



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0107628
(43) 공개일자 2021년09월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2818 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2021-7014530
(22) 출원일자(국제) 2019년11월13일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2021년05월13일
(86) 국제출원번호 PCT/US2019/061226
(87) 국제공개번호 WO 2020/102387
국제공개일자 2020년05월22일
(30) 우선권주장
62/760,801 2018년11월13일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
콤파스 테라퓨틱스 엘엘씨
미국 02135 매사추세츠주 브라이턴 스위트 601 게
스트 스트리트 80
(72) 발명자
공 병
미국 매사추세츠주 02135 브라이튼 스위트 601 게
스트 스트리트 80 콤파스 테라퓨틱스 엘엘씨 내
레나드 레이첼
미국 매사추세츠주 02180 스톤햄 이스트 스트리트
15
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
장훈

전체 청구항 수 : 총 274 항

(54) 발명의 명칭 체크포인트 분자에 대한 다중특이적 결합 작제물 및 이의 용도

(57) 요약

본원의 개시내용은 면역 관문 억제를 감소시킴에 의해 종양 침입을 억제하기 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 본원에서는 PD-1과 이의 리간드(예를 들어, PD-1 및/또는 PD-L2) 간의 상호작용을 차단하고, PD-1과 이의 리간드가 발현되는 세포의 상호작용을 촉진시키는 조성물이 제공된다. 또한, 상기 조성물을 사용하는 방법이 제공된다.

(52) CPC특허분류

C07K 16/2827 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/31 (2013.01)
C07K 2317/526 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

올리펀트 아만다 프랭크

미국 매사추세츠주 02131 보스턴 헤이즐미어로드
 24

룽 측 룬

미국 매사추세츠주 02170 퀸시 에이퍼터 430 웨스
 턴 애비뉴 10

울프 벤자민 제이콥

미국 워싱턴주 98103 시에틀 엔 87번 스트리트 741

에스키오카 우구르

미국 매사추세츠주 02145 서머빌 커넬 스트리트
 375

마크루 펠

미국 매사추세츠주 01721 애쉬랜드 스파이글라스
 힐 드라이브 21

알부 다이아나 아이.

미국 뉴햄프셔주 03087 윈덤 오리올 로드 6

(30) 우선권주장

62/855,580	2019년05월31일	미국(US)
62/898,991	2019년09월11일	미국(US)
62/931,478	2019년11월06일	미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

적어도 2개의 항원-결합 아암을 포함하는 다중특이적 항원-결합 작제물로서, 제1 아암이 면역 세포에 의해 발현되는 PD-1에 결합하고, 제2 아암이 제2 세포에 의해 발현되는 PD-1 리간드에 결합하고, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물이 PD-1과 PD-1 리간드의 상호작용을 차단하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 PD-1 리간드가 PD-L2인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 PD-1 리간드가 PD-L1인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 세포가 T 세포인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 T 세포가 CD8+ T 세포인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 세포가 천연 킬러 (NK) 세포인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 7

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 세포가 대식세포인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 8

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 세포가 제2 면역 세포인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 제2 면역 세포가 T 세포, B 세포, 대식세포 및 골수-유래된 서프레스 세포, 수지상 세포 또는 간엽 기질 세포 중 임의의 하나 이상인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 제2 면역 세포가 조절 T 세포인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 11

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 세포가 종양 세포인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 종양 세포가 혈액학적 암, 림프종, 골수종, 백혈병, 신경학적 암, 흑색종, 유방암, 전립선암, 결장직장암, 폐암, 두경부암, 위장암, 간암, 췌장암, 비뇨생식기암, 골암, 신장암 및 혈관암으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 아암 둘다가 적어도 1×10^{-7} M, 적어도 1×10^{-8} M, 적어도 $1 \times$

10^{-9} M, 또는 적어도 1×10^{-10} M의 K_D 를 갖는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 하나의 아암의 이의 표적으로의 결합이 다른 아암의 이의 표적으로의 결합을 차단하지 않는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 아암 및 상기 제2 아암이 이들의 각각의 표적에 결합하고, 아암 둘다가 동시에 결합된 상태로 있는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 아암 및 상기 제2 아암의 이들 각각의 표적으로의 결합이 상기 면역 세포와 상기 제2 세포를 함께 브릿징할 수 있는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 면역 세포와 상기 제2 세포의 브릿징이 유동 세포측정에 의해 결정되는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 아암이 PD-1의 길항제인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 제1 아암이 다음을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물:

(a) (i) 서열번호 70 (FTFX₁X₂YAX₃X₄, 여기서, X₁=S, R, G, 또는 N이고; X₂=D, S, N, A, R, 또는 G이고; X₃=M 또는 L이고; X₄=S, L, 또는 N이다)을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 71 (SAISNSGTYTYA)을 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 72 (ARGLDFIVGX₅TGNDY, 여기서 X₅=A, Y, 또는 R이다)를 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

(b) (i) 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10(QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 CDRH1이 서열번호 73 (FTFSDYAMS)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYA)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH3이 서열번호 74 (ARGLDFIVGATGNDY)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 21

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 CDRH1이 서열번호 73 (FTFSDYAMS)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYA)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH3이 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 22

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 CDRH1이 서열번호 76 (FTFSSYAMS)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYA)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH3이 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 23

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 CDRH1이 서열번호 77 (FTFSSYAML)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH2가 서

열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH3이 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 24

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 CDRH1이 서열번호 78 (FTFSNYALS)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH3이 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 25

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 CDRH1이 서열번호 79 (FTFSAYAMN)를 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH3이 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 26

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 CDRH1이 서열번호 80 (FTFRSYAMS)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH3이 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 27

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 CDRH1이 서열번호 81 (FTFGRYAMS)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH3이 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 28

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 CDRH1이 서열번호 82 (FTFN SYAMS)를 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH3이 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 29

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 CDRH1이 서열번호 83 (FTFSNYAMS)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH3이 서열번호 74 (ARGLDFIVGATGNDY)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 30

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 CDRH1이 서열번호 84 (FTFSGYAMS)를 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH3이 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 31

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 CDRH1이 서열번호 86 (FTFS SYAMN)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH3이 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 32

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 CDRH1이 서열번호 80 (FTFRSYAMS)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 상기 제1 아암의 CDRH3이 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 33

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 87과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하

는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 34

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 88과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 35

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 89와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 36

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 90과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 37

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 91과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 38

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 92와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 39

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 93과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 40

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 94와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 41

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 95와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 42

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 96과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 43

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 97과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 44

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 98과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 45

제19항에 있어서, 상기 제1 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 99와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 46

제19항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 아암의 경쇄 가변 영역이 서열번호 59와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 47

제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 아암이 상기 PD-1 리간드의 길항제인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 48

제1항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 아암이 PD-L2의 길항제인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 49

제1항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 아암이 PD-L1의 길항제인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 50

제49항에 있어서, 상기 제2 아암이 다음을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물:

- a. (i) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 2 (GGIIPX₁X₂GX₃ATYA, 여기서, X₁은 V 또는 I 이고; X₂는 F, L, 또는 V이고; X₃은 T 또는 A이다)를 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 3 (ARLKX₁ELKDAFDI, 여기서, X₁은 G, F, 또는 N이다)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- b. (i) 서열번호 4 (RASQX₁ISSYLN, 여기서, X₁은 S, W, 또는 Q이다)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 6 (X₁QSYSTPLT, 여기서, X₁은 Q 또는 F이다)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역.

청구항 51

제50항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 7 (GGIIPILGAATYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 7 (GGIIPILGAATYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL1이 서열번호 9 (RASQISSYLN)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 53

제50항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL1이 서열번호 9 (RASQISSYLN)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 54

제50항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 55

제54항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서

열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL1이 서열번호 12 (RASQWISSYLN)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 56

제54항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL1이 서열번호 13 (RASQWISSYLN)을 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 57

제50항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL1이 서열번호 9 (RASQWISSYLN)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 58

제50항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 15 (GGIIPVFGTATYA)를 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 59

제58항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 15 (GGIIPVFGTATYA)를 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL1이 서열번호 9 (RASQWISSYLN)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 60

제50항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 16 (GGIIPNFGTATYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 17 (ARLKGELKGAGDI)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 61

제60항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 16 (GGIIPNFGTATYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 17 (ARLKGELKGAGDI)을 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL1이 서열번호 9 (RASQWISSYLN)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 62

제50항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 18 (ARLKFELKDAFDI)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 63

제62항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 18 (ARLKFELKDAFDI)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRL1이 서열번호 9 (RASQWISSYLN)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL2가 서열번호 5

(AASSLQS)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 64

제50항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 19 (ARLKGELKDAFDE)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 65

제64항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 19 (ARLKGELKDAFDE)를 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRL1이 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 66

제50항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 20 (ARLKNELKDAFDI)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 67

제66항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 20 (ARLKNELKDAFDI)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRL1이 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 68

제50항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 21 (GGVIPFLGTANYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 22 (ARLKGILKDALDI)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 69

제68항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 21 (GGVIPFLGTANYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 22 (ARLKGILKDALDI)를 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRL1이 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 70

제50항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 29 (GRIIPIFGTADYA)를 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 71

제70항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 29 (GRIIPIFGTADYA)를 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRL1이 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 72

제50항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 31 (GGIIPILGTATYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 73

제72항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 31 (GGIIPILGTATYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRL1이 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 74

제50항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 33 (GGIIPIVATANYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 75

제74항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 33 (GGIIPIVATANYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRL1이 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 76

제50항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 34 (GGIIPIFGKATYA)를 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 77

제76항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 34 (GGIIPIFGKATYA)를 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRL1이 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 78

제50항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL1이 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL3이 서열번호 38 (FQSYSTPLT)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 79

제50항에 있어서, 상기 제2 아암의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH2가 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 상기 제2 아암의 CDRH3이 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL1이 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 상기 제2 아암의 CDRL3이 서열번호 39 (QQSYSTILT)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 80

제50항에 있어서, 상기 제2 아암이 다음을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물:

- a. (i) 서열번호 14 (GTFSSYAFS)를 포함하는 CDRH1, (ii) 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2 및 (iii) 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- b. (i) 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10(QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역.

청구항 81

제50항에 있어서, 상기 제2 아암이 (i) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, (ii) 서열번호 24 (GGIIPVGIANYA)를 포함하는 CDRH2, 및 (iii) 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 82

제81항에 있어서, 상기 제2 아암이 (i) 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1, (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2, 및 (iii) 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 83

제50항에 있어서, 상기 제2 아암이 (i) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, (ii) 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 (iii) 서열번호 25 (ARLKGELKDAFDI)를 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 84

제83항에 있어서, 상기 제2 아암이 (i) 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1, (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2, 및 (iii) 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 85

제50항에 있어서, 상기 제2 아암이 (i) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, (ii) 서열번호 26 (GRIIPVFGTAHYA)을 포함하는 CDRH2, 및 (iii) 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 86

제85항에 있어서, 상기 제2 아암이 (i) 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1, (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2, 및 (iii) 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 87

제50항에 있어서, 상기 제2 아암이 (i) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, (ii) 서열번호 27 (GRINPILGTANYA)를 포함하는 CDRH2, 및 (iii) 서열번호 28 (ARLKGELKDAFSI)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 88

제87항에 있어서, 상기 제2 아암이 (i) 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1, (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2, 및 (iii) 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 89

제50항에 있어서, 상기 제2 아암이 (i) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, (ii) 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 (iii) 서열번호 30 (ARLKGELKCAFDI)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄

가변 영역을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 90

제89항에 있어서, 상기 제2 아암이 (i) 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1, (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2, 및 (iii) 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 91

제50항에 있어서, 상기 제2 아암이 (i) 서열번호 36 (GPFRSHAVS)을 포함하는 CDRH1, (ii) 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 (iii) 서열번호 37 (ARLKSELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 92

제91항에 있어서, 상기 제2 아암이 (i) 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1, (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2, 및 (iii) 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 93

제50항에 있어서, 상기 제2 아암이 서열번호 35, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 또는 58 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 59, 60, 61, 62, 또는 63 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 94

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 35(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFDIWGQGLTMVTSS)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 95

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 40(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAFSWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFDIWGQGLTVTVSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 96

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 41(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPNFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFDIWGQGLTVTVSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 97

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 42(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPNFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKGAGDIWGQGLTVTVSS)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 98

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 43(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKFELKDAFDIWGQGLTVTVSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 99

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호

44(QVQLVQSGAEVKKPKGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPQGQLEWMGGIIPVFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARLKGELKDAFDIEWGQGLTVSS)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 100

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 45(QVQLVQSGAEVKKPKGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPQGQLEWMGGIIPVFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARLKGELKDAFDIEWGQGLTVTAST)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 101

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 46(QVQLVQSGAEVKKPKGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPQGQLEWMGGIIPVFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARLKNELKDAFDIEWGQGLTVTSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 102

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 47(QVQLVQSGAEVKKPKGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPQGQLEWMGGIIPFLGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARLKGILKDALDIWGQGLTVTSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 103

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 48(QVQLVQSGAEVKKPKGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPQGQLEWMGGIIPVIGIANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARLKGELKDAFDIEWGQGLTVTSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 104

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 49(QVQLVQSGAEVKKPKGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPQGQLEWMGGIIPVFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARLKGEFKDAFDIEWGQGLTVTSS)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 105

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 50(QVQLVQSGAEVKKPKGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPQGQLEWMGRIIPLFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARLKGELKDAFDIEWGQGLTVTSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 106

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 51(QVQLVQSGAEVKKPKGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPQGQLEWMGRINPILGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARLKGELKDAFSIWGQGLTVTSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 107

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 52(QVQLVQSGAEVKKPKGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPQGQLEWMGRIIPIFGTADYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARLKGELKDAFDIEWGQGLTVTSS)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 108

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 53(QVQLVQSGAEVKKPKGSSVKVSKASGGKFSSYAISWVRQAPQGQLEWMGGIIPVFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARLKGELKCAFDIEWGQGLTVTSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 109

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호

54(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPILGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRKGEIKDAFDIWGQGLTVSS)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 110

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 55(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPILGAATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFDIWGQGLTVSS)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 111

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 56(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPIVATANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRKGEIKDAFDIWGQGLTVSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 112

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 57(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRKGEIKDAFDIWGQGLTVSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 113

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 중쇄 가변 영역이 서열번호 58(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGPFRSHAVSWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKSELKDAFDIWGQGLTVSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 114

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 경쇄 가변 영역이 서열번호 59(DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCQSYSTPLTFGGTKVEIK)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 115

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 경쇄 가변 영역이 서열번호 60(DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCQSYSTPLTFGGTKVEIK)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 116

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 경쇄 가변 영역이 서열번호 61(DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCQSYSTPLTFGGTKVEIK)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 117

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 경쇄 가변 영역이 서열번호 62(DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCFQSYSTPLTFGGTKVEIK)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 118

제93항에 있어서, 상기 제2 아암의 경쇄 가변 영역이 서열번호 63(DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCQSYSTILTFGGTKVEIK)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 119

제1항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 이특이적 항체인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 120

제119항에 있어서, 상기 이특이적 항체가 PD-1 및 PD-1 리간드 둘다의 길항제인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 121

제1항 내지 제120항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 공통 경쇄를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 122

제1항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아암의 하나 또는 둘다가 압타머인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 123

제1항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아암의 하나 또는 둘다가 항체외의 다른 단백질인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 124

제1항 내지 제121항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 적어도 2개의 이특이적 항체를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 125

제124항에 있어서, 상기 적어도 2개의 이특이적 항체 중 하나가 PD-1에 대해 1가인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 126

제124항에 있어서, 상기 적어도 2개의 이특이적 항체 중 하나가 PD-1 리간드에 대해 1가인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 127

제1항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아암의 적어도 하나가 PD-1에 특이적인 2가 항체인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 128

제1항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아암의 적어도 하나가 PD-L1에 특이적인 2가 항체인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 129

제1항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아암의 적어도 하나가 PD-1에 특이적인 2가 항체이고, 상기 아암 중 적어도 하나가 PD-L1에 특이적인 2가 항체인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 130

제125항에 있어서, 상기 이특이적 항체가 PD-1상의 2개의 상이한 에피토프에 결합하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 131

제126항에 있어서, 상기 이특이적 항체가 PD-1 리간드상의 2개의 상이한 에피토프에 결합하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 132

제1항 내지 제131항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 Fc 도메인을 포함하지 않는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 133

제1항 내지 제131항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 아암 또는 상기 제2 아암, 또는 둘다가 하나 이상의 면역글로불린 Fc 변형을 포함하는 중쇄를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 134

제133항에 있어서, 상기 중쇄의 면역글로불린 Fc 도메인이 상기 제1 및 상기 제2 아암의 이중이량체화를 촉진시키는 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 135

제134항에 있어서, 상기 돌연변이가 상기 중쇄의 CH3 도메인에 존재하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 136

제1항 내지 제135항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물이 쿼드로마 (quadroma) 세포에서 생성되는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 137

제1항 내지 제136항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 하나 이상의 면역글로불린 불변 영역 변형을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 138

제1항 내지 제137항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역글로불린 불변 영역이 항체의 이중이량체화를 촉진시키는 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 139

제138항에 있어서, 하나 이상의 돌연변이가 하나의 아암의 상기 경쇄 불변 영역에 존재하고, 하나 이상의 돌연변이가 또 다른 아암의 상기 중쇄 불변 영역에 존재하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 140

제119항 또는 제124항 내지 제139항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이특이적 항체가 이특이적 IgG, 이특이적 항체 단편, 이특이적 융합 단백질, 첨부된(append) IgG, 및 이특이적 항체 접합체로 이루어진 그룹으로부터 선택된 포맷을 갖는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 141

제133항 내지 제140항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 Fc 영역이 감소된 이펙터 기능을 갖는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 142

제133항 내지 제141항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 Fc 영역이 상기 작제물의 반감기를 증진시키는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 143

제1항 내지 제142항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아암의 적어도 하나가 PD-1에 대해 2가인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 144

제1항 내지 제142항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아암의 적어도 하나가 PD-L1에 대해 2가인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 145

제1항 내지 제142항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아암의 적어도 하나가 PD-1에 대해 2가이고, 상기 아암 중 적어도 하나가 PD-L1에 대해 2가인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 146

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 서열번호 100 또는 102의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 중쇄 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 147

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 서열번호 101 또는 103의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 148

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 서열번호 100의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 중쇄 아미노산 서열을 포함하고, 상기 작제물이 서열번호 101의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 149

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 서열번호 102의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 중쇄 아미노산 서열을 포함하고, 상기 작제물이 서열번호 103의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 150

제1항 내지 제149항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물의 결합이 상기 면역 세포에 의한 PD-1 발현의 감소를 유발하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 151

제1항 내지 제150항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물의 결합이 상기 면역 세포로부터 PD-1의 발산을 유도함에 의해 PD-1 세포 발현을 감소시키는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 152

항원-결합의 적어도 2개 유닛을 포함하는 다중특이적 항원-결합 작제물로서, 항원-결합의 제1 유닛이 PD-1에 결합하고, 항원-결합의 제2 유닛이 PD-1 리간드에 결합하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 153

제152항에 있어서, 항원-결합의 상기 제1 유닛이 면역 세포에 의해 발현되는 PD-1에 결합하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 154

제152항 또는 제153항에 있어서, 항원-결합의 상기 제2 유닛이 제2 세포에 의해 발현되는 PD-1 리간드에 결합하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 155

제152항 내지 제154항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물이 PD-1 및 PD-1 리간드의 상호작용을 차단하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 156

제152항 내지 제155항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물이 PD-1에 결합하는 항원-결합의 적어도 2개의 유닛을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 157

제152항 내지 제156항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물이 PD-1 리간드에 결합하는 항원-결합의 적어도 2개의 유닛을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 158

제152항 내지 제157항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물이 PD-1에 결합하는 항원-결합의 2개의 유닛을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 159

제152항 내지 제158항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물이 PD-1 리간드에 결합하는 항원-결합의 2개의 유닛을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 160

제152항 내지 제159항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물이 항원-결합의 적어도 4개의 유닛을 포함하고, 항원-결합의 2개 유닛이 PD-1에 결합하고, 항원-결합의 2개의 유닛이 PD-1 리간드에 결합하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 161

제152항 내지 제160항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물이 항원-결합의 4개의 유닛을 포함하고, 항원-결합의 2개의 유닛이 PD-1에 결합하고, 항원-결합의 2개의 유닛이 PD-1 리간드에 결합하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 162

제152항 내지 제161항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물의 결합이 상기 면역 세포에 의한 PD-1 발현의 감소를 유발하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 163

제152항 내지 제162항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물의 결합이 상기 면역 세포로부터 PD-1의 발현을 유도함에 의해 PD-1 세포 발현을 감소시키는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 164

제152항 내지 제163항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-1 리간드가 PD-L2인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 165

제152항 내지 제163항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-1 리간드가 PD-L1인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 166

제153항에 있어서, 상기 면역 세포가 T 세포인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 167

제166항에 있어서, 상기 T 세포가 CD8⁺ T 세포인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 168

제153항에 있어서, 상기 면역 세포가 천연 킬러 (NK) 세포인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 169

제153항에 있어서, 상기 면역 세포가 대식세포인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 170

제154항에 있어서, 상기 제2 세포가 제2 면역 세포인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 171

제170항에 있어서, 상기 제2 면역 세포가 T 세포, B 세포, 대식세포 및 골수-유래된 서프레스 세포, 수지상 세포 또는 간엽 기질 세포 중 임의의 하나 이상인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 172

제170항에 있어서, 상기 제2 면역 세포가 조절 T 세포인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 173

제154항에 있어서, 상기 제2 세포가 종양 세포인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 174

제173항에 있어서, 상기 종양 세포가 혈액학적 암, 림프종, 골수종, 백혈병, 신경학적 암, 흑색종, 유방암, 전립선암, 결장직장암, 폐암, 두경부암, 위장암, 간암, 췌장암, 비뇨생식기암, 골암, 신장암 및 혈관암으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 175

제152항 내지 제174항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합의 상기 유닛 둘다가 적어도 1×10^{-7} M, 적어도 1×10^{-8} M, 적어도 1×10^{-9} M, 또는 적어도 1×10^{-10} M의 K_D 를 갖는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 176

제152항 내지 제175항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합의 하나의 유닛의 이의 표적으로의 결합이 항원-결합의 다른 유닛의 이의 표적으로의 결합을 차단하지 않는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 177

제152항 내지 제176항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합의 상기 제1 유닛 및 항원-결합의 상기 제2 유닛이 이들 각각의 표적에 결합하고, 항원-결합의 유닛 둘다가 동시에 결합된 상태로 있는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 178

제152항 내지 제177항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합의 상기 제1 유닛 및 항원-결합의 상기 제2 유닛의 이들 각각의 표적으로의 결합이 면역 세포와 제2 세포를 함께 브릿징할 수 있는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 179

제178항에 있어서, 상기 면역 세포와 상기 제2 세포의 브릿징이 유동 세포측정에 의해 결정되는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 180

제152항 내지 제179항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합의 상기 제1 유닛이 PD-1의 길항제인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 181

제180항에 있어서, 항원-결합의 상기 제1 유닛이 다음을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물:

- (a) (i) 서열번호 70 (FTFX₁X₂YAX₃X₄, 여기서, X₁=S, R, G, 또는 N이고; X₂=D, S, N, A, R, 또는 G이고; X₃= M 또는 L이고; X₄= S, L, 또는 N이다)을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 72 (ARGLDFIVGX₅TGNDY, 여기서 X₅=A, Y, 또는 R이다)를 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- (b) (i) 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10(QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역.

청구항 182

제181항에 있어서,

- (a) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH1이 서열번호 73 (FTFSDYAMS)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH3이 서열번호 74 (ARGLDFIVGATGNDY)를 포함하거나;
- (b) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH1이 서열번호 73 (FTFSDYAMS)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH3이 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하거나;
- (c) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH1이 서열번호 76 (FTFSSYAMS)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH3이 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하거나;
- (d) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH1이 서열번호 77 (FTFSSYAML)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH3이 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하거나;
- (e) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH1이 서열번호 78 (FTFSNYALS)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH3이 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하거나;
- (f) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH1이 서열번호 79 (FTFSAYAMN)를 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH3이 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하거나;
- (g) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH1이 서열번호 80 (FTFRSYAMS)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH3이 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하거나;
- (h) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH1이 서열번호 81 (FTFGRYAMS)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH3이 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하거나;
- (i) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH1이 서열번호 82 (FTFNSYAMS)를 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH3이 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하거나;
- (j) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH1이 서열번호 83 (FTFNSYAMS)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH3이 서열번호 74 (ARGLDFIVGATGNDY)를 포함하거나;
- (k) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH1이 서열번호 84 (FTFSGYAMS)를 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH3이 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함하거나;
- (l) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH1이 서열번호 86 (FTFSSYAMN)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의

CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH3이 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함하거나;

(m) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH1이 서열번호 80 (FTFRSYAMS)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH2가 서열번호 71 (SAISNSGTYTYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 CDRH3이 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 183

제181항에 있어서,

- (a) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 87과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (b) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 88과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (c) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 89와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (d) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 90과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (e) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 91과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (f) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 92와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (g) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 93과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (h) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 94와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (i) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 95와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (j) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 96과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (k) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 97과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (l) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 98과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (m) 항원-결합의 상기 제1 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 99와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적-결합 작제물.

청구항 184

제181항 내지 제183항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합의 상기 제1 유닛의 경쇄 가변 영역이 서열번호 59와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 185

제152항 내지 제184항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합의 상기 제2 유닛이 PD-1 리간드의 길항제인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 186

제152항 내지 제185항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합의 상기 제2 유닛이 PD-L2의 길항제인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 187

제152항 내지 제185항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합의 상기 제2 유닛이 PD-L1의 길항제인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 188

제187항에 있어서, 항원-결합의 상기 제2 유닛이 다음을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물:

- a. (i) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 2 (GGIIPX₁X₂GX₃ATYA, 여기서, X₁은 V 또는 I 이고; X₂는 F, L, 또는 V이고; X₃은 T 또는 A이다)를 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 3 (ARLKX₁ELKDAFDI, 여기서, X₁은 G, F, 또는 N이다)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- b. (i) 서열번호 4 (RASQX₁ISSYLN, 여기서, X₁은 S, W, 또는 Q이다)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 6 (X₁QSYSTPLT, 여기서, X₁은 Q 또는 F이다)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역.

청구항 189

제188항에 있어서,

- (a) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH2가 서열번호 7 (GGIIPILGAATYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH3이 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하거나;
- (b) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH2가 서열번호 7 (GGIIPILGAATYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH3이 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRL1이 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하거나;
- (c) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH2가 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH3이 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRL1이 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하거나;
- (d) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH2가 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH3이 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하거나;
- (e) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH2가 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH3이 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRL1이 서열번호 12 (RASQWISSYLN)를 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하거나;
- (f) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH2가 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH3이 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRL1이 서열번호 13 (RASQWISSYLN)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하거나;
- (g) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH1이 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의

서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하거나;

(oo) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH1이 서열번호 36 (GPFRSHAVS)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH2가 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH3이 서열번호 37 (ARLKSELKDAFDI)을 포함하거나;

(pp) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH1이 서열번호 36 (GPFRSHAVS)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH2가 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRH3이 서열번호 37 (ARLKSELKDAFDI)을 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRL1이 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRL2가 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고, 항원-결합의 상기 제2 유닛의 CDRL3이 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 190

제188항에 있어서, 항원 결합의 상기 제2 유닛이 서열번호 35, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 또는 58 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 59, 60, 61, 62, 또는 63 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 191

제188항에 있어서,

- (a) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 35와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (b) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 40과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (c) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 41과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (d) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 42와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (e) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 43과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (f) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 44와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (g) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 45와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (h) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 46과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (i) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 47과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (j) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 48과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (k) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 49와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (l) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 50과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (m) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 51과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

- (n) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 52와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (o) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 53과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (p) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 54와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (q) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 55와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (r) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 56과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (s) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 57과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (t) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 중쇄 가변 영역이 서열번호 58과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 192

제188항에 있어서,

- (a) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 경쇄 가변 영역이 서열번호 59와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (b) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 경쇄 가변 영역이 서열번호 60과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (c) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 경쇄 가변 영역이 서열번호 61과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (d) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 경쇄 가변 영역이 서열번호 62와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (e) 항원-결합의 상기 제2 유닛의 경쇄 가변 영역이 서열번호 63과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 193

제152항 내지 제192항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 이특이적 항체인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 194

제193항에 있어서, 상기 이특이적 항체가 PD-1 및 PD-1 리간드 둘다의 길항제인, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 195

제152항 내지 제194항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 공통 경쇄를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 196

제152항 내지 제195항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 적어도 2개의 2가 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 197

제152항 내지 제196항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 PD-1에 특이적인 2가 항체를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 198

제152항 내지 제196항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 PD-L1에 특이적인 2가 항체를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 199

제152항 내지 제196항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 PD-1에 특이적인 2가 항체 및 PD-L1에 특이적인 2가 항체를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 200

제193항에 있어서, 상기 이특이적 항체가 PD-1상의 2개의 상이한 에피토프에 결합하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 201

제103항에 있어서, 상기 이특이적 항체가 PD-1 리간드상의 2개의 상이한 에피토프에 결합하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 202

제152항 내지 제201항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합의 상기 제1 유닛 또는 항원-결합의 상기 제2 유닛 또는 둘다가 하나 이상의 면역글로불린 Fc 변형을 포함하는 중쇄를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 203

제202항에 있어서, 상기 중쇄의 면역글로불린 Fc 도메인이 항원-결합의 상기 제1 유닛 및 상기 제2 유닛의 이중이량체화를 촉진시키는 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 204

제203항에 있어서, 상기 돌연변이가 상기 중쇄의 CH3 도메인에 존재하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 205

제152항 내지 제204항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물이 쿠아드로마 세포에서 생성되는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 206

제152항 내지 제205항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 하나 이상의 면역글로불린 불변 영역 변형을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 207

제206항에 있어서, 상기 면역글로불린 불변 영역이 항체의 이중이량체화를 촉진시키는 하나 이상의 아미노산 돌연변이 또는 치환을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 208

제207항에 있어서, 상기 하나 이상의 돌연변이가 항원-결합의 하나의 유닛의 상기 경쇄 불변 영역에 존재하고, 상기 하나 이상의 돌연변이가 항원-결합의 또 다른 유닛의 상기 중쇄 불변 영역에 존재하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 209

제193항 내지 제208항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이특이적 항체가 이특이적 IgG, 이특이적 항체 단편, 이특이적 융합 단백질, 첨부된 IgG, 및 이특이적 항체 접합체로 이루어진 그룹으로부터 선택된 포맷을 갖는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 210

제152항 내지 제209항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 감소된 이펙터 기능을 갖는 Fc 영역을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 211

제152항 내지 제210항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 상기 작제물의 반감기를 증진시키는 Fc 영역을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 212

제152항 내지 제211항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 서열번호 100 또는 102의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 중쇄 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 213

제152항 내지 제212항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 서열번호 101 또는 103의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 214

제152항 내지 제213항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 서열번호 100의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 중쇄 아미노산 서열을 포함하고, 상기 작제물이 서열번호 101의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 215

제152항 내지 제213항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 서열번호 102의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 중쇄 아미노산 서열을 포함하고, 상기 작제물이 서열번호 103의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 216

제152항 내지 제201항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작제물이 Fc 도메인을 포함하지 않는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 217

항원-결합의 4개의 유닛을 포함하는 다중특이적 항원-결합 작제물로서, 상기 항원-결합의 제1 및 제2 유닛이 PD-1에 결합하고, 상기 항원-결합의 제3 및 제4 유닛이 PD-L1에 결합하고, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물이 서열번호 100의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 101의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 작제물.

청구항 218

제1항 내지 제217항 중 어느 한 항에 따른 다중특이적 항원-결합 작제물을 암호화하는 핵산.

청구항 219

제218항의 핵산을 포함하는 발현 벡터.

청구항 220

제219항에 있어서, 하나 이상의 발현 제어 서열을 추가로 포함하는, 발현 벡터.

청구항 221

제219항 또는 제220항의 발현 벡터를 포함하는 세포.

청구항 222

제221항에 있어서, 상기 세포가 포유 동물 세포인, 세포.

청구항 223

제222항에 있어서, 상기 포유동물 세포가 설치류 세포인, 세포.

청구항 224

제223항에 있어서, 상기 설치류 세포가 CHO 세포인, 세포.

청구항 225

다중특이적 항원-결합 작제물을 제조하기 위한 방법으로서, 상기 방법이 세포에 의해 발현 백터로부터 다중특이적 항원-결합 작제물의 발현을 위해 적합한 조건하에서 제221항 내지 제224항 중 어느 한 항의 세포를 배양함을 포함하는, 방법.

청구항 226

제225항에 있어서, 상기 세포 또는 상기 세포가 배양되는 배지로부터 상기 작제물을 분리함을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 227

제1항 내지 제217항 중 어느 한 항의 다중특이적 항원-결합 작제물 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 228

다음을 포함하는 단백질-접합체 분자:

- (a) 제1항 내지 제217항 중 어느 한 항의 다중특이적 항원-결합 작제물 및
- (b) (a)의 다중특이적 항원-결합 작제물에 접합된 이중성 모이어티.

청구항 229

제228항에 있어서, 상기 이중성 모이어티가 치료학적 제제, 독소, 약물 또는 방사성 모이어티인, 단백질-접합체 분자.

청구항 230

제1항 내지 제217항 중 어느 한 항에 따른 치료학적 유효량의 다중특이적 항원-결합 작제물 또는 제227항의 약제학적 조성물 또는 제228항 또는 제299항의 단백질-접합체 분자를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하여 상기 대상체에서 증식성 장애를 치료함을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 증식성 장애를 치료하기 위한 방법.

청구항 231

제1항 내지 제217항 중 어느 한 항의 치료학적 유효량의 다중특이적 항원-결합 작제물 또는 제227항의 약제학적 조성물 또는 제228항 또는 제299항의 단백질-접합체 분자를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하여 상기 대상체에서 암을 치료하거나 암의 진행을 지연시키거나 종양 성장을 감소시키거나 억제함을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하거나 암의 진행을 지연시키거나 종양 성장을 감소시키거나 억제하기 위한 방법.

청구항 232

제230항에 있어서, 상기 증식성 장애가 암인, 방법.

청구항 233

제231항 또는 제232항에 있어서, 상기 암이 혈액학적 암, 신경학적 암, 흑색종, 유방암, 폐암, 두경부암, 위장암, 간암, 췌장암, 비뇨생식기암, 골암, 및 혈관암으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

청구항 234

제231항 내지 제233항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 PD-L1을 발현하는 암을 갖는, 방법.

청구항 235

제1항 내지 제217항 중 어느 한 항에 따른 치료학적 유효량의 다중특이적 항원-결합 작제물 또는 제227항의 약제학적 조성물 또는 제228항 또는 제299항의 단백질-접합체 분자를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하여 상기 대상체에서 면역 반응을 증진시킴을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 면역 반응을 증진시키는 방법.

청구항 236

제235항에 있어서, 상기 증진된 면역 반응이 증진된 T 세포 기능, 증진된 NK 세포 기능 또는 증진된 대식세포 기능 중 임의의 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 237

제236항에 있어서, 상기 T 세포 기능의 증진이 PD-1 또는 PD-1 리간드에 결합하는 제제, 또는 PD-1에 결합하는 제제 및 PD-1 리간드에 결합하는 제제를 포함하는 콕테일과 비교하여, 다중특이적 항원-결합 작제물의 투여 시 보다 큰, 방법.

청구항 238

제237항에 있어서, 상기 T 세포 기능이 T 세포로부터 증가된 IFN γ 생성, 증진된 T 세포 생존률, 증가된 T 세포 증식, 또는 소모된 T 세포 표현형으로부터의 구제 중 임의의 하나 이상인, 방법.

청구항 239

제238항에 있어서, 상기 증진된 T 세포 기능이 PD-1 또는 PD-1 리간드에 결합하는 제제, 또는 PD-1에 결합하는 제제 및 PD-1 리간드에 결합하는 제제를 포함하는 콕테일과 비교하여, 다중특이적 항원-결합 작제물의 투여 시 보다 큰, 방법.

청구항 240

제1항 내지 제217항 중 어느 한 항의 유효량의 다중특이적 항원-결합 작제물 또는 제227항의 약제학적 조성물 또는 제228항 또는 제299항의 단백질-접합체 분자를 대상체에게 투여하여 상기 대상체에서 암 세포에 대한 면역 반응을 증진시킴을 포함하는, 대상체에서 암 세포에 대한 면역 반응을 증진시키는 방법.

청구항 241

제240항에 있어서, 상기 증진된 면역 반응이 증진된 T 세포 기능, 증진된 NK 세포 기능 또는 증진된 대식세포 기능 중 임의의 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 242

제240항 또는 제241항에 있어서, 상기 암 세포가 혈액학적 암 세포, 림프종 세포, 골수종 세포, 백혈병 세포, 신경학적 암 세포, 유방암 세포, 전립선암 세포, 피부암 세포, 폐암 세포, 방광암 세포, 신장암 세포, 두경부암 세포, 위장암 세포, 결장직장암 세포, 간암 세포, 췌장암 세포, 비뇨생식기암 세포, 골암 세포, 또는 혈관암 세포인, 방법.

청구항 243

제240항 내지 제242항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암 세포가 PD-L1을 발현하는, 방법.

청구항 244

제240항 내지 제243항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물 또는 약제학적 조성물 또는 단백질-접합체 분자가 피하, 정맥내, 피내, 복막내, 경구로, 근육내로 또는 두개내로 투여되는, 방법.

청구항 245

제230항 내지 제244항 중 어느 한 항에 있어서, 항암 치료요법을 상기 대상체에게 투여함을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 246

제245항에 있어서, 상기 항암 치료요법이 화학치료요법, 면역치료요법, 호르몬 치료요법, 세포 치료요법, 사이토킨 치료요법, 방사선치료요법, 냉동치료요법 또는 수술 치료요법인, 방법.

청구항 247

제245항 또는 제246항에 있어서, 상기 항-암 치료요법이 상기 다중특이적 항원-결합 작제물 또는 약제학적 조성물을 사용한 치료 전, 치료와 동시에 또는 치료 후 투여되는, 방법.

청구항 248

제245항 내지 제247항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항암 치료요법이 면역치료요법이고, 상기 대상체에서 상기 암이 다중특이적 항원-결합 작제물 또는 약제학적 조성물 또는 단백질 접합체를 사용한 치료의 부재하에 면역치료요법에 난치성인, 방법.

청구항 249

대상체에서 증식성 장애를 치료하는데 사용하기 위한 제1항 내지 제217항 및 제227항 내지 제229항 중 어느 한 항의 다중특이적 항원-결합 작제물, 약제학적 조성물 또는 단백질-접합체 분자.

청구항 250

대상체에서 암을 치료하는데 사용하기 위한 제1항 내지 제217항 및 제227항 내지 제229항 중 어느 한 항의 다중특이적 항원-결합 작제물, 약제학적 조성물 또는 단백질-접합체 분자.

청구항 251

암을 치료하거나 암의 진행을 지연시키거나 종양 성장을 감소시키거나 억제할 필요가 있는 대상체에서 암을 치료하거나 암의 진행을 지연시키거나 종양 성장을 감소시키거나 억제하는데 사용하기 위한 제1항 내지 제217항 및 제227항 내지 제229항 중 어느 한 항의 다중특이적 항원-결합 작제물, 약제학적 조성물 또는 단백질-접합체 분자.

청구항 252

대상체에서 면역 반응을 증진시키는데 사용하기 위한 제1항 내지 제217항 및 제227항 내지 제229항 중 어느 한 항의 다중특이적 항원-결합 작제물, 약제학적 조성물 또는 단백질-접합체 분자.

청구항 253

대상체에서 암 세포에 대한 면역 반응을 증진시키는데 사용하기 위한 제1항 내지 제217항 및 제227항 내지 제229항 중 어느 한 항의 다중특이적 항원-결합 작제물, 약제학적 조성물 또는 단백질-접합체 분자.

청구항 254

제249항에 있어서, 상기 증식성 장애가 암인, 용도.

청구항 255

제250항, 제251항, 제253항 및 제254항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 혈액학적 암, 신경학적 암, 흑색종, 유방암, 폐암, 두경부암, 위장암, 간암, 췌장암, 비뇨생식기암, 골암, 및 혈관암으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 용도.

청구항 256

제249항 내지 제255항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 PD-L1을 발현하는 암을 갖는, 용도.

청구항 257

제252항 또는 제253항에 있어서, 상기 증진된 면역 반응이 임의의 하나 이상의 증진된 T 세포 기능, 증진된 NK 세포 기능 또는 증진된 대식세포 기능을 포함하는, 용도.

청구항 258

제257항에 있어서, 상기 T 세포 기능의 증진이 PD-1 또는 PD-1 리간드에 결합하는 제제, 또는 PD-1에 결합하는 제제 및 PD-1 리간드에 결합하는 제제를 포함하는 카테일과 비교하여, 다중특이적 항원-결합 작제물의 투여 시 보다 큰, 용도.

청구항 259

제257항에 있어서, 상기 증진된 T 세포 기능이 T 세포로부터 증가된 IFN γ 생성, 증진된 T 세포 생존률, 증가된 T 세포 증식, 또는 소모된 T 세포 표현형으로부터의 구제 중 임의의 하나 이상인, 용도.

청구항 260

제249항 내지 제259항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물 또는 약제학적 조성물 또는 단백질-접합체 분자가 피하, 정맥내, 피내, 복막내, 경구로, 근육내로 또는 두개내로 투여되는, 용도.

청구항 261

제249항 내지 제260항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 용도가 상기 대상체에 대한 항암 치료요법을 추가로 포함하는, 용도.

청구항 262

제261항에 있어서, 상기 항암 치료요법이 화학치료요법, 면역치료요법, 호르몬 치료요법, 세포 치료요법, 사이토킨 치료요법, 방사선치료요법, 냉동치료요법 또는 수술 치료요법인, 용도.

청구항 263

제261항 또는 제262항에 있어서, 상기 항암 치료요법이 상기 다중특이적 항원-결합 작제물 또는 약제학적 조성물 또는 단백질-접합체 분자를 사용한 치료 전, 치료와 동시에 또는 치료 후 투여되는, 용도.

청구항 264

제261항 내지 제263항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항암 치료요법이 면역치료요법이고, 상기 대상체에서 상기 암이 다중특이적 항원-결합 작제물 또는 약제학적 조성물 또는 단백질 접합체 분자를 사용한 치료의 부재하에 면역치료요법에 난치성인, 용도.

청구항 265

항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 상기 항-PD-1 항체 또는 항원-결합 단편이 다음을 포함하는, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편:

(a) (i) 서열번호 70 (FTFX₁X₂YAX₃X₄, 여기서, X₁=S, R, G, 또는 N이고; X₂=D, S, N, A, R, 또는 G이고; X₃=M 또는 L이고; X₄=S, L, 또는 N이다)을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 71 (SAISNSGTYTYA)을 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 72 (ARGLDIFVGX₅TGNDY, 여기서 X₅=A, Y, 또는 R이다)를 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

(b) (i) 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10(QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역.

청구항 266

제265항에 있어서, 상기 항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음을 포함하는, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편:

(a) (i) 서열번호 73, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 또는 86 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 74, 75, 또는 85 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

(b) (i) 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10(QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역.

청구항 267

제265항 또는 제266항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역이 서열번호 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99 중 어느 하나의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 268

제265항 내지 제267항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 경쇄 가변 영역이 서열번호 59의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 269

항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 상기 항-PD-L1 항체 또는 항원-결합 단편이 다음을 포함하는, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편:

a. (i) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 2 (GGIIPX₁X₂GX₃ATYA, 여기서, X₁은 V 또는 I 이고; X₂는 F, L, 또는 V이고; X₃은 T 또는 A이다)를 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 3 (ARLKX₁ELKDAFDI, 여기서, X₁은 G, F, 또는 N이다)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

b. (i) 서열번호 4 (RASQX₁ISSYLN, 여기서, X₁은 S, W, 또는 Q이다)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 6 (X₁QSYSTPLT, 여기서, X₁은 Q 또는 F이다)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역.

청구항 270

제269항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음을 포함하는 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편:

(a) (i) 서열번호 1, 14, 23, 또는 36 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 11, 15, 16, 21, 24, 26, 27, 29, 31, 33, 또는 34 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 8, 17, 18, 19, 20, 22, 25, 28, 30, 32, 또는 37 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및

(b) (i) 서열번호 9, 12, 또는 13 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10, 38, 또는 39 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역.

청구항 271

제269항 또는 제270항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역이 서열번호 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 또는 59 중 어느 하나의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 272

제269항 내지 제271항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 경쇄 가변 영역이 서열번호 59, 60, 61, 62, 또는 63 중 어느 하나의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 273

제230항 내지 제248항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물이 상기 대상체내 동일한 세포 표면 상에 발현된 PD-1 및 PD-L1에 결합하는, 방법.

청구항 274

제230항 내지 제248항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물이 상기 대상체내 제1 세포의 표면에 발현된 PD-1에 결합하고, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물이 상기 대상체내 제2 세포의 표면에 발현된 PD-L1에 결합하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2018년 11월 13일자로 출원된 미국 가출원 제62/760,801호; 2019년 5월 31일자로 출원된 미국 가출원 제62/855,580호; 2019년 9월 11일자로 출원된 미국 출원 제62/898,991호; 및 2019년 11월 6일자로 출원된 미국 출원 제62/931,478호의 우선권의 이득을 주장한다. 이전의 출원은 이들의 전문이 본원에 참조로 인용된다.

배경 기술

[0003] 암은 미국 및 전세계 둘다에서 사망의 주요 원인 중 하나이다. 수술, 방사선조사, 화학치료요법, 호르몬 치료요법, 표적화된 치료요법 및 면역치료요법과 같은 통상적인 치료는 20세기 동안에 암 관련 사망률을 감소시키지만, 2012년 부터 전세계적으로 1410만명의 새로운 암 사례가 진단되었고 821만명이 암으로 사망하였다. 20세기 동안에 개선된 전체 암 생존률에도 불구하고, 암은 여전히 전세계 7대 사망 중 하나에 관여한다. 문헌(American Cancer Society, Global Cancer Facts & Figures 3rd Edition, Atlanta: American Cancer Society; 2015)을 참조한다.

[0004] 최근해에, 증가하는 입증 자료는 면역계가 종양 형성 및 진행에 대해 중요한 장벽으로 작동함을 시사한다. 항-종양 잠재력 또는 활성을 갖는 천연적으로 존재하는 T 세포가 암을 갖는 환자에 존재한다는 원칙은 암학에 있어서 면역치료학적 접근법의 개발을 합리화하였다. T 세포, 대식세포 및 천연 킬러 세포와 같은 면역 세포는 항종양 활성을 나타낼 수 있고 악성 종양의 발생 및 성장을 효과적으로 제어할 수 있다. 종양-특이적 또는 -관련 항원은 면역 세포를 유도하여 악성 종양을 인지하고 제거할 수 있다(문헌참조: Chen & Mellman, (2013) *Immunity* 39(1):1-10). 종양-특이적 면역 반응의 존재에도 불구하고, 악성 종양은 흔히 다양한 면역조절 기전을 통한 면역 공격을 모면하거나 회피하여 종양 발생 및 진행을 제어하지 못하게 한다(문헌참조: Motz & Coukos, (2013) *Immunity* 39(1):61-730). 실제로, 암의 새로운 특징은 이러한 면역 조절 기전의 착취와 항-종양 면역 반응의 무력화로 인해 종양 회피와 면역 학적 사멸을 모면하는 것이다(문헌참조: Hanahan and Weinberg (2011) *Cell* 144(5):646-674).

[0005] 암의 면역치료요법에서 신규 접근법은 이들 면역 회피 및 모면 기전에 대응하고 종양을 거부하도록 내인성 면역계를 유도함을 포함한다. 그러나, 특히 암 치료제에서 면역 회피에 효과적으로 대응하는 신규 치료제가 여전히 요구되고 있다.

발명의 내용

[0006] 발명의 개요

[0007] 본원의 개시내용은 부분적으로 이특이적 및 삼특이적 작제물과 같은, PD-1 및 PD-L1 둘다를 표적화하는 신규 다중특이적 및 다가 작제물을 기초로 한다. 본원에 입증된 바와 같이, 이들 다중특이적 작제물은 임상적 관문 차단제와 비교해서 뿐만 아니라 개별 항체의 조합과 비교하여 시험관내 및 생체내 효능을 개선시켰다. 또한 본원에서는 신규 모노클로날 항-PD-1 항체 및 이의 항원-결합 단편 및 상기 다중특이적 및 다가 작제물에 사용하기 위한 신규 모노클로날 항-PD-L1 항체 및 이의 항원-결합 단편이 제공된다. 이들 신규 모노클로날 항-PD-1 항체 및 신규 모노클로날 항-PD-L1 항체의 일부는 통상의 경계를 공유함으로써, 이들의 모계 항체와 유사한 친화성

뿐만 아니라 놀라운 우수한 약물 유사 성질 (DLP) 및 제조의 용이성을 갖는 다중특이적 및 다가 작제물의 생성을 가능하게 한다. 본원의 개시내용은 또한 부분적으로 면역 세포에 의해 발현되는 PD-1과 제2 세포 상에 발현되는 이의 리간드(예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2)간의 상호작용의 차단이 상기 면역 세포와 제2 세포 (예를 들어, PD-1 리간드를 발현하는 또 다른 면역 세포 또는 종양 세포)를 브릿징하면서 예를 들어, T 세포 증식, IFN γ 생성 및 분비 및 T세포의 세포용해 활성을 강하게 증진시킨다는 발견을 토대로 한다. 따라서, 본원에서는 PD-1 및 이의 리간드(PD-L1 또는 PD-L2)가 이의 위에 발현되는 세포의 상호작용 (브릿징)을 촉진시키면서 PD-1과 이의 리간드 간의 상호작용을 차단시키는 조성물이 제공된다. 본원에 예시된 바와 같이, “차단하고 브릿징하는” 능력을 갖는 본원 개시내용의 조성물은 예를 들어, 수용체 및 리간드로 별도로 결합하는 화학양론적 양의 제제; 또는 수용체 또는 리간드 중 어느 하나에 결합하는 단일 제제를 갖는 각테일과 비교하여 보다 우수한 항-종양 효능 (IFN γ 생성 및 분비 및 생체내 활성에 의해 측정된 바와 같이)을 제공한다. 본원에 기재된 PD-1 및 PD-L1 둘다를 표적화하는 다중특이적 및 다가의 작제물은 결합가 의존적 양상으로 세포 표면 상에 PD-1의 발현 상실을 유발하는 것으로 또한 밝혀졌다. 상기 PD-1 발현 상실은 모계 항체의 조합이 화학양론적 등가량으로 사용되는 경우 관찰되지 않았다. 따라서, 본원에 기재된 PD-1 및 PD-L1 둘다를 표적화하는 다중특이적 및 다가 작제물은 암 치료에 사용하기 위해 증가된 능력 및 효능을 갖는 신규 면역치료학적 제제를 제공한다.

[0008] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 임의의 다중특이적 항원-결합 작제물은 적어도 2개의 상이한 수용체 또는 에피토프 (예를 들어, PD-1 및 PD-L1)에 결합하고, 여기서, 다중특이적 항원-결합 작제물에 의해 결합된 상기 2개의 상이한 수용체 또는 에피토프는 동일한 세포의 표면 상에 발현된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 동시에 PD-1 및 PD-L1에 결합하고, 여기서, 상기 PD-1 및 PD-L1은 동일한 세포 표면 상에 발현된다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 임의의 다중특이적 항원-결합 작제물은 적어도 2개의 상이한 수용체 또는 에피토프 (예를 들어, PD-1 및 PD-L1)에 결합하고, 여기서, 다중특이적 항원-결합 작제물에 의해 결합된 상기 2개의 상이한 수용체 또는 에피토프는 2개의 상이한 세포의 표면 상에 발현된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 제1 세포의 표면 상에 발현된 PD-1 및 PD-1 리간드, 예를 들어, 제2 세포의 표면상에 발현된 PD-L1 또는 PD-L2에 동시에 결합한다.

[0009] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 적어도 2개의 항원-결합 아암을 포함하는 다중특이적 항원-결합 작제물을 제공하고, 여기서, 제1 아암은 면역 세포에 의해 발현되는 PD-1에 결합하고, 제2 아암은 제2 세포에 의해 발현되는 PD-1 리간드에 결합하고, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1과 PD-1 리간드의 상호작용을 차단한다. 일부 구현예에서, PD-1 리간드는 PD-L2이다. 일부 구현예에서, PD-1 리간드는 PD-L1이다. 일부 구현예에서, 면역 세포는 T 세포이다. 일부 구현예에서, T 세포는 CD8+ T 세포이다. 일부 구현예에서, 면역 세포는 천연 킬러 (NK) 세포이다. 일부 구현예에서, 면역 세포는 대식세포이다. 일부 구현예에서, 제2 세포는 제2 면역 세포이다. 일부 구현예에서, 제2 면역 세포는 T 세포, B 세포, 대식세포 및 골수-유래된 서프레스 세포, 수지상 세포 또는 간엽 기질 세포 중 임의의 하나 이상이다. 일부 구현예에서, 제2 면역 세포는 조절 T 세포이다. 일부 구현예에서, 제2 세포는 종양 세포이다. 일부 구현예에서, 종양 세포는 혈액학적 암, 림프종, 골수종, 백혈병, 신경학적 암, 흑색종, 유방암, 전립선암, 결장직장암, 폐암, 두경부암, 위장암, 간암, 췌장암, 비뇨생식기암, 골암, 신장암 및 혈관암으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 아암 둘다는 적어도 1×10^{-7} M, 적어도 1×10^{-8} M, 적어도 1×10^{-9} M, 또는 적어도 1×10^{-10} M의 K_D 를 갖는다. 일부 구현예에서, 이의 표적으로의 하나의 아암의 결합은 다른 아암의 이의 표적으로의 결합을 차단하지 않는다. 일부 구현예에서, 제1 아암 및 제2 아암은 이들 각각의 표적에 결합하고 아암 둘다는 동시에 결합된 상태로 있다. 일부 구현예에서, 제1 아암 및 제2 아암의 이들의 각각의 표적으로의 결합은 면역 세포와 제2 세포를 함께 브릿징할 수 있다. 일부 구현예에서, 면역 세포와 제2 세포의 브릿징은 유동 세포측정에 의해 결정된다. 일부 구현예에서, 제1 아암은 PD-1의 길항제이다.

[0010] 다중특이적 항원-결합 작제물의 일부 구현예에서, 제1 아암은 PD-1에 결합하고 다음을 포함한다: (a) (i) 서열번호 70 (FTFX₁X₂YAX₃X₄, 여기서, X₁=S, R, G, 또는 N이고; X₂=D, S, N, A, R, 또는 G이고; X₃= M 또는 L이고; X₄= S, L, 또는 N이다)을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 71 (SAISNSGTYTYA)을 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 72 (ARGLDFIVGX₅TGNDY, 여기서 X₅=A, Y, 또는 R이다)를 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (b) (i) 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10(QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역.

[0011] 일부 구현예에서, 제1 아암의 CDRH1은 서열번호 73 (FTFSDYAMS)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYA)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH3은 서열번호 74 (ARGLDFIVGATGNDY)를 포함한다. 일부 구현예에

서, 제1 아암의 CDRH1은 서열번호 73 (FTFSDYAMS)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 CDRH1은 서열번호 76 (FTFSSYAMS)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 CDRH1은 서열번호 77 (FTFSSYAML)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 CDRH1은 서열번호 78 (FTFSNYALS)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 CDRH1은 서열번호 79 (FTFSAYAMN)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 CDRH1은 서열번호 80 (FTFRSYAMS)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 CDRH1은 서열번호 81 (FTFGRYAMS)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 CDRH1은 서열번호 82 (FTFNSYAMS)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 CDRH1은 서열번호 83 (FTFSNYAMS)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH3은 서열번호 74 (ARGLDFIVGATGNDY)를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 CDRH1은 서열번호 84 (FTFSGYAMS)를 포함하고, 제1 아암의 CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH3은 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 CDRH1은 서열번호 86 (FTFSSYAMN)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH3은 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 CDRH1은 서열번호 80 (FTFRSYAMS)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, 제1 아암의 CDRH3은 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함한다.

[0012] 일부 구현예에서, 제1 아암의 CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고, 제1 아암의 CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고, 제1 아암의 CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다.

[0013] 일부 구현예에서, 제1 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 87과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 88과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 89와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 90과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 91과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 92와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 93과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 94와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 95와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 96과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 97과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 98과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 99와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암의 경쇄 가변 영역은 서열번호 59와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0014] 일부 구현예에서, 제2 아암은 PD-1 리간드의 길항제이다. 일부 구현예에서, 제2 아암은 PD-L2의 길항제이다. 일부 구현예에서, 제2 아암은 PD-L1의 길항제이다. 일부 구현예에서, 제2 아암은 PD-L1에 결합하고 다음을 포함한다: a. (i) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 2 (GGIIPX₁X₂GX₃ATYA, 여기서, X₁은 V 또는 I이고; X₂는 F, L, 또는 V이고; X₃은 T 또는 A이다)을 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 3 (ARLKX₁ELKDAFDI, 여기서, X₁은 G, F, 또는 N이다)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 b. (i) 서열번호 4 (RASQX₁ISSYLN, 여기서, X₁은 S, W, 또는 Q이다)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 6 (X₁QSYSTPLT, 여기서, X₁은 Q 또는 F이다)를 포함하는 CDRL3을 포함하는 경

쇄 가변 영역.

- [illegible]

(GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH3은 서열번호 20 (ARLKNELKDAFDI)을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH2는 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH3은 서열번호 20 (ARLKNELKDAFDI)을 포함하고, 제2 아암의 CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; 제2 아암의 CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 제2 아암의 CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다.

[0022] 일부 구현예에서, 제2 아암의 CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH2는 서열번호 21 (GGVIPFLGTANYA)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH3은 서열번호 22 (ARLKGILKDALDI)를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH2는 서열번호 21 (GGVIPFLGTANYA)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH3은 서열번호 22 (ARLKGILKDALDI)를 포함하고, 제2 아암의 CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; 제2 아암의 CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 제2 아암의 CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다.

[0023] 일부 구현예에서, 제2 아암의 CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH2는 서열번호 29 (GRIIPIFGTADYA)를 포함하고, 제2 아암의 CDRH3은 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH2는 서열번호 29 (GRIIPIFGTADYA)를 포함하고, 제2 아암의 CDRH3은 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고, 제2 아암의 CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; 제2 아암의 CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 제2 아암의 CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다.

[0024] 일부 구현예에서, 제2 아암의 CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH2는 서열번호 31 (GGIIPILGTATYA)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH3은 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH2는 서열번호 31 (GGIIPILGTATYA)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH3은 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하고, 제2 아암의 CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; 제2 아암의 CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 제2 아암의 CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다.

[0025] 일부 구현예에서, 제2 아암의 CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH2는 서열번호 33 (GGIIPIVATANYA)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH3은 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH2는 서열번호 33 (GGIIPIVATANYA)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH3은 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하고, 제2 아암의 CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; 제2 아암의 CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 제2 아암의 CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다.

[0026] 일부 구현예에서, 제2 아암의 CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH2는 서열번호 34 (GGIIPIFGKATYA)를 포함하고, 제2 아암의 CDRH3은 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH2는 서열번호 34 (GGIIPIFGKATYA)를 포함하고, 제2 아암의 CDRH3은 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하고, 제2 아암의 CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; 제2 아암의 CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 제2 아암의 CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다.

[0027] 일부 구현예에서, 제2 아암의 CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH2는 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH3은 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고; 제2 아암의 CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; 제2 아암의 CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 제2 아암의 CDRL3은 서열번호 38 (FQSYSTPLT)을 포함한다.

[0028] 일부 구현예에서, 제2 아암의 CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH2는 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, 제2 아암의 CDRH3은 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고; 제2 아암의 CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; 제2 아암의 CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; 제2 아암의 CDRL3은 서열번호 39 (QQSYSTILT)를 포함한다.

[0029] 일부 구현예에서, 제2 아암은 다음을 포함한다: a. (i) 서열번호 14 (GTFSSYAFS)를 포함하는 CDRH1, (ii) 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2 및 (iii) 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 b. (i) 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10(QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역.

