



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년11월05일
(11) 등록번호 10-2726248
(24) 등록일자 2024년10월31일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/68 (2017.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 39/39 (2006.01) A61K 47/55 (2017.01)
A61P 35/00 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01) C07K 16/32 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 47/6851 (2017.08)
A61K 39/39 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2023-7034958(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2017년07월07일
심사청구일자 2023년10월12일
- (85) 번역문제출일자 2023년10월12일
- (65) 공개번호 10-2023-0149857
- (43) 공개일자 2023년10월27일
- (62) 원출원 특허 10-2019-7001279
원출원일자(국제) 2017년07월07일
심사청구일자 2020년07월06일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2017/041268
- (87) 국제공개번호 WO 2018/009916
국제공개일자 2018년01월11일
- (30) 우선권주장
62/359,626 2016년07월07일 미국(US)
(뒷면에 계속)
- (56) 선행기술조사문헌
W02015103989 A1

- (73) 특허권자
더 보드 어브 트러스티스 어브 더 리랜드 스탠포드 주니어 유니버시티
미국 94305-2038 캘리포니아주 스탠포드 피오 박스 20386 메인 퀴드 빌딩 170 3층 오피스 오브 더 체너럴 카운셀
블트 바이오테라퓨틱스 인코퍼레이티드
미국 캘리포니아 94063 레드우드 시티 체사피크 드라이브 900
- (72) 발명자
알론소, 마이클 나다니엘
미국 캘리포니아 95051 산타 클라라 포머로이 애비뉴 1109
잉글리먼, 에드가 조지
미국 캘리포니아 94027 애서턴 레인 플레이스 60
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
윤의섭

전체 청구항 수 : 총 15 항

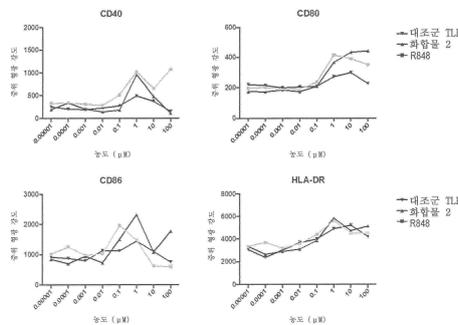
심사관 : 민경난

(54) 발명의 명칭 항체-애주번트 접합체

(57) 요약

본 발명은 면역접합체를 제공하며, 상기 면역접합체는 항원 결합 도메인 및 Fc 도메인을 포함하는 항체 작제물, 애주번트 모이어티(adjutant moiety), 및 링커(linker)를 포함하며, 각각의 애주번트 모이어티는 상기 링커를 통해 상기 항체에 공유 결합된다. 본 발명의 면역접합체에 의해 암을 치료하기 위한 방법이 또한 기재된다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 47/55 (2017.08)
A61K 47/6803 (2023.08)
A61K 47/6857 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 16/2803 (2013.01)
C07K 16/2887 (2013.01)
C07K 16/3061 (2013.01)
C07K 16/32 (2013.01)
A61K 2039/555 (2013.01)

(72) 발명자

애커먼, 셸리 에린

미국 캘리포니아 94040 마운틴 뷰 래섬 스트리트
 #303 2111

켄켈, 저스틴

미국 캘리포니아 94040 마운틴 뷰 아파트먼트 310
 델 메디오 애비뉴 250

리, 아서

미국 캘리포니아 95128 새너제이 노스 윈체스터 블
 러바드 #19 770

잭슨, 데이비드 와이.

미국 캘리포니아 94002 벨몬트 월섬 크로스 스트리
 트 2764

(30) 우선권주장

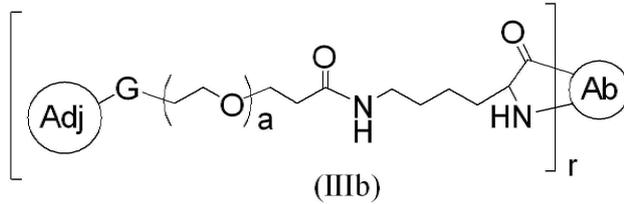
62/359,627	2016년07월07일	미국(US)
62/432,530	2016년12월09일	미국(US)
62/433,742	2016년12월13일	미국(US)
62/522,623	2017년06월20일	미국(US)
62/526,306	2017년06월28일	미국(US)

명세서

청구범위

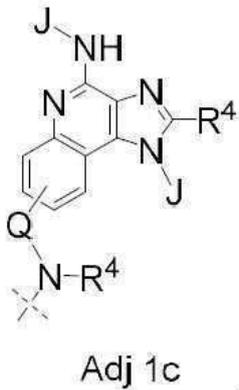
청구항 1

하기 식 IIIb에 따르는 구조 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 갖는, 면역접합체:



Ab는 항체의 라이신 잔기인 를 갖는 항체이고,

Adj는 하기 식의 애주번트 모이어티:



여기서 각각의 J는 독립적으로 수소 또는 R⁴이고, 각각의 R⁴는 독립적으로 수소 또는 1 내지 8개의 탄소를 포함하는 알킬기이고, Q는 1 내지 8개의 탄소를 포함하는 알킬기이고, 파선 (---)은 애주번트 모이어티의 부착점을 나타내고, G는 CH₂, C=O 또는 결합이고, 하첨자 a는 1 내지 40의 정수이고, 하첨자 r은 1 내지 5의 정수임.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항체는 CDH1, CD19, CD20, CD29, CD30, CD38, CD40, CD47, EpCAM, MUC1, MUC16, EGFR, VEGF, HER2, SLAMF7, PDGFRa, gp75, CTLA4, PD-1, PD-L1, PD-L2, LAG-3, B7-H4, KIR, TNFRSF4, OX40L, IDO-1, IDO-2, CEACAM1, BTLA, TIM3, A2Ar, VISTA, CLEC4C (BDCA-2, DLEC, CD303, CLECSF7), CLEC4D (MCL, CLECSF8), CLEC4E (Mincle), CLEC6A (Dectin-2), CLEC5A (MDL-1, CLECSF5), CLEC1B (CLEC-2), CLEC9A (DNGR-1), 및 CLEC7A (Dectin-1)로 이루어진 군으로부터 선택된 항원에 결합하는, 면역접합체.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 항체는 펙트린주맵, 니볼루맵, 아테졸리주맵, 아벨루맵, 이필리주맵, 오비누투주맵, 트라스투주맵, 세톡시맵, 리톡시맵, 페르투주맵, 베바시주맵, 다라투무맵, 에타네르셉트, 올라라투맵, 엘로투주맵 및 마르케톡시맵으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 면역접합체.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 항체는 변형된 Fc 도메인을 포함하고, (i) 상기 변형된 Fc 도메인은 적어도 하나의 아미노

노산의 삽입, 결실, 또는 치환을 함유하고/하거나 (ii) 상기 변형된 Fc 도메인은 탈글리코실화(deglycosylated) 또는 어푸코실화(afucosylated)된 것인, 면역접합체.

청구항 5

제1항에 있어서, G는 결합인, 면역접합체.

청구항 6

제1항에 있어서, a는 1 내지 20인, 면역접합체.

청구항 7

제1항에 있어서, a는 1 내지 10인, 면역접합체.

청구항 8

제1항에 있어서, G는 결합이고, a는 1 내지 20인, 면역접합체.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 각각의 J는 수소이고, 각각의 R⁴는 독립적으로 1 내지 8개의 탄소를 포함하는 알킬기이고, Q는 1 내지 8개의 탄소를 포함하는 알킬기인, 면역접합체.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 각각의 J는 수소이고, 각각의 R⁴는 독립적으로 1 내지 8개의 탄소를 포함하는 알킬기이고, Q는 1 내지 8개의 탄소를 포함하는 알킬기인, 면역접합체.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 복수의 면역접합체 또는 약학적으로 허용되는 염을 포함하는, 암을 치료하기 위한 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 면역접합체 또는 약학적으로 허용되는 염당 애쥬번트 모이어티의 평균 개수는 1 내지 4인, 조성물.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 암은 간암, 담낭암, 담관암, 자궁경부암, 식도암, 흑색종, 유방암, 위암, 난소암, 자궁암, 방광암, 폐암, 두경부암, 또는 결장직장암인, 조성물.

청구항 14

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른, 암을 치료하기 위한 면역접합체 또는 약학적으로 허용되는 염.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 암은 간암, 담낭암, 담관암, 자궁경부암, 식도암, 흑색종, 유방암, 위암, 난소암, 자궁암, 방광암, 폐암, 두경부암, 또는 결장직장암인, 면역접합체 또는 약학적으로 허용되는 염.

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

발명의 설명

기술 분야

배경 기술

[0001] 종양 성장이 면역 회피를 용이하게 하는 돌연변이의 획득을 필요로 한다는 것은 이제 잘 이해되어 있다. 그렇기는 하지만, 종양발생은 생체 외 자극 후에 숙주 면역 시스템에 의해 용이하게 인식되는 돌연변이된 항원 또는 신생항원의 축적을 야기한다. 면역 시스템이 신생항원을 인식하는 데 실패하는 이유와 방법이 밝혀지기 시작하고 있다. 문헌[Carmi *et al.* (*Nature*, 521: 99-104 (2015))]에 의한 획기적인 연구는 항체-종양 면역 복합체를 통해 활성화된 수지상 세포에 신생항원을 전달함으로써 면역 무시가 극복될 수 있음을 나타내고 있다. 이들 연구에서, 종양내 주사를 통한 종양 결합 항체와 수지상 세포 애주번트의 동시 전달은 강력한 항종양 면역을 야기하였다. 항체와 수지상 세포 애주번트의 전달을 위한 새로운 조성물 및 방법은 접근 불가능한 종양에 도달하여 암 환자 및 다른 대상체에 대한 치료 선택지를 확대시키기 위해 필요하다.

발명의 내용

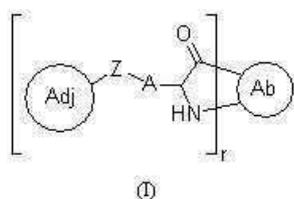
해결하려는 과제

과제의 해결 수단

발명의 효과

[0002] 제1 태양에서, 본 발명은 면역접합체를 제공하며, 상기 면역접합체는 (a) (i) 항원 결합 도메인 및 (ii) Fc 도메인을 포함하는 항체 작제물, (b) 애주번트 모이어티(adjutant moiety), 및 링커(linker)를 포함하며, 각각의 애주번트 모이어티는 상기 링커를 통해 상기 항체 작제물에 공유 결합된다.

[0003] 일부 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 I에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



[0004]

[0005] (상기 식에서, Ab는 항체 작제물이고; A는 상기 항체 작제물 내의 비변형된 아미노산 측쇄 또는 상기 항체 작제물 내의 변형된 아미노산 측쇄이고; Z는 연결 모이어티이고; Adj는 애주번트 모이어티이고; 하첨자 r은 1 내지

10의 정수임).

[0006] 관련 태양에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 바와 같은 복수의 면역접합체를 포함하는 조성물을 제공한다.

[0007] 다른 태양에서, 본 발명은 암을 치료하기 위한 방법을 제공한다. 본 방법은 본 발명에 따른 면역접합체의 치료적 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0008] 본 발명은 첨부 도면과 관련하여 읽을 때 하기의 상세한 설명으로부터 가장 잘 이해된다. 일반적인 실무에 따라, 도면의 다양한 특징부는 축척대로 그려져 있지 않다. 대조적으로, 다양한 특징부의 치수는 명료함을 위해 임의대로 확대 또는 축소되어 있다.

도 1은 기능화된 애주번트가 골수성 세포 활성화의 강력한 유도인자임을 나타낸다. 말초 혈액 항원 제시 세포(APC)를 37°C에서 R848, 화합물 2 또는 대조군 TLR 효능제의 10배 연속 희석물로 자극하였다. 18시간 후에, 유세포측정을 통해 세포를 분석하였다. 데이터는 각각의 지시된 마커의 중위 형광 강도로서 제시되어 있다 (n=3).

도 2는 기능화된 애주번트가 TLR 효능제 활성을 유지함을 보여준다. NF-κB 및 AP-1 결합 부위에 융합된 IFN-β 최소 프로모터의 제어 하에서 인간 TLR7 또는 TLR8 (2개의 상단 패널) 또는 무린 TLR7 (하단 패널) 및 유도성 분비 배아 알칼리성 포스파타제 리porter 유전자로 HEK293 세포를 공동-형질감염시켰다. 후속으로, 세포를 37°C에서 12시간 동안 지시된 애주번트의 2배 연속 희석물과 함께 인큐베이션하였다. 알칼리성 포스파타제 기질의 첨가 후에 분광광도법 (OD 650 nm)에 의해 활성을 측정하였다.

도 3은 액체 크로마토그래피-질량 분석 (LC-MS)을 통한 애주번트 링커 화합물의 분석을 나타낸다.

도 4는 CD40, CD86 및 HLA-DR의 발현이 나타내는 바와 같이, 항체-애주번트 접합체가 비접합된 항체 및 애주번트와 대비하여 APC 활성화를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다. 인간 APC를 CFSE-표지 CD19⁺ 종양 세포의 존재 하에서 리톡시맙-SATA-SMCC-화합물 1 (접합됨), 리톡시맙 단독 (Ab), 화합물 1 단독 또는 리톡시맙 + 화합물 1 (혼합물)로 자극하였다. 18시간 후에, CD19⁻ 인간 APC를 유세포측정을 통해 분석하였다 (n=3). P-값 ≤ 0.05는 *로 표시되고, P-값 ≤ 0.01은 **로 표시되고, P-값 ≤ 0.001은 ***로 표시되고, P-값 ≤ 0.0001은 ****로 표시되어 있다.

도 5는 항체-애주번트 접합체가 비접합된 항체 및 애주번트와 대비하여 인간 APC 상에서 더 낮은 수준의 PD-L1 발현을 유도함을 나타낸다. 인간 APC를 CFSE-표지 CD19⁺ 종양 세포의 존재 하에서 리톡시맙-SATA-SMCC-화합물 1 (접합됨), 리톡시맙 단독 (Ab), 화합물 1 단독 또는 리톡시맙 + 화합물 1 (혼합물)로 자극하였다. 18시간 후에, CD19⁻ 인간 APC를 유세포측정을 통해 분석하였다 (n=3). P-값 ≤ 0.05는 *로 표시되고, P-값 ≤ 0.01은 **로 표시되고, P-값 ≤ 0.001은 ***로 표시되고, P-값 ≤ 0.0001은 ****로 표시되어 있다.

도 6은 항체-애주번트 접합체가 DC 분화를 유도함을 나타낸다. 단핵구가 약 95%인 인간 APC를 CFSE-표지 종양 세포의 존재 하에서 리톡시맙-SATA-SMCC-화합물 1 (접합됨), 리톡시맙 단독 (Ab), 화합물 1 단독 또는 리톡시맙 + 화합물 1 (혼합물)의 2배 연속 희석물로 자극하였다. 18시간 후에, CD19⁻ 인간 APC를 유세포측정을 통해 분석하였다 (n=3). P-값 ≤ 0.05는 *로 표시되고, P-값 ≤ 0.01은 **로 표시되고, P-값 ≤ 0.001은 ***로 표시되고, P-값 ≤ 0.0001은 ****로 표시되어 있다.

도 7은 항체-애주번트 접합체가 비접합된 항체 및 애주번트의 혼합물보다 인간 APC로부터 전염증성 사이토카인의 분비를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다. 인간 APC를 고정된 CFSE-표지 종양 세포의 존재 하에서 리톡시맙-SATA-SMCC-화합물 1 (접합됨), 리톡시맙 단독 (Ab), 화합물 1 단독 또는 리톡시맙 + 화합물 1 (혼합물)의 2배 연속 희석물로 자극하였다. 18시간 후에, 사이토카인 비드 어레이를 통해 사이토카인 분비에 대해 무세포 상층액을 분석하였다 (n=3). P-값 ≤ 0.05는 *로 표시되고, P-값 ≤ 0.01은 **로 표시되고, P-값 ≤ 0.001은 ***로 표시되고, P-값 ≤ 0.0001은 ****로 표시되어 있다.

도 8a는 절단성 링커를 갖는 면역접합체가 APC 활성화 및 DC 분화를 유도함을 나타낸다. 단핵구가 약 95%인 인간 APC를 CFSE-표지 종양 세포의 존재 하에서 리톡시맙-SATA-SPDP-화합물 1 (접합됨, 절단성), 리톡시맙 단독 (Ab), 화합물 1 단독 또는 리톡시맙 + 화합물 1 (혼합물)의 2배 연속 희석물로 자극하였다. 면역접합체 (AAC -

절단성)는 MALDI-TOF에 의해 확인된 바와 같이 1.4의 약물 대 항체 비 (DAR)를 가졌다. 18시간 후에, CD19⁻ 인간 APC (CD14 및 CD123)를 유세포측정을 통해 분석하였다 (n=3).

도 8b는 절단성 링커를 갖는 면역접합체 (AAC)가 APC 활성화 및 DC 분화를 유도함을 나타낸다. 단핵구가 약 95%인 인간 APC를 CFSE-표지 종양 세포의 존재 하에서 리톡시맙-SATA-SPDP-화합물 1 (접합됨, 절단성), 리톡시맙 단독 (Ab), 화합물 1 단독 또는 리톡시맙 + 화합물 1 (혼합물)의 2배 연속 희석물로 자극하였다. 면역접합체 (AAC - 절단성)는 MALDI-TOF에 의해 확인된 바와 같이 1.4의 약물 대 항체 비 (DAR)를 가졌다. 18시간 후에, CD19⁻ 인간 APC (CD16 및 CD163)를 유세포측정을 통해 분석하였다 (n=3).

도 8c는 절단성 링커를 갖는 면역접합체가 APC 활성화 및 DC 분화를 유도함을 나타낸다. 단핵구가 약 95%인 인간 APC를 CFSE-표지 종양 세포의 존재 하에서 리톡시맙-SATA-SPDP-화합물 1 (접합됨, 절단성), 리톡시맙 단독 (Ab), 화합물 1 단독 또는 리톡시맙 + 화합물 1 (혼합물)의 2배 연속 희석물로 자극하였다. 면역접합체 (AAC - 절단성)는 MALDI-TOF에 의해 확인된 바와 같이 1.4의 약물 대 항체 비 (DAR)를 가졌다. 18시간 후에, CD19⁻ 인간 APC (CD40 및 PDL1)를 유세포측정을 통해 분석하였다 (n=3).

도 9a는 항체-애주번트 접합체가 생체내에서 종양을 감소시킴을 나타낸다. 우측 옆구리에 B16F10 종양을 가진 C57BL/6 마우스에 PBS (미처리), αGP75 + 화합물 1 (혼합물) 또는 αGP75-SATA-SMCC-화합물 1 (αGP75-면역접합체)을 종양내 주사하였다.

도 9b는 αGP75-면역접합체가 종양내 (IT) 또는 정맥내 (IV) 주사를 통해 투여될 때 생체내에서 종양을 감소시킴을 나타낸다.

도 10a는 LC-MS를 통한 이필리무맙의 분석을 나타낸다.

도 10b는 HLA-DR의 발현이 나타내는 바와 같이, 이필리무맙-애주번트 접합체 (이필리무맙 볼트바디)가 비접합된 이필리무맙과 대비하여 APC 활성화를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 10c는 CD14의 발현이 나타내는 바와 같이, 이필리무맙-애주번트 접합체 (이필리무맙 볼트바디)가 비접합된 이필리무맙과 대비하여 APC 활성화를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 10d는 CD40의 발현이 나타내는 바와 같이, 이필리무맙-애주번트 접합체 (이필리무맙 볼트바디)가 비접합된 이필리무맙과 대비하여 APC 활성화를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 10e는 CD86의 발현이 나타내는 바와 같이, 이필리무맙-애주번트 접합체 (이필리무맙 볼트바디)가 비접합된 이필리무맙과 대비하여 APC 활성화를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 11a는 LC-MS를 통한 웹브롤리주맙의 분석을 나타낸다.

도 11b는 HLA-DR의 발현이 나타내는 바와 같이, 웹브롤리주맙-애주번트 접합체 (웹브롤리주맙 볼트바디)가 비접합된 웹브롤리주맙과 대비하여 APC 활성화를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 11c는 CD14의 발현이 나타내는 바와 같이, 웹브롤리주맙-애주번트 접합체 (웹브롤리주맙 볼트바디)가 비접합된 웹브롤리주맙과 대비하여 APC 활성화를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 11d는 CD40의 발현이 나타내는 바와 같이, 웹브롤리주맙-애주번트 접합체 (웹브롤리주맙 볼트바디)가 비접합된 웹브롤리주맙과 대비하여 APC 활성화를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 11e는 CD86의 발현이 나타내는 바와 같이, 웹브롤리주맙-애주번트 접합체 (웹브롤리주맙 볼트바디)가 비접합된 웹브롤리주맙과 대비하여 APC 활성화를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 12a는 LC-MS를 통한 니볼루맙의 분석을 나타낸다.

도 12b는 HLA-DR의 발현이 나타내는 바와 같이, 니볼루맙-애주번트 접합체 (니볼루맙 볼트바디)가 비접합된 니볼루맙과 대비하여 APC 활성화를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 12c는 CD14의 발현이 나타내는 바와 같이, 니볼루맙-애주번트 접합체 (니볼루맙 볼트바디)가 비접합된 니볼루맙과 대비하여 APC 활성화를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 12d는 CD40의 발현이 나타내는 바와 같이, 니볼루맙-애주번트 접합체 (니볼루맙 볼트바디)가 비접합된 니볼루맙과 대비하여 APC 활성화를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 12e는 CD86의 발현이 나타내는 바와 같이, 니볼루맵-애주번트 접합체 (니볼루맵 볼트바디)가 비접합된 니볼루맵과 대비하여 APC 활성화를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 13a는 LC-MS를 통한 아테졸리주맵의 분석을 나타낸다.

도 13b는 HLA-DR의 발현이 나타내는 바와 같이, 아테졸리주맵-애주번트 접합체 (아테졸리주맵 볼트바디)가 비접합된 아테졸리주맵과 대비하여 APC 활성화를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 13c는 CD14의 발현이 나타내는 바와 같이, 아테졸리주맵-애주번트 접합체 (아테졸리주맵 볼트바디)가 비접합된 아테졸리주맵과 대비하여 APC 활성화를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 13d는 CD40의 발현이 나타내는 바와 같이, 아테졸리주맵-애주번트 접합체 (아테졸리주맵 볼트바디)가 비접합된 아테졸리주맵과 대비하여 APC 활성화를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 13e는 CD86의 발현이 나타내는 바와 같이, 아테졸리주맵-애주번트 (아테졸리주맵 볼트바디) 접합체의 활성화 수준을 나타낸다.

도 14a는 아테졸리주맵 면역접합체 (아테졸리주맵 IgG1 NQ 볼트바디)-분화된 세포가 아테졸리주맵-분화된 세포보다 더 높은 양의 TNF α 를 분비함을 나타낸다.

도 14b는 아테졸리주맵 면역접합체 (아테졸리주맵 IgG1 NQ 볼트바디)-분화된 세포가 아테졸리주맵-분화된 세포보다 더 높은 양의 IL-1 β 를 분비함을 나타낸다.

도 15a는 니볼루맵 면역접합체 (니볼루맵 IgG4 NQ 볼트바디)-분화된 세포가 니볼루맵-분화된 세포보다 더 높은 양의 TNF α 를 분비함을 나타낸다.

도 15b는 니볼루맵 면역접합체 (니볼루맵 IgG4 NQ 볼트바디)-분화된 세포가 니볼루맵-분화된 세포보다 더 높은 양의 IL-1 β 를 분비함을 나타낸다.

도 16a는 펌브롤리주맵 면역접합체 (펌브롤리주맵 볼트바디)-분화된 세포가 펌브롤리주맵-분화된 세포보다 더 높은 양의 TNF α 를 분비함을 나타낸다.

도 16b는 펌브롤리주맵 면역접합체 (펌브롤리주맵 볼트바디)-분화된 세포가 펌브롤리주맵-분화된 세포보다 더 높은 양의 IL-1 β 를 분비함을 나타낸다.

도 17은 LC-MS를 통한 펌브롤리주맵-애주번트 접합체의 분석을 나타낸다.

도 18은 LC-MS를 통한 니볼루맵-애주번트 접합체의 분석을 나타낸다.

도 19는 LC-MS를 통한 아테졸리주맵-애주번트 접합체의 분석을 나타낸다.

도 20은 이필리무맵 면역접합체 (이필리무맵 볼트바디)-분화된 세포가 이필리무맵-분화된 세포보다 더 높은 양의 TNF α 를 분비함을 나타낸다.

도 21은 텍틴-2 면역접합체-분화된 세포가 등가량의 비접합된 성분에 노출된 세포보다 더 높은 양의 TNF α , IL-6, 및 IL-12p70을 분비함을 나타낸다. 각각의 사이토카인에 대하여 x-축보다 상당히 더 높게 있는 선은 항-텍틴-2 면역접합체 (항-텍틴-2-Cmpd1 (애주번트 화합물 1과 접합된 항체))이다. 보이지 않는 x-축을 따른 3개의 선이 존재하는데, 이는, 항-텍틴-2 항체 단독, 및 애주번트 화합물 1 단독, 및 항-텍틴 2 항체와 애주번트 화합물 1 혼합물 (항-텍틴-2 + Cmpd1 혼합물, 비접합됨)은 어떠한 사이토카인 반응도 생성하지 못하였음을 나타낸다. IL-6에 대하여 x-축 바로 위에 있는 선은 애주번트로서의 화합물 1 및 래트 IgG2a 동종형 대조 항체를 갖는 ACC인 대조 항체 (도 21에서 "Iso-Cmpd 1"로 표지됨)를 나타낸다. TNF α 및 IL-12p70 그래프에서, Iso-Cmpd 1 선은 보이지 않는데, 이는, 그것이 x-축을 따라 있기 때문이다.

도 22a는 애주번트 CL264의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 말단 카르복실산을 나타낸다.

도 22b는 애주번트 CL401의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 1차 아민을 나타낸다.

도 22c는 애주번트 CL413의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 제1 라이신 잔기를 나타낸다.

도 22d는 애주번트 CL413의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 제2 라이신 잔기를 나타낸다.

도 22e는 애주번트 CL413의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 제3 라이신 잔기를 나타낸다.

도 22f는 애주번트 CL413의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 제4 라이신 잔기를 나타낸다.

도 22g는 애주번트 CL413의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 1차 아민을 나타낸다.

도 22h는 애주번트 CL419의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 아민 (도 22h의 상단 부분에 있는 말단 아민 및 도 22h의 하단 부분에 있는 2차 아민)을 나타낸다.

도 22i는 애주번트 CL553의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 2차 아민을 나타낸다.

도 22j는 애주번트 CL553의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 다른 2차 아민을 나타낸다.

도 22k는 애주번트 CL553의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 1차 아민을 나타낸다.

도 22l은 애주번트 CL553의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 다른 2차 아민을 나타낸다.

도 22m은 애주번트 CL553의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 다른 2차 아민을 나타낸다.

도 22n은 애주번트 CL553의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 다른 2차 아민을 나타낸다.

도 22o는 애주번트 CL572의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 1차 아민 (도 22o의 상단 부분) 및 카르보닐 (도 22o의 하단 부분)을 나타낸다.

도 22p는 애주번트 Pam2CSK4의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 말단 카르복실산을 나타낸다.

도 22q는 애주번트 Pam2CSK4의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 말단 티올을 나타낸다.

도 22r은 애주번트 Pam2CSK4의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 제2 라이신 잔기를 나타낸다.

도 22s는 애주번트 Pam2CSK4의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 제3 라이신 잔기를 나타낸다.

도 22t는 애주번트 Pam2CSK4의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 말단 라이신 잔기를 나타낸다.

도 22u는 애주번트 Pam3CSK4의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 말단 카르복실산을 나타낸다.

도 22v는 애주번트 Pam3CSK4의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 말단 티올을 나타낸다.

도 22w는 애주번트 Pam3CSK4의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트 상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 제2 라이신 잔기를 나타낸다.

도 22x는 애주번트 Pam3CSK4의 구조를 나타내며, 원은 상기 애주번트가 링커에 접합될 수 있는 상기 애주번트

상의 위치, 구체적으로는 애주번트의 제3 라이신 잔기를 나타낸다.

도 23a는 α CLEC5A 면역접합체-분화된 세포가 증가량의 비접합된 성분에 노출된 세포보다 더 높은 양의 IL-6을 분비함을 나타낸다. 각각의 사이토카인에 대하여 x-축보다 상당히 더 높게 있는 선은 α CLEC5A 면역접합체 (애주번트 화합물 1과 접합된 α CLEC5A 항체)이다. x-축을 따른 선은 α CLEC5A 항체와 애주번트 화합물 1의 혼합물 (비접합됨)이 어떠한 사이토카인 반응도 생성하지 못하였음을 나타낸다. x-축과 α CLEC5A 면역접합체 선 사이의 선은 화합물 1에 접합된 래트 IgG2a 동종형인 대조군 접합체를 나타낸다.

도 23b는 α CLEC5A 면역접합체-분화된 세포가 증가량의 비접합된 성분에 노출된 세포보다 더 높은 양의 IL-12p40을 분비함을 나타낸다. 각각의 사이토카인에 대하여 x-축보다 상당히 더 높게 있는 선은 α CLEC5A 면역접합체 (α CLEC5A-Cmpd1 AAC)이다. x-축을 따른 선은 α CLEC5A 항체와 애주번트 화합물 1의 혼합물 (비접합됨; α CLEC5A-Cmpd1 혼합물)이 어떠한 사이토카인 반응도 생성하지 못하였음을 나타낸다. x-축과 α CLEC5A 면역접합체 선 사이의 선은 화합물 1에 접합된 래트 IgG2a 동종형인 대조군 접합체를 나타낸다.

도 23c는 α CLEC5A 면역접합체-분화된 세포가 증가량의 비접합된 성분에 노출된 세포보다 더 높은 양의 IL-12p70을 분비함을 나타낸다. 각각의 사이토카인에 대하여 x-축보다 상당히 더 높게 있는 선은 α CLEC5A 면역접합체 (애주번트 화합물 1과 접합된 α CLEC5A 항체)이다. x-축을 따른 선은 α CLEC5A 항체와 애주번트 화합물 1의 혼합물 (비접합됨)이 어떠한 사이토카인 반응도 생성하지 못하였음을 나타낸다. x-축과 α CLEC5A 면역접합체 선 사이의 선은 화합물 1에 접합된 래트 IgG2a 동종형인 대조군 접합체를 나타낸다.

도 23d는 α CLEC5A 면역접합체-분화된 세포가 증가량의 비접합된 성분에 노출된 세포보다 더 높은 양의 TNF α 를 분비함을 나타낸다. 각각의 사이토카인에 대하여 x-축보다 상당히 더 높게 있는 선은 α CLEC5A 면역접합체 (애주번트 화합물 1과 접합된 α CLEC5A 항체)이다. x-축을 따른 선은 α CLEC5A 항체와 애주번트 화합물 1의 혼합물 (비접합됨)이 어떠한 사이토카인 반응도 생성하지 못하였음을 나타낸다. x-축과 α CLEC5A 면역접합체 선 사이의 선은 화합물 1에 접합된 래트 IgG2a 동종형인 대조군 접합체를 나타낸다.

도 23e는 LC-MS를 통한 α CLEC5A 면역접합체의 분석을 나타낸다.

도 24는 TLR7/8 효능제 화합물 1에 연결된 항-Her2 항체-애주번트 접합체 (α Her2 면역접합체, 채워진 원)에 의한 증가된 수치상 세포 분화를 나타내는데, 이는, 동일한 항체와 애주번트 성분 (α Her2와 화합물 1, 채워진 정사각형)이 비결합된 혼합물로서 전달될 때와 대비되어 있다.

도 25는 TLR7/8 효능제 화합물 1에 연결된 항-EGFR 항체-애주번트 접합체 (α EGFR 면역접합체, 채워진 원)에 의한 증가된 수치상 세포 분화를 나타내는데, 이는, 동일한 성분들 (α EGFR과 화합물 1, 채워진 정사각형)이 비결합된 혼합물로서 전달될 때와 대비되어 있다.

도 26은 TLR7/8 효능제에 접합된 항-CD20 항체가 강력한 수치상 세포 활성화를 나타내는 반면, 탈글리코실화된 접합체에서는 활성화가 유의하게 감소됨을 나타낸다.

도 27은 화합물 1에 접합된 리톡시맙과 오비누투주맙 항체를 비교한다. 오비누투주맙은 리톡시맙과 대비하여 감소된 푸코스 함량을 가지며, 증가된 CD40 상향조절을 나타낸다.

도 28은 TLR7/8 효능제 화합물 1에 연결된 α EGFR 면역접합체를 사용한 NK 세포 활성화를 나타낸다. 면역접합체는 α EGFR과 화합물 1의 비접합된 혼합물과 대비하여 유의하게 더 큰 NK 세포 활성화를 나타낸다.

도 29는 α EGFR 면역접합체에 의한 인간 대상체로부터 단리된 말초 혈액 단핵 세포로부터의 수치상 세포 집단의 강력한 활성화를 나타낸다.

도 30a는 SATA 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-01의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 30b는 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-01의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 31a는 SATA 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-01의 크기-배제 크로마토그래피 분석을 나타낸다.

도 31b는 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-01의 크기-배제 크로마토그래피 분석을 나타낸다.

도 32는 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-14의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

- 도 33은 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-14의 크기-배제 크로마토그래피 분석을 나타낸다.
- 도 34는 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-15의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.
- 도 35는 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-15의 크기-배제 크로마토그래피 분석을 나타낸다.
- 도 36은 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.
- 도 37은 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체의 크기-배제 크로마토그래피 분석을 나타낸다.
- 도 38a는 CD14 하향조절이 나타내는 바와 같이, 에스테르 방법을 사용하여 합성된 BB-01 및 BB-17은 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 38b는 CD16 하향조절이 나타내는 바와 같이, 에스테르 방법을 사용하여 합성된 BB-01 및 BB-17은 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 38c는 CD40 상향조절이 나타내는 바와 같이, 에스테르 방법을 사용하여 합성된 BB-01 및 BB-17은 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 38d는 CD86 상향조절이 나타내는 바와 같이, 에스테르 방법을 사용하여 합성된 BB-01 및 BB-17은 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 38e는 CD123 상향조절이 나타내는 바와 같이, 에스테르 방법을 사용하여 합성된 BB-01 및 BB-17은 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 38f는 인간 백혈구 항원-항원 D 관련(Human Leukocyte Antigen-antigen D Related) 또는 "HLA-DR"이 나타내는 바와 같이, 에스테르 방법을 사용하여 합성된 BB-01 및 BB-17은 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 39a는 CD14 하향조절이 나타내는 바와 같이, BB-01은 골수성 활성화를 유도하는 반면, 비교용 IRM1 및 IRM2 면역접합체는 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 39b는 CD16 하향조절이 나타내는 바와 같이, BB-01은 골수성 활성화를 유도하는 반면, 비교용 IRM1 및 IRM2 면역접합체는 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 39c는 CD40 상향조절이 나타내는 바와 같이, BB-01은 골수성 활성화를 유도하는 반면, 비교용 IRM1 및 IRM2 면역접합체는 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 39d는 CD86 상향조절이 나타내는 바와 같이, BB-01은 골수성 활성화를 유도하는 반면, 비교용 IRM1 및 IRM2 면역접합체는 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 39e는 CD123 상향조절이 나타내는 바와 같이, BB-01은 골수성 활성화를 유도하는 반면, 비교용 IRM1 및 IRM2 면역접합체는 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 39f는 HLA-DR 상향조절이 나타내는 바와 같이, BB-01은 골수성 활성화를 유도하는 반면, 비교용 IRM1 및 IRM2 면역접합체는 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 40a는 BB-01은 사이토카인 분비 (IL-1 β)를 유도하는 반면, 비교용 IRM1 및 IRM2 면역접합체는 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 40b는 BB-01은 사이토카인 분비 (IL-6)를 유도하는 반면, 비교용 IRM1 및 IRM2 면역접합체는 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 40c는 BB-01은 사이토카인 분비 (TNF α)를 유도하는 반면, 비교용 IRM1 및 IRM2 면역접합체는 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.

- 도 41a는 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-26의 크기-배제 크로마토그래피 분석을 나타낸다.
- 도 41b는 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-26의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.
- 도 42a는 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-27의 크기-배제 크로마토그래피 분석을 나타낸다.
- 도 42b는 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-27의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.
- 도 43a는 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-36의 크기-배제 크로마토그래피 분석을 나타낸다.
- 도 43b는 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-36의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.
- 도 44a는 비교용 접합체 IRM1의 크기-배제 크로마토그래피 분석을 나타낸다.
- 도 44b는 비교용 접합체 IRM2의 크기-배제 크로마토그래피 분석을 나타낸다.
- 도 44c는 BB-01의 크기-배제 크로마토그래피 분석을 나타낸다.
- 도 45a는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의 IRM1 접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.
- 도 45b는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의 BB-01 접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.
- 도 46a는 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-45의 크기-배제 크로마토그래피 분석을 나타낸다.
- 도 46b는 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-45의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.
- 도 47a는 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-24의 크기-배제 크로마토그래피 분석을 나타낸다.
- 도 47b는 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-24의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.
- 도 48a는 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-37의 크기-배제 크로마토그래피 분석을 나타낸다.
- 도 48b는 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-37의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.
- 도 49a는 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-42의 크기-배제 크로마토그래피 분석을 나타낸다.
- 도 49b는 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-42의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.
- 도 50은 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-43의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.
- 도 51은 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-44의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.
- 도 52a는 CD14 상향조절이 나타내는 바와 같이 BB-14는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 52b는 CD40 상향조절이 나타내는 바와 같이 BB-14는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 52c는 CD86 상향조절이 나타내는 바와 같이 BB-14는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 52d는 HLA-DR 상향조절이 나타내는 바와 같이 BB-14는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.

- 도 53a는 CD14 하향조절이 나타내는 바와 같이 BB-15는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 53b는 CD40 상향조절이 나타내는 바와 같이 BB-15는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 53c는 CD86 상향조절이 나타내는 바와 같이 BB-15는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 53d는 HLA-DR 상향조절이 나타내는 바와 같이 BB-15는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 54a는 CD14 하향조절이 나타내는 바와 같이 BB-27은 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 54b는 CD40 상향조절이 나타내는 바와 같이 BB-27은 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 54c는 CD86 상향조절이 나타내는 바와 같이 BB-27은 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 54d는 HLA-DR 상향조절이 나타내는 바와 같이 BB-27은 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 55a는 CD14 하향조절이 나타내는 바와 같이 BB-45는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 55b는 CD40 상향조절이 나타내는 바와 같이 BB-45는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 55c는 CD86 상향조절이 나타내는 바와 같이 BB-45는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 55d는 HLA-DR 상향조절이 나타내는 바와 같이 BB-45는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 56a는 CD14 하향조절이 나타내는 바와 같이 BB-24는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 56b는 CD40 상향조절이 나타내는 바와 같이 BB-24는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 56c는 CD86 상향조절이 나타내는 바와 같이 BB-24는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 56d는 HLA-DR 상향조절이 나타내는 바와 같이 BB-24는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. CD20은 대조군으로서 사용되는 비접합된 단일클론 항체이다.
- 도 57은 BB-01이 비호지킨 림프종을 연구하기 위한 모델 시스템으로서 사용되는 세포주인 CD20 톨레도(Toledo) 세포에 결합함을 나타낸다. BB-01은 항체 리톡시맙 또는 세톡시맙보다 더 강한 결합을 가졌다.
- 도 58은 NK 세포를 활성화하는 데 있어서 화합물 1을 갖는 aEGFR 면역접합체 (aEGFR 볼트바디)가 항체 및 애쥬번트의 혼합물보다 더 효과적이었음을 나타낸다. PBMC를 18시간 동안 면역접합체 또는 혼합물로 활성화하였다. NK 세포를 계통 음성 (CD3, CD19, CD14 음성) 및 CD56 양성에 따라 게이팅하였다.
- 도 59는 LC-MS를 통한 비교용 면역접합체의 분석을 나타낸다 (DG). 이러한 비교용 접합체는 트라스투주맙, 및 가르디퀴모드를 갖는 펜타플루오로페닐 기를 함유하는 비절단성 말레이미드-PEG4 링커를 사용하여 제조하였다 (미국 특허 출원 공개 제2017/015772호, 단락 0275, 면역접합체 ATAC3의 설명 참조).
- 도 60은 LC-MS를 통한 비교용 면역접합체의 분석 (중쇄)을 나타낸다. 이러한 비교용 접합체는 트라스투주맙, 및 가르디퀴모드를 갖는 펜타플루오로페닐 기를 함유하는 비절단성 말레이미드-PEG4 링커를 사용하여 제조하였다

다 (미국 특허 출원 공개 제2017/015772호, 단락 0275, 면역접합체 ATAC3의 설명 참조).

도 61은 LC-MS를 통한 비교용 면역접합체의 분석을 나타낸다. 이러한 비교용 접합체는 트라스투주맙, 및 가르디퀴모드를 갖는 펜타플루오로페닐 기를 함유하는 비절단성 말레이미드-PEG4 링커를 사용하여 제조하였다 (미국 특허 출원 공개 제2017/015772호, 단락 0275, 면역접합체 ATAC3의 설명 참조).

도 62는 LC-MS를 통한 비교용 면역접합체의 분석 (경쇄)을 나타낸다. 이러한 비교용 접합체는 트라스투주맙, 및 가르디퀴모드를 갖는 펜타플루오로페닐 기를 함유하는 비절단성 말레이미드-PEG4 링커를 사용하여 제조하였다 (미국 특허 출원 공개 제2017/015772호, 단락 0275, 면역접합체 ATAC3의 설명 참조).

도 63은 LC-MS를 통한 비교용 면역접합체의 분석 (DG, 중쇄)을 나타낸다. 이러한 비교용 접합체는 트라스투주맙, 및 가르디퀴모드를 갖는 펜타플루오로페닐 기를 함유하는 비절단성 말레이미드-PEG4 링커를 사용하여 제조하였다 (미국 특허 출원 공개 제2017/015772호, 단락 0275, 면역접합체 ATAC3의 설명 참조).

도 64는 LC-MS를 통한 비교용 면역접합체의 분석 (DG, 경쇄)을 나타낸다. 이러한 비교용 접합체는 트라스투주맙, 및 가르디퀴모드를 갖는 펜타플루오로페닐 기를 함유하는 비절단성 말레이미드-PEG4 링커를 사용하여 제조하였다 (미국 특허 출원 공개 제2017/015772호, 단락 0275, 면역접합체 ATAC3의 설명 참조).

도 65는 LC-MS를 통한 비교용 면역접합체의 분석 (DG)을 나타낸다. 이러한 비교용 접합체는 트라스투주맙, 및 석신아미드를 갖는 PABA 기를 함유하는 절단성 발린-시트룰린 링커를 사용하여 제조하였다 (미국 특허 출원 공개 제2017/015772호, 단락 0275, 면역접합체 ATAC2의 설명 참조).

도 66은 LC-MS를 통한 비교용 면역접합체의 분석을 나타낸다. 이러한 비교용 접합체는 트라스투주맙, 및 석신아미드를 갖는 PABA 기를 함유하는 절단성 발린-시트룰린 링커를 사용하여 제조하였다 (미국 특허 출원 공개 제2017/015772호, 단락 0275, 면역접합체 ATAC2의 설명 참조).

도 67a는 18시간의 자극 후에 BB-01 SATA 방법에 따라 생성된 리투시맙 면역접합체 (리투시맙 볼트바디)가 비접합된 리투시맙 (Roche)뿐만 아니라, 리투시맙, 및 가르디퀴모드를 갖는, 둘 모두가 펜타플루오로페닐 기를 함유하는 발린-시트룰린-PABC 또는 말레이미드-PEG4 링커를 사용하여 제조된 등물 농도의 비교용 접합체 (각각 리투시맙-ATAC2, 리투시맙-ATAC3; 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호)와 대비하여 골수성 세포로부터의 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 67b는 18시간의 자극 후에 BB-01 SATA 방법에 따라 생성된 리투시맙 면역접합체 (리투시맙 볼트바디)가 비접합된 리투시맙 (Roche)뿐만 아니라, 리투시맙, 및 가르디퀴모드를 갖는, 둘 모두가 펜타플루오로페닐 기를 함유하는 발린-시트룰린-PABC 또는 말레이미드-PEG4 링커를 사용하여 제조된 등물 농도의 비교용 접합체 (각각 리투시맙-ATAC2, 리투시맙-ATAC3; 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호)와 대비하여 골수성 세포로부터의 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 67c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따른 리투시맙 면역접합체 또는 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호에 기재된 방법에 따른 리투시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리투시맙 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 67d는 BB-01 접합 방법에 따른 리투시맙 면역접합체 또는 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호에 기재된 방법에 따른 리투시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리투시맙 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 67e는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호에 기재된 바와 같은 발린-시트룰린-PABC 링커를 사용하여 생성된 리투시맙 면역접합체의 동측(ipsilateral) 중쇄-경쇄의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 67f는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호에 기재된 바와 같은 발린-시트룰린-PABC 링커를 사용하여 생성된 리투시맙 면역접합체의 경쇄의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 67g는 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된, 리투시맙 및 발린-시트룰린-PABC 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC2)가 18시간의 자극 후에 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하지 못함을 나타낸다. 도 67g는 또한 SATA 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 [리투시맙 볼트바디 (BB-01)]가 Ritux-ATAC2 및 등물 농도의 비접합된 리투시맙 (Roche)과 대비하여 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을

나타낸다.

도 67h는 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된, 리투시맙 및 발린-시트룰린-PABC 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC2)가 18시간의 자극 후에 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하지 못함을 나타낸다. 도 67h는 또한 SATA 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 [리투시맙 볼트바디 (BB-01)]가 Ritux-ATAC2 및 등물 농도의 비접합된 리투시맙 (Roche)과 대비하여 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 67i는 SATA 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 [리투시맙 볼트바디 (BB-01)]가 미국 특허 출원 공개 제 2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된 발린-시트룰린-PABC 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC2) 및 등물 농도의 비접합된 리투시맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 보여준다.

도 67j는 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된, 리투시맙 및 발린-시트룰린-PABC 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC2)가 18시간의 자극 후에 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하지 못함을 나타낸다. 도 67j는 또한 SATA 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 [리투시맙 볼트바디 (BB-01)]가 Ritux-ATAC2 및 등물 농도의 비접합된 리투시맙 (Roche)과 대비하여 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 67k는 SATA 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 [리투시맙 볼트바디 (BB-01)]가 미국 특허 출원 공개 제 2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된 발린-시트룰린-PABC 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC2) 및 등물 농도의 비접합된 리투시맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 보여준다.

도 67l은 비접합된 리투시맙 (Roche)과 대비하여 미국 특허 출원 공개 제 2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된 리투시맙 및 발린-시트룰린-PABC 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC2)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다.

도 67m은 비접합된 리투시맙 (Roche)과 대비하여 미국 특허 출원 공개 제 2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된 리투시맙 및 발린-시트룰린-PABC 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC2)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다.

도 67n은 비접합된 리투시맙 (Roche)과 대비하여 미국 특허 출원 공개 제 2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된 리투시맙 및 발린-시트룰린-PABC 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC2)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD16 발현을 나타낸다.

도 67o는 비접합된 리투시맙 (Roche)과 대비하여 미국 특허 출원 공개 제 2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된 리투시맙 및 발린-시트룰린-PABC 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC2)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다.

도 67p는 비접합된 리투시맙 (Roche)과 대비하여 미국 특허 출원 공개 제 2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된 리투시맙 및 발린-시트룰린-PABC 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC2)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다.

도 68a는 18시간의 자극 후에 BB-01 SATA 방법에 따라 생성된 리투시맙 면역접합체 (리투시맙 볼트바디)가 비접합된 리투시맙 (Roche)뿐만 아니라, 리투시맙, 및 가르디퀴모드를 갖는, 둘 모두가 펜타플루오로페닐 기를 함유하는 발린-시트룰린-PABC 또는 말레이미드-PEG4 링커를 사용하여 제조된 등물 농도의 비교용 접합체 (각각 리투시맙-ATAC2, 리투시맙-ATAC3; 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호)와 대비하여 골수성 세포로부터의 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 68b는 18시간의 자극 후에 BB-01 SATA 방법에 따라 생성된 리투시맙 면역접합체 (리투시맙 볼트바디)가 비접합된 리투시맙 (Roche)뿐만 아니라, 리투시맙, 및 가르디퀴모드를 갖는, 둘 모두가 펜타플루오로페닐 기를 함유하는 발린-시트룰린-PABC 또는 말레이미드-PEG4 링커를 사용하여 제조된 등물 농도의 비교용 접합체 (각각 리투시맙-ATAC2, 리투시맙-ATAC3; 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호)와 대비하여 골수성 세포로부터의 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 68c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따른 리투시맙 면역접합체 또는 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호에 기재된 방법에 따른 리투시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리

특시맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 68d는 BB-01 접합 방법에 따른 리특시맵 면역접합체 또는 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호에 기재된 방법에 따른 리특시맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리특시맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 68e는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호에 기재된 바와 같은 말레이미드-PEG4 링커를 사용하여 생성된 리특시맵 면역접합체의 동측 중쇄-경쇄의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 68f는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호에 기재된 바와 같은 말레이미드-PEG4 링커를 사용하여 생성된 리특시맵 면역접합체의 경쇄의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 68g는 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된, 리특시맵 및 말레이미드-PEG4 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC3)가 18시간의 자극 후에 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하지 못함을 나타낸다. 도 68g는 또한 SATA 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 [리특시맵 볼트바디 (BB-01)]가 Ritux-ATAC3 및 등몰 농도의 비접합된 리특시맵 (Roche)과 대비하여 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 68h는 SATA 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 [리특시맵 볼트바디 (BB-01)]가 18시간의 자극 후에, 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된 말레이미드-PEG4 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC3) 및 등몰 농도의 비접합된 리특시맵 (Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 보여준다.

도 68i는 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된, 리특시맵 및 말레이미드-PEG4 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC3)가 18시간의 자극 후에 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하지 못함을 나타낸다. 도 68i는 또한 SATA 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 [리특시맵 볼트바디 (BB-01)]가 Ritux-ATAC2 및 등몰 농도의 비접합된 리특시맵 (Roche)과 대비하여 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 68j는 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된, 리특시맵 및 말레이미드-PEG4 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC3)가 18시간의 자극 후에 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하지 못함을 나타낸다. 도 68j는 또한 SATA 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 [리특시맵 볼트바디 (BB-01)]가 Ritux-ATAC2 및 등몰 농도의 비접합된 리특시맵 (Roche)과 대비하여 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 68k는 미국 특허 출원 공개 제2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된, 리특시맵 및 말레이미드-PEG4 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC3)가 18시간의 자극 후에 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하지 못함을 나타낸다. 도 68j는 또한 SATA 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 [리특시맵 볼트바디 (BB-01)]가 Ritux-ATAC2 및 등몰 농도의 비접합된 리특시맵 (Roche)과 대비하여 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 68l은 비접합된 리특시맵 (Roche)과 대비하여 미국 특허 출원 공개 제 2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된 리특시맵 및 말레이미드-PEG4 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC3)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다.

도 68m은 비접합된 리특시맵 (Roche)과 대비하여 미국 특허 출원 공개 제 2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된 리특시맵 및 말레이미드-PEG4 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC3)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다.

도 68n은 비접합된 리특시맵 (Roche)과 대비하여 미국 특허 출원 공개 제 2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된 리특시맵 및 말레이미드-PEG4 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC3)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다.

도 68o는 비접합된 리특시맵 (Roche)과 대비하여 미국 특허 출원 공개 제 2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된 리특시맵 및 말레이미드-PEG4 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC3)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포

상에서의 CD16 발현을 나타낸다.

도 68p는 비접합된 리투시맙 (Roche)과 대비하여 미국 특허 출원 공개 제 2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된 리투시맙 및 말레이미드-PEG4 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC3)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다.

도 68q는 비접합된 리투시맙 (Roche)과 대비하여 미국 특허 출원 공개 제 2017/015772호에 기재된 방법에 따라 생성된 리투시맙 및 말레이미드-PEG4 링커 면역접합체 (Ritux-ATAC3)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다.

도 69a는 BB-01 방법에 따라 생성된 아테졸리주맙 면역접합체 (아테졸리주맙 IgG1 NQ 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 아테졸리주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 69b는 BB-01 방법에 따라 생성된 아테졸리주맙 면역접합체 (아테졸리주맙 IgG1 NQ 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 아테졸리주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 69c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 생성된 아테졸리주맙 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 69d는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 아테졸리주맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 아테졸리주맙 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 69e는 BB-01 방법에 따라 아테졸리주맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 아테졸리주맙 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 69f는 비접합된 아테졸리주맙 (Roche)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 아테졸리주맙 면역접합체 (아테졸리주맙 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다.

도 69g는 비접합된 아테졸리주맙 (Roche)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 아테졸리주맙 면역접합체 (아테졸리주맙 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다.

도 69h는 BB-01 방법에 따라 생성된 아테졸리주맙 면역접합체 (아테졸리주맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 아테졸리주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 69i는 BB-01 방법에 따라 생성된 아테졸리주맙 면역접합체 (아테졸리주맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 아테졸리주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 69j는 BB-01 방법에 따라 생성된 아테졸리주맙 면역접합체 (아테졸리주맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 아테졸리주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 69k는 비접합된 아테졸리주맙 (Roche)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 아테졸리주맙 면역접합체 (아테졸리주맙 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다.

도 70a는 BB-01 방법에 따라 생성된 베바시주맙 면역접합체 (베바시주맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 베바시주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 70b는 BB-01 방법에 따라 생성된 베바시주맙 면역접합체 (베바시주맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 베바시주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 70c는 36시간 자극 후의, BB-01 방법에 따라 생성된 베바시주맙 면역접합체 (베바시주맙 볼트바디)가 등물 농도의 비접합된 베바시주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 70d는 36시간 자극 후의, BB-01 방법에 따라 생성된 베바시주맙 면역접합체 (베바시주맙 볼트바디)가 등물 농도의 비접합된 베바시주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 70e는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 생성된 베바시주맙 면역접합체의

액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 70f는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 베바시주맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 베바시주맙 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 70g는 BB-01 방법에 따라 베바시주맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 베바시주맙 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 70h는 BB-01 방법에 따라 생성된 베바시주맙 면역접합체 (베바시주맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 베바시주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 70i는 비접합된 베바시주맙 (Roche)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 베바시주맙 면역접합체 (베바시주맙 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다.

도 70j는 BB-01 방법에 따라 생성된 베바시주맙 면역접합체 (베바시주맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 베바시주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 70k는 BB-01 방법에 따라 생성된 베바시주맙 면역접합체 (베바시주맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 베바시주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 70l은 BB-01 방법에 따라 생성된 베바시주맙 면역접합체 (베바시주맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 베바시주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 70m은 BB-01 방법에 따라 생성된 베바시주맙 면역접합체 (베바시주맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 베바시주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71a는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, 세특시맙 바이오시밀러 (Alphamab)로부터 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 세특시맙 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71b는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 세특시맙 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 방법에 따라 세특시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 세특시맙 바이오시밀러 (Alphamab)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71d는 BB-01 접합 방법에 따라 세특시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 세특시맙 바이오시밀러 (Alphamab)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71e는 리툭시맙 바이오시밀러 (AmAb, Alphamab; JHL, JHL Biotech; LGM, LGM Pharma)로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리툭시맙 면역접합체가 18시간의 자극 후에 골수성 세포 상에서 비견되는 CD123 상향조절을 유도함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 71f는 리툭시맙 바이오시밀러 (AmAb, Alphamab; JHL, JHL Biotech; LGM, LGM Pharma)로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리툭시맙 면역접합체가 18시간의 자극 후에 골수성 세포 상에서 비견되는 HLA-DR 발현을 유도함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 71g는 리툭시맙 바이오시밀러 (바이오시밀러 1, Alphamab; 바이오시밀러 2, JHL Biotech; 바이오시밀러 3, LGM Pharma)로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리툭시맙 면역접합체가 18시간의 자극 후에 골수성 세포 상에서 비견되는 CD14 하향조절을 유도함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 71h는 리툭시맙 바이오시밀러 (AmAb, Alphamab; JHL, JHL Biotech; LGM, LGM Pharma)로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리툭시맙 면역접합체가 18시간의 자극 후에 골수성 세포 상에서 비견되는 CD16 하향조절을 유도함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 71i는 리툭시맙 바이오시밀러 (AmAb, Alphamab; JHL, JHL Biotech; LGM, LGM Pharma)로부터 BB-01 방법에

따라 생성된 리톡시맵 면역접합체가 18시간의 자극 후에 골수성 세포 상에서 비견되는 CD40 상향조절을 유도함을 나타낸다. 파손은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 71j는 리톡시맵 바이오시밀러 (AmAb, Alphamab; JHL, JHL Biotech; LGM, LGM Pharma)로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체가 18시간의 자극 후에 골수성 세포 상에서 비견되는 CD86 상향조절을 유도함을 나타낸다. 파손은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 71k는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, 리톡시맵 바이오시밀러 (Alphamab)로부터 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71l은 리톡시맵 바이오시밀러 (Alphamab)로부터 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71m은 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 방법에 따라 리톡시맵 바이오시밀러 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (Alphamab)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71n은 BB-01 방법에 따라 리톡시맵 바이오시밀러 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (Alphamab)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71o는 리톡시맵 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 바이오시밀러 면역접합체 [BB-01 (바이오시밀러 1)]가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 [(CD20 (바이오시밀러 1), Alphamab)]와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71p는 리톡시맵 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 바이오시밀러 면역접합체 [BB-01 (바이오시밀러 1)]가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 [(CD20 (바이오시밀러 1), Alphamab)]와 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71q는 리톡시맵 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 바이오시밀러 면역접합체 [BB-01 (바이오시밀러 1)]가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 [(CD20 (바이오시밀러 1), Alphamab)]와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71r은 리톡시맵 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 바이오시밀러 면역접합체 [BB-01 (바이오시밀러 1)]가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 [(CD20 (바이오시밀러 1), Alphamab)]와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71s는 리톡시맵 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 바이오시밀러 면역접합체 [BB-01 (바이오시밀러 1)]가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 [(CD20 (바이오시밀러 1), Alphamab)]와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71t는 리톡시맵 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 바이오시밀러 면역접합체 [BB-01 (바이오시밀러 1)]가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 [(CD20 (바이오시밀러 1), Alphamab)]와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD96 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71u는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, 리톡시맵 바이오시밀러 (LGM Pharma)로부터 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71v는 리톡시맵 바이오시밀러 (LGM Pharma)로부터 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71w는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 방법에 따라 리톡시맵 바이오시밀러 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71x는 BB-01 방법에 따라 리톡시맵 바이오시밀러 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71y는 리톡시맵 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 바이오시밀러 면역접합체 (BB-01)가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71z는 리톡시맙 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 바이오시밀러 면역접합체 (BB-01)가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71aa는 리톡시맙 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 바이오시밀러 면역접합체 (BB-01)가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71ab는 리톡시맙 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 바이오시밀러 면역접합체 (BB-01)가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71ac는 리톡시맙 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 바이오시밀러 면역접합체 (BB-01)가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71ad는 리톡시맙 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 바이오시밀러 면역접합체 (BB-01)가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71ae는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, 리톡시맙 바이오시밀러 (JHL Biotech)로부터 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71af는 리톡시맙 바이오시밀러 (JHL Biotech)로부터 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71ag는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 방법에 따라 리톡시맙 바이오시밀러 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (JHL Biotech)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71ah는 BB-01 방법에 따라 리톡시맙 바이오시밀러 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (JHL Biotech)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71ai는 리톡시맙 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 바이오시밀러 면역접합체 [BB-01 (바이오시밀러 2)]가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 [(CD20 (바이오시밀러 2), JHL Biotech)]와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71aj는 리톡시맙 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 바이오시밀러 면역접합체 [BB-01 (바이오시밀러 2)]가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 [(CD20 (바이오시밀러 2), JHL Biotech)]와 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71ak는 리톡시맙 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 바이오시밀러 면역접합체 [BB-01 (바이오시밀러 2)]가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 [(CD20 (바이오시밀러 2), JHL Biotech)]와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71al은 리톡시맙 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 바이오시밀러 면역접합체 [BB-01 (바이오시밀러 2)]가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 [(CD20 (바이오시밀러 2), JHL Biotech)]와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71am은 비접합된 리톡시맙 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71an은 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, 트라스투주맙 바이오시밀러 (JHL Biotech)로부터 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 트라스투주맙 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71ao는 트라스투주맙 바이오시밀러 (JHL Biotech)로부터 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 트라스투주맙 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71ap는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 방법에 따라 트라스투주맙 바이오시밀러 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 트라스투주맙 바이오시밀러 (JHL Biotech)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71aq는 BB-01 방법에 따라 트라스투주맙 바이오시밀러 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 트라스투주맙 바이오시밀러 (JHL Biotech)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 71ar은 트라스투주맙 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 트라스투주맙 바이오시밀러 면역접합체 (BB-40)가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 트라스투주맙 바이오시밀러 [트라스투주맙 (JHL), JHL Biotech]와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71as는 트라스투주맙 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 트라스투주맙 바이오시밀러 면역접합체 (BB-40)가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 트라스투주맙 바이오시밀러 [트라스투주맙 (JHL), JHL Biotech]와 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71at는 트라스투주맙 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 트라스투주맙 바이오시밀러 면역접합체 (BB-40)가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 트라스투주맙 바이오시밀러 [트라스투주맙 (JHL), JHL Biotech]와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71au는 트라스투주맙 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 트라스투주맙 바이오시밀러 면역접합체 (BB-40)가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 트라스투주맙 바이오시밀러 [트라스투주맙 (JHL), JHL Biotech]와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71av는 트라스투주맙 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 트라스투주맙 바이오시밀러 면역접합체 (BB-40)가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 트라스투주맙 바이오시밀러 [트라스투주맙 (JHL), JHL Biotech]와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 71aw는 트라스투주맙 바이오시밀러로부터 BB-01 방법에 따라 생성된 트라스투주맙 바이오시밀러 면역접합체 (BB-40)가 18시간의 자극 후에, 상응하는 비접합된 트라스투주맙 바이오시밀러 [트라스투주맙 (JHL), JHL Biotech]와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 72a는 BB-01 방법에 따라 생성된 세특시맙 면역접합체 (세특시맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 세특시맙 (Imclone/Lilly)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 72b는 BB-01 방법에 따라 생성된 세특시맙 면역접합체 (세특시맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 세특시맙 (Imclone/Lilly)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 72c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 세특시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 세특시맙 (Imclone/Lilly)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 72d는 BB-01 접합 방법에 따라 세특시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 세특시맙 (Imclone/Lilly)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 72e는 BB-01 방법에 따라 생성된 세특시맙 면역접합체 (채워진 원, 적색)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 세특시맙 (채워진 정사각형, 흑색; Imclone/Lilly)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 72f는 BB-01 방법에 따라 생성된 세특시맙 면역접합체 (채워진 원, 적색)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 세특시맙 (채워진 정사각형, 흑색; Imclone/Lilly)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 72g는 BB-01 방법에 따라 생성된 세특시맙 면역접합체 (채워진 원, 적색)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 세특시맙 (채워진 정사각형, 흑색; Imclone/Lilly)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 72h는 BB-01 방법에 따라 생성된 세특시맙 면역접합체 (채워진 원, 적색)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 세특시맙 (채워진 정사각형, 흑색; Imclone/Lilly)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 72i는 BB-01 방법에 따라 생성된 세특시맙 면역접합체 (채워진 원, 적색)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 세특시맙 (채워진 정사각형, 흑색; Imclone/Lilly)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는

데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 72j는 BB-01 방법에 따라 생성된 세톡시맵 면역접합체 (채워진 원, 적색)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 세톡시맵 (채워진 정사각형, 흑색; Imclone/Lilly)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 73a는 BB-01 방법에 따라 생성된 다라투무맵 면역접합체 (다라투무맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 다라투무맵 (Genmab/Janssen Biotech)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 73b는 BB-01 방법에 따라 생성된 다라투무맵 면역접합체 (다라투무맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 다라투무맵 (Genmab/Janssen Biotech)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 73c는 BB-01 방법에 따라 생성된 다라투무맵 면역접합체 (다라투무맵 [sic] 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 다라투무맵 (다라투무맵 [sic], Genmab/Janssen Biotech)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 73d는 BB-01 방법에 따라 생성된 다라투무맵 면역접합체 (다라투무맵 [sic] 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 다라투무맵 (다라투무맵 [sic], Genmab/Janssen Biotech)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 73e는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 방법에 따라 다라투무맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 다라투무맵 (Genmab/Janssen Biotech)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 73f는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 방법에 따라 생성된 다라투무맵 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 73g는 BB-01 방법에 따라 다라투무맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 다라투무맵 (Genmab/Janssen Biotech)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 73h는 BB-01 방법에 따라 생성된 다라투무맵 면역접합체 (다라투무맵 [sic] 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 다라투무맵 (다라투무맵 [sic], Genmab/Janssen Biotech)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 73i는 비접합된 다라투무맵 (Genmab/Janssen Biotech)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 다라투무맵 면역접합체 (다라투무맵 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다.

도 73j는 BB-01 방법에 따라 생성된 다라투무맵 면역접합체 (다라투무맵 [sic] 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 다라투무맵 (다라투무맵 [sic], Genmab/Janssen Biotech)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 73k는 BB-01 방법에 따라 생성된 다라투무맵 면역접합체 (다라투무맵 [sic] 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 다라투무맵 (다라투무맵 [sic], Genmab/Janssen Biotech)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 73l은 BB-01 방법에 따라 생성된 다라투무맵 면역접합체 (다라투무맵 [sic] 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 다라투무맵 (다라투무맵 [sic], Genmab/Janssen Biotech)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 73m은 BB-01 방법에 따라 생성된 다라투무맵 면역접합체 (다라투무맵 [sic] 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 다라투무맵 (다라투무맵 [sic], Genmab/Janssen Biotech)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 74a는 BB-01 방법에 따라 생성된 엘로투주맵 면역접합체 (엘로투주맵 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 엘로투주맵 (BMS)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 74b는 BB-01 방법에 따라 생성된 엘로투주맵 면역접합체 (엘로투주맵 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 엘로투주맵 (BMS)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 74c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 생성된 엘로투주맵 면역접합체의

액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 74d는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 엘로투주맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 엘로투주맵 (BMS)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 74e는 BB-01 방법에 따라 엘로투주맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 엘로투주맵 (BMS)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 74f는 BB-01 방법에 따라 생성된 엘로투주맵 면역접합체 (엘로투주맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 엘로투주맵 (BMS)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 74g는 BB-01 방법에 따라 생성된 엘로투주맵 면역접합체 (엘로투주맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 엘로투주맵 (BMS)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 74h는 BB-01 방법에 따라 생성된 엘로투주맵 면역접합체 (엘로투주맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 엘로투주맵 (BMS)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 74i는 BB-01 방법에 따라 생성된 엘로투주맵 면역접합체 (엘로투주맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 엘로투주맵 (BMS)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 74j는 BB-01 방법에 따라 생성된 엘로투주맵 면역접합체 (엘로투주맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 엘로투주맵 (BMS)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 74k는 BB-01 방법에 따라 생성된 엘로투주맵 면역접합체 (엘로투주맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 엘로투주맵 (BMS)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 75a는 BB-01 방법에 따라 생성된 이필리무맵 면역접합체 (이필리무맵 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등물농도의 비접합된 이필리무맵 (BMS)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 75b는 BB-01 방법에 따라 생성된 이필리무맵 면역접합체 (이필리무맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 등물농도의 비접합된 이필리무맵 (BMS)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 75c는 BB-01 방법에 따라 생성된 이필리무맵 면역접합체 (이필리무맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 등물농도의 비접합된 이필리무맵 (BMS)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 75d는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 이필리무맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 이필리무맵 (BMS)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 75e는 BB-01 방법에 따라 이필리무맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 이필리무맵 (BMS)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 75f는 BB-01 방법에 따라 생성된 이필리무맵 면역접합체 (이필리무맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 이필리무맵 (BMS)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 75g는 BB-01 방법에 따라 생성된 이필리무맵 면역접합체 (이필리무맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 이필리무맵 (BMS)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 75h는 BB-01 방법에 따라 생성된 이필리무맵 면역접합체 (이필리무맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 이필리무맵 (BMS)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 75i는 BB-01 방법에 따라 생성된 이필리무맵 면역접합체 (이필리무맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 이필리무맵 (BMS)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

나타낸다.

도 75j는 BB-01 방법에 따라 생성된 이필리무맙 면역접합체 (이필리무맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 이필리무맙 (BMS)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 75k는 BB-01 방법에 따라 생성된 이필리무맙 면역접합체 (이필리무맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 이필리무맙 (BMS)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 76a는 BB-01 방법에 따라 생성된 니볼루맙 면역접합체 (니볼루맙 IgG4 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 등몰 농도의 비접합된 니볼루맙 (니볼루맙 IgG4, BMS)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 76b는 BB-01 방법에 따라 생성된 니볼루맙 면역접합체 (니볼루맙 IgG4 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 등몰 농도의 비접합된 니볼루맙 (니볼루맙 IgG4, BMS)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 76c는 BB-01 방법에 따라 생성된 니볼루맙 면역접합체 (니볼루맙 IgG4 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등몰 농도의 비접합된 니볼루맙 (니볼루맙 IgG4, BMS)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 76d는 BB-01 방법에 따라 생성된 니볼루맙 면역접합체 (니볼루맙 IgG4 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등몰 농도의 비접합된 니볼루맙 (니볼루맙 IgG4, BMS)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 76e는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 생성된 니볼루맙 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 76f는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 니볼루맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 니볼루맙 (BMS)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 76g는 BB-01 방법에 따라 니볼루맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 니볼루맙 (BMS)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 76h는 BB-01 방법에 따라 생성된 니볼루맙 면역접합체 (니볼루맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 니볼루맙 (BMS)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 76i는 비접합된 니볼루맙 (BMS)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 니볼루맙 면역접합체 (니볼루맙 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다.

도 76j는 BB-01 방법에 따라 생성된 니볼루맙 면역접합체 (니볼루맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 니볼루맙 (BMS)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 76k는 BB-01 방법에 따라 생성된 니볼루맙 면역접합체 (니볼루맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 니볼루맙 (BMS)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 76l은 BB-01 방법에 따라 생성된 니볼루맙 면역접합체 (니볼루맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 니볼루맙 (BMS)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 76m은 BB-01 방법에 따라 생성된 니볼루맙 면역접합체 (니볼루맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 니볼루맙 (BMS)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 77a는 BB-01 방법에 따라 생성된 오비누투주맙 면역접합체 (오비누투주맙 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등몰 농도의 비접합된 오비누투주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 77b는 BB-01 방법에 따라 생성된 오비누투주맙 면역접합체 (오비누투주맙 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등몰 농도의 비접합된 오비누투주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 77c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 오비누투주맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 오비누투주맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 77d는 BB-01 접합 방법에 따라 오비누투주맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 오비누투주맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 77e는 BB-01 방법에 따라 생성된 오비누투주맵 면역접합체 (오비누투주맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 CD20 mAb (Roche)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 77f는 비접합된 CD20 mAb (Roche)와 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 오비누투주맵 면역접합체 (오비누투주맵 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다.

도 77g는 BB-01 방법에 따라 생성된 오비누투주맵 면역접합체 (오비누투주맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 CD20 mAb (Roche)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 77h는 BB-01 방법에 따라 생성된 오비누투주맵 면역접합체 (오비누투주맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 CD20 mAb (Roche)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 77i는 BB-01 방법에 따라 생성된 오비누투주맵 면역접합체 (오비누투주맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 CD20 mAb (Roche)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 77j는 BB-01 방법에 따라 생성된 오비누투주맵 면역접합체 (오비누투주맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 CD20 mAb (Roche)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 78a는 BB-01 방법에 따라 생성된 올라라투맵 면역접합체 (올라라투맵 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 올라라투맵 (Lilly)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 78b는 BB-01 방법에 따라 생성된 올라라투맵 면역접합체 (올라라투맵 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 올라라투맵 (Lilly)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 78c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 생성된 올라라투맵 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 78d는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 올라라투맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 올라라투맵 (Lilly)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 78e는 BB-01 접합 방법에 따라 올라라투맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 올라라투맵 (Lilly)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 78f는 BB-01 방법에 따라 생성된 올라라투맵 면역접합체 (올라라투맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 올라라투맵 (Lilly)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 78g는 BB-01 방법에 따라 생성된 올라라투맵 면역접합체 (올라라투맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 올라라투맵 (Lilly)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 78h는 BB-01 방법에 따라 생성된 올라라투맵 면역접합체 (올라라투맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 올라라투맵 (Lilly)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 78i는 BB-01 방법에 따라 생성된 올라라투맵 면역접합체 (올라라투맵 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 올라라투맵 (Lilly)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 78j는 BB-01 방법에 따라 생성된 올라라투맙 면역접합체 (올라라투맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 올라라투맙 (Lilly)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 78k는 BB-01 방법에 따라 생성된 올라라투맙 면역접합체 (올라라투맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 올라라투맙 (Lilly)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 79a는 BB-01 방법에 따라 생성된 웹브롤리주맙 면역접합체 (웹브롤리주맙 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등몰 농도의 비접합된 웹브롤리주맙 (Merck)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 79b는 BB-01 방법에 따라 생성된 웹브롤리주맙 면역접합체 (웹브롤리주맙 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등몰 농도의 비접합된 웹브롤리주맙 (Merck)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 79c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 생성된 웹브롤리주맙 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 79d는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 웹브롤리주맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 웹브롤리주맙 (Merck)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 79e는 BB-01 접합 방법에 따라 웹브롤리주맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 웹브롤리주맙 (Merck)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 79f는 BB-01 방법에 따라 생성된 웹브롤리주맙 면역접합체 (웹브롤리주맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 웹브롤리주맙 (Merck)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 79g는 BB-01 방법에 따라 생성된 웹브롤리주맙 면역접합체 (웹브롤리주맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 웹브롤리주맙 (Merck)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 79h는 BB-01 방법에 따라 생성된 웹브롤리주맙 면역접합체 (웹브롤리주맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 웹브롤리주맙 (Merck)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 79i는 BB-01 방법에 따라 생성된 웹브롤리주맙 면역접합체 (웹브롤리주맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 웹브롤리주맙 (Merck)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 79j는 BB-01 방법에 따라 생성된 웹브롤리주맙 면역접합체 (웹브롤리주맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 웹브롤리주맙 (Merck)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 79k는 BB-01 방법에 따라 생성된 웹브롤리주맙 면역접합체 (웹브롤리주맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 웹브롤리주맙 (Merck)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 80a는 BB-01 방법에 따라 생성된 퍼투주맙 면역접합체 (퍼투주맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 등몰 농도의 비접합된 퍼투주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 80b는 BB-01 방법에 따라 생성된 퍼투주맙 면역접합체 (퍼투주맙 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 등몰 농도의 비접합된 퍼투주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 80c는 BB-01 방법에 따라 생성된 퍼투주맙 면역접합체 (퍼투주맙 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등몰 농도의 비접합된 퍼투주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 80d는 BB-01 방법에 따라 생성된 퍼투주맙 면역접합체 (퍼투주맙 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등몰 농도의 비접합된 퍼투주맙 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 80e는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 생성된 퍼투주막 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 80f는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 퍼투주막 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 퍼투주막 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 80g는 BB-01 접합 방법에 따라 퍼투주막 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 퍼투주막 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 80h는 BB-01 방법에 따라 생성된 퍼투주막 면역접합체 (퍼투주막 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 퍼투주막 (Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 80i는 BB-01 방법에 따라 생성된 퍼투주막 면역접합체 (퍼투주막 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 퍼투주막 (Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 80j는 BB-01 방법에 따라 생성된 퍼투주막 면역접합체 (퍼투주막 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 퍼투주막 (Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 80k는 BB-01 방법에 따라 생성된 퍼투주막 면역접합체 (퍼투주막 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 퍼투주막 (Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 80l은 BB-01 방법에 따라 생성된 퍼투주막 면역접합체 (퍼투주막 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 퍼투주막 (Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 80m는 BB-01 방법에 따라 생성된 퍼투주막 면역접합체 (퍼투주막 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 퍼투주막 (Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 81a는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시막 면역접합체 (리톡시막 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 리톡시막 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 81b는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시막 면역접합체 (리톡시막 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 리톡시막 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 81c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시막 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 81d는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시막 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 81e는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시막 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 81f는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 리톡시막 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시막 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 81g는 BB-01 접합 방법에 따라 리톡시막 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시막 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 81h는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시막 면역접합체 (BB-01)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시막 (CD20, Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 81i는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시막 면역접합체 (BB-01)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시막 (CD20, Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 81j는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시막 면역접합체 (BB-01)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시막 (CD20, Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 81k는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시막 면역접합체 (BB-01)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시막 (CD20, Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 81l은 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시막 면역접합체 (BB-01)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시막 (CD20, Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 81m은 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-01)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 82a는 BB-01 방법에 따라 생성된 트라스투주맵 면역접합체 (트라스투주맵 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 트라스투주맵 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 82b는 BB-01 방법에 따라 생성된 트라스투주맵 면역접합체 (트라스투주맵 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 트라스투주맵 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 82c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 생성된 트라스투주맵 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 82d는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 트라스투주맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 트라스투주맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 82e는 BB-01 접합 방법에 따라 트라스투주맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 트라스투주맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 82f는 BB-01 방법에 따라 생성된 트라스투주맵 면역접합체 (채워진 원, 적색)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 트라스투주맵 (채워진 정사각형, 흑색; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 82g는 BB-01 방법에 따라 생성된 트라스투주맵 면역접합체 (채워진 원, 적색)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 트라스투주맵 (채워진 정사각형, 흑색; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 82h는 BB-01 방법에 따라 생성된 트라스투주맵 면역접합체 (채워진 원, 적색)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 트라스투주맵 (채워진 정사각형, 흑색; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 82i는 BB-01 방법에 따라 생성된 트라스투주맵 면역접합체 (채워진 원, 적색)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 트라스투주맵 (채워진 정사각형, 흑색; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 82j는 BB-01 방법에 따라 생성된 트라스투주맵 면역접합체 (채워진 원, 적색)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 트라스투주맵 (채워진 정사각형, 흑색; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 82k는 BB-01 방법에 따라 생성된 트라스투주맵 면역접합체 (채워진 원, 적색)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 트라스투주맵 (채워진 정사각형, 흑색; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 83a는 BB-01 방법에 따라 생성된 에타너셉트 면역접합체 (에타너셉트 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 에타너셉트 (Amgen)와 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 83b는 BB-01 방법에 따라 생성된 에타너셉트 면역접합체 (에타너셉트 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등물 농도의 비접합된 에타너셉트 (Amgen)와 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 83c는 BB-01 방법에 따라 생성된 에타너셉트 면역접합체 (에타너셉트 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 에타너셉트 (Amgen)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 83d는 BB-01 방법에 따라 생성된 에타너셉트 면역접합체 (에타너셉트 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 에타너셉트 (Amgen)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 83e는 BB-01 방법에 따라 생성된 에타너셉트 면역접합체 (에타너셉트 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 에타너셉트 (Amgen)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

다.

도 83f는 BB-01 방법에 따라 생성된 에타너셉트 면역접합체 (에타너셉트 볼트마디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 에타너셉트 (Amgen)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 83g는 BB-01 방법에 따라 생성된 에타너셉트 면역접합체 (에타너셉트 볼트마디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 에타너셉트 (Amgen)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 83h는 BB-01 방법에 따라 생성된 에타너셉트 면역접합체 (에타너셉트 볼트마디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 에타너셉트 (Amgen)와 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 84a는 리톡시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma)로부터 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다. 계산된 DAR은 0.7이다.

도 84b는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 84c는 BB-01 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 (LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 84d는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 [BB-01 (DAR 0.7)]에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 84e는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 [BB-01 (DAR 0.7)]에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD16 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 84f는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 [BB-01 (DAR 0.7)]에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 84g는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 [BB-01 (DAR 0.7)]에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 84h는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 [BB-01 (DAR 0.7)]에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 84i는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 [BB-01 (DAR 0.7)]에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 85a는 리톡시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma)로부터 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다. 계산된 DAR은 1.6이다.

도 85b는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 85c는 BB-01 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 (LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 85d는 BB-01 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 (LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 85e는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 [BB-01 (DAR 1.6)]에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

나타낸다.

도 85f는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 [BB-01 (DAR 1.6)]에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD16 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 85g는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 [BB-01 (DAR 1.6)]에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 85h는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 [BB-01 (DAR 1.6)]에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 85i는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 [BB-01 (DAR 1.6)]에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 85j는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 [BB-01 (DAR 1.6)]에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 86a는 리톡시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma)로부터 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다. 계산된 DAR은 2.5이다.

도 86b는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 86c는 BB-01 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 (LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 86d는 리톡시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma)로부터 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다. 계산된 DAR은 2.5이다.

도 86e는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 [BB-01 (DAR 2.5)]에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 86f는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 [BB-01 (DAR 2.5)]에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD16 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 86g는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 [BB-01 (DAR 2.5)]에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 86h는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 [BB-01 (DAR 2.5)]에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 86i는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 [BB-01 (DAR 1.6)]에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 86j는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 [BB-01 (DAR 1.6)]에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 87a는, 모두 리톡시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma)로부터 BB-01 방법에 따라 생성된, 다양한 DAR의 리톡시맙 면역접합체가 18시간의 자극 후에 골수성 세포 상에서 비견되는 CD14 하향조절을 유도함을 나타낸다. 파선은

18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 87b는, 모두 리톡시맵 바이오시밀러 (LGM Pharma)로부터 BB-01 방법에 따라 생성된, 다양한 DAR의 리톡시맵 면역접합체가 18시간의 자극 후에 골수성 세포 상에서 비견되는 CD16 하향조절을 유도함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 87c는, 모두 리톡시맵 바이오시밀러 (LGM Pharma)로부터 BB-01 방법에 따라 생성된, 다양한 DAR의 리톡시맵 면역접합체가 18시간의 자극 후에 골수성 세포 상에서 비견되는 CD40 상향조절을 유도함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 87d는, 모두 리톡시맵 바이오시밀러 (LGM Pharma)로부터 BB-01 방법에 따라 생성된, 다양한 DAR의 리톡시맵 면역접합체가 18시간의 자극 후에 골수성 세포 상에서 비견되는 CD86 상향조절을 유도함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 87e는, 모두 리톡시맵 바이오시밀러 (LGM Pharma)로부터 BB-01 방법에 따라 생성된, 다양한 DAR의 리톡시맵 면역접합체가 18시간의 자극 후에 골수성 세포 상에서 비견되는 CD123 상향조절을 유도함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 87f는, 모두 리톡시맵 바이오시밀러 (LGM Pharma)로부터 BB-01 방법에 따라 생성된, 다양한 DAR의 리톡시맵 면역접합체가 18시간의 자극 후에 골수성 세포 상에서 비견되는 HLA-DR 상향조절을 유도함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 88a는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는데 이용된 비접합된 리톡시맵 IgA2 (Invivogen, hcd20-mab7)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 88b는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgA2 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 88c는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgA2면역접합체 (CD20 IgA2 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20 IgA2; Invivogen, hcd20-mac7)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 88d는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgA2면역접합체 (CD20 IgA2 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20 IgA2; Invivogen, hcd20-mac7)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 88e는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgA2면역접합체 (CD20 IgA2 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20 IgA2; Invivogen, hcd20-mac7)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 88f는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgA2면역접합체 (CD20 IgA2 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20 IgA2; Invivogen, hcd20-mac7)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 88g는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgA2면역접합체 (CD20 IgA2 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20 IgA2; Invivogen, hcd20-mac7)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 88h는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgA2면역접합체 (CD20 IgA2 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20 IgA2; Invivogen, hcd20-mac7)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 89a는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG1 면역접합체 (IgG1 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등몰 농도 (0.2 μ M)의 비접합된 리톡시맵 (IgG1; Invivogen, hcd20-mab1)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 89b는 BB-01 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는데 이용된 비접합된 리톡시맵 IgG1 (Invivogen, hcd20-mab1)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 89c는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG1 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 89d는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG1면역접합체 (CD20 IgG1 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20 IgG1; Invivogen, hcd20-mab1)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 89e는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG1면역접합체 (CD20 IgG1 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20 IgG1; Invivogen, hcd20-mab1)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 89f는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG1면역접합체 (CD20 IgG1 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20 IgG1; Invivogen, hcd20-mab1)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 89g는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG1면역접합체 (CD20 IgG1 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20 IgG1; Invivogen, hcd20-mab1)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 89h는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG1면역접합체 (CD20 IgG1 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20 IgG1; Invivogen, hcd20-mab1)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 89i는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG1면역접합체 (CD20 IgG1 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20 IgG1; Invivogen, hcd20-mab1)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 90a는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 어포코실화된(afucosylated) IgG1 면역접합체 (IgG1 AF 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 등몰 농도 (0.2 μ M)의 비접합된 리톡시맵 (IgG1 AF; Invivogen, hcd20-mab13)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 90b는 BB-01 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 IgG1 (Invivogen, hcd20-mab13)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 90c는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG1 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 90d는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG1 AF 면역접합체 (IgG1 AF 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG1 AF; Invivogen, hcd20-mab13)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 90e는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG1 면역접합체 (IgG1 AF 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG1 AF; Invivogen, hcd20-mab13)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 90f는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG1 면역접합체 (IgG1 AF 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG1 AF; Invivogen, hcd20-mab13)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 90g는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG1 면역접합체 (IgG1 AF 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG1 AF; Invivogen, hcd20-mab13)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 90h는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG1 면역접합체 (IgG1 AF 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG1 AF; Invivogen, hcd20-mab13)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 90i는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG1 면역접합체 (IgG1 AF 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG1 AF; Invivogen, hcd20-mab13)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 91a는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 N297Q 돌연변이 IgG1 면역접합체 (IgG1 NQ 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 등몰 농도 (0.2 μ M)의 비접합된 리톡시맵 (IgG1 NQ; Invivogen, hcd20-mab12)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 91b는 BB-01 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 IgG1 (Invivogen, hcd20-mab12)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 91c는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG1 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 91d는 비접합된 리톡시맵 IgG1 (Invivogen, hcd20-mab12)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 N297Q 돌연변이 IgG1 면역접합체 (IgG1 NQ 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다.

도 91e는 비접합된 리톡시맵 IgG1 (Invivogen, hcd20-mab12)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 N297Q 돌연변이 IgG1 면역접합체 (IgG1 NQ 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD16 발현을 나타낸다.

도 91f는 비접합된 리톡시맵 IgG1 (Invivogen, hcd20-mab12)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 N297Q 돌연변이 IgG1 면역접합체 (IgG1 NQ 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다.

도 91g는 비접합된 리톡시맵 IgG1 (Invivogen, hcd20-mab12)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 N297Q 돌연변이 IgG1 면역접합체 (IgG1 NQ 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다.

도 91h는 비접합된 리톡시맵 IgG1 (Invivogen, hcd20-mab12)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 N297Q 돌연변이 IgG1 면역접합체 (IgG1 NQ 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다.

도 91i는 비접합된 리톡시맵 IgG1 (Invivogen, hcd20-mab12)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 N297Q 돌연변이 IgG1 면역접합체 (IgG1 NQ 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다.

도 92a는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG2 면역접합체 (IgG2 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 등몰 농도 (0.2 μ M)의 비접합된 리톡시맵 (IgG2; Invivogen, hcd20-mab2)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 92b는 BB-01 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 IgG2 (Invivogen, hcd20-mab2)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 92c는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG2 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 92d는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG2 면역접합체 (IgG2 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG2; Invivogen, hcd20-mab2)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 92e는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG2 면역접합체 (IgG2 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG2; Invivogen, hcd20-mab2)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 92f는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG2 면역접합체 (IgG2 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG2; Invivogen, hcd20-mab2)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 92g는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG2 면역접합체 (IgG2 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG2; Invivogen, hcd20-mab2)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어

서 월등함을 나타낸다.

도 92h는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG2 면역접합체 (IgG2 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG2; Invivogen, hcd20-mab2)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 92i는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG2 면역접합체 (IgG2 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG2; Invivogen, hcd20-mab2)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 93a는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG3 면역접합체 (IgG3 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 등몰 농도 (0.2 μ M)의 비접합된 리톡시맵 (IgG3; Invivogen, hcd20-mab3)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 93b는 BB-01 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 IgG3 (Invivogen, hcd20-mab3)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 93c는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG3 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 93d는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG3 면역접합체 (IgG3 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG3; Invivogen, hcd20-mab3)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 93e는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG3 면역접합체 (IgG3 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG3; Invivogen, hcd20-mab3)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 93f는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG3 면역접합체 (IgG3 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG3; Invivogen, hcd20-mab3)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 93g는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG3 면역접합체 (IgG3 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG3; Invivogen, hcd20-mab3)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 93h는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG3 면역접합체 (IgG3 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG3; Invivogen, hcd20-mab3)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 93i는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG3 면역접합체 (IgG3 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG3; Invivogen, hcd20-mab3)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 94a는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG4 면역접합체 (IgG4 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 등몰 농도 (0.2 μ M)의 비접합된 리톡시맵 (IgG4; Invivogen, hcd20-mab4)과 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 94b는 BB-01 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 IgG4 (Invivogen, hcd20-mab4)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 94c는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG4 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 94d는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG4 면역접합체 (IgG4 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG4; Invivogen, hcd20-mab4)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 94e는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG4 면역접합체 (IgG4 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG4; Invivogen, hcd20-mab4)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

서 월등함을 나타낸다.

도 94f는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG4 면역접합체 (IgG4 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG4; Invivogen, hcd20-mab4)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 94g는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG4 면역접합체 (IgG4 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG4; Invivogen, hcd20-mab4)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 94h는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG4 면역접합체 (IgG4 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG4; Invivogen, hcd20-mab4)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 94i는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵 IgG4 면역접합체 (IgG4 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (IgG4; Invivogen, hcd20-mab4)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 95는 각각 도 89, 도 90, 도 92, 도 93, 및 도 94에서 참조된 IgG1 볼트바디 (BB-IgG1), IgG1 AF 볼트바디 (BB-IgG1 AF), IgG2 볼트바디 (BB-IgG2), IgG3 볼트바디 (BB-IgG3), 및 IgG4 볼트바디 (BB-IgG4)에 대한 CD14, CD40, 및 CD86 발현의 EC50 값 및 배수 변화를 열거하는 표이다. EC50 값은 5배 연속 희석물로부터 작성된 용량-반응 곡선에 기초하여 계산하였다. 모든 배수 변화는 지시된 농도에서 각각의 네이키드(naked) 항체에 대하여 계산하였다.

도 96a는 BB-01 접합 방법에 따라 아테졸리주맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 아테졸리주맵 IgG1 동종형 변이체 (Invivogen, hpd11-mab1)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 96b는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 아테졸리주맵 IgG1 동종형 변이체 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 96c는 비접합된 아테졸리주맵 (아테졸리주맵 - IgG1; Invivogen, hpd11-mab1)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 아테졸리주맵 IgG1 동종형 변이체 면역접합체 (아테졸리주맵 - IgG1 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다.

도 96d는 비접합된 아테졸리주맵 (아테졸리주맵 - IgG1; Invivogen, hpd11-mab1)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 아테졸리주맵 IgG1 동종형 변이체 면역접합체 (아테졸리주맵 - IgG1 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD16 발현을 나타낸다.

도 96e는 비접합된 아테졸리주맵 (아테졸리주맵 - IgG1; Invivogen, hpd11-mab1)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 아테졸리주맵 IgG1 동종형 변이체 면역접합체 (아테졸리주맵 - IgG1 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다.

도 96f는 비접합된 아테졸리주맵 (아테졸리주맵 - IgG1; Invivogen, hpd11-mab1)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 아테졸리주맵 IgG1 동종형 변이체 면역접합체 (아테졸리주맵 - IgG1 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다.

도 96g는 비접합된 아테졸리주맵 (아테졸리주맵 - IgG1; Invivogen, hpd11-mab1)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 아테졸리주맵 IgG1 동종형 변이체 면역접합체 (아테졸리주맵 - IgG1 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다.

도 96h는 비접합된 아테졸리주맵 (아테졸리주맵 - IgG1; Invivogen, hpd11-mab1)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 아테졸리주맵 IgG1 동종형 변이체 면역접합체 (아테졸리주맵 - IgG1 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다.

도 97a는 BB-01 접합 방법에 따라 니볼루맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 니볼루맵 IgG1 동종형 변이체 (Invivogen, hpd1ni-mab1)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 97b는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 니볼루맵 IgG1 동종형 변이체 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 97c는 비접합된 니볼루맵 (니볼루맵 - IgG1; Invivogen, hpdlni-mab1)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 니볼루맵 IgG1 동종형 변이체 면역접합체 (니볼루맵 - IgG1 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다.

도 97d는 비접합된 니볼루맵 (니볼루맵 - IgG1; Invivogen, hpdlni-mab1)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 니볼루맵 IgG1 동종형 변이체 면역접합체 (니볼루맵 - IgG1 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD16 발현을 나타낸다.

도 97e는 비접합된 니볼루맵 (니볼루맵 - IgG1; Invivogen, hpdlni-mab1)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 니볼루맵 IgG1 동종형 변이체 면역접합체 (니볼루맵 - IgG1 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다.

도 97f는 비접합된 니볼루맵 (니볼루맵 - IgG1; Invivogen, hpdlni-mab1)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 니볼루맵 IgG1 동종형 변이체 면역접합체 (니볼루맵 - IgG1 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다.

도 97g는 비접합된 니볼루맵 (니볼루맵 - IgG1; Invivogen, hpdlni-mab1)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 니볼루맵 IgG1 동종형 변이체 면역접합체 (니볼루맵 - IgG1 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다.

도 97h는 비접합된 니볼루맵 (니볼루맵 - IgG1; Invivogen, hpdlni-mab1)과 대비하여 BB-01 방법에 따라 생성된 니볼루맵 IgG1 동종형 변이체 면역접합체 (니볼루맵 - IgG1 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다.

도 98a는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 항-gp75 mAb 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 항-gp75 mAb (BioXcell, TA99-BE0151)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 98b는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 생성된 항-gp75 mAb 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 98c는 BB-01 방법에 따라 생성된 항-gp75 mAb 면역접합체 (GP75 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다.

도 98d는 BB-01 방법에 따라 생성된 항-gp75 mAb 면역접합체 (GP75 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD16 발현을 나타낸다.

도 98e는 BB-01 방법에 따라 생성된 항-gp75 mAb 면역접합체 (GP75 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다.

도 98f는 BB-01 방법에 따라 생성된 항-gp75 mAb 면역접합체 (GP75 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다.

도 98g는 BB-01 방법에 따라 생성된 항-gp75 mAb 면역접합체 (GP75 볼트바디)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다.

도 99a는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-03 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 99b는 BB-03 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 99c는 BB-03 접합 방법에 따라 생성된 BB-03 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 99d는 BB-03 방법에 따라 생성된 BB-03 면역접합체 (BB-03)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 유효함을 나타낸다.

도 99e는 BB-03 방법에 따라 생성된 BB-03 면역접합체 (BB-03)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 99f는 BB-03 방법에 따라 생성된 BB-03 면역접합체 (BB-03)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 99g는 BB-03 방법에 따라 생성된 BB-03 면역접합체 (BB-03)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 99h는 BB-03 방법에 따라 생성된 BB-03 면역접합체 (BB-03)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 99i는 BB-03 방법에 따라 생성된 BB-03 면역접합체 (BB-03)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 100a는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-05 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 100b는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-05 접합 방법에 따라 생성된 BB-05 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 100c는 BB-05 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 100d는 BB-05 방법에 따라 생성된 BB-05 면역접합체 (BB-05)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 100e는 BB-05 방법에 따라 생성된 BB-05 면역접합체 (BB-05)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 100f는 BB-05 방법에 따라 생성된 BB-05 면역접합체 (BB-05)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 100g는 BB-05 방법에 따라 생성된 BB-05 면역접합체 (BB-05)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD16 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 100h는 BB-05 방법에 따라 생성된 BB-05 면역접합체 (BB-05)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 100i는 BB-05 방법에 따라 생성된 BB-05 면역접합체 (BB-05)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 101a는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-06 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 101b는 BB-06 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 101c는 BB-06 접합 방법에 따라 생성된 BB-06 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 102a는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-07 접합 방법에 따라 생성된 BB-07 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 102b는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-07 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 102c는 BB-07 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 102d는 BB-07 방법에 따라 생성된 BB-07 면역접합체 (BB-07)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다. 도 102d는 또한 BB-07을 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 (BB-01)와 대비한다.

도 102e는 BB-07 방법에 따라 생성된 BB-07 면역접합체 (BB-07)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다. 도 102e는 또한 BB-07을 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 (BB-01)와 대비한다.

도 102f는 BB-07 방법에 따라 생성된 BB-07 면역접합체 (BB-07)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다. 도 102f는 또한 BB-07을 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 (BB-01)와 대비한다.

도 102g는 BB-07 방법에 따라 생성된 BB-07 면역접합체 (BB-07)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD16 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다. 도 102g는 또한 BB-07을 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 (BB-01)와 대비한다.

도 102h는 BB-07 방법에 따라 생성된 BB-07 면역접합체 (BB-07)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다. 도 102h는 또한 BB-07을 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 (BB-01)와 대비한다.

도 102i는 BB-07 방법에 따라 생성된 BB-07 면역접합체 (BB-07)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다. 도 102i는 또한 BB-07을 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 (BB-01)와 대비한다.

도 102j는 BB-07 방법에 따라 생성된 BB-07 면역접합체 (BB-07)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 102k는 BB-07 방법에 따라 생성된 BB-07 면역접합체 (BB-07)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 102l은 BB-07 방법에 따라 생성된 BB-07 면역접합체 (BB-07)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD16 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 102m은 BB-07 방법에 따라 생성된 BB-07 면역접합체 (BB-07)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다. 도 102m은 또한 BB-07을 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 (BB-01)와 대비한다.

도 102n은 BB-07 방법에 따라 생성된 BB-07 면역접합체 (BB-07)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 103a는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-11 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 103b는 BB-11 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 103c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-11 접합 방법에 따라 생성된 BB-11 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 103d는 BB-11 방법에 따라 생성된 BB-11 면역접합체 (BB-11)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 103e는 BB-11 방법에 따라 생성된 BB-11 면역접합체 (BB-11)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 103f는 BB-11 방법에 따라 생성된 BB-11 면역접합체 (BB-11)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 103g는 BB-11 방법에 따라 생성된 BB-11 면역접합체 (BB-11)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD16 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 103h는 BB-11 방법에 따라 생성된 BB-11 면역접합체 (BB-11)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 103i는 BB-11 방법에 따라 생성된 BB-11 면역접합체 (BB-11)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 104a는 BB-14 PFP 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 104b는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-14 PFP 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 104c는 BB-14 PFP 접합 방법에 따라 생성된 BB-14 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 104d는 BB-14 PFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-14)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 유효함을 나타낸다.

도 104e는 BB-14 PFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-14)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 유효함을 나타낸다.

도 104f는 BB-14 PFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-14)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 상향조절을 유도하는 데 있어서 유효함을 나타낸다.

도 104g는 BB-14 PFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-14)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 상향조절을 유도하는 데 있어서 유효함을 나타낸다.

도 104h는 BB-14 PFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-14)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 유효함을 나타낸다.

도 104i는 BB-14 PFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-14)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 유효함을 나타낸다.

도 105a는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-15 NHS 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 105b는 BB-15 NHS 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 105c는 BB-15 NHS 접합 방법에 따라 생성된 BB-15 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 105d는 BB-15 NHS 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-15)가 18시간의 자극 후에, 비접합된

리톡시맵 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 105e는 BB-15 NHS 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-15)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 105f는 BB-15 NHS 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-15)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 105g는 BB-15 NHS 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-15)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 105h는 BB-15 NHS 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-15)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 105i는 BB-15 NHS 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-15)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 106a는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-17 TFP 접합 방법에 따라 생성된 BB-17 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 106b는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-17 TFP 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 106c는 BB-17 TFP 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 106d는 BB-17 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-17)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 106e는 BB-17 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-17)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 106f는 BB-17 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-17)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 106g는 BB-17 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-17)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 106h는 BB-17 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-17)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 106i는 BB-17 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-17)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 107a는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-22 SATA 접합 방법에 따라 리톡시맵 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분

석을 나타낸다.

도 107b는 BB-22 SATA 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 107c는 BB-22 SATA 접합 방법에 따라 생성된 BB-22 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 108a는 BB-24 TFP 접합 방법에 따라 생성된 BB-24 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 108b는 BB-24 TFP 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, Alphamab)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 108c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-24 TFP 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, Alphamab)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 108d는 BB-24 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-24)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 108e는 BB-24 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-24)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 108f는 BB-24 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-24)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 108g는 BB-24 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-24)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 108h는 BB-24 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-24)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 108i는 BB-24 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-24)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 109a는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-26 TFP 접합 방법에 따라 생성된 BB-26 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 109b는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-26 TFP 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 109c는 BB-26 TFP 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 109d는 BB-26 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-26)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 109e는 BB-26 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-26)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 109f는 BB-26 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-26)가 18시간의 자극 후에, 비접합된

리톡시맙 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 109g는 BB-26 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-26)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 110a는 BB-27 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-27)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 110b는 BB-27 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-27)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 110c는 BB-27 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-27)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 110d는 BB-27 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-27)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 110e는 BB-27 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-27)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 110f는 BB-27 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-27)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, LGM Pharma)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 110g는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-27 TFP 접합 방법에 따라 생성된 BB-27 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 110h는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-27 TFP 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 110i는 BB-27 TFP 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 111a는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-36 TFP 접합 방법에 따라 생성된 BB-36 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 111b는 BB-36 TFP 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, Alphamab)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 111c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-36 TFP 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, Alphamab)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 111d는 BB-36 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-36)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 111e는 BB-36 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-36)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 111f는 BB-36 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-36)가 18시간의 자극 후에, 비접합된

리톡시맙 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 111g는 BB-36 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-36)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 111h는 BB-36 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-36)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 111i는 BB-36 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-36)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 112a는 BB-37 TFP 접합 방법에 따라 생성된 BB-37 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 112b는 BB-37 TFP 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, Alphamab)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 112c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-37 TFP 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, Alphamab)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 112d는 BB-37 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-37)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 112e는 BB-37 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-37)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 112f는 BB-37 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-37)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 112g는 BB-37 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-37)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 112h는 BB-37 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-37)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 112i는 BB-37 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-37)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맙 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 113a는 BB-45 TFP 접합 방법에 따라 생성된 BB-45 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 113b는 BB-45 TFP 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, Alphamab)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 113c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-45 TFP 접합 방법에 따라 리톡시맙 면역접합체를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20, Alphamab)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 113d는 BB-45 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맙 면역접합체 (BB-45)가 18시간의 자극 후에, 비접합된

리톡시맵 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 113e는 BB-45 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-45)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 113f는 BB-45 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-45)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 113g는 BB-45 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-45)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 113h는 BB-45 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-45)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 113i는 BB-45 TFP 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵 면역접합체 (BB-45)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20, Alphamab)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 114a는 비접합된 CD40 단일클론 항체 (Bioxcell, BE0016-2)의 중쇄의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 114b는 비접합된 CD40 단일클론 항체 (Bioxcell, BE0016-2)의 경쇄의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 114c는 미국 특허 출원 공개 제2017/0158772호에 따라 생성된 CD40 면역접합체의 중쇄의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 114d는 미국 특허 출원 공개 제2017/0158772호에 따라 생성된 CD40 면역접합체의 경쇄의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 115a는 비접합된 CD40 단일클론 항체 (Bioxcell, BE0016-2)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 115b는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 CD40 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 116a는 비접합된 CLEC5a 단일클론 항체 (R&D Systems, mab1639)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 116b는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 CLEC5a 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 117a는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 CL264 면역접합체에 대한 개략도를 도시한다.

도 117b는 에스테르 합성 방법에 따라 생성된 CL264 면역접합체에 대한 개략도를 도시한다.

도 118a는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL307 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포 상에서 CD123을 상향조절함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 118b는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL307 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포 상에서 HLA-DR을 상향조절함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 118c는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL307 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포 상에서 CD14를 하향조절함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 세포 상에서의 발

현 수준을 나타낸다.

도 118d는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL307 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포 상에서 CD16을 하향조절을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 118e는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL307 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포 상에서 CD40을 상향조절을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 118f는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL307 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포 상에서 CD86을 상향조절을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 118g는 리톡시맵-CL307을 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 118h는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, 리톡시맵-CL307을 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 118i는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL307 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 118j는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL307 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 119a는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL419 면역접합체 (리톡시맵-CL419 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 IL-1 β 분비를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 119b는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL419 면역접합체 (리톡시맵-CL419 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 TNF α 분비를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 119c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, 리톡시맵-CL419를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 119d는 리톡시맵-CL419를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 119e는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL419 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 119f는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL419 면역접합체 (CL419 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 119g는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL419 면역접합체 (CL419 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 119h는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL419 면역접합체 (CL419 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 119i는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL419 면역접합체 (CL419 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 120a는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL572 면역접합체 (리톡시맵-CL572 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 IL-1 β 분비를 유도하는 데 있어서 월등함을

나타낸다.

도 120b는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL572 면역접합체 (리톡시맵-CL572 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 TNF α 분비를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 120c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, 리톡시맵-CL572를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 120d는 리톡시맵-CL572를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 120e는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL572 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 120f는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL572 면역접합체 (CL572 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 120g는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL572 면역접합체 (CL572 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 120h는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL572 면역접합체 (CL572 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 120i는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-CL572 면역접합체 (CL572 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 121a는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-Pam2CSK4 면역접합체 (리톡시맵-Pam2CSK4 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 IL-1 β 분비를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 121b는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-Pam2CSK4 면역접합체 (리톡시맵-Pam2CSK4 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 TNF α 분비를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 121c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, 리톡시맵-Pam2CSK4를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 121d는 리톡시맵-Pam2CSK4를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 121e는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-Pam2CSK4 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 121f는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-Pam2CSK4 면역접합체 (Pam2CSK4 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 121g는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-Pam2CSK4 면역접합체 (Pam2CSK4 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 121h는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-Pam2CSK4 면역접합체 (Pam2CSK4 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 122a는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-Pam3CSK4 면역접합체 (리톡시맵-Pam3CSK4 볼트바디)가 36시간의

자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 IL-1 β 분비를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 122b는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-Pam3CSK4 면역접합체 (리톡시맵-Pam3CSK4 볼트바디)가 36시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (Roche)과 대비하여 골수성 세포로부터 TNF α 분비를 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 122c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, 리톡시맵-Pam3CSK4를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 122d는 리톡시맵-Pam3CSK4를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 122e는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-Pam3CSK4 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 122f는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-Pam3CSK4 면역접합체 (Pam3CSK4 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 122g는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-Pam3CSK4 면역접합체 (Pam3CSK4 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 122h는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-Pam3CSK4 면역접합체 (Pam3CSK4 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 122i는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-Pam3CSK4 면역접합체 (Pam3CSK4 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 (CD20; Roche)과 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 123a는 TFP 접합 방법에 따라 생성된 BB-43 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 123b는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-43을 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 123c는 BB-43을 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 123d는 TFP 방법에 따라 생성된 BB-43 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 123e는 TFP 방법에 따라 생성된 BB-43 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 123f는 TFP 방법에 따라 생성된 BB-43 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 123g는 TFP 방법에 따라 생성된 BB-43 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 123h는 TFP 방법에 따라 생성된 BB-43 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 123i는 TFP 방법에 따라 생성된 BB-43 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 124a는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-SATA-T782 면역접합체 (리톡시맵-SATA-T782 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포로부터 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 124b는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, 리톡시맵-SATA-T782를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 124c는 리톡시맵-SATA-T782를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 124d는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-SATA-T782의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 124e는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-SATA-T782 면역접합체 (리톡시맵-SATA-T782)가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포 상에서 CD123을 상향조절함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 124f는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-SATA-T782 면역접합체 (리톡시맵-SATA-T782)가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포 상에서 HLA-DR을 상향조절함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 124g는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-SATA-T782 면역접합체 (리톡시맵-SATA-T782)가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포 상에서 CD14를 하향조절함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 124h는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-SATA-T782 면역접합체 (리톡시맵-SATA-T782)가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포 상에서 CD16을 하향조절함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 124i는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-SATA-T782 면역접합체 (리톡시맵-SATA-T782)가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포 상에서 CD40을 상향조절함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 124j는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-SATA-T782 면역접합체 (리톡시맵-SATA-T782)가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포 상에서 CD86을 상향조절함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 125a는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-SATP-T782 면역접합체 (리톡시맵-SATP-T782 볼트바디)가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포로부터 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 125b는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, 리톡시맵-SATP-T782를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 125c는 리톡시맵-SATP-T782를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 125d는 BB-01 방법에 따라 생성된 리톡시맵-SATP-T782의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 125e는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-SATP-T782 면역접합체 (리톡시맵-SATP-T782)가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포 상에서 CD123을 상향조절함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 125f는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-SATP-T782 면역접합체 (리톡시맵-SATP-T782)가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포 상에서 HLA-DR을 상향조절함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 125g는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-SATP-T782 면역접합체 (리톡시맵-SATP-T782)가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포 상에서 CD14를 하향조절함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 125h는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-SATP-T782 면역접합체 (리톡시맵-SATP-T782)가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포 상에서 CD16을 하향조절함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 125i는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-SATP-T782 면역접합체 (리톡시맵-SATP-T782)가 18시간의 자

극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포 상에서 CD40을 상향조절함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 125j는 BB-01 접합 방법에 따라 생성된 리톡시맵-SATP-T782 면역접합체 (리톡시맵-SATP-T782)가 18시간의 자극 후에, 용량-의존적 방식으로 골수성 세포 상에서 CD86을 상향조절함을 나타낸다. 파선은 18시간 동안 배양된 비자극 골수성 세포 상에서의 발현 수준을 나타낸다.

도 126a는 PNGase F에 의한 하룻밤 접합 후의, SATA 접합 방법에 따라 생성된 BB-12 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 126b는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-12를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 126c는 BB-12를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맵 바이오시밀러 (LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 126d는 SATA 방법에 따라 생성된 BB-12 면역접합체가 18시간의 자극 후에, CD123 상향조절을 유도하지 못함을 나타낸다. 도 126d는 또한 SATA 방법에 따라 생성된 BB-11 면역접합체가 BB-12 및 등물 농도의 혼합물 (CD20 + IRM1)과 대비하여 CD123 상향조절을 유도하는 데 월등함을 나타낸다. BB-11과 BB-12는 동일한 링커를 사용하여 작제되지만, 별개의 애주번트를 가짐에 유의하여야 한다.

도 126e는 SATA 방법에 따라 생성된 BB-12 면역접합체가 18시간의 자극 후에, HLA-DR 상향조절을 유도하지 못함을 나타낸다. 도 126e는 또한 SATA 방법에 따라 생성된 BB-11 면역접합체가 BB-12 및 등물 농도의 혼합물 (CD20 + IRM1)과 대비하여 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 월등함을 나타낸다. BB-11과 BB-12는 동일한 링커를 사용하여 작제되지만, 별개의 애주번트를 가짐에 유의하여야 한다.

도 126f는 SATA 방법에 따라 생성된 BB-12 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 등물 농도의 혼합물 (CD20 + IRM1)과 대비하여 CD14 하향조절을 유도하지 못함을 나타낸다. 도 126f는 또한 SATA 방법에 따라 생성된 BB-11 면역접합체가 BB-12 및 등물 농도의 혼합물 (CD20 + IRM1)과 대비하여 CD14 하향조절을 유도하는 데 월등함을 나타낸다. BB-11과 BB-12는 동일한 링커를 사용하여 작제되지만, 별개의 애주번트를 가짐에 유의하여야 한다.

도 126g는 또한 SATA 방법에 따라 생성된 BB-11 면역접합체가 BB-12 및 등물 농도의 혼합물 (CD20 + IRM1)과 대비하여 CD16 하향조절을 유도하는 데 월등함을 나타낸다. BB-11과 BB-12는 동일한 링커를 사용하여 작제되지만, 별개의 애주번트를 가짐에 유의하여야 한다.

도 126h는 SATA 방법에 따라 생성된 BB-12 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 등물 농도의 혼합물 (CD20 + IRM1)과 대비하여 CD40 상향조절을 유도하지 못함을 나타낸다. 도 126h는 또한 SATA 방법에 따라 생성된 BB-11 면역접합체가 BB-12 및 등물 농도의 혼합물 (CD20 + IRM1)과 대비하여 CD40 상향조절을 유도하는 데 월등함을 나타낸다. BB-11과 BB-12는 동일한 링커를 사용하여 작제되지만, 별개의 애주번트를 가짐에 유의하여야 한다.

도 126i는 SATA 방법에 따라 생성된 BB-12 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 등물 농도의 혼합물 (CD20 + IRM1)과 대비하여 CD86 상향조절을 유도하지 못함을 나타낸다. 도 126i는 또한 SATA 방법에 따라 생성된 BB-11 면역접합체가 BB-12 및 등물 농도의 혼합물 (CD20 + IRM1)과 대비하여 CD86 상향조절을 유도하는 데 월등함을 나타낸다. BB-11과 BB-12는 동일한 링커를 사용하여 작제되지만, 별개의 애주번트를 가짐에 유의하여야 한다.

도 126j는 BB-12에 의한 18시간의 자극 후의 CD123 발현을 나타낸다. 파선은 18시간의 인큐베이션 후의 비자극 세포 상에서의 CD123 발현의 수준을 나타낸다.

도 126k는 BB-12에 의한 18시간의 자극 후의 HLA-DR 발현을 나타낸다. 파선은 18시간의 인큐베이션 후의 비자극 세포 상에서의 HLA-DR 발현의 수준을 나타낸다.

도 126l은 BB-12에 의한 18시간의 자극 후의 CD14 발현을 나타낸다. 파선은 18시간의 인큐베이션 후의 비자극 세포 상에서의 CD14 발현의 수준을 나타낸다.

도 126m은 BB-12에 의한 18시간의 자극 후의 CD16 발현을 나타낸다. 파선은 18시간의 인큐베이션 후의 비자극 세포 상에서의 CD16 발현의 수준을 나타낸다.

도 126n은 BB-12에 의한 18시간의 자극 후의 CD40 발현을 나타낸다. 파선은 18시간의 인큐베이션 후의 비자극 세포 상에서의 CD40 발현의 수준을 나타낸다.

도 126o는 BB-12에 의한 18시간의 자극 후의 CD86 발현을 나타낸다. 파선은 18시간의 인큐베이션 후의 비자극 세포 상에서의 CD86 발현의 수준을 나타낸다.

도 127a는 PNGase에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, SATA 접합 방법에 따라 생성된 BB-10 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 127b는 BB-10을 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 127c는 PNGase F에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-10을 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 127d는 SATA 방법에 따라 생성된 BB-10 면역접합체가 18시간의 자극 후에, CD123 상향조절을 유도하지 못함을 나타낸다. 도 127d는 또한 SATA 방법에 따라 생성된 BB-05 면역접합체가 BB-10 및 등물 농도의 혼합물 (CD20 + IRM1)과 대비하여 CD123 상향조절을 유도하는 데 월등함을 나타낸다. BB-05와 BB-10은 동일한 링커를 사용하여 작제되지만, 별개의 애주번트를 가짐에 유의하여야 한다.

도 127e는 SATA 방법에 따라 생성된 BB-10 면역접합체가 18시간의 자극 후에, HLA-DR 상향조절을 유도하지 못함을 나타낸다. 도 127e는 또한 SATA 방법에 따라 생성된 BB-05 면역접합체가 BB-10 및 등물 농도의 혼합물 (CD20 + IRM1)과 대비하여 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 월등함을 나타낸다. BB-05와 BB-10은 동일한 링커를 사용하여 작제되지만, 별개의 애주번트를 가짐에 유의하여야 한다.

도 127f는 SATA 방법에 따라 생성된 BB-10 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 등물 농도의 혼합물 (CD20 + IRM1)과 대비하여 CD14 하향조절을 유도하지 못함을 나타낸다. 도 127f는 또한 SATA 방법에 따라 생성된 BB-05 면역접합체가 BB-10 및 등물 농도의 혼합물 (CD20 + IRM1)과 대비하여 CD14 하향조절을 유도하는 데 월등함을 나타낸다. BB-05와 BB-10은 동일한 링커를 사용하여 작제되지만, 별개의 애주번트를 가짐에 유의하여야 한다.

도 127g는 SATA 방법에 따라 생성된 BB-05 면역접합체가 BB-10 및 등물 농도의 혼합물 (CD20 + IRM1)과 대비하여 CD16 하향조절을 유도하는 데 월등함을 나타낸다. BB-05와 BB-10은 동일한 링커를 사용하여 작제되지만, 별개의 애주번트를 가짐에 유의하여야 한다.

도 127h는 SATA 방법에 따라 생성된 BB-10 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 등물 농도의 혼합물 (CD20 + IRM1)과 대비하여 CD40 상향조절을 유도하지 못함을 나타낸다. 도 127h는 또한 SATA 방법에 따라 생성된 BB-05 면역접합체가 BB-10 및 등물 농도의 혼합물 (CD20 + IRM1)과 대비하여 CD40 상향조절을 유도하는 데 월등함을 나타낸다. BB-05와 BB-10은 동일한 링커를 사용하여 작제되지만, 별개의 애주번트를 가짐에 유의하여야 한다.

도 127i는 SATA 방법에 따라 생성된 BB-10 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 등물 농도의 혼합물 (CD20 + IRM1)과 대비하여 CD86 상향조절을 유도하지 못함을 나타낸다. 도 127i는 또한 SATA 방법에 따라 생성된 BB-05 면역접합체가 BB-10 및 등물 농도의 혼합물 (CD20 + IRM1)과 대비하여 CD86 상향조절을 유도하는 데 월등함을 나타낸다. BB-05와 BB-10은 동일한 링커를 사용하여 작제되지만, 별개의 애주번트를 가짐에 유의하여야 한다.

도 127j는 BB-10에 의한 18시간의 자극 후의 CD123 발현을 나타낸다. 파선은 18시간의 인큐베이션 후의 비자극 세포 상에서의 CD123 발현의 수준을 나타낸다.

도 127k는 BB-10에 의한 18시간의 자극 후의 HLA-DR 발현을 나타낸다. 파선은 18시간의 인큐베이션 후의 비자극 세포 상에서의 HLA-DR 발현의 수준을 나타낸다.

도 127l은 BB-10에 의한 18시간의 자극 후의 CD14 발현을 나타낸다. 파선은 18시간의 인큐베이션 후의 비자극 세포 상에서의 CD14 발현의 수준을 나타낸다.

도 127m은 BB-10에 의한 18시간의 자극 후의 CD16 발현을 나타낸다. 파선은 18시간의 인큐베이션 후의 비자극 세포 상에서의 CD16 발현의 수준을 나타낸다.

도 127n은 BB-10에 의한 18시간의 자극 후의 CD40 발현을 나타낸다. 파선은 18시간의 인큐베이션 후의 비자극 세포 상에서의 CD40 발현의 수준을 나타낸다.

도 127o는 BB-10에 의한 18시간의 자극 후의 CD86 발현을 나타낸다. 파선은 18시간의 인큐베이션 후의 비자극 세포 상에서의 CD40 발현의 수준을 나타낸다.

도 128a는 BB-01 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 미국 특허 제8,951,528호에 개시

된 방법에 따라 생성된 등몰 농도의 BB-19 및 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 128b는 BB-01 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 등몰 농도의 BB-19 및 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 128c는 등몰 농도의 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma) 또는 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-19와의 18시간의 인큐베이션 후의 골수성 세포로부터의 IL-1 β 분비를 나타낸다.

도 128d는 등몰 농도의 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma) 또는 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-19와의 18시간의 인큐베이션 후의 골수성 세포로부터의 TNF α 분비를 나타낸다.

도 128e는 PNGase에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-19의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 128f는 PNGase에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-19를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 128g는 BB-19를 생성하는 데 이용된 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 128h는 BB-01 방법에 따라 생성된 BB-01이 18시간의 자극 후에, 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-19 및 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 128i는 BB-01 방법에 따라 생성된 BB-01이 18시간의 자극 후에, 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-19 및 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 128j는 BB-01 방법에 따라 생성된 BB-01이 18시간의 자극 후에, 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-19 및 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 128k는 BB-01 방법에 따라 생성된 BB-01이 18시간의 자극 후에, 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-19 및 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 128l은 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-19 면역접합체가 18시간의 자극 후에, CD40 상향조절을 유도하지 못함을 보여준다. 도 128l은 또한 BB-01 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체가 BB-19 및 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)와 대비하여 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 128m는 BB-01 방법에 따라 생성된 BB-01이 18시간의 자극 후에, 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-19 및 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 128n은 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-19 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다.

도 128o는 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-19 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다.

도 128p는 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-19 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다.

도 128q는 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-19 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD16 발현을 나타낸다.

도 128r은 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-19 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바

이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다.

도 128s는 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-19 면역접합체 또는 비접합된 리툽시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다.

도 129a는 BB-01 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 등물 농도의 BB-20 및 비접합된 리툽시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 IL-1 β 분비를 유도함을 나타낸다.

도 129b는 BB-01 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체가 18시간의 자극 후에, 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 등물 농도의 BB-20 및 비접합된 리툽시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포로부터 월등한 TNF α 분비를 유도함을 나타낸다.

도 129c는 등물 농도의 비접합된 리툽시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma) 또는 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-20과의 18시간의 인큐베이션 후의 골수성 세포로부터의 IL-1 β 분비를 나타낸다.

도 129d는 등물 농도의 비접합된 리툽시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma) 또는 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-20과의 18시간의 인큐베이션 후의 골수성 세포로부터의 TNF α 분비를 나타낸다.

도 129e는 PNGase에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-20의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 129f는 PNGase에 의한 하룻밤 탈글리코실화 후의, BB-20을 생성하는 데 이용된 비접합된 리툽시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 129g는 BB-20을 생성하는 데 이용된 비접합된 리툽시맙 바이오시밀러 (LGM Pharma)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 129h는 BB-01 방법에 따라 생성된 BB-01이 18시간의 자극 후에, 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-20 및 비접합된 리툽시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 129i는 BB-01 방법에 따라 생성된 BB-01이 18시간의 자극 후에, 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-20 및 비접합된 리툽시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 HLA-DR 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 129j는 BB-01 방법에 따라 생성된 BB-01이 18시간의 자극 후에, 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-20 및 비접합된 리툽시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 129k는 BB-01 방법에 따라 생성된 BB-01이 18시간의 자극 후에, 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-20 및 비접합된 리툽시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 129l은 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-20 면역접합체가 18시간의 자극 후에, CD40 상향조절을 유도하지 못함을 보여준다. 도 129l은 또한 BB-01 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체가 BB-20 및 비접합된 리툽시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)와 대비하여 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 129m은 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-20 면역접합체가 18시간의 자극 후에, CD86 상향조절을 유도하지 못함을 보여준다. 도 129m은 또한 BB-01 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체가 BB-20 및 비접합된 리툽시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)와 대비하여 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다.

도 129n은 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-20 면역접합체 또는 비접합된 리툽시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다.

도 129o는 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-20 면역접합체 또는 비접합된 리툽시맙 바이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다.

도 129p는 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-20 면역접합체 또는 비접합된 리툽시맙 바

- 이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다.
- 도 129q는 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-20 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바 이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD16 발현을 나타낸다.
- 도 129r은 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-20 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바 이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다.
- 도 129s는 미국 특허 제8,951,528호에 개시된 방법에 따라 생성된 BB-20 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바 이오시밀러 (CD20; LGM Pharma)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다.
- 도 130a는 등몰 농도의 소혈청 알부민 (BSA) 또는 BB-37 TFP 방법에 따라 생성된 BSA 면역접합체 (BSA-화합물 1)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다.
- 도 130b는 등몰 농도의 소혈청 알부민 (BSA) 또는 BB-37 TFP 방법에 따라 생성된 BSA 면역접합체 (BSA-화합물 1)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD16 발현을 나타낸다.
- 도 130c는 등몰 농도의 소혈청 알부민 (BSA) 또는 BB-37 TFP 방법에 따라 생성된 BSA 면역접합체 (BSA-화합물 1)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다.
- 도 130d는 등몰 농도의 소혈청 알부민 (BSA) 또는 BB-37 TFP 방법에 따라 생성된 BSA 면역접합체 (BSA-화합물 1)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다.
- 도 130e는 등몰 농도의 소혈청 알부민 (BSA) 또는 BB-37 TFP 방법에 따라 생성된 BSA 면역접합체 (BSA-화합물 1)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다.
- 도 130f는 등몰 농도의 소혈청 알부민 (BSA) 또는 BB-37 TFP 방법에 따라 생성된 BSA 면역접합체 (BSA-화합물 1)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLR-DR 발현을 나타낸다.
- 도 130g는 등몰 농도의 소혈청 알부민 (BSA) 또는 BB-37 TFP 방법에 따라 생성된 BSA 면역접합체 (BSA-화합물 1)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다.
- 도 130h는 네이키드 BSA-M의 LC-MS를 나타낸다.
- 도 131a는 등몰 농도의 키홀 림펫 헤모시아닌 (KLH) 또는 BB-17 TFP 방법에 따라 생성된 KLH 면역접합체 (KLH-화합물 1)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다.
- 도 131b는 등몰 농도의 키홀 림펫 헤모시아닌 (KLH) 또는 BB-17 TFP 방법에 따라 생성된 KLH 면역접합체 (KLH-화합물 1)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD16 발현을 나타낸다.
- 도 131c는 등몰 농도의 키홀 림펫 헤모시아닌 (KLH) 또는 BB-17 TFP 방법에 따라 생성된 KLH 면역접합체 (KLH-화합물 1)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다.
- 도 131d는 등몰 농도의 키홀 림펫 헤모시아닌 (KLH) 또는 BB-17 TFP 방법에 따라 생성된 KLH 면역접합체 (KLH-화합물 1)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다.
- 도 131e는 등몰 농도의 키홀 림펫 헤모시아닌 (KLH) 또는 BB-17 TFP 방법에 따라 생성된 KLH 면역접합체 (KLH-화합물 1)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다.
- 도 131f는 등몰 농도의 키홀 림펫 헤모시아닌 (KLH) 또는 BB-17 TFP 방법에 따라 생성된 KLH 면역접합체 (KLH-화합물 1)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다.
- 도 132a는 Enbrel (Amgen), 및 BB-01 접합 방법을 사용하여 생성된 Enbrel 면역접합체 (BB-01 Enbrel)가 항-인간 IgG 코팅된 ELISA 플레이트 상에 포획될 때 항-인간 IgG 검출 항체와 비견되는 반응성을 나타냄을 보여준다.
- 도 132b는 BB-01 접합 방법을 사용하여 생성된 Enbrel 면역접합체 (BB-01 Enbrel)는 항-인간 IgG 코팅된 ELISA 플레이트 상에의 포획 후에 항-화합물 1 항체와 강한 반응성을 나타내지만, Enbrel (Amgen)은 그렇지 않음을 보여준다.
- 도 132c는 세톡시맙 (Imclone/Lilly), 및 BB-01 접합 방법을 사용하여 생성된 세톡시맙 면역접합체 (BB-01 세톡시맙)가 항-인간 IgG 코팅된 ELISA 플레이트 상에 포획될 때 항-인간 IgG 검출 항체와 비견되는 반응성을 나타냄을 보여준다.

도 132d는 BB-01 접합 방법을 사용하여 생성된 세특시맵 면역접합체 (BB-01 세특시맵)는 항-인간 IgG 코팅된 ELISA 플레이트 상에의 포획 후에 항-화합물 1 항체와 강한 반응성을 나타내지만, 세특시맵 (Imclone/Lilly)은 그렇지 않음을 보여준다.

도 132e는 이필리무맵 (BMS), 및 BB-01 접합 방법을 사용하여 생성된 이필리무맵 면역접합체 (BB-01 이필리무맵)가 항-인간 IgG 코팅된 ELISA 플레이트 상에 포획될 때 항-인간 IgG 검출 항체와 비견되는 반응성을 나타냄을 보여준다.

도 132f는 BB-01 접합 방법을 사용하여 생성된 이필리무맵 면역접합체 (BB-01 이필리무맵)는 항-인간 IgG 코팅된 ELISA 플레이트 상에의 포획 후에 항-화합물 1 항체와 강한 반응성을 나타내지만, 이필리무맵 (BMS)은 그렇지 않음을 보여준다.

도 132g는 오비누투주맵 (Roche), 및 BB-01 접합 방법을 사용하여 생성된 오비누투주맵 면역접합체 (BB-01 오비누투주맵)가 항-인간 IgG 코팅된 ELISA 플레이트 상에 포획될 때 항-인간 IgG 검출 항체와 비견되는 반응성을 나타냄을 보여준다.

도 132h는 BB-01 접합 방법을 사용하여 생성된 오비누투주맵 면역접합체 (BB-01 오비누투주맵)는 항-인간 IgG 코팅된 ELISA 플레이트 상에의 포획 후에 항-화합물 1 항체와 강한 반응성을 나타내지만, 오비누투주맵 (Roche)은 그렇지 않음을 보여준다.

도 132i는 리특시맵 (Roche), 및 BB-01 접합 방법을 사용하여 생성된 리특시맵 면역접합체 (BB-01 리특시맵)가 항-인간 IgG 코팅된 ELISA 플레이트 상에 포획될 때 항-인간 IgG 검출 항체와 비견되는 반응성을 나타냄을 보여준다.

도 132j는 BB-01 접합 방법을 사용하여 생성된 리특시맵 면역접합체 (BB-01 리특시맵)는 항-인간 IgG 코팅된 ELISA 플레이트 상에의 포획 후에 항-화합물 1 항체와 강한 반응성을 나타내지만, 리특시맵 (Roche)은 그렇지 않음을 보여준다.

도 132k는 항-텍틴 2 항체 (Biorad MCA2415), 및 BB-01 접합 방법을 사용하여 생성된 항-텍틴 2 면역접합체 (BB-01 항-텍틴 2)가 ELISA 플레이트 상에 코팅될 때 IgG 검출 항체와 비견되는 반응성을 나타냄을 보여준다.

도 132l은 BB-01 접합 방법을 사용하여 생성된 항-텍틴 2 면역접합체 (BB-01 항-텍틴 2)는 ELISA 검정에 의해 항-화합물 1 항체와 강한 반응성을 나타내지만, 항-텍틴 2 항체는 그렇지 않음을 보여준다.

도 133a는 리특시맵 면역접합체 (리특시맵 BB-01)가 CD16a에 대하여 결합 활성을 보유함을 나타낸다. 실시예 29에 기재된 바와 같이 ELISA에 의해 결합을 검정하였다. 화합물은 리특시맵, 어글리코실(aglycosyl) 리특시맵 (Invivogen hcd20-mab12), 또는 리특시맵 면역접합체 (리특시맵 BB-01)이다. 리특시맵 접합체에 대한 DAR 수준은 하기와 같았다: BB-01, 1.1; BB-14, 2.0; BB-36, 낮은 DAR, 1.4; BB36, 높은 DAR, 2.8; BB37, 낮은 DAR, 1.7; BB-37, 높은 DAR, 2.6. Y 축은 각각의 샘플에 대하여 최고 농도에서의 최대 OD 신호의 분율을 나타낸다. 리특시맵의 어글리코실 돌연변이체는 감소된 결합을 나타내는데, 이는 이펙터 기능의 글리코실화의 역할과 일치한다.

도 133b는 리특시맵 (Roche), 및 BB-01 접합 방법을 사용하여 생성된 리특시맵 면역접합체 (BB-01 리특시맵)가 ELISA 플레이트 상에 고정화된 CD64에 대하여 비견되는 결합을 나타냄을 보여준다. 리특시맵은 PNGase F의 사용으로 탈글리코실화되었으며, CD64에 대한 손상된 결합을 나타낸다.

도 133c는 리특시맵, 및 리특시맵 면역접합체 (리특시맵 BB-37)가 단백질 A에 결합함을 나타낸다. 2개의 반복 샘플을 단백질 A 세파로스를 사용하여 풀다운을 거쳤다. 결합되지 않은 리특시맵 또는 리특시맵 BB-37은 풀다운 상층액에서 검출되지 않았다. IgG 상의 FcRN 결합 부위와 단백질 A의 상당한 중첩이 있다. 따라서, 리특시맵 BB-37에서의 단백질 A 결합의 보존은 FcRN 결합의 보존을 시사한다.

도 134a는 BB-48 방법에 따라 생성된 BB-48 면역접합체 또는 비접합된 리특시맵 바이오시밀러 (CD20; Alphama b)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다.

도 134b는 BB-48 방법에 따라 생성된 BB-48 면역접합체 또는 비접합된 리특시맵 바이오시밀러 (CD20; Alphama b)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다.

도 134c는 BB-48 방법에 따라 생성된 BB-48 면역접합체 또는 비접합된 리특시맵 바이오시밀러 (CD20; Alphama

b)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다.

도 134d는 BB-48 방법에 따라 생성된 BB-48 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; Alphama b)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD16 발현을 나타낸다.

도 134e는 BB-48 방법에 따라 생성된 BB-48 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; Alphama b)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다.

도 134f는 BB-48 방법에 따라 생성된 BB-48 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; Alphama b)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다.

도 134g는 BB-48 방법에 따라 생성된 BB-48 면역접합체에 대한 LC-MS를 나타낸다.

도 135a는 BB-49 방법에 따라 생성된 BB-49 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; Alphama b)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다.

도 135b는 BB-49 방법에 따라 생성된 BB-49 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; Alphama b)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다.

도 135c는 BB-49 방법에 따라 생성된 BB-49 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; Alphama b)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다.

도 135d는 BB-49 방법에 따라 생성된 BB-49 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; Alphama b)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD16 발현을 나타낸다.

도 135e는 BB-49 방법에 따라 생성된 BB-49 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; Alphama b)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다.

도 135f는 BB-49 방법에 따라 생성된 BB-49 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; Alphama b)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다.

도 135g는 BB-49 방법에 따라 생성된 BB-49 면역접합체에 대한 LC-MS를 나타낸다.

도 136a는 BB-50 방법에 따라 생성된 BB-50 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; Alphama b)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD123 발현을 나타낸다.

도 136b는 BB-50 방법에 따라 생성된 BB-50 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; Alphama b)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 HLA-DR 발현을 나타낸다.

도 136c는 BB-50 방법에 따라 생성된 BB-50 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; Alphama b)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD14 발현을 나타낸다.

도 136d는 BB-50 방법에 따라 생성된 BB-50 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; Alphama b)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD16 발현을 나타낸다.

도 136e는 BB-50 방법에 따라 생성된 BB-50 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; Alphama b)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD40 발현을 나타낸다.

도 136f는 BB-50 방법에 따라 생성된 BB-50 면역접합체 또는 비접합된 리톡시맙 바이오시밀러 (CD20; Alphama b)에 의한 18시간의 자극 후의 골수성 세포 상에서의 CD86 발현을 나타낸다.

도 136g는 BB-50 방법에 따라 생성된 BB-50 면역접합체에 대한 LC-MS를 나타낸다.

도 137a는 BB-01 SATA 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 (리톡시맙 볼트바디)가 SMCC-Cmpd1을 통한 TCEP 환원 후에 사슬간 이황화물 잔기를 통해 접합된 리톡시맙 면역접합체 (리톡시맙-Cys-Cmpd1)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD14 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다. 리톡시맙 볼트바디 또는 리톡시맙-Cys-Cmpd1과 18시간 인큐베이션 후에 데이터를 획득하였다.

도 137b는 BB-01 SATA 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 (리톡시맙 볼트바디)가 SMCC-Cmpd1을 통한 TCEP 환원 후에 사슬간 이황화물 잔기를 통해 접합된 리톡시맙 면역접합체 (리톡시맙-Cys-Cmpd1)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD16 하향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다. 리톡시맙 볼트바디 또는 리톡시맙-Cys-Cmpd1과 18시간 인큐베이션 후에 데이터를 획득하였다.

도 137c는 BB-01 SATA 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 (리투시맙 볼트바디)가 SMCC-Cmpd1을 통한 TCEP 환원 후에 사슬간 이황화물 잔기를 통해 접합된 리투시맙 면역접합체 (리투시맙-Cys-Cmpd1)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD40 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다. 리투시맙 볼트바디 또는 리투시맙-Cys-Cmpd1과 18시간 인큐베이션 후에 데이터를 획득하였다.

도 137d는 BB-01 SATA 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 (리투시맙 볼트바디)가 SMCC-Cmpd1을 통한 TCEP 환원 후에 사슬간 이황화물 잔기를 통해 접합된 리투시맙 면역접합체 (리투시맙-Cys-Cmpd1)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD86 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다. 리투시맙 볼트바디 또는 리투시맙-Cys-Cmpd1과 18시간 인큐베이션 후에 데이터를 획득하였다.

도 137e는 BB-01 SATA 방법에 따라 생성된 BB-01 면역접합체 (리투시맙 볼트바디)가 SMCC-Cmpd1을 통한 TCEP 환원 후에 사슬간 이황화물 잔기를 통해 접합된 리투시맙 면역접합체 (리투시맙-Cys-Cmpd1)와 대비하여 골수성 세포 상에서 CD123 상향조절을 유도하는 데 있어서 월등함을 나타낸다. 리투시맙 볼트바디 또는 리투시맙-Cys-Cmpd1과 18시간 인큐베이션 후에 데이터를 획득하였다.

도 137f는 리투시맙-Cys-Cmpd1 면역접합체를 생성하는 데 이용된 TCEP에 의한 환원 후의 비접합된 리투시맙 (Roche)의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 137g는 리투시맙-Cys-Cmpd1 면역접합체를 생성하는 데 이용된 TCEP에 의한 환원 후의 비접합된 리투시맙 (Roche)의 경쇄의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 137h는 리투시맙-Cys-Cmpd1 면역접합체의 중쇄의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 137i는 리투시맙-Cys-Cmpd1 면역접합체의 중쇄의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 138a는 야생형 리투시맙의 중쇄를 인코딩하는 백터에 대한 DNA 서열을 나타낸다.

도 138b는 V205C 돌연변이 (카바트(Kabat) 넘버링을 사용하여 표기됨)를 갖는 리투시맙의 카파 경쇄를 인코딩하는 백터에 대한 DNA 서열을 나타낸다.

도 138c는 야생형 리투시맙 IgG1 중쇄를 인코딩하는 pFUSE-CHIg-hG1 클로닝 플라스미드 (Invivogen, pfuse-hchg1)에 대한 백터 맵을 나타낸다.

도 138d는 리투시맙 Ig 카파 경쇄의 불변 영역 내의 V205C 돌연변이를 인코딩하도록 조작된 pFUSE2-CLIg-hK 클로닝 플라스미드 (Invivogen, pfuse2-hcl1k)에 대한 백터 맵을 나타낸다.

도 138e는 도 138d에 나타난 바와 같은 조작된 시스테인 잔기에 대한 화합물 1-SMCC의 직접 결합에 의해 생성된 리투시맙-V205C 면역접합체의 구조를 나타낸다.

도 138f는 리투시맙-V205C 면역접합체를 생성하는 데 이용된 V205C 돌연변이를 함유하는 비접합된 리투시맙의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

도 138g는 도 138d에 나타난 바와 같은 조작된 시스테인 잔기에 대한 화합물 1-SMCC의 직접 결합에 의해 생성된 리투시맙-V205C 면역접합체의 액체 크로마토그래피-질량 분석의 분석을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0009] **총론**

[0010] 본 발명은 다수의 이점을 갖는 항체-애주버트 면역접합체를 제공하며, 상기 면역접합체는 항체-의존성 세포성 세포독성을 촉진하는 항체, 항체-의존성 세포 식작용 및 면역 관문 분자(immune checkpoint molecule)로서 작용하는 암 발생 단백질의 작용을 차단하는 항체, 수지상 세포 활성화 및 T 세포 증식을 촉진하는 애주버트, 및 항-종양 효능(efficacy)을 촉진하는 항체와 애주버트 사이의 공유 결합을 포함한다. 예를 들어, 일부 경우에, 인간 단핵구는 본 발명의 면역접합체에 의해서는 하룻밤 자극 후에 DC 분화를 겪는 반면, 공지된 자극제 (예를 들어, GM-CSF 및 IL-4)에 의한 DC 분화 프로토콜은 훨씬 더 긴 기간을 필요로 한다. 면역접합체-활성화 세포는 공지된 자극제에 의해 달성가능한 것보다 더 높은 양 (예를 들어, 일부 경우에는 수 배 더 높은 양)의 공동-자극성 분자 및 염증성 사이토카인을 발현한다.

[0011] 본 명세서에서 입증된 바와 같이, 면역접합체는 비공유 부착된 항체-애주버트 혼합물보다 면역 활성화를 유도하는 데 있어서 정량적으로 그리고 정성적으로 더 효과적이다. 또한, 본 명세서에서 입증된 바와 같이, 본 발명

에 따라 연결된 항체-애주번트 면역접합체는 다른 공지된 면역접합체보다 훨씬 더 효과적이다. 예를 들어, 면역접합체는 미국 특허 제 8,951,528호에 개시되어 있다. 그러나, 이들 면역접합체는 골수성 세포를 효과적으로 활성화하지 못한다 (예를 들어, 도 128a 내지 도 129s 참조). 다른 간행물, 미국 특허 출원 공개 제 2017/0159772호도 마찬가지로 면역접합체를 개시한다. 거기에 개시된 면역접합체도 또한 도 67a 내지 도 68p에서 알 수 있는 바와 같이 골수성 세포를 효과적으로 활성화하지 않는다. 국제 특허 출원 공개 WO 2015/103987 A1호는 청구항 1에서, 소정 위치에서 애주번트 (레스퀴모드)에 대한 면역접합체 부착 부위를 나타내는데, 이러한 위치는, 실험을 통해, 애주번트를 불활성화하여 무시할 만한 골수성 활성화를 야기하는 곳이다. 상기 간행물은 또한, 항체에 대한 링커-애주번트의 접합이, 과량의 DTT에 의한 항체의 환원 후, 시스테인 힌지 잔기를 통해 일어난다 (티오에테르 결합)는 것을 나타낸다 (국제 특허 출원 공개 WO 2015/103987호, 단락 0273-0273). 실험에 의하면, 이러한 접합 방식은 면역접합체가 골수성 세포를 효과적으로 활성화하는 것을 방지한다 (도 67a 내지 도 68p 및 도 137a 내지 도 137i 참조). 대조적으로, 본 발명의 면역접합체는, 예를 들어 도 67g 내지 도 67k, 도 128a 내지 도 128m, 도 129e 내지 도 129s, 및 도 137a 내지 도 137i에 나타낸 바와 같이 월등한 생물학적 활성을 제공한다.

[0012] 마지막으로, 애주번트-항체 접합체의 전신 투여는 종양내 주사 및 외과적 절제에 대한 필요성 없이 원발성 종양 및 관련 전이의 동시 표적화를 가능하게 한다.

[0013] 도 1 내지 도 138g에 의해 보여지는 바와 같이, 다수의 면역접합체를 생성하였으며, 본 발명 및 다른 소스에 따라 검정하였다.

[0014] 정의

[0015] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "면역접합체"는 본 명세서에 기재된 바와 같은 비-천연 발생 화학적 모이어티에 공유 결합된 항체 작제물 또는 항체를 지칭한다. 용어 "면역접합체", "항체-애주번트 면역접합체", "AAC", 및 "볼트바디"는 본 명세서에서 상호교환 가능하게 사용된다.

[0016] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 어구 "항체 작제물"은 항원 결합 도메인 및 Fc 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 항체 작제물은 항체를 포함할 수 있다.

[0017] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 어구 "항원 결합 도메인"은 특정 항원과 특이적으로 결합하는 단백질 또는 단백질의 일부분 (예를 들어, 파라토프)을 지칭한다. 예를 들어, 항원-결합 단백질의 그러한 일부분은, 항원과 상호작용하고 항원에 대한 그의 특이성 및 친화성을 항원-결합 단백질 상에 부여하는 아미노산 잔기를 함유한다.

[0018] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 어구 "Fc 도메인"은 항체의 단편 결정화가능 영역 또는 꼬리 영역을 지칭한다. Fc 도메인은 세포의 표면 상의 Fc 수용체와 상호작용한다.

[0019] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 어구 "표적화 결합 도메인"은 면역접합체의 항원 결합 도메인에 의해 결합된 항원과는 별개인 제2 항원과 특이적으로 결합하는 단백질 또는 단백질의 일부분을 지칭한다. 표적화 결합 도메인은 Fc 도메인의 C-중결 말단에서 항체 작제물에 접합될 수 있다.

[0020] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "항체"는 항원과 특이적으로 결합하여 이를 인식하는 면역글로불린 유전자 또는 이의 단편으로부터의 항원 결합 영역 (상보성 결정 영역 (CDR)을 포함함)을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 인식된 면역글로불린 유전자는 카파, 람다, 알파, 감마, 델타, 엡실론, 및 뮤 불변 영역 유전자뿐만 아니라 다수의 면역글로불린 가변 영역 유전자를 포함한다.

[0021] 예시적인 면역글로불린 (항체) 구조 단위는 사량체를 포함한다. 각각의 사량체는 2개의 동일한 쌍의 폴리펩티드 사슬로 구성되며, 각각의 쌍은 하나의 "경쇄" (약 25 kD) 및 하나의 "중쇄" (약 50 내지 70 kD)를 갖는다. 각각의 사슬의 N-말단은, 주로 항원 인식을 담당하는 약 100 내지 110개 또는 그 이상의 아미노산의 가변 영역을 형성한다. 용어 가변 경쇄 (V_L) 및 가변 중쇄 (V_H)는 각각 이들 경쇄 및 중쇄를 지칭한다. 경쇄는 카파 또는 람다로 분류된다. 중쇄는 감마, 뮤, 알파, 델타, 또는 엡실론으로 분류되며, 이는 다시 면역글로불린 클래스, IgG, IgM, IgA, IgD 및 IgE를 정의한다.

[0022] IgG 항체는 4개의 펩티드 사슬로 구성된 약 150 kDa의 큰 분자이다. IgG 항체는 약 50 kDa의 2개의 동일한 클래스 γ 중쇄 및 약 25 kDa의 2개의 동일한 경쇄를 함유하며, 이에 따라 사량체 4차 구조를 함유한다. 2개의 중쇄는 이황화물 결합에 의해 경쇄에 그리고 서로 연결된다. 생성된 사량체는 2개의 동일한 절반부를 가지며, 이들은 함께 Y-유사 형상을 형성한다. 이러한 포크의 각각의 말단은 동일한 항원 결합 부위를 함유한다. 인간

에는 4개의 IgG 하위클래스 (IgG1, 2, 3, 4)가 존재하며, 이들은 혈청 중 그들의 존재비의 순서로 명명된다 (IgG1이 가장 풍부함). 전형적으로, 항체의 항원-결합 영역은 결합의 특이성 및 친화성에 있어서 가장 중요할 것이다.

[0023] 이량체 IgA 항체는 약 320 kDa이다. IgA는 2개의 하위클래스 (IgA1 및 IgA2)를 가지며, 이량체 형태뿐만 아니라 단량체 형태로도 생성될 수 있다. IgA 이량체 형태 (분비 또는 sIgA)가 가장 풍부하다.

[0024] 항체는, 예를 들어 온전한 면역글로불린으로서 또는 다양한 펩티다제를 이용한 분해에 의해 생성되는 다수의 잘 특성화된 단편으로서 존재한다. 따라서, 예를 들어, 펩신은 힌지 영역에서 이황화물 결합 아래에서 항체를 분해하여, 그 자체가 이황화물 결합에 의해 V_H-C_{H1} 에 결합된 경쇄인 Fab의 이량체인 $F(ab)'_2$ 를 생성한다. $F(ab)'_2$ 는 온화한 조건 하에서 환원되어 힌지 영역에서 이황화물 결합을 파손할 수 있으며, 그럼으로써 $F(ab)'_2$ 이량체를 Fab' 단량체로 전환시킬 수 있다. Fab' 단량체는 본질적으로 힌지 영역의 일부를 갖는 Fab이다 (문헌 [Fundamental Immunology (Paul ed., 7e ed. 2012)] 참조). 다양한 항체 단편이 온전한 항체의 분해의 관점에서 정의되지만, 당업자는 그러한 단편이 화학적으로 또는 재조합 DNA 방법을 사용하여 드 노보(de novo)로 합성될 수 있음을 이해할 것이다. 따라서, 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 항체는 또한 전 항체의 변형에 의해 생성되는 항체 단편, 또는 재조합 DNA 방법을 사용하여 드 노보로 합성된 것들 (예를 들어, 단일 사슬 Fv) 또는 파지 디스플레이 라이브러리를 사용하여 확인된 것들을 포함한다 (문헌 [McCafferty et al., Nature, 348: 552-554 (1990)] 참조).

[0025] 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되며, 구체적으로는, 단일클론 항체 (전장(full length) 단일클론 항체를 포함함), 다중클론 항체, 다중특이성 항체 (예를 들어, 이중특이성 항체), 및 항체 단편이 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한 이들을 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "항체 단편" 및 이의 모든 문법적 변형 형태는 온전한 항체의 항원 결합 부위 또는 가변 영역을 포함하는 온전한 항체의 일부분으로서 정의되며, 이러한 일부분에는 온전한 항체의 Fc 영역의 불변 중쇄 도메인 (즉, 항체 동종형에 따라 CH2, CH3, 및 CH4)이 없다. 항체 단편의 예에는 Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab)'_2$, 및 Fv 단편; 다이아바디(diabody); 연속 아미노산 잔기들의 하나의 연속 서열로 이루어진 1차 구조를 갖는 폴리펩티드인 임의의 항체 단편 (본 명세서에서 "단일쇄 항체 단편" 또는 "단일쇄 폴리펩티드"로 지칭됨)이 포함되며, 이에, 제한 없이, (1) 단일쇄 Fv (scFv) 분자; (2) 단지 하나의 경쇄 가변 도메인을 함유하는 단일쇄 폴리펩티드, 또는 회합된 중쇄 모이어티 없이, 경쇄 가변 도메인의 3개의 CDR을 함유하는 이의 단편; (3) 단지 하나의 중쇄 가변 영역을 함유하는 단일쇄 폴리펩티드, 또는 회합된 경쇄 모이어티 없이, 중쇄 가변 영역의 3개의 CDR을 함유하는 이의 단편; (4) 비인간중 또는 다른 특정 단일-도메인 결합 분자로부터의 단일 Ig 도메인을 포함하는 나노바디; 및 (5) 항체 단편으로부터 형성된 다중특이성 또는 다가 구조가 포함된다. 하나 이상의 중쇄를 포함하는 항체 단편에서, 중쇄(들)는 온전한 항체의 비-Fc 영역에서 발견되는 임의의 불변 도메인 서열 (예를 들어, IgG 동종형에서의 CH1)을 함유할 수 있고/있거나, 온전한 항체에서 발견되는 임의의 힌지 영역 서열을 함유할 수 있고/있거나, 또는 중쇄(들)의 불변 도메인 서열 또는 힌지 영역 서열에 융합되거나 그 안에 위치된 류신 지퍼 서열을 함유할 수 있다.

[0026] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 생물학적 제품과 관련하여 용어 "바이오시밀러"는 생물학적 제품이 임상적으로 불활성인 성분에 있어서의 사소한 차이에도 불구하고 참조 제품과 매우 유사하며, 제품의 안전성, 순도, 및 효력(potency)의 관점에서 생물학적 제품과 참조 제품 사이에 임상적으로 유의한 차이가 없음을 의미한다.

[0027] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "에피토프"는 항체의 항원-결합 부위 - 파라토프로도 지칭됨 - 가 결합하는 항원 상의 임의의 항원 결정기를 의미한다. 에피토프 결정기는 통상 아미노산 또는 당 측쇄와 같은 분자들의 화학적 활성 표면 그룹화(grouping)로 이루어지며, 통상 특이적인 3차원 구조적 특성뿐 아니라 특이적인 전하 특성도 갖는다.

[0028] 용어 "폴리펩티드", "펩티드", 및 "단백질"은 아미노산 잔기의 중합체를 지칭하기 위해 본 명세서에서 상호교환 가능하게 사용된다. 상기 용어는 또한, 하나 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 천연 발생 아미노산의 인공 화학적 모방체인 아미노산 중합체뿐만 아니라, 천연 발생 아미노산 중합체 및 비-천연 발생 아미노산 중합체에도 적용된다.

[0029] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "애주번트"는 애주번트에 노출된 대상체에서 면역 반응을 유도할 수 있는 물질을 지칭한다.

[0030] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "애주번트 모이어티"는 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체에 공유 결합된 애주번트를 지칭한다. 애주번트 모이어티는 항체에 결합되어 있는 동안에, 또는 면역접합체를 대상체에

투여한 후 항체로부터의 절단 (예를 들어, 효소적 절단) 후에 면역 반응을 유도할 수 있다.

- [0031] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "패턴 인식 수용체" 및 "PRR"은, 병원체-관련 분자 패턴 (PAMP) 또는 손상-관련 분자 패턴 (DAMP)을 인식하고 선천성 면역에서 주요 신호전달 요소로서 작용하는 보존된 포유류 단백질들의 부류의 임의의 구성원을 지칭한다. 패턴 인식 수용체는 막-결합 PRR, 세포질 PRR, 및 분비 PRR로 세분된다. 막-결합 PRR의 예는 툴-유사 수용체 (TLR) 및 C형 렉틴 수용체 (CLR)를 포함한다. 세포질 PRR의 예에는 NOD-유사 수용체 (NLR) 및 Rig-I-유사 수용체 (RLR)가 포함된다.
- [0032] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "툴-유사 수용체" 및 "TLR"은, 병원체-관련 분자 패턴을 인식하고 선천성 면역에서 주요 신호전달 요소로서 작용하는 고도로 보존된 포유류 단백질들의 패밀리의 임의의 구성원을 지칭한다. TLR 폴리펩티드들은 류신-풍부 반복체를 갖는 세포외 도메인, 막관통 도메인, 및 TLR 신호전달에 관여하는 세포내 도메인을 포함하는 특징적인 구조를 공유한다.
- [0033] 용어 "툴-유사 수용체 1" 및 "TLR1"은 공개적으로 입수가 가능한 TLR1 서열, 예를 들어 인간 TLR1 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 AAY85643, 또는 뮤린 TLR1 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 AAG37302와 적어도 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상의 서열 동일성을 공유하는 핵산 또는 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0034] 용어 "툴-유사 수용체 2" 및 "TLR2"는 공개적으로 입수가 가능한 TLR2 서열, 예를 들어 인간 TLR2 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 AAY85648, 또는 뮤린 TLR2 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 AAD49335와 적어도 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상의 서열 동일성을 공유하는 핵산 또는 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0035] 용어 "툴-유사 수용체 3" 및 "TLR3"은 공개적으로 입수가 가능한 TLR3 서열, 예를 들어 인간 TLR3 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 AAC34134, 또는 뮤린 TLR3 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 AAK26117과 적어도 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상의 서열 동일성을 공유하는 핵산 또는 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0036] 용어 "툴-유사 수용체 4" 및 "TLR4"는 공개적으로 입수가 가능한 TLR4 서열, 예를 들어 인간 TLR4 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 AAY82270, 또는 뮤린 TLR4 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 AAD29272와 적어도 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상의 서열 동일성을 공유하는 핵산 또는 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0037] 용어 "툴-유사 수용체 5" 및 "TLR5"는 공개적으로 입수가 가능한 TLR5 서열, 예를 들어 인간 TLR5 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 ACM69034, 또는 뮤린 TLR5 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 AAF65625와 적어도 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상의 서열 동일성을 공유하는 핵산 또는 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0038] 용어 "툴-유사 수용체 6" 및 "TLR6"은 공개적으로 입수가 가능한 TLR6 서열, 예를 들어 인간 TLR6 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 ABY67133, 또는 뮤린 TLR6 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 AAG38563과 적어도 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상의 서열 동일성을 공유하는 핵산 또는 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0039] 용어 "툴-유사 수용체 7" 및 "TLR7"은 공개적으로 입수가 가능한 TLR7 서열, 예를 들어 인간 TLR7 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 AAZ99026, 또는 뮤린 TLR7 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 AAK62676과 적어도 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상의 서열 동일성을 공유하는 핵산 또는 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0040] 용어 "툴-유사 수용체 8" 및 "TLR8"은 공개적으로 입수가 가능한 TLR8 서열, 예를 들어 인간 TLR8 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 AAZ95441, 또는 뮤린 TLR8 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 AAK62677과 적어도 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상의 서열 동일성을 공유하는 핵산 또는 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0041] 용어 "툴-유사 수용체 7/8" 및 "TLR7/8"은 TLR7 효능제 및 TLR8 효능제 둘 모두인 핵산 또는 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0042] 용어 "툴-유사 수용체 9" 및 "TLR9"는 공개적으로 입수가 가능한 TLR9 서열, 예를 들어 인간 TLR9 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 AAF78037, 또는 뮤린 TLR9 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 AAK28488과 적어도

70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상의 서열 동일성을 공유하는 핵산 또는 폴리펩티드를 지칭한다.

- [0043] 용어 "톨-유사 수용체 10" 및 "TLR10"은 공개적으로 입수가 가능한 TLR10 서열, 예를 들어 인간 TLR10 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 AAK26744와 적어도 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상의 서열 동일성을 공유하는 핵산 또는 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0044] 용어 "톨-유사 수용체 11" 및 "TLR11"은 공개적으로 입수가 가능한 TLR11 서열, 예를 들어 뮤린 TLR11 폴리펩티드에 대한 GenBank 수탁 번호 AAS83531과 적어도 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상의 서열 동일성을 공유하는 핵산 또는 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0045] "TLR 효능제"는 TLR (예를 들어, TLR7 및/또는 TLR8)에 직접적으로 또는 간접적으로 결합하여 TLR 신호전달을 유도하는 물질이다. TLR 신호전달에 있어서의 임의의 검출가능한 차이는 효능제가 TLR을 자극하거나 활성화한다는 것을 나타낼 수 있다. 신호전달 차이는, 예를 들어, 표적 유전자의 발현에 있어서의 변화, 신호 전달 성분의 인산화에 있어서의 변화, NK- κ B와 같은 하류 요소의 세포내 국재화에 있어서의 변화, 소정 성분 (예컨대, IRAK)과 다른 단백질 또는 세포내 구조의 회합에 있어서의 변화, 또는 키나제 (예컨대, MAPK)와 같은 성분의 생화학적 활성화에 있어서의 변화로서 나타날 수 있다.
- [0046] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "아미노산"은 펩티드, 폴리펩티드, 또는 단백질 내로 포함될 수 있는 임의의 단량체 단위를 지칭한다. 아미노산은 천연-발생 α -아미노산 및 이의 입체이성질체뿐만 아니라, 비천연 (비-천연 발생) 아미노산 및 이의 입체이성질체를 포함한다. 주어진 아미노산의 "입체이성질체"는, 동일한 분자식 및 분자내 결합을 갖지만 결합 및 원자의 상이한 3차원 배열을 갖는 이성질체 (예를 들어, l-아미노산 및 상응하는 d-아미노산)를 지칭한다.
- [0047] 천연-발생 아미노산은 유전자 코드에 의해 인코딩되는 것들뿐만 아니라, 이후에 변형된 아미노산, 예를 들어 하이드록시프롤린, γ -카르복시글루타메이트, 및 O-포스포세린이다. 천연-발생 α -아미노산은, 제한 없이, 알라닌 (Ala), 시스테인 (Cys), 아스파르트산 (Asp), 글루탐산 (Glu), 페닐알라닌 (Phe), 글리신 (Gly), 히스티딘 (His), 아이소류신 (Ile), 아르기닌 (Arg), 라이신 (Lys), 류신 (Leu), 메티오닌 (Met), 아스파라긴 (Asn), 프롤린 (Pro), 글루타민 (Gln), 세린 (Ser), 트레오닌 (Thr), 발린 (Val), 트립토판 (Trp), 티로신 (Tyr), 및 이들의 조합을 포함한다. 천연-발생 α -아미노산의 입체이성질체는, 제한 없이, D-알라닌 (D-Ala), D-시스테인 (D-Cys), D-아스파르트산 (D-Asp), D-글루탐산 (D-Glu), D-페닐알라닌 (D-Phe), D-히스티딘 (D-His), D-아이소류신 (D-Ile), D-아르기닌 (D-Arg), D-라이신 (D-Lys), D-류신 (D-Leu), D-메티오닌 (D-Met), D-아스파라긴 (D-Asn), D-프롤린 (D-Pro), D-글루타민 (D-Gln), D-세린 (D-Ser), D-트레오닌 (D-Thr), D-발린 (D-Val), D-트립토판 (D-Trp), D-티로신 (D-Tyr), 및 이들의 조합을 포함한다.
- [0048] 비천연 (비-천연 발생) 아미노산은, 제한 없이, 천연-발생 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 L- 또는 D-배치의 아미노산 유사체, 아미노산 모방체, 합성 아미노산, N-치환된 글리신, 및 N-메틸 아미노산을 포함한다. 예를 들어, "아미노산 유사체"는, 천연-발생 아미노산과 동일한 기본적인 화학 구조 (즉, 수소, 카르복실 기, 및 아미노 기에 결합된 탄소)를 갖지만, 변형된 측쇄 기 또는 변형된 펩티드 골격을 갖는 비천연 아미노산, 예를 들어 호모세린, 노르류신, 메티오닌 설폭사이드, 메티오닌 메틸 설포늄일 수 있다. "아미노산 모방체"는, 아미노산의 일반적인 화학 구조와 상이하지만 천연-발생 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 구조를 갖는 화학 화합물을 지칭한다. 아미노산은 일반적으로 알려진 3-문자 기호 또는 IUPAC-IUB 생화학 명명법 위원회 (Biochemical Nomenclature Commission)에 의해 권장되는 1-문자 기호로 본 명세서에서 언급될 수 있다.
- [0049] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "면역 관문 억제제"는 면역 관문 분자의 활성을 억제하는 임의의 조절제를 지칭한다. 면역 관문 억제제는 면역 관문 분자 결합 단백질, 소분자 억제제, 항체, 항체-유도체 (Fc 융합체, Fab 단편 및 scFv를 포함함), 항체-약물 접합체, 안티센스 올리고뉴클레오티드, siRNA, 압타머, 펩티드 및 펩티드 모방체를 포함할 수 있지만 이로 한정되지 않는다.
- [0050] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "연결 모이어티"는 화합물 또는 물질 내의 2개 이상의 모이어티를 공유 결합하는 작용기를 지칭한다. 예를 들어, 연결 모이어티는 애주번트 모이어티를 면역접합체 내의 항체에 공유 결합하는 역할을 할 수 있다.
- [0051] 연결 모이어티를 단백질 및 다른 물질에 연결하는 데 유용한 결합은 아마이드, 아민, 에스테르, 카르바메이트, 우레아, 티오에테르, 티오카르바메이트, 티오카르보네이트, 및 티오우레아를 포함하지만 이로 한정되지 않는다. "2가" 연결 모이어티는 2개의 작용기를 연결하기 위한 2개의 부착점을 함유하며; 다가 연결 모이어티는 추가의

작용기를 연결하기 위한 추가의 부착점을 가질 수 있다. 예를 들어, 2가 연결 모이어티는 2가 중합체 모이어티, 예컨대 2가 폴리(에틸렌 글리콜), 2가 폴리(프로필렌 글리콜), 및 2가 폴리(비닐 알코올)을 포함한다.

- [0052] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "선택적으로 존재하는"이 화학 구조 (예를 들어, "R" 또는 "Q")를 지칭하는 데 사용되는 경우, 화학 구조에 대해 원래 형성된 결합은 인접한 원자에 대해 직접 형성된다.
- [0053] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "링커"는 화합물 또는 물질 내의 2개 이상의 모이어티를 공유 결합하는 작용기를 지칭한다. 예를 들어, 링커는 애쥬번트 모이어티를 면역접합체 내의 항체 작제물에 공유 결합하는 역할을 할 수 있다.
- [0054] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "알킬"은 지시된 탄소 원자수를 갖는 직쇄 또는 분지형, 포화, 지방족 라디칼을 지칭한다. 알킬은 임의의 탄소수, 예컨대 C₁₋₂, C₁₋₃, C₁₋₄, C₁₋₅, C₁₋₆, C₁₋₇, C₁₋₈, C₁₋₉, C₁₋₁₀, C₂₋₃, C₂₋₄, C₂₋₅, C₂₋₆, C₃₋₄, C₃₋₅, C₃₋₆, C₄₋₅, C₄₋₆ 및 C₅₋₆을 포함할 수 있다. 예를 들어, C₁₋₆ 알킬은 메틸, 에틸, 프로필, 아이소프로필, 부틸, 아이소부틸, sec-부틸, tert-부틸, 펜틸, 아이소펜틸, 헥실 등을 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 알킬은 또한 최대 30개의 탄소 원자를 갖는 알킬 기를 지칭할 수 있으며, 이는, 예컨대 헵틸, 옥틸, 노닐, 데실 등이지만 이로 한정되지 않는다. 알킬 기는 치환 또는 비치환될 수 있다. "치환된 알킬" 기는 할로, 하이드록시, 아미노, 옥소 (=O), 알킬아미노, 아미도, 아실, 니트로, 시아노, 및 알콕시로부터 선택되는 하나 이상의 기로 치환될 수 있다. 용어 "알킬렌"은 2가 알킬 라디칼을 지칭한다.
- [0055] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "헤테로알킬"은 본 명세서에 기재된 바와 같은 알킬 기 내의 하나 이상의 탄소 원자가 N, O, 및 S로부터 선택되는 헤테로원자로 선택적으로 그리고 독립적으로 대체된 것을 지칭한다. 용어 "헤테로알킬렌"은 2가 헤테로알킬 라디칼을 지칭한다.
- [0056] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "카르보사이클"은 3 내지 12개의 고리 원자, 또는 지시된 원자수를 함유하는 포화 또는 부분 불포화, 모노사이클릭, 융합 바이사이클릭, 또는 가교 폴리사이클릭 고리 집합체를 지칭한다. 카르보사이클은 임의의 탄소수, 예컨대 C₃₋₆, C₄₋₆, C₅₋₆, C₃₋₈, C₄₋₈, C₅₋₈, C₆₋₈, C₃₋₉, C₃₋₁₀, C₃₋₁₁, 및 C₃₋₁₂를 포함할 수 있다. 포화 모노사이클릭 카르보사이클릭 고리는, 예를 들어 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 및 사이클로옥틸을 포함한다. 포화 바이사이클릭 및 폴리사이클릭 카르보사이클릭 고리는, 예를 들어 노르보르난, [2.2.2] 바이사이클로옥탄, 테하이드로나프탈렌 및 아다만탄을 포함한다. 카르보사이클릭 기는 또한 부분 불포화되어, 고리 내에 하나 이상의 이중 또는 삼중 결합을 가질 수 있다. 대표적인 부분 불포화 카르보사이클릭 기는 사이클로부텐, 사이클로펜텐, 사이클로헥센, 사이클로헥사다이엔 (1,3- 및 1,4- 이성질체), 사이클로헵텐, 사이클로헵타다이엔, 사이클로옥텐, 사이클로옥타다이엔 (1,3-, 1,4- 및 1,5- 이성질체), 노르보르넨, 및 노르보르나다이엔을 포함하지만 이로 한정되지 않는다.
- [0057] 불포화 카르보사이클릭 기는 또한 아릴 기를 포함한다. 용어 "아릴"은 임의의 적합한 수의 고리 원자 및 임의의 적합한 수의 고리를 갖는 방향족 고리 시스템을 지칭한다. 아릴 기는 임의의 적합한 수의 고리 원자, 예컨대 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16개의 고리 원자뿐만 아니라, 6 내지 10개, 6 내지 12개, 또는 6 내지 14개의 고리 구성원을 포함할 수 있다. 아릴 기는 모노사이클릭일 수 있거나, 융합되어 바이사이클릭 또는 트라이사이클릭 기를 형성할 수 있거나, 결합에 의해 연결되어 바이아릴 기를 형성할 수 있다. 대표적인 아릴 기는 페닐, 나프틸 및 바이페닐을 포함한다. 다른 아릴 기는 메틸렌 연결 기를 갖는 벤질을 포함한다. 일부 아릴 기는 페닐, 나프틸 또는 바이페닐과 같이 6 내지 12개의 고리 구성원을 갖는다. 다른 아릴 기는 페닐 또는 나프틸과 같이 6 내지 10개의 고리 구성원을 갖는다.
- [0058] "2가" 카르보사이클은 분자 또는 물질 내의 2개의 모이어티를 공유 결합하기 위한 2개의 부착점을 갖는 카르보사이클릭 기를 지칭한다. 카르보사이클은 치환 또는 비치환될 수 있다. "치환된 카르보사이클" 기는 할로, 하이드록시, 아미노, 알킬아미노, 아미도, 아실, 니트로, 시아노, 및 알콕시로부터 선택되는 하나 이상의 기로 치환될 수 있다.
- [0059] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "헤테로사이클"은 헤테로사이클로알킬 기 및 헤테로아릴 기를 지칭한다. 그 자체로 또는 다른 치환체의 일부로서의 "헤테로아릴"은 5 내지 16개의 고리 원자를 함유하는 모노사이클릭 또는 융합된 바이사이클릭 또는 트라이사이클릭 방향족 고리 집합체를 지칭하며, 이때 고리 원자들 중 1 내지 5 개는 헤테로원자, 예컨대 N, O 또는 S이다. 추가의 헤테로원자가 또한 유용할 수 있으며, 이는 B, Al, Si 및 P가 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 헤테로원자는 산화되어, -S(O)- 및 -S(O)₂-와 같은, 그러나 이로 한정

되지 않는 모이어티를 형성할 수 있다. 헤테로아틸 기는 임의의 수의 고리 원자, 예컨대 3 내지 6개, 4 내지 6개, 5개 또는 6개, 3 내지 8개, 4 내지 8개, 5 내지 8개, 6 내지 8개, 3 내지 9개, 3 내지 10개, 3 내지 11개, 또는 3 내지 12개의 고리 구성원을 포함할 수 있다. 임의의 적합한 수의 헤테로원자가 헤테로아틸 기 내에 포함될 수 있으며, 예컨대 1, 2, 3, 4, 또는 5개, 또는 1개 또는 2개, 1 내지 3개, 1 내지 4개, 1 내지 5개, 2개 또는 3개, 2 내지 4개, 2 내지 5개, 3개 또는 4개, 또는 3 내지 5개이다. 헤테로아틸 기는 피롤, 피리딘, 이미다졸, 피라졸, 트리아졸, 테트라졸, 피라진, 피리미딘, 피리다진, 트리아진 (1,2,3-, 1,2,4- 및 1,3,5-이성체), 티오펜, 푸란, 티아졸, 아이소티아졸, 옥사졸, 및 아이소옥사졸과 같은 기를 포함할 수 있다. 헤테로아틸 기는 또한 방향족 고리 시스템, 예컨대 페닐 고리에 융합되어, 벤조피롤, 예컨대 인돌 및 아이소인돌, 벤조피리딘, 예컨대 퀴놀린 및 아이소퀴놀린, 벤조피라진 (퀴녹살린), 벤조피리미딘 (퀴나졸린), 벤조피리다진, 예컨대 프탈라진 및 신놀린, 벤조티오펜, 및 벤조푸란을 포함하지만 이로 한정되지 않는 구성원을 형성할 수 있다. 다른 헤테로아틸 기는 결합에 의해 연결된 헤테로아틸 고리를 포함하며, 예컨대 바이피리딘이다. 헤테로아틸 기는 치환 또는 비치환될 수 있다. "치환된 헤테로아틸" 기는 할로, 하이드록시, 아미노, 옥소 (=O), 알킬아미노, 아미도, 아실, 니트로, 시아노, 및 알콕시로부터 선택되는 하나 이상의 기로 치환될 수 있다.

[0060] 헤테로아틸 기는 고리 상의 임의의 위치를 통해 연결될 수 있다. 예를 들어, 피롤은 1-, 2- 및 3-피롤을 포함하고, 피리딘은 2-, 3- 및 4-피리딘을 포함하고, 이미다졸은 1-, 2-, 4- 및 5-이미다졸을 포함하고, 피라졸은 1-, 3-, 4- 및 5-피라졸을 포함하고, 트리아졸은 1-, 4- 및 5-트리아졸을 포함하고, 테트라졸은 1- 및 5-테트라졸을 포함하고, 피리미딘은 2-, 4-, 5- 및 6-피리미딘을 포함하고, 피리다진은 3- 및 4-피리다진을 포함하고, 1,2,3-트리아진은 4- 및 5-트리아진을 포함하고, 1,2,4-트리아진은 3-, 5- 및 6-트리아진을 포함하고, 1,3,5-트리아진은 2-트리아진을 포함하고, 티오펜은 2- 및 3-티오펜을 포함하고, 푸란은 2- 및 3-푸란을 포함하고, 티아졸은 2-, 4- 및 5-티아졸을 포함하고, 아이소티아졸은 3-, 4- 및 5-아이소티아졸을 포함하고, 옥사졸은 2-, 4- 및 5-옥사졸을 포함하고, 아이소옥사졸은 3-, 4- 및 5-아이소옥사졸을 포함하고, 인돌은 1-, 2- 및 3-인돌을 포함하고, 아이소인돌은 1- 및 2-아이소인돌을 포함하고, 퀴놀린은 2-, 3- 및 4-퀴놀린을 포함하고, 아이소퀴놀린은 1-, 3- 및 4-아이소퀴놀린을 포함하고, 퀴나졸린은 2- 및 4-퀴나졸린을 포함하고, 신놀린은 3- 및 4-신놀린을 포함하고, 벤조티오펜은 2- 및 3-벤조티오펜을 포함하고, 벤조푸란은 2- 및 3-벤조푸란을 포함한다.

[0061] 그 자체로 또는 다른 치환체의 일부로서의 "헤테로사이클릴"은 3 내지 12개의 고리 구성원 및 1 내지 4개의 N, O 및 S의 헤테로원자를 갖는 포화 고리 시스템을 지칭한다. 추가의 헤테로원자가 또한 유용할 수 있으며, 이에 B, Al, Si 및 P가 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 헤테로원자는 산화되어, -S(O)- 및 -S(O)₂-와 같은, 그러나 이로 한정되지 않는 모이어티를 형성할 수 있다. 헤테로사이클릴 기는 임의의 수의 고리 원자, 예컨대 3 내지 6개, 4 내지 6개, 5개 또는 6개, 3 내지 8개, 4 내지 8개, 5 내지 8개, 6 내지 8개, 3 내지 9개, 3 내지 10개, 3 내지 11개, 또는 3 내지 12개의 고리 구성원을 포함할 수 있다. 임의의 적합한 수의 헤테로원자가 헤테로사이클릴 기 내에 포함될 수 있으며, 예컨대 1, 2, 3, 또는 4개, 또는 1개 또는 2개, 1 내지 3개, 1 내지 4개, 2개 또는 3개, 2 내지 4개, 또는 3개 또는 4개이다. 헤테로사이클릴 기는 아지리딘, 아제티딘, 피롤리딘, 피페리딘, 아제판, 아조칸, 퀴누클리딘, 피라졸리딘, 이미다졸리딘, 피페라진 (1,2-, 1,3- 및 1,4-이성체), 옥시란, 옥세탄, 테트라하이드로푸란, 옥산 (테트라하이드로피란), 옥세판, 티이란, 티에탄, 티올란 (테트라하이드로티오펜), 티안 (테트라하이드로티오피란), 옥사졸리딘, 아이소옥사졸리딘, 티아졸리딘, 아이소티아졸리딘, 다이옥솔란, 다이티올란, 모르폴린, 티오모르폴린, 다이옥산, 또는 다이티안과 같은 기를 포함할 수 있다. 헤테로사이클릴 기는 또한 방향족 또는 비방향족 고리 시스템에 융합되어, 인돌린을 포함하지만 이로 한정되지 않는 구성원을 형성할 수 있다. 헤테로사이클릴 기는 비치환 또는 치환될 수 있다. "치환된 헤테로사이클릴" 기는 할로, 하이드록시, 아미노, 옥소 (=O), 알킬아미노, 아미도, 아실, 니트로, 시아노, 및 알콕시로부터 선택되는 하나 이상의 기로 치환될 수 있다.

[0062] 헤테로사이클릴 기는 고리 상의 임의의 위치를 통해 연결될 수 있다. 예를 들어, 아지리딘은 1- 또는 2-아지리딘일 수 있고, 아제티딘은 1- 또는 2-아제티딘일 수 있고, 피롤리딘은 1-, 2- 또는 3-피롤리딘일 수 있고, 피페리딘은 1-, 2-, 3- 또는 4-피페리딘일 수 있고, 피라졸리딘은 1-, 2-, 3-, 또는 4-피라졸리딘일 수 있고, 이미다졸리딘은 1-, 2-, 3- 또는 4-이미다졸리딘일 수 있고, 피페라진은 1-, 2-, 3- 또는 4-피페라진일 수 있고, 테트라하이드로푸란은 1- 또는 2-테트라하이드로푸란일 수 있고, 옥사졸리딘은 2-, 3-, 4- 또는 5-옥사졸리딘일 수 있고, 아이소옥사졸리딘은 2-, 3-, 4- 또는 5-아이소옥사졸리딘일 수 있고, 티아졸리딘은 2-, 3-, 4- 또는 5-티아졸리딘일 수 있고, 아이소티아졸리딘은 2-, 3-, 4- 또는 5-아이소티아졸리딘일 수 있고, 모르폴린은 2-, 3- 또는 4-모르폴린일 수 있다.

- [0063] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 그 자체로 또는 다른 치환체의 일부로서의 용어 "할로" 및 "할로겐"은 불소, 염소, 브롬, 또는 요오드 원자를 지칭한다.
- [0064] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 그 자체로 또는 다른 치환체의 일부로서의 용어 "카르보닐"은 $-C(O)-$, 즉 산소에 이중-결합되고 카르보닐을 갖는 모이어티 내의 2개의 다른 기에 결합된 탄소 원자를 지칭한다.
- [0065] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "아미노"는 모이어티 $-NR_3$ 을 지칭하며, 여기서 각각의 R 기는 H 또는 알킬이다. 아미노 모이어티는 이온화되어 상응하는 암모늄 양이온을 형성할 수 있다.
- [0066] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "하이드록시"는 모이어티 $-OH$ 를 지칭한다.
- [0067] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "시아노"는 질소 원자에 삼중-결합된 탄소 원자 (즉, 모이어티 $-C\equiv N$)를 지칭한다.
- [0068] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "카르복시"는 모이어티 $-C(O)OH$ 를 지칭한다. 카르복시 모이어티는 이온화되어 상응하는 카르복실레이트 음이온을 형성할 수 있다.
- [0069] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "아미도"는 모이어티 $-NRC(O)R$ 또는 $-C(O)NR_2$ 를 지칭하며, 여기서 각각의 R 기는 H 또는 알킬이다.
- [0070] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "니트로"는 모이어티 $-NO_2$ 를 지칭한다.
- [0071] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "옥소"는 화합물에 이중-결합된 산소 원자 (즉, $O=$)를 지칭한다.
- [0072] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "치료하다", "치료", 및 "치료하는"은 손상, 병상, 질환, 또는 증상 (예를 들어, 인지 장애)의 치료 또는 개선의 임의의 성공 징후를 지칭하는 것으로, 이에에는 증상의 감퇴; 관해; 감소, 또는 증상, 손상, 병상 또는 질환을 환자가 더 잘 참을 수 있게 함; 증상 진행의 속도 감소; 증상 또는 질환의 빈도 또는 지속기간의 감소; 또는 일부 상황에서, 증상 개시의 예방과 같은, 임의의 객관적 또는 주관적 파라미터가 포함된다. 증상의 치료 또는 개선은, 예를 들어 신체 검사의 결과를 비롯한 임의의 객관적 또는 주관적 파라미터에 기초할 수 있다.
- [0073] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "암"은 고형 암, 림프종, 및 백혈병을 포함한 질환을 지칭한다. 상이한 유형의 암의 예에는 하기가 포함되지만 이로 한정되지 않는다: 폐암 (예를 들어, 비소세포 폐암 또는 NSCLC), 난소암, 전립선암, 결직장암, 간암 (즉, 간암종), 신장암 (즉, 신장 세포 암종), 방광암, 유방암, 갑상선암, 흉막암, 췌장암, 자궁암, 자궁경부암, 고환암, 항문암, 담관암, 위장 카르시노이드 종양, 식도암, 담낭암, 맹장암, 소장암, 위암 (위의 암), 중추 신경계의 암, 피부암 (예컨대, 흑색종), 용모막암종, 두경부암, 혈액암, 골원성 육종, 섬유육종, 신경아세포종, 신경교종, 흑색종, B-세포 림프종, 비호지킨 림프종, 버킷 림프종, 소세포 림프종, 대세포 림프종, 단핵구성 백혈병, 골수성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 급성 골수구성 백혈병, 및 다발성 골수종.
- [0074] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "유효량" 및 "치료적 유효량"은, 면역접합체와 같은 물질이 투여되는 경우 치료적 효과를 가져오는 그러한 물질의 용량을 지칭한다. 정확한 용량은 치료의 목적에 좌우될 것이며, 알려진 기법을 사용하여 당업자에 의해 확인가능할 것이다 (예를 들어, 문헌[Lieberman, *Pharmaceutical Dosage Forms* (vols. 1-3, 1992)]; 문헌[Lloyd, *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding* (1999)]; 문헌[Pickar, *Dosage Calculations* (1999)]; 문헌[Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th Edition, 2006, Brunton, Ed., McGraw-Hill]; 및 문헌[Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 21st Edition, 2005, Hendrickson, Ed., Lippincott, Williams & Wilkins] 참조).
- [0075] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "대상체"는 포유동물과 같은 동물을 지칭하며, 포유동물에는 영장류 (예를 들어, 인간), 소, 양, 염소, 말, 개, 고양이, 토끼, 래트, 마우스 등이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 소정 실시 형태에서, 대상체는 인간이다.
- [0076] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "투여하는"은 대상체에 대한 비경구, 정맥내, 복막내, 근육내, 종양내, 병변내, 비강내 또는 피하 투여, 경구 투여, 좌제로서의 투여, 국소 접촉, 경막내 투여, 또는 지속-방출 장치, 예를 들어 소형-삼투성 펌프(mini-osmotic pump)의 이식을 지칭한다.
- [0077] 수치 값을 변경하기 위해 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "약" 및 "대략"은 그러한 명시적 값 주위의 근

접 범위를 나타낸다. "X"가 값인 경우, "약 X" 또는 "대략 X"는 0.9X 내지 1.1X, 예를 들어 0.95X 내지 1.05X 또는 0.99X 내지 1.01X의 값을 나타낼 것이다. "약 X" 또는 "대략 X"에 대한 임의의 언급은 구체적으로 적어도 값 X, 0.95X, 0.96X, 0.97X, 0.98X, 0.99X, 1.01X, 1.02X, 1.03X, 1.04X, 및 1.05X를 나타낸다. 따라서, "약 X" 및 "대략 X"는, 예를 들어 "0.98X"의 청구범위 제한을 위한 서면 기재 요건 지지를 교시하고 제공하도록 의도된다.

[0078] **항체-애주번트 면역접합체**

[0079] 본 발명은 면역접합체를 제공하며, 상기 면역접합체는 항원 결합 도메인 및 Fc 도메인을 포함하는 항체 작제물, 애주번트 모이어티, 및 링커를 포함하며, 각각의 애주번트 모이어티는 상기 링커를 통해 상기 항체에 공유 결합된다.

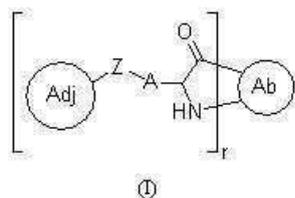
[0080] 본 명세서에 기재된 바와 같은 면역접합체는 항원 제시 세포 (APC)의 예기치 않게 증가된 활성화 반응을 제공할 수 있다. 이러한 증가된 활성화는 시험관내(*in vitro*) 또는 생체내(*in vivo*)에서 검출될 수 있다. 일부 경우에, 증가된 APC 활성화는 지정된 수준의 APC 활성화를 달성하는 데 있어서의 감소된 시간의 형태로 검출될 수 있다. 예를 들어, 시험관내 검정에서, % APC 활성화는, 비접합된 항체 및 TLR 효능제의 혼합물과 동일하거나 유사한 백분율의 APC 활성화를 제공하는 데 필요한 시간의 1%, 10%, 또는 50% 이내에서, 면역접합체에 대한 등가 용량으로 달성될 수 있다. 일부 경우에, 면역접합체는 감소된 시간 내에 APC (예를 들어, 수지상 세포) 및/또는 NK 세포를 활성화할 수 있다. 예를 들어, 일부 경우에, 항체 TLR 효능제 혼합물은 2일, 3일, 4일, 5일, 1 내지 5일, 2 내지 5일, 3 내지 5일, 또는 4 내지 7일 동안 상기 혼합물과 인큐베이션한 후 APC (예를 들어, 수지상 세포) 및/또는 NK 세포를 활성화하고/하거나 수지상 세포 분화를 유도할 수 있는 반면; 대조적으로, 본 명세서에 기재된 면역접합체는 4시간, 8시간, 12시간, 16시간 또는 1일 이내에 분화를 활성화 및/또는 유도할 수 있다. 대안적으로, 증가된 APC 활성화는 APC 활성화의 양 (예를 들어, % APC), 수준 (예를 들어, 적합한 마커의 상향조절의 수준에 의해 측정됨), 또는 속도 (예를 들어, 활성화하는 데 필요한 인큐베이션 시간에 의해 검출됨)의 형태로 검출될 수 있다.

[0081] 본 발명의 면역접합체는 Fc 영역을 포함해야 한다. 도 130a 내지 도 131e에 예시된 바와 같이, 비-FcR 결합 단백질은 화합물 1에 접합될 때 골수성 세포를 활성화하지 않는다.

[0082] 일 실시 형태에서, 본 발명의 면역접합체는 종래 기술의 면역접합체 (예를 들어, '528 특허에 개시된 면역접합체)와 대비하여 활성화에 있어서 5% 초과 증가를 제공한다. 다른 실시 형태에서, 본 발명의 면역접합체는 종래 기술의 면역접합체와 대비하여 활성화에 있어서 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 또는 70% 초과 증가를 제공한다. 활성화의 증가는 당업자에 의해 공지된 임의의 수단에 의해 평가될 수 있으며, 골수성 활성화 또는 사이토카인 분비에 의한 평가를 포함할 수 있다.

[0083] 일 실시 형태에서, 본 발명의 면역접합체는 개선된 약물 대 애주번트 비를 제공한다. 일부 실시 형태에서, 면역접합체당 애주번트 모이어티의 평균수는 약 1 내지 약 10의 범위이다. 바람직한 약물 대 애주번트 비는 원하는 치료 효과에 따라 당업자에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 1.2 초과 약물 대 애주번트 비가 요구될 수 있다. 일 실시 형태에서, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8, 2.0, 2.2, 2.4, 2.6, 2.8, 3.0, 3.2, 3.4, 3.6, 3.8, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 또는 9.0 초과 약물 대 애주번트 비가 요구될 수 있다. 다른 실시 형태에서, 10.0, 9.0, 8.0, 7.0, 6.0, 5.0, 4.0, 3.8, 3.6, 3.4, 3.2, 3.0, 2.8, 2.6, 2.4, 2.2, 2.0, 1.8, 1.6, 1.4, 1.2, 0.8, 0.6, 0.4 또는 0.2 미만의 약물 대 애주번트 비가 바람직할 수 있다. 약물 대 애주번트 비는 당업자에 의해 공지된 임의의 수단에 의해 평가될 수 있다.

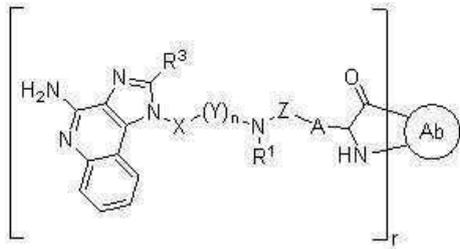
[0084] 본 발명의 면역접합체는 애주번트 모이어티를 항체에 공유 결합하는 연결 모이어티를 함유한다. 일부 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 I에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



[0085] (상기 식에서, Ab는 항체이고; A는 상기 항체 내의 비변형된 아미노산 측쇄 또는 상기 항체 내의 변형된 아미노산 측쇄이고; Z는 연결 모이어티이고; Adj는 애주번트 모이어티이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2,

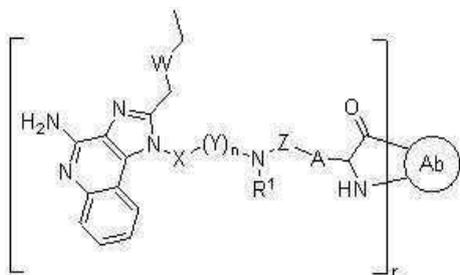
3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)임).

[0087] 일부 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 Ia에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



(Ia)

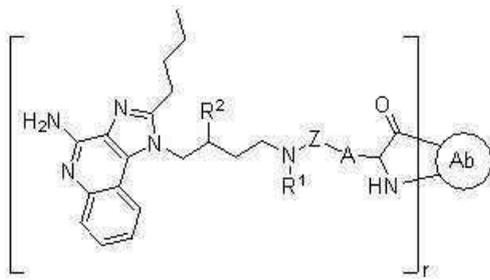
- [0088] (상기 식에서,
- [0090] Ab는 항체이고;
- [0091] A는 상기 항체 내의 비변형된 아미노산 측쇄 또는 상기 항체 내의 변형된 아미노산 측쇄이고;
- [0092] Z는 연결 모이어티이고;
- [0093] R¹은 H 및 C₁₋₄ 알킬로부터 선택되거나; 또는
- [0094] Z, R¹, 및 그들이 부착되어 있는 질소 원자는 5원 내지 8원 헤테로사이클을 포함하는 연결 모이어티를 형성하고;
- [0095] 각각의 Y는 독립적으로 CHR²이며, 여기서 R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택되고;
- [0096] R³은 C₁₋₆ 알킬 및 2원 내지 6원 헤테로알킬로부터 선택되며, 이들 각각은 할로, 하이드록시, 아미노, 옥소 (=O), 알킬아미노, 아미도, 아실, 니트로, 시아노, 및 알콕시로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 구성원으로 선택적으로 치환되고;
- [0097] X는 O 및 CH₂로부터 선택되고;
- [0098] 하첨자 n은 1 내지 12의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12)이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)이다.
- [0099] 화학식 Ia의 면역접합체의 소정 실시 형태에서, 하첨자 n은 1 내지 6의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6)이다.
- [0100] 일부 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 Ib에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



(Ib)

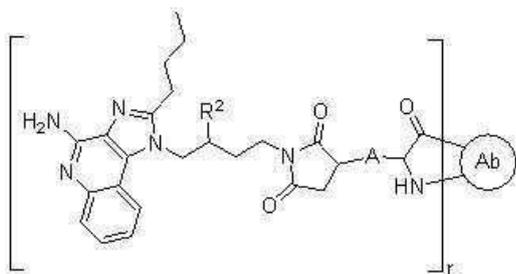
- [0101] (상기 식에서,
- [0103] Ab는 항체이고;
- [0104] A는 상기 항체 내의 비변형된 아미노산 측쇄 또는 상기 항체 내의 변형된 아미노산 측쇄이고;

- [0105] Z는 연결 모이어티이고;
- [0106] R¹은 H 및 C₁₋₄ 알킬로부터 선택되거나; 또는
- [0107] Z, R¹, 및 그들이 부착되어 있는 질소 원자는 5원 내지 8원 헤테로사이클을 포함하는 연결 모이어티를 형성하고;
- [0108] 각각의 Y는 독립적으로 CHR²이며, 여기서 R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택되고;
- [0109] X는 O 및 CH₂로부터 선택되고;
- [0110] 하첨자 n은 1 내지 12의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12)이고;
- [0111] W는 O 및 CH₂로 이루어진 군으로부터 선택됨).
- [0112] 일부 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 Ic에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



(Ic)

- [0113] (상기 식에서,
- [0114] Ab는 항체이고;
- [0115] 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)이고;
- [0116] A는 상기 항체 내의 비변형된 아미노산 측쇄 또는 상기 항체 내의 변형된 아미노산 측쇄이고;
- [0117] Z는 연결 모이어티이고;
- [0118] R¹은 H 및 C₁₋₄ 알킬로부터 선택되거나; 또는
- [0119] Z, R¹, 및 그들이 부착되어 있는 질소 원자는 5원 내지 8원 헤테로사이클을 포함하는 연결 모이어티를 형성하고;
- [0120] R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택됨).
- [0121] 일부 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 Id에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:

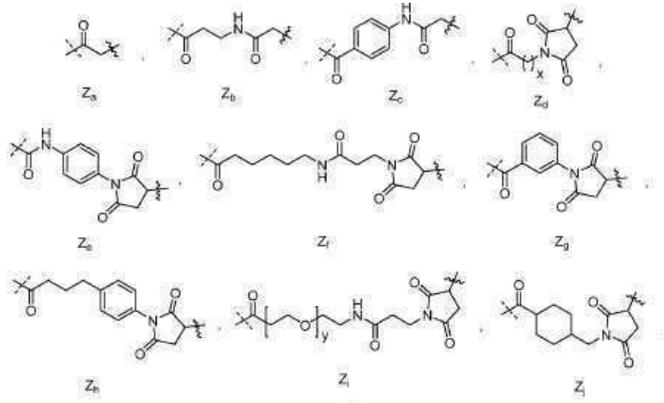


(Id)

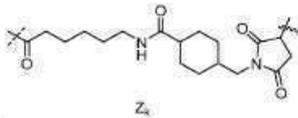
[0123]

[0124] (상기 식에서, Ab는 항체이고; A는 상기 항체 내의 비변형된 아미노산 측쇄 또는 상기 항체 내의 변형된 아미노산 측쇄이고; R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택되고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)임). 소정 실시 형태에서, 하첨자 r은 1 내지 4의 정수 (즉, 1, 2, 3, 또는 4)이다. 화학식 I 및 화학식 Ia 내지 화학식 Id의 면역접합체의 소정 실시 형태에서, A는 티올-변형된 라이신 측쇄이다. 화학식 I 및 화학식 Ia 내지 화학식 Id의 면역접합체의 일부 실시 형태에서, A는 시스테인 측쇄이다.

[0125] 일부 실시 형태에서, Z는 하기로부터 선택된다:



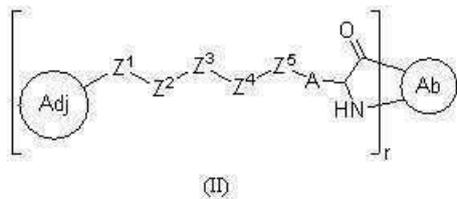
[0126] 및



[0127]

[0128] (상기 식에서, 하첨자 x는 1 내지 12의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12)이고; 하첨자 y는 1 내지 30의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30)이고; 파선 ("---")은 애주번트 모이어티에 대한 부착점을 나타내고; 물결선 ("~~~~")은 항체 내의 아미노산 측쇄에 대한 부착점을 나타냄).

[0129] 일부 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 II에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



[0130]

[0131] (상기 식에서, Ab는 항체이고; A는 상기 항체 내의 비변형된 아미노산 측쇄 또는 상기 항체 내의 변형된 아미노산 측쇄이고; Adj는 애주번트 모이어티이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)이고;

[0132] Z¹은 -C(O)-, -C(O)NH-, -CH₂-로부터 선택되고;

[0133] Z² 및 Z⁴는 독립적으로 결합, C₁₋₃₀ 알킬렌, 및 3원 내지 30원 헤테로알킬렌으로부터 선택되며, 여기서

[0134] 상기 C₁₋₃₀ 알킬렌 및 3원 내지 30원 헤테로알킬렌 내의 인접한 원자들의 하나 이상의 집단(grouping)은 선택적으로 그리고 독립적으로 -C(O)-, -NR^aC(O)-, 또는 -C(O)NR^a-로 대체되고,

[0135] 상기 C₁₋₃₀ 알킬렌 및 3원 내지 30원 헤테로알킬렌 내의 인접한 원자들의 하나 이상의 집단은 선택적으로 그리고 독립적으로 4원 내지 8원 2가 카르보사이클로 대체되고,

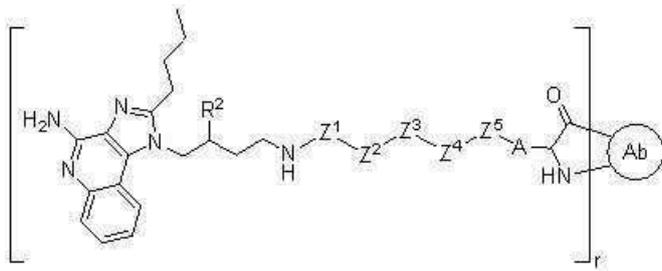
[0136] 상기 C₁₋₃₀ 알킬렌 및 3원 내지 30원 헤테로알킬렌 내의 인접한 원자들의 하나 이상의 집단은 선택적으로 그리고 독립적으로, O, S, 및 N으로부터 선택되는 1 내지 4개의 헤테로원자를 갖는 4원 내지 8원 2가 헤테로사이클로 대체되고;

[0137] 각각의 R^a는 독립적으로 H 및 C₁₋₆ 알킬로부터 선택되고;

[0138] Z³은 결합, 2가 펩티드 모이어티, 및 2가 중합체 모이어티로부터 선택되고;

[0139] Z⁵는 상기 항체 내의 아미노산 측쇄의 측쇄에 결합됨).

[0140] 일부 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 IIa에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



(IIa)

[0141]

[0142] (상기 식에서,

[0143] Z¹은 -C(O)-, -C(O)NH-, -CH₂-로부터 선택되고;

[0144] Z² 및 Z⁴는 독립적으로 결합, C₁₋₃₀ 알킬렌, 및 3원 내지 30원 헤테로알킬렌으로부터 선택되며, 여기서

[0145] 상기 C₁₋₃₀ 알킬 및 3원 내지 30원 헤테로알킬렌 내의 인접한 원자들의 하나 이상의 집단은 선택적으로 그리고 독립적으로 -C(O)-, -NR^aC(O)-, 또는 -C(O)NR^a-로 대체되고,

[0146] 상기 C₁₋₃₀ 알킬렌 및 3원 내지 30원 헤테로알킬렌 내의 인접한 원자들의 하나 이상의 집단은 선택적으로 그리고 독립적으로 4원 내지 8원 2가 카르보사이클로 대체되고,

[0147] 상기 C₁₋₃₀ 알킬렌 및 3원 내지 30원 헤테로알킬렌 내의 인접한 원자들의 하나 이상의 집단은 선택적으로 그리고 독립적으로, O, S, 및 N으로부터 선택되는 1 내지 4개의 헤테로원자를 갖는 4원 내지 8원 2가 헤테로사이클로 대체되고;

[0148] 각각의 R^a는 독립적으로 H 및 C₁₋₆ 알킬로부터 선택되고;

[0149] Z³은 결합, 2가 펩티드 모이어티, 및 2가 중합체 모이어티로부터 선택되고;

[0150] Z⁵는 아민-결합된 모이어티 및 티올-결합된 모이어티로부터 선택됨).

[0151] 화학식 II 및 화학식 IIa의 면역접합체의 소정 실시 형태에서, Z⁵는 티올-결합된 모이어티이다. 화학식 II 및 화학식 IIa의 면역접합체의 소정 실시 형태에서, Z⁵는 티올-결합된 모이어티이고, A는 티올-변형된 라이신 측쇄이다. 화학식 II 및 화학식 IIa의 면역접합체의 소정 실시 형태에서, Z⁵는 티올-결합된 모이어티이고, A는 시스테인 측쇄이다.

[0152] 화학식 II 및 화학식 IIa의 면역접합체의 소정 실시 형태에서, 연결 모이어티 (즉, 애쥬번트 ("Adj")와 아미노산 ("A") 사이의 구조 성분)는 하기로부터 선택되는 구조를 포함한다:

표 1

<p>LM_a</p>	<p>LM_b</p>	<p>LM_c</p>
<p>LM_d</p>	<p>LM_e</p>	<p>LM_f</p>
<p>LM_g</p>	<p>LM_h</p>	<p>LM_i</p>
<p>및</p>	<p>LM_j</p>	

[0153]

[0154]

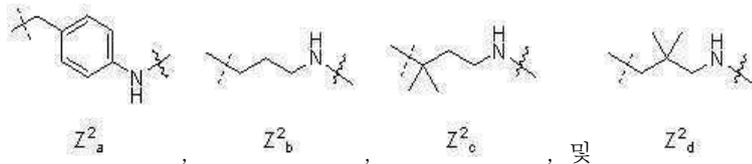
(상기 식에서, Z¹, Z², Z³, 및 Z⁴는 상기와 같이 기재되어 있으며; 파선 (" ")은 에쥬번트 모이어티에 대한 부착점을 나타내고; 물결선 (" ")은 항체 내의 아미노산 측쇄에 대한 부착점을 나타냄). 일부 실시 형태에서, Z³은 2가 펩티드 모이어티이다. 일부 실시 형태에서, 펩티드는 알라닌 잔기, 발린 잔기, 류신 잔기, 아이소류신 잔기, 메티오닌 잔기, 페닐알라닌 잔기, 트립토판 잔기, 및 프롤린 잔기로부터 선택되는 제1 잔기를 포함한다. 일부 그러한 실시 형태에서, 펩티드는 보호되지 않은 라이신 잔기, 보호된 라이신 잔기, 보호되지 않은 아르기닌 잔기, 보호된 아르기닌 잔기, 히스티딘 잔기, 보호되지 않은 오르니틴 잔기, 보호된 오르니틴 잔기, 라이신 잔기, 및 시트룰린으로부터 선택되는 제2 아미노산을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 펩티드는 페닐알라닌 잔기 및 발린 잔기로부터 선택되는 제1 잔기를 포함한다. 일부 그러한 실시 형태에서, 펩티드는 라이신 잔기 및 시트룰린 잔기로부터 선택되는 제2 잔기를 포함한다. 전형적으로, 펩티드 모이어티는 약 2 내지 12개의 아미노산 잔기를 함유할 것이다. 예를 들어, 펩티드는 2 내지 8개의 아미노산 잔기, 또는 2 내지 4개의 아미노산 잔기를 함유할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 펩티드는 다이펩티드이다. 일부 실시 형태에서, 펩티드는 테트라펩티드이다.

[0155]

일부 실시 형태에서, 펩티드는 Phe-Lys; Val-Lys; Phe-Phe-Lys; D-Phe-Phe-Lys; Gly-Phe-Lys; Ala-Lys; Val-Cit; Val-Ala; Phe-Cit; Leu-Cit; Ile-Cit; Trp-Cit; Phe-Ala; Gly-Phe-Leu-Gly; Ala-Leu-Ala-Leu; Phe-N⁹-토실-Arg; 및 Phe-N⁹-니트로-Arg로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 펩티드는 카텡신 B, 카텡신 C, 또는 카텡신 D와 같은 프로테아제에 의해 절단될 수 있다. 카텡신 B-민감성 펩티드가 링커 성분으로서 특히 유용할 수 있는데, 이는, 카텡신 B가 다수의 병상 및 발암성 과정에 관여하기 때문이다. 카텡신 B의 발현 및 활성은 건강한 조직 및 기관에서는 엄격하게 조절되지만, 종양 및 다른 악성 종양에서는 다양한 수준으로 조절이 변경될 수 있다. 카텡신 B의 과발현은 뇌암, 폐암, 전립선암, 유방암, 및 결직장암을 포함한 다양한 암에서 관찰되어 왔다. 예를 들어, 문헌[Gondi *et al.*, *Expert Opin. Ther. Targets*, 2013; 17(3): 281-291]을 참조한다. 따라서, 카텡신 B-민감성 펩티드 성분, 예컨대 Phe-Lys 및 Val-Cit 다이펩티드를 함유하는 링커는 면역접합체가 대상체에서 종양과 같은 악성 표적에 도달할 때 절단될 수 있다. 이들 펩티드 성분은 일반적으로 순환계 및 건강한 조직에서는 효소에 반응하지 않기 때문에, 에쥬번트 모이어티는 면역접합체가 대상체 내의 표적에 도달하기 전에는 방출되지 않는다.

[0156]

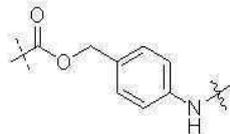
일부 실시 형태에서, Z²는 C₁₋₃₀ 알킬렌 및 3원 내지 30원 헤테로알킬렌으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 인접한 원자들의 하나 이상의 집단은 -C(O)-, -NHC(O)-, 또는 -C(O)NH-로 선택적으로 그리고 독립적으로 대체되고; 인접한 원자들의 하나 이상의 집단은 선택적으로 그리고 독립적으로 4원 내지 8원 2가 카르보사이클로 대체된다. 일부 실시 형태에서, Z²는 하기로부터 선택된다:



[0157] (상기 식에서, 파선 (" ")은 Z^1 에 대한 부착점을 나타내고, 물결선

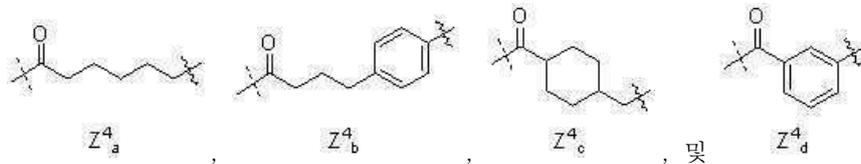
[0159] (" ")은 Z^3 에 대한 부착점을 나타낸다.

[0160] 소정 실시 형태에서, $-Z^1-Z^2-$ 는 하기와 같다:



[0161] (상기 식에서, 파선 (" ")은 애쥬번트 모이어티에 대한 부착점을 나타내고, 물결선 (" ")은 Z^3 에 대한 부착점을 나타냄). 일부 그러한 실시 형태에서, Z^3 은 Phe-Lys 및 Val-Cit로부터 선택되는 2가 펩티드 모이어티이다.

[0163] 일부 실시 형태에서, Z^4 는 C_{1-30} 알킬렌이며, 여기서 인접한 원자들의 하나 이상의 집단은 $-C(O)-$, $-NHC(O)-$, 또는 $-C(O)NH-$ 로 선택적으로 그리고 독립적으로 대체되고; 인접한 원자들의 하나 이상의 집단은 선택적으로 그리고 독립적으로 4원 내지 8원 2가 카르보사이클로 대체된다. 일부 실시 형태에서, Z^4 는 하기로부터 선택된다:



[0165] (상기 식에서, 파선 (" ")은 Z^3 에 대한 부착점을 나타내고, 물결선

[0166] (" ")은 Z^5 에 대한 부착점을 나타낸다. 일부 그러한 실시 형태에서, Z^3 은 Phe-Lys 및 Val-Cit로부터 선택되는 2가 펩티드 모이어티이다.

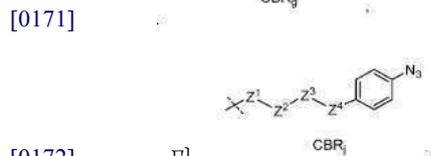
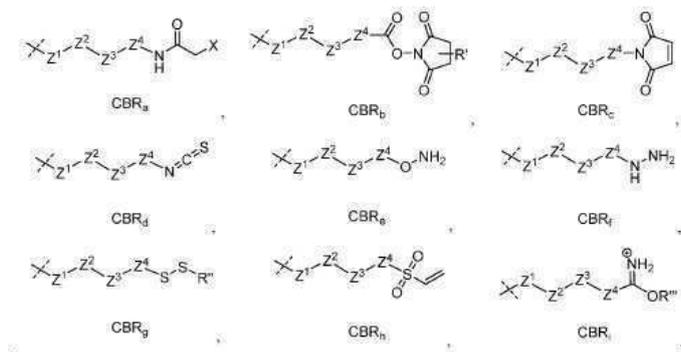
[0167] 당업자는, 접합체 내의 애쥬번트 모이어티는 단백질 변형을 위한 다양한 화학을 사용하여 항체에 공유 결합될 수 있고, 전술된 연결 모이어티는 단백질 작용기 (즉, 아미노산 측쇄)와 반응성 링커 기를 갖는 시약의 반응으로부터 생성된다는 것을 이해할 것이다. 매우 다양한 그러한 시약이 당업계에 공지되어 있다. 그러한 시약의 예에는 N-하이드록시석신이미딜 (NHS) 에스테르 및 N-하이드록시설포석신이미딜 (설포-NHS) 에스테르 (아민 반응성); 카르보다이이미드 (아민 및 카르복실 반응성); 하이드록시메틸 포스핀 (아민 반응성); 말레이미드 (티올 반응성); 할로젠화 아세트아미드, 예컨대 N-요오도아세트아미드 (티올 반응성); 아릴 아지드 (1 차 아민 반응성); 플루오르화 아릴 아지드 (탄소-수소 (C-H) 삽입을 통한 반응성); 펜타플루오로페닐 (PFP) 에스테르 (아민 반응성); 테트라플루오로페닐 (TFP) 에스테르 (아민 반응성); 이미도에스테르 (아민 반응성); 아이소시아네이트 (하이드록실 반응성); 비닐 설포 (티올, 아민, 및 하이드록실 반응성); 피리딜 다이설파이드 (티올 반응성); 및 벤조페논 유도체 (C-H 결합 삽입을 통한 반응성)가 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 추가의 시약은 문헌[Hermanson, *Bioconjugate Techniques* 2nd Edition, Academic Press, 2008]에 기재된 것들을 포함하지만 이로 한정되지 않는다.

[0168] 말레이미드 기, 비닐 설포 기, 피리딜 다이설파이드 기, 및 할로젠화 아세트아미드 기를 함유하는 링커는 항체 내의 티올 기에 대한 공유 결합에 특히 유용하다. 항체 내의 티올 기는 일반적으로 시스테인 측쇄에 위치한다. 유리 티올 기는 항체 내의 천연 발생, 용매-접근가능한 시스테인 잔기에 존재할 수 있다. 유리 티올은 또한, 하기에 기재된 바와 같이, 조작된 시스테인 잔기에 존재할 수 있다. 게다가, 티올 기는 항체 내의 시스테인 측

쇄들 사이의 이황화물 결합의 완전 또는 부분 환원을 통해 생성될 수 있다. 티올 기는 또한 2-이미노티올란 (트라우트(Traut) 시약), *N*-석신이미딜-S-아세틸티오아세테이트 (SATA), 및 SATP (*N*-석신이미딜-S-아세틸티오프로피오네이트)를 포함하지만 이로 한정되지 않는 시약을 사용하여 공지된 방법을 사용하여 라이신 측쇄에 부가될 수 있다. 항체를 SATA 및 SATP와 같은 아세틸화 시약으로 변형시킬 때, 추가의 접합을 위해 유리 티올 기를 생성하기 위하여 아세틸 기는 하이드록실아민 또는 유사한 시약에 의한 가수분해를 통해 제거될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Traut *et al.* (*Biochem.*, 12(17): 3266-3273 (1973))] 및 문헌[Duncan *et al.* (*Anal. Biochem.*, 132(1): 68-73 (1983))]을 참조한다.

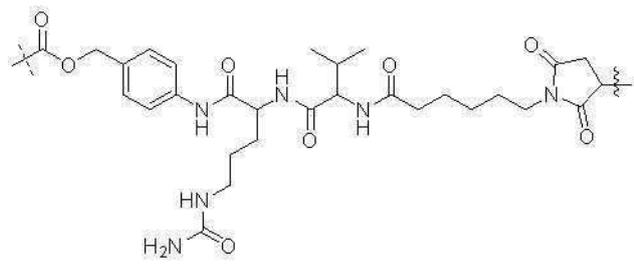
[0169] 링커가 항체 작제물 및 애주번트 모이어티에 공유 결합되는 경우, 링커는 항체 작제물 및 애주번트 모이어티의 기능이 유지되도록 하는 임의의 적합한 길이를 가질 수 있다. 링커는 약 3 Å 이상, 예를 들어 약 4 Å 이상, 약 5 Å 이상, 약 6 Å 이상, 약 7 Å 이상, 약 8 Å 이상, 약 9 Å 이상, 또는 약 10 Å 이상의 길이를 가질 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 링커는 약 50 Å 이하, 예를 들어 약 45 Å 이하, 약 40 Å 이하, 약 35 Å 이하, 약 30 Å 이하, 약 25 Å 이하, 약 20 Å 이하, 또는 약 15 Å 이하의 길이를 가질 수 있다. 따라서, 링커는 상기 언급된 중점들 중 임의의 2개에 의해 한계가 정해진 길이를 가질 수 있다. 링커는 약 3 Å 내지 약 50 Å, 예를 들어 약 3 Å 내지 약 45 Å, 약 3 Å 내지 약 40 Å, 약 3 Å 내지 약 35 Å, 약 3 Å 내지 약 30 Å, 약 3 Å 내지 약 25 Å, 약 3 Å 내지 약 20 Å, 약 3 Å 내지 약 15 Å, 약 5 Å 내지 약 50 Å, 약 5 Å 내지 약 25 Å, 약 5 Å 내지 약 20 Å, 약 10 Å 내지 약 50 Å, 약 10 Å 내지 약 20 Å, 약 5 Å 내지 약 30 Å, 또는 약 5 Å 내지 약 15 Å의 길이를 가질 수 있다. 바람직한 실시 형태에서, 링커는 약 3 Å 내지 약 20 Å의 길이를 갖는다.

[0170] 따라서, 본 발명은 애주번트 모이어티가 하기로부터 선택되는 시약 (또는 공유 결합 시약 ("CBR"))을 사용하여 항체에 공유 결합되는 실시 형태를 제공한다:



[0173] (상기 식에서, X는 할로겐 (예를 들어, 요오드, 브로모, 또는 클로로)이고; R'은 H 또는 설포이고; R''은 선택적으로 치환된 아릴 (예를 들어, 3-카르복시-4-니트로페닐) 또는 선택적으로 치환된 헤테로아릴 (예를 들어, 피리딘-2-일)이고; R'''은 선택적으로 치환된 알킬 (예를 들어, 메톡시)이고; Z¹, Z², Z³, 및 Z⁴는 전술된 바와 같고; 파선 ("---")은 애주번트 모이어티에 대한 부착점을 나타낸다.

[0174] 일부 실시 형태에서, 링커 모이어티 -Z¹-Z²-Z³-Z⁴-Z⁵-는 하기와 같다:

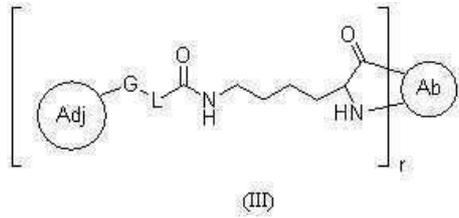


[0175]

[0176] (상기 식에서, 파선 ("---")은 애주번트 모이어티에 대한 부착점을 나타내고; 물결선 ("~")은 항체 내의 아미노

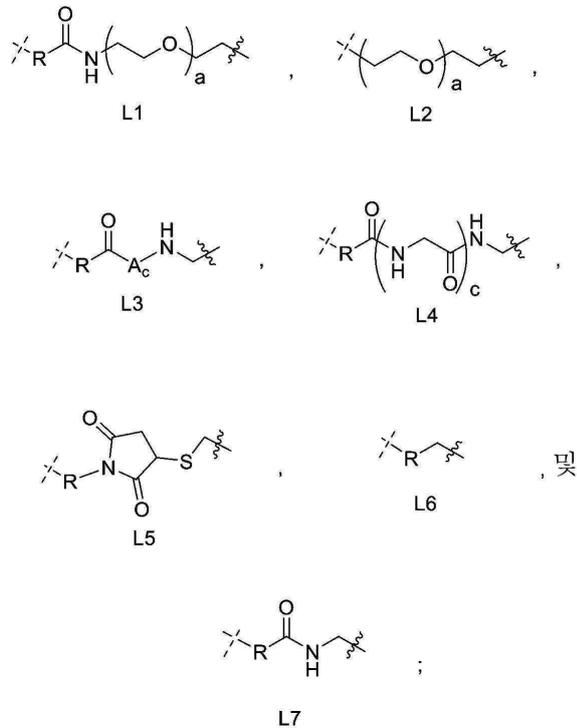
노산 측쇄에 대한 부착점을 나타냄). 일부 그러한 실시 형태에서, 아미노산 측쇄는 시스테인 측쇄, 또는 티올기를 함유하는 변형된 라이신 측쇄이다.

[0177] 일부 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 III에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:

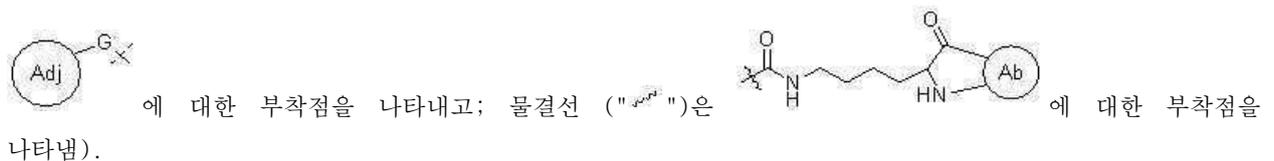


[0178] (상기 식에서, Ab는 적어도 하나의 라이신 측쇄를 갖는 항체이고, Adj는 애주번트이고, G는 CH₂, C=O, 또는 결합이고, L은 링커이고, 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)임). 화학식 III의 면역접합체의 소정 실시 형태에서, 그러한 항체는 티올-변형된 라이신 측쇄를 함유하지 않는다.

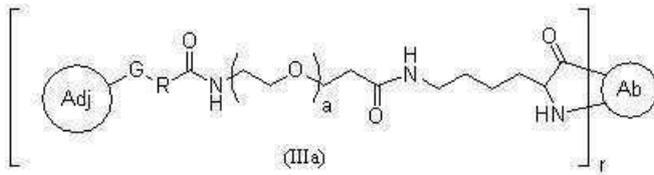
[0180] 일부 실시 형태에서, L은 하기로부터 선택된다:



[0181] (상기 식에서, R은 선택적으로 존재하고, 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이고; a는 1 내지 40의 정수이고; 각각의 A는 독립적으로 임의의 아미노산으로부터 선택되고; 하첨자 c는 1 내지 20의 정수이고; 파선 (" ")은



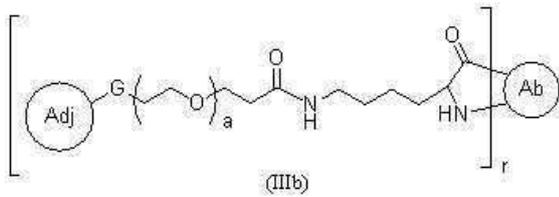
[0183] 일부 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 IIIa에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



[0184]

[0185] (상기 식에서, Ab는 적어도 하나의 라이신 측쇄를 갖는 항체이고; Adj는 애쥬번트이고; G는 CH₂, C=O, 또는 결합이고; R은 선택적으로 존재하고, 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이고; 하첨자 a는 1 내지 40의 정수이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)임).

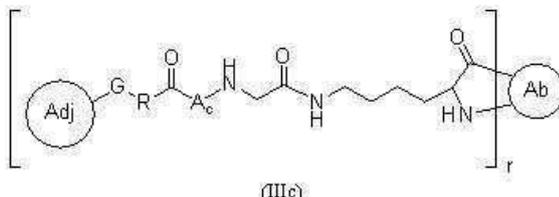
[0186] 일부 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 IIIb에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



[0187]

[0188] (상기 식에서, Ab는 적어도 하나의 라이신 측쇄를 갖는 항체이고; Adj는 애쥬번트이고; G는 CH₂, C=O, 또는 결합이고; 하첨자 a는 1 내지 40의 정수이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)임).

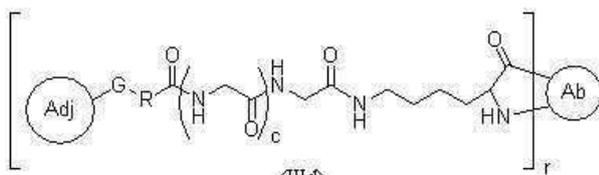
[0189] 일부 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 IIIc에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



[0190]

[0191] (상기 식에서, Ab는 적어도 하나의 라이신 측쇄를 갖는 항체이고; Adj는 애쥬번트이고; G는 CH₂, C=O, 또는 결합이고; R은 선택적으로 존재하고, 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이고; 각각의 A는 독립적으로 임의의 아미노산으로부터 선택되고; 하첨자 c는 1 내지 20의 정수이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)임).

[0192] 일부 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 IIId에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:

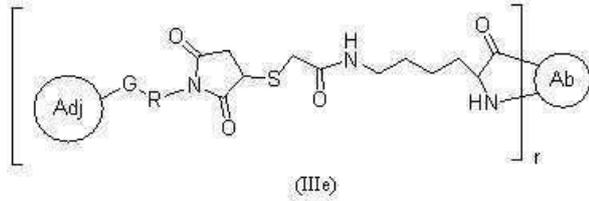


[0193]

[0194] (상기 식에서, Ab는 적어도 하나의 라이신 측쇄를 갖는 항체이고; Adj는 애쥬번트이고; G는 CH₂, C=O, 또는 결합이고; R은 선택적으로 존재하고, 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이고; 하첨자 c는 1 내지 20의 정수이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)임).

[0195] 일부 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 IIIe에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되

는 염이다:



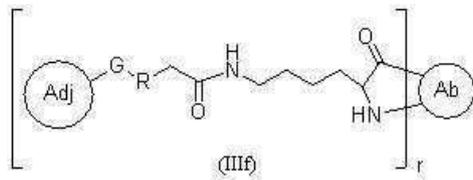
[0196]

[0197]

(상기 식에서, Ab는 적어도 하나의 라이신 측쇄를 갖는 항체이고; Adj는 애쥬번트이고; G는 CH₂, C=O, 또는 결합이고; R은 선택적으로 존재하고, 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)임).

[0198]

일부 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 IIIf에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



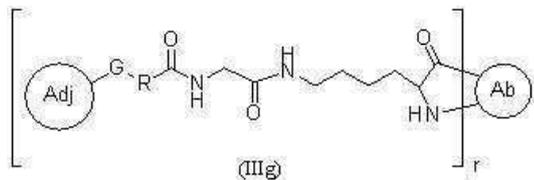
[0199]

[0200]

(상기 식에서, Ab는 적어도 하나의 라이신 측쇄를 갖는 항체이고; Adj는 애쥬번트이고; G는 CH₂, C=O, 또는 결합이고; R은 선택적으로 존재하고, 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)임).

[0201]

일부 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 IIIg에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



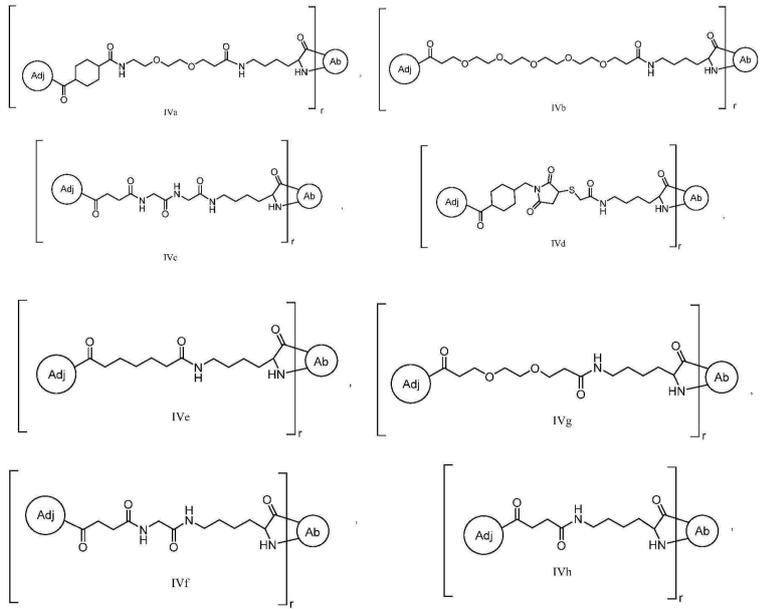
[0202]

[0203]

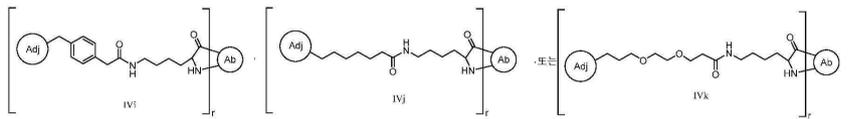
(상기 식에서, Ab는 적어도 하나의 라이신 측쇄를 갖는 항체이고; Adj는 애쥬번트이고; G는 CH₂, C=O, 또는 결합이고; R은 선택적으로 존재하고, 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)임).

[0204]

따라서, 면역접합체는 화학식 IVa 내지 화학식 IVk에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염일 수 있다:



[0205]



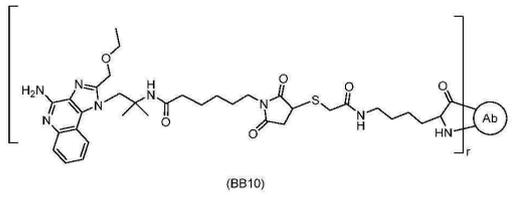
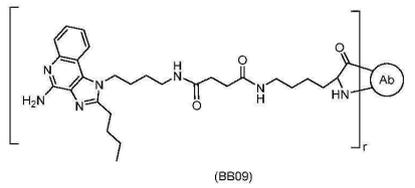
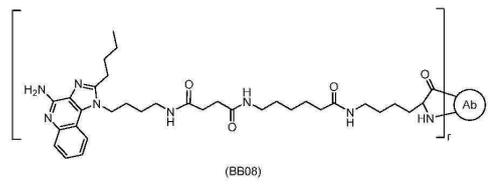
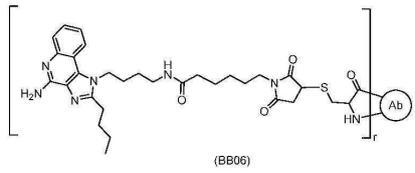
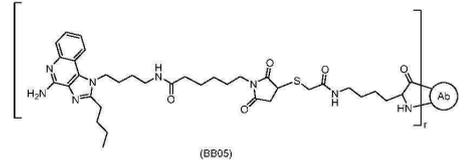
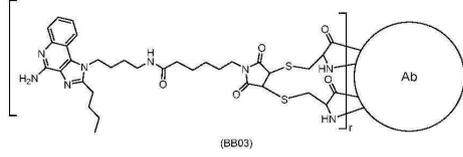
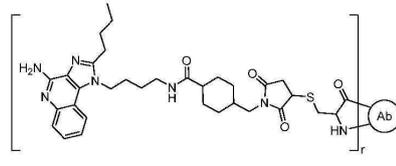
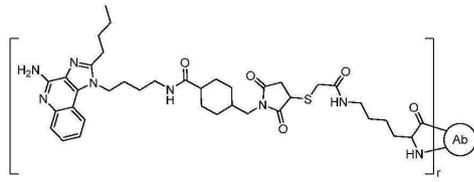
[0206]

[0207]

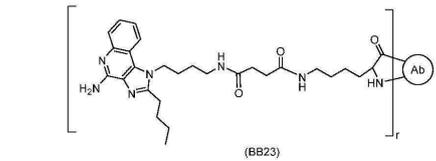
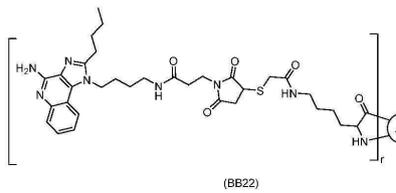
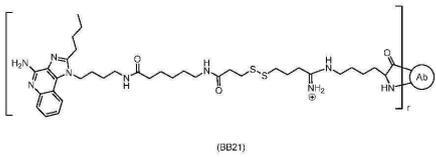
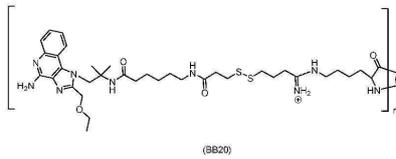
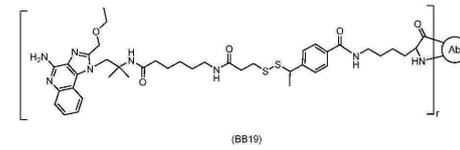
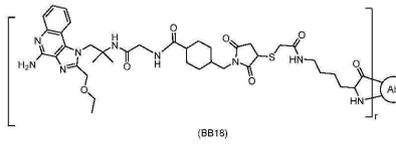
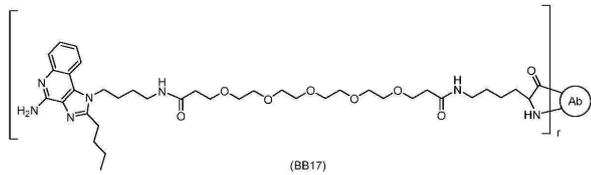
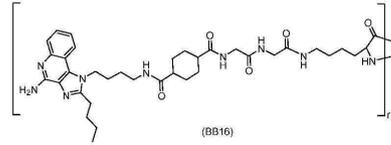
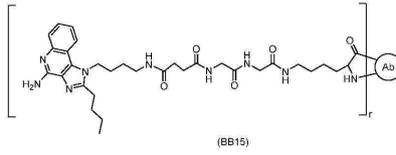
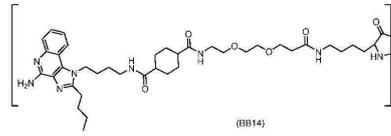
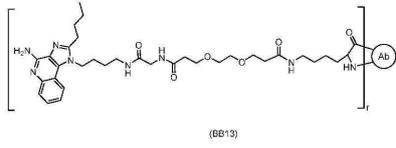
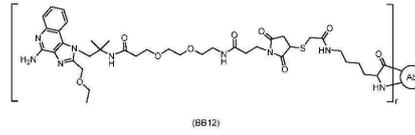
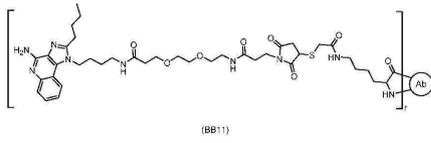
(상기 식에서, Ab는 적어도 하나의 라이신 측쇄를 갖는 항체이고; Adj는 애듀반트이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)임). 소정 실시 형태에서, 하첨자 r은 1 내지 4의 정수 (즉, 1, 2, 3, 또는 4)이다.

[0208]

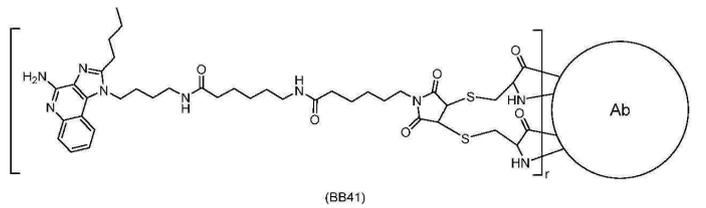
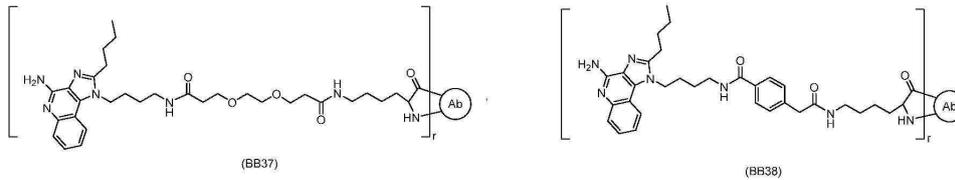
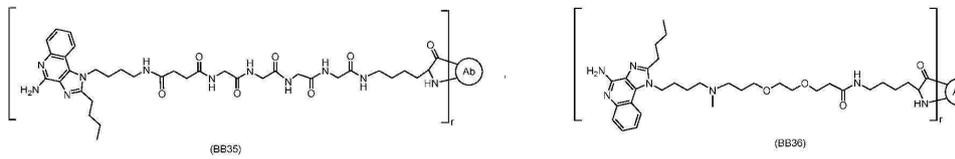
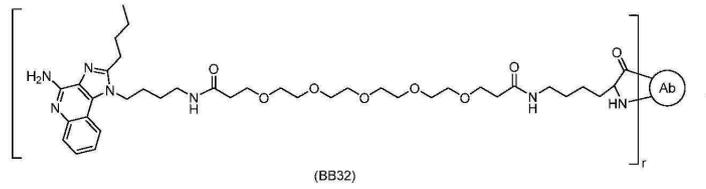
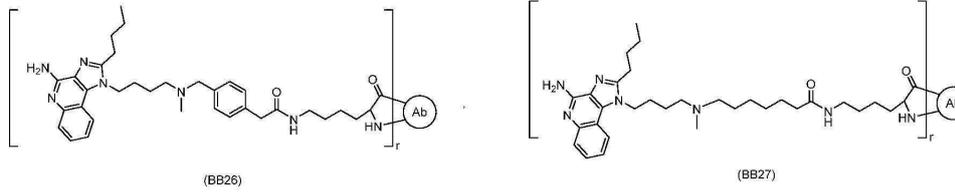
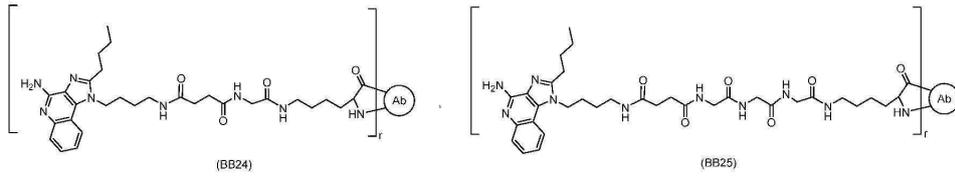
소정 실시 형태에서, 면역접합체는 하기로부터 선택되는 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



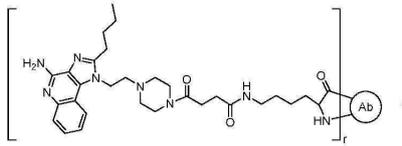
[0209]



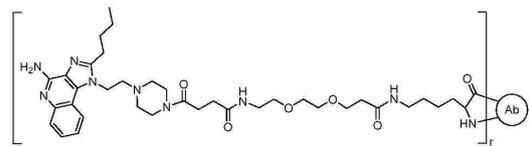
[0210]



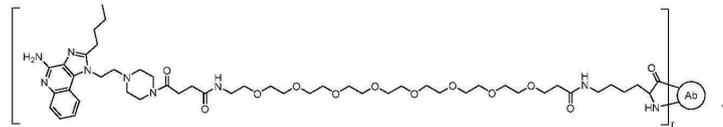
[0211]



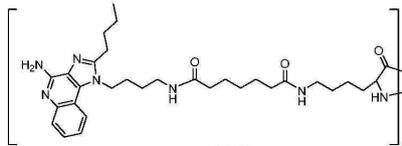
(BB42)



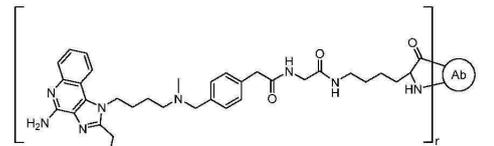
(BB43)



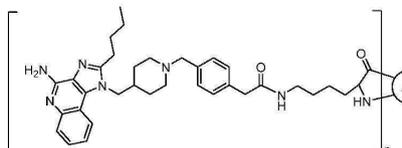
(BB44)



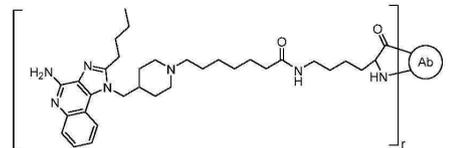
(BB45)



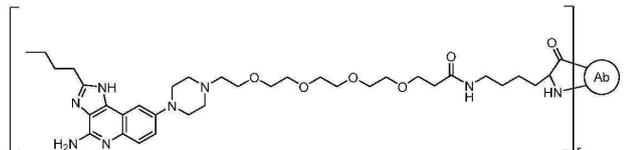
(BB47)



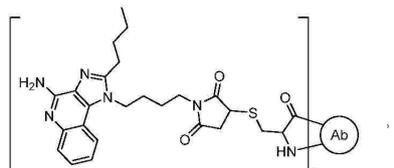
(BB48)



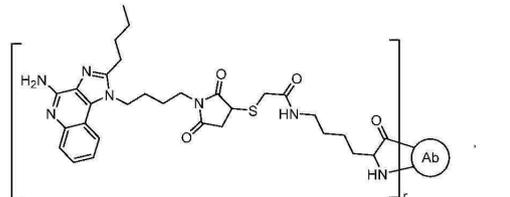
(BB49)



(BB50)

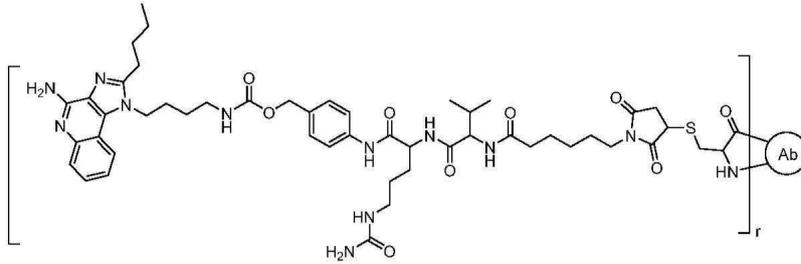


(BB51)

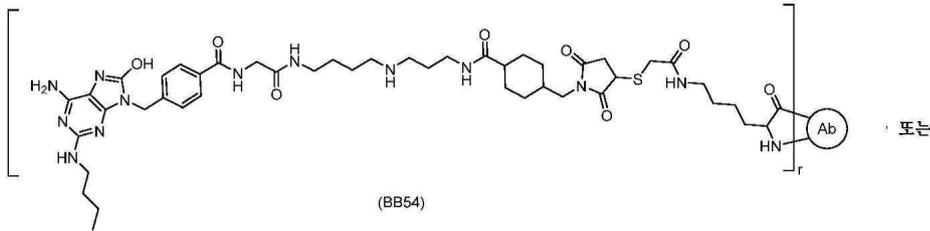


(BB52)

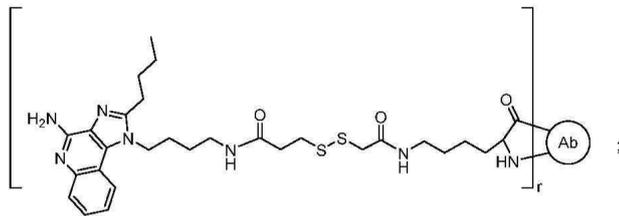
[0212]



(BB53)



(BB54)



(BB55)

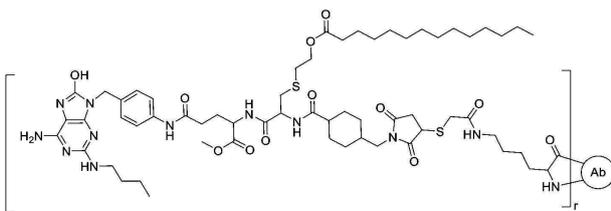
[0213]

[0214]

(상기 식에서, Ab는 적어도 하나의 라이신 측쇄를 갖는 항체이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)임). 소정 실시 형태에서, 하첨자 r은 1 내지 4의 정수 (즉, 1, 2, 3, 또는 4)이다.

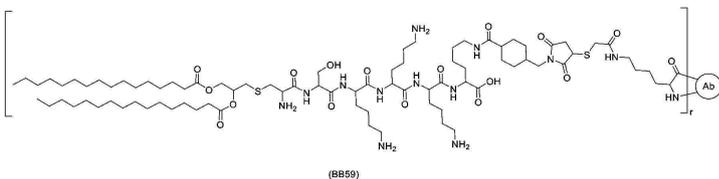
[0215]

소정 실시 형태에서, 면역접합체는 하기로부터 선택되는 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:

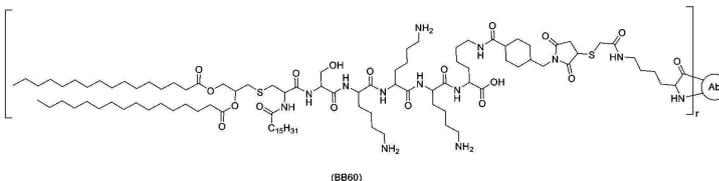


(BB58)

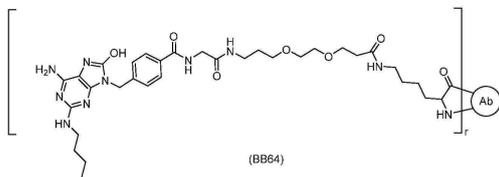
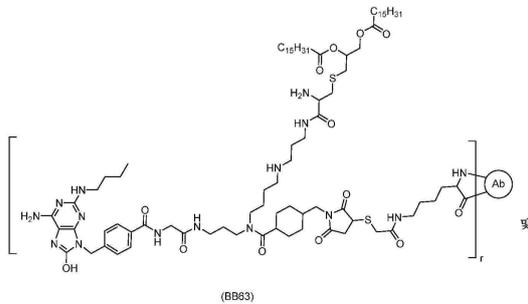
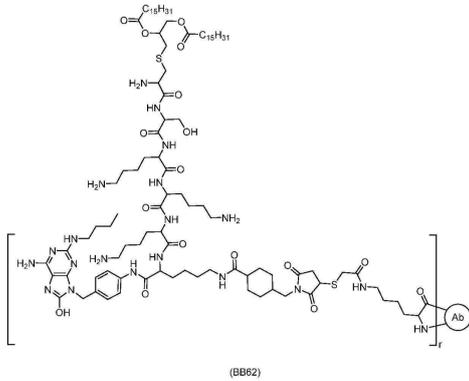
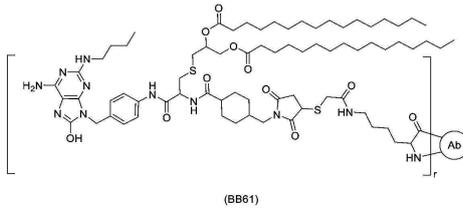
[0216]



(BB59)



(BB60)



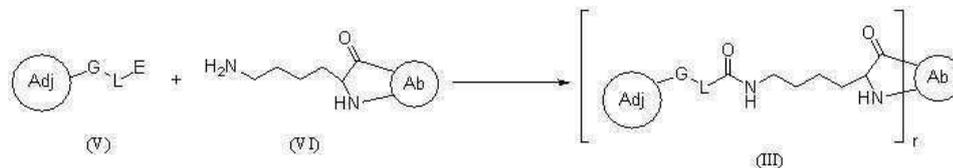
[0217]

[0218]

(상기 식에서, Ab는 적어도 하나의 라이신 측쇄를 갖는 항체이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)임). 소정 실시 형태에서, 하첨자 r은 1 내지 4의 정수 (즉, 1, 2, 3, 또는 4)이다.

[0219]

제2 태양에서, 본 발명은 화학식 V의 하나 이상의 화합물 및 화학식 VI의 항체로부터 화학식 III의 면역접합체를 생성하기 위한 개선된 방법을 제공하며, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:



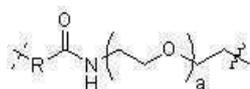
[0220]

[0221]

(상기 식에서, Adj는 애주번트이고; G는 CH₂, C=O, 또는 결합이고; L은 링커이고; E는 에스테르이고; 화학식 VI은 적어도 하나의 라이신 측쇄를 갖는 항체이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)임). 소정 실시 형태에서, 애주번트 ("Adj")는 TLR 효능제이다.

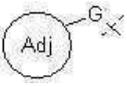
[0222]

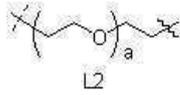
에스테르를 통해 항체 (화학식 VI의 화합물)에 결합될 수 있다면 임의의 적합한 링커가 사용될 수 있다. 예를



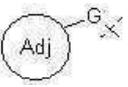
들어, 링커 ("L")는 하기 화학식 $\text{R}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{L}_1$ 를 가질 수 있으며, 상기 식에서 R은 선택적으로 존재하

고, 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이고; 하첨자 a는 1 내지 40의 정수이고;

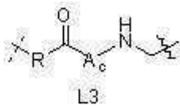
파선 (" --- ")은  에 대한 부착점을 나타내고; 물결선 (" --- ")은 E에 대한 부착점을 나타낸다. 일부 실시 형태에서, 하첨자 a는 1 내지 20의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 하첨자 a는 1 내지 10의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 하첨자 a는 1 내지 5의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 하첨자 a는 1 내지 3의 정수이다. 소정 실시 형태에서, R은 존재하고, 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이다.



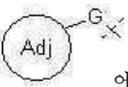
[0223] 링커 ("L")는 하기 화학식 L_2 를 가질 수 있으며,

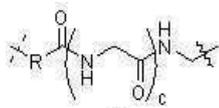
[0224] 상기 식에서 하첨자 a는 1 내지 40의 정수이고; 파선 (" --- ")은  에 대한 부착점을 나타내고; 물결선 (" --- ")은 E에 대한 부착점을 나타낸다.

[0225] 일부 실시 형태에서, 하첨자 a는 1 내지 20의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 하첨자 a는 1 내지 10의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 하첨자 a는 1 내지 5의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 하첨자 a는 1 내지 3의 정수이다.



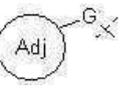
[0226] 링커 ("L")는 또한 하기 화학식 L_3 를 가질 수 있으며, 상기 식에서 R은 선택적으로 존재하고, 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이고; 각각의 A는 독립적으로 임의의 아미노산으

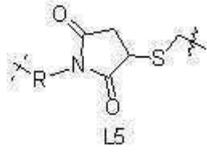
로부터 선택되고; 하첨자 c는 1 내지 20의 정수이고; 파선 (" --- ")은  에 대한 부착점을 나타내고; 물결선 (" --- ")은 E에 대한 부착점을 나타낸다. 일부 실시 형태에서, 하첨자 c는 1 내지 10의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 하첨자 c는 1 내지 5의 정수이다. 일부 실시 형태에서, 하첨자 c는 1 내지 2의 정수이다. 소정 실시 형태에서, R은 존재하고, 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이다.



[0227] 링커 ("L")는 또한 하기 화학식 L_4 를 가질 수 있으며,

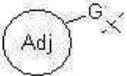
[0228] 상기 식에서 R은 선택적으로 존재하고, 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이고;

하첨자 c는 1 내지 20의 정수이고; 파선 (" --- ")은  에 대한 부착점을 나타내고; 물결선 (" --- ")은 E에 대한 부착점을 나타낸다. 일부 실시 형태에서, 하첨자 c는 1 내지 10의 정수이다. 일부 실시 형태에서, c는 1 내지 5의 정수이다. 소정 실시 형태에서, R은 존재하고, 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이다.



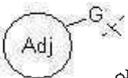
[0229] 링커 ("L")는 또한 하기 화학식 $L5$ 를 가질 수 있으며,

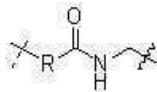
[0230] 상기 식에서 R은 선택적으로 존재하고, 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이고;

파선 (" --- ")은  에 대한 부착점을 나타내고; 물결선 (" --- ")은 E에 대한 부착점을 나타낸다. 소정 실시 형태에서, R은 존재하고, 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이다.



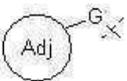
[0231] 링커 ("L")는 또한 하기 화학식 $L6$ 를 가질 수 있으며, 상기 식에서 R은 선택적으로 존재하고, 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는

불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이고; 파선 (" --- ")은  에 대한 부착점을 나타내고; 물결선 (" --- ")은 E에 대한 부착점을 나타낸다. 소정 실시 형태에서, R은 존재하고, 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이다.

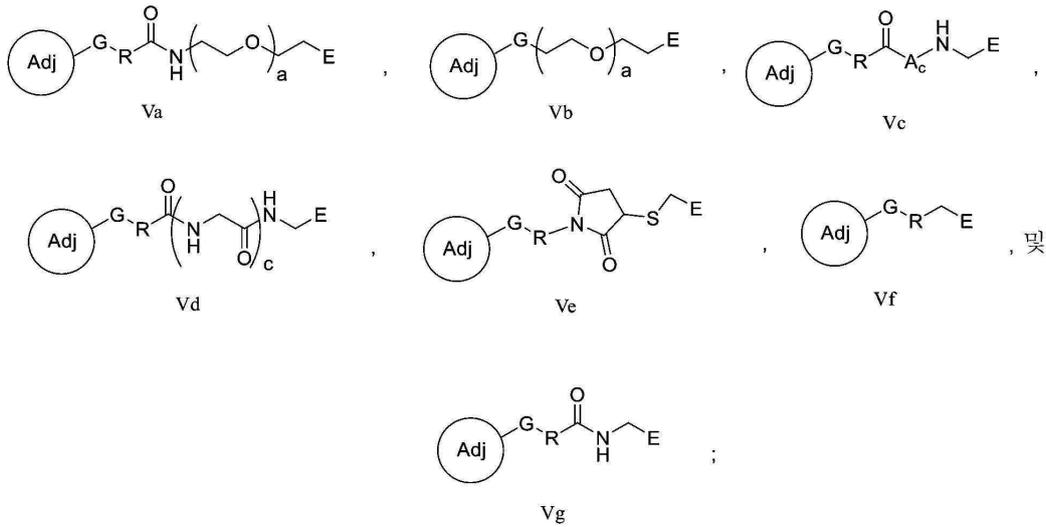


[0232] 링커 ("L")는 또한 하기 화학식 $L7$ 를 가질 수 있으며,

[0233] 상기 식에서 R은 선택적으로 존재하고, 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이고;

파선 (" --- ")은  에 대한 부착점을 나타내고; 물결선 (" --- ")은 E에 대한 부착점을 나타낸다. 소정 실시 형태에서, R은 존재하고, 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이다.

[0234] 일부 실시 형태에서, 화학식 V의 화합물은 하기로부터 선택된다:

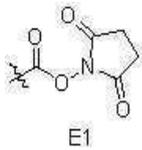


[0235]

[0236] (상기 식에서, G는 CH₂, C=O, 또는 결합이고; R은 선택적으로 존재하고, 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이고; 하첨자 a는 1 내지 40의 정수이고; 각각의 A는 독립적으로 임의의 아미노산으로부터 선택되고; 하첨자 c는 1 내지 20의 정수이고; E는 에스테르임).

[0237] 앞서 논의된 바와 같이, 면역접합체를 형성하는 많은 방법이 있다. 종래 기술의 각각의 방법은 불리한 점을 안고 있다. 본 방법은 링커를 포함하도록 변형된 애주번트를 항체 (화학식 VI의 화합물)의 라이신 측쇄에 접합하는 1-단계 프로세스를 포함한다. 이러한 프로세스는 에스테르를 사용함으로써 가능하다. 에스테르는 화학식 V의 화합물을 항체 (화학식 VI의 화합물)의 라이신 측쇄에 연결할 수 있는 임의의 적합한 에스테르일 수 있다.

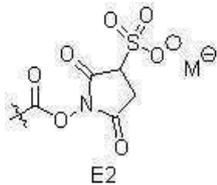
[0238] 예를 들어, 화학식 V의 에스테르는 하기 화학식의 N-하이드록시석신이미드 ("NHS") 에스테르일 수 있다:



[0239]

[0240] (상기 식에서, 물결선 ("~~~~")은 링커 ("L")의 부착점을 나타냄).

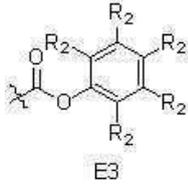
[0241] 화학식 V의 에스테르는 또한 하기 화학식의 설포-N-하이드록시석신이미드 에스테르일 수 있다:



[0242]

[0243] (상기 식에서, M은 임의의 양이온이고, 물결선 ("~~~~")은 링커 ("L")의 부착점을 나타냄). 예를 들어, 양이온 반대 이온 ("M⁺")은 양성자, 암모늄, 4차 아민, 알칼리 금속의 양이온, 알칼리 토금속의 양이온, 전이 금속의 양이온, 희토류 금속의 양이온, 주족 원소 양이온, 또는 이들의 조합일 수 있다.

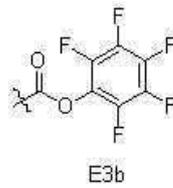
[0244] 화학식 V의 에스테르는 또한 하기 화학식의 페놀 에스테르일 수 있다:



[0245]

[0246] (상기 식에서, 각각의 R₂는 독립적으로 수소 또는 불소로부터 선택되고, 물결선 ("~~~~")은 링커 ("L")에 대한 부착점을 나타낸다.

[0247] 화학식 V의 에스테르는 또한 하기 화학식의 페놀 에스테르일 수 있다:



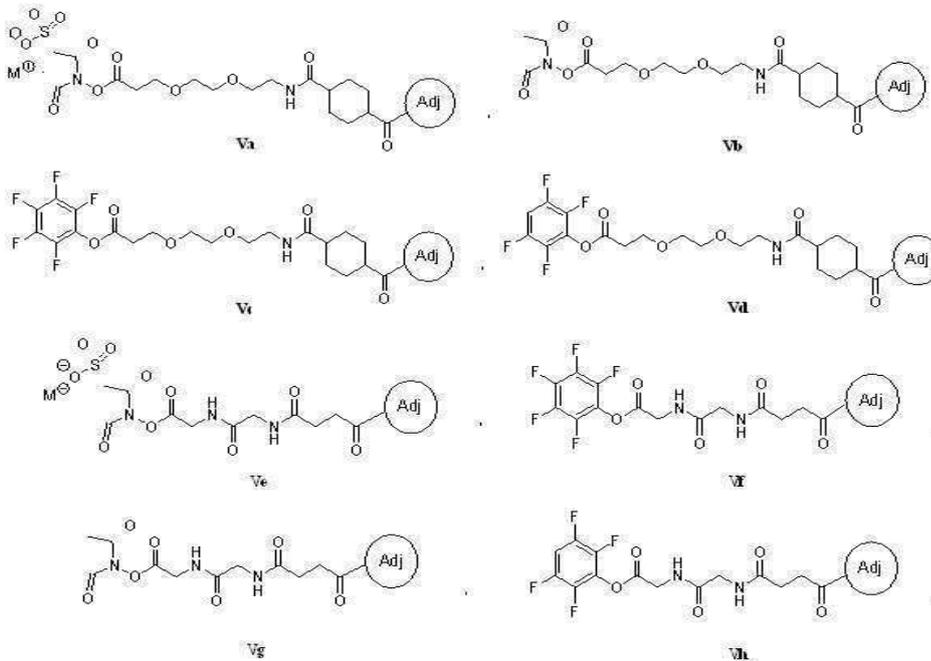
[0248] (테트라플루오로페닐) 또는 (펜타플루오로페닐)

[0249] (상기 식에서, 물결선 ("~~~~")은 링커 ("L")의 부착점을 나타냄).

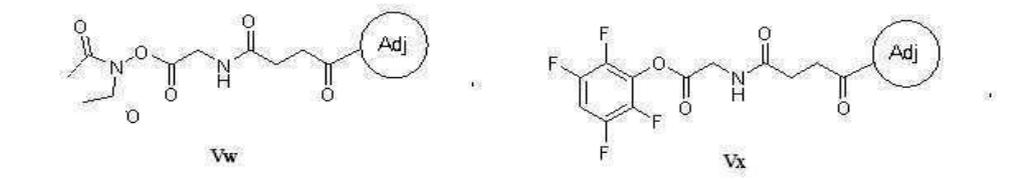
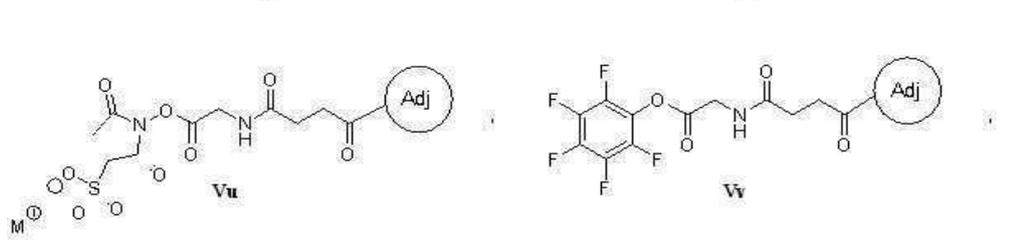
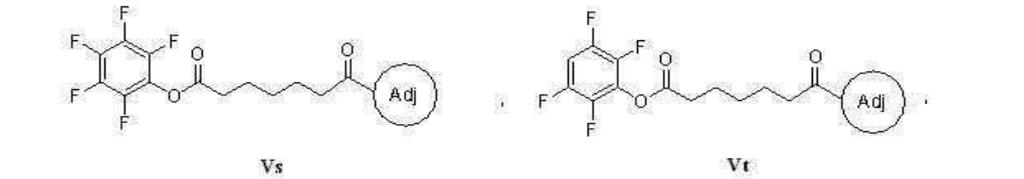
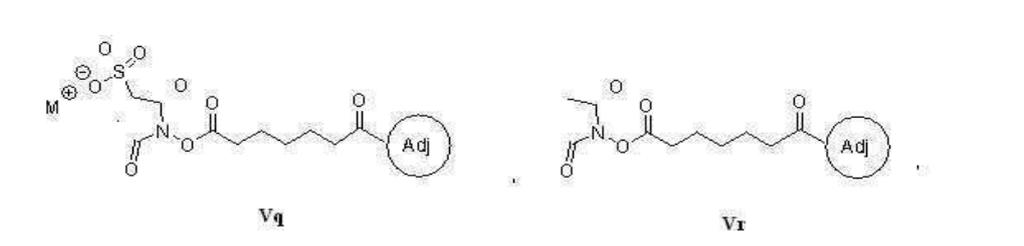
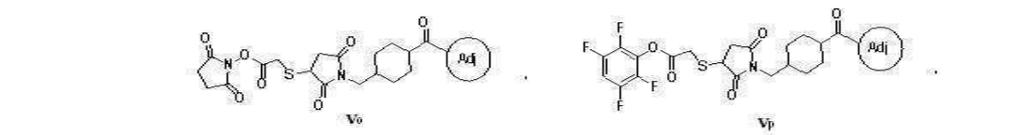
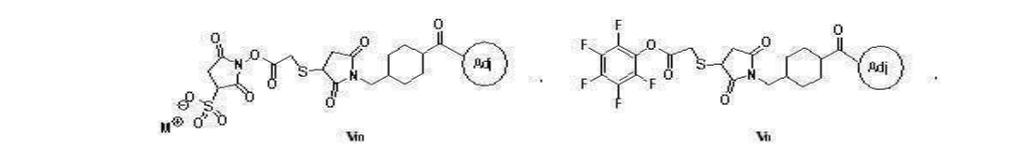
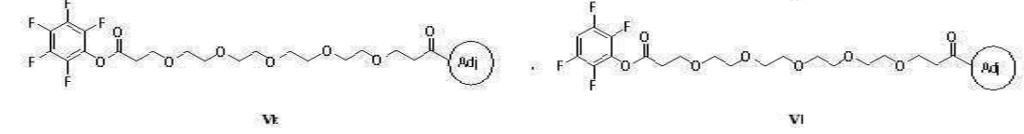
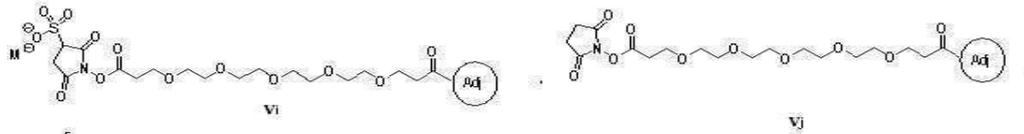
[0250] 일부 실시 형태에서, 화학식 VI의 항체와 화학식 V의 에스테르는 임의의 적합한 수성 완충액 중에서 배합된다. 적합한 수성 완충액의 예시적인 목록은 인산염 완충 식염수, 붕산염 완충 식염수, 및 트리스 완충 식염수이다.

[0251] 테트라플루오로페닐 ("TFP") 또는 펜타플루오로페닐 ("PFP")을 사용하는 것이 본 발명의 면역접합체를 합성하는데 특히 효과적이다.

[0252] 따라서, 화학식 V의 화합물의 예시적이지만 비제한적인 목록은 하기와 같다:

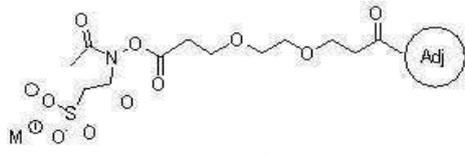


[0253]

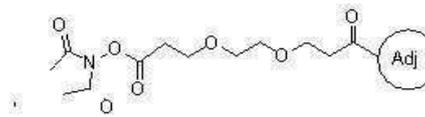


[0254]

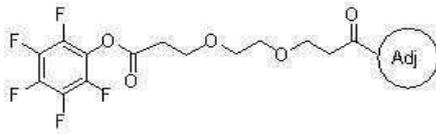
[0255]



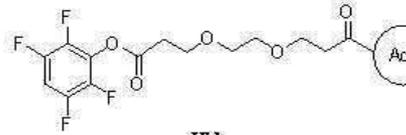
Vy



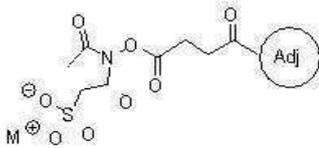
Vz



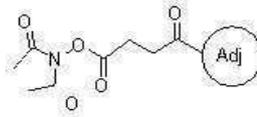
Vaa



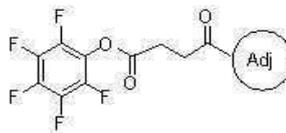
Vbb



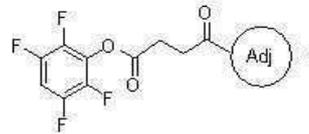
Vcc



Vdd

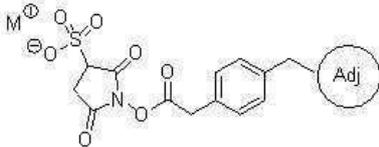


Vee

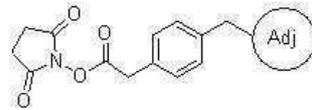


Vff

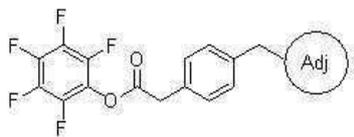
[0256]



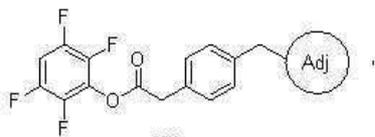
Vgg



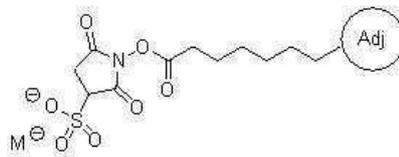
Vhh



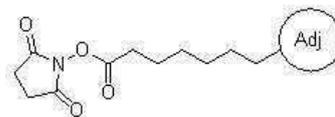
Vii



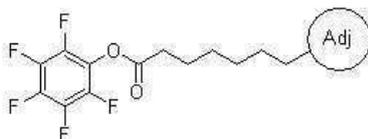
Vij



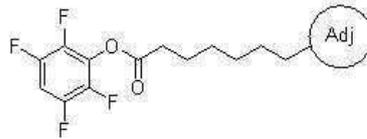
Vkk



Vll

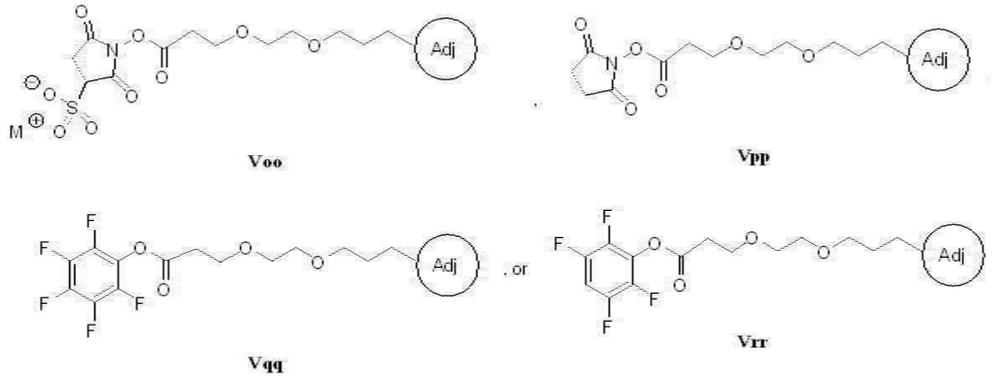


Vmm



Vnn

[0257]



[0258]

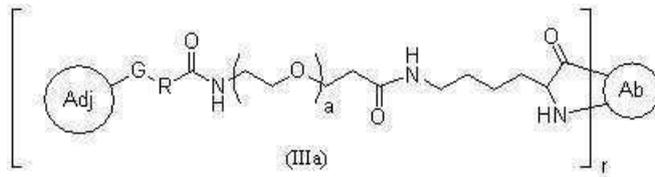
[0259]

(상기 식에서, Adj는 애주번트이고, M은 임의의 양이온임). 예를 들어, 양이온 반대 이온 ("M")은 양성자, 암모늄, 4차 아민, 알칼리 금속의 양이온, 알칼리 토금속의 양이온, 전이 금속의 양이온, 희토류 금속의 양이온, 주족 원소 양이온, 또는 이들의 조합일 수 있다.

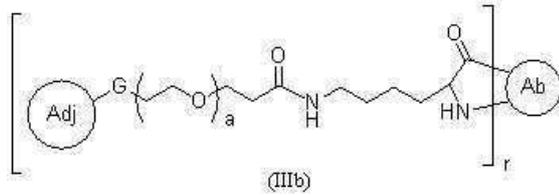
[0260]

따라서, 화학식 V의 하나 이상의 화합물과 화학식 VI의 항체는 배합되어 화학식 III의 면역접합체를 형성할 수 있다. 화학식 III의 면역접합체의 예시적이지만 비제한적인 목록은 하기의 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:

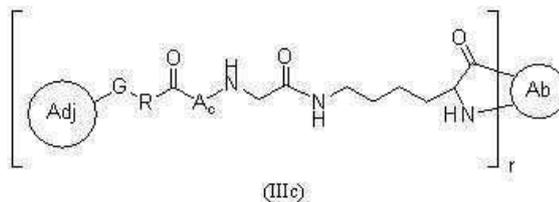
[0261]



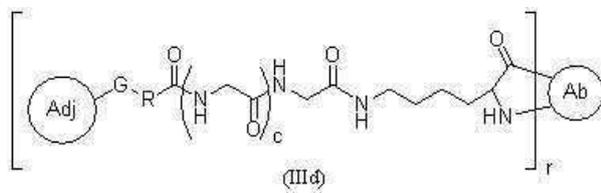
[0262]



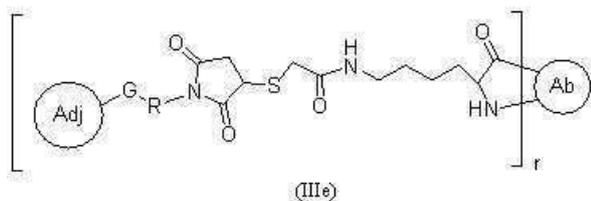
[0263]

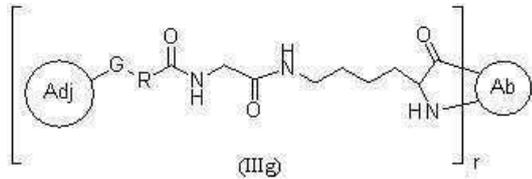
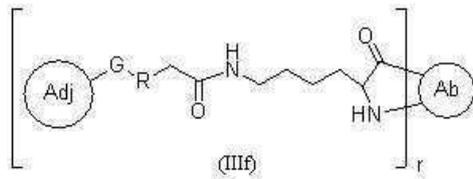


[0264]



[0265]





[0266]

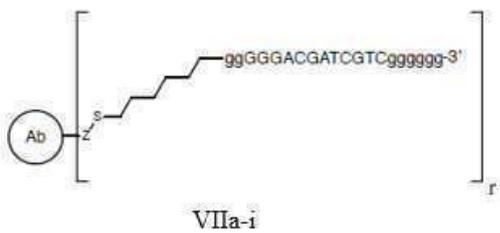
[0267]

[0268]

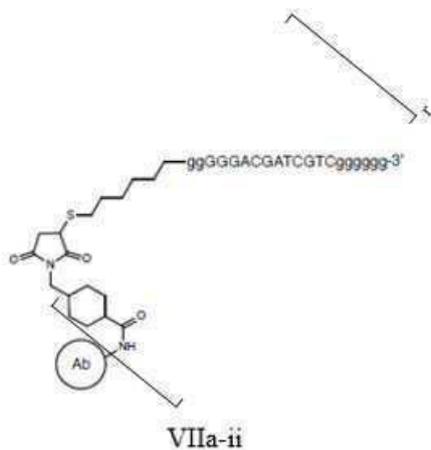
(상기 식에서, Ab는 적어도 하나의 라이신 측쇄를 갖는 항체이고; Adj는 애주번트이고; G는 CH₂, C=O, 또는 결합이고; R은 선택적으로 존재하고, 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이고; 하첨자 a는 1 내지 40의 정수이고; 각각의 A는 독립적으로 임의의 아미노산으로부터 선택되고; 하첨자 c는 1 내지 20의 정수이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)임).

