



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0170602
(43) 공개일자 2024년12월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) C07K 16/32 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2878 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2024-7033366
(22) 출원일자(국제) 2023년03월06일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년10월07일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2023/079843
(87) 국제공개번호 WO 2023/169360
국제공개일자 2023년09월14일
(30) 우선권주장
PCT/CN2022/079475 2022년03월07일 중국(CN)

(71) 출원인
아다젠 프라이빗 리미티드
싱가포르 싱가포르 048581 래플스 퀘이 16 홍 레
옹 빌딩 넘버33-03
(72) 발명자
뤄, 피터, 페이즈
중국 215123 장쑤 쑤저우 쑤저우 인더스트리얼 파
크 싱후 스트리트 218 빌딩 씨14 4에프
두, 팡융
중국 215123 장쑤 쑤저우 쑤저우 인더스트리얼 파
크 싱후 스트리트 218 빌딩 씨14 4에프
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상영

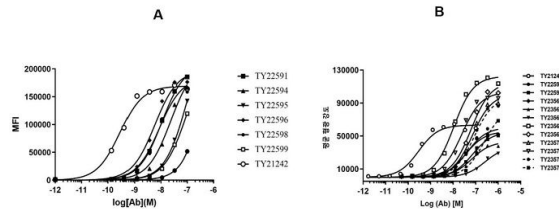
전체 청구항 수 : 총 55 항

(54) 발명의 명칭 항-CD137 항체 및 이의 제조 및 사용 방법

(57) 요약

본 명세서에는, 마스킹된 항-CD137 항체, 이러한 항체를 인코딩하는 핵산, 이러한 핵산을 포함 하는 벡터, 이러
한 핵산 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 또한, 마스킹된 항-CD137 항체를 생산하는 방법도 제공된
다. 추가로 본 명세서에는 방법으로서, 마스킹된 항-CD137 항체의 유효량을 단독 요법으로 또는 다른 치료용 항
체와 병용으로 투여하는 단계를 포함하는 방법이 포함한다.

대표도



(52) CPC특허분류

C07K 16/2809 (2013.01)

C07K 16/2818 (2013.01)

C07K 16/32 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/31 (2013.01)

C07K 2317/72 (2013.01)

C07K 2317/75 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

C07K 2319/50 (2013.01)

(72) 발명자

류, 구이중

중국 215123 장쑤 쑤저우 쑤저우 인터스트리얼 파
크 싱후 스트리트 218 빌딩 씨14 4에프

리, 옌

중국 215123 장쑤 쑤저우 쑤저우 인터스트리얼 파
크 싱후 스트리트 218 빌딩 씨14 4에프

명세서

청구범위

청구항 1

마스킹 펩티드(MP) 및 인간 CD137 에 결합하는 항체를 포함하는 마스킹된 항체,

상기 항체중 중쇄는 중쇄 가변 영역(VH) 및 경쇄는 경쇄가변 영역(VL)을 포함하는;

상기 MP는 VL의 N-말단에 연결되고, 상기 MP는 N-말단에서부터 C-말단으로, 마스킹 단위 (MU) 및 연결 단위(LU)를 포함하고, 상기 MU는 서열번호 1 내지 7으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는; 및

상기 VH는 TGGVGVG(서열번호 36)에 제시된 CDR-H1, LIDWADKKYSPSLKS(서열번호 37)에 제시된 CDR-H2, GGSDTVIGDWFAY(서열번호 38)에 제시된 CDR-H3을 포함하고, 여기서 VL은 RASQSIGSYLA(서열번호 39)에 제시된 CDR-L1, DASNLET(서열번호 40)에 제시된 CDR-L2, QQGYLWT(서열번호 41)에 제시된 CDR-L3을 포함하고.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 MP는 MU의 N-말단에 연결된 N-말단 단위(NU)를 더 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 N-말단 단위는 약 1-10개 아미노산 잔기 길이인, 마스킹된 항체.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 N-말단 단위가 E 또는 EVGSY(서열번호 77)를 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 LU은 제1 절단 부위를 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 제1 절단 부위는 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성화제/uPA (urokinase-type plasminogen activator), 매트릭스 메탈로프로테이나제-1/MMP-1 (matrix metalloproteinase-1), MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-14, 담배 식각 바이러스/TEV (Tobacco Etch Virus) 프로테아제, 플라스민, 트롬빈, 인자 X, PSA, PSMA, 카텡신 D, 카텡신 K, 카텡신 S, ADAM10, ADAM12, ADAMTS, 카스파제-1, 카스파제-2, 카스파제-3, 카스파제-4, 카스파제-5, 카스파제-6, 카스파제-7, 카스파제-8, 카스파제-9, 카스파제-10, 카스파제-11, 카스파제-12, 카스파제-13, 카스파제-14 및 TACE로 이루어진 군으로부터 선택된 프로테아제에 대한 프로테아제 절단 부위인, 마스킹된 항체.

청구항 7

제5항에 있어서,

상기 제1 절단 부위는 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성화제/uPA 또는 MMP-9 에 대한 프로테아제 절단 부위인, 마스킹된 항체.

청구항 8

제5항 또는 제6항에 있어서,

상기 LU은 제1 링커(L₁)를 더 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 9

제5항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 LU은 제2 절단 부위를 더 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 10

제8항에 있어서,

상기 제2 절단 부위는 L₁에 대한 C-말단에, 마스킹된 항체.

청구항 11

제9항 또는 제10항에 있어서,

상기 제2 절단 부위는 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성화제/uPA (urokinase-type plasminogen activator), 매트릭스 메탈로프로테이나제-1/MMP-1 (matrix metalloproteinase-1), MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-14, 담배 식각 바이러스/TEV (Tobacco Etch Virus) 프로테아제, 플라스민, 트롬빈, 인자 X, PSA, PSMA, 카텝신 D, 카텝신 K, 카텝신 S, ADAM10, ADAM12, ADAMTS, 카스파제-1, 카스파제-2, 카스파제-3, 카스파제-4, 카스파제-5, 카스파제-6, 카스파제-7, 카스파제-8, 카스파제-9, 카스파제-10, 카스파제-11, 카스파제-12, 카스파제-13, 카스파제-14 및 TACE로 이루어진 군으로부터 선택된 프로테아제에 대한 프로테아제 절단 부위인, 마스킹된 항체.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 제2 절단 부위는 루키나제-타입 플라스미노겐 활성화제/uPA 또는 MMP-9에 대한 프로테아제 절단 부위인, 마스킹된 항체.

청구항 13

제9항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 제1 절단 부위 및 상기 제2 절단 부위는 동일함, 마스킹된 항체.

청구항 14

제9항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 제1 절단 부위 및 상기 제2 절단 부위는 상이한, 마스킹된 항체.

청구항 15

제10항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 LU은 제2 링커(L₂)를 더 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 16

제5항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 LU는 서열번호 8 내지 16으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 마스킹 펩티드는 서열번호 17 내지 35 중 어느 하나를 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 18

제17항에 있어서,
상기 마스킹 펩티드는 서열번호34를 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 항체는 서열번호 52에 제시된 VH 및 서열번호 53에 제시된 VL을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 20

제 18 항 및 제 19 항에 있어서,
상기 VH는 서열번호 52를 포함하고 상기 VL은 서열번호 58을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 마스킹된 항체는 Fc 영역을 포함하는 전체 길이 항체인, 마스킹된 항체.

청구항 22

제21항에 있어서,
상기 Fc 영역은 인간 IgG Fc 영역 또는 이의 변이체, 마스킹된 항체.

청구항 23

제22항에 있어서,
상기 인간 IgG Fc 영역 또는 이의 변이체는 인간 IgG1 Fc 영역, 인간 IgG2 Fc 영역, 인간 IgG4 Fc 영역 또는 전술한 것들 중 이의 변이체, 마스킹된 항체.

청구항 24

제23항에 있어서,
로 이루어진 그룹으로부터 선택된 치환 (들) 을 포함하는 인간 IgG1 Fc 영역의 변종; G236D; L328F; S239D; S267E; G236D 및 S267E; S239D 및 S267E; S267E 및 L328S; 및 S267E 및 L328F; E233D 및 P238D; G237D 및 P238D; H268D 및 P238D; P271G 및 P238D; A330R 및 P238D; E233D, P238D, 및 A330R; E233D, P231G, P238D, 및 A330R; G237D, H268D, P238D, 및 P271G; G237D, P238D, P271G, 및 A330R; E233D, H268D, P238D, P271G, 및 A330R; G237D, H268D, P238D, P271G, 및 A330R; 및 E233D, G237D, P238D, H268D, P271G 및 A330R; S2657A; T437R; K248E; 및 T437R 및 K248E, 여기서 아미노산 넘버링은 EU 인덱스에 따른다, 마스킹된 항체.

청구항 25

제24항에 있어서,
S267E 및 L328F 치환을 포함하는 인간 IgG1 Fc 영역의 변형체를 포함하며, 여기서 아미노산 넘버링은 EU 인덱스에 따른다, 마스킹된 항체.

청구항 26

제25항에 있어서,
서열번호 113 또는 서열번호 114를 포함하는 Fc 영역을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 27

제18항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서,

서열번호 34에 제시된 마스킹 펩티드는, 서열번호 52에 제시된 항체 중쇄 가변 도메인, 서열번호 53에 제시된 항체 경쇄 가변 도메인, 및 S267E 및 L328F 치환을 포함하는 인간 IgG1 Fc 영역 변이체를 포함하며, 여기서 아미노산 번호는 EU 인덱스에 따른다, 마스킹된 항체.

청구항 28

제27항에 있어서,

서열번호 94 또는 95를 포함하는 중쇄 및 서열번호 96을 포함하는 경쇄를 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 29

제23항에 있어서,

로 이루어진 그룹으로부터 선택된 치환 (들) 을 포함하는 인간 IgG4 Fc 영역의 변종; G236D; L328F; S239D; S267E; G236D 및 S267E; S239D 및 S267E; S267E 및 L328S; 및 S267E 및 L328F; E233D 및 P238D; G237D 및 P238D; H268D 및 P238D; P271G 및 P238D; A330R 및 P238D; E233D, P238D, 및 A330R; E233D, P231G, P238D, 및 A330R; G237D, H268D, P238D, 및 P271G; G237D, P238D, P271G, 및 A330R; E233D, H268D, P238D, P271G, 및 A330R; G237D, H268D, P238D, P271G, 및 A330R; 및 E233D, G237D, P238D, H268D, P271G 및 A330R; S2657A; T437R; K248E; 및 T437R 및 K248E, 여기서 아미노산 넘버링은 EU 인덱스에 따른다, 마스킹된 항체.

청구항 30

제29항에 있어서,

S267E 및 L328F 치환을 포함하는 인간 IgG4 Fc 영역의 변 형체를 포함하며, 여기서 아미노산 넘버링은 EU 인덱스에 따른다, 마스킹된 항체.

청구항 31

제30항에 있어서,

서열번호 117 또는 서열번호 118를 포함하는 Fc 영역을 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 32

제 18 항 내지 제 23 항 및 제 29 항 내지 제 31 항 중 어느 한 항에 있어서,

서열번호 34에 제시된 마스킹 펩티드는, 서열번호 52에 제시된 항체 중쇄 가변 도메인, 서열번호 53에 제시된 항체 경쇄 가변 도메인, 및 S267E 및 L328F 치환을 포함하는 인간 IgG4 Fc 영역 변이체를 포함하며, 여기서 아미노산 번호는 EU 인덱스에 따른다, 마스킹된 항체.

청구항 33

제32항에 있어서,

서열번호 92 또는 93를 포함하는 중쇄 및 서열번호 96을 포함하는 경쇄를 포함하는, 마스킹된 항체.

청구항 34

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체는 Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv, scFv, (scFv)₂, 선형 항체, 단일 사슬 항체, 단일 도메인 항체 (나노바디) VHH, 미니바디 또는 디아바디 (diabody) 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 단편인, 마스킹된 항체.

청구항 35

제 1 항 내지 제 34 항 중 어느 한 항에 마스킹된 항체를 코딩하는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드.

청구항 36

제 35 항에 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 재조합 벡터.

청구항 37

제 36 항에 벡터를 포함하는 숙주 세포.

청구항 38

마스킹된 항체의 발현을 유발하고 마스킹된 항체를 회수하기 위해, 적절한 조건 하에서 제37항에 따른 숙주 세포를 배양하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 39

대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 제 1 항 내지 제 34 항 중 어느 한 항에 마스킹된 항체를 유효량의 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 40

제 39 항에 있어서,

상기 암은 고형 종양 암인, 방법.

청구항 41

제 40 항에 있어서,

상기 고형 종양은 유방암, 간암, 대장암 또는 결장암인, 방법.

청구항 42

대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 제 1 항 내지 제 34 항 중 어느 한 항에 마스킹된 항체 및 항-PD-1 항체의 유효량의 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법

청구항 43

대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 제 1 항 내지 제 34 항 중 어느 한 항에 마스킹된 항체 및 항- CTLA4 항체의 유효량의 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 44

대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 제 1 항 내지 제 34 항 중 어느 한 항에 마스킹된 항체 및 HER2 및 CD3에 결합하는 이중특이적 항체의 유효량의 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 45

대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 제 1 항 내지 제 34 항 중 어느 한 항에 마스킹된 항체 및 CD3를 표적으로 하는 이중 특이적 T 세포 결합자(TCE) 및 고체 종양 암세포의 표면 상에 발현된 항원 유효량의 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 46

제 45 항에 있어서,

상기 고체 종양 암세포의 표면 상에 발현된 항원은 HER2, 방법.

청구항 47

제45항 또는 제46항에 있어서,

상기 TCE 는 3 개의 폴리펩티드 사슬을 포함하고, 상기 제 1 폴리펩티드 사슬은 항체 중쇄를 포함하고, 제 2 폴리펩티드 사슬은 항체 경쇄를 포함하고, 제 3 폴리펩티드 사슬은 ScFv-fc 도메인 융합을 포함하고, 상기 제 1 및 제 2 폴리펩티드 사슬은 CD3 에 결합하고, 상기 항-HER2 결합 암의 Fc 도메인 및 상기 제 3 폴리펩티드 사슬

의 Fc 는 이량체화하여 TCE 를 형성하는, 방법.

청구항 48

제 47 항에 있어서,

상기 제 1 폴리펩티드 사슬은 서열번호 125 를 포함하고, 제 2 폴리펩티드 사슬은 서열번호 124 를 포함하고, 제 3 폴리펩티드 사슬은 서열번호 126 을 포함하는, 방법.

청구항 49

제 42 항 내지 제 47 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 암은 고형 종양 암인, 방법.

청구항 50

제 48항에 있어서,

상기 고형 종양은 결장암인, 유방암, 간암, 대장암 또는 결장암인, 방법.

청구항 51

제 39 항 내지 제 41 항 중 어느 한 항의 방법에 따라 암을 갖는 개인을 치료하기 위한 제 1 항 내지 제 34 항 중 어느 한 항의 마스킹된 항체를 포함하는, 키트.

청구항 52

제 42 항 및 제 46 항 내지 제 47 항 중 어느 한 항에 따른 방법에 따라 암을 갖는 개인을 치료하기 위한 항-PD-1 항체와 조합하여 사용하기 위한 제 1 항 내지 제 34 항 중 어느 한 항의 마스킹된 항체를 포함하는, 키트.

청구항 53

제 43 항 및 제 48 항 내지 제 49 항 중 어느 한 항에 따른 방법에 따라 암을 갖는 개인을 치료하기 위한 항-CTLA4 항체와 조합하여 사용하기 위한 제 1 항 내지 제 36 항 중 어느 한 항의 마스킹된 항체를 포함하는, 키트.

청구항 54

제 44 항 및 제 48 항 내지 제 49 항 중 어느 한 항에 따른 방법에 따라 암을 갖는 개인을 치료하기 위한 HER2 및 CD3에 결합하는 이중특이적 항체의 조합하여 사용하기 위한 제 1 항 내지 제 36 항 중 어느 한 항의 마스킹된 항체를 포함하는, 키트.

청구항 55

제 45 항 내지 제 49 항 중 어느 한 항에 따른 방법에 따라 암을 갖는 개인을 치료하기 위한 CD3를 표적으로 하는 이중 특이적 T 세포 결합자(TCE) 및 고체 종양 암세포의 표면 상에 발현된 항원 조합하여 사용하기 위한 제 1 항 내지 제 36 항 중 어느 한 항의 마스킹된 항체를 포함하는, 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원에 대한 교차 참조

[0002]

본 출원은 2022년 3월 7일에 출원된 국제 특허 출원 번호 PCT/CN2022/079475의 우선권 이 익을 주장하며, 해당 내용은 본원에 전체적으로 참조로 포함됩니다.

[0003]

본 공개는 인간 CD137에 결합하는 마스킹된 항-CD137 항체 및 이의 항원 결합 단편, 이를 포함하는 조성물 및 종양 성장을 지연 및/또는 예방하기 위한 이의 용도에 관한 것이다.

[0004]

전자 시퀀스 목록 참조

[0005] 전자 서열 목록(695402002241SEQLIST.xml; 크기: 126,181바이트; 작성일: 2023년 3월 3일)의 내용은 본원에 전체적으로 참조로 포함됩니다.

배경 기술

[0006] CD137(또한, CD137 수용체, 4-1BB, TNFRSF9 등으로 지칭됨)은 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리(Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily: TNFRS)의 막관통 단백질이다. CD137의 현재의 이해는, 이의 발현이 일반적으로 활성화 의존적이고 활성화된 NH 및 NKT 세포, 조절 T 세포, 수지상 세포(dendritic cell: DC), 자극 시킨 비만 세포, 분화성 골수 세포, 단핵구, 호중구, 및 호산구를 포함하는 넓은 면역 세포의 서브세트에 존재한다[Wang, 2009, Immunological Reviews 229: 192-215]. CD137 발현은 또한, 종양 혈관구조[Broll, 2001, Amer. J. Clin. Pathol. 115(4):543-549; Seaman, 2007, Cancer Cell 11: 539-554] 상에서 및 염증이 생긴 또는 죽상경화성 내피의 사이트[Drenkard, 2007 FASEB J. 21: 456- 463; Olofsson, 2008, Circulation 117: 1292-1301]에 나타나 있다. CD137을 자극 시키는 리간드, 즉, CD137 리간드(CD137L)는 활성화된 항원-제시 세포(antigen- presenting cell: APC), 골수성 전구 세포, 및 조절 줄기 세포 상에서 발현된다.

[0007] 인간 CD137은 255개의 아미노산 단백질(GenBank 수탁번호 NM_001561; NP_001552; 서열번호 1)이다. 단백질은 신호 서열(아미노산 잔기 1 내 지 17), 이어서, 세포외 도메인(169개의 아미노산), 막관통 영역(27개의 아미노산), 및 세포내 도메인(42개의 아미노산)을 포함한다[Cheuk ATC et al. 2004 Cancer Gene Therapy 11: 215-226]. 수용체는 모노머 및 다이머 형태로 세포 표면 상에서 발현되고, 신호전달하기 위해 CD137 리간드와 트라이머화할 수 있다.

[0008] 무린 및 인간 T 세포의 여러 연구에서는, CD137이 향상된 세포 증식, 생존, 및 사이토카인 생산을 증진시킨다는 것을 나타낸다[Croft, 2009, Nat Rev Immunol 9:271-285]. 연구에서는, 일부 CD137 효능제 mAb가 동시자극 분자 발 현을 증가시키고 세포용해 T 림프구 반응을 현저하게 향상시켜서, 다양한 모델에서 항-종양 효능을 야기시킨다는 것을 나타내었다. CD137 효능제 mAb는 예방 및 치료 환경에서 효능을 나타내었다. 또한, CD137 단일요법 및 병용 요법 종양 모델은 오 래가는 항-종양 보호 T 세포 기억 반응을 확립시켰다[Lynch, 2008, Immunol Rev. 22: 277-286]. CD137 효능제는 또한, 당해 분야에서 인식된 다양한 자가면역 모델 에서 자가면역 반응을 억제하는 것으로 나타났다[Vinay, 2006, J Mol Med 84:726- 736]. 이러한 CD137의 이중 활성은 면역 내성을 파괴하는 면역요법 방법과 연관될 수 있는 자가면역 부작용을 약화시키면서 항-종양 활성을 제공할 가능성을 제공한다.

[0009] 그러나 작용성 항-CD137 항체에 의해 유발되는 간 관련 자가면역 독성으로 인해 임상 적용 에 큰 제한이 있었습니다. 인간의 CD137에 결합하고 CD137 매개 반응을 증가시키며 면역 매개 부작용 없이 다양한 질병과 상태(예를 들어, 암)를 치료할 수 있는 잠재적인 치료법을 제공하는 항체에 대한 오랫동안 충족 되지 않은 요구가 있었습니다.

발명의 내용

[0010] 일부 실시형태에서, 본원에서는 마스킹 펩티드(MP) 및 인간 CD137 에 결합하는 항체를 포함하는 마스킹된 항체, 상기 항체고 중쇄는 중쇄 가변 영역(VH) 및 경쇄는 경쇄가변 영역(VL)을 포함하는; MP는 VL의 N-말단에 연결되고, MP는 N-말단에서부터 C-말단으로마스킹 단위 (MU) 및연결 단위(LU)를 포함하고, MU는 서열번호 1 내지 7으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는; 및 VH는 TGGVGVG(서열번호 36)에 제시된 CDR-H1, LIDWADDKYYSPSLKS(서열번호 37)에 제시된 CDR-H2, GGSDTVIGDWIFAY(서열번호 38)에 제시된 CDR-H3을 포함하고, 여기서 VL은 RASQSIGSYLA(서열번호 39)에 제시된 CDR-L1, DASNLET(서열번호 40)에 제시된 CDR-L2, QQGYLWT(서열번호 41)에 제시된 CDR-L3을 포함하고. 일부 실시형태에서, 는 MP는 MU의 N-말단에 연결된 N-말단 단위(NU)를 더 포함하는. 일부 실시형태에서, N-말단 단위는 약 1-10개 아미노산 잔기 길이인. 일부 실시형태에서, N-말단 단위가 E 또는 EVGSY(서열번호 77)를 포함하 는.

[0011] 일부 실시형태에서, LU은 제1 절단 부위를 포함하는. 일부 실시형태에서, 제1 절단 부위는 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성화제/uPA (urokinase-type plasminogen activator), 매트릭스 메탈로프로테이나제-1/MMP-1 (matrix metalloproteinase-1), MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-14, 담배 식각 바이러스/TEV (Tobacco Etch Virus) 프로테아제, 플라스민, 트롬빈, 인자 X, PSA, PSMA, 카텝신 D, 카텝신 K, 카텝신 S, ADAM10, ADAM12, ADAMTS, 카스파제-1, 카스파제-2, 카스파제-3, 카스파제-4, 카스파제-5, 카스파제-6, 카스파제-7, 카스파제-8, 카스파제-9, 카스파제-10, 카스파제-11, 카스파제-12, 카스파제-13, 카스파제-14 및 TACE로 이루어진 군으로부터 선택된 프로테아제에 대한 프로테아제 절단 부위인. 일부 실시형태에서, 제1 절단 부위는 유로키나제-유형

플라스미노겐 활성화제/uPA 또는 MMP-9 에 대한 프로테아제 절단 부위인. 일부 실시형태에서, LU는 또한 첫 번째 절단 부위의 C 말단에 첫 번째 링커 (L_1)를 포함한다. 일부 실시형태에서, LU은 제2 절단 부위를 더 포함하는. 일부 실시형태에서, 제2 절단 부위는 L_1 에 대한 C-말단에. 일부 실시형태에서, 제2 절단 부위는 유로키나제-유형 플라스미노겐 활성화제/uPA (urokinase-type plasminogen activator), 매트릭스 메탈로프로테이나제-1/MMP-1 (matrix metalloproteinase-1), MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-14, 담배 식각 바이러스/TEV (Tobacco Etch Virus) 프로테아제, 플라스민, 트롬빈, 인자 X, PSA, PSMA, 카텡신 D, 카텡신 K, 카텡신 S, ADAM10, ADAM12, ADAMTS, 카스파제-1, 카스파제-2, 카스파제-3, 카스파제-4, 카스파제-5, 카스파제-6, 카스파제-7, 카스파제-8, 카스파제-9, 카스파제-10, 카스파제-11, 카스파제-12, 카스파제-13, 카스파제-14 및 TACE 로 이루어진 군으로부터 선택된 프로테아제에 대한 프로테아제 절단 부위인. 일부 실시형태에서, 제2 절단 부위는 루키나제-타입 플라스미노겐 활성화제/uPA 또는 MMP-9 에 대한 프로테아제 절단 부위인. 일부 실시형태에서, 제1 절단 부위 및 상기 제2 절단 부위는 동일함. 일부 실시형태에서, 제1 절단 부위 및 상기 제2 절단 부위는 상이한. 일부 실시형태에서, LU는 또한 두 번째 절단 부위의 C 말단에 두 번째 링커 (L_2)를 포함한다. 일부 실시형태에서, LU는 서열번호 8 내지 16으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는.

[0012] 일부 실시형태에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 17 내지 35 중 어느 하나를 포함하는. 일부 실시형태에서, 마스킹 펩티드는 서열번호 34를 포함하는. 일부 실시형태에서, 항체는 서열번호 52에 제시된 VH 및 서열번호 53에 제시된 VL을 포함하는. 일부 실시형태에서, VH는 서열번호 52를 포함하고 상기 VL은 서열번호 58을 포함하는.