- [0030] 일부 구현예에서, 제2 아암은 (i) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, (ii) 서열번호 24 (GGIIPVFGTATYA)를 포함하는 CDRH2, 및 (iii) 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암은 (i) 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0031] 일부 구현예에서, 제2 아암은 (i) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, (ii) 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)를 포함하는 CDRH2, 및 (iii) 서열번호 25 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암은 (i) 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0032] 일부 구현예에서, 제2 아암은 (i) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, (ii) 서열번호 26 (GRIIPVFGTATYA)를 포함하는 CDRH2, 및 (iii) 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암은 (i) 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0033] 일부 구현예에서, 제2 아암은 (i) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, (ii) 서열번호 27 (GRINPILGTANYA)를 포함하는 CDRH2, 및 (iii) 서열번호 28 (ARLKGELKDAFSI)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암은 (i) 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0034] 일부 구현예에서, 제2 아암은 (i) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, (ii) 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)를 포함하는 CDRH2, 및 (iii) 서열번호 30 (ARLKGELKCAFDI)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암은 (i) 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0035] 일부 구현예에서, 제2 아암은 (i) 서열번호 122 (GTKSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, (ii) 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)를 포함하는 CDRH2, 및 (iii) 서열번호 30 (ARLKGELKCAFDI)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암은 추가로 (i) 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0036] 일부 구현예에서, 제2 아암은 (i) 서열번호 36 (GPFSSHAVS)을 포함하는 CDRH1, (ii) 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)를 포함하는 CDRH2, 및 (iii) 서열번호 37 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암은 (i) 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0037] 일부 구현예에서, PD-L1에 결합하는 제2 아암은 서열번호 35, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 또는 58 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 59, 60, 61, 62, 또는 63 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0038] 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 35(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDATVYYCARLKGELKDAFDIWGGTMVTVSS)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 40(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDATVYYCARLKGELKDAFDIWGGTMVTVSS)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 41(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGIANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDATVYYCARL

KGELKDAFDIWGGTLTVSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 42(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKAGDIWGQGLTVTVSS)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 43(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKFELKDAFDIWGGTLTVTVSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 44(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFDEWGQGLTVTVSS)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 45(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFDIWGGTLTVTAST)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 46(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKNELKDAFDIWGGTLTVTVSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 47(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPFLGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGILKDALDIWGQGLTVTVSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 48(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQDLEWMGGIIPVIGIANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFDIWGGTLTVTVSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 49(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGFEKDAFDIWGGTLTVTVSS)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 50(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGRIIPFLGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFDIWGGTLTVTVSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 51(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGRINPILGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFSIWGGTLTVTVSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 52(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGRIIPVFGTADYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFDIWGGTLTVTVSS)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 53(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGKFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKCAFDIWGGTLTVTVSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 54(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPILGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRKGELKDAFDIWGGTLTVTVSS)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 55(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPILGAATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFDIWGGTLTVTVSS)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 56(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPVATANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRKGELKDAFDIWGGTLTVTVSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 57(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGKATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRKGELKDAFDIWGGTLTVTVSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 중쇄 가변 영역은 서열번호 58(QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGPFRSHAVSWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARL

KSELKDAFDIWGGTLTVSS)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 경쇄 가변 영역은 서열번호 59(DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGTKVEIK)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 경쇄 가변 영역은 서열번호 60(DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGTKVEIK)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 경쇄 가변 영역은 서열번호 61(DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGTKVEIK)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 경쇄 가변 영역은 서열번호 62(DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCFQSYSTPLTFGGTKVEIK)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 아암의 경쇄 가변 영역은 서열번호 63(DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTILTFGGTKVEIK)과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0039] 본원에 기재된 임의의 양상의 일부 구현예에서, 작제물은 이특이적 항체이다. 일부 구현예에서, 이특이적 항체는 PD-1 및 PD-1 리간드 둘다의 길항제이다. 일부 구현예에서, 작제물은 통상의 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 아암 중 하나 또는 둘다는 압타머이다. 일부 구현예에서, 아암 중 하나 또는 둘다는 항체 이외의 다른 단백질이다. 일부 구현예에서, 작제물은 적어도 2개의 이특이적 항체를 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 2개의 이특이적 항체 중 하나는 PD-1에 대해 1가이다. 일부 구현예에서, 적어도 2개의 이특이적 항체 중 하나는 PD-1 리간드에 대해 1가이다. 일부 구현예에서, 아암의 적어도 하나는 PD-1에 특이적인 2가 항체이다. 일부 구현예에서, 아암의 적어도 하나는 PD-L1에 특이적인 2가 항체이다. 일부 구현예에서, 아암 중 적어도 하나는 PD-1에 특이적인 2가 항체이고 아암 중 적어도 하나는 PD-L1에 특이적인 2가 항체이다. 일부 구현예에서, 아암의 적어도 하나는 PD-1에 대한 2가 항체이다. 일부 구현예에서, 아암의 적어도 하나는 PD-L1에 대한 2가 항체이다. 일부 구현예에서, 아암 중 적어도 하나는 PD-1에 대한 2가 항체이고 아암 중 적어도 하나는 PD-L1에 대한 2가 항체이다. 일부 구현예에서, 이특이적 항체는 PD-1상에 2개의 상이한 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 상기 이특이적 항체는 PD-1 리간드 상에 2개의 상이한 에피토프에 결합한다.

[0040] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 임의의 다특이적 항원-결합 작제물은 적어도 2개의 일특이적 항체를 포함한다. 일부 구현예에서 일특이적 항체의 적어도 하나는 항-PD-1 항체이다. 일부 구현예에서, 항-PD-1 항체는 2가 항-PD-1 항체이다. 일부 구현예에서 일특이적 항체의 적어도 하나는 항-PD-L1 항체이다. 일부 구현예에서, 항-PD-1 항체는 2가 항-PD-L1 항체이다. 일부 구현예에서, 상기 작제물은 2가 항-PD-1 항체 및 2가 항-PD-L1 항체이다. 일부 구현예에서, 작제물은 융합 작제물이고, 여기서, 항-PD-1 항체의 가변 중쇄를 포함하는 폴리펩타이드는 항-PD-L1 항체의 가변 중쇄를 포함하는 폴리펩타이드에 융합된다. 일부 구현예에서, 항-PD-1 항체의 가변 중쇄를 포함하는 폴리펩타이드는 링커에 의해 항-PD-L1 항체의 가변 중쇄를 포함하는 폴리펩타이드에 융합된다. 일부 구현예에서, 융합 작제물은 통상의 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 융합 작제물의 N-말단 가변 중쇄는 통상의 경쇄의 존재하에 PD-1에 결합하고, 융합 작제물의 C-말단 가변 중쇄는 통상의 경쇄의 존재하에 PD-L1에 결합한다. 일부 구현예에서, 융합 작제물의 N-말단 가변 중쇄는 통상의 경쇄의 존재하에 PD-L1에 결합하고, 융합 작제물의 C-말단 가변 중쇄는 통상의 경쇄의 존재하에 PD-1에 결합한다.

[0041] 일부 양상 및 구현예에서, 본원의 개시내용은 항원-결합의 적어도 2개의 유닛을 포함하는 다중특이적 항원-결합 작제물을 제공하고, 여기서, 항원-결합의 제1 유닛은 PD-1에 결합하고, 항원-결합의 제2 유닛은 PD-1 리간드에 결합한다. 일부 구현예에서, 항원-결합의 제1 유닛은 면역 세포에 의해 발현되는 PD-1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항원-결합의 제2 유닛은 제2 세포에 의해 발현되는 PD-1에 결합한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1과 PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2의 상호작용을 차단한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1과 PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2의 상호작용을 차단한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1에 결합하는 항원-결합의 적어도 2개의 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1에 결합하는 항원-결합의 2개의 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2에 결합하는 항원-결합의 적어도 2개의 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2에 결합하는 항원-결합의 2개의 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은

항원-결합의 적어도 4개의 유닛을 포함하고, 여기서, 항원-결합의 2개의 유닛은 PD-1에 결합하고, 항원-결합의 2개의 유닛은 PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2에 결합한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 항원-결합의 4개의 유닛을 포함하고, 여기서, 항원-결합의 2개의 유닛은 PD-1에 결합하고, 항원-결합의 2개의 유닛은 PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2에 결합한다. 일부 구현예에서, 항원-결합의 각각의 유닛은 이의 동족 항원, 즉, PD-1 또는 PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2에 독립적으로 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 세포로부터 PD-1 발현의 상실을 촉진시킨다. 일부 구현예에서, PD-1 발현의 상실은 PD-1 발산(shedding)으로 인한 것이다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1과 PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2의 상호작용을 차단한다. 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 통상의 경쇄를 포함한다. 예를 들어, 항원-결합의 적어도 2개의 유닛은 통상의 경쇄를 포함한다.

- [0042] 일부 구현예에서, 항원-결합의 제1 유닛은 PD-1에 결합하고 다음을 포함한다:
- [0043] (a) (i) 서열번호 70 (FTFX₁X₂YAX₃X₄, 여기서, X₁=S, R, G, 또는 N이고; X₂=D, S, N, A, R, 또는 G이고; X₃= M 또는 L이고; X₄= S, L, 또는 N이다)을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 72 (ARGLDFIVGX₅TGNDY, 여기서 X₅=A, Y, 또는 R이다)를 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0044] (b) (i) 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10(QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0045] 일부 상기 구현예에서, 항원-결합의 제1 유닛은 PD-1에 결합하고 다음을 포함한다:
- [0046] (a) 서열번호 73 (FTFSDYAMS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 74 (ARGLDFIVGATGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0047] (b) 서열번호 73 (FTFSDYAMS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0048] (c) 서열번호 76 (FTFSSYAMS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0049] (d) 서열번호 77 (FTFSSYAML)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0050] (e) 서열번호 78 (FTFSNYALS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0051] (f) 서열번호 79 (FTFSAYAMN)를 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0052] (g) 서열번호 80 (FTFRSYAMS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0053] (h) 서열번호 81 (FTFGRYAMS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0054] (i) 서열번호 82 (FTFNSYAMS)를 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0055] (j) 서열번호 83 (FTFSNYAMS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 74 (ARGLDFIVGATGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0056] (k) 서열번호 84 (FTFSGYAMS)를 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0057] (l) 서열번호 86 (FTFSSYAMN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2 및 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함하는 CDRH3; 또는
- [0058] (m) 서열번호 80 (FTFRSYAMS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호

호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함하는 CDRH3.

- [0059] 일부 구현예에서, 항원-결합의 제1 유닛은 PD-1에 결합하고 다음을 포함한다:
- [0060] (a) 서열번호 87과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0061] (b) 서열번호 88과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0062] (c) 서열번호 89와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0063] (d) 서열번호 90과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0064] (e) 서열번호 91와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0065] (f) 서열번호 92와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0066] (g) 서열번호 93와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0067] (h) 서열번호 94와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0068] (i) 서열번호 95와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0069] (j) 서열번호 96와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0070] (k) 서열번호 97과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0071] (l) 서열번호 98과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 또는
- [0072] (m) 서열번호 99와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역.
- [0073] 일부 구현예에서, 항원-결합의 제1 유닛은 PD-1에 결합하고 서열번호 59와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0074] 일부 구현예에서, 항원-결합의 제2 유닛은 PD-L2에 결합한다. 일부 구현예에서, 항원-결합의 제2 유닛은 PD-L1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항원-결합의 제2 유닛은 PD-L1에 결합하고 다음을 포함한다:
- [0075] a. (i) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 2 (GGIIPX₁X₂GX₃ATYA, 여기서, X₁은 V 또는 I 이고; X₂는 F, L, 또는 V이고; X₃은 T 또는 A이다)을 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 3 (ARLKX₁ELKDAFDI, 여기서, X₁은 G, F, 또는 N이다)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0076] b. (i) 서열번호 4 (RASQX₁ISSYLN, 여기서, X₁은 S, W, 또는 Q이다)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 6 (X₁QSYSTPLT, 여기서, X₁은 Q 또는 F이다)를 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0077] 일부 상기 구현예에서, 항원-결합의 제2 유닛은 PD-L1에 결합하고 다음을 포함한다:
- [0078] (a) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 7 (GGIIPILGAATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3;
- [0079] (b) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 7 (GGIIPILGAATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0080] (c) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0081] (d) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3;
- [0082] (e) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 12(RASQWISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;

- [0083] (f) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 13(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0084] (g) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0085] (h) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 15 (GGIIPIFGIANYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3;
- [0086] (i) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 15 (GGIIPIFGIANYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (CQQSYSTPLTF)을 포함하는 CDRL3;
- [0087] (j) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 16 (GGIIPNFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 17 (ARLKGELKGAGDI)을 포함하는 CDRH3;
- [0088] (k) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 16 (GGIIPNFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 17 (ARLKGELKGAGDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0089] (l) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 18 (ARLKFELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3;
- [0090] (m) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 18 (ARLKFELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0091] (n) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 19 (ARLKGELKDAFDE)을 포함하는 CDRH3;
- [0092] (o) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 19 (ARLKGELKDAFDE)를 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0093] (p) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 20 (ARLKNELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3;
- [0094] (q) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 20 (ARLKNELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0095] (r) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 21 (GGVIPFLGTANYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 22 (ARLKGILKDALDI)을 포함하는 CDRH3;
- [0096] (s) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 21 (GGVIPFLGTANYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 22 (ARLKGILKDALDI)를 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0097] (t) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 29 (GRIIPIFGTADYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3;
- [0098] (u) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 29 (GRIIPIFGTADYA)를 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0099] (v) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 31 (GGIIPILGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하는 CDRH3;

- [0100] (w) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 31 (GGIIPILGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0101] (x) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 33 (GGIIPIVATANYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하는 CDRH3;
- [0102] (y) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 33 (GGIIPIVATANYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0103] (z) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 34 (GGIIPIFGKATYA)를 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하는 CDRH3;
- [0104] (aa) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 34 (GGIIPIFGKATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0105] (bb) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 38 (FQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0106] (cc) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 39 (QQSYSTILT)를 포함하는 CDRL3;
- [0107] (dd) 서열번호 14 (GTFSSYAFS)를 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0108] (ee) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 24 (GGIIPIVGIANYA)를 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3;
- [0109] (ff) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 24 (GGIIPIVGIANYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0110] (gg) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 25 (ARLKGELKDAFDI)를 포함하는 CDRH3;
- [0111] (hh) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 25 (ARLKGELKDAFDI)를 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0112] (ii) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 26 (GRIIPLFGTAHYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3;
- [0113] (jj) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 26 (GRIIPLFGTAHYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0114] (kk) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 27 (GRINPILGTANYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 28 (ARLKGELKDAFSI)을 포함하는 CDRH3;
- [0115] (ll) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 27 (GRINPILGTANYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 28 (ARLKGELKDAFSI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0116] (mm) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 30 (ARLKGELKCAFDI)을 포함하는 CDRH3;

- [0117] (nn) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 30 (ARLKGELKCAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0118] (oo) 서열번호 36 (GPFRSHAVS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 37 (ARLKSELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 또는
- [0119] (pp) 서열번호 36 (GPFRSHAVS)를 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 37 (ARLKSELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9(RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0120] 일부 구현예에서, 항원-결합의 제2 유닛은 PD-L1에 결합하고, 서열번호 35, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 또는 58 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 59, 60, 61, 62, 또는 63 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0121] 일부 구현예에서, 항원-결합의 제2 유닛은 PD-L1에 결합하고 다음을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다:
- [0122] (a) 서열 번호 35와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열;
- [0123] (b) 서열 번호 40과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열;
- [0124] (c) 서열 번호 41과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0125] (d) 서열 번호 42와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열;
- [0126] (e) 서열 번호 43과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열;
- [0127] (f) 서열 번호 44와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0128] (g) 서열 번호 45와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0129] (h) 서열 번호 46과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0130] (i) 서열 번호 47과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0131] (j) 서열 번호 48과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0132] (k) 서열 번호 49와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0133] (l) 서열 번호 50과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0134] (m) 서열 번호 51과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0135] (n) 서열 번호 52와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0136] (o) 서열 번호 53과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0137] (p) 서열 번호 54와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0138] (q) 서열 번호 55와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0139] (r) 서열 번호 56과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0140] (s) 서열 번호 57과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열; 또는
- [0141] (t) 서열 번호 58과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열.
- [0142] 일부 구현예에서, 항원-결합의 제2 유닛은 PD-L1에 결합하고 다음을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다:
- [0143] (a) 서열 번호 59와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열;
- [0144] (b) 서열 번호 60과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0145] (c) 서열 번호 61과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0146] (d) 서열 번호 62와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열; 또는

- [0147] (e) 서열 번호 63과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열.
- [0148] 또한 본원에서는 일부 양상 및 구현예에서 항원-결합의 4개 유닛을 포함하는 다중특이적 항원-결합 작제물이 제공되고, 여기서, 항원-결합의 2개 유닛은 PD-1에 결합하고, 항원-결합의 2개 유닛은 PD-L1에 결합하고, 상기 작제물은 서열번호 100 또는 102의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 101 또는 103의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 포함한다.
- [0149] 또한 본원에서는 일부 양상 및 구현예에서 항원-결합의 4개 유닛을 포함하는 다중특이적 항원-결합 작제물이 제공되고, 여기서, 항원-결합의 2개 유닛은 PD-1에 결합하고, 항원-결합의 2개 유닛은 PD-L1에 결합하고, 상기 작제물은 서열번호 100의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 101의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 포함한다.
- [0150] 또한 본원에서는 일부 양상 및 구현예에서 항원-결합의 4개 유닛을 포함하는 다중특이적 항원-결합 작제물이 제공되고, 여기서, 항원-결합의 2개 유닛은 PD-1에 결합하고, 항원-결합의 2개 유닛은 PD-L1에 결합하고, 상기 작제물은 서열번호 102의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 103의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 포함한다.
- [0151] 일부 구현예에서, 상기 작제물은 Fc 도메인을 포함하지 않는다. 일부 구현예에서, 제1 아암 또는 제2 아암, 또는 이 둘다의 하나 이상의 면역글로불린 Fc 변형을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 중쇄의 면역글로불린 Fc 도메인은 제1 및 제2 아암의 이중이량체화를 촉진시키는 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 돌연변이는 중쇄의 CH3 도메인에 존재한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 쿼드로마(quadroma) 세포에서 생성된다. 일부 구현예에서, 작제물은 하나 이상의 면역글로불린 불변 영역 변형을 포함한다. 일부 구현예에서, 면역글로불린 불변 영역은 항체의 이중이량체화를 촉진시키는 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 돌연변이는 하나의 아암의 경쇄 불변 영역에 존재하고 하나 이상의 돌연변이는 또 다른 아암의 중쇄 불변 영역에 존재한다. 일부 구현예에서, 이특이적 항체는 이특이적 IgG, 이특이적 항체 단편, 이특이적 융합 단백질, 첨부된 IgG, 및 이특이적 항체 접합체로 이루어진 그룹으로부터 선택된 포맷을 갖는다. 일부 구현예에서, 상기 Fc 영역은 감소된 이펙터 기능을 갖는다. 일부 구현예에서, 상기 Fc 영역은 작제물의 반감기를 증진시킨다.
- [0152] 일부 구현예에서, 상기 작제물은 서열번호 100 또는 102의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 중쇄 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 작제물은 서열번호 101 또는 103의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 작제물은 서열번호 100의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 중쇄 아미노산 서열을 포함하고, 상기 작제물은 서열번호 101의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 작제물은 서열번호 102의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 중쇄 아미노산 서열을 포함하고, 상기 작제물은 서열번호 103의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 포함한다.
- [0153] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 임의의 다중특이적 항원-결합 작제물은 어글리코실화되어 있다. 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 사람 PD-1에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 무린 PD-1에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 시노몰구스 몽키 PD-1에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 사람, 무린 및 시노몰구스 몽키 PD-1에 유사한 친화성으로 결합할 수 있다.
- [0154] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 임의의 다중 특이적 항원-결합 작제물은 세포 상의 PD-1 수준을 감소시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 사람 PD-1 분해를 유도할 수 있다. 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 PD-1 발현을 감소시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 PD-1 세포 표면 발현을 감소시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 세포 표면으로부터 PD-1의 발산을 유도함에 의해 PD-1 세포 표면 발현을 감소시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 PD-1 및 PD-L1 둘다에 결합할 수 있고 세포 상의 PD-1 수준을 감소시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 PD-1 및 PD-L1 둘다에 결합할 수 있고 PD-1 분해를 유도할 수 있다. 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 PD-1 및 PD-L1 둘다에 결합할 수 있고 PD-1 발현을 감소시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 면역 세포로부터 PD-1의 발산을 유도할 수 있다. 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 PD-1 및 PD-L1 둘다에 결합할 수 있고 면역 세포로부터 PD-1 발산을 유도할 수 있다. 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 PD-L1을 격리시켜 PD-L1이 CD80에 결합할 수 없도록 한다. 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 PD-L1을 격리

시켜 PD-L1이 CD80에 결합할 수 없고, CD80이 자유롭게 CD28에 결합할 수 있도록 한다. 일부 구현예에서, 세포는 T 세포와 같은 면역 세포이다. 일부 구현예에서, 면역 세포(예를 들어, T 세포)는 종양 침윤 림프구(TIL)이다. 일부 구현예에서, 종양 미세환경에서 면역 세포에 의해 발현되는 PD-1으로의 본원에 기재된 다중 특이적 항원-결합 분자의 개입은 면역 세포에 의한 PD-1의 하향조절을 유도한다. 일부 구현예에서, 면역 세포는 T 세포이다. 일부 구현예에서, 면역 세포(예를 들어, T 세포)는 종양 침윤 림프구(TIL)이다.

[0155] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 임의의 다중 특이적 항원-결합 작제물은 참조 항원-결합 작제물 (예를 들어, 펩티도리주맵 또는 아테졸리주맵)과 비교하여 또는 항원-결합 작제물의 참조 조합물 (예를 들어, 다중 특이적 항원-결합 작제물의 PD-1 및 PD-L1 아암을 포함하는 조성물 (여기서, 상기 조성물 중에 PD-1 및 PD-L1 아암은 서로 접합되어 있지 않다))과 비교하여 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 초과인 인터페론-감마 수준 (예를 들어, 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 장독소 A (“SEA”) 검정에서 측정된 바와 같이)을 유도할 수 있다. 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 참조 항원-결합 작제물 (예를 들어, 펩티도리주맵 또는 아테졸리주맵)과 비교하여 또는 항원-결합 작제물의 참조 조합물 (예를 들어, 다중 특이적 항원-결합 작제물의 PD-1 및 PD-L1 아암을 포함하는 조성물 (여기서, 상기 조성물 중에 PD-1 및 PD-L1 아암은 서로 접합되어 있지 않다))과 비교하여 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 초과인 인터류킨-2 수준 (예를 들어, SEA 검정에서 측정된 바와 같이)을 유도할 수 있다.

[0156] 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 참조 항원-결합 작제물 (예를 들어, 펩티도리주맵 또는 아테졸리주맵) 또는 항원-결합 작제물의 참조 조합물 (예를 들어, 다중 특이적 항원-결합 작제물의 PD-1 및 PD-L1 아암을 포함하는 조성물 (여기서, 상기 조성물 중에 PD-1 및 PD-L1 아암은 서로 접합되어 있지 않다))과 비교하여 종양 세포 (예를 들어, 백혈병 세포, 림프종 세포, 흑색종 또는 유방암 세포)의 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 200%, 300%, 400%, 또는 500%의 사멸을 유도한다.

[0157] 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 참조 항원-결합 작제물 (예를 들어, 펩티도리주맵 또는 아테졸리주맵)과 비교하여 또는 항원-결합 작제물의 참조 조합물 (예를 들어, 다중 특이적 항원-결합 작제물의 PD-1 및 PD-L1 아암을 포함하는 조성물 (여기서, 상기 조성물 중에 PD-1 및 PD-L1 아암은 서로 접합되어 있지 않다))이 투여된 대상체 보다 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 100%, 200%, 300%, 400%, 또는 500% 이상으로 길게 암 (예를 들어, 백혈병, 림프종, 흑색종 및/또는 유방암)을 앓는 대상체의 생존을 연장시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 비처리된 면역 세포와 비교하여 또는 참조 항원-결합 작제물 (예를 들어, 펩티도리주맵 또는 아테졸리주맵)로 처리된 면역 세포와 비교하여 또는 항원-결합 작제물의 참조 조합물 (예를 들어, 다중 특이적 항원-결합 작제물의 PD-1 및 PD-L1 아암을 포함하는 조성물 (여기서, 상기 조성물 중에 PD-1 및 PD-L1 아암은 서로 접합되어 있지 않다))과 비교하여 면역 세포로부터 PD-1의 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 100%, 200%, 300%, 400%, 또는 500% 이상의 발산을 유도할 수 있다. 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 비처리된 면역 세포와 비교하여 또는 참조 항원-결합 작제물 (예를 들어, 펩티도리주맵 또는 아테졸리주맵)로 처리된 면역 세포와 비교하여 또는 항원-결합 작제물의 참조 조합물 (예를 들어, 다중 특이적 항원-결합 작제물의 PD-1 및 PD-L1 아암을 포함하는 조성물 (여기서, 상기 조성물 중에 PD-1 및 PD-L1 아암은 서로 접합되어 있지 않다))과 비교하여 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 100%, 200%, 300%, 400%, 또는 500%로 PD-1 수준을 감소시킬 수 있다(예를 들어, 세포 표면으로부터 PD-1 발산을 유발하고/하거나 PD-1 발현을 감소시킴에 의해).

[0158] 일부 구현예에서, 세포에 의해 발현된 PD-1에 대한, 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 분자의 개입은 세포에 의한 PD-1의 세포-표면 발현의 하향조절 및/또는 상실을 유도한다. 세포-표면 발현의 상기 하향 조절 또는 상실은 부분적으로 예를 들어, 면역 세포의 표면으로부터 세포의 PD-1의 발산으로 인한 것일 수 있다. 일부 구현예에서, 세포는 T 세포와 같은 면역 세포이다. 일부 구현예에서, 면역 세포(예를 들어, T 세포)는 종양 침윤 림프구(TIL)이다. 일부 구현예에서, 종양 미세환경에서 면역 세포에 의해 발현되는 PD-1으로의 본원에 기재된 다중 특이적 항원-결합 분자의 개입은 면역 세포에 의한 PD-1의 하향조절을 유도한다. 일부 구현예에서, 면역 세포는 T 세포이다. 일부 구현예에서, 면역 세포(예를 들어, T 세포)는 종양 침윤 림프구(TIL)이다.

[0159] 일부 양상에서, 본원의 개시내용은 본원에 기재된 임의의 치료학적 유효량의 다중특이적 항원-결합 작제물을 대상체에게 투여함에 의해 상기 대상체에서 증식 장애를 치료함을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 증식

장애를 치료하기 위한 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 증식 장애는 암이다. 일부 구현예에서, 암은 혈액학적 암, 신경학적 암, 흑색종, 유방암, 폐암, 두경부암, 위장암, 간암, 췌장암, 비노생식기암, 골암, 및 혈관암으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 본원에 기재된 임의의 치료학적 유효량의 다중특이적 항원-결합 작제물을 대상체에게 투여함에 의해 상기 대상체에서 면역 반응을 증진시킴을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 면역 반응을 증진시키는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 증진된 면역 반응은 임의의 하나 이상의 증진된 T 세포 기능, 증진된 NK 세포 기능 또는 증진된 대식세포 기능을 포함한다. 일부 구현예에서, T 세포 기능의 증진은 PD-1 또는 PD-1 리간드에 결합하는 제제, 또는 PD-1에 결합하는 제제 및 PD-1 리간드에 결합하는 제제를 포함하는 각테일과 비교하여, 다중특이적 항원-결합 작제물의 투여 시 보다 커진다. 일부 구현예에서, T 세포 기능은 T 세포로부터 증가된 IFN γ 생성, 증진된 T 세포 생존율, 증가된 T 세포 증식, 또는 소모된 T 세포 표현형으로부터의 구제 중 임의의 하나 이상이다. 일부 구현예에서, 증진된 T 세포 기능은 PD-1 또는 PD-1 리간드에 결합하는 제제, 또는 PD-1에 결합하는 제제 및 PD-1 리간드에 결합하는 제제를 포함하는 각테일과 비교하여, 다중특이적 항원-결합 작제물의 투여 시 보다 커진다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 피하, 정맥내, 피내, 복막내, 경구로, 근육내 또는 두개내 투여된다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 대상체내 동일한 세포 표면 상에 발현된 PD-1 및 PD-L1에 결합한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 대상체내 제1 세포의 표면상에 발현된 PD-1에 결합하고, 상기 다중특이적 항원-결합 작제물은 대상체내 제2 세포의 표면 상에 발현된 PD-L1에 결합한다.

[0160] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공하고, 여기서, 상기 항-PD-1 항체 또는 항원-결합 단편은 다음을 포함한다: (a) (i) 서열번호 70 (FTFX₁X₂YAX₃X₄, 여기서, X₁=S, R, G, 또는 N이고; X₂=D, S, N, A, R, 또는 G이고; X₃= M 또는 L이고; X₄= S, L, 또는 N이다)을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 72 (ARGLDFIVGX₅TGNDY, 여기서 X₅=A, Y, 또는 R이다)를 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (b) (i) 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10(QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역. 일부 구현예에서, 항-PD-1 항체 또는 항원-결합 단편은 다음을 포함한다: (a) (i) 서열번호 73, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 또는 86 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 74, 75, 또는 85 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (b) (i) 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10(QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역. 일부 구현예에서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99 중 어느 하나의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 경쇄 가변 영역은 서열번호 59의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0161] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공하고, 여기서, 상기 항-PD-L1 항체 또는 항원-결합 단편은 다음을 포함한다: a. (i) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 2 (GGIIPX₁X₂GX₃ATYA, 여기서, X₁은 V 또는 I이고; X₂는 F, L, 또는 V이고; X₃은 T 또는 A이다)을 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 3 (ARLXX₁ELKDAFDI, 여기서, X₁은 G, F, 또는 N이다)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 b. (i) 서열번호 4 (RASQX₁ISSYLN, 여기서, X₁은 S, W, 또는 Q이다)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 6 (X₁QSYSTPLT, 여기서, X₁은 Q 또는 F이다)를 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역. 일부 구현예에서, 항-PD-L1 항체 또는 항원-결합 단편은 다음을 포함한다: (a) (i) 서열번호 1, 14, 23, 36, 또는 122 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 11, 15, 16, 21, 24, 26, 27, 29, 31, 33, 또는 34 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 8, 17, 18, 19, 20, 22, 25, 28, 30, 32, 또는 37 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (b) (i) 서열번호 9, 12, 또는 13 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10, 38, 또는 39 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역. 일부 구현예에서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 또는 35 중 어느 하나의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 경쇄 가변 영역은 서열번호 59, 60, 61, 62, 또는 63 중 어느 하나의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0162] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 본원에 기재된 임의의 항체 또는 항원-결합 작제물을 대상체에게 투여함에

의해 상기 대상체에서 증식 장애를 치료함을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 증식 장애를 치료하기 위한 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 증식 장애는 암이다. 일부 구현예에서, 암은 혈액학적 암, 신경학적 암, 흑색종, 유방암, 폐암, 두경부암, 위장암, 간암, 췌장암, 비뇨생식기암, 골암, 및 혈관암으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0163] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 본원에 기재된 임의의 항원-결합 작제물을 대상체에게 투여함에 의해 상기 대상체에서 면역 반응을 증진시킴을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 면역 반응을 증진시키기 위한 방법을 제공한다.

[0164] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 임의의 방법은 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 분자와 접촉 전 및/또는 후에 하나 이상의 세포 (또는 세포 집단, 예를 들어, TIL)에 의한 PD-1 발현의 존재 또는 부재를 검출하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 임의의 방법은 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 분자의 대상체(예를 들어, 암 환자)로의 투여 전 및/또는 후에 하나 이상의 세포 (또는 세포 집단, 예를 들어, TIL)에 의한 PD-1 발현의 존재 또는 부재를 검출하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 방법은 예를 들어, 소정의 환자 또는 환자 집단의 치료에 사용하기 위한 분자의 치료학적 유효량을 결정하는데 유용하다. PD-1 발현의 존재, 발현 감소 및/또는 부재를 검출하는 방법은 당업자에게 공지되어 있고, 예를 들어, 유동 세포측정, 웨스턴 블롯팅, ELISA 등을 사용한다.

[0165] 또 다른 양상에서, 본원의 개시내용은 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 분자와 접촉 전 및/또는 후에 하나 이상의 세포 (또는 세포 집단, 예를 들어, TIL)에 의한 PD-1 발현의 수준을 측정하는 단계를 포함하는 방법을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 분자의 대상체(예를 들어, 암 환자)로의 투여 전 및/또는 후에 하나 이상의 세포 (또는 세포 집단, 예를 들어, TIL)에 의한 PD-1 발현의 수준을 측정하는 단계를 포함한다.

[0166] 또 다른 양상에서, 본원의 개시내용은 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 분자와 접촉 전 및/또는 후에 하나 이상의 세포 (또는 세포 집단, 예를 들어, TIL)에 의한 PD-1 발현의 수준을 측정하는 단계를 포함하는 방법을 특징으로 한다. 예를 들어, 본원에 기재된 임의의 방법은 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 분자의 대상체 (예를 들어, 암 환자)로의 투여 전 및/또는 후에 하나 이상의 세포 (또는 세포 집단, 예를 들어, TIL)에 의한 PD-1 발현의 수준을 측정하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 방법은 무엇 보다 대상체에 대한 본원에 기재된 분자의 생물학적 효과를 검출하거나 측정하기 위해 유용하다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 분자를 사용한 처리 후 면역 세포 (예를 들어, 환자로부터 분리된 TIL)에 의한 PD-1 발현 수준에서의 감소는 상기 분자가 대상체에서 생물학적 효과를 가짐을 지적한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 분자를 사용한 처리 후 면역 세포 (예를 들어, 환자로부터 분리된 TIL)에 의한 PD-1 발현 수준에서의 감소는 상기 환자가 상기 분자의 1회 이상의 용량을 투여받거나 다르게는 상기 분자를 포함하는 치료요법을 계속해야만 함을 지적한다.

[0167] 또 다른 양상에서, 본원의 개시내용은 생물학적 효과가 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 분자로 처리된 환자 또는 환자 집단에서 나타나는지의 여부를 결정하기 위한 방법을 특징으로 한다. 상기 방법은 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 분자를 투여받은 환자 또는 환자들로부터 유래된 하나 이상의 시험 면역 세포 (예를 들어, 이펙터 면역 세포, 예를 들어, 중앙 미세환경에서의 것들)에 의한 PD-1 발현의 존재 또는 양을 검출하는 단계를 포함하고, 여기서, 대조군 발현 수준(예를 들어, 분자의 투여 전 시험 면역 세포와 동일한 조직학적 유형의 면역 세포에 의한 PD-1의 발현 수준)에 상대적으로 하나 이상의 면역 세포에 의한 PD-1의 발현 (예를 들어, 세포 표면 발현)의 감소된 수준은 생물학적 효과가 환자 또는 환자 집단에서 발생함을 지적한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 검출 전에 다중특이적 항원-결합 분자를 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 생물학적 효과의 발생이 결정된 환자 또는 환자 집단으로 다중특이적 항원-결합 분자를 투여함을 포함한다. 일부 구현예에서, 대조군 PD-1 발현 수준은 대략적으로 암을 갖는 것으로서 진단되지 않은 대상체 집단에서 동일한 조직학적 유형의 면역 세포에 의한 PD-1의 메디안 또는 평균 발현 수준이다. 일부 구현예에서, 대조군 PD-1 발현 수준은 대략적으로 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 분자 및/또는 PD-1에 결합하고/하거나 PD-1을 억제하는 제제를 투여받은 적이 없는 대상체 집단에서 동일한 조직학적 유형의 면역 세포에 의한 PD-1의 메디안 또는 평균 발현 수준이다.

[0168] 여전히 또 다른 양상에서, 본원의 개시내용은 대상체 (예를 들어, 암 환자)에서 하나 이상의 면역 세포에 의한 PD-1의 발현을 감소시키기 위한 방법을 특징으로 하고, 상기 방법은 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 분자를 대상체에게 투여하여 상기 대상체에서 하나 이상의 면역 세포에 의한 PD-1의 발현을 감소시키는 단계를 포함

한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 상기 환자에서 하나 이상의 면역 세포에 의한 PD-1 발현의 감소가 발생하는지의 여부를 결정하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 하나 이상의 면역 세포를 포함하는 생물학적 샘플 (예를 들어, 종양 생검)을 대상체로부터 수득하는 단계 (예를 들어, 상기 분자의 대상체로의 투여 후)를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 생물학적 샘플 중에 하나 이상의 면역 세포에 의한 PD-1 발현의 수준을 측정하는 단계를 포함한다.

[0169] 여전히 또 다른 양상에서, 본원의 개시내용은 대상체 (예를 들어, 암 환자)에서 PD-L1과 CD80 간의 결합을 억제하는 방법을 특징으로 하고, 상기 방법은 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 분자를 대상체에게 투여하여 상기 대상체에서 PD-L1과 CD80 간의 결합을 억제하는 단계를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0170] 특허 또는 출원 파일은 컬러로 나타낸 적어도 하나의 도면을 포함한다. 컬러 도면(들)을 갖는 상기 특허 또는 특허 출원 공보의 사본은 필요한 비용의 요구 및 지불에 의해 사무소에 의해 제공된다.

도 1은 펙트롤리주맙 x 아테졸리주맙 이특이적인 것, 니볼루맙 x 아테졸리주맙 이특이적인 것, KEYTRUDA 및 아테졸리주맙의 각테일, 및 니볼루맙 및 아테졸리주맙의 각테일을 포함하는 다양한 항체 각테일 또는 이특이적 항체로 처리된 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정에서 단독의 KEYTRUDA와 비교하여 인터페론-감마 (IFN γ)의 유도를 보여준다. 상기 결과는 지적된 바와 같이, 시험된 항체의 최종 농도에서 pg/ml로서 IFN γ 의 농도를 보여준다.

도 2는 펙트롤리주맙 x 니볼루맙 이특이적인 것, 아테졸리주맙 x 아테졸리주맙 4가 융합체, 니볼루맙 및 아테졸리주맙을 포함하는 다양한 모노클로날 및 이특이적 항체로 처리된 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정에서 단독의 KEYTRUDA와 비교하여 인터페론-감마 (IFN γ)의 유도를 보여준다. 상기 결과는 지적된 바와 같이, 시험된 항체의 최종 농도에서 pg/ml로서 IFN γ 의 농도를 보여준다.

도 3은 펙트롤리주맙 x 아테졸리주맙 이특이적인 것에 대한 도식 및 아미노산 서열을 보여준다. 별도의 서열은 펙트롤리주맙-어글리코(aglyco)-IgG1-(G4S)₄ 중쇄 (H 쇠; 서열번호 104) 및 경쇄 (L 쇠; 서열번호 105)에 대해서 및 아테졸리주맙- FabH-(G4S)₄ 중쇄 (H 쇠; 서열번호 106) 및 경쇄 (L 쇠; 서열번호 107)에 대해 나타낸다.

도 4는 니볼루맙 x 아테졸리주맙 이특이적인 것에 대한 도식 및 아미노산 서열을 보여준다. 별도의 서열은 니볼루맙-어글리코(aglyco)-IgG1-(G4S)₄ 중쇄 (H 쇠; 서열번호 108) 및 경쇄 (L 쇠; 서열번호 109)에 대해서 및 아테졸리주맙- FabH-(G4S)₄ 중쇄 (H 쇠; 서열번호 106) 및 경쇄 (L 쇠; 서열번호 107)에 대해 나타낸다.

도 5는 949 어글리코-IgG1 x 아테졸리주맙 이특이적인 것에 대한 도식 및 아미노산 서열을 보여준다. 별도의 서열은 949 어글리코-IgG1-(G4S)₄ 중쇄 (H 쇠; 서열번호 110) 및 경쇄 (L 쇠; 서열번호 111)에 대해서 및 아테졸리주맙- FabH-(G4S)₄ 중쇄 (H 쇠; 서열번호 106) 및 경쇄 (L 쇠; 서열번호 107)에 대해 나타낸다.

도 6은 아테졸리주맙 x 니볼루맙 이특이적인 것에 대한 도식 및 아미노산 서열을 보여준다. 별도의 서열은 아테졸리주맙-어글리코-IgG1-(G4S)₄ 중쇄 (H 쇠; 서열번호 112) 및 경쇄 (L 쇠; 서열번호 107)에 대해서 및 니볼루맙- HC Fab-(G4S)₄ 중쇄 (H 쇠; 서열번호 113) 및 경쇄 (L 쇠; 서열번호 109)에 대해 나타낸다.

도 7은 다양한 농도에서 시험된 항체의 함수로서 혼합 림프구 반응(MLR) 검정에서 pg/mL로 IFN- γ 방출을 보여준다(우측 패널). 이들 결과는 다중특이적 포맷으로 이특이적 항체 PD-1 x PD-L1 (펙트롤리주맙 x 아테졸리주맙) 또는 (니볼루맙 x 아테졸리주맙)이 펙트롤리주맙 및 아테졸리주맙 또는 니볼루맙 및 아테졸리주맙의 각테일과 비교하여 펙토물 농도에서 보다 큰 IFN- γ 반응을 유도함을 지적한다. mAb 전구체에 대한 이특이적 포맷의 크기 배제 크로마토그래피를 나타낸다(좌측 패널).

도 8은 상승작용을 입증하는 다중특이적 (예를 들어, 이특이적) 항체를 동정하기 위한 작업 흐름의 하나의 예를 보여준다. 상기 공정은 다양한 농도에서 pg/mL로 IFN- γ 방출을 측정하는 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정에서 관문 차단제 조합의 비편향적 스크리닝을 포함한다. 도해진 작업흐름의 제2 단계에서, 통상의 경쇄 이특이성을 생성하여 이들의 효능을 추가로 시험하였고; 여기서, 다양한 이특이성 포맷이 도시된다. 동정된 이특이성 포맷은 T-세포 활성화 검정에서 공지된 PD-1 차단제를 능가한다.

도 9a-9b는 이특이성 3이 이소타입 대조군 항체 및 KEYTRUDA 둘다와 비교하여 항원-비특이성 T 세포 검정에서 CD3/CD28 확장된 T-세포에 의해 K562-CD32-PDL1 표적 세포의 보다 높은 사멸(**도 9a**) 및 증가된 IFN γ 생성 (**도**

9b)을 유도함을 보여준다. 이특이성 3에 의한 상기 증가된 사멸은 0.01 nM의 낮은 농도에서도 나타났다.

도 10a-10b는 종양 세포 사멸에 대한 이특이성 3의 효과를 보여준다. **도 10a**는 이특이성 3이 KEYTRUDA, 및 mAb1과 mAb28의 조합 둘다와 비교하여 0.001 내지 0.01 nM의 낮은 농도에서 CMV 특이적 T-세포에 의한 K562-A2-CMV-PDL1 종양 항원 표적 세포의 특이적 사멸을 증가시킴을 보여주고, 이는 이특이성 3이 보다 낮은 용량에서 표적 세포의 항원-특이적 사멸을 매개하기 위해 사용될 수 있음을 지적한다. **도 10b**는 이특이성 3이 0.001nM의 낮은 농도에서 CMV 특이적 T- 세포에 의한 Raji-A2-CMV-PDL1 세포 종양 항원 표적 세포의 특이적 사멸에서 KEYTRUDA 또는 mAb1과 mAb28의 조합 보다 더 효과적임을 보여주고, 이는 다시 이특이성 3이 보다 낮은 용량에서 표적 세포의 항원-특이적 사멸을 매개하기 위해 사용될 수 있음을 지적한다.

도 11은 이특이성 3이 SEA 자극 검정에서 모든 시험된 용량에서 KEYTRUDA 보다 더 IL-2를 유도함을 보여준다. 중요하게, 이특이성 3은 KEYTRUDA 및 mAb1와 mAb28 둘다와 비교하여 항체의 보다 낮은 농도에서 개시하여 증가된 IL-2 생성을 유도하였다.

도 12a-12g는 이특이성 3이 PD-1의 내재화 및 후속 분해 또는 이의 발현의 상실을 유발하는 특유의 능력을 갖고 상기 성질은 상기 분자의 PD-1 및 PD-L1 표적화 야암 둘다의 개입에 의존함을 입증한다. **도 12a-12b**는 이특이성 3만이 이소타입 대조군, KEYTRUDA, mAb1 및 mAb28, 아테졸리주맵, 또는 아테졸리주맵 및 KEYTRUDA와 비교하는 경우, PD-1의 내재화 및 후속 분해 또는 이의 발현의 상실을 유도함을 입증한다. 추가로, **도 12c**에 나타난 바와 같이, 항-PD-L1 항체, mAb1이 이특이성 3을 첨가하기 5분 전에 50nM로 웰에 첨가되는 경우, PD-1 내재화를 구동하는 이특이성 3의 능력이 상실되었다. 이것은 이특이성 3의 야암 둘다가 PD-1 발현 상실 및/또는 내재화 및/또는 분해를 구동시키기 위해 개입되어야 함을 시사한다. **도 12d**는 이특이성 3을 사용한 처리가, 이특이성의 결합 야암 둘다가 동시에 개입되는 경우 상등액 중에 PD-1의 양을 증가시킴을 보여준다. 상기 효과는 상기 PD-L1 표적화 야암이 mAb1에 의해 차단되는 경우 상실된다. 이것은 이특이성 3이 PD-1의 상등액으로의 발산을 증가시킴을 시사한다. **도 12e**는 결합 야암의 결합가가 PD-1 발현의 상실 정도에 영향을 미침을 입증한다. 이특이성 5가 제조되었고 이는 mAb1의 VH 및 VL 서열을 기초로하는 제1 N-말단 Fab 결합 PD-L1을 갖고, mAb28의 VH 및 VL 서열을 기초로하는 제2 N-말단 Fab 결합 PD-1을 갖는다. 다른 말로, 이특이성 5는 2가 야암 결합 PD-L1과 2가 야암 결합 PD-1을 갖는 이특이성 3과 비교하여 하나의 1가 야암 결합 PD-L1 및 하나의 1가 야암 결합 PD-1을 갖는다. 나타난 바와 같이, PD-1 발현의 상실은 이특이성 3 (4가)에 비해 이특이성 5 (2가)의 보다 높은 용량에서 일어나기 시작하고, 이는 이특이성 3의 증가된 결합가가 상기 차이에 관여함을 시사한다. **도 12f**는 다중 MMP 및 ADAM, 세포의 세포질막으로부터 단백질을 절단하는데 관여하는 쉐다제 또는 프로테아제의 광범위 억제제인 바티마스타트를 사용한 전처리가 세포-연합된 PD-1 상실의 양을 크게 감소시킴을 입증하고, 이는 PD-1 상실 또는 발산이 MMP 또는 ADAM 프로테아제에 의한 절단으로 인한 것임을 시사한다. **도 12g**는 이특이성 3이 트랜스 구성으로 있는, 즉 상이한 세포에 의해 발현되는 PD-1 및 PD-L1에 결합하는 경우 주로 세포-표면 PD-1 발현의 상실을 구동시킴을 시사한다.

도 13a-13b는 이특이성 3을 사용한 생체내 결과를 보여준다. **도 13a**는 실험 프로토콜의 도식을 도시한다. **도 13b**는 이특이성 3, 및 mAb1과 mAb28 그룹의 조합체 둘다가 이소타입과 KEYTRUDA 그룹 둘다와 비교하여 종양 성장에서 유의적 지연을 가짐을 입증한다. 추가로, 24일째에, 이특이성 3 그룹, 및 mAb1과 mAb28의 조합으로 처리된 그룹 간에는 상당히 차이가 있고, 이특이성 3은 조합체와 비교하여 종양 성장에서 보다 큰 지연을 유발한다. 어떠한 T 세포 전달 그룹도 T 세포를 함유하는 임의의 그룹 보다 더 공격적으로 성장한 종양을 갖지 않았다. 이러한 모델에서, KEYTRUDA는 이소타입 대조군과 비교하여 KACP 종양 성장을 지연시키는데 어떠한 이득을 부여하지 않았다.

도 14a-14b는 K562-A2-CMV-PD-L1 종양 마우스 모델에서 이특이성 3을 사용한 생체내 결과를 보여준다. **도 14a** 및 **14b**는 상이한 처리 그룹의 각각이 비처리된 마우스와 비교하여 평균 종양 성장을 지연시키는 반면, T 세포 및 이특이성 3을 사용한 처리가 시간 경과에 따라 평균 종양 성장을 최대 지연시킴을 도해하는 그래프이다. 어떠한 T 세포 전달 그룹도 T 세포를 함유하는 임의의 그룹 보다 더 공격적으로 성장한 종양을 갖지 않았다. 이러한 모델에서, KEYTRUDA는 이소타입 대조군과 비교하여 K562-A2-CMV-PD-L1 종양 성장을 지연시키는데 어떠한 이득을 부여하지 않았다.

도 15a-15b는 여러 동계의 종양 모델에서 이특이성 3을 사용한 생체내 결과를 도해한다. **도 15a**는 이특이성 3을 사용한 EMT-6 동계의 종양 모델의 처리가 대조군 처리와 비교하여 종양 성장을 보다 크게 지연시킴을 보여주는 그래프이다. **도 15b**는 이특이성 3을 사용한 MB49 동계의 종양 모델의 처리가 대조군 처리와 비교하여 종양 성장을 보다 크게 지연시킴을 보여주는 그래프이다.

도 16a-16b는 사람화된 PD-1/PD-L1 유전자전이 마우스에서 MC38-hPD-L1 모델에 이특이성 1을 사용한 생체내 결과를 보여준다. **도 16a**는 KEYTRUDA 및 이특이성 1 처리 둘다가 대조군-처리된 마우스와 비교하여 MC38-hPD-L1 종양 마우스에서 종양 성장을 효과적으로 제어함을 보여준다. **도 16b**는 생존률 그래프이고 이특이성 1이 대조군-처리된 마우스와 비교하여 MC38-PD-L1 종양 마우스의 생존률을 증가시킴을 도해한다.

도 17a-17f는 B16F10-hPD-L1 모델에서 이특이성 3을 사용한 생체내 결과를 도해한다. **도 17a**는 B16F10-HuPD-L1 마우스에서 각각 15일 컷오프에서 측정된 종양 성장에 대한 상이한 처리의 효과를 보여주는 일련의 그래프이다. 상이한 그룹의 마우스 (n=8)는 이특이성 3, KEYTRUDA, 아벨루맙, KEYTRUDA + 아벨루맙 조합체, 또는 이소타입 대조군 항체로 처리하였다. **도 17a**는 각각의 그룹에 대한 개별 종양 용적 추적을 보여준다. 메타스타제는 종양-크기 측정 컷오프 전 죽은 다수의 마우스에서 동정되었다. **도 17b**는 처리 그룹에 걸친 평균 종양 용적에서의 차이를 보여주고, 이는 세포 접종 후 15일까지, 이특이성 3 처리가 B16F10-HuPD-L1 마우스에서 시험된 다른 임의의 처리 보다 평균 종양 성장을 상당히 길게 지연시킴을 입증한다. ****, P<0.0001; **, P<0.01, *, P<0.05, 이원(Two-way) ANOVA 및 터키 다중 비교 시험. **도 17b**는 B16F10-HuPD-L1 마우스에서 15일 컷오프에서 측정된 종양 성장에 대한 상이한 처리의 효과를 비교하는 그래프이다. 메타스타제는 종양-크기 측정 컷오프 전 죽은 다수의 마우스에서 동정되었다. **도 17b**에 나타난 바와 같이, 이특이성 3 처리는 B16F10-hPD-L1 마우스에서 시험된 임의의 다른 처리 보다 평균 종양 성장을 상당히 길게 지연시켰다. **도 17c**는 생존률 그래프이고 이특이성 3을 사용한 처리가 시험된 임의의 다른 처리를 사용한 생존률과 비교하여 B16F10-hPD-L1 종양 마우스의 생존률을 증가시킴을 도해한다. **도 17d**는 종양 세포 접종 후 21일까지, 이특이성 3 처리가 B16F10-hPD-L1 마우스에서 KEYTRUDA를 사용한 처리 보다 평균 종양 성장을 상당히 양호하게 계속 지연시킴을 보여준다. **도 17e**는 생존률 그래프이고 이특이성 3을 사용한 처리가 시험된 임의의 다른 처리를 사용한 생존률과 비교하여 B16F10-hPD-L1 종양 마우스의 생존률을 증가시킴을 도해한다. **도 17f**는 상이한 처리 그룹의 각각에 대한 종양 부재 마우스의 수를 보여주는 표를 제공한다. 이특이성 3으로 처리된 그룹은 종양 부재인 3마리의 마우스를 가졌고, KEYTRUDA 및 아벨루맙의 조합체는 종양 부재인 1마리의 마우스를 가졌다.

도 18a-18d는 이특이성 3이 양호하게 작용하는 모노클로날 항체와 유사한 약물 유사 성질(DLP)을 갖고 모계 PD-1 및 PD-L1 결합을 유지함을 입증한다. **도 18a**는 이특이성 3이 사람 PD-1을 발현하는 CHO 세포에 모계 클론 mAb28와 유사한 결합 (상부) 및 사람 PD-L1을 발현하는 CHO 세포에 모계 클론 mAb1와 유사한 결합 (하부)을 나타냄을 보여준다. **도 18b**는 이특이성 3이 시노물구스 PD-1을 발현하는 CHO 세포에 모계 클론 mAb28와 유사한 결합 (상부) 및 시노물구스 PD-L1을 발현하는 CHO 세포에 모계 클론 mAb1와 유사한 결합 (하부)을 나타냄을 보여준다. **도 18c**는 이특이성 3이 마우스 PD-1을 발현하는 CHO 세포에 모계 클론 mAb28와 유사한 결합 (상부) 및 마우스 PD-L1을 발현하는 CHO 세포에 모계 클론 mAb1와 유사한 결합 (하부)을 나타냄을 보여준다. **도 18d**는 98% 초과 순도를 갖는 단일 피크를 입증하는 단백질 A 크로마토그래피 후 이특이성 3의 크기 배제 크로마토그래피 추적 (상부) 및 분자가 높은 열 안정성을 가짐을 입증하는 이특이성 3의 시차 주사 형광측정 (DSF) 추적 (하부)을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0171] 달리 정의되지 않는 경우, 본원에서 사용된 모든 기술 용어, 표기법 및 다른 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 의미를 갖는 것으로 의도된다. 일부 경우에, 일반적으로 이해되는 의미를 갖는 용어는 명확성을 위해 및/또는 준비된 참조를 위해 본원에서 정의되며; 본원에서의 이러한 정의의 포함은 당업계에서 일반적으로 이해되는 것과 근본적인 차이를 나타내는 것으로 해석되어서는 안된다. 본원에 기재되거나 참조된 기술 및 과정은 일반적으로 널리 이해되고 있고 예를 들어, 문헌(참조: Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 2nd ed. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY)에 기재된 광범위하게 사용된 분자 클로닝 방법과 같이 당업자에 의해 통상적인 방법을 사용하여 통상적으로 사용된다. 적절하게, 시판되는 키트 및 시약의 사용을 포함하는 과정은 일반적으로 달리 주지되지 않는 경우 제조업자에 의해 정의된 프로토콜 및/또는 파라미터에 따라 수행된다.

[0172] 본원에서 사용된 바와 같은, 단수형 (“a,” “an” 및 “the”)는, 문맥상 명백하게 달리 지시하지 않는 한, 복수형의 해당 대상물도 포함한다.

[0173] 명세서 및 청구항에서, 용어 “약”은 예를 들어, 본원의 개시내용의 구현예를 기재하는데 사용된, 조성물에서 성분의 양, 농도, 용적, 공정 온도, 공정 시간, 수율, 유속, 압력 및 유사 값 및 이의 범위를 수식하기 위해 사용된다. 용어 “약”은 예를 들어, 화합물, 조성물, 농도 또는 이의 사용 제형을 제조하기 위해 사용되는 전형적인 측정 및 취급 과정을 통해, 이들 과정에서 부주의한 오류를 통해 방법을 수행하기 위해 사용되는 출발 물

질 또는 성분의 제조, 공급원 또는 순도에서의 차이 등 및 유사 근접한 고려사항을 통해 일어날 수 있는 수치적 양에서의 변화를 언급한다. 용어 “약”은 또한 특정 초기 농도 또는 혼합물과 함께 제형의 속성으로 인해 상이한 양 및 특정 초기 농도 또는 혼합물과 함께 제형을 혼합하거나 가공함으로써 인해 상이한 양을 포괄한다. 용어 “약”에 의해 수식되는 경우, 본원에 첨부된 청구항은 이들 양에 대한 등가물을 포함한다. 사용되는 문맥을 고려하여 당업자에게 자명하지 않은 용어가 사용되는 경우, “약”은 특정 값의 + 또는 - 10% 이하를 의미한다.

[0174] 항원-결합 단백질/영역/아암의 표적 분자로의 결합과 관련하여, 용어, 특정 항원 (예를 들어, 폴리펩타이드 표적) 또는 특정 항원 상의 에피토프에 “특이적 결합”, “특이적으로 결합한다”, “특이적인”, “선택적으로 결합한다” 및 “선택적인”은 비-특이적 또는 비-선택적 상호작용과는 측정가능하게 상이한 결합을 의미한다. 특이적 결합은 예를 들어, 대조군 분자의 결합과 비교하여 분자의 결합을 결정함에 의해 측정될 수 있다. 특이적 결합은 또한 과량의 비-표지된 표적과 같은 표적과 유사한 대조군 분자와의 경쟁에 의해 결정될 수 있다. 상기 경우에, 특이적 결합은 표지된 표적의 프로브로의 결합이 과량의 비-표지된 표적에 의해 경쟁적으로 억제되는 경우로 지칭된다.

[0175] 용어 “에피토프”는 항원-결합 단백질에 특이적으로 결합할 수 있는 항원의 성분을 의미한다. 에피토프는 흔히 표면 접근가능한 아미노산 잔기 및/또는 당 측쇄로 이루어지고 특이적 전하 특징 뿐만 아니라 특이적 3차원 구조적 특징을 가질 수 있다. 형태적 및 비-형태적 에피토프는 후자가 아닌 전자로의 결합이 변성 용매의 존재 하에 상실된다는 점에서 구분된다. 에피토프는 결합에 직접 관여하는 아미노산 잔기, 및 결합에 직접 관여하지 않는 다른 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 항원-결합 단백질이 결합하는 에피토프는 예를 들어, 상이한 점-돌연변이를 갖는 항원 변이체로의 항원-결합 단백질에 대한 시험과 같은 에피토프 결정에 대해 공지된 기술을 사용하여 결정될 수 있다.

[0176] 폴리펩타이드 서열과 참조 서열 간의 퍼센트 “동일성”은 서열을 정렬시키고 필요하다면 최대 퍼센트 서열 동일성을 성취하기 위해 갭을 도입한 후 참조 서열에서의 아미노산 잔기와 동일한 폴리펩타이드 서열에서의 아미노산 잔기의 퍼센트로서 정의된다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 결정하는 목적을 위한 정렬은 예를 들어, 대중에게 가용한 컴퓨터 소프트웨어, 예를 들어, BLAST, BLAST-2, ALIGN, MEGALIGN (DNASTAR), CLUSTALW, 또는 CLUSTAL OMEGA 소프트웨어를 사용하여 당업자의 기술 범위내에 있는 다양한 방식으로 성취될 수 있다. 일부 구현예에서, 정렬은 CLUSTAL OMEGA 소프트웨어를 사용하여 수행된다. 당업자는 비교되는 서열의 전장 상에 최대 정렬을 성취하기 위해 요구되는 임의의 알고리즘을 포함하는, 서열을 정렬하기 위해 적당한 파라미터를 결정할 수 있다.

[0177] 본원에 사용된 바와 같은 용어 “할수 있는”은 제제 또는 방법(예를 들어, 본원에 기재된 임의의 다중특이적 항원-결합 작제물 또는 방법)이 적당한 문맥에서 특정된 성질을 성취하는 능력을 갖지만 시간에 있어서 임의의 특정 순간에서 상기 성질과 연관될 필요가 없음을 의미한다. 예를 들어, 본원에 기재된 임의의 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1 및/또는 PD-L1을 발현하는 세포에 투여되는 경우 PD-1 및/또는 PD-L1에 결합할 수 있지만, 상기 작제물은 작제물이 PD-1 또는 PD-L1 단백질이 없는 조성물 중에 있는 경우 PD-1 및/또는 PD-L1에 결합할 것으로 예상되지 않는다.

[0178] “보존적 치환” 또는 “보존적 아미노산 치환”은 하나 이상의 아미노산의 하나 이상의 화학적으로 또는 기능적으로 유사한 아미노산으로의 치환을 언급한다. 유사한 아미노산을 제공하는 보존적 치환 표는 당업계에 널리 공지되어 있다. 상기 치환을 갖는 폴리펩타이드 서열은 “보존적으로 변형된 변이체” 또는 “변이체”로서 공지되어 있다. 상기 보존적으로 변형된 변이체는 추가적인 것이고 다형태 변이체, 중간 동족체 및 대립유전자를 배제하지 않는다. 보존적 치환의 일부 예는 예를 들어, 문헌(참조: Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties* 2nd ed. (1993) W. H. Freeman & Co., New York, NY)에서 찾을 수 있다.

[0179] 본원에 기재된 폴리펩타이드는 천연적으로 존재하지 않는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 상기 변이체는 필수적으로 출발 분자와 100% 미만의 서열 동일성 또는 유사성을 갖는다. 특정 구현예에서, 변이체는 예를 들어, 변이체 분자의 길이 상에서, 출발 (예를 들어, 천연적으로 존재하거나 야생형) 폴리펩타이드의 아미노산 서열과 약 75% 내지 100% 미만의 아미노산 서열 동일성 또는 유사성, 보다 바람직하게 약 80% 내지 100% 미만, 보다 바람직하게 약 85% 내지 100% 미만, 보다 바람직하게 약 90% 내지 100% 미만 (예를 들어, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%) 및 가장 바람직하게 약 95% 내지 100% 미만의 아미노산 서열 동일성 또는 유사성을 갖는다.