[0269]

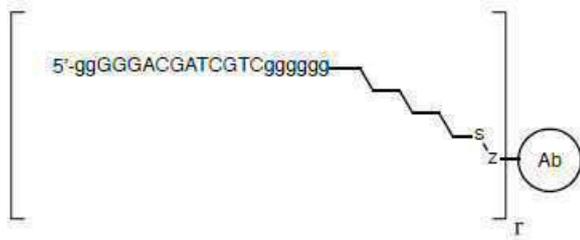
제3 태양에서, 본 발명은 면역접합체를 제공하며, 상기 면역접합체는 올리고뉴클레오티드를 포함하는 애주번트 모이어티를 항체에 공유 결합하는 연결 모이어티를 함유한다. 소정 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 VIIa의 면역접합체로부터 선택되는 A-유형 CPG 올리고뉴클레오티드 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



[0270]

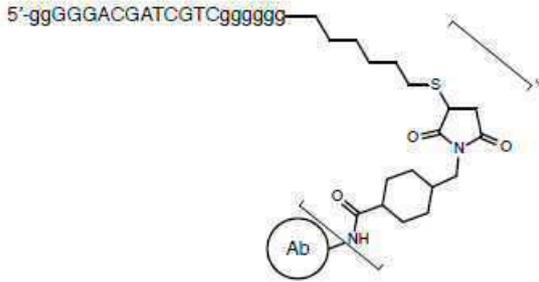


[0271]



VIIa-iii

[0272] , 및

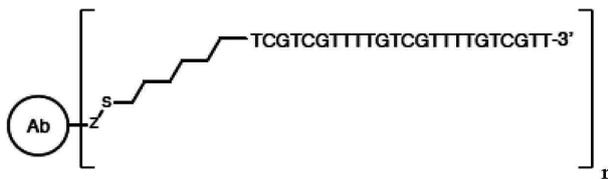


VIIa-iv

[0273]

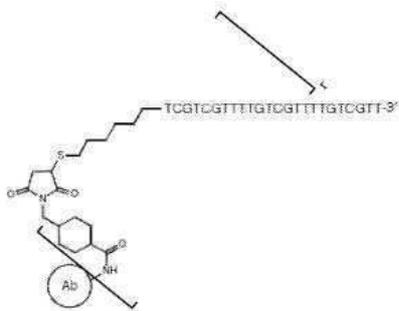
[0274] (상기 식에서, Ab는 항체 내의 비변형된 아미노산 측쇄 또는 항체 내의 변형된 아미노산 측쇄에서 결합된 항체 이고; Z는 연결 모이어티이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)이고; 소문자 뉴클레오티드는 포스포로티오에이트 결합을 나타내고; 대문자 뉴클레오티드는 포스포다이에스테르 결합을 나타냄). 소정 실시 형태에서, 연결 모이어티 ("Z")는 상기 및 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0275] 소정 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 VIIb의 면역접합체로부터 선택되는 B-유형 CPG 올리고뉴클레오티드 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



VIIb-i

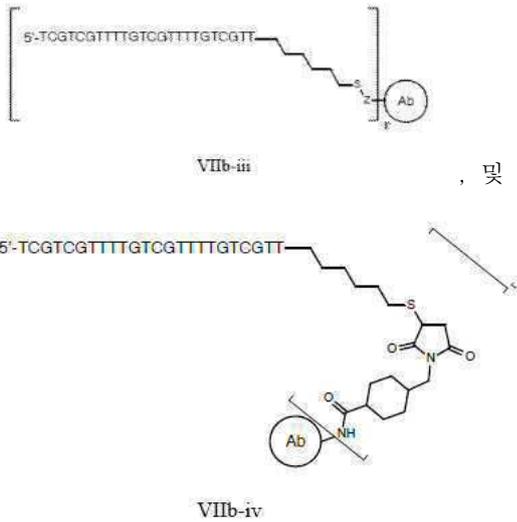
[0276] ,



VIIb-ii

[0277]

[0278]



[0279]

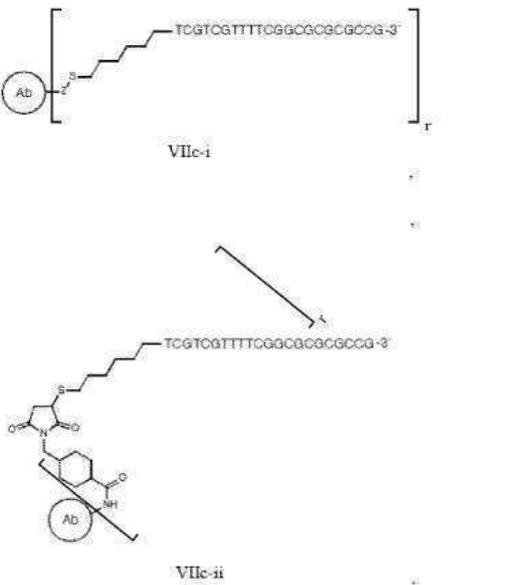
[0280]

(상기 식에서, Ab는 항체 내의 비변형된 아미노산 측쇄 또는 항체 내의 변형된 아미노산 측쇄에서 결합된 항체 이고; Z는 연결 모이어티이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)이고; 대문자 뉴클레오티드는 포스포로티오에이트 결합을 나타냄). 소정 실시 형태에서, 연결 모이어티 ("Z")는 상기 및 본 명세서에 정의된 바와 같다.

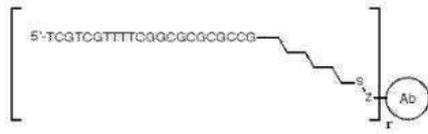
[0281]

소정 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 VIIc의 면역접합체로부터 선택되는 C-유형 CPG 올리고뉴클레오티드 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:

[0282]

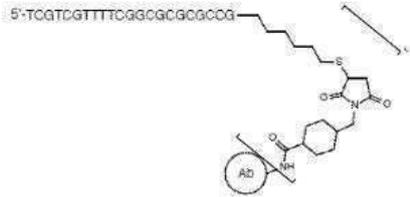


[0283]



VIIc-iii

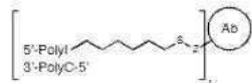
[0284] , 및



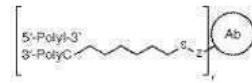
VIIc-iv

[0285] (상기 식에서, Ab는 항체 내의 비변형된 아미노산 측쇄 또는 항체 내의 변형된 아미노산 측쇄에서 결합된 항체 이고; Z는 연결 모이어티이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)이고; 대문자 뉴클레오티드는 포스포로티오에이트 결합을 나타냄). 소정 실시 형태에서, 연결 모이어티 ("Z")는 상기 및 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0287] 소정 실시 형태에서, 면역접합체는 화학식 VIId의 면역접합체로부터 선택되는 PolyI:C 올리고뉴클레오티드 면역 접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



VIId-i



VIId-ii

[0288]



VIId-iii

[0289] 및



VIId-iv

[0290]

[0291] (상기 식에서, Ab는 항체 내의 비변형된 아미노산 측쇄 또는 항체 내의 변형된 아미노산 측쇄에서 결합된 항체 이고; Z는 연결 모이어티이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)임). 소정 실시 형태에서, 연결 모이어티 ("Z")는 상기 및 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0292] **애주번트**

[0293] 일부 실시 형태에서, 애주번트 모이어티는 면역 반응을 유도하는 화합물이다. 일부 실시 형태에서, 애주번트 모이어티는 패턴 인식 수용체("PRR") 효능제이다. 패턴 인식 수용체 (PRR)를 활성화할 수 있는 임의의 애주번트가 본 발명의 면역접합체에 도입될 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "패턴 인식 수용체" 및 "PRR"은, 병원체-관련 분자 패턴 ("PAMP") 또는 손상-관련 분자 패턴 ("DAMP")을 인식하고 선천성 면역에서 주요 신호전달 요소로서 작용하는 보존된 포유류 단백질들의 부류의 임의의 구성원을 지칭한다. 패턴 인식 수용체는 막-결합 PRR, 세포질 PRR, 및 분비 PRR로 세분된다. 막-결합 PRR의 예는 툴-유사 수용체 ("TLR") 및 C형 렉틴 수용체 ("CLR")를 포함한다. 세포질 PRR의 예는 NOD-유사 수용체 ("NLR") 및 Rig-I-유사 수용체 ("RLR")가 포함된다. 일부 실시 형태에서, 면역접합체는 하나 초과와 별개의 PRR 애주번트 모이어티를 가질 수

있다.

- [0294] 소정 실시 형태에서, 본 발명의 면역접합체 내의 애쥬번트 모이어티는 툴-유사 수용체 (TLR) 효능제이다. 적합한 TLR 효능제는 TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, 또는 이들의 임의의 조합 (예를 들어, TLR7/8 효능제)을 포함한다. 툴-유사 수용체 (TLR)를 활성화할 수 있는 임의의 애쥬번트가 본 발명의 면역접합체에 도입될 수 있다. 툴-유사 수용체 (TLR)는 척추동물에서 선천성 면역 반응의 개시를 담당하는 I형 막관통 단백질이다. TLR은 세균, 바이러스, 및 진균으로부터의 다양한 병원체-관련 분자 패턴을 인식하며, 침입 병원체에 대한 제1 방어 라인으로서 작용한다. TLR은, 세포 발현 및 이들이 개시하는 신호전달 경로에 있어서의 차이로 인해, 중첩되지만 별개의 생물학적 반응을 유도한다. (예를 들어, 천연 자극 또는 합성 TLR 효능제에 의해) 일단 결합되면, TLR은 어댑터 단백질 골수성 분화 1차 반응 유전자 88 (MyD88) 및 IL-1 수용체 관련 키나제 (IRAK)의 동원을 통해 NF-κB의 활성화로 이어지는 신호 전달 캐스케이드를 개시한다. 이어서, IRAK의 인산화는 TNF-수용체 관련 인자 6 (TRAF6)의 동원으로 이어지며, 이는 NF-κB 억제제 I-κB의 인산화를 야기한다. 그 결과, NF-κB는 세포 핵으로 진입하고, 사이토카인과 같은 NF-κB 결합 부위를 함유하는 프로모터를 갖는 유전자의 전사를 개시한다. TLR 신호전달을 위한 추가의 조절 방식은 TRAF6의 TIR-도메인 함유 어댑터-유도 인터페론-β (TRIF)-의존성 유도 및 TRIF 및 TRAF3을 통한 MyD88 비의존성 경로의 활성화를 포함하며, 이는 인터페론 반응 인자 3 (IRF3)의 인산화로 이어진다. 유사하게, MyD88 의존성 경로는 또한, IRF5 및 IRF7을 포함하는 몇몇 IRF 패밀리 구성원을 활성화하는 반면, TRIF 의존성 경로는 또한 NF-κB 경로를 활성화한다.
- [0295] TLR3 효능제의 예에는 폴리이노신-폴리시티딜산 (폴리 (I:C)), 폴리아데닐산-폴리우리딜산 (폴리 (A:U)), 및 폴리(I)-폴리(C12U)가 포함된다.
- [0296] TLR4 효능제의 예에는 지질다당류 (LPS) 및 모노포스포릴 지질 A (MPLA)가 포함된다.
- [0297] TLR5 효능제의 예에는 플라젤린(Flagellin)이 포함된다.
- [0298] TLR9 효능제의 예에는 단일 가닥 CpG 올리고데옥시뉴클레오티드 (CpG ODN)가 포함된다. 3가지 주요 부류의 자극성 CpG ODN이 인간 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC), 특히 B 세포 및 형질세포양 수지상 세포 (pDC)에 대한 구조적 특성 및 활성에 기초하여 확인되었다. 이들 3가지 부류는 클래스 A (유형 D), 클래스 B (유형 K) 및 클래스 C이다.
- [0299] 노드 유사 수용체 (NLR) 효능제의 예에는 iE-DAP, D-감마-Glu-mDAP, L-Ala-감마-D-Glu-mDAP, C18 지방산 사슬을 갖는 무라밀다이펩티드, 무라밀다이펩티드, 무라밀 트라이펩티드, 및 N-글리코실화 무라밀다이펩티드가 포함된다.
- [0300] RIG-I-유사 수용체 (RLR) 효능제의 예에는 5'ppp-dsrna (5'- pppGCAUGCGACCUCUGUUUGA -3': 3'-CGUACGUGGAGACAAACU -5'), 및 폴리(데옥시아데닐-데옥시티미딜)산 (폴리(dA:dT))가 포함된다.
- [0301] 추가의 면역-자극성 화합물, 예컨대 사이토졸 DNA 및 사이클릭 다이뉴클레오티드로 불리는 특유의 세균 핵산이 인터페론 유전자의 자극인자 ("STING")에 의해 인식될 수 있는데, 이는 사이토졸 DNA 센서로 작용할 수 있다. ADU-S100가 STING 효능제일 수 있다. STING 효능제의 비제한적인 예에는 사이클릭 [G(2',5')pA(2',5')p] (2'2'-cGAMP), 사이클릭 [G(2',5')pA(3',5')p] (2'3'-cGAMP), 사이클릭 [G(3',5')pA(3',5')p] (3'3'-cGAMP), 사이클릭 다이-아데닐레이트 모노포스페이트 (c-다이-AMP), 2',5'-3',5'-c-diAMP (2'3'-c-다이-AMP), 사이클릭 다이-구아닐레이트 모노포스페이트 (c-다이-GMP), 2',5'-3',5'-c-diGMP (2'3'-c-다이-GMP), 사이클릭 다이-이노신 모노포스페이트 (c-다이-IMP), 사이클릭 다이-우리딘 모노포스페이트 (c-다이-UMP), KIN700, KIN1148, KIN600, KIN500, KIN100, KIN101, KIN400, KIN2000, 또는 SB-9200이 포함되며, 인식될 수 있다.
- [0302] TLR7 및/또는 TLR8을 활성화할 수 있는 임의의 애쥬번트가 본 발명의 면역접합체에 도입될 수 있다. TLR7 효능제 및 TLR8 효능제의 예는, 예를 들어 문헌[Vacchelli *et al.* (*OncImmunology*, 2: 8, e25238, DOI: 10.4161/onci.25238 (2013))] 및 문헌[Carson *et al.* (전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된 미국 특허 출원 공개 제2013/0165455호)]에 기재되어 있다. TLR7 및 TLR8은 둘 모두 단핵구 및 수지상 세포에서 발현된다. 인간에서, TLR7은 또한 형질세포양 수지상 세포 (pDC) 및 B 세포에서 발현된다. TLR8은 대부분 골수성 기원의 세포, 즉 단핵구, 과립구, 및 골수성 수지상 세포에서 발현된다. TLR7 및 TLR8은 바이러스 침입에 반응하는 수단으로서 세포 내의 "외래" 단일-가닥 RNA의 존재를 검출할 수 있다. TLR8 효능제에 의한 TLR8-발현 세포의 처리는 고수준의 IL-12, IFN-γ, IL-1, TNF-α, IL-6, 및 다른 염증성 사이토카인의 생성을 가져올 수 있다. 유사하게, TLR7 효능제에 의한 TLR7-발현 세포, 예컨대 pDC의 자극은 고수준의 IFN-α 및 다른 염증성 사이토카인의

생성을 가져올 수 있다. TLR7/TLR8 결합 및 생성된 사이토카인 생성은 수지상 세포 및 다른 항원-제시 세포를 활성화하여, 다양한 선천성 면역 반응 및 획득 면역 반응 기전을 구동시켜 중앙 과피를 야기할 수 있다.

[0303] TLR7, TLR8 또는 TLR7/8 효능제의 예에는 하기가 포함되지만 이로 한정되지 않는다: 가르디퀴모드 (1-(4-아미노-2-에틸아미노메틸이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일)-2-메틸프로판-2-올), 이미퀴모드 (R837) (TLR7에 대한 효능제), 록소리빈 (TLR7에 대한 효능제), IRM1 (1-(2-아미노-2-메틸프로필)-2-(에톡시메틸)-1H-이미다조-[4,5-c]퀴놀린-4-아민), IRM2 (2-메틸-1-[2-(3-피리딘-3-일프로폭시)에틸]-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-아민) (TLR8에 대한 효능제), IRM3 (N-(2-[2-[4-아미노-2-(2-메톡시에틸)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일]에톡시]에틸)-N-메틸사이클로헥산카르복사미드) (TLR8에 대한 효능제), CL097 (2-(에톡시메틸)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-아민) (TLR7/8에 대한 효능제), CL307 (TLR7에 대한 효능제), CL264 (TLR7에 대한 효능제), 레시퀴모드 (TLR7/8에 대한 효능제), 3M-052/MEDI9197 (TLR7/8에 대한 효능제), SD-101 (N-[(4S)-2,5-다이옥소-4-이미다졸리디닐]-우레아) (TLR7/8에 대한 효능제), 모토리모드 (2-아미노-N,N-다이프로필-8-[4-(피롤리딘-1-카르보닐)페닐]-3H-1-벤즈아제핀-4-카르복사미드) (TLR8에 대한 효능제), CL075 (3M002, 2-프로필티아졸로[4,5-c]퀴놀린-4-아민) (TLR7/8에 대한 효능제), 및 TL8-506 (3H-1-벤즈아제핀-4-카르복실산, 2-아미노-8-(3-시아노페닐)-, 에틸 에스테르) (TLR8에 대한 효능제).

[0304] TLR2 효능제의 예에는 N- α -팔미토일-S-[2,3-비스(팔미토일옥시)-(2RS)-프로필]-L-시스테인, 팔미토일-Cys((RS)-2,3-다이(팔미토일옥시)-프로필) ("Pam3Cys"), 예를 들어 Pam3Cys, Pam3Cys-Ser-(Lys)4 ("Pam3Cys-SKKKK" 및 "Pam₃CSK₄"로도 알려짐), 트라이아실 지질 A ("OM-174"), 리포테이코산 ("LTA"), 펩티도글리칸, 및 CL419 (S-(2,3-비스(팔미토일옥시)-(2RS)프로필)-(R)-시스테인 스페르민)을 포함하는 효능제가 포함되지만 이로 한정되지 않는다.

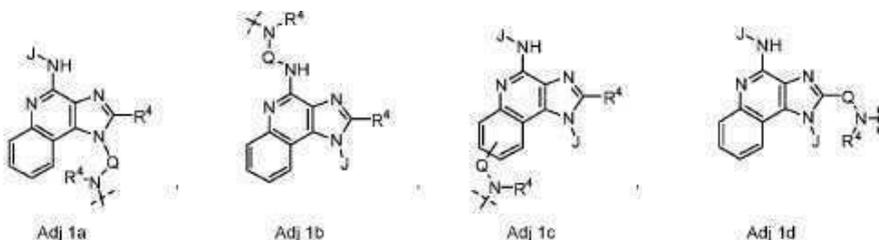
[0305] TLR2/6 효능제의 예는 Pam₂CSK₄ (S-[2,3-비스(팔미토일옥시)-(2RS)-프로필]-[R]-시스테인-[S]-세틸-[S]-라이실-[S]-라이실-[S]-라이실-[S]-라이신 x 3 CF3COOH)이다.

[0306] LR2/7 효능제의 예에는 CL572 (S-(2-미리스토일옥시 에틸)-(R)-시스테인 4-((6-아미노-2-(부틸아미노)-8-하이드록시-9H-푸린-9-일)메틸)아닐린), CL413 (S-(2,3-비스(팔미토일옥시)-(2RS)프로필)-(R)-시스테인-(S)-세틸-(S)-라이실-(S)-라이실-(S)-라이실-(S)-라이실 4-((6-아미노-2-(부틸아미노)-8-하이드록시-9H-푸린-9-일)메틸)아닐린), 및 CL401 (S-(2,3-비스(팔미토일옥시)-(2RS)프로필)-(R)-시스테인 4-((6-아미노-2(부틸 아미노)-8-하이드록시-9H-푸린-9-일)메틸)아닐린)이 포함된다.

[0307] 도 22a 내지 도 22x는 TLR 효능제 CL264, CL401, CL413, CL419, CL553, CL572, Pam3CSK₄, 및 Pam₂CSK₄가 그들의 애주번트 활성을 유지하면서 본 발명의 면역접합체에 연결될 수 있음을 나타낸다. 구체적으로, 링커가 애주번트에 부착되어야 하는 위치는 원으로 표시되어 있다.

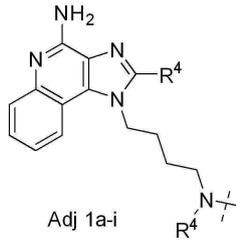
[0308] 일부 실시 형태에서, 애주번트 모이어티는 이미다조퀴놀린 화합물이다. 유용한 이미다조퀴놀린 화합물의 예에는 미국 특허 제5,389,640호; 제6,069,149호; 및 제7,968,562호에 기재된 것들이 포함되며, 이들은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0309] 일부 실시 형태에서, 애주번트 ("Adj")는 하기 화학식을 갖는다:



[0310] (상기 식에서, 각각의 J는 독립적으로 수소, OR⁴, 또는 R⁴이고; 각각의 R⁴는 독립적으로 수소, 또는 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴알킬 기이고; Q는 선택적으로 존재하고, 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴알킬 기이고; 파선 ("X")은 상기 애주번트의 부착점을 나타

냄). 소정 실시 형태에서, Q가 존재한다. 소정 실시 형태에서, 애주번트 ("Adj")는 하기 화학식을 갖는다:

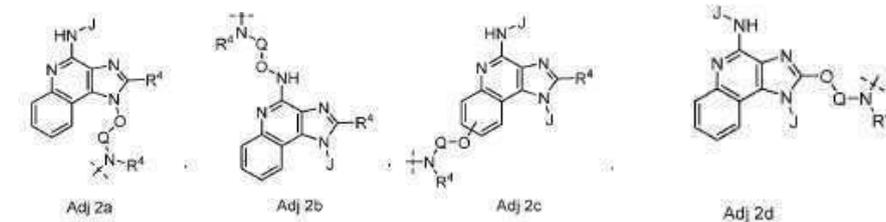


[0312]

[0313] (상기 식에서, 각각의 R⁴는 독립적으로 수소, 또는 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 및 헤테로아릴알킬 기로 이루어진 군으로부터 선택되고, 파선 ("---")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄).

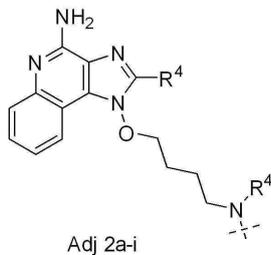
[0314]

일부 실시 형태에서, 애주번트 ("Adj")는 하기 화학식을 갖는다:



[0315]

[0316] (상기 식에서, J는 수소, OR⁴, 또는 R⁴이고; 각각의 R⁴는 독립적으로 수소, 또는 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 및 헤테로아릴알킬 기이고; Q는 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 및 헤테로아릴알킬 기로 이루어진 군으로부터 선택되고; 파선 ("---")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄). 소정 실시 형태에서, 애주번트 ("Adj")는 하기 화학식을 갖는다:

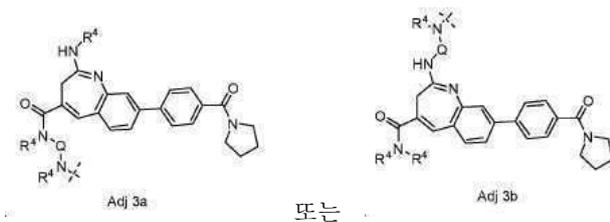


[0317]

[0318] (상기 식에서, 각각의 R⁴는 독립적으로 수소, 또는 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 및 헤테로아릴알킬 기로 이루어진 군으로부터 선택되고, 파선 ("---")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄).

[0319]

일부 실시 형태에서, 애주번트 ("Adj")는 하기 화학식을 갖는다:

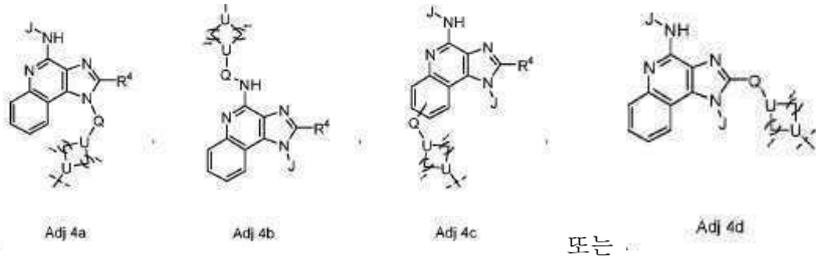


[0320]

[0321] (상기 식에서, 각각의 R⁴는 독립적으로 수소, 또는 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 또는 헤테

로아릴알킬 기이고; Q는 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴알킬 기이고; 파선 ("")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄).

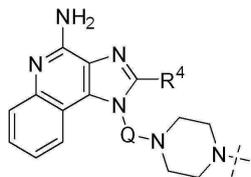
[0322] 일부 실시 형태에서, 애주번트 ("Adj")는 하기 화학식을 갖는다:



[0323]

[0324] (상기 식에서, 각각의 J는 독립적으로 수소, OR⁴, 또는 R⁴이고; 각각의 R⁴는 독립적으로 수소, 또는 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴알킬 기이고; 각각의 U는 독립적으로 CH 또는 N이며, 적어도 하나의 U는 N이고; 각각의 하첨자 t는 독립적으로 1 내지 3의 정수 (즉, 1, 2, 또는 3)이고; Q는 선택적으로 존재하고, 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴알킬 기이고; 파선 ("")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄). 소정 실시 형태에서, Q가 존재한다. 소정 실시 형태에서, 애주번트 ("Adj")는 하기 화학식을 갖는다:

[0324]



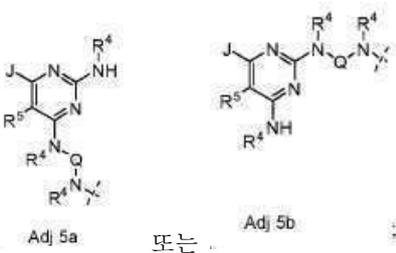
Adj 4a-i

[0325]

[0326] (상기 식에서, R⁴는 수소, 또는 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 및 헤테로아릴알킬 기로 이루어진 군으로부터 선택되고; Q는 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴알킬 기이고; 파선 ("")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄).

[0326]

[0327] 일부 실시 형태에서, 애주번트 ("Adj")는 하기 화학식을 갖는다:

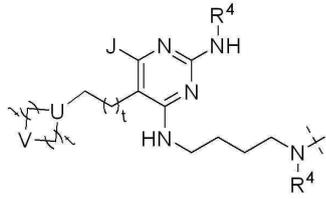


[0328]

[0329] (상기 식에서, J는 수소, OR⁴, 또는 R⁴이고; 각각의 R⁴는 독립적으로 수소, 또는 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴알킬 기이고; R⁵는 수소, 또는 1 내지 10개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개)의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴알킬 기이고; Q는 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위

[0329]

를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴알킬 기이고; 파선 (" ")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄). 소정 실시 형태에서, 애주번트 ("Adj")는 하기 화학식을 갖는다:

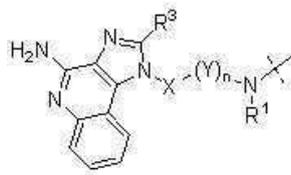


Adj 5a-i

[0330]

[0331] (상기 식에서, J는 수소, OR⁴, 또는 R⁴이고; 각각의 R⁴는 독립적으로 수소, 또는 1 내지 8개 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개)의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 및 헤테로아릴알킬 기로 이루어진 군으로부터 선택되고; U는 CH 또는 N이고; V는 H₂, O, 또는 NH이고; 각각의 하첨자 t는 독립적으로 1 내지 3의 정수 (즉, 1, 2, 또는 3)이고; 파선 (" ")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄).

[0332] 일부 실시 형태에서, 애주번트 ("Adj")는 하기 화학식을 갖는다:

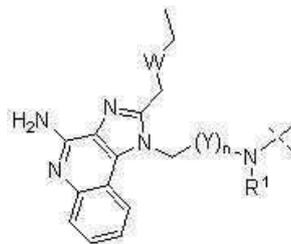


Adj 6a

[0333]

[0334] (상기 식에서, R¹은 H 및 C₁₋₄ 알킬로부터 선택되고; R³은 C₁₋₆ 알킬 및 2원 내지 6원 헤테로알킬로부터 선택되며, 이들 각각은 할로, 하이드록시, 아미노, 옥소 (=O), 알킬아미노, 아미도, 아실, 니트로, 시아노, 및 알콕시로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 구성원으로 선택적으로 치환되고; X는 O 및 CH₂로부터 선택되고; 각각의 Y는 독립적으로 CHR²이며, 여기서 R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택되고; 하첨자 n은 1 내지 12의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12)이고; 파선 (" ")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄). 대안적으로, R¹ 및 그것이 부착되어 있는 질소 원자는 5원 내지 8원 헤테로사이클을 포함하는 연결 모이어터를 형성할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 하첨자 n은 1 내지 6의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6)이다. 소정 실시 형태에서, 하첨자 n은 1 내지 3의 정수 (즉, 1, 2, 또는 3)이다.

[0335] 일부 실시 형태에서, 애주번트 ("Adj")는 하기 화학식을 갖는다:



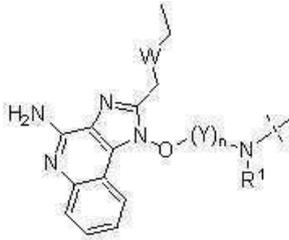
Adj 6a-i

[0336]

[0337] (상기 식에서, W는 O 및 CH₂로 이루어진 군으로부터 선택되고; R¹은 H 및 C₁₋₄ 알킬로부터 선택되고; 각각의 Y는 독립적으로 CHR²이며, 여기서 R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택되고; 하첨자 n은 1 내지 12의 정수 (즉, 1, 2, 3,

4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12)이고; 파선 ("---")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄). 대안적으로, R¹ 및 그것이 부착되어 있는 질소 원자는 5원 내지 8원 헤테로사이클을 포함하는 연결 모이어티를 형성할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 하첨자 n은 1 내지 6의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6)이다. 소정 실시 형태에서, 하첨자 n은 1 내지 3의 정수 (즉, 1, 2, 또는 3)이다.

[0338] 일부 실시 형태에서, 애주번트 ("Adj")는 하기 화학식을 갖는다:

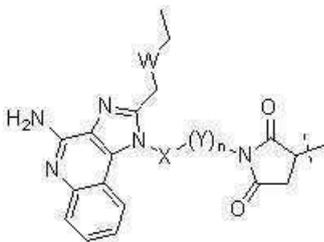


Adj 6a-ii

[0339]

[0340] (상기 식에서, W는 O 및 CH₂로 이루어진 군으로부터 선택되고; R¹은 H 및 C₁₋₄ 알킬로부터 선택되고; 각각의 Y는 독립적으로 CHR²이며, 여기서 R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택되고; 하첨자 n은 1 내지 12의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12)이고; 파선 ("---")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄). 대안적으로, R¹ 및 그것이 부착되어 있는 질소 원자는 5원 내지 8원 헤테로사이클을 포함하는 연결 모이어티를 형성할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 하첨자 n은 1 내지 6의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6)이다. 소정 실시 형태에서, 하첨자 n은 1 내지 3의 정수 (즉, 1, 2, 또는 3)이다.

[0341] 일부 실시 형태에서, 애주번트 ("Adj")는 하기 화학식을 갖는다:

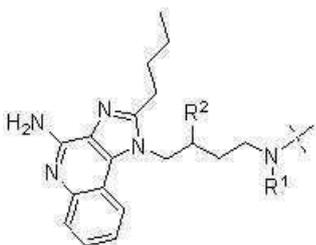


Adj 6a-iii

[0342]

[0343] (상기 식에서, W는 O 및 CH₂로 이루어진 군으로부터 선택되고; X는 O 및 CH₂로부터 선택되고; 각각의 Y는 독립적으로 CHR²이며, 여기서 R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택되고; 하첨자 n은 1 내지 12의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12)이고; 파선 ("---")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄). 일부 실시 형태에서, 하첨자 n은 1 내지 6의 정수 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6)이다. 소정 실시 형태에서, 하첨자 n은 1 내지 3의 정수 (즉, 1, 2, 또는 3)이다.

[0344] 일부 실시 형태에서, 애주번트 ("Adj")는 하기 화학식을 갖는다:

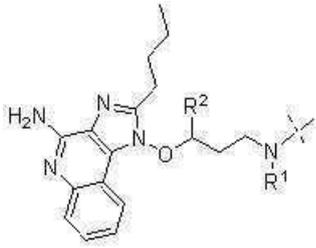


Adj 6a-iv

[0345]

[0346] (상기 식에서, R¹은 H 및 C₁₋₄ 알킬로부터 선택되고; R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택되고; 파선 (" ")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄).

[0347] 일부 실시 형태에서, 애주번트 ("Adj")는 하기 화학식을 갖는다:

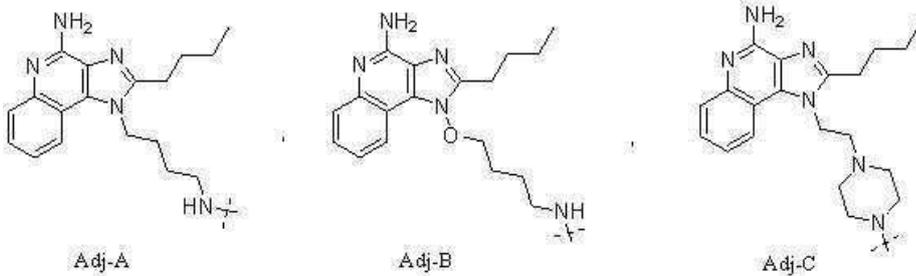


Adj 6a-v

[0348]

[0349] (상기 식에서, R¹은 H 및 C₁₋₄ 알킬로부터 선택되고; R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택되고; 파선 (" ")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄).

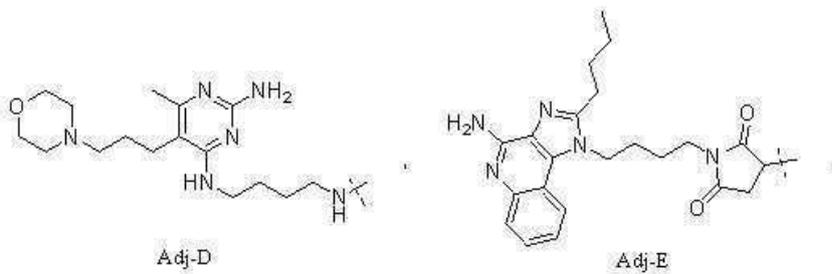
[0350] 소정 실시 형태에서, 애주번트 ("Adj")는 하기와 같다:



Adj-A

Adj-B

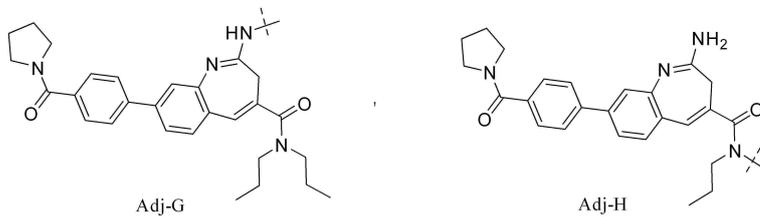
Adj-C



Adj-D

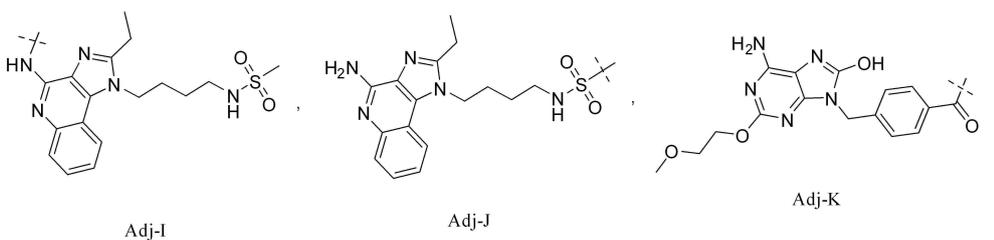
Adj-E

[0351]



Adj-G

Adj-H

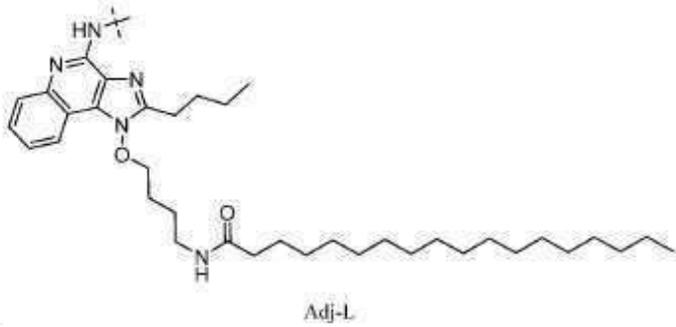


Adj-I

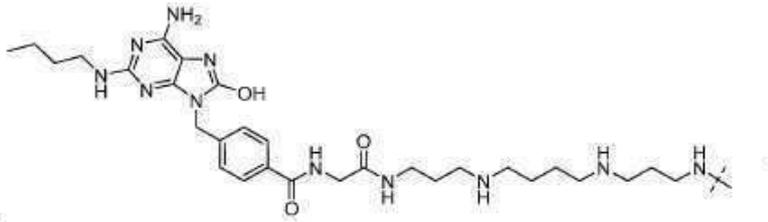
Adj-J

Adj-K

[0352]

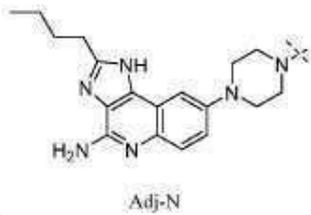


[0353]



[0354]

또는



[0355]

[0356] (상기 식에서, 파선 (" ")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄).

[0357] 일부 실시 형태에서, 애주번트는 형광단이 아니다. 일부 실시 형태에서, 애주번트는 방사선진단 화합물이 아니다. 일부 실시 형태에서, 애주번트는 방사선치료 화합물이 아니다. 일부 실시 형태에서, 애주번트는 튜블린 억제제가 아니다. 일부 실시 형태에서, 애주번트는 DNA 가교결합제/알킬화제가 아니다. 일부 실시 형태에서, 애주번트는 토포아이소머라제 억제제가 아니다.

[0358] **항체**

[0359] 면역접합체 내의 항체는 동종이계 항체일 수 있다. 용어 "동종이계 항체" 또는 "동종항체"는 대상이 되는 개체 (예를 들어, 종양을 가지며 치료를 모색 중인 개체)로부터 유래되지 않고, 동일한 종으로부터 유래되거나, 상이한 종으로부터 유래되며, 제노-항체 (예를 들어, 비-자가)로서의 인식을 감소, 경감, 또는 피하도록 조작된 항체를 지칭한다. 예를 들어, "동종이계 항체"는 인간화 항체일 수 있다. 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 본 명세서에 사용되는 바와 같이 "항체" 및 "동종이계 항체"는 면역글로불린 G (IgG) 또는 면역글로불린 A (IgA)를 지칭한다.

[0360] 인간 개체의 암 세포가 동일한 사람에 의해 생성되지 않은 항체와 접촉되는 경우 (예를 들어, 항체는 제2 인간 개체에 의해 생성되었으며, 항체는 마우스와 같은 다른 종에 의해 생성되었으며, 항체는 다른 종에 의해 생성된 인간화 항체이며, 등등), 항체는 (제1 개체와 대비하여) 동종이계인 것으로 간주된다. 인간 항원 (예를 들어, 암-특이적 항원, 암 세포 내에 그리고/또는 암 세포 상에 풍부화된 항원 등)을 인식하는 인간화 마우스 단일클론 항체가 "동종항체" (동종이계 항체)인 것으로 간주된다.

[0361] 일부 실시 형태에서, 항체는 다중클론 동종이계 IgG 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항체는 복수의 결합 특이성을 갖는 다중클론 IgG 항체들의 혼합물에 존재한다. 일부 경우에, 혼합물의 항체들은 상이한 표적 분자들에 특이적으로 결합하고, 일부 경우에, 혼합물의 항체들은 동일한 표적 분자의 상이한 에피토프들에 특이적으로 결합한다. 따라서, 항체들의 혼합물은 일부 경우에 본 발명의 하나 초과면역접합체를 포함할 수 있다 (예를 들어, 애주번트 모이어티가 혼합물, 예를 들어 다중클론 IgG 항체들의 혼합물의 항체에 공유 결합되어, 본 발명의 항체-애주번트 접합체들의 혼합물을 생성할 수 있다). 항체들의 혼합물은 2명 이상의 개체 (예를 들어, 3명 이상의 개체, 4명 이상의 개체, 5명 이상의 개체, 6명 이상의 개체, 7명 이상의 개체, 8명 이상의 개체, 9명 이

상의 개체, 10명 이상의 개체 등)로부터 풀링(pooling)될 수 있다. 일부 경우에, 풀링된 혈청이 동종항체의 공급원으로서 사용되는데, 여기서 혈청은 임의의 수의 개체로부터 유래할 수 있으며, 이들 중 어느 것도 제1 개체가 아니다 (예를 들어, 혈청은 2명 이상의 개체, 3명 이상의 개체, 4명 이상의 개체, 5명 이상의 개체, 6명 이상의 개체, 7명 이상의 개체, 8명 이상의 개체, 9명의 이상의 개체, 10명의 이상의 개체 등으로부터 풀링될 수 있다). 일부 경우에, 항체는 사용 전에 혈청으로부터 단리 또는 정제된다. 정제는 상이한 개체들로부터의 항체를 풀링하기 전 또는 후에 수행될 수 있다.

[0362] 면역접합체 내의 항체가 혈청으로부터의 IgG를 포함하는 일부 경우에, 항체 (즉, 혈청으로부터의 IgG)의 일부 (예를 들어, 0% 초과이지만 50% 미만), 절반, 대부분 (50% 초과이지만 100% 미만), 또는 심지어 전체에 대한 표적 항원은 알려져 있지 않을 것이다. 그러나, 혼합물 내의 적어도 하나의 항체가 관심 표적 항원을 인식할 가능성이 높는데, 이는, 그러한 혼합물이 매우 다양한 표적 항원에 특이적인 매우 다양한 항체를 함유하기 때문이다.

[0363] 일부 실시 형태에서, 항체는 다중클론 동종이계 IgA 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항체는 복수의 결합 특이성을 갖는 다중클론 IgA 항체들의 혼합물에 존재한다. 일부 경우에, 혼합물의 항체들은 상이한 표적 분자들에 특이적으로 결합하고, 일부 경우에, 혼합물의 항체들은 동일한 표적 분자의 상이한 에피토프들에 특이적으로 결합한다. 따라서, 항체들의 혼합물은 일부 경우에 본 발명의 하나 초과 면역접합체를 포함할 수 있다 (예를 들어, 애슈버트 모이머가 혼합물, 예를 들어 다중클론 IgA 항체들의 혼합물의 항체에 공유 결합되어, 본 발명의 항체-애슈버트 접합체들의 혼합물을 생성할 수 있다). 항체들의 혼합물은 2명 이상의 개체 (예를 들어, 3명 이상의 개체, 4명 이상의 개체, 5명 이상의 개체, 6명 이상의 개체, 7명 이상의 개체, 8명 이상의 개체, 9명 이상의 개체, 10명 이상의 개체 등)로부터 풀링될 수 있다. 일부 경우에, 풀링된 혈청이 동종항체의 공급원으로서 사용되는데, 여기서 혈청은 임의의 수의 개체로부터 유래할 수 있으며, 이들 중 어느 것도 제1 개체가 아니다 (예를 들어, 혈청은 2명 이상의 개체, 3명 이상의 개체, 4명 이상의 개체, 5명 이상의 개체, 6명 이상의 개체, 7명 이상의 개체, 8명 이상의 개체, 9명의 이상의 개체, 10명의 이상의 개체 등으로부터 풀링될 수 있다). 일부 경우에, 항체는 사용 전에 혈청으로부터 단리 또는 정제된다. 정제는 상이한 개체들로부터의 항체를 풀링하기 전 또는 후에 수행될 수 있다.

[0364] 면역접합체 내의 항체가 혈청으로부터의 IgA를 포함하는 일부 경우에, 항체 (즉, 혈청으로부터의 IgA)의 일부 (예를 들어, 0% 초과이지만 50% 미만), 절반, 대부분 (50% 초과이지만 100% 미만), 또는 심지어 전체에 대한 표적 항원은 알려져 있지 않을 것이다. 그러나, 혼합물 내의 적어도 하나의 항체가 관심 표적 항원을 인식할 가능성이 높는데, 이는, 그러한 혼합물이 매우 다양한 표적 항원에 특이적인 매우 다양한 항체를 함유하기 때문이다.

[0365] 일부 경우에, 면역접합체 내의 항체는 정맥내 면역글로불린 (IVIG) 및/또는 IVIG로부터 유래된 (예를 들어, 그로부터 풍부화된, 그로부터 정제된, 예를 들어, 그로부터 친화성 정제된) 항체를 포함한다. IVIG는 많은 (예를 들어, 때때로 1,000명 초과 내지 60,000명의) 정상 및 건강한 혈액 공여자로부터의 (예를 들어, 일부 경우에는 어떤 다른 단백질도 함유하지 않은) 혈장으로부터 풀링된 IgG (면역글로불린 G)를 함유하는 혈액 생성물이다. IVIG는 구매가능하다. IVIG는 높은 백분율의 천연 인간 단량체 IVIG를 함유하고, 낮은 IgA 함량을 갖는다. 정맥내 투여될 때, IVIG는 몇몇 질병 상태를 개선한다. 따라서, 미국 식품의약국 (FDA)은 (1) 가와사키병; (2) 면역-매개 혈소판감소증; (3) 원발성 면역결핍; (4) 조혈 줄기 세포 이식 (20세 초과 경우); (5) 만성 B-세포 림프구성 백혈병; 및 (6) 소아성 HIV 1형 감염을 비롯한 다수의 질병에 대한 IVIG의 사용을 승인하였다. 2004년에, FDA는 신장 이식 수령자를 위한 Cedars-Sinai IVIG 프로토콜을 승인하여, 혈액형 (ABO 부적합) 또는 조직 일치와 무관하게, 그러한 수령자가 임의의 건강한 공여자로부터의 살아있는 공여 신장을 수용할 수 있도록 하였다. IVIG의 이들 및 다른 태양이, 예를 들어 미국 특허 출원 공개 제2010/0150942호; 제2004/0101909호; 제2013/0177574호; 제2013/0108619호; 및 제2013/0011388호에 기재되어 있으며, 이들은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0366] 일부 경우에, 항체는 정의된 하위부류 (예를 들어, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁, 또는 IgA₂)의 단일클론 항체이다. 항체들의 조합이 사용되는 경우, 항체들은 동일한 하위부류로부터 또는 상이한 하위부류로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 항체는 IgG₁ 항체일 수 있다. 상이한 상대 비율의 상이한 하위부류들의 다양한 조합이 당업자에 의해 획득될 수 있다. 일부 경우에, 특정 하위부류, 또는 상이한 하위부류들의 특정 조합이 암 치료 또는 종양 크기 감소에 특히 효과적일 수 있다. 따라서, 본 발명의 일부 실시 형태는 항체가 단일클론 항체인 면역접합체를 제공한다. 일부 실시 형태에서, 단일클론 항체는 인간화된다.

- [0367] 일부 실시 형태에서, 항체는 암 세포의 항원에 결합한다. 예를 들어, 항체는 암 세포의 표면 상에 적어도 10; 100; 1,000; 10,000; 100,000; 1,000,000; 2.5×10^6 ; 5×10^6 ; 또는 1×10^7 개 카피의 양으로 존재하는 표적 항원에 결합할 수 있다.
- [0368] 일부 실시 형태에서, 항체는 비-암 세포 상의 상응하는 항원보다 더 높은 친화성으로 암 세포 또는 면역 세포 상의 항원에 결합한다. 예를 들어, 항체는 비-암 세포 또는 비-면역 세포 상의 상응하는 야생형 항원의 인식에 비하여, 암 세포 또는 면역 세포 상에서 발견되는 다형성을 함유하는 항원을 우선적으로 인식할 수 있다. 일부 경우에, 항체는 비-암 세포 또는 비-면역 세포보다 더 큰 결합력으로 암 세포 또는 면역 세포와 결합한다. 예를 들어, 암 세포 또는 면역 세포는 더 높은 밀도의 항원을 발현할 수 있으며, 이에 따라 암 세포 또는 면역 세포에 대한 다가 항체의 더 높은 친화성 결합을 제공할 수 있다.
- [0369] 일부 경우에, 항체는 비-암 항원과 유의하게 결합하지 않는다 (예를 들어, 항체는 표적 암 항원보다 적어도 10; 100; 1,000; 10,000; 100,000; 또는 1,000,000배 더 낮은 친화도 (더 높은 Kd)로 하나 이상의 비-암 항원과 결합한다). 일부 경우에, 항체가 결합하는 표적 암 항원은 암 세포 상에 풍부화된다. 예를 들어, 표적 암 항원은 상응하는 비-암 세포보다 적어도 2, 5, 10; 100; 1,000; 10,000; 100,000; 또는 1,000,000배 더 높은 수준으로 암 세포의 표면 상에 존재할 수 있다. 일부 경우에, 상응하는 비-암 세포는 과증식성 또는 달리 암성이 아닌 동일한 조직 또는 기원의 세포이다. 일반적으로, 암 세포의 항원 (표적 항원)에 특이적으로 결합하는 대상 IgG 항체는 다른 이용가능한 항원에 비하여 그러한 특정 항원에 우선적으로 결합한다. 그러나, 표적 항원은 암 세포에 특이적이거나 또는 심지어 다른 세포에 비해 암 세포 내에서 풍부화될 필요는 없다 (예를 들어, 표적 항원은 다른 세포에 의해 발현될 수 있다). 따라서, 어구 "암 세포의 항원에 특이적으로 결합하는 항체"에서, 용어 "특이적으로"는 항체의 특이성을 지칭하는 것이며, 그러한 특정 세포 유형의 항원의 고유성을 지칭하지는 않는다.
- [0370] 변형된 Fc 영역
- [0371] 일부 실시 형태에서, 면역접합체 내의 항체는 변형된 Fc 영역을 함유하며, 여기서 변형은 하나 이상의 Fc 수용체에 대한 Fc 영역의 결합을 조절한다.
- [0372] 용어 "Fc 수용체" 또는 "FcR"은 항체의 Fc 영역에 결합하는 수용체를 지칭한다. 하기 3가지 주요 부류의 Fc 수용체가 있다: IgG에 결합하는 Fc γ R, IgA에 결합하는 Fc α R, 및 IgE에 결합하는 Fc ϵ R. Fc γ R 패밀리는 몇몇 구성원, 예컨대 Fc γ I (CD64), Fc γ RIIA (CD32A), Fc γ RIIB (CD32B), Fc γ RIIIA (CD16A), Fc γ RIIIB (CD16B)를 포함한다. Fc γ 수용체들은 IgG에 대한 그들의 친화성이 상이하하며, 또한 IgG 하위부류 (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4)에 대해 상이한 친화성을 갖는다.
- [0373] 일부 실시 형태에서, 면역접합체 내의 항체 (예를 들어, 링커를 통해 TLR 효능제, 예컨대 TLR7/8 효능제에 접합된 항체)는 Fc 영역 내에 하나 이상의 변형 (예를 들어, 아미노산 삽입, 결실, 및/또는 치환)을 함유하는데, 이는, Fc 영역 내에 돌연변이가 결여되어 있는 천연 항체에 비하여 하나 이상의 Fc 수용체 (예를 들어, Fc γ RI (CD64), Fc γ RIIA (CD32A), Fc γ RIIB (CD32B), Fc γ RIIIA (CD16a), 및/또는 Fc γ RIIIB (CD16b))에 대한 조절된 결합 (예를 들어, 증가된 결합 또는 감소된 결합)을 가져온다. 일부 실시 형태에서, 면역접합체 내의 항체는 Fc 영역 내에 하나 이상의 변형 (예를 들어, 아미노산 삽입, 결실 및/또는 치환)을 함유하는데, 이는, Fc γ RIIB에 대한 항체의 Fc 영역의 결합을 감소시킨다. 일부 실시 형태에서, 면역접합체 내의 항체는 항체의 Fc 영역 내에 하나 이상의 변형 (예를 들어, 아미노산 삽입, 결실, 및/또는 치환)을 함유하는데, 이는, Fc 영역 내에 돌연변이가 결여되어 있는 천연 항체에 비하여 Fc γ RI (CD64), Fc γ RIIA (CD32A), 및/또는 Fc γ RIIIA (CD16a)에 대하여 동일한 결합을 유지하거나 그에 대하여 증가된 결합을 가지면서 Fc γ RIIB에 대한 항체의 결합을 감소시킨다. 일부 실시 형태에서, 면역접합체 내의 항체는 Fc 영역 내에 하나 이상의 변형을 함유하는데, 이는, Fc γ RIIB에 대한 항체의 Fc 영역의 결합을 증가시킨다.
- [0374] 일부 경우에, 조절된 결합은 항체의 천연 Fc 영역과 대비하여 항체의 Fc 영역 내의 돌연변이에 의해 제공된다. 돌연변이는 CH2 도메인 내에 있거나, CH3 도메인 내에 있거나, 또는 이들의 조합일 수 있다. "천연 Fc 영역"은 "야생형 Fc 영역"과 동의어이며, 자연계에서 발견되는 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일하거나 천연 항체 (예를 들어, 리툽시맵)에서 발견되는 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 천연 서열 인간 Fc 영역은 천연 서열 인간 IgG1 Fc 영역; 천연 서열 인간 IgG2 Fc 영역; 천연 서열 인간 IgG3 Fc 영역; 및 천연 서열 인간 IgG4 Fc 영역뿐만 아니라 이들의 천연 발생 변이체를 포함한다. 천연 서열 Fc는 Fc의 다양한 동종이 인자형(allotype)을 포함한다 (예를 들어, 문헌[Jefferis et al., *mAbs*, 1(4): 332-338 (2009)] 참조).

- [0375] 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 Fc 수용체에 대한 조절된 결합을 가져오는 Fc 영역 내의 돌연변이는, 하기 돌연변이들 중 하나 이상: SD (S239D), SDIE (S239D/I332E), SE (S267E), SELF (S267E/L328F), SDIE (S239D/I332E), SDIEAL (S239D/I332E/A330L), GA (G236A), ALIE (A330L/I332E), GASDALIE (G236A/S239D/A330L/I332E), V9 (G237D/P238D/P271G/A330R), 및 V11 (G237D/P238D/H268D/P271G/A330R) 및/또는 하기 아미노산에서의 하나 이상의 돌연변이를 포함할 수 있다: E233, G237, P238, H268, P271, L328 및 A330. Fc 수용체 결합을 조절하기 위한 추가의 Fc 영역 변형은, 예를 들어 미국 특허 출원 공개 제 2016/0145350호, 및 미국 특허 제7,416,726호 및 제5,624,821호에 기재되어 있다.
- [0376] 일부 실시 형태에서, 면역접합체의 항체의 Fc 영역은 천연의 비변형된 Fc 영역과 대비하여 Fc 영역의 변경된 글리코실화 패턴을 갖도록 변형된다.
- [0377] 인간 면역글로불린은 각각의 중쇄의 C γ 2 도메인 내의 Asn297 잔기에서 글리코실화된다. 이러한 N-연결된 올리고당류는 코어 칠당류, N-아세틸글루코사민4만노스3 (G1cNAc4Man3)으로 구성된다. 엔도글리코시다제 또는 PNGase F에 의한 칠당류의 제거는 항체 Fc 영역의 입체구조 변화를 야기하는 것으로 알려져 있으며, 이는 활성화 Fc γ R에 대한 항체-결합 친화성을 유의하게 감소시킬 수 있고 감소된 이펙터 기능을 야기할 수 있다. 코어 칠당류는 종종 갈락토스, 이등분성 GlcNAc, 푸코스 또는 시알산으로 장식되는데, 이는 활성화 및 억제성 Fc γ R에 대한 Fc 결합에 차별적으로 영향을 준다. 추가적으로, α 2,6-시알릴화는 생체내에서 항염증 활성을 향상시키며, 한편 탈푸코실화는 개선된 Fc γ RIIIa 결합 및 항체-의존성 세포성 세포독성 및 항체-의존성 식세포작용의 10배 증가로 이어진다는 것이 입증되었다. 따라서, 특정 글리코실화 패턴이 염증성 이펙터 기능을 제어하는 데 사용될 수 있다.
- [0378] 일부 실시 형태에서, 글리코실화 패턴을 변경시키기 위한 변형은 돌연변이이다. 예를 들어, Asn297에서의 치환이다. 일부 실시 형태에서, Asn297은 글루탐인 (N297Q)으로 돌연변이된다. Fc γ R-조절된 신호전달을 조절하는 항체에 의해 면역 반응을 제어하는 방법은, 예를 들어, 미국 특허 제7,416,726호뿐만 아니라, 미국 특허 출원 공개 제2007/0014795호 및 미국 특허 출원 공개 제2008/0286819호에 기재되어 있다.
- [0379] 일부 실시 형태에서, 면역접합체의 항체는 비-천연 발생 글리코실화 패턴을 갖는 조작된 Fab 영역을 함유하도록 변형된다. 예를 들어, 하이브리도마는 증가된 FcR γ IIIa 결합 및 이펙터 기능을 가능하게 하는 특정 돌연변이를 갖는 어푸코실화된 mAb, 탈시알릴화된 mAb 또는 탈글리코실화된 Fc를 분비하도록 유전적으로 조작될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 면역접합체의 항체는 어푸코실화되도록 조작된다 (예를 들어, Invivogen으로부터 입수가 가능한 어푸코실화된 리톡시맵, hcd20-mab13).
- [0380] 일부 실시 형태에서, 면역접합체 내의 항체의 전체 Fc 영역은 상이한 Fc 영역과 교환되어, 항체의 Fab 영역이 비-천연 Fc 영역에 접합되도록 한다. 예를 들어, IgG1 Fc 영역을 통상 포함하는 리톡시맵의 Fab 영역은 IgG2, IgG3, IgG4, 또는 IgA에 접합될 수 있거나, 또는 IgG4 Fc 영역을 통상 포함하는 니블루맵의 Fab 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, IgA1 또는 IgG2에 접합될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 비-천연 Fc 도메인을 갖는 Fc 변형된 항체는 또한, 기재된 Fc 도메인의 안정성을 조절하는, IgG4 Fc 내의 S228P 돌연변이와 같은 하나 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 비-천연 Fc 도메인을 갖는 Fc 변형된 항체는 또한, FcR에 대한 Fc 결합을 조절하는 본 명세서에 기재된 하나 이상의 아미노산 변형을 포함한다.
- [0381] 일부 실시 형태에서, FcR에 대한 Fc 영역의 결합을 조절하는 변형은 천연의 비-변형된 항체와 대비하여 항체의 Fab 영역의 그의 항원에 대한 결합을 변경시키지 않는다. 다른 실시 형태에서, FcR에 대한 Fc 영역의 결합을 조절하는 변형은 또한, 천연의 비-변형된 항체와 대비하여 항체의 Fab 영역의 그의 항원에 대한 결합을 증가시킨다.
- [0382] 항체 표적
- [0383] 일부 실시 형태에서, 항체는 하기로부터 선택되는 하나 이상의 표적과 결합할 수 있다 (예를 들어, 하기로부터 선택되는 표적에 특이적으로 결합한다): 5T4, ABL, ABCF1, ACVR1, ACVR1B, ACVR2, ACVR2B, ACVRL1, ADORA2A, 아그레칸, AGR2, AICDA, AIF1, AIG1, AKAP1, AKAP2, AMH, AMHR2, ANGPT1, ANGPT2, ANGPTL3, ANGPTL4, ANPEP, APC, APOC1, AR, 아로마타제, ATX, AX1, AZGP1 (아연-a-당단백질), B7.1, B7.2, B7-H1, BAD, BAFF, BAG1, BAI1, BCR, BCL2, BCL6, BDNF, BLNK, BLR1 (MDR15), BlyS, BMP1, BMP2, BMP3B (GDF10), BMP4, BMP6, BMP8, BMPR1A, BMPR1B, BMPR2, BPAG1 (플렉틴), BRCA1, C19orf10 (IL27w), C3, C4A, C5, C5R1, CANT1, CAPRIN-1, CASP1, CASP4, CAV1, CCBP2 (D6/JAB61), CCL1 (1-309), CCL11 (에오타신), CCL13 (MCP-4), CCL15 (MIP-Id), CCL16 (HCC-4), CCL17 (TARC), CCL18 (PARC), CCL19 (MIP-3b), CCL2 (MCP-1), MCAF, CCL20 (MIP-3a), CCL21

(MEP-2), SLC, 엑소두스-2, CCL22(MDC/STC-I), CCL23 (MPIF-I), CCL24 (MPIF-2/에오타신-2), CCL25 (TECK), CCL26(에오타신-3), CCL27 (CTACK/ILC), CCL28, CCL3 (MIP-Ia), CCL4 (MIP1b), CCL5(RANTES), CCL7 (MCP-3), CCL8 (mcp-2), CCNA1, CCNA2, CCND1, CCNE1, CCNE2, CCR1 (CKR1/HM145), CCR2 (mcp-IRB/RA), CCR3 (CKR3/CMKBR3), CCR4, CCR5(CMKBR5/ChemR13), CCR6 (CMKBR6/CKR-L3/STRL22/DRY6), CCR7 (CKR7/EBI1), CCR8 (CMKBR8/TERI/CKR-L1), CCR9 (GPR-9-6), CCRL1 (VSHK1), CCRL2 (L-CCR), CD164, CD19, CDIC, CD2, CD20, CD21, CD200, CD-22, CD24, CD27, CD28, CD3, CD33, CD35, CD37, CD38, CD3E, CD3G, CD3Z, CD4, CD38, CD40, CD40L, CD44, CD45RB, CD47, CD52, CD69, CD72, CD74, CD79A, CD79B, CD8, CD80, CD81, CD83, CD86, CD137, CD152, CD274, CDH1 (E-카드헤린), CDH10, CDH12, CDH13, CDH18, CDH19, CDH20, CDH5, CDH7, CDH8, CDH9, CDK2, CDK3, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK9, CDKN1A (p21Wap1/Cip1), CDKN1B (p27Kip1), CDKN1C, CDKN2A (p16INK4a), CDKN2B, CDKN2C, CDKN3, CEBPB, CER1, CHGA, CHGB, 키티나제, CHST10, CKLFSF2, CKLFSF3, CKLFSF4, CKLFSF5, CKLFSF6, CKLFSF7, CKLFSF8, CLDN3, CLDN7 (클라우딘-7), CLN3, CLU (클러스테린), CMKLR1, CMKOR1 (RDC1), CNR1, COL18A1, COL1A1, COL4A3, COL6A1, CR2, 크립토, CRP, CSF1 (M-CSF), CSF2 (GM-CSF), CSF3 (GCSF), CTL8, CTNNB1 (b-카테닌), CTSB (카텝신 B), CX3CL1 (SCYD1), CX3CR1 (V28), CXCL1 (GRO1), CXCL10 (IP-10), CXCL11 (1-TAC/IP-9), CXCL12 (SDF1), CXCL13, CXCL14, CXCL16, CXCL2 (GRO2), CXCL3 (GRO3), CXCL5 (ENA-78/LIX), CXCL6 (GCP-2), CXCL9 (MIG), CXCR3 (GPR9/CKR-L2), CXCR4, CXCR6 (TYMSTR/STRL33/본조(Bonzo)), CYB5, CYC1, CYSLTR1, DAB2IP, DES, DKFZp451J0118, DNCL1, DPP4, E2F1, 엔젤, 예지, 펜넬, EFNA3, EFNB2, EGF, EGFR, ELAC2, ENG, Enola, ENO2, ENO3, EPHA1, EPHA2, EPHA3, EPHA4, EPHA5, EPHA6, EPHA7, EPHA8, EPHA9, EPHA10, EPHB1, EPHB2, EPHB3, EPHB4, EPHB5, EPHB6, EPHRIN-A1, EPHRIN-A2, EPHRINA3, EPHRIN-A4, EPHRIN-A5, EPHRIN-A6, EPHRIN-B1, EPHRIN-B2, EPHRIN-B3, EPHB4, EPG, ERBB2 (Her-2), EREG, ERK8, 에스트로젠 수용체, 얼(Ear1), ESR2, F3 (TF), FADD, 파르네실트랜스퍼라제, FasL, FASNf, FCER1A, FCER2, FCGR3A, FGF, FGF1 (aFGF), FGF10, FGF1 1, FGF12, FGF12B, FGF13, FGF14, FGF16, FGF17, FGF18, FGF19, FGF2 (bFGF), FGF20, FGF21, FGF22, FGF23, FGF3 (int-2), FGF4 (HST), FGF5, FGF6 (HST-2), FGF7 (KGF), FGF8, FGF9, FGFR3, FIGF (VEGFD), FIL1(EPSILON), FBL1 (ZETA), FLJ12584, FLJ25530, FLRT1 (피브로넥틴), FLT1, FLT-3, FOS, FOSL1(FRA-1), FY (DARC), GABRP (GABAA), GAGEB1, GAGEC1, GALNAC4S-6ST, GATA3, GD2, GDF5, GF11, GGT1, GM-CSF, GNAS1, GNRH1, GPR2 (CCR10), GPR31, GPR44, GPR81 (FKSG80), GRCC10 (C10), GRP, GSN (겔슬린), GSTP1, HAVCR2, HDAC, HDAC4, HDAC5, HDAC7A, HDAC9, 헤지호그(Hedgehog), HGF, HIF1A, HIP1, 히스타민 및 히스타민 수용체, HLA-A, HLA-DRA, HLA-E, HM74, HMOXI, HSP90, HUMCYT2A, ICEBERG, ICOSL, ID2, IFN-a, IFNA1, IFNA2, IFNA4, IFNA5, EFNA6, BFNA7, IFNB1, IFN감마, IFNW1, IGBP1, IGF1, IGFIR, IGF2, IGFBP2, IGFBP3, IGFBP6, DL-1, IL10, ILIORA, ILIORB, IL-1, IL1R1 (CD121a), IL1R2(CD121b), IL-IRA, IL-2, IL2RA (CD25), IL2RB(CD122), IL2RG(CD132), IL-4, IL-4R(CD123), IL-5, IL5RA(CD125), IL3RB(CD131), IL-6, IL6RA, (CD126), IR6RB(CD130), IL-7, IL7RA(CD127), IL-8, CXCR1 (IL8RA), CXCR2, (IL8RB/CD128), IL-9, IL9R(CD129), IL-10, IL10RA(CD210), IL10RB(CDW210B), IL-11, IL11RA, IL-12, IL-12A, IL-12B, IL-12RB1, IL-12RB2, IL-13, IL13RA1, IL13RA2, IL14, IL15, IL15RA, IL16, IL17, IL17A, IL17B, IL17C, IL17R, IL18, IL18BP, IL18R1, IL18RAP, IL19, ILIA, ILIB, ILIF10, ILIF5, ILIF6, ILIF7, ILIF8, DL1F9, ILIHY1, ILIR1, ILIR2, ILIRAP, ILIRAPL1, ILIRAPL2, ILIRL1, ILIRL2, ILIRN, IL2, IL20, IL20RA, IL21R, IL22, IL22R, IL22RA2, IL23, DL24, IL25, IL26, IL27, IL28A, IL28B, IL29, IL2RA, IL2RB, IL2RG, IL3, IL30, IL3RA, IL4, IL4, IL6ST (당단백질 130), ILK, INHA, INHBA, INSL3, INSL4, IRAK1, IRAK2, ITGA1, ITGA2, ITGA3, ITGA6 ($\alpha 6$ 인테그린), ITGAV, ITGB3, ITGB4 ($\beta 4$ 인테그린), JAG1, JAK1, JAK3, JTB, JUN, K6HF, KAI1, KDR, KITLG, KLF5 (GC Box BP), KLF6, KLK10, KLK12, KLK13, KLK14, KLK15, KLK3, KLK4, KLK5, KLK6, KLK9, KRT1, KRT19 (케라틴 19), KRT2A, KRTHB6(모발-특이적 II형 케라틴), LAMA5, LEP (렙틴), 린코-p75, 린코-트로이, LPS, LTA (TNF-b), LTB, LTB4R (GPR16), LTBR, MACMARCKS, MAG 또는 OMgp, MAP2K7 (c-Jun), MCP-1, MDK, MIB1, 미트킨, MIF, MISRI1, MJP-2, MK, MKI67 (Ki-67), MMP2, MMP9, MS4A1, MSMB, MT3 (메탈로티오넥틴-UI), mTOR, MTSS1, MUC1 (뮤신), MYC, MYD88, NCK2, 뉴로칸, NFKB1, NFKB2, NGFB (NGF), NGFR, NgR-린코, NgRNogo66, (노고), NgR-p75, NgR-트로이, NME1 (NM23A), NOTCH, NOTCH1, NOX5, NPPB, NROB1, NROB2, NR1D1, NR1D2, NR1H2, NR1H3, NR1H4, NR112, NR113, NR2C1, NR2C2, NR2E1, NR2E3, NR2F1, NR2F2, NR2F6, NR3C1, NR3C2, NR4A1, NR4A2, NR4A3, NR5A1, NR5A2, NR6A1, NRP1, NRP2, NT5E, NTN4, ODZI, OPRDI, P2RX7, PAP, PART1, PATE, PAWR, PCA3, PCDGF, PCNA, PDGFA, PDGFB, PDGFRA, PDGFRB, PECAMI, peg-아스파라기나제, PF4 (CXCL4), PGF, PGR, 포스파칸, PIAS2, PI3 키나제, PIK3CG, PLAU (uPA), PLG, PLXDCI, PKC, PKC-베타, PPBP (CXCL7), PPID, PR1, PRKCQ, PRKD1, PRL, PROC, PROK2, PSAP, PSCA, PTAFR, PTEN, PTGS2 (COX-2), PTN, RAC2 (P21Rac2), RANK, RANK 리간드, RARB, RGS1, RGS13, RGS3, RNFI10 (ZNF144), 룬(Ron), ROBO2, RXR, S100A2, SCGB 1D2 (리포필린 B), SCGB2A1 (맘마글로빈 2), SCGB2A2 (맘마글로빈 1), SCYE1 (내피

단핵구-활성화 사이토킨), SDF2, SERPENA1, SERPINA3, SERPINB5 (마스핀), SERPINE1 (PAI-1), SERPINFI, SHIP-1, SHIP-2, SHB1, SHB2, SHBG, SfcAZ, SLC2A2, SLC33A1, SLC43A1, SLIT2, SPP1, SPRR1B (Spr1), ST6GAL1, STAB1, STATE, STEAP, STEAP2, TB4R2, TBX21, TCP10, TDGF1, TEK, TGFA, TGFB1, TGFB1I1, TGFB2, TGFB3, TGFB1, TGFB1R1, TGFB2R2, TGFB3R3, TH1L, THBS1 (트롬보스폰딘-1), THBS2, THBS4, THPO, TIE (타이-1), TIMP3, 조직 인자, TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TNF, TNF-a, TNFAIP2 (B94), TNFAIP3, TNFRSF11A, TNFRSF1A, TNFRSF1B, TNFRSF21, TNFRSF5, TNFRSF6 (Fas), TNFRSF7, TNFRSF8, TNFRSF9, TNFSF10 (TRAIL), TNFSF11 (TRANCE), TNFSF12 (APO3L), TNFSF13 (에이프릴), TNFSF13B, TNFSF14 (HVEM-L), TNFRSF14 (HVEM), TNFSF15 (VEG1), TNFSF18, TNFSF4 (OX40 리간드), TNFSF5 (CD40 리간드), TNFSF6 (FasL), TNFSF7 (CD27 리간드), TNFSF8 (CD30 리간드), TNFSF9 (4-1BB 리간드), TOLLIP, 톨-유사 수용체, TOP2A (토포아이소머라제 Iia), TP53, TPM1, TPM2, TRADD, TRAF1, TRAF2, TRAF3, TRAF4, TRAF5, TRAF6, TRKA, TREM1, TREM2, TRPC6, TSLP, TWEAK, 티로시나제, uPAR, VEGF, VEGFB, VEGFC, 베르시칸, VHL C5, VLA-4, Wnt-1, XCL1 (림포락틴), XCL2 (SCM-1b), XCRI (GPR5/CCXCR1), YY1, ZFPM2, CLEC4C (BDCA-2, DLEC, CD303, CLECSF7), CLEC4D (MCL, CLECSF8), CLEC4E (민클(Mincle)), CLEC6A (텍틴-2), CLEC5A (MDL-1, CLECSF5), CLEC1B (CLEC-2), CLEC9A (DNDR-1), CLEC7A (텍틴-1), PDGFRa, SLAMF7, GP6 (GPVI), LILRA1 (CD85I), LILRA2 (CD85H, ILT1), LILRA4 (CD85G, ILT7), LILRA5 (CD85F, ILT11), LILRA6 (CD85b, ILT8), NCR1 (CD335, LY94, NKp46), NCR3 (CD335, LY94, NKp46), NCR3 (CD337, NKp30), OSCAR, TARM1, CD300C, CD300E, CD300LB (CD300B), CD300LD (CD300D), KIR2DL4 (CD158D), KIR2DS, KLRC2 (CD159C, NKG2C), KLRK1 (CD314, NKG2D), NCR2 (CD336, NKp44), PILRB, SIGLEC1 (CD169, SN), SIGLEC14, SIGLEC15 (CD33L3), SIGLEC16, SIRPB1 (CD172B), TREM1 (CD354), TREM2, 및 KLRF1 (NKp80).

[0384] 일부 실시 형태에서, 항체는 Fc γ -결합된 수용체에 결합한다. 일부 실시 형태에서, Fc γ -결합된 수용체는 GP6 (GPVI), LILRA1 (CD85I), LILRA2 (CD85H, ILT1), LILRA4 (CD85G, ILT7), LILRA5 (CD85F, ILT11), LILRA6 (CD85b, ILT8), NCR1 (CD335, LY94, NKp46), NCR3 (CD335, LY94, NKp46), NCR3 (CD337, NKp30), OSCAR, 및 TARM1로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0385] 일부 실시 형태에서, 항체는 DAP12-결합된 수용체에 결합한다. 일부 실시 형태에서, DAP12-결합된 수용체는 CD300C, CD300E, CD300LB (CD300B), CD300LD (CD300D), KIR2DL4 (CD158D), KIR2DS, KLRC2 (CD159C, NKG2C), KLRK1 (CD314, NKG2D), NCR2 (CD336, NKp44), PILRB, SIGLEC1 (CD169, SN), SIGLEC14, SIGLEC15 (CD33L3), SIGLEC16, SIRPB1 (CD172B), TREM1 (CD354), 및 TREM2로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0386] 일부 실시 형태에서, 항체는 hemITAM-보유 수용체에 결합한다. 일부 실시 형태에서, hemITAM-보유 수용체는 KLRF1 (NKp80)이다.

[0387] 일부 실시 형태에서, 항체는 CLEC4C (BDCA-2, DLEC, CD303, CLECSF7), CLEC4D (MCL, CLECSF8), CLEC4E (민클), CLEC6A (텍틴-2), CLEC5A (MDL-1, CLECSF5), CLEC1B (CLEC-2), CLEC9A (DNDR-1), 및 CLEC7A (텍틴-1)로부터 선택되는 하나 이상의 표적과 결합할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 항체는 CLEC6A (텍틴-2) 또는 CLEC5A와 결합할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 항체는 CLEC6A (텍틴-2)와 결합할 수 있다.

[0388] 일부 실시 형태에서, 항체는 하기로부터 선택되는 하나 이상의 표적과 결합할 수 있다 (예를 들어, 하기로부터 선택되는 표적에 특이적으로 결합한다): ATP5I (Q06185), OAT (P29758), AIFM1 (Q9Z0X1), AOFA (Q64133), MTDC (P18155), CMC1 (Q8BH59), PREP (Q8K411), YMEL1 (O88967), LPPRC (Q6PB66), LONM (Q8CGK3), ACON (Q99KI0), ODO1 (Q60597), IDHP (P54071), ALDH2 (P47738), ATPB (P56480), AATM (P05202), TMM93 (Q9CQW0), ERG13 (Q9CQE7), RTN4 (Q99P72), CLO41 (Q8BQR4), ERLN2 (Q8BFZ9), TERA (Q01853), DAD1 (P61804), CALX (P35564), CALU (O35887), VAPA (Q9WV55), MOGS (Q80UM7), GANAB (Q8BHN3), ERO1A (Q8R180), UGGG1 (Q6P5E4), P4HA1 (Q60715), HYEP (Q9D379), CALR (P14211), AT2A2 (O55143), PDIA4 (P08003), PDIA1 (P09103), PDIA3 (P27773), PDIA6 (Q922R8), CLH (Q68FD5), PPIB (P24369), TCPG (P80318), MOT4 (P57787), NICA (P57716), BASI (P18572), VAPA (Q9WV55), ENV2 (P11370), VAT1 (Q62465), 4F2 (P10852), ENOA (P17182), ILK (O55222), GPNMB (Q99P91), ENV1 (P10404), ERO1A (Q8R180), CLH (Q68FD5), DSG1A (Q61495), AT1A1 (Q8VDN2), HYOU1 (Q9JKR6), TRAP1 (Q9CQN1), GRP75 (P38647), ENPL (P08113), CH60 (P63038), 및 CH10 (Q64433). 전술된 목록에서는, 수탁 번호가 괄호 안에 제시되어 있다.

[0389] 일부 실시 형태에서, 항체는 CDH1, CD19, CD20, CD29, CD30, CD38, CD40, CD47, EpCAM, MUC1, MUC16, EGFR, Her2, SLAMF7, 및 gp75로부터 선택되는 항원에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 항원은 CD19, CD20, CD47, EpCAM, MUC1, MUC16, EGFR, 및 Her2로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 항체는 Tn 항원 및 톨젠-프리덴라

이히(Thomsen-Friedenreich) 항원으로부터 선택되는 항원에 결합한다.

[0390]

일부 실시 형태에서, 항체 또는 Fc 융합 단백질은 하기로부터 선택된다: 아바고보맵, 아바타셉트 (ORENCIATM로도 알려짐), 아브식시맵 (REOPROTM, c7E3 Fab로도 알려짐), 아달리무맵 (HUMIRATM로도 알려짐), 아데카투무맵, 알렘 투주맵 (CAMPATHTM, 캠패스(MabCampath) 또는 캠패스-1H로도 알려짐), 알투모맵, 아펠리모맵, 아나투모맵 마 페나톡스, 아네투무맵, 안루키주맵, 아폴리주맵, 아르시투모맵, 아셀리주맵, 아틀리주맵, 아토롤리무맵, 바피뉴 주맵, 바실릭시맵 (SIMULECTTM로도 알려짐), 바비톡시맵, 벡투모맵 (LYMPHOSCANTM으로도 알려짐), 벨리무맵 (LYMPHO-STAT-BTM로도 알려짐), 베르틸리무맵, 베실레소맵, 베바시주맵 (AVASTINTM), 비시로맵 브랄로바르비탈, 비바투주맵 메르탄신, 캠패스, 카나키누맵 (ACZ885로도 알려짐), 칸투주맵 메라탄신, 카프로맵 (PROTASCINTTM로도 알려짐), 카투막소맵 (REMOVABTM로도 알려짐), 세멜리주맵 (CIMZIATM로도 알려짐), 세르톨리주맵 페골, 세톡 시맵 (ERBITUXTM로도 알려짐), 클레놀릭시맵, 다세투주맵, 다클릭시맵, 다클리주맵 (ZENAPAXTM로도 알려짐), 데 노수맵 (AMG 162로도 알려짐), 데투모맵, 도롤리모맵 아리톡스, 도롤릭시주맵, 둔투무맵, 두리물루맵, 두르물루 맵, 에크로백시맵, 에쿨리주맵 (SOLIRISTM로도 알려짐), 에도바코맵, 에드레콜로맵 (Mab17-1A, PANOREXTM로도 알려짐), 에팔리주맵 (RAPTIVATM로도 알려짐), 에폰구맵 (MYCOGRABTM로도 알려짐), 엘실리모맵, 엔리모맵 페골, 에 피투모맵 시톡세탄, 에팔리주맵, 에피투모맵, 에프라투주맵, 에를리주맵, 에르투막소맵 (REXOMUNTM로도 알려짐), 에타터셉트 (ENBRELTM로도 알려짐), 에타라시주맵 (에타라투주맵, VITAXINTM, ABEGRINTM으로도 알려짐), 엑스비비 루맵, 파놀레소맵 (NEUTROSPECTM로도 알려짐), 파랄리모맵, 펠비주맵, 폰톨리주맵 (HUZAFTM로도 알려짐), 갈릭시 맵, 간테네루맵, 가빌리모맵 (ABXCBLTM로도 알려짐), 겐투주맵 오조가미신 (MYLOTARGTM로도 알려짐), 골리무맵 (CNTO 148로도 알려짐), 고밀릭시맵, 이발리주맵 (TNX-355로도 알려짐), 이브리투모맵 티옥세탄 (ZEVALINTM으로 도 알려짐), 이고보맵, 임시로맵, 인플릭시맵 (REMICADETM로도 알려짐), 이놀리모맵, 이노투주맵 오조가미신, 이 필리무맵 (MDX-010, MDX-101로도 알려짐), 이라투무맵, 켈릭시맵, 라베투주맵, 레말레소맵, 레브틸리주맵, 레르 텔리무맵, 렉사투무맵 (HGS-ETR2, ETR2-STO1로도 알려짐), 렉시투무맵, 리비비루맵, 린투주맵, 루카투무맵, 루 밀릭시맵, 마파투무맵 (HGSETR1, TRM-1로도 알려짐), 마슬리모맵, 마투주맵 (EMD72000으로도 알려짐), 메폴리주 맵 (BOSATRIATM로도 알려짐), 메텔리무맵, 밀라투주맵, 민레투모맵, 미투모맵, 모듈리무맵, 모타비주맵 (NUMAXTM로도 알려짐), 무로모납 (OKT3으로도 알려짐), 나콜로맵 타페나톡스, 납투모맵 에스타페나톡스, 나탈리주맵 (TYSABRITM, ANTEGRENTM으로도 알려짐), 네바쿠맵, 네레리모맵, 니모투주맵 (THERACIM hr3TM, THERA-CIM-hr3TM, THERALOCTM로도 알려짐), 노페투모맵 메르헨탄 (VERLUMATM로도 알려짐), 오크렐리주맵, 오둘리모맵, 오파투무맵, 오말리주맵 (XOLAIRTM로도 알려짐), 오레고보맵 (OVAREXTM로도 알려짐), 오텔릭시주맵, 파기박시맵, 팔리비주맵 (SYNAGISTM로도 알려짐), 파니투무맵 (ABX-EGF, VECTIBIXTM로도 알려짐), 파스콜리주맵, 팜투모맵 (THERAGYNTM으로 도 알려짐), 퍼투주맵 (2C4, OMNITARGTM로도 알려짐), 펙셀리주맵, 핀투모맵, 프틸릭시맵, 프리투무맵, 라니비 주맵 (LUCENTISTM로도 알려짐), 락시바쿠맵, 레가비루맵, 레슬리주맵, 리톡시맵 (RITUXANTM, MabTHERATM로도 알려 짐), 로벨리주맵, 루폴리주맵, 사투모맵, 세비루맵, 시브로투주맵, 시폴리주맵 (MEDI-507로도 알려짐), 손투주 맵, 스타물루맵 (MYO-029로도 알려짐), 술레소맵 (LEUKOSCANTM으로도 알려짐), 타카투주맵 테트라세탄, 타도시주 맵, 탈리주맵, 타폴리투모맵 콤팩스, 테피바주맵 (AUREXISTM로도 알려짐), 텔리모맵 아리톡스, 테넬릭시맵, 테플 리주맵, 티실리무맵, 토실리주맵 (ACTEMRATM로도 알려짐), 토랄리주맵, 토시투모맵, 트라스투주맵 (HERCEPTINTM으로도 알려짐), 트레멜리무맵 (CP-675,206으로도 알려짐), 투코투주맵 셀모튜킨, 투비루맵, 우르톡사주맵, 우 스테키누맵 (CNTO 1275로도 알려짐), 바팔릭시맵, 벨투주맵, 베팔리모맵, 비실리주맵 (NUVIONTM으로도 알려짐), 볼로식시맵 (M200으로도 알려짐), 보투무맵 (HUMASPECTTM으로도 알려짐), 잘루투무맵, 자놀리무맵 (HuMAX-CD4로 도 알려짐), 지랄리무맵, 줄리모맵 아리톡스, 다라투무맵, 엘로투주맵, 오비누투주맵, 올라라투맵, 브렌톡시맵 베도틴, 아폴리베르셉트, 아바타셉트, 벨라타셉트, 아피베르셉트, 에타너셉트, 로미플로스팀, SBT-040 (서열이 미국 특허 출원 공개 제2017/0158772호에 열거되어 있음). 일부 실시 형태에서, 항체는 리톡시맵이다.

- [0391] 관문 억제제
- [0392] 임의의 적합한 면역 관문 억제제가 본 명세서에 개시된 면역접합체와 함께 사용하는 것에 대해 고려된다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 하나 이상의 면역 관문 단백질의 발현 또는 활성을 감소시킨다. 다른 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 하나 이상의 면역 관문 단백질과 그들의 리간드 사이의 상호작용을 감소시킨다. 면역 관문 분자의 발현 및/또는 활성을 감소시키는 억제성 핵산이 또한 본 명세서에 개시된 방법에 사용될 수 있다.
- [0393] 본 명세서의 데이터는, 통상 IgG4인 면역 관문 억제제 니블루맙이 IgG1 Fc를 포함하도록 변형될 수 있고, 후속으로 본 발명의 면역접합체로 전환될 수 있음을 보여준다. 데이터는 니블루맙 IgG1 면역접합체가 여전히 매우 강력함을 나타낸다. 유사하게, 임상 등급 아테졸리주맙 상의 IgG1 NQ Fc를 IgG1로 대체하였을 때, 개선된 결과가 있었다. (도 97a 내지 도 97h)
- [0394] 대부분의 관문 항체는, 그들이 세포를 사멸하려고 시도하고 있지 않기 때문에 이펙터 기능을 갖지 않고, 오히려 신호전달을 차단하도록 설계된다. 본 발명의 면역접합체는 골수성 면역을 활성화하는 데 필요한 "이펙터 기능"을 다시 부가할 수 있다. 따라서, 대부분의 관문 항체 억제제의 경우, 이러한 발견은 중요할 것이다.
- [0395] 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 세포독성 T-림프구 항원 4 (CTLA4; 이는 CD152로도 알려짐), Ig 및 ITIM 도메인을 갖는 T 세포 면역수용체 (TIGIT), 글루코코르티코이드-유도 TNFR-관련 단백질 (GITR; 이는 TNFRSF18로도 알려짐), 유도성 T 세포 공동자극 물질 (ICOS; 이는 CD278로도 알려짐), CD96, 폴리오바이러스 수용체-관련 2 (PVRL2; 이는 CD112R로도 알려짐), 프로그래밍된 세포사 단백질 1 (PD-1; 이는 CD279로도 알려짐), 프로그래밍된 세포사 1 리간드 1 (PD-L1; 이는 B7-H3 및 CD274로도 알려짐), 프로그래밍된 세포사 리간드 2 (PD-L2; 이는 B7-DC 및 CD273으로도 알려짐), 림프구 활성화 유전자-3 (LAG-3; 이는 CD223으로도 알려짐), B7-H4, 킬러 면역글로불린 수용체 (KIR), 종양 괴사 인자 수용체 수퍼패밀리 구성원 4 (TNFRSF4; 이는 OX40 및 CD134로도 알려짐) 및 그의 리간드 OX40L (CD252), 인돌아민 2,3-다이옥시게나제1 (IDO-1), 인돌아민 2,3-다이옥시게나제 2 (IDO-2), 암배아 항원-관련 세포 부착 분자 1 (CEACAM1), B 및 T 림프구 어태뉴에이터 (attenuator) (BTLA; 이는 CD272로도 알려짐), T-세포막 단백질 3 (TIM3), 아데노신 A2A 수용체 (A2Ar), 및 T 세포 활성화의 V-도메인 Ig 억제제 (VISTA 단백질). 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 CTLA4, PD-1, 또는 PD-L1의 억제제이다.
- [0396] 일부 실시 형태에서, 항체는 하기로부터 선택된다: 이필리무맙 (Yervoy[®]로도 알려짐), 켈브롤리주맙 (Keytruda[®]로도 알려짐), 니블루맙 (Opdivo[®]로도 알려짐), 아테졸리주맙 (Tecentrig[®]로도 알려짐), 아벨루맙 (Bavencio[®]로도 알려짐), 및 두르발루맙 (Imfinzi[™]로도 알려짐). 일부 실시 형태에서, 항체는 하기로부터 선택된다: 이필리무맙 (Yervoy[®]로도 알려짐), 켈브롤리주맙 (Keytruda[®]로도 알려짐), 니블루맙 (Opdivo[®]로도 알려짐), 아테졸리주맙 (Tecentrig[®]로도 알려짐).
- [0397] 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 CTLA4의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 CTLA4에 대한 항체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 CTLA4에 대한 단일클론 항체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 CTLA4에 대한 인간 항체 또는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 하나 이상의 면역 관문 단백질, 예컨대 CTLA4의 발현 또는 활성을 감소시킨다.
- [0398] 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 PD-1의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 PD-1에 대한 항체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 PD-1에 대한 단일클론 항체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 PD-1에 대한 인간 항체 또는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 하나 이상의 면역 관문 단백질, 예컨대 PD-1의 발현 또는 활성을 감소시킨다.
- [0399] 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 PD-L1의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 PD-L1에 대한 항체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 PD-L1에 대한 단일클론 항체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 PD-L1에 대한 인간 항체 또는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 하나 이상의 면역 관문 단백질, 예컨대 PD-L1의 발현 또는 활성을 감소시킨다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 PD-1과 PD-L1 사이의 상호작용을 감소시킨다.
- [0400] 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 PD-L2의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 PD-L2에 대한 항체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 PD-L2에 대한 단일클론 항체이다. 일부 실시 형

서, 면역 관문 억제제는 A2Ar에 대한 인간 항체 또는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 하나 이상의 면역 관문 단백질, 예컨대 A2Ar의 발현 또는 활성을 감소시킨다.

[0412] 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 VISTA 단백질의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 VISTA 단백질에 대한 항체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 VISTA 단백질에 대한 단일클론 항체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 VISTA 단백질에 대한 인간 항체 또는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 관문 억제제는 하나 이상의 면역 관문 단백질, 예컨대 VISTA 단백질의 발현 또는 활성을 감소시킨다.

[0413] *바이오시밀러*

[0414] 본 발명의 면역접합체는 또한, 구매가능한 항체 작제물 또는 "이노베이터" 항체 작제물과 매우 유사하거나 또는 바이오시밀러한 항체 작제물인 경우에 효과적이다. 예를 들어, 세특시맵, 리특시맵, 및 트라스투주맵의 바이오시밀러 항체를 도 71a 내지 도 71aq에서 알 수 있는 바와 같이 본 발명의 몇몇 성공적인 면역접합체에 사용하였다. 바이오시밀러 면역접합체는 구매가능한 항체만큼 효과적으로 골수성 활성화를 유도하였다. 이들 연구로부터, 바이오시밀러 면역접합체는 이노베이터 제품의 면역접합체와 유사하게 수행할 것으로 예상된다.

[0415] *DAR 비*

[0416] 본 발명의 면역접합체는 바람직한 DAR 비를 제공한다. 도 84a 내지 도 87c에서 알 수 있는 바와 같이, 본 발명의 면역접합체는 0.7, 1.6, 및 2.5의 DAR 비를 제공한다.

[0417] 변동하는 DAR 비로 나타낸 면역접합체들은 모두 골수성 세포를 활성화하고 사이토카인 분비를 유도하는 데 효과적이었다. 데이터는, 변동하는 DAR 비를 갖는 면역접합체들이 모두 APC 활성화를 유도하는 데 있어서 월등하였음을 나타내는데, 이는, 항체 단독으로 자극된 APC와 대비하여, 면역접합체로 자극된 APC에서, CD40, CD86 및 HLA-DR이 더 높은 수준으로 발현되었기 때문이다. 변동하는 DAR을 갖는 면역접합체들은 항체 단독과 대비하여, CD14 및 CD16의 하향조절 및 CD123의 증가된 발현을 일관되게 유도하였다. 이들 연구로부터, 모든 DAR 비는 골수성 세포 활성화를 유도하는 데 효과적일 것으로 예상된다.

[0418] *동종형 변형*

[0419] 본 명세서의 데이터는 리특시맵과 같은 항체의 IgG1 fc 영역이 IgG1 AF, IgG1 NQ, IgG2, IgG3, IgG4, 또는 IgA2로 교환되고, 이어서 본 발명의 면역접합체로 형성될 때, 면역접합체의 활성이 원하는 응용에 맞게 조절되고 종종 개선될 수 있음을 보여준다 (도 88c 내지 도 88h 참조).

[0420] 인간 IgG의 약 30%가 Fab 영역 내에서 글리코실화되고, 본 발명의 면역접합체 내의 항체는 비-천연 발생 글리코실화 패턴을 갖는 조작된 Fab 영역을 함유할 수 있다. 예를 들어, 하이브리도마는 증가된 FcR γ IIIa 결합 및 이펙터 기능을 가능하게 하는 특정 돌연변이를 갖는 어푸코실화된 mAb, 탈시알릴화된 mAb 또는 탈글리코실화된 Fc를 분비하도록 유전적으로 조작될 수 있다.

[0421] 면역접합체를 형성하기 위한 항체는 애쥬번트 모이어티를 항체에 공유 결합하는 데 사용되는 시약에 대한 변경된 (예를 들어, 향상된) 반응성을 특징으로 하는 조작된 (즉, 비-천연 발생) 시스테인 잔기를 함유할 수 있다. 소정 실시 형태에서, 조작된 시스테인 잔기는 0.6 내지 1.0 범위의 티올 반응성 값을 가질 것이다. 많은 경우에, 조작된 항체는 모 항체보다 더 반응성일 것이다.

[0422] 일반적으로, 조작된 잔기는 이황화물 가교의 일부가 아닌 "유리" 시스테인 잔기이다. 용어 "티올 반응성 값"은 유리 시스테인 아미노산의 반응성의 정량적 특성화이다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "티올 반응성 값"은 티올-반응성 시약과 반응하는 조작된 항체 내의 자유 시스테인 아미노산의 백분율을 지칭하며, 1의 최대 값으로 변환된다. 예를 들어, 티올-반응성 시약, 예컨대 말레이미드와 100% 수율로 반응하는 조작된 항체 내의 시스테인 잔기는 티올 반응성 값이 1.0이다. 티올-반응성 시약과 80% 수율로 반응하는, 동일하거나 상이한 모 항체 내로 조작된 다른 시스테인 잔기는 티올 반응성 값이 0.8이다. 특정 시스테인 잔기의 티올 반응성 값의 결정은 ELISA 검정, 질량 분석, 액체 크로마토그래피, 오토라디오그래피, 또는 다른 정량적 분석 시험에 의해 수행될 수 있다.

[0423] 조작된 시스테인 잔기는 항체 중쇄 또는 항체 경쇄에 위치될 수 있다. 소정 실시 형태에서, 조작된 시스테인 잔기는 중쇄의 Fc 영역에 위치된다. 예를 들어, 항체의 경쇄 내의 위치 L-15, L-43, L-110, L-144, L-168 또는 항체의 중쇄 내의 위치 H-40, H-88, H-119, H-121, H-122, H-175, 및 H-179의 아미노산 잔기가 시스테인 잔기로 대체될 수 있다. 또한, 이들 위치의 양측에서 약 5개의 아미노산 잔기 내의 범위, 즉 L-10 내지 L-20; L-

38 내지 L-48; L-105 내지 L-115; L-139 내지 L-149; L-163 내지 L-173; H-35 내지 H-45; H-83 내지 H-93; H-114 내지 H-127; 및 H-170 내지 H-184뿐만 아니라, H-268 내지 H-291; H-319 내지 H-344; H-370 내지 H-380; 및 H-395 내지 H-405로부터 선택되는 Fc 영역 내의 범위가 시스테인 잔기로 대체되어, 면역접합체를 형성하기에 유용한 시스테인 조작된 항체를 제공할 수 있다. 다른 조작된 항체는, 예를 들어, 본 명세서에 참고로 포함된 미국 특허 제7,855,275호; 제8,309,300호; 및 제9,000,130호에 기재되어 있다.

[0424] 항체에 더하여, 대안적인 단백질 스캐폴드가 면역접합체의 일부로서 사용될 수 있다. 용어 "대안적인 단백질 스캐폴드"는 비-면역글로불린 유래 단백질 또는 펩티드를 지칭한다. 그러한 단백질 및 펩티드는 일반적으로 조작하기에 적합할 수 있으며, 주어진 항원에 대해 단일특이성, 이중특이성, 또는 다중특이성을 부여하도록 설계될 수 있다. 대안적인 단백질 스캐폴드의 조작은 몇몇 접근법을 사용하여 수행될 수 있다. 루프 그래프팅(loop grafting) 접근법이 사용될 수 있는데, 여기서는 공지된 특이성의 서열이 스캐폴드의 가변 루프 상에 그래프팅된다. 서열 무작위화 및 돌연변이생성이 돌연변이체의 라이브러리를 개발하는 데 사용될 수 있으며, 이러한 라이브러리는 다양한 디스플레이 플랫폼 (예를 들어, 파지 디스플레이)을 사용하여 스크리닝되어 신규한 결합체를 확인할 수 있다. 부위-특이적 돌연변이생성이 또한 유사한 접근법의 일부로서 사용될 수 있다. 대안적인 단백질 스캐폴드는 다양한 크기로 존재하여, 그 범위가 최소한의 2차 구조를 갖는 작은 펩티드로부터 전체 크기 항체와 유사한 크기의 큰 단백질에까지 이른다. 스캐폴드의 예에는 시스틴 매듭 미니단백질 (노틴(knottin)으로도 알려져 있음), 사이클릭 시스틴 매듭 미니단백질 (사이클로티드(cyclotide)로도 알려져 있음), 아비머(avimer), 어피바디(affibody), 인간 피브로넥틴의 10번째 III형 도메인, DARPin (설계된 안키린 반복체), 및 안티칼린 (리포칼린으로도 알려져 있음)이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 공지된 특이성을 갖는 천연 발생 리간드가 또한 주어진 표적에 대해 신규한 특이성을 부여하도록 조작될 수 있다. 조작될 수 있는 천연 발생 리간드의 예에는 EGF 리간드 및 VEGF 리간드가 포함된다. 조작된 단백질은 원하는 결합 전략 및 특이성에 따라 단량체 단백질로서 또는 다량체로서 생성될 수 있다. 단백질 조작 전략이 대안적인 단백질 스캐폴드를 Fc 도메인에 융합하는 데 사용될 수 있다.

[0425] **항체-애주번트 접합체의 제조**

[0426] 본 발명의 면역접합체를 형성하기 위한 반응은 애주번트 모이어티를 항체에 공유 결합하기에 충분한 조건 하에서 수행된다. 일반적으로, 반응은 항체 내의 아미노산 측쇄가 애주번트-링커 화합물과 반응하도록 항체를 애주번트-링커 화합물과 접촉시킴으로써 수행된다. 일부 실시 형태에서, 애주번트-링커 화합물 및 항체는 면역접합체를 형성할 때 대략 등몰량으로 사용된다. 일부 실시 형태에서, 과량의 애주번트-링커 화합물이 면역접합체를 형성할 때 사용된다. 예를 들어, 면역접합체를 형성하기 위한 반응 혼합물은 항체에 대하여 약 1.1 내지 약 50 몰당량의 애주번트-링커 화합물을 함유할 수 있다.

[0427] 반응은 임의의 적합한 온도에서 수행될 수 있다. 일반적으로, 반응은 약 4°C 내지 약 40°C의 온도에서 수행된다. 반응은, 예를 들어 약 25°C 또는 약 37°C에서 수행될 수 있다. 반응은 임의의 적합한 pH에서 수행될 수 있다. 일반적으로, 반응은 약 4.5 내지 약 10의 pH에서 수행된다. 반응은, 예를 들어 약 5 내지 약 9의 pH에서 수행될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 반응은 거의 중성 pH (즉, 약 pH 7)에서 수행된다. 일부 실시 형태에서, 반응은 7.2 내지 7.5 범위의 pH에서 수행된다. 반응은 임의의 적합한 시간 동안 수행될 수 있다. 일반적으로, 반응 혼합물은 약 1분 내지 수 시간의 어느 것이든 그 시간 동안 적합한 조건 하에서 인큐베이션된다. 반응은, 예를 들어 약 1분, 또는 약 5분, 또는 약 10분, 또는 약 30분, 또는 약 1시간, 또는 약 2시간, 또는 약 4시간, 또는 약 8시간, 또는 약 12시간, 또는 약 24시간, 또는 약 48시간, 또는 약 72시간 동안 수행될 수 있다. 접합체 내의 항체 및 애주번트 모이어티를 도입하기 위해 사용되는 시약의 실제(identity)에 따라, 다른 반응 조건이 본 발명의 방법에 사용될 수 있다.

[0428] 항체-애주번트 접합체를 형성하기 위한 반응 혼합물은, 전형적으로 바이오접합(bioconjugation) 반응에 사용되는 종류의 추가의 시약을 함유할 수 있다. 예를 들어, 소정 실시 형태에서, 반응 혼합물은 완충제 (예를 들어, 2-(N-모르폴리노)에탄설폰산 (MES), 2-[4-(2-하이드록시에틸)피페라진-1-일]에탄설폰산 (HEPES), 3-모르폴리노프로판-1-설폰산 (MOPS), 인산칼륨, 인산나트륨, 인산염-완충 식염수, 소듐 시트레이트, 소듐 아세테이트, 및 붕산나트륨), 공용매 (예를 들어, 다이메틸설포사이드, 다이메틸포름아미드, 에탄올, 메탄올, 테트라하이드로푸란, 아세톤, 및 아세트산), 염 (예를 들어, NaCl, KCl, CaCl₂, 및 Mn²⁺ 및 Mg²⁺의 염), 세제성 표면활성제(detergent)/계면활성제(surfactant) (예를 들어, 비이온성 계면활성제, 예컨대 N,N-비스[3-(D-글루코아미도)프로필]콜아미드, 폴리옥시에틸렌 (20) 세틸 에테르, 다이메틸데실포스핀 옥사이드, 분지형 옥틸페녹시 폴리(에틸렌옥시)에탄올, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 블록 공중합체, t-옥틸페녹시폴리에톡시에탄올, 폴리옥시에틸

렌 (20) 소르비탄 모노올레이트 등; 음이온성 계면활성제, 예컨대 소듐 콜레이트, *N*-라우로일사르코신, 소듐 도데실 설페이트 등; 양이온성 계면활성제, 예컨대 헥사데실트라이메틸 암모늄 브로마이드, 트라이메틸(테트라 데실) 암모늄 브로마이드 등; 또는 쯔비터이온성 계면활성제, 예컨대 아미도설포베타인, 3-[(3-콜아미도프로 필)다이메틸-암모니오]-1-프로판설포네이트 등), 킬레이트제 (예를 들어, 에틸렌 글리콜-비스(2-아미노에틸에테 르)-*N,N,N',N'*-테트라아세트산 (EGTA), 2-[(2-[비스(카르복시메틸)아미노]에틸) (카르복시메틸)아미노]아세트 산 (EDTA), 및 1,2-비스(*o*-아미노페녹시)에탄-*N,N,N',N'*-테트라아세트산 (BAPTA)), 및 환원제 (예를 들어, 다 이티오프레이트 (DTT), β-메르캅토에탄올 (BME), 및 트리스(2-카르복시에틸)포스핀 (TCEP))를 함유할 수 있다. 완충제, 공용매, 염, 세제성 표면활성제/계면활성제, 킬레이트제, 및 환원제는 임의의 적합한 농도로 사용될 수 있으며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 완충제, 공용매, 염, 세제성 표면활성제/ 계면활성제, 킬레이트제, 및 환원제는 약 1 μM 내지 약 1 M 범위의 농도로 반응 혼합물에 포함된다. 예를 들 어, 완충제, 공용매, 염, 세제성 표면활성제/계면활성제, 킬레이트제, 환원제는 약 1 μM, 또는 약 10 μM, 또 는 약 100 μM, 또는 약 1 mM, 또는 약 10 mM, 또는 약 25 mM, 또는 약 50 mM, 또는 약 100 mM, 또는 약 250 mM, 또는 약 500 mM, 또는 약 1 M의 농도로 반응 혼합물에 포함될 수 있다.

[0429] **면역접합체의 제형화 및 투여**

[0430] 관련 태양에서, 본 발명은 전술된 바와 같은 복수의 면역접합체를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 실시 형 태에서, 면역접합체당 애주번트 모이어티의 평균수는 약 1 내지 약 10의 범위이다. 면역접합체당 애주번트 모 이어티의 평균수는, 예를 들어 약 1 내지 약 10, 또는 약 1 내지 약 6, 또는 약 1 내지 약 4의 범위일 수 있다. 면역접합체당 애주번트 부분의 평균수는 약 0.8, 1, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8, 2, 2.2, 2.4, 2.6, 2.8, 3, 3.2, 3.4, 3.6, 3.8, 4.0, 또는 4.2일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 면역접합체당 애주번트 모이어티의 평균수는 약 4이다. 일부 실시 형태에서, 면역접합체당 애주번트 모이어티의 평균수는 약 2이다. 일부 경우에, 항체는 단일 애주번트 모이어티에 공유 결합된다. 일부 경우에, 항체는 2개 이상의 애주번트 모이어티 (예를 들어, 3 개 이상, 4개 이상, 또는 5개 이상의 애주번트 모이어티)에 공유 결합된다. 일부 경우에, 항체는 1 내지 10개 의 애주번트 모이어티 (예를 들어, 1 내지 8개, 1 내지 5개, 1 내지 3개, 2 내지 10개, 2 내지 8개, 2 내지 5개, 2개 또는 3개, 또는 3 내지 8개의 애주번트 모이어티)에 공유 결합된다. 일부 경우에, 항체는 2 내지 10 개의 애주번트 모이어티 (예를 들어, 2 내지 8개, 2 내지 5개, 2개 또는 3개, 또는 3 내지 10개, 또는 3 내지 8 개의 애주번트 모이어티)에 공유 결합된다. 항체가 1개 초과 애주번트 모이어티에 공유 결합되는 일부 경우 에, 부착된 애주번트 모이어티들은 동일하거나 상이할 수 있다. 예를 들어, 일부 경우에, 2개 이상의 애주번트 모이어티가 동일할 수 있다 (예를 들어, 동일한 애주번트 모이어티의 2개의 상이한 분자가 각각 항체 상의 상이 한 부위에서 항체에 부착될 수 있다). 일부 경우에, 항체는 2개 이상의 상이한 애주번트 모이어티 (예를 들어, 3개 이상, 4개 이상, 또는 5개 이상의 상이한 애주번트 모이어티)에 공유 결합된다. 예를 들어, 본 발명의 면 역접합체를 생성할 때, 하나 이상의 항체는 2개 이상 (예를 들어, 3개 이상, 4개 이상, 또는 5개 이상)의 상이 한 애주번트-링커 화합물과 접촉되어, 하나 이상의 항체 내의 아미노산 측쇄가 애주번트-링커 화합물들과 반응 하여, 2개 이상의 상이한 애주번트 모이어티에 각각 공유 결합된 하나 이상의 면역접합체가 생성되도록 할 수 있다.

[0431] 부위-특이적 항체 접합은, 항체 내의 라이신 잔기에 대한 부착으로 생성되는 이중 접합 생성물과 대비하여, 항 체 상의 애주번트의 정확한 배치 및 균일한 DAR을 가능하게 한다. 부위-특이적 면역접합체는 항체의 다양한 변 형을 통해 생성될 수 있다. 부위-특이적 접합을 위한 방법은 하기 방법을 포함하지만 본 명세서에 기재된 그러 한 방법으로 한정되지 않는다. 부위-특이적 접합을 위한 한 가지 방법은 소정 서열의 도입을 수반하는데, 그러 면 이러한 서열은 효소에 의해 인식되어, 화학적 변형을 야기하게 된다. 예를 들어, 효소 FGE는 서열 Cys-X- Pro-X-Arg를 인식한다. 포유류 배양물에서 FGE와 함께, 변형된 항체의 공동-발현은 조작된 부위(들)에서 알데 하이드-태그를 함유하는 항체를 생성한다. 화학적 반응성 기로의 전환을 위하여 천연 발생 서열 또는 잔기를 인식하여 부위-특이적 접합을 가능하게 하는 다른 효소가 사용될 수 있다. 세균 트랜스글루타미나제 (BTG)는 글루타민 잔기와 1차 아민 사이의 결합의 형성을 촉매할 수 있으며; 세균 효소 소르타제 A는 인식 모티프를 통 해 펩티드 전이(transpeptidation) 반응을 촉매할 수 있다. 비-천연 아미노산이 또한 항체 서열 내로 도입될 수 있으며, 이어서 이러한 항체 서열이 반응되어 부위-특이적 접합체를 생성할 수 있다. 천연 발생 잔기, 예를 들어 아미노산 셀레노시스테인이 항체 내로 도입될 수 있고, 후속하여, 부위-특이적 접합을 위하여 말레이미드 및 요오도아세트아미드를 포함하지만 이로 한정되지 않는 적절한 반응성 기와 반응될 수 있다. 다른 방법은 항 체 작제물의 중쇄 또는 경쇄 내로 부가되는 조작된 시스테인 잔기의 도입이다. 중쇄 및/또는 경쇄를 인코딩하 는 벡터는 시스테인 잔기에 대한 코돈 서열을 포함하도록 변형된다 (도 138a 및 도 138b에서의 벡터 서열 및 도 138c 및 도 138d에서의 벡터 맵). 접합은, 먼저 항체를 환원시키고, 이어서 재산화하여 항체의 천연 이황화물

결합을 재생하여, 반응성 티올(들)의 언캡핑(uncapping)을 가져오으로써 수행된다. 일단 에्यू번트-링커와 반응되면, 생성된 생성물은 항체 내로 조작된 시스테인 잔기의 수에 의해 규정되는 DAR을 갖는 면역접합체 (구조는 도 138e에 나타나 있음)의 균질한 집단을 함유한다. 예를 들어, 경쇄 내 위치 205에서 발린에서 시스테인으로의 돌연변이 (V205C 돌연변이)의 도입은 에्यू번트가 규정된 부위에 접합된 생성물 (V205C; 도 138f 및 도 138g)을 가져온다.

[0432] 일부 실시 형태에서, 조성물은 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제를 추가로 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 면역접합체는 정맥내 (IV) 투여 또는 기관의 체강 또는 내강 내로의 투여와 같은 비경구 투여를 위해 제형화될 수 있다. 대안적으로, 면역접합체는 종양내 주사될 수 있다. 주사를 위한 제형은 일반적으로 약제학적으로 허용되는 담체 중에 용해된 면역접합체의 용액을 포함할 것이다. 사용될 수 있는 허용되는 비히클 및 용매 중에는 물 및 링거액, 등장성 식염수가 있다. 게다가, 멸균 고정유는 통상적으로 용매 또는 현탁 매체로서 사용될 수 있다. 이를 위하여, 임의의 무자극성(bland) 고정유가 사용될 수 있으며, 이에에는 합성 모노글리세라이드 또는 다이글리세라이드가 포함된다. 게다가, 올레산과 같은 지방산이 마찬가지로 주사제의 조제에 사용될 수 있다. 이들 용액은 멸균 상태이며 일반적으로 바람직하지 않은 물질이 없다. 이들 제형은 통상적인 잘 알려진 멸균 기법에 의해 멸균될 수 있다. 이러한 제형은 생리학적 조건에 근접시키기 위해 필요에 따라 pH 조정제 및 완충제, 긴장성 조정제, 예를 들어 소듐 아세테이트, 염화나트륨, 염화칼륨, 염화칼슘, 소듐 락테이트 등과 같은 약제학적으로 허용되는 보조 물질을 함유할 수 있다. 이들 제형 내의 면역접합체의 농도는 광범위하게 변동될 수 있으며, 선택된 특정 투여 방식 및 환자의 요구에 따라 유체 부피, 점도, 체중 등에 기초하여 주로 선택될 것이다. 소정 실시 형태에서, 주사를 위한 용액 제형 중의 면역접합체의 농도는 약 0.1% (w/w) 내지 약 10% (w/w)의 범위일 것이다.

[0433] 다른 태양에서, 본 발명은 암을 치료하기 위한 방법을 제공한다. 상기 방법은 (예를 들어, 전술된 바와 같은 조성물로서의) 면역접합체의 치료적 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 상기 방법은 대상체에게 약 100 ng/kg 내지 약 50 mg/kg의 용량을 제공하도록 면역접합체를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 면역접합체 용량은 약 5 mg/kg 내지 약 50 mg/kg, 약 10 µg/kg 내지 약 5 mg/kg, 또는 약 100 µg/kg 내지 약 1 mg/kg의 범위일 수 있다. 면역접합체 용량은 약 100, 200, 300, 400, 또는 500 µg/kg 일 수 있다. 면역접합체 용량은 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 mg/kg일 수 있다. 면역접합체 용량은 또한 특정 접합체뿐만 아니라 치료되는 암의 유형 및 중증도에 따라 이들 범위 밖에 있을 수 있다. 투여 빈도는 주당 1회 용량부터 다회 용량까지, 또는 더 빈번할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 면역접합체는 개월당 약 1회 내지 주당 약 5회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 면역접합체는 주당 1 회 투여된다.

[0434] 본 발명의 일부 실시 형태는 전술된 바와 같은 암을 치료하기 위한 방법을 제공하며, 여기서 암은 두경부암이다. 두경부암 (뿐만 아니라 두경부 편평 세포 암종)은 구강, 인두 및 후두, 타액선, 부비동, 및 비강뿐만 아니라, 목의 상부의 림프절의 편평 세포 암종을 특징으로 하는 다양한 암을 지칭한다. 두경부암은 미국에서 모든 암의 대략 3 내지 5%를 차지한다. 이들 암은 남성에서 그리고 50세를 넘는 사람에서 더 일반적이다. 담배 (썩는 담배(smokeless tobacco) 포함) 및 알코올 사용은 두경부암, 특히 구강, 구인두, 하인두 및 후두의 경우에 가장 중요한 위험 인자이다. 두경부암의 85%는 담배 사용과 연관되어 있다. 본 발명의 방법에서, 면역접합체는 다수의 악성 세포를 표적화하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 면역접합체는 입술, 구강, 인두, 후두, 비강, 또는 부비동의 편평 상피 세포를 표적화하는 데 사용될 수 있다. 면역접합체는 점막표피양 암종 세포, 선양 낭성 암종 세포, 선암종 세포, 소세포 미분화 암 세포, 후각신경아세포종 세포, 호지킨 림프종 세포, 및 비호지킨 림프종 세포를 표적화하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 두경부암을 치료하기 위한 방법은 EGFR과 결합할 수 있고/있거나 (예를 들어, 세톡시맵, 파니투무맵, 마투주맵, 및 잘루투무맵), PD-1과 결합할 수 있고/있거나 (예를 들어, 펌브롤리주맵), MUC1과 결합할 수 있는 항체를 함유하는 면역접합체를 투여하는 단계를 포함한다.

[0435] 본 발명의 일부 실시 형태는 전술된 바와 같은 암을 치료하기 위한 방법을 제공하며, 여기서 암은 유방암이다. 유방암은 유방의 상이한 영역으로부터 기원할 수 있으며, 다수의 상이한 유형의 유방암이 특징규명되어 있다. 예를 들어, 본 발명의 면역접합체는 유관 상피내 암종(ductal carcinoma *in situ*); 침습성 유관 암종 (예를 들어, 유방의 관상 암종; 수질성 암종; 점액성 암종; 유두 암종; 또는 사상형(cribriform) 암종); 상피내 소엽성 암종(lobular carcinoma *in situ*); 침습성 소엽성 암종; 염증성 유방암; 및 다른 형태의 유방암을 치료하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 유방암을 치료하기 위한 방법은 HER2와 결합할 수 있고/있거나 (예를 들어, 트라스투주맵, 마게톡시맵), 당단백질 NMB와 결합할 수 있고/있거나 (예를 들어, 글렘바투무맵), MUC1과 결합할 수 있는 항체를 함유하는 면역접합체를 투여하는 단계를 포함한다.

[0436] **본 발명의 비제한적인 태양의 예**

[0437] 본 명세서에 기재된 본 발명의 요지의 태양 (실시 형태를 포함함)은 단독으로 또는 하나 이상의 다른 태양 또는 실시 형태와 조합하여 유익할 수 있다. 전술한 설명을 제한함이 없이, 1부터 98까지 번호가 매겨진 본 발명의 소정의 비제한적인 태양이 하기에 제공된다. 본 명세서를 읽을 때 당업자에게 명백할 바와 같이, 개별적으로 번호가 매겨진 태양들 각각은 선행하는 또는 후술되는 개별적으로 번호가 매겨진 태양들 중 임의의 것과 함께 사용되거나 그와 조합될 수 있다. 이는 태양들의 모든 그러한 조합에 대한 지지를 제공하도록 의도되며, 하기에 명백하게 제공되는 태양들의 조합으로 제한되지 않는다:

- [0438] 1. 면역접합체로서,
- [0439] (a) (i) 항원 결합 도메인 및 (ii) Fc 도메인을 포함하는 항체 작제물,
- [0440] (b) 애주번트 모이어티, 및
- [0441] (c) 링커를 포함하며,
- [0442] 각각의 애주번트 모이어티는 상기 링커를 통해 상기 항체 작제물에 공유 결합되는, 면역접합체.
- [0443] 2. 태양 1에 있어서, 상기 항체 작제물은 표적화 결합 도메인을 추가로 포함하는, 면역접합체.
- [0444] 3. 태양 1에 있어서, 상기 항체 작제물은 항체인, 면역접합체.
- [0445] 4. 태양 1 내지 태양 3 중 어느 하나에 있어서, 상기 항원 결합 도메인은 암 세포의 항원에 결합하는, 면역접합체.
- [0446] 5. 태양 1 내지 태양 4 중 어느 하나에 있어서, 상기 항원 결합 도메인은 CDH1, CD19, CD20, CD29, CD30, CD38, CD40, CD47, EpCAM, MUC1, MUC16, EGFR, VEGF, HER2, SLAMF7, PDGFRa 및 gp75로 이루어진 군으로부터 선택되는 항원에 결합하는, 면역접합체.
- [0447] 6. 태양 1 내지 태양 5 중 어느 하나에 있어서, 상기 항원 결합 도메인은 CD19, CD20, CD40, CD47, EpCAM, MUC1, MUC16, PDGFRa, EGFR, 및 HER2로 이루어진 군으로부터 선택되는 항원에 결합하는, 면역접합체.
- [0448] 7. 태양 1 내지 태양 6 중 어느 하나에 있어서, 상기 항원 결합 도메인은 Tn 항원 및 톱젠-프리덴라이히 항원으로 이루어진 군으로부터 선택되는 항원에 결합하는, 면역접합체.
- [0449] 8. 태양 3 내지 태양 7 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 다중클론 항체인, 면역접합체.
- [0450] 9. 태양 3 내지 태양 7 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 단일클론 항체인, 면역접합체.
- [0451] 10. 태양 8 또는 태양 9에 있어서, 상기 항체는 인간화 항체인, 면역접합체.
- [0452] 11. 태양 8 또는 태양 9에 있어서, 상기 항체는 무린인, 면역접합체.
- [0453] 12. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 올라라투맙, 오비누투주맙, 트라스투주맙, 세특시맙, 리특시맙, 퍼투주맙, 베바시주맙, 다라투무맙, 에타너셉트, 및 엘로투주맙으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 면역접합체.
- [0454] 13. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 올라라투맙인, 면역접합체.
- [0455] 14. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 오비누투주맙인, 면역접합체.
- [0456] 15. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 트라스투주맙인, 면역접합체.
- [0457] 16. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 세특시맙인, 면역접합체.
- [0458] 17. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 리특시맙인, 면역접합체.
- [0459] 18. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 퍼투주맙인, 면역접합체.
- [0460] 19. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 베바시주맙인, 면역접합체.
- [0461] 20. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 다라투무맙인, 면역접합체.
- [0462] 21. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 엘로투주맙인, 면역접합체.

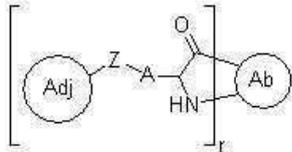
- [0463] 22. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 에타너셉트인, 면역접합체.
- [0464] 23. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 면역 관문 억제제의 항원에 결합하는, 면역접합체.
- [0465] 24. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 CTLA4, PD-1, PD-L1, PD-L2, LAG-3, B7-H4, KIR, TNFRSF4, OX40L, IDO-1, IDO-2, CEACAM1, BTLA, TIM3, A2Ar, 및 VISTA로 이루어진 군으로부터 선택되는 항원에 결합하는, 면역접합체.
- [0466] 25. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 CTLA4, PD-1, 및 PD-L1로 이루어진 군으로부터 선택되는 항원에 결합하는, 면역접합체.
- [0467] 26. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 PD-1 항원과 결합하는, 면역접합체.
- [0468] 27. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 PD-L1 항원과 결합하는, 면역접합체.
- [0469] 28. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 CTLA4 항원과 결합하는, 면역접합체.
- [0470] 29. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 펙트린, 니블루맵, 아테졸리주맵, 및 이필리무맵으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 면역접합체.
- [0471] 30. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 펙트린인, 면역접합체.
- [0472] 31. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 니블루맵인, 면역접합체.
- [0473] 32. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 아테졸리주맵인, 면역접합체.
- [0474] 33. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 이필리무맵인, 면역접합체.
- [0475] 34. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 CLEC4C (BDCA-2, DLEC, CD303, CLECSF7), CLEC4D (MCL, CLECSF8), CLEC4E (민클, CLEC6A (텍틴-2), CLEC5A (MDL-1, CLECSF5), CLEC1B (CLEC-2), CLEC9A (DNDR-1), 및 CLEC7A (텍틴-1)로 이루어진 군으로부터 선택되는 항원에 결합하는, 면역접합체.
- [0476] 35. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 CLEC5A에 결합하는, 면역접합체.
- [0477] 36. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 CLEC6A (텍틴-2)에 결합하는, 면역접합체.
- [0478] 37. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 IgA1인, 면역접합체.
- [0479] 38. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 IgA2 항체인, 면역접합체.
- [0480] 39. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 IgG 항체인, 면역접합체.
- [0481] 40. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 IgG1 항체인, 면역접합체.
- [0482] 41. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 IgG2 항체인, 면역접합체.
- [0483] 42. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 IgG3 항체인, 면역접합체.
- [0484] 43. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 IgG4 항체인, 면역접합체.
- [0485] 44. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 펙트린, 니블루맵, 아테졸리주맵, 이필리무맵, 오비누투주맵, 트라스투주맵, 세톡시맵, 리톡시맵, 퍼투주맵, 베바시주맵, 다라투주맵, 에타너셉트, 올라라투주맵, 및 엘로투주맵으로 이루어진 군으로부터 선택되는 항체의 바이오시밀러인, 면역접합체.
- [0486] 45. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 세톡시맵의 바이오시밀러인, 면역접합체.
- [0487] 46. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 리톡시맵의 바이오시밀러인, 면역접합체.
- [0488] 47. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 트라스투주맵의 바이오시밀러인, 면역접합체.
- [0489] 48. 태양 3 내지 태양 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 변형된 Fc 영역을 포함하는, 면역접합체.
- [0490] 49. 태양 48에 있어서, 상기 변형된 Fc 영역은 적어도 하나의 아미노산 삽입, 결실, 또는 치환을 함유하는, 면역접합체.

[0491] 50. 태양 48에 있어서, 상기 변형된 Fc 영역은, 상기 변형된 Fc 영역이 결합되어 있는 친연 항체와 대비하여, Fc γ RI (CD64), Fc γ R1IA (CD32), Fc γ R1IB (CD32), Fc γ R1IIA (CD16a), 및 Fc γ R1IIB (CD16b)로 이루어진 군으로부터 선택되는 Fc 수용체의 조절된 결합을 가져오는, 면역접합체.

[0492] 51. 태양 48에 있어서, 상기 변형된 Fc 영역은 Fc 수용체 Fc γ R1IIA (CD16a)에 대한 상기 Fc 영역의 결합을 증가시키는, 면역접합체.

[0493] 52. 태양 48에 있어서, 상기 변형된 Fc 영역은 Fc 수용체 Fc γ R1IIB (CD16b)에 대한 상기 Fc 영역의 결합을 증가시키는, 면역접합체.

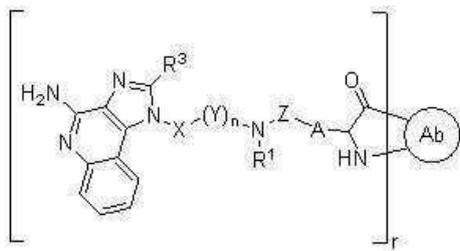
[0494] 53. 태양 1 내지 태양 52 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역접합체는 화학식 I에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 면역접합체:



(I)

[0495] (상기 식에서, Ab는 항체이고; A는 상기 항체 내의 비변형된 아미노산 측쇄 또는 상기 항체 내의 변형된 아미노산 측쇄이고; Z는 연결 모이어티이고; Adj는 애뉴먼트 모이어티이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수임).

[0497] 54. 태양 53에 있어서, 상기 면역접합체는 화학식 Ia에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 면역접합체:



(Ia)

[0499] (상기 식에서,

[0500] Ab는 항체이고;

[0501] A는 상기 항체 내의 비변형된 아미노산 측쇄 또는 상기 항체 내의 변형된 아미노산 측쇄이고;

[0502] Z는 연결 모이어티이고;

[0503] R¹은 H 및 C₁₋₄ 알킬로부터 선택되거나; 또는

[0504] Z, R¹, 및 그들이 부착되어 있는 질소 원자는 5원 내지 8원 헤테로사이클을 포함하는 연결 모이어티를 형성하고;

[0505] 각각의 Y는 독립적으로 CHR²이며, 여기서 R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택되고;

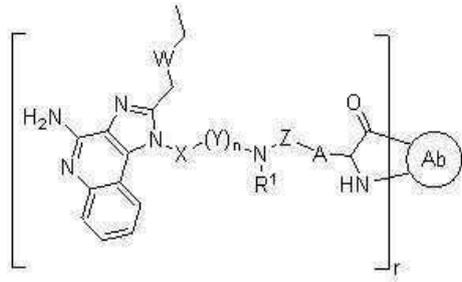
[0506] R³은 C₁₋₆ 알킬 및 2원 내지 6원 헤테로알킬로부터 선택되며, 이들 각각은 할로, 하이드록시, 아미노, 옥소 (=O), 알킬아미노, 아미도, 아실, 니트로, 시아노, 및 알콕시로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 구성원으로 선택적으로 치환되고;

[0507] X는 O 및 CH₂로부터 선택되고;

[0508] 하첨자 n은 1 내지 12의 정수이고;

[0509] 하첨자 r은 1 내지 10의 정수임).

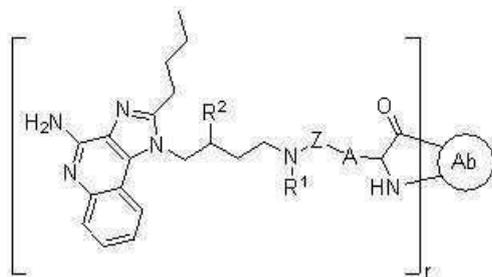
[0510] 55. 태양 54에 있어서, 상기 면역접합체는 화학식 Ib에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 면역접합체:



(Ib)

- [0511] (상기 식에서,
- [0512] Ab는 항체이고;
- [0513] A는 상기 항체 내의 비변형된 아미노산 측쇄 또는 상기 항체 내의 변형된 아미노산 측쇄이고;
- [0514] Z는 연결 모이어티이고;
- [0515] R¹은 H 및 C₁₋₄ 알킬로부터 선택되거나; 또는
- [0516] Z, R¹, 및 그들이 부착되어 있는 질소 원자는 5원 내지 8원 헤테로사이클을 포함하는 연결 모이어티를 형성하고;
- [0517] 각각의 Y는 독립적으로 CHR²이며, 여기서 R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택되고;
- [0518] X는 0 및 CH₂로부터 선택되고;
- [0519] 하첨자 n은 1 내지 12의 정수이고;
- [0520] W는 0 및 CH₂로 이루어진 군으로부터 선택됨).

[0522] 56. 태양 55에 있어서, 상기 면역접합체는 화학식 Ic에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 면역접합체:



(Ic)

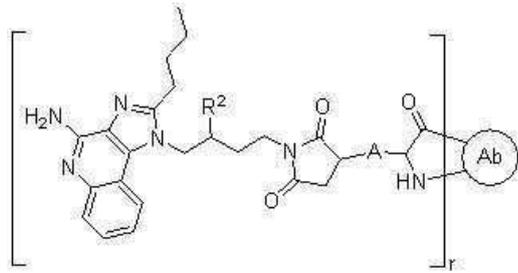
- [0523] (상기 식에서,
- [0524] Ab는 항체이고;
- [0525] 하첨자 r은 1 내지 10의 정수이고;
- [0526] A는 상기 항체 내의 비변형된 아미노산 측쇄 또는 상기 항체 내의 변형된 아미노산 측쇄이고;
- [0527] Z는 연결 모이어티이고;

[0529] R¹은 H 및 C₁₋₄ 알킬로부터 선택되거나; 또는

[0530] Z, R¹, 및 그들이 부착되어 있는 질소 원자는 5원 내지 8원 헤테로사이클을 포함하는 연결 모이어티를 형성하고;

[0531] R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택됨).

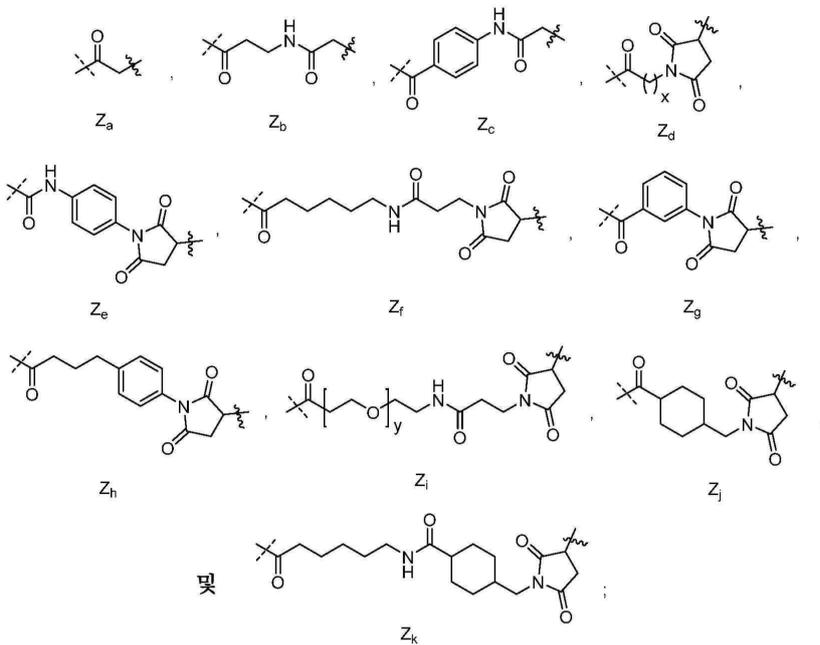
[0532] 57. 태양 56에 있어서, 상기 면역접합체는 화학식 Id에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 면역접합체:



(Id)

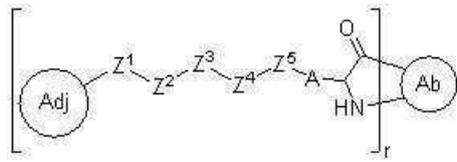
[0533] (상기 식에서, Ab는 항체이고; A는 상기 항체 내의 비변형된 아미노산 측쇄 또는 상기 항체 내의 변형된 아미노산 측쇄이고; R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택되고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수임).

[0535] 58. 태양 53 내지 태양 56 중 어느 하나에 있어서, Z는 하기로부터 선택되는, 면역접합체:

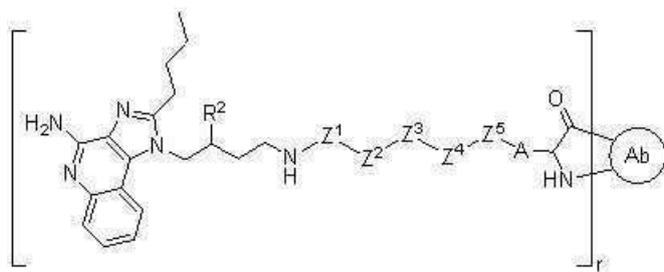


[0536] (상기 식에서, 하첨자 x는 1 내지 12의 정수이고; 하첨자 y는 1 내지 30의 정수이고; 파선 (" ")은 애쥬번트 모이어티에 대한 부착점을 나타내고; 물결선 (" ")은 상기 항체 내의 아미노산 측쇄에 대한 부착점을 나타냄).

[0538] 59. 태양 1 내지 태양 52 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역접합체는 화학식 II에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 면역접합체:



- [0539]
- [0540] (상기 식에서, Ab는 항체이고; A는 상기 항체 내의 비변형된 아미노산 측쇄 또는 상기 항체 내의 변형된 아미노산 측쇄이고; Adj는 애쥬번트 모이어티이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수이고;
- [0541] Z^1 은 $-C(O)-$, $-C(O)NH-$, $-CH_2-$ 로부터 선택되고;
- [0542] Z^2 및 Z^4 는 독립적으로 결합, C_{1-30} 알킬렌, 및 3원 내지 30원 헤테로알킬렌으로부터 선택되며, 여기서
- [0543] 상기 C_{1-30} 알킬렌 및 3원 내지 30원 헤테로알킬렌 내의 인접한 원자들의 하나 이상의 집단은 선택적으로 그리고 독립적으로 $-C(O)-$, $-NR^aC(O)-$, 또는 $-C(O)NR^a-$ 로 대체되고,
- [0544] 상기 C_{1-30} 알킬렌 및 3원 내지 30원 헤테로알킬렌 내의 인접한 원자들의 하나 이상의 집단은 선택적으로 그리고 독립적으로 4원 내지 8원 2가 카르보사이클로 대체되고,
- [0545] 상기 C_{1-30} 알킬렌 및 3원 내지 30원 헤테로알킬렌 내의 인접한 원자들의 하나 이상의 집단은 선택적으로 그리고 독립적으로, O, S, 및 N으로부터 선택되는 1 내지 4개의 헤테로원자를 갖는 4원 내지 8원 2가 헤테로사이클로 대체되고;
- [0546] 각각의 R^a 는 독립적으로 H 및 C_{1-6} 알킬로부터 선택되고;
- [0547] Z^3 은 결합, 2가 펩티드 모이어티, 및 2가 중합체 모이어티로부터 선택되고;
- [0548] Z^5 는 상기 항체 내의 아미노산 측쇄의 측쇄에 결합됨).
- [0549] 60. 태양 59에 있어서, 상기 면역접합체는 화학식 IIa에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적 용도로 허용되는 염인, 면역접합체:



- [0550]
- [0551] (상기 식에서,
- [0552] Z^1 은 $-C(O)-$, $-C(O)NH-$, $-CH_2-$ 로부터 선택되고;
- [0553] Z^2 및 Z^4 는 독립적으로 결합, C_{1-30} 알킬렌, 및 3원 내지 30원 헤테로알킬렌으로부터 선택되며, 여기서
- [0554] 상기 C_{1-30} 알킬 및 3원 내지 30원 헤테로알킬렌 내의 인접한 원자들의 하나 이상의 집단은 선택적으로 그리고 독립적으로 $-C(O)-$, $-NR^aC(O)-$, 또는 $-C(O)NR^a-$ 로 대체되고;
- [0555] 상기 C_{1-30} 알킬렌 및 3원 내지 30원 헤테로알킬렌 내의 인접한 원자들의 하나 이상의 집단은 선택적으로 그리고 독립적으로 4원 내지 8원 2가 카르보사이클로 대체되고,

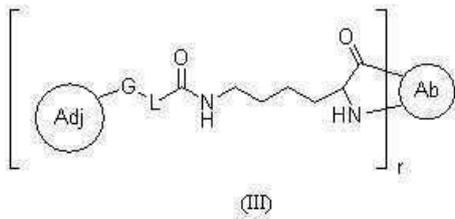
[0556] 상기 C₁₋₃₀ 알킬렌 및 3원 내지 30원 헤테로알킬렌 내의 인접한 원자들의 하나 이상의 집단은 선택적으로 그리고 독립적으로, O, S, 및 N으로부터 선택되는 1 내지 4개의 헤테로원자를 갖는 4원 내지 8원 2가 헤테로사이클로 대체되고;

[0557] 각각의 R^a는 독립적으로 H 및 C₁₋₆ 알킬로부터 선택되고;

[0558] Z³은 결합, 2가 펩티드 모이어티, 및 2가 중합체 모이어티로부터 선택되고;

[0559] Z⁵는 아민-결합된 모이어티 및 티올-결합된 모이어티로부터 선택됨).

[0560] 61. 태양 1 내지 태양 52 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역접합체는 화학식 III에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 면역접합체:



[0561] (상기 식에서, Ab는 적어도 하나의 라이신 측쇄를 갖는 항체이고, Adj는 애쥬번트이고, G는 CH₂, C=O, 또는 결합이고, L은 링커이고, 하첨자 r은 1 내지 10의 정수임).

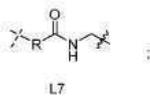
[0563] 62. 태양 61에 있어서, L은 하기로부터 선택되는, 면역접합체:



[0564]

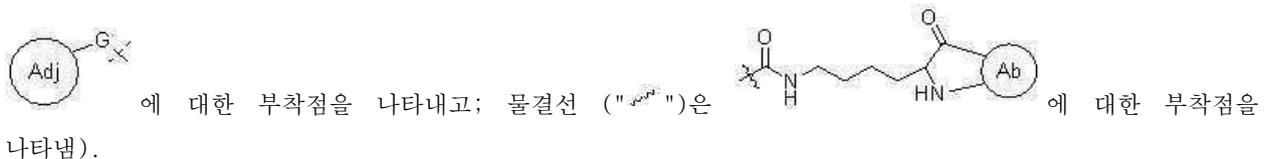


[0565] 및



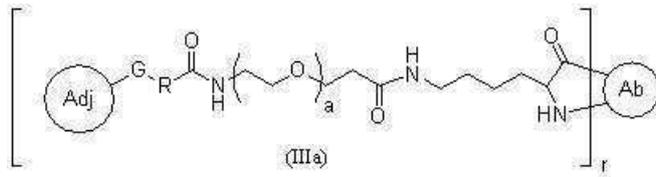
[0566]

[0567] (상기 식에서, R은 선택적으로 존재하고, 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이고; a는 1 내지 40의 정수이고; 각각의 A는 독립적으로 임의의 아미노산으로부터 선택되고; 하첨자 c는 1 내지 20의 정수이고; 파선 (" ")은

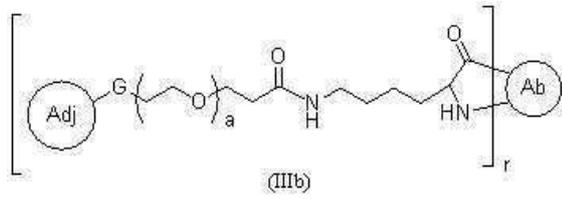


[0568] 63. 태양 61에 있어서, 상기 면역접합체는 화학식 IIIa 내지 화학식 IIIg에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 면역접합체:

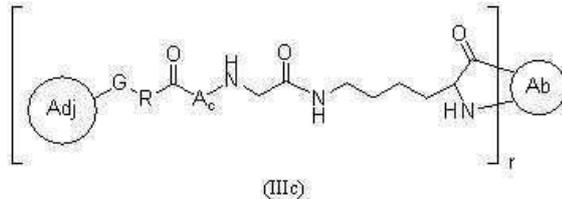
[0569]



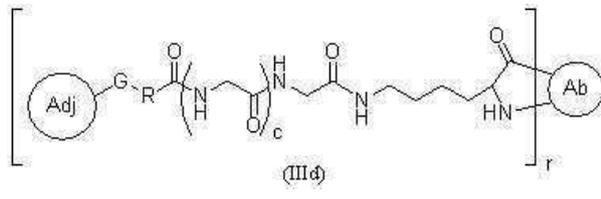
[0570]



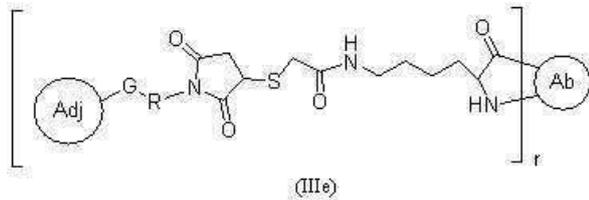
[0571]



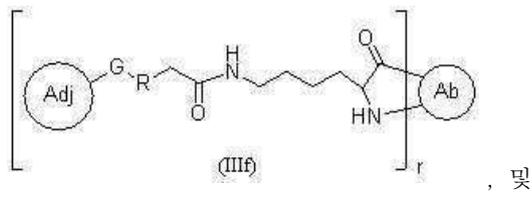
[0572]



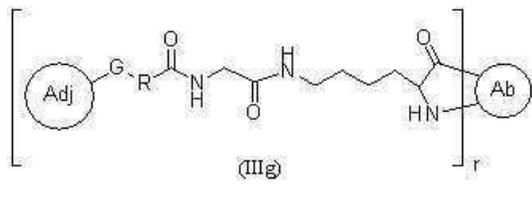
[0573]



[0574]



[0575]

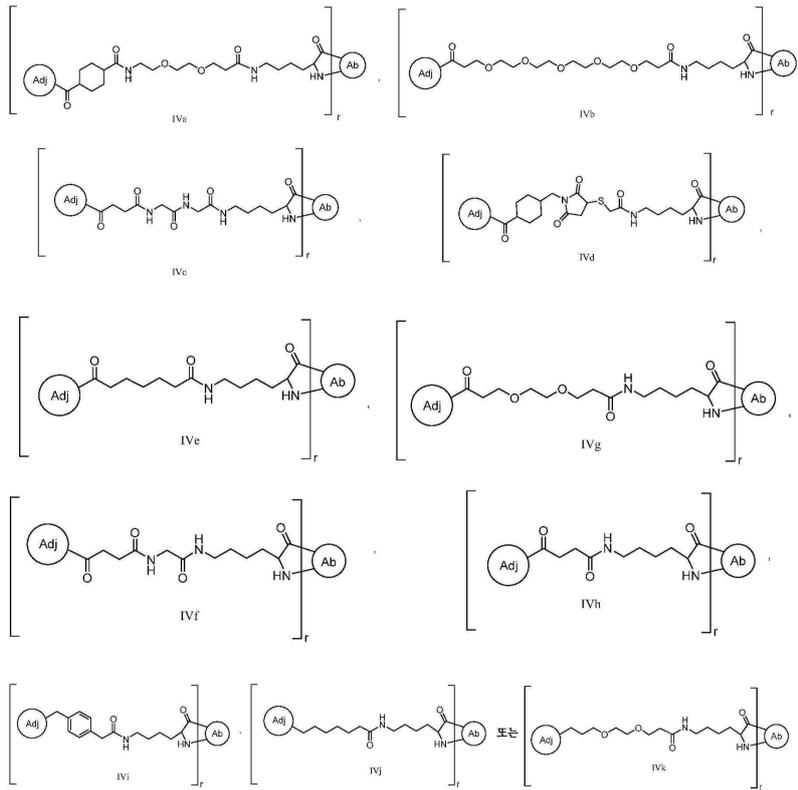


[0576]

(상기 식에서, Ab는 적어도 하나의 라이신 측쇄를 갖는 항체이고; Adj는 에피토프이고; G는 CH₂, C=O, 또는 결합이고; R은 선택적으로 존재하고, 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는 선형 또는 분지형, 환형 또는 직쇄, 포화 또는 불포화 알킬, 헤테로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 사슬이고; 하첨자 a는 1 내지 40의 정수이고; 각각의 A는 독립적으로 임의의 아미노산으로부터 선택되고; 하첨자 c는 1 내지 20의 정수이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수임).

[0577]

64. 태양 61 내지 태양 63 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역접합체는 화학식 IVa 내지 화학식 IVk에 따른 구조를 갖는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 면역접합체:



[0578]

[0579]

(상기 식에서, Ab는 적어도 하나의 라이신 측쇄를 갖는 항체이고; Adj는 애쥬번트이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수임).

[0580]

65. 태양 1 내지 태양 53, 태양 59, 및 태양 61 내지 태양 64 중 어느 하나에 있어서, 상기 애쥬번트 모이어티는 패턴 인식 수용체(PRR) 효능제인, 면역접합체.

[0581]

66. 태양 65에 있어서, 상기 애쥬번트 모이어티는 툴-유사 수용체 (TLR) 효능제인, 면역접합체.

[0582]

67. 태양 65에 있어서, 상기 애쥬번트 모이어티는 TLR2 효능제, TLR3 효능제, TLR4 효능제, TLR7 효능제, TLR8 효능제, TLR7/TLR8 효능제, 및 TLR9 효능제로 이루어진 군으로부터 선택되는 툴-유사 수용체 (TLR) 효능제인, 면역접합체.

[0583]

68. 태양 65에 있어서, 상기 애쥬번트 모이어티는 TLR7 효능제, TLR8 효능제, 또는 TLR7/TLR8 효능제인, 면역접합체.

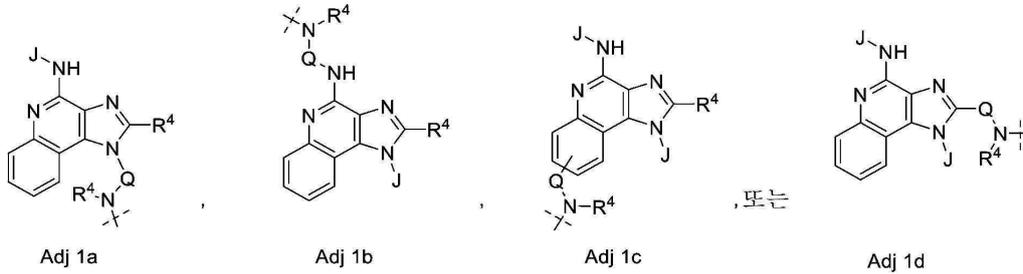
[0584]

69. 태양 65에 있어서, 상기 애쥬번트 모이어티는 가르디퀴모드 (1-(4-아미노-2-에틸아미노메틸이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일)-2-메틸프로판-2-올), 이미퀴모드 (R837), 록소리빈, IRM1 (1-(2-아미노-2-메틸프로필)-2-(에톡시메틸)-1H-이미다조-[4,5-c]퀴놀린-4-아민), IRM2 (2-메틸-1-[2-(3-피리딘-3-일프로폭시)에틸]-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-아민), IRM3 (N-(2-[2-[4-아미노-2-(2-메톡시에틸)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일]에톡시]에틸)-N-메틸사이클로헥산카르복스아미드), CL097 (2-(에톡시메틸)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-아민), CL307, CL264, 레시퀴모드, 3M-052/MEDI9197, SD-101 (N-[(4S)-2,5-다이옥소-4-이미다졸리디닐]-우레아), 모토리모드 (2-아미노-N,N-다이프로필-8-[4-(피롤리딘-1-카르보닐)페닐]-3H-1-벤즈아제핀-4-카르복스아미드), CL075 (2-프로필티아졸로[4,5-c]퀴놀린-4-아민), 및 TL8-506 (3H-1-벤즈아제핀-4-카르복실산, 2-아미노-8-(3-시아노페닐)-, 에틸 에스테르), N- α -팔미토일-S-[2,3-비스(팔미토일옥시)-(2RS)-프로필]-L-시스테인, 팔미토일-Cys((RS)-2,3-다이(팔미토일옥시)-프로필) (Pam3Cys), 트리아실 지질 A (OM-174), 리포테이코산 (LTA), 펩티도글리칸, CL419 (S-(2,3-비스(팔미토일옥시)-(2RS)프로필)-(R)-시스테인일 스페르민), Pam₂CSK₄ (S-[2,3-비스(팔미토일옥시)-(2RS)-프로필]-[R]-시스테인일-[S]-세릴-[S]-라이실-[S]-라이실-[S]-라이실-[S]-라이신 x 3 CF3COOH), CL572 (S-(2-미리스토일옥시 에틸)-(R)-시스테인일 4-((6-아미노-2-(부틸아미노)-8-하이드록시-9H-푸린-9-일)메틸) 아닐린), CL413 (S-(2,3-비스(팔미토일옥시)-(2RS)프로필)-(R)-시스테인일-(S)-세릴-(S)-라이실-(S)-라이실-(S)-라이실-(S)-라이실 4-((6-아미노-2-(부틸아미노)-8-하이드록시-9H-푸린-9-일)메틸) 아닐린), 및 CL401 (S-(2,3-비스(팔미토일옥시)-(2RS)프로필)-(R)-시스테인일 4-((6-아미노-2(부틸 아미노)-8-

하이드록시-9H-푸린-9-일)메틸) 아닐린)으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 면역접합체.

[0585] 70. 태양 65에 있어서, 상기 애주번트는 이미다조퀴놀린 화합물인, 면역접합체.

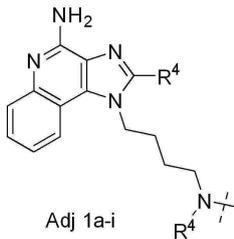
[0586] 71. 태양 1 내지 태양 53, 태양 59, 및 태양 61 내지 태양 64 중 어느 한 항에 있어서, 상기 애주번트 모이어티는 하기 화학식을 갖는, 면역접합체:



[0587]

[0588] (상기 식에서, 각각의 J는 독립적으로 수소, OR⁴, 또는 R⁴이고; 각각의 R⁴는 독립적으로 수소, 또는 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴알킬 기이고; Q는 선택적으로 존재하고, 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴알킬 기이고; 파선 ("---")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄).

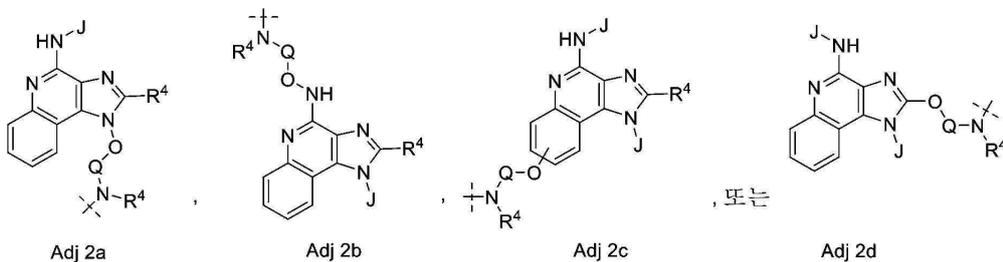
[0589] 72. 태양 71에 있어서, 상기 애주번트 모이어티는 하기 화학식을 갖는, 면역접합체:



[0590]

[0591] (상기 식에서, 각각의 R⁴는 독립적으로 수소, 또는 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 및 헤테로아릴알킬 기로 이루어진 군으로부터 선택되고, 파선 ("---")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄).

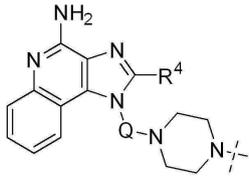
[0592] 73. 태양 1 내지 태양 53, 태양 59, 및 태양 61 내지 태양 64 중 어느 한 항에 있어서, 상기 애주번트 모이어티는 하기 화학식을 갖는, 면역접합체:



[0593]

[0594] (상기 식에서, J는 수소, OR⁴, 또는 R⁴이고; 각각의 R⁴는 독립적으로 수소, 또는 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 및 헤테로아릴알킬 기이고; Q는 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 또는 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 및 헤테로아릴알킬 기로 이루어진 군으로부터 선택되고; 파선 ("---")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄).

[0604] 77. 태양 74에 있어서, 상기 애주번트 모이어티는 하기 화학식을 갖는, 면역접합체:

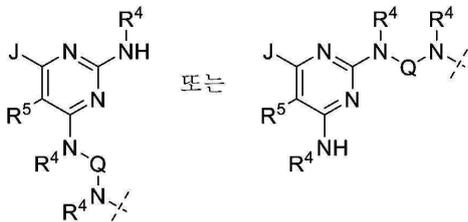


Adj 4a-i

[0605]

[0606] (상기 식에서, R⁴는 수소, 또는 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로 사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 및 헤테로아릴알킬 기로 이루어진 군으로부터 선택되고; Q는 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴알킬 기이고; 파선 ("—")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄).

[0607] 78. 태양 1 내지 태양 53, 태양 59, 및 태양 61 내지 태양 63 중 어느 한 항에 있어서, 상기 애주번트 모이어티는 하기 화학식을 갖는, 면역접합체:



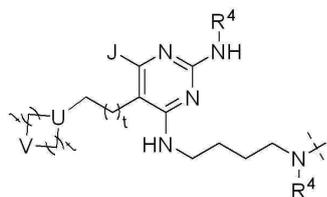
Adj 5a

Adj 5b

[0608]

[0609] (상기 식에서, J는 수소, OR⁴, 또는 R⁴이고; 각각의 R⁴는 독립적으로 수소, 또는 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴알킬 기이고; R⁵는 수소, 또는 1 내지 10개의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴알킬 기이고; Q는 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴알킬 기이고; 파선 ("—")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄).

[0610] 79. 태양 76에 있어서, 상기 애주번트 모이어티는 하기 화학식을 갖는, 면역접합체:

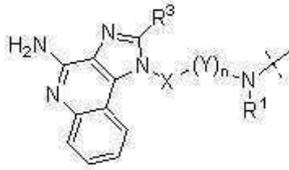


Adj 5a-i

[0611]

[0612] (상기 식에서, J는 수소, OR⁴, 또는 R⁴이고; 각각의 R⁴는 독립적으로 수소, 또는 1 내지 8개의 탄소 단위를 포함하는, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아릴알킬, 및 헤테로아릴알킬 기로 이루어진 군으로부터 선택되고; U는 CH 또는 N이고; V는 H₂, O, 또는 NH이고; 각각의 하첨자 t는 독립적으로 1 내지 3의 정수이고; 파선 ("—")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄).

[0613] 80. 태양 1 내지 태양 53, 태양 59, 및 태양 61 내지 태양 64 중 어느 한 항에 있어서, 상기 애주번트 모이어티는 하기 화학식을 갖는, 면역접합체:



Adj 6a

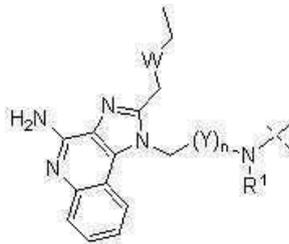
[0614]

[0615]

(상기 식에서, R¹은 H 및 C₁₋₄ 알킬로부터 선택되고; R³은 C₁₋₆ 알킬 및 2원 내지 6원 헤테로알킬로부터 선택되며, 이들 각각은 할로, 하이드록시, 아미노, 옥소 (=O), 알킬아미노, 아미도, 아실, 니트로, 시아노, 및 알콕시로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 구성원으로 선택적으로 치환되고; X는 O 및 CH₂로부터 선택되고; 각각의 Y는 독립적으로 CHR²이며, 여기서 R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택되고; 하첨자 n은 1 내지 12의 정수이고; 파선 ("—")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄).

[0616]

81. 태양 1 내지 태양 53, 태양 59, 및 태양 61 내지 태양 64 중 어느 한 항에 있어서, 상기 애주번트 모이 어티는 하기 화학식을 갖는, 면역접합체:



Adj 6a-i

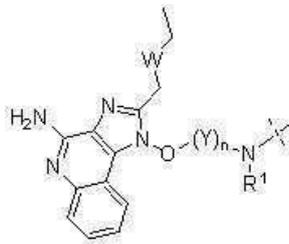
[0617]

[0618]

(상기 식에서, W는 O 및 CH₂로 이루어진 군으로부터 선택되고; R¹은 H 및 C₁₋₄ 알킬로부터 선택되고; 각각의 Y는 독립적으로 CHR²이며, 여기서 R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택되고; 하첨자 n은 1 내지 12의 정수이고; 파선 ("—")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄).

[0619]

82. 태양 1 내지 태양 53, 태양 59, 및 태양 61 내지 태양 64 중 어느 한 항에 있어서, 상기 애주번트 모이 어티는 하기 화학식을 갖는, 면역접합체:



Adj 6a-ii

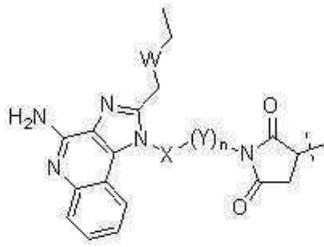
[0620]

[0621]

(상기 식에서, W는 O 및 CH₂로 이루어진 군으로부터 선택되고; R¹은 H 및 C₁₋₄ 알킬로부터 선택되고; 각각의 Y는 독립적으로 CHR²이며, 여기서 R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택되고; 하첨자 n은 1 내지 12의 정수이고; 파선 ("—")은 상기 애주번트의 부착점을 나타냄).

[0622]

83. 태양 1 내지 태양 53, 태양 59, 및 태양 61 내지 태양 64 중 어느 한 항에 있어서, 상기 애주번트 모이 어티는 하기 화학식을 갖는, 면역접합체:



Adj Ba-iii

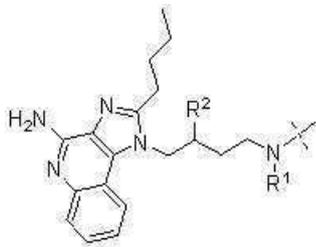
[0623]

[0624]

(상기 식에서, W는 O 및 CH₂로 이루어진 군으로부터 선택되고; X는 O 및 CH₂로부터 선택되고; 각각의 Y는 독립적으로 CHR²이며, 여기서 R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택되고; 하첨자 n은 1 내지 12의 정수이고; 파선 (" ")은 상기 애쥬번트의 부착점을 나타냄).

[0625]

84. 태양 1 내지 태양 53, 태양 59, 및 태양 61 내지 태양 64 중 어느 한 항에 있어서, 상기 애쥬번트 모이 어티는 하기 화학식을 갖는, 면역접합체:



Adj Ba-iv

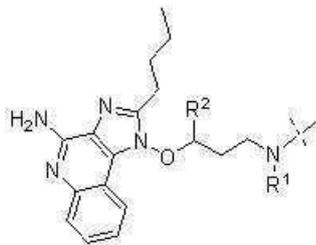
[0626]

[0627]

(상기 식에서, R¹은 H 및 C₁₋₄ 알킬로부터 선택되고; R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택되고; 파선 (" ")은 상기 애쥬번트의 부착점을 나타냄).

[0628]

85. 태양 1 내지 태양 53, 태양 59, 및 태양 61 내지 태양 64 중 어느 한 항에 있어서, 상기 애쥬번트 모이 어티는 하기 화학식을 갖는, 면역접합체:



Adj Ba-v

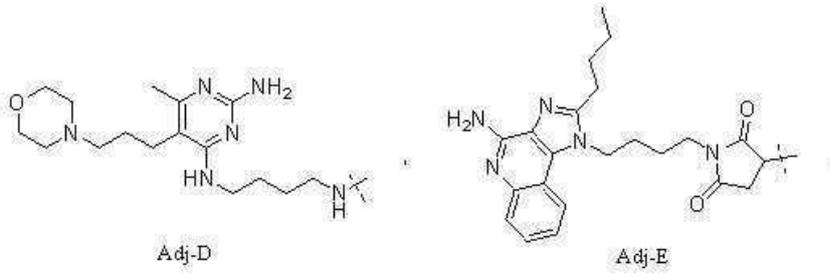
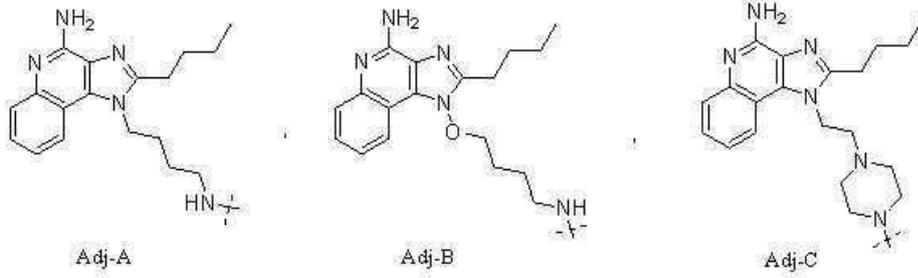
[0629]

[0630]

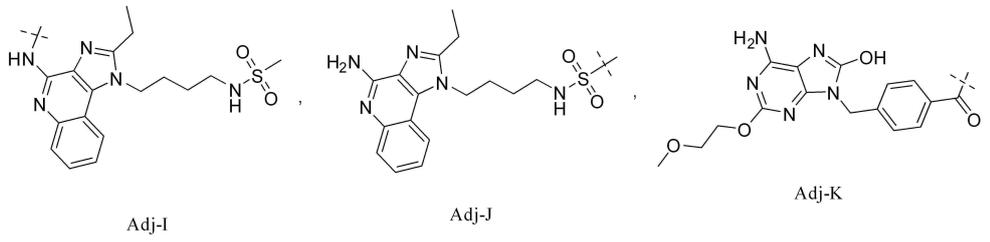
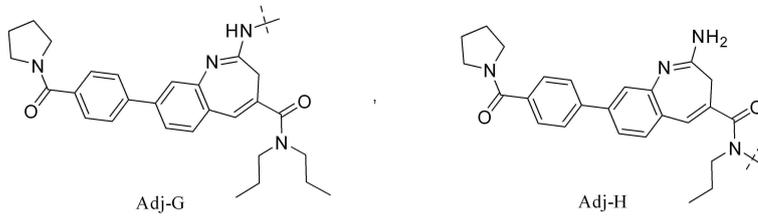
(상기 식에서, R¹은 H 및 C₁₋₄ 알킬로부터 선택되고; R²는 H, OH, 및 NH₂로부터 선택되고; 파선 (" ")은 상기 애쥬번트의 부착점을 나타냄).

[0631]

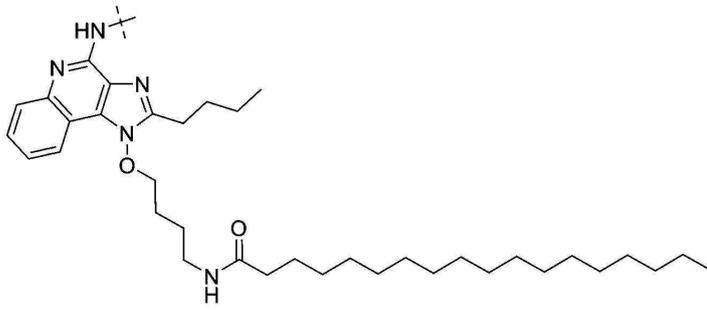
86. 태양 1 내지 태양 53, 태양 59, 및 태양 61 내지 태양 64 중 어느 한 항에 있어서, 상기 애쥬번트 모이 어티는 하기인, 면역접합체:



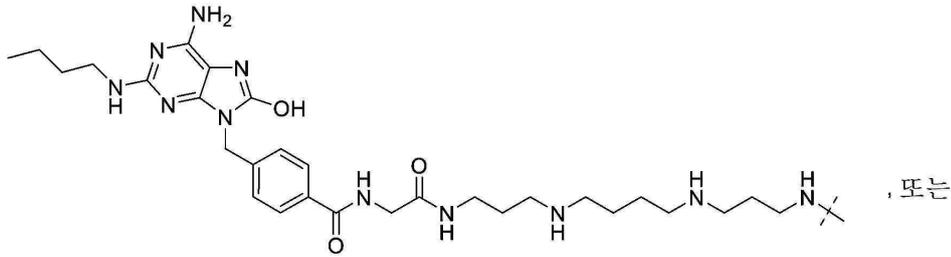
[0632]



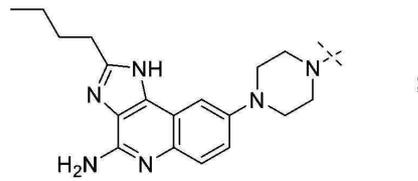
[0633]



Adj-L



Adj-M

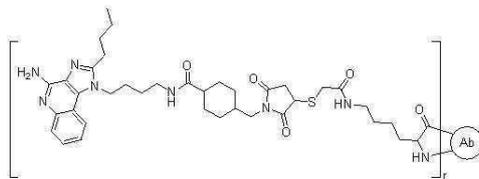


Adj-N

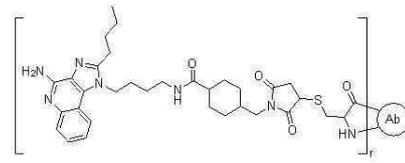
[0634]

[0635] (상기 식에서, 파선 (" ")은 상기 애쥬번트의 부착점을 나타냄).

[0636] 87. 면역접합체로서, 하기로부터 선택되는 면역접합체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 면역접합체:

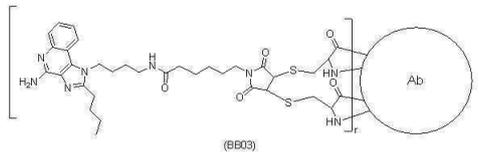


(BB01)

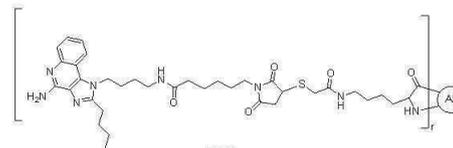


(BB02)

[0637]

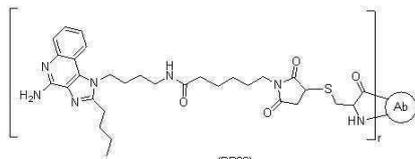


(BB03)

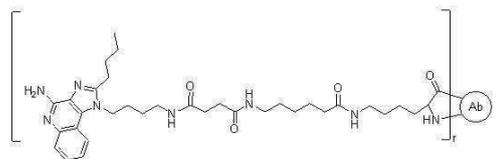


(BB05)

[0638]

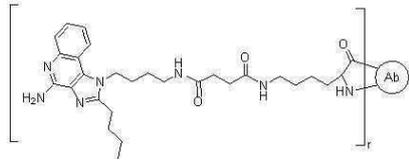


(BB06)

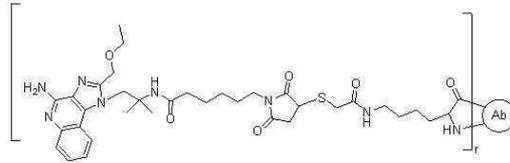


(BB08)

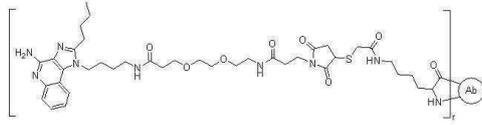
[0639]



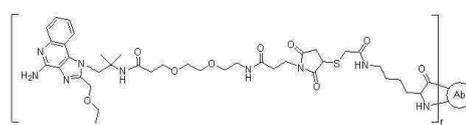
(BB09)



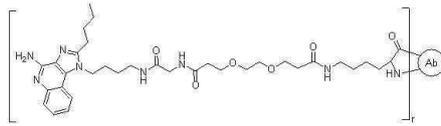
(BB10)



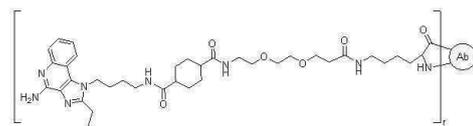
(BB11)



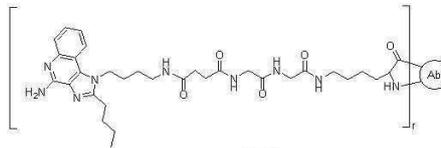
(BB12)



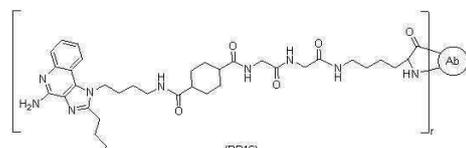
(BB13)



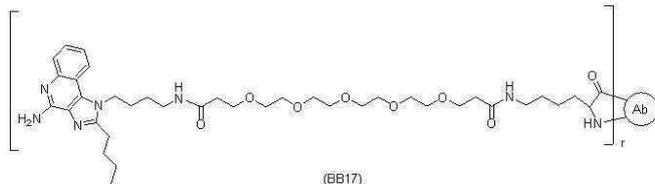
(BB14)



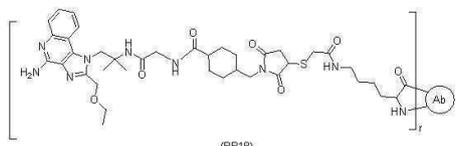
(BB15)



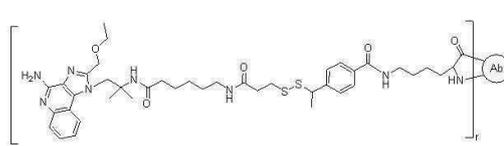
(BB16)



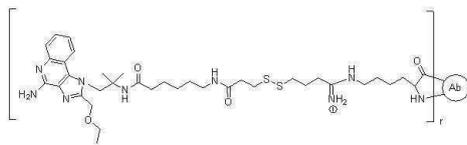
(BB17)



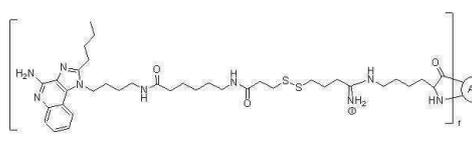
(BB18)



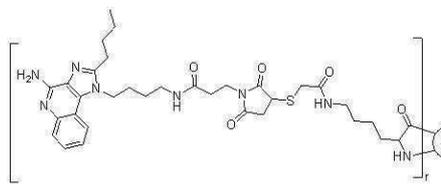
(BB19)



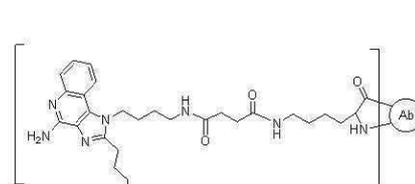
(BB20)



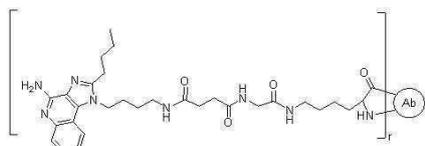
(BB21)



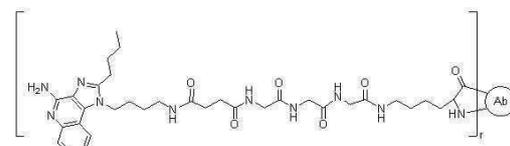
(BB22)



(BB23)



(BB24)



(BB25)

[0640]

[0641]

[0642]

[0643]

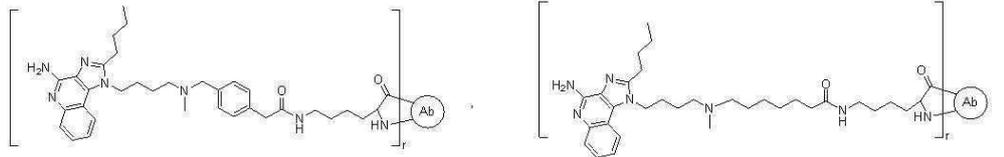
[0644]

[0645]

[0646]

[0647]

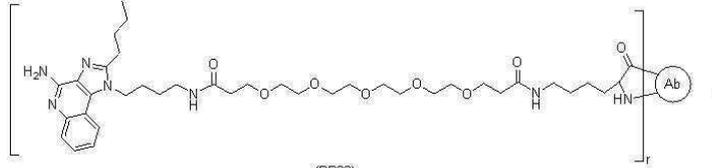
[0648]



[0649]

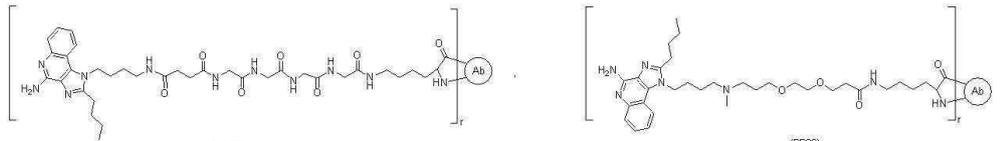
(BB26)

(BB27)



[0650]

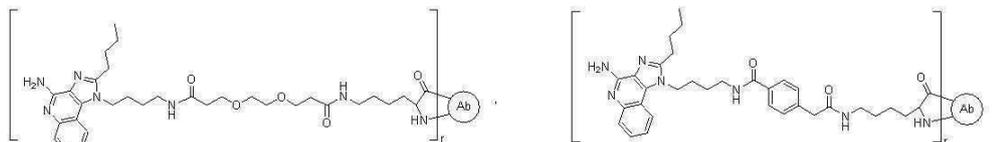
(BB32)



[0651]

(BB35)

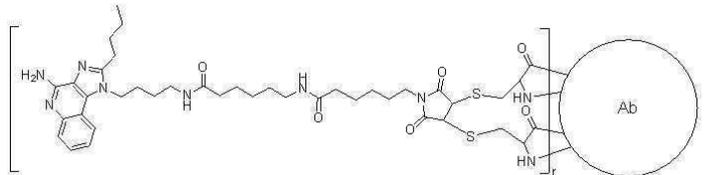
(BB36)



[0652]

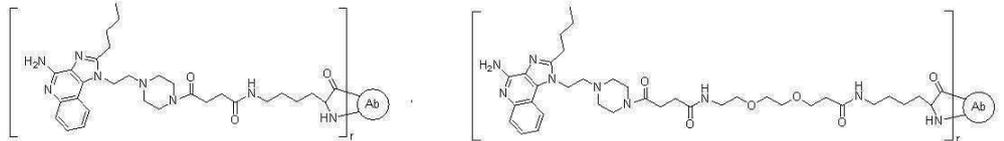
(BB37)

(BB38)



[0653]

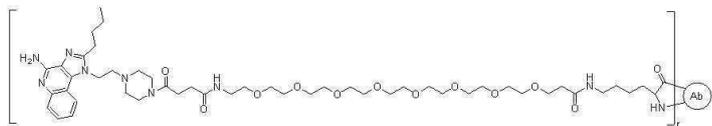
(BB41)



[0654]

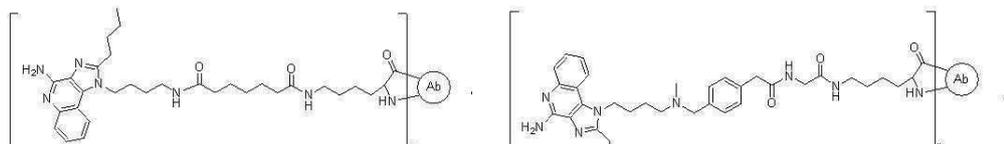
(BB42)

(BB43)



[0655]

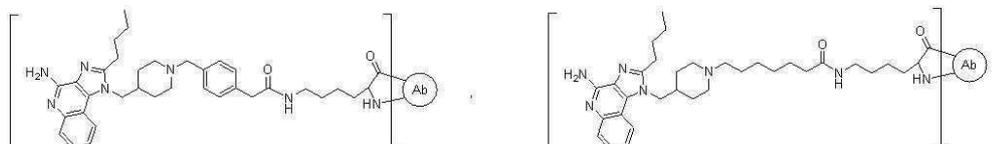
(BB44)



[0656]

(BB45)

(BB47)

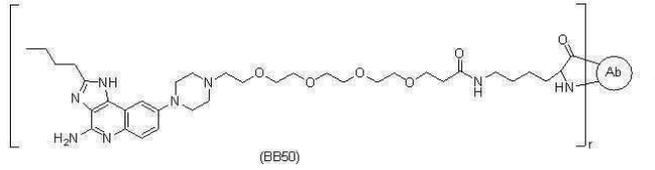


[0657]

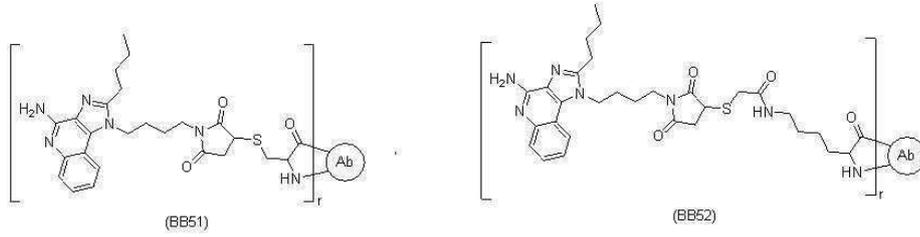
(BB48)

(BB49)

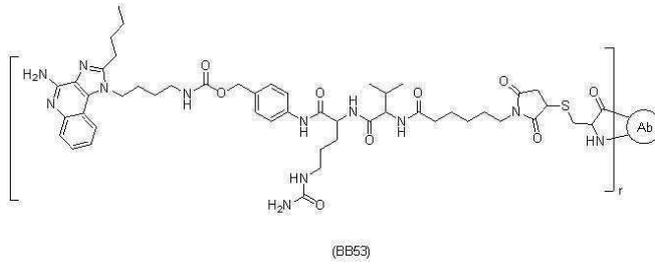
[0658]



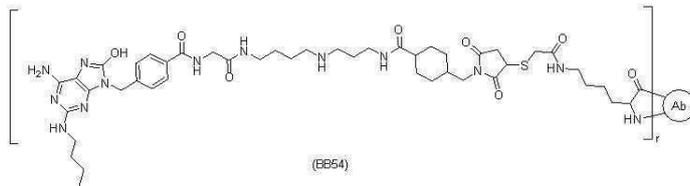
[0659]



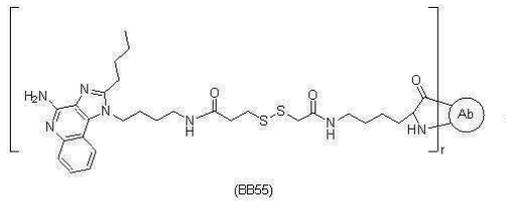
[0660]



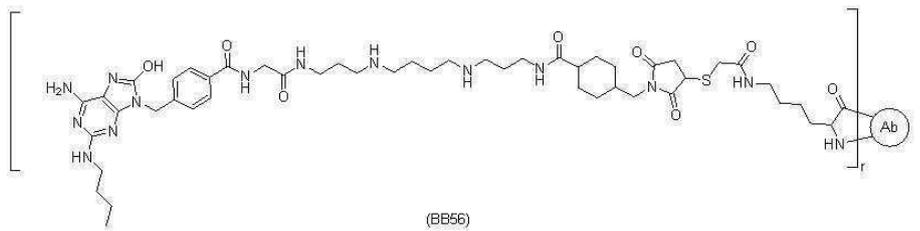
[0661]



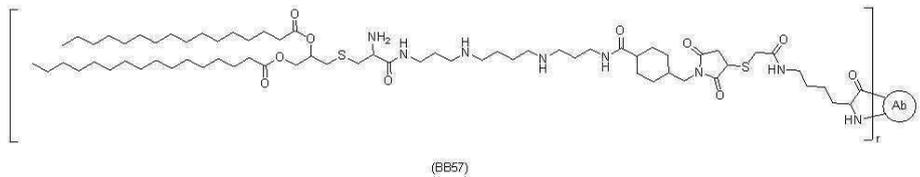
[0662]

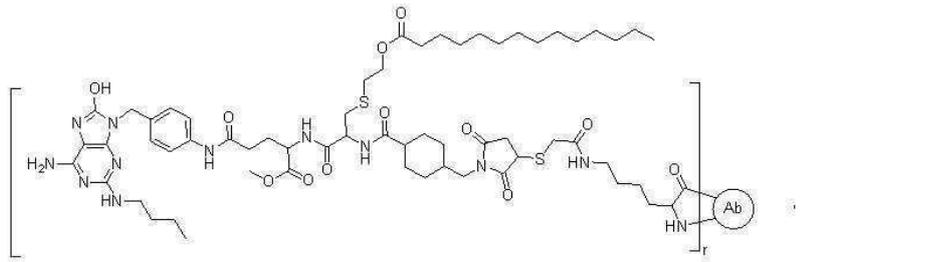


[0663]



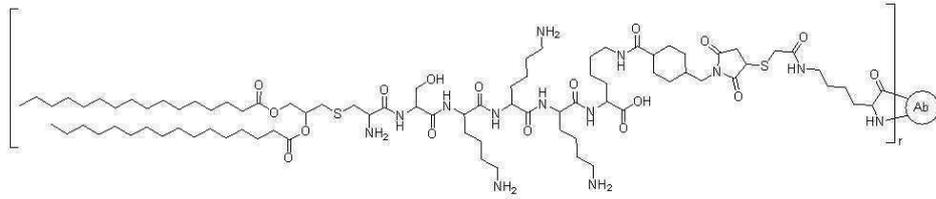
[0664]





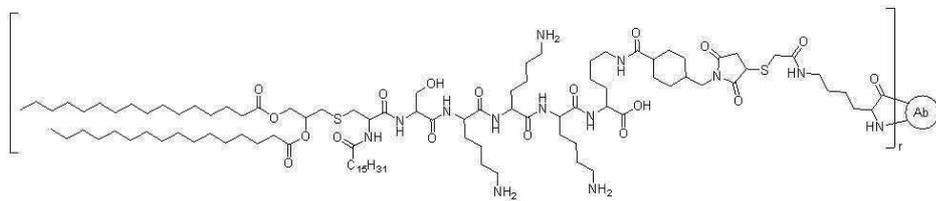
[0665]

(BB58)



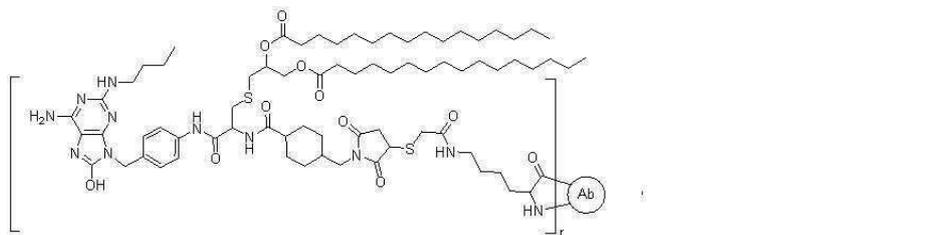
[0666]

(BB59)



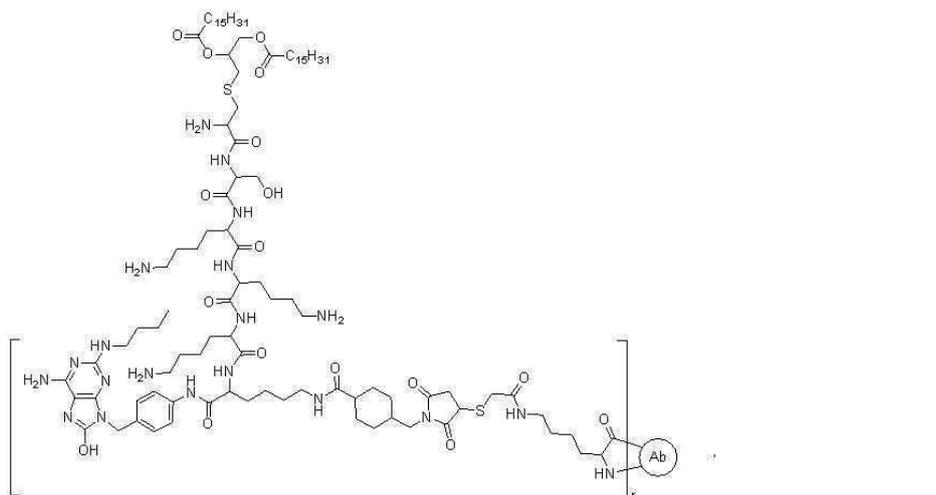
[0667]

(BB60)



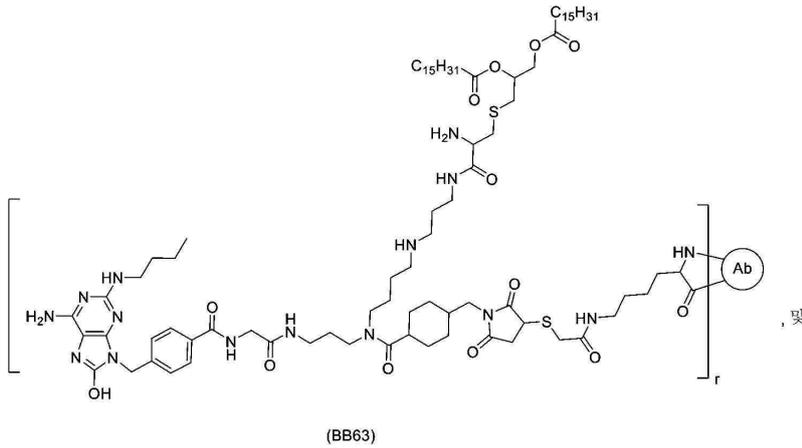
[0668]

(BB61)

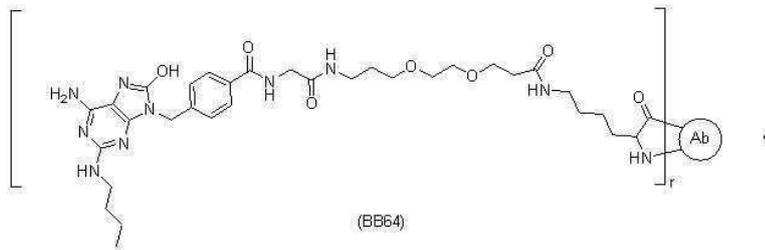


[0669]

(BB62)



[0670]



[0671]

[0672] (상기 식에서, Ab는 적어도 하나의 라이신 측쇄를 갖는 항체이고; 하첨자 r은 1 내지 10의 정수임).

[0673]

88. 태양 87에 있어서, r은 1 내지 4인, 면역접합체.

[0674]

89. 태양 1 내지 태양 88 중 어느 하나에 있어서, 상기 링커는 약 2.5 Å 내지 약 45 Å인, 면역접합체.

[0675]

90. 태양 1 내지 태양 88 중 어느 하나에 있어서, 상기 링커는 약 2.5 Å 내지 약 20 Å인, 면역접합체.

[0676]

91. 태양 1 내지 태양 90 중 어느 한 항에 따른 복수의 면역접합체를 포함하는 조성물.

[0677]

92. 태양 91에 있어서, 면역접합체당 애주번트 모이어티의 평균수는 약 1 내지 약 9의 범위인, 조성물.

[0678]

93. 태양 91에 있어서, 면역접합체당 애주번트 모이어티의 평균수는 약 0.5 내지 약 4의 범위인, 조성물.

[0679]

94. 태양 91 내지 태양 93 중 어느 하나에 있어서, 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제를 추가로 포함하는, 조성물.

[0680]

95. 암을 치료하기 위한 방법으로서, 태양 1 내지 태양 90 중 어느 하나에 따른 면역접합체 또는 태양 91 내지 태양 94 중 어느 하나에 따른 조성물의 치료적 유효량을 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0681]

96. 태양 95에 있어서, 상기 암은 유방암인, 방법.

[0682]

97. 태양 95에 있어서, 상기 암은 두경부암인, 방법.

[0683]

98. 태양 95에 있어서, 상기 암은 림프종인, 방법.

[0684] **실시예**

[0685]

실시예 1. 항체 접합을 위한 이미다조퀴놀린

[0686]

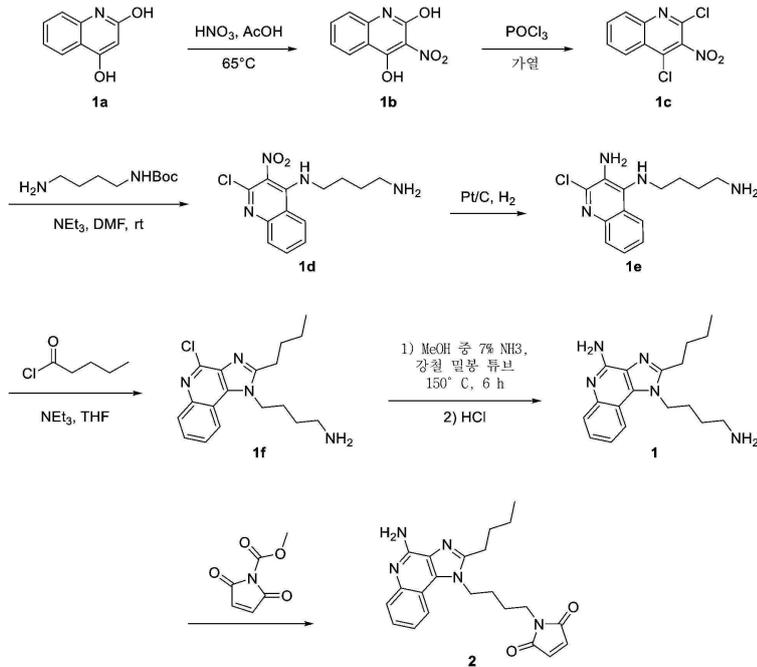
유리 아민 기를 갖거나 (화합물 1) 또는 말레이미드 기를 갖는 (화합물 2) 이미다조퀴놀린 화합물을 반응도식 1에 따라 합성하여, 링커 기술 및 항체-애주번트 면역접합체 효능의 신속한 평가를 가능하게 하였다.

[0687]

애주번트 기능화가 면역 활성화를 유도하는 화합물 2 또는 화합물 1의 능력에 영향을 주었는지를 결정하기 위하여, 인간 항원 제시 세포를 유세포측정을 통한 분석 전에 18시간 동안 R848, 화합물 2, 화합물 1 또는 대조군 TLR 효능제, CL307의 10배 연속 희석물로 자극하였다. 데이터는 화합물 2 및 화합물 1이 검정된 각각의 농도에 걸쳐 R848과 유사하게 수행하였음을 나타내었다 (도 4; 화합물 1 데이터는 도시되지 않음).

[0688] 다음으로, 인간 TLR7 또는 TLR8을 활성화하는 각각의 기능화된 TLR 효능제의 능력을 직접 검정하였다. NF- κ B 및 AP-1 결합 부위에 융합된 IFN- β 최소 프로모터의 제어 하에서 인간 TLR7 또는 TLR8 또는 무린 TLR7 및 유도성 분비 배아 알칼리성 포스파타제 리포터 유전자로 HEK293 세포를 공동-형질감염시켰다. 후속으로, 알칼리성 포스파타제 기질의 존재 하에서 37C에서 12시간 동안 각각의 지시된 애쥬번트의 2배 연속 희석물과 함께 세포를 인큐베이션하였다. 분광광도법 (OD 650 nm)에 의해 활성을 측정하였다. 데이터는, 화합물 1은 인간 TLR7 및 TLR8 둘 모두를 활성화한 반면, 화합물 2는 TLR7 활성화에 특이적이었음을 나타낸다 (도 2). 유사하게, 화합물 2 및 화합물 1 둘 모두는 무린 TLR7을 활성화하였다 (도 2).

[0689] [반응도식 1]

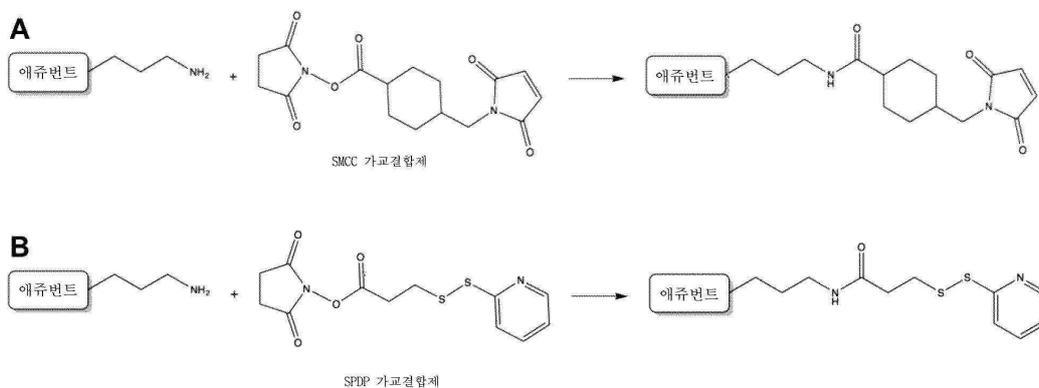


[0690]

[0691] 실시예 2. 항체-애쥬번트 접합체의 제조

[0692] 반응도식 2A 및 반응도식 2B에 개략적으로 설명된 일반 반응도식에 따라 리톡시마에 접합하기 위한 준비로서, 비-절단성 가교결합제 (SMCC, ThermoFisher Scientific) 및 절단성 가교결합제 (SPDP, ThermoFisher Scientific)로 화합물 1을 변형시켰다.

[0693] [반응도식 2A] 및 [반응도식 2B]



[0694]

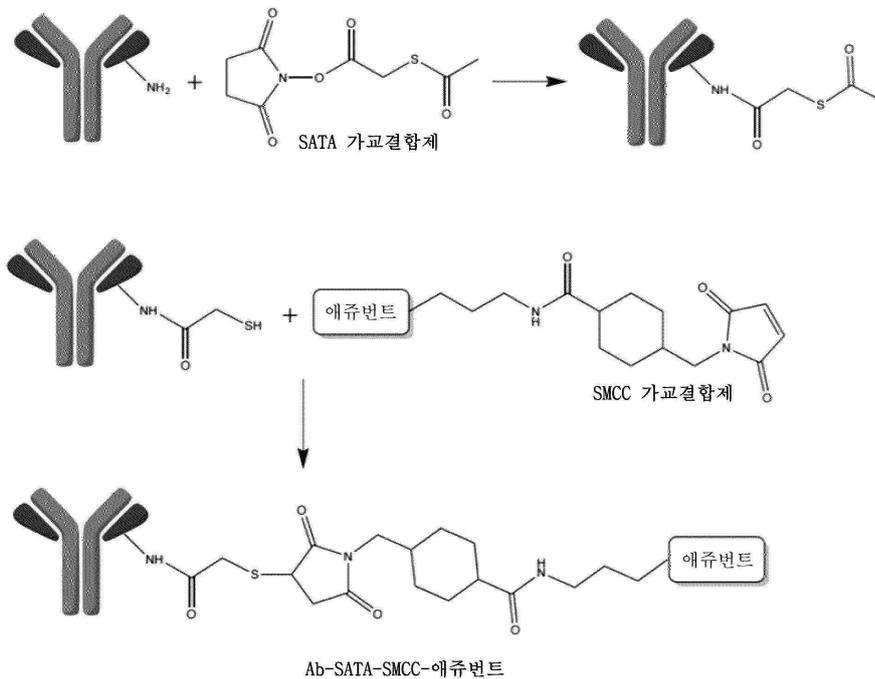
[0695] pH 7 내지 7.5의 PBS 또는 다른 적합한 완충액 중에서 1:1 물비로 반응시킴으로써, 유리 아민을 갖는 애쥬번트 (R848, 화합물 1 등)를 SMCC, SPDP 또는 다른 NHS 함유 링커에 접합하였다. 모든 반응을 광으로부터 보호하고, 실온에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 가능한 경우, 애쥬번트-가교결합제 접합체를 역상 고압 액체 크로마토그래피 (HPLC)를 통해 정제하였다. 하기에 기재된 바와 같이, 접합 직후에 애쥬번트-가교결합제 접합체를 이용하였다.

[0696] 애주번트-링커 복합체를 탈염하고, Zeba 스핀 탈염 컬럼 (ThermoFisher Scientific)을 사용하여 탈이온수 중으로 완충액 교환하였다. 후속으로, Shimadzu LC/MS-2020 단일 사중극자 액체 크로마토그래프 질량 분석계 상에서 샘플을 분석하였다. 100 내지 1000 m/z의 소분자의 검출에 적합한 0 내지 100% 아세트오니트릴 범위의 구배를 사용하는 방법을 화합물 검출에 이용하였다.

[0697] 반응 효율을 LC-MS를 통해 평가하였으며, 유리 SMCC의 대부분은 화합물 1과 반응하여, 예상 분자량이 531인 화합물 1-SMCC를 형성하였음을 나타내었다 (도 3, 하단 우측 패널). 유사한 반응 효율이 화합물 1-SPDP에 대해서도 관찰되었다 (데이터는 도시되지 않음).

[0698] 가교결합제에 대한 화합물 1의 성공적인 접합 후에, 항체를 SATA 가교결합제로 변형시켜, 항체 상의 유리 아민을 보호된 설프하이드릴 기로 전환시켰다. SATA의 접합 후에, 설프하이드릴기를 하이드록실아민을 사용하여 탈아세틸화하고, 노출된 티올을 애주번트-SMCC 화합물의 말레이미드 성분과 반응시켰으며, 이는 반응도식 3에 나타낸 바와 같다.

[0699] [반응도식 3]



[0700]

[0701] 항체를 1 내지 5 mg/mL의 인산염 완충 식염수 (PBS) 중에 재현탁시키고, SATA 가교결합제 (ThermoFisher Scientific)를 사용하기 직전에 무수 DMSO 중에 70 mM로 재현탁시켰다. 항체를 실온에서 30분 동안 10배 물 과량의 SATA와 반응시켰다. 제조사의 사용설명서 (EMD Millipore)에 따라 Ultracel-100 막을 구비한, 평형화된 Amicon 초원심분리 필터 유닛(Ultra Centrifugal Filter Unit)을 사용하여 PBS 중에서의 3회 세척을 수행하여 과량의 시약 및 부산물로부터 SATA-변형된 항체를 정제하였다. 항체당 SATA 가교결합제의 수를 매트릭스-보조 레이저 탈착/이온화 질량 분석 (MALDI-TOF)에 의해 결정하였다.

[0702] SATA-변형된 항체를 0.05 M 하이드록실아민 및 2.5 mM EDTA를 사용하여 pH 7.2 내지 7.5의 PBS 중에서 실온에서 2시간 인큐베이션한 후에 탈아세틸화하였다. 후속으로, 제조사의 사용설명서 (EMD Millipore)에 따라 Ultracel-100 막을 구비한, 평형화된 Amicon 초원심분리 필터 유닛을 사용하여 5 mM EDTA를 함유하는 PBS 중에서의 3회 세척을 수행하여 과량의 시약 및 부산물로부터, 탈아세틸화된 SATA-변형된 항체를 정제하였다. 후속으로, 정제된 탈아세틸화된 SATA-변형된 항체를 실온에서 30분 내지 1시간 동안 5 내지 40배 물 과량의 애주번트-가교결합제와 반응시켰다. 정확한 물 과량은 MALDI-TOF에 의해 결정될 때 항체당 SATA 분자의 평균수보다 10배 더 높았다. 접합 후에, 제조사의 사용설명서 (EMD Millipore)에 따라 Ultracel-100 막을 구비한, 평형화된 Amicon 초원심분리 필터 유닛(Ultra Centrifugal Filter Unit)을 사용하여 PBS 중에서의 3회 세척을 수행하여 과량의 시약 및 부산물로부터 항체-애주번트 면역접합체를 정제하였다.

[0703] 평균 약물 대 항체 비를 MALDI-TOF를 통해 결정하였다. 샘플을 탈염하고, Zeba 스핀 탈염 컬럼 (ThermoFisher Scientific)을 사용하여 탈이온수 중으로 완충액 교환하였다. 매트릭스 (시나핀산)를 먼저 MALDI 샘플 표적 플

레이트 상에 스폿팅하고, 건조되게 하였다. 다음으로, 샘플을 소혈청 알부민 (BSA) 표준물 (0.25 내지 1 μM BSA)의 존재 하에서 그리고 부재 하에서 1:1 비로 혼합하고, 매트릭스 샘플을 사용하여 플레이트 상에 스폿팅하였다. 일단 매트릭스와 샘플 층 둘 모두가 건조되면, AB Sciex TOF/TOF 5800 (Stanford University, Canary Center) 상에서 샘플을 분석하였다. 음의 이온화를 갖는 고질량 검출기 (CovalX)는 완전히 온전한 IgG 항체 (약 150,000 kDa) 범위의 단백질 크기에서 향상된 감도 및 분해능을 가능하게 하였다.

[0704] 항체-애뉴번트 면역접합체 (반응도식 3에 나타낸 Ab-SATA-SMCC-애뉴번트)의 성공적인 접합 후에, 평균 약물 대 항체 비를 MALDI-TOF 질량 분석을 통해 결정하였다 (표 1). SATA-변형된 항체 및 비변형된 항체 사이의 질량 차이를 이용하여 항체당 링커가 얼마나 많이 존재하는지를 결정하였다. SATA-변형된 항체와 면역접합체 사이의 질량 차이를 이용하여 평균 약물 대 항체 비 (DAR)를 결정하였다.

[0705] [표 1]

약물-대-항체 비의 MALDI-TOF MS-기반 결정

샘플	분자량 (Da)	질량 차이 (Da)	Ab 변형
항체	145,772	-	-
항체-SATA	146,210	438	3.77 개 링커/Ab
항체-SATA-SPDP-화합물 1	146,944	1172	2.07 개 약물/Ab
항체-SATA-SMCC-화합물 1	147,309	1537	2.07 개 약물/Ab

[0706]

실시예 3. 시험관내에서의 항체-애뉴번트 접합체 활성의 평가

[0707]

[0708] **인간 항원 제시 세포의 단리.** CD2, CD3, CD8, CD19, CD56, CD66b 및 CD235a에 대한 단일클론 항체를 함유하는 RosetteSep 인간 단핵구 풍부 각테일(Human Monocyte Enrichment Cocktail) (Stem Cell Technologies)을 사용하여 밀도 구배 원심분리에 의해, 건강한 혈액 공여자 (Stanford Blood Center)로부터 얻은 인간 말초 혈액 단핵 세포로부터 인간 항원 제시 세포 (APC)를 음성 선택하였다. 후속으로, CD2, CD3, CD19, CD20, CD56, CD66b, CD123 및 CD235a에 대한 단일클론 항체를 함유하는, CD16 고갈이 없는 EasySep 인간 단핵구 풍부 키트를 사용하여 음성 선택을 통해 97% 초과로 순도로 미성숙 APC를 정제하였다.

[0709]

[0709] **종양 세포의 제조.** 종양 세포를 1 내지 10 x 10⁶ 개 세포/mL로 0.1% 소태아 혈청 (FBS)을 사용하여 PBS 중에 재현탁시켰다. 후속으로, 세포를 2 μM CFSE와 함께 인큐베이션하여 1 μM의 최종 농도를 생성하였다. 10% FBS를 함유하는 10 mL의 완전 배지를 첨가하여 2분 후에 반응을 종료시키고, 완전 배지로 1회 세척하였다. 세포를 2% 파라포름알데하이드 중에 고정시키고 PBS로 3회 세척하거나, 또는 고정되지 않은 채로 둔 후에 10% DMSO, 20% FBS 및 70% 배지 중에서 세포를 동결시켰다.

[0710]

[0710] **APC-종양 공동-배양물.** 10% 소태아 혈청, 100 U/mL 페니실린, 100 μg/mL 스트렙토마이신, 2 mM L-글루타민, 소듐 피루베이트, 비필수 아미노산, 50 μM 2-ME가 보충된 IMDM 배지 (Gibco)가 담긴 96-웰 플레이트 (Corning) 내에서, 2 x 10⁵개의 APC를 6.5 x 10⁵개의 자가 또는 동종이계 CFSE-표지 종양 세포, 및 지시된 경우, 다양한 농도의 항-종양 항체 및 지시된 애뉴번트와 함께 또는 이들 없이 인큐베이션하였다. 세포 및 무세포 상층액을 유세포측정을 통해 18시간 후에 분석하였다.

[0711]

[0711] **결과.** 면역 활성화를 유도하는 면역접합체의 능력을 결정하기 위하여, 신선한 혈액으로부터 얻은 인간 APC (약 95% 단핵구)를 CFSE-표지 인간 B 세포 림프종 세포 (Toledo, ATCC) (3:1의 비로) 및 화합물 1, 리톡시맙 (Ab), 리톡시맙 + 화합물 1 (혼합물) 또는 리톡시맙-SATA-SMCC-화합물 1 (접합됨)의 2배 연속 희석물과 함께 인큐베이션하였다. 이들 실험에서, 면역접합체는 항체당 평균 2.1개의 화합물 1 분자를 가졌으며, 화합물 1의 용량을 이에 따라 조정하여, 등몰량의 화합물 1이 모든 조건에 걸쳐 비교되는 것을 보장하였다. 18시간 후에, 유세포측정을 통해 활성화 마커의 발현에 대해 세포를 분석하였다. 데이터는 면역접합체가 APC 활성화를 유도하는 데 있어서 훨씬 유효하였음을 나타내는데, 이는, Ab 단독, 화합물 1 단독 또는 혼합물로 자극된 것들과 대비하여, 면역접합체로 자극된 APC에서 CD40, CD86 및 HLA-DR이 수 배 더 높은 수준으로 발현되었기 때문이다 (도 4).

[0712]

[0712] 면역접합체 활성화 후에 관찰되는 높은 수준의 활성화 마커를 고려하여, APC 활성화의 정도와 고도로 상관된 억제성 마커인 PD-L1의 발현을 조사하였다. 의외로, 면역접합체는 애뉴번트 단독 또는 혼합물과 대비하여 PD-L1 발현의 상향조절을 유도하는 데 있어서 훨씬 덜 강력하였다 (도 5). 특히, PD-L1 발현은 0.1 μM 면역접합체에서 무시할 수 있었는데, 이는 최대 생물활성 농도에 상응한다 (도 4, 도 5). 이들 데이터는 면역접합체가 인간 APC에서 예측하지 못한 신호전달 경로를 활성화할 수 있음을 시사한다.

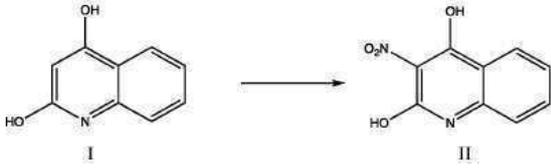
- [0713] 이러한 가설을 지지하여, 면역접합체로 자극된 세포는 수상돌기를 예기치 않게 발달시키고, DC로 분화되는 단핵구와 일치하는 형태학적 변화를 겪었다. 이러한 조사결과는 DC 관련 표면 분자의 분석을 촉구시켰다. 면역접합체 (그러나 혼합물은 아님)로 자극된 APC는, 그들의 모폴로지와 일관되게, 용량 의존성 방식으로 CD14, CD16 및 CD163 발현을 하향조절하였다 (도 6). 단핵구 및 대식세포에 의해 발현되지만 단핵구-유래 DC 상에서 대폭 감소된 이들 분자의 하향조절은, 면역접합체에 노출된 인간 단핵구가 DC로 신속하게 분화되었음을 나타낸다. 이들 데이터와 일관되게, 면역접합체로 자극된 APC는 인간 염증성 단핵구-유래 DC의 마커인 CD123의 발현을 상향조절하였다 (도 6).
- [0714] CD40, CD86 및 HLA-DR과 같은 T 세포 자극 분자의 발현이 효과적인 T 세포 활성화에 필요하지만, APC가 또한 사이토카인의 분비를 통해 그 후의 면역 반응의 성질에 영향을 준다. 따라서, 자극 후 인간 APC에서 사이토카인 분비를 유도하는 면역접합체의 능력을 전술된 바와 같이 조사하였다. 데이터는, 면역접합체-분화된 세포는 수 배 더 높은 양의 IL-1 β 및 TNF α 를 분비한 반면, 항염증성 사이토카인 IL-10의 분비는 더 낮은 경향이 있었음을 나타낸다 (도 7).
- [0715] 절단성 링커를 사용하여 작제된 면역접합체가 또한 제조되었으며, 시험관내에서 APC 활성화 및 DC 분화를 유도하는 것으로 확인되었다 (도 8). 단핵구가 약 95%인 인간 APC를 CFSE-표지 중앙 세포의 존재 하에서 리톡시맵-SATA-SPDP-화합물 1 (접합됨, 절단성), 리톡시맵 단독 (Ab), 화합물 1 단독 또는 리톡시맵 + 화합물 1 (혼합물)의 2배 연속 희석물로 자극하였다. 면역접합체 (절단성)는 MALDI-TOF에 의해 확인될 때 1.4의 DAR을 가졌다. 18시간 후에, CD19⁻ 인간 APC를 유세포측정을 통해 분석하였다 (n=3).
- [0716] 실시예 4. 생체내에서의 항체-에슈번트 접합체 효능의 평가
- [0717] 중앙 연구를 위해, C57BL/6 마우스의 우측 옆구리 위에 2 x 10⁵개의 B16F10 흑색종 세포를 피하 (s.c.) 주사하였다. 10일 후에, 또는 중앙이 25 mm²에 도달하였을 때, 마우스에 400 μ g의 면역접합체 (항-GP75-SATA-SMCC-화합물 1) (DAR = 1.74)의 정맥내 주사를 투여하거나, 400 μ g의 면역접합체 (항-GP75-SATA-SMCC-화합물 1) 또는 1.5 μ g의 화합물 1과 400 μ g의 항-GP75 (TA99)의 혼합물을 중앙내 투여하였다. 후속 처리는 초기 치료 후 일주 2 및 4에 투여하였다. 중앙 발달을 캘리퍼스로 주당 2 내지 3회 측정하였다.
- [0718] 면역접합체 (그러나 혼합물은 아님)로 처리된 마우스에서는 그들의 중앙이 감소되었다 (도 9a). 다음으로, α GP75-면역접합체의 등가 용량을, 확립된 중앙을 갖는 마우스에 중앙내 또는 정맥내 투여하였다. 의외로, IV 투여는 면역접합체의 10% 미만이 중앙에 도달하였다고 추정될 때조차도 중앙 퇴행을 가져왔다 (도 9b).
- [0719] 본 명세서에 기재된 연구는 면역접합체가 등물량의 비공유 부착된 항체-에슈번트 혼합물보다 면역 활성화 및 항-중앙 면역을 유도하는 데 있어서 정량적으로 그리고 정성적으로 더 효과적임을 입증한다. 이러한 조사결과는 항체 접합 후 에슈번트의 단순한 혈청 반감기 연장으로부터 생길 가능성이 없는데, 이는, 현저한 표현형 변경 및 신규한 생물학적 특성이 짧은 시험관내 인큐베이션 기간 동안 관찰되었기 때문이다. 이들 연구는, 건강한 인간 공여자로부터 새로 단리된 말초 혈액 단핵구는 면역접합체에 의한 하룻밤 자극 후에 DC 분화를 겪는 반면, GM-CSF 및 IL-4를 이용한 금 표준 DC 분화 프로토콜은 6일을 필요로 한다는 것을 나타낸다. 더욱이, 면역접합체 활성화된 인간 APC는 비공유 부착된 항체-에슈번트 혼합물의 등가 용량으로 달성가능한 것보다 수 배 더 높은 양의 공동자극 분자 및 염증성 사이토카인을 발현하였다. 그러면서도 여전히, 면역접합체는 PD-L1 및 비견되는 양의 IL-10과 같은 음성 공동자극 분자를 훨씬 더 낮은 수준으로 유도하는데, 이는, 면역접합체가 예측하지 못한 신호전달 경로를 활성화함을 시사한다. 어떠한 특정 이론에 의해서도 구애되고자 함이 없이, 면역접합체에 의한 자극은 생리학적 항체-매개 면역과 매우 유사하며, 이에 의해 APC는 고친화도로 옅소닌화된 병원체 (병원체에 결합된 항체)를 인식하는 것으로 여겨진다.
- [0720] 실시예 5. 시험관내에서의 추가의 항체-에슈번트 접합체의 제조 및 그의 활성의 평가
- [0721] **추가적 항체-에슈번트 접합체의 제조** 추가의 항체-에슈번트 접합체를 실시예 1 및 실시예 2에 기재된 방법을 사용하여 제조하였다. 항체 펌프롤리주맵 (PD-1), 니볼루맵 (PD-1), 아테졸리주맵 (PD-L1), 및 이필리무맵 (CTLA4)을 사용하여 SATA-SMCC 링커를 갖는 항체-에슈번트 접합체를 생성하였다 (상기 반응도식 3 참조).
- [0722] 면역접합체의 성공적인 접합 후, 평균 약물 대 항체 비를 LC-MS를 통해 결정하였다. 면역접합체를 먼저 PNGase F를 사용하여 탈글리코실화하여 항체로부터 글리칸을 제거하고, 이어서 면역접합체를 탈이온수 증으로 완충액 교환한다. 항체-에슈번트 접합체를 Waters Xevo G2-XS QToF/ToF 상에서 아세트오니트릴/물로 용리되는 C4 컬럼 상에 이동시켰다. 원시 질량 분석 데이터를 디콘볼루션하여, 약물 대 항체 (DAR) 비를 결정하였다. LC-MS 데

이터는 성공적인 접합 및 바람직한 DAR 비를 나타내었다.

- [0723] **인간 항원 제시 세포의 단리.** CD14, CD16, CD40, CD86, CD123, 및 HLA-DR에 대한 단일클론 항체를 함유하는 RosetteSep 인간 단핵구 풍부 카테일 (Stem Cell Technologies)을 사용하여 밀도 구배 원심분리에 의해, 건강한 혈액 공여자 (Stanford Blood Center)로부터 얻은 인간 말초 혈액 단핵 세포로부터 인간 항원 제시 세포 (APC)를 음성 선택하였다. 후속으로, CD14, CD16, CD40, CD86, CD123, 및 HLA-DR에 대한 단일클론 항체를 함유하는, CD16 고갈이 없는 EasySep 인간 단핵구 풍부 키트를 사용하여 음성 선택을 통해 97% 초과로 순도로 미성숙 APC를 정제하였다.
- [0724] **종양 세포의 제조.** 종양 세포를 상기 실시예 3에 따라 제조하였다.
- [0725] **APC-종양 공동-배양물.** 10% 소태아 혈청, 100 U/mL 페니실린, 100 µg/mL 스트렙토마이신, 2 mM L-글루타민, 소듐 피루베이트, 비필수 아미노산, 50 µM 2-ME가 보충된 IMDM 배지 (Gibco)가 담긴 96-웰 플레이트 (Corning) 내에서, 2×10^5 개의 APC를 6.5×10^5 개의 자가 또는 동종이계 CFSE-표지 종양 세포, 및 지시된 경우, 다양한 농도의 항체와 함께 또는 이들 없이 인큐베이션하였다. 세포 및 무세포 상층액을 유세포측정을 통해 18시간 후에 분석하였다.
- [0726] **결과.** 면역 활성화를 유도하는 면역접합체의 능력을 결정하기 위하여, 신선한 혈액으로부터 얻은 인간 APC (약 95% 단핵구)를 CFSE-표지 인간 B 세포 림프종 세포 (Toledo, ATCC) (3:1의 비로) 및 항체 단독 또는 항체-SATA-SMCC-화합물 1 (접합됨)의 2배 연속 희석물과 함께 인큐베이션하였다. 18시간 후에, 유세포측정을 통해 활성화 마커의 발현에 대해 세포를 분석하였다. 데이터는 면역접합체가 APC 활성화를 유도하는 데 있어서 월등하였음을 나타내는데, 이는, 항체 단독으로 자극된 것들과 대비하여, 면역접합체로 자극된 APC에서 CD40, CD86, 및 HLA-DR이 더 높은 수준으로 발현되는 경향이 있었기 때문이다 (이필리무맘의 경우 도 10d 및 도 10e, 펨브롤리주맘의 경우 도 11d 및 도 11e, 니블루맘의 경우 도 12d 및 도 12e, 그리고 아테졸리주맘의 경우 도 13d 및 도 13e 참조). 실시예 3에서 관찰된 결과에 일관되게, 면역접합체는 CD14를 하향조절하였다 (이필리무맘의 경우 도 10c, 펨브롤리주맘의 경우 도 11c, 니블루맘의 경우 도 12c, 그리고 아테졸리주맘의 경우 도 13c 참조). 이들 면역접합체에 대한 결과는 실시예 3에서의 결과에 기초하여 CD16 및 CD123 (데이터는 도시되지 않음)에 대해 예상된 바와 같았다.
- [0727] 자극 후 인간 APC에서 사이토카인 분비를 유도하는 이들 면역접합체의 능력을 상기 실시예 3에 기재된 바와 같이 조사하였다. 데이터는 면역접합체-분화된 세포가 더 높은 양의 IL-1β 및 TNF α를 분비하였음을 나타낸다 (아테졸리주맘의 경우 도 14a 및 도 14b, 니블루맘의 경우 도 15a 및 도 15b, 펨브롤리주맘의 경우 도 16a 및 도 16b, 그리고 이필리무맘의 경우 도 20 참조).
- [0728] 실시예 6. 시험관내에서의 항-텍틴-2 애쥬번트 접합체의 제조 및 그의 활성의 평가
- [0729] **추가 항체-애쥬번트 접합체의 제조** 추가 항체-애쥬번트 접합체를 실시예 1 및 실시예 2에 기재된 방법을 사용하여 제조하였다. 항-텍틴-2 항체 (CLEC6A) 및 동종형 래트 IgG2a를 사용하여 SATA-SMCC 링커를 갖는 항체-애쥬번트 접합체를 생성하였다 (상기 반응도식 3 참조).
- [0730] 자극 후 무린 단핵구 유래 APC에서 사이토카인 분비를 유도하는 이 면역접합체의 능력을 상기 실시예 3에 기재된 바와 같이 조사하였다. 구체적으로는, 면역접합체 또는 등가량의 비접합된 성분으로 18시간 동안 자극된 GM-CSF-전처리된 단핵구에 대한 사이토카인 생성이 도 21에 나타나 있다. 데이터는 면역접합체-분화된 세포가 등가량의 성분 (애쥬번트 단독, 및 항체 단독, 및 대조 항체 접합체)보다 더 높은 양의 TNF α, IL-6, 및 IL-12p70 (도 21 참조)을 분비하였음을 나타낸다.
- [0731] 텍틴-2 및 CLEC5A는 수용체 가교결합 후 각각 어댑터 단백질 Fcγ (FCER1G) 및 DAP12 (TYROBP)와 회합하고 이를 통해 신호전달하는 C-유형 렉틴 수용체이다. 이들 어댑터 단백질은 Syk 의존성 경로를 통한 하류 신호전달을 매개하여 면역 세포 활성화 (즉, 사이토카인 생성, 공동자극 분자 발현, 항원 제시 등)를 유도하는 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 (ITAM)를 함유한다. 도시된 바와 같이 (도 21 및 도 23), 이들 수용체에 대해 유도된 면역접합체는 ITAM-결합 수용체 (항원 결합 도메인을 통해)와 다른 신호전달 경로 (애쥬번트 모이어티, 예를 들어 TLR7/8을 통해)의 동시 결합을 통해 상승적 면역자극 효과를 나타낸다. Fcγ 및/또는 DAP12와 회합되거나, 또는 유사한 신호전달 도메인 (예를 들어, hemITAM)을 함유하는 다른 수용체를 표적화하는 면역접합체가 유사한 방식으로 제조될 수 있으며, 유사한 효과를 나타낼 것으로 예상된다.
- [0732] 실시예 7. TLR7/8 애쥬번트의 합성

[0733] 본 발명의 면역접합체를 형성하기 위하여, 항체에 대한 접합에 적합한 TLR7/TLR8 애주번트 (반응도식 1, 화합물 1)를 하기 단계를 수행하여 제조하였다. 생성물의 질량을 Xevo XS QToF 분석계 검출기를 구비한 UPLC 시스템 (Waters Acquity) 상에서 확인하였다. 아세토니트릴:물 중에 용해된 샘플을 5분에 걸쳐 10 내지 90% 구배의 아세토니트릴:물로 용리되는 BEH200 C18 컬럼 (2.1 mm 직경 x 50 mm 길이) 상에 주입하였다.

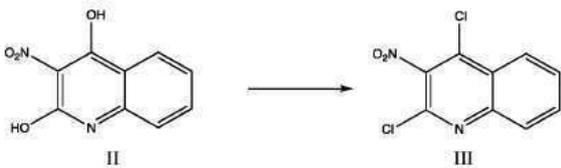
[0734] [반응도식 4]



[0735]

[0736] 냉각된 (0°C) 질산(70%, 160 mL)을 빙조 내에서 교반하면서 빙초산 (600 mL) 중 퀴놀린-2,4-다이올(I) (100 g, 621 mmol)에 서서히 첨가하였다. 빙조로부터 혼합물을 꺼내고, 이어서 실온으로 가온하였다. 실온에서 30분 동안 교반하였다. 80°C에서 1.5시간 동안 가열하고, 이어서 혼합물을 0°C로 냉각시켰다. 혼합물에 1 L의 물을 서서히 첨가한 결과 황색 고체가 침전되었다. 15분 동안 격렬하게 교반하고, 이어서 여과하였다. 고체를 물 (1 L) 중에 재현탁시키고, 15분 동안 격렬하게 교반하고, 이어서 여과하였다. 고체 NaHCO₃를 서서히 첨가하여 pH가 6 초과가 되게 하고, 이어서 하룻밤 흡인 여과하는 추가 단계를 반복하였다. 고체를 에틸 에테르 (750 mL) 중에 재현탁시키고, 격렬하게 교반하여 미세 현탁액을 생성하였다. 여과하고, 반복하였다. 하룻밤 흡인 여과하여 건조시켰다. 112 g의 황색 고체 II (88%)를 수득하였다.

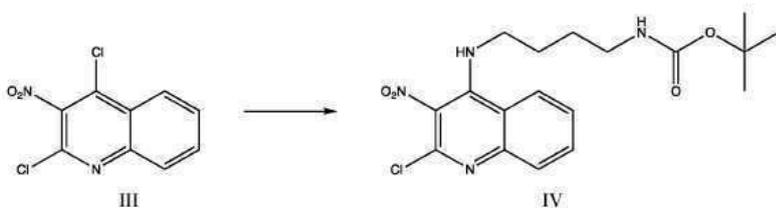
[0737] [반응도식 5]



[0738]

[0739] 실온에서, 다이아이소프로필에틸아민 (63 mL, 47 g, 0.36 mol, 2.5 당량)을 POCl₃ (300 mL)에 서서히 첨가하였다. 혼합물을 Ar의 블랭킷 하에 80°C로 가열하였다. 온도를 95°C 미만으로 유지하면서, 니트로-다이올(II) (30 g, 145 mmol, 1 당량)을 2 g의 분량씩 30분에 걸쳐 서서히 첨가하였다. 첨가가 완료된 후에, 온도를 110°C로 상승시키고, 1시간 동안 가열한다. 반응물을 0°C로 냉각시키고, 이어서 격렬하게 교반하면서 얼음 위로 일부씩 나누어서 서서히 붓는다. 냉수를 1.2 L의 최종 부피가 될 때까지 첨가하고, 이어서 격렬하게 교반하였다. 수성 모액을 경사분리(decant)하고, 1 L의 물을 암색 고체에 첨가하여, 끈적끈적한 고체를 플라스크의 벽으로부터 긁어내어 현탁액을 생성하였다. 필요에 따라 반복하여 고체를 얻었으며, 이는 여과될 수 있다. 고체를 1 L의 물 중에 재현탁시키고, 이어서 pH가 6 초과가 될 때까지 고체 NaHCO₃를 서서히 첨가하였다. 고체를 여과하고, 이어서 EtOAc (500 mL) 중에 용해시켰다. EtOAc 용액을 셀라이트를 통해 여과하여 불용성 흑색 불순물을 제거하였다. 여과액을 포화 NaHCO₃, 물, 염수로 세척하고, 이어서 분리하고, 유기 층을 Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하고, 진공 중에서 농축시켰다. 형성된 갈색 고체를 3:1 헥산/다이에틸 에테르 (500 mL)로 분쇄(trituate)하고, 여과하였다. 황갈색 고체 III (22 g, 30 mmol, 62%)을 다음 반응에 그대로 사용하였다.

[0740] [반응도식 6]

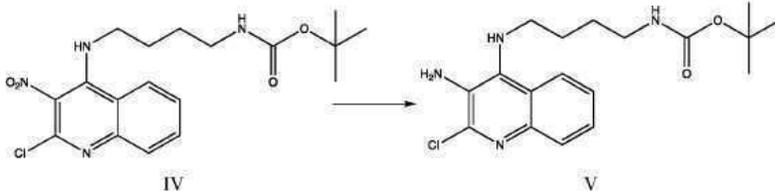


[0741]

[0742] 0°C에서 DMF (250 mL) 중 니트로-다이클로로 화합물(III) (22 g, 62 mmol, 1 당량) 및 고체 K₂CO₃ (17 g, 124 mmol, 2 당량)의 용액에 30분에 걸쳐 DMF (60 mL) 중 N-Boc-1,4-다이아미노부탄 (12.8 g, 1.1 당량)의 용액을

서서히 첨가하였다. 첨가가 완료된 후에, 반응물을 실온으로 가온하고, 추가 30분 동안 교반하였다. 물 (800 mL)을 첨가하고, 혼합물을 격렬하게 교반하였다. 상층액을 부어내고, 습윤 고체를 에틸 아세테이트 (500 mL) 중에 용해시켰다. 용액을 물, 염수로 세척하고, 분리하고, 건조시키고 (Na₂SO₄), 여과하고, 진공 중에서 농축시켰다. 갈색 고체를 1:1 헥산/다이에틸 에테르 (400 mL)로 분쇄하고, 여과하여 황색 고체 IV (17 g, 43 mmol, 69%)를 수득하였으며, 이를 다음 반응에 그대로 사용하였다.

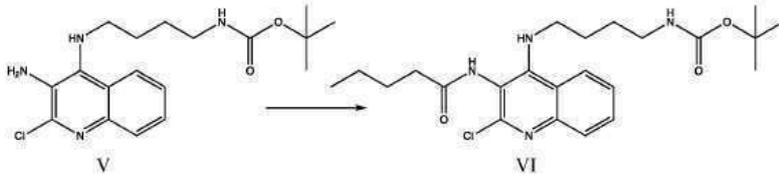
[0743] [반응도식 7]



[0744]

[0745] 0°C에서 메탄올 (400 mL) 및 물 (60 mL) 중 니트로-아미노 화합물(IV) (17 g, 43 mmol, 1 당량)의 용액에 NiCl₂·6H₂O (0.51 g, 2.2 mmol, 0.05 eq)를 첨가하였다. 붕소소화나트륨 (펠릿, 3.2 g, 86 mmol, 2 당량)을 첨가하고, 반응물을 0°C에서 1시간 동안 교반하고, 이어서 실온으로 가온하고, 추가 15분 동안 교반되게 하였다. 빙초산을 일부씩 나누어 첨가하여, 약 pH 5가 달성될 때까지 임의의 미반응 NaBH₄를 중화시켰다. 용액을 셀라이트의 베드를 통해 여과하여 흑색 불용성 물질을 제거하였다. 용매를 진공 중에서 제거하였다. 암갈색 고체를 에테르로 분쇄하고, 이어서 여과하여 황갈색 고체 V (13.3 g, 37 mmol, 85%)를 수득하였으며, 이를 다음 반응에 그대로 사용하였다.

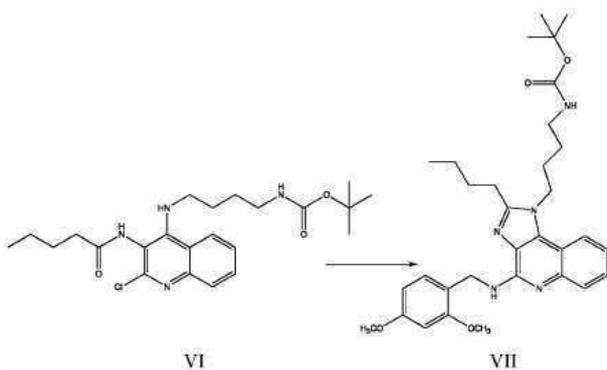
[0746] [반응도식 8]



[0747]

[0748] 실온에서 교반 중인 다이아이소프로필에틸아민 (7.17 g, 9.7 mL, 56 mmol, 1.5 당량)을 함유하는 DMF (250 mL) 중 다이아미노 화합물 V (13.3 g, 37 mmol, 1 당량)의 용액에 무회석(neat) 발레로일 클로라이드 (5.5 mL, 5.5 g, 42 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 30분 동안 교반하고, 이어서 1 L의 최종 부피가 될 때까지, 열음을 첨가하고, 이어서 물을 첨가하였다. 투명한 상층액이 형성될 때까지 혼합물을 격렬하게 교반하였다. 상층액을 부어내고, 조(crude) 고체를 에틸 아세테이트 (400 mL) 중에 용해시키고, 셀라이트의 베드를 통해 여과하였다. 여과액을 물 (400 mL), 염수 (400 mL)로 세척하고, 분리하고, 이어서 건조시키고 (Na₂SO₄), 여과하고, 농축시켰다. 고체를 에테르로 분쇄하고, 여과하고, 흡인 건조시켰다. 얻어진 갈색 고체 VI (13.9 g, 31 mmol, 84%)을 다음 반응에 그대로 사용하였다.

[0749] [반응도식 9]

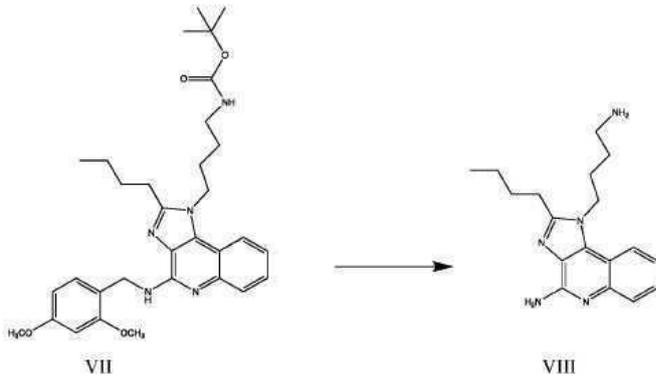


[0750]

[0751] 딘-스타크(Dean-Stark) 장치를 구비한 500 mL 둥근바닥 플라스크 내에서, 아미드(VI) (13.9 g, 31 mmol, 1 당

량) 및 2-클로로벤조산 (2.4 g, 15.5 mmol)의 혼합물을 4시간 동안 150 mL의 톨루엔 중에서 환류시켰다 (조 온도 = 170°C). 디-스타크 장치 및 응축기를 제거하고, 톨루엔의 80 내지 90%까지 증발시켰다. 2,4-다이메톡시벤질아민 (25 g, 150 mmol, 5 당량)을 첨가하고, 반응물을 120°C에서 1.25시간 동안 계속 가열하였다. 반응물을 냉각시키고, 조 혼합물을 1:1 MeOH/물 (1 L)로 희석시키고, 격렬하게 교반하였다. 상층액을 경사분리하고 (과량의 2,4-다이메톡시벤질아민의 대부분을 제거함), 조 생성물을 물과 에틸 아세테이트 사이에 분배하였다. 수성 층이 pH 5 내지 6을 제공할 때까지 아세트산을 첨가하였다. 유기 층을 물, 염수로 세척하고, 건조시키고 (Na₂SO₄), 여과하고, 농축시켰다. 농후한 갈색 시럽을 다이에틸 에테르 중에 용해시키고, 여과하여 회색 고체 (생성물 아님)를 제거하였다. 에테르를 제거하여 갈색 시럽 (14.4 g, 26 mmol, 73%)을 수득하였으며, 이것을 다음 반응에 그대로 사용하였다.

[0752] [반응도식 10]

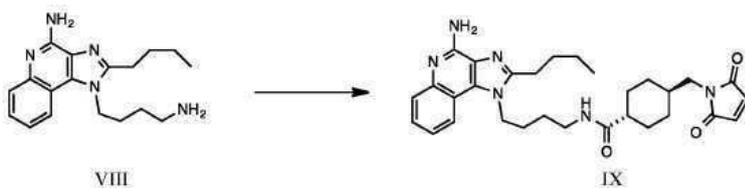


[0753]

[0754] 물질 VII (14.4 g, 26 mmol, 1 당량)에 물 (60 mL)을 첨가하고, 진한 HCl (60 mL)을 와동시키면서 서서히 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 30분 동안 격렬하게 교반하고, 이어서 1시간 동안 가열 환류시켰다. 반응물을 빙조 중에서 냉각시키고, 염기성 pH가 달성될 때까지 고체 NaOH 펠릿 (28 g, 700 mmol)을 30분에 걸쳐 일부씩 나누어서 첨가하였다. 용액을 실온으로 가온하고, 격렬하게 교반하였다. 포화 용액이 달성될 때까지 고체 NaCl을 첨가하였다. 이 수성 층을 10% 아이소프로판올/다이클로로메탄 (400 mL)으로 3회 추출하였다. 합한 유기 층을 건조시키고 (Na₂SO₄), 여과하고, 농축시켜 갈색 고체 VIII (6.8 g, 22 mmol, 79%)을 수득하였다.

[0755] 실시예 8. 면역접합체 합성

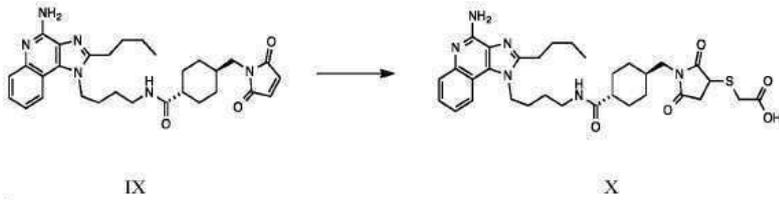
[0756] [반응도식 11]



[0757]

[0758] 본 실시예는 TFP 에스테르 방법을 사용한 면역접합체의 합성에 대한 지침을 제공한다. 화합물 VIII (311 mg, 1 mmol)을 10 mL의 다이메틸포름아미드 (DMF) 중에 용해시키고, 이어서 2 몰당량의 다이아이소프로필에틸아민 (DIPEA)을 첨가하였다. SMCC 링커 (1.5 mmol)를 10 mL의 다이클로로메탄 중에 용해시키고, 한번에 VIII에 첨가하였다. 반응물을 20°C에서 하룻밤 교반하고, 회전 증발을 통해 농축 건조시켰다. 조 생성물 IX를 12 g의 일회용 카트리지가 로딩된 Buchi 플래시 크로마토그래피 시스템을 사용하여 실리카 겔 상에서 정제하고, 15분에 걸쳐 0 내지 10% 메탄올의 구배로 용리시켰다. 순수한 분획을 합하고, 증발 건조시켜, 160 mg의 담황색 고체 IX를 제공하였다.

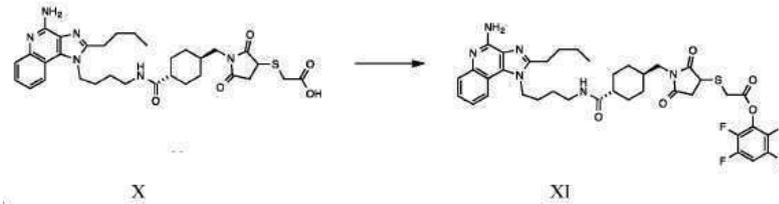
[0759] [반응도식 12]



[0760]

[0761] 화합물 IX (0.1 mmol, 53 mg)를 10 mL의 다이클로로메탄 중에 용해시키고, 이어서 2 당량의 티오글리콜산을 한번에 첨가하였다. 혼합물을 진공 하에서 농축 건조시키고, 잔류물을 5 mL의 디에틸 에테르로 3회 세척하였다.

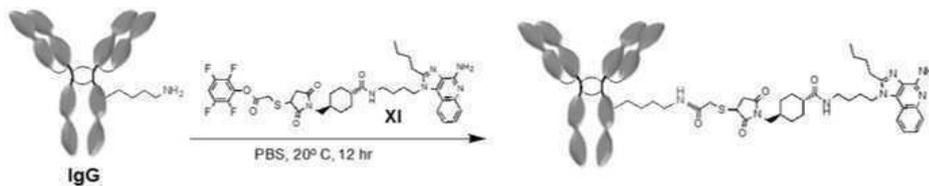
[0762] [반응도식 13]



[0763]

[0764] 화합물 X (6.2 mg, 0.01 mmol)을 2 mL의 THF 중에 용해시키고, 이어서 5 mg의 테트라플루오로페놀을 첨가하였다. 이어서, 5 mg의 다이사이클로헥실카르보다이이미드 (DCC)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반하고, 이어서 진공 하에서 농축 건조시켰다. 조 생성물(XI)을 실리카 겔 상에서의 플래시 크로마토그래피 (4 그램 사전 패키징된 컬럼)를 통해 정제하고, 다이클로로메탄 중 0 내지 10% MeOH로 용리시켰다. 순수한 분획을 합하고, 증발시켜 3.6 mg의 순수한 XI (LC/MS에 의해 확인됨)을 수득하였다. 이어서, TFP 에스테르(XI)를 하기 항체 접합 단계에 사용하였다.

[0765] [반응도식 14]



[0766]

[0767] IgG1 항체 (구체적으로는, 항-CD20 항체 리툭시맵)를 pH 7.2의 PBS 중으로 완충액 교환하고, 10 mg/mL (66 μM)로 희석시켰다. TFP 활성화된 애쥬벤트(XI)를 DMSO에 첨가하고, 6 몰당량 (IgG에 대하여)을 한번에 1 mL의 항체 용액 (10 mg)에 첨가하였다. 혼합물을 수 회 뒤집어서 혼합하고, 20°C에서 하룻밤 인큐베이션하였다. 생성된 면역접합체 ("BB-01")를 PD10 컬럼 (SephadexG25[®]) 크기 배체 크로마토그래피 컬럼을 사용하여 PBS (pH 7.2) 중으로의 완충액 교환을 통해 정제하였다. 순수한 분획을 풀링(pooling)하고, NanoDrop 분광광도계 상에서 280 nm에서의 흡광도를 측정함으로써 농도를 결정하였다. 수율은 8 밀리그램, 또는 회수된 단백질을 기준으로 대략 80%였다. 면역접합체 생성물을 0.2 μm 시린지 필터를 통해 멸균 여과하고, 필요할 때까지 4°C에서 저장하였다.

[0768] 생성된 면역접합체의 약물 대 항체 비 ("DAR")의 특성화를 Xevo XS QToF 질량 분석계 검출기를 구비한 UPLC 시스템 (Waters Aqurity) 상에서 액체 크로마토그래피-질량 분석 ("LC/MS")의 분석을 통해 수행하였다. 10 내지 90% 구배의 아세트오니트릴:물로 용리되는 BEH200 C4 컬럼 (2.1 mm 직경 x 50 mm 길이) 상으로의 5 μg의 면역접합체의 주입을 통해 분석을 수행하였다.

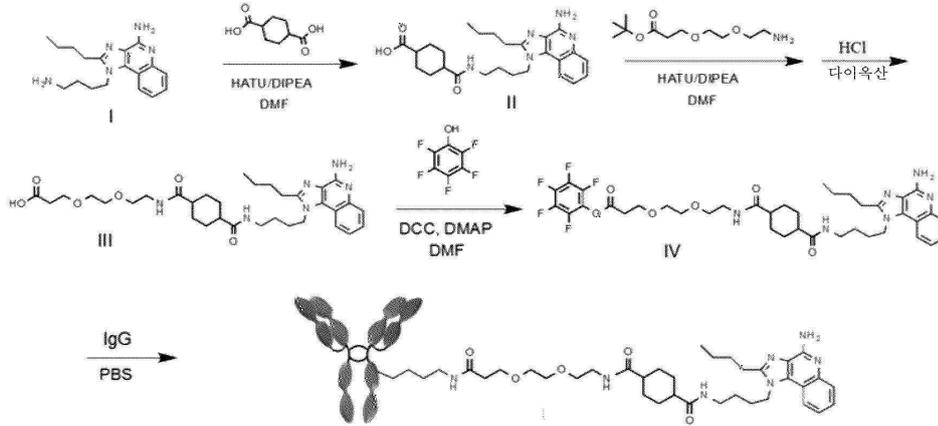
[0769] 이 분석은 TFP 방법을 통해 합성된 면역접합체가 SATA 방법을 사용하여 합성된 면역접합체보다 더 높은 DAR을 입증하였음을 나타내었다. 게다가, TFP 방법은 비접합된 항체의 양에 있어서, SATA 합성 방법과 대비하여 (약 20%) 감소된 (단지 약 5%) 면역접합체를 산출하였다 (도 30a 및 도 30b).

[0770] BB-01의 크기 배체 크로마토그래피 ("SEC") 분석을 수행하여 단량체 순도를 결정하였다. PBS (pH 7.2) 및 0.2

mL/min으로 용리되는 BEH200 SEC 컬럼 상에서 분석을 수행하였다. TFP 활성 에스테르 방법을 사용하여 합성된 면역접합체 BB-01은 SATA 방법을 사용하였을 때 8% 초과와 응집체 (도 31a)가 관찰된 것과 대비하여 2% 미만의 고분자량 응집체 (도 31b)를 함유하였다.

[0771] 실시예 9. 펜타플루오로페닐 ("PFP") 에스테르를 사용한 면역접합체 BB-14의 합성

[0772] [반응도식 15]



[0773]

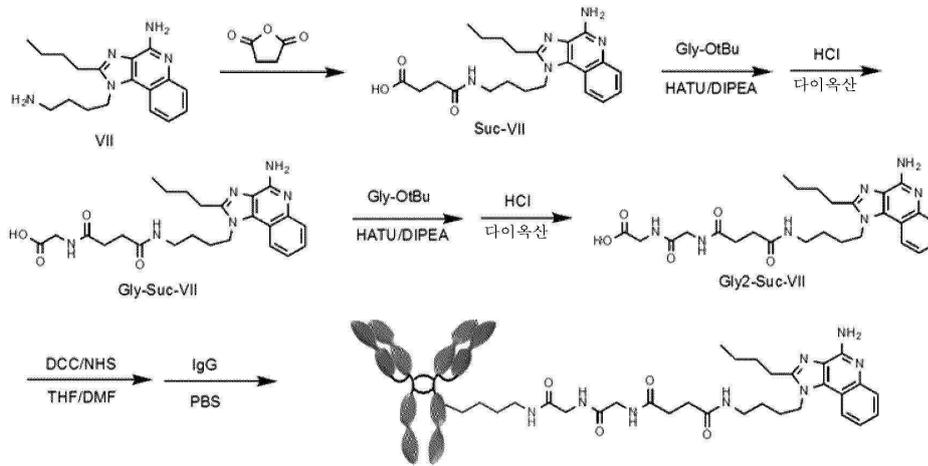
[0774] 본 실시예는 PFP 에스테르 방법을 사용한 면역접합체의 합성에 대한 지침을 제공한다. 에주번트의 에스테르 변형 및 항체에 대한 변형된 에주번트의 접합은 상기 반응도식 12에 나타나 있다. 사이클로헥산 트랜스-1,4-다이카르복실레이트 (1 g)를 10 mL의 다이메틸포름아미드 ("DMF") 중에 용해시키고, 1-[비스(다이메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트리아자올로[4,5-b]피리디늄 3-옥사이드 헥사플루오로포스페이트 ("HATU") (1 mmol)를 첨가한 후, *N*-에틸-*N*-(프로판-2-일)프로판-2-아민 ("DIPEA")을 첨가하였다. 화합물 1 (311 mg)을 첨가하고, 혼합물을 20°C에서 하룻밤 교반하였다. 반응 혼합물을 50 mL의 다이클로로메탄 ("DCM")으로 희석시키고, 20 mL의 1 N HCl로 세척하였다. DCM 층을 증발 건조시키고, 생성물을 1% 아세트산을 함유하는 DCM 중 0 내지 10% MeOH로 용리되는 실리카 겔 상에서 정제하였다. 순수한 분획을 농축시켜 220 mg의 정제된 산(II)을 수득하였다. 화합물 II (100 mg)를 THF 중에 용해시키고, 100 mg의 HATU를 첨가한 후, 200 µL의 DIPEA를 첨가하였다. 2 당량의 아미노-PEG2-tert-부틸-카르복실레이트를 첨가하고, 20°C에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축 건조시키고, 다이옥산 중 4 N HCl 10 밀리리터를 첨가하였다. 혼합물을 농축 건조시키고, 조 생성물(III)을 분취용 HPLC로 정제하여 40 mg의 화합물 III을 수득하였다.

[0775] 화합물 III을 하기에 기재된 바와 같이 PFP 에스테르(IV)로 전환시켰다. 화합물 III (35 mg)을 5 mL의 THF 및 5 mL의 DMF 중 50 mg의 PFP에 첨가한 후, 20 mg의 DCC를 첨가하였다. DMAP (2 내지 3 mg)를 첨가하고, 용액을 20°C에서 하룻밤 교반하였다. 반응물을 농축시키고, 플래시 크로마토그래피 (0 내지 10% MeOH로 용리됨)로 정제하여, 1:2 아세토니트릴:물로부터 동결건조 후에 17 mg의 PFP 에스테르(IV)를 수득하였다.

[0776] PFP 에스테르(IV) (IgG에 대하여 6 몰당량)를 20 mg의 IgG 항체 (구체적으로는, 항-CD20 항체 리툽시맙) (PBS 중 10 mg/mL)에 첨가하고, 37°C에서 하룻밤 인큐베이션하였다. 생성된 면역접합체 BB-14를 PBS (pH 7.2) 중으로 완충액 교환하여 과량의 작은 분자량 시약을 제거하고, NanoDrop 상에서 농도를 결정하였다. 수율은 15 mg의 면역접합체 (75% 수율)였다. 생성물을 4°C에서 저장하였다. LC/MS 분석을 통해 DAR이 2.2인 것으로 결정되었다. 바람직한 DAR 및 높은 수율 외에도, 생성물은 또한 SEC 분석에 의해 결정된 바와 같이 불순물을 거의 갖지 않았다 (도 3 및 도 4 참조).

[0777] 실시예 10. NHS 에스테르를 사용한 면역접합체 BB-15의 합성

[0778] [반응도식 16]



분자량: 530.2

[0779]

[0780] 애주번트의 에스테르 변형 및 항체에 대한 변형된 애주번트의 접합은 상기 반응도식 13에 나타나 있다. 화합물 VII (150 mg)을 20 mL의 테트라하이드로플루란 ("THF") 중에 용해시키고, 10 mL의 포화 중탄산나트륨 수용액을 첨가하였다. 이어서, 50 mg의 석신산 무수물을 한번에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 20 밀리리터의 1N HCl을 서서히 첨가하고, 혼합물을 2 x 50 mL의 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 증발 건조시켰다. 조 생성물 (Suc-VII)을 0 내지 15% MeOH (1% 아세트산)로 용리되는 4 그램 실리카 겔 컬럼 상에서 15분에 걸쳐 정제하였다. 순수한 분획을 합하고, 증발시켜 190 mg의 순수한 VII-Suc를 수득하였다.

[0781]

화합물 VII-Suc (150 mg)를 10 mL의 DMF 중에 용해시키고, 1 당량의 HATU를 첨가한 후, 2 당량의 DIPEA를 첨가하였다. 1.5 당량의 글리신-OtBu를 첨가하고, 하룻밤 교반하였다. DMF를 증발시키고, 잔류물을 다이옥산 중 1 N HCl 5 mL로 30분 동안 처리하였다. 용매를 증발시키고, 조 Gly-Suc-VII을 0 내지 10% MeOH로 용리되는 4 그램 실리카 겔 컬럼 상에서 10분에 걸쳐 플래시 정제하였다. 순수한 분획을 증발시켜 110 mg의 Gly-Suc-VII을 수득하였으며; 순수한 물질을 DMF 중에 용해시키고, 상기 프로세스를 반복하여 60 mg의 순수한 Gly2-Suc-VII을 수득하였다.

[0782]

순수한 Gly2-Suc-VII (30 mg)을 5 mL의 DMF 중에 용해시키고, 1.5 당량의 NHS를 첨가한 후, 5 mL의 THF를 첨가하였다. DCC (1.5 당량)를 첨가하여, 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반하였다. 용매를 증발시키고, 조 NHS 에스테르를 DCM 중 0 내지 10% MeOH로 용리되는 실리카 겔 상에서 10분에 걸쳐 플래시 정제하였다. 순수한 분획 (TLC로 결정됨)을 합하고, 증발시켜, 아세토니트릴:물로부터 동결 건조 후 1 mg의 순수한 NHS-Gly2-Suc-VII을 수득하였다.

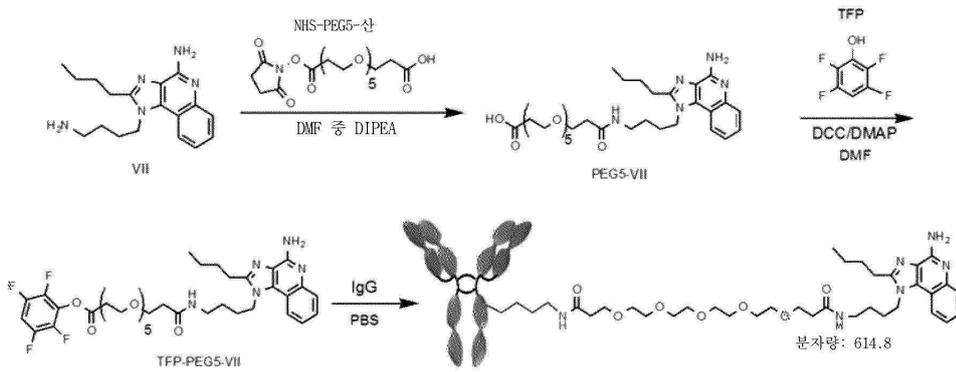
[0783]

순수한 NHS 에스테르를 DMSO 중에 용해시켜 20 mM 용액을 제조하고, 6 당량을 2 mL의 IgG 항체 (구체적으로는, 항-CD20 항체 리툽시맵) (PBS 중 10 mg/mL)에 첨가하였다. 접합 반응물을 실온에서 하룻밤 인큐베이션하고, 신선한 PBS 중으로 완충액 교환하여 과량의 애주번트를 제거하였다. 정제된 면역접합체 BB-15를 멸균 여과하고, 4°C에서 저장하였다. 수율은 약 16 mg이었다. 높은 수율을 갖는 것 외에도, LC/MS 분석은 높은 수준의 순도, 낮은 수준의 응집, 및 바람직한 DAR 비를 나타내었다 (도 5 및 도 6 참조).

[0784]

실시예 11. TFP를 사용한 면역접합체의 합성

[0785] [반응도식 17]



[0786]

[0787] 본 실시예는 TFP 에스테르 방법을 사용한, 상이한 링커를 갖는 면역접합체의 합성에 대한 지침을 제공한다. 애쥬번트의 에스테르 변형 및 항체에 대한 변형된 애쥬번트의 접합은 상기 반응도식 14에 나타나 있다. 화합물 VII (311 mg, 1 mmol)을 10 mL의 DMF 중에 용해시키고, 이어서 0.3 mL의 DIPEA를 첨가하였다. NHS-PEG5-산 (1.2 당량)을 5 mL의 다이클로로메탄 중에 용해시키고, 화합물 VII에 한번에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반하고, 이어서 농축 건조시켰다. 조 잔류물을 1% 아세트산을 함유하는 DCM 중 0 내지 10% MeOH로 용리되는 4 그램 컬럼 상에서의 실리카 겔 크로마토그래피를 통해 10분에 걸쳐 정제하여, 순수한 분획의 농축 후에 260 mg (57% 수율)의 PEG5-VII을 수득하였다.

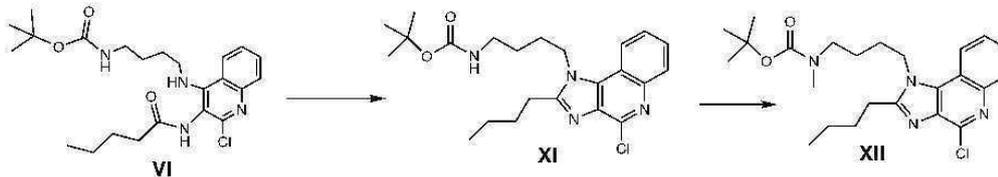
[0788] PEG5-VII (50 mg)을 10 mL의 DMF 중에 용해시키고, 1.5 당량의 TFP를 첨가한 후, 1.2 당량의 DCC 및 5 mg의 DMAP를 첨가하였다. 반응물을 하룻밤 교반하고, 농축 건조시키고, DCM 중 0 내지 10% MeOH로 용리되는 실리카 겔 4 그램 컬럼 상에서 정제하여, 1:2 아세토니트릴:물로부터 동결건조 후에 35 mg의 순수한 TFP-PEG5-VII을 수득하였다.

[0789] TFP 에스테르 (TFP-PEG5-VII)를 DMSO 중에 용해시켜 20 mL 스톱 용액을 제조하고, PBS 중 10 mg/mL의 20 mg의 IgG 항체 (구체적으로는, 항-CD20 항체 리툭시맷)에 첨가하였다. 접합 반응을 실온에서 하룻밤 진행되게 하였다. 생성된 면역접합체를 pH 7.4의 PBS 중으로 완충액 교환하였다 (GE, PD10 탈염 컬럼). 정제된 면역접합체를 2 μm 시린지 필터를 사용하여 멸균 여과하고, 4°C에서 저장하였다. LC/MS 분석은 상기 프로세스가 항체당 2.9개의 애쥬번트의 DAR을 제공하였음을 확인시켜 주었다 (도 7 참조). SEC 분석은 최소량의 응집체 (즉, 2% 미만)를 나타내었다 (도 8 참조).

[0790] 실시예 12. 다른 TLR7/TLR8 애쥬번트의 합성

[0791] 본 실시예는 다른 TLR7/8 애쥬번트를 합성하는 방법에 대한 지침을 제공한다. 화합물 XIV는 실시예 3의 반응도식 8의 화합물 VI으로부터 출발하여 합성하였다.

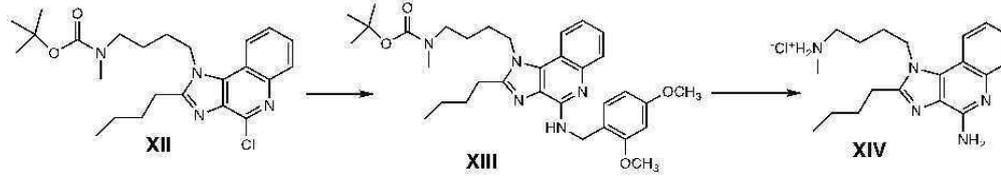
[0792] [반응도식 18]



[0793]

[0794] 화합물 VI (2 g)을 20% 건성 아세트산을 함유하는 톨루엔 중에 용해시키고, 하룻밤 75°C로 가열하였다. 용매를 진공 하에서 제거하여 2 그램의 조 화합물 XI을 수득하였다. 화합물 XI을 추가의 정제 없이 사용하였다. 화합물 XI (2 g)을 20 mL의 DMF 중에 용해시키고, 1.2 당량의 NaH (50% 분산물)를 서서히 첨가하고, 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 메틸 요오다이드 (2 당량)를 한번에 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반하였다. 반응물을 농축 건조시키고, 생성물을 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하였다. 생성물을 15분에 걸쳐 다이클로로메탄 중 0 내지 10% MeOH의 구배로 용리시켰다. 순수한 분획을 합하고, 농축시켜 1 g의 화합물 XII (2개의 단계에 대해 50% 수율)을 수득하였다.

[0795] [반응도식 19]

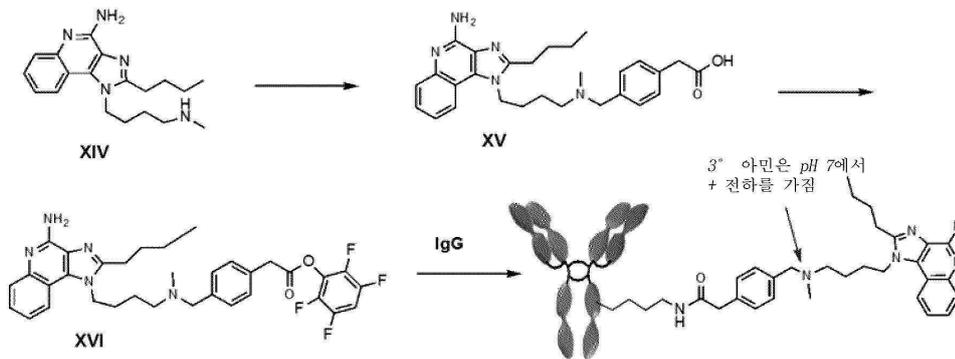


[0796]

[0797] 화합물 XII (10 g)를 10 mL의 무희석 다이메톡시벤질아민 ("DMBA") 중에 용해시키고, 3시간 동안 120°C로 가열하였다. 반응 혼합물을 냉각시키고, 100 mL의 에틸 아세테이트로 희석시켰다. 생성된 용액을 물 중 10% 시트르산으로 2회, 그리고 물로 1회 세척하여 과량의 DMBA를 제거하였다. 유기 층을 MgSO₄로 건조시키고, 진공 하에서 농축시켜, 갈색 오일로서의 조 화합물 XIII을 수득하였다. 조 DMB 유도체, 화합물 XIII을 다이클로로메탄 중에 용해시키고, 다이옥산 중 4 N HCl 2 mL를 첨가하였다. 2시간 후에, 반응 혼합물을 농축 건조시키고, 조 HCl 염 화합물 XIV를 3 mL의 메탄올 중에 용해시켰다. 에틸 에테르 (20 mL)를 교반하면서 조 용액에 서서히 첨가하였으며, 백색 침전물이 형성되었다. 반응물을 여과하고, 백색 고체 생성물을 10 mL의 에틸 에테르로 2회 세척하고, 진공 하에서 건조시켜 4 그램의 HCl 염 화합물 XIV를 수득하였다. LC/MS 분석은 정확한 분자량 (M/z = 326.5) 및 95% 초과 순도를 확인시켜 주었다.

[0798] 실시예 13. TFP 에스테르를 사용한 면역접합체 BB-26의 합성

[0799] [반응도식 20]



[0800]

[0801] 본 실시예는 TFP 에스테르 방법을 사용한, 아릴 3차 아민 링커를 함유하는 면역접합체의 합성에 대한 지침을 제공한다. 실시예 12의 화합물 XIV (300 mg)를 THF (10 mL) 중에 용해시키고, 1.2 당량의 NaH (50% 분산물)를 첨가하였다. 혼합물을 15분 동안 교반하고, 2 당량의 4-브로모메틸페닐 아세트산을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 하룻밤 교반하고, 농축 건조시켰다. 1 mL의 아세트산을 첨가하고, 생성물을 물 중 10 내지 90% 아세토니트릴 (0.1% TFA)의 구배로 용리되는 C-18 컬럼 상에서 분취용 HPLC로 20분에 걸쳐 정제하여 165 mg의 정제된 페닐아세트산 화합물 XV를 수득하였다.

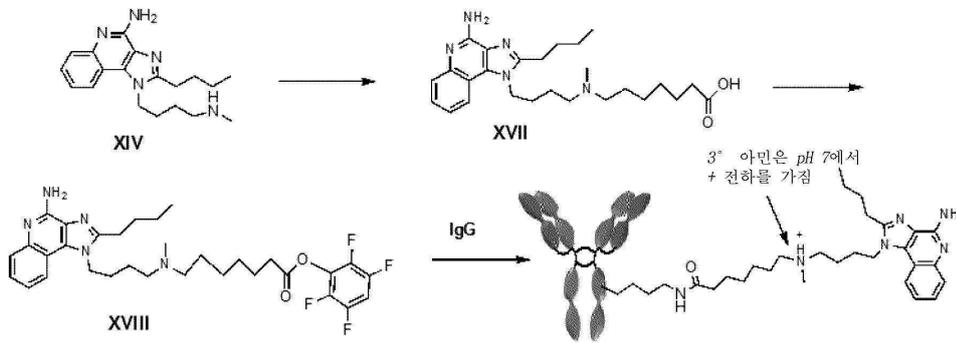
[0802] 화합물 XV (50 mg)를 다이클로로메탄/다이메틸포름아미드 (5 mL, 1:1) 중에 용해시키고, 2 당량의 TFP를 첨가한 후, 1.5 당량의 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필) 카르보다이이미드 ("EDCI")를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 하룻밤 교반하고, 생성물을 0 내지 10% 아이소프로판올로 용리되는 4 그램 실리카 겔 컬럼 상에서의 플래시 크로마토그래피를 통해 10분에 걸쳐 정제하였다. 순수한 분획을 농축시키고, 물 중 30% 아세토니트릴로부터 동결건조시켜, 담황색 고체로서 21 mg의 정제된 TFP 에스테르 화합물 XVI를 수득하였다. 분자량 및 순도가 LC/MS (m/z = 621.7)에 의해 확인되었다.

[0803] 항체에 대한 접합: TFP 에스테르(XVI)를 무수 DMSO 중에 용해시켜 20 mM 스탁 용액을 제조하고, (항체에 대하여) 6 몰당량을 20 mg의 IgG 항체 (구체적으로는, 항-CD20 항체 리툭시맵) (PBS 중 10 mg/mL)에 첨가하였다. 접합 반응물을 4°C에서 하룻밤 인큐베이션하였다. 생성된 면역접합체, BB-26을 PBS (pH 7.2) 중으로 완충액 교환하여 과량의 작은 분자량 시약을 제거하였다. NanoDrop 1000 분광광도계 상에서 280 nm에서 항체를 측정함으로써 최종 농도를 결정하였다. 수율은 15 mg의 BB-26, 또는 회수된 단백질을 기준으로 75%였다. 도 12a에서 알 수 있는 바와 같이, SEC 분석에 의해 검출될 때 최소한의 응집체 (1% 미만)가 관찰되었다. 도 12b에서 알 수 있는 바와 같이, 생성물은 LC/MS 분석을 통해 결정될 때 DAR 비가 2.8이었다. 정제된

면역접합체 BB-26을 0.2 μm 멸균 필터를 통해 여과하고, -20℃에서 저장하였다.

[0804] 실시예 14. TFP 에스테르를 사용한 면역접합체 BB-27의 합성

[0805] [반응도식 21]



[0806]

[0807] 본 실시예는 TFP 에스테르 방법을 사용한, 알킬 3차 아민 링커를 함유하는 면역접합체의 합성에 대한 지침을 제공한다. 화합물 XIV (200 mg)를 메탄올 (20 mL) 중에 용해시키고, 3 당량의 1-포르밀-7-tert-부틸 헵타노에이트를 첨가한 후, 1.1 당량의 NaCNBH₄를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1.5시간 동안 교반하고, 농축 건조시켰다. TFA (5 mL)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반하였다. TFA를 진공 하에서 증발시키고, 조 생성물을 C-18 컬럼 상에서 분취용 HPLC로 정제하였다. 생성물을 20분에 걸쳐 물 중 10 내지 90% 아세트니트릴 (0.1% TFA)의 구배로 용리시켜, 110 mg의 정제된 산 화합물 XVII (이는 LC/MS에 의해 확인됨)를 수득하였다.

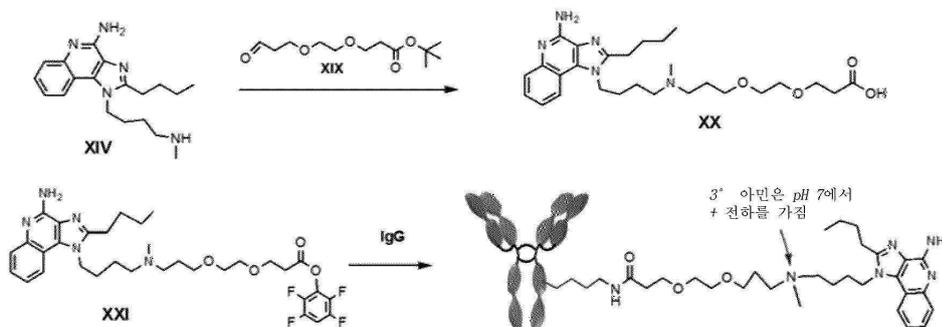
[0808] 화합물 XVII (50 mg)를 다이클로로메탄/다이메틸포름아미드 (5 mL, 1:1) 중에 용해시키고, 2 당량의 TFP를 첨가한 후, 1.5 당량의 EDCI를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 하룻밤 교반하였다. 조 TFP 에스테르 생성물 (XVIII)을 0 내지 10% 아이소프로판올로 용리되는 4 그램 실리카 겔 컬럼 상에서의 플래시 크로마토그래피를 통해 10분에 걸쳐 정제하였다. 순수한 분획을 농축시키고, 잔류물을 물 중 30% 아세트니트릴로부터 동결건조시켜, 백색 고체로서 14 mg의 정제된 TFP 에스테르 화합물 XVIII을 수득하였다. 분자량 및 순도가 LC/MS (m/z = 601.7)에 의해 확인되었다.

[0809] **항체에 대한 접합:** TFP 에스테르(XVIII)를 무수 DMSO 중에 용해시켜 20 mM 스톡 용액을 제조하고, (항체에 대하여) 8 몰당량을 20 mg의 IgG 항체 (구체적으로는, 항-CD20 항체 리톡시맵) (PBS 중 10 mg/mL)에 첨가하였다. 접합 반응물을 4℃에서 하룻밤 인큐베이션하였다. 생성된 면역접합체 BB-27을 PBS (pH 7.2) 중으로 완충액 교환하여 과량의 작은 분자량 시약을 제거하였다. NanoDrop 1000 분광광도계 상에서 280 nm에서 항체를 측정함으로써 최종 농도를 결정하였다. 수율은 16 mg의 면역접합체 BB-27 (80%)였다.

[0810] SEC 분석에 의해 검출될 때 최소한의 응집체 (1% 미만)가 관찰되었다. 생성물은 LC/MS 분석을 통해 결정될 때 DAR 비가 2.5였다. 정제된 BB-27을 0.2 μM 멸균 필터를 통해 여과하고, -20℃에서 저장하였다.

[0811] 실시예 15. TFP 에스테르를 사용한 면역접합체 BB-36의 합성

[0812] [반응도식 22]



[0813]

[0814] 본 실시예는 TFP 방법을 사용한, PEG 3차 아민 링커를 함유하는 면역접합체의 합성에 대한 지침을 제공한다. 화합물 XIV (200 mg)를 메탄올 (20 mL) 중에 용해시키고, 3 당량의 알데하이드(XIX)를 첨가한 후, 1.1 당량의

NaCNBH₄를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하고, 농축 건조시켰다. 트라이플루오로아세트산 (TFA, 10 mL)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. TFA를 진공 하에서 증발시키고, 조 생성물을 C-18 컬럼 상에서 분취용 HPLC로 정제하였다. 생성물을 20분에 걸쳐 물 중 10 내지 90% 아세트오니트릴 (0.1% TFA)의 구배로 용리시켜, 합한 순수한 분획의 동결건조 후에 85 mg의 정제된 산 화합물 XX (이는 LC/MS에 의해 확인됨)을 수득하였다.

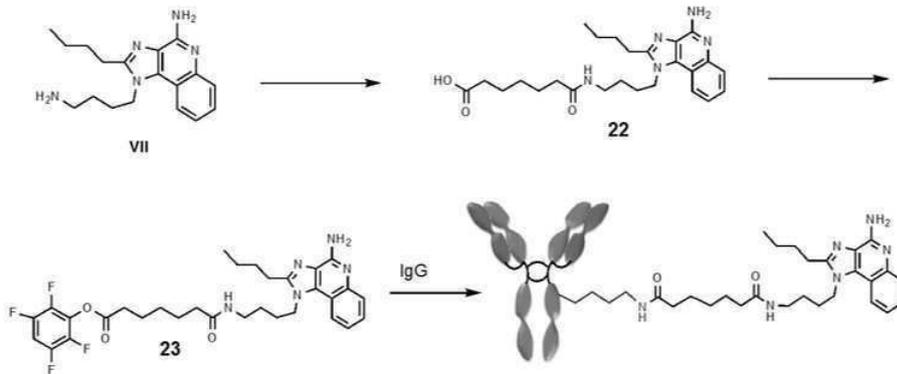
[0815] 화합물 XX (80 mg)을 다이클로로메탄/다이메틸포름아미드 (5 mL, 1:1) 중에 용해시키고, 2 당량의 TFP를 첨가한 후, 1.2 당량의 EDCI를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 하룻밤 교반하였다. 조 TFP 에스테르 생성물(XXI)을 0 내지 10% 아이소프로판올로 용리되는 4 그램 실리카 겔 컬럼 상에서의 플래시 크로마토그래피를 통해 10분에 걸쳐 정제하였다. 순수한 분획을 농축시키고, 잔류물을 물 중 30% 아세트오니트릴로부터 동결건조시켜, 베이지색 고체로서 화합물 XXI의 45 mg의 정제된 TFP를 수득하였다. 분자량 및 순도가 LC/MS (m/z = 647.7)에 의해 확인되었다.

[0816] 항체에 대한 접합: 화합물 XXI의 TFP 에스테르를 무수 DMSO 중에 용해시켜 20 mM 스톱 용액을 제조하고, (항체에 대하여) 8 몰당량을 IgG1 항체 (구체적으로는, 항-CD20 항체 리투시맵) (PBS 중 10 mg/mL)에 첨가하였다. 접합 반응물을 4°C에서 하룻밤 인큐베이션하였다. 생성된 면역접합체 BB-36을 PBS (pH 7.2) 중으로 완충액 교환하여 과량의 작은 분자량 시약을 제거하였다. NanoDrop 1000 분광광도계 상에서 280 nm에서 항체를 측정함으로써 최종 농도를 결정하였다. 수율은 15 mg의 면역접합체 BB-36 (75%)이었으며, 이를 사용할 때까지 4°C에서 저장하였다.

[0817] SEC 분석에 의해 검출될 때 최소한의 응집체 (1% 미만)가 관찰되었다. 생성물은 LC/MS 분석을 통해 결정될 때 DAR 비가 2.2였다. 정제된 면역접합체 BB-36을 0.2 μM 멸균 필터를 통해 여과하고, -20°C에서 저장하였다.

[0818] 실시예 16. TFP 에스테르를 사용한 면역접합체 BB-45의 합성

[0819] [반응도식 23]



[0820]

[0821] 본 실시예는 TFP 에스테르 방법을 사용한, 상이한 링커를 갖는 면역접합체의 합성에 대한 지침을 제공한다. 화합물 VII (311 mg, 1 mmol)을 10 mL의 DMF 중에 용해시키고, 0.3 mL의 DIPEA를 첨가하였다. 별도의 용기 내에서, 1.2 당량의 7-메톡시-7-옥소헵탄산을 5 mL의 DMF 중에 용해시키고, 1.5 당량의 DIPEA를 첨가한 후, HATU (1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 VII에 첨가하고, 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 진공 하에서 농축 건조시키고, 잔류물을 10 mL의 (1:1) 테트라하이드로푸란: 물 중에 용해시켰다. 물 중 2 M 수산화 리튬 1 mL를 첨가하고, 반응물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 회전 증발을 통해 THF를 제거하고, 10 mL의 1 M 염산을 첨가함으로써 수용액을 산성화하였다. 수용액을 다이클로로메탄 (20 mL)으로 2회 추출하고, 유기층을 합하고, 황산마그네슘으로 건조시켰다. 용액을 여과하고, 여과액을 농축 건조시켰다. 조 생성물(22)을 DCM 중 0 내지 10% 아이소프로판올 (1% 아세트산을 함유함)로 용리되는 4 그램 컬럼 상에서 실리카 겔 크로마토 그래피를 통해 10분에 걸쳐 정제하였다. 순수한 분획을 합하고, 농축시켜, 담황색 고체로서 220 mg의 순수한 22를 수득하였다.

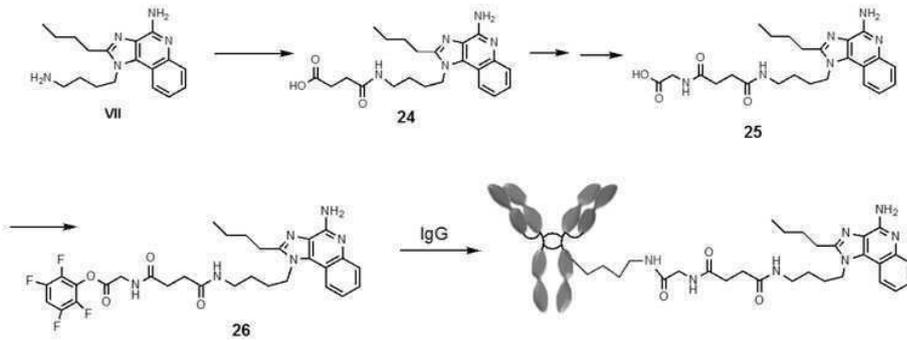
[0822] 화합물 22 (50 mg)를 다이클로로메탄/다이메틸포름아미드 (5 mL, 1:1) 중에 용해시키고, 2 당량의 TFP를 첨가한 후, 1.5 당량의 EDCI를 첨가하였다. 반응물을 22°C에서 하룻밤 교반하고, 조 반응물을 농축 건조시켰다. 생성물을 0 내지 10% 아이소프로판올로 용리되는 4 그램 실리카 겔 컬럼 상에서의 플래시 크로마토그래피를 통해 10분에 걸쳐 정제하였다. 순수한 분획을 농축시키고, 잔류물을 물 중 30% 아세트오니트릴로부터 동결건조시켜, 담

황색 고체로서 21 mg의 정제된 TFP 에스테르(23)를 수득하였다. 분자량 및 순도가 LC/MS에 의해 확인되었다.

[0823] **항체에 대한 접합:** TFP 에스테르(23)를 무수 DMSO 중에 용해시켜 20 mM 스톡 용액을 제조하고, (항체에 대하여) 6 몰당량을 20 mg의 IgG 항체 (구체적으로는, 항-CD20 항체 리투시맵) (PBS 중 10 mg/mL)에 첨가하였다. 접합 반응물을 4°C에서 하룻밤 인큐베이션하였다. 생성된 면역접합체 BB-45를 PBS (pH 7.2) 중으로 완충액 교환하여 과량의 작은 분자량 불순물을 제거하였다. Thermo NanoDrop 1000 분광광도계 상에서 280 nm에서의 흡광도를 측정함으로써 최종 농도를 결정하였다. 수율은 14 mg의 BB-45, 또는 회수된 단백질을 기준으로 70%였다. 최소한의 응집체 (1% 미만)가 SEC 분석에 의해 검출되었으며, LC/MS 분석을 통해 DAR이 2.8인 것으로 결정되었다. 정제된 면역접합체를 0.2 μM 멸균 필터를 통해 여과하고, -20°C에서 저장하였다.

