적으로 IgG 또는 인간 IgG이거나 이로부터 유래되고, 이에 더하여, 선택적으로, 인간 IgG1, IgG4, IgG2, 또는 IgG3이거나 이로부터 유래되는, 항체 불변 영역, CH1 도메인, 힌지, CH2 도메인, 및/또는 CH3 도메인 중 하나 이상;

(ii) 결정화 단편(Fc) 영역으로서, 선택적으로:

(1) EU 넘버링에 따른, N297A, N297Q, D265A, L234A, L235A, C226S, C229S, P238S, E233P, L234V, G236-deleted, P238A, A327Q, A327G, P329A, K322A, L234F, L235E, P331S, T394D, A330L, P331S, F243L, R292P, Y300L, V305I, P396L, S239D, I332E, S298A, E333A, K334A, L234Y, L235Q, G236W, S239M, H268D, D270E, K326D, A330M, K334E, G236A, K326W, S239D, E333S, S267E, H268F, S324T, E345R, E430G, S440Y M428L, N434S, L328F, M252Y, S254T, T256E, 또는 이들의 임의의 조합 중 하나 이상의 아미노산 변형을 추가 선택적으로 포함하는, 인간 IgG1;

(2) EU 넘버링에 따른, E233P, F234V, L235A, G237A, E318A, S228P, L236E, S241P, L248E, T394D, M252Y, S254T, T256E, N297A, N297Q, 또는 이들의 임의의 조합 중 하나 이상의 아미노산 변형을 추가 선택적으로 포함하는, 인간 IgG4;

(3) EU 넘버링에 따른, P238S, V234A, G237A, H268A, H268Q, H268E, V309L, N297A, N297Q, A330S, P331S, C232S, C233S, M252Y, S254T, T256E, 또는 이들의 임의의 조합 중 하나 이상의 아미노산 변형을 추가 선택적으로 포함하는, 인간 IgG2; 및/또는

(4) EU 넘버링에 따른, E235Y를 추가 선택적으로 포함하는, 인간 IgG3이거나 이로부터 유래되는, 결정화 단편(Fc) 영역;

(iii) an IgG, IgA, IgE, IgD, or IgM, 선택적으로 IgG1, IgG4, IgG2, 또는 IgG3; 및/또는

(iv) 항체 단편으로서: 단편, 항원 결합(Fab) 영역; Fab₂; Fab₃; Fab' 단편; F(ab')₂; 가변 단편(Fv); 단쇄 Fv(scFv) 단편; 디아바디; 트리아바디; 미니바디; scFv-Fc; scFv2-Fc2; scFv-IgG; 1가 IgG(또는 절반 IgG); 및/또는 상기 VH 폴리펩티드 및/또는 상기 VL 폴리펩티드를 포함하는 항원 결합 영역, 막관통 도메인, 및 적어도 하나의 세포내 신호 전달 도메인(선택적으로 T 세포 수용체로부터 유도됨, 추가 선택적으로, CD3 ζ)을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)로 이루어진 군으로부터 선택되는, 항체 단편 중 하나 이상을 포함하는, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편.

청구항 12

제2항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서:

(i) 인간 CD3;

(ii) 비인간 영장류 CD3, 선택적으로 원숭이, 추가 선택적으로 시노몰구스 원숭이 및/또는 붉은털 원숭이 CD3; 및/또는

(iii) 설치류 CD3, 선택적으로 마우스 CD3에 결합하되,

선택적으로, CD3은 CD3 ε δ 인, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편.

청구항 13

제2항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 다중특이적 항체 또는 항원 결합 단편을 포함하거나 이에 포함되며, 상기 다중특이적 항체 또는 항원 결합 단편은, 적어도 (a) 상기 VH 폴리펩티드 및/또는 상기 VL 폴리펩티드를 포함하는 CD3에 특이적인 제1 항원 결합 영역, 및 (b) 제2 항원 결합 영역으로서, 선택적으로:

(i) 상기 제2 항원 결합 영역은: 종양학 표적; 암 세포 상에서 발현되는 표적 분자; 면역-종양 표적; 면역 세포 상에서 발현되는 표적 분자; 신경퇴행성 질환 표적; 자가면역 장애 표적(선택적으로 자가 반응성 면역 분자 또는 자가 반응성 면역 분자를 발현하는 면역 세포 상에서 발현되는 표적 분자); 염증성 질환 표적(선택적으로 염

증성 사이토카인 또는 케모카인 또는 이의 수용체); 감염성 질환 표적(선택적으로 바이러스, 박테리아, 또는 진균의 표적 분자); 감염된 세포(선택적으로 바이러스, 박테리아 또는 진균으로 감염됨) 상에서 발현되는 표적 분자; 대사 질환 표적; 인지 장애 표적; 혈액-뇌 장벽 표적; 또는 혈액 질환 표적에 특이적이고/이거나;

(ii) 상기 제2 항원 결합 영역은: 17-1A, 4-1BB, 4Dc, 6- 케토-PGF1a, 8-이소-PGF2a, 8-옥소-dG, A1 아데노신 수용체, A33, ACE, ACE-2, 액티빈, 액티빈 A, 액티빈 AB, 액티빈 B, 액티빈 C, 액티빈 RIA, 액티빈 RIA ALK-2, 액티빈 RIB ALK-4, 액티빈 RIIA, 액티빈 RUB, ADAM, ADAM10, ADAM12, ADAM 15, ADAM 17/T ACE, ADAM8, ADAM9, ADAMTS, ADAMTS4, ADAMTS5, 어드레신(Addressin), aFGF, ALCAM, ALK, ALK-1, ALK-7, 알파-1-항트립신, 알파-V/베타-1 길항제, ANG, Ang, APAF-1, APE, APJ, APP, APRIL, AR, ARC, ART, 아르테민, 항-Id, ASPARTIC, 심방 나트륨 이노 인자, av/b3 인테그린, Ax1, b2M, B7-1, B7-2, B7-H, B-림프구 자극제(BlyS), BACE, BACE-1, Bad, BAFF, BAFF-R, Bag-1, BAK, Bax, BCA-1, BCAM, Bel, BCMA, BDNF, b-ECGF, bFGF, BID, Bik, BFM, BLC, BL-CAM, BLK, BMP, BMP-2 BMP-2a, BMP-3 오스테오게닌(Osteogenin), BMP-4 BMP-2b, BMP-5, BMP-6 Vgr-1, BMP-7 (OP-1), BMP-8(BMP-8a, OP-2), BMPR, BMPR-IA(ALK-3), BMPR-IB(ALK-6), BRK-2, RPK-1, BMPR-II(BRK-3), BMPs, b-NGF, BOK, 본베신(Bombesin), 뼈-유래 신경영양인자, BPDE, BPDE-DNA, BTC, 상보적 인자 3(C3), C3a, C4, C5, C5a, C10, CA125, CAD-8, 칼시토닌(Calcitonin), cAMP, 암배아 항원(CEA), 암종-연관 항원, 카텝신 A, 카텝신 B, 카텝신 C/DPPI, 카텝신 D, 카텝신 E, 카텝신 H, 카텝신 L, 카텝신 O, 카텝신 S, 카텝신 V, 카텝신 X/Z/P, CBL, CCI, CCK2, CCL, CCL1, CCL11, CCL12, CCL13, CCL 14, CCL15, CCL16, CCL1 7, CCL18, CCL19, CCL2, CCL20, CCL21, CCL22, CCL23, CCL24, CCL25, CCL26, CCL27, CCL28, CCL3, CCL4, CCL5, CCL6, CCL7, CCL8, CCL9/10, CCR, CCR1, CCR10, CCR10, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CD1, CD2, CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD10, CD11a, CD11b, CD11c, CD13, CD14, CD15, CD16, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD25, CD27L, CD28, CD29, CD30, CD30L, CD32, CD33 (p67 단백질), CD34, CD38, CD40, CD40L, CD44, CD45, CD46, CD49a, CD52, CD54, CD55, CD56, CD61, CD64, CD66e, CD74, CD80 (B7-1), CD89, CD95, CD123, CD137, CD138, CD140a, CD146, CD147, CD148, CD152, CD164, CEACAM5, CFTR, cGMP, CINC, 클로스트리디움 보툴리눔(Clostridium botulinum) 독소, 클로스트리디움 퍼프린젠스(Clostridium perfringens) 독소, CKb8-1, CLC, CMV, CMV UL, CNTF, CNTN-1, COX, C-Ret, CRG-2, CT-1, CTACK, CTGF, CTLA-4, CX3CL1, CX3CR1, CXCL, CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL4, CXCL5, CXCL6, CXCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CXCL14, CXCL15, CXCL16, CXCR, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, CXCR6, 사이토케라틴 종양-연관 항원, DAN, DCC, DcR3, DC-SIGN, 쇠약 가속 인자, des(1-3)-IGF-I(및 IGF-1), Dhh, 디곡신, DNAM-1, Dnase, Dpp, DPPIV/CD26, Dtk, ECAD, EDA, EDA-A1, EDA-A2, EDAR, EGF, EGFR (ErbB-1), EMA, EMMPRIN, EN A, 엔도텔린 수용체, 엔케팔리나아제, eNOS, Eot, 에오타신, EpCAM, 에프린 B2/ EphB4, EPO, ERCC, E-셀렉틴, ET-1, 인자 IIa, 인자 VII, 인자 VIIIC, 인자 IX, 섬유아세포 활성화 단백질(FAP), Fas, FcR1, FEN-1, 펠리틴(Ferritin), FGF, FGF-19, FGF-2, FGF3, FGF-8, FGFR, FGFR-3, 피브린(Fibrin), FL, FLIP, Flt-3, Flt-4, 난포 자극 호르몬, 프락탈킨(Fractalkine), FZD1, FZD2, FZD3, FZD4, FZD5, FZD6, FZD7, FZD8, FZD9, FZD10, G250, Gas 6, GCP-2, GCSF, GD2, GD3, GDF, GDF-1, GDF-3(Vgr-2), GDF-5(BMP-14, CDMP- 1), GDF-6(BMP-13, CDMP-2), GDF-7(BMP-12, CDMP-3), GDF-8(미오스타틴(Myostatin)), GDF-9, GDF- 15(MIC-1), GDNF, GFAP, GFRa-1, GFR-알파1, GFR-알파2, GFR-알파3, GTR, 글루카곤(Glucagon), Glut 4, 당단백질 IIb/IIIa(GP IIb/IIIa), GM-CSF, gp130, gp72, GRO, 성장 호르몬 방출 인자, 합텐(Hapten)(NP-cap 또는 NIP-cap), HB-EGF, HCC, HCMV gB 포장 당단백질, HCMV) gH 포장 당단백질, HCMV UL, 조혈 성장 인자(HGF), Hep B gp120, 헤파라나제, Her2, Her2/neu(ErbB-2), Her3(ErbB-3), Her4(ErbB-4), 단순 포진 바이러스(HSV) gB 당단백질, HSV gD 당단백질, HGFA, 고분자량 흑색종 연관 항원(HMW-MAA), HIV gp120, HIV IIIB gp 120 V3 루프, HLA, HLA-DR, HM1.24, HMFG PEM, HRG, Hrk, 인간 심장 미오신, 인간 거대세포바이러스(HCMV), 인간 성장 호르몬(HGH), HVEM, 1-309, IAP, ICAM, ICAM-1, ICAM-3, ICE, ICOS, IFNg, Ig, IgA 수용체, IgE, IGF, IGF 결합 단백질, IGF-1R, IGFBP, IGF-I, IGF-II, IL, IL-1, IL-1R, IL-2, IL-2R, IL-4, IL-4R, IL-5, IL-5R, IL-6, IL-6R, IL-8, IL- 9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-18, IL-18R, IL-23, 인터페론(INF)-알파, INF-베타, INF-감마, 인히빈, iNOS, 인슐린 A-사슬, 인슐린 B-사슬, 인슐린-유사 성장 인자 1, 인테그린 알파2, 인테그린 알파3, 인테그린 알파4, 인테그린 알파4/베타1, 인테그린 알파4/베타7, 인테그린 알파5(알파V), 인테그린 알파5/베타1, 인테그린 알파5/베타3, 인테그린 알파6, 인테그린 베타1, 인테그린 베타2, 인테그린 감마, IP- 10, 1-TAC, JE, 칼리크레인(Kallikrein) 2, 칼리크레인 5, 칼리크레인 6, , 칼리크레인 11, 칼리크레인 12, 칼리크레인 14, 칼리크레인 15, 칼리크레인 LI, 칼리크레인 L2, 칼리크레인 L3, 칼리크레인 L4, KC, KDR, 각질세포 성장 인자(KGF), 라미닌 5, LAMP, LAP, LAP (TGF-1), 잠재 TGF-1, 잠재 TGF-1 bpl, LBP, LDGF, LECT2, 레프티(Lefty), 루이스-Y 항원, 루이스-Y 관련 항원, LFA-1, LFA-3, Lfo, LIF, LIGHT, 지질단백질, LIX, LKN, Lptn, L-셀렉틴, LT-a, LT-b, LTB4, LTBP-1, 페 계면활성제,

항체형성 호르몬, 림프톡신 베타 수용체, Mac-1, MAdCAM, MAG, MAP2, MARC, MCAM, MCK-2, MCP, M-CSF, MDC, Mer, 메탈로프로테아제, MGDF 수용체, MGMT, MHC (HLA-DR), MIF, MIG, MIP, MIP-1-알파, MK, MMAC1, MMP, MMP-1, MMP-10, MMP-11, MMP-12, MMP-13, MMP-14, MMP-15, MMP-2, MMP-24, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MPIF, Mpo, MSK, MSP, 뮤신(Muc1), MUC18, 물러리안(Muellerian)-억제 물질, Mug, MuSK, NAIP, NAP, NCAD, N-카드헤린, NCA 90, NCAM, NCAM, 네프릴리신, 뉴로트로핀-3,-4, 또는 -6, 뉴르틴, 신경 성장 인자(NGF), NGFR, NGF-베타, nNOS, NO, NOS, Npn, NRG-3, NT, NTN, OB, OGG1, OPG, OPN, OSM, OX40L, OX40R, p150, p95, PADPr, 부갑상선 호르몬, PARC, PARP, PBR, PBSF, PCAD, P-Cadherin, PCNA, PDGF, PDGF, PDK-1, PECAM, PEM, PF4, PGE, PGF, PGI2, PGJ2, PIN, PLA2, 태반 알칼리성 포스파타아제(PLAP), PIGF, PLP, PP14, 프로인슐린, 프로렐락신, 단백질 C, PS, PSA, PSCA, 전립선 특이적 막 항원(PSMA), PTEN, PTHrp, Ptk, PTN, R51, RANK, RANKL, RANTES, 릴렉신 A-사슬, 릴렉신 B-사슬, 수지, 호흡기 세포융합 바이러스(RSV) F, RSV Fgp, Ret, 류마티스 인자, RLIP76, RPA2, RSK, S100, SCF/KL, SDF-1, SERINE, 혈청 알부민, sFRP-3, Shh, SIGIRR, SK-1, SLAM, SLPI, SMAC, SMDF, SMOH, SOD, SPARC, Stat, STEAP, STEAP-II, TACE, TACI, TAG-72(종양-연관 당단백질-72), TARC, TCA-3, T-세포 수용체(예를 들어, T-세포 수용체 알파/베타), TdT, TECK, TEM1, TEM5, TEM7, TEM8, TERT, 고환 PLAP 유사 알칼리성 포스파타아제, TfR, TGF, TGF-알파, TGF-베타, TGF-베타 팬 특징(Pan Pacific), TGF-베타 RI(ALK-5), TGF-베타 RII, TGF-베타 RI1b, TGF-베타 RIII, TGF-베타1, TGF-베타2, TGF-베타타3, TGF-베타4, TGF-베타5, 트롬빈, 티무스 Ck-1, 갑상선 자극 호르몬, Tie, TIMP, TIQ, 조직 인자, TMEFF2, Tmpo, TMPRSS2, TNF, TNF-알파, TNF-알파 베타, TNF-베타2, TNFc, TNF-RI, TNF-RII, TNFRSF10A (TRAIL R1 Apo-2, DR4), TNFRSF10B(TRAIL R2 DR5, KILLER, TRICK-2A, TRICK-B), TNFRSF10C(TRAIL R3 DcR1, LIT, TRID), TNFRSF10D(TRAIL R4 DcR2, TRUND), TNFRSF11A(RANK ODF R, TRANCE R), TNFRSF11B(OPG OCIF, TR1), TNFRSF12(TWEAK R FN14), TNFRSF13B(TACI), TNFRSF13C(BAFF R), TNFRSF14(HVEM ATAR, HveA, LIGHT R, TR2), TNFRSF16(NGFR p75NTR), TNFRSF17(BCMA), TNFRSF 18(GITR AITR), TNFRSF19(TROY TAJ, TRADE), TNFRSF19L(RELT), TNFRSF1A(TNF RI CD120a, p55-60), TNFRSF1B(TNF RII CD120b, p75-80), TNFRSF26(TNFRH3), TNFRSF3(LTbR TNF RIII, TNFC R), TNFRSF4(OX40 ACT35, TXGP1 R), TNFRSF 5(CD40 p50), TNFRSF6(Fas Apo-1, APT1, CD95), TNFRSF6B(DcR3 M68, TR6), TNFRSF7(CD27), TNFRSF8(CD30), TNFRSF9(4-1BB CD137, ILA), TNFRSF21(DR6), TNFRSF22(DcTRAIL R2 TNFRH2), TNFRST23(DcTRAIL R1 TNFRH1), TNFRSF25(DR3 Apo-3, LARD, TR-3, TRAMP, WSL-1), TNFSF10(Trail Apo-2 리간드, TL2), TNFSF11(Trance/RANK 리간드 ODF, OPG 리간드), TNFSF12(TWEAK Apo-3 리간드, DR3 리간드), TNFSF13(APRIL TALL2), TNFSF13B(BAFF BLYS, TALL1, THANK, TNFSF20), TNFSF14(LIGHT HVEM 리간드, LTg), TNFSF15(TL1A/VEGI), TNFSF18(GITR 리간드 AITR 리간드, TL6), TNFSF1A(TNF-a 코백틴, DIF, TNFSF2), TNFSF1B(TNF-b LTa, TNFSF1), TNFSF3(LTb TNFC, p33), TNFSF4(OX40 리간드 gp34, TXGP1), TNFSF5(CD40 리간드 CD154, gp39, HIGM1, IMD3, TRAP), TNFSF6(Fas 리간드 Apo-1 리간드, APT1 리간드), TNFSF7(CD27 리간드 CD70), TNFSF8(CD30 리간드 CD153), TNFSF9(4-1BB 리간드 CD137 리간드), TP-1, t-PA, Tpo, TRAIL, TRAIL R, TRAIL-R1, TRAIL-R2, TRANCE, 전달 수용체, TRF, Trk, TROP-2, TSG, TSLP, 종양 연관 항원 CA 125, 루이스 Y 연관 탄수화물을 발현하는 종양 연관 항원, TWEAK, TXB2, Ung, uPAR, uPAR-1, Urokinase, VCAM, VCAM-1, VECAD, VE-카드헤린, VE-카드헤린-2, VEGFR-1(flt-1), VEGF, VEGFR, VEGFR-3(flt-4), VEGI, VFM, 바이러스 항원, VLA, VLA-1, VLA-4, VNR o; ㄴ테그린, 폰 빌레브란트(von Willebrands) 인자, WIF-1, WNT1, WNT2, WNT2B/13, WNT3, WNT3A, WNT4, WNT5A, WNT5B, WNT6, WNT7A, WNT7B, WNT8A, WNT8B, WNT9A, WNT9A, WNT9B, WNT10A, WNT10B, WNT11, WNT16, XCL1, XCL2, XCR1, XCR1, XEDAR, XIAP, XPD, CTLA4(세포독성 T 림프구 항원-4), PD1(세포예정사 단백질 1), PD-L1(세포예정사 리간드 1), LAG-3(림프구 활성화 유전자-3), TIM-3(T 세포 면역글로불린 및 뮤신 단백질-3), 호르몬 수용체, 및 성장 인자 중 하나 이상에 특이적이고/이거나;

(iii) 상기 제2 항원-결합 영역은: BCMA, CTLA4(세포독성 T 림프구 항원-4), PD1(세포예정사 단백질 1), PD-L1(세포예정사 리간드 1), LAG-3(림프구 활성화 유전자-3), TIM-3, CD20, CD2, CD19, Her2, EGFR, EpCAM, FcγRIIIa (CD16), FcγRIIIa (CD32a), FcγRIIIb (CD32b), FcγRI (CD64), 톨-유사 수용체(Toll-like receptor, TLR), TLR4, TLR9, 사이토카인, IL-2, IL-5, IL-13, IL-6, IL-17, IL-12, IL-23, TNF α, TGF β, 사이토카인 수용체, IL-2R, 케모카인, 케모카인 수용체, 성장 인자, VEGF, 및 HGF 중 하나 이상에 특이적이고/이거나.

(iv) 상기 다중특이적 항체 또는 항체 단편은 이중특이적이고/이거나;

(v) 상기 다중특이적 항체 또는 항체 단편은 제3 항원 결합 영역을 포함하고/하거나;

(vi) 상기 다중특이적 항체 또는 항체 단편은 삼중특이적이고/이거나;

(vii) 상기 다중특이적 항체 또는 항체 단편은, Fab-Fc-scFv, scFv2-Fc2, scFv-IgG, "병-오프너", Mab-scFv,

Mab-Fv, 이중 scFv, 중량 Fv, 중량 scFv, 단일 아암 중량 scFv, Fab-Fab, Fab-Fv, mAb-Fv, mAb-Fab, DART, BiTE, 공통 경쇄-IgG, TandAb, Cross-Mab, SEED, BEAT, TrioMab, 및 DuetMab으로 이루어진 군으로부터 선택되는 다중특이적 포맷을 포함하고/하거나;

(viii) 상기 다중특이적 항체 또는 항체 단편은: 적어도 하나의 CL κ -선택 변이체 CH1 도메인, 선택적으로 W02021067404에 기술된 CL κ -선택 변이체 CH1 도메인; 적어도 하나의 CL λ -선택 변이체 CH1 도메인, 선택적으로 W02021067404에 기술된 CL λ -선택 변이체 CH1 도메인; 서로 우선적으로 페어링되는 변이체 CH1 도메인 및 변이체 CL 도메인의 적어도 한 쌍, 선택적으로 W02022150787에 기술된 쌍; 및/또는 서로 우선적으로 페어링되는 변이체 CH3 도메인 및 또 다른 변이체 CL3 도메인의 적어도 한 쌍, 선택적으로 W02022150785에 기술된 쌍 중 하나 이상을 포함한다는 특징 중 하나 이상을 포함하는, 제2 항원 결합 영역을 갖는, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서:

(I)은:

(i) 항체 번호 A001-A005 중 어느 하나 이상 또는 모두에 비해 감소된 PSR 점수; 및/또는

(ii) 0.33 미만, 약 0.30 미만, 약 0.20 미만, 약 0.15 미만, 약 0.12 미만, 약 0.10 미만, 약 0.08 미만, 약 0.06 미만, 약 0.05 미만, 약 0.04 미만, 약 0.03 미만, 약 0.02 미만, 또는 약 0.01 미만의 PSR 점수; 및/또는

(iii) 약 ≥ 0.10 및 < 0.33 의 PSR 점수 또는 약 < 0.10 의 PSR 점수를 나타내고/나타내거나;

(II)는 $< \text{약 } 10.5\text{분}$, $< \text{약 } 10.0\text{분}$, $< \text{약 } 9.5\text{분}$, $< \text{약 } 9.0\text{분}$, 또는 $< \text{약 } 8.5\text{분}$ 의 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC) 유지 시간을 나타내고/나타내거나;

(III)은:

(i) 항체 번호 A001-A005 중 어느 하나 이상 또는 모두에 비해 감소된 친화도-포획 자기-상호작용 나노입자 분광법(AC-SINS) $\Delta\lambda$ 최대;

(ii) 약 20.0 nm 미만, 약 15.0 nm 미만, 약 12.0 nm 미만, 약 10.0 nm 미만, 약 8.0 nm 미만, 약 6.0 nm 미만, 약 5.0 nm 미만, 약 4.0 nm 미만, 약 3.0 nm 미만, 약 2.0 nm 미만, 또는 약 1.0 nm 미만의 AC-SINS $\Delta\lambda$ 최대; 및/또는

(iii) 약 $\geq 5.0\text{ nm}$ 및 < 20.0 의 AC-SINS $\Delta\lambda$ 최대 또는 약 $< 5.0\text{ nm}$ 의 AC-SINS $\Delta\lambda$ 최대를 나타내고/나타내거나;

(IV)는:

(i) 항체 번호 A001-A005 중 어느 하나 이상 또는 모두에 비해 더 높은 동적 광 산란(DLS) 확산 상호작용 파라미터(kD);

(ii) 약 5 mL/g 이상, 약 10 mL/g 이상, 약 15 mL/g 이상, 약 20 mL/g 이상, 약 25 mL/g 이상, 약 30 mL/g 이상, 또는 약 35 mL/g 이상의 DLS kD; 및/또는

(iii) 약 10 mL/g 내지 약 40 mL/g, 약 15 mL/g 내지 약 40 mL/g, 또는 약 20 mL/g 내지 약 40 mL/g의 DLS kD를 나타내고/나타내거나

(선택적으로, 여기에서 상기 DLS kD는, 선택적으로 pH 6.0의 10 mM 히스티딘 완충액을 사용하여 측정됨);

(V)는:

(i) 약 65°C 이상의 용융 온도(T_m); 또는

(ii) 약 70°C 이상, 약 75°C 이상, 약 80°C 이상의 T_m; 및/또는

(iii) 약 70°C 내지 약 90°C, 약 75°C 내지 약 85°C의 T_m를 포함하고/포함하거나

(선택적으로, 여기에서 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 Fab임);

(VI)은, 선택적으로:

(i) 크기 배제 크로마토그래피(SEC)로 측정 시, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 약 97% 이상, 약 98% 이상, 약 99% 이상의 단량체%; 및/또는

(ii) SEC로 측정 시, 약 90% 내지 약 100%, 약 95% 내지 약 100%, 약 97% 내지 약 100%, 약 98% 내지 약 100%, 약 99% 내지 약 100%의 단량체%에 의해 결정되는 바와 같이, 유의하게 응집되거나 다량체화되지 않고/않거나

(선택적으로, 여기에서 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 Fab 또는 IgG, 선택적으로 IgG1임)

(선택적으로, 여기에서 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 산성 조건, 선택적으로 약 6 이하, 약 5 이하, 약 4 이하, 또는 약 3.5 이하의 pH에서 유의하게 응집되거나 다량체화되지 않음);

(VII)은, 선택적으로 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편이 재조합적으로, 추가 선택적으로 포유류 세포에서, 보다 더 추가 선택적으로 차이나이즈 햄스터 난소(CHO) 세포에서 생산될 경우, 선택적으로, 액체 크로마토그래피-질량 분광분석법(LC-MS)에 의해, 측정된 쌍을 이루지 않은 중쇄의 피크 및/또는 쌍을 이루지 않은 경쇄의 피크의 부재에 의해 결정 시, 상당한 양의 중쇄 미스페어링을 나타내지 않고/않거나;

(VIII)은 CD3-발현 세포에 결합하고/하거나(선택적으로, 상기 CD3-발현 세포는:

(i) T 세포;

(ii) 인간 세포, 비인간 영장류(선택적으로 원숭이, 추가 선택적으로 시노몰구스 및/또는 붉은털 원숭이) 세포, 및/또는 설치류(선택적으로 마우스) 세포; 및/또는

(iii) 일차 세포 또는 세포주 세포임);

(IX)는: 선택적으로 표면 플라즈몬 공명(SPR), 추가 선택적으로 BIACORE® 시스템을 사용하여 측정 시, 또는 선택적으로 바이오층 간섭계(BLI), 추가 선택적으로 Octet® 시스템을 사용하여 측정 시,

(i) 약 1.0×10^6 M 이하, 약 5.0×10^7 M 이하, 약 1.0×10^7 M 이하, 약 5.0×10^8 M 이하, 약 1.0×10^8 M 이하, 약 5.0×10^9 M 이하, 약 1.0×10^9 M 이하, 약 5.0×10^{10} M 이하, 또는 약 1.0×10^{10} M 이하의 평형 해리 상수(Kd);

(ii) 약 1.0×10^6 M 내지 약 1.0×10^{11} M, 약 1.0×10^7 M 내지 약 1.0×10^{11} M, 또는 약 1.0×10^8 M 내지 약 1.0×10^{10} M의 평형 해리 상수(Kd)로 CD3에 결합하고/하거나

(선택적으로, 여기에서 CD3은 인간, 비인간 영장류(선택적으로 원숭이, 추가 선택적으로 시노몰구스 및/또는 붉은털 원숭이), 및/또는 설치류(선택적으로 마우스) CD3임);

(X)는 세포 상의 CD3에 결합할 때, 세포, 선택적으로 T 세포의 세포독성 기능(들)의 활성화를 유도하고/하거나 이를 향상시키고/시키거나;

(X)는 세포 상의 CD3에 결합할 때, 세포에 의한 사이토카인 생성을 사이토카인 방출 증후군(CRS)을 유도할 수 있는 수준까지는 유도하지 않고/않거나;

(XI)은, 적어도 (a) 상기 VH 폴리펩티드 및/또는 상기 VL 폴리펩티드를 포함하는, CD3에 특이적인 제1 항원 결합 영역, 및 (b) 제2 항원에 특이적인 제2 항원 결합 영역을 갖는 다중특이적 항체 또는 항체 단편을 포함하거나 이에 포함되며; (i) 제1 세포, 선택적으로 T 세포 상의 CD3, 및 (ii) 제2 세포 상에서 발현된 제2 항원에 결합할 때, 상기 제1 세포는 상기 제2 세포에 대한 세포독성을 나타낸다는 특징 중 하나 이상을 포함하는, 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 따른 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편을 암호화하는 핵산으로서, 선택적으로:

(A) 서열번호 250, 350, 450, 550, 650, 750, 850, 950, 1050, 1150, 1250, 1350, 1450, 1550, 1650, 1750, 1850, 또는 1950과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 VH 폴리펩티드 암호화 핵산 서열; 및/또는

(B) 서열번호 260, 360, 460, 560, 660, 760, 860, 960, 1060, 1160, 12560, 1360, 1460, 1560, 1660, 1760, 1860, 또는 1960과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 VL 폴리펩티드 암호화 핵산 서열을 포함하며,

추가 선택적으로:

(I) 각각, 서열번호 250 및 260;

(II) 각각, 서열번호 350 및 360;

(III) 각각, 서열번호 450 및 460;

(IV) 각각, 서열번호 550 및 560;

(V) 각각, 서열번호 650 및 660;

(VI) 각각, 서열번호 750 및 760;

(VII) 각각, 서열번호 850 및 860;

(VIII) 각각, 서열번호 950 및 960;

(IX) 각각, 서열번호 1050 및 1060;

(X) 각각, 서열번호 1150 및 1160;

(XI) 각각, 서열번호 1250 및 1260;

(XII) 각각, 서열번호 1350 및 1360;

(XIII) 각각, 서열번호 1450 및 1460;

(XIV) 각각, 서열번호 1550 및 1560;

(XV) 각각, 서열번호 1650 및 1660;

(XVI) 각각, 서열번호 1750 및 1760;

(XVII) 각각, 서열번호 1850 및 1860; 또는

(XVIII) 각각, 서열번호 1950 및 1960의 VH 폴리펩티드 암호화 및 VL 폴리펩티드 암호화 핵산 서열을 포함하는, 핵산.

청구항 16

제15항의 핵산을 포함하는 벡터로서, 선택적으로:

(i) 상기 벡터는 발현 벡터이고/이거나;

(ii) 상기 벡터는 플라스미드, 바이러스 벡터(선택적으로 아데노바이러스, 렌티바이러스, 또는 레트로바이러스), 지질 기반 벡터, 자가 복제 RNA 벡터, 바이러스 유사 입자, 중합체 기반 벡터, 및/또는 나노입자, 선택적으로 지질 기반 나노입자를 포함하는, 벡터.

청구항 17

제15항의 핵산 및/또는 제16항의 벡터를 포함하거나, 이로 형질감염되거나, 이로 형질전환되거나, 이로 형질도입된 단리된 또는 재조합 세포로서, 선택적으로, 상기 단리된 또는 재조합 세포는:

(i) 포유류, 선택적으로 인간, 비인간 영장류, 원숭이, 토끼, 설치류, 햄스터, 랫트, 또는 마우스; 또는

(ii) 비포유류, 선택적으로 식물, 박테리아, 진균, 효모, 원생동물, 또는 곤충 세포이며,

선택적으로, 여기에서 상기 단리된 또는 재조합 세포는 면역 세포 또는 하이브리도마인, 단리된 또는 재조합 세포.

청구항 18

약학적 조성물로서,

(A) 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 따른 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편, 제15항의 핵산, 제16항의 벡터, 및/또는 제17항의 단리된 또는 재조합 세포; 및

(B) 약학적으로 허용 가능한 담체 및/또는 부형제를 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 19

치료를 필요로 하는 대상체를 치료하는 방법으로서, 상기 방법은:

(i) 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편;

(ii) 제15항의 핵산;

(iii) 제16항의 벡터;

(iv) 제17항의 단리된 또는 재조합 세포; 및/또는

(v) 제18항의 약학적 조성물의 유효량을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되,

선택적으로:

(a) 상기 대상체는

(i) 포유동물, 선택적으로 인간, 비인간 영장류, 원숭이, 말, 소, 양, 염소, 돼지, 개, 고양이, 토끼, 설치류, 햄스터, 랫트, 또는 마우스; 또는

(ii) 비포유류 척추동물, 선택적으로 조류, 어류, 양서류, 또는 파충류이고/이거나;

(b) 상기 대상체는 질환, 장애 또는 병태를 앓거나 이에 걸릴 위험을 갖고/갖거나;

(c) 상기 방법은 추가 제제, 선택적으로 보조제 또는 치료제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 20

치료를 필요로 하는 대상체에서 질환, 장애 또는 병태를 치료 또는 예방하는 방법으로서, 상기 방법은:

(i) 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편;

(ii) 제15항의 핵산;

(iii) 제16항의 벡터;

(iv) 제17항의 단리된 또는 재조합 세포; 선택적으로, 면역 세포, T 세포, 및/또는 자연 살해(NK) 세포; 및/또는

(v) 제18항의 약학적 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하되,

선택적으로:

(a) 상기 대상체는:

(i) 포유동물, 선택적으로 인간, 비인간 영장류, 원숭이, 말, 소, 양, 염소, 돼지, 개, 고양이, 토끼, 설치류, 햄스터, 랫트, 또는 마우스; 또는

(ii) 비포유류 척추동물, 선택적으로 조류, 어류, 양서류, 또는 파충류이고/이거나;

(b) 상기 방법은 추가 제제, 선택적으로 보조제 또는 치료제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 21

관심 표적 분자를 발현하는 세포에 대한 세포독성을 유도하는 방법으로서, 상기 방법은:

(i) 제13항의 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편;

(ii) 제13항의 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편을 암호화하는 핵산;

(iii) 상기 핵산을 포함하는 벡터;

(iv) 상기 핵산 또는 상기 벡터를 포함하거나, 이로 형질감염되거나, 이로 형질전환되거나, 이로 형질도입된 단리된 또는 재조합 세포; 및/또는

(v) (A) 제13항의 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편, 제13항의 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편을 암호화하는 핵산, 상기 핵산을 포함하는 벡터, 및/또는 상기 핵산 또는 상기 벡터를 포함하거나, 이로 형질감염되거나, 이로 형질전환되거나, 이로 형질도입된 단리된 또는 재조합 세포; 및/또는 (B) 약학적으로 허용 가능한 담체 및/또는 부형제를 포함하는 약학적 조성물의 유효량을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되,

선택적으로:

(a) 상기 대상체는

(i) 포유동물, 선택적으로 인간, 비인간 영장류, 원숭이, 말, 소, 양, 염소, 돼지, 개, 고양이, 토끼, 설치류, 햄스터, 랫트, 또는 마우스; 또는

(ii) 비포유류 척추동물, 선택적으로 조류, 어류, 양서류, 또는 파충류이고/이거나;

(b) 상기 대상체는 질환, 장애 또는 병태를 앓거나 이에 걸릴 위험을 갖고/갖거나;

(c) 상기 방법은 추가 제제, 선택적으로 보조제 또는 치료제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 22

제19항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 질환, 장애, 또는 병태는, 증식성 장애, 종양학적 장애, 암 또는 신생물 병태, 면역-종양학적 장애, 신경 장애, 신경퇴행성 장애, 감염성 질환, 염증성 질환, 자가면역 장애, 또는 다른 질환 중 하나 이상을 포함하되, 선택적으로:

(i) 상기 암은:

(i-1) 선택적으로, 중피종, 악성 흉막 중피종, 비소세포 폐암, 소세포 폐암, 편평 세포 폐암, 대세포 폐암, 췌장암, 췌장관 선암종, 식도 선암종, 유방암, 교모세포종, 난소암, 대장암, 전립선암, 자궁경부암, 피부암, 흑색 종, 신장암, 간암, 뇌암, 흉선종, 육종, 암종, 자궁암, 신장암, 위장관암, 요로상피암, 인두암, 두경부암, 직장암, 식도암, 또는 방광암, 또는 이들의 전이성 암 중 하나 이상으로부터 선택되는, 고형 암; 및/또는

(i-2) 선택적으로, 만성 림프구성 백혈병(CLL), 외투 세포 림프종(MCL), 다발성 골수종, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 호지킨 림프종, B-세포 급성 림프구성 백혈병(BALL), T 세포 급성 림프구성 백혈병(TALL), 소림프구성 백혈병(SLL), B 세포 전림프구성 백혈병, 모세포성 형질세포양 수지상 세포 신생물, 버킷 림프종, 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL), 만성 염증과 연관된 DLBCL, 만성 골수성 백혈병, 골수증식성 신생물, 여포성 림프종, 소아 여포성 림프종, 유모 세포 백혈병, 소세포 또는 대세포 여포성 림프종, 악성 림프구증식성 병태, MALT 림프종(점막 연관 림프 조직의 외연부 림프종), 변연부 림프종, 골수이형성증, 골수이형성 증후군, 비호지킨 림프종, 형질모세포성 림프종, 형질세포양 수지상 세포 신생물, 발덴스트롬 거대글로불린혈증, 비장 변연부 림프종, 비장 림프종/백혈병, 비장 미만성 적색 펄프 소 B-세포 림프종, 유모 세포 백혈병-변이체, 림프형질세포성 림프종, 중쇄 질환, 형질 세포 골수종, 뼈의 고립성 형질세포종, 골외 형질세포종, 결절 변연부 림프종, 소아 결절 변연부 림프종, 원발성 피부 소포 중심 림프종, 림프종성 육아종증, 원발성 종격동(흉선) 거대 B-세포 림프종, 혈관내 거대 B-세포 림프종, ALK+ 거대 B-세포 림프종, HHV8-연관 다심성 캐슬만병에서 발생하는 거대 B-세포 림프종, 원발성 삼출성 림프종, B-세포 림프종, 급성 골수성 백혈병(AML), 또는 분류 불가 림프종으로부터 선택되는, 액상 암이고/이거나;

(ii) 상기 자가면역 또는 염증성 질환은, 건선, 류마티스 관절염, 자가면역 관절염, I형 당뇨병, 전신 홍반성 루푸스, 중증 근무력증, 다발성 경화증, 피부경화증, 염증성 장 질환, 크론병, 궤양성 대장염, 길랑-바레 증후군, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증, 심상성 천포창, 쇼그렌 증후군, 애디슨병, 베체트병, 슈미트 증후군, 복강병, 피부근염, 자가면역 백반증, 그레이브스병, 하시모토 갑상선염, 가와사키병, 악성 빈혈, 자가면역 혈관염, 또는 섬유증이고/이거나;

(iii) 상기 신경퇴행성 질환은, 알츠하이머병, 헌팅턴병, 파킨슨병, 근위축성 측색 경화증, 프리드리히 실조증,

루이 소체 질환, 척수 근육 위축증, 운동 뉴런 질환, 다발성 경화증, 바텐병, 크로이츠펔트-야콥병이고/이거나;

(iv) 상기 감염성 질환은 바이러스, 박테리아, 진균, 효모, 원생동물, 프리온 또는 기생충 질환이되, 선택적으로, (1) 상기 바이러스성 질환은, 인간 면역결핍 바이러스(HIV), 간염 바이러스(선택적으로 A, B, 또는 C형 간염 바이러스), 인간 유두종 바이러스(HPV), 단순 포진 바이러스(HSV)(선택적으로 HSV-1 또는 HSV-2), 장내 바이러스, 인간 거대세포바이러스, 아데노바이러스, 리노바이러스, 수두 바이러스, 인플루엔자 바이러스, 코로나바이러스(선택적으로 MERS-CoV, SARS-CoV, 또는 SARS-CoV-2, 또는 흔한 인간 코로나바이러스), 노로바이러스, 웨스트 나일 바이러스, 지카 바이러스, 폴리오바이러스, 에볼라 바이러스, 또는 뎅기 바이러스(DENV) 감염이고/이거나, (2) 상기 박테리아 질환은 *살모넬라*(*Salmonella*), 대장균, 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*), 메티실린-내성 스타필로코커스 아우레우스(MRSA)(*methicillin-resistant staphylococcus aureus*), 클로스트리디움 디피실(*Clostridium difficile*), 폐렴 연쇄상구균(*Streptococcus pneumoniae*), 폐렴 간균(*Klebsiella pneumoniae*), 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*), 헬리코박터 파일로리(*Helicobacter pylori*), 나이세리아 고노로이에(*Neisseria gonorrhoeae*), 비브리오 볼니피쿠스(*Vibrio vulnificus*)이고/이거나, (3) 상기 진균 질환은 아스페르길로시스(), 칸디다(*Candida*), 칸디다 아우리스(*Candida auris*), 크립토코커스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*), 뉴모시티스 지로베치(*Pneumocystis jirovecii*), 무코곰피세테스(*Mucoromycetes*), 탈로미세스(*Talaromyces*), 링웜(ringworm), 블라스토미세스(*Blastomyces*), 콕시디오이데스(*Coccidioides*), 크립토코커스 가티(*Cryptococcus gattii*), 히스토플라스마(*Histoplasma*), 파라코치디오이데스(*Paracoccidioides*), 또는 스포로트릭스(*Sporothrix*) 감염인, 방법.

청구항 23

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편을 제조하는 방법으로서, 상기 방법은:

- (a) 상기 항체 또는 항원 결합 단편의 발현을 허용하는 조건에서 제16항의 핵산을 포함하는 세포를 배양하는 단계, 및
- (b) 단계 (a)로부터의 상기 세포 배양물로부터 항체 또는 항원 결합 단편을 수확하고 정제하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 24

제17항의 단리된 또는 재조합 세포 또는 상기 세포의 집단을 제조하는 방법으로서, 상기 방법은, 제15항의 핵산 및/또는 제16항의 벡터를 하나 이상의 세포 내에 도입하는 단계를 포함하되, 선택적으로 상기 도입하는 단계는 시험관 내, 생체 외, 또는 생체 내에서 이루어지는, 방법.

청구항 25

의약에서의 사용을 위한, 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편, 제15항의 핵산, 제16항의 벡터, 제17항의 단리된 또는 재조합 세포 또는 상기 세포의 집단, 및/또는 제18항의 약학적 조성물.

청구항 26

질환, 장애, 또는 병태의 치료에 사용하기 위한, 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편, 제15항의 핵산, 제16항의 벡터, 제17항의 단리된 또는 재조합 세포 또는 상기 세포의 집단, 및/또는 제18항의 약학적 조성물로서, 선택적으로, 상기 질환, 장애, 또는 병태는 암 또는 신생물 병태, 자가면역 장애, 신경퇴행성 장애, 감염성 질환, 염증성 질환, 또는 다른 질환을 포함하며, 추가 선택적으로:

(i) 상기 암은:

(i-1) 선택적으로, 중피종, 악성 흉막 중피종, 비소세포 폐암, 소세포 폐암, 편평 세포 폐암, 대세포 폐암, 췌장암, 췌장관 선암종, 식도 선암종, 유방암, 교모세포종, 난소암, 대장암, 전립선암, 자궁경부암, 피부암, 흑색종, 신장암, 간암, 뇌암, 흉선종, 육종, 암종, 자궁암, 신장암, 위장관암, 요로상피암, 인두암, 두경부암, 직장암, 식도암, 또는 방광암, 또는 이들의 전이성 암 중 하나 이상으로부터 선택되는, 고형 암; 및/또는

(i-2) 선택적으로, 만성 림프구성 백혈병(CLL), 외투 세포 림프종(MCL), 다발성 골수종, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 호지킨 림프종, B-세포 급성 림프구성 백혈병(BALL), T 세포 급성 림프구성 백혈병(TALL), 소림프구성 백혈병(SLL), B 세포 전림프구성 백혈병, 모세포성 형질세포양 수지상 세포 신생물, 버킷 림프종, 미만성 거대

B 세포 림프종(DLBCL), 만성 염증과 연관된 DLBCL, 만성 골수성 백혈병, 골수증식성 신생물, 여포성 림프종, 소아 여포성 림프종, 유모 세포 백혈병, 소세포 또는 대세포 여포성 림프종, 악성 림프구증식성 병태, MALT 림프종(점막 연관 림프 조직의 외연부 림프종), 변연부 림프종, 골수이형성증, 골수이형성 증후군, 비호지킨 림프종, 형질모세포성 림프종, 형질세포양 수지상 세포 신생물, 발덴스트롬 거대글로불린혈증, 비장 변연부 림프종, 비장 림프종/백혈병, 비장 미만성 적색 펄프 소 B-세포 림프종, 유모 세포 백혈병-변이체, 림프형질세포성 림프종, 중쇄 질환, 형질 세포 골수종, 뼈의 고립성 형질세포종, 골외 형질세포종, 결절 변연부 림프종, 소아 결절 변연부 림프종, 원발성 피부 소포 중심 림프종, 림프종성 육아종증, 원발성 종격동(흉선) 거대 B-세포 림프종, 혈관내 거대 B-세포 림프종, ALK+ 거대 B-세포 림프종, HHV8-연관 다심성 캐슬만병에서 발생하는 거대 B-세포 림프종, 원발성 삼출성 림프종, B-세포 림프종, 급성 골수성 백혈병(AML), 또는 분류 불가 림프종으로부터 선택되는, 액상 암이고/이거나;

(ii) 상기 자가면역 또는 염증성 질환은, 건선, 류마티스 관절염, 자가면역 관절염, I형 당뇨병, 전신 홍반성 루푸스, 중증 근무력증, 다발성 경화증, 피부경화증, 염증성 장 질환, 크론병, 궤양성 대장염, 길랑-바레 증후군, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증, 심상성 천포창, 쇼그렌 증후군, 애디슨병, 베체트병, 슈미트 증후군, 복강병, 피부근염, 자가면역 백반증, 그레이브스병, 하시모토 갑상선염, 가와사키병, 악성 빈혈, 자가면역 혈관염, 또는 섬유증이고/이거나;

(iii) 상기 신경퇴행성 질환은, 알츠하이머병, 헌팅턴병, 파킨슨병, 근위축성 측색 경화증, 프리드리히 실조증, 루이 소체 질환, 척수 근육 위축증, 운동 뉴런 질환, 다발성 경화증, 바텐병, 크로이츠펔트-야콥병이고/이거나;

(iv) 상기 감염성 질환은 바이러스, 박테리아, 진균, 효모, 원생동물, 프리온 또는 기생충 질환이되, 선택적으로, (1) 상기 바이러스성 질환은, 인간 면역결핍 바이러스(HIV), 간염 바이러스(선택적으로 A, B, 또는 C형 간염 바이러스), 인간 유두종 바이러스(HPV), 단순 포진 바이러스(HSV)(선택적으로 HSV-1 또는 HSV-2), 장내 바이러스, 인간 거대세포바이러스, 아데노바이러스, 리노바이러스, 수두 바이러스, 인플루엔자 바이러스, 코로나바이러스(선택적으로 MERS-CoV, SARS-CoV, 또는 SARS-CoV-2, 또는 흔한 인간 코로나바이러스), 노로바이러스, 웨스트 나일 바이러스, 지카 바이러스, 폴리오바이러스, 에볼라 바이러스, 또는 뎅기 바이러스(DENV) 감염이고/이거나, (2) 상기 박테리아 질환은 *살모넬라*(*Salmonella*), 대장균, 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*), 메티실린-내성 스타필로코커스 아우레우스(MRSA)(*methicillin-resistant staphylococcus aureus*), 클로스트리디움 디피실(*Clostridium difficile*), 폐렴 연쇄상구균(*Streptococcus pneumoniae*), 폐렴 간균(*Klebsiella pneumoniae*), 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*), 헬리코박터 파일로리(*Helicobacter pylori*), 나이세리아 고노로이애(*Neisseria gonorrhoeae*), 비브리오 볼나피쿠스(*Vibrio vulnificus*)이고/이거나, (3) 상기 진균 질환은 아스페르길로시스(), 칸디다(*Candida*), 칸디다 아우리스(*Candida auris*), 크립토코커스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*), 뉴모시티스 지로베치(*Pneumocystis jirovecii*), 무코곰피세테스(*Mucoromycetes*), 탈로미세스(*Talaromyces*), 링웜(ringworm), 블라스토미세스(*Blastomyces*), 콕시디오이데스(*Coccidioides*), 크립토코커스 가티(*Cryptococcus gattii*), 히스토플라스마(*Histoplasma*), 파라코치디오이데스(*Paracoccidioides*), 또는 스포로트리क्स(*Sporothrix*) 감염인, 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편, 제16항의 핵산, 제16항의 벡터, 제17항의 단리된 또는 재조합 세포 또는 상기 세포의 집단, 및/또는 제18항의 약학적 조성물.