[0180] 본원에 사용된 바와 같은 “항체”는 온전한 항체 (예를 들어, 온전한 면역글로불린) 및 항체 부분, 예를 들어, 항원-결합 부분을 언급할 수 있다. 항원-결합 부분은 적어도 하나의 항원-결합 도메인을 포함한다. 항원-결합

도메인의 하나의 예는 V_H - V_L 이량체에 의해 형성된 항원-결합 도메인이다. 항체 및 항원-결합 부분은 이들이 특이적으로 결합하는 항원에 의해 기재될 수 있다. 예를 들어, PD-L1 항체, 또는 항-PD-L1 항체는 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체이다.

[0181] V_H 및 V_L 영역은 추가로 또한 보다 보존된 영역과 함께 상호 분산된 상초가변성 영역 (또한 상보성 결정 영역 (CDR)로 불리우는 초가변 영역(HVR))으로 세분될 수 있다. 보다 보존된 영역은 골격 영역 (FR)으로 불리운다. 각각의 V_H 및 V_L 은 일반적으로 하기의 순서 (N-말단에서 C-말단으로)로 정렬된 3개의 CDR 및 4개의 FR을 포함한다: FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4. CDR은 항원-결합에 관여하고 항체에 대한 항원 특이성 및 결합 친화성을 부여한다. (문헌참조: Kabat et al. (1991) *Sequences 포함하는 Proteins 포함하는 Immunological Interest* 5th ed., Public Health Service, National Institutes 포함하는 Health, Bethesda, MD.)

[0182] CDR은 항원-결합에 관여하고 항체에 대한 항원 특이성 및 결합 친화성을 부여한다. 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인에는 3개의 CDR이 있고, 이는 가변 도메인의 각각에 대해 CDR1, CDR2 및 CDR3으로 지정된다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 “CDR 세트”는 표적 항원에 결합할 수 있는 단일 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인에 존재하는 3개의 CDR 그룹을 언급한다. 이들 CDR의 정확한 경계선은 상이한 시스템에 따라 상이하게 정의되었다. 3개의 중쇄 CDR은 CDRH1, CDRH2, 및 CDRH3으로 언급될 수 있고, 3개의 경쇄 CDR은 CDRL1, CDRL2, 및 CDRL3으로 언급될 수 있다.

[0183] “캐벳에 따라 넘버링된”, “캐벳 넘버링”, “캐벳 정의” 및 “캐벳 표지화”로서 또한 언급되는 캐벳에 의해 기재된 시스템은 항체의 임의의 가변 도메인에 적용될 수 있는 명확한 잔기 넘버링 시스템을 제공하고, 각각의 쇄의 3개의 CDR을 한정하는 정확한 잔기 경계선을 제공한다. 이의 내용 전문이 본원에 참조로 인용되는 문헌 (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) and (1991))을 참조한다. 이들 CDR은 캐벳 CDR로서 언급되고 경쇄 가변 도메인에서 약 잔기 24-34 (CDR1), 50-56 (CDR2) 및 89-97 (CDR3), 및 중쇄 가변 도메인에서 31-35 (CDR1), 50-65 (CDR2) 및 95-102 (CDR3)을 포함한다. CDR이 캐벳에 따라 정의되는 경우, 경쇄 FR 잔기는 약 잔기 1-23 (LCFR1), 35-49 (LCFR2), 57-88 (LCFR3), 및 98-107 (LCFR4)에 위치하고, 중쇄 FR 잔기는 중쇄 잔기에서 약 잔기 1-30 (HCFR1), 36-49 (HCFR2), 66-94 (HCFR3), 및 103-113 (HCFR4)에 위치한다. “캐벳에서 EU 지수”는 사람 IgG1 EU 항체의 잔기 넘버링을 언급한다.

[0184] 다른 CDR 넘버링 시스템은 또한 당업계에서 사용된다(예를 들어, **표 A**를 참조한다). 초티아 및 공동연구자들은 캐벳 CDR 내 특정 서브-위치가 아미노산 서열 수준에서 큰 다양성을 가짐에도 불구하고, 거의 동일한 펩타이드 골격 형태를 취함을 밝혔다. (문헌참조: Chothia et al. (1987) *J. Mol. Biol.* 196: 901-917; and Chothia et al. (1989) *Nature* 342: 877-883). 이들 서브-부분은 L1, L2, 및 L3 또는 H1, H2, 및 H3으로서 지정되고, 여기서, “L” 및 “H”는 각각 경쇄 및 중쇄 영역을 지정한다. 이들 CDR은 “초티아 CDR”, “초티아 넘버링” 또는 “초티아에 따라 넘버링된”으로서 언급될 수 있고 경쇄 가변 도메인에서 약 잔기 24-34 (CDR1), 50-56 (CDR2) 및 89-97 (CDR3), 및 중쇄 가변 도메인에서 26-32 (CDR1), 52-56 (CDR2) 및 95-102 (CDR3)을 포함한다. *Mol. Biol.* 196:901-917 (1987).

[0185] “MacCallum에 따라 넘버링된” 또는 “MacCallum 넘버링”으로서 또한 언급되는 MacCallum에 의해 기재된 시스템은 경쇄 가변 도메인에서 약 잔기 30-36 (CDR1), 46-55 (CDR2) 및 89-96 (CDR3), 및 중쇄 가변 도메인에서 30-35 (CDR1), 47-58 (CDR2) 및 93-101 (CDR3)을 포함한다. MacCallum et al. ((1996) *J. Mol. Biol.* 262(5):732-745).

[0186] “AbM에 따른 넘버링” 또는 “AbM 넘버링”으로서 또한 언급되는 AbM에 의해 기재된 시스템은 경쇄 가변 도메인에서 약 잔기 24-34 (CDR1), 50-56 (CDR2) 및 89-97 (CDR3), 및 중쇄 가변 도메인에서 26-35 (CDR1), 50-58 (CDR2) 및 95-102 (CDR3)을 포함한다.

[0187] 가변 영역의 IMGT (국제 면역유전학 정보 시스템 (INTERNATIONAL IMMUNOGENETICS INFORMATION SYSTEM)) 넘버링이 또한 사용될 수 있고, 이는 IMGT의 방법에 따라 면역글로불린 가변 중쇄 또는 경쇄의 넘버링이고 문헌(참조: Lefranc, M.-P., “The IMGT unique numbering for immunoglobulins, T cell Receptors and Ig-like domains”, *The Immunologist*, 7, 132-136 (1999))에 기재되어 있고, 이의 전문이 본원에 참조로 명백하게 인용된다. 본원에 사용된 바와 같은 “IMGT 서열 넘버링” 또는 “IMTG에 따라 넘버링된”은 IMGT에 따라 가변 영역을 암호화하는 서열의 넘버링을 언급한다. 중쇄 가변 도메인에 대해, IMGT에 따라 넘버링되는 경우, 초가변 영역은 CDR1에

대해 아미노산 위치 27 내지 38, CDR2에 대해 아미노산 위치 56 내지 65, 및 CDR3에 대해 아미노산 위치 105 내지 117 범위이다. 경쇄 가변 도메인에 대해, IMGT에 따라 넘버링되는 경우, 초가변 영역은 CDR1에 대해 아미노산 위치 27 내지 38, CDR2에 대해 아미노산 위치 56 내지 65, 및 CDR3에 대해 아미노산 위치 105 내지 117 범위이다.

[0188] 본원에 기재된 작제물 및 항원-결합 아암의 일부 구현예에서, 본원에 언급된 CDR은 초티아 넘버링에 따라 넘버링되는 경우, 경쇄 가변 도메인에서 약 잔기 24-34 (CDR1), 49-56 (CDR2) 및 89-97 (CDR3), 및 중쇄 가변 도메인에서 27-35 (CDR1), 49-60 (CDR2) 및 93-102 (CDR3)을 포함한다. 일부 구현예에서, 경쇄 가변 도메인에서 CDR2는 초티아 넘버링에 따라 넘버링되는 경우 아미노산 49번 내지 56번을 포함할 수 있다.

[0189] 표 A:

CDR 정의

	CDRH1	CDRH2	CDRH3	CDRL1	CDRL2	CDRL3
캐뻛	31-35	50-65	95-102	24-34	50-56	89-97
초티아에 따라 넘버링된 또 다른 CDR	27-35	49-60	93-102	24-34	50-56	89-97
초티아	26-32	52-56 or 50-56	95-102	24-34	50-56	89-97
MacCallum	30-35	47-58	93-101	30-36	46-55	89-96
AbM	26-35	50-58	95-102	24-34	50-56	89-97
IMGT	27-38	56-65	105-117	27-38	56-65	105-117

[0190]

[0191] 본원에 기재된 것과 유사하거나 또는 균등한 방법과 물질들은 본원에 기재된 방법 및 조성물의 실시 또는 시험에서 사용할 수 있지만, 바람직한 방법과 물질들이 하기에 기재된다. 본원에서 언급된 모든 간행물, 특허 출원, 특허 및 기타 참조 문헌은 그 내용 전체가 참고로서 인용된다.

[0192] 본 발명의 다양한 양상은 하기에 추가로 상세히 기재된다. 추가의 정의는 명세서 전반에 걸쳐 제시된다.

[0193] 면역계는 종양 세포를 인지하고 제거하는 능력을 갖지만; 종양은 다수의 전략을 사용하여 면역력을 회피할 수 있다. 최근 연구는 억제성 면역 관문 분자가 다양한 항종양 억제 기전을 통해 암 진행을 촉진시킴을 보여주었다. 면역 관문의 차단은 치료학적 항종양 면역력을 활성화시키거나 재활성화시키는 접근법 중 하나이다. 다수의 동족 억제성 면역 관문 수용체에 대한 다양한 리간드가 기재되었다. 예를 들어, 문헌(참조: Nair & Elkord, Immunology & Cell Biology (2018), 96:21-33; and Jenkins et al., British J. of Cancer (2017), 118:9-16)에서 검토되었다.

[0194] 프로그램화된 사멸 1(Programmed Death 1) (PD-1) 단백질은 T 세포 조절제의 연장된 CD28/CTLA-4 계열의 억제성 구성원이다(문헌참조: Okazaki et al. (2002) *Curr Opin Immunol* 14: 391779-82; Bennett et al. (2003) *J. Immunol.* 170:711-8). CD28 패밀리의 다른 구성원은 CD28, CTLA-4, ICOS 및 BTLA를 포함한다. PD-1은 다른 CD28 계열 구성원의 특징인 쌍을 이루지 않은 시스테인 잔기가 없는 단량체로서 존재하는 것으로 사사된다. PD-1은 활성화된 B 세포, T 세포 및 단핵구 상에서 발현된다.

[0195] PD-1 유전자는 55 kDa I형 막관통 단백질을 암호화한다(문헌참조: Agata et al. (1996) *Int Immunol.* 8:765-72). CTLA-4와 구조적으로 유사하지만, PD-1은 B7-1 및 B7-2 결합을 위해 중요한 MYPPY 모티프가 없다. PD-1에 대한 2개의 리간드, PD-L1 (B7-H1) 및 PD-L2 (B7-DC)가 동정되었고, 이들은 PD-1으로 결합시 T 세포 활성화를 하향조절하는 것으로 나타났다(문헌참조: Freeman et al. (2000) *J. Exp. Med.* 192:1027-34; Carter et al. (2002) *Eur. J. Immunol.* 32:634-43). PD-L1 및 PD-L2 둘다 PD-1에 결합하지만, 다른 CD28 계열 구성원에는 결합하지 않는 B7 동족체이다. PD-L1은 다양한 사람 암에서 풍부하다(문헌참조: Dong et al. (2002) *Nat. Med.* 8:787-9).

[0196] PD-1은 TCR 신호를 음성적으로 조절하는 면역억제 단백질로서 공지되어 있다(문헌참조: Ishida, Y. et al. (1992) *EMBO J.* 11:3887-3895; Blank, C. et al. (Epub 2006 Dec. 29) *Immunol. Immunother.* 56(5):739-745).

PD-1과 PD-L1의 상호작용은 면역 관문으로서 작용할 수 있고, 이는 예를 들어, 종양 침윤 림프구에서의 감소, T-세포 수용체 매개된 증식에서의 감소, 및/또는 암 세포에 의한 면역 회피에서의 감소를 유도할 수 있다(문헌 참조: Dong et al. (2003) *J. Mol. Med.* 81:281-7; Blank et al. (2005) *Cancer Immunol. Immunother.* 54:307-314; Konishi et al. (2004) *Clin. Cancer Res.* 10:5094-100). 면역 억제는 PD-1과 PD-L1 또는 PD-L2의 국소 작용을 억제함에 의해 역전될 수 있고; 상기 효과는 PD-1과 PD-L2의 상호작용이 또한 차단되는 경우 상가적이다(문헌참조: Iwai et al. (2002) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 99:12293-7; Brown et al. (2003) *J. Immunol.* 170:1257-66).

[0197] 분화 274 (CD274) 또는 B7 동족체 1 (B7-H1)의 클러스터로서도 공지된 PD-L1은 임신, 동종이식, 자가면역 질환 및 간염과 같은 다른 질환 상태와 같은 특정 이벤트 동안에 면역계를 억제하는데 역할을 수행하는 40kDa 1형 막 관통 단백질이다. 예를 들어, 사람 PD-L1은 서열번호 115 (UniProt Q9NZQ7)의 아미노산 서열을 포함한다. 정상적으로 면역계는 외인성 또는 내인성 위험 신호와 연관된 외래 항원과 반응하여 항원-특이적 CD8⁺ T 세포 및/또는 CD4⁺ 헬퍼 세포의 증식을 유발한다. 암에서, 항원 세포 상에 발현된 PD-L1은 면역 이펙터 세포, 예를 들어, T 세포 상에 이의 리간드 PD-1에 결합한다. PD-L1의 PD-1로의 결합은 림프절에서 항원-특이적 T-세포의 증식을 감소시키는 억제 신호를 전송하고 동시에 조절 T 세포 (소염, 억제성 T 세포)에서의 아포토시스를 감소시킨다. PD-1/PD-L1 상호작용은 또한 종양-특이적 T 세포의 아포토시스를 유도하고, CD4⁺ T 세포의 Foxp3⁺ 조절 T 세포로의 분화를 촉진시키고, 세포독성 T 림프구 (CTL) 공격에 대한 종양 세포의 내성을 촉진시킴에 따라서 종양이 숙주 면역계를 회피할 수 있게 한다.

[0198] 본원의 개시내용은 PD-1과 이의 리간드(예를 들어, PD-L1 및/또는 PD-L2) 간의 상호작용으로부터 비롯되는 면역 관문 억제를 감소시킴에 의해 종양 회피를 감소시키기 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다. 특히, 본원에서는 PD-1과 이의 리간드(예를 들어, PD-1 및/또는 PD-L2) 간의 상호작용을 차단하고, PD-1과 이의 리간드가 발현되는 세포를 (브릿징)하는 상호작용을 촉진시키는 이특이적 및 사특이적 작제물과 같은 신규 다중특이적 및 다가 작제물을 포함하는 조성물이 제공된다. “차단하고 브릿징”하는 능력을 갖는 본원 개시내용의 상기 조성물은 시험관내 및 생체내 증가된 효능을 갖고, 예를 들어, T 세포 증식, IFN γ 생성 및/또는 분비, T 세포의 세포용해 활성을 증진시키고/시키거나 기능적 소진으로부터 T 세포를 구제하여, 예를 들어, 개별 항체의 조합물과 비교해서 및 임상 관문 차단제와 비교하여 보다 우수한 항-종양 효능(예를 들어, 종양 용적의 감소, 종양 세포수의 감소, 종양 세포 증식의 감소, 및/또는 종양 세포 생존율의 감소를 포함하지만 이에 제한되지 않는 다양한 수단에 의해 나타날 수 있는 생물학적 효과)을 제공한다. 또한 본원에서는 신규 모노클로날 항-PD-1 항체 및 이의 항원-결합 단편 및 상기 다중특이적 및 다가 작제물에 사용하기 위한 신규 모노클로날 항-PD-L1 항체 및 이의 항원-결합 단편이 제공된다. 이들 신규 모노클로날 항-PD-1 항체 및 신규 모노클로날 항-PD-L1 항체의 일부는 통상의 경로를 공유함으로써, 이들의 모계 항체와 유사한 친화성 뿐만 아니라 우수한 약물 유사 성질 및 제조의 용이성을 갖는 다중특이적 및 다가 작제물의 생성을 가능하게 한다.

[0199] 따라서, 본원의 개시내용은 적어도 2개의 항원-결합 아암 또는 항원-결합의 유닛을 포함하는 다중특이적 항원-결합 작제물을 제공하고, 여기서, 항원-결합의 제1 아암 또는 유닛은 면역 세포에 의해 발현되는 PD-1에 결합하고, 항원-결합의 제2 아암 또는 유닛은 제2 세포에 의해 발현되는 하나 이상의 PD-1 리간드 (예를 들어, PD-L1 및/또는 PD-L2)에 결합한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1과 이의 리간드의 상호작용을 차단한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1 및 이의 리간드가 발현되는 세포를 브릿징하여 PD-1을 발현하는 면역 세포의 상호작용 및/또는 효능을 촉진시킨다. 일부 구현예에서, 항원-결합 아암의 적어도 하나는 PD-1에 대해 2가이다. 일부 구현예에서, 항원-결합 아암의 적어도 하나는 PD-L1에 대해 2가이다. 일부 구현예에서, 항원-결합 아암 중 적어도 하나는 PD-1에 대해 2가이고 항원-결합 아암 중 적어도 하나는 PD-L1에 대해 2가이다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1에 결합하는 항원-결합의 적어도 2개의 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1에 결합하는 항원-결합의 2개의 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2에 결합하는 항원-결합의 적어도 2개의 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 항원-결합의 적어도 4개의 유닛을 포함하고, 여기서, 항원-결합의 2개의 유닛은 PD-1에 결합하고, 항원-결합의 2개의 유닛은 PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2에 결합한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 항원-결합의 4개의 유닛을 포함하고, 여기서, 항원-결합의 2개의 유닛은 PD-1에 결합하고, 항원-결합의 2개의 유닛은 PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2에 결합한다. 본원에 기재된 임의의 양상의 일부 구현예에서, 작제물은 이특이적 항체이다. 일부 구현예에서, 이특이적 항체

는 PD-1 및 PD-1 리간드 둘다의 길항제이다. 일부 구현예에서, 작제물은 통상의 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항원-결합 아암 중 하나 또는 둘다의 아타머이다. 일부 구현예에서, 항원-결합 아암 중 하나 또는 둘다의 항체 이외의 다른 단백질이다. 일부 구현예에서, 작제물은 적어도 2개의 항체를 포함한다. 일부 구현예에서, 항원-결합 아암의 적어도 하나는 PD-1에 특이적인 2가 항체이다. 일부 구현예에서, 항원-결합 아암의 적어도 하나는 PD-L1에 특이적인 2가 항체이다. 일부 구현예에서, 항원-결합 아암 중 적어도 하나는 PD-1에 특이적인 2가 항체이고 항원-결합 아암 중 적어도 하나는 PD-L1에 특이적인 2가 항체여서, 상기 작제물은 4가이다. 일부 구현예에서, 이특이적 항체는 PD-1상에 2개의 상이한 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 상기 이특이적 항체는 PD-1 리간드 상에 2개의 상이한 에피토프에 결합한다. 또한 본원에서는 일부 양상에서 PD-L1 또는 PD-1에 특이적으로 결합하는 신규 단리된 항체 및 이의 항원-결합 부분이 제공된다. 일부 구현예에서, 이들 신규 단리된 항체 및 이의 항원-결합 부분, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-1에 특이적으로 결합하는 CDR, 가변 중쇄, 및/또는 가변 경쇄는 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 작제물의 항원-결합의 하나 이상의 아암 또는 유닛에 사용될 수 있다.

[0200] 따라서, 본원에 기재된 바와 같이, 본원에 개시된 다중특이적 항원-결합 작제물은 이특이적, 삼특이적, 사특이적 또는 다중특이적 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 포함한다. 본원에 개시된 다중특이적 작제물은 바람직하게 적어도 하나, 바람직하게 둘다의 항원-결합 아암(들)에 대해 2가이고, 즉 이특이적 및 삼특이적 또는 이특이적 및 사특이적 분자이다. 본원에 기재된 다중특이적 작제물은 다양한 양상 및 구현예에서 하나 이상의 항체 및/또는 이의 항원-결합 부분을 포함한다. 예를 들어, 항원-결합 아암은 PD-1에 대한 소정의 항체 및/또는 PD-L1에 대한 소정의 항체의 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄, 또는 이의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함할 수 있다. 따라서, 본원에 기재된 임의의 양상의 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 아암, 제2 항원-결합 아암, 항원-결합의 제1 유닛, 결합의 제2 유닛 또는 이의 조합물은 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 포함할 수 있다. 본원에 기재된 임의의 양상의 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 아암, 제2 항원-결합 아암, 항원-결합의 제1 유닛, 결합의 제2 유닛 또는 이의 조합물은 항체 또는 이의 항원-결합 부분이다.

[0201] A. PD-L1 길항제

[0202] 일부 양상 및 구현예에서, 본원의 개시내용은 항-PD-L1 길항제를 제공한다. 일부 구현예에서, 항-PD-L1 길항제는 본원에 기재된 임의의 항-PD-L1 항체 또는 항원-결합 분자이다. 일부 구현예에서, 항-PD-L1 항체 또는 항원-결합 분자는 다중특이적 항원-결합 작제물의 일부가 아니고, 즉, 항-PD-L1 항체 또는 항원-결합 분자는 다수의 에피토프에 결합하는 단백질 작제물의 일부가 아니다. 일부 구현예에서, 항-PD-L1 항체 또는 항원-결합 단백질은 상이한 항체 또는 항원-결합 부분과 조합하여 다중특이적 항원-결합 작제물을 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-L1상의 에피토프 및 또 다른 단백질 상의 에피토프에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 다른 단백질 상의 에피토프는 PD-1 상에 있다.

[0203] 따라서, 일부 양상에서, 본원에서는 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분이 제공된다. 일부 양상에서, PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 다음을 포함한다: (a) (i) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 2 (GGIIPX₁X₂GX₃ATYA, 여기서, X₁은 V 또는 I이고; X₂는 F, L, 또는 V이고; X₃은 T 또는 A이다)을 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 3 (ARLKX₁ELKDAFDI, 여기서, X₁은 G, F, 또는 N이다)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (b) (i) 서열번호 4 (RASQX₁ISSYLN, 여기서, X₁은 S, W, 또는 Q이다)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 6 (X₁QSYSTPLT, 여기서, X₁은 Q 또는 F이다)를 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역.

[0204] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 7 (GGIIPILGAATYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 7 (GGIIPILGAATYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb1이다.

[0205] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고; CDRL1은 서열번호

- [0213] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 21 (GGVIPFLGTANYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 22 (ARLKGILKDALDI)를 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 21(GGVIPFLGTANYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 22 (ARLKGILKDALDI)를 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb11이다.
- [0214] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 24 (GGIPIVGIANYA)를 포함하고, CDRH3은 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 24(GGIPIVGIANYA)를 포함하고, CDRH3은 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb12이다.
- [0215] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 25 (ARLKGELKDAFDI)를 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 11(GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 25 (ARLKGELKDAFDI)를 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb13이다.
- [0216] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 26 (GRIIPLFGTAHYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 26(GRIIPLFGTAHYA)를 포함하고, CDRH3은 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb14이다.
- [0217] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 27 (GRINPILGTANYA)를 포함하고, CDRH3은 서열번호 28 (ARLKGELKDAFSI)을 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 27(GRINPILGTANYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 28 (ARLKGELKDAFSI)을 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb15이다.
- [0218] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 29 (GRIIPIFGTADYA)를 포함하고, CDRH3은 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 29(GRIIPIFGTADYA)를 포함하고, CDRH3은 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb16이다.
- [0219] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 30 (ARLKGELKCAFDI)을 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 11(GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 30 (ARLKGELKCAFDI)을 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다.
- [0220] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 122 (GTKSSYAIS)를 포함하고, CDRH2는 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 30 (ARLKGELKCAFDI)을 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 122 (GTKSSYAIS)를 포함하고, CDRH2는 서열번호 11(GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 30 (ARLKGELKCAFDI)을 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호

10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb17이다.

[0221] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 31 (GGIIPILGTATYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 31(GGIIPILGTATYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb18이다.

[0222] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 33 (GGIPIVATANYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 33(GGIPIVATANYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb19이다.

[0223] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 34 (GGIPIFGKATYA)를 포함하고, CDRH3은 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 34(GGIPIFGKATYA)를 포함하고, CDRH3은 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb20이다.

[0224] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 36 (GPFRSHAVS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 37 (ARLKGELKDAFDI)을 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 36 (GPFRSHAVS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 11(GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 37 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb21이다.

[0225] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 11(GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 38 (FQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb22이다.

[0226] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 11(GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 39 (QQSYSTILT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb23이다.

[0227] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 11(GGIIPVFGTATYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb24이다.

[0228] 각각의 경우에, 특이적 서열이 언급되는 경우, 언급된 서열 (예를 들어, 서열번호 1-34 및 36-39)과 적어도 90% 동일성 (예를 들어, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성)을 갖는 서열을 포함하는 구현예가 또한 제공된다.

[0229] 본원의 개시내용은 또한 일부 양상에서, PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 35, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 또는 58과 적어도 90% 동일한 (예를 들어, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한) 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열번호 59, 60, 61, 62 또는 63과 적어도 90% 동일한 (예를 들어, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한) 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

- [0230] 본원의 개시내용은 또한 일부 양상에서, PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 또는 58과 적어도 90% 동일한 (예를 들어, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한) 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열번호 59와 적어도 90% 동일한 (예를 들어, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한) 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0231] 본원의 개시내용은 또한 일부 양상에서, PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 35와 적어도 90% 동일한 (예를 들어, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한) 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열번호 59, 60, 61, 62 또는 63과 적어도 90% 동일한 (예를 들어, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한) 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0232] 항체 mAb1-mAb23은 실시예에 기재된 바와 같은 모계 항체 mAb24로부터 유래된 친화성 성숙화된 항체이다. 친화성 성숙화된 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 변경된 것(들)이 없는 모계 항체와 비교하여, 이의 항원에 대한 항체의 친화성을 개선시키는 하나 이상의 변경들 (예를 들어, 하나 이상의 CDR 또는 FR에서)을 갖는 항체 또는 항원-결합 단편이다. 일부 구현예에서, 친화성 성숙화된 항체는 PD-L1에 대해 나노몰 또는 피코몰 친화성을 갖는다. 일부 구현예에서, PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 적어도 1×10^{-7} M, 적어도 1×10^{-8} M, 적어도 1×10^{-9} M, 적어도 1×10^{-10} M, 적어도 1×10^{-11} M, 적어도 1×10^{-12} M, 또는 적어도 1×10^{-13} M의 K_D 를 갖는다.
- [0233] 표 1은 사람 PD-L1에 대한 mAb1, mAb2, mAb3, mAb4, mAb5, mAb6, mAb7, mAb8, mAb9, mAb10, mAb11, mAb12, mAb13, mAb14, mAb15, mAb16, mAb17, mAb18, mAb19, mAb20, mAb21, mAb22, 및 mAb23 (즉, mAb24의 친화성 성숙화된 변이체)의 결합 친화성 (K_D)을 보여준다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 K_D 는 특정 항체-항원 상호작용의 해리 평형 상수를 언급한다. $K_D = k_d/k_a$. 본원에 사용된 바와 같은 용어 $K_D(\text{sec}^{-1})$ 는 특정 항체-항원 상호작용의 해리 속도 상수를 언급한다. 상기 값은 또한 k_{off} 값으로 언급된다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 $K_a(\text{M}^{-1} \times \text{sec}^{-1})$ 는 특정 항체-항원 상호작용의 결합 속도 상수를 언급한다. 상기 값은 또한 k_{on} 값으로 언급된다.

[0234] [표 1]

사람 PD-L1 에 대한 mAb1 - mAb23 의 결합 친화성

mAb	K _D (nM)	배수 개선
1	4.16	1.1
2	2.2	2.0
3	0.9	4.8
4	4.9	0.9
5	27.1	0.2
6	35.9	0.1
7	---	---
8	3.7	1.2
9	5.4	0.8
10	6.3	0.7
11	156	---
12	358	---
13	52.3	0.1
14	---	---
15	---	---
16	---	---
17	---	---
18	527	---
19	817	---
20	53.9	0.1
21	91.5	0.1
22	2.5	1.8
23	369	---

[0235]

[0236]

표 2는 사람 PD-L1(“huPDL1”), cyno PD-L1 또는 무린 PD-L1 (“muPDL1”)에 대한 mAb1, mAb2, mAb3, mAb4, mAb5, mAb6, mAb7, mAb8, mAb9, mAb10, mAb11, mAb12, mAb13, mAb14, mAb15, mAb16, mAb17, mAb18, mAb19, mAb20, mAb21, mAb22, 및 mAb23 (즉, mAb24의 친화성 성숙화된 변이체)의 세포 결합 데이터를 제공한다. 사람 또는 cyno PD-L1은 HEK 세포 상에서 발현되었고; 무린 PD-L1은 A20 세포 상에서 발현되었다. 결합은 EC₅₀ 값은 표현되고, 이는 관심 대상의 항원을 외인성으로 발현하는 세포 상의 mAb의 상이한 농도를 적정하여 평가될 수 있다. 형광성 태그된 2차를 mAb 결합을 검출하고 정량하기 위해 사용될 수 있다. 표 2에 나타난 데이터는 그래프패드에서 빌트-인 함수를 사용하는 1:1 결합 모델에 피팅하여 EC₅₀ 값을 산출하였다.

[0237] [표 2]

세포 상에 발현되는 사람, cyno, 및 무린 PD-L1 에 대한 mAb1 - mAb23 의 세포 결합

mAb	huPDL1 EC ₅₀ (nM)	배수 개선	cynoPDL1 EC ₅₀ (nM)	배수 개선	muPDL1 EC ₅₀ (nM)	배수 개선
1	0.04	3.3	0.09	3.21	0.74	5.26
2	0.06	2.2	0.08	3.76	2.00	1.96
3	0.11	1.3	ND	--	1.27	3.08
4	0.04	3.3	0.07	4.10	NB	--
5	0.09	1.5	0.39	0.74	NB	--
6	0.13	1.1	0.47	0.61	NB	--
7	ND	--	NB	--	NB	--
8	ND	--	0.08	3.42	NB	--
9	0.06	2.5	0.07	4.15	NB	--
10	0.04	3.2	0.09	3.05	NB	--
11	1.37	0.1	NB	--	NB	--
12	1.23	0.1	NB	--	NB	--
13	1.43	1.0	ND	--	NB	--
14	1.54	0.1	NB	--	NB	--
15	ND	--	NB	--	NB	--
16	NB	--	NB	--	NB	--
17	0.76	0.2	NB	--	NB	--
18	0.38	0.4	0.06	4.96	0.84	4.67
19	1.20	0.1	0.26	1.08	2.84	1.38
20	0.13	1.0	0.12	2.31	2.66	1.47
21	0.14	1.0	NB	--	NB	--
22	0.18	0.8	0.32	0.89	NB	--
23	0.83	0.2	NB	--	NB	--

*NB = 결합 부재; ND = 결정되지 않음; HEK 세포상에서 발현된 사람 및 cyno PDL1; A20 세포 상에서 발현된 무린 PDL1

[0238]

[0239]

본원의 개시내용은 또한 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 35, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 또는 58 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 (예를 들어, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한) 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열번호 59, 60, 61, 62 또는 63 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 (예를 들어, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한) 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 35, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 또는 58 중 어느 하나와 15개 아미노산 이하, 14개 아미노산 이하, 13개 아미노산 이하, 12개 아미노산 이하, 11개 아미노산 이하, 10개 아미노산 이하, 9개 아미노산 이하, 8개 아미노산 이하, 7개 아미노산 이하, 6개 아미노산 이하, 5개 아미노산 이하, 4개 아미노산 이하, 3개 아미노산 이하, 2개 아미노산 이하 또는 1개 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 경쇄 가변 영역은 서열번호 59, 60, 61, 62, 또는 63 중 어느 하나와 15개 아미노산 이하, 14개 아미노산 이하, 13개 아미노산 이하, 12개 아미노산 이하, 11개 아미노산 이하, 10개 아미노산 이하, 9개 아미노산 이하, 8개 아미노산 이하, 7개 아미노산 이하, 6개 아미노산 이하, 5개 아미노산 이하, 4개 아미노산 이하, 3개 아미노산 이하, 2개 아미노산 이하 또는 1개 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함한다. 표 3 및 4는 각각 중쇄 가변 서열 서열번호 35 및 40-58, 및 경쇄 가변 서열 서열번호 59-63에 대한 서열을 제공한다.

[0240] [표 3]

중쇄 항-PD-L1 가변 서열

서열번호	서열
35	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA INWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFDIWGQGTILVTSS
40	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA FSWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFDIWGQGTILVTSS
41	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA INWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGIANY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFDIWGQGTILVTSS
42	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA INWVRQAPGQGLEWMGGIIPNFGTATY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKAGDIWGQGTILVTSS
43	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA INWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKFELKDAFDIWGQGTILVTSS
44	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA INWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFDEWGQGTILVTSS
45	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA INWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFDIWGQGTILVTAST
46	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA INWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKNELKDAFDIWGQGTILVTSS
47	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA INWVRQAPGQGLEWMGGIIPFLGTANY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGILKDALDIWGQGTILVTSS
48	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA ISWVRQAPGQGLEWMGGIIPVIGIANY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFDIWGQGTILVTSS
49	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA ISWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGFEKDAFDIWGQGTILVTSS
50	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA ISWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTAHY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFDIWGQGTILVTSS
51	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA ISWVRQAPGQGLEWMGGIIPVILGTANY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFISWGQGTILVTSS
52	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA INWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTADY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFDIWGQGTILVTSS
53	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA ISWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKCAFDIWGQGTILVTSS
54	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA INWVRQAPGQGLEWMGGIIPVILGTATY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRKELKDAFDIWGQGTILVTSS
55	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA INWVRQAPGQGLEWMGGIIPVILGAATY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKGELKDAFDIWGQGTILVTSS
56	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA INWVRQAPGQGLEWMGGIIPVIVATANY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRKELKDAFDIWGQGTILVTSS
57	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA INWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGKATY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRKELKDAFDIWGQGTILVTSS
58	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSHAVSWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTATY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLKSELKDAFDIWGQGTILVTSS

[0241]

[0242] [표 4]

경쇄 가변 서열

서열번호	서열
59	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQSYSTPLTFGGGTKVEIK
60	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQWISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQSYSTPLTFGGGTKVEIK
61	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQQISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQSYSTPLTFGGGTKVEIK
62	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCFQSYSTPLTFGGGTKVEIK
63	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQSYSTILTFGGGTKVEIK

[0243]

[0244] 본원의 개시내용은 또한 일부 구현예에서 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 35, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 또는 58의 임의의 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR 및 서열번호 59, 60, 61, 62, 또는 63의 임의의 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR을 포함한다.

[0245] 본원의 개시내용은 또한 일부 구현예에서 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공

하고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 35, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 또는 58의 임의의 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR 및 서열번호 59, 60, 61, 62, 또는 63의 임의의 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR을 포함하고, 상기 중쇄 및 경쇄 CDR 잔기는 캐벳에 따라 넘버링된다.

[0246] 본원의 개시내용은 또한 일부 구현예에서 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 35, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 또는 58의 임의의 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR 및 서열번호 59, 60, 61, 62, 또는 63의 임의의 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR을 포함하고, 상기 중쇄 및 경쇄 CDR 잔기는 초티에 따라 넘버링된다.

[0247] 본원의 개시내용은 또한 일부 구현예에서 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 35, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 또는 58의 임의의 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR 및 서열번호 59, 60, 61, 62, 또는 63의 임의의 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR을 포함하고, 상기 중쇄 및 경쇄 CDR 잔기는 MacCallum에 따라 넘버링된다.

[0248] 본원의 개시내용은 또한 일부 구현예에서 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 35, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 또는 58의 임의의 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR 및 서열번호 59, 60, 61, 62, 또는 63의 임의의 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR을 포함하고, 상기 중쇄 및 경쇄 CDR 잔기는 AbM에 따라 넘버링된다.

[0249] 본원의 개시내용은 또한 일부 구현예에서 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 35, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 또는 58의 임의의 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR 및 서열번호 59, 60, 61, 62, 또는 63의 임의의 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR을 포함하고, 상기 중쇄 및 경쇄 CDR 잔기는 IMGT에 따라 넘버링된다.

[0250] B. PD-1 길항제

[0251] 일부 양상 및 구현예에서, 본원의 개시내용은 항-PD-1 길항제를 제공한다. 일부 구현예에서, 항-PD-1 길항제는 본원에 기재된 임의의 항-PD-1 항체 또는 항원-결합 분자이다. 일부 구현예에서, 항-PD-1 항체 또는 항원-결합 분자는 다중특이적 항원-결합 작제물의 일부가 아니고, 즉, 항-PD-1 항체 또는 항원-결합 분자는 다수의 에피토프에 결합하는 단백질 작제물의 일부가 아니다. 일부 구현예에서, 항-PD-1 항체 또는 항원-결합 단백질은 상이한 항체 또는 항원-결합 부분과 조합하여 다중특이적 항원-결합 작제물을 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1상의 에피토프 및 또 다른 단백질 상의 에피토프에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 다른 단백질 상의 에피토프는 PD-L1 상에 있다.

[0252] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 임의의 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1 길항제를 포함한다. 일부 구현예에서, PD-1 길항제는 “억제성 수용체”이다. 본원에 사용된 바와 같은 “억제성 수용체”는 일반적으로 동족 리간드에 결합된 경우, 중앙 회피를 증진시키는 것으로 공지된 것들과 같은 면역 반응의 저해 또는 억제를 유발하는 면역 관문 분자를 언급한다. 그러나, 본원에 사용된 바와 같은 일부 경우에, “억제성 수용체”는 구체적으로 PD-1을 언급한다.

[0253] PD-1은 아미노산의 보존성 서열 (S/I/V/L)xYxx(I/V/L) (여기서, x는 임의의 아미노산이다)을 포함하는 “면역수용체 티로신-기반 억제 모티프” 또는 “ITIM”을 함유하는 면역 관문 억제성 수용체이다. PD-1 활성이 억제되었는지의 여부를 결정하기 위한 방법은 당업계에 공지되어 있고 당업자에 의해 용이하게 디자인될 수 있다. 상기 검정은 예를 들어, 시험관내 또는 생체내 PD-1의 임의의 하향조절 신호전달 경로(들)의 효과를 시험하는 단계를 포함한다. PD-1이 이의 리간드와 상호작용한 후, ITIM 모티프는 예를 들어, Src 키나제 계열의 효소에 의해 인산화되어 이들이 다른 효소, 예를 들어, 포스포티로신 포스파타제 SHP-1 및 SHP-2, 또는 SHIP로 불리우는 이노시톨-포스파타제를 동원할 수 있게 해준다. 이들 포스파타제는 세포 신호전달에 관여하는 분자의 활성화를 감소시키는 것으로 나타났다. 예를 들어, 문헌(Barrow & Trowsdale (2006) *Eur J Immunol.* 36 (7): 1646-53)을 참조한다. 따라서, PD-1 내에 ITIM 모티프의 인산화 상태는 당업계에 공지된 방법을 사용하여 평가될 수 있다. 또한, 포스포티로신 포스파타제와 같은 하향조절 인자의 존재가 또한 조사될 수 있다. 더욱이, PD-1 활

성 상태에 대한 대용물로서 다운스트림 인자 (예를 들어, PD-1 억제제 억제제 척도로서 - 활성화된 T-세포-NFAT의 핵 인자)의 존재를 검출하는 다양한 세포-기반 검정 및 키트는 당업계에 공지되어 있다. 다른 예에서, 단순한 결합 검정을 사용하여 본원 개시내용의 작제물이 상기 논의된 바와 같이 PD-1 및 이의 리간드로의 결합을 차단할 수 있는지를 결정할 수 있다.

[0254] 따라서, 일부 양상에서, 본원에서는 PD-1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분이 제공된다. 일부 양상에서, PD-1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 다음을 포함한다: (a) (i) 서열번호 70 (FTFX₁X₂YAX₃X₄, 여기서, X₁=S, R, G, 또는 N이고; X₂=D, S, N, A, R, 또는 G이고; X₃= M 또는 L이고; X₄= S, L, 또는 N이다)을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 72 (ARGLDFIVGX₅TGNDY, 여기서 X₅=A, Y, 또는 R이다)를 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (b) (i) 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10(QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역.

[0255] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 73 (FTFSDYAMS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 74 (ARGLDFIVGATGNDY)를 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 73 (FTFSDYAMS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71(SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 74 (ARGLDFIVGATGNDY)를 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb25이다.

[0256] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 73 (FTFSDYAMS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 73 (FTFSDYAMS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71(SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb26이다.

[0257] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 76 (FTFSSYAMS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 76 (FTFSSYAMS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71(SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb27이다.

[0258] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 77 (FTFSSYAML)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 77 (FTFSSYAML)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71(SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb28이다.

[0259] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 78 (FTFSNYALS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 78 (FTFSNYALS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71(SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb29이다.

[0260] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 79 (FTFSAYAMN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 79 (FTFSAYAMN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71(SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb30이다.

- [0261] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 80 (FTFRSYAMS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 80 (FTFRSYAMS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71(SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb31이다.
- [0262] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 81 (FTFGRYAMS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 81 (FTFGRYAMS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71(SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb32이다.
- [0263] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 82 (FTFNSYAMS)를 포함하고, CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 82 (FTFNSYAMS)를 포함하고, CDRH2는 서열번호 71(SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb33이다.
- [0264] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 83 (FTFSNYAMS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 74 (ARGLDFIVGATGNDY)를 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 83 (FTFSNYAMS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71(SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 74 (ARGLDFIVGATGNDY)를 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb34이다.
- [0265] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 84 (FTFSGYAMS)를 포함하고, CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 84 (FTFSGYAMS)를 포함하고, CDRH2는 서열번호 71(SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb35이다.
- [0266] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 86 (FTFSSYAMN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 86 (FTFSSYAMN)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71(SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb36이다.
- [0267] 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 80 (FTFRSYAMS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함한다. 이들 양상 및 본원에 기재된 모든 상기 양상의 일부 구현예에서, CDRH1은 서열번호 80 (FTFRSYAMS)을 포함하고, CDRH2는 서열번호 71(SAISNSGTYTYYA)을 포함하고, CDRH3은 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함하고; CDRL1은 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하고; CDRL2는 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하고; CDRL3은 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 가변 CDR 영역을 갖는 대표적인 항체는 mAb37이다.
- [0268] 각각의 경우에, 특이적 서열이 언급되는 경우, 언급된 서열 (예를 들어, 서열번호 5, 9, 10 또는 71-86)과 적어도 85% (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성) 동일성을 갖는 서열을 포함하는 구현예가 또한 제공된다.
- [0269] 본원의 개시내용은 또한 일부 양상에서, PD-1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하

고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 87-99 중 어느 하나와 적어도 85% 동일한 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한) 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열번호 59와 적어도 85% 동일한 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한) 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 90과 적어도 85% 동일한 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 59와 적어도 85% 동일한 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한) 아미노산 서열을 포함한다. 각각, 표 7은 서열번호 87-99의 중쇄 가변 서열에 대한 서열을 제공하고, 표 4는 서열번호 59의 경쇄 가변 서열을 제공한다. 일부 구현예에서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 87-99 중 어느 하나와 15개 아미노산 이하, 14개 아미노산 이하, 13개 아미노산 이하, 12개 아미노산 이하, 11개 아미노산 이하, 10개 아미노산 이하, 9개 아미노산 이하, 8개 아미노산 이하, 7개 아미노산 이하, 6개 아미노산 이하, 5개 아미노산 이하, 4개 아미노산 이하, 3개 아미노산 이하, 2개 아미노산 이하 또는 1개 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 경쇄 가변 영역은 서열번호 59와 15개 아미노산 이하, 14개 아미노산 이하, 13개 아미노산 이하, 12개 아미노산 이하, 11개 아미노산 이하, 10개 아미노산 이하, 9개 아미노산 이하, 8개 아미노산 이하, 7개 아미노산 이하, 6개 아미노산 이하, 5개 아미노산 이하, 4개 아미노산 이하, 3개 아미노산 이하, 2개 아미노산 이하 또는 1개 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함한다.

[0270] 항체 mAb26-mAb37은 실시예에 기재된 바와 같은 모계 항체 mAb25로부터 유래된 친화성 성숙화된 항체이다. 친화성 성숙화된 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 변경된 것(들)이 없는 모계 항체와 비교하여, 이의 항원에 대한 항체의 친화성을 개선시키는 하나 이상의 변경들 (예를 들어, 하나 이상의 CDR 또는 FR에서)을 갖는 항체 또는 항원-결합 단편이다. 일부 구현예에서, 친화성 성숙화된 항체는 PD-1에 대해 나노몰 또는 피코몰 친화성을 갖는다. 일부 구현예에서, PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 적어도 1×10^{-7} M, 적어도 1×10^{-8} M, 적어도 1×10^{-9} M, 적어도 1×10^{-10} M, 적어도 1×10^{-11} M, 적어도 1×10^{-12} M, 또는 적어도 1×10^{-13} M의 K_D 를 갖는다.

[0271] 표 5 및 6은 사람 PD-1 (“huPD-1”), cyno PD-1 (“cyPD-1”), 또는 뮤린 PD-1 (“muPD-1”)에 대한 mAb25, mAb26, mAb27, mAb28, mAb29, mAb30, mAb31, mAb32, mAb33, mAb34, mAb35, mAb36, 및 mAb37 (즉, mAb25의 친화성 성숙화된 변이체)의 세포 결합 데이터를 제공한다. 사람, cyno, 또는 면역 PD-1은 CHO 세포 상에서 발현되었다. 결합은 EC_{50} 값은 표현되고, 이는 관심 대상의 항원을 외인성으로 발현하는 세포 상의 mAb의 상이한 농도를 적정하여 평가될 수 있다. 형광성 태그된 2차를 mAb 결합을 검출하고 정량하기 위해 사용될 수 있다. 표 5에 나타난 데이터는 그래프패드에서 빌트-인 함수를 사용하는 1:1 결합 모델에 피팅하여 EC_{50} 값을 산출하였다.

[0272] [표 5]

사람 PD-1 에 대한 mAb25 - mAb37 의 결합 친화성

mAb	K _D (nM)	모계 mAb25 대비 배수 개선
	240	
mAb26	10	24
mAb27	2.3	104
mAb28	5.6	43
mAb29	8.6	28
mAb30	3.1	77
mAb31	5.5	44
mAb32	2.1	114
mAb33	7	34
mAb34	7.2	33
mAb35	9	27
mAb36	7.7	31
mAb37	14	17

[0273]

[0274] [표 6]

세포 상에 발현되는 사람, cyno, 및 무린 PD-1 에 대한 mAb25 - mAb37 의 세포 결합

mAb	huPD-1 EC ₅₀ (nM)	모계 대비 배수 개선	cyPD-1 EC ₅₀ (nM)	모계 대비 배수 개선	muPD-1 EC ₅₀ (nM)
mAb25	0.915		8.59		NB
mAb26	3.74	0.2	1.54	5.6	17.9
mAb27	1.75	0.5	1.53	5.6	6.14
mAb28	3.94	0.2	1.48	5.8	0.814
mAb29	1.27	0.7	1.73	5.0	2.14
mAb30	2.77	0.3	2.05	4.2	4.05
mAb31	1.71	0.5	1.9	4.5	1.87
mAb32	1.51	0.6	1.29	6.7	2.8
mAb33	1.04	0.9	1.33	6.5	10.4
mAb34	3.87	0.2	1.33	6.5	20.5
mAb35	1.64	0.6	2.66	3.2	PF
mAb36	1.01	0.9	1.19	7.2	PF
mAb37	0.75	1.2	1.09	7.9	0.942

*NB = 결합 부재; PF =불량한 피팅; CHO 세포 상에 발현되는 사람, cyno, 무린 PD-1

[0275]

[0276] [표 7]

중쇄 항-PD-1 가변 서열

서열번호	서열
87	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISNSGTYTYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGLDFIVGATGNDYWGQGLTVTVSS
88	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISNSGTYTYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGLDFIVGYTGNDYWGQGLTVTVSS
89	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISNSGTYTYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGLDFIVGYTGNDYWGQGLTVTVSS
90	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISNSGTYTYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGLDFIVGYTGNDYWGQGLTVTVSS
91	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISNSGTYTYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGLDFIVGYTGNDYWGQGLTVTVSS
92	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISNSGTYTYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGLDFIVGYTGNDYWGQGLTVTVSS
93	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISNSGTYTYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGLDFIVGYTGNDYWGQGLTVTVSS
94	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISNSGTYTYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGLDFIVGYTGNDYWGQGLTVTVSS
95	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISNSGTYTYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGLDFIVGYTGNDYWGQGLTVTVSS
96	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISNSGTYTYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGLDFIVGATGNDYWGQGLTVTVSS
97	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISNSGTYTYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGLDFIVGRTGNDYWGQGLTVTVSS
98	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISNSGTYTYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGLDFIVGRTGNDYWGQGLTVTVSS
99	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISNSGTYTYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGLDFIVGRTGNDYWGQGLTVTVSS

[0277]

[0278]

본원의 개시내용은 또한 일부 구현예에서 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99의 임의의 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR 및 서열번호 59의 임의의 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR을 포함한다.

[0279]

본원의 개시내용은 또한 일부 구현예에서 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99의 임의의 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR 및 서열번호 59의 임의의 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR을 포함하고, 상기 중쇄 및 경쇄 CDR 잔기는 캐벳에 따라 넘버링된다.

[0280]

본원의 개시내용은 또한 일부 구현예에서 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99의 임의의 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR 및 서열번호 59의 임의의 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR을 포함하고, 상기 중쇄 및 경쇄 CDR 잔기는 초티아에 따라 넘버링된다.

[0281]

본원의 개시내용은 또한 일부 구현예에서 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99의 임의의 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR 및 서열번호 59의 임의의 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR을 포함하고, 상기 중쇄 및 경쇄 CDR 잔기는 MacCallum에 따라 넘버링된다.

[0282]

본원의 개시내용은 또한 일부 구현예에서 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99의 임의의 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR 및 서열번호 59의 임의의 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR을 포함하고, 상기 중쇄 및 경쇄 CDR 잔기는 AbM에 따라 넘버링된다.

[0283]

본원의 개시내용은 또한 일부 구현예에서 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99의 임의의 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR 및 서열번호 59의 임의의 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR을 포함하고, 상기 중쇄 및 경쇄 CDR 잔기는 IMGT에 따라 넘버링된다.

[0284]

C. 다중특이적 항원-결합 작제물

- [0285] 본원의 개시내용은 일부 양상에서, PD-L1과 PD-1의 상호작용, 예를 들어, 종양 세포 상에 발현되는 PD-L1과 T 세포 상에 발현된 PD-1간의 상호작용을 억제함에 의해 종양 세포에 대한 면역 반응을 증진시키기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. PD-L1 또는 PD-1에 특이적으로 또는 선택적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분이 제공된다. 본원에 사용된 바와 같은, 용어 PD-L1 또는 PD-1에, 또는 PD-L1 또는 PD-1 상의 에피토프에 “특이적으로 결합한다”, “특이적인”, “선택적으로 결합한다” 및 “선택적인”은 비-특이적 또는 비-선택적 상호작용과는 측정가능하게 상이한 결합을 의미한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 특이적으로 사람 PD-L1 또는 PD-1 및/또는 마우스 PD-L1 또는 PD-1에 결합한다. 특이적 결합은 예를 들어, 대조군 분자의 결합과 비교하여 분자의 결합을 결정함에 의해 측정될 수 있다. 특이적 결합은 또한 과량의 비-표지된 표적과 같은 표적과 유사한 대조군 분자와의 경쟁에 의해 결정될 수 있다. 상기 경우에, 특이적 결합은 표지된 표적의 프로브로의 결합이 과량의 비-표지된 표적에 의해 경쟁적으로 억제되는 경우로 지적된다.
- [0286] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 임의의 다중특이적 항원-결합 작제물은 적어도 2개의 상이한 수용체 또는 에피토프 (예를 들어, PD-1 및 PD-L1)에 결합하고, 여기서, 다중특이적 항원-결합 작제물에 의해 결합된 상기 2개의 상이한 수용체 또는 에피토프는 동일한 세포의 표면 상에 발현된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 동시에 PD-1 및 PD-L1에 결합하고, 여기서, 상기 PD-1 및 PD-L1은 동일한 세포 표면 상에 발현된다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 임의의 다중특이적 항원-결합 작제물은 적어도 2개의 상이한 수용체 또는 에피토프 (예를 들어, PD-1 및 PD-L1)에 결합하고, 여기서, 다중특이적 항원-결합 작제물에 의해 결합된 상기 2개의 상이한 수용체 또는 에피토프는 2개의 상이한 세포의 표면 상에 발현된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 제1 세포의 표면 상에 발현된 PD-1에 및 제2 세포의 표면상에 발현된 PD-L1에 동시에 결합한다.
- [0287] 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 사람 PD-1에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 무린 PD-1에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 시노물구스 몽키 PD-1에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 사람, 무린 및 시노물구스 몽키 PD-1에 유사한 친화성으로 결합할 수 있다.
- [0288] 일부 양상 및 구현예에서, 본원의 개시내용은 항원-결합의 적어도 2개의 유닛을 포함하는 다중특이적 항원-결합 작제물을 제공하고, 여기서, 항원-결합의 제1 유닛은 PD-1에 결합하고, 항원-결합의 제2 유닛은 PD-1 리간드에 결합한다. 일부 구현예에서, 항원-결합의 제1 유닛은 면역 세포에 의해 발현되는 PD-1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항원-결합의 제2 유닛은 제2 세포에 의해 발현되는 PD-1에 결합한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1과 PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2의 상호작용을 차단한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1과 PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2의 상호작용을 차단한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1에 결합하는 항원-결합의 적어도 2개의 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1에 결합하는 항원-결합의 2개의 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2에 결합하는 항원-결합의 적어도 2개의 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2에 결합하는 항원-결합의 2개의 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 항원-결합의 적어도 4개의 유닛을 포함하고, 여기서, 항원-결합의 2개의 유닛은 PD-1에 결합하고, 항원-결합의 2개의 유닛은 PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2에 결합한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 항원-결합의 4개의 유닛을 포함하고, 여기서, 항원-결합의 2개의 유닛은 PD-1에 결합하고, 항원-결합의 2개의 유닛은 PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2에 결합한다. 일부 구현예에서, 항원-결합의 각각의 유닛은 이의 동족 항원, 즉, PD-1 또는 PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2에 독립적으로 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 세포로부터 PD-1 발현의 상실을 촉진시킨다. 일부 구현예에서, PD-1 발현의 상실은 PD-1 발산(shedding)으로 인한 것이다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 PD-1과 PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2의 상호작용을 차단한다. 일부 구현예에서, 다중 특이적 항원-결합 작제물은 통상의 경쇄를 포함한다. 예를 들어, 항원-결합의 적어도 2개의 유닛은 통상의 경쇄를 포함한다.
- [0289] 일부 구현예에서, 항원-결합의 제1 유닛은 PD-1에 결합하고 다음을 포함한다:
- [0290] (a) (i) 서열번호 70 (FTFX₁X₂YAX₃X₄, 여기서, X₁=S, R, G, 또는 N이고; X₂=D, S, N, A, R, 또는 G이고; X₃= M 또는 L이고; X₄= S, L, 또는 N이다)을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 72 (ARGLDFIVGX₅TGNDY, 여기서 X₅=A, Y, 또는 R이다)를 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가

변 영역; 및

- [0291] (b) (i) 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 10(QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0292] 일부 상기 구현예에서, 항원-결합의 제1 유닛은 PD-1에 결합하고 다음을 포함한다:
- [0293] (a) 서열번호 73 (FTFSDYAMS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 74 (ARGLDFIVGATGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0294] (b) 서열번호 73 (FTFSDYAMS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0295] (c) 서열번호 76 (FTFSSYAMS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0296] (d) 서열번호 77 (FTFSSYAML)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0297] (e) 서열번호 78 (FTFSNYALS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0298] (f) 서열번호 79 (FTFSAYAMN)를 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0299] (g) 서열번호 80 (FTFRSYAMS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0300] (h) 서열번호 81 (FTFGRYAMS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0301] (i) 서열번호 82 (FTFNSYAMS)를 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 75 (ARGLDFIVGYTGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0302] (j) 서열번호 83 (FTFSNYAMS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 74 (ARGLDFIVGATGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0303] (k) 서열번호 84 (FTFSGYAMS)를 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함하는 CDRH3;
- [0304] (l) 서열번호 86 (FTFSSYAMN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2 및 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함하는 CDRH3; 또는
- [0305] (m) 서열번호 80 (FTFRSYAMS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 71 (SAISNSGTYTYYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 85 (ARGLDFIVGRTGNDY)를 포함한다.
- [0306] 일부 구현예에서, 항원-결합의 제1 유닛은 PD-1에 결합하고 다음을 포함한다:
- [0307] (a) 서열번호 87과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0308] (b) 서열번호 88와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0309] (c) 서열번호 89와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0310] (d) 서열번호 90과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0311] (e) 서열번호 91과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0312] (f) 서열번호 92와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0313] (g) 서열번호 93과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0314] (h) 서열번호 94와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0315] (i) 서열번호 95와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;

- [0316] (j) 서열번호 96과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0317] (k) 서열번호 97과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0318] (l) 서열번호 98과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 또는
- [0319] (m) 서열번호 99와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역.
- [0320] 일부 구현예에서, 항원-결합의 제1 유닛은 PD-1에 결합하고 서열번호 59와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0321] 일부 구현예에서, 항원-결합의 제2 유닛은 PD-L2에 결합한다. 일부 구현예에서, 항원-결합의 제2 유닛은 PD-L1에 결합한다. 일부 구현예에서, 항원-결합의 제2 유닛은 PD-L1에 결합하고 다음을 포함한다:
- [0322] a. (i) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1; (ii) 서열번호 2 (GGIIPX₁X₂GX₃ATYA, 여기서, X₁은 V 또는 I 이고; X₂는 F, L, 또는 V이고; X₃은 T 또는 A이다)을 포함하는 CDRH2; 및 (iii) 서열번호 3 (ARLKX₁ELKDAFDI, 여기서, X₁은 G, F, 또는 N이다)을 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0323] b. (i) 서열번호 4 (RASQX₁ISSYLN, 여기서, X₁은 S, W, 또는 Q이다)를 포함하는 CDRL1; (ii) 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 (iii) 서열번호 6 (X₁QSYSTPLT, 여기서, X₁은 Q 또는 F이다)를 포함하는 CDRL3 을 포함하는 경쇄 가변 영역.
- [0324] 일부 상기 구현예에서, 항원-결합의 제2 유닛은 PD-L1에 결합하고 다음을 포함한다:
- [0325] (a) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 7 (GGIIPILGAATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하는 CDRH3;
- [0326] (b) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 7 (GGIIPILGAATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9 (RASQISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0327] (c) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9 (RASQISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0328] (d) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하는 CDRH3;
- [0329] (e) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 12 (RASQWISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0330] (f) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 13 (RASQQISSYLN)을 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0331] (g) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9 (RASQISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0332] (h) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 15 (GGIIPIFGIANYA)를 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하는 CDRH3;
- [0333] (i) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 15 (GGIIPIFGIANYA)를 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9 (RASQISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0334] (j) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 16 (GGIIPNFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 17 (ARLKGEKKGAGDI)을 포함하는 CDRH3;

- [0335] (k) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 16 (GGIIPNFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 17 (ARLKGELKGAGDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0336] (l) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 18 (ARLKFELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3;
- [0337] (m) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 18 (ARLKFELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3, 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0338] (n) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 19 (ARLKGELKDAFDE)를 포함하는 CDRH3;
- [0339] (o) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 19 (ARLKGELKDAFDE)를 포함하는 CDRH3, 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0340] (p) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 20 (ARLKNELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3;
- [0341] (q) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 20 (ARLKNELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3, 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0342] (r) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 21 (GGVIPFLGTANYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 22 (ARLKGILKDALDI)를 포함하는 CDRH3;
- [0343] (s) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 21 (GGVIPFLGTANYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 22 (ARLKGILKDALDI)를 포함하는 CDRH3, 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0344] (t) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 29 (GRIIPIFGTADYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3;
- [0345] (u) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 29 (GRIIPIFGTADYA)를 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3, 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0346] (v) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 31 (GGIIPILGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하는 CDRH3;
- [0347] (w) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 31 (GGIIPILGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하는 CDRH3, 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0348] (x) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 33 (GGIIPIVATANYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하는 CDRH3;
- [0349] (y) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 33 (GGIIPIVATANYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하는 CDRH3, 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0350] (z) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 34 (GGIIPIFGKATYA)를 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하는 CDRH3;
- [0351] (aa) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 34 (GGIIPIFGKATYA)를 포함하는 CDRH2, 서열번호 32 (ARRKGELKDAFDI)를 포함하는 CDRH3, 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;

- [0352] (bb) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 38 (FQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0353] (cc) 서열번호 1 (GTFSSYAIN)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 39 (QQSYSTILT)를 포함하는 CDRL3;
- [0354] (dd) 서열번호 14 (GTFSSYAFS)를 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0355] (ee) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 24 (GGIIPVGIANYA)를 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하는 CDRH3;
- [0356] (ff) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 24 (GGIIPVGIANYA)를 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0357] (gg) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 25 (ARLKGEKDAFDI)를 포함하는 CDRH3;
- [0358] (hh) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 25 (ARLKGEKDAFDI)를 포함하는 CDRH3; 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0359] (ii) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 26 (GRIIPLFGTAHYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하는 CDRH3;
- [0360] (jj) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 26 (GRIIPLFGTAHYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 8 (ARLKGEKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0361] (kk) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 27 (GRINPILGTANYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 28 (ARLKGEKDAFSI)을 포함하는 CDRH3;
- [0362] (ll) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 27 (GRINPILGTANYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 28 (ARLKGEKDAFSI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0363] (mm) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 30 (ARLKGEKCAFDI)을 포함하는 CDRH3;
- [0364] (nn) 서열번호 23 (GTFSSYAIS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 30 (ARLKGEKCAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3;
- [0365] (oo) 서열번호 36 (GPFRSHAVS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 37 (ARLKSELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 또는
- [0366] (pp) 서열번호 36 (GPFRSHAVS)을 포함하는 CDRH1, 서열번호 11 (GGIIPVFGTATYA)을 포함하는 CDRH2, 및 서열번호 37 (ARLKSELKDAFDI)을 포함하는 CDRH3; 서열번호 9 (RASQSISSYLN)를 포함하는 CDRL1; 서열번호 5 (AASSLQS)를 포함하는 CDRL2; 및 서열번호 10 (QQSYSTPLT)을 포함하는 CDRL3.
- [0367] 일부 구현예에서, 항원-결합의 제2 유닛은 PD-L1에 결합하고, 서열번호 35, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 또는 58 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 59, 60, 61, 62, 또는 63 중 어느 하나와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0368] 일부 구현예에서, 항원-결합의 제2 유닛은 PD-L1에 결합하고 다음을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다:

- [0369] (a) 서열 번호 35와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열;
- [0370] (b) 서열 번호 40과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열;
- [0371] (c) 서열 번호 41과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0372] (d) 서열 번호 42와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열;
- [0373] (e) 서열 번호 43과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0374] (f) 서열 번호 44와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0375] (g) 서열 번호 45와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0376] (h) 서열 번호 46과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0377] (i) 서열 번호 47과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0378] (j) 서열 번호 48과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0379] (k) 서열 번호 49와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0380] (l) 서열 번호 50과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0381] (m) 서열 번호 51과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0382] (n) 서열 번호 52와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열;
- [0383] (o) 서열 번호 53과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열;
- [0384] (p) 서열 번호 54와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열;
- [0385] (q) 서열 번호 55와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열;
- [0386] (r) 서열 번호 56과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열,
- [0387] (s) 서열 번호 57과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열; 또는
- [0388] (t) 서열 번호 58과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열.
- [0389] 일부 구현예에서, 항원-결합의 제2 유닛은 PD-L1에 결합하고 다음을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다:
- [0390] (a) 서열 번호 59와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열;
- [0391] (b) 서열 번호 60과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열;
- [0392] (c) 서열 번호 61과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열;
- [0393] (d) 서열 번호 62와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열; 또는
- [0394] (e) 서열 번호 63과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열.
- [0395] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 본원에 기재된 임의의 PD-1 길항제 및 PD-1 리간드, 예를 들어, 본원에 기재된 PD-L1의 임의의 길항제를 포함하는 다중특이적 항원-결합 작제물을 제공한다. 예를 들어, 이특이성 3은 사람 PD-1 및 PD-L1에 특이적으로 결합하는 다중특이적, 4가 항원-결합 작제물이다. 상기 작제물은 항-PD-1 IgG1 항체(mAb28)를 포함하고, 여기서, 상기 항체의 중쇄는 이의 C-말단에 폴리-GGGS (서열번호 120) 링커에 의해 항-BCMA 항체의 Fc 영역에 연결되는, 항-PD-L1 항체 (mAb1)의 중쇄 가변 영역을 추가로 포함하는 융합 단백질이다. 상기 작제물의 항-PD-1 부분 및 항-PD-L1 부분에 대한 경쇄는 동일하다 (서열번호 101). 도 13a에 이의 구조가 도시된 이특이성 3은 서열번호 100에 언급된 중쇄 서열 및 서열번호 101에 언급된 경쇄 서열을 포함한다.
- [0396] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 PD-1 및 PD-L1에 특이적으로 결합하는 다중특이적 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 100 또는 102와 적어도 85% 동일한 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한) 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 영역, 및 서열번호 101 또는 103과 적어도 85% 동일한 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도

93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한) 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 영역을 포함한다.