[0824] 실시예 17. TFP 에스테르를 사용한 면역접합체 BB-24의 합성

[0825] [반응도식 24]



[0826] 본 실시예는 TFP 에스테르 방법을 사용한, 상이한 링커를 갖는 면역접합체의 합성에 대한 지침을 제공한다. 화합물 VII (150 mg)을 20 mL의 THF 중에 용해시키고, 10 mL의 포화 중탄산나트륨 수용액을 첨가하였다. 석신산 무수물 (50 mg)을 한번에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 20 mL의 1 N HCl을 서서히 첨가하고, 혼합물을 2 x 50 mL의 다이클로로메탄으로 추출하고, 합한 유기 추출물을 증발 건조시켰다. 조 생성물 (24)을 0 내지 15% MeOH (1% 아세트산)로 용리되는 4 그램 실리카 겔 컬럼 상에서 15분에 걸쳐 정제하였다. 순수한 분획을 합하고, 증발시켜 180 mg의 순수한 24를 수득하였다.

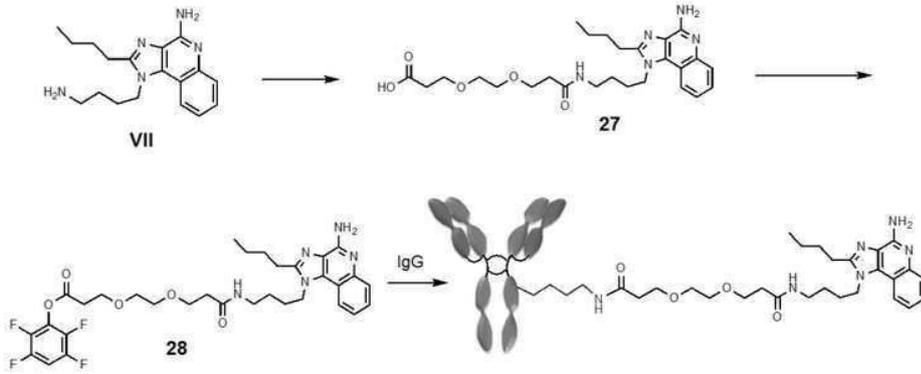
[0828] 150 mg의 24를 DMF (10 mL) 중에 용해시키고, 1 당량의 HATU를 첨가한 후, 2 당량의 DIPEA를 첨가하였다. 1.5 당량의 글리신-OtBu를 첨가하고, 하룻밤 교반하였다. DMF를 증발시키고, 잔류물을 교반하면서 다이옥산 중 1 N HCl 5 mL로 30분 동안 처리하였다. 용매를 증발시키고, 조 잔류물을 0 내지 10% 아이소프로판올로 용리되는 4 그램 실리카 겔 컬럼 상에서 15분에 걸쳐 플래시 정제하였다. 순수한 분획을 증발시켜 110 mg의 순수한 25를 수득하였다.

[0829] 화합물 25 (50 mg)를 10 mL의 DMF 중에 용해시키고, 1.5 당량의 TFP를 첨가한 후, 1.2 당량의 DCC 및 2 mg의 DMAP를 첨가하였다. 반응물을 하룻밤 교반하고, 농축 건조시키고, DCM 중 0 내지 10% IPA로 용리되는 실리카 겔 (4 그램 컬럼) 상에서 정제하여, 1:3 아세토니트릴:물로부터 동결건조 후에 32 mg의 순수한 TFP 에스테르, 화합물 26을 수득하였다.

[0830] **항체에 대한 접합:** TFP 에스테르, 화합물 26을 무수 DMSO 중에 용해시켜 20 mM 스톡 용액을 제조하고, (항체에 대하여) 5 몰당량을 PBS 중 10 mg/mL의 20 mg의 항체에 첨가하였다. 접합 반응물을 4°C에서 6시간 동안 인큐베이션하였다. 생성된 면역접합체 BB-24를 PBS (pH 7.4) 중으로 완충액 교환하여 과량의 작은 분자량 불순물을 제거하였다. NanoDrop 1000 분광광도계 상에서 280 nm에서의 흡광도를 측정함으로써 최종 단백질 농도를 결정하였다. 수율은 15 mg (회수된 단백질을 기준으로 75%)이었다. SEC 분석은 1% 미만의 최소한의 응집체를 검출하였으며, DAR은 LC/MS 분석을 통해 항체당 2.8개의 애쉴벤트인 것으로 결정되었다. 정제된 면역접합체를 0.2 μM 멸균 필터를 통해 여과하고, 필요할 때까지 -20°C에서 저장하였다.

[0831] 실시예 18. TFP 에스테르를 사용한 면역접합체 BB-37의 합성

[0832] [반응도식 25]



[0833]

[0834]

본 실시예는 TFP 방법을 사용한, 상이한 링커를 갖는 면역접합체의 합성에 대한 지침을 제공한다. 화합물 VII (155 mg, 0.5 mmol)을 10 mL의 DMF 중에 용해시키고, 0.2 mL의 DIPEA를 첨가하였다. 별도의 용기 내에서, 1.2 당량의 PEG2-다이카르복실레이트 모노 메틸 에스테르를 5 mL의 DMF 중에 용해시키고, 2 당량의 DIPEA를 첨가한 후, HATU (1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 VII에 첨가하고, 실온에서 1시간 교반하였다. 반응물을 진공 하에서 농축 건조시키고, 잔류물을 THF (5 mL) 중에 용해시켰다. 동일한 부피의 물을 첨가한 후, 2 mL의 1 M LiOH 수용액을 첨가하였다. 혼합물을 하룻밤 교반하고, 이어서 10 mL의 1 N HCl을 첨가하였다. 산성화된 혼합물을 다이클로로메탄으로 2회 추출하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 농축 건조시키고, 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하였다. 생성물을 10분에 걸쳐 0 내지 10% 메탄올로 용리시켰다. 순수한 분획을 합하고, 농축시켜, 담황색 고체로서 110 mg의 순수한 화합물 27을 수득하였다.

[0835]

화합물 27 (50 mg)을 다이클로로메탄/다이메틸포름아미드 (5 mL, 1:1) 중에 용해시키고, 2 당량의 TFP를 첨가한 후, 1.5 당량의 EDCI를 첨가하였다. 반응물을 주위 온도에서 하룻밤 교반하고, 반응물을 농축 건조시켰다. 조 TFP 에스테르(28)를 0 내지 10% 아이소프로판올로 용리되는 4 그램 실리카 겔 컬럼 상에서의 플래시 크로마토그래피를 통해 10분에 걸쳐 정제하였다. 순수한 분획을 농축시키고, 잔류물을 물 중 30% 아세토니트릴로부터 동결건조시켜, 백색 고체로서 41 mg의 정제된 TFP 에스테르(23)를 수득하였다. 분자량 및 순도가 LC/MS에 의해 확인되었다.

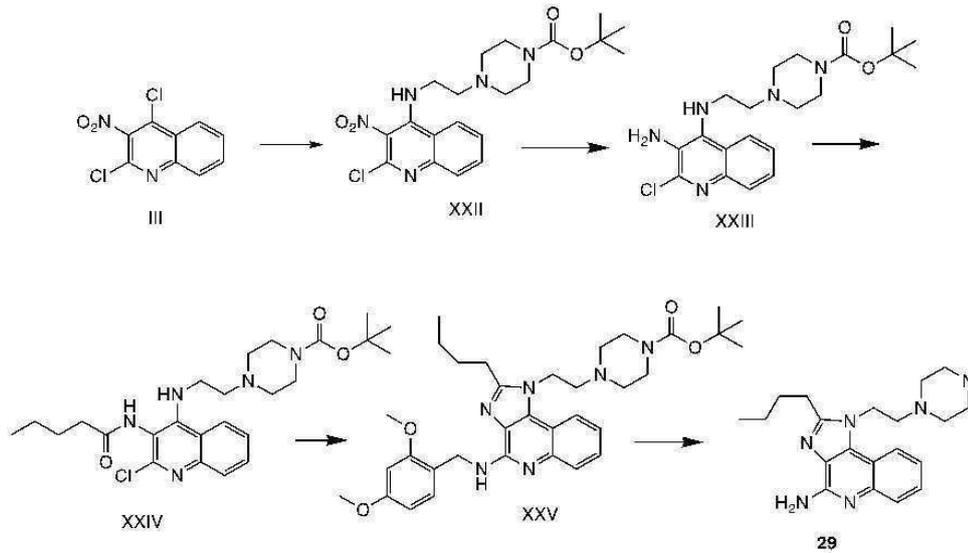
[0836]

항체에 대한 접합: TFP 에스테르(28)를 무수 DMSO 중에 용해시켜 20 mM 스톡 용액을 제조하고, (항체에 대하여) 8 몰당량을 20 mL의 IgG 항체 (구체적으로는, 항-CD20 항체 리툽시맵) (PBS 중 10 mg/mL)에 첨가하였다. 접합 반응물을 4°C에서 하룻밤 인큐베이션하였다. 생성된 면역접합체 BB-37을 PBS (pH 7.2) 중으로 완충액 교환하여 과량의 작은 분자량 불순물을 제거하였다. Thermo NanoDrop 1000 분광광도계 상에서 280 nm에서의 흡광도를 측정함으로써 최종 농도를 결정하였다. 수율은 16 mg의 접합된 면역접합체 BB-37, 또는 회수된 단백질을 기준으로 70%였다. 최소한의 응집체 (1% 미만)가 SEC 분석에 의해 검출되었으며, LC/MS 분석을 통해 DAR이 2.3인 것으로 결정되었다. 정제된 면역접합체를 0.2 μM 멸균 필터를 통해 여과하고, -20°C에서 저장하였다.

[0837]

실시예 19. 다른 TLR7/8 애주번트의 합성

[0838] [반응도식 26]



[0839]

[0840]

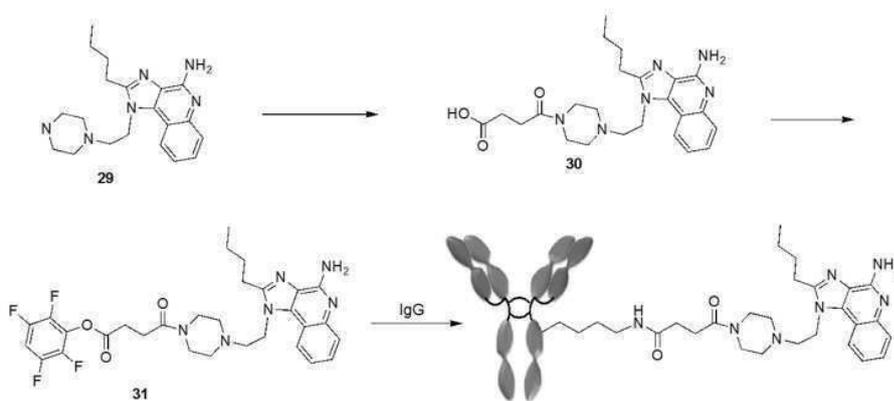
본 실시예는 다른 TLR 효능제의 합성에 대한 지침을 제공한다. 화합물 29는 링커 부착을 위한 피페리진 측쇄를 함유하는 화합물 VII 유사체이다. 이것은 합성 단계 3에서 사용된 Boc-다이아미노부탄 대신 Boc-보호된 피페리진 유사체를 사용한 것을 제외하고는, 화합물 VII의 합성에 대하여 이전에 기재된 방법을 사용하여 합성하였다. 화합물 29에 대한 일반적인 합성 경로는 반응도식 23에 개략적으로 설명되어 있다. 피페리진 측쇄의 부가는 불안정성으로 인해 이전에 접근 불가능했던 면역접합체의 합성을 가능하게 한다. 석시네이트 링커를 함유하는 유사한 화합물 VII 유사체는 TFP 활성화 시에 환화되기 쉽고, 피페리진은 환화를 방지한다. 게다가, 피페리진 모이어티 내의 3차 아미노기는 링커 부착 및 접합 후에 양전하를 유지한다. 이러한 위치에서의 양전하는 개선된 TLR8 효력에 중요하다. 후속으로, 화합물 29를 실시예 19 내지 실시예 21에서 후술되는 바와 같이 면역접합체를 합성하는 데 사용하였다.

[0841]

실시예 20. TFP 에스테르를 사용한 면역접합체 BB-42의 합성

[0842]

[반응도식 27]



[0843]

[0844]

본 실시예는 TFP 에스테르 방법을 사용한, 상이한 링커를 갖는 면역접합체의 합성에 대한 지침을 제공한다. 화합물 29 (100 mg)를 10 mL의 THF 중에 용해시키고, 2 mL의 포화 중탄산나트륨 수용액을 첨가한 후, 10 mL의 물을 첨가하였다. 석신산 무수물 (50 mg)을 한번에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 교반하였다. 1시간 후에, 20 mL의 1 N HCl을 서서히 첨가하고, 반응 혼합물을 50 mL의 다이클로로메탄 ("DCM")으로 2회 추출하였다. 합한 유기 추출물을 증발 건조시켰다. 조 생성물 (30)을 DCM 중 0 내지 15% 아이소프로판올 (1% 아세트산)로 용리되는 4 그램 실리카 겔 컬럼 상에서 15분에 걸쳐 정제하였다. 순수한 분획을 합하고, 증발 건조시켜 80 mg의 순수한 산(30)을 수득하였다.

[0845]

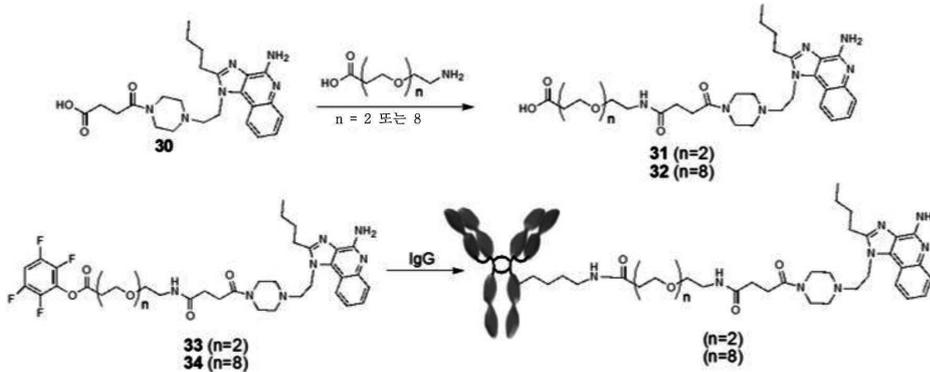
화합물 30 (50 mg)을 다이클로로메탄/다이메틸포름아미드 (5 mL, 1:1) 중에 용해시키고, 2 당량의 TFP를 첨가한 후, 1.5 당량의 EDCI를 첨가하였다. 반응물을 주위 온도에서 하룻밤 교반하고, 반응물을 농축 건조시켰다. 조 TFP 에스테르(31)를 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하고, 10분에 걸쳐 0 내지 10% 아이소프로판올로 용리시

켰다. 순수한 분획을 농축시키고, 잔류물을 물 중 30% 아세트니트릴로부터 동결건조시켜, 백색 고체로서 41 mg의 정제된 TFP 에스테르(31)를 수득하였다. 분자량 및 순도가 LC/MS에 의해 확인되었다.

[0846] TFP 에스테르(31)를 BB-24에 대해 앞서 기재된 바와 같이 IgG1 항체 (구체적으로는, 항-CD20 항체 리툽시맵)에 접합하여 BB-42를 수득하였다. BB-42의 SEC 및 LC/MS 분석은 분자량, 2% 미만의 응집체를 갖는 높은 단량체 순도, 및 1.7의 DAR을 확인시켜 주었다 (도 49a 및 도 49b 참조).

[0847] 실시예 21. TFP 에스테르를 사용한, 면역접합체 BB-43 및 BB-44의 합성

[0848] [반응도식 28]



[0849] 본 실시예는 TFP 에스테르 방법을 사용한, 상이한 링커를 갖는 면역접합체의 합성에 대한 지침을 제공한다. 화합물 30 (반응도식 25)을 2개 또는 8개의 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 단위를 함유하는 PEG 링커에 결합하여 애주번트와 항체 사이의 거리를 연장하였다. 링커 부착 및 TFP 활성화에 대해 앞서 기재된 프로토콜을 사용하여 PEG 링커 연장의 부착을 수행하였다. 간략하게 말하면, 100 mg의 화합물 30을 10 mL의 DMF 중에 용해시키고, 0.2 mL의 DIPEA를 첨가한 후, HATU (1.2 당량)를 첨가하였다. 1시간 후에, 적절한 아미노 PEG 링커 (n = 2 또는 8)를 첨가하고, 실온에서 추가 2시간 교반하였다. 반응 혼합물을 진공 하에서 농축 건조시키고, 잔류물을 물 중 10 내지 90% 아세트니트릴로 용리되는 C-18 컬럼 상에서 분취용 HPLC를 통해 30분에 걸쳐 정제하였다. 순수한 분획을 합하고, 동결건조시켜, 투명한 유리질 물질로서 65 mg 및 45 mg의 중간체 31 또는 중간체 32를 수득하였다.

[0851] 앞서 기재된 프로토콜을 사용하여, 화합물 31 및 화합물 32를 상응하는 TFP 에스테르 33 및 34로 전환시켰다. 유리산(31 또는 32) (50 mg)을 다이클로로메탄/다이메틸포름아미드 (5 mL, 1:1) 중에 용해시키고, 2 당량의 TFP를 첨가한 후, 1.5 당량의 EDCI를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반하고, 농축 건조시켜 조 TFP 에스테르(33 및 34)를 수득하였다. 조 TFP 에스테르를 0 내지 10% 아이소프로판올로 용리되는 실리카 겔 상에서의 플래시 크로마토그래피를 통해 10분에 걸쳐 정제하였다. 순수한 분획을 농축시키고, 잔류물을 물 중 30% 아세트니트릴로부터 동결건조시켜, 투명한 고체로서 정제된 TFP 에스테르(33 및 34)를 수득하였다. 순수한 화합물의 분자량 및 순도가 LC/MS에 의해 확인되었다.

[0852] 항체에 대한 접합: TFP 에스테르(33 및 34)를 앞서 기재된 프로토콜을 사용하여 IgG1 항체 (구체적으로는, 항-CD20 항체 리툽시맵)에 접합하였다. TFP 에스테르를 무수 DMSO 중에 용해시켜 20 mM 스톡 용액을 제조하고, (항체에 대하여) 8 몰당량을 PBS 중 10 mg/mL의 20 mg의 IgG 항체에 첨가하였다. 접합 반응물을 4°C에서 12시간 동안 인큐베이션하였다. 생성된 면역접합체 BB-43 및 BB-44를 PBS (pH 7.4) 중으로 완충액 교환하여 과량의 작은 분자량 불순물을 제거하였다. NanoDrop 1000 분광광도계 상에서 280 nm에서의 흡광도를 측정함으로써 최종 단백질 농도를 결정하였다. 수율은 회수된 단백질을 기준으로 75%였다. SEC 분석은 최소한의 응집체가 존재하는 것으로 검출하였으며, 항체당 1.0개 및 1.7개의 애주번트의 DAR이 LC/MS 분석을 통해 결정되었다. 정제된 면역접합체를 0.2 μM 멸균 필터를 통해 여과하고, 필요할 때까지 -20°C에서 저장하였다.

[0853] 실시예 22. 시험관내에서의 면역접합체 활성의 평가

[0854] 인간 항원 제시 세포의 단리. CD14, CD16, CD40, CD86, CD123, 및 HLA-DR에 대한 단일클론 항체를 함유하는 RosetteSep 인간 단핵구 풍부 카테일 (Stem Cell Technologies)을 사용하여 밀도 구배 원심분리에 의해, 건강한 혈액 공여자 (Stanford Blood Center)로부터 얻은 인간 말초 혈액 단핵 세포로부터 인간 항원 제시 세포 (APC)를 음성 선택하였다. 후속으로, CD14, CD16, CD40, CD86, CD123, 및 HLA-DR에 대한 단일클론 항체를 함

유하는, CD16 고갈이 없는 EasySep 인간 단핵구 풍부 키트를 사용하여 음성 선택을 통해 97% 초과로 순도로 미성숙 APC를 정제하였다.

- [0855] *중양 세포의 제조.* 중양 세포를 1 내지 10×10^6 개 세포/mL로 0.1% 소태아 혈청 (FBS)을 사용하여 PBS 중에 재현탁시켰다. 후속으로, 세포를 $2 \mu\text{M}$ CFSE와 함께 인큐베이션하여 $1 \mu\text{M}$ 의 최종 농도를 생성하였다. 10% FBS를 함유하는 10 mL의 완전 배지를 첨가하여 2분 후에 반응을 종료시키고, 완전 배지로 1회 세척하였다. 세포를 2% 파라포름알데하이드 중에 고정시키고 PBS로 3회 세척하거나, 또는 고정되지 않은 채로 둔 후에 10% DMSO, 20% FBS 및 70% 배지 중에서 세포를 동결시켰다.
- [0856] *APC-중양 공동-배양물.* 10% 소태아 혈청, 100 U/mL 페니실린, $100 \mu\text{g/mL}$ 스트렙토마이신, 2 mM L-글루타민, 소듐 피루베이트, 비필수 아미노산, $50 \mu\text{M}$ 2-ME가 보충된 IMDM 배지 (Gibco)가 담긴 96-웰 플레이트 (Corning) 내에서, 2×10^5 개의 APC를 6.5×10^5 개의 동종이계 CFSE-표지 중양 세포, 및 지시된 경우, 다양한 농도의 비접합된 CD20 항체와 함께 또는 이들 없이 인큐베이션하였다. 세포 및 무세포 상층액을 유세포측정 또는 ELISA를 통해 18시간 후에 분석하였다.
- [0857] 본 검정의 결과가 BB-17 및 BB-01에 대하여 도 38a 내지 도 38f에 나타나 있다. 구체적으로, 그래프는 반응도식 11 및 반응도식 14에 따라 제조된 BB-17 및 BB-01은 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군, 비접합된 CD20 항체는 그렇지 않음을 나타낸다. 또한, 도 52a 내지 도 52d는 CD14, CD20, CD86, 및 HLA-DR이 나타내는 바와 같이 BB-14는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. 도 53a 내지 도 53d는 CD14, CD20, CD86, 및 HLA-DR이 나타내는 바와 같이 BB-15는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. 도 54a 내지 도 54d는 CD14, CD20, CD86, 및 HLA-DR이 나타내는 바와 같이 BB-27은 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. 도 55a 내지 도 55d는 CD14, CD20, CD86, 및 HLA-DR이 나타내는 바와 같이 BB-45는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다. 도 56a 내지 도 56d는 CD14, CD20, CD86, 및 HLA-DR이 나타내는 바와 같이 BB-24는 골수성 활성화를 유도하는 반면, 대조군은 그렇지 않음을 나타낸다.
- [0858] 실시예 23. BB-01 대 비교용 접합체 IRM1 및 비교용 접합체 IRM2의 비교
- [0859] 앞서 설명된 바와 같이, 면역접합체는 미국 특허 제8,951,528호 (" '528 특허")에 기재되어 있다. 본 실시예는 본 발명의 면역접합체가 '528 특허에 의해 개시된 면역접합체보다 월등함을 나타낸다. BB-01을 반응도식 15에 따라 합성하였다. 비교용 접합체 IRM1 및 IRM2는 애쥬번트 IRM1 및 IRM2로서 '528 특허에 기재된 애쥬번트를 사용하여 제조하였다. 구체적으로, IRM1 및 IRM2는 아미드 링커를 사용하여 IgG 항체 (구체적으로는, 항-CD20 항체 리툽시맙)에 접합하였다.
- [0860] BB-01 및 비교용 접합체 IRM1 및 IRM2를 실시예 9의 검정을 사용하여 분석하였다. 결과가 도 10a 내지 도 10f 및 도 11a 내지 도 11c에 나타나 있다. 구체적으로, 도 10a 내지 도 10f는 반응도식 11에 따라 제조된 BB-01은 골수성 활성화를 유도하는 반면, 비교용 접합체 IRM1 및 IRM2, 및 대조군, 비접합된 CD20 항체는 그렇지 않음을 나타낸다. 또한, 도 11a 내지 도 11c는 반응도식 11에 따라 제조된 BB-01은 사이토카인 분비를 유도하는 반면, 비교용 접합체 IRM1 및 IRM2, 및 대조군, 비접합된 CD20 항체는 그렇지 않음을 나타낸다.
- [0861] 비교용 접합체 IRM1 및 IRM2는 LC/MS에 의해 결정된 바와 같이 과도한 응집을 가졌다. 도 44a 내지 도 44c는 $0.2 \mu\text{M}$ 필터에 의한 여과 후의 크기 배제 크로마토그래피의 결과를 나타낸다. 비교용 접합체 IRM1은 4% 응집을 가졌으며, 4.5분에서 첫 번째 피크로 나타났다. 비교용 접합체 IRM2는 9.5% 응집을 가졌으며, 4.5분에서 첫 번째 피크로 나타났다. 대조적으로, BB-01은 소량의 응집을 가졌다. 이러한 차이는 IRM1 및 IRM2가 갖는 티올화된 중간체에 부분적으로 기인하는데, 이러한 티올화된 중간체는 BB-01의 합성에는 필요하지 않다.
- [0862] BB-01 및 비교용 접합체 IRM1 및 IRM2를 또한 저장 안정성에 대해 시험하였다. 합성 후, 접합체를 수 시간 동안 15 mL 원추형 튜브 내에 저장하였다. 저장 후, 비교용 접합체 IRM2가 담긴 튜브는 튜브의 바닥에 큰 백색 고체 응집체를 가졌다. BB-01 및 비교용 접합체 IRM1이 담긴 튜브는 투명한 유체만을 함유하였고 어떠한 침강도 갖지 않았다.
- [0863] 실시예 24. 항-화합물 1 항체의 생성
- [0864] KLH (ThermoFisher, 제품 #77600) 또는 소혈청 알부민 (ThermoFisher, 제품 #29130)을 아민-반응성 화학을 사용하여 화합물 1에 접합하였다.

- [0865] 토끼 항체를 생성하기 위하여, 토끼의 발바닥에 완전 프로인트 애주번트(Complete Freund's adjuvant) 중에서 제형화된 200 ug의 KLH-화합물 1 접합체를 주사함으로써 토끼를 면역화하였다. 첫 번째 투여 후 14, 28 및 42 일째에 추가 100 ug의 면역원 접합체로 동물을 부스팅하였다. 혈액을 일수 35 및 49에 수집하고, 혈청을 단리하고, 항-화합물 1 항체에 대하여 ELISA에 의해 스크리닝하였다. ELISA 플레이트를 BSA-화합물 1 접합체로 코팅하고, 퍼옥시다제-접합된 항-토끼 IgG (Jackson Immunoresearch, 제품 #111-035-144)를 사용하여 항체를 검출하였다.
- [0866] 무린 항체를 생성하기 위하여, C57BL/6 마우스에 100 ug의 화합물 1 접합체를 정맥내 주사한 후, 첫 번째 투여 후 6, 12 및 24일째에 반복 용량을 주사하였다. 투여 후 12 및 24일째에 혈액을 수집하고, 항-화합물 1 항체에 대하여 ELISA에 의해 혈청을 스크리닝하였다. 항체의 충분한 검출 후에, 혈액, 비장 및 림프절을 수집하고, 단일 세포 현탁액 중에 수집하였다. 후속으로, B 세포를 음성 선택에 의해 단리하고, FACS를 사용하여 분류하였다. BSA-화합물 1 접합체 및 형광 표지된 스트렙타비딘을 사용하여 측정될 때, IgG에 대해서는 양성으로 염색되고, IgM 및 IgD에 대해서는 음성으로 염색되고, 화합물 1 결합에 대해서는 양성으로 염색되는 B 세포를 수집하였다. 단리된 B 세포를 완전 배지 중에서 2회 세척하고, 이어서 제조사의 사용설명서에 따라 폴리에틸렌 글리콜 1500 (Roche, 제품 #10 783 641 001)을 사용하여 SP20 골수종 세포와 융합하였다. SP20 골수종 세포를 10% FBS, 글루타민 및 페니실린 스트렙토마이신이 보충된 DMEM 중에서 융합 전에 유지하였다. 융합된 세포를 편평한 96웰 플레이트 내에서 웰당 대략 100,000개의 세포로 플레이트팅하였다. 1 내지 2일의 인큐베이션 후에, HAT 보충물 및 IL-6을 배지에 첨가하였다 (ThermoFisher 제품 #21060017 및 Gibco 제품 #PHC0065). 배지를 10 내지 14일 후에 샘플링하고, 앞서 기재된 바와 같이 ELISA로 스크리닝하여, 항-화합물 1 항체를 측정하였다. 양성 클론을 증폭시키고, 제한 희석에 의해 서브클로닝하고, 추가로 스크리닝하여 항체 생성을 확인하고, 후속으로 하이브리도마를 동결보존하였다. 하이브리도마를 10% 완전 배지 및 90% 하이브리도마-SFM (Gibco, 제품 #12045076) 중에서 5% CO₂ 하에서 37°C에서 조직 배양 처리 플라스크 내에서 성장시켰다. 배지를 100% 하이브리도마-SFM으로 대체하고, 세포를 추가 3 내지 6일 동안 배양하였다. 배지를 수집하고, 0.22 um 필터를 통해 여과하였다. 항체를 Hi-Trap Mabselect 킬럼 (GE Life Sciences, 제품 #28-4082-53)을 사용하여 정제하고, 투석에 의해 또는 탈염 킬럼을 통해 멸균 PBS 중으로 완충액 교환하였다.
- [0867] 실시예 25: ELISA를 통한 접합의 검출
- [0868] 5가지 경우에, 항체 작제물의 접합 상태는 생성물 불균일성으로 인해 LC/MS를 통해 해명될 수 없었다. 접합이 성공적이었는지를 결정하기 위하여, ELISA 검정을 이용하였다. 항체 상의 애주번트의 존재를 검출하는 데 사용된 항체는 실시예 18에 기재된 항-화합물 1 항체였다.
- [0869] 도 132a 내지 132h는 접합이 설투시맵 면역접합체, 에타너셉트 네이키드 항체, 에타너셉트 면역접합체, 이필리무맙 면역접합체, 및 오비누투주맙 면역접합체의 경우에 성공적이었음을 나타낸다.
- [0870] 실시예 26. 인간 Ig-Fc의 인간 IgG에 결합된 화합물 1의 ELISA 검출
- [0871] Maxysorp ELISA 플레이트 (Fisher 44-2404-21)를 1 ug/ml 염소 항-인간 IgG (Jackson Immunoresearch)로 하룻밤 코팅하였다. 플레이트를 1% BSA (Sigma A7030)를 함유하는 PBS로 차단하고, 적정량(titration)의 지시된 항체 또는 상응하는 볼트바디 (BB-01) 접합체와 함께 인큐베이션하였다. 결합된 항체를 퍼옥시다제 접합된 염소 항-인간 IgG (Jackson), 또는 화합물 1에 대한 마우스 단일클론 항체, 이어서 퍼옥시다제 접합된 염소 항-마우스 IgG (Fc 단편 특이적)를 사용하여 검출하였다. TMB를 웰에 첨가하고, TMB 정지 용액 (Fisher NC1291012)을 사용하여 반응을 중단한 후에 450 nM에서의 흡광도를 측정하였다.
- [0872] 실시예 27. 래트-항-텍틴 2에 결합된 화합물 1의 ELISA 검출
- [0873] Maxisorp ELISA 플레이트 (Fisher 44-2404-21)를 1 ug/ml 래트 항-텍틴-2 (Invivogen) 또는 BB-01 래트 항-텍틴-2로 하룻밤 코팅하였다. 플레이트를 1% BSA (Sigma A7030)를 함유하는 PBS로 차단하고, 총 IgG 검출을 위하여 적정량의 퍼옥시다제 접합된 염소 항-마우스 IgG (중쇄 및 경쇄 특이적) (Jackson 115-035-003)와 함께, 또는 볼트바디 검출을 위하여 적정량의 토끼 항-화합물 1 항혈청과 함께 인큐베이션하였다. 인간, 마우스 및 래트 혈청 단백질 (Jackson 111-035-144)과의 최소한의 교차 반응성을 갖는 퍼옥시다제 접합된 염소 항-토끼 IgG를 사용하여 토끼 항-화합물 1을 검출하였다. TMB를 웰에 첨가하고, TMB 정지 용액 (Fisher NC1291012)을 사용하여 반응을 중단한 후에 450 nM에서의 흡광도를 측정하였다.
- [0874] 전술한 내용이 명확성 및 이해를 위해 예시 및 예로서 다소 상세하게 설명되어 있지만, 당업자는 소정의 변경 및 변형이 첨부된 청구범위의 범주 내에서 실시될 수 있음을 이해할 것이다. 게다가, 본 명세서에 제공된 각각

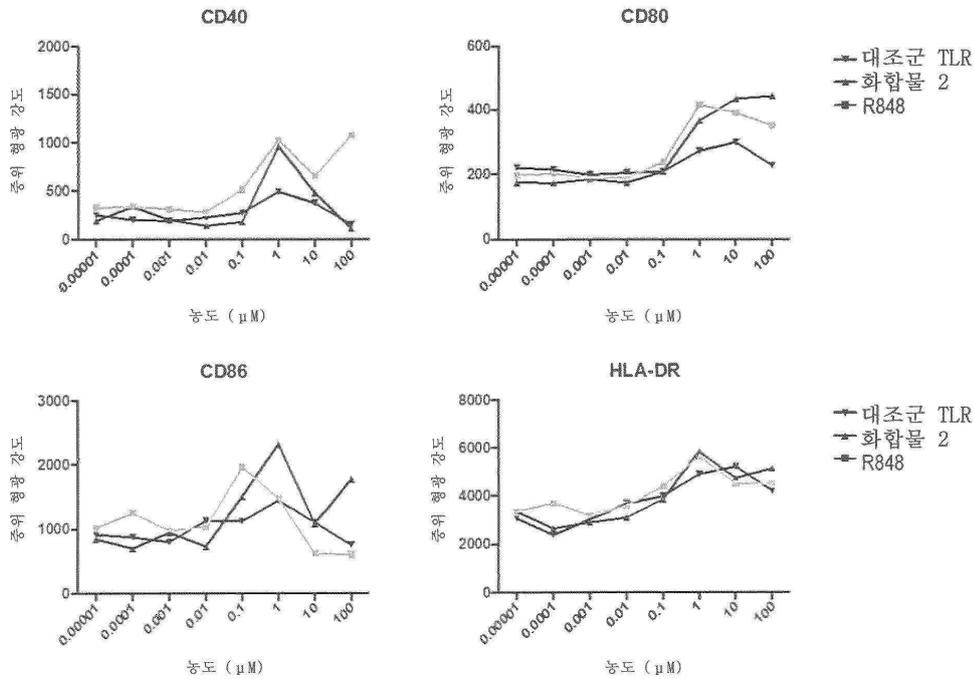
의 참고문헌은, 마치 각각의 참고문헌이 개별적으로 참고로 포함되는 것처럼 그와 동일한 정도로 전체적으로 참고로 포함된다.

- [0875] 실시예 28. 단백질 A 결합 활성을 결정하기 위한 방법
- [0876] 리톡시맵 또는 리톡시맵 BB-37 (100 u1, PBS 중 50 ug/ml)의 2개의 반복 샘플을 하룻밤 회전하면서 12.5 u1의 단백질 A 세파로스 비드 (ThermoFisher 22810)와 함께 인큐베이션하였다. 비드를 원심분리에 의해 펠릿화하고, 상층액을 제거하고, 잔류 액체를 미세 피펫 팁을 사용하여 비드로부터 제거하였다. 비환원성 Laemmli 샘플 완충액 (100 u1)을 비드에 첨가하였다. 비드 및 상층액을 5분 동안 90℃로 가열하고, 동일한 분획들을 SDS-PAGE (4 내지 12% NUPAGE 겔, MOPS 완충액)에 의해 분석한 후, 쿠마시(Coomassie) (GelCode™ 블루, ThermoFisher)로 염색하였다. 분자량 표준물은 SeeBlue® Plus 2 마커 (ThermoFisher LC5925)이다. 도 133c에서 알 수 있는 바와 같이, 리톡시맵 BB-37에서의 단백질 A 결합의 보존은 FcRN 결합의 보존을 시사한다.
- [0877] 실시예 29. CD16a에 대한 결합 활성을 결정하기 위한 방법
- [0878] Maxysorp ELISA 플레이트를 1.5 ug/ml의 재조합 인간 CD16a 단백질 (R&D Systems 4325-FC-050)로 하룻밤 코팅하였다. 플레이트를 1% BSA를 함유하는 PBS로 차단하고, 적정량의 항체 또는 항체 면역결합체와 함께 인큐베이션하였다. 결합된 항체를 퍼옥시다제 접합된 AffiniPure F(ab')₂ 단편 염소 항-인간 IgG (Jackson 109-036-003)를 사용하여 검출하였다. TMB (Fisher PI34028)를 웰에 첨가하고, TMB 정지 용액 (Fisher NC1291012)을 사용하여 반응을 중단한 후에 450 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 도 133a에서 알 수 있는 바와 같이, 리톡시맵의 어글리코실 돌연변이체는 감소된 결합을 나타내는데, 이는 이펙터 기능의 글리코실화의 역할과 일치한다.
- [0879] 실시예 30. CD64에 대한 결합 활성을 결정하기 위한 방법
- [0880] Maxysorp ELISA 플레이트를 1.5 ug/ml의 재조합 인간 CD64 단백질 (R&D Systems)로 하룻밤 코팅하였다. 플레이트를 1% BSA를 함유하는 PBS로 차단하고, 적정량의 리톡시맵 또는 리톡시맵 면역결합체 (리톡시맵 BB-01)와 함께 인큐베이션하였다. 결합된 항체를 퍼옥시다제 접합된 AffiniPure F(ab')₂ 단편 염소 항-인간 IgG (Jackson 109-036-003)를 사용하여 검출하였는데, 이때 TMB 발색을 사용하여, 반응을 중단한 후에 450 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 도 133b에서 알 수 있는 바와 같이, 리톡시맵은 PNGase F의 사용으로 탈글리코실화되었으며, CD64에 대한 손상된 결합을 나타낸다.
- [0881] 본 명세서에 인용된 간행물, 특허 출원, 및 특허를 포함하는 모든 참고 문헌은 마치 각각의 참고문헌이 개별적으로 그리고 구체적으로 참고로 포함되는 것으로 지시된 것처럼 그리고 본 명세서에 전체적으로 기재된 것처럼 그와 동일한 정도로 본 명세서에 참고로 포함된다.
- [0882] 본 발명을 설명하는 맥락에서 (특히 하기의 청구범위의 맥락에서) 용어 단수형 ("a" 및 "an" 및 "the") 및 "적어도 하나" 및 유사한 지시대상의 사용은, 본 명세서에 달리 지시되지 않거나 맥락에 의해 명확히 모순되지 않는 한, 단수 및 복수 둘 모두를 포함하는 것으로 해석되어야 한다. 하나 이상의 항목의 목록 뒤에 나오는 용어 "적어도 하나" (예를 들어, "A 및 B 중 적어도 하나")의 사용은, 본 명세서에서 달리 지시되지 않거나 맥락에 의해 명확히 모순되지 않는 한, 열거된 항목들로부터 선택되는 하나의 항목 (A 또는 B) 또는 열거된 항목들 중 2개 이상의 임의의 조합 (A 및 B)을 의미하는 것으로 해석되어야 한다. 용어 "포함하는", "갖는", "구비하는", 및 "함유하는"은 달리 언급되지 않는 한 개방형(open-ended) 용어 (즉, "포함하지만 이로 한정되지 않는"을 의미함)로 해석되어야 한다. 본 명세서에서 값의 범위의 언급은, 본 명세서에 달리 지시되지 않는 한, 단지 그 범위 내에 속하는 각각의 별개의 값을 개별적으로 지칭하는 약칭 방법으로서의 역할을 하도록 의도되며, 각각의 별개의 값은 본 명세서에 개별적으로 인용된 것처럼 본 명세서에 포함된다. 본 명세서에 설명된 모든 방법은 본 명세서에 달리 지시되지 않거나 맥락에 의해 달리 명확히 모순되지 않는 한 임의의 적합한 순서대로 수행될 수 있다. 본 명세서에 제공된 임의의 그리고 모든 예, 또는 예시적인 표현 (예를 들어, "예컨대")의 사용은 단지 본 발명을 더 잘 조명하도록 의도되며, 달리 주장되지 않는 한 본 발명의 범주에 대한 제한을 제기하지 않는다. 본 명세서 내의 어떠한 표현도 본 발명의 실시예 본질적인 것으로서의 임의의 청구되지 않은 요소를 나타내는 것으로 해석되어서는 안 된다.
- [0883] 본 발명을 수행하기 위한 본 발명자들에게 공지된 최상의 양태를 포함한 본발명의 바람직한 실시 형태가 본 명세서에 기재되어 있다. 그러한 바람직한 실시 형태의 변형이 진술한 설명을 읽을 때 당업자에게 명백해질 수 있다. 본 발명자들은 적절한 경우 당업자가 그러한 변형을 사용할 것으로 예상하며, 본 발명자들은 본 발명이 본 명세서에 구체적으로 기술된 것과 다른 방식으로 실시되도록 의도한다. 따라서, 본 발명은 적용가능한 법적

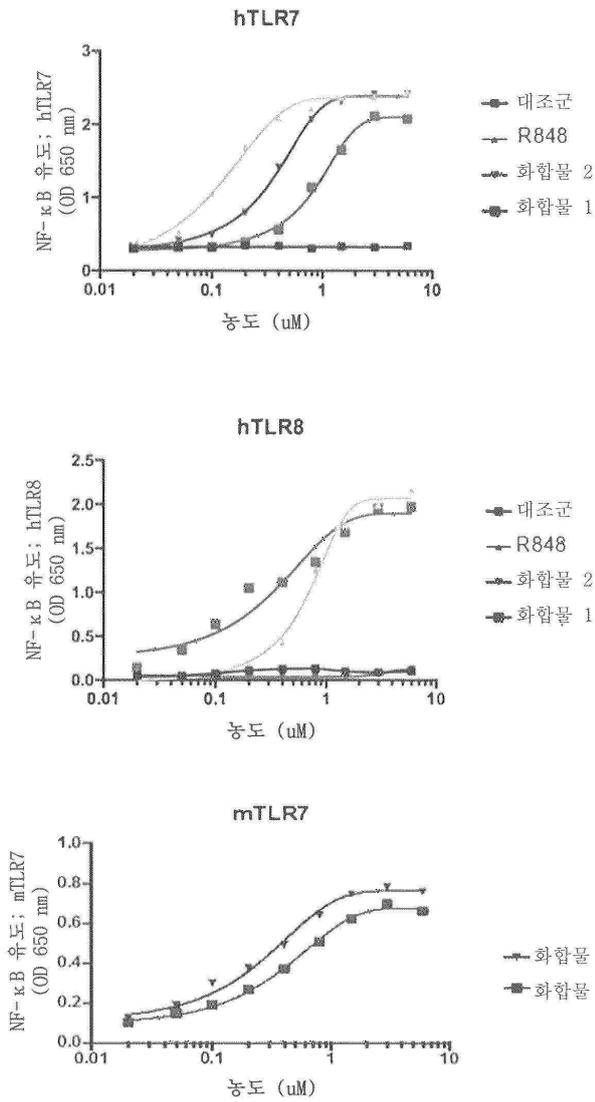
에 의해 허용될 때 본 명세서에 첨부된 청구범위에 인용된 주제의 모든 변형 및 등가물을 포함한다. 더욱이, 진술된 요소들의 모든 가능한 변형에서의 임의의 조합은 본 명세서에 달리 지시되지 않거나 맥락에 의해 달리 명확히 모순되지 않는 한 본 발명에 의해 포함된다.

도면

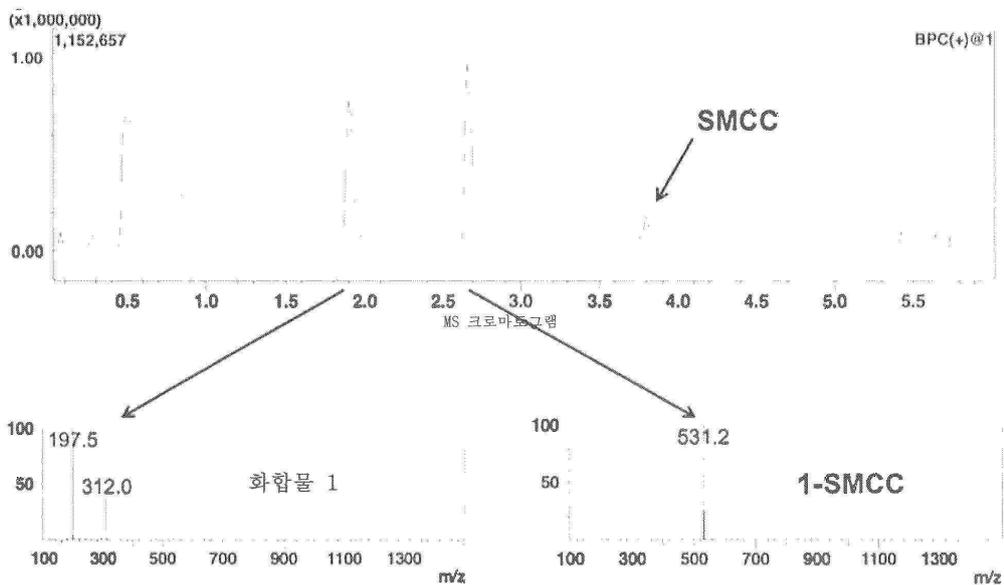
도면1



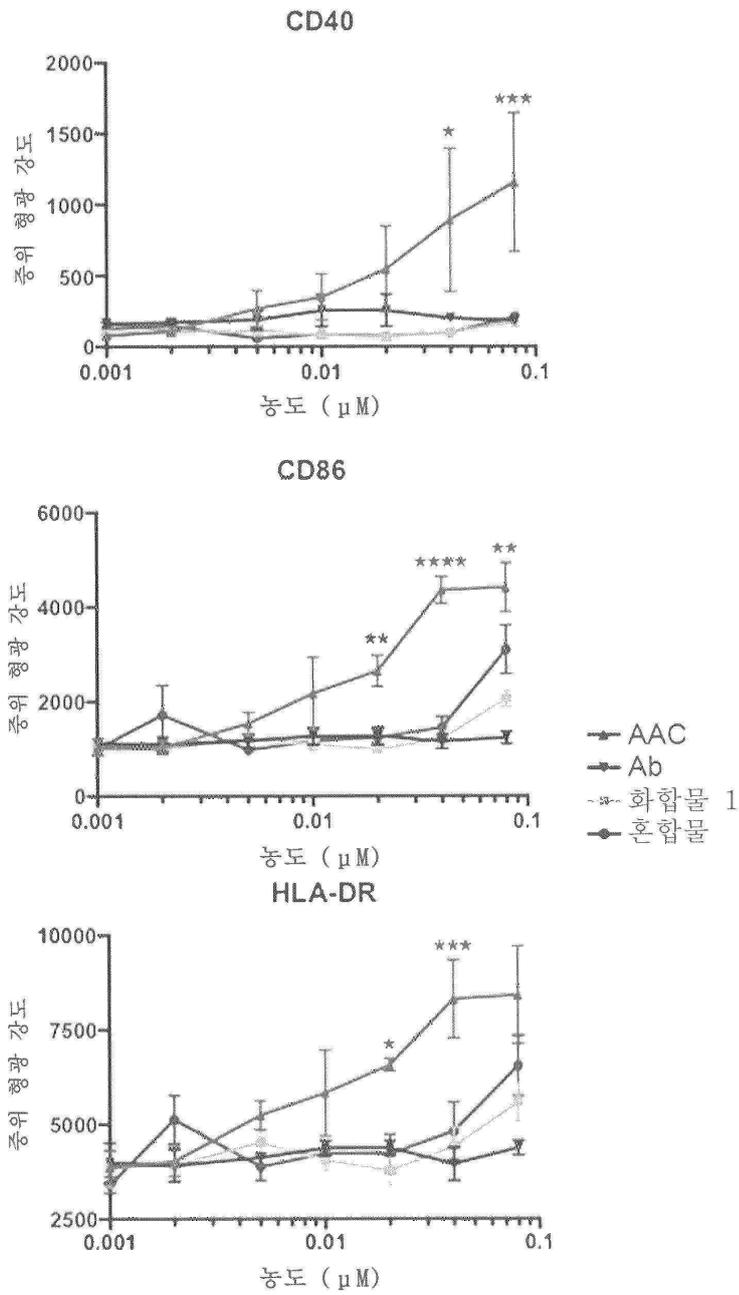
도면2



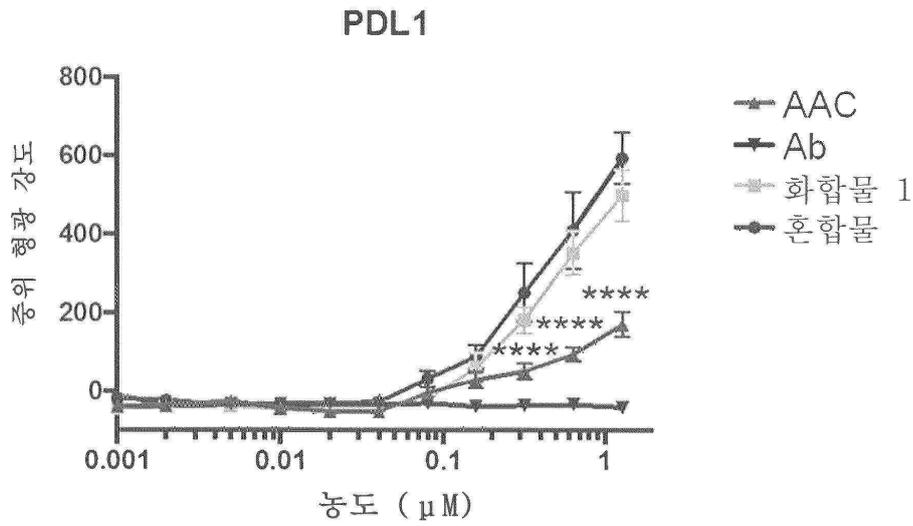
도면3



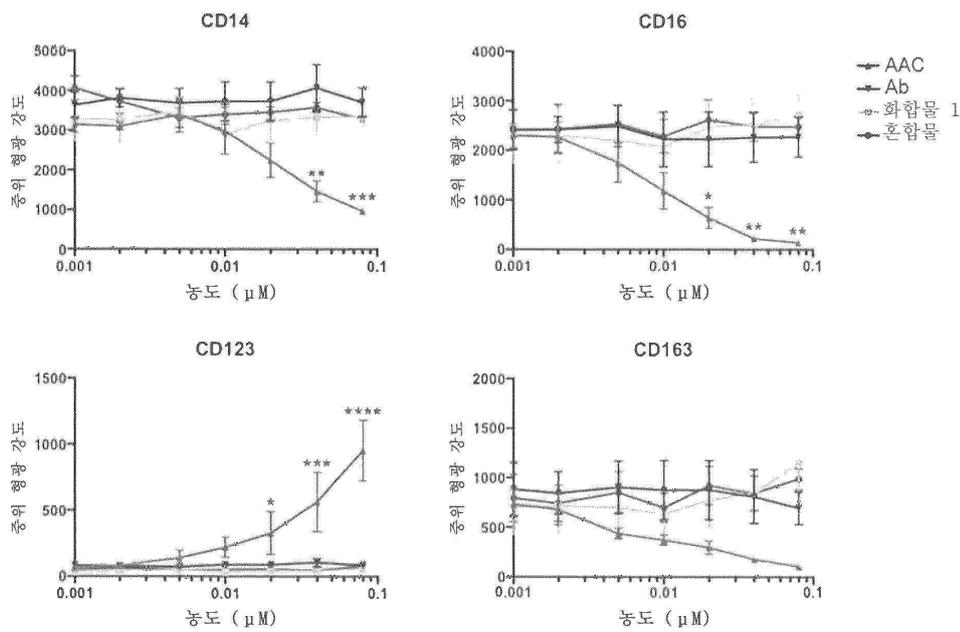
도면4



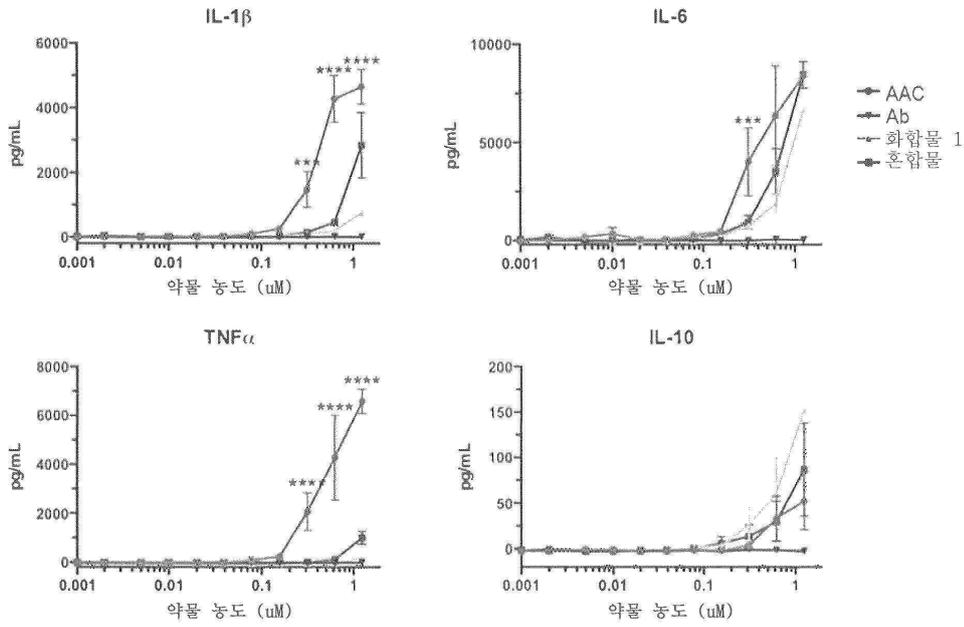
도면5



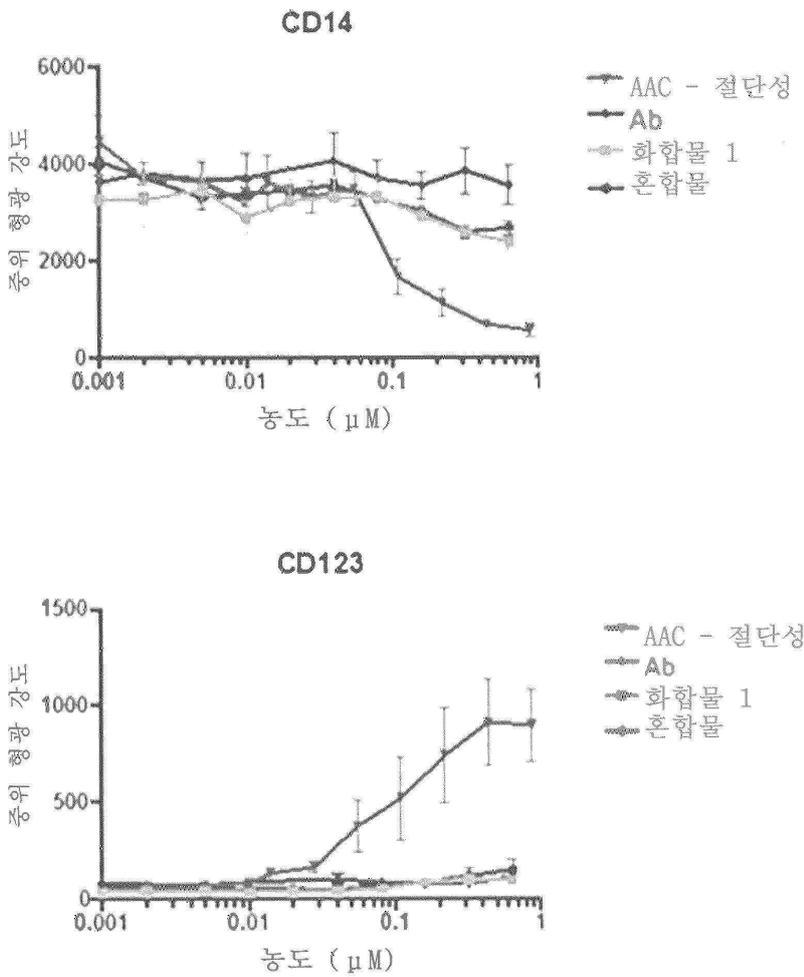
도면6



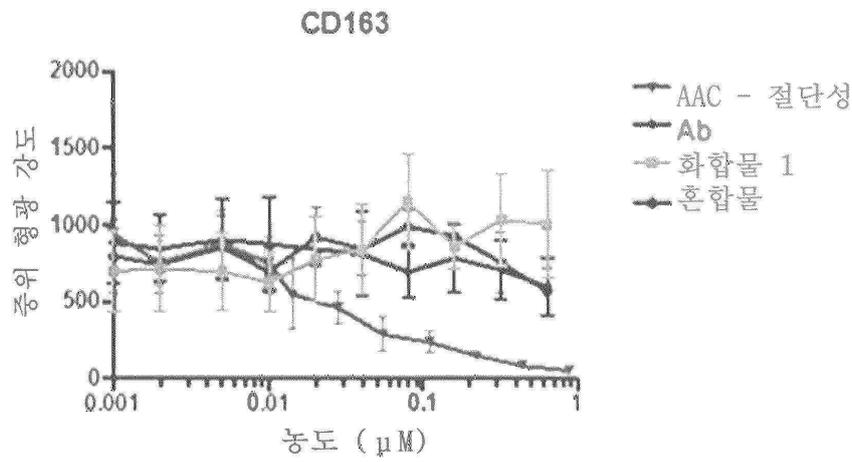
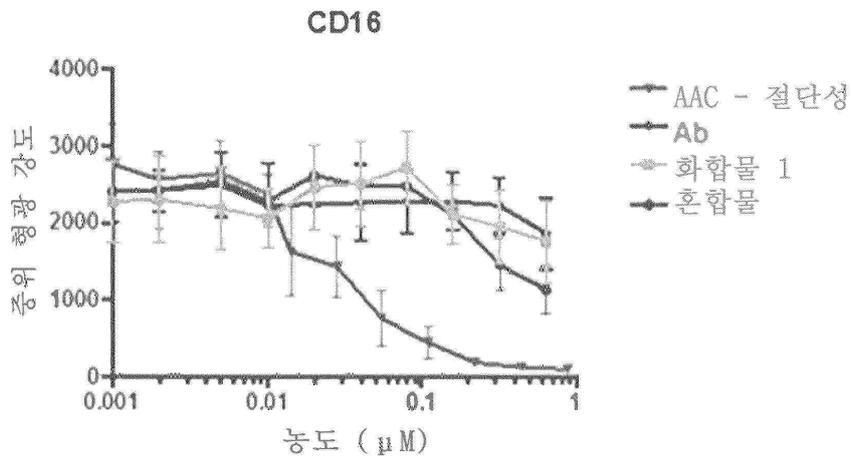
도면7



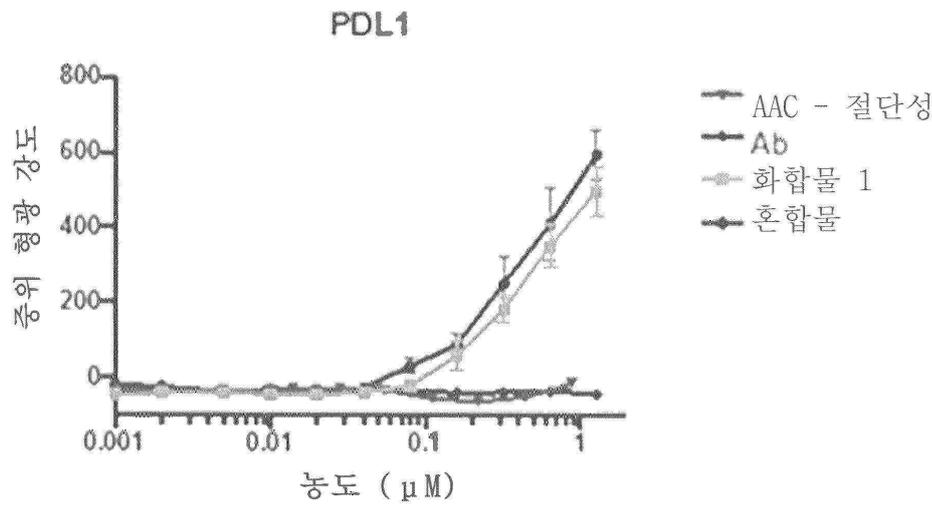
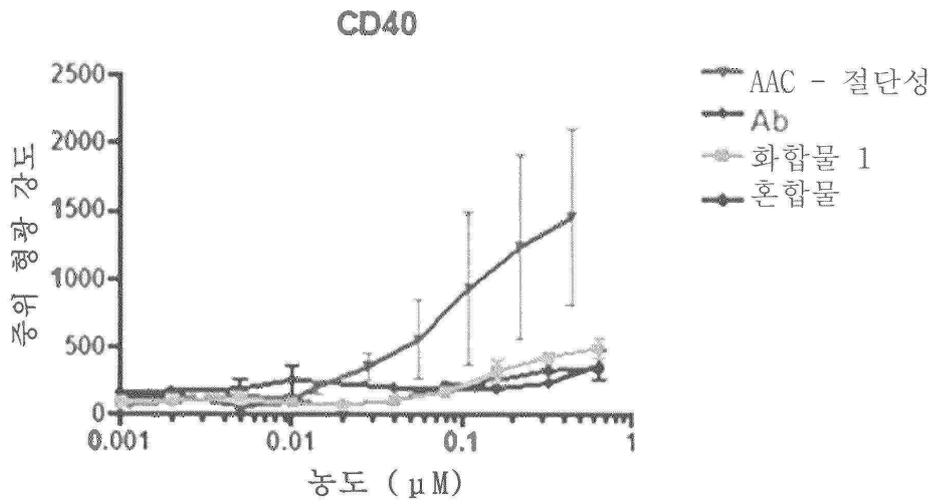
도면8a