청구항 27

질환, 장애, 또는 병태의 치료를 위한 의약의 제조를 위한 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편, 제16항의 핵산, 제16항의 벡터, 제17항의 단리된 또는 재조합 세포 또는 상기 세포의 집단, 및/또는 제18항의 약학적 조성물의 용도로서, 선택적으로, 상기 질환, 장애, 또는 병태는 암 또는 신생물 병태, 자가면역 장애, 신경퇴행성 장애, 감염성 질환, 염증성 질환, 또는 다른 질환을 포함하며, 추가 선택적으로:

(i) 상기 암은:

(i-1) 선택적으로, 중피종, 악성 흉막 중피종, 비소세포 폐암, 소세포 폐암, 편평 세포 폐암, 대세포 폐암, 횡격막, 횡격관 선암종, 식도 선암종, 유방암, 교모세포종, 난소암, 대장암, 전립선암, 자궁경부암, 피부암, 흑색종, 신장암, 간암, 뇌암, 흉선종, 육종, 암종, 자궁암, 신장암, 위장관암, 요로상피암, 인두암, 두경부암, 직장암, 식도암, 또는 방광암, 또는 이들의 전이성 암 중 하나 이상으로부터 선택되는, 고형 암; 및/또는

(i-2) 선택적으로, 만성 림프구성 백혈병(CLL), 외투 세포 림프종(MCL), 다발성 골수종, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 호지킨 림프종, B-세포 급성 림프구성 백혈병(BALL), T 세포 급성 림프구성 백혈병(TALL), 소림프구성

백혈병(SLL), B 세포 전림프구성 백혈병, 모세포성 형질세포양 수지상 세포 신생물, 버킷 림프종, 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL), 만성 염증과 연관된 DLBCL, 만성 골수성 백혈병, 골수증식성 신생물, 여포성 림프종, 소아 여포성 림프종, 유모 세포 백혈병, 소세포 또는 대세포 여포성 림프종, 악성 림프구증식성 병태, MALT 림프종(점막 연관 림프 조직의 외연부 림프종), 변연부 림프종, 골수이형성증, 골수이형성 증후군, 비호지킨 림프종, 형질모세포성 림프종, 형질세포양 수지상 세포 신생물, 발텐스트롬 거대글로불린혈증, 비장 변연부 림프종, 비장 림프종/백혈병, 비장 미만성 적색 펄프 소 B-세포 림프종, 유모 세포 백혈병-변이체, 림프형질세포성 림프종, 중쇄 질환, 형질 세포 골수종, 뼈의 고립성 형질세포종, 골외 형질세포종, 결절 변연부 림프종, 소아 결절 변연부 림프종, 원발성 피부 소포 중심 림프종, 림프종성 육아종증, 원발성 종격동(흉선) 거대 B-세포 림프종, 혈관내 거대 B-세포 림프종, ALK+ 거대 B-세포 림프종, HHV8-연관 다심성 캐슬만병에서 발생하는 거대 B-세포 림프종, 원발성 삼출성 림프종, B-세포 림프종, 급성 골수성 백혈병(AML), 또는 분류 불가 림프종으로부터 선택되는, 액상 암이고/이거나;

(ii) 상기 자가면역 또는 염증성 질환은, 건선, 류마티스 관절염, 자가면역 관절염, I형 당뇨병, 전신 홍반성 루푸스, 중증 근무력증, 다발성 경화증, 피부경화증, 염증성 장 질환, 크론병, 궤양성 대장염, 길랑-바레 증후군, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증, 심상성 천포창, 쇼그렌 증후군, 애디슨병, 베체트병, 슈미트 증후군, 복강병, 피부근염, 자가면역 백반증, 그레이브스병, 하시모토 갑상선염, 가와사키병, 악성 빈혈, 자가면역 혈관염, 또는 섬유증이고/이거나;

(iii) 상기 신경퇴행성 질환은, 알츠하이머병, 헌팅턴병, 파킨슨병, 근위축성 측색 경화증, 프리드리히 실조증, 루이 소체 질환, 척수 근육 위축증, 운동 뉴런 질환, 다발성 경화증, 바텐병, 크로이츠펠트-야콥병이고/이거나;

(iv) 상기 감염성 질환은 바이러스, 박테리아, 진균, 효모, 원생동물, 프리온 또는 기생충 질환이되, 선택적으로, (1) 상기 바이러스성 질환은, 인간 면역결핍 바이러스(HIV), 간염 바이러스(선택적으로 A, B, 또는 C형 간염 바이러스), 인간 유두종 바이러스(HPV), 단순 포진 바이러스(HSV)(선택적으로 HSV-1 또는 HSV-2), 장내 바이러스, 인간 거대세포바이러스, 아데노바이러스, 리노바이러스, 수두 바이러스, 인플루엔자 바이러스, 코로나바이러스(선택적으로 MERS-CoV, SARS-CoV, 또는 SARS-CoV-2, 또는 흔한 인간 코로나바이러스), 노로바이러스, 웨스트 나일 바이러스, 지카 바이러스, 폴리오바이러스, 에볼라 바이러스, 또는 뎅기 바이러스(DENV) 감염이고/이거나, (2) 상기 박테리아 질환은 *살모넬라*(*Salmonella*), 대장균, 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*), 메티실린-내성 스타필로코커스 아우레우스(MRSA)(*methicillin-resistant staphylococcus aureus*), 클로스트리디움 디피실(*Clostridium difficile*), 폐렴 연쇄상구균(*Streptococcus pneumoniae*), 폐렴 간균(*Klebsiella pneumoniae*), 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*), 헬리코박터 파일로리(*Helicobacter pylori*), 나이세리아 고노로이에(*Neisseria gonorrhoeae*), 비브리오 볼니피쿠스(*Vibrio vulnificus*)이고/이거나, (3) 상기 진균 질환은 아스페르길로시스(), 칸디다(*Candida*), 칸디다 아우리스(*Candida auris*), 크립토코커스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*), 뉴모시티스 지로베치(*Pneumocystis jirovecii*), 무코곰피세테스(*Mucoromycetes*), 탈로미세스(*Talaromyces*), 링웜(ringworm), 블라스토미세스(*Blastomyces*), 콕시디오이데스(*Coccidioides*), 크립토코커스 가티(*Cryptococcus gattii*), 히스토플라스마(*Histoplasma*), 파라코치디오이데스(*Paracoccidioides*), 또는 스포로트릭스(*Sporothrix*) 감염인, 용도.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 "항-CD3 항체"로 명명된, 2021년 9월 17일에 출원된 미국 특허 가출원 제63/245,499호에 대한 우선권을 주장하며, 그 내용은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

[0003] 서열 개시

[0004] 전자 서열 목록(1160430.003213.xml; 크기: 964,969 바이트; 및 생성일: 2022년 9월 15일)의 내용은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

배경 기술

[0005] 암과 같은 세포 증식성 장애는, 세포 아집단의 통제되지 않는 성장을 특징으로 한다. 이들은 선진국의 주요 사

망 원인이며, 개발도상국의 두 번째 주요 사망 원인이며, 연간 총 신규 암 발병 건수가 2030년까지 23.6백만 건으로 증가할 것으로 예상된다. 국립 암연구소(National Cancer Institute)는 2018년에 약 2백만 건의 신규 암 건수가 미국에서 진단될 것이며, 600,000명이 넘는 미국인이 암으로 사망할 것으로 추정하고 있다. 따라서 암 치료는 중대하고 지속적으로 증가하는 사회적 부담을 나타낸다.

[0006] CD3 표적화 이중특이적 항체의 사용을 통해 종양 세포를 사멸시키기 위해 T 세포의 세포독성 능력을 사용한다는 아이디어는 1980년대 중반으로 거슬러 올라간다. (Staerz 등, *Nature* 1985 314: 628-32). 현재까지 개발된 다수의 이중특이적 항체는, T 세포 동원 및 활성화를 위한 CD3에 특이적인 제1 결합 부위, 및 종양 세포에 의해 생산된 항원과 같은 표적화된 질환-연관 항원에 대한 제2 결합 부위를 함유한다. CD3 이중특이적 항체는 종양에서 발현된 제2 표적 단백질에 결합함으로써 T 세포 상의 CD3 표면 수용체를 트리거해서, T 세포 수용체의 펩티드/MHC 특이성과 무관하게, CD3 이중특이적 항체에 의한 가교를 통해, 이용 가능한 T 세포가 표적-발현 세포에 결합할 수 있도록 한다. (예를 들어, Bassan, 2012, *Blood* 120:5094-95 참조). CD3 이중특이적 항체를 사용한 T 세포 및 종양 세포의 가교는 진행성-단계 악성 종양의 극적인 퇴행을 유도할 수 있고, 일부 경우에는 완전 관해를 유도할 수 있다. 현재, 25개가 넘는 상이한 CD3 이중특이적 항체가 CD19, CD20, CD33, 및 CD123, 또는 EpCAM, HER2, PSMA, 및 CEA를 각각 표적화함으로써 혈액암 또는 고형암의 치료를 위해 임상 개발 단계에 있다. (예를 들어, Liu 등의 *Front Immunol* 2017 8:38 참조).

[0007] 이중특이적 항체는 암의 치료와 검출에 대해 단일특이적 항체에 비해 상당한 이점을 보여주었지만, 이중특이적 항체의 광범위한 상업적 적용은 효율적/저비용 생산 방법의 부족, 이중특이적 폴리펩티드의 안정성 부족 및 인간에서의 긴 반감기의 부족으로 인해 방해로 받아왔다. 이중특이적 단일클론 항체를 생산하기 위해 지난 수십 년에 걸쳐 매우 다양한 방법이 개발되었다. 하지만, 관심 표적에 대한 탁월한 선택성 및 높은 효능을 갖는 다수의 후보 이중특이적 항체는 종종 다운스트림 개발 및 임상 효능 달성, 예로서 다중특이적 결합; 표적-외 결합; 비특이적 결합; 포유동물 숙주 세포 및 효모 세포와 같은, 진핵 숙주 세포에서의 불량한 발현 수준 또는 프로파일; 불량한 화학적 및 물리적 특성, 예컨대 보관 중 불량한 안정성(예를 들어, 불량한/낮은 "보관기간" 안정성), 불량한 (낮은) 용해도, 불량한 (높은) 점도, 응집 경향 등; 및 불량한 임상 및 생물물리적 프로파일, 예컨대 불량한 약동학적 프로파일, 불량한 약력학적 프로파일, 빠르거나 불량한 생체 내 제거율, 짧은 순환 반감기에 있어서 문제를 가지며, 이들 중 일부는 이들의 개발이 종료되는 결과를 야기한다.

[0008] CIC, SIC, BVP-ELISA, TMA, 및 기타 검정과 같은, 다운스트림 개발 활성("발견-후 항체")의 맥락에서 발견된 항체에 대한 전술한 개발가능성 특징 중 다수를 평가하기 위한 소정의 기술 및 검정이 존재하며; 그러나, 이러한 검정들은 일반적으로 초기 항체 발견 플랫폼에서의 고 처리량 포맷에 순응하지 않는다. 또한, 이 속성들을 평가하려면 일반적으로 밀리그램에서 그램 양의 단백질이 필요하므로, 종종 개발을 위해 실용적으로 고려할 수 있는 리드(lead) 수에 사실상 제한을 가하고, 결과적으로 프로그램 성공 가능성을 감소시킨다. 결과적으로, 나중에 개발 단계에서 사용할 수 있는 백업이 거의 없는 상태에서 제대로 작동하지 않는 리드 후보를 수정하는 데 종종 상당한 자원이 소모되는 경우가 있다.

[0009] 단일클론 및 이중특이적 항체 포맷을 포함하여, 다양한 항-CD3 항체가 당해 기술분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 미국 특허 제7,262,276호; 제7,635,472호; 제7,862,813호; 제9,587,021호; 및 제10,174,124호를 참조한다. 그러나, 이들 항-CD3 항체 중 다수는 전술한 것과 같은 개발 가능성 문제를 갖는다. 따라서, 이러한 항-CD3 항체는, 예를 들어, 임상 목적을 위한 다중특이적 항체를 설계하기 위한 이상적인 후보가 아니다. 따라서, 바람직한 개발 가능 특성을 나타내고, 예를 들어, T-세포 상에서 발현된 CD3에 특이적으로 결합하고, T-세포를 활성화하고, 표적 세포를 사멸시키기 위해 활성화된 T-세포를 (재)-유도하는 데 있어서 안전하고 효과적인 항-CD3 항체를 제공하는 것에 대한 충족되지 않은 요구가 존재한다.

발명의 내용

[0010] 본 개시의 일 양태는, 예를 들어 바람직한 개발가능성을 나타내는, 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편을 제공한다.

[0011] 일부 구현예에서, 본 개시는 항체 또는 항원 결합 단편을 제공하며, 이는: (i) 표 1A 또는 1B에 열거된 가변 도메인 서열 중 어느 하나에 함유된 CDR의 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 표 2A 또는 2B에 열거된 것들 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDR을 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편을 제공한다.

[0012] 일부 구현예에서, 본 개시는, 항체 또는 항원-결합 단편을 개시하며, 이는 (A) 중쇄 가변 도메인(VH) 폴리펩티드로서: (a) VH CDR1(CDRH1)이되: (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 CDRH1; (ii)

서열번호 210, 310, 410, 510, 610, 710, 810, 910, 1010, 1110, 1210, 1310, 1410, 1510, 1610, 1710, 1810, 1910, 2110, 2210, 2310, 2410, 및 2510 중 어느 하나에 함유된 CDRH1; (iii) $FX_1X_2X_3DYMH$ (서열번호 112)(식 중 X_1 은 N 또는 D이고, X_2 는 I 또는 D이고, X_3 은 K 또는 D임); 및/또는 (iv) 서열번호 212, 312, 412, 512, 612, 712, 812, 912, 1012, 1112, 1212, 1312, 1412, 1512, 1612, 1712, 1812, 1912, 2112, 2212, 2312, 2412, 및 2512 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, VH CDR1(CDRH1); (b) VH CDR2(CDRH2)이되: (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 CDRH2; (ii) 서열번호 210, 310, 410, 510, 610, 710, 810, 910, 1010, 1110, 1210, 1310, 1410, 1510, 1610, 1710, 1810, 1910, 2110, 2210, 2310, 2410, 및 2510 중 어느 하나에 함유된 CDRH2; (iii) $WIX_4LEX_5X_6X_7TX_8X_9DAKFQX_{10}$ (서열번호 114)(식 중, X_4 는 D 또는 E이고, X_5 는 N 또는 E이고, X_6 은 A, D, 또는 G이고, X_7 은 N, E, 또는 D이고, X_8 은 I 또는 V이고, X_9 는 Y 또는 D이고, X_{10} 은 G 또는 D임); 및/또는 (iv) 서열번호 214, 314, 414, 514, 614, 714, 814, 914, 1014, 1114, 1214, 1314, 1414, 1514, 1614, 1714, 1814, 1914, 2114, 2214, 2314, 2414, 및 2514 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, VH CDR2(CDRH2); 및/또는 (c) VH CDR3(CDRH3)이되: (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 CDRH3; (ii) 서열번호 210, 310, 410, 510, 610, 710, 810, 910, 1010, 1110, 1210, 1310, 1410, 1510, 1610, 1710, 1810, 1910, 2110, 2210, 2310, 2410, 및 2510 중 어느 하나에 함유된 CDRH3; (iii) $X_{11}RDX_{12}YGRYFYDX_{13}$ (서열번호 116)(식 중, X_{11} 은 A 또는 G이고, X_{12} 는 A 또는 Q이고, X_{13} 은 V 또는 E임); 및/또는 (iv) 서열번호 216, 316, 416, 516, 616, 716, 816, 916, 1016, 1116, 1216, 1316, 1416, 1516, 1616, 1716, 1816, 1916, 2116, 2216, 2316, 2416, 및 2516 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, VH CDR3(CDRH3)을 포함하는, 중쇄 가변 도메인(VH) 폴리펩티드; 및/또는 (B) 경쇄 가변 도메인(VL) 폴리펩티드로서: (a) VL CDR1(CDRL1)이되: (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005에 함유된 CDRL1; (ii) 서열번호 220, 320, 420, 520, 620, 720, 820, 920, 1020, 1120, 1220, 1320, 1420, 1520, 1620, 1720, 1820, 1920, 2120, 2220, 2320, 2420, 및 2520 중 어느 하나에 함유된 CDRL1; 및/또는 (iii) 서열번호 122, 222, 322, 422, 522, 622, 722, 822, 922, 1022, 1122, 1222, 1322, 1422, 1522, 1622, 1722, 1822, 1922, 2122, 2222, 2322, 2422, 및 2522 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, VL CDR1(CDRL1); (b) VL CDR2(CDRL2)이되: (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 CDRL2; (ii) 서열번호 220, 320, 420, 520, 620, 720, 820, 920, 1020, 1120, 1220, 1320, 1420, 1520, 1620, 1720, 1820, 1920, 2120, 2220, 2320, 2420, 및 2520 중 어느 하나에 함유된 CDRL2; (iii) $WASTRX_{14}S$ (서열번호 124)(식 중, X_{14} 는 E 또는 S임); 및/또는 (iv) 서열번호 224, 324, 424, 524, 624, 724, 824, 924, 1024, 1124, 1224, 1324, 1424, 1524, 1624, 1724, 1824, 1924, 2124, 2224, 2324, 2424, 및 2524 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, VL CDR2(CDRL2); 및/또는 (c) VL CDR3(CDRL3)이되: (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 CDRL3; (ii) 서열번호 220, 320, 420, 520, 620, 720, 820, 920, 1020, 1120, 1220, 1320, 1420, 1520, 1620, 1720, 1820, 1920, 2120, 2220, 2320, 2420, 및 2520 중 어느 하나에 함유된 CDRL3; (iii) $X_{15}QSYX_{16}X_{17}RT$ (서열번호 126)(식 중, X_{15} 는 K 또는 V이고, X_{16} 은 S 또는 F이고, X_{17} 은 R 또는 L임); 및/또는 (iv) 서열번호 226, 326, 426, 526, 626, 726, 826, 926, 1026, 1126, 1226, 1326, 1426, 1526, 1626, 1726, 1826, 1926, 2126, 2226, 2326, 2426, 및 2526 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, VL CDR3(CDRL3)를 포함하는, 경쇄 가변 도메인(VL) 폴리펩티드, 또는 전술한 CDR 중 하나 이상의 조합을 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편을 포함한다.

[0013] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) A001에 함유된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3 중 적어도 하나; 또는 (ii) 서열번호 2112, 2114, 2116, 2122, 2124, 및 2126 중 적어도 하나를 포함하지 않을 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) A001에 함유된 CDRH1 및 CDRH2 중 적어도 하나; 또는 (ii) 서열번호 2112 및 2114 중 적어도 하나를 포함하지 않을 수 있다.

[0014] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) A002에 함유된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3 중 적어도 하나; 또는 (ii) 서열번호 2212, 2214, 2216, 2222, 2224, 및 2226 중 적어도 하나를 포함하지 않을 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) A002에 함유된 CDRH1 및 CDRH2 중 적어도 하나; 또는 (ii) 서열번호 2212 및 2214 중 적어도 하나를 포함하지 않을 수 있다.

[0015] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) A003에 함유된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3 중 적어도 하나; 또는 (ii) 서열번호 2312, 2314, 2316, 2322, 2324, 및 2326 중 적어도 하나를 포함하지 않을 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) A003에 함유된 CDRH1 및 CDRH2 중 적어도 하나; 또는 (ii) 서열번호 2312 및 2314 중 적어도 하나를 포함하지 않을 수 있다.

- [0016] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) A004에 함유된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3 중 적어도 하나; 또는 (ii) 서열번호 2412, 2414, 2416, 2422, 2424, 및 2426 중 적어도 하나를 포함하지 않을 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) A004에 함유된 CDRH1 및 CDRH2 중 적어도 하나; 또는 (ii) 서열번호 2412 및 2414 중 적어도 하나를 포함하지 않을 수 있다.
- [0017] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) A005에 함유된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3 중 적어도 하나; 또는 (ii) 서열번호 2512, 2514, 2516, 2522, 2524, 및 2526 중 적어도 하나를 포함하지 않을 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) A005에 함유된 CDRH1 및 CDRH2 중 적어도 하나; 또는 (ii) 서열번호 2512 및 2514 중 적어도 하나를 포함하지 않을 수 있다.
- [0018] 소정의 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은: (A) 전술한 바와 같은, 상기 CDRH1, 상기 CDRH2, 및 상기 CDRH3을 포함하는 VH 폴리펩티드; 및/또는 (B) 전술한 바와 같은, 상기 CDRL1, 상기 CDRL2, 및 상기 CDRL3을 포함하는 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은: (A) 전술한 바와 같은, 상기 CDRH1, 상기 CDRH2, 및 상기 CDRH3을 포함하는 VH 폴리펩티드; 및 (B) 전술한 바와 같은, 상기 CDRL1, 상기 CDRL2, 및 상기 CDRL3을 포함하는 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다.
- [0019] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V002에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는 (ii) 서열번호 212를 포함하는 CDRH1, 서열번호 214를 포함하는 CDRH2, 서열번호 216을 포함하는 CDRH3, 서열번호 222를 포함하는 CDRL1, 서열번호 224를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 226을 포함하는 CDRL3을 포함할 수 있다.
- [0020] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V003에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는 (ii) 서열번호 312를 포함하는 CDRH1, 서열번호 314를 포함하는 CDRH2, 서열번호 316을 포함하는 CDRH3, 서열번호 322를 포함하는 CDRL1, 서열번호 324를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 326을 포함하는 CDRL3을 포함할 수 있다.
- [0021] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V004에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는 (ii) 서열번호 412를 포함하는 CDRH1, 서열번호 414를 포함하는 CDRH2, 서열번호 416을 포함하는 CDRH3, 서열번호 422를 포함하는 CDRL1, 서열번호 424를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 426을 포함하는 CDRL3을 포함할 수 있다.
- [0022] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V005에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는 (ii) 서열번호 512를 포함하는 CDRH1, 서열번호 514를 포함하는 CDRH2, 서열번호 516을 포함하는 CDRH3, 서열번호 522를 포함하는 CDRL1, 서열번호 524를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 526을 포함하는 CDRL3을 포함할 수 있다.
- [0023] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V006에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는 (ii) 서열번호 612를 포함하는 CDRH1, 서열번호 614를 포함하는 CDRH2, 서열번호 616을 포함하는 CDRH3, 서열번호 622를 포함하는 CDRL1, 서열번호 624를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 626을 포함하는 CDRL3을 포함할 수 있다.
- [0024] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V007에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는 (ii) 서열번호 712를 포함하는 CDRH1, 서열번호 714를 포함하는 CDRH2, 서열번호 716을 포함하는 CDRH3, 서열번호 722를 포함하는 CDRL1, 서열번호 724를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 726을 포함하는 CDRL3을 포함할 수 있다.
- [0025] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V008에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는 (ii) 서열번호 812를 포함하는 CDRH1, 서열번호 814를 포함하는 CDRH2, 서열번호 816을 포함하는 CDRH3, 서열번호 822를 포함하는 CDRL1, 서열번호 824를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 826을 포함하는 CDRL3을 포함할 수 있다.
- [0026] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V009에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는 (ii) 서열번호 912를 포함하는 CDRH1, 서열번호 914를 포함하는 CDRH2, 서열번호 916을 포함하는 CDRH3, 서열번호 922를 포함하는 CDRL1, 서열번호 924를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 926을 포함하는 CDRL3을 포함할 수 있다.
- [0027] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V010에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3,

CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는 (ii) 서열번호 1012를 포함하는 CDRH1, 서열번호 1014를 포함하는 CDRH2, 서열번호 1016을 포함하는 CDRH3, 서열번호 1022를 포함하는 CDRL1, 서열번호 1024를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 1026을 포함하는 CDRL3을 포함할 수 있다.

[0028] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V011에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는 (ii) 서열번호 1112를 포함하는 CDRH1, 서열번호 1114를 포함하는 CDRH2, 서열번호 1116을 포함하는 CDRH3, 서열번호 1122를 포함하는 CDRL1, 서열번호 1124를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 1126을 포함하는 CDRL3을 포함할 수 있다.

[0029] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V012에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는 (ii) 서열번호 1212를 포함하는 CDRH1, 서열번호 1214를 포함하는 CDRH2, 서열번호 1216을 포함하는 CDRH3, 서열번호 1222를 포함하는 CDRL1, 서열번호 1224를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 1226을 포함하는 CDRL3을 포함할 수 있다.

[0030] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V013에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는 (ii) 서열번호 1312를 포함하는 CDRH1, 서열번호 1314를 포함하는 CDRH2, 서열번호 1316을 포함하는 CDRH3, 서열번호 1322를 포함하는 CDRL1, 서열번호 1324를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 1326을 포함하는 CDRL3을 포함할 수 있다.

[0031] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V014에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는 (ii) 서열번호 1412를 포함하는 CDRH1, 서열번호 1414를 포함하는 CDRH2, 서열번호 1416을 포함하는 CDRH3, 서열번호 1422를 포함하는 CDRL1, 서열번호 1424를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 1426을 포함하는 CDRL3을 포함할 수 있다.

[0032] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V015에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는 (ii) 서열번호 1512를 포함하는 CDRH1, 서열번호 1514를 포함하는 CDRH2, 서열번호 1516을 포함하는 CDRH3, 서열번호 1522를 포함하는 CDRL1, 서열번호 1524를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 1526을 포함하는 CDRL3을 포함할 수 있다.

[0033] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V016에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는 (ii) 서열번호 1612를 포함하는 CDRH1, 서열번호 1614를 포함하는 CDRH2, 서열번호 1616을 포함하는 CDRH3, 서열번호 1622를 포함하는 CDRL1, 서열번호 1624를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 1626을 포함하는 CDRL3을 포함할 수 있다.

[0034] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V017에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는 (ii) 서열번호 1712를 포함하는 CDRH1, 서열번호 1714를 포함하는 CDRH2, 서열번호 1716을 포함하는 CDRH3, 서열번호 1722를 포함하는 CDRL1, 서열번호 1724를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 1726을 포함하는 CDRL3을 포함할 수 있다.

[0035] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V018에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는 (ii) 서열번호 1812를 포함하는 CDRH1, 서열번호 1814를 포함하는 CDRH2, 서열번호 1816을 포함하는 CDRH3, 서열번호 1822를 포함하는 CDRL1, 서열번호 1824를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 1826을 포함하는 CDRL3을 포함할 수 있다.

[0036] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V019에 함유된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDR-L3; 또는 (ii) 서열번호 1912를 포함하는 CDRH1, 서열번호 1914를 포함하는 CDRH2, 서열번호 1916을 포함하는 CDRH3, 서열번호 1922를 포함하는 CDRL1, 서열번호 1924를 포함하는 CDRL2, 및 서열번호 1926을 포함하는 CDRL3을 포함할 수 있다.

[0037] 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은: (A) VH 폴리펩티드로서 (a) VH 프레임워크 영역 1(FRH1)이되: (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 FRH1; (ii) 서열번호 210, 310, 410, 510, 610, 710, 810, 910, 1010, 1110, 1210, 1310, 1410, 1510, 1610, 1710, 1810, 1910, 2110, 2210, 2310, 2410, 및 2510 중 어느 하나에 함유된 FRH1; 및/또는 (iii) 서열번호 111, 211, 311, 411, 511, 611, 711, 811, 911, 1011, 1111, 1211, 1311, 1411, 1511, 1611, 1711, 1811, 1911, 2111, 2211, 2311, 2411, 및 2511 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, VH 프레임워크 영역 1(FRH1); (b) VH 프레임워크 영역 2(FRH2)이되: (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 FRH2; (ii) 서열번호 210, 310, 410, 510, 610, 710, 810, 910, 1010, 1110, 1210, 1310, 1410, 1510, 1610, 1710, 1810, 1910, 2110, 2210, 2310, 2410, 및

2510 중 어느 하나에 함유된 FRH2; (iii) WVRQAPGQRLEWX₁₈G(서열번호 113)(식 중, X₁₈은 M 또는 I임); 및/또는 (iv) 서열번호 213, 313, 413, 513, 613, 713, 813, 913, 1013, 1113, 1213, 1313, 1413, 1513, 1613, 1713, 1813, 1913, 2113, 2213, 2313, 2413, 및 2513 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는. VH 프레임워크 영역 2(FRH2); (c) VH 프레임워크 영역 3(FRH3)이되: (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 FRH3; (ii) 서열번호 210, 310, 410, 510, 610, 710, 810, 910, 1010, 1110, 1210, 1310, 1410, 1510, 1610, 1710, 1810, 1910, 2110, 2210, 2310, 2410, 및 2510 중 어느 하나에 함유된 FRH3; 및/또는 (iii) 서열번호 115, 215, 315, 415, 515, 615, 715, 815, 915, 1015, 1115, 1215, 1315, 1415, 1515, 1615, 1715, 1815, 1915, 2115, 2215, 2315, 2415, 및 2515 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는. VH 프레임워크 영역 3(FRH3); 및/또는 (d) VH 프레임워크 영역 4(FRH4)이되: (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 FRH4; (ii) 서열번호 210, 310, 410, 510, 610, 710, 810, 910, 1010, 1110, 1210, 1310, 1410, 1510, 1610, 1710, 1810, 1910, 2110, 2210, 2310, 2410, 및 2510 중 어느 하나에 함유된 FRH4; 및/또는 (iii) 서열번호 117, 217, 317, 417, 517, 617, 717, 817, 917, 1017, 1117, 1217, 1317, 1417, 1517, 1617, 1717, 1817, 1917, 2117, 2217, 2317, 2417, 및 2517 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는. VH 프레임워크 영역 4(FRH4)를 포함할 수 있는, VH 폴리펩티드; 및/또는 (B) VL 폴리펩티드로서: (a) VL 프레임워크 영역 1(FRL1)이 되: (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 FRL1; (ii) 서열번호 220, 320, 420, 520, 620, 720, 820, 920, 1020, 1120, 1220, 1320, 1420, 1520, 1620, 1720, 1820, 1920, 2120, 2220, 2320, 2420, 및 2520 중 어느 하나에 함유된 FRL1; (iii) DIVMX₁₉QSPDSLAVSLGERATINC(서열번호 121)(식 중, X₁₉는 T 또는 S임); 및/또는 (iv) 서열번호 221, 321, 421, 521, 621, 721, 821, 921, 1021, 1121, 1221, 1321, 1421, 1521, 1621, 1721, 1821, 1921, 2121, 2221, 2321, 2421, 및 2521 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는. VL 프레임워크 영역 1(FRL1); (b) VL 프레임워크 영역 2(FRL2)이되: (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 FRL2; (ii) 서열번호 220, 320, 420, 520, 620, 720, 820, 920, 1020, 1120, 1220, 1320, 1420, 1520, 1620, 1720, 1820, 1920, 2120, 2220, 2320, 2420, 및 2520 중 어느 하나에 함유된 FRL2; 및/또는 (iii) 서열번호 NOS: 123, 223, 323, 423, 523, 623, 723, 823, 923, 1023, 1123, 1223, 1323, 1423, 1523, 1623, 1723, 1823, 1923, 2123, 2223, 2323, 2423, 및 2523 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는. VL 프레임워크 영역 2(FRL2); (c) VL 프레임워크 영역 3(FRL3)이되: (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 FRL3; (ii) 서열번호 220, 320, 420, 520, 620, 720, 820, 920, 1020, 1120, 1220, 1320, 1420, 1520, 1620, 1720, 1820, 1920, 2120, 2220, 2320, 2420, 및 2520 중 어느 하나에 함유된 FRL3; 및/또는 (iii) 서열번호 125, 225, 325, 425, 525, 625, 725, 825, 925, 1025, 1125, 1225, 1325, 1425, 1525, 1625, 1725, 1825, 1925, 2125, 2225, 2325, 2425, 및 2525 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는. VL 프레임워크 영역 3(FRL3); 및/또는 (d) VL 프레임워크 영역 4(FRL4)이되: (i) 항체 번호 V002-V019 및 A001-A005 중 어느 하나에 함유된 FRL4; (ii) 서열번호 220, 320, 420, 520, 620, 720, 820, 920, 1020, 1120, 1220, 1320, 1420, 1520, 1620, 1720, 1820, 1920, 2120, 2220, 2320, 2420, 및 2520 중 어느 하나에 함유된 FRL4; 및/또는 (iii) 서열번호 127, 227, 327, 427, 527, 627, 727, 827, 927, 1027, 1127, 1227, 1327, 1427, 1527, 1627, 1727, 1827, 1927, 2127, 2227, 2327, 2427, 및 2527 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는. VL 프레임워크 영역 4(FRL4)을 포함할 수 있거나, 항체 또는 항원 결합 단편은 전술한 VH 및 VL 프레임워크 영역의 임의의 조합을 포함하는 VH 및/또는 VL을 포함할 수 있다.

[0038] 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은: (i) 항체 번호 A001, V002-V007, A003-A005, 및 V014-V019에 함유된 FRH1, FRH2, FRH3, FLRH4, FRL1, FRL2, FRL3, 및 FRL4; 및/또는 (ii) 서열번호 111, 211, 311, 411, 511, 611, 711, 1411, 1511, 1611, 1711, 1811, 1911, 2111, 2311, 2411, 및 2511 중 어느 하나를 포함하는 FR-H1, 서열번호 213, 313, 413, 513, 613, 713, 1413, 1513, 1613, 1713, 1813, 1913, 2113, 2313, 2413, 및 2513 중 어느 하나를 포함하는 FR-H2, 서열번호 115, 215, 315, 415, 515, 615, 715, 1415, 1515, 1615, 1715, 1815, 1915, 2115, 2315, 2415, 및 2515 중 어느 하나를 포함하는 FR-H3, 서열번호 117, 217, 317, 417, 517, 617, 717, 1417, 1517, 1617, 1717, 1817, 1917, 2117, 2317, 2417, 및 2517 중 어느 하나를 포함하는 FR-H4, 서열번호 221, 321, 421, 521, 621, 721, 1421, 1521, 1621, 1721, 1821, 1921, 2121, 2321, 2421, 및 2521 중 어느 하나를 포함하는 FR-L1, 서열번호 123, 223, 323, 423, 523, 623, 723, 1423, 1523, 1623, 1723, 1823, 1923, 2123, 2323, 2423, 및 2523 중 어느 하나를 포함하는 FR-L2, 서열번호 125, 225, 325, 425, 525, 625, 725, 1425, 1525, 1625, 1725, 1825, 1925, 2125, 2325, 2425, 및 2525 중 어느 하나를 포함하는 FR-L3, 서열번호 127, 227, 327, 427, 527, 627, 727, 1427, 1527, 1627, 1727, 1827, 1927, 2127, 2327, 2427, 및 2527 중 어느 하나를 포함하는 FR-L4를 포함할 수 있다.

- [0039] 소정의 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 A002 및 V008-V013에 함유된 FRH1, FRH2, FRH3, FLRH4, FRL1, FRL2, FRL3, 및 FRL4; 및/또는 (ii) 서열번호 111, 811, 911, 1011, 1111, 1211, 1311, 및 2211 중 어느 하나를 포함하는 FR-H1, 서열번호 813, 913, 1013, 1113, 1213, 1313, 및 2213 중 어느 하나를 포함하는 FR-H2, 서열번호 115, 815, 915, 1015, 1115, 1215, 1315, 및 2215 중 어느 하나를 포함하는 FR-H3, 서열번호 117, 817, 917, 1017, 1117, 1217, 1317, 및 2217 중 어느 하나를 포함하는 FR-H4, 서열번호 821, 921, 1021, 1121, 1221, 1321, 및 2221 중 어느 하나를 포함하는 FR-L1, 서열번호 123, 823, 923, 1023, 1123, 1223, 1323, 및 2223 중 어느 하나를 포함하는 FR-L2, 서열번호 125, 825, 925, 1025, 1125, 1225, 1325, 및 2225 중 어느 하나를 포함하는 FR-L3, 서열번호 127, 827, 927, 1027, 1127, 1227, 1327, 및 2227 중 어느 하나를 포함하는 FR-L4를 포함할 수 있다.
- [0040] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V002에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는 (ii) 서열번호 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 및 227을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4를 포함할 수 있다.
- [0041] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V003에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는 (ii) 서열번호 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 및 327을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4를 포함할 수 있다.
- [0042] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V004에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는 (ii) 서열번호 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 및 427을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4를 포함할 수 있다.
- [0043] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V005에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는 (ii) 서열번호 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 및 527을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4를 포함할 수 있다.
- [0044] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V006에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는 (ii) 서열번호 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 621, 622, 623, 624, 625, 626, 및 627을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4를 포함할 수 있다.
- [0045] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V007에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는 (ii) 서열번호 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 및 727을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4를 포함할 수 있다.
- [0046] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V008에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는 (ii) 서열번호 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 및 827을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4를 포함할 수 있다.
- [0047] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V009에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는 (ii) 서열번호 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 및 927을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4를 포함할 수 있다.
- [0048] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V010에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는 (ii) 서열번호 1011, 1012, 1013, 1014, 1015, 1016, 1017, 1021, 1022, 1023, 1024, 1025, 1026, 및 1027을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4를 포함할 수 있다.

- [0049] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V011에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는 (ii) 서열번호 1111, 1112, 1113, 1114, 1115, 1116, 1117, 1121, 1122, 1123, 1124, 1125, 1126, 및 1127을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4를 포함할 수 있다.
- [0050] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V012에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는 (ii) 서열번호 1211, 1212, 1213, 1214, 1215, 1216, 1217, 1221, 1222, 1223, 1224, 1225, 1226, 및 1127을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4를 포함할 수 있다.
- [0051] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V013에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는 (ii) 서열번호 1311, 1312, 1313, 1314, 1315, 1316, 1317, 1321, 1322, 1323, 1324, 1325, 1326, 및 1327을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4를 포함할 수 있다.
- [0052] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V014에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는 (ii) 서열번호 1411, 1412, 1413, 1414, 1415, 1416, 1417, 1421, 1422, 1423, 1424, 1425, 1426, 및 1427을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4를 포함할 수 있다.
- [0053] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V015에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는 (ii) 서열번호 1511, 1512, 1513, 1514, 1515, 1516, 1517, 1521, 1522, 1523, 1524, 1525, 1526, 및 1527을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4를 포함할 수 있다.
- [0054] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V016에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는 (ii) 서열번호 1611, 1612, 1613, 1614, 1615, 1616, 1617, 1621, 1622, 1623, 1624, 1625, 1626, 및 1627을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4를 포함할 수 있다.
- [0055] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V017에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는 (ii) 서열번호 1711, 1712, 1713, 1714, 1715, 1716, 1717, 1721, 1722, 1723, 1724, 1725, 1726, 및 1727을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4를 포함할 수 있다.
- [0056] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V018에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는 (ii) 서열번호 1811, 1812, 1813, 1814, 1815, 1816, 1817, 1821, 1822, 1823, 1824, 1825, 1826, 및 1827을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4를 포함할 수 있다.
- [0057] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 V019에 함유된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4; 또는 (ii) 서열번호 1911, 1912, 1913, 1914, 1915, 1916, 1917, 1921, 1922, 1923, 1924, 1925, 1926, 및 1927을 각각 포함하는 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4를 포함할 수 있다.
- [0058] 일부 구현예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 표 1A에 열거된 것들 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열, 또는 이에 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도

- [0077] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 210 및 220의 아미노산 서열을 각각 포함하는 VH 폴리펩티드 및 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 310 및 320의 아미노산 서열을 각각 포함하는 VH 폴리펩티드 및 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 410 및 420의 아미노산 서열을 각각 포함하는 VH 폴리펩티드 및 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 510 및 520의 아미노산 서열을 각각 포함하는 VH 폴리펩티드 및 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 610 및 620의 아미노산 서열을 각각 포함하는 VH 폴리펩티드 및 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 710 및 720의 아미노산 서열을 각각 포함하는 VH 폴리펩티드 및 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 810 및 820의 아미노산 서열을 각각 포함하는 VH 폴리펩티드 및 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 910 및 920의 아미노산 서열을 각각 포함하는 VH 폴리펩티드 및 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 1010 및 1020의 아미노산 서열을 각각 포함하는 VH 폴리펩티드 및 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 1110 및 1120의 아미노산 서열을 각각 포함하는 VH 폴리펩티드 및 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 1210 및 1220의 아미노산 서열을 각각 포함하는 VH 폴리펩티드 및 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 1310 및 1320의 아미노산 서열을 각각 포함하는 VH 폴리펩티드 및 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 1410 및 1420의 아미노산 서열을 각각 포함하는 VH 폴리펩티드 및 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 1510 및 1520의 아미노산 서열을 각각 포함하는 VH 폴리펩티드 및 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 1610 및 1620의 아미노산 서열을 각각 포함하는 VH 폴리펩티드 및 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 1710 및 1720의 아미노산 서열을 각각 포함하는 VH 폴리펩티드 및 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 1810 및 1820의 아미노산 서열을 각각 포함하는 VH 폴리펩티드 및 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 1910 및 1920의 아미노산 서열을 각각 포함하는 VH 폴리펩티드 및 VL 폴리펩티드를 포함할 수 있다.
- [0078] 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 항체 불변 영역, CH1 도메인, 힌지, CH2 도메인, 및/또는 CH3 도메인 중 하나 이상을 포함할 수 있으며, 이는 선택적으로, 개별적으로 IgG 또는 인간 IgG이거나 이로부터 유래되고, 이에 더하여, 선택적으로, 인간 IgG1, IgG4, IgG2, 또는 IgG3이거나 이로부터 유래된다.
- [0079] 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 선택적으로, 인간 IgG1, IgG4, IgG2, 또는 IgG3의 결정화 단편(Fc) 영역, 또는 이로부터 유래된 결정화 단편(Fc) 영역을 포함할 수 있다.
- [0080] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편이 인간 IgG1의, 또는 이로부터 유래된 항체 불변 영역, 불변 도메인, 및/또는 Fc 영역 중 하나 이상을 포함하는 경우, 해당 항체 불변 영역, 불변 도메인, 및/또는 Fc 영역은 다음의 아미노산 변형 중 하나 이상을 포함할 수 있다: EU 넘버링에 따른, N297A, N297Q, D265A, L234A, L235A, C226S, C229S, P238S, E233P, L234V, G236-deleted, P238A, A327Q, A327G, P329A, K322A, L234F, L235E, P331S, T394D, A330L, P331S, F243L, R292P, Y300L, V305I, P396L, S239D, I332E, S298A, E333A, K334A, L234Y, L235Q, G236W, S239M, H268D, D270E, K326D, A330M, K334E, G236A, K326W, S239D, E333S, S267E, H268F, S324T, E345R, E430G, S440Y M428L, N434S, L328F, M252Y, S254T, T256E, 또는 이들의 임의의 조합.
- [0081] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편이 인간 IgG4의, 또는 이로부터 유래된 항체 불변 영역, 불변 도메인, 및/또는 Fc 영역 중 하나 이상을 포함하는 경우, 해당 항체 불변 영역, 불변 도메인, 및/또는 Fc 영역은 다음의 아미노산 변형 중 하나 이상을 포함할 수 있다: EU 넘버링에 따른, E233P, F234V, L235A, G237A, E318A, S228P, L236E, S241P, L248E, T394D, M252Y, S254T, T256E, N297A, N297Q, 또는 이들의 임의의 조합.
- [0082] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편이 인간 IgG2의, 또는 이로부터 유래된 항체 불변 영역, 불변 도메인, 및/또는 Fc 영역 중 하나 이상을 포함하는 경우, 해당 항체 불변 영역, 불변 도메인, 및/또는 Fc 영역은 다음의 아미노산 변형 중 하나 이상을 포함할 수 있다: EU 넘버링에 따른, P238S, V234A, G237A, H268A, H268Q, H268E, V309L, N297A, N297Q, A330S, P331S, C232S, C233S, M252Y, S254T, T256E, 또는 이들의 임의의

조합.

- [0083] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편이 인간 IgG3의, 또는 이로부터 유래된 항체 불변 영역, 불변 도메인, 및/또는 Fc 영역 중 하나 이상을 포함하는 경우, 해당 항체 불변 영역, 불변 도메인, 및/또는 Fc 영역은 EU 넘버링에 따른, E235Y를 포함할 수 있다.
- [0084] 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은 IgG, IgA, IgE, IgD, 또는 IgM, 선택적으로 IgG1, IgG4, IgG2, 또는 IgG3을 포함할 수 있다.
- [0085] 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 항체 단편을 포함할 수 있다: 단편, 항원-결합(Fab) 영역; Fab₂; Fab₃; Fab' 단편; F(ab')₂; 가변 단편(Fv); 단쇄 Fv(scFv) 단편; 디아바디; 트리아바디; 미니바디; scFv-Fc; scFv2-Fc2; scFv-IgG; 1가 IgG(또는 절반 IgG); 및/또는 상기 VH 폴리펩티드 및/또는 상기 VL 폴리펩티드를 포함하는 항원 결합 영역, 막관통 도메인, 및 적어도 하나의 세포 내 신호 전달 도메인(선택적으로 T 세포 수용체로부터 유도됨, 추가 선택적으로 CD3ζ)을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR).
- [0086] 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 (i) 인간 CD3, (ii) 비인간 영장류 CD3, 선택적으로 원숭이, 추가 선택적으로 시노물구스 및/또는 붉은털 원숭이 CD3, 및/또는 (iii) 설치류 CD3, 선택적으로 마우스 CD3에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 CD3εδ에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 적어도 (a) 상기 VH 폴리펩티드 및/또는 상기 VL 폴리펩티드를 포함하는, CD3에 특이적인 제1 항원 결합 영역, 및 (b) 제2 항원 결합 영역을 갖는 다중특이적(예를 들어, 이중특이적, 삼중특이적, 사중특이적 등) 항체 또는 항체 단편을 포함하거나 이에 포함될 수 있다. 특정 구현예에서, 다중특이적 항체 또는 항체 단편은 하나 이상의 scFv를 포함하거나 함유할 수 있다.
- [0087] 특정 구현예에서, 제2 항원 결합 영역은, 종양 표적; 암 세포 상에서 발현되는 표적 분자; 면역-종양 표적; 면역 세포 상에서 발현되는 표적 분자; 신경퇴행성 질환 표적; 자가면역 장애 표적(선택적으로 자가 반응성 면역 분자 또는 자가 반응성 면역 분자를 발현하는 면역 세포 상에서 발현되는 표적 분자); 감염성 질환 표적; 염증성 질환 표적(선택적으로 염증성 사이토카인 또는 케모카인 또는 이의 수용체); 감염성 질환 표적(선택적으로 바이러스, 박테리아, 또는 진균의 표적 분자); 감염된 세포(선택적으로 바이러스, 박테리아 또는 진균으로 감염됨) 상에서 발현되는 표적 분자; 대사 질환 표적; 인지 장애 표적; 혈액-뇌 장벽 표적; 또는 혈액 질환 표적에 특이적이거나 이에 특이적으로 결합한다.
- [0088] 특정 구현예에서, 제2 항원 결합 영역은 다음 중 하나 이상에 특이적이거나 이에 특이적으로 결합한다: 17-IA, 4-1BB, 4Dc, 6- 케토-PGF1a, 8-이소-PGF2a, 8-옥소-dG, A1 아데노신 수용체, A33, ACE, ACE-2, 액티빈, 액티빈 A, 액티빈 AB, 액티빈 B, 액티빈 C, 액티빈 RIA, 액티빈 RIA ALK-2, 액티빈 RIB ALK-4, 액티빈 RIIA, 액티빈 RUB, ADAM, ADAM10, ADAM12, ADAM 15, ADAM 17/T ACE, ADAM8, ADAM9, ADAMTS, ADAMTS4, ADAMTS5, 어드레신(Addressin), aFGF, ALCAM, ALK, ALK-1, ALK-7, 알파-1-항트립신, 알파-V/베타-1 길항제, ANG, Ang, APAF-1, APE, APJ, APP, APRIL, AR, ARC, ART, 아르테민, 항-Id, ASPARTIC, 심방 나트륨 이뇨 인자, av/b3 인테그린, Ax1, b2M, B7-1, B7-2, B7-H, B-림프구 자극제(BlyS), BACE, BACE-1, Bad, BAFF, BAFF-R, Bag-1, BAK, Bax, BCA-1, BCAM, Bel, BCMA, BDNF, b-ECGF, bFGF, BID, Bik, BFM, BLC, BL-CAM, BLK, BMP, BMP-2 BMP-2a, BMP-3 오스테오게닌(Osteogenin), BMP-4 BMP-2b, BMP-5, BMP-6 Vgr-1, BMP-7 (OP-1), BMP-8(BMP-8a, OP-2), BMPR, BMPR-IA(ALK-3), BMPR-IB(ALK-6), BRK-2, RPK-1, BMPR-II(BRK-3), BMPs, b- NGF, BOK, 본베신(Bombesin), 뼈-유래 신경영양인자, BPDE, BPDE-DNA, BTC, 상보적 인자 3(C3), C3a, C4, C5, C5a, C10, CA125, CAD-8, 칼시토닌(Calcitonin), cAMP, 암배아 항원(CEA), 암종-연관 항원, 카텝신 A, 카텝신 B, 카텝신 C/DPPI, 카텝신 D, 카텝신 E, 카텝신 H, 카텝신 L, 카텝신 O, 카텝신 S, 카텝신 V, 카텝신 X/Z/P, CBL, CCI, CCK2, CCL, CCL1, CCL11, CCL12, CCL13, CCL 14, CCL15, CCL16, CCL1 7, CCL18, CCL19, CCL2, CCL20, CCL21, CCL22, CCL23, CCL24, CCL25, CCL26, CCL27, CCL28, CCL3, CCL4, CCL5, CCL6, CCL7, CCL8, CCL9/10, CCR, CCR1, CCR10, CCR10, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CD1, CD2, CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD10, CD11a, CD11b, CD11c, CD13, CD14, CD15, CD16, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD25, CD27L, CD28, CD29, CD30, CD30L, CD32, CD33 (p67 단백질), CD34, CD38, CD40, CD40L, CD44, CD45, CD46, CD49a, CD52, CD54, CD55, CD56, CD61, CD64, CD66e, CD74, CD80 (B7-1), CD89, CD95, CD123, CD137, CD138, CD140a, CD146, CD147, CD148, CD152, CD164, CEACAM5, CFTR, cGMP, CINC, 클로스트리디움 보툴리눔(Clostridium botulinum) 독소, 클로스트리디움 퍼프린젠스(Clostridium perfringens) 독소, CKb8-1, CLC, CMV, CMV UL, CNTF, CNTN-1, COX, C-Ret, CRG-2, CT-1, CTACK, CTGF, CTLA-4, CX3CL1, CX3CR1, CXCL, CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL4, CXCL5,