[0013] 일부 실시형태에서, 마스킹된 항체는 Fc 영역을 포함하는 전체 길이 항체인. 일부 실시형태에서, Fc 영역은 인간 IgG Fc 영역 또는 이의 변이체. 일부 실시형태에서, 인간 IgG Fc 영역 또는 이의 변이체는 인간 IgG1 Fc 영역, 인간 IgG2 Fc 영역, 인간 IgG4 Fc 영역 또는 전술한 것들 중 이의 변이체. 일부 실시형태에서, 마스킹된 항체로 이루어진 그룹으로부터 선택된 치환 (들) 을 포함하는 인간 IgG1 Fc 영역의 변종; G236D; L328F; S239D; S267E; G236D 및 S267E; S239D 및 S267E; S267E 및 L328S; 및 S267E 및 L328F; E233D 및 P238D; G237D 및 P238D; H268D 및 P238D; P271G 및 P238D; A330R 및 P238D; E233D, P238D, 및 A330R; E233D, P231G, P238D, 및 A330R; G237D, H268D, P238D, 및 P271G; G237D, P238D, P271G, 및 A330R; E233D, H268D, P238D, P271G, 및 A330R; G237D, H268D, P238D, P271G, 및 A330R; 및 E233D, G237D, P238D, H268D, P271G 및 A330R; S2657A; T437R; K248E; 및 T437R 및 K248E, 여기서 아미노산 넘버링은 EU 인덱스에 따른다. 일부 실시형태에서, 마스킹된 항체 S267E 및 L328F 치환을 포함하는 인간 IgG1 Fc 영역의 변 형체를 포함하며, 여기서 아미노산 넘버링은 EU 인덱스에 따른다. 일부 실시형태에서, 마스킹된 항체는 서열번호 113 또는 서열번호 114를 포함하는 Fc 영역을 포함하는.

[0014] 일부 실시형태에서, 마스킹된 항체는 서열번호 34에 제시된 마스킹 펩티드는, 서열번호 52에 제시된 항체 중쇄 가변 도메인, 서열번호 53에 제시된 항체 경쇄 가변 도메인, 및 S267E 및 L328F 치환을 포함하는 인간 IgG1 Fc 영역 변이체를 포함하며, 여기서 아미노산 번호는 EU 인덱스에 따른다. 일부 실시형태에서, 마스킹된 항체는 서열번호 94 또는 95를 포함하는 중쇄 및 서열번호 96을 포함하는 경쇄를 포함하는. 일부 실시형태에서, 마스킹된 항체는 로 이루어진 그룹으로부터 선택된 치환 (들) 을 포함하는 인간 IgG4 Fc 영역의 변종; G236D; L328F; S239D; S267E; G236D 및 S267E; S239D 및 S267E; S267E 및 L328S; 및 S267E 및 L328F; E233D 및 P238D; G237D 및 P238D; H268D 및 P238D; P271G 및 P238D; A330R 및 P238D; E233D, P238D, 및 A330R; E233D, P231G, P238D, 및 A330R; G237D, H268D, P238D, 및 P271G; G237D, P238D, P271G, 및 A330R; E233D, H268D, P238D, P271G, 및 A330R; G237D, H268D, P238D, P271G, 및 A330R; 및 E233D, G237D, P238D, H268D, P271G 및 A330R; S2657A; T437R; K248E; 및 T437R 및 K248E, 여기서 아미노산 넘버링은 EU 인덱스에 따른다. 일부 실시형태에서, 마스킹된 항체는 S267E 및 L328F 치환을 포함하는 인간 IgG4 Fc 영역의 변 형체를 포함하며, 여기서 아미노산 넘버링은 EU 인덱스에 따른다. 일부 실시형태에서, 마스킹된 항체는 서열번호 117 또는 서열번호 118를 포함하는 Fc 영역을 포함하는. 일부 실시형태에서, 마스킹된 항체는 서열번호 34에 제시된 마스킹 펩티드는, 서열번호 52에 제시된 항체 중쇄 가변 도메인, 서열번호 53에 제시된 항체 경쇄 가변 도메인, 및 S267E 및 L328F 치환을 포함하는 인간 IgG4 Fc 영역 변이체를 포함하며, 여기서 아미노산 번호는 EU 인덱스에 따른다. 일부 실시형태에서, 마스킹된 항체는 서열번호 92 또는 93를 포함하는 중쇄 및 서열번호 96을 포함하는 경쇄를 포함하는.

[0015] 일부 실시형태에서, 마스킹된 항체는 Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv, scFv, (scFv)₂, 선형 항체, 단일 사슬 항체, 단일 도메인 항체 (나노바디) VHH, 미니바디 또는 디아바디 (diabody) 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된 마스킹된 항체 단편인.

[0016] 일부 실시형태에서, 여기에 기술된 마스킹된 항체를 인코딩하는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드 가 제공된다. 일

부 실시형태에서, 본원에서 기술된 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 제조합 벡터가 제공된다. 일부 실시형태에서, 본원에서 기술된 벡터를 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 일부 실시형태에서, 본원에서 기술한 청구항의 숙주 세포를 적절한 조건 하에 배양하여 마스킹된 항체를 발현 시키고, 마스킹된 항체를 회수하는 단계를 포함하는, 마스킹된 항체를 생산하는 방법이 제공된다.

[0017] 일부 실시형태에서, 피험자의 암을 치료하는 방법이 제공되는데, 이는 본원에서 제공되는 마스킹된 항체의 유효량을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 암은 고형 종양 암인. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 유방암, 간암, 대장암 또는 결장암인.

[0018] 일부 실시형태에서, 피험자의 암을 치료하는 방법이 제공되는데, 이는 본원에서 기술된 마스킹된 항체의 유효량과 항-PD-1 항체(예를 들어, 항-인간 PD-1 항체)의 유효량을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 피험자의 암을 치료하는 방법이 제공되는데, 이는 본원에서 기술된 마스킹된 항체의 유효량과 항-CTLA4 항체(예를 들어, 항-인간 CTLA4 항체)의 유효량을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 피험자의 암을 치료하는 방법이 제공되는데, 이 방법은 본원에서 기술된 마스킹된 항체의 유효량과 HER2(예를 들어, 인간 HER2) 및 CD3(예를 들어, 인간 CD3)에 결합하는 이중 특이 항체의 유효량을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 피험자의 암을 치료하는 방법이 제공되는데, 이는 본원에서 기술된 마스킹된 항체의 유효량과 CD3(예를 들어, 인간 CD3) 및 고형 종양 암세포 표면에 발현된 항원을 표적으로 하는 이중 특이성 T 세포 결합자(TCE)의 유효량을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 고형 종양 암세포의 표면 상에 발현된 항원은 HER2(예를 들어, 인간 HER2)이다. 일부 실시형태에서, CD3 및 HER2를 표적으로 하는 TCE는 3개의 폴리펩티드를 포함합니다 사슬, 제 1 폴리펩티드 사슬은 항체 중쇄를 포함하고, 제 2 폴리펩티드 사슬은 항체 경쇄를 포함하고, 제 3 폴리펩티드 사슬은 ScFv-fc 도메인 융합을 포함하고, 상기 제 1 및 제 2 폴리펩티드 사슬은 CD3에 결합하고, 상기 항-HER2 결합 암의 Fc 도메인 및 상기 제 3 폴리펩티드 사슬의 Fc는 이량체화하여 TCE를 형성하는. 일부 실시형태에서, TCE는 마스킹된 TCE(예를 들어, CD3에 결합하는 TCE의 부분 및/또는 HER2에 결합하는 TCE의 부분이 마스킹됨)이다. 일부 실시형태에서, 제 1 폴리펩티드 사슬은 서열번호 125를 포함하고, 제 2 폴리펩티드 사슬은 서열번호 124를 포함하고, 제 3 폴리펩티드 사슬은 서열번호 126을 포함하는. 일부 실시형태에서, 암은 고형 종양 암인. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 결장암인, 유방암, 간암, 대장암 또는 결장암인.

[0019] 일부 실시형태에서, 본원에서 기술한 방법에 따라 암을 앓고 있는 개체를 치료하기 위해 기술된 마스킹된 항체를 포함하는 키트가 제공된다. 일부 실시형태에서, 본원에서 기술된 마스킹된 항체를 포함하는 키트가 제공되며, 키트는 본원에서 기술된 방법에 따라 암을 앓고 있는 개체를 치료하기 위해 항-PD-1 항체(예를 들어, 항-인간 PD-1 항체)와 함께 사용됩니다. 일부 실시형태에서, 본원에서 기술된 마스킹된 항체를 포함하는 키트가 제공되며, 키트는 본원에서 기술된 방법에 따라 암을 앓고 있는 개체를 치료하기 위해 항-CTLA4 항체(예를 들어, 항-인간 CTLA4 항체)와 함께 사용됩니다. 일부 실시형태에서, 본원에서 기술된 마스킹된 항체를 포함하는 키트가 제공되며, 키트는 HER2(예를 들어, 인간 HER2) 및 CD3(예를 들어, 인간 CD3)에 결합하는 이중 특이적 항체와 함께 사용하여 본원에서 기술된 방법에 따라 암이 있는 개체를 치료하는 데 사용된다. 일부 실시형태에서, 본원에서 기술한 마스킹된 항체를 포함하는 키트가 제공되며, 키트는 CD3(예를 들어, 인간 CD3)를 표적으로 하는 이중 특이성 T 세포 결합자(TCE) 및 고형 종양 암세포 표면에 발현된 항원과 함께 사용하여 본원에서 기술한 방법에 따라 암을 앓는 개체를 치료한다. 일부 실시형태에서, 고형 종양의 표면에 발현되는 항원은 HER2(예를 들어, 인간 HER2)이다. 일부 실시형태에서, CD3 및 HER2를 표적으로 하는 TCE는 3개의 폴리펩타이드 사슬을 포함하는데, 여기서 첫 번째 폴리펩타이드 사슬은 항체 중쇄를 포함하고, 두 번째 폴리펩타이드 사슬은 항체 경쇄를 포함하고, 세 번째 폴리펩타이드 사슬은 scFv-Fc 도메인 융합을 포함하는데, 여기서 ScFv의 C-말단은 Fc 도메인의 N-말단에 융합되고, 첫 번째 및 두 번째 폴리펩타이드 사슬은 HER-2 결합 팔을 형성하기 위해 연관되고, 세 번째 폴리펩타이드 사슬은 CD3에 결합하고, Fc는 항-HER2 결합 암의 도메인과 제3 폴리펩타이드 사슬의 Fc는 이량체화되어 TCE를 형성한다. 일부 실시형태에서, TCE는 마스킹된 TCE(예를 들어, CD3에 결합하는 TCE의 부분 및/또는 HER2에 결합하는 TCE의 부분이 마스킹된 경우)이다. 일부 실시형태에서, 첫 번째 폴리펩타이드 사슬은 서열번호 125를 포함하고, 두 번째 폴리펩타이드 사슬은 서열번호 124를 포함하고, 세 번째 폴리펩타이드 사슬은 서열번호 126을 포함한다. 상기 및 본 명세서에 기재된 다양한 실시형태의 특성 중 하나, 일부 또는 모두는 조합되어 본 개시내용의 다른 실시형태를 형성할 수 있음을 이해해야 한다. 본 개시내용의 이들 및 다른 양상은 당업자에게 자명할 것이다. 본 개시내용의 이들 및 다른 실시형태는 하기의 상세한 설명에 의해서 추가로 기재된다.

도면의 간단한 설명

[0020]

그림 1A는 효모 세포 표면에 표시된 인간 CD137에 대한 모범적인 CD137 마스킹된 항체의 마스크 효율성을 평가하기 위해 수행된 FACS 기반 분석의 결과를 보여줍니다. 이는 부모 항체 TY21242 및 TY23310과 비교한 것입니다. 그림 1B는 또한 효모 세포 표면에 표시된 인간 CD137에 대한 모범적인 CD137 마스킹된 항체의 마스크 효율성을 평가하기 위해 수행된 FACS 기반 분석의 결과를 보여줍니다. 이는 부모 항체 TY21242 및 TY23310과 비교한 것입니다. 그림 1C는 효모 세포 표면에 표시된 인간 CD137에 대한 모범적인 CD137 마스킹된 항체의 마스크 효율성을 평가하기 위해 수행된 FACS 기반 분석의 추가 결과를 보여줍니다. 이는 부모 항체 TY21242 및 TY23310과 비교한 것입니다. 그림 1D는 효모 세포 표면에 표시된 인간 CD137에 대한 모범적인 CD137 마스킹된 항체의 마스크 효율성을 평가하기 위해 수행된 FACS 기반 분석의 추가 결과를 보여줍니다. 이는 부모 항체 TY21242 및 TY23310과 비교한 것입니다.

그림 2A는 마스킹된 항-CD137 항체 TY25366 및 TY25368의 활성을 평가하기 위해 수행된 ELISA 분석의 결과를 보여줍니다. 이는 마스크 펩타이드를 제거하기 전(즉, MMP9 처리 없음)과 마스크 펩타이드를 제거한 후(즉, MMP9 처리 있음)의 부모 항체 TY24118 및 TY24122와 각각 비교한 것입니다. 표 D도 참조하세요.

그림 2B는 마스킹된 항-CD137 항체 TY25366 및 TY25368의 활성을 평가하기 위해 수행된 FACS 기반 분석의 결과를 보여줍니다. 이는 마스크 펩타이드를 제거하기 전(즉, MMP9 처리 없음)과 마스크 펩타이드를 제거한 후(즉, MMP9 처리 있음)의 부모 항체 TY24118 및 TY24122와 각각 비교한 것입니다. 표 D도 참조하세요.

그림 3A-3E는 가속 스트레스 조건 하에서 모범적인 마스킹된 항체 TY25366 및 TY25368의 크기 배제 크로마토그래피(SEC) 프로필을 보여줍니다. 그림 3A (i)는 0, 3, 6회의 동결 및 해동 사이클 이후의 TY25366의 SEC 프로필을 보여줍니다. 그림 3A (ii)는 0, 3, 6회의 동결 및 해동 사이클 이후의 TY25368의 SEC 프로필을 보여줍니다. 그림 3B (i)는 40°C에서 0, 7, 14, 21 및 28일 동안 보관한 후의 TY25366의 SEC 프로필을 보여줍니다. 그림 3B(ii)는 40°C에서 0, 7, 14, 21 및 28일 동안 보관한 후 TY25368의 SEC 프로필을 보여줍니다. 그림 3C (i)는 실온에서 0시간과 2시간 후 산성 완충액(아세트산나트륨 용액, pH3.6)에 보관한 후의 TY25366의 SEC 프로필을 보여줍니다. 그림 3C(ii)는 실온에서 0시간과 2시간 후 동일한 산성 완충액에 저장한 후의 TY25368의 SEC 프로필을 보여줍니다. 그림 3D (i)는 40°C에서 0시간과 24시간 후 50 mM 히스티딘, 300 mM NaCl, pH 7.0 완충액에 보관한 후의 TY25366의 SEC 프로필을 보여줍니다. 그림 3D (ii)는 40°C에서 0시간과 24시간 후 50 mM 히스티딘, 300 mM NaCl, pH 7.0 완충액에 보관한 후의 TY25368의 SEC 프로필을 보여줍니다. 그림 3E (i)는 4°C에서 6시간 동안 식 염수에 보관하기 전과 후의 TY25366 및 TY25368의 SEC 프로파일과 대조 조건과 비교한 것입니다.

도 4A (I)는 나이브 및 활성화된 CD4 + 인간 T 세포에 대한 MMP9-처리된 TY25366 및 미처리된 TY25368의 결합을 평가하기 위해 수행되었던 FACS-기반 분석의 결과를 나타낸다. 도 4A (II)는 나이브 및 활성화된 CD8 + 인간 T 세포에 대한 MMP9-처리된 TY25366 및 미처리된 TY25368의 결합을 평가하기 위해 수행되었던 FACS-기반 분석의 결과를 나타낸다. 도 4B (I)는 나이브 및 활성화된 CD4 + 사이노몰거스 T 세포에 대한 MMP9-처리된 TY25366 및 미처리된 TY25368의 결합을 평가하기 위해 수행되었던 FACS-기반 분석의 결과를 나타낸다. 도 4B (II)는 나이브 및 활성화된 CD8 + 사이노몰거스 T 세포에 대한 MMP9-처리된 TY25366 및 미처리된 TY25368의 결합을 평가하기 위해 수행되었던 FACS-기반 분석의 결과를 나타낸다. 도 4C (I)는 나이브 및 활성화된 CD4 + 마우스 T 세포에 대한 MMP9-처리된 TY25366 및 미처리된 TY25368의 결합을 평가하기 위해 수행되었던 FACS-기반 분석의 결과를 나타낸다. 도 4C (II)는 나이브 및 활성화된 CD8 + 마우스 T 세포에 대한 MMP9-처리된 TY25366 및 미처리된 TY25368의 결합을 평가하기 위해 수행된 FACS-기반 분석의 결과를 나타낸다. 도 4D (I)는 MMP9-처리된 TY25366 및 미처리된 TY25368의 나이브 및 활성화된 CD4 + 래트 T 세포에 대한 결합을 평가하기 위해 수행되었던 FACS-기반 분석의 결과를 나타낸다. 도 4D (II)는 나이브 및 활성화된 CD8 + 래트 T 세포에 대한 MMP9-처리된 TY25366 및 미처리된 TY25368의 결합을 평가하기 위해 수행된 FACS-기반 분석의 결과를 나타낸다.

그림 5는 MMP9를 처리한 TY25366과 처리하지 않은 TY25366이 CD137과 리간드의 결합을 막는 정도를 평가하기 위해 수행한 ELISA 실험 결과를 보여줍니다.

그림 6A는 다양한 마스크 처리된 항-CD137 항체와 마스크 처리되지 않은 항-CD137 항체가 CD137 신호전달을 자극하는 정도를 평가하기 위해 수행된 실험 결과를 보여줍니다. CD137 매개 신호전달은 교차결합체로서 CHO-K1-hFcγRIIb 세포가 존재하는 CD137 리포터 유전자 검정법을 사용하여 결정되었습니다(E: CL=20: 1). 그림 6B는

다양한 마스크 처리된 항-CD137 항체와 마스크 처리되지 않은 항-CD137 항체가 CD137 신호를 자극하는 정도를 평가하기 위해 수행된 실험 결과를 보여줍니다. CD137 매개 신호전달은 교차결합체로서 CHO-K1-hFcγRIIb 세포가 없는 상태에서 CD137 리포터 유전자 검정법을 사용하여 확인되었습니다.

그림 7A는 다양한 마스크 처리된 항-CD137 항체와 마스크 처리되지 않은 항-CD137 항체가 CD137 신호를 자극하는 정도를 평가하기 위해 수행된 실험 결과를 보여줍니다. CD137 매개 신호전달은 인간의 일차 B 세포를 교차결합체로 사용하여 CD137 리포터 유전자 검정법을 사용하여 확인되었습니다(E:CL=5:1). 그림 7B는 다양한 마스크 처리된 항-CD137 항체와 마스크 처리되지 않은 항-CD137 항체가 CD137 신호를 자극하는 정도를 평가하기 위해 수행된 실험 결과를 보여줍니다. CD137 매개 신호전달은 인간의 일차 B 세포를 교차결합체로 사용하여 CD137 리포터 유전자 검정법을 사용하여 확인되었습니다(E:CL = 20:1).

그림 8A는 기증자 #102로부터 얻은 인간 PBMC에서 SEA로 자극된 사이토카인 분비를 항-CD137 항체가 증가시키는지 확인하기 위해 수행된 ELISA 기반 분석의 결과를 보여줍니다. 그림 8B는 기증자 #142로부터 얻은 인간 PBMC에서 SEA로 자극된 사이토카인 분비를 항-CD137 항체가 증가시키는지 확인하기 위해 수행된 ELISA 기반 분석의 결과를 보여줍니다.

그림 9는 항-CD137 항체와 마스크된 항-CD137 항체의 ADCC 활성을 평가하기 위해 수행된 실험 결과를 보여줍니다.

그림 10은 마스크 처리된 항-CD137 항체의 CDC 활성을 평가하기 위해 수행된 실험 결과를 보여줍니다.

그림 11은 (a) 운반체, (b) 마스크된 항-CD137 항체 TY25368, (c) 항-PD-1 항체 FG1225, 및 (d) TY25368과 FG1225의 조합이 마우스 동종이식 이식편 모델에서 CT26 마우스 결장 종양의 성장을 억제하는 효능을 평가하기 위해 수행된 생체 내 실험 결과를 제공합니다.

그림 12는 (a) 운반체, (b) 마스크된 항-CD137 항체 TY25368, (c) 마스크된 항-CTLA4 항체 TY21580, (d) 마스크된 항-CTLA4 항체 TY22404, (e) 마스크된 항-CD137 항체 TY25368 및 마스크된 항-CTLA4 항체 TY21580, (f) 마스크된 항-CD137 항체 TY25368 및 마스크된 항-CTLA4 항체 TY22404의 조합이 마우스 동종이식 이식편 모델에서 MC28 마우스 결장 종양의 성장을 억제하는 효능을 평가하기 위해 수행된 생체 내 실험 결과를 제공합니다.

그림 13은 30mg/kg 및 100mg/kg 용량으로 원숭이에게 투여한 TY25366 및 TY25368의 온전한 형태와 전체 형태에 대한 농도-시간 프로필을 제공합니다.

그림 14A는 교차결합체로서 CHO-K1-hFcγRIIb의 존재 하에 Fc 돌연변이를 포함하는 항-CD137 항체에 의한 CD137 매개 세포 신호전달의 활성화를 평가하기 위해 수행된 실험 결과를 보여줍니다. 그림 14B는 교차결합체로서 CHO-K1-mFcγRIIb의 존재 하에 Fc 돌연변이를 포함하는 항-CD137 항체에 의한 CD137 매개 세포 신호전달의 활성화를 평가하기 위해 수행된 실험 결과를 보여줍니다. 그림 14C는 교차결합체가 없는 상태에서 Fc 돌연변이를 포함하는 항-CD137 항체에 의한 CD137 매개 세포 신호전달의 활성화를 평가하기 위해 수행된 실험 결과를 보여줍니다.

그림 15A는 고체 지지체에 고정된 Fc 돌연변이(들)를 포함하는 항-CD137 항체가 인간 PBMC에 의한 SEA-자극 사이토카인 분비를 증진시키는 정도를 평가하기 위해 수행된 실험 결과를 보여줍니다. 그림 15B는 Fc 돌연변이(들)를 포함하는 가용성 항-CD137 항체가 인간 PBMC에 의한 SEA-자극 사이토카인 분비를 증진시키는 정도를 평가하기 위해 수행된 실험 결과를 보여줍니다.

그림 16은(a) 운반체, (b) 3 mg/kg 마스크된 항-CD137 항체 TY25368, (c) 1 mg/kg 마스크된 항-CD137 항체 TY25368 및 (d) 0.3 mg/kg 마스크된 항-CD137 항체 TY25368의 마우스 동종이식 이식편 모델에서 EMT6 마우스 유방암 종양의 성장을 억제하는 효능을 평가하기 위해 수행된 생체 내 실험 결과를 제공합니다.

그림 17은 (a) 운반체, (b) 5 mg/kg TY24118, (c) 5 mg/kg TY24122, (d) 5 mg/kg TY25366, 또는 (e) 5 mg/kg TY25368의 마우스 동종이식 이식편 모델에서 H22 마우스 간암 종양의 성장을 억제하는 효능을 평가하기 위해 수행된 생체 내 실험 결과를 제공합니다.

그림 18A는(a) 운반체, (b) 5 mg/kg TY24118, (c) 5 mg/kg TY24122, (d) 5 mg/kg TY25366 또는 (e) 5 mg/kg TY25368의 마우스 동종이식 이식편 모델에서 CT26 마우스 대장암 종양의 성장을 억제하는 효능을 평가하기 위해 수행된 생체 내 실험 결과를 제공합니다. 그림 18B는(a) 운반체, (b) 1 mg/kg TY24118, (c) 1 mg/kg TY24122, (d) 1 mg/kg TY25366, 또는 (e) 1 mg/kg TY25368의 마우스 동종이식 이식편 모델에서 CT26 마우스 대장암 종양

의 성장을 억제하는 효능을 평가하기 위해 수행된 생체 내 실험 결과를 제공합니다.

그림 19A는(a) 운반체, (b) 5 mg/kg TY25368, (c) 5 mg/kg TY27151, 또는 (d) 5 mg/kg TY25368 및 5 mg/kg TY27151의 마우스 동종 종양 모델에서 인간 HER2 및 인간 B7H3를 발현하는 MC38 마우스 결장암 종양의 성장을 억제하는 효능을 평가하기 위해 수행된 생체 내 실험 결과를 제공합니다. 그림 19B는 각 치료군 (a), (b), (c) 및 (d)의 개별 마우스의 종양 성장 곡선을 제공합니다.

도 20은 TY27151의 개략적 묘사를 제공합니다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

개요

T세포의 전반적 자극으로 인해 발생하는 독성은 암 면역 치료에 있어 많은 CD137 작용제의 적용을 제한합니다. 본 공개는 암 치료에 효과적이면서도 중대한 안전 문제를 일으키지 않는 마스크된 항-CD137 항체를 제공한다.

정의

본 개시내용을 상세하게 기재하기 전에, 본 개시내용은 특정 조성물 또는 생물학적 시스템에 제한되지 않고, 물론 달라질 수 있음을 이해해야 한다. 또한 이러한 용어는 단지 특정 실시형태를 기재하는 목적을 위한 것이며, 제한을 의도하지 않음을 이해해야 한다.

본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 단수 형태는 문맥상 달리 명백하게 나타내지 않는 한 복수의 대상을 포함한다. 따라서, 예를 들어, "분자"에 대한 언급은 2개 이상의 그러한 분자의 조합물 등을 선택적으로 포함한다.

용어 "약"은 본 명세서에 사용되는 바와 같이 관련 기술 분야의 당업자에게 용이하게 공지된 각각의 값에 대한 통상의 오차 범위를 지칭한다. 본 명세서에서 "약" 값 또는 파라미터에 대한 언급은 그 값 또는 파라미터 자체에 대한 실시형태를 포함한다(그리고 이를 기재한다).

