

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0150774

(43) 공개일자 2024년10월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 16/18 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07K 16/18 (2013.01)

A61P 25/28 (2018.01)

(21) 출원번호 10-2024-7029734

(22) 출원일자(국제) 2023년02월16일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2024년09월04일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2023/053940

(87) 국제공개번호 WO 2023/156549

국제공개일자 2023년08월24일

(30) 우선권주장

22157150.8 2022년02월16일

유럽특허청(EPO)(EP)

(뒷면에 계속)

(71) 출원인

에이씨 이문 에스에이

스위스, 체하-1015 라우산느, 빌딩 비, 이피에프
엘 이노베이션 파크

(72) 발명자

아프로즈, 타리크

스위스, 1015 라우산느, 빌딩 비, 이피에프엘 이
노베이션 파크, 에이씨 이문 에스에이 내.

올리어, 로메인 크리스티안

스위스, 1015 라우산느, 빌딩 비, 이피에프엘 이
노베이션 파크, 에이씨 이문 에스에이 내.

오드레인, 미카엘 마르크 파스칼

스위스, 1015 라우산느, 빌딩 비, 이피에프엘 이
노베이션 파크, 에이씨 이문 에스에이 내.

(74) 대리인

특허법인정진

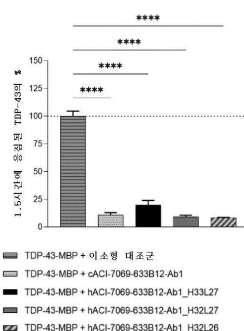
전체 청구항 수 : 총 66 항

(54) 발명의 명칭 인간화된 항-TDP-43 결합 분자 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 43 kDa의 분자량을 가진 트랜스활성 반응(transactive response) DNA 결합 단백질(TARDB 또는 또한 TDP-43) 분야이다. 본 발명은 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자, 특히 인간화된 항-TDP-43 항체 또는 항원-결합 단편 또는 이의 유도체 및 이의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 특히 비제한적으로 전측두엽 치매(FTD: Frontotemporal dementia), 근위축성 측삭 경화증(ALS: amyotrophic lateral sclerosis), 알츠하이머병(AD: Alzheimer's disease), 파킨슨병(PD: Parkinson's disease), 만성 외상성 뇌병증(CTE: Chronic Traumatic Encephalopathy), 및 변연계-우세 연령-관련 TDP-43 뇌병증(LATE: limbic-predominant age-related TDP-43 encephalopathy)을 포함하여, TDP-43과 관련된 질환, 장애 및/또는 이상을 진단, 예방, 완화 및/또는 치료하는 수단 및 방법을 제공한다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)
 C07K 2317/24 (2013.01)
 C07K 2317/33 (2013.01)
 C07K 2317/565 (2013.01)
 C07K 2317/567 (2013.01)
 C07K 2317/76 (2013.01)
 C07K 2317/92 (2013.01)
 C07K 2317/94 (2013.01)

(30) 우선권주장

22177361.7 2022년06월06일
 유럽특허청(EPO)(EP)
 23152958.7 2023년01월23일
 유럽특허청(EPO)(EP)
 23153165.8 2023년01월24일
 유럽특허청(EPO)(EP)

명세서

청구범위

청구항 1

다음을 포함하는, 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편:

- a. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1;
- b. SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 92; SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 112 또는 SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열로부터 선택되는 VH-CDR2;
- c. 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3;
- d. SEQ ID NO: 25 또는 SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열로부터 선택되는 VL-CDR1;
- e. SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열로부터 선택되는 VL-CDR2;
- f. SEQ ID NO: 27 또는 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열로부터 선택되는 VL-CDR3; 및:
- g. IGHV1-69-2, IGHV5-51 또는 IGHV3-43로 이루어진 군으로부터, 바람직하게는 IGHV1-69-2로부터 선택되는 중쇄 가변 도메인(VH)의 수용체 프레임워크; 및/또는
- h. IGKV2-28, IGKV2-24, IGKV2D-28, IGKV2-40, IGKV2D-40 또는 IGKV4-1로 이루어진 군으로부터, 바람직하게는 IGKV2-28로부터 선택되는 경쇄 가변 도메인(VL)의 수용체 프레임워크.

청구항 2

제1항에 있어서, VH의 수용체 프레임워크가 다음의 VH 돌연변이 중 하나 이상, 바람직하게는 모두를 포함하고/하거나:

- a. V24T
- b. Y27F
- c. M48I
- d. A71V
- e. T73K; 및
- f. T94R;

VL의 수용체 프레임워크가 다음의 VL 돌연변이 중 하나 이상을 포함하는, 인간화된 TDP-43 결합 분자:

- g. I2V
- h. Y36L
- i. Q45K
- j. L46R; 및
- k. G57R.

청구항 3

제2항에 있어서, VH의 수용체 프레임워크가 다음의 VH 돌연변이 모두를 포함하고:

- a. V24T
- b. Y27F
- c. M48I

- d. A71V
- e. T73K; 및
- f. T94R;

VL의 수용체 프레임워크가 다음의 VL 돌연변이 중 하나 이상, 바람직하게는 모두를 포함하는, 인간화된 TDP-43 결합 분자:

- g. Y36L
- h. L46R; 및
- i. G57R.

청구항 4

다음에 포함하는, 선택적으로 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은, 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편:

- a. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1;
- b. SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 122 또는 SEQ ID NO: 102의 아미노산 서열로부터 선택되는 VH-CDR2;
- c. 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3;
- d. SEQ ID NO: 25 또는 SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열로부터 선택되는 VL-CDR1;
- e. SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열로부터 선택되는 VL-CDR2; 및
- f. SEQ ID NO: 27 또는 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열로부터 선택되는 VL-CDR3.

청구항 5

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, 다음을 포함하는 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편:

- a. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1;
- b. SEQ ID NO: 112 또는 SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열로부터 선택되는 VH-CDR2;
- c. 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3;
- d. SEQ ID NO: 25 또는 SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열로부터 선택되는 VL-CDR1;
- e. SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열로부터 선택되는 VL-CDR2; 및
- f. SEQ ID NO: 27 또는 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열로부터 선택되는 VL-CDR3.

청구항 6

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, 다음을 포함하는, 인간화된 TDP-43 결합 분자:

- a. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH); 및 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL); 또는
- b. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 112의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH); 및 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL); 또는
- c. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 112의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH); 및 SEQ ID NO: 85의

아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL); 또는

d. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH); 및 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL); 또는

e. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH); 및 SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL); 또는

f. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 112의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH); 및 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL); 또는

g. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH); 및 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL).

청구항 7

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서,

a. 중쇄 가변 도메인(VH)의 수용체 프레임워크가 IGHV1-69-2, IGHV5-51 또는 IGHV3-43으로 이루어진 군으로부터, 바람직하게는 IGHV1-69-2로부터 선택되고;

b. 경쇄 가변 도메인(VL)의 수용체 프레임워크가 IGKV2-28, IGKV2-24, IGKV2D-28, IGKV2-40, IGKV2D-40 또는 IGKV4-1로 이루어진 군으로부터, 바람직하게는 IGKV2-28로부터 선택되는,

인간화된 TDP-43 결합 분자.

청구항 8

제7항에 있어서,

a. 중쇄 가변 도메인(VH)의 수용체 프레임워크가 IGHV1-69-2이고;

b. 경쇄 가변 도메인(VL)의 수용체 프레임워크가 IGKV2-28인,

인간화된 TDP-43 결합 분자.

청구항 9

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, 하기를 포함하는, 인간화된 TDP-43 결합 분자:

a. 하기로부터 선택되는 중쇄 가변 영역(VH):

i. SEQ ID NO: 30의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 30의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는

ii. SEQ ID NO: 40의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는

iii. SEQ ID NO: 50의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 50의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는

iv. SEQ ID NO: 60의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 60의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는

- v. SEQ ID NO: 70의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 70의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- vi. SEQ ID NO: 80의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 80의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- vii. SEQ ID NO: 90의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 90의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- viii. SEQ ID NO: 100의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 100의 아미노산 서열과 적어도 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- ix. SEQ ID NO: 110의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열과 적어도 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- x. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 120의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및
- b. 하기로부터 선택되는 경쇄 가변 영역(VL):
 - i. SEQ ID NO: 34의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열과 적어도 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
 - ii. SEQ ID NO: 44의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열과 적어도 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
 - iii. SEQ ID NO: 54의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열과 적어도 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
 - iv. SEQ ID NO: 64의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 64의 아미노산 서열과 적어도 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
 - v. SEQ ID NO: 74의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 74의 아미노산 서열과 적어도 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
 - vi. SEQ ID NO: 84의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열과 적어도 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
 - vii. SEQ ID NO: 94의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 94의 아미노산 서열과 적어도 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL).

청구항 10

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, 하기를 포함하는, 인간화된 TDP-43 결합 분자:

- a. SEQ ID NO: 60의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 60의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID NO: 54의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열과 적어도 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- b. SEQ ID NO: 70의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 70의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID NO: 44의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열과 적어도 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- c. SEQ ID NO: 70의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 70의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID NO: 54의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열과 적어도 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

- d. SEQ ID NO: 70의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 70의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID NO: 64의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 64의 아미노산 서열과 적어도 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- e. SEQ ID NO: 110의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열과 적어도 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID NO: 64의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 64의 아미노산 서열과 적어도 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- f. SEQ ID NO: 110의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열과 적어도 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID NO: 84의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열과 적어도 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- g. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 120의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID NO: 64의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 64의 아미노산 서열과 적어도 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- h. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 120의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID NO: 84의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열과 적어도 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- i. SEQ ID NO: 110의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열과 적어도 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID NO: 94의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 94의 아미노산 서열과 적어도 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- j. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 120의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID NO: 94의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 94의 아미노산 서열과 적어도 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL).

청구항 11

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, 하기를 포함하는, 인간화된 TDP-43 결합 분자:

- a. SEQ ID NO: 60의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 54의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- b. SEQ ID NO: 70의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 44의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- c. SEQ ID NO: 70의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 54의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- d. SEQ ID NO: 70의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 64의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- e. SEQ ID NO: 110의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 64의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- f. SEQ ID NO: 110의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 84의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- g. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 64의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

- h. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 84의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- i. SEQ ID NO: 110의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 94의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- j. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 94의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL).

청구항 12

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, 하기를 포함하는, 인간화된 TDP-43 결합 분자:

- a. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 84의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- b. SEQ ID NO: 110의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 94의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- c. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 94의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL).

청구항 13

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, 미스폴딩된 응집된 TDP-43 및 비-응집된 생리학적 TDP-43에 결합하는, 인간화된 TDP-43 결합 분자.

청구항 14

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, 모노머 및/또는 올리고머 및/또는 응집된 및/또는 번역 후 변형된 및/또는 절단된 TDP-43, 바람직하게는 인간 TDP-43에 결합하는, 인간화된 TDP-43 결합 분자.

청구항 15

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, 미스폴딩된 응집된 인간 TDP-43 및 비-응집된 생리학적 인간 TDP-43에 결합하는, 인간화된 TDP-43 결합 분자.

청구항 16

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, 다음의 특징 중 하나 이상, 최대 모두를 나타내는, 인간화된 TDP-43 결합 분자:

- a. TDP-43 단백질 또는 이의 단편의 응집 억제,
- b. TDP-43 세포간 전파 차단;
- c. TDP-43 응집체 분해;
- d. TDP-43 씨딩 차단;
- e. 씨딩 능력이 있는 TDP-43 중화;
- f. TDP-43 확산 차단; 및
- g. TDP-43 청소율 강화.

청구항 17

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, 씨딩 능력이 있는 TDP-43을 중화하는, 인간화된 TDP-43 결합 분자.

청구항 18

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, TDP-43 청소율을 강화하는, 인간화된 TDP-43 결합 분자.

청구항 19

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, 생체 내에서 TDP-43 병리학을 감소시키는, 인간화된 TDP-43 결합 분자.

청구항 20

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, 생체 내에서 미스폴딩된 응집된 TDP-43 및/또는 인산화된 TDP-43의 수준을 감소시키는, 인간화된 TDP-43 결합 분자.

청구항 21

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, 인간 TDP-43(SEQ ID NO: 1)의 아미노산 잔기 397~411내의 에피토프에 결합하는, 인간화된 TDP-43 결합 분자.

청구항 22

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편인, 인간화된 TDP-43 결합 분자.

청구항 23

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, 가용성 TDP-43(SEQ ID NO: 1) 결합에 대해 1 nM 미만, 바람직하게는 250 pM 미만의 해리 상수(KD)를 갖는, 인간화된 TDP-43 결합 분자.

청구항 24

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, 가용성 TP-51(SEQ ID NO: 1의 아미노산 352~414) 펩티드 결합에 대해 4 nM 미만, 바람직하게는 2 nM 미만의 해리 상수(KD)를 갖는, 인간화된 TDP-43 결합 분자.

청구항 25

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, IgA, IgD, IgE, IgM, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체 또는 이의 항원-결합 단편인, 인간화된 TDP-43 결합 분자.

청구항 26

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, IgG1 또는 IgG4 항체 또는 이의 항원-결합 단편인, 인간화된 TDP-43 결합 분자.

청구항 27

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, Fc 돌연변이, 바람직하게는 S228P 돌연변이를 포함하는, 인간화된 TDP-43 결합 분자.

청구항 28

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, 7.5 미만, 바람직하게는 7.0 미만의 pI를 갖는 Fv를 포함하는, 인간화된 TDP-43 결합 분자.

청구항 29

선행하는 항들 중 어느 한 항에 있어서, pH 7.4에서 0.2 미만, 바람직하게는 -0.8 미만, 보다 바람직하게는 -1.8 미만의 순 전하를 갖는 Fv를 포함하는, 인간화된 TDP-43 결합 분자.

청구항 30

선행하는 항들 중 어느 한 항에 따른 인간화된 TDP-43 결합 분자를 포함하는, 면역접합체.

청구항 31

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 따른 인간화된 TDP-43 결합 분자를 포함하는 면역접합체로서, 상기 면역접합체는 전달 비히클 또는 혈관 내 장벽 모이어티를 사용하여 혈관 내 장벽을 가로지르는, 면역접합체.

청구항 32

제30항 또는 제31항에 있어서, 전달 비히클이 리포좀 또는 세포외 소포체를 포함하는, 면역접합체.

청구항 33

제30항 또는 제31항에 있어서, 인간화된 TDP-43 결합 분자가 혈액 뇌 장벽 모이어티에 연결된, 면역접합체.

청구항 34

제33항에 있어서, 혈액 뇌 장벽 모이어티가 폴리펩티드 또는 소분자, 바람직하게는 펩티드, 수용체 리간드, 단일 도메인 항체(VHH), scFv 또는 Fab 단편인, 면역접합체.

청구항 35

제31항, 제33항 또는 제34항에 있어서, 혈액 뇌 장벽 모이어티가 혈액 뇌 장벽 수용체에 결합하는, 면역접합체.

청구항 36

제35항에 있어서, 혈액 뇌 장벽 수용체가 비제한적으로 트랜스페린 수용체, 인슐린 수용체 또는 저밀도 지질단백질 수용체를 포함하는, 면역접합체.

청구항 37

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 따른 인간화된 TDP-43 결합 분자를 포함하는, 표지된 결합 분자, 특히 표지된 항체.

청구항 38

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 또는 제30항 내지 제36항 중 어느 한 항의 면역접합체, 및 약학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제 및/또는 희석제를 포함하는, 약학 조성물.

청구항 39

인간 또는 수의학적 용도의, 제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 또는 제30항 내지 제36항 중 어느 한 항의 면역접합체 또는 제38항의 약학 조성물.

청구항 40

TDP-43과 관련된 질환, 장애 및/또는 이상 또는 TDP-43 단백질병증의 예방, 완화, 치료에 사용하기 위한, 제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 또는 제30항 내지 제36항 중 어느 한 항의 면역접합체 또는 제38항의 약학 조성물.

청구항 41

진단에 사용하기 위한, 제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 또는 제30항 내지 제36항 중 어느 한 항의 면역접합체, 제37항의 표지된 결합 분자 또는 제38항의 약학 조성물.

청구항 42

TDP-43과 관련된 질환, 장애 및/또는 이상 또는 TDP-43 단백질병증의 진단을 위해 제41항에 청구된 바와 같이 사용하기 위한, 인간화된 TDP-43 결합 분자 또는 면역접합체, 표지된 결합 분자 또는 약학 조성물.

청구항 43

연구에 사용하기 위한, 특히 분석 도구 또는 참조 분자로서 사용하기 위한, 제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 또는 제30항 내지 제36항 중 어느 한 항의 면역접합체, 제37항의 표지된 결합 분자 또는 제38항의 약학 조성물.

청구항 44

TDP-43과 관련된 질환, 장애 및/또는 이상 또는 TDP-43 단백질병증을 모니터링하기 위한 진단 도구로서 사용하기 위한, 제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 또는 제30항 내지 제36항 중 어느 한 항의 면역접합체, 제37항의 표지된 결합 분자 또는 제38항의 약학 조성물.

청구항 45

제40항, 제42항 또는 제44항에 있어서, TDP-43과 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증이 전측두엽 치매(FTD), 예킨대 산발성 또는 가족성의 운동-뉴런 질환(MND)이 있거나 없는 것, 프로그래놀린(GRN) 돌연변이가 있는 것, C9orf72 돌연변이가 있는 것, TARDBP 돌연변이가 있는 것, 발로신-함유 단백질(VCP)의 돌연변이가 있는 것, 염색체 9p에 연결되어 있는 것, 피질기저 퇴행, 유비퀴틴-양성 TDP-43 봉입체(FTLD-TDP)가 있는 전측두엽 퇴행(FTLD), 호은성 입자 질병, 픽병, 의미형 변이체 원발 진행성 실어증(svPPA), 행동 변이 FTD(bvFTD), 비유창 변이 원발 진행성 실어증(nfvPPA) 등), 근위축성 측삭 경화증(ALS, 예킨대 산발성 ALS, TARDBP 돌연변이가 있는 것, 안지오제닌(ANG) 돌연변이가 있는 것), 알렉산더병(AxD), 변연계-우세 연령-관련 TDP-43 뇌병증(LATE), 만성 외상성 뇌병증(CTE), 페리 증후군, 알츠하이머병(AD, AD의 산발성 및 가족성 형태 포함), 다운 증후군, 영국 가족성 치매, 폴리글루타민 질환(헌팅턴병 및 척수소뇌 실조 유형 3(SCA3; 마카도 조셉병으로도 공지됨)), 해마 경화증 치매 및 근병증(산발성 봉입체 근염, 발로신-함유 단백질(VCP); 또한 골의 파제트병 및 전측두엽 치매)에 돌연변이가 있는 봉입체 근염, 테두리 액포가 있는 눈인두 근이영양증, 미오티린(MYOT) 유전자의 돌연변이 또는 데스민(DES)을 코딩하는 유전자의 돌연변이가 있는 근섬유 근병증), 외상성 뇌손상(TBI), 루이소체가 있는 치매(DLB) 또는 파킨슨병(PD)인, 인간화된 TDP-43 결합 분자 또는 면역접합체 또는 표지된 결합 분자 또는 약학 조성물.

청구항 46

제45항에 있어서, TDP-43과 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증이 전측두엽 치매(FTD), 근위축성 측삭 경화증(ALS), 알츠하이머병(AD), 파킨슨병(PD), 만성 외상성 뇌병증(CTE), 또는 변연계-우세 연령-관련 TDP-43 뇌병증(LATE)인, 인간화된 TDP-43 결합 분자 또는 면역접합체 또는 표지된 결합 분자 또는 약학 조성물.

청구항 47

제46항에 있어서, TDP-43과 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증이 근위축성 측삭 경화증(ALS)인, 인간화된 TDP-43 결합 분자 또는 면역접합체 또는 표지된 결합 분자 또는 약학 조성물.

청구항 48

제46항에 있어서, TDP-43과 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증이 알츠하이머병(AD)인, 인간화된 TDP-43 결합 분자 또는 면역접합체 또는 표지된 결합 분자 또는 약학 조성물.

청구항 49

제46항에 있어서, TDP-43과 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증이 전측두엽 치매(FTD)인, 인간화된 TDP-43 결합 분자 또는 면역접합체 또는 표지된 결합 분자 또는 약학 조성물.

청구항 50

TDP-43과 관련된 질환, 장애 및/또는 이상 또는 TDP-43 단백질병증이 있는 개인에서 인지 기억 능력을 유지 또는 증가시키거나 기억 상실을 늦추는 방법으로서, 상기 방법은 제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 인간화된 TDP-43 결합 분자 또는 제30항 내지 제36항 중 어느 한 항의 면역접합체 또는 제38항의 약학 조성물을 개인에 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 51

개인에서 응집된 TDP-43 및/또는 인간화된 TDP-43의 수준을 감소시키는 방법으로서, 상기 방법은 제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 인간화된 TDP-43 결합 분자 또는 제30항 내지 제36항 중 어느 한 항의 면역접합체 또는 제38항의 약학 조성물을 개인에 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 52

제50항 또는 제51항에 있어서, 방법이 적어도 하나의 추가 치료제를 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 53

제52항에 있어서, 추가 치료제가 알파-시누클레인, BACE1, Tau, 베타-아밀로이드, TDP-43, 또는 신경염증 단백질을 표적화하는, 방법.

청구항 54

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항의 인간화된 TDP-43 결합 분자를 코딩하는, 핵산 분자.

청구항 55

SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 89, 또는 SEQ ID NO: 99로 제공된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 인간화된 TDP-43 결합 분자를 코딩하는, 핵산 분자.

청구항 56

하기와 같은 뉴클레오티드 서열을 포함하는 인간화된 TDP-43 결합 분자를 코딩하는, 핵산 분자:

- a. SEQ ID NO: 68에 의해 코딩된 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 59에 의해 코딩된 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- b. SEQ ID NO: 78에 의해 코딩된 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 49에 의해 코딩된 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- c. SEQ ID NO: 78에 의해 코딩된 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 59에 의해 코딩된 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- d. SEQ ID NO: 78에 의해 코딩된 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 69에 의해 코딩된 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- e. SEQ ID NO: 118에 의해 코딩된 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 69에 의해 코딩된 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- f. SEQ ID NO: 118에 의해 코딩된 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 89에 의해 코딩된 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- g. SEQ ID NO: 128에 의해 코딩된 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 69에 의해 코딩된 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- h. SEQ ID NO: 128에 의해 코딩된 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 89에 의해 코딩된 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- i. SEQ ID NO: 118에 의해 코딩된 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 99에 의해 코딩된 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- j. SEQ ID NO: 128에 의해 코딩된 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 99에 의해 코딩된 경쇄 가변 영역(VL).

청구항 57

제54항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산이 혈액 뇌 장벽 또는 CNS의 임의의 다른 세포 유형에 대한 표적화된 전달을 위한 바이러스 벡터의 일부인, 핵산.

청구항 58

제57항에 있어서, 바이러스 벡터가 재조합 아데노-관련 바이러스 벡터(rAAV), 바람직하게는 AAV1 내지 AAV12로부터 선택되는 재조합 아데노-관련 바이러스 벡터인, 핵산.

청구항 59

제54항 내지 제58항 중 어느 한 항의 핵산을 포함하는, 제조합 발현 벡터.

청구항 60

제54항 내지 제58항 중 어느 한 항의 핵산 및/또는 제59항의 벡터를 포함하는, 숙주 세포.

청구항 61

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 따른 인간화된 TDP-43 결합 분자를 발현하는, 숙주 세포.

청구항 62

제59항의 제조합 발현 벡터를 함유하는, 무세포 발현 시스템.

청구항 63

인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 생성 방법으로서, 다음의 단계를 포함하는, 방법:

- 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 생성에 적합한 조건 하에 제60항 또는 제61항의 숙주 세포 또는 제62항의 무세포 발현 시스템을 배양하는 단계; 및
- 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 분리하는 단계.

청구항 64

대상체로부터 수득된 샘플에서 TDP-43을 검출 및/또는 정량화하는 방법으로서, 상기 방법은 제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 따른 인간화된 TDP-43 결합 분자를 샘플과 접촉시키는 단계 및 샘플의 TDP-43 수준을 대조군 샘플 또는 샘플들의 수준과 비교하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 65

제64항에 있어서, 샘플이 인간 혈액, 뇌척수액(CSF), 장액(ISF) 및/또는 소변, 바람직하게는 CSF인, 방법.

청구항 66

TDP-43과 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증의 진단을 위한, 또는 제39항 내지 제49항 중 어느 한 항에 따른 용도의, 또는 제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 따른 인간화된 TDP-43 결합 분자를 포함하는 제50항 내지 제53항 중 어느 한 항의 방법에서 사용하기 위한, 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 43 kDa의 분자량을 가진 트랜스활성 반응(transactive response) DNA 결합 단백질(TARDB 또는 또한 TDP-43) 분야이다. 본 발명은 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자, 특히 인간화된 항-TDP-43 항체 또는 항원-결합 단편 또는 이의 유도체 및 이의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 특히 비제한적으로 전측두엽 치매(FTD: Frontotemporal dementia), 근위축성 측삭 경화증(ALS: amyotrophic lateral sclerosis), 알츠하이머병(AD: Alzheimer's disease), 파킨슨병(PD: Parkinson's disease), 만성 외상성 뇌병증(CTE: Chronic Traumatic Encephalopathy), 및 변연계-우세 연령-관련 TDP-43 뇌병증(LATE: limbic-predominant age-related TDP-43 encephalopathy)을 포함하여, TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증(proteinopathy)을 진단, 예방, 완화 및/또는 치료하는 수단 및 방법을 제공한다.

배경 기술

[0002] 중추신경계(CNS)(단백질병증) 및 말초 기관에서 단백질의 병리학적 응집을 특징으로하는 연령-관련 뇌 장애는 전 세계에서 장애 및 사망의 주요 원인 중 하나를 나타낸다. 알츠하이머병 및 관련 장애에서 가장 잘 특성분석된 응집체를 형성하는 단백질은 아밀로이드 베타이다. 신경퇴행을 야기하는 다른 질환-관련, 응집-경향 단백질

은 비제한적으로 Tau, 알파-시누클레인(aSyn, a-syn), 헌팅틴, 육종 융합(FUS: fused in sarcoma), C9orf72의 반복 확장(expansion)의 비통상적인 번역에 의해 생성된 디펩티드 반복 단백질(DPR: dipeptide repeat protein), 슈퍼옥시드 디스무타제 1(SOD1), 및 TDP-43이다. TDP-43 응집체와 관련된 질환은 일반적으로 비제한적으로 ALS 및 FTD를 포함하여 TDP-43 단백질병증으로 열거된다.

[0003] **I. TDP-43 소개**

[0004] 트랜스활성 반응(TAR: transactive response) DNA 결합 단백질 43 kDa(TDP-43)은 염색체 1p36.2(ALS10) 상의 TARDBP 유전자에 의해 코딩된 414-아미노산 단백질이다. TARDBP는 6개의 엑손(엑손 1은 비-코딩이고; 엑손 2~6은 단백질-코딩임)으로 구성된다. TDP-43은 이중 리보뉴클레오타이드(hnRNP) RNA 결합 단백질의 패밀리에 속한다(문헌[Wang et al., Trends in Molecular Medicine Vol.14 No.11, 2008, 479-485]; 문헌[Lagier-Tourenne et al., Human Molecular Genetics, 2010, Vol. 19, Review Issue 1 R46-R64]). TDP-43은 5개의 기능성 도메인을 포함한다(문헌[Warraich et al., The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 42 (2010) 1606-1609]의 도 1): 2개의 고도로 보존된 6량체 리보뉴클레오타이드 2(RNP2) 및 8량체 리보뉴클레오타이드 1(RNP1) 영역을 갖는 2개 RNA 인식 모티프(RRM1 및 RRM2), 결합된 mRNA를 수송하는 핵과 세포질 사이를 왕복할 수 있도록 하는 핵 방출 신호(NES: nuclear export signal) 및 핵 국소화 신호(NLS: nuclear localization signal), 및 단백질-단백질 상호작용을 매개하는, C-말단의 글리신 풍부 도메인. TDP-43은 전사, 스플라이싱, 수송, 및 안정화를 포함하는 RNA 처리의 여러 측면에 관련되어 있다(문헌[Buratti and Baralle, FEBS Journal 277 (2010) 2268-2281]). 이는 핵과 세포질 사이를 연속적으로 왕복하는 엄격하게 자가조절된 발현 수준을 갖는 고도로 보존된, 편재적으로 발현된 단백질이지만, 주로 핵에 국소화되어 있다. 2006년에, TDP-43은 tau-음성, 유비퀴틴-양성 봉입체(FTLD-TDP로 지칭됨)가 있는 전측두엽 퇴행(FTLD: frontotemporal lobar degeneration)의 대부분의 경우에, 대부분 근위축성 측삭 경화증(ALS)에 축적되는 단백질로 확인되었다(문헌[Arai et al., Biochemical and Biophysical Research Communications 351 (2006) 602-611]; 문헌[Neumann et al., Science 314, (2006), 130-133]).

[0005] TDP-43의 38개의 음성-우성 돌연변이는 산발성 및 가족성 ALS 환자뿐만 아니라 주로 글리신 풍부 도메인에 위치한 유전성 FTD 환자에서 확인되었다(문헌[Lagier-Tourenne and Cleveland, Cell 136, 2009, 1001-1004]의 도 1). TDP-43은 침강 분석에 의해 나타난 바와 같이 본질적으로 응집되기 쉽고, 이러한 경향은 TDP-43 응집을 임상 질환 징후와 연결하는 ALS-관련 TARDBP 돌연변이(문헌[Ticozzi et al., CNS Neurol. Disord. Drug Targets. 2010, 9(3), 285-296.])의 일부에 의해 추가로 증가된다.

[0006] **II. 신경퇴행에서의 TDP-43**

[0007] TDP-43 응집체는 비제한적으로 다음을 포함하는, 신경퇴행성 병태의 증가하는 목록에서 확인되었다(문헌[Lagier-Tourenne et al., Human Molecular Genetics, 2010, Vol. 19, Review Issue 1 R46-R64]): 전측두엽 치매(FTD, 예컨대 산발성 또는 가족성, 운동-뉴런 질환(MND)이 있거나 없는 것, 프로그래놀린(GRN) 돌연변이가 있는 것, C9orf72 돌연변이가 있는 것, TARDBP 돌연변이가 있는 것, 발로신-함유 단백질(VCP)의 돌연변이가 있는 것, 염색체 9p와 연결된 것, 피질기저 퇴행, 유비퀴틴-양성 TDP-43 봉입체(FTLD-TDP)가 있는 전측두엽 퇴행(FTLD), 호은성 입자 질병, 픽병, 의미형 변이체 원발 진행성 실어증(svPPA), 행동 변이 FTD(bvFTD), 비유창 변이 원발 진행성 실어증(nfvPPA) 등), 근위축성 측삭 경화증(ALS, 예컨대 산발성 ALS, TARDBP 돌연변이가 있는 것, 안지오제닌(ANG) 돌연변이가 있는 것), 알렉산더병(AxD), 변연계-우세 연령-관련 TDP-43 뇌병증(LATE), 만성 외상성 뇌병증(CTE), 페리 증후군, 알츠하이머병(AD, AD의 산발성 및 가족성 형태 포함), 다운 증후군, 영국 가족성 치매, 폴리글루타민 질환(헌팅틴병 및 척수소뇌 실조 유형 3(SCA3; 마카도 조셉병으로도 알려져 있음)), 해마 경화증 치매 및 근병증(산발성 봉입체 근염, 발로신-함유 단백질(VCP); 또한 골의 파제트병 및 전측두엽 치매)에 돌연변이가 있는 봉입체 근염, 테두리 액포가 있는 눈인두 근이영양증, 미오틴린(MYOT) 유전자의 돌연변이 또는 데스민(DES)을 코딩하는 유전자의 돌연변이가 있는 근섬유 근병증), 외상성 뇌손상(TBI), 루이소체가 있는 치매(DLB) 또는 파킨슨병(PD). LATE라는 용어는 해마 경화증, 노화로 인한 해마 경화증, 해마 경화증 치매, 경화증을 동반한 뇌 연령-관련 TDP-43(CARTS), 및 노인의 TDP-43 병리를 포함하여 인지 장애와 관련될 수 있는 TDP-43 단백질병리와 관련하여 이전에 사용된 여러 명칭을 포괄하기 위한 것이다(이전의 검토인 문헌[Kuslansky et al., 2004]; 문헌[Lippa and Dickson, 2004]; 문헌[Nelson et al., 2013, 2016b]; 문헌[Dutra et al., 2015] 참조).

[0008] 환자 뇌의 응집체화된 TDP-43은 과산화, 유비퀴틴화, 아세틸화 및 단백질분해 절단을 통한 C-말단 단편을 포함하여 다수의 비정상적 변형을 나타낸다(문헌[Arai et al., Biochemical and Biophysical Research

Communications 351 (2006) 602-611]; 문헌[Neumann et al., Science 314, (2006), 130-133]; 문헌[Neumann et al., Acta Neuropathol. (2009) 117: 137-149]; 문헌[Hasegawa et al., (2008) Annals of Neurology Vol 64 No 1, 60-70]; 문헌[Cohen et al., Nat Commun. 6: 5845, 2015]). TDP-43 병리학의 또 다른 특징적인 특징은 핵에서 세포질로의 TDP-43의 재분배 및 축적이다. FTLTDP의 특징적인 병변은 TDP-43, 및 유비퀴틴 및 p62에 대해 면역반응을 나타내지만, 다른 신경퇴행성 질환-관련 단백질에는 음성인 뉴런 및 신경교 세포질 봉입체(각각 NCI 및 GCI) 및 이영양성 신경돌기(DN)이다. 봉입체 형태 및 이의 조직 분포의 차이는 특이적 돌연변이 및/또는 임상적인 표현과 관련이 있다. 현재까지 4가지 유형의 TDP-43 병리학이 조직학적 분류에 의해 기술되었다(문헌[Mackenzie and Neumann, J. Neurochem. (2016) 138 (Suppl. 1), 54-70]). FTLTDP 유형 A 사례는 주로 신피질의 II층에서 우세한, 다수의 짧은 이영양성 신경돌기(DN) 및 조밀한(compact) 타원형 또는 초승달 모양의 NCI를 특징으로 한다(문헌[Mackenzie et al., 2016 J. Neurochem. 138 (Suppl. 1), 54-70]의 도 2f). 이러한 병리학을 가진 사례는 일반적으로 임상적으로 행동-변이형 전측두엽 치매(bvFTD) 또는 비유창성/비문법적 변이체의 원발 진행성 실어증(nfvPPA)과 함께 나타나며 프로그래놀린(GRN) 돌연변이와 관련이 있다. 유형 B 사례는 상대적으로 적은 수의 DN 및 NII를 가진 표층 및 깊은 피질층 둘 모두에서 적당한 수의 조밀하거나 과립화된 NCI(뉴런 핵내 봉입체; 문헌[Mackenzie et al., 2016 J. Neurochem. 138 (Suppl. 1), 54-70]의 도 2g)를 나타낸다. FTD와 ALS 증상이 동시에 나타나는 대부분의 경우에는 FTLTDP 유형 B 병리학을 갖는 것으로 밝혀졌다. 유형 C 사례는 길고, 구불구불한 신경돌기가 풍부하고 주로 표면 피질 라미나에 우세하게 풍부하고, NCI가 거의 없거나 전혀 없다(문헌[Mackenzie et al., 2016 J. Neurochem. 138 (Suppl. 1), 54-70]의 도 2j). 이러한 병리학은 특히 원발 진행성 실어증의 의미형 변이체(svPPA)를 나타내는 사례에서 발견된다. FTLTDP 유형 D는 드문 NCI만이 있는 신피질에서 풍부한 렌즈형(lentiform) 뉴런 핵내 봉입체(NII) 및 짧은 DN을 나타낸다(문헌[Mackenzie et al., 2016 J. Neurochem. 138 (Suppl. 1), 54-70]의 도 2k). 유형 E는 과립필라멘트 신경 봉입체(GFNI) 및 백질의 곡선적 회소돌기교세포 봉입체에 첨가하여 모든 신피질층에 영향을 미치는 매우 미세한, 점-모양의 신경필 응집체를 특징으로 한다(문헌[Edward B. Lee et al., Acta Neuropathol. 2017 July; 134(1): 65-78.]). 병리학의 이러한 패턴은 봉입체 근염과 관련된 VCP의 사례에서만 발견된다.

III. FTD에서의 TDP-43

전측두엽 치매(FTD)는 전두엽과 측두엽의 퇴행을 기반으로 하는 광범위한 장애를 포괄하는 임상 용어이다 - 전측두엽 퇴행(FTLD)이라 지칭되는 병리학적 특징. FTD는 65세 미만의 연령군에서 조기 퇴행성 치매의 두 번째로 풍부한 원인이다(문헌[Le Ber, Revue Neurologique 169 (2013) 811-819]). FTD는 성격과 행동의 변화를 특징으로 하는 bvFTD를 포함하여 여러 증후군으로 나타난다; 의미 치매(SD) 및 진행성 비유창성 실어증(PNFA)은 언어 기능의 변화를 특징으로 하며; 피질기저 증후군(CBS), 진행성 핵상 마비 증후군 및 운동 뉴런 질환(FTD-MND)은 운동 기능부전을 특징으로 한다. 이러한 증후군의 임상 진단은 복잡하며 최종 결론은 응집된 단백질을 검출하고 영향받은 뇌 영역을 한정하는 사후 병태조직학적 분석을 통해서만 달성될 수 있다. 병리학적, 단백질질성 봉입체의 측면에서, 약 45%의 사례는 미스폴딩된 Tau의 병리학적 축적을 나타내고, 45%의 사례는 병리학적 TDP-43을 가지며 더 작은 하위군은 FUS 및 다른 단백질의 응집체를 갖는다.

IV. ALS에서의 TDP-43

근위축성 측삭 경화증(ALS)은 상부 및 하부 운동 뉴런의 조기 상실을 특징으로 하는 신경퇴행성 장애이다. ALS의 진행은 진단에서 사망까지 1 내지 5년의 질환 경과와 함께 치명적인 마비 및 호흡부전으로 표시된다. 산발성 ALS의 대부분의 경우, 신경병리학은 1차 운동 피질, 뇌간 운동 핵, 척수 및 관련 백질 관의 뉴런 및 신경교의 TDP-43의 비정상적인 세포질 축적을 특징으로 한다. 치매가 있는 ALS는 운동외(extramotor) 신피질 및 해마의 TDP-43의 축적을 수반한다. ALS 환자에서 TDP-43의 인산화의 역할은 TDP-43의 인산화의 주요 부위로서 아미노산 S379, S403, S404, S409, S410을 갖는 핵 및 세포질 봉입체에서 인산화된 TDP-43에 특이적으로 결합하는 항체의 도움으로 탐구되었다(문헌[Hasegawa et al., Ann Neurol 2008; 64: 60-70]; 문헌[Neumann et al., Acta Neuropathol (2009) 117: 137-149]).

V. AD 및 다른 질환에서의 TDP-43

TDP-43 병리학은 알츠하이머병의 환자의 뇌의 최대 57%에서 발생한다(문헌[Josephs KA et al., Acta Neuropathol. 2014; 127(6): 811-824]; 문헌[Josephs KA et al., Acta Neuropathol. 2014; 127(3): 441-450]; 문헌[McAleese et al., Brain Pathol. 2017 Jul; 27(4): 472-479]). TDP-43 응집은 환자의 연령과 관련이 있으며 AD의 인지 저하, 기억 상실 및 내측 측두 위축과 상관관계가 있다. AD에서 TDP-43은 내측 측두엽에서 아밀로이드 베타 및 tau 병리와 중첩되는 뇌 분포를 공유하는 2차 또는 독립적인 병리를 나타내는 것으로 보인다. 병

리학적 TDP-43은 AD(TAD) 병기 계획에서 소위 TDP-43으로 설명된 전형적인 진행성 침착 패턴을 따른다: TDP-43은 편도체에서 첫 번째 침착(I기)에 이어, 해마, 변연계, 측두엽, 및 마지막으로 전두선조체에서 침착된다(V기)(문헌[Josephs KA et al., Acta Neuropathol. 2014;127(6): 811-824]; 문헌[Josephs KA et al., Acta Neuropathol. 2014; 127(3): 441-450]).