CXCL6, CXCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CXCL14, CXCL15, CXCL16, CXCR, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, CXCR6, 사이토케라틴 종양-연관 항원, DAN, DCC, DcR3, DC-SIGN, 쇠약 가속 인자, des(1-3)-IGF-I(뇌 IGF-1), Dhh, 디곡신, DNAM-1, Dnase, Dpp, DPPIV/CD26, Dtk, ECAD, EDA, EDA-A1, EDA-A2, EDAR, EGF, EGFR (ErbB-1), EMA, EMMPRIN, EN A, 엔도텔린 수용체, 엔케팔리나아제, eNOS, Eot, 에오타신, EpCAM, 에프린 B2/ EphB4, EPO, ERCC, E-셀렉틴, ET-1, 인자 Ila, 인자 VII, 인자 VIIIc, 인자 IX, 섬유아세포 활성화 단백질(FAP), Fas, FcR1, FEN-1, 페리틴(Ferritin), FGF, FGF-19, FGF-2, FGF3, FGF-8, FGFR, FGFR-3, 피브린(Fibrin), FL, FLIP, Flt-3, Flt-4, 난포 자극 호르몬, 프락탈킨(Fractalkine), FZD1, FZD2, FZD3, FZD4, FZD5, FZD6, FZD7, FZD8, FZD9, FZD10, G250, Gas 6, GCP-2, GCSF, GD2, GD3, GDF, GDF-1, GDF-3(Vgr-2), GDF-5(BMP-14, CDMP- 1), GDF-6(BMP-13, CDMP-2), GDF-7(BMP-12, CDMP-3), GDF-8(미오스타틴(Myostatin)), GDF-9, GDF- 15(MIC-1), GDNF, GFAP, GFRa-1, GFR-알파1, GFR-알파2, GFR-알파3, GITSR, 글루카곤(Glucagon), Glut 4, 당단백질 I1b/IIIa(GP I1b/IIIa), GM-CSF, gp130, gp72, GRO, 성장 호르몬 방출 인자, 합텐(Hapten)(NP-cap 또는 NIP-cap), HB-EGF, HCC, HCMV gB 포장 당단백질, HCMV) gH 포장 당단백질, HCMV UL, 조혈 성장 인자(HGF), Hep B gp120, 헤파라나제, Her2, Her2/neu(ErbB-2), Her3(ErbB-3), Her4(ErbB-4), 단순 포진 바이러스(HSV) gB 당단백질, HSV gD 당단백질, HGFA, 고분자량 흑색종 연관 항원(HMW-MAA), HIV gp120, HIV IIIB gp 120 V3 루프, HLA, HLA-DR, HM1.24, HMFG PEM, HRG, HrK, 인간 심장 미오신, 인간 거대세포바이러스(HCMV), 인간 성장 호르몬(HGH), HVEM, 1-309, IAP, ICAM, ICAM-1, ICAM-3, ICE, ICOS, IFNg, Ig, IgA 수용체, IgE, IGF, IGF 결합 단백질, IGF-1R, IGFBP, IGF-I, IGF-II, IL, IL-1, IL-1R, IL-2, IL-2R, IL-4, IL-4R, IL-5, IL-5R, IL-6, IL-6R, IL-8, IL- 9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-18, IL-18R, IL-23, 인터페론(INF)-알파, INF-베타, INF-감마, 인히빈, iNOS, 인슐린 A-사슬, 인슐린 B-사슬, 인슐린-유사 성장 인자 1, 인테그린 알파2, 인테그린 알파3, 인테그린 알파4, 인테그린 알파4/베타1, 인테그린 알파4/베타7, 인테그린 알파5(알파V), 인테그린 알파5/베타1, 인테그린 알파5/베타3, 인테그린 알파6, 인테그린 베타1, 인테그린 베타2, 인테그린 감마, IP- 10, 1-TAC, JE, 칼리크레인(Kallikrein) 2, 칼리크레인 5, 칼리크레인 6, , 칼리크레인 11, 칼리크레인 12, 칼리크레인 14, 칼리크레인 15, 칼리크레인 LI, 칼리크레인 L2, 칼리크레인 L3, 칼리크레인 L4, KC, KDR, 각질세포 성장 인자(KGF), 라미닌 5, LAMP, LAP, LAP (TGF-1), 잠재 TGF-1, 잠재 TGF-1 bp1, LBP, LDGF, LECT2, 레프티(Lefty), 루이스-Y 항원, 루이스-Y 관련 항원, LFA-1, LFA-3, Lfo, LIF, LIGHT, 지질단백질, LIX, LKN, Lptn, L-셀렉틴, LT-a, LT-b, LTB4, LTBP-1, 폐 계면활성제, 황체형성 호르몬, 림프톡신 베타 수용체, Mac-1, MacCAM, MAG, MAP2, MARC, MCAM, MCAM, MCK-2, MCP, M-CSF, MDC, Mer, 메탈로프로테아제, MGDF 수용체, MGMT, MHC (HLA-DR), MIF, MIG, MIP, MIP-1-알파, MK, MMAC1, MMP, MMP-1, MMP-10, MMP-11, MMP-12, MMP-13, MMP-14, MMP-15, MMP-2, MMP-24, MMP- 3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MPIF, Mpo, MSK, MSP, 뮤신(Muc1), MUC18, 뮐러리안(Muellerian)-억제 물질, Mug, MuSK, NAIP, NAP, NCAD, N-카드헤린, NCA 90, NCAM, NCAM, 네프릴리신, 뉴로트로핀-3,-4, 또는 -6, 뉴르틴, 신경 성장 인자(NGF), NGFR, NGF-베타, nNOS, NO, NOS, Npn, NRG-3, NT, NTN, OB, OGG1, OPG, OPN, OSM, OX40L, OX40R, p150, p95, PADPr, 부갑상선 호르몬, PARC, PARP, PBR, PBSF, PCAD, P-Cadherin, PCNA, PDGF, PDGF, PDK-1, PECAM, PEM, PF4, PGE, PGF, PGI2, PGJ2, PIN, PLA2, 태반 알칼리성 포스파타아제(PLAP), PIGF, PLP, PP14, 프로인슐린, 프로렐락신, 단백질 C, PS, PSA, PSCA, 전립선 특이적 막 항원(PSMA), PTEN, PTHrp, Ptk, PTN, R51, RANK, RANKL, RANTES, 릴렉신 A-사슬, 릴렉신 B-사슬, 수지, 호흡기 세포융합 바이러스(RSV) F, RSV Fgp, Ret, 류마티스 인자, RLIP76, RPA2, RSK, S100, SCF/KL, SDF-1, SERINE, 혈청 알부민, sFRP-3, Shh, SIGIRR, SK-1, SLAM, SLPI, SMAC, SMDF, SMOH, SOD, SPARC, Stat, STEAP, STEAP-II, TACE, TACI, TAG-72(종양-연관 당단백질-72), TARC, TCA-3, T-세포 수용체(예를 들어, T-세포 수용체 알파/베타), TdT, TECK, TEM1, TEM5, TEM7, TEM8, TERT, 고환 PLAP 유사 알칼리성 포스파타아제, TfR, TGF, TGF-알파, TGF-베타, TGF-베타 팬 특정(Pan Pacific), TGF-베타 RI(ALK-5), TGF-베타 RII, TGF-베타 R11b, TGF-베타 RIII, TGF-베타1, TGF-베타2, TGF-베타3, TGF-베타4, TGF-베타5, 트롬빈, 티무스 Ck-1, 갑상선 자극 호르몬, Tie, TIMP, TIQ, 조직 인자, TMEFF2, Tmpo, TMPRSS2, TNF, TNF-알파, TNF-알파 베타, TNF-베타2, TNFc, TNF-RI, TNF-RII, TNFRSF10A (TRAIL R1 Apo-2, DR4), TNFRSF10B(TRAIL R2 DR5, KILLER, TRICK-2A, TRICK-B), TNFRSF10C(TRAIL R3 DcR1, LIT, TRID), TNFRSF10D(TRAIL R4 DcR2, TRUND), TNFRSF11A(RANK ODF R, TRANCE R), TNFRSF11B(OPG OCIF, TR1), TNFRSF12(TWEAK R FN14), TNFRSF13B(TACI), TNFRSF13C(BAFF R), TNFRSF14(HVEM ATAR, HveA, LIGHT R, TR2), TNFRSF16(NGFR p75NTR), TNFRSF17(BCMA), TNFRSF 18(GITR AITR), TNFRSF19(TROY TAJ, TRADE), TNFRSF19L(RELT), TNFRSF1A(TNF RI CD120a, p55-60), TNFRSF1B(TNF RII CD120b, p75-80), TNFRSF26(TNFRH3), TNFRSF3(LTbR TNF RIII, TNFC R), TNFRSF4(OX40 ACT35, TXGP1 R), TNFRSF 5(CD40 p50), TNFRSF6(Fas Apo-1, APT1, CD95), TNFRSF6B(DcR3 M68, TR6), TNFRSF7(CD27), TNFRSF8(CD30), TNFRSF9(4-1BB CD137, ILA), TNFRSF21(DR6), TNFRSF22(DcTRAIL R2 TNFRH2), TNFRST23(DcTRAIL R1 TNFRH1), TNFRSF25(DR3 Apo-3, LARD, TR-3, TRAMP, WSL-1), TNFSF10(TRAIL Apo-2

리간드, TL2), TNFSF11(TRANCE/RANK 리간드 ODF, OPG 리간드), TNFSF12(TWEAK Apo-3 리간드, DR3 리간드), TNFSF13(APRIL TALL2), TNFSF13B(BAFF BLYS, TALL1, THANK, TNFSF20), TNFSF14(LIGHT HVEM 리간드, LTg), TNFSF15(TL1A/VEGI), TNFSF18(GITR 리간드 AITR 리간드, TL6), TNFSF1A(TNF-a 코넥틴, DIF, TNFSF2), TNFSF1B(TNF-b LTa, TNFSF1), TNFSF3(LTb TNFC, p33), TNFSF4(OX40 리간드 gp34, TXGP1), TNFSF5(CD40 리간드 CD154, gp39, HIGM1, IMD3, TRAP), TNFSF6(Fas 리간드 Apo-1 리간드, APT1 리간드), TNFSF7(CD27 리간드 CD70), TNFSF8(CD30 리간드 CD153), TNFSF9(4-1BB 리간드 CD137 리간드), TP-1, t-PA, Tpo, TRAIL, TRAIL R, TRAIL-R1, TRAIL-R2, TRANCE, 전달 수용체, TRF, Trk, TROP-2, TSG, TSLP, 종양 연관 항원 CA 125, 루이스 Y 연관 탄수화물을 발현하는 종양 연관 항원, TWEAK, TXB2, Ung, uPAR, uPAR-1, Urokinase, VCAM, VCAM-1, VECAD, VE-카드헤린, VE-카드헤린-2, VEGFR-1(flt-1), VEGF, VEGFR, VEGFR-3(flt-4), VEGI, VFM, 바이러스 항원, VLA, VLA-1, VLA-4, VNR α ; γ -테그린, 폰 빌레브란트(von Willebrands) 인자, WIF- 1, WNT1, WNT2, WNT2B/13, WNT3, WNT3A, WNT4, WNT5A, WNT5B, WNT6, WNT7A, WNT7B, WNT8A, WNT8B, WNT9A, WNT9A, WNT9B, WNT10A, WNT10B, WNT11, WNT16, XCL1, XCL2, XCR1, XCR1, XEDAR, XIAP, XPD, CTLA4(세포독성 T 림프구 항원-4), PD1(프로그래밍된 사포 사멸 단백질 1), PD-L1(프로그래밍된 사포 사멸 리간드 1), LAG-3(림프구 활성화 유전자-3), TIM-3(T 세포 면역글로불린 및 뮤신 단백질-3), 호르몬 수용체, 및 성장 인자.

[0089] 특정 구현예에서, 제2 항원-결합 영역은 다음 중 하나 이상에 특이적으로 결합한다: BCMA, CTLA4(세포독성 T 림프구 항원-4), PD1(세포예정사 단백질 1), PD-L1(세포예정사 리간드 1), LAG-3(림프구 활성화 유전자-3), TIM-3, CD20, CD2, CD19, Her2, EGFR, EpCAM, FcγRIIIa (CD16), FcγRIIIa (CD32a), FcγRIIIb (CD32b), FcγRI (CD64), 톨-유사 수용체(Toll-like receptor, TLR), TLR4, TLR9, 사이토카인, IL-2, IL-5, IL-13, IL-6, IL-17, IL-12, IL-23, TNF α , TGF β , 사이토카인 수용체, IL-2R, 케모카인, 케모카인 수용체, 성장 인자, VEGF, 및 HGF.

[0090] 특정 구현예에서, 다중특이적 항체 또는 항체 단편은 제3 항원 결합 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 다중특이적 항체 또는 항체 단편은 삼중특이적이다.

[0091] 특정 구현예에서, 다중특이적 항체 또는 항체 단편은, Fab-Fc-scFv, scFv2-Fc2, scFv-IgG, "병-오프너", Mab-scFv, Mab-Fv, 이중 scFv, 중앙 Fv, 중앙 scFv, 단일 아암 중앙 scFv, Fab-Fab, Fab-Fv, mAb-Fv, mAb-Fab, DART, BiTE, 공통 경쇄-IgG, TandAb, Cross-Mab, SEED, BEAT, TrioMab, 및 DuetMab으로 이루어진 군으로부터 선택되는 다중특이적 포맷을 포함한다.

[0092] 특정 구현예에서, 다중특이적 항체 또는 항체 단편은 다음 중 하나 이상을 포함한다: 적어도 하나의 CL κ -선호 변이체 CH1 도메인, 선택적으로 W02021067404에 기술된 CL κ -선호 변이체 CH1 도메인; 적어도 하나의 CL λ -선호 변이체 CH1 도메인, 선택적으로 W02021067404에 기술된 CL λ -선호 변이체 CH1 도메인; 서로 우선적으로 페어링되는 변이체 CH1 도메인 및 변이체 CL 도메인의 적어도 한 쌍, 선택적으로 W02022150787에 기술된 쌍; 및/또는 서로 우선적으로 페어링되는 변이체 CH3 도메인 및 또 다른 변이체 CL3 도메인의 적어도 한 쌍, 선택적으로 W02022150785에 기술된 쌍.

[0093] 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은, 선택적으로 이의 부모 항체에 비해, 선택적으로 항체 번호 A001, A002, A003, A004, 및/또는 A005 중 어느 하나 이상, 또는 이들 모두에 비해, 감소된 PCR 점수를 나타낼 수 있다.

[0094] 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 0.33 미만, 약 0.30 미만, 약 0.20 미만, 약 0.15 미만, 약 0.12 미만, 약 0.10 미만, 약 0.08 미만, 약 0.06 미만, 약 0.05 미만, 약 0.04 미만, 약 0.03 미만, 약 0.02 미만, 또는 약 0.01 미만의 PSR 점수를 나타낼 수 있다. 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 약 ≥ 0.10 내지 < 0.33 의 PSR 점수 또는 약 < 0.10 의 PSR 점수를 나타낼 수 있다.

[0095] 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 $< \text{약 } 10.5$ 분, $< \text{약 } 10.0$ 분, $< \text{약 } 9.5$ 분, $< \text{약 } 9.0$ 분, 또는 $< \text{약 } 8.5$ 분의 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC) 유지 시간을 나타낼 수 있다.

[0096] 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 A001-A005 중 어느 하나, 또는 하나 이상, 또는 모두에 비해 감소된 친화도-포획 자기-상호작용 나노입자 분광법(AC-SINS) $\Delta \lambda$ 최대; (ii) 약 20.0 nm 미만, 약 15.0 nm 미만, 약 12.0 nm 미만, 약 10.0 nm 미만, 약 8.0 nm 미만, 약 6.0 nm 미만, 약 5.0 nm 미만, 약 4.0 nm 미만, 약 3.0 nm 미만, 약 2.0 nm 미만, 또는 약 1.0 nm 미만의 AC-SINS $\Delta \lambda$ 최대; 및/또는 (iii) 약 ≥ 5.0 nm 및 < 20.0 의 AC-SINS $\Delta \lambda$ 최대 또는 약 < 5.0 nm의 AC-SINS $\Delta \lambda$ 최대를 나타낼 수 있다.

[0097] 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은: (i) 항체 번호 A001-A005 중 어느 하나, 또는 하나

이상, 또는 모두에 비해 더 높은 동적 광 산란(DLS) 확산 상호작용 파라미터(kD); (ii) 약 5 mL/g 이상, 약 10 mL/g 이상, 약 15 mL/g 이상, 약 20 mL/g 이상, 약 25 mL/g 이상, 약 30 mL/g 이상, 또는 약 35 mL/g 이상의 DLS kD; 및/또는 (iii) 약 10 mL/g 내지 약 40 mL/g, 약 15 mL/g 내지 약 40 mL/g, 또는 약 20 mL/g 내지 약 40 mL/g의 DLS kD를 나타낼 수 있다. 특정 구현예에서, DLS kD는 선택적으로 pH 6.0의 10 mM 히스티딘 완충액을 사용하여 측정된다.

[0098] 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은 다음을 포함할 수 있다: (i) 약 65°C 이상의 용융 온도 (T_m); 또는 (ii) 약 70°C 이상, 약 75°C 이상, 약 80°C 이상의 T_m ; 및/또는 (iii) 약 70°C 내지 약 90°C, 약 75°C 내지 약 85°C의 T_m . 특정 구현예에서, 항-CD3 항원 결합 단편은 Fab일 수 있다.

[0099] 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은 유의하게 응집되거나 다량체화되지 않을 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은: (i) 크기 배제 크로마토그래피(SEC)로 측정 시, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 약 97% 이상, 약 98% 이상, 약 99% 이상의 단량체; 및/또는 (ii) SEC로 측정 시, 약 90% 내지 약 100%, 약 95% 내지 약 100%, 약 97% 내지 약 100%, 약 98% 내지 약 100%, 약 99% 내지 약 100%의 단량체%를 나타낼 수 있다. 특정 구현예에서, 항-CD3 항원 결합 단편은 Fab 또는 IgG, 선택적으로 IgG1일 수 있다.

[0100] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 산성 조건에서 또는 산성 스트레스에 노출될 경우, 선택적으로 약 6 이하, 약 5 이하, 약 4 이하, 또는 약 3.5 이하의 pH에서 유의하게 응집되거나 다량체화되지 않을 수 있다. 특정 구현예에서, 산성 조건에서의 응집 또는 다량체화는 전술하고 본원에 기술된 바와 같이 SEC에 의해 평가될 수 있다.

[0101] 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은, 선택적으로 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편이 재조합적으로, 추가 선택적으로 포유류 세포에서, 보다 더 추가 선택적으로 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포에서 생산될 경우, 선택적으로, 액체 크로마토그래피-질량 분광분석법(LC-MS)에 의해, 측정된 쌍을 이루지 않은 중쇄의 피크 및/또는 쌍을 이루지 않은 경쇄의 피크의 부재에 의해 결정 시, 상당한 양의 중쇄 미스페어링을 나타내지 않을 수 있다.

[0102] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은 CD3-발현 세포에 결합할 수 있으며, 여기에서, 선택적으로, CD3-발현 세포는: (i) T 세포; (ii) 인간 세포, 비인간 영장류(선택적으로 원숭이, 추가 선택적으로 시노물구스 및/또는 붉은털 원숭이) 세포, 및/또는 설치류(선택적으로 마우스) 세포; 및/또는 (iii) 일차 세포 또는 세포주 세포이다.

[0103] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은: (i) 약 1.0×10^6 M 이하, 약 5.0×10^7 M 이하, 약 1.0×10^7 M 이하, 약 5.0×10^8 M 이하, 약 1.0×10^8 M 이하, 약 5.0×10^9 M 이하, 약 1.0×10^9 M 이하, 약 5.0×10^{10} M 이하, 또는 약 1.0×10^{10} M 이하의 평형 해리 상수(Kd); (ii) 약 1.0×10^6 M 내지 약 1.0×10^{11} M, 약 1.0×10^7 M 내지 약 1.0×10^{11} M, 또는 약 1.0×10^8 M 내지 약 1.0×10^{10} M의 평형 해리 상수(Kd)로 CD3에 결합할 수 있다. 일부 경우, 이러한 결합은 표면 플라즈몬 공명(SPR)에 의해, 선택적으로 BIACORE® 시스템을 사용하여 측정되거나, 바이오층 간섭계(BLI)에 의해, 추가 선택적으로 Octet® 시스템을 사용하여 측정될 수 있다. 일부 경우, CD3은 인간, 비인간 영장류(선택적으로 원숭이, 추가 선택적으로 시노물구스 및/또는 붉은털 원숭이), 및/또는 설치류(선택적으로 마우스) CD3이다.

[0104] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은, 세포 상의 CD3에 결합할 때, 세포, 선택적으로 T 세포의 세포독성 기능(들)의 활성화를 유도하고/하거나 이를 향상시킬 수 있다.

[0105] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 세포 상의 CD3에 결합할 때, 세포에 의한 사이토카인 생성을 사이토카인 방출 증후군(CRS)을 유도할 수 있는 수준까지는 유도하지 않을 수 있다.

[0106] 특정 구현예에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 적어도 (a) 상기 VH 폴리펩티드 및/또는 상기 VL 폴리펩티드를 포함하는, CD3에 특이적인 제1 항원 결합 영역, 및 (b) 제2 항원에 특이적인 제2 항원 결합 영역을 갖는 다중특이적 항체 또는 항체 단편을 포함하거나 이에 포함될 수 있으며; (i) 제1 세포, 선택적으로 T 세포 상의 CD3, 및 (ii) 제2 세포 상에서 발현된 제2 항원에 결합할 때, 제1 세포는 제2 세포에 대한 세포독성을 나타낸다.

[0107] 본 개시의 일 양태는 핵산(예를 들어, 하나 이상의 핵산)을 제공한다.

[0108] 일부 구현예에서, 핵산(예를 들어, 핵산 또는 2개 이상의 핵산의 조합과 같은, 하나 이상의 단리된 또는 재조합

핵산)이 제공되며, 이는 본원에 기술된 구현예 중 어느 하나에 따른 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편 중 어느 하나를 암호화할 수 있다. 이러한 핵산은, 예를 들어, 세포에 대한 전달 및 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편 상에서의 발현을 위한 mRNA를 포함할 수 있다.

[0109] 일부 구현예에서, 상기 핵산은 (A) 서열번호 250, 350, 450, 550, 650, 750, 850, 950, 1050, 1150, 1250, 1350, 1450, 1550, 1650, 1750, 1850, 또는 1950, 또는 전술한 것 중 어느 하나의 mRNA 버전과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 VH 폴리펩티드 암호화 핵산 서열; 및/또는 (B) 서열번호 260, 360, 460, 560, 660, 760, 860, 960, 1060, 1160, 12560, 1360, 1460, 1560, 1660, 1760, 1860, 또는 1960, 또는 전술한 것 중 어느 하나의 mRNA 버전과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 VL 폴리펩티드 암호화 핵산 서열을 포함할 수 있다.

[0110] 특정 구현예에서, 상기 핵산은 각각 다음의 VH 폴리펩티드 암호화 핵산 서열 및 VL 폴리펩티드 암호화 핵산 서열을 포함할 수 있다: (I) 각각, 서열번호 250 및 260; (II) 각각, 서열번호 350 및 360; (III) 각각, 서열번호 450 및 460; (IV) 각각, 서열번호 550 및 560; (V) 각각, 서열번호 650 및 660; (VI) 각각, 서열번호 750 및 760; (VII) 각각, 서열번호 850 및 860; (VIII) 각각, 서열번호 950 및 960; (IX) 각각, 서열번호 1050 및 1060; (X) 각각, 서열번호 1150 및 1160; (XI) 각각, 서열번호 1250 및 1260; (XII) 각각, 서열번호 1350 및 1360; (XIII) 각각, 서열번호 1450 및 1460; (XIV) 각각, 서열번호 1550 및 1560; (XV) 각각, 서열번호 1650 및 1660; (XVI) 각각, 서열번호 1750 및 1760; (XVII) 각각, 서열번호 1850 및 1860; 또는 (XVIII) 각각, 서열번호 1950 및 1960; 또는 전술한 것 중 어느 하나의 mRNA 버전.

[0111] 본 개시의 다른 양태는 본 개시에 따른 핵산 중 어느 하나를 포함하는 벡터(예를 들어, 벡터 또는 2개 이상의 벡터의 조합과 같은 하나 이상의 벡터) 및/또는 작제물을 제공한다.

[0112] 특정 구현예에서, 벡터는 발현 벡터일 수 있다. 특정 구현예에서, 벡터는 플라스미드, 바이러스 벡터(선택적으로 아데노바이러스, 렌티바이러스, 또는 레트로바이러스), 지질 기반 벡터, 자가 복제 RNA 벡터, 바이러스 유사 입자, 중합체 기반 벡터, 및/또는 나노입자, 선택적으로 지질 기반 나노입자를 포함할 수 있다.

[0113] 본 개시의 다른 양태는 핵산 및/또는 벡터 및/또는 작제물 중 어느 하나를 포함하거나, 이로 형질감염되거나, 이로 형질전환되거나, 이로 형질도입된 세포를 제공한다.

[0114] 일부 구현예에서, 세포는 (i) 포유류 세포, 선택적으로 인간, 비인간 영장류, 원숭이, 토끼, 설치류, 햄스터, 랫트, 또는 마우스 세포 또는 효모 세포, 또는 (ii) 비포유류 세포, 선택적으로 식물, 박테리아, 진균, 효모, 원생동물, 또는 곤충 세포이다.

[0115] 특정 구현예에서, 단리된 또는 재조합 세포는 면역 세포 또는 하이브리도마이다.

[0116] 본 개시의 또 다른 양태는 다음을 포함하는 약학적 조성물을 제공한다: (i) 본원에 기술된 구현예 중 어느 하나에 따른 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편, 본원에 기술된 구현예 중 어느 하나에 따른 핵산, 본원에 기술된 구현예 중 어느 하나에 따른 벡터, 및/또는 본원에 기술된 구현예 중 어느 하나에 따른 항체 또는 항원 결합 단편을 선택적으로 포함하는 본원에 기술된 구현예 중 어느 하나에 따른 세포; 및 (ii) 약학적으로 허용가능한 담체 및/또는 부형제.

[0117] 본 개시의 또 다른 양태는, 본원에 개시된 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편 또는 이를 암호화하는 핵산 또는 본원에 개시된 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편 또는 이를 암호화하는 핵산 중 어느 하나를 포함하고/하거나 발현시키는 세포 중 적어도 하나를 사용하는 생체 내 방법을 제공한다.

[0118] 일부 구현예에서, 방법은 이러한 치료를 필요로 하는 대상체를 치료하는 방법이다. 일부 구현예에서, 방법은 이러한 치료를 필요로 하는 대상체(예를 들어, 포유동물)에서 질환, 장애 또는 병태를 치료 또는 예방하는 방법이다. 이러한 방법 중 어느 하나에서, 특정 구현예에서, 방법은: (i) 본원에 기술된 구현예 중 어느 하나에 따른 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편; (ii) 본원에 기술된 구현예 중 어느 하나에 따른 핵산; (iii) 본원에 기술된 구현예 중 어느 하나에 따른 벡터; (iv) 본원에 기술된 구현예 중 어느 하나에 따른 단리된 세포 또는 재조합 세포(선택적으로, 면역 세포, T 세포, 및/또는 자연 살해(NK) 세포); 및/또는 (v) 본원에 기술된 구현예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함할 수 있다.

[0119] 일부 구현예에서, 방법은 관심 표적 분자를 발현하는 세포에 대해 세포독성을 유도하는 방법이다. 특정 구현예에서, 방법은: (i) 본원에 기술된 다중특이적 항체 또는 항체 단편 중 어느 하나; (ii) 이러한 다중특이적 항체

또는 항체 단편을 암호화하는 핵산; (iii) 이러한 핵산을 포함하는 벡터; (iv) 이러한 핵산 또는 벡터를 포함하거나, 이로 형질감염되거나, 이로 형질전환되거나, 이로 형질도입된 하나 이상의 단리된 또는 재조합 세포; 및/또는 (v) (A) 이러한 다중특이적 항체 또는 항체 단편, 이러한 핵산, 이러한 벡터, 이러한 하나 이상의 세포, 및 (B) 약학적으로 허용가능한 담체 및/또는 부형제를 포함하는 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다.

[0120] 전술한 방법 중 어느 하나의 특정 구현예에서, 대상체는, (i) 포유동물, 선택적으로 인간, 비인간 영장류, 원숭이, 말, 소, 양, 염소, 돼지, 개, 고양이, 토끼, 설치류, 햄스터, 랫트, 또는 마우스; 또는 (ii) 비포유류 척추동물, 선택적으로 조류, 어류, 양서류, 또는 파충류일 수 있다. 특정 구현예에서, 대상체는 질환, 장애 또는 병태를 포함하거나 이에 걸릴 위험을 가질 수 있다. 전술한 방법 중 어느 하나의 특정 구현예에서, 방법은 추가 제제(예를 들어, 본원에 기술된 것들 중 어느 하나), 선택적으로 보조제 또는 치료제를 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0121] 전술한 방법 중 어느 하나의 특정 구현예에서, 장애는, 증식성 장애, 종양학적 장애, 암 또는 신생물 병태, 면역-종양학적 장애, 신경 장애, 신경퇴행성 장애, 감염성 질환, 및 자가면역 장애, 자가면역 장애, 또는 다른 질환 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0122] 전술한 방법 중 어느 하나의 특정 구현예에서, 질환, 장애 또는 병태는 암을 포함할 수 있다.

[0123] 특정 구현예에서, 암은 고형 암일 수 있으며, 선택적으로, 다음 중 하나 이상으로부터 선택될 수 있다: 중피종, 악성 흉막 중피종, 비소세포 폐암, 소세포 폐암, 편평 세포 폐암, 대세포 폐암, 췌장암, 췌장관 선암종, 식도 선암종, 유방암, 교모세포종, 난소암, 대장암, 전립선암, 자궁경부암, 피부암, 흑색종, 신장암, 간암, 뇌암, 흉선종, 육종, 암종, 자궁암, 신장암, 위장관암, 요로상피암, 인두암, 두경부암, 직장암, 식도암, 또는 방광암, 또는 이들의 전이성 암.

[0124] 특정 구현예에서, 암은 액상 암일 수 있으며, 선택적으로 다음으로부터 선택될 수 있다: 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 외투 세포 림프종(MCL), 다발성 골수종, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 호지킨 림프종, B-세포 급성 림프구성 백혈병(BALL), T 세포 급성 림프구성 백혈병(TALL), 소림프구성 백혈병(SLL), B 세포 전림프구성 백혈병, 모세포성 형질세포양 수지상 세포 신생물, 버킷 림프종, 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL), 만성 염증과 연관된 DLBCL, 만성 골수성 백혈병, 골수증식성 신생물, 여포성 림프종, 소아 여포성 림프종, 유모 세포 백혈병, 소세포 또는 대세포 여포성 림프종, 악성 림프구증식성 병태, MALT 림프종(점막 연관 림프 조직의 외연부 림프종), 변연부 림프종, 골수이형성증, 골수이형성 증후군, 비호지킨 림프종, 형질모세포성 림프종, 형질세포양 수지상 세포 신생물, 발렌스트롬 거대글로불린혈증, 비장 변연부 림프종, 비장 림프종/백혈병, 비장 미만성 적색 펄프 소 B-세포 림프종, 유모 세포 백혈병-변이체, 림프형질세포성 림프종, 중쇄 질환, 형질 세포 골수종, 뼈의 고립성 형질세포종, 골외 형질세포종, 결절 변연부 림프종, 소아 결절 변연부 림프종, 원발성 피부 소포 중심 림프종, 림프종성 육아종증, 원발성 종격동(흉선) 거대 B-세포 림프종, 혈관내 거대 B-세포 림프종, ALK+ 거대 B-세포 림프종, HHV8-연관 다심성 캐슬만병에서 발생하는 거대 B-세포 림프종, 원발성 삼출성 림프종, B-세포 림프종, 급성 골수성 백혈병(AML), 또는 분류 불가 림프종.

[0125] 전술한 방법 중 어느 하나의 특정 구현예에서, 질환, 장애 또는 병태는 자가면역 질환 또는 염증성 질환을 포함할 수 있다.

[0126] 특정 구현예에서, 자가면역 또는 염증성 질환은, 건선, 류마티스 관절염, 자가면역 관절염, I형 당뇨병, 전신 홍반성 루푸스, 중증 근무력증, 다발성 경화증, 피부경화증, 염증성 장 질환, 크론병, 궤양성 대장염, 길랑-바레 증후군, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증, 심상성 천포창, 쇼그렌 증후군, 애디슨병, 베체트병, 슈미트 증후군, 복강병, 피부근염, 자가면역 백반증, 그레이브스병, 하시모토 갑상선염, 가와사키병, 악성 빈혈, 자가면역 혈관염, 또는 섬유증일 수 있다.

[0127] 전술한 방법 중 어느 하나의 특정 구현예에서, 질환, 장애 또는 병태는 신경퇴행성 질환을 포함할 수 있다.

[0128] 특정 구현예에서, 신경퇴행성 질환은, 알츠하이머병, 헌팅턴병, 파킨슨병, 근위축성 측색 경화증, 프리드리히 실조증, 루이 소체 질환, 척수 근육 위축증, 운동 뉴런 질환, 다발성 경화증, 바텐병, 크로이츠펔트-야콥병일 수 있다.

[0129] 전술한 방법 중 어느 하나의 특정 구현예에서, 질환, 장애 또는 병태는 감염성 질환을 포함할 수 있다.

[0130] 특정 구현예에서, 감염성 질환은 바이러스, 박테리아, 진균, 효모, 원생동물, 프리온 또는 기생충 질환일 수 있

다. 일부 경우, 바이러스성 질환은, 인간 면역결핍 바이러스(HIV), 간염 바이러스(선택적으로 A, B, 또는 C형 간염 바이러스), 인간 유두종 바이러스(HPV), 단순 포진 바이러스(HSV)(선택적으로 HSV-1 또는 HSV-2), 장내 바이러스, 인간 거대세포바이러스, 아테노바이러스, 리노바이러스, 수두 바이러스, 인플루엔자 바이러스, 코로나 바이러스(선택적으로 MERS-CoV, SARS-CoV, 또는 SARS-CoV-2, 또는 혼한 인간 코로나바이러스), 노로바이러스, 웨스트 나일 바이러스, 지카 바이러스, 폴리오바이러스, 에볼라 바이러스, 또는 뎅기 바이러스(DENV) 감염일 수 있다. 일부 경우, 박테리아 질환은 *살모넬라(Salmonella)*, 대장균, 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*), *메티실린-내성 스타필로코커스 아우레우스(MRSA)(methicillin-resistant staphylococcus aureus)*, *클로스트리디움 디피실(Clostridium difficile)*, 폐렴 연쇄상구균(*Streptococcus pneumoniae*), 폐렴 간균(*Klebsiella pneumoniae*), 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*), 헬리코박터 파일로리(*Helicobacter pylori*), 나이세리아 고노로이에(*Neisseria gonorrhoeae*), 비브리오 볼니피쿠스(*Vibrio vulnificus*)일 수 있다. 일부 경우, 진균 질환은 *아스페르길로시스()*, *칸디다(Candida)*, *칸디다 아우리스(Candida auris)*, *크립토코커스 네오포르만스(Cryptococcus neoformans)*, *뉴모시티스 지로베치(Pneumocystis jirovecii)*, *무코고미세테스(Mucoromycetes)*, *탈로미세스(Talaromyces)*, 링웜(ringworm), *블라스토미세스(Blastomyces)*, *콕시디오이데스(Coccidioides)*, *크립토코커스 가티(Cryptococcus gattii)*, *히스토플라스마(Histoplasma)*, *파라코치디오이데스(Paracoccidioides)*, 또는 *스포로트릭스(Sporothrix)* 감염일 수 있다.

- [0131] 본 개시의 일 양태는 본원에 기술된 구현예 중 어느 하나에 따른 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편을 제조하는 방법을 제공한다.
- [0132] 일부 구현예에서, 방법은: (a) 상기 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편의 발현을 허용하는 조건에서 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편을 암호화하는 핵산을 포함하는 세포를 배양하는 단계, 및 (b) (a)로부터의 세포 배양물로부터 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편을 수확하고 정제하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0133] 본 개시의 다른 양태는 본원에 기술된 구현예 중 어느 하나에 따른 단리된 또는 재조합 세포 또는 이러한 세포의 집단을 제조하는 방법을 제공한다.
- [0134] 일부 구현예에서, 방법은 본원에 기술된 구현예 중 어느 하나에 따른 핵산 및/또는 본원에 기술된 구현예 중 어느 하나에 따른 벡터를 하나 이상의 세포 내로 도입하는 단계를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 도입 단계는 시험관 내, 생체 외, 또는 생체 내에서 이루어질 수 있다.
- [0135] 본 개시에 따른 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편 중 어느 하나, 본 개시에 따른 핵산 중 어느 하나, 본 개시에 따른 벡터 중 어느 하나, 본 개시에 따른 단리된 세포 또는 재조합 세포 또는 이러한 세포의 집단 중 어느 하나, 및/또는 본 개시에 따른 약학적 조성물 중 어느 하나는 의약에 사용하기 위한 것일 수 있거나 의약에 사용하기 위한 약제의 제조에 사용하기 위한 것일 수 있다.
- [0136] 본 개시에 따른 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편 중 어느 하나, 본 개시에 따른 핵산 중 어느 하나, 본 개시에 따른 벡터 중 어느 하나, 본 개시에 따른 단리된 세포 또는 재조합 세포 또는 이러한 세포의 집단 중 어느 하나, 및/또는 본 개시에 따른 약학적 조성물 중 어느 하나는 질병, 장애 또는 병태, 선택적으로, 본원에 기술된 질병, 장애 또는 병태 중 어느 하나의 치료에 사용하기 위한 것일 수 있다.
- [0137] 본 개시는, 질병, 장애 또는 병태, 선택적으로, 본원에 기술된 질병, 장애 또는 병태 중 어느 하나의 치료를 위한 의약의 제조를 위한, 본 개시에 따른 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편 중 어느 하나, 본 개시에 따른 핵산 중 어느 하나, 본 개시에 따른 벡터 중 어느 하나, 본 개시에 따른 단리된 세포 또는 재조합 세포 또는 이러한 세포의 집단 중 어느 하나, 및/또는 본 개시에 따른 약학적 조성물 중 어느 하나는 질병, 장애 또는 병태, 선택적으로, 본원에 기술된 질병, 장애 또는 병태 중 어느 하나의 용도를 추가로 포함한다.

도면의 간단한 설명

- [0138] 본 개시의 특정 구현예의 전술한 목적 및 다른 목적, 특징부 및 장점은 다음의 첨부된 도면에 대한 설명 및 예시로부터 명백해질 것이다.

도 1은 항체 K_D 값에 대해 도표화된, 항-CD3 항체에 대한, 정규화된 PSR 점수를 나타내는 그래프이다.

도 2는 항체 K_D 값에 대해 도표화된, 항-CD3 항체에 대한, AC-SINS 값을 나타내는 그래프이다.

도 3은 항체 K_D 값에 대해 도표화된, 항-CD3 항체에 대한, 정규화된 PSR 점수를 나타내는 그래프이다.

도 4는 항체 K_D 값에 대해 도표화된, 항-CD3 항체에 대한, AC-SINS 값을 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0139] 본 개시는 대체적으로 하나 이상의 개선된 개발가능성 특성을 가질 수 있는 항-CD3 항체 및 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0140] 본 개시의 일부 구현에는 감소된 다중특이성을 갖는 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편에 관한 것일 수 있다. 본 개시의 일부 구현에는 자가 상호작용의 경향이 감소된 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편에 관한 것일 수 있다. 본 개시의 일부 구현에는 낮은 pH 스트레스에 대한 내성이 개선된 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편에 관한 것일 수 있다. 본 개시의 일부 구현에는 응집 또는 다량체화 성향이 감소된 항-CD3 항체 및 항원-결합 단편에 관한 것일 수 있다. 본 개시의 일부 구현에는 표적 세포(CD3 발현 세포)에 대한 결합이 개선된 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편에 관한 것일 수 있다. 본 개시의 일부 구현에는 산성 pH에서 증가된 결합 선호도를 갖는 항-CD3 항체 및 항원-결합 단편에 관한 것일 수 있다. 본 개시의 일부 구현에는, 일부 경우, pH 의존적 항원 결합 프로파일로 인한, 개선된 사이토카인 방출 증후군(CRS) 위험 프로파일을 갖는 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편에 관한 것일 수 있다.
- [0141] 항-CD3 항체 및 항원-결합 단편의 개발가능성
- [0142] 용어 "개발 가능한" 또는 "개발가능성"은 복수의 폴리펩티드 중 하나 이상의 폴리펩티드가 제조, 저장, 표적-외 결합 등에 대한 바람직한 특성, 예컨대, 예를 들어 바람직한 결합 특이성, 예를 들어 바람직한 친화도로 동족 항원에 대한 결합을 가지며 비동족 항원에 대해서는 유의미하지 않은 정도의 결합 특이성; 예를 들어, 포유류 세포에서 바람직한 발현; 용해도; 점도; 응집; 화학적 및/또는 물리적 안정성; 바람직한 저장 수명; 용융 온도; 약동학적 프로파일; 순환 반감기; 및 제거율 특성을 보유하는 정도를 지칭한다. 이러한 특성은 이러한 하나 이상의 폴리펩티드가 치료 후보로서, 궁극적으로는 승인된 약물로서 성공적으로 개발될 수 있는 가능성에 대한, 표시로서 독립적으로, 이러한 표시의 하위 세트의 조합으로서, 또는 전체적으로, 기능할 수 있다. 일반적으로, 바람직한 개발가능성 특성을 갖는 폴리펩티드는, 예를 들어, 비교적 높은 용해도, 비교적 낮은 점도, 비교적 낮은 응집 경향, 비교적 높은 화학적 안정성, 비교적 높은 물리적 안정성, 비교적 긴 저장 수명, 비교적 높은 용융 온도, 비교적 긴 순환 반감기, 비교적 느린 제거 속도 등 중 하나 이상을 보유한다. 대조적으로, 바람직하지 않은 개발가능성 특성을 갖는 폴리펩티드는 대체적으로, 비교적 낮은 용해도, 비교적 높은 점도, 비교적 높은 응집 경향, 비교적 불량한 화학적 안정성, 비교적 불량한 물리적 안정성, 비교적 짧은 저장 수명, 비교적 낮은 용융 온도, 비교적 짧은 순환 반감기, 비교적 높은 제거 속도 중 하나 이상을 보유한다.
- [0143] 항체가 다수의 표적에 결합하는 경향은 "다중특이성"으로 지칭되며, 이는 표적 특이적 치료 항체의 경우 부정적인 임상 결과와 연관될 수 있다. 본 개시의 CD3 결합 도메인은 [예를 들어, 다중특이성 시약(PSR)과의 상호작용으로 평가 시] 감소된 다중특이성을 나타낼 수 있다. 이러한 도메인은 다양한 도메인 아미노산 잔기를 하전된 측쇄를 갖는 잔기로 치환하는 단계에 의해 시작 도메인으로부터 조작될 수 있다. 잔기는 음으로 하전된 측쇄를 갖는 아미노산 잔기, 예를 들어 Asp 및 Glu 잔기로 치환될 수 있다. 치환을 위해 선택된 잔기는 CD3 결합 도메인에 의해 표적화된 CD3 아미노산 잔기와 특이적으로 상호작용할 것으로 예측되지 않는 잔기로부터 선택될 수 있다.
- [0144] 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편과 같은 폴리펩티드가 바람직한 개발가능성 특성을 갖는 정도를 확인하기 위해 사용될 수 있는 방법 및 검정은, 다음 중 하나 이상을 포함하는 당해 기술분야에서 이용 가능하다: 다중특이성 시약(PSR) 검정(WO 2014/179363 및 Xu 등의 문헌[*Protein Eng Des Sel*, Vol. 26, 663-670 페이지 (2013)]); SMP 및 SCP 검정 등; 교차 상호작용 크로마토그래피(CIC); 자기-상호작용 크로마토그래피(SIC); 수소성 상호작용 크로마토그래피(HIC); 크기 배제 크로마토그래피(SEC); 동적 광 산란(DLS) 분광법; 광자 상관 분광법; 준-탄성 광 산란(quasi-elastic light scattering), 원편광 이색성(circular dichroism, CD), 점도 측정; 전 세포 결합; 조직 마이크로 어레이 방법론; BVP ELISA 검정과 같은 ELISA 검정; AC-SINS 검정(Liu 등의 문헌[*MAbs*, Vol. 6, 483-492페이지 (2014)]); 용융 온도(T_m) 검정; 시차주사 열량측정 또는 시차주사 형광측정(DSF); 등 (예를 들어, He 등의 문헌[*J. Pharm. Sci.*, Vol. 100(4), pp. 1330-1340 (2011)]; Wagner 등의 문헌[*Pharm. Develop. & Technol* (온라인 게시 2012; 하이퍼 텍스트 전송 프로토콜: informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/10837450.2011.649851); Hotzel 등의 문헌[*MAbs*, Vol. 4(6), 753-7601 페이지 (2012)]; Weiqiang 등의 문헌[*J. Pharm. Sci.*, Vol. 101(5), pp. 1701-1720 (2012)]; Banks 등의 문헌[*J. Pharm. Sci.*, Vol. 101(8), pp. 2720-2732 (2012)]; Lie 등의 문헌[*J. Pharm. Sci.*, Vol. 94(9), pp.

1928-1948 (2005)]; 및 Payne 등의 문헌[*Biopolymers*, Vol. 85(5), pp. 527-533 (2006)] 참조).

- [0145] 일부 구현예에서, 감소된 개발가능성을 보유하는 것으로 식별된 항체는 PSR과의 상호작용에 의해 그렇게 검출되며, 이와 같이, "다중특이적" 폴리펩티드로 지칭된다. 이러한 다중특이적 항체는 비교적 "개발할 수 없는" 또는 비교적 "개발불가능"으로 지칭될 수 있다.
- [0146] "개발가능성 프로파일"은 항체의 개발가능성을 평가할 때 항체에 할당될 수 있는 지수를 지칭한다. 개발가능성 프로파일은 항-CD3 항체의 개발가능성을 평가, 비교 및/또는 순위 매길 수 있는 척도 또는 메트릭이다. 이러한 개발가능성 프로파일은 CD3 결합제 및 이를 포함하는 항체의 상호작용 정도에 대한 척도로서 기능한다. 상호작용의 정도는 당해 기술분야에서 이용 가능한 임의의 수의 수단에 의해 평가될 수 있으며, 이는 결합되는 모이어티에 대한 폴리펩티드의 강도 또는 친화도와 상관되는 결과 값을 제공한다. 예시적인 수단은 유동 세포 계측법 수단, 예컨대 형광 활성화 세포 분류(FACS); 효소-결합 면역흡착 분석(ELISA); 정량적 면역친화도 검정 또는 면역침강 검정; 포유동물 2-하이브리드 또는 효모 2-하이브리드 검정 등을 포함한다. FACS의 맥락에서, 실시예들에서 입증된 바와 같이, 복수의 폴리펩티드와 PSR 간의 상호작용의 정도는 검출되는 각각의 폴리펩티드-PSR 상호작용에 대한 평균 형광 강도(MFI)를 생성한 다음, MFI를 오름차순 또는 내림차순으로 정렬함으로써 확인될 수 있고, 이에 따라 각각의 검출된 폴리펩티드와 PSR 간의 상대적인 상호작용 정도에 따라 복수의 폴리펩티드의 순위를 매길 수 있다. 이러한 순위는, 감소된 개발가능성을 보유하는 폴리펩티드에서와 마찬가지로, 향상된 개발가능성을 보유하는 폴리펩티드가 쉽게 확인되도록, 복수의 폴리펩티드의 순위를 제공한다.
- [0147] 개발가능성 프로파일은, 예를 들어, 표준 (또는 대조군) 항체, 예를 들어, 항-HEL 항체의 개발가능성에 대해 본원에 기술된 항-CD3 항체의 개발가능성을 정규화함으로써, 정규화된 점수의 형태를 취할 수도 있다.
- [0148] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 감소된 다중특이성을 나타내거나 다수의 분자 또는 에피토프에 결합하는 경향을 나타낼 수 있다. 일부 구현예에서, 다중특이성은 다중특이성 시약(PSR) 분석에 의해 획득된 PSR 점수에 기초하여 결정될 수 있다. 일부 구현예에서, PSR 점수는 본 실시예에 기술된 바와 같이 결정될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편은 약 0.0 내지 약 0.45의 PSR 점수를 나타낼 수 있다. 일부 구현예에서, PSR은 약 0.0 내지 약 0.4이다. 일부 구현예에서, PSR은 약 0.0 내지 약 0.35이다. 일부 구현예에서, PSR은 약 0.0 내지 약 0.3이다. 일부 구현예에서, PSR은 약 0.0 내지 약 0.25이다. 일부 구현예에서, PSR은 약 0.0 내지 약 0.2이다. 일부 구현예에서, PSR은 약 0.0 내지 약 0.15이다. 일부 구현예에서, PSR은 약 0.0 내지 약 0.1이다. 일부 구현예에서, $0.0 \leq \text{PSR 점수} < 0.10$ 은 "클린 PSR"이다. 일부 구현예에서, $0.10 \leq \text{PSR 점수} < 0.33$ 은 "낮은 PSR"이다. 일부 구현예에서, $0.33 \leq \text{PSR 점수} < 0.66$ 은 "중간 PSR"이다. 일부 구현예에서, $0.66 \leq \text{PSR 점수} \leq 1.00$ 은 "높은 PSR"이다. 일부 구현예에서, 높은 PSR 점수는 감소된(또는 불량한) 개발가능성을 나타낸다. 일반적으로, PSR 점수가 낮을수록 항체의 개발가능성이 더 유리하다.
- [0149] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은 감소된 소수성을 나타낼 수 있다. 일부 구현예에서, 소수성은 HIC 동안 관찰된 유지 시간에 기초하여 결정될 수 있다. 일부 구현예에서, HIC가 수행될 수 있으며, 유지 시간은 본 실시예에 기술된 바와 같이 획득될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은 약 10.5분 미만(클린 내지 낮은 HIC 점수)의 HIC 유지 시간을 나타낸다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 $10.5 \text{ 분} \leq \text{HIC 유지 시간} < 11.5 \text{ 분}$ (중간 HIC 점수)을 나타낸다. $11.5 \text{ 분} \leq \text{HIC 유지 시간}$ 은 높은 HIC 점수로 간주될 수 있다. 일반적으로, HIC 유지 시간이 낮을수록 항체의 개발가능성이 더 유리하다.
- [0150] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은 자기-상호작용에 대한 감소된 경향을 나타낼 수 있다. 일부 구현예에서, 자기-상호작용 경향은 친화도-캡처 자기-상호작용 나노입자 분광법(AC-SINS) 동안 관찰된 $\Delta\lambda$ 최대 값에 기초하여 결정될 수 있다. 일부 구현예에서, AC-SINS가 수행될 수 있으며, 실시예에 기술된 바와 같이 $\Delta\lambda$ 최대 값이 획득될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편은 약 0.0 내지 약 15.0 nm의 $\Delta\lambda$ 최대를 나타낼 수 있다. 일부 구현예에서, $\Delta\lambda$ 최대는 약 0.0 nm 내지 약 10.0 nm이다. 일부 구현예에서, $\Delta\lambda$ 최대는 약 0.0 nm 내지 약 7.5 nm이다. 일부 구현예에서, $\Delta\lambda$ 최대는 약 0.0 nm 내지 약 5.0 nm이다. 일부 구현예에서, $\Delta\lambda$ 최대는 약 0.0 nm 내지 약 3.0 nm이다. 일부 구현예에서, $\Delta\lambda$ 최대는 약 0.0 nm 내지 약 2.0 nm이다. 일부 구현예에서, $\Delta\lambda$ 최대는 약 0.0 nm 내지 약 1.0 nm이다. 일부 구현예에서, $0.0 \text{ nm} \leq \Delta\lambda \text{ 최대} < 5.0 \text{ nm}$ 는 "낮은 자가 상호작용"으로 간주된다. 일부 구현예에서, $5.0 \text{ nm} \leq \Delta\lambda \text{ 최대} < 20.0 \text{ nm}$ 는 "중간 자가 상호작용"으로 간주된다. 일부 구현예에서, $10.0 \text{ nm} \leq \Delta\lambda \text{ 최대}$ 는 "높은 자가 상호작용"으로 간주된다. 일반적으로, 자가 상호작용에 대한 경향이

낮을수록 항체의 개발가능성이 더 유리하다.