[0397] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 PD-1 및 PD-L1에 특이적으로 결합하는 다중특이적 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 100과 적어도 85% 동일한 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한) 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 영역, 및 서열번호 101과 적어도 85% 동일한 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한) 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 중쇄 영역은 서열번호 100과 15개 아미노산 이하, 14개 아미노산 이하, 13개 아미노산 이하, 12개 아미노산 이하, 11개 아미노산 이하, 10개 아미노산 이하, 9개 아미노산 이하, 8개 아미노산 이하, 7개 아미노산 이하, 6개 아미노산 이하, 5개 아미노산 이하, 4개 아미노산 이하, 3개 아미노산 이하, 2개 아미노산 이하 또는 1개 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 경쇄 영역은 서열번호 101과 15개 아미노산 이하, 14개 아미노산 이하, 13개 아미노산 이하, 12개 아미노산 이하, 11개 아미노산 이하, 10개 아미노산 이하, 9개 아미노산 이하, 8개 아미노산 이하, 7개 아미노산 이하, 6개 아미노산 이하, 5개 아미노산 이하, 4개 아미노산 이하, 3개 아미노산 이하, 2개 아미노산 이하 또는 1개 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함한다.

[0398] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 PD-1 및 PD-L1에 특이적으로 결합하는 다중특이적 항체 또는 이의 항원-결합 부분을 제공하고, 여기서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 서열번호 102와 적어도 85% 동일한 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한) 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 영역, 및 서열번호 103과 적어도 85% 동일한 (예를 들어, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한) 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 중쇄 영역은 서열번호 102와 15개 아미노산 이하, 14개 아미노산 이하, 13개 아미노산 이하, 12개 아미노산 이하, 11개 아미노산 이하, 10개 아미노산 이하, 9개 아미노산 이하, 8개 아미노산 이하, 7개 아미노산 이하, 6개 아미노산 이하, 5개 아미노산 이하, 4개 아미노산 이하, 3개 아미노산 이하, 2개 아미노산 이하 또는 1개 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 경쇄 영역은 서열번호 103과 15개 아미노산 이하, 14개 아미노산 이하, 13개 아미노산 이하, 12개 아미노산 이하, 11개 아미노산 이하, 10개 아미노산 이하, 9개 아미노산 이하, 8개 아미노산 이하, 7개 아미노산 이하, 6개 아미노산 이하, 5개 아미노산 이하, 4개 아미노산 이하, 3개 아미노산 이하, 2개 아미노산 이하 또는 1개 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함한다.

[0399] 또한 본원에서는 일부 양상 및 구현예에서 항원-결합의 4개 유닛을 포함하는 다중특이적 항원-결합 작제물이고, 여기서, 항원-결합의 2개 유닛은 PD-1에 결합하고, 항원-결합의 2개 유닛은 PD-L1에 결합하고, 상기 작제물은 서열번호 100 또는 102의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 101 또는 103의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 포함한다.

[0400] 또한 본원에서는 일부 양상 및 구현예에서 항원-결합의 4개 유닛을 포함하는 다중특이적 항원-결합 작제물이고, 여기서, 항원-결합의 2개 유닛은 PD-1에 결합하고, 항원-결합의 2개 유닛은 PD-L1에 결합하고, 상기 작제물은 서열번호 100의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 101의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 포함한다.

[0401] 또한 본원에서는 일부 양상 및 구현예에서 항원-결합의 4개 유닛을 포함하는 다중특이적 항원-결합 작제물이 제공되고, 여기서, 항원-결합의 2개 유닛은 PD-1에 결합하고, 항원-결합의 2개 유닛은 PD-L1에 결합하고, 상기 작제물은 서열번호 102의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 중쇄 아미노산 서열, 및 서열번호 103의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 포함한다.

[0402] [표 8]

다중특이적 중쇄 서열

서열번호	서열
100	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMLWVRQAPGKGLWVSAISNGSYTYTYA DSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRADTAVYYCARGLDFIVGYTGNDYWGQGLTVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY RVVSVLTVLIHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHLEHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSVQLVQSGAEVKKPGSSV KVSCKASGGTFSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPILGAATYAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDATAVYYCARLKGELKDAFDIWGGGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
102	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMLWVRQAPGKGLWVSAISNGSYTYTYA DSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRADTAVYYCARGLDFIVGYTGNDYWGQGLTVTVSS AKTTPPSVYPLAPGSAATNSMVTLGCLVKGYFPEPTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLESDL YTLSSSVTVPSPPRPSETVTCNVAHPASSTKVDKIIIPRDCGCKPCICTVPEVSSVIFPP KPKDVLITLTPKVTCTVVDISKDDPEVQSFVVDVEVHTAQTQPREQFASTFRSVSEL PIMHGDWLNKGEFKCRVNSAFAPIEKTISKTKGRPKAPQVYITPPKQMAKDKVSLTC MITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMNINGSYFYYSKLVQKSNWEAGNTFTCSVL HEGLHNHHTKSLSHSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGGTFSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPILGAATYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSS LRSEDATAVYYCARLKGELKDAFDIWGGGLTVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAATNSMVTLG CLVKGYFPEPTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLESDLYTLSSSVTVPSPPRPSETVTCNVAHP ASSTKVDKIIIPRDCG

[0403]

[0404] [표 9]

다중특이적 경쇄 서열

서열번호	서열
101	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSITLTLTK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
103	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIKRADAAPTYSIFPPSS EQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWTDQDSKDSYSSMSSLTTLTK DEYERHNSYTCETHKTSTSPIVKSFNRNEC

[0405]

[0406] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "다중특이적 항원-결합 작제물은 이특이적, 삼특이적 또는 다중특이적 항원-결합 작제물 및 이의 항원-결합 부분 또는 단편을 언급한다. 다중특이적 항원-결합 작제물은 단일 다기능성 폴리펩타이드일 수 있거나, 이것은 공유적으로 또는 비공유적으로 서로 연합된 2개 이상의 분자 (예를 들어, 폴리펩타이드 및/또는 압타머)의 다량체 복합체일 수 있다. 용어 "다중특이적 항원-결합 작제물"은 또 다른 기능성 분자, 예를 들어, 또 다른 펩타이드, 단백질 및/또는 압타머에 연결될 수 있거나 이와 동시 발현될 수 있는 항체 (또는 이의 항원-결합 단편)를 포함한다. 예를 들어, 항체 또는 이의 단편은 하나 이상의 다른 분자 실체, 예를 들어, 단백질 또는 이의 단편에 기능적으로 연결되어 (예를 들어, 화학적 커플링, 유전학적 융합, 비-공유 연합 또는 기타) 제2 결합 특이성을 갖는 이특이적 또는 다중특이적 항원-결합 분자를 생성할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "다중특이적 항원-결합 작제물"은 또한 이특이적, 삼특이적 또는 다중특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 또 다른 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 기능적으로 연결되어 제2 결합 특이성을 갖는 이특이적 항체를 생성한다. 본 발명의 이특이적 및 다중특이적 항체는 본원의 다른 곳에 기재되어 있다.

[0407] 본원에 사용된 바와 같은 항원-결합 "아암"은 항원에 결합하는 작제물의 영역을 형성하는 다중특이적 항원-결합 작제물의 유닛, 도메인, 영역 등을 언급한다. 따라서, "제1 아암"은 작제물의 "제2 아암"으로부터 다중특이적 항원-결합 작제물의 별도의 결합 영역을 형성하고, 각각의 아암은 항원 결합 유닛을 형성한다. 일반적으로, 하나의 "아암" (제1 아암)은 이의 항원 결합 또는 항원 특이성에서 다른 "아암" (제2 아암)과 구분된다. 따라서, 이특이성 2가 항체의 예에서, 항체의 하나의 아암은 항원 A에 결합하고, 항체의 다른 아암은 항원

B에 결합한다. 일부 구현예에서, 이특이성 2가 항체의 예에서, 항체의 하나의 아암은 항원 A에 결합하고, 상기 항체의 다른 아암은 항원 B 또는 C에 결합한다(예를 들어, 구조의 유사성으로 인해 PD-L1 및 PD-L2와 같은 2개의 항원과 교차 반응한다). 예를 들어, 미국 특허 제9,845,356호를 참조한다. 유사하게, 4가 이특이적 항체의 예에서(예를 들어, 2개의 상이한 항체를 연결함에 의해 형성된), 하나의 “아암”은 항원 A (2가 항체의 2개의 결합 부위가 항원 A에 결합하는 경우라도)에 결합하는 항체의 영역을 언급하고 “다른 아암”은 항원 B (2가 항체의 2개의 결합 부위가 항원 B에 결합하는 경우라도)에 결합하는 항체의 영역을 언급한다. 일부 구현예에서, 4가 이특이적 항체의 예에서(예를 들어, 2개의 상이한 항체를 연결함에 의해 형성된), 하나의 “아암”은 항원 A (2가 항체의 2개의 결합 부위가 항원 A에 결합하는 경우라도)에 결합하는 항체의 영역을 언급하고 “다른 아암”은 항원 B 또는 C(2가 항체의 2개의 결합 부위가 항원 B 또는 C에 결합하는 경우라도)에 결합하는 항체의 영역을 언급한다. 예를 들어, 미국 특허 제9,845,356호를 참조한다. 당업자에게 자명한 바와 같이, “제1” 또는 “제2”는 상호교환적으로 사용될 수 있다.

[0408] 항원-결합 작제물 또는 단백질 또는 항원-결합 아암을 기재하기 위해 사용되는 경우 용어 “결합가”는 상기 상이한 인지 또는 결합 부위가 동일한 에피토프에 결합하는지에 상관 없이 항원-결합 작제물 또는 단백질에서 인지 (결합) 부위의 수를 언급한다. 각각의 인지 부위는 특이적으로 인지하고, 따라서 항원 상의 하나의 에피토프 (결합 부위)에 결합할 수 있다. 항원-결합 단백질이 하나 초과개의 인지 부위를 포함하는 경우 (예를 들어, 항원-결합 단백질이 이의 가변 영역에 2개의 인지 부위를 갖는 IgG인 경우), 각각의 인지 부위는 동일한 항원 상에 동일한 에피토프 또는 동일하거나 상이한 항원 상에 있던 상관 없이 상이한 에피토프를 특이적으로 인지할 수 있다. 다가는 결합가, 즉, 항원-결합 아암 또는 작제물과 적절한 항원 또는 표적 수용체 간의 결합 강도를 증가시킬 수 있다. 결합가는 항원-결합 유닛 상에 에피토프 또는 항원 결정인자와 이의 결합 부위 간의 친화성, 및 항원-결합 유닛상에 존재하는 적절한 결합 부위의 실제 수 둘다와 관련된다.

[0409] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 임의의 다중특이적 항원-결합 작제물은 다가 (예를 들어, 2가) 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하고, 여기서, 적어도 2가는 PD-1에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 임의의 다중특이적 항원-결합 작제물은 다가 (예를 들어, 2가) 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하고, 여기서, 적어도 2가는 PD-1 리간드 (예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2)에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 임의의 다중특이적 항원-결합 작제물은 다가 (예를 들어, 2가) 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하고, 여기서, 적어도 2가는 PD-L1에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 임의의 다중특이적 항원-결합 작제물은 제1의 다가 (예를 들어, 2가) 항체 또는 항원-결합 단편 및 제2의 다가 (예를 들어, 2가) 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하고, 여기서, 제1 다가 항체 또는 항원-결합 단편의 적어도 2가는 특이적으로 PD-1에 결합하고, 제2 다가 항체 또는 항원-결합 단편의 적어도 2가는 PD-L1에 특이적으로 PD-L1에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 임의의 다중특이적 항원-결합 단편은 4가 작제물이고, 여기서, 4가 작제물은 제1의 2가 항체 또는 항원-결합 단편 및 제2의 2가 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하고, 여기서, 제1의 2가 항체 또는 항원-결합 단편의 2개의 가(valency)는 PD-1상의 동일한 에피토프에 특이적이고 제2의 2가 항체 또는 항원-결합 단편의 2개의 가는 PD-L1 상의 동일한 에피토프에 특이적이다. 상기 4가 작제물의 일부 구현예에서, 제1 및 제2 2가 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 부분은 동일한 아미노산 서열을 갖는 경쇄를 사용한다. 다른 말로, 4가 작제물은 통상의 경쇄를 포함한다. 예를 들어, 경쇄는 서열번호 101 또는 서열번호 103의 서열을 갖는다.

[0410] 일부 구현예에서, 제1 아암은 PD-1의 길항제이다. 일부 구현예에서, 제2 아암은 PD-1 리간드 - 예를 들어, PD-L1 및/또는 PD-L2의 길항제이다. 일부 구현예에서, 제1 아암은 PD-1의 길항제이고, 제2 아암은 동족 PD-1 리간드 - 예를 들어, PD-L1 및/또는 PD-L2의 길항제이다.

[0411] 항원-결합 아암의 생물학적 활성을 언급하기 위해 사용되는 경우, 용어 “길항제”, “길항한다” 및 “억제한다”는 항원-결합 아암이 각각의 세포 상의 이의 표적 (예를 들어, PD-1)에 결합하고 부분적으로 또는 완전하게 PD-1을 통해 생물학적 반응을 차단하고, 억제하고/하거나 생물학적 반응을 감소시킴을 지적한다. 일부 구현예에서, 길항제의 존재하에 억제는 용량-의존성 방식으로 관찰된다. 일부 구현예에서, 측정된 신호(예를 들어, 생물학적 활성)는 상응하는 조건하에 음성 대조군과 함께 측정된 신호 보다 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 100% 낮다. 또한, 본원에 기재된 것은 본원 개시 내용의 방법에 사용하기 위해 적합한 길항제를 종정하는 방법이다. 예를 들어, 이들 방법은 효소-결합된 면역흡착 검정 (ELISA), Forte Bio© 시스템 및 방사면역검정 (RIA)과 같은 결합 검정을 포함하지만 이에 제한되지

않는다. 이들 검정은 목적하는 관심 대상의 폴리펩타이드 (예를 들어, PD-1 또는 이의 리간드)에 결합하는 길항제의 능력을 결정하고 따라서, 관심 대상의 폴리펩타이드의 활성을 억제하거나, 중화시키거나 차단하는 길항제의 능력을 지적한다. 길항제의 효능, 예를 들어, 길항제가 폴리펩타이드의 기능을 억제하는 능력은 또한 기능성 검정을 사용하여 결정될 수 있다. 예를 들어, 기능성 검정은 폴리펩타이드를 후보 길항제 분자와 접촉시키는 단계 및 정상적으로 폴리펩타이드와 연관된 하나 이상의 생물학적 활성에서 검출가능한 변화를 측정하는 단계를 포함할 수 있다. 길항제의 효능은 일반적으로 이의 IC_{50} 값 (효능제 반응의 50%를 억제하는데 요구되는 농도)에 의해 정의된다. IC_{50} 값이 보다 낮을 수록 길항제의 효능을 보다 커지고 최대 생물학적 반응을 억제하는데 요구되는 농도는 보다 낮다.

[0412] 일부 구현예에서, 적어도 하나의 항원-결합 아암은 적어도 1×10^{-7} M, 적어도 1×10^{-8} M, 적어도 1×10^{-9} M, 적어도 1×10^{-10} M, 적어도 1×10^{-11} M, 적어도 1×10^{-12} M, 또는 적어도 1×10^{-13} M의 K_D 를 갖는다. 일부 구현예에서, 항원-결합 아암 둘다는 동일하거나 유사한 K_D 를 갖는다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 “ K_D ” (M)는 특정 항원-결합 아암/항원 상호작용의 해리 평형 상수를 언급한다. $K_D = k_d/k_a$. 본원에 사용된 바와 같은 용어 $K_d(\text{sec}^{-1})$ 는 특정 항원-결합 아암/항원 상호작용의 해리 속도 상수를 언급한다. 상기 값은 또한 k_{off} 값으로 언급된다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 “ K_a ” ($M^{-1} \times \text{sec}^{-1}$)는 특정 항원-결합 아암/항원 상호작용의 결합 속도 상수를 언급한다. 상기 값은 또한 k_{on} 값으로 언급된다.

[0413] 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물의 하나의 아암(예를 들어, 제1 아암)의 이의 표적으로의 결합은 다른 아암 (예를 들어, 제2 아암)의 이의 표적으로의 결합을 차단하지 않는다. 일부 구현예에서, 하나의 아암의 결합은 입체적으로 제2 아암이 이의 표적으로 결합하는 것을 방해하지 않는다. 예를 들어, 제1 아암의 PD-1 으로의 결합시, 제2 아암은 자유롭게 PD-1의 리간드 (예를 들어, PD-L1 및/또는 PD-L2)에 결합한다. 따라서, 일부 구현예에서, 제1 아암 및 제2 아암은 이들 각각의 표적에 결합하고 아암 둘다는 동시에 결합된 상태로 있다.

[0414] 일부 구현예에서, 제1 아암 및 제2 아암의 이들의 각각의 표적으로의 결합은 면역 세포와 제2 세포를 함께 브릿징하고, 상기 2개의 세포를 근접한 상태로 있게 한다. 본원에 사용된 바와 같이, “브릿지”는 2개의 세포 유형 (예를 들어, PD-1을 발현하는 하나의 면역 세포 및 이의 리간드-PD-L1을 발현하는 제2 세포)의 연결을 언급하거나 2개의 세포를 함께 근접한 상태로 있게 하고, 상기 2개의 세포는 물리적 접촉 상태로 있을 필요는 없다. 따라서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 2개의 세포에 대한 커넥터 (예를 들어, 브릿지)로서 작용하고, 각각의 하나는 PD-1 또는 이의 리간드 중 어느 하나를 발현한다.

[0415] 2개의 세포가 본 발명의 작제물에 의해 함께 브릿지되거나 연결되는지의 여부를 결정하기 위한 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 면역 세포 및 제2 세포의 브릿징은 예를 들어, 유동 세포측정, FRET, 면역침전, 현미경 또는 형광성 플레이트 판독기에 의해 결정된다.

[0416] 일부 구현예에서, 다중특이적 작제물의 제1 아암 및 제2 아암의 이들 각각의 표적으로의 결합은 엑토도메인의 하향 조절 및/또는 발산 및/또는 표적, 예를 들어, PD-1의 분해를 유도한다. 본원에 사용된 바와 같은 “하향 조절”은 세포가 세포 성분, 예를 들어, RNA 또는 단백질의 양을 감소시키는 공정을 언급한다. 세포-표면 단백질 수용체의 경우에, 하향 조절은 본원에 기재된 리간드 또는 임의의 작제물로의 결합의 결과로서 수용체의 내재화를 통해 일어날 수 있다. 발산 또는 엑토도메인 발산은 세포 표면 단백질이 단백질용해적으로 절단되어 이들의 엑토도메인의 세포외 환경으로의 방출을 유도하는 공정을 언급한다. 엑토도메인 발산을 조절하는 쉐다제의 비제한적인 예는 디스인티그린 및 메탈로프로테이나제 (ADAM) 계열의 구성원, 예를 들어, ADAM8, ADAM9, ADAM10, ADAM12, ADAM15, ADAM17, and ADAM28, 및 매트릭스 메탈로프로테이나제 (MMP), 예를 들어, MMP2, MMP3, MMP7, MMP9, 및 MMP14의 구성원을 포함한다. 세포질 막 및 절단 부위 영역의 구조로부터의 거리가 엑토도메인 발산에서 특이적 서열 보다 더 중요한 것으로 사료된다. 단백질 분해 또는 단백질용해는 프로테아제로 불리우는 단백질용해 효소에 의한 촉매를 통해 또는 예를 들어, 매우 낮은 또는 매우 높은 pH에서 비효소적으로 단백질에서 하나 이상의 펩타이드 결합의 가수분해를 유도하는 공정 세트를 언급한다. 진행 세포에서, 2개의 주요 경로—유비퀴틴-프로테아좀 경로 및 리소좀 단백질용해는 단백질 분해를 매개한다. 표적 수용체가 본원에 기재된 다중특이적 작제물에 의해 하향조절되고/되거나 발산되고/되거나 분해되는지의 여부를 결정하기 위한 방법은 당업계에 공지되어 있고 실시예에 기재되어 있고, 예를 들어, 도 12a-12c를 참조하고; 예를 들어, 유동 세포측

정, 웨스턴 블롯팅, 면역침전, 현미경 또는 형광성 플레이트 판독기가 있다.

[0417] 본원에 기재된 바와 같은 본 발명의 작제물은 PD-1을 발현하는 면역 세포, 및 이의 리간드를 발현하는 제2 세포, 예를 들어, 제2 면역 세포, 및/또는 암 또는 종양 세포를 브릿징할 수 있다. 당업자가 인지하는 바와 같이, 면역 세포의 유형은 치료될 질환에 의존하고; 면역 세포의 특정 유형은 고려 중에 있는 장애에 의존하여 용이하게 결정될 수 있다. 일부 구현예에서, 면역 세포는 T 세포, 예를 들어, 조절 T 세포 (a.k.a. 서프레서 T 세포)이고, 이는 CD8⁺ T 세포 및 CD4⁺ T 세포 및 서브타입, 예를 들어, CD4⁺FOXP3⁺ T_{reg} 세포, CD4⁺FOXP3⁻ T_{reg} 세포, Tr1 세포, Th3 세포, 및 T_{reg}17 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역 세포는 천연 킬러 (NK) 세포이다. 일부 구현예에서, 면역 세포는 B 세포이다. 일부 구현예에서, 면역 세포는 대식세포이다.

[0418] 유사하게, 제2 세포의 유형은 고려 중에 있는 장애에 의존한다. 일부 구현예에서, 제2 세포 (PD-1 리간드를 발현하는 세포)는 제2 면역 세포, 예를 들어, 조절 면역 세포이다. 일부 구현예에서, 조절 면역 세포는 T 세포, B 세포, 대식세포 및 골수-유래된 서프레서 세포, 수지상 세포 또는 간엽 기질 세포 중 임의의 하나 이상이다. 일부 구현예에서, 조절 면역 세포는 조절 T 세포, 예를 들어, CD8⁺ T 세포 또는 CD4⁺ T 세포이다.

[0419] 일부 구현예에서, 제2 세포는 종양 세포이다. 본원에 사용된 바와 같은 “종양 세포”는 때로는 “암 세포”와 상호교환적으로 사용될 뿐만 아니라 정상 세포와 비교하여 증가된 증식을 나타내는 비-악성 종양 (비-암성) 세포를 포괄한다. 일부 구현예에서, 종양 세포는 면역 세포에 의해 발현되는 PD-1과 제2 세포 상에 발현되는 이의 리간드 (예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2) 간의 상호작용을 차단하여 면역 세포와 종양 세포를 브릿징함에 의해 치료될 수 있는 암이다. 일부 구현예에서, 종양 세포는 혈액학적 암, 림프종, 골수종, 백혈병, 신경학적 암, 흑색종, 유방암, 전립선암, 결장직장암, 폐암, 두경부암, 위장암, 간암, 췌장암, 비뇨생식기암, 골암, 신장암 및 혈관암으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 종양 세포는 카포시 육종, 백혈병, 급성 림프구 백혈병, 급성 골수구성 백혈병, 골수아세포 전골수구 골수단핵구 단핵구 적백혈병, 만성 백혈병, 만성 골수구성 (과립구성) 백혈병, 만성 림프구 백혈병, 맨틀 세포 림프종, 1차 중추신경계 림프종, 버킷 림프종 및 변연부 B 세포 림프종, 적혈구증가증 베라 림프종, 호지킨 질환, 비-호지킨 질환, 다중 골수종, 발덴스트롬 거대글로빈혈증, 중쇄 질환, 고형 종양, 육종, 및 암종, 섬유육종, 점액육종, 지질육종, 연골육종, 골형성 육종, 골육종, 척색종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피육종, 활액종, 중피종, 어빙 종양, 평활근육종, 횡문근육종, 결장 육종, 결장직장 암종, 췌장암, 유방암, 난소암, 전립선암, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암종, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두 암종, 유두 선암종, 낭포 암종, 수질 암종, 기관지 암종, 신장 세포 암종, 간종, 담관 암종, 용모 암종, 정상피종, 배아암종, 빌름 종양, 자궁경부암, 자궁암, 고환 종양, 폐 암종, 소세포 폐 암종, 비-소 세포 폐 암종, 방광 암종, 상피 암종, 신경교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 뇌실막세포종, 송과체종, 혈관아세포종, 청신경종, 편지교종, 수막종, 흑색종, 신경모세포종, 망막모세포종, 비인두암종, 식도 암종, 기저 세포 암종, 담관암, 방광암, 골암, 뇌 및 중추신경계(CNS) 암, 자궁경부암, 용모암종, 결장직장암, 연결 조직암, 소화계암, 자궁내막암, 식도암, 안암, 두경부암, 위암, 상피내 신생물, 콩팥암, 후두암, 간암, 폐암 (소세포, 대세포), 흑색종, 신경모세포종; 구강암(예를 들어, 입술, 혀, 입 및 인두), 난소암, 췌장암, 망막모세포종, 횡문근육종, 직장암; 호흡기계암, 육종, 피부 암, 위암, 고환암, 갑상선암, 자궁암 및 비뇨기계암으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0420] 본원에 기재된 바와 같이, 본 발명의 다중특이적 항원-결합 작제물은 이특이적, 삼특이적, 사특이적, 또는 다중특이적 항체 (면역글로불린) 또는 이의 항원-결합 부분 또는 단편을 포함한다.

[0421] 용어 “면역글로불린”은 일반적으로 2개 쌍의 폴리펩타이드: 1개 쌍의 경(L)쇄 및 1개 쌍의 중(H)쇄를 포함하는 구조적 관련 단백질 부류를 언급한다. “온전한 면역글로불린”에서, 이들 쇄의 모두 4개는 디설파이드 결합에 의해 상호 연결되어 있다. 면역글로불린의 구조는 널리 특징 분석되었다. 예를 들어, 문헌(Paul, *Fundamental Immunology* 7th ed., Ch. 5 (2013) Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA)을 참조한다. 간략하게, 각각의 중쇄는 전형적으로 중쇄 가변 영역 (V_H) 및 중쇄 불변 영역 (C_H)을 포함한다. 중쇄 불변 영역은 전형적으로 3개의 도메인 C_{H1}, C_{H2}, 및 C_{H3}을 포함한다. 각각의 경쇄는 전형적으로 경쇄 가변 영역 (V_L) 및 경쇄 불변 영역을 포함한다. 경쇄 불변 영역은 전형적으로 C_L로 약칭되는 하나의 도메인을 포함한다. 용어 “면역글로불린” (Ig)은 때로는 본원에서의 용어 “항체”와 상호교환적으로 사용된다.

[0422] 용어 “항체”는 면역글로불린 분자 유형을 기재하고 본원에서는 광범위한 의미로 사용된다. 항체는 구체적으로 본원에 기재된 바와 같이 온전한 항체 (예를 들어, 온전한 면역글로불린), 및 항체 단편을 포함한다. 따라서, “항체”는 온전한 항체, 및 이의 항원-결합 단편을 언급할 수 있다. 항체는 적어도 하나의 항원-결합 도

메인을 포함한다. 항원-결합 도메인의 하나의 예는 V_H - V_L 이량체에 의해 형성된 항원 결합 도메인이다. 항체는 이들이 특이적으로 결합하는 항원에 의해 기술될 수 있다. 예를 들어, 항-PD-1 항체로서도 언급되는 PD-1 항체는 억제성 수용체 PD-1에 특이적으로 결합하는 항체이다.

- [0423] V_H 및 V_L 영역은 추가로 또한 보다 보존된 영역과 함께 상호 분산된 초가변성 영역 (또한 상보성 결정 영역 (CDR)로 불리우는 초가변 영역(HVR))으로 세분될 수 있다. 보다 보존된 영역은 골격 영역 (FR)으로 불리운다. 각각의 V_H 및 V_L 은 일반적으로 하기의 순서 (N-말단에서 C-말단으로)로 정렬된 3개의 CDR 및 4개의 Fr을 포함한다: FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4. CDR은 항원 결합에 관여하고 항체에 대한 항원 특이성 및 결합 친화성을 부여한다. 이의 전문이 참조로 인용되는 문헌(Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest* 5th ed. (1991) Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD)을 참조한다.
- [0424] 척추동물 종으로부터의 경쇄는 불변 도메인의 서열을 기준으로 카파 및 람다로 불리우는 2개 유형 중 하나에 할당될 수 있다.
- [0425] 척추동물 종으로부터의 중쇄는 5개의 상이한 부류 (또는 이소타입) 중 하나에 할당될 수 있다: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM. 이들 부류는 또한 각각 α , δ , ϵ , γ , 및 μ 로 지정된다. IgG 및 IgA 부류는 추가로 서열 및 기능에서의 차이를 기준으로 서브클래스로 세분된다. 사람은 하기의 서브클래스를 발현한다: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, 및 IgA2.
- [0426] 목적하는 표적에 대한 항체를 생성하고 스크리닝하는 방법은 당업계에 널리 공지되어 있다. 본원에 기재된 바와 같이, 항원-결합 단편을 생성하는 것 뿐만 아니라 증진된 성질(예를 들어, 증진된 친화성, 키메라화, 사람화)에 대해 항체를 추가로 변형시키는 방법은 또한 당업계에 널리 공지되어 있다.
- [0427] 용어 “키메라 항체”는 중쇄 및/또는 경쇄의 성분이 복수의 공급원 또는 종으로부터 유래하고 나머지 중쇄 및/또는 경쇄가 상이한 공급원 또는 종으로부터 유래하는 항체를 언급한다.
- [0428] 비-사람 항체의 “사람화된” 형태는 비-사람 항체로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 항체이다. 사람화된 항체는 일반적으로 하나 이상의 CDR 기원의 잔기들이 비-사람 항체 (공여자 항체)의 하나 이상의 CDR 기원의 잔기들로 대체된 사₁과 번역글로불린 (수용자 항체)이다. 공여자 항체는 임의의 적합한 비-사람 항체, 예를 들어, 목적하는 특이성, 친화성 또는 생물학적 효과를 갖는 마우스, 래트, 토끼, 닭 또는 비-사람 영장류 항체일 수 있다. 일부 경우에, 수용자 항체의 선택된 프레임워크 영역 잔기들은 공여자 항체 기원의 상응하는 프레임워크 영역 잔기들로 대체된다. 사람화된 항체는 또한 수용자 항체 또는 공여자 항체에서 발견되지 않는 잔기들을 포함할 수 있다. 상기 변형은 항체 기능을 추가로 개선하기 위해 만들어질 수 있다. 추가의 세부 사항에 대해서는, 문헌(Jones et al., (1986) *Nature*, 321:522-525; Riechmann et al., (1988) *Nature*, 332:323-329; and Presta, (1992) *Curr. Op. Struct. Biol.*, 2:593-596)을 참조하고, 이들 각각은 이들의 전문이 본원에 참조로 인용된다.
- [0429] “사람 항체”는 사람 항체 레퍼토리 또는 사람 항체-암호화 서열 (예를 들어, 사람 공급원으로부터 수득되거나 드노보 디자인된)을 활용하는, 사람 또는 사람 세포에 의해 생성되거나 비-사람 공급원으로부터 유래된 항체의 서열에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 항체이다. 사람 항체는 구체적으로 사람화된 항체를 배제한다.
- [0430] 일부 구현예에서, 디아바디, 및 단일쇄 분자, 및 항체의 항원-결합 단편(예를 들어, Fab, F(ab')₂, 및 Fv)을 포함한다. 예를 들어, 항체 분자는 중(H)쇄 가변 도메인 서열(본원에서 VH로서 약칭됨), 및 경(L)쇄 가변 도메인 서열 (본원에서 VL로서 약칭됨)을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항체 분자는 중쇄 및 경쇄 (절반 항체로서 언급되는)를 포함하거나 이들로 이루어진다. 또 다른 예에서, 항체 분자는 2개 중(H)쇄 가변 도메인 서열 및 2개의 경(L)쇄 가변 도메인 서열을 포함하여, 2개의 항원 결합 부위, 예를 들어, Fab, Fab', F(ab')₂, Fc, Fd, Fd', Fv, 단일쇄 항체 (예를 들어, scFv), 단일 가변 도메인 항체, 디아바디(Dab) (2가 및 이특이적), 및 키메라 (예를 들어, 사람화된) 항체를 형성할 수 있고, 이들은 전체 항체 또는 재조합 DNA 기술을 사용하여 드노보 합성된 것들의 변형에 의해 생성될 수 있다. 이들 기능성 항체 단편은 이들의 각각의 항원과 선택적으로 결합하는 능력을 보유한다. 항체 및 항체 단편은 임의의 부류의 항체로부터 기원할 수 있고, 이들은 IgG, IgA, IgM, IgD, 및 IgE를 포함하지만 이에 제한되지 않고 항체의 임의의 서브클래스 (예를 들어, IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4)로부터 기원할 수 있다. 항체 분자의 제조는 모노클로날 또는 폴리클로날일 수 있다. 항체 분자는 또한 사람, 사람화된, CDR-이식된, 또는 시험관내 생성된 항체일 수 있다. 항체는 예를 들어, IgG1,

IgG2, IgG3, 또는 IgG4로부터 선택된 중쇄 불변 영역을 가질 수 있다. 항체는 또한 예를 들어, 카파 또는 람다로부터 선택된 경쇄를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 항체는 서열번호 64 (ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK)와 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 IgG1 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체는 서열번호 68 (ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESK YGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVFQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSLRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK)과 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 IgG4 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체는 서열번호 69 (ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESK YGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVFQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSLRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK)와 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 IgG4 중쇄 불변 영역을 포함한다.

[0431] 항체 분자의 항원-결합 부분 또는 단편은 당업계에서 널리 공지되어 있고, 예를 들어, 다음을 포함한다: (i) VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 이루어진 1가 단편인 Fab 단편; (ii) 힌지 영역에서 디설파이드 브릿지에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인 F(ab')₂; (iii) VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; (iv) 항체의 단일 아암의 VL 및 VH 도메인으로 이루어진 Fv 단편, (v) VH 도메인으로 이루어진 디아바디(dAb) 단편; (vi) 낙타 또는 낙타화된 가변 도메인; (vii) 단일쇄 Fv (scFv)(문헌참조: Bird et al. (1988) *Science* 242:423-426; and Huston et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883)); (viii) 단일 도메인 항체. 이들 항체 단편은 당업자에게 공지된 통상적인 기술을 사용하여 획득되고 상기 단편은 온전한 항체와 동일한 방식으로 활용을 위해 스크리닝된다.

[0432] 항체 분자는 또한 단일 도메인 항체일 수 있다. 단일 도메인 항체는 이의 상보성 결정 영역이 단일 도메인 폴리펩타이드의 일부인 항체를 포함할 수 있다. 이의 예는 중쇄 항체, 천연적으로 경쇄가 없는 항체, 통상적인 4-쇄 항체로부터 유래된 단일 도메인 항체, 가공된 항체 및 항체로부터 유래된 것들 이외의 단일 도메인 스캐폴드를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 단일 도메인 항체는 당업계의 임의의 항체 또는 임의의 항후 단일 도메인 항체일 수 있다. 단일 도메인 항체는 마우스, 사람, 낙타, 라마, 어류, 상어, 염소, 토끼 및 소를 포함하지만 이에 제한되지 않는 임의의 종으로부터 유래할 수 있다. 발명의 또 다른 양상에 따라, 단일 도메인 항체는 경쇄가 없는 중쇄 항체로부터 공지된 천연적으로 존재하는 단일-도메인 항체이다. 상기 단일 도메인 항체는 예를 들어, WO 9404678에 기재되어 있다. 명료하게 하기 위해, 천연적으로 경쇄가 없는 중쇄 항체로부터 유래된 상기 가변 도메인은 본원에서 VHH 또는 나노바디로서 공지되어 있고 이를 4개쇄 면역글로불린의 통상적인 VH와 구분한다. 상기 VHH 분자는 낙타과 종에서, 예를 들어, 낙타, 라마, 단봉낙타(dromedary), 알파카 및 구아나코에서 생성된 항체로부터 기원할 수 있다. 낙타과에 추가로 다른 종은 천연적으로 경쇄가 없는 중쇄 항체를 생성할 수 있고; 상기 VHH는 본 발명의 범위내에 있다.

[0433] 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 이특이적 항체를 포함한다. 이특이적 항체는 2개 이하의 항원에 대해 특이성을 갖지만 본원에 기재된 바와 같이 2개 초과와 결합 부위를 가질 수 있다. 이특이적 항체 분자는 제1 항원 (예를 들어, PD-1)에 대해 결합 특이성을 갖는 제1 면역글로불린 가변 도메인 및 제2 항원 (예를 들어, PD-1 리간드, 예를 들어, PD-L1 리간드)에 대해 결합 특이성을 갖는 제2 면역글로불린 가변 도메인을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, 이특이적 항체 분자는 scFv, 또는 이의 단편을 포함하고, 제1 항원 및 scFv, 또는 이의 단편에 대해 결합 특이성을 갖고, 제2 항원에 대해 결합 특이성을 갖는다. 예를 들어, 문헌 (Kontermann & Brinkmann, (2015), *Drug Discovery Today*, 20(7):838-47)을 참조하고 이의 전문이 참조로 인용된다.

[0434] 비대칭 및 대칭 구조 둘다의 다가 및/또는 다중특이적 항체 포맷과 같은, 본원에 기재된 다가 및/또는 다중특이적 작제물을 생성하기 위해 사용될 수 있는 다양한 포맷 및 방법이 당업계에 공지되어 있다. 상기 포맷의 비제한적인 예는 (i) Fc-부재 이특이적 항체 포맷, 예를 들어, 탠덤 단일쇄 가변 단편(scFv₂, taFv) 및 이특이적 T 세포 인게이저(engager) (BiTE) 및 이특이적 킬러 세포 인게이저 (BiKE) 분자를 포함하는 트리플바디; VH 또는

VL 도메인, VHH, VNAR 및 나노바디와 같은 단일-도메인 항체를 포함하는 이특이적 단일-도메인 항체 융합 단백질; 탠덤 디아바디 및 이중-친화성 재표적화 (DART) 단백질을 포함하는, 디아바디 및 디아바디 유도체; Fab 융합 단백질; 및 다양한 단백질 기원의 이중이량체화 펩타이드 또는 소형항체, 예를 들어, 코일형성 코일 구조를 갖는 류신 지퍼의 사용을 통한 다른 Fc-부재 융합 단백질; (ii) 비대칭 구조를 갖는 이특이적 IgG, 예를 들어, 2개의 상이한 항체 기원의 중쇄 및 경쇄를 갖는 비대칭 IgG; 크롭-인투-홀 접근법, CH3 도메인의 동종이량체화를 회피하기 위한 정전기 상호작용(스티어링), 전하 쌍을 IgG1 및 IgG2의 힌지 영역으로 도입함에 의한 우선적 중쇄 이중이량체화, 가닥-교환 가공된 도메인 (SEED) 이중이량체, 및 T 세포 수용체 (BEAT) 기술을 기반으로 하는 항체에 의한 이특이적 개입을 사용한 비대칭 Fc 영역을 갖는 이특이적 IgG; 비대칭 Fc 및 CH3 융합 단백질; (iii) scFvs의 융합, 도메인 항체 및 스캐폴드의 융합, Fab 아암의 융합, 및 추가의 가변 중쇄 및 경쇄 도메인의 융합에 의한 첨부된 IgG와 같은 대칭 구조를 갖는 이특이적 항체; 변형된 IgG 분자; 대칭 Fc- 및 CH3-기반 이특이적 항체; 및 면역글로불린-유래된 동종이량체화 도메인을 사용한 이특이적 항체를 포함한다. 예를 들어, 문헌(참조: “The making of bispecific antibodies,” Brinkmann and Kontermann, MABS 2017, Vol. 9:2, pp. 182-212)을 참조하고, 이의 내용은 이의 전문이 본원에 참조로 인용된다. 또한 다음을 참조한다: 예를 들어, 미국 특허 제5,731,168호에 기재된 “크롭 인 홀” 접근법; 예를 들어, WO 09/089004, WO 06/106905 및 WO 2010/129304에 기재된 바와 같은 정전기 스티어링 Fc 쌍 형성; 예를 들어, WO 07/110205에 기재된 바와 같은 가닥 교환 가공된 도메인 (SEED) 이중이량체 형성; 예를 들어, WO 08/119353, WO 2011/131746, 및 WO 2013/060867에 기재된 바와 같은 Fab 아암 교환; 미국 특허 제4,433,059호에 기재된 바와 같은 아민-반응성 그룹 및 설프하이드릴 반응성 그룹을 갖는 이중이기능성 시약을 사용하여 이특이적 구조를 생성하기 위한 항체 가교 결합에 의해 이중 항체 접합체; 예를 들어, 미국 특허 제4,444,878호에 기재된 바와 같은 2개의 중쇄 사이에 디설파이드 결합의 환원 및 산화의 사이클을 통한 상이한 항체로부터 절반 항체 (중쇄-경쇄 쌍 또는 Fab)를 재조합함에 의해 생성된 이특이적 항체 결정인자; 예를 들어, 미국 특허 제5,273,743호에 기재된 바와 같은 삼기능성 항체, 예를 들어, 설프하이드릴 반응성 그룹을 통해 가교결합된 3개의 Fab' 단편; 미국 특허 제5,534,254호에 기재된 바와 같이, 생합성 결합 단백질, 예를 들어, C-말단 꼬리를 통해, 바람직하게, 디설파이드 또는 아민-반응성 화학적 가교 결합을 통해 가교 결합된 scFv의 쌍; 이기능성 항체, 예를 들어, 미국 특허 제5,582,996호에 기재된 바와 같은 불변 도메인을 대체하는 류신 지퍼 (예를 들어, c-fos 및 c-jun)를 통해 이량체화된 상이한 결합 특이성을 갖는 Fab 단편; 미국 특허 제5,591,828호에 기재된 바와 같이, 이특이적 및 올리고특이적 1가 및 올리고가 수용체, 예를 들어, 하나의 항체의 CH1 영역과 전형적으로 연합된 경쇄를 갖는 다른 항체의 VH 영역 사이의 폴리펩타이드 스페이서를 통해 연결된 2개 항체 (2개 Fab 단편)의 VH-CH1 영역; 예를 들어, 미국 특허 제5,635,602호에 기재된 바와 같은, 이특이적 DNA-항체 접합체, 예를 들어, 이중 가닥 조각의 DNA를 통한 항체 또는 Fab 단편의 가교결합; 예를 들어, 미국 특허 제5,637,481호에 기재된 바와 같은, 이특이적 융합 단백질, 예를 들어, 그들과 완전한 불변 여역 사이에 친수성 나선 펩타이드 링커를 갖는 2개의 scFv를 함유하는 발현 작제물; 예를 들어, 미국 특허 제5,837,242호에 기재된 바와 같이, 다가 및 다중특이적 결합 단백질, 예를 들어, Ig 중쇄 가변 영역의 결합 영역을 갖는 제1 도메인 및 Ig 경쇄 가변 영역의 결합 영역을 갖는 제2 도메인을 갖는 폴리펩타이드의 이량체, 일반적으로 디아바디로 호칭됨(보다 높은 등급의 구조는 또한 이특이적, 삼특이적 또는 사특이적 분자를 생성하기 위해 포괄됨); 예를 들어, 미국 특허 제5,837,821호에 기재된 바와 같이 이특이적/다가 분자를 형성하도록 이량체화될 수 있는 항체 힌지 영역으로 펩타이드 스페이서로 추가로 연결된 연결된 VL 및 VH 쇄를 갖는 미니바디 작제물; 짧은 펩타이드 링커 (예를 들어, 5 또는 10개 아미노산) 또는 이특이적 디아바디를 형성하기 위해 이량체를 형성할 수 있는 어느 배향으로든 전혀 링커를 갖지 않는 VH 및 VL 도메인; 예를 들어, 미국 특허 제5,844,094호에 기재된 바와 같은 삼량체 및 사량체; 미국 특허 제5,864,019호에 기재된 바와 같은, 일련의 FV (또는 scFv)를 형성하기 위해 VL 도메인과 추가로 연합된 C-말단에서 가교결합될 수 있는 그룹을 갖는 펩타이드 연결에 의해 연결된 VH 도메인 (또는 계열 구성원 중 VL 도메인)의 스트랑; 및 예를 들어, 미국 특허 제5,869,620호에 기재된 바와 같이 scFv 또는 디아바디 유형 포맷 둘다를 사용한 예를 들어, 동종 2가, 이중 2가, 3가 및 4가 구조를 형성하기 위해 비-공유 또는 화학적 가교결합을 통해 다가 구조로 조합된 펩타이드 링커를 통해 연결된 VH 및 VL 도메인 둘다를 갖는 단일쇄 결합 폴리펩타이드. 추가의 예시적인 다중특이적 및 이특적 분자 및 이를 제조하기 위한 방법은 예를 들어, 하기에서 발견된다. 미국 특허 제5,910,573호, 미국 특허 제5,932,448호, 미국 특허 제5,959,083호, 미국 특허 제5,989,830호, 미국 특허 제6,005,079호, 미국 특허 제6,239,259호, 미국 특허 제6,294,353호, 미국 특허 제6,333,396호, 미국 특허 제6,476,198호, 미국 특허 제6,511,663호, 미국 특허 제6,670,453호, 미국 특허 제6,743,896호, 미국 특허 제6,809,185호, 미국 특허 제6,833,441호, 미국 특허 제7,129,330호, 미국 특허 제7,183,076호, 미국 특허 제7,521,056호, 미국 특허 제7,527,787호, 미국 특허 제7,534,866호, 미국 특허 제7,612,181호, US2002004587A1, US2002076406A1, US2002103345A1, US2003207346A1, US2003211078A1, US2004219643A1, US2004220388A1,

US2004242847A1, US2005003403A1, US2005004352A1, US2005069552A1, US2005079170A1, US2005100543A1, US2005136049A1, US2005136051A1, US2005163782A1, US2005266425A1, US2006083747A1, US2006120960A1, US2006204493A1, US2006263367A1, US2007004909A1, US2007087381A1, US2007128150A1, US2007141049A1, US2007154901A1, US2007274985A1, US2008050370A1, US2008069820A1, US2008152645A1, US2008171855A1, US2008241884A1, US2008254512A1, US2008260738A1, US2009130106A1, US2009148905A1, US2009155275A1, US2009162359A1, US2009162360A1, US2009175851A1, US2009175867A1, US2009232811A1, US2009234105A1, US2009263392A1, US2009274649A1, EP346087A2, WO0006605A2, WO02072635A2, WO04081051A1, WO06020258A2, WO2007044887A2, WO2007095338A2, WO2007137760A2, WO2008119353A1, WO2009021754A2, WO2009068630A1, WO9103493A1, WO9323537A1, WO9409131A1, WO9412625A2, WO9509917A1, WO9637621A2, WO9964460A1. 상기 언급된 출원의 내용은 이들의 전문이 본원에 참조로 인용된다.

[0435] 일부 구현예에서, 본 발명의 다중특이적 항원-결합 작제물은 이특이적 항체이다. 본원 개시내용에 따른 이특이적 항체는 PD-1 및 PD-L1에 대하여, 또는 PD-1 및 PD-L2에 대하여 생성될 수 있다. 이특이적 항체의 항체 아암은 본원에 기재된 바와 같은 표준 기술에 의해 생성될 수 있다. 일부 구현예에서, PD-1 및 이의 리간드에 대해 임의의 공지된 항체를 사용하여 본원의 개시내용에 따른 이특이적 항체를 생성할 수 있다. 예를 들어, 상기 이특이적 작제물은 본원에 예시되었다(문헌참조: 예를 들어, 도 3에서 아테졸리주맵 (PD-L1 항체)과 연결된 펌브롤리주맵(PD-1 항체); 도 4에서 아테졸리주맵 (PD-L1 항체)와 연결된 니볼루맵 (PD-1 항체). 본원에 예시된 바와 같이, 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 작제물 (예를 들어, 이특이적 항체)은 당업계에서 공지되고/되거나 가능한 항체를 사용하여 생성될 수 있다.

[0436] 일부 구현예에서, 이특이적 항체는 2가이고 - 예를 들어, 하나의 아암은 PD-1에 대해 1가이고, 다른 아암은 PD-L1 또는 PD-L2에 1가이거나, 둘다에 대해 1가이고- 예를 들어, 리간드 둘다와 교차 반응한다. 일부 구현예에서, 이특이적 항체는 4가, 예를 들어, 본원에 기재된 신규 이특이성 3 및 이특이성 4 항체이다. 예를 들어, 도 3에 도시된 바와 같이, 펌브롤리주맵 결합 아암은 PD-1에 대해 2가이고, 각각은 PD-1 상의 동일한 에피토프에 결합하고 아테졸리주맵 결합은 PD-L1에 대해 2가이고, 각각의 결합은 PD-L1 상에 동일한 에피토프에 결합한다. 이것은 또한 예를 들어, 도 8에서 이특이적 포맷으로 나타낼 수 있다(예시적인 통상의 경쇄 이특이성은 도 8에 제공된 작업흐름의 단계 2의 좌측 패널에 도해된다). 도 8에서 예시적 통상의 경쇄 이특이적 포맷(상기 포맷은 작업흐름의 단계 2의 우측 패널에 도해됨)은 4가 이특이적 포맷의 또 다른 예를 나타낸다. 제1 항원 결합 아암이 Fc 영역의 반대편 말단 상의 제2 항원 결합 아암에 연결된 4가 이특이적 포맷과는 대조적으로, 여기서, 제1 항원 결합 아암의 각각의 Fab는 제2 항원 결합 아암의 각각의 Fab에 연결된다. 예를 들어, 제1 항원 결합 아암의 하나의 Fab는 링커를 사용하여 제2 항원 결합 아암의 Fab에 연결되고, 여기서, 각각의 항원 결합 아암은 통상의 경쇄를 공유한다. 도 8을 참조하고, 상기 포맷은 작업흐름의 단계 2의 우측 패널에 도해된다.

[0437] 일부 구현예에서, 이특이적 항체는 4가이고, 여기서, 하나의 아암은 PD-1에 대해 2가이고, 각각은 PD-1 상의 2개의 상이한 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 이특이적 항체는 4가이고, 여기서, 하나의 아암은 PD-1의 리간드(PD-L1 및/또는 PD-L2)에 대해 2가이고, 각각은 PD-1의 리간드상의 2개의 상이한 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 이특이적 항체는 4가이고, 여기서, 하나의 아암은 PD-1에 대해 2가이고, 각각은 PD-1 상의 2개의 상이하지만 중첩된 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 이특이적 항체는 4가이고, 여기서, 하나의 아암은 PD-1 리간드 (PD-L1 및/또는 PD-L2)에 대해 2가이고, 각각은 PD-1 리간드 (PD-L1 및/또는 PD-L2) 상의 2개의 상이하지만 중첩된 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 이특이적 항체는 4가이고, 여기서, 하나의 아암은 PD-1에 대해 2가이고, 각각은 PD-1 상의 동일한 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 이특이적 항체는 4가이고, 여기서, 하나의 아암은 PD-1 리간드 (PD-L1 및/또는 PD-L2)에 대해 2가이고, 각각은 PD-1 리간드 (PD-L1 및/또는 PD-L2) 상의 동일한 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 이특이적 항체는 4가이고, 여기서, 하나의 아암은 PD-1 상에 동일한 에피토프에 대해 2가이고; 다른 아암은 PD-1 리간드(PD-L1 및/또는 PD-L2) 상에 동일한 에피토프에 대해 2가이다.

[0438] 일부 구현예에서, 이특이적 항체는 PD-1 및 PD-L1 둘다의 길항제이다. 일부 구현예에서, 이특이적 항체는 PD-1 및 PD-L2 둘다의 길항제이다. 일부 구현예에서, 이특이적 항체는 PD-1 및 리간드 PD/L1 및 PD-L2 둘다의 길항제이다(예를 들어, 리간드 둘다와 교차 반응한다).

[0439] 특정 구현예에서, 제1 항원-결합 아암 및 제2 항원-결합 아암은 적어도 하나의 아미노 링커 아미노산 서열에 의해 연결된다. 임의로, 상기 링커 아미노산 서열은 GGGGS_x (서열번호 121)를 포함하고, 여기서, x는 1 내지 6을 포함하는 이들 사이의 정수이다.

- [0440] 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 면역글로불린 Fc 도메인을 포함하지 않는다.
- [0441] 일부 구현예에서, 상기 작제물은 면역글로불린 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 작제물의 제1 아암 또는 제2 아암, 또는 이 둘다는 하나 이상의 면역글로불린 Fc 변형을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 중쇄의 면역글로불린 Fc 도메인은 예를 들어, 제1 및 제2 아암의 이중이량체화를 촉진시키고, 혈청 반감기를 촉진시키고/시키거나 이펙터 기능을 변형시키는 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 돌연변이는 중쇄의 CH3 도메인에 존재한다. 예를 들어, 문헌(Xu et al., mAbs 7(1): 231-42, 2015)을 참조한다.
- [0442] 통상의 Fc 융합 단백질 및 항체는 안내되지 않은 상호작용 쌍의 예이지만, 다양한 가공된 Fc 도메인은 비대칭 상호작용 쌍으로서 디자인되어(문헌참조: Spiess et al., (2015) Molecular Immunology 67(2A): 95-106) 예를 들어, 제1 항원-결합 아암 및 제2 항원-결합 아암의 이중이량체화를 촉진시킨다. 단일 세포주에서 Fc-함유 폴리펩타이드 쌍의 목적하는 쌍 형성을 증가시켜 허용되는 수율로 바람직한 비대칭 융합 단백질을 생성하는 다양한 방법이 당업계에 공지되어 있다[문헌참조: 예를 들어, Klein et al. (2012) mAbs 4:653-663; and Spiess et al. (2015) Molecular Immunology 67(2PartA): 95-106]. Fc-함유 폴리펩타이드의 목적하는 쌍 형성을 수득하는 방법은 전하-기반 쌍 형성(정전기 스티어링), "크롭-인투-홀" 입체 쌍형성, SEED바디 쌍 형성 및 류신 지퍼-기반 쌍형성을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 문헌(Ridgway et al. (1996) Protein Eng 9:617-621; Merchant et al. (1998) Nat Biotech 16:677-681; Davis et al. (2010) Protein Eng Des Sel 23:195-202; Gunasekaran et al. (2010); 285:19637-19646; Wranik et al. (2012) J Biol Chem 287:43331-43339; US5932448; WO 1993/011162; WO 2009/089004, 및 WO 2011/034605)을 참조한다.
- [0443] 예를 들어, 특이적 폴리펩타이드 간의 상호작용이 촉진될 수 있는 하나의 수단은 문헌(참조: Arathoon et al., U.S.7,183,076; Carter et al., U.S.5,731,168; and Kumar et al., WO 2016/164089, 이들의 전문이 본원에 참조로 인용됨)에 기재된 바와 같은 프로튜버런스-인투-캐비티 (크롭-인투-홀)을 가공시킴에 의한 것이다. “프로튜버런스”는 제1 폴리펩타이드(예를 들어, 제1 상호작용 쌍)의 인터페이스로부터의 작은 아미노산 측쇄를 보다 큰 측쇄 (예를 들어, 티로신 또는 트립토판)으로 대체함에 의해 작제된다. 프로튜버런스와 동일하거나 유사한 크기의 상보적 “캐비티”는 임의로 큰 아미노산 측쇄를 보다 작은 하나 (예를 들어, 알라닌 또는 트레오닌)로 대체함에 의해 제2 폴리펩타이드 (예를 들어, 제2 상호작용 쌍)의 인터페이스 상에 생성된다. 적합하게 위치되고 크기를 갖는 프로튜버런스 또는 캐비티가 제1 또는 제2 폴리펩타이드의 인터페이스에 존재하는 경우, 단지 인접한 인터페이스에서 각각 상응하는 캐비티 또는 프로튜버런스를 가공할 필요가 있다.
- [0444] 중성 pH (7.0)에서, 아스파르트산 및 글루탐산은 음전하이고 라이신, 아르기닌, 및 히스티딘은 양전하이다. 이들 하전된 잔기를 사용하여 이중이량체 형성을 촉진시킬 수 있고 동시에 동종이량체 형성을 방지할 수 있다. 당기는 상호작용은 반대 전하 사이에서 일어나고 반발 상호작용은 유사 전하 사이에서 일어난다. 부분적으로, 본원에 기재된 단백질 복합체는 하전된 인터페이스 잔기의 부위 지시된 돌연변이유발을 수행함에 의해 이중다량체 형성 (예를 들어, 이중이량체 형성)을 촉진시키기 위해 당기는 상호작용 및 임의로 동종이량체 형성 (예를 들어, 동종이량체 형성)을 방지하기 위해 반발 상호작용을 활용한다.
- [0445] 예를 들어, IgG1 CH3 도메인 인터페이스는 도메인-도메인 상호작용에 관여하는 4개의 특유한 전하 잔기 쌍을 포함한다: Asp356-Lys439', Glu357-Lys370', Lys392-Asp399', 및 Asp399-Lys409' [제2 쇠에서 잔기 넘버링은 (')에 의해 지적된다]. IgG1 CH3 도메인에서 잔기들을 지정하기 위해 사용되는 넘버링 방식은 캐벳의 EU 넘버링 방식에 따름을 주지해야 한다. CH3-CH3 도메인 상호작용에 존재하는 2배 대칭으로 인해, 각각의 특유의 상호작용은 구조에서 2개로 나타난다(예를 들어, Asp-399-Lys409' 및 Lys409-Asp399'). 야생형 서열에서, K409-D399'는 이중이량체 및 동종이량체 형성 둘다를 선호한다. 전하 극성을 스위칭하는 (예를 들어, K409E; 양성에서 음성 전하로) 단일 돌연변이는 제1 쇠 동종이량체의 형성을 위해 선호될 수 없는 상호작용을 유도한다. 선호될 수 없는 상호작용은 동일한 전하 (음성-음성; K409E-D399' 및 D399-K409E') 사이에 일어나는 반발 상호작용으로 인해 일어난다. 제2 쇠에서 전하 극성을 스위칭하는 (D399K' ; 음성에서 양성으로) 유사한 돌연변이는 제2 쇠 동종이량체 형성을 위해 선호될 수 없는 상호작용(K409' -D399K' 및 D399K-K409')을 유도한다. 그러나, 동시에, 이들 2개의 돌연변이(K409E 및 D399K')는 이중이량체 형성을 위해 선호될 수 있는 상호작용 (K409E-D399K' 및 D399-K409')을 유도한다. 이중이량체 형성 및 동종이량체 방해에 대한 정전기 스티어링 효과는 추가로 제2 쇠에서 반대 전하 잔기와 쌍을 형성하거나 쌍을 형성하지 않을 수 있는 추가의 전하 잔기, 예를 들어, Arg355 및 Lys360의 돌연변이에 의해 추가로 증진될 수 있다. 예를 들어, 문헌(WO 2016/164089)을 참조한다.