VI. TDP-43 확산

ALS 및 FTD 발병 및 첫 번째 증상은 환자마다 크게 다르지만, 질병 진행의 일반적인 특징은 초기 초점 영역에서 대부분의 뉴런으로 병리학이 확산된다는 것이다. 증상의 지속적인 악화는 TDP-43 병리학의 점진적인 확산으로 설명될 수 있다. ALS 환자의 뇌에서 TDP-43 병리학은 4단계 과정으로 확산되는 것으로 보여지며 전파는 전향 축삭 수송을 사용하여 피질복합 축삭 돌기를 통해 트랜스시냅스적으로 발생하는 것으로 여겨진다(문헌[Brettschneider et al., Ann Neurol. 2013 July; 74(1): 20-38.]). 최근 실험 증거는 프리온-유사 기작에 의한 아밀로이드-베타, Tau, 알파-시누클레인 및 TDP-43에 대한 신경 조직에서의 단백질 전파 가설을 뒷받침하며(문헌[Hasegawa et al., 2017]), 출발점과 지형적 확산 패턴은 4가지 단백질에 대해 구별된다(문헌[Brettschneider J et al., Nature Rev. Neuroscience, 2015, 109]). 일반적인, 질병 통합 기작은 병리학적 단백질 응집체의 세포간 확산을 기반으로 하는 것으로 여겨진다. 이러한 기작은 질환 세포로부터 응집체 방출, 나 이브 세포에 의한 흡수 및 내인성 단백질의 주형화된 형태학적 변화에 의한 병리학적 단백질 형태의 씨딩으로 이루어진다. 생리학(즉, 비병리학 TDP-43)의 응집을 유도할 수 있는 병리학 TDP-43은 씨딩 능력이 있는 TDP-43으로 정의된다. 실제로, TDP-43은 미스폴딩되어 새로운 미스폴딩을 유발할 수 있는 능력을 가진 증식 물질인 씨드로 응집되는 것으로 밝혀졌다. 이러한 "프리온-유사" 패러다임은 질병 진행의 핵심 요소 중 하나로 의심된다. TDP-43 세포간 확산이 분자 수준에서 몇몇 시험관 내 모델에서 연구되어 왔으며, 여기서 환자 뇌 유래의 불용성 TDP-43 제제는 수용체 세포에서 세포내 응집체 형성을 유도할 수 있다(문헌[Nonaka et al., Cell Reports 4 (2013), 124-134]; 문헌[Feiler et al., 2015; Porta et al., Nat. Comm., 2018]). 또한 세포내 TDP-43 응집체가 다음 세포로 확산되기 전에 엑소솜과 함께 방출되는 것이 관찰되었다(문헌[Nonaka et al., Cell Reports 4 (2013, 124-134)]). 유사하게, 아테노바이러스-형질도입된 TDP-43 발현은 세포질 응집체를 유도하며 이는 인산화, 유비퀴틴화되고 보다 중요하게는 세포간 확산을 개시하는 씨드로서 작용한다(문헌[Ishii et al., PLoS ONE 12(6): e0179375, 2017]). 환자-유래 병리학 TDP-43은 형질전환 및 야생형 마우스에 뇌내 접종 후 내인성 TDP-43의 광범위한 침착을 유발할 수 있다(문헌[Porta et al., Nat. Comm., 2018]).

VII. TDP-43 단백질병증의 예방 및 치료

TDP-43 응집 및 병리의 확산은 ALS 및 FTD의 주요 특징이다 - 현재 이용가능한 치료법이 없는 치명적인 질환임. 따라서, TDP-43 단백질병증의 치료 및 예방을 위한 새로운 방법이 필요하다. TDP-43의 돌연변이는 TDP-43 미스폴딩과 질환 진행 사이의 인과관계를 제공하는 ALS 및 FTD의 가족성 사례와 관련이 있다.

VIII. TDP-43 단백질병증 진단

특히 초기 단계에서 임상적 표현이 다른 질환과 겹칠 수 있기 때문에 임상적인 징후를 기반으로하는 FTD의 진단은 불충분하다.

다수의 접근법은 다양한 유형의 FTD 병리학을 구별하기 위한 생화학적 바이오마커의 개발을 목표로 한다. TDP-43의 상이한 형태에 대한 항체의 개발은 보다 민감하고 특이적 진단 도구를 생성하는 것을 가능케 할 수 있다. 생화학적 바이오마커와 병행하여 이미지화 바이오마커의 개발은 TDP-43 단백질병증에서 병리를 조기에 특이적으로 탐지할 수 있다. 뇌에서 TDP-43 침착을 이미지화하는 능력은 TDP-43 단백질병증에 대한 진단 및 약물 개발을 위한 실질적인 성과일 수 있다. 세포 투과성 항체 단편을 사용하면 이러한 검출을 가능케 할 수 있다.

상이한 단백질의 미스폴딩에 기초한 신경퇴행성 질환의 가장 초기 사건은 단백질 독성을 만드는데 대안적인 형태의 획득이다. 또한, 이러한 미스폴딩된 형태는 영향을 받은 조직을 통해 관찰된 확산에 대한 기계론적 기반으로 미스폴딩된 형태로 내인성, 정상 단백질을 모집함으로써 자가-전파될 수 있다.

주어진 단백질의 상이한 형태학적 상태에 대한 항체를 개발하기 위해, 제시된 항원의 형태가 특이적 형태학적 상태에서 주어진 표적에 대해 형태학적-특이적 항체를 상승시키도록 제어되는 초분자 항원 구조물을 설계하였다(국제공개 W02012/055933호 및 국제공개 W02012/020124호). 형태학적-특이적 항체는 이러한 단백질의 질환-관련 및 기능적, 내인성 형태 사이를 구별할 수 있기 때문에 다수의 이점을 제공한다. 이러한 접근법은 이러한 항체가 이의 미스폴딩된, 질환 관련 이소형을 표적으로 하는 동안 단백질의 정상적인 형태에 의해 덜 흡착될 가능성이 있기 때문에 치료 적용에 다수의 이점을 제공한다. 이와 유사하게 진단 적용의 경우 이러한 항체는 민감하고

특이적인 진단의 개발에 중요한 단백질의 질환-관련, 구조적 상태만을 인식한다.

[0024] TDP-43 단백질병증에서 TDP-43-기반 바이오마커의 사용은 여전히 확립되어야 한다. 이러한 평가는 생체유체에서 병리학적 TDP-43의 정량화에 적합한 면역분석에서 사용될 수 있는 고친화성 항체의 부족으로 인해 부분적으로 방해되었다(문헌[Feneberg et al., Molecular Neurobiology, 2018]).

[0025] 따라서, 특히 인간 샘플에서, 상이한 유형의 TDP-43 단백질병증의 진단 및/또는 TDP-43, 특히 TDP-43 응집체 관련 질환, 장애 및 이상 또는 TDP-43 단백질병증의 치료를 위해 사용되는 치료 약물의 모니터링 효율을 위한, 미스폴딩된 응집된 TDP-43 및 비-응집된 생리학적 TDP-43을 검출할 수 있는 바이오마커에 대한 분명한 요구가 존재한다.

[0026] TDP-43 단백질병증은 병리학적 TDP-43을 특징으로 하는 일련의 신경퇴행성 장애로 정의된다.

[0027] IX. 선행 기술

[0028] 특허출원 국제공개 W02008/151055호는 포유류가 신경퇴행성 질환을 갖는지 여부를 결정하기 위해 생물학적 유체에서 TDP-43 폴리펩티드 및/또는 TDP-43 폴리펩티드 절단 생성물(예컨대 25 kD 및 35 kD TDP-43 폴리펩티드 절단 생성물)의 수준을 사용하기 위한 방법 및 물질을 개시한다.

[0029] 특허 출원 국제공개 W02013/061163호는 인간 항체 및 이의 단편, 유도체 및 변이체와 같은 폴리펩티드를 포함하는 TDP-43 특이적 결합 분자를 개시한다.

[0030] 특허 출원 국제공개 W02020/234473호는 무린 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 같은 폴리펩티드를 포함하는 특이적 결합 분자를 개시한다.

[0031] 투약 요법은 약물의 표적 제품 프로파일에 있어 중요한 요소이다. 생물학적 제제의 최적치 아님(suboptimal) 노출로 인해, 현재 약물 노출은 항체를 반복적으로 투여한 후에만 도달된다. 항체의 원하는 약리학 효과에 필요한 효율적인 약물 분포를 보장하기 위해서는, *생체 내* 치료 적용에 적합한 약동학적 프로파일이 필수적이다. 일부 항체의 경우, 청소율(clearance) 및/또는 분포 부피와 같은 약동학적 매개변수를 최적화하면 *생체 내* 약물 노출을 극대화할 수 있다.

[0032] 항체는 Fc 도메인과 신생아 Fc 수용체(FcRn)의 상호작용을 통해 재활용된다. FcRn에 대한 친화성 증가는 단백질 공학을 통해 달성될 수 있으며 이는 개선된 재활용 프로파일과 더 긴 항체 반감기로 해석된다. *생체 내에서* 개선된 약동학적 프로파일을 유도하는 YTE(문헌[Dall'Acqua et al., Journal of Immunology, 2002, 69:5171-5180]) 또는 LS(문헌[Zalevsky, J et al., Nat Biotechnol 28(2):157-9, 2010]) 돌연변이와 같은 여러 세트의 돌연변이가 기술되어 있다. 일부 경우에는 높은 pI와 양전하 패치가 항체 청소율에 부정적인 영향을 미치는 것으로 나타났다(문헌[Igawa et al., PEDS. 2010; vol. 23 no. 5 pp. 385-392], 문헌[Bumbaca et al., JBC, VOL. 290, NO. 50, pp. 29732-29741, 2015]).

발명의 내용

[0033] 현재 시장에는 TDP-43 항체 치료법이 없기 때문에, *생체 내* 치료 적용에 적합한 약동학적 매개변수를 갖춘 항-TDP-43 항체가 필요하다. 임의의 특정 이론에 얽매이지 않고, 본 발명의 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 *생체 내* 치료 적용을 위한 최적의 반감기를 초래하는 인간화된 수용체 프레임워크를 포함하는 것으로 여겨진다. 본 발명의 결합 분자(특히 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27 및 hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27)는 유익한 약동학적 및 약력학적 특성을 제공하는 것으로 본원에 제시된다. 본원의 실시예 5 내지 14 및 표 9, 10 및 11을 참조한다. 본 발명의 결합 분자는 치료 용도에 적합한 반감기 및 청소율 값을 나타낸다.

[0034] *생체 내* 치료 적용에 적합한 약동학적 매개변수를 갖는 미스폴딩된 응집된 TDP-43 및 비-응집된 생리학적 TDP-43에 결합하는 인간화된 항-TDP-43 결합 분자에 대한 필요성이 존재한다. 이러한 인간화된 결합 분자, 특히 항체 및 이의 항원-결합 단편은 인간 TDP-43(SEQ ID NO: 1)의 특이적인 에피토프에 결합할 수 있다. 또한, FTD 스펙트럼 내에서 병리학 유형 간의 구별을 가능케 하는 민감성 및 특이적 바이오마커의 개발이 시급한 과제이다.

[0035] 기술적인 문제는 본원에 제공된 실시형태에 의해 해결된다.

[0036] 본 발명의 결합 분자는 무린 항체의 인간화된 형태이며, 특히 인간 TDP-43(SEQ ID NO: 1)에 결합하는 무린 모노클로날 항체의 인간화된 형태이다. 본원에서 ACI-7069-633B12-Ab1로서 언급되는 항체는 인간화된 결합 분자의 개발을 위해 선택되었다. 이러한 항체는 본원에 기술된 바와 같은 하이브리도마 클론 633B12C8로부터 유래한다.

이는 인간 TDP-43(SEQ ID NO: 1)의 아미노산 397-411 내의 에피토프에 결합한다. 보다 구체적으로, 이는 인간 TDP-43(SEQ ID NO: 1)의 아미노산 400-405의 에피토프에 결합한다. 이러한 항체는 SEQ ID NO: 28로 기재된 VH 뉴클레오티드 서열 및 SEQ ID NO: 29로 기재된 VL 뉴클레오티드 서열을 가지며(이에 의해 코딩됨), 국제공개 W02020/234473호의 표 10을 참조한다. 이러한 항체는 SEQ ID NO: 20으로 기재된 VH 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 24로 기재된 VL 아미노산 서열을 가지며, 국제공개 W02020/234473호의 표 11을 참조한다. 이러한 항체는 SEQ ID NO: 21에 기재된 VH CDR1 아미노산 서열, SEQ ID NO: 22에 기재된 VH CDR2 아미노산 서열 및 ES인 VH CDR3 아미노산 서열을 가지며, 국제공개 W02020/234473호의 표 11을 참조한다. 이러한 항체는 SEQ ID NO: 25에 기재된 VL CDR1 아미노산 서열, SEQ ID NO: 16에 기재된 VL CDR2 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 27에 기재된 VL CDR3 아미노산 서열을 가지며, 국제공개 W02020/234473호의 표 11을 참조한다.

[0037] 선택된 CDR 서열은 특정 위치에서 돌연변이될 수 있다. 일부 실시형태에서 이러한 돌연변이는 잠재적인 번역 후 변형 부위를 피하기 위해 이루어진다. 특정 실시형태에서, 다음 잔기 중 하나 이상, 최대 모두가 VH 영역(CDRH2)에서 돌연변이된다: N53, N54 및 G55. 특정 돌연변이에는 N53G, N53S, N53Q, N54Q, N54G 및 G55A가 포함된다. 잔기는 Kabat에 따라 번호가 매겨져 있다. 특정 실시형태에서, 다음 잔기 중 하나 이상, 최대 모두가 VL 영역(CDRL1 및/또는 CDRL2 및/또는 CDRL3)에서 돌연변이된다: K24, D28, G29, D55, S56 및 W89. 잔기는 Kabat에 따라 번호가 매겨져 있다. 특정 돌연변이에는 K24R, D28E, D28G, G29A, D55E, S56A, W89Y, W89F 및 W89L이 포함된다.

[0038] 특정 실시형태에서, 인간화된 결합 분자, 특히 본 발명의 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 중쇄 가변 도메인 서브패밀리 1 프레임워크 서열을 포함한다. 보다 구체적으로, 인간화된 결합 분자, 특히 본 발명의 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 IGHV1-69-2(IMG T 접근 번호 KF698734, Z29977, Z12305; UniProtKB A0A0G2JMI3), IGHV1-3(IMG T 접근 번호 X62109, X62107, MK540645, MH779622 및 MN337616; UniProtKB - A0A0C4DH29), IGHV1-2(IMG T 접근 번호 X07448, X62106, X92208, KF698733, HM855674, MH267285 및 MN337615; UniProtKB - P23083), IGHV1-46(IMG T 접근 번호 X92343, J00240, L06612 및 MK540650; UniProtKB - P01743), IGHV1-24(IMG T 접근 번호 M99642; UniProtKB - A0A0C4DH33), IGHV5-51(IMG T 접근 번호 M99686, M18806, X56368, X56367, Z27449, MK321694, IMG T000055; UniProtKB A0A0C4DH38) 또는 IGHV3-43(IMG T 접근 번호 M99672, HM855392; UniProtKB A0A0B4J1X8) VH 프레임워크 서열, 바람직하게는 IGHV1-69-2 VH 프레임워크 서열을 포함할 수 있다.

[0039] 특정 실시형태에서, 인간화된 결합 분자, 특히 본 발명의 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 경쇄 가변 도메인 카파 서브패밀리 2 프레임워크 서열을 포함한다. 보다 구체적으로, 인간화된 결합 분자, 특히 본 발명의 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 IGKV2-30(IMG T 접근 번호 X63403 및 FM164408; UniProtKB - P06310), IGKV2-29(IMG T 접근 번호 X63396, U41645 및 AJ783437; UniProtKB - A2NJV5), IGKV2D-29(IMG T 접근 번호 M31952 및 U41644; UniProtKB - A0A075B6S2) IGKV2-28(IMG T 접근 번호 X63397; UniProtKB - A0A075B6P5), IGKV2-24(IMG T 접근 번호 X12684; UniProtKB - A0A0C4DH68), IGKV2D-28(IMG T 접근 번호 X12691; UniProtKB - P01615), IGKV2-40(IMG T 접근 번호 X59314 및 X59317; UniProtKB - A0A087WW87), IGKV2D-40(IMG T 접근 번호 X59311; UniProtKB -P01614) 또는 IGKV4-1(IMG T 접근 번호 Z00023 및 MW316673; UniProtKB - P06312) VL 프레임워크 서열, 바람직하게는 IGKV2-40, IGKV2D-40, IGKV2D-28, IGKV4-1 또는 IGKV2-28 VL 프레임워크 서열, 가장 바람직하게는 IGKV2-28(IMG T 접근 번호 X63397; UniProtKB - A0A075B6P5) VL 프레임워크 서열을 포함할 수 있다.

[0040] 일 실시형태에서, 본 발명의 인간화된 결합 분자, 특히 본 발명의 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 IGHV1-69-2 및 IGKV2-28 프레임워크 서열을 포함한다.

[0041] 선택된 프레임워크 서열은 특정 위치에서 돌연변이될 수 있다. 일부 실시형태에서 이러한 돌연변이는 CDR 루프 형태(conformation) 및/또는 VH와 VL 도메인 사이의 가변 도메인 패킹에 긍정적으로 영향을 미치도록 이루어진다. 특정 실시형태에서, 하기 표 2에 나열된 잔기 중 하나 이상, 최대 모두가 돌연변이되며, Kabat 번호매김에 따른다. 특정 실시형태에서, 하기 VH 돌연변이 중 하나 이상, 최대 모두가 이루어지며, Kabat 번호매김에 따른다: V24T, Y27F, M48I, Q64K, A71V, T73K, T94R. 특정 실시형태에서, 하기 VL 돌연변이 중 하나 이상, 최대 모두가 이루어진다(Kabat 번호매김에 따름): I2V, Y36L, Q45K, L46R, G57R. 특정 실시형태에서, 하기 VH 돌연변이 중 하나 이상, 최대 모두가 이루어지고: V24T, Y27F, M48I, Q64K, A71V, T73K, T94R, 하기 VL 돌연변이 중 하나 이상, 최대 모두가 이루어진다: I2V, Y36L, Q45K, L46R, G57R, 모두 Kabat 번호매김에 따름.

[0042] 따라서, 본 발명은 특히 미스폴딩된 응집된 TDP-43 및 비-응집된 생리학적 TDP-43을 인식하는 인간화된 결합 분

자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 관한 것이다. 본 발명 내에서, 미스폴딩된 TDP-43은 미스폴딩된 모노머 및/또는 미스폴딩된 올리고머 및/또는 미스폴딩된 응집된 및/또는 번역 후 변형된 및/또는 미스폴딩된 절단된 TDP-43을 포함한다. 번역 후 변형된 TDP-43은 인산화된, 유비퀴틴화된, 아세틸화된, 수모화된, 및/또는 메틸화된 TDP-43을 포함한다. 생리학적 TDP-43은 가용성 핵 TDP-43을 포함한다. 본 발명의 인간화된 결합 분자가 TDP-43 응집체 및 인산화된 TDP-43을 포함하여 병리학적 TDP-43에 결합할 수 있음이 본원에서 입증된다. 따라서, 본 발명은 미스폴딩된 응집된 TDP-43 및 비-응집된 생리학적 TDP-43을 특이적으로 인식하는 인간화된 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 이러한 결합 분자는 본원에서 인간화된 "pan-TDP-43" 결합 분자, 특히 인간화된 pan-TDP-43 항체로 지칭된다. 본원에서 설명된 바와 같이, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자는 미스폴딩된 응집된 TDP-43 및 비-응집된 생리학적 TDP-43에 동등하게 결합하거나, TDP-43의 두 부류 모두에 특이적으로 결합하면서 하나에 우선적으로 다른 하나에 결합할 수 있다. 본 발명은 또한 TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및 이상, 또는 TDP-43 단백질병증의 예방, 완화, 치료 및/또는 진단을 위한, 인간화된 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 본 발명은 또한 신경 퇴행을 유발하는 특이적 유형의 병리학을 검출 및/또는 이해(즉, 식별)하기 위한 인간화된 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. TDP-43 단백질병증에 대한 새로운 치료제의 개발을 지원하는 임상 연구에서 종단 모니터링을 위한 보다 효율적이고 정확한 대상체 선별을 가능케 하는 진단 바이오마커의 사용이 예상된다.

[0043] 본 발명은 또한 약제(치료제)로서 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0044] 이론에 얽매이지 않고, 본 발명은 TDP-43 단백질 또는 전체 TDP-43 단백질로부터 유도된 변형된 형태-특이적 항원 펩티드 및 펩티드 단편 및 상기 펩티드 또는 단편 또는 전체 TDP-43 단백질을 사용하여 수득가능하거나 수득된 인간화된 항체가 TDP-43 세포간 전파를 차단, 및/또는 TDP-43 응집체를 분해 및/또는 TDP-43 씨딩을 차단 및/또는 씨딩 능력이 있는 TDP-43을 중화 및/또는 TDP-43 단백질을 또는 이의 단편의 응집을 억제 및/또는 TDP-43의 청소율을 강화한다는 가정에 기반하여 개발되었다. 본 발명의 인간화된 결합 분자, 특히 인간화된 폴리펩티드, 보다 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 미스폴딩된 응집된 TDP-43, 특히 세포질 및 세포외 미스폴딩된 TDP-43에 결합한다. 본 발명의 인간화된 결합 분자, 특히 인간화된 폴리펩티드, 보다 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 전장 TDP-43 및/또는 절단된 TDP-43에 결합한다. 일 실시형태에서, 본 발명의 인간화된 결합 분자, 특히 인간화된 폴리펩티드, 보다 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 세포질 미스폴딩된 TDP-43에 특이적으로 결합한다. 일 실시형태에서, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 씨딩 능력이 있는 TDP-43에 결합하여 중화시킨다. 일 실시형태에서, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 세포외 및/또는 응집된 TDP-43에 결합하여 항체-의존성 세포 식균작용(ADCP: antibody-dependent cellular phagocytosis)을 통해 소교세포와 같은 면역 세포에 의한 청소율을 강화한다.

[0045] 미스폴딩된 응집된, 또는 병리학-관련, TDP-43은 이의 정상 폴딩을 잃고(즉, 미스폴딩되고) 국소화된 TDP-43 단백질로 구성된다. 미스폴딩된 응집된 TDP-43은 TDP-43에 면역반응성인 사전봉입체 및 뉴런 및 신경교 세포질 봉입체(각각 NCI 및 GCI), 뉴런 핵내 봉입체(NII) 및 이영양성 신경돌기(DN)에서 발견될 수 있다.

[0046] 비-응집된 생리학적 TDP-43은 생리학적으로 기능적인 TDP-43 단백질로서 주로 핵에 위치하고 세포질로 왕복하며, 생체 내 세포 환경에서 원하는 기능을 나타낼 수 있는 상태이다.

[0047] 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 항-TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 놀랍게도 다음의 특성 중 적어도 1개, 바람직하게는 2개, 보다 바람직하게는 3개, 보다 더 바람직하게는 4개, 보다 더 바람직하게는 5개, 보다 더 바람직하게는 6개, 가장 바람직하게는 7개 모두를 갖는다:

[0048] - TDP-43 세포간 전파 차단;

[0049] - TDP-43 응집체 분해;

[0050] - TDP-43 단백질을 또는 이의 단편의 응집 억제;

[0051] - TDP-43 씨딩 차단;

[0052] - 씨딩 능력이 있는 TDP-43 중화;

[0053] - TDP-43 확산 차단; 및

- [0054] - TDP-43 청소율 강화.
- [0055] 상기 열거된 특성 중 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7개의 조합과 무관하게, 본 발명의 인간화된 항-TDP-43 결합 분자, 바람직하게는 인간화된 항-TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 TDP-43 단백질병증의 생체 내 모델 및 보다 중요하게는 TDP-43 병리가 있는 환자에서 TDP-43 병리의 형성을 개선/억제/감소시킬 수 있다.
- [0056] 인간화된 항-TDP-43 결합 분자는 인간 TDP-43(SEQ ID NO: 1)의 아미노산 397-411 내의 영역에 결합하며, 보다 구체적으로 인간화된 TDP-43 결합 분자는 인간 TDP-43(SEQ ID NO: 1)의 아미노산 잔기 400-405 내의 에피토프에 결합한다.
- [0057] 본 발명에 따르면, 하기를 포함하는 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 제공된다:
- [0058] a. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1;
- [0059] b. SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 92; SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 112 또는 SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열로부터 선택되는 VH-CDR2;
- [0060] c. 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3;
- [0061] d. SEQ ID NO: 25 또는 SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열로부터 선택되는 VL-CDR1;
- [0062] e. SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열로부터 선택되는 VL-CDR2;
- [0063] f. SEQ ID NO: 27 또는 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열로부터 선택되는 VL-CDR3; 및
- [0064] g. IGHV1-69-2, IGHV5-51 또는 IGHV3-43으로 이루어진 군으로부터, 바람직하게는 IGHV1-69-2로부터 선택되는 중쇄 가변 도메인(VH)의 수용체 프레임워크; 및/또는
- [0065] h. IGKV2-28, IGKV2-24, IGKV2D-28, IGKV2-40, IGKV2D-40 또는 IGKV4-1로 이루어진 군으로부터, 바람직하게는 IGKV2-28로부터 선택되는 경쇄 가변 도메인(VL)의 수용체 프레임워크.
- [0066] 바람직한 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 결합 분자는 하기 VH 돌연변이 중 하나 이상, 바람직하게는 모두를 포함하는 VH의 수용체 프레임워크를 포함하고/하거나:
- [0067] a. V24T;
- [0068] b. M48I;
- [0069] c. A71V;
- [0070] d. T73K; 및
- [0071] e. T94R; 하기 VL 돌연변이 중 하나 이상을 포함하는 VL의 수용체 프레임워크를 포함한다:
- [0072] f. I2V;
- [0073] g. Y36L;
- [0074] h. Q45K;
- [0075] i. L46R; 및
- [0076] j. G57R(번호매김은 Kabat을 따름).
- [0077] 바람직한 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 결합 분자는 하기 VH 돌연변이 중 하나 이상, 바람직하게는 모두를 포함하는 VH의 수용체 프레임워크를 포함하고/하거나:
- [0078] a. V24T;
- [0079] b. Y27F
- [0080] c. M48I;
- [0081] d. A71V;
- [0082] e. T73K; 및

- [0083] f. T94R; 하기 VL 돌연변이 중 하나 이상을 포함하는 VL의 수용체 프레임워크를 포함한다:
- [0084] g. I2V;
- [0085] h. Y36L;
- [0086] i. Q45K;
- [0087] j. L46R; 및
- [0088] k. G57R(번호매김은 Kabat을 따름).
- [0089] 보다 바람직한 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 결합 분자는 하기 VH 돌연변이 모두를 포함하는 VH의 수용체 프레임워크를 포함하고/하거나:
- [0090] a. V24T;
- [0091] b. M48I;
- [0092] c. A71V;
- [0093] d. T73K; 및
- [0094] e. T94R; 하기 VL 돌연변이 중 하나 이상, 바람직하게는 모두를 포함하는 VL의 수용체 프레임워크를 포함한다:
- [0095] f. Y36L;
- [0096] g. L46R; 및
- [0097] h. G57R(번호매김은 Kabat을 따름).
- [0098] 보다 바람직한 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 결합 분자는 하기 VH 돌연변이 모두를 포함하는 VH의 수용체 프레임워크를 포함하고/하거나:
- [0099] a. V24T;
- [0100] b. Y27F
- [0101] c. M48I;
- [0102] d. A71V;
- [0103] e. T73K; 및
- [0104] f. T94R; 하기 VL 돌연변이 중 하나 이상, 바람직하게는 모두를 포함하는 VL의 수용체 프레임워크를 포함한다:
- [0105] i. Y36L;
- [0106] j. L46R; 및
- [0107] k. G57R(번호매김은 Kabat을 따름).
- [0108] 바람직한 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 결합 분자는 하기 VH 돌연변이 모두를 포함하는 VH의 수용체 프레임워크를 포함하고:
- [0109] a. V24T;
- [0110] b. M48I;
- [0111] c. A71V;
- [0112] d. T73K; 및
- [0113] e. T94R; 하기 VL 돌연변이 중 하나 이상, 바람직하게는 모두를 포함하는 VL의 수용체 프레임워크를 포함한다:

- [0114] f. Y36L;
- [0115] g. L46R; 및
- [0116] h. G57R(번호매김은 Kabat을 따름).
- [0117] 바람직한 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 결합 분자는 하기 VH 돌연변이 모두를 포함하는 VH의 수용체 프레임워크를 포함하고:
- [0118] a. V24T;
- [0119] b. Y27F
- [0120] c. M48I;
- [0121] d. A71V;
- [0122] e. T73K; 및
- [0123] f. T94R; 하기 VL 돌연변이 중 하나 이상, 바람직하게는 모두를 포함하는 VL의 수용체 프레임워크를 포함한다:
- [0124] i. Y36L;
- [0125] j. L46R; 및
- [0126] k. G57R(번호매김은 Kabat을 따름).
- [0127] 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하기를 포함할 수 있다:
- [0128] a. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1;
- [0129] b. SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 122 또는 SEQ ID NO: 102의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2;
- [0130] c. 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3;
- [0131] d. SEQ ID NO: 25 또는 SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열로부터 선택되는 VL-CDR1;
- [0132] e. SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열로부터 선택되는 VL-CDR2; 및
- [0133] f. SEQ ID NO: 27 또는 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열로부터 선택되는 VL-CDR3.
- [0134] 바람직한 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하기를 포함한다:
- [0135] a. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1;
- [0136] b. SEQ ID NO: 112 또는 SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열로부터 선택되는 VH-CDR2;
- [0137] c. 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3;
- [0138] d. SEQ ID NO: 25 또는 SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열로부터 선택되는 VL-CDR1;
- [0139] e. SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열로부터 선택되는 VL-CDR2; 및
- [0140] f. SEQ ID NO: 27 또는 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열로부터 선택되는 VL-CDR3.
- [0141] 일부 실시형태에서, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자는 하기를 포함한다:
- [0142] - SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 및 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3; 또는
- [0143] - SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 112의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 및 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 VL-

CDR3;

[0144] - SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 112의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 및 SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3;

[0145] - SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 및 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3;

[0146] - SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 및 SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3;

[0147] - SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 112의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 및 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3;

[0148] - SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 및 SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3;

[0149] 본 발명은 또한 특히 (i) 인간화된 TDP-43 결합 분자를 포함하는 면역접합체, (ii) 인간화된 TDP-43 결합 분자를 포함하는 표지된 항체, (iii) 인간화된 TDP-43 결합 분자 및 약학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제 및/또는 희석제를 포함하는 약학 조성물, (iv) 인간 또는 수의학적 의약 용도용 인간화된 TDP-43 결합 분자, (v) TDP-43 또는 TDP-43 단백질병증과 관련된 질환, 장애 및/또는 이상의 예방, 완화, 치료에서 사용하기 위한 인간화된 TDP-43 결합 분자, (vi) 진단용(특히 생체 내 진단, 및 시험관 내 시험) 인간화된 TDP-43 결합 분자, (vii) 연구용, 특히 분석 도구 또는 참조 분자로서 인간화된 TDP-43 결합 분자, (viii) TDP-43과 관련된 질환, 장애 및/또는 이상 또는 TDP-43 단백질병증을 모니터링하기 위한 진단 도구로서 사용하기 위한 인간화된 TDP-43 결합 분자, (ix) 개인을 인간화된 TDP-43 결합 분자로 치료함으로써 TDP-43과 관련된 질환, 장애 및/또는 이상 또는 TDP-43 단백질병증이 있는 개인에서 인지 기억 능력을 유지 또는 증가시키거나 기억 상실을 늦추는 방법, (x) 개인을 인간화된 TDP-43 결합 분자로 치료함으로써 개인에서 응집된 TDP-43 및/또는 인산화된 TDP-43의 수준을 감소시키는 방법, (xi) 인간화된 TDP-43 결합 분자를 코딩하는 핵산 분자, (xii) 본 발명의 핵산 분자를 포함하는 재조합 발현 벡터, (xiii) 본 발명의 핵산 및/또는 벡터를 포함하는 숙주 세포, (xiv) 본 발명의 재조합 발현 벡터를 함유하는 무세포 발현 시스템, (xv) 인간화된 TDP-43 결합 분자를 생산하는 방법, (xvi) 인간화된 TDP-43 결합 분자를 사용하여 대상체로부터 수득된 샘플에서 TDP-43을 정량화하는 방법, 및 (xvii) 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자 및/또는 핵산, 발현 벡터, 숙주 세포 및/또는 이들을 생산하기 위한 무세포 발현 시스템을 포함하는 키트에 관한 것이다.

[0150] 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 항 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 미세아교세포를 모집 및/또는 활성화할 수 있다. 보다 특히, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자는 세포 크기 및 활성화 상태의 관점에서 미세아교세포 형태에 영향을 미칠 수 있다. 이는 본 발명의 TDP-43 결합 분자에 의해 입증된 TDP-43 병리의 감소에 기여할 수 있다.

[0151] 본 발명에서, 인간화된 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 TDP-43을 특이적으로 인식한다. 본 발명의 인간화된 결합 분자는 TDP-43 단백질에/을 위해 특이적인 인간화된 폴리펩티드 및/또는 인간화된 항체 및/또는 이의 항원-결합 단편을 포함한다. "TDP-43을 특이적으로 인식하다"는 본 발명의 인간화된 결합 분자가 TDP-43, 특히 TDP-43 내의 일부 에피토프, 특히 TDP-43 단백질의 하나 이상의 병리학적 형태에 노출된/접근가능한 에피토프에 다른 에피토프보다 더 큰 친화도로 특이적으로, 일반적으로, 그리고 집단적으로 결합하는 것을 의미한다. TDP-43에 특이적으로 결합하는 본 발명의 인간화된 결합 분자, 특히 인간화된 폴리펩티드,

보다 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 미스폴딩된 응집된 TDP-43 및 비-응집된 생리학적 TDP-43을 특이적으로 인식한다.

[0152] 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 비-응집된 생리학적 TDP-43 및 응집된 TDP-43 둘 모두에 결합한다. 따라서, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 가용성 및 응집된 TDP-43에 대략 동등하게 잘 결합할 수 있다. 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 비-응집된 TDP-43에 비해 응집된 TDP-43에 대략 동등하게 결합할 수 있다. 보다 특히, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 핵에서 비-응집된 TDP-43에 비해 세포질에서 응집된 TDP-43에 대략 동등하게 결합할 수 있다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 비-응집된 TDP-43에 비해 응집된 TDP-43에 우선적으로 결합할 수 있지만, 두 종 모두에 결합한다. 보다 특히, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 핵에서 비-응집된 TDP-43에 비해 세포질에서 응집된 TDP-43에 우선적으로 결합할 수 있지만, 두 종 모두에 결합한다. 대안적으로, 다른 실시형태에서, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 응집된 TDP-43에 비해 비-응집된 TDP-43에 우선적으로 결합할 수 있지만, 두 종 모두에 결합한다. 보다 특히, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 세포질에서 응집된 TDP-43에 비해 핵에서 비-응집된 TDP-43에 우선적으로 결합할 수 있지만, 두 종 모두에 결합한다. 이러한 결합 특성은 예를 들어 면역조직화학을 사용하여 입증될 수 있다.

[0153] 일부 실시형태에서, 본 발명은 TDP-43에 특이적으로 결합하는 본원에 기술된 본 발명의 인간화된 결합 분자, 특히 인간화된 항체 및 이의 항원-결합 단편, 및 비제한적으로 전측두엽 치매(FTD), 근위축성 측삭 경화증(ALS), 알츠하이머병(AD), 파킨슨병(PD), 만성 외상성 뇌병증(CTE) 및 변연계-우세 연령-관련 TDP-43 뇌병증(LATE)을 포함하여 TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증의 진단, 예방, 완화 및/또는 치료를 위한 이러한 인간화된 결합 분자의 용도를 포괄한다. 본원에 개시된 방법 및 조성물은 비제한적으로 전측두엽 치매(FTD), 근위축성 측삭 경화증(ALS)을 포함하여 TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증의 진단, 예방, 완화 및/또는 치료를 위한 이러한 인간화된 결합 분자의 용도는 근위축성 측삭 경화증(ALS), 알츠하이머병(AD) 또는 전측두엽 치매(FTD)에 관한 것이다. 보다 바람직하게는, 상기 용도는 근위축성 측삭 경화증(ALS)에 관한 것이다. 보다 바람직하게는, 상기 용도는 알츠하이머병(AD)에 관한 것이다. 보다 바람직하게는, 상기 용도는 전측두엽 치매(FTD)에 관한 것이다.

[0154] 또 다른 실시형태에서, TDP-43에 특이적인 본원에 기술된 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 항 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 전측두엽 치매(FTD, 예컨대 산발성 또는 가족성, 운동-뉴런 질환(MND)이 있거나 없는 것, 프로그래놀린(GRN) 돌연변이가 있는 것, C9orf72 돌연변이가 있는 것, TARDBP 돌연변이가 있는 것, 발로신-함유 단백질(VCP)의 돌연변이가 있는 것, 염색체 9p와 연결된 것, 피질기저 퇴행, 유비쿼틴-양성 TDP-43 봉입체(FTLD-TDP)가 있는 전측두엽 퇴행(FTLD), 호은성 입자 질병, 픽병, 의미형 변이체 원발 진행성 실어증(svPPA), 행동 변이 FTD(bvFTD), 비유창 변이 원발 진행성 실어증(nfvPPA) 등), 근위축성 측삭 경화증(ALS, 예컨대 산발성 ALS, TARDBP 돌연변이가 있는 것, 안지오제닌(ANG) 돌연변이가 있는 것), 알렉산더병(AxD), 변연계-우세 연령-관련 TDP-43 뇌병증(LATE), 만성 외상성 뇌병증(CTE), 페리 증후군, 알츠하이머병(AD, AD의 산발성 및 가족성 형태 포함), 다운 증후군, 영국 가족성 치매, 폴리글루타민 질환(헌팅턴병 및 척수소뇌 실조 유형 3(SCA3; 마카도 조셉병으로도 알려져 있음)), 헤마 경화증 치매 및 근병증(산발성 봉입체 근염, 발로신-함유 단백질(VCP); 또한 골의 파제트병 및 전측두엽 치매)에 돌연변이가 있는 봉입체 근염, 테두리 액포가 있는 눈인두 근이영양증, 미오티린(MYOT) 유전자의 돌연변이 또는 데스민(DES)을 코딩하는 유전자의 돌연변이가 있는 근섬유 근병증), 외상성 뇌손상(TBI), 루이소체가 있는 치매(DLB) 또는 파킨슨병(PD)으로부터 선택되는, TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증의 검출, 진단 및/또는 모니터링을 위해 샘플과 접촉된다.