본 명세서에 기재된 본 발명의 양상 및 실시형태는 양상 및 실시형태를 "포함하는 것", 이들로 "이루어진 것" 및 이들로 "본질적으로 이루어진 것"을 포함하는 것으로 이해된다.

본 명세서에서 사용되는 바와 같은 구, 예컨대, "A 및/또는 B"와 같은 용어 "및/또는"은 A 및 B 둘 다; A 또는 B; A(단독); 및 B(단독)를 포함하도록 의도된다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 구, 예컨대, "A, B 및/또는 C"와 같은 용어 "및/또는"은 하기 실시형태 각각을 포함하도록 의도된다: A, B 및 C; A, B, 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A(단독); B(단독); 및 C(단독).

용어 "폴리펩타이드", "단백질", 및 "펩타이드"는 본 명세서에서 상호 교환 가능하게 사용되고, 2개 이상의 아미노산의 중합체를 지칭할 수 있다.

"폴리뉴클레오타이드", 또는 "핵산"은 본 명세서에서 상호 교환 가능하게 사용되고, 임의의 길이의 뉴클레오타이드의 중합체를 지칭하고, DNA 및 RNA를 포함한다. 뉴클레오타이드는 데옥시리보뉴클레오타이드, 리보뉴클레오타이드, 변형된 뉴클레오타이드 또는 염기 및/또는 이의 유사체 또는 DNA 또는 RNA 중합효소에 의해서 또는 합성 반응에 의해서 중합체 내에 혼입될 수 있는 임의의 기질일 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드, 예컨대, 메틸화된 뉴클레오타이드 및 이의 유사체를 포함할 수 있다. 존재하는 경우, 중합체의 조립 전 또는 후에 뉴클레오타이드 구조에 대한 변형이 부여될 수 있다. 뉴클레오타이드의 서열은 비-뉴클레오타이드 성분에 의해서 개재될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 합성, 예컨대, 표지에 대한 접합 이후에 생성된 변형(들)을 포함할 수 있다. 다른 유형의 변형은 예를 들어, "캡", 자연 발생 뉴클레오타이드 중 하나 이상의 유사체로의 치환, 인터뉴클레오타이드 변형, 예를 들어, 비하전된 링키지를 갖는 것(예를 들어, 메틸 포스포네이트, 포스포 트라이에스터, 포스포아미데이트, 카바메이트 등) 및 하전된 링키지를 갖는 것(예를 들어, 포스포로티오에이트, 포스포로다이티오에이트 등), 펜던트 모이어티를 함유하는 것, 예를 들어, 단백질(예를 들어, 뉴클레아제, 독소, 항체, 신호 펩타이드, poly-L-라이신 등), 인터칼레이터를 갖는 것(예를 들어, 아크리딘, 프소탈렌 등), 킬레이터를 함유하는 것(예를 들어, 금속, 방사성 금속, 붕소, 산화 금속 등), 알킬레이터를 함유하는 것, 변형된 링키지를 갖는 것(예를 들어, 알파 애노머성 핵산 등), 뿐만 아니라 폴리뉴클레오타이드(들)의 비변형된 형태를 포함한다. 추가로, 당에 보통 존재하는 하이드록실 기 중 임의의 것은, 예를 들어, 포스포네이트기, 포스페이트기에 의해서 대체될 수 있거나, 표준 보호기에 의해서 보호될 수 있거나, 추가 뉴클레오타이드에 대한 추가 링키지를 제조하도록 활성화될 수 있거나, 고체 또는 반고체 지지체에 접합될 수 있다. 5' 및 3' 말단 OH는 포스포릴화될 수 있거나 또는 아민 또는 1 내지 20개의 탄소 원자의 유기 캡핑기 모이어티로 치환될 수 있다.

다른 하이드록실은 또한 표준 보호기로 유도체화될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 또한 예를 들어, 2'-O-메틸-, 2'-O-알릴-, 2'-플루오로- 또는 2'-아자이도-리보스, 탄소환식 당 유사체, α -애노머 당, 에피머 당, 예컨대, 아라비노스, 자일로스 또는 라익소스, 피라노스 당, 푸라노스 당, 세도헥톨로스, 비환식 유사체 및 염기성 뉴클레오사이드 유사체, 예컨대, 메틸 리보사이드를 비롯한 관련 기술 분야에 일반적으로 공지된 리보스 또는 데옥시리보스 당의 유사한 형태를 함유할 수 있다. 하나 이상의 포스포다이에스터 링키지는 대안적인 연결기에 의해서 대체될 수 있다. 이러한 대안적인 연결기는 포스페이트가 P(O)S("티오에이트"), P(S)S("다이트오에이트"), (O)NR₂("아미데이트"), P(O)R, P(O)OR', CO 또는 CH₂("폼아세탈")(식 중, 각각의 R 또는 R'는 독립적으로 H 또는 에터(-O-) 링키지를 선택적으로 함유하는 치환된 또는 비치환된 알킬(1-20 C), 알릴, 알켄일, 사이클로알킬, 사이클로알켄일 또는 아르알릴임)인 실시형태를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 폴리뉴클레오타이드 내의 모든 링키지가 동일할 필요는 없다. 상기 설명은 RNA 및 DNA를 비롯한, 본 명세서에서 언급되는 모든 폴리뉴클레오타이드에 적용된다.

[0031] 용어 "단리된 핵산"은 핵산의 천연 소스에 존재하는 다른 핵산 분자로부터 분리된, 게놈, cDNA, 또는 합성 기원, 또는 이의 조합의 핵산 분자를 지칭한다. 예를 들어, 게놈 DNA와 관련하여, 용어 "단리된"은 게놈 DNA가 자연적으로 연관된 염색체로부터 분리된 핵산 분자를 포함한다. 바람직하게는, "단리된" 핵산에는 자연적으로 핵산 측면에 있는 서열(즉, 고려되는 핵산의 5' 및 3' 단부에 위치된 서열)이 존재하지 않는다.

[0032] 용어 "항체"는 본원에서 가장 넓은 의미로 사용되며 특히 원하는 생 물학적 활성을 나타내는 한 단클론 항체(전장 단클론 항체 포함), 다클론 항체, 마 스크된 항체(예를 들어, 활성화 가능 또는 활성화 불가능 항체), 다중 특이적 항체(예를 들어, 이중특이 적 항체) 및 항체 단편(예를 들어, 단일 사슬 가변 단편 또는 scFv)을 포함한다. 이는 이들이 원하는 생물학적 활성(예를 들어, 원하는 특이성 및 친화성으로 표적 항원에 결합하는 능력)을 나타내는 경우에 한한다.

[0033] 일부 실시형태에서, 용어 "항체"는 2개의 동일한 중쇄(H) 및 2개의 경쇄(L)로 이루어진 기본 4-폴리펩타이드쇄 구조를 갖는 항원-결합 단백질(즉, 면역글로불린)을 지칭할 수 있다. 각각의 L쇄는 하나의 공유 다이설파이드 결합에 의해 H쇄에 연결되며, 2개의 H쇄는 H쇄 아이소타입에 따라 하나 이상의 다이설파이드 결합에 의해 서로 연결된다. 각각의 중쇄는 N-말단에서, 가변 영역(본 명세서에서 V_H로서 약칭됨), 이후, 불변 영역을 갖는다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, 즉, C_{H1}, C_{H2} 및 C_{H3}으로 이루어진다. 각각의 경쇄는 N-말단에서, 가변 영역(본 명세서에서 V_L로서 약칭됨), 이후에, 이의 다른 단부에서 불변 영역을 갖는다. 경쇄 불변 영역은 하나의 도메인, C_L을 포함한다. V_L은 V_H와 정렬되며, C_L은 중쇄의 제1 불변 도메인(CH1)과 정렬된다. V_H 및 V_L을 함께 쌍을 형성하여 단일 항원-결합 부위를 형성한다. IgM 항체는 J쇄로 지칭되는 추가적인 폴리펩타이드와 함께 5개의 기본 이종사량체 단위로 이루어지고, 이에 따라, 10개의 항원 결합 부위를 함유하며, 분비된 IgA 항체는 J쇄와 함께 2 내지 5개의 기본 4-쇄 단위를 포함하는 다량 집합체를 형성하기 위해 중합할 수 있다.

[0034] V_H 및 V_L 영역은 구조 및 서열 분석을 기초로 한 초가변 영역(HVR)을 지칭하는, 초가변성의 영역으로 추가로 세분화될 수 있다. HVR은 프레임워크 영역(FW)으로 지칭되는, 더욱 보존된 영역에 산재되어 있다(예를 들어, 문헌 [Chen et al. (1999) J. Mol. Biol. (1999) 293, 865-881] 참고). 각각의 V_H 및 V_L은 아미노-말단으로부터 카복시-말단으로 하기 순서대로 배열된, 3개의 HVR 및 4개의 FW로 이루어진다: FW-1_HVR-1_FW-2_HVR-2_FW-3_HVR-3_FW4. 본 개시내용 전체에서, 중쇄의 3개의 HVR은 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3으로 지칭된다. 유사하게, 경쇄의 3개의 HVR은 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3으로 지칭된다.

[0035] 하기 표 1은 당업계에 공지된 다양한 알고리즘에 따른 예시적인 CDR 정의를 제공한다.

[0036] 표 1. CDR 정의

	Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³	IMGT ⁴	AHo ⁵
CDR-H1	31-35	26-32	30-35	27-38	25-40
CDR-H2	50-65	53-55	47-58	56-65	58-77
CDR-H3	95-102	96-101	93-101	105-117	109-137

[0037]

	Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³	IMGT ⁴	AHo ⁵
CDR-L1	24-34	26-32	30-36	27-38	25-40
CDR-L2	50-56	50-52	46-55	56-65	58-77
CDR-L3	89-97	91-96	89-96	105-117	109-137

[0038]

[0039] ¹ 잔기 넘버링은 Kabat et al., J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977); Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of proteins of immunological interest" (1991)의 명명법을 따른다.

[0040] ² 잔기 넘버링은 Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987); Al-Lazikani B. et al., J. Mol. Biol., 273: 927-948 (1997)의 명명법을 따른다.

[0041] ³ 잔기 넘버링은 MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996); Abhinandan 및 Martin, Mol. Immunol., 45: 3832-3839 (2008)의 명명법을 따른다.

[0042] ⁴ 잔기 넘버링은 Lefranc M.P. et al., Dev. Comp. Immunol., 27: 55-77 (2003); 및 Honegger 및 Plöckthun, J. Mol. Biol., 309:657-670 (2001)의 명명법을 따른다.

[0043] ⁵ 잔기 넘버링은 Honegger 및 Plöckthun, J. Mol. Biol., 309:657-670 (2001)의 명명법을 따른다.

[0044] 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 면역계의 다양한 세포(예를 들어, 효과기 세포) 및 전통적인 보체 시스템의 제1 성분(C1q)을 포함하는, 숙주 세포 또는 인자에 대한 면역글로불린의 결합을 매개할 수 있다. 경쇄 및 중쇄 내에서, 가변 영역 및 불변 영역은 약 10개 이상의 아미노산의 "D" 영역을 또한 포함하는 중쇄와 함께, 약 12개 이상의 아미노산의 "J" 영역에 의해 연결된다 (문헌[Fundamental Immunology Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989))] 참조).

[0045] 척추동물 중으로부터의 L쇄는 이의 불변 도메인의 아미노산 서열을 기초로 한, 카파 및 람다로 지칭되는, 2개의 명백하게 구별되는 유형 중 하나로 지정될 수 있다. 이의 중쇄(CH)의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라, 항체는 상이한 부류 또는 아이소타입으로 지정될 수 있다. 5개 부류의 항체가 존재한다: 각각 α(알파), δ(델타), ε(엡실론), γ(감마), 및 μ(뮤)로 명시되는 중쇄를 갖는 IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM. IgG 부류의 항체는 각각 감마 중쇄, Y1 내지 Y4에 의해 4가지의 하위부류 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로 추가로 분류될 수 있다.

[0046] 본 명세서에서 상호 교환적으로 사용되는 항체의 "항원 결합 단편", "항원 결합 부분" 또는 "항원 결합 도메인"이라는 용어는 항체가 결합하는 항원에 결합하는 능력을 유지하는 항체의 하나 이상의 부분을 지칭합니다. 항체의 "항원 결합 단편"의 예로는 (i) Fab 단편, 즉 V_L, V_H, C_L 및 C_{H1}도메인으로 구성된 단가 단편, (ii) F(ab')₂단편, 즉 힌지 영역에서 디설파이드 브릿지로 연결된 두 개의 Fab 단편으로 구성된 2가 단편, (iii) 항체의 단일 팔의 V_L 및 V_H도메인으로 구성된 Fv 단편이 포함되지만 이에 국한되지 않습니다. 다른 예시적인 항원 결합 단편은 여기 다른 곳에 설명되어 있습니다.

[0047] "마스킹된 항체"라는 용어는 항체 또는 항원 결합 단편을 의미하며, 이는 항체의 항원 결합 도메인과 표적에 결합하는 것을 방해, 방해, 감소, 방지, 억제 또는 경쟁하는 가림 펩타이드를 포함 합니다. 마스킹된 항체는 마스크 펩타이드를 항체의 항원 결합 도메인에 연결하여 생성될 수 있습니다. 일부 실시형태에서, 마스킹된 항체 또는 그 항원 결합 단편은 비활성화 상태(예를 들어, 마스크 펩타이드에 의해 억제 또는 마스킹됨)에 있을 때 표적에 대한 첫 번째 결합 친화성을 나타내고, 활성화 상태(예를 들어, 마스크 펩타이드에 의해 억제되지 않거나 마스킹되지 않음(예를 들어, 마스크 펩타이드가 항체에서 분리됨))에 있을 때 표적에 대한 두 번째 결합 친화성을 나타내며, 여기서 두 번째 결합 친화성은 첫 번째 결합 친화성보다 크다. 마스킹된 항체는 활성화 가능한 구성 요소(예를 들어, 연결 단위 내의 절단 가능한 부위 또는 "LU")를 포함하는 마스크 펩타이드를 항체의 항원 결합 도메인에 연결하여 생성될 수 있습니다.

[0048] "마스킹 펩타이드"는 항원 결합 도메인이 표적 항원에 결합하는 것을 억제하는 펩타이드를 말 하며, 일반적으로 N 말단에서 C 말단까지 마스킹 단위(MU)와 연결 단위(LU)로 구성됩니다. 마스킹 펩타이드의 C 말단은 일반적으로 N에 연결됩니다. 항원 결합 도메인의 V_H 또는 V_L 말단. 일부 실시형태에서, 마스킹 펩타이드 또는 그 일부는 항원 결합 도메인이 표적에 결합하는 것을 매우 효율적으로 방해하거나 억제하여 항원 결합 도메인이 표적에

결합하는 정도가 매우 낮거나 검출 한계 이하가 된다(예를 들어, ELISA 또는 유세포 분석법에서 결합을 검출할 수 없음). 본 명세서에 설명된 마스크된 항체 또는 폴리펩티드는 예를 들어 LU 내에, MU와 LU, LU와 VH 또는 VL, 또는 VH와 Fc의 힌지 영역 사이에 배치된 하나 이상의 링커를 포함할 수 있다.

[0049] 마스크 펩타이드의 LU는 적어도 하나의 절단 가능한 부위를 포함할 수 있다. 절단 부위는 일반적으로 절단 가능한 아미노산 서열을 포함하는데, 예를 들어 효소의 기질로 작용하거나 환원 가능한 이황화물 결합을 형성할 수 있는 시스테인-시스테인 쌍을 포함한다. 따라서 용어 "분해", "분해 가능한", "분해된" 등이 절단 부위와 관련하여 사용될 때, 이 용어는 예를 들어 프로테아제에 의한 효소적 절단은 물론, 환원제에 노출되어 발생할 수 있는 이황화물 결합의 환원을 통해 시스테인-시스테인 쌍 사이의 이황화물 결합이 파괴되는 것도 포함합니다. 절단 부위의 아미노산 서열은 MU와 겹치거나 MU에 포함될 수 있습니다. 마스크된 항체 또는 마스크 폴리펩타이드는 항체 또는 폴리펩타이드의 활성화를 매개하도록 구성된 절단 부위를 포함할 수 있습니다. 예를 들어, 활성화 가능한 항체의 절단 부위가 손상되지 않은 경우(예를 들어, 해당 효소에 의해 절단되지 않거나 환원되지 않은 시스테인-시스테인 이황화물 결합을 포함하는 경우), 마스크 펩타이드 또는 그 일부는 항원 결합 도메인이 표적에 결합하는 것을 방해하거나 억제할 수 있습니다. 일부 실시형태에서, 마스크 펩타이드의 LU는 절단 가능한 부위를 포함하지 않는다.

[0050] "마스크 효율"이란 용어는 마스크 펩타이드가 항원 결합 도메인이 표적 항원에 결합하는 것을 억제하는 효율을 의미합니다. 마스크 효율은 항원 결합 도메인을 포함하는 마스크된 항체 또는 마스크된 폴리펩타이드의 결합 친화성과 항원 결합 도메인을 포함하는 마스크되지 않은 항체 또는 마스크되지 않은 폴리펩타이드의 결합 친화성(예를 들어, 마스크 펩타이드가 항체에서 분리됨)의 차이 또는 비율로 측정될 수 있습니다. 예를 들어, 마스크 효율은 비활성화된(예를 들어, 억제, 마스크 및/또는 절단되지 않은) 상태에서 표적 항원에 결합하는 마스크된 항체의 EC50 또는 K_D 을 활성화된(예를 들어, 억제되지 않음, 마스크되지 않음 및/또는 절단된) 상태에서 표적 항원에 결합하는 마스크되지 않은 항체의 EC50 또는 K_D 에 대한 상대값으로 나누거나, 부모 항체(예를 들어, 마스크 펩타이드에 연결되지 않음)가 표적 항원에 결합하는 EC50 또는 K_D 에 대한 상대값으로 나누어 측정할 수 있습니다. EC50 값은 예를 들어 미국 특허 제 5,999,999호에 기술된 바와 같이 ELISA 분석법 또는 Jurkat NFAT 리포터 분석법으로 측정될 수 있다. 앱. 선술집. 번호 US20210207126 A1. 예를 들어 KD값은 표면 플라즈몬 공명을 사용하여 측정될 수 있습니다.

[0051] 용어 "에피토프"는 항체(또는 이의 항원-결합 단편)가 결합하는 항원의 일부를 지칭한다. 에피토프는 단백질의 3차 폴딩(tertiary folding)에 의해 병치된 인접한 아미노산 또는 비인접한 아미노산 둘 모두로부터 형성될 수 있다. 인접한 아미노산으로부터 형성된 에피토프는 통상적으로, 변성 용매에 노출 시에 유지되며, 3차 폴딩에 의해 형성된 에피토프는 통상적으로, 변성 용매로의 처리 시에 손실된다. 에피토프는 고유한 공간 형태에서 다양한 수의 아미노산을 포함할 수 있다. 에피토프의 공간 형태를 결정하는 방법은 예를 들어, X선 크로마토그래피, 2차원 핵자기공명, 질량 분석법과 결합한 중수소 및 수소 교환, 또는 부위-유도 돌연변이 유발, 또는 결합 항체 및 이의 변이체를 갖는 항원 및 이의 복합물 구조의 계산 모델링과 조합하여 이용된 모든 방법을 포함한다(예를 들어, 문헌[Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996)] 참조). 항원의 목적하는 에피토프가 결정된 직후에, 그러한 에피토프에 대한 항체는 예를 들어, 본 명세서에 기술된 기술을 이용하여 생성될 수 있다. 항체의 생성 및 특징규명은 또한, 목적하는 에피토프에 대한 정보를 설명할 수 있다. 이러한 정보로부터, 동일한 에피토프에 대한 결합을 위해 항체를 경쟁적으로 스크리닝하는 것이 가능하다. 이를 달성하기 위한 방법은 서로 경쟁적으로 결합하는 항체, 즉, 항원에 결합하기 위해 경쟁적인 항체를 발견하기 위해 교차-경쟁 연구를 수행하는 것이다. 이의 교차-경쟁을 기초로 하여 항체를 "바이닝(binning)"하기 위한 고속대량처리(high throughput) 공정은 PCT 공개 WO 03/48731호에 기술되어 있다.

[0052] 용어 "생식계열"은 이러한 것이 생식 세포를 통해 부모로부터 자손에게 진행되기 때문에, 항체 유전자 및 유전자 분절의 뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 생식계열 서열은 B 세포 성숙 과정 동안 재조합 및 초돌연변이 사건에 의해 변경될 수 있는 성숙 B 세포에서 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열과 구별된다.

[0053] 용어 "글리코실화 부위"는 당 잔기의 부착을 위한 위치로서 진행 세포에 의해 인식되는 아미노산 잔기를 지칭한다. 탄수화물, 예를 들어, 올리고당이 부착된 아미노산에는 통상적으로, 아스파라긴(N-연결), 세린(O-연결), 및 트레오닌(O-연결) 잔기가 있다. 특정 부착 부위는 통상적으로, 본 명세서에서 "글리코실화 부위 서열"로서 지칭되는 아미노산의 서열에 의해 신호전달된다. N-연결된 글리코실화를 위한 글리코실화 부위 서열은 -Asn-X-Ser- 또는 -Asn-X-Thr-이며, 여기서, X는 프롤린 이외의 임의의 통상적인 아미노산일 수 있다. 용어 "N-연결된" 및 "O-연결된"은 당 분자와 아미노산 잔기 사이의 부착 부위로서 역할을 하는 화학적 기를 지칭한다. N-연결된 당

은 아미노 기를 통해 부착된다. O-연결된 당은 하이드록실 기를 통해 부착된다. 용어 "글리칸 점유(glycan occupancy)"는 글리코실화 부위에 연결된 탄수화물 모이어티의 존재를 지칭한다(즉, 글리칸 부위는 점유된다). 폴리펩타이드 상에 적어도 2개의 잠재적인 글리코실화 부위가 존재하는 경우에, 탄수화물 모이어티에 의해 부위가 점유되지 않거나(0-글리칸 부위 점유), 하나(1-글리칸 부위 점유) 또는 둘 모두(2-글리칸 부위 점유)의 부위가 점유될 수 있다.

[0054] 용어 "숙주 세포"는 고려되는 단백질, 단백질 단편, 또는 펩타이드를 생성시키기 위해 조작될 수 있는 세포계를 지칭한다. 숙주 세포는 비제한적으로, 배양된 세포, 예를 들어, 설치류(랫트, 마우스, 기니피그 또는 햄스터)로부터 유도된 포유류 배양된 세포, 예를 들어, CHO, BHK, NSO, SP2/0, YB2/0; 인간 세포(예를 들어, HEK293F 세포, HEK293T 세포); 또는 인간 조직 또는 하이브리도마 세포, 효모 세포, 곤충 세포(예를 들어, S2 세포), 박테리아 세포(예를 들어, 이, 콜라이 세포) 및 트랜스제닉 동물 또는 배양된 조직 내에 포함된 세포를 포함한다. 이러한 용어는 특정 대상체 세포뿐만 아니라 이러한 세포의 자손을 포함한다. 특정 변경이 돌연변이 또는 환경적 영향으로 인해 다음 세대에서 발생할 수 있기 때문에, 이러한 자손은 모 세포와 동일하지 않을 수 있지만, 용어 "숙주 세포"의 범위 내에 여전히 포함되어 있다.

[0055] "인간 항체"는 인간 또는 인간 세포에 의해서 생산되거나 또는 인간 항체 레퍼토리 또는 다른 인간 항체-암호화 서열을 이용하는 비인간 기원으로부터 유래된 항체의 것에 상응하는 아미노산 서열을 보유하는 것이다. 인간 항체의 정의는 비인간 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화된 항체를 구체적으로 제외한다.

[0056] 용어 "인간화된 항체"는 인간 항체로부터 유도된 아미노산 잔기를 함유한 키메라 항체를 지칭한다. 인간화된 항체는 비-인간 동물 또는 합성 항체로부터의 CDR 또는 HVR 중 일부 또는 모두를 함유할 수 있으며, 항체의 프레임워크 및 불변 영역은 인간 항체 서열로부터 유도된 아미노산 잔기를 함유한다.

[0057] 용어 "예시적인 항체 (exemplary antibody)"는 본 명세서에 기재된 항체 중 임의의 하나를 지칭한다. 이러한 항체는 임의의 부류(예를 들어, IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM)로 존재할 수 있다. 따라서, 상기에서 식별된 각각 항체는 V_L 및 V_H 영역에 대한 동일한 아미노산 서열을 갖는 모두 5개의 부류의 항체를 포함한다. 또한, IgG 부류의 항체는 임의의 하위 부류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4)로 존재할 수 있다. 따라서, IgG 하위부류에서 상기에서 식별된 각 각의 항체는 V_L 및 V_H 영역에 대한 동일한 아미노산 서열을 갖는 모두 4개의 하위부류의 항체를 포함한다. 5개 부류뿐만 아니라 4개의 IgG 하위부류에서 인간 항체의 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열은 당업계에 공지되어 있다. 표 1b에 나타낸 예시적인 항체 각각의 IgG4 하위부류에 대한 전장 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열은 본 개시 내용에 제공된다.

[0058] "단리된" 항체 또는 결합 분자는 자연 환경의 성분으로부터 분리된 것이다. 일부 실시형태에서, 항체는 예를 들어, 전기영동(예를 들어, SDS-PAGE, 등전점 전기영동(isoelectric focusing: IEF), 모세관 전기영동법) 또는 크로마토그래피(예를 들어, 이온 교환 또는 역상 HPLC)에 의해서 결정되는 경우 95% 또는 99% 초과로 순도로 정제된다. 항체 순도의 평가를 위한 방법의 검토를 위해서, 문헌[Flatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007)]을 참고하기 바란다.