- [0446] 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 작제물 (예를 들어, 이특이적 작제물)은 예를 들어, 면역글로불린의 Fc 부분을 포함하는 면역글로불린의 불변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 아암은 IgG (IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4), IgA (IgA1 또는 IgA2), IgE, 또는 IgM 면역글로불린의 Fc 도메인으로부터 유래된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 임의로, 제2 아암은 IgG (IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4), IgA (IgA1 또는 IgA2), IgE, 또는 IgM의 Fc 도메인으로부터 유래된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 상기 면역글로불린 도메인은 이중이량체 형성을 촉진시키는 하나 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 결실, 첨가 및/또는 치환)을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 IgG1 이소타입의 작제물이다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 IgG1 이소타입의 작제물이고 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물의 IgG2 이소타입의 작제물이다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 IgG3 이소타입의 작제물이다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 IgG4 이소타입의 작제물이다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 IgG4 이소타입의 작제물이고 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, 치환은 EU 넘버링에 따라 넘버링되는 경우 Ser228에 있다. 일부 구현예에서, Ser228에서의 치환은 S228P이다. 일부 구현예에서, 제1 아암 및 제2 아암은 동일한 면역글로불린 부류 및 서브타입으로부터 유래된 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 아암 및 제2 아암은 상이한 면역글로불린 부류 또는 서브타입으로부터 유래된 Fc 도메인을 포함한다. 유사하게, 제1 아암 및/또는 제2 아암(예를 들어, 비대칭 쌍 또는 안내되지 않은 상호작용 쌍)은 예를 들어, 이중이량체 형성을 촉진시키는 하나 이상의 아미노산 변형 (예를 들어, 결실, 첨가 및/또는 치환)을 포함하는 면역글로불린의 변형된 불변 도메인을 포함한다. 목적하는 이중이량체 형성을 갖는 Fc 변형을 생성하는 방법은 당업계에 공지되어 있다.
- [0447] 일부 구현예에서, Fc 도메인은 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 작제물의 혈청 반감기를 증진시키도록 변형될 수 있다. 예를 들어, 중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 Fc 수용체로의 항체 결합을 증진시키거나 감소시키는 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 작제물은 Fc 도메인의 C_H2 또는 C_H3 영역에서 돌연변이를 포함할 수 있고, 여기서, 상기 돌연변이(들)은 산성 환경에서 (예를 들어, pH가 약 5.5 내지 약 6.0 범위인 엔도솜내에서) Fc 도메인의 FcRn으로의 친화성을 증가시킨다. 상기 돌연변이는 동물에게 투여되는 경우 작제물의 혈청 반감기를 증가시킬 수 있다. 증진된 혈청 반감기와 같은 목적하는 특징에 대해 Fc 도메인을 변형시키는 방법은 당업계에 공지되어 있다.
- [0448] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 작제물은 변경된 중쇄 작제물을 포함하고 이는 이의 상응하는 변경되지 않은 불변 영역에 비해 감소된 (또는 감소되지 않은) 이펙터 기능을 갖는다. 본원에 기재된 작제물의 불변 영역을 포함하는 이펙터 기능은 불변 또는 Fc 영역의 성질을 변경함에 의해 조절될 수 있다. 변경된 이펙터 기능은 예를 들어, 하기의 활성 중 하나 이상에서의 조절을 포함한다: 항체-의존성 세포 세포독성(ADCC), 보체-의존성 세포독성(CDC), 아폽토시스, 하나 이상의 Fc-수용체로의 결합 및 염증 촉진 반응. 조절은 변경되지 않은 형태의 불변 영역의 활성과 비교하여 변경된 불변 영역을 함유하는 대상체 항체에 의해 나타나는 이펙터 기능 활성의 증가, 감소 또는 제거를 언급한다. 특정 구현예에서, 조절은 활성이 폐지되거나 완전히 부재인 상황을 포함한다.
- [0449] 변경된 FcR 결합 친화성 및/또는 ADCC 활성 및/또는 변경된 CDC 활성을 갖는 변경된 불변 영역은 변경되지 않은 형태의 불변 영역과 비교하여 증진되거나 감소된 FcR 결합 활성 및/또는 ADCC 활성을 갖는 폴리펩타이드이다. FcR로의 증가된 결합을 나타내는 변경된 불변 영역은 변형되지 않은 폴리펩타이드 보다 큰 친화성으로 적어도 하나의 FcR에 결합한다. FcR로의 감소된 결합을 나타내는 변경된 불변 영역은 변경되지 않은 형태의 불변 영역 보다 낮은 친화성으로 적어도 하나의 FcR에 결합한다. FcR로의 감소된 결합을 나타내는 상기 변이체는 FcR에 대해 거의 감지할 수 없는 결합을 소유할 수 있고, 예를 들어, 본래의 서열 면역글로불린 불변 또는 Fc 영역의 FcR로의 결합 수준과 비교하여 FcR로의 결합의 0 내지 50% (예를 들어, 50, 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1%)이다. 유사하게, 조절된 ADCC 및/또는 CDC 활성을 나타내는 변경된 불변 영역은 변경되지 않은 불변 영역과 비교하여 증가되거나 감소된 ADCC 및/또는 CDC 활성을 나타낼 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 변형된 불변 영역을 포함하는 본원에 기재된 임의의 하나 이상의 항체는 변형되지 않은 형태의 ADCC 및/또는 CDC 활성의 불변 영역의 대략 0 내지 50% (예를 들어, 50, 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1% 미만)을 나타낼 수 있다. 감소된 ADCC 및/또는 CDC를 나타내는 변경된 불변 영역을 포함하는 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 작제물은 감소된 ADCC 및/또는 CDC 활성 또는 활성 부재를 나타낼 수 있다.

- [0450] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 작제물은 감소된 이펙터 기능 또는 기능 부재를 나타낸다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 하이브리드 불변 영역, 또는 이의 일부, 예를 들어, G2/G4 하이브리드 불변 영역을 포함한다(문헌참조: 예를 들어, Burton et al. (1992) *Adv Immun* 51:1-18; Canfield et al. (1991) *J Exp Med* 173:1483-1491; and Mueller et al. (1997) *Mol Immunol* 34(6):441-452).
- [0451] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 작제물은 증진되거나 감소된 보체 의존성 세포독성(CDC)을 나타내는 변경된 불변 영역을 함유할 수 있다. 조절된 CDC 활성은 항체의 Fc 영역에서 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 도입함에 의해 성취될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제6,194,551호를 참조한다.
- [0452] 본원에 기재된 작제물 및 항원-결합 아암은 부분적으로 스캐폴드 도메인, 단백질, 또는 일부, 예를 들어, 표적 수용체-결합 활성을 제공하지 않지만 공간적 구성, 구조적 지지, 다중 수용체-결합 유닛의 연결 수단 또는 다른 목적하는 특징, 예를 들어, 개선된 반감기를 제공하는 작제물의 일부 또는 도메인을 제공할 수 있는 분자를 포함할 수 있다. 다양한 스캐폴드 기술 및 조성물은 당업계에 공지되어 있고 본원에 기재된 항원-결합 유닛에 용이하게 연결되거나 접합될 수 있다. 스캐폴드 도메인, 단백질 또는 일부는 항체로부터 유래하거나 항체로부터 유래하지 않을 수 있다. 상기 스캐폴드 단백질, 및 이의 도메인은 일반적으로 기존 항원-결합 단백질의 조합 화학-기반 개조를 통해 수득된다.
- [0453] 비-항체 단백질 스캐폴드는 2개의 구조적 카테고리, 도메인-크기의 작제물(6 내지 20 kDa의 범위), 및 속박된 펩타이드(2-4 kDa 범위)로 분류되는 것으로 고려될 수 있다. 도메인 크기의 비-항체 스캐폴드는 어피바디, 어필린, 안티칼린, 아트리머, DARPin, FN3 스캐폴드(예를 들어, 아데노신 및 센트린), 피노머(fynomers), 쿠니츠(Kunitz) 도메인, 프로넥틴 및 오보디(OBodies)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 펩타이드 크기의 비-항체 스캐폴드는 예를 들어, 아비머, 바이사이클릭 펩타이드 및 시스테인 노트를 포함한다. 이들 비-항체 스캐폴드 및 이들이 기반으로 하고 이들이 유래된 기저 단백질 또는 펩타이드는 예를 들어, 문헌(참조: Simeon and Chen, *Protein Cell* 9(1): 3-14 (2018); Vazquez-Lombardi et al., *Drug Discovery Today* 20: 1271-1283 (2015), and by Binz et al., *Nature Biotechnol.* 23: 1257-1268 (2005))에서 검토되었고, 이들 각각의 내용은 이들의 전문이 참조로 본원에 인용된다. 비-항체 스캐폴드를 사용한 이점은 증가된 친화성, 표적 중화 및 안정성을 포함한다. 다양한 비-항체 스캐폴드는 또한 예를 들어, 조직 침투, 보다 작은 크기 및 열안정성 측면에서 항체 스캐폴드의 한계의 일부를 극복할 수 있다. 일부 비-항체 스캐폴드는 또한 예를 들어, 이특이적 작제물이 요구되는 경우 경계 연합 문제에 의해 방해받지 않으면서 보다 용이한 구성을 가능하게 할 수 있다. 비-항체 스캐폴드 상에 작제물을 작제하는 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 공식적으로 항체 스캐폴드 상에 있지 않으면서, 특이적 표적-결합 능력을 제공하는 단일-도메인 항체, scFv 또는 다른 항체 결합-도메인 변이체의 형태이든 상관없이 상기 작제물은 흔히 항체 결합 도메인을 포함한다.
- [0454] 따라서, 본원에 기재된 임의의 양상의 일부 구현예에서, 작제물은 비-항체 스캐폴드 단백질을 포함할 수 있다. 본원에 기재된 임의의 양상의 일부 구현예에서, 수용체-결합 유닛의 적어도 하나는 비-항체 스캐폴드 단백질을 포함할 수 있다. 당업자는 비-항체 스캐폴드 단백질의 스캐폴드 부분이 일부 구현예에서 예를 들어, 사람의 10 번째 피브로넥틴 III형 도메인 (10Fn3)으로부터 유래된 아드넥틴 스캐폴드 또는 일부; 사람 리포칼린(예를 들어, W02015/104406에 기재된 것들)으로부터 유래된 안티칼린 스캐폴드; 저밀도-관련된 단백질(LRP) 및/또는 매우 저밀도 지질단백질 수용체(VLDLR)의 A-도메인으로부터 유래된 아비머 스캐폴드 또는 단백질 단편; FYN 티로신 키나제의 SH3 도메인의 피노머 스캐폴드 또는 일부; 쿠니츠형 프로테아제 억제제, 예를 들어, 사람 트립신 억제제, 아프로티닌(소 췌장 트립신 억제제), 알츠하이머 아밀로이드 전구체 단백질, 및 조직 인자 경로 억제제의 쿠니츠 도메인 스캐폴드 또는 일부; 노틴 스캐폴드(시스테인 노트 소형단백질), 예를 들어, 이. 엘라테륨(*E. Elaterium*)으로부터의 트립신 억제제를 기반으로 하는 억제제; 에스. 아우레우스(*S. Aureus*) 단백질 A의 Z 도메인의 어피바디 스캐폴드 또는 전부 또는 일부; β-헤어핀 모사체 스캐폴드; 안키린 바복체(AR) 단백질을 기반으로 하는 디자인된 안키린 반복 단백질(DARPin) 스캐폴드 또는 인공 단백질 스캐폴드; 또는 사람 트랜스페린, 사람 CTLA-4, 사람 크리스탈린 및 사람 유비퀴틴으로부터 유래되거나 기반으로 하는 임의의 스캐폴드를 포함할 수 있음을 인지할 것이다. 예를 들어, 사람 트랜스페린 수용체에 대한 사람 트랜스페린의 결합 부위는 이의 일부가 상이한 항원에 대해 획득된 친화성을 갖는 다양한 라이브러리의 트랜스페린 변이체를 생성하기 위해 다양화될 수 있다. 예를 들어, 문헌(Alì et al. (1999) *J. Biol. Chem.* 274:24066-24073)을 참조한다. 수용체에 결합하는 것에 관여하지 않는 사람 트랜스페린의 일부는 변화되지 않은 상태로 남아있고 항체의 프레임워크 영역 처럼 스캐폴드로서 작용하여 변이체 결합 부위를 제공한다. 이어서, 라이브러리를 항체 라이브러리 자체로서, 및 본원에 기재된 방법에 따라 관심 대상의 표적 항원에 대해 스크리닝하여 표적 항원에 대해 최적

의 선택성 및 친화성을 갖는 변이체들을 동정하였다. 예를 들어, 문헌(Hey *et al.* (2005) *TRENDS Biotechnol.* 23(10):514-522)을 참조한다.

[0455] D. 다중특이적 항원-결합 작제물을 생성하기 위한 방법

[0456] 본원의 개시내용은 또한 본원에 기재된 임의의 다중특이적 항원-결합 작제물을 생성하기 위한 방법을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 작제물을 제조하기 위한 방법은 본원에 기재된 바와 같이 항체 및/또는 이의 단편을 제조하기 위한 방법을 포함한다. 상기 방법은 당업계에 널리 공지되어 있고, 예를 들어, 대상체 (예를 들어, 비-사람 포유류)를 적당한 면역원으로 면역화시킬 수 있다. 예를 들어, PD-1에 결합하는 항체를 생성하기 위해, 당업자는 적합한 대상체(예를 들어, 비-사람 포유류, 예를 들어, 래트, 마우스, 저빌(gerbil), 햄스터, 개, 고양이, 돼지, 염소, 말, 또는 비-사람 영장류)를 서열번호 114 (GenBank 승인 번호 NP_005009.2; UniProt Q15116)에 도시된 아미노산 서열을 포함하는 전장 사람 PD-1 폴리펩타이드와 같은 전장 PD-1 폴리펩타이드, 이의 항원성 단편 및/또는 이의 변이체로 면역화시킬 수 있다. 유사하게, PD-1의 리간드 (예를 들어, PD-L1)에 결합하는 항체를 생성하기 위해, 당업자는 적합한 대상체를 서열번호 115 (GenBank 승인 번호 NP_054862.1, UniProt Q9NZQ7)에 도시된 아미노산 서열을 포함하는 전장 사람 PD-L1 폴리펩타이드와 같은 전장 PD-L1 폴리펩타이드, 이의 항원 단편 및/또는 이의 변이체로 면역화시킬 수 있다. 유사하게, PD-L2에 결합하는 항체를 생성하기 위해, 당업자는 적합한 대상체를 서열번호 116 (GenBank 승인 번호 NP_079515.2, UniProt Q9BQ51)에 도시된 아미노산 서열을 포함하는 전장 사람 PD-L2 폴리펩타이드와 같은 전장 PD-L2 폴리펩타이드, 이의 항원 단편 및/또는 이의 변이체로 면역화시킬 수 있다.

[0457] 당업자가 인지하는 바와 같이, 전장 폴리펩타이드 (PD-1, PD-L1, 또는 PD-L2)는 항원으로서 사용될 수 있고 항체는 목적하는 결합 성질 (예를 들어, PD-1/리간드 상호작용을 차단하는; 세포상에 PD-1 및 리간드가 발현되는 세포를 브릿징하는 능력)에 대해 스크리닝될 수 있다. 당업자가 또한 인지하는 바와 같이, 폴리펩타이드(PD-1, PD-L1, 또는 PD-L2)의 항원성 단편은 폴리펩타이드의 공지된 구조적 특징을 기준으로 선택될 수 있다. 예를 들어, PD-1/PD-L1과 PD-1/PD-L2의 상호작용은 구조적으로 널리 특징 분석되었다(문헌참조: 예를 들어, Zak, K., *et al.* (2015) *Structure* 23(12):2341-48; Ghiotto, M., *et al.* (2010) *Int' l Immuno.* 22(8):651-60; Freeman, G. (2008) *PNAS* 105(30):10275-76; Lazar-Molnar, E. *et al.* (2008) *PNAS* 105:10483-88, 이들의 전문이 참조로 인용된다). 따라서, 당업계에 가용한 수용체/리간드 인터페이스 정보를 기준으로, 예를 들어, PD-1, PD-L1, 및/또는 PD-L2 내 영역을 사용하여 목적하는 결합 성질을 갖는 적합한 항원 단편을 디자인할 수 있다. 예를 들어, PD-1 엑토도메인은 CD28 계열에 전형적인 단일 IgV 도메인을 함유하고, 여기서, PD-L1 및 PD-L2는 B7 계열에 전형적인 IgV 및 IgC 도메인으로 구성된다. PD-1, PD-L1 및/또는 PD-L2의 구조는 1:1 화학량론을 보여주고, 상호작용은 주로 IgV 도메인의 면 사이에서 일어난다. IgV 도메인은 9개 병행 베타 가닥 (ABCC' C" DEFG)으로 구성된 약 120개 아미노산을 포함하고, 루프는 상기 가닥을 연결한다. PD-1은 PD-L1 (GFCC') 또는 PD-L2 (AGFC 가닥 및 FG 루프)의 베타-면에 결합하기 위해 전면 베타-면(GFCC' 가닥 및 CC' , CC" , 및 FG 루프)을 사용하는 것으로 나타났다. 추가로, PD-1의 C, F, 및 G 가닥의 6개 아미노산은 오목한 소수성 코어를 형성하고 이는 PD-L2의 FG 루프 뿐만 아니라 F 및 G 가닥과 상호작용한다. 14개 잔기가 PD-1에 결합하는데 관여하는 경우 8개는 동일하거나 PD-L1과 PD-L2 사이에서 고도로 보존된다. 상기 정보를 사용하여, 당업자는 목적하는 성질을 갖는 항체를 생성하기 위해 적합한 항원 영역을 결정할 수 있다. 예를 들어, 당업자는 리간드 PD-L1 및 PD-L2 둘다와 교차 반응하는 항체를 생성할 수 있다(문헌참조: 예를 들어, 미국 특허 제 9845356호).

[0458] 적합한 대상체 (예를 들어, 비-사람 포유류)는 포유류에 의한 항체의 생성을 유발하기에 충분한 다수의 회수로 후속적 부스터 면역화와 함께 적당한 항원으로 면역화될 수 있다. 면역원은 보조제와 함께 대상체(예를 들어, 비-사람 포유류)에 투여될 수 있다. 대상체에서 항체를 생성하는데 유용한 보조제는 단백질 보조제; 세균 보조제, 예를 들어, 전체 세균 (BCG, 코리네박테리움 파르붐(*Corynebacterium parvum*) 또는 살모넬라 미네소타(*Salmonella minnesota*)) 및 세포벽 골격, 트레할로스 디미콜레이트, 모노포스포릴 지질 A, 결절 바실러스의 메탄을 추출될 수 있는 잔기(MER)를 포함하는 세균 성분, 완전한 또는 불완전한 프론트의 보조제; 바이러스 보조제; 화학적 보조제, 예를 들어, 수산화알루미늄, 및 요오도아세테이트 및 콜레스테릴 헤미숙시네이트를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 면역 반응을 유도하기 위한 방법에 사용될 수 있는 다른 보조제는 예를 들어, 콜레라 독소 및 파라폭스바이러스 단백질을 포함한다. 또한, 문헌(Bieg *et al.* (1999) *Autoimmunity* 31(1):15-24)을 참조한다. 또한 예를 들어, 문헌(Lodmell *et al.* (2000) *Vaccine* 18:1059-1066; Johnson *et al.* (1999) *J Med Chem* 42:4640-4649; Baldrige *et al.* (1999) *Methods* 19:103-107; and Gupta *et al.* (1995) *Vaccine* 13(14): 1263-1276)을 참조한다.

- [0459] 일부 구현예에서, 상기 방법은 면역원에 결합하는 모노클로날 항체를 분비하는 하이브리도마 세포주를 제조함을 포함한다. 예를 들어, 실험실 마우스와 같은 적합한 포유류는 상기된 바와 같은 폴리펩타이드(예를 들어, PD-1, PD-L1, PD-L2) 또는 항원 단편으로 면역화된다. 면역화된 포유류의 항체-생성 세포(예를 들어, 비장의 B 세포)는 면역원의 적어도 하나의 부스터 면역화 2 내지 4일 후 단리될 수 있고 이어서 적합한 골수종 세포주와의 융합 전 배양물에서 간략하게 성장시킨다. 세포는 예를 들어, 백시니아 바이러스 또는 폴리에틸렌 글리콜과 같은 융합 프로모터의 존재하에 융합될 수 있다. 융합으로 수득된 하이브리드 세포는 클로닝하고 목적하는 항체를 분비하는 세포 클론을 선택한다. 예를 들어, 적합한 면역원으로 면역화된 Balb/c 마우스의 비장 세포는 골수종 세포주 PAI 또는 골수종 세포주 Sp2/0-Ag 14의 세포와 융합시킬 수 있다. 융합 후, 세포는 선택 배지, 예를 들어, HAT 배지가 일정한 간격으로 보충되어 정상 골수종 세포가 목적하는 골수종 세포 보다 과성장하는 것을 방해하는, 적합한 배양 배지에서 확장시킨다. 수득된 골수종 세포는 이어서 목적하는 항체, 예를 들어, PD-1에 결합하는 항체의 분비에 대해 스크리닝한다.
- [0460] 일부 구현예에서, 당업자는 예를 들어, 문헌(참조: 예를 들어, 미국 특허 제6,300,064호 (Knappik et al.; Morphosys AG) 및 Schoonbroodt et al. (2005) *Nucleic Acids Res* 33(9):e81)에 기재된 바와 같이 비-면역 편중 라이브러리로부터 항-PD-1 항체를 동정할 수 있다.
- [0461] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 방법은 예를 들어, 파아지 디스플레이 기술, 세균 디스플레이, 효모 표면 디스플레이, 진핵 세포 바이러스 디스플레이, 포유동물 세포 디스플레이, 및 세포-부재(예를 들어, 리보솜 디스플레이) 항체 스크리닝 기술을 포함할 수 있거나 이들과 연계하여 사용될 수 있다(문헌참조: 예를 들어, Etz et al. (2001) *J Bacteriol* 183:6924-6935; Cornelis (2000) *Curr Opin Biotechnol* 11:450-454; Klemm et al. (2000) *Microbiology* 146:3025-3032; Kieke et al. (1997) *Protein Eng* 10:1303-1310; Yeung et al. (2002) *Biotechnol Prog* 18:212-220; Boder et al. (2000) *Methods Enzymology* 328:430-444; Grabherr et al. (2001) *Comb Chem High Throughput Screen* 4:185-192; Michael et al. (1995) *Gene Ther* 2:660-668; Pereboev et al. (2001) *J Virol* 75:7107-7113; Schaffitzel et al. (1999) *J Immunol Methods* 231:119-135; and Hanes et al. (2000) *Nat Biotechnol* 18:1287-1292).
- [0462] 다양한 파아지 디스플레이 방법을 사용하여 항체를 동정하기 위한 방법은 당업계에 공지되어 있다. 파아지 디스플레이 방법에서, 기능성 항체 도메인은 이들을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 운반하는 파아지 입자의 표면에 디스플레이된다. 상기 파아지는 레퍼토리 또는 조합 항체 라이브러리 (예를 들어, 사람 또는 무린)으로부터 발현된, Fab, Fv, 또는 디설파이드-결합 안정화된 Fv 항체 단편과 같은 항체의 항원-결합 도메인을 디스플레이하기 위해 사용될 수 있다. 이들 방법에 사용되는 파아지는 전형적으로 fd 및 M13과 같은 필라멘트 파아지이다. 항원 결합 도메인은 파아지 코트 단백질 pIII, pVIII, 또는 pIX 중 어느 하나와 재조합적으로 융합된 단백질로서 발현된다. 문헌(예를 들어, Shi et al. (2010) *JMB* 397:385-396)을 참조한다. 본원에 기재된 면역글로불린 또는 이의 단편을 제조하기 위해 사용될 수 있는 파아지 디스플레이의 예는 문헌(참조: Brinkman et al. (1995) *J Immunol Methods* 182:41-50; Ames et al. (1995) *J Immunol Methods* 184:177-186; Kettleborough et al. (1994) *Eur J Immunol* 24:952-958; Persic et al. (1997) *Gene* 187:9-18; Burton et al. (1994) *Advances in Immunology* 57:191-280; and PCT publication nos. WO 90/02809, WO 91/10737, WO 92/01047, WO 92/18619, WO 93/11236, WO 95/15982, 및 WO 95/20401)에 기재된 것들을 포함한다. 적합한 방법은 또한 예를 들어, 미국 특허 제5,698,426호; 제5,223,409호; 제5,403,484호; 제5,580,717호; 제5,427,908호; 제5,750,753호; 제5,821,047호; 제5,571,698호; 제5,427,908호; 제5,516,637호; 제5,780,225호; 제5,658,727호; 제5,733,743호 및 제5,969,108호에 기재되어 있다.
- [0463] 일부 구현예에서, 파아지 디스플레이 항체 라이브러리는 면역화된 포유류 기원의 B 세포로부터 수거된 mRNA를 사용하여 생성될 수 있다. 예를 들어, B 세포를 포함하는 비장 세포 샘플은 상기된 바와 같이 PD-1 폴리펩타이드로 면역화된 마우스로부터 단리될 수 있다. mRNA는 세포로부터 단리될 수 있고 표준 분자 생물학 기술을 사용하여 cDNA로 전환될 수 있다. 문헌(예를 들어, Sambrook et al. (1989) "Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition," Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Harlow and Lane (1988), *supra*; Benny K. C. Lo (2004), *supra*; and Borrebaek (1995), *supra*)을 참조한다. 면역글로불린의 중쇄 및 경쇄 폴리펩타이드의 가변 영역을 암호화하는 cDNA를 사용하여 파아지 디스플레이 라이브러리를 작제한다. 상기 라이브러리를 생성하기 위한 방법은 문헌(참조: 예를 들어, Merz et al. (1995) *J Neurosci Methods* 62(1-2):213-9; Di Niro et al. (2005) *Biochem J* 388(Pt 3):889-894; and Engberg et al. (1995) *Methods Mol Biol* 51:355-376)에 기재되어 있다.

- [0464] 일부 구현예에서, 선택과 스크리닝의 조합을 사용하여 예를 들어, 하이브리도마-유래된 항체 또는 파아지 디스플레이 항체 라이브러리 집단으로부터 관심 대상의 항체를 동정할 수 있다. 적합한 방법은 당업계에 공지되어 있고, 문헌(참조: 예를 들어, Hoogenboom (1997) *Trends in Biotechnology* 15:62-70; Brinkman et al. (1995), *supra*; Ames et al. (1995), *supra*; Kettleborough et al. (1994), *supra*; Persic et al. (1997), *supra*; and Burton et al. (1994), *supra*)에 기재되어 있다. 예를 들어, 각각 박테리오파아지 코트 단백질(예를 들어, M13 파아지의 pIII, pVIII, 또는 pIX)과 상이한 항원-조합 영역의 융합 단백질을 암호화하는 다수의 파아지미드 벡터는 표준 분자 생물학 기술을 사용하여 생성되고 이어서 세균(예를 들어, 이. 콜리) 집단에 도입된다. 세균에서 박테리오파아지의 발현은 일부 구현예에서 헬퍼 파아지의 사용을 요구할 수 있다. 일부 구현예에서, 어떠한 헬퍼 파아지도 요구되지 않는다(문헌참조: 예를 들어, Chasteen et al., (2006) *Nucleic Acids Res* 34(21):e145). 세균으로부터 생성된 파아지를 회수하고 이어서 예를 들어, 고체 지지체에 결합된(고정화된) 표적 항원과 접촉된다. 파아지는 또한 용액 중에 항원에 접촉될 수 있고, 복합체는 후속적으로 고체 지지체에 결합된다.
- [0465] 상기 방법을 사용하여 스크리닝된 항체의 서브집단은 당업계에 공지된 임의의 면역학적 또는 생화학적 기반 방법을 사용한 특정 항원(예를 들어, 사람 PD-1)에 이들의 특이성 및 결합 친화성을 특징으로 할 수 있다. 예를 들어, 항체의 PD-1으로의 특이적 결합은 예를 들어, 이에 제한되지 않지만 상기된 바와 같은 ELISA 검정, SPR 검정, 면역침전 검정, 친화성 크로마토그래피 및 평형 투석과 같은 면역학적 또는 생화학적 기반 방법을 사용하여 결정될 수 있다. 항체의 면역특이적 결합 및 교차-반응성을 분석하기 위해 사용될 수 있는 면역검정은 웨스턴 블롯, RIA, ELISA (효소 연결된 면역흡착 검정), “샌드위치” 면역검정, 면역침전 검정, 면역확산 검정, 응집 검정, 보체-고정화 검정, 면역방사선측정 검정, 형광성 면역검정 및 단백질 A 면역검정과 같은 기술을 사용하여 경쟁 및 비-경쟁 검정 시스템을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 상기 검정은 통상적이고 당업계에 널리 공지되어 있다.
- [0466] 상기 방법은 또한 예를 들어, 항-PD-1 항체가 전장의 사람 PD-1 및/또는 PD-1 단백질에 결합하지 않는지를 결정하기 위해 사용될 수 있는 것으로 이해된다.
- [0467] 선택된 CDR 아미노산 서열이 짧은 서열(예를 들어, 길이가 10 내지 15개 미만인)인 구현예에서, CDR을 암호화하는 핵산은 문헌(참조: Shiraishi et al. (2007) *Nucleic Acids Symposium Series* 51(1):129-130 및 미국 특허 제6,995,259호에 기재된 바와 같이 화학적으로 합성될 수 있다. 수용체 항체를 암호화하는 소정의 핵산 서열에 대해, CDR을 암호화하는 핵산 서열 영역은 표준 분자 생물학 기술을 사용하여 화학적으로 합성된 핵산으로 대체될 수 있다. 화학적으로 합성된 핵산의 5' 및 3' 말단은 핵산을 공여자 항체의 가변 영역을 암호화하는 핵산으로 클로닝하는데 사용하기 위한 점성 말단 제한 효소 부위를 포함하도록 합성될 수 있다. 대안적으로, 함께 항체를 암호화할 수 있는 화학적으로 합성된 핵산의 단편은 당업계에 공지된 DNA 어셈블리 기술(예를 들어, 깁슨 (Gibson) 어셈블리)을 사용하여 함께 연결될 수 있다.
- [0468] 선택된 임의의 항체는 추가로 변형시켜 본원에 기재된 바와 같이 항원-결합 단편을 생성할 수 있고/있거나 당업계에 공지된 기술을 사용하여 조작되어 본원에 기재된 바와 같은 다중특이적 항원-결합 작제물을 생성할 수 있다. 예를 들어, 가교 결합 방법을 사용하여 예를 들어, 미국 특허 제4,433,059호에 기재된 바와 같은 아민-반응성 그룹 및 설프하이드릴 반응성 그룹을 갖는 이중기능성 시약을 사용하여 이특이적 구조를 생성할 수 있고; 이특이적 항체 결정인자는 예를 들어, 미국 특허 제4,444,878호에 기재된 바와 같이 2개의 중쇄 사이의 디설파이드 결합의 환원 및 산화 사이클을 통해 상이한 항체로부터 절반 항체 (중쇄-경쇄 쌍 또는 Fab)를 재조합함에 의해 생성될 수 있고; 삼기능성 항체, 예를 들어, 3개의 Fab' 단편은 예를 들어, 미국 특허 제5,273,743호에 기재된 바와 같이 설프하이드릴 반응성 그룹을 통해 가교 결합될 수 있다. 이특이적 작제물을 생성하는 다른 방법, 예를 들어, 통상의 경쇄를 갖는 이특이적 작제물을 생성하는 방법은 본원에 기재되어 있다. 본원에 기재된 작제물에 사용되는 통상의 경쇄의 아미노산 서열의 비제한적인 예는 서열번호 59 내지 63을 포함한다.
- [0469] E. 다중특이적 항원-결합 작제물의 발현 및 정제
- [0470] 본원에 기재된 이의 다중특이적 항원-결합 작제물은 분자 생물학 및 단백질 화학 분야에 공지된 다양한 기술을 사용하여 생성될 수 있다. 예를 들어, 다중특이적 항원-결합 작제물 (단일 다기능성 폴리펩타이드로서, 또는 다량체 복합체의 별도의 분자로서 - 예를 들어, 다른 항원-결합 아암으로부터 별도의 하나의 항원-결합 아암)을 암호화하는 핵산은 예를 들어, 프로모터 서열, 리보솜 결합 부위, 전사 개시 및 정지 서열, 해독 개시 및 정지 서열, 전사 종결인자 신호, 폴리아데닐화 신호 및 인핸서 또는 활성화인자 서열을 포함하는 전사 및 해독 조절

서열을 암호화하는 발현 벡터에 삽입될 수 있다. 조절 서열은 프로모터 및 전사 개시 및 정지 서열을 포함한다. 추가로, 발현 벡터는 하나 이상의 복제 시스템을 포함하여 이것이 2개의 상이한 유기체에서, 예를 들어, 발현을 위한 포유동물 또는 곤충 세포에서 및 클로닝 및 증폭을 위한 원핵 세포 숙주에서 유지될 수 있다.

[0471] 여러 가능한 벡터 시스템은 포유동물 세포에서 핵산으로부터 클로닝된 중쇄 및 경쇄 폴리펩타이드의 발현을 위해 가용하다. 벡터의 하나의 부류는 목적하는 유전자 서열의 숙주 세포 계층으로의 통합에 의존한다. 적합하게 통합된 DNA를 갖는 세포는 *이. 콜리* gpt (문헌참조: Mulligan and Berg (1981) *Proc Natl Acad Sci USA* 78:2072) 또는 *Tn5 neo* (문헌참조: Southern and Berg (1982) *Mol Appl Genet* 1:327)와 같은 약물 내성 유전자를 동시에 도입함에 의해 선택될 수 있다. 선택가능한 마커 유전자는 발현될 DNA 유전자 서열에 연결되거나, 동시-형질감염에 의해 동일한 세포에 도입될 수 있다(문헌참조: Wigler et al. (1979) *Cell* 16:77). 제2 부류의 벡터는 자발적 복제 능력을 염색체의 플라스미드에 부여하는 DNA 요소를 사용한다. 이들 벡터는 동물 바이러스, 예를 들어, 소 파필로마바이러스(문헌참조: Sarver et al. (1982) *Proc Natl Acad Sci USA*, 79:7147), 사이토메갈로바이러스, 폴리오마 바이러스 (문헌참조: Deans et al. (1984) *Proc Natl Acad Sci USA* 81:1292), 또는 SV40 바이러스(문헌참조: Lusk and Botchan (1981) *Nature* 293:79)로부터 유래할 수 있다.

[0472] 발현 벡터는 핵산의 후속적 발현을 위해 적합한 방식으로 세포에 도입될 수 있다. 도입 방법은 대부분 하기 논의된 표적화된 세포 유형에 의해 좌우된다. 예시적 방법은 $CaPO_4$ 침전, 리포솜 융합, 양이온성 리포솜, 전기천공, 바이러스 감염, 텍스트란 매개된 형질감염, 폴리브렌-매개된 형질감염, 원형질체 융합, 및 직접적인 미세주사를 포함한다.

[0473] 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 발현을 위해 적당한 숙주 세포는 효모, 세균, 곤충, 식물 및 포유동물 세포를 포함한다. 특정 관심 대상은 세균, 예를 들어, *이. 콜리*, 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*) 및 피키아 파스토리스(*Pichia pastoris*)와 같은 진균류, SF9과 같은 고충, 포유동물 세포주(예를 들어, 사람 세포주), 및 1차 세포주이다.

[0474] 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 단편은 유전자전이 동물 (예를 들어, 유전자전이 포유류)에서 발현될 수 있거나 이로부터 정제될 수 있다. 예를 들어, 항체는 유전자전이 비-사람 포유류 (예를 들어, 설치류)에서 생성될 수 있고 예를 들어, 문헌(참조: 예를 들어, Houdebine (2002) *Curr Opin Biotechnol* 13(6):625-629; van Kuik-Romeijn et al. (2000) *Transgenic Res* 9(2):155-159; and Pollock et al. (1999) *J Immunol Methods* 231(1-2):147-157)에 기재된 바와 같이 밀크로부터 단리될 수 있다.

[0475] 항체 및 이의 단편은 단백질의 발현을 가능하게 하기에 충분한 조건 및 시간 동안 항체 또는 단편을 암호화하는 핵산을 함유하는 발현 벡터로 형질전환된 숙주 세포를 배양함에 의해 세포로부터 생성될 수 있다. 단백질 발현을 위한 상기 조건은 발현 벡터 및 숙주 세포의 선택에 따라 다양하고 통상의 실험을 통해 당업자에 의해 용이하게 확인된다. 예를 들어, *이. 콜라이*에서 발현된 항체는 봉입체로부터 재폴딩될 수 있다(문헌참조: 예를 들어, Hou et al. (1998) *Cytokine* 10:319-30). 세균 발현 시스템 및 이들의 사용 방법은 당업계에 널리 공지되어 있다(문헌참조: Current Protocols in Molecular Biology, Wiley & Sons, and Molecular Cloning--A Laboratory Manual --3rd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (2001)). 코돈의 선택, 적합한 발현 벡터 및 적합한 숙주 세포는 다수의 인자에 의존하여 다양하고 필요한 만큼 용이하게 최적화될 수 있다. 본원에 기재된 항체 (또는 이의 단편)는 포유동물 세포에서 또는 효모, 바쿨로바이러스, 및 시험관내 발현 시스템을 포함하지만 이에 제한되지 않는 다른 발현 시스템에서 발현될 수 있다(문헌참조: 예를 들어, Kaszubska et al. (2000) *Protein Expression and Purification* 18:213-220).

[0476] 발현 후, 항체 및 이의 단편은 단리될 수 있다. 항체 또는 이의 단편은 샘플에 어떠한 다른 성분들이 존재하느냐에 따라 당업자에게 공지된 다양한 방법으로 단리되거나 정제될 수 있다. 표준 정제 방법은 전기영동, 분자, 면역학적 및 이온 교환, 소수성, 친화성 및 역상 HPLC 크로마토그래피를 포함하는 크로마토그래피 기술을 포함한다. 예를 들어, 항체는 표준 항-항체 컬럼(예를 들어, 단백질-A 또는 단백질-G 컬럼)을 사용하여 정제될 수 있다. 단백질 농축과 함께 한외 여과 및 정용 여과 기술은 또한 유용하다. 예를 들어, 문헌(Scopes (1994) "Protein Purification, 3rd edition," Springer-Verlag, New York City, New York)을 참조한다. 필요한 정제 정도는 목적하는 용도에 따라 다양하다. 일부 경우에, 발현된 항체 또는 이의 단편의 어떠한 정제도 필요하지 않다.

[0477] 정제된 항체 또는 이의 단편의 수율 또는 순도를 결정하기 위한 방법은 당업계에 공지되어 있고 예를 들어, 브

래드포드 검정, UV 분광측정, 비우렛 단백질 검정, 로리 단백질 검정, 아미도 블랙 단백질 검정, 고압 액체 크로마토그래피(HPLC), 질량 분광측정(MS), 및 겔 전기영동 방법(예를 들어, 쿠마시 블루 또는 콜로이드 실버 염색과 같은 단백질 염색을 사용하여)을 포함한다.

[0478] F. 다중특이적 항원-결합 작제물의 변형

[0479] 다중특이적 항원-결합 작제물은 단일 다기능성 폴리펩타이드로서 또는 다량체 복합체의 별도의 분자로서 - 예를 들어, 다른 항원-결합 아암으로부터 별도로 하나의 항원-결합 아암으로서 이들의 발현 및 정제 후 변형될 수 있다. 상기 변형은 공유 또는 비공유 변형일 수 있다. 상기 변형은 예를 들어, 폴리펩타이드의 표적화된 아미노산 잔기를, 선택된 측쇄 또는 말단 잔기와 반응할 수 있는 유기 유도체화제와 반응시킴에 의해 항체 또는 항원-결합 단편에 도입될 수 있다. 변형을 위해 적합한 부위는 예를 들어, 항체 또는 단편의 구조적 분석 또는 아미노산 서열 분석을 포함하는 임의의 다양한 표준 분석을 사용하여 선택될 수 있다.

[0480] 본원에 제공된 아미노산 서열은 3문자 아미노산 코드와 상호교환적으로 사용될 수 있는 단일 문자 아미노산 코드로 제시된다. 아미노산은 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 단백질에 혼입될 수 있는 임의의 단량체 유닛을 언급한다. 20개 천연 또는 유전학적으로 암호화된 알파-아미노산은 다음과 같다: 알라닌 (Ala 또는 A), 아르기닌 (Arg 또는 R), 아스파라긴 (Asn 또는 N), 아스파르트산 (Asp 또는 D), 시스테인 (Cys 또는 C), 글루타민 (Gln 또는 Q), 글루탐산 (Glu 또는 E), 글라이신 (Gly 또는 G), 히스티딘 (His 또는 H), 이소류신 (Ile 또는 I), 류신 (Leu 또는 L), 라이신 (Lys 또는 K), 메티오닌 (Met 또는 M), 페닐알라닌 (Phe 또는 F), 프롤린 (Pro 또는 P), 세린 (Ser 또는 S), 트레오닌 (Thr 또는 T), 트립토판 (Trp 또는 W), 티로신 (Tyr 또는 Y), 및 발린 (Val 또는 V). 이들 20개 천연 아미노산의 구조는 예를 들어, 문헌(참조: 예를 들어, Stryer et al., *Biochemistry*, 5th ed., Freeman and Company (2002))에서 보여진다. 용어 아미노산은 또한 비천연 아미노산, 변형된 아미노산(예를 들어, 변형된 측쇄 및/또는 골격을 갖는), 및 아미노산 유사체를 포함한다.

[0481] 2개 이상의 핵산 또는 폴리펩타이드 서열과 관련하여 용어 동일한 또는 퍼센트 동일성은 하기의 서열 비교 알고리즘 중 하나를 사용하거나 수동 정렬 및 육안 조사에 의한 측정시 비교 윈도우 또는 지정된 영역 상에 최대 상응성에 대해 비교되고 정렬되는 경우, 동일한 (예를 들어, 특정 영역 상에서 90% 또는 95% 또는 초과 동일성)인 동일하거나 특정 퍼센트의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 잔기인 2개 이상의 서열 또는 서브서열을 언급한다.

[0482] 서열과 관련하여 동일성 또는 유사성은 서열을 정렬시키고 필요한 경우 최대 퍼센트 서열 동일성을 성취하기 위해 갭을 도입한 후 출발 아미노산 잔기와 동일한 (즉, 동일한 잔기) 후보 서열에서 아미노산 잔기의 퍼센트로서 정의된다. 비교를 위한 서열의 정렬 방법은 당업계에 널리 공지되어 있다. 비교를 위한 서열의 최적 정렬은 예를 들어, 문헌(*Adv. Appl. Math.* 2:482, 1970)의 국소 상동성 알고리즘에 의해, 문헌(Needleman and Wunsch (1970) *J. Mol. Biol.* 48:443, 1970)의 상동성 정렬 알고리즘에 의해, 문헌(Pearson and Lipman (1988) *Proc. Nat' l. Acad. Sci. USA* 85:2444, 1988)의 유사성 방법에 대한 검색에 의해, 이들 알고리즘(GAP, BESTFIT, FASTA, 및 TFASTA (Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis)의 컴퓨터화된 수행, 또는 수동 정렬 및 육안 검사(문헌참조: 예를 들어, Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology* (1995 supplement))에 의해 수행될 수 있다.

[0483] 이의 단편을 포함하는 모든 펩타이드, 폴리펩타이드 및 단백질과 관련하여, 작제물, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 부분의 아미노산 서열에서, 예를 들어, 중쇄 가변 영역 및/또는 경쇄 가변 영역에서 추가의 변형이 일어날 수 있고 이는 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 성질 또는 기능을 변경시키지 않는 것으로 이해된다. 상기 변형은 보존성 아미노산 치환을 포함하여 각각의 언급된 서열은 임의로 하나 이상의 보존성 아미노산 치환을 함유한다. 하기의 그룹은 각각 서로에 대해 보존성 치환인 아미노산을 함유한다. 이들 그룹은 예시적인 것이고 다른 보존성 치환이 당업자에게 공지되어 있다.

[0484] 1) 알라닌 (A), 글라이신 (G);

[0485] 2) 아스파르트산 (D), 글루탐산 (E);

[0486] 3) 아스파라긴 (N), 글루타민 (Q);

[0487] 4) 아르기닌 (R), 라이신 (K);

[0488] 5) 이소류신 (I), 류신 (L), 메티오닌 (M), 발린 (V);

- [0489] 6) 페닐알라닌 (F), 타이로신 (Y), 트립토판 (W);
- [0490] 7) 세린 (S), 트레오닌 (T); 및
- [0491] 8) 시스테인 (C), 메티오닌 (M)
- [0492] 예를 들어, 특정 잔기에서 아스파르트산이 언급된 경우, 상기 잔기, 예를 들어, 글루탐산에서 보존성 치환이 고려된다. 예를 들어, 보존성 치환은 예를 들어 프롤린의 글라이신으로의 치환이 또한 고려된다.
- [0493] 일부 구현예에서, 작제물, 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 이중성 모이어티에 접합될 수 있다. 이중성 모이어티는 예를 들어, 이중성 폴리펩타이드, 치료학적 제제(예를 들어, 독소 또는 약물), 또는 이에 제한되지 않지만 방사능활성 표지, 효소 표지, 형광성 표지, 중금속 표지, 발광 표지, 또는 치환성 태그, 예를 들어, 비오틴 또는 스트렙타비딘일 수 있다. 적합한 이중성 폴리펩타이드는 예를 들어, 항체 또는 단백을 정제하는데 사용하기 위한, 항원성 태그(예를 들어, FLAG (DYKDDDDK) (서열번호 117), 폴리히스티딘 (6-His; HHHHHH (서열번호 118)), 헤마글루티닌(HA; YPYDVPDYA (서열번호 119)), 글루타티온-S-트랜스퍼라제(GST), 또는 말토스-결합 단백질 (MBP)을 포함한다. 이중성 폴리펩타이드는 또한 진단학적 또는 검출가능한 마커로서 유용한 폴리펩타이드(예를 들어, 효소), 예를 들어, 루시페라제, 형광성 단백질(예를 들어, 녹색 형광성 단백질 (GFP)) 또는 클로람페니콜 아세틸 트랜스퍼라제(CAT)를 포함한다. 적합한 방사능활성 표지는 예를 들어, ³²P, ³³P, ¹⁴C, ¹²⁵I, ¹³¹I, ³⁵S, 및 ³H를 포함한다. 적합한 형광성 표지는 제한 없이 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트 (FITC), 녹색 형광성 단백질 (GFP), DyLight™ 488, 피코에리트린 (PE), 프로피듐 요오다이드(PI), PerCP, PE-Alexa Fluor® 700, Cy5, 알로피코시아닌, 및 Cy7을 제한 없이 포함한다. 발광 표지는 예를 들어, 임의의 다양한 발광성 란타니드(예를 들어, 유로피움 또는 테르비움) 킬레이트를 포함한다. 예를 들어, 적합한 유로피움 킬레이트는 디에틸렌 트리아민 펜타아세트산 (DTPA) 또는 테트라아자사이클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산 (DOTA)의 유로피움 킬레이트를 포함한다. 효소적 표지는 예를 들어, 알칼린 포스파타제, CAT, 루시페라제 및 서양고추냉이 퍼옥시다제를 포함한다.
- [0494] 2개의 단백질(예를 들어, 항체 및 이중성 모이어티)는 임의의 다수의 공지된 화학적 가교 결합제를 사용하여 가교 결합될 수 있다. 상기 가교 결합제의 예는 “장애” 디설파이드 결합을 포함하는 연결체를 통해 2개의 아미노산 잔기를 연결하는 것들이다. 이들 연결체에서, 가교 결합 유닛 내 디설파이드 결합은 예를 들어, 환원된 글루타티온 또는 효소 디설파이드 리덕타제의 작용에 의해 환원으로부터 보호된다(디설파이드 결합의 어느 한 측면 상의 장애 그룹에 의해). 하나의 적합한 시약, 4-숙신이미딜옥시카프로일-α-메틸-α-(2-피리딜디티오) 톨루엔 (SMPT)은 단백질의 하나의 상에 말단 라이신 및 다른 하나에 말단 시스테인을 사용하는 2개의 단백질 사이에 상기 연결체를 형성한다. 각각의 단백질 상에 상이한 커플링 모이어티에 의해 가교 결합하는 이중기능성 시약이 또한 사용될 수 있다. 다른 유용한 가교 결합제는 제한 없이 2개의 아미노 그룹을 연결하는 시약(예를 들어, N-5-아지도-2-니트로벤조일옥시숙신이미드), 2개의 설프하이드릴 그룹(예를 들어, 1,4-비스-말레이미도부탄), 아미노 그룹 및 설프하이드릴 그룹(예를 들어, m-말레이미도벤조일-N-하이드록시숙신이미드 에스테르), 아미노 그룹 및 카복실 그룹(예를 들어, 4-[p-아지도살리실아미드]부틸아민), 및 아미노 그룹 및 아르기닌의 측쇄에 존재하는 구아니디늄 그룹(예를 들어, p-아지도페닐 글리옥살 모노하이드레이트)을 포함한다.
- [0495] 일부 구현예에서, 방사능활성 표지는 직접 항체의 아미노산 골격에 접합될 수 있다. 대안적으로, 방사능활성 표지는 유리된 아미노 그룹에 결합하여 관련 단백질의 메타-요오도페닐(mIP) 유도체(문헌참조: 예를 들어, Rogers et al. (1997) *J Nucl Med* 38:1221-1229) 또는 킬레이트(예를 들어, DOTA 또는 DTPA)를 형성함에 이어서 단백질 골격에 결합된 보다 큰 분자(예를 들어, ¹²⁵I in 메타-[¹²⁵I]요오도페닐-N-하이드록시숙신이미드 ([¹²⁵I]mIPNHS)의 일부로서 포함될 수 있다. 방사능활성 표지 또는 보다 큰 분자/이들을 함유하는 킬레이트를 본원에 기재된 항체 또는 항원-결합 단백질에 접합시키는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 상기 방법은 방사능활성 표지 또는 킬레이트의 단백질로의 결합을 촉진시키는 조건(예를 들어, pH, 염 농도, 및/또는 온도)하에 상기 단백질을 방사능활성 표지와 항원처리함을 포함한다(문헌참조: 예를 들어, 미국 특허 제6,001,329호).
- [0496] 형광성 표지(때로는 “형광단”으로서 언급되는)를 단백질(예를 들어, 항체)에 접합시키기 위한 방법은 단백질 화학 분야에서 공지되어 있다. 예를 들어, 형광단은 형광단에 부착된 숙신이미딜(NHS) 에스테르 또는 테트라플루오로페닐 (TFP) 에스테르 모이어티를 사용하여 단백질의 유리된 아미노 그룹(예를 들어, 라이신의 그룹) 또는 설프하이드릴 그룹(예를 들어, 시스테인)에 접합될 수 있다. 일부 구현예에서, 형광단은 설프-SMCC와 같

은 이중이기능성 가교 결합제 모이어티에 접합될 수 있다. 적합한 접합 방법은 항체 단백질 또는 이의 단편을 형광단의 단백질로의 결합을 촉진시키는 조건하에서 형광단으로 항온처리함을 포함한다. 예를 들어, 문헌(Welch and Redvanly (2003) "Handbook of Radiopharmaceuticals: Radiochemistry and Applications," John Wiley and Sons (ISBN 0471495603))을 참조한다.

[0497] 일부 구현예에서, 항체 또는 단편은 예를 들어, 순환계, 예를 들어, 혈액, 혈청 또는 다른 조직 중에 항체의 안정화 및/또는 보유를 개선시키는 모이어티로 변형시킬 수 있다. 예를 들어, 항체 또는 단편은 문헌(참조: 예를 들어, Lee et al. (1999) *Bioconjug Chem* 10(6): 973-8; Kinstler et al. (2002) *Advanced Drug Deliveries Reviews* 54:477-485; and Roberts et al. (2002) *Advanced Drug Delivery Reviews* 54:459-476 or HESylated (Fresenius Kabi, Germany; see, e.g., Pavisì et al. (2010) *Int J Pharm* 387(1-2):110-119))에 기재된 바와 같이 폐기될 수 있다. 안정화 모이어티는 항체 (또는 단편)의 안정성 또는 보유를 적어도 1.5 (예를 들어, 적어도 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 또는 50 이상)배까지 개선시킬 수 있다.

[0498] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 당화될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 효소적 또는 화학적 치료에 적용될 수 있거나 세포로부터 생성될 수 있어, 상기 항체 또는 단편은 감소된 당화 또는 당화 부재를 가질 수 있다. 감소된 당화를 갖는 항체를 생성하기 위한 방법은 당업계에 공지되어 있고 문헌(참조: 예를 들어, U.S. patent no. 6,933,368; Wright et al. (1991) *EMBO J* 10(10):2717-2723; and Co et al. (1993) *Mol Immunol* 30:1361)에 기재되어 있다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 비당화된다.

[0499] G. 약제학적 조성물 및 제형

[0500] 본원의 개시내용은 또한 본원에 기재된 방법과 함께 사용될 약제학적으로 허용되는 희석제, 담체, 안정화제, 가용화제, 유화제, 보존제 및/또는 보조제와 함께 본원의 개시내용의 다중특이적 항원-결합 작제물을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 상기 약제학적 조성물은 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 암을 갖는 대상체에서 사용될 수 있다.

[0501] 특정 구현예에서, 허용되는 제형 물질은 바람직하게 사용되는 용량 및 농도에서 수용자에게 비독성이다. 특정 구현예에서, 상기 제형 물질(들)은 s.c. 및/또는 I.V. 투여용이다. 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 예를 들어, pH, 삼투압, 점도, 투명성, 색상, 등장성, 향, 멸균성, 안정성, 용해 또는 방출률, 조성물의 흡수 또는 침투를 변형시키거나, 유지하거나 보존시키기 위한 제형 물질을 함유할 수 있다. 특정 구현예에서, 적합한 제형 물질은 아미노산(예를 들어, 글라이신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 라이신); 항미생물제; 항산화제(예를 들어, 아스코르브산, 아황산나트륨 또는 아황산수소나트륨); 완충제(예를 들어, 보레이트, 중탄산염, Tris-HCl, 시트레이트, 포스페이트 또는 다른 유기산); 벌크제(예를 들어, 만니톨 또는 글라이신); 킬레이팅제(예를 들어, 에틸렌디아민 테트라아세트산(EDTA)); 착화제(예를 들어, 카페인, 폴리비닐피롤리돈, 베타-사이클로덱스트린 또는 하이드록시프로필-베타- 사이클로덱스트린); 충전제; 모노사카라이드; 디사카라이드; 및 다른 탄수화물(예를 들어, 글루코스, 만노스 또는 텍스트린); 단백질 (예를 들어, 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린); 착색제, 향제 및 희석제; 유화제; 친수성 중합체(예를 들어, 폴리비닐피롤리돈); 저분자량의 폴리펩타이드; 염-형성 역이온(예를 들어, 나트륨); 보존제 (예를 들어, 벤즈알코늄 클로라이드, 벤조산, 살리실산, 티메로살, 페닐 알콜, 메틸파라벤, 프로필파라벤, 클로르헥시딘, 소르브산 또는 과산화수소); 용매(예를 들어, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜); 당 알콜(예를 들어, 만니톨 또는 소르비톨); 현탁제; 계면활성제 또는 습윤화제(예를 들어, 플루로닉, PEG, 소르비탄 에스테르, 폴리소르베이트, 예를 들어, 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80, 트리톤, 트로메타민, 렉틴, 콜레스테롤, 킬록사팔); 안정성 증진제 (예를 들어, 슈크로스 또는 소르비톨); 등장성 증진제(예를 들어, 알칼리 금속 할라이드, 바람직하게 염화나트륨 또는 염화칼륨, 만니톨 소르비톨); 전달 비히클; 희석제; 부형제 및/또는 약제학적 보조제를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. (문헌참조: Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, A. R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company (1995)). 특정 구현예에서, 상기 제형은 PBS; 20 mM NaOAc, pH 5.2, 50 mM NaCl; 및/또는 10 mM NaOAc, pH 5.2, 9% 슈크로스를 포함한다. 특정 구현예에서, 최적의 약제학적 조성물은 예를 들어, 의된 투여 경로, 전달 포맷 및 목적하는 용량에 의존하여 당업자에 의해 결정된다. 예를 들어, 문헌(Remington's Pharmaceutical Sciences, supra)을 참조한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 다중특이적 항원-결합 작제물의 물리적 상태, 안정성, 생체내 방출률 및/또는 생체내 제거율에 영향을 미칠 수 있다.

[0502] 특정 구현예에서, 약제학적 조성물 중에 1차 비히클 또는 담체는 천연적으로 수성 또는 비수성일 수 있다. 예를 들어, 특정 구현예에서, 적합한 비히클 또는 담체는 비경구 투여용 조성물 중에 다른 물질이 능히 보충된, 주사

용수, 생리학적 식염 용액 또는 인공 뇌척수액일 수 있다. 특정 구현예에서, 식염수는 등장성 포스포이트-완충 식염수를 포함한다. 특정 구현예에서, 중성 완충 식염수 또는 혈청 알부민과 혼합된 식염수는 추가의 예시적 비히클이다. 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 약 pH 7.5 내지 8.5의 완충액, 또는 약 pH 4.0 내지 5.5의 아세테이트 완충액을 포함하고, 이들은 따라서 추가로 소르비톨 또는 적합한 치환물을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 작제물을 포함하는 조성물은 목적하는 순도를 갖는 선택된 조성물을 동결건조된 케이크 또는 수용액 형태로 임의의 제형 제제 (Remington's Pharmaceutical Sciences, supra)를 혼합함에 의해 저장을 위해 제조될 수 있다. 추가로, 특정 구현예에서, 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 작제물을 포함하는 조성물은 슈크로스과 같은 적당한 부형제를 사용하여 동결건조제로서 제형화될 수 있다.

[0503] 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 비경구 전달을 위해 선택될 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 흡입하기 위한 또는 소화관을 통해, 예를 들어, 경구로 전달하기 위해 선택될 수 있다. 상기 약제학적으로 허용되는 조성물의 제제는 당업자의 능력 내에 있다.

[0504] 특정 구현예에서, 상기 제형 성분들은 투여 부위에 허용될 수 있는 농도로 존재한다. 특정 구현예에서, 완충제를 사용하여 전형적으로 약 5 내지 약 8의 pH 범위내에서 생리학적 pH 또는 약간 보다 낮은 pH로 조성물을 유지한다.