[0155] 일 실시형태에서, 본 발명은 샘플에서 TDP-43의 존재를 검출하기 위한, TDP-43에 특이적으로 결합하는 본원에 기술된 바와 같은 본 발명의 인간화된 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 이러한 인간화된 결합 분자, 특히 이러한 인간화된 항체의 용도를 포함한다. 따라서, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 예컨대, 본원에 기술된 바와 같은 인간화된 항-TDP43 항체는 그 중에서도, 예컨대 ELISA-기반 또는 표면 적 응 분석을 사용하여 샘플에서 TDP-43의 존재에 대해 임상 샘플, 특히 인간 혈액, 뇌척수액(CSF), 장액(ISF) 및/

또는 소변을 스크리닝하는데 사용될 수 있다. 조직 샘플은 뇌 조직 샘플과 같은 일부 상황에서 사용될 수 있다. 본 발명의 방법 및 조성물은 또한 증상전(presymptomatic) 질환을 진단하고/하거나 질환 진행 및/또는 치료 효능을 모니터링하는데 적용된다. 일부 실시형태에 따르면, TDP-43에 특이적인 인간화된 항체(예컨대, 전장 인간화된 항체 또는 TDP-43 결합 단편 또는 인간화된 항체의 유도체)가 전측두엽 치매(FTD, 예컨대 산발성 또는 가족성, 운동-뉴런 질환(MND)이 있거나 없는 것, 프로그래놀린(GRN) 돌연변이가 있는 것, C9orf72 돌연변이가 있는 것, TARDBP 돌연변이가 있는 것, 발로신-함유 단백질(VCP)의 돌연변이가 있는 것, 염색체 9p와 연결된 것, 피질기저 퇴행, 유비퀴틴-양성 TDP-43 봉입체(FTLD-TDP)가 있는 전측두엽 퇴행(FTLD), 호은성 입자 질병, 픽병, 의미형 변이체 원발 진행성 실어증(svPPA), 행동 변이 FTD(bvFTD), 비유창 변이 원발 진행성 실어증(nfvPPA) 등), 근위축성 측삭 경화증(ALS, 예컨대 산발성 ALS, TARDBP 돌연변이가 있는 것, 안지오제닌(ANG) 돌연변이가 있는 것), 알렉산더병(AxD), 변연계-우세 연령-관련 TDP-43 뇌병증(LATE), 만성 외상성 뇌병증(CTE), 페리 증후군, 알츠하이머병(AD, AD의 산발성 및 가족성 형태 포함), 다운 증후군, 영국 가족성 치매, 폴리글루타민 질환(헌팅턴병 및 척수소뇌 실조 유형 3(SCA3; 마카도 조셉병으로도 알려져 있음)), 해마 경화증 치매 및 근병증(산발성 봉입체 근염, 발로신-함유 단백질(VCP); 또한 골의 파제트병 및 전측두엽 치매)에 돌연변이가 있는 봉입체 근염, 테두리 액포가 있는 눈인두 근이영양증, 미오틴린(MYOT) 유전자의 돌연변이 또는 데스민(DES)을 코딩하는 유전자의 돌연변이가 있는 근섬유 근병증), 외상성 뇌손상(TBI), 루이소체가 있는 치매(DLB) 또는 파킨슨병(PD)을 검출, 진단 및/또는 모니터링 하기 위해 샘플(예컨대, 혈액, 소변, 뇌척수액(CSF), 장액(ISF) 또는 뇌 조직)과 접촉된다. 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자는 적합한 샘플, 특히 임상 샘플 예컨대 혈액, 뇌 조직, CSF, ISF 또는 소변에서 질환 및/또는 보다 진행된 질환을 나타내는, 적합한 대조군에 비해 상대적으로 높은 TDP-43 수준을 나타내는 TDP-43을 정량화하는데 사용될 수 있다. 다수의 적합한 면역분석 포맷이 알려져 있다. 따라서, 상기 방법(예컨대 ELISA, MSD(Meso Scale Discovery), HTRF(Homogeneous Time Resolved Fluorescence) 및 AlphaLISA)이 질환을 나타내는 높은 수준의 TDP-43으로 진단 목적으로 수행될 수 있다. 대안적으로, 상기 방법은 모니터링 목적으로 수행될 수 있다. 시간 경과에 따른 수준 증가는 질환의 진행을 나타낼 수 있다. 시간 경과에 따른 수준 감소는 질환 퇴행을 나타낼 수 있다. 상기 방법은 또한 요법을 모니터링하기 위해, 특히 특정 치료의 효능을 모니터링하기 위해 사용될 수 있다. 성공적인 요법은 치료 후 TDP-43의 안정한 또는 감소하는 수준을 참고하여 측정될 수 있다. TDP-43 수준이 건강한 대상체(건강한 대조군)로부터 취해진 대조군 샘플보다 TDP-43 단백질병증 환자의 CSF 샘플에서 더 높다는 것이 국제공개 WO2020/234473호의 실시예 12에서 입증되었다. 대조군 샘플은 시험 샘플과 병렬로 실행될 수 있거나 실행되지 않을 수 있다. 일부 실시형태에서 대조군 수준은 유사하거나 동일한 실험 조건 하에서 건강한 대상체로부터 취해진 일련의 대조군 샘플로부터 결정되고 시험 샘플에서 결정된 수준에 대한 비교기로 사용된다. 본 발명의 인간화된 결합 분자를 사용하여 적합한 샘플에서 TDP-43을 정량화하는 방법은 또한 요법(대상체의 추가 치료를 위해)을 선택하는데 사용될 수 있다. 따라서, 개인화된 치료 방법이 고려된다. 샘플은 치료 전후에 채취된다. 요법을 사용한 치료가 안정하거나 바람직하게는 치료 후 TDP-43 수준을 감소시키는 경우 해당 대상체에 대해 요법을 선택할 수 있다. 요법이 치료 후 TDP-43의 수준을 안정하게, 또는 바람직하게는 감소시키지 않는 경우 요법은 대상체에 대해 선택되지 않는다. 요법은 TDP-43 단백질병증의 치료를 위한 임의의 적합한 후보 치료제일 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 요법은 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자를 전형적으로 본원에 기술된 약학 조성물 형태로 포함한다.

- [0156] 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자는 또한 특정 유형 또는 하위유형으로의 질환 분류에 사용될 수 있다. 따라서, 다음의 단계를 포함하는, TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상을 분류하는 방법 또는 TDP-43 단백질병증 분류 방법이 제공된다:
- [0157] a. TDP-43 수준을 적합한 대조군과 비교하여 정량화하는 본 발명의 방법을 수행하는 단계,
- [0158] b. 비제한적으로 프로그래놀린(GRN) 돌연변이, C9orf72 돌연변이, TARDBP 돌연변이, 안지오제닌(ANG) 돌연변이, 발로신-함유 단백질(VCP)의 돌연변이, 미오틴린(MYOT) 유전자의 돌연변이 또는 데스민(DES)을 코딩하는 유전자의 돌연변이를 포함하여 선택적으로 대상체의 샘플에서 돌연변이를 식별하는 단계, 및
- [0159] c. TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증을 분류하는 단계.
- [0160] 유사하게, 다음의 단계를 포함하는 TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상을 분류하는 방법, 또는 TDP-43 단백질병증을 분류하는 방법이 제공된다: TDP-43과 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증이 있는 대상체로부터 수득된 샘플에서 TDP-43의 수준을 정량화하는 본 발명의 방법을 수행하는 단계로서, 여기서 상기 수준은 TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 상이한 유형 또는 하위유형의 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증이 있는 대상체로부터 채취된 대조군 샘플과 비교

되는 단계(즉, 대조군 수준의 대표적인 세트가 관심 유형 또는 하위유형에 대해 결정됨); 및 TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증을 비교에 기초하여 분류하는 단계. 따라서, 분류는 시험 샘플과 하나 이상의 대조군 샘플 사이에서 가장 근접한 일치를 결정하는 것을 기반으로 한다. 이러한 방법은 비제한적으로 프로그래놀린(GRN) 돌연변이, C9orf72 돌연변이, TARDBP 돌연변이, 안지오제닌(ANG) 돌연변이, 발로신-함유 단백질(VCP)의 돌연변이, 미오티린(MYOT) 유전자의 돌연변이 또는 데스민(DES)을 코딩하는 유전자의 돌연변이를 포함하여 샘플에서 돌연변이를 식별하는 단계를 추가로 포함할 수 있으며, 여기서 식별된 돌연변이는 또한 TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증을 분류하기 위해 사용된다. 의심의 여지를 없애기 위해, 샘플에서 돌연변이의 식별은 임의의 적합한 방법에 의해; 예컨대 샘플 내의 핵산 분자의 핵산 서열분석에 기초하여 수행될 수 있다. 샘플은 TDP-43 수준이 결정되는 샘플과 분리되고 구별될 수 있지만, 동일한 대상체에서 유래한다.

[0161] 다른 실시형태에서, 본 발명은 TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증의 예방, 완화 및/또는 치료 방법을 제공한다. 일 실시형태에 따르면, 본 발명의 방법은 유효 농도의 인간화된 결합 분자, 특히 본원에 기술된 바와 같이 TDP-43에 특이적인 본 발명의 인간화된 항체(예컨대 전장 항체 또는 TDP-43 결합 단편 또는 항체 유도체)를 대상체에 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명은 TDP-43 단백질병증의 예방, 완화 및/또는 치료 방법을 제공한다. 일부 실시형태에 따르면, 인간화된 결합 분자, 특히 TDP-43에 특이적인 본원에 기술된 바와 같은 본 발명의 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 전측두엽 퇴행(FTD) 또는 근위축성 측삭 경화증(ALS)을 치료, 완화 및/또는 예방하기 위해 투여된다. 또 다른 실시형태에서, 인간화된 결합 분자, 특히 TDP-43에 특이적인 본원에 기술된 바와 같은 본 발명의 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 전측두엽 치매(FTD), 근위축성 측삭 경화증(ALS), 알츠하이머병(AD, AD의 산발성 및 가족성 형태 포함), 파킨슨병(PD), 만성 외상성 뇌병증(CTE), 변연계-우세 연령-관련 TDP-43 뇌병증(LATE)으로부터 선택되는 신경퇴행성 질환의 예방, 완화 및/또는 치료를 위해 투여된다.

[0162] 또 다른 실시형태에서, 인간화된 결합 분자, 특히 TDP-43에 특이적인 본원에 기술된 바와 같은 본 발명의 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 전측두엽 치매(FTD, 예컨대 산발성 또는 가족성, 운동-뉴런 질환(MND)이 있거나 없는 것, 프로그래놀린(GRN) 돌연변이가 있는 것, C9orf72 돌연변이가 있는 것, TARDBP 돌연변이가 있는 것, 발로신-함유 단백질(VCP)의 돌연변이가 있는 것, 염색체 9p와 연결된 것, 피질기저 퇴행, 유비퀴틴-양성 TDP-43 봉입체(FTLD-TDP)가 있는 전측두엽 퇴행(FTLD), 호은성 입자 질병, 픽병, 의미형 변이체 원발 진행성 실어증(svPPA), 행동 변이 FTD(bvFTD), 비유창 변이 원발 진행성 실어증(nfvPPA) 등), 근위축성 측삭 경화증(ALS, 예컨대 산발성 ALS, TARDBP 돌연변이가 있는 것, 안지오제닌(ANG) 돌연변이가 있는 것), 알렉산더병(AxD), 변연계-우세 연령-관련 TDP-43 뇌병증(LATE), 만성 외상성 뇌병증(CTE), 폐리 증후군, 알츠하이머병(AD, AD의 산발성 및 가족성 형태 포함), 다운 증후군, 영국 가족성 치매, 폴리글루타민 질환(헌팅턴병 및 척수소뇌 실조 유형 3(SCA3; 마카도 조셉병으로도 알려져 있음), 해마 경화증 치매 및 근병증(산발성 봉입체 근염, 발로신-함유 단백질(VCP); 또한 골의 파제트병 및 전측두엽 치매)에 돌연변이가 있는 봉입체 근염, 테두리 액포가 있는 눈인두 근이영양증, 미오티린(MYOT) 유전자의 돌연변이 또는 데스민(DES)을 코딩하는 유전자의 돌연변이가 있는 근섬유 근병증), 외상성 뇌손상(TBI), 루이소체가 있는 치매(DLB) 또는 파킨슨병(PD)으로부터 선택되는 질환의 예방, 완화 및/또는 치료를 위해 투여된다.

[0163] **본 발명의 실시형태의 상세한 설명**

[0164] **X. 정의**

[0165] 본원에서 사용된 바와 같이, "항원 결합 분자"는 항원, 특히 TDP-43에 특이적으로 또는 선택적으로 결합할 수 있는 임의의 분자이다. 결합 분자는 항체 또는 이의 단편을 포함할 수 있거나 항체 또는 이의 단편일 수 있다. 항-TDP-43 결합 분자는 특이적 인식 부위인 에피토프에서 TDP-43 단백질에 결합하는 분자, 예컨대 항-TDP-43 항체 또는 이의 단편이다. 즉, 본 발명의 항원-결합 분자는 SEQ ID NO: 1의 아미노산 서열 내의 에피토프에 결합한다. 본원에 제공된 항원-결합 분자, 특히 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 전장 TDP-43을 인식한다. 다른 항-TDP-43 결합 분자는 또한 다가 분자, 다중-특이적 분자(예컨대, 디아바디), 융합 분자, 압타머, 아비머, 또는 다른 천연 발생 또는 재조합적으로 생성된 분자를 포함할 수 있다. 본 발명에서 유용한 예시적인 항원-결합 분자는 항체-유사 분자를 포함한다. 항체-유사 분자는 표적 분자로의 결합에 의해 기능을 나타낼 수 있는 분자이며(예컨대, 문헌[Current Opinion in Biotechnology 2006, 17:653-658]; 문헌[Current Opinion in Biotechnology 2007, 18:1-10]; 문헌[Current Opinion in Structural Biology 1997, 7:463-469]; 문헌[Protein Science 2006, 15:14-27] 참조), 예컨대, DARPins(국제공개 WO 2002/020565호), 아프바디(Affibody)(국제공개 WO 1995/001937호), 아비머(Avimer)(국제공개 WO 2004/044011호; 국제공개 WO 2005/040229호), 애드

넥틴(Adnectin)(국제공개 WO 2002/032925호) 및 피노머(fynomer)(국제공개 WO 2013/135588호)를 포함한다.

[0166] 본원에서 사용된 바와 같이 용어 "항 TDP-43 항체" 및 "TDP-43에 결합하는 항체" 또는 단순히 "항체"는 항체가 TDP-43을 표적으로 하는 진단 및/또는 치료제로서 유용할 수 있도록 충분한 친화도로 TDP-43에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다. 일반적으로, 용어 "항체"는 본원에서 최광의로 사용되며 비제한적으로 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 다중-특이적 항체(예컨대 이특이적 또는 바이파라토픽(biparatopic) 항체), 완전-인간 항체 및 원하는 항원-결합 활성을 나타내는 한 항체 단편을 포함하여, 다양한 항체 구조를 포함한다. 본 발명 내의 항체는 또한 키메라 항체, 재조합 항체, 재조합 항체의 항원-결합 단편, 인간화 항체 또는 파지 표면 상에 디스플레이되거나 키메라 항원 수용체(CAR: chimeric antigen receptor) T 세포의 표면 상에 디스플레이되는 항체일 수 있다.

[0167] 항체의 "항원-결합 단편", 또는 "이의 기능적인 단편"은 온전한 항체, 또는 전장 항체의 일부를 포함하고 온전한 항체, 또는 전장 항체가 결합하는 항원에 (완전히 또는 부분적으로) 결합하는 온전한 항체 또는 전장 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항체 단편의 예는 비제한적으로 Fv, Fab, Fab', Fab' -SH, F(ab')₂; 디아바디; 선형 항체; 단일쇄 항체 분자(예컨대 scFv); 및 항체 단편으로부터 형성된 다중-특이적 항체를 포함한다. 항원-결합 단편은 원래 유래된 항체의 결합 기능을 유지하므로 "기능적인 단편"이라고도 지칭될 수 있다.

[0168] 단백질의 한정된 영역 내의 "에피토프에 결합하는 항체"는 단백질에 결합하기 위해 해당 영역 내의 하나 초과와 아미노산의 존재를 필요로 하는 항체이다.

[0169] 특정 실시형태에서, 단백질의 한정된 영역 내의 "에피토프에 결합하는 항체"는 단백질의 아미노산이 돌연변이된 돌연변이 분석으로 식별되며, 생성된 변경된 단백질(예컨대 에피토프를 포함하는 변경된 단백질)에 대한 항체의 결합은 변경되지 않은 단백질의 결합의 적어도 20%인 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 단백질의 한정된 영역 내의 "에피토프에 결합하는 항체"는 단백질의 아미노산이 돌연변이된 돌연변이 분석으로 식별되며, 생성된 변경된 단백질(예컨대 에피토프를 포함하는 변경된 단백질)에 대한 항체의 결합은 변경되지 않은 단백질의 결합의 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90%인 것으로 결정된다. 특정 실시형태에서, 항체의 결합은 FACS, WB에 의해, 또는 ELISA와 같은 적합한 결합 분석에 의해 결정된다.

[0170] 본 발명의 맥락에서 사용된 용어 "~에 대한 결합"은 서로 적어도 2개의 "항원-상호작용-부위"의 결합(상호작용)을 정의한다. 본 발명에 따라, 용어 "항원-상호작용-부위"는 폴리펩티드의 모티프, 즉, TDP-43의 특이적 항원 또는 특이적 항원 군과 특이적으로 상호작용 능력을 나타내는 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편의 부분을 정의한다. 상기 결합/상호작용은 또한 "특이적 인식"을 정의하는 것으로 이해된다. "특이적으로 인식하는"은 본 발명에 따라 항체가 본원에 정의된 바와 같은 TDP-43의 적어도 2개의 아미노산과 특이적으로 상호작용 및/또는 결합할 수 있음, 특히 인간 TDP-43(SEQ ID NO: 1)의 아미노산 잔기 397-411 내의 적어도 2개 아미노산에 상호작용/결합할 수 있음, 보다 더 특히 인간 TDP-43(SEQ ID NO: 1)의 아미노산 잔기 400-405, 400-406 또는 400-412 내의 적어도 2개의 아미노산에 결합하여 상호작용할 수 있음을 의미한다.

[0171] 용어 "pan TDP-43 항체"는 모노머 TDP-43, 올리고머 TDP-43, 번역 후 변형된 TDP-43(예컨대 인산화된, 유비퀴틴화된, 아세틸화된, 수모화된, 및/또는 메틸화된), 응집된 TDP-43 및 절단된 TDP-43을 포함하여, 미스폴딩된 응집된 TDP-43 및 비-응집된 생리학적 TDP-43에 결합하는 항체를 지칭한다.

[0172] 본 발명에 따라 사용된 용어 "특이적 상호작용"은 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 유사한 구조의 (폴리)펩티드와 교차반응하지 않거나 본질적으로 교차반응하지 않음을 의미한다. 따라서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 특이적으로 인간 TDP-43(SEQ ID NO: 1)의 아미노산 잔기 397-411 내의 특정 아미노산 서열에 의해 형성된 TDP-43의 구조에 결합/상호작용하며, 보다 특히 인간 TDP-43(SEQ ID NO: 1)의 아미노산 잔기 400-405, 400-406 또는 400-412 내의 특정 아미노산 서열에 의해 형성된 TDP-43의 구조에 결합/상호작용한다.

[0173] 항원-결합 분자, 특히 조사 중인 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 패널의 교차반응성이 예컨대 관심 (폴리)펩티드뿐만 아니라 다소 (구조적으로 및/또는 기능적으로) 밀접하게 관련된 다수의 (폴리)펩티드에 대해 통상적인 조건 하에서(예컨대, 문헌[Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1988)] 및 문헌[Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1999)] 참조) 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 패널의 결합을 평가함으로써 시험될 수 있다. 본원에 정의된 TDP-43의 특정 구조, 예컨대 본원에 정의된 TDP-43의 특정 에피토프 또는 (폴리)펩티드/단백질에 결합하지만 동일한 TDP-43의 임의의 다른 에피토프 또는 (폴리)펩티드에 결합하지 않거나 본질적으로 결합하지

않는 다른 구조물만이(즉, 항체, 이의 항원-결합 단편 등) 관심 에피토프 또는 (폴리)펩티드/단백질에 대해 특이적인 것으로 간주되고 본원에 제공된 방법에 따라 추가로 연구하기 위해 선택된다. 이러한 방법은 그 중에서도 구조적으로 및/또는 기능적으로 밀접하게 관련된 분자와 결합 연구, 차단 및 경쟁 연구를 포함할 수 있다. 이러한 결합 연구는 또한 FACS 분석, 표면 플라즈몬 공명(SPR, 예컨대 BIACORE™ 사용), 분석적 초원심분리, 등은 적정 열량계, 형광 이방성, 형광 분광법 또는 방사성표지된 리간드 결합 분석을 포함한다.

[0174] 따라서, 특이성은 당업계에 공지된 방법 및 본원에 기술된 방법에 의해 실험적으로 결정될 수 있다. 이러한 방법은 비제한적으로 웨스턴 블롯, ELISA-, RIA-, ECL-, IRMA-시험 및 펩티드 스캔을 포함한다.

[0175] 본원에서 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 균질한 항체 집단으로부터 수득된 항체를 지칭하며, 즉, 상기 집단을 포함하는 개별적인 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이를 제외하고 동일하다. 모노클로날 항체는 단일 항원 부위에 대해 매우 특이적이다. 모노클로날 항체는 본질적으로 다른 면역글로불린에 의해 오염되지 않은 하이브리도마 배양에 의해 합성될 수 있다는 점에서 유리하다. 변형된 "모노클로날"은 항체의 실질적으로 균질한 집단에 속하는 것으로서 항체의 특성을 나타내며, 임의의 특정 방법에 의한 항체 생산을 필요로 하는 것으로 해석되어서는 안된다. 상기 언급한 바와 같이, 본 발명에 따라 사용되는 모노클로날 항체가 문헌[Kohler, Nature 256 (1975), 495]에 의해 기술된 하이브리도마 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0176] 본원에 사용된 용어 "폴리클로날 항체"는 하나 이상의 다른, 비-동일한 항체 사이에서 또는 존재 하에 생산된 항체를 지칭한다. 일반적으로, 폴리클로날 항체는 동일하지 않은 항체를 생산하는 다른 여러 B-림프구의 존재 하에 B-림프구로부터 생산된다. 통상적으로, 폴리클로날 항체는 면역화된 동물로부터 직접적으로 수득된다.

[0177] 본원에서 사용된 용어 "완전 인간 항체"는 인간 면역글로불린 단백질 서열만 포함하는 항체를 지칭한다. 완전 인간 항체는 마우스, 마우스 세포 또는 마우스 세포로부터 유도된 하이브리도마에서 생산되는 경우 무린 탄수화물 사슬을 함유할 수 있다. 유사하게, "마우스 항체" 또는 "무린 항체"는 마우스/무린 면역글로불린 단백질 서열만을 포함하는 항체를 지칭한다. 대안적으로, "완전 인간 항체"는 랫트, 랫트 세포, 랫트 세포로부터 유도된 하이브리도마에서 생산되는 경우 랫트 탄수화물 사슬을 함유할 수 있다. 유사하게, 용어 "랫트 항체"는 랫트 면역글로불린 서열만을 포함하는 항체를 지칭한다. 완전 인간 항체는 또한 예컨대 완전 인간 항체의 생산 및 스크리닝을 가능케 하는 널리 사용되는 스크리닝 기술인 파지 디스플레이에 의해 생산될 수 있다. 또한 파지 항체가 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있다. 파지 디스플레이 방법은 예컨대 미국특허 US 5,403,484호, 미국특허 US 5,969,108호 및 미국특허 US 5,885,793호에 기술되어 있다. 완전 인간 항체의 개발을 가능케 하는 다른 기술은 마우스 하이브리도마 기술의 변형을 포함한다. 마우스는 자신의 고유한 마우스 유전자와 교환하여 인간 면역글로불린 유전자좌를 함유하도록 형질전환된다(예컨대, 미국특허 US 5,877,397호 참조).

[0178] 용어 "키메라 항체"는 다른 인간 또는 비-인간 종(예컨대, 마우스, 말, 토끼, 개, 소, 닭)의 항체 영역(예컨대, 불변 영역)과 융합되거나 키메라화된 본 발명의 가변 영역을 포함하는 항체를 지칭한다.

[0179] 용어 항체는 또한 재조합 인간 항체, 이종 항체 및 이종하이브리드 항체에 관한 것이다. 용어 "재조합 (인간) 항체"는 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 모든 인간 서열 항체, 예컨대 인간 면역글로불린 유전자에 대해 형질전환된 동물(예컨대, 마우스)로부터 단리된 항체; 숙주 세포로 형질감염된 재조합 발현 벡터를 사용하여 발현된 항체, 재조합, 조합 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체, 또는 다른 DNA 서열에 대해 인간 면역글로불린 유전자 서열의 스플라이싱을 수반하는 임의의 다른 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 항체를 포함한다. 이러한 재조합 인간 항체는 인간 생식세포 면역글로불린 서열로부터 유도된 가변 및 불변 영역(존재하는 경우)을 포함한다. 그러나, 이러한 항체는 시험관 내 돌연변이유발(또는, 인간 Ig 서열에 대한 동물 형질전환이 사용되는 경우, 생체 내 체세포 돌연변이유발)에 적용될 수 있으며 따라서 재조합 항체의 VH 및 VL 영역의 아미노산 서열은 인간 생식세포 VH 및 VL 서열로부터 유래되고 관련되지만, 생체 내에서 인간 항체 생식세포 레퍼토리 내에서 자연적으로 존재하지 않을 수 있는 서열이다.

[0180] "이종 항체"는 이러한 항체를 생산하는 트랜스제닉 비-인간 유기체와 관련하여 정의된다. 이러한 용어는 트랜스제닉 비-인간 동물로 이루어지지 않은 유기체에서 발견되는 것에 상응하는 아미노산 서열 또는 코딩 핵산 서열을 갖는 항체를 지칭하며, 일반적으로 트랜스제닉 비-인간 동물 이외의 종으로부터 유래한다.

[0181] 용어 "이종하이브리드 항체"는 상이한 유기체의 경쇄 및 중쇄를 갖는 항체를 지칭한다. 예컨대, 무린 경쇄와 결합된 인간 중쇄를 갖는 항체는 이종하이브리드 항체이다. 이종하이브리드 항체의 예는 키메라 및 인간화된 항체를 포함한다.

[0182] 본 발명은 특히 인간화된 항체에 관한 것이다. 비-인간(예컨대 무린 또는 토끼) 항체의 "인간화된" 형태는 비-

인간 면역글로불린으로부터 유도된 최소 서열을 함유하는 키메라 면역글로불린, 면역글로불린 사슬 또는 이의 단편(예컨대 Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ 또는 항체의 다른 항원-결합 서열)이다. 종종, 인간화된 항체는 수용자의 상보성 결정 영역(CDR)으로부터의 잔기가 비-인간 종(공여자 항체) 예컨대 원하는 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 마우스, 랫트 또는 토끼의 CDR로부터의 잔기로 치환된 인간 면역글로불린(수용자 항체)이다. 일부 예에서, 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 잔기는 상응하는 비-인간 잔기로 대체된다. 따라서, 본원에서 IGHV1-3 VH 프레임워크 서열과 같은 특정 인간 프레임워크 서열을 언급하는 경우, 이는 단순히 생식세포 서열뿐만 아니라 돌연변이된 버전도 포함하도록 의도된다. 또한, 인간화된 항체는 수용자 항체 또는 도입된 CDR 또는 프레임워크 서열에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이러한 변형은 항체 성능을 추가로 개선 및 최적화하기 위해 이루어진다. 일반적으로, 인간화된 항체는 적어도 하나, 그리고 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역은 비-인간 면역글로불린의 것에 상응할 것이며 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 면역글로불린 컨센서스 서열의 것이다. 인간화된 항체는 또한 면역글로불린 불변 영역(Fc), 전형적으로 인간 면역글로불린의 것의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 보다 상세한 사항을 위해 문헌[Jones et al., Nature 321 (1986), 522-525]; 문헌[Reichmann Nature 332 (1998), 323-327] 및 문헌[Presta Curr Op Struct Biol 2 (1992), 593-596.]을 참조한다. 특이적인 돌연변이를 포함하여, 본 발명에 따라 사용될 수 있는 항체 인간화 방법에 대한 설명은 실시예 1을 참조할 수 있다.

[0183] 항체의 인간화를 위한 인기있는 방법은 CDR 그래프팅을 포함하며, 여기서 비-인간 "공여자" 항체의 기능적인 항원-결합 부위가 인간 "수용자" 항체 상으로 그래프팅된다. CDR 그래프팅 방법이 당업계에 공지되어 있고, 예컨대 미국특허 US 5,225,539호, 미국특허 US 5,693,761호 및 미국특허 US 6,407,213호에 기술되어 있다. 또 다른 관련된 방법은 유전자 재배열 및 유전자 전환을 겪을 수 있는 하나 이상의 인간화된 면역글로불린 유전자좌를 함유하도록 유전적으로 조작된 트랜스제닉 동물로부터 인간화된 항체의 생산이다(예컨대, 미국특허 US 7,129,084호 참조).

[0184] 따라서, 본 발명의 맥락에서, 본원에서 용어 "항체"는 완전 면역글로불린 분자뿐만 아니라 이러한 면역글로불린 분자의 부분(즉, "이의 항원-결합 단편")에 관한 것이다. 또한, 상기 논의된 바와 같이, 상기 용어는 변형된 및/또는 변경된 항체 분자에 관한 것이다. 상기 용어는 또한 재조합적으로 또는 합성적으로 생성된/합성된 항체에 관한 것이다. 상기 용어는 또한 온전한 항체뿐만 아니라 이의 항체 단편, 예컨대 분리된 경쇄 및 중쇄, Fab, Fv, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂에 관한 것이다. 용어 항체는 또한 비제한적으로 완전 인간 항체, 키메라 항체, 인간화된 항체, CDR-그래프팅된 항체 및 항체 구조, 예컨대 단일 쇠 Fv(scFv) 또는 항체-융합 단백질을 포함한다.

[0185] 본 발명의 맥락에서 "단일 쇠 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 항체의 V_H 및 V_L 도메인을 가지며, 여기서 이러한 도메인은 단일 폴리펩티드 사슬에 존재한다. 일반적으로 scFv 폴리펩티드는 V_H와 V_L 도메인 사이에 폴리펩티드 링커를 추가로 포함하며 이는 scFv로 하여금 항원 결합을 위한 원하는 구조를 형성할 수 있도록 한다. 단일 쇠 항체의 생산을 위해 설명된 기술이 예컨대 문헌[Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, Rosenberg and Moore eds. Springer-Verlag, N.Y. (1994), 269-315]에 기술되어 있다.

[0186] 본원에 기술된 "Fab 단편"은 하나의 경쇄 및 C_H1 및 하나의 중쇄의 가변 영역으로 이루어져 있다. Fab 분자의 중쇄는 또 다른 중쇄 분자와 다이설파이드 결합을 형성할 수 없다.

[0187] "Fc" 영역은 항체의 C_H2 및 C_H3 도메인을 포함하는 2개의 중쇄 단편을 함유한다. 2개의 중쇄 단편은 2개 이상의 다이설파이드 결합에 의해 그리고 C_H3 도메인의 소수성 상호작용에 의해 함께 유지된다.

[0188] "Fab' 단편"은 하나의 경쇄 및 V_H 도메인 및 C_H1 도메인을 함유하는 하나의 중쇄의 일부 및 또한 C_H1과 C_H2 도메인 사이의 영역을 함유하며, 이에 따라 사슬간 다이설파이드 결합이 2개의 Fab' 단편의 2개의 중쇄 사이에 형성되어 F(ab')₂ 분자가 형성될 수 있다.

[0189] "F(ab')₂ 단편"은 C_H1과 C_H2 도메인 사이의 불변 영역의 일부를 함유하는 2개의 경쇄 및 2개의 중쇄를 함유하며, 이에 따라 사슬간 다이설파이드 결합이 2개의 중쇄 사이에 형성된다. F(ab')₂ 단편은 따라서 2개의 중쇄 사이의 다이설파이드 결합에 의해 함께 유지되는 2개의 Fab' 단편으로 구성된다.

[0190] "Fv 영역"은 중쇄 및 경쇄 둘 모두의 가변 영역을 포함하지만 불변 영역은 없다.

[0191] 본 발명에 따라 사용될 인간화된 항체, 인간화된 항체 구조물, 인간화된 항체 단편, 인간화된 항체 유도체(모두

Ig-유도됨) 또는 이들의 상응하는 면역글로불린 사슬은 당업계에 공지된 통상적인 기술을 사용하여, 예컨대 아미노산 결실, 삽입, 치환, 부가, 및/또는 재조합에 의해 및/또는 당업계에 공지된 임의의 다른 변형을 단독으로 또는 조합하여 추가로 변형될 수 있다. 면역글로불린 사슬의 아미노산 서열의 기초가 되는 DNA 서열에 이러한 변형을 도입하는 방법은 당업자에게 널리 알려져 있으며; 예컨대 문헌[Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual]; 문헌[Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd edition (1989) and 3rd edition (2001)]을 참조한다. 용어 "Ig-유도된 도메인"은 특히 적어도 하나의 CDR을 포함하는 (폴리)펩티드 구조물에 관한 것이다. 언급된 Ig-유도된 도메인의 단편 또는 유도체는 상기 항체 분자의 일부이고/이거나 화학적/생화학적 또는 분자 생물학적 방법에 의해 변형된 (폴리)펩티드를 정의한다. 해당 방법이 당업계에 공지되어 있고 특히 실험실 매뉴얼에 기술되어 있다(문헌[Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual]; 문헌[Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd edition (1989) and 3rd edition (2001)]; 문헌[Gerhardt et al., Methods for General and Molecular Bacteriology ASM Press (1994)]; 문헌[Lefkowitz, Immunology Methods Manual: The Comprehensive Sourcebook of Techniques]; 문헌[Academic Press (1997); Golemis, Protein-Protein Interactions: A Molecular Cloning Manual Cold Spring Harbor Laboratory Press (2002)] 참조).

[0192] 본원에서 사용된 용어 "CDR"은 당업계에 잘 알려진 "상보성 결정 영역"에 관한 것이다. CDR은 상기 분자의 특이성을 결정하고 특이적 리간드와 접촉하는 면역글로불린의 일부이다. CDR은 분자의 가장 가변적인 부분이고 이러한 분자의 다양성에 기여한다. 3가지 CDR 영역 CDR1, CDR2 및 CDR3 각각의 V 도메인에 존재한다. CDR-H는 가변 중쇄의 CDR 영역을 나타내고 CDR-L은 가변 경쇄의 CDR 영역에 관한 것이다. VH는 가변 중쇄를 의미하고 VL은 가변 경쇄를 의미한다. Ig-유도된 영역의 CDR 영역은 문헌[Kabat "Sequences of Proteins of Immunological Interest", 5th edit. NIH Publication no. 91-3242 U.S. Department of Health and Human Services (1991)]에 기술된 바와 같이 결정될 수 있다. 본원에 제공된 CDR 서열은 Kabat에 따라 정의된다. 그러나, 본 발명은 CDR 서열이 임의의 유용한 식별/번호매김 방식에 따라 정의된 결합 분자를 포함하도록 의도된다는 것이 당업자에 의해 이해될 것이다. 예컨대, Chothia(면역글로불린의 초가변 영역에 대한 정규 구조. 문헌[Chothia C, Lesk AM. J Mol Biol. 1987 Aug 20; 196(4):901-17]), IMGT(IMGT, 국제 ImMunoGeneTics 데이터베이스. 문헌[Giudicelli V, Chaume D, Bodmer J, Muller W, Busin C, Marsh S, Bontrop R, Marc L, Malik A, Lefranc MP. Nucleic Acids Res. 1997 Jan 1; 25(1):206-11] 및 면역유전학적 분석에 대한 고유 데이터베이스 번호매김 시스템. 문헌[Lefranc MP. Immunol Today. 1997 Nov; 18(11):509]), MacCallum(MacCallum RM, 문헌[Martin AC, Thornton JM, J Mol Biol. 1996 Oct 11; 262(5):732-45]) 및 Martin(Abhinandan KR, Martin ACR. Kabat에 대한 분석 및 개선 및 항체 가변 도메인의 구조적으로 올바른 번호매김. 문헌[Mol Immunol. (2008) 45:3832-9. 10.1016/j.molimm.2008.05.022]) 번호매김 방식이 CDR을 정의하기 위해 채택될 수 있다.

[0193] 따라서, 본 발명의 맥락에서, 전술된 인간화된 항체 분자는 완전 항체(면역글로불린, 예컨대 IgG1, IgG2, IgA1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgM, IgD 또는 IgE), F(ab)-, Fab'-SH-, Fv-, Fab'-, F(ab')2- 단편, 키메라 항체, CDR-그래프팅된 항체, 완전 인간 항체, 2가 항체-구조물, 항체-융합 단백질, 합성 항체, 2가 단일 사슬 항체, 3가 단일 사슬 항체 및 다가 단일 사슬 항체로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0194] "인간화 접근법"이 당업계에 잘 알려져 있으며 특히 항체 분자, 예컨대 Ig-유도된 분자에 대해 기술되어 있다. 용어 "인간화된"은 비-인간(예컨대, 쥐) 항체 또는 비-인간 항체로부터 유도된 서열의 일부 부분을 함유하는 이의 단편(예컨대 Fv, Fab, Fab', F(ab')), scFv, 또는 항체의 다른 항원-결합 부분 서열)의 인간화된 형태를 지칭한다. 인간화된 항체는 인간 면역글로불린의 상보성 결정 영역(CDR)의 잔기가 원하는 결합 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 비-인간 중 예컨대 마우스, 랫트 또는 토끼의 CDR의 잔기로 대체된 인간 면역글로불린을 포함한다. 일반적으로, 인간화된 항체는 적어도 하나, 그리고 일반적으로 2개의 가변 도메인의 실질적으로 모두를 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역은 비-인간 면역글로불린의 것에 해당하고 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 면역글로불린 컨센서스 서열의 것이다. 인간화된 항체는 또한 최적으로 면역글로불린 불변 영역(Fc), 전형적으로 인간 면역글로불린의 것의 적어도 일부를 포함할 것이다; 특히 문헌[Jones et al., Nature 321 (1986),522-525, Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2 (1992),593-596]을 참조한다. 비-인간 항체의 인간화 방법이 당업계에 잘 알려져 있다. 일반적으로, 인간화된 항체는 항체의 본래 결합 활성을 여전히 유지하는 비-인간 공급원으로부터 도입된 하나 이상의 아미노산을 갖는다. 항체/항체 분자의 인간화 방법이 문헌[Jones et al., Nature 321 (1986),522-525]; 문헌[Reichmann et al., Nature 332 (1988),323-327]; 및 문헌[Verhoeven et al., Science 239 (1988),1534-1536]에 더 자세히 기술되어 있다. 인간화된 항체에 대한 특정 예, 예컨대 EpCAM에 대한 항체가 당업계에 공지되어 있다(예컨대 문헌[LoBuglio, Proceedings of the American Society of Clinical Oncology Abstract (1997), 1562] 및 문헌[Khor, Proceedings of the American Society

of Clinical Oncology Abstract (1997), 847] 참조).