- [0151] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은 감소된 점도를 나타낼 수 있다. 일부 구현예에서, 점도는 동적 광 산란(DLS) 동안 관찰된 확산 상호작용 파라미터(kD) 값에 기초하여 결정될 수 있다. 일부 구현예에서, DLS가 수행될 수 있으며, kD 값은 예를 들어, 10 mM 히스티딘 완충액(pH 약 6)을 사용하여 실시예에 기술된 바와 같이 측정될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원 결합 단편은 약 5 mL/g 이상의 kD를 나타낼 수 있다. 일부 구현예에서, kD는 약 10 mL/g 이상일 수 있다. 일부 구현예에서, kD는 약 15 mL/g 이상일 수 있다. 일부 구현예에서, kD는 약 20 mL/g 이상일 수 있다. 일부 구현예에서, kD는 약 25 mL/g 이상일 수 있다. 일부 구현예에서, $\Delta \lambda$ 최대 < 20 mL/g은 높은 점도 또는 높은 유백광과 연관된 것으로 간주될 수 있다. 일반적으로, 점도가 낮을수록 항체의 개발가능성이 더 유리하다.
- [0152] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 또는 항원-결합 단편은 중쇄 미스페어링(페어링 실패 포함)의 감소된 가능성을 나타낼 수 있다. 일부 구현예에서, 중쇄 미스페어링은 액체 크로마토그래피-질량 분광 분석(LC-MS) 동안 관찰된 중쇄 피크(경쇄와 성공적으로 페어링되지 않은 중쇄를 나타냄) 및/또는 경쇄 피크(중쇄와 성공적으로 페어링되지 않은 경쇄를 나타냄)의 존재에 기초하여 결정될 수 있다. 일부 구현예에서, LC-MS는 실시예에 기술된 바와 같이 수행될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원 결합 단편은 중쇄 피크 또는 경쇄 피크를 나타내지 않을 수 있다. 일반적으로, 중쇄 피크 및 경쇄 피크가 작을수록 항체의 개발가능성이 더 유리하다.
- [0153] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 감소된 응집 경향을 나타낼 수 있다. 일부 구현예에서, 응집 경향은 크기 배제 크로마토그래피(SEC) 동안 관찰된 단량체% 값(즉, 항체 생산 및 선택적으로 정제로부터의 단백질 중에서, 응집 또는 다량체화 없이 그 전체 크기로 존재하는 항체 중(예를 들어, IgG 또는 Fab)의 %)에 기초하여 결정될 수 있다. 일부 구현예에서, SEC는 실시예에 기술된 바와 같이 수행될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편은 약 95% 이상의 SEC에서의 단량체%를 나타낼 수 있으며, 이는 해당 항체가 실질적으로 단량체로서, 즉 응집 없이 존재한다는 것을 나타낸다. 일부 구현예에서, 단량체%는 약 97% 이상일 수 있다. 일부 구현예에서, 단량체%는 약 98% 이상일 수 있다. 일부 구현예에서, 단량체%는 약 99% 이상일 수 있다. 일부 구현예에서, 단량체%는 약 99.5% 이상일 수 있다. 일반적으로, 단량체% 값이 높을수록 항체의 개발가능성이 더 유리하다.
- [0154] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 산성 환경 또는 산성 스트레스, 예컨대 약 6 이하, 약 5 이하, 약 4 이하, 또는 약 3.5 이하의 pH에 대한 개선된 내성을 나타낼 수 있다. 일부 구현예에서, 낮은 pH에 대한 내성은 낮은 pH에 노출될 경우에서의 응집 경향에 기초하여 결정될 수 있다. 일부 구현예에서, 낮은 pH 하에서의 응집 경향은 낮은 pH에 노출된 후 SEC 동안 관찰된 단량체(예를 들어, 단량체 IgG 또는 단량체 Fab)% 값에 기초하여 결정될 수 있다. 일부 구현예에서, 낮은 pH 내성 시험을 위한 이러한 SEC는 실시예에 기술된 바와 같이 수행될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편은 낮은 pH에 대한 노출 후 약 95% 이상의 SEC에서의 단량체%를 나타낼 수 있으며, 이는 해당 항체가 실질적으로 단량체로서, 즉 응집 없이 존재한다는 것을 나타낸다. 일부 구현예에서, 단량체%는 약 96% 이상일 수 있다. 일부 구현예에서, 단량체%는 약 97% 이상일 수 있다. 일부 구현예에서, 단량체%는 약 98% 이상일 수 있다. 일부 구현예에서, 단량체%는 약 99% 이상일 수 있다. 일반적으로, 낮은 pH에 노출된 후 단량체% 값이 클수록 산성 스트레스에 대한 내성이 더 높으며, 즉 항체의 개발가능성이 더 유리하다. 이론에 구속되지 않음에 함이 없이, 산성 스트레스에 대한 개선된 내성은 (예를 들어, 산성 암 미세환경에서) 더 긴 저장 수명을 제공하고/하거나 개선된 생체 내 안정성을 제공하는 데 도움이 될 수 있다.
- [0155] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원 결합 단편은 약 65°C 이상의 T_m을 나타낼 수 있다. 일부 구현예에서, T_m은 실시예에 기술된 바와 같이 수행될 수 있는 DSF, 또는 임의의 다른 적절한 방법을 사용하여 결정될 수 있다. 일반적으로, T_m이 높을수록 항체는 더 안정적이며, 즉, 개발가능한 모드이다.
- [0156] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원 결합 단편은 효과기 기능, 예를 들어, 침묵 Fc를 최소화하기 위해 추가로 변형될 수 있다.
- [0157] 용어 "사이토카인 방출 증후군"(또는 "CRS")은 사이토카인과 면역 세포 사이의 전-염증성, 양성 피드백 루프를 지칭하며, 이로 인해 면역계 내의 세포에 의한 전-염증성 사이토카인의 과도하거나 제어되지 않은 방출을 초래한다(예를 들어, Lee 등의 *Blood*, Vol. 124, 188-195페이지 (2014) 및 Tisoncik 등의 *Microbiol Mol Biol Rev*, Vol. 76, 16-32 페이지 (2012) 참조). 자극 및 활성화 시, T 세포는, 예를 들어, 발적(홍조), 부종(열), 열병(통증), 및 "현기증"(기능 상실)을 특징으로 하는 급성 염증을 포함하여, 바람직하지 않은 생물학적/생리학

효과 또는 다양한 정도 및 중증도를 생성하는 수준 및 정도로 일련의 사이토카인을 방출한다. 피부 또는 다른 조직에 국한될 때, 생물학적/생리학적 효과는 혈류 증가, 혈관 백혈구 및 혈장 단백질이 손상의 혈관의 부위에 도달할 수 있게 하는 것, 국소 온도 증가 및 통증, 조직 부종 및 혈관의 압력의 발생, 및 조직 관류 감소를 포함한다. 다른 생물학적/생리학적 효과는, 심장 기능부전, 성인 호흡 곤란 증후군, 신경 독성, 신장 및/또는 간 부전, 및 과중성 혈관 내 응고와 같은, 기관 및 조직 기능장애를 포함한다. $IFN\gamma$, IL-6, $TNF\alpha$, TGF β , IL-2, 과립구 대식세포-콜로니-자극 인자(GM-CSF), IL-10, IL-8, IL-5, 및/또는 프랙탈카인(fractalkine)의 상승된 수준은 CRS 또는 T-세포 자극 시 CRS를 유발하는 경향의 예측 및/또는 원인으로 연루된다.

[0158] 특정 구현예에서, 본원에 기술된 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편은 항체에 의해 유도되는 CRS의 가능성 또는 중증도를 감소시키기 위해 이조(detune)되고 그리고/또는 변형된다. 비제한적인 예시적 변형은 침묵 Fc 영역(silent Fc region)(예를 들어, Fc를 완전히 제거하거나 Fc 영역을 변형시켜 효과기 기능을 감소시키거나 제거함), 및/또는 마스킹(예를 들어, 항체 또는 항원-결합 단편이 CD3에 특이적으로 결합하는 능력을 감소시키거나 억제하도록 위치되는 폴리펩티드 마스크)을 포함할 수도 있다.

[0159] 항-CD3 항체 및 항원-결합 단편

[0160] "분화 클러스터 3(Cluster of Differentiation 3)" 또는 "CD3"은, 일반적으로, 예를 들어 CD3 ϵ , CD3 γ , CD3 α , 및 CD3 β 사슬을 포함하여, 달리 명시되지 않는 한, 영장류(예를 들어, 인간 및 비인간 영장류) 및 설치류(예를 들어, 마우스 및 랫트)와 같은 포유동물을 포함하는, 임의의 척추동물 공급원으로부터의 임의의 천연 CD3을 지칭한다. 상기 용어는 "전장", 미가공된 CD3(예를 들어, 미가공 또는 미변형 CD3 ϵ 또는 CD3 γ), 뿐만 아니라 세포 내 가공의 결과인 임의의 형태의 CD3을 포괄한다. 이 용어는 또한, 예를 들어 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체를 포함하는, 자연 발생하는 CD3 변이체를 포함한다. CD3은, 예를 들어, 207개 아미노산의 길이인, 인간 CD3 ϵ 단백질(NCBI RefSeq 번호 NP_000724), 및 182개 아미노산의 길이인, 인간 CD3 γ 단백질(NCBI RefSeq 번호 NP_000064)을 포함한다. "CD3eN27" 및 "CD3eN13"은 CD3의 N-말단 27 아미노산 및 N-말단 13 아미노산 각각을 지칭하며, 이에 행해진 화학적 개질 또는 접합을 선택적으로 함유한다.

[0161] "항-CD3 항체"는, 항체가 CD3을 표적으로 하는 데 있어서 진단제 및/또는 치료제로서 유용하도록 충분한 친화도 및/또는 특이성을 가지고, CD3, 예를 들어 CD3 ϵ 및/또는 CD3 γ , 예를 들어, 인간 CD3 ϵ 및/또는 CD3 γ 에 결합할 수 있는 항체 또는 항원-결합 단편을 지칭한다. 일부 구현예에서, 항-CD3 항체는 약 100×10^{-9} M 이하, 약 50×10^{-9} M 이하, 약 25×10^{-9} M 이하, 약 20×10^{-9} M 이하 또는 약 10×10^{-9} M 이하의 해리 상수(K_D)로 CD3에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-CD3 항체는 약 5×10^{-9} M 이하의 해리 상수(K_D)로 CD3에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-CD3 항체는 약 2.5×10^{-9} M 이하의 해리 상수(K_D)로 CD3에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-CD3 항체는 약 1×10^{-10} M 이하의 해리 상수(K_D)로 CD3에 결합한다. 일부 구현예에서, K_D 는, 예를 들어, BIACORE® 시스템을 사용하는 표면 플라즈몬 공명, 예를 들어, FORTEBIO Octet® HTX 기기(Pall Life Sciences)를 사용하는 바이오층 간섭계 측정(biolayer interferometry measurement), 또는 용액-친화도 ELISA에 의해 측정된다. 일부 구현예에서, K_D 는 항-CD3 항체의 scFv 단편을 사용하여 측정된다. 일부 구현예에서, 1가 K_D 가 측정된다. 일부 구현예에서, 항-CD3 항체는 상이한 종, 예를 들어, 인간 및 시노물구스 교차 반응으로부터 CD3 사이에서 보존되는 CD3의 에피토프에 결합한다.

[0162] 용어 "항체"는 본원에서 가장 넓은 의미로 사용되며, 단일클론 항체, 다클론 항체, 다중특이적 항체(예를 들어, 이중특이적 항체), 전체 항체, 및 항체 단편(바람직하게는 원하는 항원-결합 활성을 나타내는 단편(즉, "항원 결합 단편"))을 포함하지만 이에 한정되지 않는 다양한 항체 구조를 포함한다.

[0163] "단일클론 항체" 또는 "mAb"는 실질적으로 균질한 항체의 집단으로부터 수득된 항체를 지칭하며, 즉, 상기 집단을 포함하는 개별 항체는, 가능한 변이체 항체(예를 들어, 자연적으로 발생하는 돌연변이를 함유하거나 단일클론 항체 제조의 생산 중에 발생하는 것)를 제외하고는, 동일하고/하거나 동일한 에피토프에 결합하며, 이러한 변이체는 일반적으로 소량으로 존재한다. 상이한 결정기(에피토프)에 대해 유도된 상이한 항체를 일반적으로 포함하는, 다클론 항체 제조와 대조적으로, 단일클론 항체 제조의 각각의 단일클론 항체는 항원 상의 단일 결정기에 대해 유도된다.

[0164] 다중특이적 항체(예를 들어, 이중특이적, 삼중특이적, 사중특이적 항체 등)와 관련하여, 이러한 항체는 적어도

2개의 상이한 항원을 인식하고 이에 특이적으로 결합하는 적어도 2개의 상이한 항원 결합 영역을 포함한다. 이 중특이적 항체와 관련하여, 이러한 항체는 적어도 2개의 상이한 항원 또는 에피토프를 인식하고 이에 특이적으로 결합하는 2개의 상이한 항원 결합 영역을 포함한다. "이중특이적 항체"는 일종의 다중특이적 항체이며, 적어도 2개의 상이한 항원 또는 적어도 2개의 에피토프를 인식하고 이에 특이적으로 결합하는 2개의 상이한 항원 결합 영역을 포함한다. 적어도 2개의 에피토프는 동일한 항원 내에 있거나 그렇지 않을 수 있다. 이중특이적 항체는, 예를 들어, 동일하거나 상이한 세포(예를 들어, 면역 세포 및 암 세포) 상의 2개의 상이한 표면 수용체를 표적화할 수 있다.

[0165] "상이한 항원"은 상이한 및/또는 독특한 단백질, 폴리펩티드, 또는 분자; 및 상이한 및/또는 독특한 에피토프를 지칭할 수 있고, 상기 에피토프는 하나의 단백질, 폴리펩티드, 또는 하나의 분자 내에 함유될 수 있다.

[0166] 용어 "에피토프"는 파라토프로 알려진 항체 분자의 가변 영역에서 특이적 항원 결합 부위와 상호작용하는 항원 결정기를 지칭한다. 단일 항원은 하나 보다 많은 에피토프를 가질 수 있다. 따라서, 상이한 항체는 항원 상의 상이한 구역에 결합할 수도 있고 상이한 생물학적 효과를 가질 수도 있다. 용어 "에피토프"는 또한 B 및/또는 T 세포가 반응하는 항원 상의 부위를 지칭한다. 이는 또한 항체에 의해 결합되는 항원의 영역을 지칭한다. 에피토프는 구조적 또는 기능적으로서 정의될 수 있다. 기능적 에피토프는 일반적으로 구조적 에피토프의 하위세트이며, 상호작용의 친화도에 직접적으로 기여하는 잔기를 갖는다. 에피토프는 또한 입체적(conformational), 즉 비선형 아미노산으로 구성될 수 있다. 특정 실시예에서, 에피토프는 아미노산, 당 측쇄, 포스포릴기, 또는 설포닐기와 같은, 분자들의 화학적으로 활성인 표면 그룹인 결정기를 포함할 수 있고, 특정 실시예에서, 특이적인 3차원 구조적 특성 및/또는 특이적인 전하 특성을 가질 수 있다.

[0167] 용어 "온전한 항체", 및 "전체 항체" 등은 본원에서 상호 교환적으로 사용되고 천연 항체와 실질적으로 유사한 구조를 갖는 항체를 지칭한다. 일부 경우, 항체는 이황화 결합에 의해 상호 연결된 중쇄(H) 및 경쇄(L)를 포함한다. 항체에는 5개의 주요 부류가 있다: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM, 및 이들 중 일부는 하위 부류(이소형)로 추가로 나누어질 수 있는데, 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, 및 IgA2이다. 면역글로불린의 상이한 부류에 해당하는 중쇄 불변 도메인은 α , δ , ϵ , γ , 및 μ 로 각각 불린다. 예를 들어, 온전한 IgG(또는 IgD 또는 IgE) 항체는 2개의 면역글로불린 중쇄 및 2개의 면역글로불린 경쇄를 포함한다. 따라서, 일부 경우, 본 개시에 따른 항체는 이황화 결합에 의해 상호연결된 두개의 쌍의 중쇄 및 경쇄, 또는 이의 항원 결합 단편(들)을 포함할 수 있다. 일부 온전한 항체는 이황화 결합에 의해 상호연결된 두개의 쌍의 중쇄 및 경쇄를 각각 포함하는 다수의 유닛을 포함한다. 예를 들어, 온전한 IgA는 2개의 유닛을 포함하고 온전한 IgM은 5개의 유닛을 포함한다. 따라서, 다른 경우, 본 개시에 따른 항체는 이황화 결합에 의해 상호연결된 두개의 쌍의 중쇄 및 경쇄, 또는 이의 항원 결합 단편(들)을 각각 포함하는 다수의(예를 들어, 2, 3, 4, 5개 등의) 유닛을 대신 포함할 수 있다.

[0168] 각각의 중쇄는: 중쇄 가변 도메인(VH); 및 중쇄 불변 영역(CH)으로 이루어지며, 이는 일반적으로 도메인 CH1, CH2 및 CH3으로 구성된다. 각각의 경쇄는: 경쇄 가변 도메인(VL); 및 경쇄 불변 도메인(CL)으로 이루어진다. VH 및 VL은 프레임워크 영역(FR)으로 불리는 보다 보존된 영역이 산재하는, 상보성 결정 영역(CDR)으로 불리는 초가변 영역으로 추가로 세분화될 수 있다. 각각의 VH 및 VL 폴리펩티드는 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성되며, 이들은 아미노 말단에서 카르복시 말단까지 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4 순서로 배열된다. 중쇄 내의 CDR은 각각 "CDRH1", "CDRH2", 및 "CDRH3"으로 지정되고, 경쇄 내의 CDR은 "CDRL1", "CDRL2", 및 "CDRL3"으로 지정된다. 본 개시의 소정의 실시예에서, 항체(또는 항원-결합 단편)의 FR은 인간 생식선 서열과 동일하거나 자연적으로 또는 인공적으로 변형될 수 있다. 아미노산 컨센서스 서열은 2개 이상의 CDR의 나란한 분석(side-by-side analysis)에 기초하여 정의될 수 있다.

[0169] 항체 가변 및/또는 불변 도메인에서의 아미노산 잔기의 넘버링은, 예를 들어 EU 넘버링(Kabat 등의 문헌 [Sequences of Proteins of Immunological Interest, 제5판, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)]), IMGT 넘버링, Kabat 넘버링, Chothia 넘버링, Martin 넘버링, Gelfand 넘버링, 또는 Honneger 넘버링과 같은 넘버링 체계; 또는 해당 구조(예를 들어, NCBI 온라인 tool, IgBlast; Dondelinger 등의 문헌[Front Immunol. 2018년 10월 16일;9:2278 참조]에 기초하는, 임의의 적절한 넘버링 체계, 방법, 및 정의에 의해 수행될 수 있다.

[0170] IMGT(면역글로불린 또는 항체, T 세포 수용체, MH, 면역글로불린 슈퍼패밀리 IgSF 및 MhSF에 대한 국제 ImMunoGeneTics 정보 시스템)에 따르면, CH1 도메인, 힌지 영역, CH2 도메인, 및 CH3 도메인은 아미노산 위치(EU 넘버링) 118-215, 216-230, 231-340, 및 341-446에 각각 해당한다. 용어 "CH1 도메인", "힌지", "CH2 도메인"

인", 및 "CH3"은 임의의 자연적으로 발생하는, 상응하는 중쇄 불변 도메인 및/또는 영역 동종형 및 이의 변이체를 포함하도록 본원에서 광범위한 의미로 사용되며, 이는 더 적거나 더 많은 아미노산(예를 들어, CH1 도메인은 힌지 영역의 일 부분을 포함할 수 있음) 및/또는 아미노산 변형(들)을 포함할 수 있다.

[0171] 인간 IgG1의 예시적인 CH1 도메인은 서열번호 91 또는 92의 아미노산 서열을 포함할 수 있고; 인간 IgG1의 예시적인 힌지는 서열번호 51의 아미노산 서열을 포함할 수 있으며; 인간 IgG1의 CH2 도메인은 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 인간 IgG1의 예시적인 CH3 도메인은 서열번호 71, 72, 73, 또는 74의 아미노산 서열을 포함할 수 있으며, C-말단 K는 이러한 CH3 서열 중 어느 하나에 첨가될 수 있다. 이러한 예시적인 서열의 임의의 변이체는 본원에 기술된 항-CD3 가변 서열과 함께 사용될 수 있다.

[0172] "Fc 영역"은 천연 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함하여, 불변 영역의 적어도 일부분을 함유하는 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역이다. 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 Cys226으로부터, 또는 Pro230으로부터, 중쇄의 카복실 말단까지 연장될 수 있다. 그러나, Fc 영역의 C-말단 라이신(Lys447)은 존재할 수도 있고 존재하지 않을 수도 있다. 본원에서 달리 명시되지 않는 한, Fc 영역 또는 불변 영역에서의 아미노산 잔기의 넘버링은, 또한 Kabat 등의, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991에 기재된 바와 같은, EU 지수로도 불리는, EU 넘버링 시스템에 따른다.

[0173] 2개의 주요 경쇄 이소형인 카파(κ) 및 람다(λ)가 존재하며, 이에 상응하는 경쇄 불변 도메인은 각각 카파 CL 도메인(CL κ 도메인) 및 람다 CL 도메인(CL λ 도메인)으로 지칭된다.

[0174] IMGT에 따르면, CL κ 도메인은 아미노산 위치 108-214(EU 넘버링)이다. 인간 IgG의 예시적인 CL κ 도메인은 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. IMGT에 따르면, CL λ 도메인은 아미노산 위치 107-215(EU 넘버링)이다. 인간 IgG의 예시적인 CL λ 도메인은 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0175] 용어 "CL κ 도메인" "CL λ 도메인"은 본원에서, 자연적으로 발생하는, 상응하는 경쇄 불변 도메인 및/또는 영역 동종형 및 이의 변이체를 포함하도록 넓은 의미로 사용되며, 이는 더 적거나 더 많은 아미노산 및/또는 아미노산 변형(들)을 포함할 수 있다.

[0176] 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4의 불변 도메인의 다양한 표준 서열(상이한 동종형에 상응함)은 당 기술분야에 공지되어 있고, 예를 들어 Vidarsson 등, *Front Immunol.* 2014 Oct 20;5:520 및 미국특허 제9150663호에서 확인할 수 있으며, 이들의 개시내용은 그 전체가 본원에 참조로서 통합된다. 재차, 이들 참조 서열은 임의의 자연적으로 발생하는 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4 동종형을 포함하도록 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4 서열을 위한 출원인의 의도로서 예시적인 것으로 의도된다.

[0177] "항원 결합 단편" 또는 "항원 결합 항체 단편"은 온전한 항체의 일 부분을 지칭하거나, 온전한 항체가 결합하는 항원(이 경우, CD3)에 결합하는, 하나 이상의 온전한 항체로부터 유래된 부분의 조합을 의미한다. 항체의 항원-결합 단편은 항체 단편을 포함하는, 항원에 특이적으로 결합하여 복합체를 형성하는 임의의 자연적으로 발생하는, 효소적으로 수득 가능한, 합성, 또는 유전자 조작된 폴리펩티드 또는 당단백질을 포함한다. 예시적인 항원-결합 단편은 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; 디아바디; 선형 항체; 단쇄 항체 분자(예를 들어, 단쇄 가변 단편(scFv), 절반 항체, 나노바디 또는 VH 단독 또는 VL 단독); 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함하지만, 이들로 한정되지는 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항-CD3 항체의 항원-결합 단편은 scFv이다. 각각 "절반 IgG", "절반 IgE", 또는 "절반 IgD"로도 지칭될 수 있는, IgG, IgE, 또는 IgD를 지칭할 경우, 용어 "절반 분자" 또는 "절반 항체"는 기준 항체의 하나의 중쇄 및 하나의 경쇄 세트를 지칭한다.

[0178] "항원 결합 영역"은 항원에 대한 특이성을 갖는 항체 또는 항원 결합 단편의 일 부분을 지칭한다.

[0179] 다중특이적 항체 및 항체 단편

[0180] 본원에 개시된 항-CD3 항체 및/또는 항원 결합 단편 중 적어도 하나를 포함하는 다중특이적 항체는, 다음을 포함하나 이에 한정되지 않는 다양한 기술에 따라 제조될 수 있다: 상이한 특이성을 갖는 2개의 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 재조합 공동-발현(Milstein 및 Cuello의 문헌[*Nature* 305: 537 (1983)], WO 93/08829, 및 Trautnecker 등의 문헌[*EMBO J.* 10: 3655 (1991) 참조], "노브-인-홀(knob-in-hole)" 조작(예를 들어, 미국 특허 제5,731,168호 참조); 면역글로불린 교차(Fab 도메인 교환 또는 CrossMab 포맷으로도 알려짐) 기술(예를 들어, WO2009/080253; Schaefer 등의 문헌[*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108:11187-11192 (2011)] 참조); 항체 Fc-이종이량체 분자를 만들기 위한 정전기 조종 효과 조작(WO 2009/089004A1); 2개 이상의 항체 또는 단편의 가

교(예를 들어, 미국 특허 제4,676,980호, 및 Brennan 등의 문헌[*Science*, 229: 81 (1985)] 참조); 류신 지퍼(leucine zipper)(예를 들어, Kostelny 등의 문헌[*J. Immunol*, 148(5):1547-1553 (1992)] 참조); "디아바디" 기술(예를 들어, Hollinger 등의 문헌[*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993)] 참조); 단쇄 Fv(scFv) 이량체화(예를 들어, Gruber 등의 문헌[*J. Immunol*, 152:5368 (1994)] 참조); 및 예를 들어, Tutt 등의 문헌 [*J. Immunol* 147: 60 (1991)]에 기술된 삼중특이적 항체.

[0181] 다양한 다중특이적 항체 포맷이 본원에 기술된 다중특이적 항체 및 항체 단편의 맥락에서 사용될 수 있다. 다중특이적 및 이중특이적 포맷의 비제한적인 예는 다음을 포함한다: 예를 들어, Fab-Fc-scFv ("병-오프너") (XENCOR), Mab-scFv (XENCOR), Mab-Fv (XENCOR), 이중 scFv(XENCOR), 중앙 Fv(XENCOR), 중앙 scFv(XENCOR), 원-아암 중앙 scFv(XENCOR), Fab-Fab (XENCOR), Fab-Fv (XENCOR), mAb-Fv (XENCOR), mAb-Fab (XENCOR), DART (MACROGENICS), BiTE (AMGEN/MICROMET), KiTE, 공통 경쇄-IgG(Genentech), TandAb (SFFIMED) Cross-Mab (ROCHE), SEED (EMD SERONO), BEAT (GLENMARK), TrioMab (TRION PHARMA/FRESENIUS BIOTECH), DuetMab (MEDIMMUNE), 및 (WO2021067404; WO2022150787; WO2022150785; WO 95/09917; WO 2008/119566; WO 2008/119567; WO2011/121110; WO 2010/037835; WO 2007/042261; WO 2007/110205; WO 2011/121110; WO 2012/055961; WO 2012/16067; WO 2016/086189; WO 2016/182751; WO 2015/006749; WO 2014/049003; WO 2013/177101; WO 2015/128509; US 7,951,917; US 2009/0252729; US 2014/0348839; US 7,183,076; Mazor 등, *Mabs*, Vol. 7, 페이지 377-389 (2015); Muda 등, *Protein Engineering, Design, & Selection*, Vol. 24, 페이지 447-454 (2011); 및 Del Bano 등, *Antibodies*, Vol. 5, 페이지 1-23 (2016)에 개시된 바와 같은, 기타 등등을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항-CD3 scFv 단편은 다중특이적(예를 들어, 이중특이적) 항체의 하나 이상의 가변 도메인을 포함한다.

[0182] 일부 구현예에서, 다중특이적 항체 또는 항체 단편은 이중특이적 항체 형성을 위한 효율적인 폴리펩티드 이중이량체화(예를 들어, 제1 중쇄, 및 전술한 제1 중쇄와 상이한 제2 중쇄)를 용이하게 하는 하나 이상의 조작된, 변이체 불변 도메인을 포함할 수 있다.

[0183] 특정 구현예에서, 다중특이적 항체 또는 항체 단편은, CL κ -선호 변이체 CH1 도메인 및/또는 CL λ -선호 변이체 CH1 도메인을 포함할 수 있다. CL κ -선호 변이체 CH1 도메인은 비-CL κ -도메인(예컨대, CL λ 도메인)보다는 CL κ 도메인과 우선적으로 쌍을 이룬다. CL λ -선호 변이체 CH1 도메인은 비-CL λ 도메인(예컨대, CL κ 도메인)보다는 CL λ 도메인과 우선적으로 쌍을 이룬다. 특정 구현예에서, 이러한 CL κ -선호 변이체 CH1 도메인 및/또는 CL κ -선호 변이체 CH1 도메인은 WO2021067404에 기술된 것들로부터 선택될 수 있다.

[0184] 특정 구현예에서, 다중특이적 항체 또는 항체 단편은 서로 우선적으로 쌍을 이루는 적어도 한 쌍의 CH1 도메인 및 CL 도메인을 포함할 수 있다. CH1 및 CL 도메인의 우선적-페어링 쌍에서: CH1 도메인은 야생형 CL 도메인과 같은 다른 주어진 CL 도메인보다는 CL 도메인과 쌍을 이루는 것을 선호하고/하거나; CL 도메인은 야생형 CH1 도메인과 같은 다른 주어진 CH1 도메인보다는 CH1 도메인과 쌍을 이루는 것을 선호한다. CH1 도메인 및 CL 도메인 중 하나 또는 둘 모두는 변이체 도메인(들)일 수 있다. 특정 구현예에서, CH1 도메인 및 CL 도메인의 이러한 우선적-페어링 쌍은 WO2022150787에 기술된 쌍으로부터 선택될 수 있다.

[0185] 특정 구현예에서, 다중특이적 항체 또는 항체 단편은 서로 우선적으로 쌍을 이루는(즉, 이중이량체를 형성하는), 제1 CH3 도메인 및 전술한 제1 CH3과 상이한 제2 CH3 도메인의 적어도 한 쌍을 포함할 수 있다. 이러한 우선적-페어링 쌍에서, 제1 CH3 도메인은 다른 제1 CH3 도메인보다는 제2 CH3 도메인과 쌍을 이루는 것을 선호하고/하거나; 제2 CH3 도메인은 다른 제2 CH3 도메인보다는 제1 CH3 도메인과 쌍을 이루는 것을 선호한다. CH3 도메인 중 하나 또는 둘 모두는 변이체 도메인(들)일 수 있다. 특정 구현예에서, 제1 및 제2 CH3 도메인의 이러한 우선적-페어링 쌍은 WO2022150785에 기술된 쌍으로부터 선택될 수 있다.

[0186] 표적

[0187] 특정 구현예에서, 본원에 기술된 항-CD3 항체 및/또는 항원 결합 단편은 다중특이적 항체, 특히 제2 항원에 대한 결합 특이성을 갖는 이중특이적 항체에 함유된다. 이러한 제2 항원은 제1 표적과는 완전히 다른 표적, 또는 동일한 표적 상에 존재하는 상이한 에피토프일 수 있다. 일부 구현예에서, 결합 특이성은 CD3(예를 들어, CD3 ϵ 또는 CD3 γ)의 2개의 상이한 에피토프에 대한 것이다. 다른 구현예에서, 결합 특이성 중 하나는 CD3(예를 들어, CD3 ϵ 또는 CD3 γ)에 대한 것이고 다른 하나는 상이한 생물학적 분자(예를 들어, 세포 표면 항원, 예를 들어, 중앙 항원)에 대한 것이다.

[0188] 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원 결합 단편을 포함하는 이중특이적 항체가 지향하는 제2 항

원의 비제한적 예는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 표적을 포함한다: 17-1A, 4-1BB, 4Dc, 6- 케토-PGF1a, 8-이소-PGF2a, 8-옥소-dG, A1 아데노신 수용체, A33, ACE, ACE-2, 액티빈, 액티빈 A, 액티빈 AB, 액티빈 B, 액티빈 C, 액티빈 RIA, 액티빈 RIA ALK-2, 액티빈 RIB ALK-4, 액티빈 RIIA, 액티빈 RUB, ADAM, ADAM10, ADAM12, ADAM15, ADAM17/TACE, ADAM8, ADAM9, ADAMTS, ADAMTS4, ADAMTS5, 어드레신(Addressin), aFGF, ALCAM, ALK, ALK-1, ALK-7, 알파-1-항트립신, 알파-V/베타-1 길항제, ANG, Ang, APAF-1, APE, APJ, APP, APRIL, AR, ARC, ART, 아르테민, 항-Id, ASPARTIC, 심방 나트륨 이뇨 인자, av/b3 인테그린, Ax1, b2M, B7-1, B7-2, B7-H, B-림프구 자극제(BlyS), BACE, BACE-1, Bad, BAFF, BAFF-R, Bag-1, BAK, Bax, BCA-1, BCAM, Bel, BCMA, BDNF, b-ECGF, bFGF, BID, Bik, BIM, BLC, BL-CAM, BLK, BMP, BMP-2 BMP-2a, BMP-3 오스테오게닌(Osteogenin), BMP-4 BMP-2b, BMP-5, BMP-6 Vgr-1, BMP-7 (OP-1), BMP-8(BMP-8a, OP-2), BMPR, BMPR-IA(ALK-3), BMPR-IB(ALK-6), BRK-2, RPK-1, BMPR-II(BRK-3), BMPs, b- NGF, BOK, 본베신(Bombesin), 뼈-유래 신경영양인자, BPDE, BPDE-DNA, BTC, 상보적 인자 3(C3), C3a, C4, C5, C5a, C10, CA125, CAD-8, 칼시토닌(Calcitonin), cAMP, 암배아 항원(CEA), 암종-연관 항원, 카텝신 A, 카텝신 B, 카텝신 C/DPPI, 카텝신 D, 카텝신 E, 카텝신 H, 카텝신 L, 카텝신 O, 카텝신 S, 카텝신 V, 카텝신 X/Z/P, CBL, CCI, CCK2, CCL, CCL1, CCL11, CCL12, CCL13, CCL14, CCL15, CCL16, CCL17, CCL18, CCL19, CCL2, CCL20, CCL21, CCL22, CCL23, CCL24, CCL25, CCL26, CCL27, CCL28, CCL3, CCL4, CCL5, CCL6, CCL7, CCL8, CCL9/10, CCR, CCR1, CCR10, CCR10, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CD1, CD2, CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD10, CD11a, CD11b, CD11c, CD13, CD14, CD15, CD16, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD25, CD27L, CD28, CD29, CD30, CD30L, CD32, CD33 (p67 단백질), CD34, CD38, CD40, CD40L, CD44, CD45, CD46, CD49a, CD52, CD54, CD55, CD56, CD61, CD64, CD66e, CD74, CD80 (B7-1), CD89, CD95, CD123, CD137, CD138, CD140a, CD146, CD147, CD148, CD152, CD164, CEACAM5, CFTR, cGMP, CINC, 클로스트리디움 보툴리눔(*Clostridium botulinum*) 독소, 클로스트리디움 퍼프린젠스(*Clostridium perfringens*) 독소, CKb8-1, CLC, CMV, CMV UL, CNTF, CNTN-1, COX, C-Ret, CRG-2, CT-1, CTACK, CTGF, CTLA-4, CX3CL1, CX3CR1, CXCL, CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL4, CXCL5, CXCL6, CXCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CXCL14, CXCL15, CXCL16, CXCR, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, CXCR6, 사이토케라틴 종양-연관 항원, DAN, DCC, DcR3, DC-SIGN, 쇠약 가속 인자, des(1-3)-IGF-I(뇌 IGF-1), Dhh, 디곡신, DNAM-1, Dnase, Dpp, DPPIV/CD26, Dtk, ECAD, EDA, EDA-A1, EDA-A2, EDAR, EGF, EGFR (ErbB-1), EMA, EMMPRIN, EN A, 엔도텔린 수용체, 엔케팔리나아제, eNOS, Eot, 에오타신, EpCAM, 에프린 B2/EphB4, EPO, ERCC, E-셀렉틴, ET-1, 인자 I1a, 인자 VII, 인자 VIIc, 인자 IX, 섬유아세포 활성화 단백질(FAP), Fas, FcR1, FEN-1, 페리틴(Ferritin), FGF, FGF-19, FGF-2, FGF3, FGF-8, FGFR, FGFR-3, 피브린(Fibrin), FL, FLIP, Flt-3, Flt-4, 난포 자극 호르몬, 프락탈킨(Fractalkine), FZD1, FZD2, FZD3, FZD4, FZD5, FZD6, FZD7, FZD8, FZD9, FZD10, G250, Gas 6, GCP-2, GCSF, GD2, GD3, GDF, GDF-1, GDF-3(Vgr-2), GDF-5(BMP-14, CDMP-1), GDF-6(BMP-13, CDMP-2), GDF-7(BMP-12, CDMP-3), GDF-8(미오스타틴(Myostatin)), GDF-9, GDF-15(MIC-1), GDNF, GFAP, GFRa-1, GFR-알파1, GFR-알파2, GFR-알파3, GTR, 글루카곤(Glucagon), Glut 4, 당단백질 I1b/IIIa(GP I1b/IIIa), GM-CSF, gp130, gp72, GRO, 성장 호르몬 방출 인자, 합텐(Hapten)(NP-cap 또는 NIP-cap), HB-EGF, HCC, HCMV gB 포장 당단백질, HCMV gH 포장 당단백질, HCMV UL, 조혈 성장 인자(HGF), Hep B gp120, 헤파리나제, Her2, Her2/neu(ErbB-2), Her3(ErbB-3), Her4(ErbB-4), 단순 포진 바이러스(HSV) gB 당단백질, HSV gD 당단백질, HGFA, 고분자량 흑색종 연관 항원(HMW-MAA), HIV gp120, HIV IIIB gp 120 V3 루프, HLA, HLA-DR, HM1.24, HMGF PEM, HRG, Hrk, 인간 심장 미오신, 인간 거대세포바이러스(HCMV), 인간 성장 호르몬(HGH), HVEM, 1-309, IAP, ICAM, ICAM-1, ICAM-3, ICE, ICOS, IFNg, Ig, IgA 수용체, IgE, IGF, IGF 결합 단백질, IGF-1R, IGFBP, IGF-I, IGF-II, IL, IL-1, IL-1R, IL-2, IL-2R, IL-4, IL-4R, IL-5, IL-5R, IL-6, IL-6R, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-18, IL-18R, IL-23, 인터페론(INF)-알파, INF-베타, INF-감마, 인히빈, iNOS, 인슐린 A-사슬, 인슐린 B-사슬, 인슐린-유사 성장 인자 1, 인테그린 알파2, 인테그린 알파3, 인테그린 알파4, 인테그린 알파4/베타1, 인테그린 알파4/베타7, 인테그린 알파5(알파V), 인테그린 알파5/베타1, 인테그린 알파5/베타3, 인테그린 알파6, 인테그린 베타1, 인테그린 베타2, 인테그린 감마, IP-10, 1-TAC, JE, 칼리크레인(Kallikrein) 2, 칼리크레인 5, 칼리크레인 6, , 칼리크레인 11, 칼리크레인 12, 칼리크레인 14, 칼리크레인 15, 칼리크레인 LI, 칼리크레인 L2, 칼리크레인 L3, 칼리크레인 L4, KC, KDR, 각질세포 성장 인자(KGF), 라미닌 5, LAMP, LAP, LAP (TGF-1), 잠재 TGF-1, 잠재 TGF-1 bp1, LBP, LDGF, LECT2, 레프티(Lefty), 루이스-Y 항원, 루이스-Y 관련 항원, LFA-1, LFA-3, Lfo, LIF, LIGHT, 지질 단백질, LIX, LKN, Lptn, L-셀렉틴, LT-a, LT-b, LTB4, LTBP-1, 폐 계면활성제, 황체형성 호르몬, 림프독신 베타 수용체, Mac-1, MAdCAM, MAG, MAP2, MARC, MCAM, MCAM, MCK-2, MCP, M-CSF, MDC, Mer, 메탈로프로테아제, MGDF 수용체, MGMT, MHC (HLA-DR), MIF, MIG, MIP, MIP-1-알파, MK, MMAC1, MMP, MMP-1, MMP-10, MMP-11, MMP-12, MMP-13, MMP-14, MMP-15, MMP-2, MMP-24, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MPIF, Mpo, MSK, MSP, 뮤신

(Muc1), MUC18, 물러리안(Muellerian)-억제 물질, Mug, MuSK, NAIP, NAP, NCAD, N-카드헤린, NCA 90, NCAM, NCAM, 네프릴리신, 뉴로트로핀-3,-4, 또는 -6, 뉴르트린, 신경 성장 인자(NGF), NGFR, NGF-베타, nNOS, NO, NOS, Npn, NRG-3, NT, NTN, OB, OGG1, OPG, OPN, OSM, OX40L, OX40R, p150, p95, PADPr, 부갑상선 호르몬, PARC, PARP, PBR, PBSF, PCAD, P-Cadherin, PCNA, PDGF, PDGF, PDK-1, PECAM, PEM, PF4, PGE, PGF, PG12, PGJ2, PIN, PLA2, 태반 알칼리성 포스파타아제(PLAP), P1GF, PLP, PP14, 프로인슐린, 프로렐락신, 단백질 C, PS, PSA, PSCA, 전립선 특이적 막 항원(PSMA), PTEN, PTHrp, Ptk, PTN, R51, RANK, RANKL, RANTES, RANTES, 릴렉신 A-사슬, 릴렉신 B-사슬, 수지, 호흡기 세포융합 바이러스(RSV) F, RSV Fgp, Ret, 류마티스 인자, RLIP76, RPA2, RSK, S100, SCF/KL, SDF-1, SERINE, 혈청 알부민, sFRP-3, Shh, SIGIRR, SK-1, SLAM, SLPI, SMAC, SMDf, SMOH, SOD, SPARC, Stat, STEAP, STEAP-II, TACE, TACI, TAG-72(종양-연관 당단백질-72), TARC, TCA-3, T-세포 수용체(예를 들어, T-세포 수용체 알파/베타), TdT, TECK, TEM1, TEM5, TEM7, TEM8, TERT, 고환 PLAP 유사 알칼리성 포스파타아제, Tfr, TGF, TGF-알파, TGF-베타, TGF-베타 팬 특정(Pan Pacific), TGF-베타 RI(ALK-5), TGF-베타 RII, TGF-베타 R11b, TGF-베타 RIII, TGF-베타1, TGF-베타2, TGF-베타3, TGF-베타4, TGF-베타5, 트롬빈, 티무스 Ck-1, 갑상선 자극 호르몬, Tie, TIMP, TIQ, 조직 인자, TMEFF2, Tmpo, TMPRSS2, TNF, TNF-알파, TNF-알파 베타, TNF-베타2, TNFc, TNF-RI, TNF-RII, TNFRSF10A (TRAIL R1 Apo-2, DR4), TNFRSF10B(TRAIL R2 DR5, KILLER, TRICK-2A, TRICK-B), TNFRSF10C(TRAIL R3 DcR1, LIT, TRID), TNFRSF10D(TRAIL R4 DcR2, TRUND), TNFRSF11A(RANK ODF R, TRANCE R), TNFRSF11B(OPG OCIF, TR1), TNFRSF12(TWEAK R FN14), TNFRSF13B(TACI), TNFRSF13C(BAFF R), TNFRSF14(HVEM ATAR, HveA, LIGHT R, TR2), TNFRSF16(NGFR p75NTR), TNFRSF17(BCMA), TNFRSF18(GITR AITR), TNFRSF19(TROY TAJ, TRADE), TNFRSF19L(RELT), TNFRSF1A(TNF RI CD120a, p55-60), TNFRSF1B(TNF RII CD120b, p75-80), TNFRSF26(TNFRH3), TNFRSF3(LTbR TNF RIII, TNFC R), TNFRSF4(OX40 ACT35, TXGP1 R), TNFRSF5(CD40 p50), TNFRSF6(Fas Apo-1, APT1, CD95), TNFRSF6B(DcR3 M68, TR6), TNFRSF7(CD27), TNFRSF8(CD30), TNFRSF9(4-1BB CD137, ILA), TNFRSF21(DR6), TNFRSF22(DcTRAIL R2 TNFRH2), TNFRSF23(DcTRAIL R1 TNFRH1), TNFRSF25(DR3 Apo-3, LARD, TR-3, TRAMP, WSL-1), TNFSF10(TRAIL Apo-2 리간드, TL2), TNFSF11(TRANCE/RANK 리간드 ODF, OPG 리간드), TNFSF12(TWEAK Apo-3 리간드, DR3 리간드), TNFSF13(APRIL TALL2), TNFSF13B(BAFF BLYS, TALL1, THANK, TNFSF20), TNFSF14(LIGHT HVEM 리간드, LTg), TNFSF15(TL1A/VEGI), TNFSF18(GITR 리간드 AITR 리간드, TL6), TNFSF1A(TNF-a 코넥틴, DIF, TNFSF2), TNFSF1B(TNF-b LTa, TNFSF1), TNFSF3(LTb TNFC, p33), TNFSF4(OX40 리간드 gp34, TXGP1), TNFSF5(CD40 리간드 CD154, gp39, HIGM1, IMD3, TRAP), TNFSF6(Fas 리간드 Apo-1 리간드, APT1 리간드), TNFSF7(CD27 리간드 CD70), TNFSF8(CD30 리간드 CD153), TNFSF9(4-1BB 리간드 CD137 리간드), TP-1, t-PA, Tpo, TRAIL, TRAIL R, TRAIL-R1, TRAIL-R2, TRANCE, 전달 수용체, TRF, Trk, TROP-2, TSG, TSLP, 종양 연관 항원 CA 125, 루이스 Y 연관 탄수화물을 발현하는 종양 연관 항원, TWEAK, TXB2, Ung, uPAR, uPAR-1, Urokinase, VCAM, VCAM-1, VECAD, VE-카드헤린, VE-카드헤린-2, VEGFR-1(flt-1), VEGF, VEGFR, VEGFR-3(flt-4), VEGI, VIM, 바이러스 항원, VLA, VLA-1, VLA-4, VNR o;L 테그린, 폰 빌레브란트(von Willebrands) 인자, WIF- 1, WNT1, WNT2, WNT2B/13, WNT3, WNT3A, WNT4, WNT5A, WNT5B, WNT6, WNT7A, WNT7B, WNT8A, WNT8B, WNT9A, WNT9A, WNT9B, WNT10A, WNT10B, WNT11, WNT16, XCL1, XCL2, XCR1, XCR1, XEDAR, XIAP, XPD, CTLA4(세포독성 T 림프구 항원-4), PD1(프로그래밍된 사포 사멸 단백질 1), PD-L1(프로그래밍된 사포 사멸 리간드 1), LAG-3(림프구 활성화 유전자-3), TIM-3(T 세포 면역글로불린 및 뮤신 단백질-3), 호르몬에 대한 수용체, 및 성장 인자.

[0189] 다중특이적 항체 및 항체 단편의 개발가능성

[0190] 본원의 전체에 걸쳐 기술되는 바와 같이, 본원에 제공된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 이의 항원 결합 단편은 하나 이상의 바람직한 개발가능 특성을 보유하며, 따라서 비교적 개발가능하다. 따라서 본 개시에 따른 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편을 포함하는 다중특이적 항체 또는 항체 단편을 효과적이고 효율적으로 개발하기 위해, (예를 들어, 제2 특이성을 제공하기 위해 다중특이적 항체 포맷 및 항체 서열을 포함하는) 하나 이상의 다중특이적 항체 또는 항체 단편 후보가 설계되면, 해당 후보에 대해, 하나 이상의 개발가능성 파라미터(예를 들어, 다중특이성, 소수성, 자기 상호작용, 점도, 안정성, 유통 기한, 중쇄-경쇄 페어링 불량 경향, 응집 경향, 및/또는 산성 스트레스에 대한 내성) 및/또는 임의의 다른 특성(예를 들어, 항원 결합, 표적 세포 결합, 등)이 시험될 수 있다. 개발가능성 및/또는 다른 항체 특성을 평가하는 데 사용될 수 있는 검정은 비제한적으로 다음 중 하나 이상을 포함한다: PSR 검정; CIC; SIC; HIC; SEC; DLS 분광법; 광자 상관 분광법; 준-탄성 광 산란, CD, 점도 측정; 전 세포 결합; 조직 마이크로 어레이 방법론; BVP ELISA 검정과 같은 ELISA 검정; AC-SINS 검정; Tm 검정; 시차주사 열량측정 또는 DSF; 및 다른 것들.