[0505] 특정 구현예에서, 비경구 투여가 고려되는 경우, 치료학적 조성물은 약제학적으로 허용되는 비히클 중에 항원-결합 작제물을 포함하는 발열원 부재의 비경구적으로 허용되는 수용액 형태로 존재할 수 있다. 특정 구현예에서, 비경구 주사를 위한 비히클은 증류수이고, 여기서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 멸균, 등장성 용액으로서 제형화되고 적절하게 보존된다. 특정 구현예에서, 상기 제제는 제제, 예를 들어, 주사가 가능한 미소구, 생-침식성 입자, 중합체 화합물 (예를 들어, 폴리락타산 또는 폴리글리콜산), 데포 주사를 통해 전달될 수 있는 생성물의 제어 또는 지연 방출을 제공할 수 있는 비드 또는 리포솜과 함께 목적하는 분자의 제형을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 하이알루론산은 또한 사용될 수 있고 순환계 중 지연된 지속성을 촉진시키는 효과를 가질 수 있다. 특정 구현예에서, 이식될 수 있는 약물 전달 장치를 사용하여 목적하는 분자를 도입할 수 있다.

[0506] 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 흡입을 위해 제형화될 수 있다. 특정 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 흡입용 건조 분말로서 제형화될 수 있다. 특정 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물을 포함하는 흡입 용액은 에어로졸 전달을 위한 추진제와 함께 제형화될 수 있다. 특정 구현예에서, 용액은 분무될 수 있다. 폐 투여는 추가로 화학적으로 변형된 단백질의 폐 전달을 기재하는 PCT 출원 번호 PCT/US94/001875호에 추가로 기재된다.

[0507] 특정 구현예에서, 제형이 경구 투여될 수 있는 것으로 고려된다. 특정 구현예에서, 상기 양상으로 투여되는 다중특이적 항원-결합 작제물은 정제 및 캡슐제와 같은 고체 투여 형태의 혼합에 통상적으로 사용되는 담체의 존재 또는 부재와 함께 제형화될 수 있다. 특정 구현예에서, 캡슐은 생물가용성이 최대화되고 사전 전신 분해가 최소화된 경우 위장관에서 상기 지점에서 제형의 활성 부분을 방출하기 위해 디자인될 수 있다. 특정 구현예에서, 적어도 하나의 추가의 제제는 다중특이적 항원-결합 작제물의 흡수를 촉진시키기 위해 포함될 수 있다. 특정 구현예에서, 희석제, 향제, 저융점 왁스, 식물성 오일, 윤활제, 현탁제, 정제 붕해제 및 결합제가 또한 사용될 수 있다.

[0508] 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 정제의 제조를 위해 적합한 비독성 부형제와 함께 혼합물 중에 유효량의 다중특이적 항원-결합 작제물을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 멸균수 또는 또 다른 적당한 비히클 중에 정제를 용해시킴에 의해, 용액은 유닛 투여 형태로 제조될 수 있다. 특정 구현예에서, 적합한 부형제는 불활성 희석제, 예를 들어, 탄산칼슘, 탄산나트륨 또는 중탄산염, 락토스, 또는 인산칼슘; 또는 결합제, 예를 들어, 전분, 젤라틴, 또는 아카시아; 또는 윤활제, 예를 들어, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 또는 탈크를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0509] 추가의 약제학적 조성물은 지속적 또는 제어된 전달 제형 중에 다중특이적 항원-결합 작제물을 포함하는 제형을 포함하는, 당업자에게 자명하다. 특정 구현예에서, 리포솜 담체, 생-침식성 미세입자 또는 다공성 비드 및 데포 주사와 같은 다양한 다른 지속적 또는 제어된 전달 수단을 제형화하기 위한 기술은 또한 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 약제학적 조성물의 전달을 위한 다공성 중합체 미세입자의 제어된 방출을 기재하는 PCT 출원 번호 PCT/US93/00829를 참조한다. 특정 구현예에서, 지속적 방출 제제는 성형된 제품, 예를 들어, 필름 또는 미세입자의 형태로 반투과성 중합체 매트릭스를 포함할 수 있다. 지속적 방출 매트릭스는 폴리에스테르, 하이드로겔, 폴리락티드(미국 특허 제3,773,919호 및 EP 058,481), L-글루타만과 감마 에틸-L-글루타마이트의 공중합체 (Sidman et al., Biopolymers, 22:547-556 (1983)), 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트) (Langer et al.,

J. Biomed. Mater. Res., 15: 167-277 (1981) and Langer, Chem. Tech., 12:98- 105 (1982)), 에틸렌 비닐 아세테이트(Langer et al., supra) 또는 폴리-D(-)-3-하이드록시부티르산(EP 133,988)을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 지속적 방출 조성물은 또한 당업계에 공지된 임의의 여러 방법에 의해 제조될 수 있는 리포솜을 포함할 수 있다. 예를 들어, 문헌(Eppstein et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:3688-3692 (1985); EP 036,676; EP 088,046 and EP 143,949)을 참조한다.

- [0510] 전형적으로 생체내 투여를 위해 사용될 약제학적 조성물은 멸균성이다. 특정 구현예에서, 이것은 멸균 여과 막을 통한 여과에 의해 성취될 수 있다. 특정 구현예에서, 조성물이 동결건조된 경우, 상기 방법을 사용한 멸균은 동결건조 및 재구성 전 또는 후에 수행될 수 있다. 특정 구현예에서, 비경구 투여를 위한 조성물은 동결건조된 형태 또는 용액 중에 저장될 수 있다. 특정 구현예에서, 비경구 조성물은 일반적으로 멸균 접근 포트, 예를 들어, 피하 주사 바늘이 투과될 수 있는 스톱퍼를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알을 갖는 컨테이너에 위치시킨다.
- [0511] 특정 구현예에서, 약제학적 조성물이 제형화된 경우, 이것은 용액, 현탁액, 겔, 유제, 고체로서 또는 탈수 또는 동결건조 분말로서 멸균 바이알에 저장될 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 제형은 즉시 사용 가능한 형태 또는 투여 전 재구성된 형태 (예를 들어, 동결건조된 형태)로 저장될 수 있다.
- [0512] 특정 구현예에서, 키트는 단일 용량 투여 유닛을 생성하기 위해 제공된다. 특정 구현예에서, 키트는 건조된 단백질을 갖는 제1 컨테이너 및 수성 제형을 갖는 제2 컨테이너 둘다를 함유할 수 있다. 특정 구현예에서, 단일 및 다중 챔버의 사전에 충전된 시린지 (예를 들어, 액체 시린지 및 리오시린지)을 함유하는 키트가 포함된다.
- [0513] 특정 구현예에서, 치료학적으로 사용될 다중특이적 항원-결합 작제물을 포함하는 유효량의 약제학적 조성물은 예를 들어 치료학적 문맥 및 목적에 따라 다양하다. 당업자는 따라서 특정 구현예에 따른 치료를 위해 적당한 용량 수준이 부분적으로 전달된 분자, 다중특이적 항원-결합 작제물이 사용되는 징후, 투여 경로 및 환자의 크기 (체중, 체표면 또는 기관 크기) 및/또는 조건(연령 및 일반 건강 상태)에 따라 다양함을 인지한다. 특정 구현예에서, 임상되는 용량을 적정하고 투여 경로를 변형시켜 최적의 치료학적 효과를 수득할 수 있다.
- [0514] 특정 구현예에서, 투여 빈도는 사용되는 제형 중에 다중특이적 항원-결합 작제물의 약동학적 파라미터를 고려한다. 특정 구현예에서, 임상되는 목적하는 효과를 성취하는 용량이 도달할때까지 조성물을 투여한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 따라서 시간 경과에 따라 1회 용량 또는 2회 이상의 용량 (동일량의 목적하는 분자를 함유할 수 있거나 함유하지 않을 수 있는)으로서 또는 이식 디바이스 또는 카테터를 통한 연속 주입으로서 투여될 수 있다. 적당한 용량의 추가의 개조는 통상적으로 당업자에 의해 수행되고 이들에 의해 통상적으로 수행되는 작업 범위내에 있다. 특정 구현예에서, 적당한 용량은 적당한 용량-반응 데이터를 사용함에 의해 확인될 수 있다.
- [0515] 특정 구현예에서, 약제학적 조성물의 투여 경로는 공지된 방법에 따라, 예를 들어, 경구적으로, 정맥내, 복막내, 대뇌내 (송과상피내), 뇌실내, 근육내, 피하, 안내, 동맥내, 관문내(intraportal), 또는 병변내 경로에 의한 주사를 통해; 지속적 방출 시스템에 의해 또는 이식 디바이스에 의한 것이다. 특정 구현예에서, 조성물은 볼러스 주사에 의해 또는 연속 주입에 의해, 또는 이식 디바이스에 의해 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 조합 치료요법의 개별 요소들은 상이한 경로에 의해 투여될 수 있다.
- [0516] 특정 구현예에서, 조성물은 이의 위에 목적하는 분자가 흡수되거나 캡슐화된, 막, 스폰지 또는 또 다른 적당한 물질의 이식을 통해 국소적으로 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 이식 디바이스가 사용된 경우, 상기 디바이스는 임의의 적합한 조직 또는 기관으로 이식될 수 있고, 목적하는 분자의 전달은 확산, 타이밍 방출 볼러스 또는 연속 투여를 통한 것일 수 있다. 특정 구현예에서, 생체의 방식으로 다중특이적 항원-결합 작제물을 포함하는 약제학적 조성물을 사용하는 것이 바람직할 수 있다. 상기 경우에, 환자로부터 제거된 세포, 조직 및/또는 기관은 다중특이적 항원-결합 작제물을 포함하는 약제학적 조성물에 노출되고, 이후 상기 세포, 조직 및/또는 기관은 후속적으로 환자에 다시 이식된다.
- [0517] 특정 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 폴리캡타이드를 발현하고 분비하도록, 본원에 기재된 것들과 같은 방법을 사용하여 유전학적으로 가공된 특정 세포를 이식함에 의해 전달될 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 세포는 동물 또는 사람 세포일 수 있고, 자가, 이종 또는 이종발생성일 수 있다. 특정 구현예에서, 세포는 불멸화될 수 있다. 특정 구현예에서, 면역학적 반응의 기화를 감소시키기 위해, 세포는 주변 조직의 침윤을 회피하기 위해 캡슐화될 수 있다. 특정 구현예에서, 캡슐화 물질은 전형적으로 생물적합성, 반-투과성 중합체 봉입체 또는 막이고 이들은 단백질 생성물(들)의 방출을 가능하게 하고 환자의 면역계에 의해 또는 주변 조직으로부터

의 다른 치명적인 인자들에 의한 세포의 파괴를 방지한다.

[0518] H. 사용 방법

[0519] 본원에 기재된 바와 같은, 본원의 개시내용은 본원 개시내용의 치료학적 유효량의 다중특이적 항원-결합 작제물을 대상체에게 투여함을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 증식 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 본원 개시내용의 치료학적 유효량의 다중특이적 항원-결합 작제물을 대상체에게 투여함을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 면역 반응 (예를 들어, T 세포 기능성 소진으로부터의 구제와 같은 증진된 T 세포 기능; 증진된 T 세포 매개된 반응; 증가된 염증 사이토킨 분비 및/또는 생성, 예를 들어, T 세포로부터 IFN γ 분비 및/또는 생성; 증진된 NK 세포 기능; 증진된 대식세포 기능)을 증진시키는 방법을 제공한다. 본원에 예시된 바와 같이, 면역 반응의 증진은 PD-1 또는 이의 리간드(예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2)에 결합하는 제제 (예를 들어, 항체), 또는 PD-1에 결합하는 제제 (예를 들어, 항체 및 이의 리간드에 결합하는 제제 (예를 들어, 항체)를 포함하는 콕테일과 비교하여 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 작제물의 투여시 보다 크다. 일부 구현예에서, 면역 반응의 증진 (예를 들어, 증진된 T 세포 기능, 예를 들어, T 세포 기능 소진으로부터의 구제; 증진된 T 세포-매개된 반응; 증가된 염증성 사이토킨, T 세포로부터 IFN γ 분비 및/또는 생성; 증진된 NK 세포 기능; 증진된 대식세포 기능)은 PD-1 또는 이의 리간드에 결합하는 제제 (예를 들어, 항체) 또는 PD-1에 결합하는 제제 (예를 들어, 항체) 및 이의 리간드에 결합하는 제제 (예를 들어, 항체)를 포함하는 콕테일과 비교하여 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 100% 이상으로 보다 크다. 또한 본원에서는 본원에 기재된 바와 같은 유효량의 다중특이적 항원-결합 작제물, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 단백질 접합체를 대상체에게 투여함에 의해 대상체에서 암을 치료하거나 이의 진행을 지연시키거나 종양 성장을 감소시키거나 억제하기 위한 방법이 제공된다.

[0520] 본원에 기재된 조성물은 특히 대상체에서 다양한 암을 치료하거나 예방하기 위한 방법에서 유용하다.

[0521] 조성물은 부분적으로 투여 경로에 의존하는 다양한 방법을 사용하여 대상체, 예를 들어, 사람 대상체에게 투여될 수 있다. 경로는 예를 들어, 정맥내 주사 또는 주입 (IV), 피하 주사(SC), 복막내 (IP) 주사, 근육내 주사(IM), 또는 척수강내 주사(IT)일 수 있다. 주사는 볼러스 또는 연속 주입일 수 있다.

[0522] 본원에 사용된 바와 같은 용어 “대상체”는 포유동물 대상체를 의미한다. 예시적인 대상체는 사람, 몽키, 개, 고양이, 마우스, 래트, 소, 말, 낙타, 염소 및 양을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 대상체는 사람이다. 일부 구현예에서, 대상체는 본원에 제공된 다중특이적 항원-결합 작제물로 치료될 수 있는 질환 또는 병태를 갖거나 가질 것으로 의심된다. 일부 구현예에서, 질환 또는 병태는 암이다. 일부 구현예에서, 대상체는 본원에 제공된 다중특이적 항원-결합 작제물로 치료될 수 있는 암을 갖는 사람이다. 일부 구현예에서, 대상체는 본원에 제공된 다중특이적 항원-결합 작제물로 치료될 수 있는 암을 가질 것으로 의심되는 사람이다.

[0523] 임의의 질환 또는 장애를 “치료하는” 또는 “치료”는 일부 구현예에서 대상체에 존재하는 질환 또는 장애를 개선함을 언급한다. 또 다른 구현예에서, “치료하는” 또는 “치료”는 대상체에 의해 식별할 수 없는 적어도 하나의 물리적 파라미터를 개선시킴을 포함한다. 또 다른 구현예에서, “치료하는” 또는 “치료”는 물리적으로(예를 들어, 식별할 수 있는 증상의 안정화) 또는 생리학적으로(예를 들어, 물리적 파라미터의 안정화) 또는 둘다로 질환 또는 장애를 조절함을 포함한다. 여전히 또 다른 구현예에서, “치료하는” 또는 “치료”는 질환 또는 장애의 발병을 지연시키거나 예방함을 포함한다.

[0524] 본원에 사용된 바와 같은 용어 “치료학적 유효량” 또는 “유효량”은 대상체에게 투여되는 경우 질환 또는 장애를 치료하기 위해 효과적인 다중특이적 항원-결합 작제물의 양을 언급한다.

[0525] 본원에 사용된 바와 같은 “투여한다” 또는 “투여”는 체외에서 물질 자체 (예를 들어, 본원에 제공된 다중특이적 항원-결합 작제물)를 예를 들어, 점막, 피내, 정맥내, 근육내 전달에 의해 및/또는 본원에 기재되거나 당 업계에 공지된 물리적 전달의 임의의 다른 방법에 의해 환자에게 주사하거나 다르게는 물리적으로 전달하는 행위를 언급한다. 질환 또는 이의 증상이 치료받고 있는 중인 경우, 물질의 투여는 전형적으로 질환 또는 이의 증상의 발병 후 일어난다. 질환 또는 이의 증상이 예방 중인 경우, 물질의 투여는 전형적으로 질환 또는 이의 증상의 발병 전에 일어난다.

[0526] 투여는 예를 들어, 국소 주입, 주사 또는 이식 수단에 의해 성취될 수 있다. 이식체는 막, 예를 들어, 다공성, 비-다공성 또는 시알라스틱 막 또는 섬유를 포함하는 다공성, 비-다공성 또는 겔리탄성 물질을 가질 수 있다. 이식체는 조성물의 대상체로의 지속적 또는 주기적 방출을 위해 구성될 수 있다. 예를 들어, (문헌: U.S.

Patent Application Publication No. 20080241223; U.S. Patent Nos. 5,501,856; 4,863,457; and 3,710,795; EP488401; and EP 430539)을 참조하고, 이들 각각의 개시내용은 이들의 전문이 본원에 참조로 인용된다. 조성물은 예를 들어, 확산성, 침식성, 또는 대류 시스템, 예를 들어, 삼투압 펌프, 생분해성 이식체, 전기확산 시스템, 전기삼투압 시스템, 증기압 펌프, 전기용해 펌프, 발포성 펌프, 압전기 펌프, 침식-기반 시스템 또는 전기기계식 시스템을 기반으로 이식가능한 디바이스에 의해 대상체에게 전달될 수 있다.

[0527] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 다중특이적 항원-결합 작제물은 치료학적으로 국소 투여에 의해 대상체에게 전달된다.

[0528] 본원에 사용된 바와 같은 용어 “증진된 T 세포 기능” 또는 “T 세포의 활성화”는 이들의 표면 상에 항원-특이적 T 세포 수용체를 발현하는 성숙한 T 세포가 이들의 동족 항원을 인지하고 세포 사이클에 진입하거나, 사이토킨 또는 용해 효소를 분비하고 세포 기반 이펙터 기능의 수행을 개시하거나 이에 적격이 되어 응답하는 세포 공정을 언급한다. T 세포 활성화는 완전하게 활성화되기 위해서는 적어도 2개의 신호를 요구한다. 첫번째는 항원-주요 조직적합성 복합체 (MHC)에 의한 T 세포 항원-특이적 수용체 (TCR)의 개입 후 일어나고 두번째는 동시 자극 분자 (예를 들어, CD28)의 후속적 개입에 의해 일어난다. 이들 신호는 핵으로 전송되고 T 세포의 클론 확장, 세포 표면 상에 활성화 마커의 상향조절, 이펙터 세포로의 분화, 세포독성 또는 사이토킨 분비의 유도, 아포토시스의 유도 또는 이들의 조합을 유발한다. 일부 구현예에서, “증진된 T 세포 기능”은 또한 T 세포의 증진된 생존률 및/또는 증진된 증식을 포괄한다. 상기 활성을 측정하기 위한 방법에 통상적이고 당업계에 공지되어 있다. 일부 구현예에서, “증진된 T 세포 기능”은 또한 소진된 표현형으로부터 T 세포의 구조를 포괄하여 하나 이상의 T 세포 기능의 복원 또는 증가가 성취될 수 있다. 당업계에 공지된 바와 같이, T 세포 소진 상태는 광범위한 동시-억제 수용체, 및 특유의 전사 및 후성적 시그니처의 지속적 상향조절에 추가로 T 세포 이펙터 기능, 예를 들어, 염증성 사이토킨 생성, 증식 능력, 대사 적합성의 순차적 손실을 특징으로 한다. T 세포 소진 및 이의 변경은 당업계에 공지되고 본원에 기재된 기술, 예를 들어, 시험관내 비특이적 T 세포 + K562-PD-L1 종양 표적 세포 검정을 사용하여 측정될 수 있다.

[0529] 본원에 사용된 바와 같은 용어 T 세포 매개된 반응은 이펙터 T 세포 (예를 들어, CD8⁺ 세포, 이펙터 γ δ T 세포) 및 헬퍼 T 세포(예를 들어, CD4⁺ 세포,로서, 이의 서브 세트, 예를 들어, T_H1, T_H2, T_H3, T_H17, T_H9, and T_{FR} 세포를 포함하는)를 포함하지만 이에 제한되지 않는 T 세포에 의해 매개되는 임의의 반응을 언급한다. T 세포-매개된 반응은 예를 들어, T 세포 세포독성, T 세포 사이토킨 분비 및 증식을 포함한다. 본원에 기재된 항체 또는 이의 단편의 적합한 용량으로서, 대상체에서 암을 치료하거나 예방할 수 있는 용량은 예를 들어, 치료될 대상체의 연령, 성별 및 체중 및 사용되는 특정 억제제 또는 화합물을 포함하는 다양한 인자들에 의존할 수 있다. 예를 들어, 전체 다중특이적 항원-결합 작제물의 상이한 용량은 동일한 대상체를 치료하기 위해 요구되는 다중특이적 항원-결합 작제물의 단편 (예를 들어, Fab' 항체 단편)의 용량과 비교되는 바와 같이 암을 갖는 대상체를 치료하기 위해 요구될 수 있다. 대상체에 투여되는 용량에 영향을 미치는 다른 인자들은 예를 들어, 암의 유형 또는 중증도를 포함한다. 예를 들어, 전이성 흑색종을 갖는 대상체는 교모세포종을 갖는 대상체와는 상이한 용량의 다중특이적 항원-결합 작제물의 투여를 요구할 수 있다. 다른 인자들은 예를 들어, 대상체에 동시에 또는 이전에 영향을 미치는 다른 의학적 장애, 대상체의 일반 건강, 대상체의 유전학적 성향, 식이, 투여 시간, 배설률, 약물 조합, 및 대상체에게 투여되는 임의의 다른 치료제를 포함할 수 있다. 또한, 임의의 특정 대상체에 대한 특정 용량 및 치료 용법은 또한 치료 의학적 전문직 (예를 들어, 의사 또는 간호사)의 판단에 의존한다. 적합한 용량은 본원에 기재된다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 작제물은 높고 낮은 용량 둘다에서 효과적이다.

[0530] 약제학적 조성물은 본원에 기재된 치료학적 유효량의 다중특이적 항원-결합 작제물을 포함할 수 있다. 상기 유효량은 부분적으로 투여된 항체의 효과, 또는 하나 초과와 제제가 사용되는 경우 하나 이상의 추가의 활성제의 조합 효과를 기준으로 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 본원에 기재된 치료학적 유효량의 항체 또는 이의 단편은 또한 개체의 질환 단계, 연령, 성별 및 체중, 및 개체에서 목적하는 반응을 유발하는 항체(및 하나 이상의 추가의 활성제)의 능력, 종양 성장에서의 감소와 같은 인자들에 따라 다양할 수 있다. 예를 들어, 치료학적 유효량의 다중특이적 항원-결합 작제물은 당업계에 공지되거나 본원에 기재된 특정 장애, 및/또는 특정 장애의 증상 중 어느 하나를 억제하고 (이의 중증도를 줄이거나 이의 발생을 제거하는)/하거나 특정 장애의 증상 중 어느 하나를 예방할 수 있다. 치료학적 유효량은 또한 조성물의 임의의 독성 또는 치명적 효과가 치료학적으로 이로운 효과에 의해 능가되는 양이다.

[0531] 본원에 기재된 임의의 다중특이적 항원-결합 작제물의 적합한 사람 용량은 추가로 예를 들어, 단계 I 용량 상승

연구에서 평가될 수 있다. 예를 들어, 문헌(van Gurp et al. (2008) *Am J Transplantation* 8(8):1711-1718; Hanouska et al. (2007) *Clin Cancer Res* 13(2, part 1):523-531; and Hetherington et al. (2006) *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50(10): 3499-3500)을 참조한다.

[0532] 상기 조성물의 독성 및 치료학적 효능은 세포 배양물 또는 실험 동물 (예를 들어, 본원에 기재된 임의의 암의 동물 모델)에서 공지된 약제학적 절차에 의해 결정될 수 있다. 이들 절차는 예를 들어, LD₅₀ (집단의 50%에 치사량) 및 ED₅₀ (집단의 50%에서 치료학적으로 효과적인 양)을 결정하기 위해 사용될 수 있다. 독성 및 치료학적 효과 사이의 용량비가 치료 지수이며, 이는 LD₅₀/ED₅₀ 비율로 나타낼 수 있다. 큰 치료학적 지수를 나타내는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 바람직하다. 독성 부작용을 나타내는 조성물이 사용될 수 있지만, 상기 화합물을 환부 조직의 부위로 표적화하는 전달 시스템을 디자인하고 정상 세포에 대한 잠재적 손상을 최소화하여 부작용을 감소시키는데 주의해야 한다.

[0533] 세포 배양물 검정 및 동물 연구로부터 수득된 데이터는 사람에서 사용하기 위한 용량 범위를 제형화하는데 사용될 수 있다. 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 용량은 일반적으로 거의 독성이 없는 ED₅₀을 포함하는 항체 또는 단편의 순환 농도 범위내에 있다. 용량은 사용되는 투여 형태 및 사용된 투여 경로에 의존하여 상기 범위 내에서 다양할 수 있다. 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 작제물에 대해, 치료학적 유효량은 초기에 세포 배양 검정으로부터 평가될 수 있다. 용량은 세포 배양에서 결정된 바와 같은 EC₅₀ (즉, 증상의 최대 절반 억제)를 성취하는 작제물- 예를 들어, 항체의 농도)을 포함하는 순환 혈장 농도 범위를 성취하기 위해 동물 모델에서 제형화될 수 있다. 상기 정보를 사용하여 보다 정확하게 사람에서 유용한 용량을 보다 정확하게 결정할 수 있다. 혈장 내 수준은 예를 들어, 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 측정될 수 있다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 국소 투여 (예를 들어, 눈 또는 관절로)가 요구되는 경우, 세포 배양 또는 동물 모델링을 사용하여 국소 부위 내 치료학적 유효 농도를 성취하기 위해 요구되는 양을 결정할 수 있다.

[0534] 일부 구현예에서, 방법은 암에 대한 다른 치료요법과 연계하여 수행될 수 있다. 예를 들어, 조성물은 방사선조사, 수술, 표적화된 또는 세포독성 화학치료요법, 화학방사선치료요법, 호르몬 치료요법, 면역치료요법, 유전자 치료요법, 세포 이식 치료요법, 정확한 의술, 게놈 편집 치료요법 또는 다른 약리치료요법과 동시에, 이전에 또는 이후에 대상체에게 투여될 수 있다.

[0535] 상기된 바와 같이, 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 작제물을 사용하여 혈액학적 암, 림프종, 골수종, 백혈병, 신경학적 암, 흑색종, 유방암, 전립선암, 결장직장암, 폐암, 두경부암, 위장암, 간암, 췌장암, 비뇨생식기암, 골암, 신장암 및 혈관암으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 다양한 암을 치료할 수 있다. 임의로, 암은 카포시 육종, 백혈병, 급성 림프구 백혈병 (etv6, aml1, 사이클로필린 b), 급성 골수구성 백혈병, 골수아세포 전골수구 골수단핵구 단핵구 적백혈병, 만성 백혈병, 만성 골수구성 (과립구성) 백혈병, 만성 림프구 백혈병 (사이클로필린 b), 맨틀 세포 림프종, 1차 중추신경계 림프종, 버킷 림프종, 변연부 B 세포 림프종 (Ig-이디오타입), 적혈구증가증 베라 림프종, 호지킨 질환 (Imp-1, EBNA-1), 비-호지킨 질환, 마이클로마(myeloma)(MUC 계열, p21ras), 다중 골수종, 발덴스트롬 거대글로빈혈증, 중쇄 질환, 고형 종양, 육종, 암종, 섬유육종, 점액육종, 지질육종, 연골육종, 골형성 육종, 골육종, 척색종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피육종, 활액종, 증피종, 어원 종양, 평활근육종, 횡문근육종, 결장 육종, 결장직장 암종(p21ras, HER2/neu, c-erbB-2, MUC 계열), 췌장암, 유방암(MUC 계열, HER2/neu, c-erbB-2), 난소암, 전립선암(전립선 특이적 항원 (PSA) 및 이의 항원 에피토프 PSA-1, PSA-2, 및 PSA-3, PSMA, HER2/neu, c-erbB-2, ga733 당단백질), 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암종, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두 암종, 유두 선암종, 낭포 암종, 수질 암종, 기관지 암종, 신장 세포 암종(HER2/neu, c-erbB-2), 간종, 간세포 암(α-페토단백질), 담관 암종, 용모 암종, 정상피종, 배아암종, 빌름 종양, 자궁경부암, 자궁암, 고환 종양(NY-ESO-1), 폐 암종, 소세포 폐 암종, 비-소 세포 폐 암종(HER2/neu, c-erbB-2), 방광 암종, 상피 암종, 신경교종(E-캐드헤린, α-카테닌, β-카테닌, γ-카테닌, p120ctn), 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 뇌실막세포종, 송과체종, 혈관아세포종, 청신경종, 췌지교종, 수막종, 흑색종(p5 단백질, gp75, 발암태아 항원(oncofetal antigen), GM2 및 GD2 ganglioside, 멜란-A/MART-1, cdc27, MAGE-3, p21ras, gp100), 신경모세포종, 망막모세포종, 비인두 암종(Imp-1, EBNA-1), 식도 암종, 기저 세포 암종, 담관암(p21ras), 방광암(p21ras), 골암, 뇌 및 중추신경계(CNS) 암, 자궁경부암(p53, p21ras), 용모암종(CEA), 결장직장암(결장직장 연합 항원 (CRC)-C017-1A/GA733, APC), 연결 조직암, 소화계암, 자궁내막암, 식도암, 안암, 두경부암, 위암(HER2/neu, c-erbB-2, ga733 당단백질), 상피 세포암 (사이클로필린 b), 상피내 신생물, 콩팥암, 후두암, 간암, 폐암 (소세포, 대세포)(CEA, MAGE-3, NY-ESO-1), 구강암(예를 들어, 입술, 혀, 입 및 인두), 난소암(MUC 계열, HER2/neu, c-erbB-2), 췌장암, 직장암, 호흡기계암, 갑상선암, 및 비뇨기계

암으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0536] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 작제물은 단독치료요법으로서 대상체에게 투여될 수 있다. 대안적으로, 상기된 바와 같이, 항체 또는 이의 단편은 또 다른 치료, 예를 들어, 암에 대한 또 다른 치료와의 조합 치료요법으로서 대상체에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 조합 치료요법은 암을 갖거나 암을 발병할 위험에 처한 대상체에게 치료학적 이득을 제공하는 하나 이상의 추가의 제제를 대상체 (예를 들어, 사람 환자)에게 투여함을 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물과 동시 투여하기에 적합한 화학치료학적 제제는 예를 들어, 탁술, 사이토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에티뎀 브로마이드, 에메틴, 시스플라틴, 미토마이신, 에토포시드, 테노포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜키신, 독소루비신, 다우노루비신, 디하이드록시 안트라신 디온, 미톡산트론, 미트라마이신, 액티노마이신 D, 1-데하이드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤, 및 푸로마이신 및 이의 유사체 또는 동족체를 포함한다. 추가의 제제는 예를 들어, 항대사물(예를 들어, 메토타렉세이트, 6-머캅토피린, 6-티오구아닌, 시타라빈, 5-플루오로우라실, 테카바진), 알킬화제(예를 들어, 메클로레타민, 티오TEPA, 클로람부실, 멜팔란, 카무스틴(BSNU), 로무스틴(CCNU), 사이클로포스파미드, 부설판, 디브로모만니톨, 스트렙토조토신, 미토마이신 C, 시스-디클로르디아민 플라티늄(II)(DDP), 프로카바진, 알트레타민, 시스플라틴, 카보플라틴, 옥살리플라틴, 네다플라틴, 사트라플라틴, 또는 트리플라틴 테트라니트레이트), 안트라사이클린(예를 들어, 다우노루비신 (이전에 다우노마이신) 및 독소루비신), 항생제(예를 들어, 닥티노마이신 (이전에 악티노마이신), 블레오마이신, 미트라마이신, 및 안트라마이신(AMC)), 및 항-유사분열 제제 (예를 들어, 빈크리스틴 및 빈블라스틴) 및 테모졸로미드를 포함한다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물 및 하나 이상의 추가의 활성 제제는 동시에 투여된다. 다른 구현예에서, 다중특이적 항원-결합 작제물은 시간상 첫번째로 투여되고 하나 이상의 추가의 활성 제제는 시간상 두번째로 투여된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 추가의 활성 제제는 시간상 첫번째로 투여되고 다중특이적 항원-결합 작제물은 시간상 두번째로 투여된다.

[0537] 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 작제물은 이전에 또는 동시에 투여된 치료요법을 대체하거나 증강시킬 수 있다. 예를 들어, 다중특이적 항원-결합 작제물을 사용한 치료시, 하나 이상의 추가의 활성 제제의 투여는 중단되거나 감소될 수 있고, 예를 들어, 보다 낮은 수준 또는 용량으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 이전의 치료요법의 투여는 유지될 수 있다. 일부 구현예에서, 이전의 치료요법은 다중특이적 항원-결합 작제물의 수준이 치료학적 효과를 제공하기에 충분한 수준에 도달할때까지 유지된다. 2개의 치료요법이 조합으로 투여될 수 있다.

[0538] 본원에 정의된 바와 같이, 암의 개선에 대한 대상체 (예를 들어, 사람 대상체)의 모니터링은 질환에서 파라미터의 변화, 예를 들어, 종양 성장에서 감소에 대해 대상체를 평가함을 의미한다. 일부 구현예에서, 평가는 투여 후 적어도 한 (1) 시간, 예를 들어, 적어도 2, 4, 6, 8, 12, 24, 또는 48시간, 또는 적어도 1일, 2일, 4일, 10일, 13일, 20일 이상, 또는 적어도 1주, 2주, 4주, 10주, 13주, 20주 이상에 평가된다. 대상체는 하기의 기간 중 하나 이상에 평가될 수 있다: 치료 개시 전; 치료 동안에; 또는 치료의 하나 이상의 요소들이 투여된 후. 평가는 추가의 치료를 위한 필요성을 평가함을 포함할 수 있고, 예를 들어, 투여 용량, 투여 빈도 또는 치료 지속 기간이 변경되어야 하는지를 평가함을 포함할 수 있다. 또한, 이것은 또한 선택된 치료학적 방식을 부가하거나 중단, 예를 들어, 본원에 기재된 암에 대한 임의의 치료를 부가하거나 중단할 필요성을 평가하는 것을 포함할 수 있다.

[0539] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 다중특이적 항원-결합 작제물은 예를 들어, T-세포 활성화 및/또는 증식을 증가시키기에 의해 환자에서 T-세포 반응을 조절하기 위해 투여된다. 면역 세포와 이의 리간드에 의해 발현된 PD-1간의 상호작용의 차단은 T 세포 증식, IFN γ 생성 및 분비, 및 T 세포의 세포용해 활성을 강하게 증진시킨다. PD-1을 발현하는 면역 세포와 PD-1 리간드 (예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2)를 발현하는 제2 세포 (예를 들어, 또 다른 면역 세포 또는 종양 세포)의 브릿징은 T 세포 증식, IFN γ 생성 및 분비, 및 T 세포의 세포용해 활성을 강하게 증진시킬 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 다중특이적 항원-결합 작제물은 T-세포 활성화를 유도하거나 증가시키고, T 세포 증식을 증진시키고, IFN γ 의 생성 및/또는 분비를 유도하고/하거나 세포용해 T 세포 반응을 유도하기 위해, 이를 필요로 하는 환자에게 투여된다.

[0540] 실시예

[0541] 본원의 개시내용은 이의 특정 구현예와 관련하여 기재되었지만, 당업자는 다양한 변화가 만들어질 수 있고 등가물이 본원 개시내용의 취지 및 범위로 부터 벗어나는 것 없이 대체될 수 있음을 이해해야만 한다. 추가로, 특정 상황, 물질, 물질의 조성물, 공정, 공정 단계 또는 단계들을 본원 개시내용의 목적, 취지 및 범위로 적응시키기

위해 많은 변형이 만들어질 수 있다. 모든 상기 변형은 본원 개시내용의 범위내에 있는 것으로 의도된다.

[0542] 실시예 1: T 세포에서 인터페론-감마 (IFN γ)의 유도

[0543] T-세포 활성화에 대한 PD1/PDL1 이특이적 항체의 효과를 평가하기 위해, IFN γ 생성은 혼합 림프구 반응 (MLR)에서 분석되었다. 니볼루맵 x 아테졸리주맵, 949 x 아테졸리주맵, J43 x 아테졸리주맵, 피딜리주맵 x 아테졸리주맵, 아테졸리주맵 x 니볼루맵, 또는 두르발루맵 x 니볼루맵의 어글리코실화된 이특이적 항체 조합 결합 도메인을 시험하였다. 항체 949는 미국 특허 제9102728호에 기재된 바와 같이 PD-1 항체를 언급한다. 항체 J43은 항-뮤린 PD-1 항체를 언급한다. PD-1 (Merck)을 차단하고 IFN γ 생성을 유도하는 것으로 공지된 사람화된 항체인 KEYTRUDA는 비교인자로서 사용되었다. 니볼루맵 x 아테졸리주맵, 949 x 아테졸리주맵, 및 아테졸리주맵 x 니볼루맵에 대한 도식 및 아미노산 서열은 각각 도 4 내지 6에 나타난다. 본원에 예시되고 시험된 이특이적 포맷 각각은 당업계에 공지된 방법을 사용하여 생성하였다. 예를 들어, 도 4에 나타난 바와 같이, 아테졸리주맵 Fab의 중쇄 부분은 당업계에 공지된 방법을 사용하여 니볼루맵의 중쇄 Fc 부분에 가교결합시켰다. Fab의 중쇄 및 IgG 분자의 중쇄와 같은 2개 단백질을 링커 서열의 존재 또는 부재하에 가교결합시키기 위해 적합한 방법은 본원에 기재되어 있다. 본 연구는 상기된 이특이적 항체의 다양한 농도가 T 세포에서 IFN γ 반응을 유도할 수 있음을 입증하였다.

[0544] 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)는 3개의 독립적 사람 공여자 (D985, D7603, 및 D5004)로부터 유래된 류코팩 (leukopaks)(HemaCare, Van Nuys, CA)로부터 분리하였다. 총 T 세포는 면역자기 세포 분리 (EasySepTM; Stemcell Technologies, Vancouver Bc)를 사용한 음성 선택에 의해 PBMC로부터 집적하였다. 단핵구는 면역자기 세포 분리 (EasySepTM; Stemcell Technologies, Vancouver Bc)를 사용하여 PBMC로부터 분리하였다. T 세포는 1×10^6 세포/ml 농도로 완전 RPMI 에서 재현탁시키고 단핵구는 각각 5×10^5 세포/ml로 조정하였다. 96-웰 플레이트에서, T 세포를 함유하는 100 μ l의 배지는 1×10^5 세포/웰 밀도로 분주함에 이어서 100 μ l의 단핵구 세포 현탁액 (E:T 비율 2:1)을 첨가하였다. 이어서, 항체의 다양한 희석액을 함유하는 50 μ l의 배지를 첨가하여 최종 농도가 0 nM, 0.5 nM, 5 nM, 또는 50 nM에 도달하도록 하였다. 플레이트는 5일 동안 CO₂ 항온처리기에서 37^{°C}에서 항온처리하였다. 항온처리 기간 말기에, 배양 상등액을 수거하고 IFN γ 수준은 MSD 검정에 의해 분석하였다 (Mesoscale Diagnostics, Rockville, MD).

[0545] 실시예 2: 펌브롤리주맵/아테졸리주맵 이특이적 항체로 처리된 T 세포에서 인터페론-감마 (IFN γ)의 유도

[0546] T-세포 활성화에 대한 PD1/PDL1 이특이적 항체의 효과를 평가하기 위해, IFN γ 생성은 혼합 림프구 반응 (MLR)에서 분석되었다. 펌브롤리주맵 x 아테졸리주맵 이특이적, 펌브롤리주맵 mAb, 아테졸리주맵 Fab, KEYTRUDA 및 아테졸리주맵 Fab의 혼합물, 및 PD-1 (Merck)을 차단하고 IFN- γ 생성을 유도하기 위해 공지된 사람화된 항체인 KEYTRUDA는 비교인자로서 사용하였다. 펌브롤리주맵 x 아테졸리주맵 이특이적 항체에 대한 도식 및 아미노산 서열은 각각 도 3에 나타난다. 본원에 예시되고 시험된 다른 이특이적 포맷에 대해 유사하게 기재된 바와 같이, 도 3에 나타난 이특이적 포맷은 당업계에 공지된 방법을 사용하여 생성하였다. 도 3에 나타난 바와 같이, 아테졸리주맵 Fab의 중쇄 부분은 당업계에 공지된 방법을 사용하여 펌브롤리주맵의 중쇄 Fc 부분의 c-말단에 가교결합시켰다. Fab의 중쇄 및 IgG 분자의 중쇄와 같은 2개 단백질을 링커 서열의 존재 또는 부재하에 가교결합시키기 위해 적합한 방법은 본원에 기재되어 있다. 이들 결과는 PD-1 및 PD-L1을 표적화하는 이특이적 항체인 펌브롤리주맵 x 아테졸리주맵이 펌브롤리주맵, 아테졸리주맵 Fab, 또는 KEYTRUDA 치료 단독에 상응하게 T 세포에서 IFN γ 반응을 유도함을 지적한다.

[0547] T 세포는 상기된 바와 같이 제조하였다. 항체의 다양한 희석액을 함유하는 50 μ l 용적의 배지를 첨가하여 최종 농도가 0 nM, 0.5 nM, 5 nM, 또는 50 nM에 도달하도록 하였다. 플레이트는 5일 동안 CO₂ 항온처리기에서 37^{°C}에서 항온처리하였다. 항온처리 기간 말기에, 배양 상등액을 수거하고 IFN γ 수준은 MSD 검정에 의해 분석하였다 (Mesoscale Diagnostics, Rockville, MD).

[0548] 실시예 3: PD-1 및 PD-L1을 표적화하는 이특이적 항체 또는 PD-1/PD-L1을 표적화하는 모노클로날 항체의 각테일로 처리된 T 세포에서 인터페론-감마 (IFN γ) 유도의 비교

[0549] T-세포 활성화에 대한 PD-1 x PD/L1 또는 PD-L1 x PD-L1 이특이적 항체의 효과를 평가하기 위해, IFN γ 생성은 혼합 림프구 반응 (MLR)에서 분석되었다. 펌브롤리주맵 x 아테졸리주맵 이특이적 항체, 니볼루맵 x 아테졸리주맵 이특이적 항체, KEYTRUDA 및 아테졸리주맵의 각테일, 니볼루맵 및 아테졸리주맵의 각테일을 시험하였고, PD-

1 (Merck)을 차단하고, IFN- γ 생성을 유도하는 것으로 공지된 사람 항체인 단독의 KEYTRUDA는 비교인자로서 사용하였다.

[0550] T 세포는 상기된 바와 같이 제조하였다. 항체의 다양한 희석액을 함유하는 50 μ l 용적의 배지를 첨가하여 최종 농도가 0 nM, 0.01 nM, 0.001 nM, 또는 0.0001 nM에 도달하도록 하였다. 플레이트는 5일 동안 CO₂ 항온처리 기에서 37[°]C에서 항온처리하였다. 항온처리 기간 말기에, 배양 상등액을 수거하고 IFN γ 수준은 MSD 검정에 의해 분석하였다(Mesoscale Diagnostics, Rockville, MD).

[0551] 도 1은 지적된 바와 같이, 시험된 항체의 최종 농도에서 pg/ml로서 IFN γ 의 농도를 보여준다. 이들 결과는 이특이적 PD-1 x PD-L1 항체, 예를 들어, 펌브롤리주맵 x 아테졸리주맵 또는 PDL1/PDL1 이특이적 항체 니볼루맵/아테졸리주맵이 PD1 및 PDL1 특이적 항체의 각테일 또는 PD-1 항체 (KEYTRUDA) 단독 보다 T 세포에서 보다 높은 IFN γ 반응을 유도함을 지적한다.

[0552] **실시예 4: PD-1/PD-L1을 표적화하는 이특이적 항체 또는 PD-1 또는 PD-L1을 표적화하는 모노클로날 항체로 처리된 T 세포에서 인터페론-감마 (IFN γ) 유도의 비교**

[0553] T-세포 활성화에 대한 PD-1 x PD-L1 또는 PD-L1 x PD-L1 이특이적 항체의 효과를 평가하기 위해, IFN γ 생성은 혼합 림프구 반응 (MLR)에서 분석되었다. 펌브롤리주맵 x 니볼루맵 이특이적 항체, 아테졸리주맵 x 아테졸리주맵 4가, 일특이적 항체를 시험하였고 니볼루맵 단독, 아테졸리주맵 단독 및 PD-1 (Merck)을 차단하고 IFN- γ 생성을 유도하는 것으로 공지된 사람 항체인 KEYTRUDA (펌브롤리주맵)은 비교인자로서 사용하였다.

[0554] T 세포는 상기된 바와 같이 제조하였다. 항체의 다양한 희석액을 함유하는 50 μ l 용적의 배지를 첨가하여 최종 농도가 0 nM, 0.01 nM, 0.001 nM, 또는 0.0001 nM에 도달하도록 하였다. 플레이트는 5일 동안 CO₂ 항온처리 기에서 37[°]C에서 항온처리하였다. 항온처리 기간 말기에, 배양 상등액을 수거하고 IFN γ 수준은 MSD 검정에 의해 분석하였다(Mesoscale Diagnostics, Rockville, MD).

[0555] 도 2는 지적된 바와 같이, PBS 중에서 시험된 항체의 최종 농도에서 pg/ml로서 IFN γ 의 농도를 보여준다. 이들 결과는 이특이적 PD1xPDL1 (펌브롤리주맵 x 니볼루맵) 또는 PD-L1 x PD-L1 항체(아테졸리주맵 x 아테졸리주맵)가 PD-1 (아테졸리주맵 또는 KEYTRUDA) 또는 PD-L1 (니볼루맵) 특이적 항체 단독과 유사하게 T 세포에서 IFN- γ 반응을 유도함을 지적한다.

[0556] 도 7는 지적된 바와 같이, PBS 중에서 시험된 항체의 최종 농도에서 pg/ml로서 IFN γ 의 농도를 보여준다. 이들 결과는 다중특이적 포맷으로 이특이적 항체 PD-1 x PD-L1 (펌브롤리주맵 x 아테졸리주맵) 또는 (니볼루맵 x 아테졸리주맵)이 펌브롤리주맵 및 아테졸리주맵 또는 니볼루맵 및 아테졸리주맵의 각테일과 비교하여 혼합 림프구 반응 (MLR)에서 펌토를 농도에서 보다 큰 IFN- γ 반응을 유도함을 지적한다. 이들 결과는 다중특이적 포맷으로부터 비롯된 상승작용 효과를 시사한다.

[0557] 도 8은 상승작용을 입증하는 다중특이적 (예를 들어, 이특이적) 항체를 동정하기 위한 예시적인 작업 흐름을 보여준다. 상기 공정은 혼합 림프구 반응 (MLR)에서 관문 차단제 조합의 비편중 스크리닝을 포함하고, 이는 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같이 다양한 농도에서 pg/mL로 IFN γ 방출을 측정한다(예를 들어, *비특이적 T 세포 + K562-PD-L1 중앙 표적 세포 검정* 표제의 하기 섹션을 참조한다). 도해된 작업흐름의 제2 단계에서, 통상의 경쇄 이특이성을 생성하여 이들의 효능을 추가로 시험하였고, 다양한 예시적인 통상의 경쇄 이특이적 포맷을 도시한다. 동정된 통상의 경쇄 이특이적 포맷은 T-세포 활성화 검정에서 공지된 PD-1 차단제를 능가한다.

[0558] **실시예 5: 항-PD-1 및 항-PD-L1 항체 작제물 및 다중특이적 항원-결합 분자의 생성 및 특징 분석**

[0559] *항-PD-L1 항체의 친화성 성숙화:*

[0560] PD-L1 항체 mAb24로부터 유래된 친화성 성숙화된 항-PD-L1 항체는 모노클로날 IgG의 돌연변이체 라이브러리의 작제, 포유동물 디스플레이 분류 및 스크리닝을 통해 생성하였다. 라이브러리는 중쇄에 돌연변이를 함유하였고, 여기서, CDRH1, CDRH2, 및 CDRH3에서 합성 다양성이 도입되었고, 경쇄 서열은 단일 경쇄 작제물과의 상용성을 유지하기 위해 일부 경우에서 제외하고 일정하게 유지되었다. 라이브러리는 사람 PD-L1에 대한 친화성을 증가시키고 마우스 교차-반응성을 유지할 목적으로 3라운드의 포유동물 디스플레이 분류를 진행하였다.

각각의 라운드에서, 오프-속도 경쟁 단계는 비오틴화된 항원으로의 초기 결합 후 사용하였다(즉, 과량의 비표지된 항원 또는 모계 IgG와 1시간 항온처리). 최종 라운드의 분류 후, 클론을 선택하고 이들의 서열을 분석하고 특유한 클론을, Wasatch SPR 결합 동력학 세포-결합 평형 검정을 통해 검정하여 선도 후보물을 동정하였

다.

[0561] 상이한 선택 라운드로부터 수득한 항-PD-L1 항체는 k_d/k_a 이중 log 플롯 상에 플롯팅하였다. 겔보기 결합 및 해리 동력학 속도 상수(k_a 및 k_d 값)는 PBS-Tween 0.01%의 전개 완충액 중에서 SPRi 판독기(MX96, Carterra, Salt Lake City, UT) 상에서 결정하였다. 항-사람 PD-L1 항체는 CFM (Carterra)상의 카복시메틸텍스트란 하이드로 겔 50L 칩(XanTec bioanalytics GmbH, Dusseldorf, Germany)상에 공유적으로 접합된다. 새롭게 혼합된 활성화 시약(5ml의 H₂O 중 150 μ l의 0.4 M EDC 및 150 μ l의 0.1 M 설포-NHS)을 사용하여 7분동안 SPR 기질의 표면을 활성화시켰다. 아세트산 완충액 pH 4.5 중에 10 mg/ml의 항체는 15분동안 프린팅을 위해 사용하였다. 프린팅된 칩은 이어서 15분동안 1M 에탄올아민으로 SPRi 판독기 (MX96, Carterra) 상에서 쉼치하였다. 동력학 분석을 위해, 정제된 재조합 His 태그된 사람 PD-L1 (0, 2.05, 5.12, 12.8, 32, 80, 200, 500 nM)을 순차적으로 주사하였다. 각각의 농도에 대해, 5분 결합에 이어서 10분 해리시켰다. 데이터를 프로세싱하고 SPR 조사 도구 (Inspection Tool) 및 스크리버 소프트웨어(Biosensor Tools LLC, Salt Lake City, UT)에서 분석하였다. 동력학 데이터는 간질 참조 스왑으로 참조되고 완충 주기에 이중 참조되고 이어서 범용으로 1:1 결합 모델에 피팅하여 이들의 겔보기 결합 및 해리 동력학 속도 상수(k_a 및 k_d 값)를 결정하였다. 비율 k_d/k_a 을 사용하여 각각의 항원/mAb 상호작용의 K_D 값, 즉, $K_D=k_d/k_a$ 을 유도하였다.

[0562] 항-PD-1 항체의 친화성 성숙화:

[0563] PD-1 항체 mAb25로부터 유래된 친화성 성숙화된 항-PD-1 항체는 모노클로날 항체의 돌연변이체 라이브러리의 작제, 파아지 디스플레이 패닝 및 스크리닝의 구성을 통해 생성하였다. 라이브러리는 중쇄에 돌연변이를 함유하였고, 여기서, CDRH1, CDRH2, 및 CDRH3에서 합성 다양성이 도입되었고, 경쇄 서열은 단일 경쇄 작제물과의 상용성을 유지하기 위해 일정하게 유지되었다. 라이브러리는 사람 PD-1에 대한 친화성을 증가시키고 마우스 교차-반응성을 획득할 목적으로 4라운드의 파아지 디스플레이 패닝을 진행하였다. 각각의 라운드에서, 오프-속도 경쟁 단계는 비오틴화된 항원으로의 초기 결합 후 사용하였다(즉, 과량의 비표지된 항원 또는 모계 IgG와 1시간 항온처리). 최종 라운드의 패닝 후, 클론을 선택하고 이들의 서열을 분석하고 특유한 Fab 클론을, Octet SPR 결합 동력학 및 세포-결합 평형 검정을 통해 검정하여 선도 후보물을 동정하였다. 선도 후보물은 Fab로부터 사람 IgG로 전환시키고 추가로 특징 분석하였다.

[0564] 상이한 선택 라운드로부터 수득한 항-PD-1 항체는 k_d/k_a 이중 log 플롯 상에 플롯팅하였다. 겔보기 결합 및 해리 동력학 속도 상수(k_a 및 k_d 값)는 PBS-Tween 0.01%의 전개 완충액 중에서 SPRi 판독기(MX96, Carterra, Salt Lake City, UT) 상에서 결정하였다. 항-사람 PD-1 항체는 CFM (Carterra)상의 카복시메틸텍스트란 하이드로 겔 50L 칩(XanTec bioanalytics GmbH, Dusseldorf, Germany)상에 공유적으로 접합된다. 새롭게 혼합된 활성화 시약(5ml의 H₂O 중 150 μ l의 0.4 M EDC 및 150 μ l의 0.1 M 설포-NHS)을 사용하여 7분동안 SPR 기질의 표면을 활성화시켰다. 아세트산 완충액 pH 4.5 중에 10 mg/ml의 항체는 15분동안 프린팅을 위해 사용하였다. 프린팅된 칩은 이어서 15분동안 1M 에탄올아민으로 SPRi 판독기 (MX96, Carterra) 상에서 쉼치하였다. 동력학 분석을 위해, 정제된 재조합 His 태그된 사람 PD-1 (0, 2.05, 5.12, 12.8, 32, 80, 200, 500 nM)을 순차적으로 주사하였다. 각각의 농도에 대해, 5분 결합에 이어서 10분 해리시켰다. 데이터를 프로세싱하고 SPR 조사 도구 (Inspection Tool) 및 스크리버 소프트웨어(Biosensor Tools LLC, Salt Lake City, UT)에서 분석하였다. 동력학 데이터는 간질 참조 스왑으로 참조되고 완충 주기에 이중 참조되고 이어서 범용으로 1:1 결합 모델에 피팅하여 이들의 겔보기 결합 및 해리 동력학 속도 상수(k_a 및 k_d 값)를 결정하였다. 비율 k_d/k_a 을 사용하여 각각의 항원/mAb 상호작용의 K_D 값, 즉, $K_D=k_d/k_a$ 을 유도하였다.

[0565] 비특이적 T 세포 + K562-PD-L1 중양 표적 세포 검정

[0566] T 세포는 음성 선택 키트를 사용하여 이전에 동결된 PBMC (말초 혈액 단핵 세포)로부터 분리하였고 10 % FBS ("X-10")이 보충된 X-VIVO 15 배지에서 Immunocult™ 항-CD3/CD28 T 세포 활성화제를 사용하여 활성화시켰다. 3일 후, 세포는 5 ng/ml IL-2 및 2.5 ng/ml IL-7 ("hX-10")을 함유하는 X-10 배지로 스위칭하였다. 2 내지 3일 마다, 세포에는 새로운 hX-10을 공급하였다. 활성화 10일 후, Immunocult™-확장된 T 세포는 CellTrace™ 바이올렛-표지시키고 웰당 50,000 T 세포 및 25,000 K32P 세포와 함께 96웰 환저 플레이트에서 사람 CD32B 및 PD-L1 ("K32P")을 발현하도록 안정하게 형질도입된 K562 세포와 동시 배양하였다. 항체(이특이성 3, KEYTRUDA, 및 이소타입 대조군)는 0.25 μ g/ml 항-CD3 (클론 OKT3)와 함께 10배 희석된 10 내지 0.001 nM의 최

중 농도로 첨가하였다. 3일 후, 상등액은 MSD 플레이트를 통해 IFN γ 사이토킨 생성을 측정하기 위해 수거하였고, 세포는 유동 세포측정을 위해 염색하였고, 이어서 BD LSRFortessa™ 세포측정기상에서 전개하여 T 세포 활성화 및 표적 세포 사멸을 관찰하였다. 표적 세포 사멸은 CD3 부재 대조군 웰 세트에서 K32P 표적 수와 비교하여 실험 웰에서 생존 K32P 표적의 수를 계수함에 의해 측정한다. 모든 데이터는 이어서 그래프패드 프리즘에서 분석하였다. 도 9a-9b에 나타난 바와 같이, 이특이성 3은 이소타입 대조군 항체 및 KEYTRUDA 둘다와 비교하여 보다 높은 양의 IFN γ 및 K32P 표적 세포의 사멸을 유도하였다.

[0567] CMV 항원 리콜 검정

[0568] HLA A02:01 공여자로부터 12일 확장된 CMV 항원 특이적 CD8+ T 세포를 해동시키고 2 ug/ml DNase I를 함유하는 hX-10 배지에서 밤새 잔류시켰다. 다음 날, 세포를 수거하고, 죽은 세포를 Ficoll-분리를 사용하여 제거하였다. 나머지 세포는 이어서 웰 당 25,000 CMV T 세포, 50,000 KACP 세포 및 50,000 KA와 함께 96웰 환저 플레이트에서 HLA-A02:01, CMV 단백질 pp65-IRES-GFP, 및 PD-L1 ("KACP", GFP+)을 발현하는 K562 세포 및 HLA-A02:01 ("KA", GFP-)를 발현하는 K562 세포와 동시 배양하였다. 항체 (이특이성 3, KEYTRUDA, mAb1 및 mAb28의 조합, 및 이소타입 대조군)는 10 내지 0.0001 nM의 최종 농도로 첨가하였다. 상기 용량은 10 내지 0.1 nM의 10배 희석물에 이어서 0.0001 nM 때까지의 2배 희석물을 함유하였다. 동시 배양 2일 후, 유동 세포측정을 통한 KACP 종양의 특이적 사멸을 분석하였다. 특정 사멸은 T 세포가 존재하지 않는 경우 이들 세포의 비율로 정규화된 GFP-KA 세포에 대한 생존 GFP + KACP 세포의 비율로 비율 계량적으로 정의된다. 도 10a에 나타난 바와 같이, 이특이성 3은 종양 항원 표적 세포의 특이적 사멸을 증가시켰다. 비특이성 3에 의해 매개된 증가는 항상 KEYTRUDA에 대해 나타난 것 보다 높고, 고용량에서, mAb1 및 mAb28의 조합은 균등수의 KACP 세포를 사멸시켰다. 결정적으로, 항체의 저용량 (0.001 내지 0.01nM)에서, 이특이성 3은 KEYTRUDA 및 mAb1와 mAb28의 조합 둘다와 비교하여 KACP 세포의 사멸 증가를 보여주었고, 이는 이특이성 3을 사용하여 보다 낮은 용량에서 표적 세포의 항원-특이적 사멸을 매개할 수 있음을 지적한다.

[0569] 별도의 실험에서, Raji 세포-특이적 사멸에 대한 이특이성 3의 효과는 K562 세포-특이적 사멸 검정에 대해 상기 명시된 것과 유사한 방식으로 조사하였다. 간략하게 CMV 특이적 CD8+ T 세포는 웰 당 25,000 CMV T 세포, 50,000 RACP 세포 및 50,000 RA와 함께 96웰 환저 플레이트에서 HLA-A02:01, CMV 단백질 pp65-IRES-GFP, 및 PD-L1 ("RACP", GFP+)을 발현하는 Raji 세포 및 HLA-A02:01 ("RA", GFP-)를 발현하는 Raji 세포와 동시 배양하였다. 항체 (이특이성 3, KEYTRUDA, mAb1 및 mAb28의 조합, 및 이소타입 대조군)는 10 내지 0.0001 nM의 최종 농도로 첨가하였다. 상기 용량은 10 내지 0.1 nM의 10배 희석물에 이어서 0.0001 nM 때까지의 2배 희석물을 함유하였다. 동시 배양 2일 후, 유동 세포측정을 통한 RACP 종양의 특이적 사멸을 분석하였다. 특정 사멸은 T 세포가 존재하지 않는 경우 이들 세포의 비율로 정규화된 GFP-RA 세포에 대한 생존 GFP + RACP 세포의 비율로 비율 계량적으로 정의된다. 도 10b에 나타난 바와 같이, 이특이성 3은 종양 항원 표적 세포의 특이적 사멸을 증가시켰다. 이특이성 3에 의해 매개된 증가는 0.001nM에서 KEYTRUDA 또는 mAb1와 mAb28의 조합에 대해 나타난 것 보다 현저히 높았고, 보다 높은 용량에서, 이특이성 3 및 mAb1과 mAb28의 조합은 표적 세포의 상응하는 사멸을 유발하였다. 이들 데이터는 이특이성 3이 보다 낮은 용량에서 표적 세포의 항원-특이적 사멸을 매개하기 위해 사용될 수 있음을 지적한다.

[0570] 스타필로코커스 아우레우스 장독소 A ("SEA") 검정

[0571] 이전에 동결된 PBMC를 해동시키고 15분동안 PBS 중에서 0.1 mg/ml DNase I로 항온처리하고, 40 μ m 나일론 메쉬 필터에 통과시키고, 이어서 96웰 환저 플레이트의 웰당 100,000 세포로 X-10 배지에 분주하였다. 항체(이특이성 3, KEYTRUDA, mAb1 및 mAb28의 조합, 및 이소타입 대조군)는 10 ng/ml SEA와 함께 10 내지 0.0001 nM의 최종 농도로 첨가하였다. 동시 배양 3일 후, IL-2 사이토킨 생성을 분석하였다. 도 11에 나타난 바와 같이, 이특이성 3은 모든 시험된 용량에서 KEYTRUDA 보다 많은 IL-2를 유도하였다. 중요하게, 이특이성 3은 KEYTRUDA 및 mAb1와 mAb28의 조합 둘다와 비교하여 항체의 보다 낮은 농도에서 개시하여 증가된 IL-2 생성을 유도하였다.