- [0195] 따라서, 본 발명의 맥락에서, 인간화되고 약학 조성물에서 성공적으로 사용될 수 있는 항체 분자 또는 이의 항원-결합 단편이 제공된다.
- [0196] 본 발명의 인간화된 항체 또는 항원-결합 단편의 특이성은 상기 정의된 인간화된 항체 또는 항원-결합 단편의 아미노산 서열의 특성에 의해 발현될 수 있을 뿐만 아니라 항체가 결합할 수 있는 에피토프에 의해 발현될 수 있다. 따라서, 본 발명은, 일 실시형태에서, 본 발명의 항체와 동일한 에피토프를 인식하는 항-미스폴딩된 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0197] 당업자는 에피토프가 TDP-43 단백질에 포함될 수 있지만, 이의 분해 생성물에도 또한 포함될 수 있거나 화학적으로 합성된 펩티드일 수 있음을 이해할 수 있다. 아미노산 위치는 TDP-43 단백질의 서열에서 해당 아미노산 서열의 위치를 입증하기 위해서만 표시된다. 본 발명은 상기 에피토프를 포함하는 모든 펩티드를 포함한다. 펩티드는 길이가 100개 아미노산 초과인 폴리펩티드의 일부일 수 있거나 100개 미만, 바람직하게는 50개 미만, 보다 바람직하게는 24개 미만의 아미노산, 보다 더 바람직하게는 16개 미만의 아미노산의 작은 펩티드일 수 있다. 이러한 펩티드의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산(예컨대, 베타-아미노산, 감마-아미노산, D-아미노산)일 수 있거나 이들의 조합일 수 있다. 또한, 본 발명은 에피토프의 각각의 레트로-인버소 펩티드를 포함할 수 있다. 펩티드는 결합하지 않을 수 있거나 결합될 수 있다. 이는 예컨대 소분자(예컨대, 약물 또는 형광단), 고분자량 중합체(예컨대, 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 폴리에틸렌 이민(PEI), 히드록시프로필메틸아크릴레이트(HPMA) 등)에, 또는 단백질, 지방산, 당 모이어티에 결합될 수 있거나 막에 삽입될 수 있다.
- [0198] 문제의 항체와 본 발명의 항체가 동일한 에피토프를 인식하는지 여부를 시험하기 위해, 다음의 경쟁 연구가 수행될 수 있다: 3 MOI(감염 다중도)로 감염된 Vero 세포를 20시간 후에 다양한 농도의 문제의 항체를 경쟁자로 하여 1시간 동안 함께 인큐베이션 하였다. 제2 인큐베이션 단계에서, 본 발명의 항체를 100 nM의 일정한 농도로 적용하고 이의 결합을 본 발명의 항체의 불변 도메인에 대해 지시된 형광-표지된 항체를 사용하여 유세포 분석 방법으로 검출하였다. 문제의 항체의 농도에 반대-비례(반비례)하는 결합은 항체 둘 모두가 동일한 에피토프를 인식함을 나타낸다. 그러나, 사용될 수 있는 다수의 다른 분석법이 공지되어 있다.
- [0199] 본 발명은 또한 TDP-43의 천연 폴리펩티드 또는 재조합 폴리펩티드에 대한 특이적 항체의 생산에 관한 것이다. 이러한 생산은, 예컨대 동물, 예컨대 마우스의 면역화에 기초한다. 그러나, 항체/항원 생산을 위한 다른 동물이 본 발명 내에서 고려된다. 예컨대, 모노클로날 및 폴리클로날 항체가 토끼, 마우스, 염소, 당나귀 등에 의해 생산될 수 있다. TDP-43의 상응하는 선택된 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드가 적절한 벡터 내로 서브클로닝될 수 있으며, 여기서 재조합 폴리펩티드는 발현이 가능한 유기체, 예컨대 박테리아에서 발현되어야 한다. 따라서, 발현된 재조합 단백질은 마우스에 복강내 주입될 수 있고 생성된 특이적 항체는, 예컨대 심장 내 혈액 천자에 의해 제공되는 마우스 혈청으로부터 수득될 수 있다. 본 발명은 또한 침투된 실시예에서 예시되는 바와 같이 DNA/RNA 백신 전략을 사용하여 천연 폴리펩티드 및 재조합 폴리펩티드에 대한 특이적 항체의 생산을 고려한다. DNA 백신 전략은 당업계에 잘 알려져 있으며 유전자 총 또는 제트 주입 및 근육 내 또는 피내 주사에 의한 리포솜-매개 전달을 포함한다. 따라서, TDP-43의 폴리펩티드 또는 단백질 또는 에피토프, 특히 본원에 제공된 항체의 에피토프에 대한 항체가 TDP-43의 원하는 폴리펩티드 또는 단백질 또는 에피토프, 특히 본 발명의 항체의 에피토프를 발현하는 벡터를 직접적으로 근육 내 주사에 의해 동물을 직접적으로 면역화하여 수득될 수 있으며, 이는 SEQ ID NO: 1의 아미노산 잔기 397-411 내에 있으며, 보다 특히 SEQ ID NO: 1의 아미노산 잔기 400-405, 400-406, 또는 400-412 내에 있는 본 발명의 항체의 에피토프이다. 수득된 특이적 항체의 양은 ELISA를 사용하여 정량화될 수 있으며, 이는 또한 하기 기술되어 있다. 항체 생산을 위한 추가 방법이 당업계에 잘 알려져 있으며, 예컨대 문헌[Harlow and Lane, "Antibodies, A Laboratory Manual", CSH Press, Cold Spring Harbor, 1988]을 참조한다.
- [0200] 따라서, 지정된 검정 조건 하에서, TDP-43의 구체화된 항체 및 상응하는 에피토프는 서로 결합하며 샘플에 존재하는 다른 성분에는 상당한 양으로 결합하지 않는다. 이러한 조건 하의 표적 분석물에 대한 특이적 결합은 특정 표적 분석물에 대한 이의 특이성을 위해 선택된 결합 모이어티를 필요로 할 수 있다. 다양한 면역분석 포맷이 특정 항원과 특이적으로 반응성인 항체를 선택하는데 사용될 수 있다. 예컨대, 고상 ELISA 면역분석법을 통상적으로 사용하여 분석물과 특이적으로 면역반응성인 모노클로날 항체를 선택한다. 면역분석 포맷 및 특이적 면역반응성을 결정하기 위해 사용될 수 있는 조건의 설명에 대해, 문헌[Shepherd and Dean (2000), Monoclonal Antibodies: A Practical Approach, Oxford University Press and/or Howard and Bethell]을 참조한다. 전형적으로, 특이적 또는 선택적 반응은 노이즈에 대한 배경 신호의 적어도 2배이며 보다 전형적으로는 배경보다 10

배 초과 내지 100배 더 크다. 당업자는 신규 폴리펩티드에 대해 지시된 특이적 결합 분자를 제공하고 생성할 수 있는 위치에 있다. 특이적 결합-분석의 경우, 원치 않는 교차 반응성을 피하기 위해 이것이 쉽게 사용될 수 있으며, 예컨대, 폴리클로날 항체는 공지된 방법(문헌[Shepherd and Dean, loc. cit.] 참조)에 의해 용이하게 정제되고 선택될 수 있다.

[0201] 항체의 "부류"는 중쇄가 소유한 불변 도메인 또는 불변 영역의 유형을 지칭한다. 항체의 5개의 주요 부류가 존재한다: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM, 그리고 이들 몇몇은 하위부류(이소타입), 예컨대 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, 및 IgA2로 추가로 나뉠 수 있다. 상이한 부류의 면역글로불린에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α , δ , ϵ , γ , 및 μ 로 지칭된다.

[0202] 특정 실시형태에서, 본원에 제공된 항체의 아미노산 서열 변이체가 고려된다. 예컨대, 항체의 결합 친화도 및/또는 다른 생물학적 특성을 개선하는 것이 바람직할 수 있다. 항체의 아미노산 서열 변이체는 적절한 변형을 항체를 코딩하는 뉴클레오티드 서열에 도입하여, 또는 펩티드 합성으로 제조될 수 있다. 이러한 변형은 예컨대 항체의 아미노산 서열 내의 잔기의 결실, 및/또는 잔기로의 삽입 및/또는 잔기의 치환을 포함한다. 최종 구조물이 원하는 특성, 예컨대, 항원-결합을 보유하는 한, 최종 구조물에 결실, 삽입, 및 치환의 임의의 조합이 이루어질 수 있다.

[0203] 특정 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 항체 변이체가 제공된다. 치환 돌연변이 유발의 관심 부위는 CDR 및 FR을 포함한다. 보존적 치환은 "바람직한 치환"의 표제 하의 표 1에 제시되어 있다. 보다 실질적인 변화가 "예시적인 치환"의 표제 하에 표 1에 제공되어 있으며, 아미노산 측쇄 부류를 참조하여 하기 추가로 상세히 기술되어 있다. 아미노산 치환은 관심 항체 및 원하는 활성, 예컨대 보유된/개선된 항원 결합, 감소된 면역원성, 또는 개선된 ADCC 또는 CDC에 대해 스크리닝된 생성물 내로 도입될 수 있다

[0204] [표 1]

본래 잔기	예시적인 치환	바람직한 치환
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신	Leu
Leu (L)	노르류신; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 노르류신	Leu

[0205]

[0206] 아미노산은 통상적인 측쇄 특성에 따라 군을 지을 수 있다:

[0207] (1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0208] (2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0209] (3) 산성: Asp, Glu;

[0210] (4) 염기성: His, Lys, Arg;

- [0211] (5) 사슬 방향에 영향을 주는 잔기: Gly, Pro;
- [0212] (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.
- [0213] 비-보존적 치환은 이러한 부류 중 하나의 구성원을 다른 부류로 교환하는 것을 수반할 것이다.
- [0214] 한 유형의 치환 변이체는 모 항체(예컨대, 인간화된 또는 인간 항체)의 하나 이상의 초가변 영역 잔기의 치환을 수반한다. 일반적으로 추가 연구를 위해 선택된 생성된 변이체는 모 항체에 비해 특정 생물학적인 특성(예컨대, 증가된 친화도, 감소된 면역원성)에 변형(예컨대, 개선)을 가질 것이고/이거나 모 항체의 특정 생물학적 특성을 실질적으로 보유할 것이다. 예시적인 치환 변이체는 친화도 성숙 항체이며, 이는 예컨대 파지 디스플레이-기반 친화도 성숙 기법 예컨대 본원에 기술된 것들을 사용하여 편리하게 생성될 수 있다. 간단하게, 하나 이상의 CDR 잔기가 돌연변이되고 변이체 항체가 파지 상에 디스플레이되고 특정 생물학적 활성(예컨대, 결합 친화도)에 대해 스크리닝된다.
- [0215] 예컨대, 항체 친화도를 개선하기 위해 CDR에서 변경(예컨대, 치환)이 이루어질 수 있다. 이러한 변경은 CDR "핫스팟", 즉, 체세포 성숙 과정 동안 높은 빈도로 돌연변이를 겪는 코돈에 의해 코딩된 잔기(예컨대, 문헌 [Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)] 참조), 및/또는 결합 친화도에 대해 시험될 생성된 변이체 VH 또는 VL을 갖는 SDR(a-CDR)에서 이루어질 수 있다. 2차 라이브러리를 구성하고 재선택함에 의한 친화도 성숙이 예컨대 문헌[Hoogenboom et al., in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37(O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001).)]에 기술되어 있다. 친화도 성숙의 일부 실시형태에서, 다양성은 임의의 다양한 방법(예컨대, 오류가 발생하기 쉬운 PCR, 사슬 셔플링, 또는 올리고뉴클레오타이드-지시된 돌연변이유발)에 의해 성숙을 위해 선택된 다양한 유전자에 도입된다. 이어서 2차 라이브러리가 생성된다. 이어서 라이브러리는 원하는 친화도를 가진 임의의 항체 변이체를 식별하기 위해 스크리닝된다. 다양성을 도입하기 위한 또 다른 방법은 CDR-지시된 접근법을 수반하며, 여기서 몇몇 CDR 잔기(예컨대 한번에 4 내지 6개 잔기)가 무작위화된다. 항원 결합에 관련된 CDR 잔기는 예컨대 알려진 스캐닝 돌연변이유발 또는 모델링을 사용하여 특이적으로 식별될 수 있다. CDR-H3 및 CDR-L3이 특히 종종 표적화된다.
- [0216] 특정 실시형태에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 이러한 변경이 항원에 결합하는 항체의 능력을 실질적으로 감소시키지 않는 한 하나 이상의 CDR 내에서 발생할 수 있다. 예컨대, 결합 친화도를 실질적으로 감소시키지 않는 보존적 변경(예컨대, 본원에 제공된 바와 같은 보존적 치환)이 CDR에서 이루어질 수 있다. 이러한 변경은 CDR "핫스팟" 또는 SDR의 외부에 있을 수 있다. 상기 제공된 변이체 VH 및 VL 서열의 특정 실시형태에서, 각각의 CDR은 변경되지 않거나, 1개, 2개 또는 3개 이하의 아미노산 치환을 함유한다.
- [0217] 돌연변이유발을 위해 표적화될 수 있는 항체의 잔기 또는 영역의 식별을 위한 유용한 방법을 소위 알려진 스캐닝 돌연변이유발"이라고 하며, 문헌[Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244: 1081-1085]에 의해 기술되어 있다. 이러한 방법에서, 잔기 또는 표적 잔기의 군(예컨대, 하전된 잔기 예컨대 Arg, Asp, His, Lys, 및 Glu)이 식별되고 중성 또는 음으로 하전된 아미노산(예컨대, 알라닌 또는 폴리알라닌)으로 치환되어 항체와 항원의 상호작용이 영향을 받는지 여부가 결정된다. 추가의 치환이 초기 치환에 대한 기능적 민감성을 입증하는 아미노산 위치에 도입될 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, 항원-항체 복합체의 결정형 구조가 항체와 항원 사이의 접촉 지점을 식별하기 위해 사용된다. 이러한 접촉 잔기 및 이웃 잔기는 치환을 위한 후보로서 표적화되거나 제거될 수 있다. 변이체는 이들이 원하는 특성을 함유하는지 여부를 결정하기 위해 스크리닝될 수 있다.
- [0218] 아미노산 서열 삽입은 1개 잔기에서 100개 이상의 잔기를 함유하는 폴리펩티드에 이르는 길이의 범위의 아미노- 및/또는 카복실-말단 융합뿐만 아니라, 단일 또는 다중 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N-말단 메티오닐 잔기가 있는 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 효소(예컨대 ADEPT 경우) 또는 폴리펩티드에 대한 항체의 N- 또는 C-말단에 대한 융합을 포함한다.
- [0219] 특정 실시형태에서, 본원에 제공된 항체는 항체가 글리코실화되는 정도를 증가시키거나 감소시키도록 변경된다. 항체에 대한 글리코실화 부위의 첨가 또는 결실은 하나 이상의 글리코실화 부위가 생성되거나 제거되도록 아미노산 서열을 변경하여 편리하게 달성될 수 있다.
- [0220] 항체가 FC 영역을 포함하는 경우, 이에 부착된 탄수화물이 변경될 수 있다. 포유류 세포에 의해 생성된 천연 항체는 전형적으로 Fc 영역의 CH2 도메인의 Asn297에 대한 N-연결에 의해 일반적으로 부착된 분지형, 바이안테너리 올리고사카라이드를 포함한다. 예컨대, 문헌[Wright et al., *TIBTECH* 15:26-32 (1997)]을 참조한다. 올리고사카라이드는 다양한 탄수화물, 예컨대 만노스, N-아세틸 글루코사민(GlcNAc), 갈락토스, 및 시알산뿐만 아니라 바이안테너리 올리고사카라이드 구조의 "스텝"의 GlcNAc에 부착된 푸코스를 포함할 수 있다. 일부

실시형태에서, 본 발명의 항체의 올리고사카라이드의 변형은 특정 개선된 특성을 가진 항체 변이체를 생성하기 위해 이루어질 수 있다.

[0221] 일 실시형태에서, Fc 영역에 (직접적으로 또는 간접적으로) 부착된 푸코스가 결여된 탄수화물 구조를 가진 항체 변이체가 제공된다. 예컨대, 이러한 항체에서 푸코스의 양은 1% 내지 80%, 1% 내지 65%, 5% 내지 65% 또는 20% 내지 40%일 수 있다. 푸코스의 양은 예컨대 국제공개 WO2008/077546호에 기술된 바와 같이, MALDI-TOF 질량 분석법에 의해 측정된 Asn297(예컨대, 복합체, 하이브리드 및 고 만노스 구조)에 부착된 모든 글리코구조의 합에 상대적인, Asn297에서 당 사슬 내의 푸코스의 평균 양을 계산하여 결정된다. Asn297은 Fc 영역 내의 대략 위치 297에 위치한 아스파라진 잔기를 지칭하지만(Fc 영역 잔기의 Eu 번호매김; 문헌[Edelman, G.M. et al., *Proc. Natl. Acad. USA*, 63, 78-85 (1969)] 참조); 그러나, Asn297은 또한 항체의 사소한(minor) 서열 변이체로 인해 위치 297의 약 ± 3 아미노산 상류 또는 하류, 즉, 294 내지 300 사이의 위치에 위치할 수 있다. 이러한 푸코실화된 변이체는 개선된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 예컨대, 미국 특허출원공개 US 2003/0157108호(Presta, L.); 미국 특허출원공개 US 2004/0093621호(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)를 참조한다. "디푸코실화된" 또는 "푸코스-결핍" 항체 변이체와 관련된 공개문헌의 예는 다음을 포함한다: 미국 특허출원공개 US2003/0157108호; 국제공개 WO2000/61739호; 국제공개 WO2001/29246호; 미국 특허출원공개 US2003/0115614호; 미국 특허출원공개 US2002/0164328호; 미국 특허출원공개 US2004/0093621호; 미국 특허출원공개 US2004/0132140호; 미국 특허출원공개 US2004/0110704호; 미국 특허출원공개 US2004/0110282호; 미국 특허출원공개 US2004/0109865호; 국제공개 WO2003/085119호; 국제공개 WO2003/084570호; 국제공개 WO2005/035586호; 국제공개 WO2005/035778호; 국제공개 WO2005/053742호; 국제공개 WO2002/031140호; 문헌[Okazaki et al., *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004)]; 문헌[Yamane-Ohnuki et al., *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)]. 디푸코실화된 항체를 생산할 수 있는 세포주의 예는 단백질 푸코실화가 결핍된 Lec13 CHO 세포(문헌[Ripka et al., *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986)]; 미국 특허출원공개 US2003/0157108 A1호, Presta, L; 및 국제공개 WO2004/056312 A1호, Adams et al., 특히 실시예 11), 녹아웃 세포주, 예컨대 알파-1,6-푸코실트랜스퍼라제 유전자, *FUT8*, 녹아웃 CHO 세포(예컨대, 문헌[Yamane-Ohnuki et al., *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)]; 문헌[Kanda, Y. et al., *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006)]; 및 국제공개 WO2003/085 107호)를 포함한다.

[0222] 예컨대 항체의 Fc 영역에 부착된 바이오타네리 올리고사카라이드가 GlcNAc에 의해 이등분된, 이등분된 올리고사카라이드가 있는 항체 변이체가 추가로 제공된다. 이러한 항체 변이체는 감소된 푸코실화 및/또는 개선된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 이러한 항체 변이체의 예가 예컨대 국제공개 WO 2003/011878호(Jean-Mairet et al.); 미국특허 제6,602,684호(Umana et al.); 및 미국 특허출원공개 US 2005/0123546호(Umana et al.)에 기술되어 있다. Fc 영역에 부착된 올리고사카라이드에 적어도 하나의 갈락토스 잔기가 있는 항체 변이체가 또한 제공된다. 이러한 항체 변이체는 개선된 CDC 기능을 가질 수 있다. 이러한 항체 변이체가, 예컨대 국제공개 WO 1997/30087 호(Patel et al.); 국제공개 WO 1998/58964호(Raju, S.); 및 국제공개 WO 1999/22764호(Raju, S.)에 기술되어 있다.

[0223] 특정 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형이 본원에 제공된 항체의 Fc 영역 내로 도입될 수 있으며, 이에 따라 Fc 영역 변이체가 생성될 수 있다. Fc 영역 변이체는 하나 이상의 아미노산 위치에 아미노산 변형(예컨대 치환)을 포함하는 인간 Fc 영역 서열(예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 Fc 영역)을 포함할 수 있다.

[0224] 특정 실시형태에서, 본원에서 제공된 항체는 병리적 TDP-43에 결합하여 항체-의존성 세포 식세포작용(ADCP)에 의해 제거될 수 있는 면역 복합체를 형성하여 결과적으로 TDP-43 청소율을 강화시킨다. ADCP는 항체 Fc 단편과 선천 면역 세포, 예컨대 미세아교세포 또는 수지상 세포의 표면에서 발현되는 Fc 수용체, 예컨대 Fc 감마 수용체와의 상호작용에 의해 매개된다. Fc 매개된 기능은 항체의 Fc 부분을 변형시켜 원하는 효과를 달성하도록 조절될 수 있다.

[0225] 특정 실시형태에서, 본 발명은 이펙터 기능 모두가 아닌 일부를 보유하는 항체 변이체를 고려하며, 이는 *생체 내* 항체 반감기가 중요하지만 특정 이펙터 기능(예컨대 보체 활성화 및 ADCC)이 불필요하거나 해로운 적용에서 바람직한 후보가 된다. *시험관 내* 및/또는 *생체 내* 세포독성 분석은 CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/고갈을 확인하기 위해 수행될 수 있다. 예컨대 Fc 수용체(FcR) 결합 분석이 항체가 Fc γ R 결합이 결여되어 있지만(따라서 ADCC 활성이 결여되어 있을 수 있음), FcRn 결합 능력을 유지하는지 확인하기 위해 수행될 수 있다. ADCC를 매개하는 1차 세포인 NK 세포는 Fc γ RIII만을 발현하지만, 단핵구 및 미세아교세포는 Fc γ RI, Fc γ RRII 및 Fc γ RIII를 발현한다. 조혈 세포 상의 FcR 발현이 문헌[Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)]의 464페이지 표 3에 요약되어 있다. 관심 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위한 *시험관 내* 분석의 비-제한적인 예가 미국특허 제5,500,362호(예컨대 문헌[Hellstrom, I. et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-

7063 (1986)] 참조) 및 문헌[Hellstrom, I et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499- 1502 (1985)]; 미국 특허 제5,821,337호(문헌[Bruggemann, M. et al., *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987)] 참조)에 기술되어 있다.

- [0226] 대안적으로, 비-방사성 분석 방법이 사용될 수 있다(예컨대 유세포 분석을 위한 ACT1™ 비-방사성 세포독성 분석(CellTechnology, Inc. Mountain View, CA; 및 CytoTox 96® 비-방사성 세포독성 분석(Promega, Madison, WI) 참조. 이러한 분석에 유용한 이펙터 세포는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC) 및 자연 살해(NK) 세포를 포함한다.
- [0227] 대안적으로, 또는 추가적으로, 관심 분자의 ADCC 활성은 *생체 내*, 예를 들어 문헌[Clynes et al., *Proc. Nat'l Acad. sci. USA* 95:652-656 (1998)]에 개시된 것과 같이 동물 모델에서 평가될 수 있다.
- [0228] 항체가 C1q에 결합할 수 없고 따라서 CDC 활성이 결여되어 있음을 확인하기 위해 C1q 결합 분석을 또한 수행할 수 있다. 예를 들어, 국제공개 WO 2006/029879호 및 국제공개 WO 2005/100402호의 C1q 및 C3c 결합 ELISA를 참조한다. 보체 활성화를 평가하기 위해, CDC 분석이 수행될 수 있다(예를 들어, 문헌[Gazzano-Santoro et al., *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)]; 문헌[Cragg, M.S. et al., *Blood* 101:1045-1052 (2003)]; 및 문헌[Cragg, M.S. and M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004) 참조). FcRn 결합 및 *생체 내* 제거율/반감기 측정은 또한 당업계에 공지된 방법을 사용하여 수행될 수 있다(예를 들어, 문헌[Petkova, S.B. et al., *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006)] 참조).
- [0229] 이펙터 기능이 감소된 항체는 Fc 영역 잔기 234, 235, 238, 265, 269, 270, 297, 327 및 329 중 하나 이상의 치환을 갖는 것들을 포함한다(미국특허 제6,737,056호). FcR에 대한 결합이 개선되거나 감소된 특정 항체 변이체가 기술되어 있다. (예를 들어, 미국특허 제6,737,056호; 국제특허 WO2004/056312호, 및 문헌[Shields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001)]을 참조한다. 이러한 Fc 돌연변이체는 잔기 265 및 297이 알라닌으로 치환된 소위 "DANA" Fc 돌연변이체(미국특허 제7,332,581호) 또는 잔기 265가 알라닌으로 그리고 잔기 297이 글리신으로 치환된 소위 "DANG" Fc 돌연변이체를 포함하여, 아미노산 위치 265, 269, 270, 297 및 327의 2개 이상의 위치에 치환을 갖는 Fc 돌연변이체를 포함한다. 대안적으로, 이펙터 기능이 감소된 항체는 Fc 영역 잔기 234, 235 및 329 중 하나 이상의 치환을 갖는 것들, 잔기 234 및 235가 알라닌으로 치환되고 329가 글리신으로 치환된 소위 "PG-LALA" Fc 돌연변이체(문헌[Lo, M. et al., *Journal of Biochemistry*, 292, 3900-3908])를 포함한다. 위치 234, 235 및 321에서의 다른 알려진 돌연변이, CH2 도메인에 L234F/L235E/P331S 돌연변이를 함유하는 소위 TM 돌연변이가 사용될 수 있다(문헌[Oganesyan et al. *Acta Cryst.* D64, 700-704. (2008)]). 인간 IgG4 이소형 항체에는 힌지를 안정화하고 FgR 결합을 감소시키기 위해 S228P/L235E 돌연변이를 포함한다(문헌[Schlothauer et al, *PEDS*, 29 (10):457-466]). 불변 도메인의 번호매김은 EU 번호매김 시스템을 따른다.
- [0230] 다른 Fc 변이체는 하나 이상의 Fc 영역 잔기: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 또는 434 중 하나 이상에 치환을 갖는 것, 예컨대, Fc 영역 잔기 434의 치환을 갖는 것(미국 특허 제7,371,826호)을 포함한다. 또한 문헌[Duncan & Winter, *Nature* 322:738-40 (1988)]; 미국 특허 제5,648,260호; 미국 특허 제5,624,821호를 참조한다.
- [0231] 특정 실시형태에서, Fc 영역은 pH 6.0에서 FcRn에 대한 친화성을 증가시키고 결과적으로 항체 반감기를 연장하기 위해 돌연변이된다. FcRn에 대한 친화성이 향상된 항체는, 소위 M252Y/S254T/T256E 치환이 있는 YTE 돌연변이(문헌[Dall'Acqua et al, *J Immunol.* 169:5171-5180 (2002)]) 또는 LS 돌연변이 M428L/N434S(문헌[Zalevsky et al, *Nat Biotechnol.* 28(2): 157-159 (2010)])를 포함하여, Fc 영역 잔기 252, 253, 254, 256, 428, 434 중 하나 이상의 치환이 있는 항체를 포함한다.
- [0232] 특정 실시형태에서, 하나 이상의 항체 잔기가 시스테인 잔기로 치환된 시스테인 조작된 항체, 예컨대 "thioMAb"를 생성하는 것이 바람직할 수 있다. 특정 실시형태에서, 치환된 잔기는 항체의 접근가능한 부위에서 발생한다. 이들 잔기를 시스테인으로 치환함으로써, 반응성 티올기가 항체의 접근가능한 부위에 위치되고 항체를 다른 모이어티, 예컨대 약물 모이어티 또는 링커-약물 모이어티에 접합시키는데 사용하여 본원에 추가로 기술되는 바와 같은 면역접합체를 생성할 수 있다. 특정 실시형태에서, 임의의 하나 이상의 다음의 잔기가 시스테인으로 치환될 수 있다: 경쇄의 V205(Kabat 번호매김); 중쇄의 A118(EU 번호매김); 및 중쇄 Fc 영역의 S400(EU 번호매김). 시스테인 조작된 항체는 예컨대 미국 특허 제7,521,541호에 기술된 바와 같이 생성될 수 있다.
- [0233] 특정 실시형태에서, 본원에 제공된 항체는 당업계에 공지되어 있고 용이하게 이용가능한 추가의 비단백질성 모이어티를 함유하도록 추가로 변형될 수 있다. 항체 유도체화에 적합한 모이어티는 비제한적으로 수용성 중합체를 포함한다. 수용성 중합체의 비-제한적인 예는 비제한적으로 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 에틸렌 글리콜/프로필

렌 글리콜의 공중합체, 카복시메틸셀룰로스, 텍스트란, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1, 3-디옥솔란, 폴리-1,3,6-트리옥산, 에틸렌/말레 무수 공중합체, 폴리아미노산(동중중합체 또는 랜덤 공중합체), 및 텍스트란 또는 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 프로프로필렌 글리콜 동중중합체, 프롤리프로필렌, 옥시드/에틸렌 옥시드 공중합체, 폴리옥시에틸화된 폴리올(예컨대, 글리세롤), 폴리비닐 알코올, 및 이들의 혼합물을 포함한다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데히드는 물에서 이의 안정성으로 인해 제조에 유리할 수 있다. 중합체는 임의의 분자량을 가질 수 있고, 분지형이거나 비분지형일 수 있다. 항체에 부착된 중합체의 수는 다양할 수 있으며, 하나 초과 중합체가 부착된 경우, 이들은 동일하거나 상이한 분자일 수 있다. 일반적으로, 유도체화에 사용된 중합체의 수 및/또는 종류는 비제한적으로 개선될 항체의 특정 특성 또는 기능, 항체 유도체가 한정된 조건 하에서 요법에 사용될지 여부를 포함하여 고려사항에 기초하여 결정될 수 있다.

[0234] 또 다른 실시형태에서, 방사선 노출에 의해 선택적으로 가열될 수 있는 항체와 비단백질성 모이어티의 접합체가 제공된다. 일 실시형태에서, 비단백질성 모이어티는 탄소 나노튜브이다(문헌[Kam et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 11600-11605 (2005)]). 방사선은 임의의 파장일 수 있고, 비제한적으로 일반 세포에는 해를 끼치지 않지만 항체-비단백질성 모이어티에 인접한 세포가 사멸되는 온도로 비단백질성 모이어티를 가열하는 파장을 포함한다.

[0235] 항체는 예컨대 미국 특허 제4,816,567호에 기술된 바와 같이 재조합 방법 및 조성물을 사용하여 생성될 수 있다. 일 실시형태에서, 본원에 기술된 항-미스폴딩된 TDP-43 항체를 코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 이러한 핵산은 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및/또는 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 코딩할 수 있다(예컨대, 항체의 중쇄 및/또는 경쇄). 추가 실시형태에서, 이러한 핵산을 포함하는 하나 이상의 벡터(예컨대, 발현 벡터)가 제공된다. 추가 실시형태에서, 이러한 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 하나의 이러한 실시형태에서, 숙주 세포는 다음을 포함한다(예컨대, 다음으로 형질전환된다): (1) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터, 또는 (2) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함하는 제1 벡터 및 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함하는 제2 벡터. 일 실시형태에서, 숙주 세포는 진핵세포, 예컨대 중국 햄스터 난소(CHO: Chinese Hamster Ovary) 세포 또는 림프구 세포(예컨대 YO, NSO, Sp20)이다. 일 실시형태에서, 항-미스폴딩된 TDP-43 항체의 제조 방법이 제공되며, 상기 방법은 항체의 발현에 적합한 조건 하에 상기 제공된 바와 같은 항체를 코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 배양하는 단계, 및 선택적으로 숙주 세포(또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 항체를 회수하는 단계를 포함한다.

[0236] 항-미스폴딩된 TDP-43 항체의 재조합 생산의 경우, 예컨대 전술된 바와 같은 항체를 코딩하는 핵산이 단리되어 추가 클로닝 및/또는 숙주 세포 또는 무세포 발현 시스템에서 발현을 위해 하나 이상의 벡터에 삽입된다. 이러한 핵산은 용이하게 단리되고 통상적인 절차를 사용하여(예컨대, 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용하여) 서열분석될 수 있다.

[0237] 항체-코딩 벡터의 클로닝 또는 발현을 위한 적합한 숙주 세포는 본원에 기술된 바와 같은 원핵세포 또는 진핵세포를 포함한다. 예컨대, 항체는 특히 글리코실화 및 Fc 이펙터 기능이 필요하지 않은 경우 박테리아에서 생산될 수 있다. 박테리아에서 항체 단편 및 폴리펩티드 발현에 대해, 예컨대 미국 특허 제5,648,237호, 제5,789,199호, 및 제5,840,523호를 참조한다. (또한 대장균에서 항체 단편의 발현을 기술하는 문헌[Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254]도 참조). 발현 후, 항체는 가용성 분획으로 박테리아 세포 페이스트로부터 단리될 수 있고 추가로 정제될 수 있다.

[0238] 원핵세포 외에, 글리코실화 경로가 "인간화"되어 부분적으로 또는 완전히 인간 글리코실화 패턴을 갖는 항체를 생성하는 진균 및 효모 균주를 포함하여, 진핵 미생물 예컨대 사상 진균 또는 효모가 항체-코딩 벡터의 클로닝 또는 발현 숙주에 적합할 수 있다. 문헌[Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004)], 및 문헌[Li et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)]을 참조한다.

[0239] 글리코실화된 항체의 발현에 적합한 숙주 세포는 또한 다세포 유기체(무척추동물 및 척추동물)로부터 유도된다. 무척추동물 세포의 예는 식물 및 곤충 세포를 포함한다. 특히 스포도프테라 프루기페르다(*Spodoptera frugiperda*) 세포의 형질감염을 위해, 곤충 세포와 함께 사용될 수 있는 다수의 배콜로마바이러스 균주가 확인되었다.

[0240] 식물 세포 배양이 또한 숙주로서 이용될 수 있다. 예컨대, 미국 특허 제5,959,177호, 제6,040,498호, 제6,420,548호, 제7,125,978호, 및 제6,417,429호(형질전환 식물에서 항체를 생산하기 위한 PLANTIBODIES™ 기술

을 설명함)을 참조한다).

- [0241] 척추동물 세포가 또한 숙주로서 사용될 수 있다. 예컨대, 현탁액에서 성장하도록 적응된 포유류 세포주가 유용할 수 있다. 유용한 포유류 숙주 세포주의 다른 예는 SV40(COS-7)으로 형질전환된 마카크 신장 CV1 계통; 인간 배아 신장 계통(예컨대 문헌[Graham et al., *J. Gen. Viral.* 36:59 (1977)]에 기술된 바와 같은 293 또는 293 세포); 아기 햄스터 신장 세포(BHK); 마우스 세르톨리 세포(예컨대 문헌[Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)]에 기술된 바와 같은 TM4 세포); 마카크 신장 세포(CV 1); 아프리카 그린 마카크 신장 세포(VERO-76); 인간 자궁경부암 세포(HeLa); 개 신장 세포(MDCK); 버팔로 랫트 간 세포(BRL 3A); 인간 폐 세포(WI38); 인간 간 세포(Hep G2); 마우스 유방 종양(MMT 060562); 예컨대 문헌[Mather et al., *Annals N. Y Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)]에 기술된 바와 같은 TRI 세포; MRC 5 세포; 및 FS4 세포이다. 다른 유용한 포유류 숙주 세포주는 DHFR CHO 세포(문헌[Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)])를 비롯하여 중국 햄스터 난소(CHO) 세포; 및 골주송 세포주 예컨대 YO, NSO 및 Sp2/0를 포함한다. 항체 생산에 적합한 특정 포유류 숙주 세포주의 검토를 위해, 예컨대 문헌[Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology, Vol. 248* (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)]을 참조한다.
- [0242] 투여 경로 변경, BBB 파괴 및 투과성 변경, 나노입자 전달, 트로이 목마 접근법, 수용체-매개 수송, 및 세포 및 유전자 치료와 같이 혈액 뇌 장벽(BBB)을 가로질러 분자를 전달하기 위한 여러 가지 알려진 접근법이 존재한다.
- [0243] 투여 경로의 변경은 뇌에 직접 주사(예를 들어, 문헌[Papanastassiou et al., *Gene Therapy* 9: 398-406(2002)] 참조), 뇌에 전달 장치 이식(예를 들어, 문헌[Gillet et al., *Nature Med.* 9: 589-595 (2003)]; 및 Gliadel WafersTM Guildford Pharmaceutical사 참조), BBB를 우회하기 위한 비강 투여(문헌[Mittal et al, *Drug Deliv.*21(2):75-86. (2014)])에 의해 달성될 수 있다.
- [0244] 장벽 파괴 방법은 비제한적으로 초음파(예컨대, 미국특허공개 제2002/0038086호 참조), 삼투압(예컨대, 고장성 만니톨 투여에 의함(문헌[Neuwelt, E.A., *Implication of the Blood-Brain Barrier and its Manipulation*, Vols 1 & 2, Plenum Press, N.Y.(1989)])), 예컨대 브래디키닌 또는 투과제 A-7에 의한 투과성 부여(예컨대, 미국특허 제5,112,596호, 제5,268,164호, 제5,506,206호, 및 제5,686,416호 참조)를 포함한다.
- [0245] BBB 투과성을 변경하는 방법은, 비제한적으로 혈액-뇌 장벽의 투과성을 증가시키기 위해 글루코코르티코이드 차단제를 사용하는 것(예를 들어, 미국특허출원 공개 제2002/0065259호, 제2003/0162695호 및 제2005/0124533호 참조); 칼륨 채널을 활성화시키는 것(예를 들어, 미국특허출원공개 제2005/0089473호 참조), 및 ABC 약물 수송체를 억제시키는 것(예를 들어, 미국특허출원공개 제2003/0073713호 참조)을 포함한다.
- [0246] 혈액-뇌 장벽을 가로질러 인간화된 항체 또는 이의 인간화된 항체 단편을 전달하는 트로이 목마 전달 방법은, 비제한적으로 항체를 양이온화하는 것(예를 들어, 미국특허 제5,004,697호 참조), 및 Tat 펩티드와 같은 세포-침투 펩티드를 사용하여 CNS 내로 진입시키는 것(예를 들어, 문헌[Dietz et al., *J. Neurochem.* 104:757-765 (2008)] 참조)을 포함한다.
- [0247] 혈액 뇌 장벽을 가로질러 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 전달하는 나노입자 전달 방법은, 비제한적으로 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제한 없이 항체 또는 항원-결합 단편 또는 대안적으로 혈액-뇌 장벽의 혈관 내피에 있는 수용체에 결합하는 펩티드에 결합된, 리포솜 또는 엑소솜과 같은 세포의 소포체에 캡슐화하는 것(예를 들어, 미국특허출원공개 제20020025313호 참조), 및 저밀도 지질단백질 입자(예를 들어, 미국특허출원공개 제20040204354호 참조) 또는 아포지질단백질 E(예를 들어, 미국특허출원공개 제20040131692호 참조)에 항체 또는 항원 결합 단편을 코팅하는 것을 포함한다.
- [0248] 본 발명의 인간화된 항체는 혈액 뇌 장벽 침투를 강화하도록 추가로 변형될 수 있다.
- [0249] 본 발명의 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 혈액-뇌 장벽 수용체에 결합하는 폴리펩티드에 융합될 수 있다. BBB 수용체는, 비제한적으로 트랜스페린 수용체, 인슐린 수용체 또는 저밀도 지질단백질 수용체를 포함한다. 폴리펩티드는 펩티드, 수용체 리간드, 단일 도메인 항체(VHH), scFv 또는 Fab 단편일 수 있다.
- [0250] 본 발명의 인간화된 항체는 또한 인간화된 항체를 코딩하는 해당 핵산으로서 전달될 수 있다. 이러한 핵산 분자는 혈액-뇌 장벽 또는 CNS의 임의의 다른 세포 유형에 대한 표적화된 전달을 위한 바이러스 벡터의 일부일 수 있다. 바이러스 벡터는, 제한 없이, 인간화된 항체 또는 인간화된 항체 단편 또는 인간화된 항체 유도체가 세포 내로 또는 뇌 실질 내로 발현될 수 있도록 하기 위해, AAV1 내지 AAV12를 포함하여, 당업계에 알려진 임의의 AAV 혈청형에서 선택된 제조합 아데노-관련 바이러스 벡터(rAAV)일 수 있다.