[0059] 용어 " k_a "는 특정 항체-항원 상호작용의 결합속도 상수를 지칭하며, 용어 " k_d "는 특정 항체-항원 상호작용의 해리속도 상수를 지칭한다.

[0060] 용어 " K_D "는 특정 항체-항원 상호작용의 평형 해리 상수를 지칭한다. 이는 k_a 에 대한 k_d 의 비율(즉, k_d/k_a)로부터 얻어지고, 몰 농도(M)로서 표현된다. K_D 는 이의 결합 파트너에 대한 항체의 결합의 친화력에 대한 척도로서 사용된다. K_D 가 작을수록, 항체가 더욱 단단히 결합하거나, 항체와 항원 간의 친화력이 더욱 높다. 예를 들어, 나노몰(nM) 해리 상수를 갖는 항체는 마이크로몰(μ M) 해리 상수를 갖는 항체 보다 특정 항원에 더욱 단단히 결합한다. 항체에 대한 K_D 값은 당업계에서 널리 규명된 방법을 이용하여 결정될 수 있다. 항체의 K_D 를 결정하는 하나의 방법은 ELISA를 사용하는 것이다. 예를 들어, ELISA를 사용하는 분석 절차.

[0061] 용어 "포유동물"은 포유류 부류의 임의의 동물 종을 지칭한다. 포유동물의 예는 인간; 실험실 동물, 예를 들어, 랫트, 마우스, 햄스터, 토끼, 비인간 영장류 및 기니피그; 가축, 예를 들어, 고양이, 개, 소, 양, 염소, 말, 및 돼지; 및 야생 포획 동물, 예를 들어, 사자, 호랑이, 코끼리 등을 포함한다.

[0062] 포유동물에서 특정 질환 상태를 참조하여 용어 "예방하다" 또는 "예방하는"은 질환의 발병을 예방하거나 지연시키거나, 이의 임상적 또는 준임상적 증상의 징후를 예방하는 것을 지칭한다.

- [0063] 본 명세서에서 사용되는 2개의 폴리펩타이드 서열 간의 "서열 동일성"은 서열 간에 동일한 아미노산의 백분율을 나타낸다. 폴리펩타이드의 아미노산 서열 동일성은 Bestfit, FASTA, 또는 BLAST와 같은 공지된 컴퓨터 프로그램을 이용하여 통상적으로 결정될 수 있다(예를 들어, 문헌[Pearson, Methods Enzymol. 183:63-98 (1990); Pearson, Methods Mol. Biol. 132:185-219 (2000); Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990); Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997)] 참조). 특정 정렬이 예를 들어, 참조 아미노산 서열과 95% 일치하는 지를 결정하기 위해 Bestfit 또는 임의의 다른 서열 정렬 프로그램을 이용할 때, 파라미터는, 일치성의 백분율이 참조 아미노산 서열의 전장에 대해 계산되고 참조 서열에서 아미노산 잔기의 총수의 5% 이하의 상동성의 차이가 허용되도록 설정된다. 폴리펩타이드 간의 일치성의 백분율을 결정하는 이러한 상술된 방법은 본 명세서에 개시된 모든 단백질, 이의 단편, 또는 변이체에 적용 가능하다.
- [0064] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "결합한다", "에 결합한다", "특이적으로 결합한다", "에 특이적으로 결합한다" 또는 "에 대해서 특이적인"은 생물학적 분자를 포함하는 분자의 이중 집단의 존재 하에서 표적의 존재를 결정하는, 측정 가능하고 재현 가능한 상호작용, 예컨대, 표적과 항체 간의 결합을 지칭한다. 예를 들어, 표적(에피토프일 수 있음)에 결합하거나 특이적으로 결합하는 항체는, 그것이 다른 표적에 결합하는 것보다 더 높은 친화도, 결합능, 보다 용이하게 그리고 또는 더 큰 지속 기간으로 표적에 결합하는 항체이다. 일 실시형태에서, 관련되지 않은 표적에 대한 항체의 결합 정도는 예를 들어, 방사선면역검정(radioimmunoassay: RIA)에 의해서 측정되는 경우, 표적에 대한 항체의 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시형태에서, 표적에 특이적으로 결합하는 항체는 1 μ M 이하, 100nM 이하, 10nM 이하, 1nM 이하, 또는 0.1nM 이하의 해리 상수(Kd)를 갖는다. 예를 들어, 여기에 설명된 마스크된 항-CD137 항체는 시험관 내 검정에서 다른 항원에 결합하는 EC50의 10% 미만인 EC50에서 인간 CD137에 결합하는 경우 인간 CD137에 선택적으로 결합한다고 합니다.
- [0065] 용어 "치료하다", "치료하는", 또는 "치료"는 포유동물에서 특정 질환 상태를 참조하여, 질환 상태를 갖는 포유동물에서 바람직하거나 유익한 효과를 야기시키는 것을 지칭한다. 바람직하거나 유익한 효과는 질환의 하나 이상의 증상의 빈도 또는 중증도(즉, 종양 성장 및/또는 전이, 또는 면역 세포의 수 및/또는 활성에 의해 매개된 다른 효과 등)의 감소, 또는 질환, 병태 또는 장애의 추가 발달의 정지 또는 저해를 포함할 수 있다. 포유동물에서 암을 치료하는 상황에서, 바람직하거나 유익한 효과는 암 세포의 추가 성장 또는 확산의 저해, 암 세포의 사멸, 암 재발의 저해, 암과 관련된 통증의 감소, 또는 포유동물의 생존 개선을 포함할 수 있다. 효과는 주관적 이거나 객관적일 수 있다. 예를 들어, 포유동물이 인간인 경우에, 인간은 개선된 기력 또는 활력 또는 요법에 대한 개선 또는 반응의 주관적 증상으로서의 통증 감소를 주목할 수 있다. 대안적으로, 임상적은 신체 검사, 실험실 파라미터, 종양 마커, 또는 방사선 소견을 기초로 하여 종양 크기 또는 종양 부담의 감소를 주목할 수 있다. 임상적은 치료에 대한 반응에 대해 관찰할 수 있는 일부 실험실 징후는 백혈구 카운트, 적혈구수 카운트, 혈소판 카운트, 적혈구 침강 속도, 및 다양한 효소 수준과 같은 시험의 정규화를 포함한다. 추가적으로, 임상적은 검출 가능한 종양 마커의 감소를 관찰할 수 있다. 대안적으로, 소노그램(sonogram), 핵자기공명 시험 또는 양전자 방출 시험과 같은, 다른 시험은 객관적인 개선을 평가하기 위해 사용될 수 있다.
- [0066] 용어 "백터"는 외래 핵산 분자를 수송할 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 외래 핵산 분자는 재조합 기술, 예를 들어, 절찰 또는 재조합에 의해 백터 핵산 분자에 연결된다. 이는 외래 핵산 분자가 숙주 세포 또는 유기체에서 번식, 선택, 추가 조작 또는 발현될 수 있게 한다. 백터는 플라스미드, 파지, 트랜스포손, 코스미드, 염색체, 바이러스, 또는 비리온일 수 있다. 하나의 유형의 백터는 숙주 세포 내에 도입 시에 숙주 세포의 게놈 내에 통합될 수 있고, 이에 의해 숙주 게놈(예를 들어, 비-에피솜 포유류 백터)과 함께 복제된다. 또 다른 유형의 백터는 도입된 숙주 세포에서 자동 복제할 수 있다(예를 들어, 복제 및 에피솜 포유류 백터의 박테리아 기원을 갖는 박테리아 백터). 작동 가능하게 연결된 발현 가능한 외래 핵산의 발현을 유도할 수 있는 다른 특정 타입의 백터는 통상적으로 "발현 백터"로서 지칭된다. 발현 백터는 일반적으로, 발현 가능한 외래 핵산의 발현을 유도하는 제어 서열을 갖는다. "전사 백터"로서 공지된 더 단순한 백터는 번역되지 않고 단지 전사될 수 있으며, 이러한 것은 발현되지 않고 표적 세포에서 복제될 수 있다. 용어 "백터"는 이의 기능과는 무관하게 모든 타입의 백터를 포함한다. 이러한 것이 작동 가능하게 연결된 발현 가능한 핵산의 발현을 유도할 수 있는 백터는 통상적으로, "발현 백터"로서 지칭된다. "백터"의 다른 예는 디스플레이 백터(예를 들어, 바이러스 또는 세포(예컨대, 박테리아 세포, 효모 세포, 곤충 세포 및/또는 포유동물 세포)의 표면 상의 암호화된 폴리펩타이드의 발현 및 디스플레이를 지시하는 백터)를 포함할 수 있다.
- [0067] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "대상체", "환자" 또는 "개체"는 인간 또는 비인간 동물을 지칭할 수 있다. "비인간 동물"은 인간으로서 분류되지 않은 임의의 동물, 예컨대, 가축, 농장 동물, 또는 동물원 동물, 스포츠 동물, 애완 동물(예컨대, 개, 말, 고양이, 소 등), 뿐만 아니라 연구에 사용되는 동물을 지칭할 수 있다. 연구

동물은 비제한적으로 선충, 절지동물, 척추동물, 포유동물, 개구리, 설치류(예를 들어, 마우스 또는 래트), 어류(예를 들어, 제브라피쉬 또는 복어), 조류(예를 들어, 닭), 개, 고양이 및 비인간 영장류(예를 들어, 레서스 원숭이, 시노몰거스 원숭이, 침팬지 등)를 지칭할 수 있다. 일부 실시형태에서, 대상체, 환자 또는 개체는 인간이다.

[0068] "유효량"은 치료적 또는 예방적 결과를 비롯한, 하나 이상의 목적하거나 제시된 효과를 달성하기에 적어도 효과적인 양(투여량 및 필요한 시간 기간)을 지칭한다. 유효량은 1회 이상의 투여로 제공될 수 있다. 본 개시내용의 목적을 위해서, 항체, 약물, 화합물 또는 약제학적 조성물의 유효량은 예방적 또는 치료적 치료를 직접적으로 또는 간접적으로 달성하기에 충분한 양이다. 임상적 맥락에서, 약물, 화합물 또는 약제학적 조성물의 유효량은 또 다른 약물, 화합물 또는 약제학적 조성물과 함께(예를 들어, 단일요법 또는 병용 요법으로서 투여되는 유효량) 달성될 수 있거나 달성될 수 없다. 따라서, "유효량"은 1종 이상의 치료제의 투여와 관련하여 고려될 수 있고, 1종 이상의 다른 작용제와 함께, 목적하는 결과가 달성될 수 있거나 달성되는 경우 단일 작용제가 유효량으로 제공된다고 간주될 수 있다.

[0069] 본 개시내용의 방법 및 기술은 일반적으로, 당해 분야에 널리 공지 되고 달리 명시하지 않는 한 본 명세서 전반에 걸쳐 인용되고 논의된 다양한 일반 적인 및 더욱 특정의 참조문헌에 기술된 바와 같이 방법에 따라 수행된다. 이러한 참조문헌은 예를 들어, 문헌[Sambrook and Russell, Molecular Cloning, A Laboratory Approach, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2001), Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (2002), 및 Harlow and Lane Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990)]을 포함한다. 효소 반응 및 정제 기술은 당해 분야에서 일반적으로 달성되는 바와 같이 또는 본 명세서에 기술되는 바와 같이, 제조업자의 사양에 따라 수행된다. 본 명세서에 기술된 분석 화학, 합성 유기 화학, 및 의학 및 약제 화학과 관련하여 사용되는 명명법 및 이의 실험실 절차 및 기술은 널리 공지되고 당해 분야에서 통상적으로 사용되는 것이다. 표준 기술은 화학적 합성, 화학적 분석, 약제학적 제조, 제형 및 전달, 그리고 환자의 치료를 위해 이용된다.

[0070] 본 명세서에서 사용되는 20개의 통상적인 아미노산 및 이의 약어는 일반적인 사용법을 따른다[문헌[Immunology-A Synthesis (2nd Edition, E. S. Golub and D. R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991)]참조].

[0071] 여기에 인용된 모든 참고문헌, 특허 출원 및 간행물은 본원에서 그 전체가 참고로 포함됩니다.

[0072] 마스크된 항-CD137 항체

[0073] 일 양태에서, 마스킹 펩타이드(MP)와 인간 CD137(hCD137)을 결합하는 항체를 포함하는 마스킹된 항체가 제공되며, 여기서 항체는 중쇄 가변 영역(VH)과 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고, 여기서 MP는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서 MP는 N-말단에서부터 C-말단으로, 마스킹 단위(MU), 연결 단위(LU)를 포함하고, 여기서 MU는 서열번호 1-7로 구성된 그룹에서 선택된 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 VH는 TGGVGVG(서열번호 36)에 제시된 CDR-H1, LIDWADKKYSPSLKS(서열번호 37)에 제시된 CDR-H2, GGS DTVIGDWFAY(서열번호 38)에 제시된 CDR-H3을 포함하고, 여기서 VL은 RASQSIGSYLA(서열번호 39)에 제시된 CDR-L1, DASNLET(서열번호 40)에 제시된 CDR-L2, QQGYLWT(서열번호 41)에 제시된 CDR-L3. 일부 실시형태에서, 마스킹 펩타이드(MP)와 인간 CD137(hCD137)을 결합하는 항체를 포함하는 마스킹된 항체가 제공되며, 여기서 항체는 중쇄 가변 영역(VH)과 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고, 여기서 MP는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서 MP는 N-말단에서부터 C-말단으로, 마스킹 단위(MU), 연결 단위(LU)를 포함하고, 여기서 VH는 TSGVGVG(서열번호 42)에 제시된 CDR-H1, LIDWDDKKYSPSLKS(서열번호 43)에 제시된 CDR-H2, GGS DTVLGDWFAY(서열번호 44)에 제시된 CDR-H3을 포함하고, 여기서 VL은 RASQSVSPYLA(서열번호 45)에 제시된 CDR-L1을 포함한다. DASSLES(서열번호 46)에 명시된 CDR-L2 및 QQGYSLWT(서열번호 47)에 명시된 CDR-L3. 일부 실시형태에서, 마스킹 펩타이드(MP)와 인간 CD137(hCD137)에 결합하는 항체를 포함하는 마스킹된 항체가 제공되며, 여기서 항체는 중쇄 가변 영역(VH)과 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고, 여기서 MP는 VL의 N-말단에 연결되고, 여기서 MP는 N-말단에서부터 C-말단으로, 마스킹 단위(MU), 연결 단위(LU)를 포함하고, 여기서 VH는 SGHYWA(서열번호 48)에 제시된 CDR-H1, SISGYGSTTYADSVKG(서열번호 49)에 제시된 CDR-H2, GGS DAVLGDWFAY(서열번호 50)에 제시된 CDR-H3을 포함하고, 여기서 VL은 RASQGIGSFLA(서열번호 51)에 제시된 CDR-L1, DASNLET(서열번호 40)에 명시된 CDR-L2 및 QQGYLWT(서열번호 41)에 명시된 CDR-L3. 서열번호 1-7은 아래 표 2에 제공됩니다.

[0074] 표 2. 예시적 마스크링 유닛 시퀀스(서열번호 1-7)

SEQ ID NO:	마스크링 단위 (MU) 시퀀스
1	PTDLDACADAPNHCHF
2	SSTHAHCHHSPANCIS
3	DTDYDFCPILRHRCDS
4	NDYNYHCKWRPSRCHN
5	YHDYDDCRVLP RR CFN
6	SNNFASCLWRHRSCAD
7	TDNYDYCPRLRRKCYH

[0075]

[0076]

일부 실시형태에서, MP는 또한 N-말단 단위를 포함한다. 일부 실시형태에서, N-말단 단위는 길이가 약 1-10개 아미노산이다. 일부 실시형태에서, N-말단 단위는 E(글루타민산) 또는 EVGSY(서열번호 77)를 포함한다. 일부 실시형태에서, LU는 최소한 첫 번째 절단 부위(CS₁)(예를 들어, 첫 번째 프로테아제 절단 부위)를 포함한다. 일부 실시형태에서, LU는 또한 두 번째 절단 부위(CS₂)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 첫 번째 및/또는 두 번째 절단 부위는 프로테아제 절단 부위이다. 일부 실시형태에서, 첫 번째 및 두 번째 절단 부위는 동일합니다. 일부 실시형태에서, 첫 번째와 두 번째 절단 부위가 다르다. 예를 들어, 유 로키나제-유형 플라스미노겐 활성화제(uPA); 매트릭스 메탈로프로테이나제(예를 들어, MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-10, MMP-11, MMP-12, MMP-13, MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-19, MMP-20, MMP-23, MMP-24, MMP-26 및/또는 MMP-27); 담배 식각 바이러스(TEV) 프로테아제; 플라스민; 트롬빈; PSA; PSMA; ADAMS/ADAMTS(예를 들어, ADAM 8, ADAM 9, ADAM10, ADAM12, ADAM15, ADAM17/TACE, ADAMDEC1, ADAMTS1, ADAMTS4 및/또는 ADAMTS5); 카스파제(예를 들어, 카스파제-1, 카스파제-2, 카스파제-3, 카스파제-4, 카스파제-5, 카스파제-6, 카스파제-7, 카스파제-8, 카스파제-9, 카스파제-10, 카스파제-11, 카스파제-12, 카스파제-13 및/또는 카스파제-14); 아스파테이트 프로테아제(예를 들어, RACE 및/또는 Renin); 아스파틱 카텡신(예를 들어, 카텡신 D 및/또는 카텡신 E); 시스테인 카텡신(예를 들어, 카텡신 B, 카텡신 C, 카텡신 K, 카텡신 L, 카텡신 S, 카텡신 V/L2 및/또는 카텡신 X/Z/P); 시스테인 프로테이나제(예를 들어, Cruzipain, Legumain 및/또는 Otubain-2); KLK(예를 들어, KLK4, KLK5, KLK6, KLK7, KLK8, KLK10, KLK11, KLK13 및/또는 KLK14); 메탈로 프로테이나제(예를 들어, Meprin, Neprilysin, PSMA 및/또는 BMP-1); 세린 프로테아제(예를 들어, 활성화된 단백 질 C, 카텡신 A, 카텡신 G, Chymase 및/또는 응집 인자 프로테아제(에킨대, FVIIa, FIXa, FXa, FXIa, FXIIa)); 엘라스타제; 그랜자임 B; 구아니디노벤조아타제; HtrA1; 인간 뉴트로필 엘라스타제; 락토펜; 마랍신; NS3/4A; PACE4; tPA; 트립타제; 타입 II 막관통 세린 프로테아제(TTSP)(예를 들어, DESC1, DPP-4, FAP, Hepsin, Matriptase-2, MT-SP1/Matriptase, TMPRSS2, TMPRSS3 및/또는 TMPRSS4) 등에 의해서 인식 및/또는 절단되는 프로테아제 절단 부위를 비롯한, 당업계에서 공지된 임의의 프로테아제(예를 들어, CM을 포함하는 폴리펩타이드의 표적과 공동 국지화된다고 공지된 프로테아제)에 의해서 인식 및/또는 절단되는 임의의 적합한 프로테아제 절단 부위가 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 프로테아제 절단 부위는 uPA, MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-14, TEV 프로테아제, 플라스민, 트롬빈, 인자 X, PSA, PSMA, 카텡신 D, 카텡신 K, 카텡신 S, ADAM10, ADAM12, ADAMTS, 카스파제-1, 카스파제-2, 카스파제-3, 카스파제-4, 카스파제-5, 카스파제-6, 카스파제-7, 카스파제-8, 카스파제-9, 카스파제-10, 카스파제-11, 카스파제-12, 카스파제-13, 카스파제-14 및 TACE로부터 선택된 프로테아제에 대한 절단 부위이다. 일부 실시형태에서, 제1 프로테아제 절단 부위는 uPA, MMP-2, MMP-9 및/또는 TEV 프로테아제로부터 선택된 프로테아제에 대한 절단 부위이다. 일부 실시형태에서, 프로테아제 절단 부위는 SGRSA(서열번호 86) 및 PLGLAG(서열번호 87)로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0077]

일부 실시형태에서, LU는 또한 첫 번째 링커(L₁)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 첫 번째 링커(L₁)는 첫 번째 절단 부위(CS₁)(예를 들어, 첫 번째 프로테아제 절단 부위)의 C 말단에 있습니다. 일부 실시형태에서, LU는 N-말단에서부터 C-말단으로, (CS₁)-L₁의 구조를 포함한다. 일부 실시형태에서, LU는 또한 두 번째 링커(L₂)를 포함한다. 일부 실시형태에서, L₂는 두 번째 절단 부위의 C 말단에 위치한다. 일부 실시형태에서, LU는 N-말단에서부터 C-말단으로, (CS₁)-L₁-(CS₂)-L₂의 구조를 포함한다. 일부 실시예에서, L₁ 및 L₂는 당업계에 알려진 임의의 적합한 링커(예를 들어, 유연한 링커)이며, 예를 들어 글리신 폴리머(G)_n을 포함하되 이에 국한되지 않음, 여기서 n은 1 이상의 정수(예를 들어, 1 이상, 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 6 이상, 7 이상, 8 이상, 9

이상, 10 이상 등)임. 글리신-세린 폴리머(GS) n, 여기서 n은 1 이상의 정수(예를 들어, 1 이상, 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 6 이상, 7 이상, 8 이상, 9 이상, 10 이상 등)이며, 예를 들어 GGGGS(서열번호 108), GGGGT(서열번호 78), SGGGS(서열번호 79), GGSG(서열번호 80), GGSGG(서열번호 81), GSGSG(서열번호 82), GSGGG(서열번호 83), GGGSG(서열번호 84), 및/또는 GSSSG(서열번호 85) 등; 글리신-알라닌 폴리머; 알라닌-세린 폴리머 등. 링커 서열은 약 1개 아미노산(예를 들어, 글리신 또는 세린)부터 약 20개 아미노산(예를 들어, 20개 아미노산 글리신 폴리머 또는 글리신-세린 폴리머), 약 1개 아미노산부터 약 15개 아미노산, 약 3개 아미노산부터 약 12개 아미노산, 약 4개 아미노산부터 약 10개 아미노산, 약 5개 아미노산부터 약 9개 아미노산, 약 6개 아미노산부터 약 8개 아미노산 등, 어떤 길이라도 될 수 있다. 일부 실시형태에서, 링커는 길이가 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개의 아미노산이다.

[0078] 일부 실시형태에서, LU는 서열번호 8 및 10-16으로 구성된 그룹에서 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 서열번호 8 및 10-16은 아래 표 3에 제공됩니다.

[0079] 표 3. 예시적 연결 단위 서열(서열번호 8-36)

SEQ ID NO:	연결 단위 (LU) 시퀀스
8	SGRSAGGGGTPLGLAGSGGS
10	PLGLAGSGGS
11	GGGPLGLAGGS
12	GGGPLGLAGGS
13	SGGGPLGLAGGS
14	SGRGPLGLAGGS
15	SGRGGPLGLAGGS
16	SGRGGPLGLAGGS

[0080]

[0081] 일부 실시형태에서, 마스킹 펩타이드(MP)는 N 말단에서 C 말단까지 (MU)-(LU) 구조를 포함하며, 여기서 LU는 (CS₁)-L₁ 또는 (CS₁)-L₁-(CS₂)-L₂ 구조를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 공개의 마스킹 펩타이드는 서열번호 43-65로 구성된 그룹에서 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0082] 일부 실시형태에서, 마스킹 펩타이드(MP)는 서열번호 1-7 중 하나에 제시된 MU와 서열번호 8-16 중 하나에 제시된 LU를 포함한다. 일부 실시형태에서, MP는 서열번호 17-35 중 하나에 명시된 서열을 포함한다. 서열번호 17-35는 아래 표 4에 제공됩니다.

[0083] 표 4: 예시적 마스킹 펩타이드 서열(서열번호 17-35)

SEQ ID NO	차폐 펩타이드 서열 (N-끝에서 C-끝)
17	EVGSYPTDLDACADAPNHCHFSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS
18	EVGSYSSTHAHCHHSPANCISGRSAGGGGTPLGLAGSGGS
19	EVGSYDIDYDFCPILRHRCDSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS
20	EVGSYNDYNYHCKWRPSRCHNSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS
21	EVGSYHYDYDDCRVLPRRCFNSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS
22	EVGSYSNNFASCLWRHRSACDSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS
23	EVGSYTDNYDCPRLRRKCYHSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS
24	EVGSYDIDYDFCPILRHRCDSPLGLAGSGGS
25	EVGSYDIDYDFCPILRHRCDSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS
26	EVGSYNDYNYHCKWRPSRCHNPLGLAGSGGS
27	EVGSYNDYNYHCKWRPSRCHNSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS
28	EVGSYTDNYDCPRLRRKCYHPLGLAGSGGS
29	EVGSYTDNYDCPRLRRKCYHSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS
30	EVGSYTDNYDCPRLRRKCYHGGGPLGLAGGS
31	EVGSYPTDLDACADAPNHCHFGGGPLGLAGGS
32	EVGSYPTDLDACADAPNHCHFSGGGPLGLAGGS
33	EVGSYPTDLDACADAPNHCHFSGRGPLGLAGGS
34	EVGSYPTDLDACADAPNHCHFSGRGGPLGLAGGS
35	EVGSYPTDLDACADAPNHCHFSGRGGGPLGLAGGS

[0084]

[0085] *N-말단 단위 시퀀스는 일반 텍스트로 표시되고, 마스킹 시퀀스는 굵은 밑줄로 표시되고, 연결 단위는 굵은 글씨로 표시됩니다.