[0572] PD-1 발현 결정 검정

[0573] 이전에 동결된 PBMC를 해동시키고 15분동안 PBS 중에서 0.1 mg/ml DNase I로 항온처리하고, 필터에 통과시키고, 이어서 3일동안 0.25 μ g/ml 항-CD3 (클론 OKT3) 및 0.25 μ g/ml 항-CD28 (클론 CD28.2)과 함께 hX-10 중에 1×10^6 세포/ml로 분주하였다. 3일 후, 세포는 세포를 회전 하강시켜 과량의 배지를 제거함에 의해 hX-10 중에 2×10^6 세포/ml로 조정하였다. 세포를 이어서 재현탁시키고 48웰 플레이트 중에 1×10^6 세포/웰 (0.5 ml)로 분주하였다. 항체(이특이성 3, KEYTRUDA, mAb1 및 mAb28의 조합, 아테졸리주맙 또는 이소타입 대조

군)를 이어서 각각의 웰에 첨가하여 0.01nM 또는 1nM의 항체의 최종 농도와 함께 1ml/웰 hX-10의 최종 용적을 수득하였다. 밤새 배양 후, 세포는 1.5ml의 에펜도르프 튜브에 수거하고 프로테아제 억제제 칵테일을 함유하는 100 μ l의 용해 완충액 중에서 용해시켰다. 회전시켜 미립자의 상등액을 투명하게 하고, 투명한 상등액을 웨스턴 블롯을 위한 사용시까지 -80℃에서 저장하였다. 웨스턴 블롯에 대해, 샘플은 1X LDS 샘플 완충액 및 1X 환원제를 포함하도록 조정하고, 10분동안 70℃에서 가열하고 이어서 웰당 20 μ l를 4-12% Bis-Tris 겔 상으로 로딩하였다. 겔을 전개한 후, 니트로셀룰로스 막으로 이동시키고, 실온에서 1시간 동안 5% 분유를 함유하는 TBS-0.1% Tween-20 (TBST)로 차단하고, TBST 중에서 세척하고, 이어서 4℃에서 5% 소 혈청 알부민을 함유하는 TBST 중에서 항-PD-1 (클론 D4W2J, Cell Signaling Technologies) 또는 항- β -액틴(클론 13E5, Cell Signaling Technologies) 항체로 밤새 항온처리하였다. 다음 날, 막은 TBST 중에서 세척하고, HRP-접합된 항-토끼 IgG 항체로 항온처리하고, TBST에서 세척하고, SuperSignal™ Pico 기질로 현상하였다. 화학발광 및 백색 광 이미지를 Amersham Imager 600 상에 수집하고 겹쳐서 나타낸 이미지를 생성하였다. 도 12a에 나타낸 바와 같이, 이특이성 3은 PD-1의 내재화 및/또는 후속 분해 및/또는 발산에 의한 세포 PD-1 발현을 상실시키는 능력에서 독특하다.

[0574] 후속 검정에서, 이전에 동결된 PBMC를 해동시키고 15분동안 PBS 중에서 0.1 mg/ml DNase I로 항온처리하고, 필터에 통과시키고, 이어서 3일동안 0.25 μ g/ml 항-CD3 (클론 OKT3) 및 0.25 μ g/ml 항-CD28 (클론 CD28.2)과 함께 hX-10 중에 1×10^6 세포/ml로 분주하였다. 3일 후, 세포는 세포를 회전 하강시켜 과량의 배지를 제거함에 의해 hX-10 중에 2×10^6 세포/ml로 조정하였다. 세포를 이어서 재현탁시키고 48웰 플레이트 중에 1×10^6 세포/웰 (0.5 ml)로 분주하였다. 항체(이특이성 3, KEYTRUDA, mAb1 및 mAb28의 조합, 아테졸리주맙, 아테졸리주맙 및 KEYTRUDA, 50nM mAb1을 갖는 이특이성 3 또는 이소타입 대조군)를 이어서 각각의 웰에 첨가하여 0.1nM, 1nM 또는 10nM의 항체의 최종 농도와 함께 1ml/웰 hX-10의 최종 용적을 수득하였다. 밤새 배양 후, 세포는 1.5ml의 에펜도르프 튜브에 수거하고 프로테아제 억제제 칵테일을 함유하는 100 μ l의 용해 완충액 중에서 용해시켰다. 회전시켜 미립자의 상등액을 투명하게 하고, 투명한 상등액을 웨스턴 블롯을 위한 사용시까지 -80℃에서 저장하였다. 웨스턴 블롯에 대해, 샘플은 1X LDS 샘플 완충액 및 1X 환원제를 포함하도록 조정하고, 10분동안 70℃에서 가열하고 이어서 웰당 10 μ l를 4-12% Bis-Tris 겔 상으로 로딩하였다. 겔을 전개한 후, 니트로셀룰로스 막으로 이동시키고, 실온에서 1시간 동안 5% 분유를 함유하는 TBS-0.1% Tween-20 (TBST)로 차단하고, TBST 중에서 세척하고, 이어서 4℃에서 5% 소 혈청 알부민을 함유하는 TBST 중에서 항-PD-1 (클론 D4W2J, Cell Signaling Technologies) 또는 항- β -액틴(클론 13E5, Cell Signaling Technologies) 항체로 밤새 항온처리하였다. 다음 날, 막은 TBST 중에서 세척하고, HRP-접합된 항-토끼 IgG 항체로 항온처리하고, TBST에서 세척하고, SuperSignal™ Pico 기질로 현상하였다. 화학발광 및 백색 광 이미지를 Amersham Imager 600 상에 수집하고 겹쳐서 나타낸 이미지를 생성하였다. 도 12b-12c에 나타낸 바와 같이, 이특이성 3은 PD-1의 내재화 및/또는 후속 분해 및/또는 발산을 통한 세포-표면 PD-1 발현을 상실시키는 능력에서 독특하다. 추가로, 항-PD-L1 항체인 mAb1이 이특이성 3을 함유하는 웰에 50nM로 첨가되는 경우, PD-1 내재화 및/또는 PD-1의 후속 분해 및/또는 발산에 의한 세포-표면 PD-1 발현의 상실을 구동하는 이특이성 3의 능력을 상실시켰다. 이것은 이특이성 3의 아암 둘다가 PD-1의 내재화 및/또는 분해 및/또는 발산에 의해 세포-표면 PD-1의 상실을 구동시키는데 개입되어야 함을 시사한다.

[0575] 도 12d는 이특이성 3을 갖는 치료가, 이특이성의 결합 아암 둘다가 동시에 개입되는 경우 상등액 중에 PD-1의 양을 증가시킴을 보여준다. 상기 효과는 PD-L1 표적화 아암이 모계 PD-L1 아암 항체인 mAb1에 의해 차단되는 경우 상실된다. 이것은 이특이성 3이 PD-1의 상등액으로의 발산을 증가시킴을 시사한다.

[0576] 결합 아암의 서열에 대한 결합가의 효과를 이어서 조사하였다. 새로운 이특이성이 생성되었고 (이특이성 5) 이는 mAb1의 VH 및 VL 서열로부터 유래된 PD-L1에 결합하는 제1 N-말단 Fab 및 mAb28의 VH 및 VL 서열로부터 유래된 PD-1에 결합하는 제2 N-말단 Fab를 갖는다. 다른 말로, 이들은 PD-1 및 PD-L1으로의 결합을 위해 동일한 VH 및 VL 서열을 공유하지만, 이특이성 5는 2가 아암 결합 PD-L1과 2가 아암 결합 PD-1을 갖는 이특이성 3과 비교하여 하나의 1가 아암 결합 PD-L1 및 하나의 1가 아암 결합 PD-1을 갖는다.

[0577] 40×10^6 PBMC는 IL-2 및 IL-7을 함유하는 hX-10 배지에서 T75 플라스크에서 3일 동안 0.25 μ g/ml 항-CD3 및 0.25 μ g/ml 항-CD28로 처리하였다. 세포는 어떠한 조작 없이 플라스크에서 3일 동안 항온처리하였다. 3일째, 세포는 임의의 구 배지를 세척 제거하는 것 없이 수집하였다. 세포는 1×10^6 세포/웰 및 0.01 nM, 0.1 nM, 1 nM, 및 10 nM에서의 항체와 함께 1ml의 최종 용적으로 48웰 플레이트의 웰에 분주하였다. 밤새 항온처리 후, 세포는

1.5 ml 튜브에 수집하였고 세척으로 웰로부터 모든 세포를 수집함에 이어서 용해시키고 웨스턴 블롯팅을 위해 사용하였다. 웨스턴 블롯은 PD-1 및 액틴에 대해 전개하였다. **도 12e**는 결합 아암의 결합가가 PD-1 발현의 상실 정도에 영향을 미침을 입증한다. 나타난 바와 같이, PD-1 발현 상실은 이특이성 3 (2가 결합 아암, 총 결합 = 4 또는 4가) 보다 이특이성 5 (1가 결합 아암, 총 결합가 =2 또는 2가)의 보다 높은 용량에 일어나기 시작하고 이는 이특이성 3의 증가된 결합가가 상기 차이에 관여함을 시사한다.

[0578] 이어서, ADAM/MMP 억제제의 효과(들)은 세포의 세포질막으로부터 단백질을 절단 제거하는데 관여하는 쉐다제 또는 프로테아제인 다중 MMP 및 ADAM의 광범위 억제제인 바티마스타트(Batimastat)를 사용하여 조사하였다. 간략하게, 40×10^6 PBMC는 IL-2 및 IL-7을 함유하는 hX-10 배지에서 T75 플라스크에서 3일 동안 $0.25 \mu\text{g/ml}$ 항-CD3 및 $0.25 \mu\text{g/ml}$ 항-CD28로 처리하였다. 세포는 어떠한 조작 없이 플라스크에서 3일 동안 항온처리하였다. 3 일째, 세포는 임의의 구 배지를 세척 제거하는 것 없이 수집하였다. 세포는 1×10^6 세포/웰로 1ml의 최종 용적으로 48웰 플레이트의 웰에 분주하였다. 항체 첨가 전 적어도 1/2 시간에, 바티마스타트 또는 DMSO 비히클은 0 μM , 1.25 μM , 2.5 μM , 5 μM , 및 10 μM 의 증가하는 농도로 첨가하고 37C에서 예비 항온처리하여 ADAM/MMP 억제제의 결과를 조사하였다. 이어서, 이소타입 대조군 및 이특이성 3을 1 nM로 첨가하였다. 밤새 항온처리 후, 세포는 1.5 ml 튜브에 수집하였고 세척으로 웰로부터 모든 세포를 수집함에 이어서 용해시키고 웨스턴 블롯팅을 위해 사용하였다. 웨스턴 블롯은 PD-1 및 액틴에 대해 전개하였다. **도 12f**는 다중 MMP 및 ADAM의 광범위 억제제인 바티마스타트를 사용한 전처리가 세포-연합된 PD-1 상실의 양을 크게 감소시킴을 입증하고, 이는 PD-1 상실 또는 발산이 MMP 또는 ADAM 프로테아제에 의한 절단으로 인한 것임을 시사한다. **도 12g**는 이특이성 3이 트랜스 구성으로 있는, 즉 상이한 세포에 의해 발현되는 PD-1 및 PD-L1에 결합하는 경우 주로 세포-표면 PD-1 발현의 상실을 구성함을 시사한다. PD-1 및 PD-L1이 동일한 세포 상에서 발현될 수 있음을 고려하여, 시스 (cis)로 PD-1 및 PD-L1에 결합하는 이특이성 3이 PD-1 발현 또는 PD-1 발산을 상실시키는지의 여부, 또는 이특이성 3에 의한 결합이 트랜스 (trans)로 있을 필요가 있는지를 조사하였고, 이특이성 3은 PD-L1을 발현하는 종양 세포와 같은 제1 세포 및 PD-1을 발현하는 aT 이펙터 세포와 같은 제2 세포를 브릿징한다. PD-1만을 발현하거나, PD-L1만을 발현하거나, PD-1 및 PD-L1 둘다를 발현하는 Jurkat 세포를 실험에 사용하였다. 간략하게, PD-1을 발현하는 총 0.5×10^6 의 Jurkat 세포, PD-1 및 PD-L1을 발현하는 Jurkat 세포, 또는 PD-1-만을 또는 PD-L1만을 발현하는 Jurkat 세포의 1:1 혼합물은 0.01, 0.1 및 1 nM로 이소타입 대조군 또는 이특이성 3으로 처리하였다. 밤새 항온처리 후, 세포는 1.5 ml 튜브에 수집하였고 세척으로 웰로부터 모든 세포를 수집함에 이어서 용해시키고 웨스턴 블롯팅을 위해 사용하였다. 웨스턴 블롯을 수행하여 PD-1 및 액틴 수준을 결정하였다.

[0579] 이특이성 3의 생체내 기능

[0580] HLA A02:01 공여자로부터 13일 확장된 CMV 항원 특이적 CD8+ T 세포를 수집하고 이어서 2:1 KACP:CMV T 세포 및 매트릭셀의 비율로 HLA-A02:01, CMV 단백질 pp65-IRES-GFP, 및 PD-L1 (“KACP”)을 발현하는 K562 세포와 혼합하여 100 μl 가 1X 매트릭셀, 5×10^6 KACP 세포 및 2.5×10^6 CMV T 세포를 포함하도록 하였다. NSG 마우스에는 이들의 옆구리에 마우스 당 100 μl 의 준비된 매트릭셀-KACP-CMV T 세포 혼합물을 이식하였다. 이식일에 개시되고 동물량 (각각의 모노클로날에 대해 200 μg , 이특이성 3에 대해 333 μg)으로 투여되는 항체 용량은 3일 마다 항체와 함께 재투여하였다. 처리 그룹은 매트릭셀 단독 (“T 세포 전달 부재”)으로 KACP 종양 세포가 투여된 대조군 그룹 및 이소타입, KEYTRUDA, mAb1 및 mAb28 (mAb1+mAb28), 또는 이특이성 3이 투여되는 그룹을 포함하였다. 그룹 당 5마리의 마우스가 있고 마우스는 매일 모니터링하여 종양은 주당 2회 측정하였다. 프로토콜은 **도 13a**에 도식적으로 도시되어 있다. **도 13b**에 나타난 바와 같이, 어떠한 T 세포 전달 그룹도 T 세포를 함유하는 임의의 그룹 보다 더 공격적으로 성장한 종양을 갖지 않았다. 이러한 모델에서, KEYTRUDA는 이소타입 대조군과 비교하여 KACP 종양 성장을 지연시키는데 어떠한 이득을 부여하지 않았다. 이특이성 3, 및 mAb1과 mAb28 그룹의 조합체 둘다가 이소타입과 KEYTRUDA 그룹 둘다와 비교하여 종양 성장에서 유의적 지연을 갖는다. 24일째에, 이특이성 3 그룹, 및 mAb1과 mAb28의 조합으로 처리된 그룹 간에는 상당히 차이가 있고, 이특이성 3은 조합체와 비교하여 종양 성장에서 지연을 유발한다.

[0581] **실시예 6: 이특이성 3의 약리학적 조사를 위한 생체내 연구**

[0582] *NSG 마우스에서 K562-A2-CMV-PD-L1 표적 세포 및 CMV T-세포의 동시-접종 모델*

[0583] **도 13a**에 도식적으로 도시된 프로토콜을 사용한 2개의 별도의 연구에서 NSG 암컷 마우스는 5×10^6 K562-A2-CMV-PD-L1 (“KACP”) 세포 및 동일한 공여자로부터 생체내 확장된 2.5×10^6 (**도 13b** 및 **14a**; 이펙터: 표적 비

을 = 0.5:1) 또는 5×10^6 (도 14b; 이펙터: 표적 비율 = 1:1) CMV-특이적 T 세포를 함유하는 100 μ L 매트릭셀로 피하 (s.c.)로 동시 주사하였다. 마우스는 접종일에 각각 그룹 당 5마리의 마우스 또는 그룹당 10마리의 마우스로 맹검 분류하였다. 연구 둘다에서 사람 T 세포의 항-종양 활성을 결정하기 위해, 마우스의 제1 그룹은 종양 세포로만 주사하였다. 제2 그룹에는 사람 IgG1 이소타입 대조군 항체 (0.2 mg Q3Dx5)를 투여하였다. 제3 그룹에는 KEYTRUDA (0.2 mg Q3Dx5)를 투여하였고, 제4 그룹은 이특이성 3 (0.333 mg Q3Dx5)으로 처리하고, 제5 그룹에는 항-PD-1 (mAb28) 및 항-PD-L1 (mAb1) 항체 (0.2 mg 각각 Q3Dx5)의 조합물을 투여하였다. 모든 항체는 i.p.로 주사하고 투여는 이식일에 개시하였다. 항-종양 활성은 종양 용적 측정에 의해 모니터링된 종양 성장, 체중 손실 및 전체 생존률에 의해 결정하였다. 종양 크기 및 체중은 주당 2 내지 3회 측정하였고, 마우스는 종양이 2000 mm^3 에 도달하거나 마우스가 체중을 20% 상실한 경우 안락사시켰다. 데이터를 분석하고 그래프 패드 프리즘 소프트웨어를 사용하여 그래프를 작성하였다. 도 14a 및 14b에 도해진 바와 같이, 이특이성 3은 시험된 상이한 모노클로날 항체와 비교하여 증가된 항-종양 효능을 나타냈다.

[0584] 이식가능한 동계 마우스 모델

[0585] 유방암 EMT-6 세포 (5×10^4 /마우스)는 BALB/c 암컷 마우스의 포유류 지방 패드에 이식하였다. 종양이 확립된 경우 (종양 용적 대략 50 mm^3), 마우스는 분류하고 (n=8) 사람 IgG1 이소타입 대조군 (0.2 mg Q3Dx3) 또는 이특이성 3 (0.333 mg Q3Dx3)으로 처리하였다. 항체는 i.p. 주사에 의해 전달하였다.

[0586] 유사한 연구 디자인을 사용하여, 방광암 MB-49 세포 (5×10^5 /마우스)를 암컷 C57BL/6 마우스 내 s.c.로 주사하였다. 종양이 확립된 경우 (종양 용적 대략 75 mm^3), 마우스는 분류하고 (n=8) 사람 IgG1 이소타입 대조군 (0.2 mg Q3Dx3) 또는 이특이성 3 (0.333 mg Q3Dx3)으로 처리하였다. 항체는 i.p. 주사에 의해 전달하였다.

[0587] 연구 둘다를 위해, 종양 크기 및 체중은 주당 2 내지 3회 측정하였고, 마우스는 종양이 2000 mm^3 에 도달하거나 마우스가 체중을 20% 상실한 경우 안락사시켰다. 결과를 플롯팅하고, 그래프를 작성하고 그래프 패드 프리즘 소프트웨어에 의해 분석하였다. 이특이성 3은 이소타입 대조군-처리와 비교하여 EMT-6 유방 암 세포 모델(도 15a) 및 MB-49 세포 모델(도 15b)에서 보다 큰 항-종양 효능을 보여주었다.

[0588] 유전자전이 마우스에서 가공된 이식될 수 있는 동계 모델

[0589] 사람 PD-L1을 발현하도록 가공된 마우스 결장암 MC-38 세포 (MC-38-hPD-L1)를 C57BL/6 암컷 마우스에 s.c.로 주사하였고, 여기서, PD-1 및 PD-L1의 세포의 도메인은 사람 PD-1 및 PD-L1으로 대체되었고, 수용체-리간드 쌍의 막관통 및 신호전달 도메인은 변형되어 있지 않다. 사람 PD-1 및 PD-L1의 유전학적 녹인은 마우스 PD-1과 상호작용하지 않음에 따라서 동계 마우스 모델에서 평가될 수 없는 KEYTRUDA와 정면으로 본원 발명의 PD-1 x PD-L1 항체를 시험할 수 있게 하였다. 확립된 MC-38-hPD-L1 종양을 갖는 마우스를 분류하고(n=8) 이소타입 대조군(0.2 mg Q3Dx3), KEYTRUDA (0.2 mg Q3Dx3), 또는 이특이성 3 (0.333 mg Q3Dx3)으로 i.p. 처리하였다. 이특이성 3으로의 처리는 이소타입 대조군- 또는 KEYTRUDA 처리 보다 상당히 양호하게 MC-38-hPD-L1 종양 성장을 제어하였다(도 16a). 추가로, 이특이성 3 처리는 이소타입 대조군- 또는 KEYTRUDA-처리된 마우스와 비교하여 MC-38-hPD-L1 종양 마우스에서의 생존률을 증가시켰다(도 16b).

[0590] 별도의 연구에서, C57BL/6 사람 PD-1/PD-L1 유전자전이 암컷 마우스에 극히 공격적인 마우스 흑색종 세포주인 1×10^5 B16F10-hPD-L1 세포를 s.c.로 주사하였다. 흑색종이 하기 처리를 받은 5개 그룹에서 생존할 수 있는 즉시 (종양 세포 접종 후 4일) 마우스를 분류하였다(n=8). 그룹 1은 이소타입 대조군 사람 IgG1 (0.2 mg Q3Dx3)을 투여하고, 그룹 2에는 아벨루맵(0.2 mg Q3Dx3)을 투여하고, 그룹 3에는 KEYTRUDA (0.2 mg Q3Dx3)를 투여하고, 그룹 4에는 이특이성 3 (0.333 Q3Dx3)을 투여하고, 그룹 5에는 KEYTRUDA 및 아벨루맵 (0.2 mg 각각 Q3Dx3)을 투여하였다. 연구 둘다를 위해, 종양 크기 및 체중은 주당 2 내지 3회 측정하였고, 마우스는 종양이 2000 mm^3 에 도달하거나 마우스가 체중을 20% 상실한 경우 안락사시켰다. 생존률을 기록하고 분석하였다. 데이터를 플롯팅하고, 그래프를 작성하고 그래프 패드 프리즘 소프트웨어에 의해 분석하였다. 도 17a 및 17b에 도해진 바와 같이, 이특이성 3은 시험된 다른 처리 그룹과 비교하여 B16F10-hPD-L1 마우스에서 종양 성장을 지연시키는 데 상당히 보다 효과적이었다. 추가로, 비특이성 3으로 처리된 B16F10-hPD-L1 마우스는 다른 시험된 처리를 받은 마우스 보다 평균적으로 보다 길게 생존하였다(도 17c 및 도 17e)

[0591] 실시예 7: 비특이성 3은 모노클로날 유사 DLP 및 모계 유사 결합을 갖는다

[0592]

도 18a-18d는 이특이성 3이 양호하게 작용하는 모노클로날 항체와 유사한 약물 유사 성질(DLP)을 갖고 모계 PD-1 및 PD-L1 결합을 유지함을 입증한다. 도 18a는 이특이성 3이 사람 PD-1을 발현하는 CHO 세포에 모계 클론 mAb28와 유사한 결합 (상부) 및 사람 PD-L1을 발현하는 CHO 세포에 모계 클론 mAb1와 유사한 결합 (하부)을 나타냄을 보여준다. 도 18b는 이특이성 3이 시노물구스 PD-1을 발현하는 CHO 세포에 모계 클론 mAb28와 유사한 결합 (상부) 및 시노물구스 PD-L1을 발현하는 CHO 세포에 모계 클론 mAb1와 유사한 결합 (하부)을 나타냄을 보여준다. 도 18c는 이특이성 3이 마우스 PD-1을 발현하는 CHO 세포에 모계 클론 mAb28와 유사한 결합 (상부) 및 마우스 PD-L1을 발현하는 CHO 세포에 모계 클론 mAb1와 유사한 결합 (하부)을 나타냄을 보여준다. 도 18d는 98% 초과 순도를 갖는 단일 피크를 입증하는 단백질 A 크로마토그래피 후 이특이성 3의 크기 배제 크로마토그래피 추적 (상부) 및 분자가 높은 열 안정성을 가짐을 입증하는 이특이성 3의 시차 주사 형광측정 (DSF) 추적 (하부)을 보여준다.

서열

서열번호 114 (GenBank 승인 번호 NP_005009.2; UniProt Q15116 - 전장 사람 PD-1 전구체)

```
mqipqapwpv vwavlqlgwr pgwfldspdr pwnpptfspa llvvtgdna tftcsfsnts
esfvlnwurm spsnqtdkla afpedrsqpg qdcfrfvrtl pngrdfhmsv vrrrndsgrt
ylcgaislap kaikeslra elrvterrae vptahpspsp rpagqfqlv vgvvggllgs
lvllvwvlav icsraargti garrtgqplk edpsavpvfs vdygeldfqw rektpeppvp
cvpeqteyat ivfpsgmgt ssparrgsadg prsaqplrpe dghcswpl
```

서열번호 115 (GenBank 승인 번호 NP_054862.1, UniProt Q9NZQ7 - 사람 PD-L1)

```
mrifavfifm tywhllnaft vtvpkdlyvv eygsnmtiec kfpvekql dl aalivyweme
dkniiqfvhg eedlkvqhss yrqrarllkd qlslgnaalq itdvklqdag vyrcmisygg
adykritkv napynkinqr ilvvdptse heltcqaegy pkaevitwss dhqvlsgktt
ttnskreekl fntstlrin ttneifyct frldpeenh taelvipelp lahppnerth
lvilgailc lgvallfifr lrkgrmmdvk kcgidtnsk kqsdthleet
```

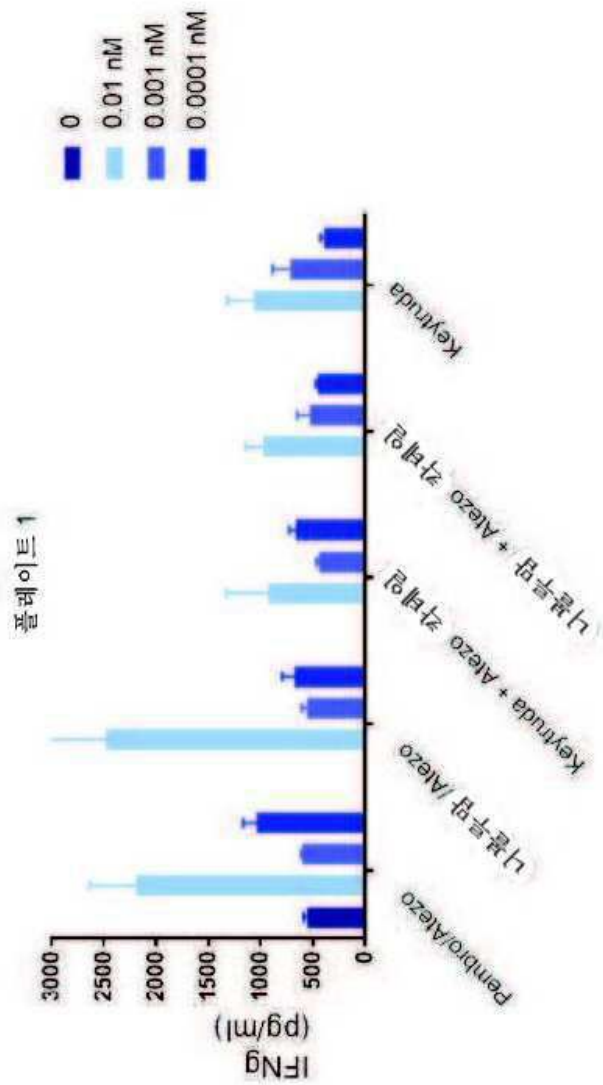
서열번호 116 (GenBank 승인 번호 NP_079515.2, UniProt Q9BQ51 - 사람 PD-L2)

```
mifllmlsl elqlhgiaa fttvtpkely iiehgsnvtl ecnfdtgshv nlgaitaslq
kvendtsphr eratllleql plgkasfhip qvqvrdegqy qciiygav dykyltlkvk
asyrkinthi lkvpetteve ltcqatgypl aevswpnsv pantshtsrtp eglyqvtsvl
rlkpppgrnf scvfwnthvr eltlasidlq sqmeprthpt wllhifipfc iiafifiatv
ialrkqlcqk lysskdttkr pvtttkrevn sai
```

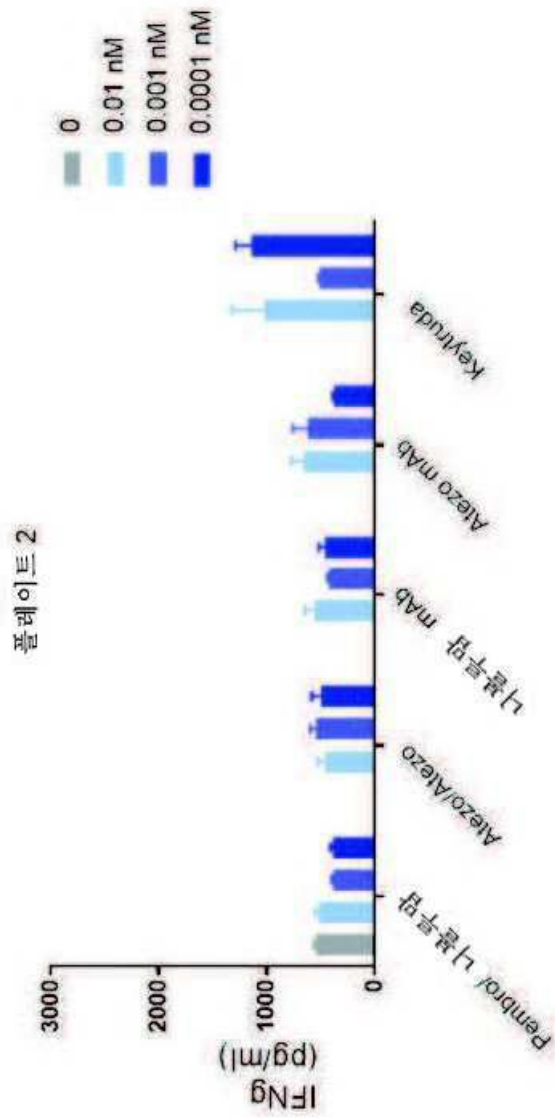
[0593]

도면

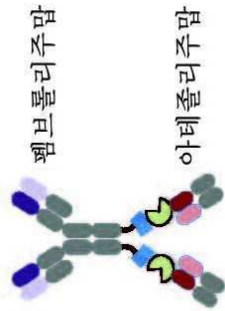
도면1



도면2



도면3



• 헤비슬리주맴_αg1yco-IgG1-(G4S)₄

- H쇄

GTQVQLVQSGVEVKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGINPSNGTINFEKFKNRVTLTIDSSITTAAYMELKSLQFDDTAVYYCA
RRDYRFDMGFDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQT
YICNVNHPKNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLPPKPKDTLMISKRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYAST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYVTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD
GSFFLYSKLTIVYDKSRWQQGNVFSCVMEALHNHYTQKSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGG

- L쇄

TGEIVLTQSPAATLSIPGERATLSCTASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPPELLIYLASYLESQVPAARFSGSGSGTDFTLTISILEPEDFAVYYCQHSRDLPITFG
GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGL
SSPVTKSFNRGECLE

• 아테슬리주맴_αHC Fab-(G4S)₄

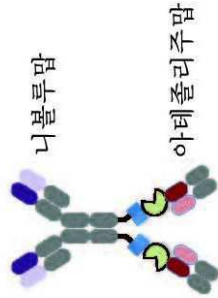
- H쇄

GTEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCARR
HWPGGFDYWGQGTILVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN
VNHPKNTKVDKKVEPKSCDKTHTLEGGGGGGGGGGGGGGG

- L쇄

TGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFELYSQVPSRFSGSGSGTDFTLTISILEPEDFAVYYCQQYLYHPATFGQT
KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPV
TKSFNRGECLE

도면4



• 니볼루주맵_이글리코-(G4S)₄

- H쇄

GTQVQLVESGGGVVQPGRSRLRLDCKASGITFSNGMHVVRQAPGKGLEWVAIVWYDGSKRYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCAT
 NDDYWGQGITLVTSASATKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEFVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQYICNVNHK
 PSNTKVDKKVEPKSCDKTHITCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT
 VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELITKNQVSLTCLVKGYFSPDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKL
 TVDKSRWQQGNVTFSCSVMEHALHNHYTQKLSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGG

- L쇄

TGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLIYDASNRATGPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQSSNWPRFTFGQGTK
 VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV
 KSFNRGECLE

• 아테졸리주맵_HC Fab-(G4S)₄

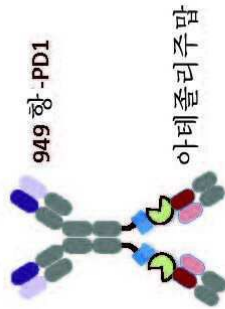
- H쇄

GTEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWTHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARR
 HWPGGFDYWGQGITLVTSAAATKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEFVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQYICN
 VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHITLGGGGGGGGGGGGGGGGG

- L쇄

TGDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQDVSTAVAWYQQKPKGAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLHPATFGQGT
 KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV
 TKSFNREGECLE

도면5



949_어플리코-IgG1

— H —

[illegible]

— १ —

TGENVLQTSPALMASPGKEKVTMTCRASSVSISSYLHWYQKQSGASPKLWYSTSNLASGVDPDFSGSGTSYSLTISSVEAEDAATYVQQYNGYPLTFGA
 GTKLEIKRTVAAPSVFTPPSDEQLKSGTASVVCILNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYLSSTLTLSKADYERHKVYACEVTHQGLSS
 PVTKSFNRGECLE

아테졸리주맙_HC Fab-(G4S)₄

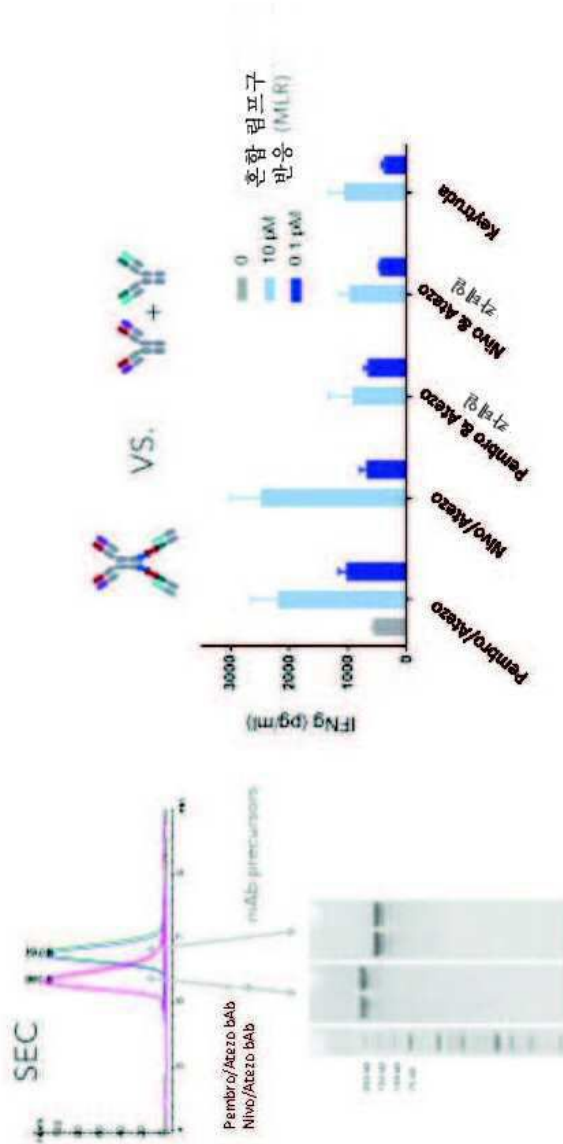
H애
—

GTEVQLVEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSDSWIHVYRQAPGKGLEWAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYVCARR
HWPGGFDYWGQGTLLVTVSAASTKGPSVFLPAPSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHITPAVLQSSGLYSLSSVYVTPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVKDKKVEPKSCDKTHLTLEGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS

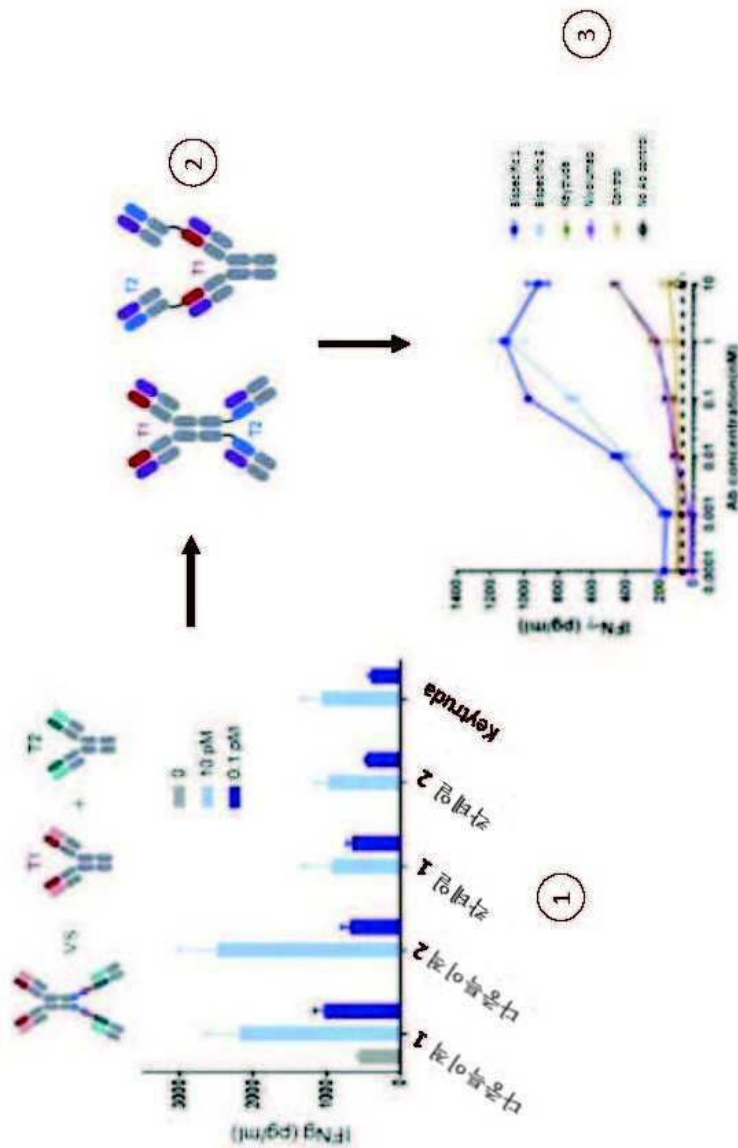
— L. ५३

TGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQDVSTAVAWYQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFGSGSGDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLHPATFGQGT
KVEIKRTVAAPSFVFIIPPSDEQLKSGTASVCLLNFFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV
TKSFNRGECLE