- [0191] 항-CD3 항체 가변 서열
- [0192] 일부 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은 **표 1A** 및 **1B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 것들 중 어느 하나의 가변 도메인 아미노산 서열에 함유된 하나 이상의 CDR 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은 **표 1C** 및 **1D**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 것들 중 어느 하나의 가변 도메인-암호화 핵산 서열에 암호화된 하나 이상의 CDR 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은 **표 2A** 및 **2B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 것들 중 하나 이상의 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0193] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은, **표 1A**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 임의의 VH 서열에 함유되거나; **표 1C**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 임의의 VH-암호화 핵산 서열에 암호화되거나; **표 2A**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019 중 어느 하나와 연관된 CDRH1, CDRH2, 및 CDRH3 서열로부터 개별적으로 선택되는 CDRH1, CDRH2, 및 CDRH3 서열을 포함할 수 있다.
- [0194] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은, **표 1A**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 VH 서열 중 어느 하나에 함유되거나; **표 1C**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 VH-암호화 핵산 서열 중 어느 하나에 암호화되거나; **표 2A**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 CDRH1, CDRH2, 및 CDRH3 서열의 세트를 포함할 수 있다.
- [0195] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은, **표 1B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 임의의 VL 서열에 함유되거나; **표 1D**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 임의의 VL-암호화 핵산 서열에 암호화되거나; **표 2B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019 중 어느 하나와 연관된 CDRL1, CDRL2, 및 CDRL3 서열로부터 개별적으로 선택되는 CDRL1, CDRL2, 및 CDRL3 서열을 포함할 수 있다.
- [0196] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은, **표 1B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 VL 서열 중 어느 하나에 함유되거나; **표 1D**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 VL-암호화 핵산 서열 중 어느 하나에 암호화되거나; **표 2B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 CDRL1, CDRL2, 및 CDRL3 서열의 세트를 포함할 수 있다.
- [0197] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은, **표 1A** 및 **1B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 VH 및 VL 서열 중 어느 하나에 함유되거나; **표 1C** 및 **1D**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 VH- 및 VL-암호화 핵산 서열 중 어느 하나에 암호화되거나; **표 2A** 및 **2B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, 및 CDRL3 서열의 세트를 포함할 수 있다.
- [0198] 일부 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은 임의의 공지된 생식선 암호화 가변 도메인 서열 (예를 들어, 포유류 생식선 서열, 예를 들어, 마우스, 인간 또는 비인간 생식선 서열) 또는 이의 변이체에 함유된 하나 이상의 FR 아미노 서열을 포함할 수 있다. 이러한 생식선 서열은 인간 VH1-03 및/또는 VK4-01 생식선 서열을 포함할 수 있다.
- [0199] 일부 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은 **표 1A** 및 **1B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 것들 중 어느 하나의 가변 도메인 아미노산 서열에 함유된 하나 이상의 FR 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은 **표 1C** 및 **1D**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 것들 중 어느 하나의 가변 도메인-암호화 핵산 서열에 암호화된 하나 이상의 FR 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은 **표 3A** 및 **3B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 것들 중 하나 이상의 FR 서열을 포함할 수 있다.
- [0200] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은, **표 1A**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 임의의 VH 서열에 함유되거나; **표 1C**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 임의의 VH-암호화 핵산 서열에 암호화되거나; **표 3A**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019 중 어느 하나와 연관된 FRH1, FRH2, FRH3, 및 FRH4 서열로부터 개별적으로 선택되는 FRH1, FRH2, FRH3, 및 FRH4 서열 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

- [0201] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은, **표 1A**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 VH 서열 중 어느 하나에 함유되거나; **표 1C**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 VH-암호화 핵산 서열 중 어느 하나에 암호화되거나; **표 3A**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019 중 어느 하나와 연관된 FRH1, FRH2, FRH3, 및 FRH4 서열의 세트를 포함할 수 있다.
- [0202] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은, **표 1B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 임의의 VL 서열에 함유되거나; **표 1D**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 임의의 VL-암호화 핵산 서열에 암호화되거나; **표 3B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019 중 어느 하나와 연관된 FRH1, FRH2, FRH3, 및 FRH4 서열로부터 개별적으로 선택되는 FRH1, FRH2, FRH3, 및 FRH4 서열 중 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [0203] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은, **표 1B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 VL 서열 중 어느 하나에 함유되거나; **표 1D**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 VL-암호화 핵산 서열 중 어느 하나에 암호화되거나; **표 3B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 FRL1, FRL2, FRL3, 및 FRL4 서열의 세트를 포함할 수 있다.
- [0204] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은, **표 1A** 및 **1B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 VH 및 VL 서열 중 어느 하나에 함유되거나; **표 1C** 및 **1D**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 VH- 및 VL-암호화 핵산 서열 중 어느 하나에 암호화되거나; **표 2A** 및 **2B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019와 연관된 FRH1, FRH2, FRH3, FRH4, FRL1, FRL2, FRL3, 및 FRL4 서열의 세트를 포함할 수 있다.
- [0205] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은, **표 1A** 및 **1B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019 중 어느 하나와 연관된 VH 및 VL 서열 조합 중 어느 하나에 함유되거나; **표 1C** 및 **1D**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019 중 어느 하나와 연관된 VH- 및 VL-암호화 핵산 서열 조합 중 어느 하나에 암호화되거나; **표 2A, 2B, 3A, 및 3B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 V002-V0019 중 어느 하나와 연관된 FRH1, CDRH1, FRH2, CDRH2, FRH3, CDRH3, FRH4, FRL1, CDRL1, FRL2, CDRL2, FRL3, CDRL3, 및 FRL4 서열의 세트를 포함할 수 있다.
- [0206] 특정 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은 **표 1A**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019 중 어느 하나와 연관된 VH 폴리펩티드 서열, 또는 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 서열을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은 **표 1B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019 중 어느 하나와 연관된 VL 폴리펩티드 서열, 또는 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 서열을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은 **표 1A** 및 **1B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 V002-V0019 중 어느 하나와 연관된 VH 및 VL 서열의 세트를 포함할 수 있다.
- [0207] 특정 구현예에서, 본 개시는 본 개시의 항-CD3 항체 및 항원-결합 단편을 암호화하는 핵산을 제공한다. 핵산은, **표 1A**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019 중 어느 하나와 연관된 VH 폴리펩티드 서열, 또는 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 서열을 암호화할 수 있다. 이러한 핵산은, **표 1C**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019 중 어느 하나와 연관된 VH 폴리펩티드 서열, 또는 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 서열, 또는 전술한 것 중 어느 하나의 mRNA 버전을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시의 핵산은 **표 1C**에 열거된 것들의 변이체를 포함하되, 이러한 변이체는 대안적인 코돈을 포함한다(예를 들어, 코돈 최적화된 변이체). 핵산은, **표 1B**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019 중 어느 하나와 연관된 VL 폴리펩티드 서열, 또는 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 서열을 암호화할 수 있다. 이러한 핵산은, **표 1D**에 나타난 바와 같은, 항체 번호 A001-A005 및 V002-V0019 중 어느 하나와 연관된 VL 폴리펩티드 서열, 또는 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 서열, 또는 전술한 것 중 어느 하나의 mRNA 버전

을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시의 핵산은 표 1D에 열거된 것들의 변이체를 포함하되, 이러한 변이체는 대안적인 코돈을 포함한다(예를 들어, 코돈 최적화된 변이체).

[0208] 항-CD3 항체 서열에 대한 변형

[0209] 본 개시는 또한, 항체 번호 V002-V0019를 포함하나 이에 한정되지 않는 본원에 개시된 항-CD3 항체 중 어느 하나에 대한 항-CD3 항체의 변형을 고려하며, 이러한 변형은 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 FR 및/또는 CDR 영역에서의 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 포함한다. 일단 획득되면, 이러한 유도체 항체 및/또는 항원-결합 단편은 개선된 결합 특이성, 증가된 결합 친화도, 개선된 개발가능성 등과 같은, 하나 이상의 원하는 특성에 대해 시험될 수 있다.

[0210] 일부 구현예에서, 본 개시에 따른 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편의 VH 및/또는 VL은, 표 1A 및/또는 1B에 개시된 항체 번호 V002-V19 중 어느 하나의 VH 및/또는 VL에 대해, 적어도 약 100%, 적어도 약 99%, 적어도 약 98%, 적어도 약 97%, 적어도 약 96%, 적어도 약 95%, 적어도 약 94%, 적어도 약 93%, 적어도 약 92%, 적어도 약 91%, 적어도 약 90%, 적어도 약 89%, 적어도 약 88%, 적어도 약 87%, 적어도 약 86%, 약 85%, 적어도 약 84%, 적어도 약 83%, 적어도 약 82%, 적어도 약 80%, 적어도 약 75%, 적어도 약 70%, 적어도 약 65%, 적어도 약 60%, 적어도 약 55%, 적어도 약 50%의 아미노산 서열 동일성을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 동일성 백분율은 서열 동일성에 대한 임의의 공지된 알고리즘, 예컨대 FASTA, Basic Local Alignment Search Tool(BLAST®) 또는 GAP에 의해 측정된다.

[0211] 일부 구현예에서, 동일하지 않은 잔기 위치는 보존적 아미노산 치환에 의해 상이하다. "보존적 아미노산 치환"은 유사한 화학적 특성(예를 들어, 전하 또는 소수성)을 갖는 측쇄(R기)를 갖는 다른 아미노산 잔기에 의해 아미노산 잔기가 치환되는 것이다. 일반적으로, 보존적 아미노산 치환은 단백질의 기능적 특성을 실질적으로 변화시키지 않을 것이다. 2개 이상의 아미노산 서열이 보존적 치환에 의해 서로 상이한 경우, 유사성의 백분율 또는 정도는 치환의 보존적 성질에 대해 보정하기 위해 상방으로 조정될 수 있다. 이러한 조정을 만드는 수단은 당업자에게 잘 알려져 있다. (예를 들어, Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307- 331 참조). 유사한 화학적 성질을 갖는 측쇄를 갖는 아미노산 군의 예는 다음을 포함한다 1) 지방족 측쇄: 글리신, 알라닌, 발린, 류신 및 이소류신; 2) 지방족-하이드록실 측쇄: 세린 및 트레오닌; 3) 아미드 함유 측쇄: 아스파라긴 및 글루타민; 4) 방향족 측쇄: 페닐알라닌, 티로신, 및 트립토판; 5) 염기성 측쇄: 라이신, 아르기닌, 및 히스티딘; 6) 산성 측쇄: 아스파르테이트 및 글루타메이트, 및 7) 황 함유 측쇄: 시스테인 및 메티오닌. 일부 구현예에서, 보존적 아미노산 치환기는 발린-류신-이소류신, 페닐알라닌-티로신, 라이신-아르기닌, 알라닌-발린, 글루타메이트-아스파르테이트, 및 아스파라긴-글루타민이다. 대안적으로, 일부 구현예에서, 보존적 대체는 Gonnet 등 (1992) *Science* 256: 1443 45에 기재된 PAM250 로그-우도 매트릭스(log-likelihood matrix)에서 양의 값을 갖는 임의의 변화를 포함한다. 일부 구현예에서, "중간 보존적(moderately conservative)" 치환은 PAM250 로그-우도 매트릭스에서 음이 아닌 값을 갖는 임의의 변화를 포함한다.

[0212] 하나 이상의 CDR 잔기의 치환 또는 하나 이상의 CDR의 생략도 가능하다. 과학 문헌에서 결합을 변경시키기 위해 1개 또는 2개의 CDR이 분배될 수 있는 항체가 기술되었다. Padlan 등의 (1995 *FASEB J.* 9:133-139)는 공개된 결정 구조에 기초하여 항체와 이들의 항원 사이의 접촉 영역을 분석하였으며, CDR 잔기의 약 1/5 내지 1/3만이 실제로 그들의 연관된 항원과 접촉한다고 결론지었다. 또한 Padlan은 1개 또는 2개의 CDR이 항원과 접촉하는 0 개의 아미노산을 갖는 많은 항체를 발견하였다 (또한 Vajdos 등의 2002 *J Mol Biol* 320:415-428 참조). 항원과 접촉하지 않는 CDR 잔기는, 분자 모델링에 의해 및/또는 경험적으로, Chothia CDR의 외부에 놓인 Kabat CDR의 영역으로부터, 이전 연구(예를 들어, CDRH2에서의 잔기 H60-H65가 종종 필요하지 않음)에 기초하여 식별될 수 있다. CDR 또는 이의 잔기(들)가 생략되는 경우, 이는 일반적으로 다른 인간 항체 서열 또는 이러한 서열의 컨센서스에서 상응하는 위치를 차지하는 아미노산으로 치환된다. CDR 내의 치환을 위한 위치 및 치환할 아미노산도 경험적으로 선택될 수 있다.

[0213] 돌연변이 유발을 위해 표적화될 수 있는 항체의 잔기 또는 영역의 식별을 위한 유용한 방법은 Cunningham 및 Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085에 의해 기술된 "알라닌 스캐닝 돌연변이 유발(alanine scanning mutagenesis)"이라고 지칭된다. 이 방법에서, 잔기 또는 표적 잔기들의 군(예를 들어, Arg, Asp, His, Lys, 및 Glu와 같은 하전된 잔기)이 식별되고 중성 또는 음으로 하전된 아미노산(예를 들어, 알라닌 또는 폴리알라닌)으로 대체되어 항원과 항체의 상호작용이 영향을 받는지 여부를 결정한다. 추가의 치환은 초기 치환에 대한 기능적 민감도를 나타내는 아미노산 위치에 도입될 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 항체와 항원 사이의 접촉 지점을 식별하기 위한 항원-항체 복합체의 결정 구조. 이러한 접촉 잔기 및 이웃 잔기는 치환 후보로서 표적화

되거나 제거될 수 있다. 변이체가 원하는 특성을 함유하는지 여부를 결정하기 위해 이를 스크리닝할 수 있다.

- [0214] 아미노산 서열 삽입은 하나의 잔기에서 100개 이상의 잔기를 함유하는 폴리펩티드까지의 길이에 이르는 아미노- 및/또는 카르복실-말단 융합뿐만 아니라, 단일 또는 다수의 아미노산 잔기의 서열 내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 항체의 N-말단 또는 C-말단에 대한 효소(예를 들어, ADEPT용) 또는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 폴리펩티드에 대한 융합을 포함한다.
- [0215] 전체에 걸쳐 기술된 바와 같이, 본원에 제공된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편은 양호한 개발가능성을 보유하며, 따라서 비교적 개발 가능하다. 따라서 항-CD3 항체의 서열(가변 및/또는 불변 서열)이 변형되면, 해당 파생된 항체에 대해, 하나 이상의 개발가능성 파라미터(예를 들어, 다중특이성, 소수성, 자기 상호작용, 점도, 안정성, 유통 기한, 중쇄-경쇄 페어링 불량 경향, 응집 경향, 및/또는 산성 스트레스에 대한 내성) 및/또는 임의의 다른 특성을 포함하는 개발가능성 프로파일이 시험될 수 있다. 개발가능성 및/또는 다른 항체 특성을 평가하는 데 사용될 수 있는 검정은 비제한적으로 다음 중 하나 이상을 포함한다: PSR 검정; CIC; SIC; HIC; SEC; DLS 분광법; 광자 상관 분광법; 준-탄성 광 산란, CD, 점도 측정; 전 세포 결합; 조직 마이크로 어레이 방법론; BVP ELISA 검정과 같은 ELISA 검정; AC-SINS 검정; Tm 검정; 시차주사 열량측정 또는 DSF; 및 다른 것들. 추가의 항체 선택은 바람직한 개발가능성 파라미터 또는 프로파일을 나타내는 항체에 기초하여 수행될 수 있다.
- [0216] *접합을 통한 항체 변형*
- [0217] 특정 구현예에서, 조작된 CD3 결합 도메인 및 이를 포함하는 항체는 당해 기술분야에 공지되어 있고 쉽게 이용가능한 추가적인 비-단백성 모이어티를 함유하도록 추가로 변형될 수 있다. 항체의 유도체화에 적합한 모이어티는 수용성 중합체를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 수용성 중합체의 비제한적인 예는, 이들에만 한정되는 것은 아니지만, 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 공중합체, 카르복시메틸셀룰로오스, 텍스트란, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1,3-디옥솔란, 폴리-1,3,6-트리옥산, 에틸렌/말레산 무수물 공중합체, 폴리아미노산 (단일중합체 또는 무작위 공중합체), 및 텍스트란 또는 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜 단일중합체, 폴리프로필렌 산화물/에틸렌 산화물 공중합체, 폴리옥시에틸화 폴리올(예를 들어, 글리세롤), 폴리비닐 알코올, 및 이들의 혼합물을 포함한다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데히드는 물에서 그의 안정성으로 인해 제조에 있어서 이점을 가질 수 있다. 중합체는 임의의 분자량일 수 있고, 분지형 또는 비분지형일 수 있다. 항체에 부착된 중합체의 수는 다양할 수 있고, 하나 초과와 중합체가 부착되는 경우, 이들은 동일하거나 상이한 분자일 수 있다. 일반적으로, 유도체화에 사용되는 중합체의 수 및/또는 종류는, 개선하고자 하는 항체의 특정 특성 또는 기능, 항체 유도체가 정의된 조건 하에서 치료에 사용될 것인지 여부 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는, 고려사항에 기초하여 결정될 수 있다.
- [0218] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편은 치료 모이어티에 접합되어 면역접합체를 형성한다. "면역접합체(immunoconjugate)"는, 예를 들어, 항생제, 제2 항-CD3 항체, 백신, 또는 독소이드, 또는 임의의 다른 치료 모이어티와 같은 하나 이상의 이중 분자(들)에 접합된 항체이다.
- [0219] 특정 구현예에서, 다른 치료제는, 선택적으로 알킬화제, 항대사물, 식물 알칼로이드, 및 항암 항생제로부터 선택되는 하나 이상, 추가 선택적으로 시클로포스파미드로, 시스플라틴, 카보플라틴, 옥살리플라틴, 에토포시드, 이리노테칸, 루르비벡테딘, 파클리탁셀, 도세탁셀, 카바지탁셀, 알트레타민, 카페시타빈, 젬시타빈, 이포스파미드, 멜팔란, 페메트렉시드, 토포테칸, 비노렐빈, 미톡산트론, 익사베필론, 에리블린, 에스트라무스틴, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 5-플루오로우라실(5-FU), 독소루비신, 에피루비신, 닥티노마이신, 또는 이의 유도체 중 하나 이상으로부터 선택되는 화학요법제일 수 있다.
- [0220] 특정 구현예에서, 다른 치료제는, 선택적으로 면역 관문 억제제 또는 성장 인자 또는 성장 인자 수용체 억제제, 추가 선택적으로 PD-L1, PD-1, CTLA-4, VISTA, EGF, EGFR, VEGF, 및/또는 VEGFR의 억제제, 또는 PD-L1, PD-1, CTLA-4, VISTA, EGF, EGFR, VEGF, 및/또는 VEGFR에 대한 항체 또는 항원 결합 단편, 또는 암 항원에 대한 항체 또는 항원 결합 단편인, 면역치료제일 수 있다.
- [0221] 특정 구현예에서, 다른 치료제는, 선택적으로 뉴로키닌-1 수용체 길항제(NK1 RA), 세로토닌 수용체 길항제(5-HT3 RA), 텍사메타손, 울란자핀, 및 팔로노세트론 중 하나 이상으로부터 선택되는 항-구토제일 수 있다.
- [0222] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편은 직접적으로(예컨대 형광, 발색, 전자 밀집, 화학발광 및 방사능 표지) 또는 간접적으로(예컨대 효소 또는 리간드) 검출되는 표지 또는 모이

어티를 포함할 수 있다. 비제한적인 예시적 표지는, 32P, 14C, 125I, 3H, 및 131I 와 같은 방사성 동위원소; 형광단, 예컨대 희토류 킬레이트 또는 플루오레세인 및 이의 유도체, 로다민 및 이의 유도체, 단실, 움벨리페론, 루세리퍼라제, 예를 들어, 반딧불 루시페라제 및 박테리아 루시페라제(미국 특허 번호 4,737,456), 루시페린, 2,3-디하이드로프탈라진디온, 서양고추냉이 과산화효소(HRP), 알칼리 인산분해효소, β -갈락토시다아제, 글루코아밀라아제, 리소자임, 당 산화효소, 예를 들어, 글루코오스 산화효소, 갈락토오스 산화효소, 및 글루코오스-6-인산 탈수소효소; 헤테로시클릭 옥시다아제, 염료 전구체를 산화시키기 위해 과산화수소를 사용하는 효소와 커플링된, 요산분해효소 및 잔틴 옥시다아제, 예컨대 HRP, 락토퍼옥시다아제, 또는 마이크로퍼옥시다아제; 비오틴/아비딘; 스핀 표지; 박테리오파지 표지; 안정한 자유 라디칼; 및 다른 것들을 포함한다.

[0223] 불변 영역에서의 서열 변형

[0224] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 이의 항원-결합 단편은 효과기 기능, 예를 들어, 침묵 Fc를 최소화하거나, 하나 이상의 효과기 기능을 향상시키기 위해 추가로 변형될 수 있다.

[0225] "효과기 기능"은 항체의 Fc 영역에 기인하는 생물학적 활성을 지칭하며, 이는 항체 이소형에 따라 달라진다. 예시적인 효과기 기능은 다음을 포함한다: 보체(예를 들어, C1q) 결합 및 보체 의존성 세포독성(CDC); Fc 수용체 결합; 항체 의존성 세포 매개 세포독성(ADCC); 식균작용; 세포 표면 수용체(예를 들어, B 세포 수용체)의 하향 조절; 및 B 세포 활성화.

[0226] 특정 구현예에서, 하나 이상의 아미노산 변형이 본 개시의 항-CD3 항체의 Fc 영역에 도입되어, Fc 영역 변이체를 생성할 수 있다(예를 들어, US 2012/0251531 참조). Fc 영역 변이체는 하나 이상의 아미노산 위치에서 아미노산 변형(예를 들어, 치환)을 포함하는 인간 Fc 영역 서열(예를 들어, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 Fc 영역)을 포함할 수 있다.

[0227] 특정 구현예에서, 본 개시는 모든 효과기 기능이 아닌 일부만 보유하는 항-CD3 항체 변이체를 고려하며, 이는 생체 내 항체 반감기가 중요하지만 특정 효과기 기능(예를 들어, 보체 및 ADCC)이 불필요하거나 유해한 적용에 대한 바람직한 후보가 되게 한다. CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/고갈을 확인하기 위해 시험관 내 및/또는 생체 내 세포독성 분석을 수행할 수 있다. 예를 들어, Fc 수용체(FcR) 결합 검정을 수행하여 항체가 Fc γ R 결합이 결여되어 있지만(따라서 ADCC 활성이 결여되어 있을 가능성이 있음) 그러나 FcRn 결합 능력을 보유하는지 확인할 수 있다. ADCC(예를 들어, NK 세포)를 매개하기 위한 일차 세포는 Fc γ RIII만을 발현하는 반면, 단핵구는 Fc γ RI, Fc γ RII 및 Fc γ RIII를 발현한다. 조혈 세포에서의 FcR 발현은 Ravetch 및 Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)의 464페이지 표 3에 요약되어 있다. 관심 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위한 시험관 내 검정의 비제한적인 예는 미국 특허 번호 5,500,362(예를 들어, Hellstrom, I. 등의 *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)) 및 Hellstrom, I. 등의 *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985); 미국 특허 번호 5,821,337(Bruggemann, M. 등의 *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987) 참조)에 기재되어 있다. 대안적으로, 비-방사능 검정 방법이 사용될 수 있다(예를 들어, 유세포 계측용 ACT1™ 비-방사능 세포독성 검정(Cell Technology, Inc. Mountain View, 캘리포니아); 및 CYTOTOX 96® 비-방사능 세포독성 검정(Promega, Madison, 위스콘신) 참조). 이러한 검정에 유용한 효과기 세포는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC) 및 자연 살해(NK) 세포를 포함한다. 대안적으로 또는 추가적으로, 관심 분자의 ADCC 활성은 생체 내에서, 예를 들어, Clynes 등의 *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)에 개시된 것과 같은 동물 모델에서 평가될 수 있다. C1q 결합 검정은 항체가 C1q에 결합할 수 없고 따라서 CDC 활성이 없음을 확인하기 위해 수행될 수도 있다. 예를 들어, WO 2006/029879 및 WO 2005/100402에서의 C1q 및 C3c 결합 ELISA를 참조한다. 보체 활성화를 평가하기 위해, CDC 검정을 수행할 수 있다(예를 들어, Gazzano-Santoro 등의 *J. Immunol Methods* 202:163 (1996); Cragg, M. S. 등의 *Blood*. 101:1045-1052 (2003); 및 Cragg, M. S. 및 M. J. Glennie *Blood*. 103:2738-2743 (2004) 참조). FcRn 결합 및 생체 내 제거율/반감기 결정은 당해 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 수행될 수도 있다(예를 들어, Petkova, S. B. 등의 *Int'l. Immunol* 18(12):1759-1769 (2006) 참조).

[0228] 일부 구현예에서, 효과기 기능이 감소된 항체는 Fc 영역 잔기 238, 265, 269, 270, 297, 327 및 329 중 하나 이상의 치환을 가진 것들을 포함한다(미국 특허 번호 6,737,056 및 8,219,149). 일부 구현예에서, Fc 돌연변이체는, 잔기 265 및 297의 알라닌으로의 치환을 갖는 소위 "DANA" Fc 돌연변이체를 포함하여, 265, 269, 270, 297 및 327의 아미노산 위치 중 2개 이상의 치환을 갖는 Fc 돌연변이체를 포함한다(미국 특허 번호 7,332,581 및 8,219,149).

[0229] 특정 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은 인간 IgG1로부터 유래된 Fc 영역을 포함할 수 있으며, Fc 영역은 선택적으로 다음의 아미노산 변형 중 하나 이상을 포함할 수 있다: EU 넘버링

에 따른, N297A, N297Q, D265A, L234A, L235A, C226S, C229S, P238S, E233P, L234V, G236-deleted, P238A, A327Q, A327G, P329A, K322A, L234F, L235E, P331S, T394D, A330L, P331S, F243L, R292P, Y300L, V305I, P396L, S239D, I332E, S298A, E333A, K334A, L234Y, L235Q, G236W, S239M, H268D, D270E, K326D, A330M, K334E, G236A, K326W, S239D, E333S, S267E, H268F, S324T, E345R, E430G, S440Y M428L, N434S, L328F, M252Y, S254T, T256E, 또는 이들의 임의의 조합. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은 인간 IgG4로부터 유래된 Fc 영역을 포함할 수 있으며, Fc 영역은 Fc 영역은 선택적으로 다음의 아미노산 변형 중 하나 이상을 포함할 수 있다: EU 넘버링에 따른, E233P, F234V, L235A, G237A, E318A, S228P, L236E, S241P, L248E, T394D, M252Y, S254T, T256E, N297A, N297Q, 또는 이들의 임의의 조합.

[0230] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은 인간 IgG2로부터 유래된 Fc 영역을 포함할 수 있으며, Fc 영역은 Fc 영역은 선택적으로 다음의 아미노산 변형 중 하나 이상을 포함할 수 있다: EU 넘버링에 따른, P238S, V234A, G237A, H268A, H268Q, H268E, V309L, N297A, N297Q, A330S, P331S, C232S, C233S, M252Y, S254T, T256E, 또는 이들의 임의의 조합.

[0231] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편은 인간 IgG3으로부터 유래된 Fc 영역을 포함할 수 있으며, Fc 영역은 선택적으로, EU 넘버링에 따른, E235Y를 포함할 수 있다.

[0232] 다른 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원 결합 단편은 절단 가능한 링커를 통해 부착된, 마스킹제, 예를 들어, 폴리펩티드 마스크를 포함하도록 추가로 변형된다.

[0233] 특정 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원 결합 단편은 항체가 당화되는 정도를 증가시키거나 감소시키도록 변경된다. 본 개시의 항-CD3 항체에 대한 당질화 부위의 첨가 또는 결실은 하나 이상의 당질화 부위가 생성되거나 제거되도록 아미노산 서열을 변경함으로써 편리하게 달성될 수 있다. 특정 구현예에서, 당질화 부위의 첨가 또는 결실은 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편의 불변 영역에 한정되지 않을 수 있다.

[0234] 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편의 생산

[0235] 항-CD3 항체 및/또는 이의 항원-결합 단편은 재조합 방법을 포함하지만 이에 한정되지 않는 적절한 방법을 사용하여 생산될 수 있다.

[0236] 예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편을 암호화하는 하나 이상의 단리된 핵산이 제공된다. 이러한 핵산은 VL을 포함하는 아미노산 서열, 및/또는 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열(예를 들어, 항체의 경쇄 및/또는 중쇄)을 암호화할 수 있다.

[0237] 일부 구현예에서, 하나의 핵산 분자는 (i) 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열 및 (ii) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 둘 모두를 암호화할 수 있다. 특정 구현예에서, (i) 및 (ii)는 핵산 분자의 동일한 가닥 상에서 암호화될 수 있다. 일부 경우, (i) 및 (ii)는 단일 프로모터 하에서 암호화될 수 있다. 특정 경우, (i) 및 (ii)는 동일한 방향으로 암호화될 수 있다(일부 경우, (i) 및 (ii)는 단일 전사체로 전사될 수 있으며, 일부 경우, (i) 및 (ii)는 2개의 별도의 전사체로 전사될 수 있음). 특정 경우, (i) 및 (ii)는 반대 방향으로 암호화될 수 있다. 일부 경우, (i) 및 (ii)는 개별적인 프로모터 하에서 암호화될 수 있다. 특정 구현예에서, (i) 및 (ii)는 핵산 분자 내의 상이한 가닥 상에서 암호화될 수 있다.

[0238] 일부 구현예에서, 항체 암호화 핵산은: (i) VH를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 제1 핵산; 및 (ii) VL을 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 제2 핵산을 포함할 수 있다.

[0239] 본 개시에서, 이러한 핵산을 포함하는 하나 이상의 벡터(예를 들어, 발현 벡터)가 제공된다.

[0240] 일부 구현예에서, 하나의 벡터는 (i) 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열 및 (ii) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 둘 모두를 암호화하는 핵산을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, (i) 및 (ii)는 핵산 분자의 동일한 가닥 상에서 암호화될 수 있다. 일부 경우, (i) 및 (ii)는 단일 프로모터 하에서 암호화될 수 있다. 특정 경우, (i) 및 (ii)는 동일한 방향으로 암호화될 수 있다(일부 경우, (i) 및 (ii)는 단일 전사체로 전사될 수 있으며, 일부 경우, (i) 및 (ii)는 2개의 별도의 전사체로 전사될 수 있음). 특정 경우, (i) 및 (ii)는 반대 방향으로 암호화될 수 있다. 일부 경우, (i) 및 (ii)는 개별적인 프로모터 하에서 암호화될 수 있다. 특정 구현예에서, (i) 및 (ii)는 핵산 내의 상이한 가닥 상에서 암호화될 수 있다.

[0241] 일부 구현예에서, 하나 이상의 벡터는: (i) VH를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 핵산을 포함하는 제1 벡

터; 및 (ii) VL을 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 핵산을 포함하는 제2 핵산을 포함할 수 있다.

- [0242] 본 개시에서, 전술한 바와 같은, 이러한 하나 이상의 벡터에 선택적으로 함유된, 전술한 바와 같은, 이러한 하나 이상의 핵산을 포함하는, 단리된, 재조합 및/또는 숙주 세포가 제공된다.
- [0243] 이러한 하나의 구현예에서, 숙주 세포는 (1) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 서열을 포함하는 벡터, 또는 (2) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 핵산을 포함하는 제1 벡터, 및 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 핵산을 포함하는 제2 벡터를 포함하고/하거나, 이들로 형질변환된다.
- [0244] 일 구현예에서, 숙주 세포는 진핵 세포, 선택적으로 포유류(예를 들어, 차이니스 햄스터 난소(CHO) 세포, 인간 배아 신장(HEK) 세포, 예컨대 HEK293 세포, 또는 림프구 세포(예를 들어, YO, NSO, Sp20 세포)) 또는 효모이다.
- [0245] 본 개시에서, 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편을 제조하는 방법이 제공되며, 방법은, 위에 제공된 바와 같은, 항체를 암호화하는 핵산을 포함하는 숙주 세포와 같은 본원에 기술된 세포를, 항체의 발현에 적합한 조건 하에서 배양하는 단계, 및 선택적으로 항체를 숙주 세포(또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 회수하는 단계를 포함한다.
- [0246] 용어 "숙주 세포"는 외인성 핵산 서열이 도입된 세포로서, 이러한 세포의 자손을 포함하는, 세포를 지칭한다. 숙주 세포는 형질전환체 및 형질전환된 세포를 포함하며, 이는 계대 수에 상관없이 이로부터 유래된 일차 형질전환된 세포 및 자손을 포함한다.
- [0247] 항-CD3 항체의 재조합 생산을 위해, 예를 들어, 전술한 바와 같이, 항체를 암호화하는 핵산을 단리하고 숙주 세포에서 추가 클로닝 및/또는 발현을 위해 하나 이상의 벡터 내에 삽입한다. 이러한 핵산은 종래의 절차를 사용하여 (예를 들어, 항체의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용함으로써) 쉽게 단리되고 시퀀싱될 수 있다.
- [0248] 항체 암호화 벡터의 클로닝 및/또는 발현에 적합한 숙주 세포는 원핵 세포 또는 진핵 세포를 포함한다. 예를 들어, 항체는, 특히 당질화 및 Fc 효과기 기능이 필요하지 않을 때, 박테리아에서 생산될 수 있다. 박테리아에서 항체 단편 및 폴리펩티드의 발현에 대해서는, 예를 들어, 미국 특허 번호 5,648,237, 5,789,199, 및 5,840,523를 참조한다. (또한 *E. coli*에서의 항체 단편의 발현을 기술하는 Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J., 2003), pp. 245-254 참조). 발현 후, 항체는 가용성 분획으로 박테리아 세포 페이스트로부터 단리될 수 있고 추가로 정제될 수 있다. 원핵생물 이외에, 사상균 또는 효모와 같은 진핵 미생물은, 당질화 경로가 "인간화"된 진균 및 효모 계통을 포함하는, 항체 암호화 벡터를 위한 적절한 클로닝 또는 발현 숙주이며, 이로 인해 부분적으로 또는 완전히 인간 당질화 패턴을 갖는 항체를 생산하게 된다. 예를 들어, Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004), 및 Li 등의 *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006); WO 2009/036379; WO 2010/105256; 및 WO 2012/009568를 참조한다.
- [0249] 식물 세포 배양도 숙주로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,959,177, 6,040,498, 6,420,548, 7,125,978, 및 6,417,429(트랜스제닉 식물에서 항체를 생산하기 위한 PLANTIBODIES™ 기술을 설명함)를 참조한다. 척추동물 세포도 숙주로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 현탁액에서 성장하기에 적합한 포유동물 세포주가 유용할 수 있다. 유용한 포유동물 숙주 세포주의 다른 예는 SV40(COS-7)에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 라인; 인간 배아 신장 라인 (예를 들어, Graham 등의 *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)에, 기술된 293 또는 293 세포; 베이비 햄스터 신장 세포(BHK); 마우스 세르톨리 세포(mouse sertoli cell)(예를 들어 Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)에, 기술된 TM4 세포); 원숭이 신장 세포(CV1); 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포(VERO-76); 인간 자궁경부 암종 세포(HELA); 개 신장 세포(MDCK; 버팔로 랫트 간 세포(BRL 3A); 인간 폐 세포(W138); 인간 간 세포(Hep G2); 마우스 유방 종양(MMT 060562); 예를 들어, Mather 등의 *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)에 기술된 TRI 세포; MRC 5 세포; 및 FS4 세포이다. 다른 유용한 포유동물 숙주 세포주는 DHFR-CHO 세포를 포함하는, 차이니스 햄스터 난소(CHO) 세포(Urland 등의 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)); 및 YO, NSO 및 Sp2/0과 같은 골수종 세포주를 포함한다. 항체 생산에 적합한 소정의 포유동물 숙주 세포주에 대한 검토는, 예를 들어, Yazaki 및 Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J.), pp. 255-268 (2003)을 참조한다.
- [0250] 추가적인 항체 식별 및/또는 특성 분석
- [0251] 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편은 당업계에 공지된 다양한 검정, 예를 들어, ELISA, 웨스턴 블롯 등에 의

해 식별되거나, 스크리닝되거나, 이들의 물리적/화학적 특성 및/또는 생물학적 활성에 대해 선택되거나 특성화될 수 있다. 또는 CD3에 결합하기 위해 본 개시의 항-CD3 항체와 경쟁하는 항체를 식별하는 데 경쟁 검정이 사용될 수 있다. 예시적인 경쟁 검정에서, 고정된 CD3은 CD3에 결합하는 제1 표지된 항체 및 CD3에 결합하는 제1 항체와 경쟁하는 능력에 대해 시험 중인 제2 미표지된 항체를 포함하는 용액에서 인큐베이션된다. 제2 항체는 하이브리도마 상청액에 존재할 수 있다. 대조군으로서, 고정된 CD3을 제1 표지된 항체를 포함하지만 제2 미표지된 항체를 포함하지 않는 용액에서 인큐베이션한다. CD3에 대한 제1 항체의 결합을 허용하는 조건 하에서 인큐베이션한 후, 과량의 미결합 항체를 제거하고, 고정된 CD3과 연관된 표지의 양을 측정한다. 만일 고정화된 CD3과 연관된 표지의 양이 대조군 시료에 비해 시험 시료에서 실질적으로 감소되면, 이는 제2 항체가 CD3에 결합하기 위해 제1 항체와 경쟁하고 있음을 나타낸다. 예를 들어, Harlow 및 Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, 콜드 스프링 하버, 뉴욕)을 참조한다.

[0252] 생물학적 활성을 보유하는 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편은 표준 접근법을 사용하여 식별될 수 있다. 생물학적 활성은, 예를 들어, 생체 내, 시험관 내, 또는 생체 외 중에서, T 세포의 표면 상의 CD3에 결합하는 것을 포함할 수 있다. 다중특이적 항-CD3 항체(예컨대 CD3에 결합하는 하나의 아암 및 상이한 표적, 예를 들어, 세포 표면 항원, 예를 들어, 종양 항원에 결합하는 다른 아암을 갖는 이중특이적 항체)의 경우에, 생물학적 활성은 또한 효과기 세포 활성화(예컨대 CD8+ 및/또는 CD4+ T 세포) 활성화), 효과기 세포 집단 확장(즉, T 세포 카운트의 증가), 표적 세포 집단 감소(즉, 세포 표면 상에서 제2 생물학적 분자를 발현하는 세포 집단의 감소), 및/또는 표적 세포 사멸을 포함할 수 있다.

[0253] 항-CD3 항체 및 항원-결합 단편에 대한 진단 및 치료 용도

[0254] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편은 요법 및/또는 진단 및/또는 검출에 사용될 수 있다.

[0255] 본원에서 사용되는 "검출"은 정량적 또는 정성적 검출을 포함한다.

[0256] 특정 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 표지 또는 검출 모이어티를 포함하는 항-CD3 항체 및 항원 결합 단편이 사용될 수 있다.

[0257] 본원에 기술된 CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편뿐만 아니라 이러한 항체의 약학적 조성물이 치료 방법에 사용될 수 있다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편, 또는 이러한 항체를 포함하는 약학적 조성물은, 세포 증식성 장애 또는 자가면역 장애의 진행을 치료하거나 지연시키기 위해 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 및 항원-결합 단편은 암을 치료하는 데 사용될 수 있다. 종양 세포는 일반적으로 약 6.3-6.5의 세포외 pH를 갖는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항-CD3 항체 및 항원-결합 단편은 (더)낮은 pH 값에서, 예를 들어, pH 6 이하 부근에서 우선적인 CD3 결합을 촉진하며, 그에 의해 종양 미세환경 내 및 그 주위에서 결합 및 활성을 촉진한다. 일부 구현예에서, 항-CD 항체 및 항원-결합 단편의 사용은 종양 부위 또는 그 주위에서 선택적이고 지속적인 세포독성 활성을 초래하여, 표적-이탈 효과를 감소시키거나 제거할 수 있다.

[0258] "장애"는 만성 및 급성 장애 또는 문제의 장애에 포유동물을 걸리게 하는 병리학적 병태를 포함하는 질환을 포함하지만, 이들에만 한정되지 않는, 치료로부터 혜택을 받을 수 있는 임의의 병태 또는 질환을 지칭한다.

[0259] 용어 "세포 증식성 장애" 및 "증식성 장애"는 어느 정도의 비정상적인 세포 증식과 연관된 장애를 지칭한다. 세포 증식성 장애는 암을 포함하고/하거나 종양을 포함할 수 있다.

[0260] 본원에서 사용되는 바와 같이, "종양"은 악성이든 양성이든, 모든 신생물 세포 성장 및 증식, 및 모든 전암성 및 암성 세포 및 조직을 지칭한다.

[0261] "암"은 조절되지 않은 세포 성장을 특징으로 하는 포유동물에서의 생리학적 병태를 지칭한다. 암의 예는 암종, 림프종, 모세포종, 육종, 및 백혈병 또는 림프구 악성 종양을 포함하지만, 이들에만 한정되지는 않으며; 보다 특정한 예로는, 편평세포암(예를 들어, 상피 편평세포암), 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 폐 선암종 및 폐 편평암종을 포함하는 폐암, 복막암, 간세포암, 위장암 및 위장 기질암을 포함하는 위장암 또는 위암, 췌장암, 교아세포종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 요로암, 간종양, 유방암, 대장암, 직장암, 결장직장암, 자궁내막암종 또는 자궁 암종, 침샘 암종, 신장암 또는 신암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종, 항문 암종, 음경 암종, 흑색종, 표재성 확산 흑색종, 악성 흑점자 흑색종, 말단 흑점자 흑색종, 결절성 흑색종, 다발성 골수종 및 B-세포 림프종 (저등급/난포 비호지킨 림프종(NHL) 포함); 소림프구성(SL) NHL; 중간 등급/난포 NHL; 중간 등급 미만성 NHL; 고등급 면역아세포성 NHL; 고등급 림프모세포성 NHL; 고등급 소 비-분할 세포 NHL; 거대 종양

NHL; 외투세포 림프종; AIDS 관련 림프종; 및 발덴스트롬 거대글로불린혈증); 만성 림프구성 백혈병(CLL); 급성 림프모세포성 백혈병(ALL); 모발상 세포 백혈병; 만성 골수모세포성 백혈병; 및 이식 후 림프증식성 장애(PTLD)뿐만 아니라, 모반증, 부종과 연관된 비정상적인 혈관 증식 (뇌 종양과 관련된 것과 같은), 메이그 증후군 (Meigs' syndrome), 뇌, 및 두경부암, 및 관련 전이를 포함한다. 특정 구현예에서, 본 개시의 항체에 의한 치료에 순응하는 암은, 유방암, 결장직장암, 직장암, 비소세포 폐암, 교아세포종, 비호지킨 림프종(NHL), 신세포암, 전립선암, 간암, 췌장암, 연조직 육종, 카포시 육종, 카르시노이드 암종, 두경부암, 난소암, 중피종, 및 다발성 골수종을 포함한다. 일부 구현예에서, 암은 소세포 폐암, 교아세포종, 신경아세포종, 흑색종, 유방 암종, 위장암, 결장직장암(CRC), 및 간세포 암종으로부터 선택된다. 그러나, 일부 구현예에서, 암은 이들 암의 전이성 형태를 포함하여, 비소세포 폐암, 결장직장암, 교아세포종 및 유방 암종으로부터 선택된다. 다른 구현예에서, 암은 호지킨 림프종을 제외하지만 배증심 B-세포-유사(GCB) DLBCL, 활성화된 B-세포-유사(ABC) DLBCL, 소포 림프종(FL), 외투세포 림프종(MCL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프성 백혈병(CLL), 변연부 림프종(MZL), 소림프구성 백혈병(SLL), 림프형질세포 림프종(LL), 발덴스트롬 거대글로불린혈증(WM), 중추 신경계 림프종(CNSL), 버킷 림프종(BL), B-세포 전림프구성 백혈병, 비장 변연부 림프종, 모발상 세포 백혈병, 비장 림프종/백혈병, 분류 불가, 비장 미만성 적색육질 소 B-세포 림프종, 모발상 세포 백혈병 변이종, 중쇄 질환, 중쇄 질환, γ 중쇄 질환, μ 중쇄 질환, 형질 세포 골수종, 뼈의 고립성 형질세포종, 골외 형질세포종, 점막 관련 림프 조직의 결절외 변연부 림프종(MALT 림프종), 결절 변연부 림프종, 소아 결절 변연부 림프종, 소아 소포성 림프종, 원발성 피부 소포 중심 림프종, T-세포/조직구 풍부 거대 B-세포 림프종, CNS의 일차 DLBCL, 일차 피부 DLBCL, 레그 타입, 노인의 EBV-양성 DLBCL, 만성 염증과 관련된 DLBCL, 림프종모양 육아종증, 원발성 종격동(흉선) 거대 B-세포 림프종, 혈관내 거대 B-세포 림프종, ALK-양성 거대 B-세포 림프종, 형질모세포성 림프종, HHV8-연관 다중 중심성 캐슬만 질환에서 발생하는 거대 B-세포 림프종, 원발성 삼출액 림프종: 미만성 거대 B-세포 림프종과 버킷 림프종 간의 중간 특징을 갖는, 분류 불가, B-세포 림프종, 및 미만성 거대 B-세포 림프종과 고전적 호지킨 림프종 간의 중간 특징을 갖는, 분류 불가, B-세포 림프종을 포함하는 성숙 B-세포 암의 클래스로부터 선택된다.

- [0262] 본원에서 사용되는 바와 같이, "치료" 또는 "치료하다" 또는 "치료하는"은 치료 중인 개체의 자연적 경과를 변경하려는 시도에서의 임상 개입을 지칭하며, 예방을 위해 또는 임상 병리 과정 중에 수행될 수 있다. 치료의 바람직한 효과는, 질환의 발생 또는 재발 예방, 증상의 경감, 질환의 임의의 직접적 또는 간접적 병리학적 결과의 감소, 전이 예방, 질환 진행 속도 감소, 질환 상태의 완화 또는 호전, 및 관해 또는 예후의 개선을 포함하지만, 이들에만 한정되지 않는다.
- [0263] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "예방하다", "예방하는" 및 "예방"은 장애 또는 질환의 발생 또는 발병의 예방 또는 억제를 지칭한다.
- [0264] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "완화" 및 "경감"은 병태 또는 이의 임의의 증상의 중증도가 감소하거나 축소하는 것을 지칭한다.
- [0265] 일부 구현예에서, 본 개시의 항체는 장애 또는 질환의 발생을 지연시키거나 장애 또는 질환의 진행을 지연시키기 위해 사용된다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 장애 또는 질환의 "진행을 지연시키는"은 질환 또는 장애(예를 들어, 암과 같은 세포 증식성 장애)의 발생을 연기(defer), 방해(hinder), 감속(slow), 저지(retard), 안정화(stabilize), 및/또는 연기(postpone)시키는 것을 의미한다. 지연은, 질환 및/또는 치료 중인 개체의 병력에 따라 가변하는 시간 길이일 수 있다.
- [0266] 이러한 항체 또는 조성물의 유효량은 암 또는 관절염, 류마티스 관절염, 대장염, 염증성 장 질환, 자가면역 I형 당뇨병 등을 앓고 있는 개체에게 투여될 수 있다. 본원에 개시된 항-CD3 항체 또는 이러한 항체를 포함하는 조성물(예를 들어, 약학적 조성물)의 "유효량"은, 바람직하게는 독성 또는 유해 효과를 최소한 또는 갖지 않고, 원하는 치료 또는 예방 결과, 예를 들어, 특정 장애, 예를 들어, 암과 같은 세포 증식성 장애의 측정 가능한 개선 또는 예방을 달성하는 데 필요한 적어도 최소량이다. 유효량은 특히 환자의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중, 및 개체에서 원하는 반응을 유도하는 항체(또는 항원-결합 단편)의 능력에 따라, 그리고 일부 경우에, 하나 이상의 추가 치료제를 공동 투여함으로써 달라질 수 있다.
- [0267] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편은 세포 증식성 장애 또는 자가면역 장애를 갖는 개체에서 면역 기능을 향상시키기 위해 사용될 수 있다. 투여 후, 이러한 항체 또는 조성물은, 효과기 세포(예를 들어, T 세포, 예를 들어, Treg를 포함하는 CD8+ 및/또는 CD4+ T 세포)를 활성화하고, 효과기 세포 집단을 확장(증가)시키고, 표적 세포(예를 들어, 본 개시의 항-CD3 항체, 예컨대 이중특이적

항체에 의해 인식되는 제2 생물학적 분자를 발현하는 세포)의 집단을 감소시키고, 및/또는 표적 세포(예를 들어, 표적 종양 세포)를 사멸시키는 것에 의해, 세포 증식성 장애 또는 자가면역 장애를 갖는 개체에서 면역 기능을 향상시킬 수 있다.

[0268] 본원에 개시된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편은, 증식성 장애, 종양학적 장애, 면역-종양학적 장애, 신경 장애, 인지 장애, 신경퇴행성 장애, 자가면역 장애를 포함하지만 이들에만 한정되지 않는, 장애를 치료하는 데 사용될 수 있다. 일 구현예에서, 이러한 항-CD3 항체의 유효량은 이러한 장애를 갖는 개체에게, 단독으로 투여되거나 적어도 하나의 추가 제제와 조합하여 투여될 수 있다. 이러한 "개체"는 포유동물, 특히 인간 일 수 있다.

[0269] 본 개시의 하나 이상의 항체는 단독으로 사용되거나, 요법에서 다른 제제와 조합하여 사용될 수 있으며, 예를 들어, 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편은 적어도 하나의 추가 치료제와 공동 투여될 수 있다. 비제한적인 예시적 추가 치료제는 화학요법제, 항체-약물 접합체(ADC), 및/또는 생물학적 조절제를 포함한다.

[0270] 화학요법제는 시클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴 및 프레드니솔론(CHOP)으로부터 선택될 수 있다.

[0271] ADC는 항-CD79b 항체 약물 접합체(예컨대 항-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE 또는 미국 특허 번호 8,088,378 및/또는 US 2014/0030280에 기재된 항-CD79b 항체 약물 접합체, 또는 폴라투주맙 베도틴), 항-CD19 항체 약물 접합체, 항-CD22 항체 약물 접합체, 항-CD45 항체 약물 접합체, 및 항-CD32 약물 접합체로부터 선택될 수 있다.

[0272] 생물학적 조절제는 BCL-2 억제제(예컨대 GDC-0199/ABT-199), 레날리도미드(Revlimid®), PI3K-델타 억제제(예컨대 아이델라리십(ZYDELIG®)), PD-1 축 결합 길항제, 작용제, 예를 들어, 활성화 보조-자극 분자, 예를 들어 CD40, CD226, CD28, OX40(예를 들어, AgonOX), GITR, CD137 (TNFRSF9, 4-1 BB, 또는 ILA로도 알려짐), CD27 (예를 들어, CDX-1127), HVEM, 또는 CD127를 표적으로 하는, 작용제 항체, 길항제, 예를 들어, 억제성 공동-자극 분자, 예를 들어, CTLA-4(CD152로도 알려짐), PD-1, TIM-3, BTLA, VISTA, LAG-3, B7-H3, B7-H4, IDO (예를 들어, 1-메틸-D-트립토판 (1-D-MT로도 알려짐)), TIGIT, MICA/B, GITR (예를 들어, TRX518) 또는 아르기나제를 표적으로 하는, 길항제 항체, 이필리무맙(ipilimumab)(MDX-010, MDX-101, 또는 YERVOY®으로도 알려짐), 트레멜리무맙(tremelimumab)(티시리무맙 또는 CP-675,206로도 알려짐), 우렐루맙(urelumab)(BMS-663513으로도 알려짐), MGA271, TGF 베타를 표적으로 하는 길항제, 예를 들어, 메텔리무맙(CAT-192로도 알려짐), 프레솔리무맙(fresolimumab)(GC1008로도 알려짐), LY2157299k, 및 T 세포의 입양 전달(예를 들어, 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 세포독성 T 세포 또는 CTL), 예를 들어, 우성-음성 TGF 베타 수용체, 예를 들어, 우성-음성 TGF 베타 II형 수용체를 포함하는 T 세포의 입양 전달로부터 선택될 수 있다.

[0273] 일부 추가의 비제한적인 예시적인 추가 치료제는 성장 억제제, 세포독성제, 방사선 요법에 사용된 제제, 항-혈관형성제, 세포사멸제, 항-튜블린 제제, 또는 기타 제제, 예컨대 표피 성장 인자 수용체(EGFR) 길항제(예를 들어, 티로신 키나아제 억제제), HER1/EGFR 억제제(예를 들어, 엘로티닙(erlotinib)(TARCEVATM)), 혈소판 유래 성장 인자 억제제(예를 들어, GLEEVECTM(이마티닙 메실레이트)), COX-2 억제제(예를 들어, 셀레코시브), 인터페론, 사이토카인, 본 개시의 항-CD3 항체 이외의 항체, 예컨대 다음의 표적 ErbB2, ErbB3, ErbB4, PDGFR-베타, BlyS, APRIL, BCMA 베지프, 또는 VEGF 수용체(들) TRAIL/Apo2, PD-1, PD-L1, 또는 PD-L2 중 하나 이상에 결합하는 항체, 또는 다른 생리활성 또는 유기 화학제이다.