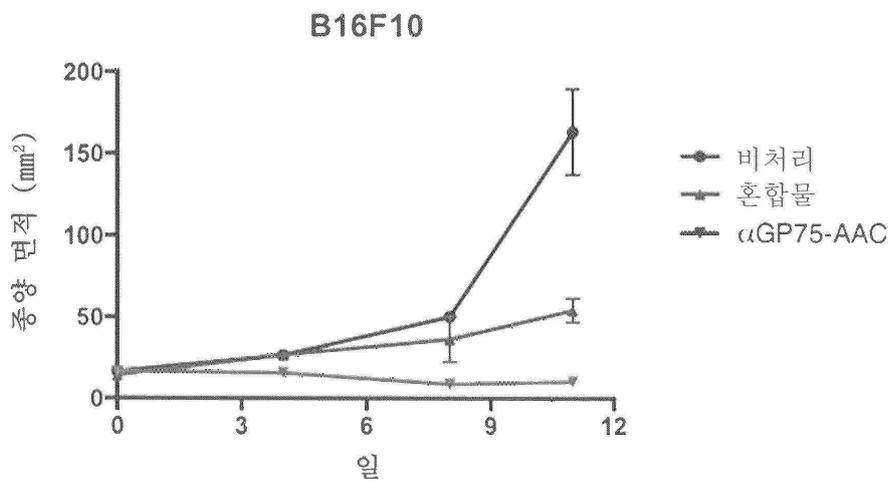
도면8b



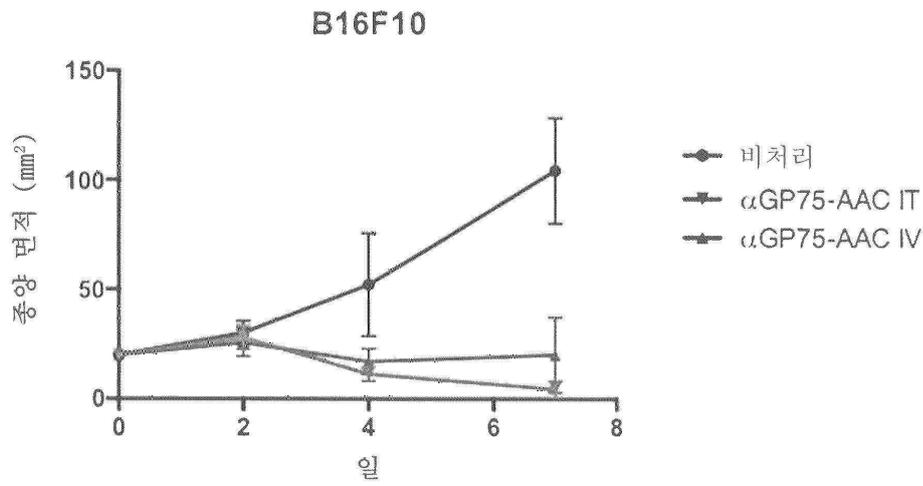
도면8c



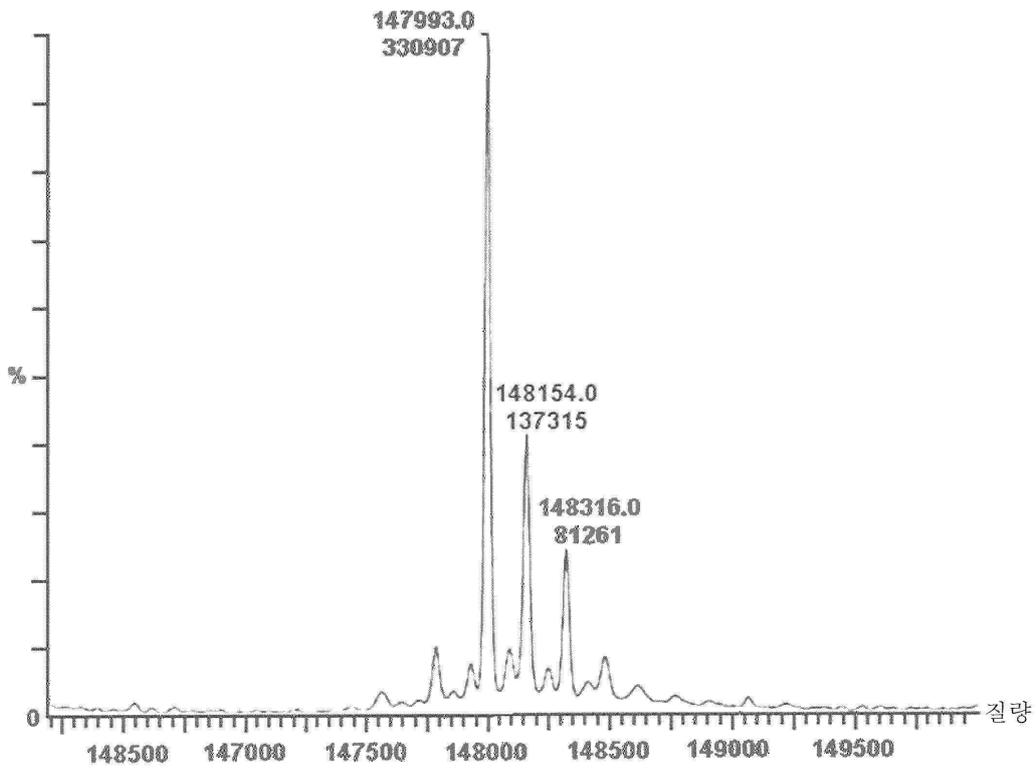
도면9a



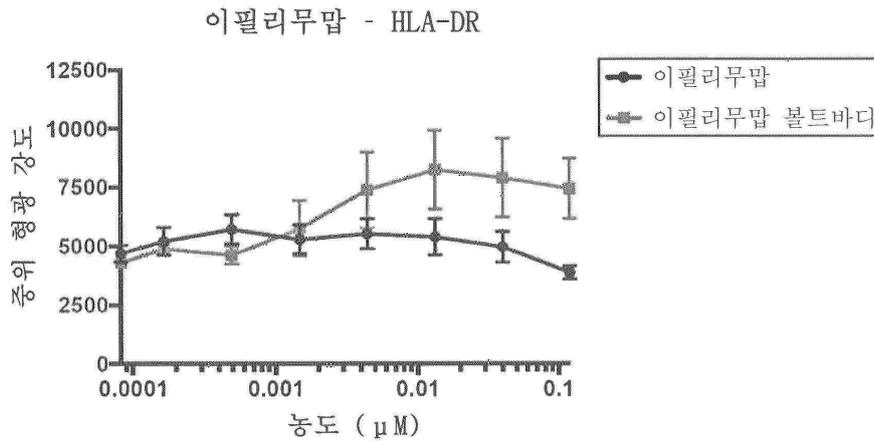
도면9b



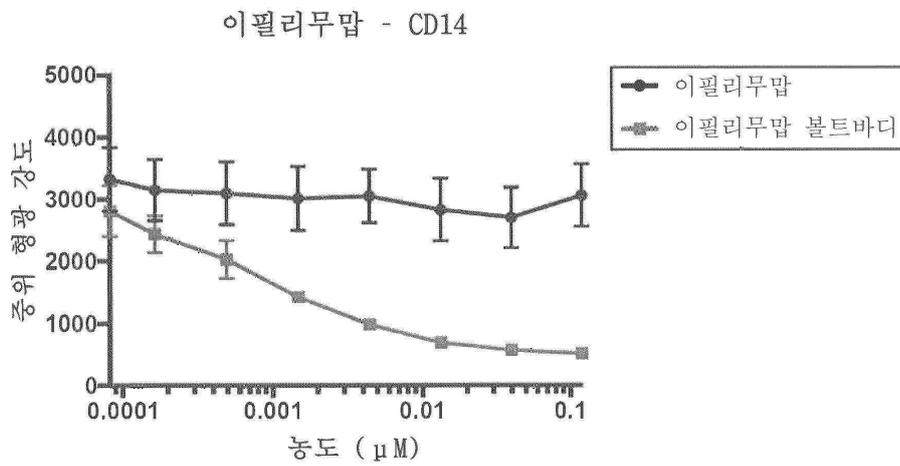
도면10a



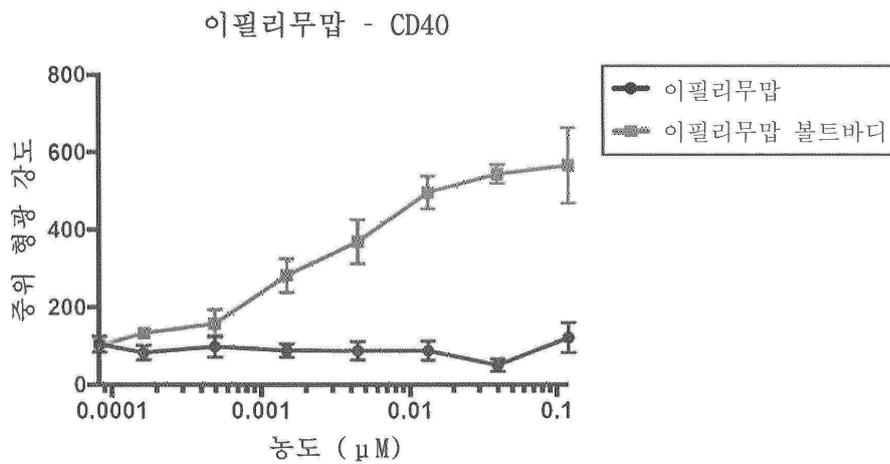
도면10b



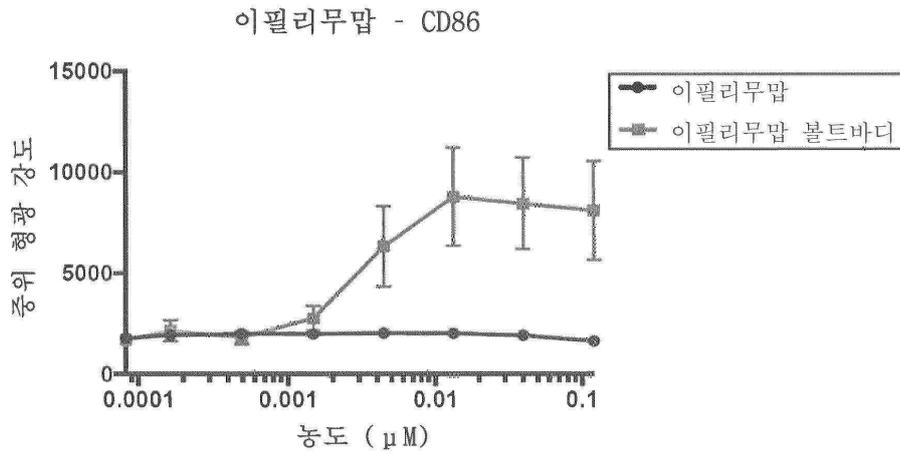
도면10c



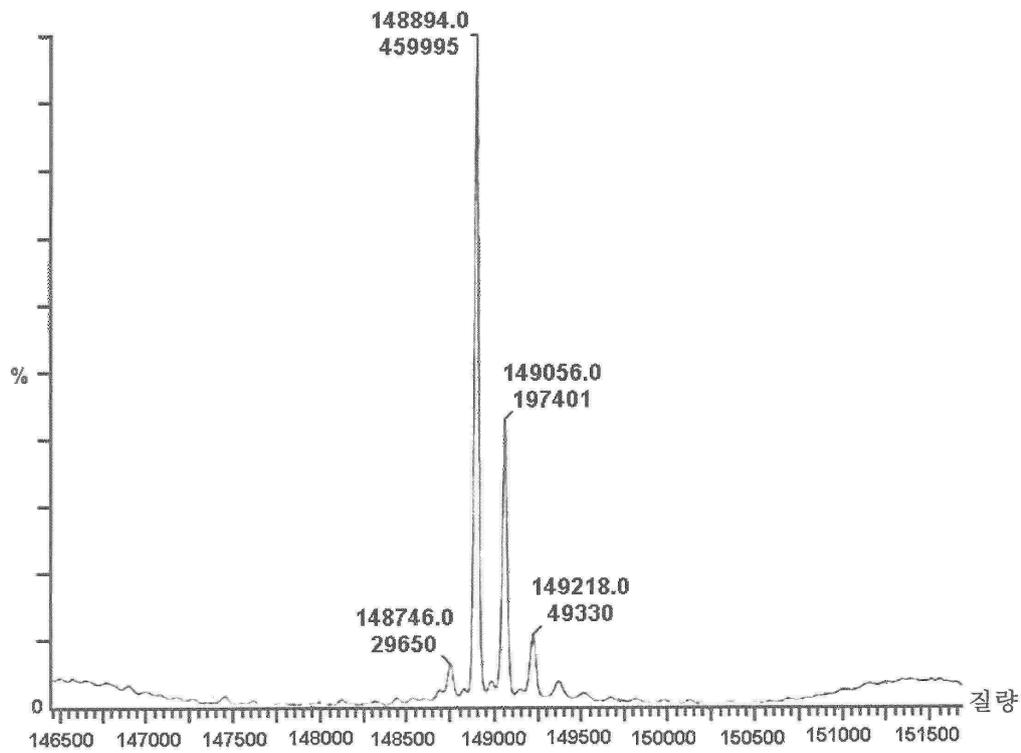
도면10d



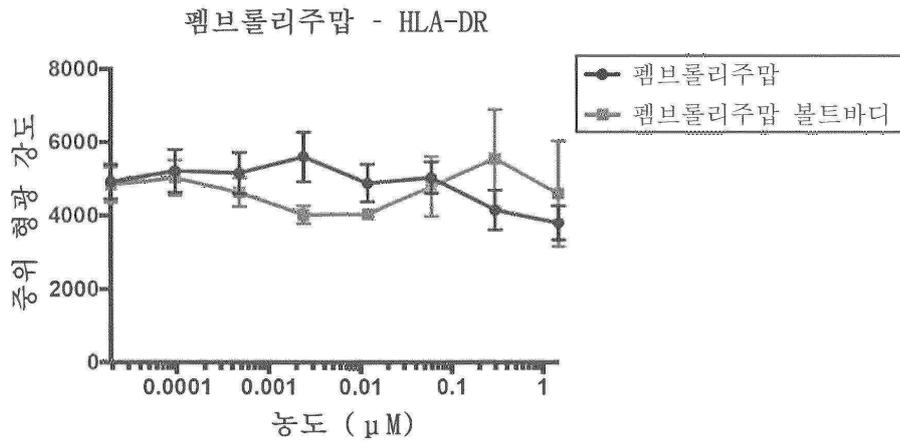
도면10e



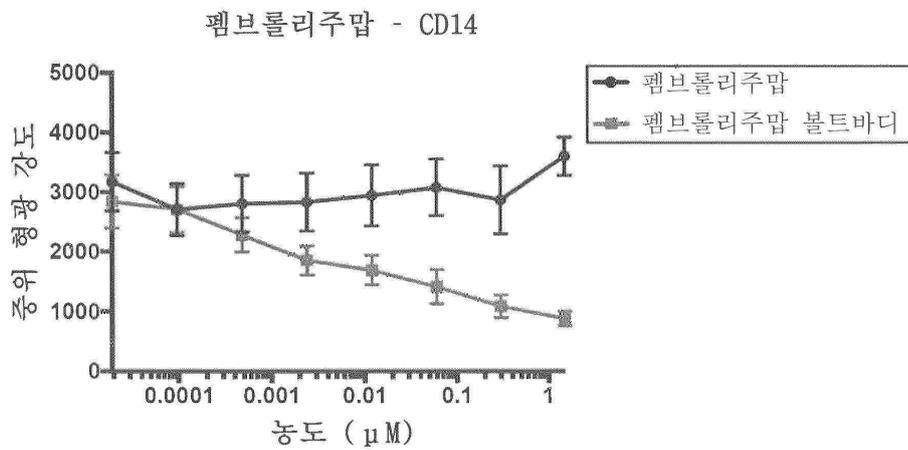
도면11a



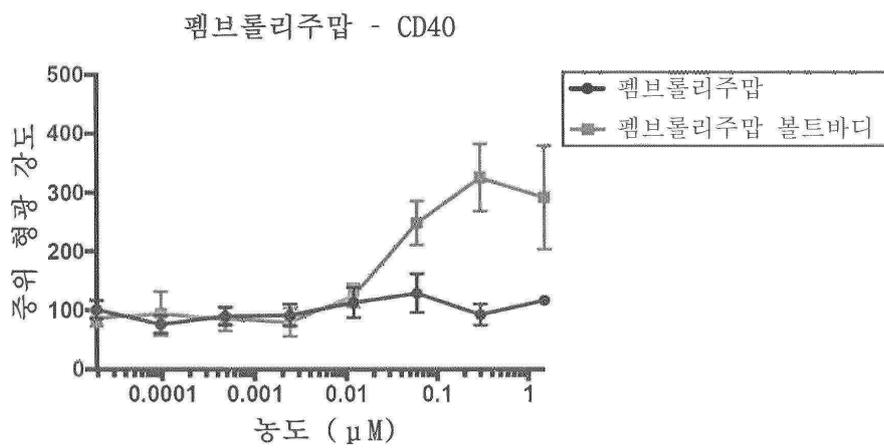
도면11b



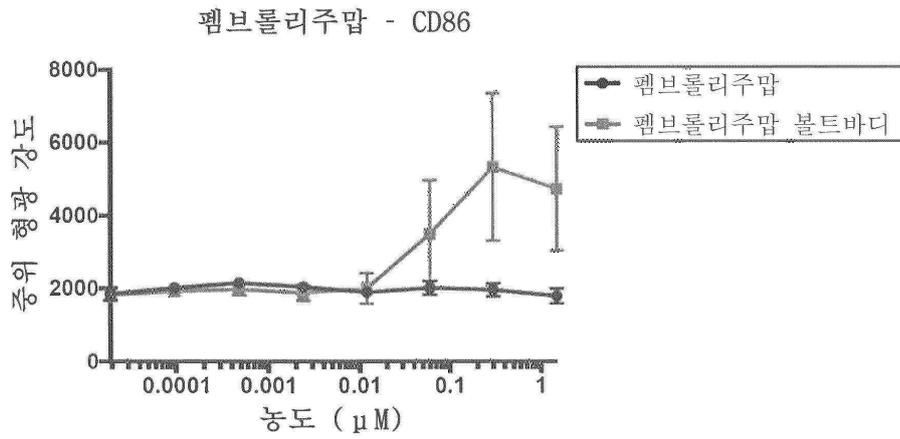
도면11c



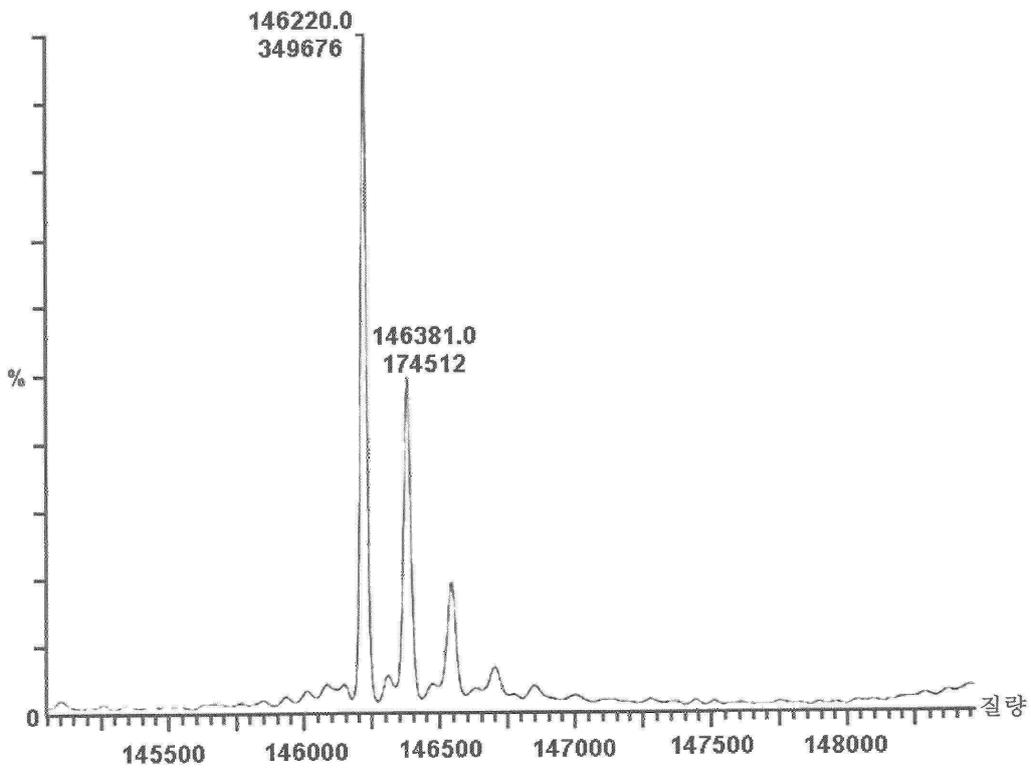
도면11d



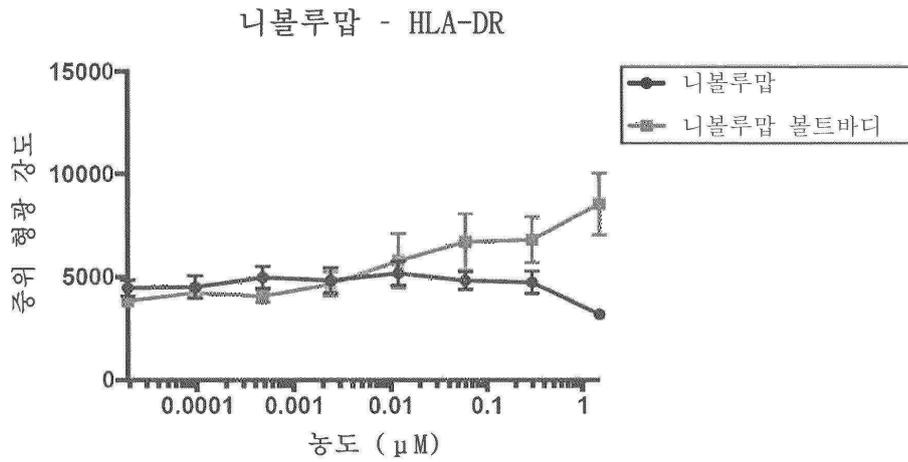
도면11e



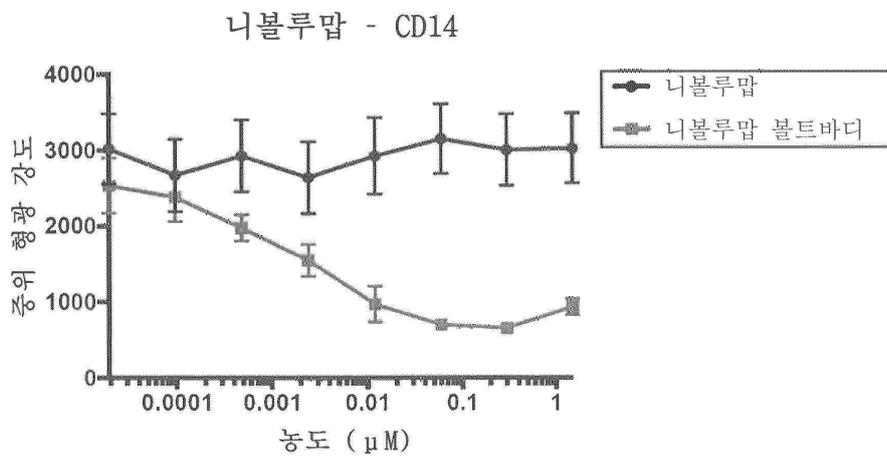
도면12a



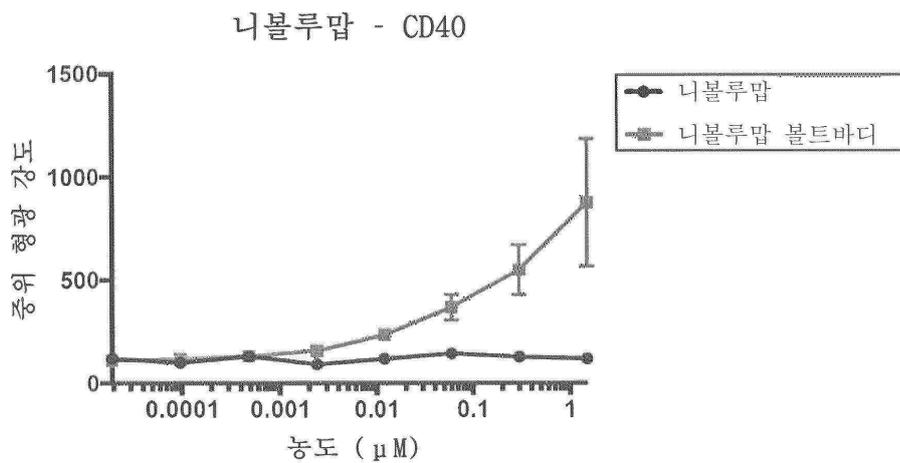
도면12b



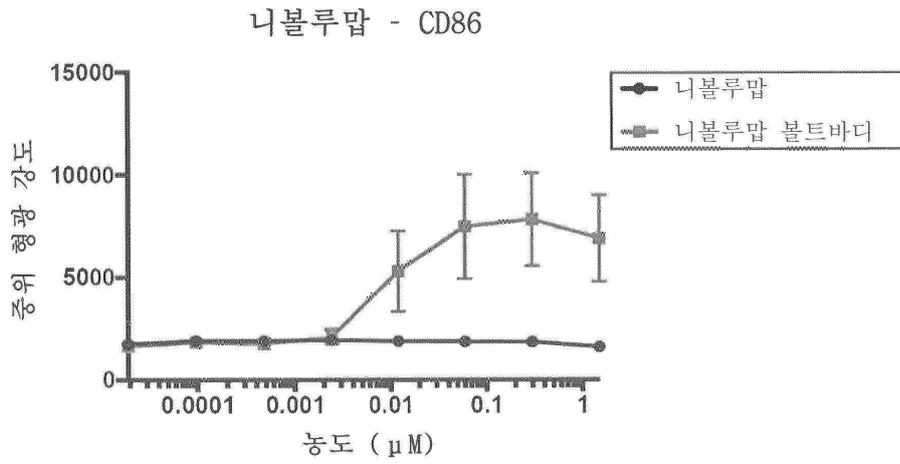
도면12c



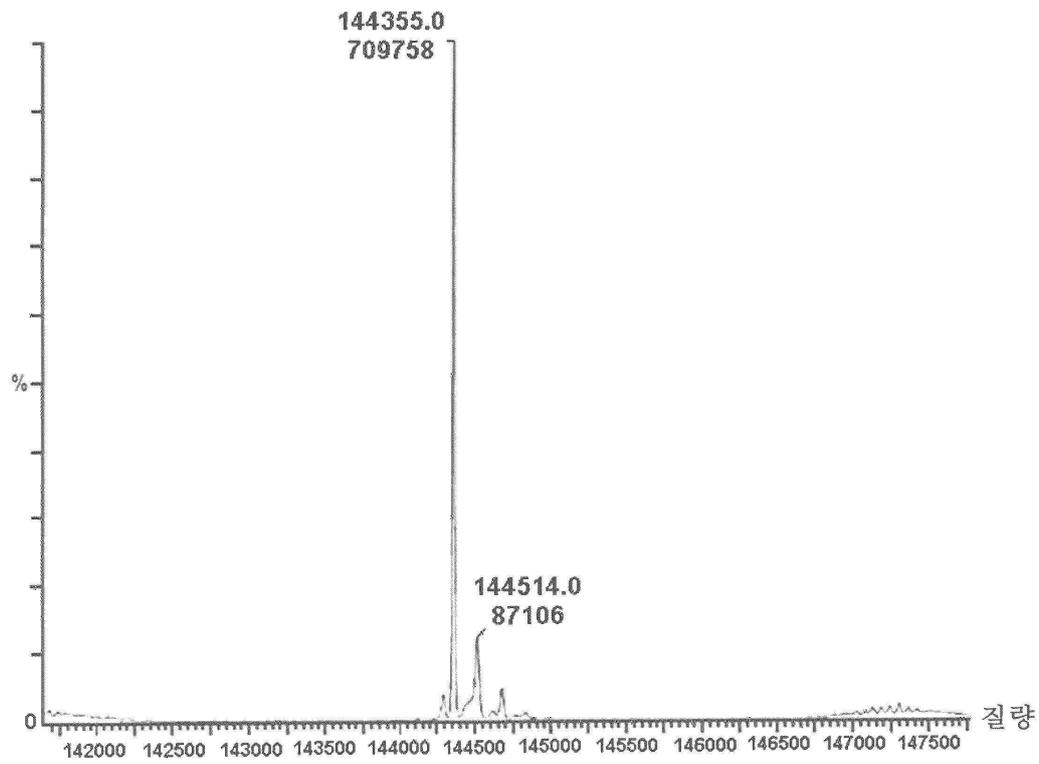
도면12d



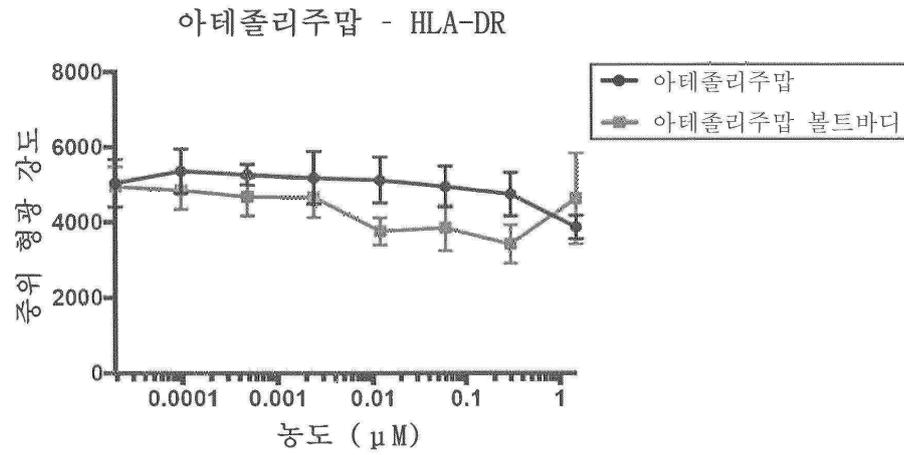
도면12e



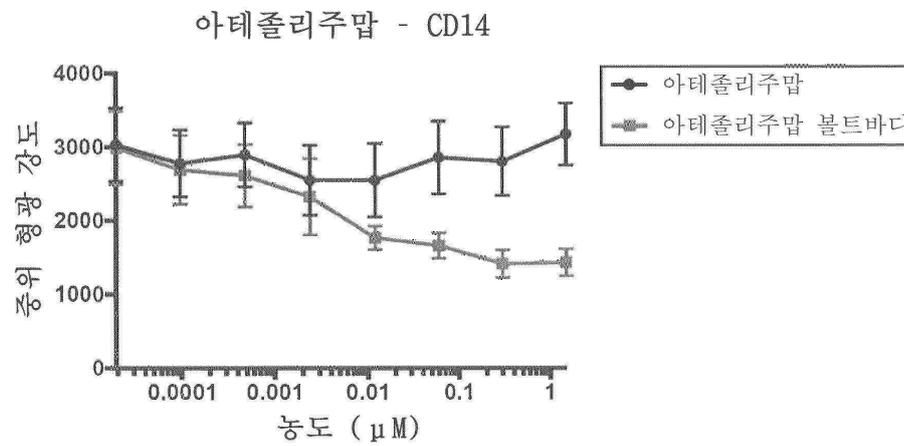
도면13a



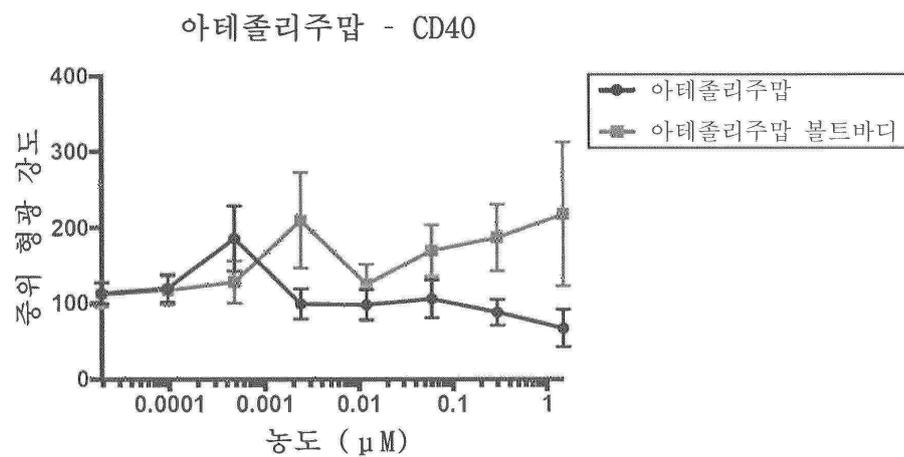
도면13b



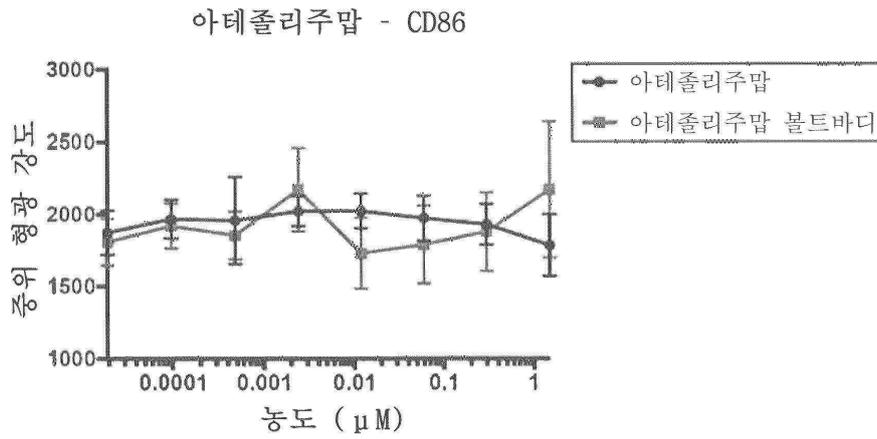
도면13c



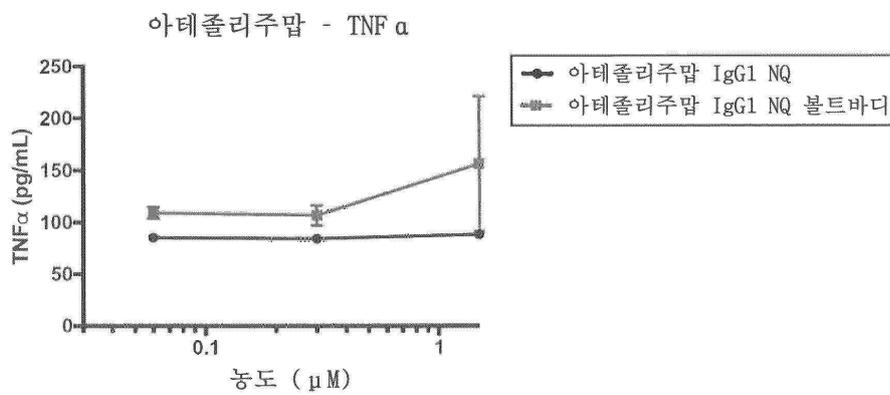
도면13d



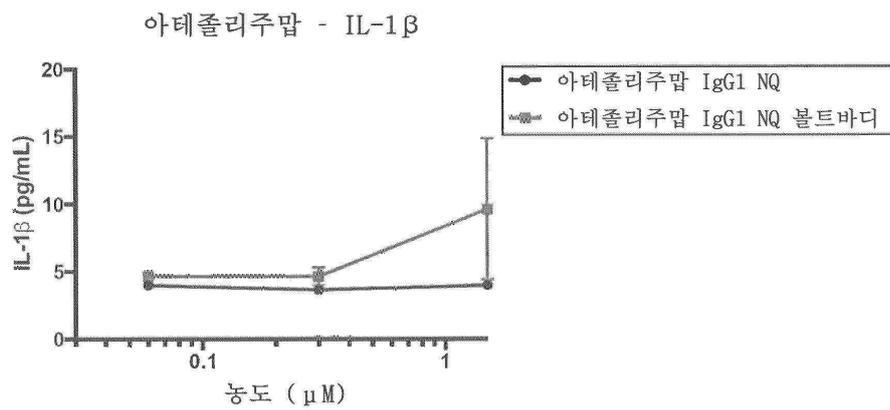
도면13e



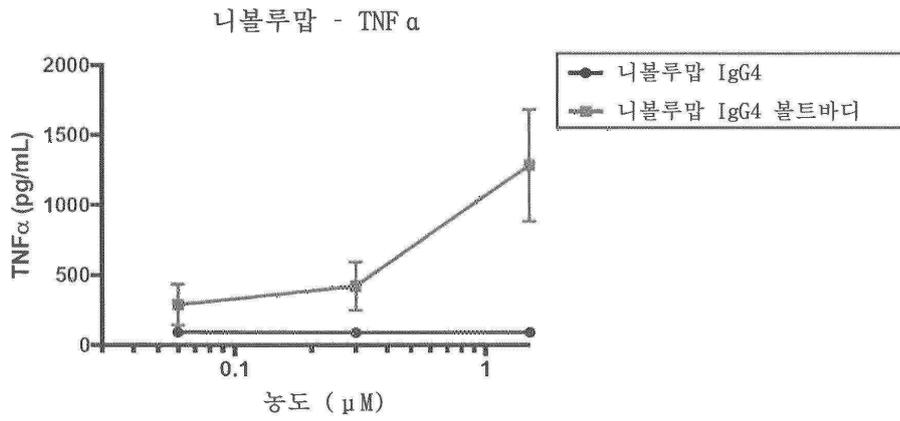
도면14a



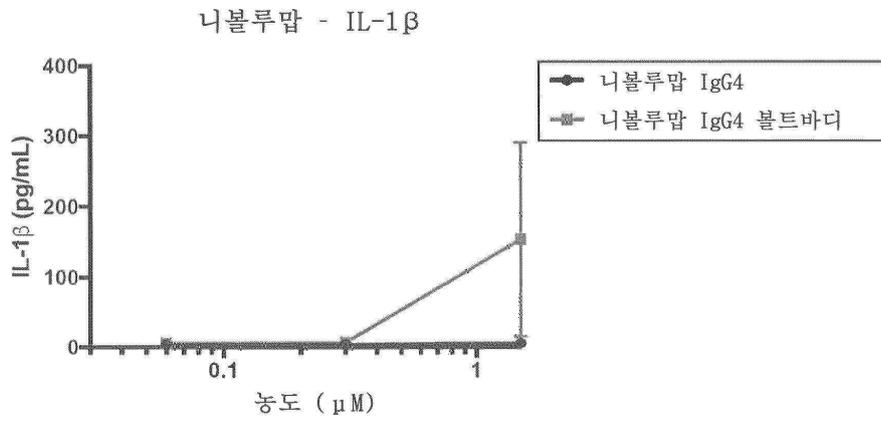
도면14b



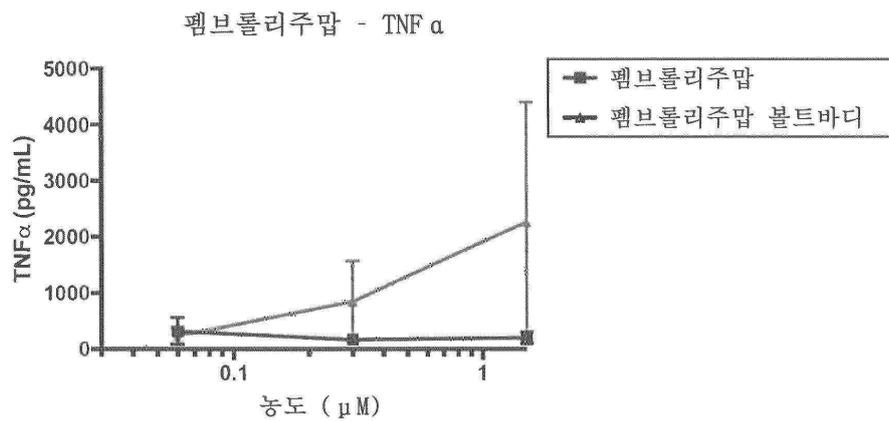
도면15a



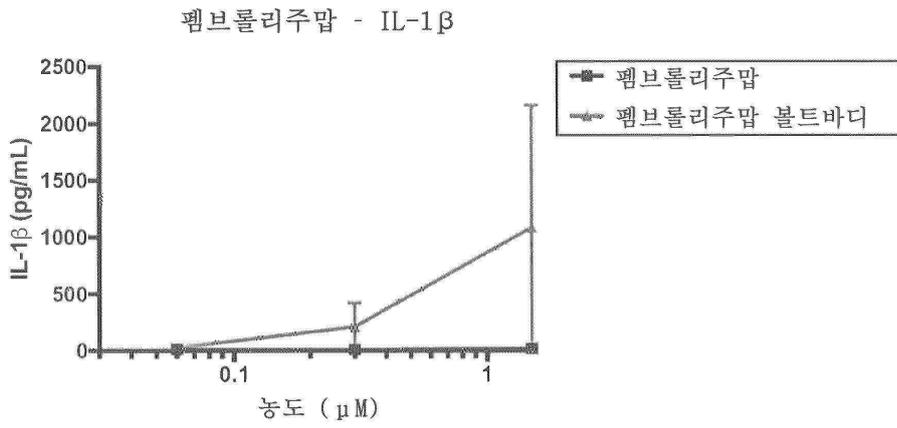
도면15b



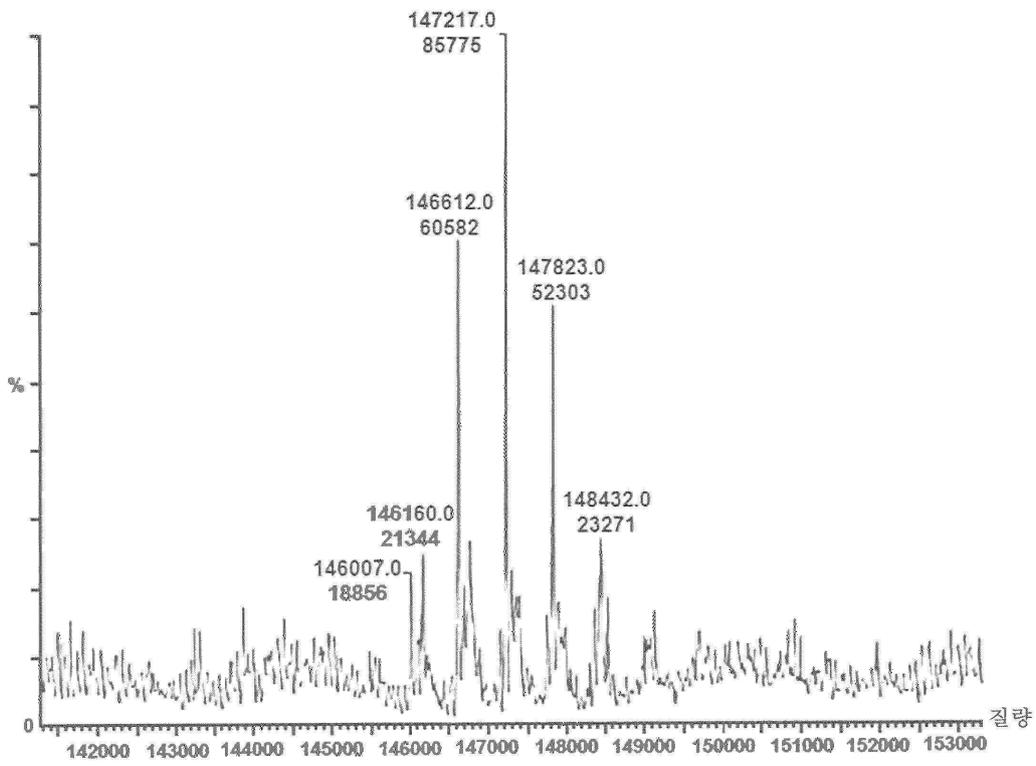
도면16a



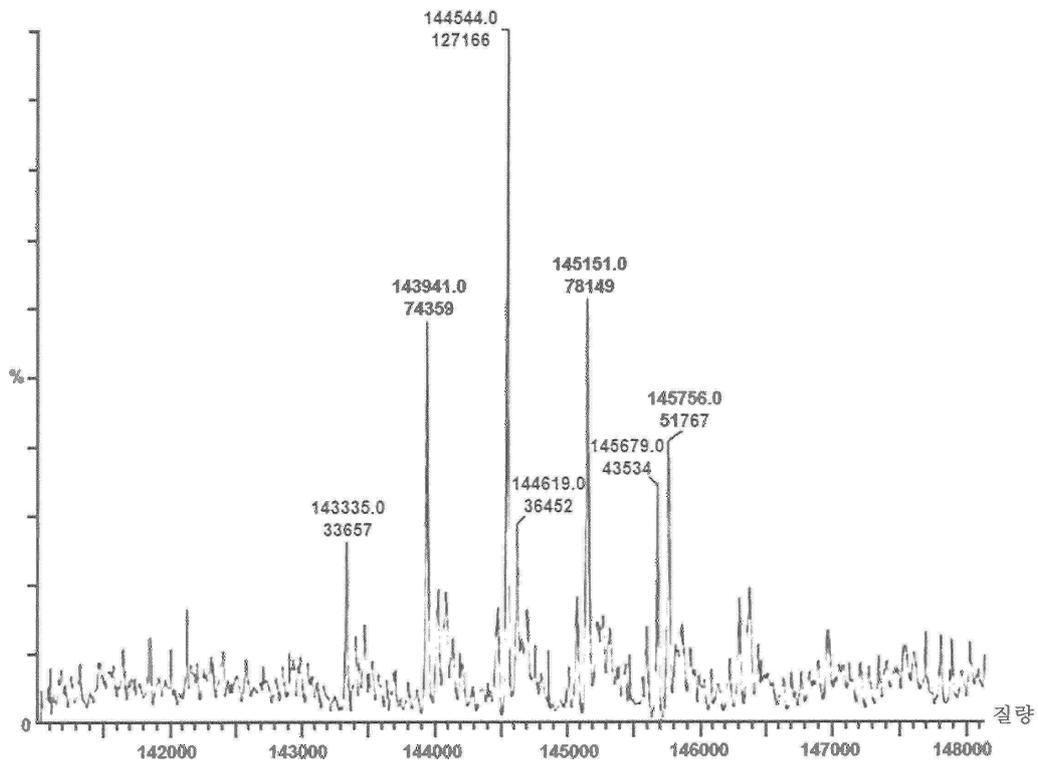
도면16b



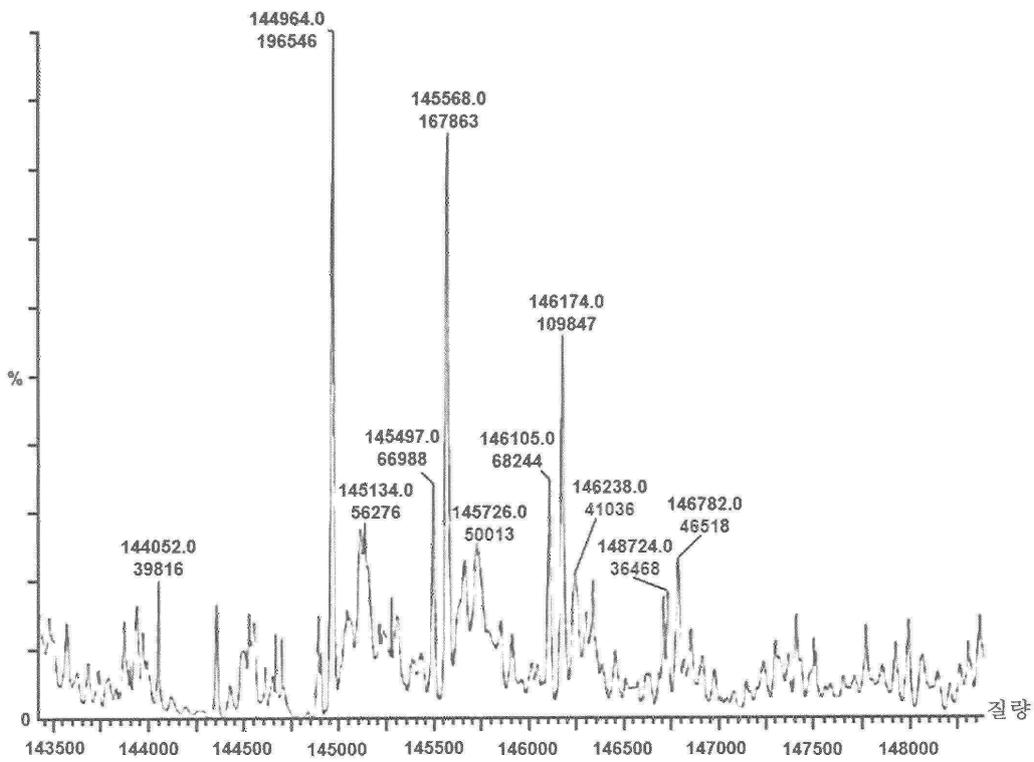
도면17



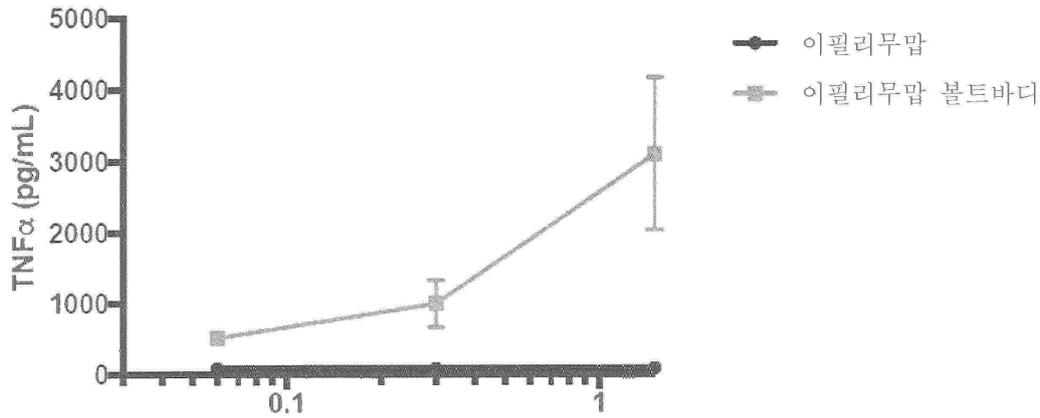
도면18



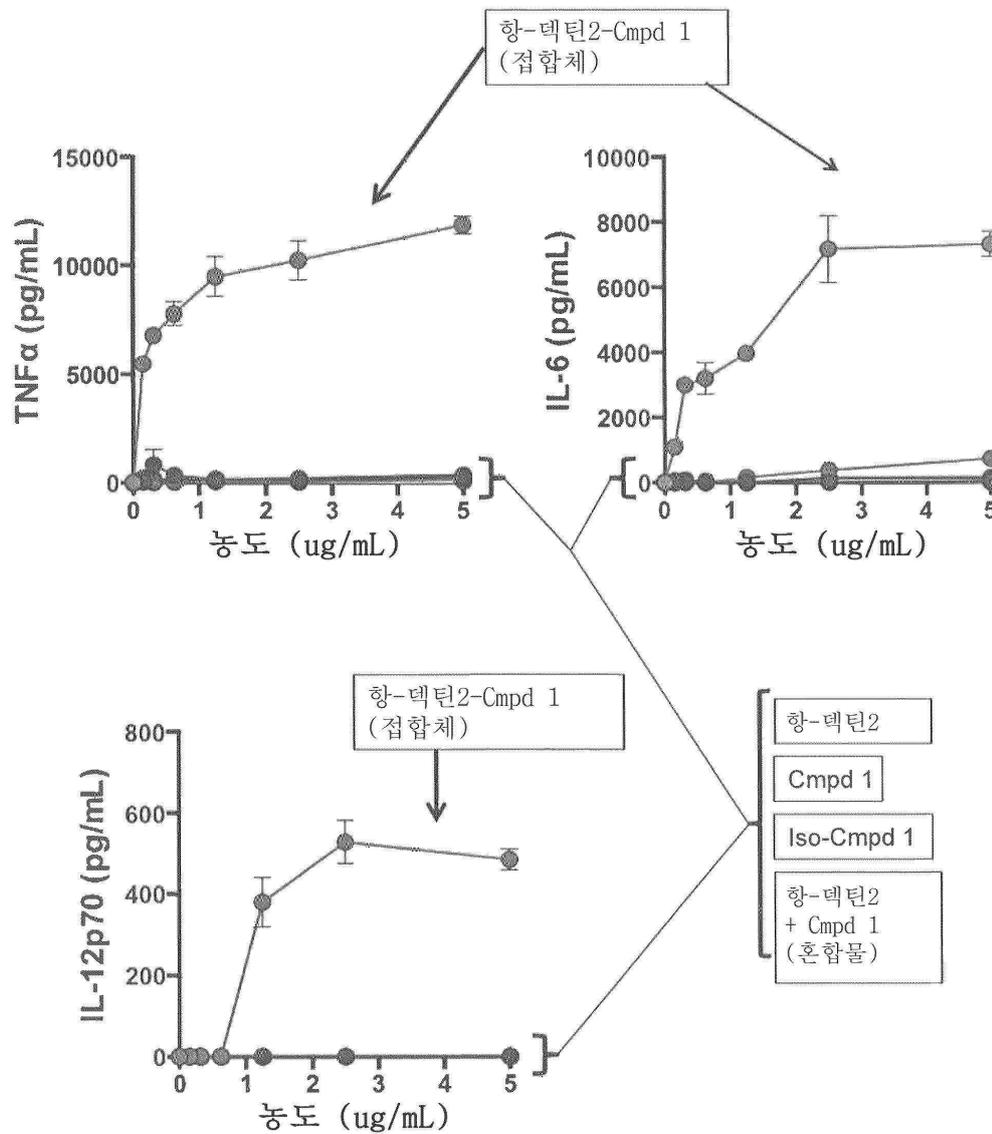
도면19



도면20

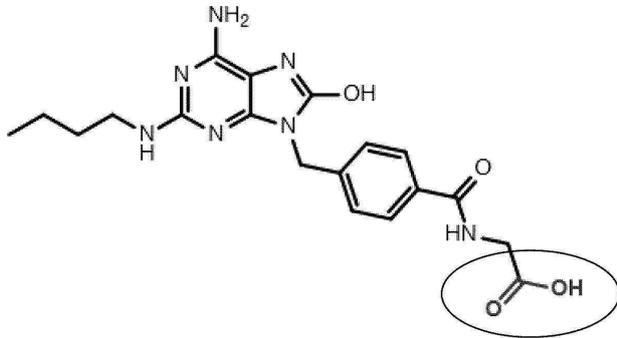


도면21



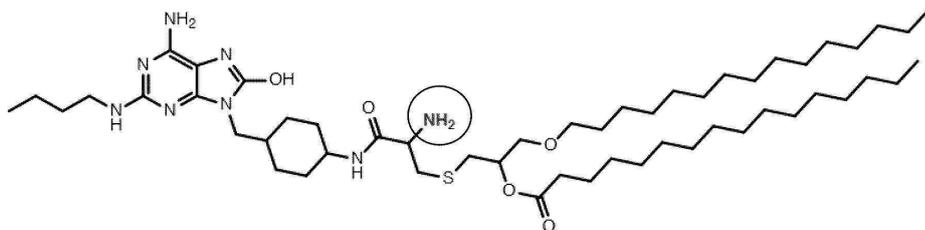
도면22a

CL264 - 말단 카르복실산에 대한 접합



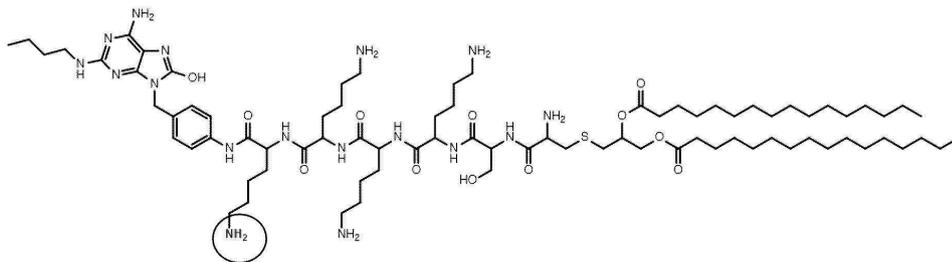
도면22b

CL401 - 1차 아민을 통한 접합



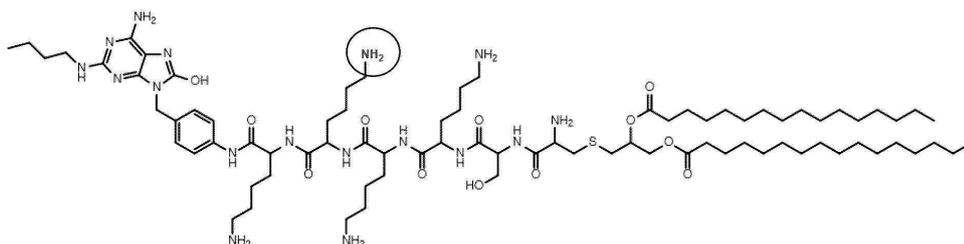
도면22c

CL413 - 제1 라이신 잔기를 통한 접합



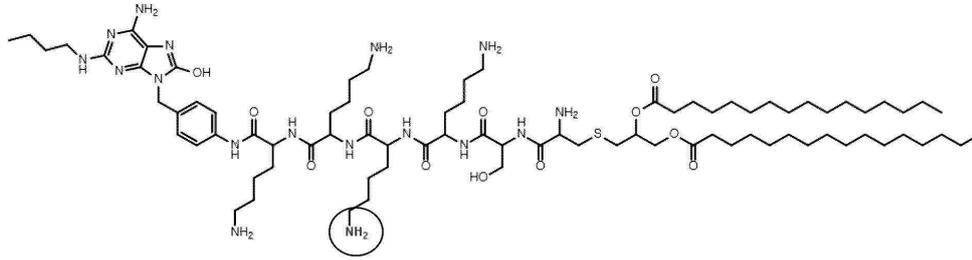
도면22d

CL413 - 제2 라이신 잔기를 통한 접합



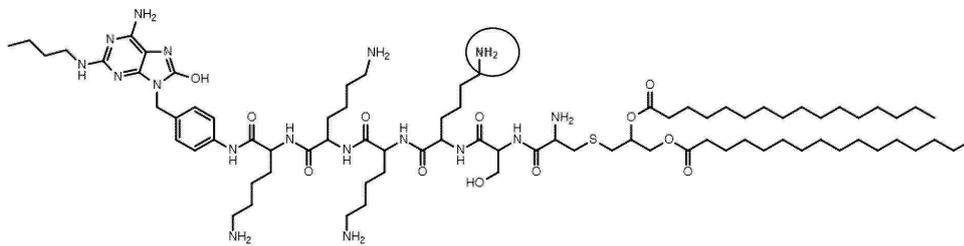
도면22e

CL413 - 제3 라이신 잔기를 통한 접합



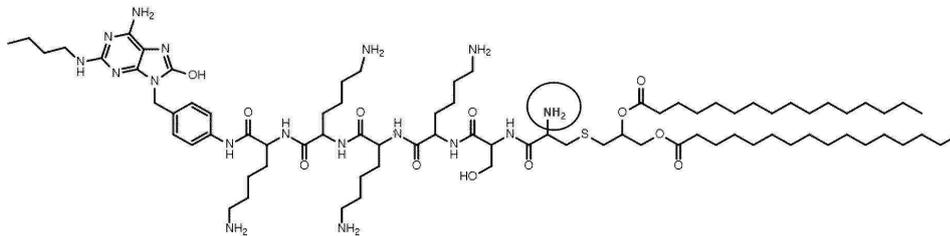
도면22f

CL413 - 제4 라이신 잔기를 통한 접합



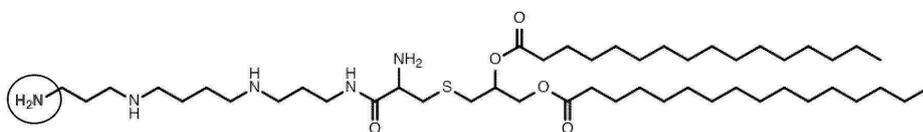
도면22g

CL413 - 1차 아민을 통한 접합

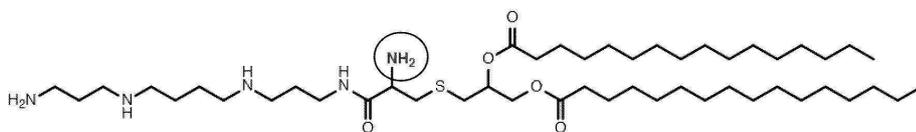


도면22h

CL419 - 말단 아민을 통한 접합

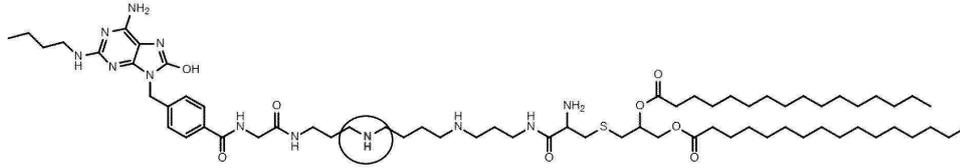


CL419 - 아민을 통한 접합



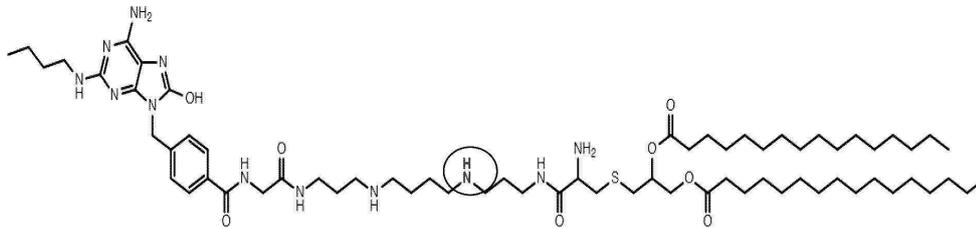
도면22i

CL553 - 2차 아민을 통한 결합



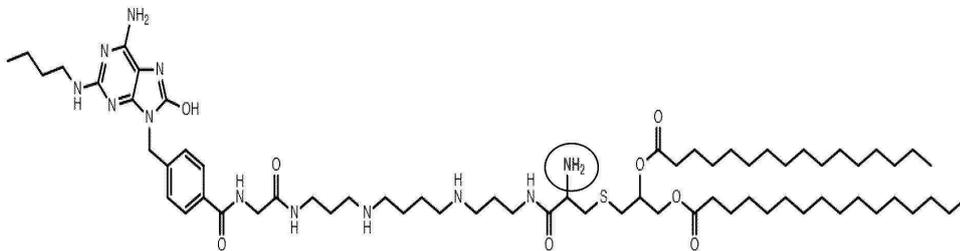
도면22j

CL553 - 2차 아민을 통한 결합



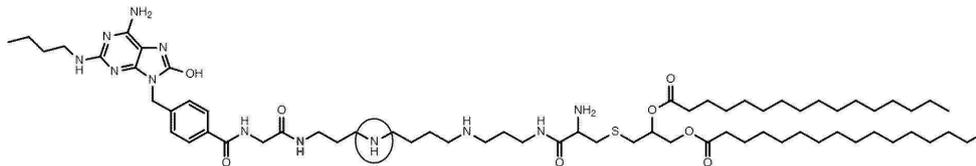
도면22k

CL553 - 1차 아민을 통한 결합



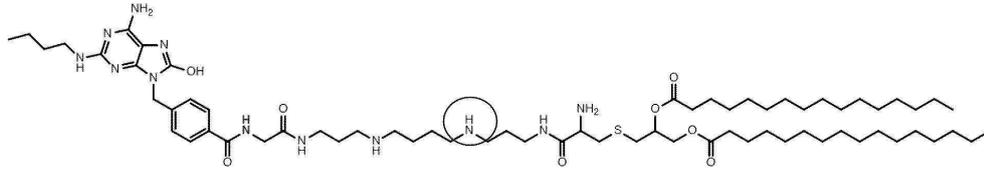
도면22l

CL553 - 2차 아민을 통한 결합

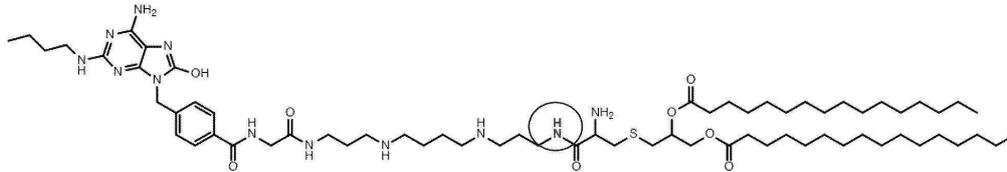


도면22m

CL553 - 2차 아민을 통한 접합

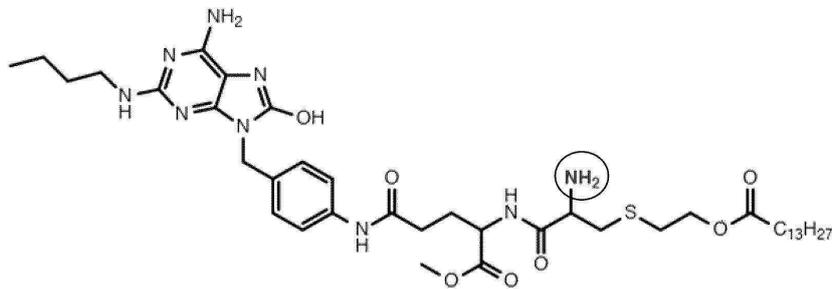


CL553 - 2차 아민을 통한 접합

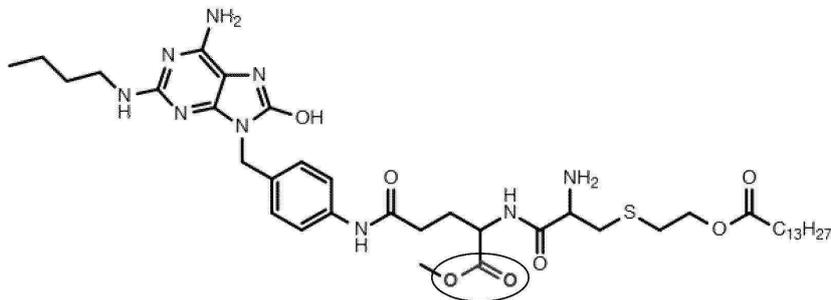


도면22n

CL572 - 1차 아민을 통한 접합

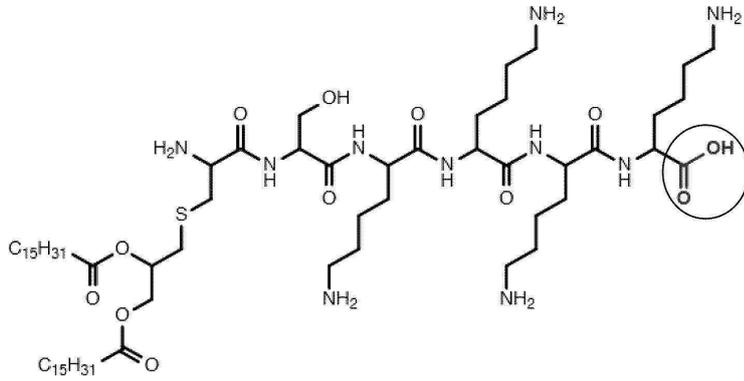


CL572 - 카르복실레이트를 통한 접합



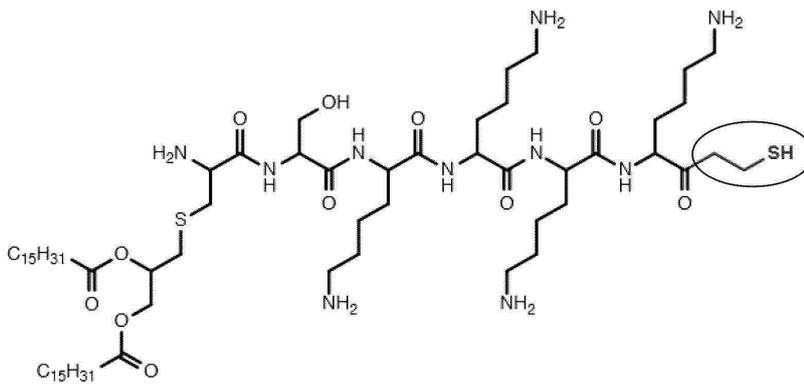
도면22o

Pam2CSK4 - 말단 카르복실산을 통한 접합



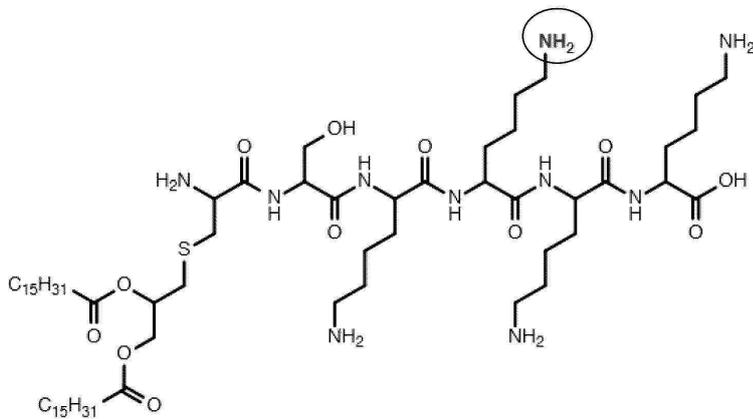
도면22p

Pam2CSK4 - 말단 티올의 부가를 통한 접합



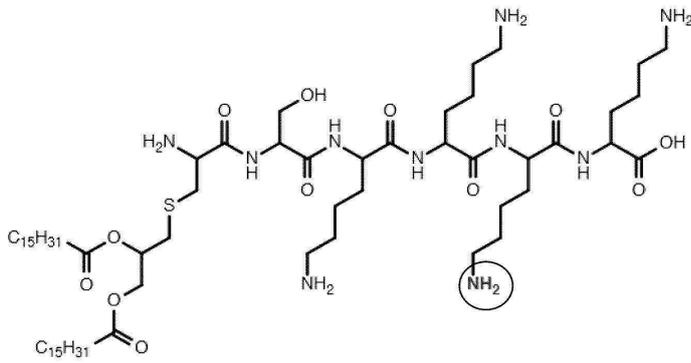
도면22q

Pam2CSK4 - 제2 라이신 잔기를 통한 접합



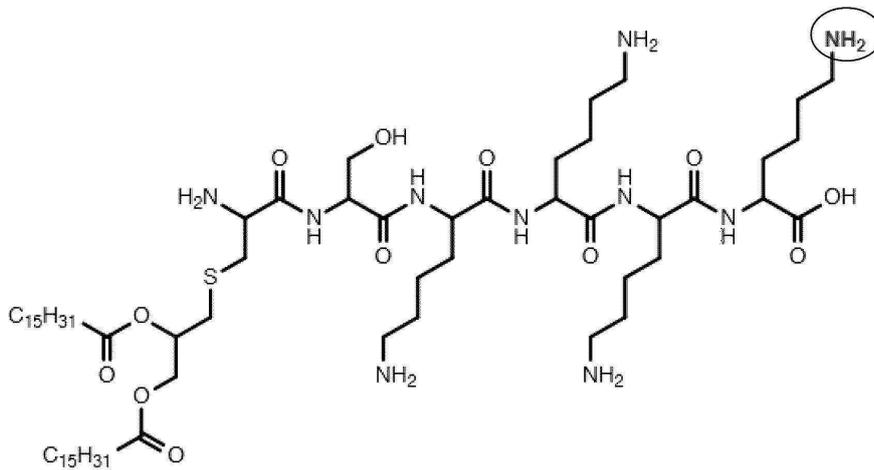
도면22r

Pam2CSK4 - 제3 라이신 잔기를 통한 접합



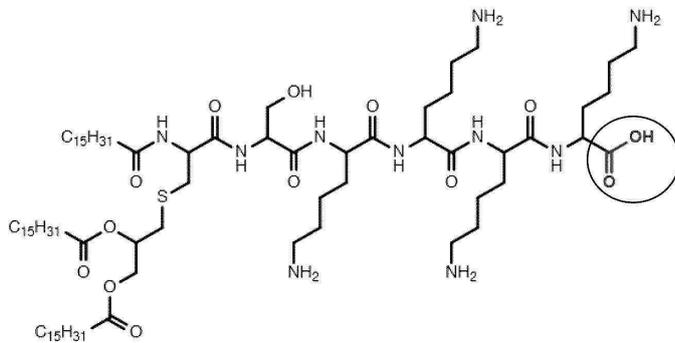
도면22s

Pam2CSK4 - 말단 라이신 잔기를 통한 접합



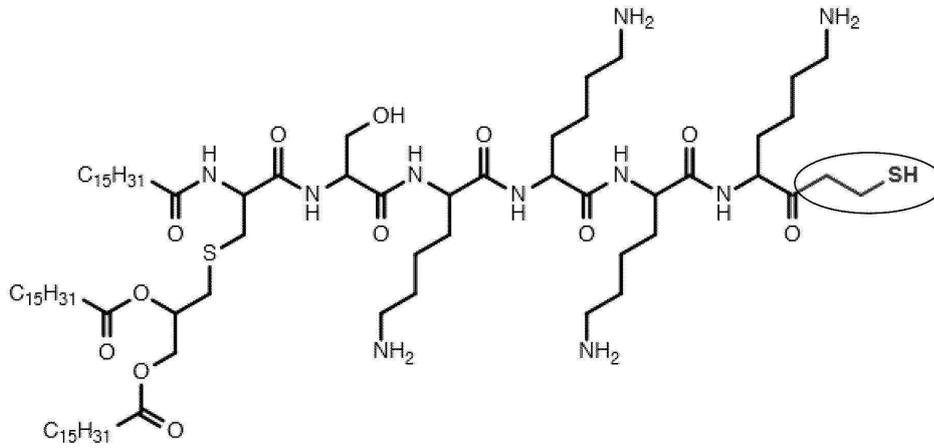
도면22t

Pam3CSK4 - 말단 카르복실산을 통한 접합



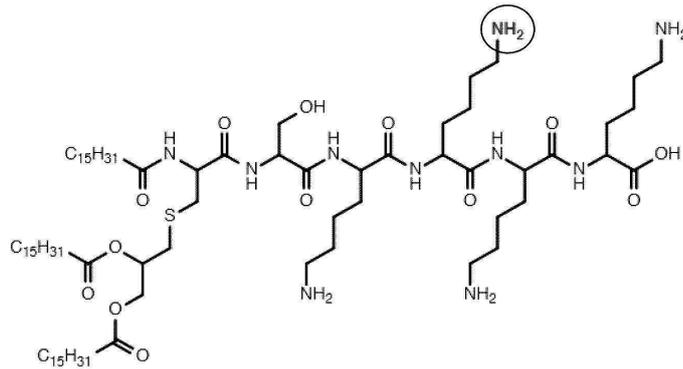
도면22u

Pam3CSK4 - 말단 티올의 부가를 통한 접합



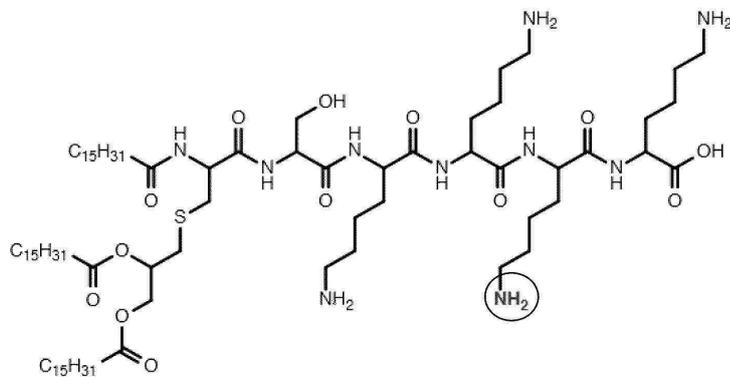
도면22v

Pam3CSK4 - 제2 라이신 잔기를 통한 접합



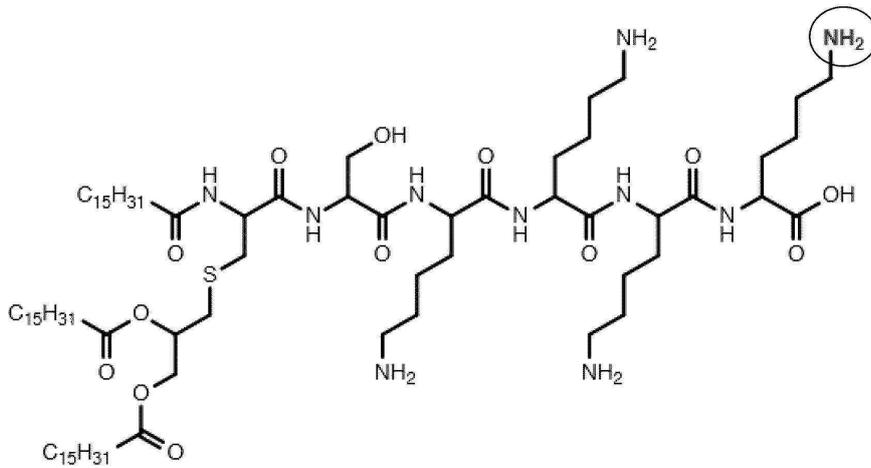
도면22w

Pam3CSK4 - 제3 라이신 잔기를 통한 접합

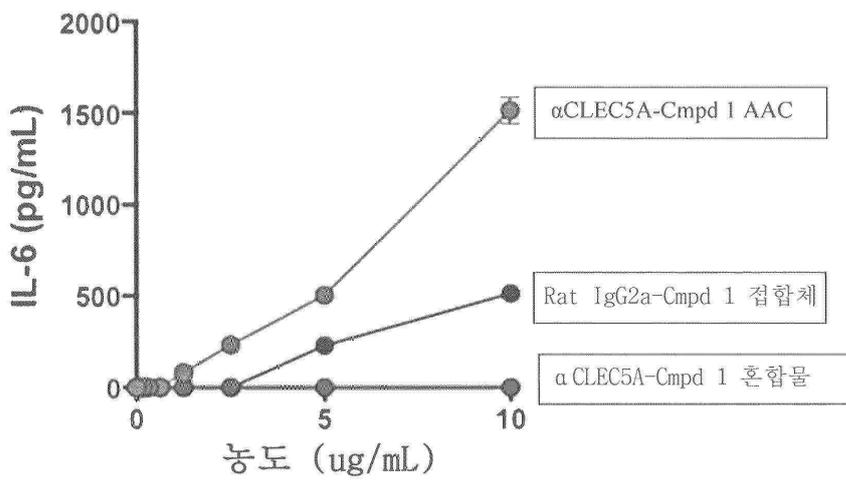


도면22x

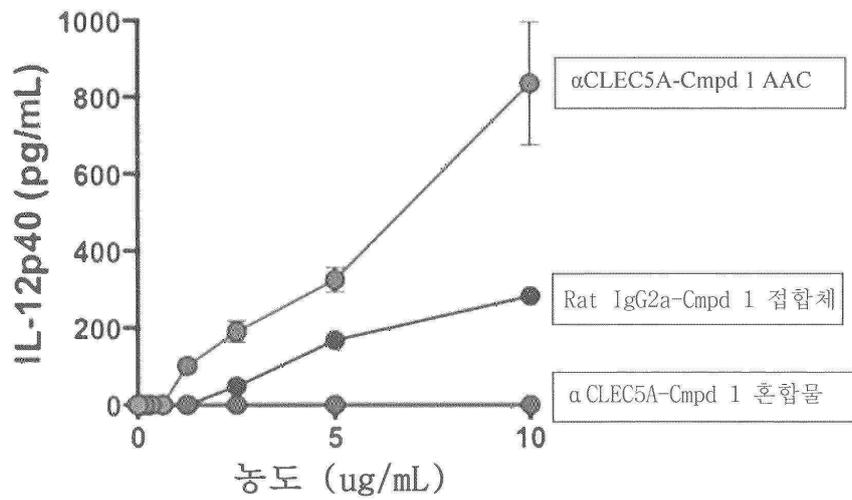
Pam3CSK4 - 말단 라이신 잔기를 통한 접합



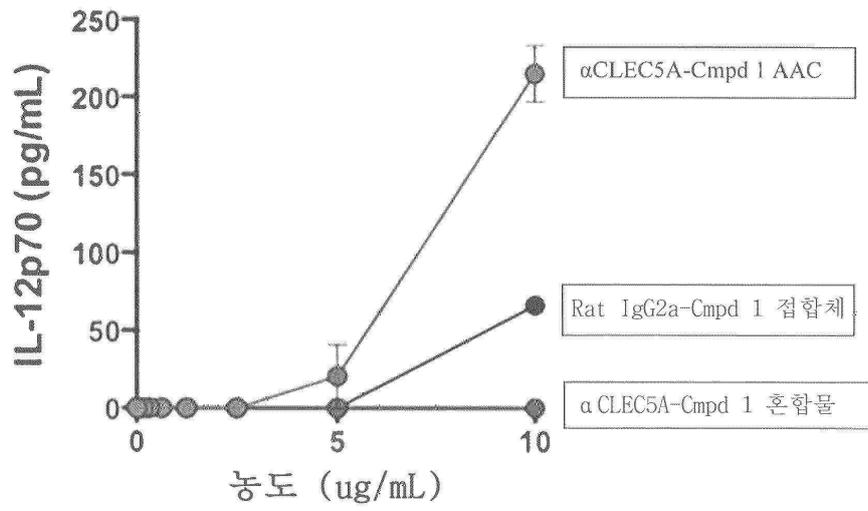
도면23a



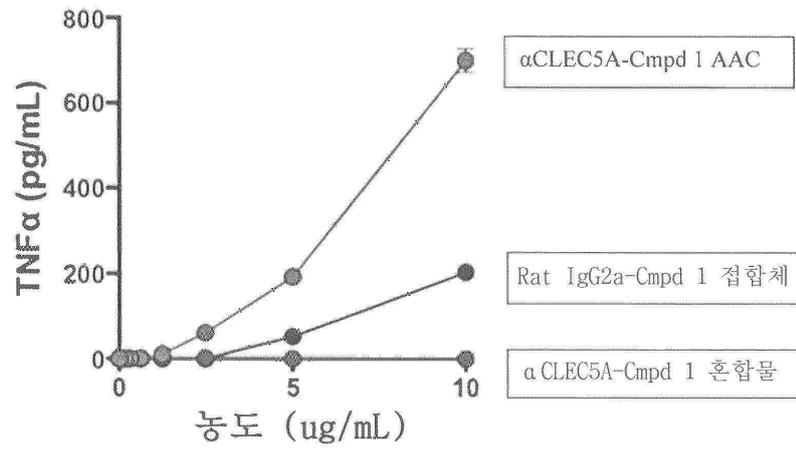
도면23b



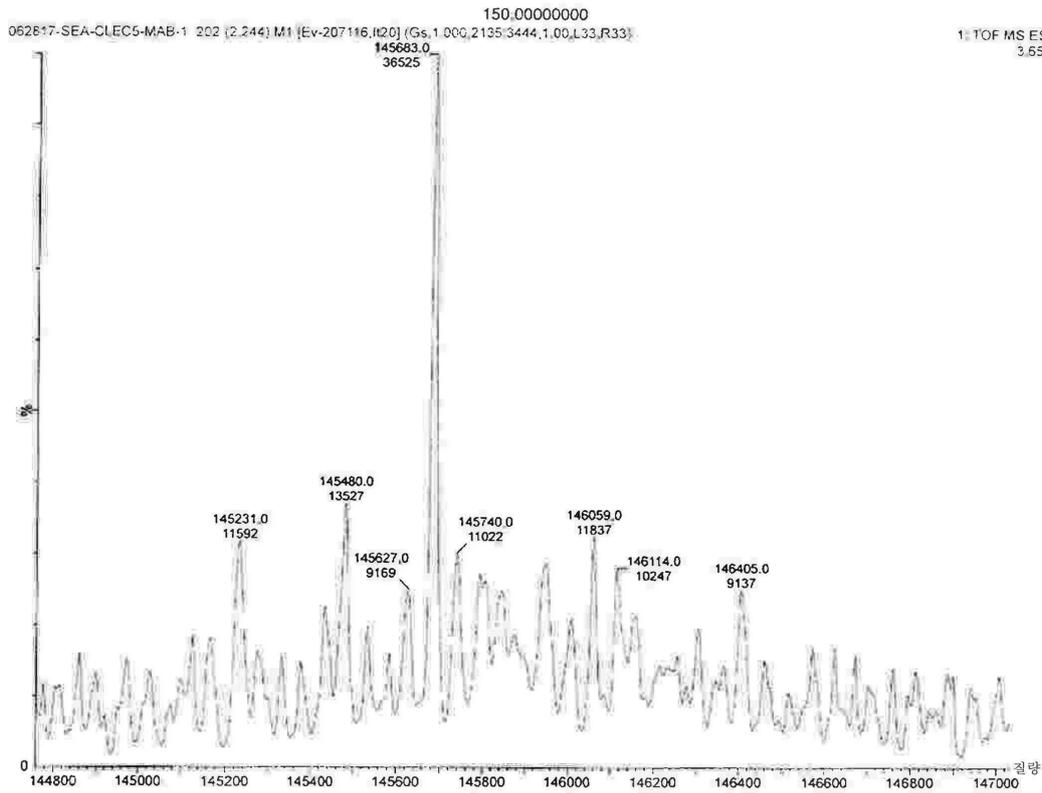
도면23c



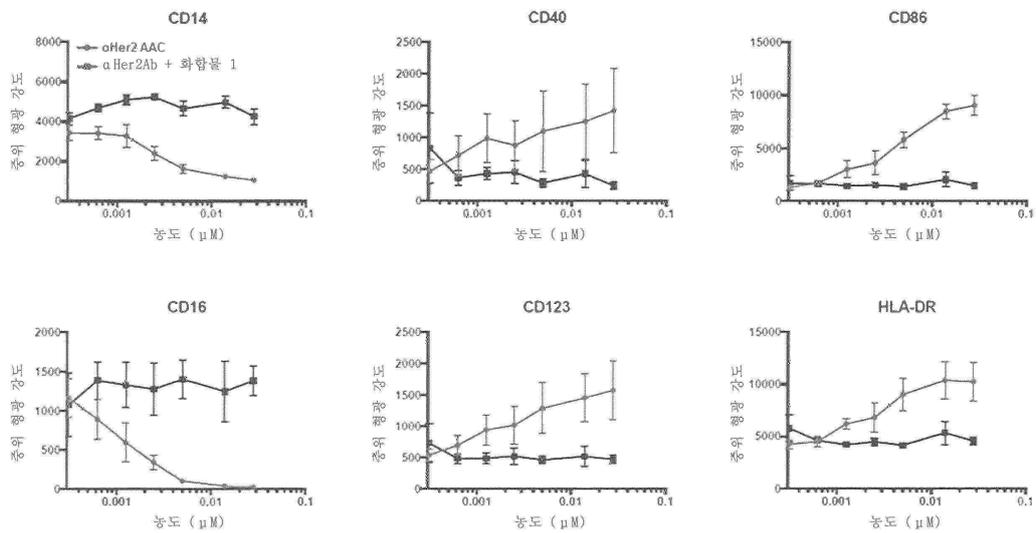
도면23d



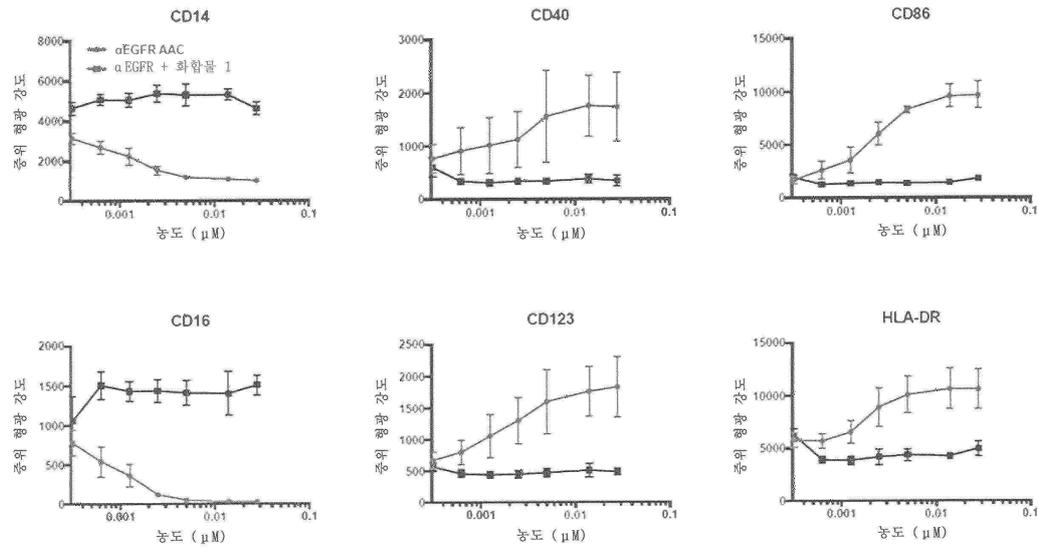
도면23e



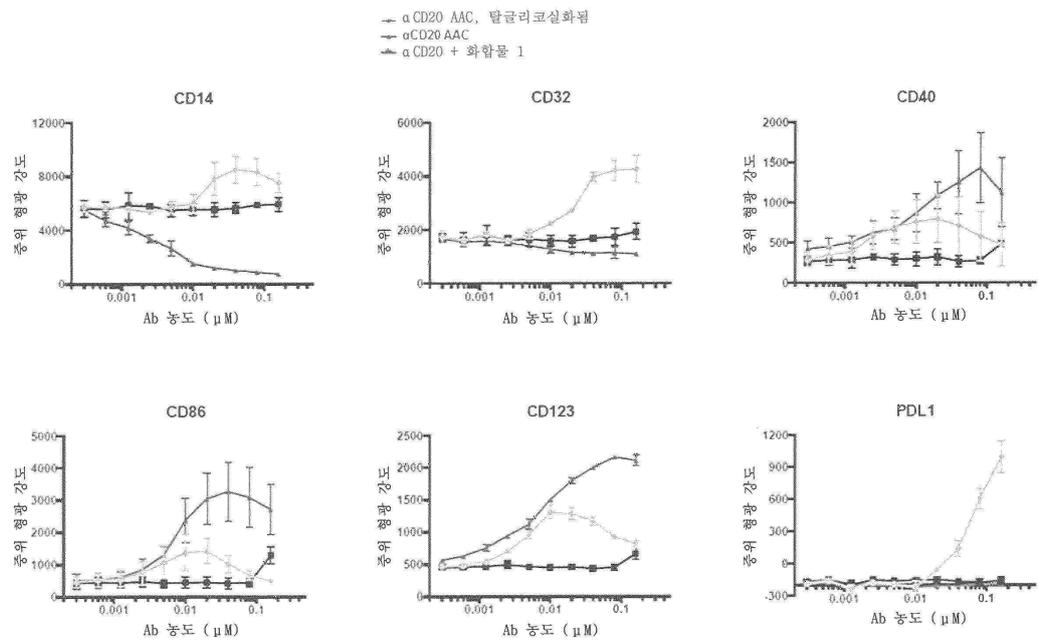
도면24



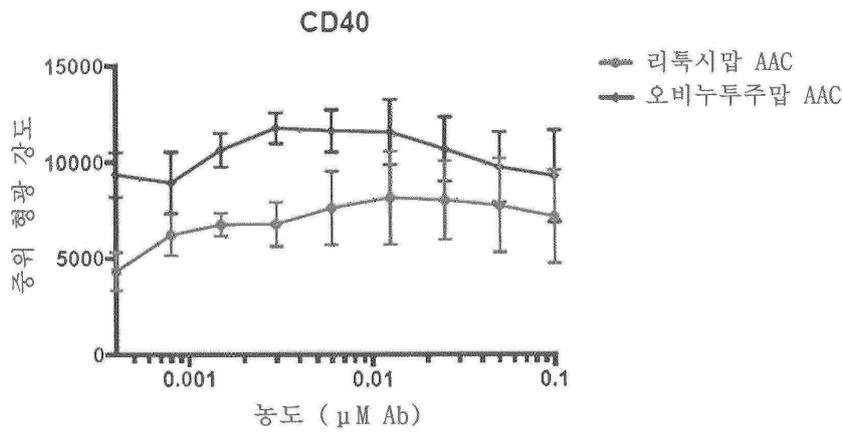
도면25



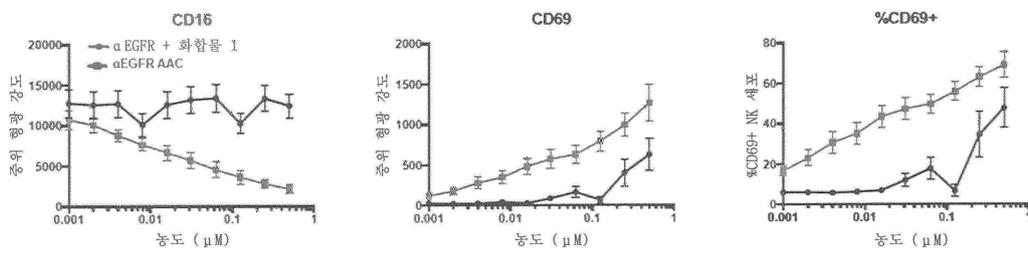
도면26



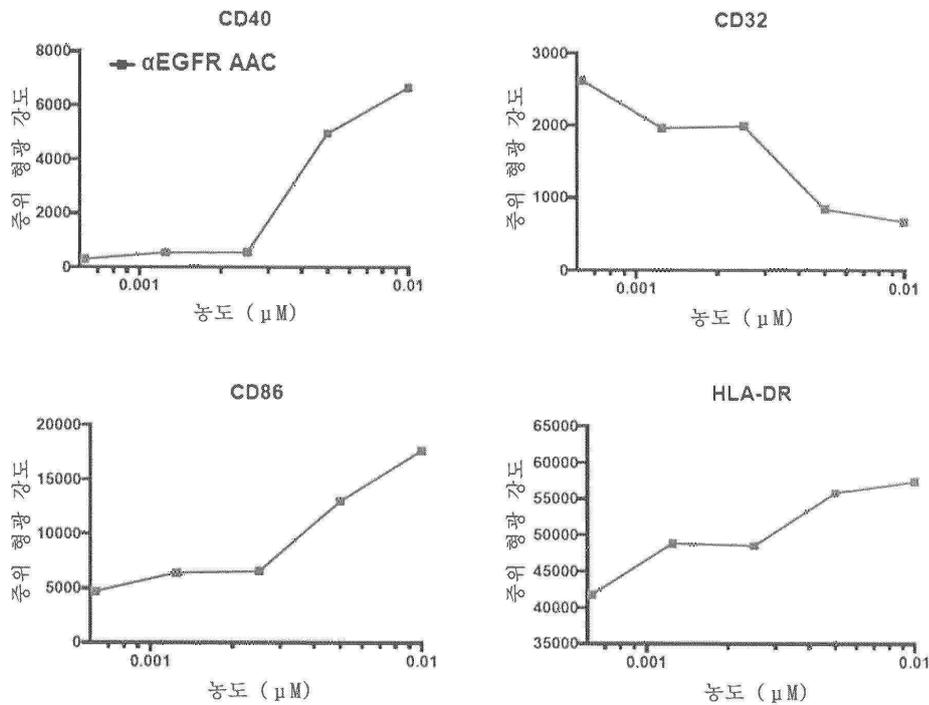
도면27



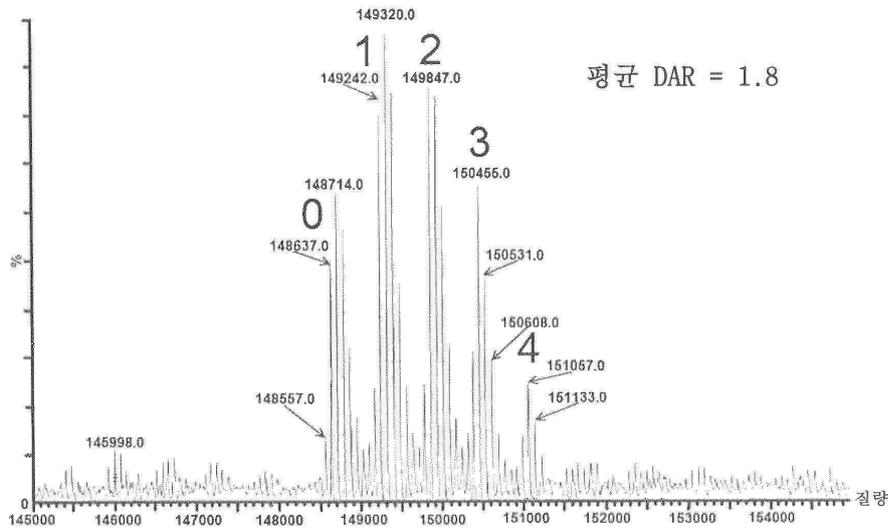
도면28



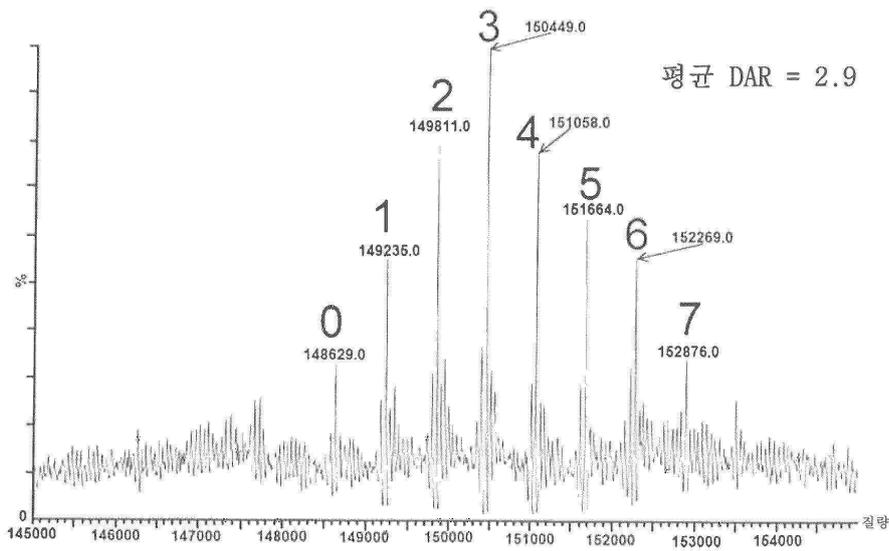
도면29



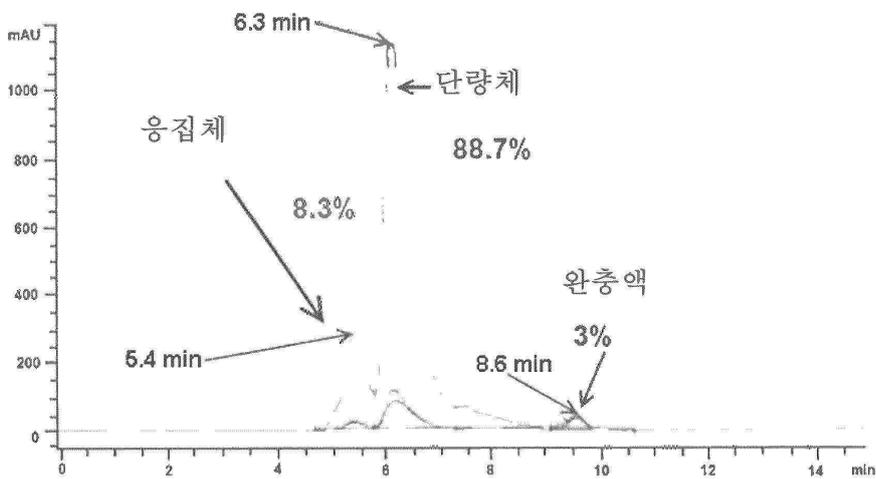
도면30a



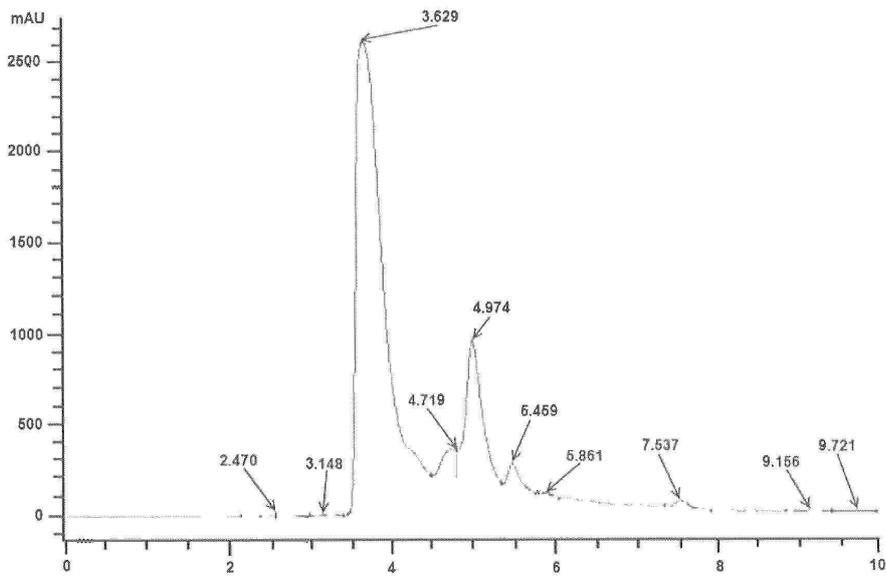
도면30b



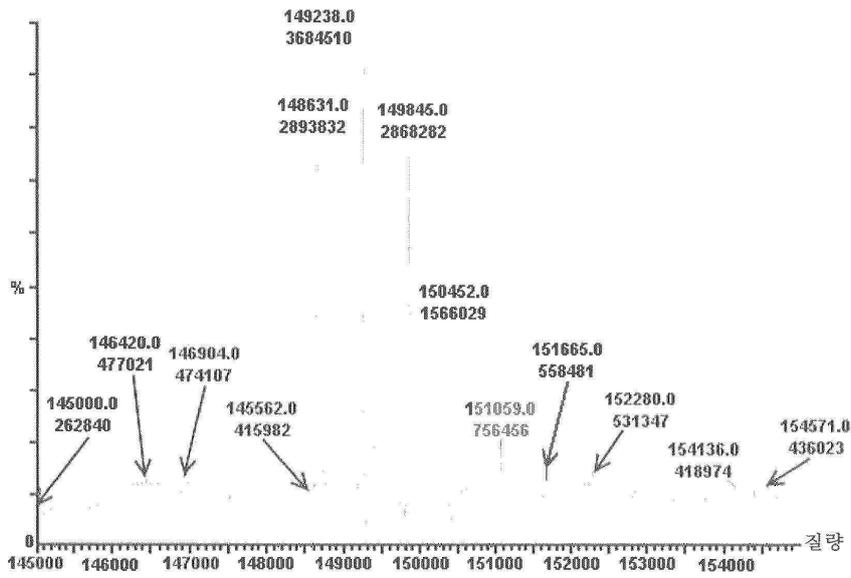
도면31a



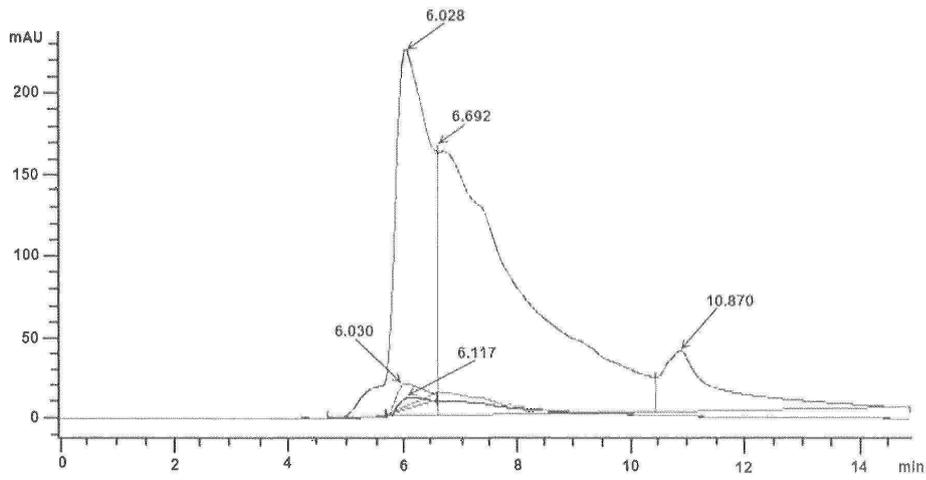
도면31b



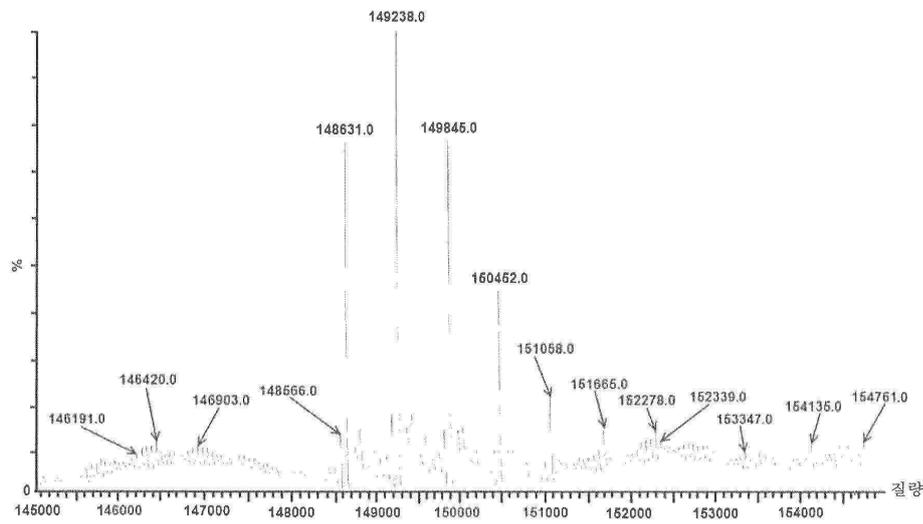
도면32



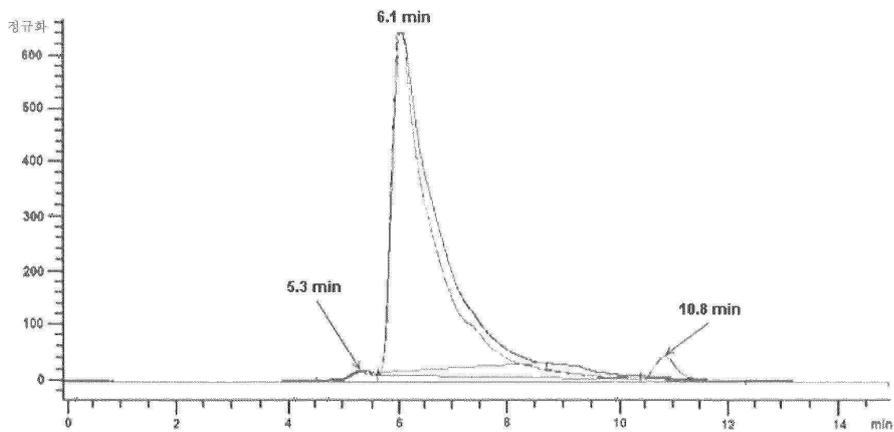
도면33



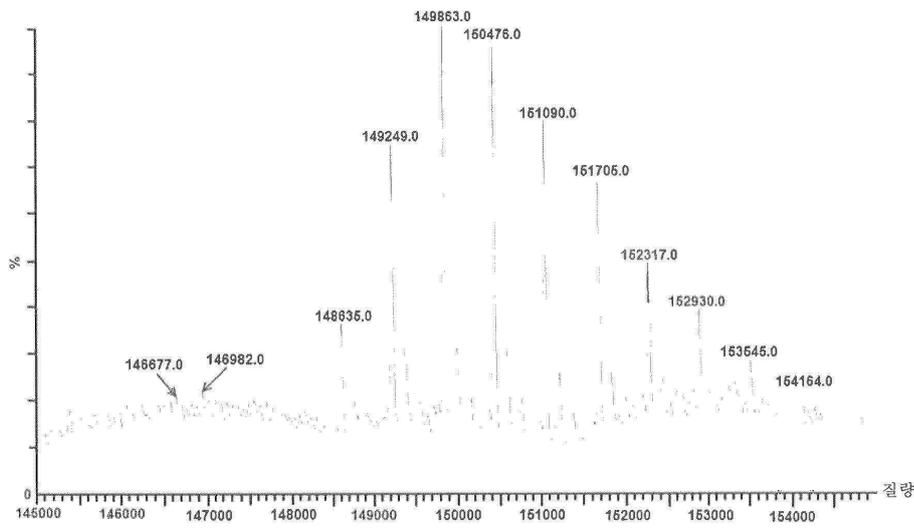
도면34



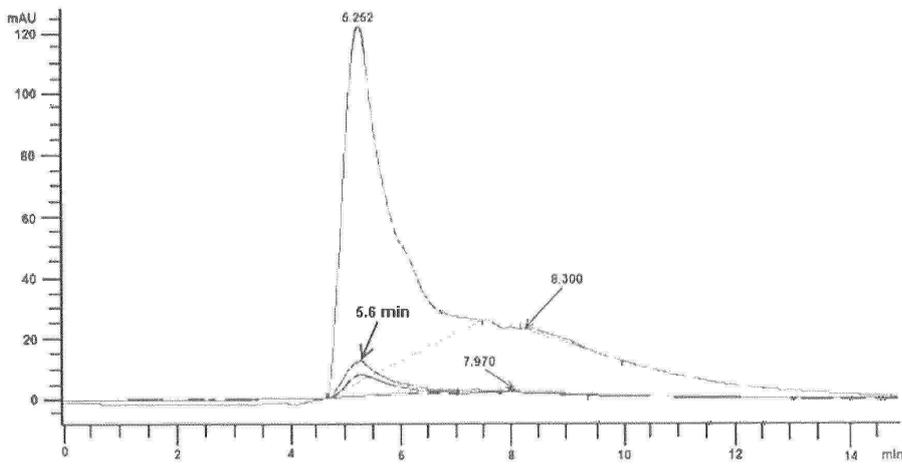
도면35



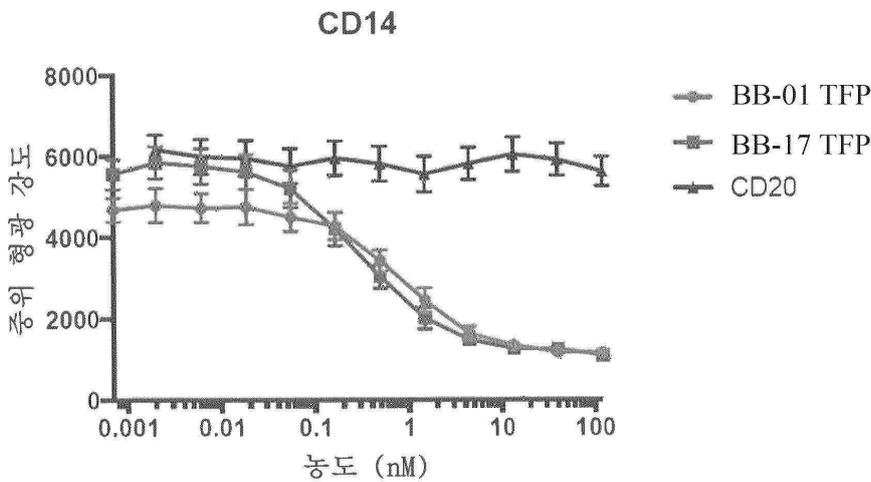
도면36



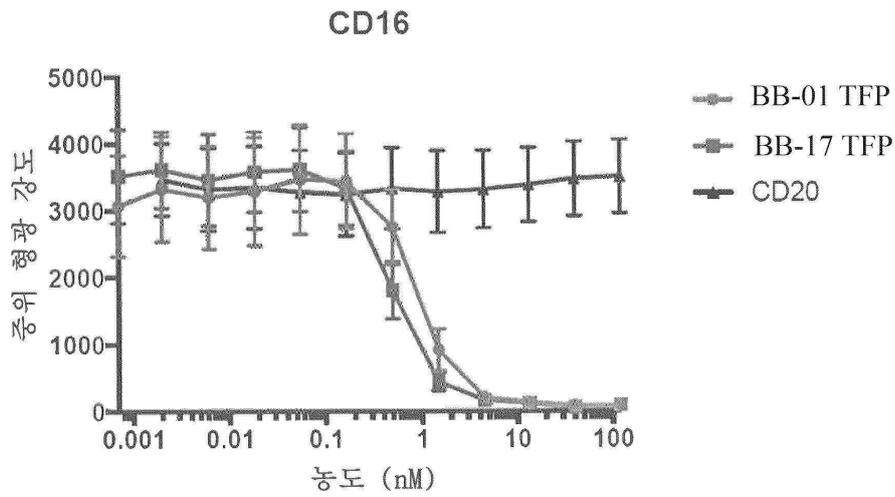
도면37



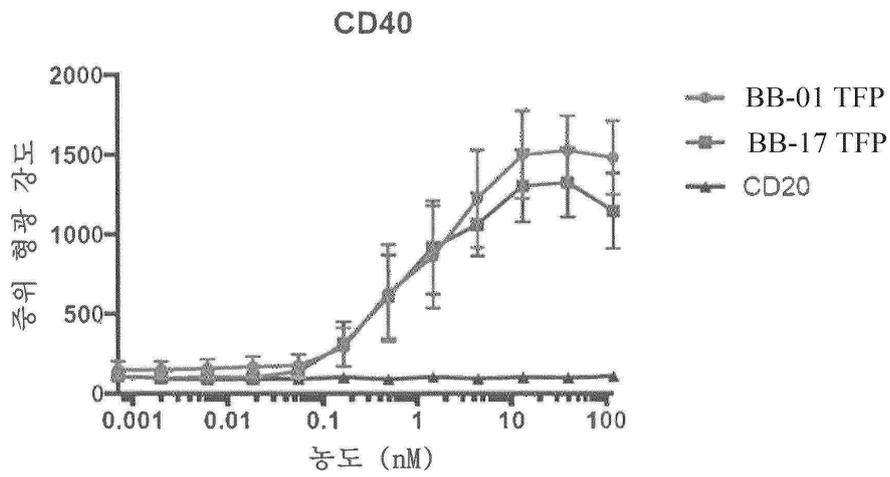
도면38a



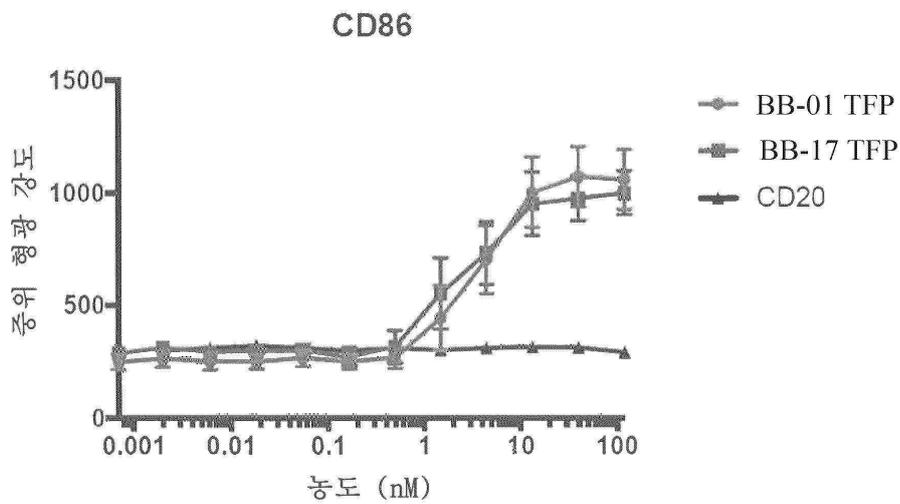
도면38b



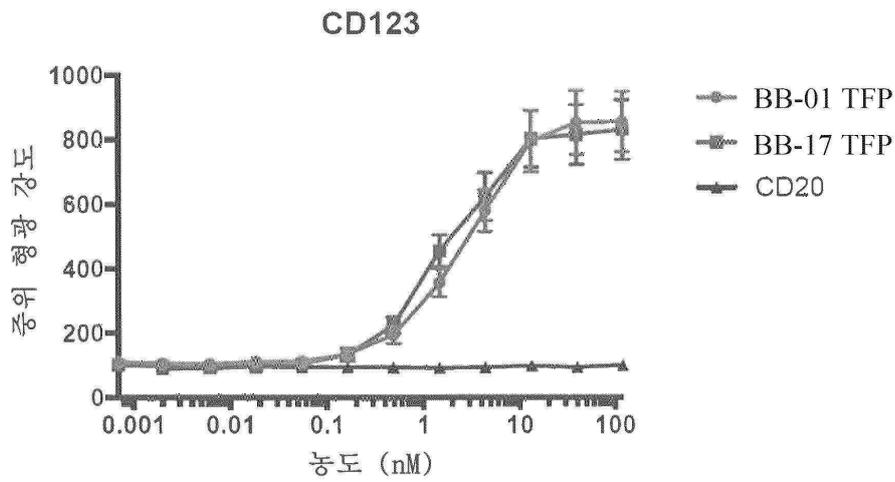
도면38c



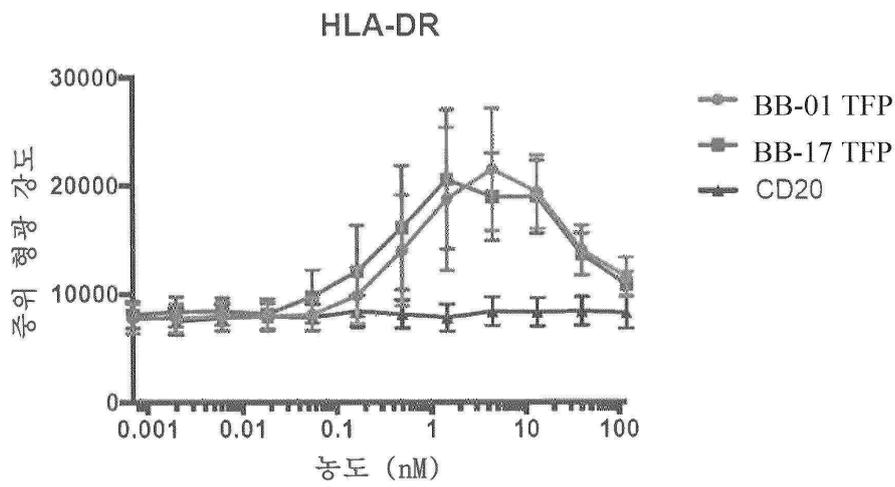
도면38d



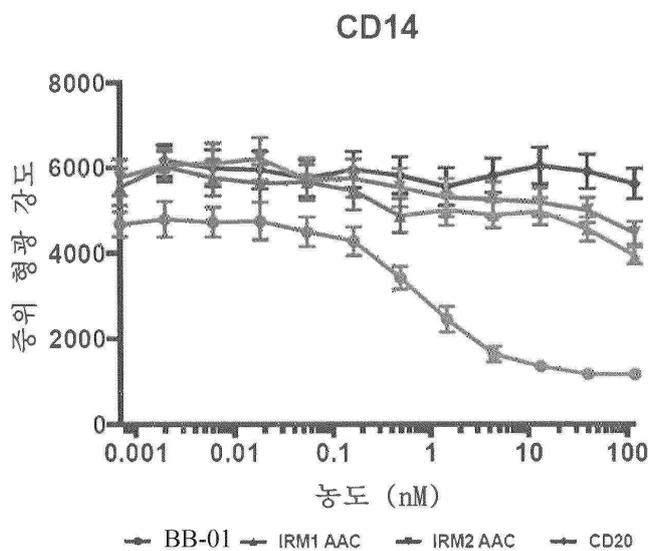
도면38e



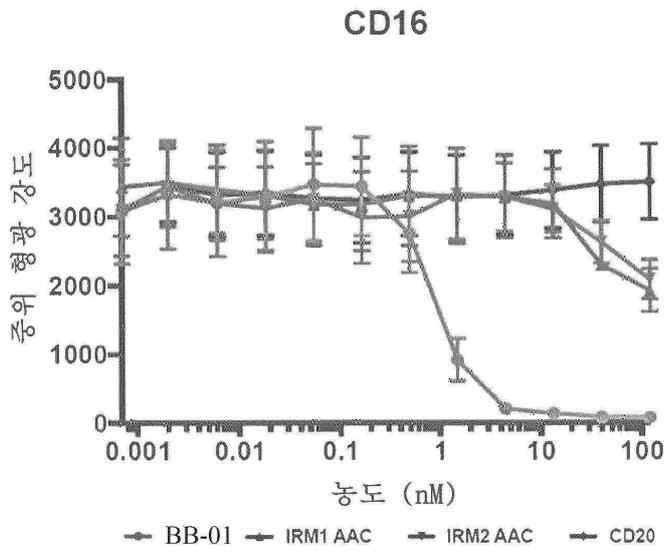
도면38f



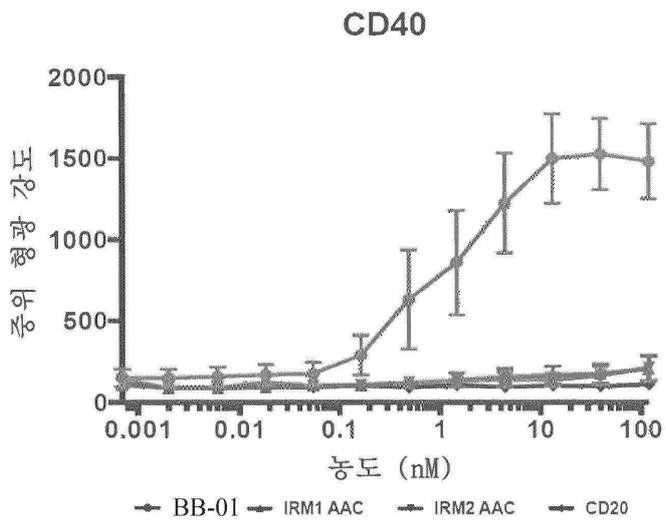
도면39a



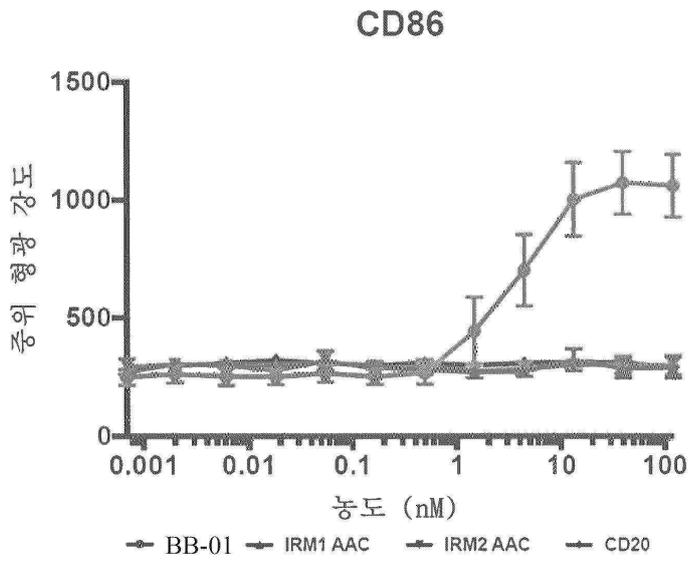
도면39b



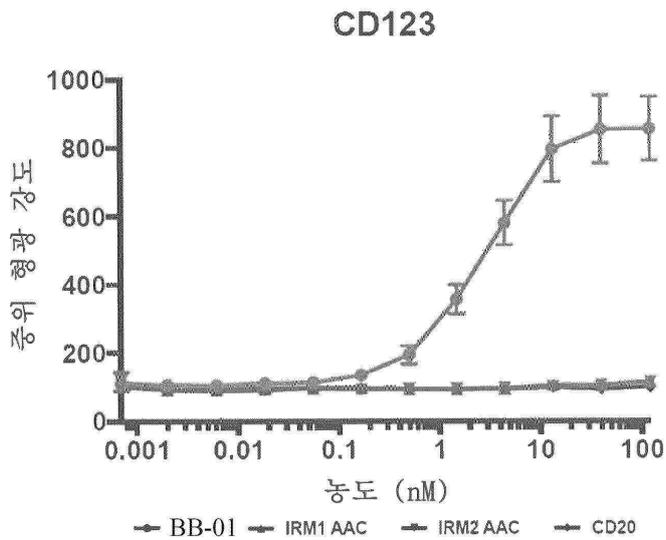
도면39c



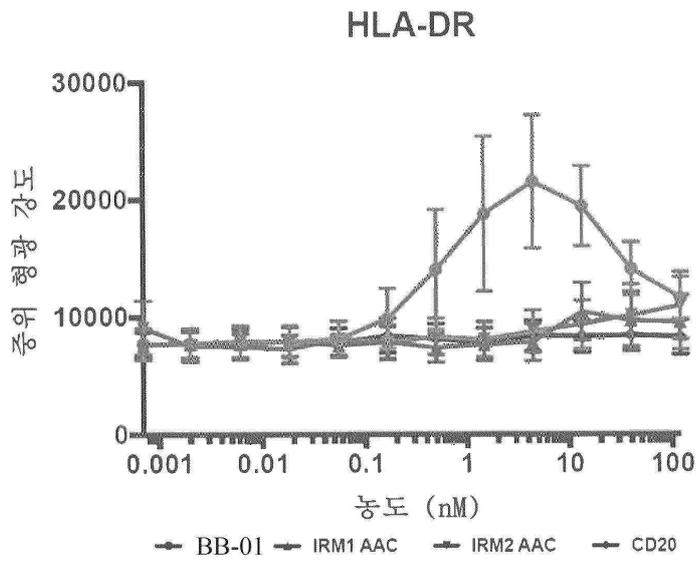
도면39d



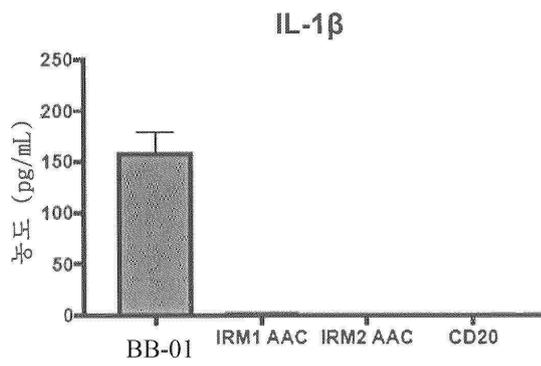
도면39e



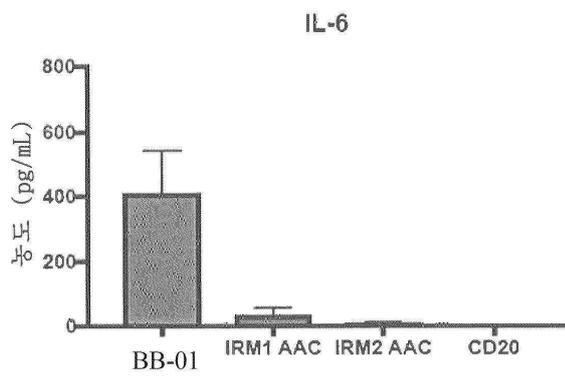
도면39f



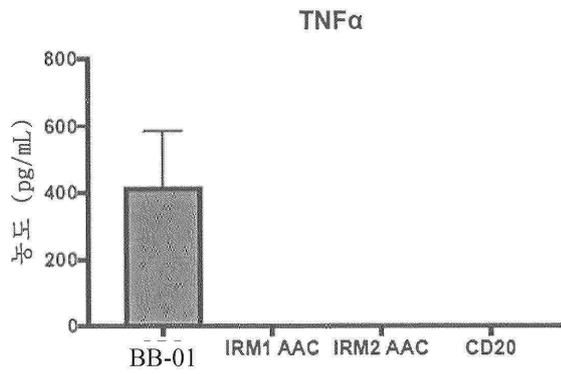
도면40a



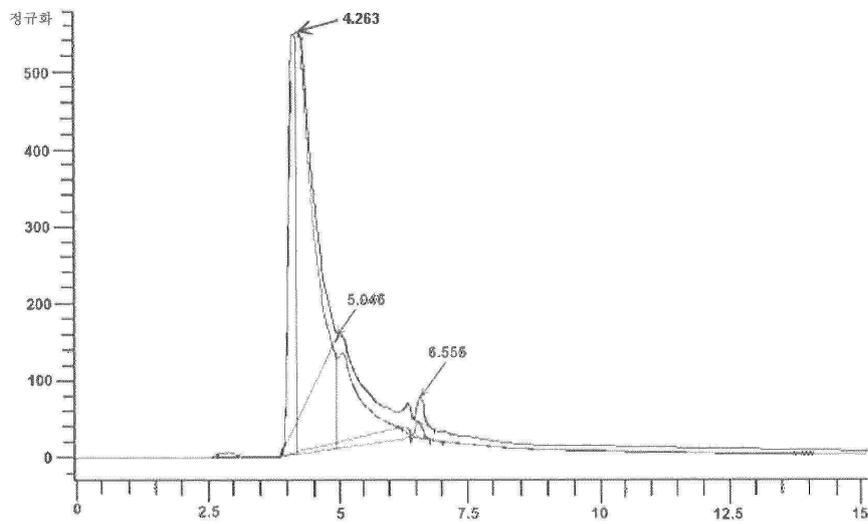
도면40b



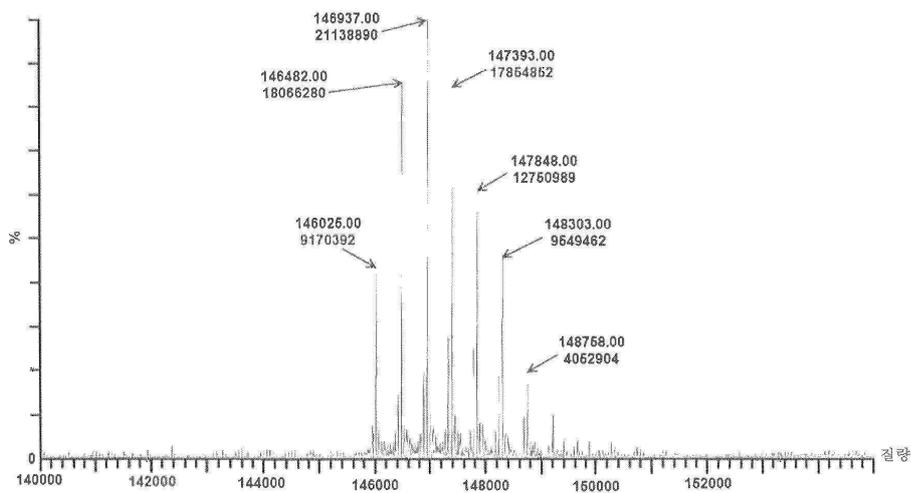
도면40c



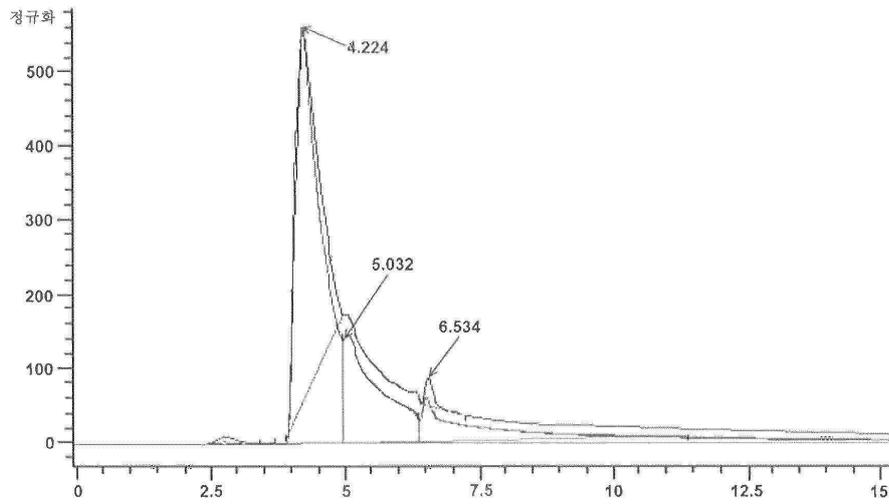
도면41a



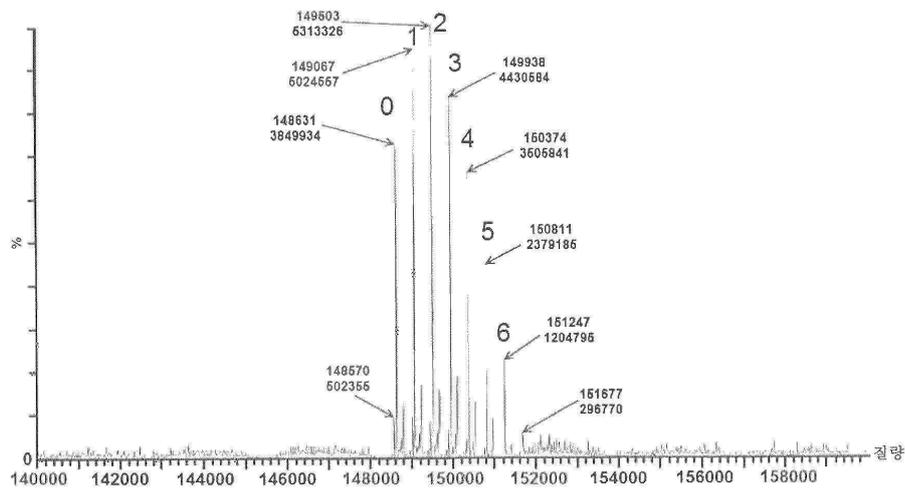
도면41b



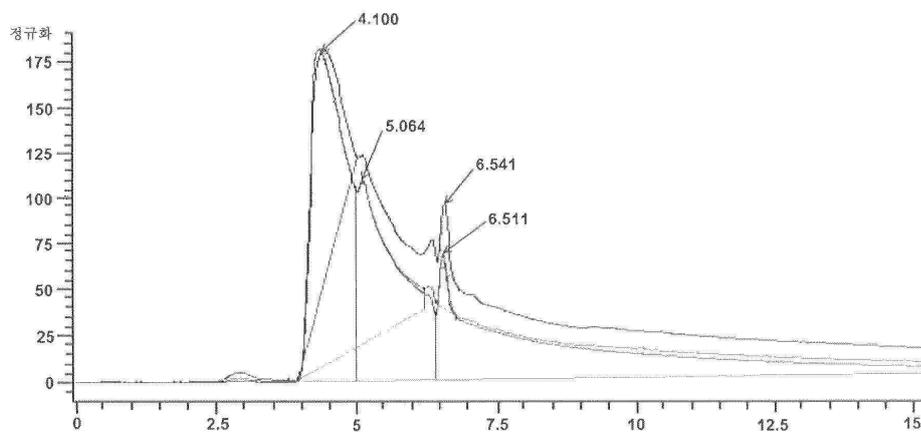
도면42a



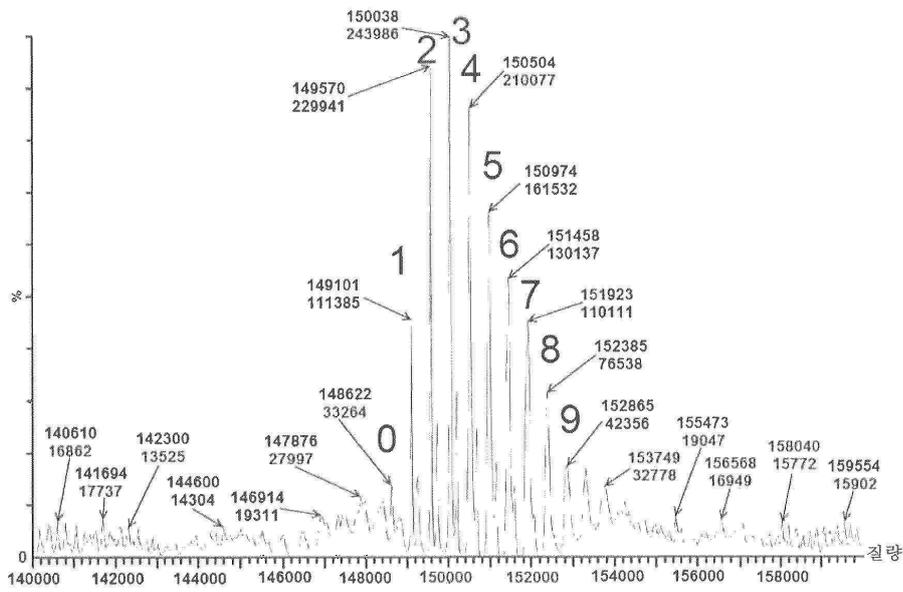
도면42b



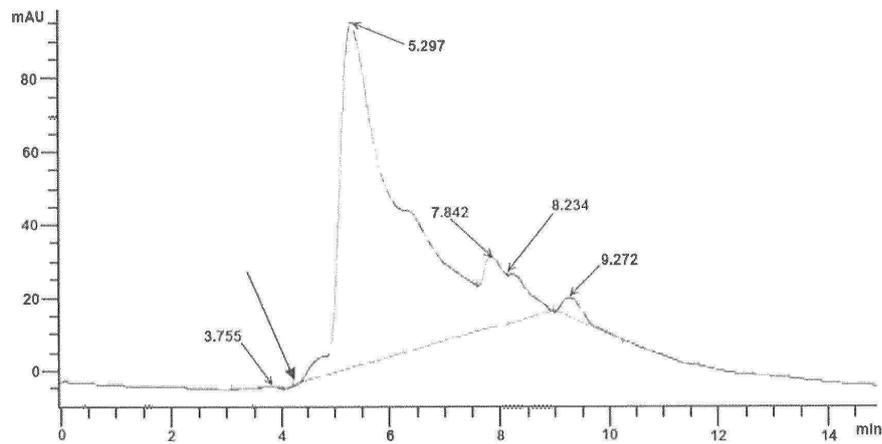
도면43a



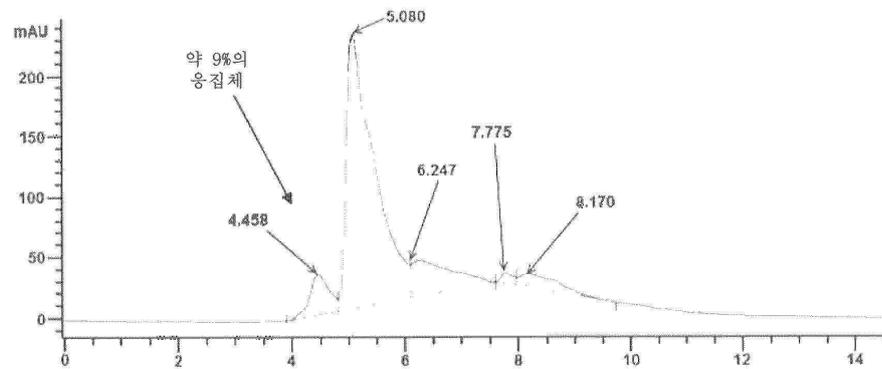
도면43b



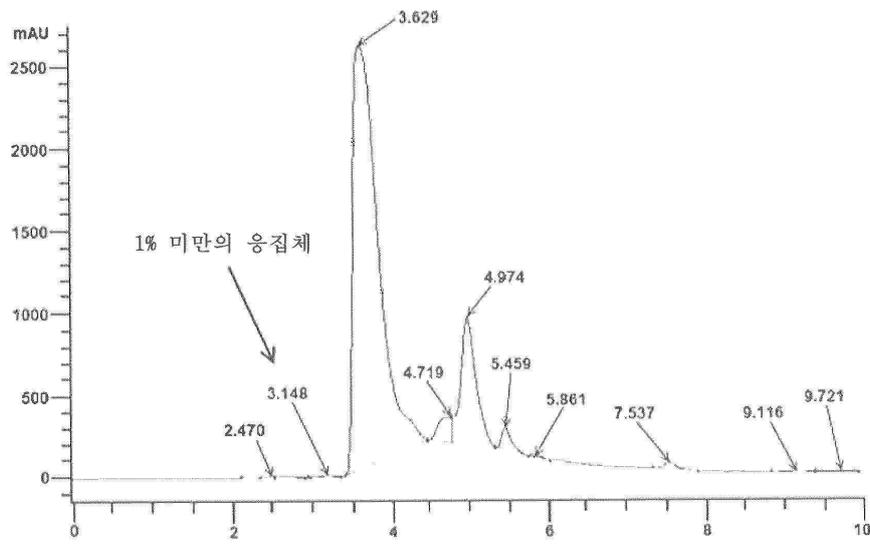
도면44a



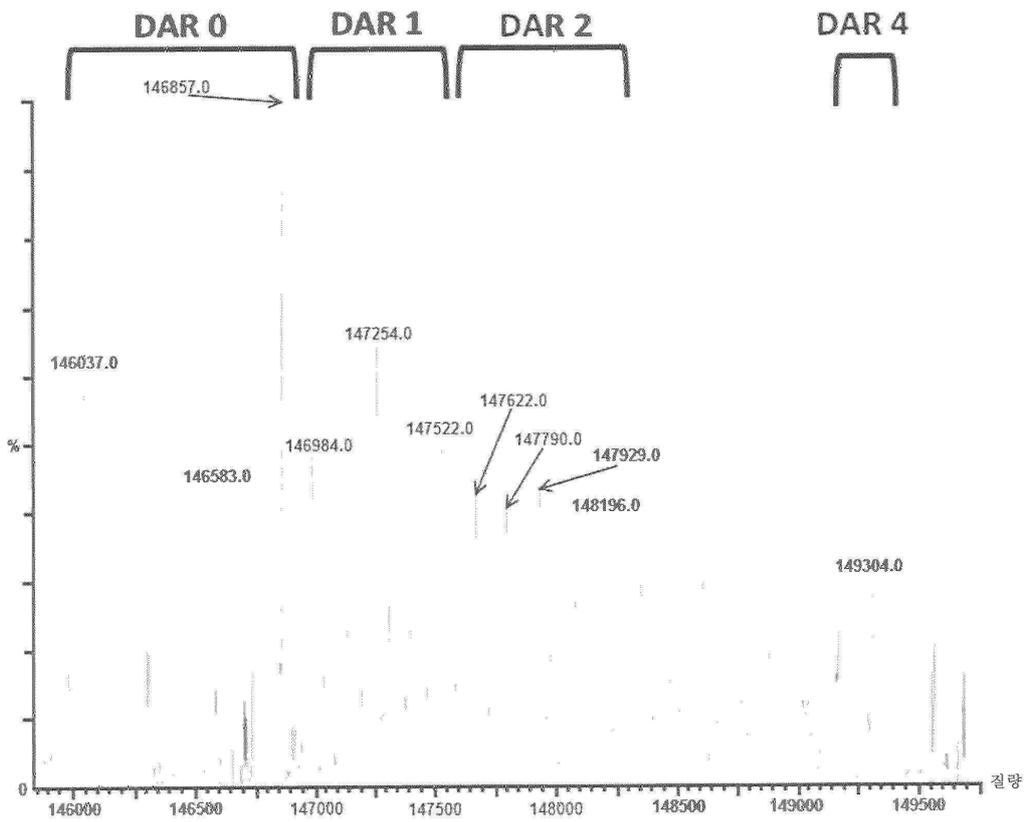
도면44b



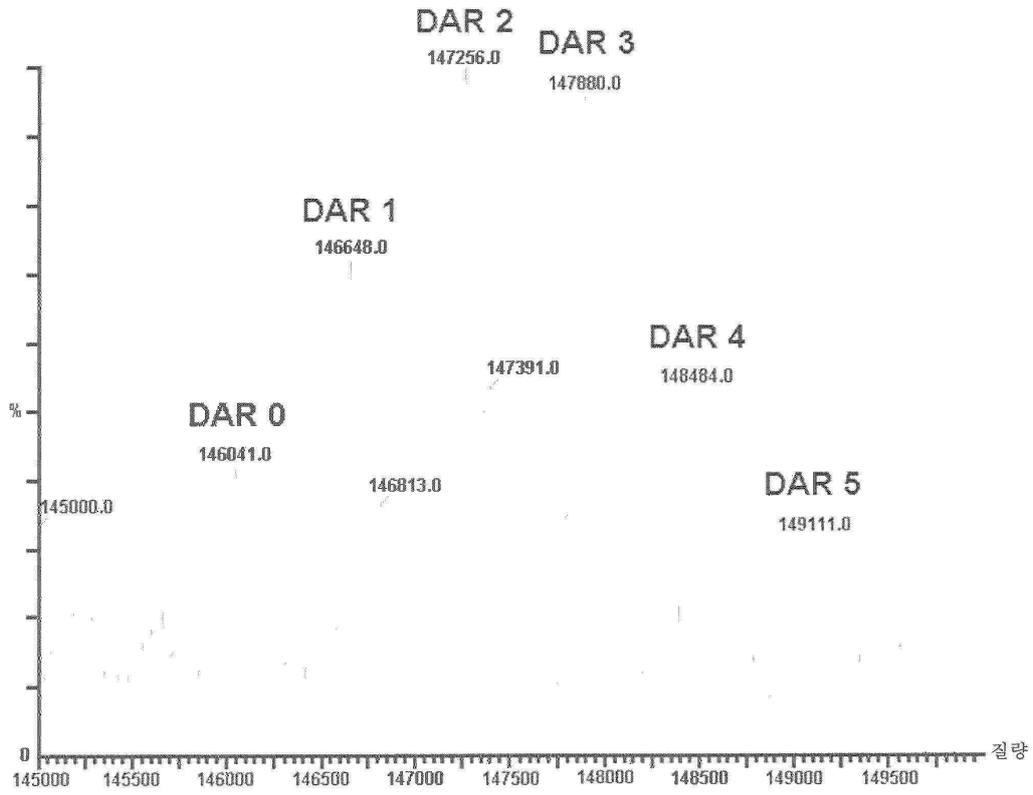
도면44c



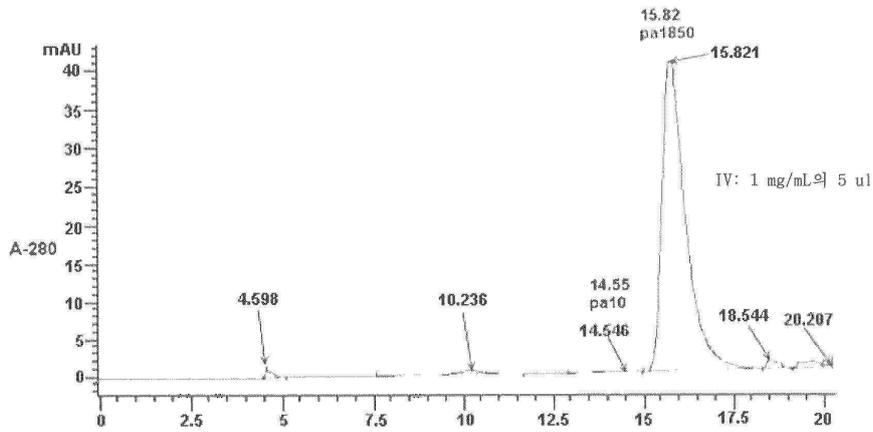
도면45a



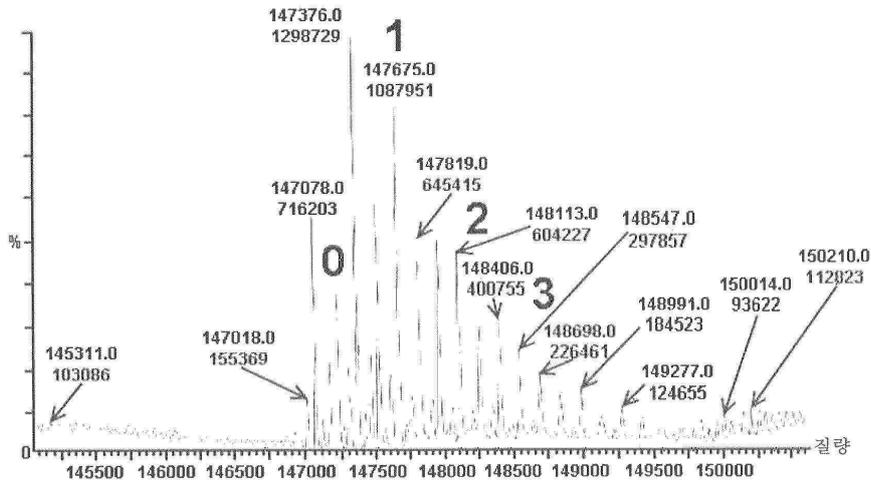
도면45b



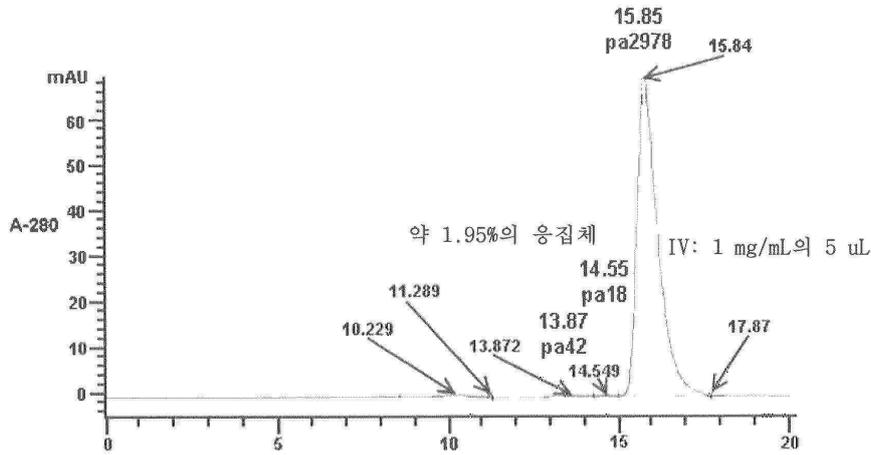
도면46a



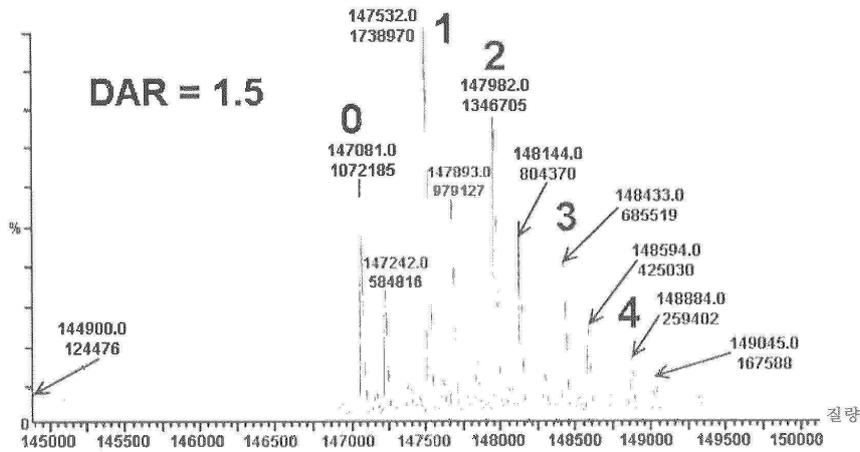
도면46b



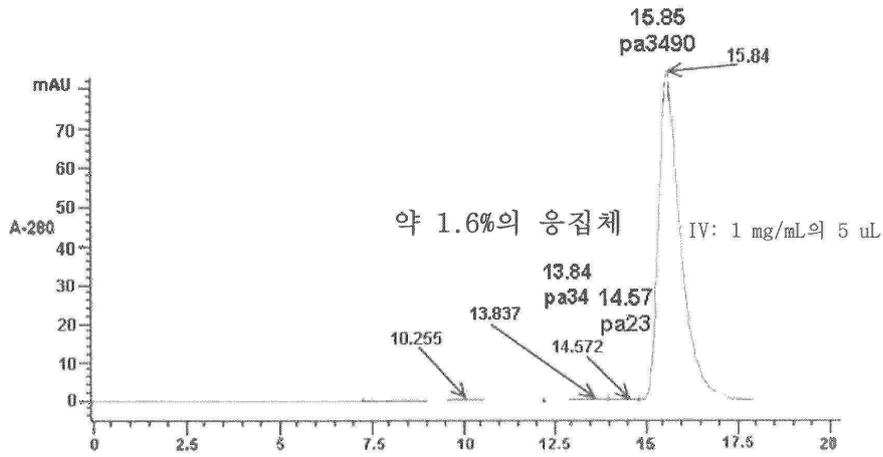
도면47a



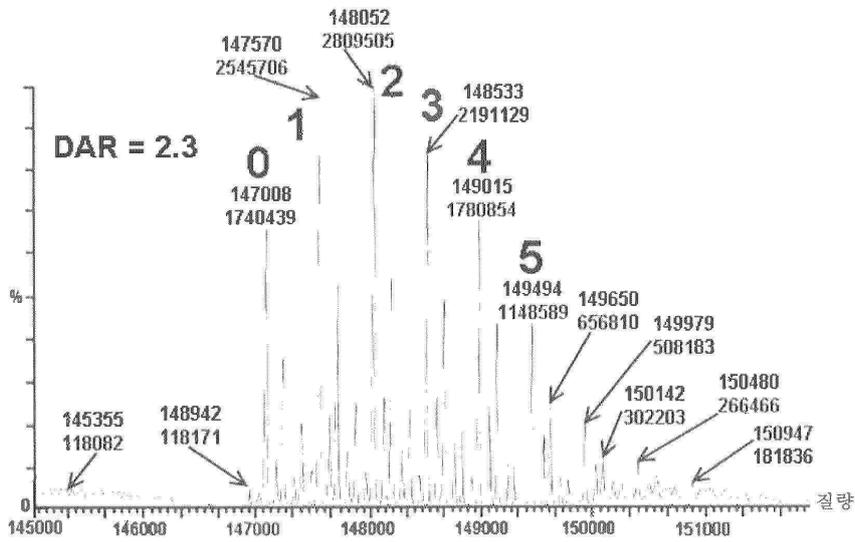
도면47b



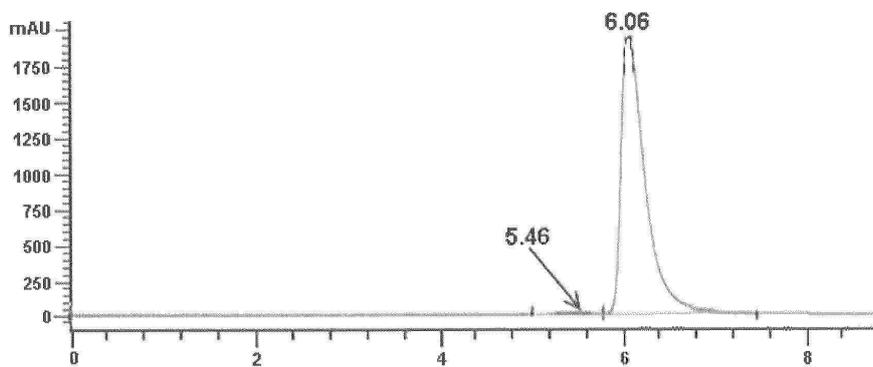
도면48a



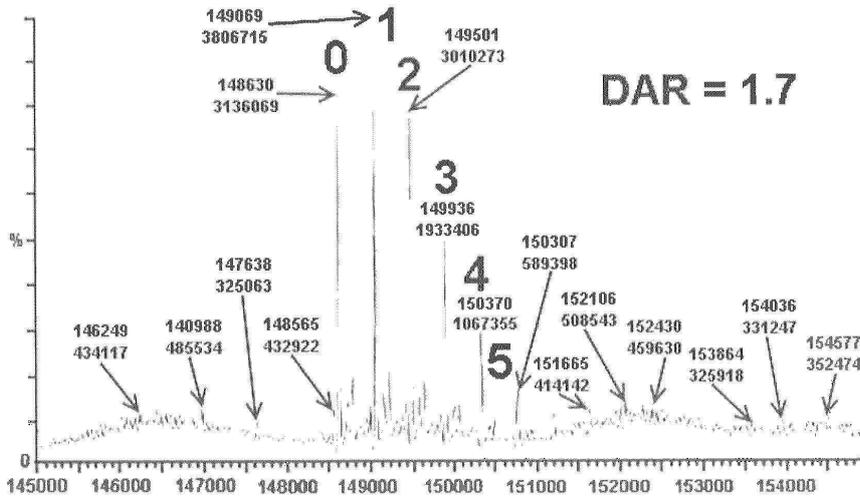
도면48b



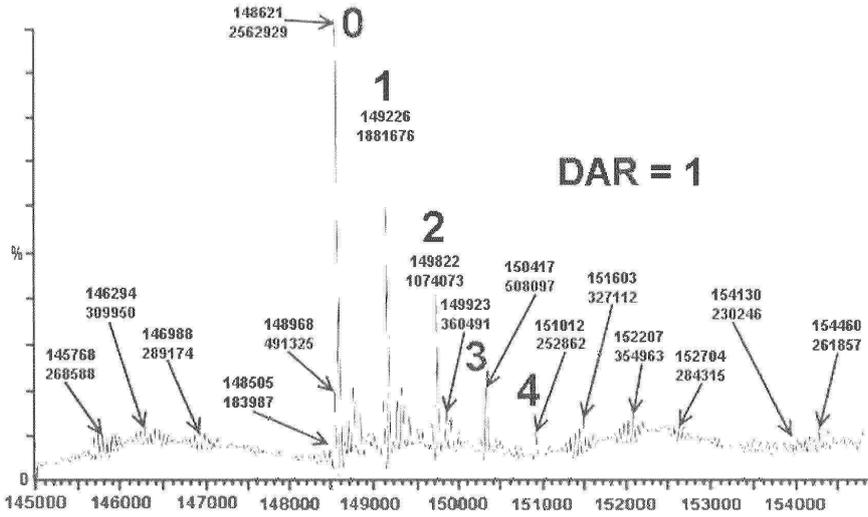
도면49a



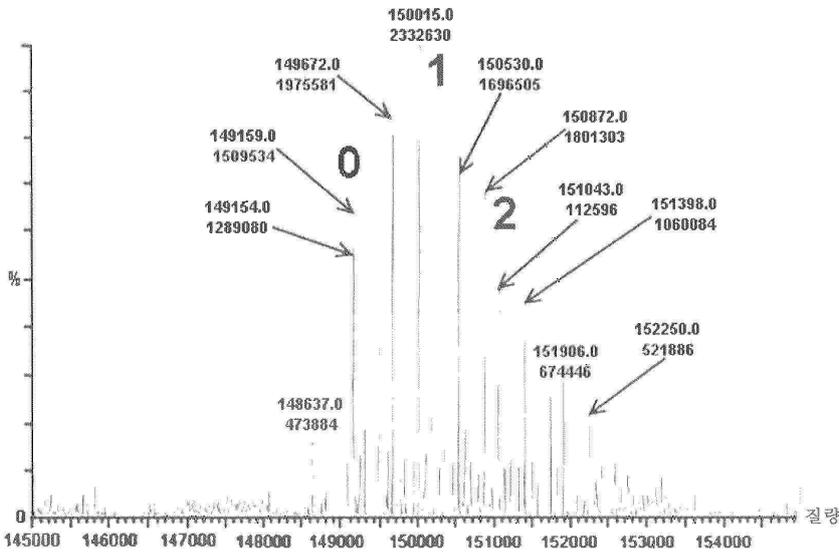
도면49b



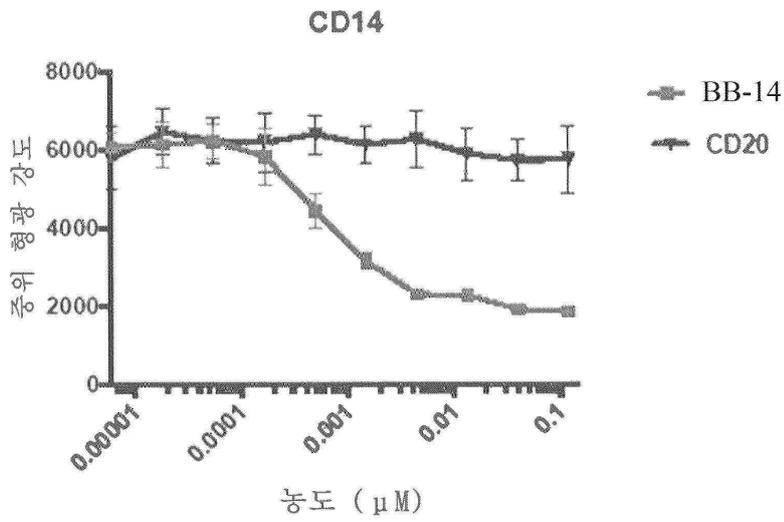
도면50



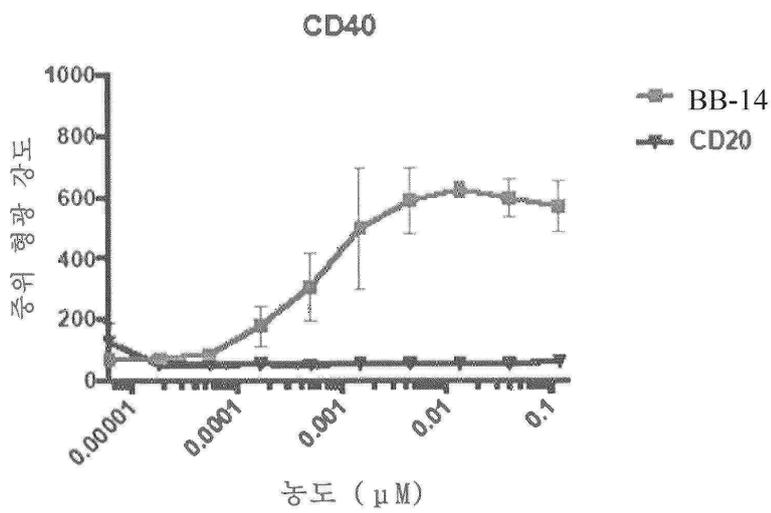
도면51



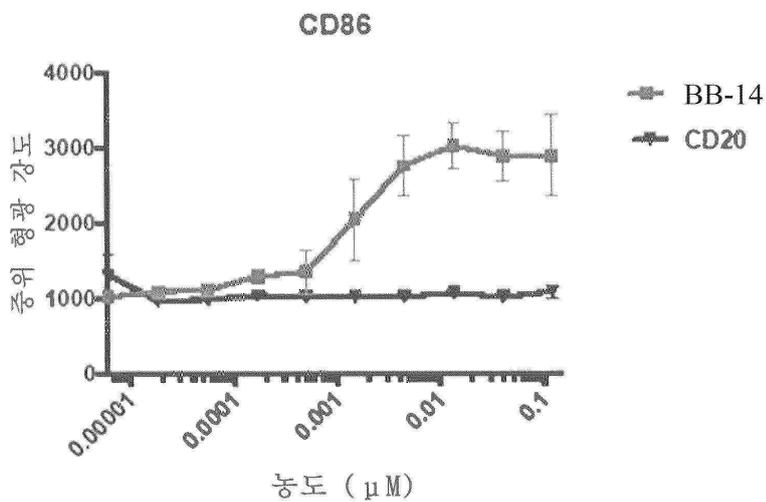
도면52a



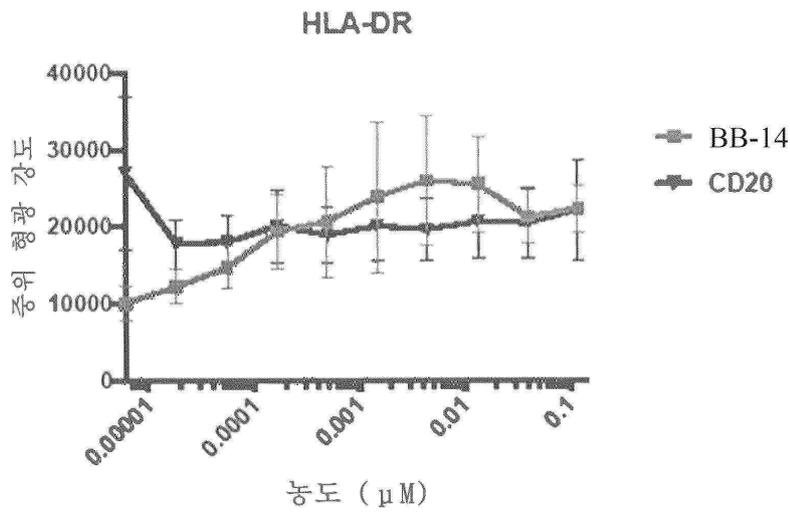
도면52b



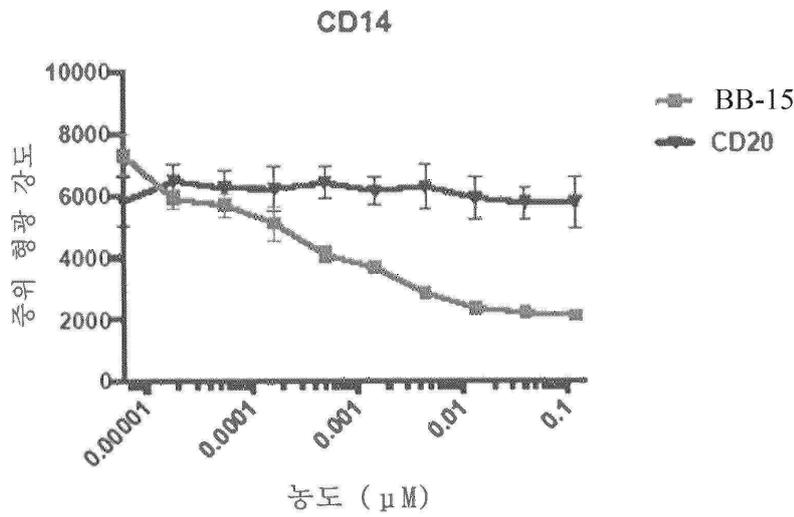
도면52c



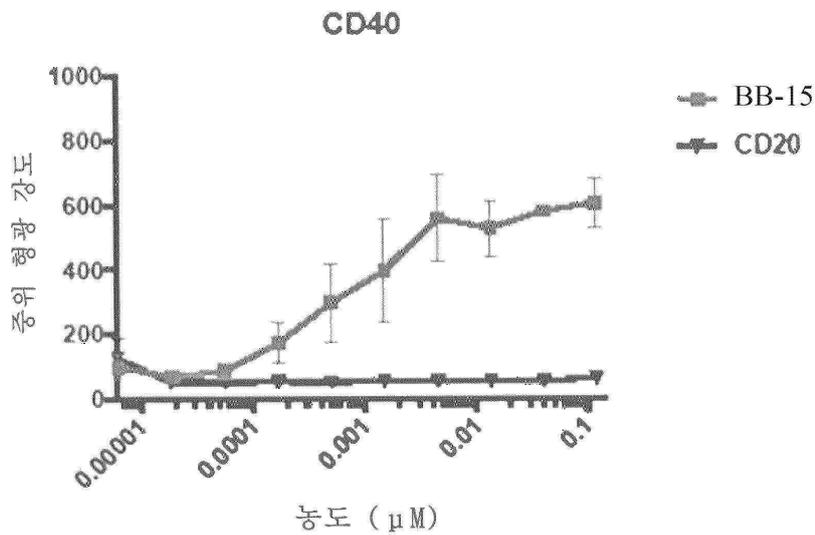
도면52d



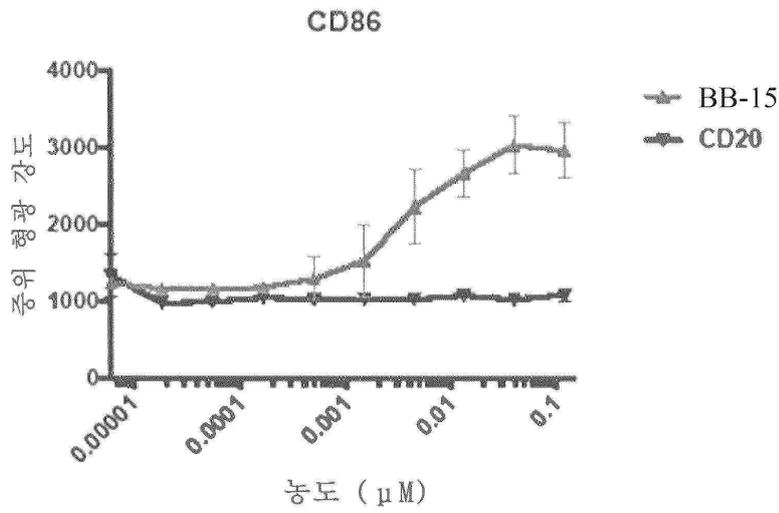
도면53a



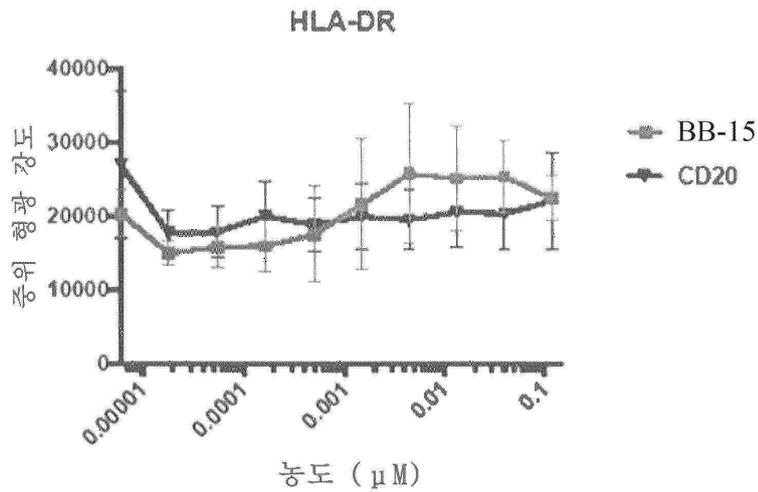
도면53b



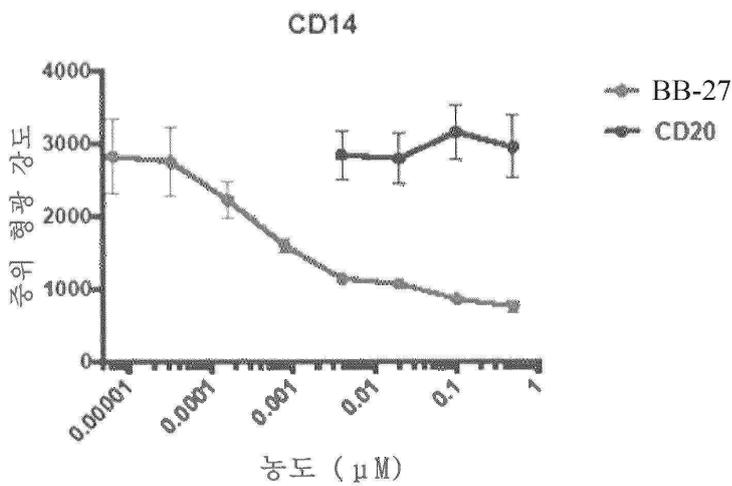
도면53c



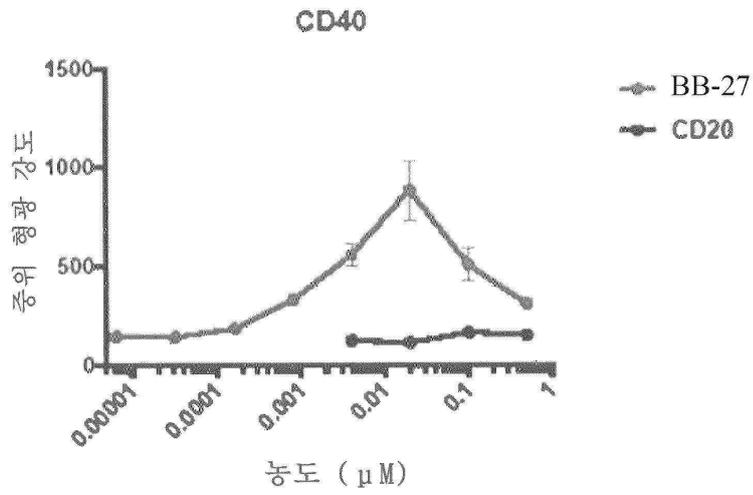
도면53d



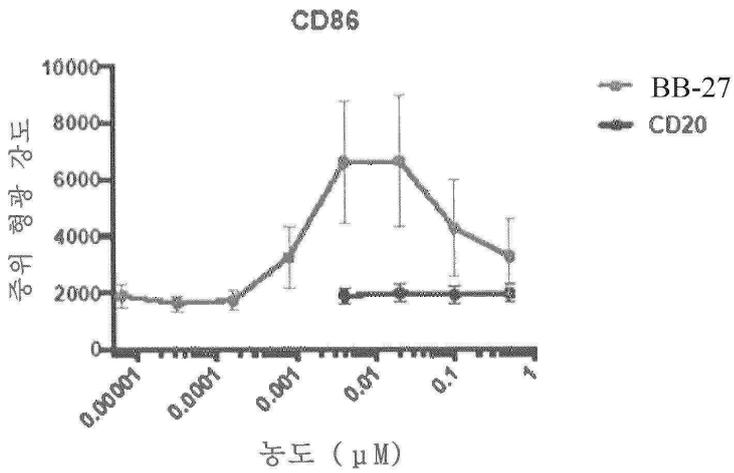
도면54a



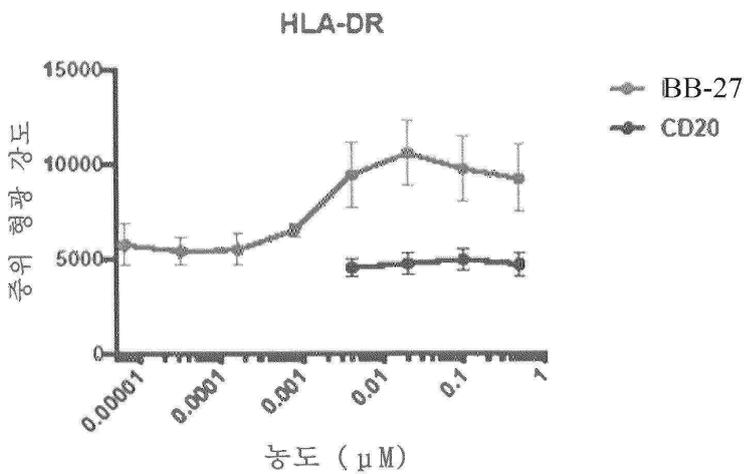
도면54b



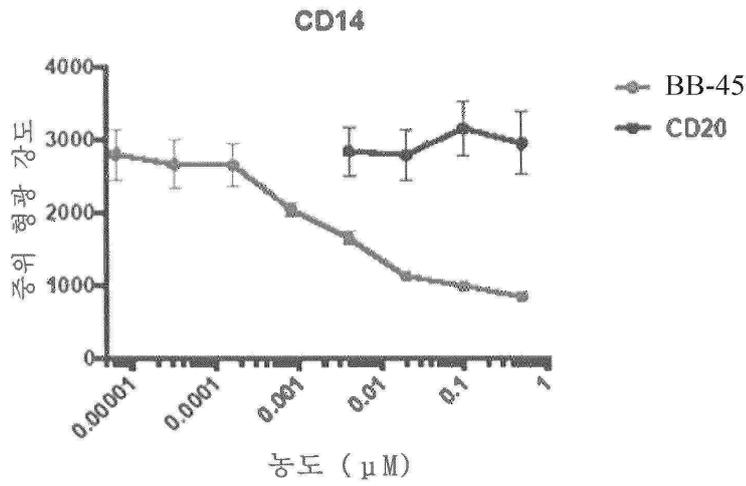
도면54c



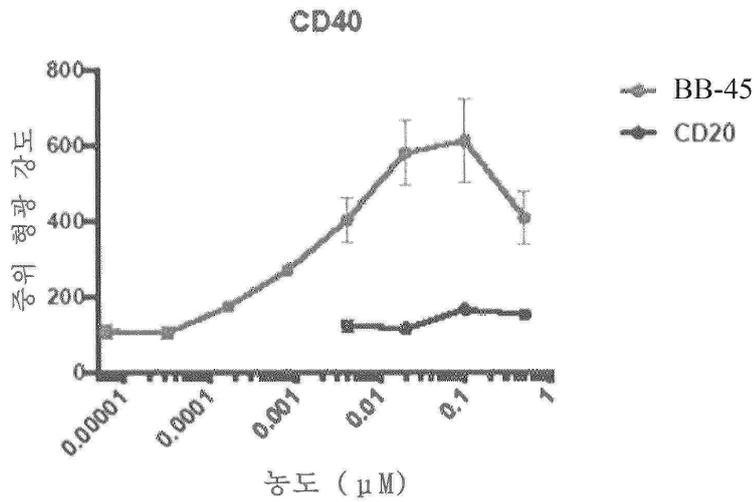
도면54d



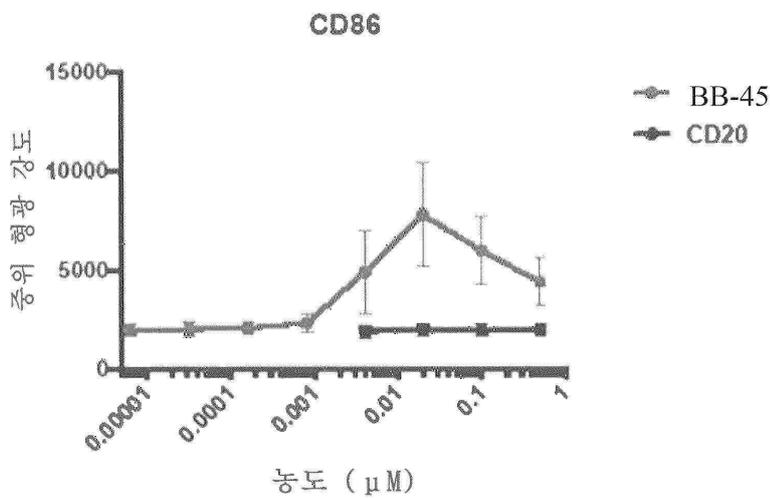
도면55a



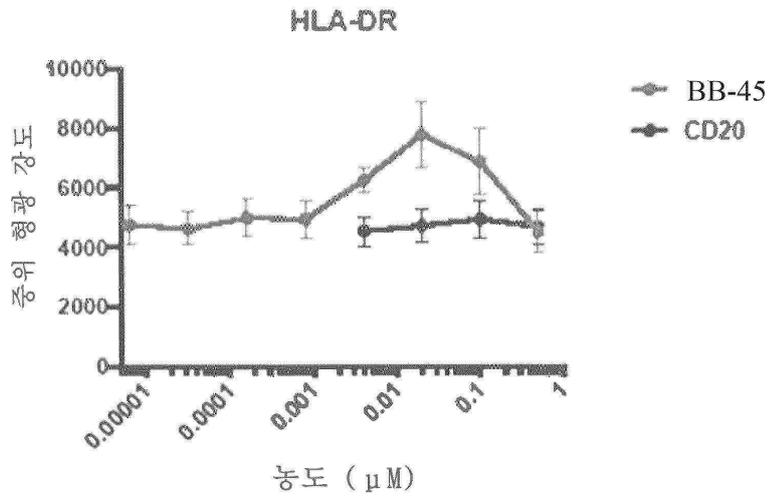
도면55b



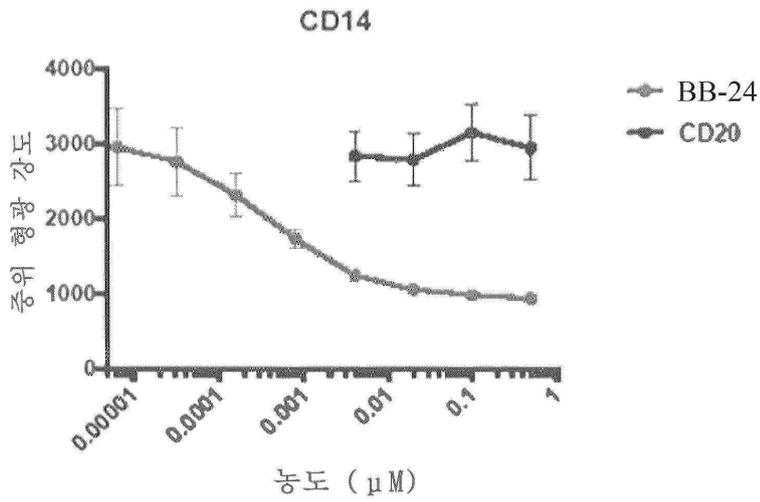
도면55c



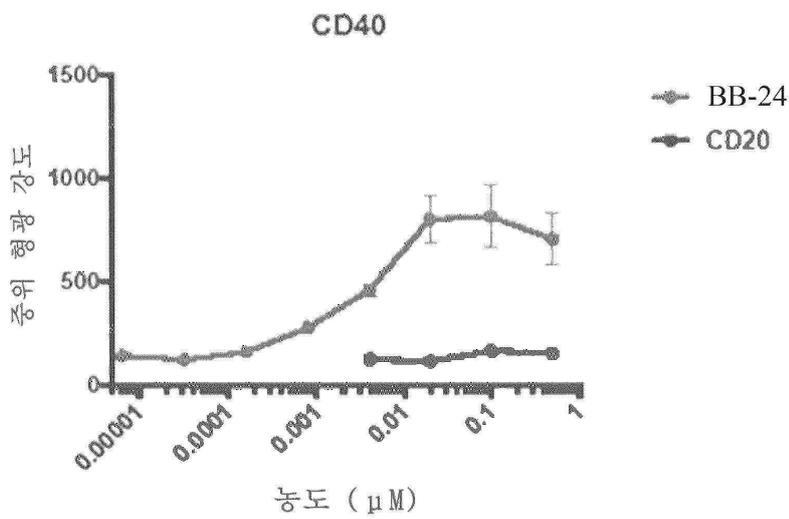
도면55d



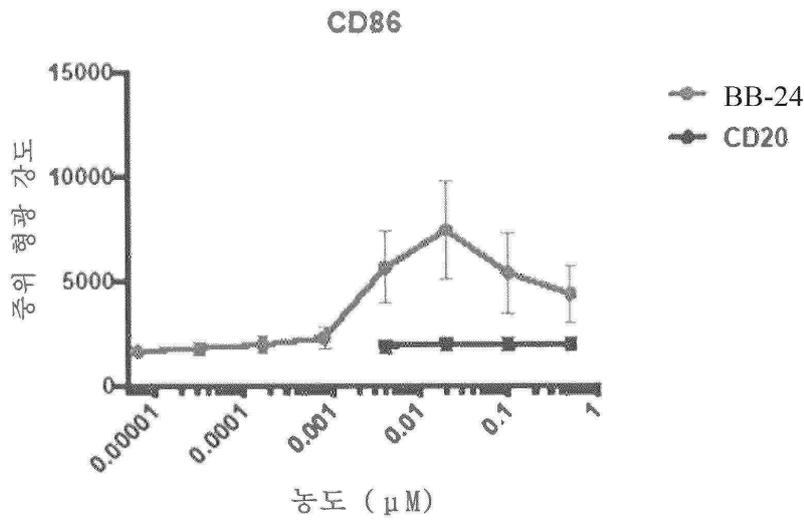
도면56a



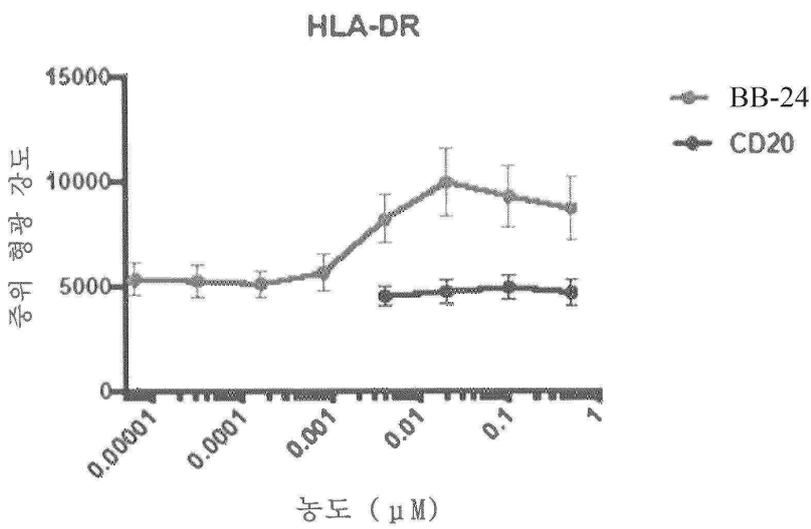
도면56b



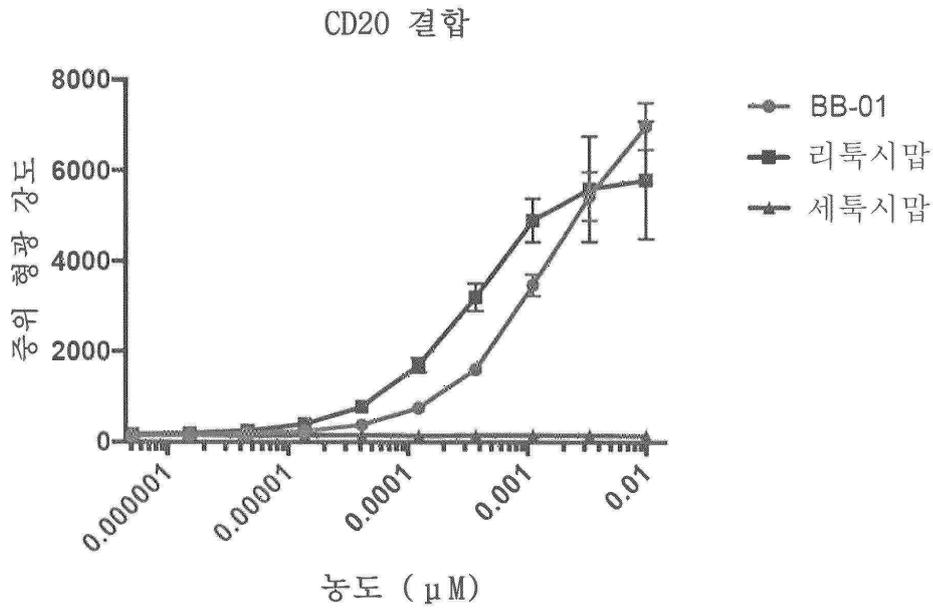
도면56c



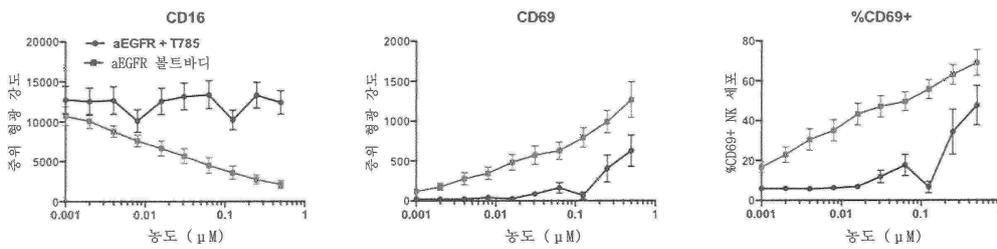
도면56d



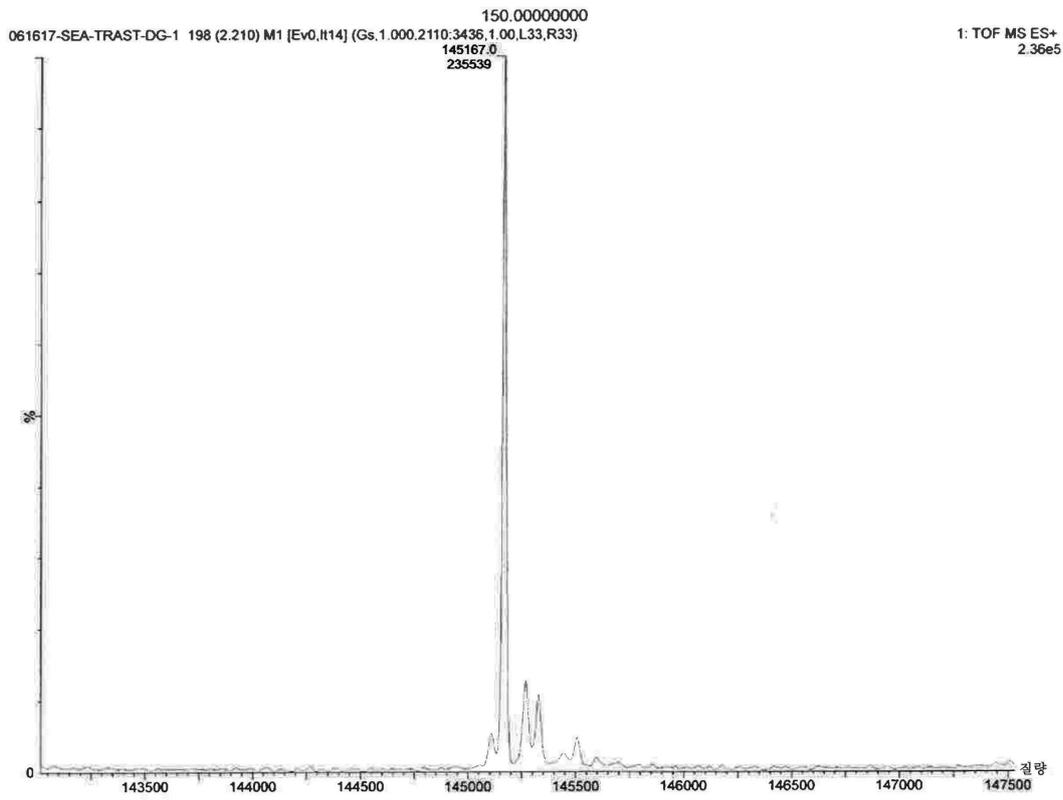
도면57



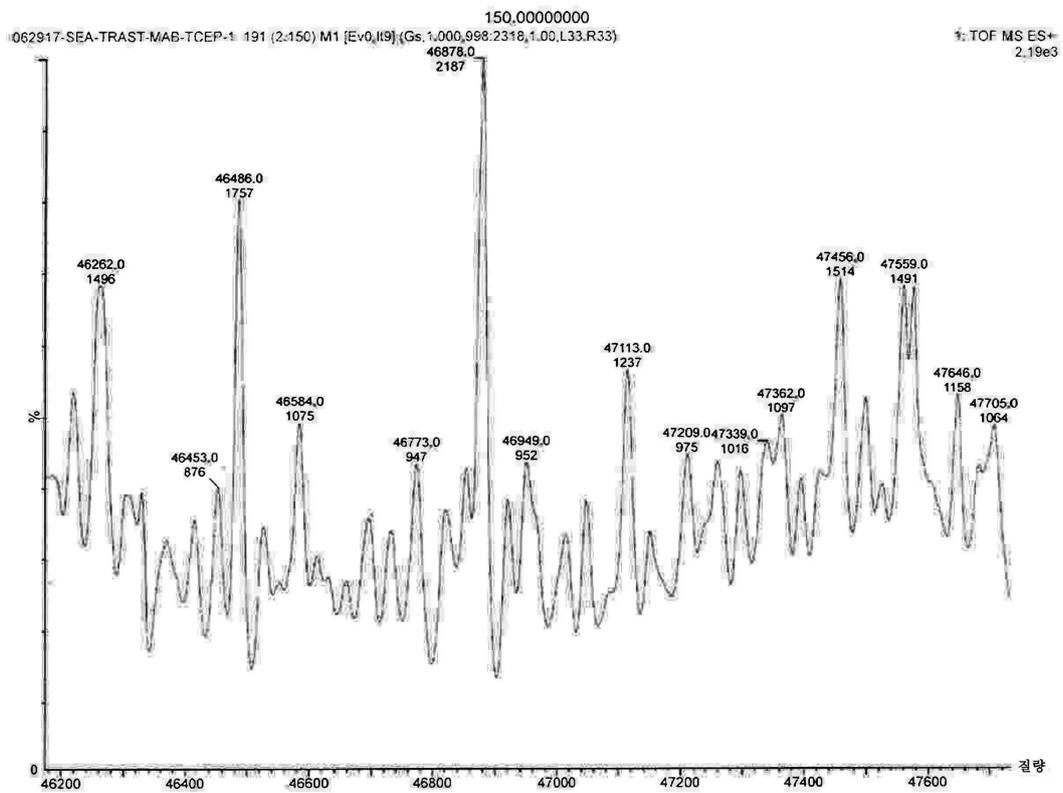
도면58



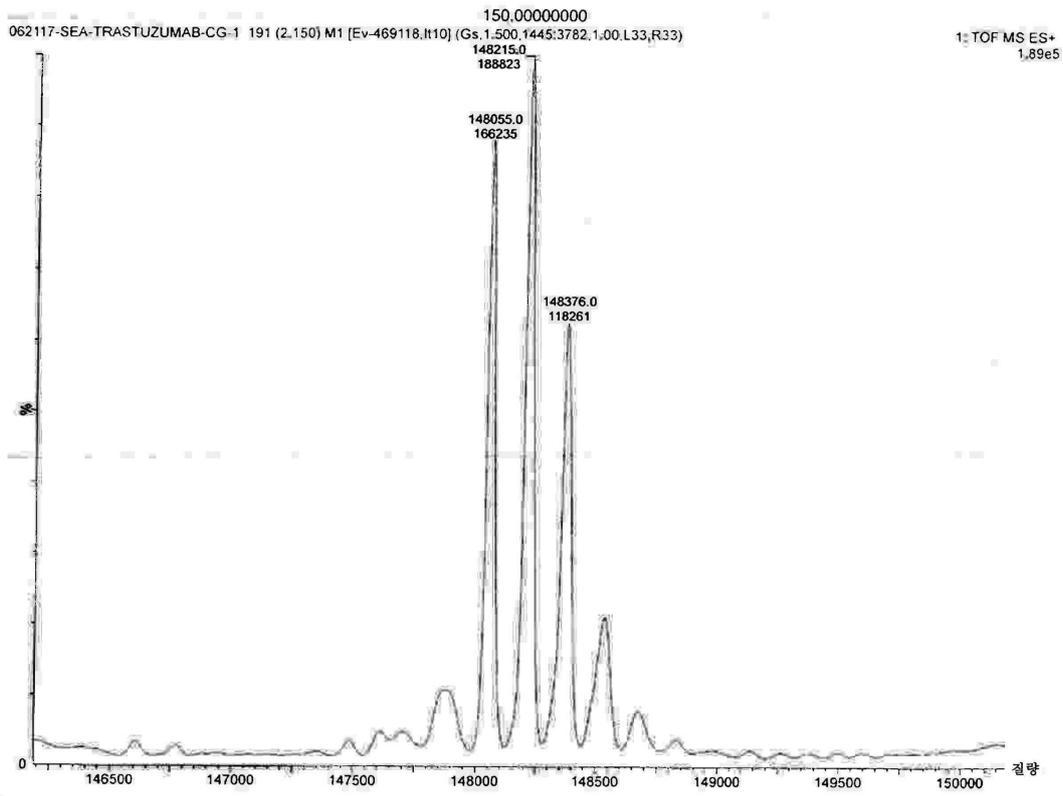
도면59



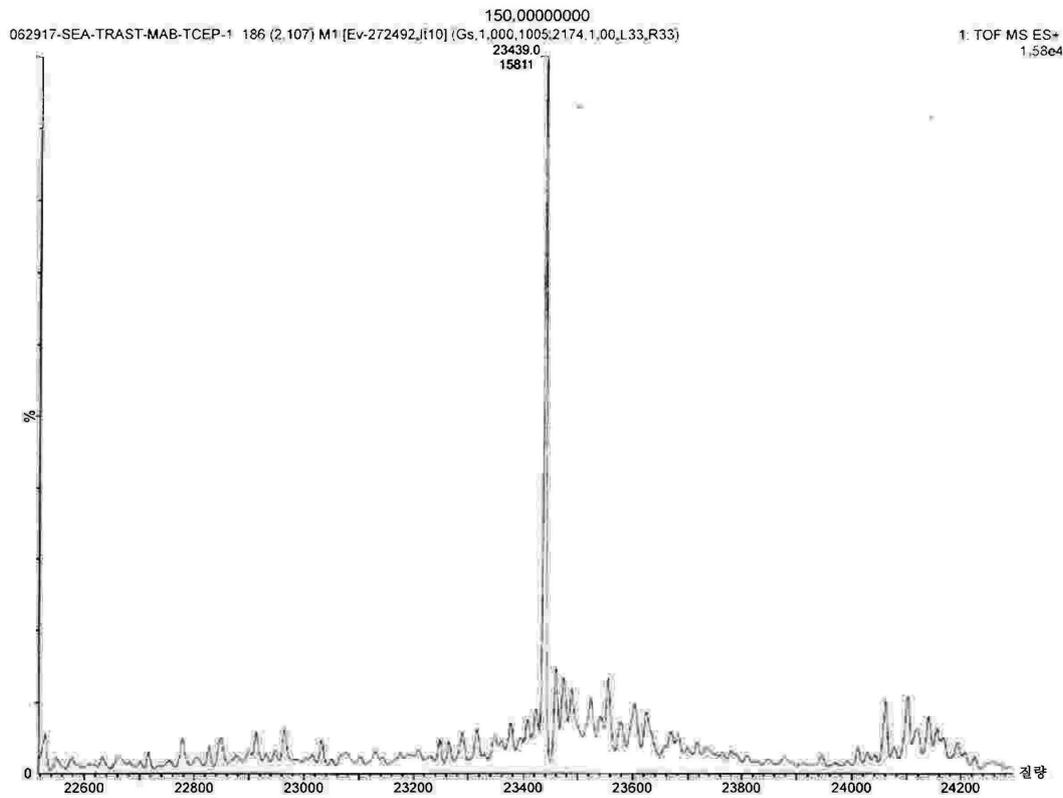
도면60



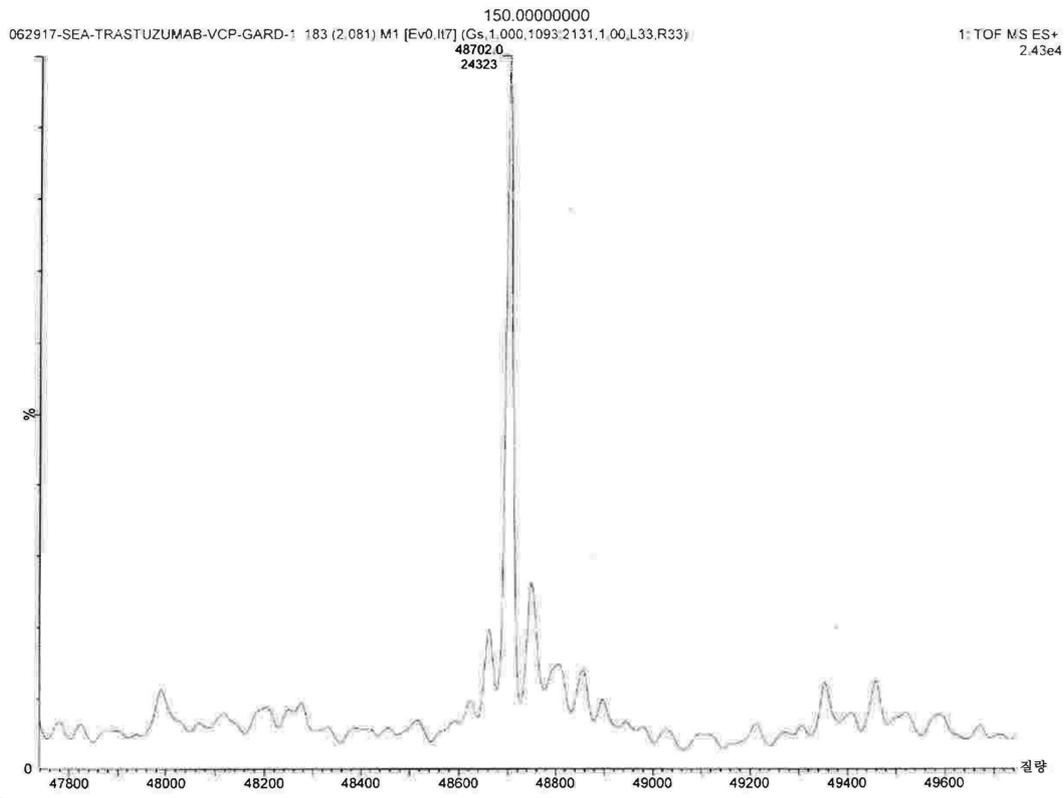
도면61



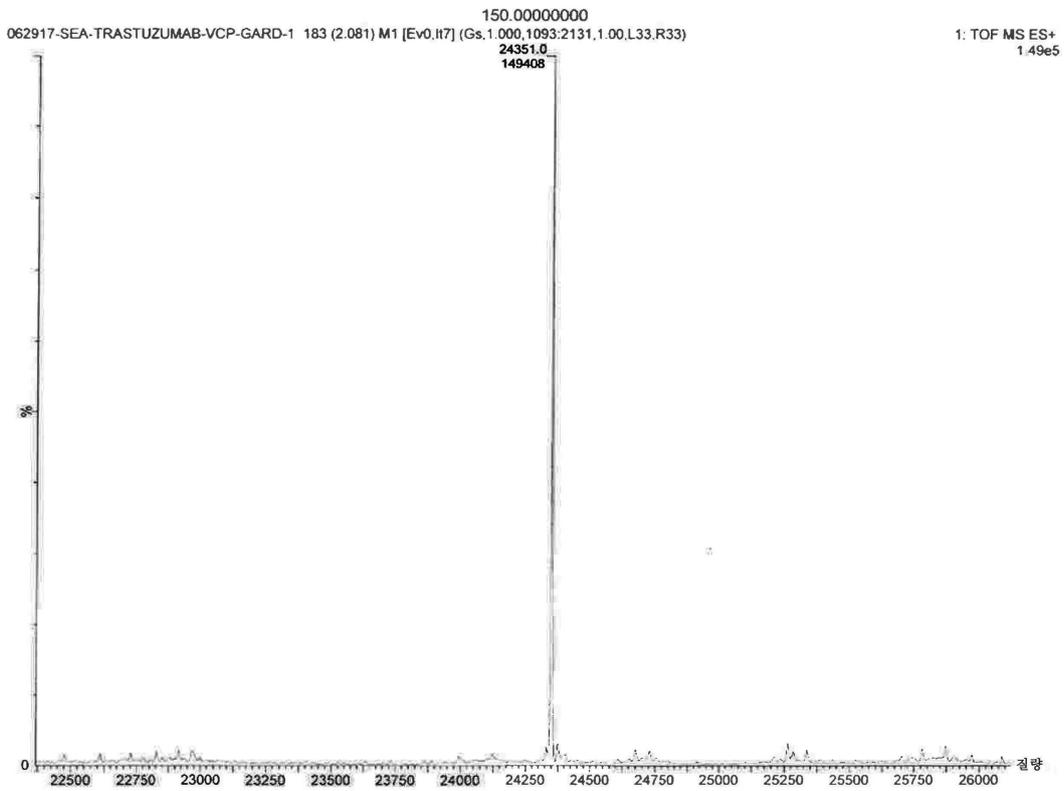
도면62



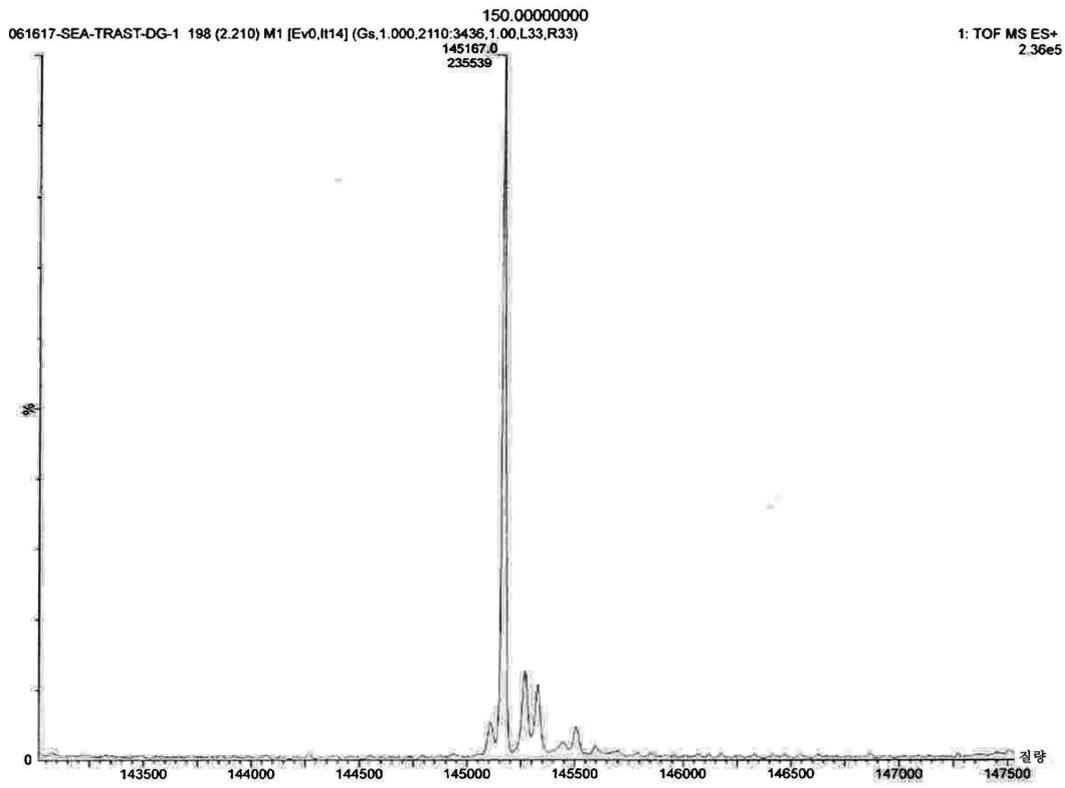
도면63



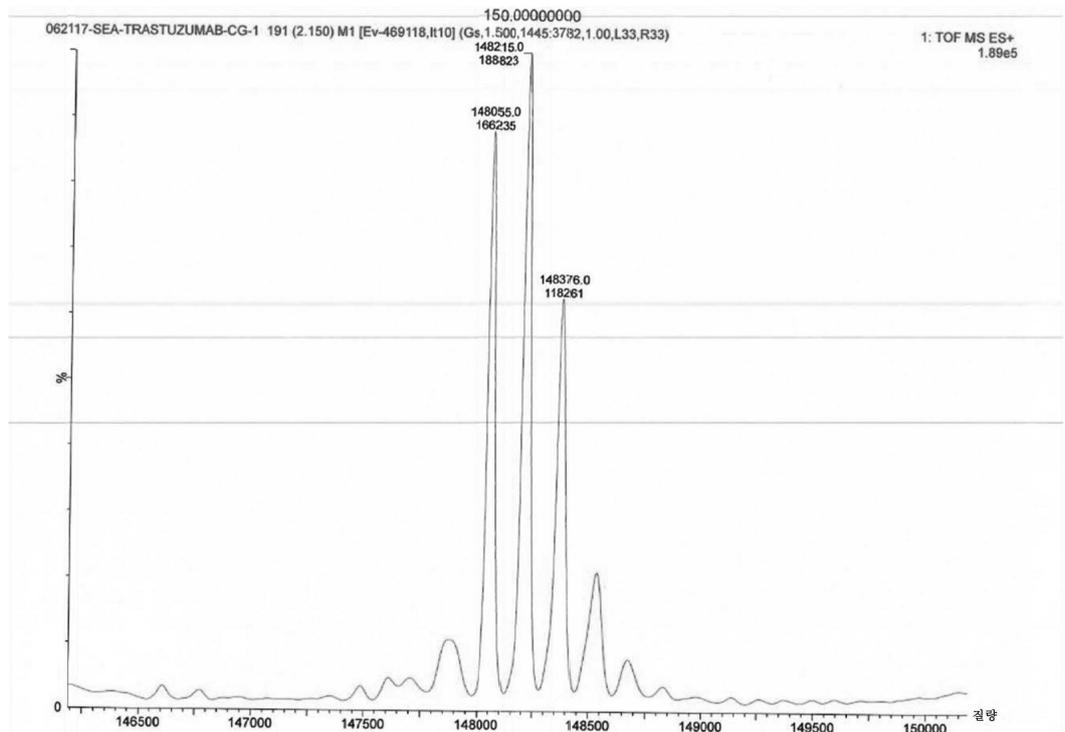
도면64



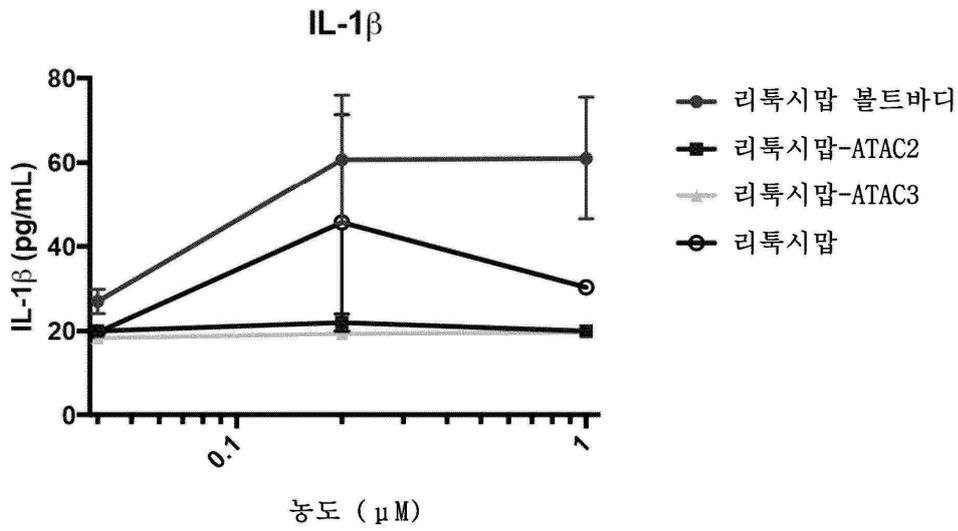
도면65



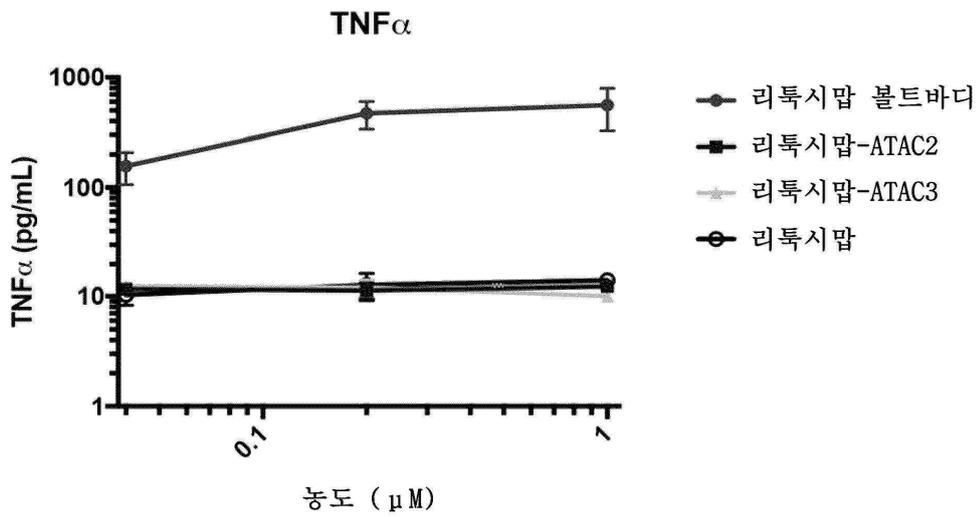
도면66



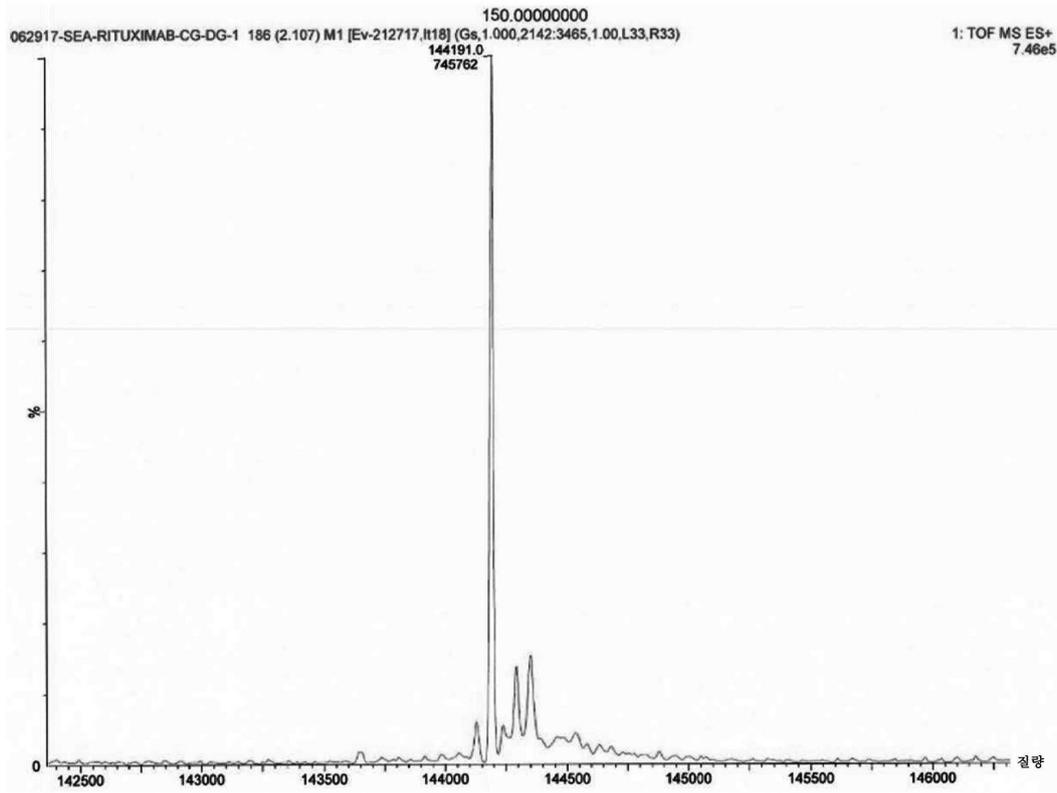
도면67a



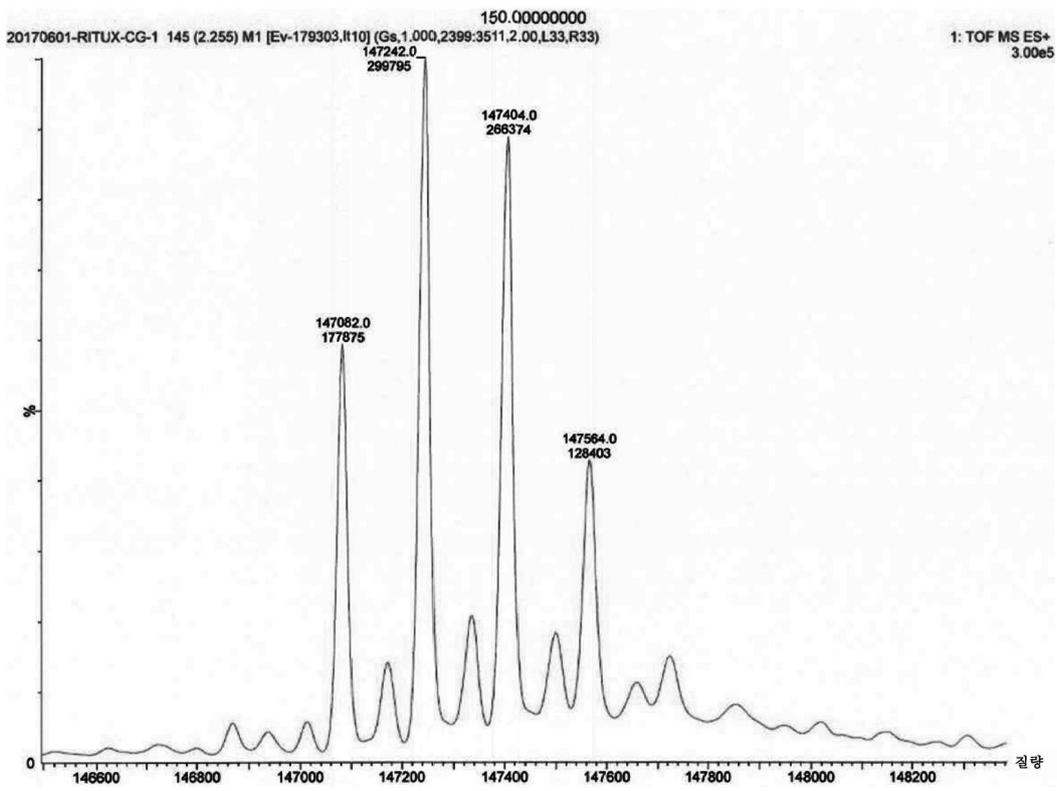
도면67b



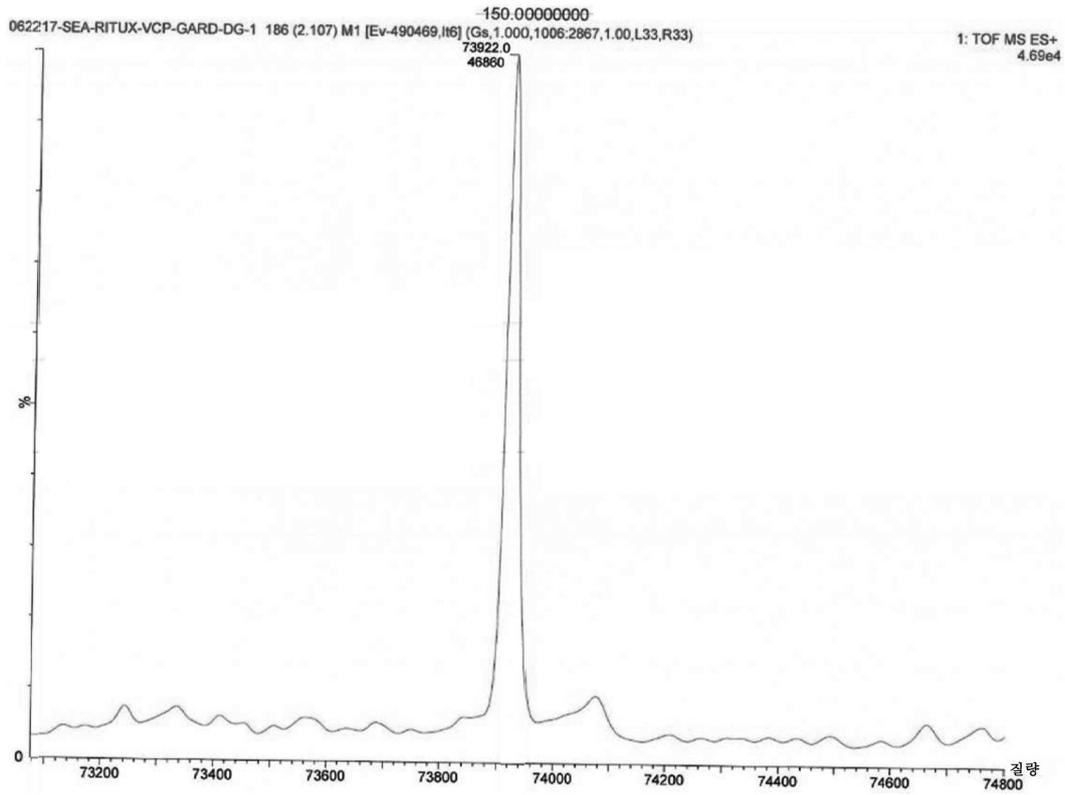
도면67c



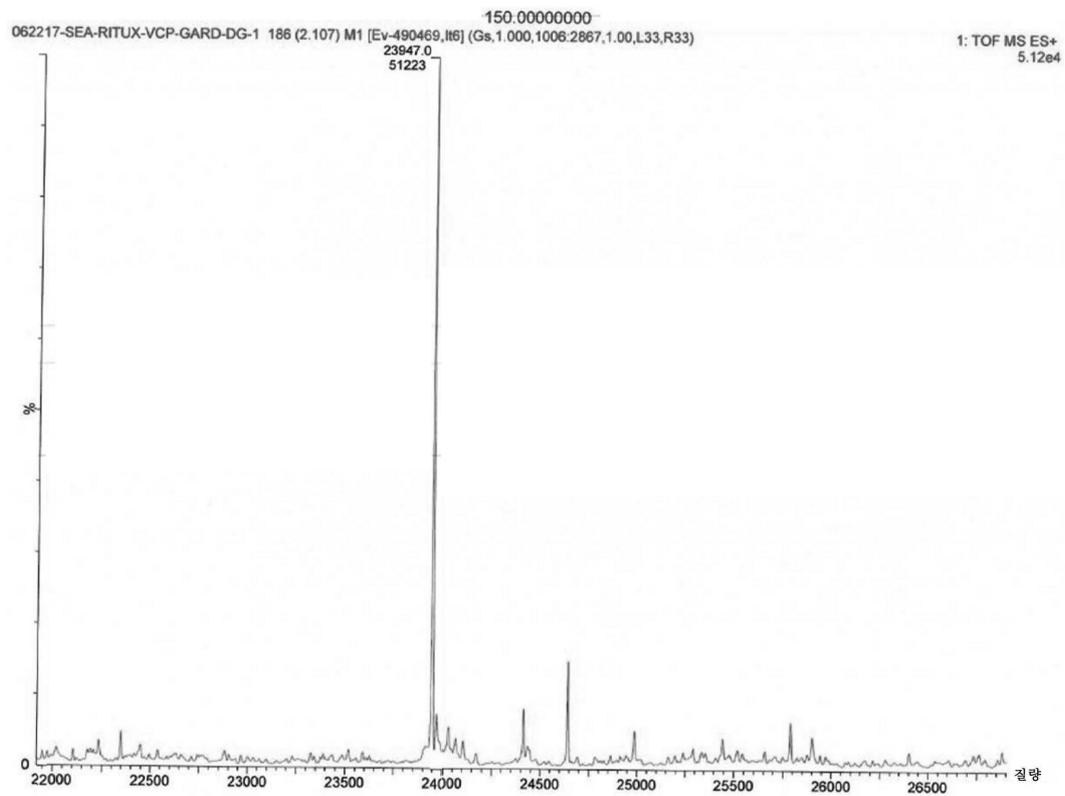
도면67d



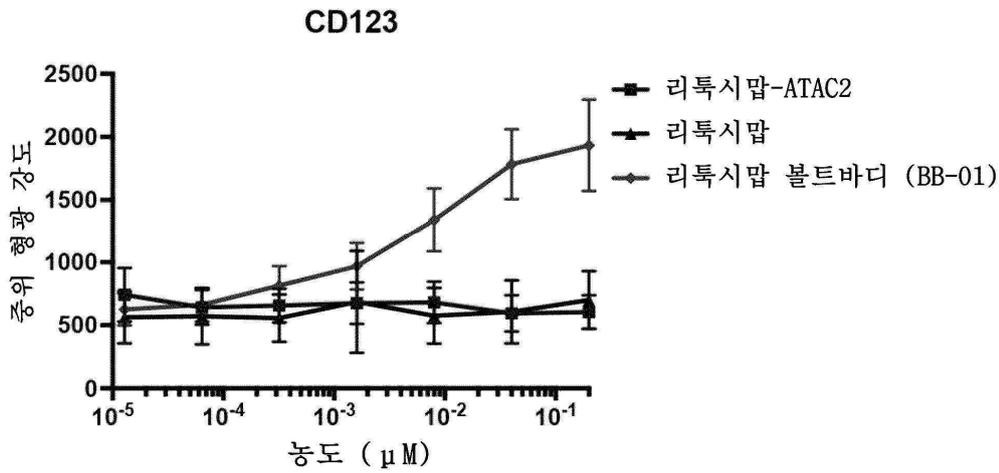
도면67e



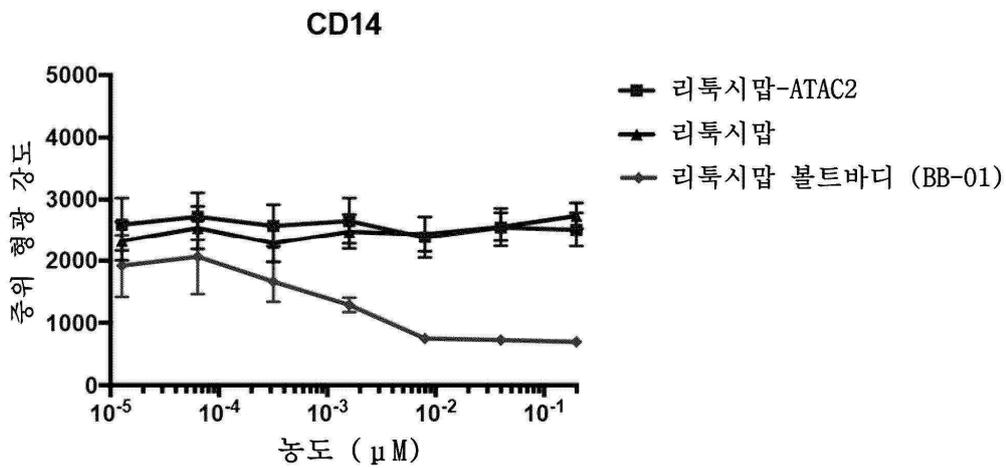
도면67f



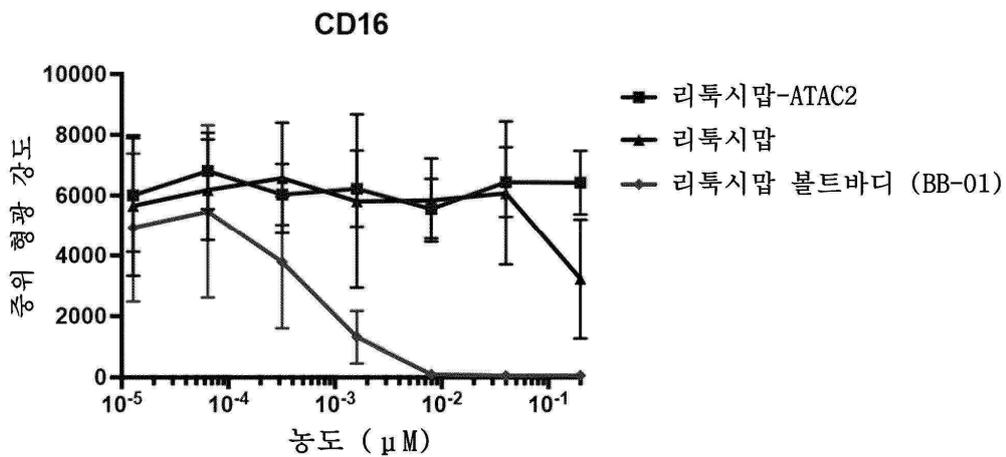
도면67g



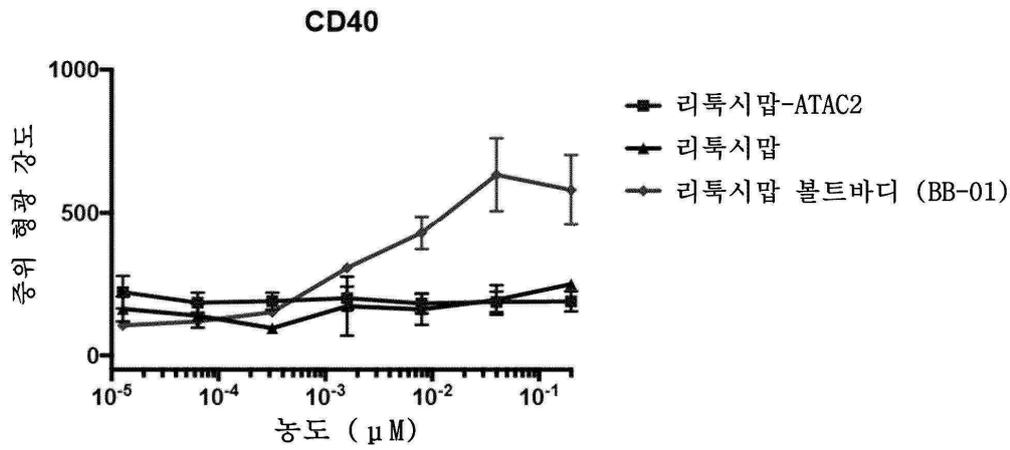
도면67h



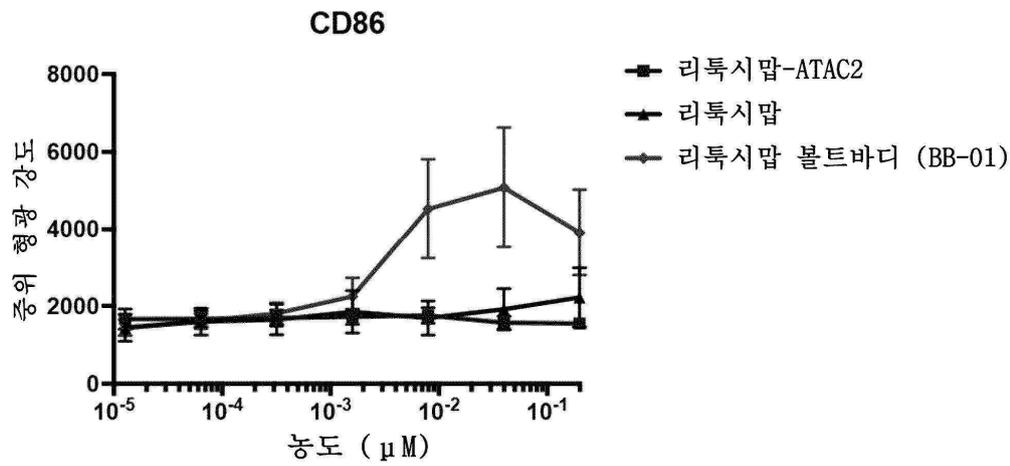