[0086] 일부 실시형태에서, 마스킹된 항체(본 명세서에서 "마스킹된 항-CD137 항체"로도 지칭됨)는 서열번호 52에 제시된 VH와 서열번호 53에 제시된 VL을 포함합니다. 일부 실시형태에서, 마스킹된 항체(본 명세서에서 "마스킹된 항-CD137 항체"로도 지칭됨)는 서열번호 54에 제시된 VH와 서열번호 55에 제시된 VL을 포함합니다. 일부 실시형태에서, 마스킹된 항체(본 명세서에서 "마스킹된 항-CD137 항체"로도 지칭됨)는 서열번호 56에 제시된 VH와 서열번호 57에 제시된 VL을 포함합니다. 일부 실시형태에서, 마스킹된 항-CD137 항체는 서열번호 52에 제시된 VH와 서열번호 58-76 중 하나에 제시된 VL을 포함한다. 서열번호 52-76은 아래 표 5A 및 5B에 제공됩니다.

[0087] 표 5A. 대표적인 항-CD137 항체의 VH 및 VL 시퀀스

TY2124 2 / TY2412 2 /	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSLTGGVGVGWIRQAPGKGL EW LALIDWADDKYYPSPSLKSRLTISRDN SKNTLYLQLNSLRAEDTAV YYCA RGGSDTVIGDWFAYWGQGT LVTVSS (서열번호 52)
TY2331 0 / TY2411 8	VL	DIQLTQSPSSLSASV GDRV TITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKL LIYDA SNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYLWT FGQGT KVEIKR (서열번호 53)
AG10058	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSLTSGVGVGWIRQAPG KGLEW LALIDWDDDKYYPSPSLKSRLTISRDN SKNTLYLQLNSLRAEDTAV YYCA RGGSDTVLG DWFAYWGQGT LVTVSS (서열번호 54)
	VL	DIQLTQSPSSLSASV GDRV TITCRASQSVSPYLA WYQQKPGKAPK LLIYD ASSLES GVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYSLW TFGQGT KVEIKR (서열번호 55)
AG10059	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSGHYWAWIRQAPGK GLEW VSSISGYGSTTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQLNSLRAEDTA VYYCA RGGSDAVLG DWFAYWGQGT LVTVSS (서열번호 56)
	VL	DIQLTQSPSSLSASV GDRV TITCRASQGIGSFLAWYQQKPGKAPKL LIYDA SNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYLWT FGQGT KVEIKR (서열번호 57)

[0088]

[0089] 표 5B. 예시적 마스크된 항-CD137 항체의 VH 및 VL 서열* (N-to C-말단)

VH (표 5B 의 모든 마스크된 항-CD137 항체에 대해 동일하다)	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSLTGGVGVGWIRQA PGKGLEWLALIDWADDKYYPSPSLKSRLTISRDN SKNTLYLQL NSLRAEDTAVYYCARGGSDTVIGDWFAYWGQGT LVTVSS (서열번호 52)
TY25368 및 TY25366	VL	EVGSYP <u>PTDLDACADAPNHCH</u> FSGRGGPLGLAGGS <i>DIQLTQS</i> <i>PSSLSASV GDRV TITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASN</i> <i>LETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYLWTFGQG</i> <i>TKVEIKR</i> (서열번호 58)
TY22586	VL	EVGSYP <u>PTDLDACADAPNHCH</u> FSGRSAGGGGTPLGLAGSGG <i>SDIQLTQSPSSLSASV GDRV TITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKL</i> <i>LIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGY</i> <i>LWTFGQGTKVEIKR</i> (서열번호 59)

[0090]

TY22591	VL	EVGSY <u>SSTHAHCHHSPANCIS</u> SGRSAGGGGTPLGLAGSGGS DIQLTQSPSSL.SASVGDRVTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLL IYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGYL WTFGQGTKVEIKR (서열번호 60)
TY22594	VL	EVGSYDTDYDFCPILRHRCDSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS DIQLTQSPSSL.SASVGDRVTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLL IYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGYL WTFGQGTKVEIKR (서열번호 61)
TY22595	VL	EVGSYNDYNYHCKWRPSRCHNSGRSAGGGGTPLGLAGSG GSDIQLTQSPSSL.SASVGDRVTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQG YYLWTFGQGTKVEIKR (서열번호 62)
TY22596	VL	EVGSYHDDYDCRVLPRRCFNSGRSAGGGGTPLGLAGSGG SDIQLTQSPSSL.SASVGDRVTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKL LIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGYL LWTFGQGTKVEIKR (서열번호 63)
TY22598	VL	EVGSYNNFASCLWRHRSCADSGRSAGGGGTPLGLAGSGG SDIQLTQSPSSL.SASVGDRVTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKL LIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGYL LWTFGQGTKVEIKR (서열번호 64)
TY22599	VL	EVGSYTDNYDYPRLRRKCYHSGRSAGGGGTPLGLAGSG GSDIQLTQSPSSL.SASVGDRVTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQG YYLWTFGQGTKVEIKR (서열번호 65)
TY23565 및 TY23571	VL	EVGSYDTDYDFCPILRHRCDSPLGLAGSGGSDIQLTQSPSSL.S ASVGDRVTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGV PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGYLWTFGQGTKVE IKR (서열번호 66)
TY23568	VL	EVGSYDTDYDFCPILRHRCDSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS DIQLTQSPSSL.SASVGDRVTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLL IYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGYL WTFGQGTKVEIKR (서열번호 67)
TY23566,	VL	EVGSYNDYNYHCKWRPSRCHNPLGLAGSGGSDIQLTQSPSS

[0091]

TY23572 및 TY25370		LSASVGDRTTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYLWTFGQGTKV EIKR (서열번호 68)
TY23569	VL	EVGSYNDYNYHCKWRPSRCHNSGRSAGGGGTPLGLAGSG GSDIQLTQSPSSLASVGDRTTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPFRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQG YYLWTFGQGTKVEIKR (서열번호 69)
TY23567, TY25371, 및 TY23573	VL	EVGSYTDNYDYCPRLRRKCYHPLGLAGSGSDIQLTQSPSSL SASVGDRTTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYLWTFGQGTKVE IKR (서열번호 70)
TY23570	VL	EVGSYTDNYDYCPRLRRKCYHSGRSAGGGGTPLGLAGSG GSDIQLTQSPSSLASVGDRTTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAP KLLIYDASNLETGVPFRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQG YYLWTFGQGTKVEIKR (서열번호 71)
TY25372	VL	EVGSYTDNYDYCPRLRRKCYHGGGPLLAGGSDIQLTQSP SSLASVGDRTTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLE TGVPFRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYLWTFGQGT KVEIKR (서열번호 72)
TY25153	VL	EVGSYPTDLDACADAPNHCHFGGGPLLAGGSDIQLTQSPSS LSASVGDRTTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYLWTFGQGTKV EIKR (서열번호 73)
TY25154	VL	EVGSYPTDLDACADAPNHCHFGGGPLLAGGSDIQLTQSP SSLASVGDRTTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLE TGVPFRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYLWTFGQGT KVEIKR (서열번호 74)
TY25155	VL	EVGSYPTDLDACADAPNHCHFSGRGPLLAGGSDIQLTQSPSS LSASVGDRTTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYLWTFGQGTKV EIKR (서열번호 75)

TY25369	VL	EVGSYPTDLDACADAPNHCHFSGRGGGPLLAGGSDIQLTQ SPSSLASVGDRTTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASN LETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYLWTFGQ GTKVEIKR (서열번호 76)
---------	----	---

*N-말단 단위는 일반 텍스트, 마스킹 단위는 밑줄 친 붉은 텍스트, 연결 단위는 붉은 텍스트, VL 시퀀스는 기울임꼴 텍스트입니다.

일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 34를 포함하는 MP; TGGVGVG(서열번호 36)에 제시된 CDR-H1, LIDWADDKYSPSLKS(서열번호 37)에 제시된 CDR-H2, GGSDTVIGDWFAY(서열번호 38)에 제시된 CDR-H3을 포함하는 VH; 및 RASQSIGSYLA(서열번호 39)에 제시된 CDR-L1, DASNLET(서열번호 40)에 제시된 CDR-L2, QQGYLWT(서열번호 41)에 제시된 CDR-L3을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항체는 서열번호 34를 포함하는 MP, 서열번호 52를 포함하는 VH, 및 서열번호 53을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항체는 서열번호 52를 포함하는 VH와 서열번호 58을 포함하는 VL을 포함한다.

일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 전장 항체 경쇄, 예를 들어 카파 또는 람다 경쇄를 포함합니다. 추가적으로 또는 대안적으로, 일부 실시형태에서, 항-CD137 항체는 전장 항체 중쇄를 포함한 다. 항체 중쇄는 IgG, IgM, IgE, IgA 또는 IgD와 같은 모든 클래스에 있을 수 있습니다. 일부 실시형태에서, 항체 중쇄는 IgG 클래스, 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 하위 클래스에 있습니다. 여기에 설명된 항체 중쇄는 다음을 사용하여 한 클래스 또는 하위 클래스에서 다른 클래스 또는 하위 클래스로 변환될 수 있습니다. 기술 분야에 알려진 방법. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 Fc 영역, 예를 들어 인간 Fc 영역 또는 이의 변이체를 포함하는 전장 항체이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 Fc 영역은 인간 IgG1 Fc 영역, 인간 IgG2 Fc 영역, 인간 IgG4 Fc 영역 또는 이들 중 임의의 하나의 변형체이다. 일부 실시형태에서, 변이체 Fc 영역

은 변이체가 유래된 야생형 인간 Fc 영역과 관련하여 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137항체는 인간 IgG1 Fc 영역의 변형을 포함합니다. 일부 실시형태에서, IgG1 Fc 변형체는 Fc γ RIIb에 대한 Fc 변형체의 친화도를 증가시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 IgG1 Fc 영역의 변형체는 다음으로 구성된 그룹에서 선택된 치환(들)을 포함한다: G236D; L328F; S239D; S267E; G236D 및 S267E; S239D 및 S267E; S267E 및 L328S; 및 S267E 및 L328F, 여기서 아미노산 번호는 EU 인덱스에 따른다(예를 들어, 문헌 Edelman et al., 1969, Proc Natl Acad Sci USA 63: 78-85 참조). 앞의 대체는 Chu et al.에서 설명됩니다. 2008) 몰 이뮤놀. 45 (15) : 3926-33. 추가적으로 또는 대안적으로, 일부 실시형태에서, 인간 IgG1 Fc 영역의 변형체는 다음으로 구성된 그룹에서 선택된 치환(들)을 포함한다: E233D 및 P238D; G237D 및 P238D; H268D 및 P238D; P271G 및 P238D; A330R 및 P238D; E233D, P238D 및 A330R; E233D, P231G, P238D 및 A330R; G237D, H268D, P238D 및 P271G; G237D, P238D, P271G 및 A330R; E233D, H268D, P238D, P271G 및 A330R; G237D, H268D, P238D, P271G 및 A330R; 및 E233D, G237D, P238D, H268D, P271G 및 A330R, 여기서 아미노산 번호는 EU 색인에 따른다. 앞의 대체는 Mimoto et al.에 설명되어 있습니다. 2013) 단백질 공학 및 기술 26 (10) : 589-98. 추가적으로 또는 대안적으로, 일부 실시형태에서, 인간 IgG1 Fc 영역의 변형체는 S2657A 치환을 포함합니다(Buschor et al. 참조). 2014) Int Arch Allergy Immunol. 163(3) : 206-14), 여기서 아미노산 번호는 EU 색인에 따릅니다. 추가적으로 또는 대안적으로, 일부 실시형태에서, 인간 IgG1 Fc 영역의 변형체는 T437R 및/또는 K248E 치환을 포함합니다(Zhang et al. 참조). 2017) MAbs. 9(7) : 1129-1142), 여기서 아미노산 번호는 EU 색인에 따릅니다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 인간 IgG4 Fc 영역의 변형을 포함합니다. 일부 실시형태에서, IgG4 Fc 변형체는 Fc γ RIIb에 대한 Fc 변형체의 친화도를 증가시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 IgG4 Fc 영역의 변형체는 다음으로 구성된 그룹에서 선택된 치환(들)을 포함한다: G236D; L328F; S239D; S267E; G236D 및 S267E; S239D 및 S267E; S267E 및 L328S; 및 S267E 및 L328F, 여기서 아미노산 번호는 EU 인덱스에 따른다. 또한 또는 대안적으로, 일부 실시형태에서, 인간 IgG4 Fc 영역의 변형체는 다음으로 구성된 그룹에서 선택된 치환(들)을 포함합니다: E233D와 P238D; G237D와 P238D; H268D와 P238D; P271G와 P238D; A330R과 P238D; E233D, P238D, 및 A330R; E233D, P231G, P238D, 및 A330R; G237D, H268D, P238D, 및 P271G; G237D, P238D, P271G, 및 A330R; E233D, H268D, P238D, P271G, 및 A330R; G237D, H268D, P238D, P271G, 및 A330R; 및 E233D, G237D, P238D, H268D, P271G 및 A330R, 여기서 아미노산 번호는 EU 색인에 따른다. 추가적으로 또는 대안적으로, 일부 실시형태에서, 인간 IgG4 Fc 영역의 변종은 S2657A 치환을 포함하는데, 여기서 아미노산 번호는 EU 지수에 따른다. 추가적으로 또는 대안적으로, 일부 실시형태에서, 인간 IgG1 Fc 영역의 변종은 T437R 및/또는 K248E 치환을 포함하는데, 여기서 아미노산 번호는 EU 지수에 따른다.

[0097] 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 34의 마스크 펩타이드, 서열번호 52에 제시된 VH 도메인, 서열번호 53에 제시된 VL 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 또한 하나 이상의 치환 돌연변이(들)를 포함하는 인간 IgG1 도메인 또는 그 변종을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, IgG1 변형체는 다음으로 구성된 그룹에서 선택된 치환을 포함합니다: G236D; L328F; S239D; S267E; G236D 및 S267E; S239D 및 S267E; S267E 및 L328S; 및 S267E 및 L328F; E233D 및 P238D; G237D 및 P238D; H268D 및 P238D; P271G 및 P238D; A330R 및 P238D; E233D, P238D 및 A330R; E233D, P231G, P238D 및 A330R; G237D, H268D, P238D 및 P271G; G237D, P238D, P271G 및 A330R; E233D, H268D, P238D, P271G 및 A330R; G237D, H268D, P238D, P271G 및 A330R; 및 E233D, G237D, P238D, H268D, P271G 및 A330R; S2657A; T437R; K248E; 및 T437R 및 K248E, 여기서 아미노산 번호는 EU 색인에 따른다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 또한 하나 이상의 치환 돌연변이(들)를 포함하는 인간 IgG4 도메인 또는 그 변종을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, IgG4 변형체는 다음으로 구성된 그룹에서 선택된 치환을 포함한다: G236D; L328F; S239D; S267E; G236D 및 S267E; S239D 및 S267E; S267E 및 L328S; 및 S267E 및 L328F; E233D 및 P238D; G237D 및 P238D; H268D 및 P238D; P271G 및 P238D; A330R 및 P238D; E233D, P238D 및 A330R; E233D, P231G, P238D 및 A330R; G237D, H268D, P238D 및 P271G; G237D, P238D, P271G 및 A330R; E233D, H268D, P238D, P271G 및 A330R; G237D, H268D, P238D, P271G 및 A330R; 및 E233D, G237D, P238D, H268D, P271G 및 A330R; S2657A; T437R; K248E; 및 T437R 및 K248E, 여기서 아미노산 번호는 EU 색인에 따른다.

[0098] 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 111-118 중 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다. 아래의 표 6을 참조하세요.

[0099] 표 6. 대표적인 중쇄 불변 영역 서열

SEQ ID NO:	시퀀스 (N-에서-C)	설명
111	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT PSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV DVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAK GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	WT 인간 IgG1 불변 영역
112	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT PSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV DVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAK GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	WT 인간 IgG1 불변 영역 (C-말단 K 없음)
113	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT PSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV DVEH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPAPIEKTI SKAK GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY	S267E 및 L328F 치환 (EU 넘버링) 을 포함하는 인간 IgG1 변이체

[0100]

	PSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
114	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVEH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPAIEKTI SKAK GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	S267E 및 L328F 치환 (EU 넘버링) 을 포함하는 인간 IgG1 변이체 (C-말단 K 없음)
115	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSL GTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPP CPAPE FLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK	WT 인간 IgG4 불변 영역
116	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSL	WT 인간 IgG4 불변 영역 (C-말단 K 없음)

[0101]

	GTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPE FLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEW ESNQGPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG	
117	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSL GTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPE FLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV EQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEW ESNQGPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG	S267E 및 L328F 치환 (EU 넘버링) 을 포함하는 인간 IgG4 변이체
118	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSL GTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPE FLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV EQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEW ESNQGPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG	S267E 및 L328F 치환 (EU 넘버링) 을 포함하는 인간 IgG4 변이체 (C-말단 K 없음)

[0102]

[0103]

일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 88-95 중 하나를 포함하는 중쇄를 포함합니다. 추가적으로 또는 대안적으로, 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 96-109 및 119-122 중 하나를 포함하는 경쇄를 포함합니다.

[0104]

일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 88 또는 89를 포함하는 중쇄와 서열번호 109를 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 92 또는 93을 포함하는 중쇄와 서열번호 109를 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 90 또는 91을 포함하는 중쇄와 서열번호 109를 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 94 또는 95를 포함하는 중쇄와 서열번호 109를 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 94 또는 95를 포함하는 중쇄와 서열번호 96을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 92 또는 93을 포함하는 중쇄와 서열번호 96을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 88 또는 89를 포함하는 중쇄와 서열번호 97을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 88 또는 89를 포함하는 중쇄와 서열번호 98을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 88 또는 89를 포함하는 중쇄와 서열번호 119를 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 88 또는 89를 포함하는 중쇄와 서열번호 100을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 88 또는 89를 포함하는 중쇄와 서열번호 120을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 88 또는 89를 포함하는 중쇄와 서열번호 121을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 88 또는 89를 포함하는 중쇄와 서열번호 102를 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호

88 또는 89를 포함하는 중쇄와 서열번호 103을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 90 또는 91을 포함하는 중쇄와 서열번호 98을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 90 또는 91을 포함하는 중쇄와 서열번호 1을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 88 또는 89를 포함하는 중쇄와 서열번호 99를 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 90 또는 91을 포함하는 중쇄와 서열번호 100을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 90 또는 91을 포함하는 중쇄와 서열번호 99를 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 94 또는 95를 포함하는 중쇄와 서열번호 99를 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 88 또는 89를 포함하는 중쇄와 서열번호 101을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 94 또는 95를 포함하는 중쇄와 서열번호 101을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 90 또는 91을 포함하는 중쇄와 서열번호 101을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 94 또는 95를 포함하는 중쇄와 서열번호 104를 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 88 또는 89를 포함하는 중쇄와 서열번호 105를 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 88 또는 89를 포함하는 중쇄와 서열번호 106을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 88 또는 89를 포함하는 중쇄와 서열번호 107을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 94 또는 94를 포함하는 중쇄와 서열번호 122를 포함하는 경쇄를 포함한다. 서열번호 88-95-109 및 119-122의 아미노산 서열은 아래 표 7A 및 7B에 제공된다.

[0105] 표 7A. 예시적 비마스크 항-CD137 항체의 중쇄 및 경쇄 서열(N-to C-말단)

TY21242	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA AL IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN SKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARGGSD TVI GDWFA YWGQGT L VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF P EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSLGK (서열번호 88)
	LC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA AL IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN SKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARGGSD TVI GDWFA YWGQGT L VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF P EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSLG (서열번호 89)
TY24122	HC	DIQLTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQSIGSYLA WYQQKPKGAPKLLIYDAS NLE TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYLWTFGQGTKEIK RT VAAPSVEIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDYSLSSITLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRRGEC (서열번호 109)
	LC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA L IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN SKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDT VI GDWFA YWGQGT L VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVEQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP

[0106]

		<u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG</u> (서열번호 92) <u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>L</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDT</u> <u>VI</u> <u>GDWFAFWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVEQEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGFPPSSIEKTSKAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG</u> (서열번호 93)
	LC	<u>DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIGSYLAWYQQPGKAPKLLIYDASN</u> <u>LE</u> <u>TGVPSRFSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQGGYLLWTFGQGTKVEIKR</u> <u>T VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN</u> <u>SQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS</u> <u>FNRGEC</u> (서열번호 109)
TY23310		<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWL</u> <u>AL</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSD</u> <u>TVI</u> <u>GDWFAFWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY</u> <u>F</u> <u>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST</u> <u>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL</u> <u>DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u> (서열번호 90)
	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWL</u> <u>AL</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSD</u> <u>TVI</u> <u>GDWFAFWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY</u> <u>F</u> <u>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST</u> <u>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL</u> <u>DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> (서열번호 91)

[0107]

	LC	<u>DIQLTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASN</u> <u>LE</u> <u>TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYLWTFGQGTKVEIKR</u> <u>T VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN</u> <u>SQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS</u> <u>FNRGEC (서열번호 109)</u>
TY24118	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>L</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDT</u> <u>VI</u> <u>GDWFA YWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF</u> <u>PEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST</u> <u>YRVVSVLT VLVHQLDNLNGKEYKCKVSNKAFPAIEKTIKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV</u> <u>LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u> <u>(서열번호 94)</u>
		<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>L</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDT</u> <u>VI</u> <u>GDWFA YWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF</u> <u>PEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST</u> <u>YRVVSVLT VLVHQLDNLNGKEYKCKVSNKAFPAIEKTIKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV</u> <u>LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> <u>(서열번호 95)</u>
	LC	<u>DIQLTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASN</u> <u>LE</u> <u>TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYLWTFGQGTKVEIKR</u> <u>T VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN</u> <u>SQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS</u> <u>FNRGEC (서열번호 109)</u>

[0108]

[0109]

[0110]

[0111]

- LC의 경우 VL 시퀀스는 기울임체 텍스트, CL은 이중 밑줄 텍스트
 - HC의 경우 VH 시퀀스는 기울임체 텍스트, CH는 이중 밑줄 텍스트
- 표 7B. 예시적 마스크된 항-CD137 항체의 중쇄 및 경쇄 서열(N-to C-말단)

TY25368	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>L</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFA YWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF</u> <u>PEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST</u> <u>YRVVSVLT VLVHQLDNLNGKEYKCKVSNKAFPAIEKTIKAKGQPREPQV</u>
---------	----	---

[0112]

		<u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL</u> <u>DSLGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u> (서열번호 94)
		<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTLVTVSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYF</u> <u>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKRVKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST</u> <u>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPAIEKTI SKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL</u> <u>DSLGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> (서열번호 95)
	LC	<u>EVGSYP</u><u>TDLDACADAPNHCHFSGRGGPLGLAGGS</u><u>DIQLTQSPSSL</u><u>SASV</u> <u>GDRVTTICRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVP</u><u>SRFSGSGSGT</u> <u>DFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYLWTFGQGTKVEIK</u><u>KTVAAPSVFIFPPSDE</u> <u>QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS</u> <u>TYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (서열번호 96)
TY25366	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTLVTVSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTRTYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVEQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGFPSSTIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK</u> (서열번호 92)
		<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTLVTVSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTRTYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVEQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGFPSSTIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG</u> (서열번호 93)

[0113]

	LC	EVGSYPTDLDACADAPNHCHFSGRGGPLGLAGGS/DIQLTQSPSSLASV GDRVTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGGT DFTLTISLQPEDFATYYCQGYLWTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 96)
TY22586	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA IDWADDKYYSPSLKSRSLTISRDN SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI GDWFAIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLK (서열번호 88) EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA IDWADDKYYSPSLKSRSLTISRDN SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI GDWFAIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLK (서열번호 89)
	LC	EVGSYPTDLDACADAPNHCHFSGRSAGGGTPLGLAGSGGS/DIQLTQS PSSLASVGDRTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRF SGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYCQGYLWTFGQGTKEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 97)
TY22591	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA IDWADDKYYSPSLKSRSLTISRDN SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI GDWFAIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLK (서열번호 88)

[0114]

		<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRITISRDNSKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIYWGQGLVTIVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSG</u> (서열번호 89)
	LC	EVGSY<u>SSTHAHCHSPANCIS</u>SGRSAGGGTPLGLAGSGGSDIQLTQS PSSLASVGDRTITCRASQSIGSYLAWYQKPGKAPKLLIYDASNLETG VPSRFSGGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQGGYLLWTFGQGTKEIKR TAAPPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK <u>SFNRGEC</u> (서열번호 123)
TY22594	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRITISRDNSKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIYWGQGLVTIVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSG</u> (서열번호 88)
	LC	EVGSY<u>DDYDFCPILRHRCDS</u>SGRSAGGGTPLGLAGSGGSDIQLTQS PSSLASVGDRTITCRASQSIGSYLAWYQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSPRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQGGYLLWTFGQGTKEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 119)

[0115]

TY22595	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN'SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKRVEISKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK (서열번호 88)</u> <u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN'SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKRVEISKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGL (서열번호 89)</u>
	LC	<u>EVGSYN'DYNYHCKWRPSRCHNSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS'DIQLTQ</u> <u>SPSSLSASVGDRTVITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSR</u> <u>FSGSGSGTDFTLTITSSQLQPEDFATYYCQQGYLWTFGQGTKEIKRTVAAPSV</u> <u>FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT</u> <u>EQDSKDSITYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 100)</u>
TY22596	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN'SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKRVEISKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK (서열번호 88)</u> <u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN'SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKRVEISKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG</u>

[0116]