[0274] 일부 구현예에서, 본 개시는 추가 치료제가 글루코코르티코이드인 방법을 제공한다. 일 구현예에서, 글루코코르티코이드는 텍사메타손이다.

[0275] 본원에 개시된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편은 이러한 장애를 갖는 개체, 예를 들어, 장애를 갖는, 인간에서, 면역 기능을 향상시키기 위해 사용될 수 있다. 일 구현예에서, 면역 기능을 향상시키는 방법은 효과기 세포(예를 들어, T 세포, 예를 들어, CD8+ 및/또는 CD4+ T 세포)를 활성화하고, 효과기 세포 집단을 확장(증가)시키고, 표적 세포 집단을 감소시키고, 및/또는 표적 세포(예를 들어, 표적 종양 세포)를 사멸시키기 위해 항-CD3 항체의 유효량을 개체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0276] 또 다른 양태에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편을 포함하는 약학적 제형이, 예를 들어, 전술한 치료 및/또는 진단 방법 중 어느 하나에 사용하기 위해 또한 제공된다. "약학적 제형"은 본원에 기술된 항-CD3 항체와 같은, 내부에 함유된 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이 되도록 허용하도록 하는 것과 같은 형태의 제제를 지칭하며, 바람직하게는 제형이 투여될 대상체에게 허용할 수 없을 만큼 독성이 있는 추가 성분을 함유하지 않는다.

- [0277] 일 구현예에서, 약학적 제형은 본원에 개시된 항-CD3 항체 및 약학적으로 허용 가능한 담체 중 어느 하나를 포함한다.
- [0278] "약학적으로 허용 가능한 담체"는 대상체에게 독성이 없는, 활성 성분 이외의, 약학적 제형 속의 성분을 지칭한다. 약학적으로 허용 가능한 담체는, 완충제, 부형제, 안정화제, 또는 보존제를 포함하지만, 이들에만 한정되지 않는다.
- [0279] 일부 구현예에서, 치료 방법으로 투여되는 적어도 하나의 추가 치료제는 항-CD3 항체와 함께 약학적 조성물 또는 제형에 포함될 수 있다. 따라서, 소정의 구현예에서, 약학적 제형은 본원에 제공된 항-CD3 항체 및 적어도 하나의 추가 치료제 중 어느 하나를 포함한다. 특정 구현예에서, 적어도 하나의 추가 치료제는 전술한 추가 치료제 중 하나 이상일 수 있다.
- [0280] 위에서 언급된 이러한 병용 요법은 병용 투여(둘 이상의 치료제가 동일하거나 별도의 제형에 포함되는 경우), 및 별도의 투여를 포괄하며, 이 경우에, 본 개시의 항체의 투여는 추가 치료제 또는 제제들의 투여 이전에, 동시에 및/또는 이후에 발생할 수 있다. 일 구현예에서, 항-CD3 항체의 투여 및 추가 치료제의 투여는 서로의, 약 1개월 이내, 또는 약 1, 2 또는 3주 이내, 또는 약 1, 2, 3, 4, 5 또는 6일 이내에 발생한다. 본 개시의 항-CD3 항체(예를 들어, CD3에 결합하는 본 개시의 이중특이적 항-CD3 항체 및 제2 생물학적 분자, 예를 들어, 세포 표면 항원, 예를 들어, 종양 항원, 예컨대 본 개시의 TDB 항체 또는 이의 변이체)도 방사선 요법과 조합하여 사용될 수 있다.
- [0281] 본 개시의 항체(및/또는 임의의 추가 치료제)는 비경구, 폐내, 및 비강내를 포함하는, 임의의 적절한 수단에 의해 투여될 수 있고, 국소 치료를 위해 필요한 경우, 병변내 투여될 수 있다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내, 또는 피하 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 항체는 피하 투여에 의해 투여된다. 일부 구현예에서, 피하 주사에 의해 투여되는 항-CD3 항체는 정맥내 주사에 의해 투여되는 동일한 항-CD3 항체보다 환자에서 덜 독성인 반응을 나타낸다. 투여는, 투여가 단기적 투여인지 또는 만성적 투여인지에 따라, 예를 들어, 정맥내 또는 피하 주사와 같은, 임의의 적절한 경로에 의해 이루어질 수 있다. 다양한 시점에 걸친 단일 또는 다중 투여, 볼루스 투여, 및 펄스 주입을 포함하지만 이들에만 한정되지 않는, 다양한 투여 일정이 본원에서 고려된다. 일부 구현예에서, 본 개시의 항체는 이러한 항체를 암호화하는 mRNA의 전달을 통해 투여될 수 있다. 이러한 투여는 치료를 받는 대상체의 세포에 대한 투여 및 전달을 용이하게 하기 위해 지질 나노입자 내로 mRNA를 제형화하는 것을 포함할 수 있다.
- [0282] 본 개시의 항체는 바람직한 의료 관행과 일치하는 방식으로 제형화되고, 복용되고, 투여될 것이다. 이러한 맥락에서 고려할 인자는, 치료 중인 특정 장애, 치료 중인 특정 포유동물, 개별 환자의 임상 상태, 장애의 원인, 제제의 전달 부위, 투여 방법, 투여 일정, 및 의료인에게 알려진 다른 인자를 포함한다. 항체는 문제의 장애를 예방하거나 치료하는 데 현재 사용되는 하나 이상의 제제와 함께 제형화될 필요는 없지만, 임의로 함께 제형화될 수도 있다. 이러한 다른 제제의 유효량은 제형에 존재하는 항체의 양, 장애 또는 치료의 유형, 및 위에서 논의된 다른 인자에 따라 달라진다. 이들은 일반적으로 동일한 용량으로 그리고 본원에 기술된 투여 경로와 함께, 또는 본원에 기술된 용량의 약 1 내지 99%로, 또는 임의의 용량으로 그리고 경험적으로/임상적으로 적절하다고 결정된 임의의 경로에 의해 사용된다.
- [0283] 질환의 예방 또는 치료를 위해, (단독으로 사용되거나 하나 이상의 다른 추가 치료제와 조합하여 사용될 때) 본 개시의 항체의 적절한 용량은 치료 대상 질환의 유형, 항체 유형, 질환의 중증도 및 경과, 상기 항체가 예방 또는 치료 목적으로 투여되는지 여부, 이전 요법, 환자의 임상 이력 및 항체에 대한 반응, 및 주치의의 재량에 따라 달라질 것이다. 항체는 환자에게 한 번에 또는 일련의 치료에 걸쳐 적절하게 투여된다.
- [0284] 일반적인 제안으로서, 인간에게 투여되는 항-CD3 항체의 치료적 유효량은 하나 이상의 투여에 의해서든 환자 체중의 약 0.01 내지 약 100 mg/kg의 범위일 것이다. 일부 구현예에서, 사용되는 항체는, 예를 들어, 일일 약 0.01 내지 약 45 mg/kg, 약 0.01 내지 약 40 mg/kg, 약 0.01 내지 약 35 mg/kg, 약 0.01 내지 약 30 mg/kg, 약 0.01 내지 약 25 mg/kg, 약 0.01 내지 약 20 mg/kg, 약 0.01 내지 약 15 mg/kg, 약 0.01 내지 약 10 mg/kg, 약 0.01 내지 약 5 mg/kg, 또는 약 0.01 내지 약 1 mg/kg으로 투여된다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 항-CD3 항체는 21일 주기의 1일차에 약 100 mg, 약 200 mg, 약 300 mg, 약 400 mg, 약 500 mg, 약 600 mg, 약 700 mg, 약 800 mg, 약 900 mg, 약 1000 mg, 약 1100 mg, 약 1200 mg, 약 1300 mg 또는 약 1400 mg의 투여량으로 인간에게 투여된다. 투여량은 주입과 같은, 단일 투여량 또는 다중 투여량(예를 들어, 2회 또는 3회 투여량)으로서 투여될 수 있다. 병태에 따라, 수 일에 걸친 반복 투여의 경우, 일반적으로 질환 증상의 원하는 역제가 발생할 때까지 치료가 유지될 것이다. 항체의 하나의 예시적인 용량은 약 0.05 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 범위일 것이다.

따라서, 약 0.5 mg/kg, 2.0 mg/kg, 4.0 mg/kg, 또는 10 mg/kg(또는 이들의 임의의 조합)의 하나 이상의 투여량이 환자에게 투여될 수 있다. 이러한 투여량은 간헐적으로, 예를 들어 매주 또는 3주마다 (예를 들어, 환자가 약 2 내지 약 20회, 또는 예를 들어, 약 6회 투여량의 항-CD3 항체를 투여 받도록) 투여될 수 있다. 초기의 더 높은 로딩 투여량에 이어서, 하나 이상의 더 낮은 투여량이 투여될 수 있다. 이러한 요법의 진행은 종래의 기술 및 분석에 의해 쉽게 모니터링된다.

[0285] 일부 구현예에서, 본 개시의 방법은 추가 요법을 추가로 포함할 수 있다. 추가 요법은 방사선 요법, 수술, 화학 요법, 유전자 요법, DNA 요법, 바이러스 요법, RNA 요법, 면역요법, 골수 이식, 나노요법, 단일클론 항체 요법, 또는 전술한 것들의 조합일 수 있다. 추가 요법은 보조 또는 신보조 요법의 형태일 수 있다. 일부 구현예에서, 추가 요법은 소분자 효소 억제제 또는 항-전이 체제의 투여이다. 일부 구현예에서, 추가 요법은 부작용 제한제 (예를 들어, 항-오심 제제 등과 같은, 치료 부작용의 발생 및/또는 중증도를 줄이도록 의도된 제제)의 투여이다. 일부 구현예에서, 추가 요법은 방사선 요법이다. 일부 구현예에서, 추가 요법은 수술이다. 일부 구현예에서, 추가 요법은 방사선 요법 및 수술의 조합이다. 일부 구현예에서, 추가 요법은 감마 조사이다. 일부 구현예에서, 추가 요법은 상술한 치료제 중 하나 이상의 별도의 투여일 수 있다.

[0286] 본 개시의 다른 양태에서, 상술한 장애의 치료, 예방 및/또는 진단에 유용한 물질을 함유하는 제조 물품이 제공된다. 제조 물품은 용기 및 용기 상의 또는 용기와 결합된 라벨 또는 패키지 인서트를 포함한다. 적절한 용기는, 예를 들어, 병, 바이알, 주사기, IV 용액 백 등을 포함한다. 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 재료로 형성될 수 있다. 용기는 그 자체로서 또는 병태를 치료, 예방 및/또는 진단하는데 효과적인 다른 조성물과 조합되는 조성물을 보유하고 멸균 액세스 포트를 가질 수 있다(예를 들어, 용기는 피하 주사 바늘에 의해 천공될 수 있는 마개를 갖는 정맥 내 용액 백 또는 바이알일 수 있다). 조성물 중의 적어도 하나의 활성제는 본 개시의 항체이다. 라벨 또는 패키지 인서트는 조성물이 선택된 병태를 치료하는 데 사용된다는 것을 나타낸다. 또한, 제조 물품은 (a) 내부에 함유된 조성물을 갖는 제1 용기 (여기서 조성물은 본 개시의 항체를 포함함); 및 (b) 내부에 함유된 조성물을 갖는 제2 용기 (여기서 조성물은 추가의 세포독성제 또는 다른 치료제를 포함함)를 포함할 수 있다. 본 개시의 이러한 구현예에서의 제조 물품은 조성물이 특정 병태를 치료하는 데 사용될 수 있음을 나타내는 패키지 인서트를 더 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 제조 물품은, 제2(또는 제3) 용기는 약학적으로 허용 가능한 완충제, 예컨대 주사용 정균수(BWFI), 인산염 완충 식염수, 링거 용액 및 텍스트로스 용액을 포함하는 제2(또는 제3) 용기를 더 포함할 수 있다. 이는, 다른 완충제, 희석제, 필터, 바늘, 및 주사기를 포함하여, 상업적 및 사용자 관점에서 바람직한 다른 물질을 더 포함할 수 있다.

[0287] 따라서, 본원에 개시된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편을 포함하는 약학적 조성물의 제조 및/또는 조제가 또한 고려된다. 조성물은 세포 증식성 장애(예를 들어, 암) 또는 자가면역 장애(예를 들어, 관절염, 류마티스 관절염, 대장염, 염증성 장 질환, 자가면역 I형 당뇨병 등)를 치료하기 위해 단독으로 사용되거나 다른 활성제와 조합하여 사용될 수 있다.

[0288] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CD3 항체 및/또는 항원-결합 단편을 포함하는 약학적 조성물은, 예를 들어, 원하는 순도 정도를 갖는 이러한 항체를, 변형된 방출(예를 들어, 서방출)을 위해 임의로 제조된, 동결 건조된 제형 또는 수용액의 형태로, 하나 이상의 선택적인 약학적으로 허용 가능한 담체(Remington's Pharmaceutical Sciences 제16판, Osol, A. 편집 (1980))와 혼합하여, 제조된다. 예시적인 동결 건조된 항체 제형은 미국 특허 번호 6,267,958에 기술되어 있다. 수성 항체 제형은 미국 특허 번호 6,171,586 및 WO2006/044908에 기술되어 있으며, 후자의 제형은 히스티딘-아세트이트 완충액을 포함한다.

[0289] 약학적으로 허용 가능한 담체는 사용된 용량 및 농도에서 수용자에게 일반적으로 무독성이며, 이들에만 한정되지 않지만, 인산염, 시트르산염 및 기타 유기산과 같은 완충제; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 항산화제; 보존제(예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤잘코늄 클로라이드; 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레소르시놀; 시클로헥사놀; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저 분자량(약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린과 같은 단백질; 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 고분자; 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 라이신과 같은 아미노산; 단당류, 이당류, 및 글루코오스, 만노오스, 또는 텍스트린을 포함하는 기타 탄수화물; EDTA와 같은 킬레이트제; 수크로오스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨과 같은 당류; 나트륨과 같은 염 형성 반대이온; 금속 복합체(예를 들어, Zn-단백질 복합체); 및/또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)과 같은 비이온성 계면활성제를 포함한다. 본원에서의 예시적인 약학적으로 허용 가능한 담체는, 가용성 중성-활성 히알루로니다아제 당단백질(sHASEGP), 예를 들어, 인간 가용성 PH-20 히알루로니다아제 당단백질, 예컨대 rHuPH20 (HYLENEX®, Baxter International, Inc.)과 같은 사이질 약물 분산액 제

제를 추가로 포함한다. rHuPH20을 포함하는, 소정의 예시적인 sHASEGP 및 사용 방법은, 미국 특허 공개 번호 2005/0260186 및 2006/0104968에 기술되어 있다.

[0290] 이러한 제형은 치료 중인 특정 적응증에 대해 필요한 경우 하나 이상의 활성 성분을 함유할 수 있고, 바람직하게는 서로에게 악영향을 미치지 않고 의도된 목적에 효과적인 양으로 존재하는 상보적 활성을 갖는 것을 함유할 수 있다. 예를 들어, 추가 치료제(예를 들어, 화학요법제, 세포독성제, 성장 억제제, 및/또는 항-호르몬제)를 추가로 제공하는 것이 바람직할 수 있다.

[0291] 활성 성분은, 예를 들어, 공동화 기술에 의해 또는 계면 중합화, 예를 들어, 하이드록시메틸셀룰로오스에 의해 제조된 마이크로캡슐에, 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타실레이트) 마이크로캡슐에 의해, 각각, 콜로이드 약물 전달 시스템(예를 들어, 리포솜, 알부민 마이크로스피어, 마이크로유화액, 나노입자 및 나노캡슐)에서 또는 마이크로유화액에서 포획될 수 있다. 이러한 기술은 Remington's Pharmaceutical Sciences 제16판, Osol, A. 편집 (1980)에 개시되어 있다.

[0292] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 개시가 속하는 당 기술분야의 통상의 기술을 가진 자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다.

[0293] 또한, 문맥에 달리 명백하게 언급되지 않는 한, 본원에서 사용되는 바와 같은, 그리고 첨부된 청구범위에서의 단수 형태 "일", "하나", 및 "그"는 복수형을 포함한다는 점에 주목해야 한다. 따라서, "세포"에 대한 언급은 당업자에게 공지된 하나 이상의 세포 및 이의 등가물 등을 지칭한다. 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 당 기술분야의 통상의 기술을 가진 자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다.

[0294] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "약"은, 특정한 인용된 숫자 값과 관련하여 사용될 때, 해당 값은 인용된 값에 대해 1% 이하만큼 가변될 수 있음을 의미한다. 예를 들어, 본원에서 사용되는 바와 같이, 표현 "약 100"은 99 및 101 및 그 사이의 모든 값(예, 99.1, 99.2, 99.3, 99.4 등)을 포함한다.

[0295] 본원에 기술된 본 개시의 양태 및 구현예는 양태 및 구현예를 "포함하는", "이로 이루어지는", 및 "본질적으로 이로 이루어지는" 것을 포함하는 것으로 이해된다.

[0296] 본 발명의 다양한 구현예 및 실시예가 특정 분자, 조성물, 방법, 또는 프로토콜을 참조하여 설명되었지만, 이들은 달라질 수 있기 때문에, 본 발명은 본원에 기술된 특정 분자, 조성물, 방법, 또는 프로토콜에 한정되지 않는다는 것을 이해해야 한다. 달리 명시되지 않는 한, 둘 이상의 단계를 포함하는 본원에 개시되거나 청구된 방법 중 어느 하나에서, 수행되는 단계의 순서는 인용된 단계의 순서에 의해 제한되지 않음을 이해해야 한다.

[0297] 또한, 본 명세서에 사용된 용어는 단지 특정 버전 또는 구현예를 설명하기 위한 것이며, 첨부된 청구범위에 의해서만 제한되는 본 발명의 범주를 제한하려는 것이 아님을 이해해야 한다.

[0298] 특허 문서 및 비특허 문서를 포함하는, 본원에 인용된 모든 참조 문헌은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다. 본원의 어떠한 내용도 본 발명이 종래의 발명에 의해 해당 개시를 변경할 자격이 없다는 것을 인정하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0299] 본 개시의 구현예를 예시하기 위한 실시예가 아래에 제공된다. 이들 실시예는 본 발명을 임의의 특정 응용에 또는 작동의 이론으로 한정하고자 하지 않는다.

[0300] 실시예

[0301] 실시예 1: 항-CD3 항체

[0302] 항-CD3 항체 A001 및 A002를 CD3에 대한 친화도에 기초하여 단리하였다. A001은, 그 전체가 본원에 참조로서 통합되는 미국 공개 번호 US2020/0190189(본원에서 클론 번호 ADI-26906으로 지칭됨)에 기술되어 있다. 항체 V002-V007은 A001에 비해 다양한 아미노산 치환을 포함한다. 이들 치환을 사용하여 부모 항체 A002의 변이체를 제조하여 항체 V008-V013을 수득하였다. 항체 A001, A002, 및 V002-V013과 연관된 아미노산 및 핵산 서열이 표 1-4에 제공된다.

[0303] 친화도

[0304] CD3에 대한 항-CD3 항체의 친화도는 ForteBio Octet® 상에서 이들의 역학 상수(k_{on} , k_{off} , K_D)를 측정하여 결정하였다. ForteBio 친화도 측정은 일반적으로 전술한 바와 같이 수행하였다(Estep 등의 문헌[MABs. 2013

5(2):270-8]). 요약하면, 인간 또는 시노물구스 원숭이(cyno) CD3 ϵ δ Fc(300 nM)를 AHC 센서 상에 온라인으로 로딩함으로써 ForteBio 친화도 측정을 수행하였다. 분석 완충액에서 센서를 30분 동안 오프라인으로 평형화시킨 다음, 베이스라인 확정을 위해 60초 동안 온라인으로 모니터링하였다. 1가 결합 측정을 위해, 로딩된 CD3 ϵ δ Fc를 갖는 센서를 아래의 실시예 2에 추가로 설명된 바와 같이 100 nM 항-CD3 Fab에 3분 동안 노출시킨 다음, 그 후, 오프-레이트(off-rate) 측정을 위해 3분 동안 검정 완충액으로 옮겼다. ForteBio가 제공한 데이터 분석 소프트웨어에서 1:1 결합 모델을 사용하여 동역학 데이터를 피팅하였다. 생성된 동역학 값은 표 5에 제공되어 있다.

[0305] 시험된 모든 항체는 인간 및 시노물구스 원숭이 CD3 둘 모두에 대한 친화도를 입증하였다.

[0306] 세포 결합

[0307] FACS 세포 결합 검정을 사용하여 인간 CD3+ Jurkat 세포 및 시노물구스 원숭이 HSC-F 세포에 대한 항-CD3 항체의 특이성을 결정하였다. 요약하면, 세포를 해동하고 차가운 PBSF 완충액(PBS+0.1% BSA, pH 7.4)으로 세척하였다. 약 200,000개의 세포를 96-웰 플레이트의 각각의 웰에 분취하고 원심분리로 펠릿화하였다(500 x g에서 5분). 세포를 세척하고 CHO-생성 항-CD3 IgG 항체(100 nM)와 함께 100 μ l PBSF에 재현탁하였다. 혼합물(세포 + 항체)을 얼음 상에서 20분 동안 인큐베이션한 다음, PBSF로 2회 세척하였다. 세포를 50 μ l의 프로피딘 요오드화물(1:500 희석) 및 PBSF에서 제조된 항-인간 IgG-RPE(1:100 희석)에서 재현탁시킨 다음, 세포를 어두운 곳에서 얼음 위에서 20분 동안 인큐베이션하고, PBSF로 2회 세척하였다. FACS Canto II 상에서 결합을 분석하였다. 평균 형광 강도(MFI)는 표 6에 제공되어 있다. 또한, 항-CD3 항체 Fab 단편(100 nM)과 조합된 Jurkat CD3-세포를 사용한 결과를 포함하여, 비교를 위해 CD3이 없는 세포[CHO-S 세포, Jurkat CD3 녹아웃(CD3-) 세포, 및 HEK 세포]를 사용한 결과가 제공된다.

[0308] 비-CD3 발현 세포와 연관된 형광 강도 값보다 몇 배 더 높은 형광 강도 값으로 표시되는 바와 같이, 해당 결과는 CD3 발현 세포에 대해 시험된 항체에 의한 바람직한 결합을 입증한다.

[0309] 항-CD3 항체 Fab 단편의 3배 연속 희석물을 사용하여 추가 FACS 분석을 수행하였다. Fab 단편을 전체 IgG로부터 파파인 분해로 생성하고 KappaSelect 또는 CaptureSelect IgG-CH1(GE Healthcare LifeSciences)을 이용해 정제한 다음, 연속 희석물을 제조하였다. 각각의 희석된 샘플로 인간 CD3+ Jurkat 세포 및 시노물구스 원숭이 CD3 HSC-F 세포에 대한 결합을 평가하였으며, 결과를 사용하여 적정 곡선을 도출하고, Fab 결합에 대한 반수 최대 유효 농도(EC50) 값을 계산하였다. 결과는 표 7에 제시되어 있다.

[0310] 시험된 모든 항체로부터의 Fab 단편은 낮은 EC50 값으로 나타난 바와 같이 인간 및 Cyno CD3 둘 모두에 대한 결합을 입증하였다.

[0311] 개발가능성 - PSR

[0312] 다중특이적 분석을 포함하는 다수의 평가를 사용하여 항-CD3 항체 개발가능성을 결정하였다. 표적에 대해 높은 친화도를 갖는 항체는, 그렇지 않을 경우 다수의 비표적 엔티티에 대한 결합을 또한 나타내는 임상 환경에서 실패할 수 있다. 다중특이적 시약(PSR)과의 상호작용을 측정함으로써 항체 다중특이성을 평가하였다. PSR은, 예를 들어, WO 2014/179363 및 Xu 등의 문헌[Protein Eng Des Sel, 26(10):663-670 (2013)]에 기술된 바와 같이 제조하였다. 간략하게, 2.5 리터 CHO-S 세포를 출발 물질로서 사용하였다. 400 mL까지 채워진 500 mL 원심분리 병에서 5분 동안 2,400 x g로 세포를 펠릿화하였다. 세포 펠릿들을 합친 다음, 25 mL 완충액 B에 재현탁하고 2,400 x g로 3분 동안 펠릿화하였다. 완충액을 따라내고 세척을 1회 반복하였다. 세포 펠릿들을 1 x 프로테아제 억제제(Roche, Complete, EDTA-프리)를 함유하는 완충액 B의 3x 펠릿 부피에서, 폴리트론 균질화기를 사용하여 재현탁하며, 세포를 얼음 위에 유지하였다. 그런 다음, 균질물을 2,400 x g에서 5분 동안 원심분리하고, 상청액을 보유시키고 추가로 1회(2,400 x g/5분) 펠릿화하여 미파괴 세포, 세포 잔해 및 핵의 제거를 보장하였고; 생성된 상청액이 총 단백질 제제이다. 그런 다음, 상청액을 2개의 Nalgene Oak Ridge 45 mL 원심분리 튜브로 옮기고 4°C에서 40분 동안 40,000 x g로 펠릿화하였다. 그런 다음, 분리된 세포질 단백질(Separated Cytosolic Protein, SCP)을 함유하는 상청액을 깨끗한 오크 리지(Oak Ridge) 튜브로 옮기고, 40,000 x g로 추가로 1회 원심분리하였다. 병행하여, 멤브레인 분획(EMF)을 함유하는 펠릿을 보유시키고 40,000에서 20분 동안 원심분리하여 잔여 상청액을 제거하였다. 그런 다음, EMF 펠릿을 완충액 B로 행구었다. 그런 다음, 8 mL 완충액 B를 멤브레인 펠릿에 첨가하여 펠릿을 이탈시키고, 다운스 균질화기(Dounce Homogenizer) 내로 옮겼다. 펠릿을 균질화한 후, 50 mL 원뿔형 튜브에 옮기고 최종 EMF 제제를 나타냈다.

[0313] 약 10^6 - 10^7 세포/mL의 10억개의 포유동물 세포(예를 들어, CHO, HEK293, Sf9)를 조직 배양 환경으로부터 4x

250 mL 원뿔형 튜브로 옮기고 550 x g로 3분 동안 펠릿화하였다. 모든 후속 단계를 4℃에서 수행하거나 빙냉 완충액과 함께 얼음 위에서 수행하였다. 세포를 100 mL의 PBSF(1x PBS + 1 mg/mL BSA)로 세척하고 1개의 원뿔형 튜브 내로 합쳤다. 상청액을 제거한 후, 이어서 세포 펠릿을 30 mL 완충액 B(50 mM HEPES, 0.15 M NaCl, 2 mM CaCl₂, 5 mM KCl, 5 mM MgCl₂, 10 % 글리세롤, pH 7.2)에 재현탁시키고 550 x g에서 3분 동안 펠릿화하였다. 완충액 B 상청액을 따라내고 세포를 3x 펠릿 부피의 완충액 B에 2.5x 프로테아제 억제제(Roche, cOmplete, EDTA-프리)를 더하여 재현탁시켰다. 완충액 B 중의 프로테아제 억제제를 여기서부터 앞으로 포함시켰다. 세포를 30초 펄스(Polyton 균질화기, PT1200E) 동안 4회 균질화하고, 멤브레인 분획을 4℃에서 1시간 동안 40,000 x g로 펠릿화하였다. 펠릿을 1 mL 완충액 B로 행구고; 상청액을 보유시키고 s를 나타낸다. 펠릿을 3 mL의 완충액 B가 있는 다운스 균질화기 내로 옮기고, 막자를 천천히 위아래로 30-35 스트로크 움직여서 재현탁시킨다. 농화된 멤브레인 분획(EMF)을 새로운 수집 튜브 내로 이동시켜, 모든 잠재적 단백질을 수집하기 위해 막자를 행군다. Dc-단백질 분석 키트(BioRad)를 사용하여 정제된 EMF의 단백질 농도를 결정한다. EMF를 용해시키기 위해, 용해 완충액(50 mM HEPES, 0.15 M NaCl, 2 mM CaCl₂, 5 mM KCl, 5 mM MgCl₂, 1 % n-도데실-b-D-말토피라노시드(DDM), 1x 프로테아제 억제제, pH 7.2) 내로 1 mg/mL의 최종 농도로 옮긴다. 혼합물을 4℃ 회전에서 밤새 회전시킨 다음, 50 mL Oak Ridge 튜브(Fisher Scientific, 050529-ID)에서 40,000 x g로 1시간 동안 원심분리한다. 가용성 멤브레인 단백질(SMP)을 나타내는 상청액을 수집하고 상술한 바와 같이 단백질 수율을 정량화한다.

[0314] 비오틴화물을 위해, NHS-LC-비오틴 원액을 제조업체의 프로토콜(Pierce, Thermo Fisher)에 따라 제조한다. 요약하면, 20 μ l의 비오틴 시약을 1 mg의 EMF 시료마다 첨가하고, 4℃에서 3시간 동안 부드럽게 교반하면서 인큐베이션한다. 완충액 B를 사용해 부피를 25 mL로 조정하고, Oak Ridge 원심분리 튜브로 옮긴다. 비오틴화된 EMF(b-EMF)를 40,000 x g에서 1시간 동안 펠릿으로 만들고, 펠릿을 호트러뜨리지 않고 3 mL의 완충액 C(완충액 B에서 글리세롤을 뺀 것)로 2회 행군다. 잔여 용액을 제거한다. 이전에 기재한 바와 같이, 3 mL의 완충액 C에 다운스 균질화기로 펠릿을 재현탁시켰다. 재현탁된 펠릿은 이제 비오틴화된 EMF(b-EMF)를 나타낸다. 상술한 바와 같이 용해시켜 b-SMP를 제조하였다.

[0315] PSR 결합 분석. 검정은 일반적으로, 예를 들어, Xu 등의 문헌[*Protein Eng Des Sel*, 26(10):663-670 (2013)]에 기재된 대로 수행하였다. 효모에 제시된 단일클론 항체의 PSR 프로파일을 특성화하기 위해, 2백만 개의 IgG-제시 효모를 3분 동안 3000 x g로 96-웰 분석 평판 및 펠릿으로 옮겨 상청액을 제거하였다. 새로 준비한 1:10 희석액의 스톱 비오틴화 PSR(b-PSR) 50 μ l에 펠릿을 재현탁시키고, 얼음 위에서 20분 동안 인큐베이션한다. 200 μ l의 차가운 PBSF로 세포를 2회 세척하고 50 μ l의 2차 표지 혼합물(엑스트라비딘-R-PE, 항-인간 LC-FITC, 및 프로피디움 요오드화물)에 펠릿을 재현탁시켰다. 혼합물을 얼음 위에서 20분 동안 인큐베이션한 다음, 200 μ l의 빙냉 PBSF로 2회 세척한다. 100 μ l의 빙냉 PBSF에 세포를 재현탁시키고, HTS 시료 인젝터를 사용하여 FACSCanto(BD Biosciences) 상에서 평판을 전개시킨다. 유세포 분석 데이터를 R-PE 채널에서의 평균 형광 강도에 대해 분석하고, 비특이적 결합을 평가하기 위해 적절한 대조군(설정된 PSR 점수를 갖는 항체)으로 정규화하였다. 효모의 표면에 항체 또는 항체 단편을 제시하거나 표시하기 위한 수많은 방법이 이전에 기술되었으며, 이들 모두는 본 프로토콜과 일치한다(Blaise 등의 문헌[*Gene*, 342(2):211-8 (2004)], Boder 및 Wittrup의 문헌[*Nat Biotechnol.*, 15(6):553-7 (1997)], Kuroda 및 Ueda의 문헌[*Biotechnol Lett.*, 33(1):1-9 (2011)], Orcutt 및 Wittrup의 문헌[*Springer Protocols: Antibody Engineering*, 1:207-233 (2010)], Rakestraw 등의 문헌[*Protein Eng Des Sel.*, 24(6):525-30 (2011)], Sazinsky 등의 문헌[*Proc Natl Acad Sci U S A.*, 105(51):20167-72 (2008)], Tasumi 등의 문헌[*Proc Natl Acad Sci U S A.*, 106(31):12891-6 (2009)]). 시험된 항체에 대한 최종 PSR 점수는 표 8에 열거되어 있다.

[0316] 부모 항체 A001 및 A002는 가장 높은 PSR 점수를 가졌으며, 이는 높은 수준의 비-표적 특이적 결합을 나타낸다. A001 변이체 V002-V007 및 A002 변이체 V008-V013은 모두 A001 및 A002에 비해 각각 감소된 PSR 점수를 나타냈으며, 많은 변이체가 매우 낮은 수준의 비-표적 특이적 결합을 나타내는 PSR 점수 ≤ 0.1 , "클린" PSR 점수를 나타냈다. 새로운 변이체 항체 중에서, V002-V004, V006, 및 V007은 "클린" PSR 점수를 나타냈으며, V005, V008, V010, V012, 및 V013은 "낮은" PSR 점수를 나타냈다.

[0317] 실시예 2: 방법

[0318] 다음의 단락은 전술한 것들 중 많은 것을 포함하는, 항-CD3 항체 평가에 사용되는 방법을 포함한다.

[0319] Hu 및 Cy CD3ed Fc 이중이량체 항원 생산. 제조합 이중이량체 CD3 Fc 융합 항원을 이중 펩티드 신호 서열을 사용하여 Hu CD3e Fc(엑토도메인, ECD, 잔기 22-126) 및 CD3d Fc-HIS(ECD 잔기 22-100) 또는 Cy CD3e Fc(ECD 잔기 22-117) 및 CD3d Fc-HIS(ECD 잔기 22-100)를 암호화하는 플라스미드의 공동 형질감염에 의해 HEK 293 세포

에서 생산하였다. 크로마토그래피 분리는 통합 전도도 센서를 갖춘 컴퓨터로 제어되는 ÄKTA Avant 150 분취 크로마토그래피 시스템(GE Healthcare Life Sciences)에서 수행하여, 실행 동안 인라인 염 농도 모니터링을 가능하게 하였다. 정화된 배양 상청액을 Ni Sepharose 6 Fast Flow(GE Healthcare Life Sciences)로 정제하여, CD3dd Fc 동종이량체를 제거한다. CD3ed Fc-HIS 이종이량체는 pH 8.5에서 선형 Tris-완충 KCl 구배에 의해 Mono Q 10/100 GL에 의해 CD3ee Fc-HIS 동종이량체로부터 분리하였다. 붉은털 원숭이 및 마우스 CD3ed Fc 이종이량체를 유사한 방식으로 생산하였다.

[0320] 펩티드. C-말단 비오틴화된 CD3e N-말단 펩티드를 뉴잉글랜드(New England) 펩티드로부터 획득하였다. 모든 펩티드는 $\geq 95\%$ 의 순도로 전달되었다. 펩티드는 Hu CD3e의 일차 서열 및 OKT3에 결합된 Hu CD3ed의 결정 구조에 기초하여 설계되었다(Kjer-Nielsen L. 등의 문헌[PNAS 2004]). CD3eN27 펩티드는 서열 H2N-QDGNEMGSITQTPYQVSISGTTVILT[K/SCBiot(dPEG4)]-아미드(서열번호 40)을 가지고, CD3eN13 펩티드는 서열 H2N-QDGNEMGGITQT[K/SCBiot(dPEG4)]-아미드(서열번호 41)를 갖는다.

[0321] 항원 비오틴화. Pierce의 EZ-Link Sulfo-NHS-Biotinylation Kit를 사용하여 CD3 항원을 비오틴화하였다. 염소 항-인간 F(ab')₂ kappa-FITC (LC-FITC), 엑스트라비딘-PE(EA-PE) 및 스트렙타비딘-633(SA-633)을 Southern Biotech, Sigma 및 Molecular Probes로부터 각각 획득하였다. 스트렙타비딘 마이크로비즈 및 MACS LC 분리 컬럼을 Miltenyi Biotec으로부터 구매하였다.

[0322] 세포주 전파 및 세포 표지 분석. 인간 Jurkat CD3+ 세포(ATCC TIB-152) 및 Jurkat CD3- 세포(ATCC TIB-153)를 ATCC로부터 획득하였다. Cyno HSC-F 세포를 NIH 비인간 영장류 시약 자원으로부터 획득하였다. 모든 세포주를 10% 소태아 혈청(FBS)이 보충된 RPMI 1640 GlutaMax 배지에서 배양하였다.

[0323] 96-웰 분석 플레이트에서 웰당 100,000-200,000개의 세포를 분취하여 세포 표지를 수행하였다. 세포를 4°C에서 5분 동안 500 x g로 원심분리시킨 다음, 100 nM IgG 100 ml에 재현탁하고, 실온에서 20분 동안 인큐베이션하였다. 그런 다음, 세포를 완충액(인산염 완충 식염수(PBS)/0.1% 소 혈청 알부민(BSA))으로 3회 세척하고, 이차 시약, 통상적으로 염소 항-인간 R-PE(Southern Biotech)에 재현탁시켰다. HTS 샘플 인젝터를 사용하여 FACSCanto(BD Biosciences) 상에서 플레이트를 분석하였다. 유세포 계측 데이터를 R-PE 채널에서의 형광 강도 중앙값에 대해 분석하였다.

[0324] FACS 친화도 가압 선별 방법. 간략하게, 효모 세포(적어도 $\sim 2 \times 10^7$ 세포/표지 조건)를 평균 IgG 제시 수에 대한 화학양론 과잉을 나타내기 위해 충분한 부피의 비오틴화 항원과 함께 인큐베이션하였다. 항원 표지 조건은 평형 조건 하에서 100 내지 1 nM이며, 일반적으로 FACS 세척 완충액(인산염 완충 식염수(PBS)/0.1% 소 혈청 알부민(BSA)) 중에서 실온에서 20분에서 수시간 동안 수행된다. 세척 완충액으로 3회 세척한 후, 그런 다음 효모를 1:100으로 희석시킨 이차 시약인 항-인간 경쇄 FITC 접합체(LC-FITC) 및 1:500으로 희석시킨 스트렙타비딘-633(SA-633) 또는 1:50으로 희석시킨 엑스트라비딘-피코에리트린(EA-PE)으로 4°C에서 15분 동안 염색한다. 빙냉 세척 완충액으로 2회 세척한 후, 세포 펠릿을 1×10^7 효모 당 적어도 1 mL의 통상적인 부피로 세척 완충액에 재현탁하고 스트레이너 뚜껑이 있는(strainer-capped) 정렬 튜브에 옮긴다. 정렬은 FACS ARIA 정렬기(BD Biosciences)를 사용해 수행되며, 바인더에 대해 선별하기 위해 정렬 게이트를 결정한다. 마지막 정렬 라운드 후, 효모 세포를 도말하고 특성화를 위해 개별 콜로니를 채취하였다.

[0325] 항체 효모 생산 및 정제. 효모 클론을 포화까지 성장시킨 다음 30°C에서 48시간 동안 진탕하여 유도하였다. 유도 후, 효모 세포를 펠릿화하고 정제를 위해 상청액을 수확(harvest)하였다. IgG를 단백질 A 컬럼을 사용하여 정제하고 아세트산, pH 2.0으로 용리하였다. Fab 단편을 파파인 소화로 생성하고 KappaSelect 또는 CaptureSelect IgG-CH1(GE Healthcare LifeSciences)을 이용해 정제하였다.

[0326] 항체 HEK 생산 및 정제. IgG의 포유동물 발현은, 새로운 발현 벡터 내로 항체를 서브 클로닝한 다음, 응집 없는 성장, 성장 속도 및 형질감염성을 위해 선별한 HEK293(DSMZ) 유래의 단일클론 세포주인, HEK293ADI1에서 일시적 형질감염 및 발현을 하여 수행하였다. 간략하게, 관심 항체를 함유하는 발현 벡터를 형질감염 시약으로 복합체화한 다음, 1시간 동안 HEK 세포에 노출시키고, 이어서 배양 배지를 mL당 4백만 세포의 최종 밀도로 희석하여 형질감염시켰다. 그런 다음, 48시간마다 새로운 공급 배지로 세포를 7일 동안 배양하였다. 7일 후, 원심분리 후 상청액을 수집하고, 단백질 A를 사용하여 정제하였다. 필요한 경우, CHT 컬럼 정제를 첨가하여 $> 95\%$ 단량체에 도달하였다.

[0327] CHO 세포에서의 항체 생성 및 정제. 항체를 새로운 발현 벡터 내로 서브클로닝한 다음 CHO 세포에서의 형질감염

및 발현으로 IgG1로서 항체를 생성하였다. Fab 단편을 파파인 소화로 생성하고 KappaSelect 또는 CaptureSelect IgG-CH1(GE Healthcare LifeSciences)을 이용해 정제하였다. VH- 및 VL-암호화 유전자 단편(Integrated DNA Technologies)을 중쇄 및 경쇄 pcDNA 3.4+ 벡터(ThermoFisher) 내로 서브클로닝하였다. 당업계에 공지된 표준 방법을 사용하여 상응하는 벡터를CHO-K1 현탁액 세포 내로 일시적으로 공동 형질감염시켰다. 대체적으로, 약 4×10^6 세포/mL로 성장된 CHO-K1 세포를 펠릿화하고 형질감염 배지에 재현탁하였다. DNA 플라스미드(1.5 ug의 총 DNA/mL)를 CHO-K1 세포 현탁액에 첨가하기 전 실온에서 형질감염 배지 중 PEIpro(1:2 최종, PolyPlus, Cat# 115-100)와 함께 인큐베이션하였다. 형질감염된 배양물을 공급하고, 정제를 위해 상청액을 수확할 때까지(9일차) 32°C에서 진탕하면서 유지하였다. 세포 배양 상청액을 원심분리로 수확하고 단백질을 A 아가로오스(MabSelect SuRe; GE Healthcare Life Sciences)를 통과시켰다. 그런 다음, 결합된 항체를 PBS로 세척하고, 완충액(200 mM 아세트산/50 mM NaCl, pH 3.5)으로 pH 8.0의 1/8 부피의 2 M Hepes 내로 용리하였다. 최종 생성물을 25 mM Hepes 및 150 mM 염화나트륨, pH 7.3 내로 완충액 교체하였다. 밤새 파파인 분해 후 CH1-수지 정제 단계를 사용하여 Fab를 생성하였다.

[0328] 세포 결합 분석. CD3+ 인간 Jurkat 세포(ATCC) 및 CHO-S 세포(Invitrogen/ ThermoFisher)를 해동하고 차가운 PBSF 완충액, pH 7.4로 세척하였다(PBS+0.1% BSA, pH 7.4). 약 200,000개의 세포를 96-웰 플레이트의 웰당 분취하고 (FACS Assay Plate VWR BD 353263) 원심분리(500 x g에서 5분)에 의해 펠릿화했다. 세포를 PBSF pH 7.4 또는 PBSF pH 6.0(PBS+0.1% BSA, pH 6.0)으로 세척한 다음, 전술한 바와 같이 효모에서 생산되거나 CHO에서 생산된 IgG1 항체(100 nM)를 포함하는 PBSF pH 7.4 또는 PBSF pH 6.0 중 하나에서 100 ul에 재현탁했다. 혼합물(세포 + 항체)을 얼음 위에서 20분 동안 인큐베이션한 다음, PBSF pH 7.4 또는 PBSF pH 6.0으로 2회 세척하였다. 세포를 PBSF pH 7.4 또는 PBSF pH 6.0에서 준비한 프로피디움 요오드화물(Roche; 1:500 희석) 및 항-인간 IgG-RPE(Southern Biotech; 1:100 희석)의 50 ul에 재현탁한 다음, 세포를 PBSF pH 7.4 또는 PBSF pH 6.0 중 하나로 2회 세척하기 전에 어두운 곳에서 얼음 위에서 20분 동안 인큐베이션했다. 결합을 FACS Canto II 상에서 분석하였다.

[0329] ForteBio K_D 측정(생체층 간섭측정기(Biolayer interferometry); BLI). ForteBio 친화도 측정은 일반적으로 전술한 바와 같이 수행하였다 (Estep, P. 등, High throughput solution-based measurement of antibody-antigen affinity and epitope binning. MAbs, 2013. 5(2): p. 270-8.). 요약하면, IgG 또는 CD3ed Fc-HIS 이중이량체를 AHC 센서 상에 로딩함으로써 ForteBio 친화도 측정을 수행하였다. 분석 완충액에서 센서를 30분 동안 오프라인으로 평형화시킨 다음, 베이스라인 확정을 위해 60초 동안 온라인으로 모니터링하였다. 로딩된 IgG를 갖는 센서를 3분 동안 100 nM 항원(예, CD3)에 노출시킨 후, 오프-레이트 측정을 위해 10분 동안 분석 완충액에 옮겼다. 로딩된 CD3ed Fc-HIS 이중이량체를 갖는 센서를 3분 동안 100 nM 항-CD3 Fab에 노출시킨 후, 오프-레이트 측정을 위해 3분 또는 10분 동안 분석 완충액에 옮겼다. 1:1 결합 모델을 사용하여 동역학을 분석하였다. 상이한 pH에서의 결합을 측정하기 위해, 사전 결정된 pH(예를 들어, pH 7.4 및 pH 6.0)에서 측정을 수행하였다.

[0330] ForteBio 동역학. FortBio Octet® HTX 기기를 AHC, SA 또는 AHQ 센서를 사용해 12 채널 모드(채널 당 8개 센서, 실험 당 96개 센서)로 사용하였다. 기기를 제조업체가 공급한 소프트웨어(버전 8.2 및 9.0)로 구동시켰다. 플레이트 데이터 페이지에 시료 이름 및 농도를 입력하고, 센서 연관 단백질을 센서 데이터 페이지의 "정보" 컬럼에서 식별하였다. 90 또는 180 s 베이스라인, 180 s 결합 상, 및 180 s 또는 600 s의 해리 상을 사용해 동역학 실험값을 수집하였다. 실험의 포맷을 식별하는 명명 규칙에 따라 모든 파일을 공유 네트워크 드라이브에 저장하였다.

[0331] HIC. IgG1 시료를 Zeba 40 kDa 0.5 mL 스핀 컬럼(Thermo Pierce, cat # 87766)을 사용하여 pH 6.5에서 1 M 황산암모늄 및 0.1 M 인산나트륨으로 완충액 교환하였다. 염 구배를 1.8 M 황산암모늄, pH 6.5의 0.1 M 인산나트륨으로부터 황산암모늄이 없는 동일한 조건까지 Dionex ProPac HIC-10 컬럼 상에서 확립하였다. 구배는 0.75 ml/분의 유속에서 17분 동안 진행하였다. 실험 종료 시 아세트나트륨 세척 단계를 첨가하여 임의의 잔여 단백질을 제거하고, 컬럼을 7 컬럼 부피에 걸쳐 재평형화한 다음 주입 사이클을 수행하였다. A280 흡광도에서 피크 보유 시간을 모니터링하고, 용리 시 황산암모늄 농도를 구배 및 유속에 기초하여 계산하였다.

[0332] LC-MS. IgG1 시료를 DTT로 환원시킨 다음, Agilent 1100 HPLC(Agilent)와 커플링된 Bruker maXis4G 질량 분광계를 이용하는 미들 다운 액체 크로마토그래피-질량 분광계(LC-MS) 분석을 수행하였다. POROS R2 10 μ m (2.1 x 30 mm) 역상 컬럼을 사용하여 시료 내의 염을 제거하였다. 2 mL/분의 고속 LC 유동은 시료와 염 및 시료의 용리액과 컬럼의 재생 간의 분리를 2.1분 사이클 이내에 완료되게 한다. 시료 분석을 위해 T-접합을 사용하여 질량 분광계 내로 단지 0.15mL/분 시료 흐름을 전달한다. Bruker maXis 4G 질량 분광계를 750 내지 2500 m/z 범위의

검출로 양의 이온 모드에서 실행시켰다. 나머지 소스 파라미터를 다음과 같이 설정하였다; 모세관은 5500V로, 분무기(Nebulizer)는 4.0 Bar로, 건조 가스는 4.0 l/분으로, 건조 온도는 200℃로 설정하였다.

[0333] Bruker 데이터 분석 버전 4.1을 사용해 MS 스펙트럼을 분석하였고, 20 내지 30 kDa의 질량 범위를 갖는 최대 엔트로피 디콘볼루션(deconvolution)을 사용해 디콘볼루션을 달성하였다.

[0334] **실시예 3: 추가의 항-CD3 항체**

[0335] 항-CD3 항체 A003, A004, 및 A005는, 그 전체가 본원에 참조로서 통합되는 미국 특허 공개 번호 US2020/0190189호에 기술된 바와 같이 사전에 단리되었다(해당 문헌에서 ADI-26913, ADI-26920, 및 ADI-26921로 지칭됨).

[0336] 항체 V014 및 V015는 A003의 CDR 중 하나 이상에 대한 다양한 아미노산 치환을 혼입시킴으로써 새롭게 수득하였다. 항체 V016 및 V017은 A004의 CDR 중 하나 이상에 대한 다양한 아미노산 치환을 혼입시킴으로써 새롭게 수득하였다. 항체 V018 및 V019는 A005의 CDR 중 하나 이상에 대한 다양한 아미노산 치환을 혼입시킴으로써 새롭게 수득하였다. 항체 A003-A005, 및 V014-V019와 연관된 아미노산 및 핵산 서열이 표 1-4에 제공된다.

[0337] **실시예 4: 상이한 pH에서의 1가 결합 친화도 - Fab, SPR**

[0338] 항-CD3 항체 A001-A005, V002, V004, V007, V009, V010, V013, 및 V014-V019를 CHO 세포에서 생산하고, 실시예 2에 기술된 바와 같이 파파인 분해 및 정제로 IgG1 항체로부터 Fab 단편을 생성하였다. pH 7.4 및 pH 6.0에서의 1가 결합 친화도를 표면 플라즈몬 공명(SPR)을 통해 측정하였다. 요약하면, 실시예 2에 기술된 바와 같이 생산된 인간 또는 시노몰구스 원숭이 CD3ed Fc 이중이량체를 Biacore® X100(Cytiva, 종래의 GE Healthcare Life Sciences)에서 약 500 RU의 반응 수준으로 CM5 센서 칩에 고정시켰다. 그런 다음, Fab를 0.74-180 nM 범위의 3배 증가된 농도로 주입하였다. 센서 칩을 0.35 M EDTA 및 0.1 M NaOH를 사용하는 사이클 사이에서 2회 재생성하였다. 생성된 데이터를 이중 기준을 차감하고, Biacore® Evaluation Software를 사용하여 1:1 결합 모델에 피팅하였다.

[0339] 표 9는 해당 결과를 나타낸다. 표에 나타난 바와 같이, 시험된 모든 Fab는 pH 7.4 및 6.0 모두에서 인간 및 시노몰구스 원숭이 CD3ed 둘 모두에 결합하였다.