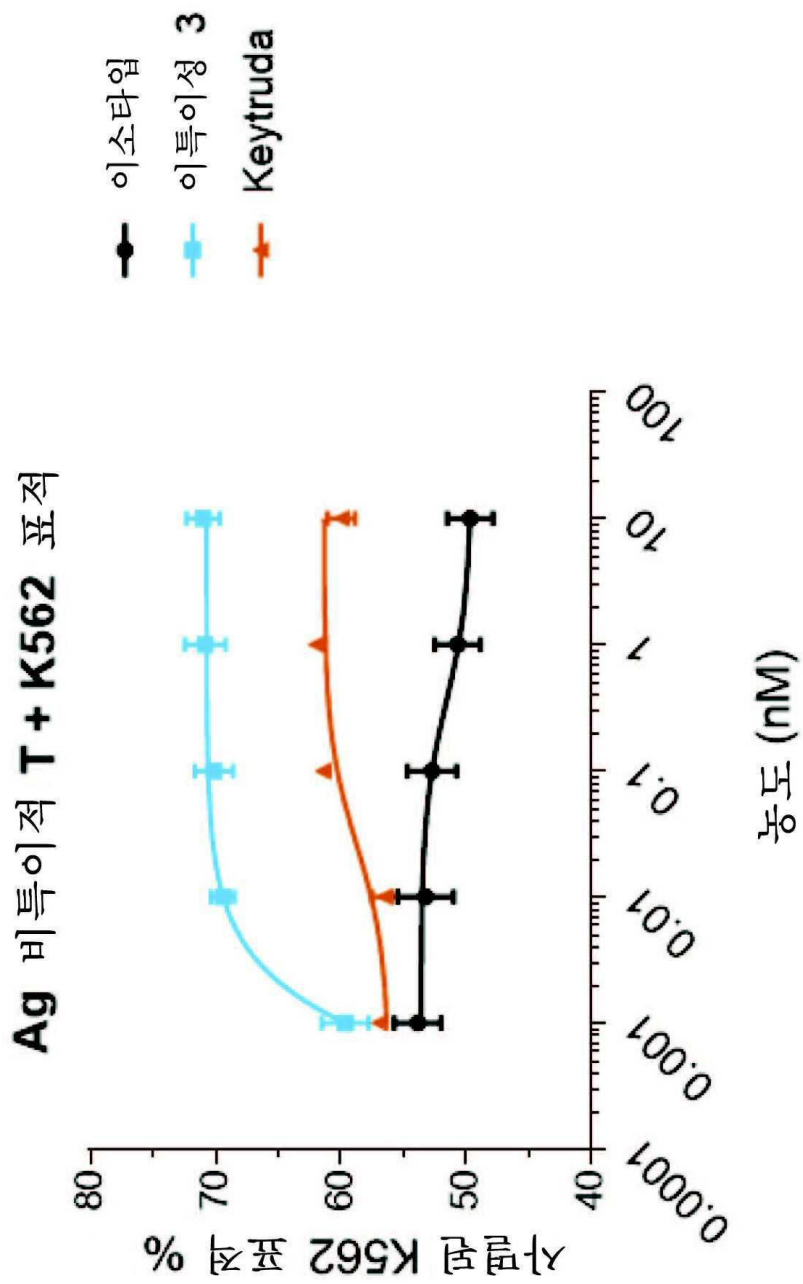
도면7



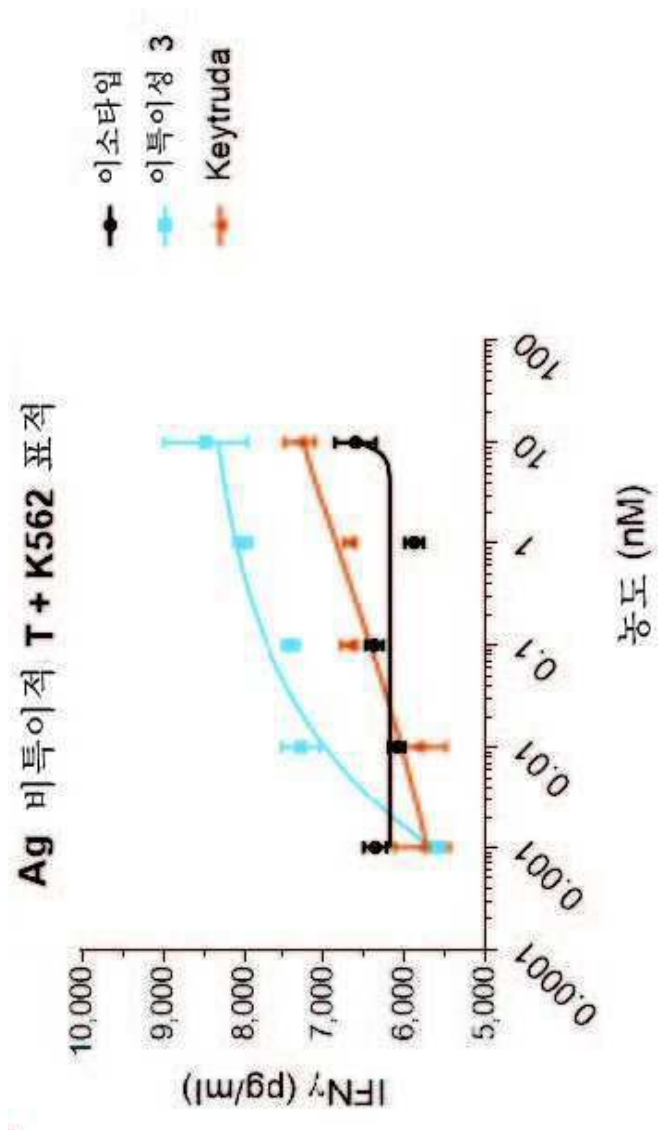
도면8



도면9a

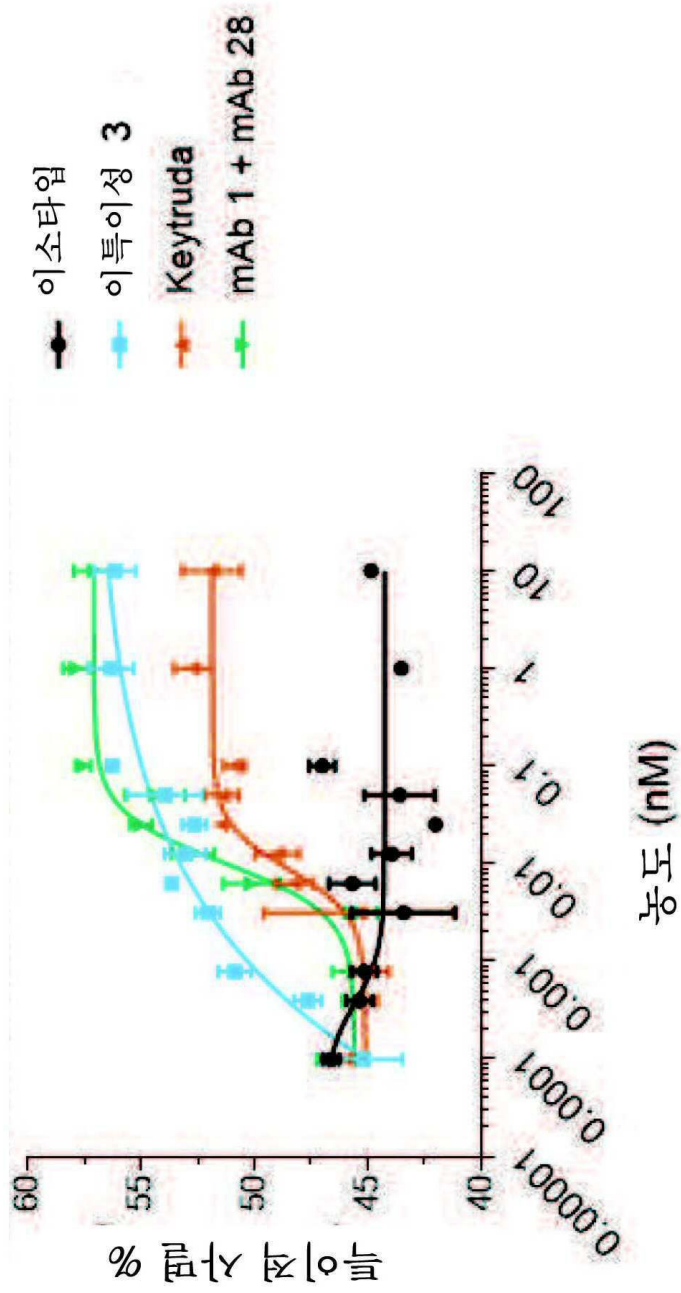


도면9b

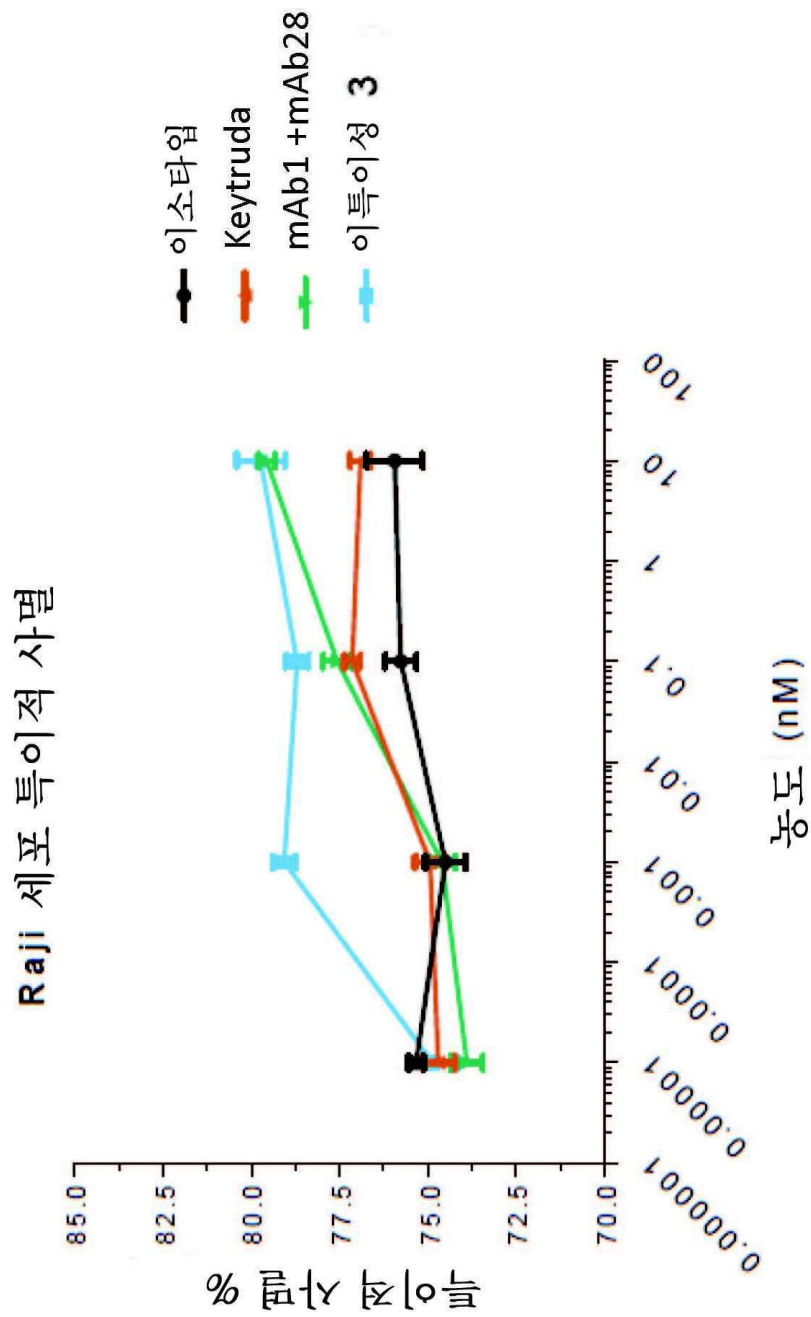


도면10a

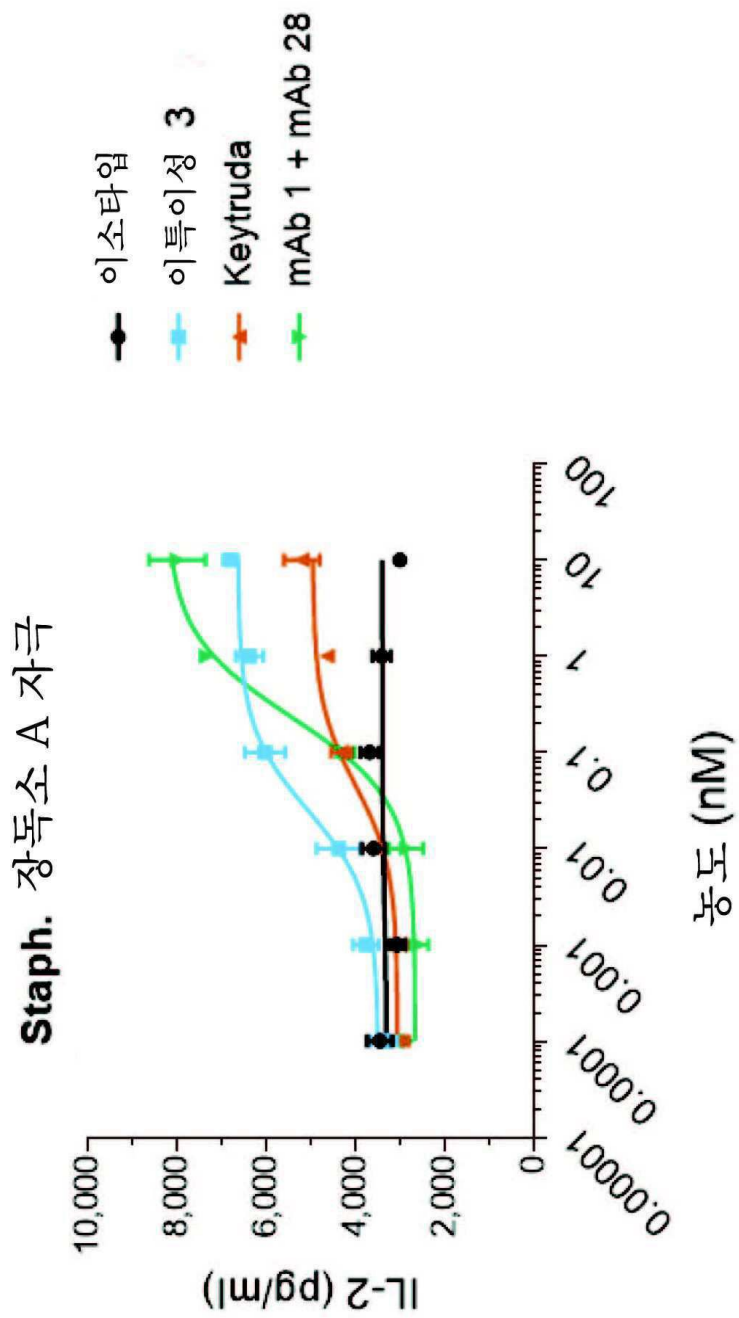
항원-특이적 T 세포 + 종양 표적



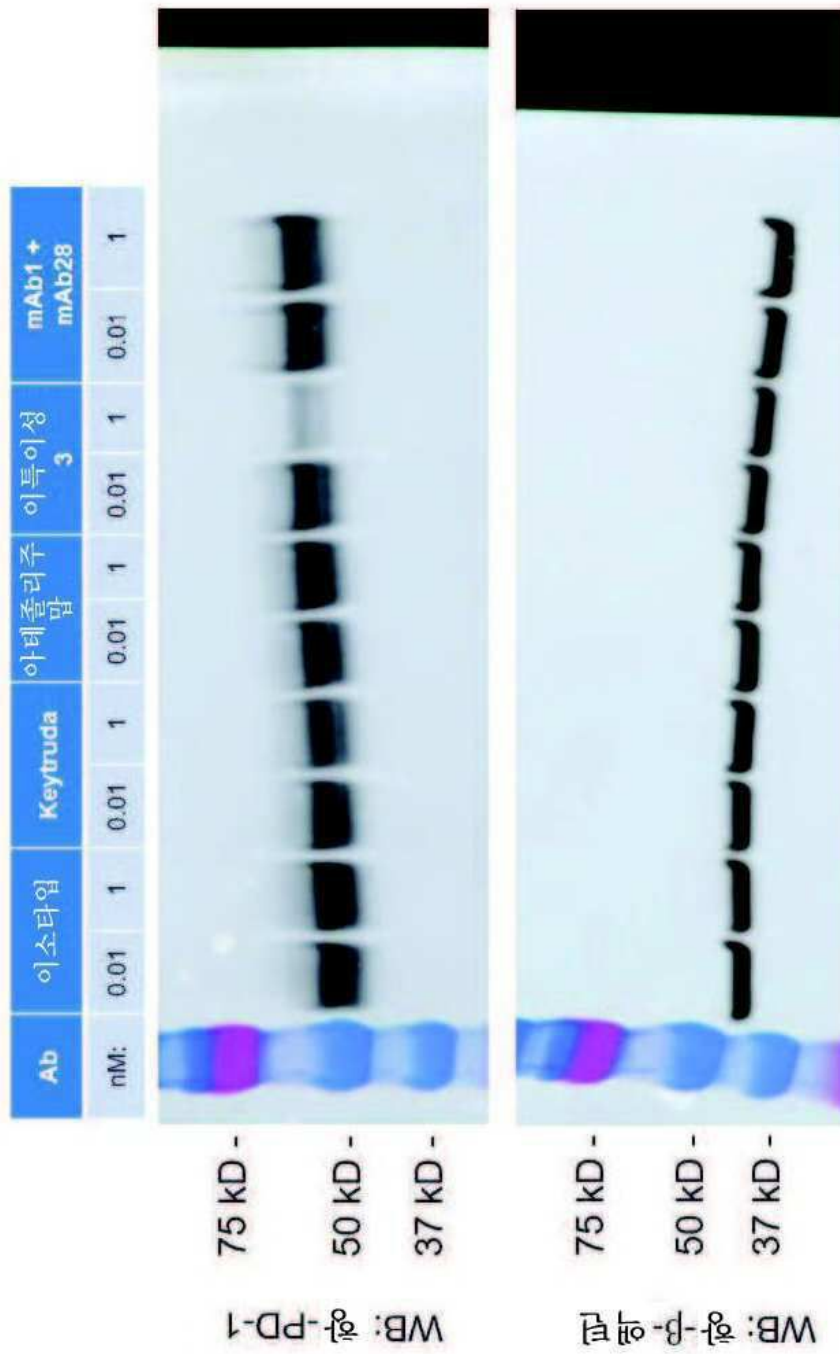
도면10b



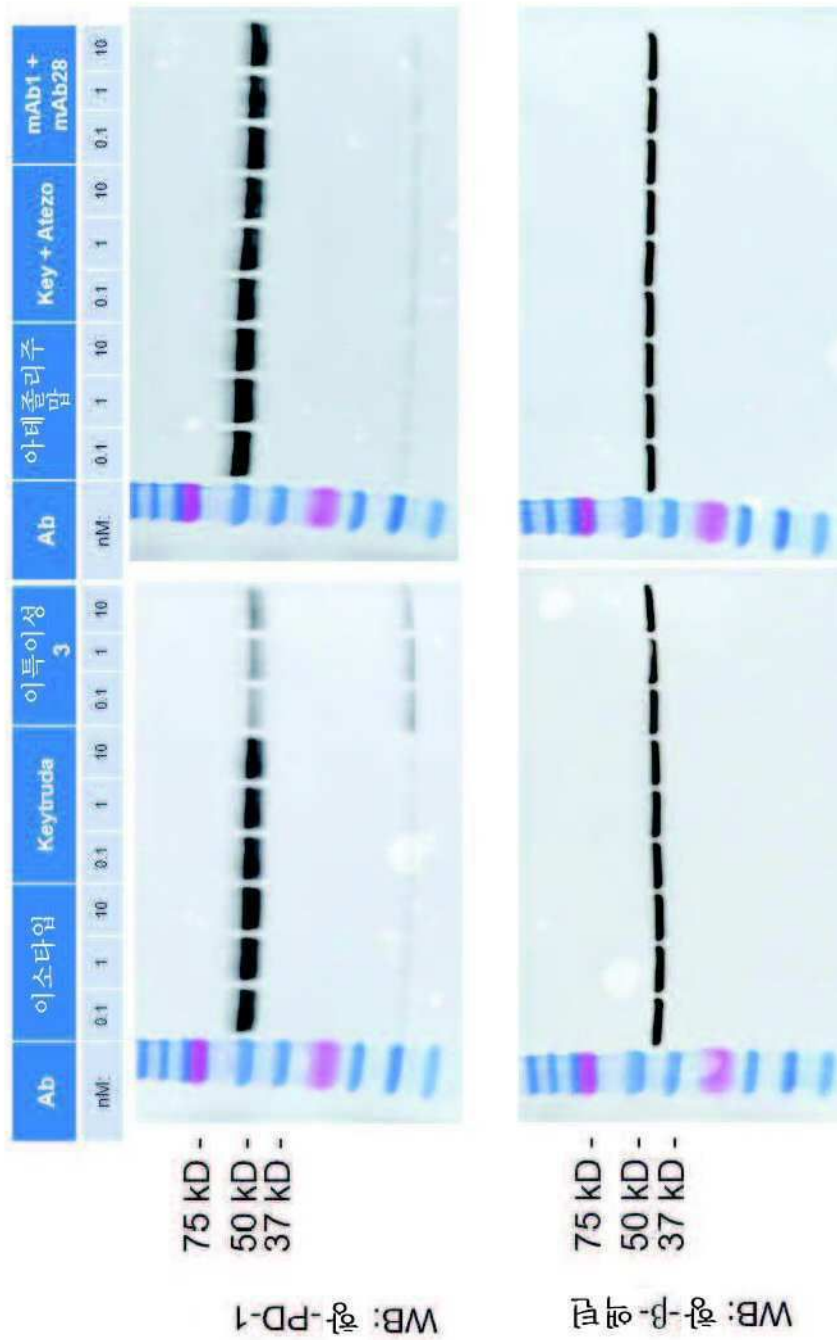
도면11



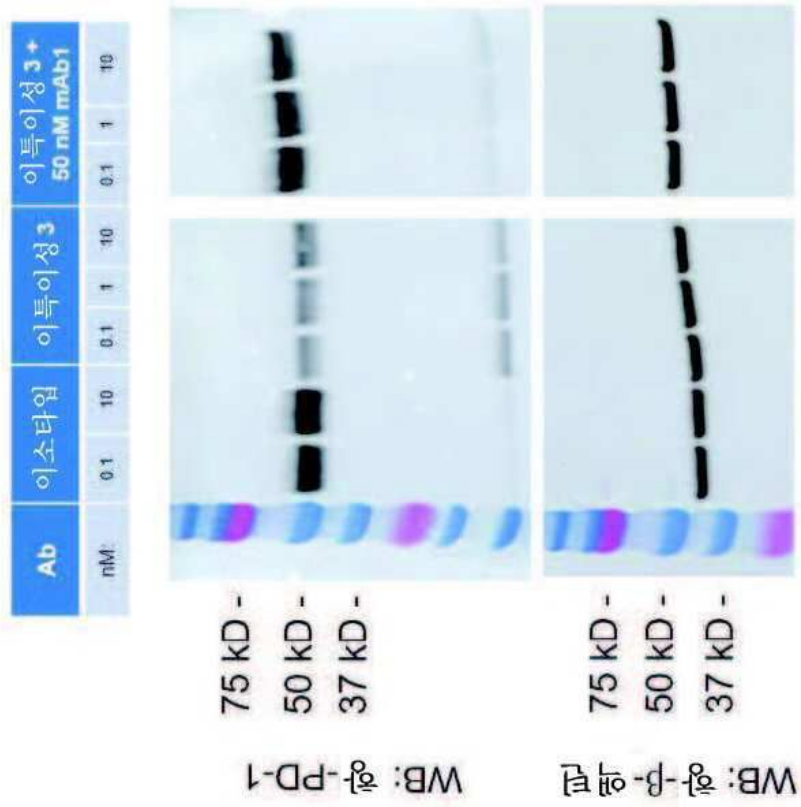
도면12a



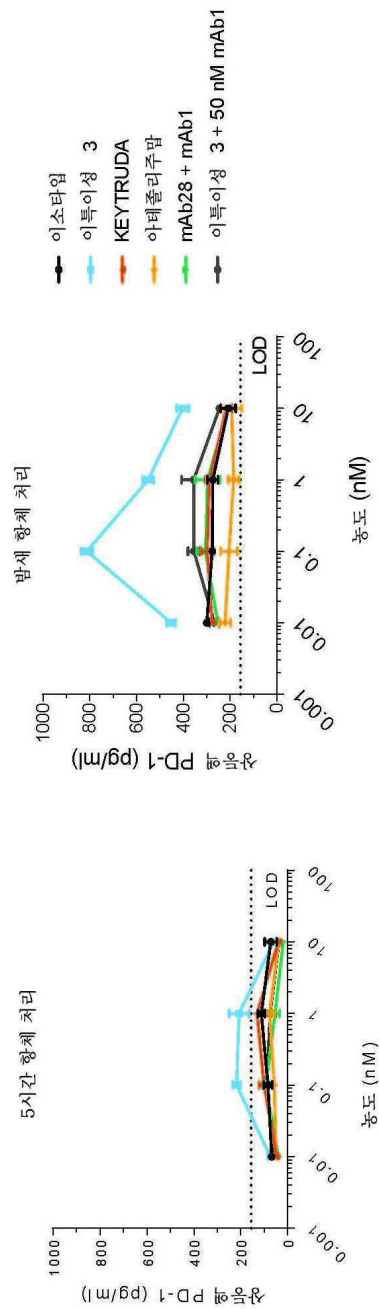
도면12b



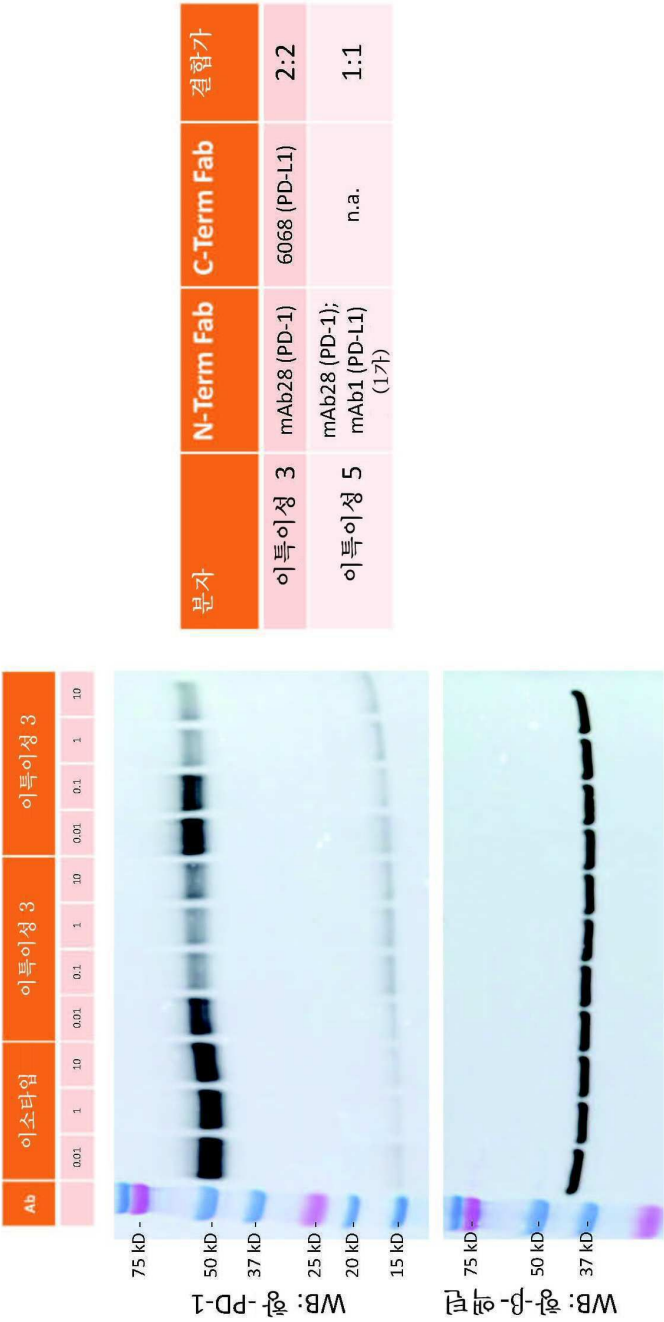
도면12c



도면12d



도면12e



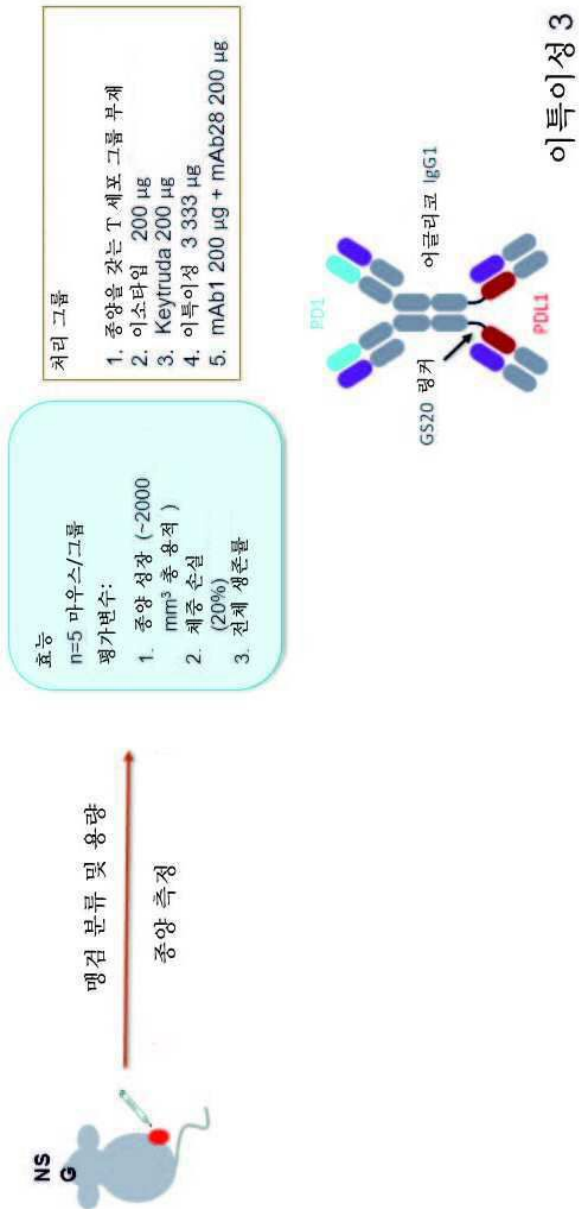
도면12f



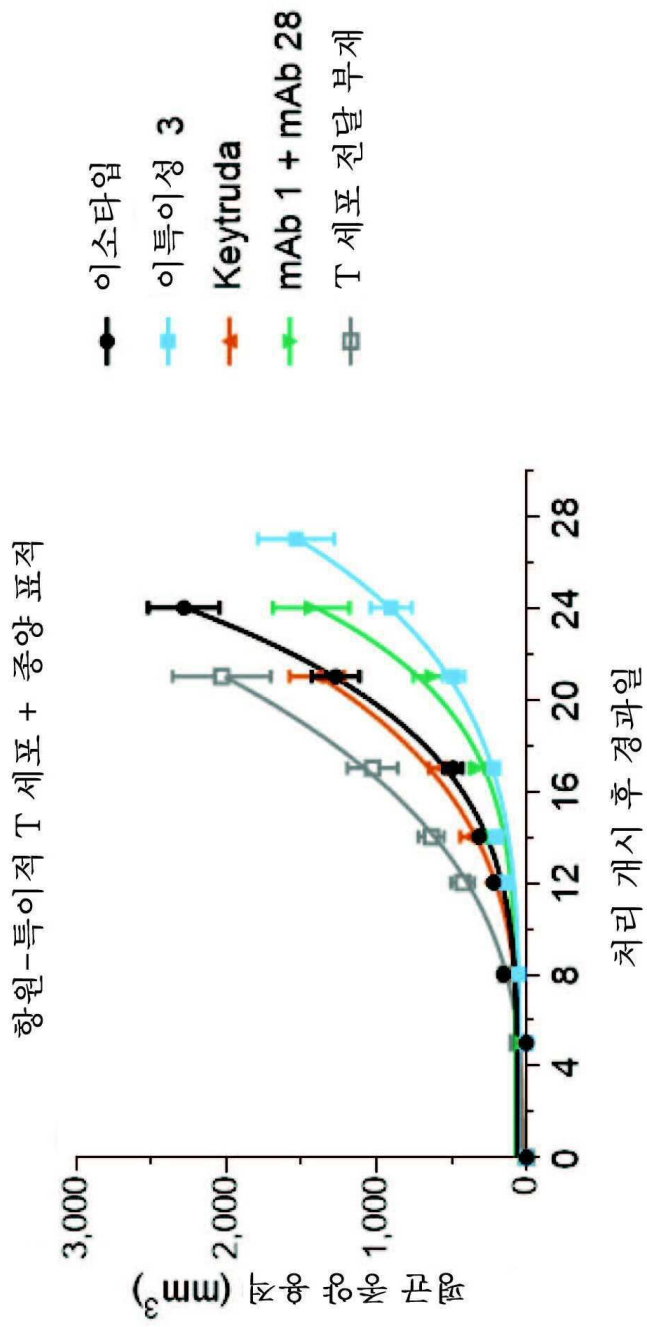
도면12g



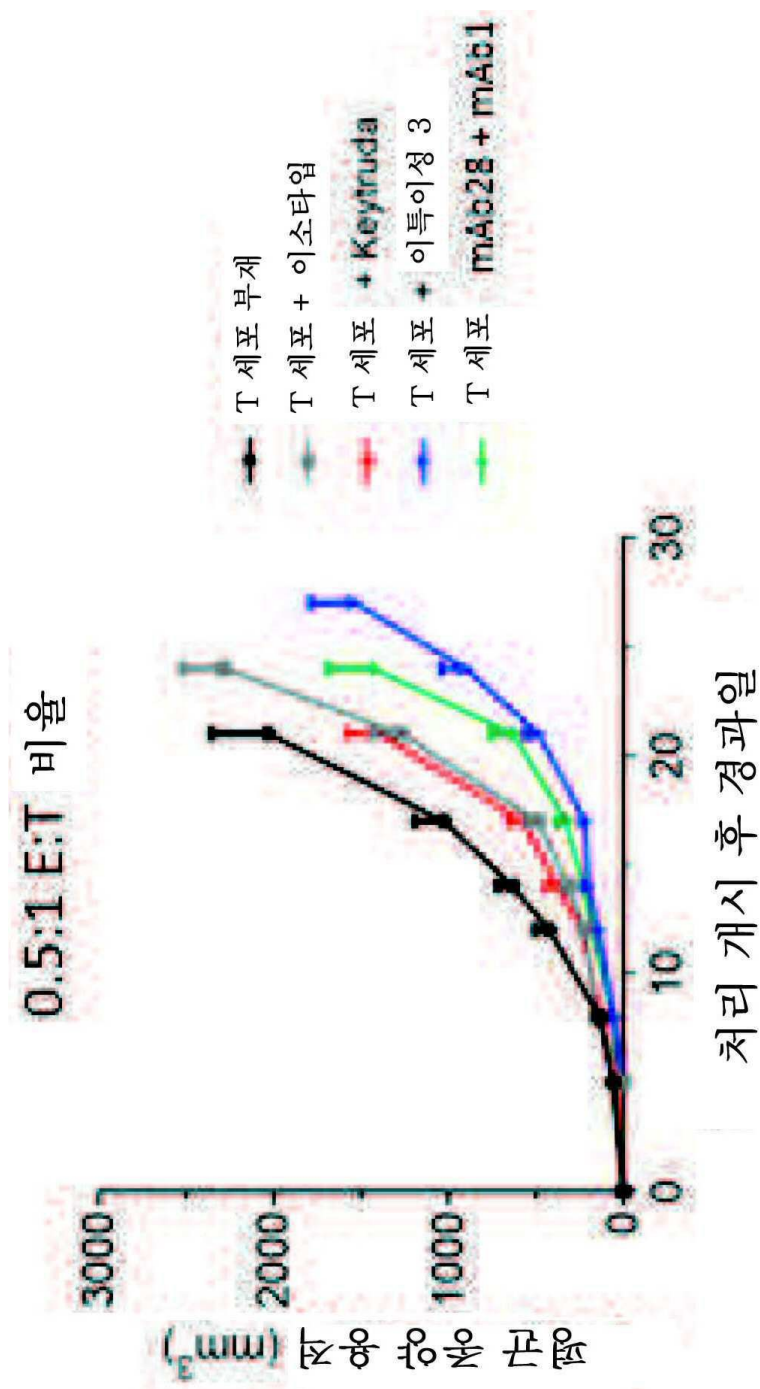
도면13a



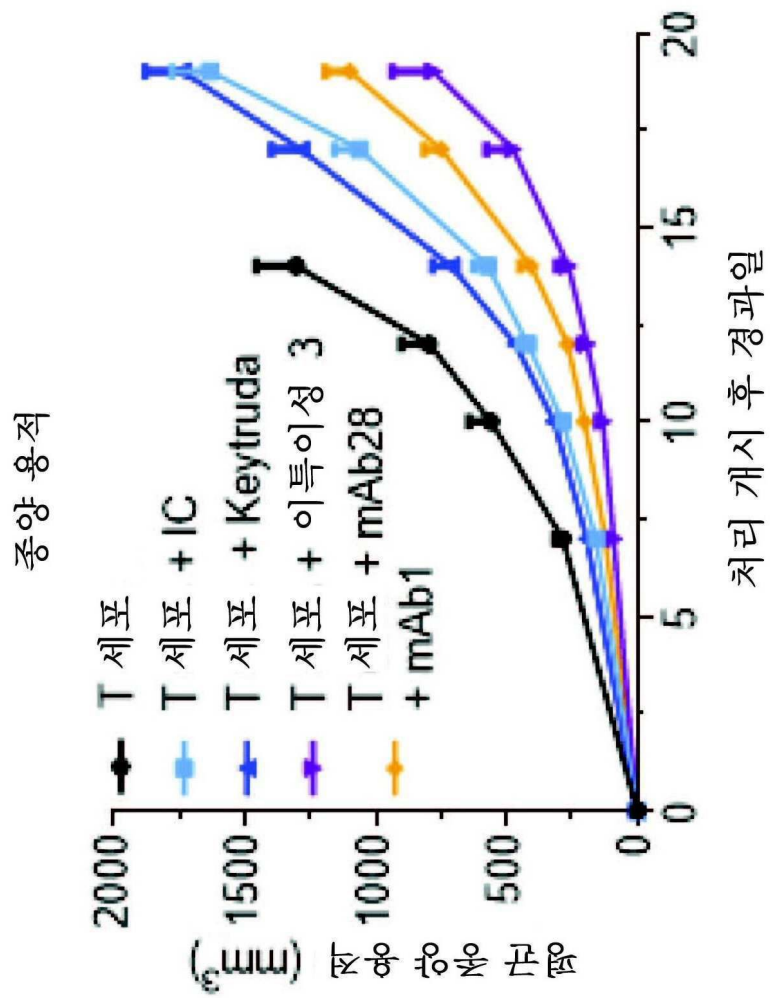
도면13b



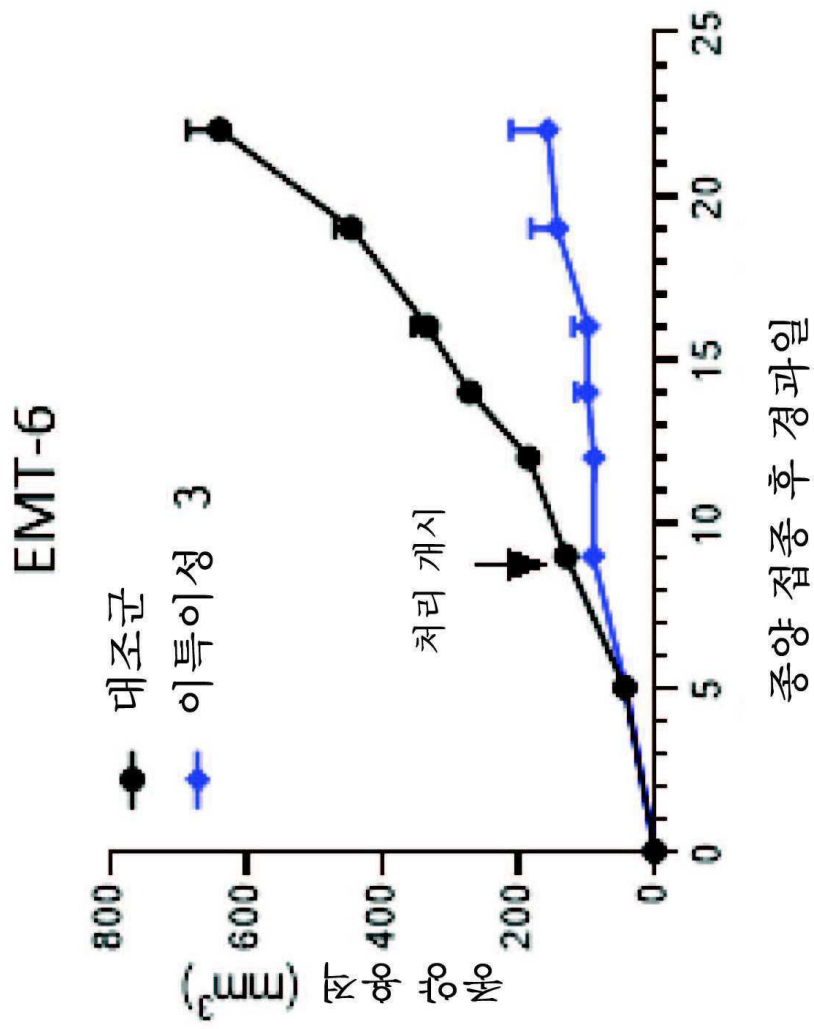
도면14a



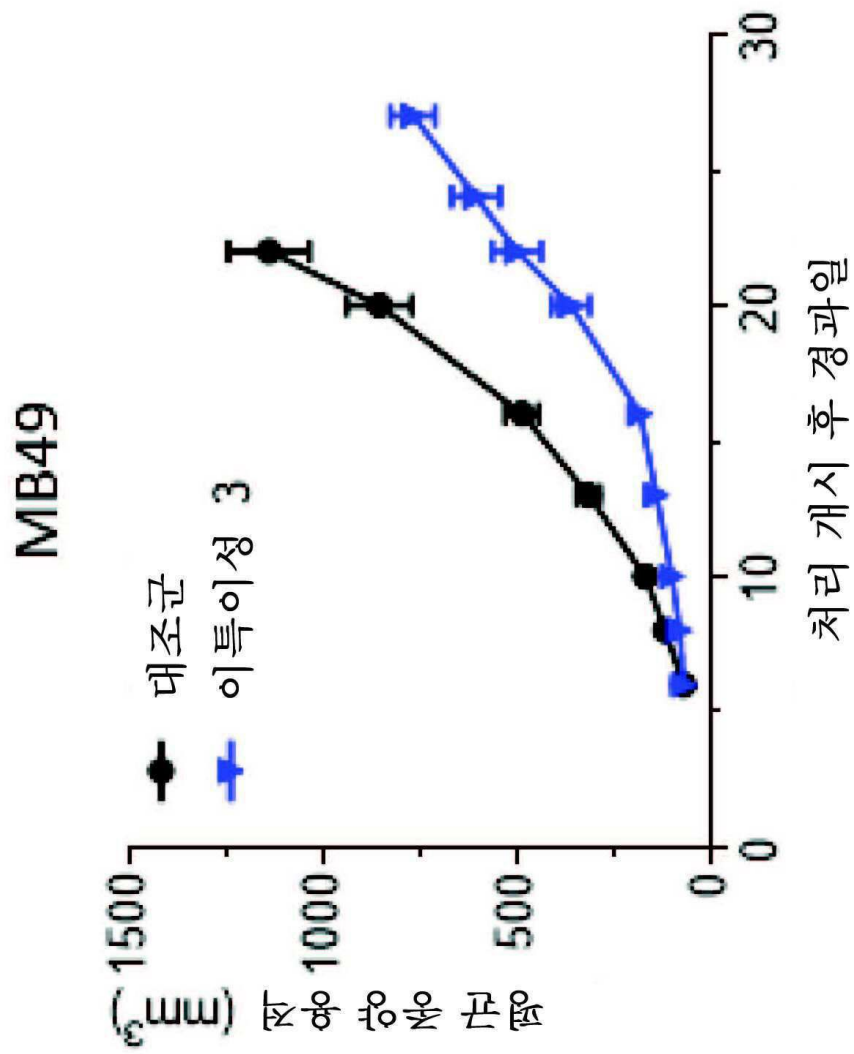
도면14b



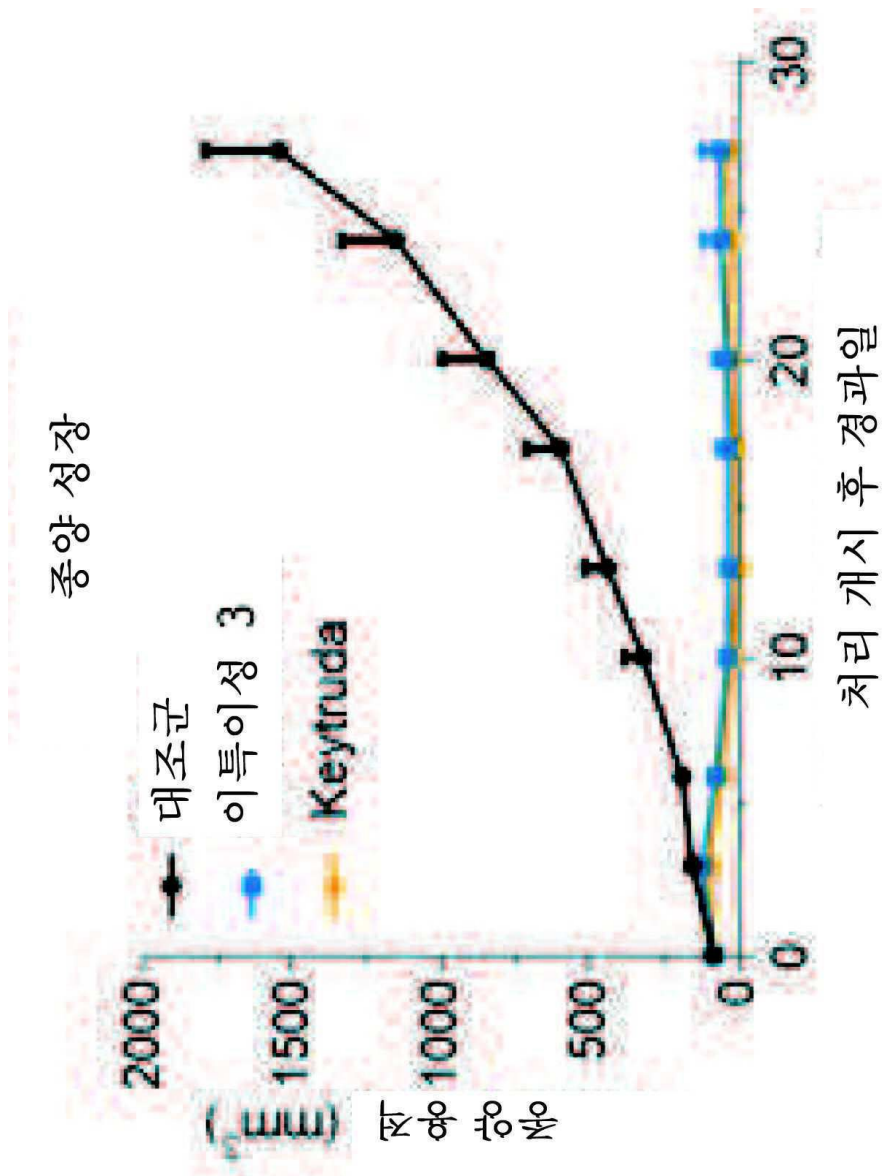
도면15a



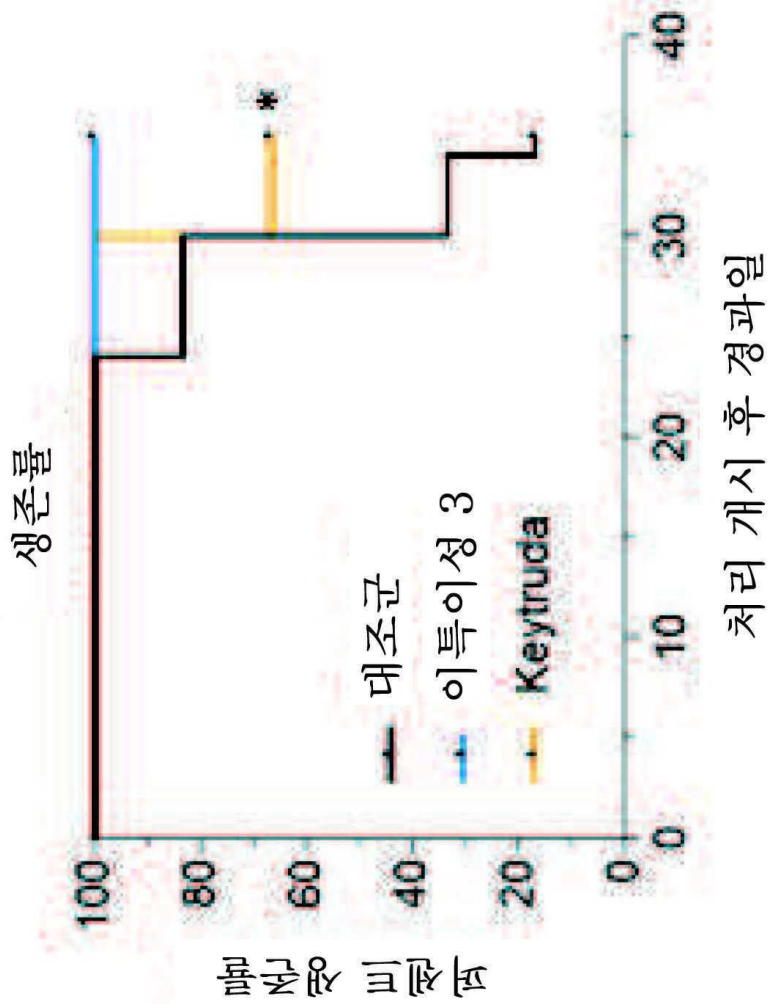
도면15b



도면16a

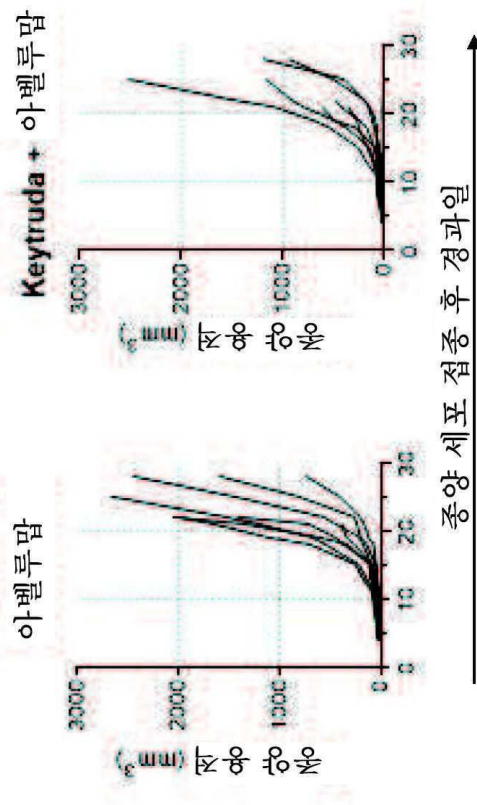
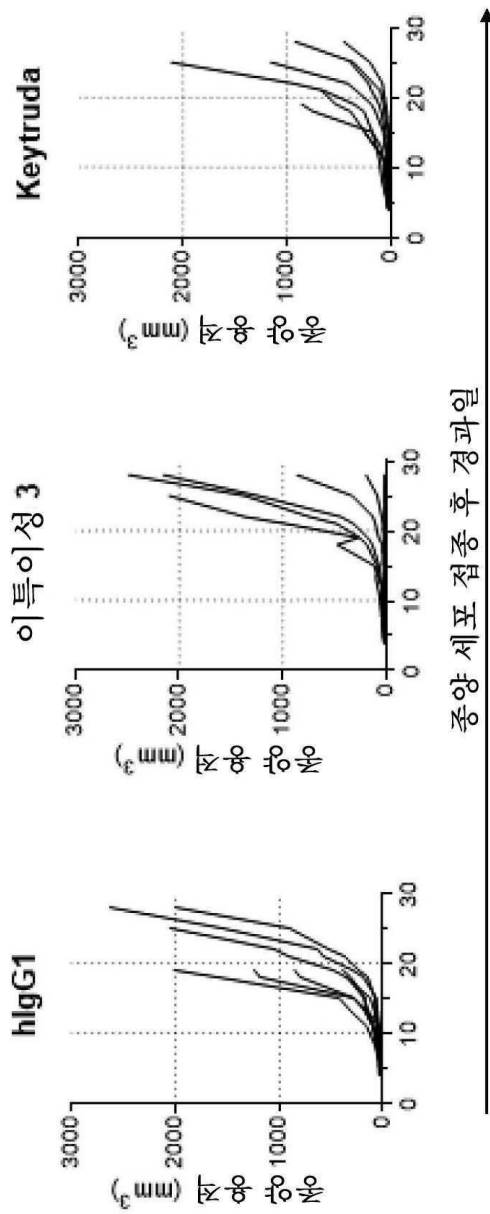


도면16b

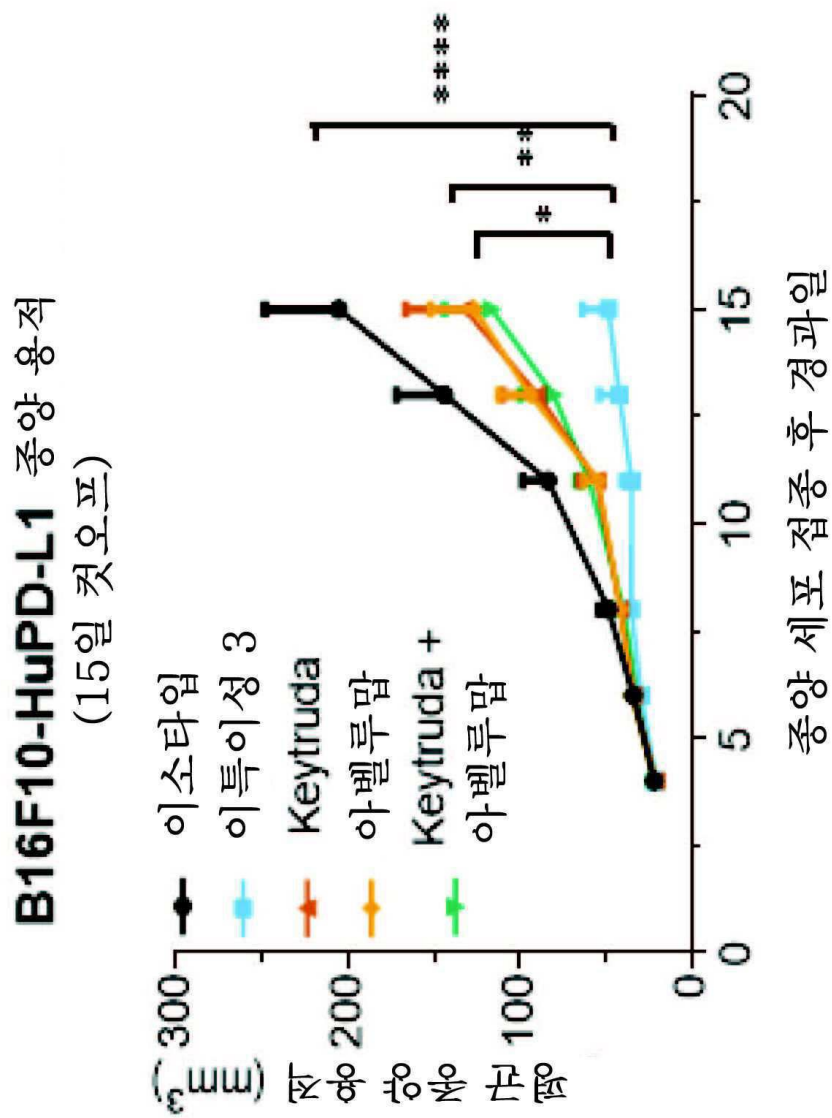


* 2마리의 마우스가 염증 피부
병변으로 인해 희생됨

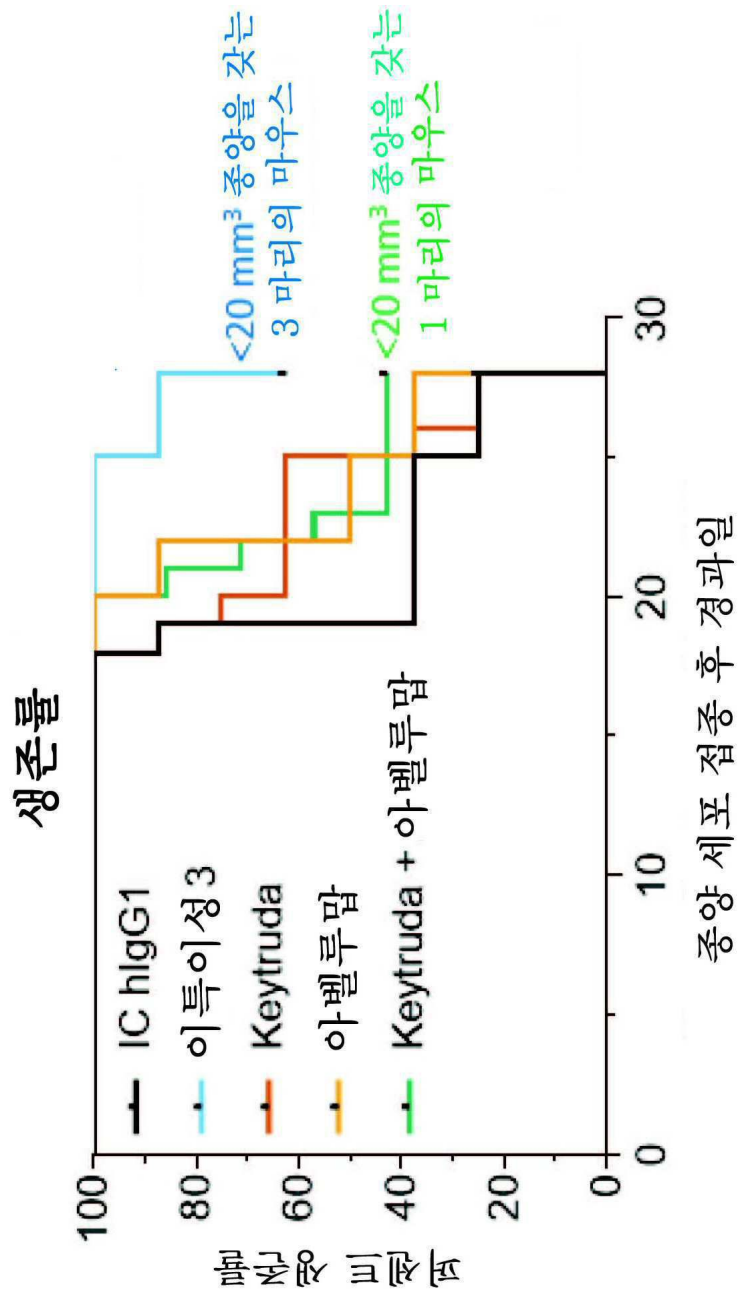
도면17a



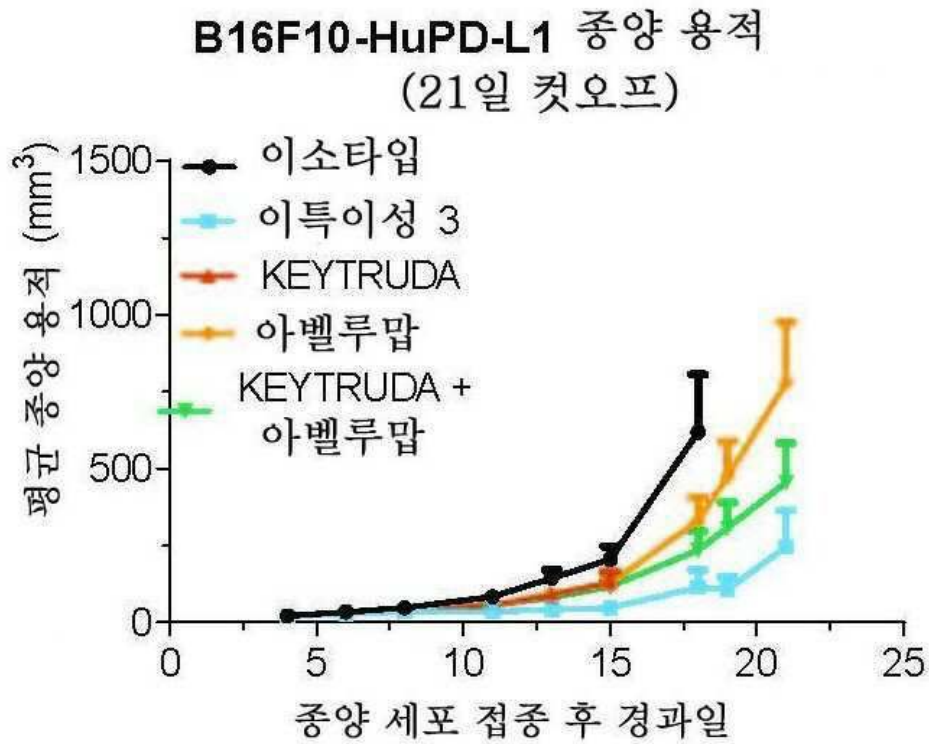
도면17b



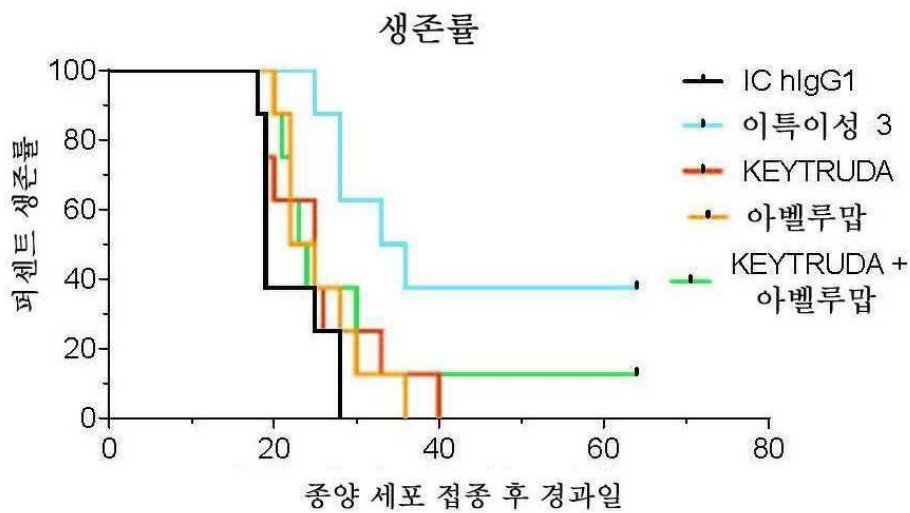
도면17c



도면17d



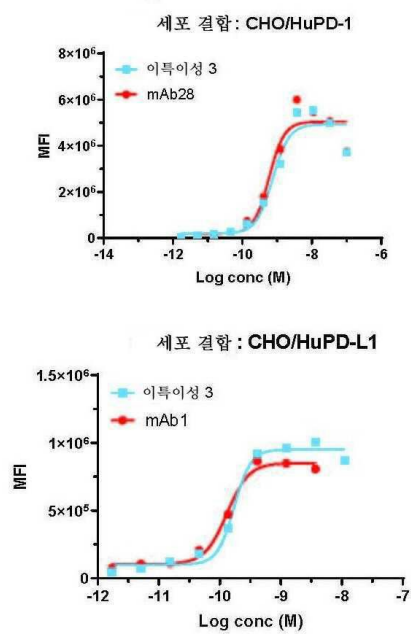
도면17e



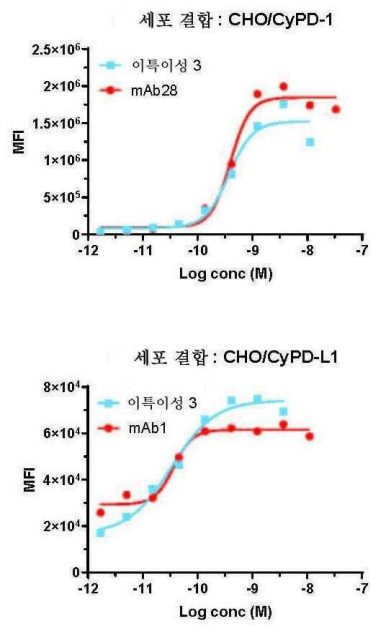
도면17f

처리	종양 부재/총
IC hlgG1	0/8
이특이성 3	3/8
KEYTRUDA	0/8
아벨루맙	0/8
KEYTRUDA + 아벨루맙	1/8

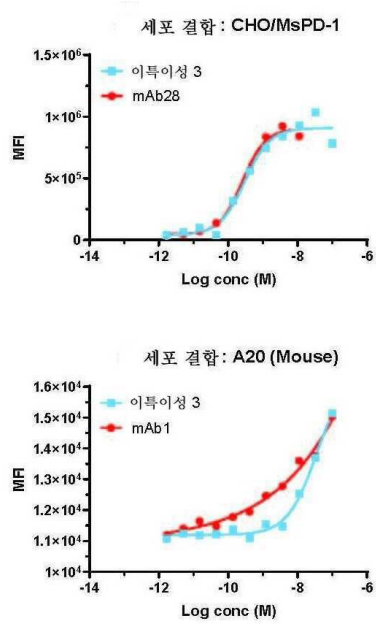
도면18a



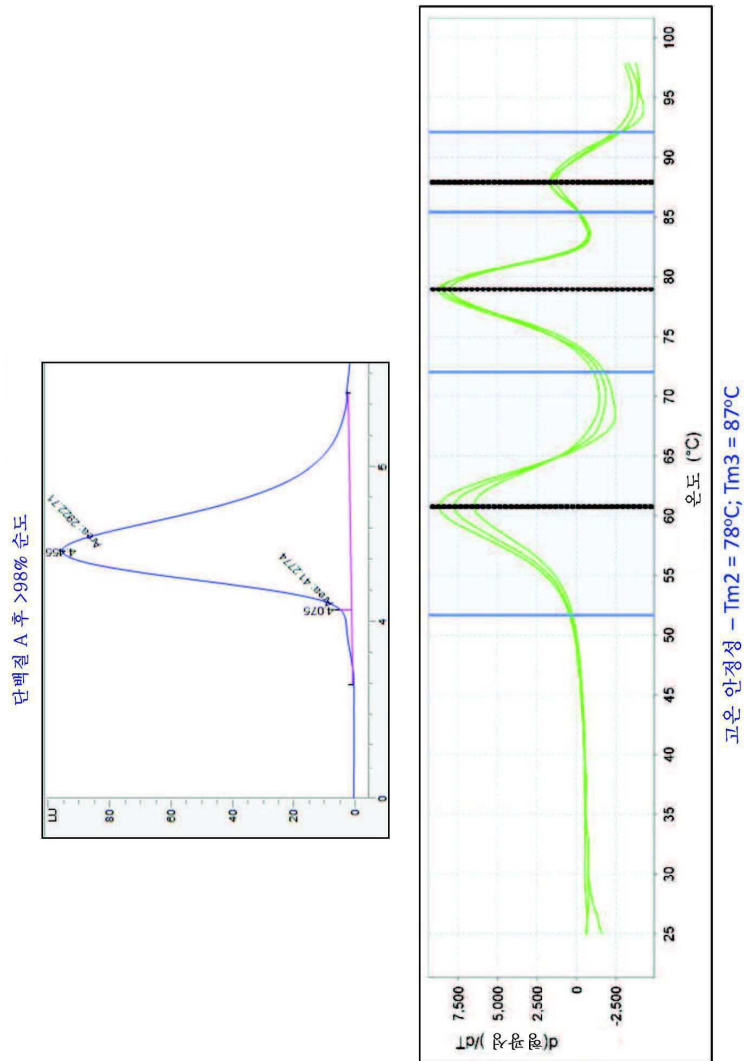
도면18b



도면18c



도면18d



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> COMPASS THERAPEUTICS LLC

<120> MULTISPECIFIC BINDING CONSTRUCTS AGAINST CHECKPOINT MOLECULES AND
USES THEREOF

<130> 1848492-0002-007-W01

<140> PCT/US2019/061226

<141> 2019-11-13

<150> 62/931,478

<151> 2019-11-06

<150> 62/898,991

<151> 2019-09-11

<150> 62/855,580

<151> 2019-05-31

<150> 62/760,801

<151> 2018-11-13

<160> 122

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 1

Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Asn

1 5

<210> 2

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Val or Ile

<220><221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Phe, Leu or Val

<220><221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Thr or Ala

<400> 2

Gly Gly Ile Ile Pro Xaa Xaa Gly Xaa Ala Thr Tyr Ala

1 5 10

<210> 3

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Gly, Phe or Asn

<400> 3

Ala Arg Leu Lys Xaa Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Ser, Trp or Gln

<400> 4

Arg Ala Ser Gln Xaa Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 5

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 6

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
 <220><221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Gln or Phe
 <400> 6
 Xaa Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr

1 5
 <210> 7
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
 <400> 7
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ala Ala Thr Tyr Ala

1 5 10
 <210> 8
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
 <400> 8
 Ala Arg Leu Lys Gly Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10
 <210> 9
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 9

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 10

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 11

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 11

Gly Gly Ile Ile Pro Val Phe Gly Thr Ala Thr Tyr Ala

1 5 10

<210> 12

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 12

Arg Ala Ser Gln Trp Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 13

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 13

Arg Ala Ser Gln Gln Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 14

Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Phe Ser

1 5

<210> 15

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 15

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Ile Ala Asn Tyr Ala

1 5 10

<210> 16

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 16

Gly Gly Ile Ile Pro Asn Phe Gly Thr Ala Thr Tyr Ala

1 5 10

<210> 17

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 17

Ala Arg Leu Lys Gly Glu Leu Lys Gly Ala Gly Asp Ile

1 5 10

<210> 18

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 18

Ala Arg Leu Lys Phe Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 19

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 19

Ala Arg Leu Lys Gly Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Glu

1 5 10

<210> 20

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 20

Ala Arg Leu Lys Asn Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 21

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 21

Gly Gly Val Ile Pro Phe Leu Gly Thr Ala Asn Tyr Ala

1 5 10

<210> 22

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 22

Ala Arg Leu Lys Gly Ile Leu Lys Asp Ala Leu Asp Ile

1 5 10

<210> 23

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 23

Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 24

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 24

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Val Gly Ile Ala Asn Tyr Ala

1 5 10

<210> 25

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 25

Ala Arg Leu Lys Gly Glu Phe Lys Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 26

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 26

Gly Arg Ile Ile Pro Leu Phe Gly Thr Ala His Tyr Ala

1 5 10

<210> 27

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 27

Gly Arg Ile Asn Pro Ile Leu Gly Thr Ala Asn Tyr Ala

1 5 10

<210> 28

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 28

Ala Arg Leu Lys Gly Glu Leu Lys Asp Ala Phe Ser Ile

1 5 10

<210> 29

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 29

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

1 5 10

<210> 30

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 30

Ala Arg Leu Lys Gly Glu Leu Lys Cys Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 31

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 31

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Leu Gly Thr Ala Thr Tyr Ala

1 5 10

<210> 32

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 32

Ala Arg Arg Lys Gly Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 33

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 33

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Val Ala Thr Ala Asn Tyr Ala

1 5 10

<210> 34

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 34

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Lys Ala Thr Tyr Ala

1 5 10

<210> 35

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 35

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Val Phe Gly Thr Ala Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Leu Lys Gly Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 36

Gly Pro Phe Arg Ser His Ala Val Ser

1 5

<210> 37

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 37

Ala Arg Leu Lys Ser Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 38

Phe Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 39

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 39

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Ile Leu Thr

1 5

<210> 40

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 40

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Val Phe Gly Thr Ala Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Leu Lys Gly Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 41

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 41

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85

90

95

Ala Arg Leu Lys Gly Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 42

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 42

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20

25

30

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

35

40

45

Gly Gly Ile Ile Pro Asn Phe Gly Thr Ala Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Arg Leu Lys Gly Glu Leu Lys Gly Ala Gly Asp Ile Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 43

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 43

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Val Phe Gly Thr Ala Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Leu Lys Phe Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 44

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 44

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Val Phe Gly Thr Ala Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Arg Leu Lys Gly Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Glu Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 45

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 45

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20

25

30

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

35

40

45

Gly Gly Ile Ile Pro Val Phe Gly Thr Ala Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Arg Leu Lys Gly Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Ala Ser Thr

115

120

<210> 46

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 46

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20

25

30

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

35

40

45

Gly Gly Ile Ile Pro Val Phe Gly Thr Ala Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Arg Leu Lys Asn Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 47

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 47

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Ala Arg Leu Lys Gly Ile Leu Lys Asp Ala Leu Asp Ile Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 48

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 48

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

85

90

95

Ala Arg Leu Lys Gly Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 49

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 49

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20

25

30

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

35

40

45

Gly Gly Ile Ile Pro Val Phe Gly Thr Ala Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Arg Leu Lys Gly Glu Phe Lys Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 50

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 50

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Ile Ile Pro Leu Phe Gly Thr Ala His Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Leu Lys Gly Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 51

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 51

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45
Gly Arg Ile Asn Pro Ile Leu Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

<210> 52

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 52

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 53

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 53

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Lys Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Val Phe Gly Thr Ala Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Leu Lys Gly Glu Leu Lys Cys Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 54

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 54

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Leu Gly Thr Ala Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Arg Lys Gly Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 55

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 55

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ala Ala Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Lys Gly Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 56

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 56

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

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

85 90 95
Ala Arg Arg Lys Gly Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 57

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 57

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Lys Ala Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Lys Gly Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 58

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 58

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

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

Gly Gly Ile Ile Pro Val Phe Gly Thr Ala Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

65 70 75 80

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

Ala Arg Leu Lys Ser Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 59

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 59

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 60

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 60

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Trp Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 61

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 61

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gln Ile Ser Ser Tyr

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 62

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 62

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 63

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 63

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Ile Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 64

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 64

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

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

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

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

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

275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 65

<400> 65

000

<210> 66

<400> 66

000

<210> 67

<400> 67

000

<210> 68

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400

> 68

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr

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

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 69

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 69

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe

165 170 175

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

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

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

 290 295 300
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320
 Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 325

<210> 70

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Ser, Arg, Gly or Asn

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Asp, Ser, Asn, Ala, Arg or Gly

<220><221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Met or Leu

<220><221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Ser, Leu or Asn

<400> 70

Phe Thr Phe Xaa Xaa Tyr Ala Xaa Xaa

1 5

<210> 71

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 71

Ser Ala Ile Ser Asn Ser Gly Thr Tyr Thr Tyr Tyr Ala

1 5 10

<210> 72

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> Ala, Tyr or Arg

<400> 72

Ala Arg Gly Leu Asp Phe Ile Val Gly Xaa Thr Gly Asn Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 73

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 73

Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 74

<211

> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 74

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

1 5 10 15

<210> 75

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 75

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

1 5 10 15

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 76

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 77

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 77

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Leu

1 5

<210> 78

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 78

Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Leu Ser

1 5

<210> 79

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 79

Phe Thr Phe Ser Ala Tyr Ala Met Asn

1 5

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 80

Phe Thr Phe Arg Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 81

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 81

Phe Thr Phe Gly Arg Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 82

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 82

Phe Thr Phe Asn Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 83

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 83

Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 84

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 84

Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 85

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 85

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

1 5 10 15

<210> 86

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 86

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Asn

1 5

<210> 87

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 87

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45
Ser Ala Ile Ser Asn Ser Gly Thr Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

<210> 88

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 88

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

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

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 89

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 89

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Leu Asp Phe Ile Val Gly Tyr Thr Gly Asn Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 90

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 90

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Leu Asp Phe Ile Val Gly Tyr Thr Gly Asn Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 91

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 91

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

85 90 95
Ala Arg Gly Leu Asp Phe Ile Val Gly Tyr Thr Gly Asn Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 92

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 92

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Gly Leu Asp Phe Ile Val Gly Tyr Thr Gly Asn Asp Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 93

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 93

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

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

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

<210> 94

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 94

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

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

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

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

<210> 95

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 95

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

Ala Arg Gly Leu Asp Phe Ile Val Gly Tyr Thr Gly Asn Asp Tyr Trp
 100 105 110

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

<210> 96

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 96

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

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

100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 97

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 97

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Leu Asp Phe Ile Val Gly Arg Thr Gly Asn Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 98

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 98

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

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

85 90 95
Ala Arg Gly Leu Asp Phe Ile Val Gly Arg Thr Gly Asn Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 99

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 99

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Gly Leu Asp Phe Ile Val Gly Arg Thr Gly Asn Asp Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 100

<211> 698

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 100

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

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

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

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

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

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

85 90 95
Ala Arg Gly Leu Asp Phe Ile Val Gly Tyr Thr Gly Asn Asp Tyr Trp

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

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

130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

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

165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

450 455 460
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
465 470 475 480
Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
 485 490 495
Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 500 505 510
Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ala Ala

515					520					525					
Thr	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu
530					535					540					
Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp
545					550					555					560
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Leu	Lys	Gly	Glu	Leu	Lys	Asp	Ala
565					570					575					
Phe	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser

580							585							590													
Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr												
595							600							605													
Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro												
610							615							620													
Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val												
625							630							635							640						
His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser												

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
645 650 655

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
660 665 670

675 680 685

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

690

695

<210> 101

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 101

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20

25

30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35

40

45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50

55

60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65

70

75

80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu

85

90

95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100

105

110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115

120

125

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

130

135

140

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

145

150

155

160

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

165

170

175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 102

<211> 687

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 102

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Leu Asp Phe Ile Val Gly Tyr Thr Gly Asn Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro

115 120 125

Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met

130 135 140

Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

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

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

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

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

Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp

405 410 415

Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His

420 425 430

Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Gly Gly Gly

435 440 445

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

450 455 460

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

465 470 475 480

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

485 490 495

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

500 505 510

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ala Ala Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

Ala Arg Leu Lys Gly Glu Leu Lys Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln

565 570 575

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val

580 585 590

Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr

595 600 605

Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr

610 615 620

Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

625 630 635 640

Leu Glu Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser

645 650 655
Ser Pro Arg Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala

660 665 670
Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly

675 680 685

<210> 103

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 103

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu

85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala

100 105 110
Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly

115 120 125
Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile

130 135 140
Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu

145 150 155 160
 Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
 180 185 190
 Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Asn Glu Cys
 210

<210> 104

<211> 472

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 104

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 450 455 460
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 465 470

<210> 105

<211> 222

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 105

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

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

65 70 75 80
 Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His
 85 90 95

Ser Arg Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Leu Glu
210 215 220
<210> 106
<211> 250
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide
<400> 106
Gly Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
1 5 10 15
Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
20 25 30
Asp Ser Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Val Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr

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

 85 90 95
Tyr Cys Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

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

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

 130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

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

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

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

 195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

 210 215 220
Lys Thr His Thr Leu Glu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

225 230 235 240
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

 245 250

<210> 107

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 107

Thr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser

1 5 10 15

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

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

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

 Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Leu Glu
 210 215
 <210> 108
 <211> 465
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 108

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

1 5 10 15

Gly Arg Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser

20 25 30

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

35 40 45

Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

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

115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val

130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala

145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly

165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly

180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Ser

465

<210> 109

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 109

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

1 5 10 15
Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser

20 25 30
Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu

35 40 45
Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe

50 55 60
Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu

65 70 75 80
Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp

85 90 95
Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val

100 105 110
Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys

115 120 125
Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg

130 135 140
Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn

145 150 155 160
Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser

165 170 175
Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys

180 185 190

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

195 200 205

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Leu Glu

210 215

<210> 110

<211> 472

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 110

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

1 5 10 15

Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Thr Phe Thr

20 25 30

Thr Tyr Pro Ile Glu Trp Met Lys Gln Asn His Gly Lys Ser Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Asn Phe His Pro Tyr Asn Asp Asp Thr Lys Tyr Asn Glu

50 55 60

Lys Phe Lys Gly Lys Ala Lys Leu Thr Val Glu Lys Ser Ser Thr Thr

65 70 75 80

Val Tyr Leu Glu Leu Ser Arg Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr

85 90 95

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

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

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

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

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

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

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

450 455 460

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

465 470

<210> 111

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 111

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

1 5 10 15

Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ile

20 25 30

Ser Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Ala Ser Pro Lys

35 40 45

Leu Trp Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg

50 55 60

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser

65 70 75 80

Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Gly

85 90 95

Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

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

180 185 190
Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Leu Glu

210 215

<210> 112

<211> 470

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 112

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

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

65 70 75 80
Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

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

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

 450 455 460
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 465 470
 <210> 113
 <211> 245
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <400> 113
 Gly Thr Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro
 1 5 10 15
 Gly Arg Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser
 20 25 30

 Asn Ser Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45
 Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

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

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

Glu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 225 230 235 240
 Gly Gly Gly Gly Ser
 245

<210> 114

<211> 288

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 114

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
 1 5 10 15
 Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp

20 25 30
 Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp

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

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

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

 225 230 235 240
 Cys Val Pro Glu Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly
 245 250 255
 Met Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg
 260 265 270

Ser Ala Gln Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu

275

280

285

<210> 115

<211> 290

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 115

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu

1

5

10

15

Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr

20

25

30

Gly Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu

35

40

45

Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile

50

55

60

Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser

65

70

75

80

Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn

85

90

95

Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr

100

105

110

Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val

115

120

125

Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val

130

135

140

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

145

150

155

160

Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser

165

170

175

Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn

180

185

190

Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr
195 200 205

Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu
210 215 220

Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His
225 230 235 240

Leu Val Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr
245 250 255

Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys
260 265 270

Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu
275 280 285

Glu Thr
290

<210> 116

<211> 273

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 116

Met Ile Phe Leu Leu Leu Met Leu Ser Leu Glu Leu Gln Leu His Gln
1 5 10 15

Ile Ala Ala Leu Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Glu Leu Tyr Ile Ile
20 25 30

Glu His Gly Ser Asn Val Thr Leu Glu Cys Asn Phe Asp Thr Gly Ser
35 40 45

His Val Asn Leu Gly Ala Ile Thr Ala Ser Leu Gln Lys Val Glu Asn
50 55 60

Asp Thr Ser Pro His Arg Glu Arg Ala Thr Leu Leu Glu Glu Gln Leu
65 70 75 80

Pro Leu Gly Lys Ala Ser Phe His Ile Pro Gln Val Gln Val Arg Asp
85 90 95

Glu Gly Gln Tyr Gln Cys Ile Ile Ile Tyr Gly Val Ala Trp Asp Tyr

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

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

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

<210> 117

<211> 8

<212> PRT

<

213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 117

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

1

5

<210> 118
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 6xHis tag
 <400> 118
 His His His His His His
 1 5
 <210> 119
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
 <400> 119
 Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
 1 5
 <210> 120
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
 <400> 120
 Gly Gly Gly Ser
 1
 <210> 121
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(30)

<223> This sequence may encompass 1-6 "Gly Gly Gly Gly Ser"

repeating units

<400> 121

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 122

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 122

Gly Thr Lys Ser Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5