- [0251] 본 발명의 인간화된 항체 또는 인간화된 항체 단편 또는 인간화된 항체 유도체를 혈액 내 장벽을 가로질러 전달하는 세포 치료 방법은, 비제한적으로, BBB의 강력한 여과 활성을 극복하기 위해, 독점적인 벡터를 사용하여 체외에서 형질전환된 내피 전구 세포(EPC)의 귀환 용량을 사용하고, 이러한 세포에 의해 뇌로 항체 또는 항체 단편을 분비 및 전달하는 것(예컨대, 문헌[Heller and al., J Cell Mol Med. 00:1-7 (2020)] 참조), 또는 유전자 조작된 세포가 탑재된 중합체 세포 이식 장치를 사용하여 항체 또는 항체 단편을 분비시키는 것(예컨대, 문헌[Marroquin Belaunzaran et al. PLoS ONE 6(4): e18268 (2011)])을 포함한다.
- [0252] 약학적으로 허용되는 담체, 희석제, 보조제 및 부형제는 약학 분야에서 잘 알려져 있으며, 예를 들어 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th or 18th Ed. (Alfonso R. Gennaro, ed.; Mack Publishing Company, Easton, PA, 1990)]; 문헌[Remington: the Science and Practice of Pharmacy 19th Ed.(Lippincott, Williams & Wilkins, 1995)]; 문헌[Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd Ed. (Arthur H. Kibbe, ed.; Amer. Pharmaceutical Assoc, 1999)]; 문헌[Pharmaceutical Codex: Principles and Practice of Pharmaceutics 12th Ed. (Walter Lund ed.; Pharmaceutical Press, London, 1994)]; 문헌[The United States Pharmacopeia: The National Formulary (United States Pharmacopeial Convention)]; 문헌[Fiedler's "Lexikon der Hilfstoffe" 5th Ed., Edition Cantor Verlag Aulendorf 2002]; 문헌["The Handbook of Pharmaceutical Excipients", 4th Ed., American Pharmaceuticals Association, 2003]; 및 문헌[Goodman and Gilman's: the Pharmacological Basis of Therapeutics (Louis S. Goodman and Lee E. Limbird, eds.; McGraw Hill, 1992)]에 기술되어 있으며, 이들의 개시내용은 본원에 인용되어 포함된다.
- [0253] 담체, 희석제, 보조제 및 약학적인 부형제는 의도된 투여 경로 및 표준 약학적 관행을 고려하여 선택될 수 있다. 이러한 화합물은 수용자에게 해롭지 않다는 의미에서 허용 가능해야 한다. 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th or 18th Ed. (Alfonso R. Gennaro, ed.; Mack Publishing Company, Easton, PA, 1990)]; 문헌[Remington: the Science and Practice of Pharmacy 19th Ed.(Lippincott, Williams & Wilkins, 1995)]; 문헌[Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd Ed. (Arthur H. Kibbe, ed.; Amer. Pharmaceutical Assoc, 1999)]; 문헌[Pharmaceutical Codex: Principles and Practice of Pharmaceutics 12th Ed. (Walter Lund ed.; Pharmaceutical Press, London, 1994)]; 문헌[The United States Pharmacopeia: The National Formulary (United States Pharmacopeial Convention)]; 문헌[Fiedler's "Lexikon der Hilfstoffe" 5th Ed., Edition Cantor Verlag Aulendorf 2002]; 문헌["The Handbook of Pharmaceutical Excipients", 4th Ed., American Pharmaceuticals Association, 2003]; 및 문헌[Goodman and Gilman's: the Pharmacological Basis of Therapeutics (Louis S. Goodman and Lee E. Limbird, eds.; McGraw Hill, 1992)]을 참조하며, 이들의 개시내용은 본원에 인용되어 포함된다.
- [0254] 대상체에 투여될 화합물의 "유효량"은 건전한 의학적 판단에 따라 질환, 장애 또는 이상을 치료, 예방 또는 완화하는데 적합한 용량이다. 특정 용량 수준과 투약 빈도는 예를 들어 사용된 특정 화합물의 활성, 해당 화합물의 대사 안정성 및 작용 기간, 투여 방식 및 시간을 포함한 다양한 요인에 따라 달라질 수 있다. 대상체에 투여되는 화합물의 "유효량"은 건전한 의학적 판단에 따라 장애, 질환, 장애 또는 이상을 치료, 예방 또는 완화하는데 적합한 용량이다. 특정 용량 수준과 투약 빈도는 예를 들어 사용된 특정 화합물의 활성, 해당 화합물의 대사 안정성 및 작용 기간, 투여 방식 및 시간, 배설 속도 및 약물 조합을 포함한 다양한 요인에 따라 달라질 수 있다. 나이, 체중, 전반적인 건강, 성별, 식단 및 특정 상태의 중증도와 같은 환자-특이적인 요인도 투여될 양에 영향을 미칠 수 있다.
- [0255] 용어 "청소율"(또한 "청소율 값" 또는 "CL" 또는 "전신 청소율"이라고도 함)은 신체에서 물질을 제거하는 효율성에 관한 것이다. 물질(이 경우 본 발명의 결합 분자)의 청소율은 소변 및 신장 외 청소율의 합계이다; 신장 및 신장 외 경로에 의해 제거되는 물질의 경우, 혈장 청소율이 소변 청소율을 초과한다. mAb의 PK 특성은 큰 크기(150 kDa), 상대적 극성, Fc-수용체 결합 및 표적 항원에 대한 특이적 결합의 함수이다. mAb의 주요 제거 경로는 세포 흡수 후 단백질 분해이다. 전신 순환에서 mAb의 청소율이 낮기 때문에 펩티드나 소분자보다 투여 빈도를 줄일 수 있으며, 이는 종종 환자에게 더 편리하다(문헌[Betts et al., MABs. 2018]).
- [0256] **XI. TDP-43 특이적인 결합 분자에 대한 본 발명의 실시형태**
- [0257] 일부 실시형태에서, 하기를 포함하는 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 제공된다:
- [0258] a) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 VH-

CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 또는

- [0259] b) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 또는
- [0260] c) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3.
- [0261] d) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 102의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 또는
- [0262] e) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 112의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 또는
- [0263] f) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3.
- [0264] 일부 실시형태에서, 하기를 포함하는 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 제공된다:
- [0265] a) SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3; 또는
- [0266] b) SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3; 또는
- [0267] c) SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3.
- [0268] 일부 실시형태에서, 하기를 포함하는 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 제공된다:
- [0269] a) 하기를 포함하는 중쇄 가변 영역(VH):
- [0270] i. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 또는
- [0271] ii. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 또는
- [0272] iii. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 또는
- [0273] iv. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 102의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 또는
- [0274] v. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 112의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 또는
- [0275] vi. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 및
- [0276] b) 하기를 포함하는 경쇄 가변 영역(VL):
- [0277] i. SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3; 또는
- [0278] ii. SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3; 또는
- [0279] iii. SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3.
- [0280] 일부 실시형태에서, 하기를 포함하는 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-

결합 단편이 제공된다:

- [0281] a) 하기를 포함하는 중쇄 가변 영역(VH):
- [0282] i. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1 또는 SEQ ID NO: 21과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2 또는 SEQ ID NO: 22와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 또는
- [0283] ii. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1 또는 SEQ ID NO: 21과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2 또는 SEQ ID NO: 82와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 또는
- [0284] iii. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1 또는 SEQ ID NO: 21과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2 또는 SEQ ID NO: 92와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 또는
- [0285] iv. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1 또는 SEQ ID NO: 21과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 102의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2 또는 SEQ ID NO: 102와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 또는
- [0286] v. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1 또는 SEQ ID NO: 21과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 112의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2 또는 SEQ ID NO: 112와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 또는
- [0287] vi. SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1 또는 SEQ ID NO: 21과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2 또는 SEQ ID NO: 122와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; 및
- [0288] b) 하기를 포함하는 경쇄 가변 영역(VL):
- [0289] i. SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1 또는 SEQ ID NO: 25와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2 또는 SEQ ID NO: 16과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3 또는 SEQ ID NO: 27과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3; 또는
- [0290] ii. SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1 또는 SEQ ID NO: 85와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2 또는 SEQ ID NO: 16과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3 또는 SEQ ID NO: 87과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3; 또는
- [0291] iii. SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1 또는 SEQ ID NO: 25와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2 또는 SEQ ID NO: 16과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3 또는 SEQ ID NO: 87과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3.
- [0292] 일부 실시형태에서, 하기를 포함하는 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 제공된다:
- [0293] a) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1 또는 SEQ ID NO: 21과 적어도 80%, 90%, 95% 또는

100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2 또는 SEQ ID NO: 22와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH); 또는

[0294] b) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1 또는 SEQ ID NO: 21과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 112의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2 또는 SEQ ID NO: 112와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH);

[0295] c) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1 또는 SEQ ID NO: 21과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2 또는 SEQ ID NO: 122와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH);

[0296] 및

[0297] d) SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1 또는 SEQ ID NO: 25와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2 또는 SEQ ID NO: 16과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3 또는 SEQ ID NO: 27과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

[0298] e) SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1 또는 SEQ ID NO: 85와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2 또는 SEQ ID NO: 16과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3 또는 SEQ ID NO: 87과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

[0299] f) SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1 또는 SEQ ID NO: 25와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2 또는 SEQ ID NO: 16과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3 또는 SEQ ID NO: 87과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL).

[0300] 보다 특히, 일부 실시형태에서, 하기를 포함하는 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 제공된다:

[0301] a) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1 또는 SEQ ID NO: 21과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2 또는 SEQ ID NO: 122와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0302] b) SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1 또는 SEQ ID NO: 85와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2 또는 SEQ ID NO: 16과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3 또는 SEQ ID NO: 87과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL).

[0303] 보다 특히, 일부 실시형태에서, 하기를 포함하는 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 제공된다:

[0304] a) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1 또는 SEQ ID NO: 21과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 112의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2 또는 SEQ ID NO: 112와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0305] b) SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1 또는 SEQ ID NO: 25와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는

VL-CDR2 또는 SEQ ID NO: 16과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3 또는 SEQ ID NO: 87과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL).

- [0306] 보다 특히, 일부 실시형태에서, 하기를 포함하는 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 제공된다:
- [0307] a) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1 또는 SEQ ID NO: 21과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2 또는 SEQ ID NO: 122와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; 및 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH); 및
- [0308] SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1 또는 SEQ ID NO: 25와 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2 또는 SEQ ID NO: 16과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3 또는 SEQ ID NO: 87과 적어도 80%, 90%, 95% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL).
- [0309] 일부 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 항체는 (a) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; (b) SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 112 또는 SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; (c) 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; (d) SEQ ID NO: 25 또는 SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; (e) SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 (f) SEQ ID NO: 27 또는 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3으로부터 선택되는 CDR을 포함한다.
- [0310] 일부 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 항체는 (a) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; (b) SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; (c) 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; (d) SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; (e) SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 (f) SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3으로부터 선택되는 CDR을 포함한다.
- [0311] 일부 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 항체는 (a) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; (b) SEQ ID NO: 112의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; (c) 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; (d) SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; (e) SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 (f) SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3으로부터 선택되는 CDR을 포함한다.
- [0312] 일부 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 항체는 (a) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; (b) SEQ ID NO: 112의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; (c) 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; (d) SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; (e) SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 (f) SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3으로부터 선택되는 CDR을 포함한다.
- [0313] 일부 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 항체는 (a) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; (b) SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; (c) 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; (d) SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; (e) SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 (f) SEQ ID NO: 27의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3으로부터 선택되는 CDR을 포함한다.
- [0314] 일부 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 항체는 (a) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; (b) SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; (c) 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; (d) SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; (e) SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 (f) SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3으로부터 선택되는 CDR을 포함한다.
- [0315] 일부 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 항체는 (a) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; (b) SEQ ID NO: 112의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; (c) 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; (d) SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; (e) SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 (f) SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3으로부터 선택되는 CDR을 포함한다.
- [0316] 일부 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 항체는 (a) SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; (b) SEQ ID NO: 122의 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; (c) 아미노산 서열 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3; (d) SEQ ID NO: 25의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1; (e) SEQ ID NO: 16의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2;

및 (f) SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3으로부터 선택되는 CDR을 포함한다.

- [0317] 또 다른 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 항체는 SEQ ID NO: 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 및 120, 및 이들 서열의 번역 후 변형을 포함하는 것으로 이루어진 군으로부터 선택되는 중쇄 가변 도메인(VH)을 포함한다. 특정 실시형태에서, 중쇄 가변 도메인(VH)은 (a) 아미노산 서열 SEQ ID NO: 21을 포함하는 VH-CDR1, (b) SEQ ID NO: 22, 82, 92, 102, 112 및 122로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2 (c) 아미노산 ES(Glu-Ser)를 포함하는 VH-CDR3으로부터 선택되는 적어도 1개, 2개, 또는 3개의 CDR을 포함한다.
- [0318] 또 다른 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 항체는 SEQ ID NO: 34, 44, 54, 64, 74, 84 및 94 및 이들 서열의 번역 후 변형을 포함하는 것으로 이루어진 군으로부터 선택되는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함한다. 특정 실시형태에서, 경쇄 가변 도메인(VL)은 (a) SEQ ID NO: 25, 및 SEQ ID NO: 85로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1, 및 (b) 아미노산 서열 SEQ ID NO: 16을 포함하는 VL-CDR2 및 (c) SEQ ID NO: 27 및 87로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3으로부터 선택되는 적어도 1개, 2개, 또는 3개의 CDR을 포함한다.
- [0319] 일부 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 항체는 하기를 포함한다:
- [0320] a. SEQ ID NO: 30의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 30의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- [0321] b. SEQ ID NO: 40의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- [0322] c. SEQ ID NO: 50의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 50의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- [0323] d. SEQ ID NO: 60의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 60의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- [0324] e. SEQ ID NO: 70의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 70의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- [0325] f. SEQ ID NO: 80의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 80의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- [0326] g. SEQ ID NO: 90의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 90의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- [0327] h. SEQ ID NO: 100의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 100의 아미노산 서열과 적어도 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- [0328] i. SEQ ID NO: 110의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열과 적어도 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- [0329] j. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 120의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH).
- [0330] 일부 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 항체는 하기를 포함한다:
- [0331] a. SEQ ID NO: 34의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열과 적어도 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- [0332] b. SEQ ID NO: 44의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열과 적어도 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- [0333] c. SEQ ID NO: 54의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열과 적어도 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- [0334] d. SEQ ID NO: 64의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 64의 아미노산 서열과 적어도

97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

- [0335] e. SEQ ID NO: 74의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 74의 아미노산 서열과 적어도 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- [0336] f. SEQ ID NO: 84의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열과 적어도 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- [0337] g. SEQ ID NO: 94의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 94의 아미노산 서열과 적어도 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL).
- [0338] 일부 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 항원-결합 단편은 하기를 포함한다:
- [0339] a) 하기로부터 선택되는 중쇄 가변 영역(VH):
- [0340] i. SEQ ID NO: 30의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 30의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- [0341] ii. SEQ ID NO: 40의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 40의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- [0342] iii. SEQ ID NO: 50의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 50의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- [0343] iv. SEQ ID NO: 60의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 60의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- [0344] v. SEQ ID NO: 70의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 70의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- [0345] vi. SEQ ID NO: 80의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 80의 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- [0346] vii. SEQ ID NO: 90의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 90의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- [0347] viii. SEQ ID NO: 100의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 100의 아미노산 서열과 적어도 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- [0348] ix. SEQ ID NO: 110의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열과 적어도 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 또는
- [0349] x. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 120의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및
- [0350] b) 하기로부터 선택되는 경쇄 가변 영역(VL):
- [0351] i. SEQ ID NO: 34의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열과 적어도 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- [0352] ii. SEQ ID NO: 44의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 44의 서열과 적어도 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- [0353] iii. SEQ ID NO: 54의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열과 적어도 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- [0354] iv. SEQ ID NO: 64의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 64의 서열과 적어도 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- [0355] v. SEQ ID NO: 74의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 74의 아미노산 서열과 적어도

96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

- [0356] vi. SEQ ID NO: 84의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열과 적어도 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- [0357] vii. SEQ ID NO: 94의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 94의 아미노산 서열과 적어도 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL).
- [0358] 일부 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하기를 포함한다:
- [0359] a. SEQ ID NO: 60의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 60의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 54의 서열과 적어도 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- [0360] b. SEQ ID NO: 70의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 70의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 44의 서열과 적어도 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- [0361] c. SEQ ID NO: 70의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 70의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 54의 서열과 적어도 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- [0362] d. SEQ ID NO: 70의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 70의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID NO: 64의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 64의 서열과 적어도 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- [0363] e. SEQ ID NO: 110의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열과 적어도 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID NO: 64의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 64의 서열과 적어도 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- [0364] f. SEQ ID NO: 110의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열과 적어도 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 84의 서열과 적어도 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- [0365] g. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 120의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID NO: 64의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 64의 서열과 적어도 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- [0366] h. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 120의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 84의 서열과 적어도 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- [0367] i. SEQ ID NO: 110의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 110의 아미노산 서열과 적어도 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID NO: 94의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 94의 서열과 적어도 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는
- [0368] j. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 또는 SEQ ID NO: 120의 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 SEQ ID N

O: 94의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 또는 SEQ ID NO: 94의 서열과 적어도 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역(VL).

[0369] 일부 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 항체는 하기를 포함한다:

[0370] a. SEQ ID NO: 60의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 54의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

[0371] b. SEQ ID NO: 70의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 44의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

[0372] c. SEQ ID NO: 70의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 54의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

[0373] d. SEQ ID NO: 70의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 64의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

[0374] e. SEQ ID NO: 110의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 64의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

[0375] f. SEQ ID NO: 110의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 84의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

[0376] g. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 64의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

[0377] h. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 84의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

[0378] i. SEQ ID NO: 110의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 94의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

[0379] j. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 94의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL).

[0380] 일부 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 항체는 하기를 포함한다:

[0381] a. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 84의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

[0382] b. SEQ ID NO: 110의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 94의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

[0383] c. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 94의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL).

[0384] 일부 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 항체는 하기를 포함한다:

[0385] a. SEQ ID NO: 110의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 84의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

[0386] b. SEQ ID NO: 110의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 94의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

[0387] c. SEQ ID NO: 120의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 SEQ ID NO: 94의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL).

[0388] 일부 실시형태에서, 본 발명은 hACI-7069-633B12-Ab1_H27L23, hACI-7069-633B12-Ab1_H28L22, hACI-7069-633B12-Ab1_H28L23, hACI-7069-633B12-Ab1_H28L24, hACI-7069-633B12-Ab1_H32L24, hACI-7069-633B12-Ab1_H32L26, hACI-7069-633B12-Ab1_H33L24, hACI-7069-633B12-Ab1_H33L26, hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27 또는 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27로부터 선택되는 인간화된 TDP-43 결합 분자에 관한 것이다.

[0389] 바람직하게는, 인간화된 TDP-43 결합 분자는 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L26, hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27 또는

hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27을 포함하는 군으로부터 선택된다.

- [0390] 보다 더 바람직하게는, 인간화된 TDP-43 결합 분자는 hACI-7069-633B12-Ab1_H32L26, hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27 또는 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27을 포함하는 군으로부터 선택된다.
- [0391] 하나의 바람직한 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 결합 분자는 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27이다.
- [0392] 일부 실시형태에서, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편은, 7.8 미만, 바람직하게는 7.5 미만, 보다 바람직하게는 7.0 미만의 pI를 갖는 Fv를 포함한다.
- [0393] 일부 실시형태에서, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편은, pH 7.4에서 0.2 미만, 바람직하게는 -0.8 미만, 보다 바람직하게는 -1.8 미만의 순 전하를 갖는 Fv를 포함한다.
- [0394] 일부 실시형태에서, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 7.0 미만의 pI 및 -1.8 미만의 순 전하를 갖는 Fv를 포함한다.
- [0395] 본 발명의 일부 실시형태에서, 본 발명의 인간화된 항-TDP-43 결합 분자는 마우스에서 0.50 mL/h/kg 이하, 특히 0.25 mL/h/kg 이하, 보다 특히 0.18 mL/h/kg 이하의 청소율을 갖는다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편은, Tg32 마우스에서 적어도 8일, 바람직하게는 적어도 10일, 보다 바람직하게는 적어도 12일의 반감기를 나타낸다. 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 결합 분자는 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27 또는 hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27일 수 있다. 청소율(예컨대 전신, CL) 및 반감기($T_{1/2\beta}$)의 측정에 대해 실시예 5를 참조할 수 있다.
- [0396] 본 발명의 일부 실시형태에서, 본 발명의 인간화된 항-TDP-43 결합 분자는 NHP에서 0.27 mL/h/kg 이하, 특히 0.12 mL/h/kg 이하, 보다 특히 0.08 mL/h/kg 이하의 청소율을 갖는다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편은, NHP에서 적어도 6일, 바람직하게는 적어도 8일, 예를 들어 적어도 10 또는 12일의 반감기를 나타낸다. 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 결합 분자는 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27 또는 hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27일 수 있다. 청소율(예컨대 전신, CL) 및 반감기($T_{1/2\beta}$)의 측정에 대해 실시예 6을 참조할 수 있다.
- [0397] 일부 실시형태에서, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 또는 이의 항원-결합 단편은, 적어도 20일, 바람직하게는 적어도 24일, 예를 들어 적어도 26일의 예측된 인간 반감기를 나타낸다. 예측된 인간 반감기는 27-30일 또는 17-22일일 수 있다. 인간화된 TDP-43 결합 분자는 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27 또는 hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27일 수 있다. Tg32 마우스 및/또는 시노물구스 원숭이에서의 반감기로부터 예측된 인간 반감기를 계산하는 방법에 대해 실시예 9를 참조할 수 있다.
- [0398] 일부 실시형태에서, (단리된) 핵산이 제공되며, 여기서 (단리된) 핵산은 본원에 기술된 인간화된 TDP-43 결합 분자 특히 인간화된 TDP-43 항체 및 이의 단편을 코딩한다.
- [0399] 일부 실시형태에서, (단리된) 핵산이 제공되며, 여기서 (단리된) 핵산은 인간화된 항-TPD-43 항체를 코딩하는 SEQ ID NO:38을 포함한다.
- [0400] 일부 실시형태에서, (단리된) 핵산이 제공되며, 여기서 (단리된) 핵산은 인간화된 항-TPD-43 항체를 코딩하는 SEQ ID NO:48을 포함한다.
- [0401] 일부 실시형태에서, (단리된) 핵산이 제공되며, 여기서 (단리된) 핵산은 인간화된 항-TPD-43 항체를 코딩하는 SEQ ID NO:58을 포함한다.
- [0402] 일부 실시형태에서, (단리된) 핵산이 제공되며, 여기서 (단리된) 핵산은 인간화된 항-TPD-43 항체를 코딩하는 SEQ ID NO:68을 포함한다.
- [0403] 일부 실시형태에서, (단리된) 핵산이 제공되며, 여기서 (단리된) 핵산은 인간화된 항-TPD-43 항체를 코딩하는 SEQ ID NO:78을 포함한다.
- [0404] 일부 실시형태에서, (단리된) 핵산이 제공되며, 여기서 (단리된) 핵산은 인간화된 항-TPD-43 항체를 코딩하는 SEQ ID NO:88을 포함한다.
- [0405] 일부 실시형태에서, (단리된) 핵산이 제공되며, 여기서 (단리된) 핵산은 인간화된 항-TPD-43 항체를 코딩하는

SEQ ID NO:98을 포함한다.

[0406] 일부 실시형태에서, (단리된) 핵산이 제공되며, 여기서 (단리된) 핵산은 인간화된 항-TPD-43 항체를 코딩하는 SEQ ID NO:108을 포함한다.

[0407] 일부 실시형태에서, (단리된) 핵산이 제공되며, 여기서 (단리된) 핵산은 인간화된 항-TPD-43 항체를 코딩하는 SEQ ID NO:118을 포함한다.

[0408] 일부 실시형태에서, (단리된) 핵산이 제공되며, 여기서 (단리된) 핵산은 인간화된 항-TPD-43 항체를 코딩하는 SEQ ID NO:128을 포함한다.

[0409] 일부 실시형태에서, (단리된) 핵산이 제공되며, 여기서 (단리된) 핵산은 인간화된 항-TPD-43 항체를 코딩하는 SEQ ID NO:39를 포함한다.

[0410] 일부 실시형태에서, (단리된) 핵산이 제공되며, 여기서 (단리된) 핵산은 인간화된 항-TPD-43 항체를 코딩하는 SEQ ID NO:49를 포함한다.

[0411] 일부 실시형태에서, (단리된) 핵산이 제공되며, 여기서 (단리된) 핵산은 인간화된 항-TPD-43 항체를 코딩하는 SEQ ID NO:59를 포함한다.

[0412] 일부 실시형태에서, (단리된) 핵산이 제공되며, 여기서 (단리된) 핵산은 인간화된 항-TPD-43 항체를 코딩하는 SEQ ID NO:69를 포함한다.

[0413] 일부 실시형태에서, (단리된) 핵산이 제공되며, 여기서 (단리된) 핵산은 인간화된 항-TPD-43 항체를 코딩하는 SEQ ID NO:79를 포함한다.

[0414] 일부 실시형태에서, (단리된) 핵산이 제공되며, 여기서 (단리된) 핵산은 인간화된 항-TPD-43 항체를 코딩하는 SEQ ID NO:89를 포함한다.

[0415] 일부 실시형태에서, (단리된) 핵산이 제공되며, 여기서 (단리된) 핵산은 인간화된 항-TPD-43 항체를 코딩하는 SEQ ID NO:99를 포함한다.

[0416] XII. 조성물 및 방법

[0417] 본 발명은 또한 본원에 기술된 바와 같은 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 약학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제 및/또는 희석제를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.

[0418] 일부 실시형태에서, 본원에 기술된 (단리된) 인간화된 항체 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물이 제공된다.

[0419] 일부 실시형태에서, 본원에 기술된 결합 분자, 특히 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 접합된 분자를 포함하는, 접합된 결합 분자, 특히 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 제공된다. 본 발명의 접합체는 면역접합체로서 지칭될 수 있다. 임의의 적합한 접합된 분자가 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 적합한 예는 비제한적으로 효소(예컨대 알칼린 포스파타제 또는 홀스래디쉬 퍼옥시다제), 아비딘, 스트렙타비딘, 비오틴, 단백질 A/G, 자기 비드, 형광단, 방사성 동위원소(즉, 방사성접합체), 핵산 분자, 검출가능한 표지, 치료제, 독소 및 혈액 뇌 장벽 투과 모이어티를 포함한다. 접합 방법은 당업계에 잘 알려져 있으며 항체를 표지 또는 다른 분자에 접합하기 위한 여러 기술이 상업적으로 이용가능하다. 접합은 일반적으로 본 발명의 결합 분자 내에 함유된 아미노산 잔기(예컨대, 리신, 히스티딘 또는 시스테인)를 통해 이루어진다. 이들은 NHS(숙신이미드) 에스터 방법, 이소티오시아네이트 방법, 카르보디이미드 방법 및 과요오드산염 방법과 같은 방법에 의존할 수 있다. 접합은 예를 들어 융합 단백질을 생성하여 달성될 수 있다. 이는 결합 분자가 다른 단백질 분자와 접합되는 경우에 적합하다. 따라서, 본 발명의 결합 분자와 표지 또는 다른 분자의 융합을 발현할 수 있는 적절한 유전자 구조물이 형성될 수 있다. 접합은 항체와 접합된 분자의 적절한 공간적 분리를 보장하기 위해 적절한 링커 모이어티, 예를 들어 검출가능한 표지를 통해 이루어질 수 있다. 그러나, 링커는 모든 경우에 필요하지 않을 수 있다. 일부 실시형태에서 본 발명의 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자는 검출가능한 표지에 연결된다.

[0420] 본 발명은 또한 하나 이상의 치료제, 예컨대 화학요법제 또는 약물, 성장 억제제, 독소(예컨대, 단백질 독소, 박테리아, 진균, 식물, 또는 동물 기원의 효소적으로 활성인 독소, 또는 이의 단편), 방사성 동위원소(즉, 방사선접합체), 혈액 뇌 장벽 투과 모이어티 또는 검출가능한 표지와 접합된 본원에 제공된 인간화된 TDP-43 결합

분자를 포함하는 면역접합체에 관하 것이다. 본원에서 논의된 바와 같이 혈액-뇌 장벽(BBB)을 가로질러 약물 전달을 개선하기 위한 다양한 기술이 존재하며, 이러한 논의는 준용된다. 비침습적 기술은 접합된 분자가 BBB 수용체에 결합하여 수송을 매개함으로써 본 발명의 결합 분자를 전달하는 소위 "트로이 목마 접근법"을 포함한다. 적합한 분자는 BBB 수용체의 특정 에피토프에 결합하는 내인성 리간드 또는 항체, 특히 모노클로날 항체를 포함할 수 있다.

- [0421] 일부 실시형태에서, 면역접합체가 제공되며, 상기 면역접합체는 본원에 기술된 (단리된) 인간화된 항체 및 치료제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 표지된 인간화된 항체가 제공되며, 이는 본원에 기술된 인간화된 항체 및 검출가능한 표지를 포함한다.
- [0422] 일부 실시형태에서 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자는 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자가 또 다른 적합한 치료제에 공유적으로 연결된 면역접합체의 일부이다.
- [0423] 일부 실시형태에서 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자 또는 이를 포함하는 면역접합체는 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자를 포함하는 조성물로서 존재한다.
- [0424] 일부 실시형태에서 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자는 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자, 또는 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자가 또 다른 적합한 치료제에 공유적으로 연결된 면역접합체, 또는 약학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제 및/또는 희석제와 결합된 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자를 포함하는 조성물을 포함하는 약학 조성물의 일부이다.
- [0425] 일부 실시형태에서 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자는 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자, 또는 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자가 또 다른 적합한 치료제에 공유적으로 연결된 면역접합체, 또는 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자를 포함하는 조성물을 포함하는 검출 및/또는 진단 키트의 일부이다.
- [0426] 본 발명의 인간화된 결합 분자를 함유하는 키트가 또한 제공된다. 특히, 이러한 키트는 본 발명의 진단 방법(분류, 모니터링 및 요법 선별 방법 포함)을 수행하는데 유용할 수 있다. 따라서, TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증의 진단을 위한, 또는 본 발명의 방법에서 사용하기 위한 본 발명의 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자를 포함하는 키트가 제공된다. 이러한 키트는 본원에 제공된 방법을 수행하는데 필요한 모든 구성요소를 포함할 수 있다. 전형적으로 각각의 구성성분은 단일 전체 포장에 별도로 보관된다. 키트에 포함되기에 적합한 추가 구성성분은, 예컨대 완충제, 검출가능한 염료, 실험실 장비, 반응 용기, 지침 등이다. 사용 지침은 키트가 사용되는 특정 방법에 맞게 조정될 수 있다. 본 발명의 적합하게 표지된 인간화된 TDP-43 결합 분자가 또한 제공되며, 이는 이러한 키트 안에 포함될 수 있다.
- [0427] 일부 실시형태에서 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자는 TDP-43 단백질병증의 예방, 진단 또는 치료에서 사용하기 위한 면역진단 방법에서 사용된다.
- [0428] 일부 실시형태에서 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자, 또는 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자가 또 다른 적합한 치료제에 공유적으로 연결된 면역접합체, 또는 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자를 포함하는 조성물이 이를 필요로 하는 대상체에 투여되거나, 비제한적으로 전측두엽 치매(FTD), 근위축성 측삭 경화증(ALS), 알츠하이머병(AD), 파킨슨병(PD), 만성 외상성 뇌병증(CTE), 변연계-우세 연령-관련 TDP-43 뇌병증(LATE)을 포함하여 TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증을 진단, 예방, 완화 또는 치료하기 위해 사용된다.
- [0429] 일부 실시형태에서 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자, 또는 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자가 또 다른 적합한 치료제에 공유적으로 연결된 면역접합체, 또는 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자를 포함하는 조성물은 이를 필요로 하는 대상체에 투여되거나, 전측두엽 치매(FTD), 예컨대 산발성 또는 가족성, 운동-뉴런 질환(MND)이 있거나 없는 것, 프로그래놀린(GRN) 돌연변이가 있는 것, C9orf72 돌연변이가 있는 것, TARDBP 돌연변이가 있는 것, 발로신-함유 단백질(VCP)의 돌연변이가 있는 것, 염색체 9p와 연결된 것, 피질기저 퇴행, 유비퀴틴-양성 TDP-43 봉입체(FTLD-TDP)가 있는 전측두엽 퇴행(FTLD), 호은성 입자 질병, 픽병, 의미형 변이체 원발 진행성 실어증(svPPA), 행동 변이 FTD(bvFTD), 비유창 변이 원발 진행성 실어증(nfvPPA) 등), 근위축성 측삭 경화증(ALS, 예컨대 산발성 ALS, TARDBP 돌연변이가 있는 것, 안지오제닌(ANG) 돌연변이가 있는 것), 알렉산더병(AxID), 변연계-우세 연령-관련 TDP-43 뇌병증(LATE), 만성 외상성 뇌병증(CTE), 폐리 증후군, 알츠하이머병(AD, AD의 산발성 및 가족성 형태 포함), 다운 증후군, 영국 가족성 치매, 폴리글루타민 질환(헌팅틴병 및 척수소뇌 실조 유형 3(SCA3; 마카도 조셉병으로도 알려져 있음)), 해마 경화증 치매 및 근병증(산발성 봉입체 근염, 발로신-함유 단백질(VCP); 또한 골의 파제트병 및 전측두엽 치매)에 돌연변이가 있는 봉입체 근염, 테두리 액포가

있는 눈인두 근이영양증, 미오티린(MYOT) 유전자의 돌연변이 또는 데스민(DES)을 코딩하는 유전자의 돌연변이가 있는 근섬유 근병증), 외상성 뇌손상(TBI), 루이소체가 있는 치매(DLB) 또는 파킨슨병(PD)으로부터 선택되는 TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증을 진단 또는 모니터링하는 방법에서 사용된다.

[0430] 다른 실시형태에서, 본 발명은 전측두엽 치매(FTD), 근위축성 측삭 경화증(ALS), 알츠하이머병(AD), 파킨슨병(PD), 만성 외상성 뇌병증(CTE), 및 변연계-우세 연령-관련 TDP-43 뇌병증(LATE)으로부터 선택되는 TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증을 검출, 진단 또는 모니터링하기 위한 임의의 방법에 관한 것이다.

[0431] 바람직하게는, TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증은 근위축성 측삭 경화증(ALS), 알츠하이머병(AD) 및 전측두엽 치매(FTD)로부터 선택된다. 보다 바람직하게는, TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증은 근위축성 측삭 경화증(ALS)이다. 보다 바람직하게는, TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증은 알츠하이머병(AD)이다. 보다 바람직하게는, TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증은 전측두엽 치매(FTD)이다.

[0432] 일부 실시형태에서 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자는 증상전 질환의 진단을 위한 방법 또는 질환 진행 및 치료 효능을 모니터링하기 위한 방법, 또는 반응성을 예측하기 위한 방법, 또는 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자를 사용하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있는 대상체를 선별하기 위한 방법에서 사용된다. 상기 방법은 바람직하게는 인간 혈액 또는 소변의 샘플을 사용하여 수행된다. 보다 바람직하게는 상기 방법은 ELISA-기반 또는 표면 적응 분석을 수반한다.

[0433] 일부 실시형태에서 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자는 전측두엽 퇴행(FTD) 또는 근위축성 측삭 경화증(ALS), 알츠하이머병(AD), 만성 외상성 뇌병증(CTE), 페리 증후군, 변연계-우세 연령-관련 TDP-43 뇌병증(LATE) 및/또는 파킨슨병(PD)을 검출, 진단 또는 모니터링하기 위해 본 발명의 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자가 샘플(예컨대 혈액, 소변, 뇌척수액, 간질액(ISF), 또는 뇌 조직)과 접촉되는 방법에서 사용된다.

[0434] 일부 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자는 전측두엽 치매(FTD, 예컨대 산발성 또는 가족성, 운동-뉴런 질환(MND)이 있거나 없는 것, 프로그래놀린(GRN) 돌연변이가 있는 것, C9orf72 돌연변이가 있는 것, TARDBP 돌연변이가 있는 것, 발로신-함유 단백질(VCP)의 돌연변이가 있는 것, 염색체 9p와 연결된 것, 퍼질기저 퇴행, 유비퀴틴-양성 TDP-43 봉입체(FTLD-TDP)가 있는 전측두엽 퇴행(FTLD), 호은성 입자 질병, 픽병, 의미형 변이체 원발 진행성 실어증(svPPA), 행동 변이 FTD(bvFTD), 비유창 변이 원발 진행성 실어증(nfvPPA) 등), 근위축성 측삭 경화증(ALS, 예컨대 산발성 ALS, TARDBP 돌연변이가 있는 것, 안지오제닌(ANG) 돌연변이가 있는 것), 알렉산더병(AxD), 변연계-우세 연령-관련 TDP-43 뇌병증(LATE), 만성 외상성 뇌병증(CTE), 페리 증후군, 알츠하이머병(AD, AD의 산발성 및 가족성 형태 포함), 다운 증후군, 영국 가족성 치매, 폴리글루타민 질환(헌팅턴병 및 척수소뇌 실조 유형 3(SCA3; 마카도 조셉병으로도 알려져 있음)), 해마 경화증 치매 및 근병증(산발성 봉입체 근염, 발로신-함유 단백질(VCP); 또한 골의 파제트병 및 전측두엽 치매)에 돌연변이가 있는 봉입체 근염, 테두리 액포가 있는 눈인두 근이영양증, 미오티린(MYOT) 유전자의 돌연변이 또는 데스민(DES)을 코딩하는 유전자의 돌연변이가 있는 근섬유 근병증), 외상성 뇌손상(TBI), 루이소체가 있는 치매(DLB) 또는 파킨슨병(PD)으로부터 선택되는 질환을 검출, 진단 또는 모니터링하기 위해 본 발명의 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자가 샘플(예컨대, 혈액, 소변, 뇌척수액, 간질액(ISF), 또는 뇌 조직)과 접촉되는 방법에서 사용된다.

[0435] 일부 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자, 또는 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자가 또 다른 적합한 치료제에 공유적으로 연결된 면역접합체, 또는 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자를 포함하는 조성물은 이를 필요로 하는 대상체에 투여되거나, TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증, 또는 전측두엽 퇴행(FTD) 또는 근위축성 측삭 경화증(ALS), 알츠하이머병(AD, AD의 산발성 및 가족성 형태 포함), 만성 외상성 뇌병증(CTE), 페리 증후군 및 변연계-우세 연령-관련 TDP-43 뇌병증(LATE) 및/또는 파킨슨병(PD)의 예방, 완화 또는 치료를 위해 사용된다.

[0436] 일부 실시형태에서, 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자, 또는 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자가 또 다른 적합한 치료제에 공유적으로 연결된 면역접합체, 또는 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자를 포함하는 조성물은 이를 필요로 하는 대상체에 투여되거나 다음으로부터 선택되는 질환의 치료를 위해 사용된다: 전측두엽 치매(FTD, 예컨대 산발성 또는 가족성, 운동-뉴런 질환(MND)이 있거나 없는 것, 프로그래놀린(GRN) 돌연변이가 있는 것,

C9orf72 돌연변이가 있는 것, TARDBP 돌연변이가 있는 것, 발로신-함유 단백질(VCP)의 돌연변이가 있는 것, 염색체 9p와 연결된 것, 피질기저 퇴행, 유비퀴틴-양성 TDP-43 봉입체(FTLD-TDP)가 있는 전측두엽 퇴행(FTLD), 호은성 입자 질병, 픽병, 의미형 변이체 원발 진행성 실어증(svPPA), 행동 변이 FTD(bvFTD), 비유창 변이 원발 진행성 실어증(nfvPPA) 등), 근위축성 측삭 경화증(ALS, 예컨대 산발성 ALS, TARDBP 돌연변이가 있는 것, 안지오제닌(ANG) 돌연변이가 있는 것), 알렉산더병(AxD), 변연계-우세 연령-관련 TDP-43 뇌병증(LATE), 만성 외상성 뇌병증(CTE), 페리 증후군, 알츠하이머병(AD, AD의 산발성 및 가족성 형태 포함), 다운 증후군, 영국 가족성 치매, 폴리글루타민 질환(헌팅턴병 및 척수소뇌 실조 유형 3(SCA3; 마카도 조셉병으로도 알려져 있음)), 해마 경화증 치매 및 근병증(산발성 봉입체 근염, 발로신-함유 단백질(VCP); 또한 골의 파제트병 및 전측두엽 치매)에 돌연변이가 있는 봉입체 근염, 테두리 액포가 있는 눈인두 근이영양증, 미오틴(MYOT) 유전자의 돌연변이 또는 데스민(DES)을 코딩하는 유전자의 돌연변이가 있는 근섬유 근병증), 외상성 뇌손상(TBI), 루이소체가 있는 치매(DLB) 또는 파킨슨병(PD). 바람직하게는, 상기 질환 치료는 정신 인식을 유지하거나 증가시키는데 도움이 되고 되거나 뇌에서 TDP-43 응집체의 수준을 감소시킨다.

[0437] 일부 실시형태에서 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자, 또는 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자가 또 다른 적합한 치료제에 공유적으로 연결된 면역접합체, 또는 인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자를 포함하는 조성물은 이를 필요로 하는 대상체에 투여되거나 TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증 또는 전측두엽 퇴행(FTD) 또는 근위축성 측삭 경화증(ALS), 알츠하이머병(AD, AD의 산발성 및 가족성 형태 포함), 만성 외상성 뇌병증(CTE), 페리 증후군 및 변연계-우세 연령-관련 TDP-43 뇌병증(LATE), 및/또는 파킨슨병(PD)의 치료를 위한 약제의 제조에 사용된다.