[0340] **실시예 5: 상이한 pH에서의 친화도 및 결합력 - Fab 또는 IgG1, BLI**

[0341] 항-CD3 항체 A001-A005, V002, V004, V007, V009, V010, V013, 및 V014-V019를 CHO 세포에서 IgG1로서 생산하고, 실시예 2에 기술된 바와 같이 파파인 분해 및 정제로 IgG1 항체로부터 Fab 단편을 생성하였다. 인간, 시노몰구스 원숭이, 붉은털 원숭이 및 마우스 CD3ed Fc 이중이량체를 생산하고, 실시예 2에 기술된 바와 같이 Octet® HTX 기기(ForteBio)를 사용하여 pH 7.4 및 pH 6.0에서의 1가 결합 친화도 및 결합능력을 측정하였다.

[0342] 표 10은 해당 결과를 나타낸다. 표에 나타난 바와 같이, 시험된 모든 Fab는 pH 7.4 및 6.0 둘 모두에서 인간 및 시노몰구스 원숭이 CD3ed 둘 모두에 결합하였고, 시험된 모든 Fab(K_D 가 측정될 수 없었던 V017 제외)는 pH 7.4에서 붉은털 원숭이 CD3ed에 결합하였다. 시험된 IgG 중 일부(A001-A003, V002, V004, V009, V010, 및 V013-V015)는 pH 7.4에서 마우스 CD3ed에 어느 정도 결합하였지만, 시험된 IgG 중 일부(A004, A005, V007, 및 V016-V019)는 pH 7.4에서 마우스 CD3ed에 결합하지 않았다.

[0343] **실시예 6: 세포 결합 - IgG1, 유세포 분석**

[0344] 항-CD3 항체 A001-A005, V002, V004, V007, V009, V010, V013, 및 V014-V019를 CHO 세포에서 IgG1로서 생산하고, pH 7.4에서의 인간 CD3+ Jurkat 세포 및 시노몰구스 원숭이 CD3+ HSC-F 세포에 대한 결합을 실시예 2에 기술된 바와 같이 유세포 계측법으로 분석하였다. NCB(정규화된 세포 결합) 값은 대조군 및 샘플 MFI 값에 기초하여 다음과 같이 계산되었다: $NCB = \{(\text{샘플 MFI}) - (\text{이차 단독 MFI})\} / (\text{이차 단독 MFI})$.

[0345] 시험된 IgG1에 대한 NCB 값은 표 11에 제공되어 있다. 표에 나타난 바와 같이, 시험된 모든 항체는 인간 및 시노몰구스 원숭이 CD3-발현 세포 둘 모두에 결합하였다. V014-V019에서, 이들의 부모 항체와 비교하여 인간 CD3+ Jurkat 세포에 대한 증가된 결합이 관찰되었다. 예를 들어, V014 및 V015는 이들의 부모 항체 A003보다 더 높은 결합을 나타냈고, V016 및 V017은 이들의 부모 항체 A004보다 더 높은 결합을 나타냈으며, V018 및 V019는 이들의 부모 항체 A005보다 더 높은 결합을 나타냈다.

[0346] **실시예 7: 개발가능성 - Fab 또는 IgG1, 크로마토그래피**

- [0347] 항-CD3 항체 A001-A005, V002, V004, V007, V009, V010, V013, 및 V014-V019를 CHO 세포에서 IgG1로서 생산하고, 실시예 2에 기술된 바와 같이 파파인 분해 및 정제로 IgG1 항체로부터 Fab 단편을 생성하였다.
- [0348] 서열 확인
- [0349] 중쇄 및 경쇄 질량이 아미노산 서열에 기초하여 예측된 질량과 일치하는지의 여부를 시험하기 위해, IgG1 샘플에 대해 실시예 2에 기술된 바와 같이 LC-MS 분석을 수행하였다. 예측된 질량과 일치하는 샘플은 표 12에 나타난 바와 같이 "합격"으로 표시된다.
- [0350] 순도
- [0351] 생산된 IgG1 및 Fab의 순도(각각, 모든 항체 생성물 중 전체 IgG 단량체 또는 Fab 단량체의 백분율(즉, 응집 또는 다량체화 없이 존재하는 단량체의 백분율)로 결정됨)을 시험하기 위해, IgG1 및 Fab 생산 샘플에 대해 크기 배제 크로마토그래피(SEC) - 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 분석을 수행하였다. 요약하면, Agilent 1260 HPLC를 사용하여 컬럼 크로마토그래피(TSKgel Super SW mAb HTP 컬럼)를 모니터링하였다. 컬럼을 사용 전에 0.400 mL/분으로 조정된 유속으로 세척 완충액(200 mM 인산나트륨, 250 mM 염화나트륨 pH 6.8)으로 평형화시켰다. 약 2 내지 5 µg의 IgG1 또는 Fab 단백질 샘플을 컬럼 상에 주입하였다. 280 nm 파장에서 단백질 이동을 모니터링하였다. 총 분석 시간은 약 6분이었다. ChemStation 소프트웨어를 사용하여 데이터를 분석하였다.
- [0352] SEC-HPLC로 획득된 단량체% 값은 표 12에 제공되어 있다. 표에 나타난 바와 같이, 시험된 모든 Fab 및 거의 모든 시험된 IgG1에 대해 95% 초과 단량체%가 관찰되었다.
- [0353] pH 스트레스 내성
- [0354] 낮은 pH에서의 스트레스에 대한 내약성을 시험하기 위해, IgG1 샘플을 산성 pH 또는 생리학적 pH에서 인큐베이션하고 SEC-HPLC 분석을 수행하였다. 요약하면, 15 mg/mL의 IgG1 샘플을 PBS(250 mM 염화나트륨, pH 7.0으로 완충된 200 mM 인산염) 또는 pH 3.5 완충액(50 mM 염화나트륨, 200 mM 아세트산, pH 3.5)으로 완충액 교환하였다. 실온(25°C)에서 1시간 후, 완충액 교환된 샘플을 PBS(250 mM 염화나트륨, pH 7.0으로 완충된 200 mM 인산염) 중에서 1 mg/mL로 희석하고, TSKgel SuperSW mAb HTP 컬럼(TOSOH Bioscience, King of Prussia, PA, Product Code 22855)이 구비된 Agilent 1260 Infinity 분석 HPLC(Agilent, Santa Clara, CA)에 2 µg를 주입하였다. SEC 데이터를 수집하고 Agilent ChemStation 소프트웨어(Agilent, Santa Clara, CA)를 사용하여 분석하였다.
- [0355] SEC-HPLC로 획득된 단량체% 값은 표 12에 제공되어 있다. 표에 나타난 바와 같이, 단량체% 값은 낮은 pH에 의해 유의하게 영향을 받지 않았고, 시험된 모든 IgG1에서 >95%로 유지되었으며, 이는 낮은 pH에서의 스트레스에 대한 내약성이 양호함을 입증한다.
- [0356] **실시예 8: 개발가능성 - PSR**
- [0357] PSR-결합 검정에 의한 다중특이성
- [0358] 항-CD3 항체 A001-A005, V002, V004, V007, V009, V010, V013, 및 V014-V019에 대해 실시예 1에 기술된 바와 같이 PSR 결합 분석을 수행하였다.
- [0359] PSR 점수는 표 13에 제공되어 있다. 표에 나타난 바와 같이, 시험된 IgG1 중 다수(A003-A005, V002, V004, V007, 및 V014-V019)는 클린 PSR 점수를 나타냈고, 이는 다중특이성이 없거나 무시할 만한 수준임을 나타내며, 시험된 IgG 중 일부(A001, V009, V010, 및 V013)는 낮은 PSR 점수를 나타냈으며, 이는 낮은 다중특이성을 나타낸다.
- [0360] **실시예 9: 개발가능성 - HIC, AC-SINS, 및 DLS**
- [0361] 실시예 2에 기술된 바와 같이, 항-CD3 항체 A001-A005 and V002, V004, V007, V009, V010, V013, 및 V014-V019를 실시예 2에 기술된 바와 같이 CHO 세포에서 IgG1로서 생산하였다.
- [0362] HIC에 의한 소수성
- [0363] 항체의 소수성은 항체 응집의 한 원인이다. IgG1 생산 샘플에 대해 실시예 2에 기술된 바와 같이 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC) 분석을 수행하였다.
- [0364] 관찰된 HIC 유지 시간은 표 13에 제공되어 있다. 표에 나타난 바와 같이, 시험된 모든 IgG1은 < 10.5분의 유지

시간을 가졌으며, 이는 클린 내지 낮은 소수성, 즉 매우 바람직한 개발가능성 프로파일을 나타낸다.

[0365] AC-SINS에 의한 자가-상호작용

[0366] 자가-상호작용은 이전에 기술된 프로토콜(Liu y 등의 문헌[MAbs. Mar-Apr 2014;6(2):483-92])을 사용하는, 친화도-포획 자가-상호작용 나노입자 분광법(AC-SINS)에 의해 시험관 내에서 측정될 수 있다. 요약하면, 다클론 염소 항-인간 IgG Fc 항체(포획; Jackson ImmunoResearch Laboratories) 및 다클론 염소 비특이적 항체(비포획; Jackson ImmunoResearch Laboratories)를 20 mM 아세트산나트륨(pH 4.3)으로 완충액 교환하고 0.4 mg/ml로 농축하였다. 포획:비-포획의 4:1 부피비가 제조되고, 1시간 동안 실온에서 20 nm 금 나노입자(AuNP; Ted Pella Inc.)와 함께 1:9 부피비로 추가로 인큐베이션될 수 있다. 그런 다음, 티올화된 PEG(Sigma-Aldrich)를 사용하여 AuNP 상의 빈 부위를 차단하고 0.22 μ m PVDF 막(Millipore)을 통해 여과하였다. 코팅된 입자는 이어서 IgG1 시험 항체 용액에 첨가되었고, 플레이트 판독기 상에서 510 내지 570 nm의 흡광도를 측정하기 전에 실온에서 2시간 동안 인큐베이션되었다, 최대 흡광도에서 파장을 얻기 위해, 데이터 포인트는 Excel에서 2차 다항식에 피팅되었다. 값은 샘플의 플라즈몬 파장과 배경 사이의 차이($\Delta\lambda$ 최대)로서 기록되었다. 자가-상호작용 수준은 $\Delta\lambda$ 최대에 기초하여 결정되었다. 자가-상호작용은 다음과 같이 고려될 수 있다: $\Delta\lambda$ 최대 < 5.0 nm일 경우, 낮음; $\Delta\lambda$ 최대 $\geq$ 5.0 nm 및 < 20.0 nm일 경우, 중간; 및 $\Delta\lambda$ 최대 $\geq$ 20.0 nm일 경우, 높음.

[0367] 수득된 $\Delta\lambda$ 최대는 표 13에 제시된다. 표에 나타난 바와 같이, 시험된 IgG1(A003, V004, V007, V010, 및 V013-V015) 중 다수는 < 5.0의 $\Delta\lambda$ 최대를 가졌고, 시험된 IgG1(A001, A002, A004, A005, V002, V007, V009, 및 V016-V019) 중 다수는 $\geq$ 5.0 nm 및 < 20.0 nm의 $\Delta\lambda$ 최대를 가졌다.

[0368] DLS에 의한 자가 상호작용

[0369] 동적 광 산란(DLS)을 사용하여 자가 상호작용을 측정하였다. 12 mg/mL 미만의 농도에서 측정된 단클론 항체의 확산 상호작용 매개변수(kD)는 매우 높은 농도(>100 mg/mL)에서 용액 거동과 강한 상관 관계를 갖는다. 양의 kD 값은 분자들 간의 강박 상호작용을 나타내며, 동일한 제형 완충액에서, 고농도에서 낮은 점도와 양의 상관 관계를 갖는다. kD 값은, DLS를 사용하여, 일련의 상이한 농도에 대한 상호 확산 계수(D)를 측정함으로써 수득하였다. 구체적으로, 10 mM 히스티딘 완충액, pH 6.0 중에서 0.5 내지 12 mg/mL의 다중 농도에서 DLS kD를 측정하였다, < 20 mL/g의 kD 값은 높은 점도 또는 높은 유백광과 관련이 있는 것으로 간주되었다.

[0370] 수득된 kD 값은 표 13에 제공되어 있다. 표에 나타난 바와 같이, 시험된 IgG1 중 다수(A001-A005 및 V014-V016)는 $\geq$ 20 mL/g의 kD 값을 가졌다.

[0371] **실시예 10: 개발가능성 - DSF에 의한 Fab T_m.**

[0372] 항-CD3 항체 A001-A005 및 V002, V004, V007, V009, V010, V013, 및 V014-V019를 CHO 세포에서 IgG1로서 생산하고, 실시예 2에 기술된 바와 같이 파파인 분해 및 정제로 IgG1 항체로부터 Fab 단편을 생성하였다. Bio-Rad로부터의 CFX96 Real-Time System을 사용하여, 시차주사 형광측정(DSF)으로 용융 온도(T_m)를 측정하였다. 요약하면, 20 μ L의 1 mg/mL 샘플을 10 μ L의 20X SYPRO 오렌지와 혼합하였다. 플레이트를 C1000 열순환기(BioRad)에서 0.5°C/2분의 속도로 40°C로부터 95°C까지 스캔하여 Fret 신호를 수집하였다. Fab T_m은 Bio-Rad 분석 소프트웨어로부터의 원시 데이터의 1차 미분값을 사용하여 산출하였다.

[0373] 수득된 T_m 값은 표 14에 제공되어 있다. 표에 나타난 바와 같이, 모든 Fab는 65°C보다 훨씬 높은 T_m 값을 가졌으며, 이는 높은 안정성, 따라서 바람직한 개발가능성을 나타낸다.

[0374] 예시적인 구현예

[0375] 본 개시내용에 따른 일부 예시적인 실시예가 이하에서 설명된다.

[0376] **구현예 1.** 항체 또는 항원 결합 단편으로서: 표 2(표 2A 및 표 2B)에 열거된 것들 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결합 영역(CDR)을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 단편.

[0377] **구현예 2.** 항체 또는 항원 결합 단편으로서, 표 1(표 1A)에 열거된 것들 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH); 및/또는 표 1(표 1B)에 열거된 것들 중 어느 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 단편.

[0378] **구현예 3.** 구현예 2에 있어서, VH는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하거나; VH는 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하거나; VH는 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하거나; VH는 서열

번호 4의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하거나; VH는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하거나; VH는 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하거나; VH는 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하거나; VH는 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하거나; VH는 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하거나; VH는 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하거나; VH는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하거나; VH는 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하거나; VH는 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하거나; VH는 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 단편.

[0379] **구현예 4.** 구현예 1에 있어서, 서열번호 33 및 34로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3(CDRH3); 서열번호 21-32로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2(CDRH2); 서열번호 17-20으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1(CDRH1); 표 2A에 열거된 것들 중 어느 하나에 따른 CDR 세트를 포함하는 VH; 서열번호 38 또는 39로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3(CDRL3); 서열번호 36 또는 37로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2(CDRL2); 서열번호 33 또는 34로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1(CDRL1); 및/또는 표 2B에 열거된 것들 중 어느 하나에 따른 CDR 세트를 포함하는 VL을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 단편.

[0380] **구현예 5.** 구현예 1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 항원 결합 단편은 분화 클러스터 3(CD3)에 결합하는, 항체 또는 항원 결합 단편.

[0381] **구현예 6.** 구현예 5에 있어서, 항체 또는 항원 결합 단편은 인간 및/또는 비인간 영장류 CD3에 결합하는, 항체 또는 항원 결합 단편.

[0382] **구현예 7.** 구현예 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 항원 결합 단편은 사이토카인 방출 증후군을 유도할 수 있는 수준까지 사이토카인 생산을 유도하는 경향의 감소를 나타내면서 T 세포 활성화 또는 T 세포 사멸을 유도하고/하거나; 항체 또는 항원 결합 단편은 다중특이적 항체를 포함하고/하거나; 항체 또는 항원 결합 단편은 이중특이적 항체를 포함하고/하거나; 항체 또는 항원 결합 단편은 scFv를 포함하고/하거나; 항체 또는 항원 결합 단편은: 종양학 표적; 면역-종양 표적; 신경퇴행성 질환 표적; 자가면역 장애 표적; 감염성 질환 표적; 대사 질환 표적; 인지 장애 표적; 혈액-뇌 장벽 표적; 또는 혈액 질환 표적;에 특이적으로 결합하는 적어도 제2 항원 결합 도메인을 포함하고/하거나; 항체 또는 항원 결합 단편은 본원에 기술된 제2 결합 특이성 중 적어도 하나 이상을 갖는 적어도 제2 항원 결합 도메인을 포함하고/하거나; 항체 또는 항원-결합 단편은: BCMA, CTLA4 (세포독성 T 림프구 항원-4), PD1(세포예정사 단백질 1), PD-L1(세포예정사 리간드 1), LAG-3(림프구 활성화 유전자-3), TIM-3, CD20, CD2, CD19, Her2, EGFR, EpCAM, FcγRIIIa (CD16), FcγRIIIa (CD32a), FcγRIIIb (CD32b), FcγRI (CD64), 톨-유사 수용체(Toll-like receptor, TLR), TLR4, TLR9, 사이토카인, IL-2, IL-5, IL-13, IL-6, IL-17, IL-12, IL-23, TNFα, TGFβ, 사이토카인 수용체, IL-2R, 케모카인, 케모카인 수용체, 성장 인자, VEGF, 및 HGF 중 하나 이상에 특이적으로 결합하는 적어도 제2 항원 결합 도메인을 포함하고/하거나; 항체 또는 항원 결합 단편은, 선택적으로 적어도 하나의 막관통 도메인, 및 T 세포 수용체로부터의 적어도 하나의 세포내 도메인, 선택적으로 CD3ζ 서브유닛, 및 적어도 하나의 공동 자극 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)에 포함되고/되거나; 항체 또는 항원 결합 단편은 scFv2-Fc2 및/또는 scFv-IgG를 포함하고/하거나; 항체 또는 항원-결합 단편은 IgG 불변 도메인을 포함하고/하거나; 항체 또는 항원 결합 단편은 항원에 특이적으로 결합하는 적어도 제2 항원 결합 도메인을 포함하고, 항체 또는 항원 결합 단편은, Fab-Fc-scFv, "병-오프너, Mab-scFv, Mab-Fv, 이중 scFv, 중양 Fv, 중양 scFv, 단일 아암 중양 scFv, Fab-Fab, Fab-Fv, mAb-Fv, mAb-Fab, DART, BiTE, 공통 경쇄-IgG, TandAb, Cross-Mab, SEED, BEAT, TrioMab, 및 DuetMab으로 이루어진 군으로부터 선택되는 다중특이적 포맷을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 단편.

[0383] **구현예 8.** 구현예 1 내지 7 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 항원 결합 단편은 항체 A001 및/또는 A002에 비해 감소된 PSR 점수를 나타내는, 항체 또는 항원 결합 단편.

[0384] **구현예 9.** 구현예 1 내지 8 중 어느 하나에 따른 항체 또는 항원 결합 단편을 암호화하는, 핵산.

[0385] **구현예 10.** 구현예 9에 따른 핵산 서열을 포함하는, 작제물.

- [0386] 구현예 11. 구현예 9에 따른 핵산 및/또는 구현예 10에 따른 작제물을 포함하는 세포로서, 상기 세포는 선택적으로 포유류 세포 또는 효모 세포인, 세포.
- [0387] 구현예 12. 약학적 조성물로서, 구현예 1 내지 7 중 어느 하나에 따른 항체 또는 항원 결합 단편, 또는 구현예 11에 따른 세포; 및 약학적으로 허용가능한 담체 및/또는 부형제를 포함하는, 약학적 조성물.
- [0388] 구현예 13. 해당 치료를 필요로 하는 포유동물에서 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 구현예 1 내지 7 중 어느 하나에 따른 항체 또는 항원 결합 단편; 구현예 11에 따른 세포; 및 선택적으로, 면역 세포, T 세포, 및/또는 자연 살해(NK) 세포를 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0389] 구현예 14. 구현예 13에 있어서, 장애는 증식성 장애, 종양학적 장애, 면역-종양학적 장애, 신경 장애, 신경퇴행성 장애, 및 자가면역 장애 중 하나 이상을 포함하는, 방법.
- [0390] 구현예 15. 구현예 13 또는 14에 있어서, 방법은 추가 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.
- [0391] 구현예 16. 구현예 13 내지 15 중 어느 하나에 있어서, 포유동물은 인간인, 방법.

부록

[표 1A] VH 아미노산 서열

항체 번호	ADI 번호	VH 서열	서열 번호
A001	ADI-26906	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGENIKDYIMHWVRQAPGQRLWVGWIDLENANTHYDAKFGQGRVTIT	2110
		RDTASTAYMELSSLRSEDTAVYCARDAVGRFYDVWGQGTLLVTVSS	
V002	ADI-67445	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGENIKDYIMHWVRQAPGQRLWVGWIDLENAEITYDAKFGQGRVTIT	210
		RDTASTAYMELSSLRSEDTAVYCARDAVGRFYDVWGQGTLLVTVSS	
V003	ADI-67446	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGFEDIKDYIMHWVRQAPGQRLWVGWIELENADTHYDAKFGQGRVTIT	310
		RDTASTAYMELSSLRSEDTAVYCARDAVGRFYDVWGQGTLLVTVSS	
V004	ADI-67447	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGENIDDIYIMHWVRQAPGQRLWVGWIDLENNTIYDAKFGQGRVTIT	410
		RDTASTAYMELSSLRSEDTAVYCARDAVGRFYDVWGQGTLLVTVSS	
V005	ADI-67448	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGENIDDIYIMHWVRQAPGQRLWVGWIDLENNTIYDAKFGQGRVTIT	510
		RDTASTAYMELSSLRSEDTAVYCARDAVGRFYDVWGQGTLLVTVSS	
V006	ADI-67449	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGENIKDYIMHWVRQAPGQRLWVGWIDLENAEITYDAKFGQGRVTIT	610
		TRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYCARDAVGRFYDVWGQGTLLVTVSS	
V007	ADI-67450	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGENIDDIYIMHWVRQAPGQRLWVGWIDLENANTIDDYDAKFGQGRVTIT	710
		RDTASTAYMELSSLRSEDTAVYCARDAVGRFYDVWGQGTLLVTVSS	
A002	ADI-50024	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGENIKDYIMHWVRQAPGQRLWVGWIDLENANTVYDAKFGQGRVTIT	2210
		RDTASTAYMELSSLRSEDTAVYCARDAVGRFYDVWGQGTLLVTVSS	
V008	ADI-70325	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGENIKDYIMHWVRQAPGQRLWVGWIDLENAEITYDAKFGQGRVTIT	810
		RDTASTAYMELSSLRSEDTAVYCARDAVGRFYDVWGQGTLLVTVSS	
V009	ADI-70326	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGFEDIKDYIMHWVRQAPGQRLWVGWIELENADTVYDAKFGQGRVTIT	910
		RDTASTAYMELSSLRSEDTAVYCARDAVGRFYDVWGQGTLLVTVSS	
V010	ADI-70327	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGFEDIKDYIMHWVRQAPGQRLWVGWIELENDDTVYDAKFGQGRVTIT	1010
		RDTASTAYMELSSLRSEDTAVYCARDAVGRFYDVWGQGTLLVTVSS	

V011	ADI-70328	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIDDIYMHWVRQAPGQRLIEWIGWIDLENDNTVYDAKFQGRVTIT	1110
V012	ADI-70329	RDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDAYGRFYDYVWGQGTLLTVSS	1210
V013	ADI-70330	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNDKDYIMHWVRQAPGQRLIEWIGWIDLENAETVYDAKFQDRVTIT	1310
A003	ADI-26913	TRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDAYGRFYDYVWGQGTLLTVSS	1310
A004	ADI-26920	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIDDIYMHWVRQAPGQRLIEWIGWIDLENAETVYDAKFQGRVTIT	2310
A005	ADI-26921	RDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDQYGRFYDYVWGQGTLLTVSS	2410
V014	ADI-76357	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNDKDYIMHWVRQAPGQRLIEWIGWIDLENAETVYDAKFQGRVTIT	1410
V015	ADI-76358	RDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDQYGRFYDYVWGQGTLLTVSS	1510
V016	ADI-76359	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNDKDYIMHWVRQAPGQRLIEWIGWIDLENAETVYDAKFQGRVTIT	1610
V017	ADI-76360	RDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDQYGRFYDYVWGQGTLLTVSS	1710
V018	ADI-76361	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNDKDYIMHWVRQAPGQRLIEWIGWIDLENAETVYDAKFQGRVTIT	1810
V019	ADI-76362	RDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDQYGRFYDYVWGQGTLLTVSS	1910

밑줄 친 잔기는 나타나는 순서로 CDRH1, CDRH2, 및 CDRH3에 상응함.

[표 1B] VL 아미노산 서열

장제 번호	ADI 명칭	VL		서열 번호
		ADI-	서열	
A001	ADI- 26906	ADI-	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNARTGKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDFRFGSG	2120
V002	ADI- 67445	ADI-	SGTDFTLTISSLQAEDVAVYCKQSYSRRTFGGGTKVEIK	220
V003	ADI- 67446	ADI-	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNARTGKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDFRFGSG	320
V004	ADI- 67447	ADI-	SGTDFTLTISSLQAEDVAVYCKQSYSRRTFGGGTKVEIK	420
V005	ADI- 67448	ADI-	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNARTGKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDFRFGSG	520
V006	ADI- 67449	ADI-	SGTDFTLTISSLQAEDVAVYCKQSYSRRTFGGGTKVEIK	620
V007	ADI- 67450	ADI-	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNARTGKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDFRFGSG	720
A002	ADI- 50024	ADI-	SGTDFTLTISSLQAEDVAVYCKQSYSRRTFGGGTKVEIK	2220
V008	ADI- 70325	ADI-	DIVMSQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNARTGKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRSSGVPDFRFGSG	820
V009	ADI- 70326	ADI-	SGTDFTLTISSLQAEDVAVYCKQSYSRRTFGGGTKVEIK	920
V010	ADI- 70327	ADI-	DIVMSQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNARTGKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRSSGVPDFRFGSG	1020
V011	ADI- 70328	ADI-	SGTDFTLTISSLQAEDVAVYCKQSYSRRTFGGGTKVEIK	1120
V012	ADI- 70329	ADI-	DIVMSQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNARTGKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRSSGVPDFRFGSG	1220
V013	ADI- 70330	ADI-	SGTDFTLTISSLQAEDVAVYCKQSYSRRTFGGGTKVEIK	1320

[0395]

A003	ADI- 26913	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNARTGKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSYSRRTFGGGTKVEIK	2320
A004	ADI- 26920	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNARTGKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSYSLRTFGGGTKVEIK	2420
A005	ADI- 26921	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNARTGKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSYSLRTFGGGTKVEIK	2520
V014	ADI- 76357	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNARTGKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSYSRRTFGGGTKVEIK	1420
V015	ADI- 76358	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNARTGKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSYSRRTFGGGTKVEIK	1520
V016	ADI- 76359	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNARTGKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSYSLRTFGGGTKVEIK	1620
V017	ADI- 76360	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNARTGKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSYSLRTFGGGTKVEIK	1720
V018	ADI- 76361	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNARTGKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSYSLRTFGGGTKVEIK	1820
V019	ADI- 76362	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNARTGKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSYSLRTFGGGTKVEIK	1920

밑줄 친 잔기는 나타나는 순서로 CDRL1, CDRL2, 및 CDRL3 에 상응함.

[0396]

[표 IC] VH 핵산 서열

항체 번호	ADI- 명칭	VH	
		서열	서열 번호
A001	ADI- 28906	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTCAGTGAAGGTC TCCTGCA	2150
		AGGCTTCTGGATTCAACATCAAGGACTACTATATGCACCTGGGTGCGACAGGCTCCTGGACAAAAGGCT TGAGTGGATGGATGGATCGACCTTGAAATGCTGAAACAACTATGACAGCTAAGTTTCAGGGCAGG GTCACCATAACAGGGACAGTCCGCCACACAGCCTACATGGAGCTGACAGCCTGAGATCTGAAG ACACGGGGTGTACTACTGCGCGAGAGATGCTTACGGGAGATATTTTACGACGTGTGGGGCCAAAGG AACCCGTGTCACCGTCTCTCA	
V002	ADI- 67445	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTCAGTGAAGGTC TCCTGCA	250
		AGGCTTCTGGATTCAACATCAAGGACTACTATATGCACCTGGGTGCGACAGGCTCCTGGACAAAAGGCT TGAGTGGATGGATGGATCGACCTTGAAATGCTGAAACAACTATGACAGCTAAGTTTCAGGACAGG GTCACCATAACAGGGACAGTCCGCCACAGCCTACATGGAGCTGACAGCCTGAGATCTGAAG ACACGGGGTGTACTACTGCGCGAGAGATGCTTACGGGAGATATTTTACGACGAGTGGGGCCAAAGG AACCCGTGTCACCGTCTCTCA	
V003	ADI- 67446	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTCAGTGAAGGTC TCCTGCA	350
		AGGCTTCTGGATTCAACATCAAGGACTACTATATGCACCTGGGTGCGACAGGCTCCTGGACAAAAGGCT TGAGTGGATGGATGGATCGAGCTTGAAATGCTGATACAACTATGACGCTAAGTTTCAGGGCAGG GTCACCATAACAGGGACAGTCCGCCACAGCCTACATGGAGCTGACAGCCTGAGATCTGAAG ACACGGGGTGTACTACTGCGCGAGAGATGCTTACGGGAGATATTTTACGACGTGTGGGGCCAAAGG AACCCGTGTCACCGTCTCTCA	
V004	ADI- 67447	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTCAGTGAAGGTC TCCTGCA	450
		AGGCTTCTGGATTCAACATCGATGACTACTATATGCACCTGGGTGCGACAGGCTCCTGGACAAAAGGCT TGAGTGGATGGATGGATCGACCTTGAAATGACAAACAACTATGACGCTAAGTTTCAGGGCAGG GTCACCATAACAGGGACAGTCCGCCACAGCCTACATGGAGCTGACAGCCTGAGATCTGAAG ACACGGGGTGTACTACTGCGCGAGAGATGCTTACGGGAGATATTTTACGACGTGTGGGGCCAAAGG AACCCGTGTCACCGTCTCTCA	
V005	ADI- 67448	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTCAGTGAAGGTC TCCTGCA	550
		AGGCTTCTGGATTCAACATCGATGACTACTATATGCACCTGGGTGCGACAGGCTCCTGGACAAAAGGCT TGAGTGGATGGATGGATCGACCTTGAAATGACAAACAACTATGACGCTAAGTTTCAGGGCAGG GTCACCATAACAGGGACAGTCCGCCACAGCCTACATGGAGCTGACAGCCTGAGATCTGAAG	

V006	ADI- 67449	ACACGGCGGTGTACTACTGCGCGAGAGATGCTTACGGGAGATATTTTACGACGTGCGGGCCCAAGG AACCCTGGTCAACGGTCTCCTCA	650
V007	ADI- 67450	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAGCCTGGGGCCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCA AGGCTTCTGGATTCAACGA TAAAGGACTACTATATGCACCTGGGTGCGACAGGCTCCTGGACAAAGGCT TGAGTGGATAGGATGGA TCGACCTTGAAATGCTGAGACAATCTATGACGCTAAGTTTCAGGATAGG GTCACCAT AACAGGGACACGTCCGCCAGCACAGCCTACATGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAG ACA CGGCGGTGTACTACTGCGCGAGAGATGCTTACGGGAGATATTTTACGACGTGCGGGCCCAAGG AACCCTGGTCAACGGTCTCCTCA	750
A002	ADI- 50024	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAGCCTGGGGCCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCA AGGCTTCTGGATTCAACATCAAGGACTACTATATGCACCTGGGTGCGACAGGCTCCTGGACAAAGGCT TGAGTGGATAGGATGGA TCGACCTTGAAATGCTAACACAGTCTATGACGCTAAGTTTCAGGGCAGG GTCACCAT AACAGGGACACGTCCGCCAGCACAGCCTACATGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAG ACA CGGCGGTGTACTACTGCGCGAGAGATGCTTACGGGAGATATTTTACGACGTGCGGGCCCAAGG AACCCTGGTCAACGGTCTCCTCA	2250
V008	ADI- 70325	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAGCCTGGGGCCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCA AGGCTTCTGGATTCAACATCAAGGACTACTATATGCACCTGGGTGAGGACAGGCTCCTGGACAAAGGCT TGAGTGGATAGGATGGA TCGACCTTGAAATGCTGAGACAGTCTATGACGCTAAGTTTCAGGATAGG GTCACCAT AACAGGGACACGTCCGCCAGCACAGCCTACATGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAG ACA CGGCGGTGTACTACTGCGCGAGAGATGCTTACGGGAGATATTTTACGACGTGCGGGCCCAAGG AACCCTGGTCAACGGTCTCCTCA	850
V009	ADI- 70326	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAGCCTGGGGCCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCA AGGCTTCTGGATTTCgacATCAAGGACTACTATATGCACCTGGGTGagCGAGGCTCCTGGACAAAGGCTT GAGTGGATAGGATGGATCGagCTTGA AAA TGCTgacACAGTCTATGACGCTAAGTTTCAGGGCAGGGT CACCATAAACAGGGACAGTCCGCCAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAGAC ACGGCGGTGTACTACTGCGCGAGAGATGCTTACGGGAGATATTTTACGACGTGCGGGCCCAAGGAA CCCTGGTCAACGGTCTCCTCA	950
V010	ADI- 70327	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAGCCTGGGGCCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCA AGGCTTCTGGATTTCgacATCAAGGACTACTATATGCACCTGGGTGagCAGGCTCCTGGACAAAGGCTT	1050

[0397]

V011	ADI-70328	GAGTGGATAGGATGGATGagCTTGAAAAAgagacacAGTCTATGACGCTAAGTTTCAGGGCAGGGTC ACCATAACAGGGACACGTCCGCCACAGCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAGACA CGCGGTGTACTACTGGCGAGAGATGCTTACGGGAGATATTTTACGACGTGTGGGCCAAGGAAC CCTGGTCACCGTCTCCTCA	1150
V012	ADI-70329	CAGGTGCAGCTGGTGCACTCTGGGCTGAGGTGAAGAAGCTTGGGCCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCA AGGCTTCTGGAATCAACATCGATGACTACTATATGCACCTGGTGAGCAGGCTCCTGGACAAAGGCT TGAGTGATAGGATGGAATGACCTTGAAATGATAAACACATCTATGACGCTAAGTTTCAGGGCAGG GTCACCAATAACAGGGACAGTCCGCCACAGCTACATGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAG ACACGGCGGTGTACTACTGGCGAGAGATGCTTACGGGAGATATTTTACGACGTGTGGGCCAAGG AACCTTGGTCACCGTCTCCTCA	1250
V013	ADI-70330	CAGGTGCAGCTGGTGCACTCTGGGCTGAGGTGAAGAAGCTTGGGCCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCA AGGCTTCTGGAATCAACATCGagTACTATATGCTACTGGGTGagGcAGGCTCTGACAAAGGCTTG AGTGGAATGATGATCGACCTTGAAATGCTAACACAGTCTgagTACGCTAAGTTTCAGGGCAGGGTC ACCATAACAGGGACACGTCCGCCACAGCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAGACA CGCGGTGTACTACTGGCGAGAGATGCTTACGGGAGATATTTTACGACGTGTGGGCCAAGGAAC CCTGGTCACCGTCTCCTCA	1350
A003	ADI-26913	CAGGTGCAGCTGGTGCACTCTGGGCTGAGGTGAAGAAGCTTGGGCCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCA AGGCTTCTGGAATCAACATCAAGGACTACTATATGCACCTGGTGAGCAGGCTCCTGGACAAAGGCT TGAGTGATGGGATGGAATGACCTTGAAATGCTAACACAATCTATGACGCTAAGTTTCAGGGCAGG GTCACCAATAACAGGGACAGTCCGCCACAGCTACATGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAG ACACGGCGGTGTACTACTGGCGGAGAGATCAGTACGGGAGATATTTTACGACGTGTGGGCCAAGG AACCTTGGTCACCGTCTCCTCA	2350
A004	ADI-26920	CAGGTGCAGCTGGTGCACTCTGGGCTGAGGTGAAGAAGCTTGGGCCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCA AGGCTTCTGGAATCAACATCAAGGACTACTATATGCACCTGGTGAGCAGGCTCCTGGACAAAGGCT TGAGTGATGGGATGGAATGACCTTGAAATGCTAACACAATCTATGACGCTAAGTTTCAGGGCAGG GTCACCAATAACAGGGACAGTCCGCCACAGCTACATGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAG ACACGGCGGTGTACTACTGGGTAGAGATGCGTACGGGAGATATTTTACGACGTGTGGGCCAAGG AACCTTGGTCACCGTCTCCTCA	2450

[0398]

[0399]

A005	ADI- 26921	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTCCTTGCA AGGCTTCTGGAITCAACATCAAGGACTACTATATGCACCTGGTGCAGGCTCCTGGACAAAGGCT TGAGTGGATGGGATGGATCGACTTGAAGAGGCAACACAATCTATGACGCTAAGTTTCAGGGCAGG GTCACCAATAAACAGGACACGTCGCCAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAG ACACGGGGGTGTACTACTGGCGGAGAGATGCTTACGGGAGATATTTTACGACGCTGGGGGCCAAGG AACCTTGGTCACCGTCTCCTCA	2550
V014	ADI- 76357	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTCCTTGCA AGGCTTCTGGAITTCAGCATTAAGATTATTACATGCAATGGGTGCCAGGCCCGCCGACAAAGGCT TGAGTGGATGGGATGGATCGACTTGGAGAAACGCAACACATCTATGATGCTAAGTTCCAGGGCAGA GTCACCAATTACAGGGACACATCCGGCAGCACAGCTTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAG ACACGGGGGTGTACTACTGGCACAGTGACCAAGTATGCGCCGTACTTCTATGACGCTTGGGGCCAGGG CACCTTGGTCACCGTCTCCTCA	1450
V015	ADI- 76358	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTCCTTGCA AGGCTTCTGGAITTTAAATCAAGAATTATTATATGCATGGGTGCCAGGCCCGCCGACAAAGGCT TGAGTGGATGGGATGGATCGATCTCGAAATCGGATACAATCTATGATGCGAAGTTCCAGGGCAGA GTCACCAATTACAGGGACACATCCGGCAGCACAGCTTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAG ACACGGGGGTGTACTACTGGCGCCGATCAATACGGAAAGTATTTCTATGATGCTGGGGCCAGGG CACCTTGGTCACCGTCTCCTCA	1550
V016	ADI- 76359	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTCCTTGCA AGGCTTCTGGAITTCGACATCAAGAATTATTACATGCATGGGTGCCAGGCCCGCCGACAAAGGCT TGAGTGGATGGGATGGATCGATCTAGAAAATGCTAACACAATATATGATGCGAAGTTCCAGGGCAGA GTCACCAATTACAGGGACACATCCGGCAGCACAGCTTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAG ACACGGGGGTGTACTACTGGCGCCGTGACGCTATGGCGATATTTCTATGACGCTGGGGCCAGGG CACCTTGGTCACCGTCTCCTCA	1650
V017	ADI- 76360	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTCCTTGCA AGGCTTCTGGAITTTAAATCAAGGACTATTATATGCATGGGTGCCAGGCCCGCCGACAAAGGCT TGAGTGGATGGGATGGATCGACTTGAAGAACGACACACAATATATGACGCTAAGTTCCAGGGCAGA GTCACCAATTACAGGGACACATCCGGCAGCACAGCTTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAG ACACGGGGGTGTACTACTGGCGCCGAGCCCTATGGTAGATATTTTATGATGCTGGGGCCAGGG CACCTTGGTCACCGTCTCCTCA	1750
V018	ADI- 76361	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTCCTTGCA AGGCTTCTGGAITTCGATATCAAGGATTATTATGCAATGGGTGCCAGGCCCGCCGACAAAGGCT TGAGTGGATGGGATGGATCGATCTAGAGAAGGTAAACAATCTATGACGCGAAGTTCCAGGGCAGA GTCACCAATTACAGGGACACATCCGGCAGCACAGCTTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAG GTCACCAATTACAGGGACACATCCGGCAGCACAGCTTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAG	1850

[0400]

V019	ADI- 76362	ACACGGGGGTGTACTACTGGGCTCGAGATGCTTACGGTGGTACTTTTATGACGTTTGGGGCCAGGG CACCTGGTCACCGTCTCCTCA CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGTTTCCTGCA AGGCTTCTGGATTAAACATCAAGGATTATATATGCAATTGGGTGGCCAGGCCCCCGGACAAAGGCT TGAGTGGATGGGATGGATCGATCTTTGAGGAAGGTGATACAAATTTATGATGCCAAGTTCCAGGGCAGA GTCACCAATTACCAAGGACACATCCGCGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAG ACACGGCGGTGTACTACTGGGCACTGATGCATATGGACGTTATTTTATGACGTTTGGGGCCAGGG CACCTGGTCACCGTCTCCTCA	1950
가장 가까운 생체인은 VH1-03 임.			

[0401]

[표 1D] VL 해산 서열

항체 번호	ADI 명칭	VL	
		서열	서열 번호
A001	ADI-26906	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGCGAGAGGCCACCATCA ACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTAAACGCTAGAACCGGAAAGAACTACTTAGCTTGGTACCA GCAGAAACCAAGACAGCTCCTAAGCTGTCTATTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTTC CCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGTCTGGACAGACTTCACTCTCACTATCAGTAGCCTGCAGG CTGAAGA TGTGGCAGTTTATTACTGTAGCAATCTTATCTCGGAGAACTTTCGGCGGAGGGA CCAAGGTCGAGATCAAA	2160
V002	ADI-67445	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGCGAGAGGCCACCATCA ACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTAAACGCTAGAACCGGAAAGAACTACTTAGCTTGGTACCA GCAGAAACCAAGACAGCTCCTAAGCTGTCTATTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTTC CCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGTCTGGACAGACTTCACTCTCACTATCAGTAGCCTGCAGG CTGAAGA TGTGGCAGTTTATTACTGTAGCAATCTTATCTCGGAGAACTTTCGGCGGAGGGA CCAAGGTCGAGATCAAA	260
V003	ADI-67446	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGCGAGAGGCCACCATCA ACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTAAACGCTAGAACCGGAAAGAACTACTTAGCTTGGTACCA GCAGAAACCAAGACAGCTCCTAAGCTGTCTATTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTTC CCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGTCTGGACAGACTTCACTCTCACTATCAGTAGCCTGCAGG CTGAAGA TGTGGCAGTTTATTACTGTAGCAATCTTATCTCGGAGAACTTTCGGCGGAGGGA CCAAGGTCGAGATCAAA	360
V004	ADI-67447	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGCGAGAGGCCACCATCA ACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTAAACGCTAGAACCGGAAAGAACTACTTAGCTTGGTACCA GCAGAAACCAAGACAGCTCCTAAGCTGTCTATTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTTC CCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGTCTGGACAGACTTCACTCTCACTATCAGTAGCCTGCAGG CTGAAGA TGTGGCAGTTTATTACTGTAGCAATCTTATCTCGGAGAACTTTCGGCGGAGGGA CCAAGGTCGAGATCAAA	460
V005	ADI-67448	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGCGAGAGGCCACCATCA ACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTAAACGCTAGAACCGGAAAGAACTACTTAGCTTGGTACCA GCAGAAACCAAGACAGCTCCTAAGCTGTCTATTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTTC CCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGTCTGGACAGACTTCACTCTCACTATCAGTAGCCTGCAGG	560

V006	ADI- 67449	CTGAAGA TGTCGCAGTTTATTACTGTAAAGCAATCTTATTCTCGGAGAACTTTTCGGCGGAGGGGA CCAAAGGTCGAGATCAAA	660
V007	ADI- 67450	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGCGAGAGGGCCACCATCA ACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTTAAAGCTAGAACCCGAAAGAACTACTTACCTTGGTACCA GCAGAAACCAAGACAGCTCCTAAGCTGCTCAATTTACTGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTCTC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACTATCAGTAGCTGCAGG CTGAAGA TGTCGCAGTTTATTACTGTAAAGCAATCTTATTCTCGGAGAACTTTTCGGCGGAGGGGA CCAAAGGTCGAGATCAAA	760
A002	ADI- 50024	GACATCGTGATGTCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGCGAGAGGGCCACCATCA ACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTTAAAGCTAGAACCCGAAAGAACTACTTACCTTGGTACCA GCAGAAACCAAGACAGCTCCTAAGCTGCTCAATTTACTGGCATCTACCCGGTCTGTCGGGGTCTC CCTGACCGATTCAAGCGCAGCGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACTATCAGTAGCTGCAGG CTGAAGA TGTCGCAGTTTATTACTGTGTGCAA TCTTATTTTCGGAGAACTTTTCGGCGGAGGGGA CCAAAGGTCGAGATCAAA	2260
V008	ADI- 70325	GACATCGTGATGTCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGCGAGAGGGCCACCATCA ACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTTAAAGCTAGAACCCGAAAGAACTACTTACCTTGGTACCA GCAGAAACCAAGACAGCTCCTAAGCTGCTCAATTTACTGGCATCTACCCGGTCTGTCGGGGTCTC CCTGACCGATTCAAGCGCAGCGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACTATCAGTAGCTGCAGG CTGAAGA TGTCGCAGTTTATTACTGTGTGCAA TCTTATTTTCGGAGAACTTTTCGGCGGAGGGGA CCAAAGGTCGAGATCAAA	860
V009	ADI- 70326	GACATCGTGATGTCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGCGAGAGGGCCACCATCA ACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTTAAAGCTAGAACCCGAAAGAACTACTTACCTTGGTACCA GCAGAAACCAAGACAGCTCCTAAGCTGCTCAATTTACTGGCATCTACCCGGTCTGTCGGGGTCTC CCTGACCGATTCAAGCGCAGCGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACTATCAGTAGCTGCAGG CTGAAGA TGTCGCAGTTTATTACTGTGTGCAA TCTTATTTTCGGAGAACTTTTCGGCGGAGGGGA CCAAAGGTCGAGATCAAA	960
V010	ADI- 70327	GACATCGTGATGTCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGCGAGAGGGCCACCATCA ACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTTAAAGCTAGAACCCGAAAGAACTACTTACCTTGGTACCA	1060

[0402]

V011	ADI-70328	GCAGAAACCCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCA TTTACTGGGATCTACCCGGTCTCCGGGGTCCCTGACCGATTCAGCGCAGGGGTC TGGGACAGACTTCACCTCATCTATCAGTAGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTGTGCAATCTTTATTTTCGGAGAACTTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTCGAGATCAAA	1160
V012	ADI-70329	GACATCGTGATGTCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGAGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTAAACGCTAGAACCGGAAAGAACTACTTACCTTGGTACCA GCAGAAACCCAGGACAGCCTCCTAAGCTGTCTA TTTACTGGGATCTACCCGGTCTCCGGGGTCCCTGACCGATTCAGCGCAGGGGTC TGGGACAGACTTCACCTCATCTATCAGTAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTGTGCAATCTTTATTTTCGGAGAACTTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTCGAGATCAAA	1260
V013	ADI-70330	GACATCGTGATGTCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGAGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTAAACGCTAGAACCGGAAAGAACTACTTACCTTGGTACCA GCAGAAACCCAGGACAGCCTCCTAAGCTGTCTA TTTACTGGGATCTACCCGGTCTCCGGGGTCCCTGACCGATTCAGCGCAGGGGTC TGGGACAGACTTCACCTCATCTATCAGTAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTGTGCAATCTTTATTTTCGGAGAACTTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTCGAGATCAAA	1360
A003	ADI-26913	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGAGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTAAACGCTAGAACCGGAAAGAACTACTTACCTTGGTACCA GCAGAAACCCAGGACAGCCTCCTAAGCTGTCTA TTTACTGGGATCTACCCGGGATCCGGGGTCCCTGACCGATTCAGTGCAGCGGGTCTGGGACAGACTTCACCTCATCTATCAGTAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTGAAGCAATCTTATTTCTCGGAGAACTTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTCGAGATCAAA	2360
A004	ADI-26920	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGAGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTAAACGCTAGAACCGGAAAGAACTACTTACCTTGGTACCA GCAGAAACCCAGGACAGCCTCCTAAGCTGTCTA TTTACTGGGATCTACCCGGGATCCGGGGTCCCTGACCGATTCAGTGCAGCGGGTCTGGGACAGACTTCACCTCATCTATCAGTAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTGAAGCAATCTTATTTCTCTGAGAACTTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTCGAGATCAAA	2460

[0403]

[0404]

A005	ADI- 26921	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGCGAGAGGGCCACCATCA ACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTAAACGCTAGAACCGGAAAGAACTACTTAGCTTGGTACCA GCAGAAACACGACAGCCCTCAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTTC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGACTTCACCTCCTACTATCAGTAGCCTGCAGG CTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTAAAGCAATCTTATTTCTCTGAGAACTTTTCGGCGGAGGGA CCAAGGTCGAGATCAAA	2560
V014	ADI- 76357	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGCGAGAGGGCCACCATCA ACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTAAACGCTAGAACCGGAAAGAACTACTTAGCTTGGTACCA GCAGAAACACGACAGCCCTCAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTTC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGACTTCACCTCCTACTATCAGTAGCCTGCAGG CTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTAAAGCAATCTTATTTCTCGGAGAACTTTTCGGCGGAGGGA CCAAGGTCGAGATCAAA	1460
V015	ADI- 76358	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGCGAGAGGGCCACCATCA ACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTAAACGCTAGAACCGGAAAGAACTACTTAGCTTGGTACCA GCAGAAACACGACAGCCCTCAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTTC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGACTTCACCTCCTACTATCAGTAGCCTGCAGG CTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTAAAGCAATCTTATTTCTCGGAGAACTTTTCGGCGGAGGGA CCAAGGTCGAGATCAAA	1560
V016	ADI- 76359	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGCGAGAGGGCCACCATCA ACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTAAACGCTAGAACCGGAAAGAACTACTTAGCTTGGTACCA GCAGAAACACGACAGCCCTCAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTTC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGACTTCACCTCCTACTATCAGTAGCCTGCAGG CTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTAAAGCAATCTTATTTCTCGGAGAACTTTTCGGCGGAGGGA CCAAGGTCGAGATCAAA	1660
V017	ADI- 76360	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGCGAGAGGGCCACCATCA ACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTAAACGCTAGAACCGGAAAGAACTACTTAGCTTGGTACCA GCAGAAACACGACAGCCCTCAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTTC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGACTTCACCTCCTACTATCAGTAGCCTGCAGG CTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTAAAGCAATCTTATTTCTCGGAGAACTTTTCGGCGGAGGGA CCAAGGTCGAGATCAAA	1760
V018	ADI- 76361	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGCGAGAGGGCCACCATCA ACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTAAACGCTAGAACCGGAAAGAACTACTTAGCTTGGTACCA GCAGAAACACGACAGCCCTCAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTTC CCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGACTTCACCTCCTACTATCAGTAGCCTGCAGG CTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTAAAGCAATCTTATTTCTCGGAGAACTTTTCGGCGGAGGGA CCAAGGTCGAGATCAAA	1860

[0405]

V019	ADI- 76362	CTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTAGCAATCTTATTCTCTGAGAACTTTTCGGCGGAGGGA CCAAGGTCGAGATCAAA GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGCGGAGAGGGCCACCATCA ACTGCAAGTCCAGCCAGAGTCTTTTAAACGCTAGAACCGGAAAGAACTACTTAGCTTGGTACCA GCAGAAACCAAGGACAGCCTCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGTC CCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGTCTGGGACAGACTTCACCTCTACTATCAGTAGCCTGCAGG CTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTAGCAATCTTATTCTCTGAGAACTTTTCGGCGGAGGGA CCAAGGTCGAGATCAAA	1960
------	---------------	---	------

가장 가까운 생식선은 VK4-01 임.