		<u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG</u> (서열번호 89)
	LC	<u>EVGSY~~Y~~H~~D~~Y~~D~~DC~~R~~V~~L~~PR~~R~~C~~F~~N~~S~~GRSAGGGGTPLGLAGSGGS</u> <i>DIQLTQ</i> <u>SPSSLASVGD~~R~~VTITCRASQSIGSYLAWYQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSR</u> <u>FSGSGSGTDFTLTIS~~S~~LQ~~P~~EDFATYYCQGGYYLWTFGQGTKVEIKRTVAAPSV</u> <u>FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT</u> <u>EQSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (서열번호 120)
TY22598	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLS~~T~~GGVGVGWIRQAPGKGLEW~~L~~AL</u> <u>IDWADDKYYSPSLK~~S~~R~~L~~TISRDN~~S~~SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFA~~Y~~WGQGT~~L~~VT~~V~~SS~~A~~STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG~~T~~KTYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI~~S~~KAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG</u> (서열번호 88)
	LC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLS~~T~~GGVGVGWIRQAPGKGLEW~~L~~AL</u> <u>IDWADDKYYSPSLK~~S~~R~~L~~TISRDN~~S~~SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFA~~Y~~WGQGT~~L~~VT~~V~~SS~~A~~STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG~~T~~KTYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI~~S~~KAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG</u> (서열번호 89)
	LC	<u>EVGSY~~S~~NNFASCLWRH~~R~~SCADSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS</u> <i>DIQLTQS</i> <u>PSSLASVGD~~R~~VTITCRASQSIGSYLAWYQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRF</u> <u>SGSGSGTDFTLTIS~~S~~LQ~~P~~EDFATYYCQGGYYLWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVF</u> <u>IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE</u> <u>QDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (서열번호 121)
TY22599	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLS~~T~~GGVGVGWIRQAPGKGLEW~~L~~AL</u> <u>IDWADDKYYSPSLK~~S~~R~~L~~TISRDN~~S~~SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFA~~Y~~WGQGT~~L~~VT~~V~~SS~~A~~STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG~~T~~KTYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u>

[0117]

		<u>TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI</u><u>SKAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG</u> (서열번호 88) <u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLS</u><u>STGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN</u><u>SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGT</u><u>LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG</u><u>TKTYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKR</u><u>VESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI</u><u>SKAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGL</u> (서열번호 89)
	LC	<u>EVGSYTDNYDYPRLRRKCYHSGRSAGGGGTPLAGSGGS</u><u>DIQLTQ</u> <u>SPSSL</u><u>SASVGDRTITCRASQSIGSYLA</u><u>WYQQKPKAPKLLIYDASNLETGVPSR</u> <u>FSGSGSGTDFTLTIS</u><u>SLQPEDFATYYCQGGYLTWTFGQGTKEIKRTVAAPSV</u> <u>FIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVKVDNALQSGNSQESVT</u> <u>EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (서열번호 102)
TY23565	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLS</u><u>STGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN</u><u>SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGT</u><u>LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG</u><u>TKTYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKR</u><u>VESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI</u><u>SKAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG</u> (서열번호 88) <u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLS</u><u>STGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN</u><u>SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGT</u><u>LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG</u><u>TKTYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKR</u><u>VESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI</u><u>SKAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGL</u> (서열번호 89)

[0118]

	LC	EVGSYDTDYDFCPILRHRCDSPLGLAGSGGS/DIQLTQSPSSLASVGDRT TITCRASQSIGSYLAWYQQPGKAPKLLIYDASNLETGVPSPRFGSGSGTDFTL TISLQPEDFATYYCQGGYLLWTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG GTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 103)
TY23568	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA IDWADDKYYSPSLKSRLLTISRDNSKNTLYQLNSLRAEDTAVIYCARGGSDTVI GDWFAIYWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHCTCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVQLHQLDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSPGK (서열번호 90) EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA IDWADDKYYSPSLKSRLLTISRDNSKNTLYQLNSLRAEDTAVIYCARGGSDTVI GDWFAIYWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHCTCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVQLHQLDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSPGK (서열번호 91)
	LC	EVGSYDTDYDFCPILRHRCDSGRSAGGGTPLGLAGSGGS/DIQLTQS PSSLASVGDRTTITCRASQSIGSYLAWYQQPGKAPKLLIYDASNLETGVPSPR FGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQGGYLLWTFGQGTKEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 98)
TY23571	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA IDWADDKYYSPSLKSRLLTISRDNSKNTLYQLNSLRAEDTAVIYCARGGSDTVI GDWFAIYWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHCTCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVQLHQLDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSPGK (서열번호 90)

[0119]

		<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN'SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYF</u> <u>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST</u> <u>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV</u> <u>DSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> (서열번호 91)
	LC	<u>EVGSYDTDYDFCPILRHRCDSPLGLAGSGGSDIQLTQSPSSLASVGD</u> <u>RVITTCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGGTDFTL</u> <u>TISSLQPEDFATYYCQGYLWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFI</u> <u>PPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK</u> <u>DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (서열번호 103)
TY23566	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN'SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF</u> <u>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN</u> <u>VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI</u> <u>SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV</u> <u>LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG</u> (서열번호 88)
	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN'SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF</u> <u>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN</u> <u>VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI</u> <u>SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV</u> <u>LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG</u> (서열번호 89)
	LC	<u>EVGSYNDYNYHCKWRPSRCHNPLGLAGSGGSDIQLTQSPSSLASVGD</u> <u>RVITTCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGGTDFT</u> <u>LTISLQPEDFATYYCQGYLWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFI</u> <u>PPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK</u> <u>DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (서열번호 99)

[0120]

TY23569	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN:SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIYGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF</u> <u>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST</u> <u>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL</u> <u>DSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u> (서열번호 90) <u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN:SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIYGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF</u> <u>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST</u> <u>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL</u> <u>DSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> (서열번호 91)
	LC	<u>EVGSYNDYNYHCKWRPSRCHNSGRSAGGGTPLGLAGSGSDIQLTQ</u> <u>SPSSLASVYGDRTITCRASQSIGSYLAWYQKPGKAPKLLYDASVLETGVPSR</u> <u>FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQGYLWTFQGQTKVEIKRTVAAPSV</u> <u>FIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT</u> <u>EQDSKDSYSLSSITLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC</u> (서열번호 100)
TY23572	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN:SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIYGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF</u> <u>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST</u> <u>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL</u> <u>DSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u> (서열번호 90) <u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN:SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIYGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF</u> <u>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST</u>

[0121]

TY25370		<u>YRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL</u> <u>DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNYHQKSLSLSPG</u> (서열번호 91)
	LC	<u>EVGSYN</u> <u>DYNYHCKWRPSRCHNPLGLAGSGGS</u> <u>DIQLTQSPSSL</u> <u>SASVGDR</u> <u>VTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLE</u> <u>TGVPSRFSGSGSGTDFT</u> <u>LTISLQPEDFATYYCQQGYLWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK</u> <u>SGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS</u> <u>TSYS</u> <u>LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT</u> <u>KSFNRGEC</u> (서열번호 99)
	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG</u> <u>FSLSTGGVGVGWIRQAPGKGLEW</u> <u>LAL</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN</u> <u>SKNTLYQLNSLRAEDTAVY</u> <u>CARGGSDTVI</u> <u>GDWFAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK</u> <u>STSGGTAALGCLVKDYF</u> <u>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV</u> <u>TVPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHITCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD</u> <u>TL</u> <u>MISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA</u> <u>TKPREEQYNST</u> <u>YRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL</u> <u>DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNYHQKSLSLSPG</u> (서열번호 94)
	LC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG</u> <u>FSLSTGGVGVGWIRQAPGKGLEW</u> <u>LAL</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN</u> <u>SKNTLYQLNSLRAEDTAVY</u> <u>CARGGSDTVI</u> <u>GDWFAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK</u> <u>STSGGTAALGCLVKDYF</u> <u>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV</u> <u>TVPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHITCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD</u> <u>TL</u> <u>MISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA</u> <u>TKPREEQYNST</u> <u>YRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL</u> <u>DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNYHQKSLSLSPG</u> (서열번호 95)

[0122]

TY23567	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN:SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGK</u> (서열번호 88) <u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN:SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLG</u> (서열번호 89)
	LC	<u>EVGSYTDNYDYPRLRRKCYHPLGLAGSGGSDIQLTQSPSSLASVGD</u> <u>VTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLEGTGPSRFSGSGSGTDF</u> <u>LTISSELPEDFATYYCQGGYLLWTFQGTKEITKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK</u> <u>SGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYS</u> <u>LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (서열번호 101)
TY25371	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN:SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF</u> <u>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST</u> <u>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPAIEKTI SKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL</u> <u>DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u> (서열번호 94) <u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN:SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF</u> <u>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST</u> <u>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPAIEKTI SKAKGQPREPQV</u>

[0123]

		<u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV</u> <u>LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> (서열번호 95)
	LC	<u>EVGSYTDNYDYCPRLRRKCYHPLGLAGSGGS</u> <u>DIQLTQSPSSL</u> <u>SASVGD</u> <u>RTITCRASQSIGSYLA</u> <u>WYQQKPGKAPKLL</u> <u>IYDASNLE</u> <u>TGVPSR</u> <u>FSGSGSDT</u> <u>FTLTISSQLPEDFATYYCQQGYL</u> <u>WTFGQGT</u> <u>KVEIKRTVAAPSV</u> <u>FI</u> <u>PPSDEQLK</u> <u>SGTASVCLLN</u> <u>NFYPRE</u> <u>AKVQWKVDNALQSGNSQ</u> <u>ESVTEQDSKD</u> <u>STYS</u> <u>LSSTLTL</u> <u>SKADYEKHKVYACEVTHQGL</u> <u>SSPVT</u> <u>KSFNRGEC</u> (서열번호 101)
TY23570	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFS</u> <u>LTGGVGVGWIR</u> <u>QAPGKLEWL</u> <u>AL</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRL</u> <u>TI</u> <u>SRDN</u> <u>SKNTLYLQLNSL</u> <u>RAEDTAVYYC</u> <u>CARGGSDTVI</u> <u>GDWFA</u> <u>YWGQGT</u> <u>LVTVSS</u> <u>ASTKGPSVF</u> <u>PLAPSSK</u> <u>STSGGTAA</u> <u>LGCLVKDYF</u> <u>PEPVT</u> <u>VS</u> <u>WNSGALTSGVHTFPA</u> <u>VLQSSGLYSLSSV</u> <u>TV</u> <u>PSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK</u> <u>TH</u> <u>TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MI</u> <u>SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG</u> <u>VEVHN</u> <u>AKTKPREEQYN</u> <u>ST</u> <u>YRVVSVLT</u> <u>VLH</u> <u>QDWL</u> <u>NGKEYKCKVSNKALPAPI</u> <u>EKTISKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV</u> <u>LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> (서열번호 90)
	LC	<u>EVGSYTDNYDYCPRLRRKCYHSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS</u> <u>DIQLTQ</u> <u>SPSSL</u> <u>SASVGD</u> <u>RVTTITCRASQSIGSYLA</u> <u>WYQQKPGKAPKLL</u> <u>IYDASNLE</u> <u>TGVPSR</u> <u>FSGSGSDTFTLTISSQLPEDFATYYCQQGYL</u> <u>WTFGQGT</u> <u>KVEIKRTVAAPSV</u> <u>FI</u> <u>PPSDEQLKSGTASVCLLN</u> <u>NFYPRE</u> <u>AKVQWKVDNALQSGNSQ</u> <u>ESVT</u> <u>EQDSKD</u> <u>STYSLSSTLTL</u> <u>SKADYEKHKVYACEVTHQGL</u> <u>SSPVT</u> <u>KSFNRGEC</u> (서열번호 102)
TY23573	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFS</u> <u>LTGGVGVGWIR</u> <u>QAPGKLEWL</u> <u>AL</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRL</u> <u>TI</u> <u>SRDN</u> <u>SKNTLYLQLNSL</u> <u>RAEDTAVYYC</u> <u>CARGGSDTVI</u> <u>GDWFA</u> <u>YWGQGT</u> <u>LVTVSS</u> <u>ASTKGPSVF</u> <u>PLAPSSK</u> <u>STSGGTAA</u> <u>LGCLVKDYF</u> <u>PEPVT</u> <u>VS</u> <u>WNSGALTSGVHTFPA</u> <u>VLQSSGLYSLSSV</u> <u>TV</u> <u>PSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK</u> <u>TH</u> <u>TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MI</u> <u>SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG</u> <u>VEVHN</u> <u>AKTKPREEQYN</u> <u>ST</u> <u>YRVVSVLT</u> <u>VLH</u> <u>QDWL</u> <u>NGKEYKCKVSNKALPAPI</u> <u>EKTISKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV</u>

[0124]

		<u>DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL.SLSPGK</u> (서열번호 90) <u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN:SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF</u> <u>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST</u> <u>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL</u> <u>DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL.SLSPG</u> (서열번호 91)
	LC	<u>EVGSYTDNYDYCPRLRRKCYHPLGLAGSGGSDIQLTQSPSSLASVGD</u> <u>VTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDF</u> <u>LTITSSLPEDFATYYCQGGYLLWTFGQGTKEITKRTVAAPSVEIFPPSDEQLK</u> <u>SGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYS</u> <u>LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (서열번호 101)
TY25372	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN:SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF</u> <u>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST</u> <u>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFAPAPIEKTISKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL</u> <u>DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL.SLSPGK</u> (서열번호 94)
		<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLTISRDN:SKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF</u> <u>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST</u> <u>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFAPAPIEKTISKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL</u> <u>DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL.SLSPG</u> (서열번호 95)

[0125]

	LC	EVGSYTDNYDYPRLRRKCYHGGGPLGLAGGSDIQLTQSPSSLASVGD DRVTITCRASQSIGSYLAWYQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSPRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQGGYLYLWTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPPSDEQ LKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 104)
TY25153	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA IDWADDKYYSPSLKSRLLTISRDNSKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI GDWFAIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK (서열번호 88)
	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA IDWADDKYYSPSLKSRLLTISRDNSKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI GDWFAIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK (서열번호 89)
	LC	EVGSYPTDLACADAPNHCHFGGGLPLGLAGGSDIQLTQSPSSLASVGD RVITITCRASQSIGSYLAWYQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSPRFSGSGSGTDF TLTISLQPEDFATYYCQGGYLYLWTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPPSDEQL KSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 105)
TY25154	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA IDWADDKYYSPSLKSRLLTISRDNSKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI GDWFAIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK (서열번호 88)

[0126]

		<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLLTISRDNSKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLG</u> (서열번호 89)
	LC	<u>EVGSYPTDLDACADAPNHCHFSGGGGLGAGGS</u> <u>DIQLTQSPSSLSASVG</u> <u>DRVTITCRASQSIGSYLAWYQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSPRFSGSGGTD</u> <u>FTLTISLQPEDFATYYCQGGYLLWTFGQGTKEIKRTVAAPSVFI</u> <u>PPSDEQ</u> <u>LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST</u> <u>YSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (서열번호 106)
TY25155	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLLTISRDNSKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLG</u> (서열번호 88)
	LC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLLTISRDNSKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP</u> <u>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN</u> <u>VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPP</u> <u>SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG</u> <u>SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLG</u> (서열번호 89)
	LC	<u>EVGSYPTDLDACADAPNHCHFSGRGGLGAGGS</u> <u>DIQLTQSPSSLSASVG</u> <u>DRVTITCRASQSIGSYLAWYQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSPRFSGSGGTD</u> <u>FTLTISLQPEDFATYYCQGGYLLWTFGQGTKEIKRTVAAPSVFI</u> <u>PPSDEQ</u> <u>LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST</u> <u>YSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (서열번호 107)

TY25369	HC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLLTISRDNSKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF</u> <u>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MSRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST</u> <u>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPAIEKTIISKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL</u> <u>DSGSSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGK</u> (서열번호 94)
	LC	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLA</u> <u>IDWADDKYYSPSLKSRLLTISRDNSKNTLYQLNSLRAEDTAVYYCARGGSDTVI</u> <u>GDWFAIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF</u> <u>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL</u> <u>MSRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST</u> <u>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPAIEKTIISKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL</u> <u>DSGSSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPG</u> (서열번호 95)
	LC	<u>EVGSYPTDLDACADAPNHCHFSGRGGGLGAGGS</u> <u>DIQLTQSPSSLSAS</u> <u>VGDRVTITCRASQSIGSYLAWYQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSPRFSGSGG</u> <u>TDFTLTISLQPEDFATYYCQGGYLLWTFGQGTKEIKRTVAAPSVFI</u> <u>PPSD</u> <u>EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD</u> <u>STYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (서열번호 122)

● LC의 경우, N-말단 단위는 일반 텍스트, **마스킹** 단위는 밑줄 친 굵은 텍스트, 연결 단위는 굵은 텍스트, *IL* 시퀀스는 기울임체 텍스트, CL은 이중 밑줄 텍스트

- [0130] ● HC의 경우, VH 시퀀스는 기울임체 텍스트, CH는 이중 밑줄 텍스트
- [0131] 일부 실시형태에서, 용어 "가려진 항-CD137 항체"는 항체 단편, 예를 들어 가려진 항-CD137 항체의 가려진 항원 결합 단편을 지칭합니다. 일부 실시형태에서, 항체 단편은 Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv, scFv이거나 이를 포함할 수 있다(Bird et al. 참조). 1988) 과학 242: 423-426 및 Huston et al. (1988) 절차 국립 아카데미 과학 USA 85: 5879-5883), (scFv)₂, 선형 항체, 단일 사슬 항체, 단일 도메인 항체(나노바디) VHH, 미니바디 또는 디아바디.
- [0132] 일부 실시형태에서, 여기에 설명된 마스크된 항-CD137 항체는 다른 종의 CD137과 교차 반응 하여 마스크된 항-CD137 항체를 전임상 및 임상 연구 모두에 사용할 수 있게 합니다. 일부 실시형태에서, 본원에서 설명하는 마스크된 항-CD137 항체는 활성화 후(즉, 절단을 통한 마스크된 항체의 활성화 후, 예를 들어 프로테아제 절단) 인간 CD137, 시노물거스 CD137, 쥐(마우스) CD137 및/또는 쥐 CD137 중 두 개 이상에 결합한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 활성화 후(즉, 절단을 통한 마스크된 항체의 활성화 후, 예를 들어 프로테아제 절단) 인간 CD137, 시노물거스 CD137, 쥐(마우스) CD137 및 쥐 CD137에 결합 합니다.
- [0133] 일부 실시형태에서, 본원에서 설명하는 마스크된 항-CD137 항체는 상황에 따라 달라집니다 (예를 들어, 특정 상황(예: 프로테아제가 풍부한 중앙 미세환경)에서만 활성화됩니다(표적에만 결합할 수 있음). 일부 실시형태에서, 본원에서 설명하는 마스크된 항-CD137 항체는 보다 전통적인 마스크되지 않은 항체에 비해 향상된 안전성을 제공한다(예를 들어, 독성 감소, 많은 장기의 무게에 상당한 변화를 유발하지 않음, 간 조직병리학, 혈액학 및/또는 혈액 생화학을 변화시키지 않음 등).). 일부 실시형태에서, 본원에서 설명하는 마스크된 항-CD137 항체는 기존의 마스크되지 않은 항-CD137 항체와 유사한 약동학적 특성을 나타낸다(예를 들어, 유사한 생체 내 반감기를 가짐). 일부 실시형태에서, 본원에서 설명하는 마스크된 항-CD137 항체는 보다 전통적인 비마스크된 항-CD137 항체에 비해 향상된 약동학적 특성을 보인다(예를 들어, 생체 내 반감기가 더 길다).
- [0134] 일부 실시형태에서, 본원에서 설명하는 마스크된 항-CD137 항체의 항체 중쇄 가변 영역 (VH)과 항체 경쇄 가변 영역(VL)은 hCD137에 결합하는 항원 결합 도메인(ABD)을 형성 한다. 일부 실시형태에서, 본원에서 설명하는 마스크된 항-CD137 항체의 마스크 단위(MU)는 ABD에 결합하여 마스크된 항-CD137 항체가 hCD137에 결합하는 것을 감소시키거나 억제 하는데, 이는 MU가 없는 해당 항-CD137 항체가 hCD137에 결합하는 경우 및/또는 ABD가 hCD137에 결합하는 경우와 비교한 결과이다. 일부 실시형태에서, 마스크링 유닛 (MU)은 적어도 약 2.0(예를 들어, 적어도 약 2.0, 적어도 약 3.0, 적어도 약 4.0, 적어도 약 5.0, 적어도 약 6.0, 적어도 약 7.0, 적어도 약 8.0, 적어도 약 9.0, 적어도 약 10, 적어도 약 25, 적어도 약 50, 적어도 약 75, 적어도 약 100, 적어도 약 150, 적어도 약 200, 적어도 약 300, 적어도 약 400, 적어도 약 500, 적어도 약 600, 적어도 약 700, 적어도 약 800, 적어도 약 900, 적어도 약 1,000, 적어도 약 1,100, 적어도 약 1,200, 적어도 약 1,300, (MU를 마스크된 항-CD137 항체에서 제거하기 전에) 최소한 약 1,400, 최소한 약 1,500 등, 이 값 사이의 모든 범위를 포함합니다. 일부 실시형태에서, 마스크링 효율은 마스크링 단위(MU)를 포함하는 마스크된 항-CD137 항체의 hCD137 결합 친화성(즉, 마스크된 항체 활성화 전)과 MU가 없는 항-CD137 항체의 hCD137 결합 친화성의 차이로 측정된다. 일부 실시형태에서, 마스크링 효율은 MU를 포함하는 마스크된 항-CD137 항체의 hCD137에 대한 친화도 차이(즉, 절단을 통한 마스크된 항체의 활성화 전, 예를 들어, 프로테아제 절단)와 마스크되지 않은 항-CD137 항체의 hCD137에 대한 친화도 차이(즉, 절단을 통한 마스크된 항체의 활성화 후, 예를 들어, 프로테아제 절단)로 측정된다. 일부 실시형태에서, 마스크링 효율은 MU(즉, 활성화 전)를 포함하는 마스크된 항-CD137 항체의 결합에 대한 EC50를 마스크링 펩타이드 또는 마스크링 단위가 없는 해당 항-CD137 항체의 EC50로 나누어 측정됩니다. 일부 실시형태에서, EC50는 ELISA로 측정됩니다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체의 마스크 단위(MU)는 ABD에 결합하여 마스크된 항-CD137 폴리펩 티드가 hCD137에 결합하는 것을 방지합니다.
- [0135] 일부 실시형태에서, 본 공개의 마스크된 항-CD137 항체의 친화성은 적어도 약 2배(예를 들어, 적어도 약 2배, 적어도 약 2.5배, 적어도 약 3배, 적어도 약 3.5배, 적어도 약 4배, 적어도 약 4.5배, 적어도 약 5배, 적어도 약 5.5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 6.5배, 적어도 약 7배, 적어도 약 7.5배, 적어도 약 8배, 적어도 약 8.5배, 적어도 약 9배, 적어도 약 9.5배)만큼 증가한다. (이전 값 사이의 모든 범위를 포함하여) 마스크링 단위가 항체에서 제거되었을 때(예: 연결 단위 내에서 절단하는 하나 이상의 프로테아제로 처리하여 활성화한 후) 마스크링 펩타이드나 마스크링 단위가 없는 해당 항-CD137 항체와 비교했을 때, 항체에서 마스크링 단위를 제거했을 때 (예를 들어, 연결 단위 내에서 절단하는 하나 이상의 프로테아제로 처리하여 활성화한 후) 약 10배 이상, 약 25배 이상, 약 50배 이상, 약 75배 이상, 약 100배 이상 증가한다. 일부 실시형태에서, 본원에서 설명하는 마스크된 항-CD137 항체의 EC50는 적어도 약 2배(예를 들어, 적어도 약 2배, 적어도 약 2.5배, 적어도 약 3배, 적어도 약 3.5배, 적어도 약 4배, 적어도 약 4.5배, 적어도 약 5배, 적어도 약 5.5배, 적어도 약 6배, 적어도 약

6.5배, 적어도 약 7배, 적어도 약 7.5배, 적어도 약 8배, 적어도 약 8.5배, 적어도 약 9배, 적어도 약 9.5배, 적어도 약 10배, 적어도 약 25배, 적어도 약 50배, 적어도 약 75배, 적어도 약 100배, 적어도 약 250배, 적어도 약 하나 이상의 연결 단위 내에서 절단하는 프로테아제로 처리하여 활성화한 후(예를 들어, ELISA 또는 FACS 분석으로 측정) 약 500배 이상, 약 750배 이상, 약 1000배 이상, 또는 그 이상(이전 값 사이의 모든 범위 포함)

[0136] 일부 실시형태에서, 마스크 유닛이 본원에서 기술된 마스크된 항-CD137 항체의 ABD에 결합 될 때, 표적에 대한 항체의 KD은 마스크된 항-CD137 항체의 마스크 유닛 이 ABD에서 제거될 때 (예를 들어, 프로테아제 처리 후 링 키지 유닛 내에서 클리빙 하는 것.) 항체의 KD보다 약 2배(예를 들어, 약 2, 약 2.5, 약 3, 약 3.5, 약 4, 약 4.5, 약 5, 약 5.5, 약 6, 약 6.5, 약 7, 약 7.5, 약 8, 약 8.5, 약 9, 약 9.5, 약 10, 약 25, 약 50, 약 75, 약 100, 약 250, 약 500, 약 750 또는 약 1000 이상, 이전 값 사이의 모든 범위 포함) 더 크다. 일부 실시형태에서, 마스크 유닛이 본원에서 설명하는 마스크된 항-CD137 항체의 ABD에 결합될 때, 표적에 대한 항체의 K_D 은 마스크 펩타이드 또는 마스크 유닛이 없는 해당 항-CD137 항체의 K_D 보다 약 2배(예를 들어, 약 2, 약 2.5, 약 3, 약 3.5, 약 4, 약 4.5, 약 5, 약 5.5, 약 6, 약 6.5, 약 7, 약 7.5, 약 8, 약 8.5, 약 9, 약 9.5, 약 10, 약 25, 약 50, 약 75, 약 100, 약 250, 약 500, 약 750, 또는 약 1000 이상, 이전 값 사이의 모든 범위 포함) 더 크다.