도면67i



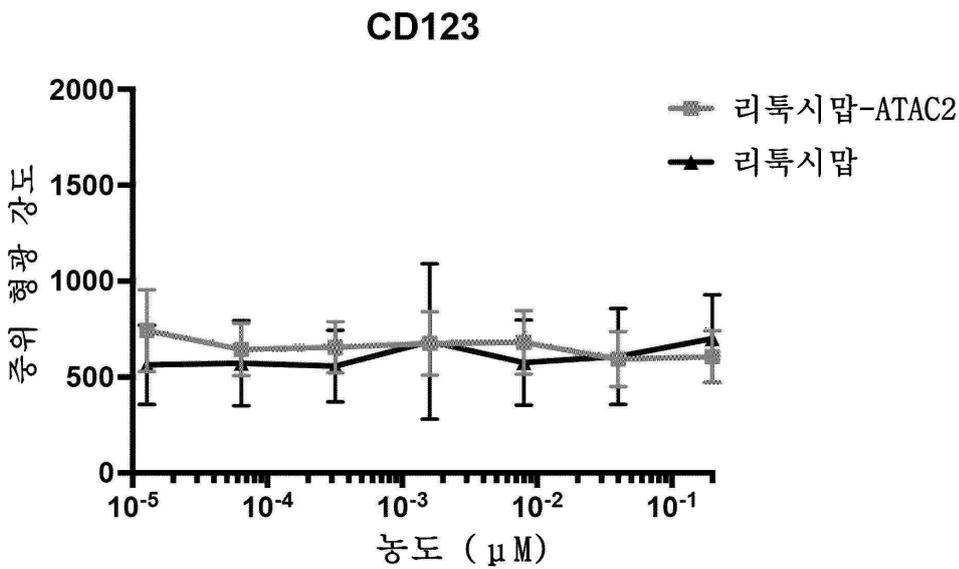
도면67j



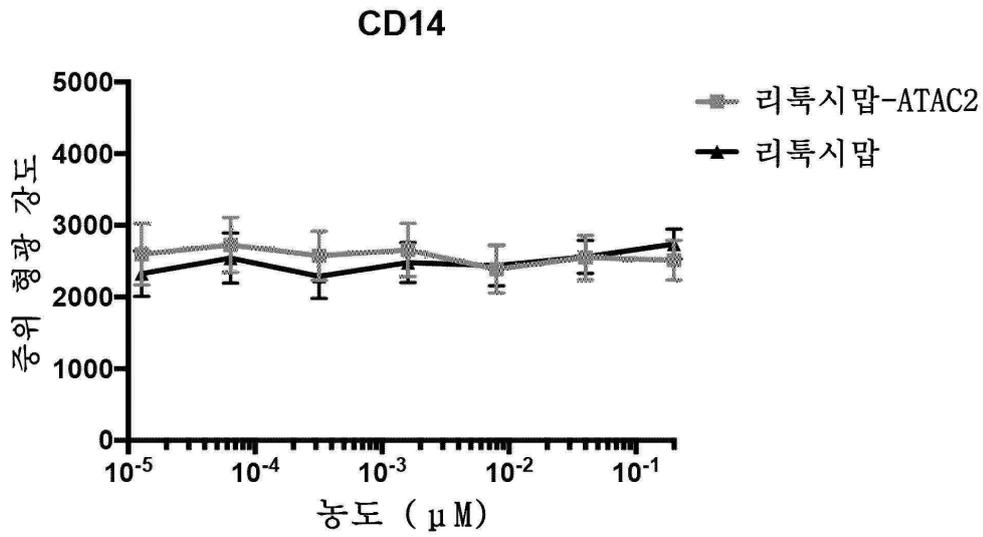
도면67k



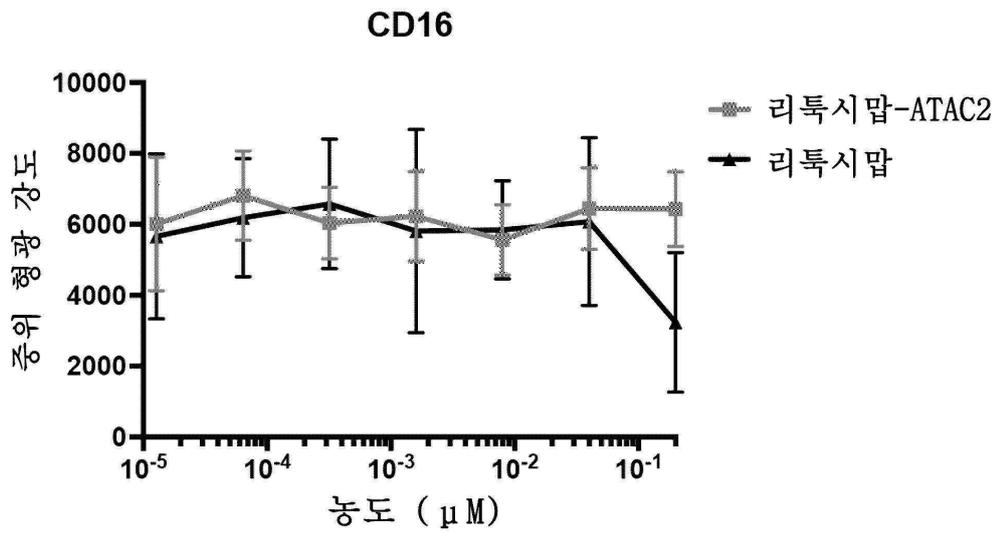
도면67l



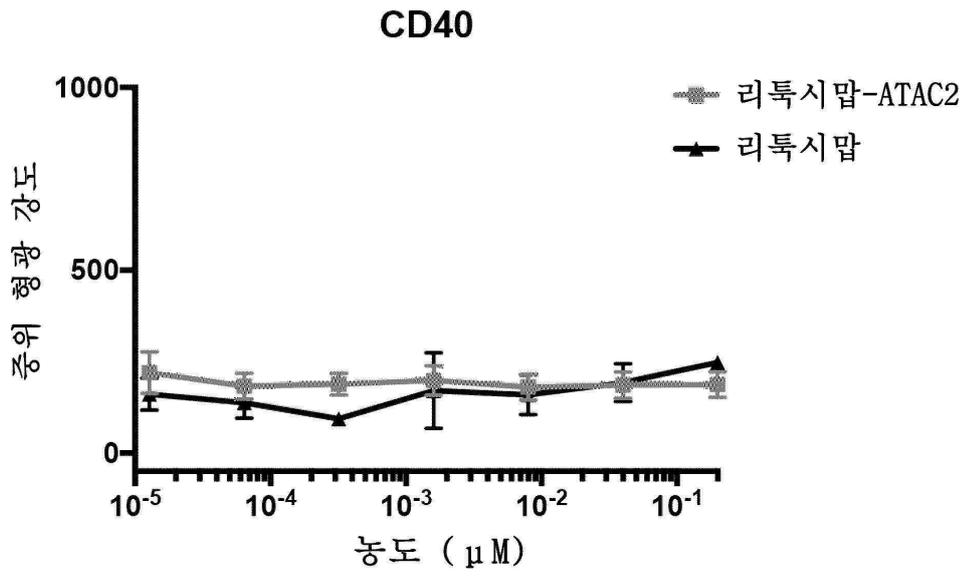
도면67m



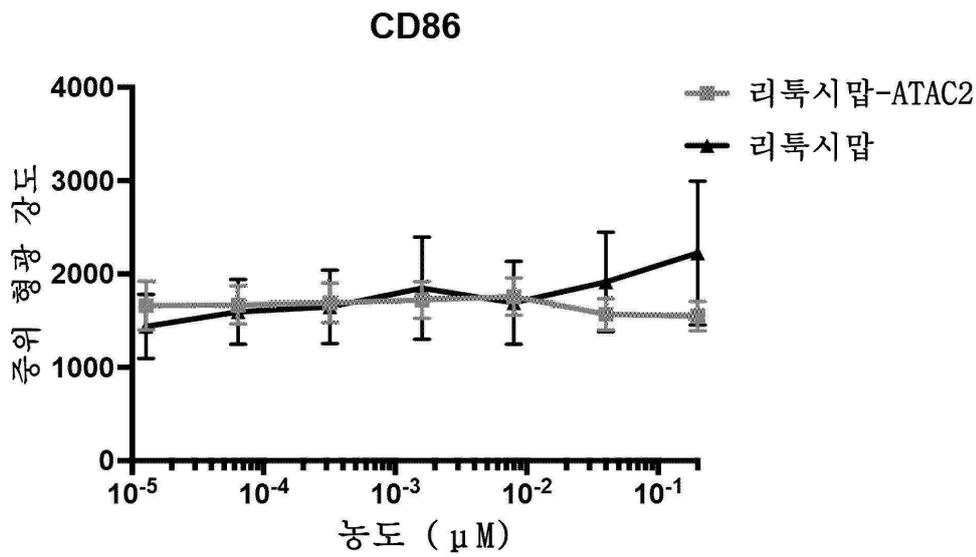
도면67n



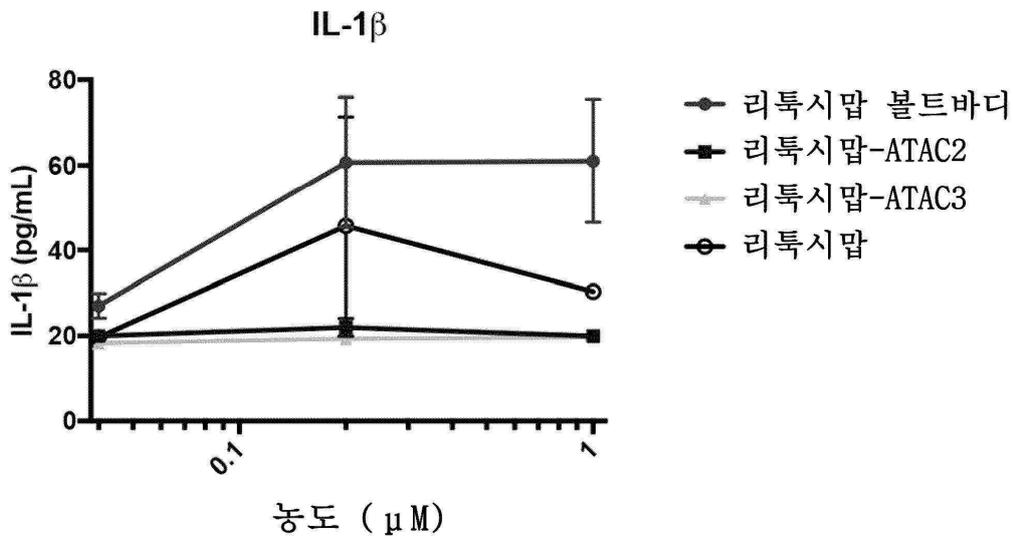
도면67o



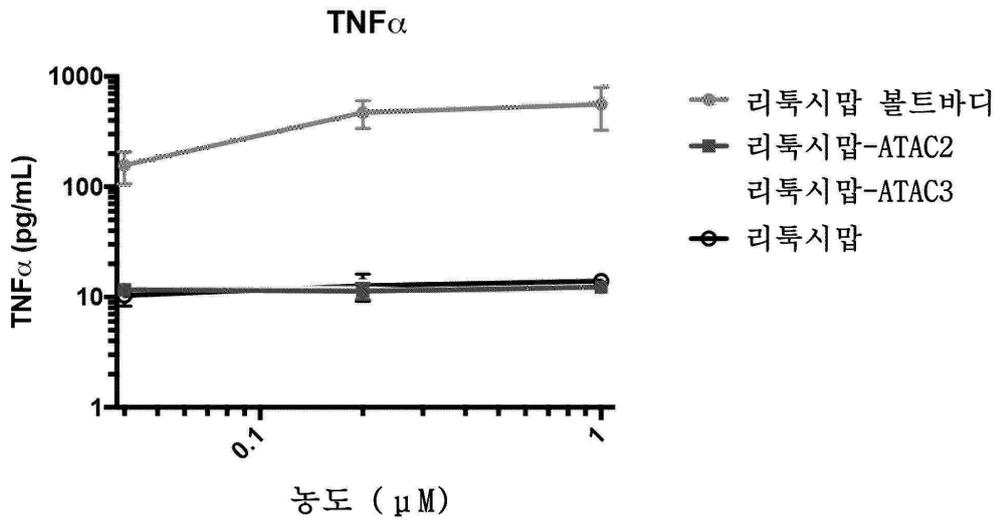
도면67p



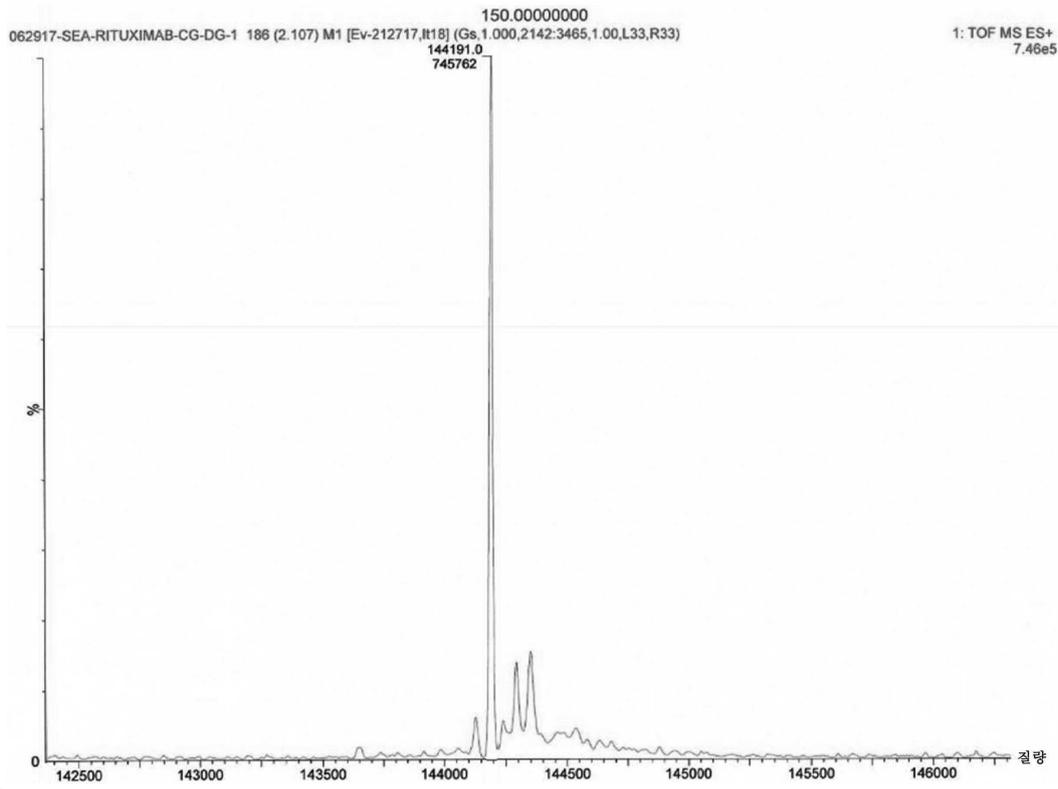
도면68a



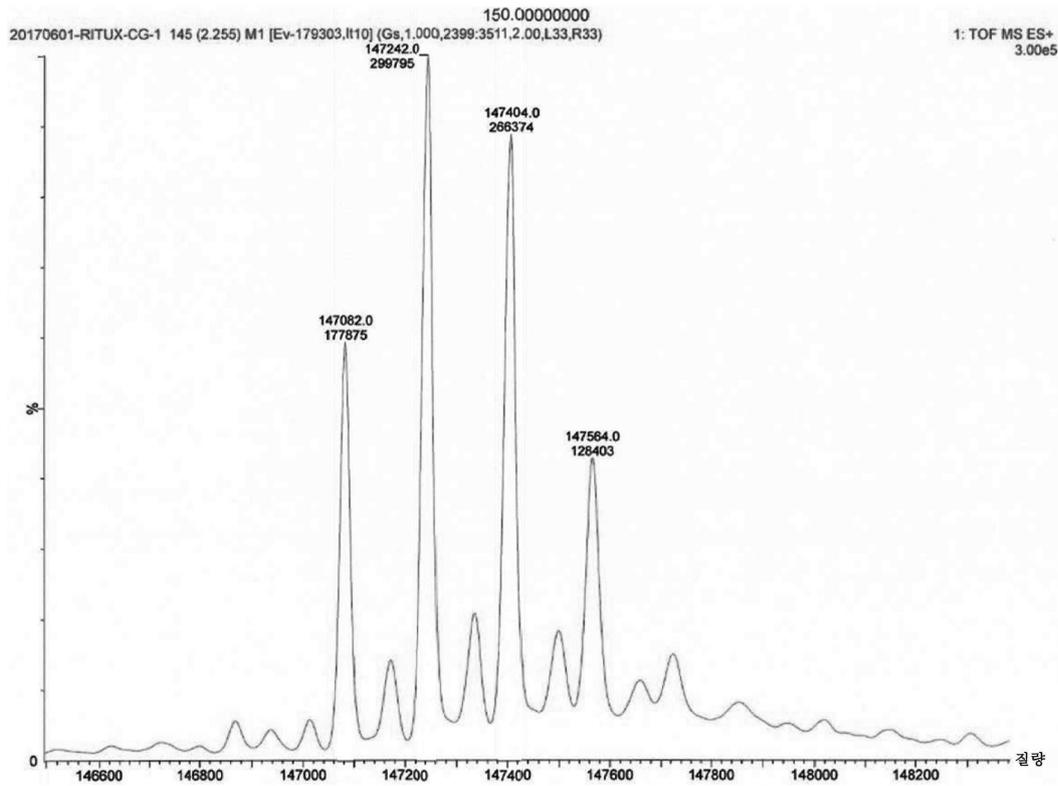
도면68b



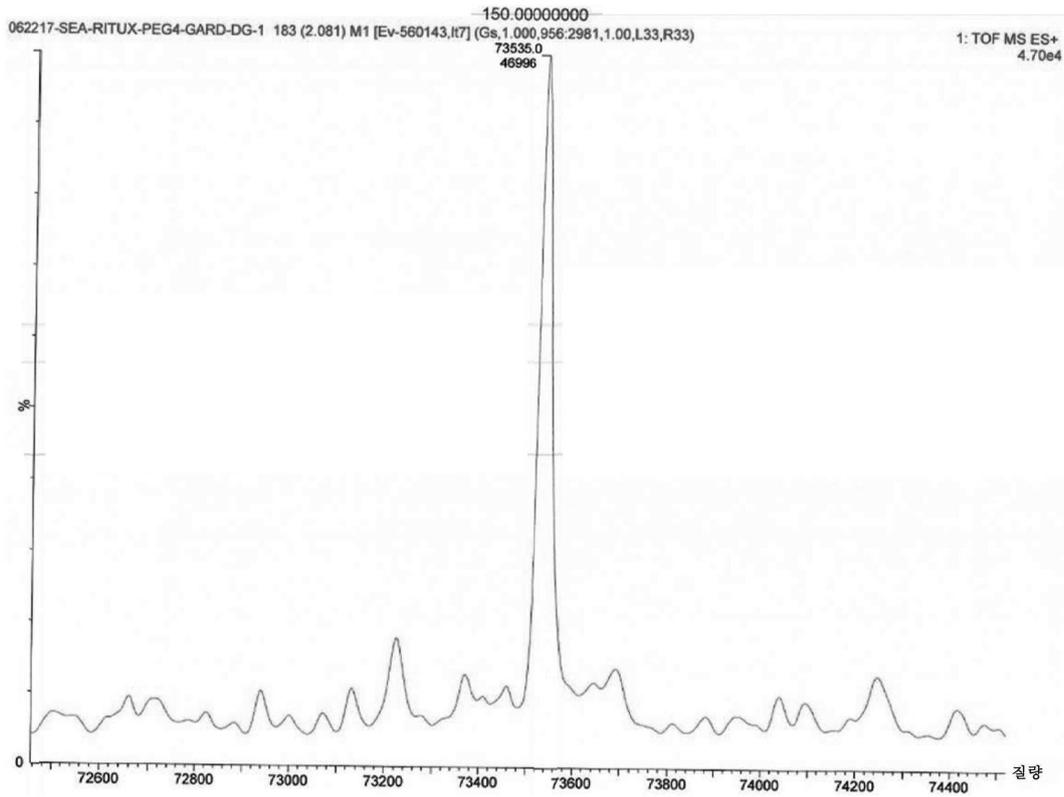
도면68c



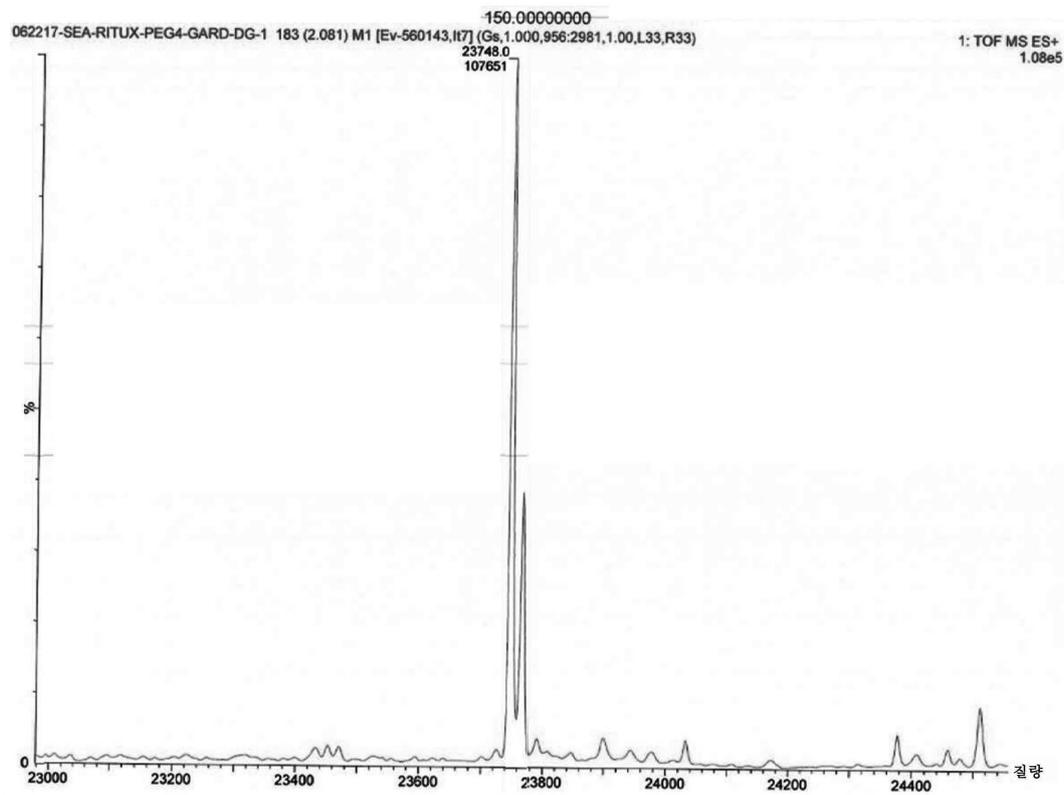
도면68d



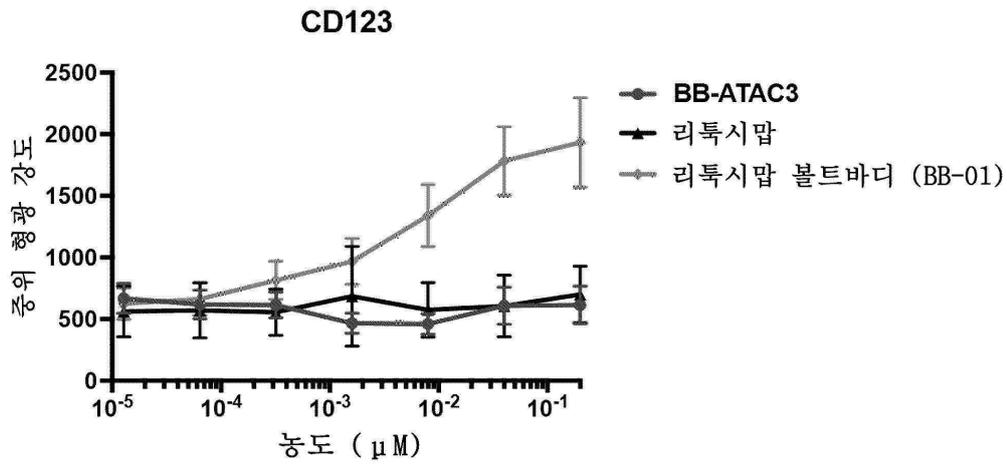
도면68e



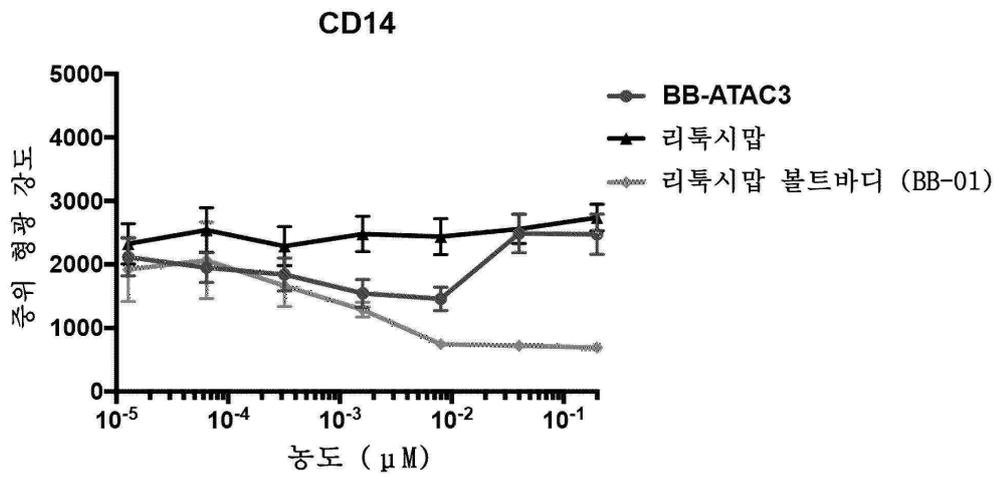
도면68f



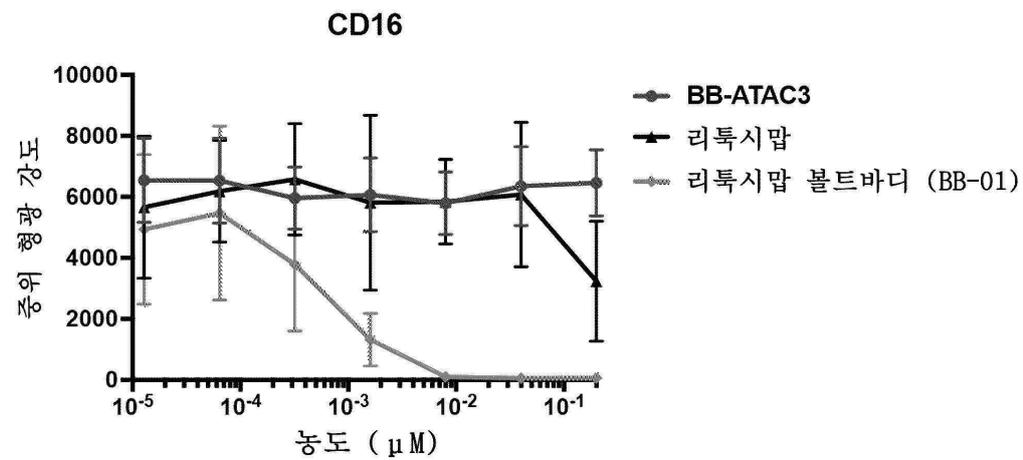
도면68g



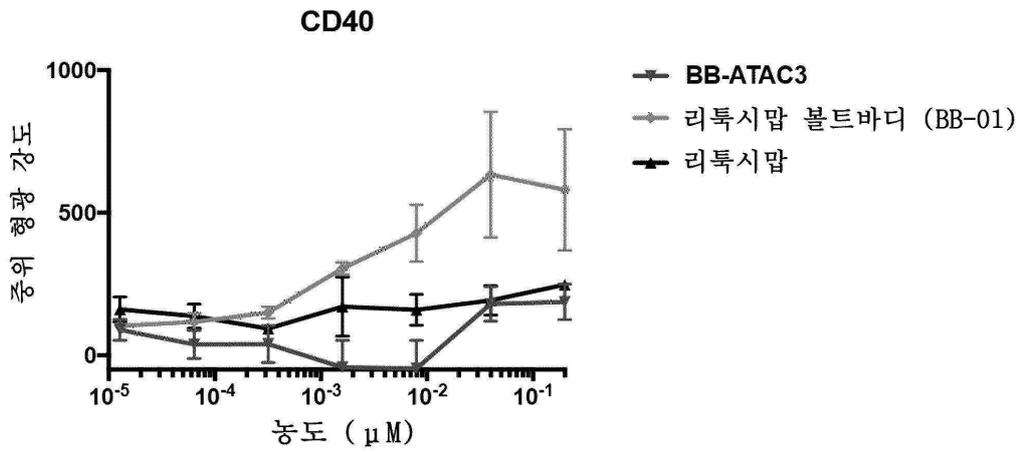
도면68h



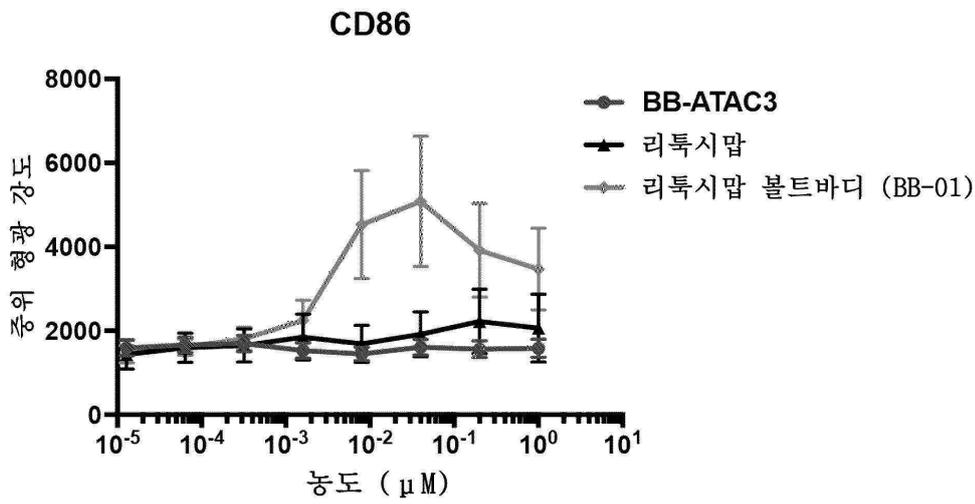
도면68i



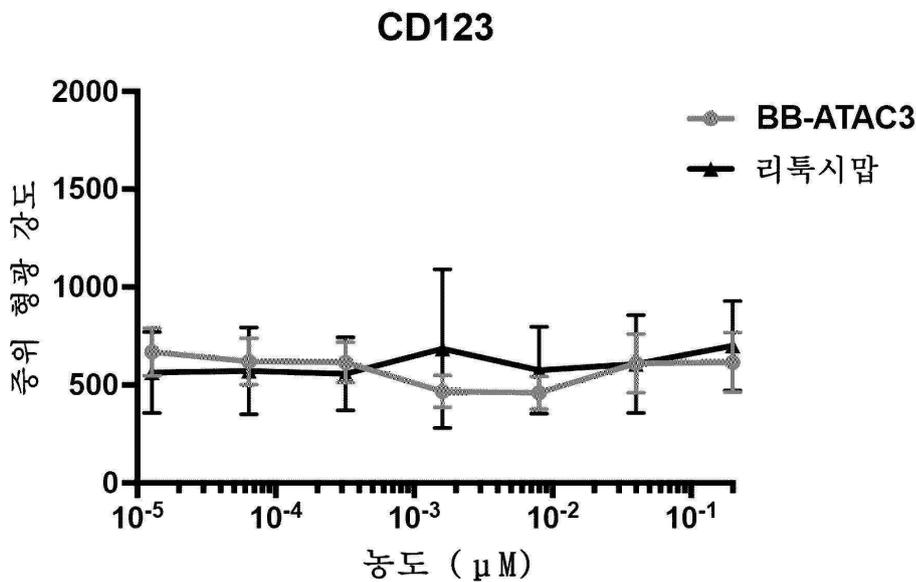
도면68j



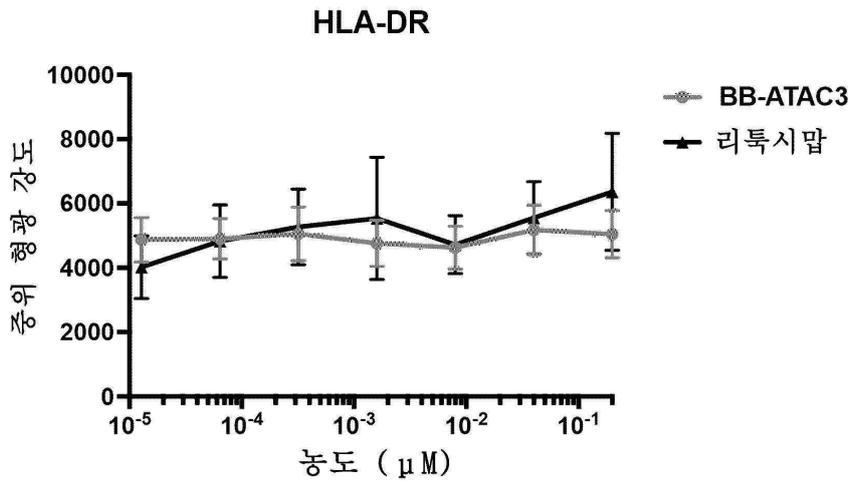
도면68k



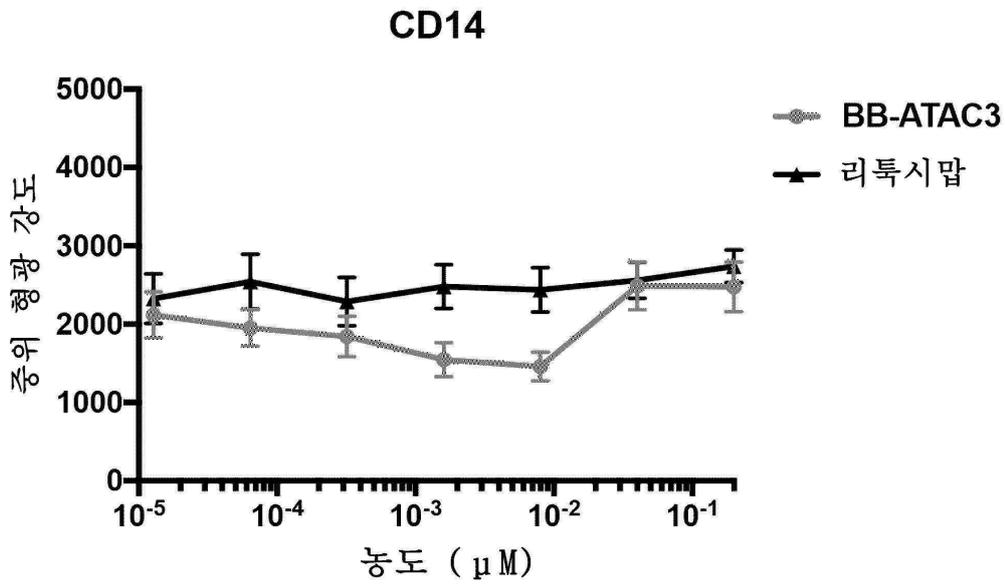
도면68l



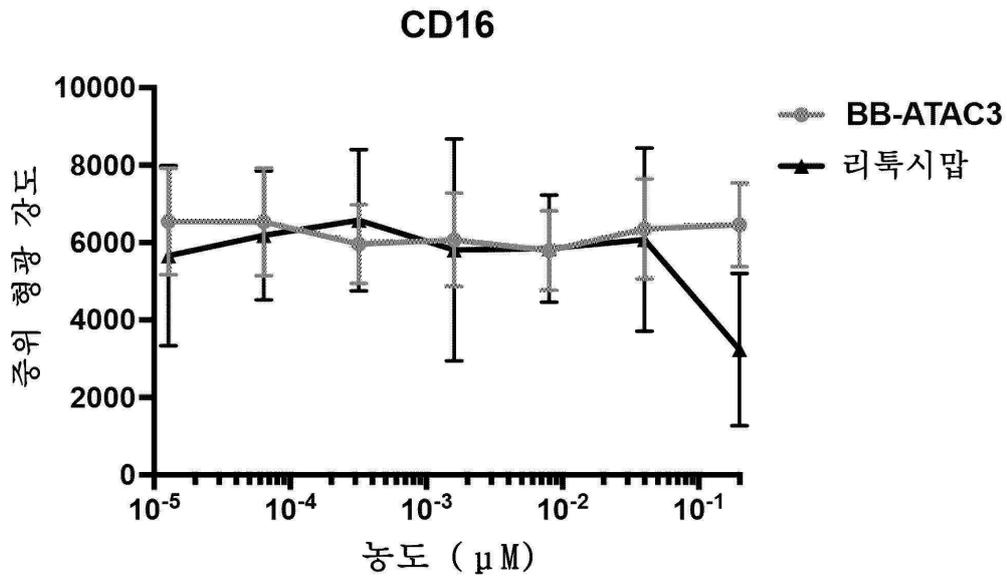
도면68m



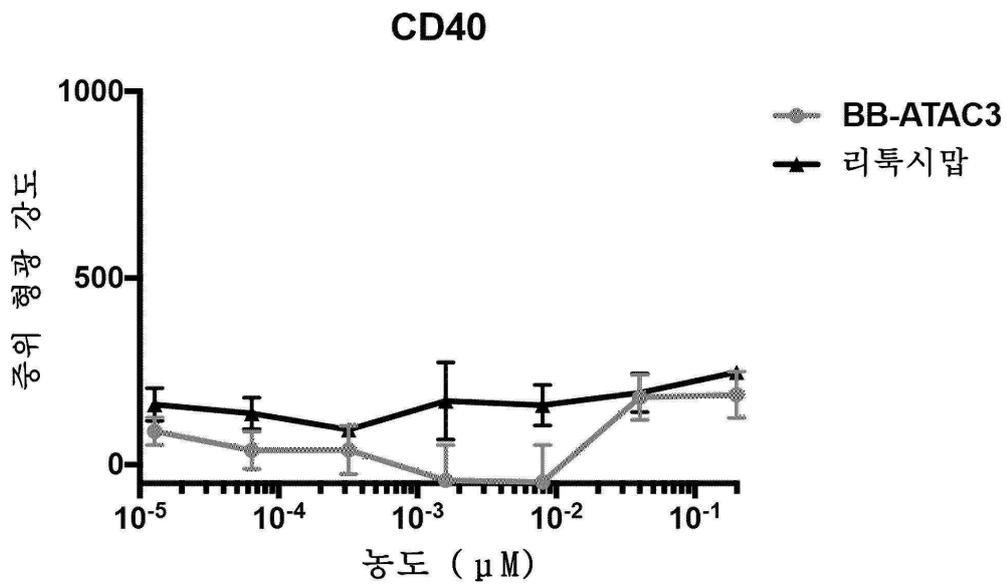
도면68n



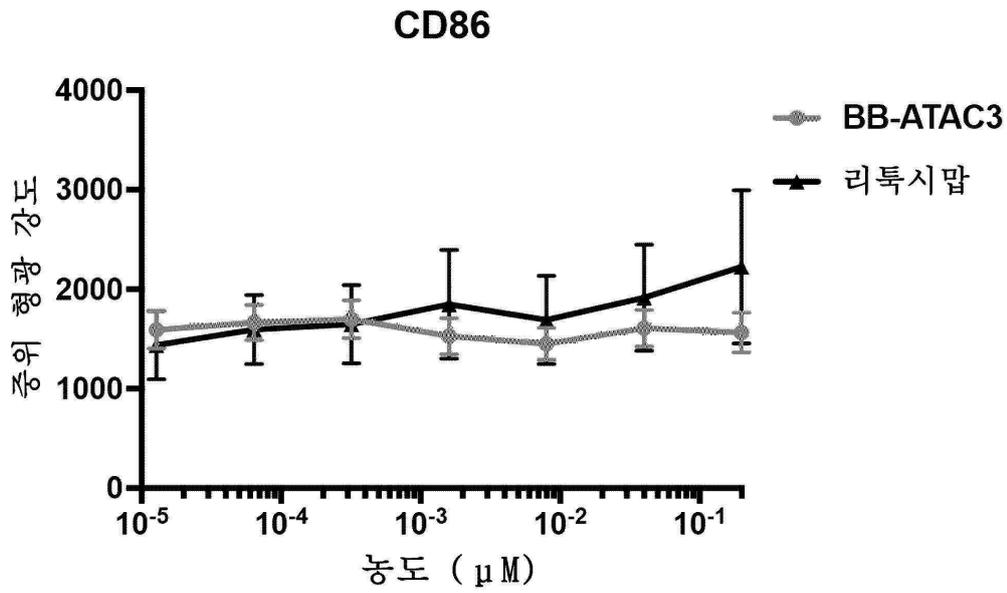
도면68o



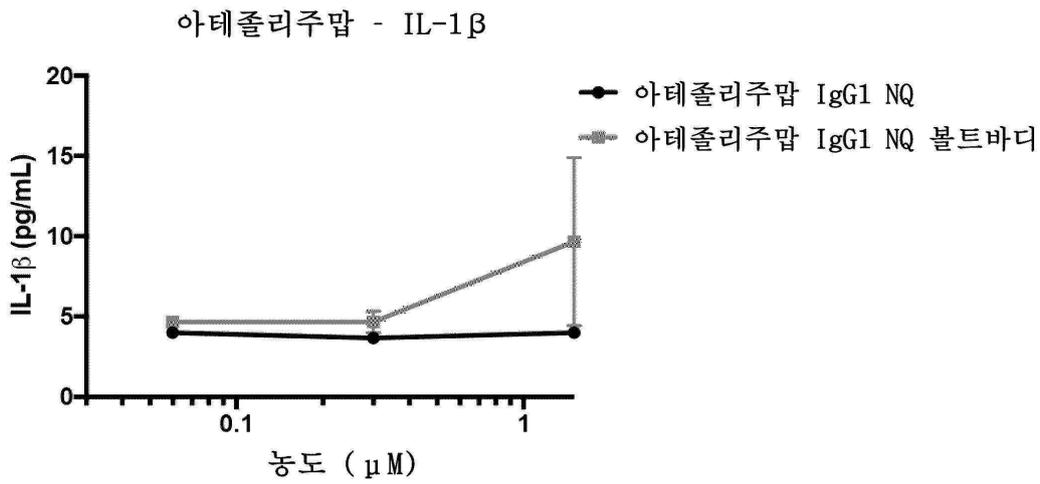
도면68p



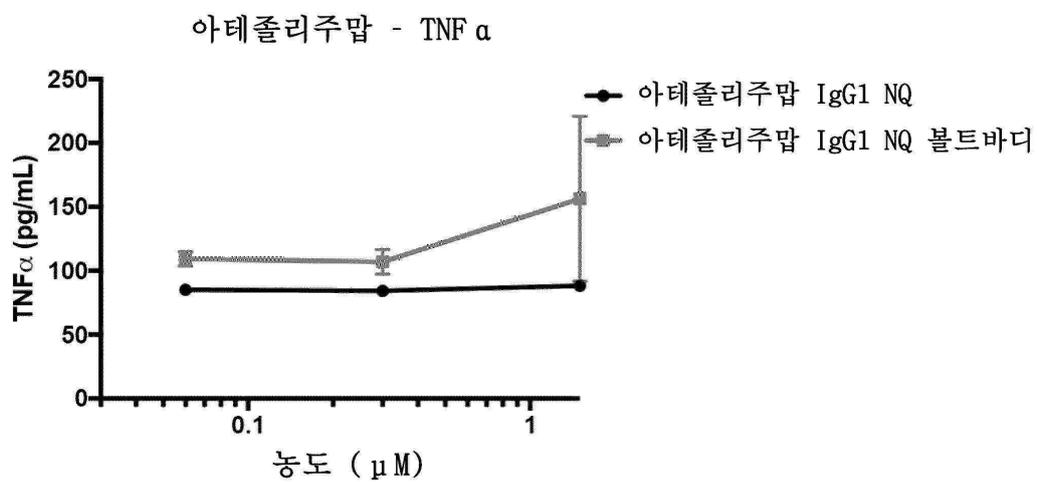
도면68q



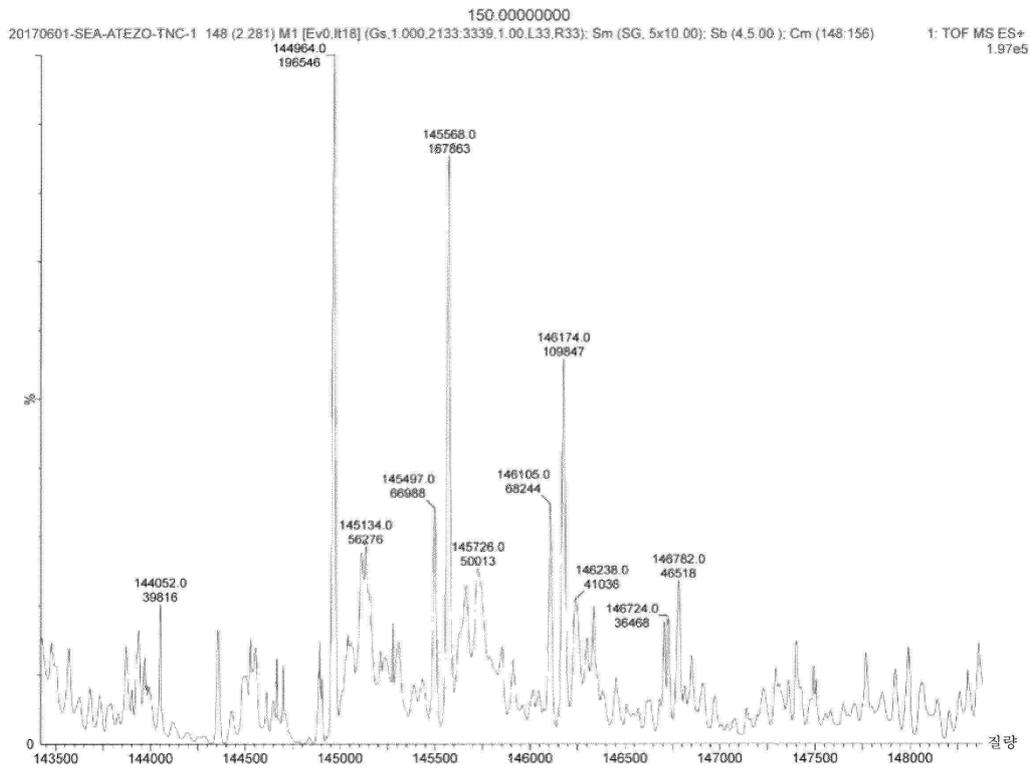
도면69a



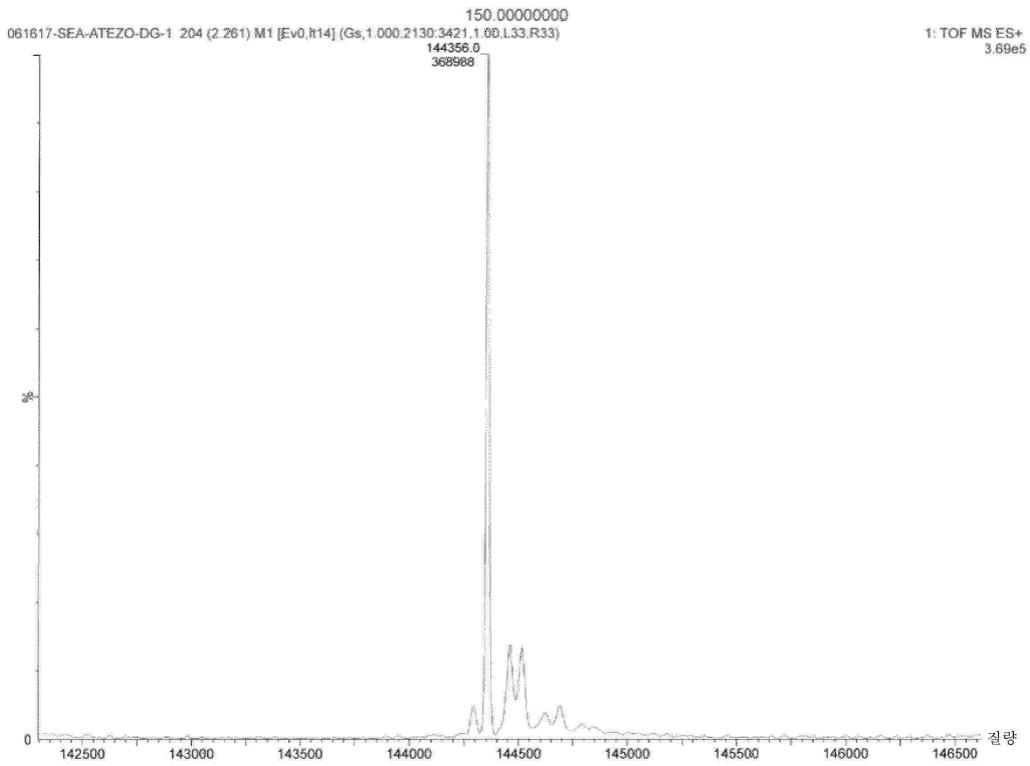
도면69b



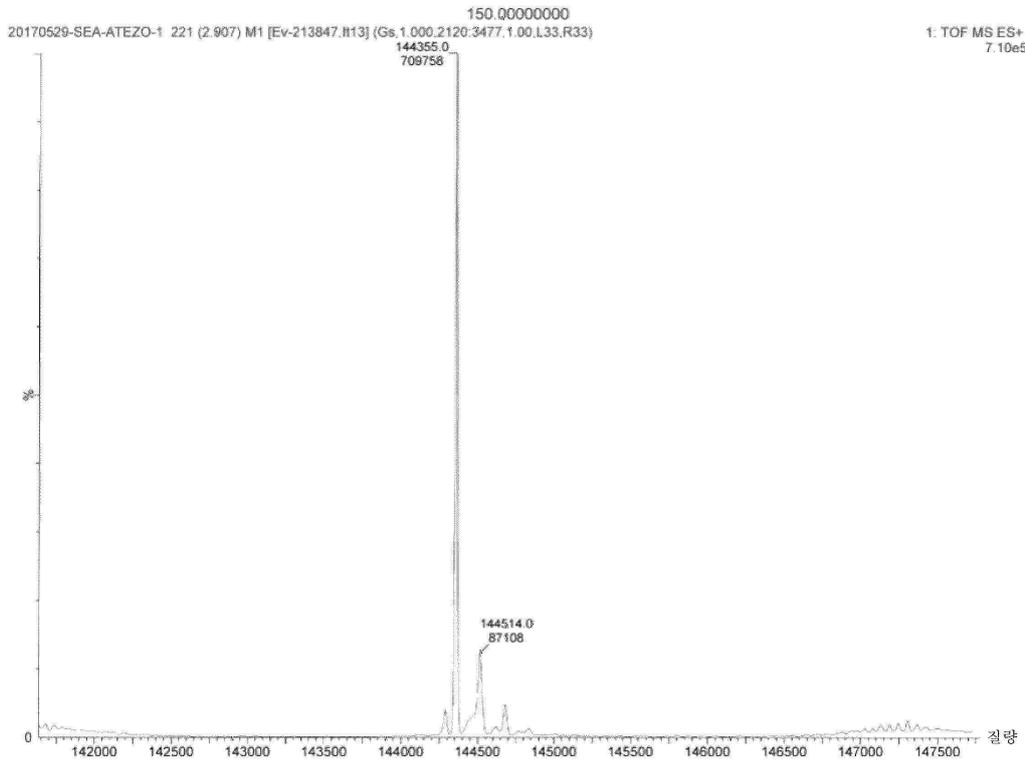
도면69c



도면69d

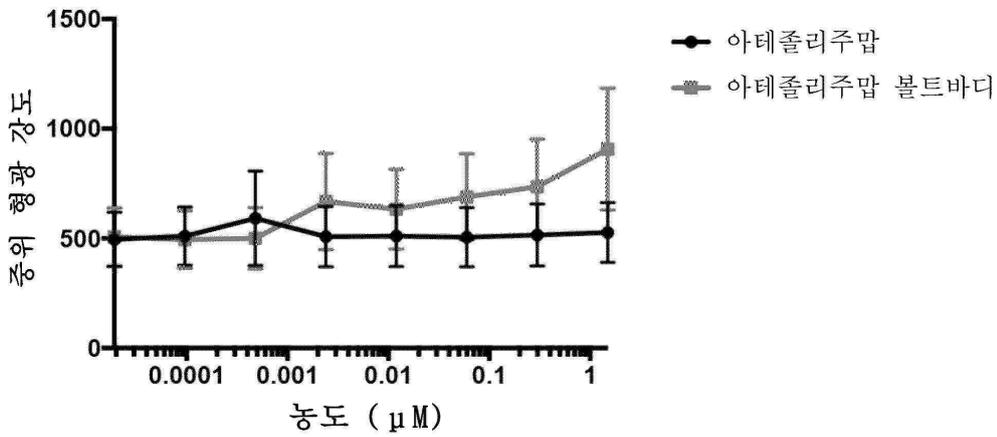


도면69e



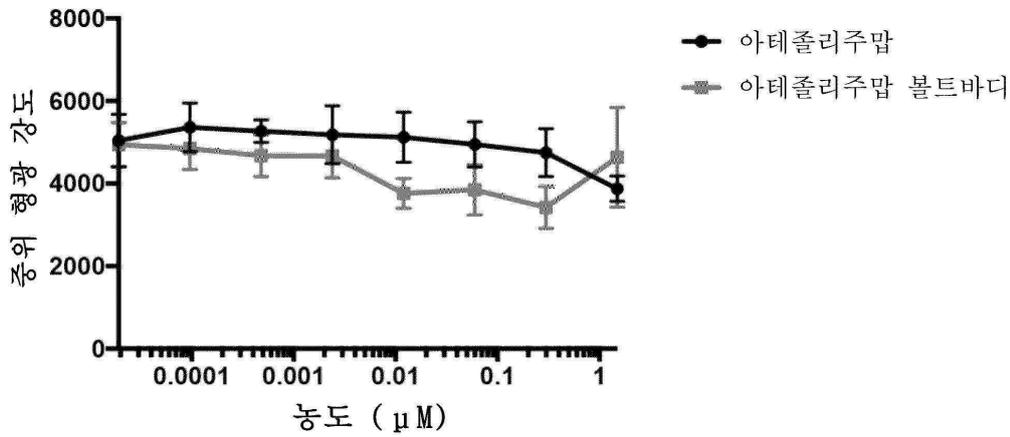
도면69f

아테졸리주맙 - CD123



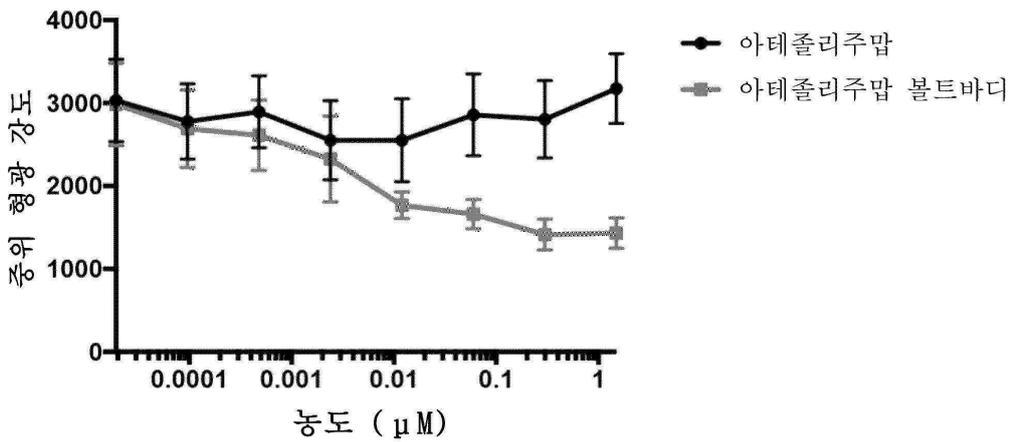
도면69g

아테졸리주맙 - HLA-DR



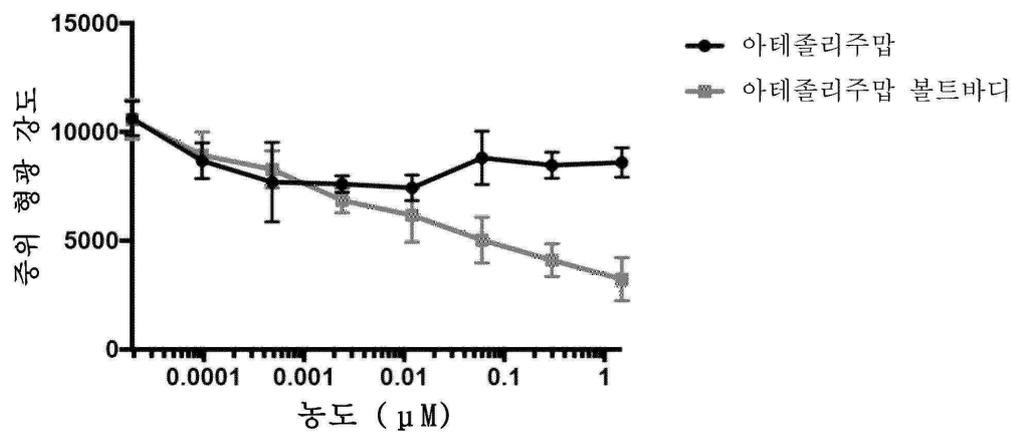
도면69h

아테졸리주맙 - CD14

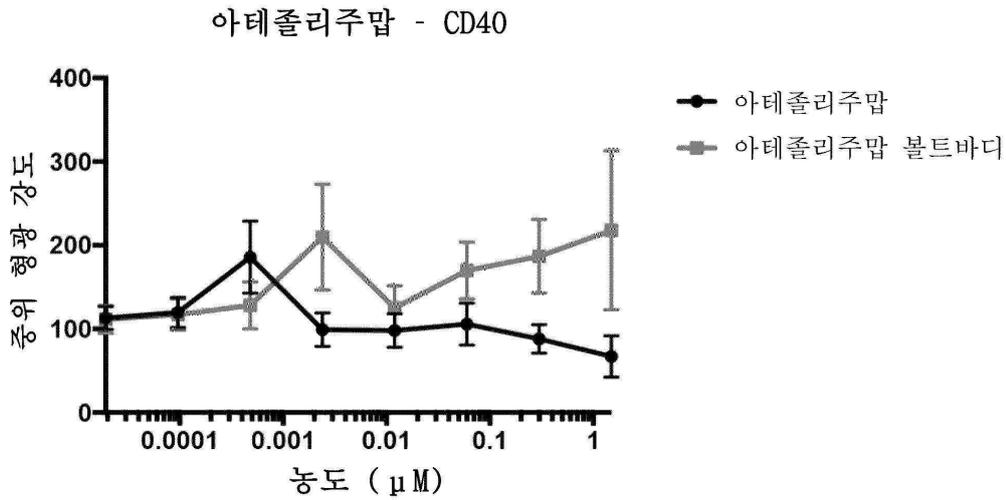


도면69i

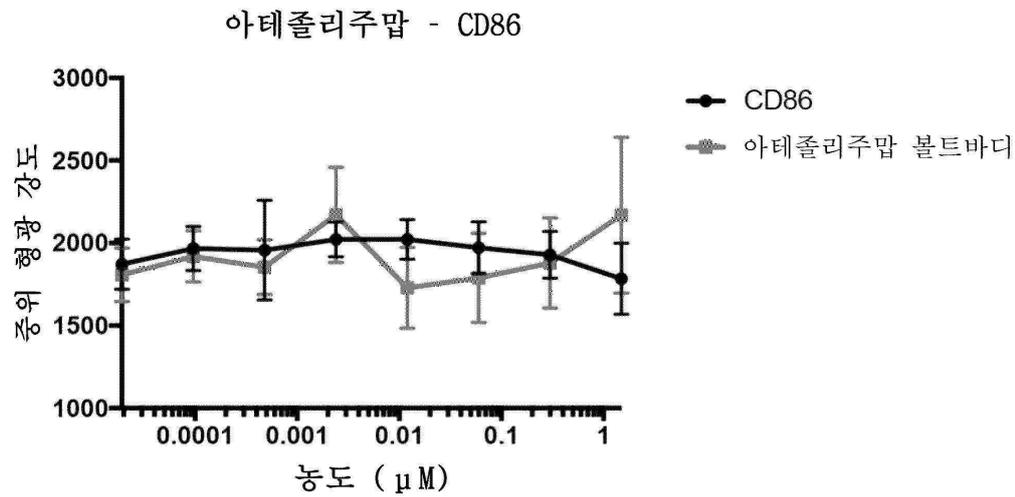
아테졸리주맙 - CD16



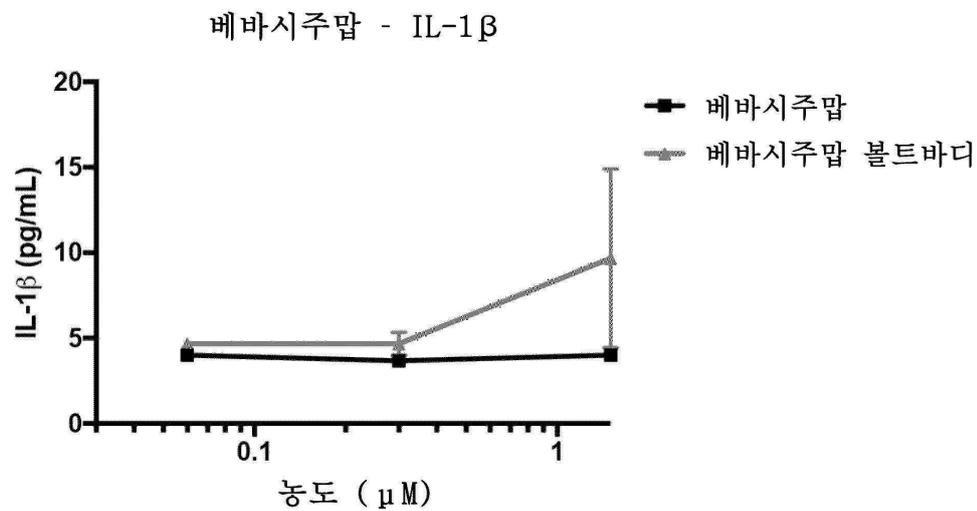
도면69j



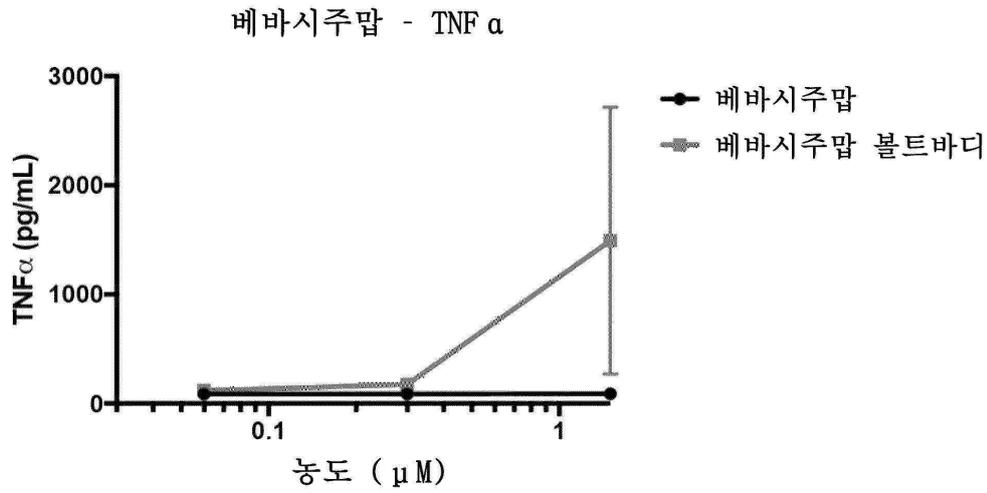
도면69k



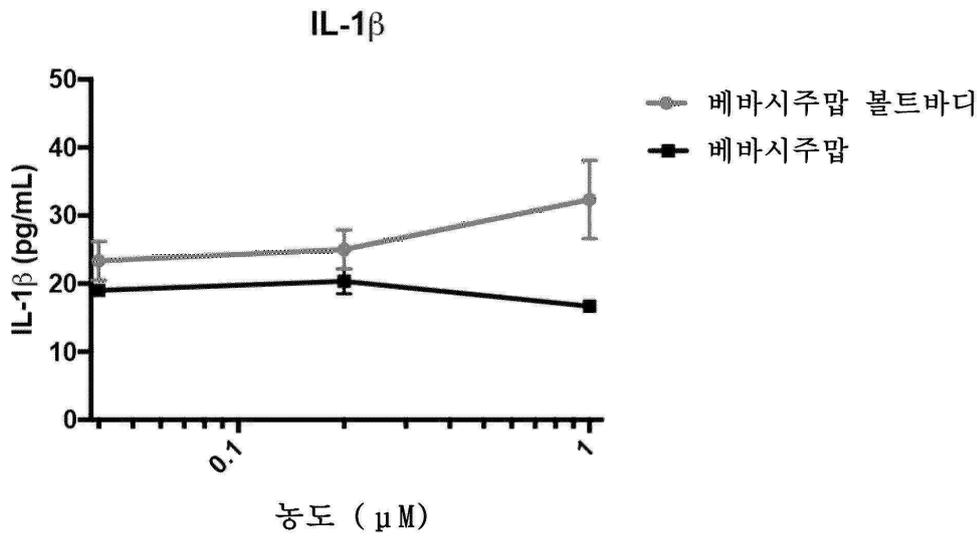
도면70a



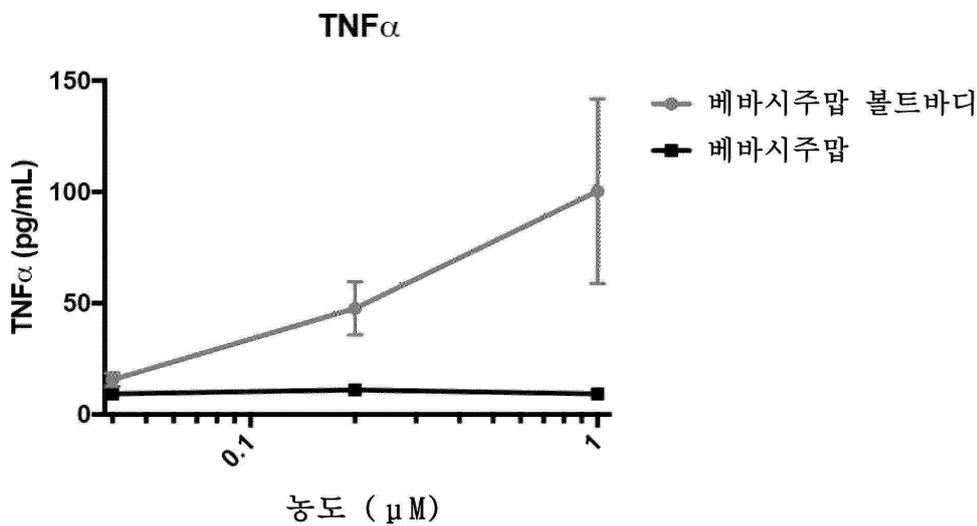
도면70b



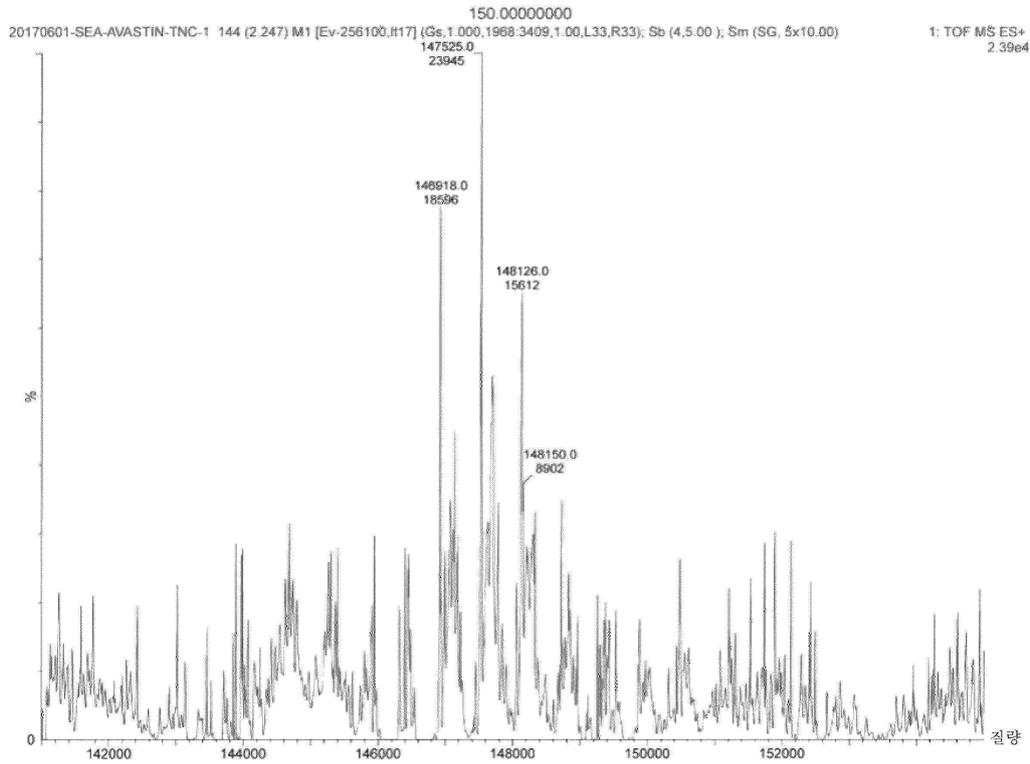
도면70c



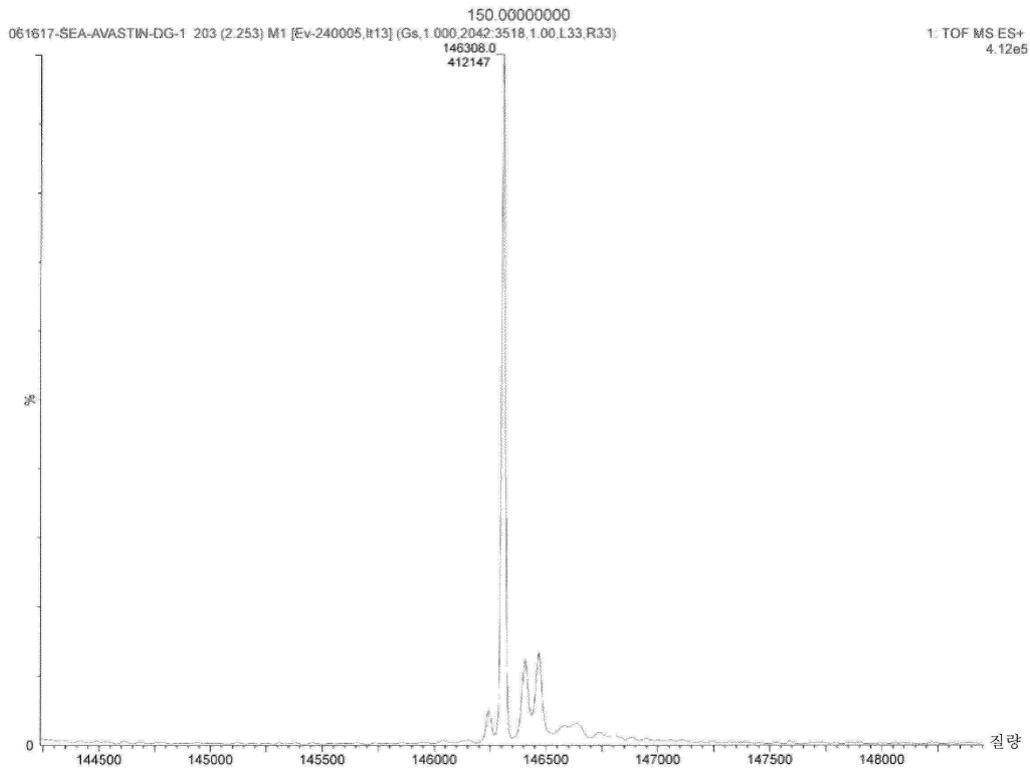
도면70d



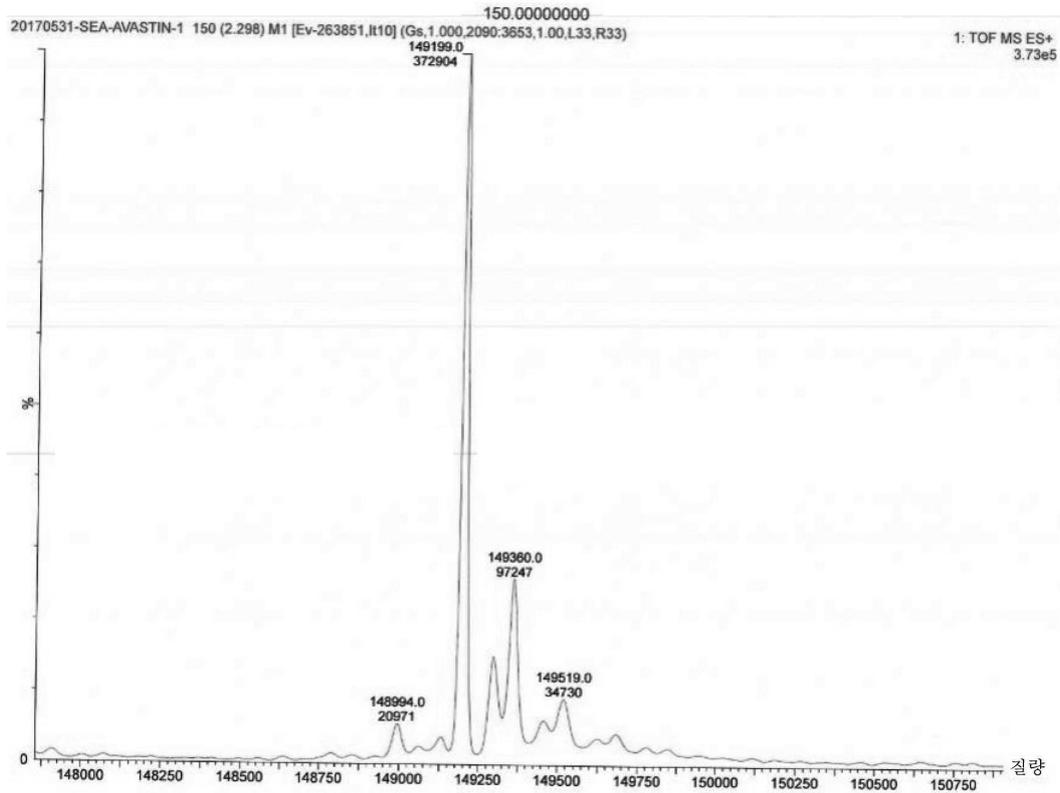
도면70e



도면70f

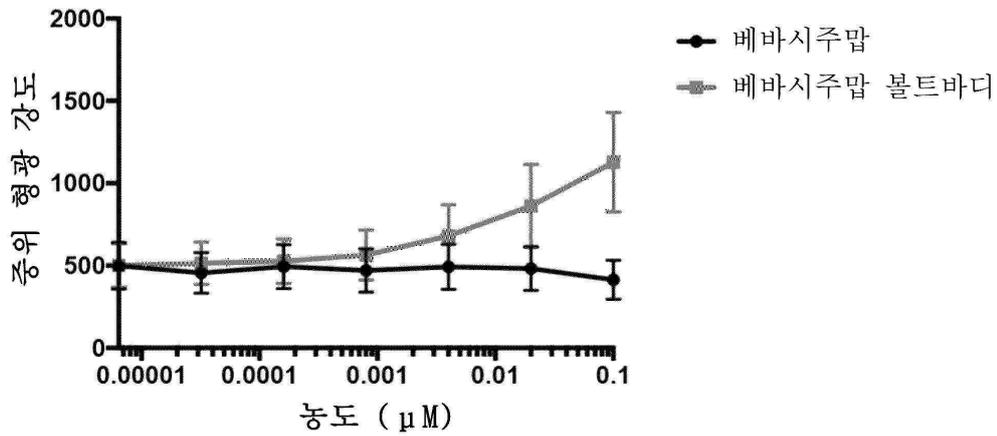


도면 70g

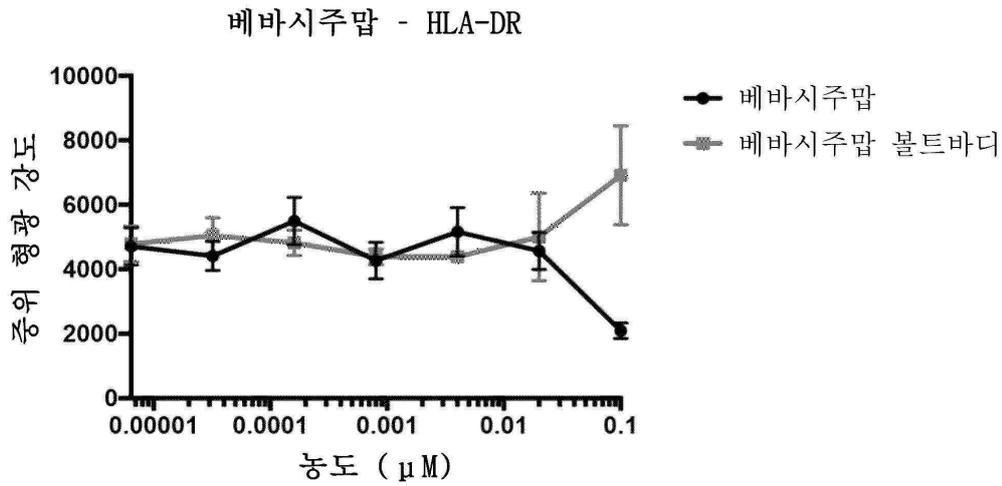


도면 70h

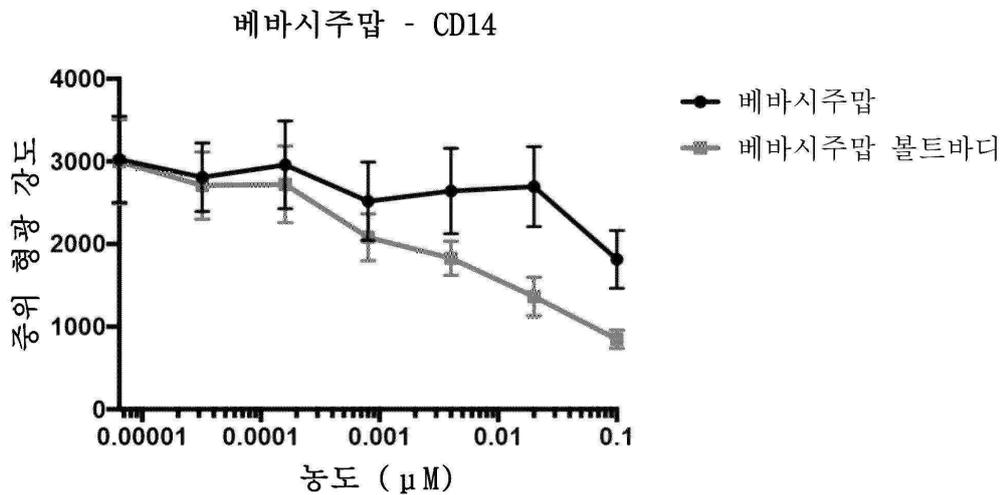
베바시주맙 - CD123



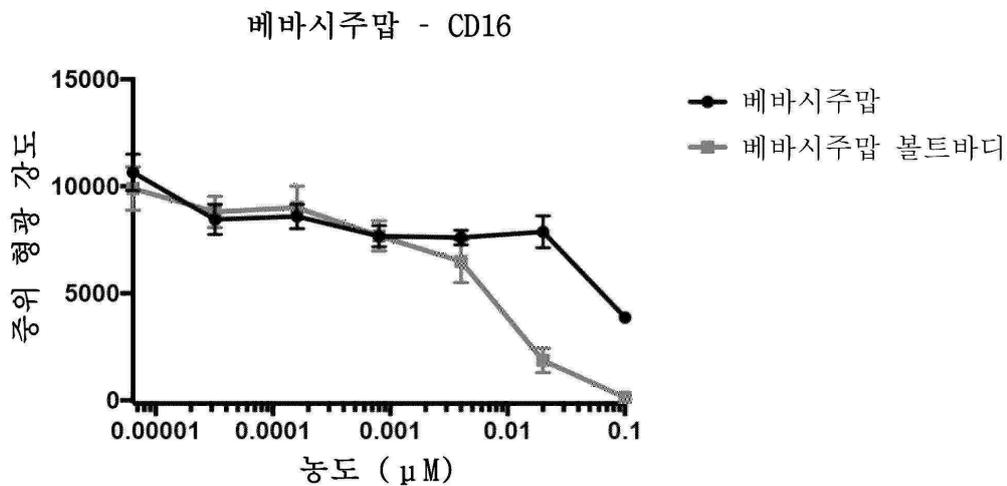
도면70i



도면70j

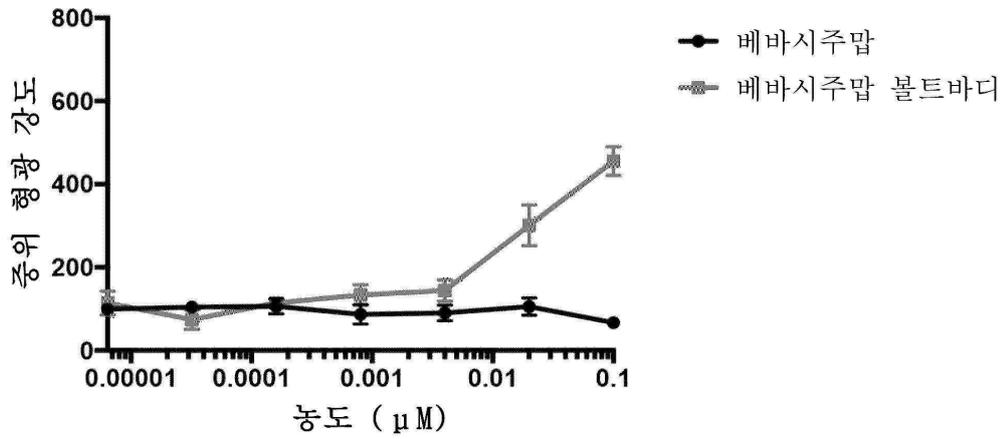


도면70k



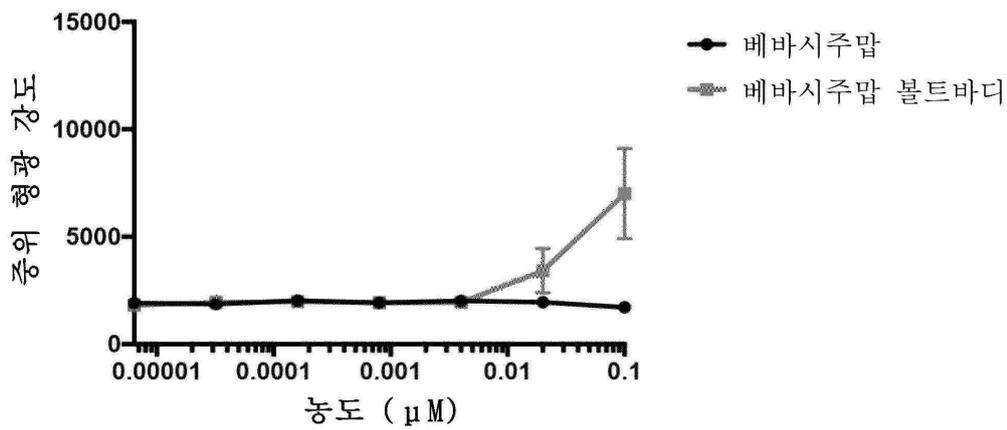
도면701

베바시주맵 - CD40

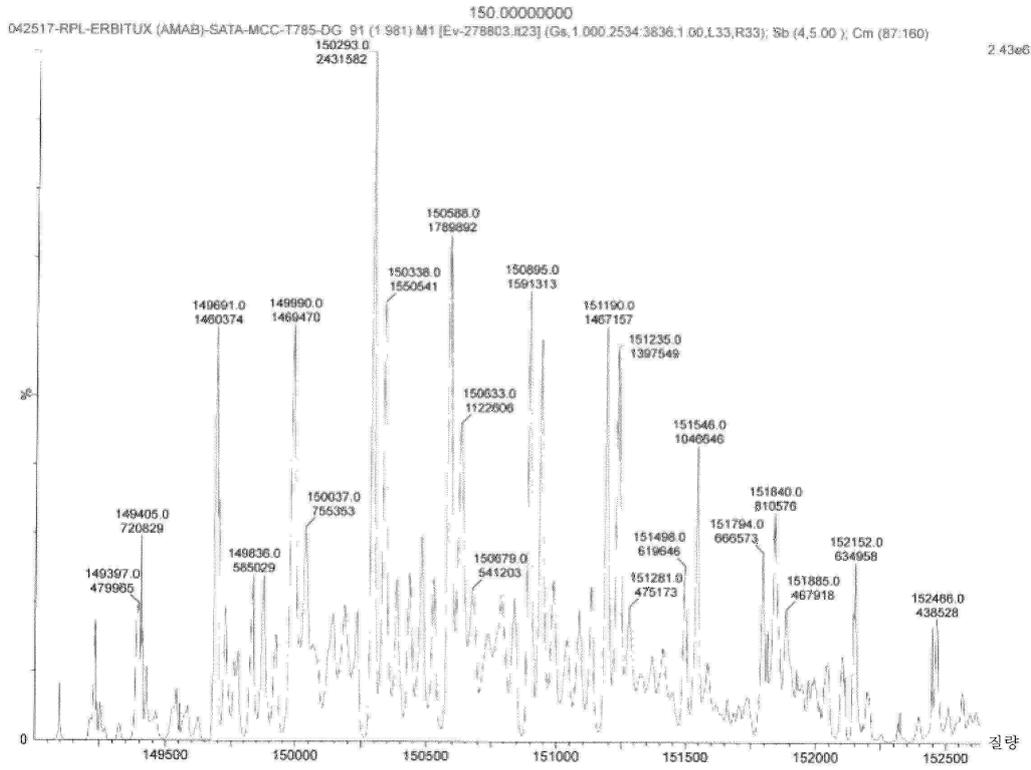


도면70m

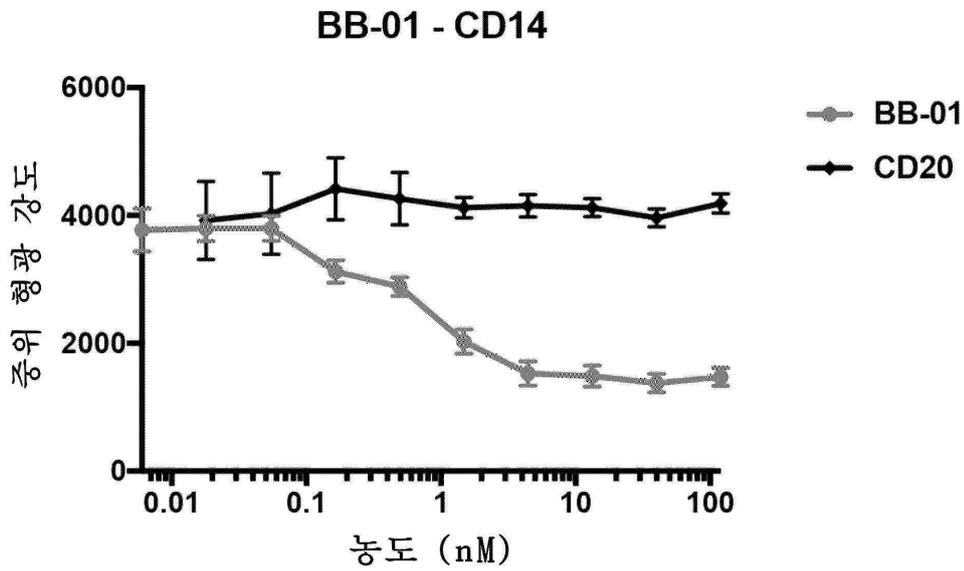
베바시주맵 - CD86



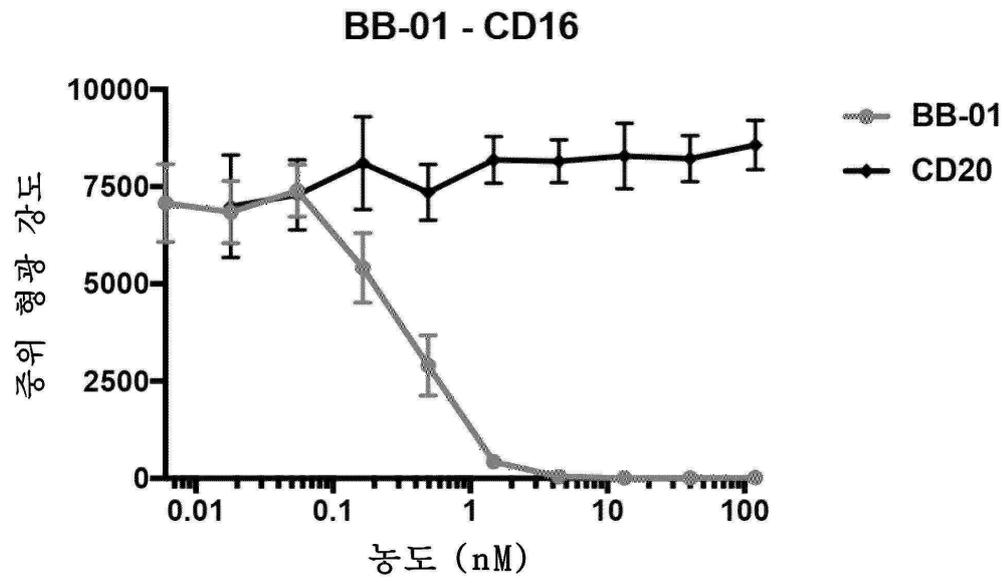
도면71a



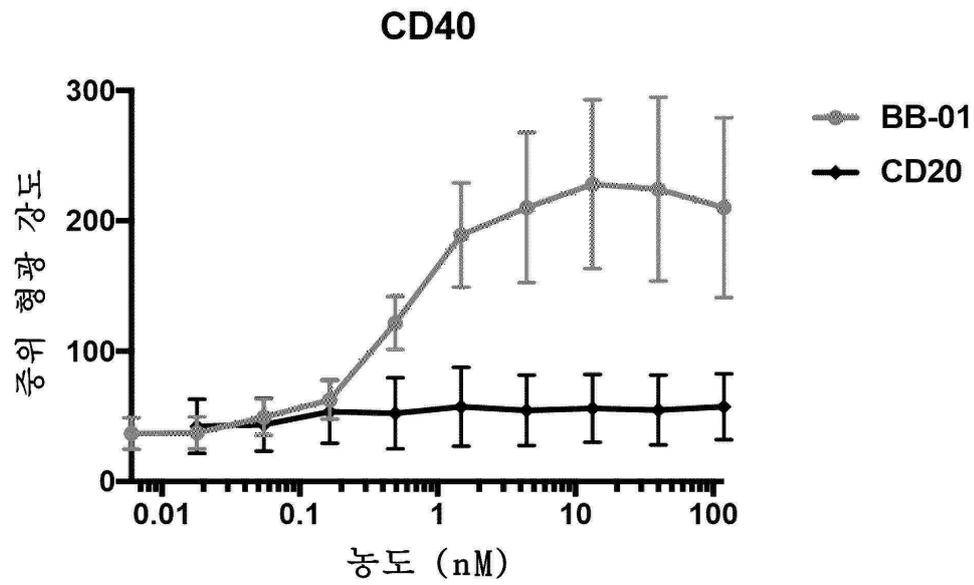
도면71aa



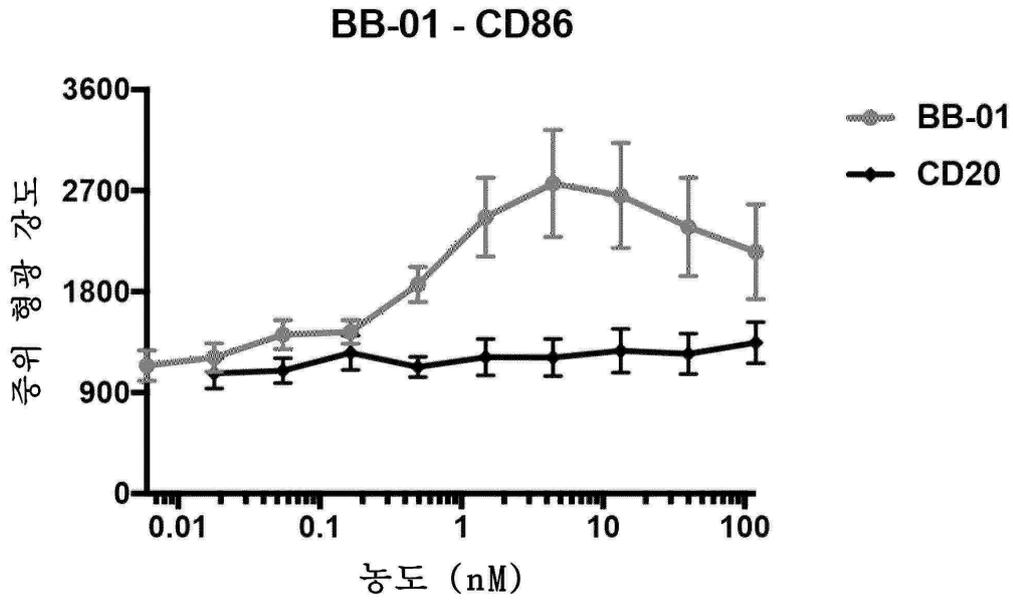
도면71ab



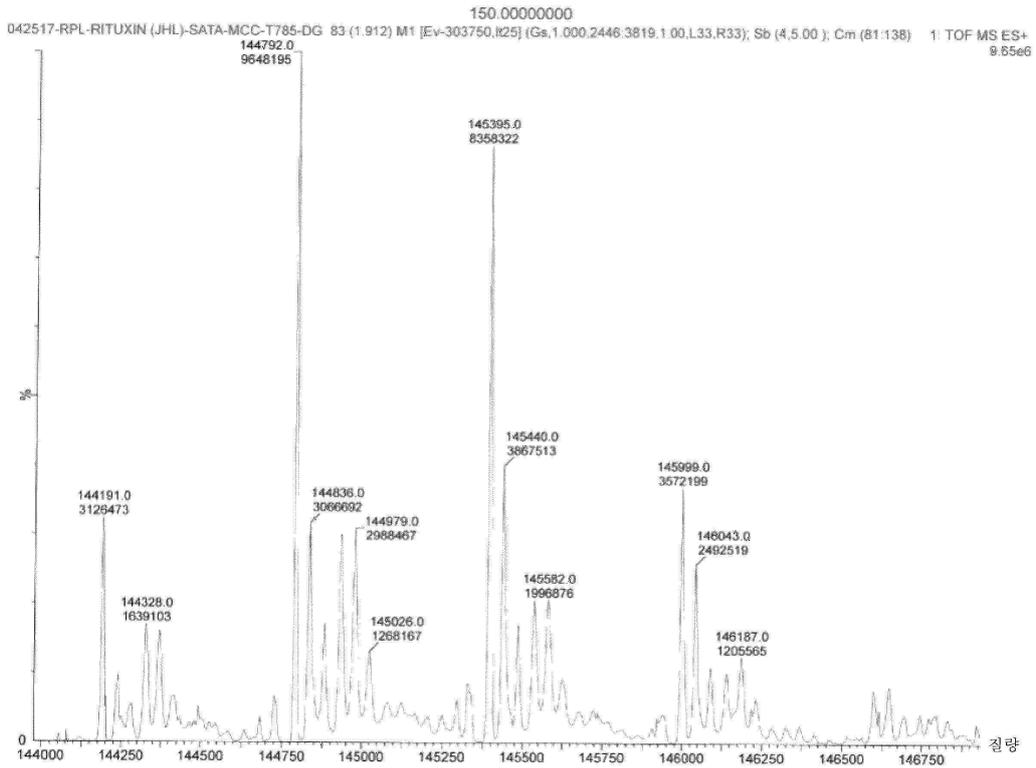
도면71ac



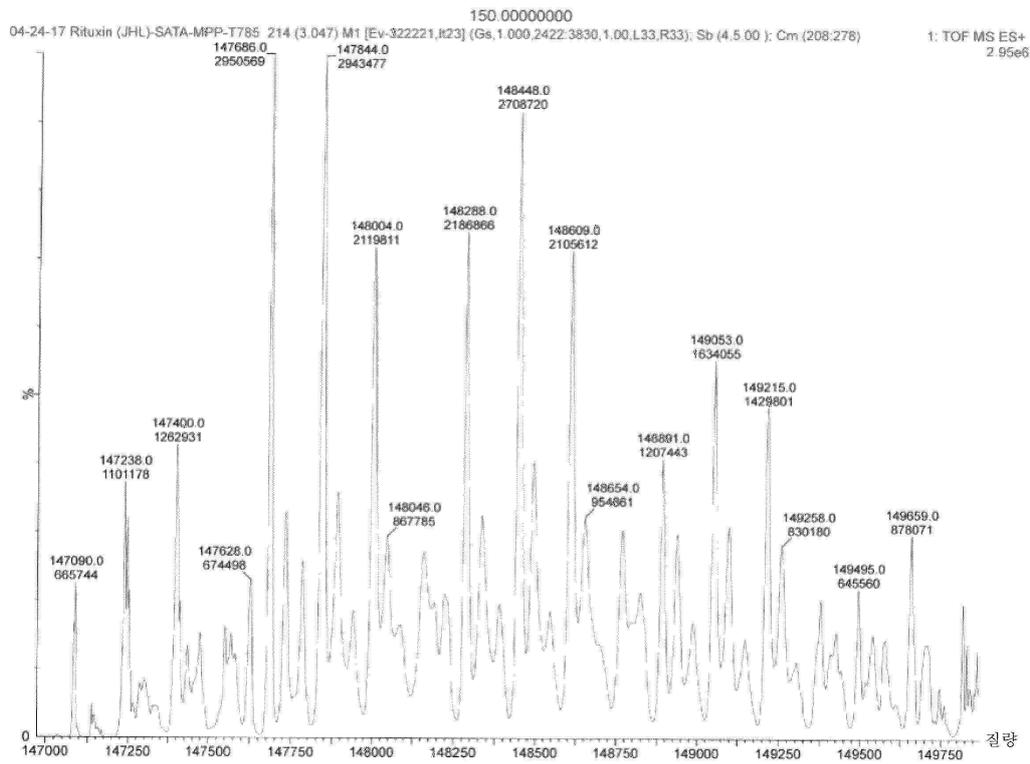
도면71ad



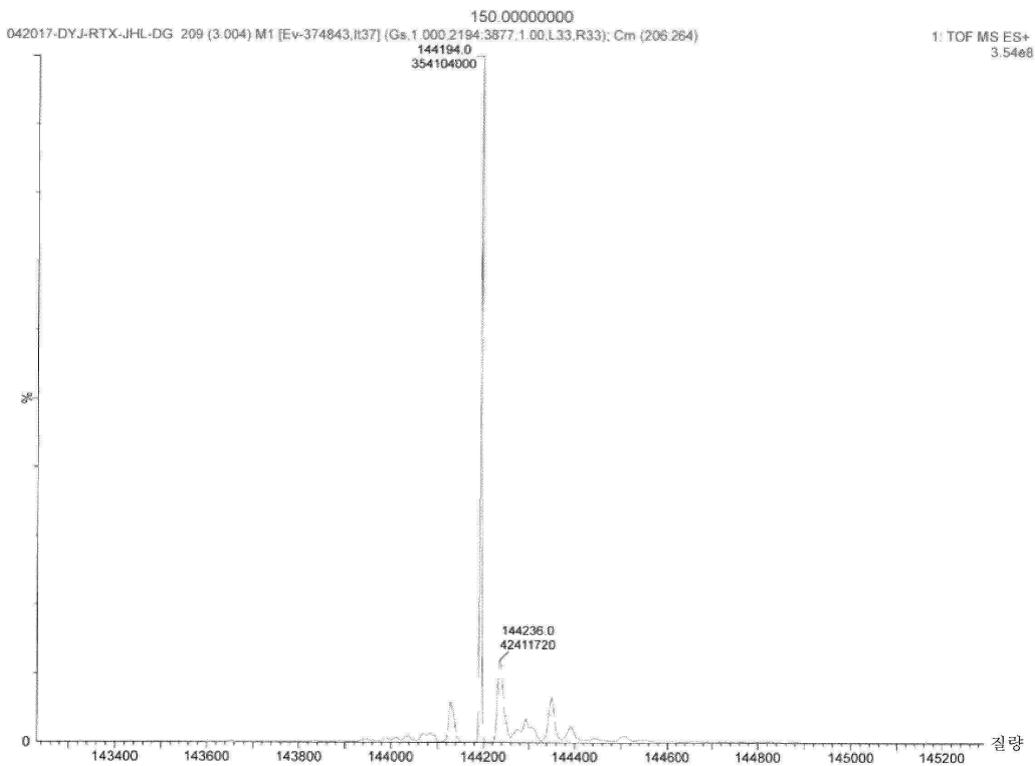
도면71ae



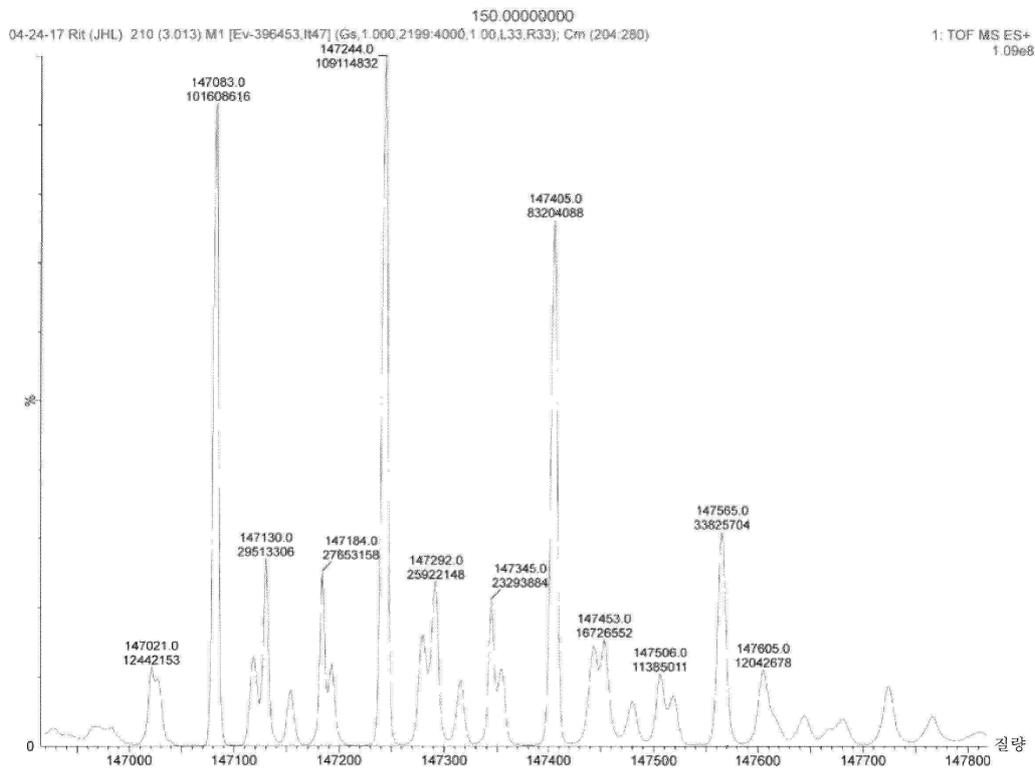
도면71af



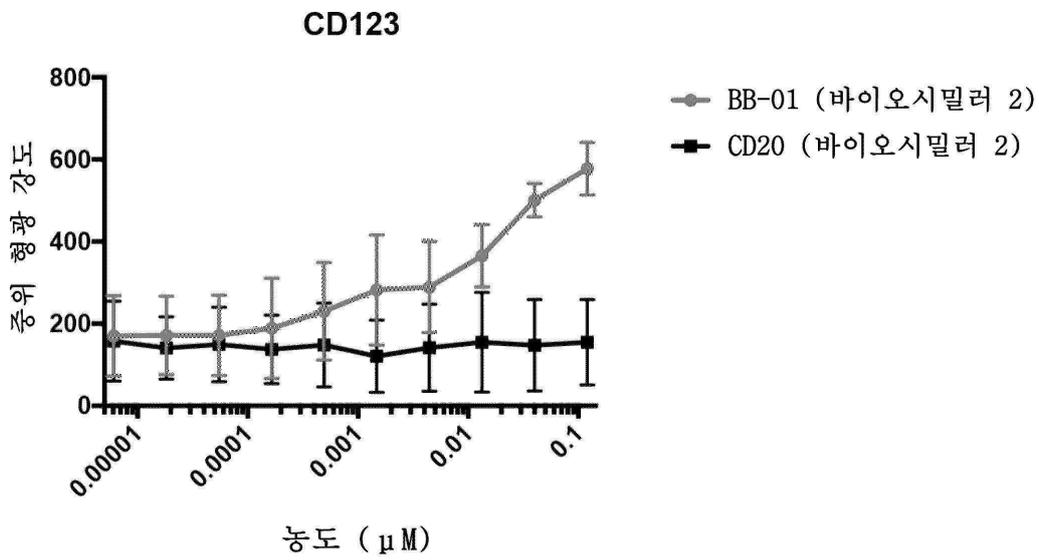
도면71ag



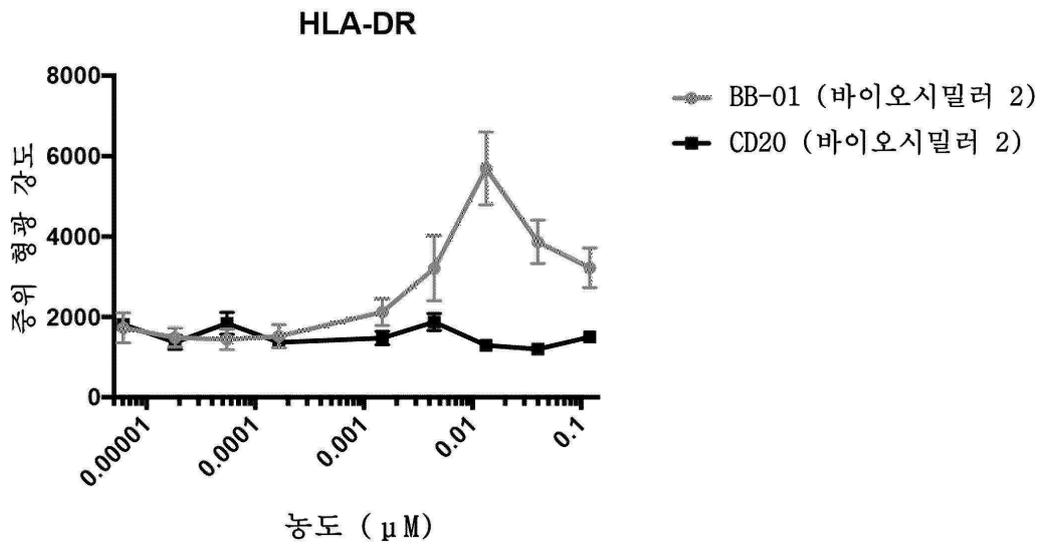
도면71ah



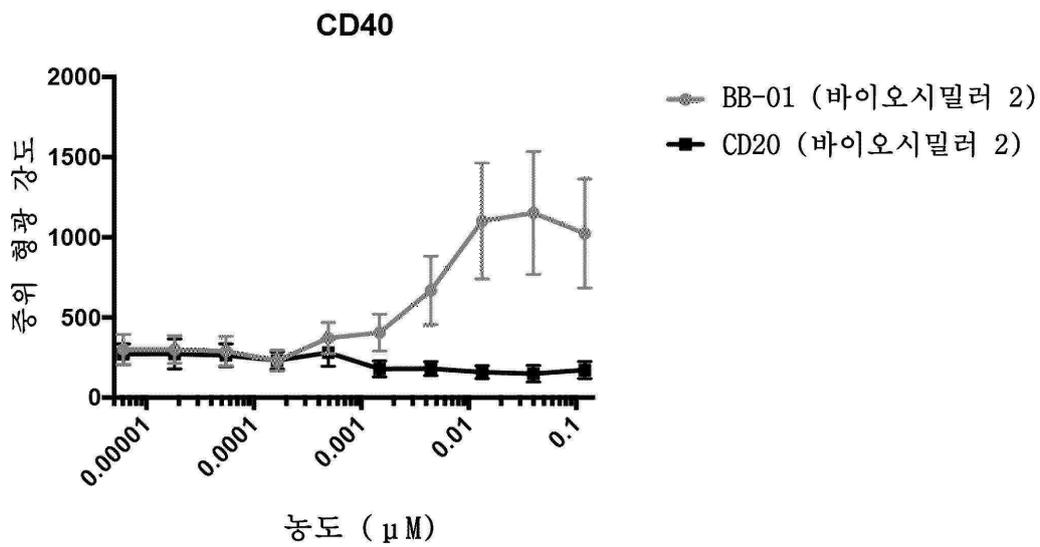
도면71ai



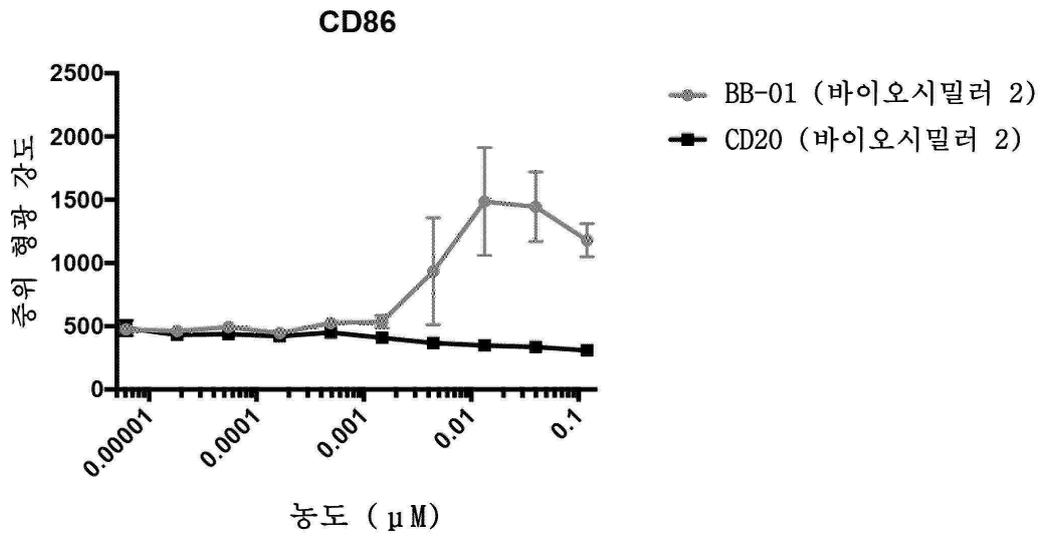
도면71aj



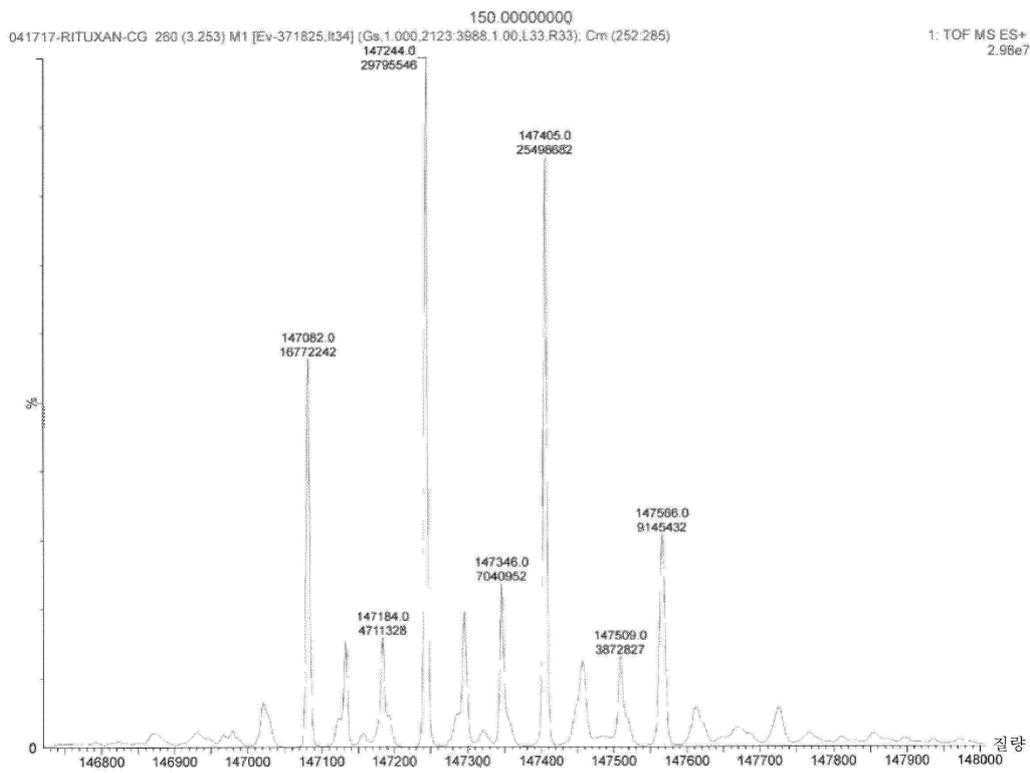
도면71ak



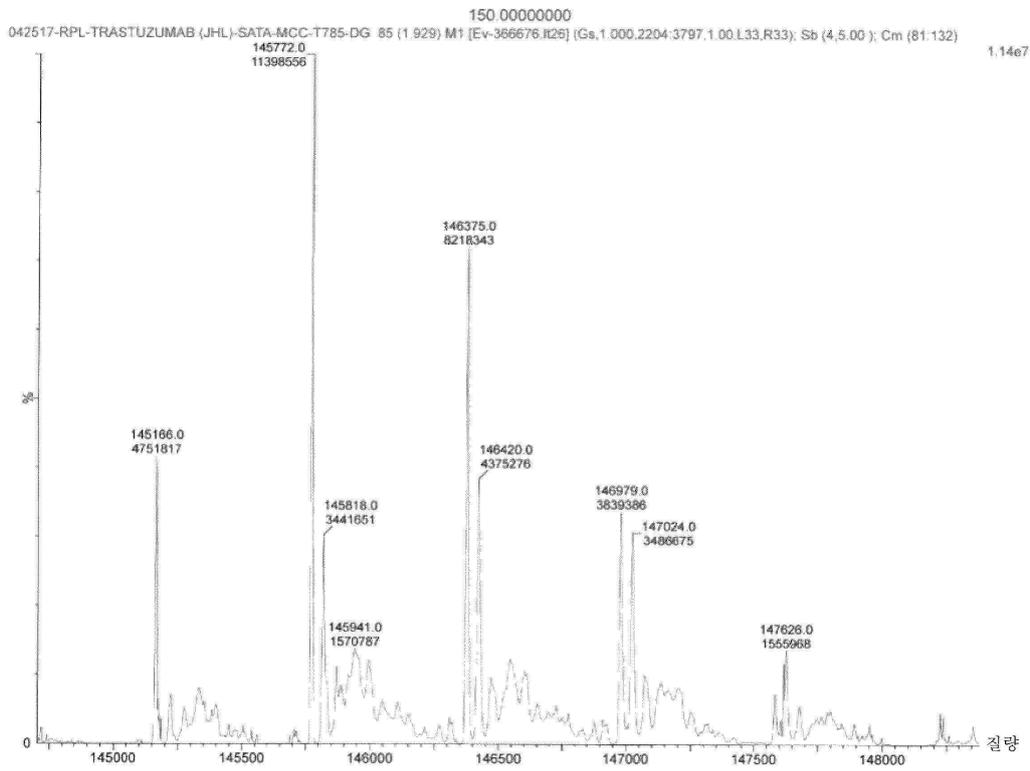
도면71a1



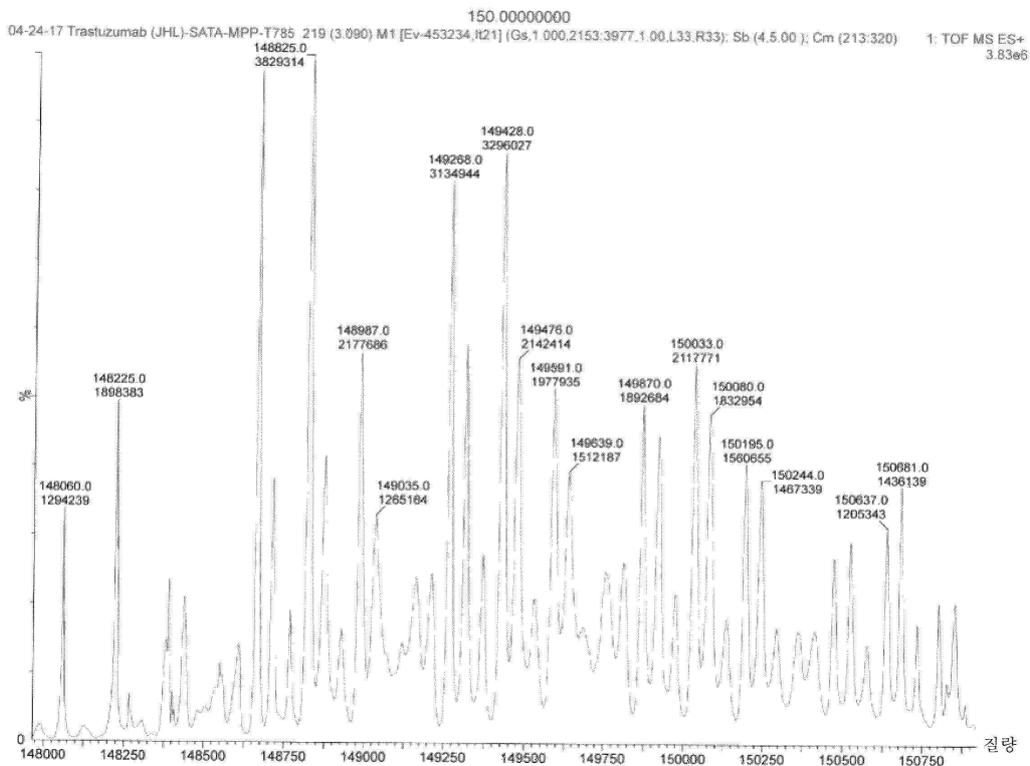
도면71am



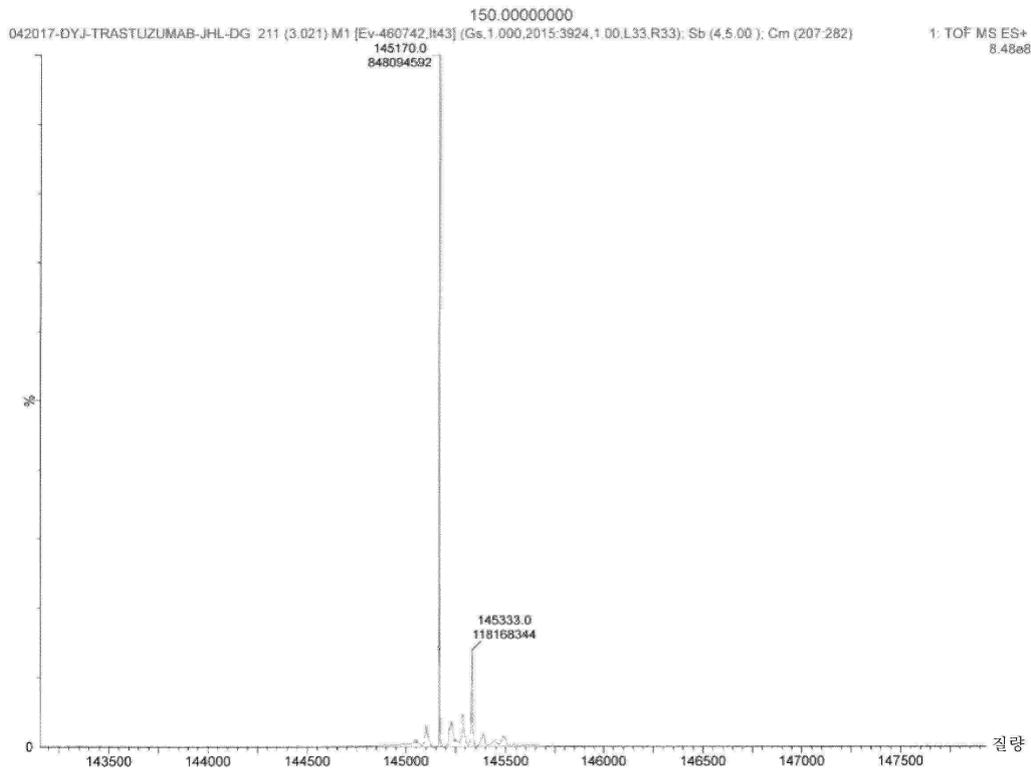
도면71an



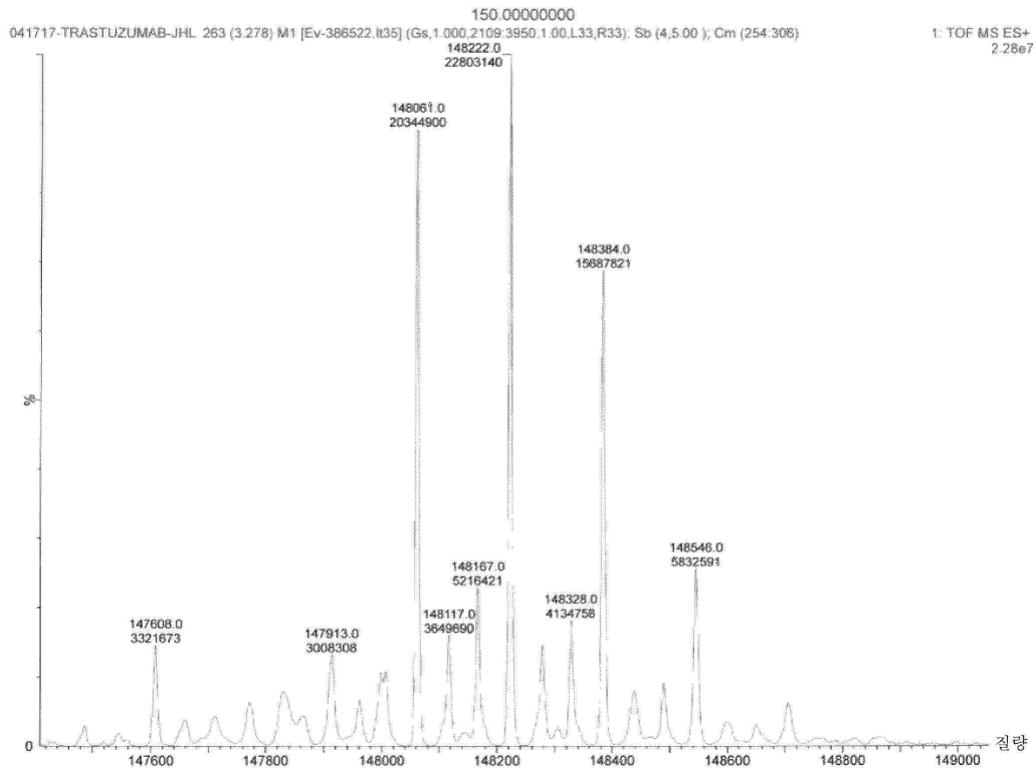
도면71ao



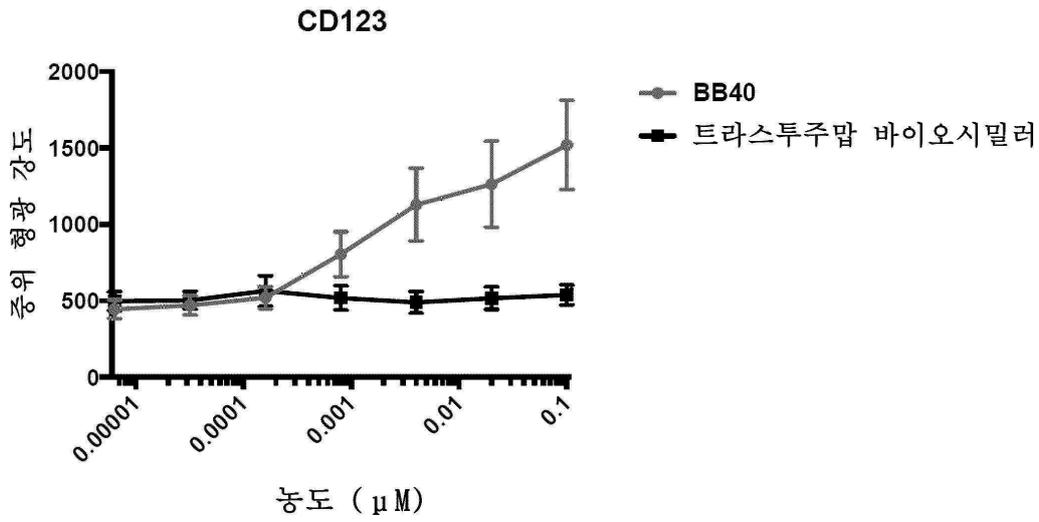
도면71ap



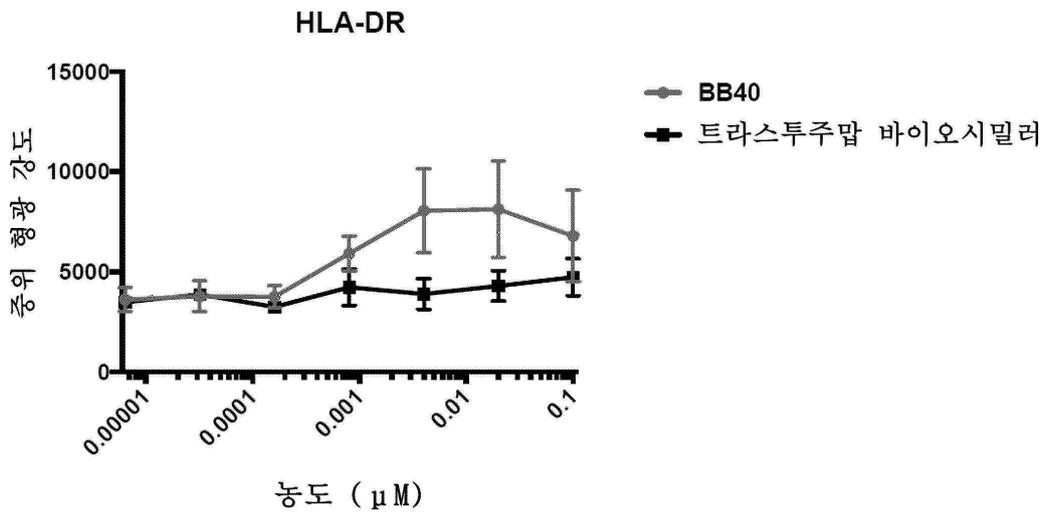
도면71aq



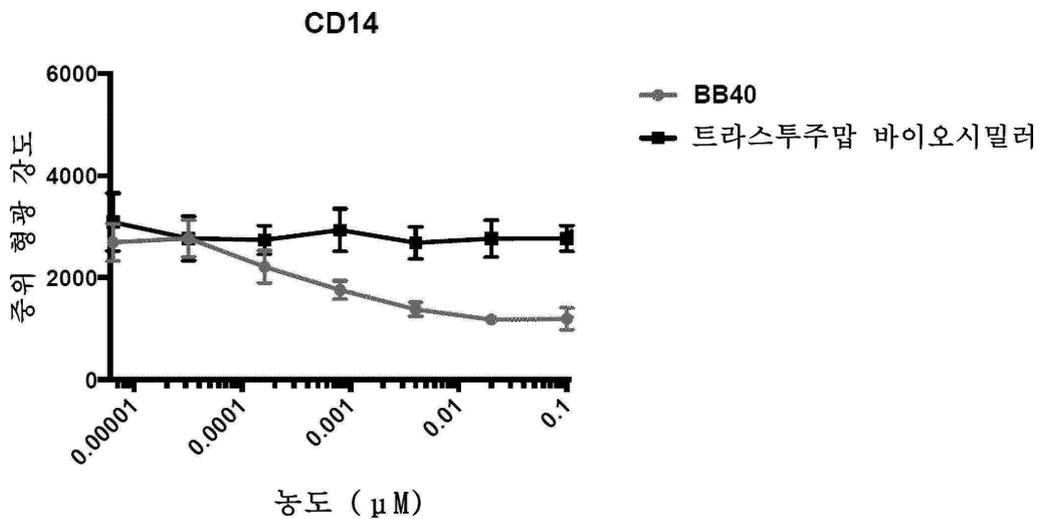
도면71ar



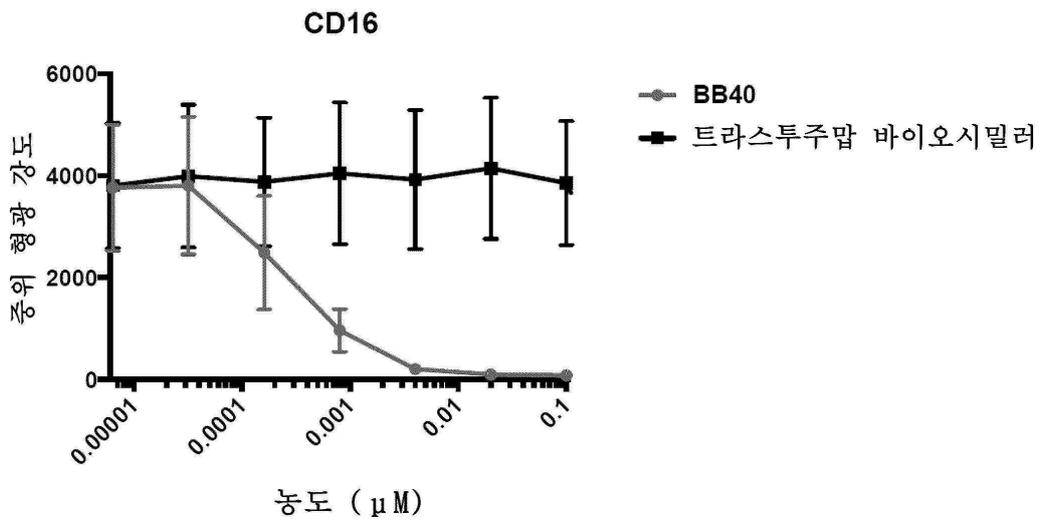
도면71as



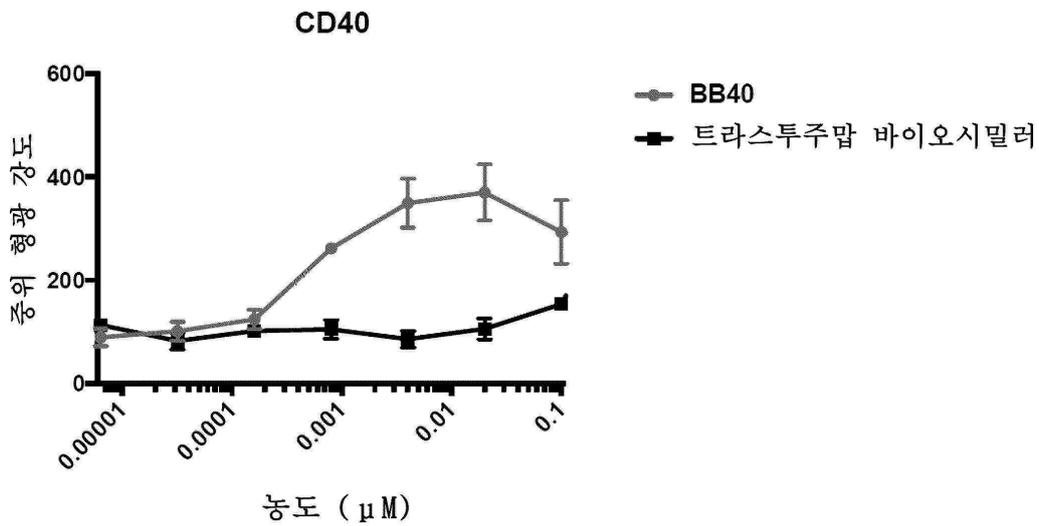
도면71at



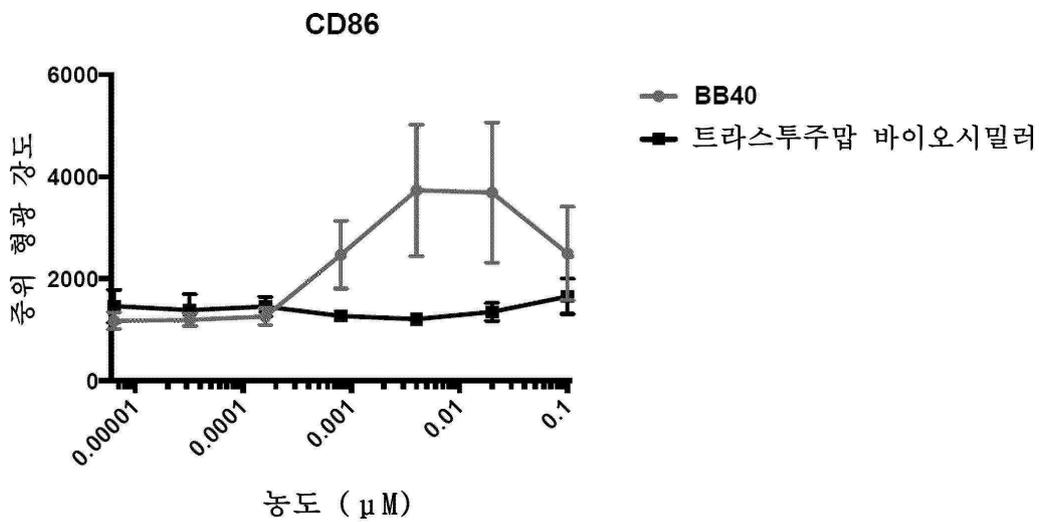
도면71au



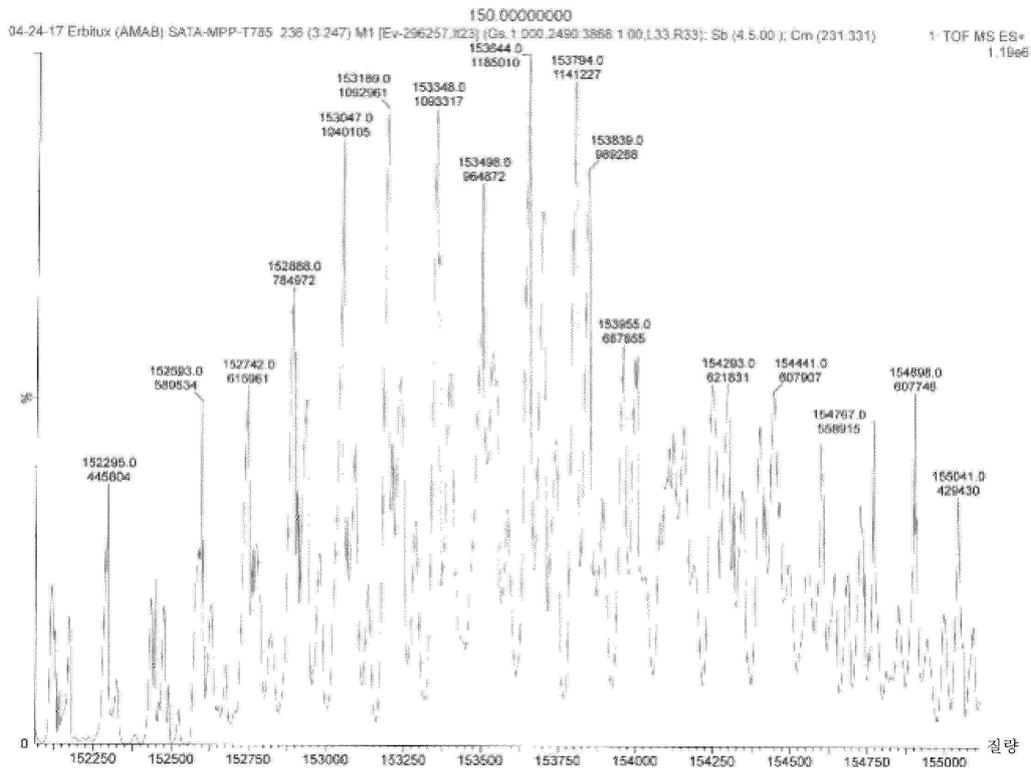
도면71av



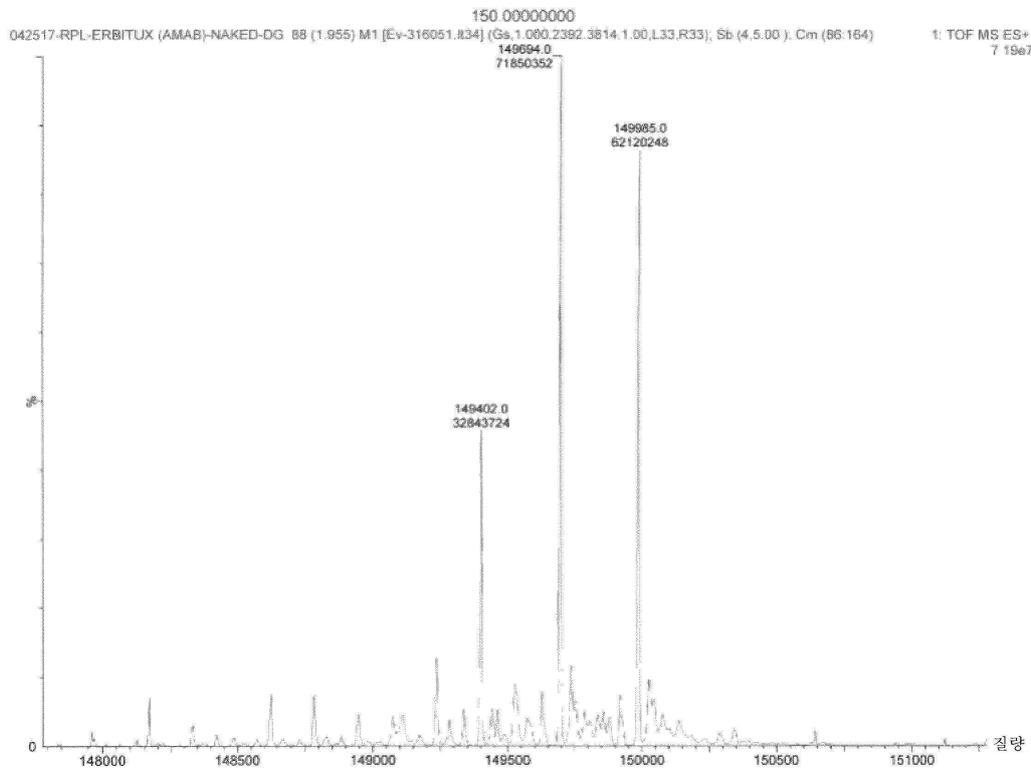
도면71aw



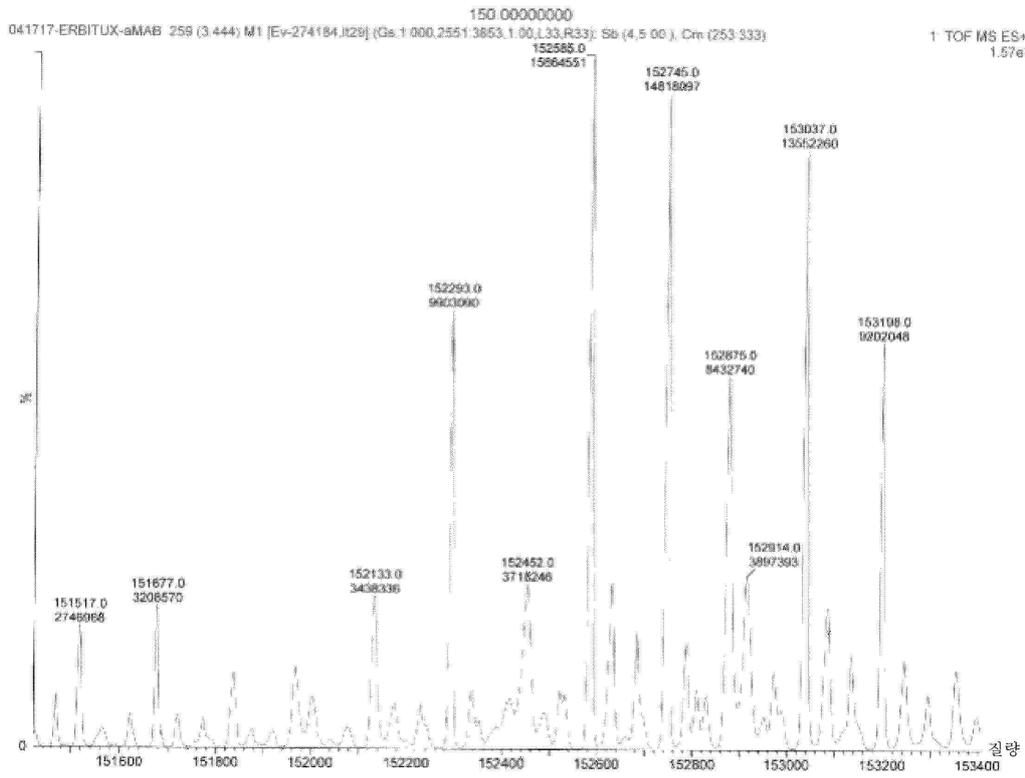
도면71b



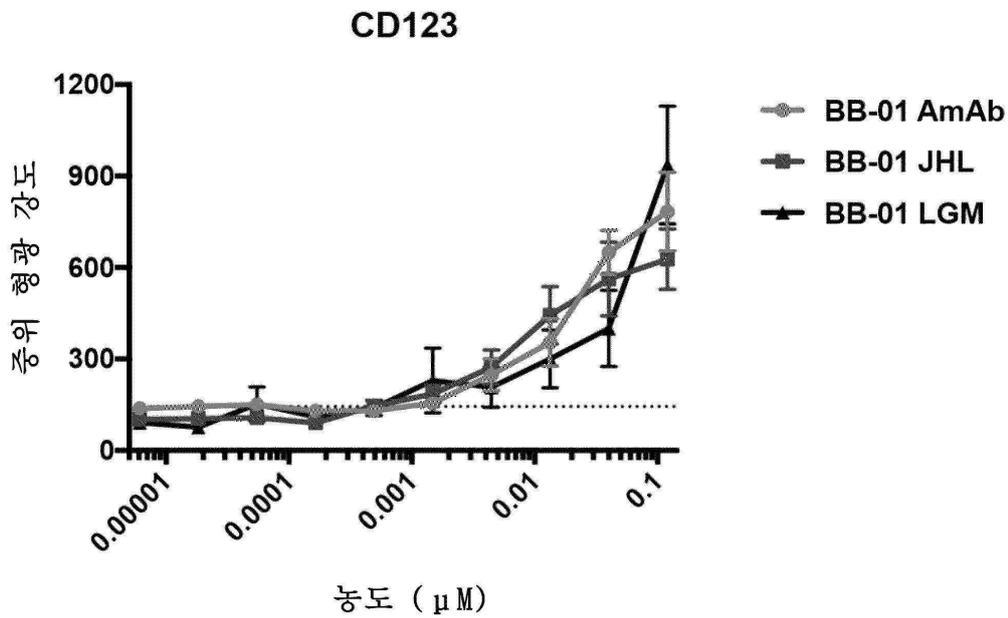
도면71c



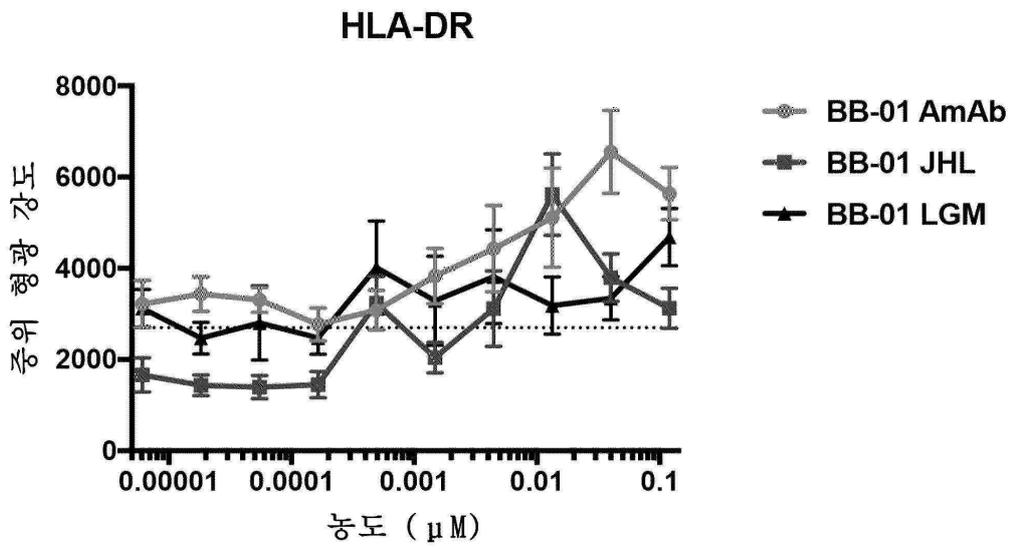
도면71d



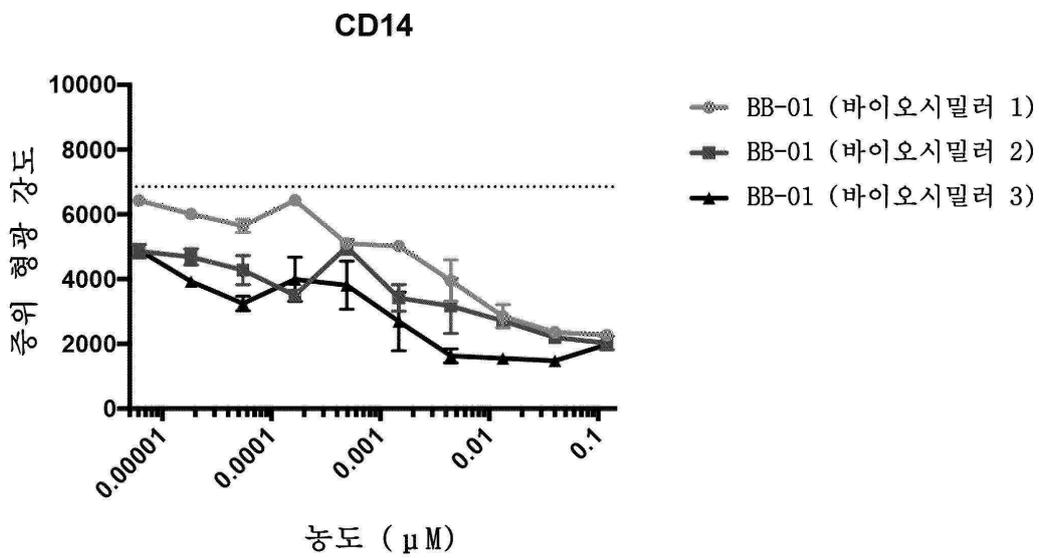
도면71e



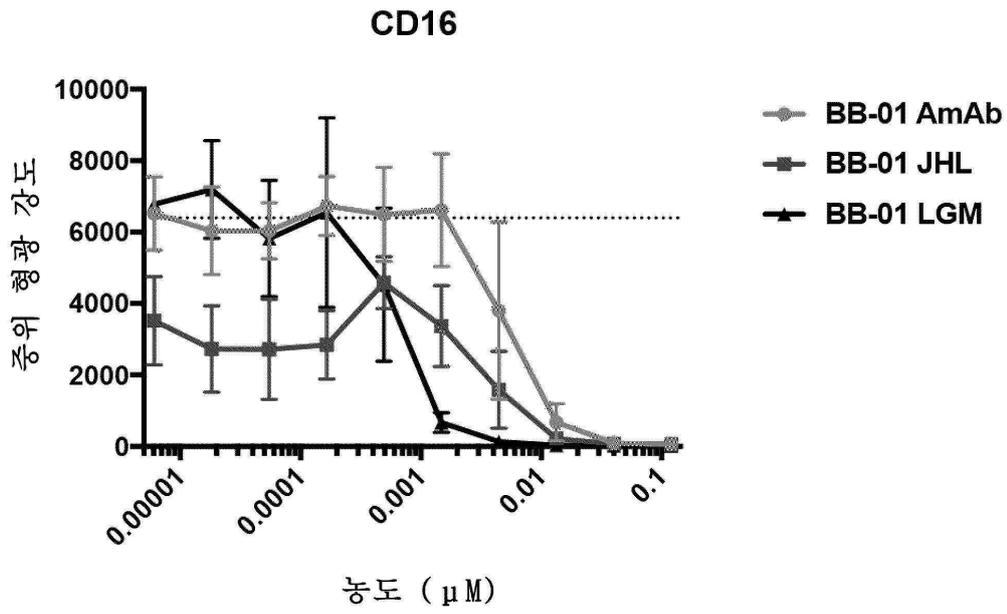
도면71f



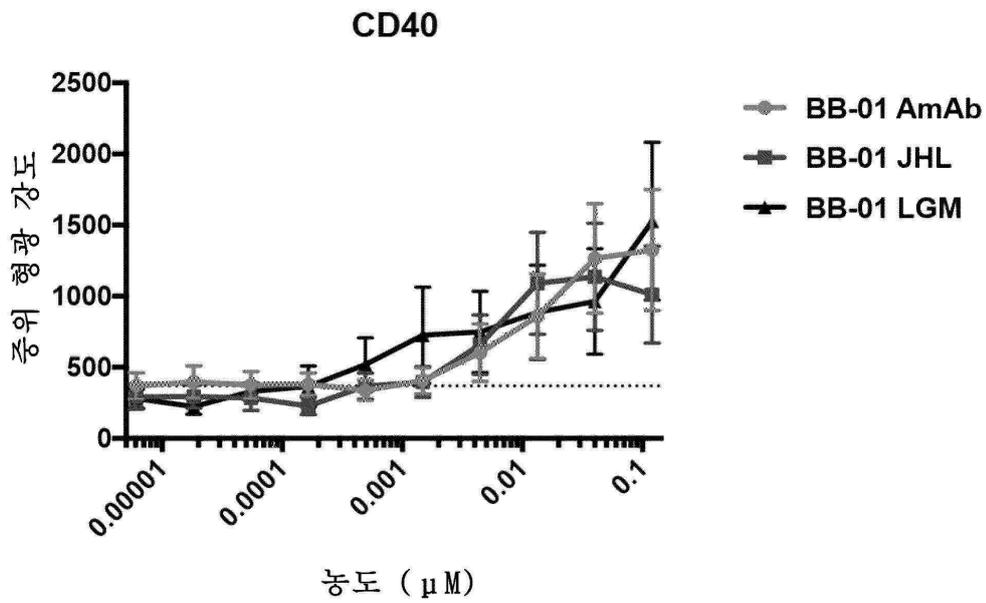
도면71g



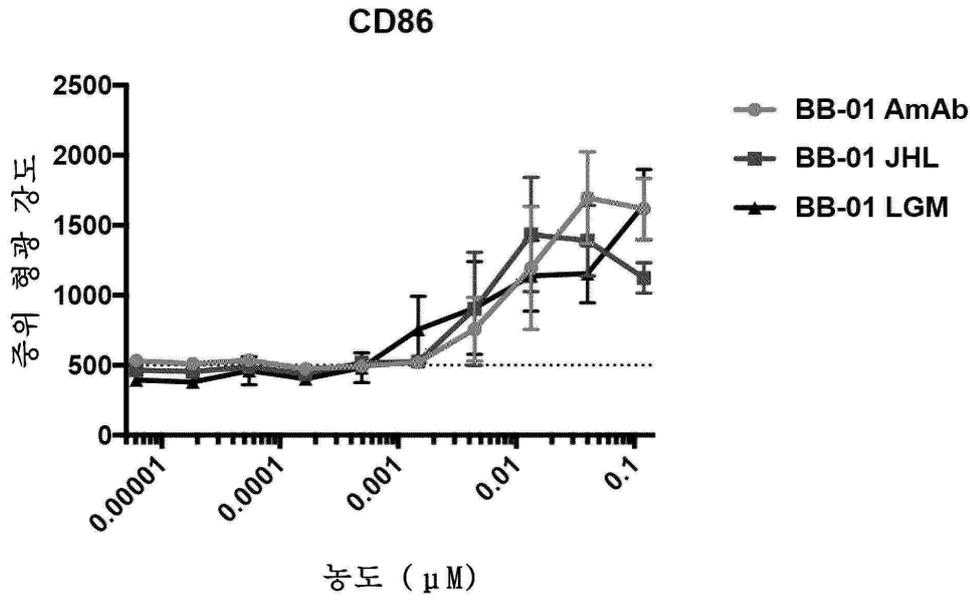
도면71h



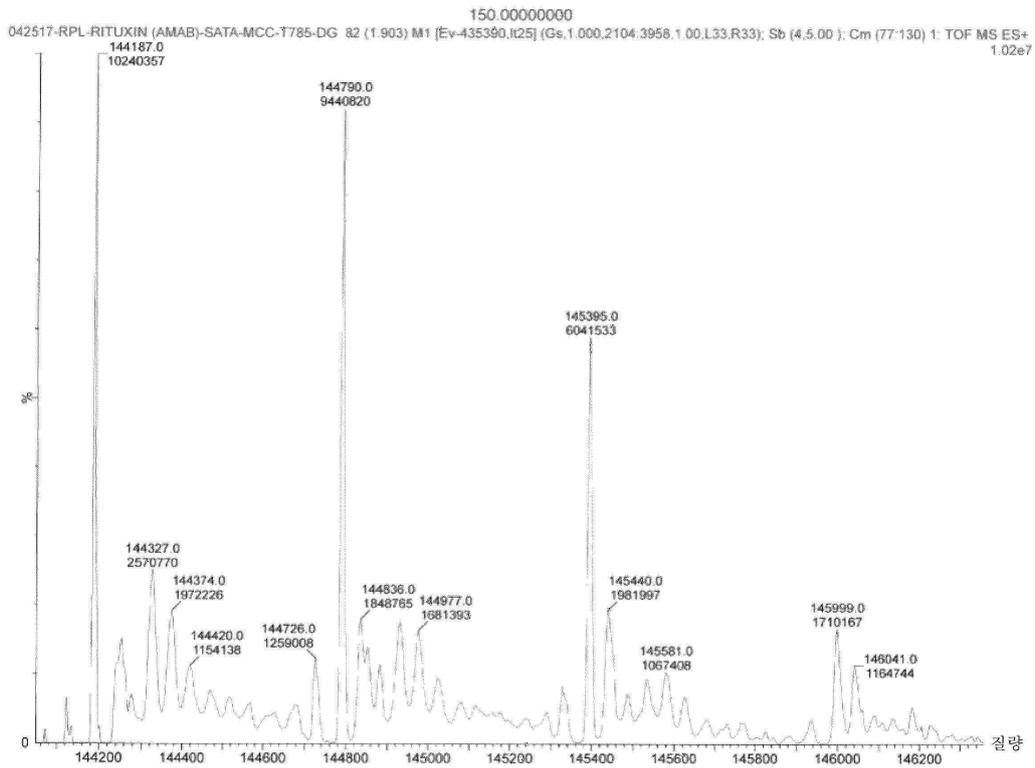
도면71i



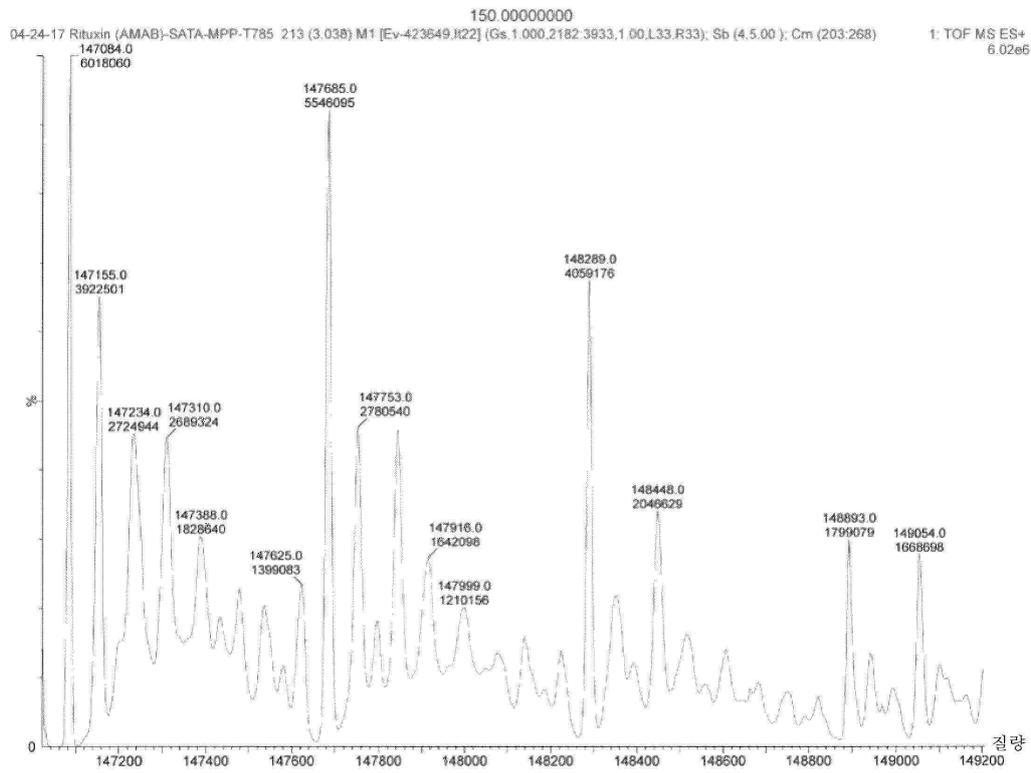
도면71j



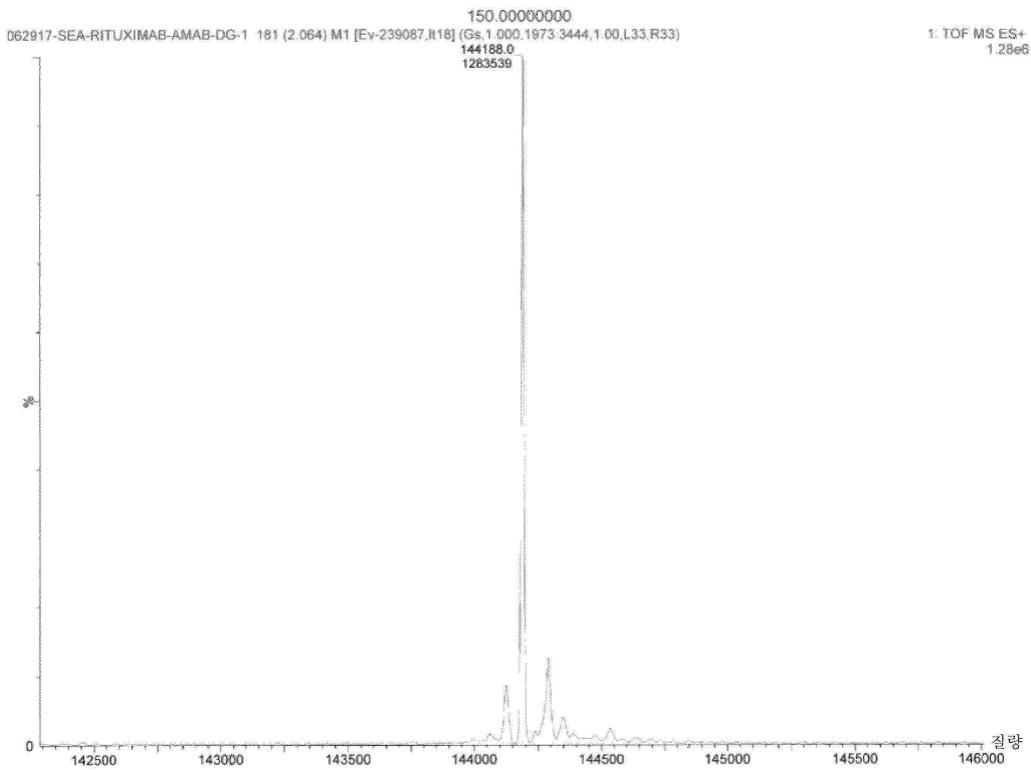
도면71k



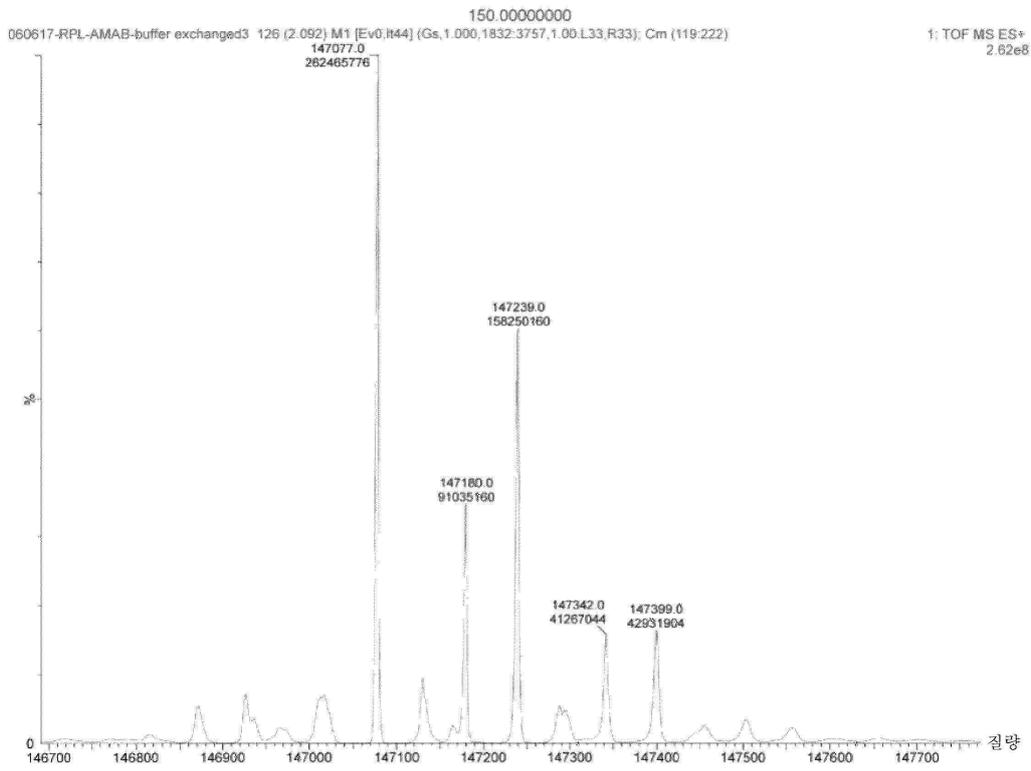
도면711



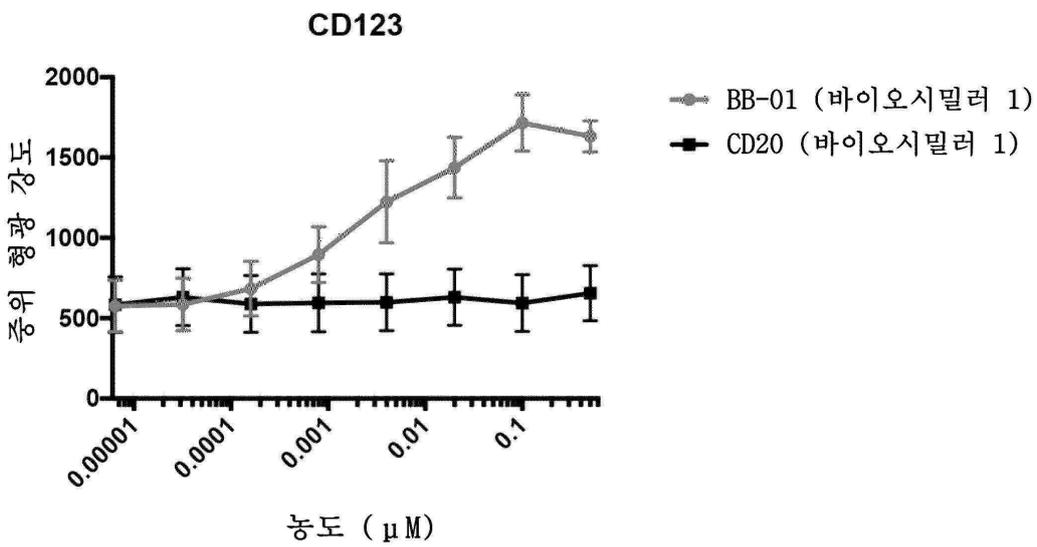
도면71m



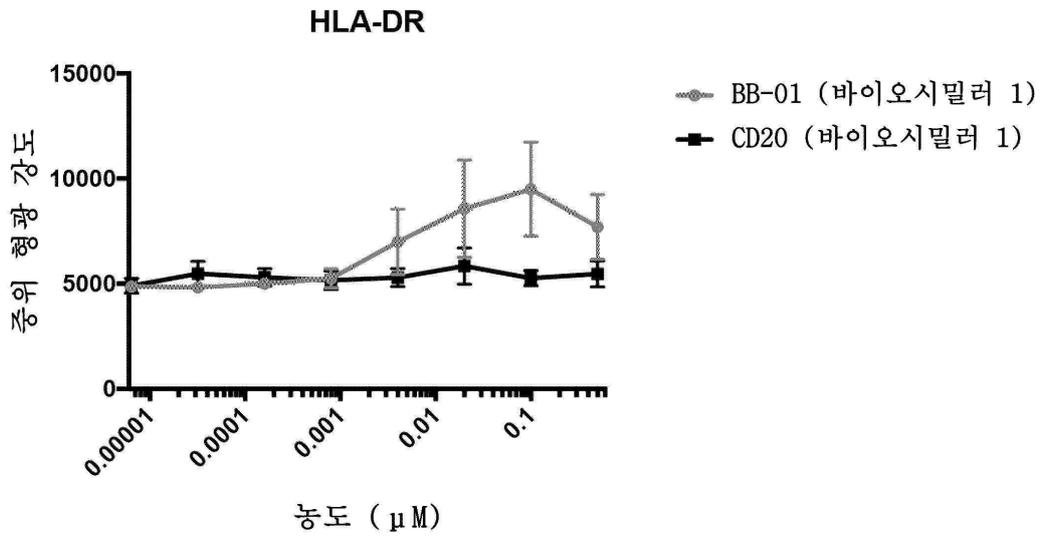
도면71n



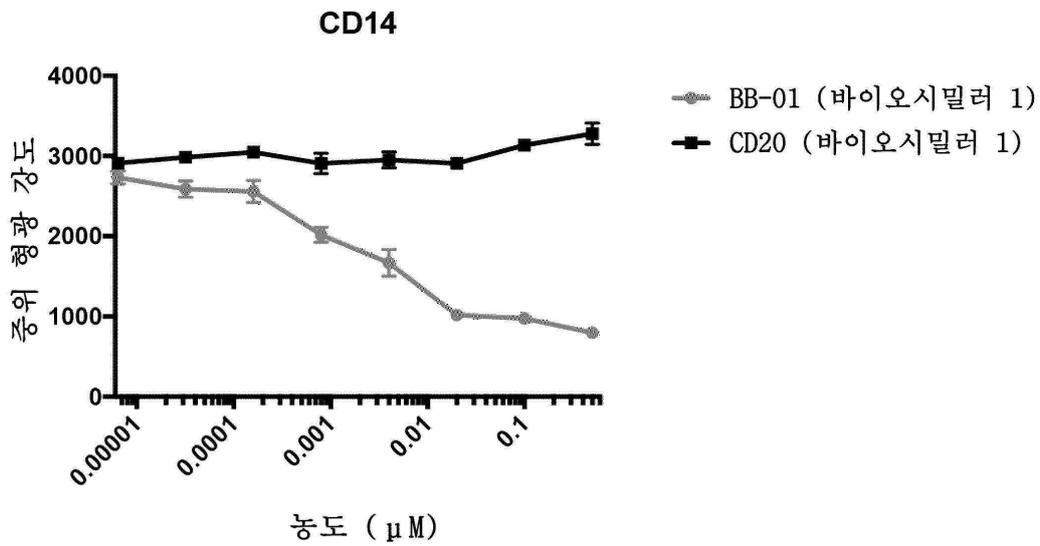
도면71o



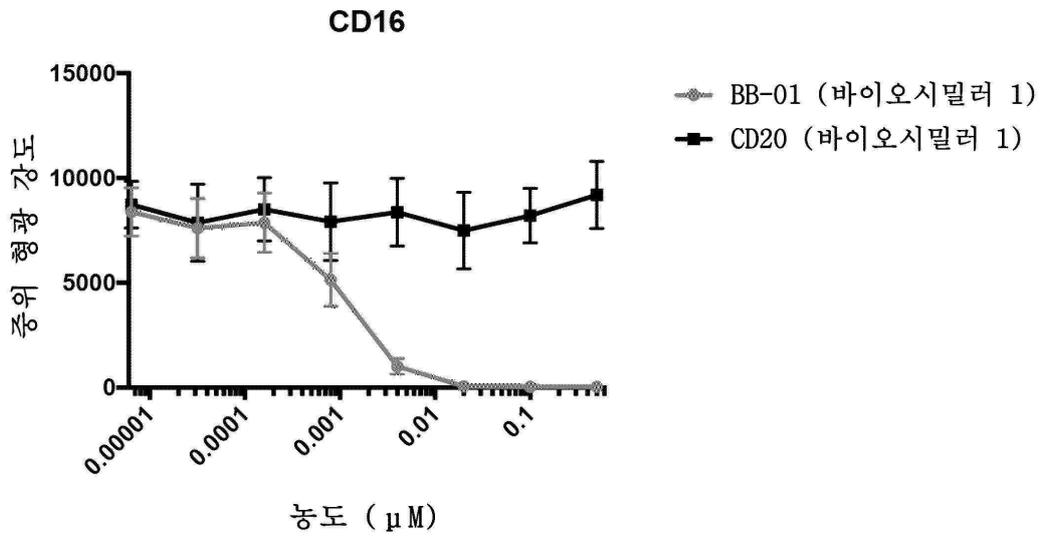
도면71p



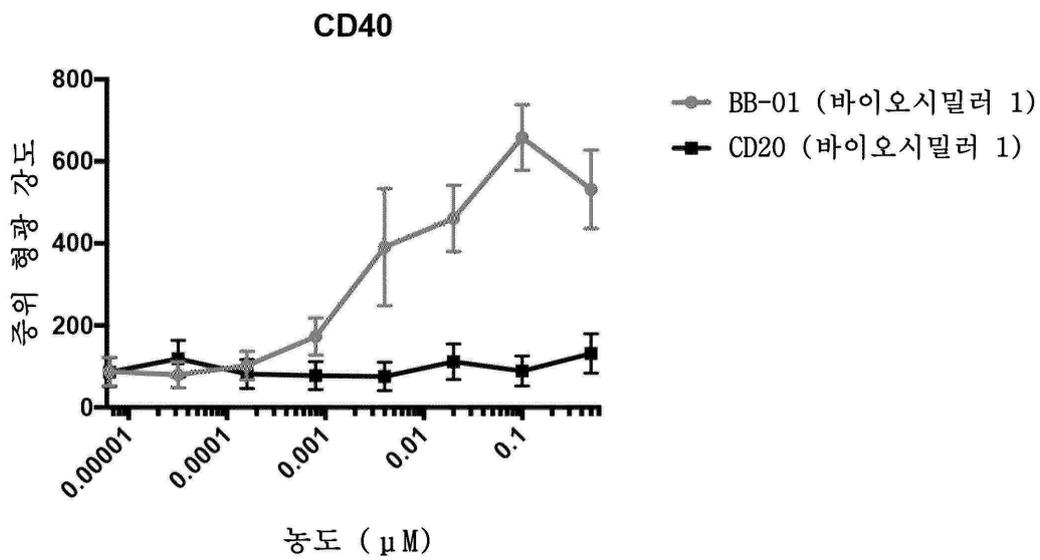
도면71q



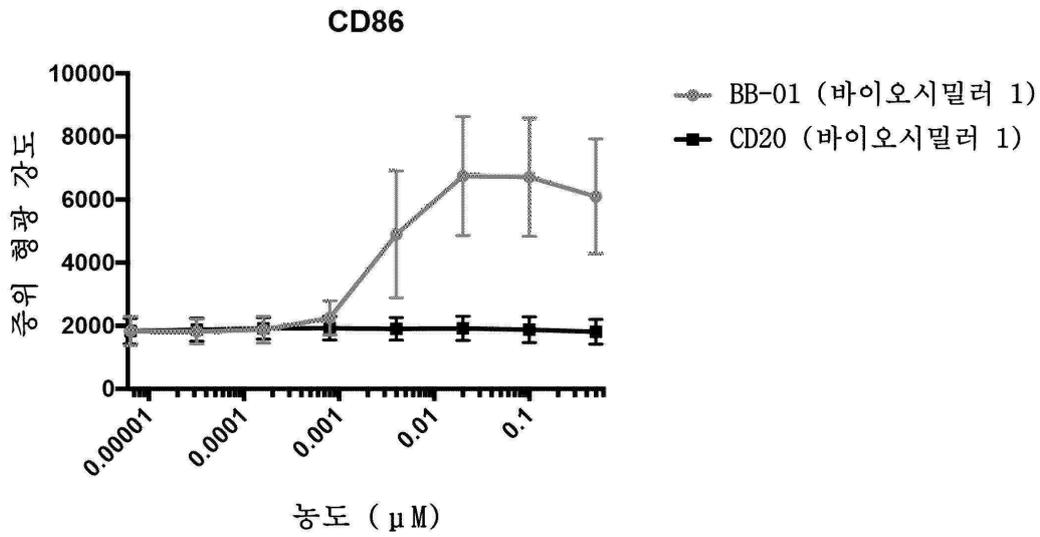
도면71r



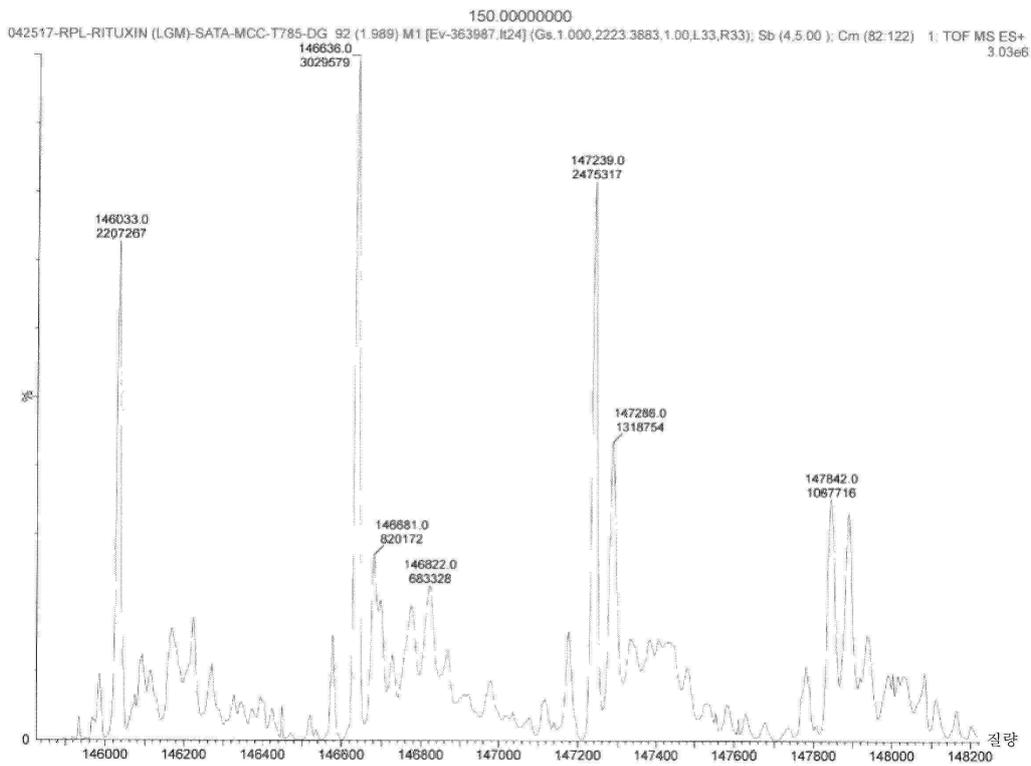
도면71s



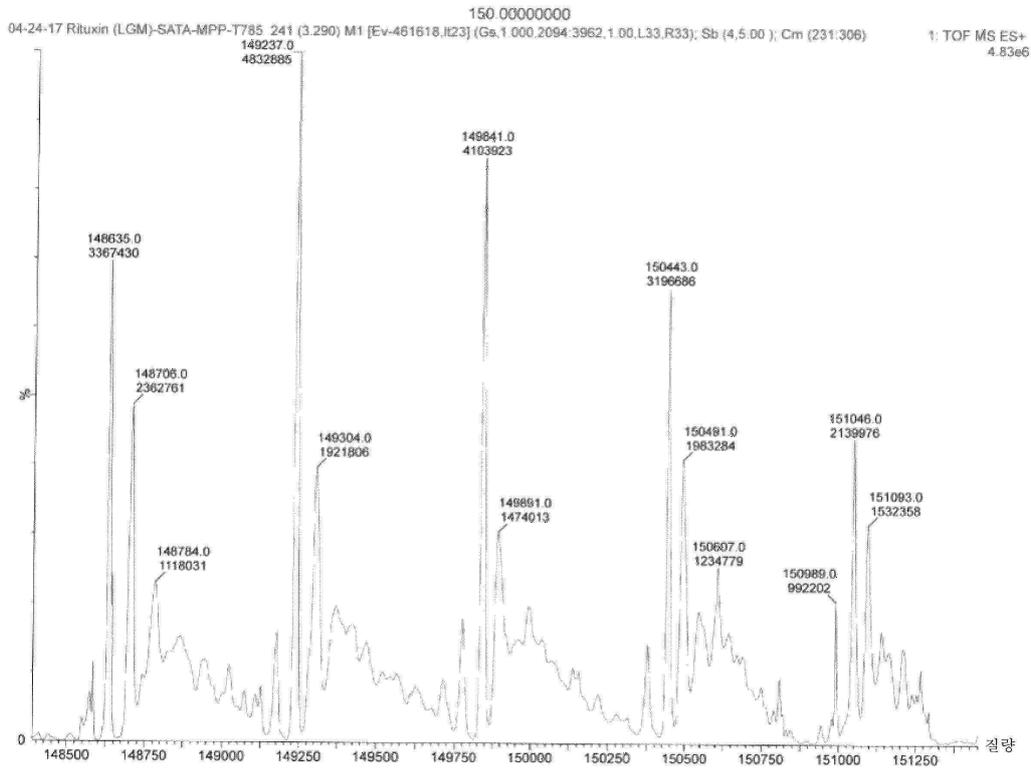
도면71t



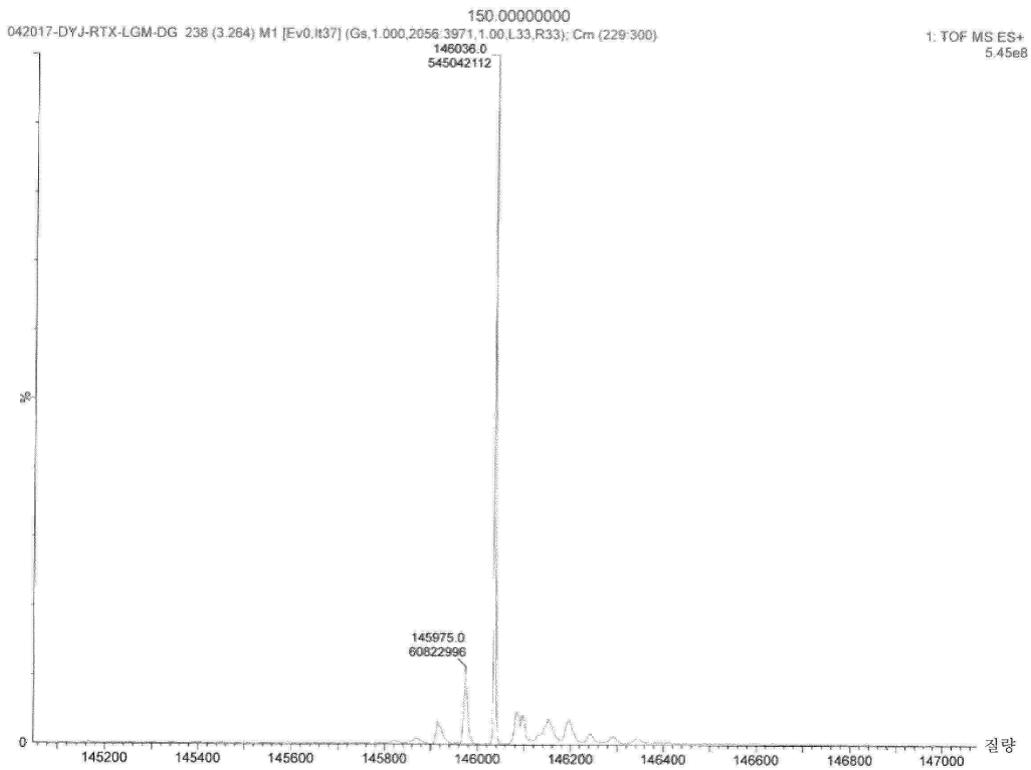
도면71u



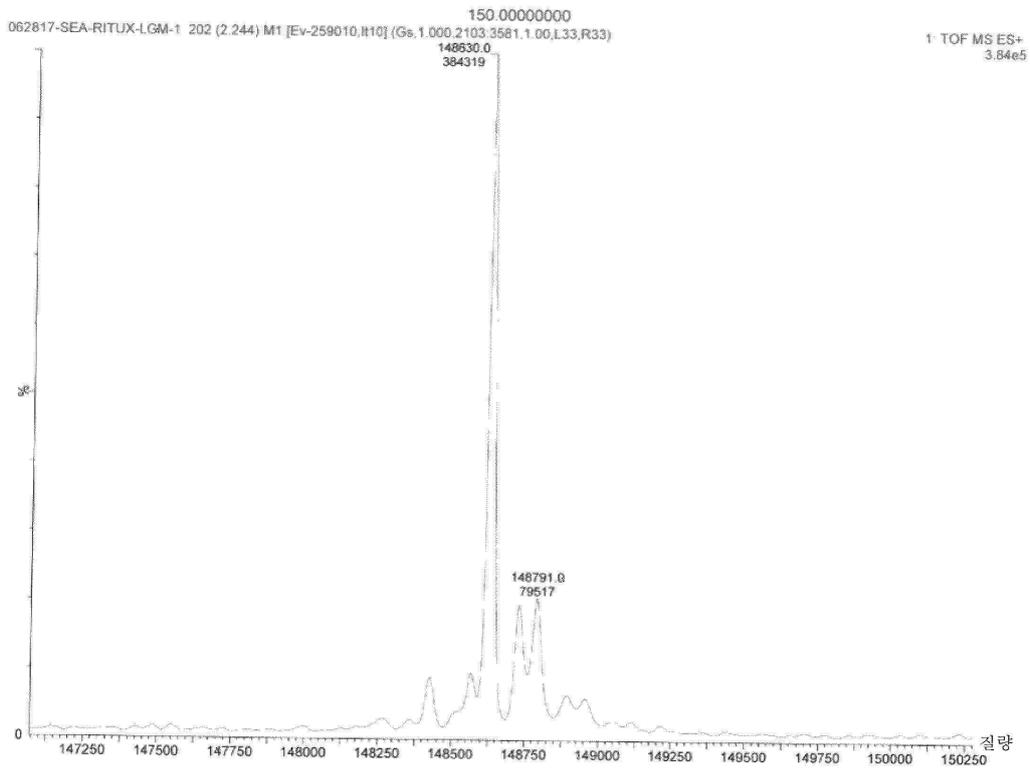
도면71v



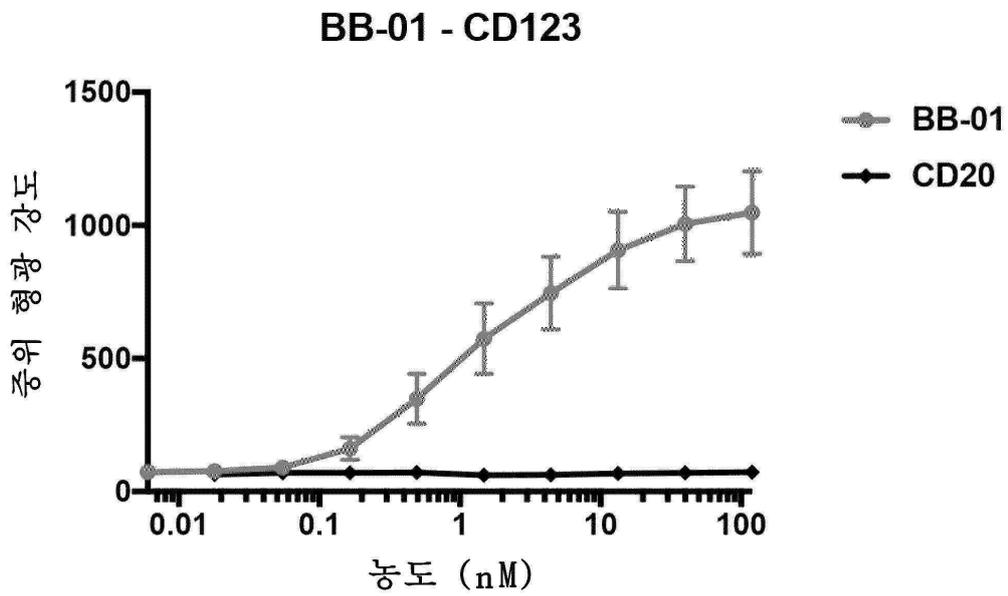
도면71w



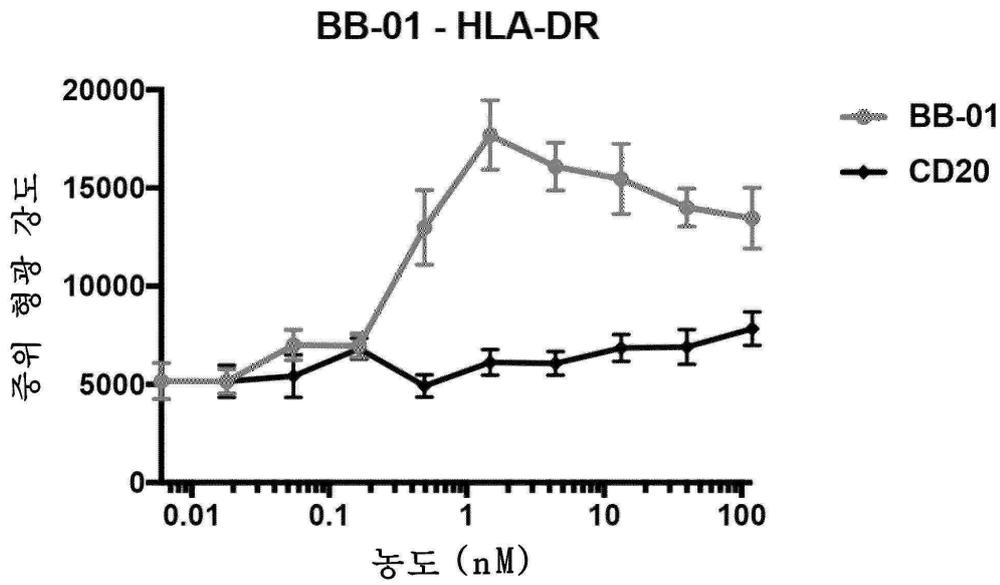
도면71x



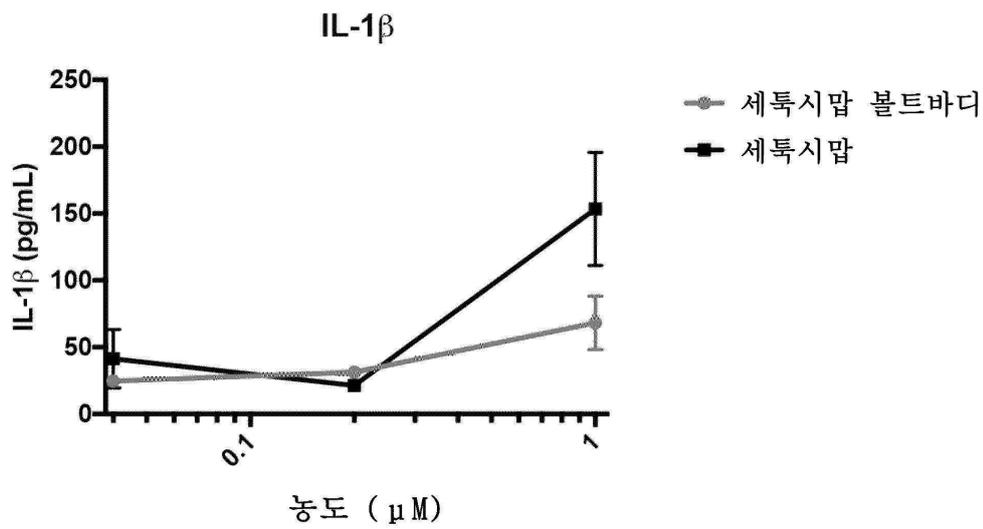
도면71y



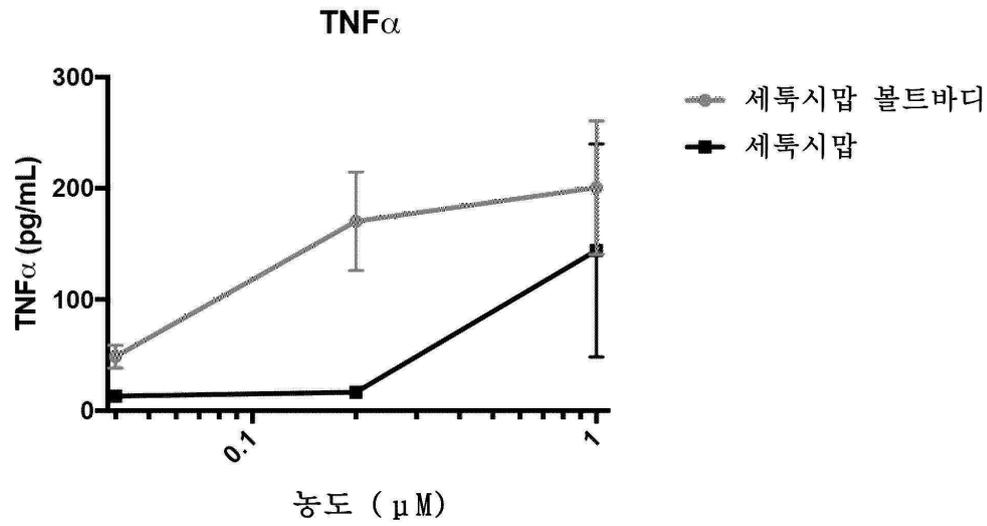
도면71z



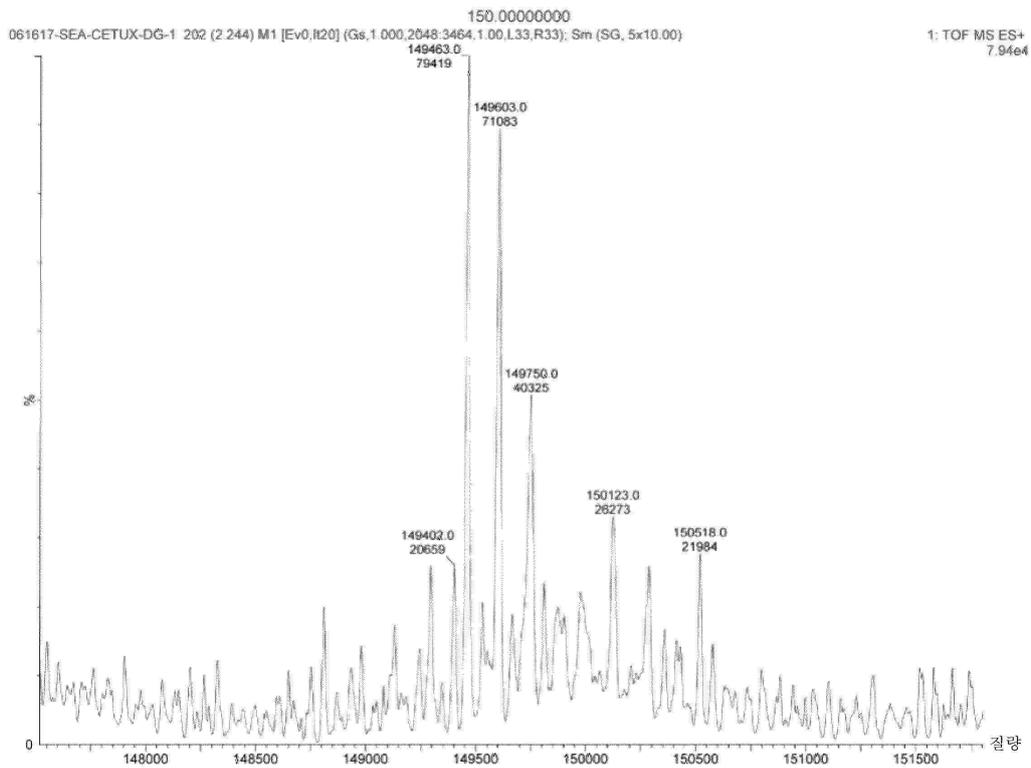
도면72a



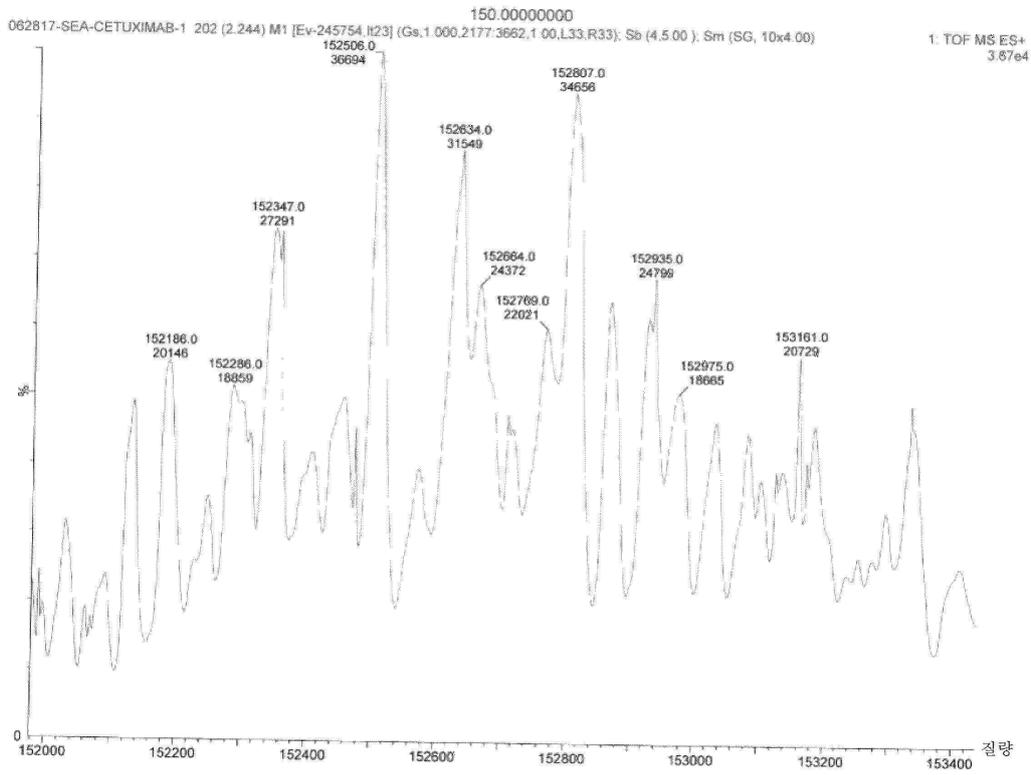
도면72b



도면72c

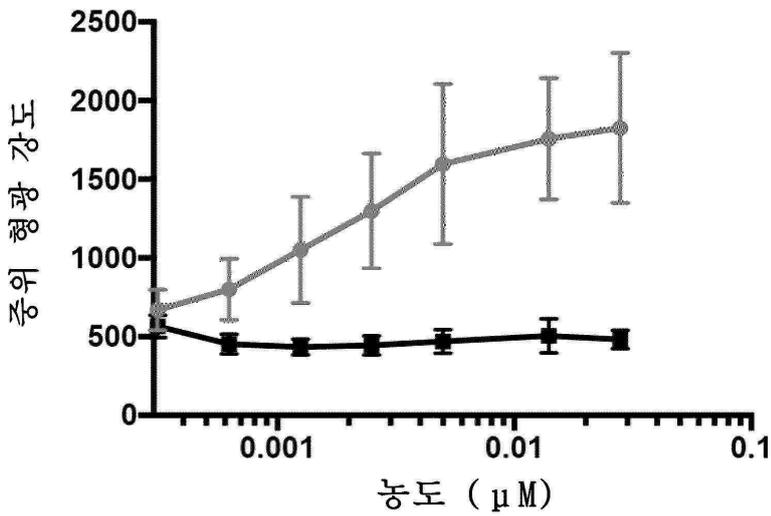


도면 72d

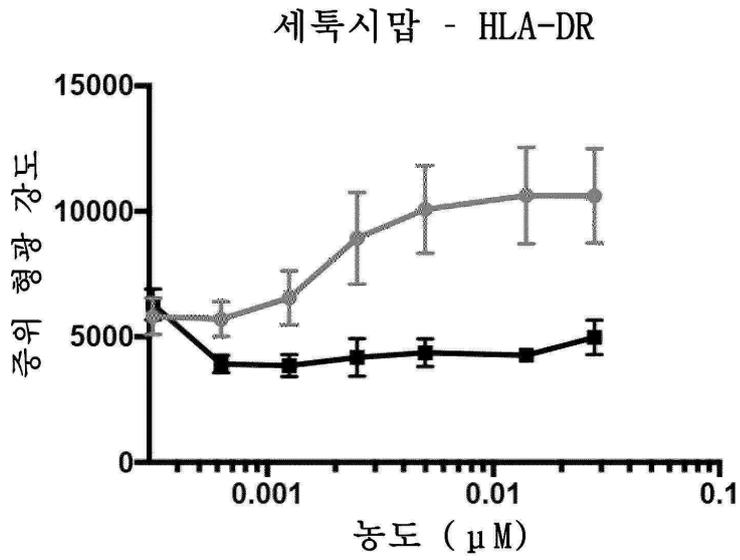


도면 72e

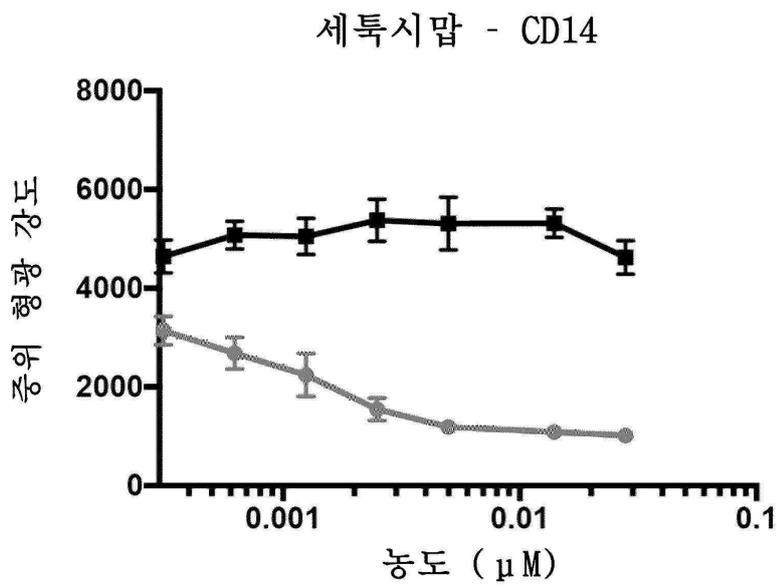
세특시말 - CD123



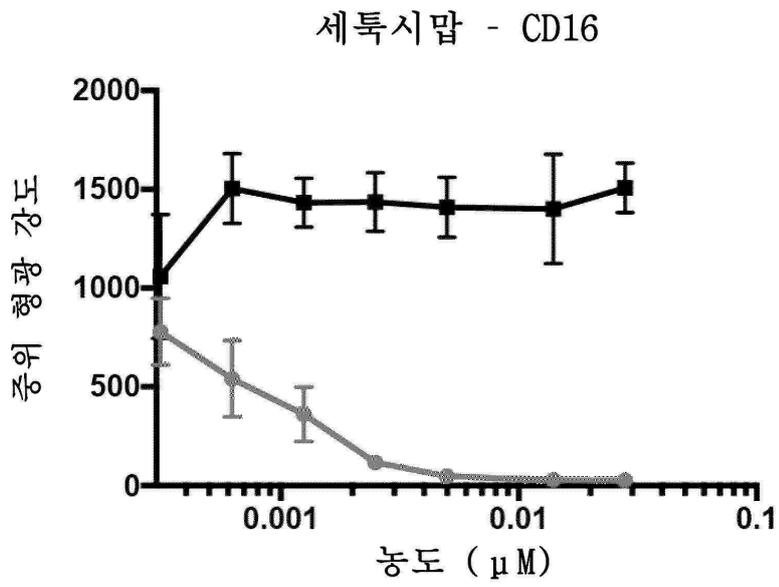
도면72f



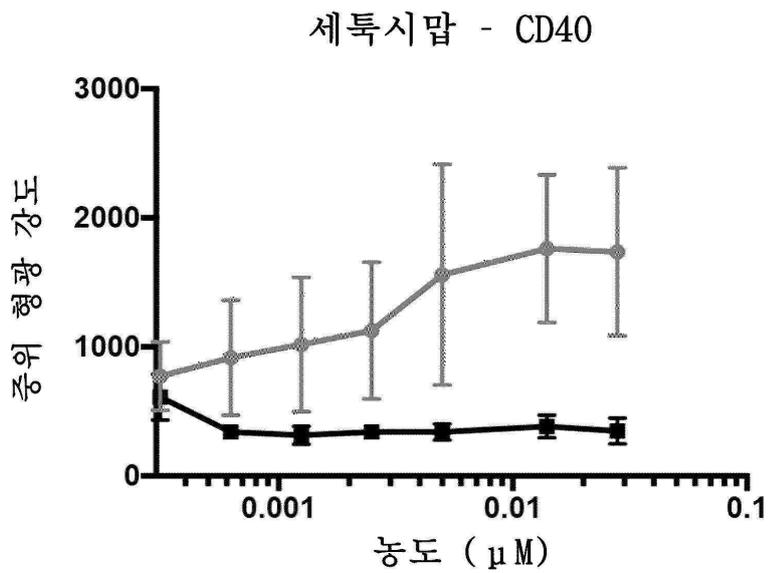
도면72g



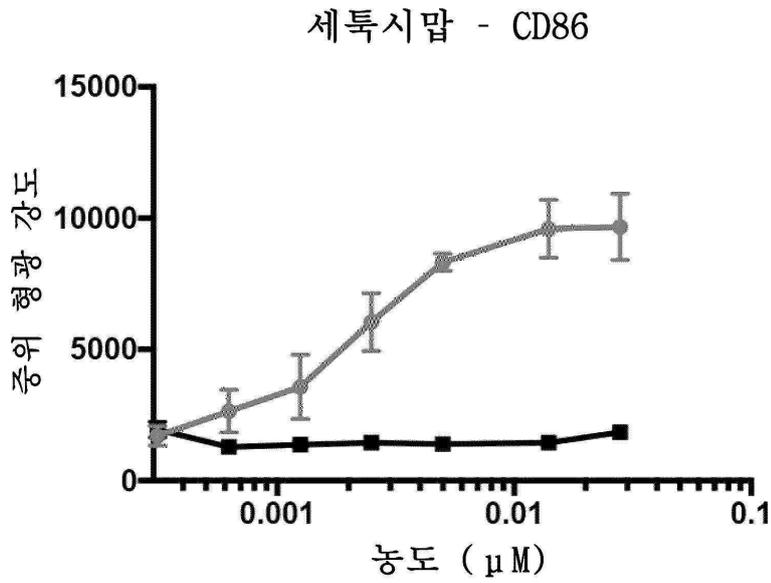
도면72h



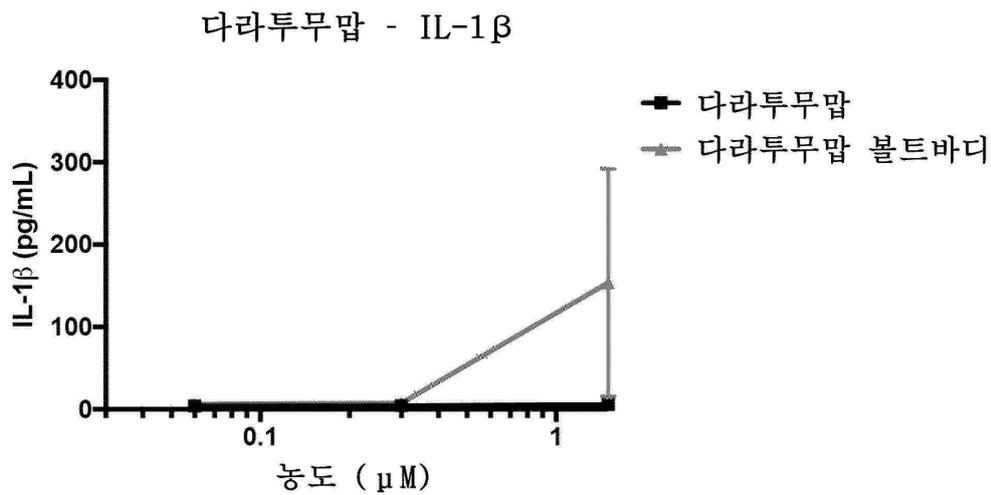
도면72i



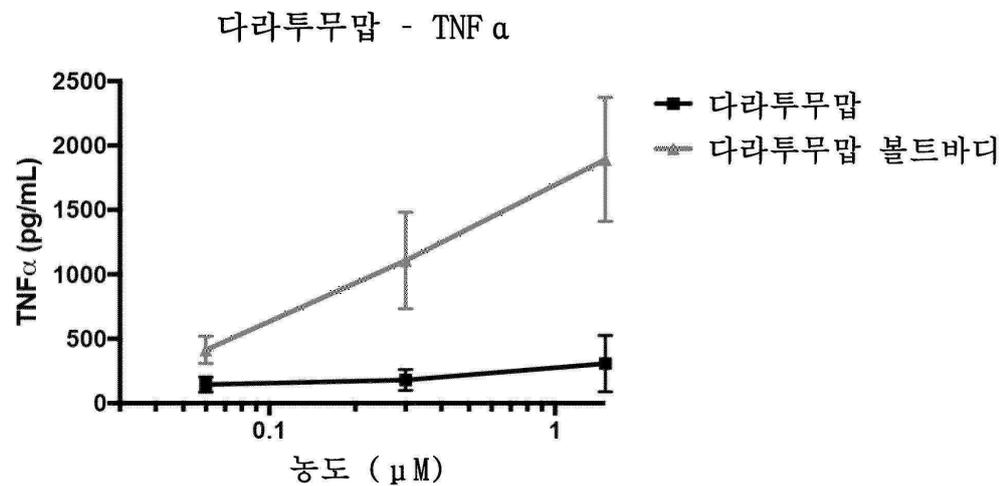
도면72j



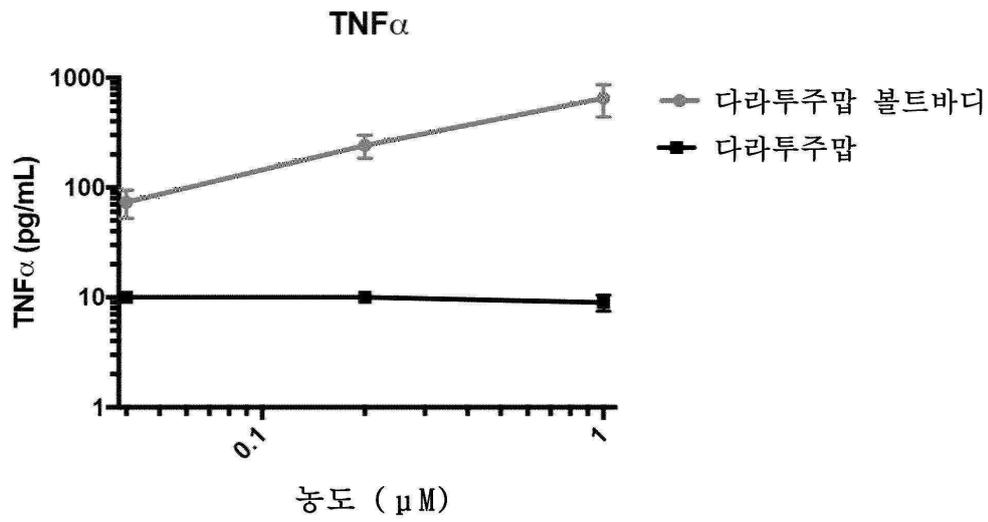
도면73a



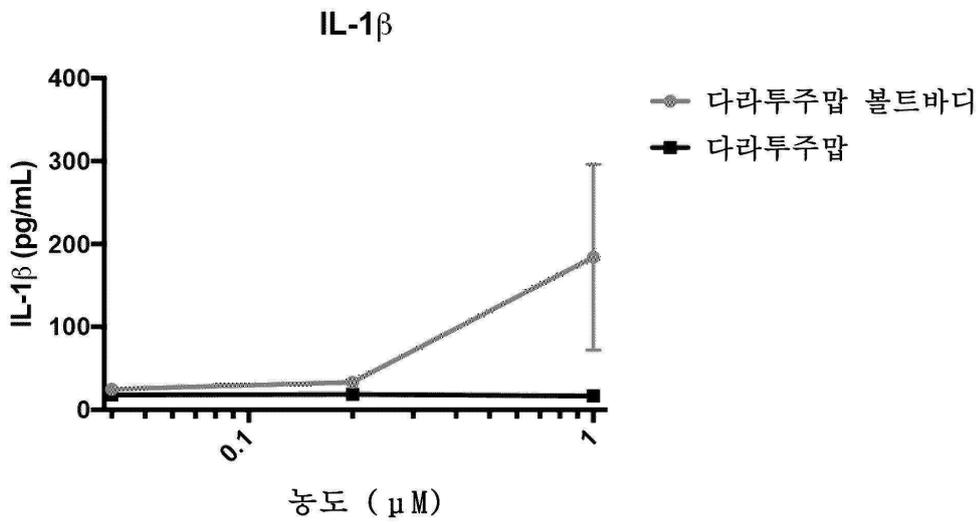
도면73b



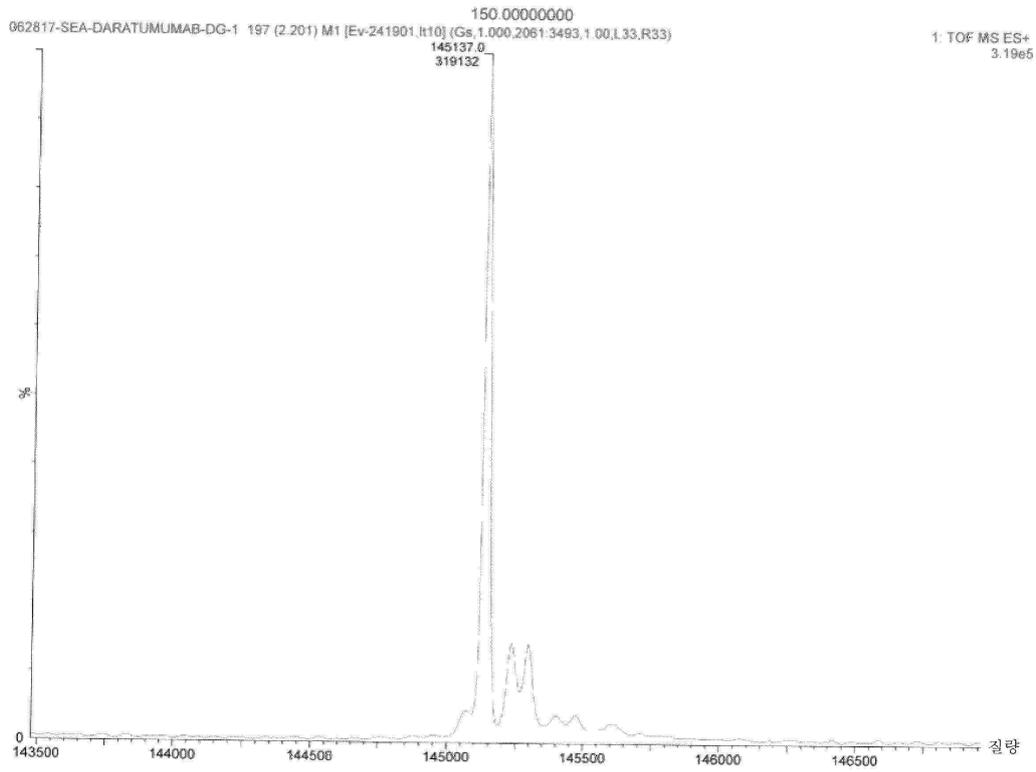
도면73c



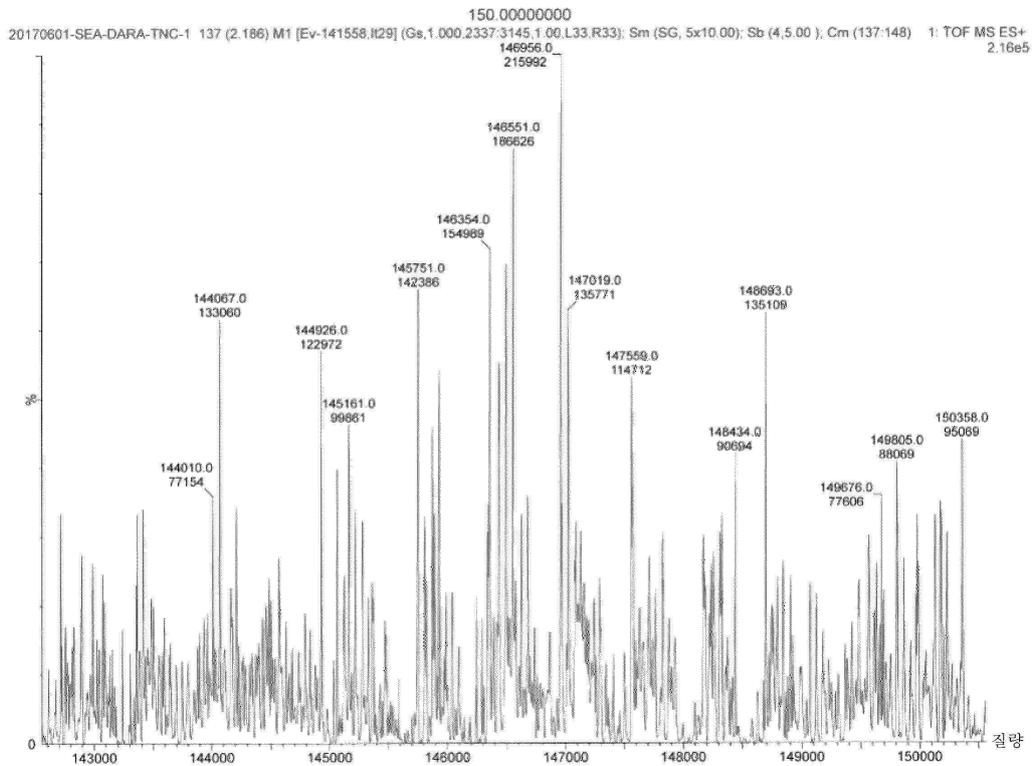
도면73d



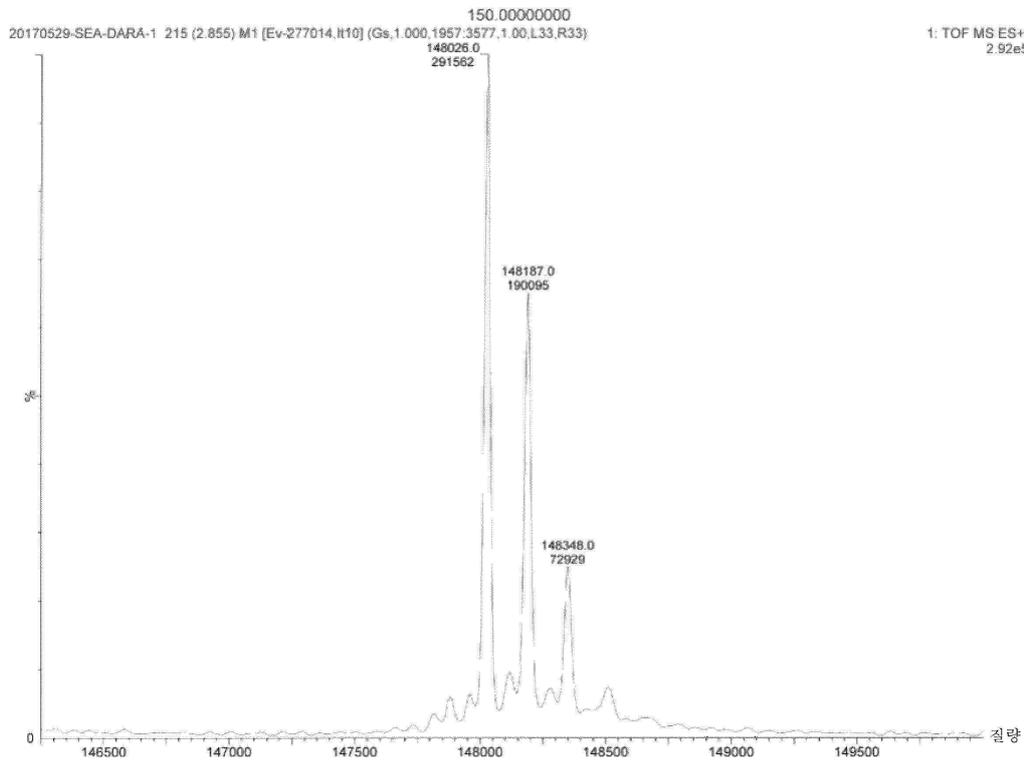
도면73e



도면73f

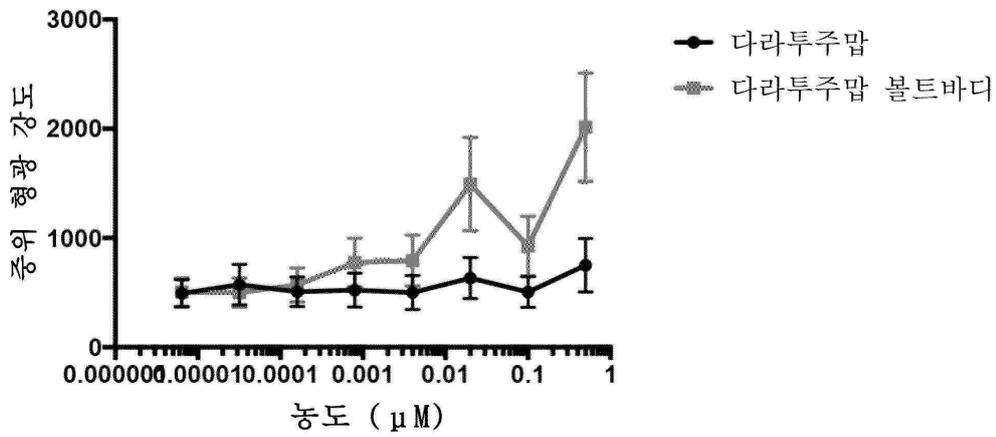


도면73g

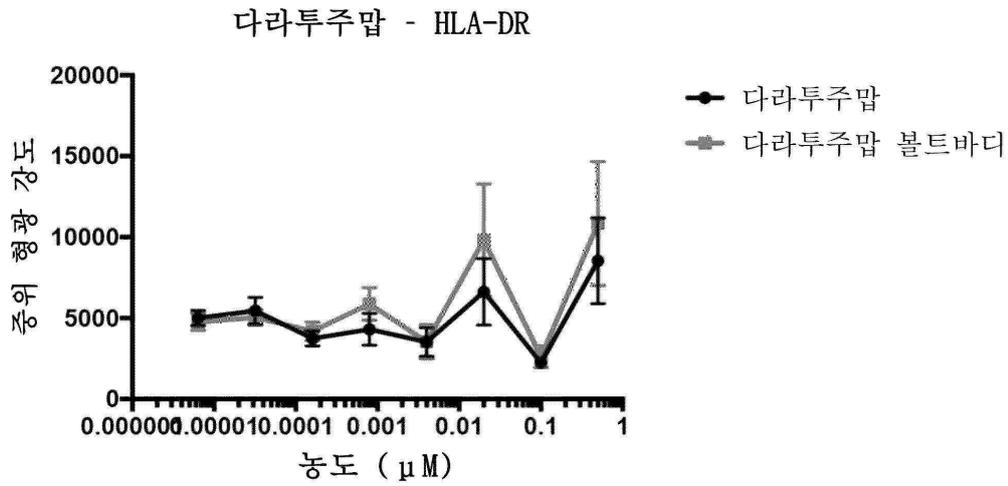


도면73h

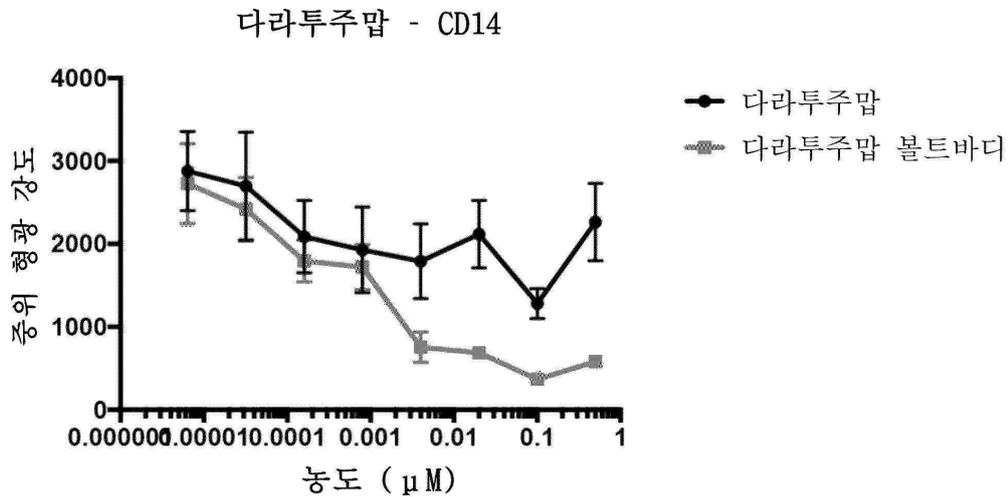
다라투주맵 - CD123



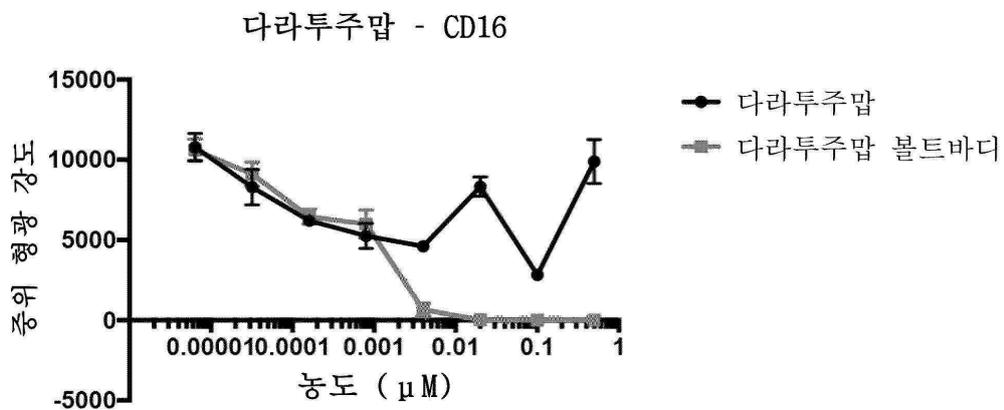
도면73i



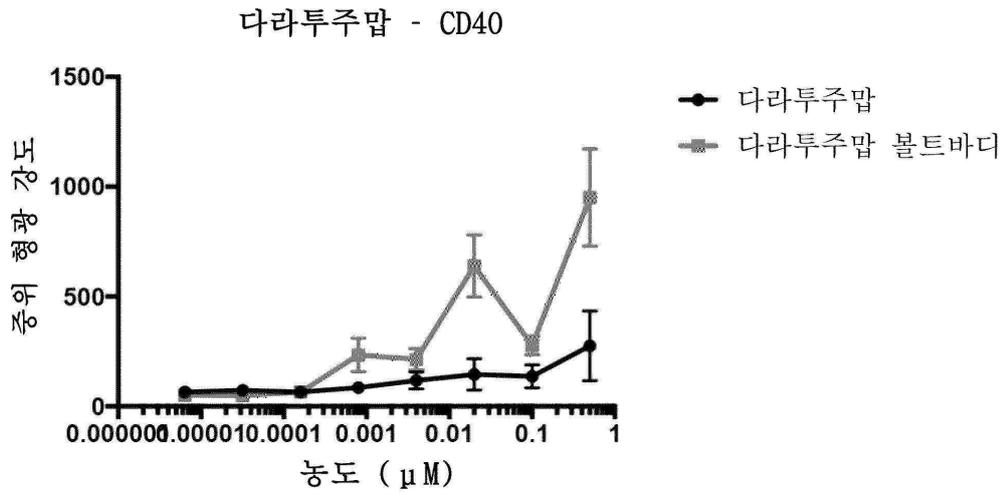
도면73j



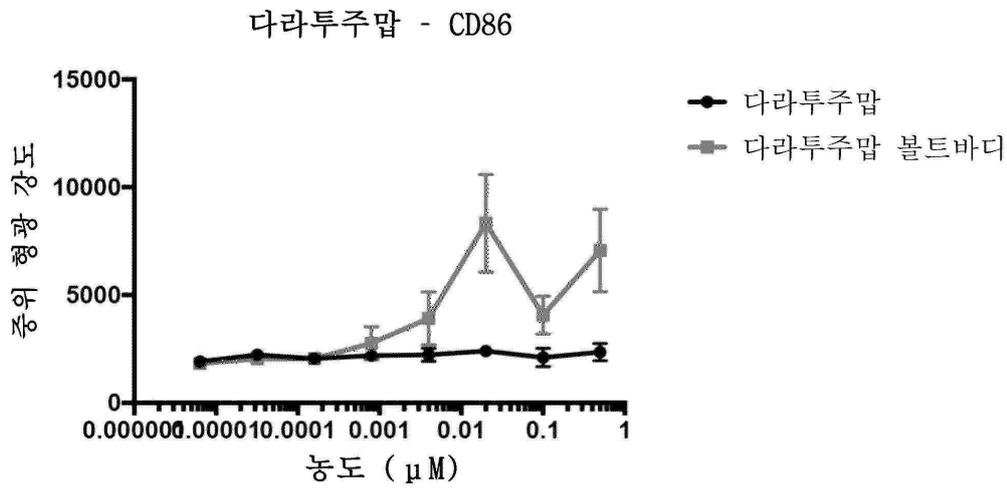
도면73k



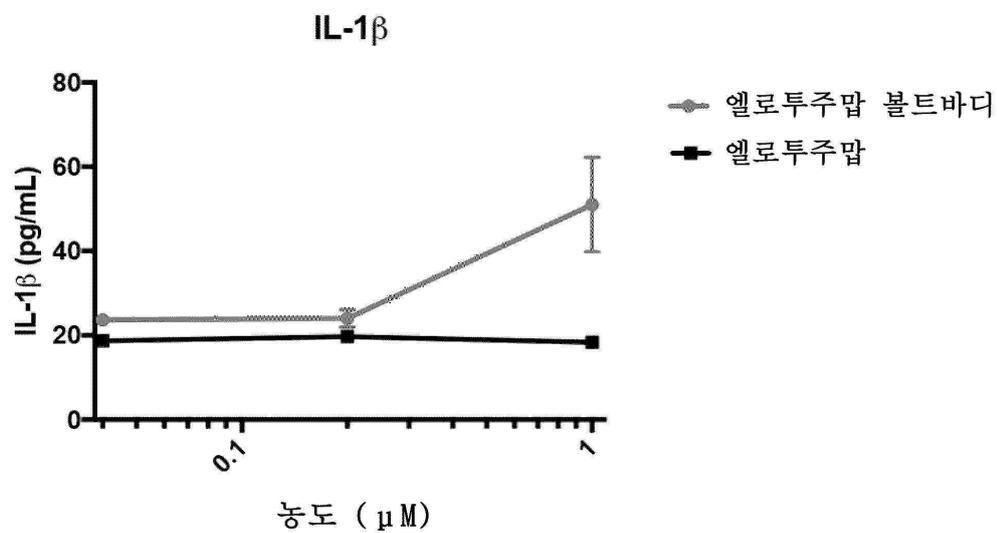
도면731



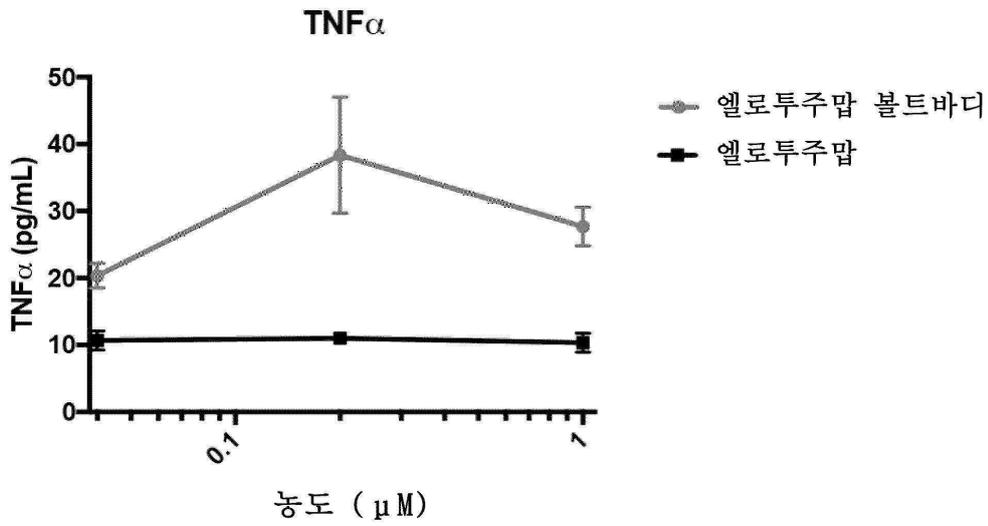
도면73m



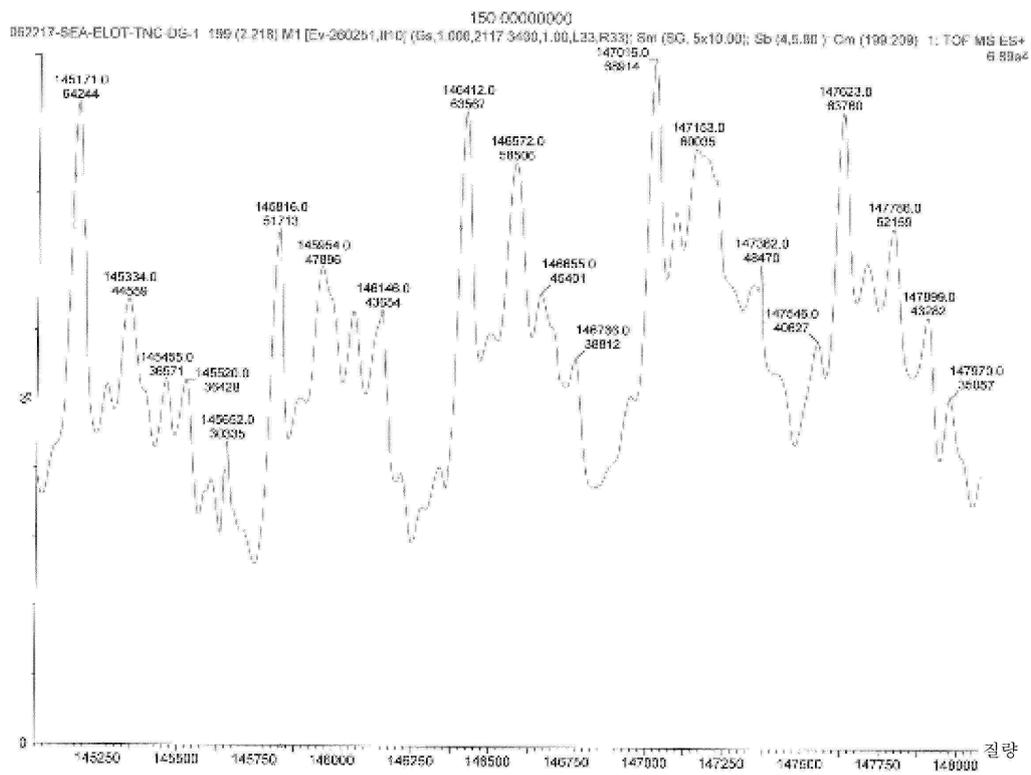
도면74a



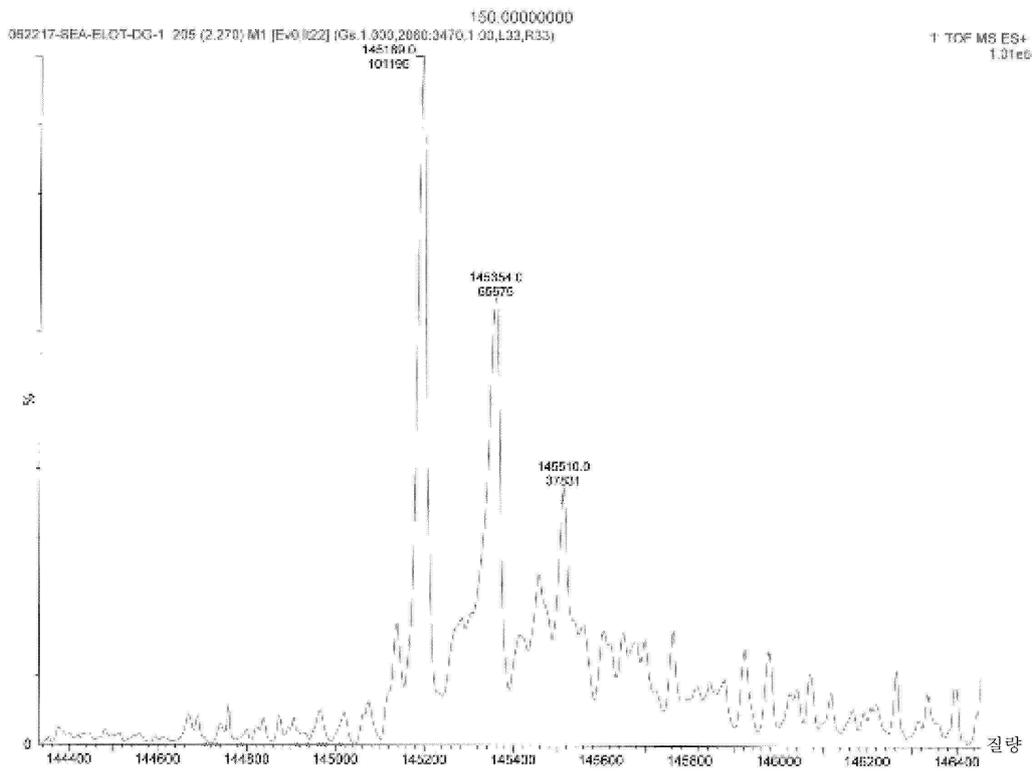
도면74b



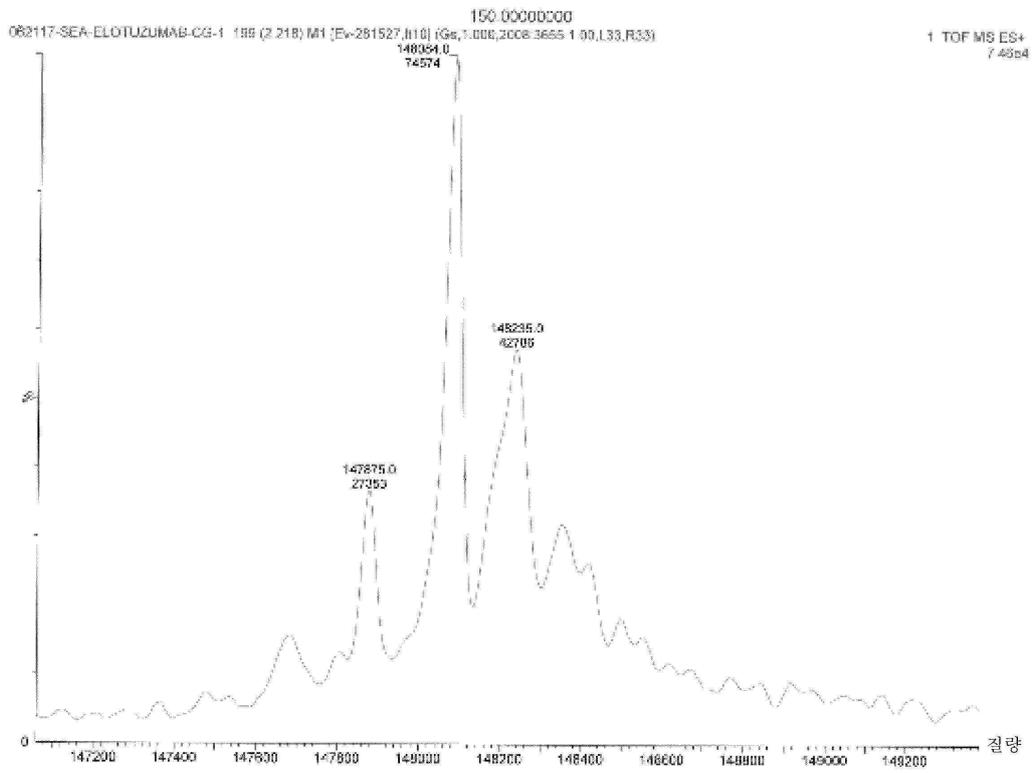
도면74c



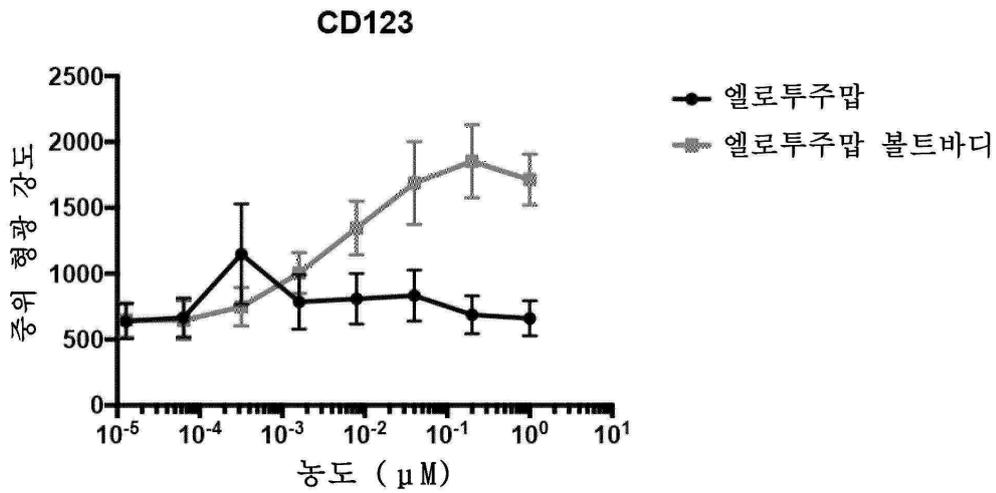
도면74d



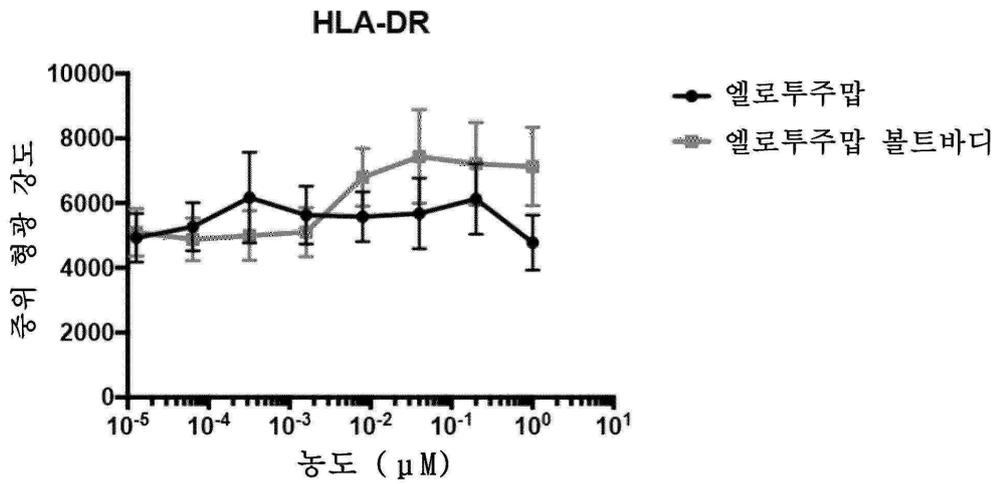
도면74e



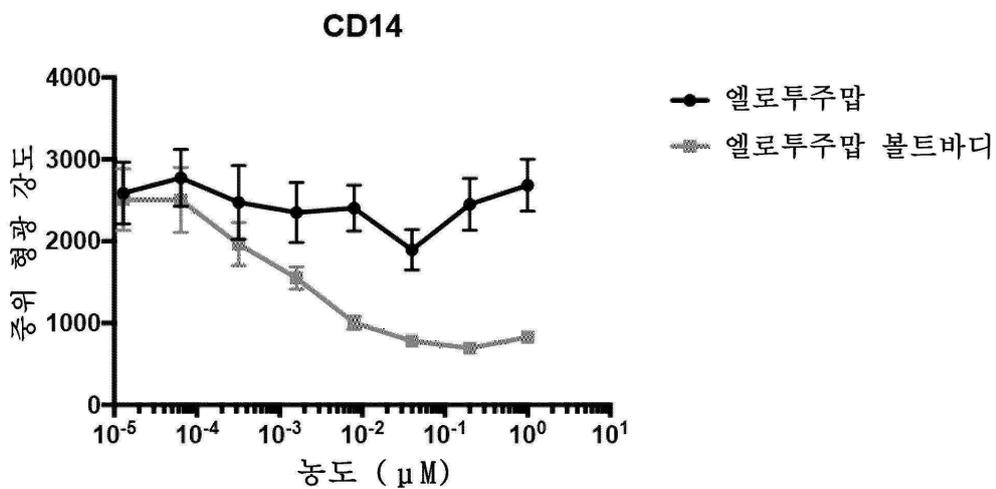
도면74f



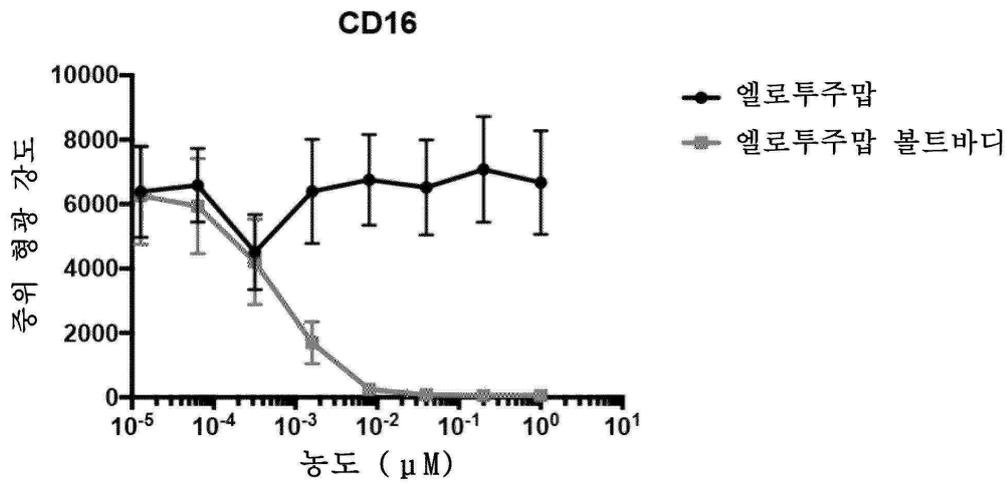
도면74g



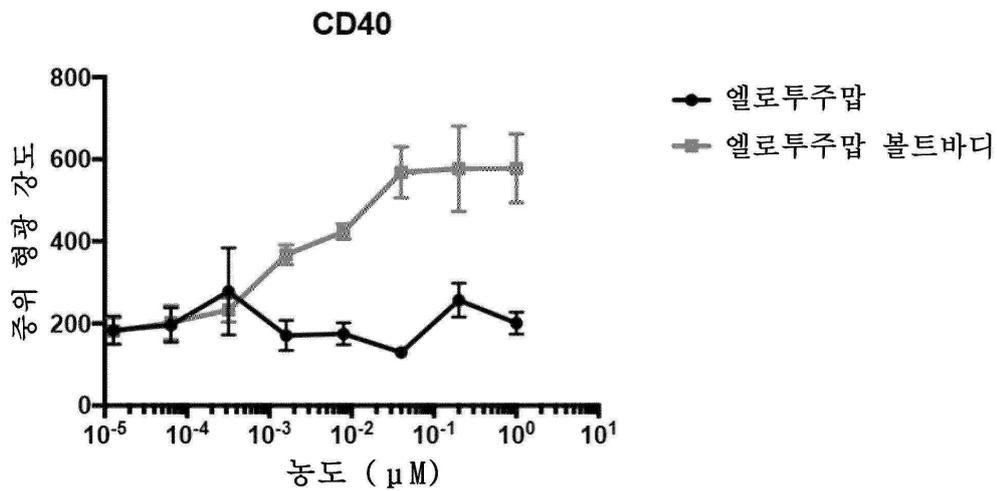
도면74h



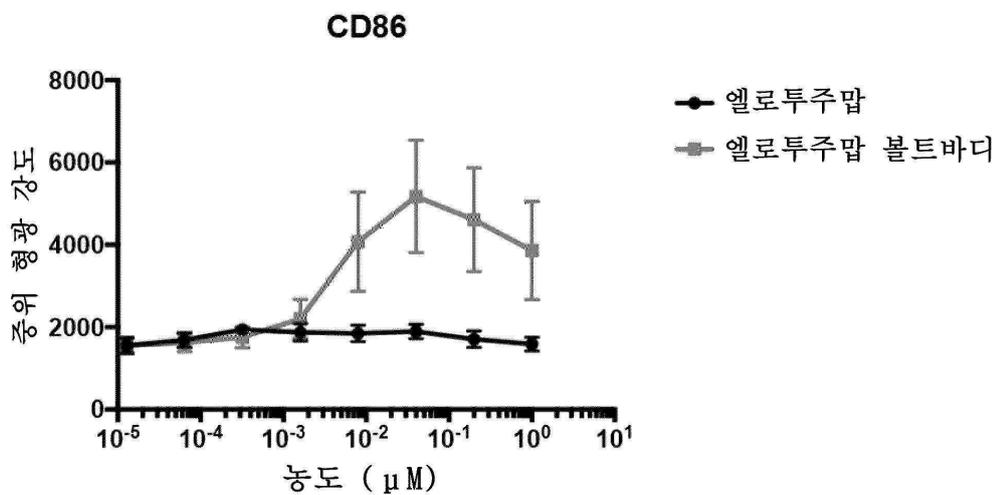
도면74i



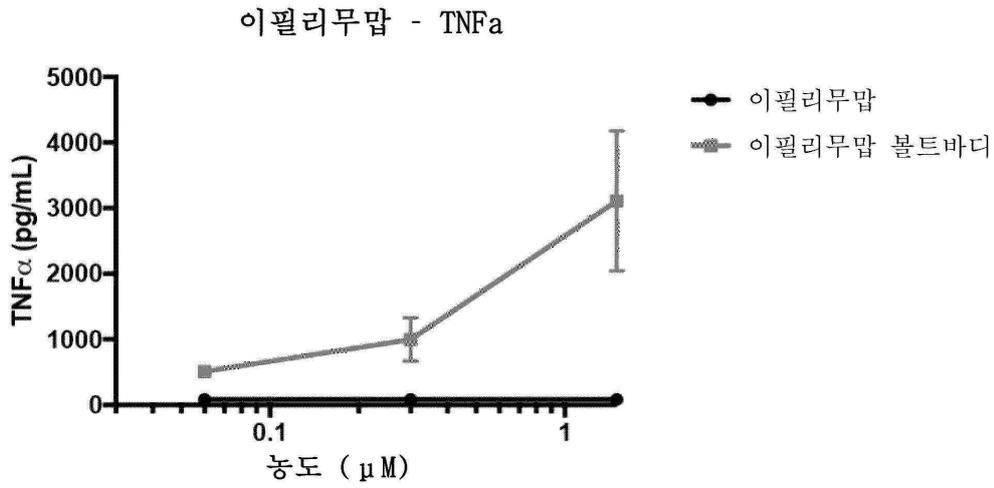
도면74j



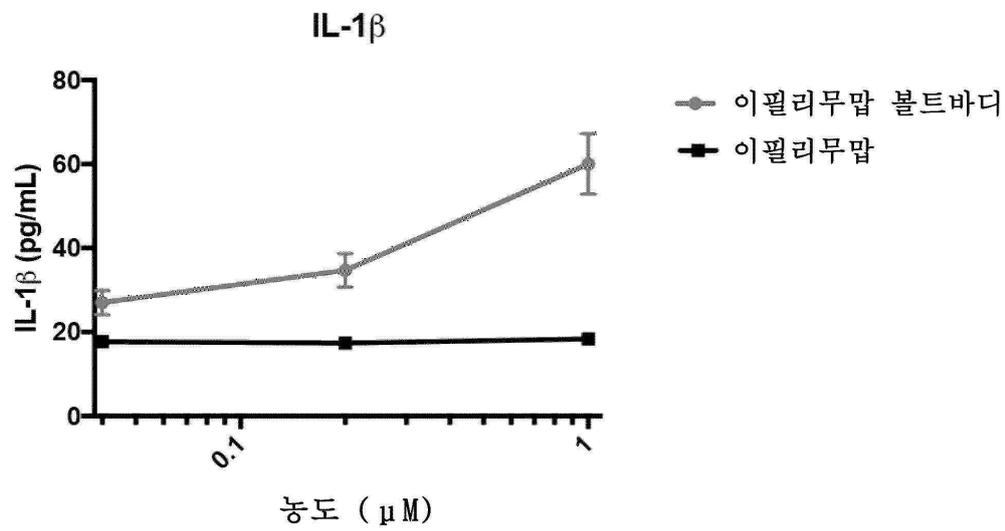
도면74k



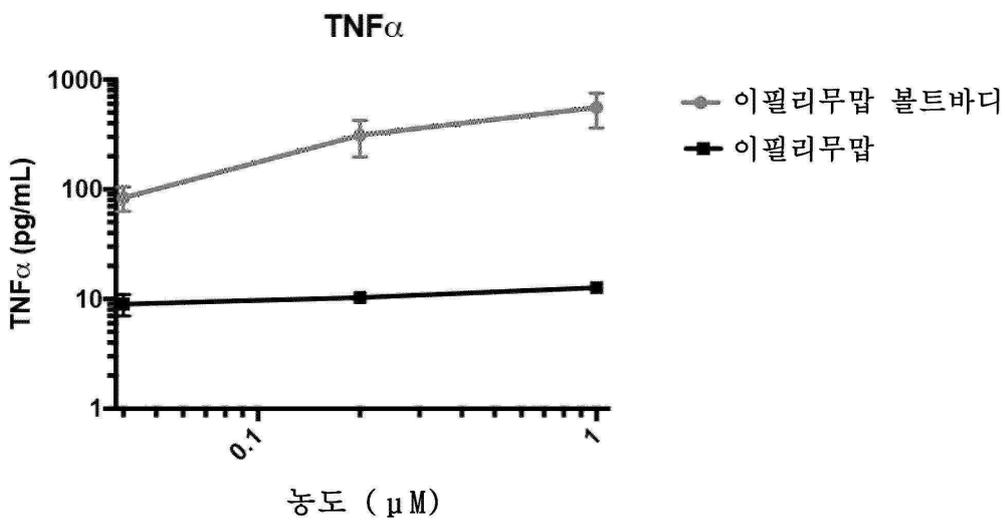
도면75a



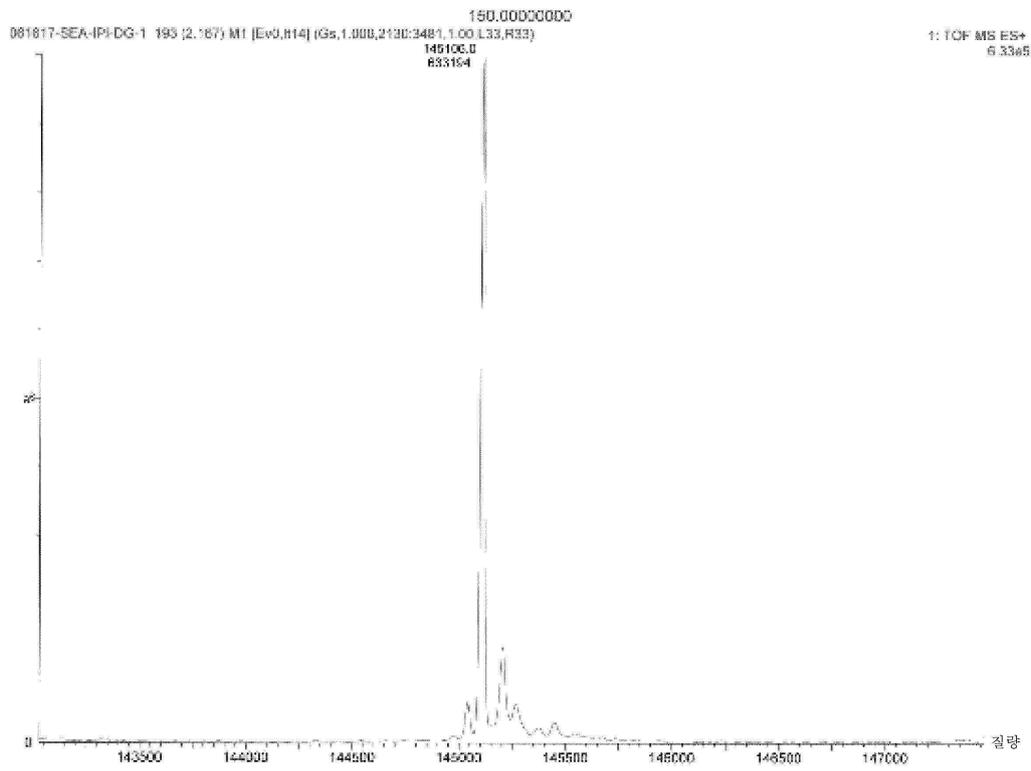
도면75b



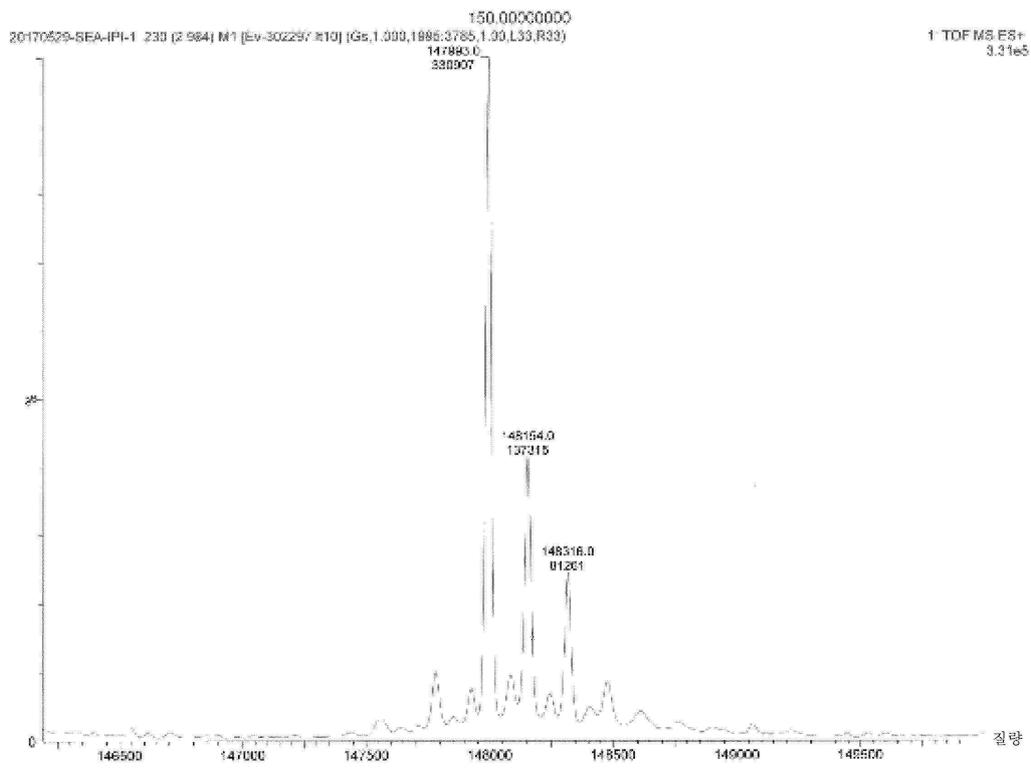
도면75c



도면75d

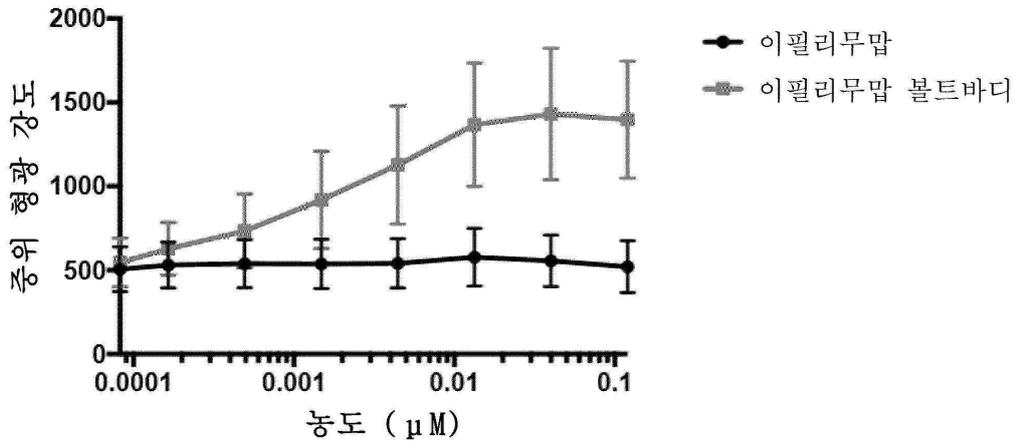


도면75e



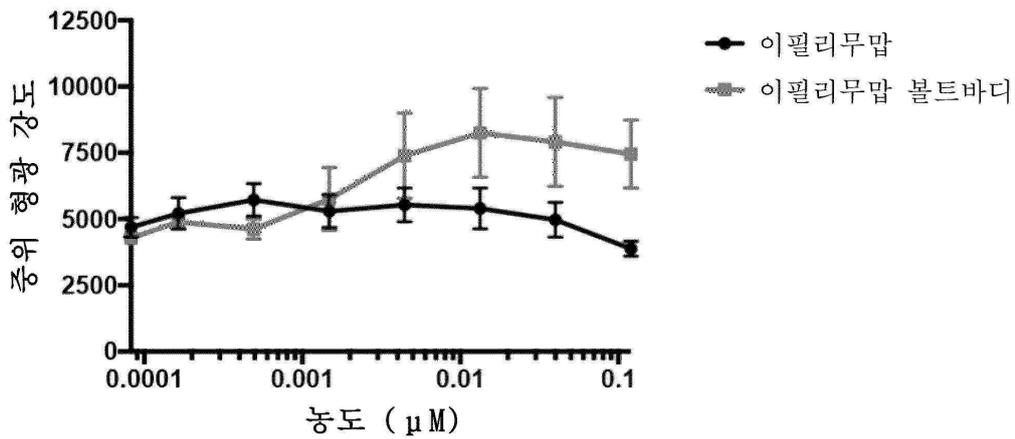
도면75f

이필리무맙 - CD123



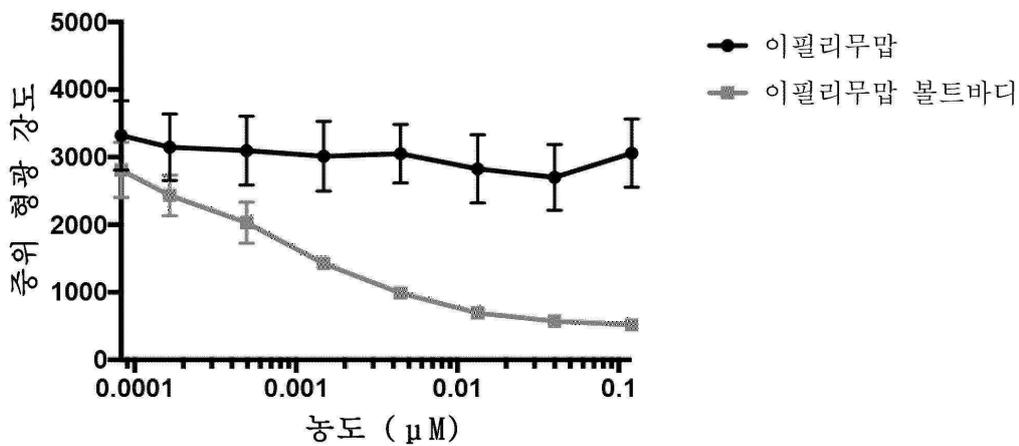
도면75g

이필리무맙 - HLA-DR

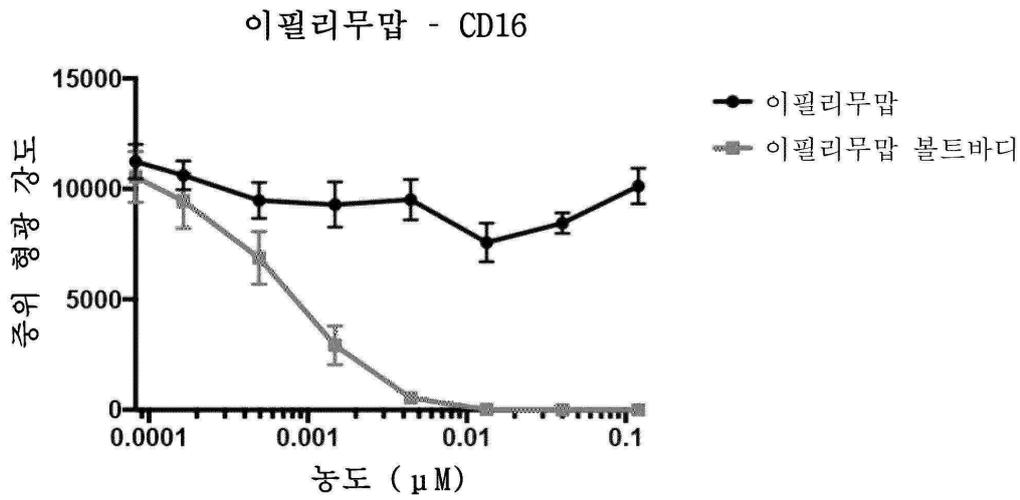


도면75h

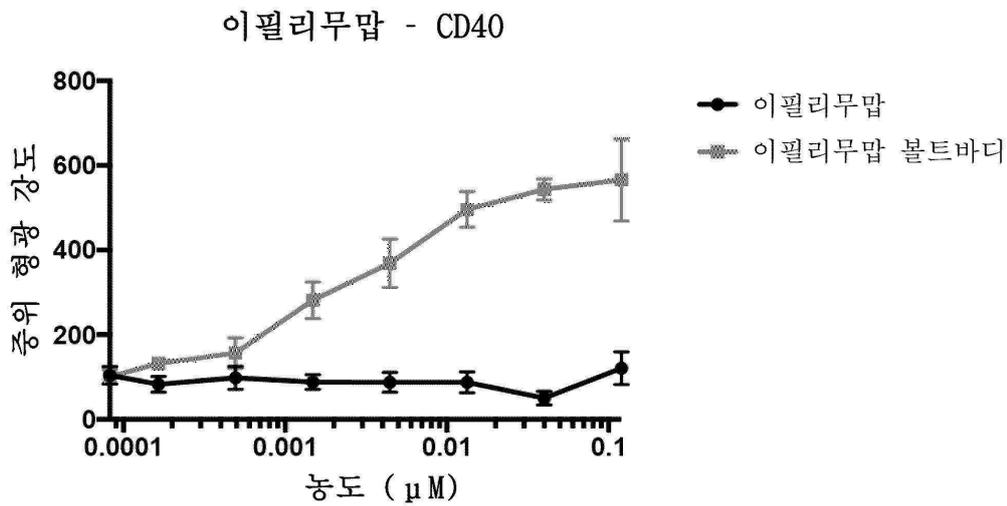
이필리무맙 - CD14



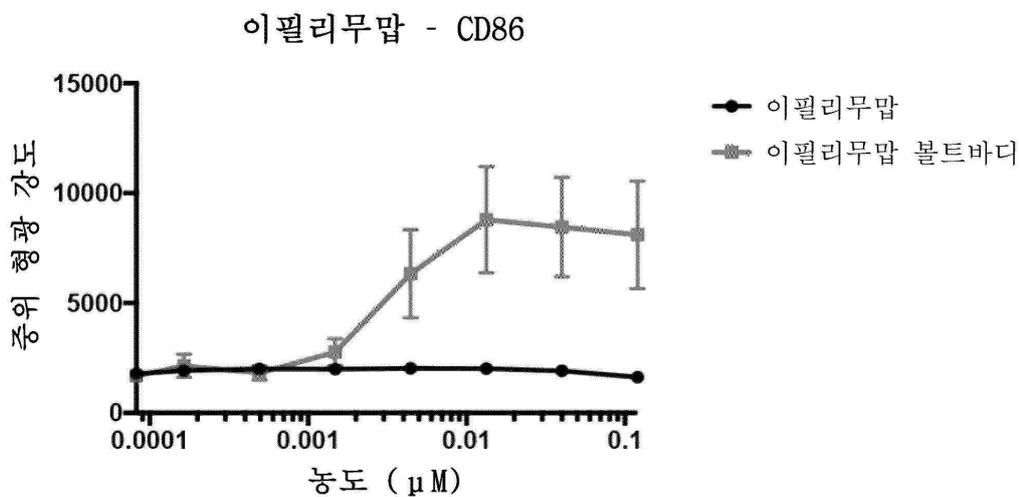
도면75i



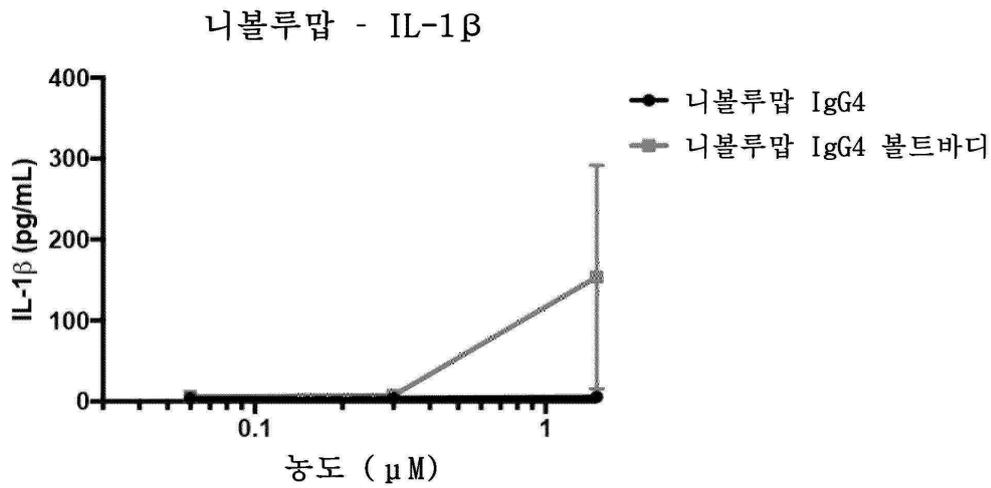
도면75j



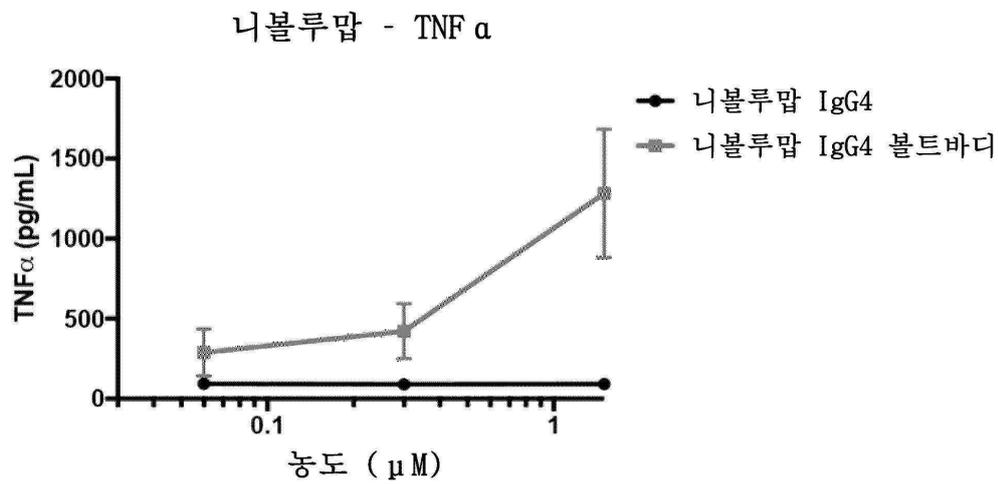
도면75k



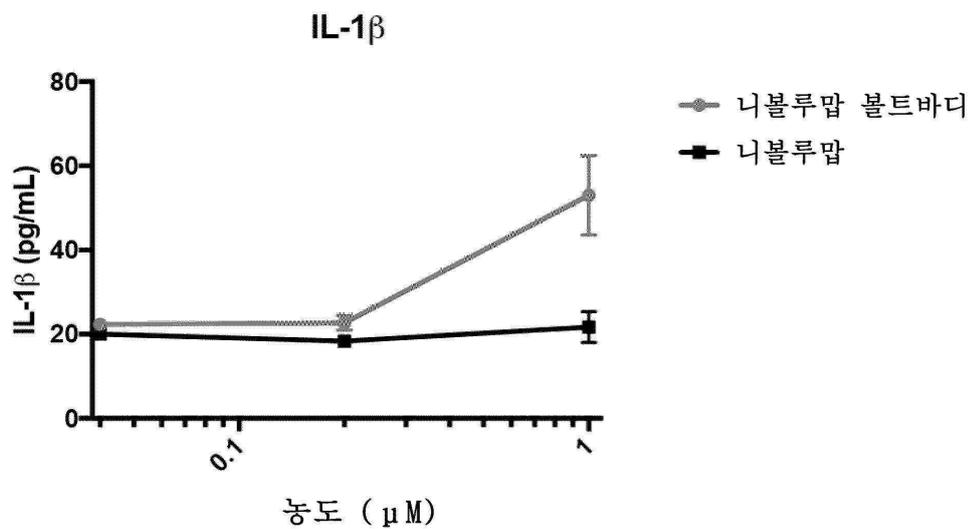
도면76a



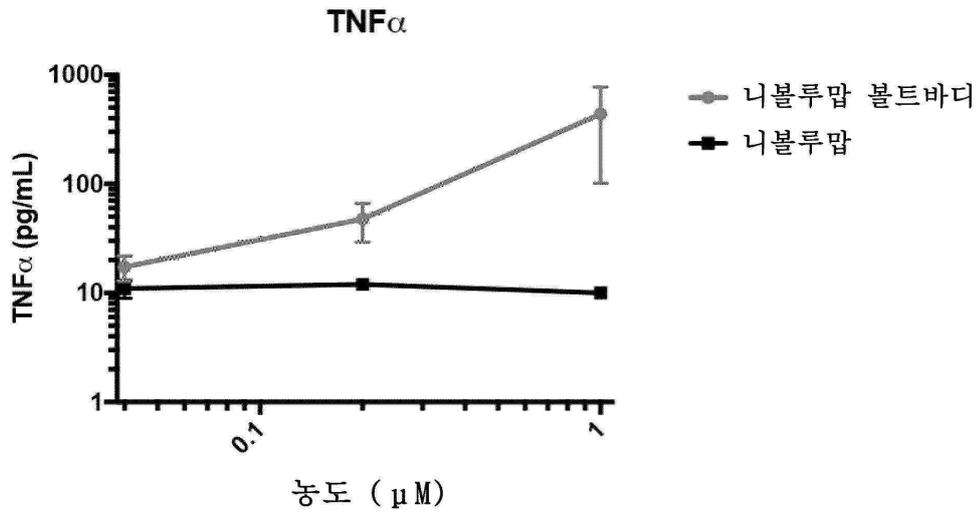
도면76b



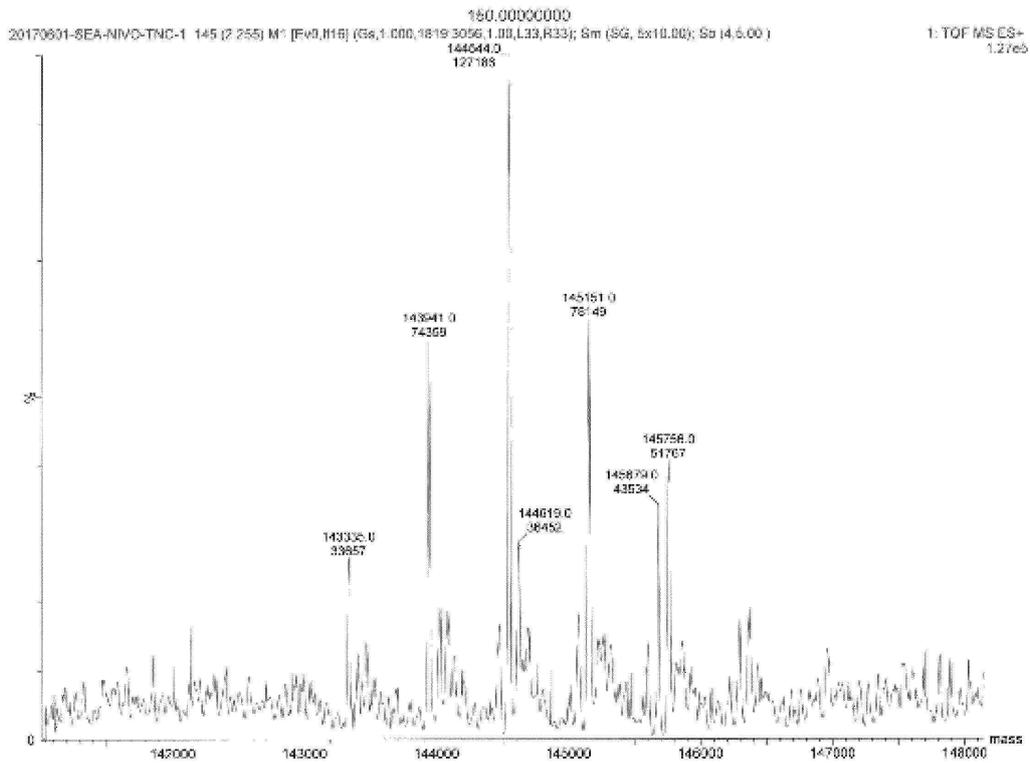
도면76c



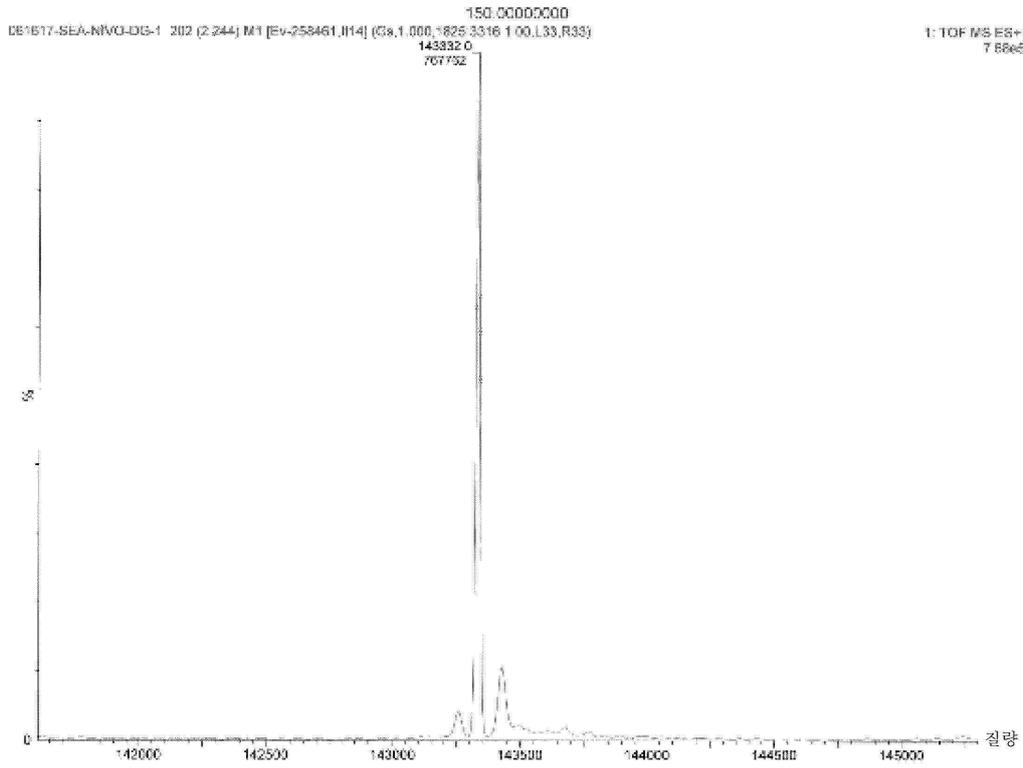
도면 76d



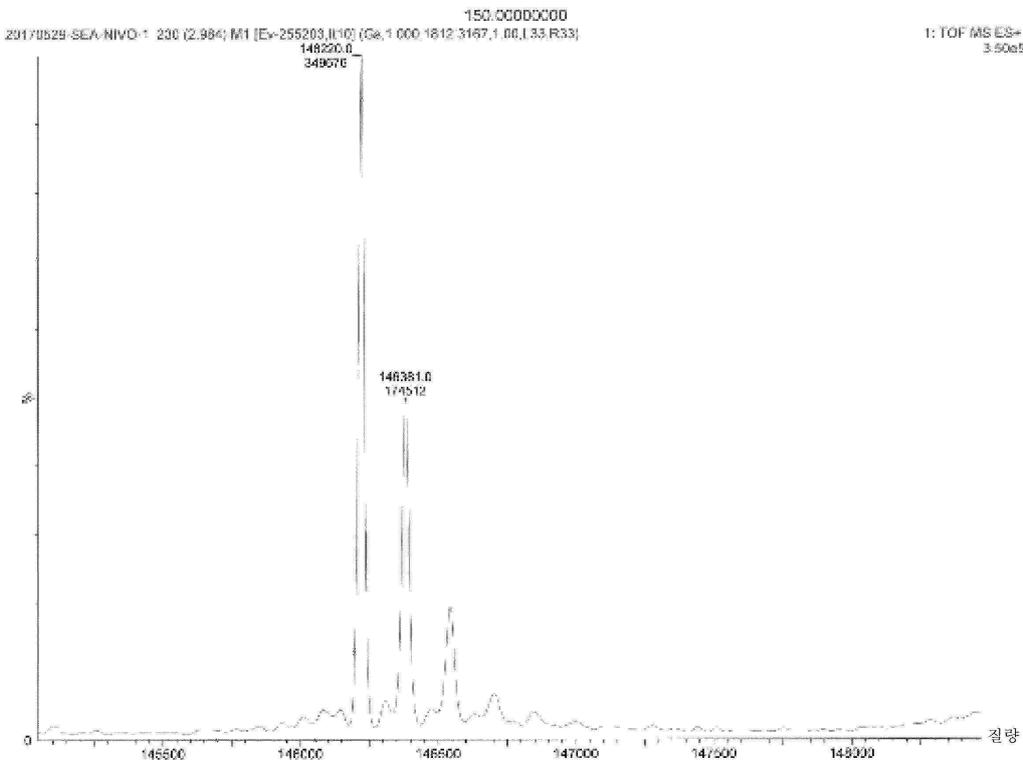
도면 76e



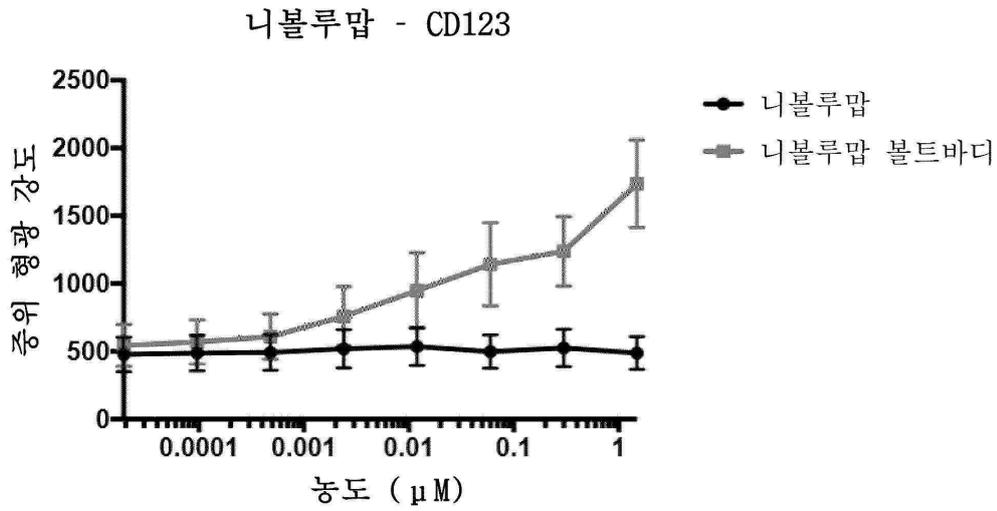
도면76f



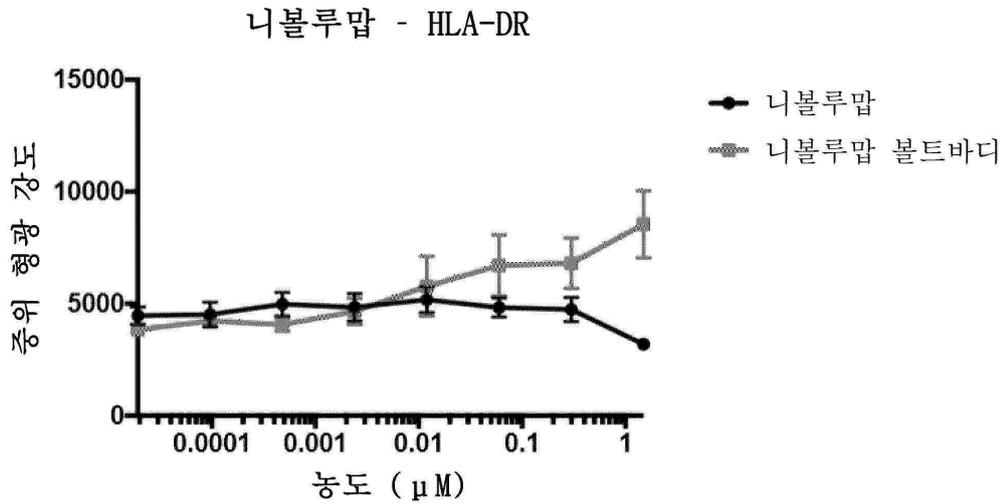
도면76g



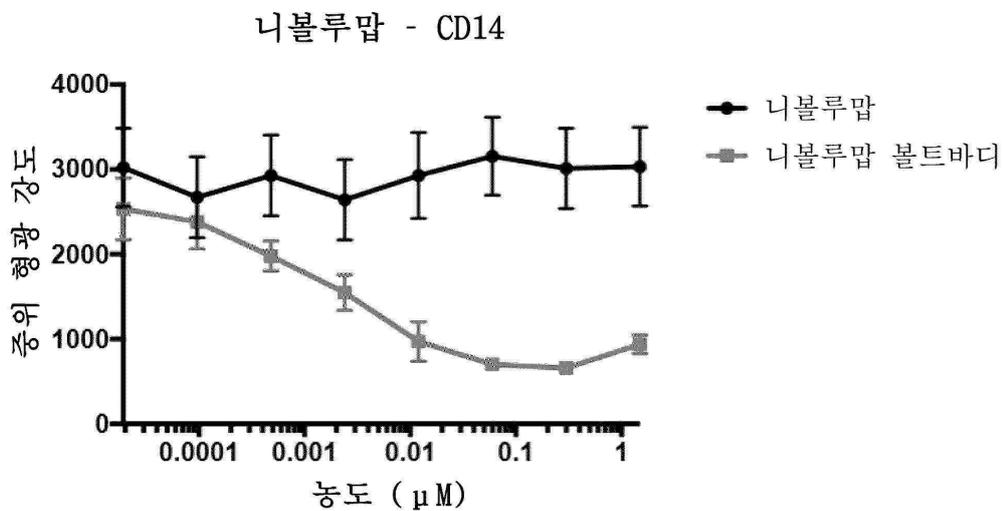
도면76h



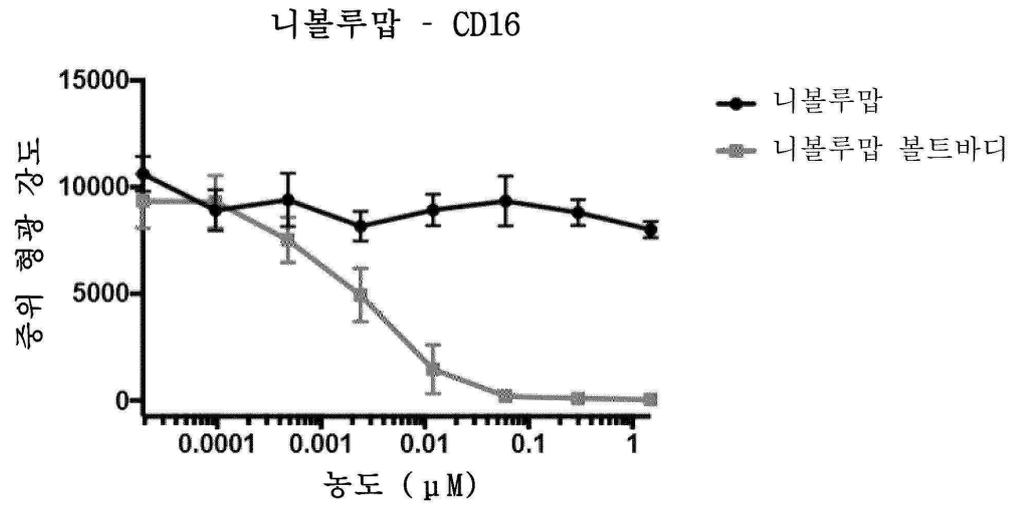
도면76i



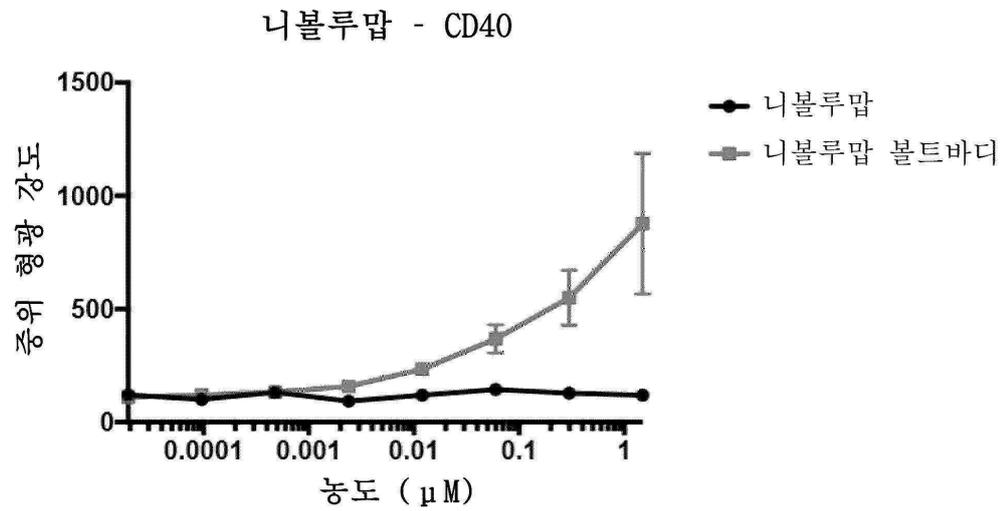
도면76j



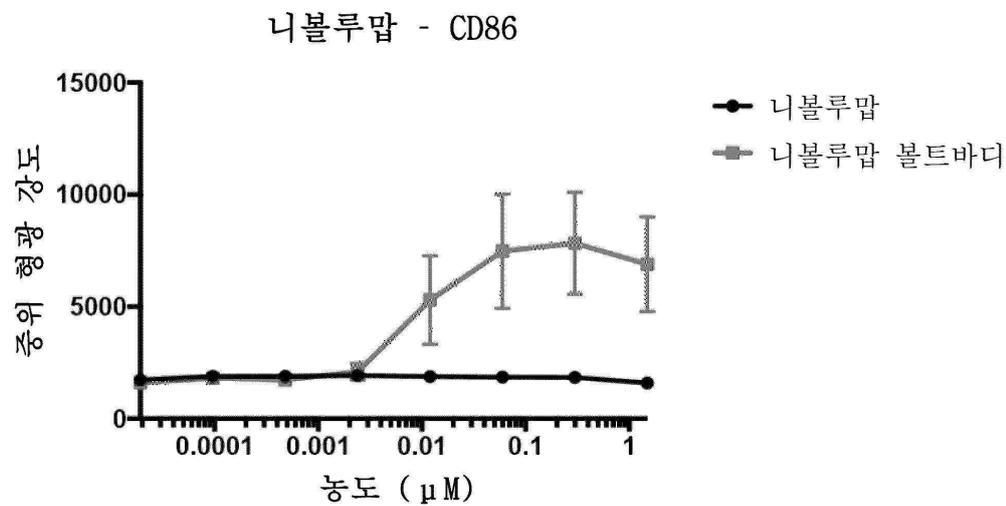
도면76k



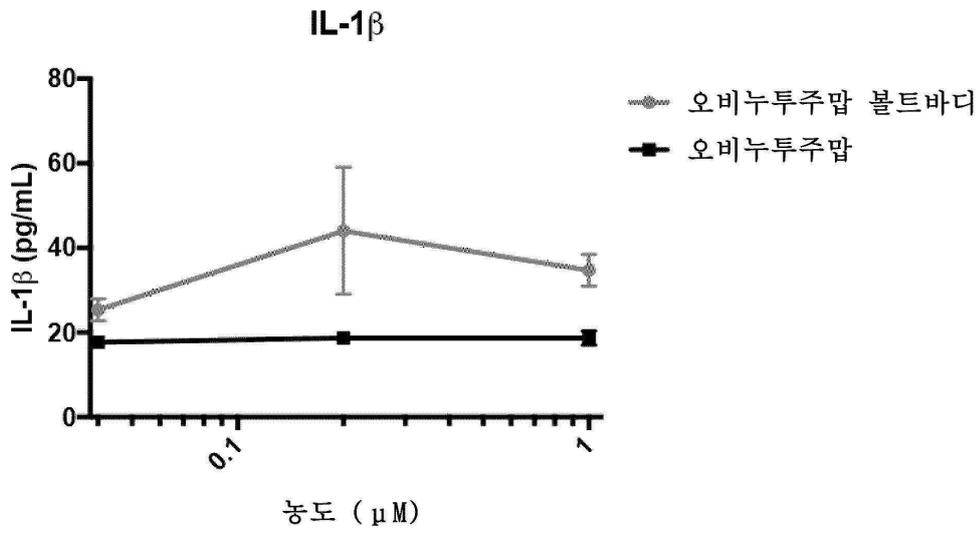
도면76l



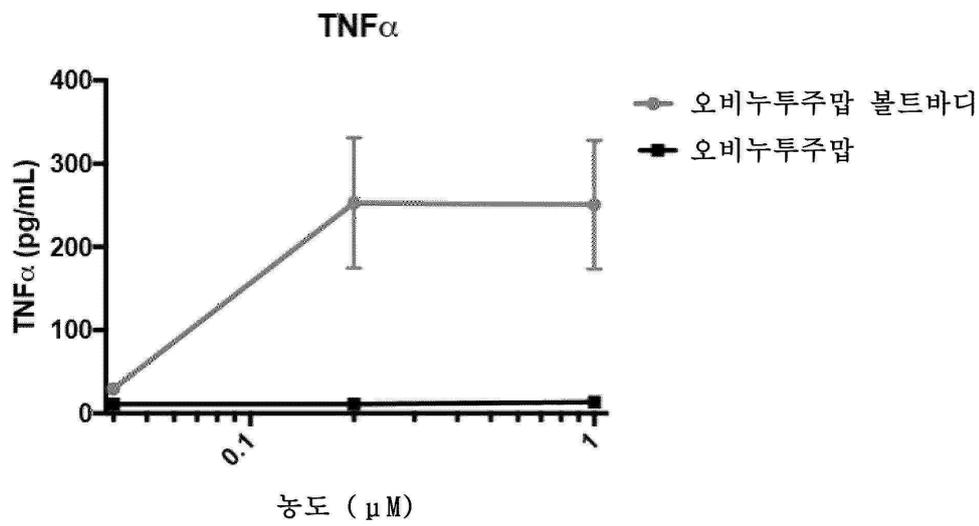
도면76m



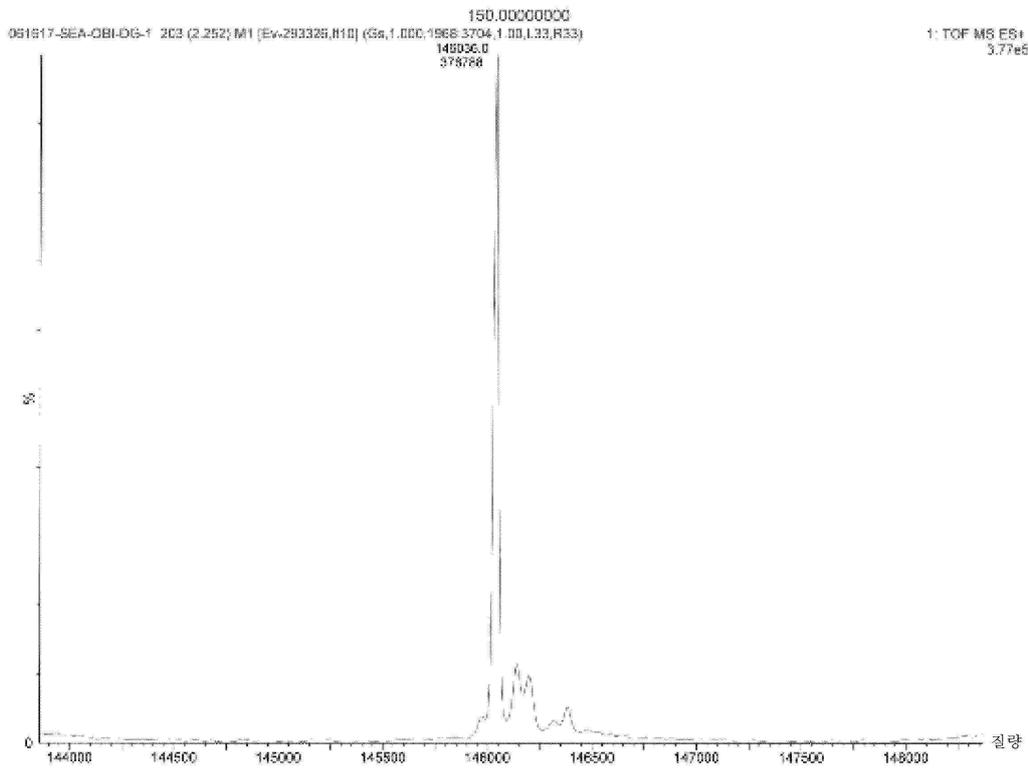
도면77a



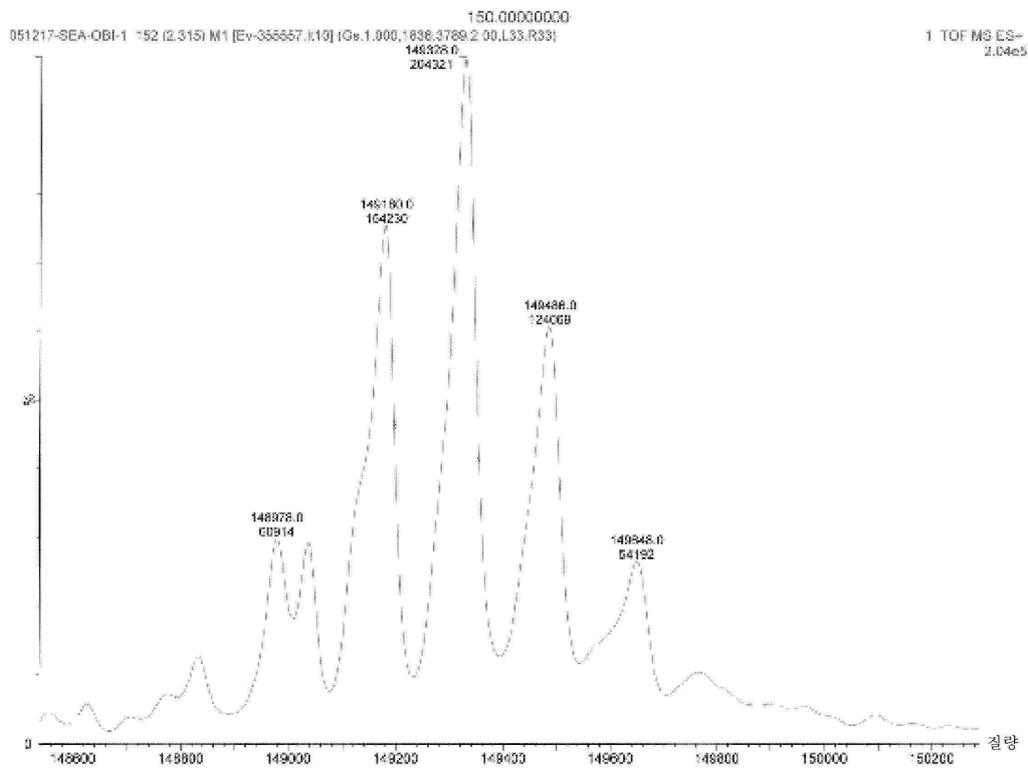
도면77b



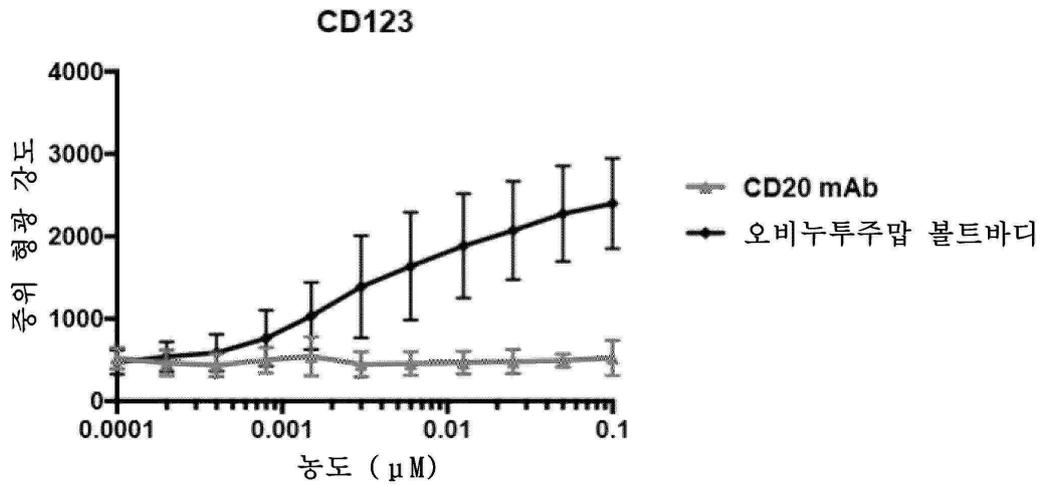
도면77c



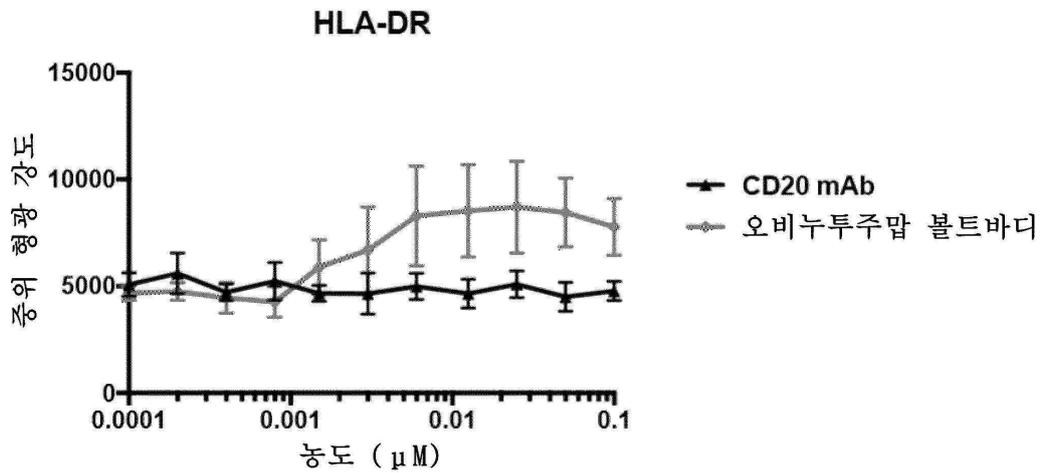
도면77d



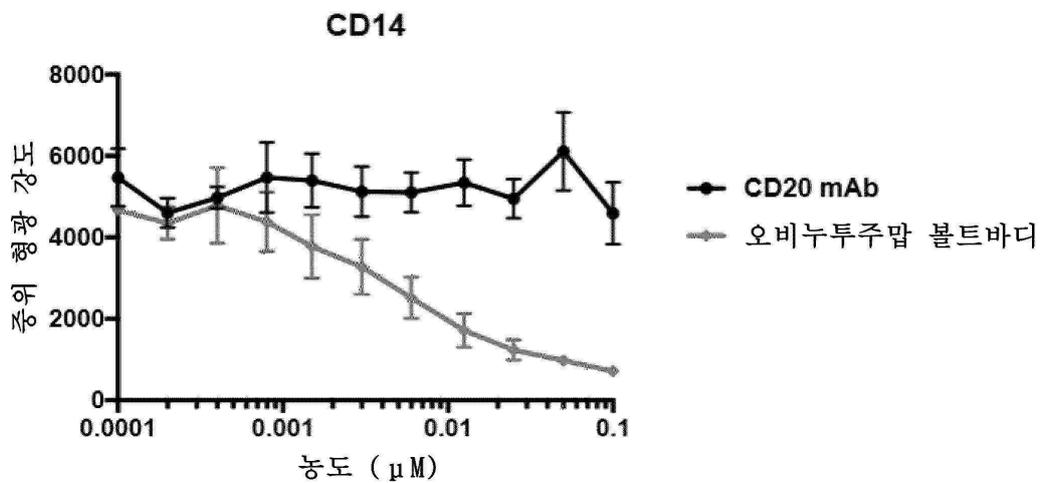
도면77e



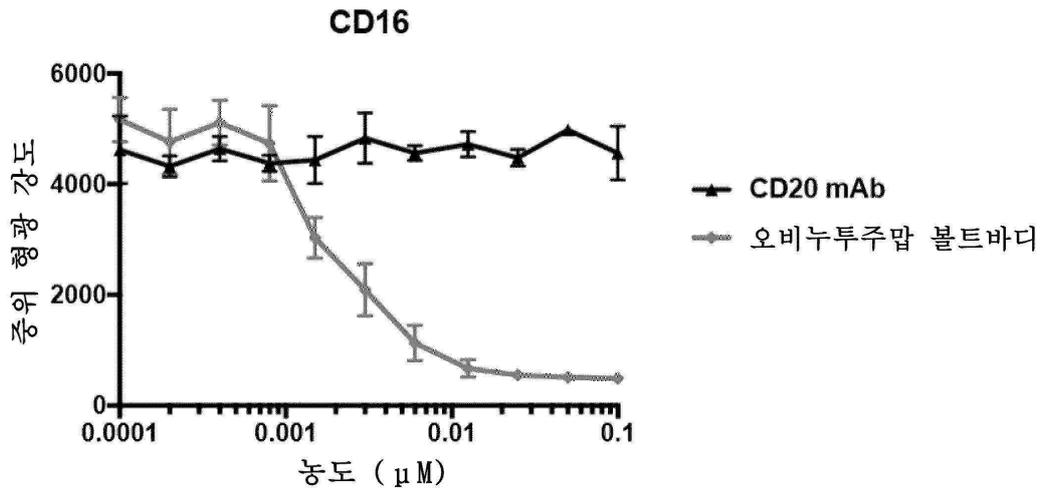
도면77f



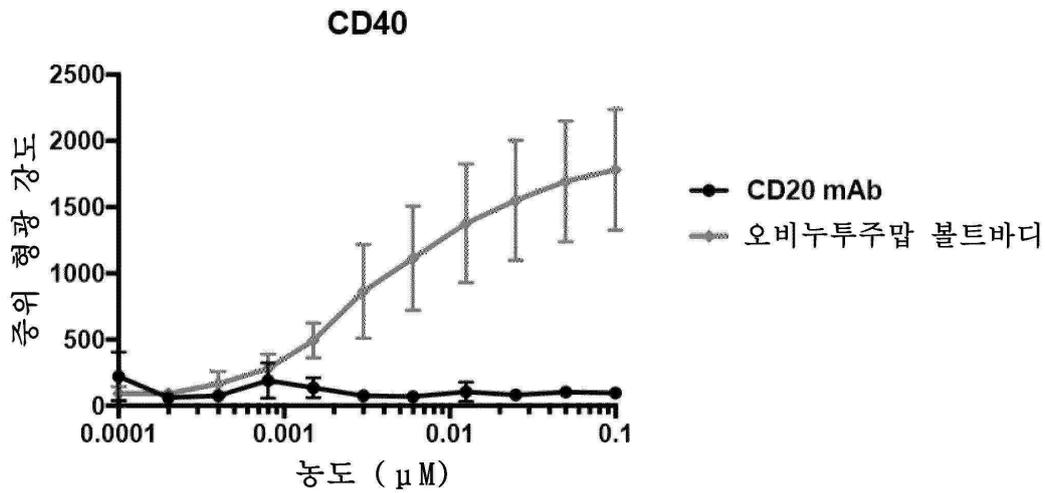
도면77g



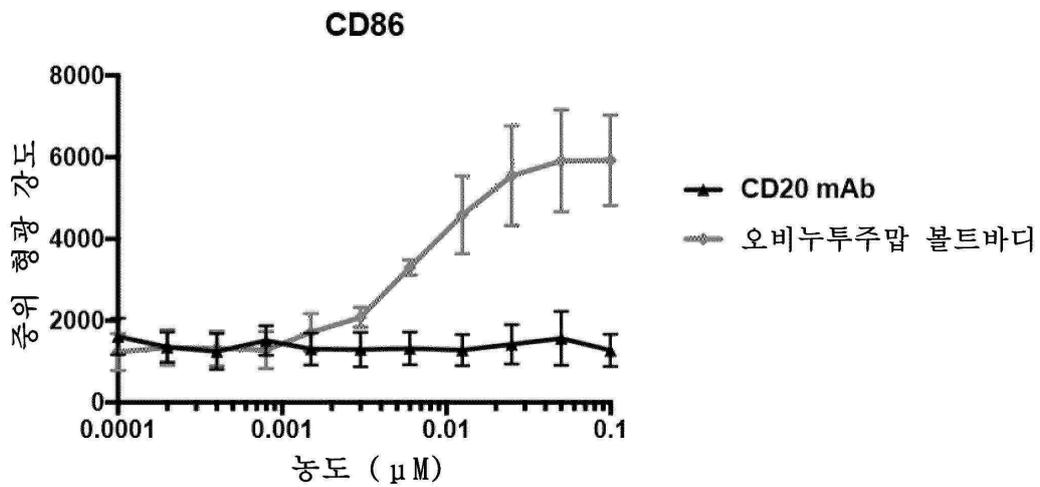
도면77h



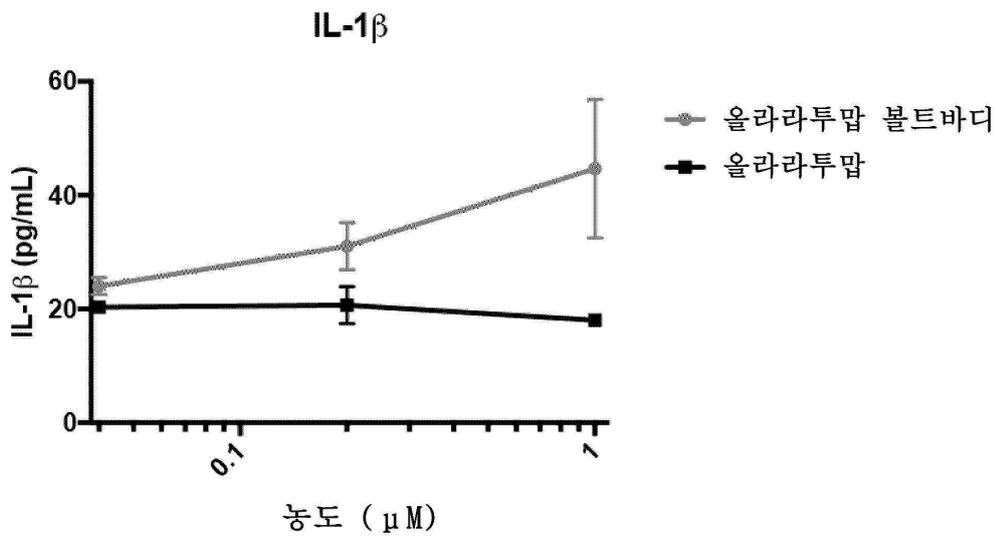
도면77i



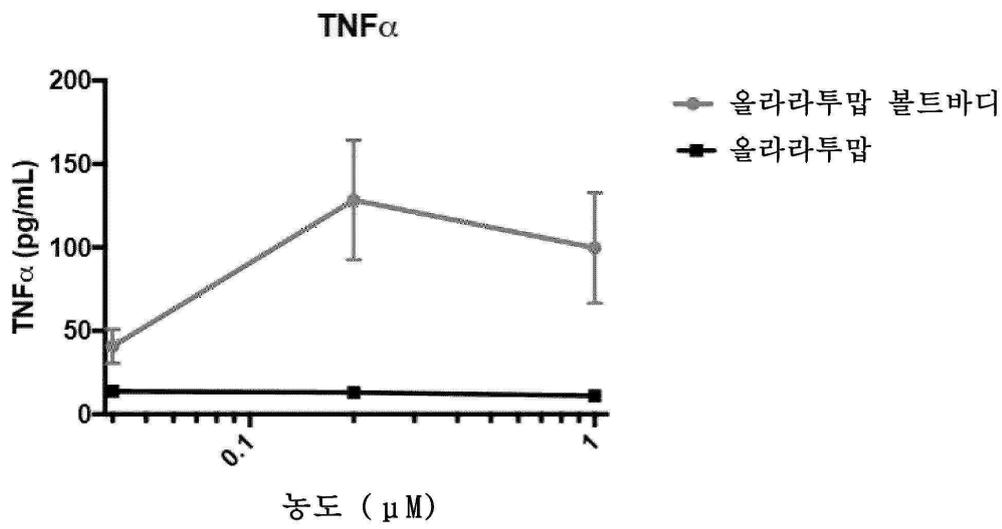
도면77j



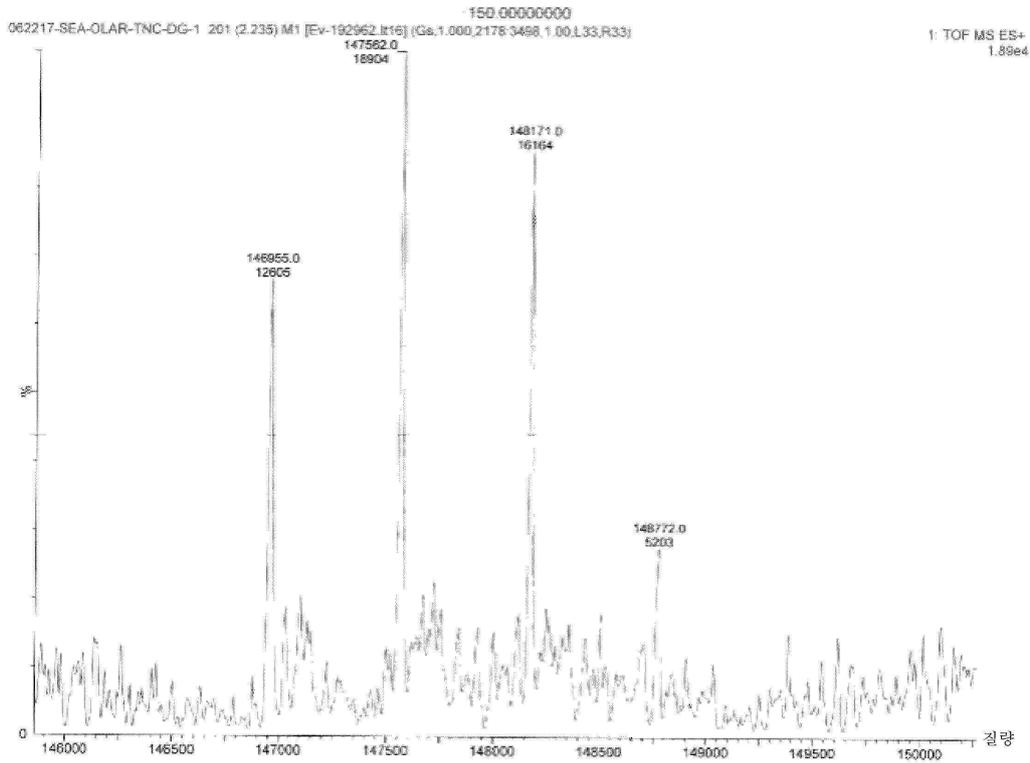
도면78a