[0438] 본원에 기술된 인간화된 항-TDP-43 항체(TPD-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 또는 면역접합체의 약학 제형은 원하는 정도의 순도를 가진 이러한 인간화된 항체 또는 면역접합체를 하나 이상의 선택적인 약학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제 및/또는 희석제(문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]와 혼합하여 제조된다. 전형적으로, 항체 또는 이의 단편은 동결건조된 제형 또는 수성 용액 형태로 제조된다. 약학적으로 허용되는 담체는 일반적으로 투여시 및 사용되는 농도에서 수용자에게 비독성이며, 비제한적으로 다음을 포함한다: 완충제 예컨대 포스페이트, 시트레이트, 및 기타 유기산; 항산화제 예컨대 아스코르브산 및 메티오닌; 보존제(예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤잘코늄 클로라이드; 벤즈에토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 사이클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량(약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 중합체 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라진, 히스티딘, 아르기닌, 또는 리신; 모노사카라이드, 디사카라이드, 및 기타 탄수화물 예컨대 글루코스, 만노스, 또는 텍스트린; 킬레이팅제 예컨대 EDTA; 당 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 솔비톨; 염-형성 반대-이온 예컨대 소듐; 금속 복합체(예컨대 Zn-단백질 복합체); 및/또는 비이온성 계면활성제 예컨대 폴리에틸렌 글리콜(PEG). 본원에서 예시적인 약학적으로 허용되는 담체는 간질성(interstitial) 약물 분산제 예컨대 가용성 중성-활성 히알루로니다제 당단백질(sHASEGP), 예컨대, 인간 가용성 PH-20 히알루로니다제 당단백질, 예컨대 rHuPH20(HYLENEX®, Baxter International, Inc.)을 추가로 포함한다. rHuPH20을 포함하여 특정 예시적인 sHASEGP 및 사용 방법이 미국 특허출원공개 제2005/0260186호 및 제2006/0104968호에 기술되어 있다. 일 양태에서, sHASEGP는 하나 이상의 추가 글리코사미노글리카나제 예컨대 콘드로이티나제와 조합된다. 조성물을 제형화하는데 사용될 수 있는 약학적으로 허용되는 부형제는 비제한적으로 하기를 포함한다: 이온 교환제, 알루미늄, 스테아르산 알루미늄, 레시틴, 혈청 단백질, 예를 들어 인간 혈청 알부민, 완충제 물질 예컨대 인산염, 글리신, 소르브산, 소르브산 칼륨, 포화 식물성 지방산의 부분 글리세리드 혼합물, 물, 염 또는 전해질, 예컨대 프로타민 황산염, 인산수소나트륨, 인산수소칼륨, 염화나트륨, 아연염, 콜로이드성 실리카, 삼규산 마그네슘, 폴리비닐 피롤리돈, 셀룰로스-기반 물질(예컨대 카르복시메틸셀룰로스 나트륨), 폴리에틸렌 글리콜, 폴리아크릴레이트, 왁스, 폴리에틸렌-폴리옥시프로필렌-블록 중합체, 폴리에틸렌 글리콜 및 라놀린. 희석제는 완충제일 수 있다. 이는 인산염, 아세트산염, 구연산염, 석신산염 및 타르트레이트로 이루어진 군으로부터 선택되는 염을 포함할 수 있고/있거나, 완충제는 히스티딘, 글리신, TRIS 글리신, 트리스 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다. 또한 본 발명의 맥락에서 희석제는 인산칼륨, 아세트산/아세트산나트륨, 구연산/구연산나트륨, 석신산/석신산나트륨, 타르타르산/타르타르산나트륨 및 히스티딘/히스티딘 HCl 또는 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 완충제인 것이 고려된다.

[0439] 예시적인 동결건조된 항체 또는 면역접합체 제형이 미국 특허 제6,267,958호에 기술되어 있다. 수성 항체 또는 면역접합체 제형은 미국 특허 제6,171,586호 및 국제공개 W02006/044908호에 기술된 것들을 포함하며, 후자의

제형은 히스티딘-아세테이트 완충제를 포함한다.

- [0440] 본원에 기술된 제형은 또한 치료되는 특정 적응증, 바람직하게는 서로 불리한 영향을 미치지 않는 상보적인 활성을 갖는 것들을 필요로 하는 하나 초과 활성 성분을 함유할 수 있다.
- [0441] 활성 성분은 예컨대 코아세르베이트화 기술에 의해 또는 계면 중합, 예컨대 각각 히드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐에 의해 콜로이드성 약물 전달 시스템(예컨대, 리포솜, 알부민 미소구체, 미세에멀전, 나노-입자 및 나노캡슐) 또는 마이크로에멀전으로 제조된 마이크로캡슐에 포획될 수 있다. 이러한 기법은 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]에 개시되어 있다.
- [0442] 서방 제제가 제조될 수 있다. 서방 제제의 적합한 예는 항체 또는 면역접합체를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스를 포함하며, 상기 매트릭스는 성형품 형태, 예컨대 필름, 또는 마이크로캡슐 형태이다. 생체 내 투여에 사용될 제형은 일반적으로 무균이다. 멸균은 예를 들어 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성될 수 있다.
- [0443] 본원에 제공된 임의의 인간화된 항원-결합 분자, 인간화된 항-TDP-43 항체 또는 면역접합체는 방법, 예컨대 치료 방법에서 사용될 수 있다.
- [0444] 또 다른 양태에서, 약제로서 사용하기 위한 인간화된 항-TDP-43 항체(인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 또는 면역접합체가 제공된다. 추가 양태에서, 치료 방법에서 사용될 항-미스폴딩된 인간화된 TDP-43 항체(TDP-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 또는 면역접합체가 제공된다. 특정 실시형태에서, TDP-43 단백질병증의 예방, 진단 및/또는 치료에서 사용하기 위한 인간화된 항-TDP-43 항체(인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 또는 면역접합체가 제공된다. 본 발명의 바람직한 실시형태에서, 비제한적으로 전측두엽 치매(FTD), 근위축성 측삭 경화증(ALS), 알츠하이머병(AD), 파킨슨병(PD), 만성 외상성 뇌병증(CTE), 및/또는 변연계-우세 연령-관련 TDP-43 뇌병증(LATE)을 포함하는, TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증의 예방, 진단 및/또는 치료에서 사용하기 위한 인간화된 항-TDP-43 항체(인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 또는 면역접합체가 제공된다.
- [0445] 추가 양태에서, 본 발명은 약제의 제조에 또는 준비에서의 인간화된 항-TDP-43 항체(인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 또는 면역접합체의 용도가 제공된다. 하나의 이러한 실시형태에서, 상기 방법은 예컨대 하기된 바와 같이, 유효량의 적어도 하나의 추가 치료제를 개인에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0446] 임의의 실시형태에 따른 "대상체" 또는 "개인"은 동물, 포유류, 바람직하게는 인간일 수 있다.
- [0447] 추가 양태에서, 본 발명은 예컨대 임의의 치료 방법에서 사용하기 위한, 임의의 인간화된 항-TDP-43 항체(인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 또는 면역접합체를 포함하는 약학 제형을 제공한다. 일 실시형태에서, 약학 제형은 본원에 제공된 임의의 인간화된 항-TDP-43 항체(인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 또는 면역접합체 및 약학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제 및/또는 희석제(본원의 다른 곳에서 논의된 바와 같음)를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 약학 제형은 본원에 제공된 임의의 인간화된 항-TDP-43 항체(인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 또는 면역접합체 및 예컨대 하기된 바와 같은, 적어도 하나의 추가 치료제를 포함한다.
- [0448] 본 발명의 인간화된 항체 또는 면역접합체는 요법에서 단독으로 또는 다른 제제와 병용하여 사용될 수 있다. 예컨대, 본 발명의 인간화된 항체(인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 또는 면역접합체는 알파-시누클레인, BACE1, Tau, 베타-아밀로이드, TDP-43 또는 신경염증 단백질을 표적화하는 적어도 하나의 추가 치료제와 동시투여될 수 있다.
- [0449] 예를 들어, 본 발명의 인간화된 항체(인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 또는 면역접합체는 비제한적으로 신경 약물, 항-아밀로이드 베타 항체, 항-Tau 항체, Tau 응집 억제제(소분자 포함), 베타-아밀로이드 응집 억제제(소분자 포함), 항-BACE1 항체, BACE1 억제제, 항-알파-시누클레인 억제제, 항-알파-시누클레인 항체 및 신경염증 억제제로부터 선택되는 적어도 하나의 추가 치료제와 동시투여될 수 있다.
- [0450] 상기 언급된 이러한 병용 요법은 병용 투여(2개 이상의 치료제가 동일하거나 별도의 제형에 포함됨), 및 개별 투여를 포함하며, 이러한 경우, 본 발명의 인간화된 항체(인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 또는 면역접합체의 투여는 추가 치료제 및/또는 보조제의 투여 전에, 동시에 및/또는 이후에 발생할 수 있다. 본 발명의 인간화된 항체(인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 또는 면역접합체는 또한 방사선

요법과 병용하여 사용될 수 있다.

- [0451] 본 발명의 인간화된 항체(인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 또는 면역접합체(및 임의의 추가 치료제)는 비경구, 폐내, 및 비강내, 및 국소 치료가 바람직한 경우, 병변 내, 자궁 내 또는 방광 내 투여를 포함하여 임의의 적합한 수단에 의해 투여될 수 있다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내, 또는 피하 투여를 포함한다. 투여는 부분적으로 투여가 일시적인지 또는 만성인지에 따라 임의의 적합한 경로, 예컨대 주입, 예컨대 정맥내 또는 피하 주입에 의한 것일 수 있다. 비제한적으로 다중 시점에 걸쳐 단일 또는 다중 투여, 볼루스 투여, 및 펄스 주입을 포함하여 다양한 투여 스케줄이 본원에서 고려된다.
- [0452] 본 발명의 인간화된 항체(인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 또는 면역접합체는 우수 의료 행위와 일치하는 방식으로 제형화, 투약 및 투여될 것이다. 이러한 맥락에서 고려해야 할 요소는 특히 치료될 TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증, 특히 치료될 포유류, 개별 대상체의 임상 조건, TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증의 원인, 제제 전달 부위, 투여 방법, 투여 스케줄, 및 의료 종사자에게 공지된 기타 요소를 포함한다. 인간화된 항체 또는 면역접합체는 문제의 TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증을 예방 또는 치료하기 위해 현재 사용되는 하나 이상의 제제일 필요는 없지만 선택적으로 이와 함께 제형화된다. 이러한 다른 제제의 유효량은 제형에 존재하는 인간화된 항체 또는 면역접합체의 양, TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상 또는 TDP-43 단백질병증 또는 치료 유형, 상기 논의된 다른 인자에 따라 달라진다. 이들은 일반적으로 동일한 투약으로 본원에 기술된 투여 경로와 함께 사용되거나, 본원에 기술된 투여량의 약 1 내지 99%로, 또는 임의의 투여량으로 그리고 경험적으로 또는 임상적으로 적절한 것으로 결정된 임의의 경로로 사용된다.
- [0453] 질환의 예방 또는 치료를 위해, 본 발명의 인간화된 항체(인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 또는 면역접합체의 적절한 투여량은(단독으로 사용되거나 하나 이상의 추가 치료제와 병용하여 사용되는 경우) 치료될 질환의 유형, 항체 또는 면역접합체의 유형, 질환의 중증도 및 코스, 항체 또는 면역접합체가 예방 또는 치료 목적을 위해 투여되는지 여부, 이전의 요법, 대상체의 임상 이력 및 항체 또는 면역접합체에 대한 반응, 및 주치의의 재량에 따라 달라질 것이다. 인간화된 항체(인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 또는 면역접합체는 한번에 또는 일련의 치료 시리즈에 걸쳐 대상체에 적합하게 투여된다. 질환의 유형 및 중증도에 따라, 약 1 $\mu\text{g/kg}$ 내지 15 mg/kg (예컨대 0.1 mg/kg 내지 10 mg/kg)의 인간화된 항체(인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 또는 면역접합체가 예컨대 하나 이상의 별도의 투여에 의한, 또는 연속 주입에 의한 대상체의 투여를 위한 초기 후보 투여량이 될 것이다. 하나의 전형적인 일일 투여량은 약 1 $\mu\text{g/kg}$ 내지 100 mg/kg 이상의 범위일 수 있으며, 상기 언급한 인자에 따라 달라진다. 수일 이상에 걸친 반복 투여의 경우, 조건에 따라, 치료는 일반적으로 질환 증상의 원하는 역제가 발생할 때까지 지속될 것이다. 인간화된 항체 또는 면역접합체의 하나의 예시적인 투여량은 약 0.05 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 의 범위이다. 따라서 약 0.5 mg/kg , 2.0 mg/kg , 4.0 mg/kg 또는 10 mg/kg (또는 이들의 임의의 조합) 중 하나 이상의 투여량이 대상체에 투여될 수 있다. 이러한 용량은 간헐적으로, 예컨대 매주 또는 3주마다 투여될 수 있다(예컨대 대상체가 약 2 내지 약 20회, 또는 예컨대 약 6회 용량의 항체를 받도록). 초기에 더 높은 로딩 용량이 투여된 후, 하나 이상의 더 낮은 용량이 투여될 수 있다. 그러나, 다른 투여 요법이 유용할 수 있다. 이러한 요법의 진행 상황은 기존 기술과 분석법으로 쉽게 모니터링된다.
- [0454] 임의의 상기 제형 또는 치료 방법은 본 발명의 면역접합체와 인간화된 항-TDP-43 항체(인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 둘 모두를 사용하여 수행될 수 있는 것으로 이해된다.
- [0455] 본 발명의 또 다른 양태에서, 전술된 바와 같이, TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증의 치료, 예방 및/또는 진단에 유용한 물질을 함유하는 제조 물품이 제공된다. 제조 물품은 용기 및 용기 위에 또는 이와 결합된 라벨 또는 패키지 삽입물을 포함한다. 적합한 용기는 예컨대 병, 바이알, 주사기, IV 용액 백 등을 포함한다. 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 재료로 형성될 수 있다. 용기는 그 자체로 또는 TDP-43과 관련된, 특히 TDP-43 응집체와 관련된 질환, 장애 및/또는 이상, 또는 TDP-43 단백질병증의 치료, 예방 및/또는 진단을 위해 효과적인 또 다른 조성물과 함께 조합된 조성물을 보유하며, 멸균 접근 포트를 가질 수 있다(예컨대 용기는 정맥내 용액 백 또는 피하 주사 바늘로 관통가능한 마개가 있는 바이알일 수 있음). 조성물 중의 하나 이상의 활성제는 본 발명의 인간화된 항체 또는 면역접합체이다. 라벨 또는 패키지 삽입물은 조성물이 선택한 병태를 치료하는데 유용함을 나타낸다.
- [0456] 또한, 제조 물품은 (a) 그 안에 포함된 조성물이 있는 제1 용기로서, 상기 조성물이 본 발명의 인간화된 항체

(인간화된 TDP-43 특이적 결합 분자의 바람직한 유형) 또는 면역접합체를 포함하는 것; 및 (b) 그 안에 포함된 조성물이 있는 제2 용기로서, 상기 조성물은 추가 치료제를 포함하는 것을 포함할 수 있다. 본 발명의 이러한 실시형태의 제조 물품은 조성물의 특정 병태의 치료에 유용할 수 있음을 나타내는 패키지 삽입물을 추가로 포함할 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, 제조 물품은 약학적으로 허용되는 완충제, 예컨대 정균 주사용수(BWFI: bacteriostatic water for injection), 포스페이트-완충된 염수, 링거 용액 및 텍스트로스 용액을 포함하는 제2(또는 제3) 용기를 추가로 포함할 수 있다. 다른 완충제, 희석제, 필터, 바늘, 및 주사기를 포함하여 상업적 및 사용자 관점에서 바람직한 다른 재료를 추가로 포함할 수 있다.

[0457] 추가 실시형태에서, 본 발명은 본 발명의 인간화된 결합 분자, 본 발명의 면역접합체, 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 인지 기억 능력, 운동 및 언어 기능의 유지 또는 증가 또는 인지 기억 능력, 운동 및 언어 기능의 예방 및/또는 늦추는 방법에 관한 것이다.

[0458] 추가 실시형태에서, 본 발명은 본 발명의 인간화된 결합 분자, 본 발명의 면역접합체, 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, TDP-43 수준을 감소시키는 방법에 관한 것이다.

[0459] 본 발명의 방법은 적어도 하나의 추가 요법을 투여하는 단계를 포함할 수 있으며, 바람직하게는 추가 요법은 비제한적으로 알파-시누클레인, BACE1, tau, 베타-아밀로이드, TDP-43, 또는 신경염증 단백질을 표적화하는 항체 또는 소분자, 특히 신경학적 약물, 항-베타-아밀로이드 항체, 항-Tau 항체, Tau 응집 억제제, 베타-아밀로이드 응집 억제제, 항-BACE1 항체, BACE1 억제제, 항-알파-시누클레인 항체 및 신경염증 억제제로부터 선택된다.

[0460] 본 발명은 또한 샘플을 본 발명의 인간화된 결합 분자, 바람직하게는 본 발명의 인간화된 항체와 접촉시키는 단계를 포함하는, TDP-43를 검출하는 방법에 관한 것으로서, 상기 샘플은 뇌 샘플, 뇌척수액 샘플, 간질액(ISF) 샘플, 소변 샘플 또는 혈액 샘플이다.

[0461] 추가 실시형태에서, 본 발명은 TDP-43의 수준을 검출 및/또는 측정하는 방법에 관한 것으로서, 이는 단일 분자 어레이(SIMOA®) 기술을 사용하여 샘플을 본 발명의 인간화된 결합 분자, 바람직하게는 본 발명의 인간화된 항체와 접촉시키는 단계를 포함하며, 여기서 샘플은 인간 혈액 샘플, 뇌척수액 샘플(CSF), 간질액(ISF) 샘플 또는 소변 샘플, 바람직하게는 CSF 샘플이다.

[0462] 특정 실시형태에서, 본원에 제공된 인간화된 TDP-43 결합 분자, 특히 인간화된 TDP-43 항체 및 이의 단편은, TDP-43, 특히 가용성 TDP-43에 대해 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.1 \text{ nM}$, $\leq 0.01 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.001 \text{ nM}$ (예컨대 10^{-8} M 이하, 예컨대 10^{-8} M 내지 10^{-13} M , 예컨대, 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수(KD)를 갖는다. 예를 들어, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자는 가용성 전장 TDP-43에 대해 2 nM 이하, 특정한 실시형태에서 1 nM 이하의 KD를 가질 수 있으며, 보다 특정한 실시형태에서 가용성 전장 TDP-43에 대해 700 pM 이하, 바람직하게는 250 pM 이하의 KD를 가질 수 있다. 이는 표 8을 참조하여 실시예 3에서 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자에 대해 입증된다. 한 실시형태에서, 전장(FL) TDP-43에 대한 결합 친화성은 표면 플라즈몬 공명(SPR; Biacore 8K, GE Healthcare Life Sciences)을 사용하여 해리 상수(KD)를 결정함으로써 평가될 수 있다. 사용될 수 있는 적합한 SPR 방법에 대한 자세한 설명은 실시예 3을 참조할 수 있다.

[0463] 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자는 TP-51 펩티드에 대해 15 nM 이하, 특정한 실시형태에서 10 nM 이하, 예컨대 4 nM 이하 바람직하게는 2 nM 이하의 KD를 가질 수 있다. 이는 또한 실시예 3에서 표 8을 참조하여 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자에 대해 입증된다.

[0464] 따라서, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자는 가용성 전장 TDP-43에 대해 575 pM 이하의 KD 및 TP-51 펩티드에 대해 2.2 nM 이하의 KD, 가용성 전장 TDP-43에 대해 575 pM 이하의 KD 및 TP-51 펩티드에 대해 1.6 nM 이하의 KD, 가용성 전장 TDP-43에 대해 550 pM 이하의 KD 및 TP-51 펩티드에 대해 2.2 nM 이하의 KD, 바람직하게는 가용성 전장 TDP-43에 대해 550 pM 이하의 KD 및 TP-51 펩티드에 대해 2 nM 이하의 KD, 보다 바람직하게는 가용성 전장 TDP-43에 대해 250 pM 이하의 KD 및 TP-51 펩티드에 대해 1.6 nM 이하의 KD, 보다 더 바람직하게는 가용성 전장 TDP-43에 대해 150 pM 이하의 KD 및 TP-51 펩티드에 대해 1.0 nM 이하의 KD, 보다 더 바람직하게는 가용성 전장 TDP-43에 대해 130 pM 이하의 KD 및 TP-51 펩티드에 대해 0.8 nM 이하의 KD를 가질 수 있다.

[0465] 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자는 썬딩 능력이 있는 TDP-43을 중화할 수 있다. 썬딩 능력이 있는 TDP-43을 중화하는 것은 실시간 진동-유도 전환(RT-QuIC: real-time quaking-induced conversion) 분석을 통해 평가될 수 있다. 사용될 수 있는 적합한 RT-QuIC 분석에 대한 자세한 설명은 실시예 11을 참조할 수 있다. "썬딩 능력이 있는 TDP-43"은 생리학적(즉, 비병리적 TDP-43) 응집을 유도할 수 있는 병리학적 TDP-43을 의미한다.

[0466] 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자는 TDP-43 청소율을 강화할 수 있다. TDP-43 청소율의 강화는 THP-1 세포를 사용하는 시험관 내 분석을 통해 평가될 수 있다. 사용될 수 있는 THP-1 세포를 사용하는 적합한 분석에 대한 자세한 설명은 실시예 12를 참조할 수 있다. 일반적으로, TDP-43 청소율은 병리학적 TDP-43에 결합하여 항체-의존적 세포 식세포작용(ADCP)에 의해 제거될 수 있는 면역 복합체를 형성함으로써 본 발명의 항체에 의해 강화된다. ADCP는 항체 Fc 단편과 미세아교세포 또는 수지상 세포와 같은 선천 면역 세포의 표면에 발현되는 Fc 감마 수용체와 같은 Fc 수용체의 상호작용에 의해 매개된다. Fc 매개 기능은 항체의 Fc 부분을 변형시킴으로써 원하는 효과를 달성하도록 조절될 수 있다.

[0467] 일부 실시형태에서, 본 발명의 인간화된 TDP-43 결합 분자는 인간 CSF에서 TDP-43에 대해 250 pM 미만, 바람직하게는 237 pM 이하의 EC50을 갖는다. 인간화된 TDP-43 결합 분자는 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27일 수 있다. EC50을 측정하는 방법에 대해 실시예 14를 참조할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0468] **도 1.** hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27, hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27 및 hACI-7069-633B12-Ab1_H32L26에 의한 시험관 내 TDP-43 응집 억제. 간략하게, hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27, hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27 및 hACI-7069-633B12-Ab1_H32L26의 존재 하에 MBP-태그로부터 절단 시 재조합 TDP-43의 새로운 응집을 분석하고 시간 경과에 따라 키메라 항체 cACI-7069-633B12-Ab1 또는 이소형 대조군과 비교하였다. 1.5시간에 응집된 TDP-43의 백분율을 이소형 대조군 조건에 대해 정규화하였고 cACI-7069-633B12-Ab1, hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27, hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27 및 hACI-7069-633B12-Ab1_H32L26과의 응집을 강력하게 억제하는 것으로 나타났다. 다중 비교에 대해 일원 ANOVA 후 Dunnett's 사후 검정을 사용하였다. ****p<0.0001.

도 2. 40 mg/kg에서 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27(원) 또는 hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27(사각형)의 단일 IV 볼루스 투여 후 동형접합 Tg32 마우스 혈청에서의 약동학적 프로파일. 화합물 당 21마리의 수컷 마우스를 사용하였고 시간 지점 당 동물은 3마리였다. 연구의 총 기간은 6주(1008시간)였다.

도 3. 40 mg/kg에서 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27(a) 또는 hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27(b)의 단일 IV 볼루스 투여 후 시노물구스 원숭이 혈청에서의 약동학적 프로파일. 8주(1344시간)의 연구 기간 동안 화합물 당 4마리의 수컷 시노물구스 원숭이를 사용하였다.

도 4. 40 mg/kg에서 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27(a) 또는 hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27(b)의 단일 IV 볼루스 투여 후 시노물구스 원숭이 혈청에서 TDP-43의 약동학적 프로파일. 혈청에서 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27(a) 및 hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27(b) 둘 모두의 표적 결합을 평가하였다.

도 5. 산발성 ALS(도 5a) 또는 건강한 대조군(도 5b) 공여자의 뇌척수액(CSF)의 존재 하에 합성 TDP-43 펩티드(TP-51)의 실시간 진동-유도 전환(RT-QuIC) 응집 동역학. 티오플라빈 T(ThT) 형광을 사용하여 응집 및 섬유 형성을 정량화하였다.

도 6. THP-1 세포에 의한 pHrodoTM-TDP-43 응집체 흡수는 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27 또는 키메라 항체 cACI-7069-633B12-Ab1의 존재 하에 유의하게 가속화되었지만 이소형 대조군 항체의 존재 하에서는 그렇지 않았다. (a)는 응집체 TDP-43, 응집체 TDP-43을 이소형 대조군과 함께, 응집체 TDP-43을 cACI-7069-633B12-Ab1과 함께, 그리고 응집체 TDP-43을 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27과 함께 인큐베이션한 세포에 대해 24시간(X축) 동안 매 시간 측정된 pHrodoTM 형광 강도(Y축)를 도시한다. (b)는 응집체 TDP-43, 응집체 TDP-43을 이소형 대조군과 함께, 응집체 TDP-43을 cACI-7069-633B12-Ab1과 함께 그리고 응집체 TDP-43을 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27과 함께 인큐베이션한 세포에 대해 10시간 지점에 대해 세포 컨플루언시에 대해 정규화한 형광 강도의 차이를 도시한다.

도 7. (a) hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27(레인 1), cACI-7069-633B12-Ab1(레인 2) 또는 이소형 항체 대조군(레인 3)에 의한 면역결핍 후 FTLT-TDP 뇌 유래의 추출물로부터 TDP-43 면역블롯의 대표도. (b)는 입력에서 해당 신호에 대해 정규화된 총 TDP-43(b - 위쪽 패널) 또는 TDP-43의 C-말단 단편(즉, 25 kDa 미만, CTF)(b - 아래쪽 패널)으로부터 수득한 신호의 정량적 분석을 도시한다.

도 8. 인간 CSF 샘플에서 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27의 TDP-43 표적 결합의 그래프적 표현.

도 9. 40, 120 및 360 mg/kg의 용량으로 4주 동안 1주에 1회 IV 주입 후 시노물구스 원숭이에서 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27의 혈청 노출.

도 10. (a) 40 mg/kg에서 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27, hACI-7069-633B12-Ab1_H19L18 또는 cACI-7069-633B12-Ab1의 단일 IV 볼루스 투여 후 동형접합 Tg32 마우스 혈청에서의 약동학적 프로파일. (b) 40 mg/kg에서 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27, hACI-7069-633B12-Ab1_H19L18 또는 cACI-7069-633B12-Ab1의 단일 IV 볼루스 투여 후 시노물구스 원숭이 혈청에서의 약동학적 프로파일.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0469] 실시예

[0470] 실시예 1. 항-인간 TDP-43 마우스 모노클로날 항체의 인간화

[0471] 인간화된 가변 영역의 설계

[0472] ACI-7069-633B12-Ab1의 가변 도메인은 8.5의 이론적인 pI 및 생리학적 pH에서 +3.1의 순 전하를 갖는다. 일부 경우에 항체의 높은 순 양전하가 생체 내에서 신속한 제거에 관여하는 것으로 나타났다(문헌[Igawa et al, PEDS. 2010; vol. 23 no. 5 pp. 385-392], 문헌[Bumbaca et al, JBC, VOL. 290, NO. 50, pp. 29732-29741, 2015]). 분자의 전하 프로파일을 최적화하기 위해, 낮은 pI를 갖는 수용체 프레임워크 쌍을 선택하여 ACI-7069-633B12-Ab1 CDR(국제공개 WO2020/234473호에 기술된 CDR)에 이식하였다. 먼저, 중쇄 및 경쇄 프레임워크를 뮤린 중쇄 및 경쇄 V 영역(각각 SEQ ID NO: 20 및 24)과의 서열 동일성을 기준으로 순위를 매겼다. IMGT 데이터베이스(문헌[Ehrenmann, F et al, (2010) Nucl. Acids Res., 38(S1):D301-D307]) 또는 IgBlast(문헌[Ye J. et al, (2013), Nucleic Acids Res. 2013 Jul; 41(Web Server issue): W34-W40])와 같은 인간 및 마우스 생식세포 변이 유전자의 데이터베이스를 사용하여 이러한 생식세포 가변 유전자를 식별할 수 있다. 두 번째로, 각 개별 사슬의 이론적인 pI를 웹 서버 Isoelectric Point Calculator 2.0(문헌[Kozlowski LP et al, Nucleic Acids Res. 49 (W1): W285-W292])을 사용하여 계산하였다. 사용가능한 모든 모델의 평균 pI 값과 pH 7.4에서 계산한 순 전하를 고려하였다.

[0473] 중쇄 가변 도메인의 경우, 수용체 프레임워크로서 프레임워크 IGHV1-69-2, IGHV1-24, IGHV5-51 또는 IGHV3-43을 사용할 수 있는 반면 경쇄 가변 도메인의 경우 수용체 프레임워크로서 IGKV2-24, IGKV2-40, IGKV2D-40, IGKV2D-28, IGKV4-1 또는 IGKV2-28을 사용할 수 있다. 열거한 모든 프레임워크는 ACI-7069-633B12-Ab1의 가변 도메인보다 낮거나 같은 이론적인 pI 및 순 전하를 갖는다.

[0474] IGHV 1-24 및 IGKV2-40과 같은 인간 프레임워크에서는 pI가 약간 감소한 것이 관찰된 반면, IGHV1-69-2와 IGKV2-28에 의해 형성된 쌍은 Fv 순 전하를 상당히 감소시키고 균형 잡힌 전하 분포를 제공하였다. IGHV1-69-2를 인간 수용체 프레임워크로 사용하면 뮤린의 양으로 하전된 잔기를 치환 K64Q, R82aS 및 K73T로 대체하여 많은 양의 양전하 패치를 파괴한다. 덜한 정도로, VL에 생식세포 IGKV2-28을 사용하면 프레임워크 2에서 치환 K45Q로 전하 감소에 기여하여 분자의 친수성을 유지하면서 양전하를 제거한다. 이러한 분석을 통해, IGHV1-69-2 및 IGKV2-28 인간 프레임워크를 기반으로 새로운 인간화된 변이체를 생성하였다(표 3).

[0475] IGHV1-69-2 및 IGKV2-28을 각각 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인에 대한 수용체 프레임워크로서 선택하였다. IGHV1-69-2는 ACI-7069-633B12-Ab1 VH에 대해 64.9% 서열 동일성을 갖는 동시에 4.3의 pI 및 생리학적 pH에서 -6.9의 순 전하를 갖는다. IGKV2-28은 ACI-7069-633B12-Ab1 VH에 대해 72% 서열 동일성을 갖는 동시에 4.7의 pI 및 생리학적 pH에서 -2.9의 순 전하를 갖는다. IGHJ2*01 및 IGKJ2*02를 각각 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인에 대한 J 집합 유전자로서 사용하였다.

[0476] 인간화 과정의 시작점으로서, 뮤린 CDR을 VH 및 VL 영역 모두에 대한 인간 수용체 프레임워크에 이식하였다. 인간 수용체 프레임워크에 CDR을 수용하기 위해, 핵심 위치를 인간에서 마우스 잔기로 대체하여 변형하였다.

[0477] CDR 형태 및/또는 VH/VL 배향에 가장 큰 영향을 미칠 수 있는 잔기를 확인하기 위해, Abodybuilder 서버(8)를 사용하여 상동성 모델링을 통해 인간-마우스 하이브리드 VH-VL 쌍에 대한 3D 모델을 생성하였다. 모델 분석을 통해 표 2에 나열된 위치를 포함한 아미노산 위치의 하위 집합을 선택할 수 있었다. 번호매김은 Kabat 번호매김 시스템을 따른다.

[0478] [표 2]

ACI-7069-633B12-Ab1의 인간 프레임워크(Kabat 번호매김)에 도입된 역돌연변이

가변 도메인	위치(Kabat)	마우스 잔기	인간 잔기
VH	24	T	V
VH	27	F	Y
VH	48	I	M
VH	64	K	Q
VH	71	V	A
VH	73	K	T
VH	94	R	T
VL	2	V	I
VL	36	L	Y
VL	45	K	Q
VL	46	R	L
VL	57	R	G

[0479]

[0480]

ACI-7069-633B12-Ab1 CDR 서열 내에서 잠재적인 번역 후 변형 부위를 확인하였다. 가변 중쇄에서, N53, N54 및 G55가 2개의 탈아미드화 부위로 확인되었다. 가변 경쇄에서, 이성질화 부위가 위치 D28 및 G29에서 인식되었고, 산화 부위가 위치 W89(Kabat 번호매김 시스템에 따름)에서 확인되었다. 일부 구조물에서, N53Q 및/또는 G55A를 포함한 점 돌연변이를 VH 영역에 도입하였고, G29A 및/또는 W89F를 VL 영역에 도입하여 CDR L1 및 L3에서 번역 후 변형 부위를 제거하였다.

[0481]

pI와 전하의 감소가 표 3에 예시되어 있다.

[0482]

[표 3]

웹서버 등전점 계산기 2.0(IPC 2.0 웹서버)을 사용하여 계산한 ACI-7069-633B12-Ab1 인간화된 변이체의 가변 도메인의 이론적 pI 및 pH7.4에서의 순 전하

항체 코드	Fv pI	pH 7.4에서 순전하
ACI-7069-633B12-Ab1	8.5	3.1
hACI-7069-633B12-Ab1_H27L23	7.4	-0.9
hACI-7069-633B12-Ab1_H28L22	7.7	0.1
hACI-7069-633B12-Ab1_H28L24	7.4	-0.9
hACI-7069-633B12-Ab1_H32L24	6.9	-1.9
hACI-7069-633B12-Ab1_H32L26	6.9	-1.9
hACI-7069-633B12-Ab1_H33L24	6.9	-1.9
hACI-7069-633B12-Ab1_H33L26	6.9	-1.9
hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27	6.9	-1.9
hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27	6.9	-1.9

[0483]

[0484]

표 2의 역돌연변이를 결합하여 각각 표 4와 6에 나열된 서열을 생성하였다. 인간화된 TDP-43 결합 분자를 코딩하는 해당 핵산 서열이 표 5 및 7에 제시되어 있다.

[0485] [표 4]

중쇄(VH) 및 이의 CDR의 아미노산 서열

사슬	중쇄	CDRH1	CDRH2	CDRH3
ACI-7069-633B12-Ab1_VH	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSGFTFTEYSMHWVK QSHGKSLWIGGINPNNGGTSYNQKFKGKATLTVDKSS STAYMELRSLTSEDSAVYYCARESWGQGTTITVSS (SEQ ID NO: 20)	EYSM H (SEQ ID NO: 21)	GINPNNGGTSYNQKF KG (SEQ ID NO: 22)	ES
hACI-7069-633B12- Ab1_H24	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGFTFTEYSMHWV QQAPGKGLEWIGGINPNNGGTSYNQKFKGRVTITVDKS TDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARESWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 30)	EYSM H (SEQ ID NO: 21)	GINPNNGGTSYNQKF KG (SEQ ID NO: 22)	ES
hACI-7069-633B12- Ab1_H25	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGFTFTEYSMHWV QQAPGKGLEWIGGINPNNGGTSYNQKFKGRVTITVDT TDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARESWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 40)	EYSM H (SEQ ID NO: 21)	GINPNNGGTSYNQKF KG (SEQ ID NO: 22)	ES
hACI-7069-633B12- Ab1_H26	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGFTFTEYSMHWV QQAPGKGLEWMGGINPNNGGTSYNQKFKGRVTITVDT STDATYMESSLRSEDTAVYYCARESWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 50)	EYSM H (SEQ ID NO: 21)	GINPNNGGTSYNQKF KG (SEQ ID NO: 22)	ES
hACI-7069-633B12- Ab1_H27	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFTFTEYSMHWV QQAPGKGLEWMGGINPNNGGTSYNQKFKGRVTITVDT STDATYMESSLRSEDTAVYYCARESWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 60)	EYSM H (SEQ ID NO: 21)	GINPNNGGTSYNQKF KG (SEQ ID NO: 22)	ES
hACI-7069-633B12- Ab1_H28	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFTFTEYSMHWV QQAPGKGLEWMGGINPNNGGTSYNQKFKGRVTITADT STDATYMESSLRSEDTAVYYCARESWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 70)	EYSM H (SEQ ID NO: 21)	GINPNNGGTSYNQKF KG (SEQ ID NO: 22)	ES

[0486]

hACI-7069-633B12- Ab1_H29	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFTFTEYSMHWV QQAPGKGLEWMGGINPNQGGTSYNQKFKGRVTITADT STDATYMESSLRSEDTAVYYCARESWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 80)	EYSM H (SEQ ID NO: 21)	GINPNQGGTSYNQKF KG (SEQ ID NO: 82)	ES
hACI-7069-633B12- Ab1_H30	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFTFTEYSMHWV QQAPGKGLEWMGGINPNQAGTSYNQKFKGRVTITADT STDATYMESSLRSEDTAVYYCARESWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 90)	EYSM H (SEQ ID NO: 21)	GINPNQAGTSYNQKF KG (SEQ ID NO: 92)	ES
hACI-7069-633B12- Ab1_H31	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFTFTEYSMHWV QQAPGKGLEWMGGINPNQGGTSYNQKFQGRVTITADT STDATYMESSLRSEDTAVYYCARESWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 100)	EYSM H (SEQ ID NO: 21)	GINPNQGGTSYNQKF QG (SEQ ID NO: 102)	ES
hACI-7069-633B12- Ab1_H32	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFTFTEYSMHWV QQAPGKGLEWMGGINPNQAGTSYNQKFQGRVTITADT STDATYMESSLRSEDTAVYYCARESWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 110)	EYSM H (SEQ ID NO: 21)	GINPNQAGTSYNQKF QG (SEQ ID NO: 112)	ES
hACI-7069-633B12- Ab1_H33	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFTFTEYSMHWV QQAPGKGLEWMGGINPNNGGTSYNQKFQGRVTITADT STDATYMESSLRSEDTAVYYCARESWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 120)	EYSM H (SEQ ID NO: 21)	GINPNNGGTSYNQKF QG (SEQ ID NO: 122)	ES

[0487]

[0488] [표 5]

인간화된 중쇄 가변 도메인(VH)의 DNA 서열

사슬	중쇄
*ACI-7069-633B12-Ab1_VH	GAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGCCCGAACTGGTGAAGCCCGCGCCTCCGTGAAGATCAGCTGCAAGAC CAGCGGCTTACCTTTACCGAGTACAGCATGCACTGGGTGAAGCAGTCCACCGGCAAGTCTCTGGAGTGGAT CGGCGGCATCAACCCCAACAACGGCGGCACCAGCTACAACCAGAAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACAG TGGACAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATGGAGCTGAGATCTCTGACCAGCGAGGACTCCGCCGTGTACTAC TGCGCCAGAGAGCTGGGGCCAAGGCACCACACTGACCGTGAGCAGC (SEQ ID NO: 28)
hACI-7069-633B12-Ab1_H24	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACGGGCGCGACCGTGAAAAATTAGCTGCAAAA CCAGCGGCTTTACCTTTACCGAATATAGCATGCATTGGGTGCAGCAGGCGCCGGGCAAGGCCTGGAATGG ATTGGCGGCATTAAACCCGAACAACGGCGGCACCAGCTATAACCAGAAATTTAAAGGCCGTGTGACCATTAC CGTGGATAAAAGCACCAGTACCAGCTATATGGAAGTGAAGCAGCTGCGTAGCGAAGATACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCTGAAAGCTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCAGC (SEQ ID NO: 38)
hACI-7069-633B12-Ab1_H25	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACGGGCGCGACCGTGAAAAATTAGCTGCAAAA CCAGCGGCTTTACCTTTACCGAATATAGCATGCATTGGGTGCAGCAGGCGCCGGGCAAGGCCTGGAATGG ATTGGCGGCATTAAACCCGAACAACGGCGGCACCAGCTATAACCAGAAATTTAAAGGCCGTGTGACCATTAC CGTGGATAACCAGCACCAGTACCAGCTATATGGAAGTGAAGCAGCTGCGTAGCGAAGATACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCTGAAAGCTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCAGC (SEQ ID NO: 48)
hACI-7069-633B12-Ab1_H26	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACGGGCGCGACCGTGAAAAATTAGCTGCAAAA CCAGCGGCTTTACCTTTACCGAATATAGCATGCATTGGGTGCAGCAGGCGCCGGGCAAGGCCTGGAATGG ATTGGCGGCATTAAACCCGAACAACGGCGGCACCAGCTATAACCAGAAATTTAAAGGCCGTGTGACCATTAC CGTGGATAACCAGCACCAGTACCAGCTATATGGAAGTGAAGCAGCTGCGTAGCGAAGATACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCTGAAAGCTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCAGC (SEQ ID NO: 58)
hACI-7069-633B12-Ab1_H27	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACGGGCGCGACCGTGAAAAATTAGCTGCAAAAG TGAGCGGCTTTACCTTTACCGAATATAGCATGCATTGGGTGCAGCAGGCGCCGGGCAAGGCCTGGAATGG ATTGGCGGCATTAAACCCGAACAACGGCGGCACCAGCTATAACCAGAAATTTAAAGGCCGTGTGACCATTAC CGTGGATAACCAGCACCAGTACCAGCTATATGGAAGTGAAGCAGCTGCGTAGCGAAGATACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCTGAAAGCTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCAGC (SEQ ID NO: 68)