[0137] 일부 실시형태에서, 마스크 유닛은 마스크된 결합 폴리펩타이드가 표적에 결합하는 것을 공간 적으로 방해하고/하거나 마스크된 결합 폴리펩타이드가 표적에 결합하는 것을 이성질체적으로 방해한다.

[0138] 일부 실시형태에서, 본원에서 설명하는 마스크된 항-CD137 항체의 ABD에 대한 마스크 유닛 의 해리 상수는 hCD137에 대한 마스크된 항-CD137 항체의 해리 상수보다 크다(마스크된 항-CD137 항체가 활성 형태일 때, 예를 들어 프로테아제 처리 후). 일부 실시형태에서, 본원에서 설명하는 마스크된 항-CD137 항체의 ABD에 대한 마스크 유닛 의 해리 상수는 hCD137에 대한 마스크된 항-CD137 항체의 해리 상수(마스크된 항-CD137 항체가 활성 형태일 때, 예를 들어 프로테아제 처리 후)보다 약 2배(예를 들어, 약 2, 약 2.5, 약 3, 약 3.5, 약 4, 약 4.5, 약 5, 약 5.5, 약 6, 약 6.5, 약 7, 약 7.5, 약 8, 약 8.5, 약 9, 약 9.5, 약 10, 약 25, 약 50, 약 75, 약 100, 약 250, 약 500, 약 750, 또는 약 1000 이상, 이전 값 사이의 모든 범위 포함)가 더 크다. 일부 실시형태에서, 본원에서 설명하는 마스크된 항-CD137 항체의 ABD에 대한 마스크 유닛 의 해리 상수는 hCD137에 대한 마스크된 항-CD137 항체의 해리 상수와 거의 같다(마스크된 항-CD137 항체가 활성 형태일 때, 예를 들어 프로테아제 처리 후). 일부 실시형태에서, 마스크 단위(MU)는 본원에서 설명하는 마스크된 항-CD137 항체의 ABD에 결합하고, 마스크된 항-CD137 항체가 활성화되지 않은 경우(예를 들어, 연결 단위 내에서 절단하는 하나 이상의 프로테아제로 처리한 경우)에만 항체가 hCD137에 결합하는 것을 방지합니다. 일부 실시형태에서, 활성화는 절단 부위 내에서 폴리펩타이드의 절단을 유도한다. 일부 실시형태에서, 활성화는 폴리펩타이드의 형태 변화(예를 들어, 마스크 단위(MU)의 변위)를 유도하여, 마스크 펩타이드가 더 이상 폴리펩타이드가 표적에 결합하는 것을 방해하지 못하게 됩니다.

[0139] 여기에 설명된 마스크된 항체는 추가로 변형될 수 있다. 일부 실시형태에서, 가려진 항체는 추가적인 분자 개체에 연결됩니다. 추가적인 분자적 개체의 예로는 약제학적 제제, 펩타이드나 단백질, 검출제나 라벨, 항체 등이 있습니다.

[0140] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 한성표 가납한 결합 폴리펩타이드와 약화학 작용에 연결다. 약화학 작용의 작용 세포독성 및 또는 다른 암 화학, 및 몸사성 동위원소를 포함한다. 세포독성 작용의 특이 작용, 사이토카인 B, 그라미시딘 D, 에티딘 브록마이드, 에틸딘, 미토마이신, 에토포사이드, 테노포사이드, 빈크리슌, 빈블라슌, 콜히친, 독소루비신, 다우노루비신, 디하이드로에틸 안트라신 디제, 미톡산트피, 미트라마이신, 악티노마이신 D, 1-데하이드로에틸독소루비신, 관루코코르티코이드, 프록시딘, 테트라클린, 리도클린, 프록시놀핀, 및 펩타이드 및 이들의 유사체 또는 동위원소를 포함한다. 화학 및 또한, 작용을 들어, 항대사성 물질(작용을 들어, 리도트페세이트, 6-페록시도페린, 6-티록시아닌, 시타라빈, 5-플루오로우라실 데크린), 알킬화 (작용을 들어, 퀴놀린타민, 티록시과 클록람부실, 룬팔란, 칩르무속틴(BSNU) 및 펩르무속틴(CCNU), 사이클로포스파마이드, 부설관, 다이브록시만니톨, 속트록시도신, 미토마이신 C 및 시속-다이클록시디아민 H광(II)(DDP) 시속플라틴), 안트라사이클린(작용을 들어, 다우노루비신(이위에 다우노마이신) 및 독소루비신), 항생(작용을 들어, 악티노마이신(이위에 악티노마이신), 블록시마이신, 미트라마이신, 및 안트라마이신(AMC)), 및 유사분열 억제(작용을 들어, 빈크리슌 및 빈블라슌)를 포함한다. 진단학 및 또는 화학 작용의 작용을 위한 항체에 컨주게이션 색 및 몸사성 동위원소의 작용 아이쉴딘¹³¹, 인듐¹¹¹, 이트륨⁹⁰ 및 루테튬¹⁷⁷을 포함하지만, 이

될 위험택지 않는다. 다양한 링커 펙션을 이접하와 것과 같은, 약화학작업에 폴리펩타이드를 결합시키위 한 몸뚱은 당업계에 공지되어 있다. 링커 타입의 측와 하이드라이, 티셀에테르, 에속터, 다이설파이드 및 펩타 이드-함유 링커를 포함한다. 항체에 책료위를 결합하팩 위한 링커 및 몸뚱의 추가 논의를 위하여, 또한, 문헌 [Saito et al., Adv. Drug Deliv. Rev. 55:199-215 (2003); Trail, et al., Cancer Immunol. Immunother.52:328-337 (2003); Payne, Cancer Cell 3:207-212 (2003); Allen, Nat. Rev. Cancer 2:750-763 (2002);Pastan and Kreitman, Curr. Opin. Investig. Drugs 3:1089-1091 (2002); Senter and Springer (2001) Adv.Drug Deliv. Rev. 53:247-264]을 참익하팩 뵙란다.

[0141] **핵산, 벡터, 숙주 세포 및 재조합 생산 방법 마스크된 항-CD137 항체 생산 방법**

[0142] 본 공개의 또 다른 측면은 본원에서 기술하는 마스크 처리된 항-CD137 항체의 아미노산 서 열을 인코딩하는 뉴 클레오티드 서열을 포함하는 하나 이상의 분리된 핵산 분자를 제공한다. 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩된 아미노산 서열은 CDR과 같은 가려진 항-CD137 항 체의 일부, 1개, 2개 또는 3개의 CDR을 포함하는 서열, 중쇄의 가변 영역, 경쇄의 가변 영역 일 수 있으며, 또는 전장의 중쇄 또는 전장의 경쇄일 수 있다. 본 발명의 핵산은 예를 들어 DNA 또는 RNA일 수 있으며, 인트론 서열을 포함할 수도 있고 포함하지 않을 수도 있다. 일반적으로 핵산은 cDNA 분자입니다.

[0143] 일부 실시형태에서, 본 공개는 예를 들어, 본원에서 설명하는 마스크된 항-CD137 항체의 중쇄 가변 영역 및/또 는 경쇄 가변 영역, 또는 예를 들어, 본원에서 설명하는 마스크된 항- CD137 항체의 전장 중쇄 및/또는 전장 경 쇠의 아미노산 서열을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하거나 이로 구성된 분리된 핵산 분자를 제공한다.

[0144] 본 발명의 핵산은 PCR 증폭이나 cDNA 클로닝 기술과 같은 적절한 분자생물학 기술을 사용 하여 얻을 수 있다. 마스크된 항-CD137 항체의 경우라이브러리 스크리닝을 통해 얻은 항체를 인코딩하는 핵산을 라이브러리에서 회 수할 수 있습 니다.

[0145] V_H 영역을 암호화하는 단리된 DNA는 중쇄 불변 영역(CH1, CH2 및 CH3)을 암호화하는 다른 DNA 분자에 V_H-암호화 DNA를 작동 가능하게 연결시킴으로써 전장 중쇄 유전자로 변환될 수 있다. 인간 중쇄 불변 영역 유전자의 서열 은 당해 분야에 공지되어 있으며[예를 들어, 문헌[Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242] 참조], 이러한 영역을 포함하 는 DNA 단편은 표준 PCR 증폭에 의해 얻어질 수 있다. 중쇄 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgE, IgM 또는 IgD 불변 영역일 수 있지만, 가장 바람직하 게는, ADCC 효 과 없는 IgG4 또는 IgG2 불변 영역이다. IgG4 불변 영역 서열은 상이 한 개체들 중에서 일어나는 것으로 공지된 임의의 다양한 대립유전자 또는 알로타 입(allotype)일 수 있다. 이러한 알로타입은 IgG4 불변 영역에서 천연 발생 아미노 산 치환을 나타낸다. Fab 단편 중쇄 유전자에 대하여, V_H-암호화 DNA는 단지 중쇄 CH1 불변 영역을 암호화하는 다른 DNA 분자에 작동 가능하게 연결될 수 있다.

[0146] V_L 영역을 암호화하는 단리된 DNA는 경쇄 불변 영역(CL)을 암호화하 는 다른 DNA 분자에 V_L-암호화 DNA를 작동하 게 연결시킴으로써 전장 경쇄 유전자 (뿐만 아니라 Fab 경쇄 유전자)로 변환될 수 있다. 인간 경쇄 불변 영역 유전자의 서열은 당해 분야에 공지되어 있으며[예를 들어, 문헌[Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242] 참조], 이러한 영역을 포함하는 DNA 단편은 표준 PCR 증폭에 의해 얻어질 수 있다. 경쇄 불변 영역은 카파 또는 람다 불변 영역일 수 있다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 아래에 제공된 서열번호 111에 명시된 경쇄 불변 영역을 포함합니다:

[0147] TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGE (서열번호 111)

[0148] scFv 유전자를 생성하기 위하여, V_H- 및 V_L-암호화 DNA 단편은, V_H 및 V_L 서열이 가요성 링커에 의해 연결된 V_L 및 V_H 영역을 갖는, 인접한 단쇄 단백질 로서 발현될 수 있도록, 가요성 링커를 암호화하는, 예를 들어, 아미노 산 서열 (Gly₄-Ser)₃ (서열번호 128)을 암호화하는 다른 단편에 작동 가능하게 연결된다[예를 들어, 문헌 [Bird et al., Science 242:423-426 (1988); Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988); 및 McCafferty et al., Nature 348:552-554 (1990)] 참조].

[0149] 본 공개는 또한 본 공개에 의해 제공되는 하나 이상의 핵산 분자를 포함하는 벡터를 제공한다. 일부 실시형태에

서, 벡터는 마스크된 항-CD137 항체 또는 이러한 항체의 마스크된 항원 결합 단편의 발현에 유용한 발현 벡터이다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에는, 벡터가 제공되는데, 제1 벡터는 본 명세서에 기술된 바와 같은 중쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 제2 벡터는 본 명세서에 기술된 바와 같은 경쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 단일 벡터는 본 명세서에 기술된 바와 같은 중쇄 가변 영역 및 본 명세서에 기술된 바와 같은 경쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다.

[0150] 개시내용의 결합 분자를 발현시키기 위하여, 부분 또는 전장 경쇄 및 중쇄를 암호화하는 DNA는, DNA 분자가 전사 및 번역 제어 서열에 작동 가능하게 연결되도록 발현 벡터 내에 삽입된다. 이러한 문맥에서, 용어 "작동 가능하게 연결된(operatively linked)"은, 벡터 내의 전사 및 번역 제어 서열이 DNA 분자의 전사 및 번역을 조절하는 이의 의도된 기능을 제공하도록, 벡터 내에 결합된다. 발현 벡터 및 발현 제어 서열은 사용되는 발현 숙주 세포와 혼화 가능하도록 선택된다. 항체 경쇄 유전자 및 항체 중쇄 유전자는 별도의 벡터 내에 삽입될 수 있거나, 더욱 통상적으로, 두 유전자 모두는 동일한 발현 벡터 내에 삽입된다. 항체 유전자는 임의의 적합한 방법(예를 들어, 항체 유전자 단편 및 벡터 상에 상보적 제한 사이트의 결합, 또는 상동 재조합-기반 DNA 결합)에 의해 발현 벡터 내에 삽입된다. 본 명세서에 기술된 항체의 경쇄 및 중쇄 영역은, V_H 세그먼트가 벡터 내에서 C_H 세그먼트(들)에 작동 가능하게 연결되며 V_L 세그먼트가 벡터 내에서 C_L 세그먼트에 작동 가능하게 연결되도록, 요망되는 아이소형 및 하위부류의 중쇄 불변 및 경쇄 불변 영역을 이미 암호화하는 발현 벡터 내에 이를 삽입함으로써 임의의 항체 아이소형 및 하위부류의 전장 항체 유전자를 생성시키기 위해 사용될 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 재조합 발현 벡터는 숙주 세포로부터 항체 사슬의 분비를 촉진시키는 신호 펩타이드를 암호화할 수 있다. 항체 사슬 유전자는, 신호 펩타이드가 항체 사슬 유전자의 아미노 말단에 인-프레임 연결되도록, 벡터 내에 클로닝될 수 있다. 신호 펩타이드는 번역글로불린 신호 펩타이드 또는 이중 신호 펩타이드(즉, 비-번역글로불린 단백질로부터의 신호 펩타이드)일 수 있다.

[0151] 항체 사슬 유전자 이외에, 본 개시내용의 발현 벡터는 통상적으로, 숙주 세포에서 항체 사슬 유전자의 발현을 제어하는 조절 서열을 지닌다. 용어 "조절 서열"은 항체 사슬 유전자의 전사 또는 번역을 제어하는 프로모터, 인핸서 및 다른 발현 제어 구성요소(예를 들어, 폴리아데닐화 신호)를 포함하도록 의도된다. 이러한 조절 서열은 예를 들어, 문헌[Goeddel (Gene Expression Technology. Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990))]에 기술되어 있다. 당업자는, 조절 서열의 선택을 포함하는 발현 벡터의 설계가 변형될 숙주 세포의 선택, 요망되는 단백질의 발현 수준 등과 같은 인자에 의존적일 수 있다는 것을 인식할 것이다. 포유류 숙주 세포 발현을 위한 조절 서열의 예는 포유류 세포에서 높은 수준의 단백질 발현을 유도하는 바이러스 구성요소, 예를 들어, 시토크로마틴 바이러스(CMV), 원숭이 바이러스 40(SV40), 아데노바이러스로부터 유도된 프로모터 및/또는 인핸서(enhancer)(예를 들어, 아데노바이러스 주요 후기 프로모터(AdMLP) 및 폴리오마)를 포함한다. 대안적으로, 비바이러스성 조절 서열, 예를 들어, 유비퀴틴 프로모터 또는 β -글로빈 프로모터가 사용될 수 있다. 또한, 조절 구성요소는 SR 프로모터 시스템과 같은, 상이한 소스로부터의 서열로 이루어지며, 이는 SV40 초기 프로모터 및 인간 T 세포 백혈병 바이러스 타입 1의 긴 말단 반복 부로부터의 서열을 함유한다 [Takebe, Y. et al. (1988) Mol. Cell. Biol. 8:466-472].

[0152] 항체 사슬 유전자 및 조절 서열 이외에, 발현 벡터는 인핸서 요소, 전사 종료 서열, 숙주 세포에서 벡터의 복제를 조절하는 서열(예를 들어, 복제 기점) 및 선택 마커 유전자와 같은 추가 서열을 보유할 수 있다. 선택 가능한 마커 유전자는 벡터가 도입된 숙주 세포의 선택을 용이하게 한다[예를 들어, 미국특허 제4,399,216호, 제4,634,665호 및 제5,179,017호(모두 Axel et al.에 의함) 참조]. 예를 들어, 통상적으로, 선택 가능한 마커 유전자는 벡터가 도입된 숙주 세포 상에 약물, 예를 들어, G418, 하이그로마이신 또는 메토폭세이트에 대한 내성을 부여한다. 선택 가능한 마커 유전자는 디하이드로폴레이트 리덕타제(DHFR) 유전자(메토폭세이트 선택/중독과 함께 dhfr-숙주 세포에서 사용하기 위한) 및 네오 유전자(G418 선택을 위한)를 포함한다.

[0153] 경쇄 및 중쇄의 발현을 위하여, 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 발현 벡터(들)는 임의의 적합한 기술에 의해 숙주 세포 내에 트랜스펙션된다. 다양한 형태의 용어 "트랜스펙션"은 원핵 또는 진핵 숙주 세포 내에 외인성 DNA의 도입을 위해 일반적으로 사용되는 매우 다양한 기술, 예를 들어, 전기영동, 칼슘-포스페이트 침전, DEAE-덱스트란 트랜스펙션 등을 포함하도록 의도된다. 여기에 기술된 마스크된 항-CD137 항체를 원핵생물 또는 진핵생물 숙주 세포에서 발현하는 것이 가능하지만, 진핵생물세포, 예를 들어 포유류 숙주 세포에서 항체를 발현하는 것이 가장 일반적이다.

[0154] 본 공개는 또한 본 공개에 의해 제공되는 핵산 분자(들) 또는 벡터(들)를 함유하는 숙주 세포를 제공한다. 숙

주 세포는 실제로, 발현 벡터가 입수 가능한 임의의 세 포일 수 있다. 이는 예를 들어, 더 고차의 진핵 숙주 세포, 예를 들어, 포유류 세 포, 하등 진핵 숙주 세포, 예를 들어, 효모 세포일 수 있고, 원핵 세포, 예를 들어, 박테리아 세포일 수 있다. 숙주 세포 내에 재조합 핵산 작제물의 도입은 칼 슴 포스페이트 트랜스펙션, DEAE, 텍스트란 매개 트랜스펙션, 전기영동 또는 파지 감염에 의해 달성될 수 있다.

[0155] 변형을 위한 적합한 원핵 숙주는 E. 콜라이(E. coli), 바실러스 서 브틸리스(Bacillus subtilis), 살모넬라 티 피무리움(Salmonella typhimurium) 및 속 슈도모나스(Pseudomonas), 스트렙토마이세스(Streptomyces), 및 스타 필로코쿠스 (Staphylococcus) 내의 다양한 종을 포함한다.

[0156] 본 개시내용의 결합 분자를 발현시키기 위한 포유류 숙주 세포는 예 를 들어, 문헌[Kaufman and Sharp, J. Mol. Biol. 159:601-621 (1982)]에 기술된 바와 같은 DHFR 선택 가능한 마커, NS0 골수종 세포, COS 세포 및 Sp2 세포와 함께 사용되는, 중국 햄스터 난소(hinese Hamster Ovary; CHO) 세포(문헌[Urlaub and CHasin, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220 (1980)]에 기술된, dhfr-CHO 세 포를 포함함)를 포함한다. 특히, NS0 골수 종 또는 CHO 세포와 함께 사용하기 위해, 다른 발현 시스템은 WO 87/04462호, WO 89/01036호 및 EP 338,841호 에 개시된 GS (글루타민 신테타제) 유전자 발현 시스템이다. 항체 유전자를 암호화하는 발현 벡 터가 포유류 숙 주 세포 내에 도입될 때, 항체는 숙주 세포를, 숙주 세포에서 항체 의 발현 또는 숙주 세포가 성장되는 배양 배 지 내에 항체의 분비를 허용하기에 충 분한 시간 동안 숙주 세포를 배양함으로써 생성된다. 항체는 임의의 적합 한 단백질 정제 방법을 이용하여 배양 배지로부터 회수될 수 있다.

[0157] 본 공개의 마스크된 항-CD137 항체(또는 이의 항원 결합 단편)는 당해 기술 분야에 공지된 모든 수단을 통해 생 산될 수 있다. 항체 생산을 위한 대표적인 기술은 미국 특허 제4,816,567호에 제시되어 있습니다. 그러나 이러 한 대표적인 기술은 설명 목적으로만 제시되며 제한적인 목적을 위한 것이 아닙니다. 마 스크된 항-CD137 항체 를 인코딩하는 핵산 또는 발현 벡터가 숙주 세포에 도입되면, 마스 크된 항-CD137 항체는 숙주 세포에서 항체가 발현되거나 숙주 세포가 성장하는 배양 배지 로 항체가 분비될 수 있는 충분한 시간 동안 숙주 세포를 배양하여 생산된다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본원에서 기술하는 마스크된 항-CD137 항체를 생산하는 방법이 제공되는 데, 이 방법은 마스크된 항-CD137 항체(예를 들어, 상기 제공된 바와 같음)를 인코딩하는 하나 이상 의 핵산 또 는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 마스킹된 항체의 발현에 적합한 조건 하에서 배 양하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 또한 숙주 세포(또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 마스크된 항-CD137 항체를 회수하는 단계를 포함한다. 마스크된 항-CD137 항체는 적합한 단백질 정제 방법을 사용하여 배양 배지에서 회수할 수 있 습니다.

[0158] 약제 조성물의

[0159] 다른 양태에서, 본 공개는 여기에 기술된 하나 이상의 마스크된 항-CD137 항체를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 실시형태에서, 조성물은본원에 기술된 마스크된 항-CD137 항체와 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약 학 조성 물. 해당 조성물은 당해 기술 분야에 공지된 통상적인 방법을 통해 제조될 수 있다.

[0160] 용어 "약제학적으로 허용 가능한 담체"는 폴리펩타이드(예를 들어, 마스크된 항체)의 전달을 위한 제형에서 사 용하기에 적합한 임의의 비활성 물질을 지칭한다. 담체는 접착방지제, 결합제, 코팅, 봉해제, 충전제 또는 희석 제, 보존제(예를 들어, 항산화제, 항박테리아제, 또는 항진균제), 감미제, 흡수 지연제, 습윤 제, 에멀션화제, 완충제 등일 수 있다. 적합한 약제학적으로 허용 가능한 담체의 예는 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등), 텍스트로오스, 식물성 오일(예를 들어, 올리브유), 염수, 완충제, 완 충된 염수, 및 등장제, 예를 들어, 당, 폴리알코올, 솔비톨 및 나트륨 클로라이드를 포함한다.

[0161] 조성물은 임의의 적합한 형태, 예를 들어, 액체, 반-고체, 및 고체 투약 형태로 존재할 수 있다. 액체 투약 형 태의 예는 용액(예를 들어, 주사 가능한 및 주입 가능한 용액), 마이크로에멀전, 리포솜, 분산액, 또는 현탁액 을 포함한다. 고체 투약 형태의 예는 정제, 환제, 캡슐, 마이크로캡슐, 및 분말을 포함한다. 가려진 항-CD137 항체를 전달하는 데 적합한 조성물의 특정 형태는 주사 또는 주 입을 위한 용액, 현탁액 또는 분산액과 같은 멸 균 액체입니다. 멸균 용액은 필요한 양의 가려 진 항-CD137 항체를 적절한 운반체에 혼합한 후 멸균 미세여과를 거쳐 제조할 수 있습니 다. 분산액은 마스크된 항-CD137 항체를 염기성 분산 매질과 기타 담체를 포함하는 멸균 운반체에 통합하여 제조할 수 있습니다. 멸균 액체의 제조를 위한 멸균 분말의 경 우에, 제조 방법은 활성 성분 플러스(plus) 이의 종래 멸균-여과된 용액으로부터의 임의의 추가적인 요망되는 성분의 분말을 수득하기 위한 진공 건조 및 냉동-건조 (동결건조)를 포함한다. 조성물의 다양한 투약 형태는 당해 분야에 공지된 통상적 인 기술에 의해 제조될 수 있다.