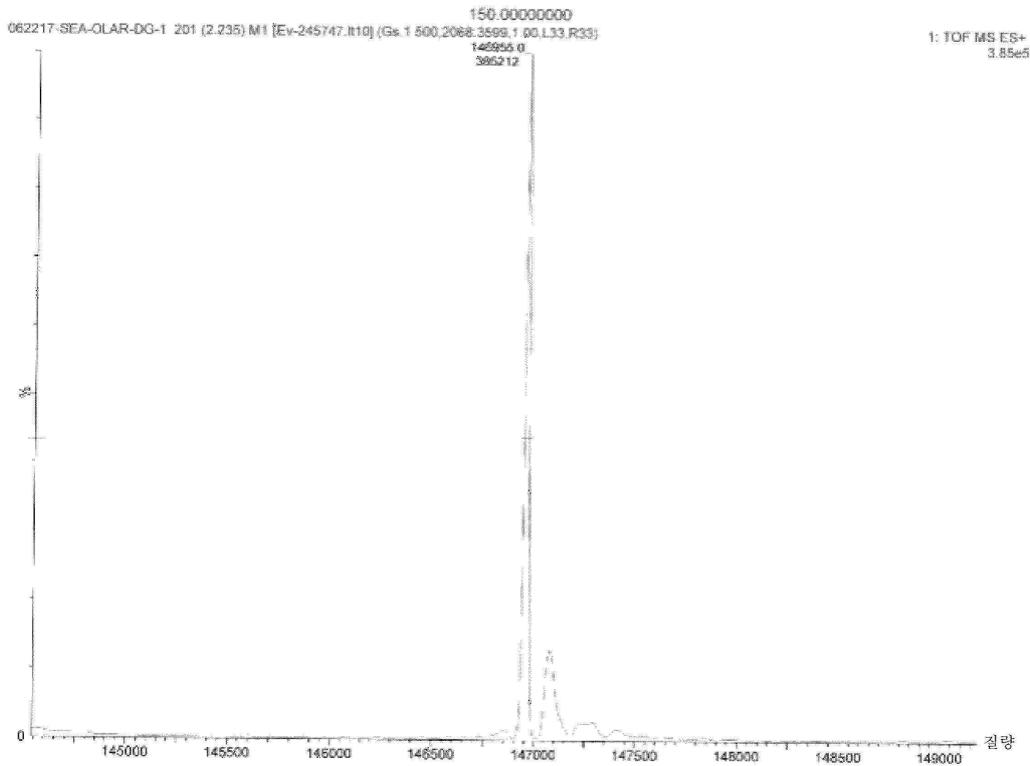
도면78b



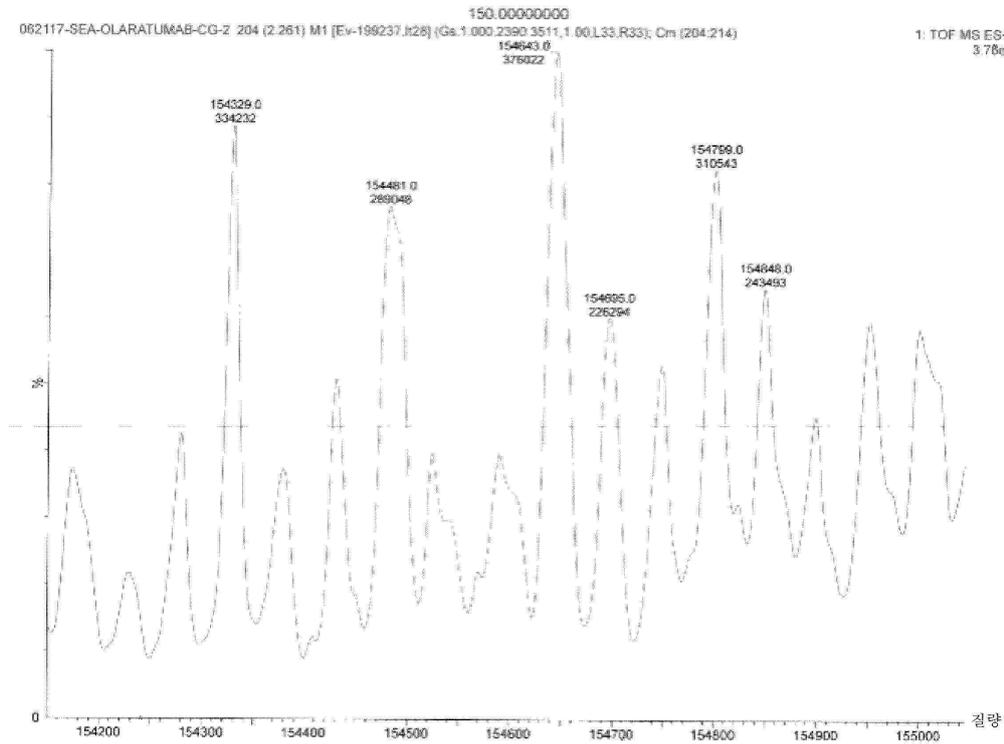
도면78c



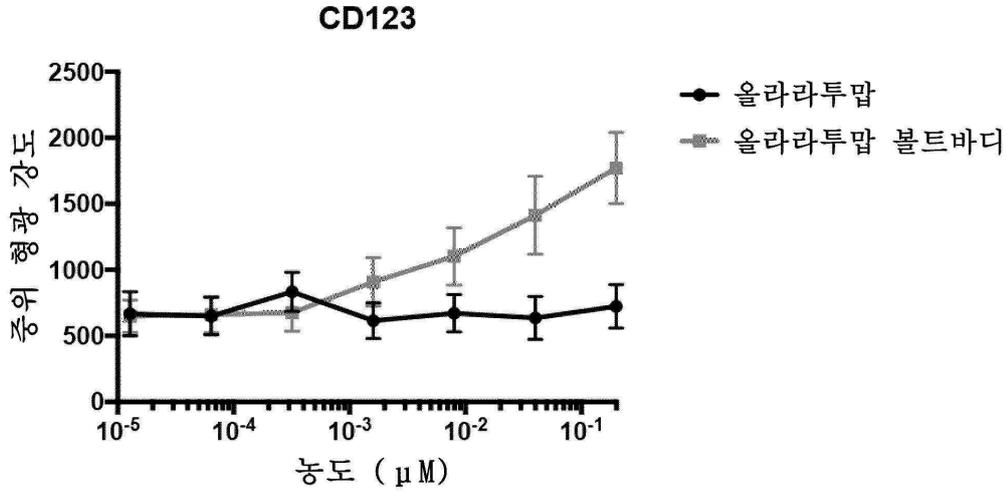
도면78d



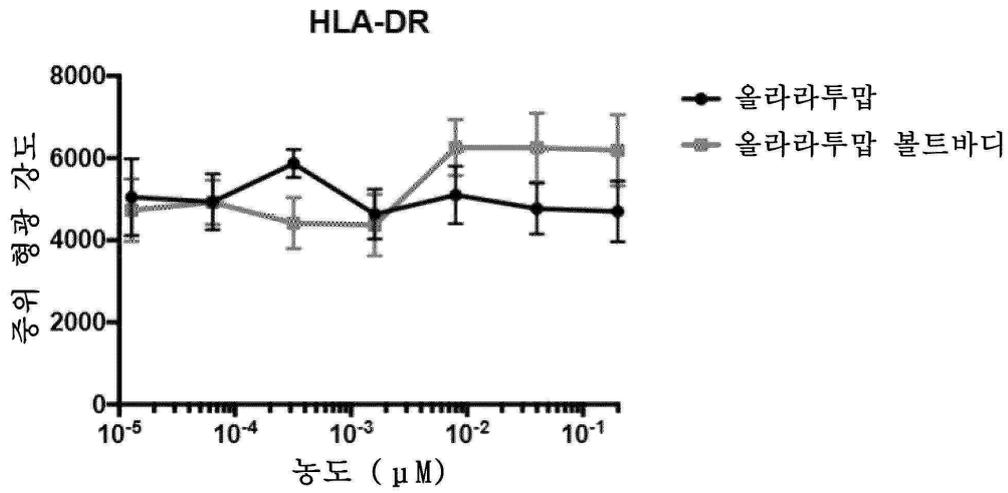
도면78e



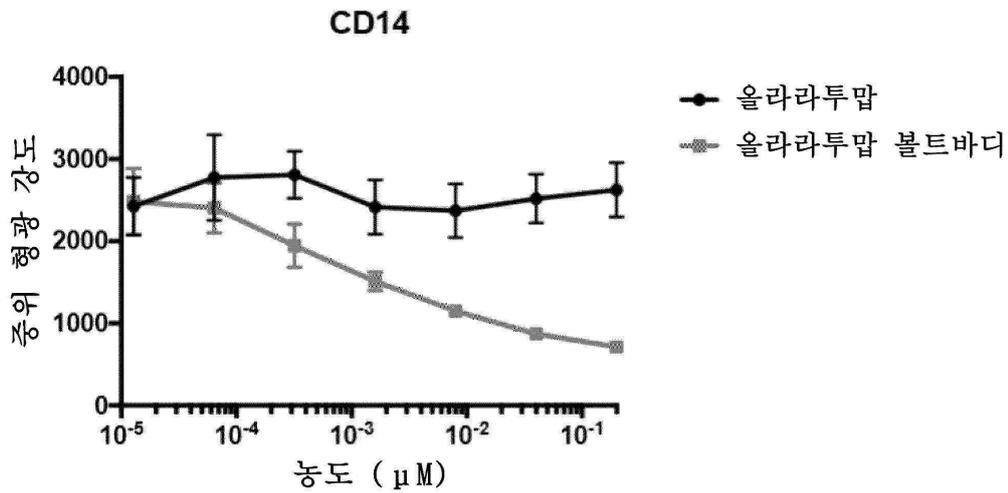
도면78f



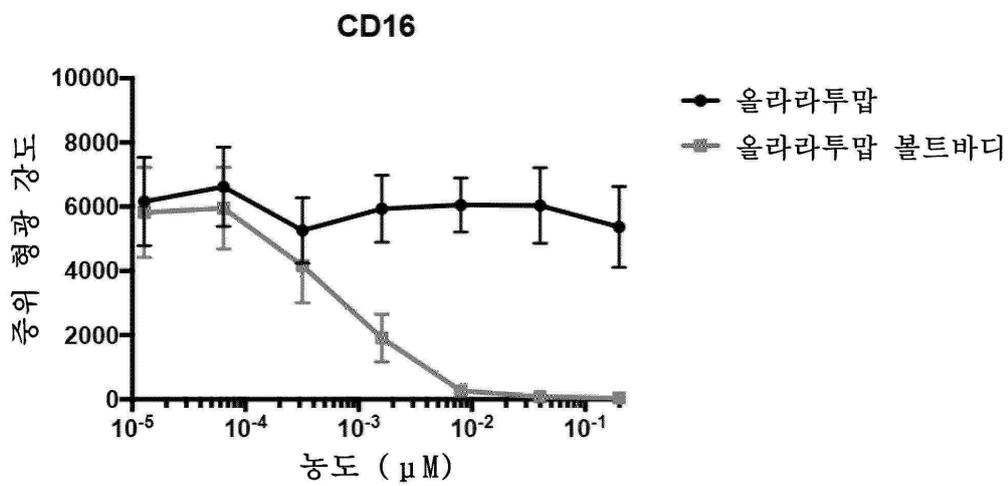
도면78g



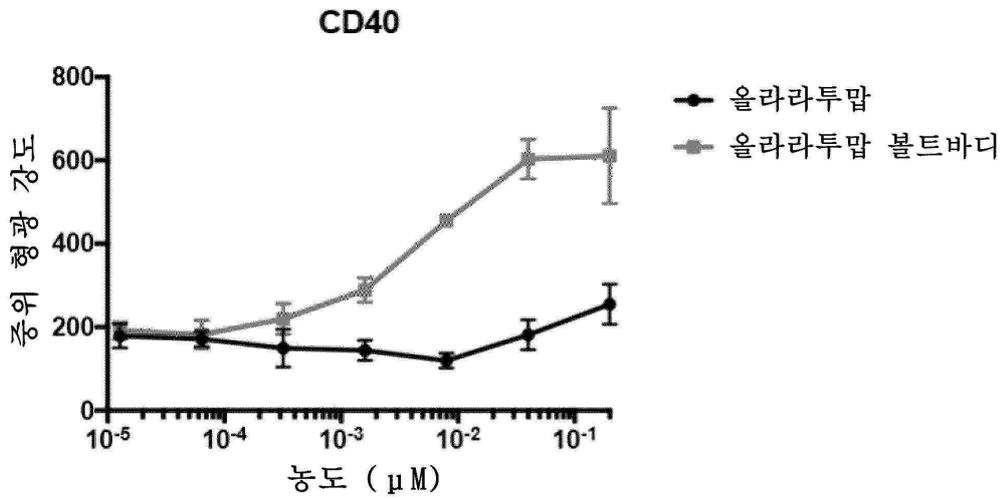
도면78h



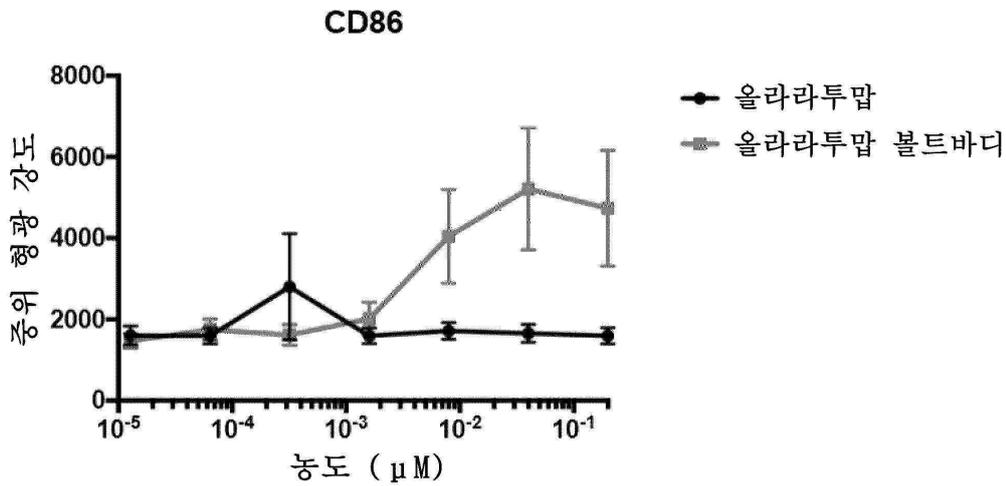
도면78i



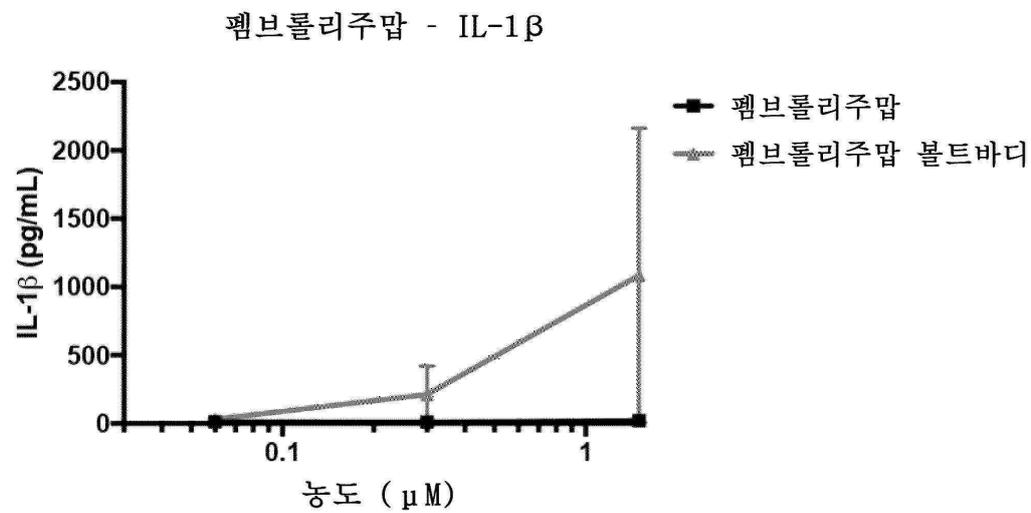
도면78j



도면78k

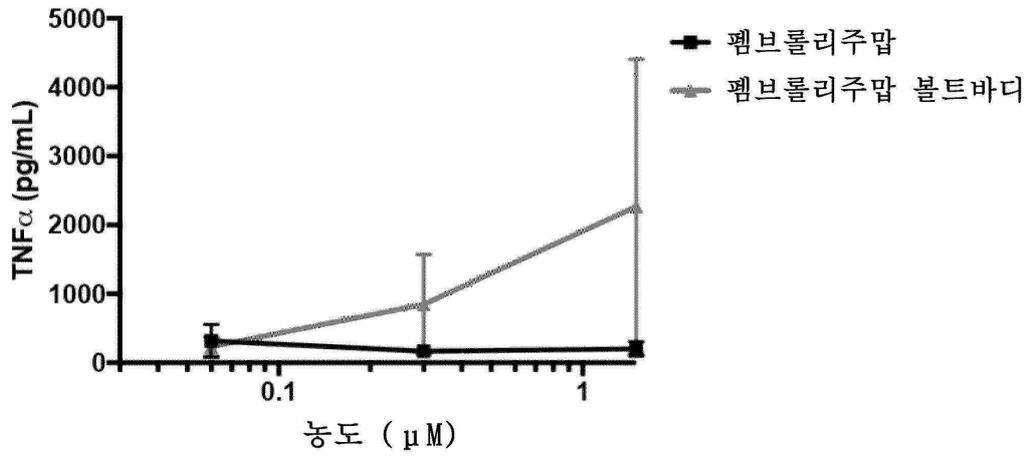


도면79a

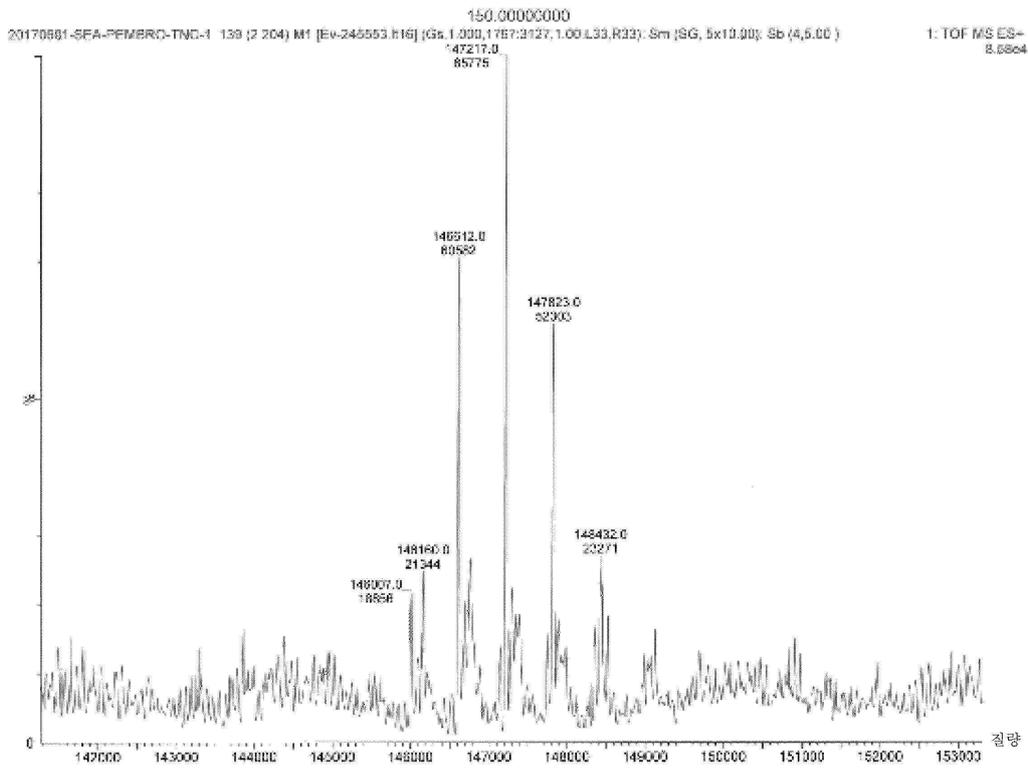


도면79b

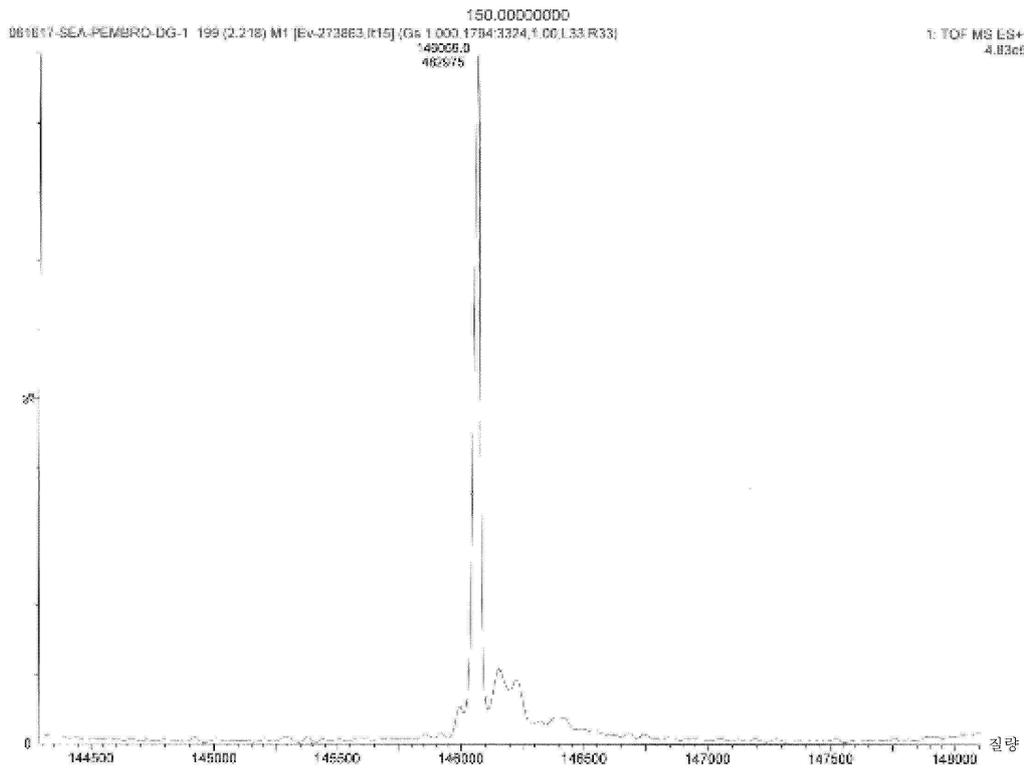
멤브롤리주맵 - TNF α



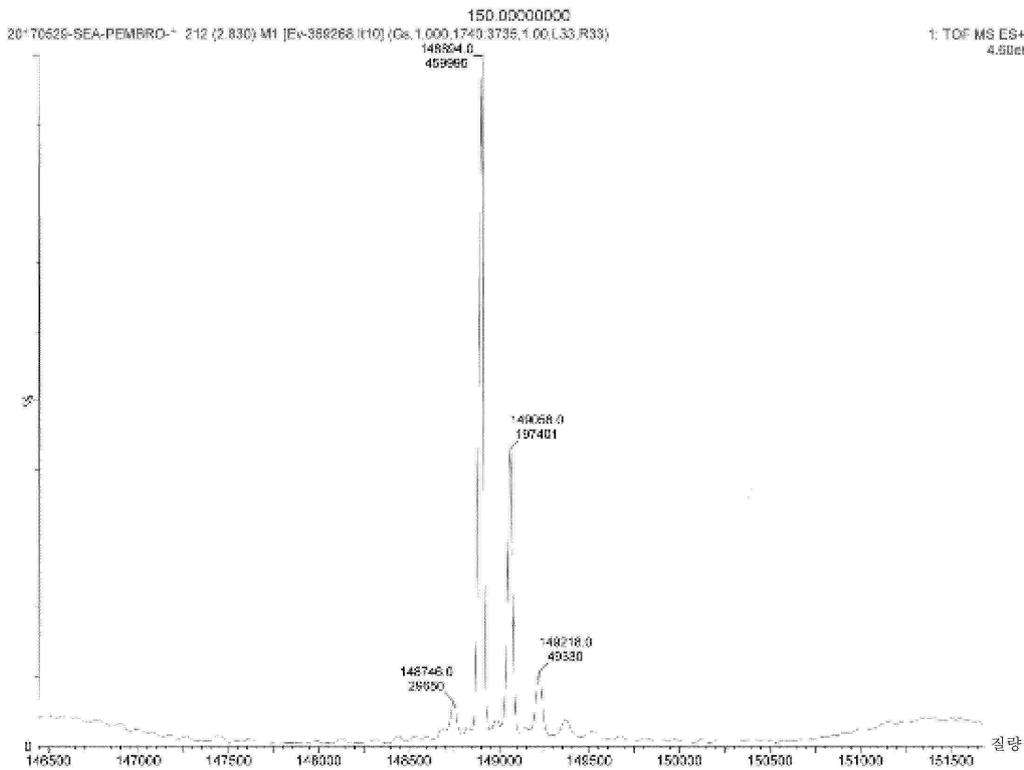
도면79c



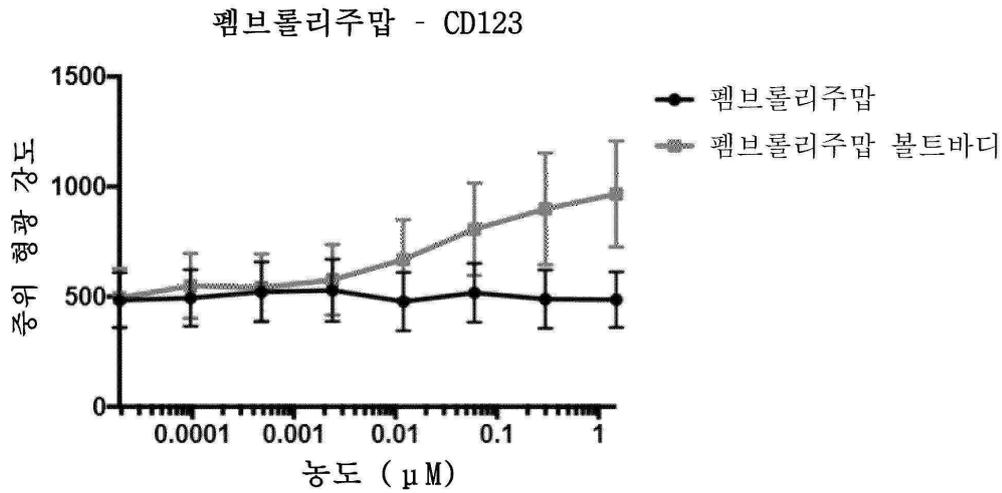
도면79d



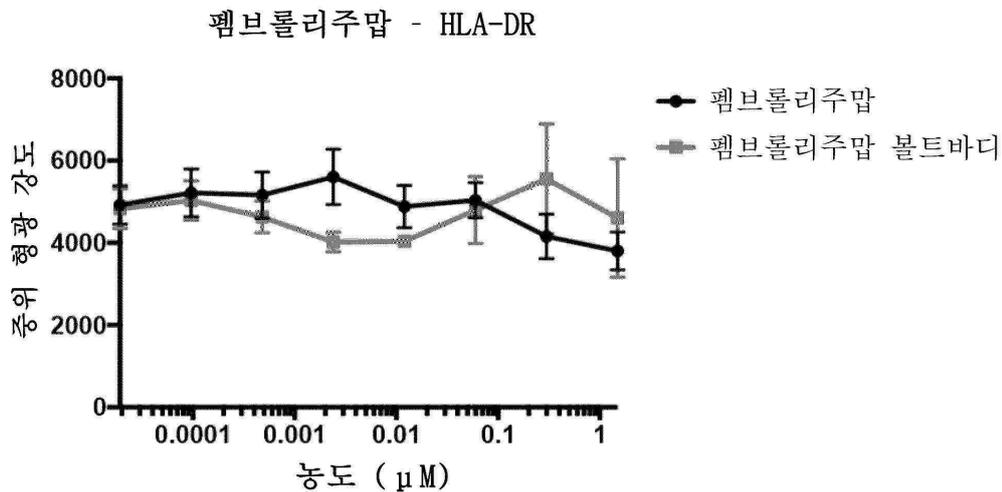
도면79e



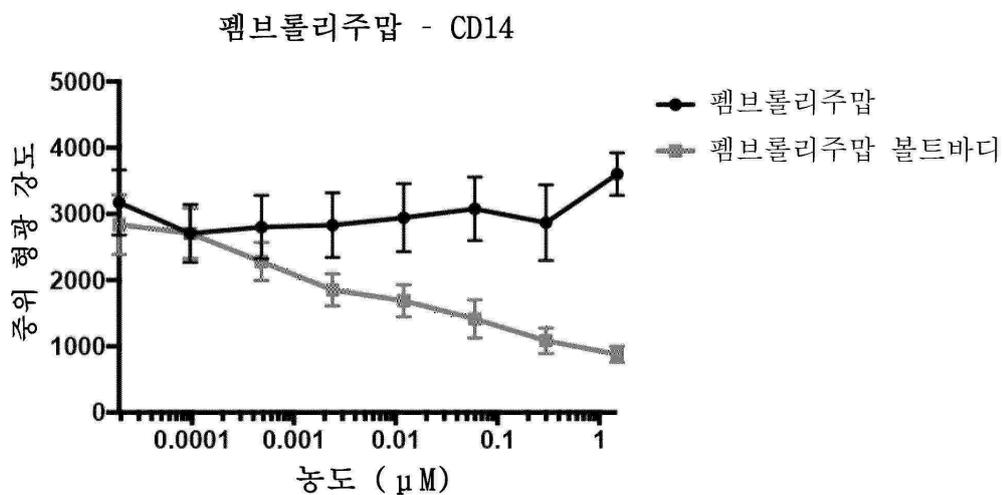
도면79f



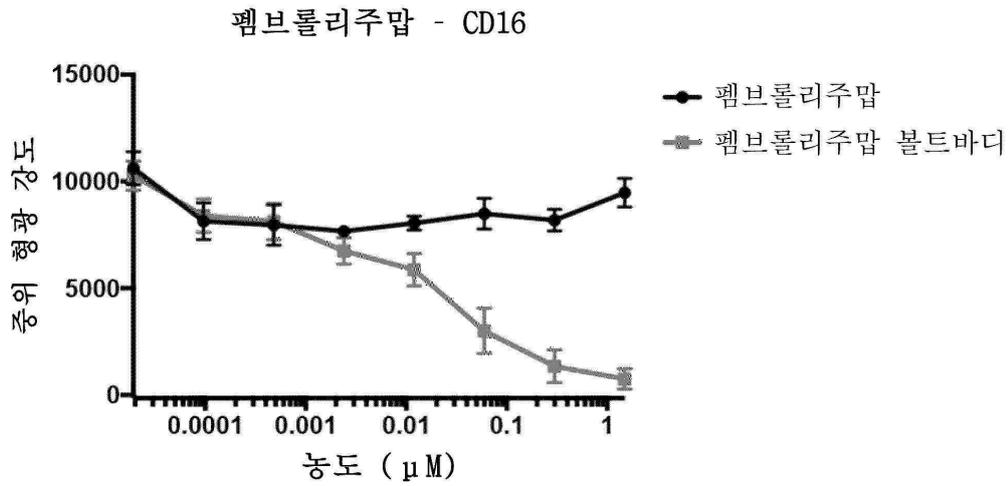
도면79g



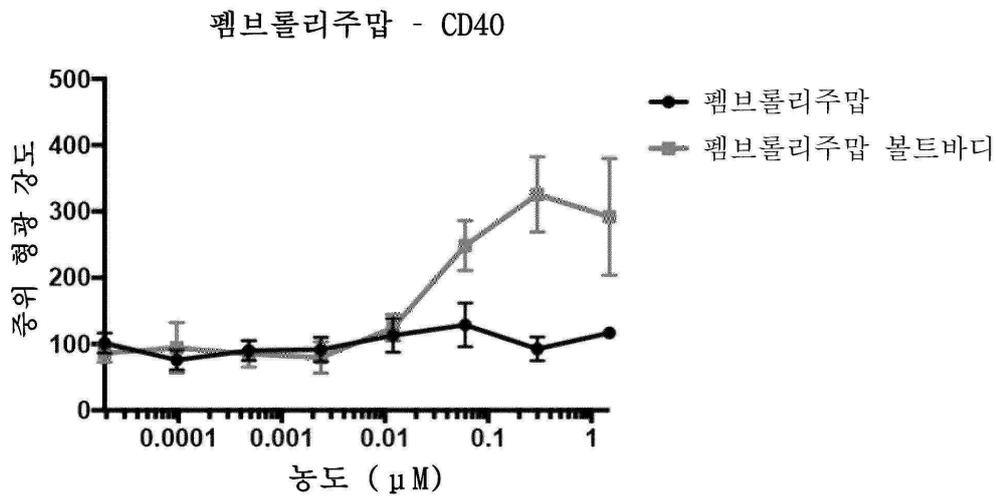
도면79h



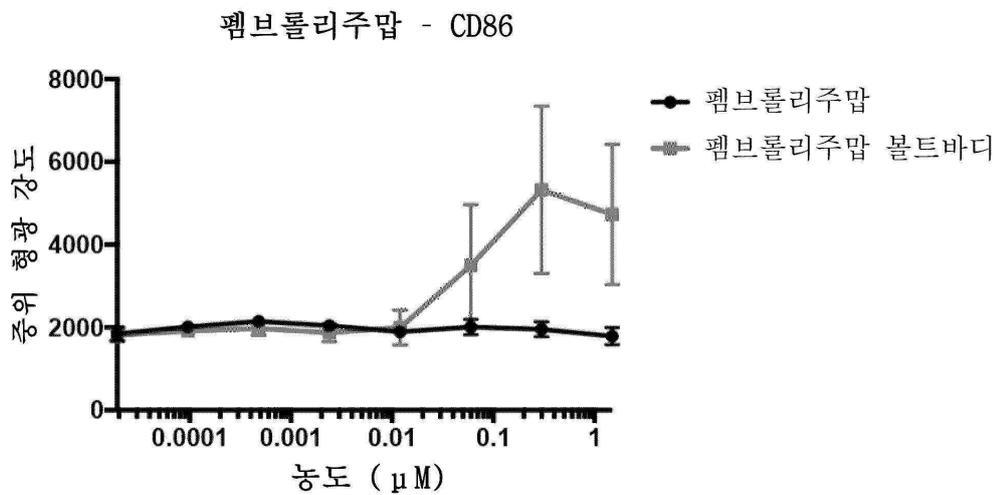
도면79i



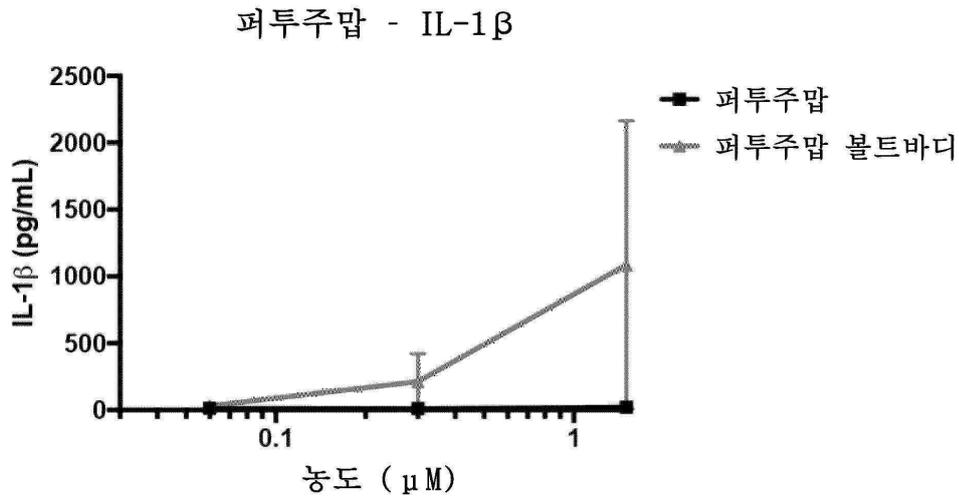
도면79j



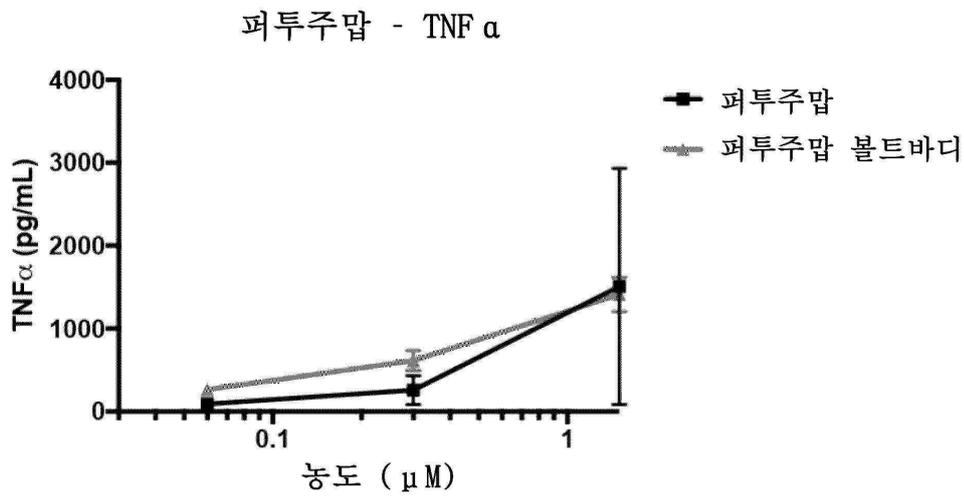
도면79k



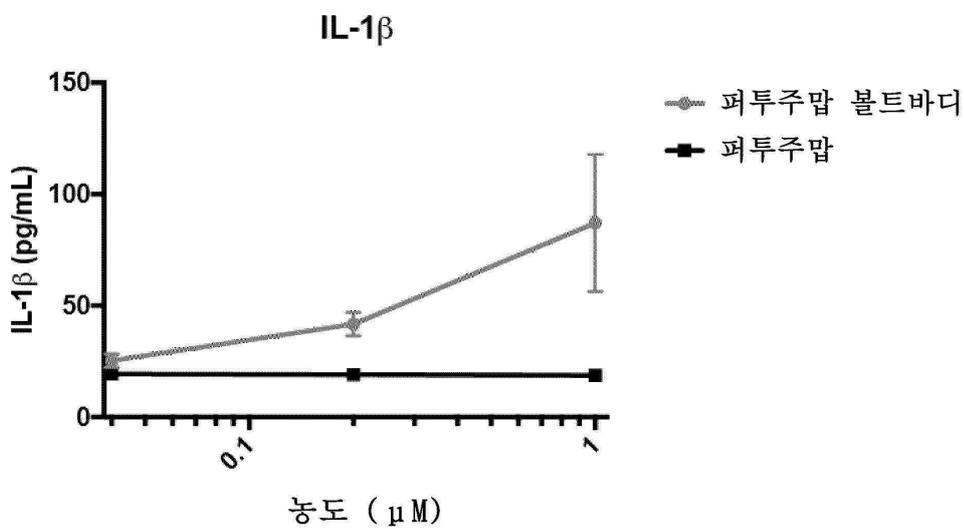
도면80a



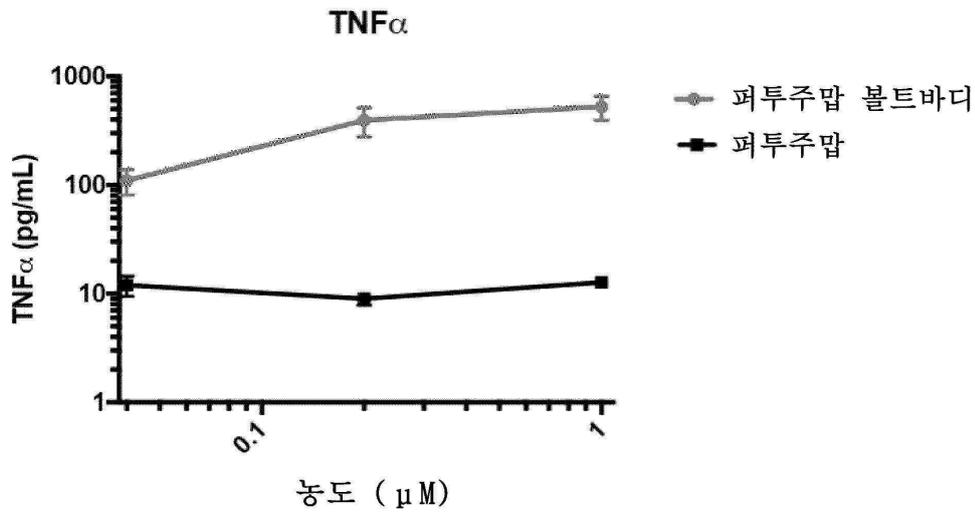
도면80b



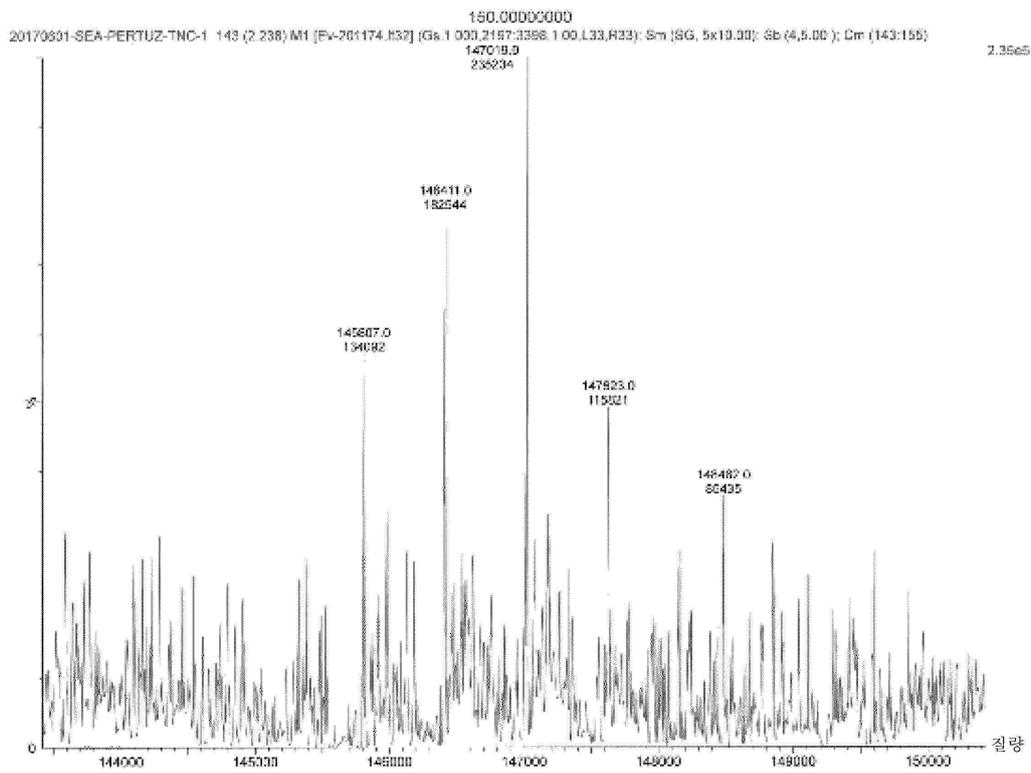
도면80c



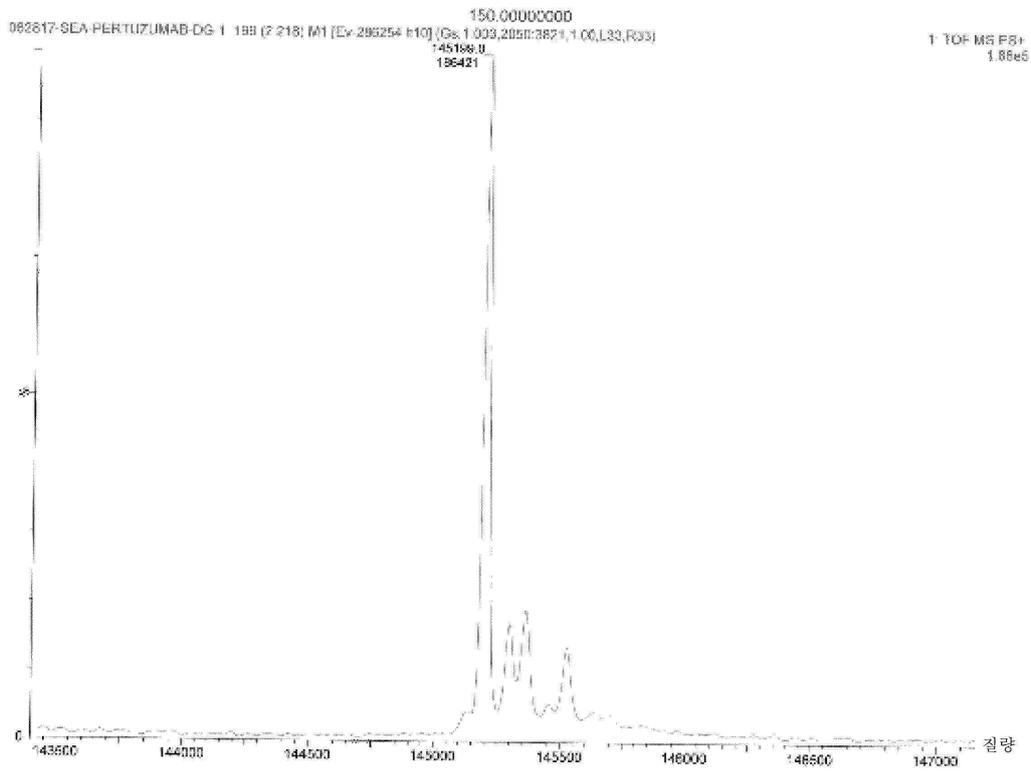
도면80d



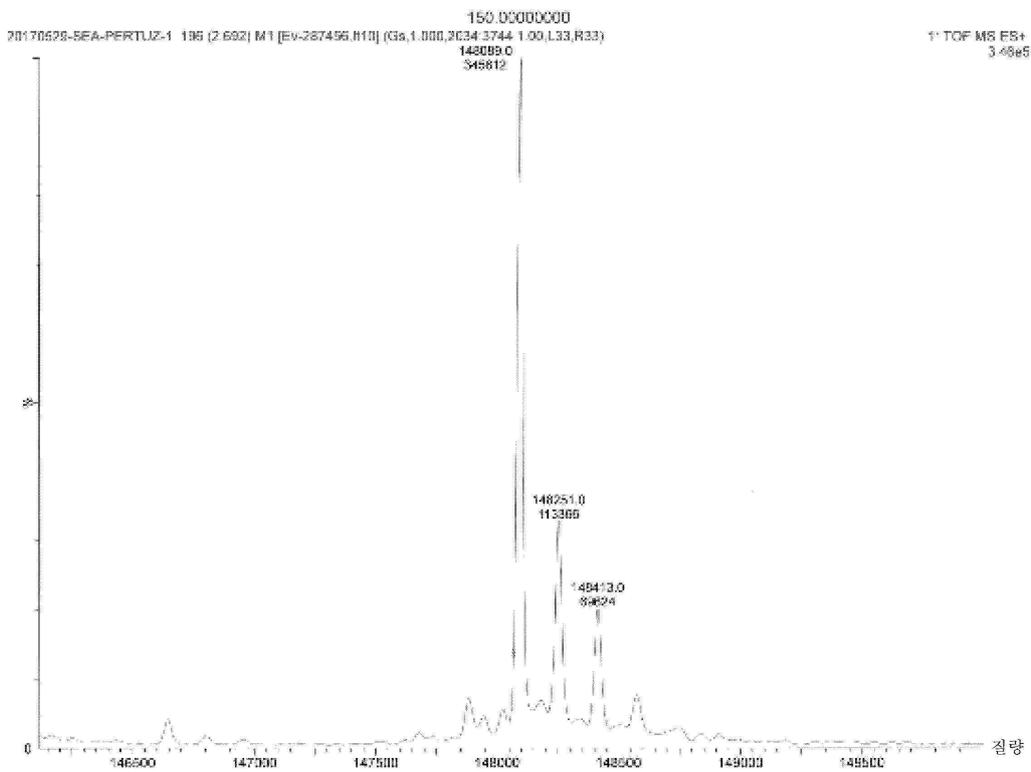
도면80e



도면 80f

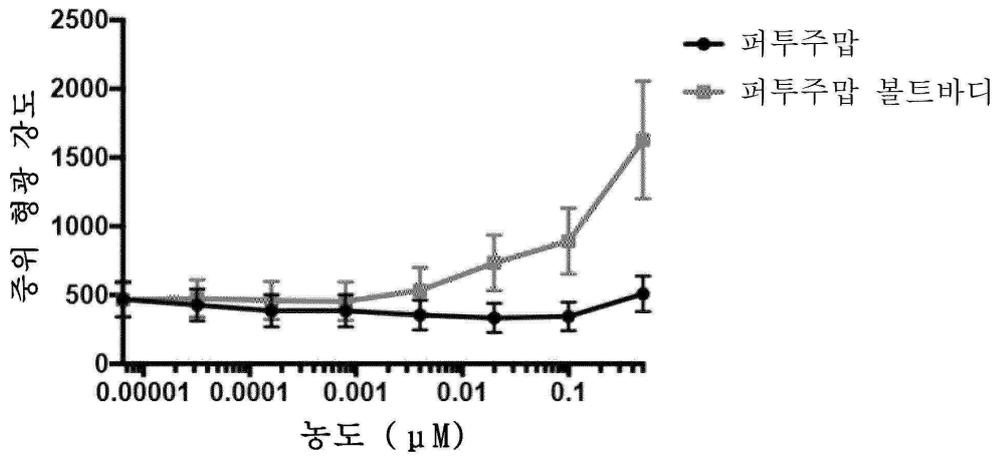


도면 80g



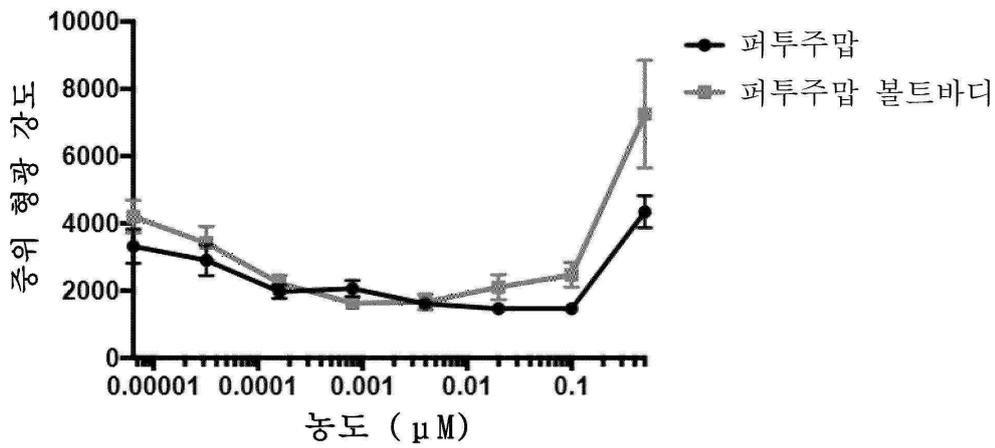
도면80h

폐투주맵 - CD123



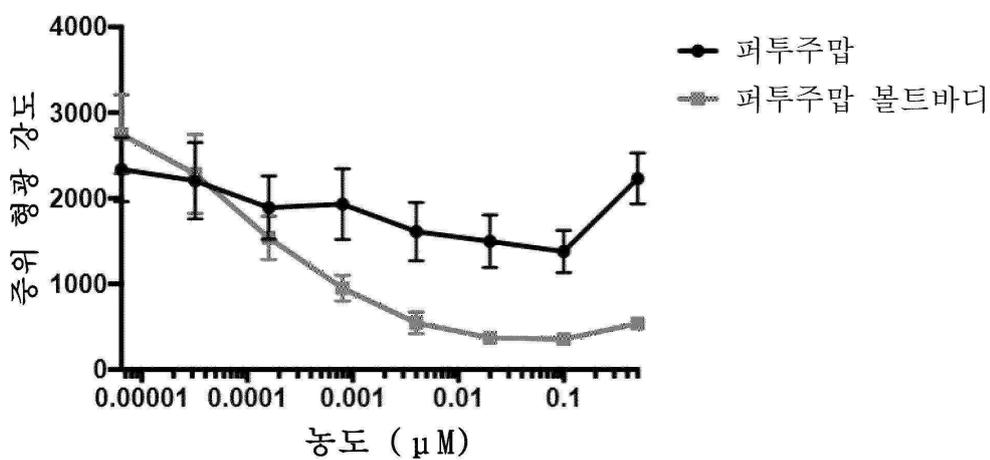
도면80i

폐투주맵 - HLA-DR

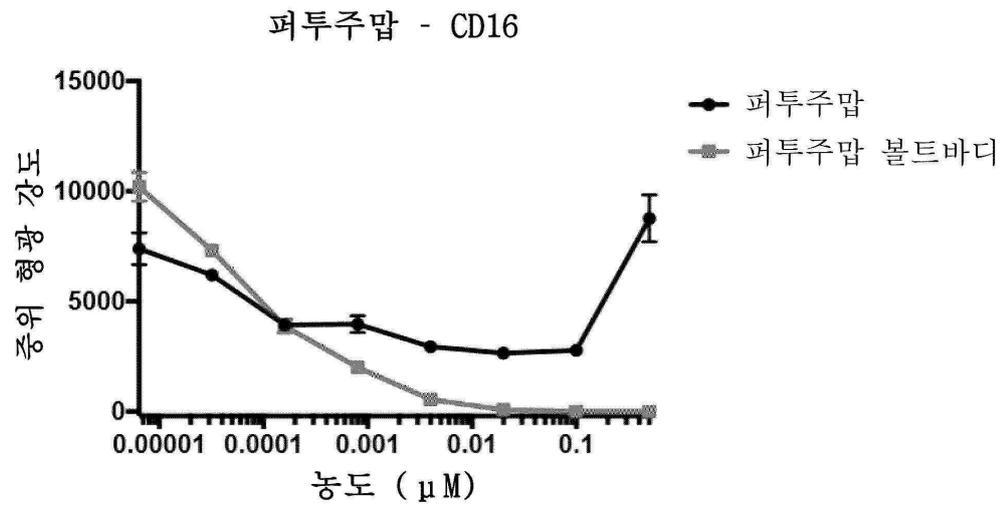


도면80j

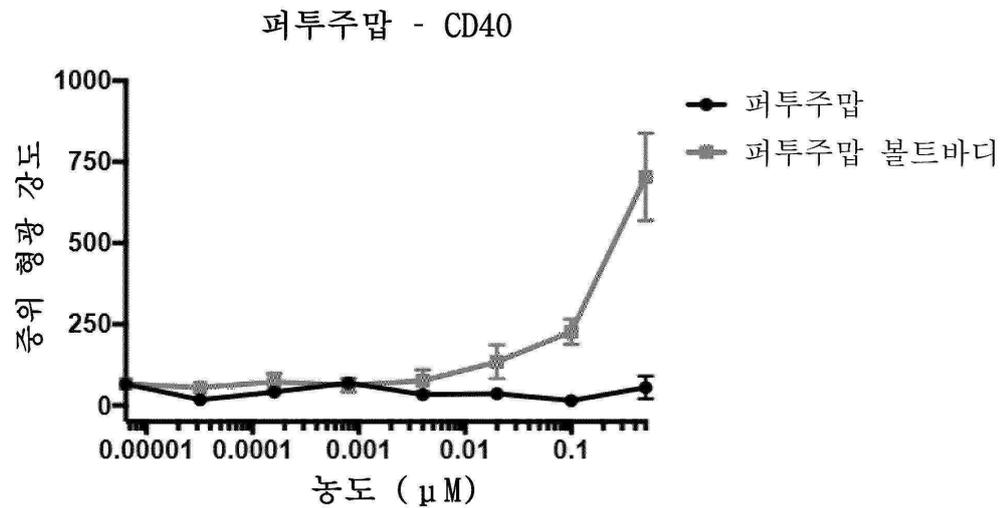
폐투주맵 - CD14



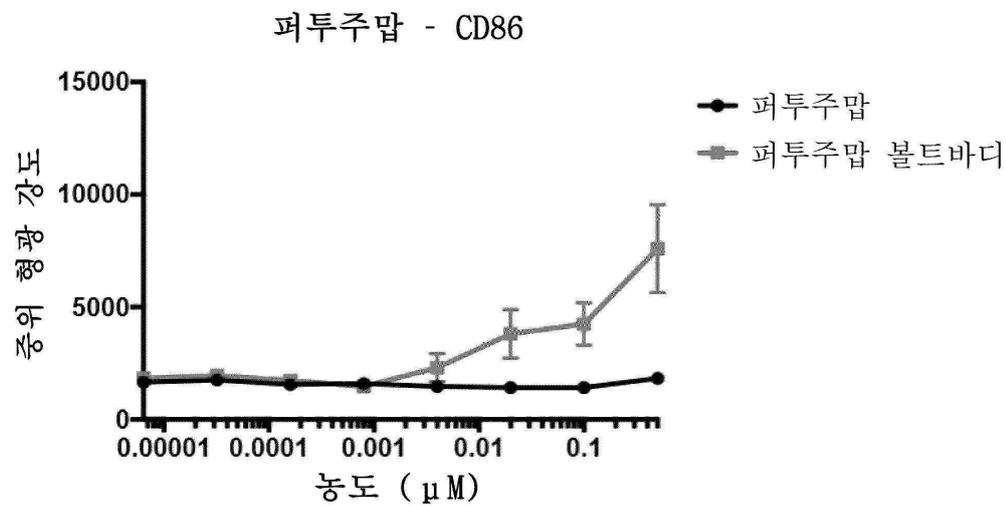
도면80k



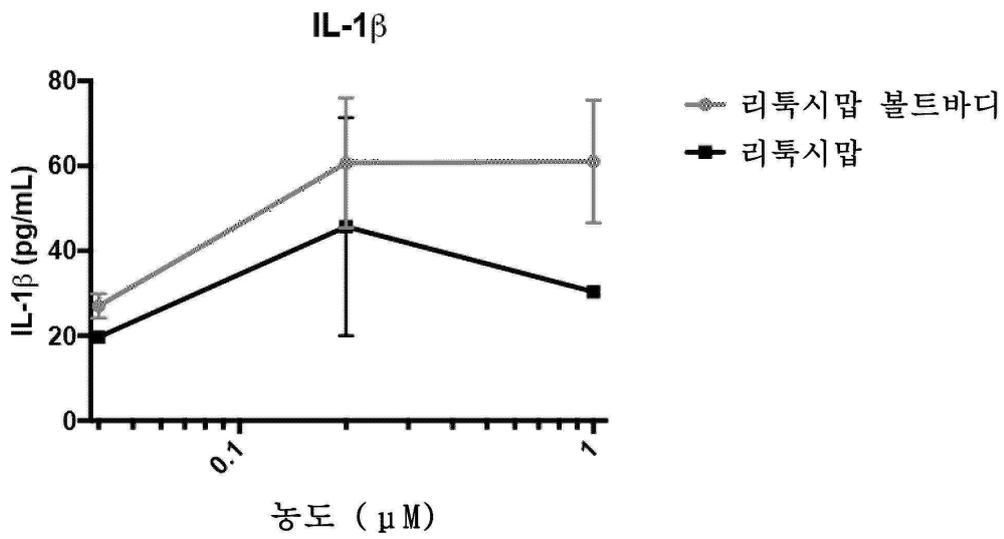
도면80l



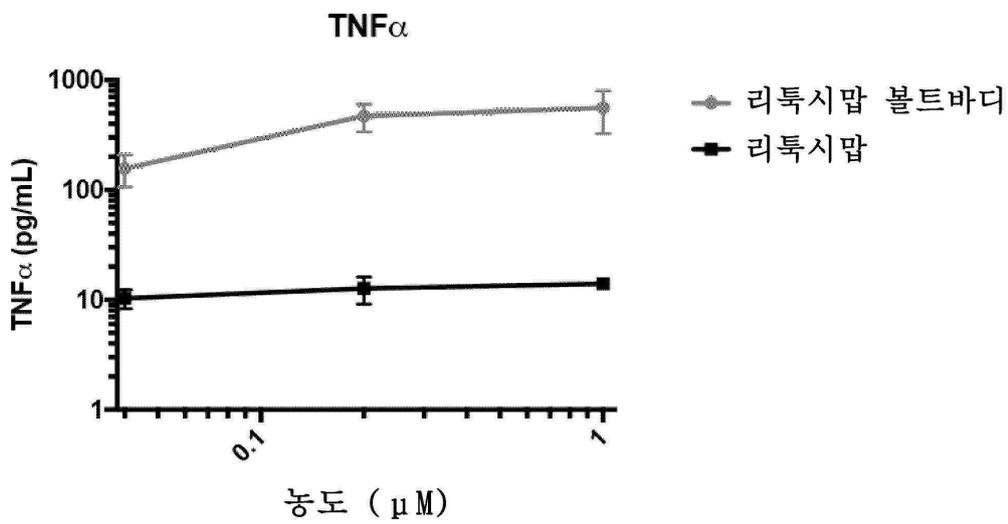
도면80m



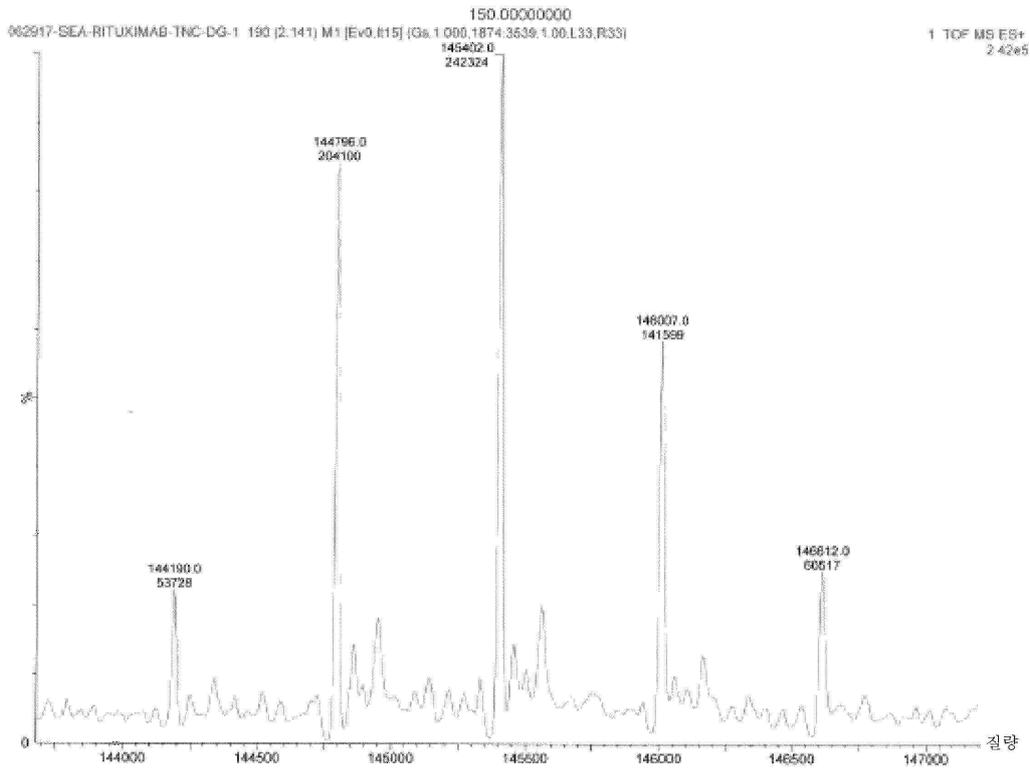
도면81a



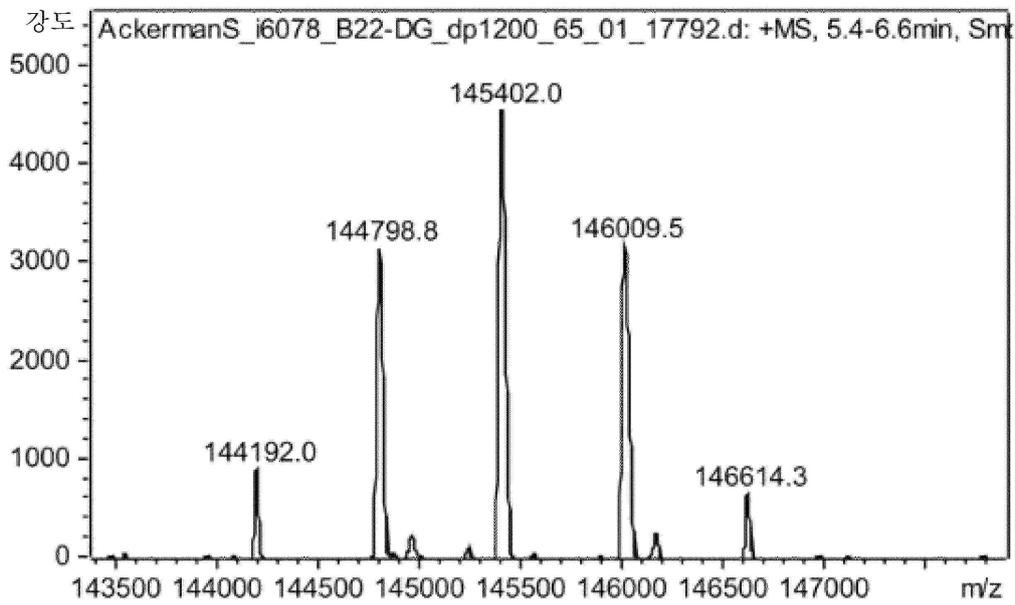
도면81b



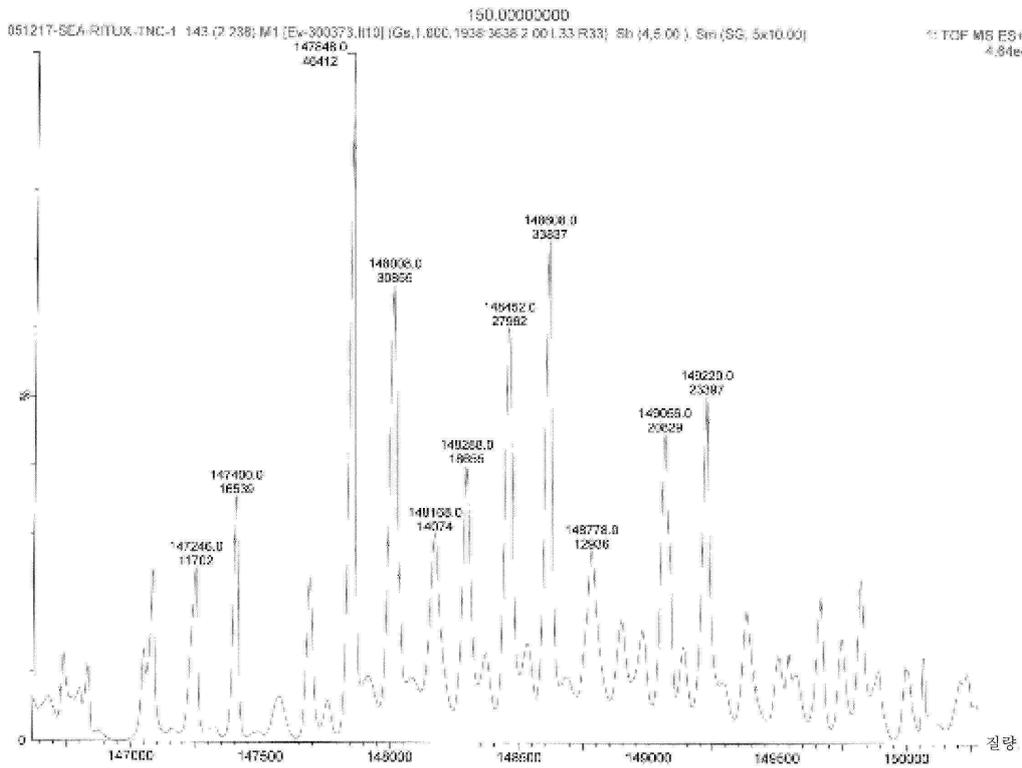
도면81c



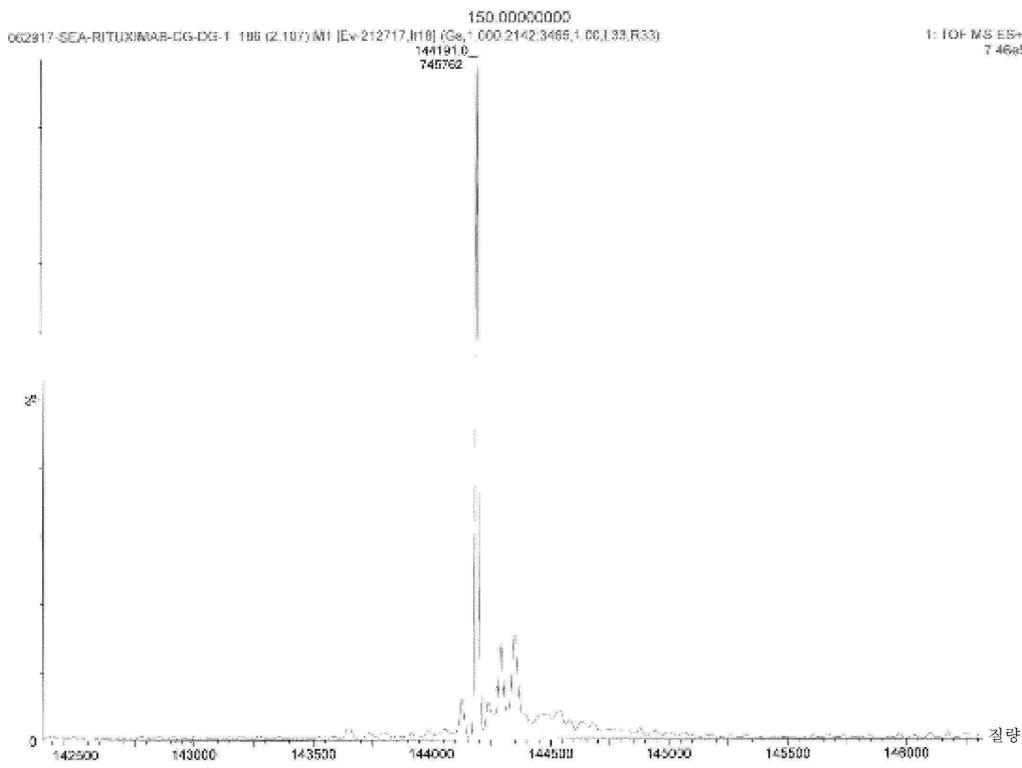
도면81d



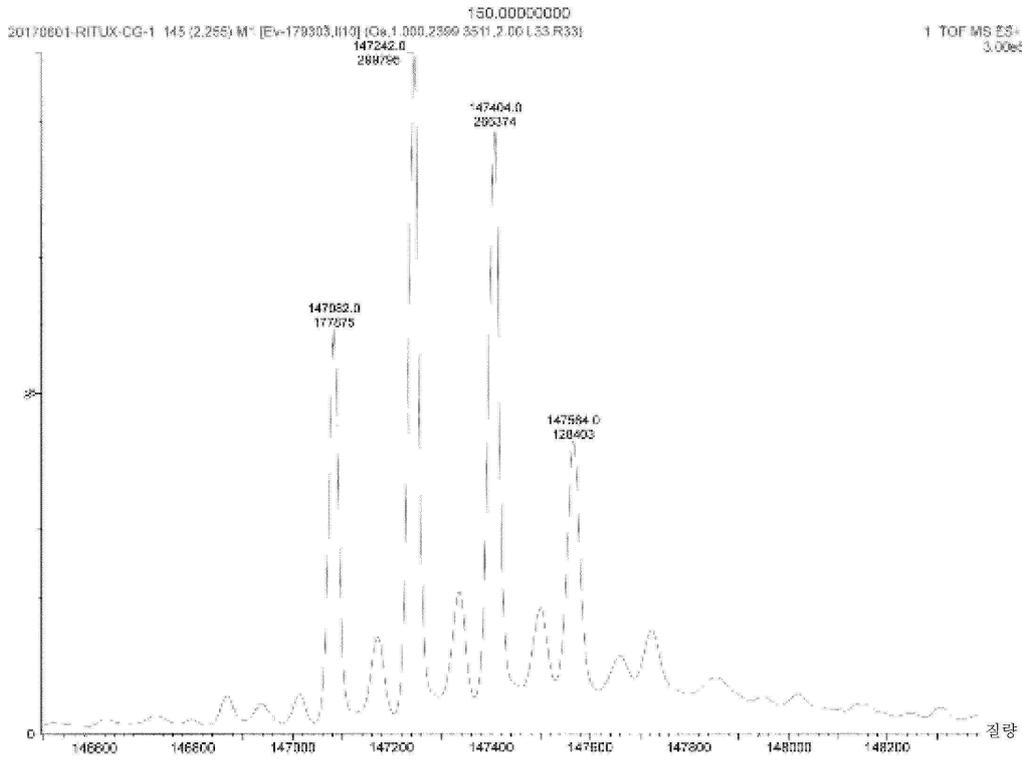
도면81e



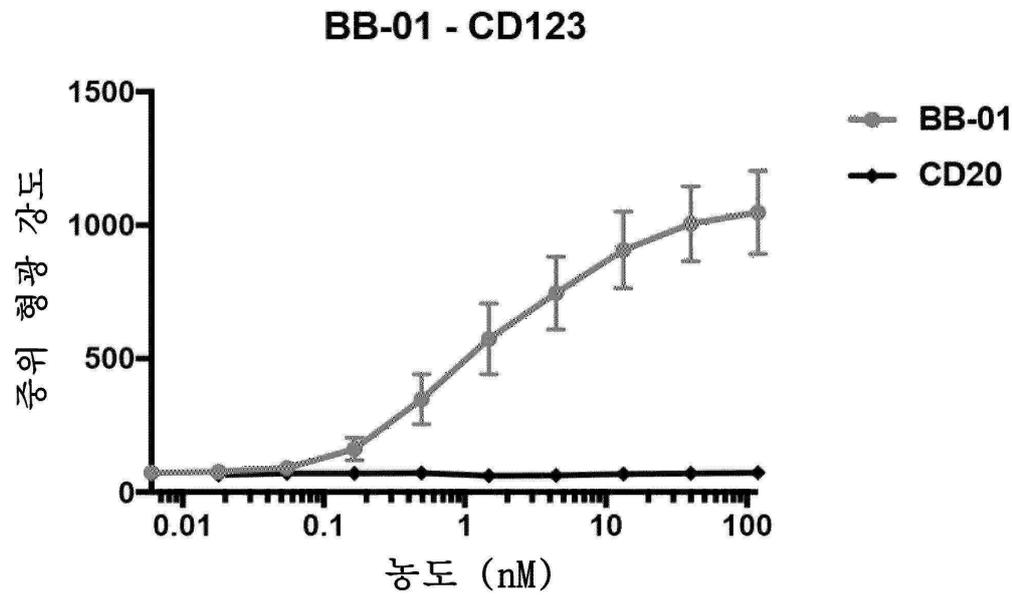
도면81f



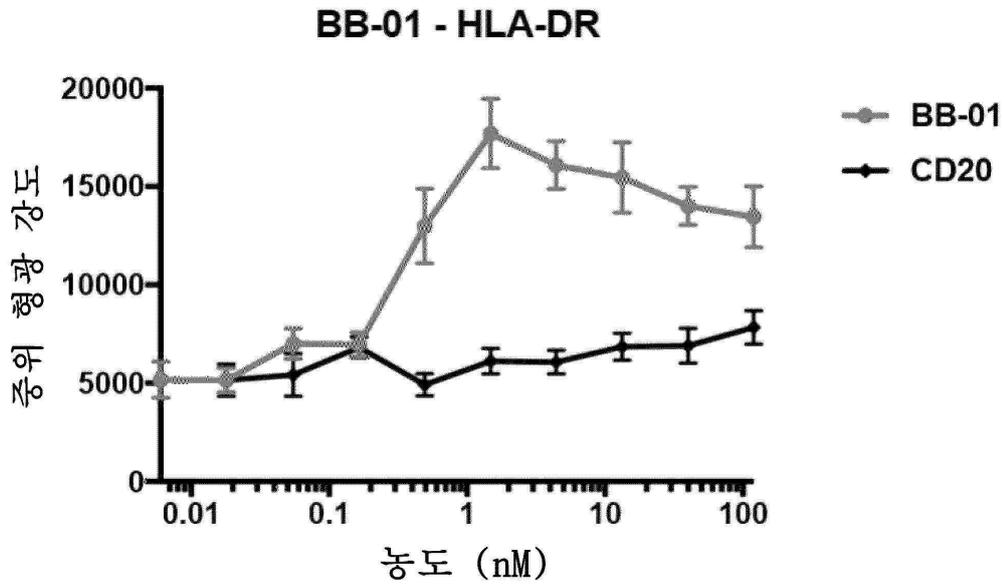
도면81g



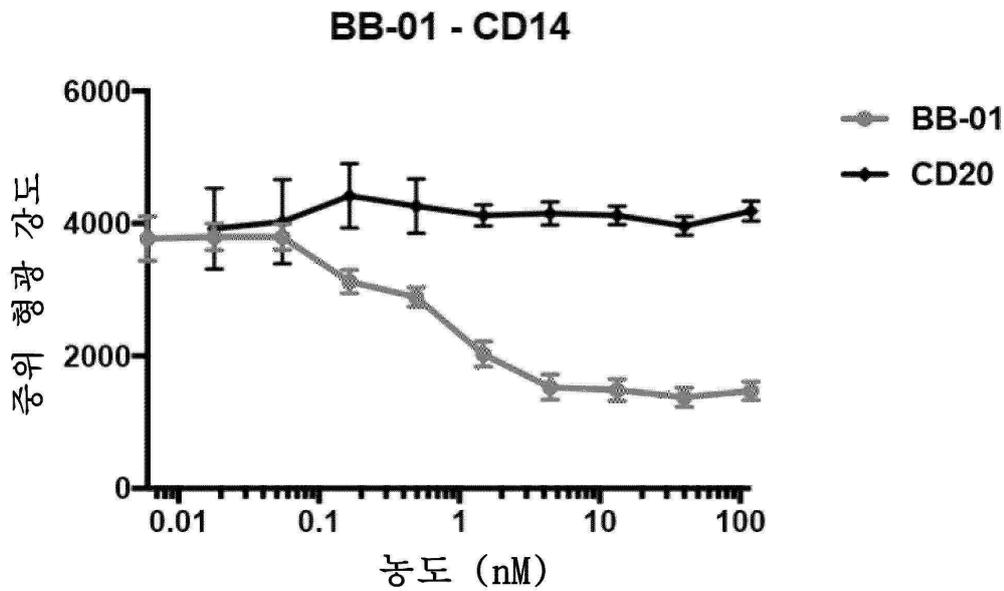
도면81h



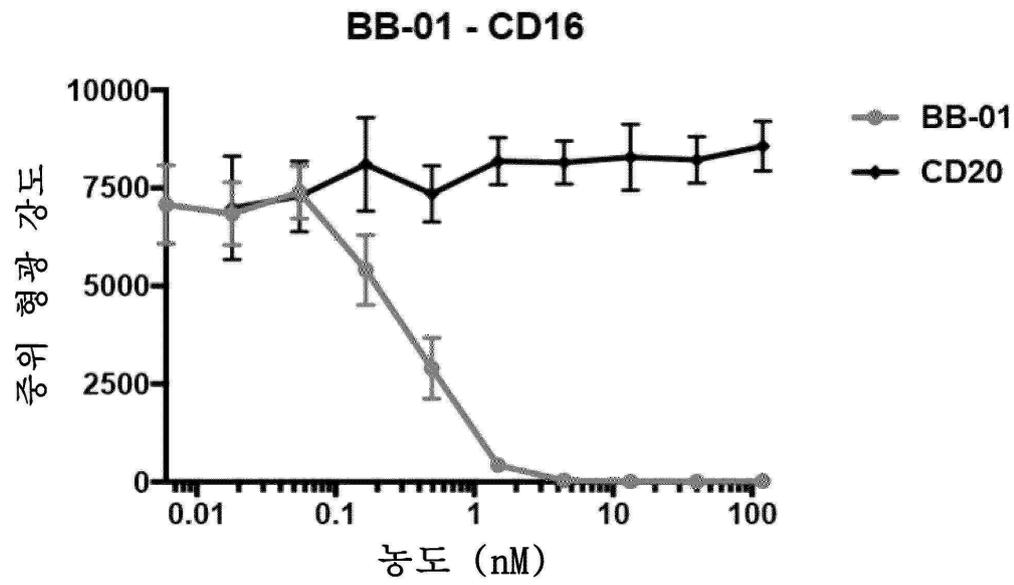
도면81i



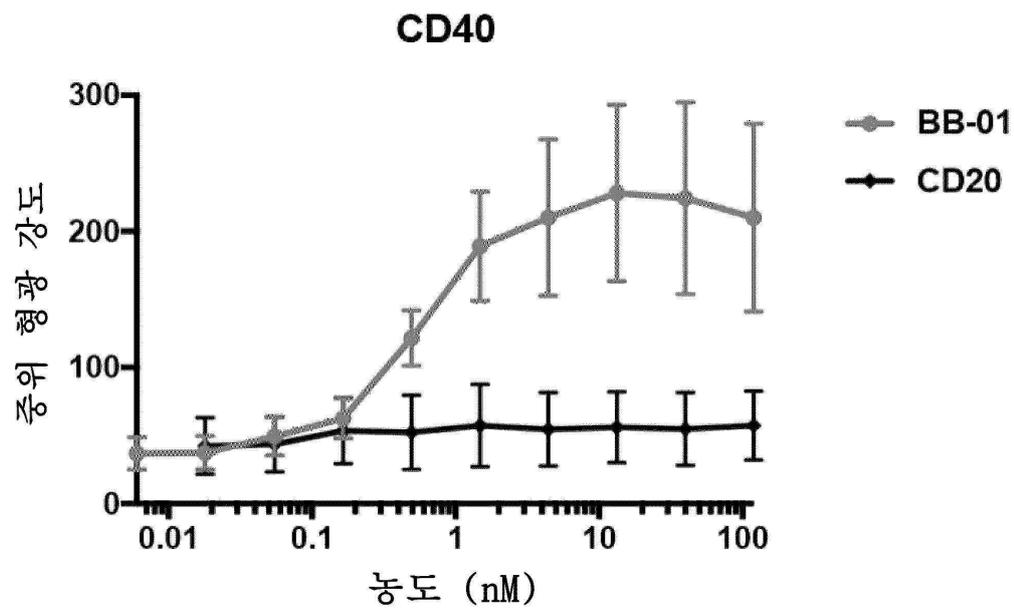
도면81j



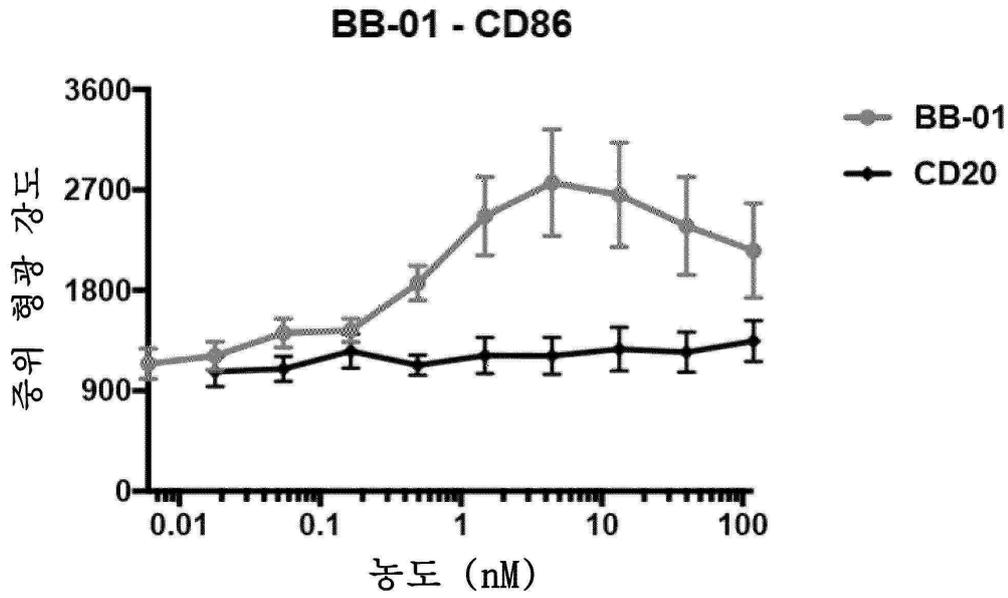
도면81k



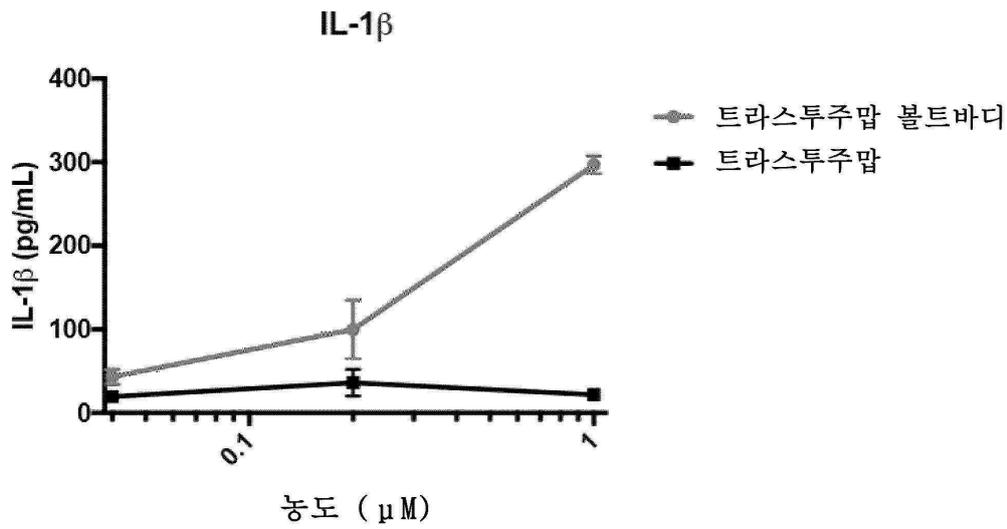
도면81l



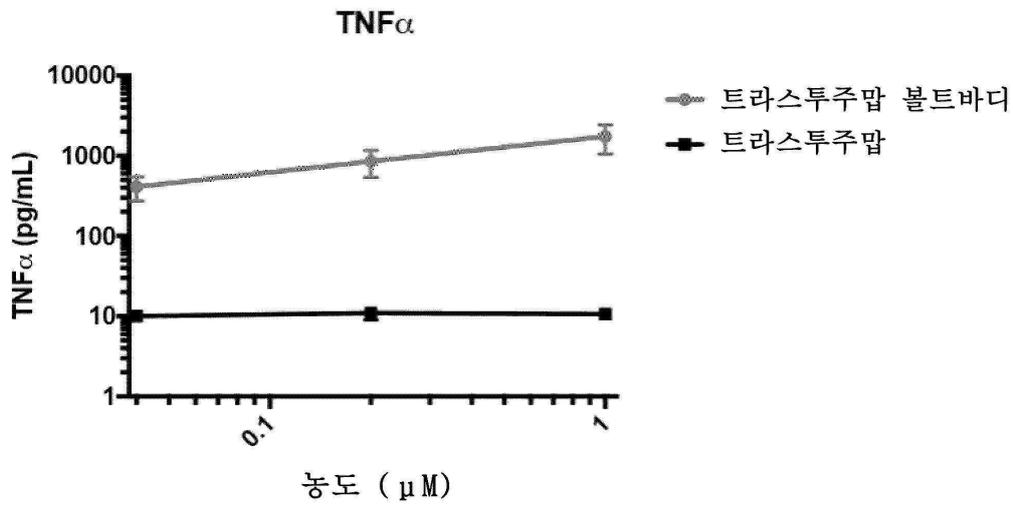
도면81m



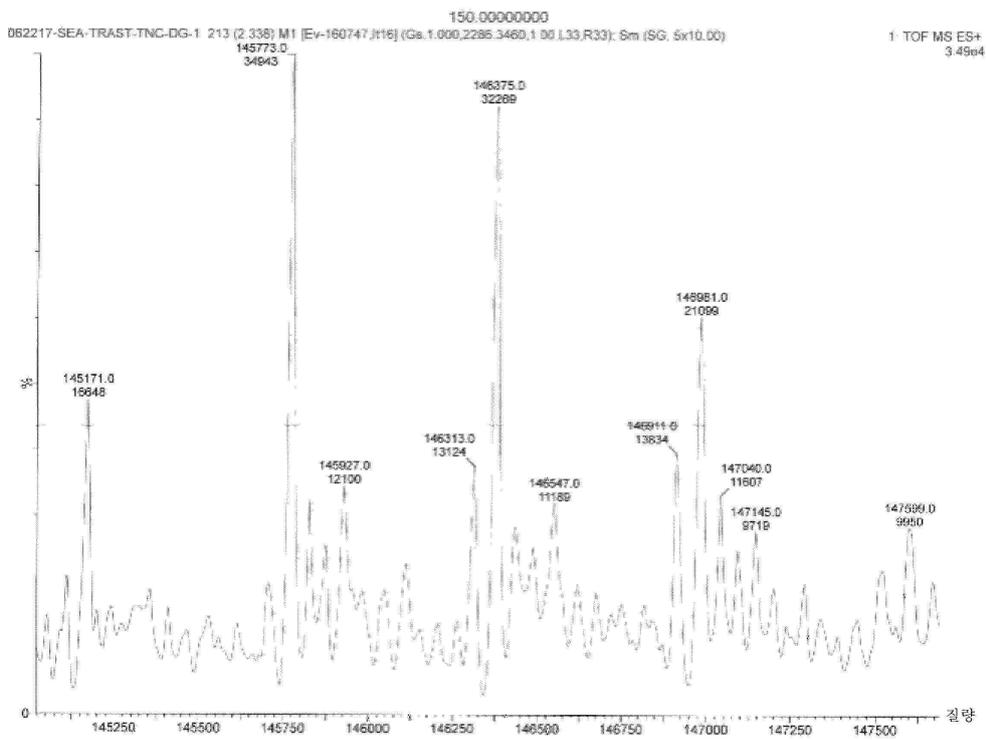
도면82a



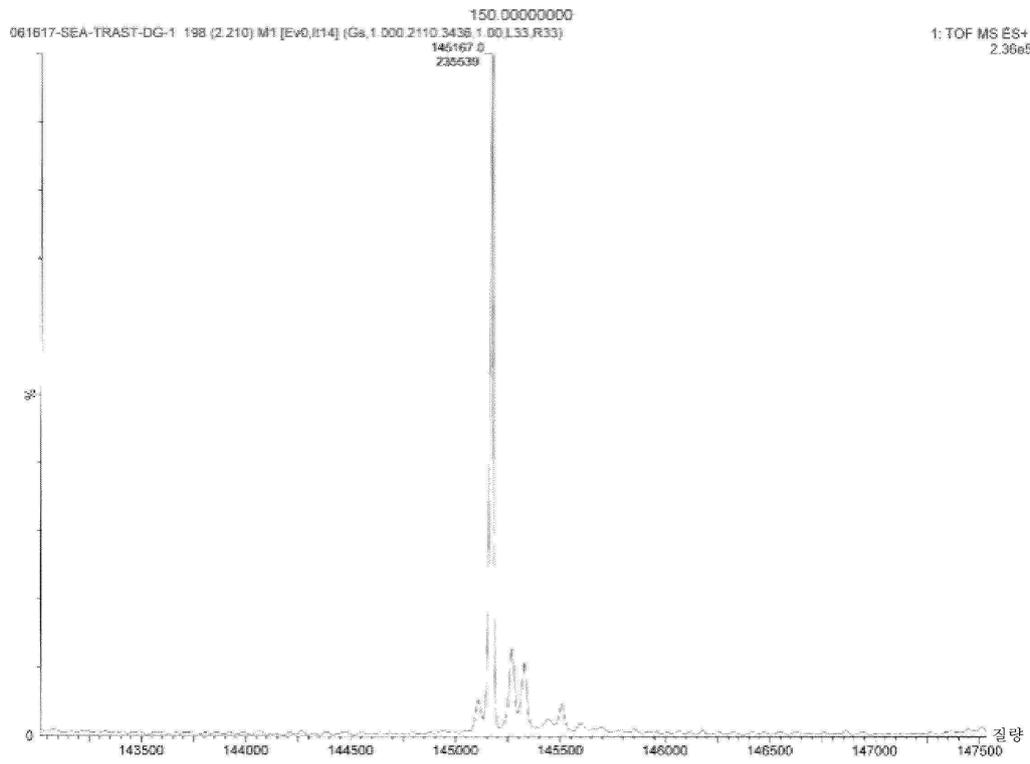
도면 82b



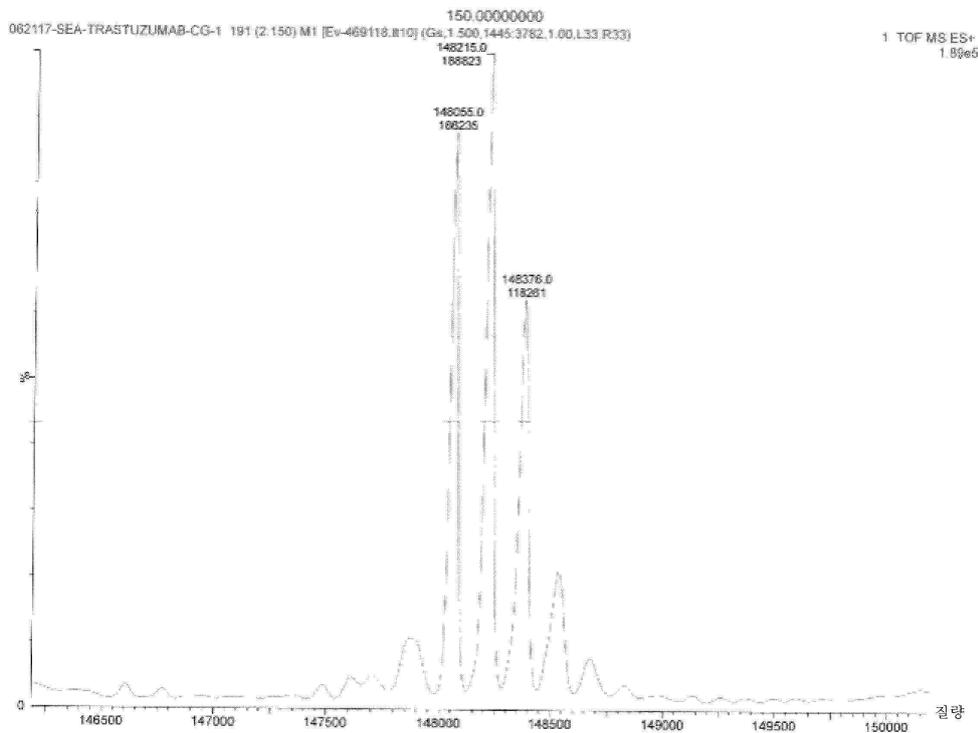
도면 82c



도면 82d

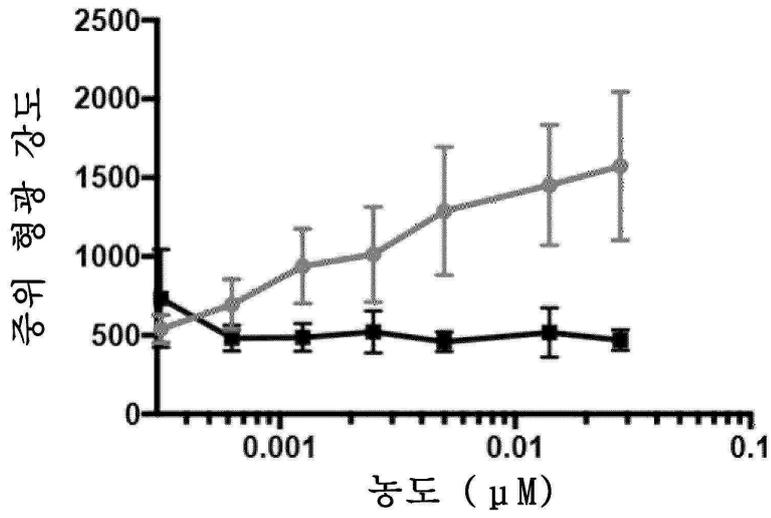


도면 82e



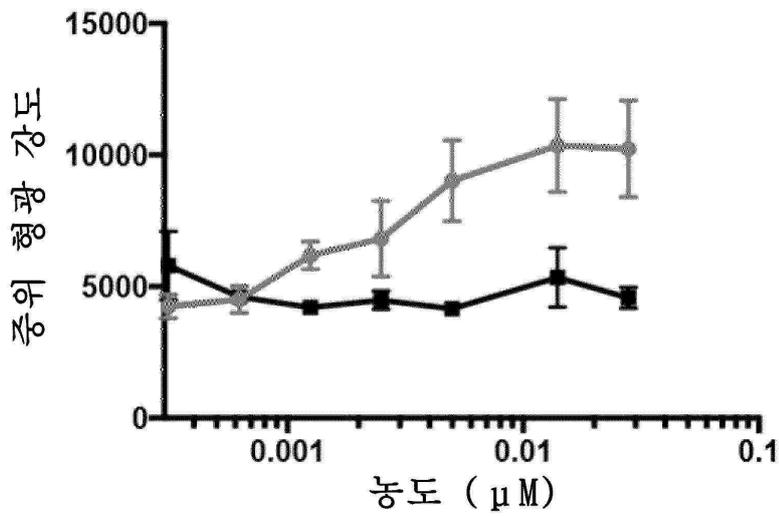
도면82f

트라스투주맙 - CD123

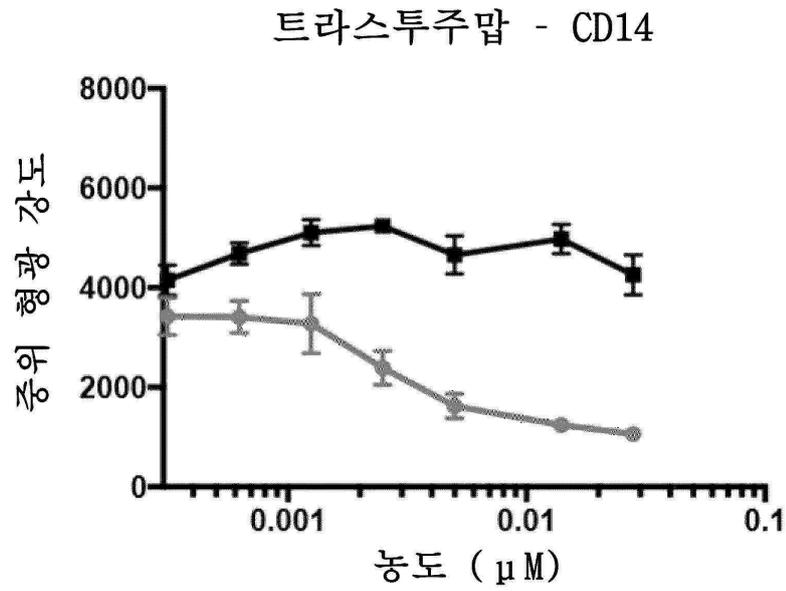


도면82g

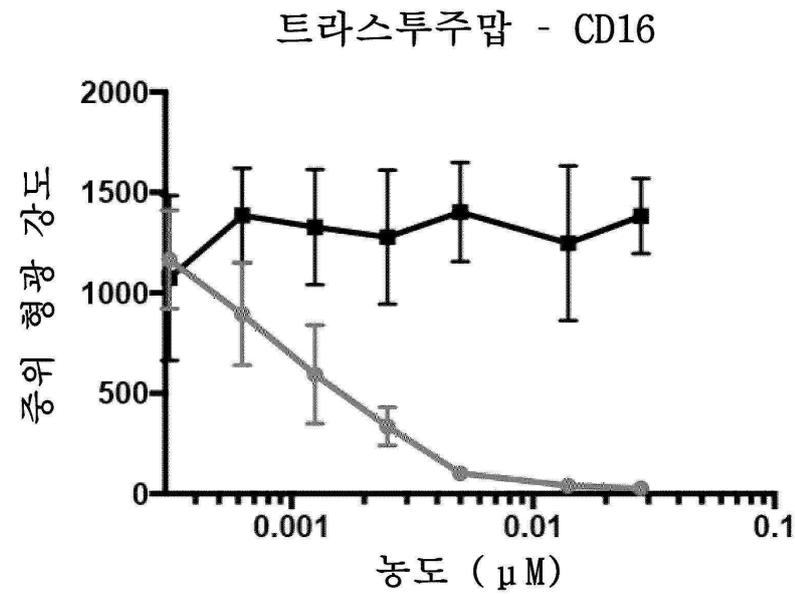
트라스투주맙 - HLA-DR



도면82h

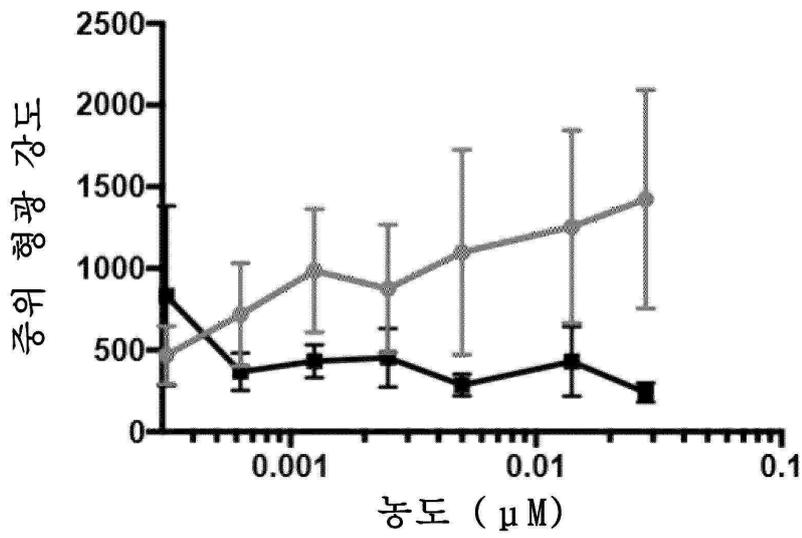


도면82i



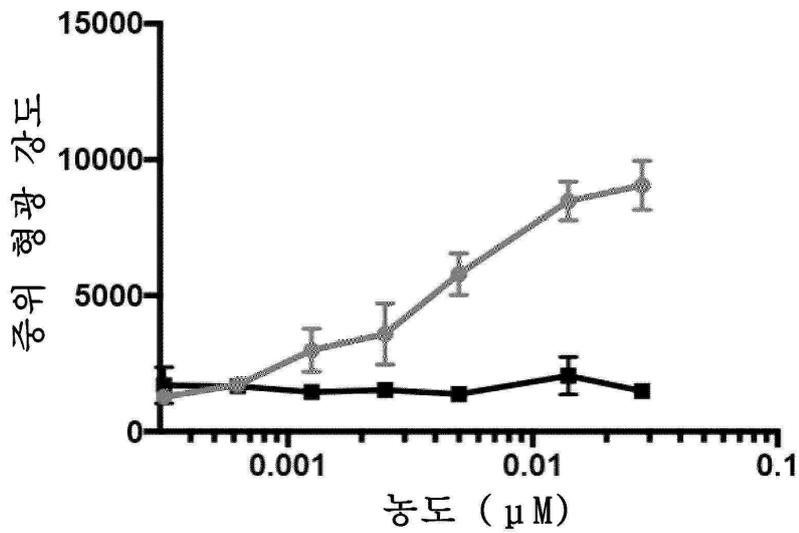
도면82j

트라스투주맙 - CD40

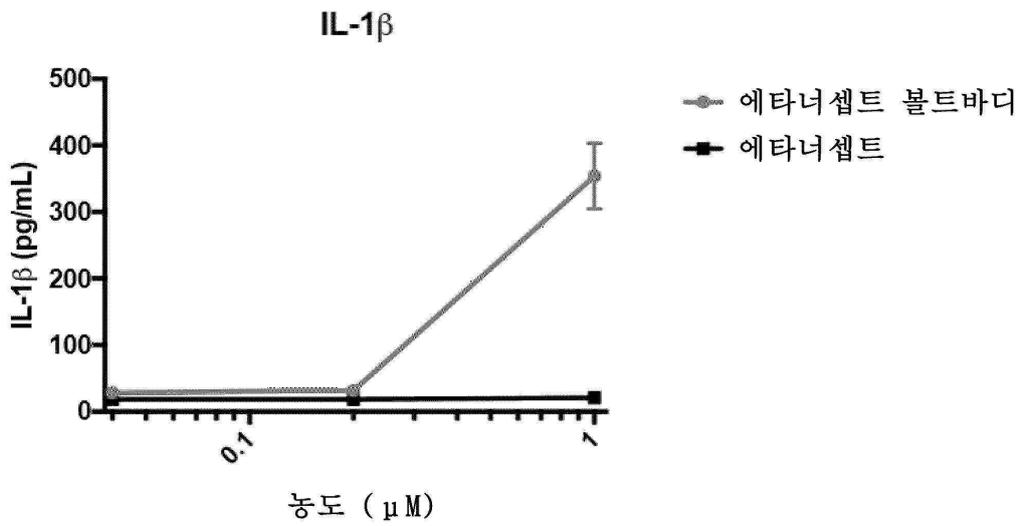


도면82k

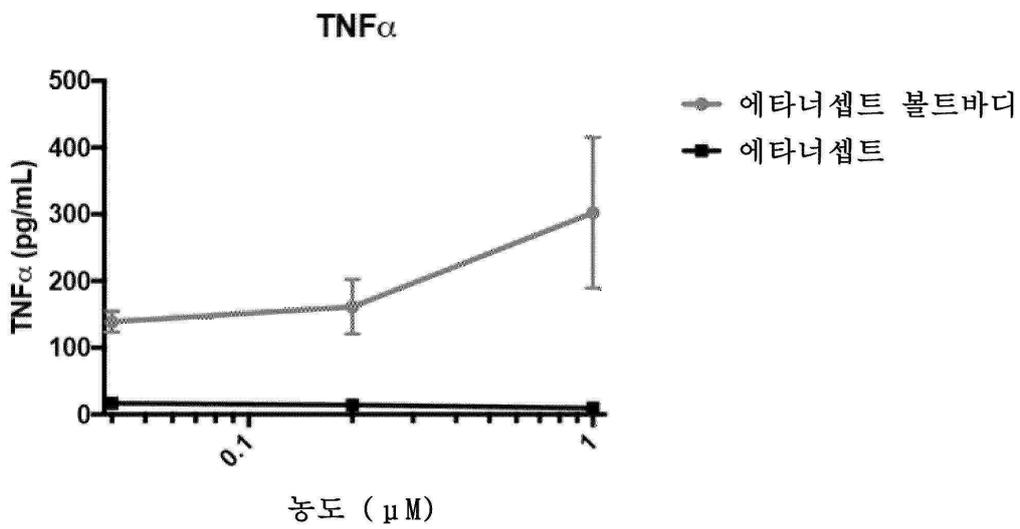
트라스투주맙 - CD86



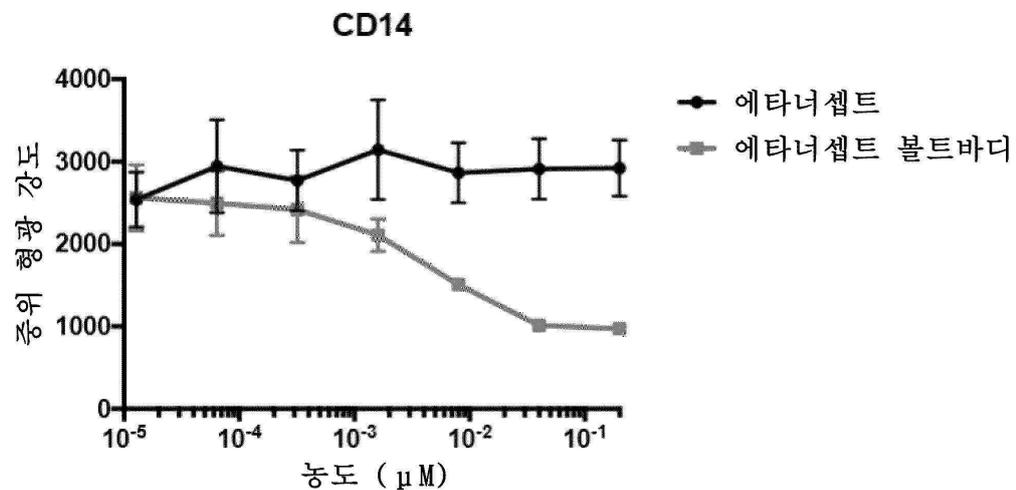
도면83a



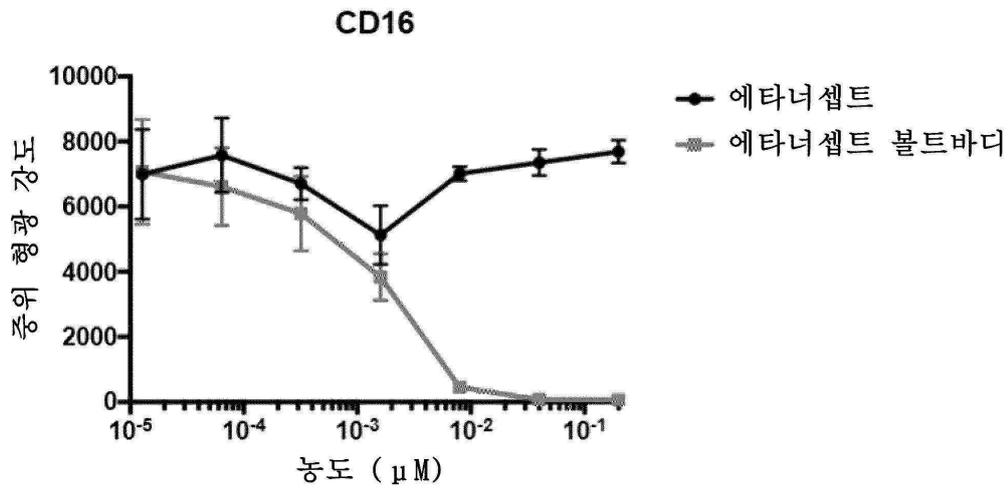
도면83b



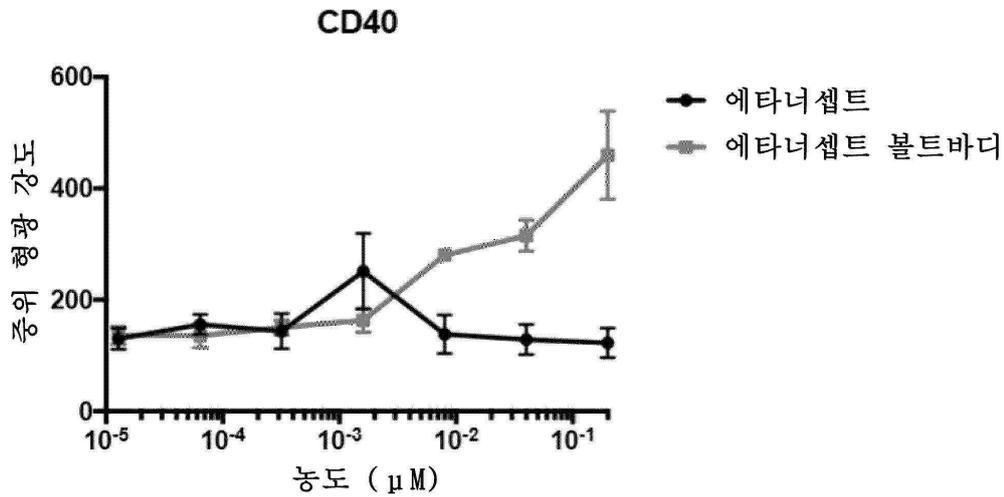
도면83c



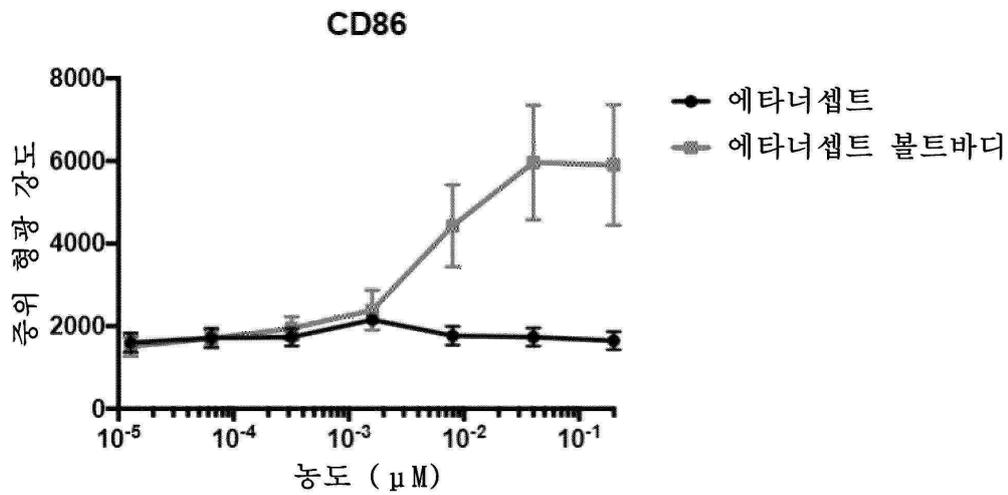
도면83d



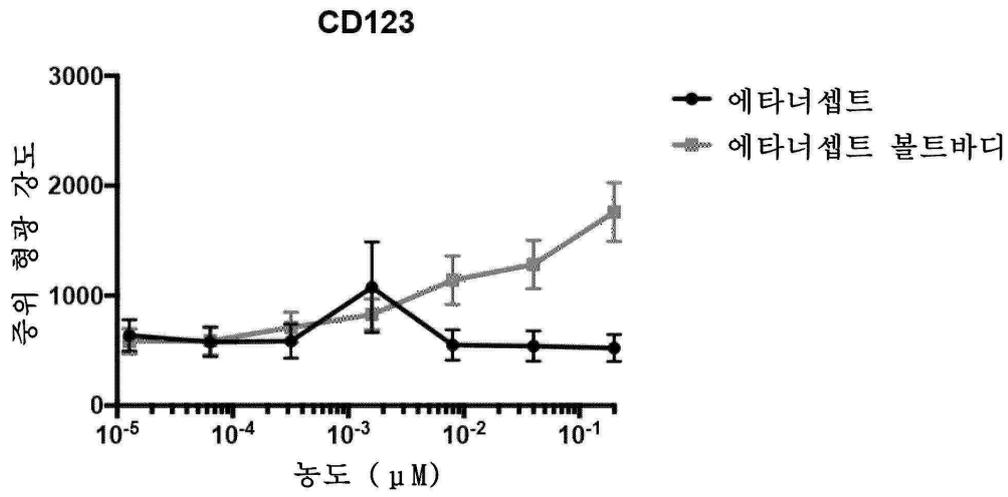
도면83e



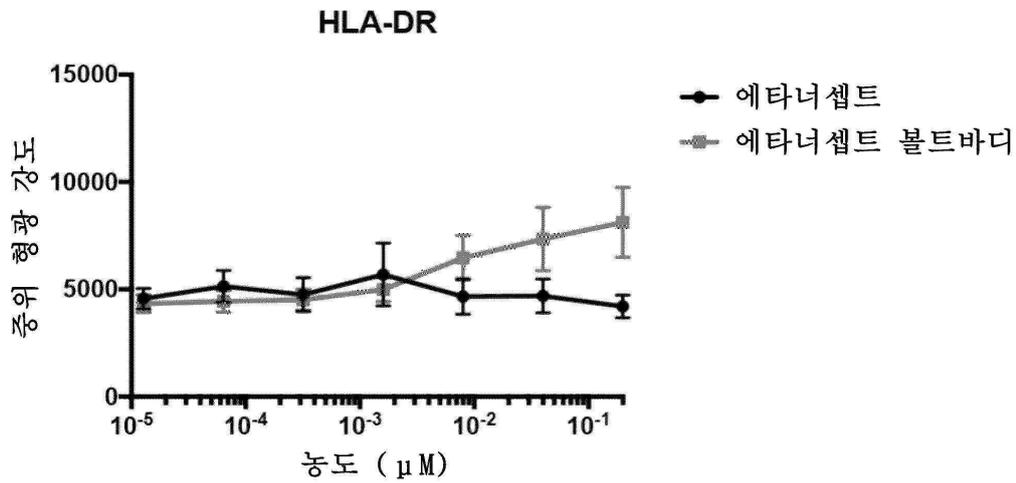
도면83f



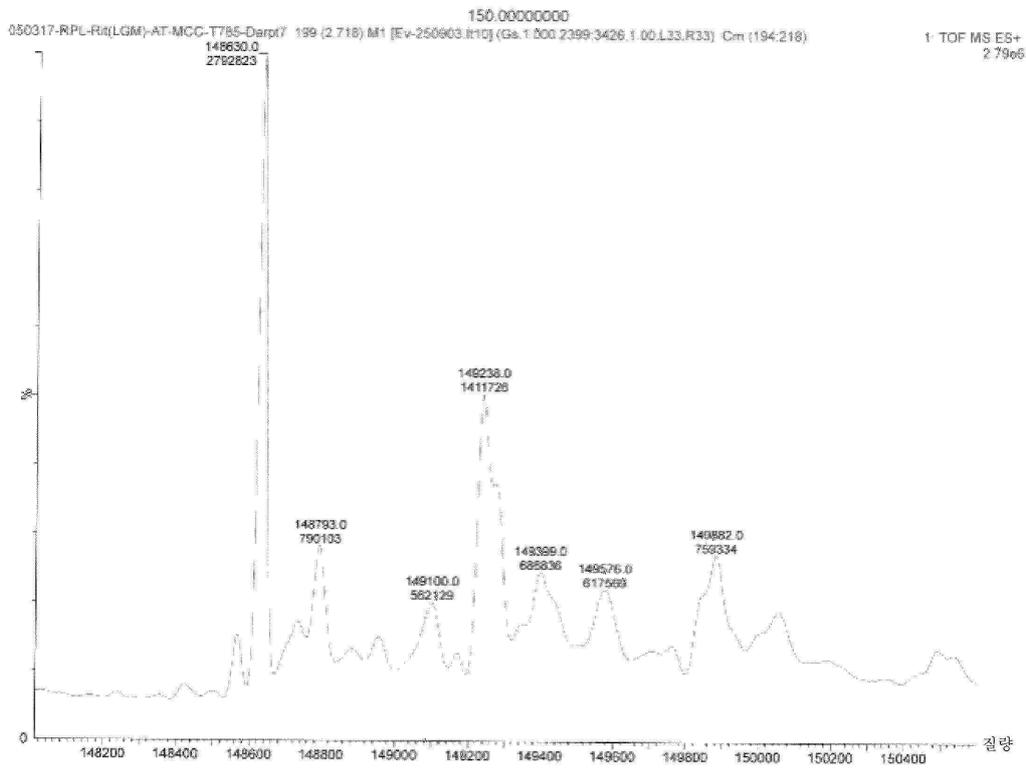
도면83g



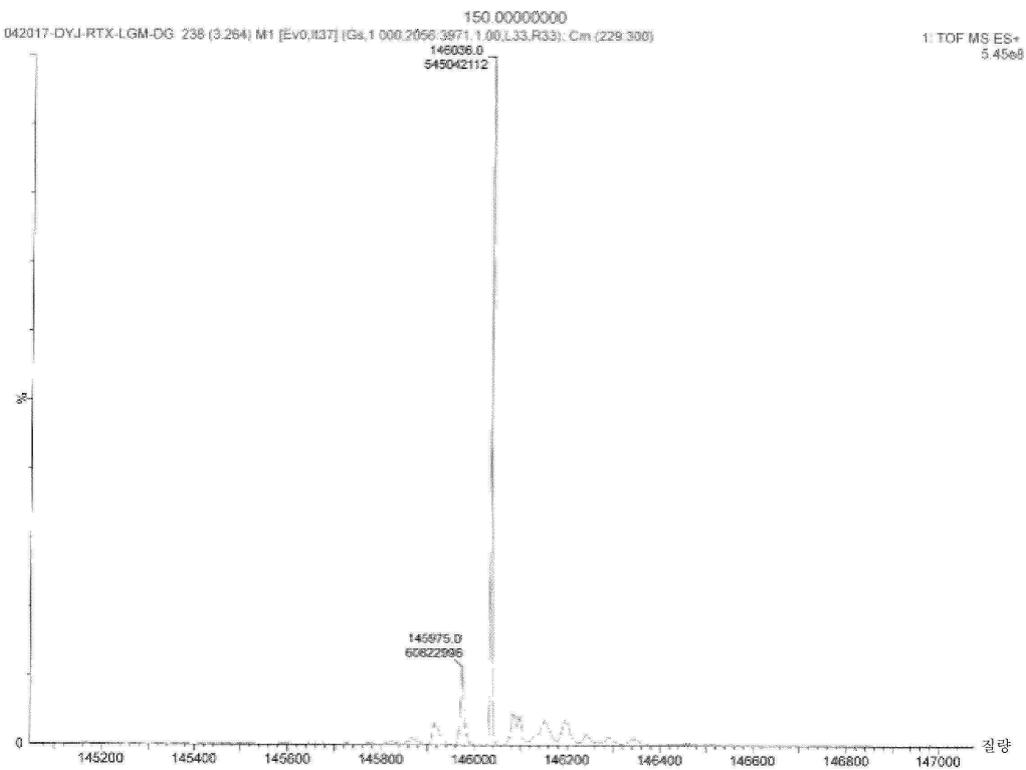
도면83h



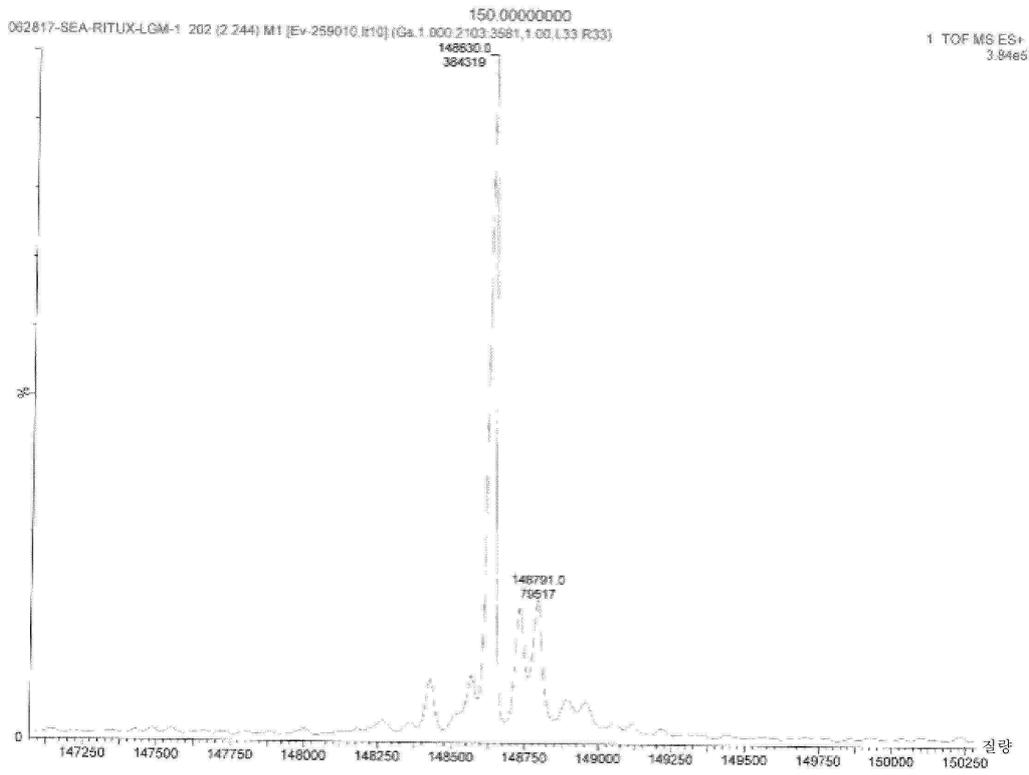
도면 84a



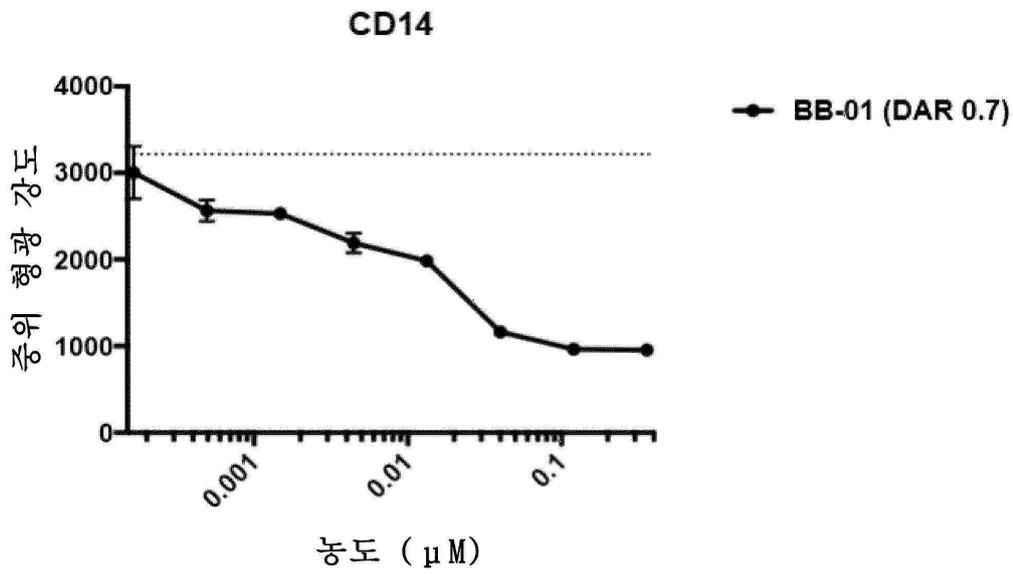
도면 84b



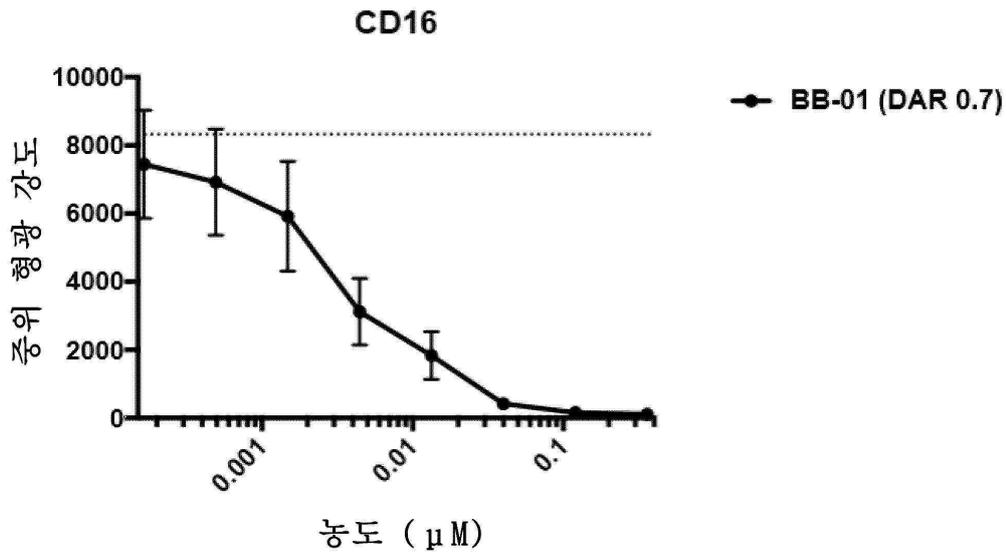
도면84c



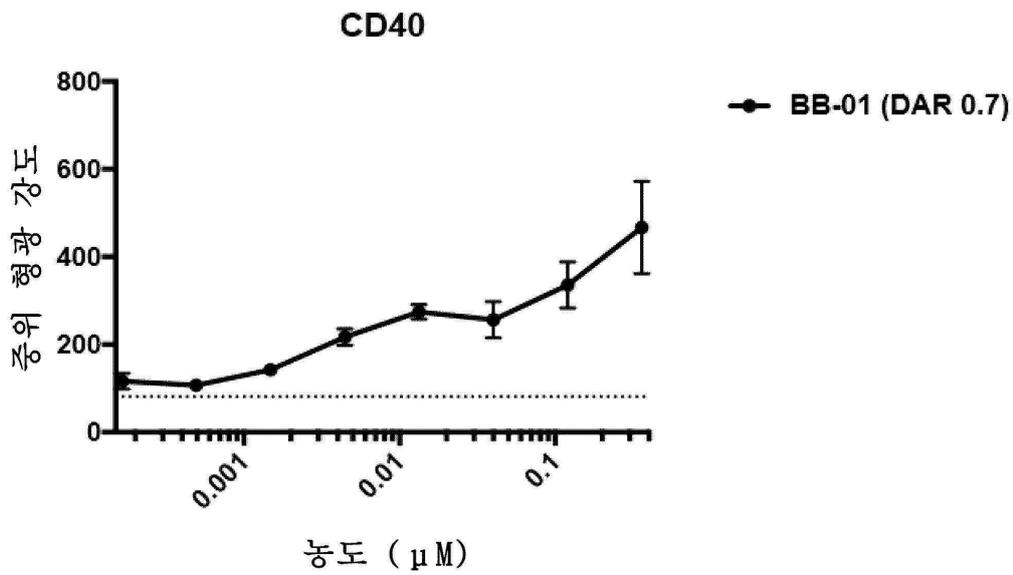
도면84d



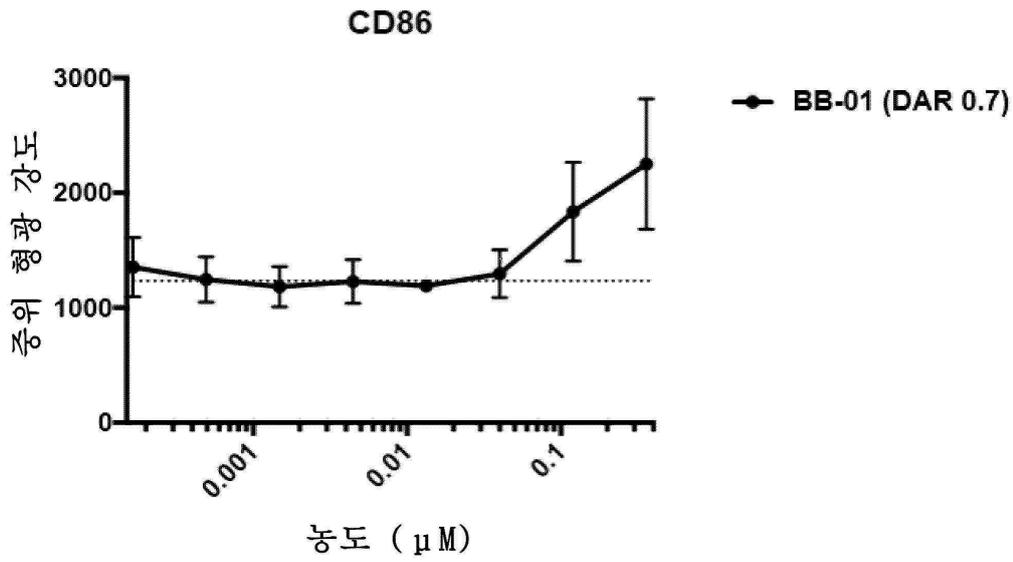
도면84e



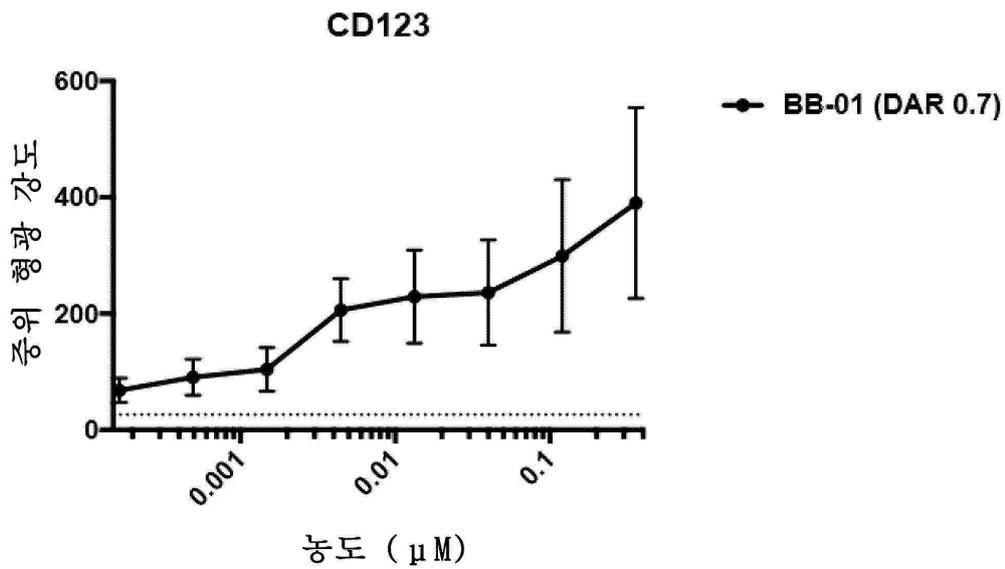
도면84f



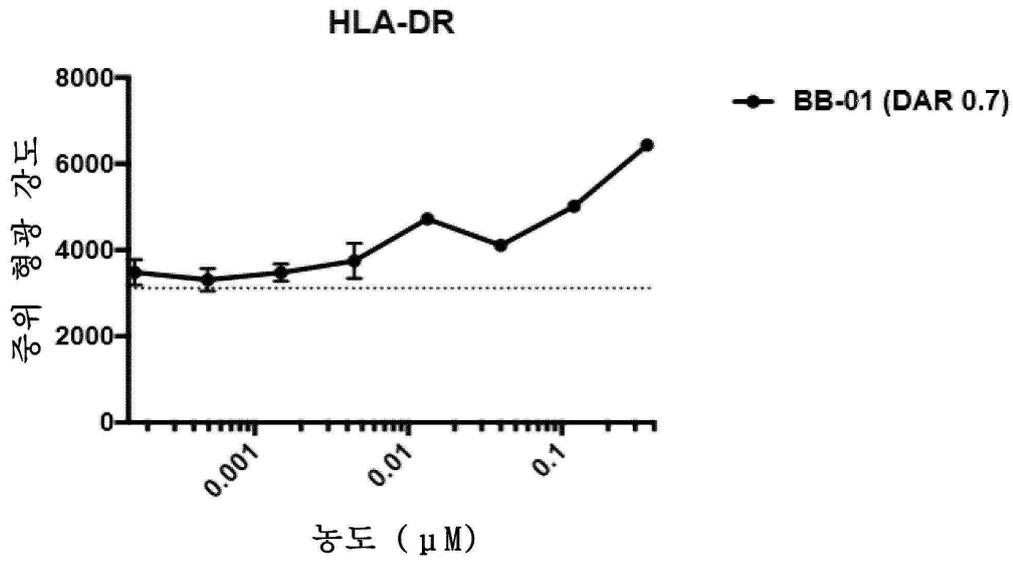
도면84g



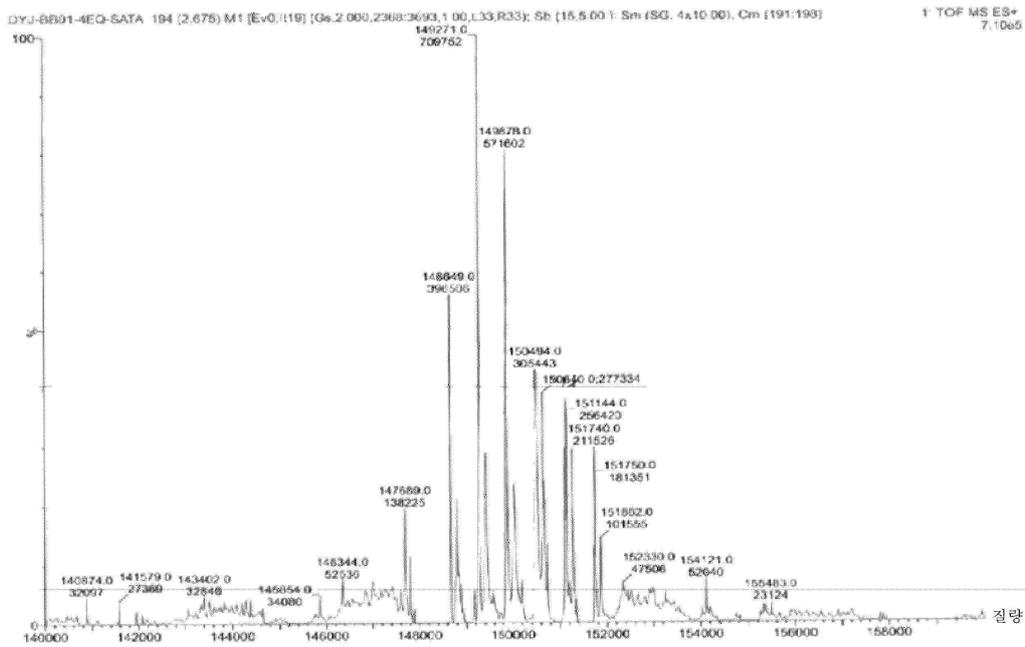
도면84h



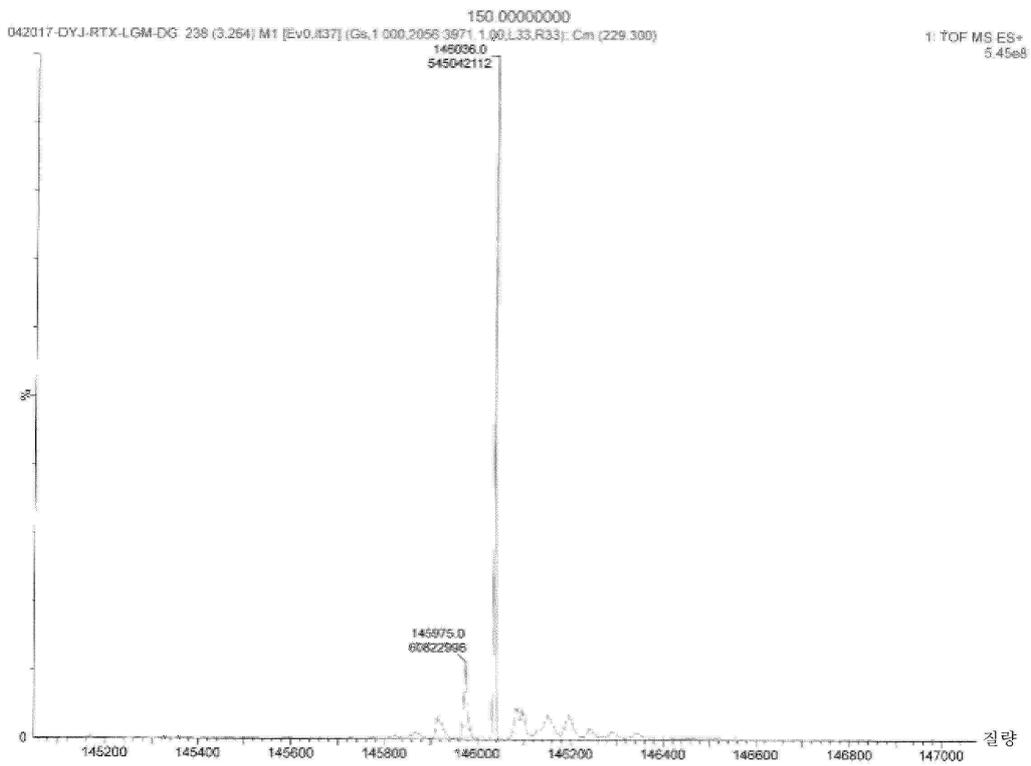
도면84i



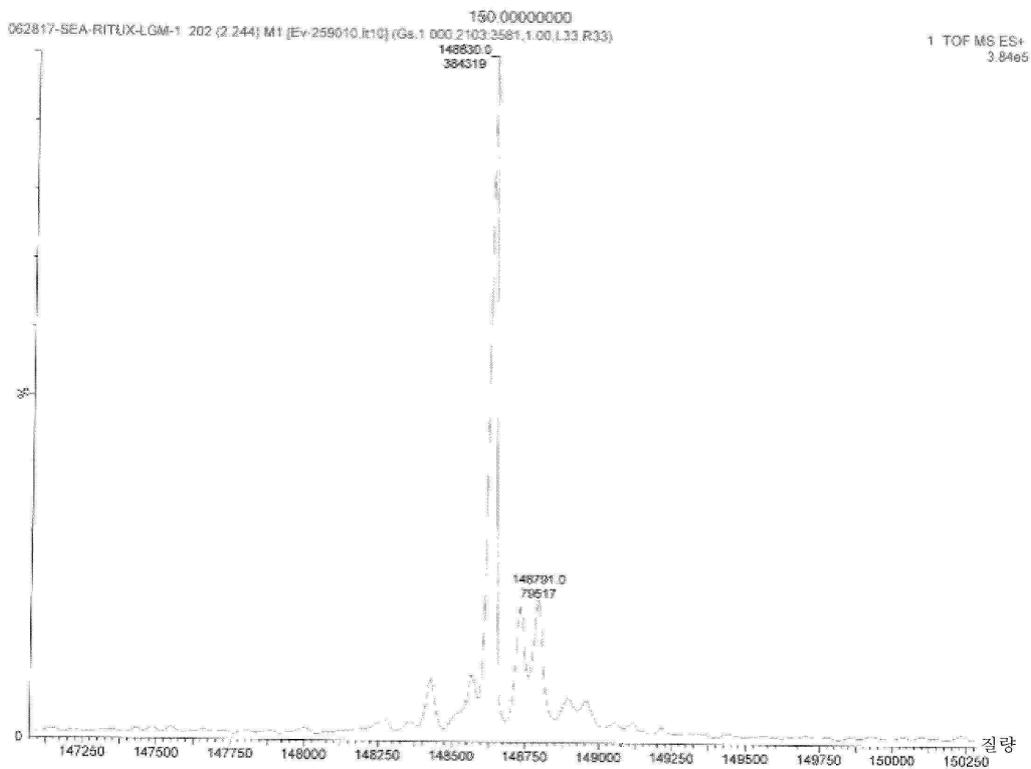
도면85a



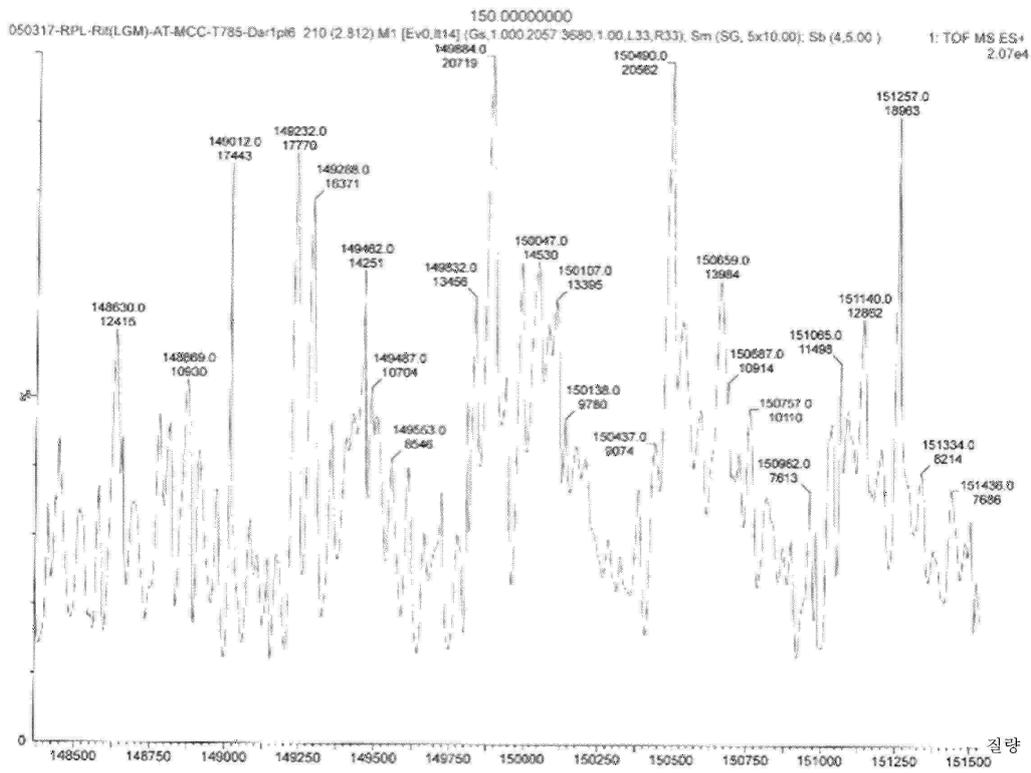
도면 85b



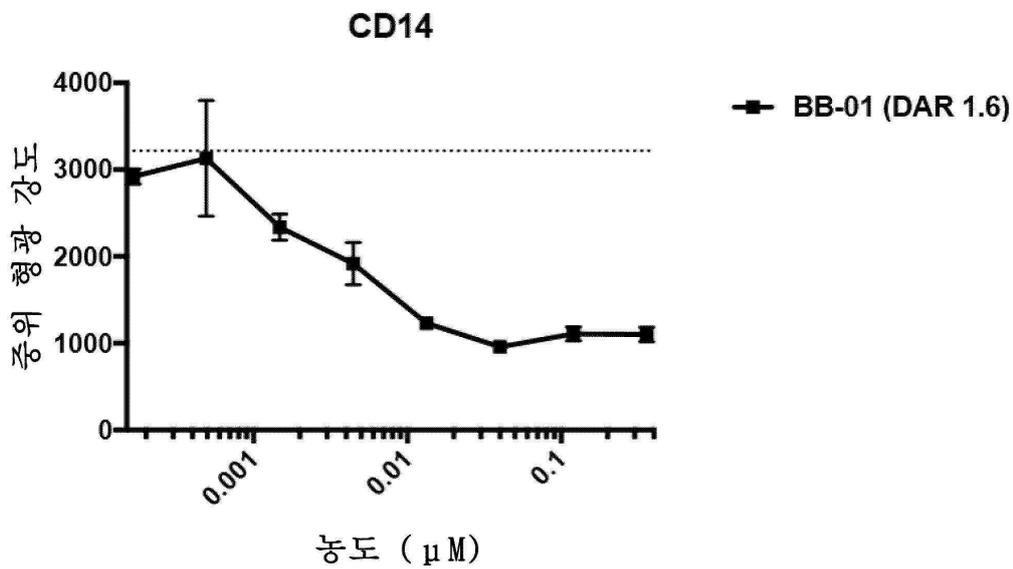
도면 85c



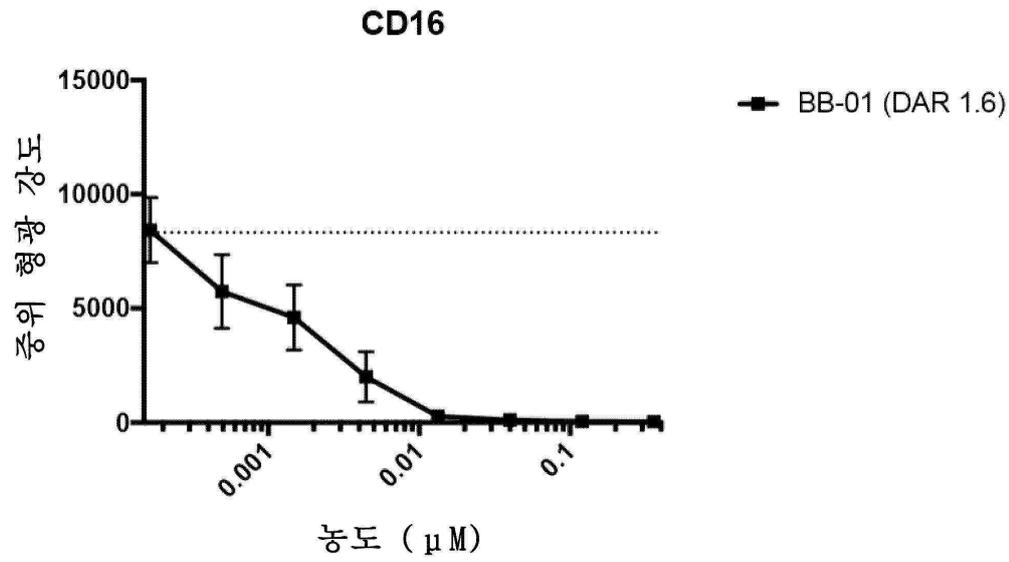
도면85d



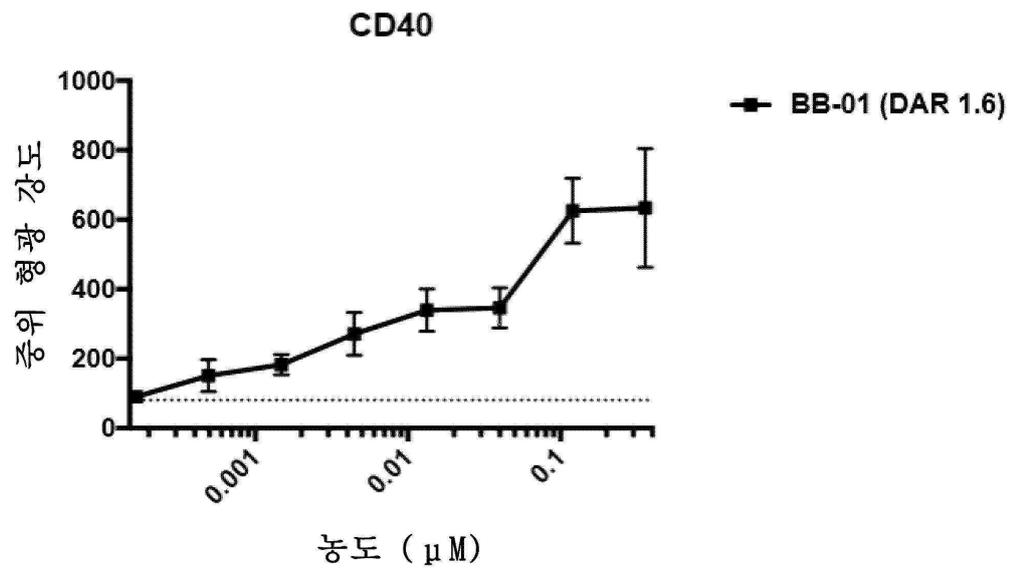
도면85e



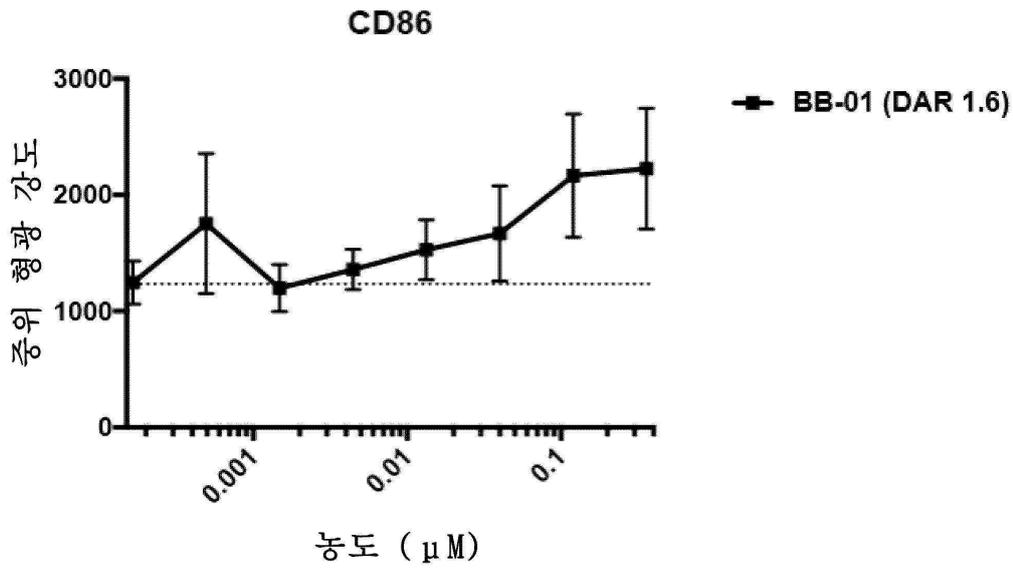
도면85f



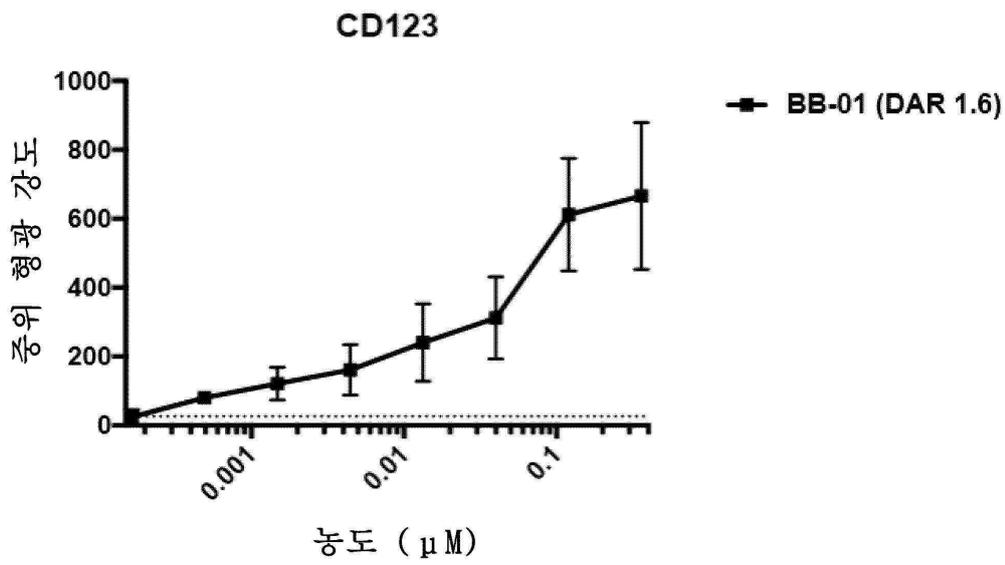
도면85g



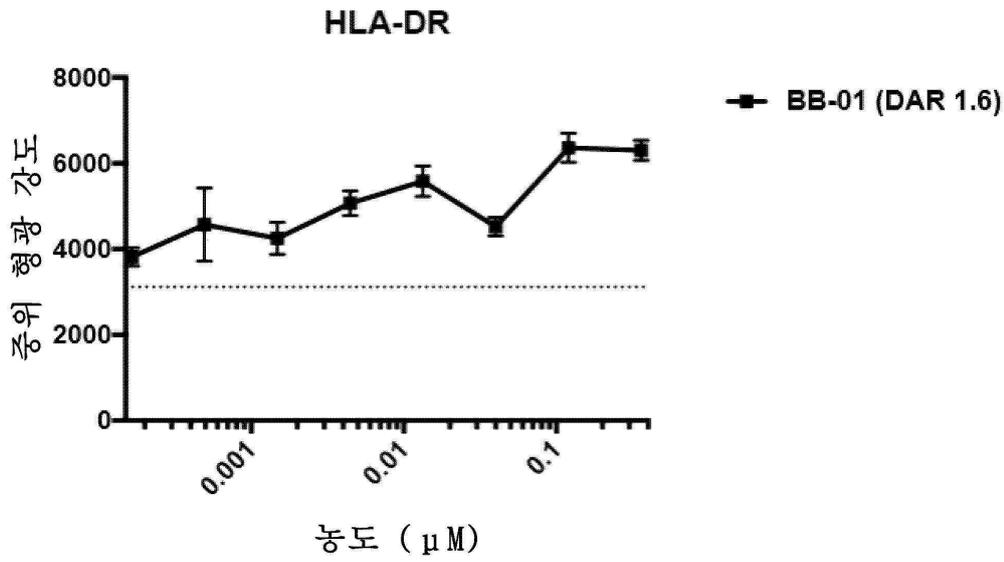
도면85h



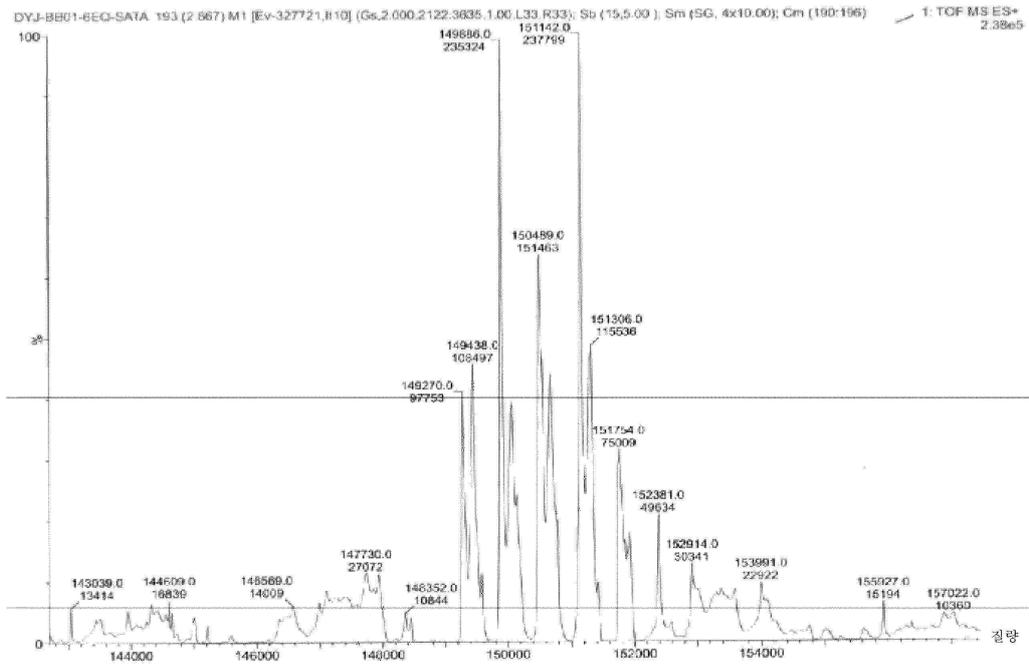
도면85i



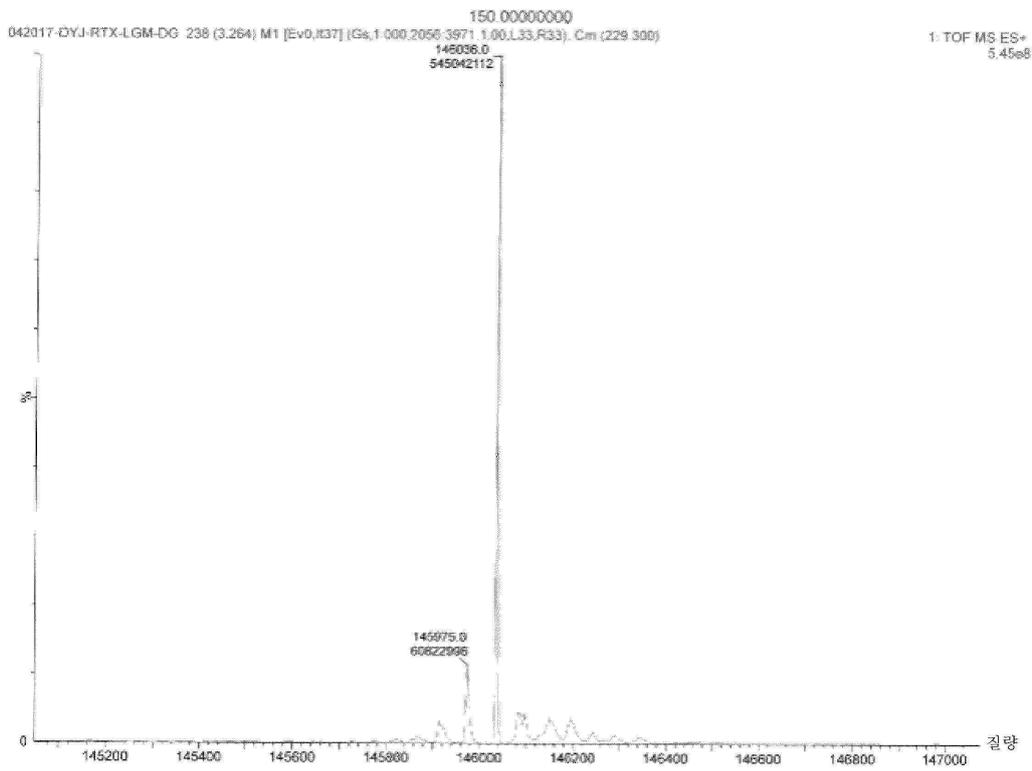
도면85j



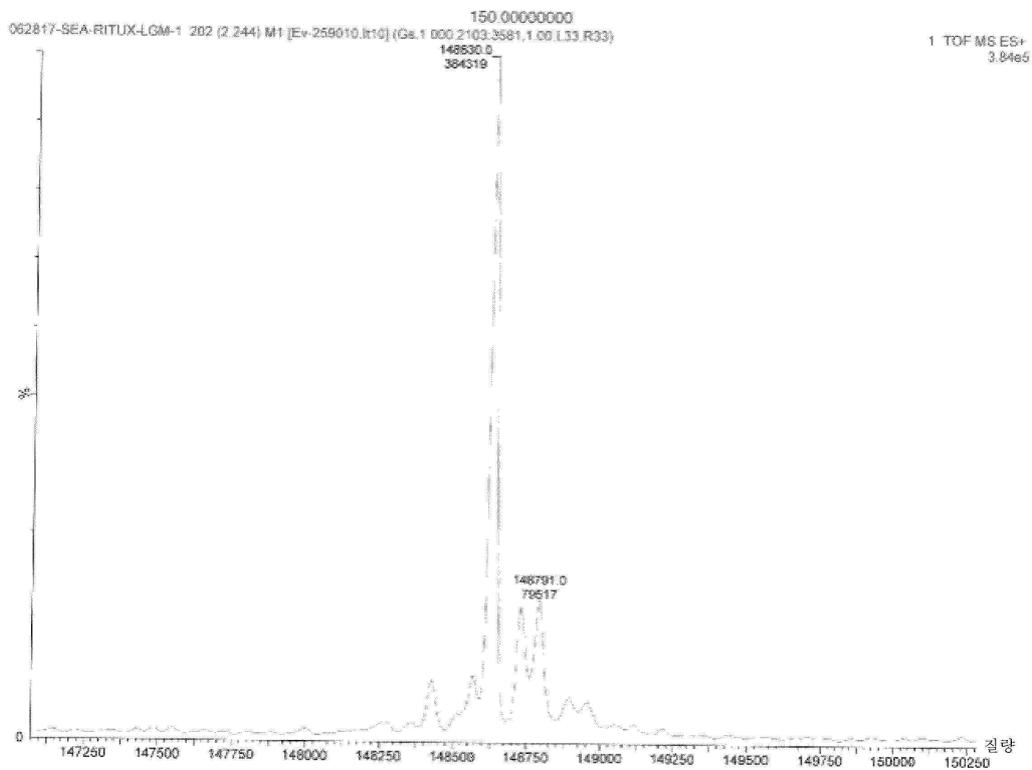
도면86a



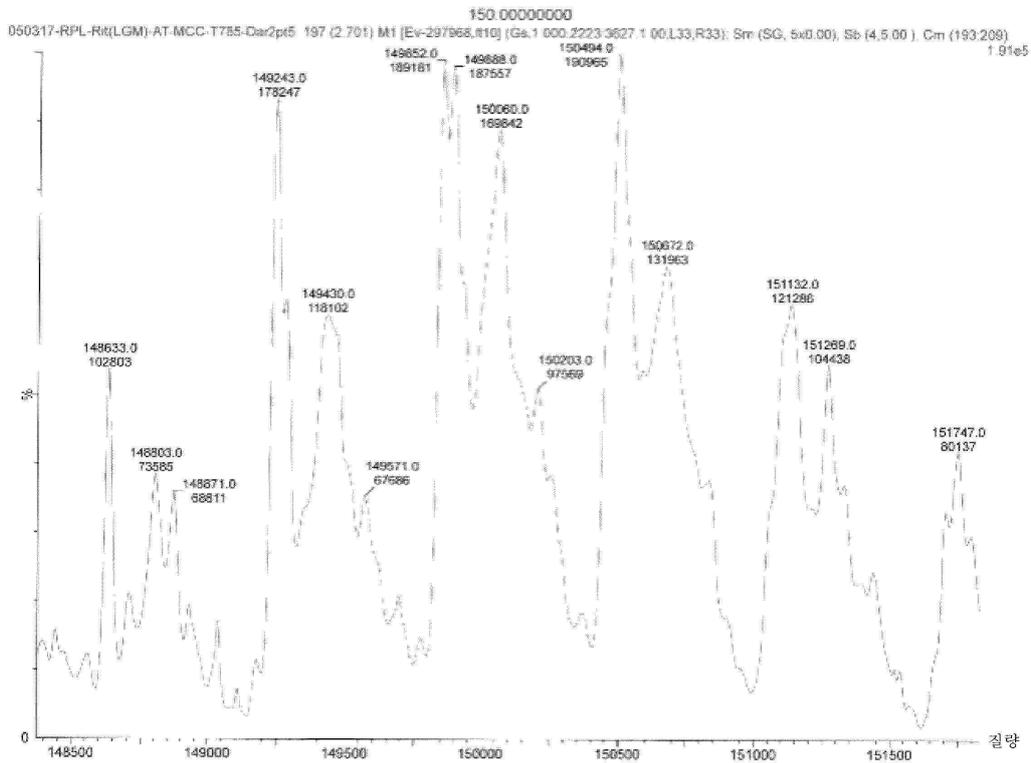
도면 86b



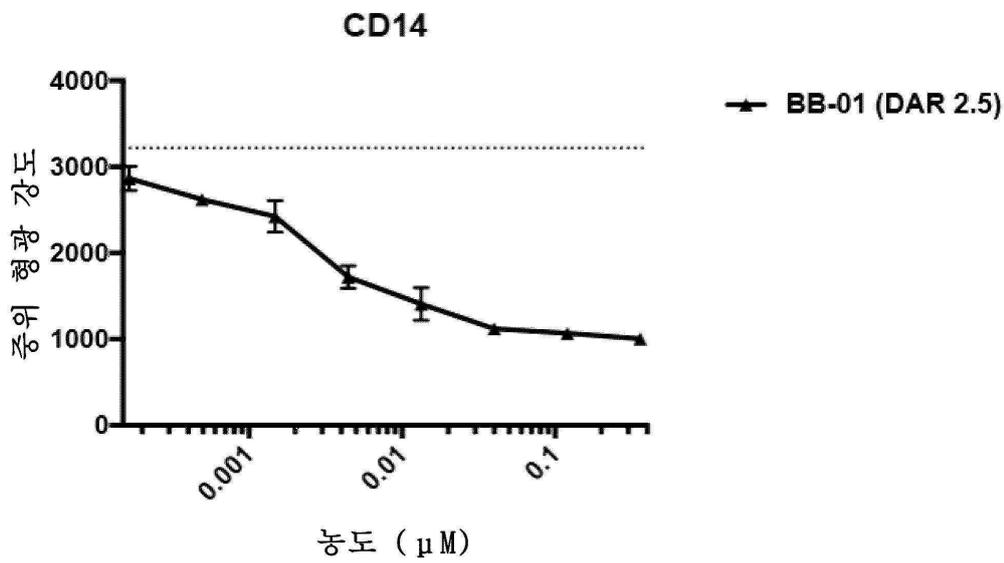
도면 86c



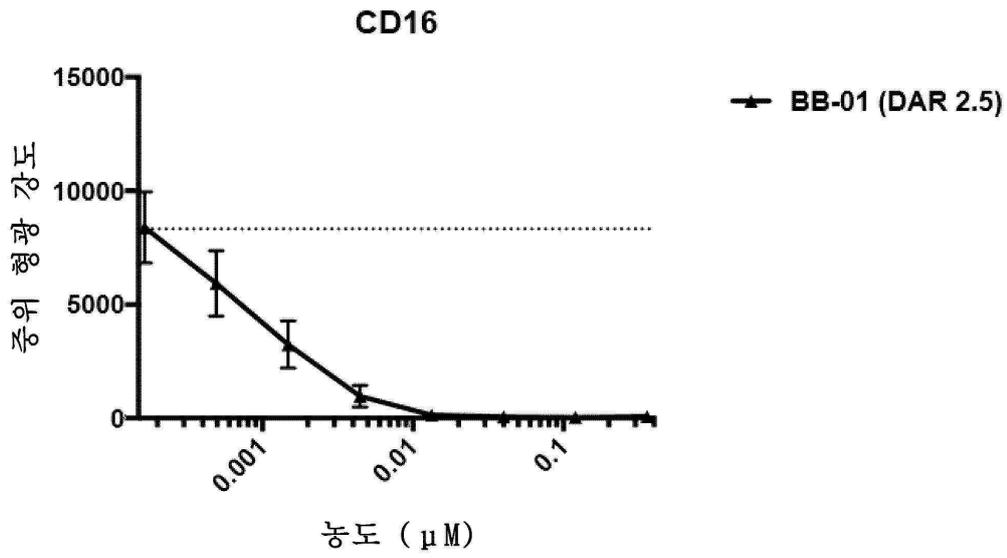
도면86d



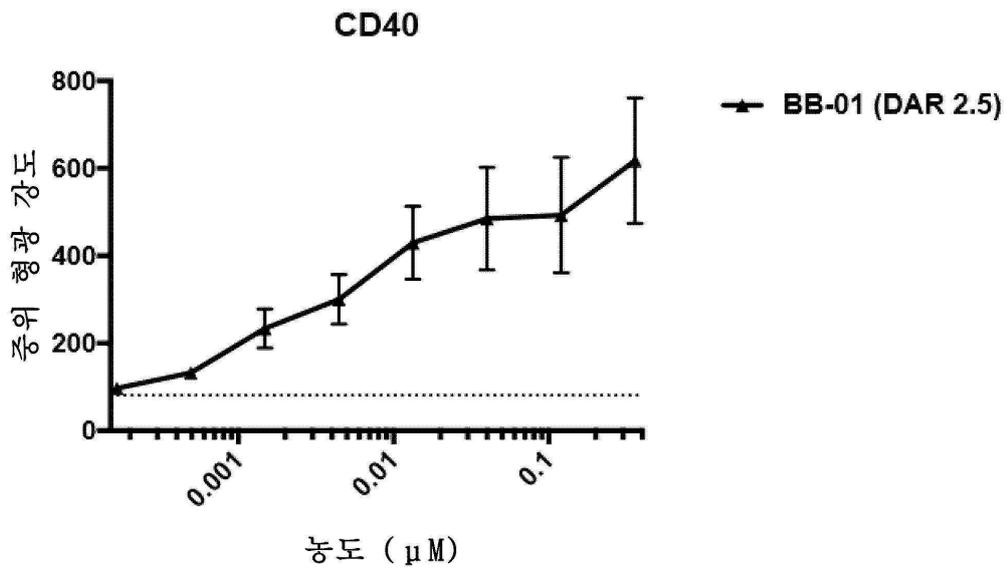
도면86e



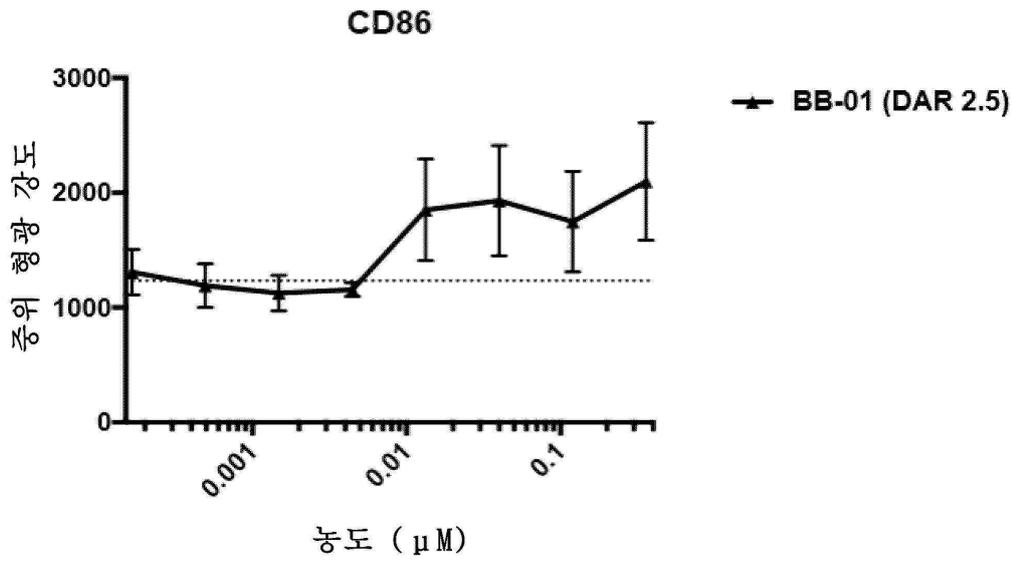
도면86f



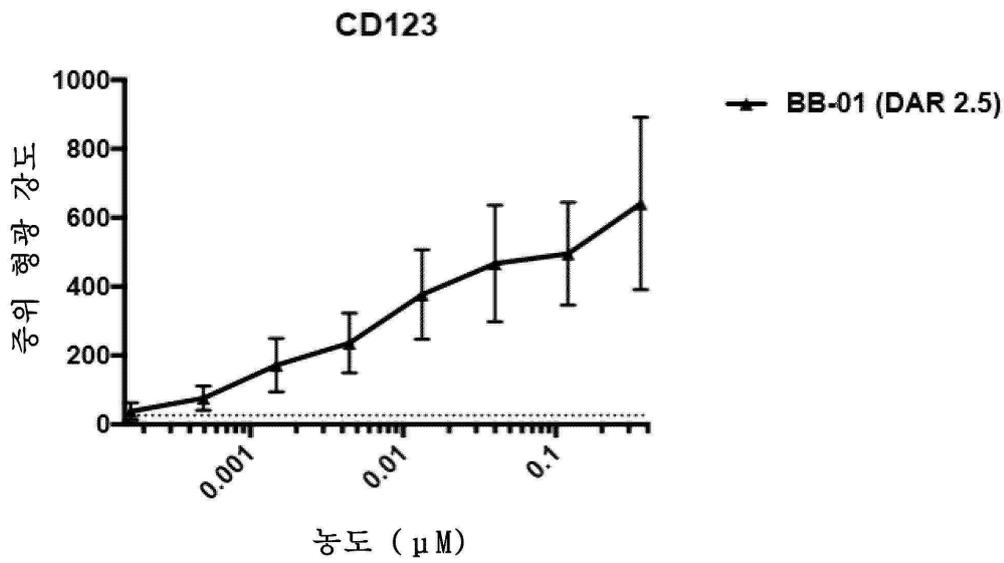
도면86g



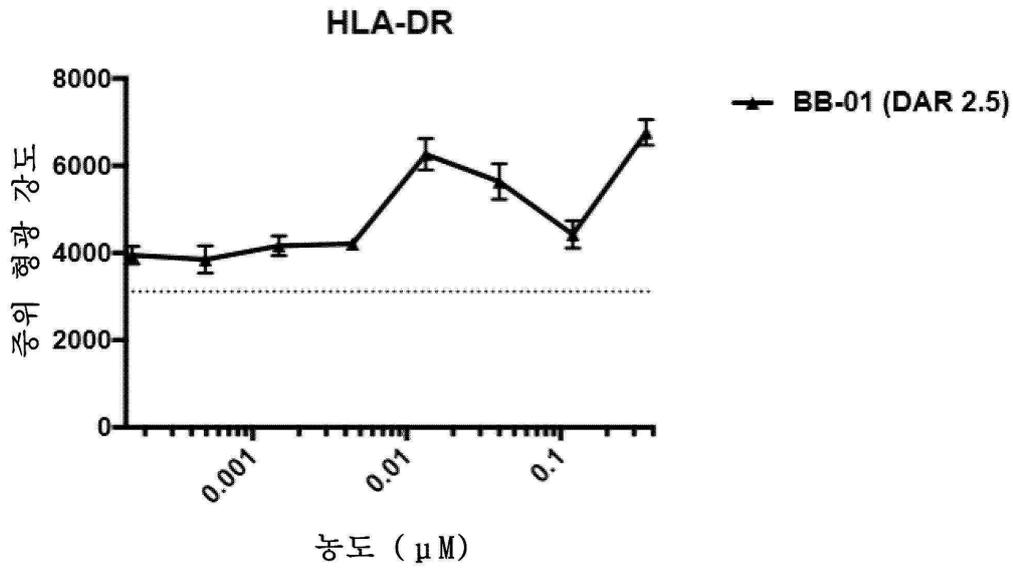
도면86h



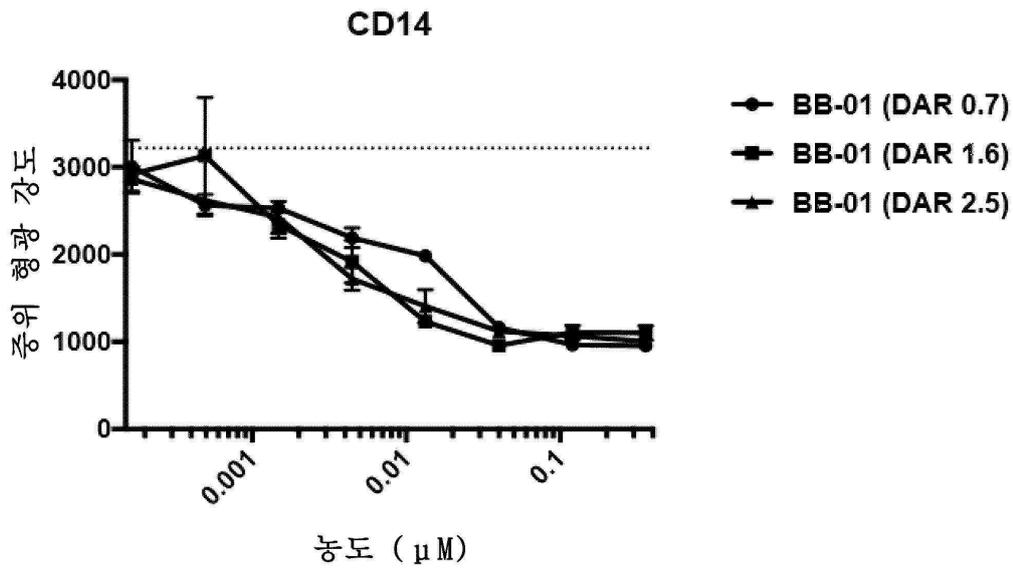
도면86i



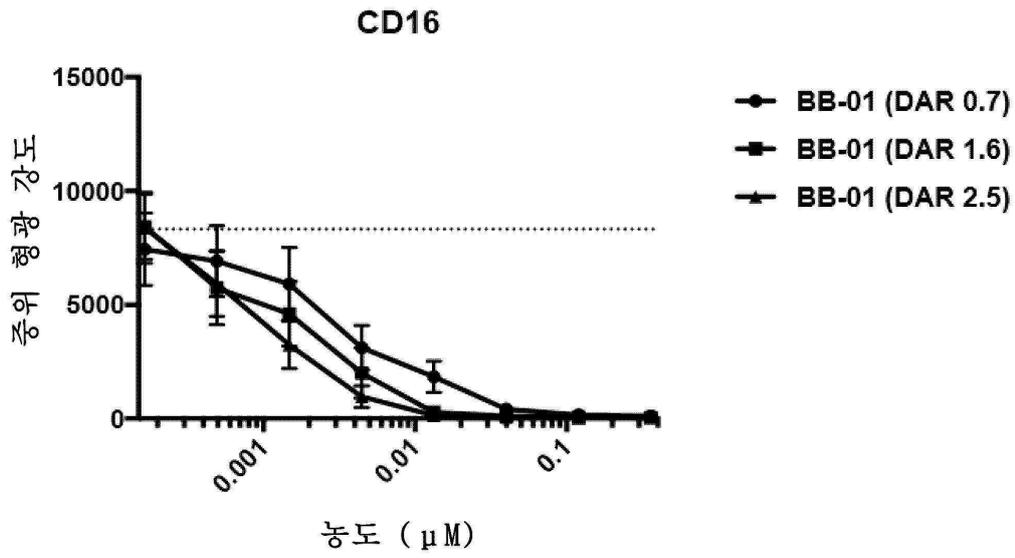
도면86j



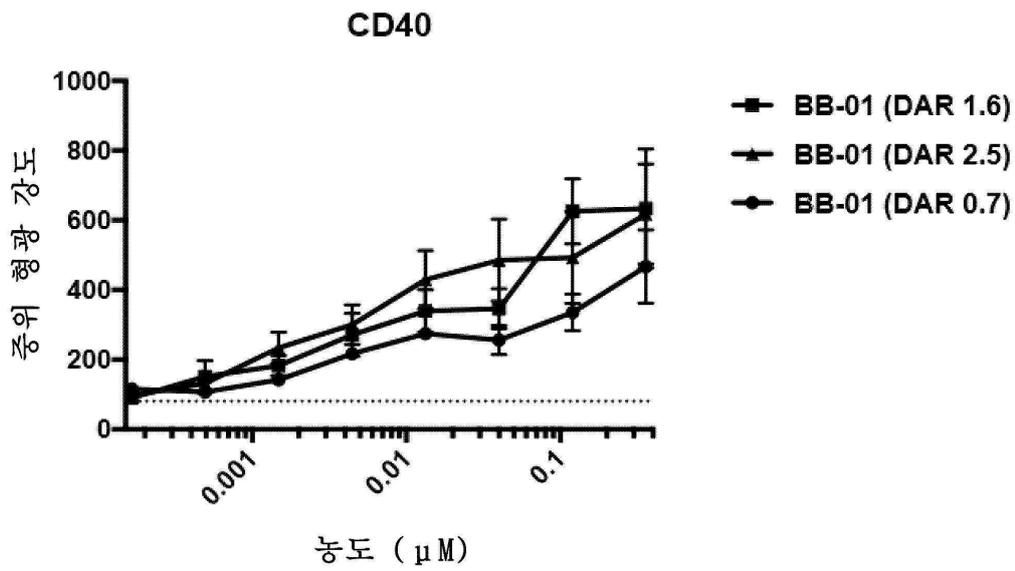
도면87a



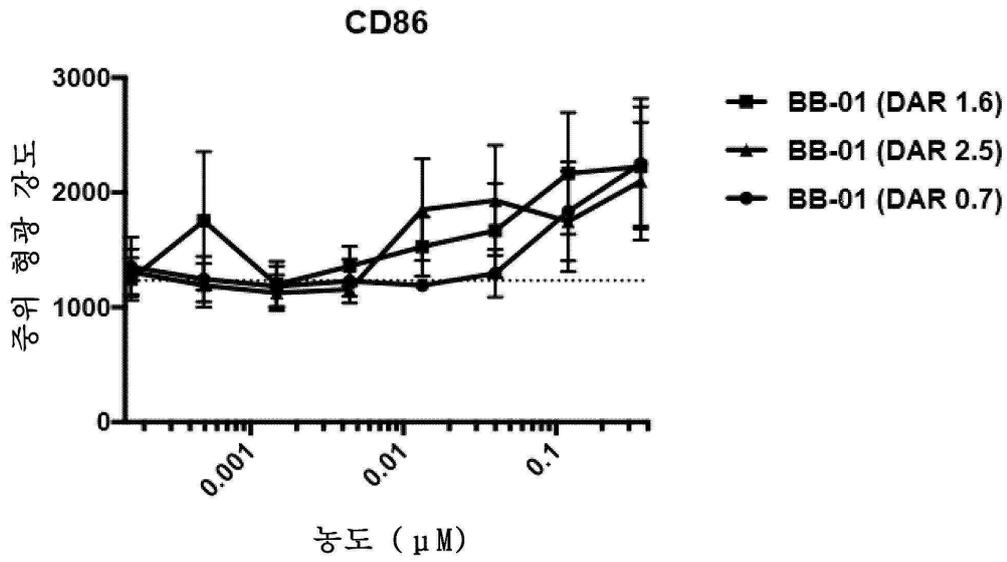
도면87b



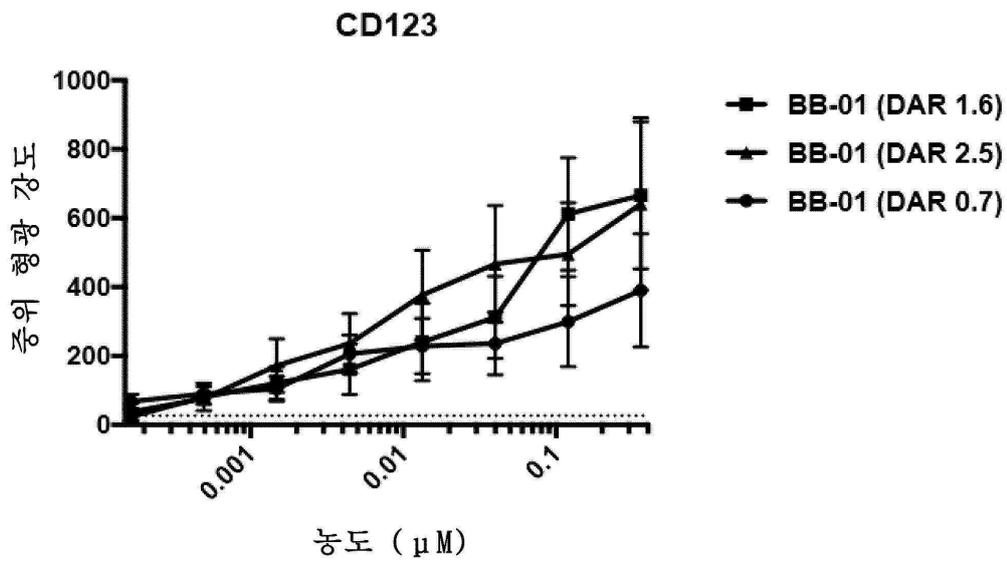
도면87c



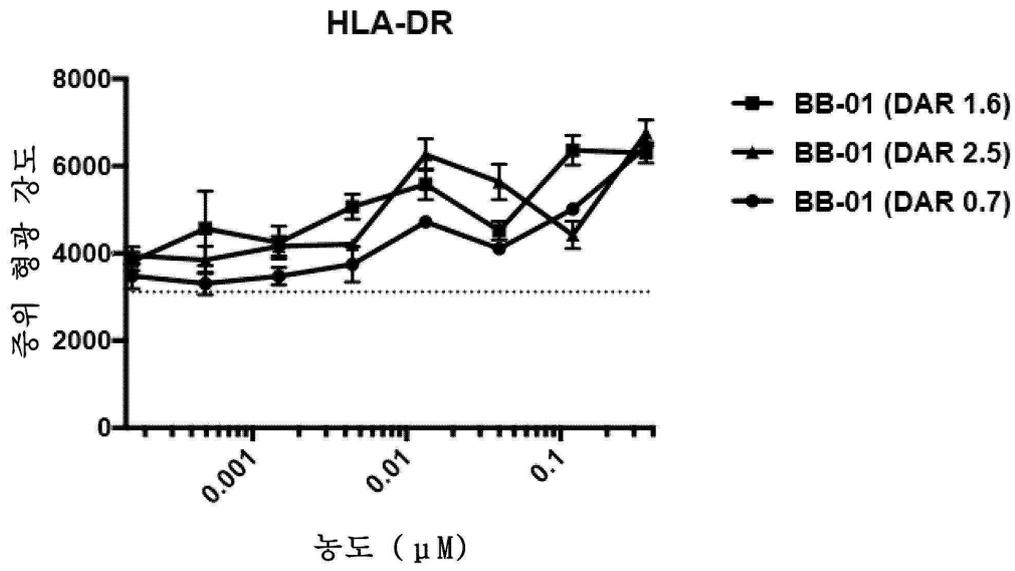
도면87d



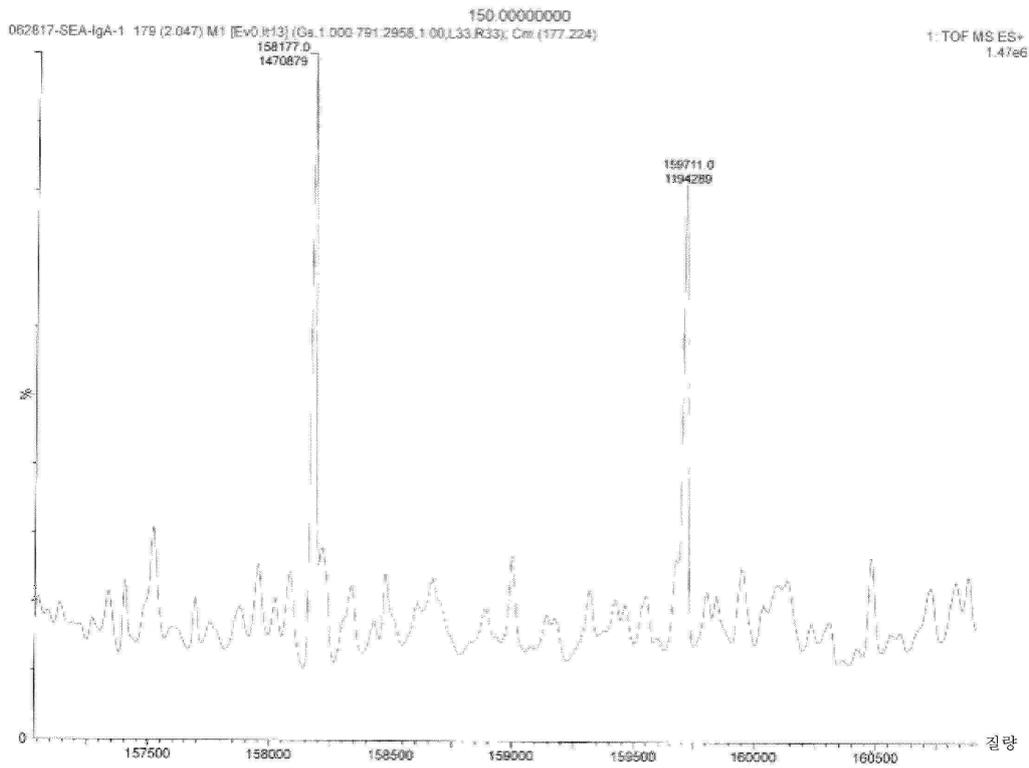
도면87e



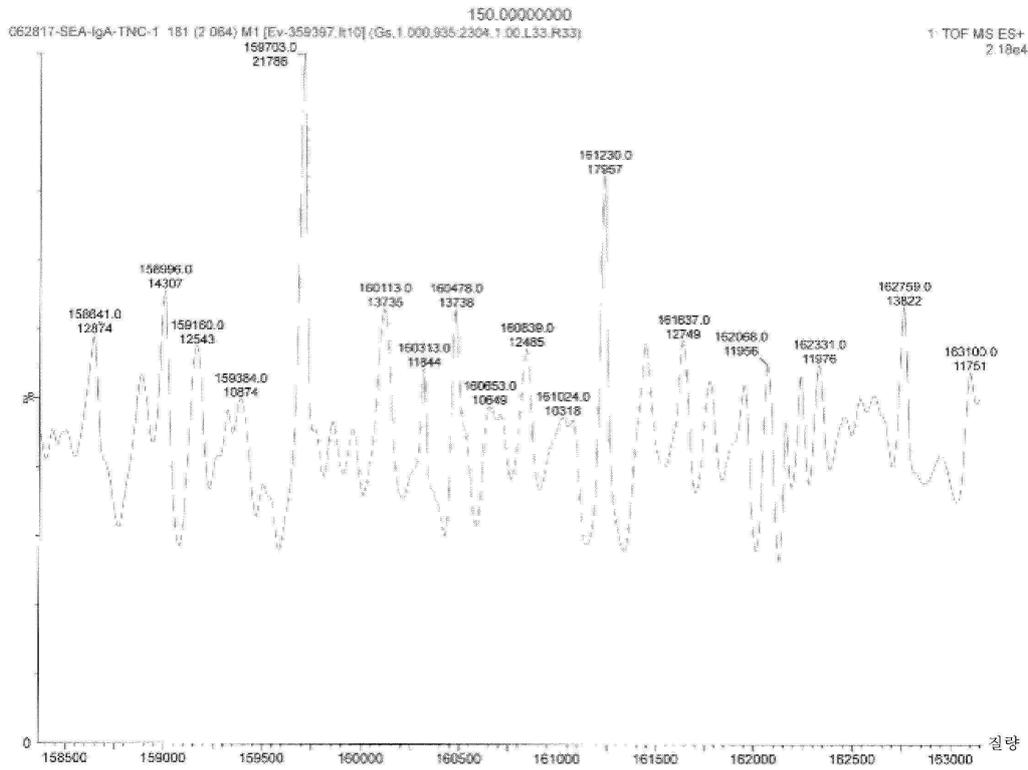
도면87f



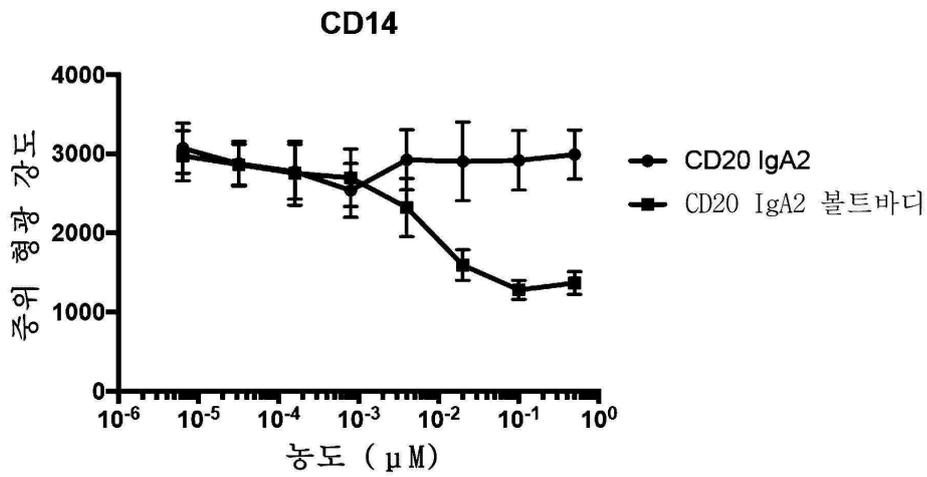
도면88a



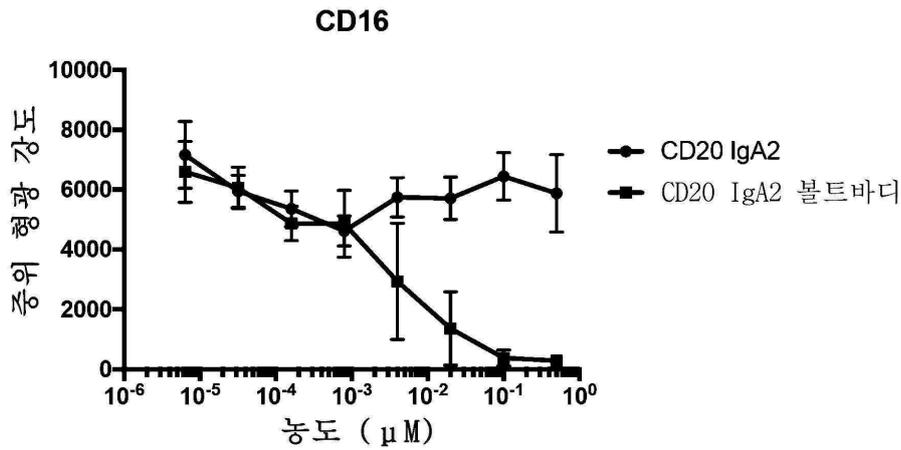
도면88b



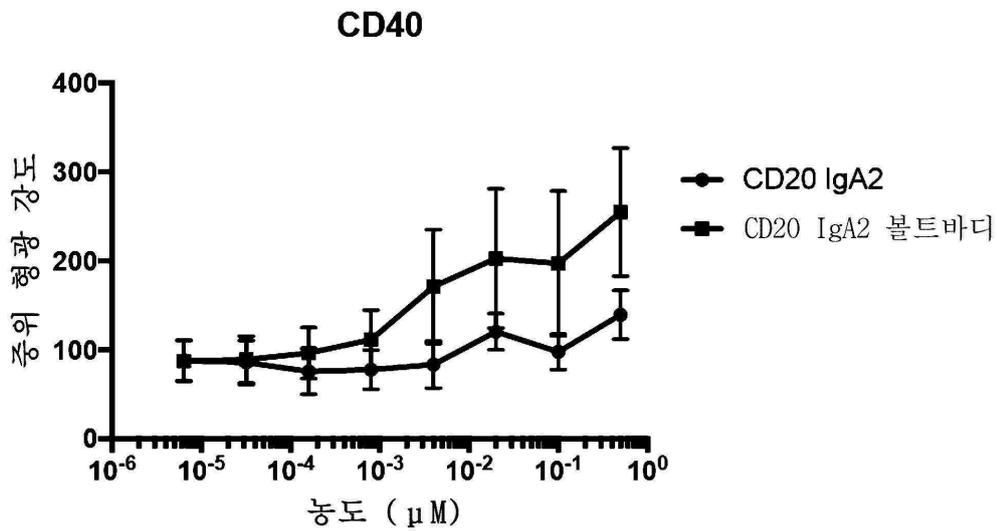
도면88c



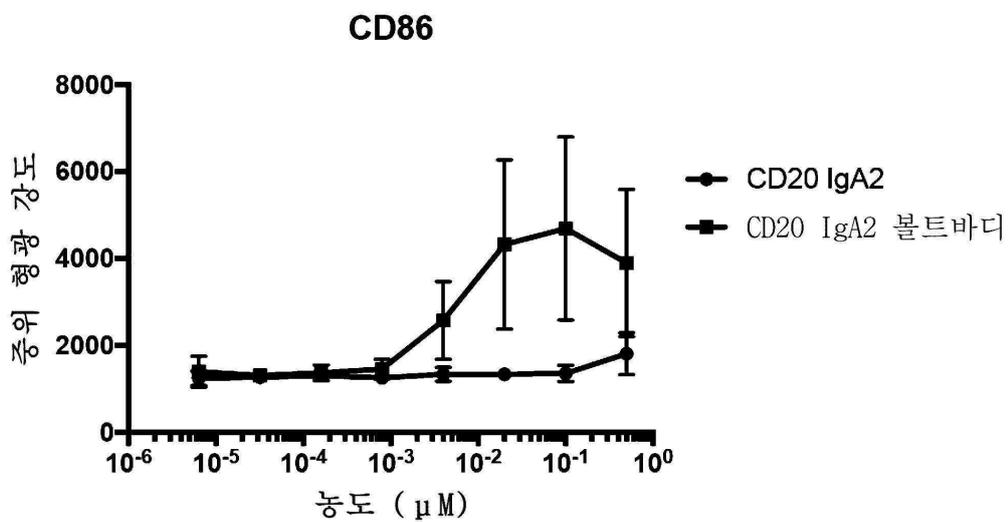
도면88d



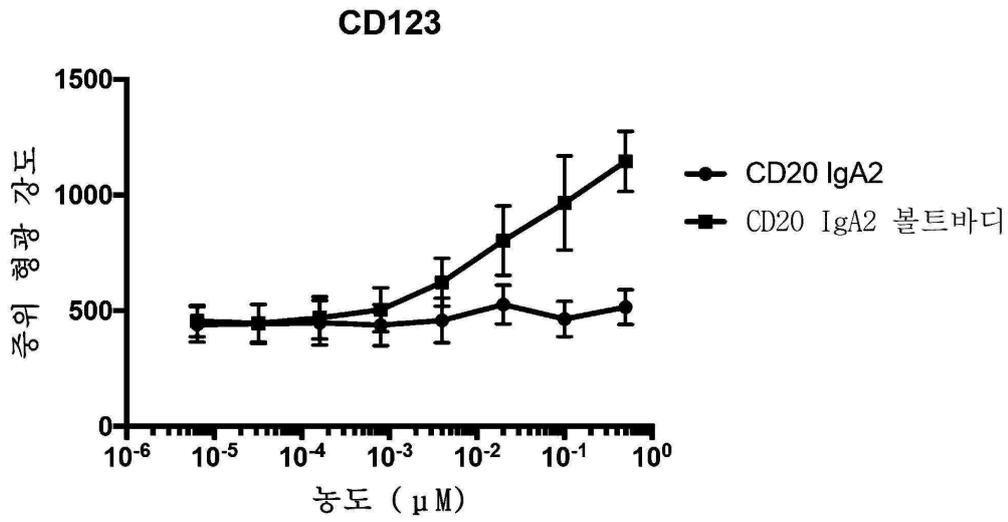
도면88e



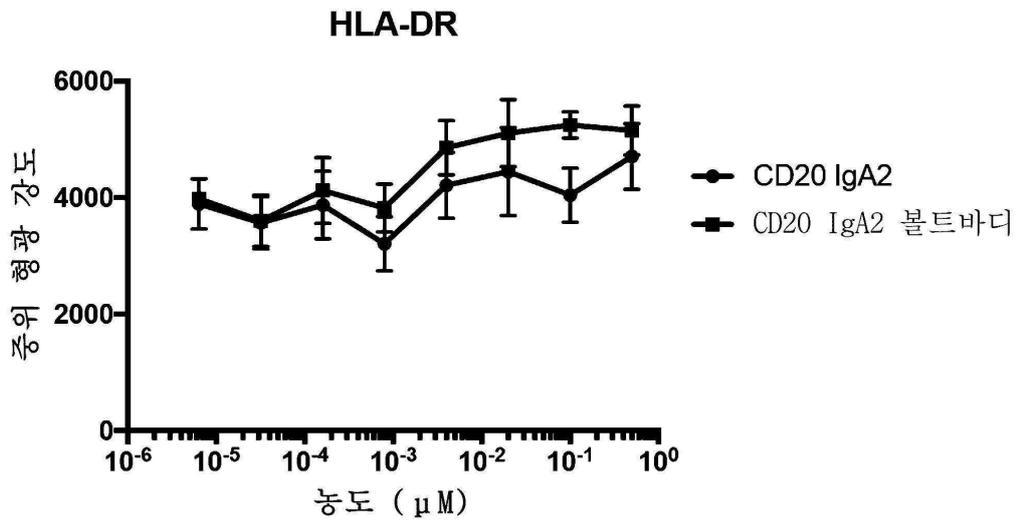
도면88f



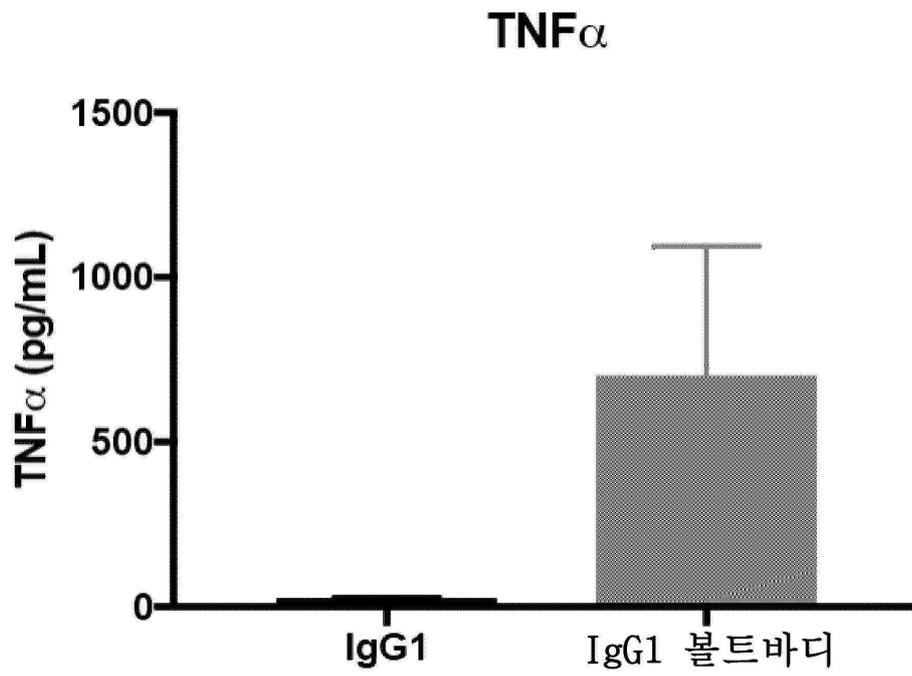
도면88g



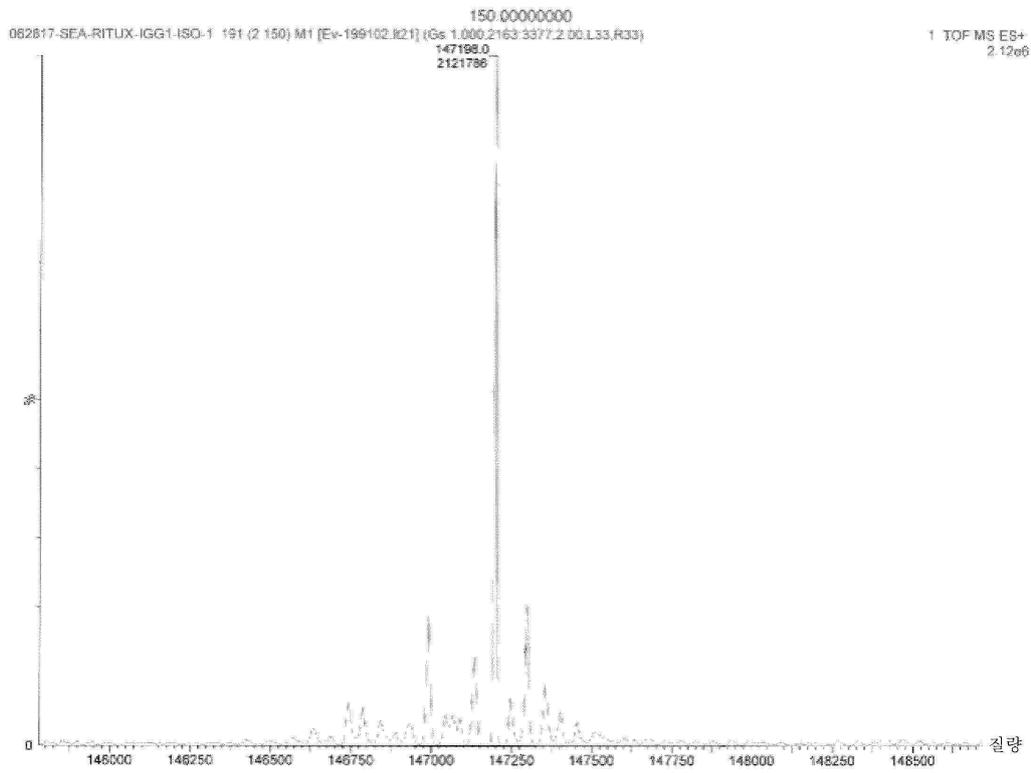
도면88h



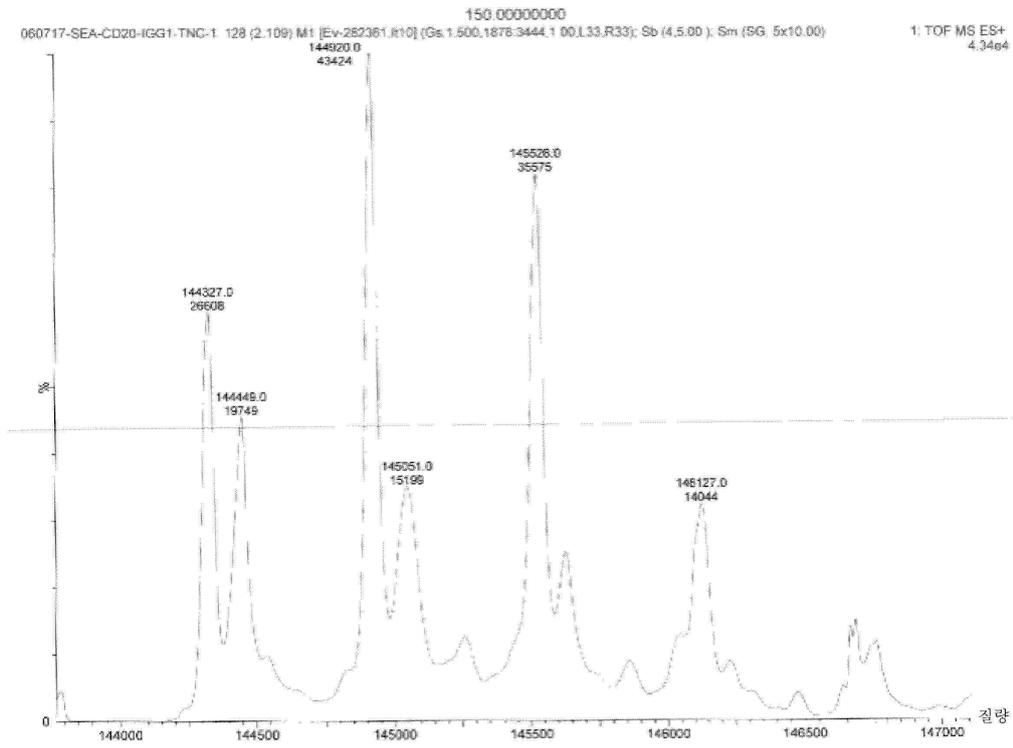
도면89a



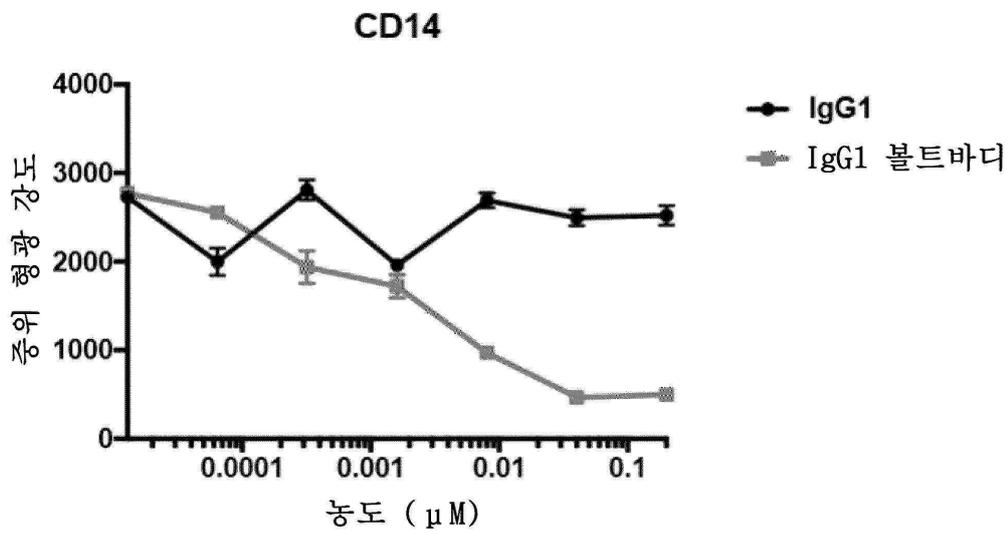
도면89b



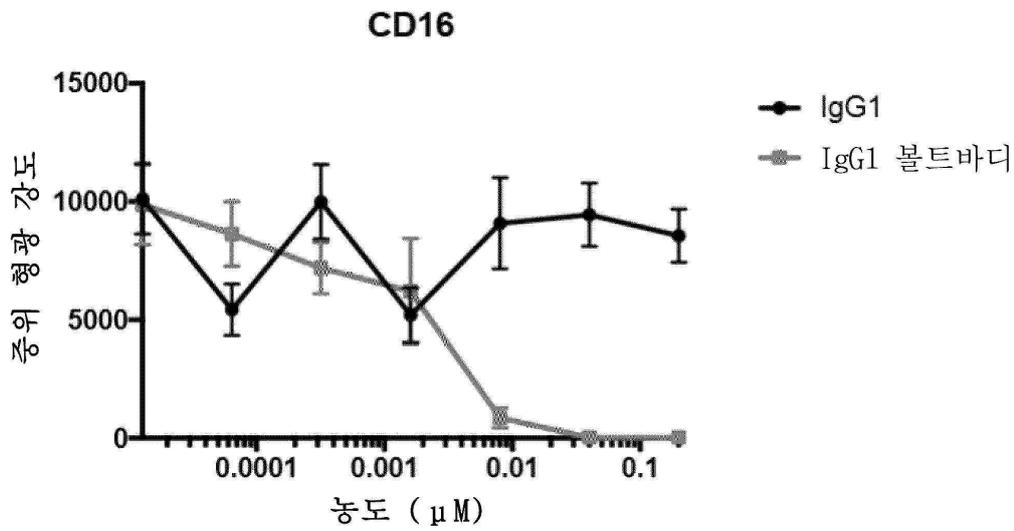
도면89c



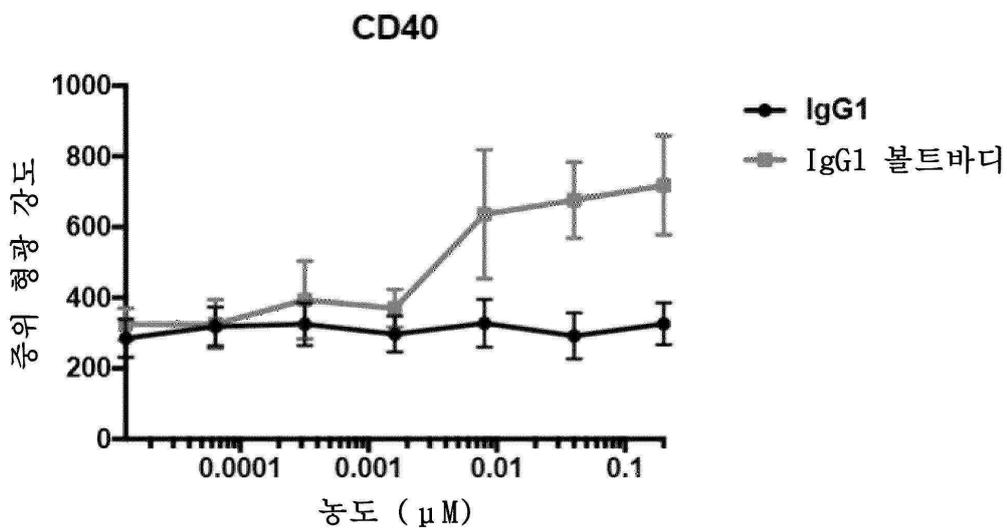
도면89d



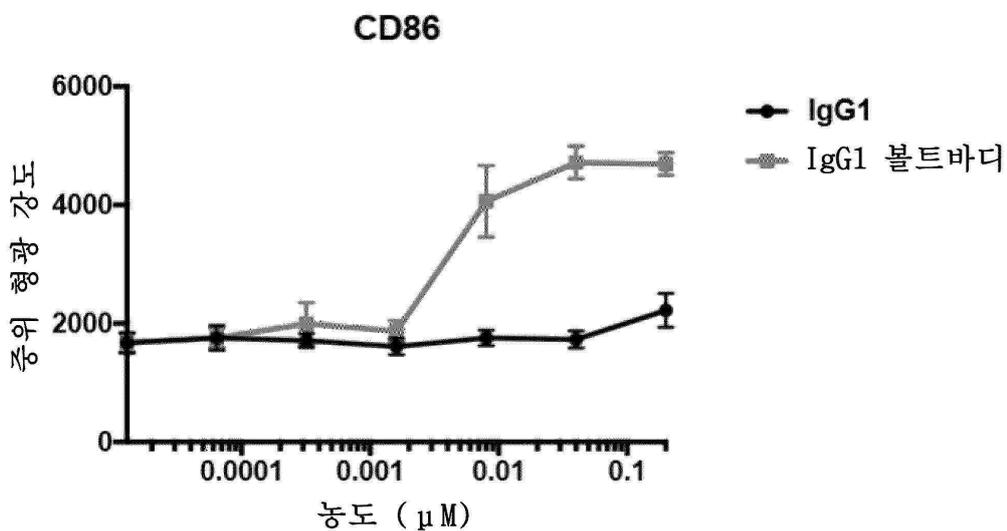
도면89e



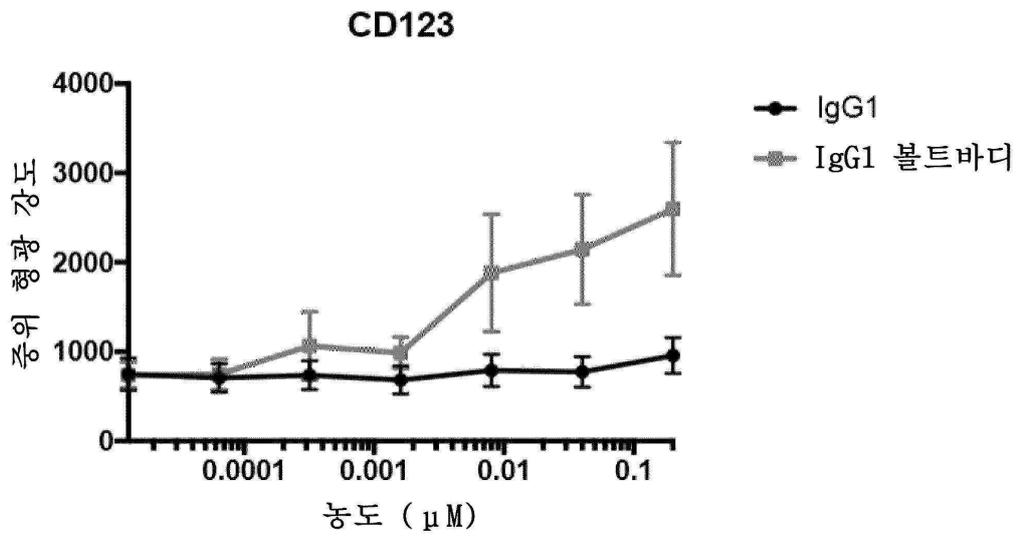
도면89f



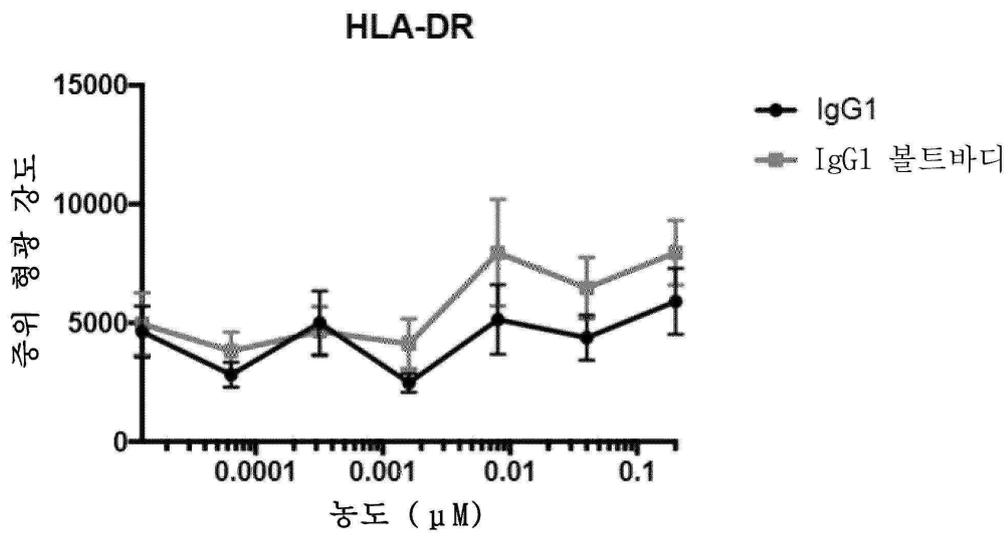
도면89g



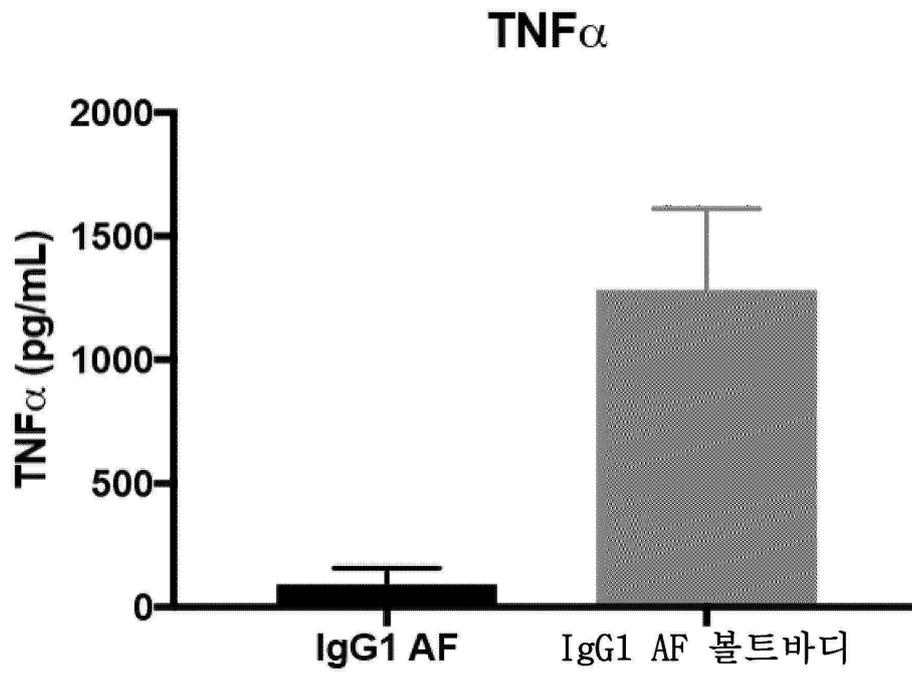
도면89h



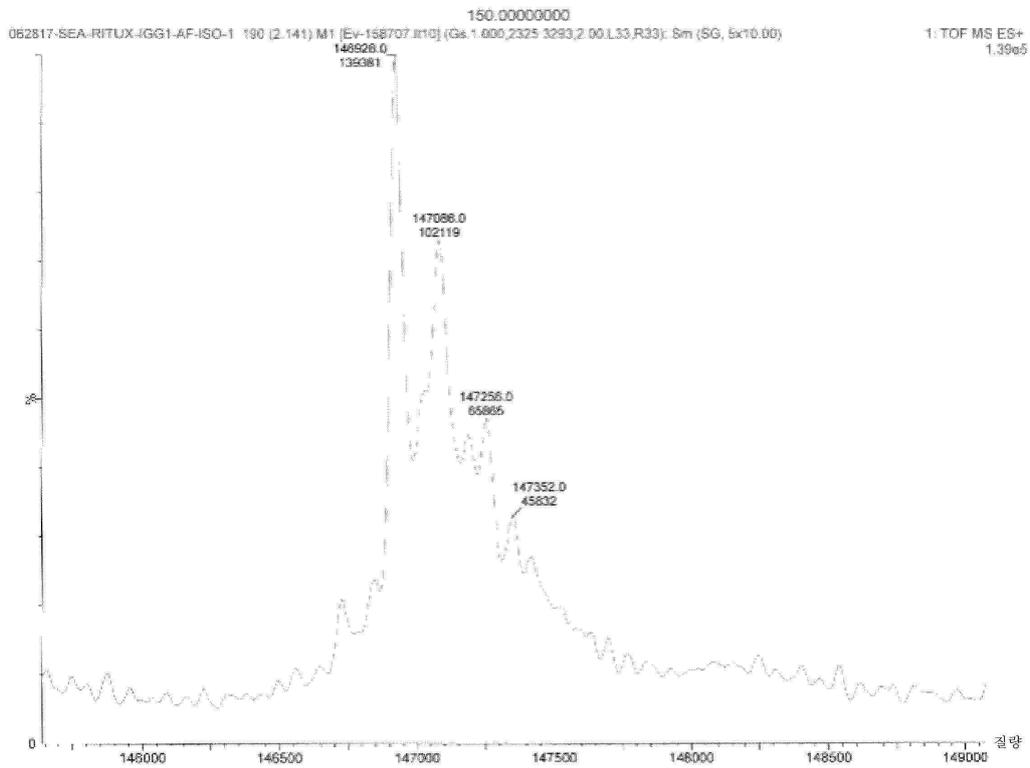
도면89i



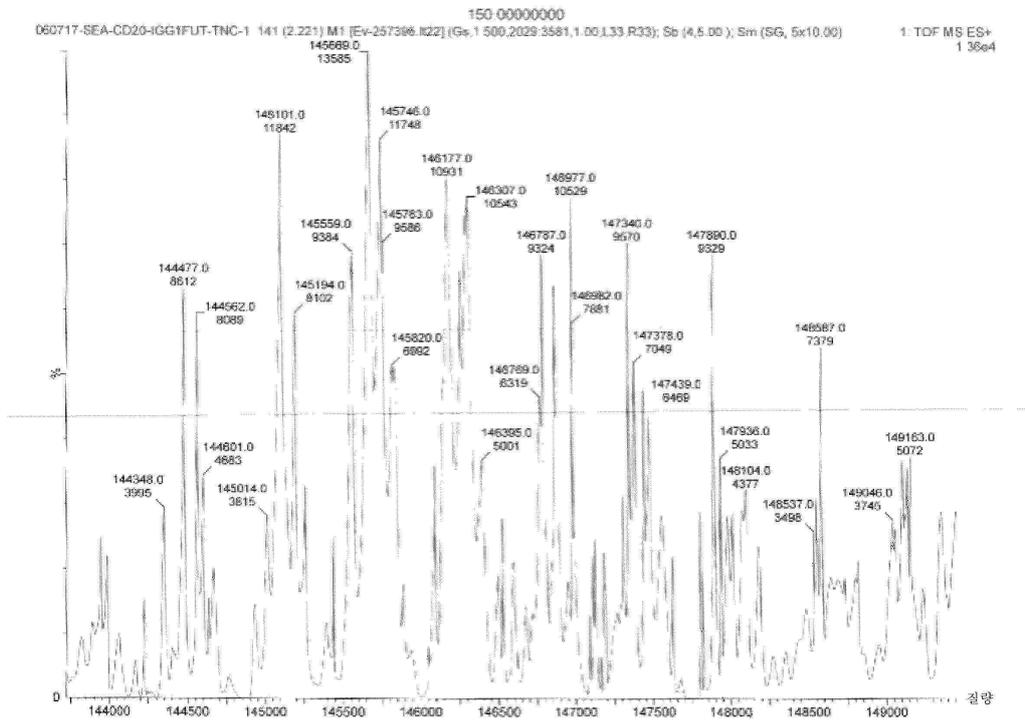
도면90a



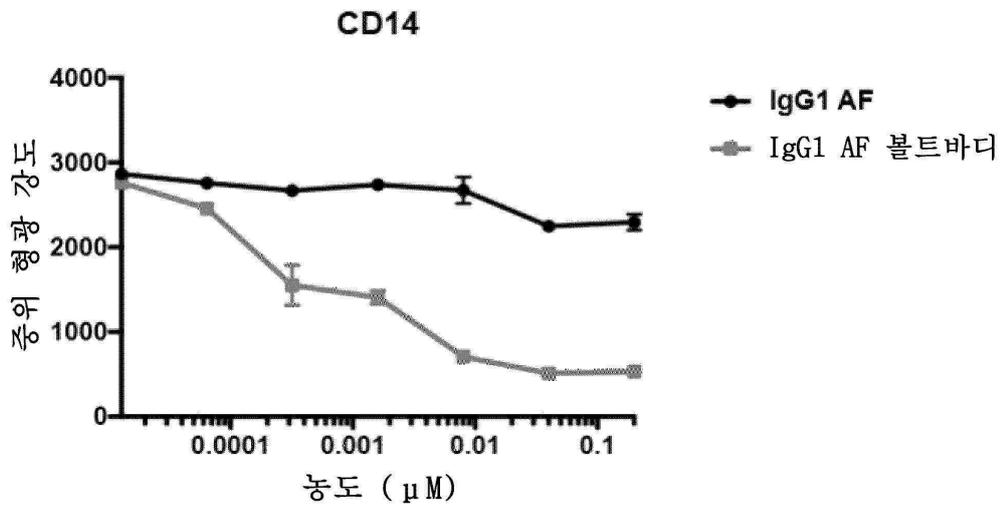
도면90b



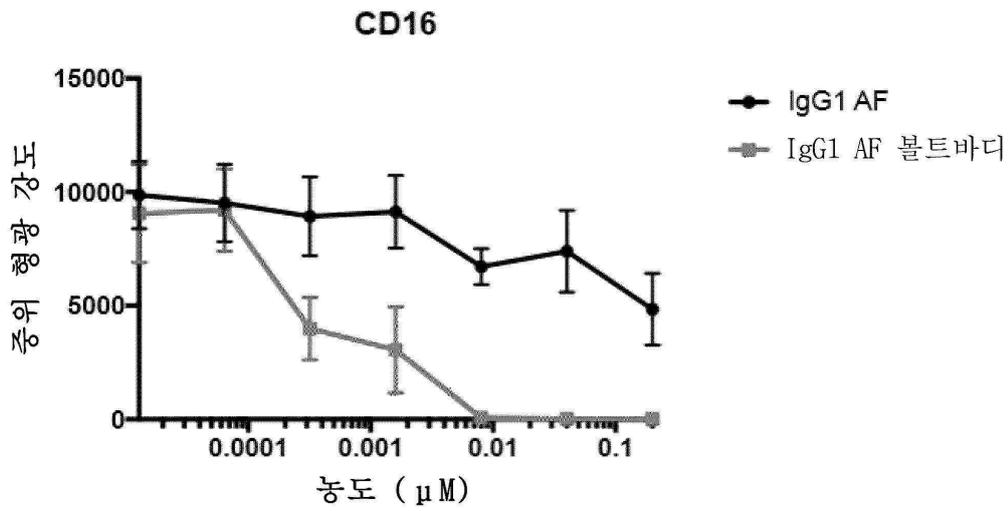
도면90c



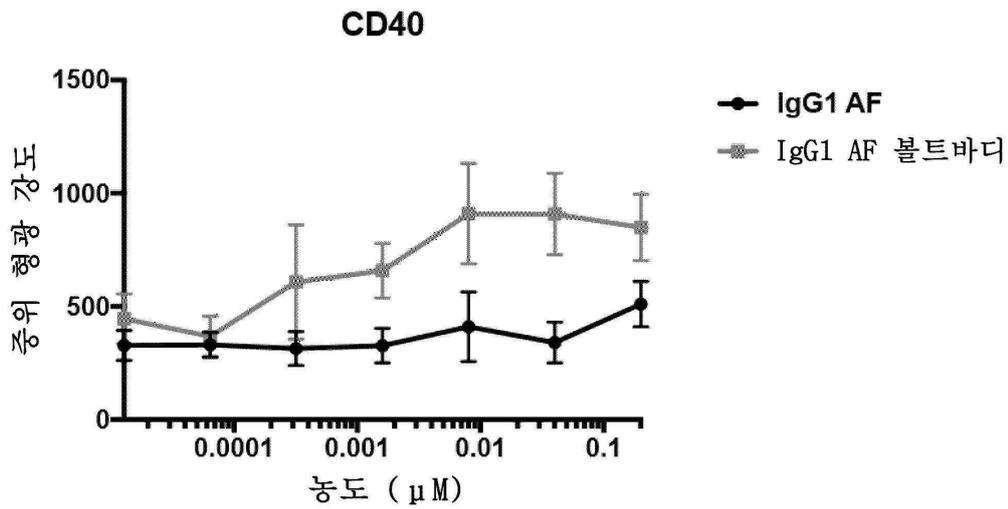
도면90d



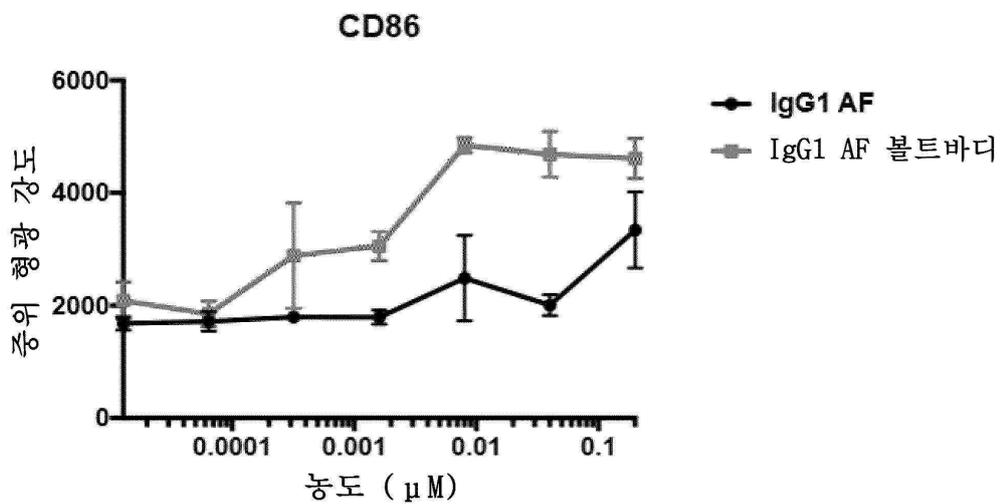
도면90e



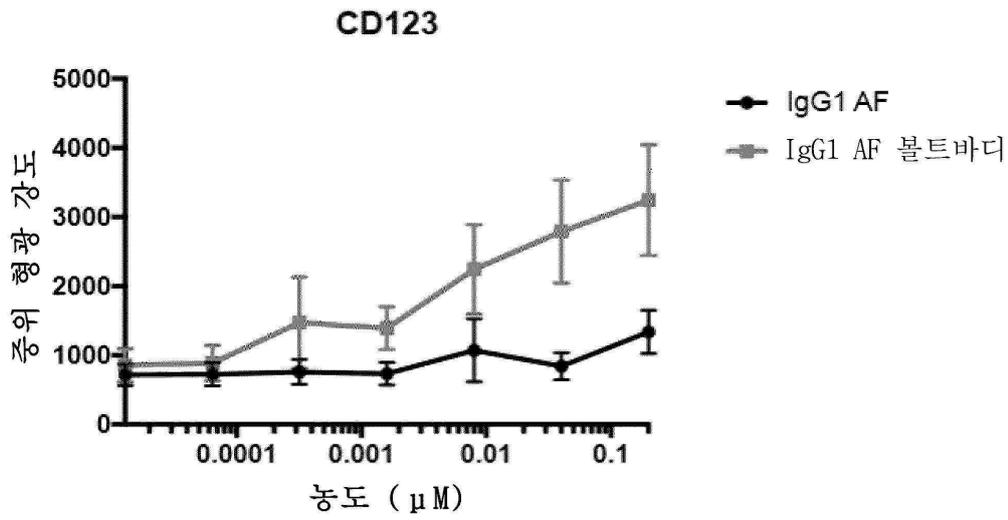
도면90f



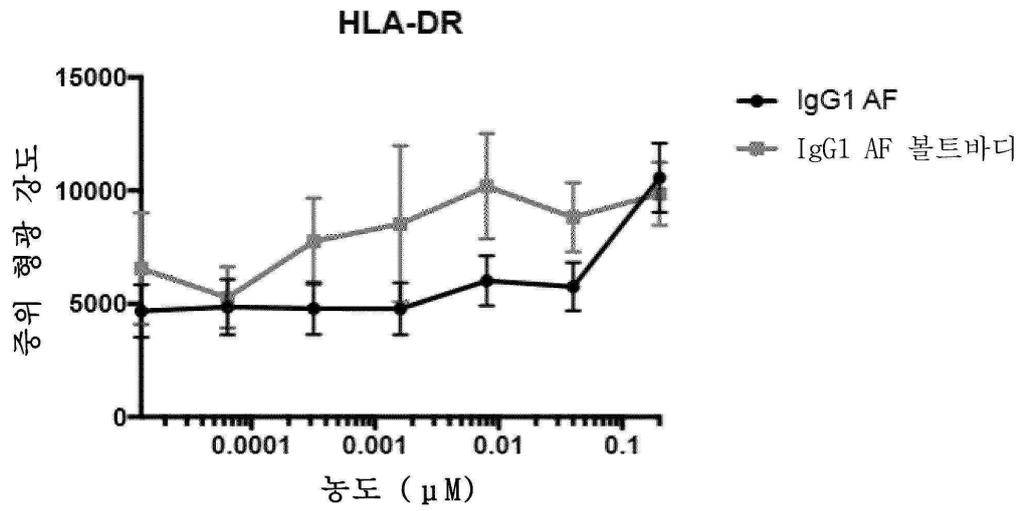
도면90g



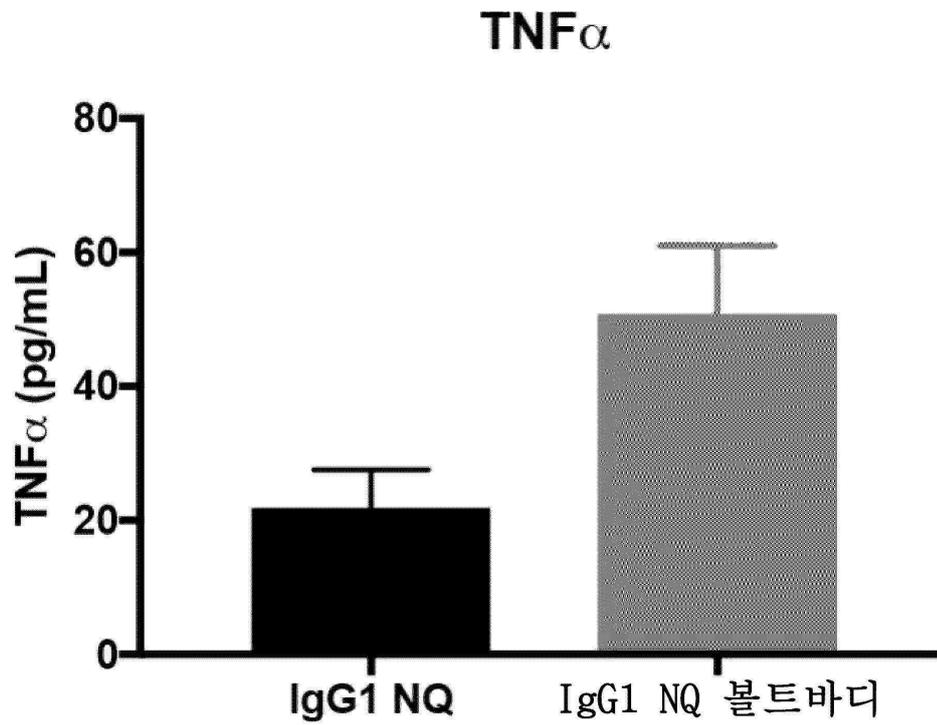
도면90h



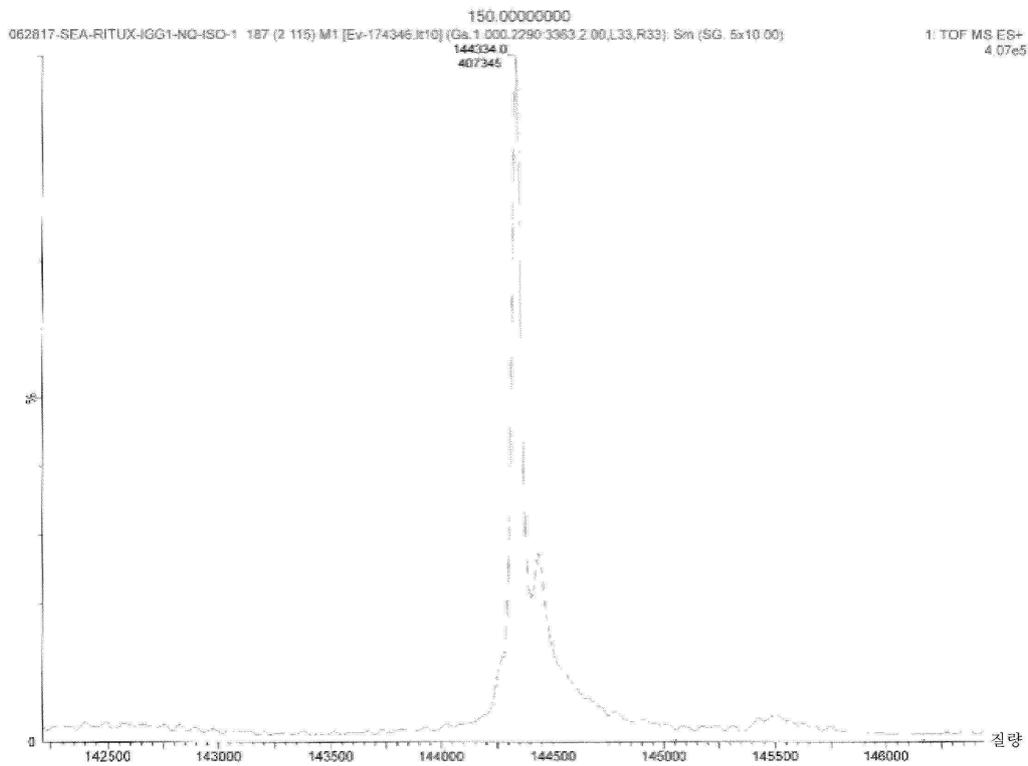
도면90i



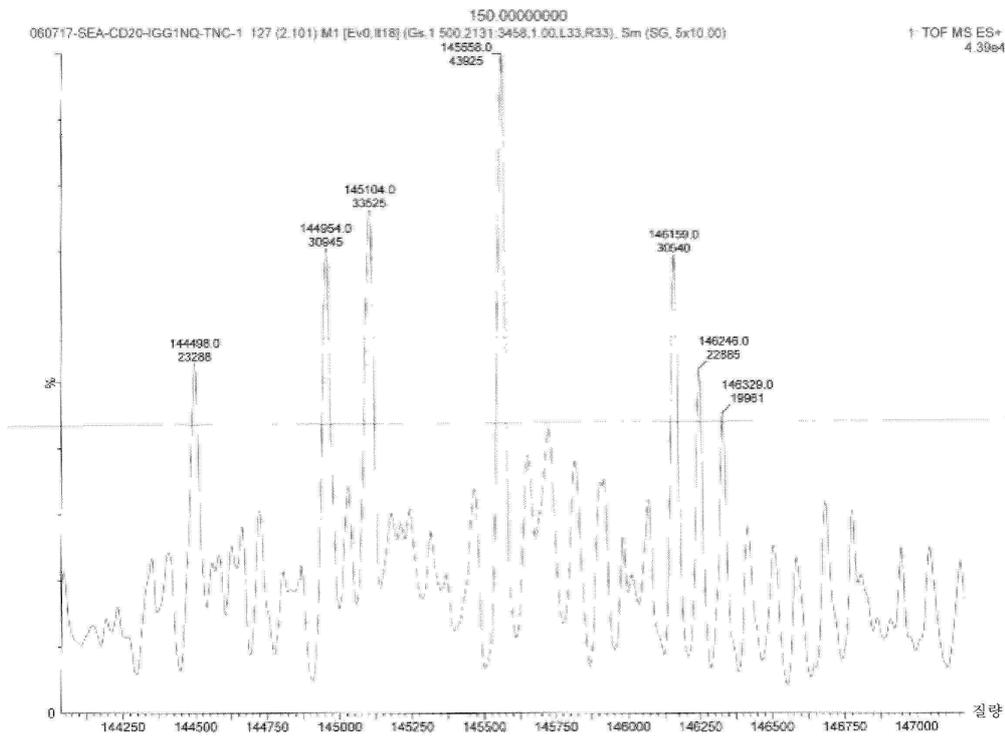
도면91a



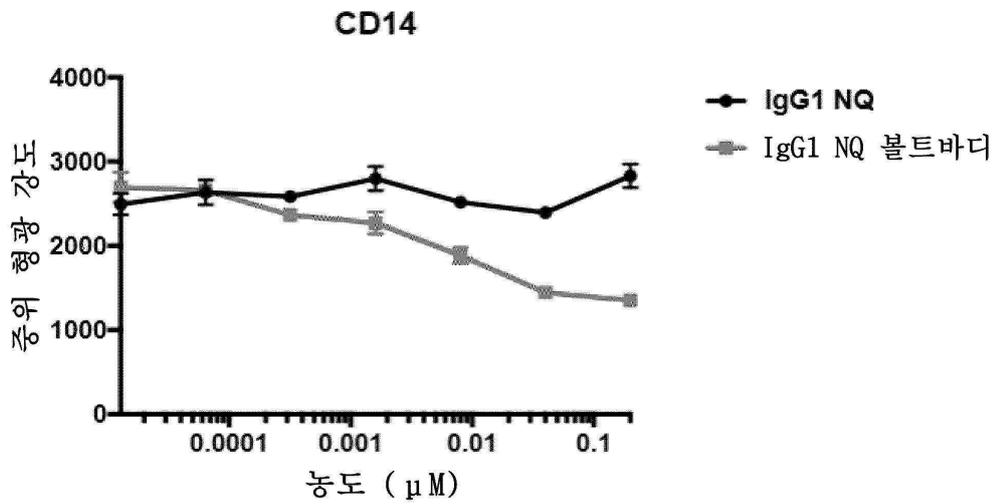
도면91b



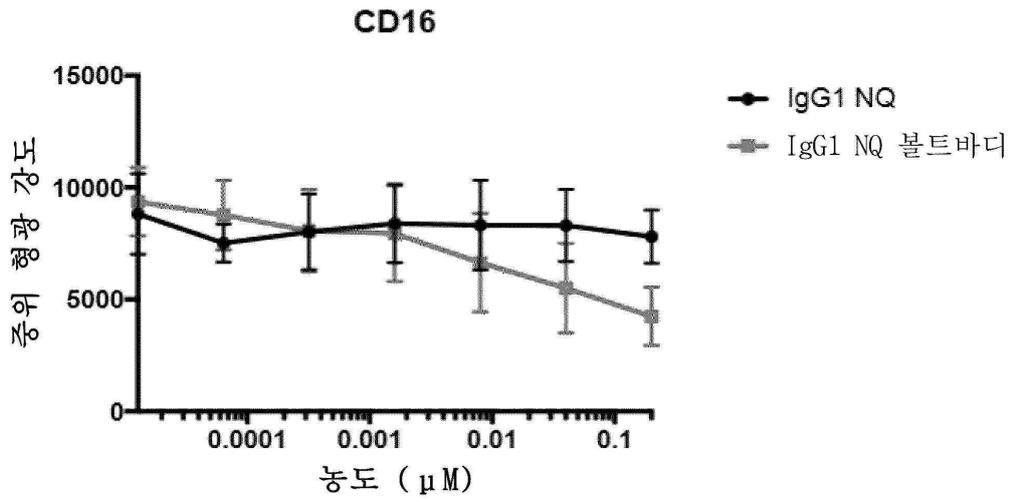
도면91c



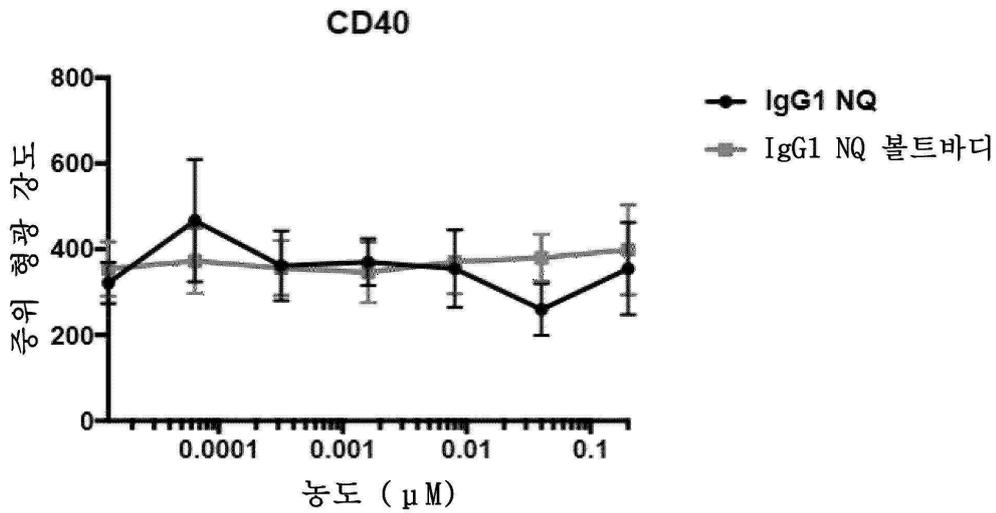
도면91d



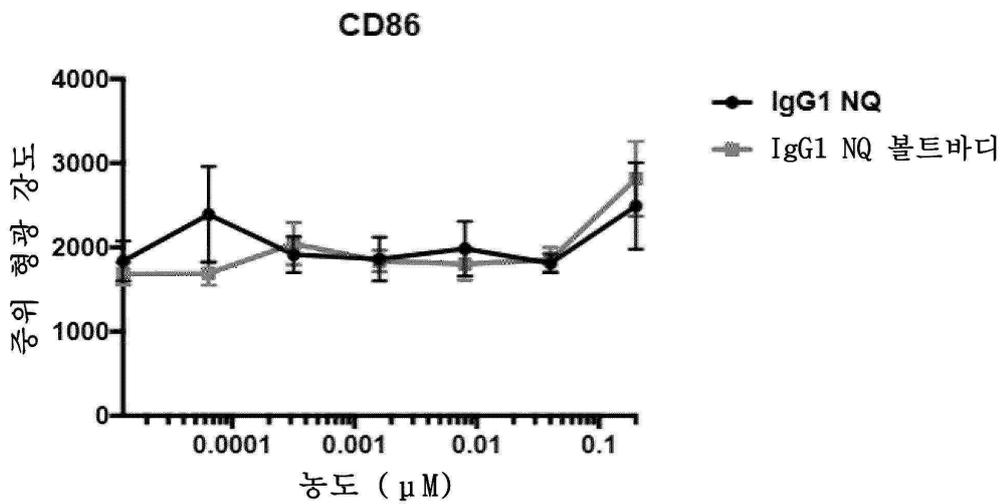
도면91e



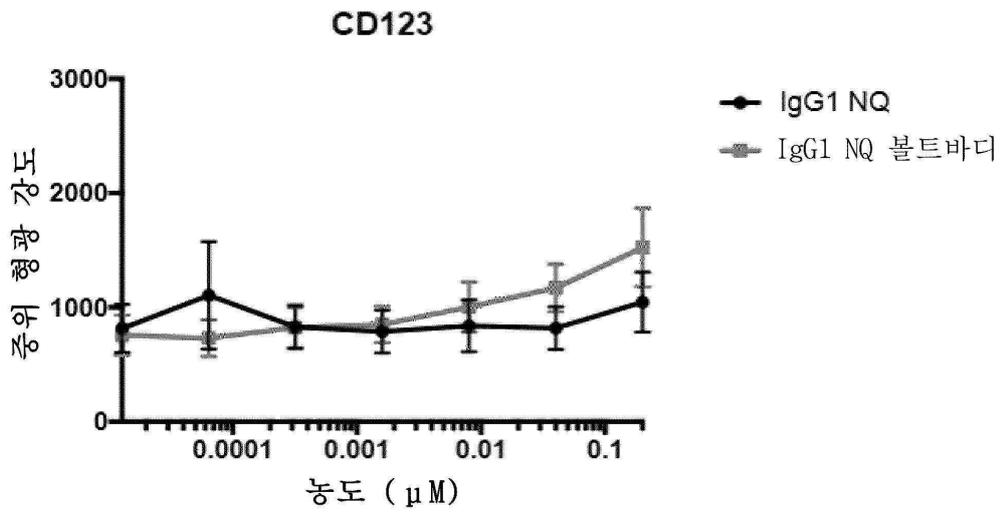
도면91f



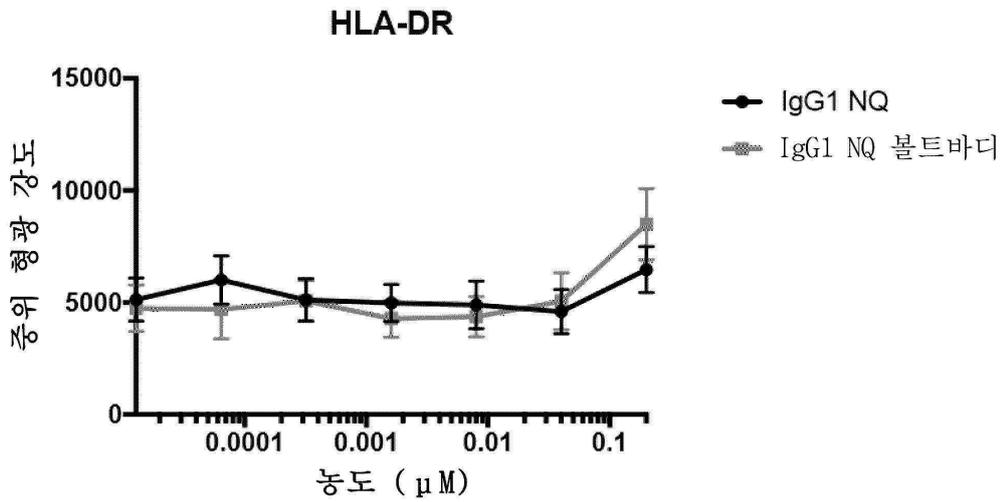
도면91g



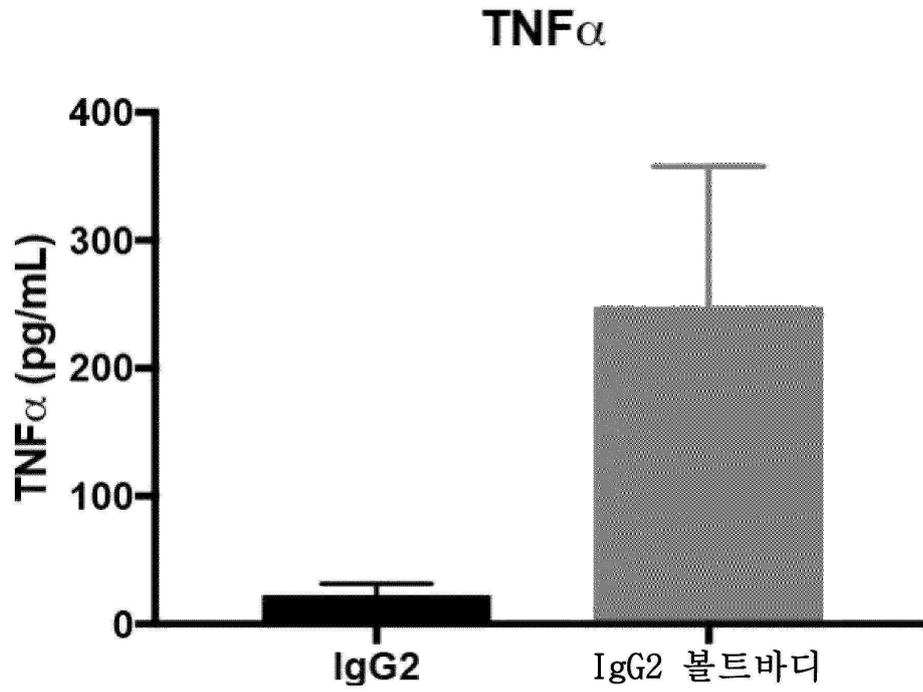
도면91h



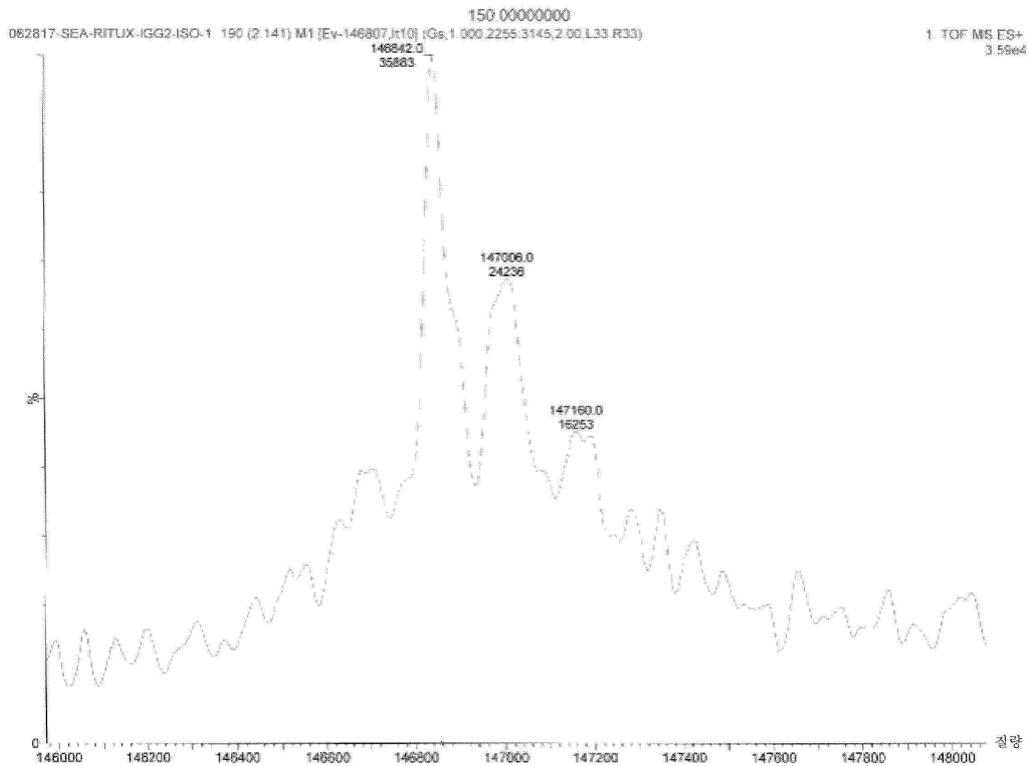
도면91i



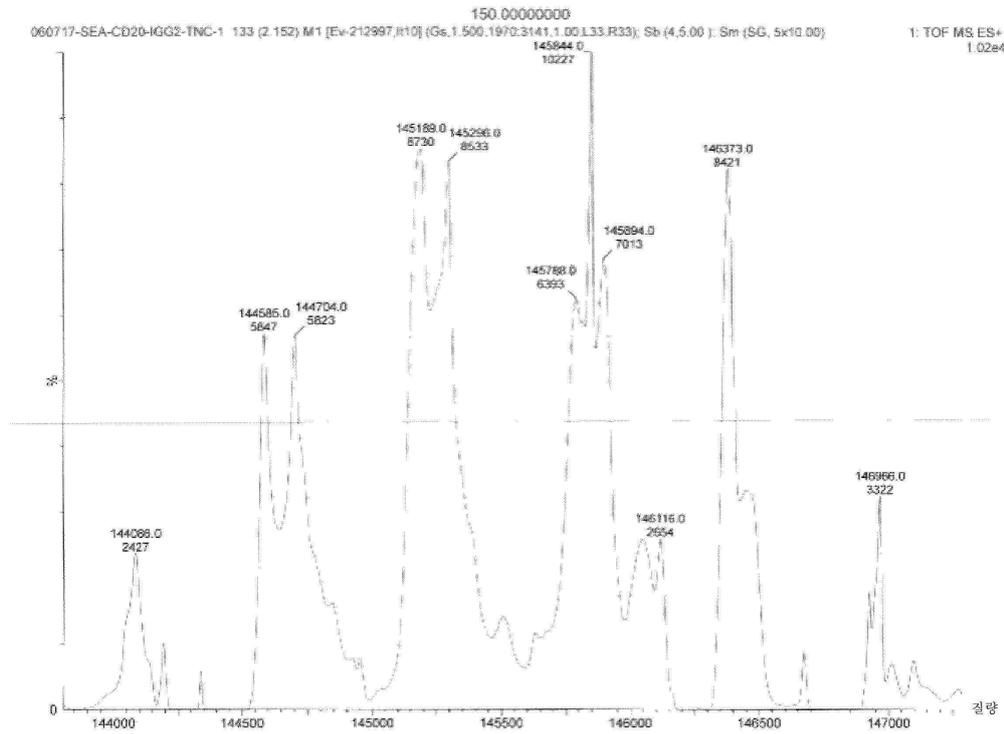
도면92a



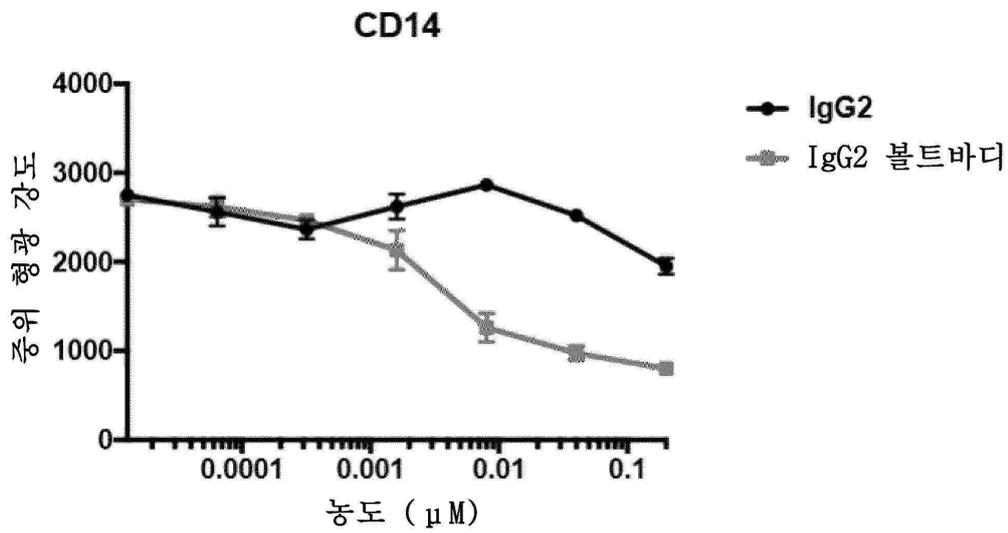
도면92b



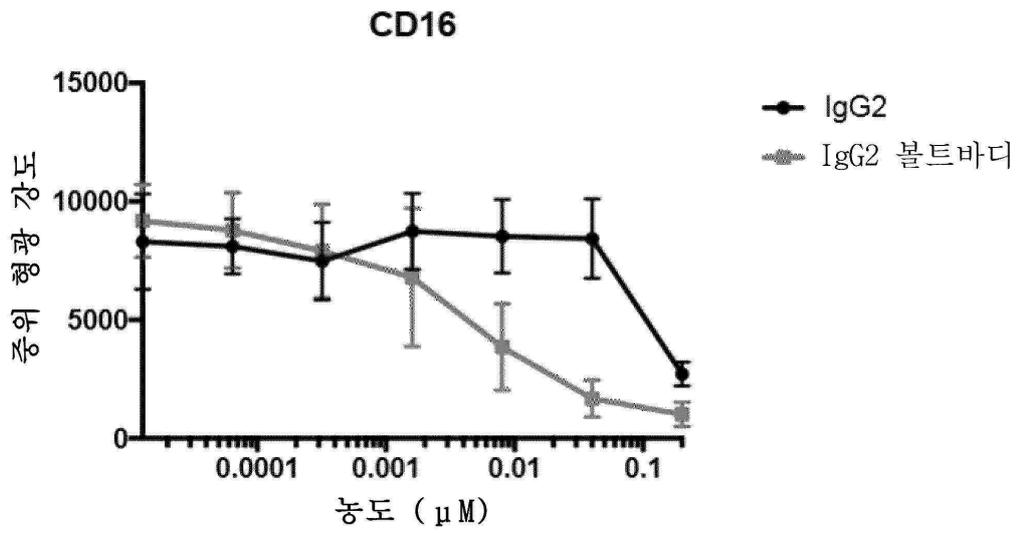
도면92c



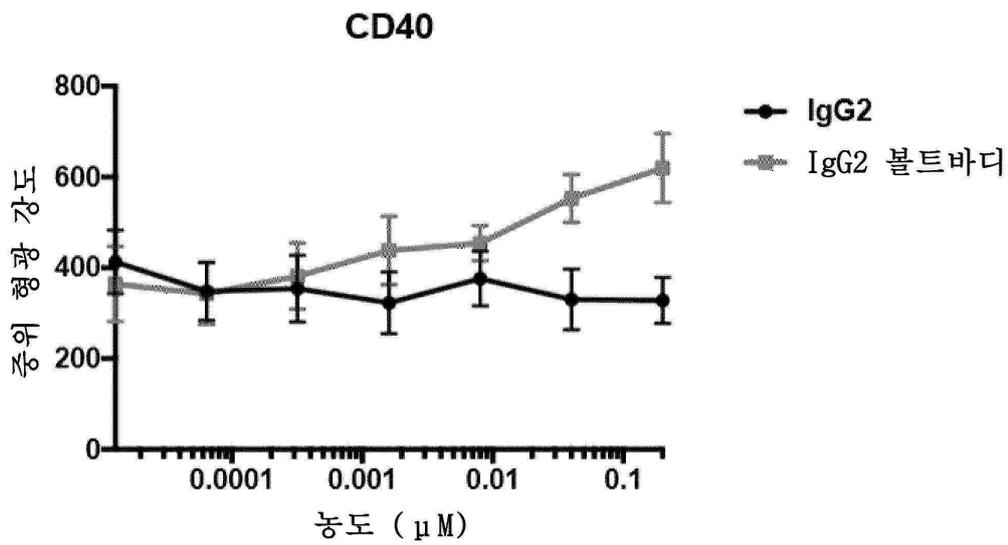
도면92d



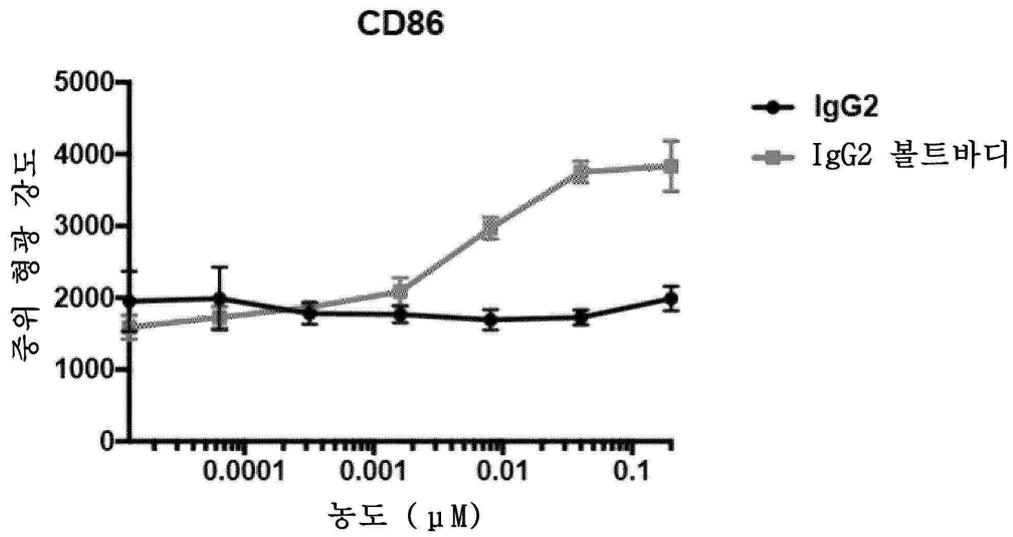
도면92e



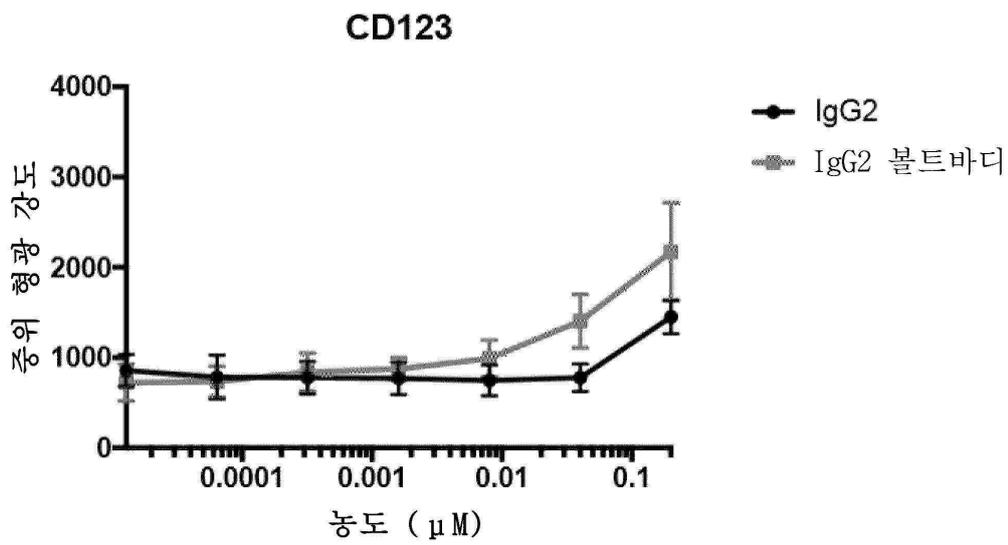
도면92f



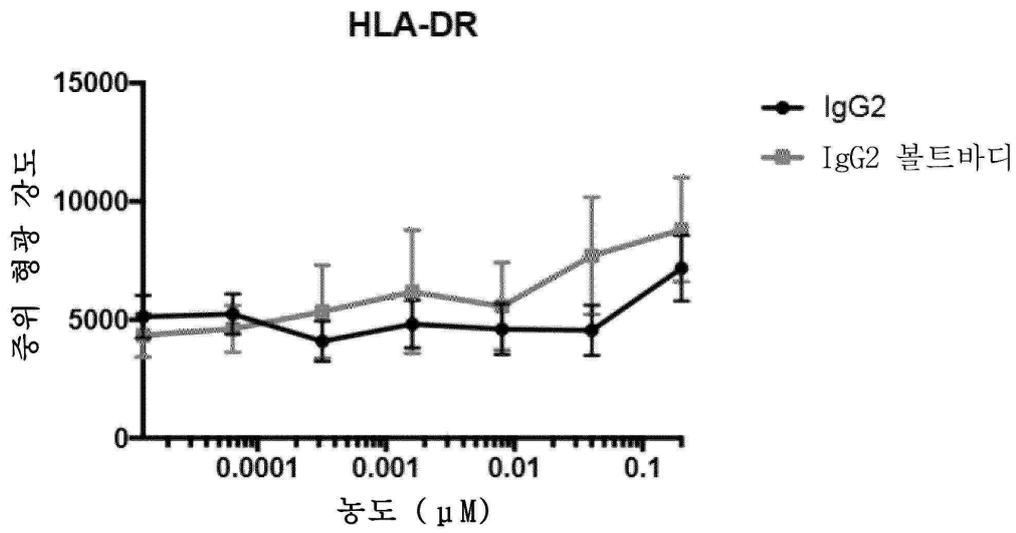
도면92g



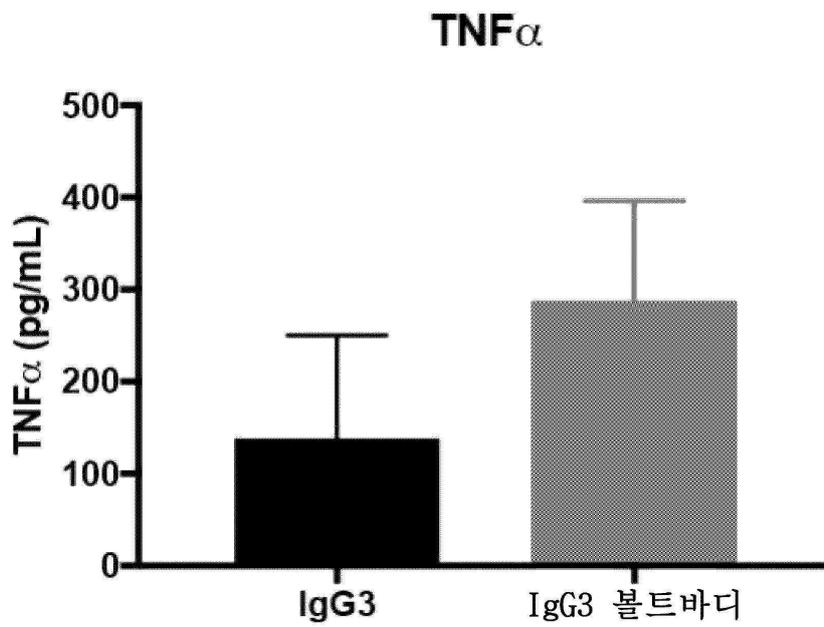
도면92h



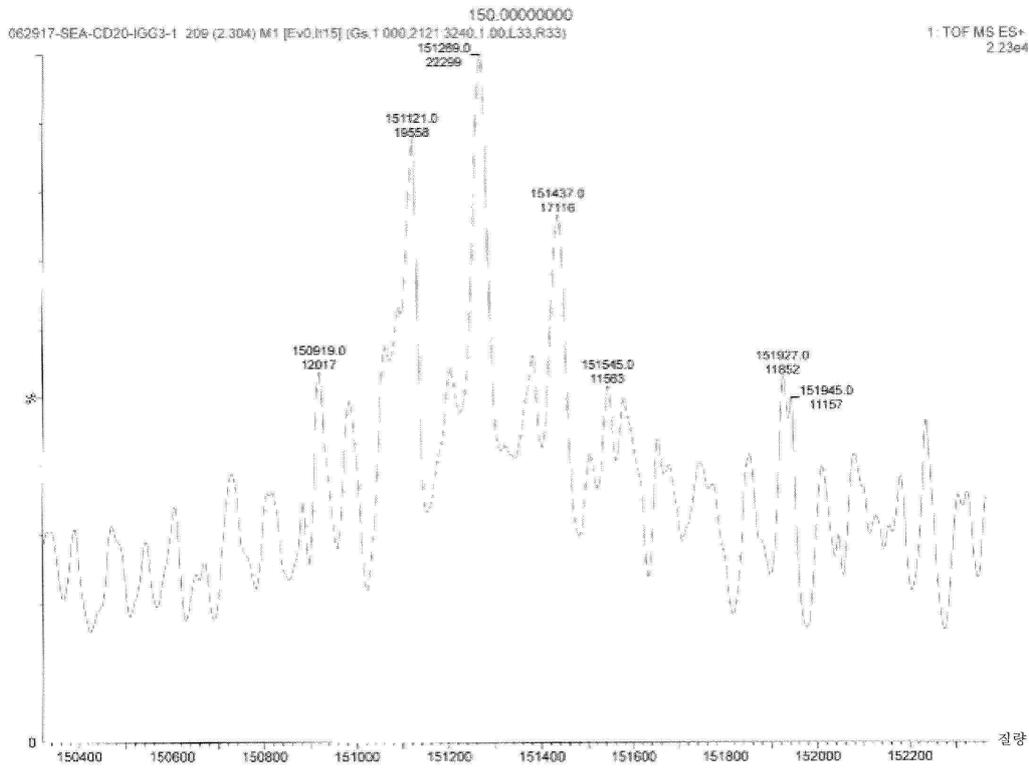
도면92i



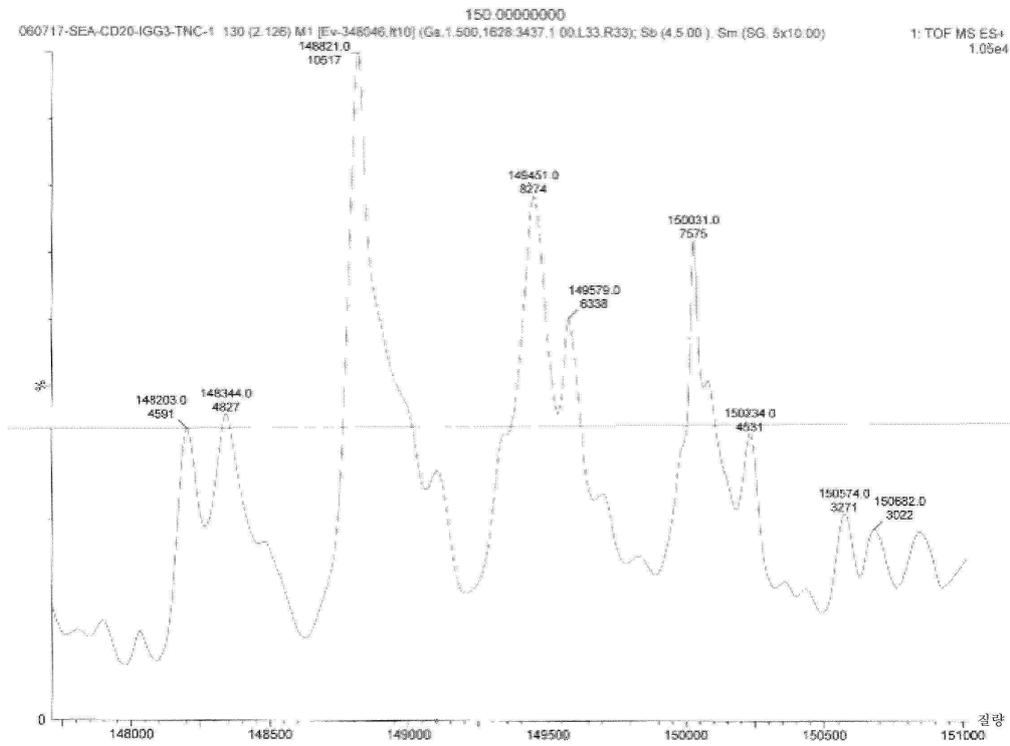
도면93a



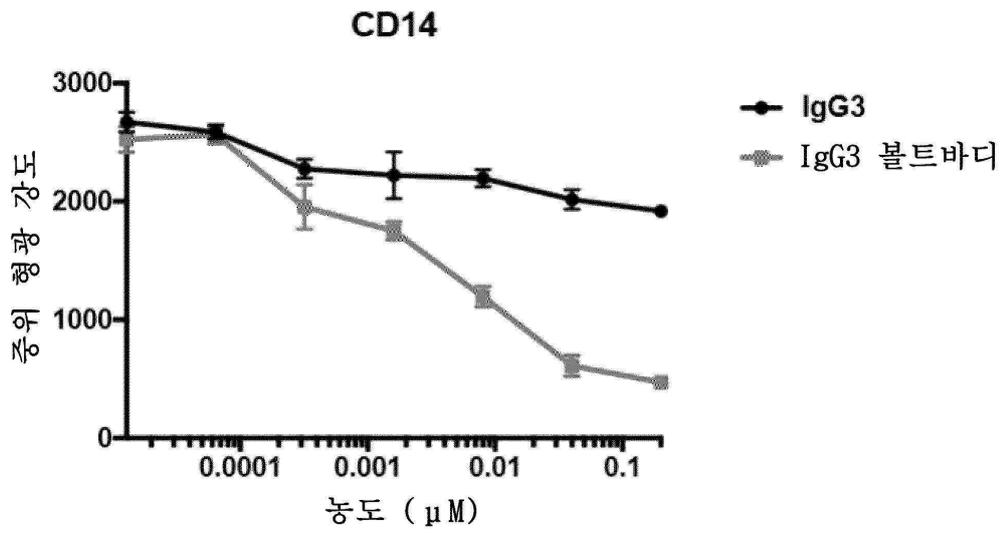
도면93b



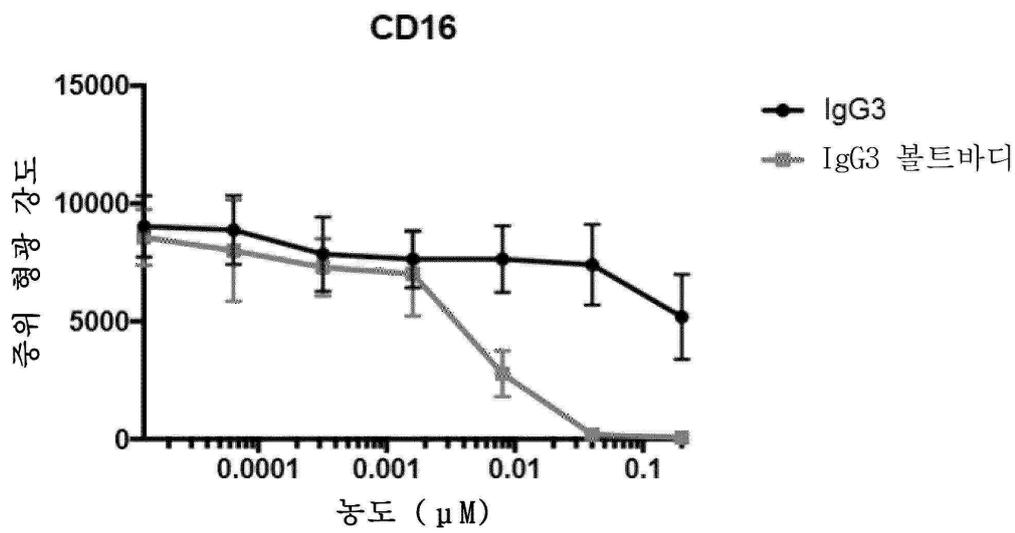
도면93c



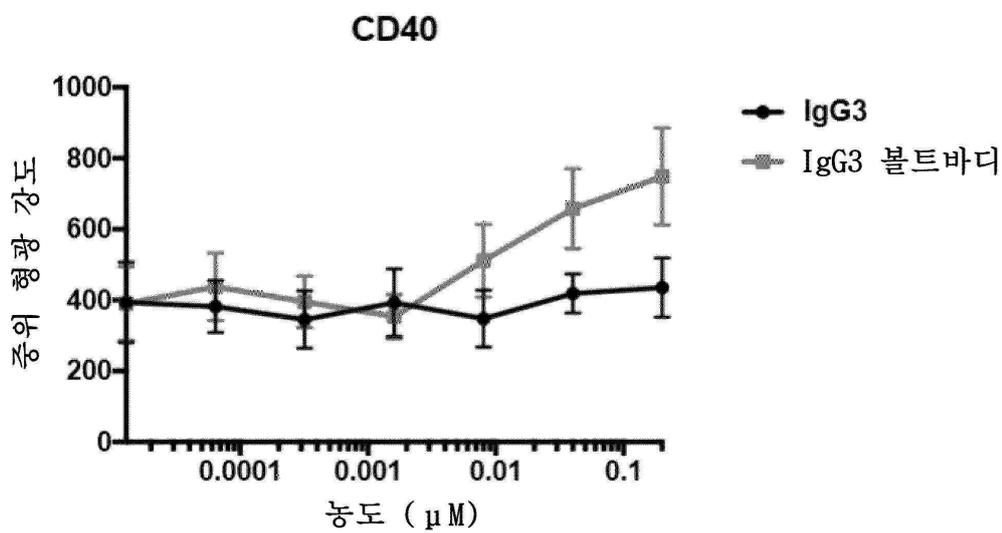
도면93d



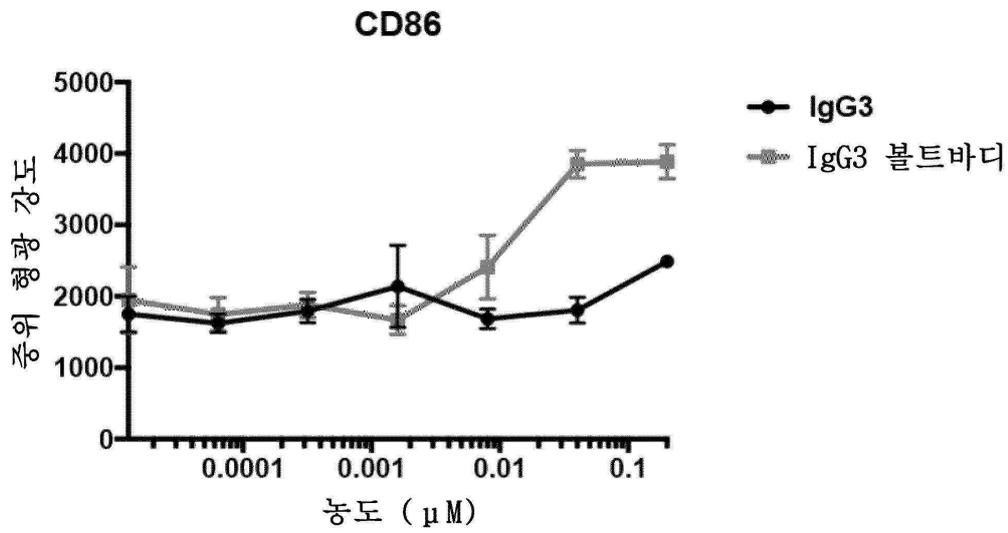
도면93e



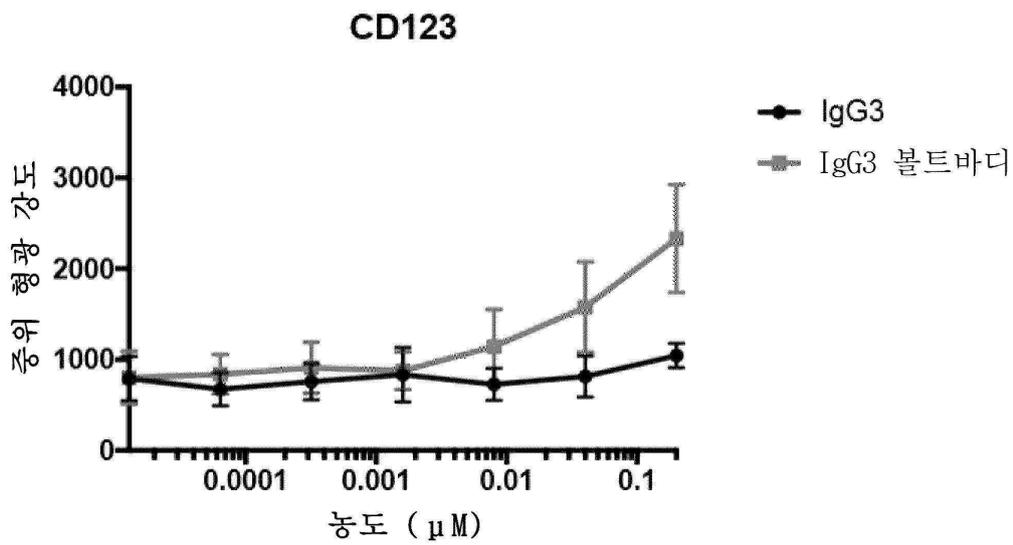
도면93f



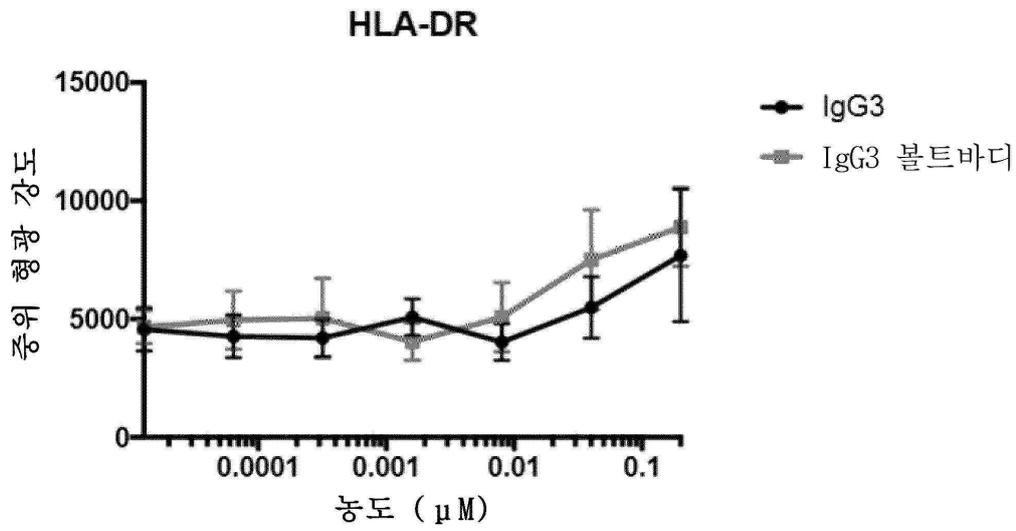
도면93g



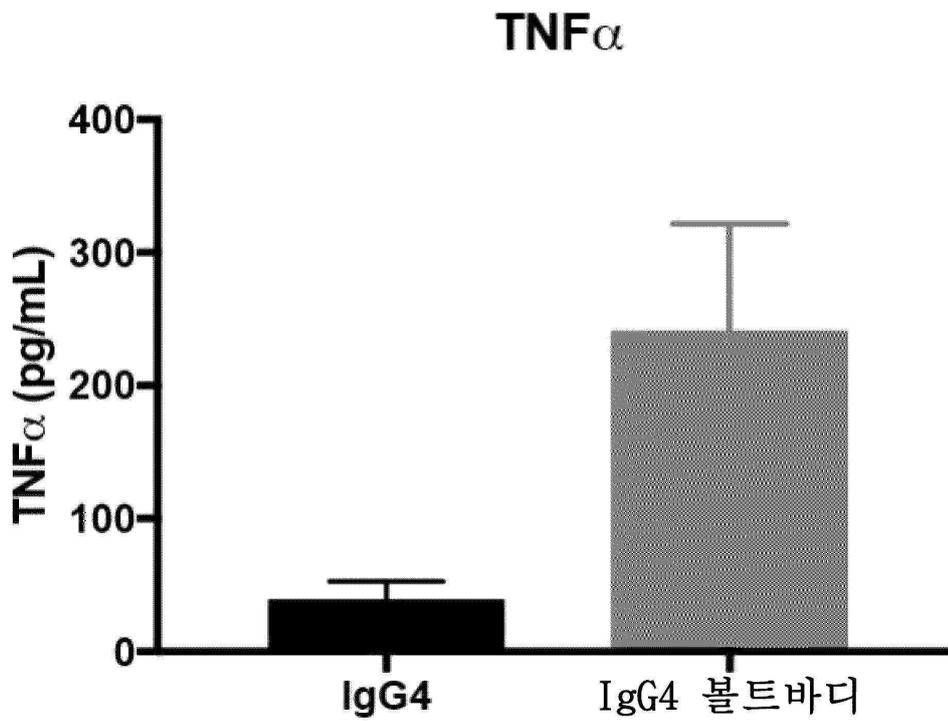
도면93h



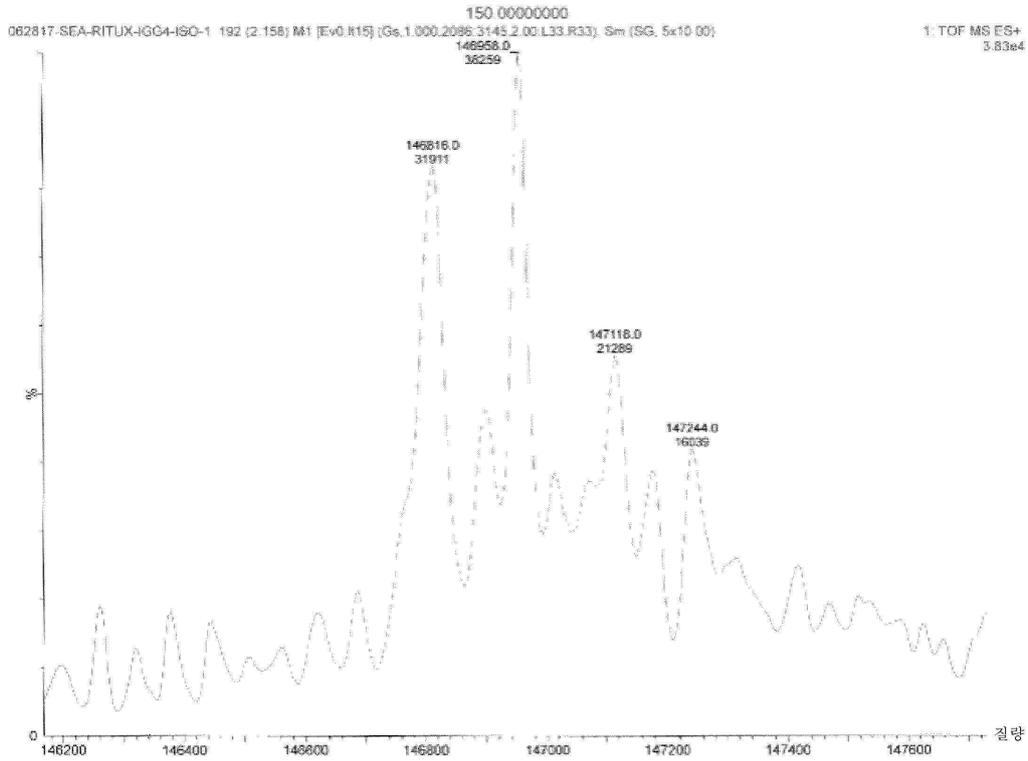
도면93i



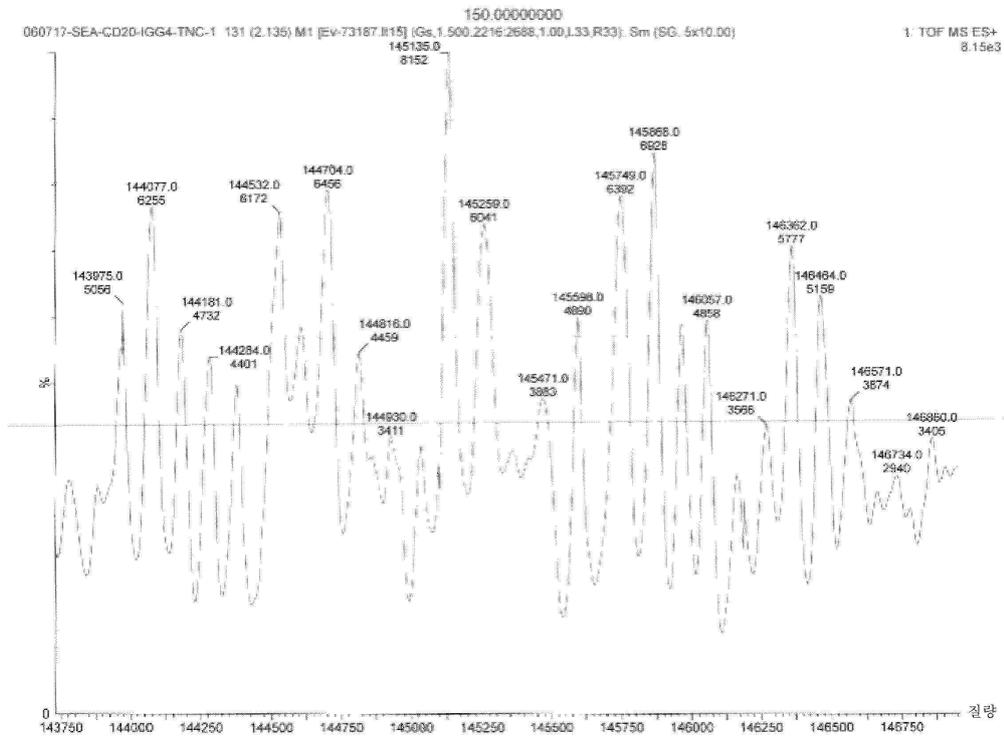
도면94a



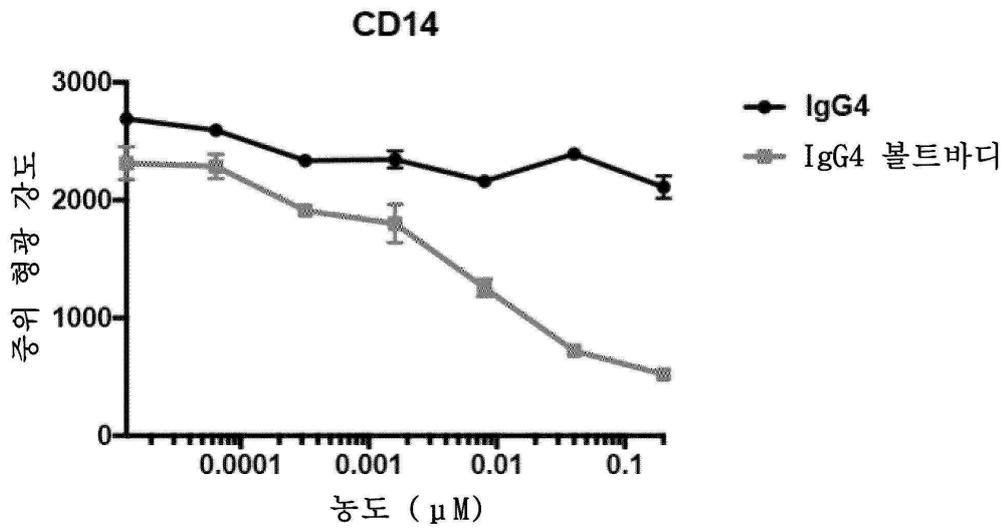
도면94b



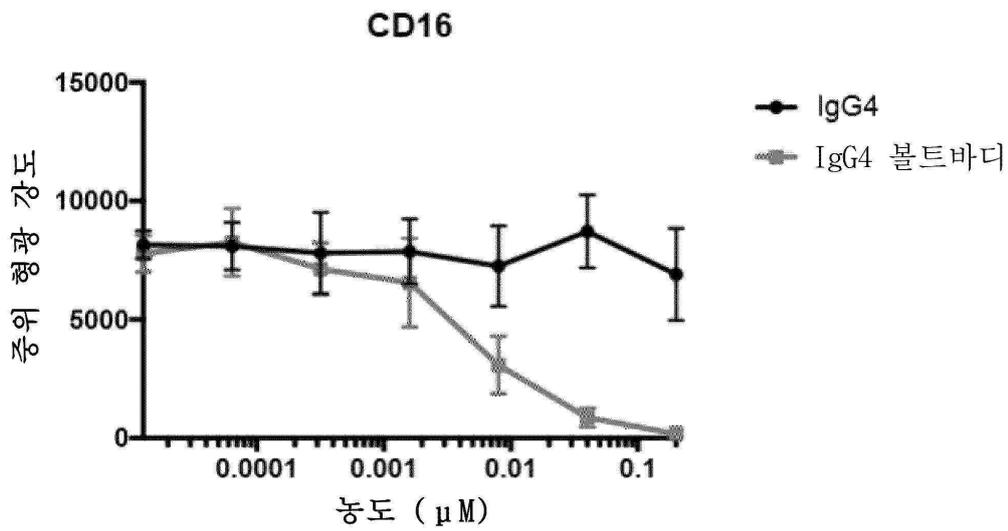
도면94c



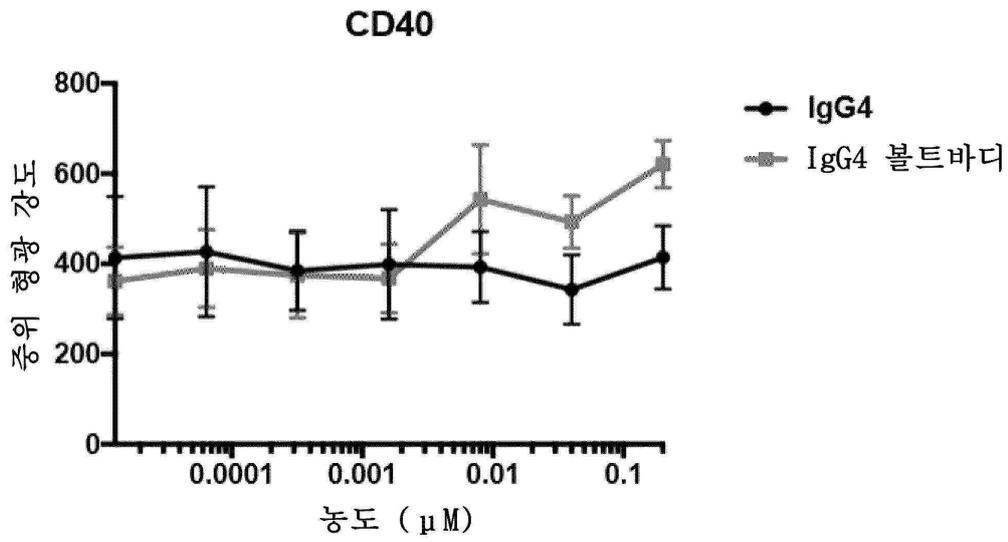
도면94d



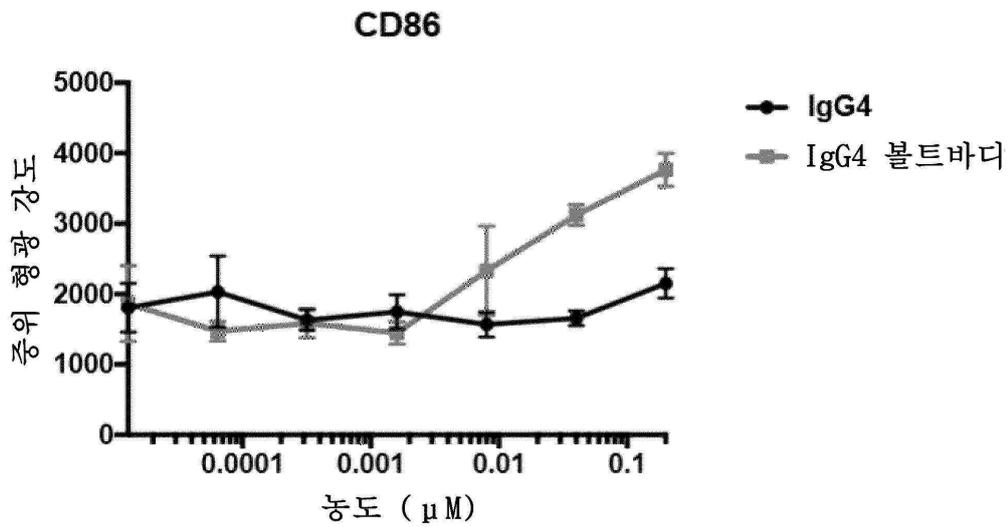
도면94e



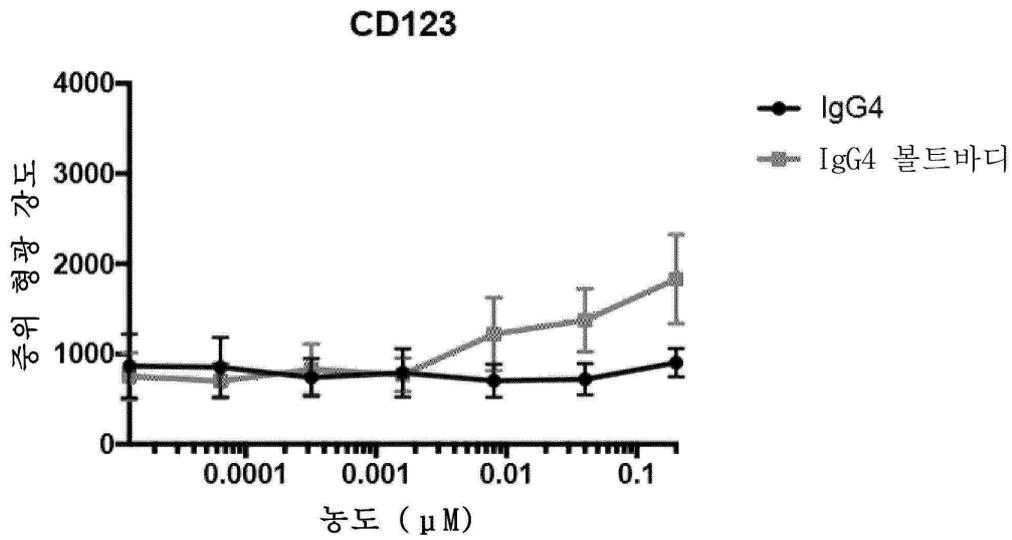
도면94f



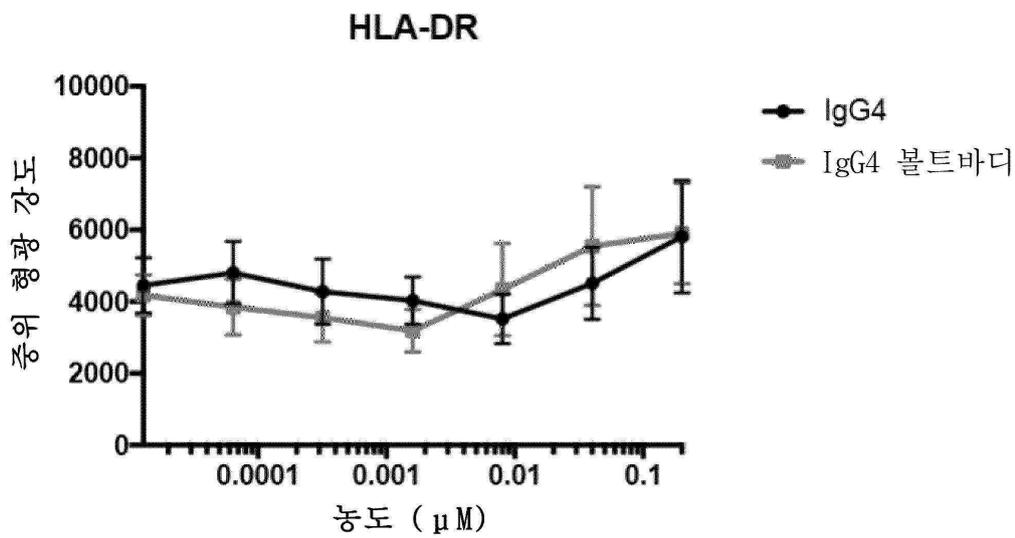
도면94g



도면94h



도면94i



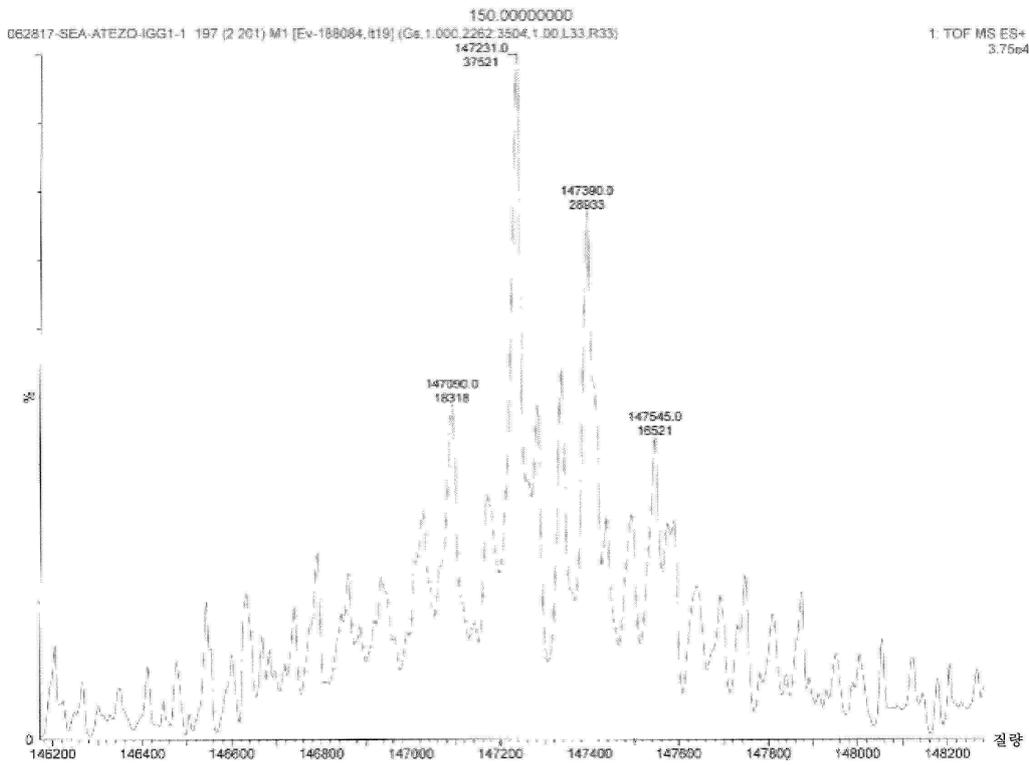
도면95

명칭	CD14		CD40		CD86	
	EC50 (nM)	배수 변화	EC50 (nM)	배수 변화	EC50 (nM)	배수 변화
BB-IgG1	1.86	5.05	4.41	2.20	4.19	2.11
BB-IgG1 AF	0.40	4.31	0.86	1.66	1.01	1.38
BB-IgG2	3.54	2.43	13.93	1.89	4.55	1.93
BB-IgG3	3.20	4.07	21.81	1.72	11.53	1.56
BB-IgG4	4.65	4.05	6.61	1.50	15.63	1.75