[0489]

hACI-7069-633B12-Ab1_H28	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACGGGCGCGACCGTGAAAAATTAGCTGCAAAAG TGAGCGGCTTTACCTTTACCGAATATAGCATGCATTGGGTGCAGCAGGCGCCGGGCAAGGCCTGGAATGG ATTGGCGGCATTAAACCCGAACAACGGCGGCACCAGCTATAACCAGAAATTTAAAGGCCGTGTGACCATTAC CGCGGATACCAGCACCAGTACCAGCTATATGGAAGTGAAGCAGCTGCGTAGCGAAGATACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCTGAAAGCTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCAGC (SEQ ID NO: 78)
hACI-7069-633B12-Ab1_H29	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACGGGCGCGACCGTGAAAAATTAGCTGCAAAAG TGAGCGGCTTTACCTTTACCGAATATAGCATGCATTGGGTGCAGCAGGCGCCGGGCAAGGCCTGGAATGG ATTGGCGGCATTAAACCCGAACCAGGGCGGCACCAGCTATAACCAGAAATTTAAAGGCCGTGTGACCATTAC CGCGGATACCAGCACCAGTACCAGCTATATGGAAGTGAAGCAGCTGCGTAGCGAAGATACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCTGAAAGCTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCAGC (SEQ ID NO: 88)
hACI-7069-633B12-Ab1_H30	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACGGGCGCGACCGTGAAAAATTAGCTGCAAAAG TGAGCGGCTTTACCTTTACCGAATATAGCATGCATTGGGTGCAGCAGGCGCCGGGCAAGGCCTGGAATGG ATTGGCGGCATTAAACCCGAGAACGCGGGCACCAGCTATAACCAGAAATTTAAAGGCCGTGTGACCATTAC CGCGGATACCAGCACCAGTACCAGCTATATGGAAGTGAAGCAGCTGCGTAGCGAAGATACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCTGAAAGCTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCAGC (SEQ ID NO: 98)
hACI-7069-633B12-Ab1_H31	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACGGGCGCGACCGTGAAAAATTAGCTGCAAAAG TGAGCGGCTTTACCTTTACCGAATATAGCATGCATTGGGTGCAGCAGGCGCCGGGCAAGGCCTGGAATGG ATTGGCGGCATTAAACCCGAACCAGGGCGGCACCAGCTATAACCAGAAATTTAGGGCCGTGTGACCATTAC CGCGGATACCAGCACCAGTACCAGCTATATGGAAGTGAAGCAGCTGCGTAGCGAAGATACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCTGAAAGCTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCAGC (SEQ ID NO: 108)
hACI-7069-633B12-Ab1_H32	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACGGGCGCGACCGTGAAAAATTAGCTGCAAAAG TGAGCGGCTTTACCTTTACCGAATATAGCATGCATTGGGTGCAGCAGGCGCCGGGCAAGGCCTGGAATGG ATTGGCGGCATTAAACCCGAGAACGCGGGCACCAGCTATAACCAGAAATTTAGGGCCGTGTGACCATTAC CGCGGATACCAGCACCAGTACCAGCTATATGGAAGTGAAGCAGCTGCGTAGCGAAGATACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCTGAAAGCTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCAGC (SEQ ID NO: 118)
hACI-7069-633B12-Ab1_H33	GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACGGGCGCGACCGTGAAAAATTAGCTGCAAAAG TGAGCGGCTTTACCTTTACCGAATATAGCATGCATTGGGTGCAGCAGGCGCCGGGCAAGGCCTGGAATGG ATTGGCGGCATTAAACCCGAACAACGGCGGCACCAGCTATAACCAGAAATTTAGGGCCGTGTGACCATTAC CGCGGATACCAGCACCAGTACCAGCTATATGGAAGTGAAGCAGCTGCGTAGCGAAGATACCGCGGTGTATT ATTGCGCGCTGAAAGCTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCAGC (SEQ ID NO: 128)

*포유류 세포 발현에 대해 최적화된 DNA 서열

[0490]

[0491] [표 6]

경쇄(VL) 및 이의 CDR의 아미노산 서열

사슬	경쇄	CDR L1	CDR L2	CDR L3
ACI-7069-633B12-Ab1_VL	DVVMQTQPLTILSVTIGQPASISCKSSQSLHSDGKTYLNWLLQRPGQSPKRLIYLVSKLDSRPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTHTFPHTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 24)	KSSQSLHSDGKTYLN (SEQ ID NO: 25)	LVSKLDS (SEQ ID NO: 16)	WQGTHTFPHT (SEQ ID NO: 27)
hACI-7069-633B12-Ab1_L21	DVVMTQSPLSLPVTGPGEASISCKSSQSLHSDGKTYLNWLLQKPGQSPKRLIYLVSKLDSRPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHTFPHTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 34)	KSSQSLHSDGKTYLN (SEQ ID NO: 25)	LVSKLDS (SEQ ID NO: 16)	WQGTHTFPHT (SEQ ID NO: 27)
hACI-7069-633B12-Ab1_L22	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCKSSQSLHSDGKTYLNWLLQKPGQSPKRLIYLVSKLDSRPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHTFPHTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 44)	KSSQSLHSDGKTYLN (SEQ ID NO: 25)	LVSKLDS (SEQ ID NO: 16)	WQGTHTFPHT (SEQ ID NO: 27)
hACI-7069-633B12-Ab1_L23	DVVMTQSPLSLPVTGPGEASISCKSSQSLHSDGKTYLNWLLQKPGQSPKRLIYLVSKLDSRPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHTFPHTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 54)	KSSQSLHSDGKTYLN (SEQ ID NO: 25)	LVSKLDS (SEQ ID NO: 16)	WQGTHTFPHT (SEQ ID NO: 27)
hACI-7069-633B12-Ab1_L24	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCKSSQSLHSDGKTYLNWLLQKPGQSPKRLIYLVSKLDSRPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHTFPHTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 64)	KSSQSLHSDGKTYLN (SEQ ID NO: 25)	LVSKLDS (SEQ ID NO: 16)	WQGTHTFPHT (SEQ ID NO: 27)
hACI-7069-633B12-Ab1_L25	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCKSSQSLHSDGKTYLNWLLQKPGQSPKRLIYLVSKLDSRPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHTFPHTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 74)	KSSQSLHSDGKTYLN (SEQ ID NO: 25)	LVSKLDS (SEQ ID NO: 16)	WQGTHTFPHT (SEQ ID NO: 27)

[0492]

hACI-7069-633B12-Ab1_L26	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCKSSQSLHSDAKTYLNWLLQKPGQSPKRLIYLVSKLDSRPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGTHTFPHTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 84)	KSSQSLHSDAKTYLN (SEQ ID NO: 85)	LVSKLDS (SEQ ID NO: 16)	FQGTHTFPHT (SEQ ID NO: 87)
hACI-7069-633B12-Ab1_L27	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCKSSQSLHSDGKTYLNWLLQKPGQSPKRLIYLVSKLDSRPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGTHTFPHTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 94)	KSSQSLHSDGKTYLN (SEQ ID NO: 25)	LVSKLDS (SEQ ID NO: 16)	FQGTHTFPHT (SEQ ID NO: 87)

[0493]

[0494] [표 7]

인간화된 경쇄 가변 도메인(VL)의 DNA 서열

사슬	경쇄
*ACI-7069-633B12-Ab1_VL	GACGTGGTGATGACCCAGACCCCTCTGACACTGAGCGTGACCATCGGACAGCCCGCTCCATCAGCTGCAAAAAGCTCCCACTCTCTGCTGCACAGCGACGGCAAGACCTATCTGAACTGGCTGCTGCAGAGACCCGGCCAAAGCCCAAGAGGCTGATCTATCTGGTGAGCAAGCTGGACTCTAGAATCCCGACAGATTTACCGGCAGCGCAGCGGCACAGACTTTACACTGAAGATCTCTAGAGTGGAGGCCGAAGATCTGGCGTGTAATACTGCTGGCAAGGCACCCACTTCCCTCACACCTTCGGCGCCGGCACCAAGCTGGAGCTGAAG (SEQ ID NO: 29)
hACI-7069-633B12-Ab1_L21	GATGTGGTGATGACCCAGAGCCCGCTGAGCCTGCCGGTGACCCCGGGCGAACCAGCGAGCATTAGCTGCAAAAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCATAGCGATGGCAAAACCTATCTGAACTGGCTGCTGCAGAAACCCGGCCAGAGCCCGAAACGCTGATTTATCTGGTGAGCAAACTGGATAGCCGTGTGCCGGATCGTTTAGCGGCAGCGCAGCGGCACCGATTTTACCCTGAAAATTAGCCGTGTGGAAGCGGAAGATGTGGCGTGTAATACTGCTGGCAGGGCACCCATTTTCCGCATACCTTTGGCCAGGGCACCAAACTGGAAATTA (SEQ ID NO: 39)
hACI-7069-633B12-Ab1_L22	GATATTGTGATGACCCAGAGCCCGCTGAGCCTGCCGGTGACCCCGGGCGAACCAGCGAGCATTAGCTGCAAAAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCATAGCGATGGCAAAACCTATCTGAACTGGCTGCTGCAGAAACCCGGCCAGAGCCCGAAACGCTGATTTATCTGGTGAGCAAACTGGATAGCCGTGTGCCGGATCGTTTAGCGGCAGCGCAGCGGCACCGATTTTACCCTGAAAATTAGCCGTGTGGAAGCGGAAGATGTGGCGTGTAATACTGCTGGCAGGGCACCCATTTTCCGCATACCTTTGGCCAGGGCACCAAACTGGAAATTA (SEQ ID NO: 49)
hACI-7069-633B12-Ab1_L23	GATGTGGTGATGACCCAGAGCCCGCTGAGCCTGCCGGTGACCCCGGGCGAACCAGCGAGCATTAGCTGCAAAAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCATAGCGATGGCAAAACCTATCTGAACTGGCTGCTGCAGAAACCCGGCCAGAGCCCGCAGCGTCTGATTTATCTGGTGAGCAAACTGGATAGCCGTGTGCCGGATCGTTTAGCGGCAGCGCAGCGGCACCGATTTTACCCTGAAAATTAGCCGTGTGGAAGCGGAAGATGTGGCGTGTAATACTGCTGGCAGGGCACCCATTTTCCGCATACCTTTGGCCAGGGCACCAAACTGGAAATTA (SEQ ID NO: 59)

[0495]

hACI-7069-633B12-Ab1_L24	GATATTGTGATGACCCAGAGCCCGCTGAGCCTGCCGGTGACCCGGGCGAACCGGCGAGCATTAGC TGCAAAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCATAGCGATGGCAAAACCTATCTGAACTGGCTGCTGCAGAAA CCGGGCCAGAGCCCGCAGCGTCTGATTATCTGGTGAGCAAACTGGATAGCCGTGTGCCGGATCGT TTAGCGGCAGCGGCAGCGCACCGATTTTACCCTGAAAATTAGCCGTGTGGAAGCGGAAGATGTG GGCGTGTATTATTGCTGGCAGGGCACCCATTTTCCGCATACCTTTGGCCAGGGCACCAAACTGGAA ATTAAA (SEQ ID NO: 69)
hACI-7069-633B12-Ab1_L25	GATATTGTGATGACCCAGAGCCCGCTGAGCCTGCCGGTGACCCGGGCGAACCGGCGAGCATTAGC TGCAAAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCATAGCGATGGCAAAACCTATCTGAACTGGCTGCTGCAGAAA CCGGGCCAGAGCCCGCAGCGTCTGATTATCTGGTGAGCAAACTGGATAGCCGTGTGCCGGATCGT TTAGCGGCAGCGGCAGCGCACCGATTTTACCCTGAAAATTAGCCGTGTGGAAGCGGAAGATGTG GGCGTGTATTATTGCTGGCAGGGCACCCATTTTCCGCATACCTTTGGCCAGGGCACCAAACTGGAA ATTAAA (SEQ ID NO: 79)
hACI-7069-633B12-Ab1_L26	GATATTGTGATGACCCAGAGCCCGCTGAGCCTGCCGGTGACCCGGGCGAACCGGCGAGCATTAGC TGCAAAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCATAGCGATGGCAAAACCTATCTGAACTGGCTGCTGCAGAAA CCGGGCCAGAGCCCGCAGCGTCTGATTATCTGGTGAGCAAACTGGATAGCCGTGTGCCGGATCGT TTAGCGGCAGCGGCAGCGCACCGATTTTACCCTGAAAATTAGCCGTGTGGAAGCGGAAGATGTG GGCGTGTATTATTGCTTTCAGGGCACCCATTTTCCGCATACCTTTGGCCAGGGCACCAAACTGGAAA TTAAA (SEQ ID NO: 89)
hACI-7069-633B12-Ab1_L27	GATATTGTGATGACCCAGAGCCCGCTGAGCCTGCCGGTGACCCGGGCGAACCGGCGAGCATTAGC TGCAAAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCATAGCGATGGCAAAACCTATCTGAACTGGCTGCTGCAGAAA CCGGGCCAGAGCCCGCAGCGTCTGATTATCTGGTGAGCAAACTGGATAGCCGTGTGCCGGATCGT TTAGCGGCAGCGGCAGCGCACCGATTTTACCCTGAAAATTAGCCGTGTGGAAGCGGAAGATGTG GGCGTGTATTATTGCTTTCAGGGCACCCATTTTCCGCATACCTTTGGCCAGGGCACCAAACTGGAAA TTAAA (SEQ ID NO: 99)

*포유류 세포 발현에 대해 최적화된 DNA 서열

실시예 2. 인간화된 항체 변이체의 생산

중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인 둘 모두에 대한 DNA 코딩 서열을 표준 분자 생물학 기술을 사용하여 합성하고 포유류 세포에서 발현이 가능한 플라스미드로 클로닝하였다. 중쇄 가변 도메인을 인간 IgG1 불변 도메인에 융합하였고 경쇄 가변 도메인을 불변 카파 경쇄 도메인이 함유된 플라스미드로 클로닝하였다. 키메라 항체와 인간화된 변이체를 ExpCHO™ Expression System Kit(ThermoFischer scientific, A29133)를 사용하여 중쇄 및 경쇄 플라스미드를 공동 형질감염시켜 ExpCHO-S(ThermoFischer scientific, A29127) 세포에서 일시적으로 발현시켰다. 형질감염 후에, 세포를 37℃에서 150 rpm 교반 및 8% CO2 수준에서 유지하였다. 형질감염 6일 후에, 상층액을 수확하여 단백질 A(Cytiva, 17127903)로 정제하였다. 항체를 단백질 A와 함께 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하고 롤러에서 교반하여 포획하였다. 혼합물을 중력 흐름 크로마토그래피 컬럼(BioRad, 7321010)에 붓고, 수지를 2X PBS 10CV로 세척하고 0.1M 글리신 pH3.2로 용리하였다. 그런 다음 용리액을 0.1M Tris, pH 7.4를 첨가하여 중화하였다. 그런 다음 샘플을 PBS 완충액에서 투석하였다.

실시예 3. 표면 플라스몬 공명(SPR)을 통한 ACI-7069-633B12-Ab1 인간화된 변이체의 특성 분석

측정은 Biacore 8K 기기(GE Healthcare Life Sciences)에서 CM5 Series S 센서 칩(GE Healthcare, BR-1005-30)에 가용성 TDP-43을 고정하여 수행하였다.

SPR에 의한 가용성 TDP-43에 대한 KD 결정

기기를 러닝 완충액 PBS-P+로 프라임िंग 하였고, 채널 1-8의 유동 셀(Fc) 1과 2를 EDC/NHS(아민 커플링 키트, 두 시약의 비율 1:1, GE Healthcare Life Sciences, BR-1006-33)의 신선한 용액으로 420초 동안 10 μL/분으로 활성화하였다. 가용성 TDP-43(Selvita)을 소듐 아세테이트 pH 4.5에 최종 농도 5 μg/mL로 희석하고 Fc 2에 5 μL/분의 유속으로 900초 동안 주입하였다. 모든 유동 셀을 1 M 에탄올 아민(GE Healthcare Life Sciences, BR-1006-33)으로 420초 동안 10 μL/분으로 급랭시켰다. 에탄올아민 급랭 후 고정화 수준은 8개 채널 모두에서 680 RU였다. 분석 전에, 2회의 시작 주기를 실행하였다. 증가하는 mAb 농도를 1.2 내지 100 nM 범위의 단일-주기 동역학에서 주입하였으며, 이는 300초의 접촉 시간과 3600초의 해리 시간, 30 μL/분의 유속으로 러닝 완충액에서 3배 연속 희석하여 제조하였다. 각 주기는 30 μL/분의 접촉 시간 30초로 10 mM 글리신-HCl pH 1.7을 사용하여 1회 재생성시킨 다음 300초의 안정화 기간이 이어졌다. 단일-주기 동역학에서 얻은 결과를 빈 Fc 1 및 완충액 주기를 사용하여 이중 참조하였으며 RI 및 전역 Rmax가 있는 1:1 동역학 적합 모델을 사용하여 Biacore 8K 평가 소프트웨어를 사용하여 평가하였다. 다음과 같은 동역학 매개변수를 획득하였다: 결합 속도 상수(ka), 해리 속도 상수(kd), 친화성 상수(KD) 및 포화 반응(Rmax).

SPR에 의한 TP-51에 대한 KD 결정

기기를 러닝 완충액 PBS-P+로 프라임िंग 하였다. 채널 1-8(8K)의 Fc 1-2를 EDC/NHS(아민 커플링 키트, 두 시약의 비율 1:1, GE Healthcare Life Sciences, BR-1006-33)의 신선한 용액으로 420초 동안 10 μL/분으로 활성화하였고 염소 항-인간 항체(GE Healthcare Life Sciences, 29234600)를 10 mM 소듐 아세테이트 pH 5 중에서 420초 동안 25 μg/mL로 고정시켰다. 다음으로, 모든 Fc를 1 M 에탄올 아민(GE Healthcare Life Sciences, BR-1006-

33)으로 420초 동안 급랭시켰다. 임의의 비-공유적으로 결합된 항체를 10 mM 글리신-HCl pH 1.7을 사용하여 30 초 동안 2회 재생성하여 제거하였다. 에탄올아민 급랭(모든 채널에 대해 10000 RU) 후에 고정화 수준을 평가하였다.

[0505] 러닝 완충액에 희석하여 2 $\mu\text{g/mL}$ 의 최종 농도를 갖는 인간화된 변이체의 비-공유 포획으로 각 주기를 시작하여 10 $\mu\text{L/분}$ 의 유속으로 60초 동안 주입하였다. TDP-43 mAb는 채널 1-8에서 포획하였고, Fc 1을 빈 Fc로 두었다. 포획 수준을 각 mAb 주입 후 120초 안정화 기간 후에 평가하였으며 범위는 300 내지 500RU였다.

[0506] TP-51은 TDP-43(SEQ ID NO: 1)의 아미노산 352-414로 이루어진다. TP-51 펩티드(Pepscan) 주입을 연속 3배 희석으로부터 제조한 1.2 내지 100 nM 범위로 농도를 증가시키면서 단일-주기 동역학에서 수행하였다. 주입은 25 $\mu\text{L/분}$ 의 유속으로 300초/주입의 접촉 시간으로 수행하였다. 최종 주입 후 3600초의 해리 단계가 이어졌다. 센서 표면은 10 mM 글리신-HCl pH 1.7을 120초 동안 10 $\mu\text{L/분}$ 의 유속으로 1회 주입하여 재생성한 다음 300초의 안정화 기간이 이어졌다. 단일-주기 동역학에서 얻은 결과를 빈 Fc 1과 완충액 주기를 사용하여 이중 참조하였으며 RI 및 전역 R_{max} 가 있는 1:1 동역학 적합 모델을 사용하여 Biacore 8K 평가 소프트웨어로 평가하였다. 다음과 같은 동역학 매개변수를 수득하였다: 결합 속도 상수(k_a), 해리 속도 상수(k_d), 친화성 상수(KD) 및 포화 반응(R_{max}).

[0507] 모든 매개변수(R_{max} 제외)는 2 내지 6회의 독립적인 실험에서 얻은 평균 $\pm$ SD로서 표 8에 보고되어 있다.

[0508] [표 8]

가용성 TDP-43 및 TP-51 펩티드 상의 ACI-7069-633B12-Ab1 인간화된 변이체의 k_a , k_d , KD 값

mAb	TP-51			TDP-43		
	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD (nM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD (pM)
ACI-7069-633B12-Ab1	6.7E+04	9.8E-05	1.5	5.5E+04	1.7E-05	328
hACI-7069-633B12-Ab1_H27L23	4.2E+04	1.4E-04	3.3	2.4E+04	2.2E-05	925
hACI-7069-633B12-Ab1_H28L22	5.8E+04	2.0E-04	3.5	2.9E+04	3.4E-05	1156
hACI-7069-633B12-Ab1_H28L23	6.5E+04	1.3E-04	1.9	3.2E+04	2.6E-05	806
hACI-7069-633B12-Ab1_H28L24	6.6E+04	1.3E-04	2.0	3.7E+04	1.7E-05	531
hACI-7069-633B12-Ab1_H32L24	6.4E+04	1.2E-04	2.0	2.4E+04	1.5E-05	716
hACI-7069-633B12-Ab1_H32L26	1.2E+05	1.6E-04	1.4	3.3E+04	1.7E-05	563
hACI-7069-633B12-Ab1_H33L24	7.0E+04	1.5E-04	2.2	3.0E+04	1.3E-05	471
hACI-7069-633B12-Ab1_H33L26	1.6E+05	2.9E-04	1.6	4.3E+04	9.0E-06	220
hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27	1.2E+05	1.2E-04	1.0	3.6E+04	5.2E-06	143
hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27	1.5E+05	1.2E-04	0.8	5.2E+04	6.5E-06	126

[0509]

[0510] 전반적으로, 모든 인간화된 변이체는 무린 항체 ACI-7069-633B12-Ab1에 대해 관찰된 것과 같이 TDP-43 및 TP-51 펩티드(표 8)에 대해 우수한 친화성을 유지하였다. 본 실험 세트에서 시험한 변이체 중에서 가장 친화성이 좋은 변이체는 hACI-7069-633B12-Ab1_H28L24, hACI-7069-633B12-Ab1_H33L24, hACI-7069-633B12-Ab1_H32L26, hACI-

7069-633B12-Ab1_H33L26, hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27 및 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27이었다.

[0511] 인간화된 변이체는 무린 모체 항체 ACI-7069-633B12-Ab1(328 pM, 표 8)와 비교하여 TDP-43에 대한 유사한 결합 친화성(1156 내지 126 pM, 표 8)을 나타냈으며, hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27은 TDP-43에 대해 가장 우수한 친화성(최저 KD)을 가졌다. 주목할 점은, 인간화된 변이체 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27의 pI 및 순 전하의 변화가 시차 주사 형광 측정법(DSF: Differential Scanning Fluorimetry)으로 측정된 열 안정성에 영향을 미치지 않았다는 것으로서, 이는 표준 인간 IgG1에 대해 예상했던 대로 70℃ 초과에서 유지되었고, FcRn에 대한 친화성에도 영향을 미치지 않았다.

[0512] **실시예 4. ACI-7069-633B12-Ab1 인간화된 변이체는 시험관 내에서 TDP-43 응집을 억제한다**

[0513] hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27, hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27 및 hACI-7069-633B12-Ab1_H32L26을 TDP-43의 응집 특성에 의존하는 시험관 내 기능 분석에서 특성분석하였다(문헌[Wang et al. EMBO 2018]). 이를 위해, TDP-43을 C-말단에서 말토스 결합 단백질과 융합하였고(TDP-43-MBP), 재조합적으로 생산하였으며, 담배 식각 바이러스(TEV: Tobacco Etch Virus) 프로테아제를 사용하여 MBP 단백질을 제거함으로써 응집을 유도하였다. 그런 다음 600 nm에서 흡광도를 측정하여 시간 경과에 따른 응집을 모니터링하였다. 600 nm에서 흡광도의 증가는 응집량과 상관관계가 있는 것으로 보고되었다. 1.5시간에서, hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27, hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27 및 hACI-7069-633B12-Ab1_H32L26은 인간 IgG 키메라 cACI-7069-633B12-Ab1 항체(ACI-7069-633B12-Ab1 무린 항체의 VH 및 VL과 인간 IgG1 불변 영역의 키메라)와 유사하게 TDP-43 응집 억제에서 기능적 효능을 유지하였다. 반면, 이소형 대조군 mAb를 첨가하면 TDP-43 응집이 억제되지 않았다(도 1).

[0514] **실시예 5. Tg32 마우스에서 2개의 ACI-7069-633B12-Ab1 인간화된 변이체의 약동학적 평가**

[0515] 형질전환 Tg32 마우스는 인간 신생아 Fc 수용체를 과발현하며 PK 평가 및 예상 인간 PK 모델링에 대한 강력한 관심을 나타낸다(문헌[Avery et al., Mabs 2016]). hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27 또는 hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27의 단일 IV 볼루스(40 mg/kg)를 화합물 당 21마리의 수컷 Tg32 마우스에 투여하였다. 6주 동안, 혈액 샘플링을 수행했고(도 2의 y-축에 표시) 혈청(시간 지점 당 3마리의 마우스)을 분석하였다. 전반적으로, 두 항체 모두 양호하고 유사한 PK 매개변수를 나타내어 항체의 생체 내 반감기가 중요한 응용분야, 예를 들어 인간의 치료적 용도에 적합한 후보가 되었다(도 2, 표 9).

[0516] [표 9]

Tg32 마우스 PK 매개변수

매개변수	단위	hACI-7069-633B12- Ab1_H33L27	hACI-7069-633B12- Ab1_H32L27
CL	ml/h/kg	0.18	0.25
Vc	ml/kg	20.8	34.3
Q1	ml/h/kg	2.8	2.6
Vp1	ml/kg	79.0	69.5
T _{1/2 β}	일	16.4	12.5

[0517] CL: 전신 청소율; Vc: 중심 분포 용적; Q1: 구획간 청소율; Vp1: 주변 분포 용적; T_{1/2 β}: 말단 반감기.

[0518] **실시예 6. 시노물구스 원숭이에서 2개의 ACI-7069-633B12-Ab1 인간화된 변이체의 약동학적 평가**

[0519] 비-인간 영장류에서 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27 및 hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27의 약동학을 평가하기 위해, 화합물 당 4마리의 수컷 시노물구스 원숭이에게 단일 IV 볼루스(40 mg/kg)를 투여하였다. 56일(1344시간) 동안, 혈액 샘플링을 수행했고(도 3의 y-축에 표시) 혈청(시간 지점 당 4마리의 시노물구스 원숭이)을 분석하였다. 8 마리 중 3마리의 동물에서 항-약물 항체(ADA, ELISA로 확인)가 검출되었는데, 이러한 비율은 인간 IgG 투여에 대한 비-인간 영장류(NHP)에서 이전에 기술된 비율과 일치하였다(문헌[Valente et al., Mabs 2020]). ADA가 있는 동물을 제외한 후, PK 매개변수를 계산하였다. 두 항체 모두 유리한 PK 매개변수를 나타냈으므로(도 3, 표 10) 치료 후보로서 추가 임상 개발에 적합하였다.

[0520] [표 10]

NHP PK 매개변수

매개변수	단위	hACI-7069-633B12- Ab1_H33L27	hACI-7069-633B12- Ab1_H32L27
CL	ml/h/kg	0.08	0.12
Vc	ml/kg	23.3	22.5
Q1	ml/h/kg	0.4	1.4
Vp1	ml/kg	12.3	15.1
T _{1/2 β}	일	12.7	8.7

[0521] CL: 전신 청소율; Vc: 중심 분포 용적; Q1: 구획간 청소율; Vp1: 주변 분포 용적; T_{1/2 β}: 말단 반감기.

[0522] 비-인간 영장류에서 예비 내약성, 독성 및 독성동태학 데이터를 평가하기 위해, hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27을 40, 120 및 360 mg/kg의 용량으로 4주 동안 1주 1회 시노물구스 원숭이에게 정맥 내로 투여하였다. 마지막 투여 후 1주일 후에 동물을 희생시켰다. 다양한 시점에서 혈청 샘플을 채취하여 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27 농도를 분석하였다. 연구 기간 동안 면역원성의 징후 없이 혈청에서 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27 노출이 용량에 비례하여 증가하는 것이 관찰되었다(도 9). 또한, 시노물구스 원숭이의 체중, 임상적 관찰, 임상병리학, 요분석, 현미경 검사 또는 장기 무게에 대해 유해 효과가 관찰되지 않았으며, 따라서 ACI-7069-633B12-Ab1 인간화된 변이체가 추가적인 임상 개발에 적합한 것으로 확인되었다.

[0523] **실시예 7. Tg32 마우스에서 모체 항체와 ACI-7069-633B12-Ab1_H33L27의 약동학적 프로파일 비교**

[0524] ACI-7069-633B12 인간화된 변이체의 약동학을 추가로 평가하기 위해, hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27, hACI-7069-633B12-Ab1_H19L18(국제공개 WO2022/034228호에 기술됨) 또는 cACI-7069-633B12-Ab1의 단일 IV 볼루스(40 mg/kg)를 화합물 당 21마리의 수컷 Tg32 마우스에 투여하였다. 혈액 샘플링 및 혈청 분석을 실시예 5에 기술된 바와 같이 수행하였다. 데이터를 3~4마리 동물/군에 대한 평균 ± 표준 편차로 도시하였다(도 10a). 인간화된 변이체 ACI-7069-633B12-Ab1_H33L27은 모체 항체 hACI-7069-633B12-Ab1_H19L18 및 cACI-7069-633B12-Ab1 항체에 비해 우수한 PK 프로파일을 나타냈으며(도 10a), 이로써 추가적인 임상 개발에 대한 적합성을 재확인하였다.

[0525] **실시예 8. 시노물구스 원숭이에서 모체 항체와 ACI-7069-633B12-Ab1_H33L27의 약동학적 프로파일 비교**

[0526] ACI-7069-633B12 인간화된 변이체의 약동학을 NHP에서 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27, hACI-7069-633B12-Ab1_H19L18(국제공개 WO2022/034228호에 기술됨) 또는 cACI-7069-633B12-Ab1(항체 당 수컷 시노물구스 원숭이 4마리)을 단일 IV 볼루스 투여(40 mg/kg)하여 추가로 평가하였다. 혈액 샘플링 및 혈청 분석을 실시예 6에 기술된 바와 같이 수행하였다. 데이터를 3~4마리 동물/군에 대한 평균 ± 표준 편차로서 도시하였다(도 10b). Tg32 마우스에서 볼 수 있듯이, 인간화된 변이체 ACI-7069-633B12-Ab1_H33L27은 모체 항체 hACI-7069-633B12-Ab1_H19L18 및 cACI-7069-633B12-Ab1 항체에 비해 우수한 PK 프로파일을 나타냈다(도 10b). 이러한 결과는 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27의 추가 임상 개발에 적합한 PK 프로파일을 뒷받침하였다.

[0527] **실시예 9. Tg32 마우스 및 시노물구스 원숭이로부터 인간 PK 예측**

[0528] mAb 인간 청소율을 예측하기 위한 생체 내 도구로서 Tg32 마우스와 시노물구스 원숭이를 사용하였다. Tg32와 시노물구스 원숭이에서 추정된 PK 매개변수를 문헌에 보고된 바와 같이 고정 지수를 사용하여 상대성장 스케일링(allometric scaling)으로 70 kg 인간으로 스케일링하였다(표 11)(문헌[Betts et al., 2018]). Tg32 마우스와 시노물구스 원숭이에서 예측된 인간 청소율은 각각 hACI-7069-633B12-Ab1_H19L18(국제공개 WO2022/034228호에 기술됨)의 경우 0.195 mL/h/kg 및 0.256 mL/h/kg인 반면, hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27의 경우 0.082 mL/h/kg 및 0.043 mL/h/kg이었다(표 11). 그 결과, 예측된 인간 반감기는 각각 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27의 경우 27 내지 30일인 반면, hACI-7069-633B12-Ab1_H19L18의 경우 17 내지 22일이었으며, hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27의 유리한 예측된 인간 PK 프로파일을 확인하였다.

[0529] [표 11]

예측된 인간 PK 매개변수

이로부터 예측	매개변수	단위	hACI-7069- 633B12- Ab1_H33L27	hACI-7069- 633B12- Ab1_H19L18
Tg32 마우스	CL	ml/h/kg	0.082	0.195
	Vc	ml/kg	16.4	23.2
	Q1	ml/h/kg	0.2	0.18
	Vp1	ml/kg	45.1	66.2
	T _{1/2 β}	일	27	22
시노물구스 원숭이	CL	ml/h/kg	0.043	0.256
	Vc	ml/kg	26.7	29.6
	Q1	ml/h/kg	0.1	0.104
	Vp1	ml/kg	15.6	39.8
	T _{1/2 β}	일	30.2	16.7

[0530] CL: 전신 청소율; Vc: 중심 분포 용적; Q1: 구획간 청소율; Vp1: 주변 분포 용적; T_{1/2 β}: 말단 반감기.

[0531] 실시예 10. 2개의 ACI-7069-633B12-Ab1 인간화된 변이체의 NHP 혈청 약력학

[0532] 혈청 약력학을 평가하기 위해, 단일 분자 어레이(SIMOA®) 기술을 사용하여 화합물을 투약한 NHP에서 비결합 TDP-43 수준을 측정하였다. 투약 전 시점(도 4a 내지 b)에서 기준 TDP-43 수준으로서 평균 500 pg/ml의 TDP-43 이 측정되었다. hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27 또는 hACI-7069-633B12-Ab1_H32L27(0.05시간)을 IV 주입한 후 3 분 후에 자유/비결합 TDP-43이 빠르게 감소하는 것으로 측정되었는데(80% 초과), 이는 이들 2개의 mAb에 의한 완전하고 빠른 표적 포화를 나타내며, 이러한 NHP의 혈청에 천연 TDP-43 단백질이 존재함을 나타낸다. TDP-43은 ADA를 나타내는 동물(실시예 6에 기술됨)을 제외하고 연구가 끝날 때까지 항체에 결합된 상태를 유지하였으며, 이는 투여된 항체의 표적 결합을 입증한다(도 4a 내지 b).

[0533] 실시예 11. 산발성 ALS 뇌척수액에서 하나의 ACI-7069-633B12-Ab1 인간화된 변이체에 의한 씨딩 능력이 있는 TDP-43의 중화

[0534] ACI-7069-633B12-Ab1 인간화된 변이체의 효능과 작용 방식을 확인하기 위해, 기질로서 합성 TDP-43 펩티드(TP-51)를 사용하여(10 μM으로 사용) 앞서 기술한 바와 같이 실시간 진동-유도 전환(RT-QuIC) 분석을 수행하였다 (문헌[Scialo, C. et al. *Brain Commun*, fcaa142- (2020)]). 건강한 대조군(도 5b)과 비교했을 때, 산발성 ALS 공여자의 뇌척수액(CSF)의 존재 하에 기질의 가속화된 응집이 관찰되었으며(도 5a) 이로써 ALS CSF에서 씨딩 능력이 있는 TDP-43 종이 존재함을 확인하였다. 이러한 분석에서 씨드로서 사용된 각각의 CSF를 이후 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27 또는 이소형 대조군(0.006 μM으로 사용)과 사전 인큐베이션하였다. ALS 공여자의 CSF에서 ACI-7069-633B12-Ab1_H33L27 인간화된 변이체에서 TDP-43 펩티드(TP-51) 기질의 응집이 유의하게 지연되는 것으로 관찰되었으며(도 5a 내지 b), 이는 항체가 ALS 환자의 CSF에서 씨딩 능력이 있는 TDP-43에 결합하여 중화할 수 있음을 나타낸다.

[0535] 실시예 12. ACI-7069-633B12-Ab1 인간화된 변이체는 THP-1 세포에 의한 TDP-43 흡수를 강화한다

[0536] Fc-의존적 기작에 의한 TDP-43 응집체 제거에 미세아교세포가 직접적으로 관여하는지 평가하고 확인하기 위해, 이전에 설명한 대로(문헌[Lindner et al., 2020]) THP-1 세포(인간 백혈병 단핵구 세포주)를 사용한 시험관 내 분석을 설정하였다. 이를 위해, 제조한 TDP-43 응집체를 제조업체의 지침에 따라 pHrodo™ 염료(ThermoFisher Scientific, P36013)로 표지하였다. pHrodo™ 염료는 산성 세포 구획에서 내재화되면 형광을 띠므로 THP-1 세포에 의한 TDP-43 응집체의 내재화를 실시간으로 모니터링할 수 있다. 그런 다음 pHrodo™ 형광 강도를 24시간 동안 매시간 자동으로 정량화하였다(도 6a). 데이터는 조건 당 4 내지 6회 반복한 평균 ± SEM을 나타낸다. 10시

간 시점의 세포 컨플루언스에 대해 정규화된 형광 강도의 차이를 일원 ANOVA 후 다중 비교를 위한 Tukey 사후 검정을 통해 조건 간에 비교하였다(도 6b). 30 nM의 TDP-43 응집체만 또는 30 nM의 이소형 대조군 항체와 함께 인큐베이션 시 TDP-43 응집체의 제한적인 내재화가 관찰되었다. 그러나 30 nM의 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27 또는 키메라 항체 cACI-7069-633B12-Ab1이 존재하는 경우, pHrodoTM-표지된 TDP-43 응집체의 흡수가 음성 대조군인 pHrodoTM-표지된 TDP-43 단독 및 이소형 대조군 항체와 병용한 경우와 비교하여 유의하게 증가한 것으로 관찰되었다(도 6a 내지 b). 이러한 결과를 통해 ACI-7069-633B12 인간화된 변이체가 TDP-43 응집체에 결합하면 미세아교세포와 같은 면역 세포에 의한 흡수를 강화시킴으로써 제거를 촉진할 수 있음을 확인하였다.

[0537] 실시예 13. ACI-7069-633B12-Ab1 인간화된 변이체에 의한 인간 뇌 추출물의 TDP-43 면역 결핍

ACI-7069-633B12-Ab1 인간화된 변이체가 시험관 내에서 템플릿화된 TDP-43 응집에 미치는 영향을 평가하기 위해, 이전에 설명된 바와 같이(국제공개 WO2022/034228호) FTLTDP 뇌 추출물에서 농축된 응집되고 인산화된 TDP-43을 사용하여 면역결핍 실험을 수행하였다. 이소형 대조군에 비해 면역결핍된 분획은 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27 또는 키메라 항체 cACI-7069-633B12-Ab1을 사용하여 상당한 TDP-43 결핍을 보였다(도 7a). 정량 분석을 위해, 총 TDP-43 또는 TDP-43의 C-말단 단편(즉, 25 kDa 미만, CTF)에 대해 얻은 신호를 입력의 해당 신호에 대해 정규화하였다(도 7b). 이러한 결과를 통해 ACI-7069-633B12-Ab1 인간화된 변이체가 FTLTDP 환자의 뇌에서 응집되고 인산화된 TDP-43에 결합하는 능력을 확인하였으며, 이로써 치료적 잠재력을 확인하였다.