[표 2A] VH CDR 아미노산 서열

항체 번호	ADI 명칭	CDRH1		CDRH2		CDRH3	
		서열	서열번호	서열	서열번호	서열	서열번호
A001	ADI-26906	<i>FN</i> <i>IK</i> <i>DY</i> <i>IMH</i>	2112	<i>WIDLEN</i> <i>AINT</i> <i>NDAK</i> <i>FQ</i> <i>G</i>	2114	<i>ARD</i> <i>AYGR</i> <i>IFYD</i> <i>V</i>	2116
V002	ADI-67445	<i>FN</i> <i>IK</i> <i>DY</i> <i>IMH</i>	212	<i>WIDLEN</i> <i>A</i> <i>ET</i> <i>NDAK</i> <i>FQ</i> <i>D</i>	214	<i>ARD</i> <i>AYGR</i> <i>IFYD</i> <i>B</i>	216
V003	ADI-67446	<i>F</i> <i>D</i> <i>IK</i> <i>DY</i> <i>IMH</i>	312	<i>W</i> <i>B</i> <i>LEN</i> <i>A</i> <i>DT</i> <i>NDAK</i> <i>FQ</i> <i>G</i>	314	<i>ARD</i> <i>AYGR</i> <i>IFYD</i> <i>V</i>	316
V004	ADI-67447	<i>FN</i> <i>D</i> <i>DY</i> <i>IMH</i>	412	<i>WIDLEN</i> <i>NT</i> <i>NDAK</i> <i>FQ</i> <i>G</i>	414	<i>ARD</i> <i>AYGR</i> <i>IFYD</i> <i>V</i>	416
V005	ADI-67448	<i>FN</i> <i>D</i> <i>DY</i> <i>IMH</i>	512	<i>WIDLEN</i> <i>NT</i> <i>NDAK</i> <i>FQ</i> <i>G</i>	514	<i>ARD</i> <i>AYGR</i> <i>IFYD</i> <i>V</i>	516
V006	ADI-67449	<i>F</i> <i>D</i> <i>K</i> <i>DY</i> <i>IMH</i>	612	<i>WIDLEN</i> <i>A</i> <i>ET</i> <i>NDAK</i> <i>FQ</i> <i>D</i>	614	<i>ARD</i> <i>AYGR</i> <i>IFYD</i> <i>V</i>	616
V007	ADI-67450	<i>FN</i> <i>D</i> <i>DY</i> <i>IMH</i>	712	<i>WIDLEN</i> <i>AINT</i> <i>DDAK</i> <i>FQ</i> <i>G</i>	714	<i>ARD</i> <i>AYGR</i> <i>IFYD</i> <i>V</i>	716
A002	ADI-50024	<i>FN</i> <i>IK</i> <i>DY</i> <i>IMH</i>	2212	<i>WIDLEN</i> <i>AINT</i> <i>WDAK</i> <i>FQ</i> <i>G</i>	2214	<i>ARD</i> <i>AYGR</i> <i>IFYD</i> <i>V</i>	2216
V008	ADI-70325	<i>FN</i> <i>IK</i> <i>DY</i> <i>IMH</i>	812	<i>WIDLEN</i> <i>A</i> <i>ET</i> <i>WDAK</i> <i>FQ</i> <i>D</i>	814	<i>ARD</i> <i>AYGR</i> <i>IFYD</i> <i>V</i>	816
V009	ADI-70326	<i>F</i> <i>D</i> <i>IK</i> <i>DY</i> <i>IMH</i>	912	<i>W</i> <i>B</i> <i>LEN</i> <i>A</i> <i>DT</i> <i>WDAK</i> <i>FQ</i> <i>G</i>	914	<i>ARD</i> <i>AYGR</i> <i>IFYD</i> <i>V</i>	916
V010	ADI-70327	<i>F</i> <i>D</i> <i>IK</i> <i>DY</i> <i>IMH</i>	1012	<i>W</i> <i>B</i> <i>LEND</i> <i>DT</i> <i>WDAK</i> <i>FQ</i> <i>G</i>	1014	<i>ARD</i> <i>AYGR</i> <i>IFYD</i> <i>V</i>	1016
V011	ADI-70328	<i>FN</i> <i>D</i> <i>DY</i> <i>IMH</i>	1112	<i>WIDLEN</i> <i>NT</i> <i>WDAK</i> <i>FQ</i> <i>G</i>	1114	<i>ARD</i> <i>AYGR</i> <i>IFYD</i> <i>V</i>	1116
V012	ADI-70329	<i>F</i> <i>D</i> <i>K</i> <i>DY</i> <i>IMH</i>	1212	<i>WIDLEN</i> <i>A</i> <i>ET</i> <i>WDAK</i> <i>FQ</i> <i>D</i>	1214	<i>ARD</i> <i>AYGR</i> <i>IFYD</i> <i>V</i>	1216
V013	ADI-70330	<i>FN</i> <i>D</i> <i>DY</i> <i>IMH</i>	1312	<i>WIDLEN</i> <i>AINT</i> <i>VD</i> <i>DAK</i> <i>FQ</i> <i>G</i>	1314	<i>ARD</i> <i>AYGR</i> <i>IFYD</i> <i>V</i>	1316

[0406]

A003	ADI-26913	FN/KDY YMH	2312	WIDLENA ~~NTN~~ DAKFQG	2314	ARDQYGRYFYDV	2316
A004	ADI-26920	FN/KDY YMH	2412	WIDLENA ~~NTN~~ DAKFQG	2414	GRDAYGRYFYDV	2416
A005	ADI-26921	FN/KDY YMH	2512	WIDLE ~~BGN~~ NTNDAKFQG	2514	ARDAYGRYFYDV	2516
V014	ADI-76357	FD/KDY YMH	1412	WIDLENA ~~NTN~~ DAKFQG	1414	ARDQYGRYFYDV	1416
V015	ADI-76358	FN/KDY YMH	1512	WIDLENA ~~DTN~~ DAKFQG	1514	ARDQYGRYFYDV	1516
V016	ADI-76359	FD/KDY YMH	1612	WIDLENA ~~NTN~~ DAKFQG	1614	GRDAYGRYFYDV	1616
V017	ADI-76360	FN/KDY YMH	1712	WIDLENA ~~DTN~~ DAKFQG	1714	GRDAYGRYFYDV	1716
V018	ADI-76361	FD/KDY YMH	1812	WIDLE ~~BGN~~ NTNDAKFQG	1814	ARDAYGRYFYDV	1816
V019	ADI-76362	FN/KDY YMH	1912	WIDLE ~~BGDTN~~ DAKFQG	1914	ARDAYGRYFYDV	1916
원센서스 서열		FX ₁ X ₂ X ₃ DY YMH	112	WIX ₄ EX ₅ X ₆ X ₇ TX ₈ X ₉ DAKFQX ₁₀	114	X ₁₁ RDX ₁₂ YGRYFYDX ₁₃	116
		X ₁ = N 또는 D; X ₂ = I 또는 D; 및 X ₃ = K 또는 D.		X ₄ = D 또는 E; X ₅ = N 또는 E; X ₆ = A, D, 또는 G; X ₇ = N, E, 또는 D; X ₈ = I 또는 V; X ₉ = Y 또는 D; 및 X ₁₀ = G 또는 D.		X ₁₁ = A 또는 G; X ₁₂ = A 또는 Q; 및 X ₁₃ = V 또는 E.	

붉은 글씨체로 표시된 관기는 ADI-26906의 서열과 차이를 나타냄.
이탤릭체로 표시된 CDRH1 및 CDRH2 관기는 가장 가까운 생식선(VH1-03) 암호화 서열과의 차이를 나타냄. 각각의 서열은 또한 또 다른 생식선-암호화 서열과 연관될 수 있음에 유의해야 함.

[0407]

[표 2B] VL CDR 아미노산 서열

항체 번호	ADI 명 칭	CDRL1		CDRL2		CDRL3	
		서열	서열번호	서열	서열번호	서열	서열번호
A001	ADI-26906	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	2122	WASTRES	2124	KQSYSRRRT	2126
V002	ADI-67445	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	222	WASTRES	224	KQSYSRRRT	226
V003	ADI-67446	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	322	WASTRES	324	KQSYSRRRT	326
V004	ADI-67447	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	422	WASTRES	424	KQSYSRRRT	426
V005	ADI-67448	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	522	WASTRES	524	KQSYSRRRT	526
V006	ADI-67449	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	622	WASTRES	624	KQSYSRRRT	626
V007	ADI-67450	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	722	WASTRES	724	KQSYSRRRT	726
A002	ADI-50024	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	2222	WASTRSS	2224	VQSYSRRRT	2226
V008	ADI-70325	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	822	WASTRSS	824	VQSYSRRRT	826
V009	ADI-70326	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	922	WASTRSS	924	VQSYSRRRT	926
V010	ADI-70327	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	1022	WASTRSS	1024	VQSYSRRRT	1026
V011	ADI-70328	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	1122	WASTRSS	1124	VQSYSRRRT	1126
V012	ADI-70329	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	1222	WASTRSS	1224	VQSYSRRRT	1226
V013	ADI-70330	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	1322	WASTRSS	1324	VQSYSRRRT	1326
A003	ADI-26913	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	2322	WASTRES	2324	KQSYSRRRT	2326
A004	ADI-26920	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	2422	WASTRES	2424	KQSYSRLRT	2426
A005	ADI-26921	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	2522	WASTRES	2524	KQSYSRLRT	2526
V014	ADI-76357	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	1422	WASTRES	1424	KQSYSRRRT	1426
V015	ADI-76358	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	1522	WASTRES	1524	KQSYSRRRT	1526
V016	ADI-76359	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	1622	WASTRES	1624	KQSYSRLRT	1626
V017	ADI-76360	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	1722	WASTRES	1724	KQSYSRLRT	1726
V018	ADI-76361	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	1822	WASTRES	1824	KQSYSRLRT	1826
V019	ADI-76362	KSSQS/LLN4K7GKNYLA	1922	WASTRES	1924	KQSYSRLRT	1926

[0408]

[0409]

컨센서스 서열	KSSQSLLNARTGKNYLA	122	WASTRX ₁₄ S	124	X ₁₅ QSYX ₁₆ X ₁₇ RT 126
			X ₁₄ = E 또는 S,		

붉은 글씨체로 표시된 잔기는 ADI-26906의 서열과 차이를 나타냄.
이탤릭체로 표시된 CDRL1 및 CDRL2 잔기는 가장 가까운 생식선(VK4-01) 암호화 서열과의 차이를 나타냄. 각각의 서열은 또한 또 다른 생식선-암호화 서열과 연관될 수 있음에 유의해야 함.

[표 3A] VH FR 아미노산 서열

항체 번호	ADI 명칭	FRH1		FRH2		FRH3		FRH4	
		서열	서열 번호	서열	서열 번호	서열	서열 번호	서열	서열 번호
A001	ADI- 26906	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG	2111	WVRQAPGQR LEWMG	2113	RVTTIRDTASASTAYMEL SSLRSEDTAVYYC	2115	WGQGTL VTVSS	2117
V002	ADI- 67445	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG	211	WVRQAPGQR LEWMG	213	RVTTIRDTASASTAYMEL SSLRSEDTAVYYC	215	WGQGTL VTVSS	217
V003	ADI- 67446	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG	311	WVRQAPGQR LEWMG	313	RVTTIRDTASASTAYMEL SSLRSEDTAVYYC	315	WGQGTL VTVSS	317
V004	ADI- 67447	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG	411	WVRQAPGQR LEWMG	413	RVTTIRDTASASTAYMEL SSLRSEDTAVYYC	415	WGQGTL VTVSS	417
V005	ADI- 67448	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG	511	WVRQAPGQR LEWMG	513	RVTTIRDTASASTAYMEL SSLRSEDTAVYYC	515	WGQGTL VTVSS	517
V006	ADI- 67449	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG	611	WVRQAPGQR LEWMG	613	RVTTIRDTASASTAYMEL SSLRSEDTAVYYC	615	WGQGTL VTVSS	617
V007	ADI- 67450	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG	711	WVRQAPGQR LEWMG	713	RVTTIRDTASASTAYMEL SSLRSEDTAVYYC	715	WGQGTL VTVSS	717
A002	ADI- 50024	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG	2211	WVRQAPGQR LEW G	2213	RVTTIRDTASASTAYMEL SSLRSEDTAVYYC	2215	WGQGTL VTVSS	2217
V008	ADI- 70325	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG	811	WVRQAPGQR LEW G	813	RVTTIRDTASASTAYMEL SSLRSEDTAVYYC	815	WGQGTL VTVSS	817
V009	ADI- 70326	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG	911	WVRQAPGQR LEW G	913	RVTTIRDTASASTAYMEL SSLRSEDTAVYYC	915	WGQGTL VTVSS	917
V010	ADI- 70327	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG	1011	WVRQAPGQR LEW G	1013	RVTTIRDTASASTAYMEL SSLRSEDTAVYYC	1015	WGQGTL VTVSS	1017
V011	ADI- 70328	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG	1111	WVRQAPGQR LEW G	1113	RVTTIRDTASASTAYMEL SSLRSEDTAVYYC	1115	WGQGTL VTVSS	1117
V012	ADI- 70329	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG	1211	WVRQAPGQR LEW G	1213	RVTTIRDTASASTAYMEL SSLRSEDTAVYYC	1215	WGQGTL VTVSS	1217

[0410]

V013	ADI-70330	QVQLVQSGAEVKKPGASVKYSCKASG	1311	WVRQAPGQRLEW ₁₃	1313	RVTTTRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYC	1315	WGQGTLLVTYSS	1317
A003	ADI-26913	QVQLVQSGAEVKKPGASVKYSCKASG	2311	WVRQAPGQRLEW ₁₃	2313	RVTTTRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYC	2315	WGQGTLLVTYSS	2317
A004	ADI-26920	QVQLVQSGAEVKKPGASVKYSCKASG	2411	WVRQAPGQRLEW ₁₃	2413	RVTTTRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYC	2415	WGQGTLLVTYSS	2417
A005	ADI-26921	QVQLVQSGAEVKKPGASVKYSCKASG	2511	WVRQAPGQRLEW ₁₃	2513	RVTTTRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYC	2515	WGQGTLLVTYSS	2517
V014	ADI-76357	QVQLVQSGAEVKKPGASVKYSCKASG	1411	WVRQAPGQRLEW ₁₃	1413	RVTTTRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYC	1415	WGQGTLLVTYSS	1417
V015	ADI-76358	QVQLVQSGAEVKKPGASVKYSCKASG	1511	WVRQAPGQRLEW ₁₃	1513	RVTTTRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYC	1515	WGQGTLLVTYSS	1517
V016	ADI-76359	QVQLVQSGAEVKKPGASVKYSCKASG	1611	WVRQAPGQRLEW ₁₃	1613	RVTTTRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYC	1615	WGQGTLLVTYSS	1617
V017	ADI-76360	QVQLVQSGAEVKKPGASVKYSCKASG	1711	WVRQAPGQRLEW ₁₃	1713	RVTTTRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYC	1715	WGQGTLLVTYSS	1717
V018	ADI-76361	QVQLVQSGAEVKKPGASVKYSCKASG	1811	WVRQAPGQRLEW ₁₃	1813	RVTTTRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYC	1815	WGQGTLLVTYSS	1817
V019	ADI-76362	QVQLVQSGAEVKKPGASVKYSCKASG	1911	WVRQAPGQRLEW ₁₃	1913	RVTTTRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYC	1915	WGQGTLLVTYSS	1917
컨센서스 서열		QVQLVQSGAEVKKPGASVKYSCKASG	111	WVRQAPGQRLEW _{X13}	113	RVTTTRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYC	115	WGQGTLLVTYSS	117

굵은 글씨체로 표시된 잔기는 ADI-26906의 서열과 차이를 나타냄.
이탤릭체로 표시된 FRH2 잔기는 가장 가까운 생식선(VH1-03) 암호화 서열과의 차이를 나타냄. 각각의 서열은 또한
 또 다른 생식선-암호화 서열과 연관될 수 있음에 유의해야 함.

[0411]

[표 3B] VL FR 아미노산 서열

항제 번호	FRL1		FRL2		FRL3		FRL4	
	ADI 명칭	서열 번호	서열 번호	서열 번호	서열 번호	서열 번호	서열 번호	서열 번호
A001	ADI- 26906	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	2121	WYQQKPGQ PPKLLIY	2123	GVPDFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	FGGGT KVEIK	2127
V002	ADI- 67445	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	221	WYQQKPGQ PPKLLIY	223	GVPDFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	FGGGT KVEIK	227
V003	ADI- 67446	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	321	WYQQKPGQ PPKLLIY	323	GVPDFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	FGGGT KVEIK	327
V004	ADI- 67447	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	421	WYQQKPGQ PPKLLIY	423	GVPDFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	FGGGT KVEIK	427
V005	ADI- 67448	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	521	WYQQKPGQ PPKLLIY	523	GVPDFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	FGGGT KVEIK	527
V006	ADI- 67449	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	621	WYQQKPGQ PPKLLIY	623	GVPDFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	FGGGT KVEIK	627
V007	ADI- 67450	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	721	WYQQKPGQ PPKLLIY	723	GVPDFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	FGGGT KVEIK	727
A002	ADI- 50024	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	2221	WYQQKPGQ PPKLLIY	2223	GVPDFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	FGGGT KVEIK	2227
V008	ADI- 70325	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	821	WYQQKPGQ PPKLLIY	823	GVPDFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	FGGGT KVEIK	827
V009	ADI- 70326	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	921	WYQQKPGQ PPKLLIY	923	GVPDFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	FGGGT KVEIK	927
V010	ADI- 70327	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	1021	WYQQKPGQ PPKLLIY	1023	GVPDFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	FGGGT KVEIK	1027
V011	ADI- 70328	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	1121	WYQQKPGQ PPKLLIY	1123	GVPDFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	FGGGT KVEIK	1127
V012	ADI- 70329	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	1221	WYQQKPGQ PPKLLIY	1223	GVPDFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	FGGGT KVEIK	1227
V013	ADI- 70330	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	1321	WYQQKPGQ PPKLLIY	1323	GVPDFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	FGGGT KVEIK	1327

A003	ADI-26913	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	2321	WYQQKPGQ PPKLLIY	2323	GVPRFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	2325	FGGT KVEIK	2327
A004	ADI-26920	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	2421	WYQQKPGQ PPKLLIY	2423	GVPRFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	2425	FGGT KVEIK	2427
A005	ADI-26921	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	2521	WYQQKPGQ PPKLLIY	2523	GVPRFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	2525	FGGT KVEIK	2527
V014	ADI-76357	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	1421	WYQQKPGQ PPKLLIY	1423	GVPRFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	1425	FGGT KVEIK	1427
V015	ADI-76358	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	1521	WYQQKPGQ PPKLLIY	1523	GVPRFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	1525	FGGT KVEIK	1527
V016	ADI-76359	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	1621	WYQQKPGQ PPKLLIY	1623	GVPRFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	1625	FGGT KVEIK	1627
V017	ADI-76360	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	1721	WYQQKPGQ PPKLLIY	1723	GVPRFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	1725	FGGT KVEIK	1727
V018	ADI-76361	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	1821	WYQQKPGQ PPKLLIY	1823	GVPRFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	1825	FGGT KVEIK	1827
V019	ADI-76362	DIVMTQSPDSLAVSL GERATINC	1921	WYQQKPGQ PPKLLIY	1923	GVPRFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	1925	FGGT KVEIK	1927
컨센서스 서열		DIVMX ₁₀ QSPDSLAV SLGERATINC	121	WYQQKPGQ PPKLLIY	123	GVPRFSGSGGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC	125	FGGT KVEIK	127
		X ₁₀ = T 또는 S.							

굵은 글씨체로 표시된 잔기는 ADI-26906의 서열과 차이를 나타냄.
이탤릭체로 표시된 PRL1 잔기는 가장 가까운 생식선(VK4-01) 암호화 서열과의 차이를 나타냄. 각각의 서열은 또한
또 다른 생식선-암호화 서열과 연관될 수 있음에 유의해야 함.

[0413]

[표 4A] 중쇄 가변 영역 서열번호 요약

항제 번호	ADI 명칭	아미노산								계산
		VH	FRH1	CDRH1	FRH2	CDRH2	FRH3	CDRH3	FRH4	
A001	ADI-26906	2110	2111	2112	2113	2114	2115	2116	2117	2150
V002	ADI-67445	210	211	212	213	214	215	216	217	250
V003	ADI-67446	310	311	312	313	314	315	316	317	350
V004	ADI-67447	410	411	412	413	414	415	416	417	450
V005	ADI-67448	510	511	512	513	514	515	516	517	550
V006	ADI-67449	610	611	612	613	614	615	616	617	650
V007	ADI-67450	710	711	712	713	714	715	716	717	750
A002	ADI-50024	2210	2211	2212	2213	2214	2215	2216	2217	2250
V008	ADI-70325	810	811	812	813	814	815	816	817	850
V009	ADI-70326	910	911	912	913	914	915	916	917	950
V010	ADI-70327	1010	1011	1012	1013	1014	1015	1016	1017	1050
V011	ADI-70328	1110	1111	1112	1113	1114	1115	1116	1117	1150
V012	ADI-70329	1210	1211	1212	1213	1214	1215	1216	1217	1250
V013	ADI-70330	1310	1311	1312	1313	1314	1315	1316	1317	1350

[0414]

[0415]

A003	ADI- 26913	2310	2311	2312	2313	2314	2315	2316	2317	2350
A004	ADI- 26920	2410	2411	2412	2413	2414	2415	2416	2417	2450
A005	ADI- 26921	2510	2511	2512	2513	2514	2515	2516	2517	2550
V014	ADI- 76357	1410	1411	1412	1413	1414	1415	1416	1417	1450
V015	ADI- 76358	1510	1511	1512	1513	1514	1515	1516	1517	1550
V016	ADI- 76359	1610	1611	1612	1613	1614	1615	1616	1617	1650
V017	ADI- 76360	1710	1711	1712	1713	1714	1715	1716	1717	1750
V018	ADI- 76361	1810	1811	1812	1813	1814	1815	1816	1817	1850
V019	ADI- 76362	1910	1911	1912	1913	1914	1915	1916	1917	1950
관세서비스열			111	112	113	114	115	116	117	

[표 4B] 경제 가변 영역 서열번호 요약

항제 번호	ADI 명칭	아미노산							핵산			
		VL	FRL1	CDRL1	FRL2	CDRL2	FRL3	CDRL3	FRL4	VL		
A001	ADI-26906	2120	2121	2122	2123	2124	2125	2126	2127	2160		
V002	ADI-67445	220	221	222	223	224	225	226	227	260		
V003	ADI-67446	320	321	322	323	324	325	326	327	360		
V004	ADI-67447	420	421	422	423	424	425	426	427	460		
V005	ADI-67448	520	521	522	523	524	525	526	527	560		
V006	ADI-67449	620	621	622	623	624	625	626	627	660		
V007	ADI-67450	720	721	722	723	724	725	726	727	760		
A002	ADI-50024	2220	2221	2222	2223	2224	2225	2226	2227	2260		
V008	ADI-70325	820	821	822	823	824	825	826	827	860		
V009	ADI-70326	920	921	922	923	924	925	926	927	960		
V010	ADI-70327	1020	1021	1022	1023	1024	1025	1026	1027	1060		
V011	ADI-70328	1120	1121	1122	1123	1124	1125	1126	1127	1160		
V012	ADI-70329	1220	1221	1222	1223	1224	1225	1226	1227	1260		
V013	ADI-70330	1320	1321	1322	1323	1324	1325	1326	1327	1360		

[0416]

[0417]

A003	ADI- 26913	2320	2321	2322	2323	2324	2325	2326	2327	2360
A004	ADI- 26920	2420	2421	2422	2423	2424	2425	2426	2427	2460
A005	ADI- 26921	2520	2521	2522	2523	2524	2525	2526	2527	2560
V014	ADI- 76357	1420	1421	1422	1423	1424	1425	1426	1427	1460
V015	ADI- 76358	1520	1521	1522	1523	1524	1525	1526	1527	1560
V016	ADI- 76359	1620	1621	1622	1623	1624	1625	1626	1627	1660
V017	ADI- 76360	1720	1721	1722	1723	1724	1725	1726	1727	1760
V018	ADI- 76361	1820	1821	1822	1823	1824	1825	1826	1827	1860
V019	ADI- 76362	1920	1921	1922	1923	1924	1925	1926	1927	1960
관련서비스열			121	122	123	124	125	126	127	

[0418]

[표 4C] 예시적인 불변 영역 아미노산 서열

	서열	서열번호
인간 IgG1 CH1, 기준 1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV	91
인간 IgG1 CH1, 기준 2	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV	92
인간 IgG1 힌지, 기준	EPKSCDKTHCTCPCP	51
인간 IgG1 CH2, 기준	APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISK AK	61
인간 IgG1 CH3 (356D 및 358L)	GQPREPQVYVTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	71
인간 IgG1 CH3 (356E 및 358M)	GQPREPQVYVTLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	72
인간 IgG1 CH3 (356D, 358L, 및 V42D)	GQPREPQVYVTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	73
인간 IgG1 CH3 (356D, 358L, 및 A431G)	GQPREPQVYVTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEGLHNHYTQKSLSLSPG	74
인간 IgG CK	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQJE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	81
인간 IgG CL	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVE TTTPSKQSNKKYAAASSYLSLTPEQWKSRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	82

[0419]

[표 5] 항-CD3 항체 동역학 값

항체 번호	인간 K _D (nM)	시노물구스 K _D (nM)
A001	2.81	2.90
V002	7.84	7.33
V003	4.57	4.18
V004	19.19	16.26
V005	6.98	6.06
V006	7.97	8.15
V007	5.39	5.03
A002	0.50	0.57
V008	0.95	0.91
V009	0.81	0.81
V010	1.92	1.91
V011	0.82	0.86
V012	1.65	1.64
V013	1.16	1.23

[0420]

[표 6] 세포 결합 분석

항체 번호	인간 CD3+ Jurkat 세포 결합 (MFI)	시노물구스 CD3 HSC-F 세포 결합 (MFI)	CHO-S 세포 결합 (MFI)	Jurkat CD3- 세포 결합 (MFI)	HEK 벡그라운드 결합 (MFI)	Jurkat CD3- 세포 결합 - Fab 단위 (MFI)
A001	3153.45	6045.53	72.92	134.48	177.3	4.89
V002	3043.5	5956.56	64.32	105.9	137.11	4.47
V003	3022.71	6010.01	62.99	113.24	143.9	4.73
V004	2806.73	5825.33	51.42	102.95	101.07	3.11
V005	3149.29	5943.09	85.37	314.14	170.73	4.47
V006	3044.92	5748.37	55.95	112.64	130.62	4.52
V007	2930.01	5492.55	55.31	112.25	115.54	4.21
A002	3407.12	6307.62	95.62	214.42	391.75	7.61
V008	3200.41	6399.01	186.99	327.03	787.37	6.87
V009	3067.01	6230.39	93.09	207.23	337.87	6.92
V010	2907.52	5864.57	64.97	144.41	155.47	4.83
V011	3000.74	5909.57	76.67	169.37	229.83	6.51
V012	3020.45	5804.75	63.17	163.95	230.33	6.56
V013	2953.06	5743.32	48.71	138.25	177.47	5.98

[표 7] 적정 곡선 분석

항제 번호	인간 CD3+ Jurkat 세포 결합 (EC50)	시노블루스 CD3 HSC-F 세포 결합 (EC50)
A001	1.7*10 ⁻⁹	1.64*10 ⁻⁹
V002	4.49*10 ⁻⁹	4.34*10 ⁻⁹
V003	4.71*10 ⁻⁹	3.29*10 ⁻⁹
V004	1.52*10 ⁻⁸	1.43*10 ⁻⁸
V005	5.85*10 ⁻⁹	4.46*10 ⁻⁹
V006	4.56*10 ⁻⁹	4.2*10 ⁻⁹
V007	5.97*10 ⁻⁹	7.22*10 ⁻⁹
A002	8.15*10 ⁻¹⁰	6.96*10 ⁻¹⁰
V008	1.64*10 ⁻⁹	1.05*10 ⁻⁹
V009	2.18*10 ⁻⁹	1.39*10 ⁻⁹
V010	6.99*10 ⁻⁹	5.05*10 ⁻⁹
V011	2.77*10 ⁻⁹	1.39*10 ⁻⁹
V012	3.8*10 ⁻⁹	2.5*10 ⁻⁹
V013	4.78*10 ⁻⁹	3.91*10 ⁻⁹

[표 8] PSR 점수

항제 번호	PSR 점수
A001	0.34
V002	0.03
V003	0.04
V004	0.00
V005	0.12
V006	0.02
V007	0.01
A002	0.48
V008	0.31
V009	0.24
V010	0.10
V011	0.34
V012	0.22
V013	0.15

[0423]

[표 9] Fab(CHO 생성)를 갖는 인간 또는 시노물구스 CD3εδ - SPR (Biacore®)에 대한 1가 결합 친화도

항체 번호	ADI 명칭	1가 Fab K _D (M)			
		pH 7.4		pH 6.0	
		Hu CD3εδ-Fc	Cy CD3εδ-Fc	Hu CD3εδ-Fc	Cy CD3εδ-Fc
A002	ADI-50024	5.9E-11	7.6E-11	3.1E-10	2.0E-10
V009	ADI-70326	1.4E-10	1.5E-10	1.1E-09	2.4E-10
V010	ADI-70327	3.9E-10	4.5E-10	3.1E-09	8.2E-10
V013	ADI-70330	1.8E-10	2.2E-10	1.6E-09	2.7E-10
A001	ADI-26906	1.1E-09	1.1E-09	1.3E-09	1.9E-09
V007	ADI-67450	4.0E-09	2.7E-09	2.8E-09	2.1E-09
V002	ADI-67445	P.F.	P.F.	4.2E-09	3.3E-09
V004	ADI-67447	1.9E-09	2.5E-09	5.4E-09	2.2E-09
A003	ADI-26913	9.9E-09	9.3E-09	1.1E-08	1.1E-08
A004	ADI-26920	1.0E-08	9.0E-09	1.6E-08	1.5E-08
A005	ADI-26921	2.4E-08	3.3E-08	2.0E-08	2.4E-08
V014	ADI-76357	1.1E-08	1.1E-08	1.2E-08	1.2E-08
V015	ADI-76358	1.8E-08	1.9E-08	1.4E-08	1.1E-08
V016	ADI-76359	1.4E-08	1.6E-08	2.2E-08	2.3E-08
V017	ADI-76360	1.9E-08	1.6E-08	2.5E-08	2.6E-08
V018	ADI-76361	4.2E-08	3.6E-08	3.1E-08	2.9E-08
V019	ADI-76362	P.F.	P.F.	3.3E-08	2.9E-08

K_D(평균 해리 상수) = k_{off}/k_{on}; 1:1 결합 모델에 대한 데이터 피팅.
P.F. = 피팅 불가; 본 값정의 조건 하에서 관찰되었지만 1:1 결합 모델에 적절히 피팅될 수 없는 결합.

[표 10] Fab 및 IgG1(CHO 생성)에 대한 결합 친화도 및 결합능력 -BLI(Octet®)

항체 번호	ADI 명칭	Fab 1 가 K _D (M)								IgG 결합능력 K _D (M)	IgG 1 가 K _D (M)
		pH 7.4		pH 6.0		pH 7.4		pH 7.4			
		Hu CD3εδ-Fc	Cy CD3εδ-Fc	Hu CD3εδ-Fc	Cy CD3εδ-Fc	Rh CD3εδ-Fc	Mo CD3εδ-Fc				
A002	ADI-50024	1.0E-09	1.3E-09	1.3E-09	1.7E-09	1.2E-09	1.2E-09	9.1E-08	N.B.	N.B.	
V009	ADI-70326	1.6E-09	1.9E-09	1.2E-09	1.6E-09	1.8E-09	1.8E-09	3.6E-07	N.B.	N.B.	
V010	ADI-70327	4.1E-09	3.4E-09	2.0E-09	1.9E-09	4.4E-09	4.4E-09	5.1E-07	N.B.	N.B.	
V013	ADI-70330	2.4E-09	2.4E-09	1.6E-09	1.9E-09	2.5E-09	2.5E-09	5.3E-07	N.B.	N.B.	
A001	ADI-26906	6.0E-09	5.9E-09	5.8E-09	5.9E-09	6.1E-09	6.1E-09	2.9E-07	N.B.	N.B.	
V007	ADI-67450	7.4E-09	8.7E-09	6.9E-09	6.9E-09	9.2E-09	9.2E-09	N.B.	N.B.	N.B.	
V002	ADI-67445	1.3E-08	1.2E-08	8.8E-09	8.0E-09	1.5E-08	1.5E-08	1.1E-06	N.B.	N.B.	
V004	ADI-67447	1.3E-08	1.1E-08	7.7E-09	7.9E-09	1.3E-08	1.3E-08	8.6E-07	N.B.	N.B.	
A003	ADI-26913	3.5E-08	2.8E-08	2.9E-08	3.2E-08	3.3E-08	3.3E-08	6.4E-07	N.B.	N.B.	
A004	ADI-26920	4.2E-08	5.0E-08	2.9E-08	2.3E-08	5.1E-08	5.1E-08	N.B.	N.B.	N.B.	
A005	ADI-26921	7.8E-08	3.9E-08	3.5E-08	4.5E-08	3.6E-08	3.6E-08	N.B.	N.B.	N.B.	
V014	ADI-76357	4.4E-08	3.9E-08	2.4E-08	2.1E-08	3.9E-08	3.9E-08	5.7E-07	N.B.	N.B.	

[0424]

[0425]

V015	ADI- 76358	5.6E-08	5.8E-08	3.4E-08	2.9E-08	5.3E-08	5.1E-07	N.B.
V016	ADI- 76359	7.7E-08	7.5E-08	3.7E-08	4.9E-08	8.7E-08	N.B.	N.B.
V017	ADI- 76360	4.2E-07	9.6E-08	5.8E-08	3.4E-08	P.F.	N.B.	N.B.
V018	ADI- 76361	3.7E-08	2.8E-08	3.3E-08	1.7E-08	2.9E-08	N.B.	N.B.
V019	ADI- 76362	6.4E-08	3.4E-08	3.6E-08	2.1E-08	7.9E-08	N.B.	N.B.

K_{10} (평균 해리 상수) = K_{off}/K_{on} : 1:1 결합 모델에 대한 데이터 피팅.
P.F. = 피팅 불가; 본 검정의 조건 하에서 관찰되었지만 1:1 결합 모델에 적절히 피팅될 수 없는 결합.
N.B. = 결합 없음; 본 검정의 조건 하에서 관찰 가능한 결합 없음; K_D 를 할당할 수 없음.

[0426]

[표 11] IgG1(CHO 생성)을 이용한 세포 결합 - 유세포 분석

항체 번호	ADI 명칭	100 nM IgG 를 갖는 NCB	
		인간 CD3+ Jurkat 세포	세포물구스 CD3+ HSC-F 세포
A002	ADI-50024	366.2	417.3
V009	ADI-70326	309.4	396.0
V010	ADI-70327	298.0	378.2
V013	ADI-70330	295.3	373.8
A001	ADI-26906	288.7	399.5
V007	ADI-67450	286.7	367.5
V002	ADI-67445	319.5	387.7
V004	ADI-67447	267.7	391.3
A003	ADI-26913	209.3	366.7
A004	ADI-26920	240.3	347.9
A005	ADI-26921	206.2	364.2
V014	ADI-76357	348.9	376.9
V015	ADI-76358	334.4	369.0
V016	ADI-76359	313.5	374.2
V017	ADI-76360	325.0	375.5
V018	ADI-76361	223.0	378.4
V019	ADI-76362	327.9	373.0

NCB(정규화된 세포 결합) 값 = {(샘플 MFI) - (이자 단독 MFI)} / (이자 단독 MFI).
MFI = 형광 강도 중앙값.

[표 12] 크로마토그래피 분석 - IgG1(CHO 생성)에 대한 LC-MS 및 SEC-HPLC

항체 번호	ADI 명칭	LC-MS QC		SEC-HPLC 단위량%				
		IgG	ProA 후 IgG	IgG	Fab	IgG		
						pH 3.5 스트레스 전	pH 3.5 스트레스 후	
A002	ADI-50024	합격	97.6	97.4	97.2	97.0	97.3	
V009	ADI-70326	합격	97.8	92.9	95.6	91.4	93.0	
V010	ADI-70327	합격	98.9	98.8	97.4	97.9	98.3	
V013	ADI-70330	합격	99.3	99.2	97.5	98.7	99.0	
A001	ADI-26906	합격	98.7	98.6	97.7	98.1	98.1	
V007	ADI-67450	합격	99.3	99.2	97.6	98.9	98.7	
V002	ADI-67445	합격	99.4	99.3	98.0	98.9	98.7	
V004	ADI-67447	합격*	N.D.	99.3	98.0	98.9	98.3	
A003	ADI-26913	합격	99.7	99.6	98.5	99.3	98.9	
A004	ADI-26920	합격	99.4	99.3	97.9	98.9	98.8	
A005	ADI-26921	합격	93.2	99.8	94.7	99.5	98.3	
V014	ADI-76357	합격	98.2	97.7	97.2	97.0	96.7	
V015	ADI-76358	합격	99.5	99.5	97.9	99.1	98.8	
V016	ADI-76359	합격	99.4	99.3	98.0	98.9	98.7	
V017	ADI-76360	합격	99.4	99.2	97.7	98.8	98.5	
V018	ADI-76361	합격	99.5	99.5	98.5	99.3	98.8	
V019	ADI-76362	합격	99.3	99.3	98.0	98.5	98.3	

QC = 품질 대조군; 합격 = 추가 피크 없이 항체를 깨끗하게 생산함. ADI-67447 은 28% ADI-26913 중재를 가짐.
SEC = 크기 배제 크로마토그래피.
pH 3.5 스트레스 전 = PBS에서 1 시간 동안 실온에서 15 mg/ml로 인큐베이션함.
pH 3.5 스트레스 후 = pH 3.5에서 1 시간 동안 실온에서 15 mg/ml로 인큐베이션함.
ADI-26921 은 세라믹 수산화인회석(CHA) 연마됨.

[0429]

[표 14] 개발가능성 - Fab(CHO 생성)에 대한 DSF에 의한 T_m

항체 번호	ADI 명칭	DSF 로 측정된 Fab T _m (°C)
A002	ADI-50024	81.5
V009	ADI-70326	81.0
V010	ADI-70327	79.5
V013	ADI-70330	76.5
A001	ADI-26906	80.0
V007	ADI-67450	77.0
V002	ADI-67445	77.0
V004	ADI-67447	78.0
A003	ADI-26913	80.5
A004	ADI-26920	75.5
A005	ADI-26921	82.0
V014	ADI-76357	79.5
V015	ADI-76358	80.5
V016	ADI-76359	75.5
V017	ADI-76360	75.5
V018	ADI-76361	81.5
V019	ADI-76362	81.5

DSF = 시차주사 형광측정.

[0428]

[표 13] 개발가능성 - IgG1(CHO 생성)에 대한 PSR, HIC, AC-SINS 및 DLS

항체 번호	ADI 명칭	PSR 점수 (0-1)	HIC 유지 시간 (분)	AC-SINS Δλ 최대 (nm)	DLS kD (mL/g)
A002	ADI-50024	0.42	8.8	14.4	38.7
V009	ADI-70326	0.17	8.7	7.0	-0.3
V010	ADI-70327	0.11	8.6	2.8	11.3
V013	ADI-70330	0.15	8.9	2.5	9.6
A001	ADI-26906	0.30	8.5	10.0	36.6
V007	ADI-67450	0.01	8.7	0.6	6.4
V002	ADI-67445	0.07	8.3	5.6	3.6
V004	ADI-67447	0.04	8.5	4.2	-28.9
A003	ADI-26913	0.07	8.3	2.1	36.6
A004	ADI-26920	0.06	8.7	11.2	24.1
A005	ADI-26921	0.08	8.7	7.0	21.4
V014	ADI-76357	0.01	8.3	0.9	29.7
V015	ADI-76358	0.00	8.3	3.9	25.3
V016	ADI-76359	0.03	8.7	8.5	26.8
V017	ADI-76360	0.03	8.6	9.8	19.3
V018	ADI-76361	0.06	8.7	6.5	13.9
V019	ADI-76362	0.06	8.6	7.4	9.7

PSR = 다중특이성 시험, 대조군 IgG 세트에 대한 정규화 값에 의해 결정된 점수

(클린: < 0.10, 낮음: ≥ 0.10 및 < 0.33, 중간: ≥ 0.33 및 < 0.66, 높음: ≥ 0.66 및 ≤ 1.00).

HIC = 소수성 상호작용 크로마토그래피, 유지 시간이 분류될 수 있음

(클린 내지 낮음: < 10.5 분, 중간: ≥ 10.5 및 < 11.5 분, 및 높음: ≥ 11.5 분).

AC-SINS = 친화도 포획 자가-상호작용 나노입자 분광법

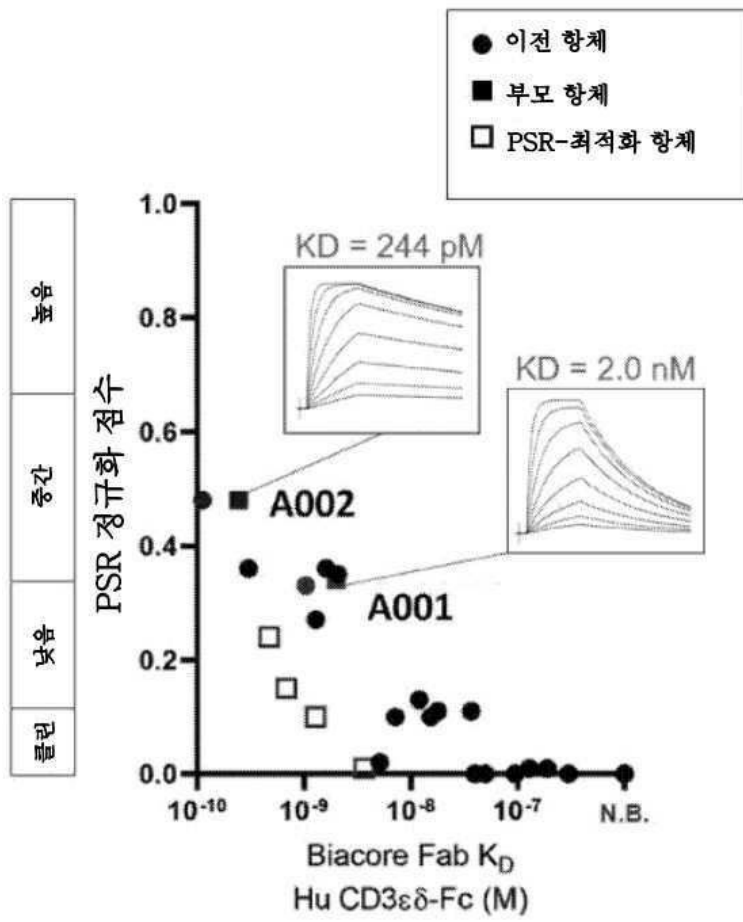
(Δλ 최대 < 5.0 nm는 낮은 자가-상호작용을 의미함, Δλ 최대 ≥ 5.0 nm 및 < 20.0 nm는 중간 자가-상호작용을 의미함,

Δλ 최대 ≥ 20.0 nm는 높은 자가-상호작용을 의미함).

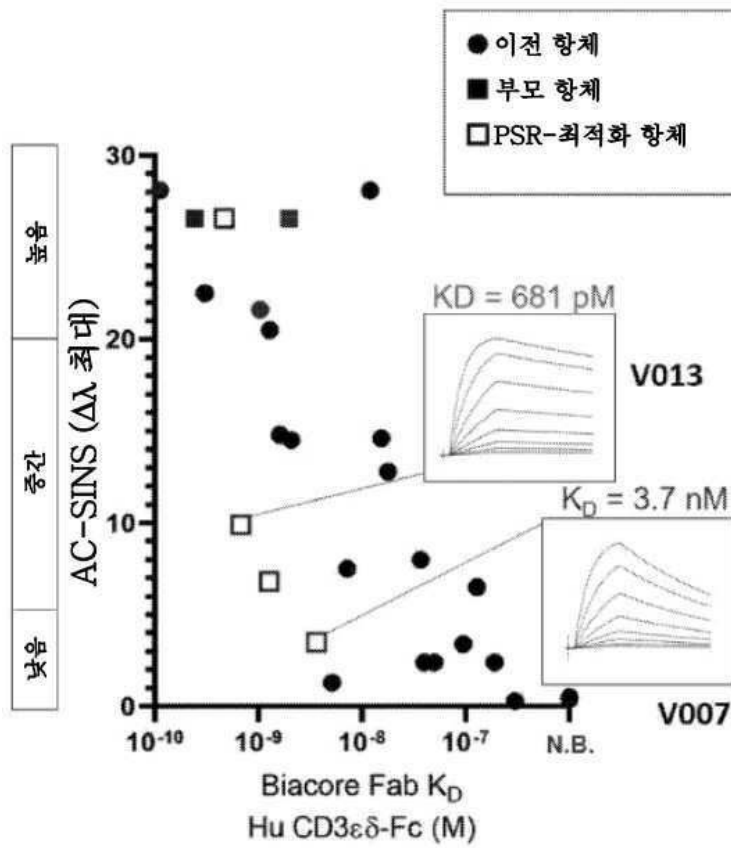
DLS = 동적 광 산란(kD 값 < 20 mL/g은 높은 점도 또는 높은 유백광과 연관됨).

도면

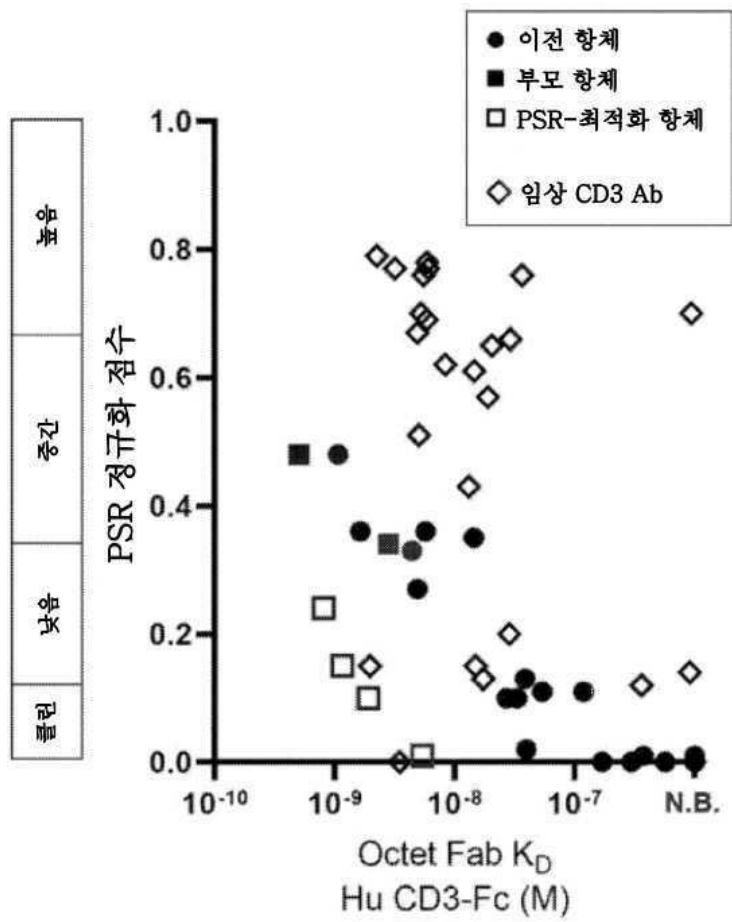
도면1



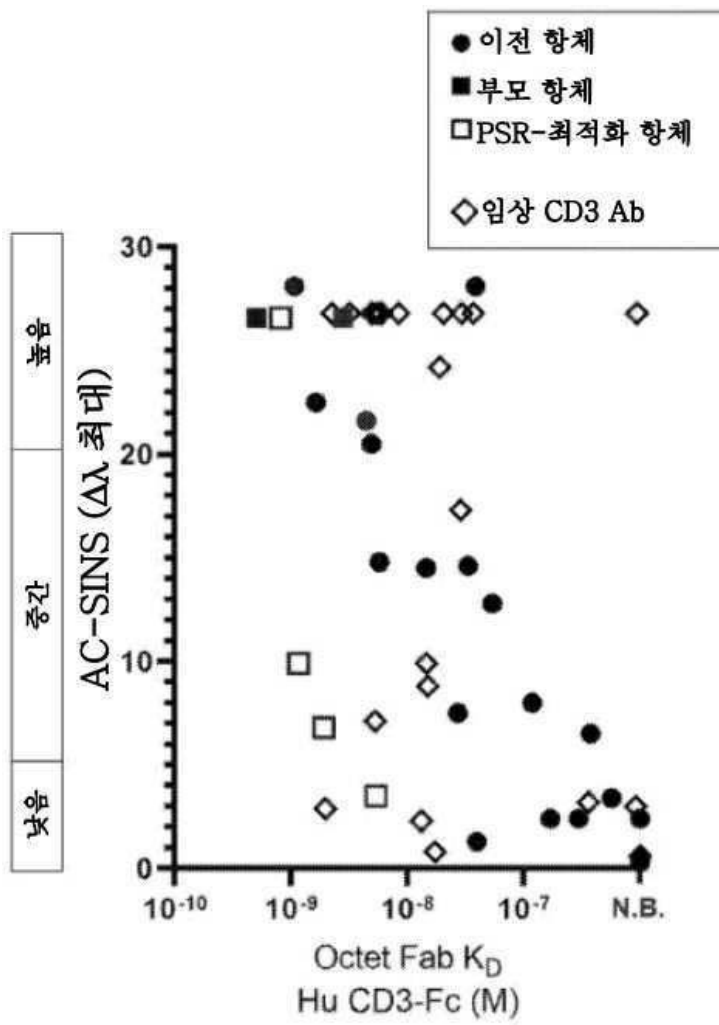
도면2



도면3



도면4



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

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