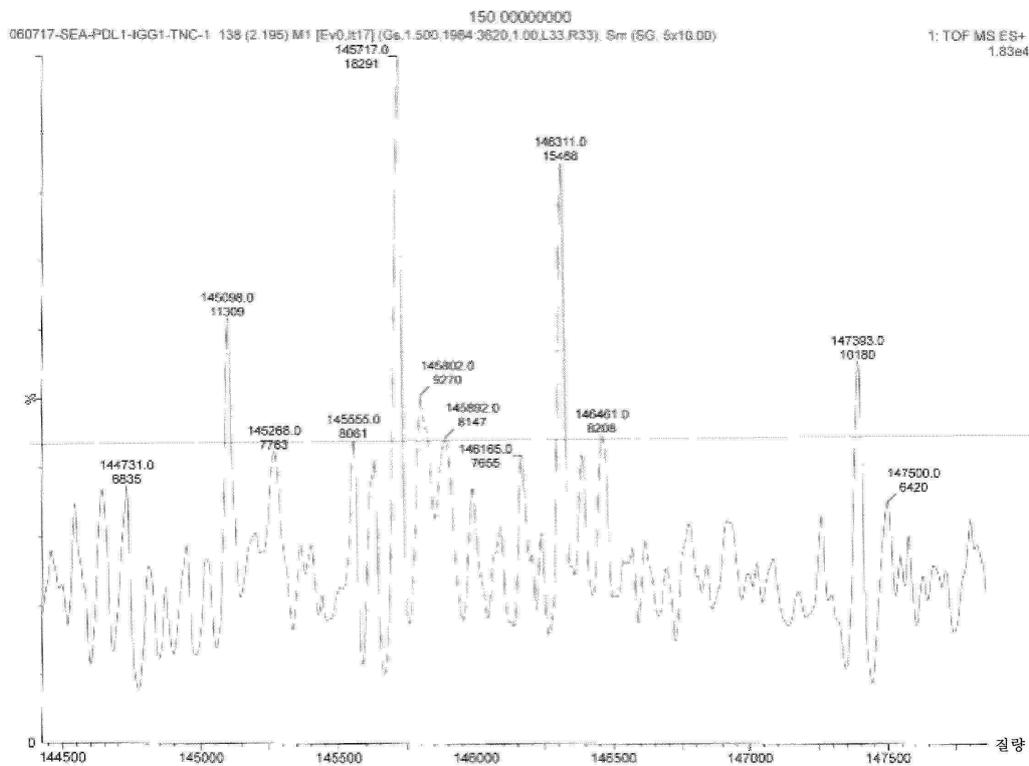
*1:5 연속 희석물로의 리복시법에 대한 값

*네이키드 항체 대비 200 nM에서 계산된 배수 변화

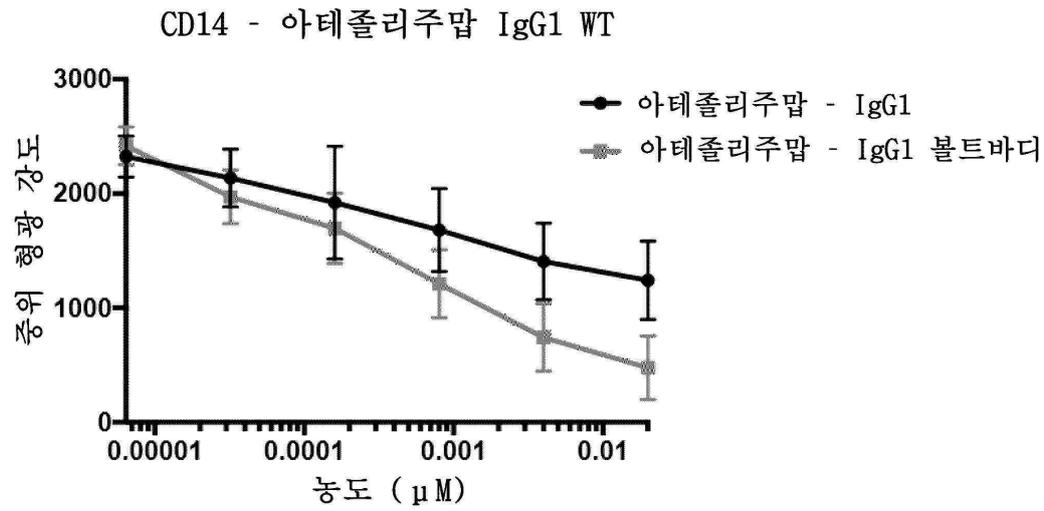
도면96a



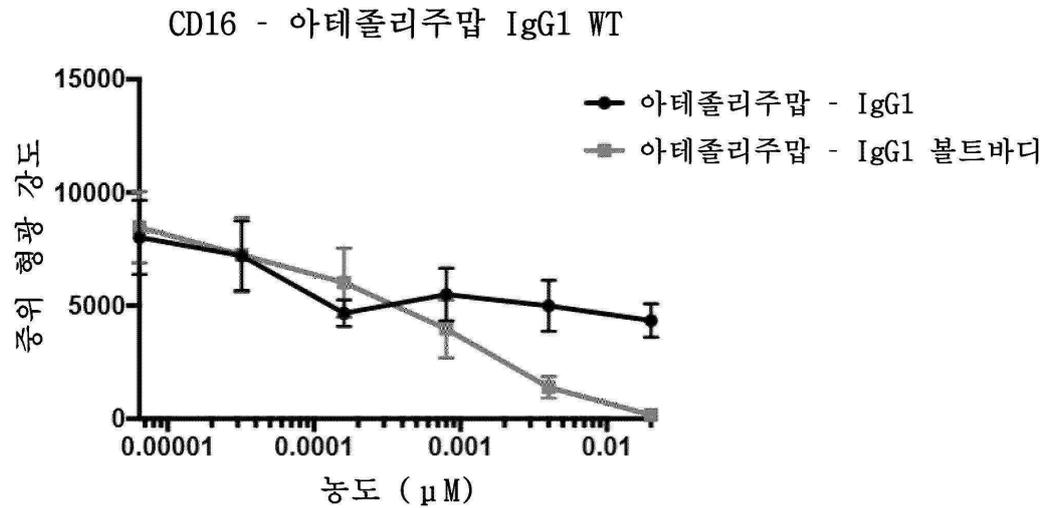
도면96b



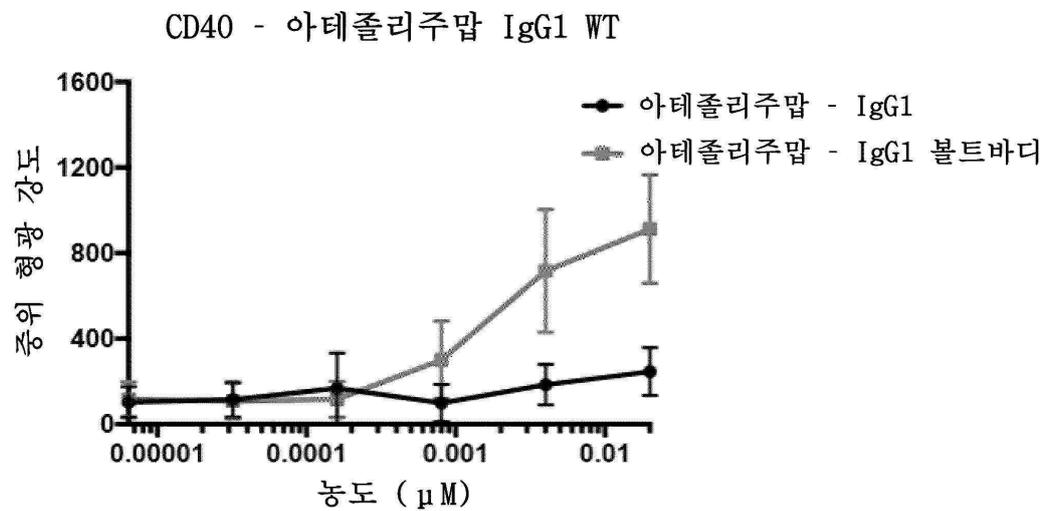
도면96c



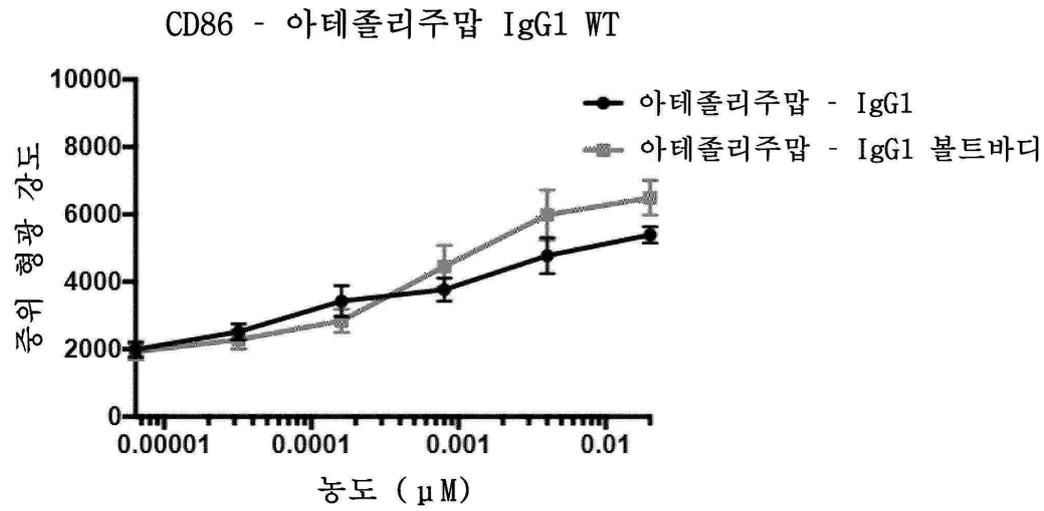
도면96d



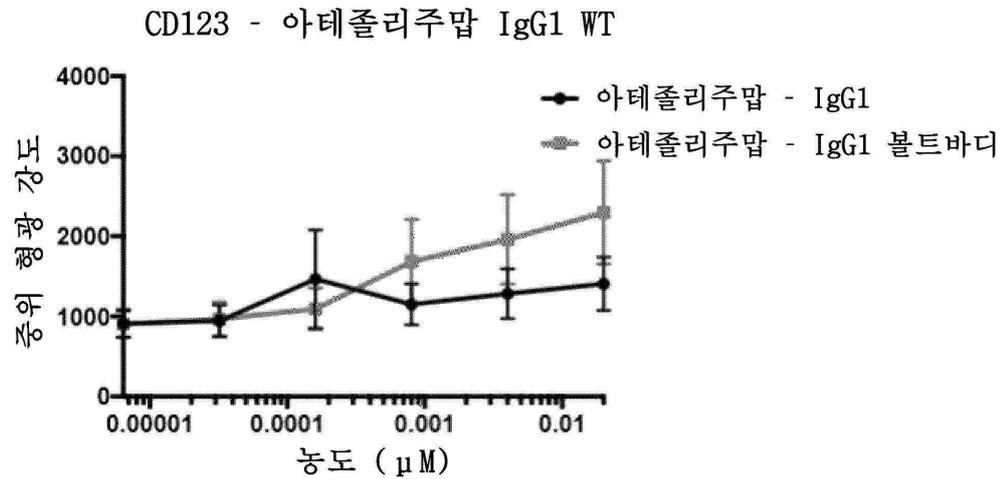
도면96e



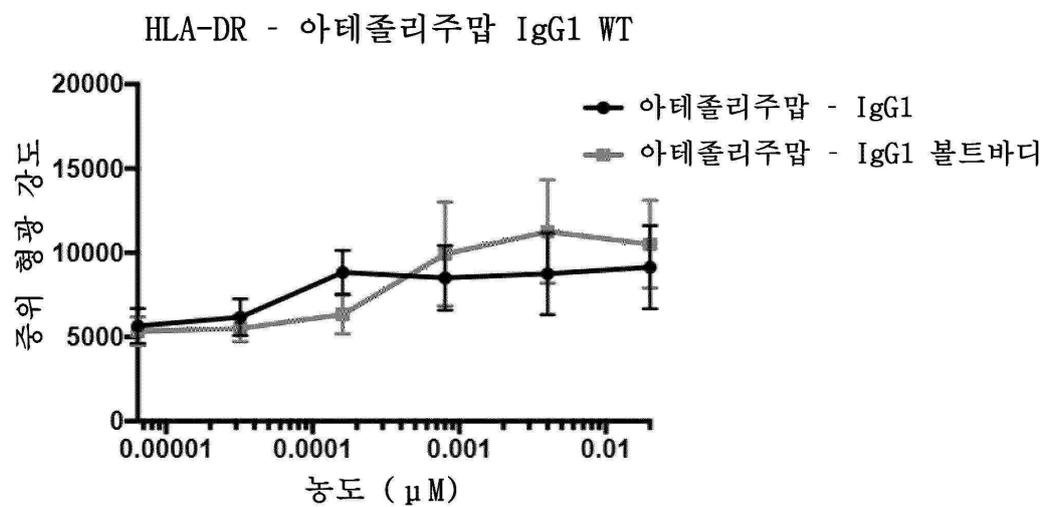
도면96f



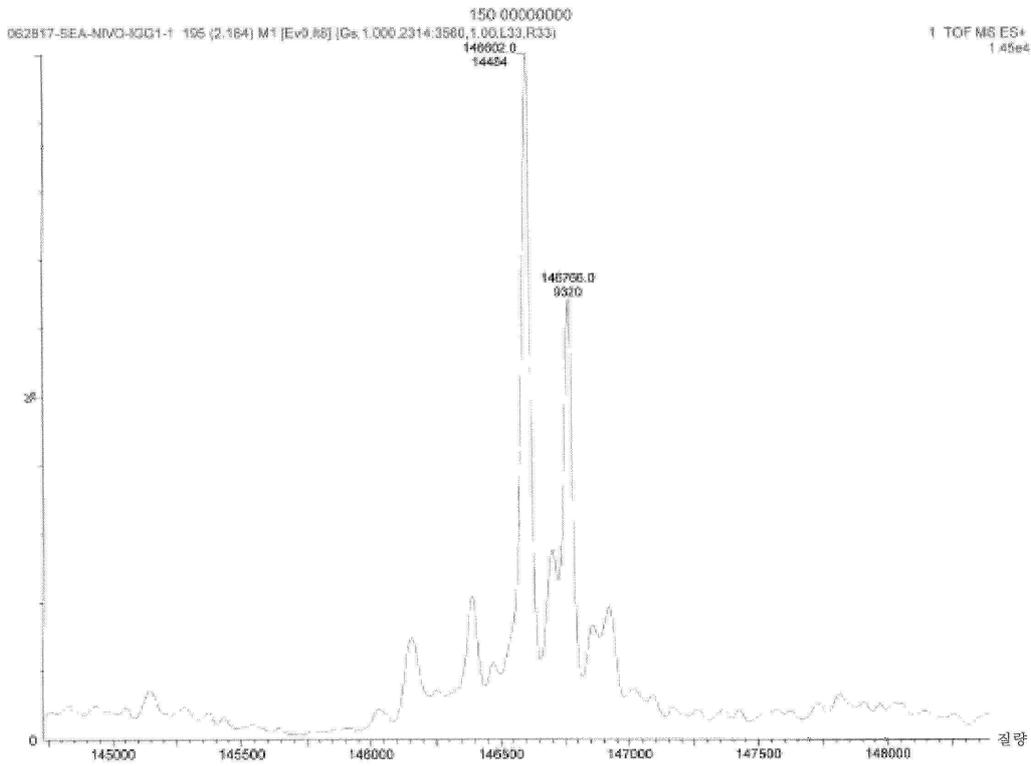
도면96g



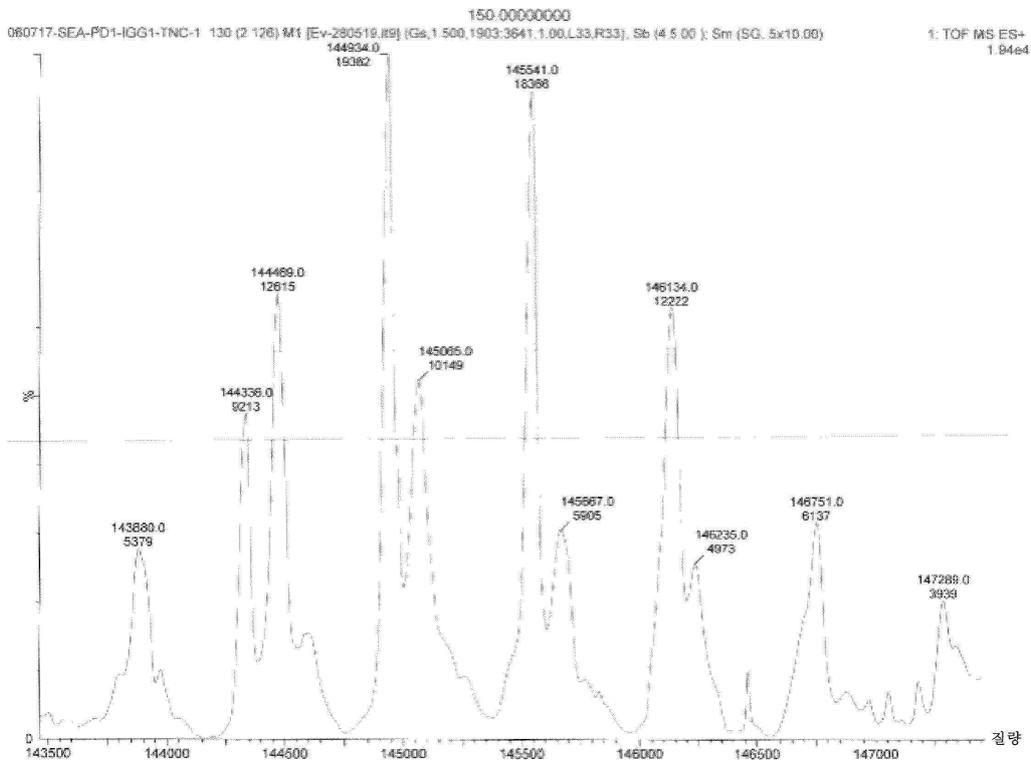
도면96h



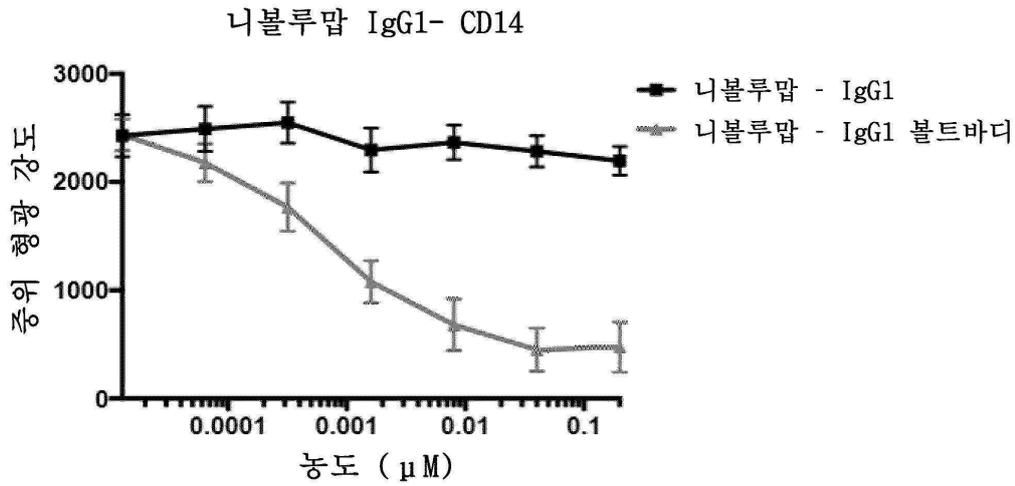
도면97a



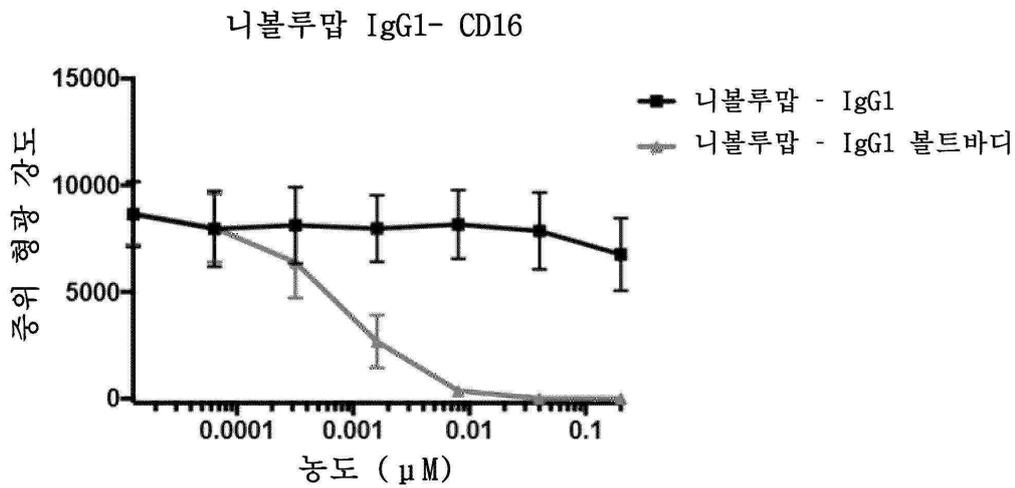
도면97b



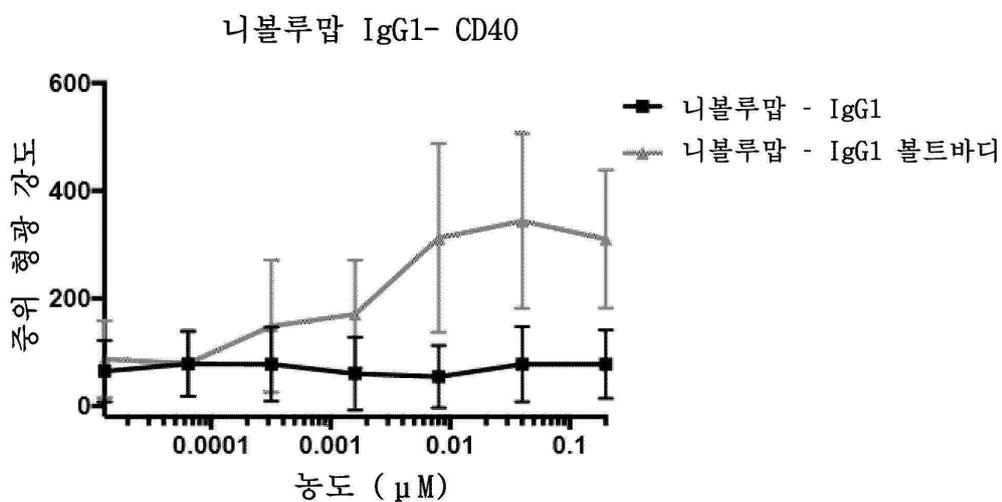
도면97c



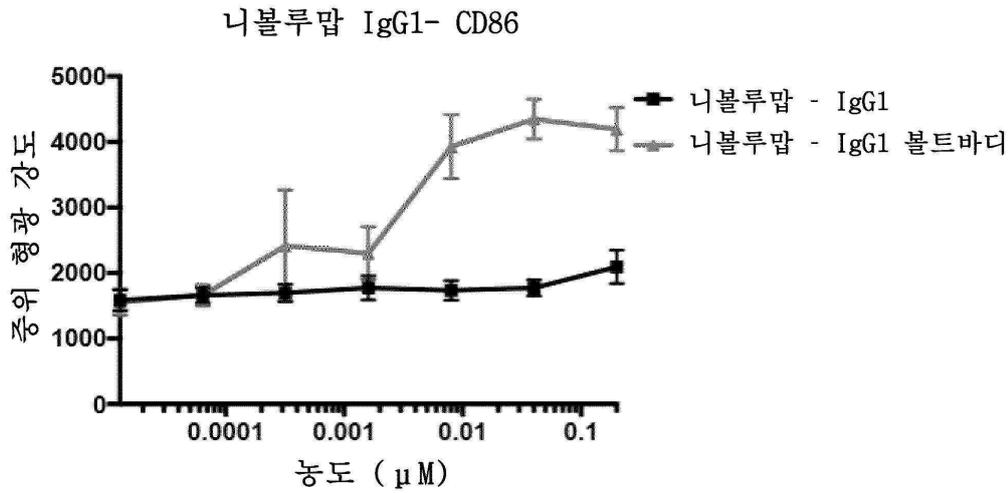
도면97d



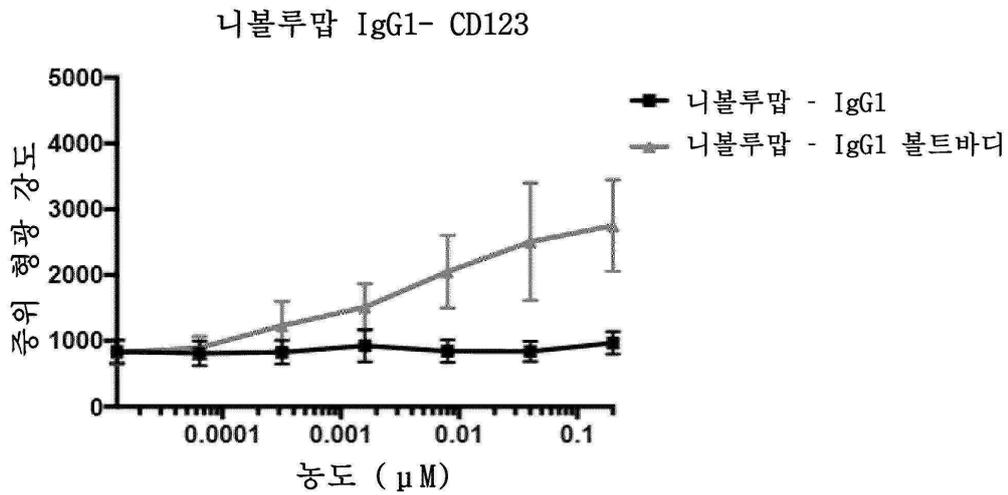
도면97e



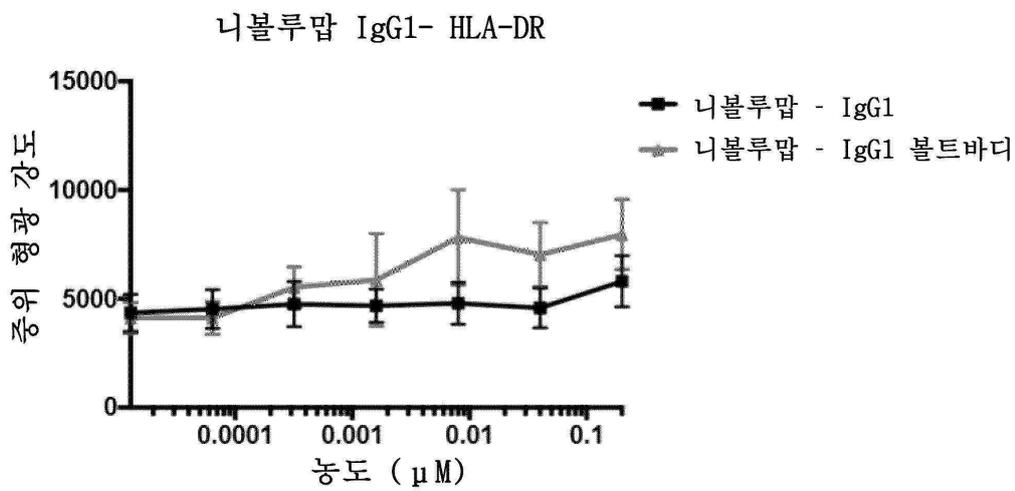
도면97f



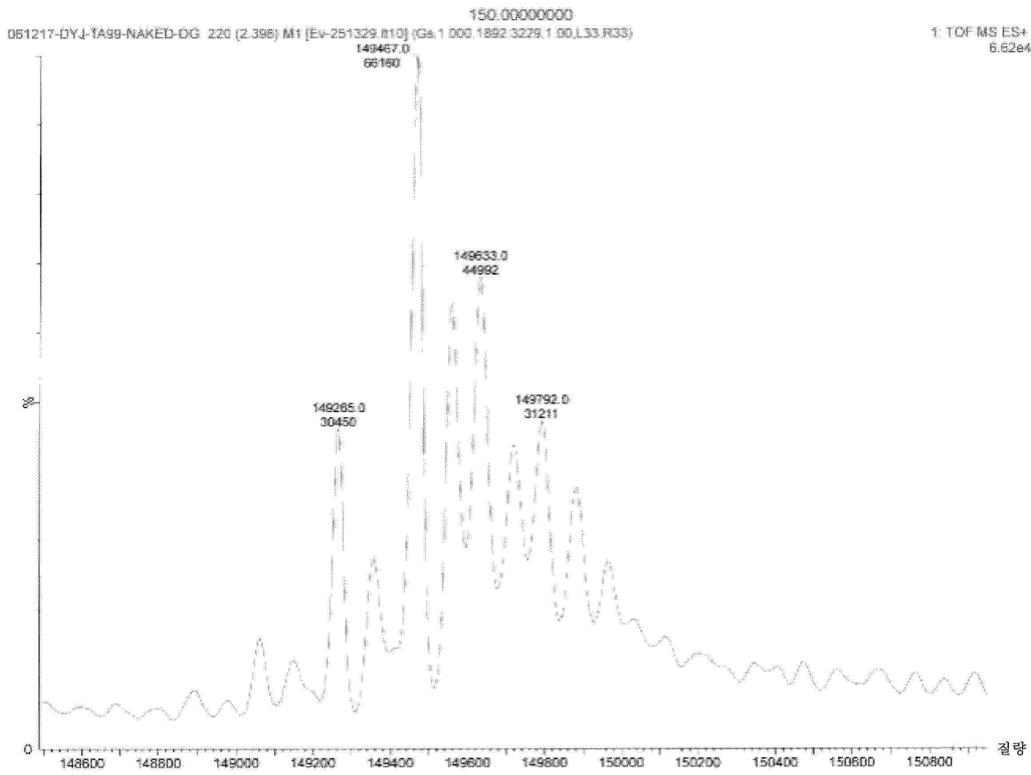
도면97g



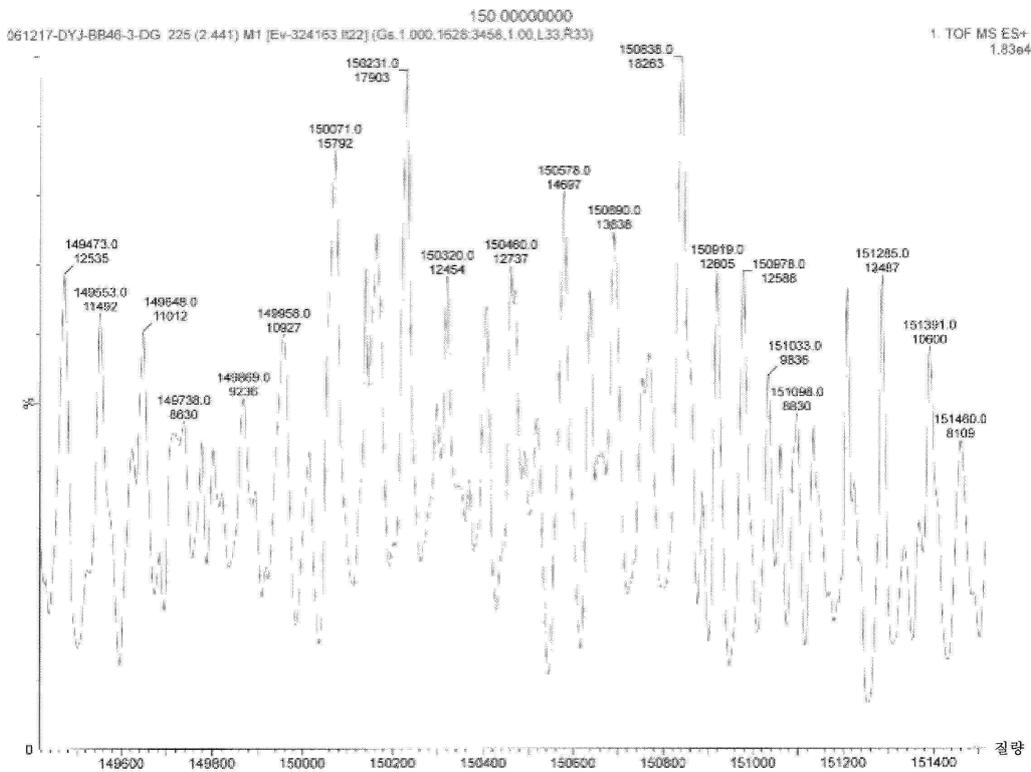
도면97h



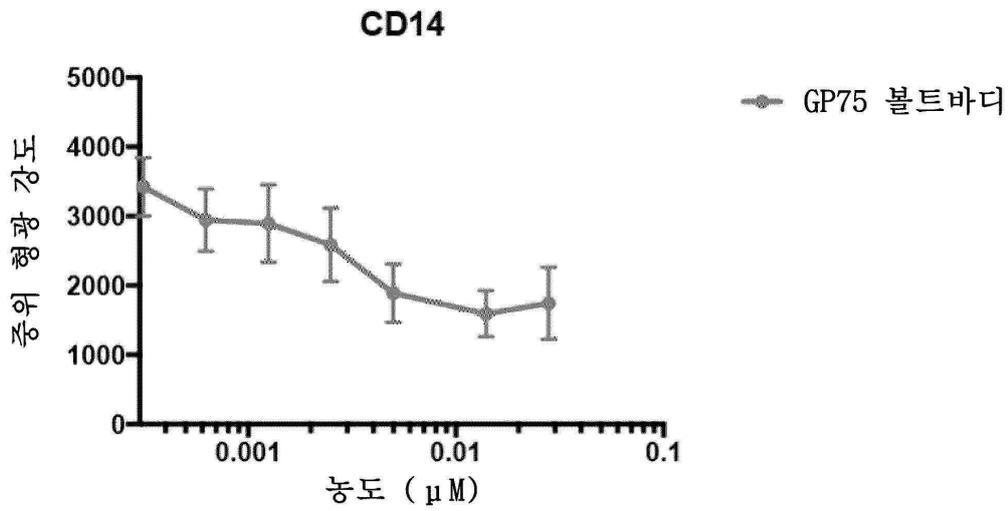
도면98a



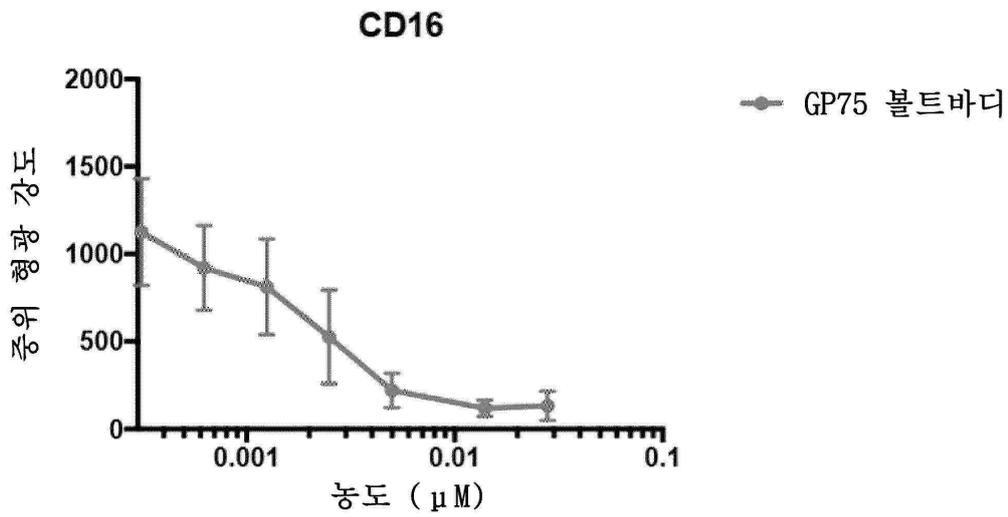
도면98b



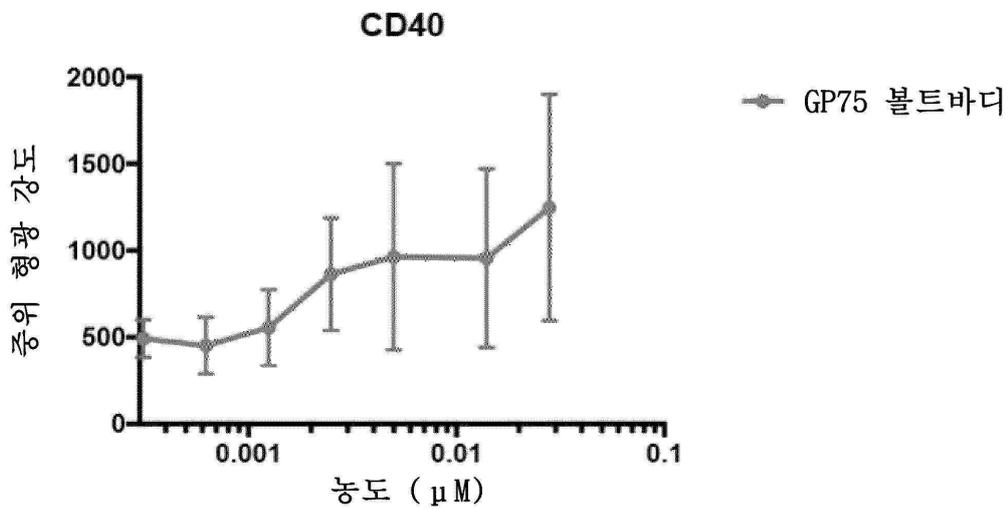
도면98c



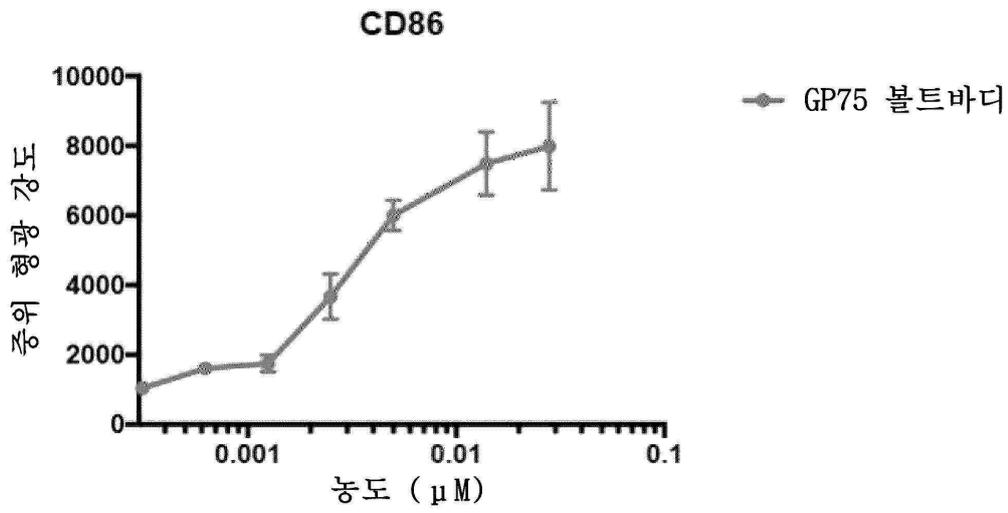
도면98d



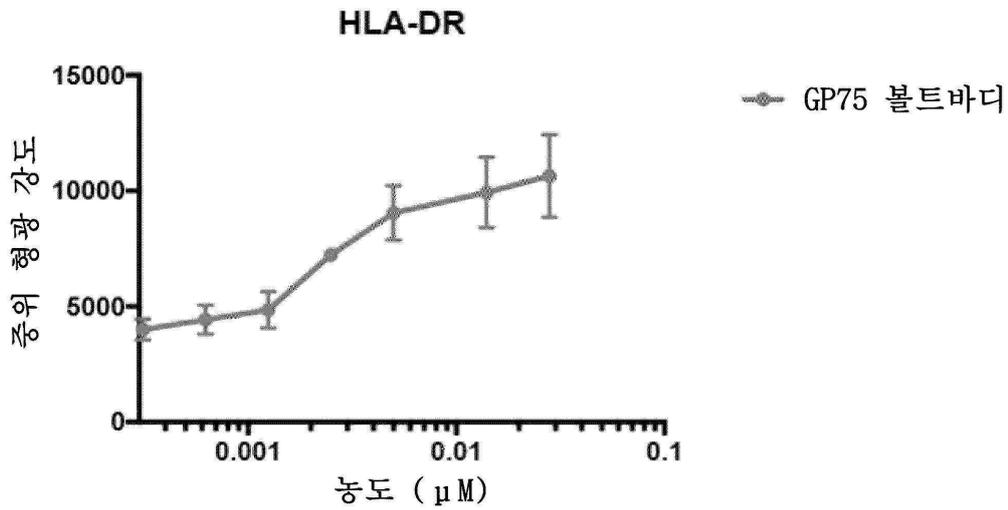
도면98e



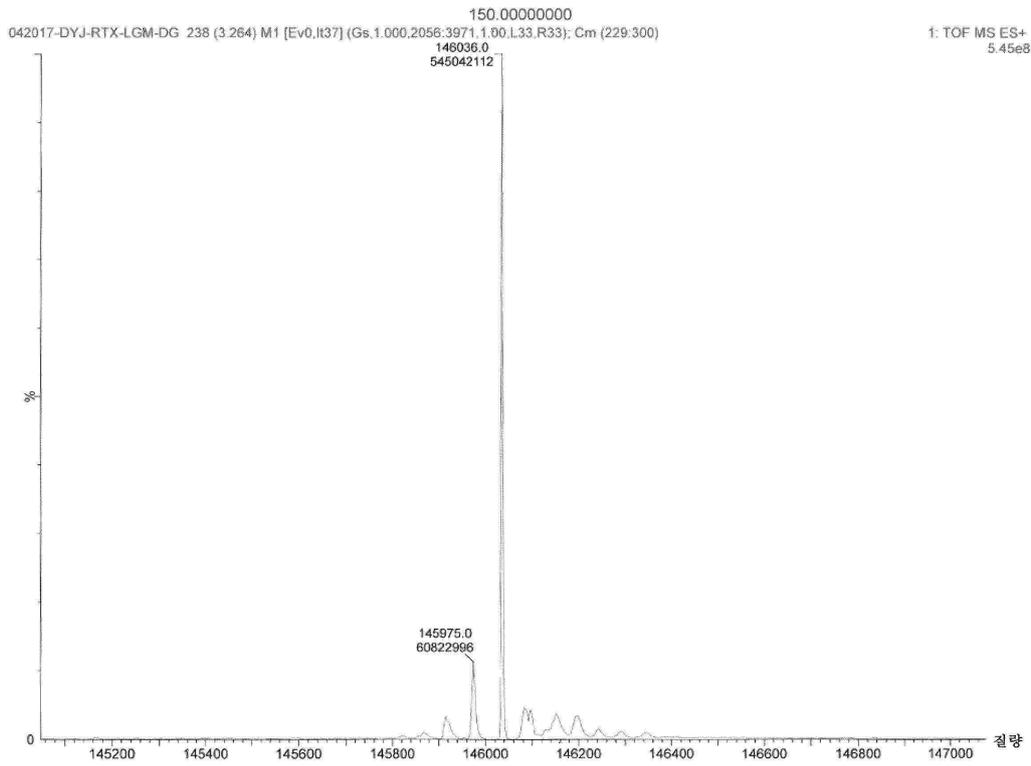
도면98f



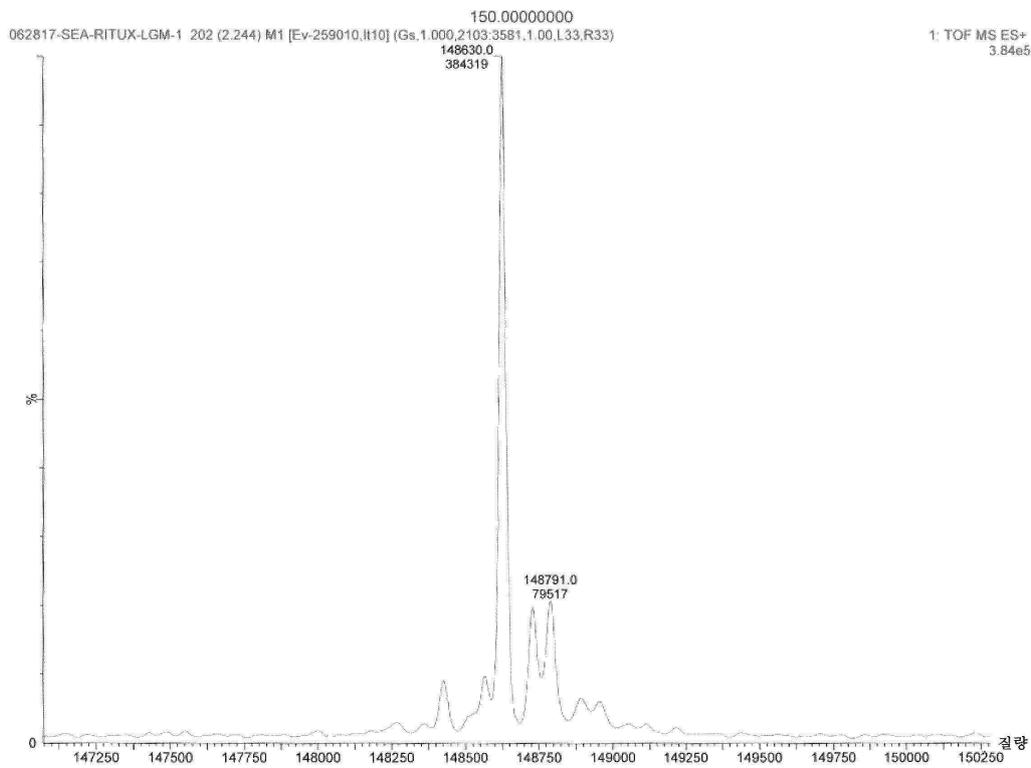
도면98g



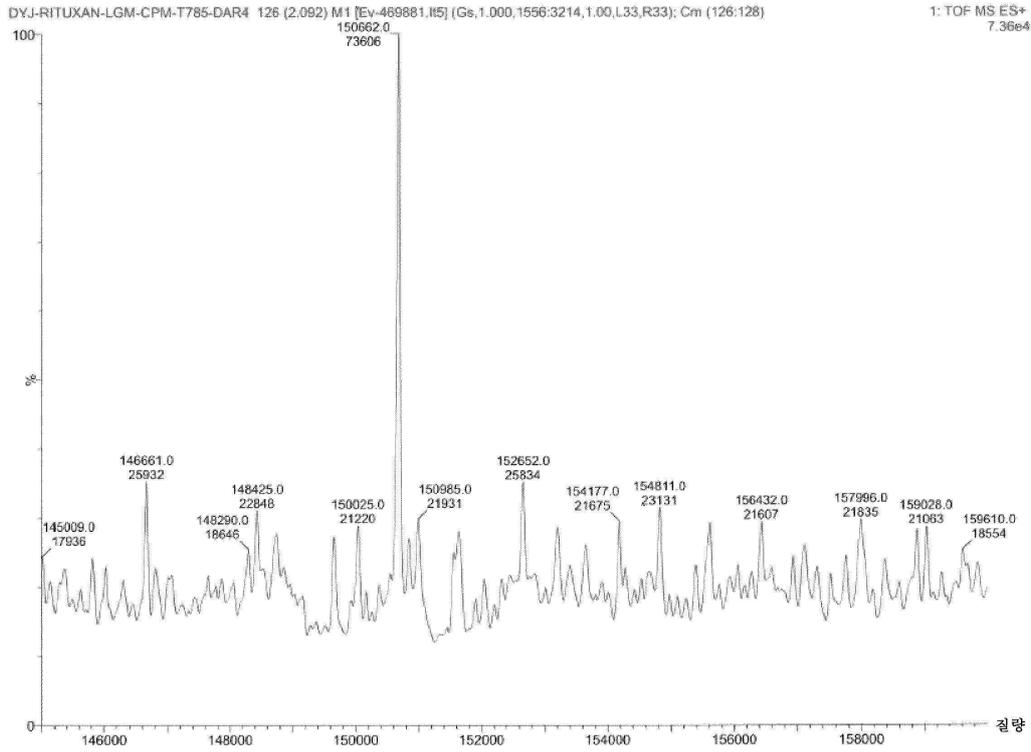
도면99a



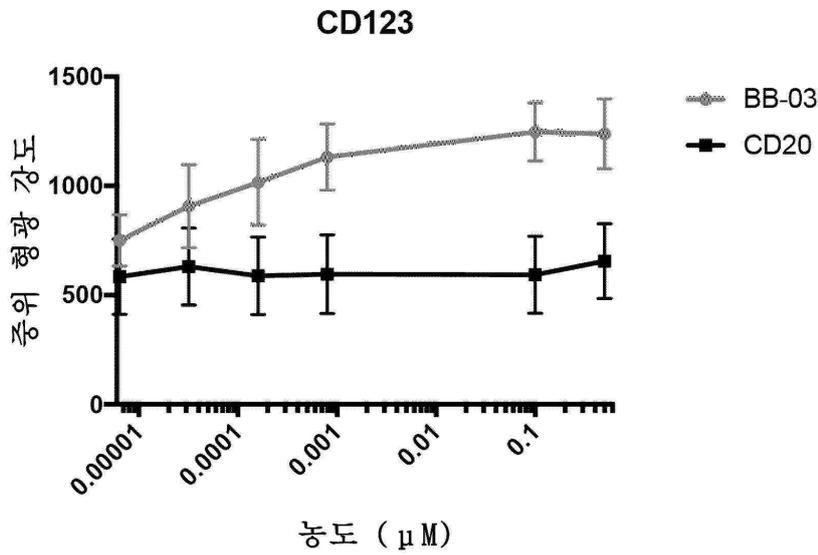
도면99b



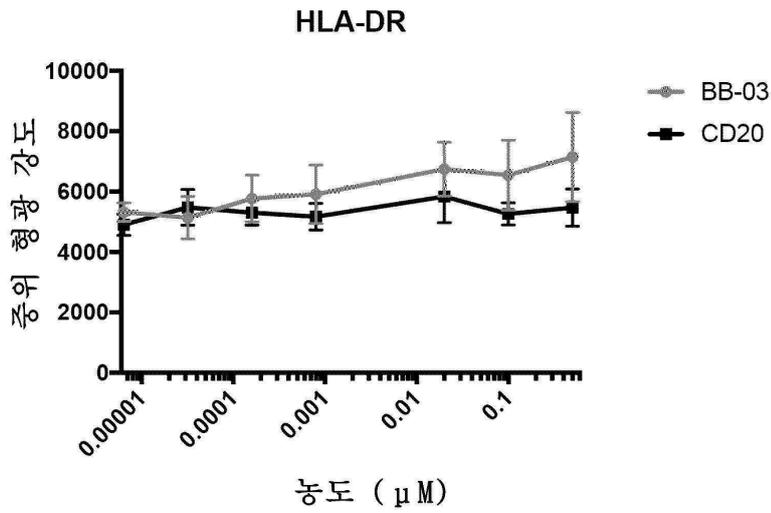
도면99c



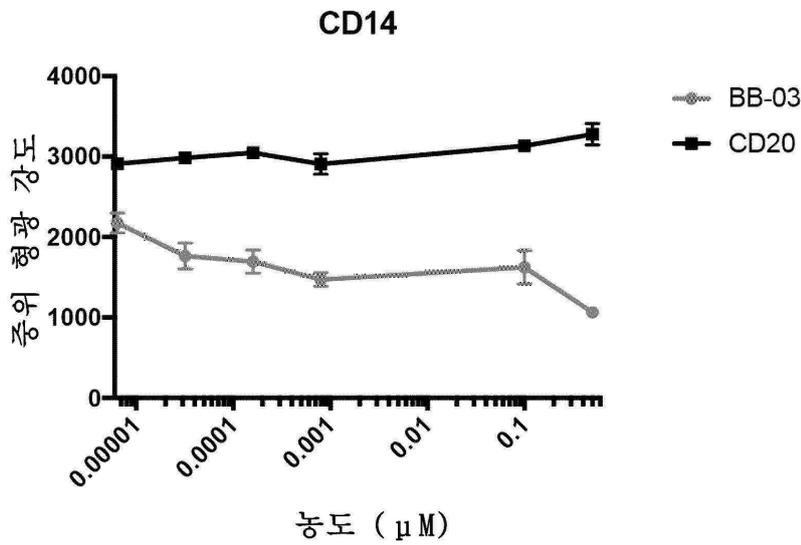
도면99d



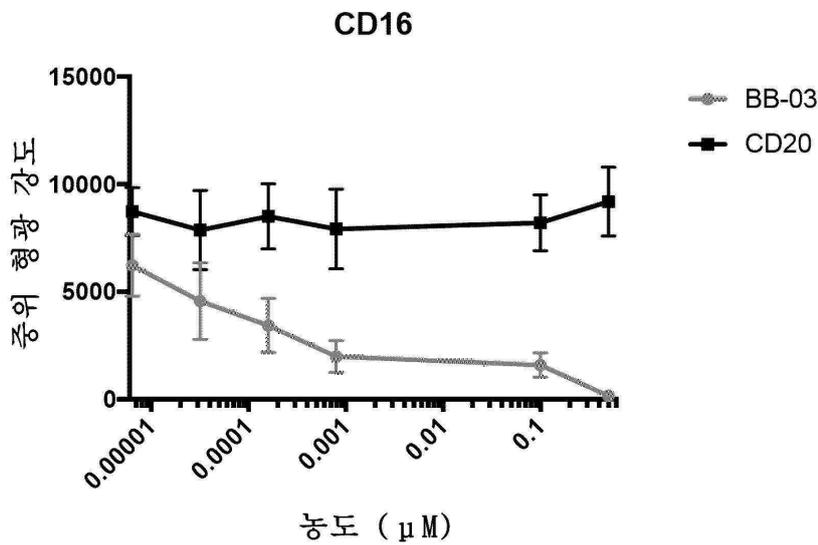
도면99e



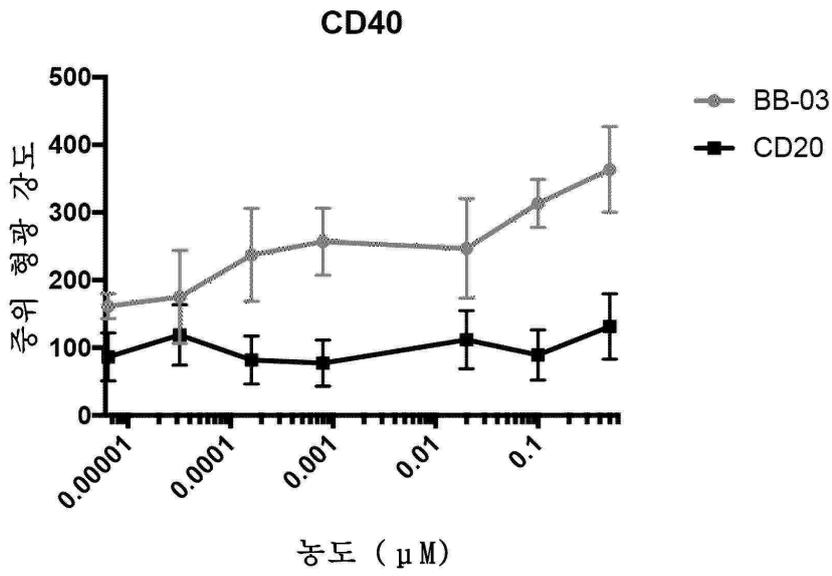
도면99f



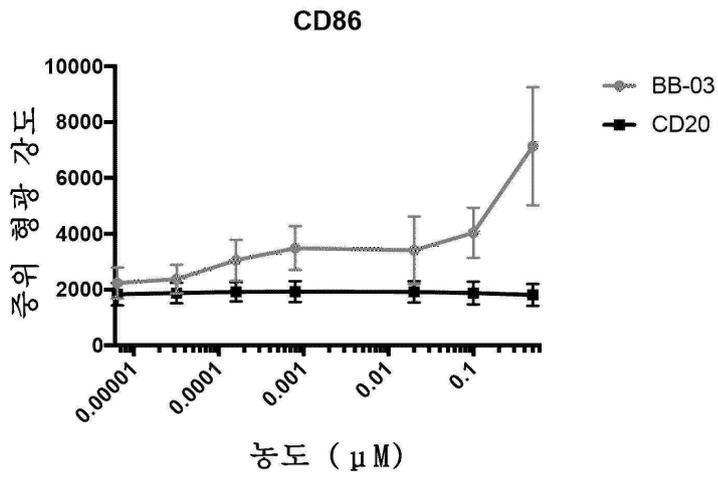
도면99g



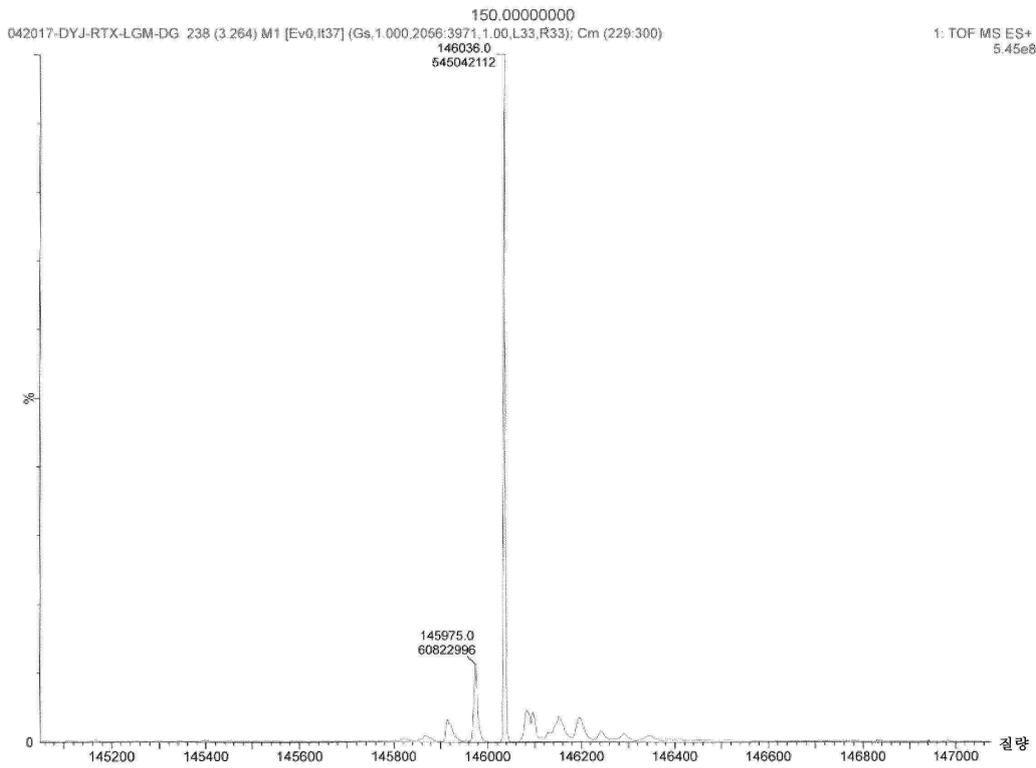
도면99h



도면99i

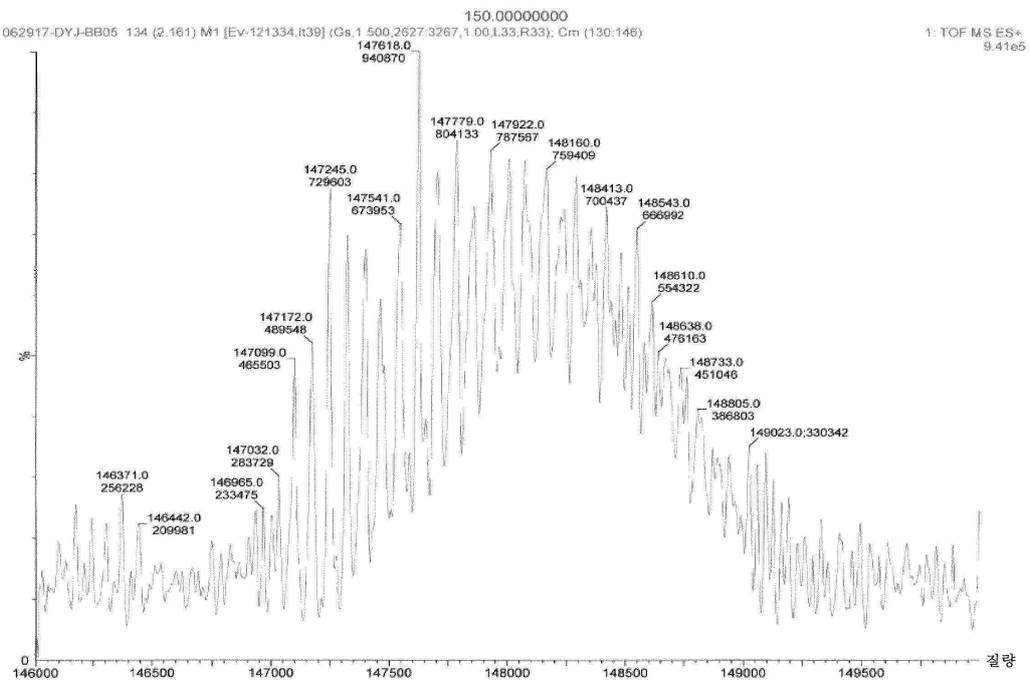


도면100a

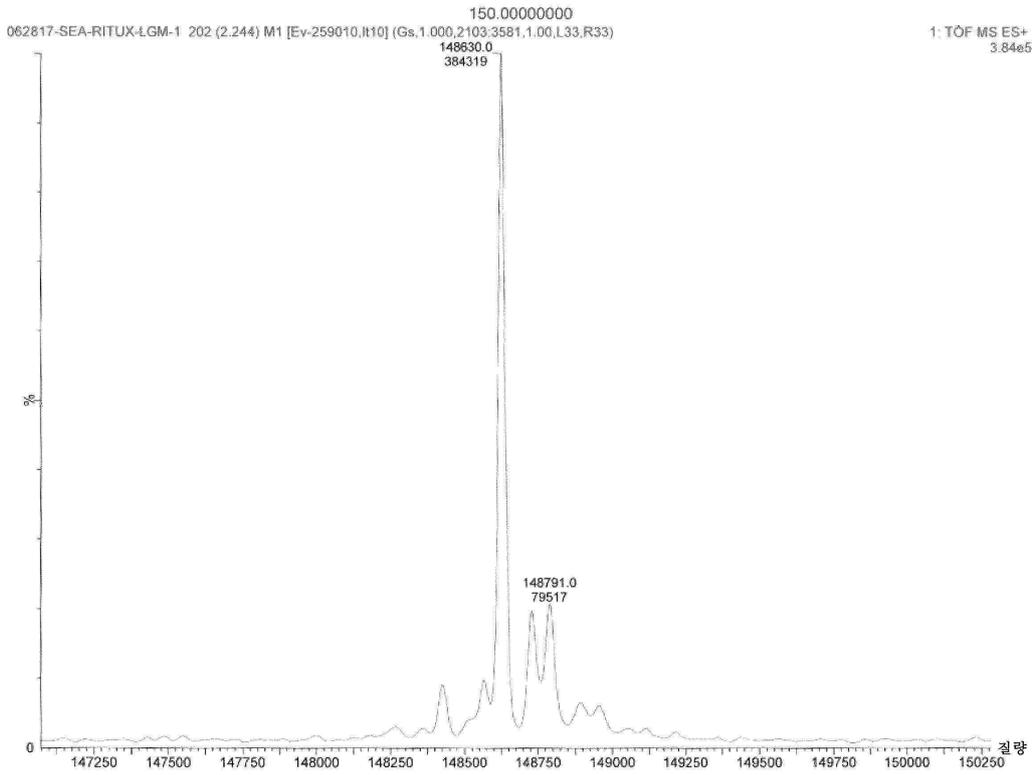


도면100b

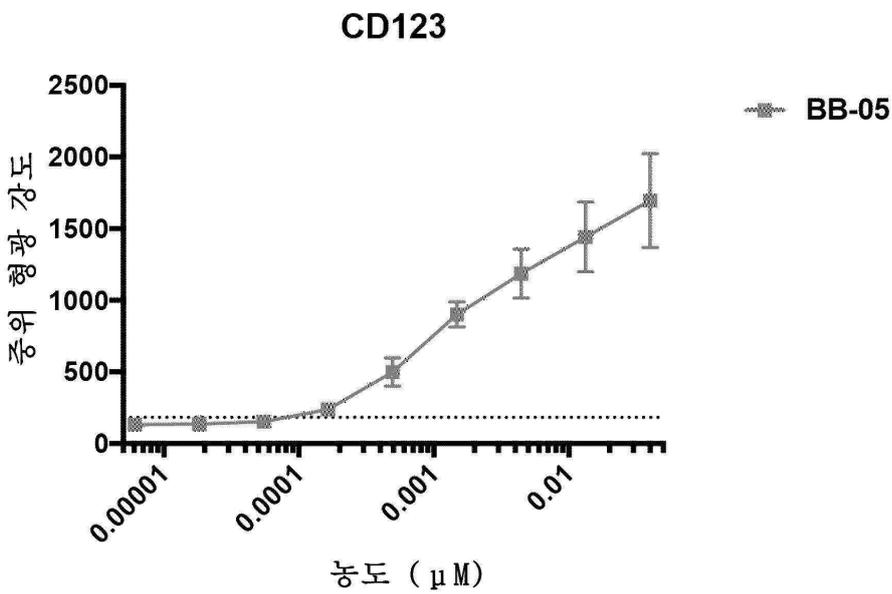
BB05-LC/MS



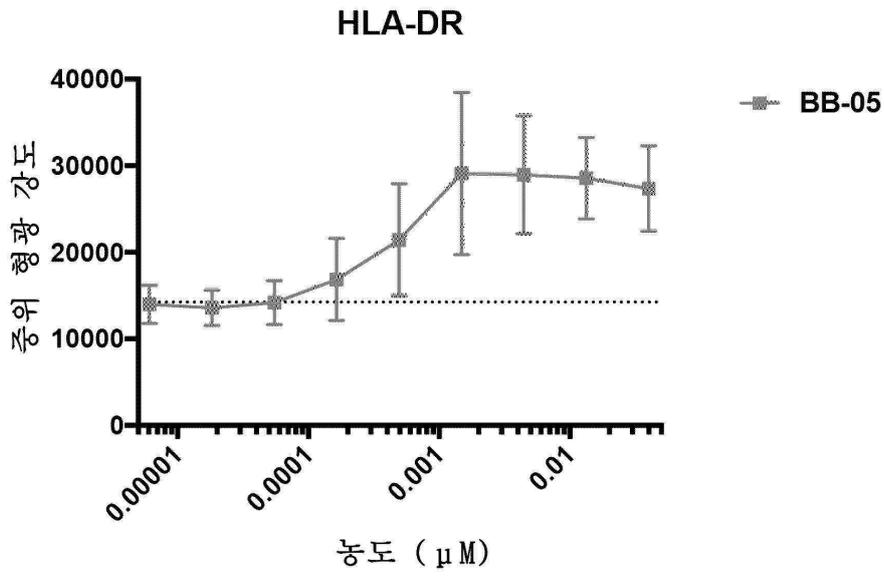
도면100c



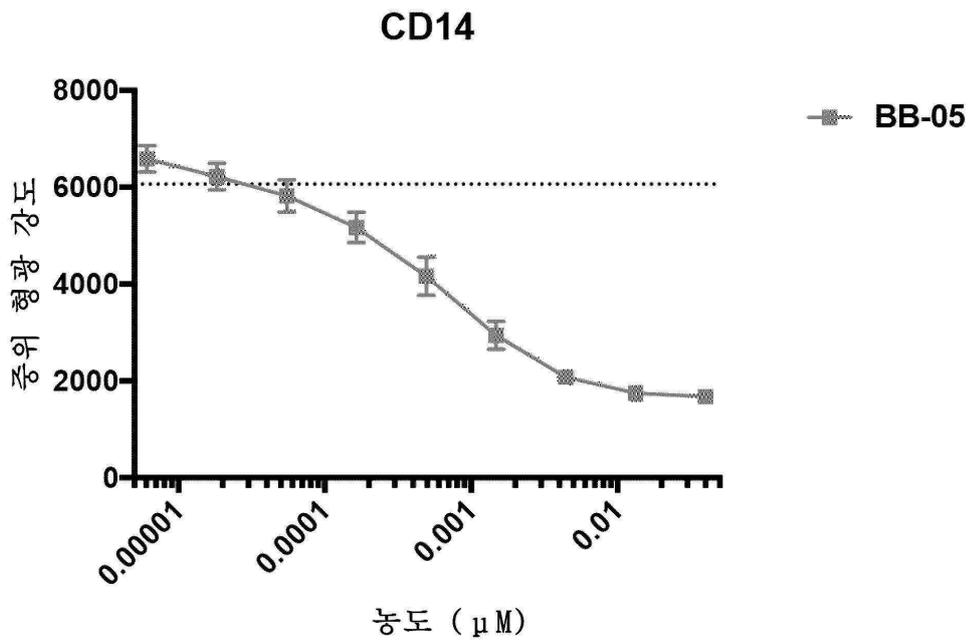
도면100d



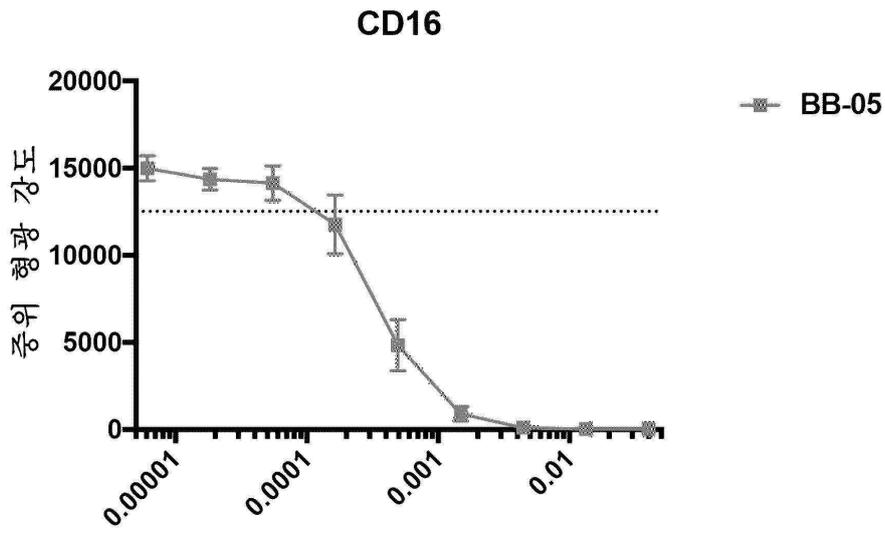
도면100e



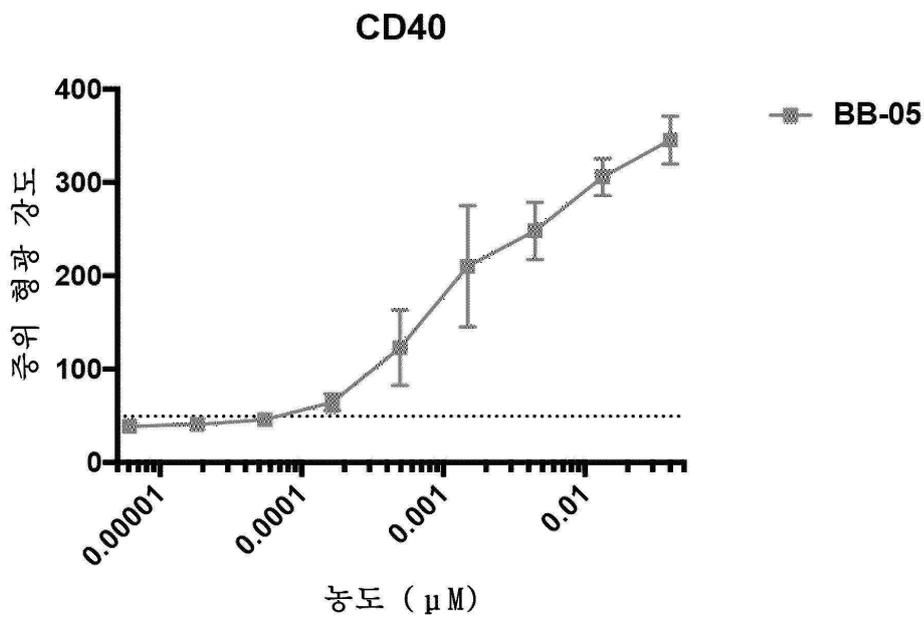
도면100f



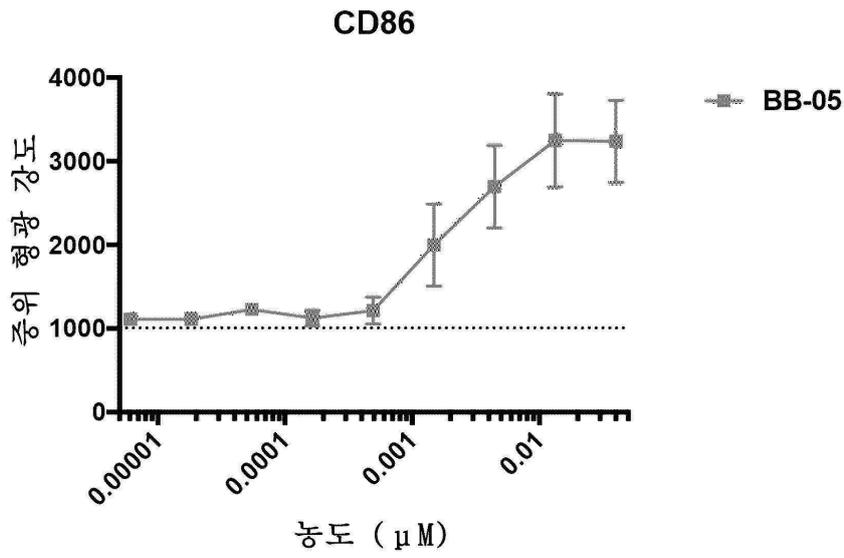
도면100g



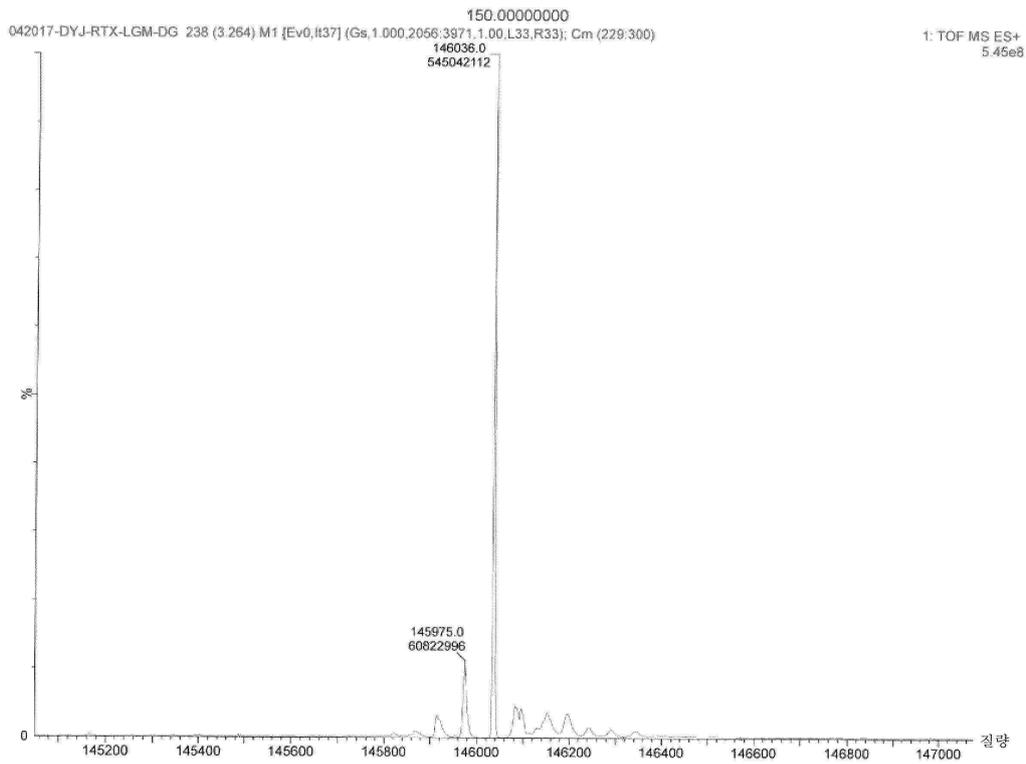
도면100h



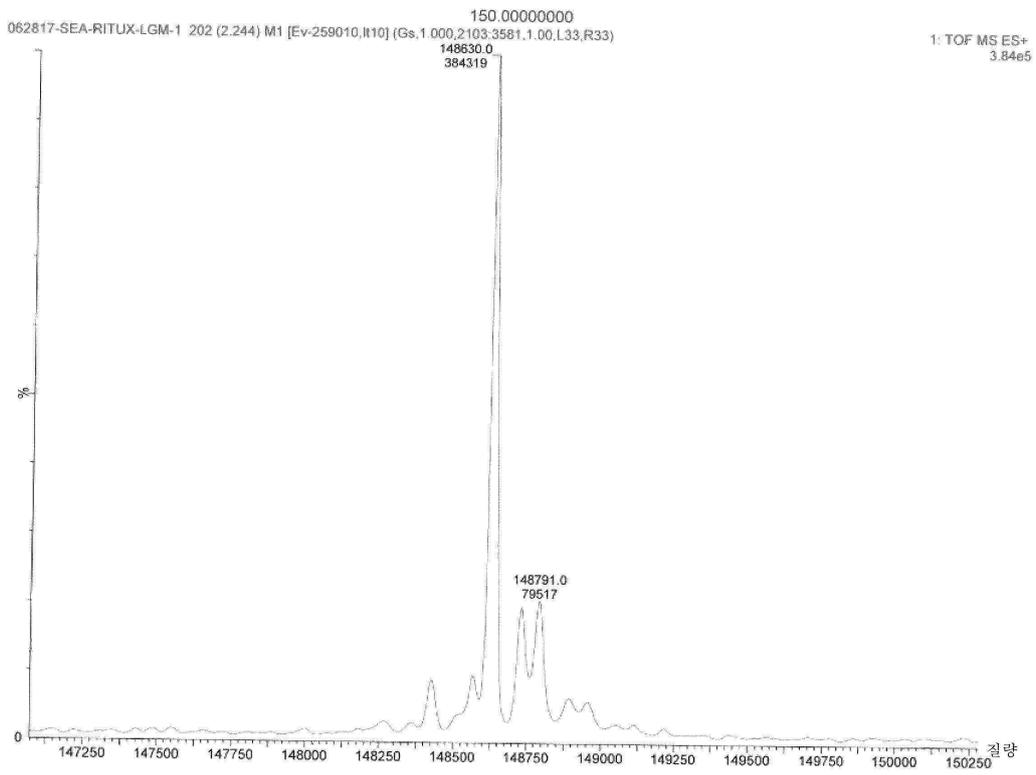
도면100i



도면101a

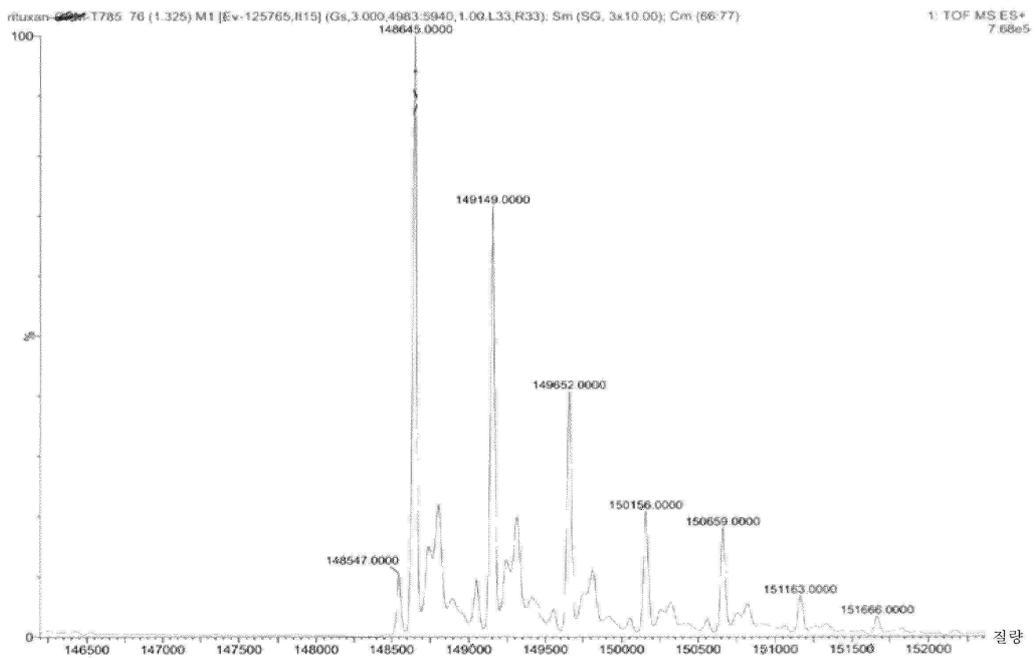


도면101b



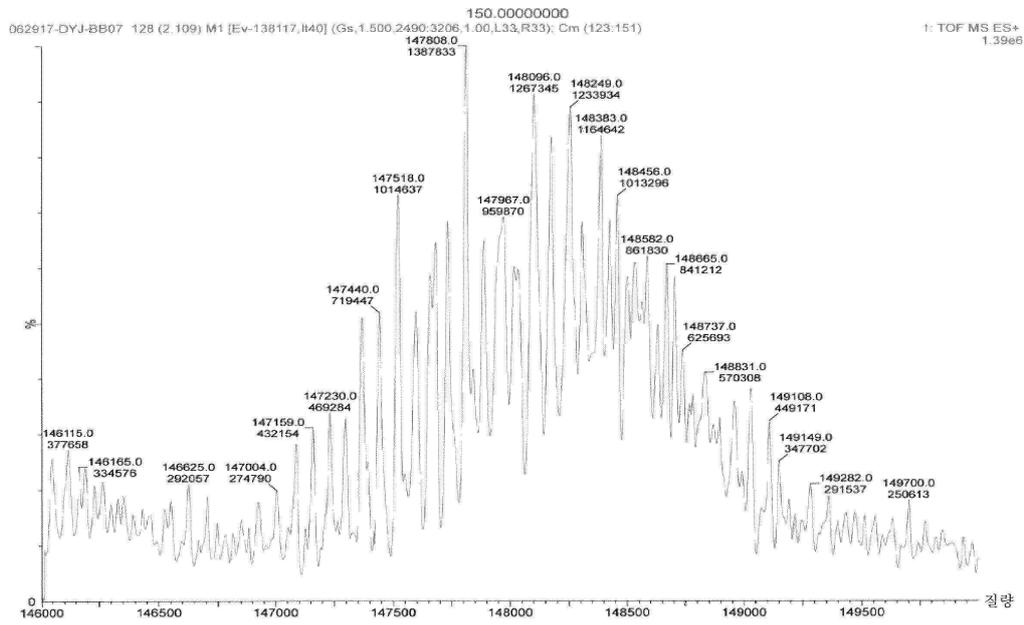
도면101c

BB06 LC-MS DAR 1.1

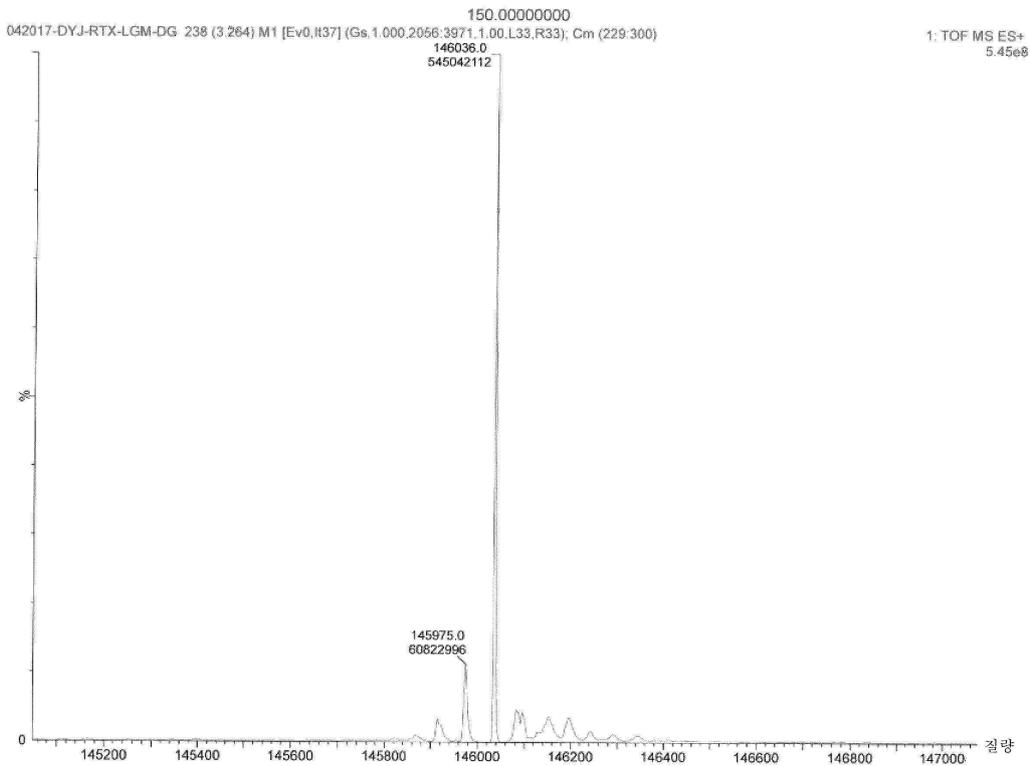


도면102a

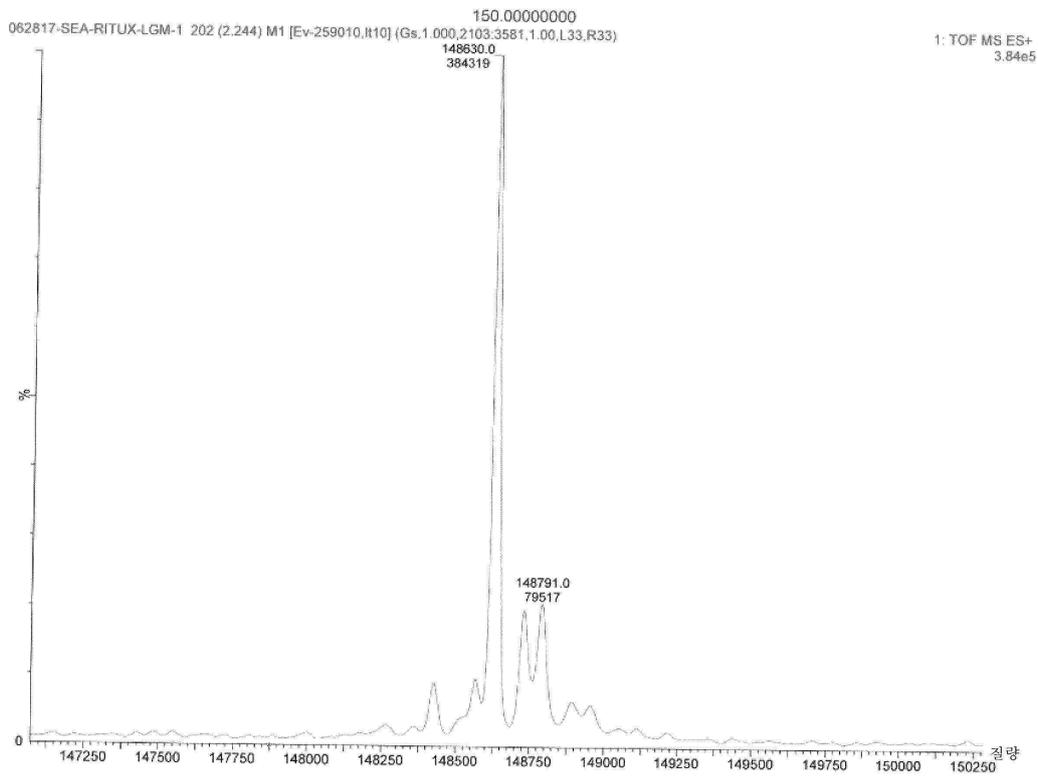
BB07 LC-MS



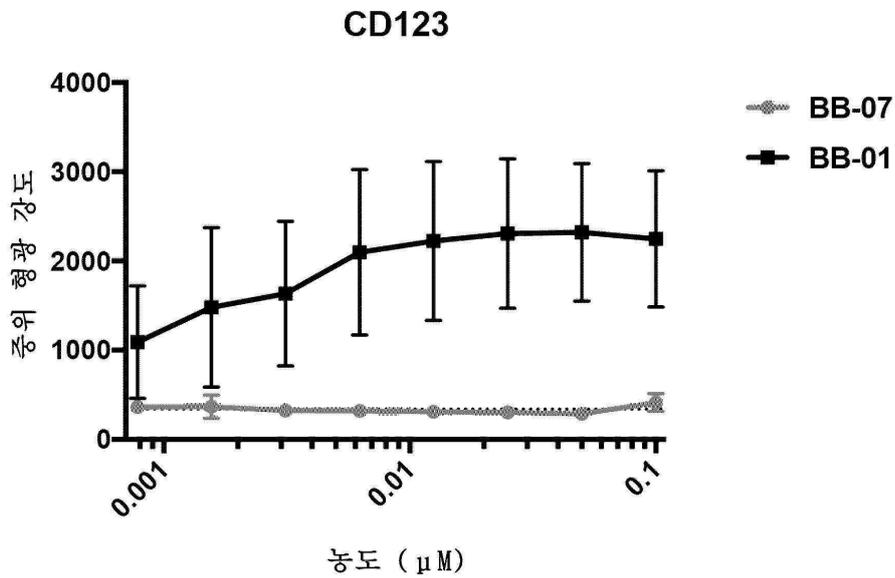
도면102b



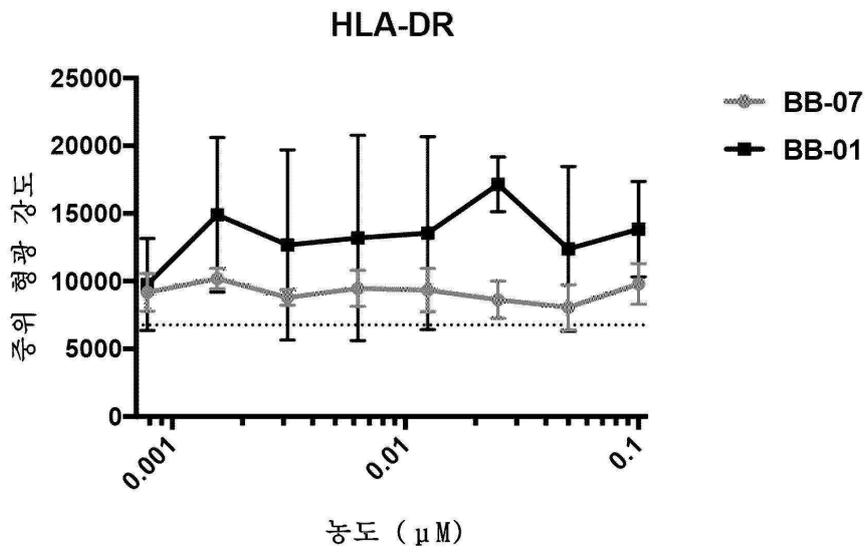
도면102c



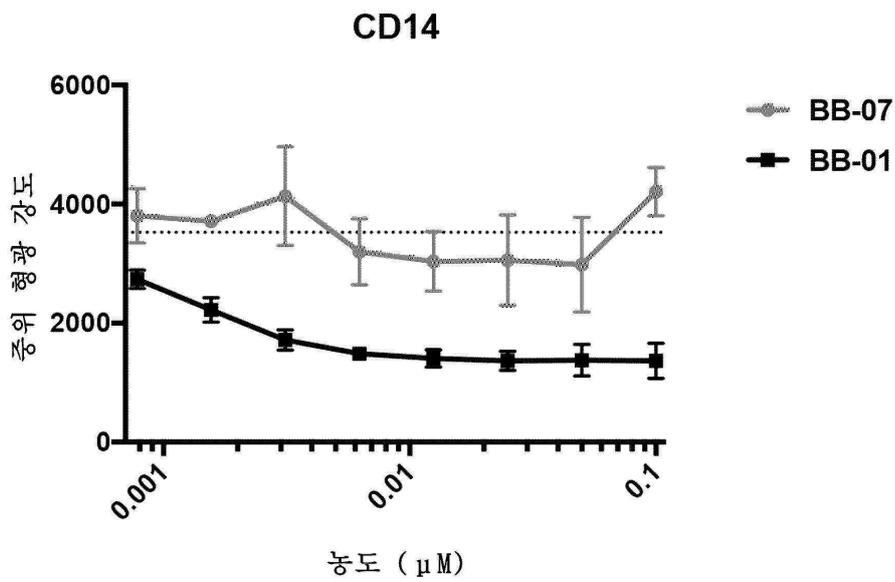
도면102d



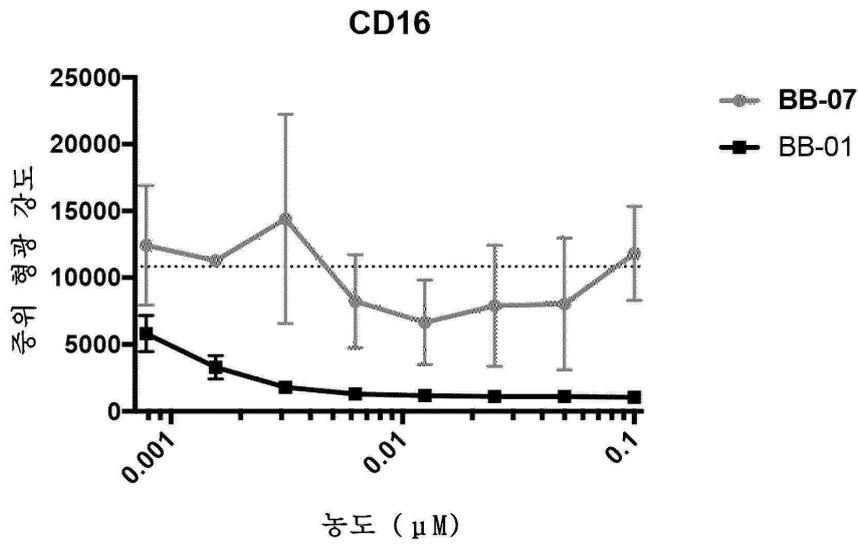
도면102e



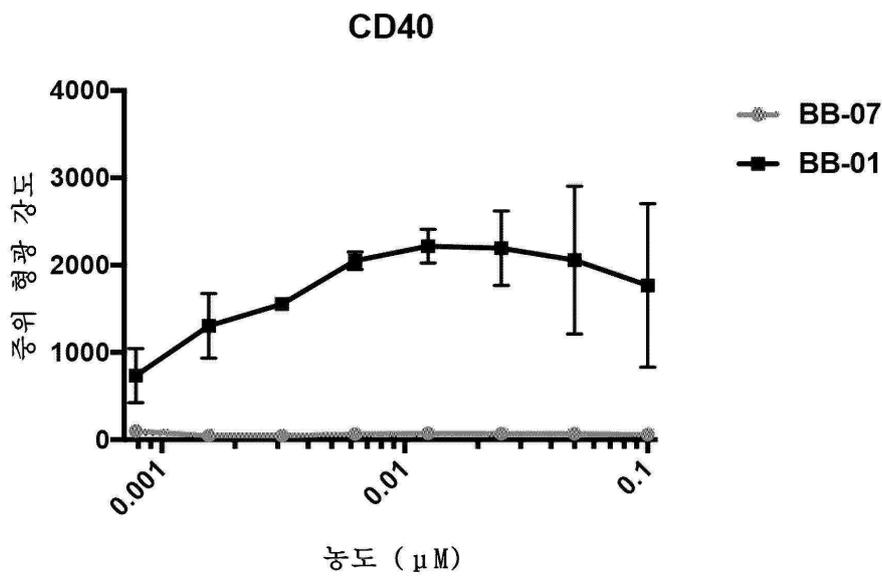
도면102f



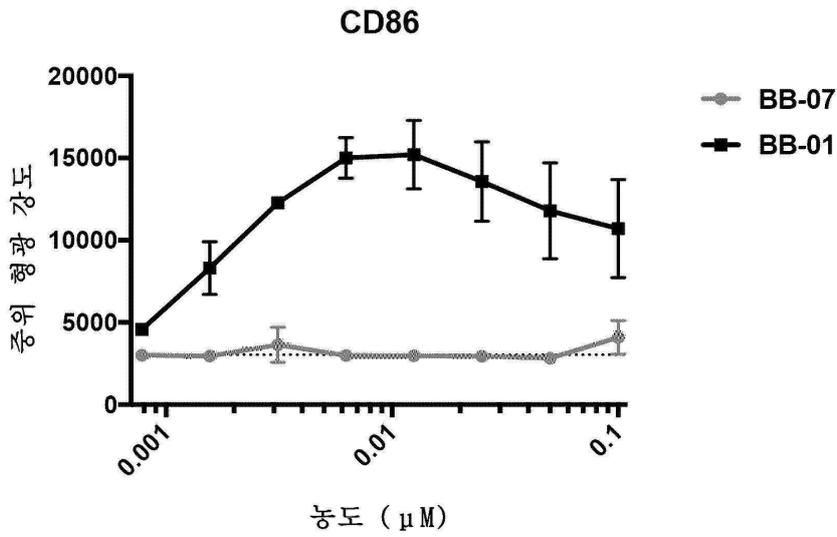
도면102g



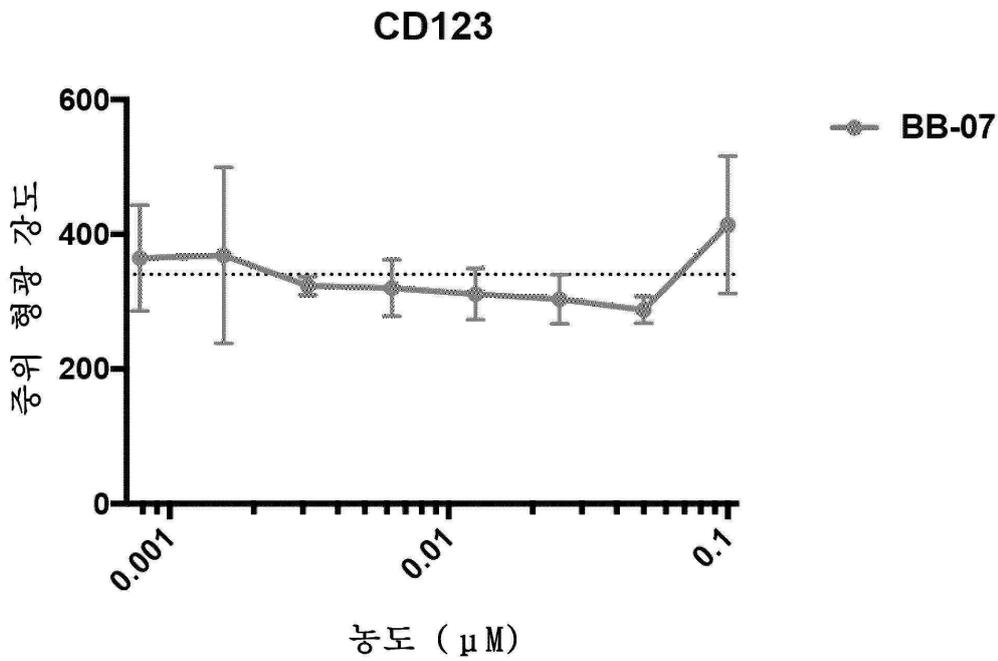
도면102h



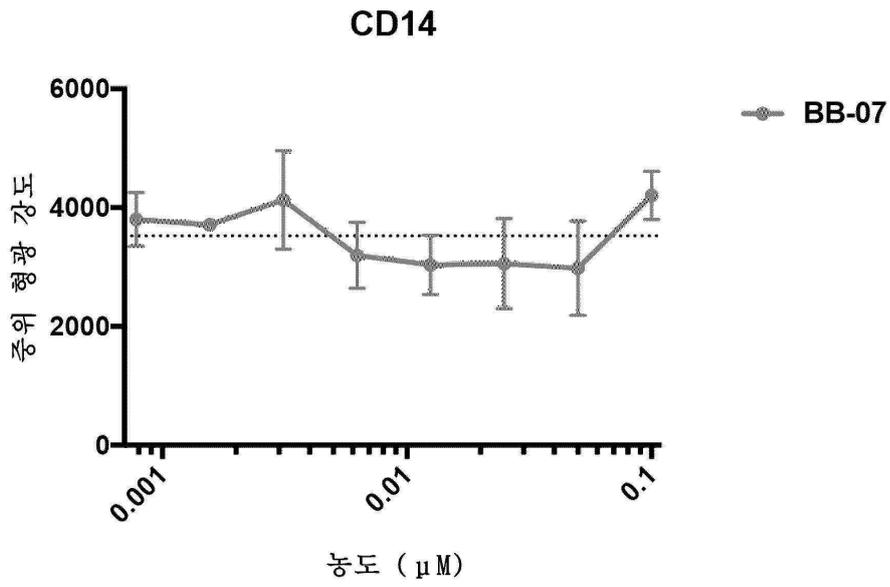
도면102i



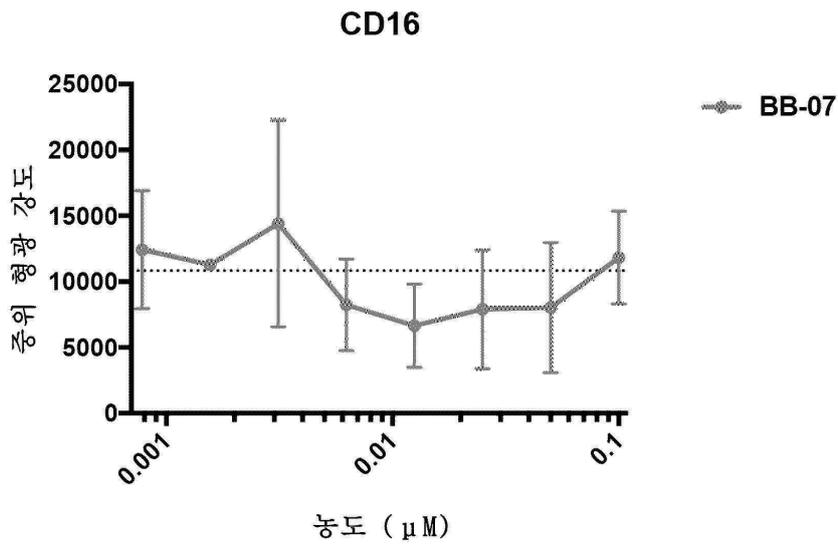
도면102j



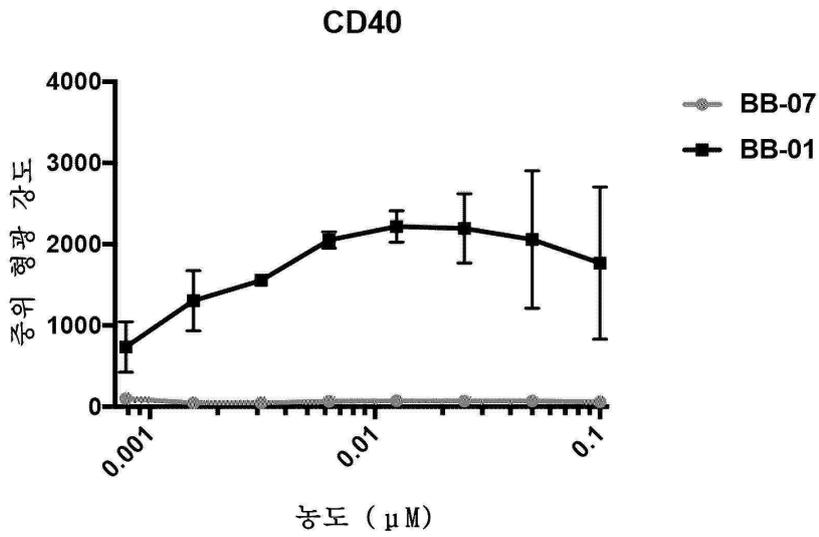
도면102k



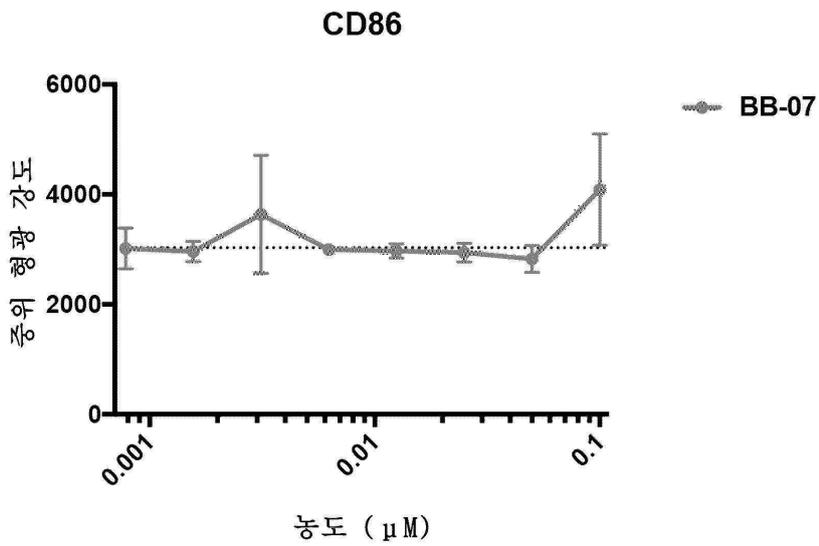
도면102l



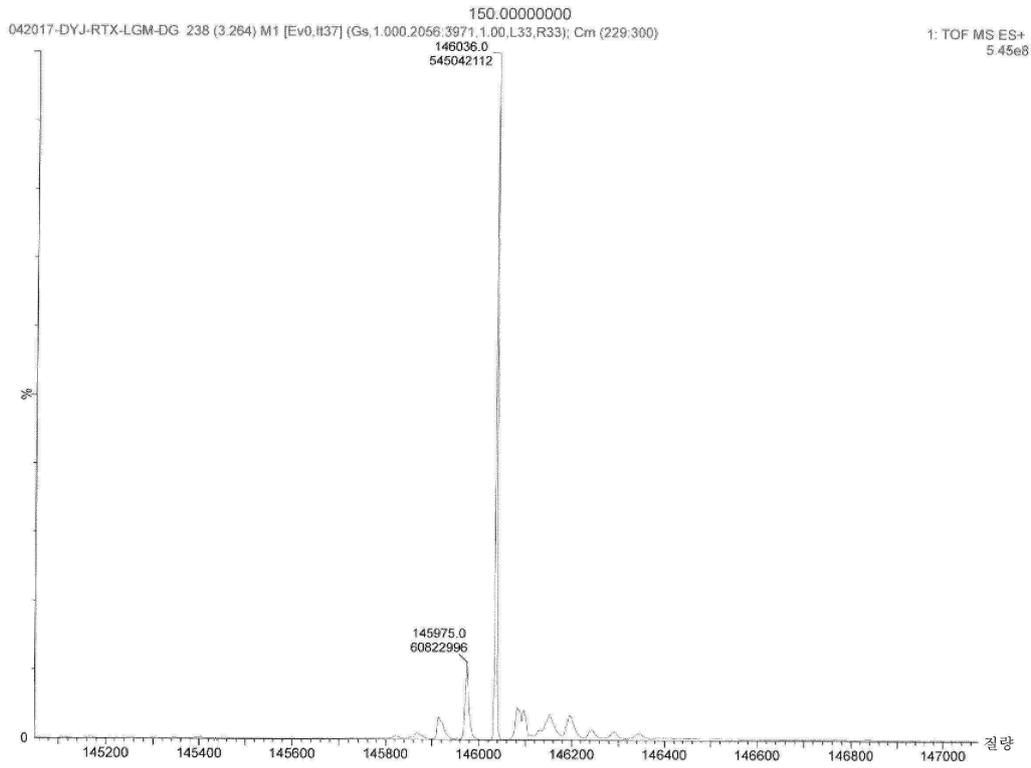
도면102m



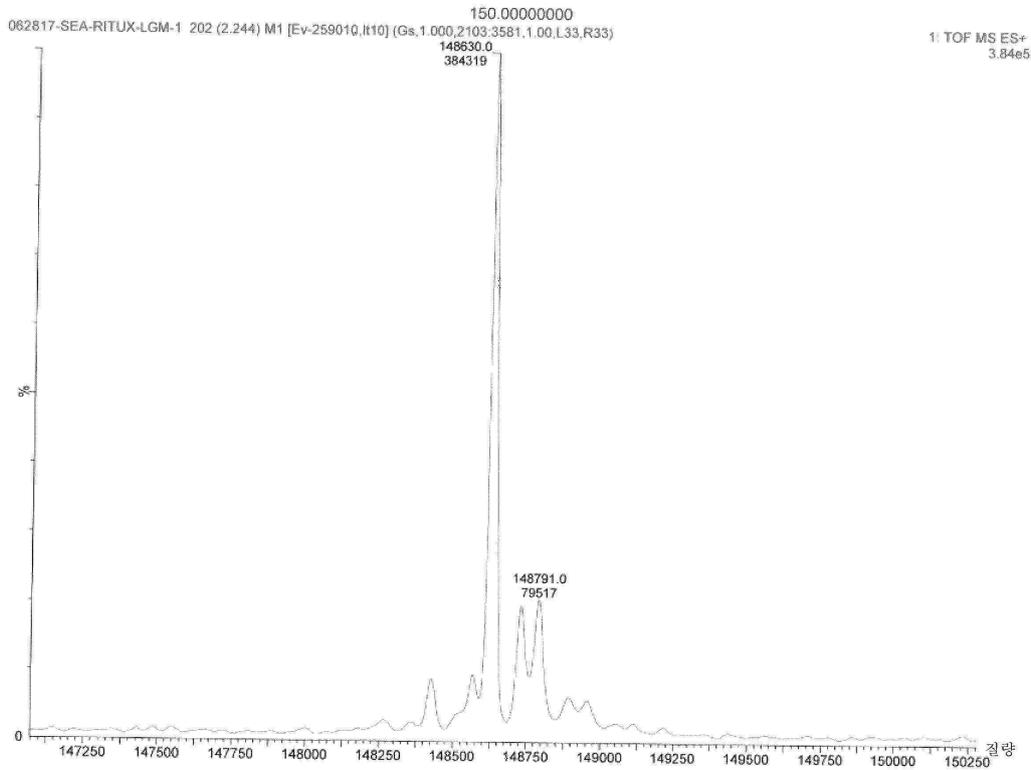
도면102n



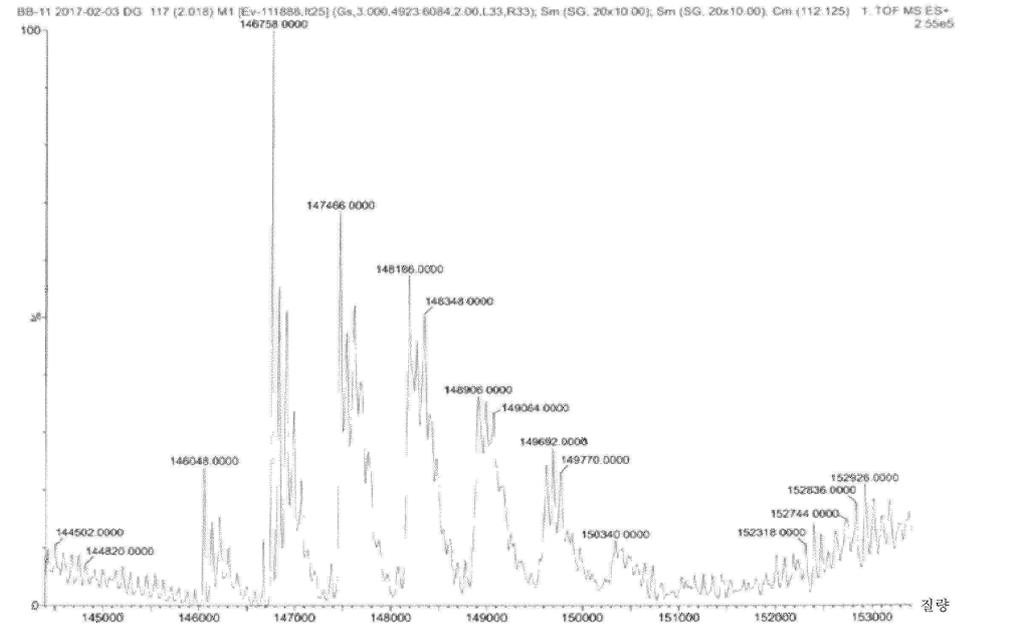
도면103a



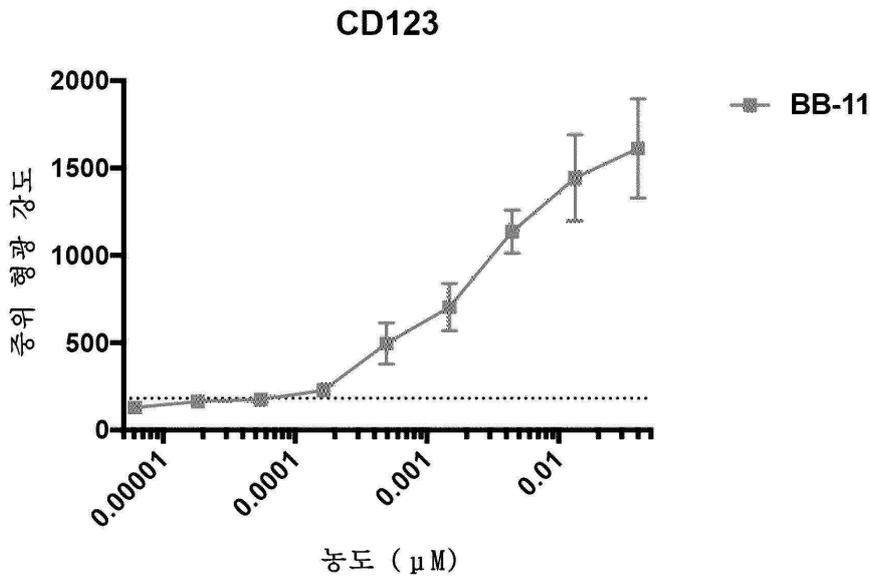
도면103b



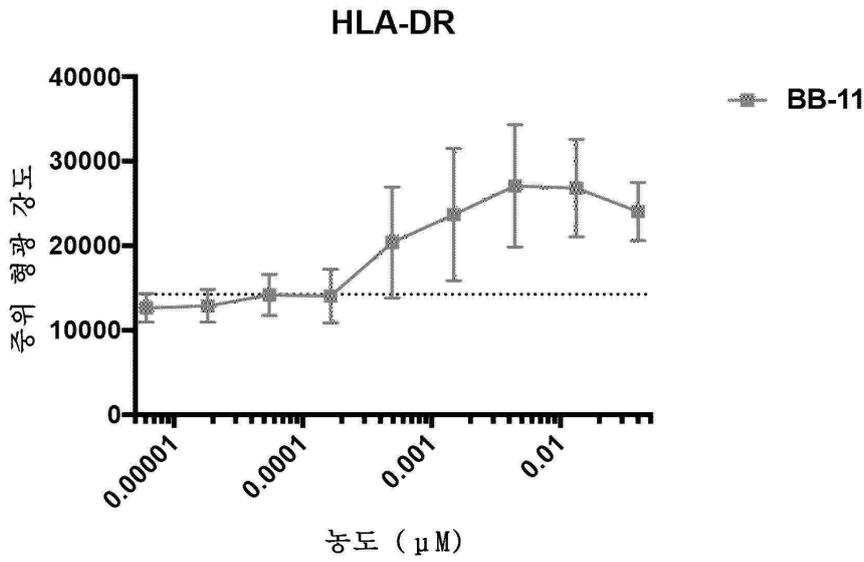
도면103c



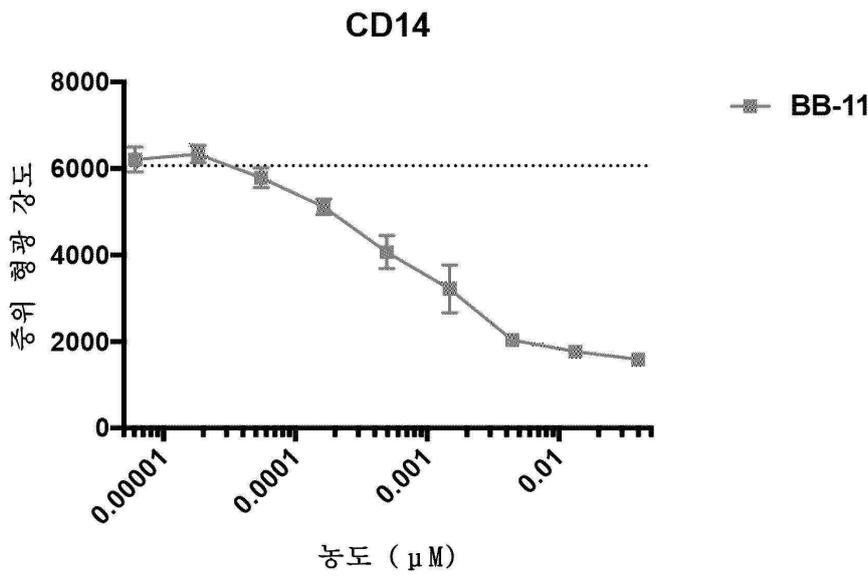
도면103d



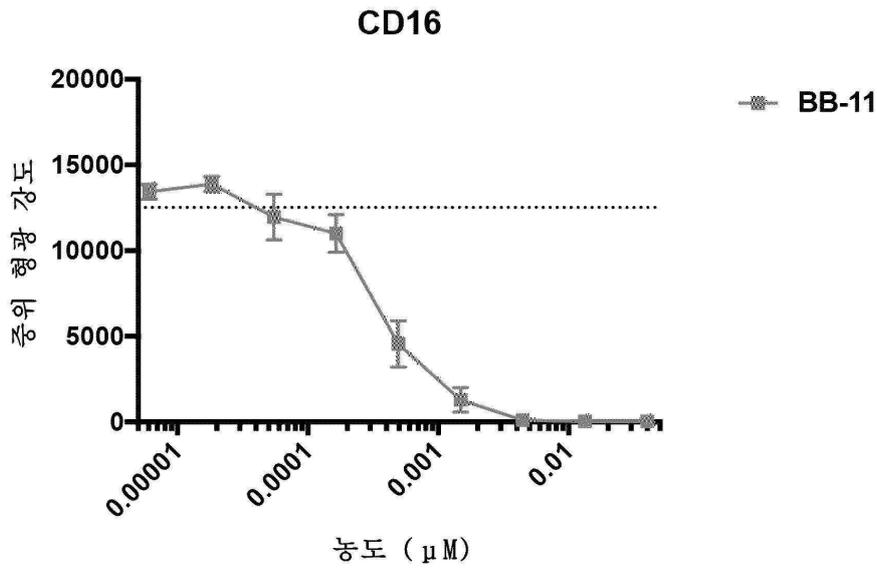
도면103e



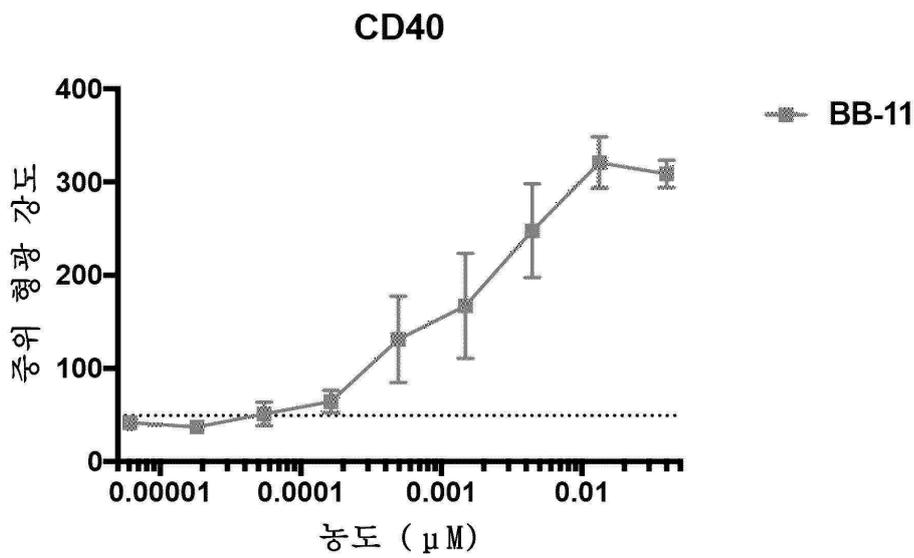
도면103f



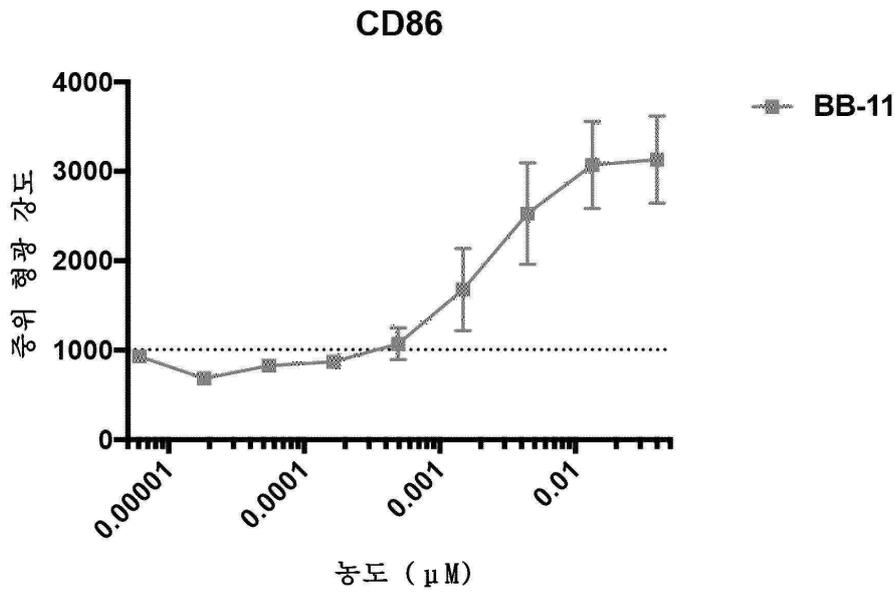
도면103g



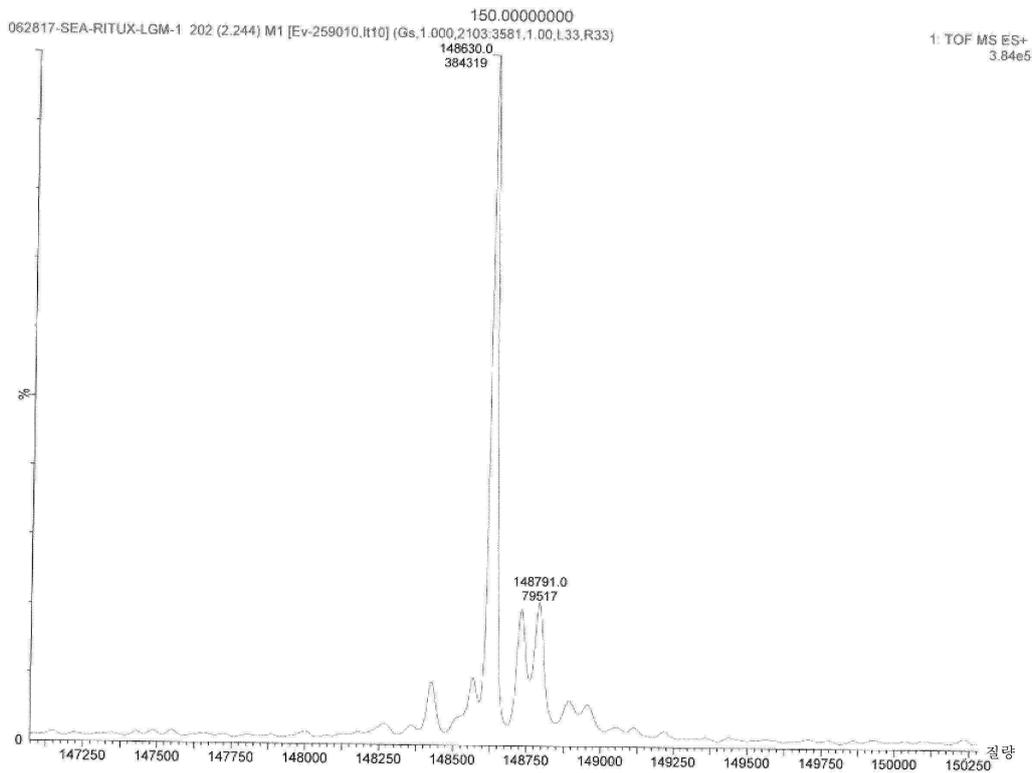
도면103h



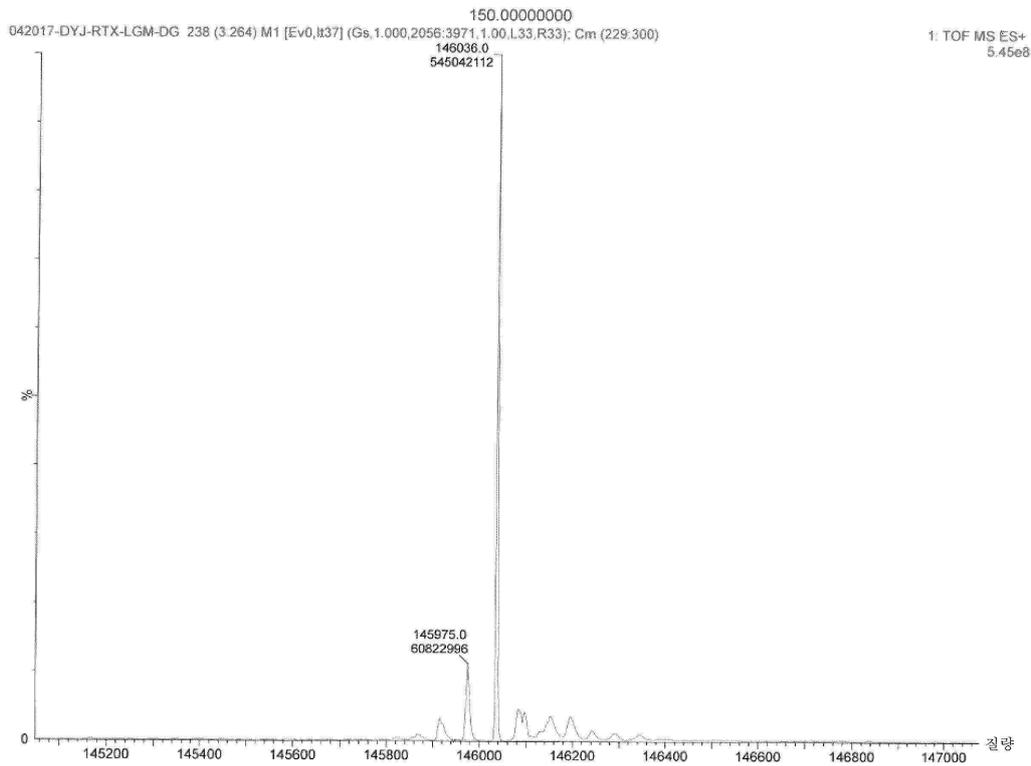
도면103i



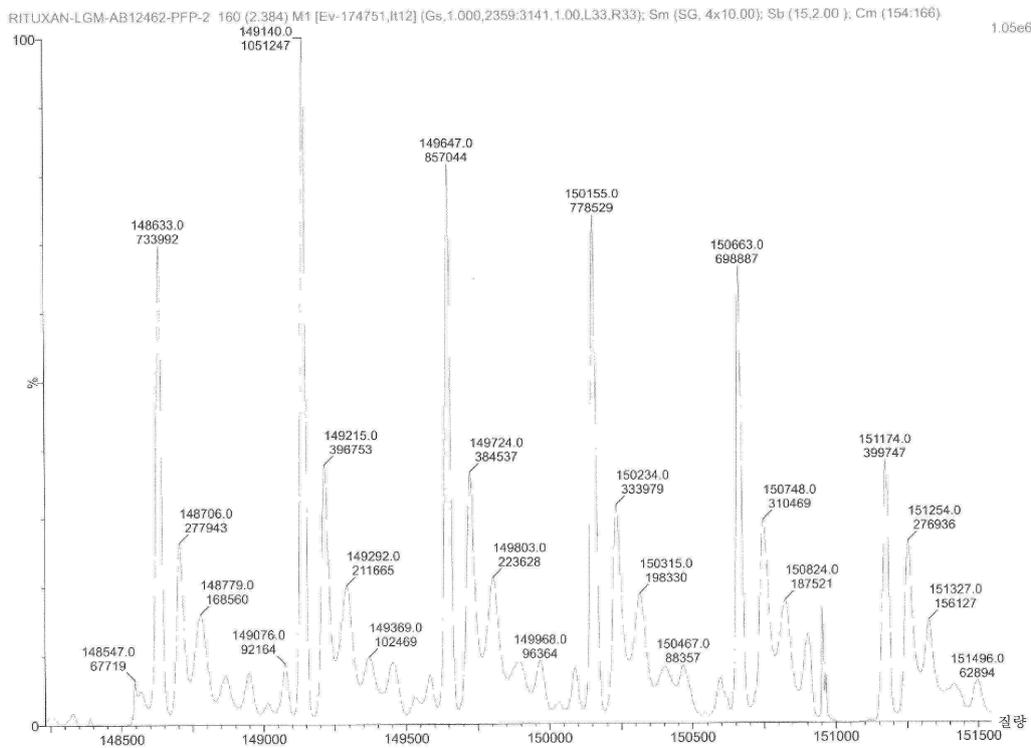
도면104a



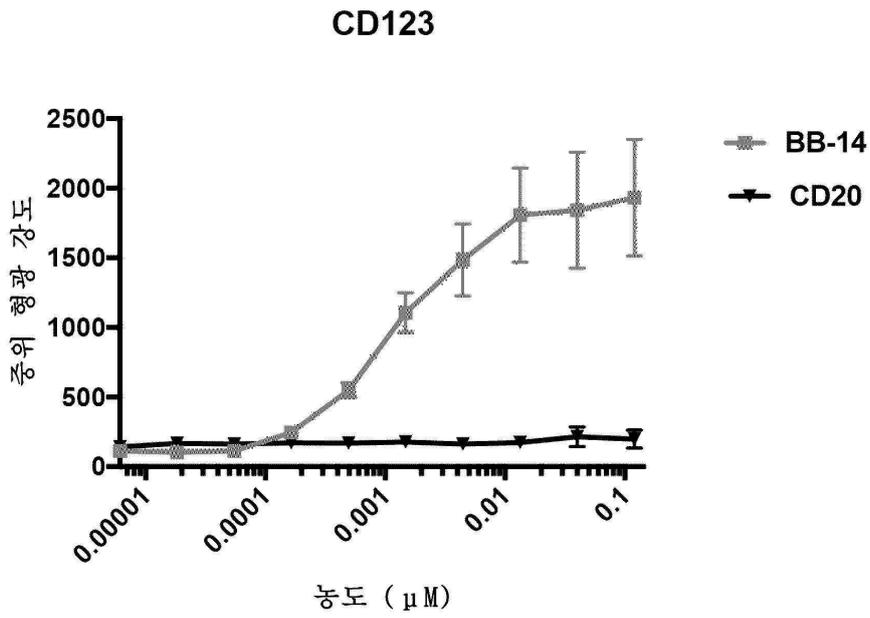
도면104b



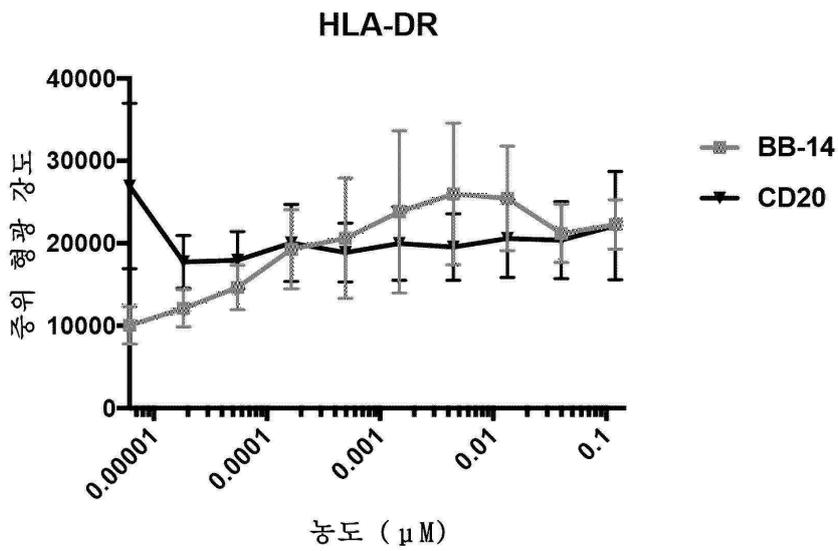
도면104c



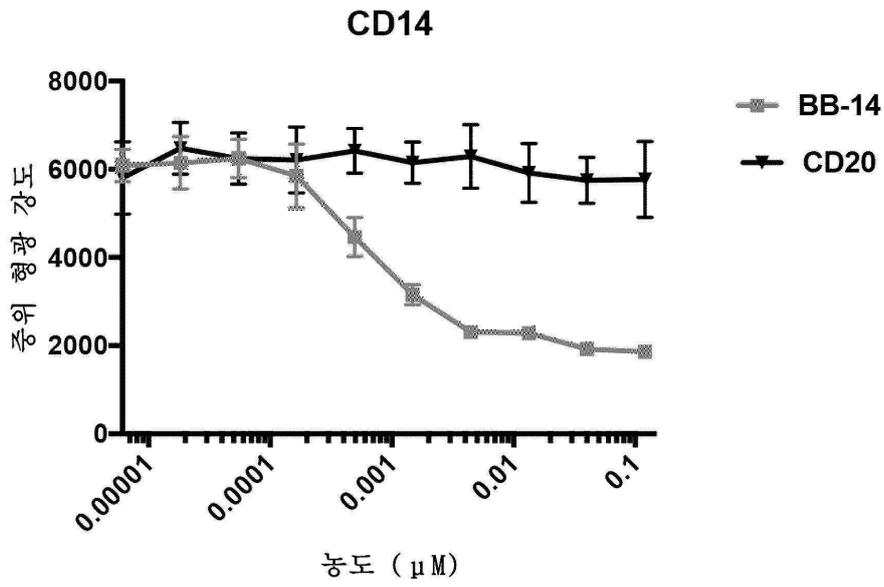
도면104d



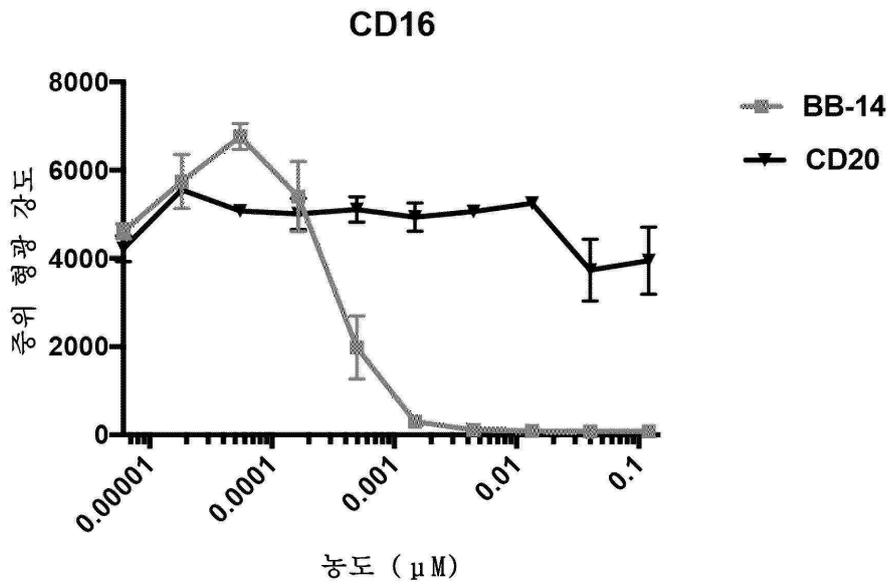
도면104e



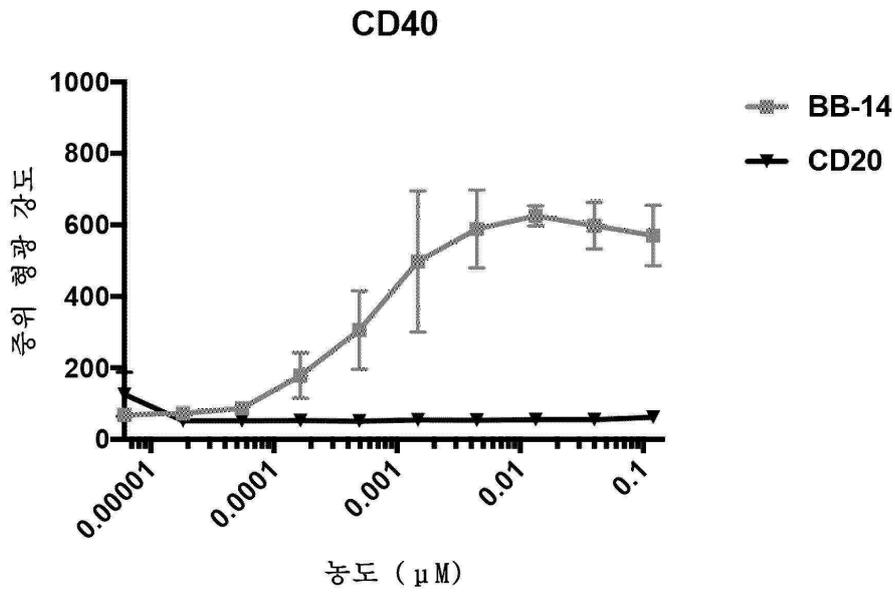
도면104f



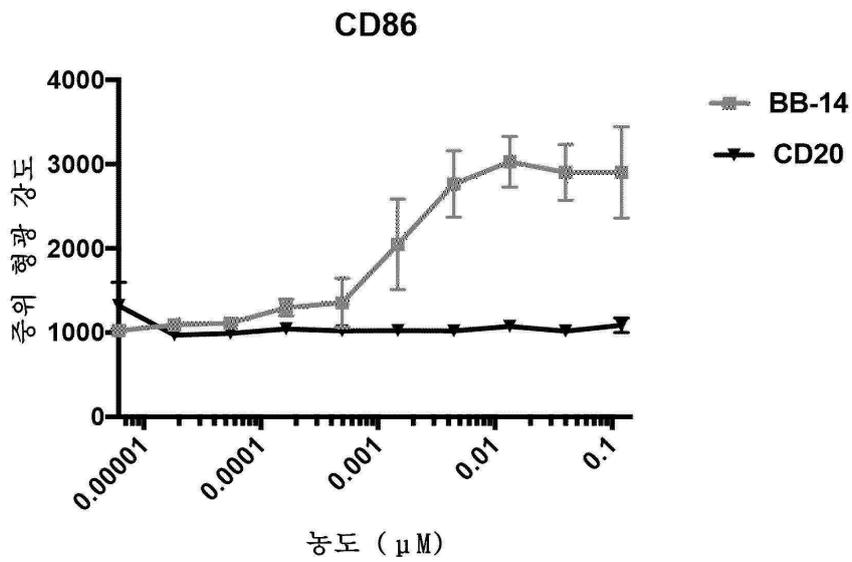
도면104g



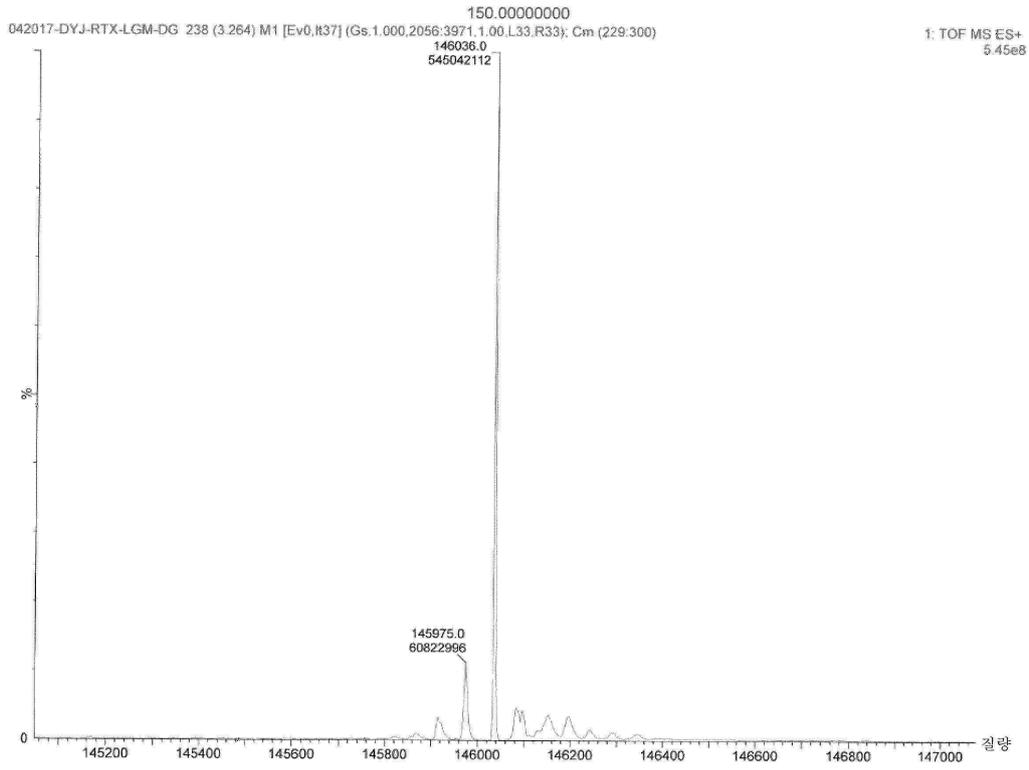
도면104h



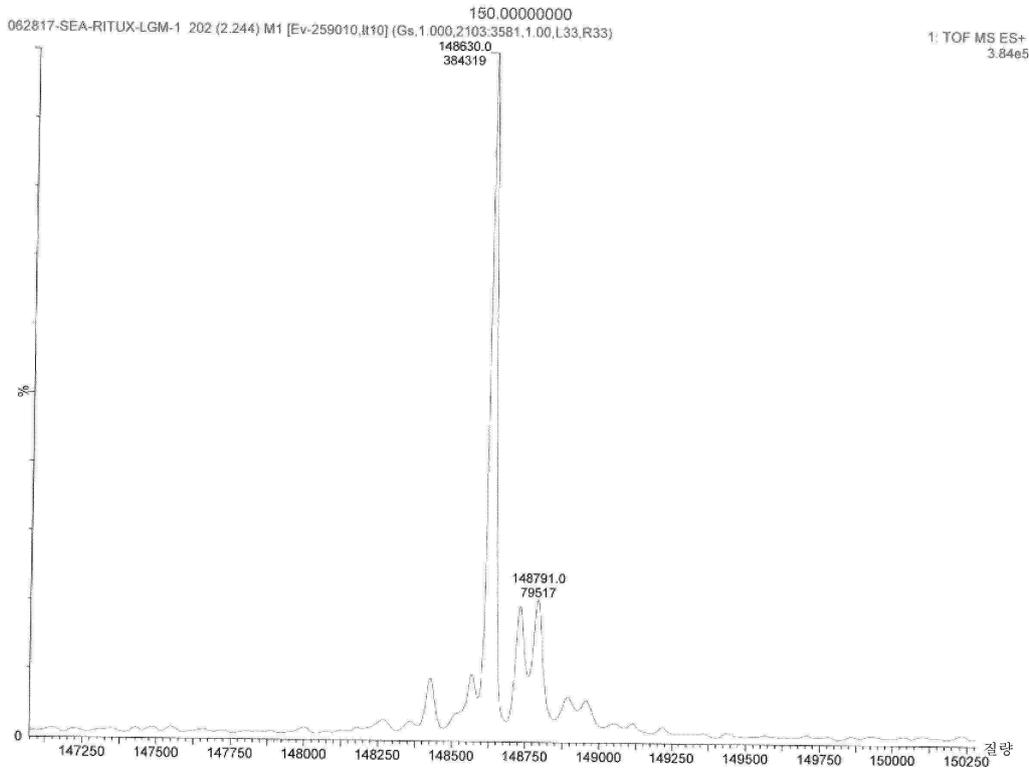
도면104i



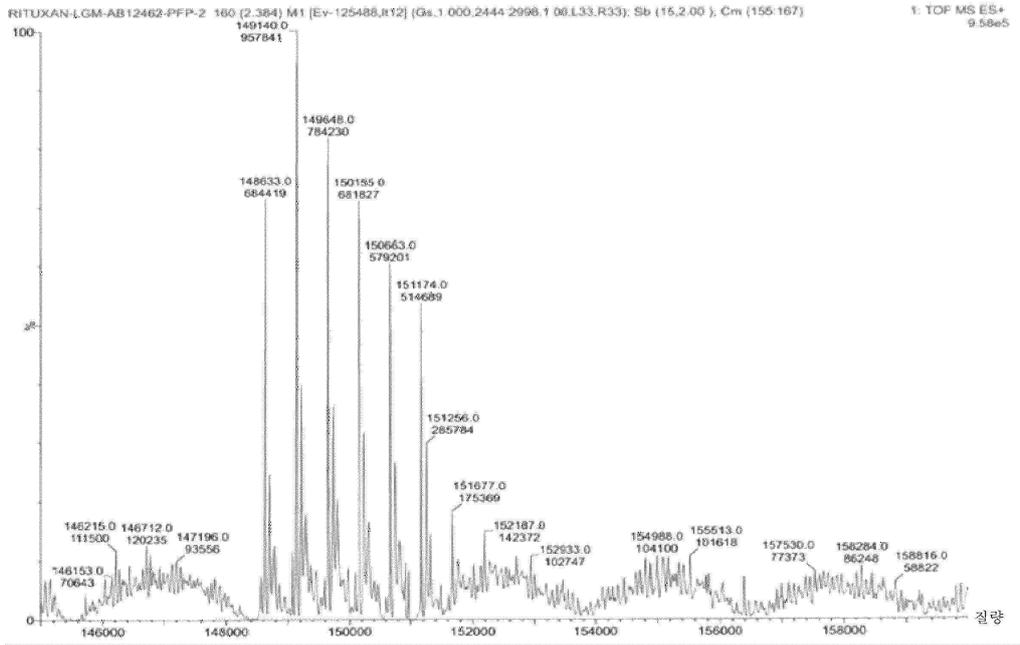
도면105a



도면105b

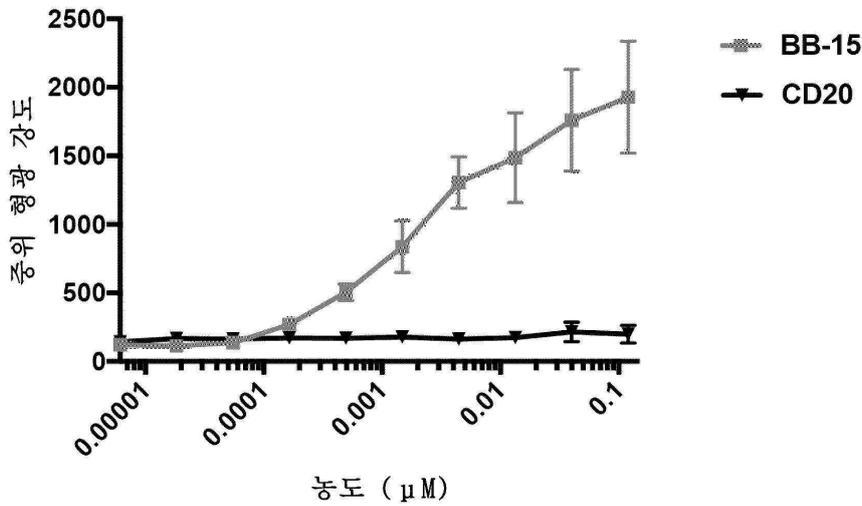


도면105c

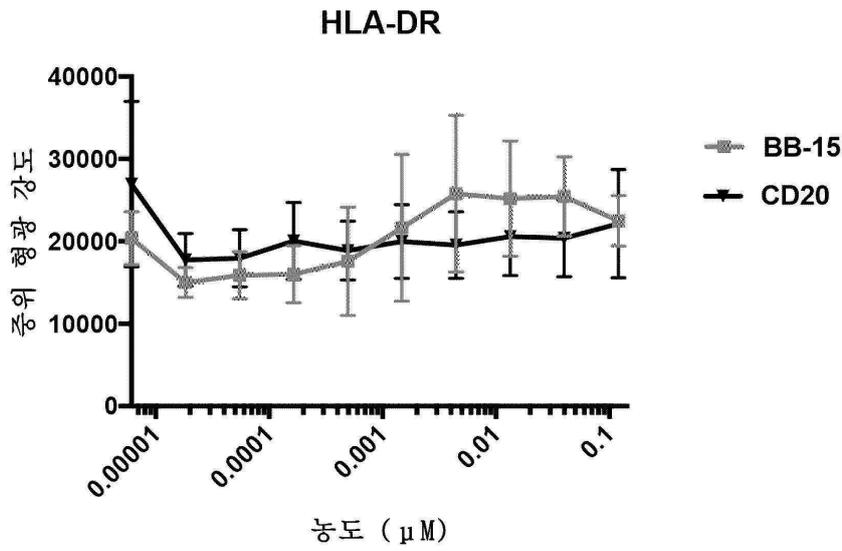


도면105d

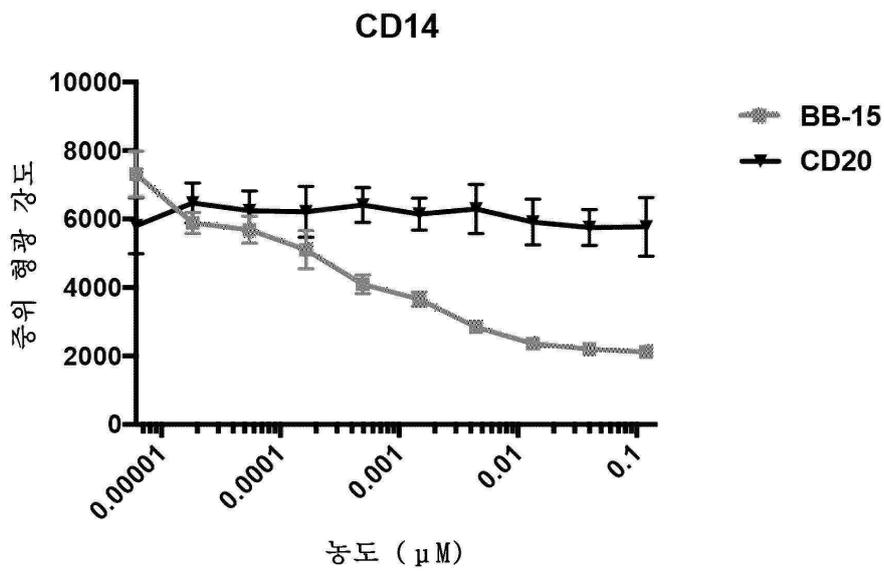
CD123



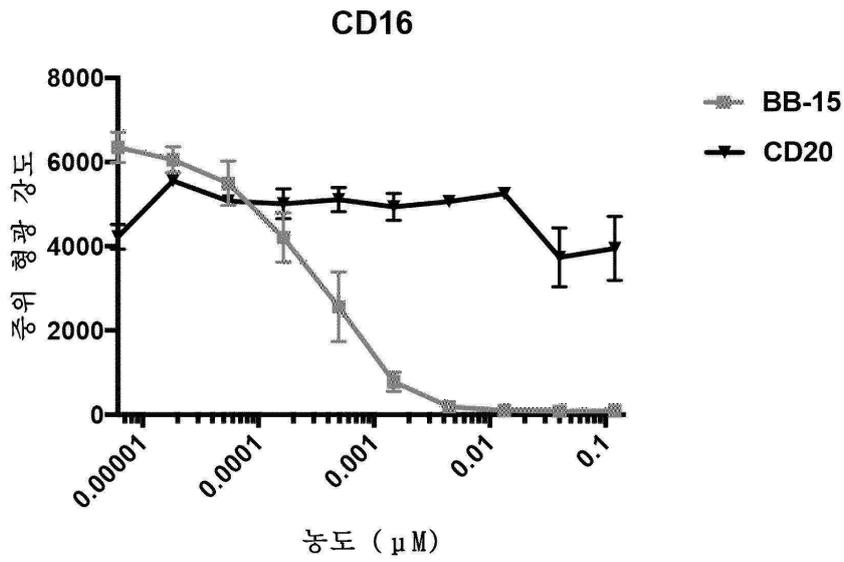
도면105e



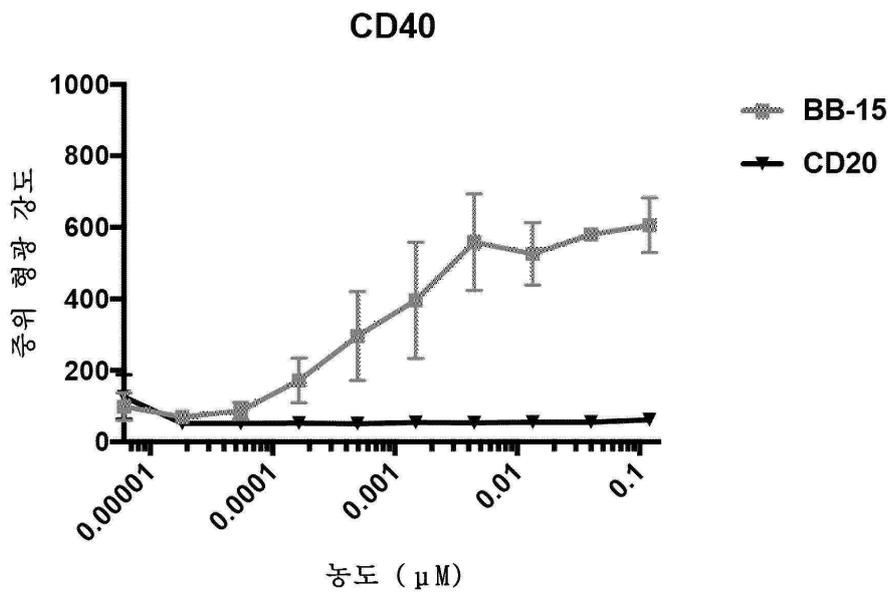
도면105f



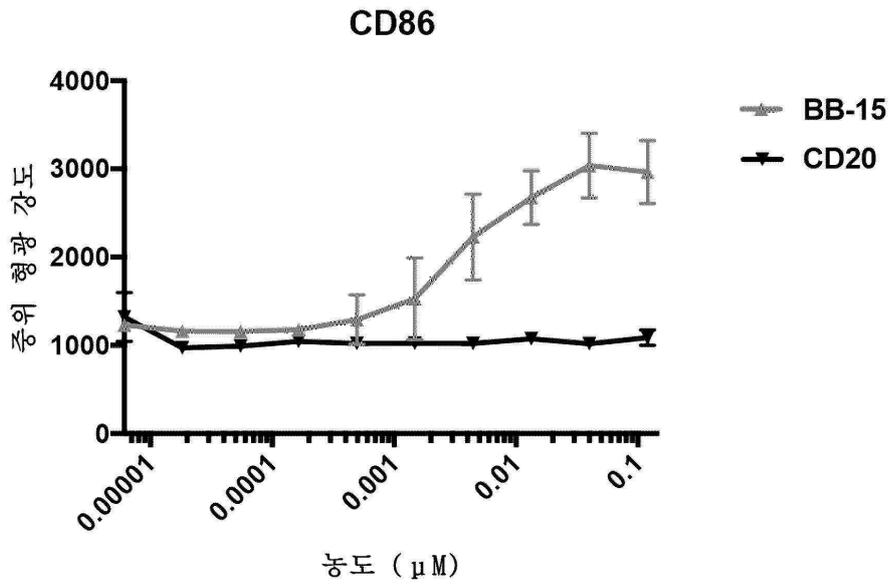
도면105g



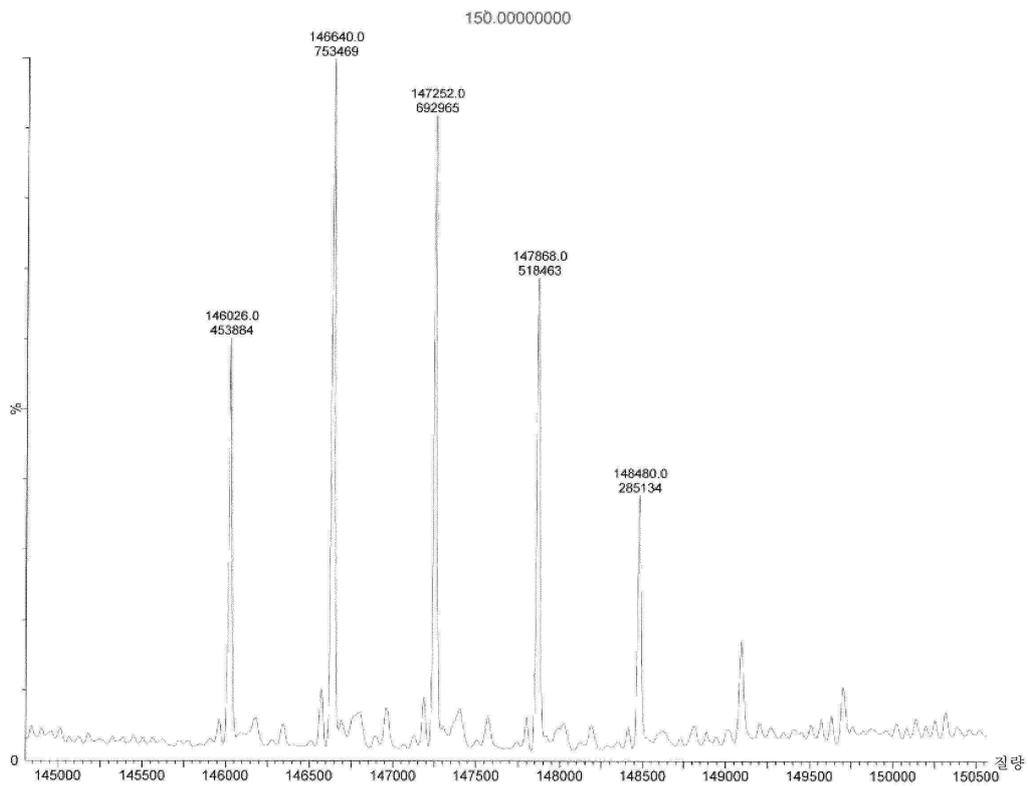
도면105h



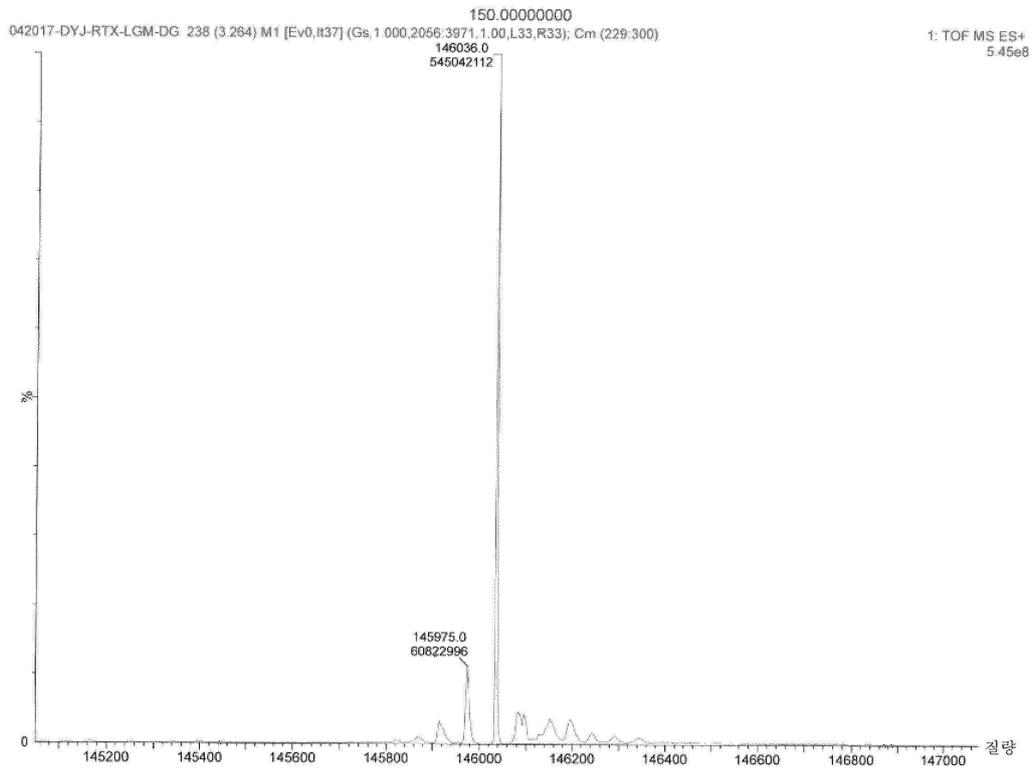
도면105i



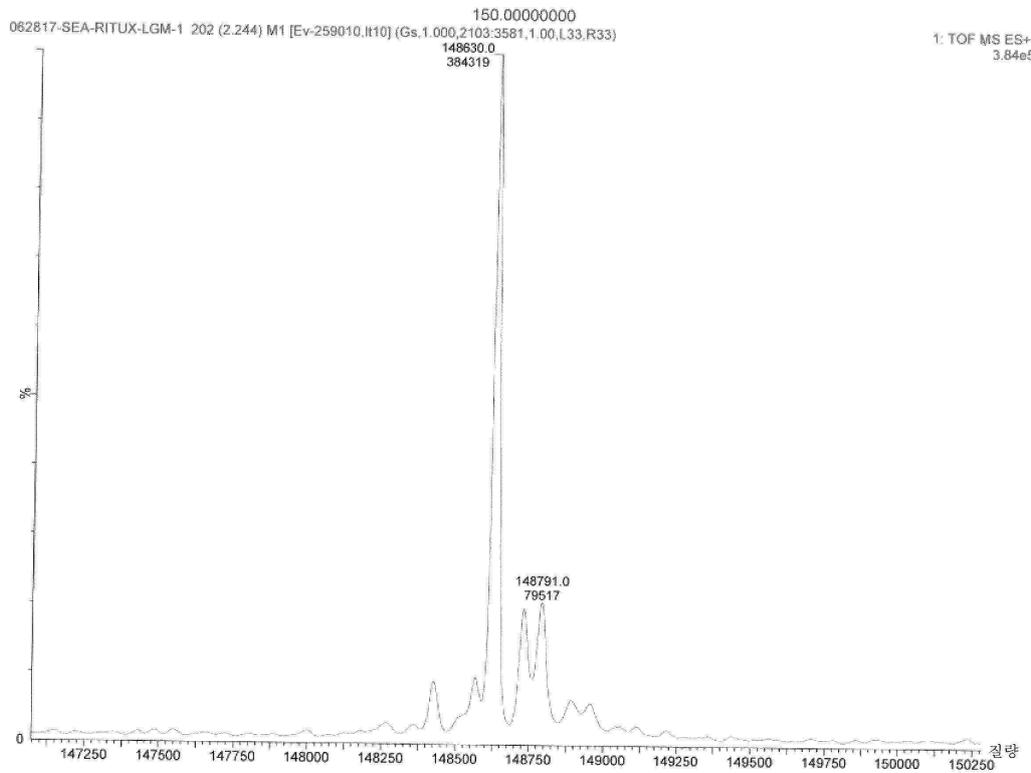
도면106a



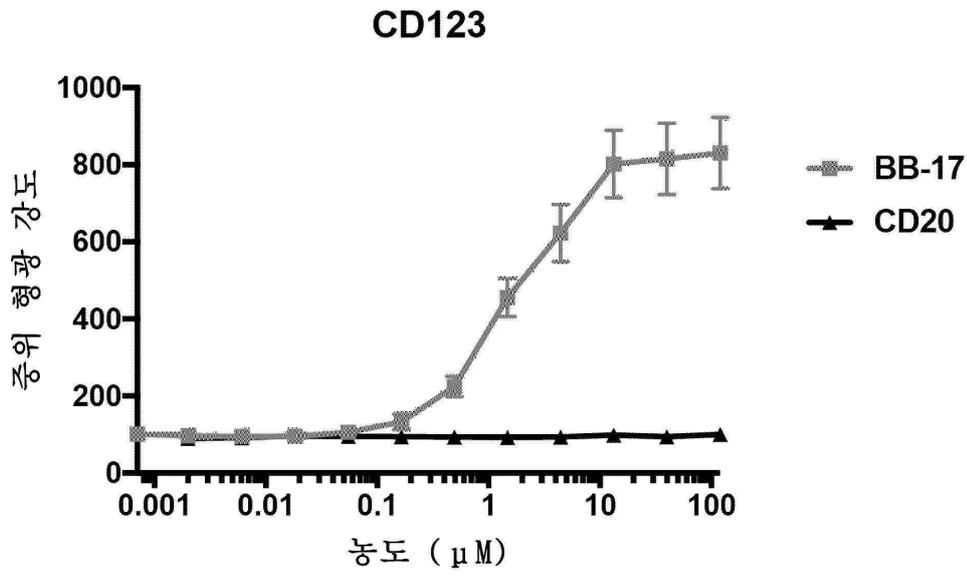
도면106b



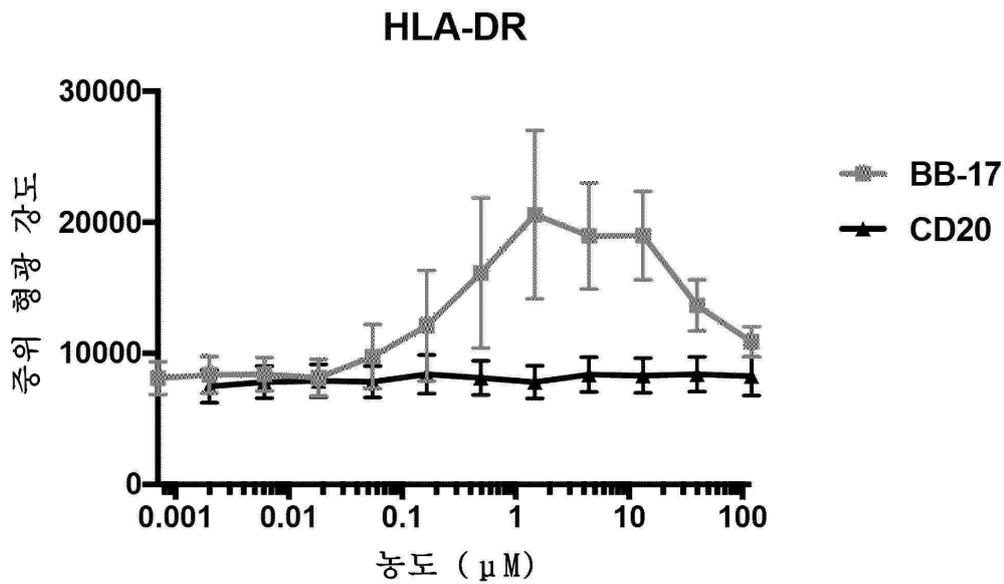
도면106c



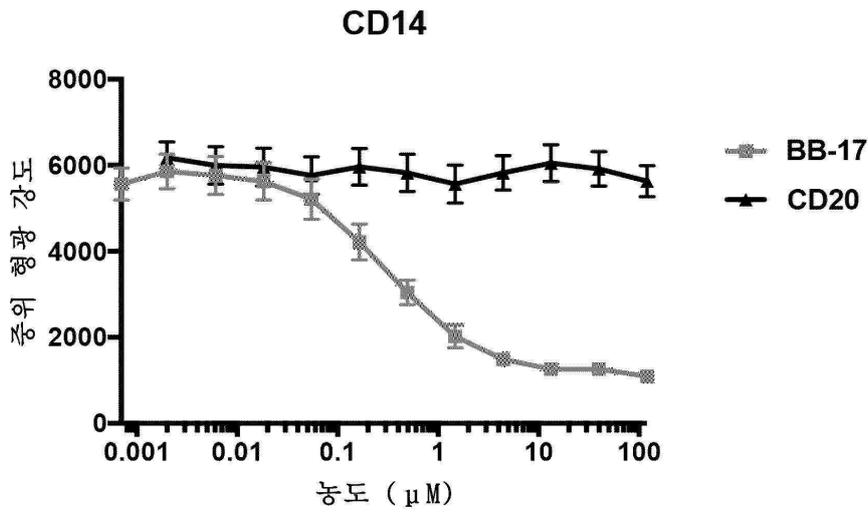
도면106d



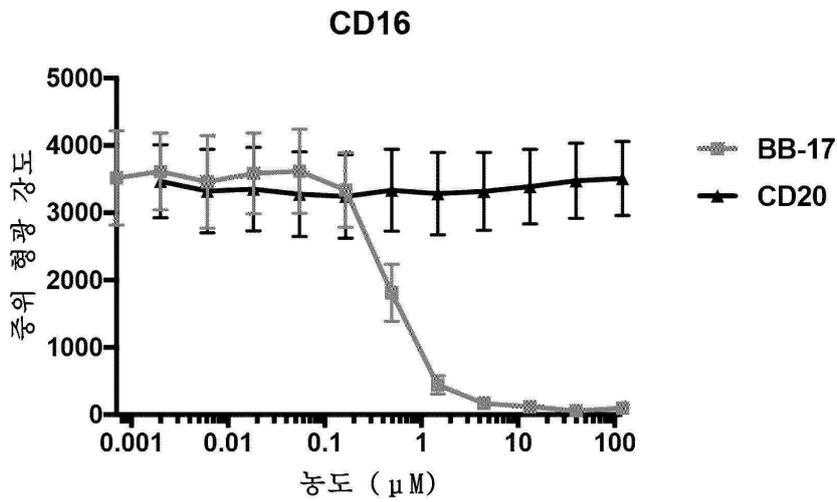
도면106e



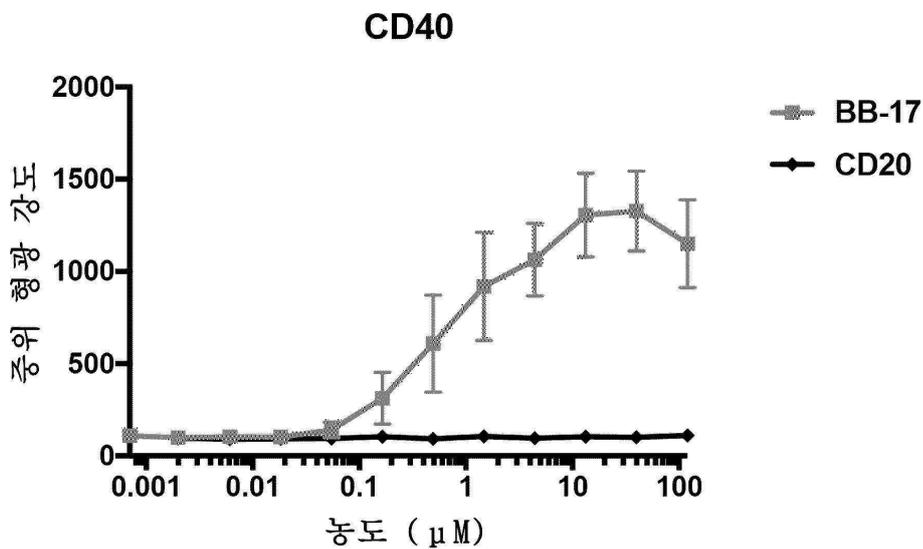
도면106f



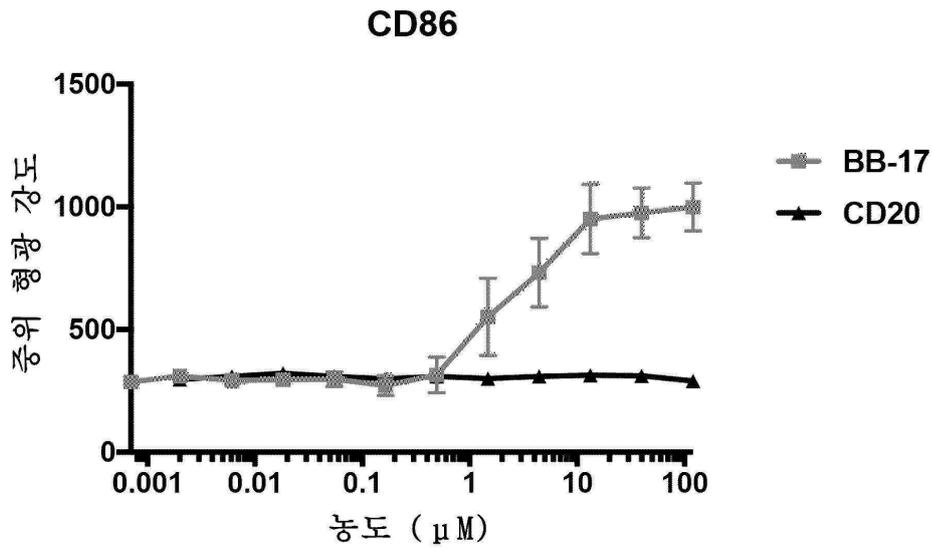
도면106g



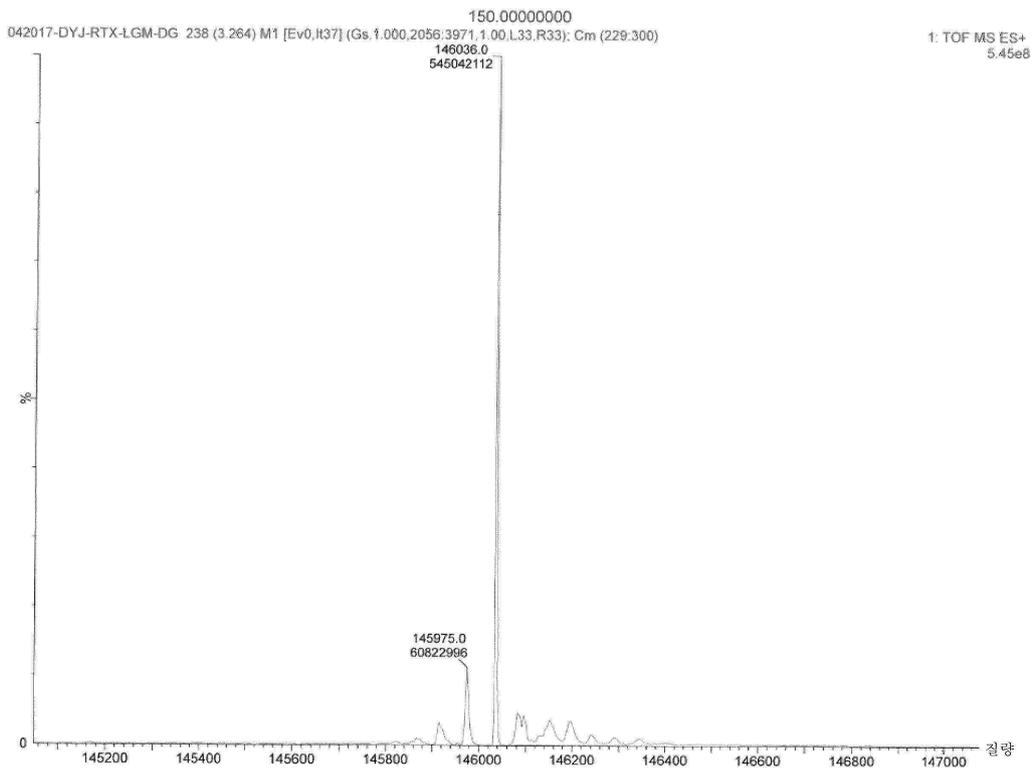
도면106h



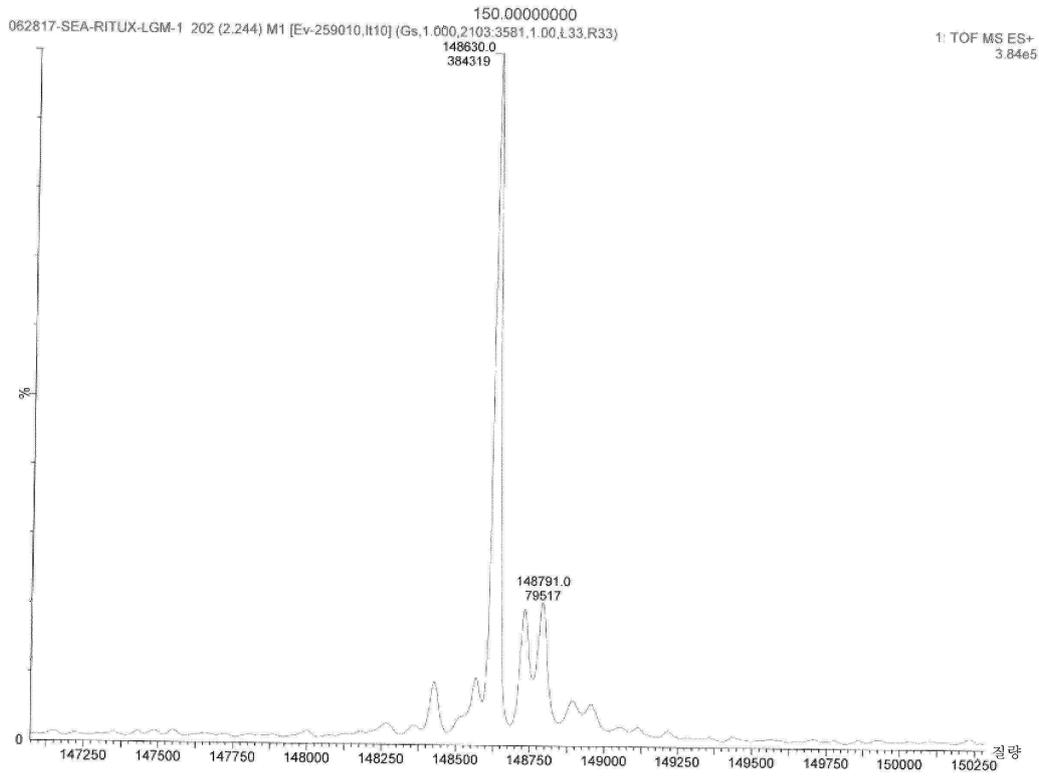
도면106i



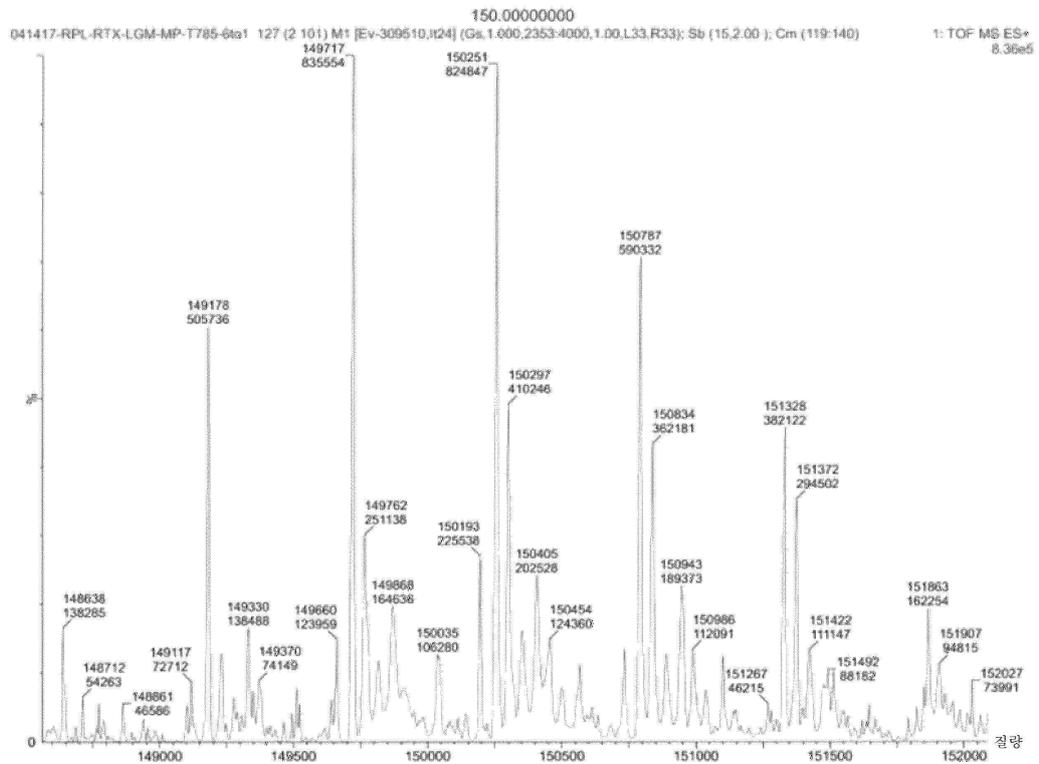
도면107a



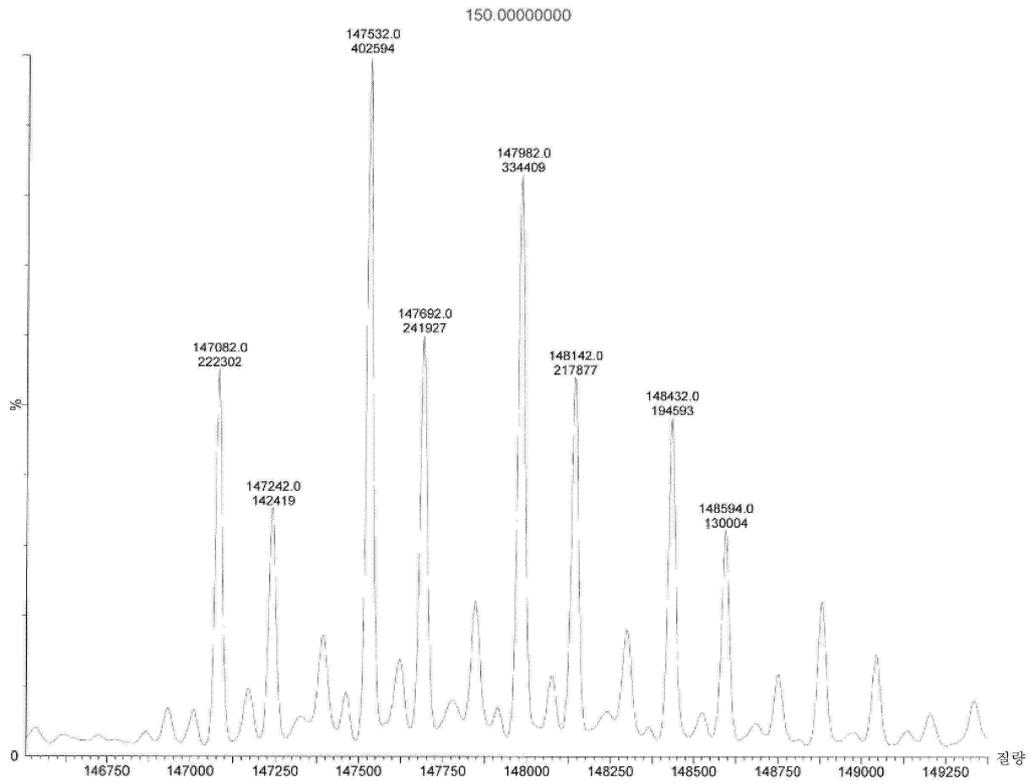
도면107b



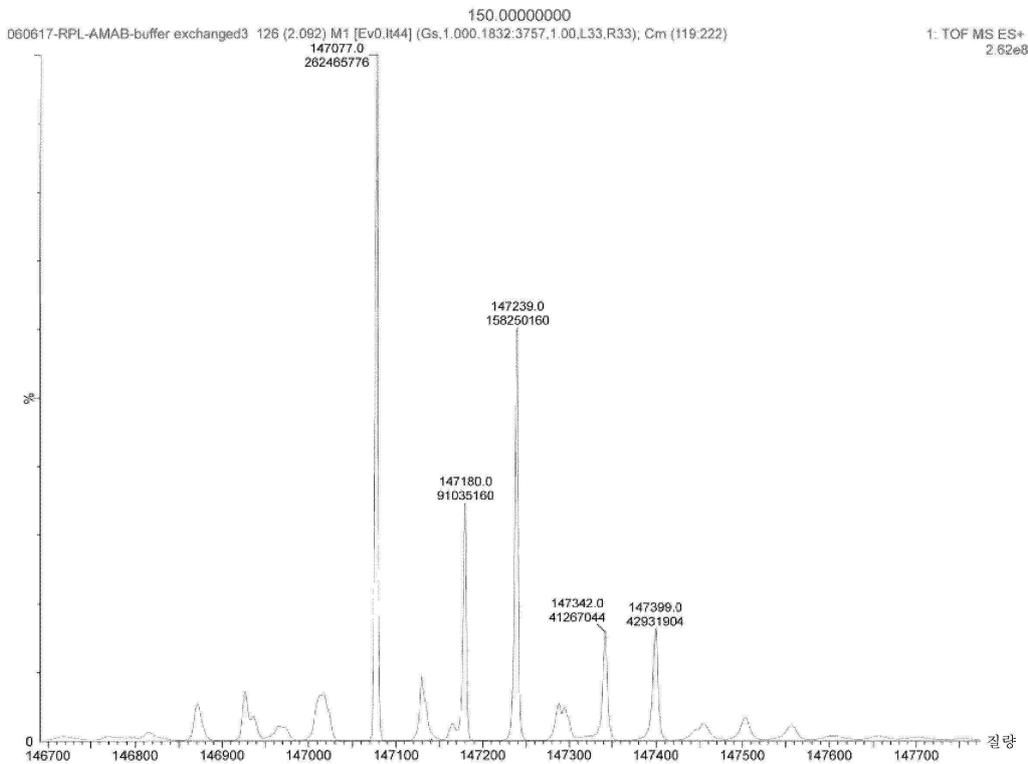
도면107c



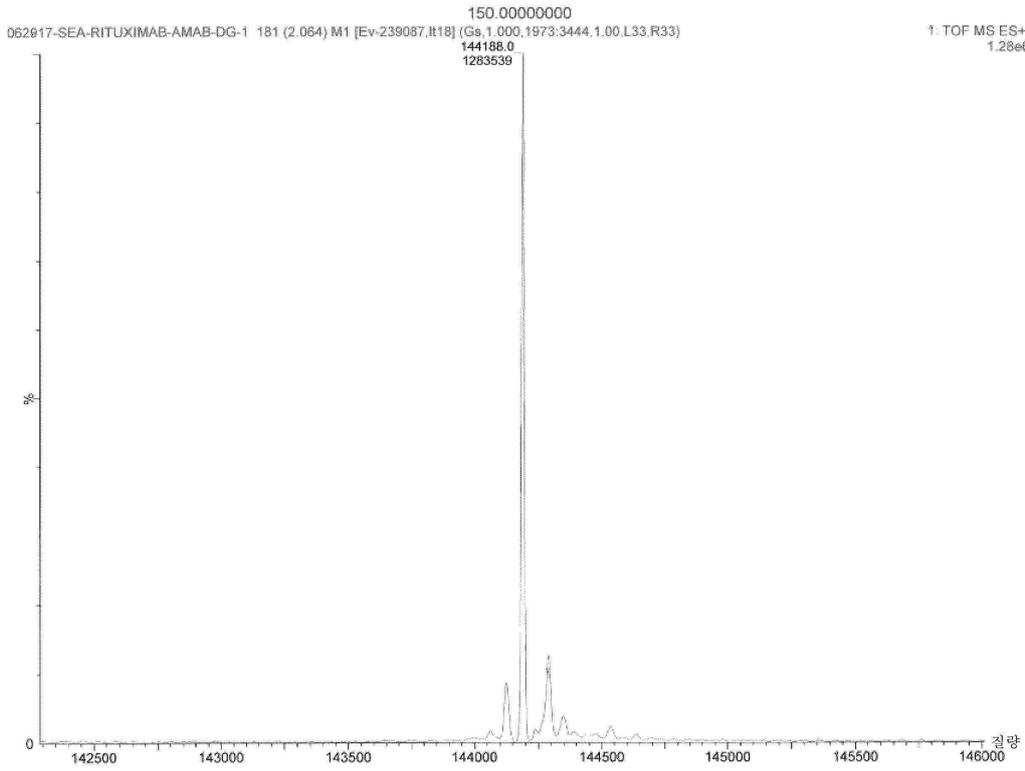
도면108a



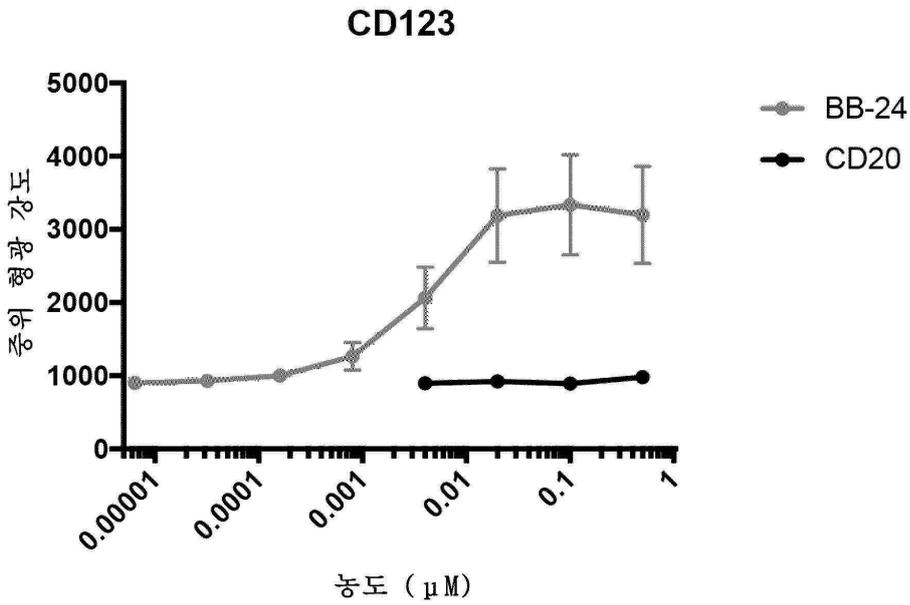
도면108b



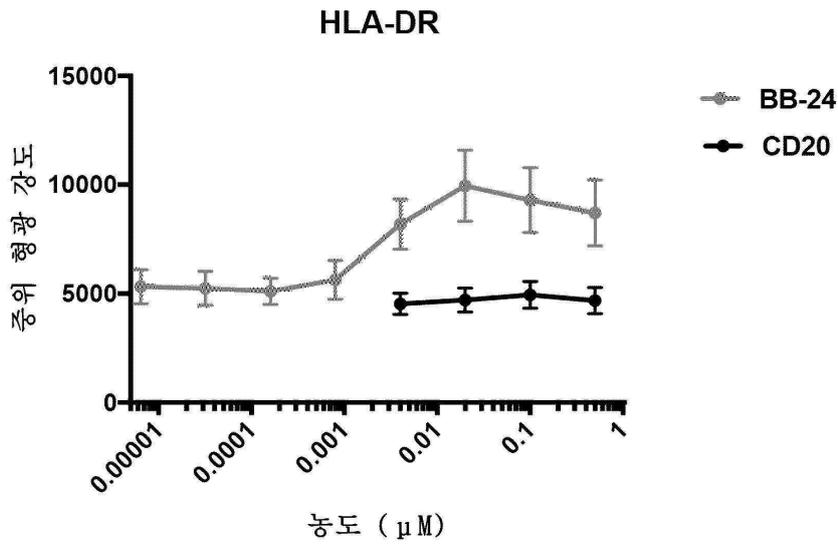
도면108c



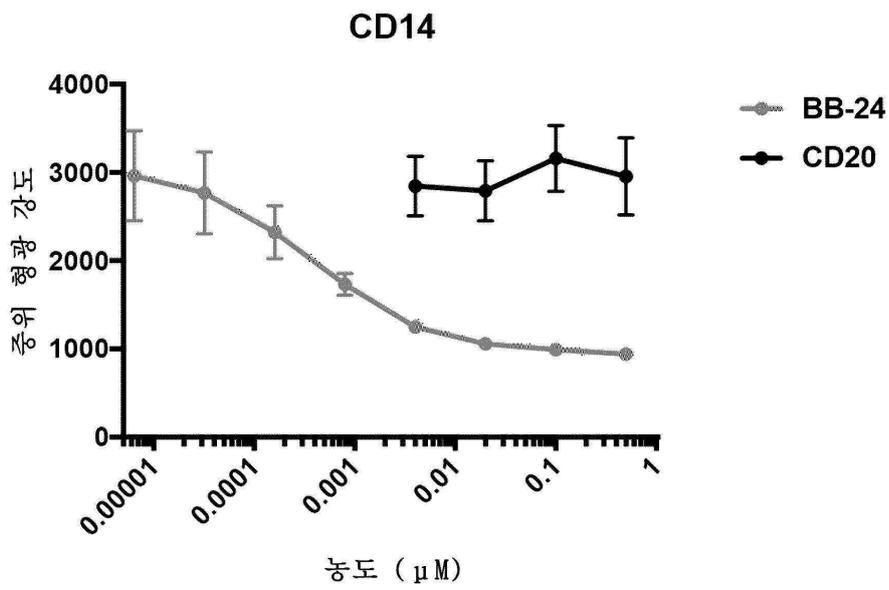
도면108d



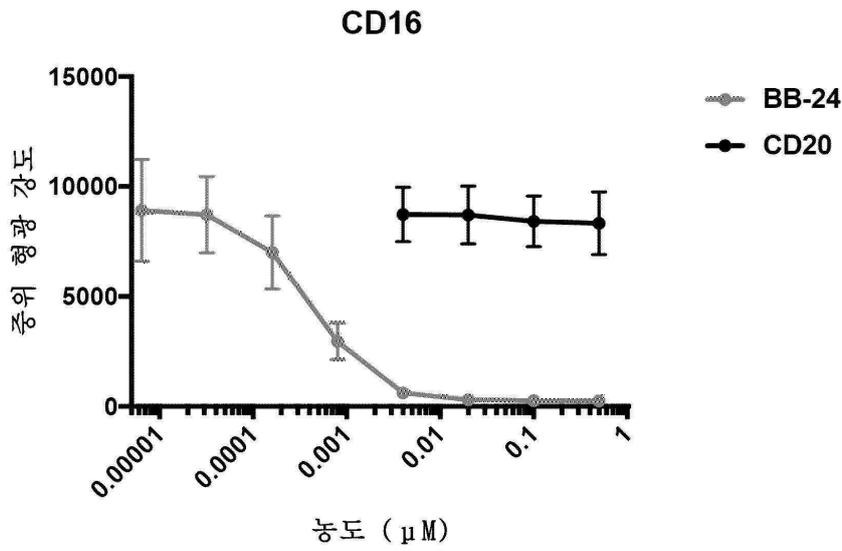
도면108e



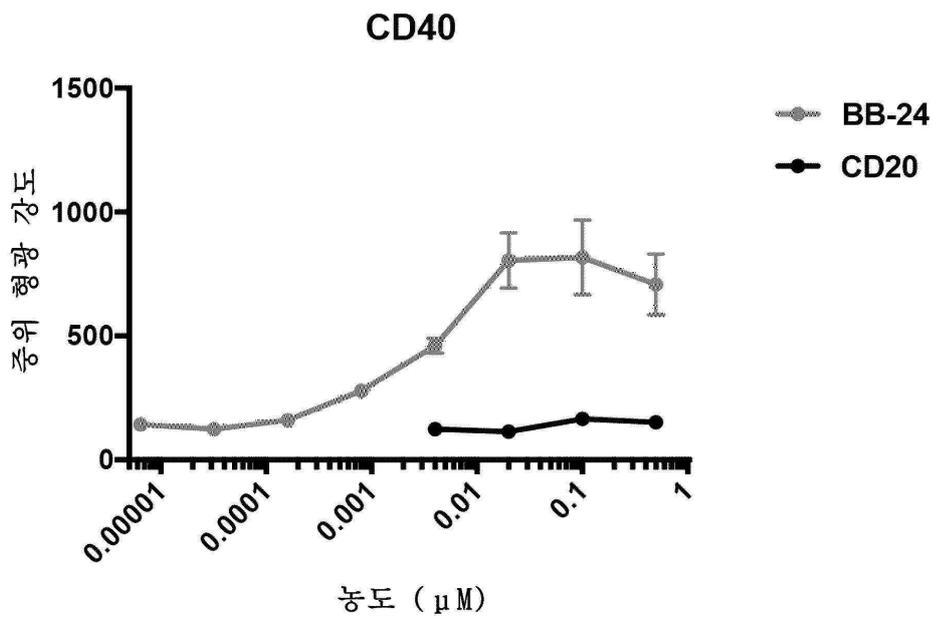
도면108f



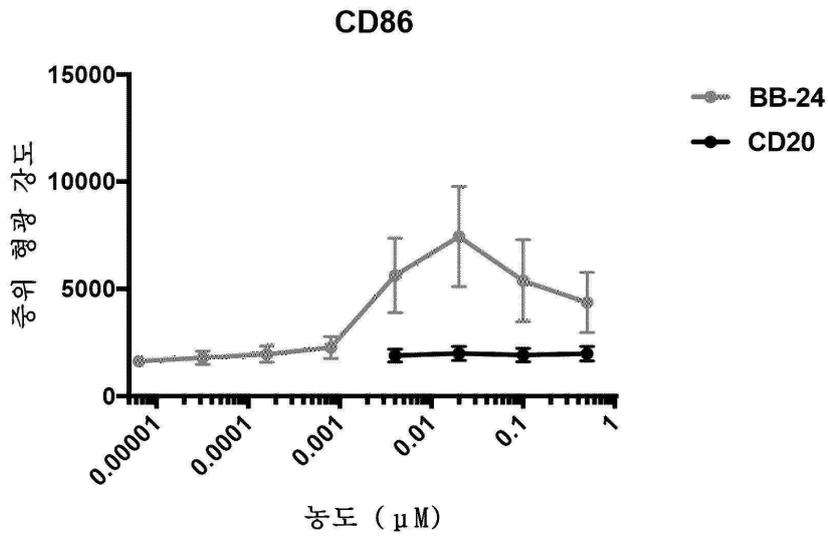
도면108g



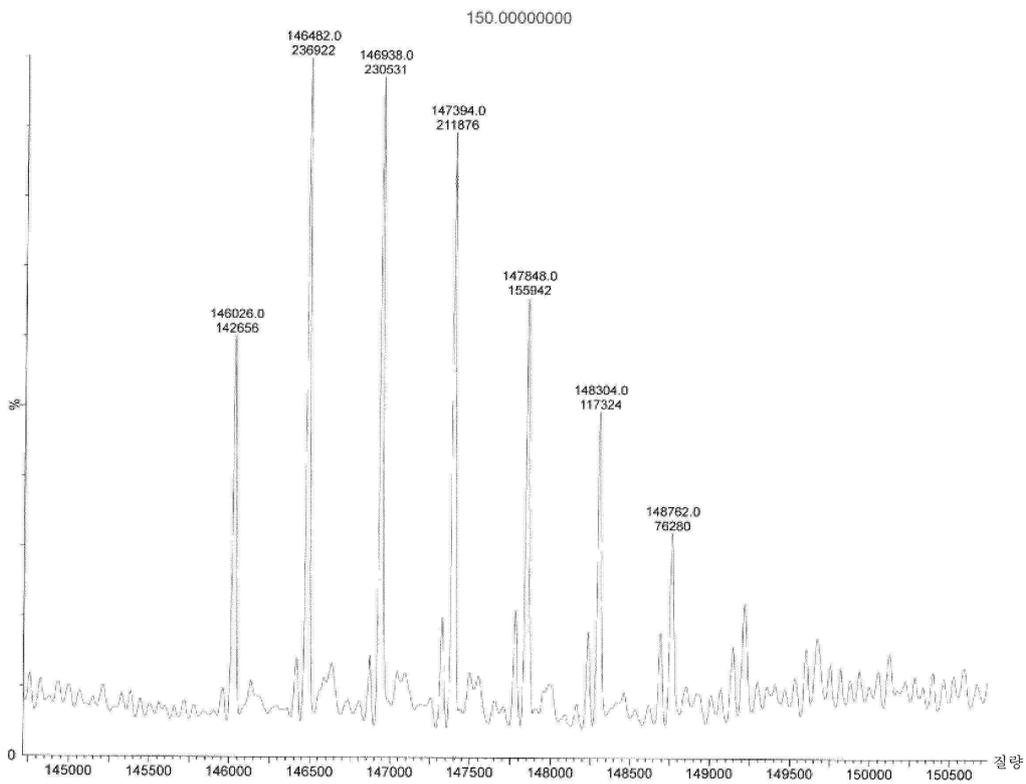
도면108h



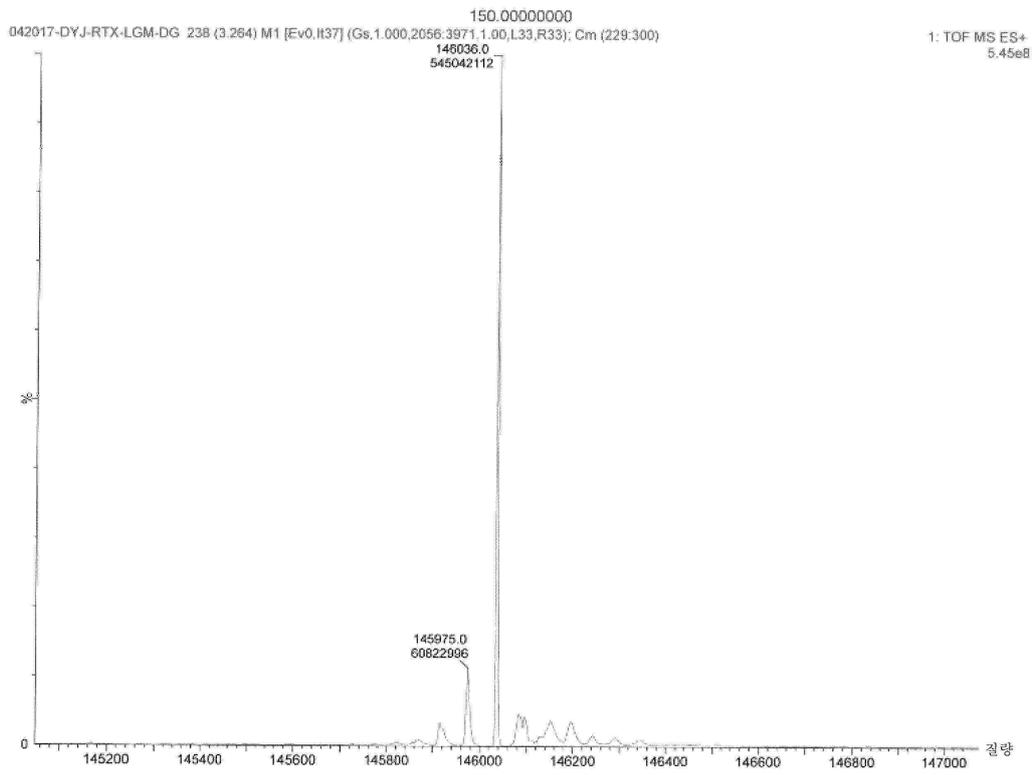
도면108i



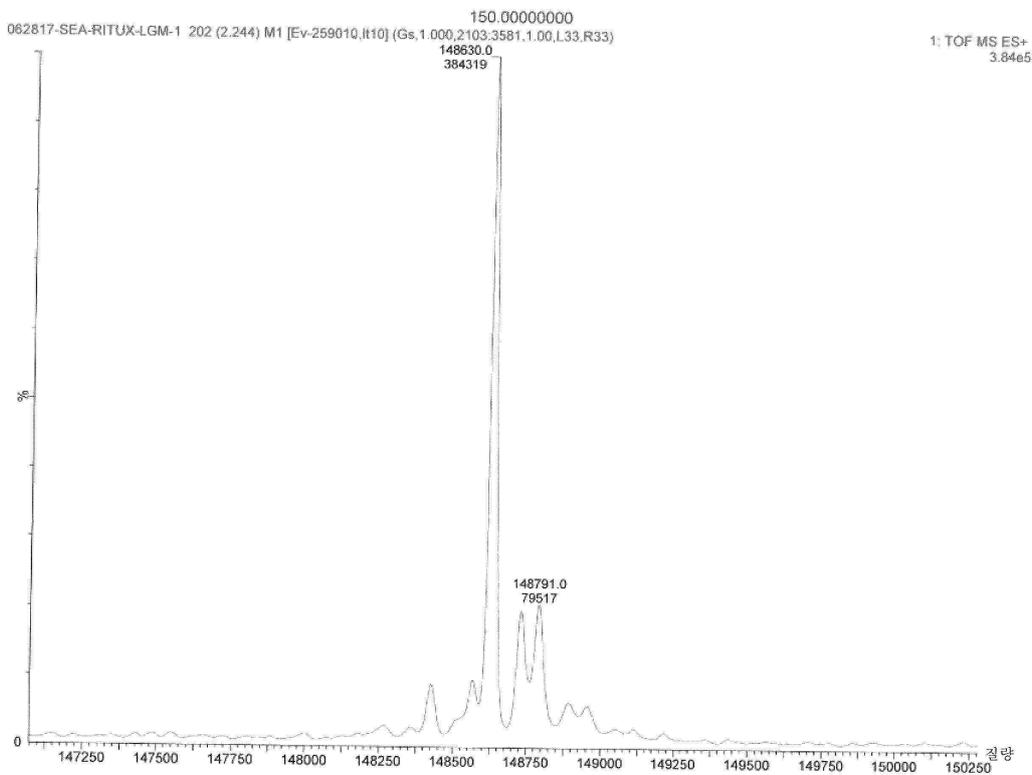
도면109a



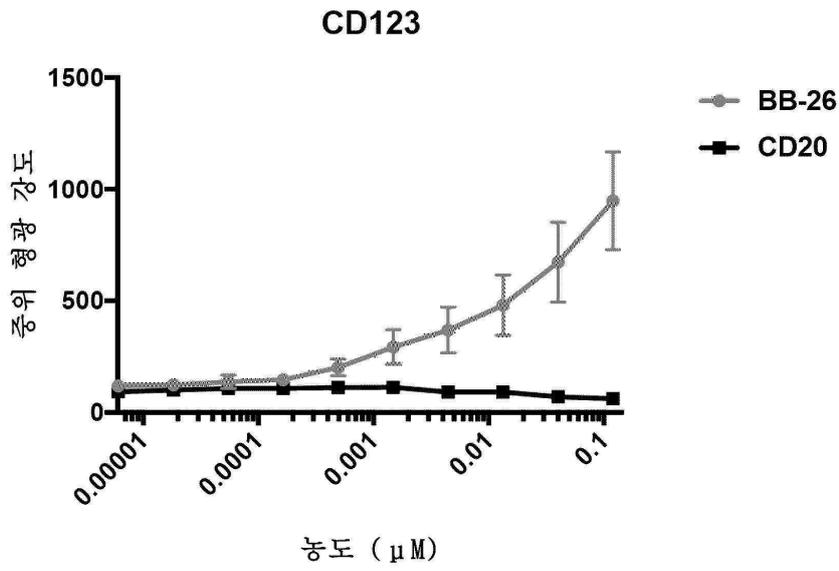
도면109b



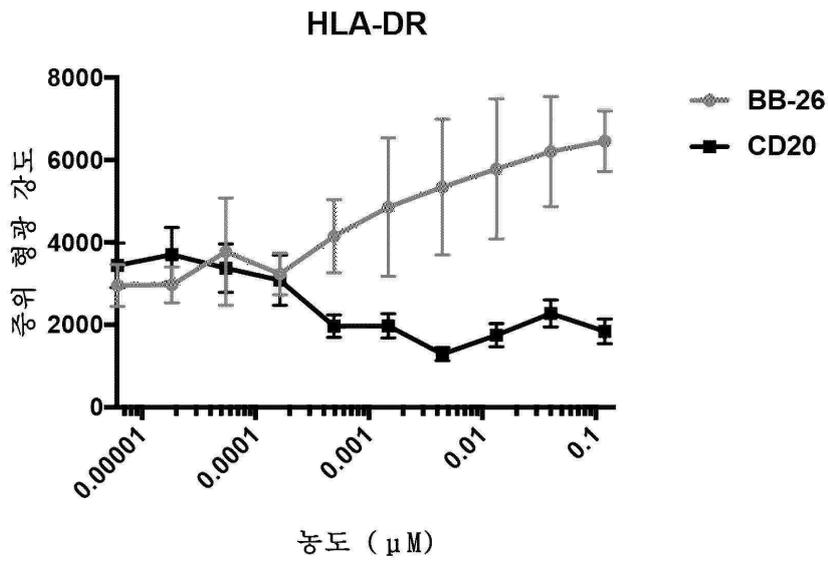
도면109c



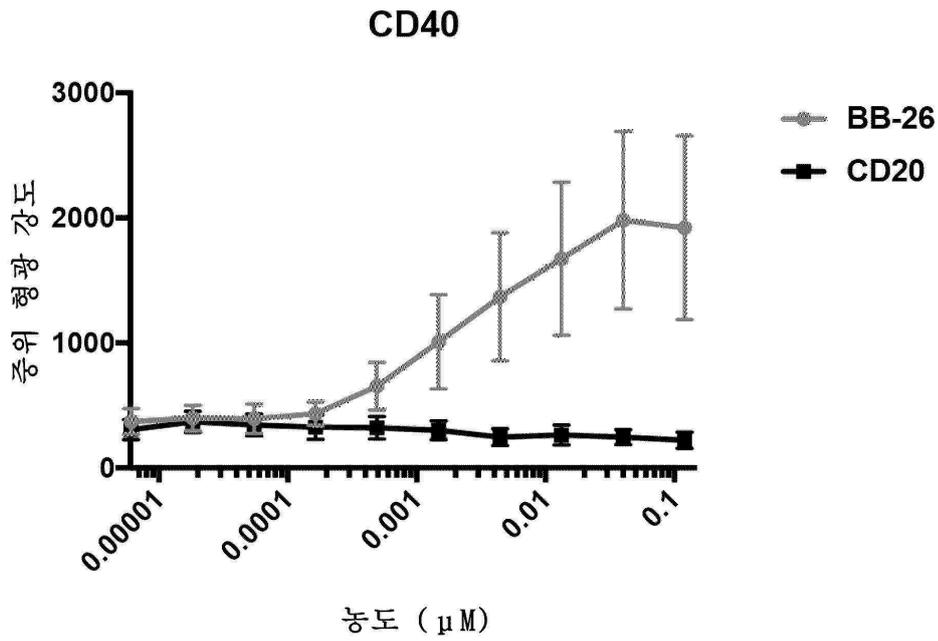
도면109d



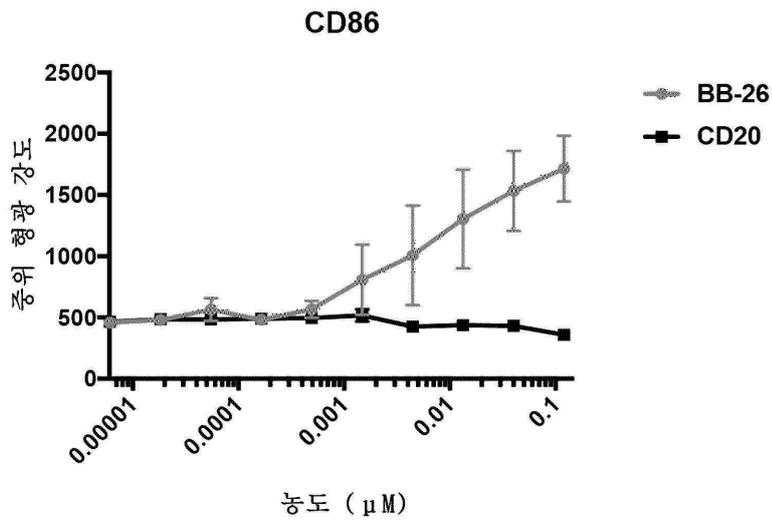
도면109e



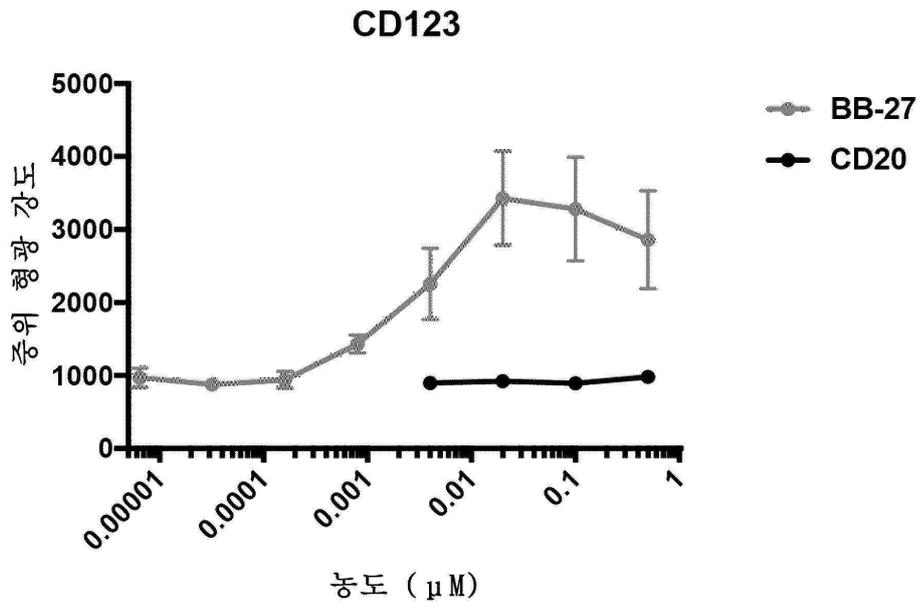
도면109f



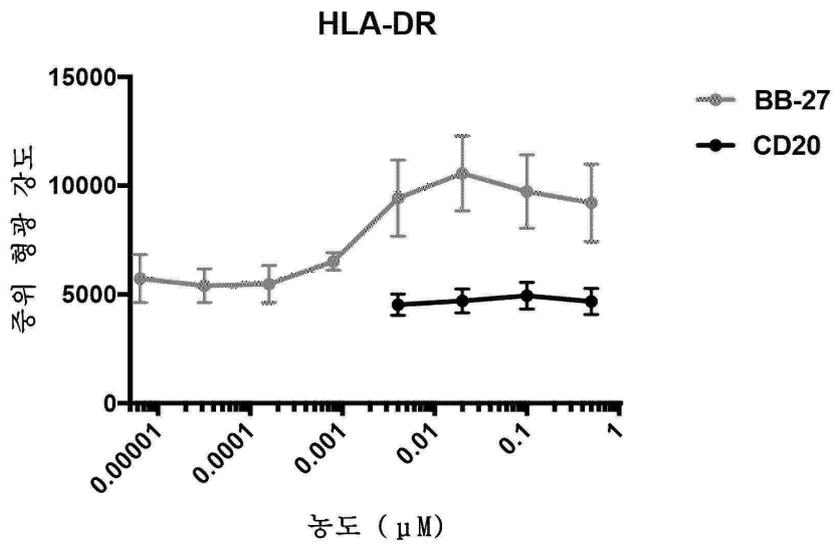
도면109g



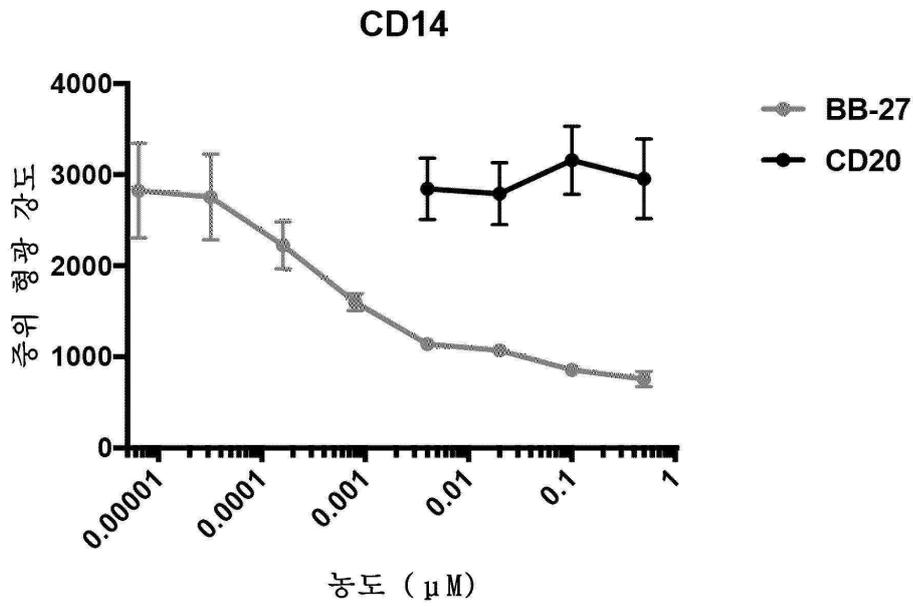
도면110a



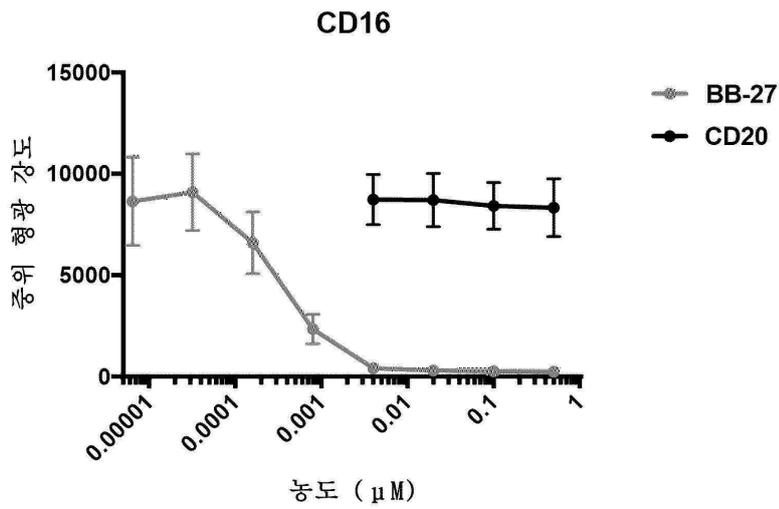
도면110b



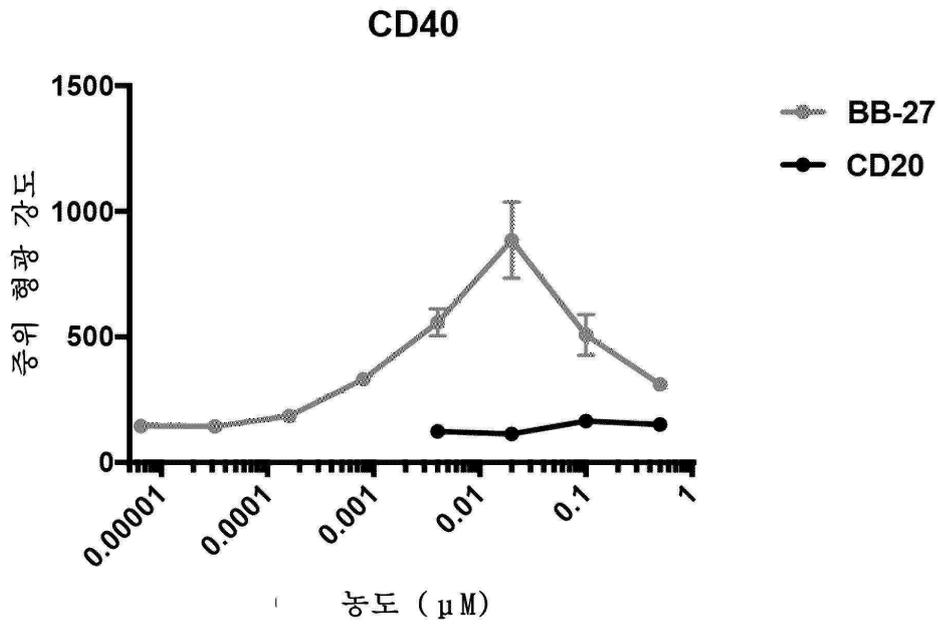
도면110c



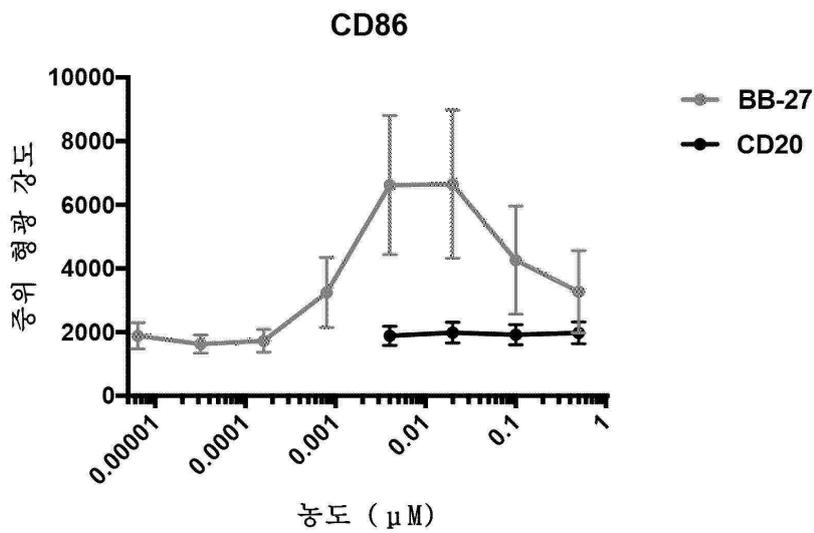
도면110d



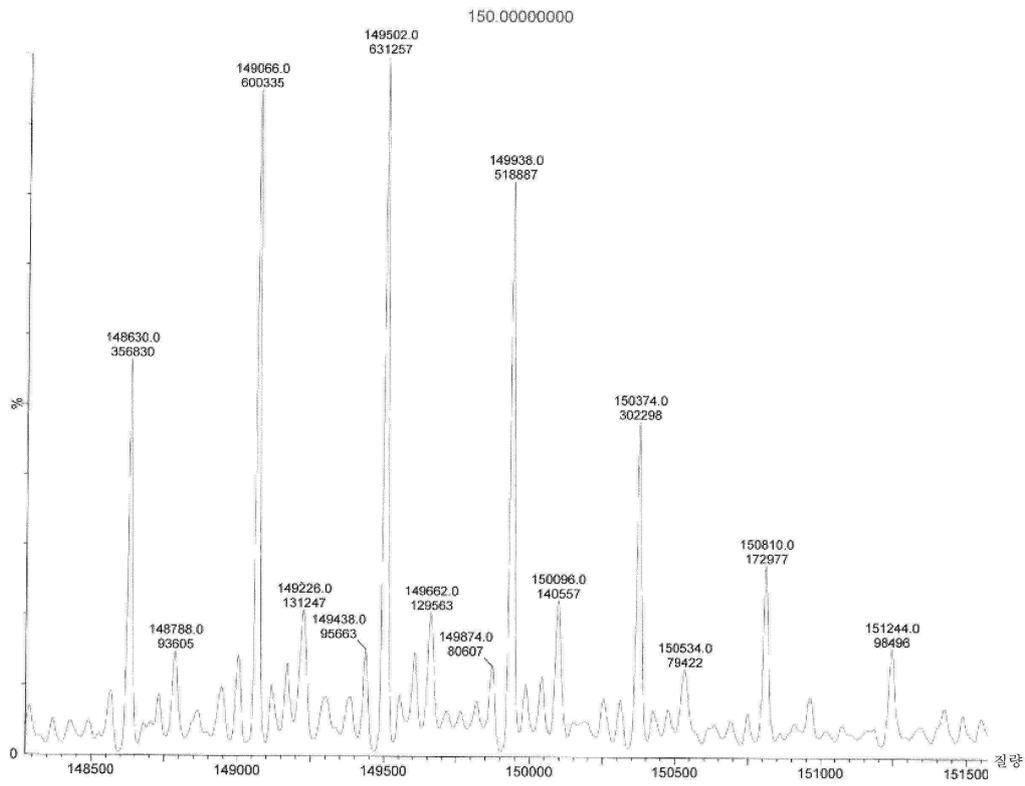
도면110e



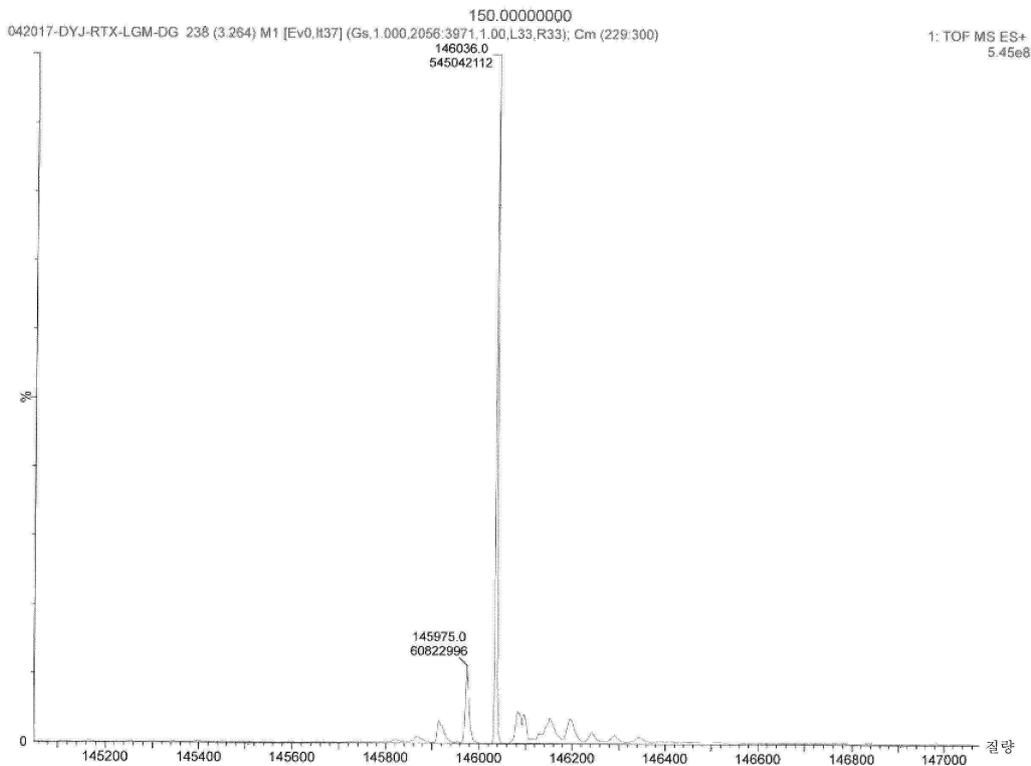
도면110f



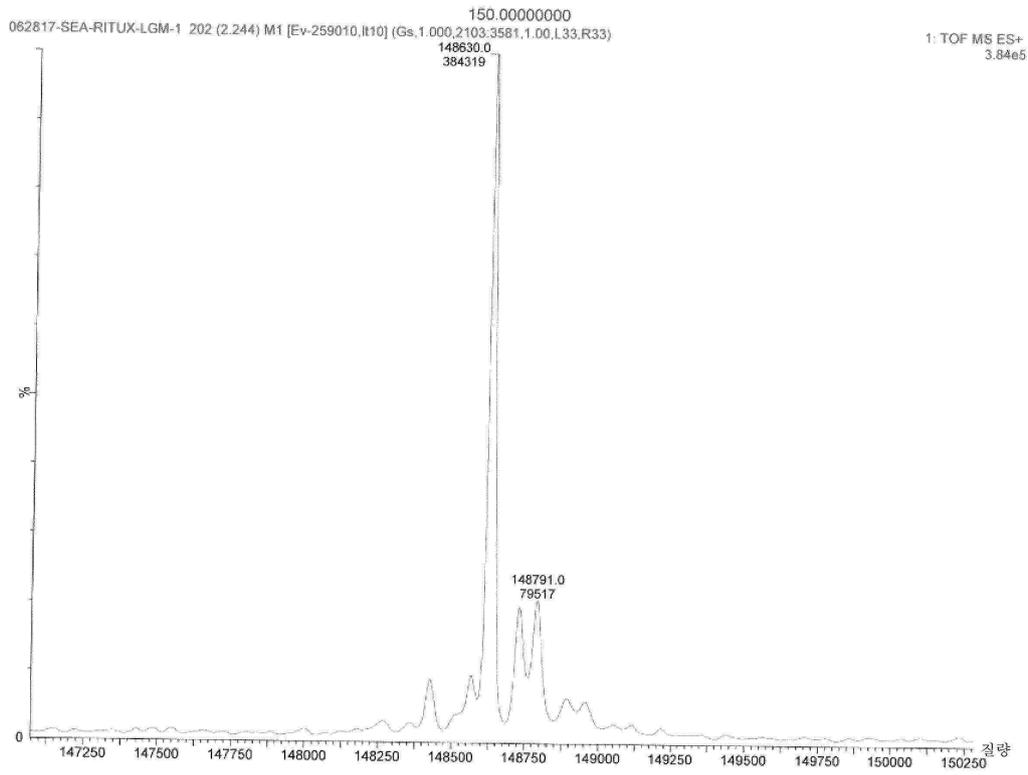
도면110g



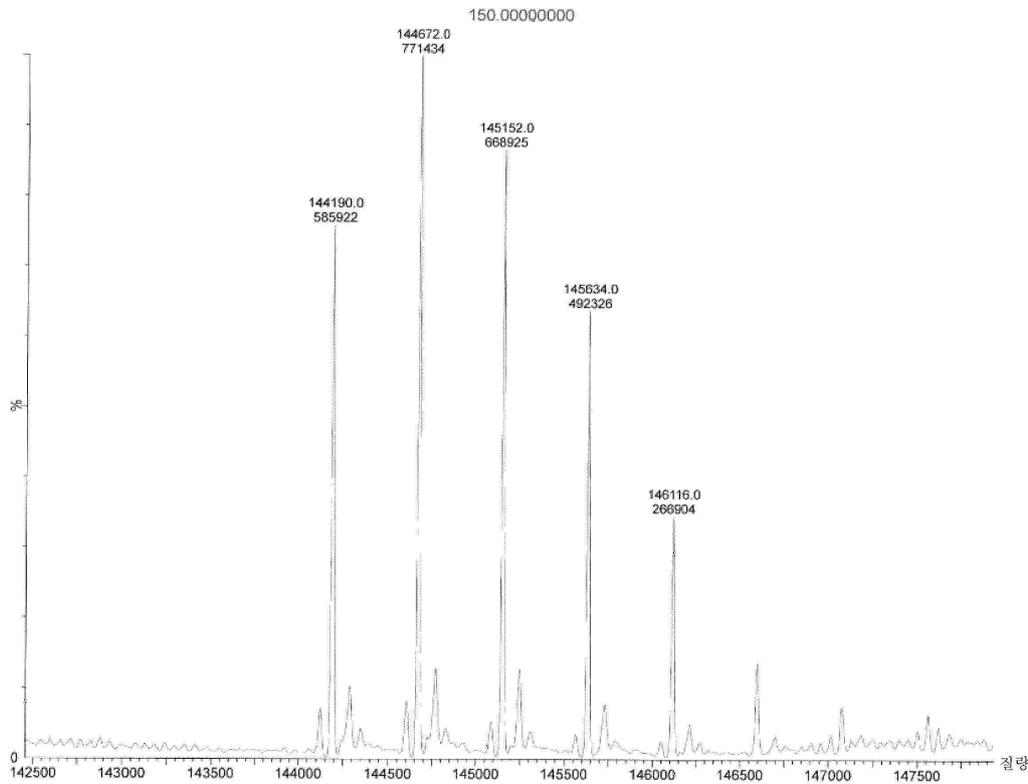
도면110h



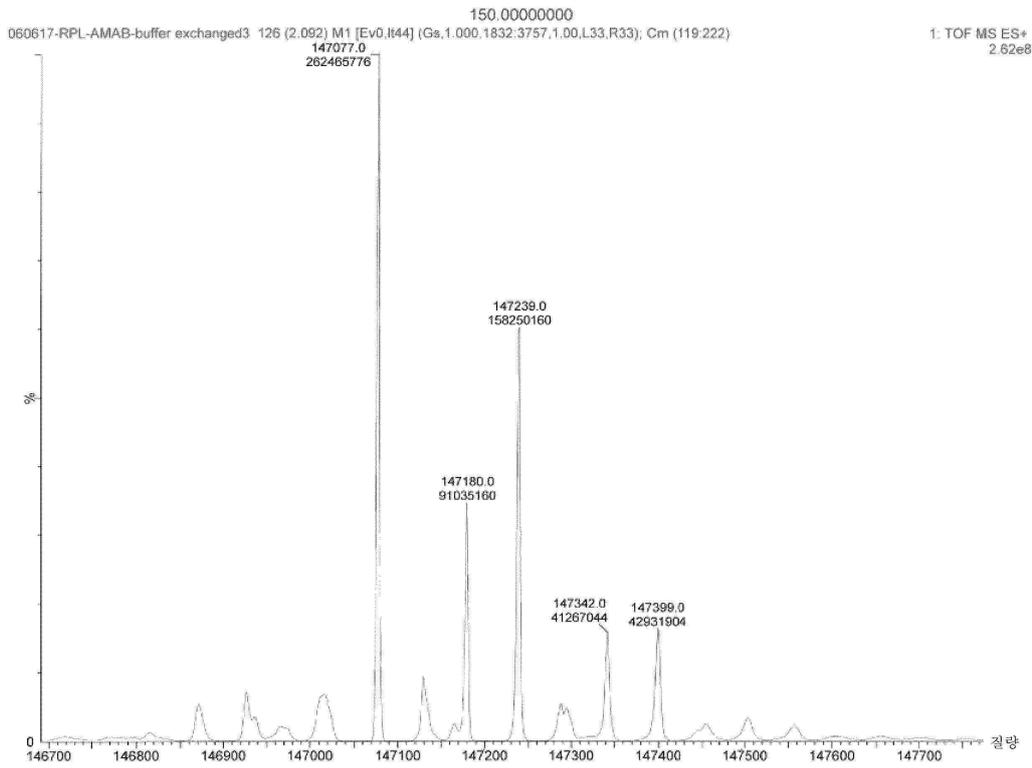
도면110i



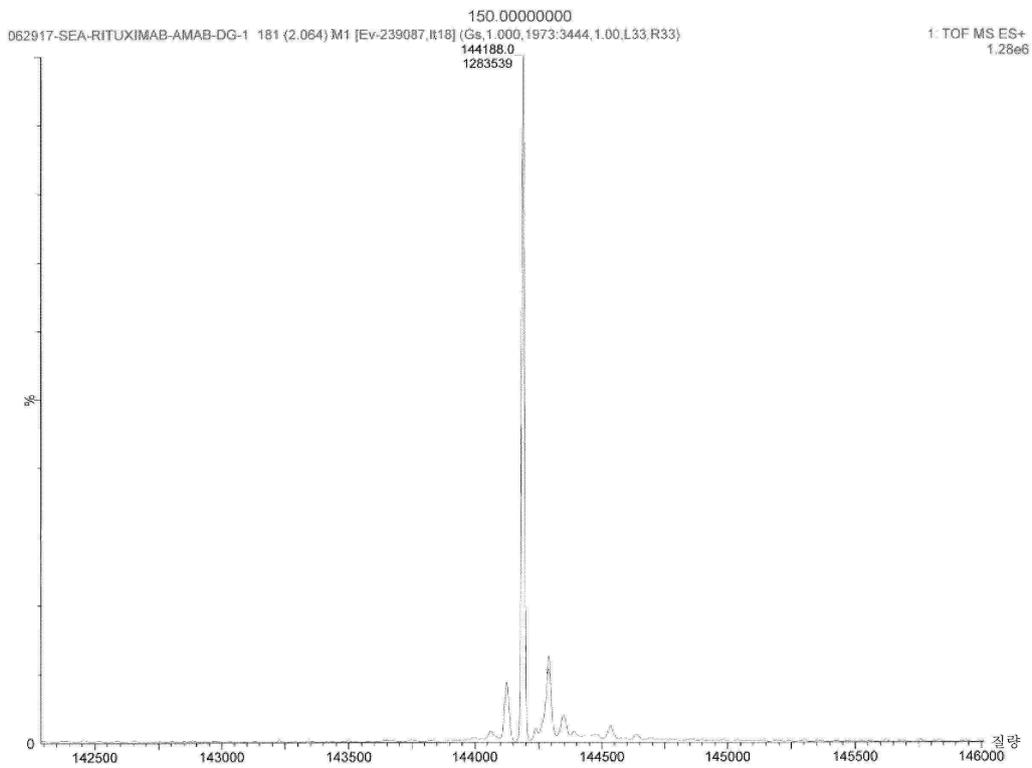
도면111a



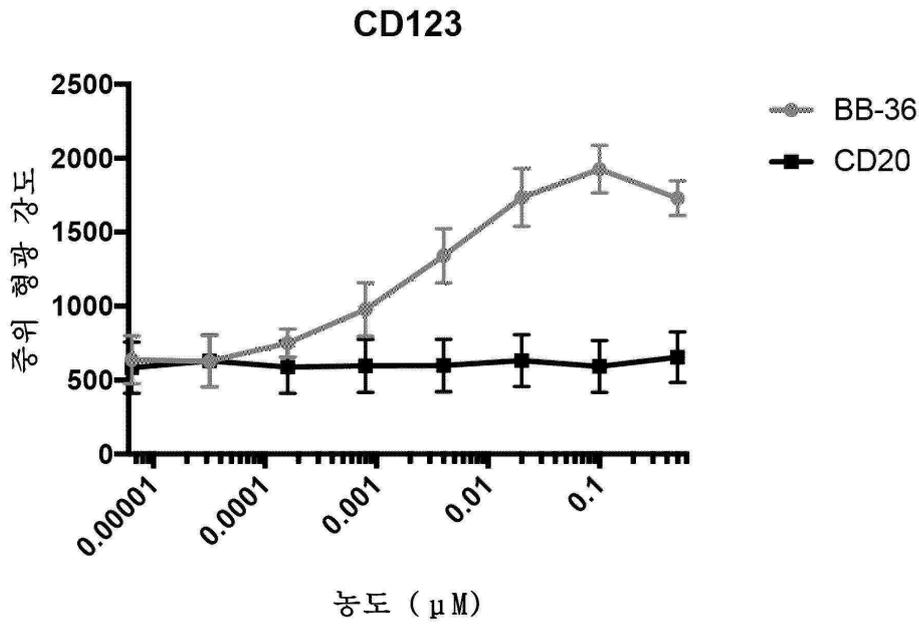
도면111b



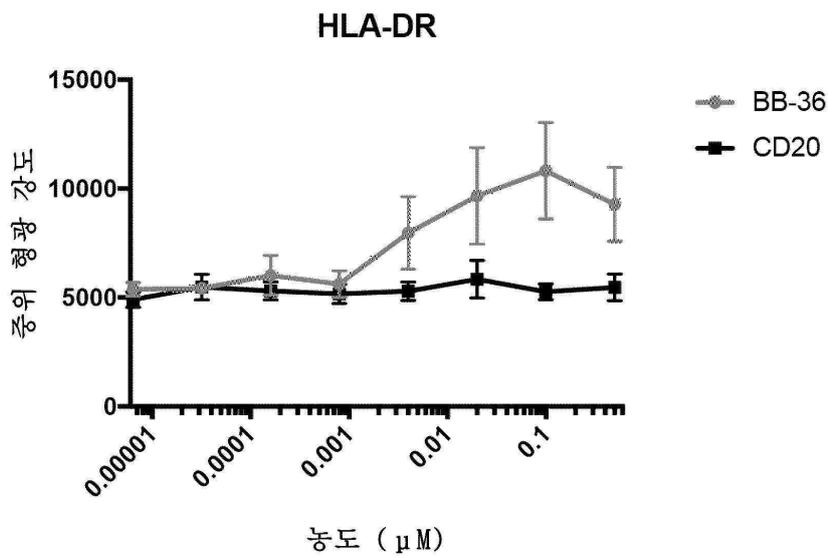
도면111c



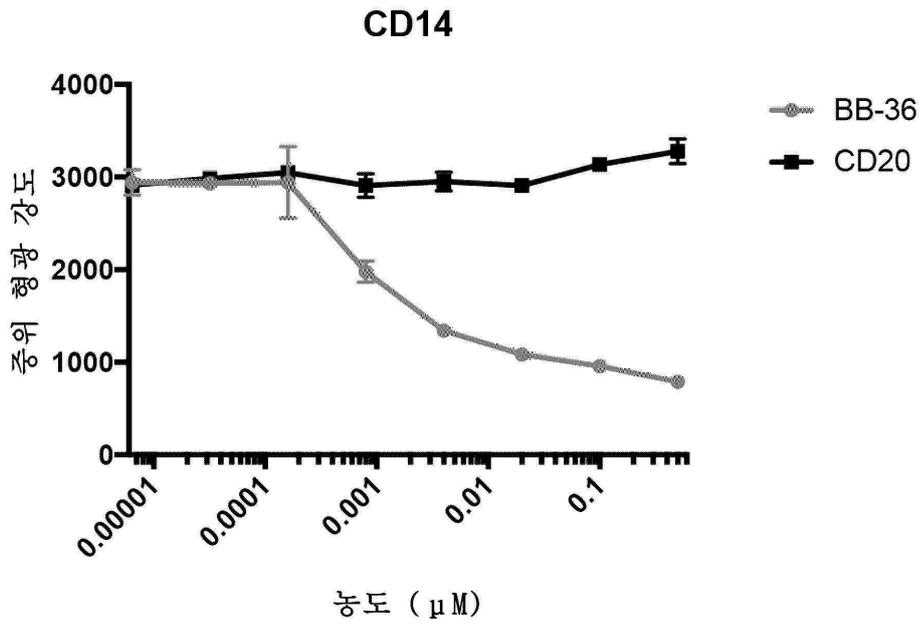
도면111d



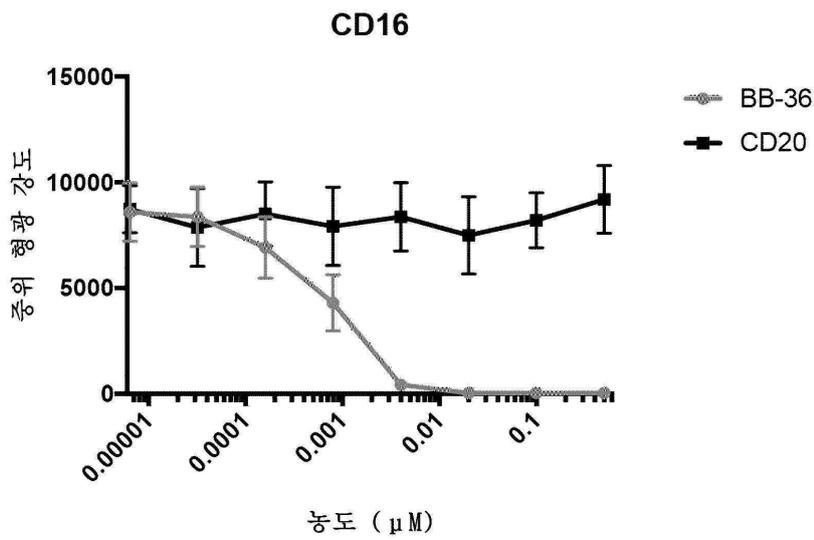
도면111e



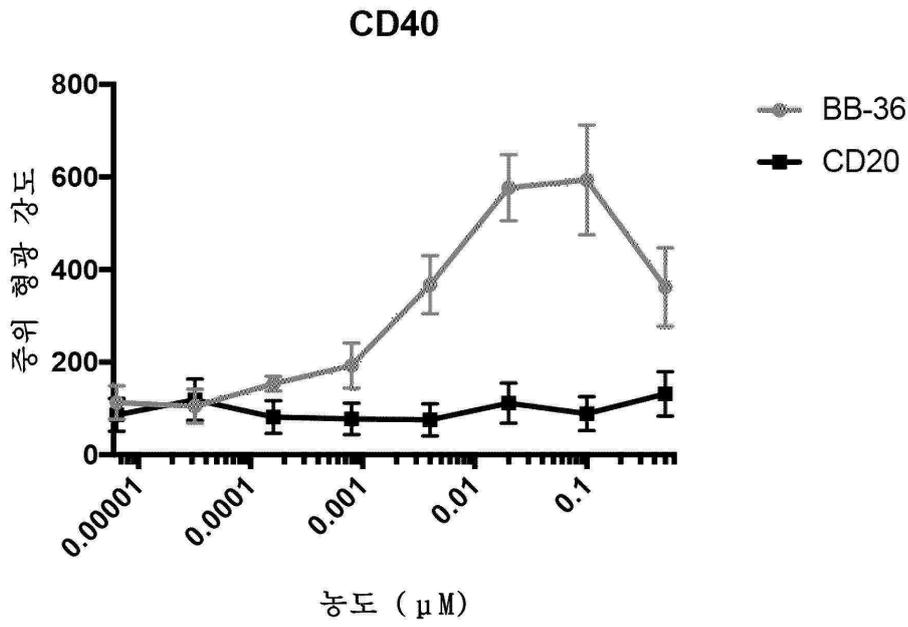
도면111f



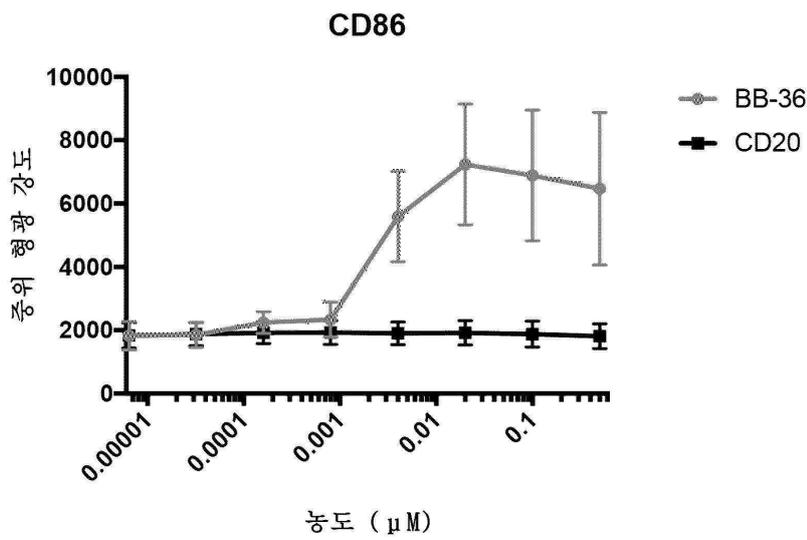
도면111g



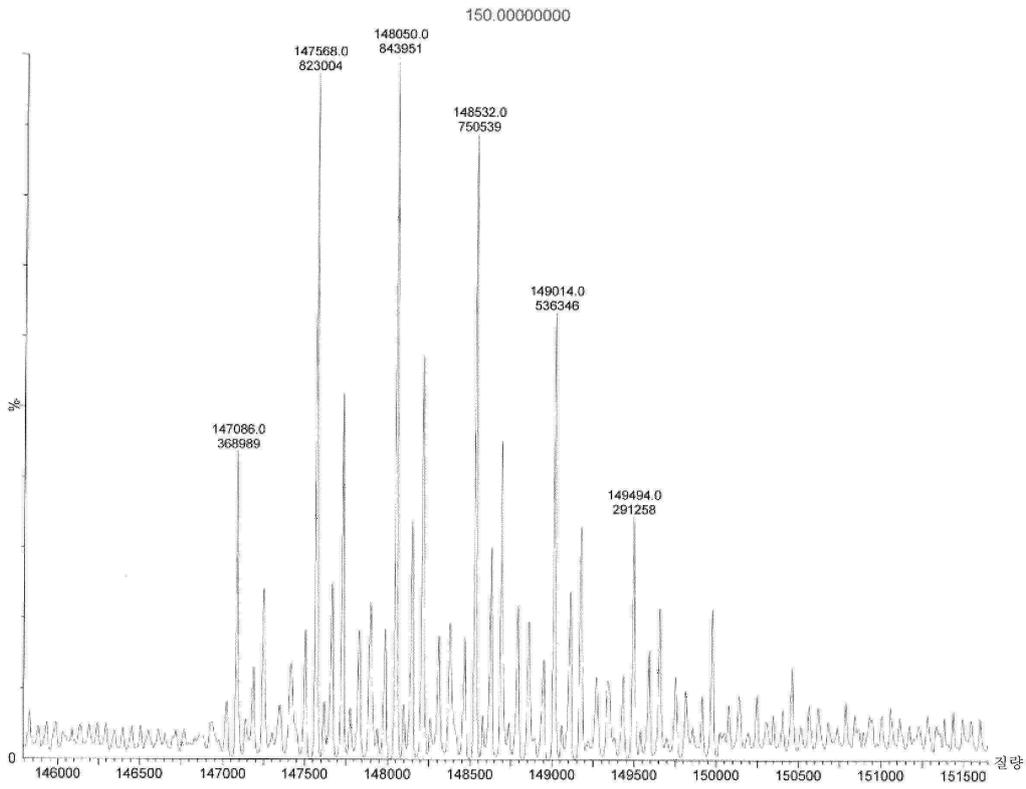
도면111h



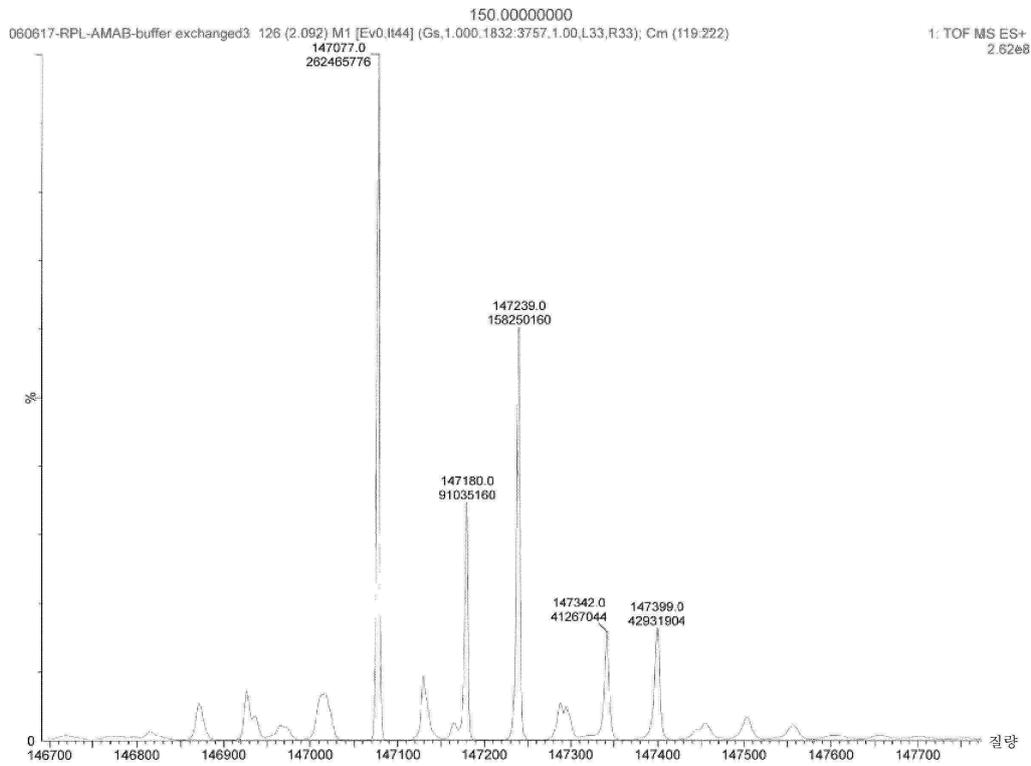
도면111i



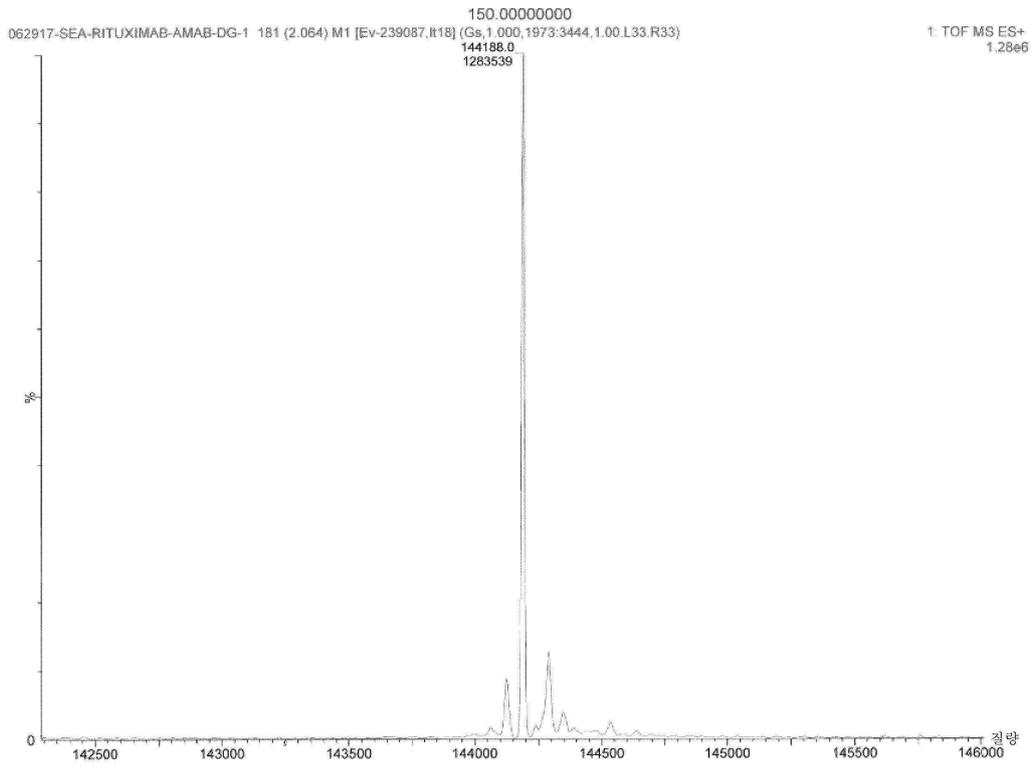
도면112a



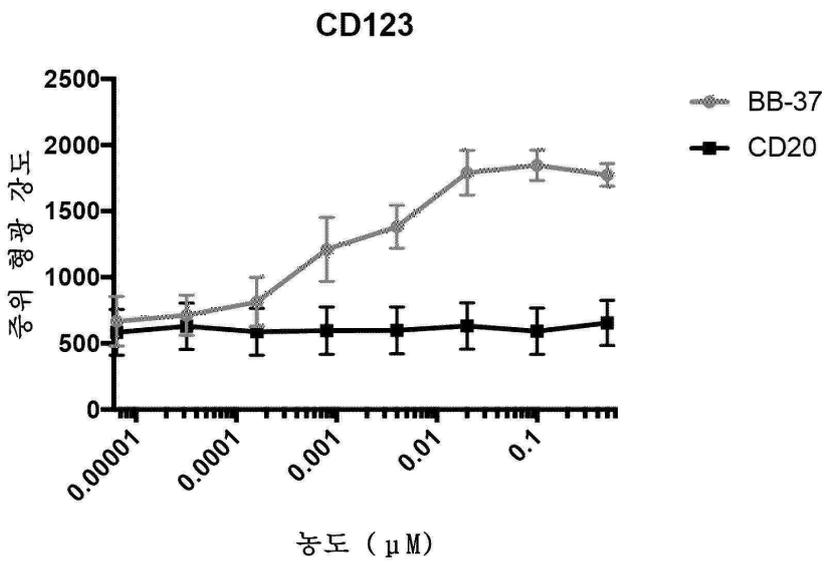
도면112b



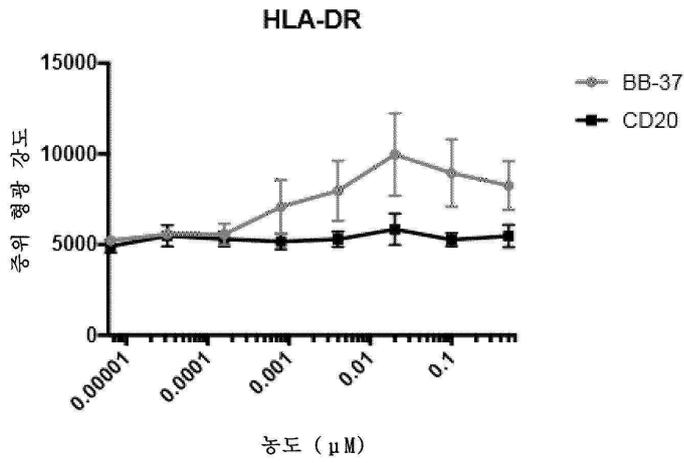
도면112c



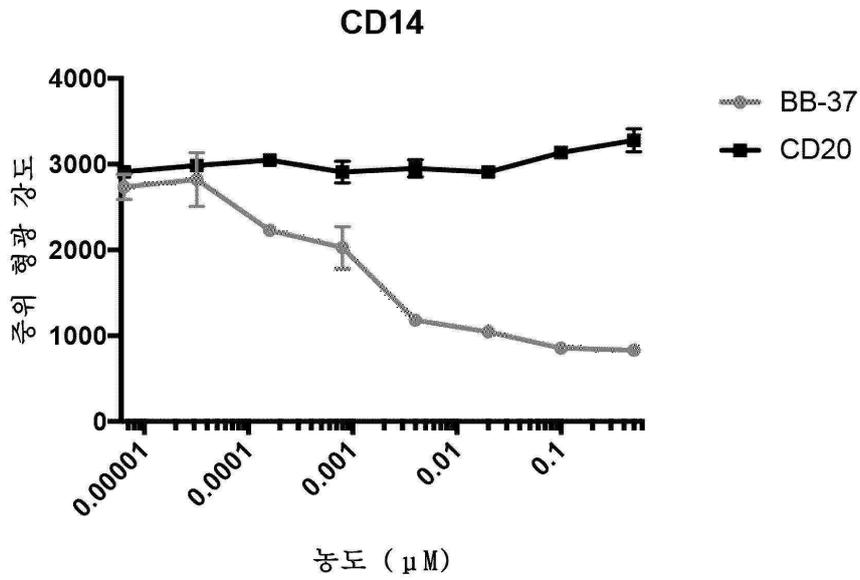
도면112d



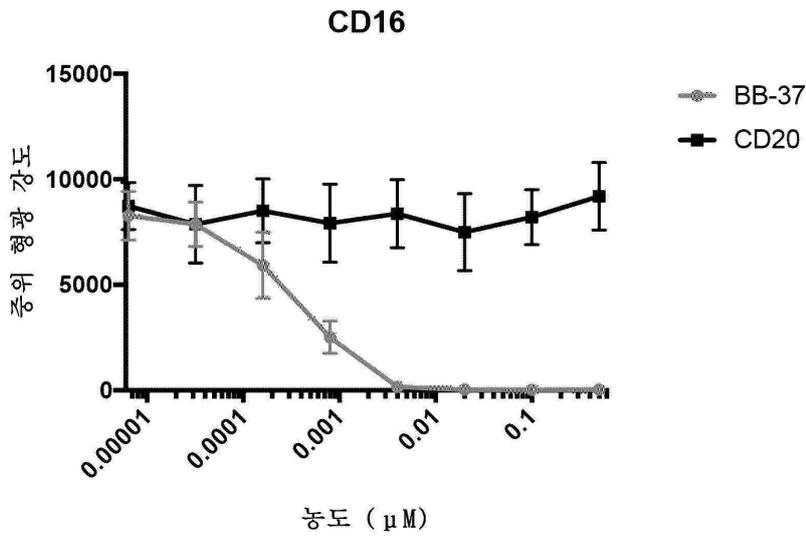
도면112e



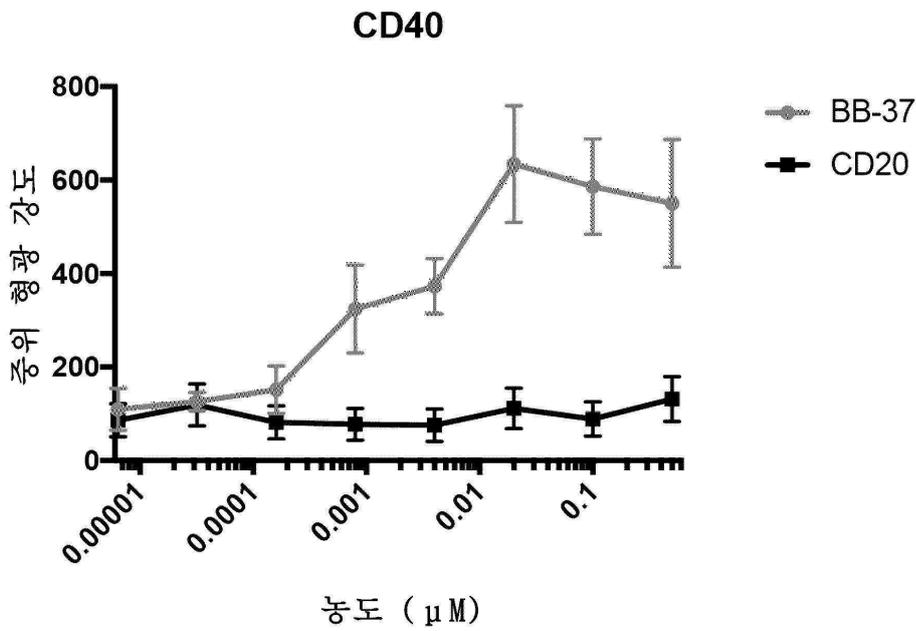
도면112f



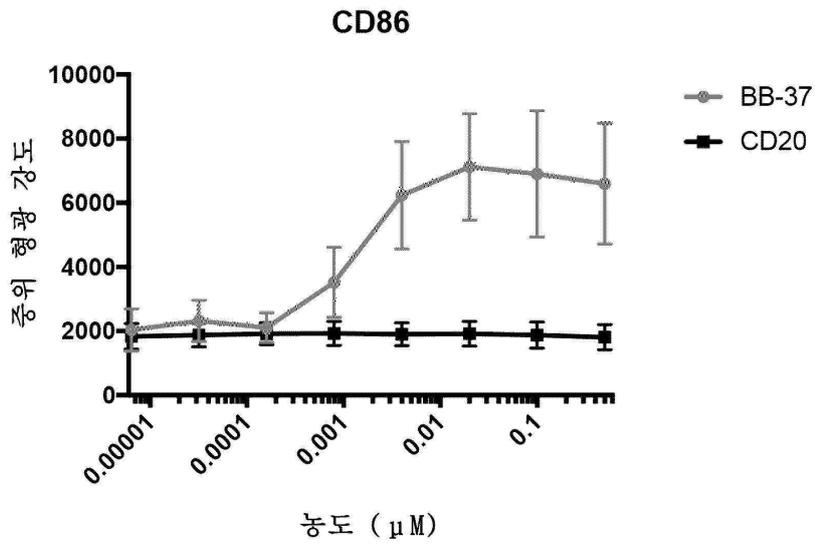
도면112g



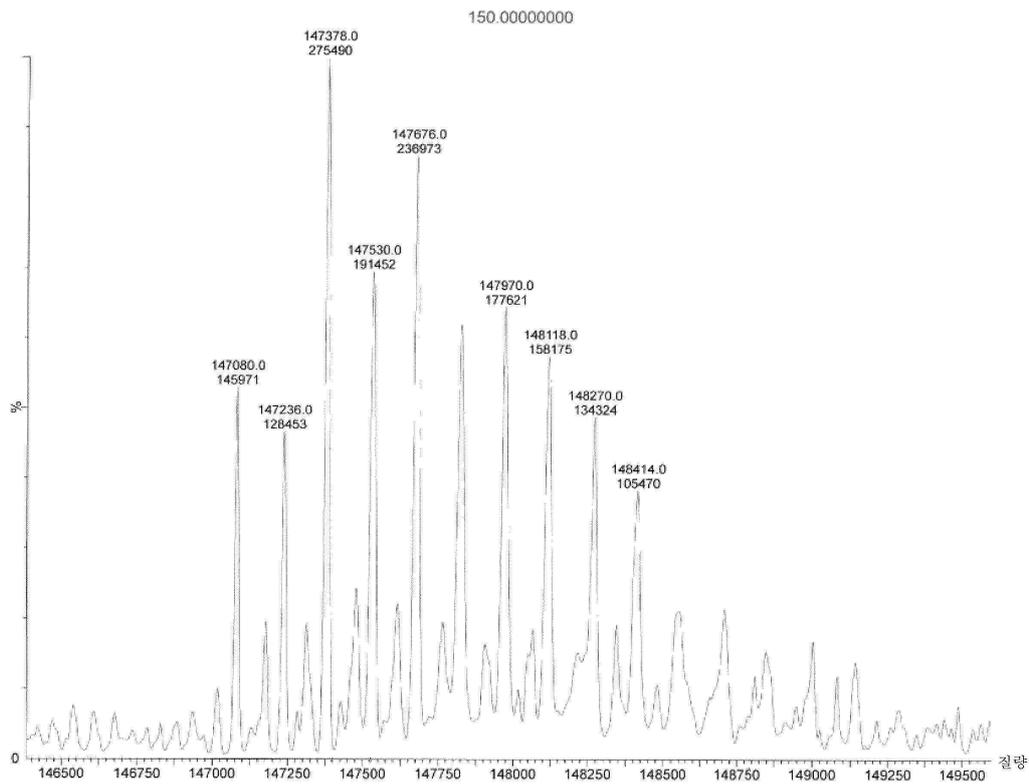
도면112h



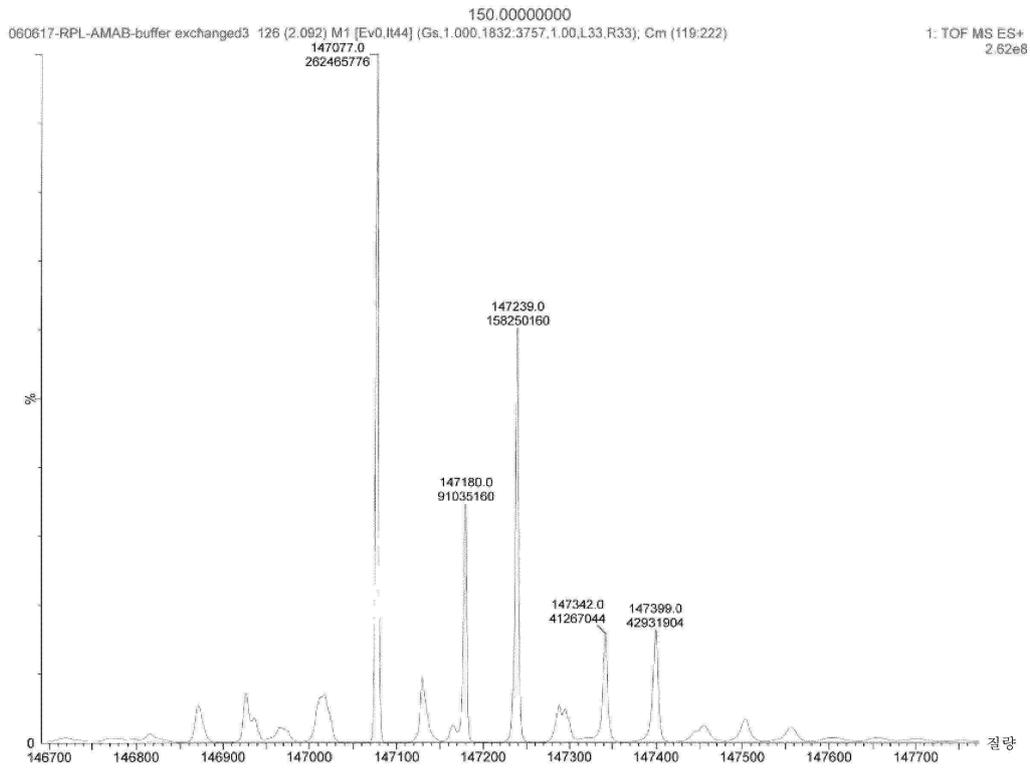
도면112i



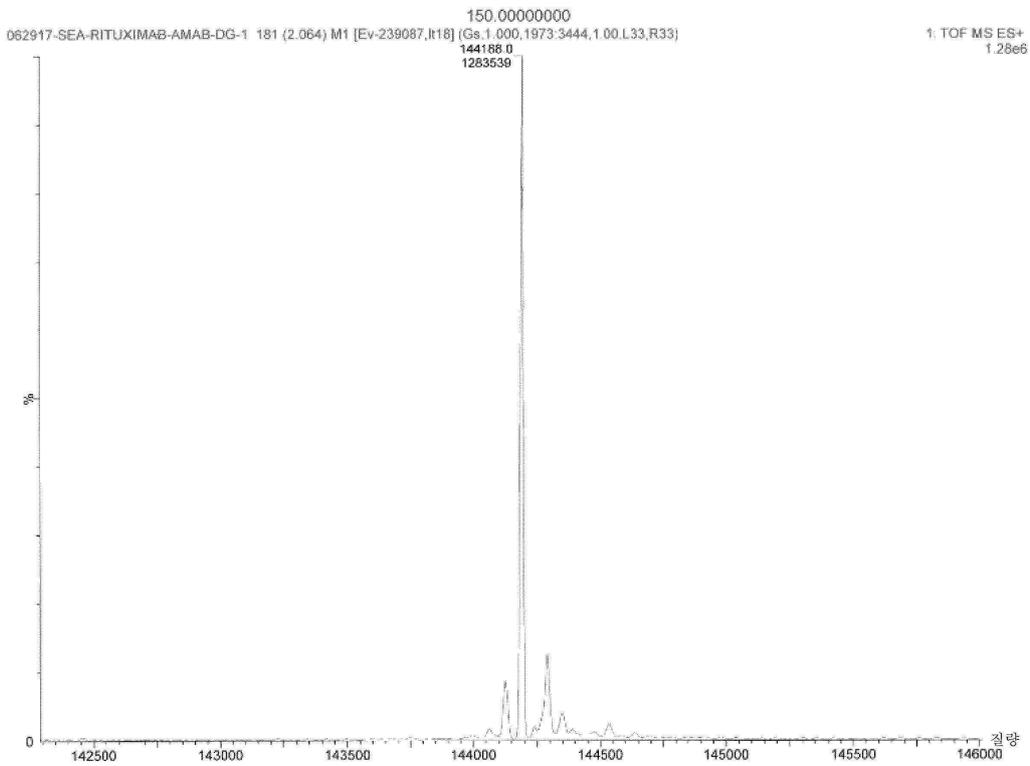
도면113a



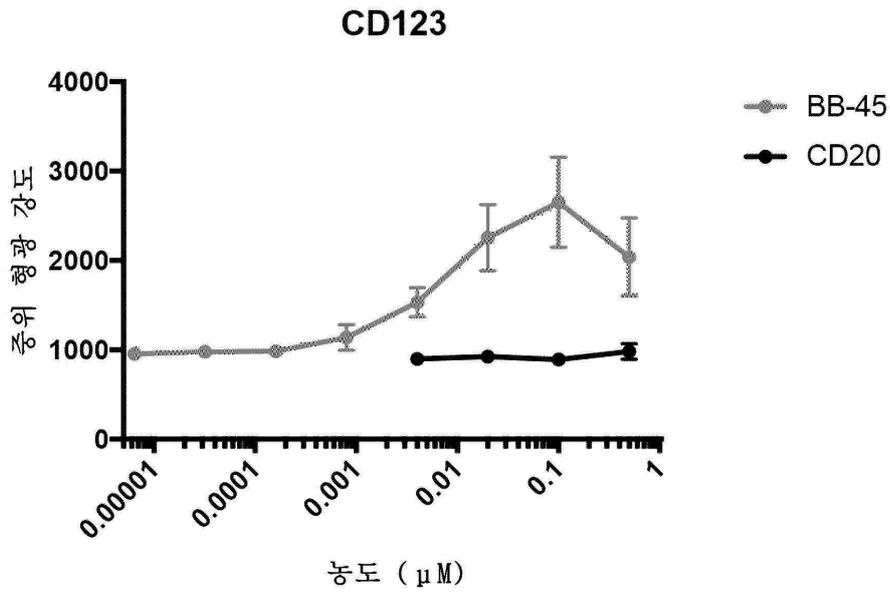
도면113b



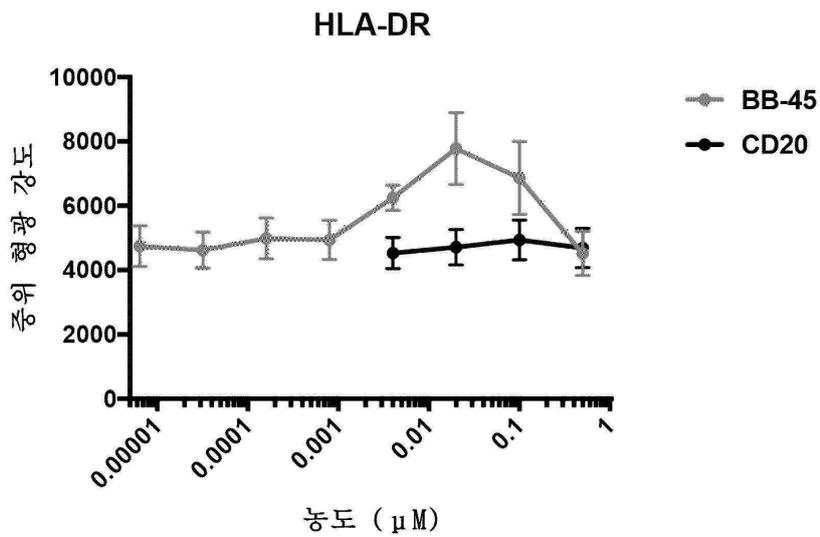
도면113c



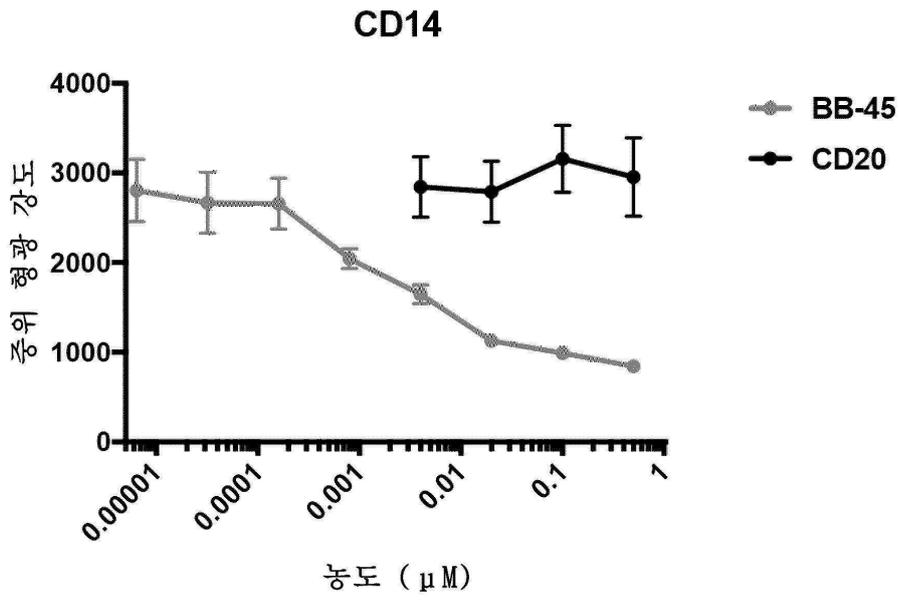
도면113d



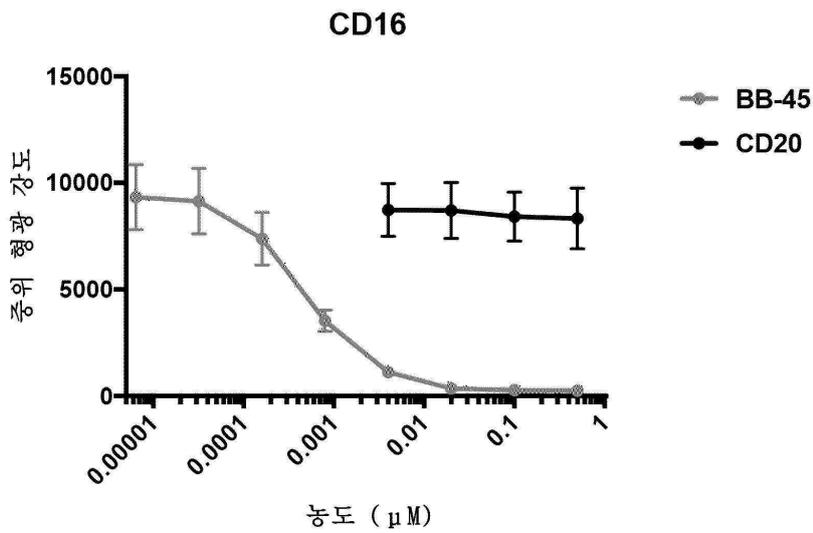
도면113e



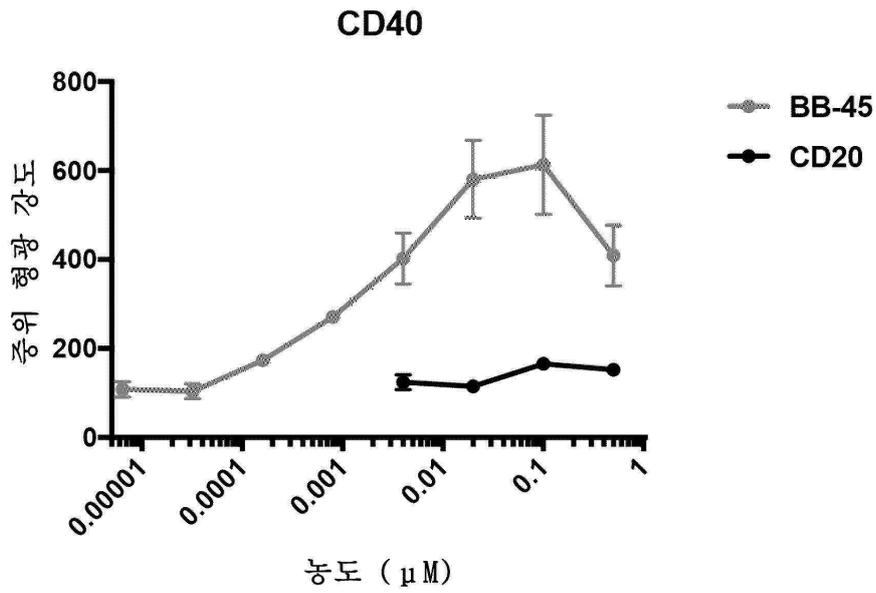
도면113f



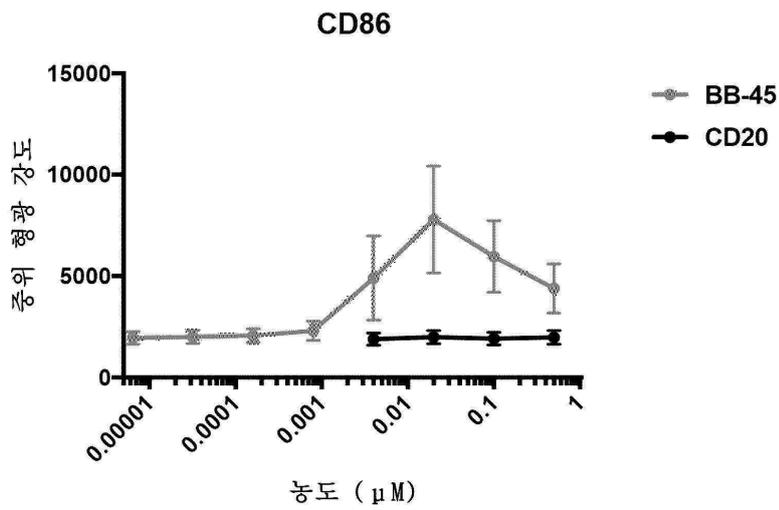
도면113g



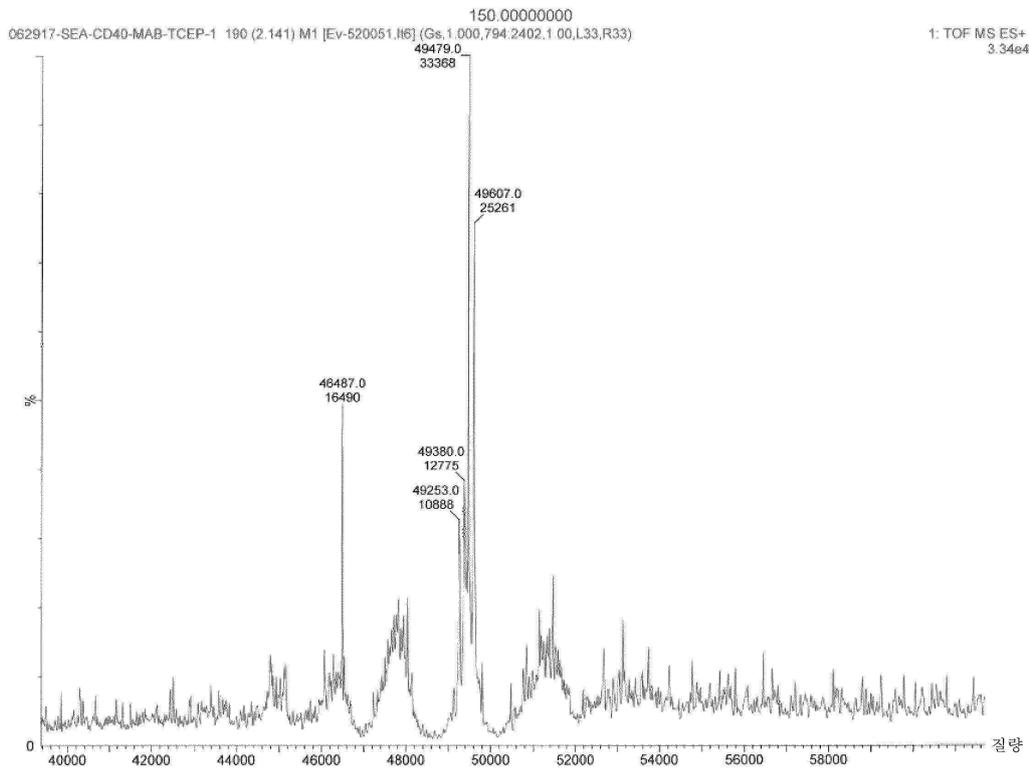
도면113h



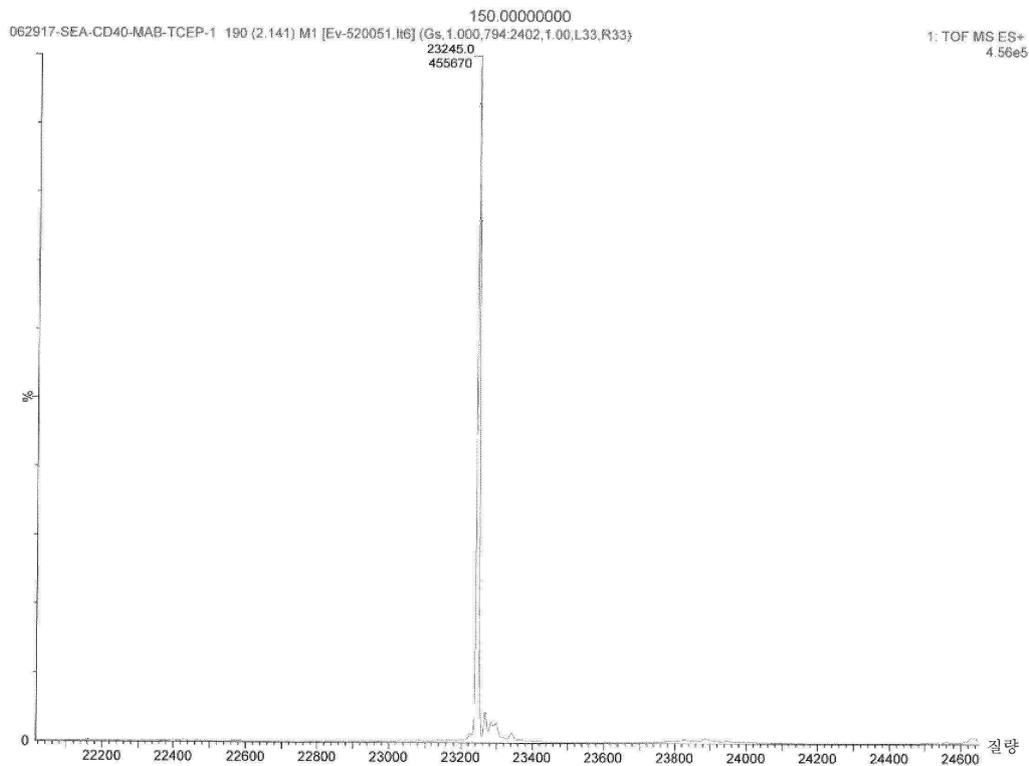
도면113i



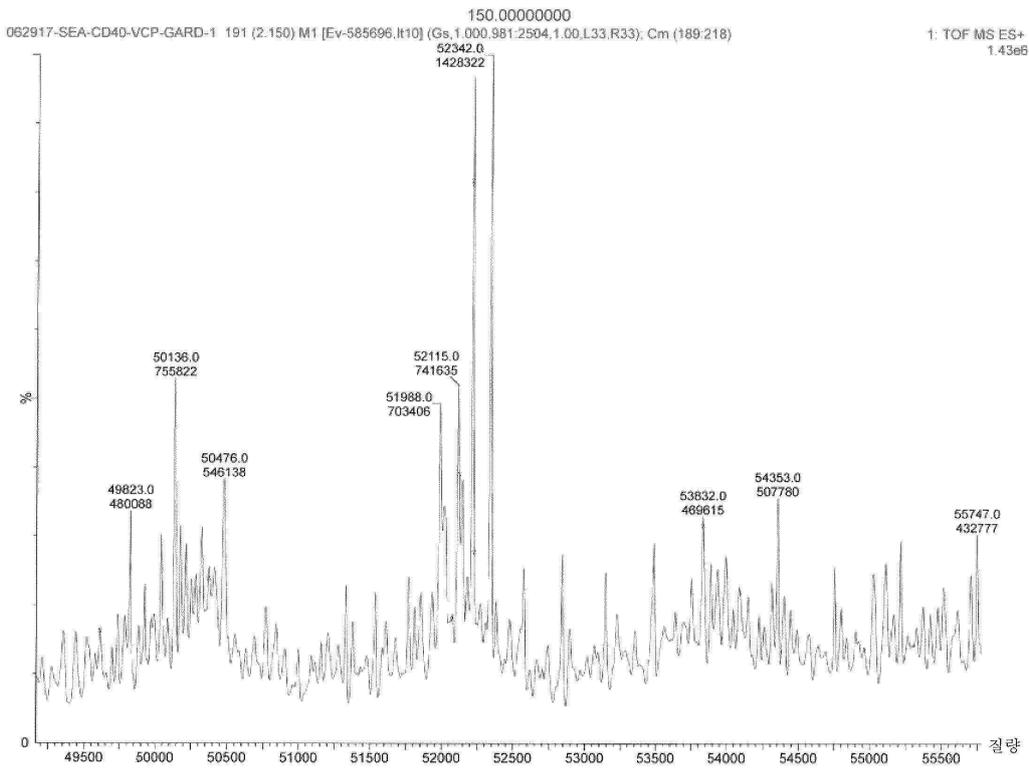
도면114a



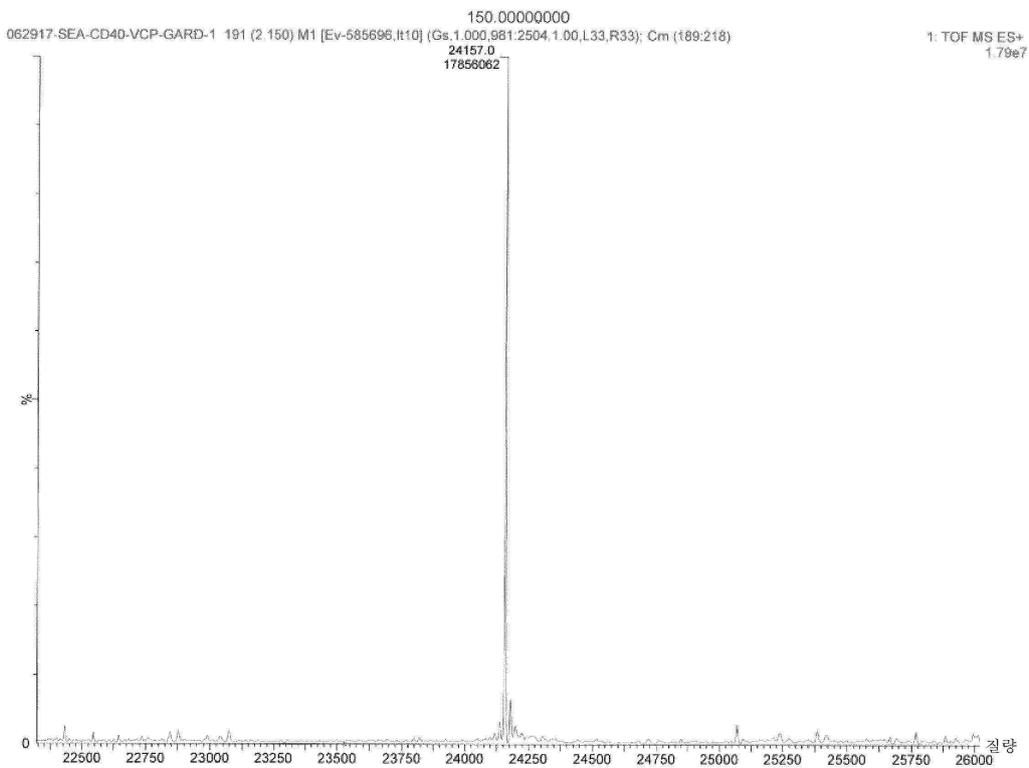
도면114b



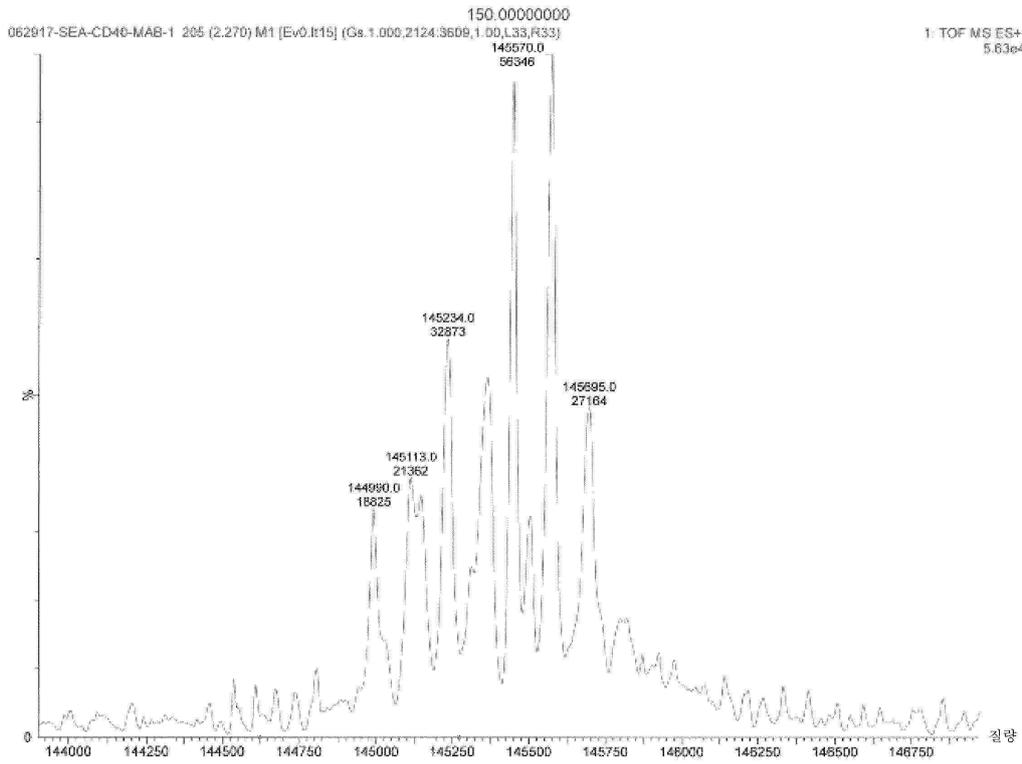
도면114c



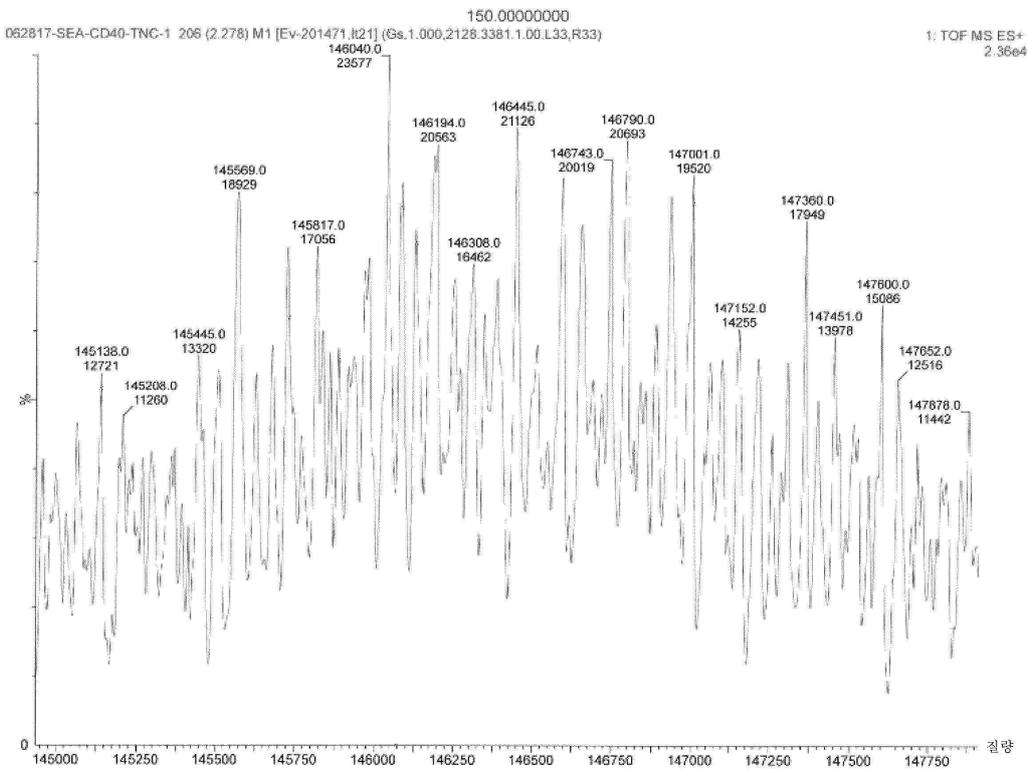
도면114d



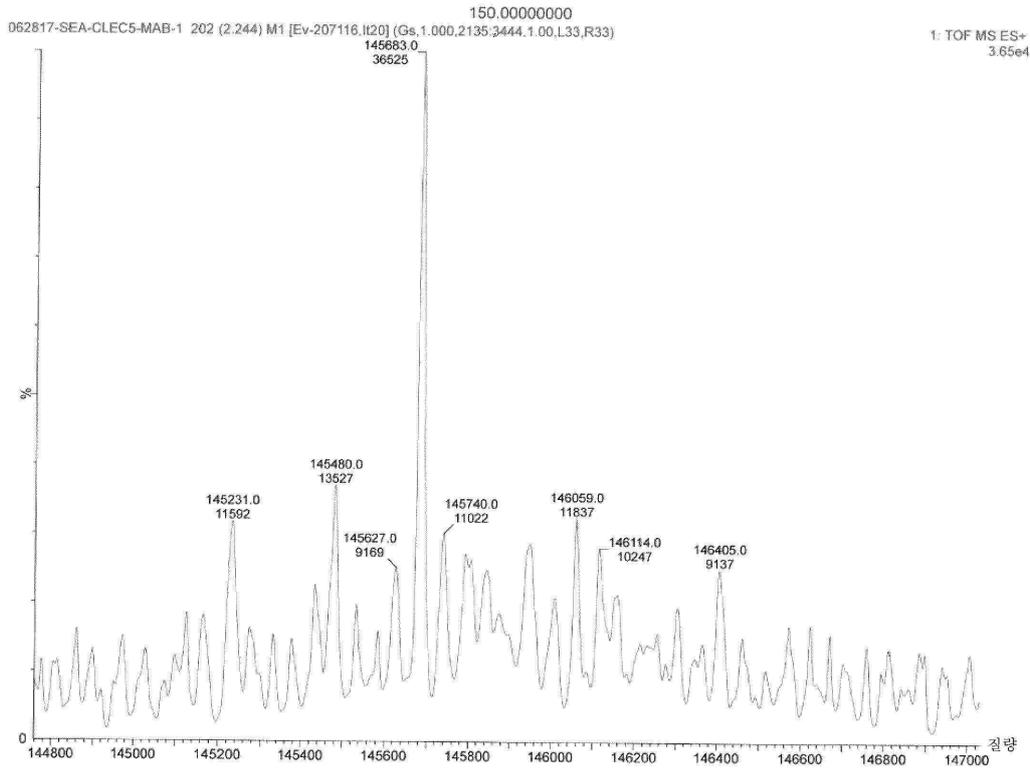
도면115a



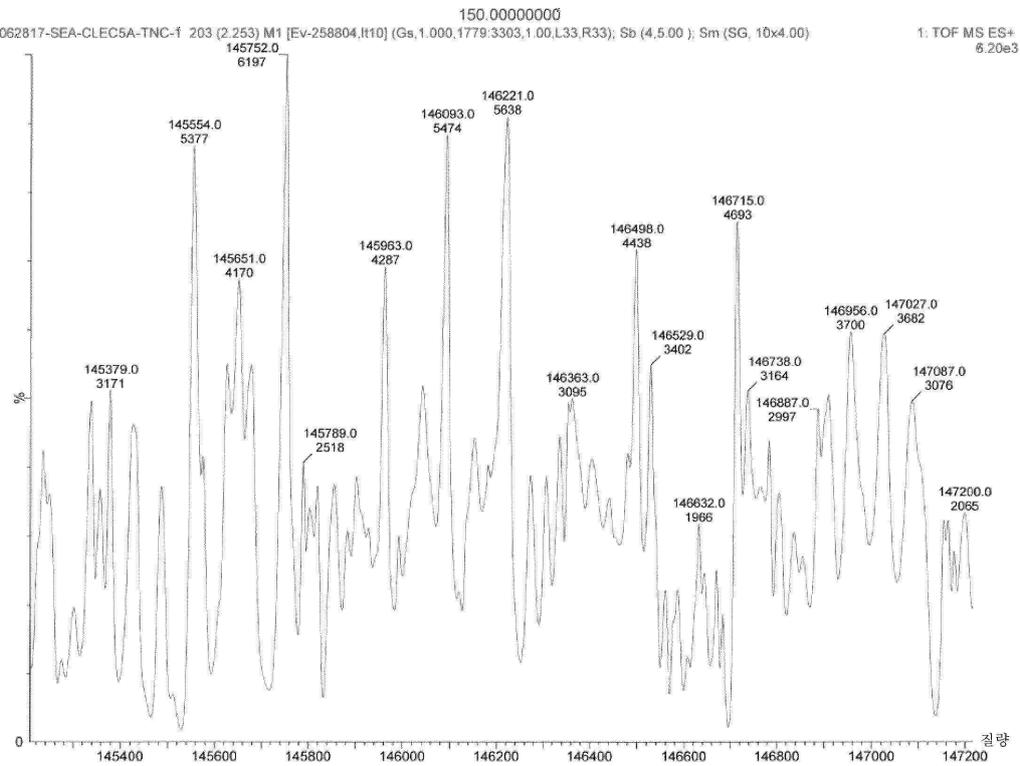
도면115b



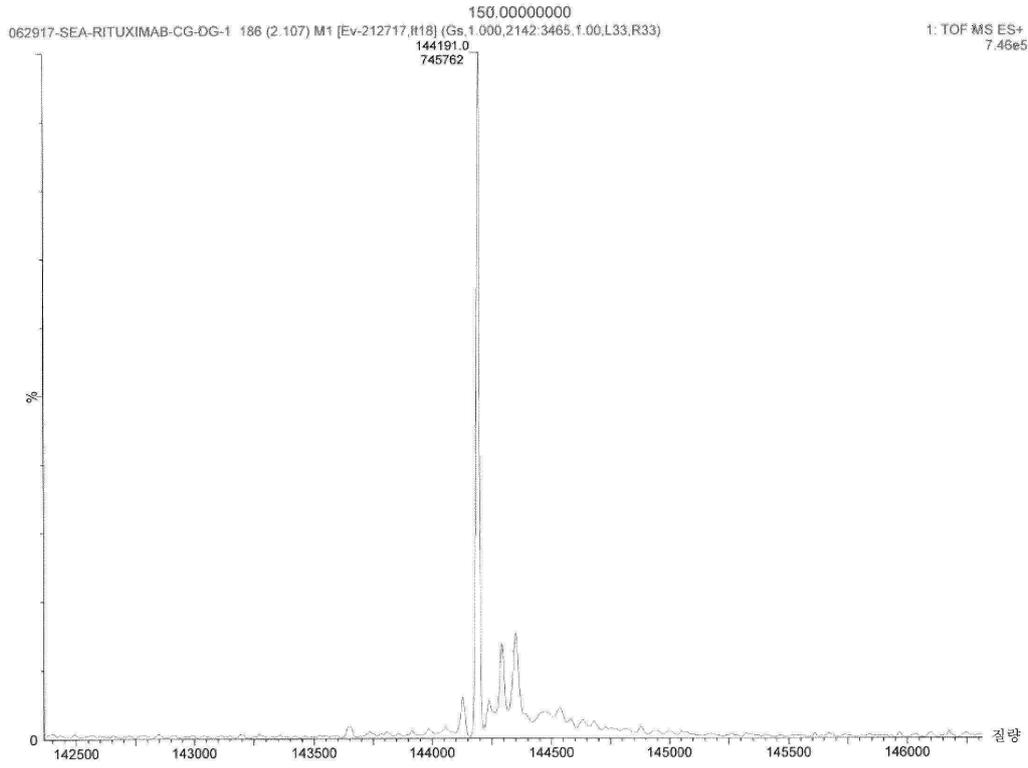
도면116a



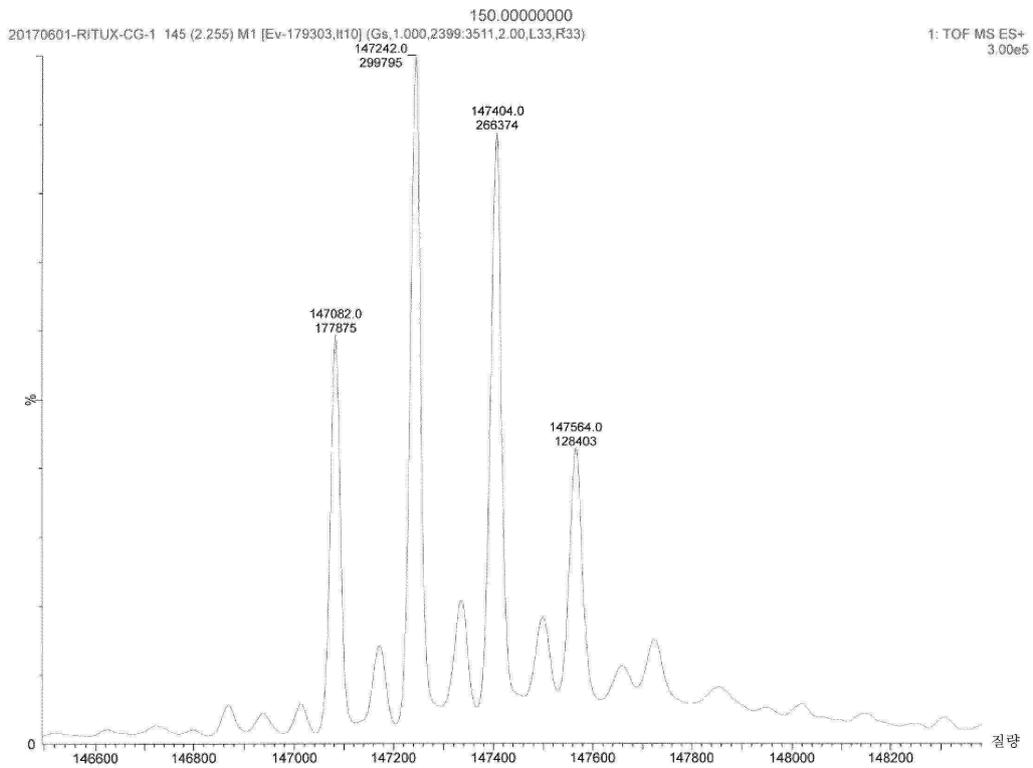
도면116b



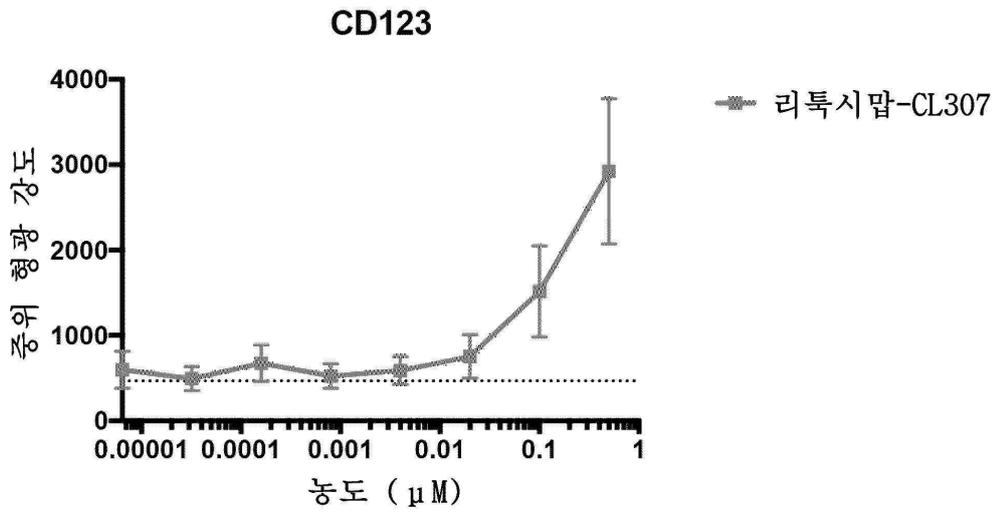
도면117a



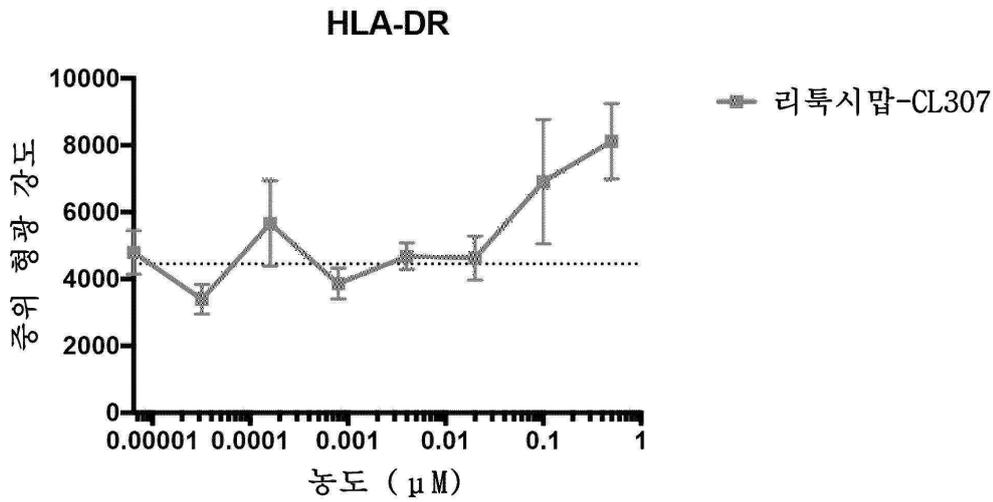
도면117b



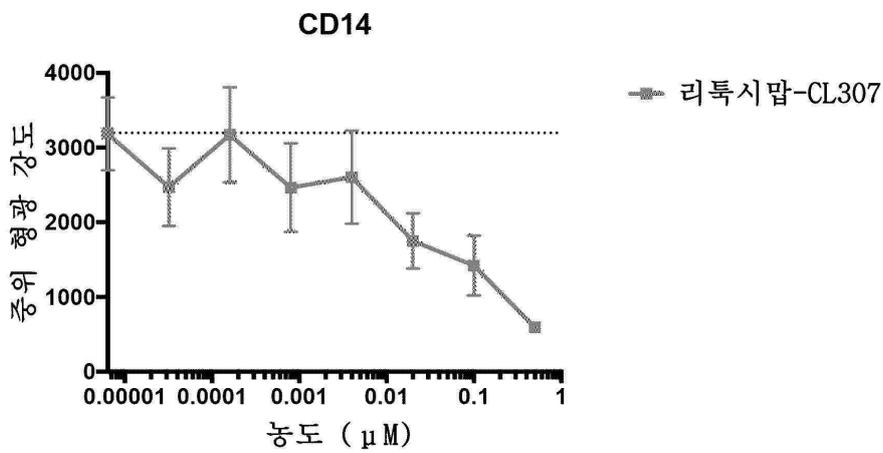
도면118a



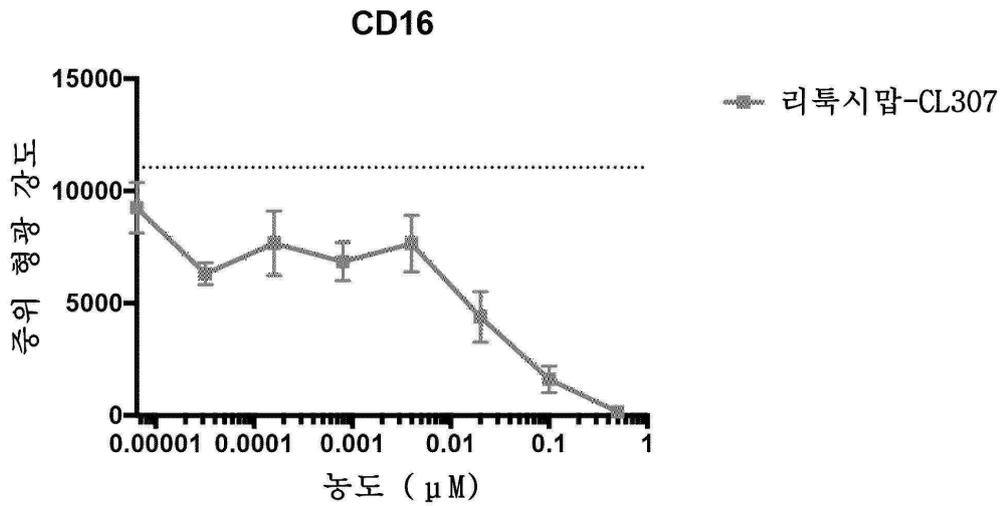
도면118b



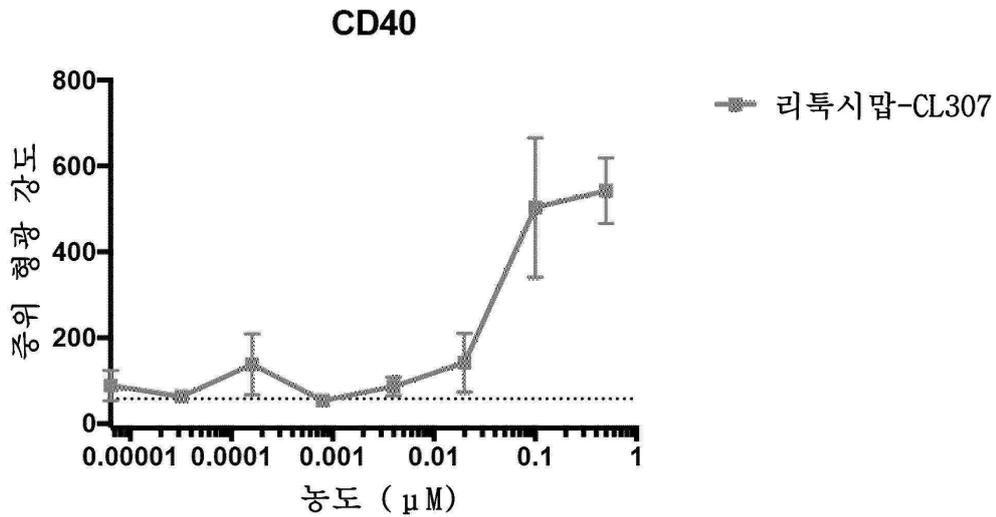
도면118c



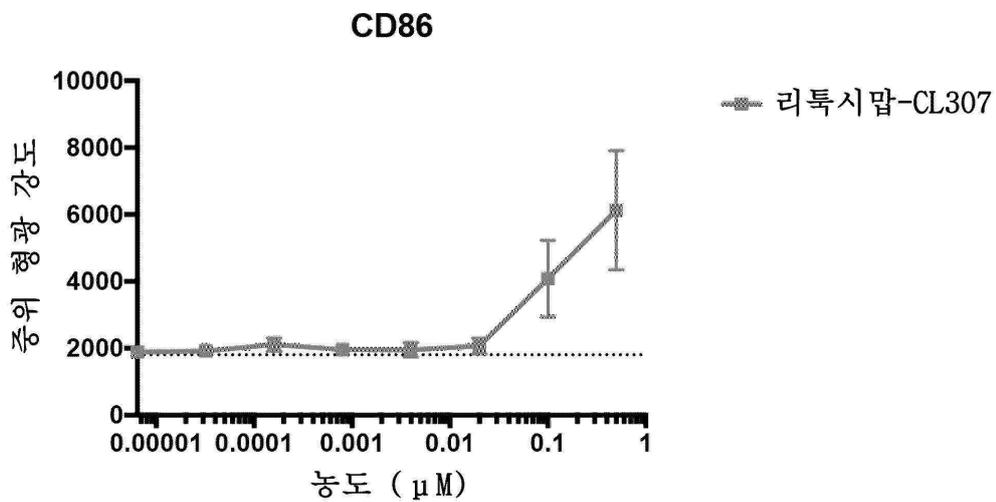
도면118d



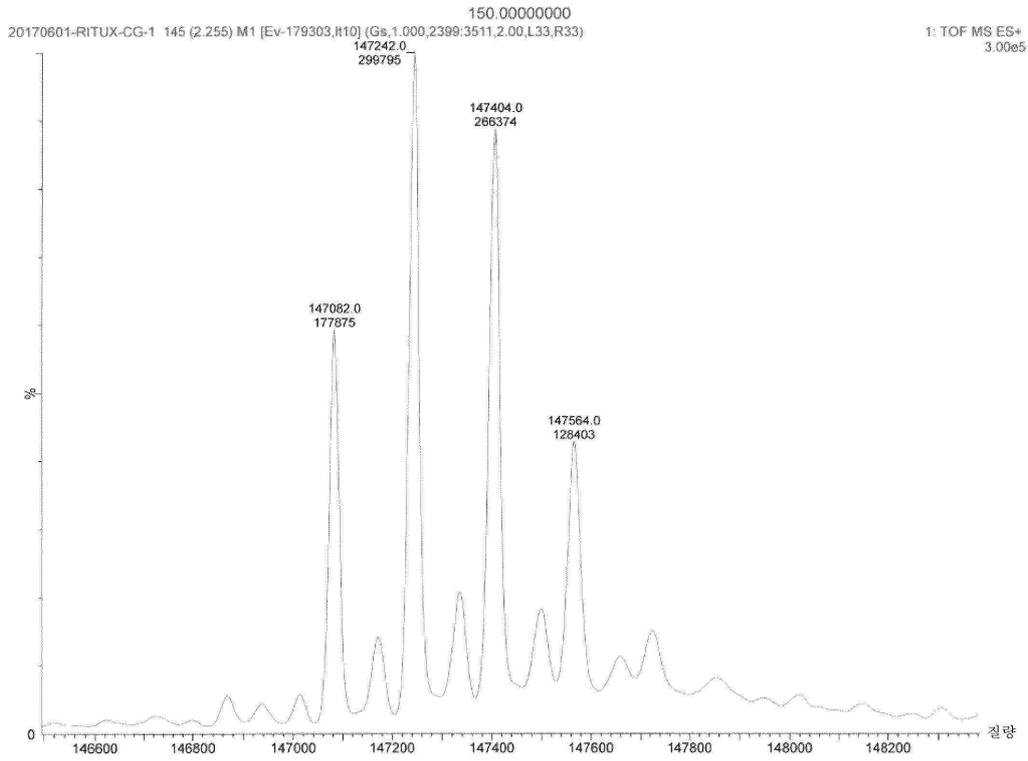
도면118e



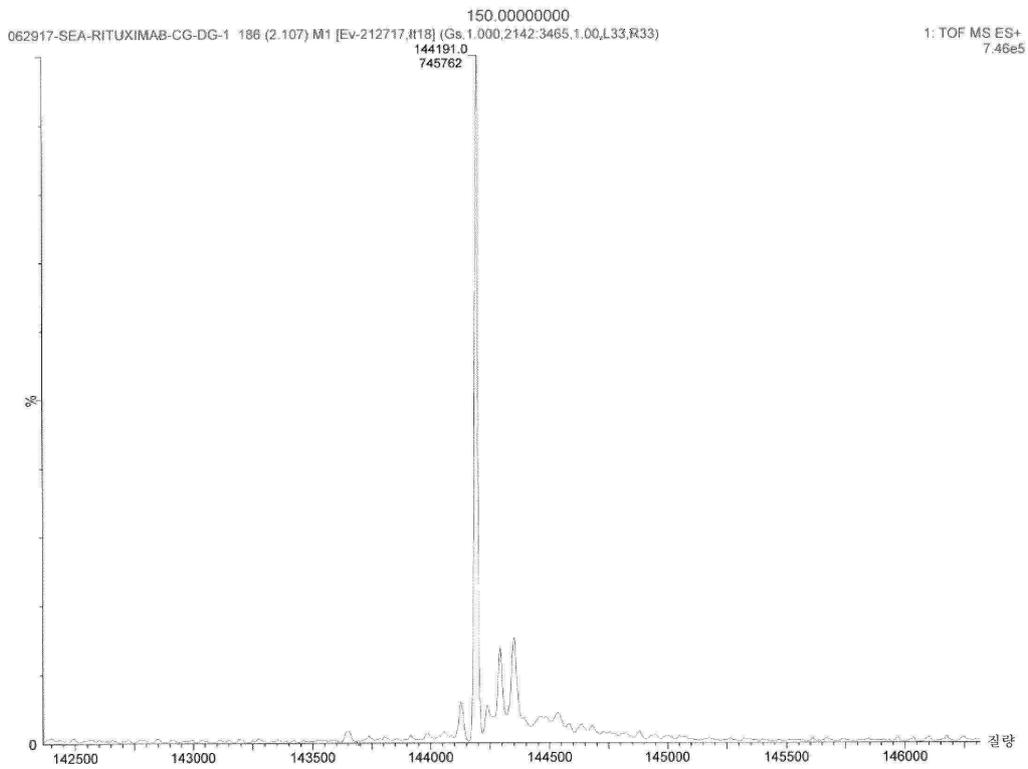
도면118f



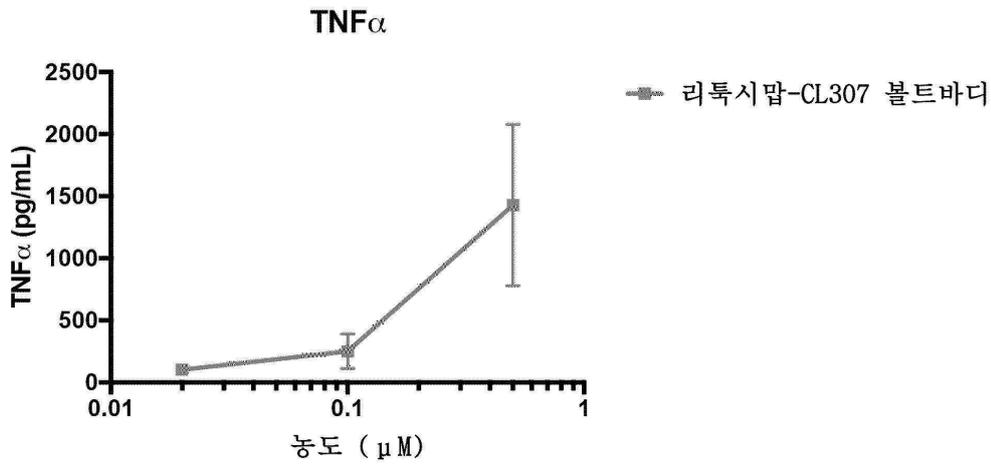
도면118g



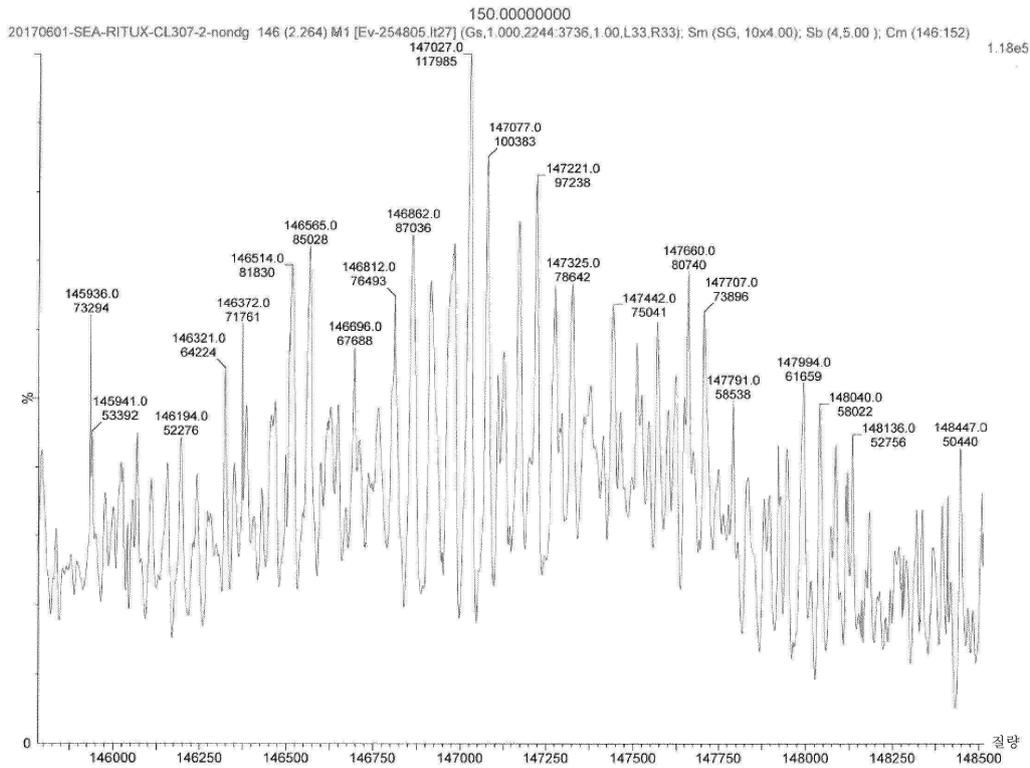
도면118h



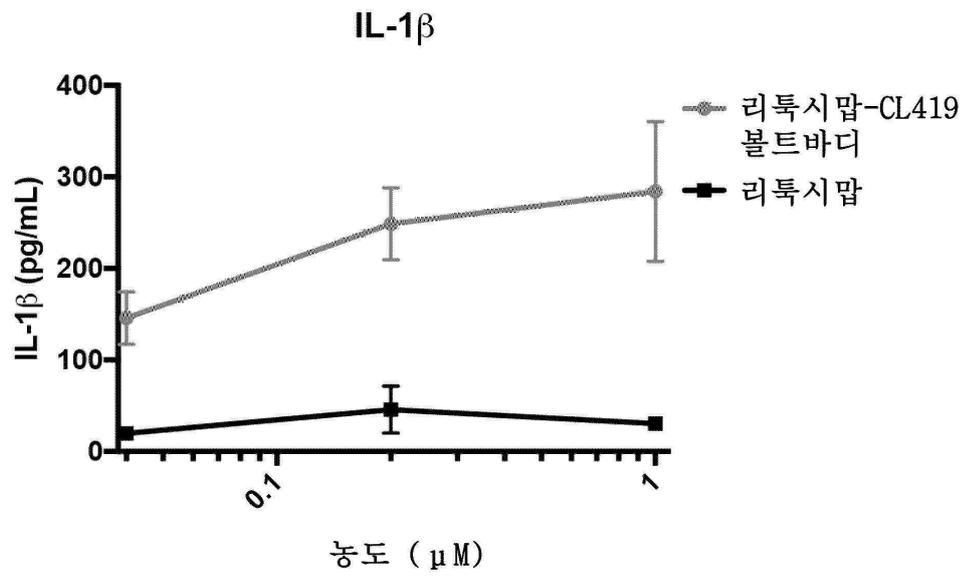
도면118i



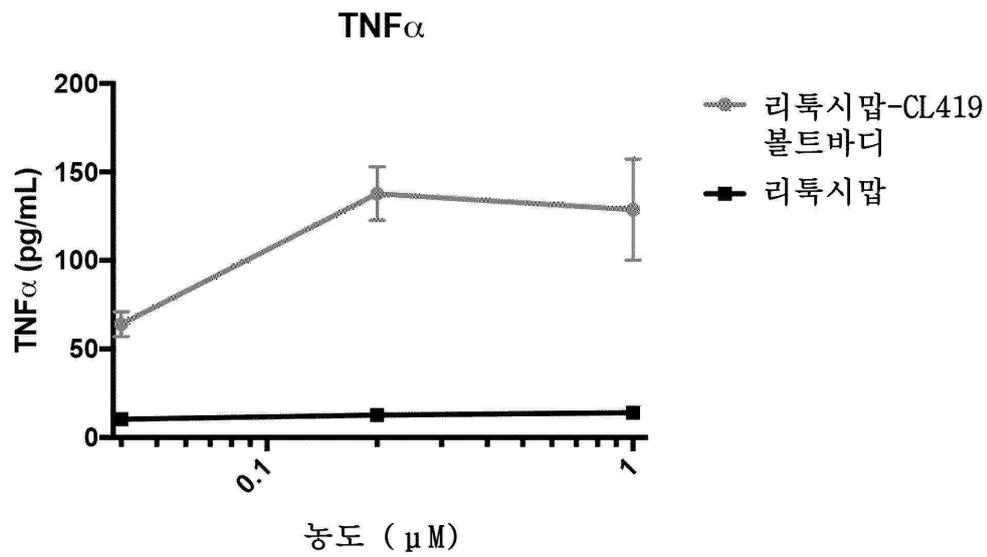
도면118j



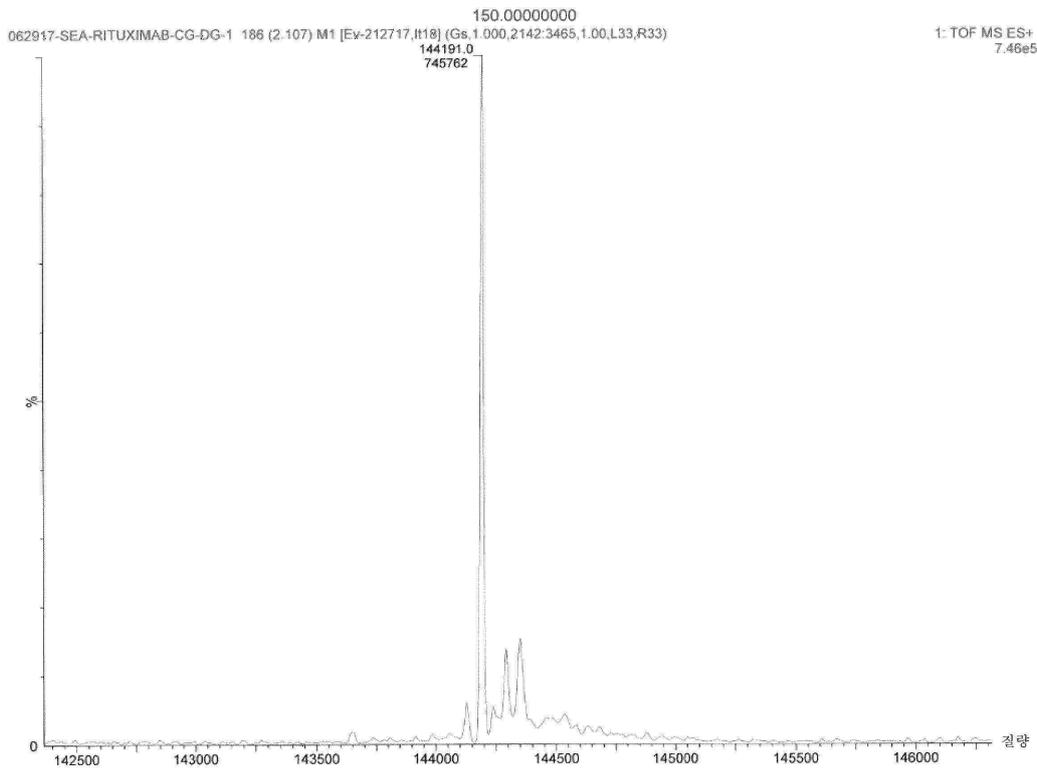
도면119a



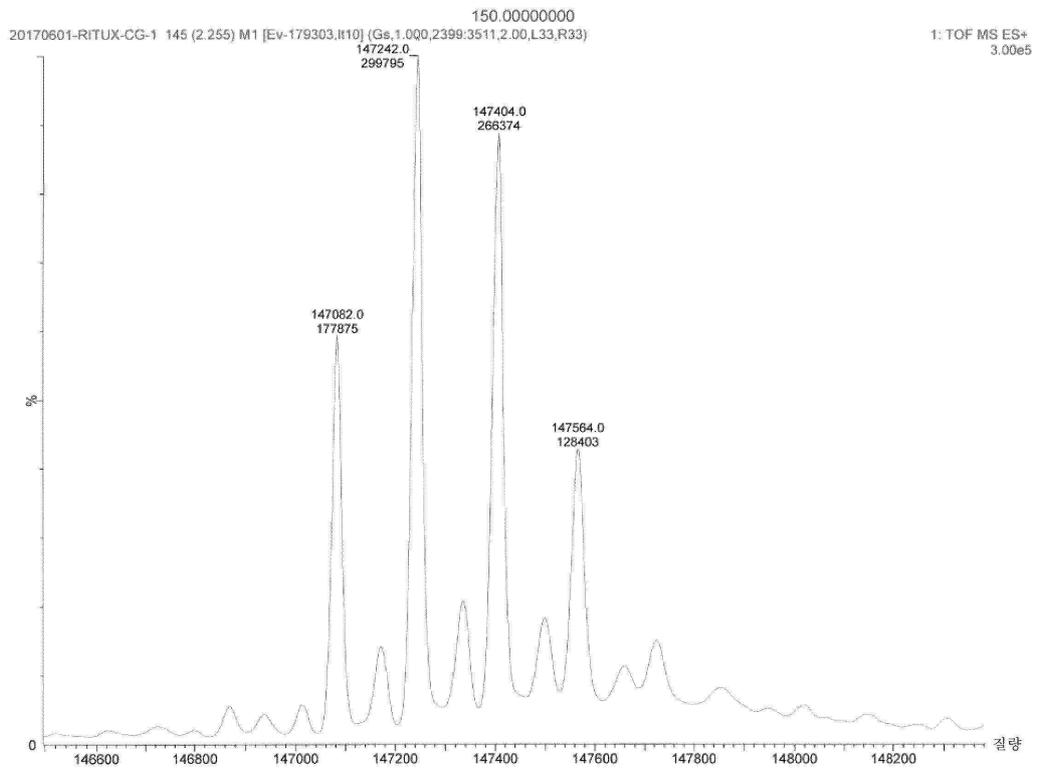
도면119b



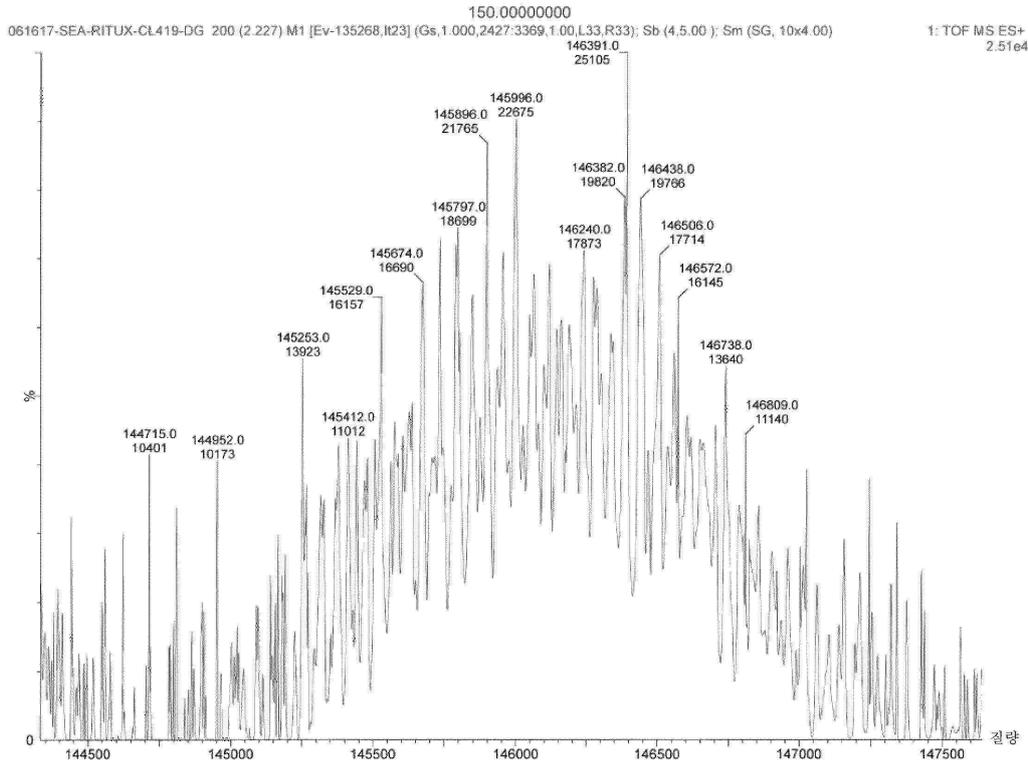
도면119c



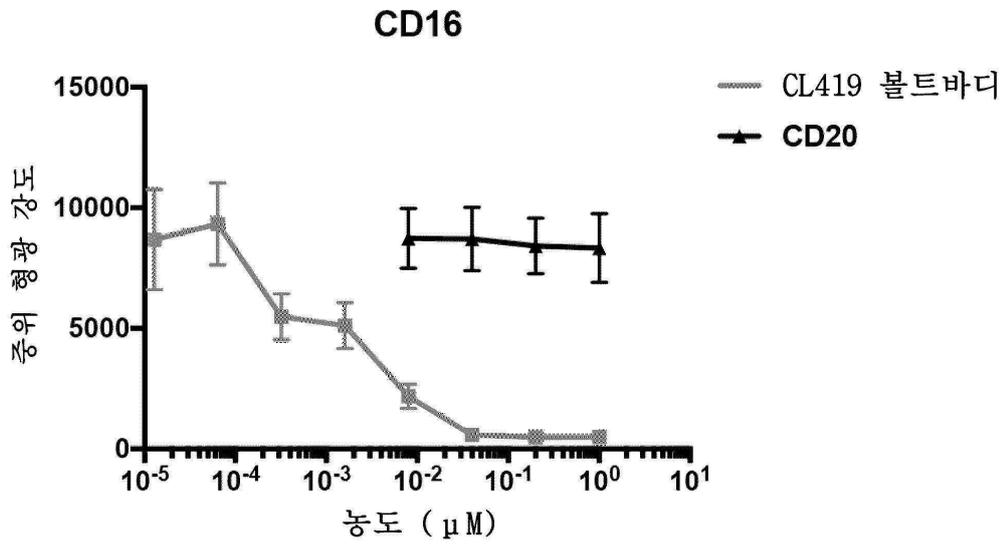
도면119d



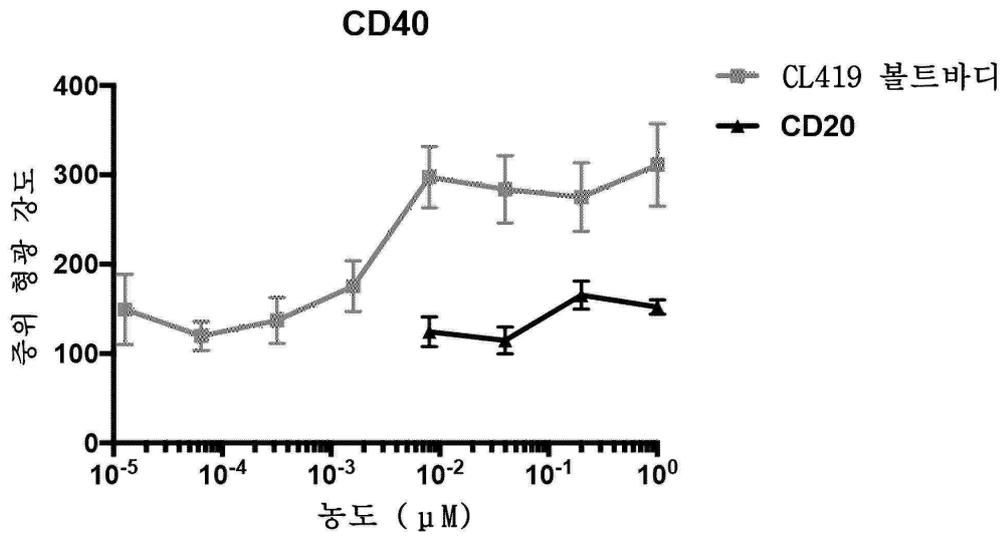
도면119e



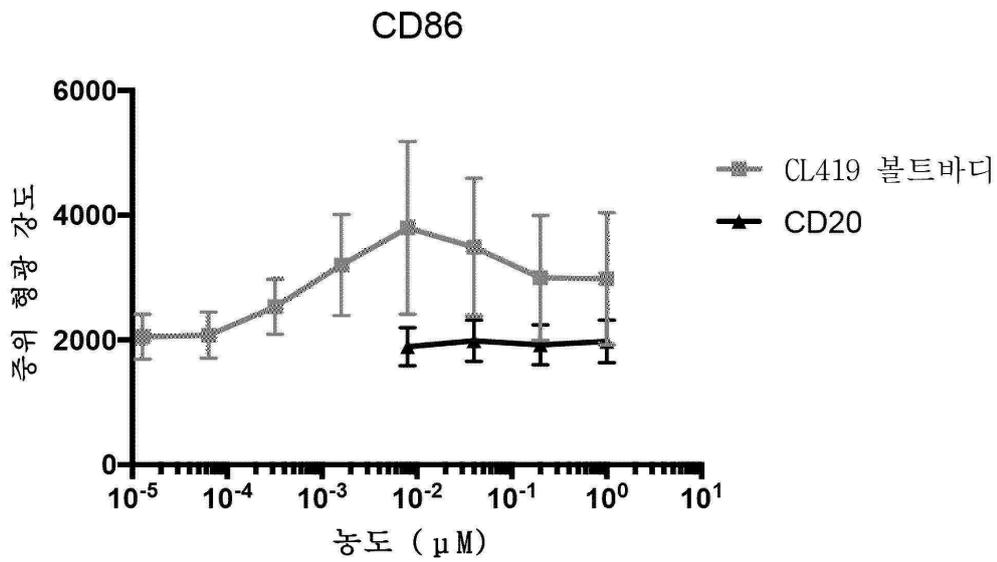
도면119f



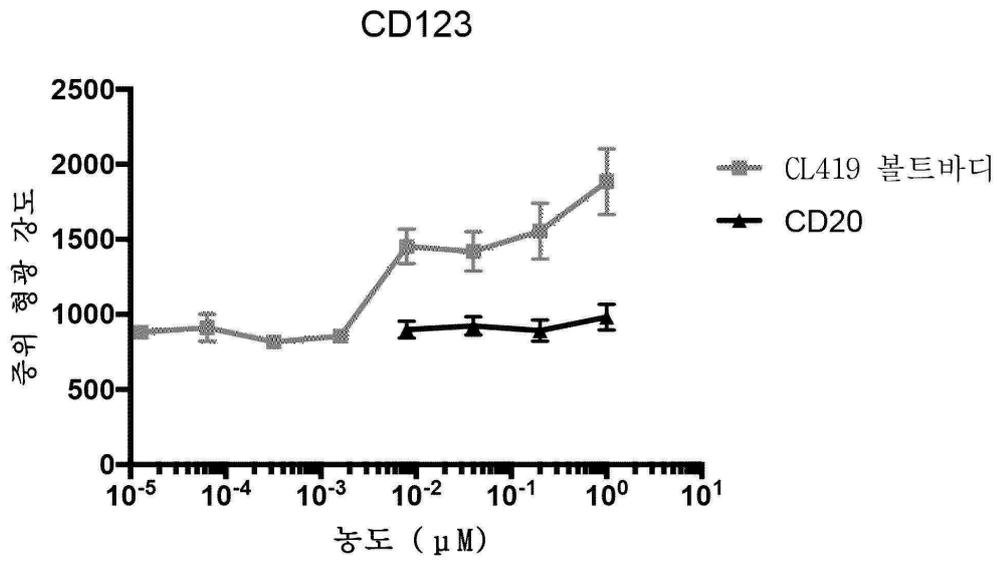
도면119g



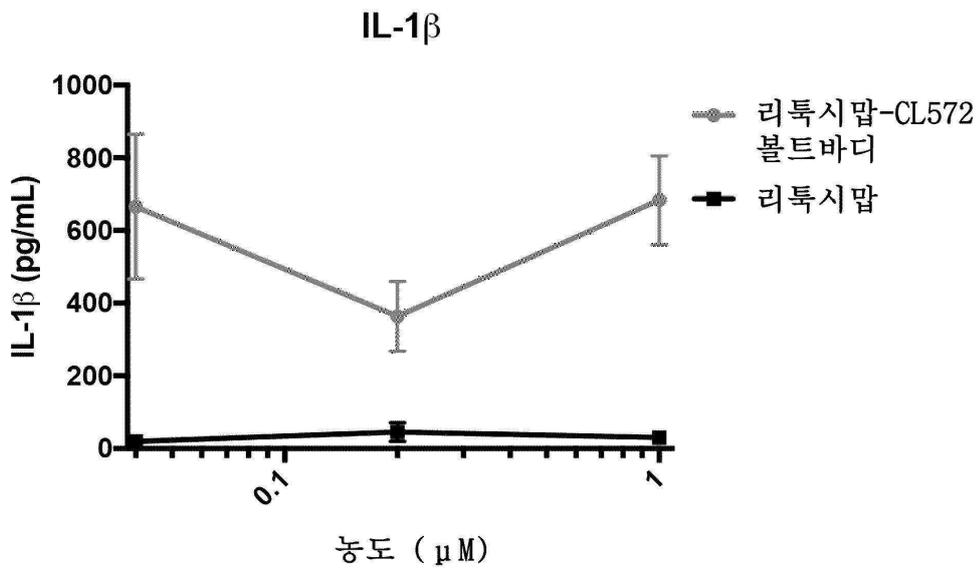
도면119h



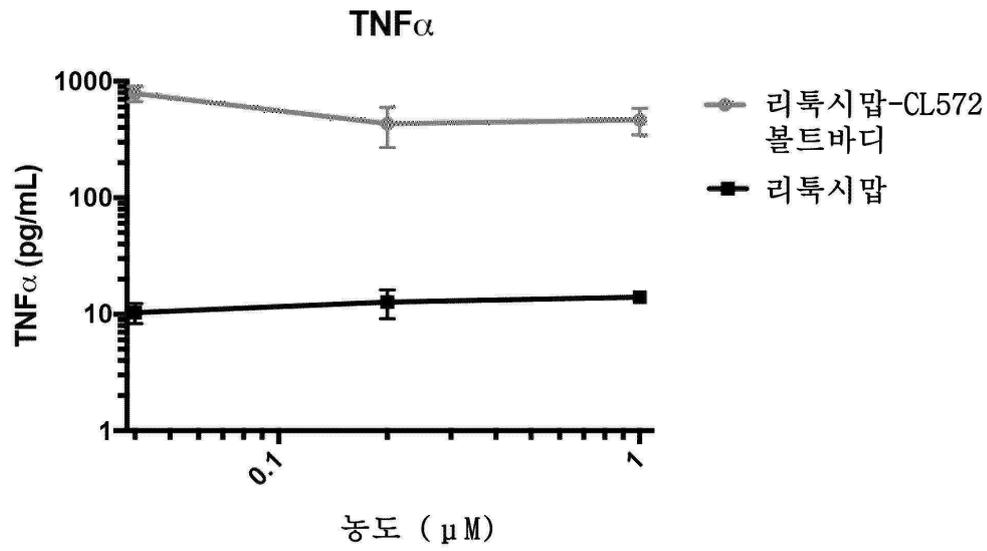
도면119i



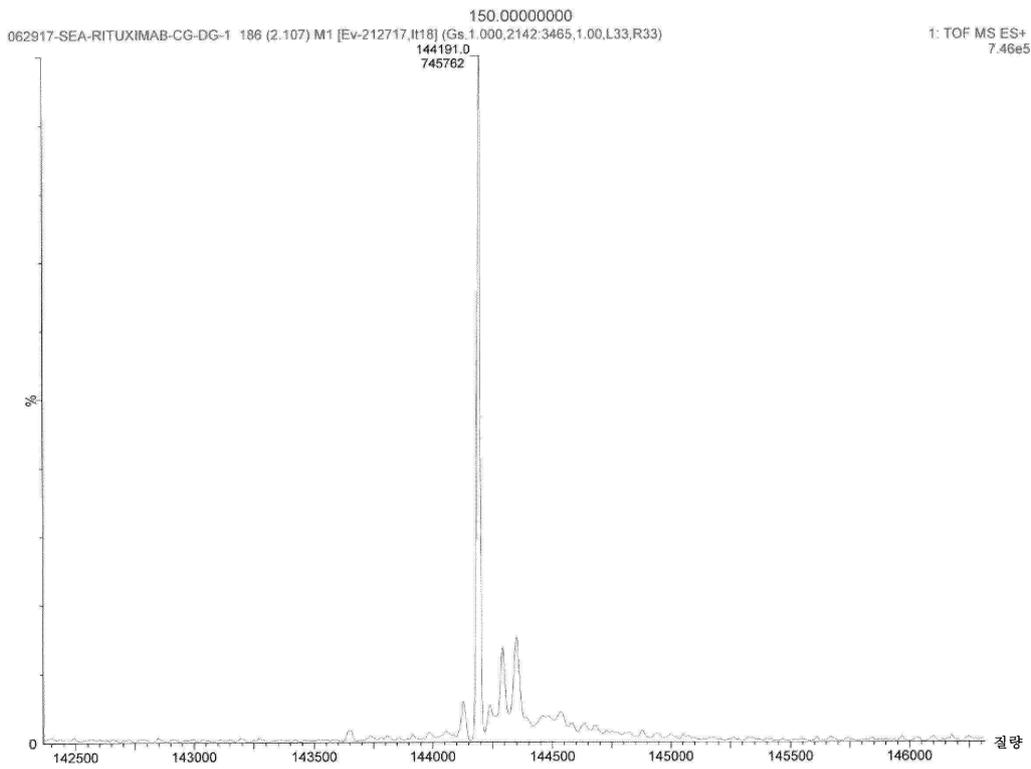
도면120a



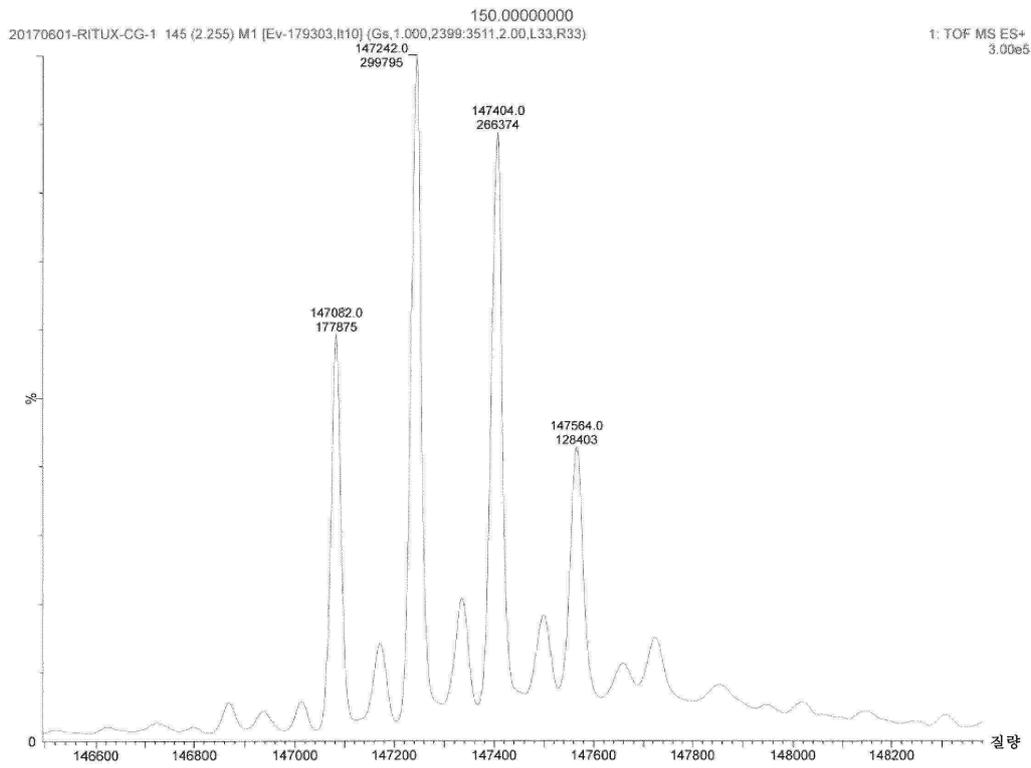
도면120b



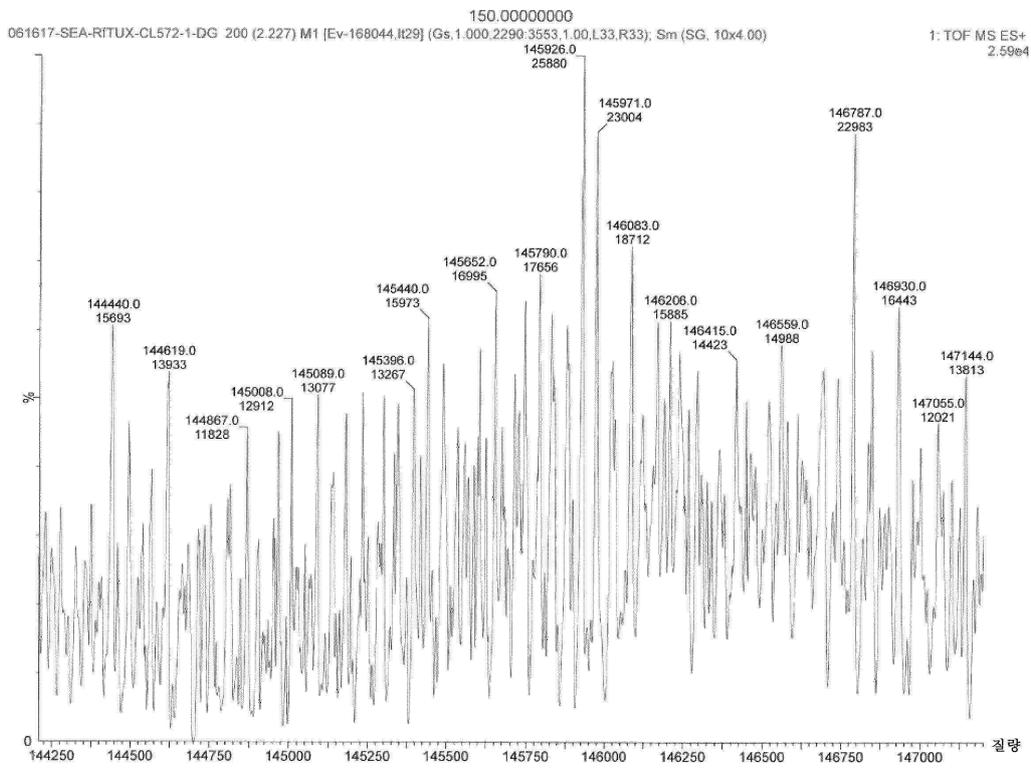
도면120c



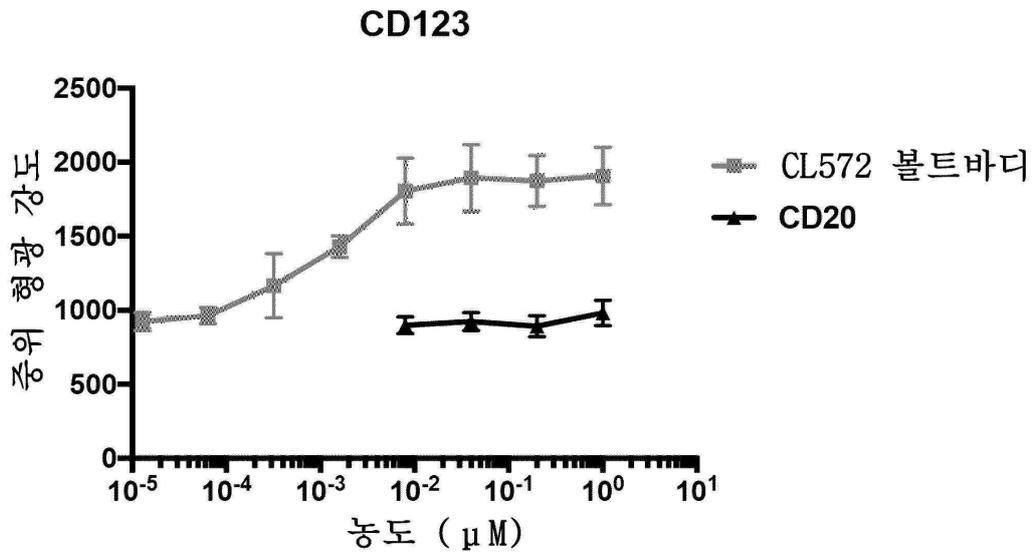
도면120d



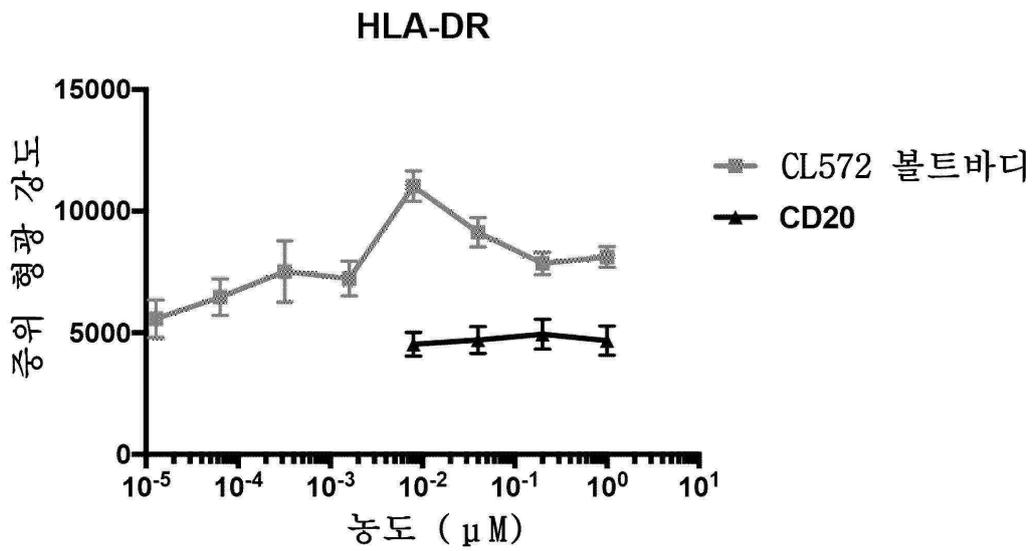
도면120e



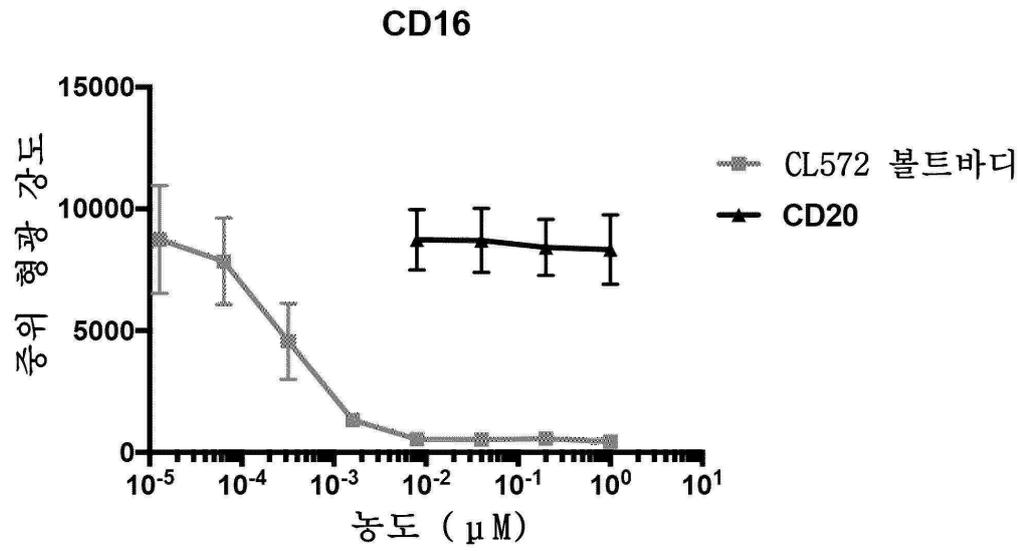
도면120f



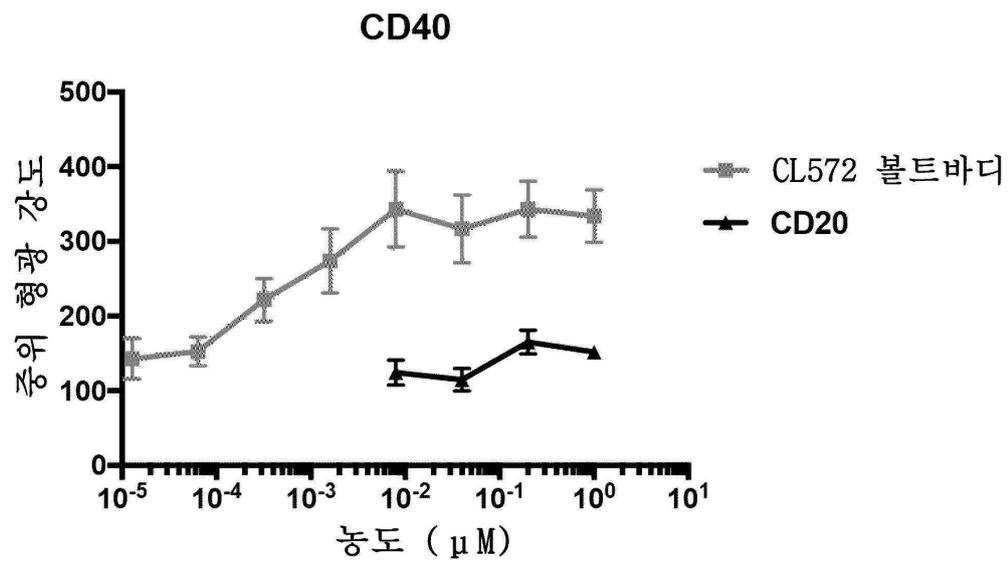
도면120g



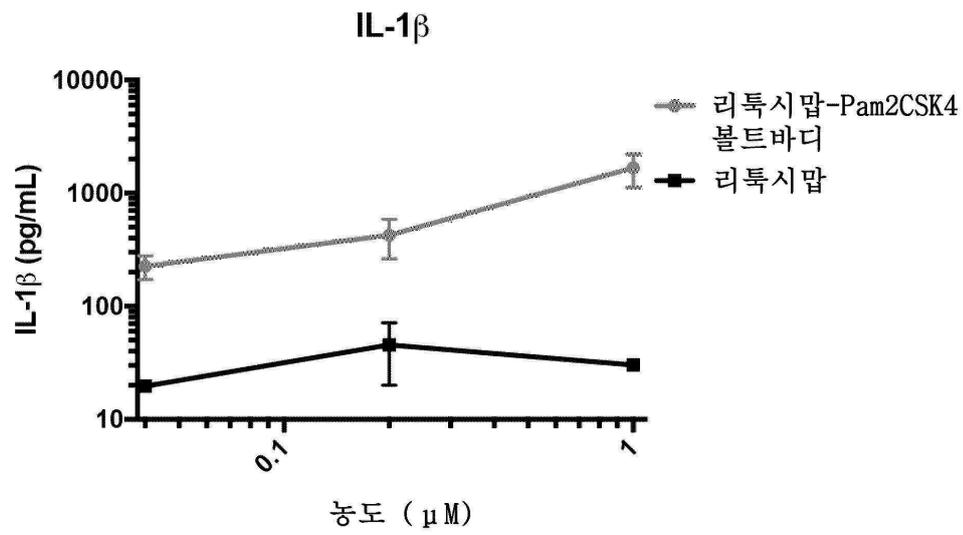
도면120h



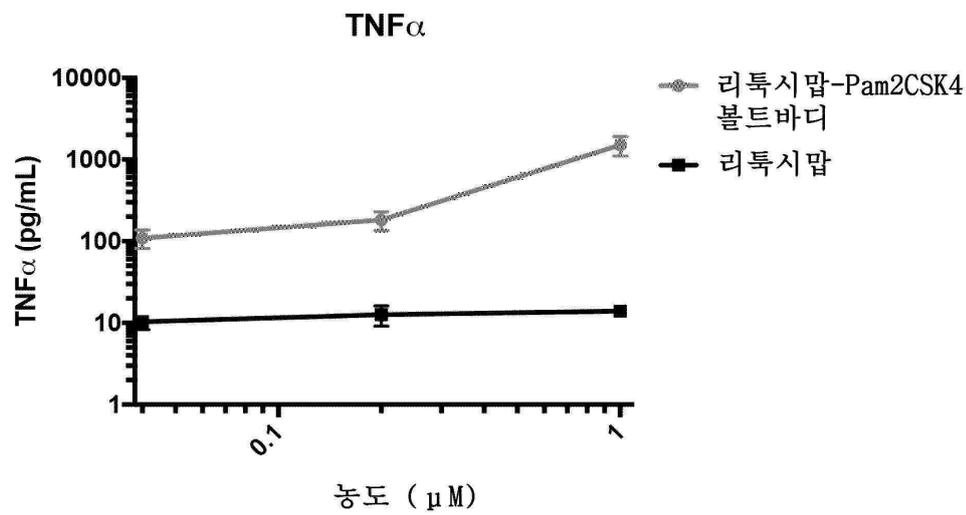
도면120i



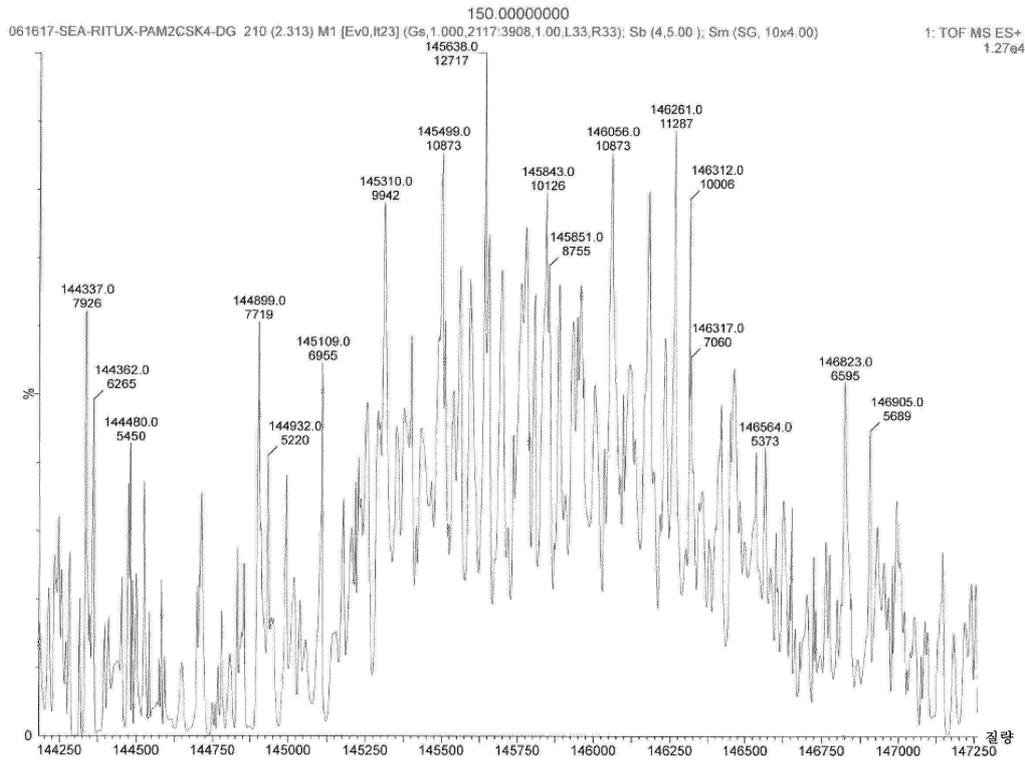
도면121a



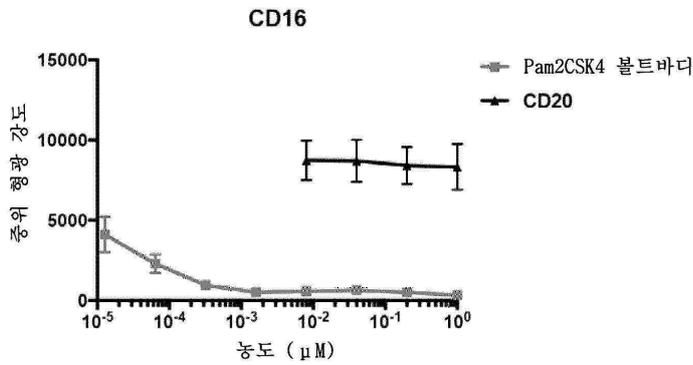
도면121b



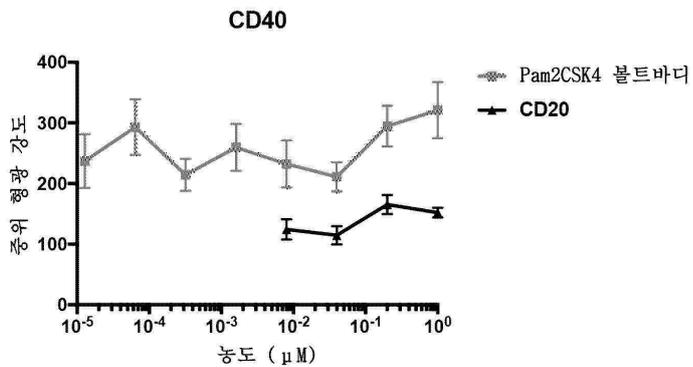
도면121e



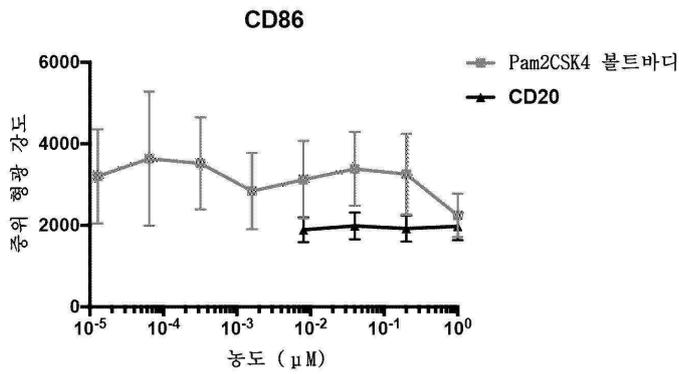
도면121f



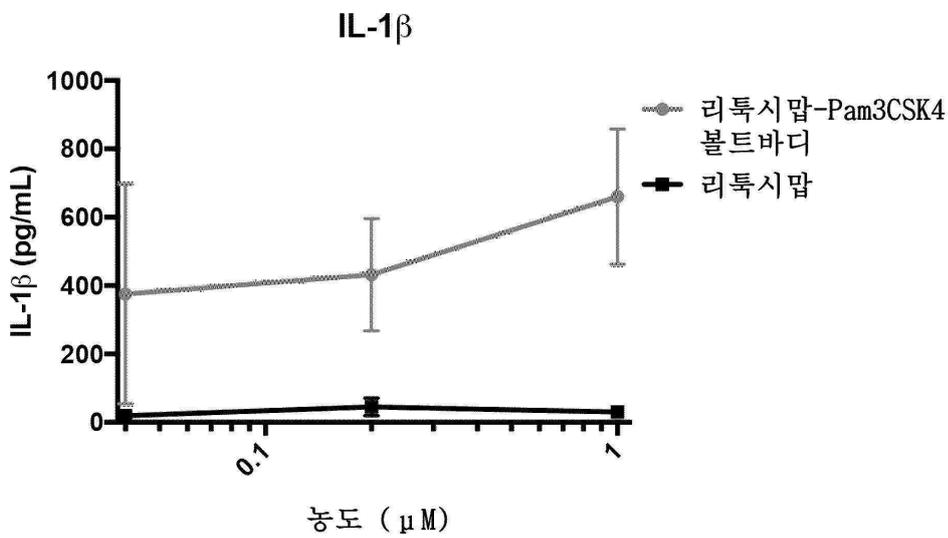
도면121g



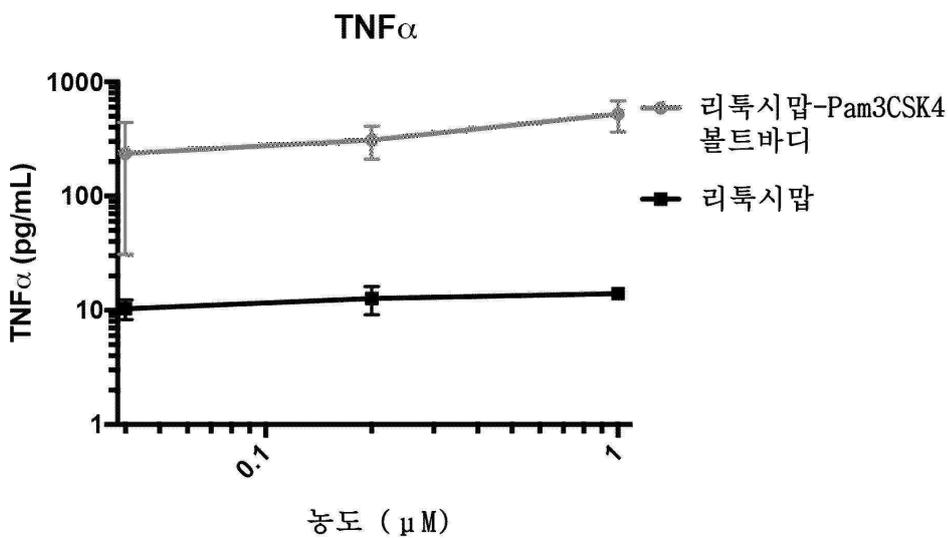
도면121h



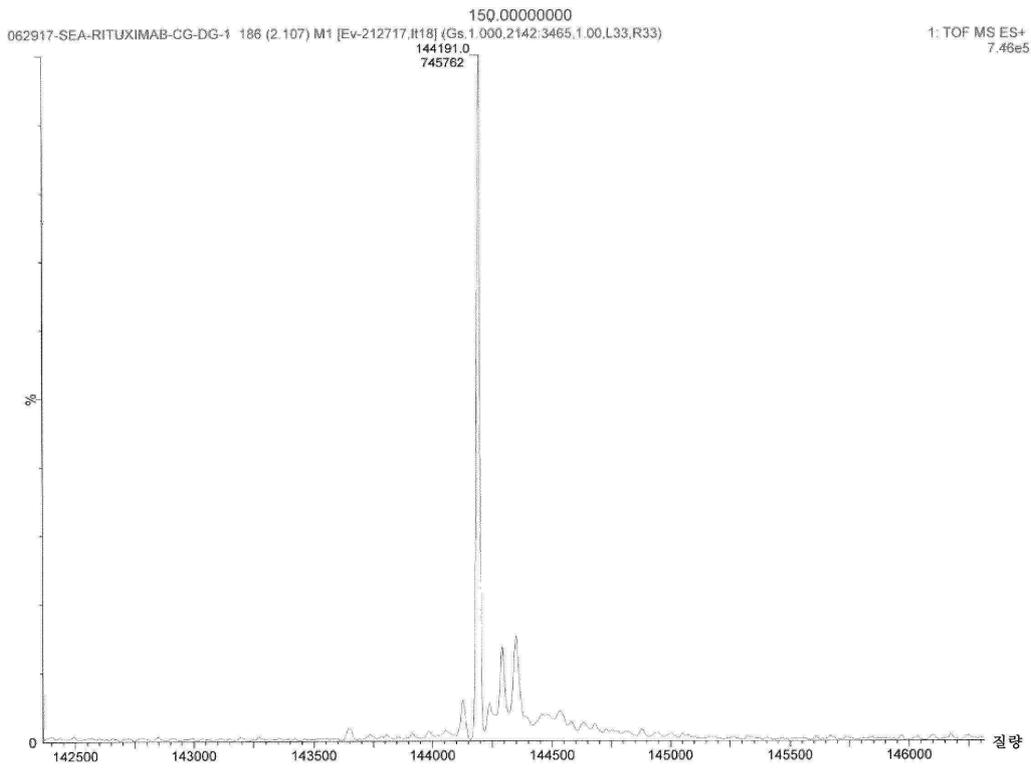
도면122a



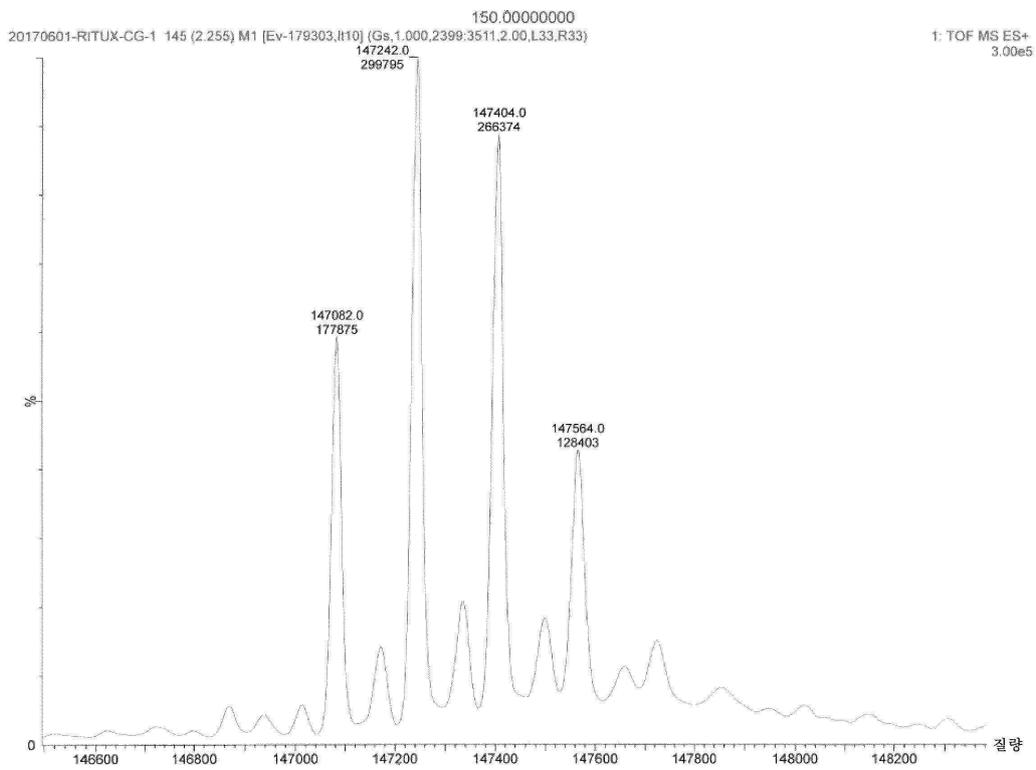
도면122b



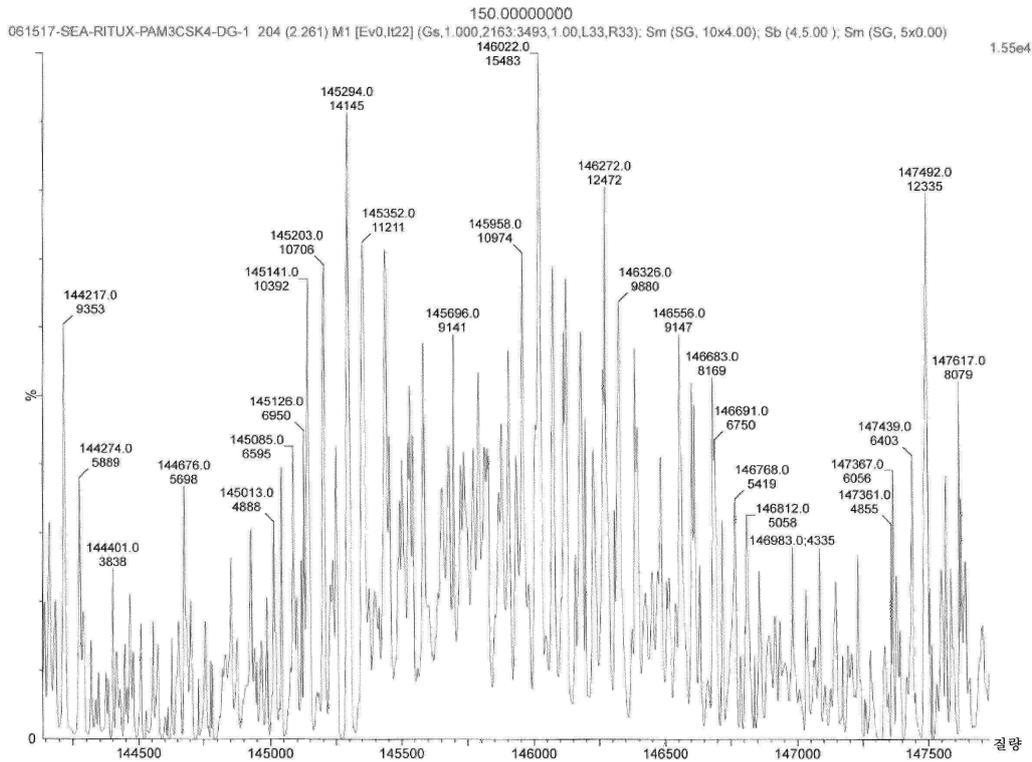
도면122c



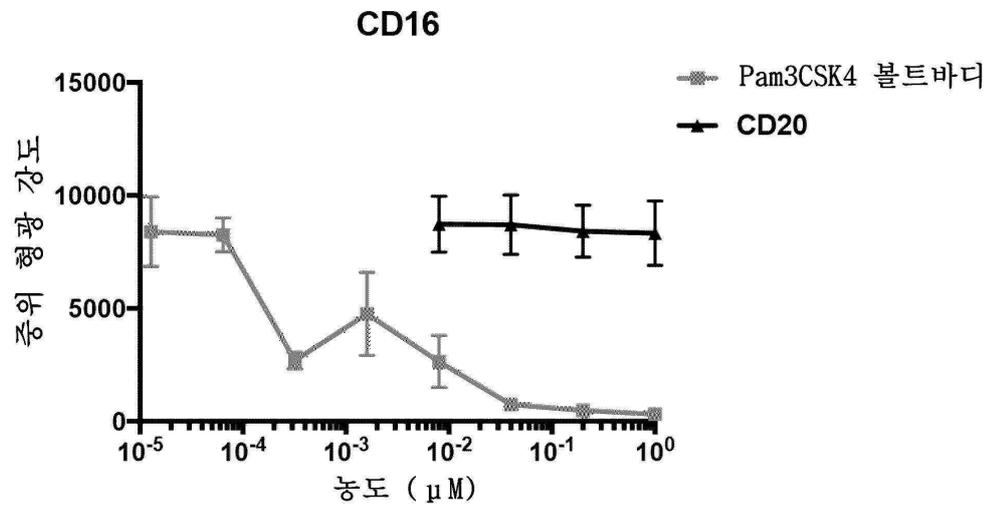
도면122d



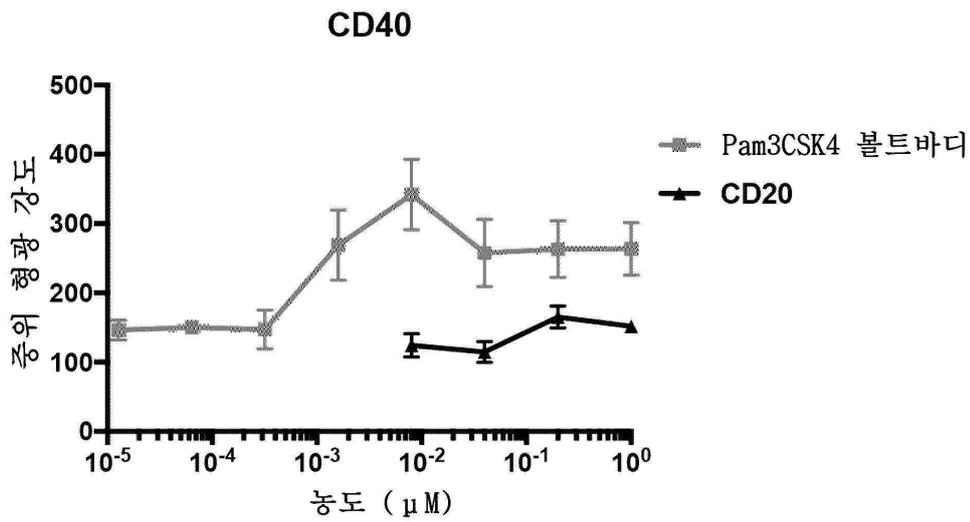
도면122e



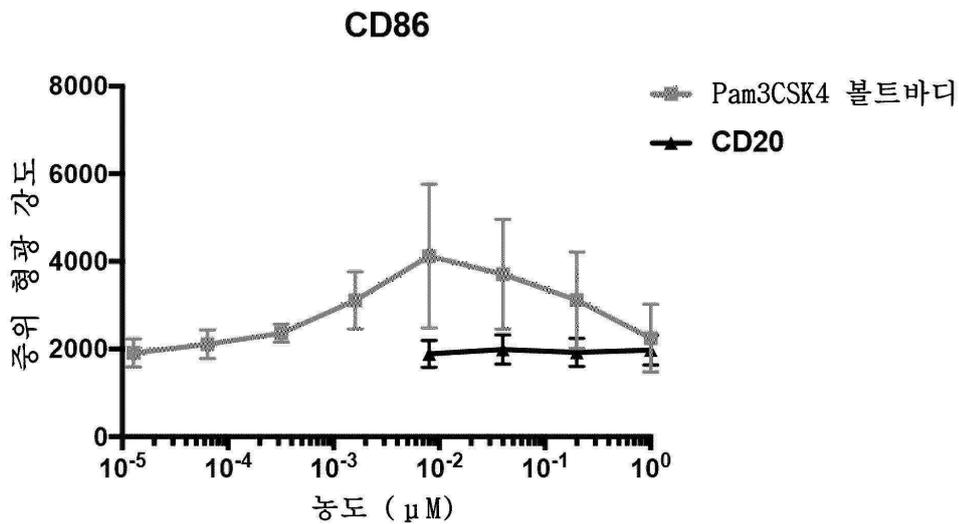
도면122f



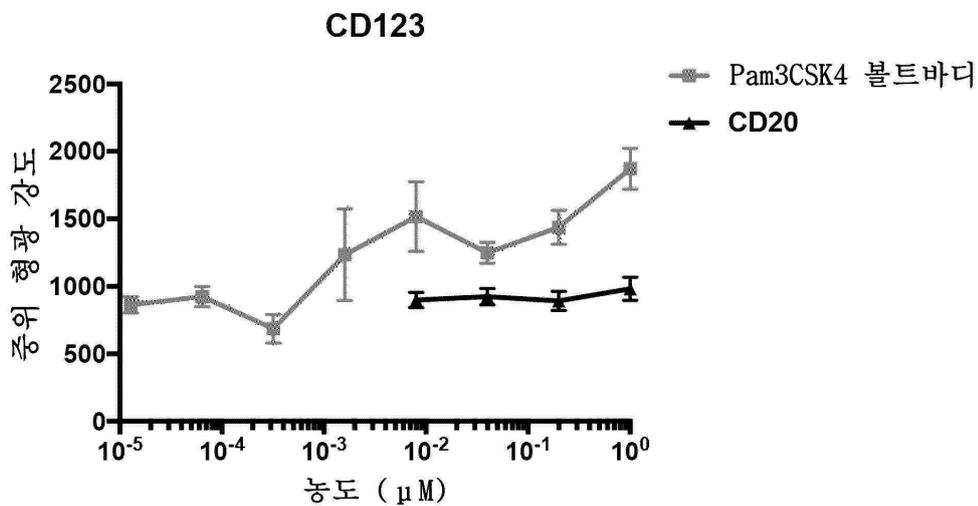
도면122g



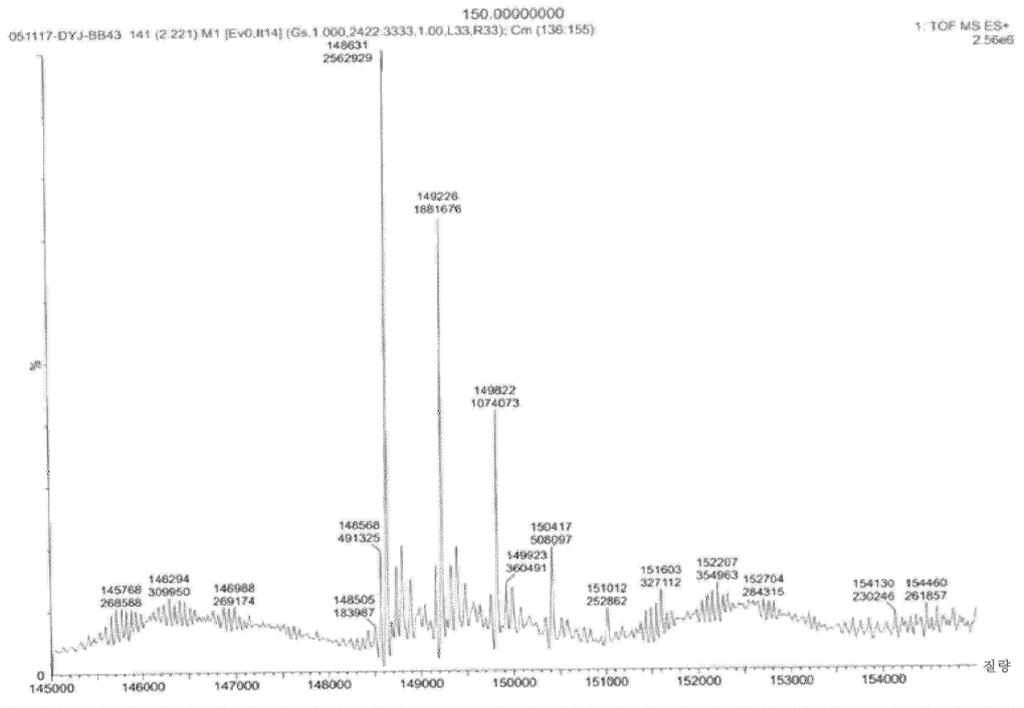
도면122h



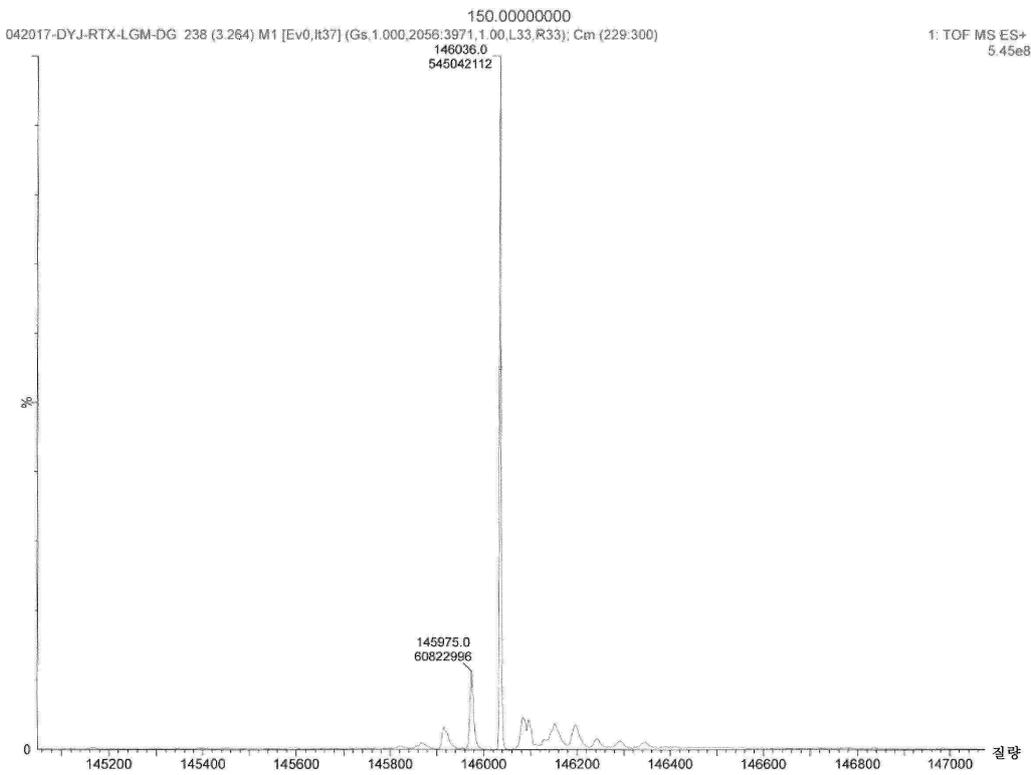
도면122i



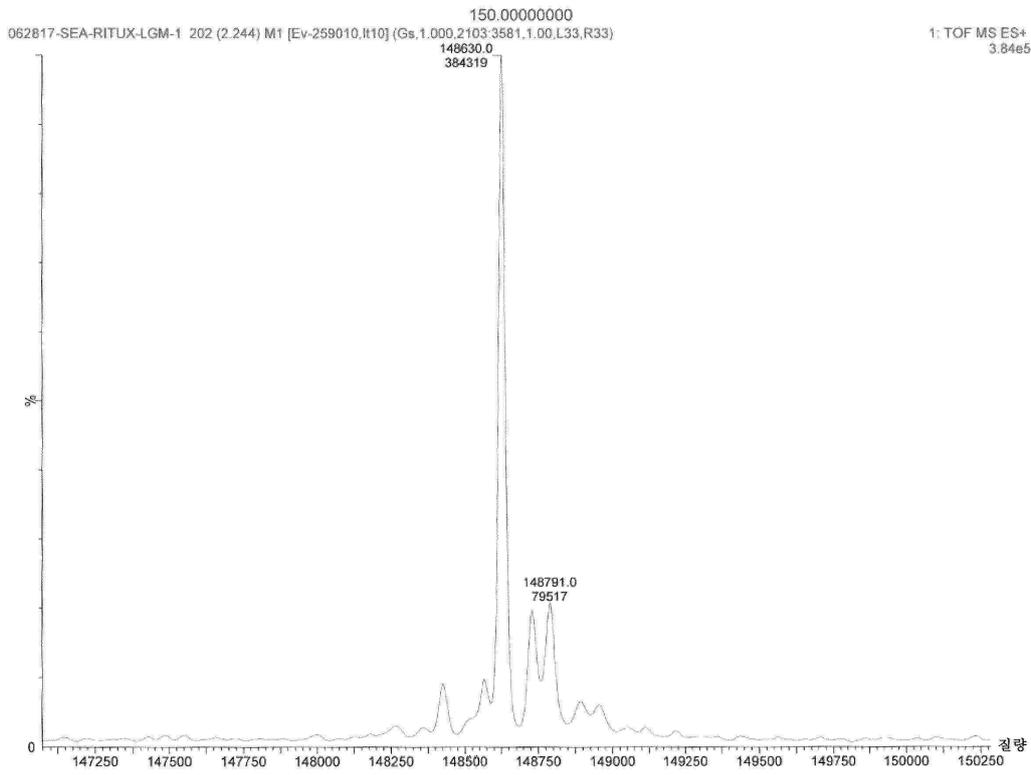
도면123a



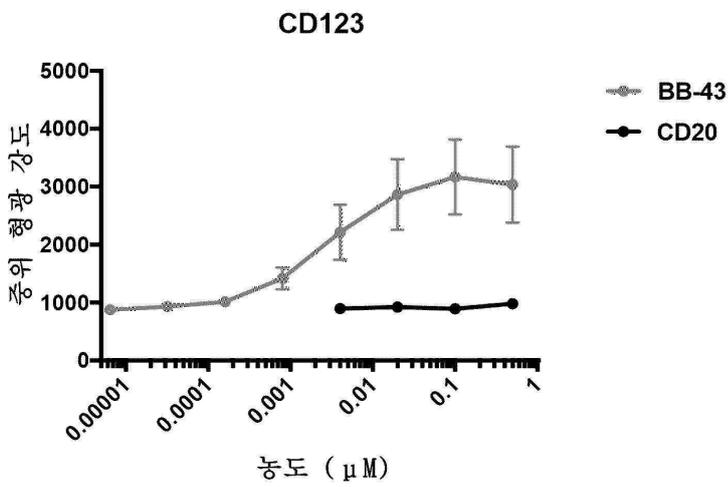
도면123b



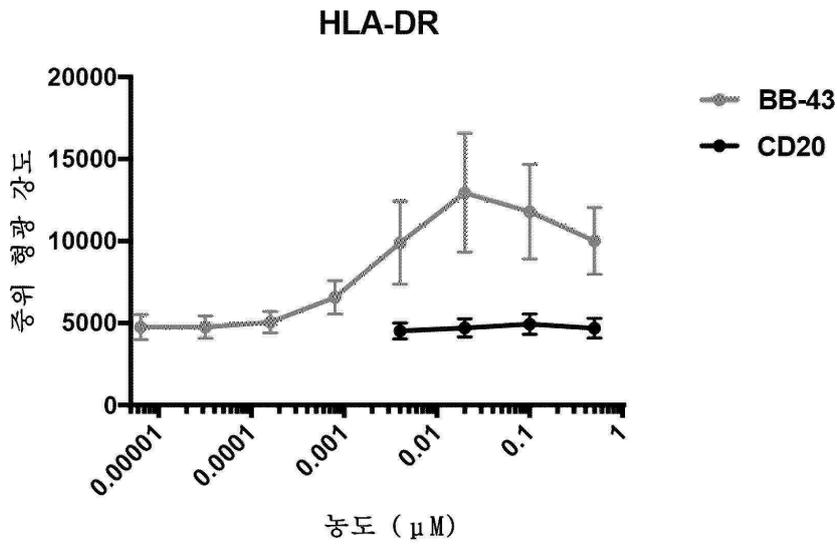
도면123c



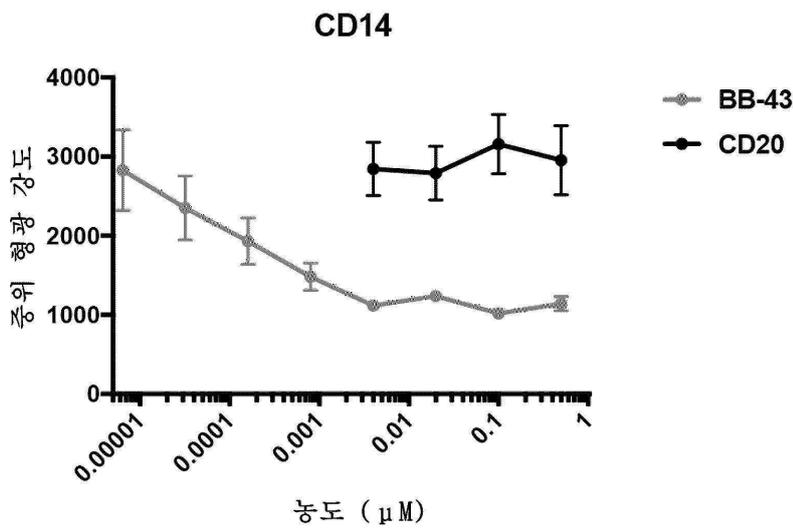
도면123d



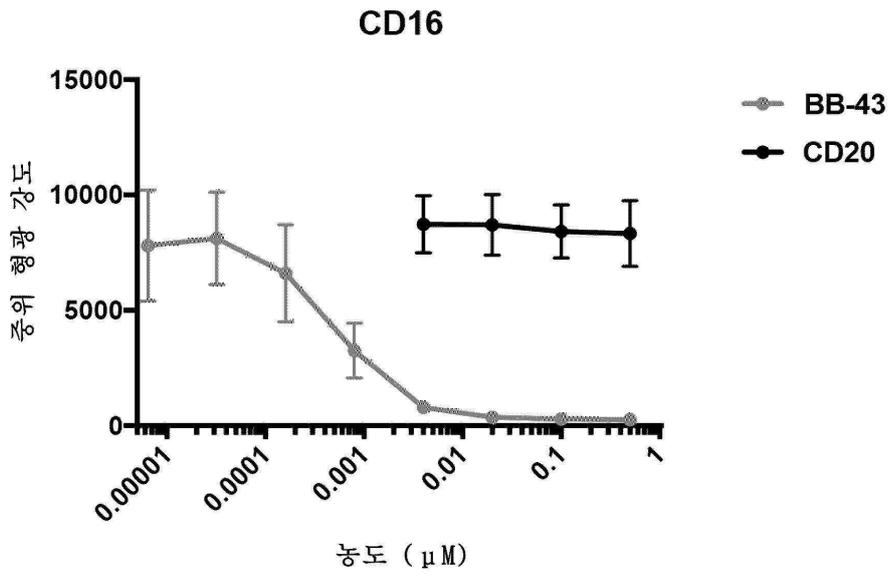
도면123e



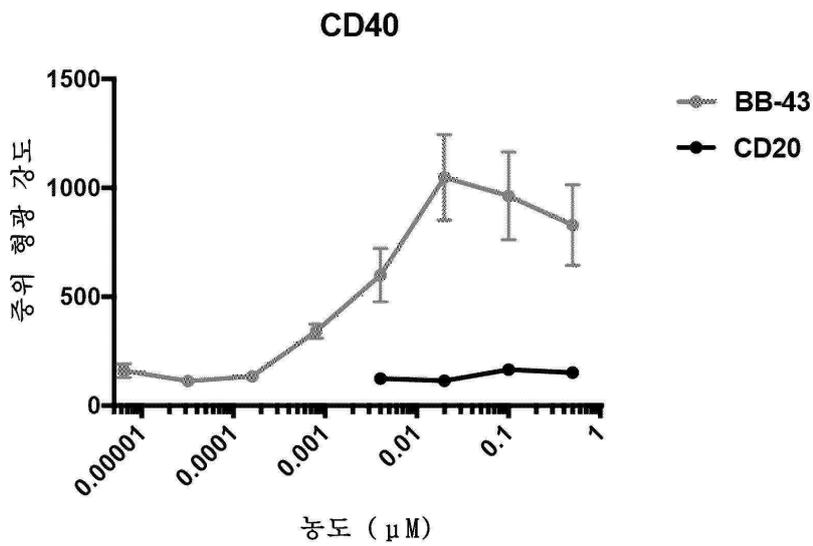
도면123f



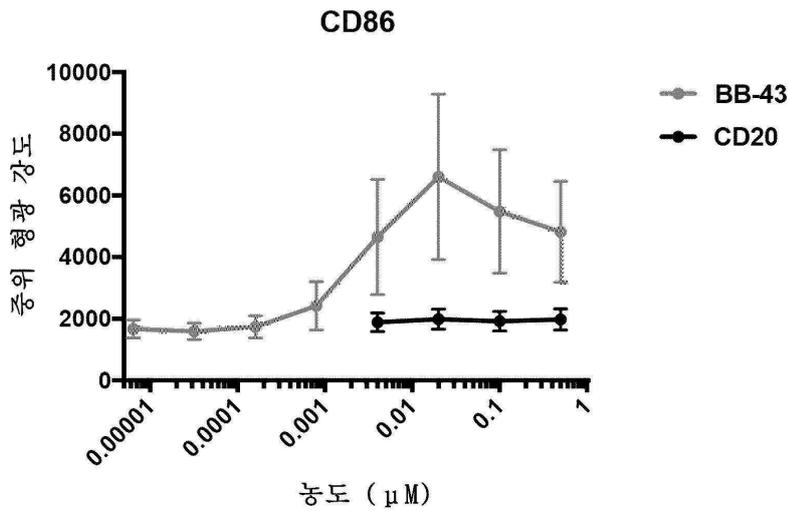
도면123g



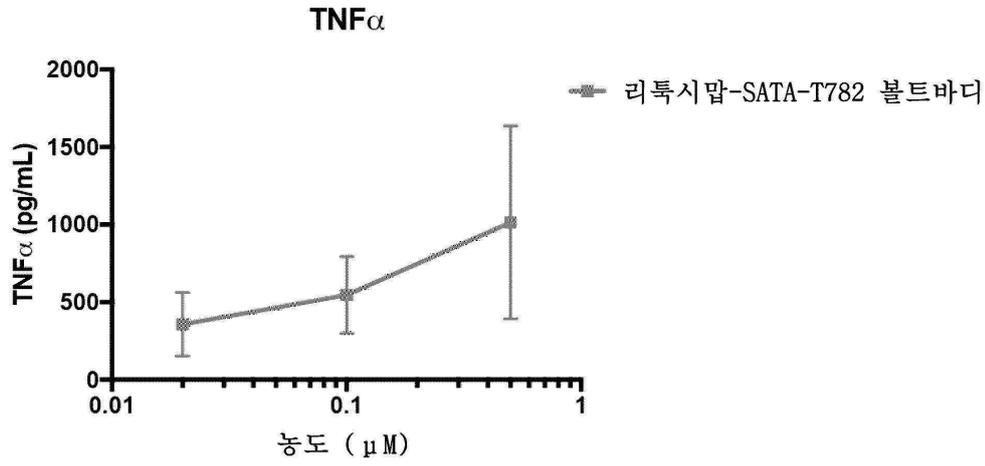
도면123h



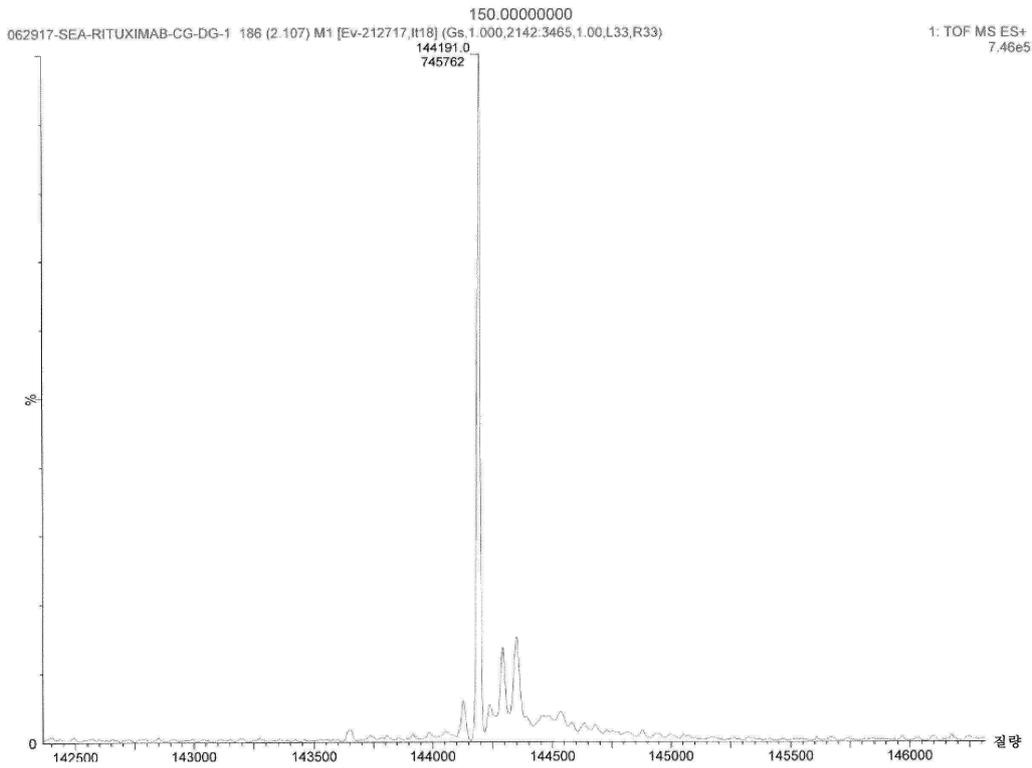
도면123i



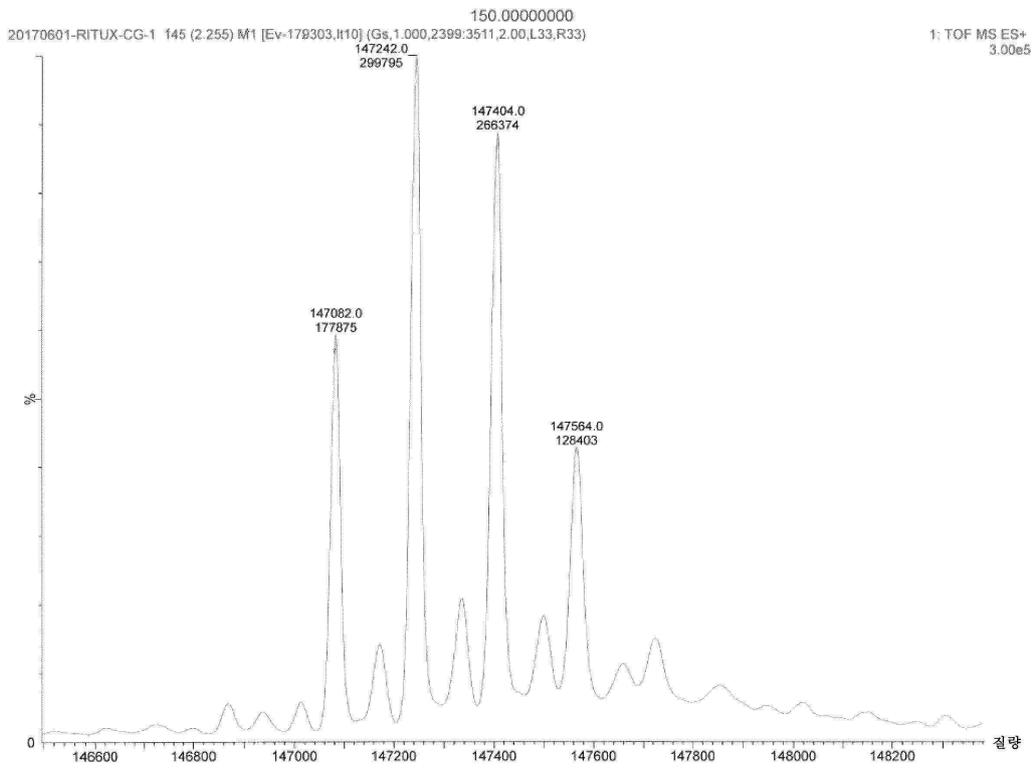
도면124a



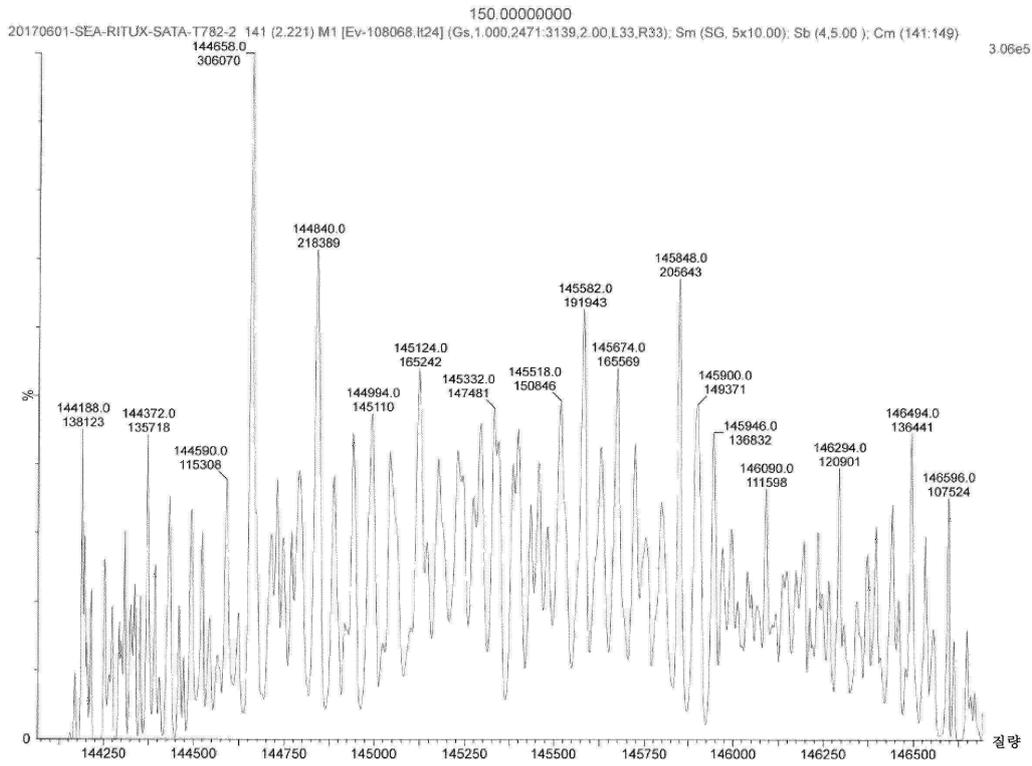
도면124b



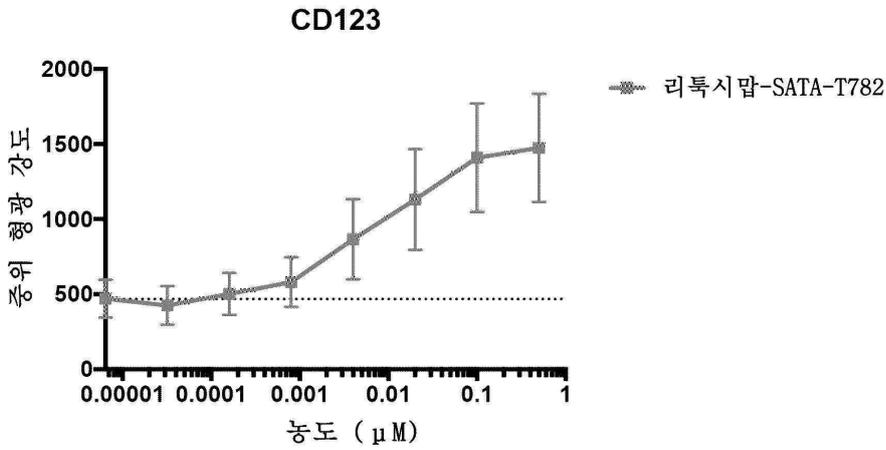
도면124c



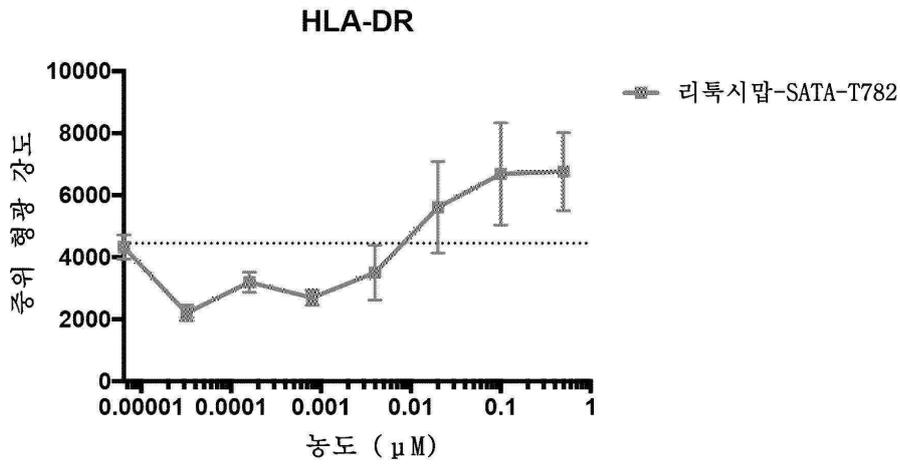
도면124d



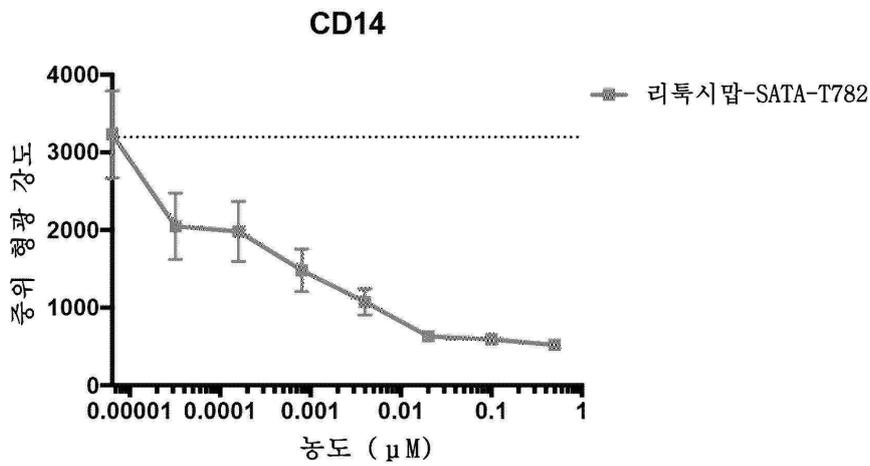
도면124e



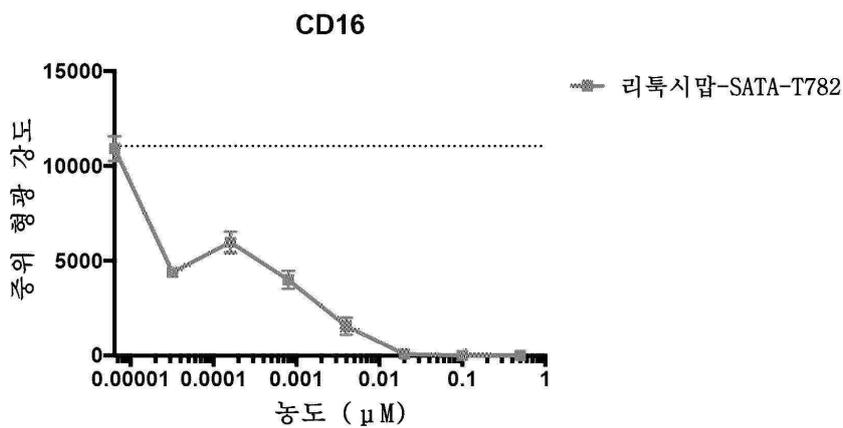
도면124f



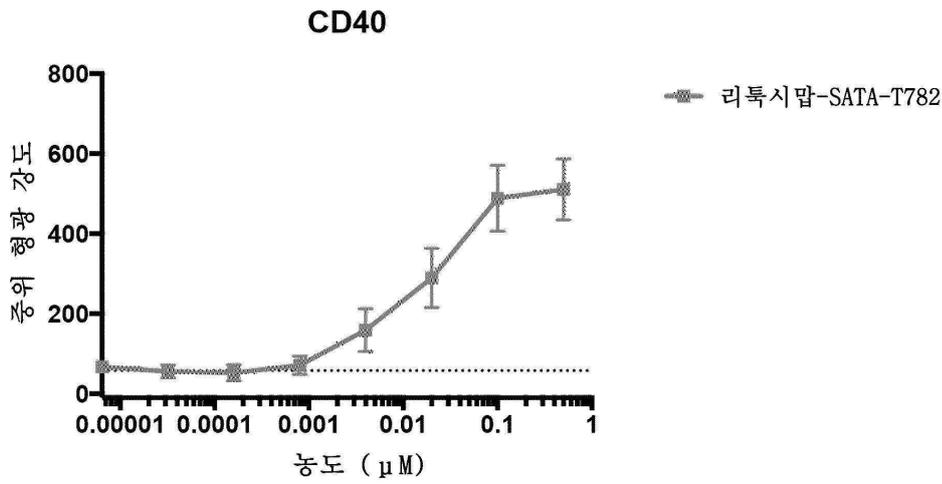
도면124g



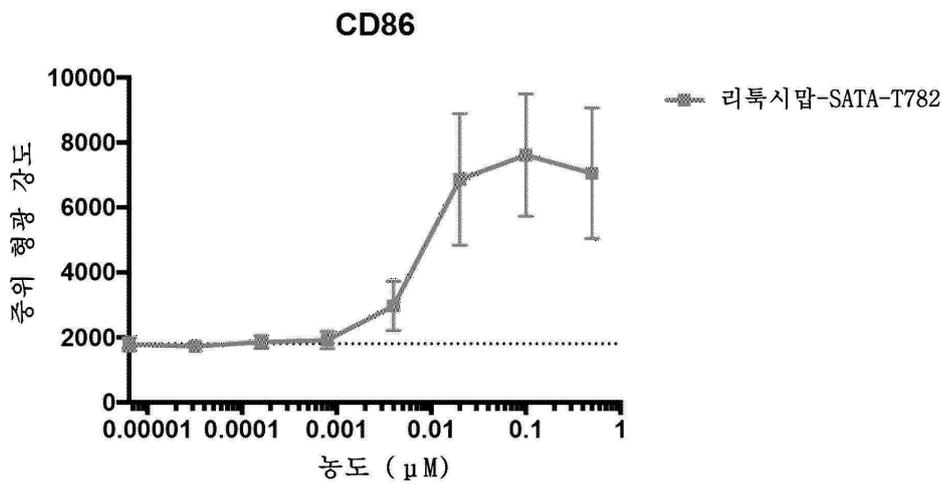
도면124h



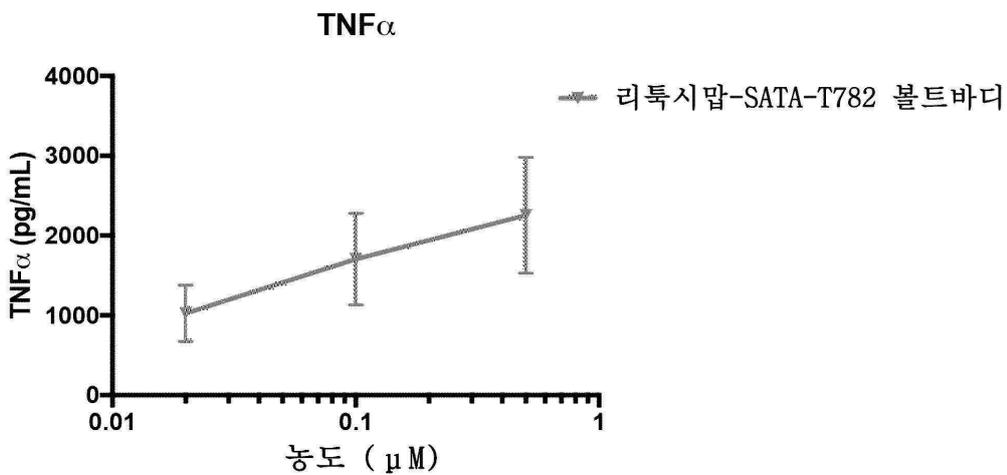
도면124i



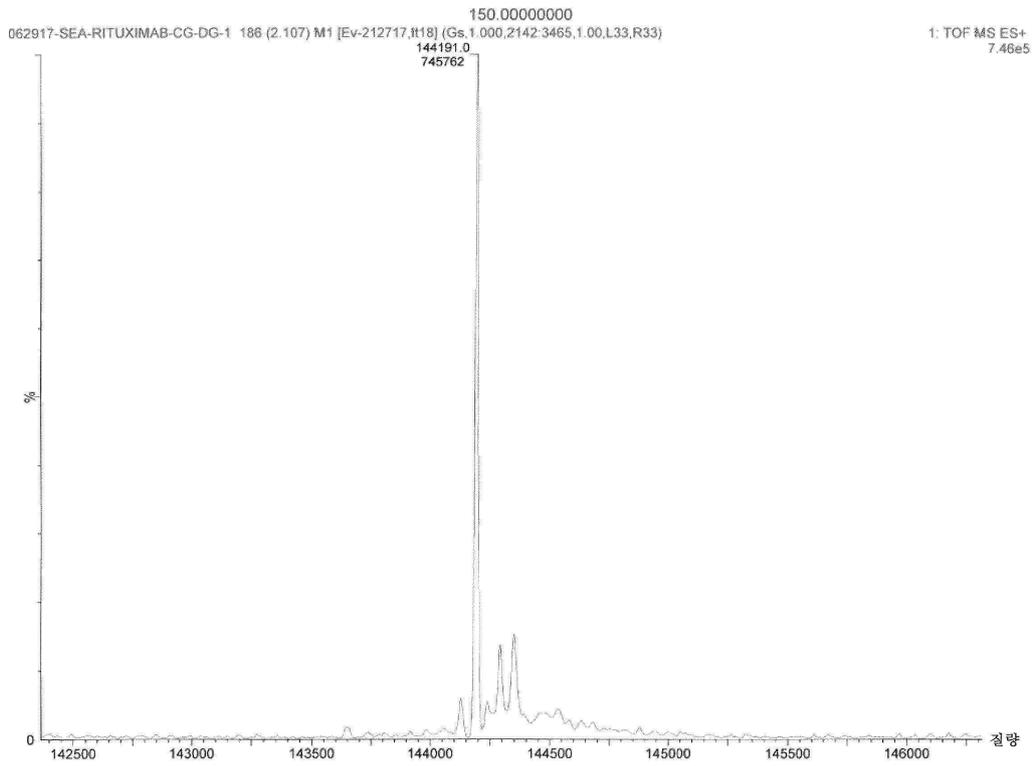
도면124j



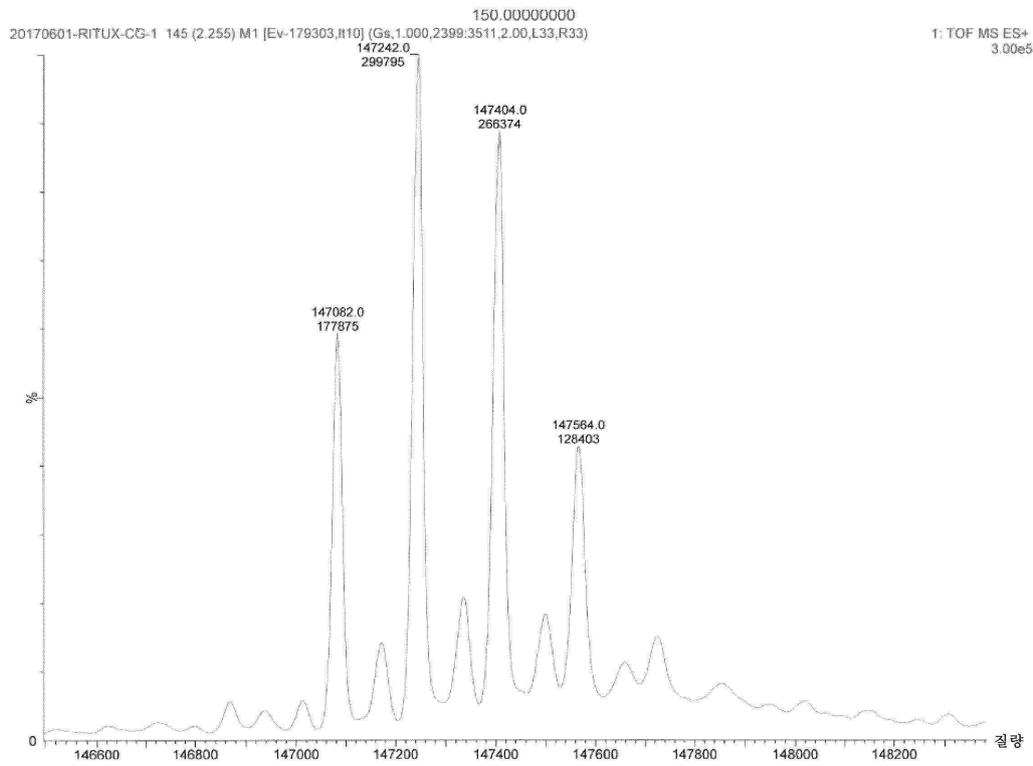
도면125a



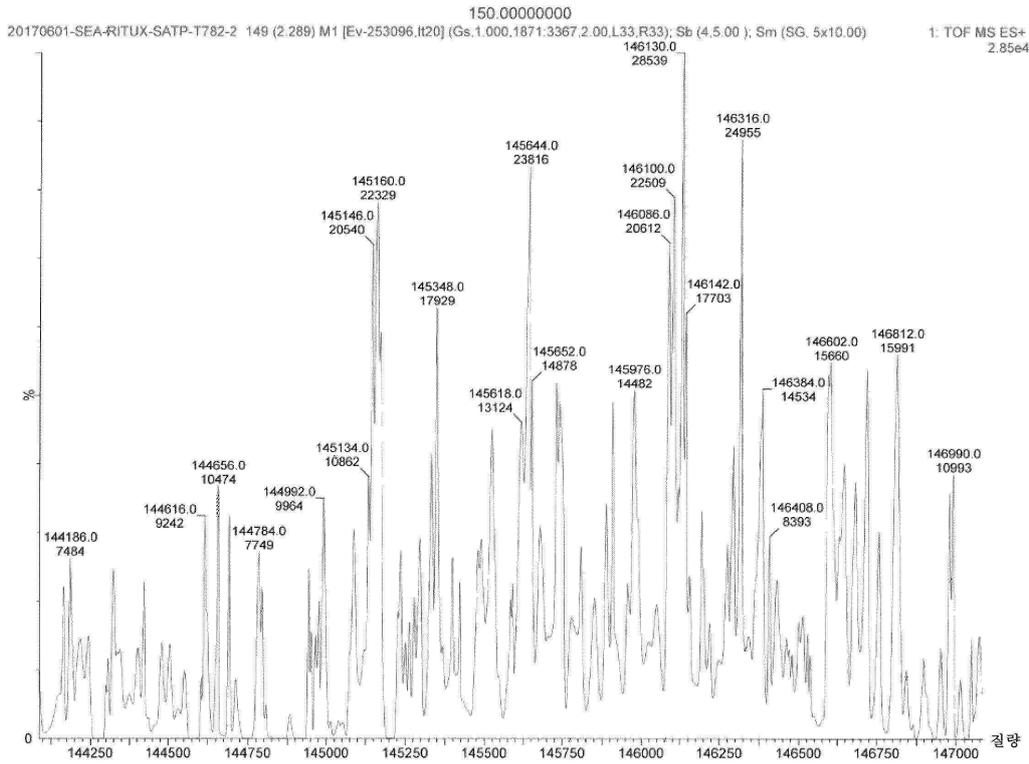
도면125b



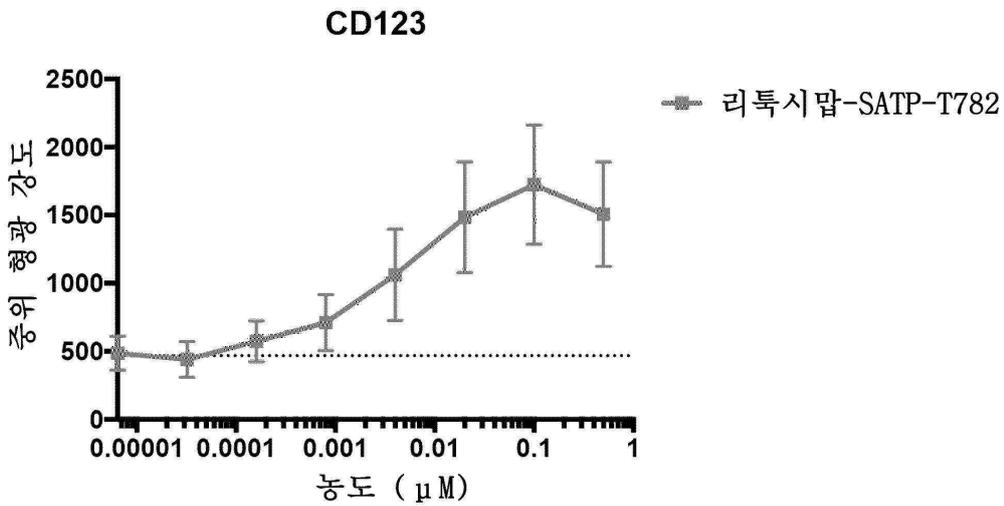
도면125c



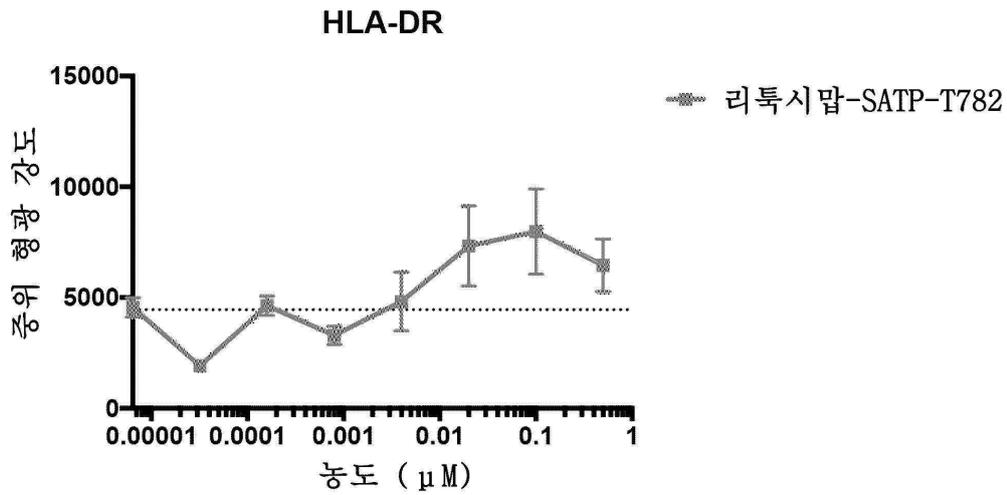
도면125d



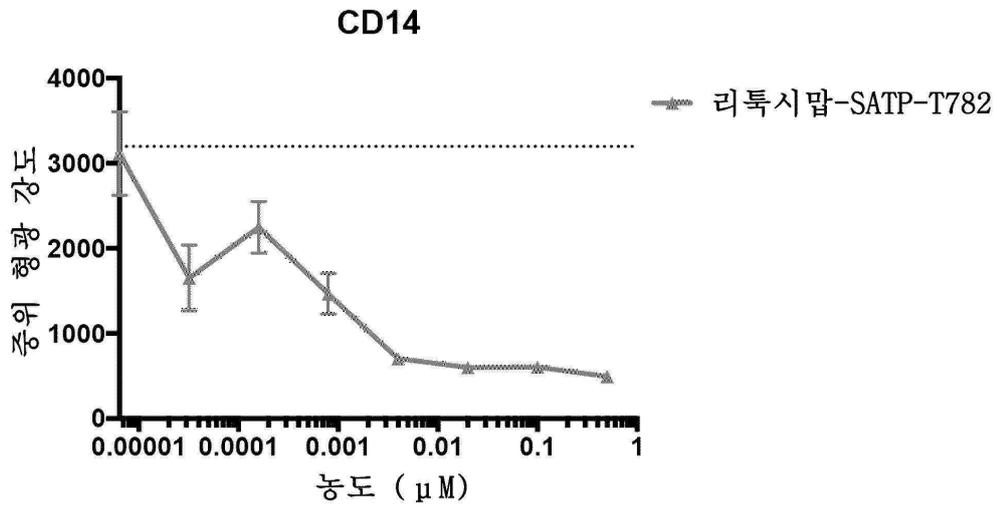
도면125e



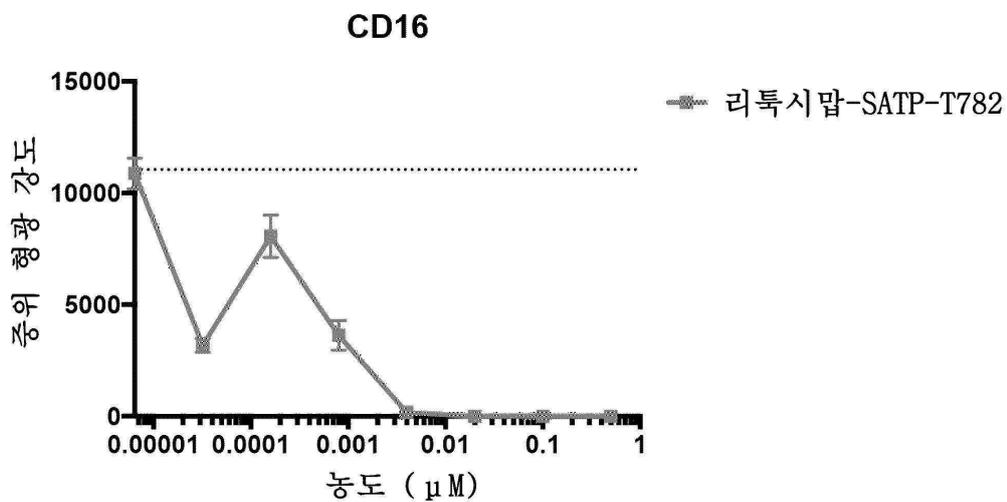
도면125f



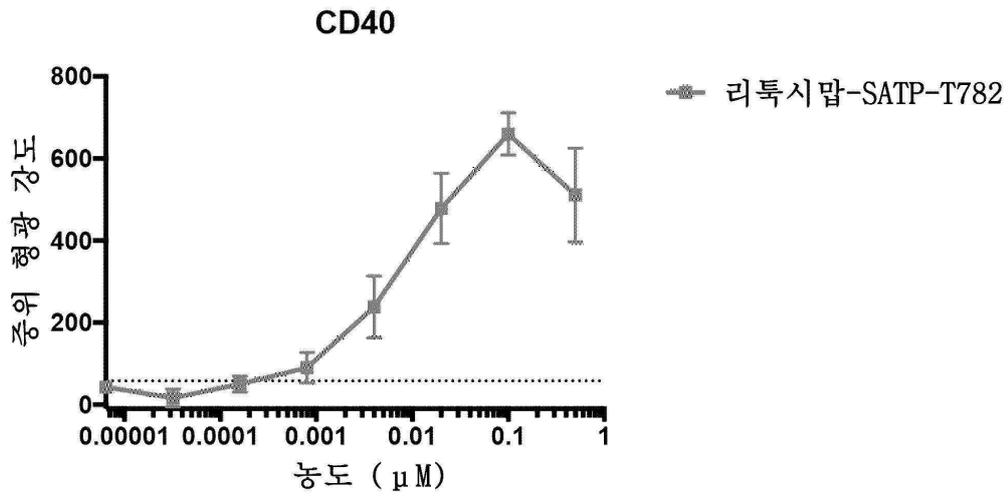
도면125g



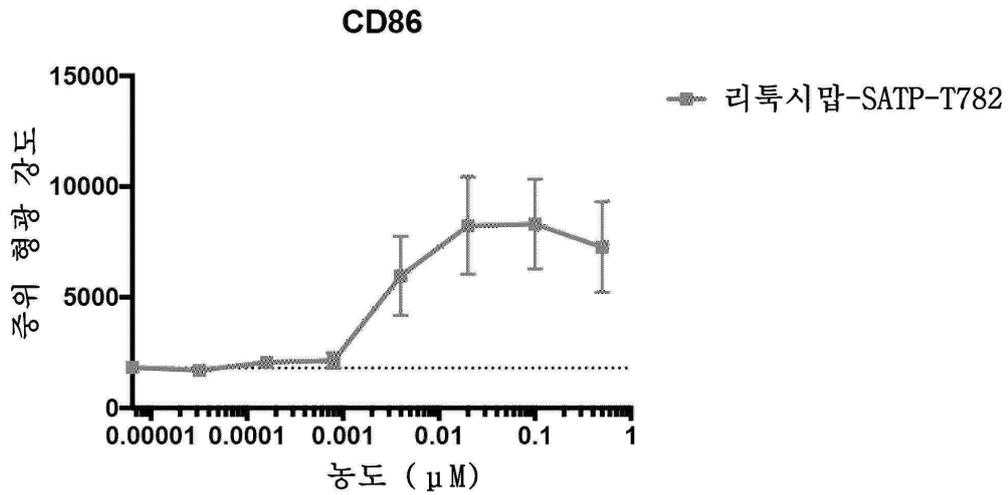
도면125h



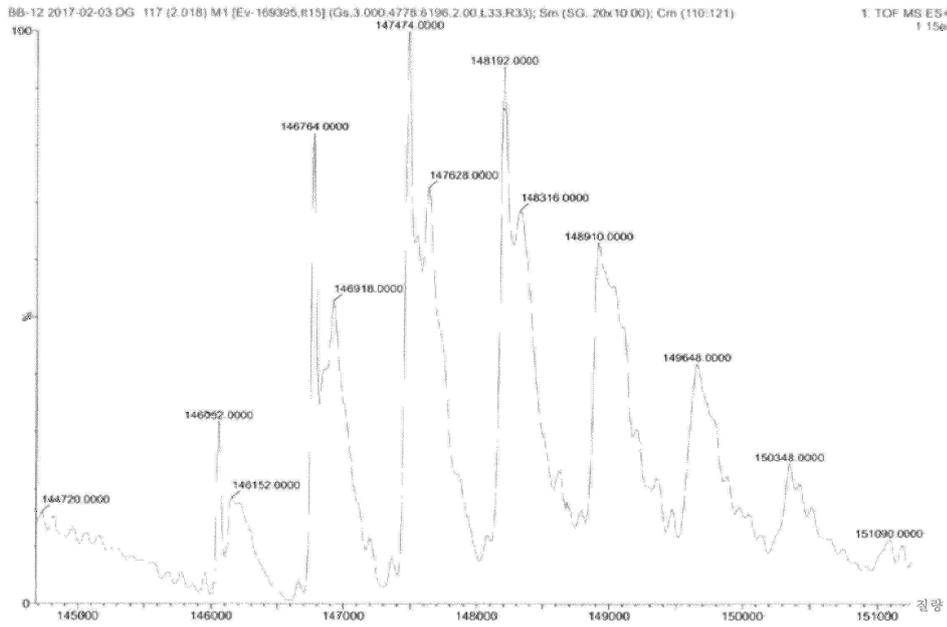
도면125i



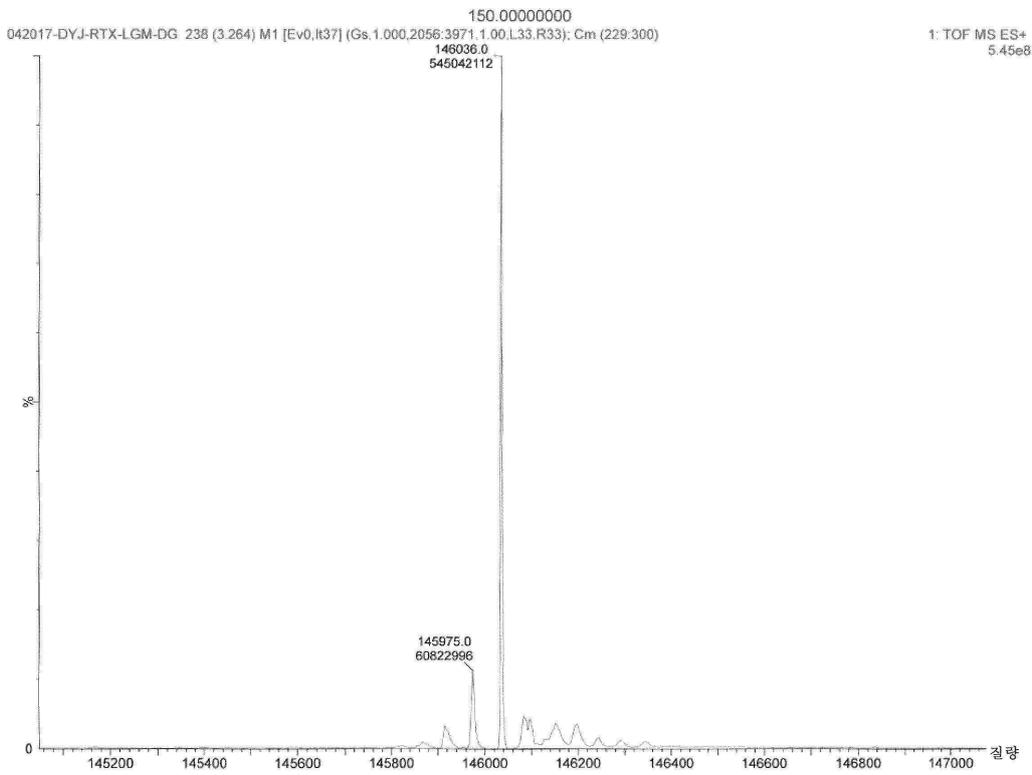
도면125j



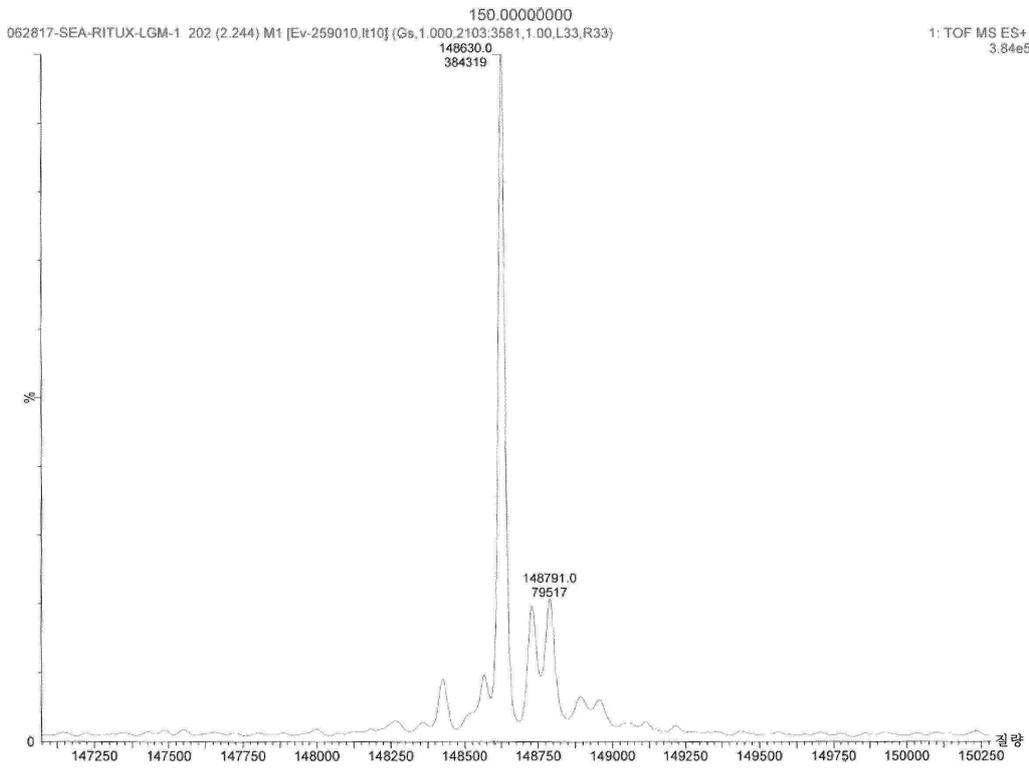
도면126a



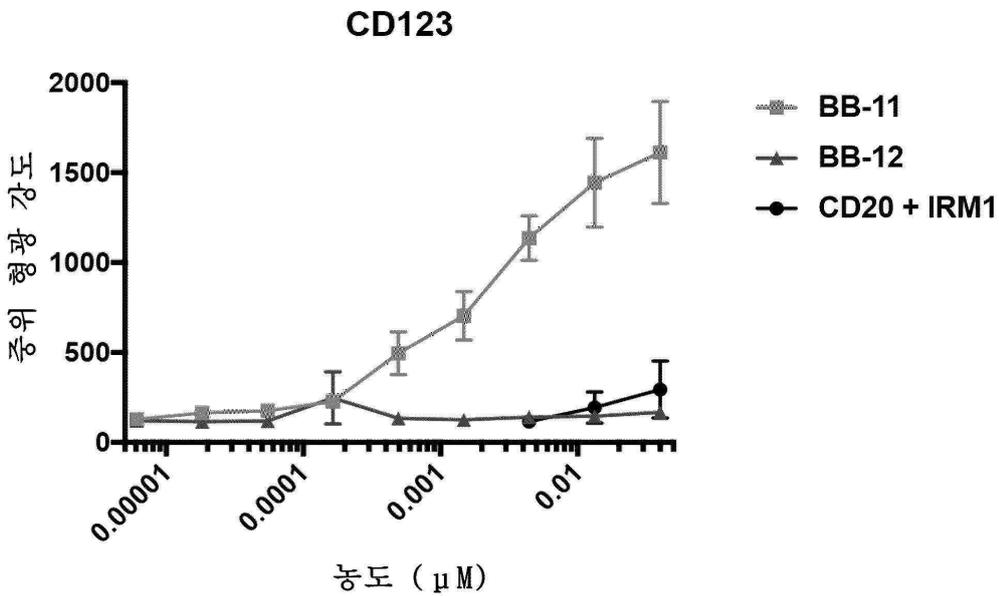
도면126b



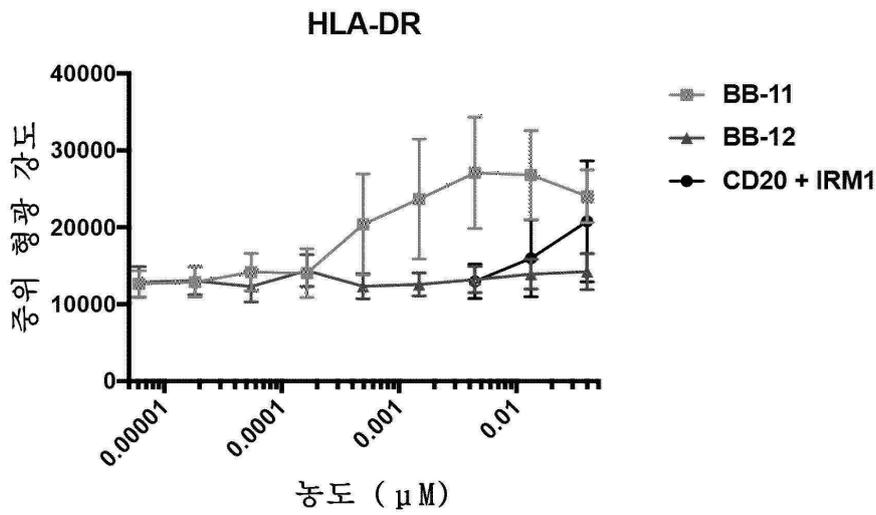
도면126c



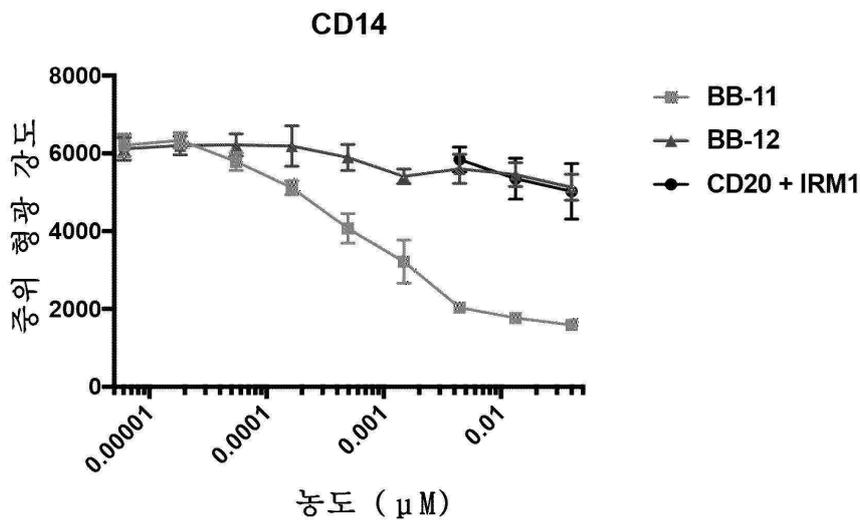
도면126d



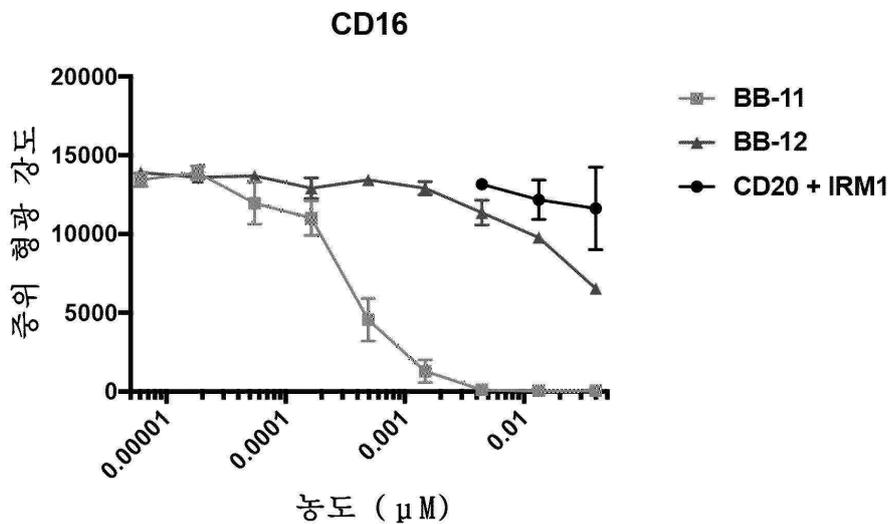
도면126e



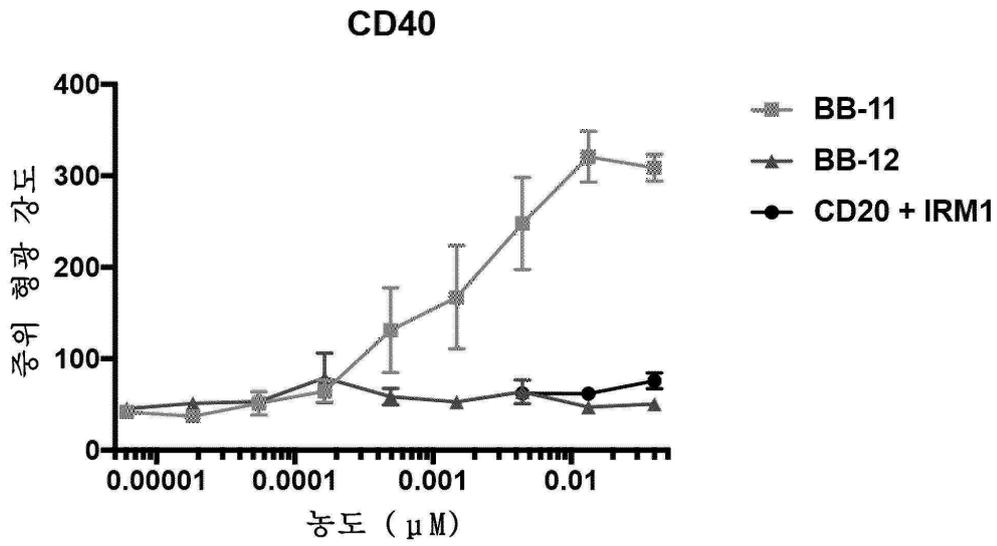
도면126f



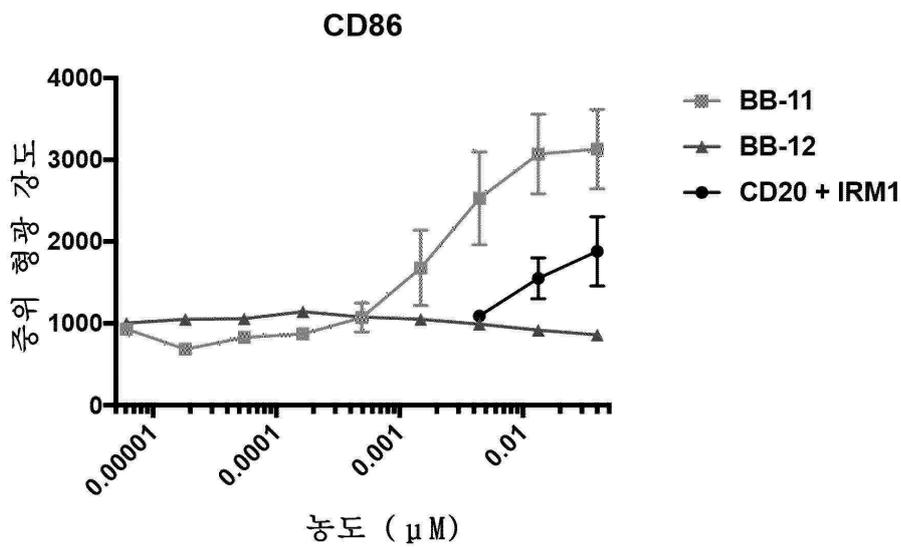
도면126g



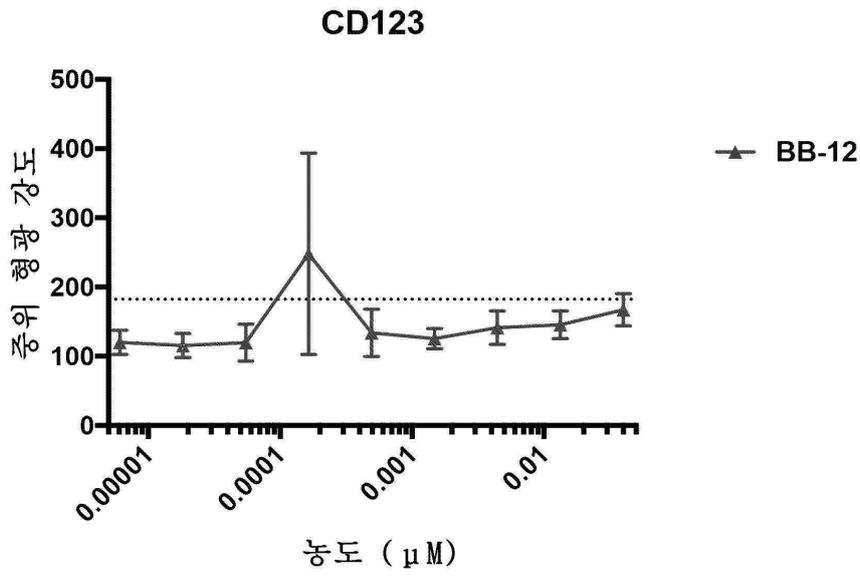
도면126h



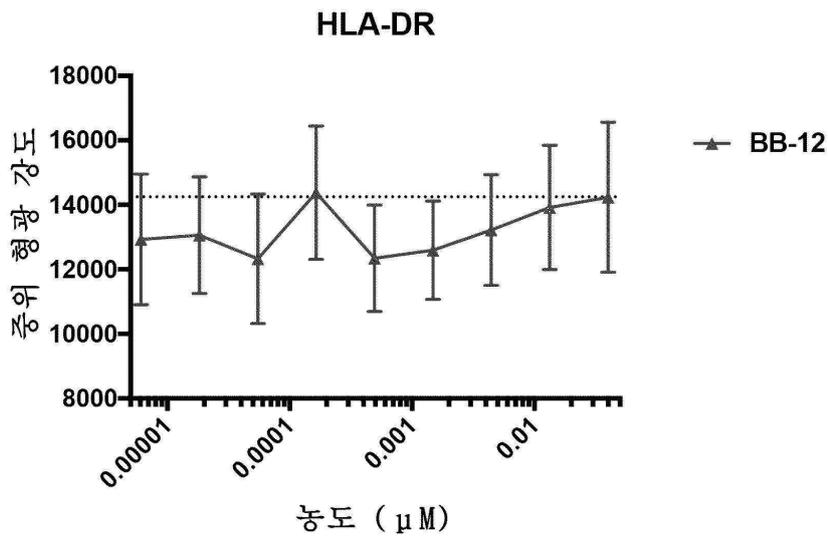
도면126i



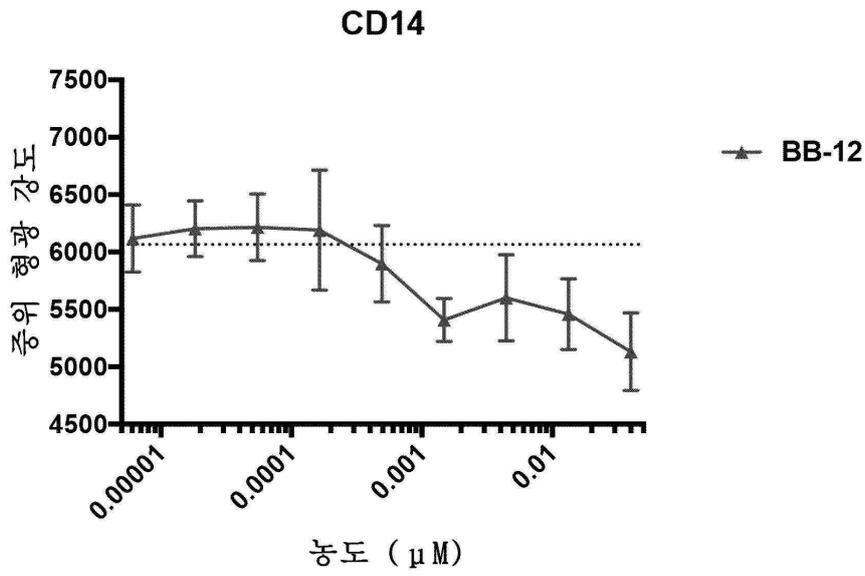
도면126j



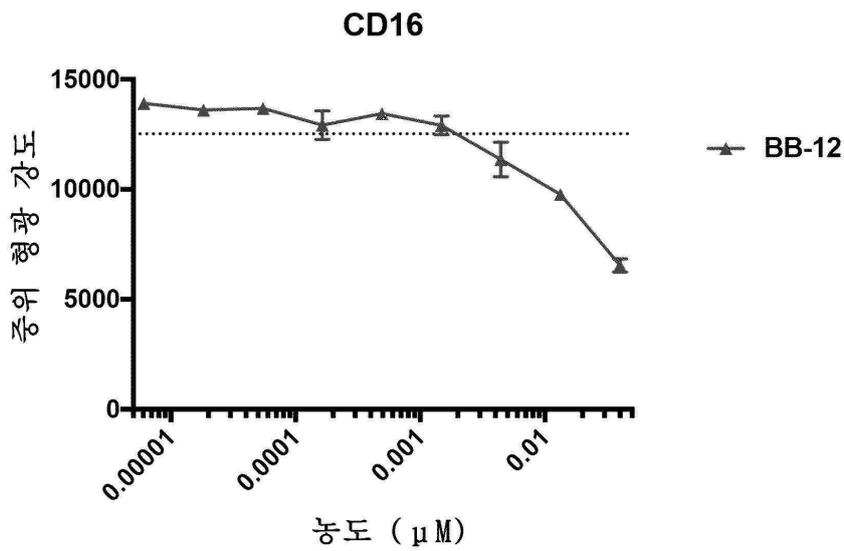
도면126k



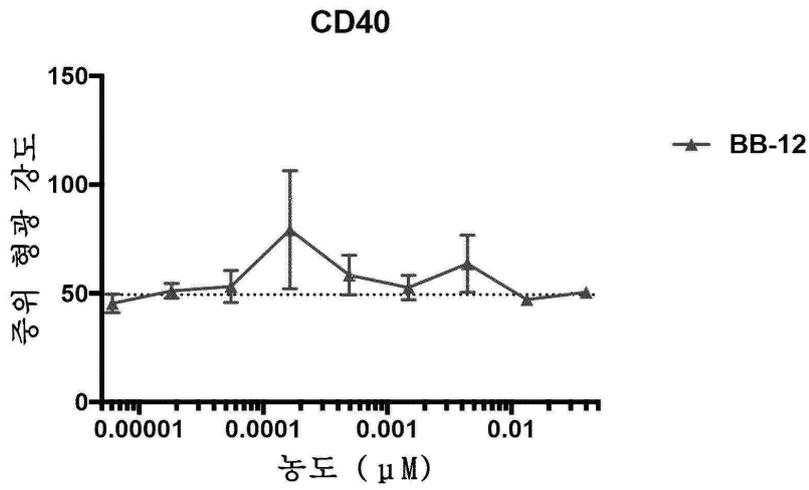
도면126l



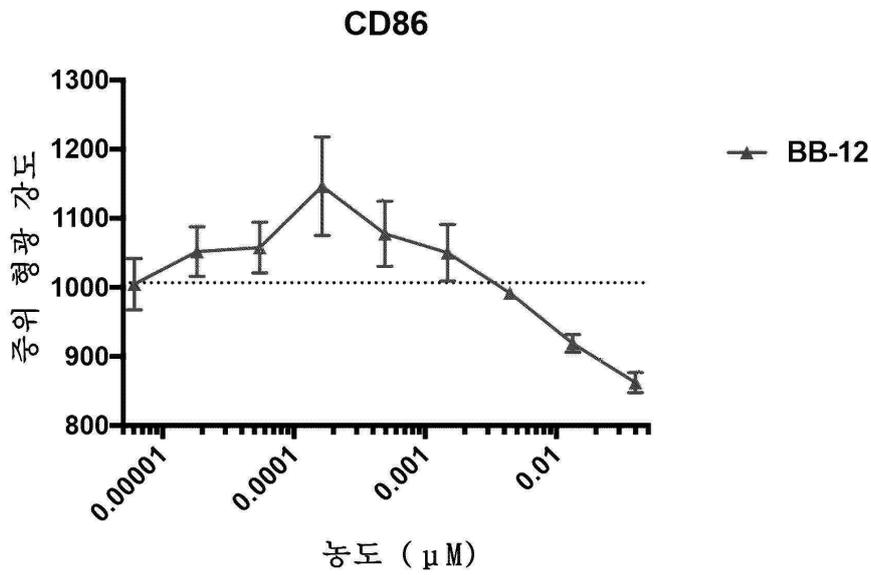
도면126m



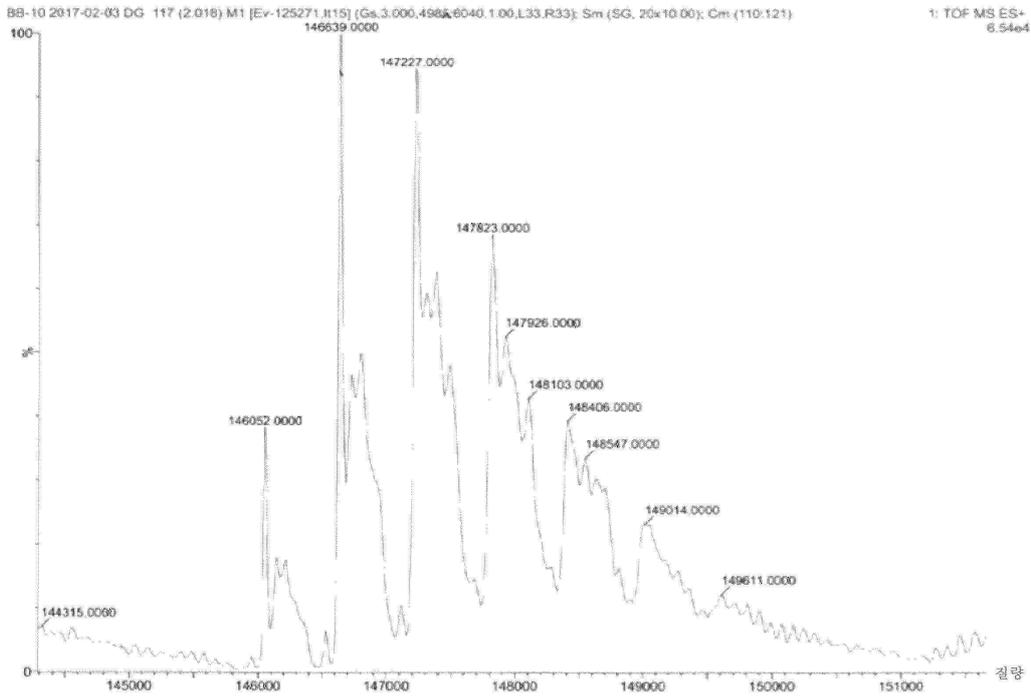
도면126n



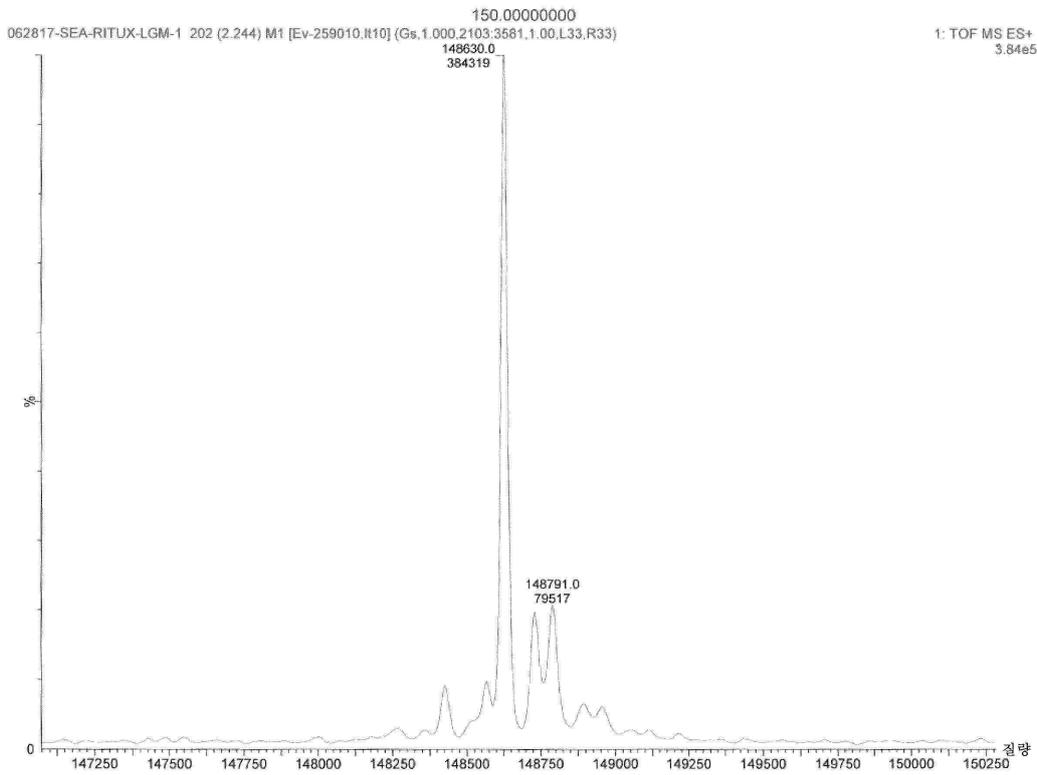
도면126o



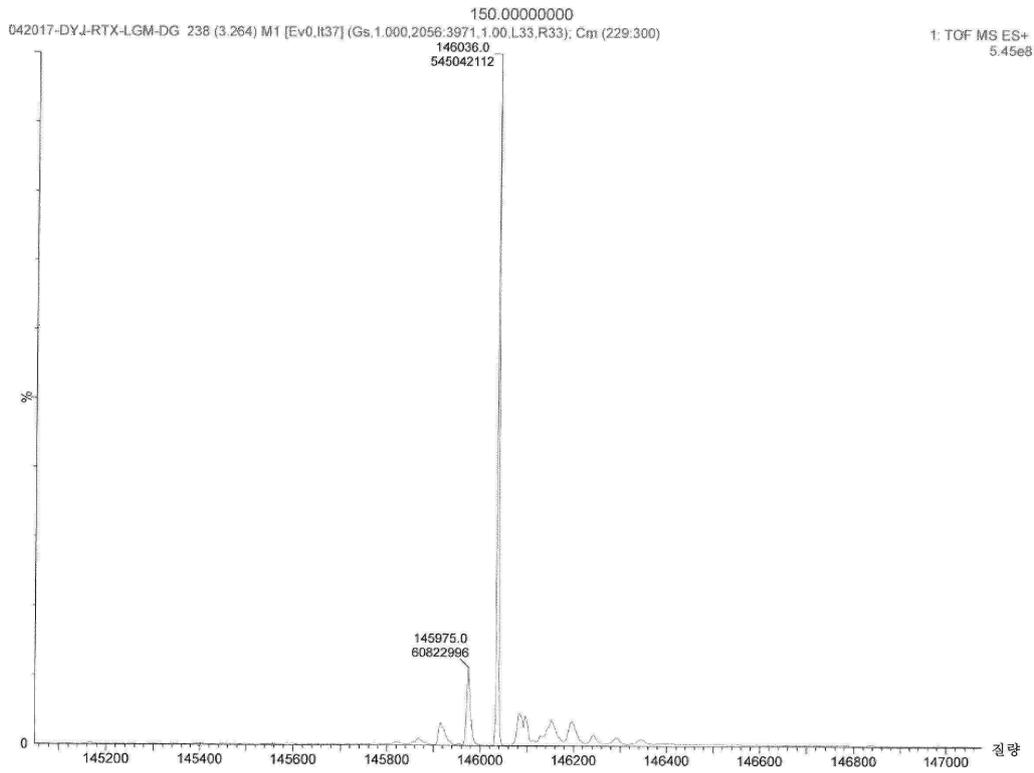
도면127a



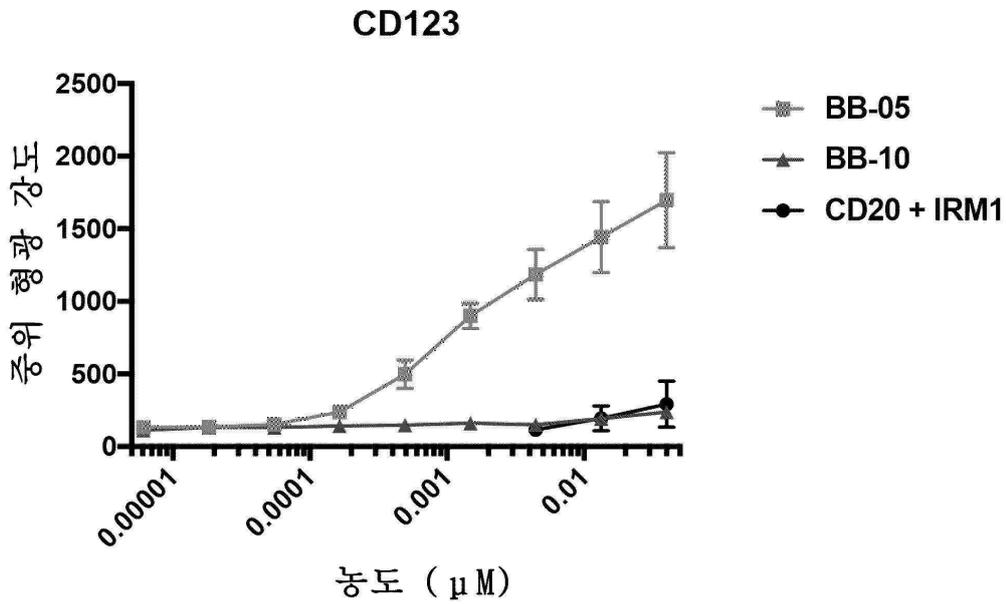
도면127b



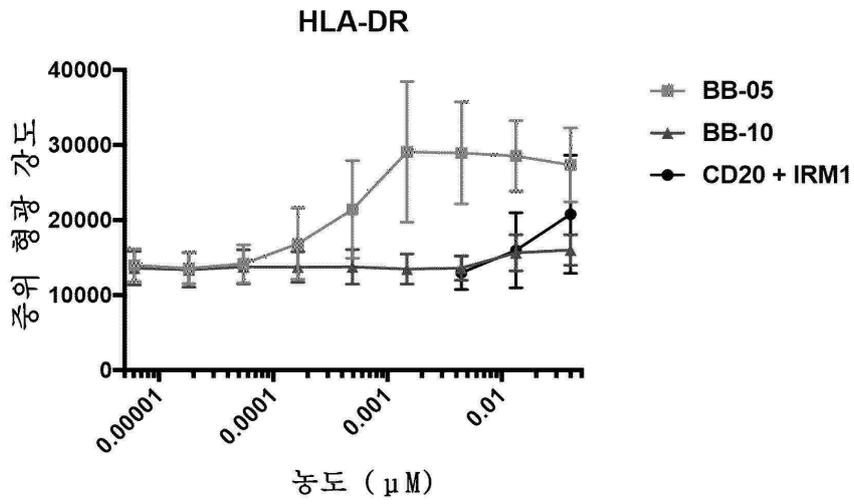
도면127c



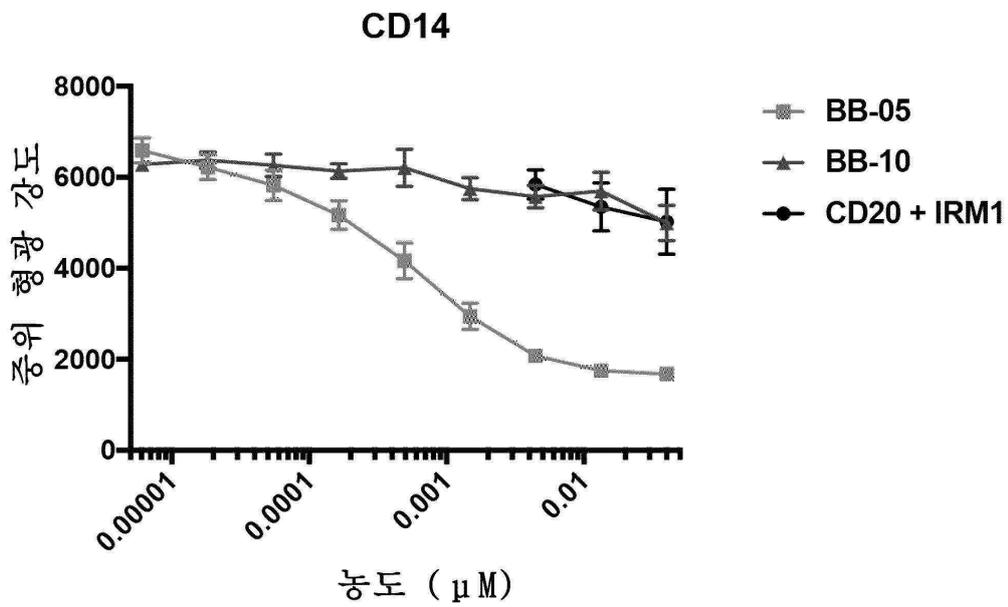
도면127d



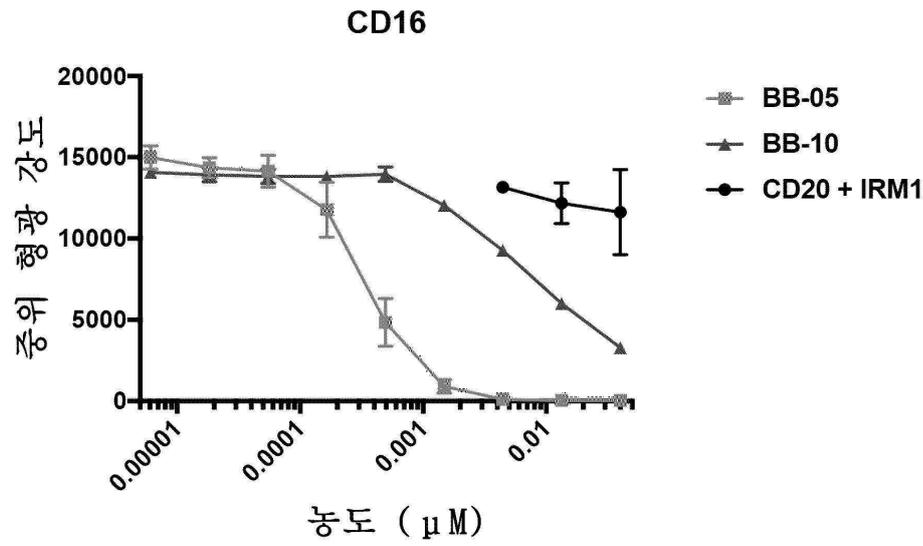
도면127e



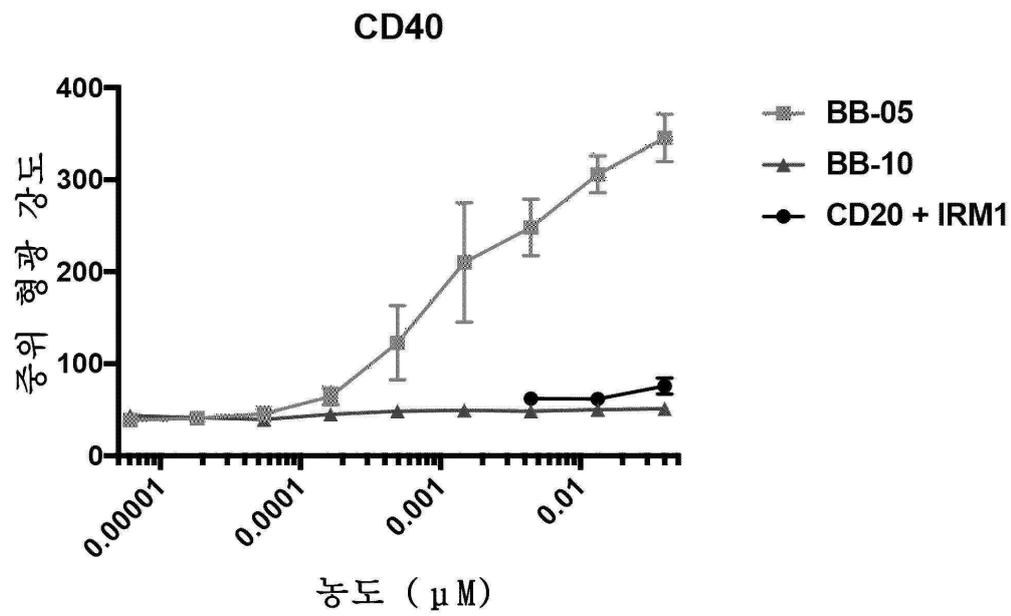
도면127f



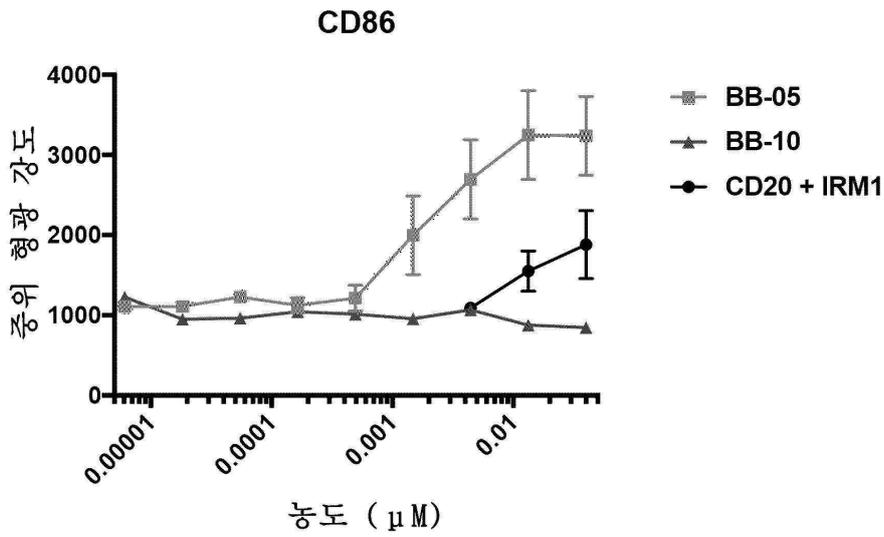
도면127g



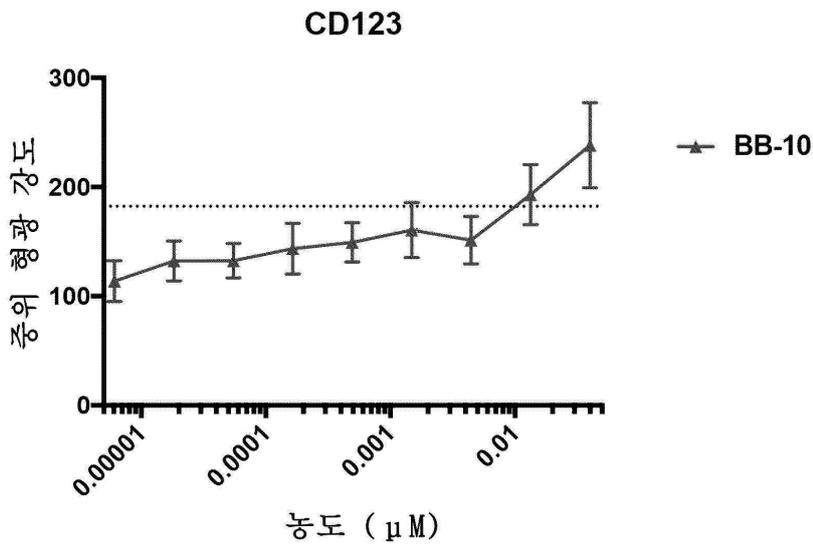
도면127h



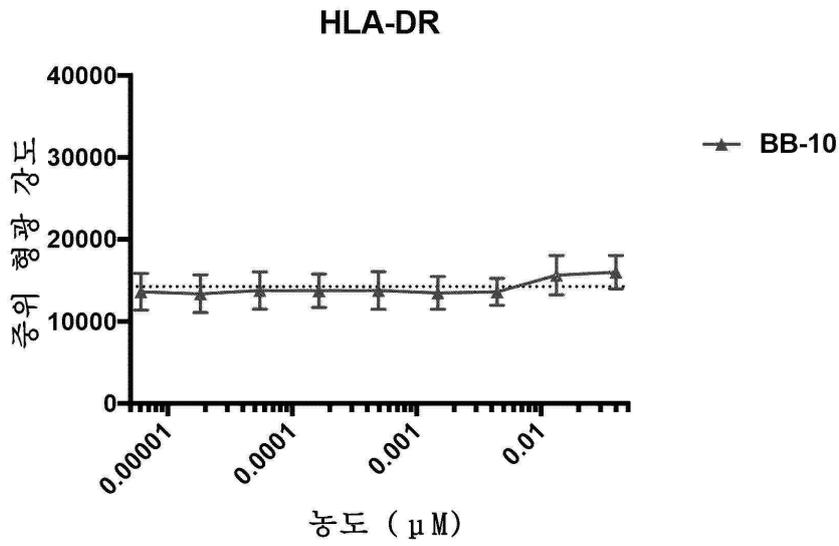
도면127i



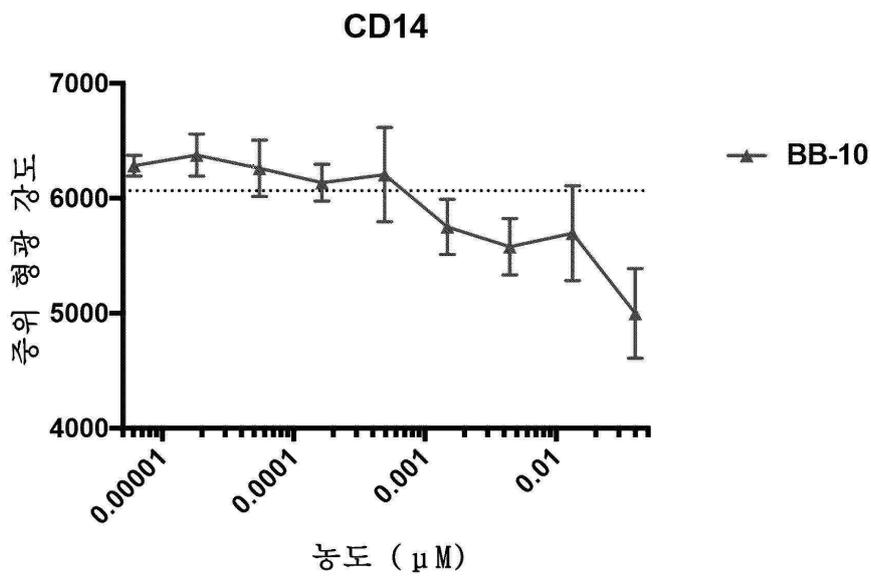
도면127j



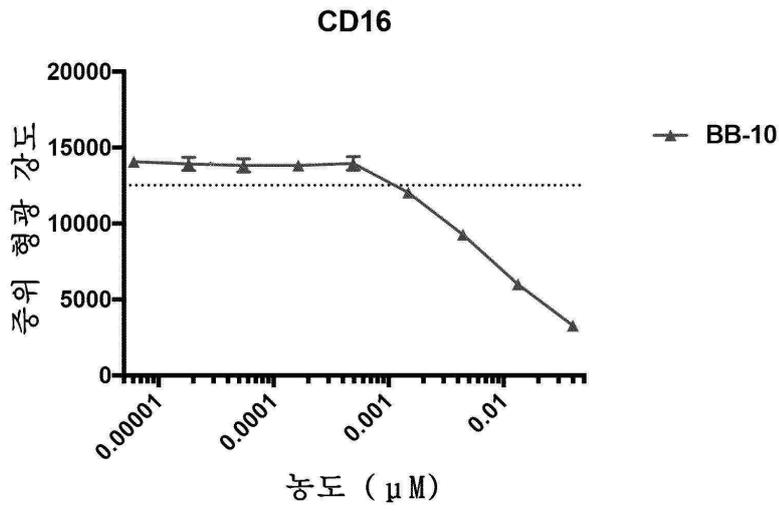
도면127k



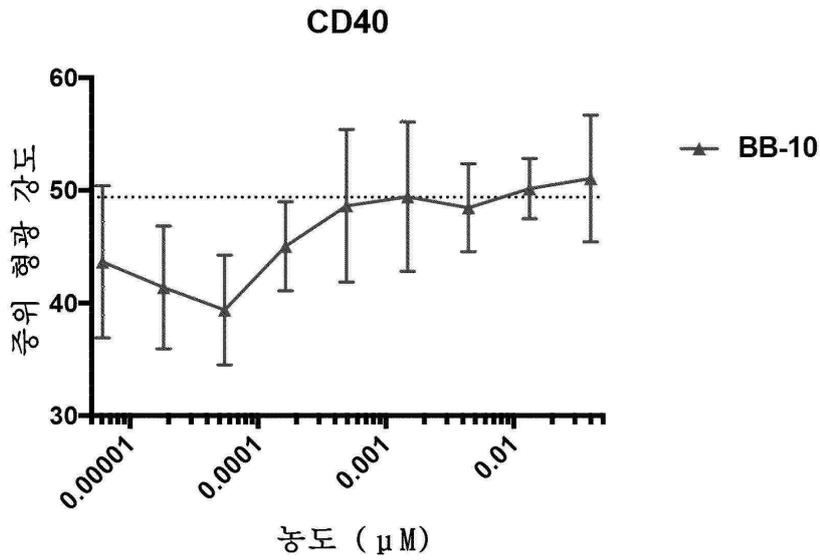
도면127l



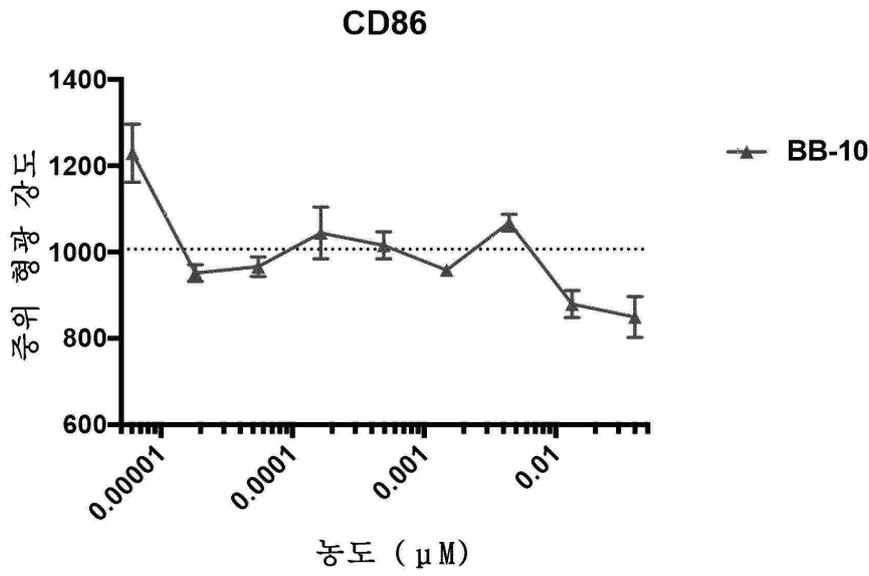
도면127m



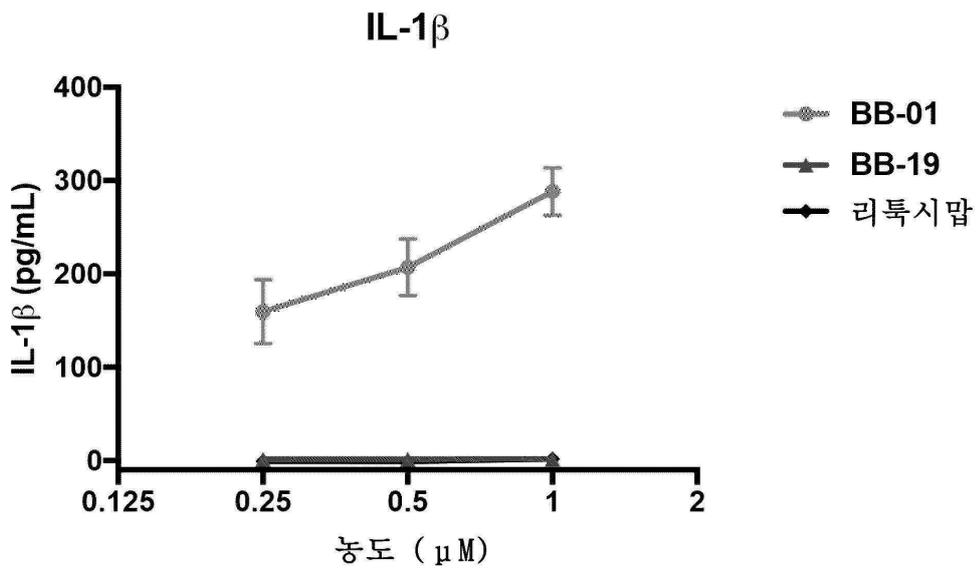
도면127n



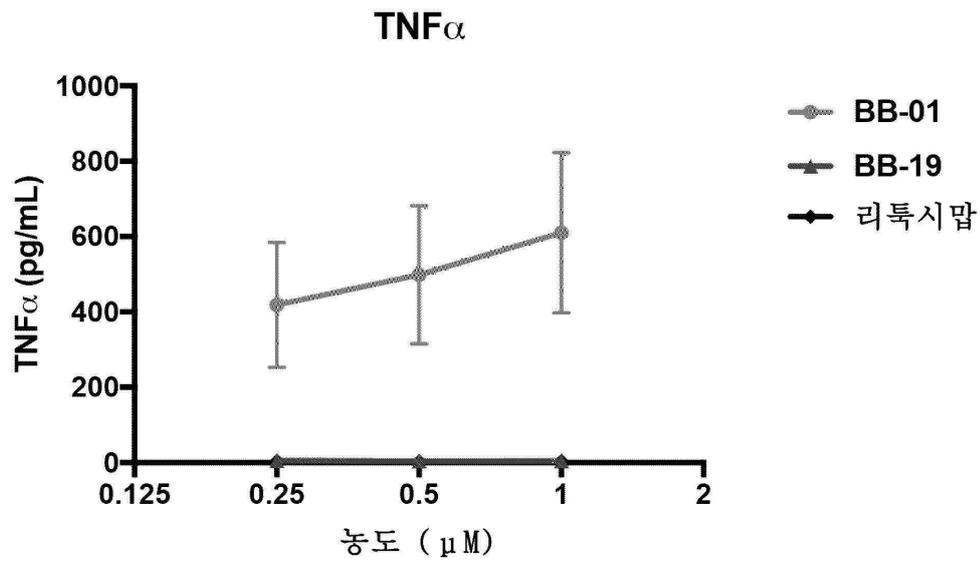
도면127o



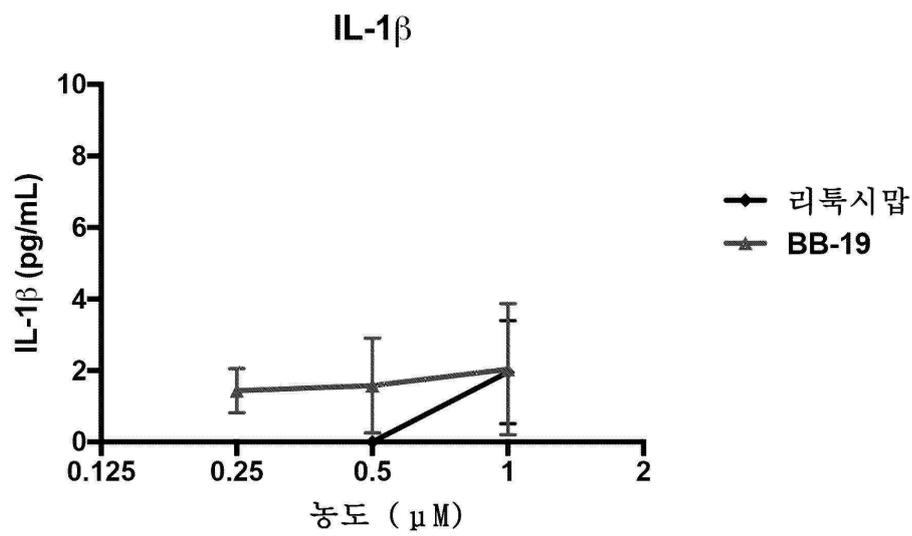
도면128a



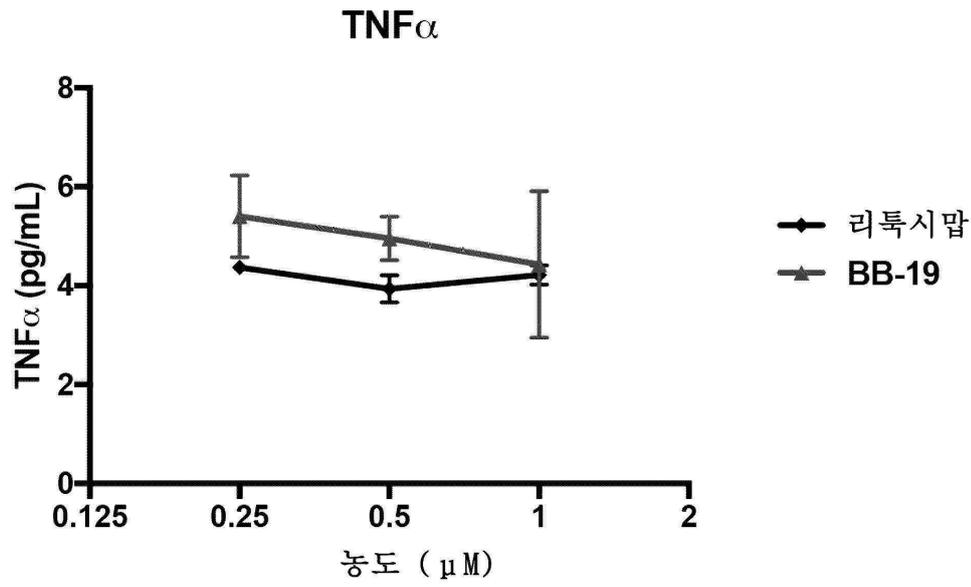
도면128b



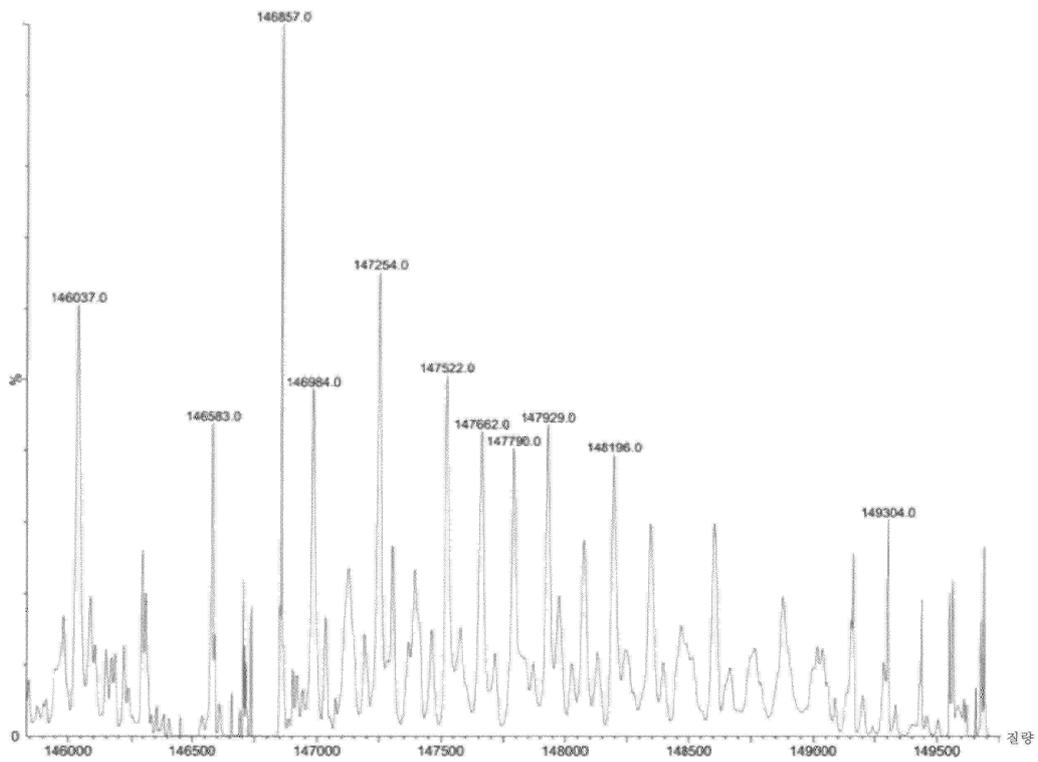
도면128c



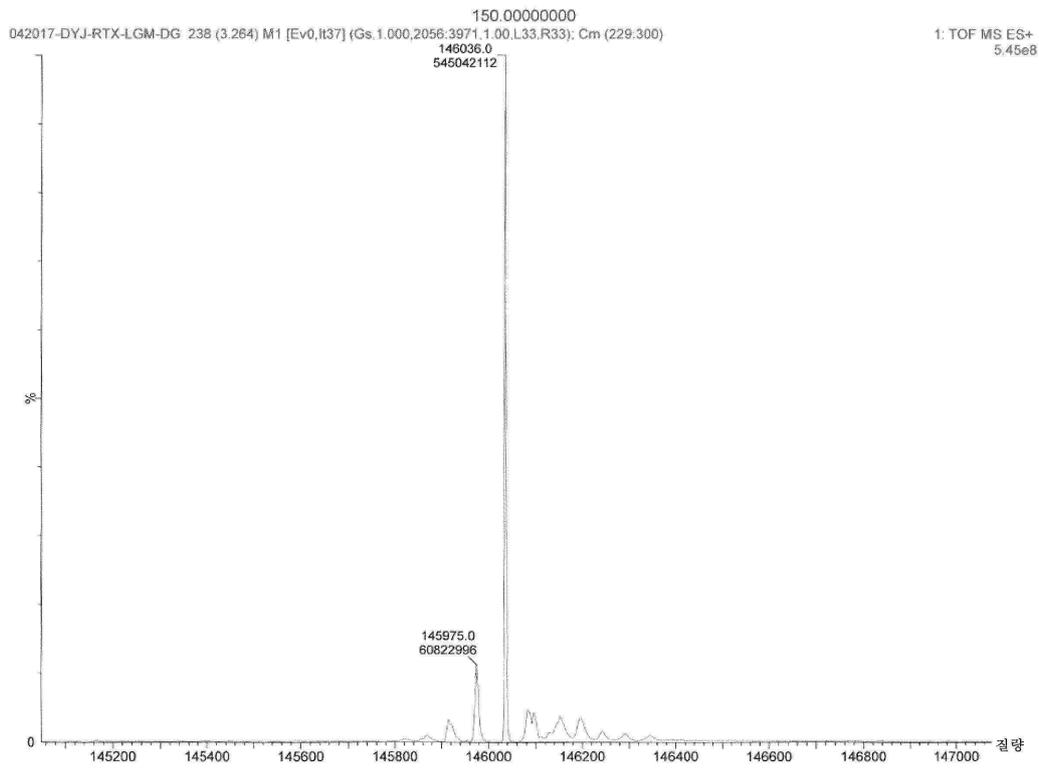
도면128d



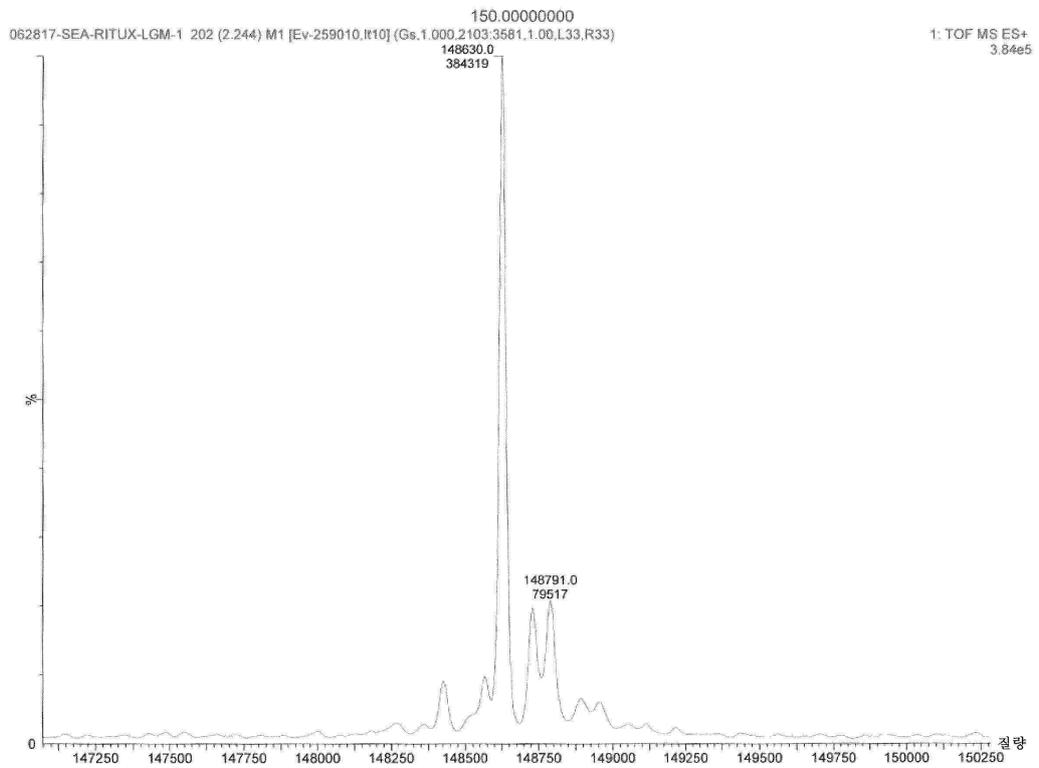
도면128e



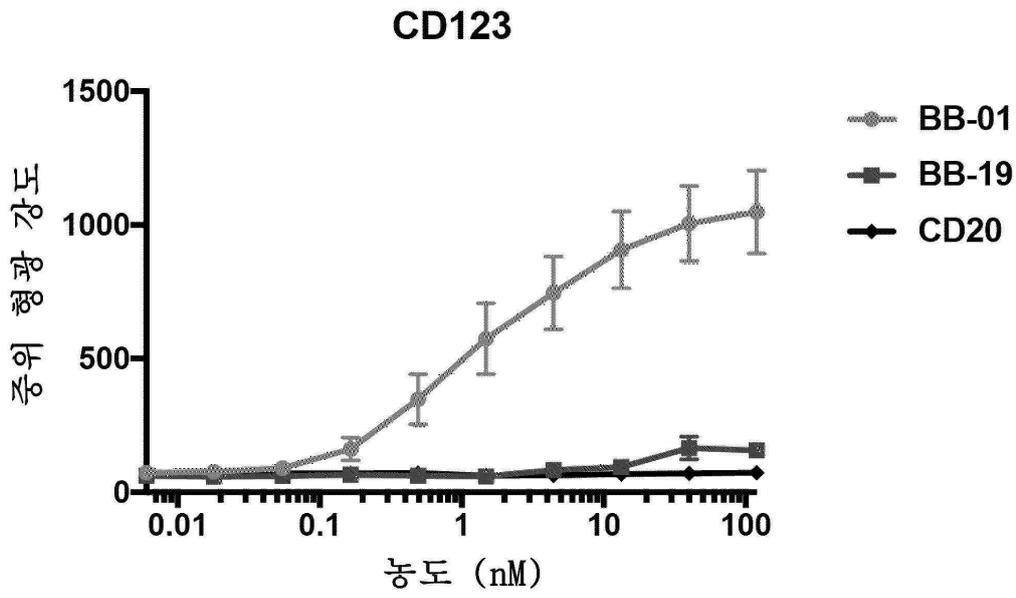
도면128f



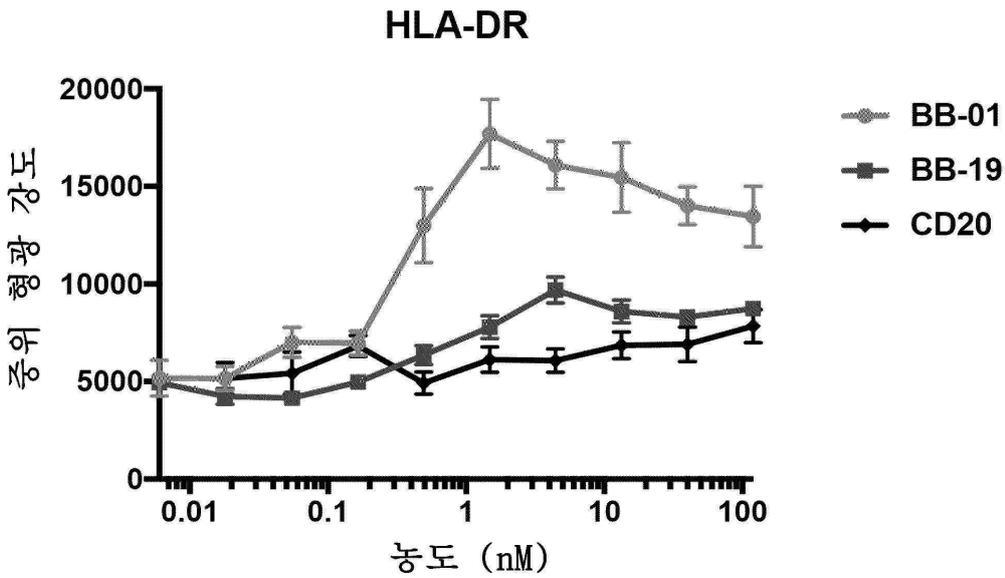
도면128g



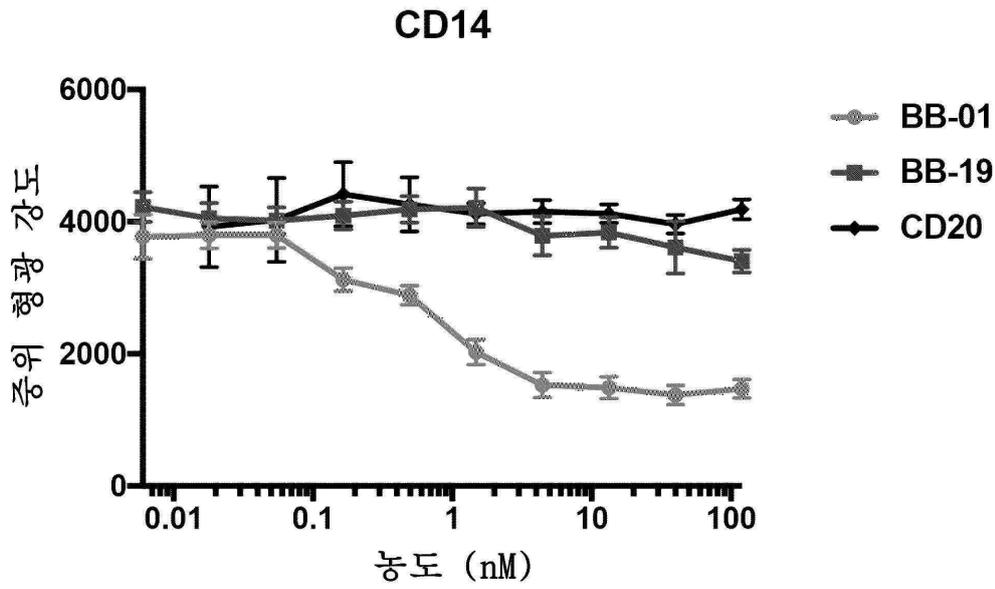
도면128h



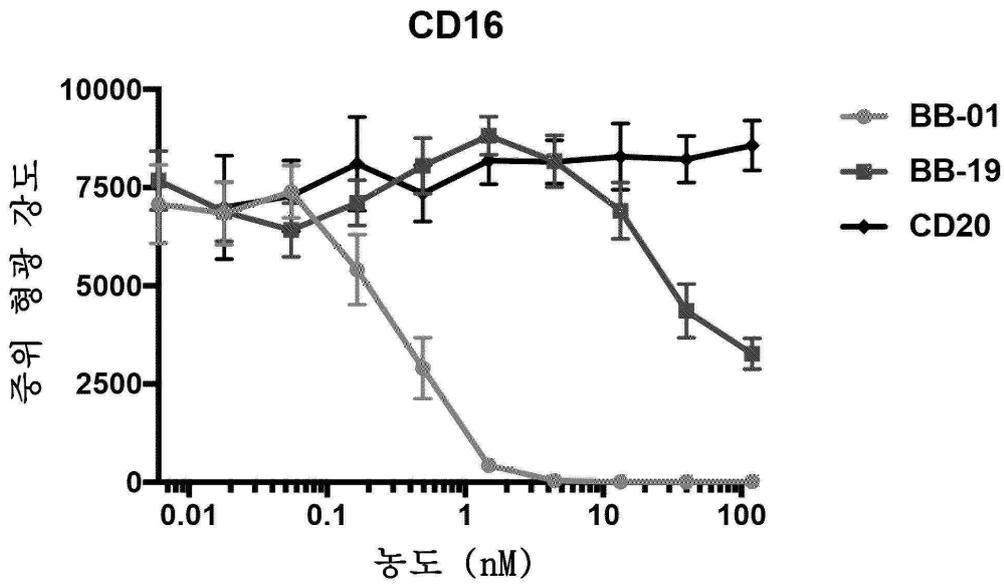
도면128i



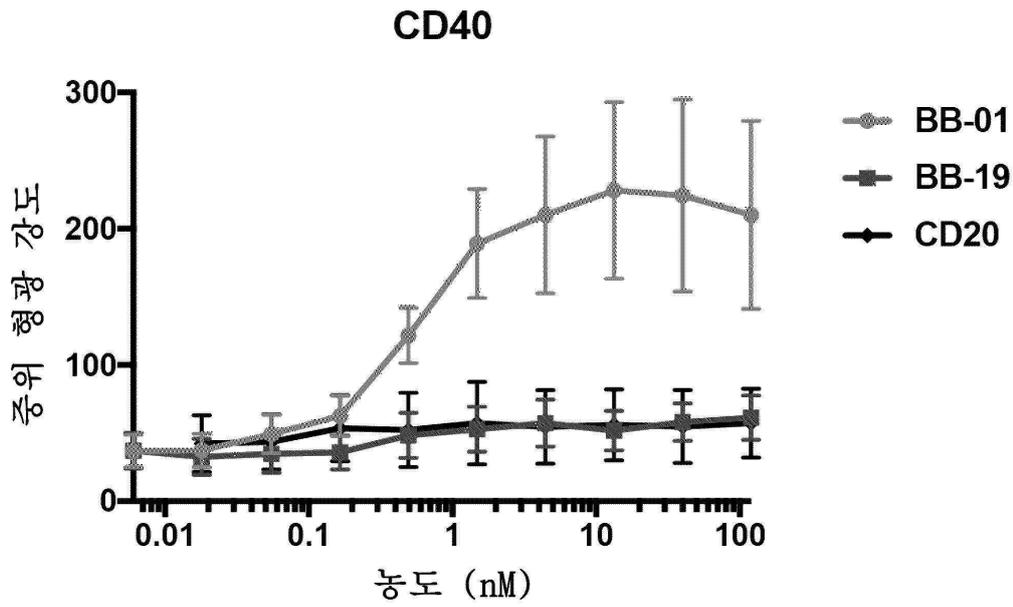
도면128j



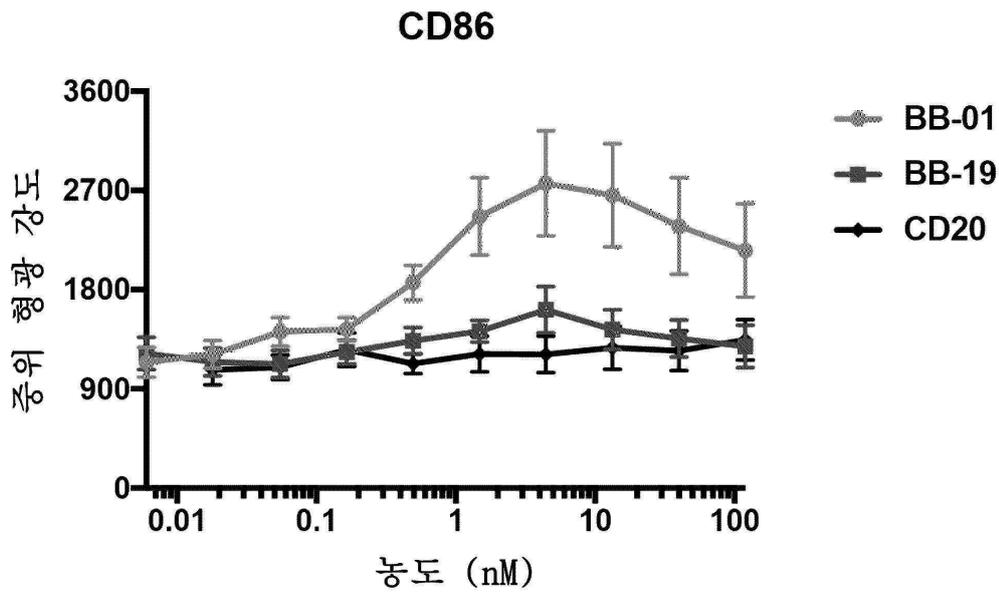
도면128k



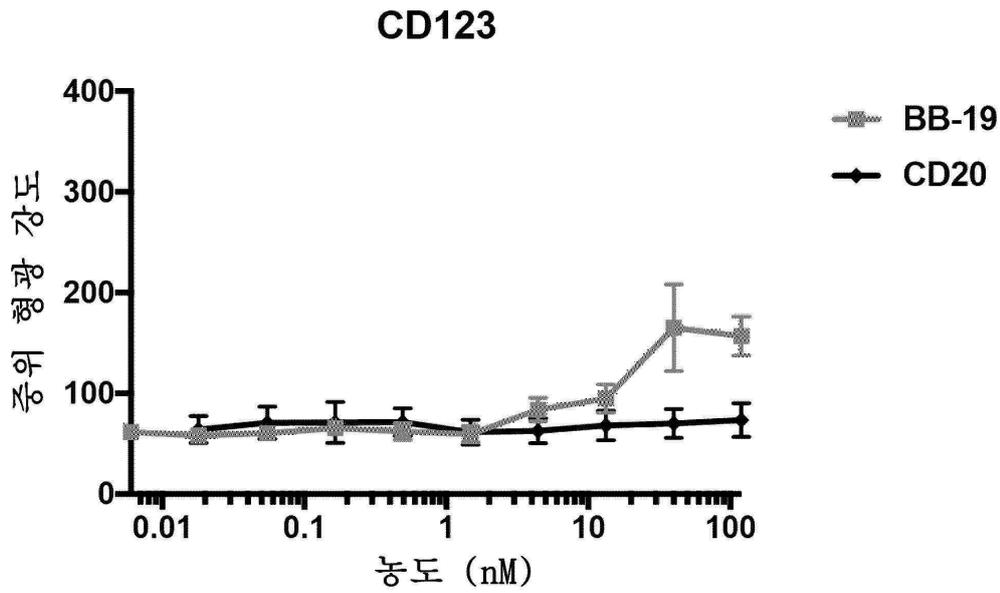
도면1281



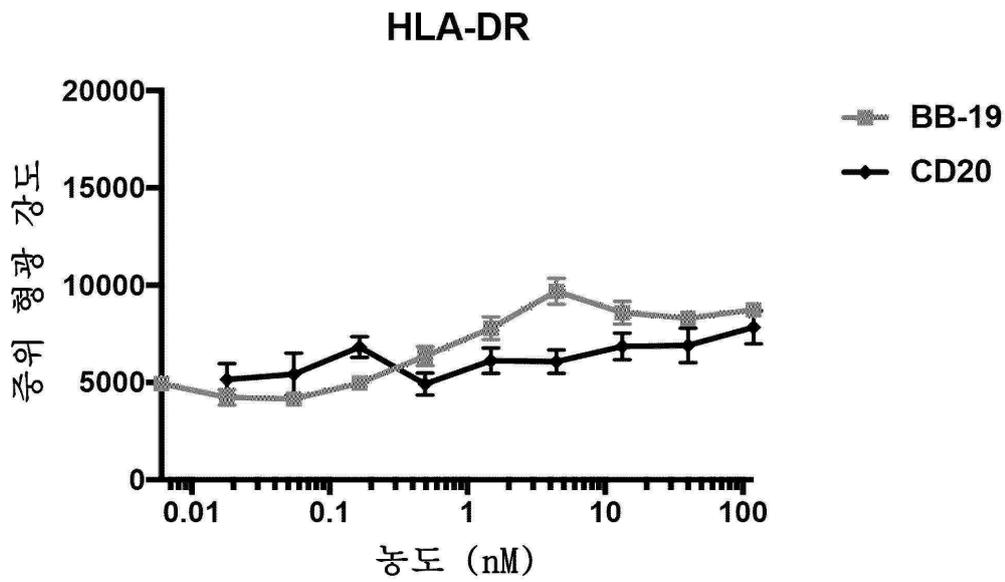
도면128m



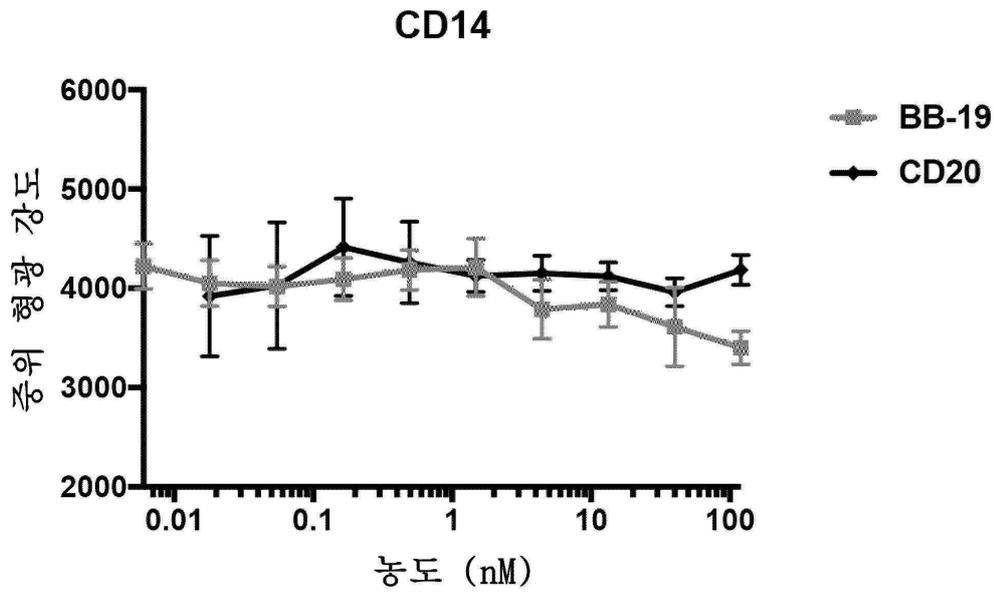
도면128n



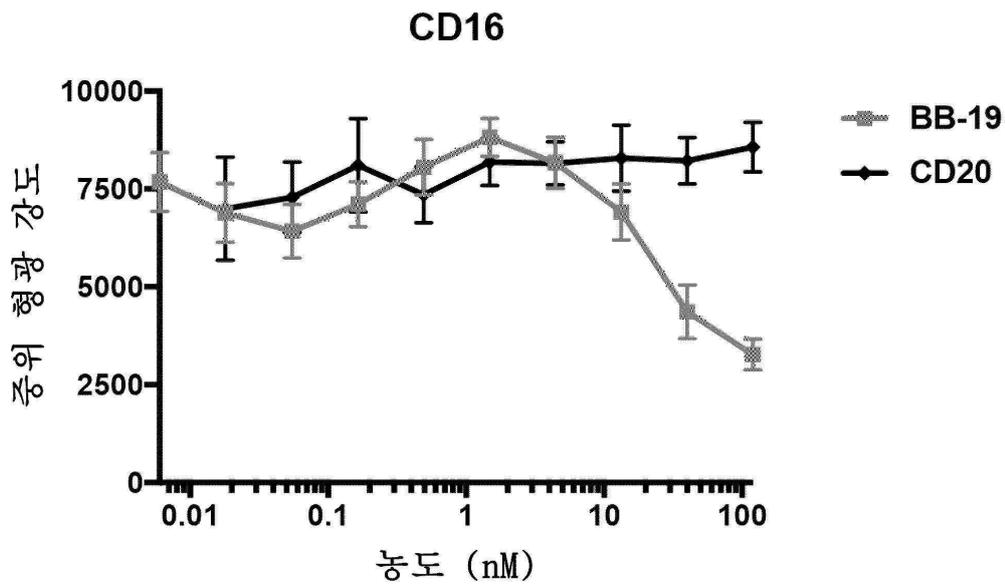
도면128o



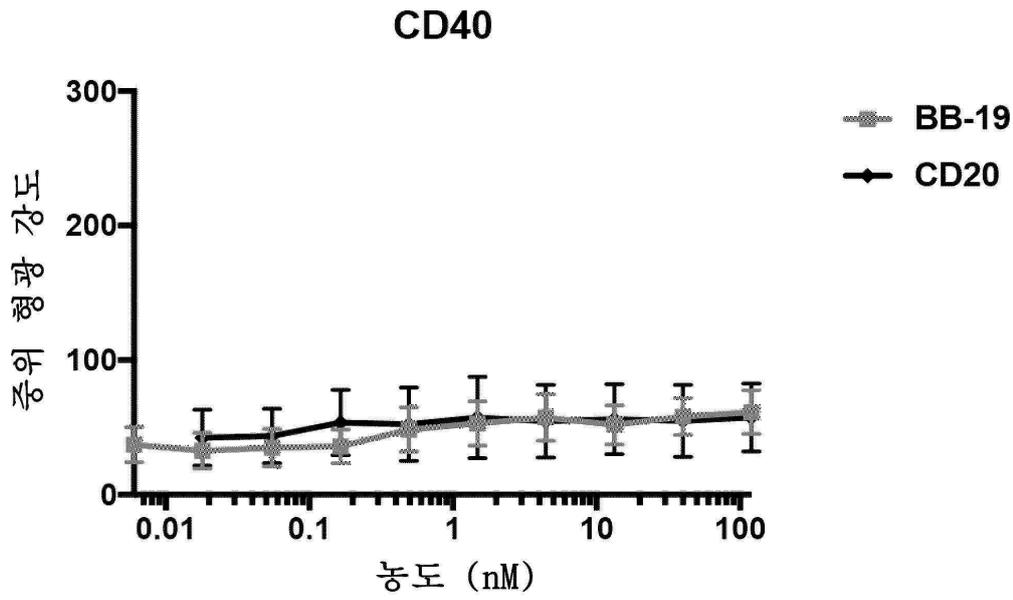
도면128p



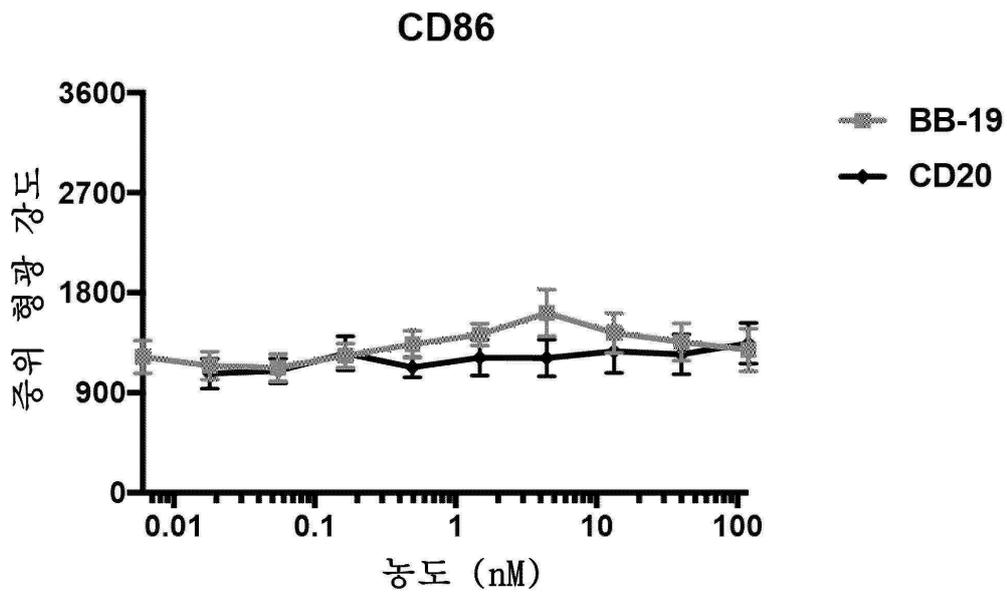
도면128q



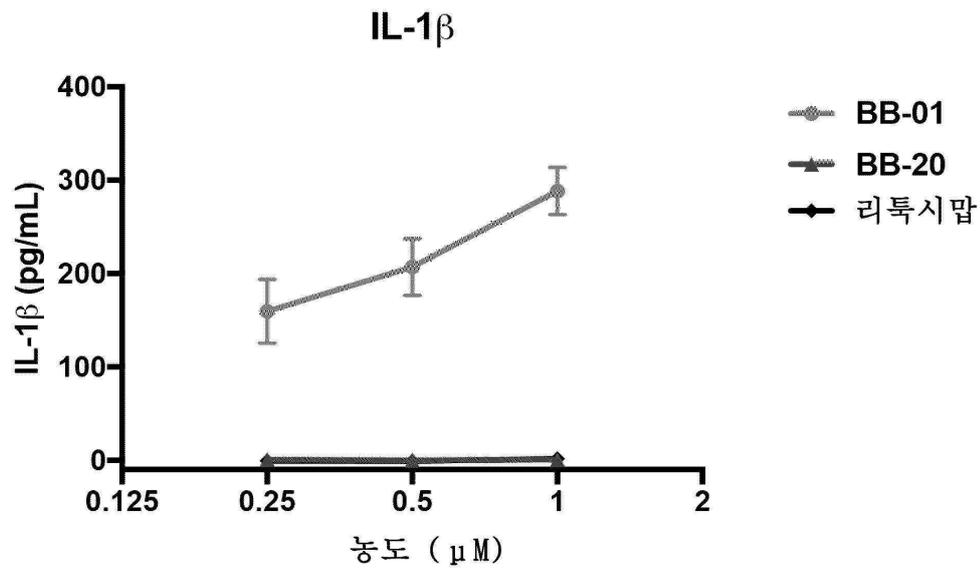
도면128r



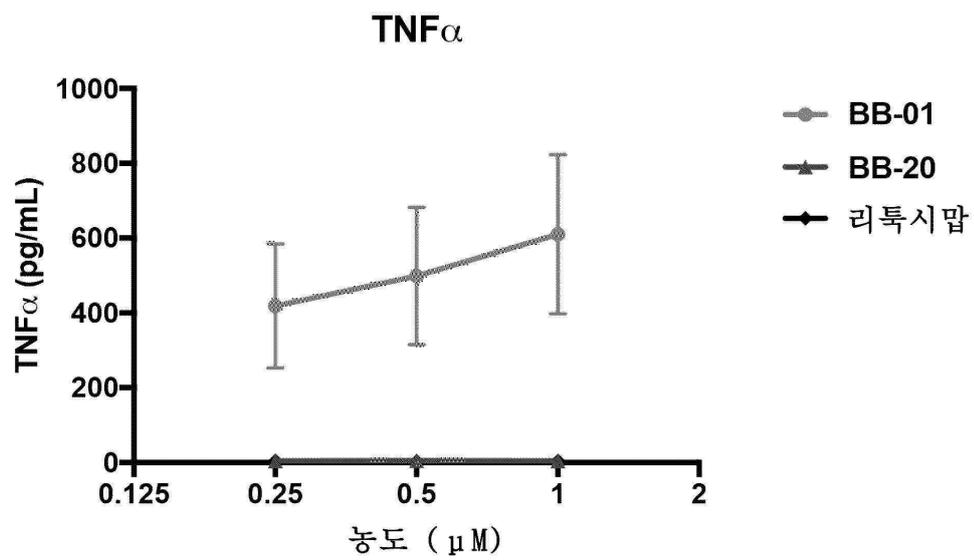
도면128s



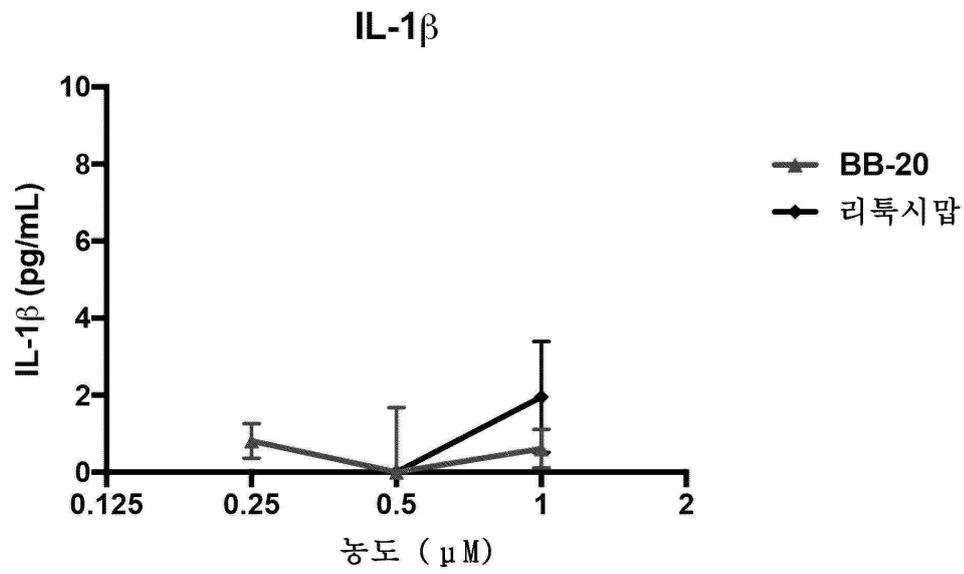
도면129a



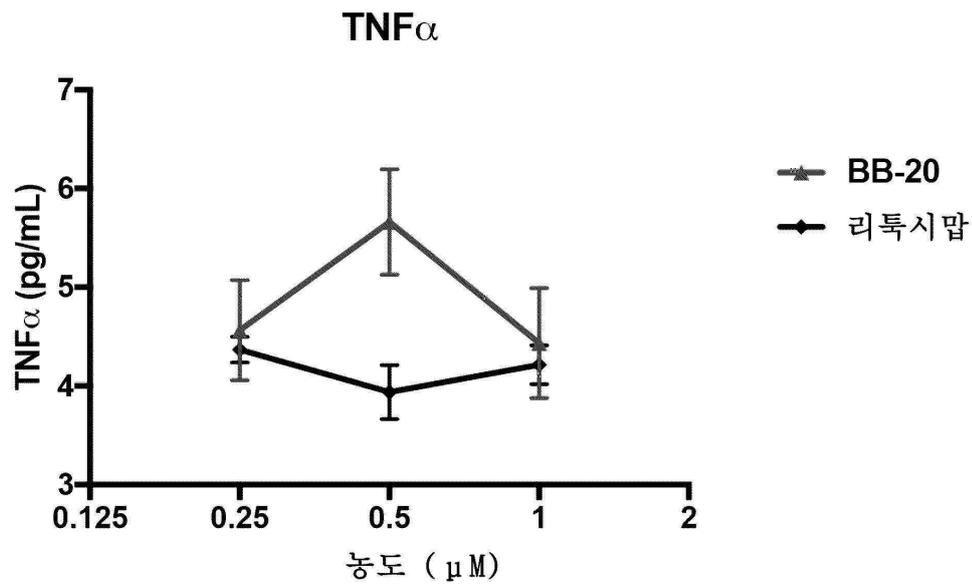
도면129b



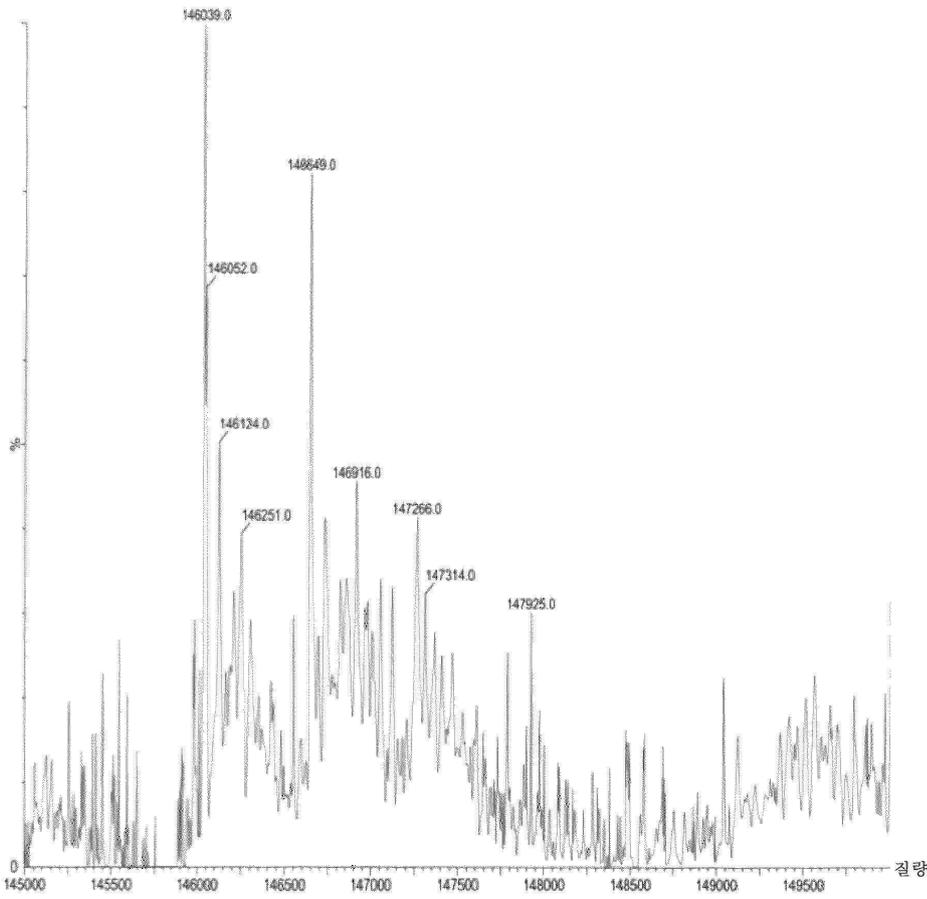
도면129c



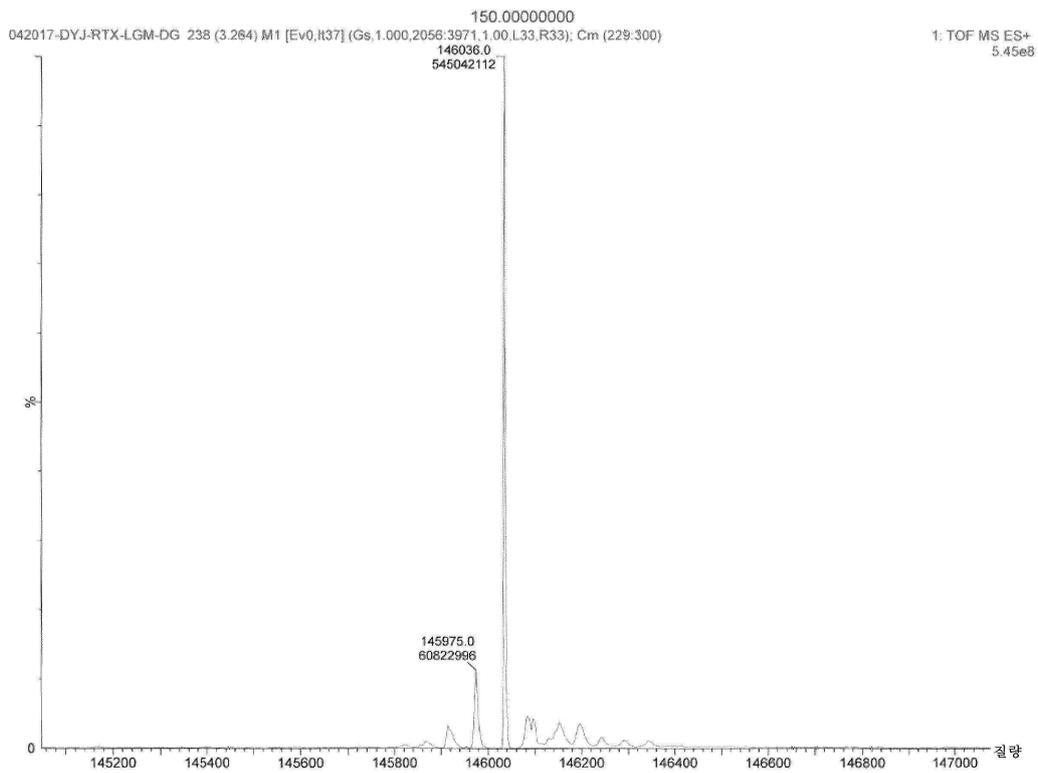
도면129d



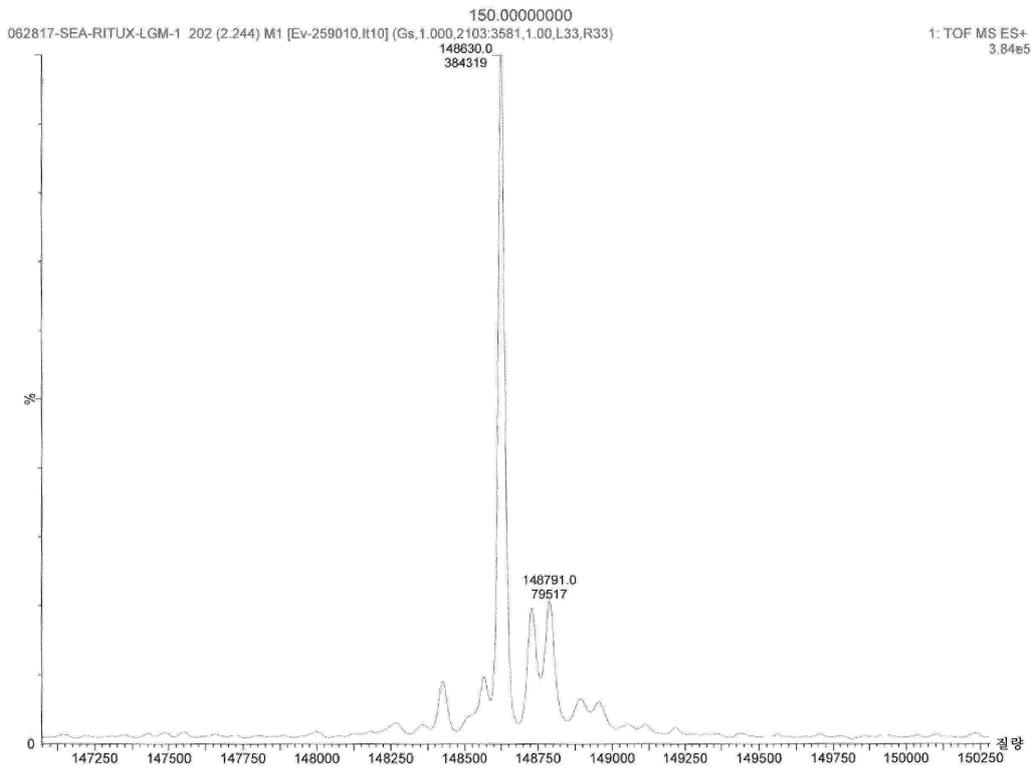
도면129e



도면129f

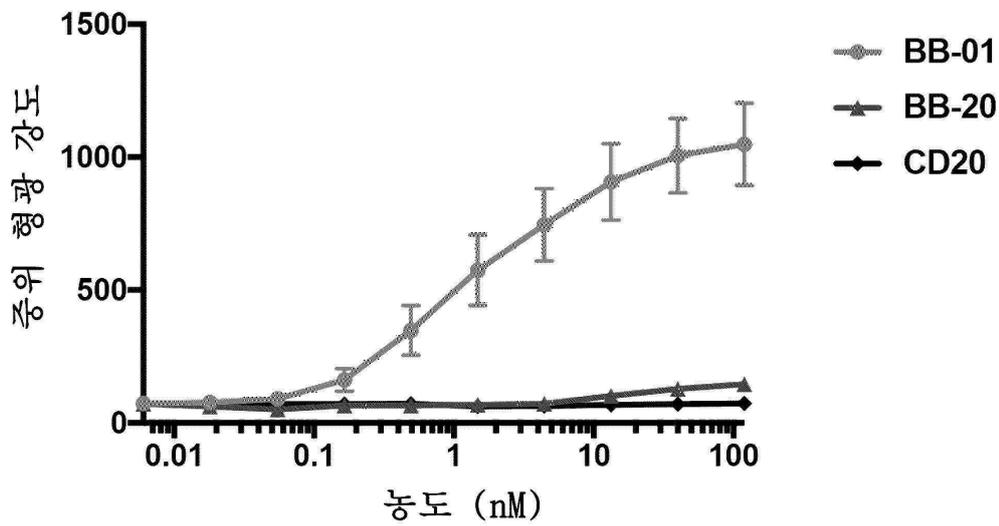


도면129g

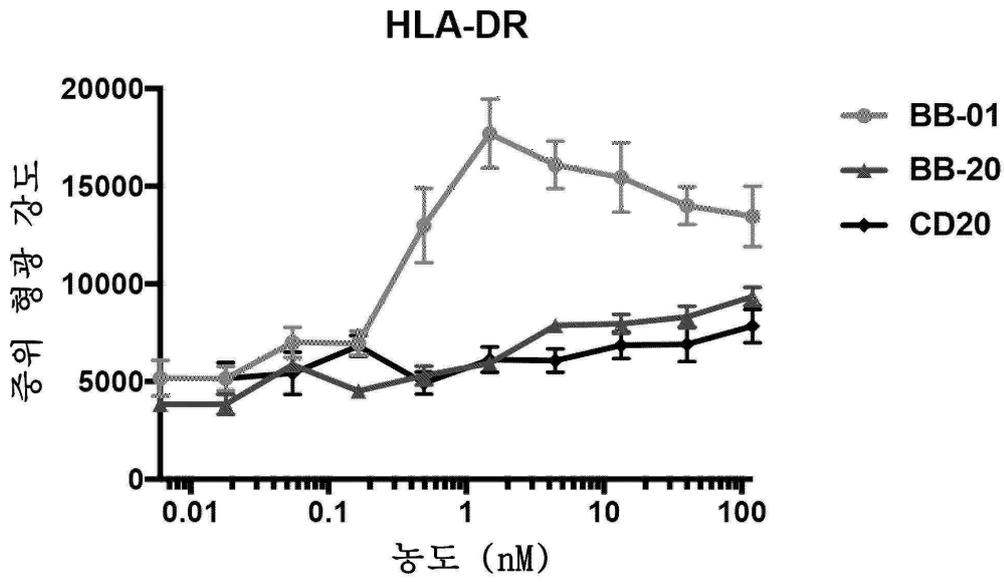


도면129h

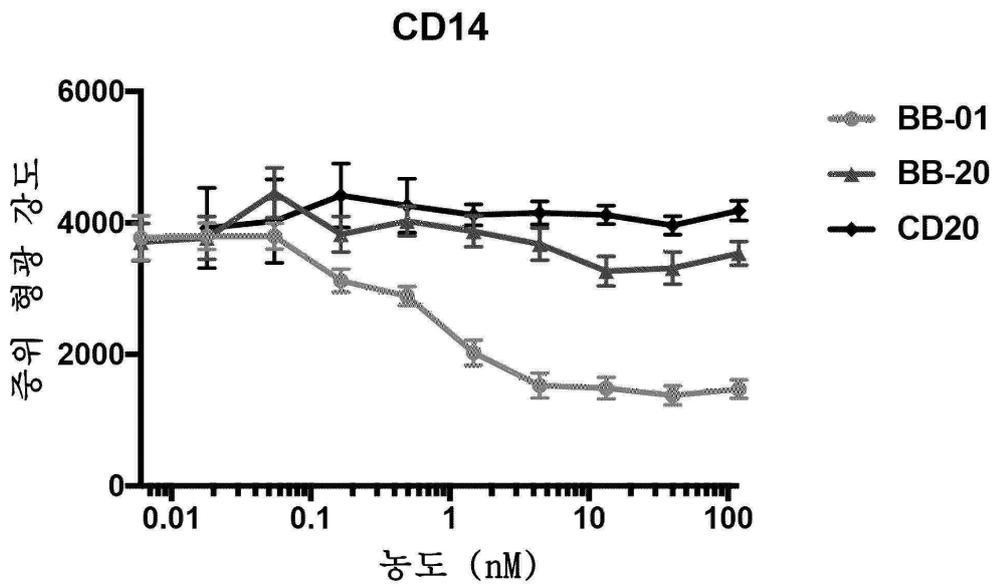
CD123



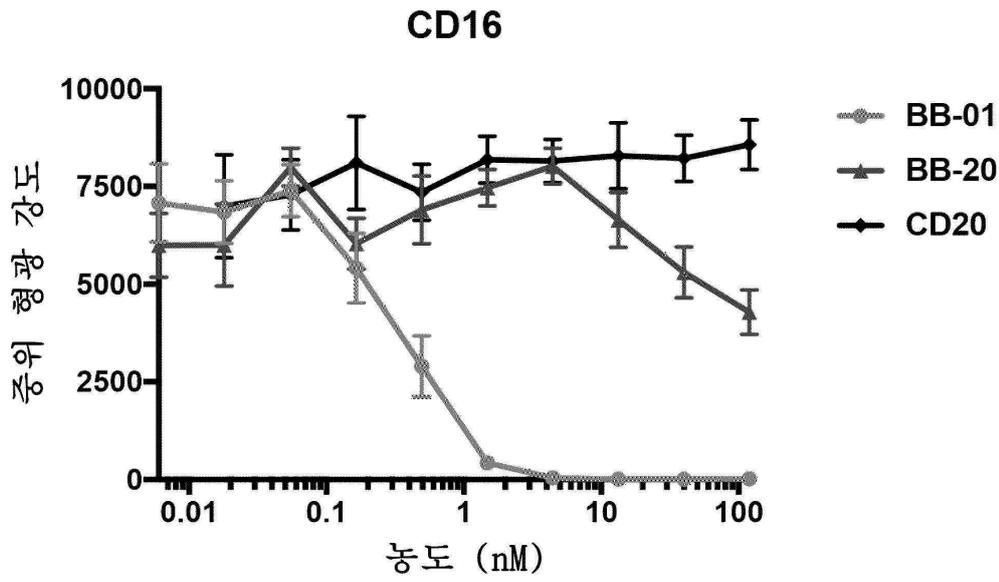
도면129j



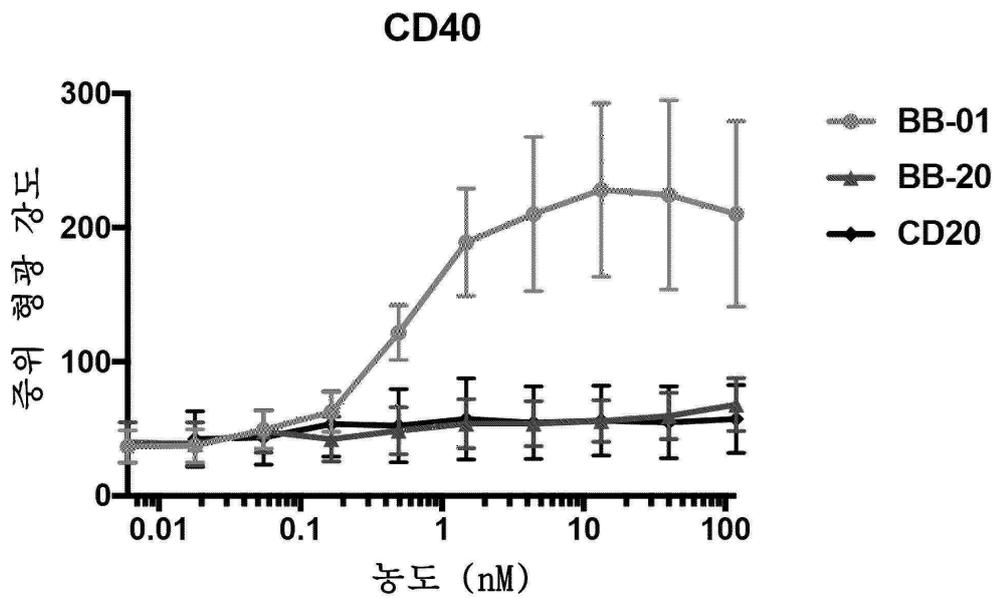
도면129j



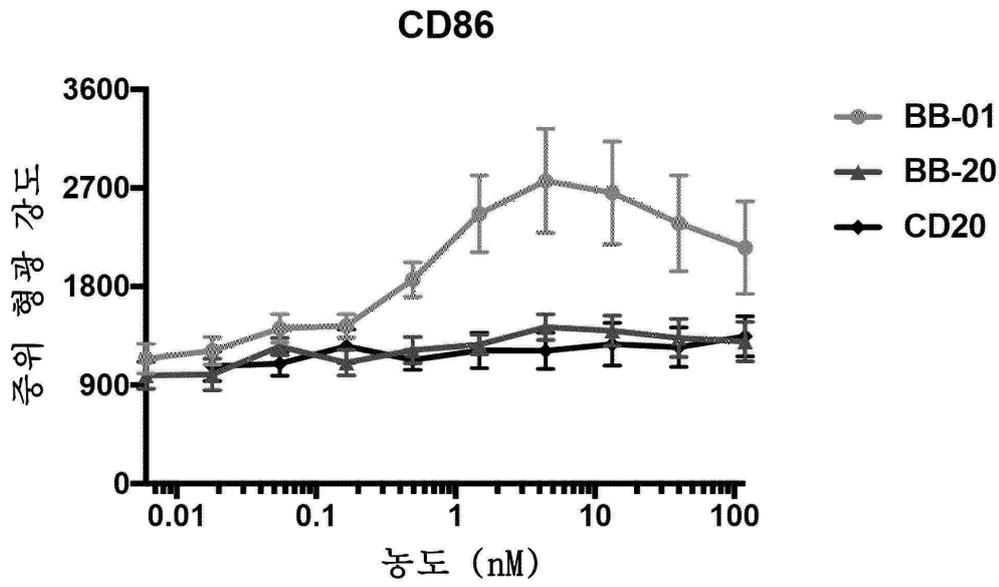
도면129k



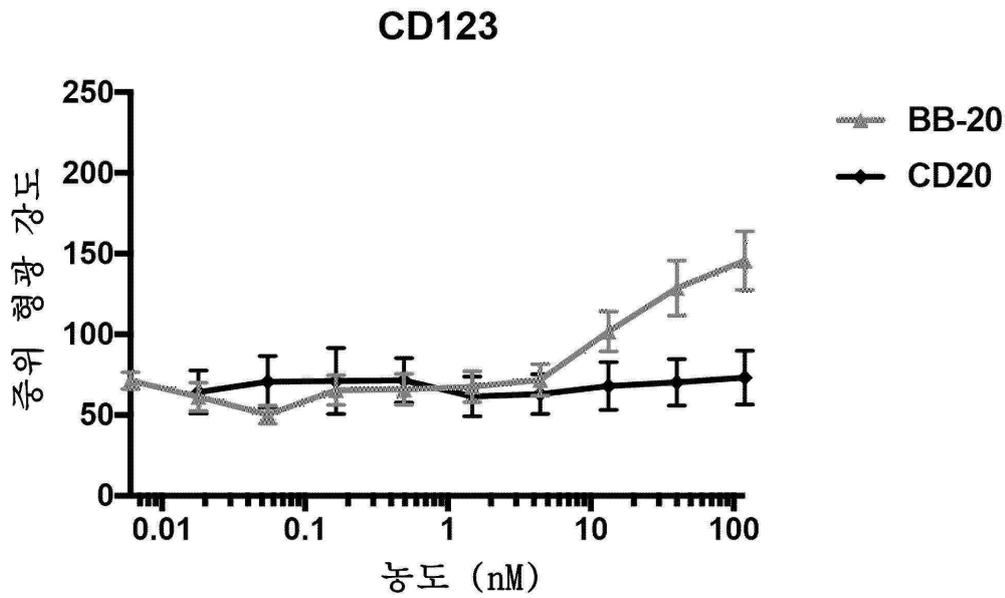
도면129l



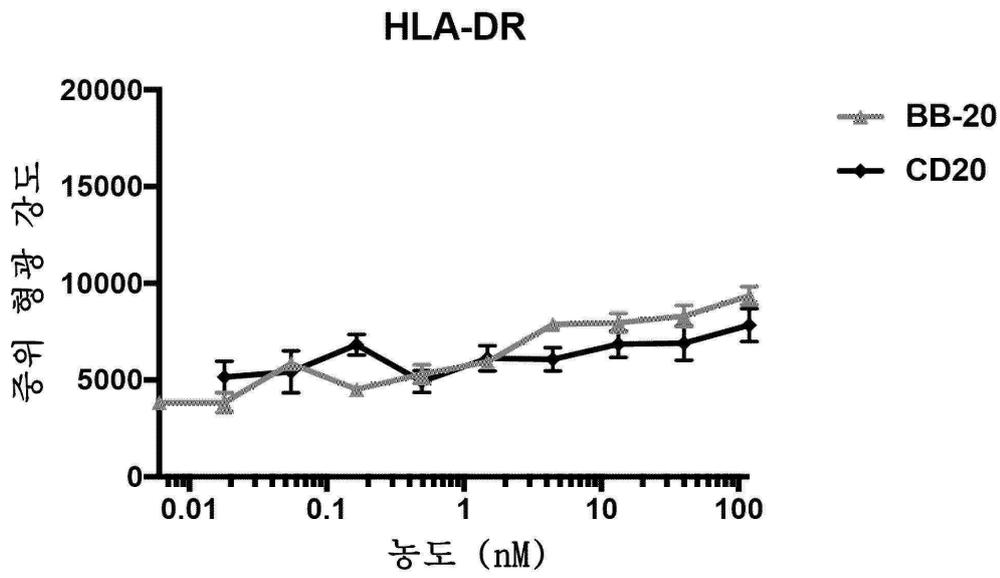
도면129m



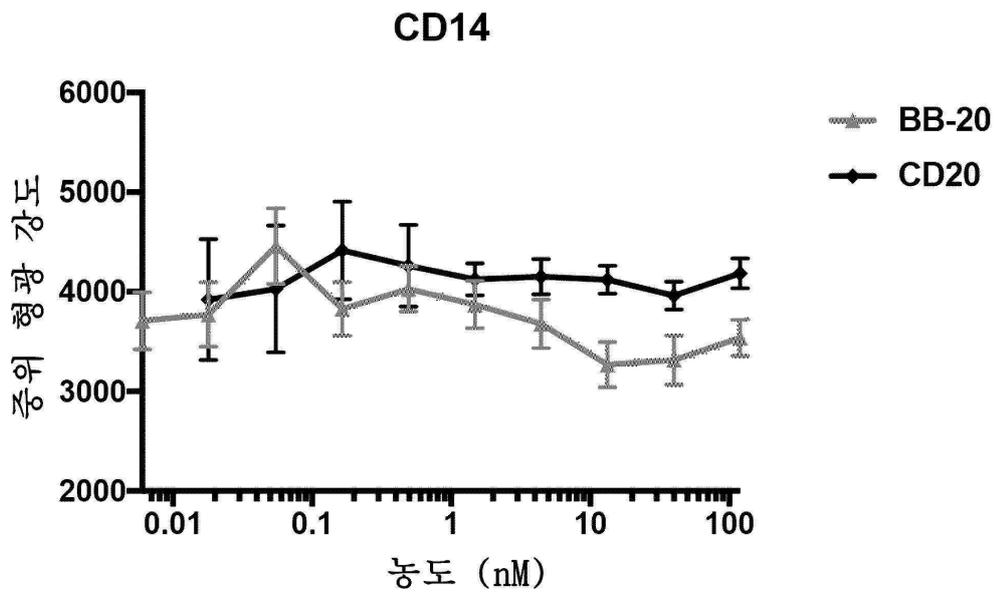
도면129n



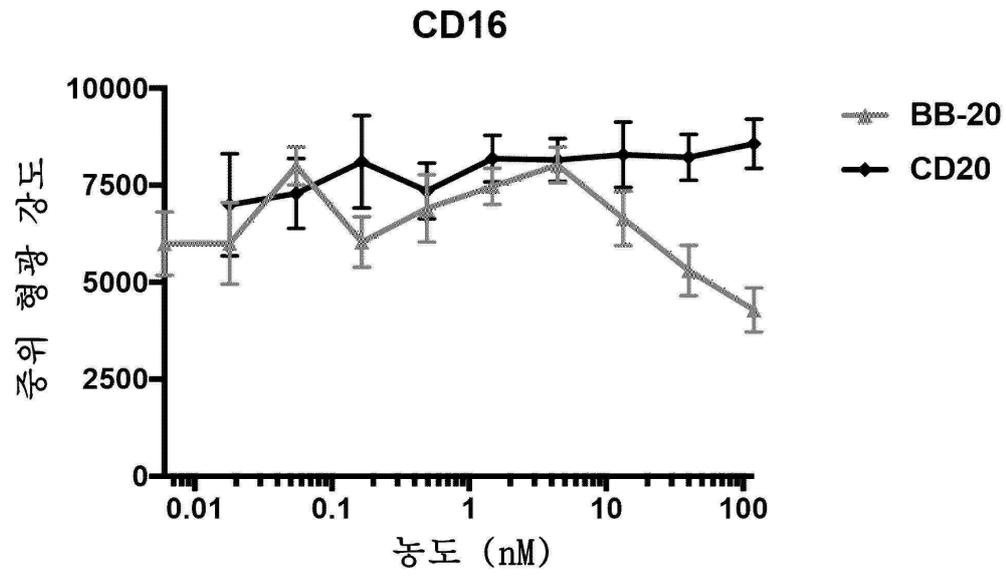
도면129o



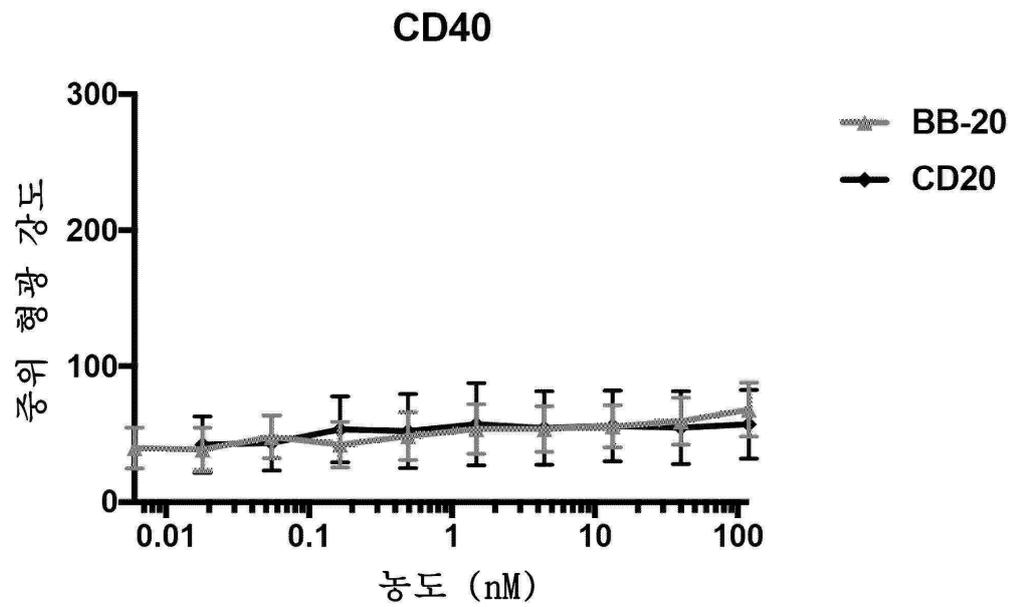
도면129p



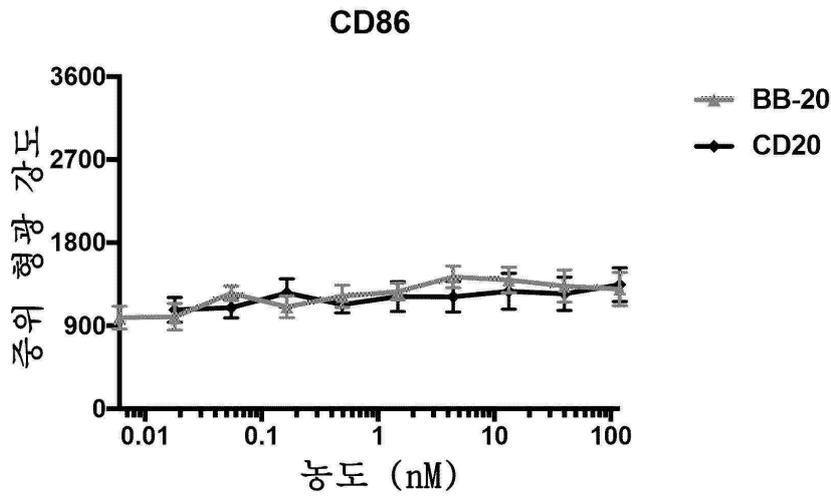
도면129q



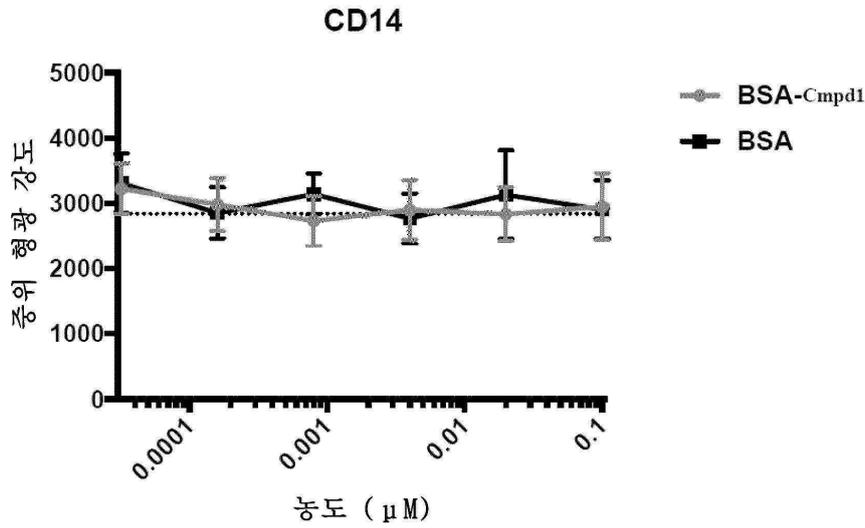
도면129r



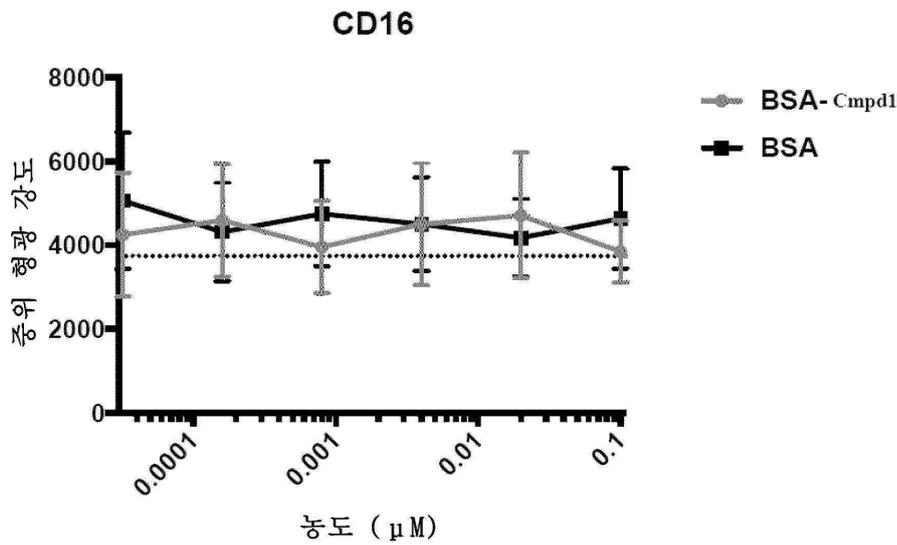
도면129s



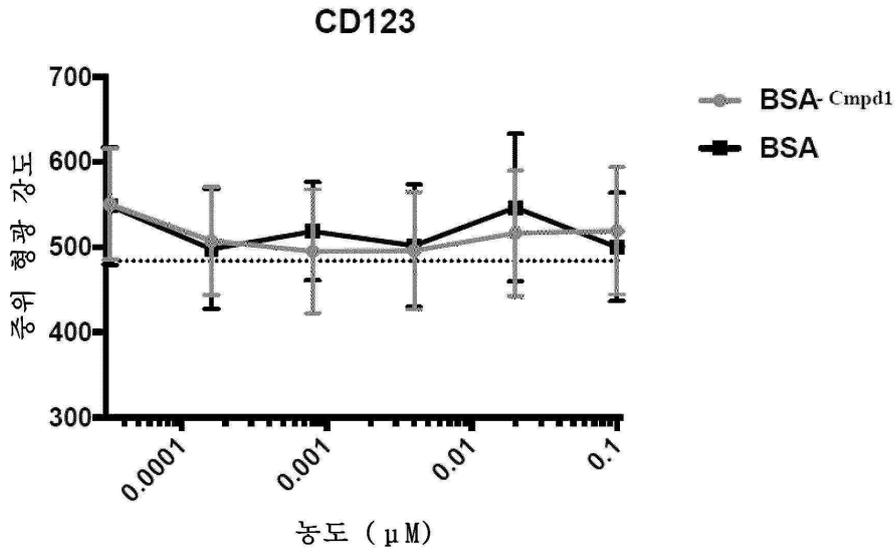
도면130a



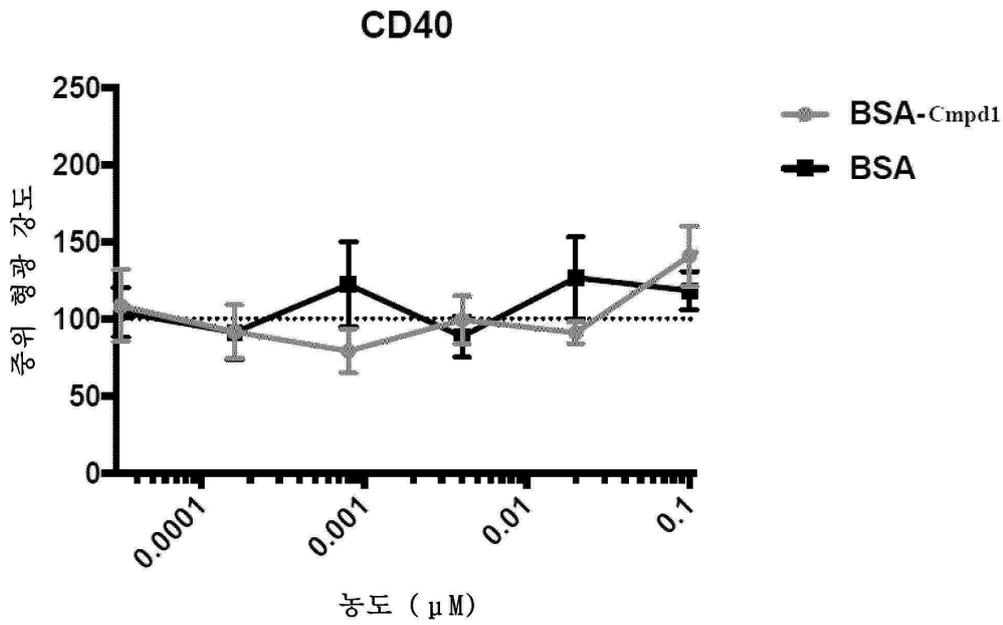
도면130b



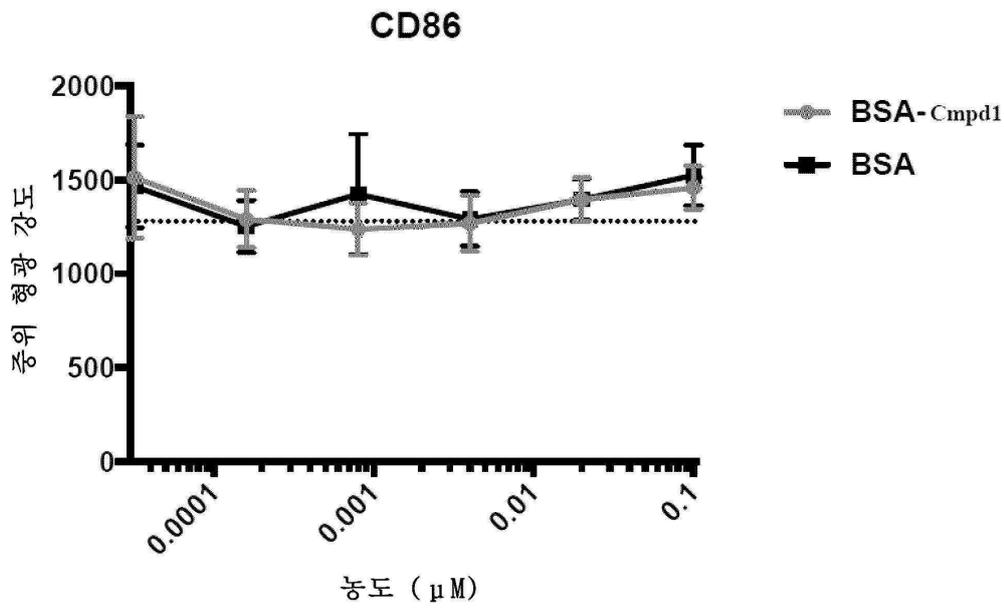
도면130c



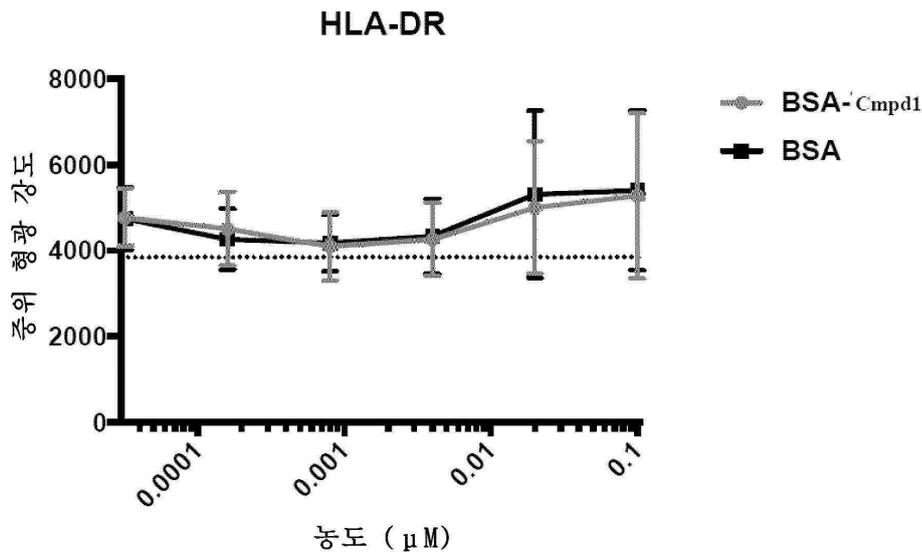
도면130d



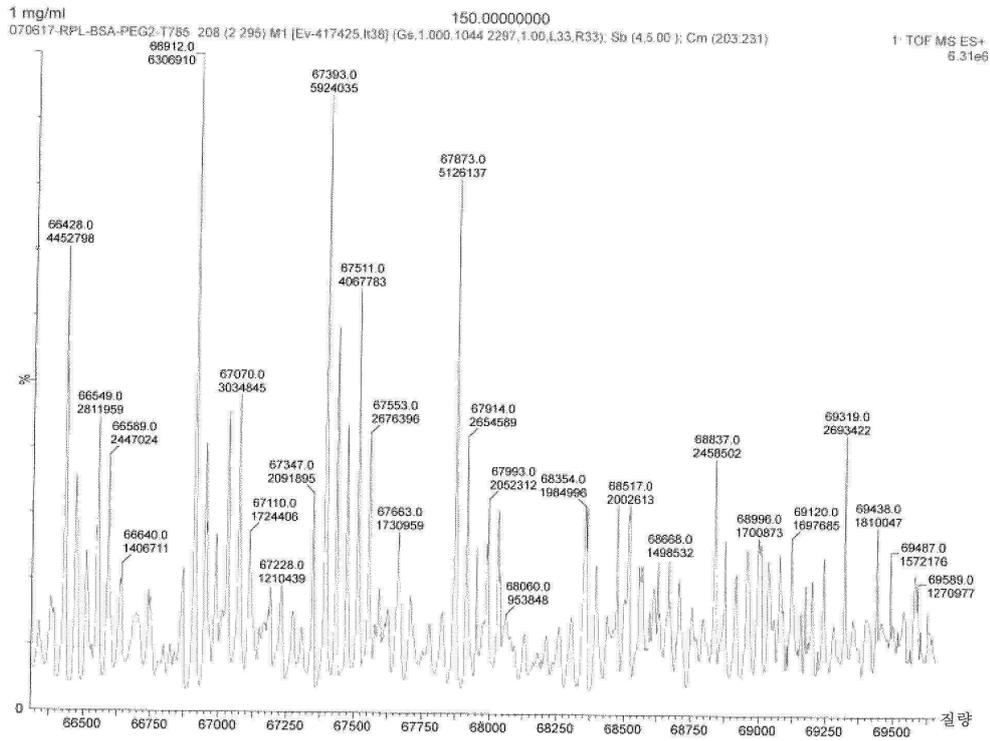
도면130e



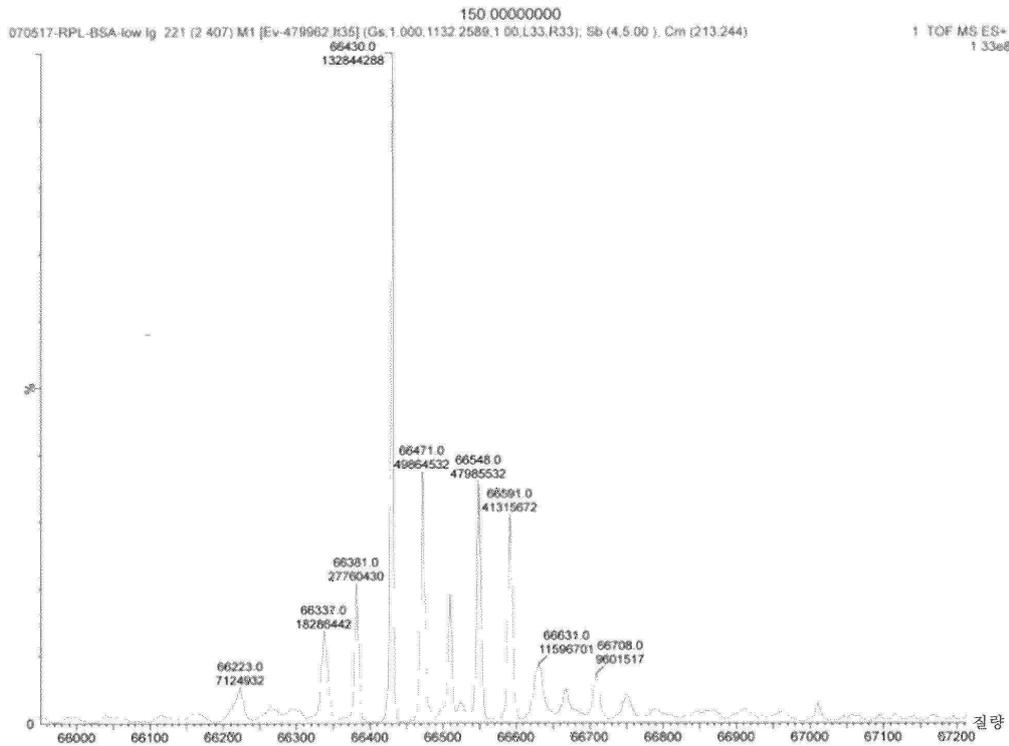
도면130f



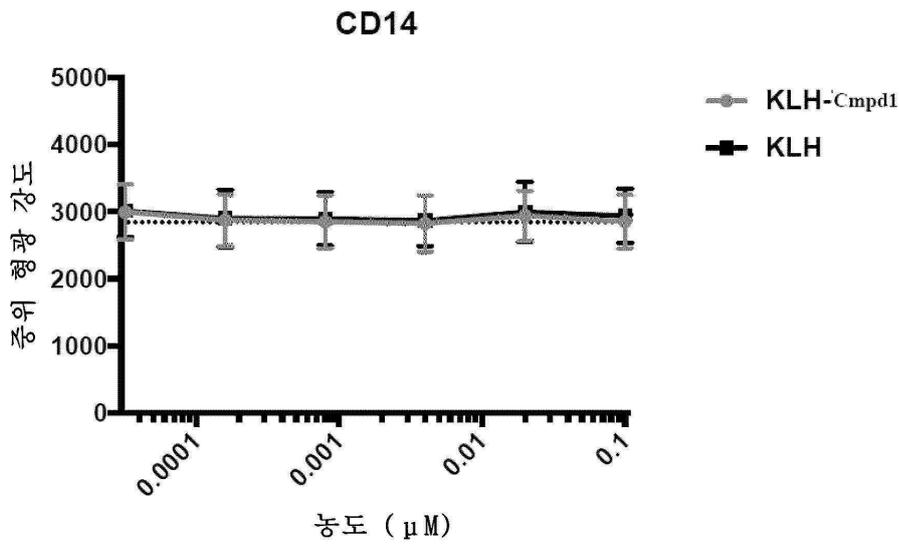
도면130g



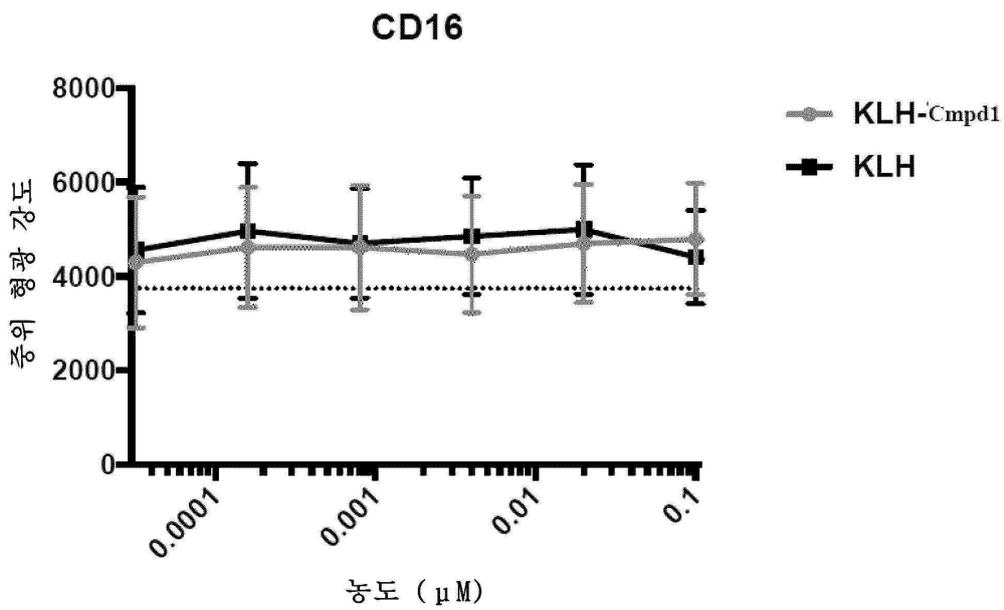
도면130h



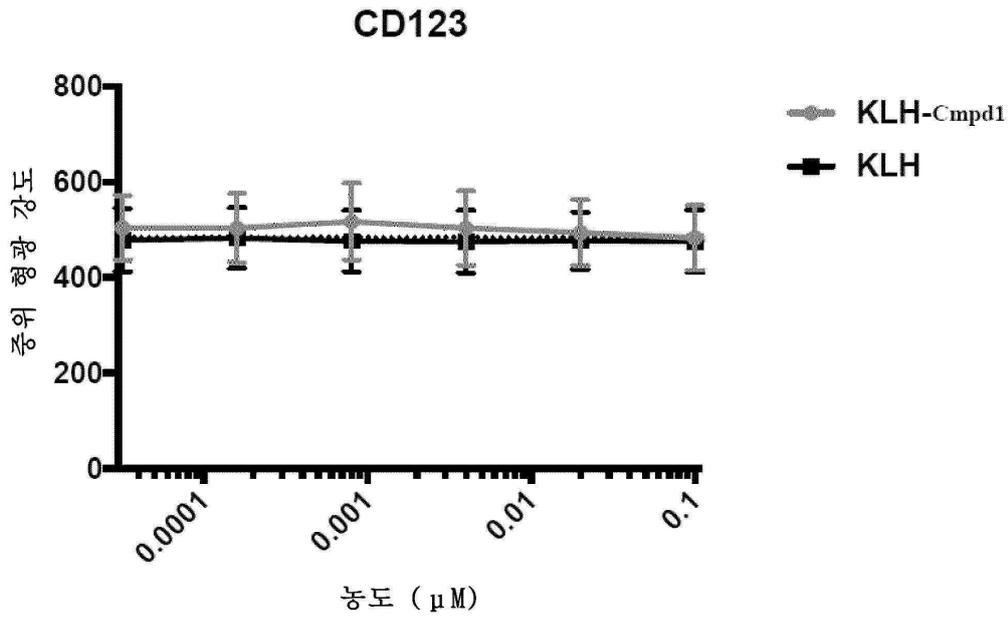
도면131a



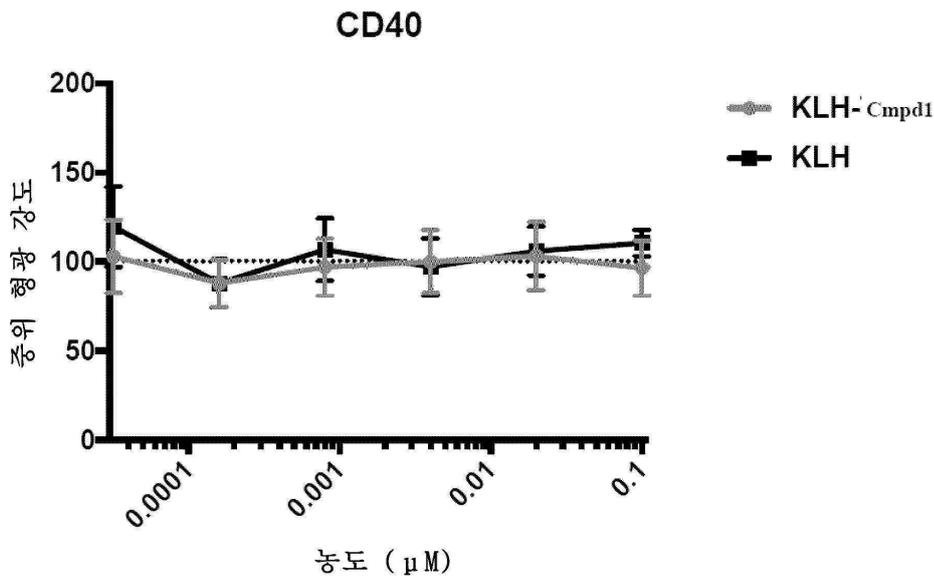
도면131b



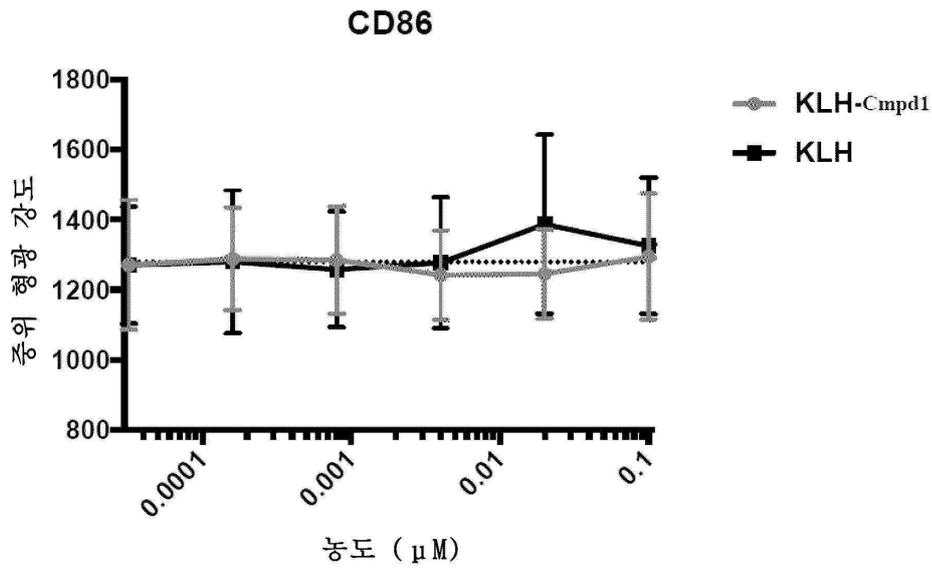
도면131c



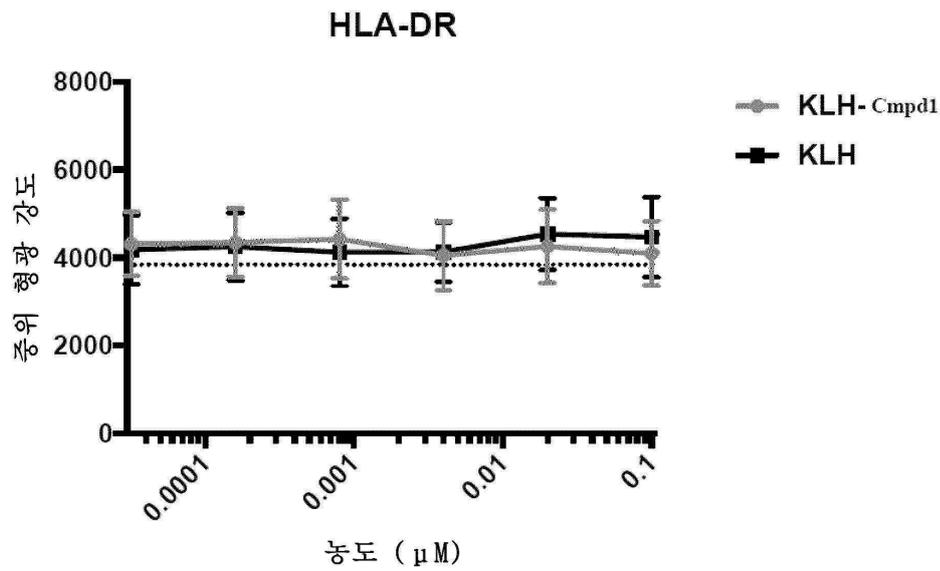
도면131d



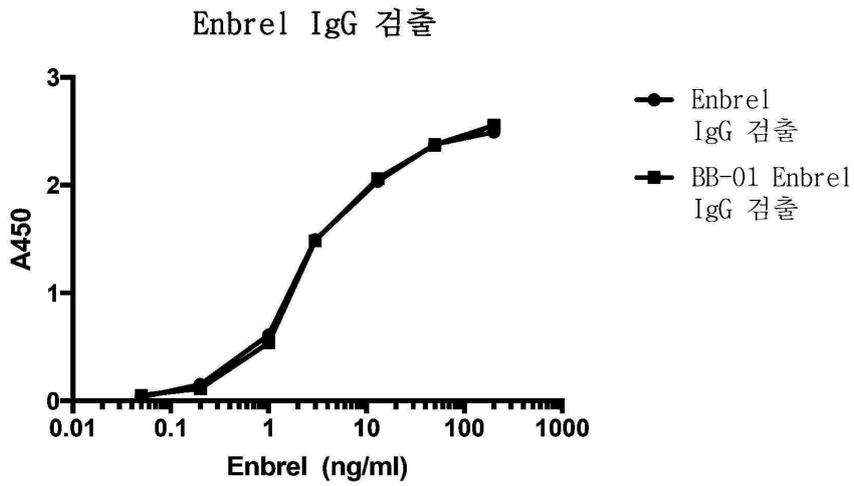
도면131e



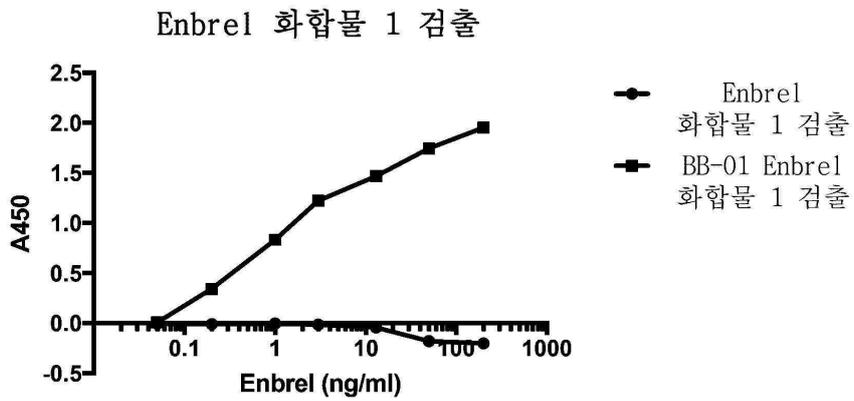
도면131f



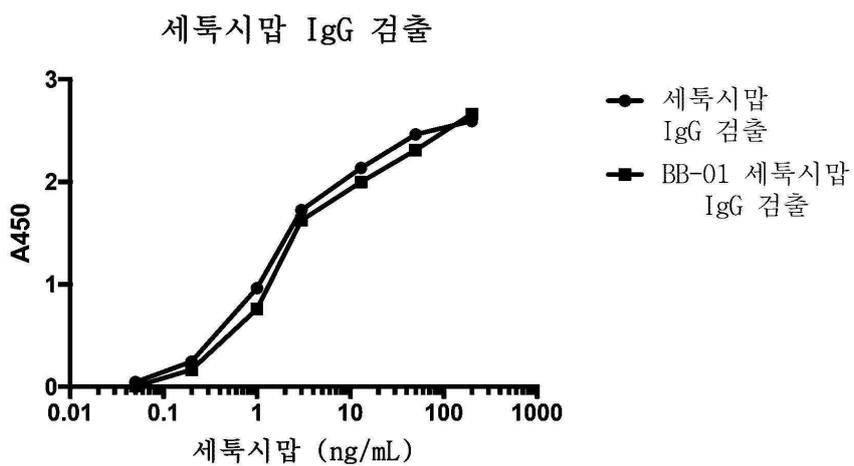
도면132a



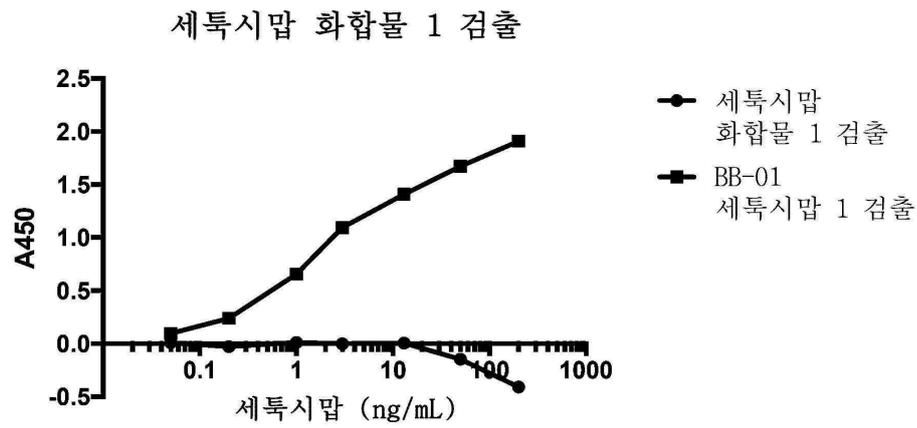
도면132b



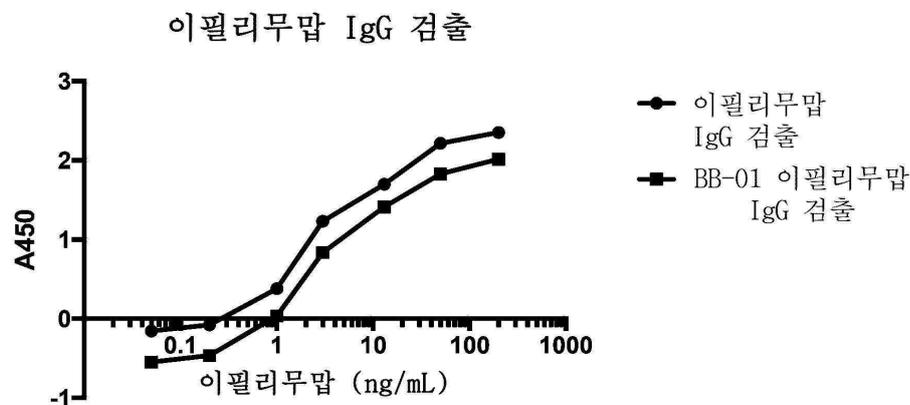
도면132c



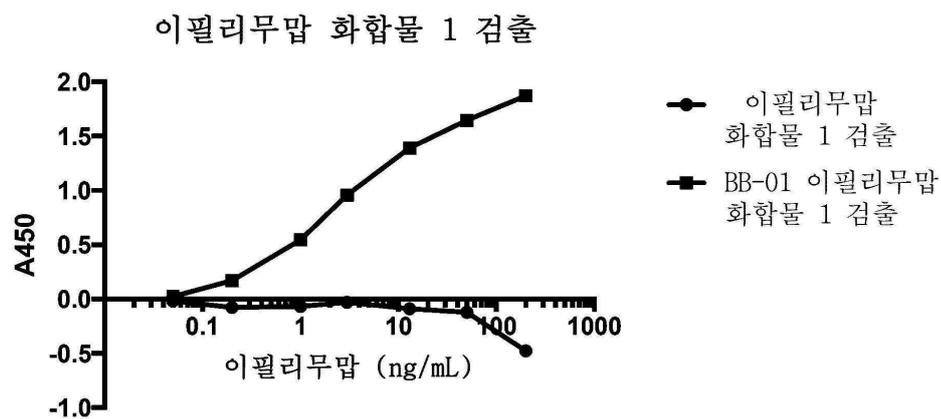
도면132d



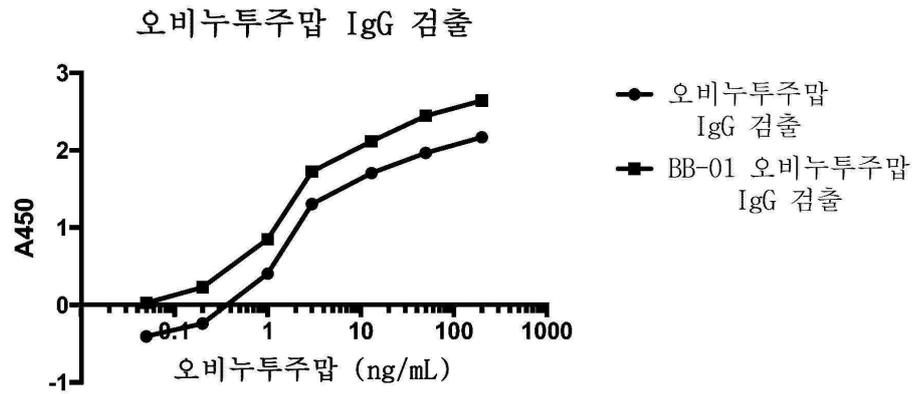
도면132e



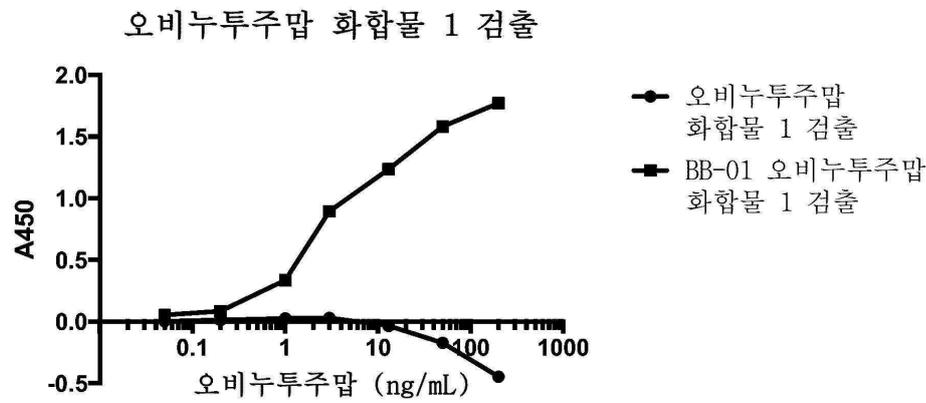
도면132f



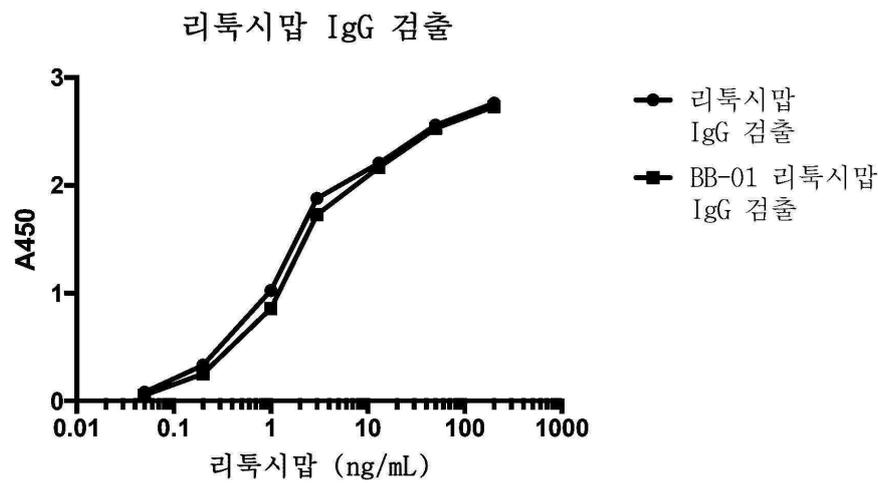
도면132g



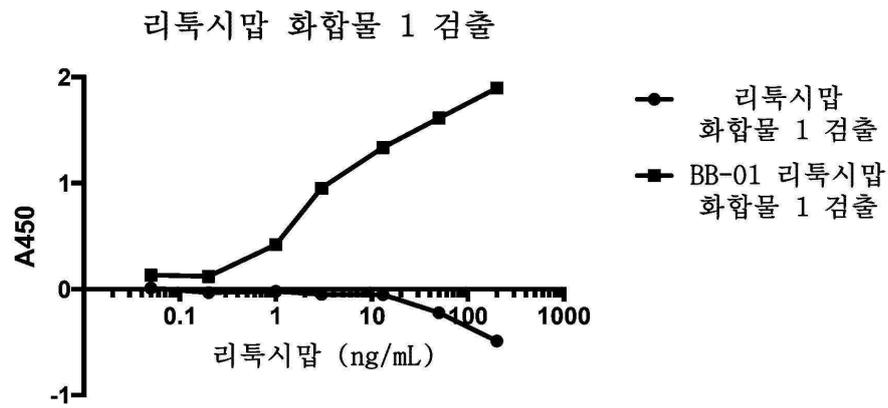
도면132h



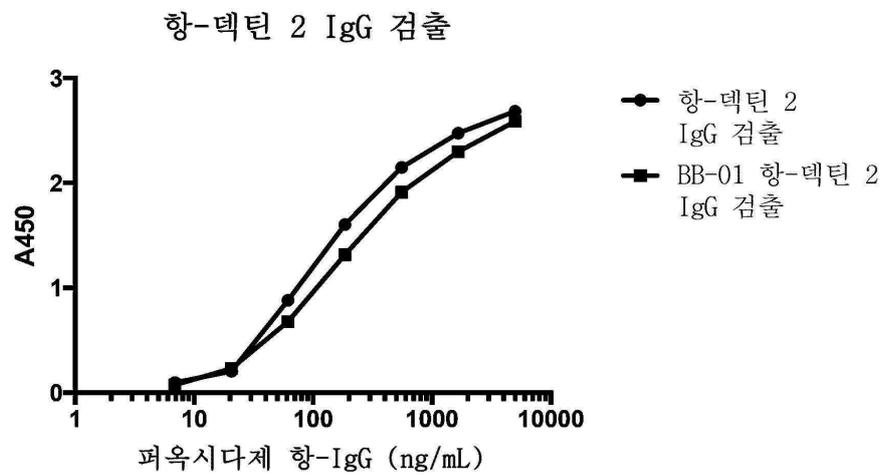
도면132i



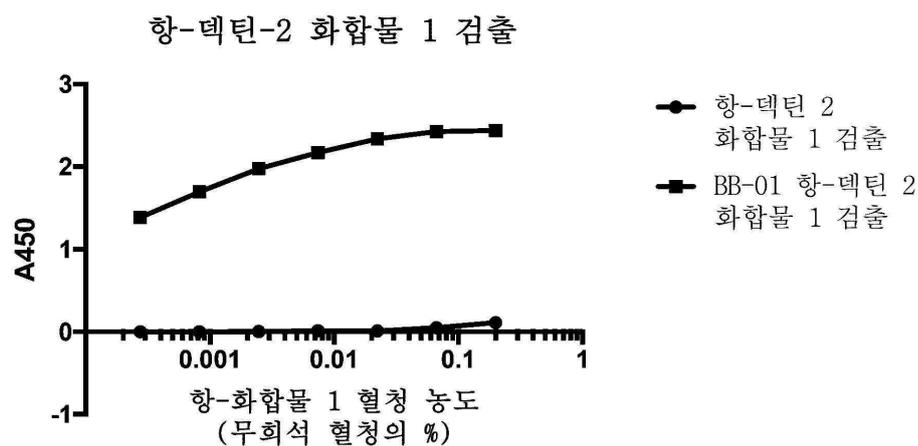
도면132j



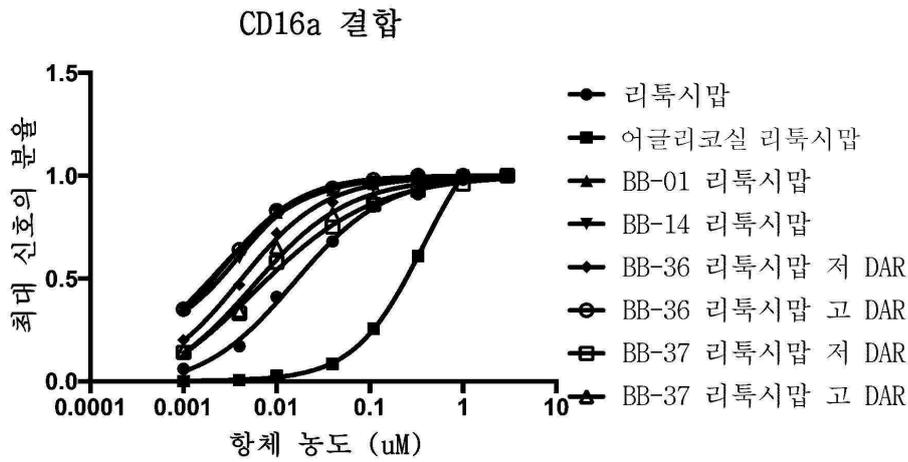
도면132k



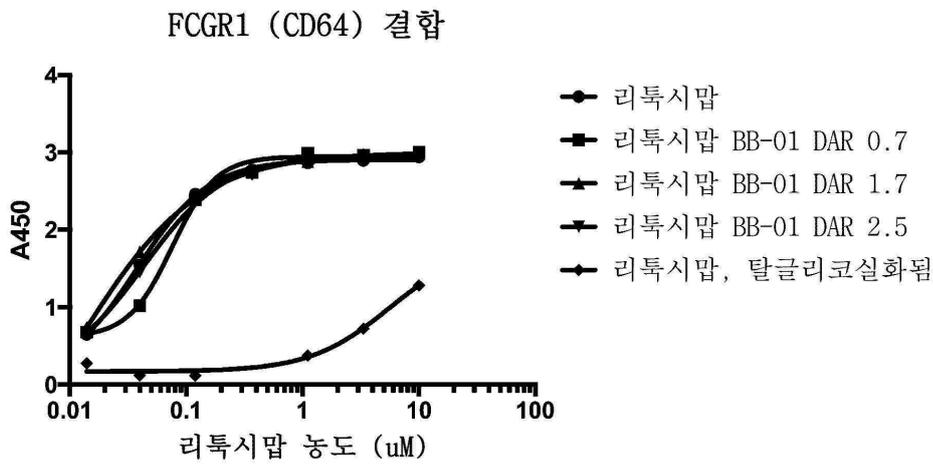
도면132l



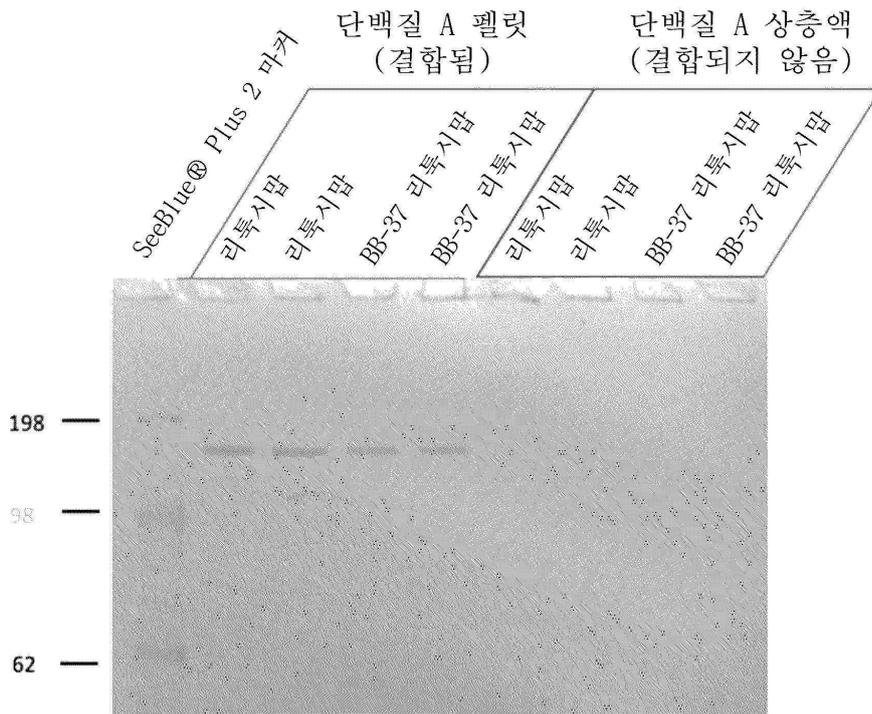
도면133a



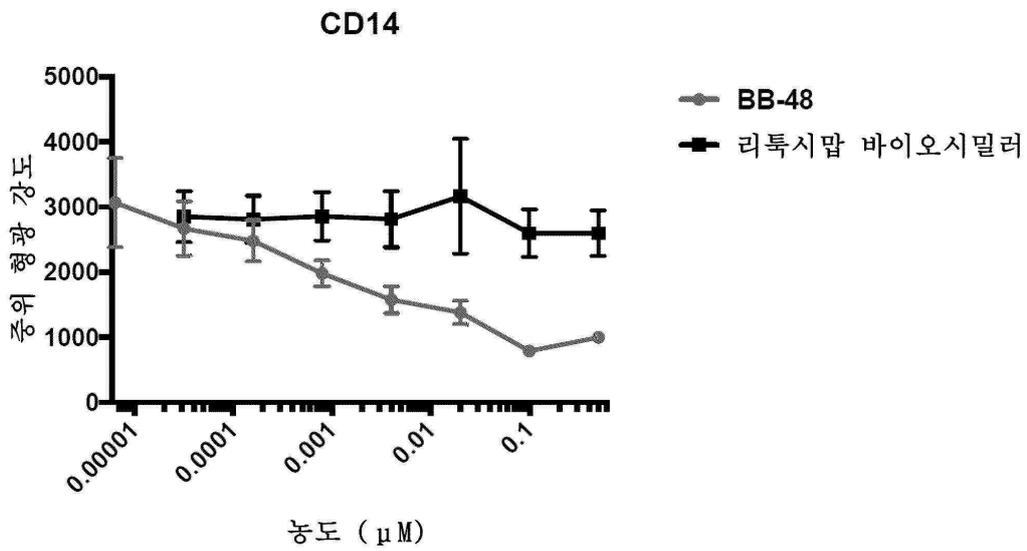
도면133b



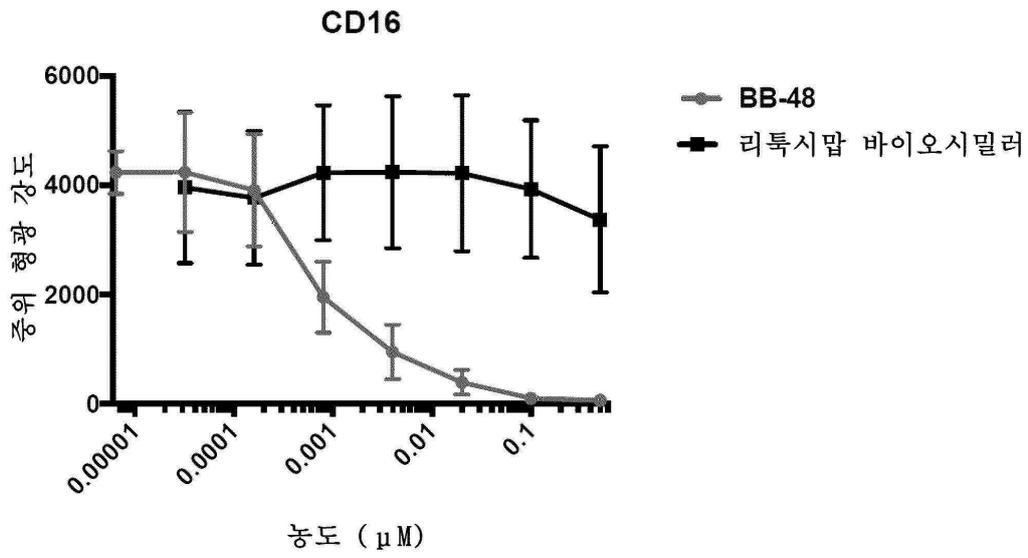
도면133c



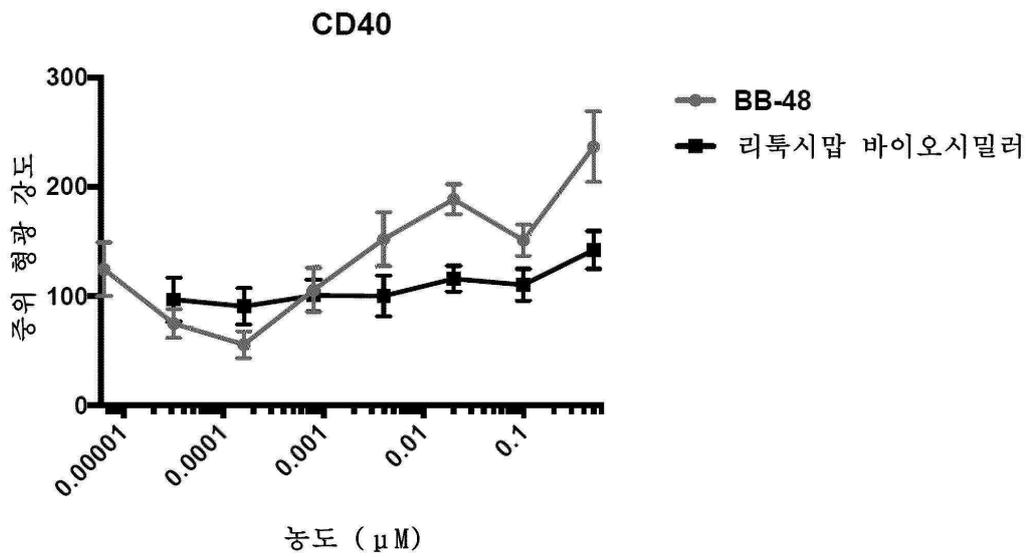
도면134a



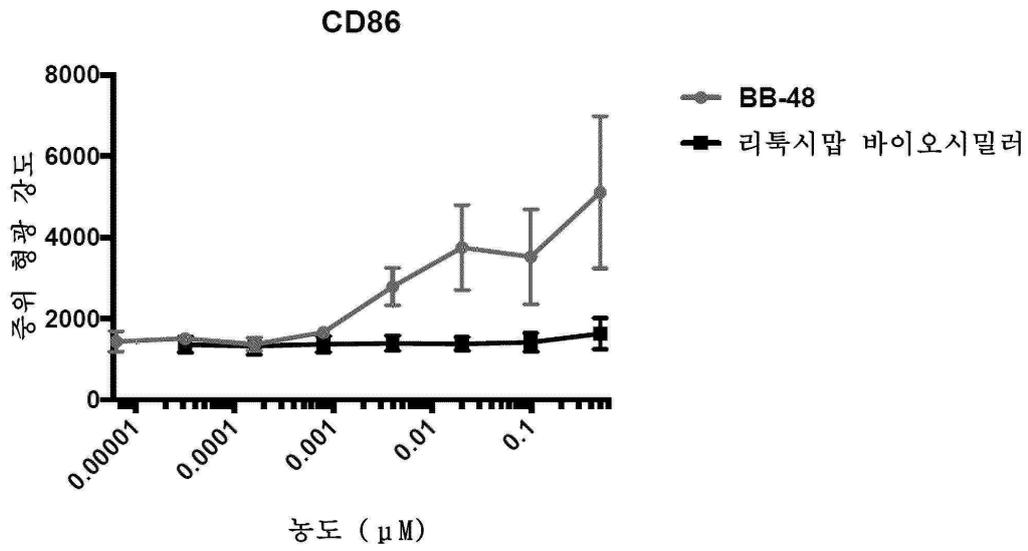
도면134b



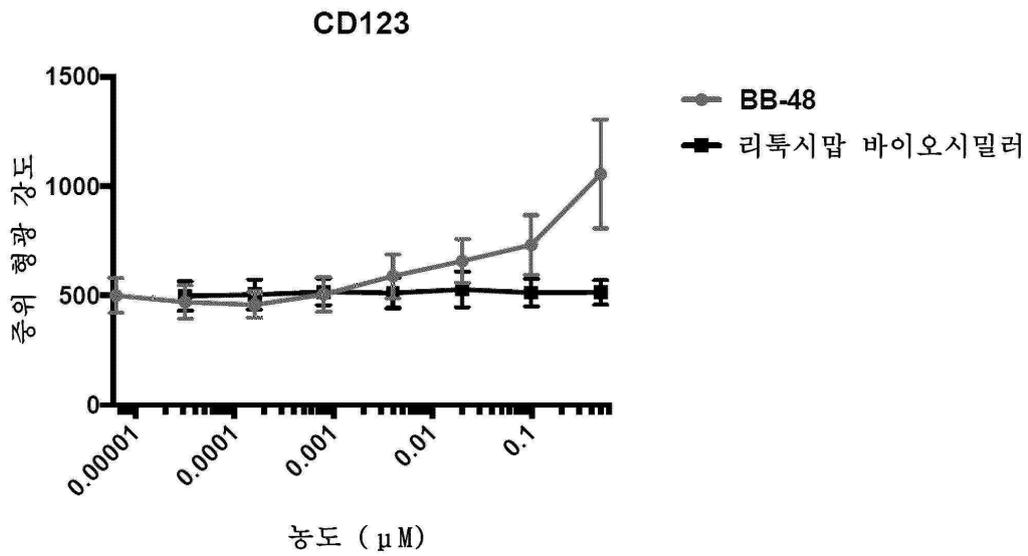
도면134c



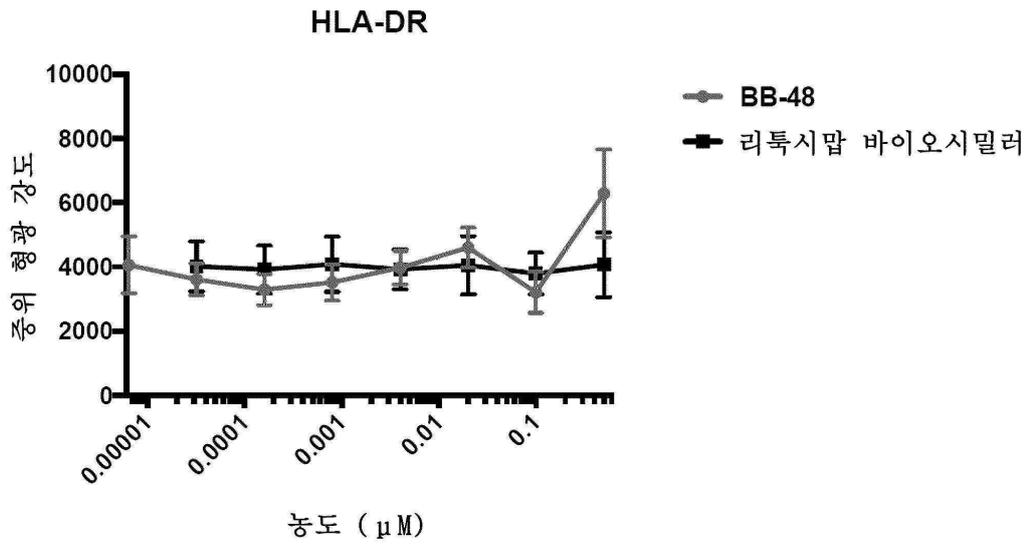
도면134d



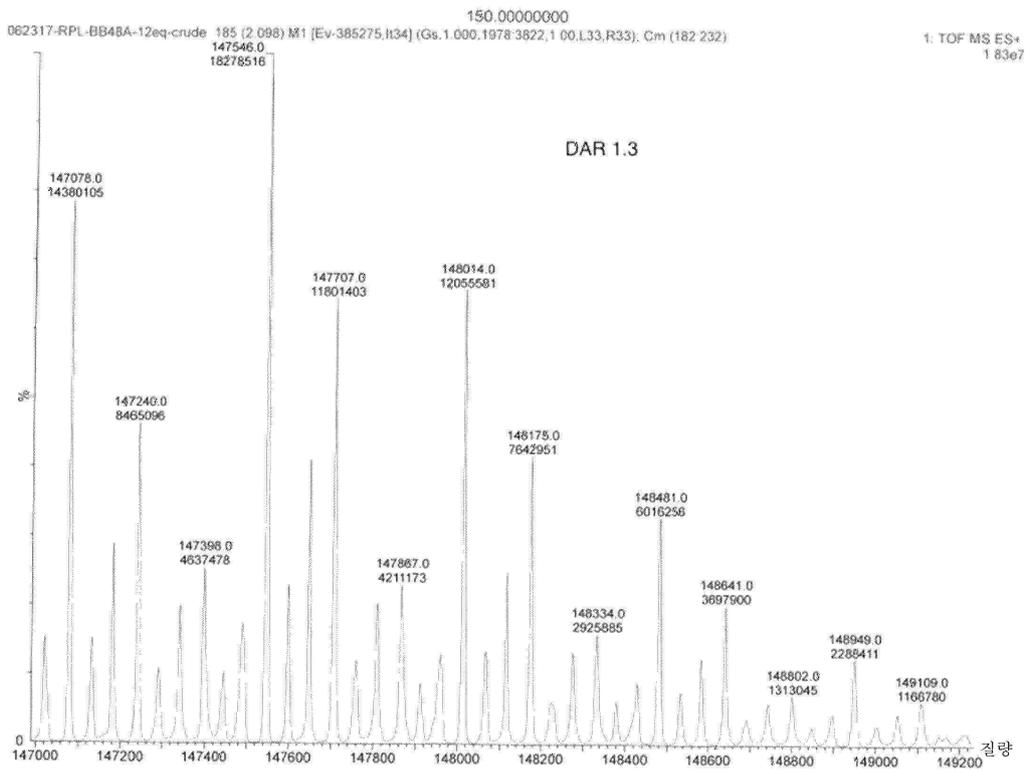
도면134e



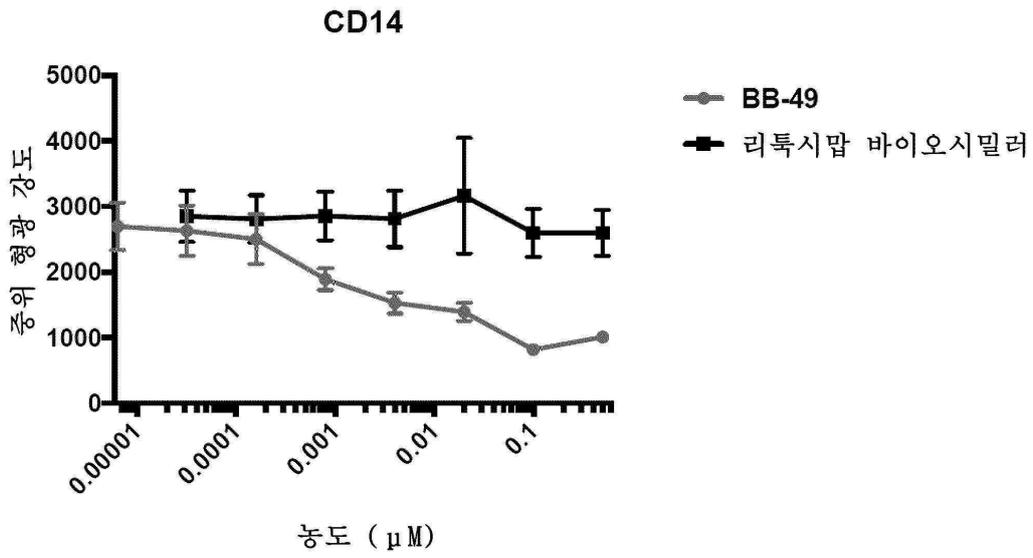
도면134f



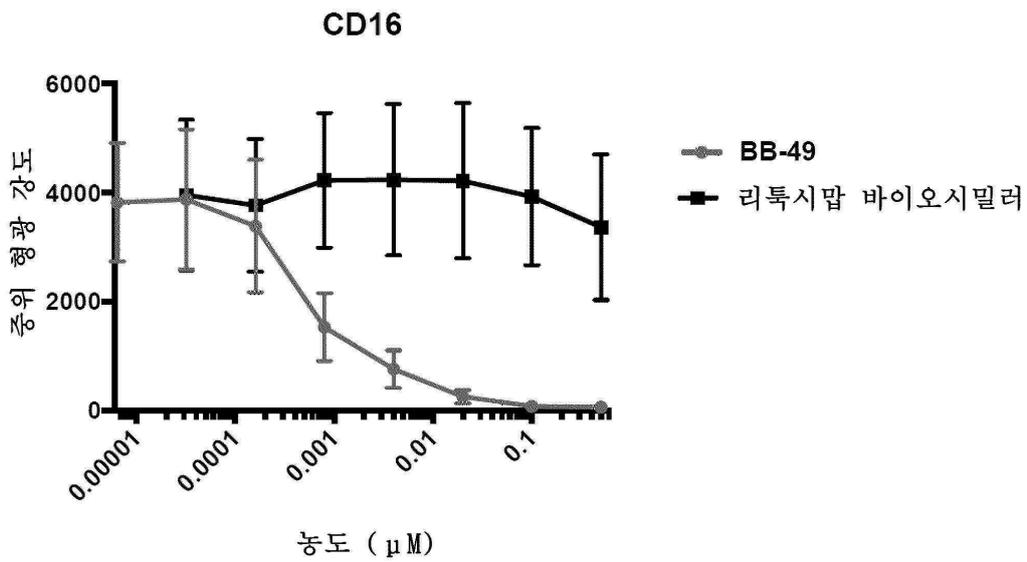
도면134g



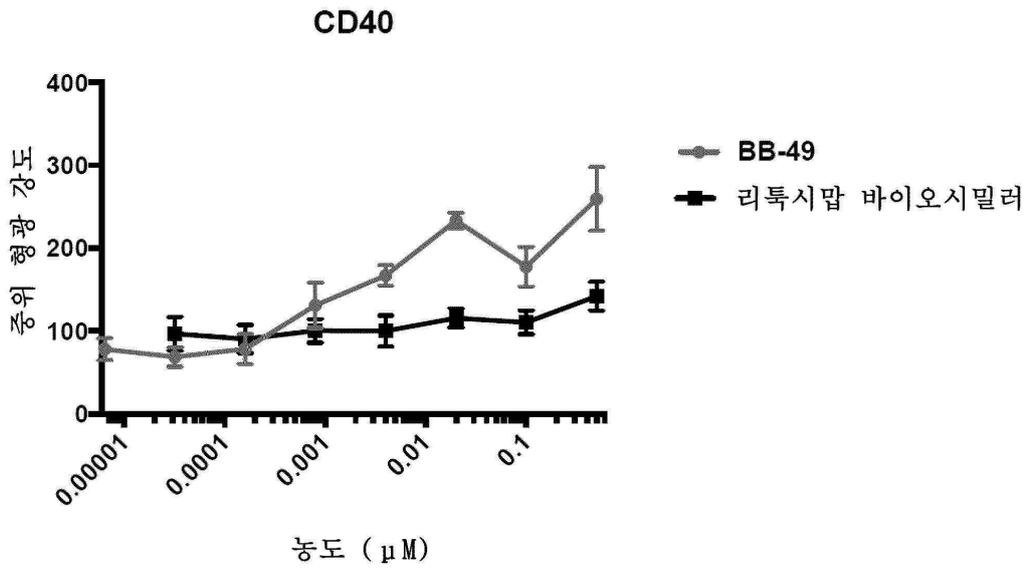
도면135a



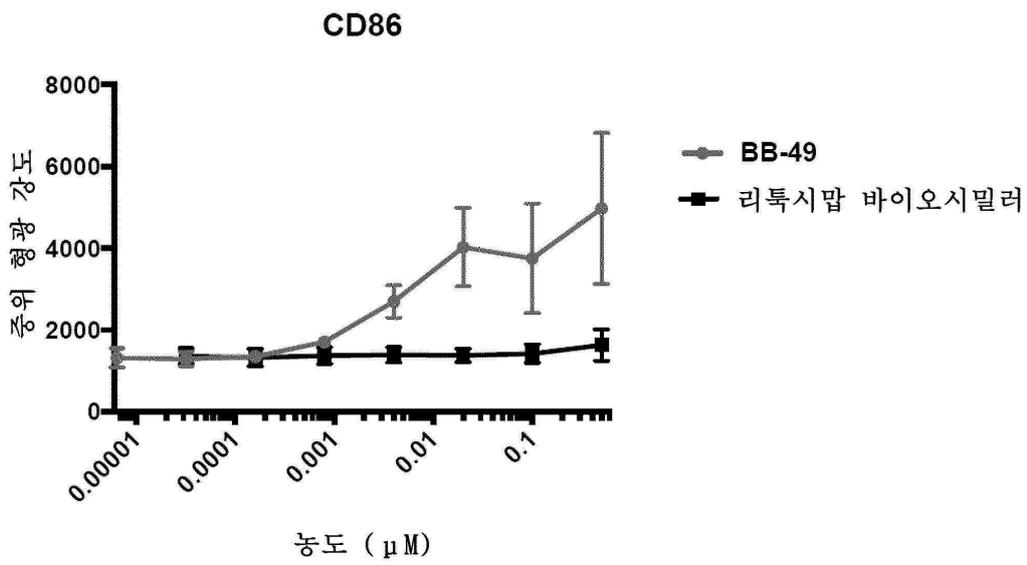
도면135b



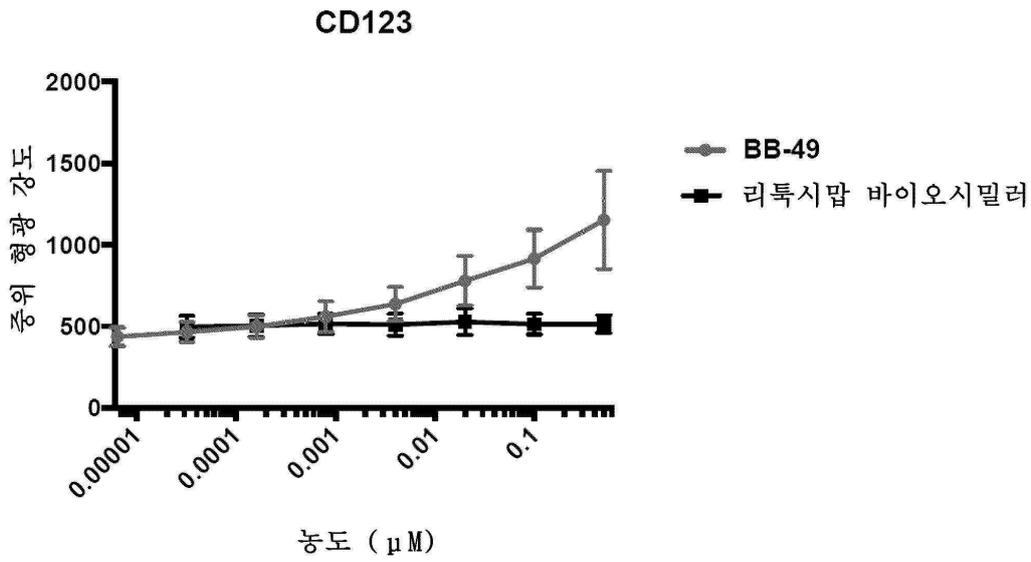
도면135c



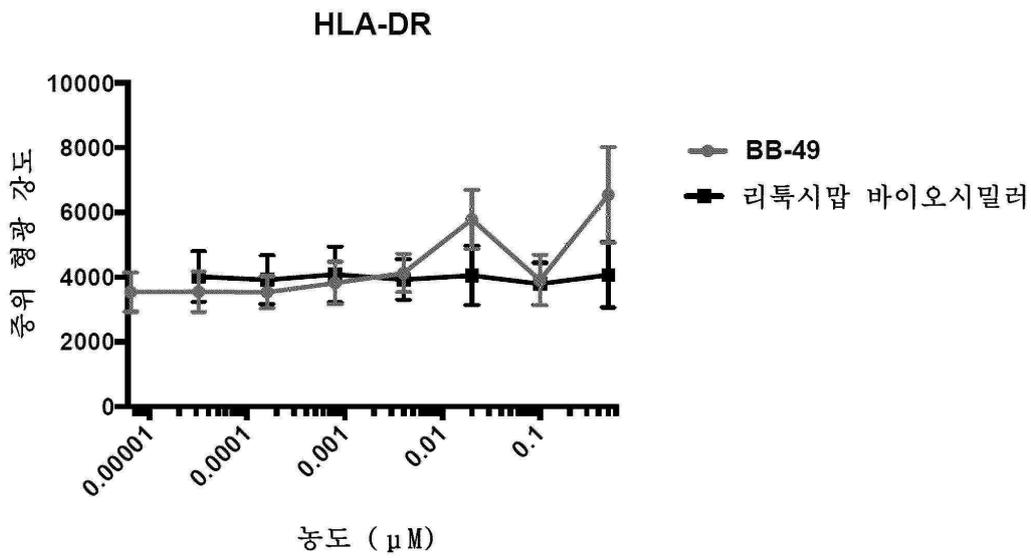
도면135d



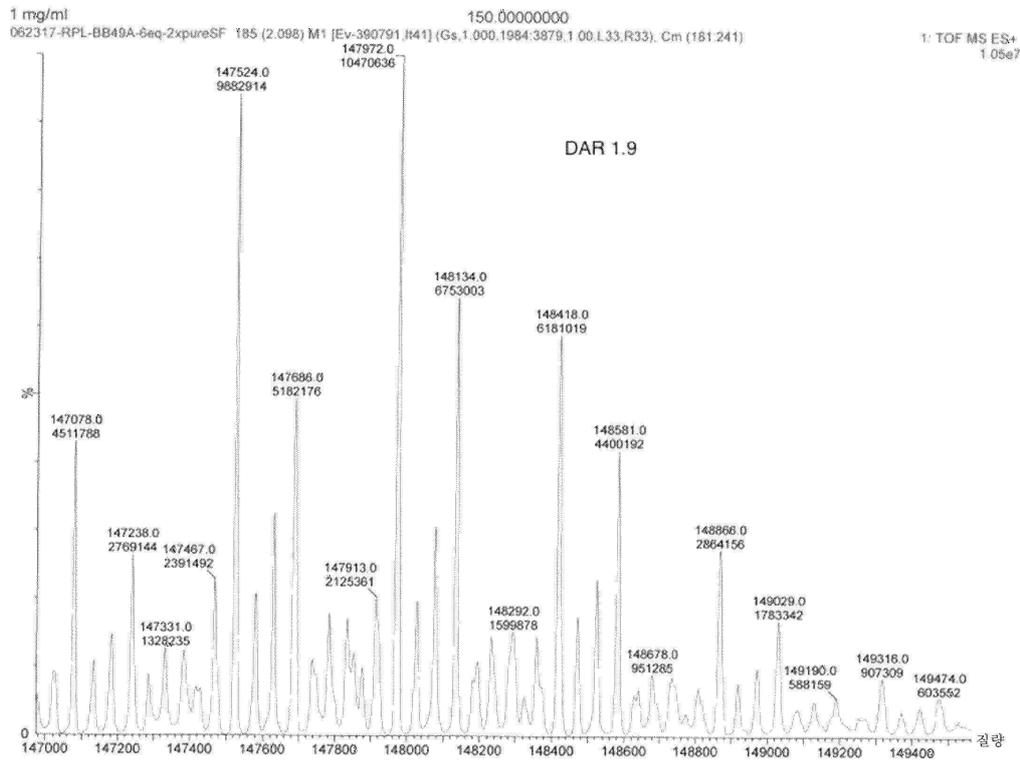
도면135e



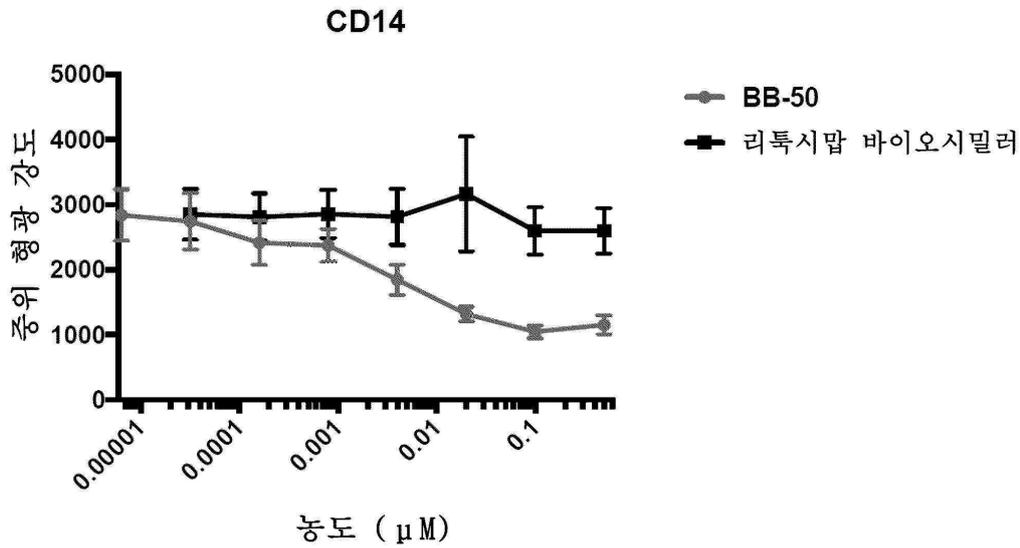
도면135f



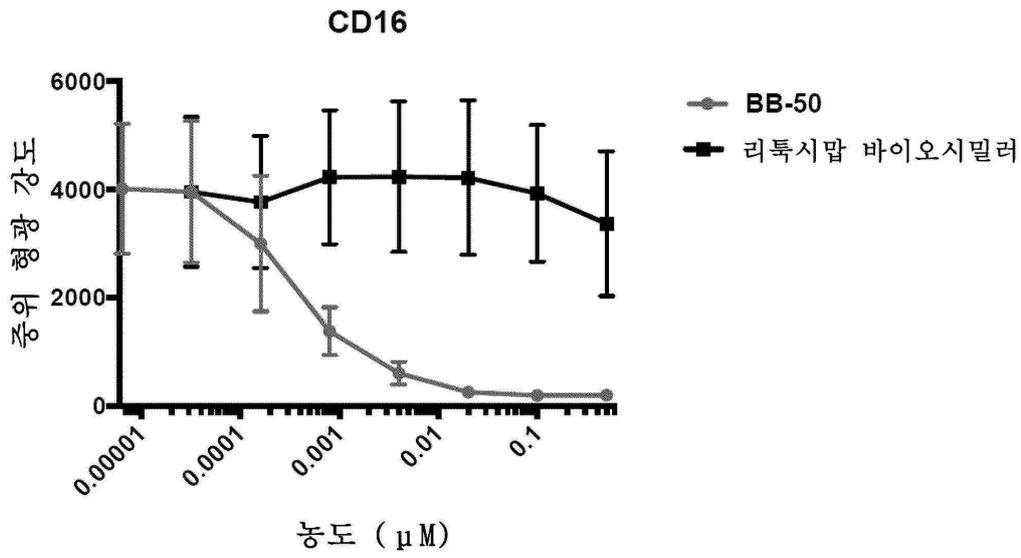
도면135g



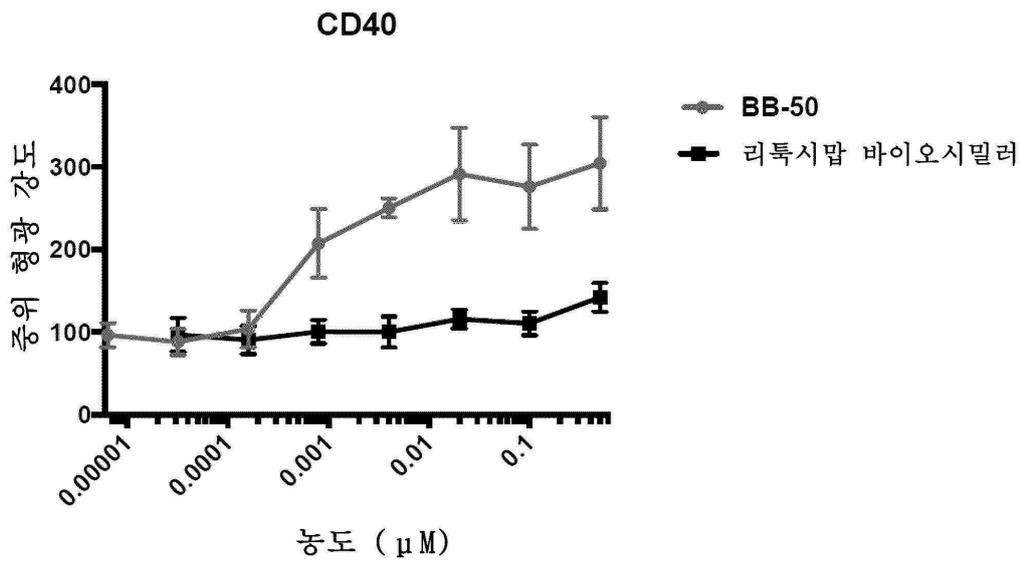
도면136a



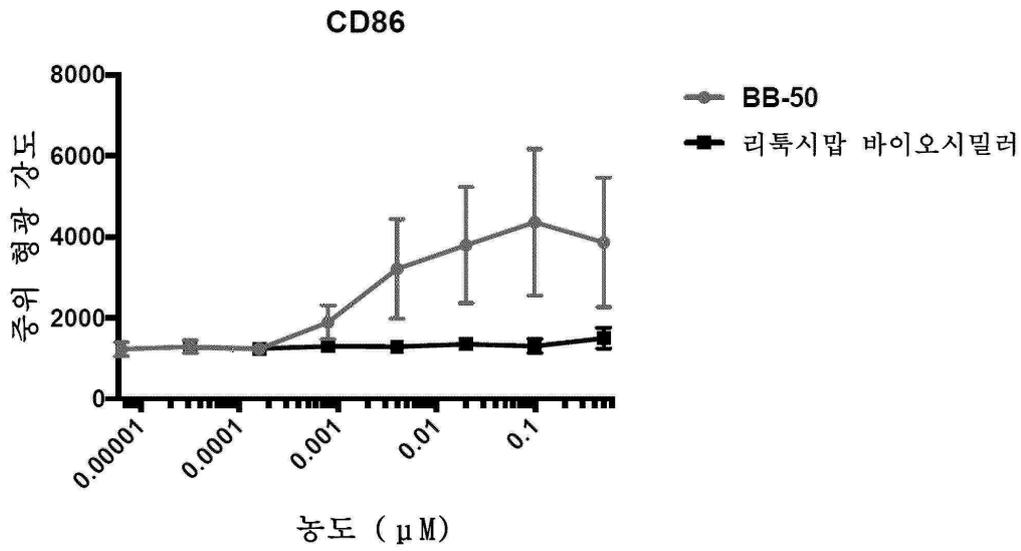
도면136b



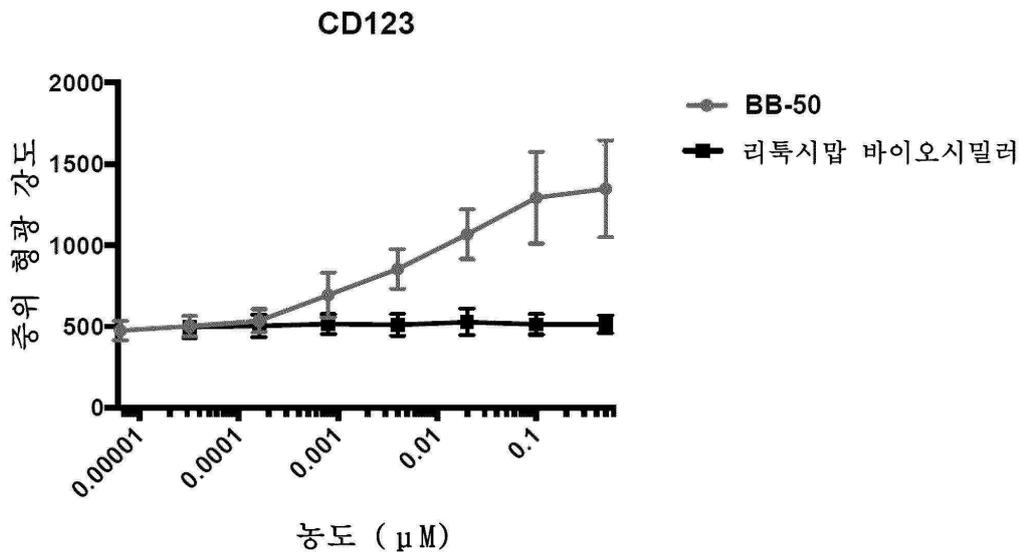
도면136c



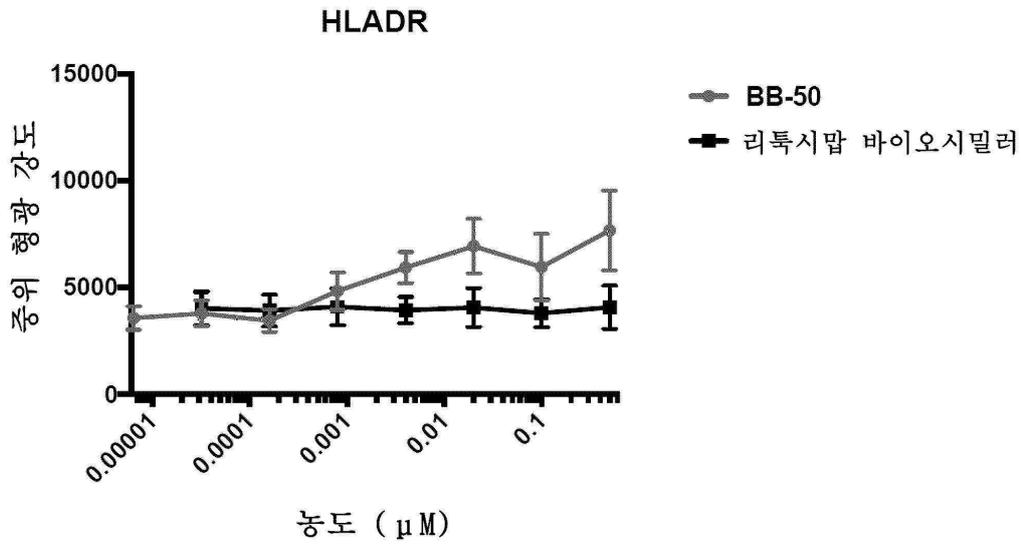
도면136d



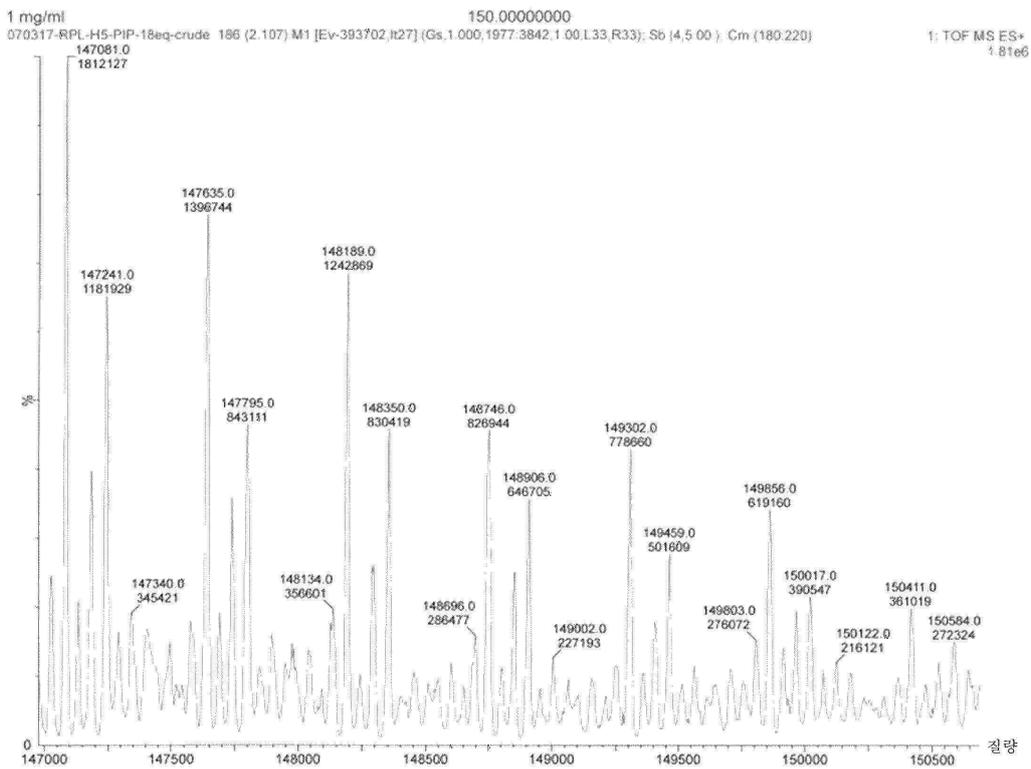
도면136e



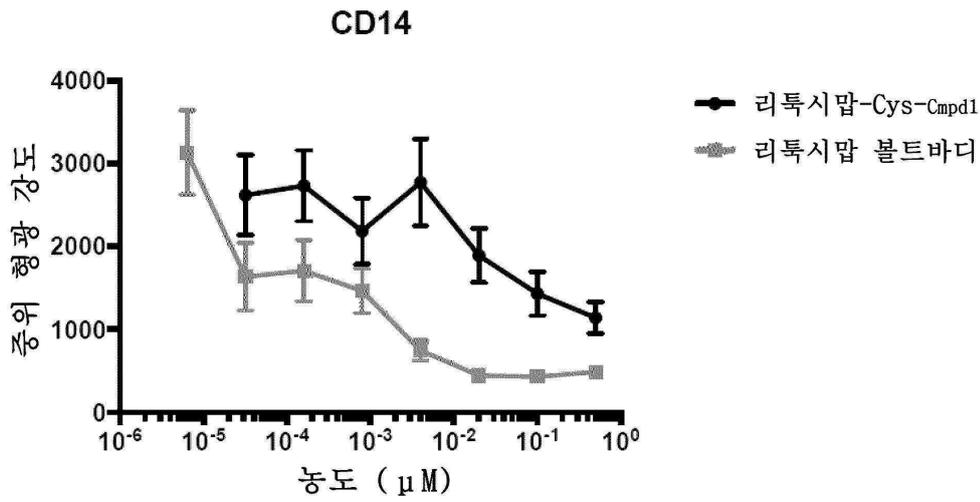
도면136f



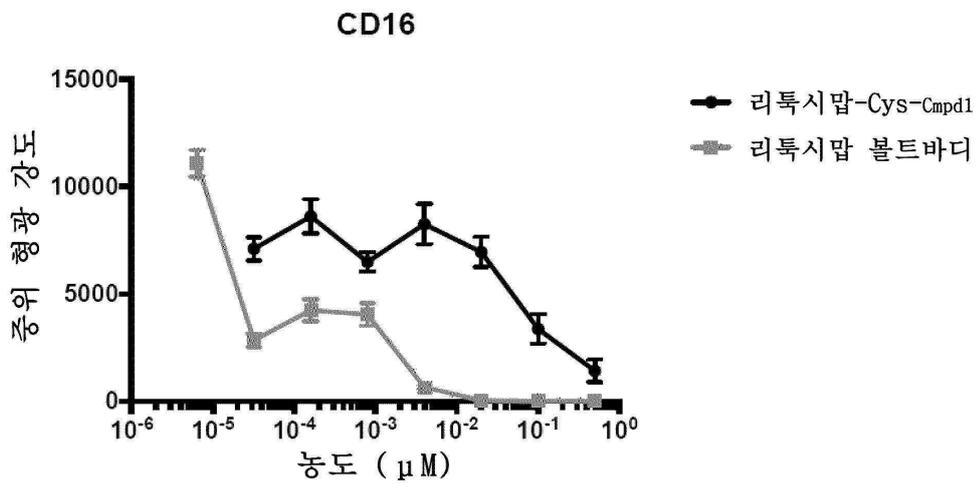
도면136g



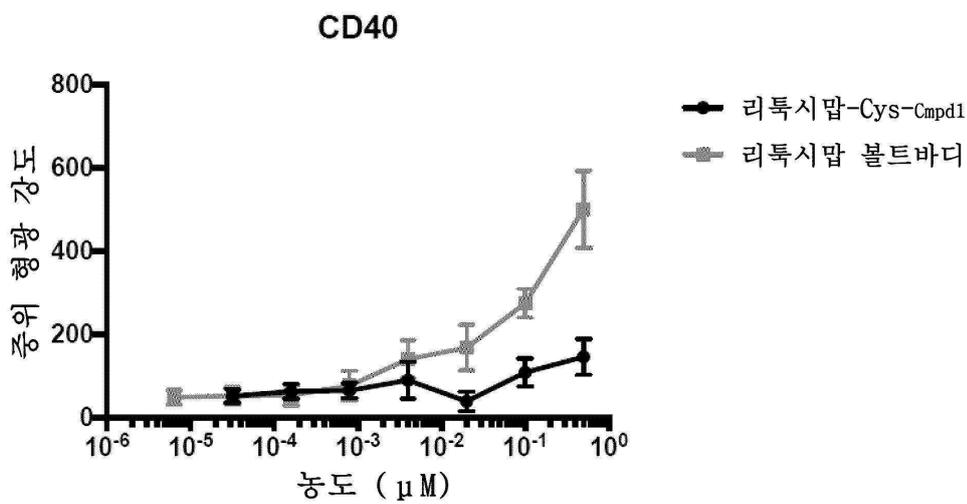
도면137a



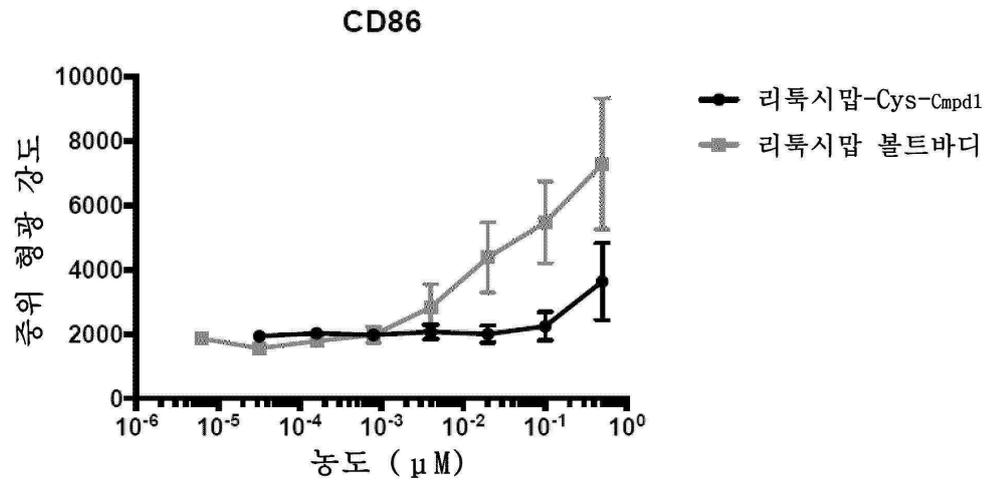
도면137b



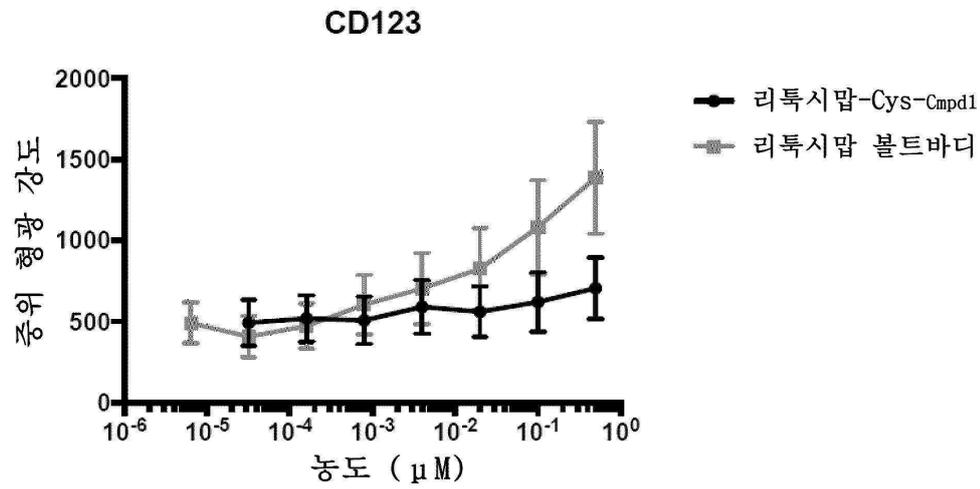
도면137c



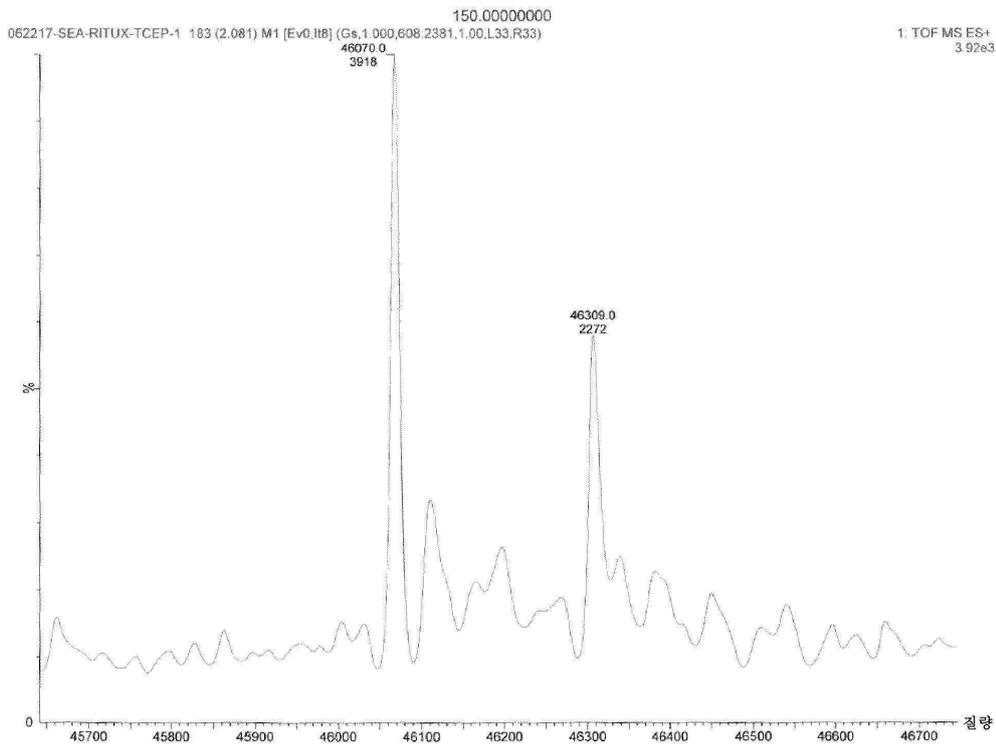
도면137d



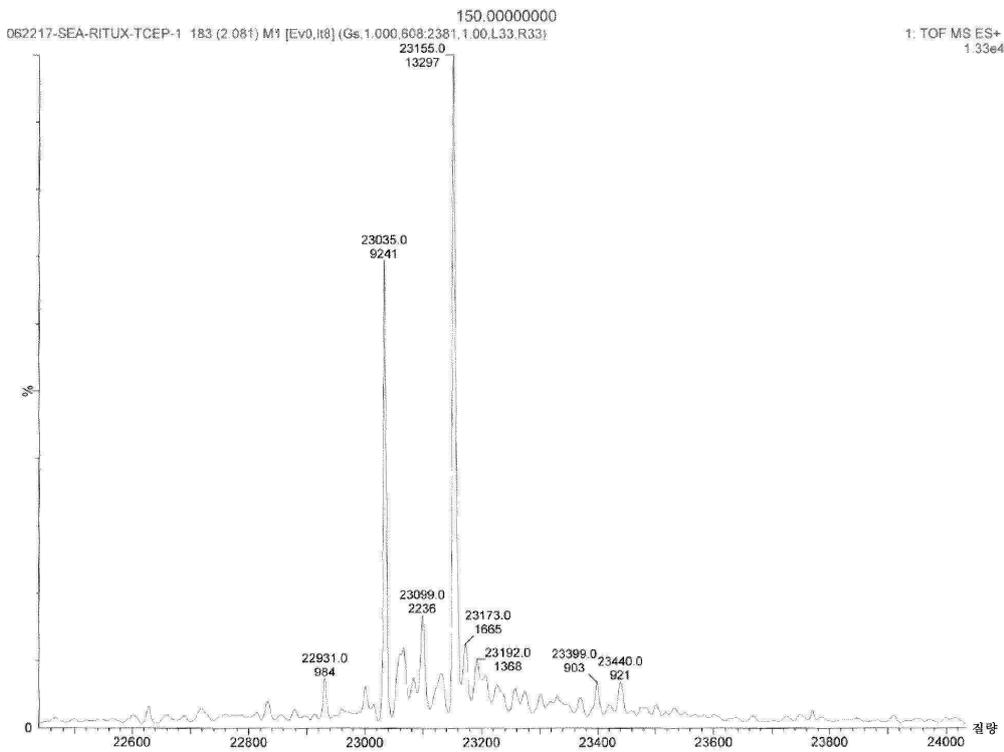
도면137e



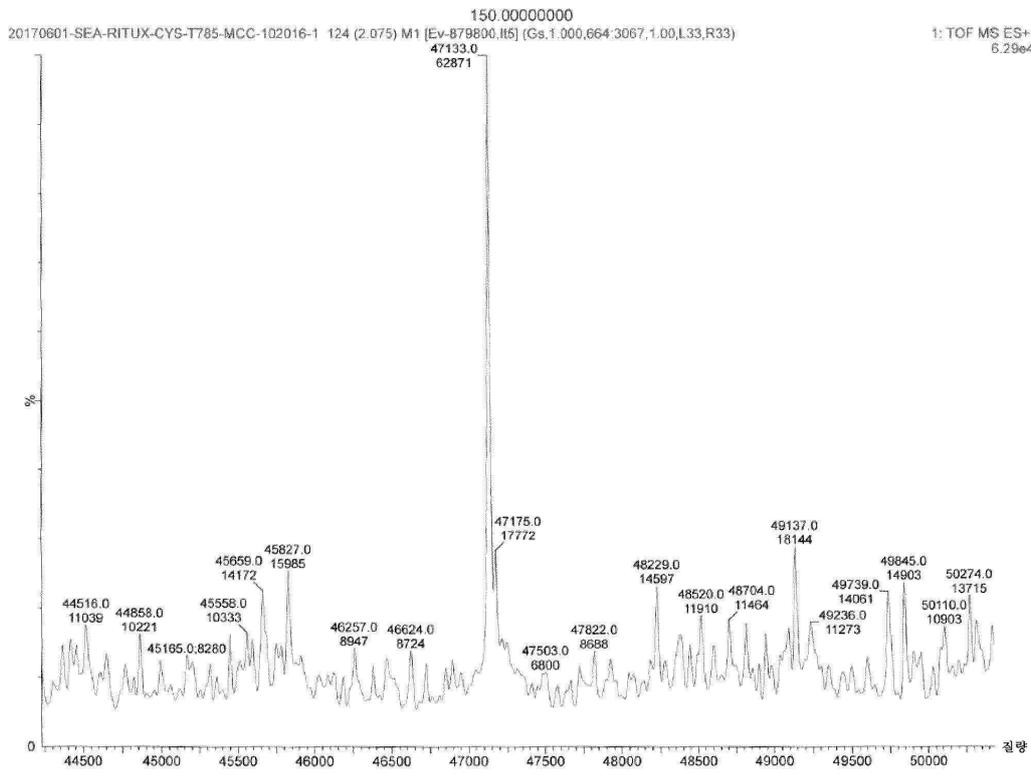
도면137f



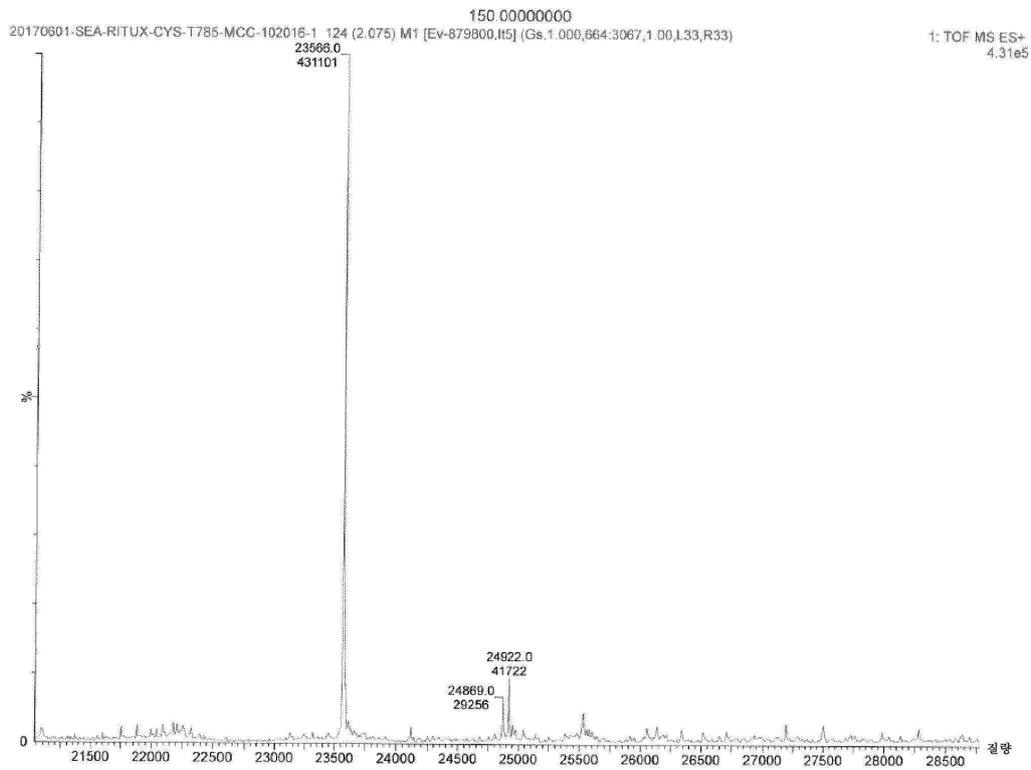
도면137g



도면137h



도면137i



도면138a

Heavy_withRituxInsert

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |
GGATCTGGGATCGCTCCGGTCCCTCACTGGGCAAGGCGACATCGCCC
ACAGTCCCAGAGAGTTGGGGGGAGGGTTCGCAATTGAACGGGTGCTTA
GAGAAGTGGCCGGGTAACATGGGAAGTGAATCTCGTATCGCTGCC
GCCTTTTCCCGAGGGTGGGGAGAACCTATATAGTGCAGTAGTCGCC
GTGAACGTCTTTTTCGCAACGGTTTGGCCGAGAACACAGCTGAAGCT
TCGAGGGCTCGCATCTCTCTACGAGCCGCGCCCTACCTGAGGCC
CCATTCACCGCGTTCAGTTCGCTTTCCGCGCTCCCGCTGTGTGCC
TCTGAACCTCCGCTCCCGCTTAGTAACTTAAAGCTCAGGTCGAGACC
GGGCTTTGTCGGGGCTCCCTTGGAGCTACTAGACTAGCGGGCTCT
CCACGGTTGCTGACCTGCTGCTCAACTACGCTTGTGTTCGTTTCGTT
TCGTTCTGCGCGTACAGATCAAGCTGTGATGGATCGAGCTATTT
TCACCGGTGAATTCGTGAGATCACCGGGAAGGAGGGCCACCATGTACAG
GATGCACTCTCTGTTCGATTCACATAGCTTTCGCACTGTTCACCGAGG
TGCAGCTGCAGCAGCCGGAGCGAATTGGTGAAGCCAGGGCTCCGCTG
AAAATGAGTTCGCAAGGCTCCGGATATACCTTTACCTTTTACACATGCA
TTGGTGAACAGACTCCCTGGCTGGCTGGATGGATCGAGCTATTT
ACCTCGAAGCGTGCACCTTCTTACACCAAGAAATTCAGGGCAAGGGC
ACCTGACCGAGATAAGTCCAGAGCAGCCCTACATGCGAGCTGAGCTC
CTGACTAGCGAAGCAGCGCTGTCTACTATTGGCCCGCTCCACTTACT
ACGGCGTGCAGTGTACTTCAAGTGTGGGGGGCGGCACTACCGTGACT
GTCTCCGCTGACACCAAGGCCATCGCTTCCCTTGGCCGCTCCACTTCT
CTCAAAGCACCTTGGGGGACAGCGCCCTGGCTGCTGTCAAGG
ACTACTTCCCGAAGCGGTGAGGCTGCTGGAAGCTAGGCGCCCTGACC
AGGGCGTGCACACTTCCCGCTGCTTACAGTCTCAGGACTACTACT
CCTCAGCAGCTGTGACCGTCCCTCCAGCAGCTTGGGGCCAGCAGACT
ACATCTCAGCTGATACAAAGCCAGCAACAGAGGTGGACAGAA
CTTGAAGCCAAATCTTGGACAAACTCACACATGCCACCGCTCCAGC
ACCTGAACCTCCGGGGGAGCTCAGCTTCTCTTCCCGCCAAACCCA
AGGACACCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGTACATCGCTGTGTGGT
GACCTGAGCCAGAGAGCTTGGAGTCAAGTTCACCTGGTACGCTGGAGG
CGTGAAGCTCATATATGCAAGCAAGCCGCGGGAGGCTGTGACAA
GCACATACCTGTGTGAGCTCCTCACCGCTCCGACAGGAGCTGGCTG
AATGGCAAGGATCAAGTGAAGGCTCCCAAGAGCCCTCCAGGCCCC
CATCGAAGAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCGAGAACACAGG
TGTACAGCTTCCCGCTCCGGGGAGAGTGAACAGAACAGGCTGAGC
CTGCGCTGTGTGAGAGCTTCTTACAGCTGATGATGGATTTGAGCA
GGAGCCAAATGGCAGCCGGAGAACTACAAAGCCACCGCTCCCTGTC
TGGACTCCGAGCGCTCTTCTCTCACAGCAAGCTCACCGTGACAAAG
AGCAGTGGCAGCAGGGGAAGCTTCTCACTCGCTCGATGATGATGAGG
TCGTGCAACCACTACAGCAGAGAGGCTCTCCCTGCTCCGGCTAAAT
GACTCCGCTGGTGGAGCTTCTTACCTCCAAATCAGGCTACTGATG
CCACACTAGAAATGAGTGAAGAAATGCTTTATTTGAAATTTGATG
GCTATTGCTTTATTTGAAACATTAAGCTCAAACTAAACAAATTAACA
CAACAAATGCATTATTATTTAGTTCAGGTTAGGGGGAGGTTGGGAGG
TTTTTAAAGCAAGTAAACCTTACAAATGTGATGGAAATTAATTTA
AAATGAGGATGCAAACTTAACTTAACTCCAAATCAGGCTACTGATG
CCTTTCTGAGGATGAATAGGCATAGGCATAGGGCTGTGCAATG
TGCAATAGCTTTGACGCTCACCCTCTTCAATGAGTTAAGATATAG
TGATTTCCCAAGTTTGAAGTACTTCTCAATCTTCTATGTTTAAAT
GCATGACCTCCGATTTCTCTTTAGTAAATATTCAGAAATAAATTA
AAATGCAATTTGATGAAATTAATTTTATTTGAGGAAATGAGGAA
TGCTAAGGCCCTTCAATATCCCCAGTTTGTAGTTGAGTATGGGA
ACAAGGAACCTTAAATAGAAATGGACAGCAAGAAAGCGAGCTTAGC
TTATCTCAGTCTGCTCTTGGCACAAGTGCAGGAGTGGCCGCGCG
GGTCCGCGAGGGGAACTCCCGCCGACGGCTGCGGCTGAGCTGGCTC
ATGGCCGCTGGAGGCTCCCGGAGCTTCCGACAGCTCCGAGCTCCGACC
CTCGCGTACAGCTGCTCCAGCCGCGCACACACCCAGGCGAGGCTG
TGTCCGCAACCTGGTCTGGAGCCGCTGATGAACAGGGTCAAGCTG
TCCCGGACACACCGGGAGTCTGCTCCAGCAAGTCCCGGGAGAACCC
GACGCTCGCTCGAACTGAGCTTCCGCGGAGCTCCGCGCGGTGA
GCACCGAGGGGCTGGTCAACTTGGCCATGAGGCTCCCTGTGAGG
AGAGGAAGAGAAAGGTTAGTCAATTTGCTATAGTGGTGTATATA
CTATGAGATATACTATGCCAATGATTAATTTCAACTAGGGCTGAGG
GTTCAATGCTCCTTTTCTGCTGCTCCCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CCGGCATAGACACTCACTGACTTACCAACTACAGAGGGAGAGGCA
GAGGTTGAGACAGGCGCCGGGACCCGCGAAGCTCCGAGGGGAGGCGG
AGGGCGCTCTTTTATGTTGCTCCGCGCTCCGAGGCGAGGGGCTCGG
GAGGCTAGCGGCCAATCTGGGTTGGCAGGAGGGGGCCAAAGCCGCTG
CCTGACCAATCCGGGACATAGGAGTCTCAGGCCCCCGCCCAAGCAA
GGGAACTCACGCTCTACGCGCCGCGCTTGTGAATGGGGCTTGG
GGGGTTGGGGCTGACTAGTCAAAACAACCTCCATGAGGCTCAATGG
GGTGGAGCTTGGAAATCCCGTGGAGTCAAACCGCTATCCAGCCCATG
ATGTACTCCAAACCGCATCATGTTAATGGGATGATTAATACGTA
GATGACTGCCAAGTAGGAAGTCCCAATAGGTCATGACTGGGCTAAT
GCCCGCGCCATTACCTCATGACCTAATGGGGGCTACTTGGC
ATAGGATACCTTGTGACTGCAAGTGGGAGTTACCTGAAATACTC
CACCAATGAGCTCAATGGAAGTCCCTATTTGGCTTACTATGGGAACAT
ACGTCATTATTGACGTAATGGGGGGGCTGTTGGGGCTGAGCCAGGC
GGGCCATTTACGTAAGTTATGTAACGCTGCAAGTTAATTAAGACATG
TGGCAAAAGCGCGCAAAAGCGGAGACCTTAAAGAGCGCGCTGCT
GGGCTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAAATTCGAC
GCTCAAGTCAGAGTGGGAAACCCGACAGGACTTAAAGATACAGCGCG
TTCCCGCTGGAAGTCCCTGCTGGCTCTCTGTTCCGACCTGCGGCT
TACCGATACCTGTCGCTTCTCTCCCTTCCGGAGGCTGGGCTTCTC
ATAGCTCACGCTGAGTACTCACTTCCGCTGAGCTGCTGCTGCAAG
CTGGCTGTGACGAAACCCCGCTTACGCGCCGCGCGCTTACTC
CGGTAACATCGCTTGTAGTCAACCCGCTAAGACAGGACTTATCGCCAC
TGGCAGCAGCCACTGGTAAACAGGATTAGCAGAGCGAGGATATGAGCGGT
GCTACAGACTTCTTGAAGTGTGGCTTAACTAGGCTACATAGAGAAAC
AGTATTTGCTGCTGCTGCTCAAGCCTGACTCTCGAAAGAG
TGTGACTCTTGTCCGCAAAACACCGCTGATGAGGCTGCTTT
TTGTTGCAAGCAGCAGATACGCGCAGAAAGAAAGATCTAAGAA
TCCCTTTGATCTTTCTACGGGCTGACGCTCAGTGAACGAAACTCAC
GTTAAGGATTTGTGCAAGGCTGATTAATTAAGTTTAAATCAGCGGCC
CGAATAAATACTTTATTTGATGACTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
GAACTGTAATACATGCTCTCCATCAAAACAAAGCAAAACAAACAA
ACTAGAAATAAGGCTGTCAGGAGTCAAGTGGCAGGAGGAGAACTTC
TCTATCGAA

```

도면138b

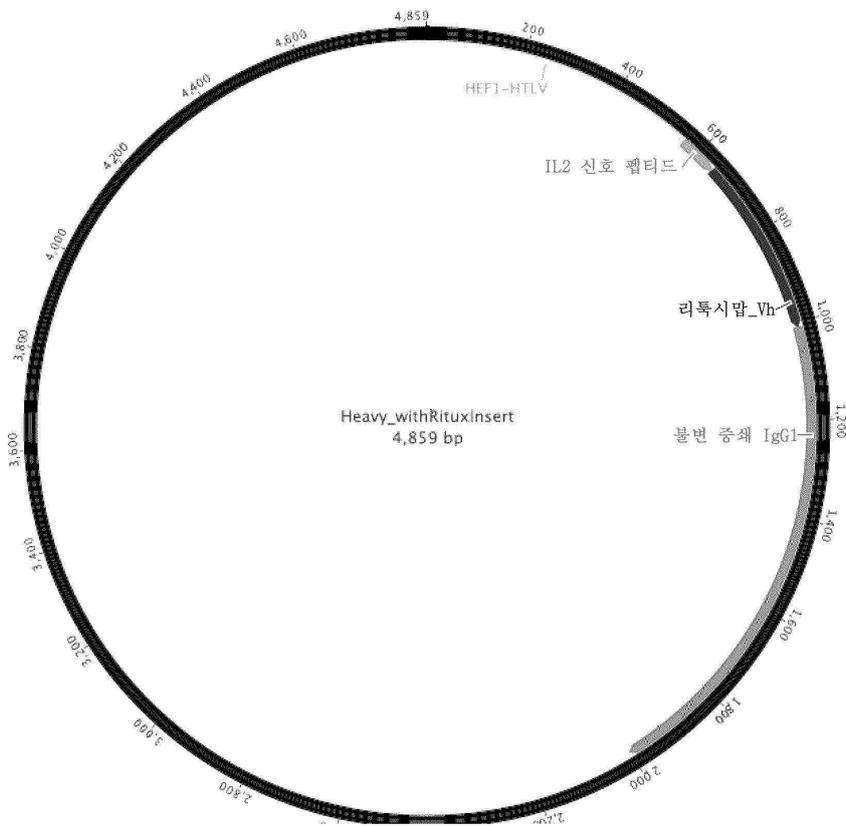
LC-V205C_withRituxInsert

```

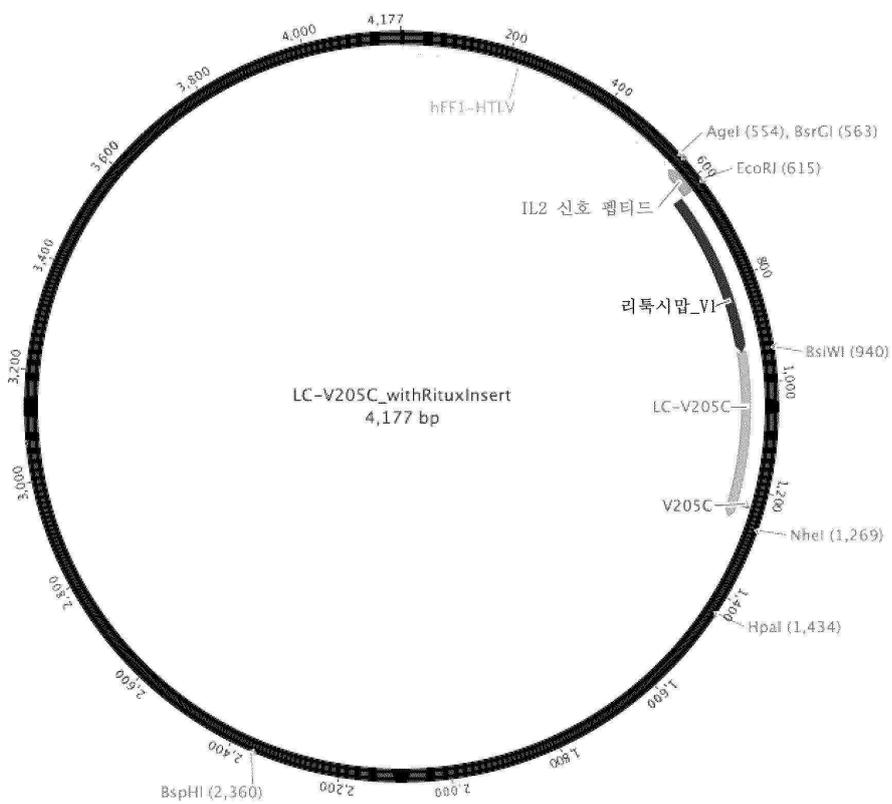
1      10      20      30      40      50
GGATCTGGGATCGCTCCGGTGCCTCGTGGGAGAGGCGACATCGCCC
ACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGAGGGGTCGGCAATGAAACGGGTGCTTA
GAGAAGGTGGCGGGGTAACATGGGAAAGTGATGCTGCTACTGGCTCC
GCCTTTTCCCGAGGGTGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCC
GTGAACGTTCTTTTCGCAACGGGTTTGGCCCGCAGAACACAGCTGAAGCT
TCGAGGGGTCGCATCTCTCTTACAGCGCCCGCCCGCTACCTGAGGCC
GCCATCCACCGGGTGGAGTCGGCTTTCGCCGCTCCCGCTGTGGTGCC
TCCTGAACGCGTCCGGCTTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCCGAGACC
GGCCFTTGTCCGGGCTCCCTTGGAGCTACCTAGACTCAGCCGGCTCT
CCAGCTTTCGCTGACCTGCTTGTCAACTCTACGCTCTTTGTTTCGTTT
TCTGTTTCGGGCTTACAGATCAAGCTGTGACCGGGCTACTCTGAGA
TCACCGGTACAGTACAGATCAACTCTCTGCTTTGCAATGCACTAGTC
TTGCACCTGTCAACAATTCACAATTCCTCTTCCAGAGCCCGCAATC
CTGAGCGCCAGCCCGGGGAGAAGTGACCATGACCTGCCCGCTCTAG
CAGTGTGCTCCTACATTCACATGTTCCAGCAAAGCCGGGAGTTCTCCA
AGCCCTGGATTATGCCACATCAACCTGGCTTGGGGTCCAGTTAGG
TTTCCCGGAGCGGCTCCGGCACATCTACAGCTCACCATTCTAGAGT
TGAGGCAGAGGAGCGGCTACCTATTTAGTCAAGCTGACAGTGAAC
CGCTACCTTTGGAGGGCCACAACTGGAGATTAACAGTACGGTGGCT
GCACCATCTGCTTCACTTCCCGCATCTGATGAGCAGTGAATCTGG
AAGTGCCTTGTGTGCTGCTGAATAAATCTTATCCAGAGAGGCCA
AAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAG
AGTCTCACAGGAGGACAGCAAGGACAGCACTACAGCTTCCAGCAGC
CTGACCTCAAGAGTACAGATCAAGCAAGCAAGCTTACAGCTGCG
AAGTCACTCAGGCTGAGCTTCCGCTGCACAAAGAGCTTCAACAGG
GGAGAGTGTAGAGGGAGCTAGCTGCAGATGAAGATACATGATGAGT
TTGGACAAACCAACTAGAATGCAAGTGAATAAATGCTTATTGTGAA
ATTGTGATGCTATTTGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTTGCTTTA
TTTGTAAACATTATAAGCTGCAATAAACAAGTTAACAAACAACATTCAT
TCAITTTATGTTTTCAGGTTTCCAGGGGAGGTTGGGAGGTTTTTAAAGCA
AGTAAACCTTCAAAATGGGTAATGAAATTAATCTAAAATACAGCATA
GCAAACTTAACTCAAATCAAGCTCTACTTGAATCCTTTCTGAGG
GATGAATAAGGCATAGGCATCAGGGGCTTGGCAATGTCATTAGCTGT
TTGCAGCTCACCTTCTTCAATGAGTTTAAAGATATAGTATTTTCCCA
AGGTTGAACAGCTCTTCAATTTCTTTATGTTTAAATGCACTGACCTCC
CACATTCCTTTTGTAAATATTCAGAAATAATTTAAATACATCATG
CAATGAAATTAAGTTTTTATAGGCAAGTCCAGATCTCAGGCGC
TTCATAATATCCCCAGTTTGTAGTGTGACTTAGGGAAACAAAGGACCT
TAAATGAAATTTGGACAGCAAGAAAGGAGCTTCTAGCTTTAGTTCCTGG
TGTACTTAGGGGGAGTGGTTCTCAATGGTGTGTTGACAGCTTGCCA
TTCATCTCAATGAGCAAAAGCAGTCAAGGACATAGTCAGAGATGAGCTC
TCTGCACATGCCACAGGGCTGACCACTTGTGATGCTGTCACCTCAT
CAGAGTAGGGGTGCTGACAGCCAAATGGTGTCAAGTCTTCTGCGCG
TTGCTCACAGCAGACCAATGGCAATGGCTCAGCAGCAGAGTACCTT
GCCAATGAGGCTCAATGAGCAGCAGAGATGATCTCCCACTCTGG
TCCTGATGGCCCGGACATGGTGGTGTGTTGCTCATAGAGCATGGTG
ATCTCTCAGTGGGACCTCCACCAGCTCCAGATCTGCTGAGAGATGTT
GAAGTCTTTCATGATGGCTCCCTCTGTCAGGAGAGGAAAGAAAGAGT
TAGTCAATTCCTATAGTGAATTTATATATATCTTATGATTAATG
TCAAAATAGGGCTAGGTTTCAATAGCCCTTTTCCGCACTCCGCCA
TCTCTGCCCACCTTTCCAGGCATAGACAGTCAAGTACTTACCAAACT
CACAGAGGGGAGAGGCGAAGCTTGAAGCAGACCCGGGAGCCCGAA
CTGCGAGGGGAGTGGCTAGGCGGCTTCTTTATGTTGCGCCGCGCTC
GGAGCAGGGGCTCGGGGAGGCTTAGCGGCAATTCGGGTGGCAGGAG
CGGGGCGAAGGCGTGCCTGACCAATCCGGAGCACAATAGGAGTCTCAG
CCCCCGCCCAAGCAAGGGGAGTCAAGGCTGATGCGCCAGCGTGT
TGTGAAATGGGGCTTGGGGGTTGGGGCTTACTAGTCAAAACAAAC
TCCATTTGACGCTAATGGGTGGAGACTTGGAAATCCCGCTGAGTCAAA
CGCTATCCAGCCCATGATGTAAGTACGCAAAACCGCATCATGTTAAT
AGCGATGACTAATACGTAGATGACTGCCAAGTAGGAAAGTCCATAAGG
TCATGACTGGGCAATAAGCCAGGGGCGCAATTAACCTCATTTGACGCTA
ATAGGGGCTACTTTGGCATAAGTACACTTGTACTGCTCAAGTGGG
ACTTTACCTAATACTCCACCTTTCAGCTCAATGGAAACTCCCTATTG
CGTACTATGGAAACATACGCTAATTTGACCTCAATGGCGGGGTCG
TTGGCGGTGAGCAGGGGCTTATCCCTAAGTATGTTAACGCTGCG
AGGTTAATTAAGAACATGTGAGCAAAAGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCG
TAAAAAGGCGGCTTGTGCGCTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACG
AGCATCACAAAATGACGCTCAAGTCAAGGTTGGCAAAACCGCAGGA
CTATAAAGATACAGGGGTTTCCCGCTGGAAGTCCCTGTCGCTCTCC
TGTTCGACCTTCCGCTTACCGGATACCTGCGCTTCTCTCTCGG
GAAGCGTGGGCTTCTCATAGCTCAGCTGATGATCTCAGTTCGGTG
TAGTCTGCTGCTCAAGTGGGCTGTGTGACGAAACCCCGTTCAGCC
CGACCGCTGGGCTTATCCGTAACATCGTCTTGTGATCCAAACCGGTAA
GACACGCTTATCGCCACTGGCAGGCGCACTGTAAACAGGATTAGCAGA
GCGAGTATAGGGGCTGCTAGAGCTTCTCAAGGCTGGCTTACTACTA
CGGTACACTAGAAGAACAGTATTTGGTATCTGGCTCTGCTGAAGCAG
TTACTTCCGAAAAGAGTGTGAGCTTGTGTCGCGAAACAAACACC
GCTGTAGCGGTGTTTTTTGTTGCAAGCAGCAGATACGCGCAGAAA
AAAAGGATCTAAGAAGATCTTTGATCTTTCTACGGGTCTGACGCTC
AGTGAACGAAACCTCAGCTTAAAGGATTTGCTATGGCTAGTAAATTA
ACATTTAAATCAGCGGCGCAATAAATAATCTTTATTTTCAATACATCTG
TGTGTTGTTTTTGTGTAATCTGAATAACATACGCTTCCATCAAAA
CAAAACGAAACAAAACAACACTAGCAAAATAGGCTGTCCCGAGTCAAGT
CAGTGCCAGAACATTTCTATCGAA

```

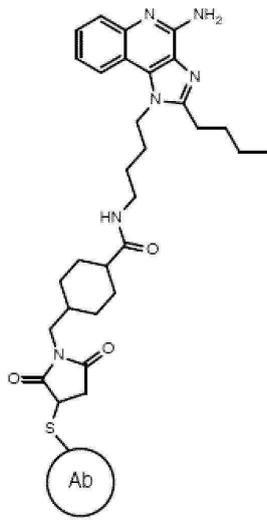
도면138c



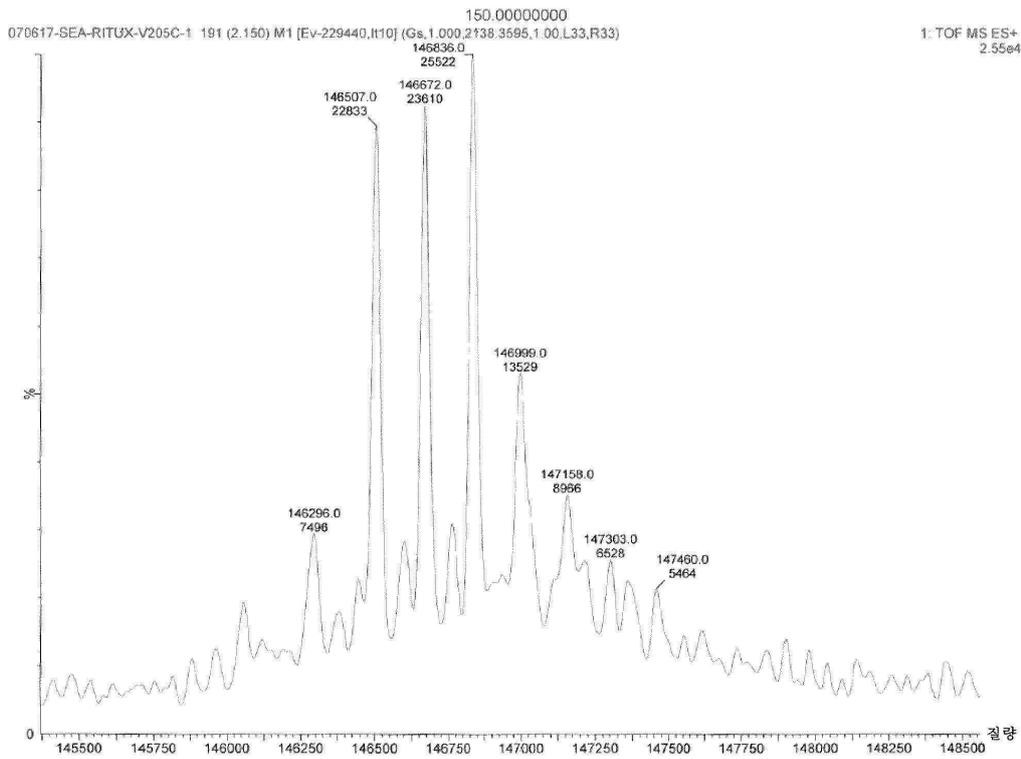
도면138d



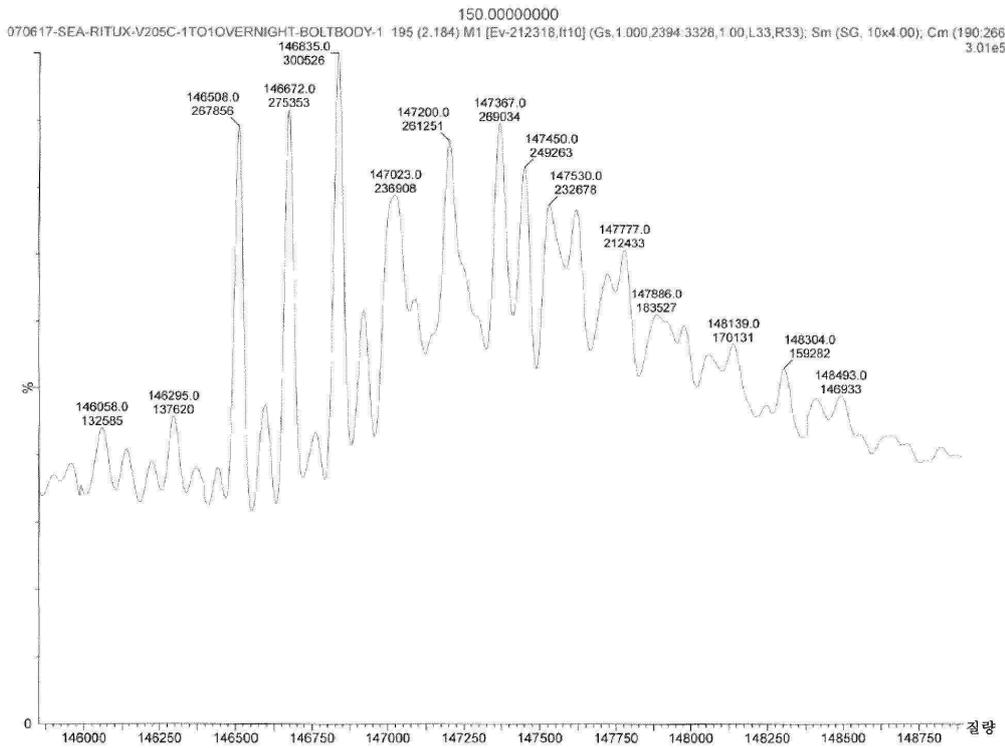
도면138e



도면138f



도면138g



서열목록

SEQUENCE LISTING

- <110> ALONSO, Michael N
 ENGLEMAN, Edgar G
 ACKERMAN, Shelley E
 KENKEL, Justin
 LEE, Arthur
- <120> ANTIBODY ADJUVANT CONJUGATES
- <130> STAN-1340W0
- <140> PCT/US17/41268
- <141> 2017-07-07
- <150> US 62/359,626
- <151> 2016-07-07
- <150> US 62/359,627
- <151> 2016-07-07
- <150> US 62/432,530
- <151> 2016-12-09
- <150> US 62/522,623

<151> 2017-06-20
 <150> US 62/526,306
 <151> 2017-06-28
 <160> 2
 <170> PatentIn version 3.5

<210> 1
 <211> 4859
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic sequence

<400> 1

```

ggatctgcga tcgctccggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg      60
agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa cgggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa      120
actgggaaag tgatgctgtg tactggctcc gcctttttcc cgagggtggg ggagaaccgt      180
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcгаа cgggtttgcc gccagaacac      240
agctgaagct tcgaggggct cgcctctctc cttcacgcgc ccgccccct acctgaggcc      300
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tectgaactg      360

ctccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgtccc      420
cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgacctg cttgctcaac      480
tctacgtctt tgtttcgttt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc      540
ctacctgaga tcaccggtga attcctgaga tcaccggcga aggagggcca ccatgtacag      600
gatgcaacte ctgtcttgca ttgactaag tcttgactt gtcacgcagg tgcagctgca      660
gcagcccga gcggaattgg tgaagccagg cgcttccgtg aaaatgagtt gcaaggcctc      720
cggatatacc tttacctctt acaacatgca ttgggtgaaa cagactcctg gtcgtggcct      780

ggaatggatc ggagctatth accctggaaa cggtgacact tcctacaacc agaaattcaa      840
gggcaaggcg acctgaccg cagataagtc cagcagcacc gcctacatgc agctgagctc      900
tctgactage gaagacagcg ctgtctacta ttgcgcccgc tccacttact acggcgggtga      960
ctggtacttc aacgtgtggg gggcccggcac taccgtgact gtgtctgcgg ctagcaccaa      1020
gggcccatcg gtcttcccc ttggcaccctc ctccaagagc acctctgggg gcacagcggc      1080
cctgggctgc ctggteaagg actacttccc cgaaccgggtg acggtgtcgt ggaactcagg      1140
cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta cagtccctag gactctactc      1200
    
```

cctcagcagc gtggtgaccg tgccctccag cagcttgggc acccagacct acatctgcaa 1260
 cgtgaatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaaa gttgagccca aatcttgtga 1320
 caaaactcac acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc ctggggggac cgtcagcttt 1380
 cctcttcccc caaaaacca aggacaccct catgatctcc cggacccttg aggtcacatg 1440
 cgtggtgggt gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag ttcaactggt acgtggacgg 1500
 cgtggagggt cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagtacaaca gcacgtaccg 1560
 tgtggtcagc gtctcaccg tcttcacca ggactggctg aatggcaagg agtacaagtg 1620

 caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg 1680
 gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gccccatcc cgggaggaga tgaccaagaa 1740
 ccaggtcagc ctgacctgcc tgggtcaaagg ctctatccc agcgacatcg ccgtggagtg 1800
 ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccag cctcccgtgc tggactccga 1860
 cggctccttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcagggtgc agcaggggaa 1920
 cgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac cactacacgc agaagacct 1980
 ctccctgtct ccgggtaaat gagtcttagc tggccagaca tgataagata cattgatgag 2040

 tttggacaaa ccacaactag aatgcagtga aaaaaatgct ttatttgtga aatttggat 2100
 gctattgctt tatttgaac cattataagc tgcaataaac aagttaaca caacaattgc 2160
 attcatttta tgtttcaggt tcagggggag gtgtgggagg ttttttaag caagtaaac 2220
 ctctacaaat gtggtatgga attaattcta aaatacagca tagcaaaact ttaacctcca 2280
 aatcaagcct ctacttgaat cttttctga gggatgaata aggcataagc atcaggggct 2340
 gtgccaatg tgcattagct gtttcagcc tcaccttctt tcatggagt taagatatag 2400
 tgtattttcc caaggttga actagctctt catttctta tgttttaaat gcaactgacct 2460

 cccacattcc ctttttagta aaatattcag aaataattta aatacatcat tgcaatgaaa 2520
 ataaatgttt tttattagc agaatccaga tgctcaaggc cttcataat atccccagt 2580
 ttagtagttg gacttaggga acaaaggaac cttaataga aattggacag caagaaagcg 2640
 agcttctage ttatctcag tctgctect ctgccacaaa gtgcacgcag ttgcccggcg 2700
 ggtcgcgcag ggcgaactcc cgccccacg gctgctgcc gatctcggtc atggccggcc 2760
 cggaggcgtc ccggaagtgc gtggacacga cctccgacca ctggcgctac agctcgtcca 2820
 ggccgcgcac ccacaccag gccagggtgt tgcggcac cacctggtcc tggaccgcgc 2880

 tgatgaacag ggtcacgtcg tcccggacca caccggcgaa gtcgtctcc acgaagtccc 2940
 gggagaacce gagccggtcg gtccagaact cgaccctcc ggcgacgtcg cgcgcggtga 3000
 gcaccggaac ggcactggtc aacttggcca tgatggctcc tctgtcagg agaggaaaga 3060

gaagaagggtt agtacaattg ctatagtgag ttgtattata ctatgcagat atactatgcc 3120
 aatgattaat tgtcaaaacta gggctgcagg gttcatagtg ccacttttcc tgcactgccc 3180
 catctcctgc ccacccttcc ccaggcatag acagtcagtg acttaccaaa ctcacaggag 3240
 ggagaaggca gaagcttgag acagacccgc gggaccgccg aactgcgagg ggacgtggct 3300

 agggcggctt cttttatggt gcgccggccc tcggaggcag ggcgctcggg gaggcctagc 3360
 ggccaatctg cggtaggcagg aggcggggcc gaaggccgtg cctgaccaat ccggagcaca 3420
 taggagtctc agccccccgc cccaaagca ggggaagtca cgcgcctgta gcgccagcgt 3480
 gttgtgaaat gggggcttgg gggggttggg gccctgacta gtcaaaacaa actcccattg 3540
 acgtcaatgg ggtggagact tggaaatccc cgtgagtcaa accgctatcc acgcccattg 3600
 atgtactgcc aaaaccgcat catcatggta atagcgatga ctaatacgta gatgtactgc 3660
 caagtaggaa agtccataa ggtcatgtac tgggcataat gccaggcggg ccatttaccg 3720

 tcattgacgt caataggggg cgtacttggc atatgatata cttgatgtac tgccaagtgg 3780
 gcagtttacc gtaaatactc caccattga cgtcaatgga aagtcctat tggcgttact 3840
 atgggaacat acgtcattat tgacgtcaat gggcgggggt cgttgggcgg tcagccaggc 3900
 gggccattta ccgtaagtta tgtaacgcct gcaggttaat taagaacatg tgagcaaaag 3960
 gccagcaaaa ggcaggaac cgtaaaaagg ccgcgttgcg ggcgttttcc cataggctcc 4020
 gccccctga cgagcatcac aaaaatcgac gctcaagtca gagtggcgga aaccgcagag 4080
 gactataaag ataccaggcg tttccccctg gaagctccct cgtgcgctct cctgttccga 4140

 ccctgccgct taccggatac ctgtccgctt ttctcccttc gggaaagcgtg gcgctttctc 4200
 atagctcacg ctgtaggtat ctcagttcgg ttaggtcgt tcgctccaag ctgggctgtg 4260
 tgcacgaacc ccccgctcag cccgaccgct gcgccttacc cggtaactat cgtcttgagt 4320
 ccaaccgggt aagacacgac ttatcgccac tggcagcagc cactggtaac aggattagca 4380
 gagcgaggta tglaggcggg gctacagagt tcttgaagtg gtggcctaac tacggctaca 4440
 ctagaagaac agtatttggg atctgcgctc tgctgaagcc agttaccttc ggaaaaagag 4500
 ttggtagctc ttgateccgc aaacaaacca ccgctggtag cggtggtttt tttgtttgca 4560

 agcagcagat tacgcgaga aaaaaaggat ctcaagaaga tcctttgatc ttttctacgg 4620
 ggtctgacgc tcagtggaac gaaaactcac gttaagggtat tttggtcatg gctagttaat 4680
 taacatttaa atcagcggcc gcaataaaat atctttattt tcattacatc tgtgtgttgg 4740
 ttttttgtgt gaatcgtaac taacatacgc tctccatcaa aacaaaacga aacaaaacaa 4800
 actagcaaaa taggctgtcc ccagtgcaag tgcagggtcc agaacatttc tetatcgaa 4859

<210> 2

<211> 4177

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 2

```

ggatctgcga tcgctccggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg      60

agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa cgggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa      120
actgggaaaag tgatgtcgtg tacttggtcc gcctttttcc cgagggtggg ggagaaccgt      180
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcгаа cgggtttgcc gccagaacac      240
agctgaagct tcgaggggct cgcattcttc cttcacgcgc ccgccccct acctgaggcc      300
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tctgaaactg      360
cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgtccc      420
cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg cttgctcaac      480

tctactcttt tgttttgttt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc      540
ctacctgaga tcaccggtac atgtacagga tgcaactcct gtcttgatt gcactaagtc      600
ttgcaactgt cacgaattca caaatcgtcc tctcccagag ccccgcaatc ctgagcgcca      660
gccccgggga gaaggtgacc atgacctgcc gcgcctctag cagtgtgtcc tacattcaact      720
ggttccagca aaagccgggc agttctcaa agccctggat ttatgccaca tctaacctgg      780
cctctggggg gccagttagg ttttccggca gcggctccgg cacatcttac agcctcacca      840
tttctagagt tgaggcagag gacgccgcta cctattattg tcagcagtgg accagtaacc      900

cgcttacctt tggaggcggc accaaactgg agattaaacg tacggtggct gcacatctg      960
tcttcatctt cccgcatct gatgagcagt tgaaatctgg aactgcctct gttgtgtgcc      1020
tgctgaataa ctctatccc agagaggcca agtacagtg gaaggtggat aacgccctcc      1080
aatcgggtaa ctcccaggag agtgtcacag agcaggacag caaggacagc acctacagcc      1140
tcagcagcac cctgacgctg agcaaagcag actacgagaa acacaaagtc tacgcctgcg      1200
aagtcacca tcagggcctg agctcgcct gcacaaagag cttcaacagg ggagagtgtt      1260
agagggagct agctcgacat gataagatac attgatgagt ttggacaaac cacaactaga      1320

atgcagtgaa aaaaatgctt tatttgtgaa atttgtgatg ctattgcttt attttgaaa      1380
tttgtgatgc tattgcttta tttgtaacca ttataagctg caataaaca gttacaaca      1440
acaattgcat tcattttatg tttcaggttc agggggaggt gtgggaggtt ttttaaagca      1500
agtaaacct ctacaaatgt ggtatggaat taattctaaa atacagcata gcaaaacttt      1560

```

aacctccaaa tcaagcctct acttgaatcc ttttctgagg gatgaataag gcataggcat 1620
caggggctgt tgccaatgtg cattagctgt ttgcagcctc accttctttc atggagtta 1680
agatatagtg tattttccca aggtttgaac tagctcttca tttctttatg ttttaaatgc 1740

actgacctcc cacattccct ttttagtaaa atattcagaa ataatttaa tacatcattg 1800
caatgaaat aaatgttttt tattaggcag aatccagatg ctcaaggccc ttcataatat 1860
ccccagttt agtagttgga cttagggaac aaaggaacct ttaatagaaa ttggacagca 1920
agaaagcgag ctcttagctt tagttcctgg tgtacttgag ggggatgagt tcctcaatgg 1980
tggttttgac cagcttgcca ttcatctcaa tgagcacaaa gcagtcagga gcatagtcag 2040
agatgagctc tctgcacatg ccacaggggc tgaccacct gatggatctg tccacctcat 2100
cagagtaggg gtgcctgaca gccacaatgg tgtcaaagtc cttctgcccg ttgctcacag 2160

cagacceaat ggcaatggct tcagcacaga cagtgacct gccaatgtag gcctcaatgt 2220
ggacagcaga gatgatctcc ccagcttgg tcctgatggc cgccccgaca tggtgcttgt 2280
tgtctcata gagcatggtg atcttctcag tggcgacctc caccagctcc agatcctgct 2340
gagagatgtt gaaggtcttc atgatggctc ctctgtcag gagaggaaag agaagaaggt 2400
tagtacaatt gctatagta gttgtattat actatgctta tgattaattg tcaaactagg 2460
gctgcagggg tcatagtgcc acttttctg cactgcecca tctctgccc acctttccc 2520
aggcatagac agtcagtac ttaccaaaact cacaggaggg agaaggcaga agcttgagac 2580

agaccgcgg gaccgccgaa ctgaggggg acgtggctag ggcggcttct tttatgggctc 2640
gccggccctc ggaggcaggg cgctcgggga ggcttagcgg ccaatctgcg gtggcaggag 2700
gcggggccga aggccgtgcc tgaccaatcc ggagcacata ggagtctcag cccccgccc 2760
caaagcaagg ggaagtacg cgcctgtagc gccagcgtgt tgtgaaatgg gggcttgggg 2820
gggttgggce cctgactagt caaaacaaac tccattgac gtcaatgggg tggagacttg 2880
gaaatccccg tgagtcaaac cgctatccac gccattgat gtactgcaa aaccgcatca 2940
tcatggtaat agcgatgact aatacgtaga tgtactgcca agtaggaaag tcccataagg 3000

tcatgtactg ggcataatgc caggcgggcc atttaccgtc attgacgtca atagggggcg 3060
tacttggcat atgatacact tgatgtactg ccaagtgggc agtttaccgt aaatactcca 3120
cccatgacg tcaatggaaa gtcctattg gcgttactat gggaacatac gtcattattg 3180
acgtcaatgg gcgggggtcg ttgggcggtc agccaggcgg gccatttacc gtaagttatg 3240
taacgcctgc aggttaatta agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg 3300
taaaaaggcc gcgttgetgg cgtttttcca taggctccgc cccctgacg agcatcacia 3360

aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt 3420

 tccccctgga agtcacctcg tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgctta cggataacct 3480
 gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agtcacgct gtaggtatct 3540
 cagttcgggtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc cgttcagcc 3600
 cgaccgtgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aaccggtaa gacacgactt 3660
 atgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcgggtgc 3720
 tacagagttc ttgaagtggg ggcctaacta cggctacact agaagaacag tatttggat 3780
 ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa 3840

 acaaaccacc gciggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcaaaa 3900
 aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga 3960
 aaactcacgt taagggattt tggatcggc tagttaatta acatttaaat cagcgccgc 4020
 aataaaatat ctttattttc attacatctg tgtgttggtt ttttgtgta atcgtaacta 4080
 acatacgctc tccatcaaaa caaacgaaa caaacacaac tagcaaaata ggctgtcccc 4140
 agtgcaagtg caggtgccag aacatttctc tategaa 4177