[0539] 실시예 14. ACI-7069-633B12-Ab1 인간화된 변이체는 CSF에서 인간 TDP-43에 높은 친화성으로 결합한다

인간 CSF에서 TDP-43에 대한 ACI-7069-633B12-Ab1 인간화된 변이체의 결합 친화성을 특성화하기 위해, 건강한 공여자의 CSF 샘플을 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27의 농도를 증가시키면서 미리 인큐베이션하고 결합되지 않은 TDP-43의 양을 실시예 10에서와 같이 SIMOA-기반 표적 결합 분석을 사용하여 측정하였다. CSF 샘플에서 인간 TDP-43에 대한 hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27 결합에 대해 35.58 ng/ml(237 pM)의 EC50을 획득하였다(도 8). 이러한 결과로부터 ACI-7069-633B12-Ab1 인간화된 변이체가 CSF의 TDP-43에 높은 친화성으로 결합하는 능력을 확인하였다.

[0541]

참고문헌

- Arai et al., TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 351 (2006) 602–611.
- Avery et al., Utility of a human FcRn transgenic mouse model in drug discovery for early assessment and prediction of human pharmacokinetics of monoclonal antibodies, *mAbs*, 8:6, 1064-1078, DOI: 10.1080/19420862.2016.1193660
- Betts et al., Linear pharmacokinetic parameters for monoclonal antibodies are similar within a species and across different pharmacological targets: A comparison between human, cynomolgus monkey and hFcRn Tg32 transgenic mouse using a population-modeling approach, *MABS*, 2018, Vol. 10
- Buratti and Baralle, Nuclear factor TDP-43 can affect selected microRNA levels, *FEBS Journal* 277 (2010) 2268–2281.
- Brettschneider J et al., Spreading of pathology in neurodegenerative diseases: a focus on human studies, *Nature Rev. Neuroscience*, 2015, 109.
- Brettschneider et al., Stages of pTDP-43 pathology in amyotrophic lateral sclerosis, *Ann Neurol*. 2013 July; 74(1): 20–38.
- Bumbaca Yadav et al., Evaluating the Use of Antibody Variable Region (Fv) Charge as a Risk Assessment Tool for Predicting Typical Cynomolgus Monkey Pharmacokinetics, *The journal of biological chemistry*, VOL. 290, NO. 50, pp. 29732–29741, 2015
- Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Val. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254.
- Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)
- Clynes et al., Fc receptors are required in passive and active immunity to melanoma *Proc. Nat'l Acad. sci. USA* 95:652-656 (1998)
- Cohen et al., An acetylation switch controls TDP-43 function and aggregation propensity, *Nat Commun.* 6: 5845, 2015.
- Cragg, M.S. et al., Complement-mediated lysis by anti-CD20 mAb correlates with segregation into lipid rafts, *Blood* 101:1045-1052 (2003)
- Cragg, M.S. and M.J. Glennie, Antibody specificity controls in vivo effector mechanisms of anti-CD20 reagents, *Blood* 103:2738-2743 (2004)).
- Cunningham and Wells, High-resolution epitope mapping of hGH-receptor interactions by alanine-scanning mutagenesis, (1989) *Science* , 244: 1081-1085.

[0542]

Dall' Acqua et al., Increasing the Affinity of a Human IgG1 for the Neonatal Fc Receptor: Biological Consequences, *Journal of immunology*, (2002) 169(9):5171-5180.

Duncan & Winter, The binding site for C1q on IgG, *Nature* 322:738-40 (1988)

Edelman, G.M. et al., The Covalent Structure of an Entire gammaG Immunoglobulin Molecule, *Proc. Natl. Acad. USA*, 63, 78-85 (1969)

Feiler et al., TDP-43 is intercellularly transmitted across axon Terminals, *J. Cell Biol.* Vol. 211 No. 4 897-911.

Feneberg et al., Towards a TDP-43-Based Biomarker for ALS and FTL, *Molecular Neurobiology*, 2018; 55(10): 7789-7801.

Gazzano-Santoro et al., Engineered Antibodies with Increased Activity to Recruit Complement, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)

Gerngross, Advances in the production of human therapeutic proteins in yeasts and filamentous fungi, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004).

Gerhardt et al., *Methods for General and Molecular Bacteriology*, ASM Press (1994).

Golemis, *Protein-Protein Interactions: A Molecular Cloning Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press (2002).

Graham et al., Characteristics of a human cell line transformed by DNA from human adenovirus type 5, *J. Gen. Viral.* 36:59 (1977)

Guyer et al., Immunoglobulin binding by mouse intestinal epithelial cell receptors, *J. Immunol.* 117:587 (1976).

Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1988).

Harlow and Lane, *Using Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1999).

Hasegawa et al., Phosphorylated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis, (2008) *Annals of Neurology* Vol 64 No 1, 60-70.

Hasegawa et al., Prion-like mechanisms and potential therapeutic targets in neurodegenerative disorders, *Pharmacol Ther.* 2017 Apr; 172:22-33.

Hellstrom, I. et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986).

Hellstrom, I et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499- 1502 (1985).

Hoogenboom et al., *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001).

Howard and Bethell. (2000) *Basic Methods in Antibody Production and Characterization*, Crc. Pr. Inc.

[0543]

- Idusogie et al., J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000).
- Igawa et al, Reduced elimination of IgG antibodies by engineering the variable region, PEDS. vol. 23 no. 5 pp. 385-392, 2010
- Ishii et al., Formation and spreading of TDP-43 aggregates in cultured neuronal and glial cells demonstrated by time-lapse imaging, PLoS ONE 12(6): e0179375, 2017.
- Jones et al., Replacing the complementarity-determining regions in a human antibody with those from a mouse, Nature 321 (1986), 522-525.
- KA et al., TDP-43 is a key player in the clinical features associated with Alzheimer's disease, Acta Neuropathol. 2014; 127(6): 811-824.
- KA et al., Staging TDP-43 pathology in Alzheimer's disease Acta Neuropathol. 2014; 127(3): 441-450.
- Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005).
- Kanda Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006).
- Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th edit. NIH Publication no. 91-3242 U.S. Department of Health and Human Services (1991).
- Kasai et al. "Combined use of CSF NfL and CSF TDP-43 improves diagnostic performance in ALS." Annals of clinical and translational neurology vol. 6,12 (2019): 2489-2502. doi:10.1002/acn3.50943
- Kirn et al., J. Immunol. 24:249 (1994).
- Kohler, Nature 256 (1975), 495.
- Khor, Proceedings of the American Society of Clinical Oncology Abstract (1997), 847.
- Lagier-Tourenne et al., TDP-43 and FUS/TLS: emerging roles in RNA processing and neurodegeneration, Human Molecular Genetics, 2010, Vol. 19, Review Issue 1 R46-R64.
- Lagier-Tourenne and Cleveland, Rethinking ALS: the FUS about TDP-43, Cell 136, 2009, 1001-1004.
- Le Ber, Genetics of frontotemporal lobar degeneration: an up-date and diagnosis algorithm, Revue Neurologique 169 (2013) 811-819.
- Lefkovits, Immunology Methods Manual: The Comprehensive Sourcebook of Techniques; Academic Press (1997).
- Lindner B, Burkard T, Schuler M. Phagocytosis assays with different pH-sensitive fluorescent particles and various readouts. Biotechniques. 2020 Feb;68(5):245-50.
- LoBuglio, Proceedings of the American Society of Clinical Oncology Abstract (1997), 1562 .
- Li et al., Optimization of humanized IgGs in glycoengineered Pichia pastoris, Nat. Biotech. 24:210-215 (2006).

[0544]

- Mackenzie and Neumann, Molecular neuropathology of frontotemporal dementia: insights into disease mechanisms from postmortem studies, *J. Neurochem.* (2016) 138 (Suppl. 1), 54-70.
- Mather, Establishment and characterization of two distinct mouse testicular epithelial cell lines, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)
- Mather et al., Culture of testicular cells in hormone-supplemented serum-free medium, *Annals N. Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)
- McAleese et al., TDP-43 pathology in Alzheimer's disease, dementia with Lewy bodies and ageing, *Brain Pathol.* 2017 Jul; 27(4): 472-479.
- Morris, Epitope Mapping Protocols, *Methods in Molecular Biology* vol. 66(1996) (Humana Press, Totowa, NJ).
- Nonaka et al., Prion-like Properties of Pathological TDP-43 Aggregates from Diseased Brains, *Cell Reports* 4 (2013), 124-134.
- Neumann et al., Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis, *Science* 314, (2006), 130-133.
- Neumann et al., Phosphorylation of S409/410 of TDP-43 is a consistent feature in all sporadic and familial forms of TDP-43 proteinopathies, *Acta Neuropathol.* (2009) 117: 137-149.
- Petkova, S.B. et al., *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006).
- Plückthun, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, Rosenberg and Moore eds. Springer-Verlag, N.Y. (1994), 269-315.
- Porta S. et al., Patient-derived frontotemporal lobar degeneration brain extracts induce formation and spreading of TDP-43 pathology in vivo *Nat. Comm.*, 2018
- Okazaki et al., Fucose depletion from human IgG1 oligosaccharide enhances binding enthalpy and association rate between IgG1 and FcγRIIIa, *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004).
- Presta LG., Antibody engineering, *Curr Opin Struct Biol* 2 (1992), 593-596.
- Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)
- Reichmann, Reshaping human antibodies for therapy, *Nature* 332 (1998), 323-327.
- Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)
- Ripka et al., Two Chinese hamster ovary glycosylation mutants affected in the conversion of GDP-mannose to GDP-fucose. *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986).
- Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*; Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd edition (1989) and 3rd edition (2001).
- Scialò et al. TDP-43 real time quaking induced conversion reaction optimization and detection of seeding activity in CSF of amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia patients. *Brain Commun*, fcaa142- (2020)

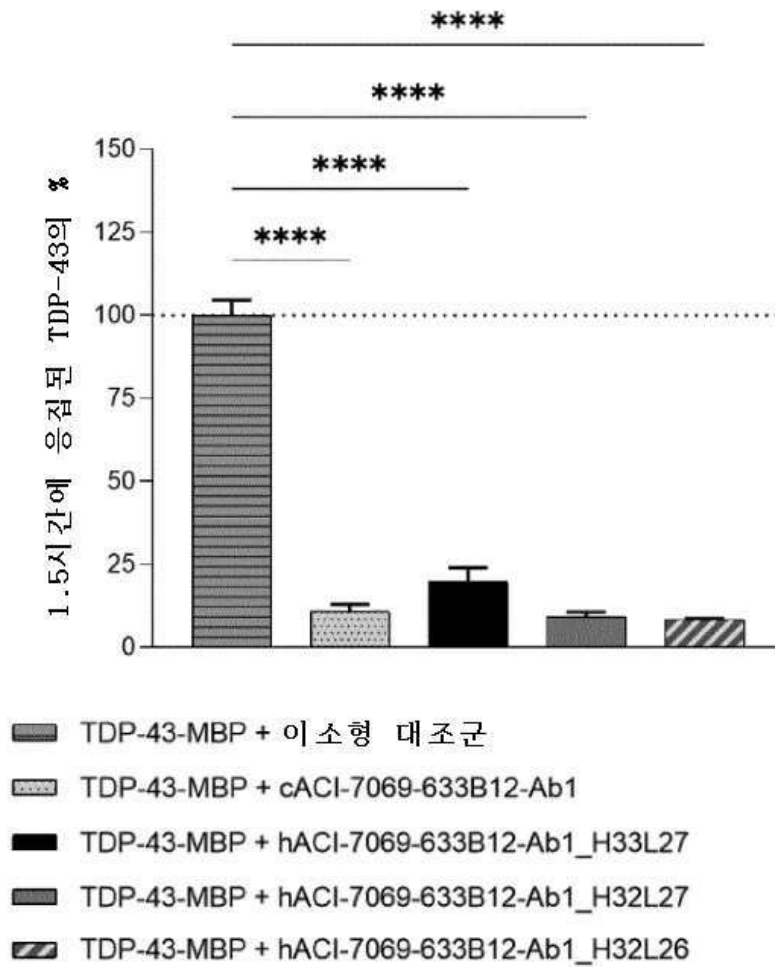
[0545]

- Shepherd and Dean (2000), *Monoclonal Antibodies: A Practical Approach*, Oxford University Press
- Shields et al., High Resolution Mapping of the Binding Site on Human IgG1 for FcγRI, FcγRII, FcγRIII, and FcRn and Design of IgG1 Variants with Improved Binding to the FcγR, *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001).
- Spiller K.J et al., Microglia-mediated recovery from ALS-relevant motor neuron degeneration in a mouse model of TDP-43 proteinopathy, *Nature Neuroscience*, 2018
- Ticozzi et al., Protein Aggregation and Defective RNA Metabolism as Mechanisms for Motor Neuron Damage, 9(3): 285 - 296 *CNS Neurol. Disord. Drug Targets.* 2010, 9(3), 285-296.
- Urlaub et al., Isolation of Chinese hamster cell mutants deficient in dihydrofolate reductase activity, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)
- Valente et al., Pharmacokinetics of novel Fc-engineered monoclonal and multispecific antibodies in cynomolgus monkeys and humanized FcRn transgenic mouse models, *mAbs*, 12:1, 1829337, DOI: 10.1080/19420862.2020.1829337
- Verhoeyen et al., Reshaping human antibodies: Grafting an antilysozyme activity., *Science* 239 (1988),1534-1536.
- Walker et al., Neuropathologically mixed Alzheimer's and Lewy body disease: burden of pathological protein aggregates differs between clinical phenotypes, *Acta Neuropathol* (2015) 129:729–748
- Wang A, Conicella AE, Schmidt HB, Martin EW, Rhoads SN, Reeb AN, et al. A single N-terminal phosphomimic disrupts TDP-43 polymerization, phase separation, and RNA splicing. *EMBO J.* 2018;37(5).
- Wang et al., TDP-43: an emerging new player in neurodegenerative diseases *Trends in Molecular Medicine* Vol.14 No.11, 2008, 479-485.
- Warraich et al., TDP-43: a DNA and RNA binding protein with roles in neurodegenerative diseases, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 42 (2010) 1606–1609.
- Wright et al., Effect of glycosylation on antibody function. *TIBTECH* 15:26-32 (1997).
- Yamane-Ohnuki et al., Establishment of FUT8 knockout Chinese hamster ovary cells: An ideal host cell line for producing completely defucosylated antibodies with enhanced antibody-dependent cellular cytotoxicity. *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004).
- Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003).
- Zalevsky, J et al, Enhanced antibody half-life improves in vivo activity, *Nat Biotechnol* 28(2):157-9, 2010

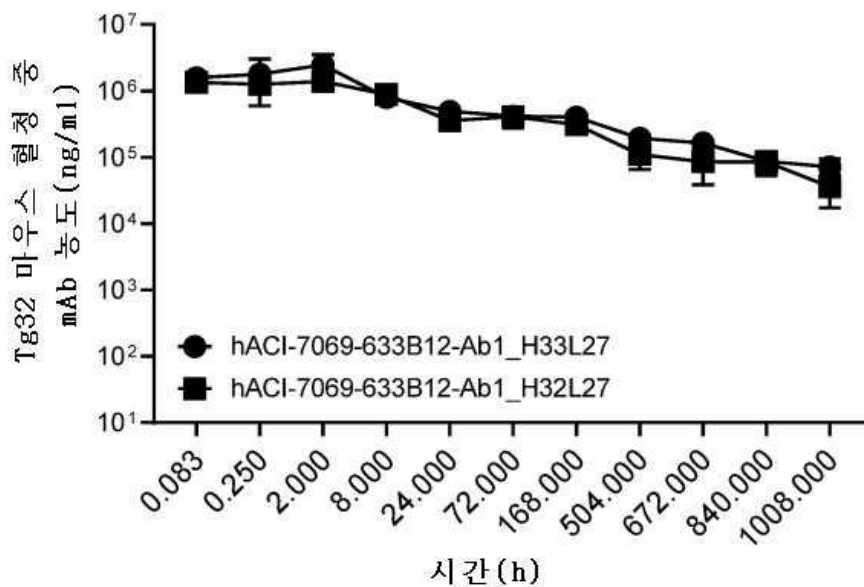
[0546]

도면

도면1

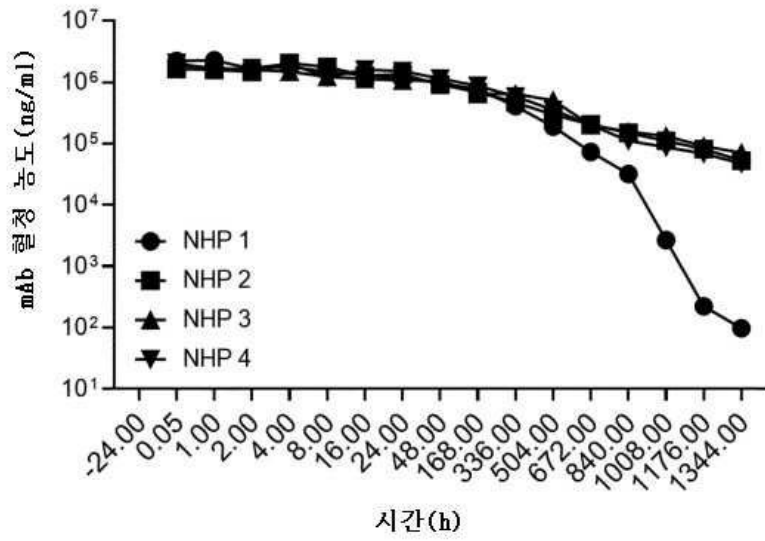


도면2

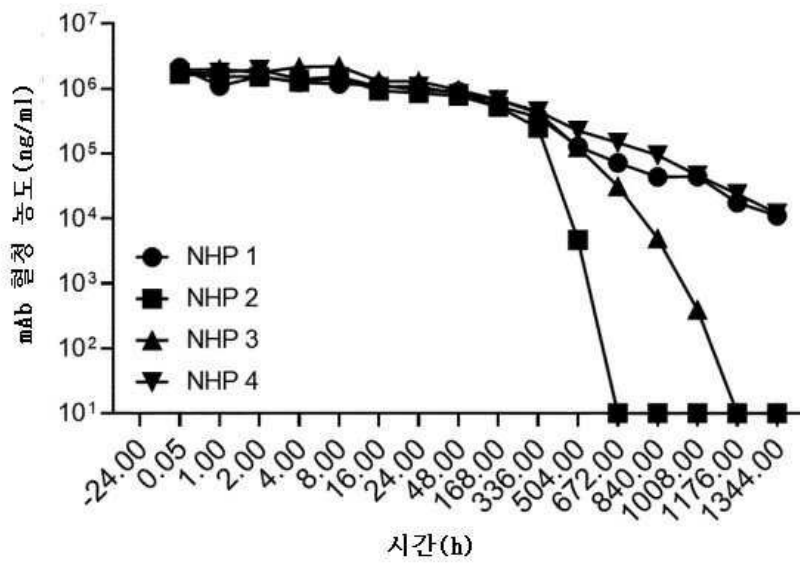


도면3

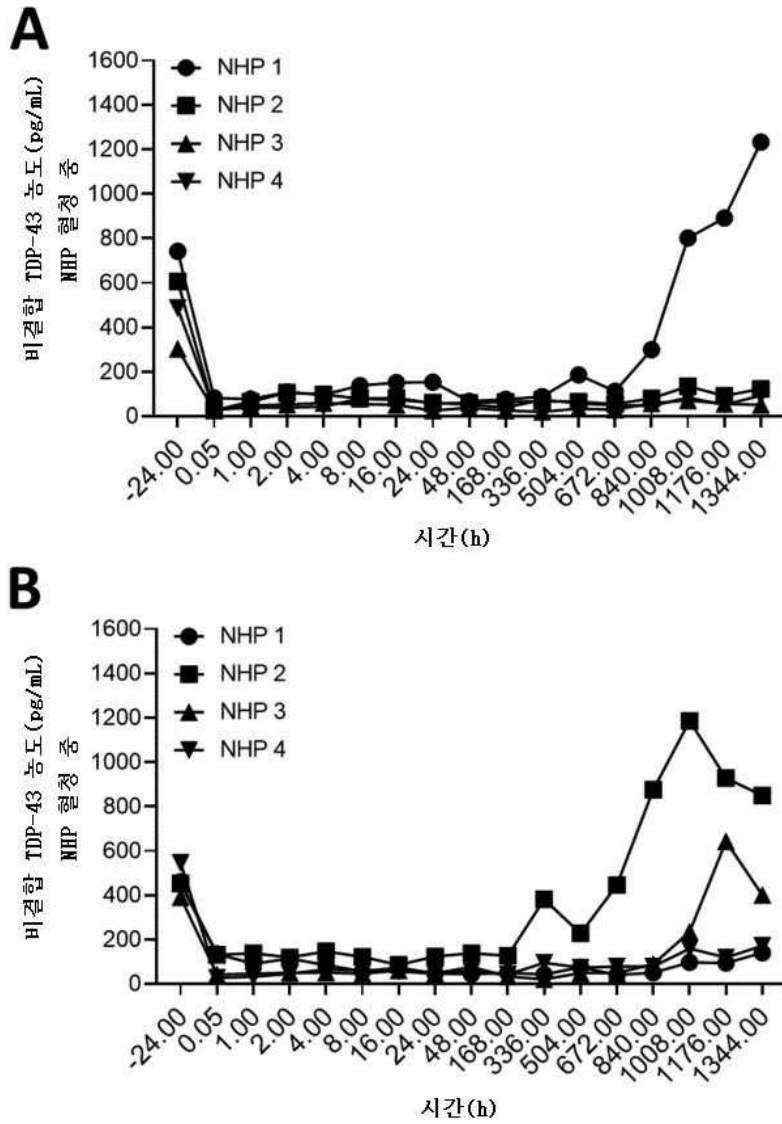
A



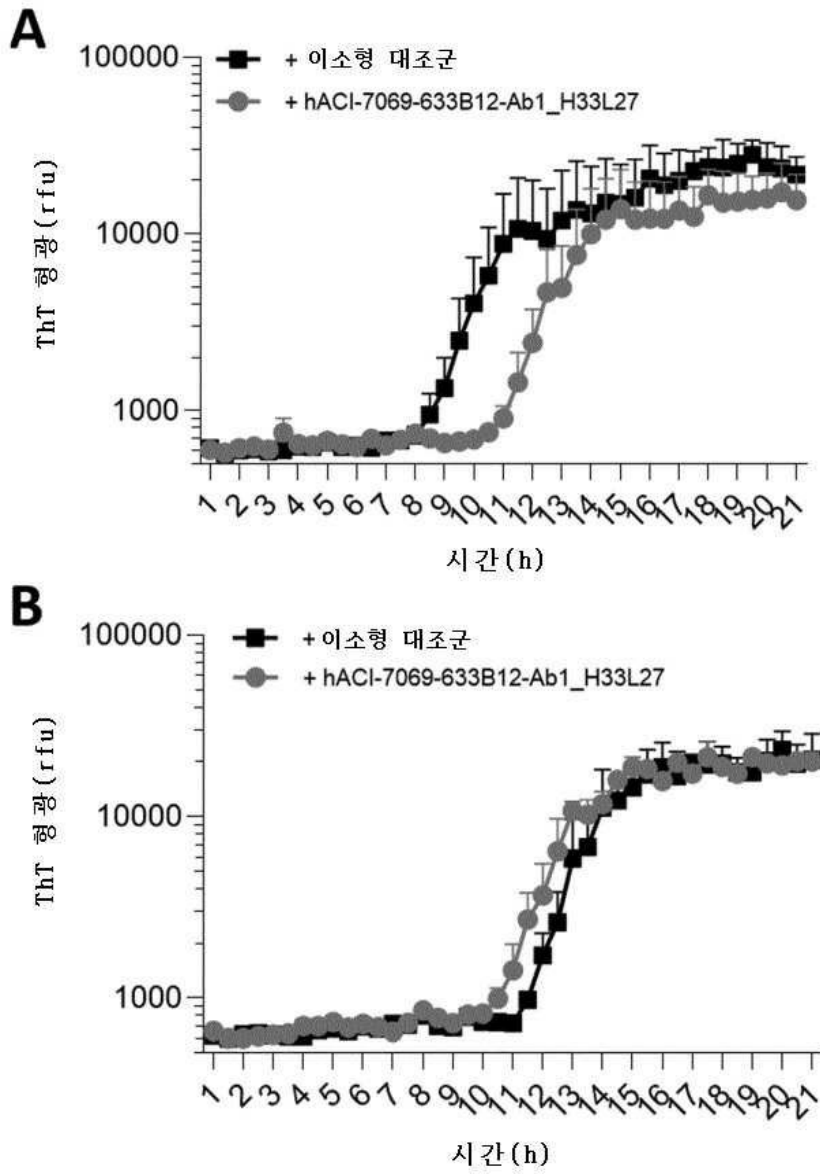
B



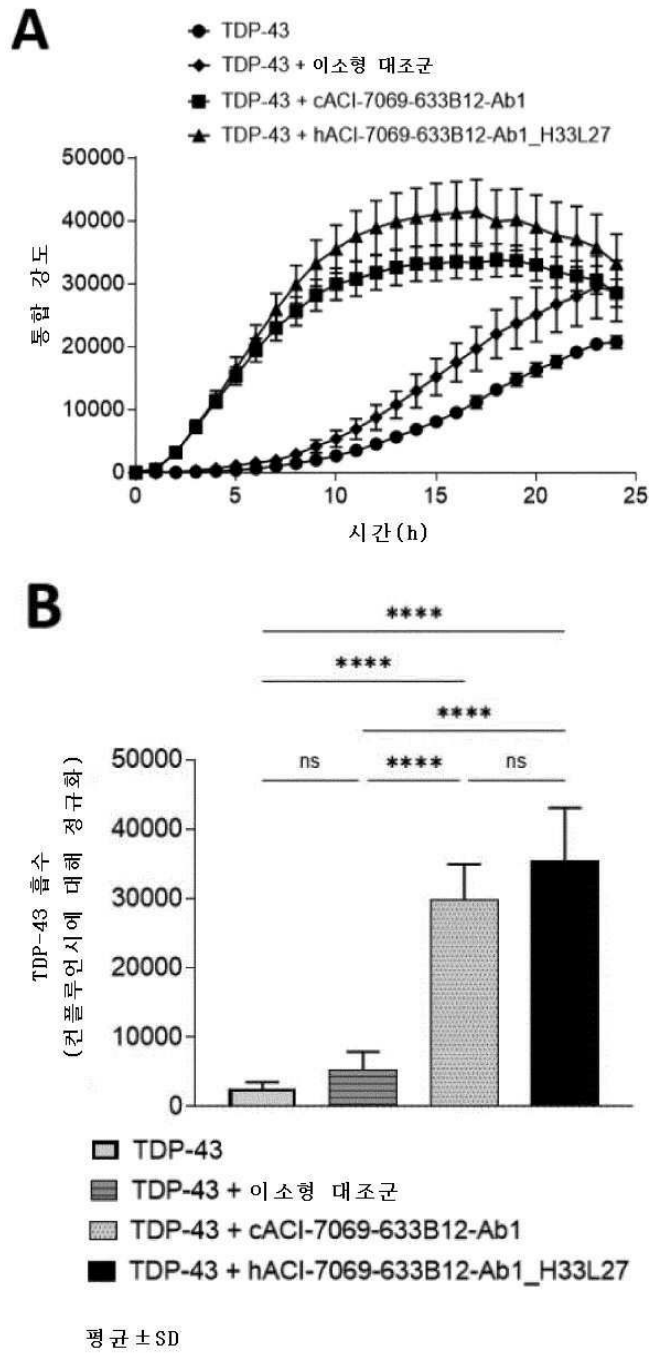
도면4



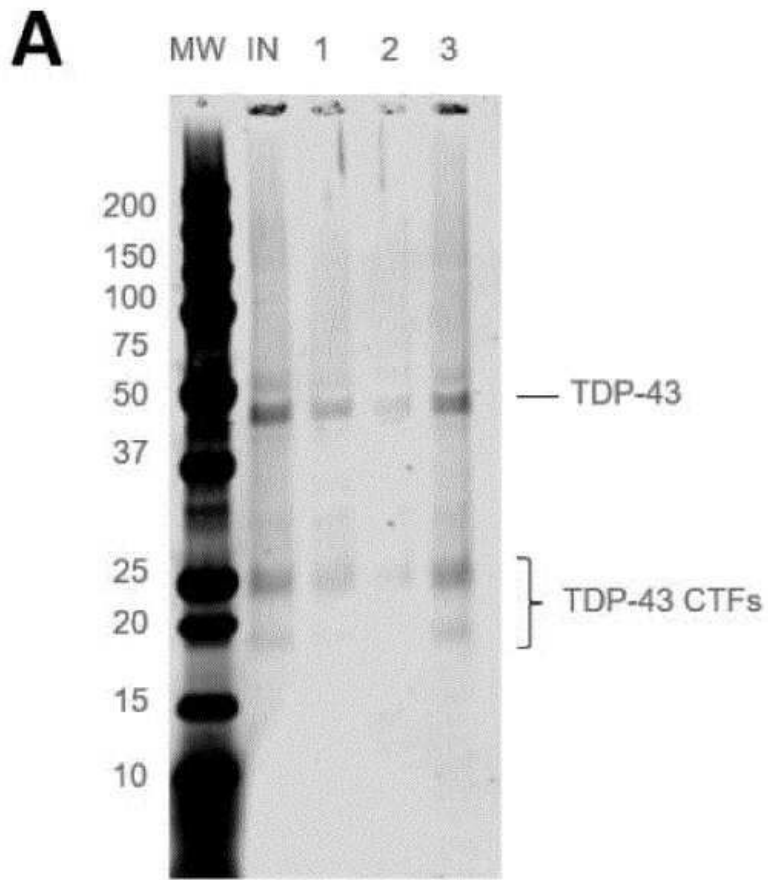
도면5



도면6



도면7a



IN: 입력

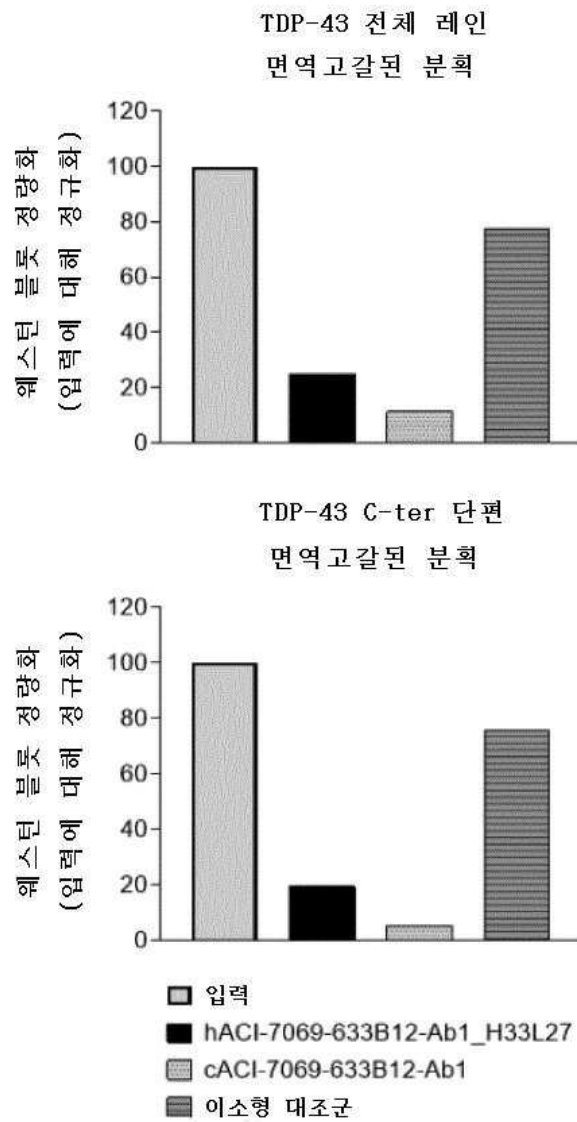
1: hACI-7069-633B12-Ab1_H33L27

2: cACI-7069-633B12-Ab1

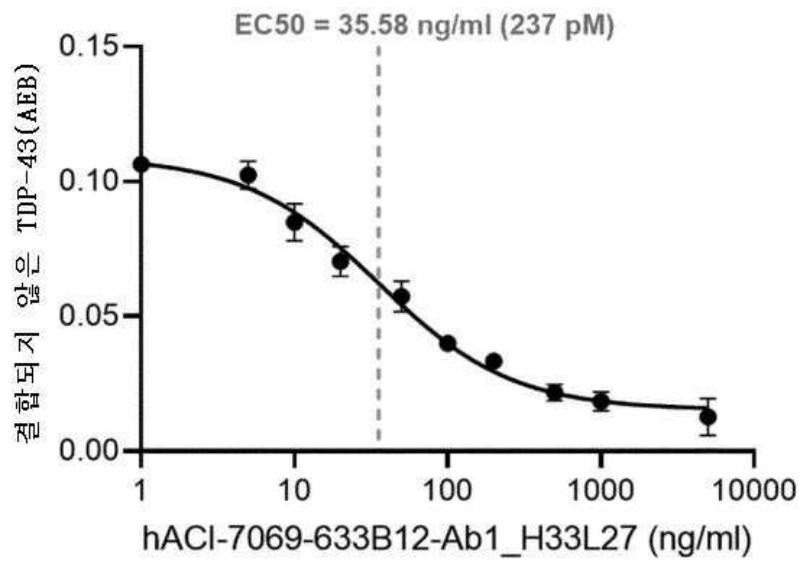
3: 이소형 대조군

도면7b

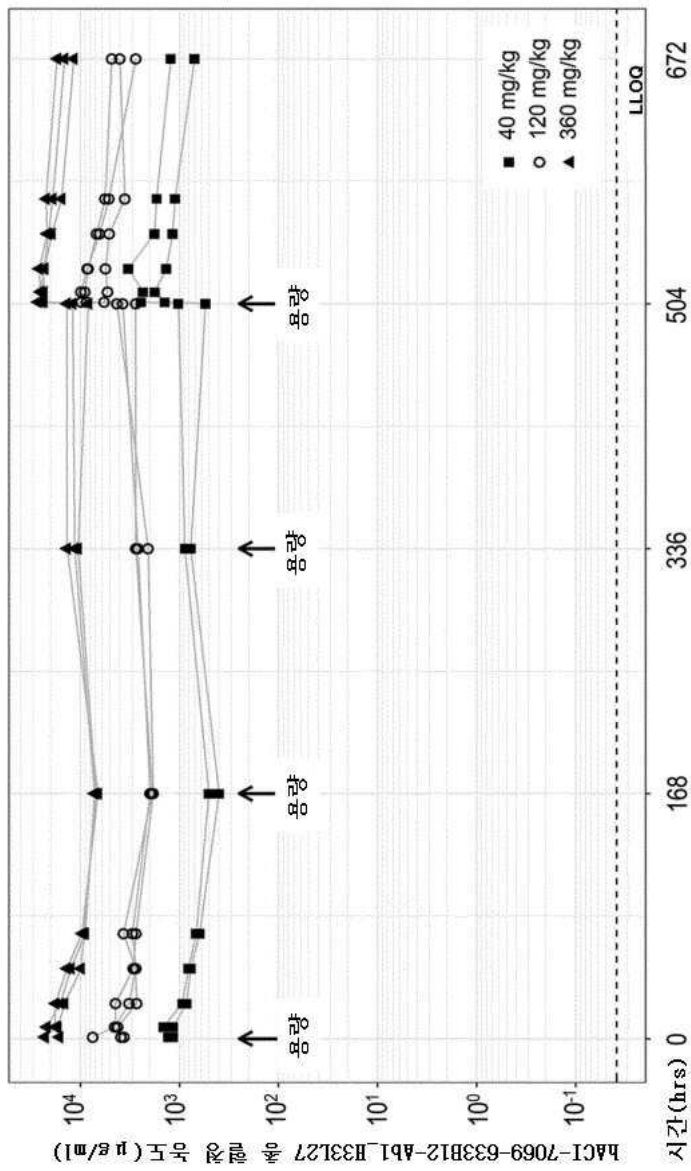
B



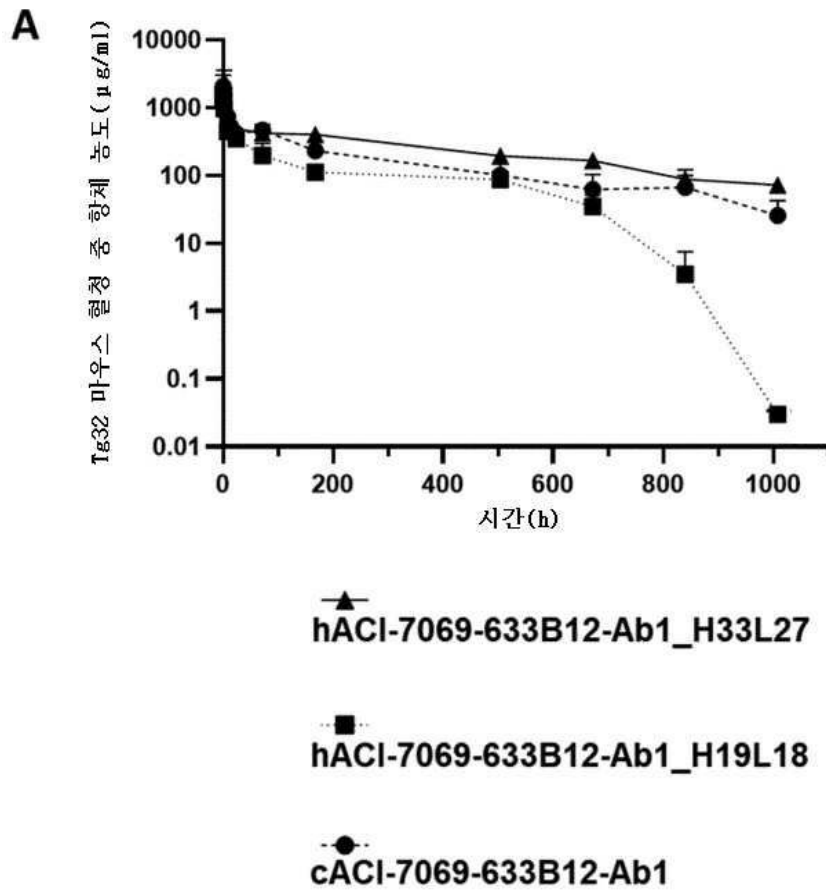
도면8



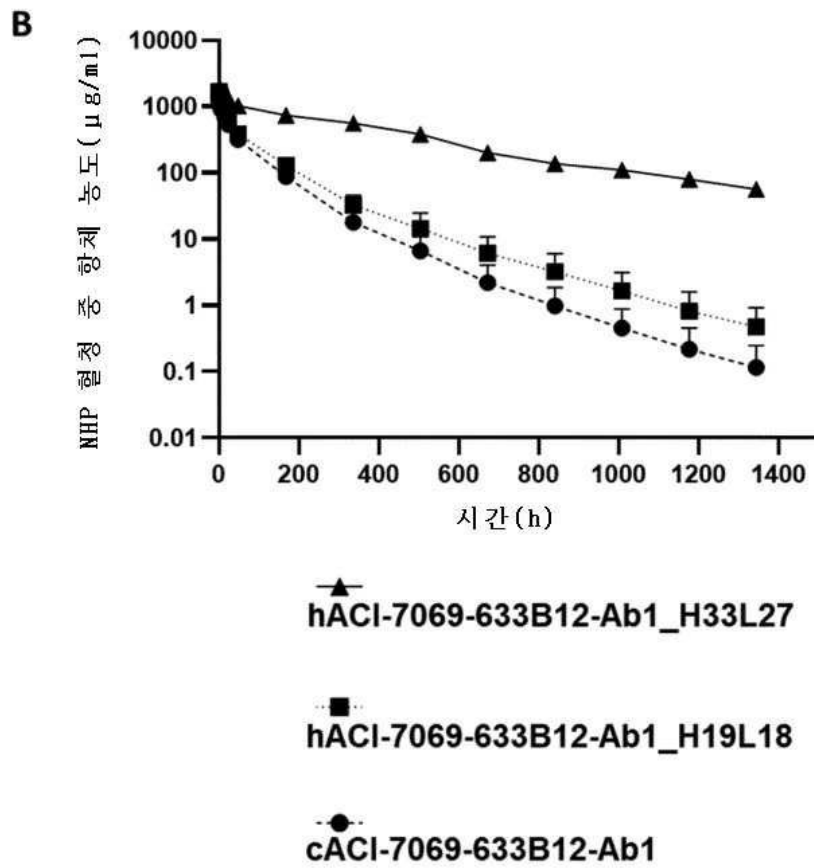
도면9



도면10a



도면10b



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.