- [0162] 조성물에 포함되는 가려진 항-CD137 항체의 상대적인 양은 사용된 특정 폴리펩티드 및 운 반체, 투여 형태, 원하는 방출 및 약력학적 특성과 같은 여러 요인에 따라 달라집니다. 단일 투여 형태에 함유된 가려진 항-CD137 항체의 양은 일반적으로 치료 효과를 나타내는 양이 되나, 그보다 적을 수도 있습니다. 일반적으로, 이러한 양은 투약 형태의 전체 중량에 대해 약 0.01% 내지 약 99%, 약 0.1% 내지 약 70%, 또는 약 1% 내지 약 30%의 범위일 것이다.
- [0163] 마스크된 항-CD137 항체 외에도, 하나 이상의 추가 치료제가 조성물에 포함될 수 있다. 추가 치료제의 예는 WO 2019/037711에 기술되어 있으며, 그 내용은 본원에 전체적으로 참 조로 포함됩니다. 조성물에 포함되는 추가적인 치료 제의 적합한 양은 당업자에 의해 용이하게 선택될 수 있고, 다수의 인자, 예를 들어, 사용되는 특정 작용제 및 담체, 투여 형태, 및 목적하는 방출 및 약력학 특징에 따라 달라질 것이다. 단일 투여 형태에 포함되는 추가적인 치료제의 양은 일반적으로, 치료 효과를 생성시키는 작용제의 양일 수 있지만, 또한, 더 적은 양일 수 있다.
- [0164] 본원에서 기술된 임의의 마스크된 항-CD137 항체 및/또는 조성물(예를 들어, 약제 조성물의)은 약제(예를 들어, 필요로 하는 대상의 암 치료 또는 암 진행 지연에 사용되는 약제)의 제조에 사용될 수 있다.
- [0165] **치료 방법**
- [0166] 본 명세서에 기술된 마스크 처리된 항-CD137 항체 및 약학적 조성물은 암 치료 또는 기타 암 치료법의 효능 향상과 같은 치료 목적으로 유용합니다. 따라서, 다른 양태에서, 본 공개는 마스크된 항-CD137 항체 또는 약학적 조성물을 사용하는 방법을 제공한다. 일 양태에서, 본 공개는 피험자(예를 들어, 인간 피험자)에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 이는 피험자에게 마스크된 항-CD137 항체의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 암은 고형 종양암(예를 들어, 유방암, 간암, 대장암, 결장암 등)이다.) .
- [0167] 치료 방법을 실시할 때, 본원에서 설명하는 마스크 처리된 항-CD137 항체는 단독으로, 즉 단일 요법으로 투여되거나 하나 이상의 추가 치료제 또는 요법과 병용하여 투여될 수 있다. 따라서, 다른 양태에서, 본 공개는 결합 분자를 하나 이상의 추가 치료법 또는 치료제와 함께 별도, 연속적 또는 동시 투여하는 것을 포함하는 조합 치료법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 용어 "추가 요법"은 치료제로서 마스크된 항-CD137 항체를 사용하지 않는 요법을 의미합니다. 일부 실시형태에서, 용어 "추가 치료제"는 여기에 기술된 마스크된 항-CD137 항체 이외의 모든 치료제를 지칭합니다. 일부 실시형태에서, 본 공개는 피험자(예를 들어, 인간 피험자)에게 본 명세서에 기술된 마스크된 항-CD137 항체의 유효량과 피험자에게 유효량의 항-PD-1항체(예를 들어, 항-인간 PD-1 항체). 일부 실시형태에서, 본 공개는 피험자(예를 들어, 인간 피험자)에서 암을 치료하는 방법을 제공하는데, 이는 본원에서 기술된 마스크된 항-CD137 항체의 유효 량과 항-CTLA4 항체(예를 들어, 항-인간 CTLA4 항체)의 유효량을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체는 마스크된 항-CTLA4 항체이다. 일부 실시형태에서, 본 공개는 피험자(예를 들어, 인간 피험자)에서 암을 치료하는 방법을 제공하는데, 이는 본원에서 기술 된 마스크 처리된 항-CD137 항체의 유효량과 HER2(예를 들어, 인간 HER2) 및 CD3(예를 들어, 인간 CD3)에 결합하는 이중 특이 항체의 유효량을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, HER2 및 CD3에 결합하는 이중 특이 항체는 HER2 및 CD3에 결합하는 마스크된 이중 특이 항체이다. 일부 실시형태에서, 본 공개는 피험자(예를 들어, 인간 피험자)에서 암을 치료하는 방법을 제공하는데, 이는 본원에서 설명하는 마스크 처리된 항-CD137 항체의 유효 량과 CD3(예를 들어, 인간 CD3) 및 고형 종양 암세포 표면에 발현된 항원을 표적으로 하는 이중 특이성 T 세포 결합자(TCE)의 유효량을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 고형 종양의 표면에 발현되는 항원은 HER2(예를 들어, 인간 HER2)이다. 일부 실시형태에서, CD3 및 HER2를 표적으로 하는 TCE는 세 개의 폴리펩타이드 사슬을 포함 하는데, 여기서 첫 번째 폴리펩타이드 사슬은 항체 중쇄를 포함하고, 두 번째 폴리펩타이드 사슬은 항체 경쇄를 포함하고, 세 번째 폴리펩타이드 사슬은 scFv-Fc 도메인 융합을 포함 하는데, 여기서 ScFv의 C-말단은 Fc 도메인의 N-말단에 융합되고, 첫 번째 및 두 번째 폴리펩타이드 사슬은 HER2 결합 팔을 형성하기 위해 연관되고, 세 번째 폴리펩타이드 사슬은 CD3에 결합하고, 항-HER2 결합 팔의 Fc 도메인과 세 번째 폴리펩타이드 사슬의 Fc는 이량체화되어 TCE를 형성한다. 일부 실시형태에서, TCE는 마스크된 TCE(예를 들어, CD3에 결합하는 TCE의 부분 및/또는 HER2에 결합하는 TCE의 부분이 마스크됨)이다. 일부 실시형태에서, 첫 번째 폴리펩타이드 사슬은 서열번호 125를 포함하고, 두 번째 폴리펩타이드 사슬은 서열번호 124를 포함하고, 세 번째 폴리펩타이드 사슬은 서열번호 126을 포함한다. 일부 실시형태에서, 암은 고형 종양(예를 들어, 대장암, 유방암, 간암, 대장직장암 또는 대장암)이다.
- [0168] 여기에 기술된 치료 방법의 일부 실시양태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 서열번호 34의 마스크 펩타이드, 서열번호 52에 제시된 VH 도메인, 서열번호 53에 제시된VL 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-

CD137 항체는 또한 하나 이상의 치환 돌연변이(들)를 포함 하는 인간 IgG1 도메인 또는 그 변종을 추가로 포함 한다. 일부 실시형태에서 IgG1 변형은 치 환을 포함합니다. 다음으로 구성된 그룹에서 선택됨: G236D; L328F; S239D; S267E; G236D 및 S267E; S239D 및 S267E; S267E 및 L328S; 및 S267E 및 L328F; E233D 및 P238D; G237D 및 P238D; H268D 및 P238D; P271G 및 P238D; A330R 및 P238D; E233D, P238D 및 A330R; E233D, P231G, P238D 및 A330R; G237D, H268D, P238D 및 P271G; G237D, P238D, P271G 및 A330R; E233D, H268D, P238D, P271G 및 A330R; G237D, H268D, P238D, P271G 및 A330R; 및 E233D, G237D, P238D, H268D, P271G 및 A330R; S2657A; T437R; K248E; 및 T437R 및 K248E, 여기서 아 미노산 번호는 EU 색인에 따른다. 일부 실시형태에서, 마스크된 항-CD137 항체는 또한 하나 이상의 치환 돌연변이(들)를 포함하는 인간 IgG4 도메인 또는 그 변종을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, IgG4 변형체는 다음으로 구성된 그룹에서 선택된 치환을 포함한다: G236D; L328F; S239D; S267E; G236D 및 S267E; S239D 및 S267E; S267E 및 L328S; 및 S267E 및 L328F; E233D 및 P238D; G237D 및 P238D; H268D 및 P238D; P271G 및 P238D; A330R 및 P238D; E233D, P238D 및 A330R; E233D, P231G, P238D 및 A330R; G237D, H268D, P238D 및 P271G; G237D, P238D, P271G 및 A330R; E233D, H268D, P238D, P271G 및 A330R; G237D, H268D, P238D, P271G 및 A330R; 및 E233D, G237D, P238D, H268D, P271G 및 A330R; S2657A; T437R; K248E; 및 T437R 및 K248E, 여기서 아미노산 번호는 EU 색인에 따른다.

[0169] 키트 및 제조

[0170] 다른 양태에서, 본원에서 기술하는 하나 이상의 마스크된 항-CD137 항체를 포함하는 키트가 제공된다. 일부 실시형태에서, 키트는 또한 마스크된 항-CD137 항체의 사용에 대한 지침을 포함하는 패 키지 인서트를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 제조품 또는 키트는 본원에서 기술된 하나 이상의 마스크된 항-CD137 항 체 또는 조성물을 함유하는 용기를 포함한다. 특정 실시형태에서, 제조품 또는 키트는 본원에서 기술하는 하나(또는 그 이상)의 마스크된 항-CD137 항체를 인코딩하는 핵산을 함유하 는 용기를 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트는 여기에 기술된 마스크된 항-CD137 항체를 생성하는 세포 또는 세포주를 포함합니다. 일부 실시형태에서, 키트는 CD137(예를 들어, 인간 CD137, 시노물거스 CD137, 마우스 CD137, 쥐 CD137 또는 이들 중 임의의 단편) 또는 CD137⁺ 세포에 대한 하나 이상의 양성 대조군을 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트는 음성 대조군, 예를 들어 CD137이 실질적으로 없는 표면이나 용액, 또는 CD137을 발현하지 않는 세포를 포함한다.

[0171] 특정 실시형태에서, 제조품 또는 키트는 용기와 용기 위 또는 용기와 연결된 라벨 또는 패키지 인서트를 포함합니다. 일부 실시형태에서, 라벨 또는 패키지 인서트는 마스크된 항-CD137 항체가 고형물 치료에 사 용된다는 것을 나타냅니다. 예를 들어, 본원에서 제공하는 방법에 따라, 이를 필요로 하는 피험자(예를 들어, 인간 피험자)의 종양(예를 들어, 유방암, 간암, 대장암, 결장암 등)을 치료하는 것. 적합한 용기로는 예를 들어 병, 바이알, 주사기, IV 용액백, 시험관 등이 있습니다. 용기는 유리나 폴 라스틱 등 다양한 재료로 만들어질 수 있습니다. 용기는 가려진 항-CD137 항체(또는 그러 한 마스크된 항체를 포함하는 조성물)를 담고 있으며, 이 항체는 그 자체로 또는 다른 조성물 과 결합되어 대상(예를 들어, 인간 대상)의 암을 치료하고, 진행을 지연시키고, 예방하는 데 효과적 입니다. 용기에는 멸균된 접근 포트가 있을 수 있습니다(예를 들어, 용기는 정맥 주사 용액 백이나 주사 바늘로 뚫을 수 있는 마개가 있는 바이알일 수 있음). 일부 실시형태에서, 라벨 또 는 포장 삽입물은 해당 조성물이 피험자(예를 들어, 인간 피험자)의 유방암, 간암, 대장암 또는 결장 암을 치료하는 데 사용됨 을 표시한다.

[0172] 또한, 제조품 또는 키트는 (a) 본 명세서에 설명된 마스크된 항-CD137 항체(또는 이의 면역 학적으로 활성인 단편)를 포함하는 조성물을 함유하는 첫 번째 용기; 및 (b) 추가적인 세포 독성제 또는 기타 치료적 제제를 포함하는 조성물을 함유하는 두 번째 용기를 포함할 수 있 다. 일부 실시형태에서, 제2 용기는 항-PD-1 항체(예를 들어, 항-인간 PD-1 항체)를 포함하는 조성물 을 함유하고, 제조품에는 마스크된 항-CD137 항체 및 항-PD-L1이 예를 들어 본원에서 제공하는 방법에 따라 이를 필요로 하는 대상(예를 들어, 인간 대상)의 고형 종양(예를 들어, 유방암, 간암, 대장암, 결장암 등)을 치료하는 데 사용하기 위한 것임을 나타내는 라벨 또는 패키지 인서트가 포함된다. 일부 실시형태에서, 제2 용기는 항-CTLA4 항체(예를 들어, 마스크된 항-CTLA4 항 체와 같은 항-인간 CTLA4 항체)를 포함하는 조성물을 함유하고, 제조품은 라벨 또는 패키 지 인서트에 마스크된 항-CD137 항체 및 항-CTLA4 항체(예를 들어, 마스크된 항-CTLA4 항 체)가 예를 들어 본원에서 제공되는 방법에 따라 이를 필요로 하는 대상(예를 들어, 인간 대상)에서 고형 종양(예를 들어, 유방암, 간암, 대장암, 결장암 등)을 치료하는 데 사용하기 위한 것임을 표시 한다. 일부 실시형태에서, 제2 용기는 HER2(예를 들어, 인간 HER2) 및 CD3(예를 들어, 인간 CD3)에 결합하는 이 중 특이 항체를 포함하는 조성물을 함유하고, 예를 들어 HER2 및 CD3에 결합하는 마스크 된 이중 특이 항체를 함유하고, 제조품은 마스크된 항-CD137 항체 및 HER2 및 CD3에 결 합하는 이중 특이 항체(예를 들어, HER2 및 CD3에 결합하는 마스크된 이중 특이 항체)가 대상(예를 들어, 인간)의 고형 종양

(예를 들어, 유방암, 간암, 대장암, 결장암 등) 치료에 사용하기 위한 것임을 라벨 또는 패키지 인서트에 표시한다. 예를 들어, 여기에 제공된 방법에 따라 이를 필요로 하는 대상. 일부 실시형태에서, 두 번째 용기는 CD3(예를 들어, 인간 CD3)와 고형 종양 암세포 표면에 발현된 항원(예를 들어, CD3와 고형 종양 암세포 표면에 발현된 항원을 결합하는 마스킹된 이중 특이성 T 세포 결합제)을 결합하는 이중 특이성 T 세포 결합제(TCE)를 포함하는 조성물을 함유한다. 일부 실시형태에서, 고형 종양의 표면에 발현되는 항원은 HER2(예를 들어, 인간 HER2)이다. 일부 실시형태에서, CD3 및 HER2를 표적으로 하는 TCE는 세 개의 폴리펩타이드 사슬을 포함하는데, 여기서 첫 번째 폴리펩타이드 사슬은 항체 중쇄를 포함하고, 두 번째 폴리펩타이드 사슬은 항체 경쇄를 포함하고, 세 번째 폴리펩타이드 사슬은 scFv-Fc 도메인 융합을 포함하는데, 여기서 ScFv의 C-말단은 Fc 도메인의 N-말단에 융합되고, 첫 번째 및 두 번째 폴리펩타이드 사슬은 HER-2 결합 팔을 형성하기 위해 연관되고, 세 번째 폴리펩타이드 사슬은 CD3에 결합하고, 항-HER2 결합 팔의 Fc 도메인과 세 번째 폴리펩타이드 사슬의 Fc는 이량체화되어 TCE를 형성한다. 일부 실시형태에서, TCE는 마스킹된 TCE(예를 들어, CD3에 결합하는 TCE의 부분 및/또는 HER2에 결합하는 TCE의 부분이 마스킹됨)이다. 일부 실시형태에서, 첫 번째 폴리펩타이드 사슬은 서열번호 125를 포함하고, 두 번째 폴리펩타이드 사슬은 서열번호 124를 포함하고, 세 번째 폴리펩타이드 사슬은 서열번호 126을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제조품은 마스킹된 항-CD137 항체와 고형 종양 암세포 표면에 발현된 항원 및 CD3에 결합하는 TCE(예를 들어, 마스킹된 이중 특이성 T 세포 결합제, 예를 들어 HER2와 같이 고형 종양 암세포 표면에 발현된 항원 및 CD3에 결합)가 필요한 대상(예를 들어, 인간 대상)에서 고형 종양(예를 들어, 유방암, 간암, 대장암, 결장암 등)을 치료하는 데 사용하기 위한 것임을 나타내는 라벨 또는 패키지 인서트를 포함한다. 예를 들어, 본원에서 제공하는 방법에 따라 치료한다.

[0173] 또한, 상기 제품은 정균 주사용수(BWFI), 인산염 완충 식염수, 링거 용액 및 포도당 용액과 같은 약학적으로 허용 가능한 완충액을 포함하는 제2 용기를 추가로 포함할 수 있다. 이는 다른 완충액, 희석제, 필터, 바늘 및 주사기를 포함하여 상업적 및 사용자 관점에서 원하는 다른 재료를 추가로 포함할 수 있다.

[0174] 상기에 기재된 설명은 당업자가 본 개시내용을 실시하기에 충분하다고 간주된다. 하기 실시예는 단지 예시의 목적을 위해서 제공되며, 본 개시내용의 범주를 어떠한 방식으로든 제한하도록 의도되지 않는다. 실제로, 본 개시내용에 도시되고 기재된 것에 더하여 본 개시내용의 다양한 변형이 당업자에게 상기 설명으로부터 자명할 것이며, 첨부된 청구범위의 범주 내에 속한다.

[0175] 특허 출원, 특허 공보, UniProtKB/Swiss-Prot 접근 번호를 포함하여 여기에 인용된 모든 참고문헌은 각 참고문헌이 구체적이고 개별적으로 참고로 포함된다고 표시된 것처럼 그 전체가 참고로 여기에 포함됩니다.

[0176] 실시예

[0177] 이하의 실시예는 본 발명을 구현하고 사용하는 방법에 대한 완전한 공개 및 설명을 해당 기술 분야의 통상의 기술자에게 제공하기 위해 제시된 것이며, 발명자가 자신의 발명품으로 간주 하는 것의 범위를 제한하려는 의도가 아니며, 아래의 실험이 수행된 모든 실험이거나 유일한 실험임을 나타내려는 의도도 없습니다. 사용되는 수 (예를 들어, 양, 온도 등)에 대한 정확도를 보장하기 위한 노력들이 이루어졌지만, 몇몇 실험 에러들 및 편차들이 고려되어야 한다. 달리 지시되지 않는 한, 부분은 중량 부분이고, 분자량은 중량 평균 분자량이며, 온도는 섭씨 온도이고, 압력은 대기압 또는 그에 가까운 압력입니다.

[0178] 실시예 1: CD137을 표적으로 하는 마스킹된 항체의 구축 및 검증

[0179] CD137 항체에 대한 마스킹 펩타이드의 FACS 기반 스크리닝

[0180] US 2019/00241886 에 기술된 억제된 펩티드 라이브러리 (CPL) 라이브러리로부터의 총 1×10^8 효모 세포 (그 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)는 하기 제공된 서열 번호 52 에 제시된 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 서열번호 53 에 제시된 경쇄 가변 도메인 (VL) 서열을 포함하는 부모 항-CD137 항체 TY21242 에 대해 펩티드를 차폐 펩타이드 위해 사용되었다, 는 아래에 제공된다. (CDR 시퀀스들은 볼드체 타입이다)

[0181] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSLTGGVGVGWIRQAPGKGLEWLAIDWADDKYYSPSLKSRLTISRDNKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARGGS
DTVIGDWFAYWGQGTILVTVSS (서열번호 52)

[0182] DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGYLLWTFGQGTK
VEIKR (서열번호 53)

[0183] 이 예에서, CPL의 마스킹 단위는 각각 부모 항원 결합 도메인의 경쇄의 N-말단에 직접 융합 되었고, 효모 세포 표면에 융합 단백질을 전시하는 효모 라이브러리가 구축되었습니다. 모 항-CD137 항체를 효과적으로 마스킹할

수 있는 마스킹 펩티드 서열을 식별하기 위해, 효모 라이브러리는 FACS 기반 스크리닝을 여러 차례 거쳤습니다: 먼저 인간 CD137에 대한 결합성이 낮은 효모 클론을 농축한 다음, 농축된 효모 클론을 프로테아제로 처리하여 마스킹 단위를 제거하고, 항원에 대한 결합성이 높은 클론을 선택했습니다.

[0184] 간략하게, MOFLO XDP® 고속 세포 분류기를 통한 선별의 각 라운드에 대해, 갈락토오스 배지에서 유도된 효모 세포를 수확하고, PBSA 완충액으로 한 번 세척하고 (즉, PBS 중 1% BSA), 이후 실온에서 1 시간 동안 상이한 농도의 비오틴화된 CD137 과 인큐베이션하였다. 그런 다음 효모 세포를 PBSA 완충액으로 두 번 세척하고, 피코에리트린(PE)이 결합된 스트렙타비딘(1:500 희석)(eBioscience #2-4317-87)과 함께 4°C에서 30분 동안 배양했습니다. PBSA 완충액으로 두 번 더 세척한 후 효모 세포를 2-3 OD/mL로 조정하고 분류했습니다. 1 nM의 비오틴화된 CD137-FC를 모든 5회의 소팅에서 사용하였고, 약한 결합체는 각 라운드에서 풍부하게 첨가했습니다. 라운드 5에서 약한 바인더를 표시하는 효모 세포를 글루코스로 성장시킨 후 갈락토스 배지에서 유도하고 TEV 프로테아제(6U/OD 세포)(사내)로 30°C에서 2시간 동안 처리했습니다. 프로테아제 처리 후 강력한 결합체를 나타내는 효모 세포가 정제되었습니다. TEV 절단은 항원에 강하게 결합하는 세포 집단의 극적인 증가를 초래하였으며, 이는 스크리닝 전략이 효과적이라는 것을 시사한다. 분류의 5 번째 라운드부터의 단일 클론은 선택적 매체 상에 플레이팅되고, 절단 매개 활성화된 항원 결합의 추가 확인을 위해 개별적으로 성장되었다. Fab 포맷에서, 선택된 마스킹된 항-CD137 항체 클론은 마스킹 펩타이드의 존재 하에 항원 (즉, hCD137)에 거의 결합하지 않았다. 그러나, 항원에 대한 결합은 효모 세포를 TEV프로테아제로 처리하여 마스킹 펩티드를 제거할 때 극적으로 증가하였다.

[0185] 5차례의 분류 후, 이들 클론에서 플라스미드를 추출하였고, DNA 시퀀싱을 통해 마스킹 단위 서열을 확인했습니다. 마스킹 펩타이드의 아미노산 서열을 결정하기 위해 선택된 효모 클론(Generay #GK2002-200)에서 셔틀 플라스미드를 추출하여 유능한 E. coli 세포에 형질전환시켰습니다. 플라스미드를 제조하였고, 마스킹 펩타이드를 인코딩하는 영역을 시퀀싱하여 정렬했습니다. 마스킹 펩타이드의 시퀀스는 여러 그룹으로 구분할 수 있었으며, 이는 여러 차례의 분류를 통해 명확히 풍부해졌음을 나타냅니다. 여러 항체의 마스킹 단위 서열과 연결 단위 서열은 표 A1에 나열되어 있습니다. 마스킹 펩티드의 완전한 서열은 표 A2에 나타나 있다. 마스킹 펩티드는 N-말단에서부터 C-말단으로, N-말단 유닛 (예를 들어, 아미노산 서열 EVGSY (서열번호 77)), 마스킹 유닛, 및 링키지 유닛을 포함한다. 표 A1 및 A2에 나열된 항체의 VH 및 VL 서열은 표 5A 및 5B에 제공됩니다.

[0186] 표 A1: 마스킹 단위 시퀀스 및 연결 단위 시퀀스

항체	SEQ ID NO →	마스킹 단위 시퀀스(N-끝에서 C-끝)	SEQ ID NO →	연결 단위 시퀀스(N-끝에서 C-끝)	IgG 이소형을
TY22586	1	PTDLDACADAPNHCHF	8	SGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG4
TY22591	2	SSTHAHCHHSPANCIS	8	SGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG4
TY22594	3	DTDYDFCPILRHRCDS	8	SGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG4
TY22595	4	NDYNYHCKWRPSRCHN	8	SGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG4
TY22596	5	YHDYDDCRVLP RRCFN	8	SGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG4
TY22598	6	SNNFASCLWRHRSCAD	8	SGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG4
TY22599	7	TDNYDYCPRLRRKCYH	8	SGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG4

[0187]

[0188] 표 A2: N-말단 단위, 마스킹 단위 및 연결 단위 서열을 포함하는 마스킹 펩타이드*

항체	SEQ ID NO →	(N-끝에서 C-끝)	IgG 이소형을
TY22586	17	EVGSYPTDLDACADAPNHCHFSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG4
TY22591	18	EVGSYSSTHAHCHHSPANCISGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG4
TY22594	19	EVGSYDTDYDFCPILRHRCDSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG4
TY22595	20	EVGSYNDYNYHCKWRPSRCHNSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG4
TY22596	21	EVGSYYHDYDDCRVLP RRCFNSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG4
TY22598	22	EVGSYSNNFASCLWRHRSCADSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG4
TY22599	23	EVGSYTDNYDYCPRLRRKCYHSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG4

[0189]

[0190] *N-말단 단위 서열은 일반 글씨로 표시되었고, 마스킹 서열은 굵은 밑줄 글씨로 표시되었고, 연결 단위 서열은 굵은 글씨로 표시되었습니다.

[0191] IgG 전환 및 발현

[0192] TY22586, TY22594, ty22595, 및 TY22599로부터 유도된 추가적인 마스킹된 항-CD137 항체의 마스킹 유닛 및 연결 유닛 서열은 하기 표 B1에 열거되어 있다. 마스킹 펩티드의 완전한 서열은 표 B2에 나타나 있다. 마스킹 펩티드는 N-말단에서 C-말단으로, N-말단 유닛 (예를 들어, 아미노산 서열 EVGSY (서열번호 77)), 마스킹 유닛, 및 링키지 유닛을 포함한다. 표 B1 및 B2의 항체의 VH 및 VL 시퀀스는 표 5A 및 5B에 제공됩니다. 표 B1 및 B2의 항체는 IgG1 또는 IgG4 마스킹된 항체로 변환되며, 각 마스킹된 항체는 1개 또는 2개의 절단 부위 (예: uPA 및/또는 MMP9와 같은 매트릭스 메탈로프로테아제(MMP))를 포함합니다. 표 B1 및 B2에서 마스킹된 항체의 Fc γ RIIb에 대한 결합을 향상시키기 위해, S267E 및 L328F 돌연변이 (EU 넘버링)를 FC 영역에 도입하여 TY25370, TY25371, TY25372, TY25366, TY25368 및 TY25369를 생성하였다. 각 항체의 중쇄 및 경쇄를 포유동물 발현 벡터 pCDNA3.3 (Thermo Fisher Scientific, cat # K830001)에 분리하여 클로닝하고, 마스킹 펩티드 및 절단 펩티드를 경쇄의 N-말단에, 즉 CPL의 효모 표면에 표시된 것과 동일한 방식으로 융합시켰다.

[0193] 표 B1: TY22586, TY22594, TY22595 및 TY22599에서 파생된 마스킹된 항-CD137 항체에 대한 마스크 단위 및 연결 단위 시퀀스

항체	SEQ ID NO →	마스킹 단위 시퀀스 (N-끝에서 C-끝)	SEQ ID NO →	연결 단위 시퀀스 (N-끝에서 C-끝)	IgG 이소형을	FC 돌연변이
TY23565	3	DTDYDFCPILRHRCDS	10	PLGLAGSGGS	hIgG4	
TY23568	3	DTDYDFCPILRHRCDS	8	SGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG1	
TY23571	3	DTDYDFCPILRHRCDS	10	PLGLAGSGGS	hIgG1	
TY23566	4	NDYNYHCKWRPSRCHN	10	PLGLAGSGGS	hIgG4	
TY23569	4	NDYNYHCKWRPSRCHN	8	SGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG1	
TY23572	4	NDYNYHCKWRPSRCHN	10	PLGLAGSGGS	hIgG1	
TY25370	4	NDYNYHCKWRPSRCHN	10	PLGLAGSGGS	hIgG1	S267E, L328F
TY23567	7	TDNYDYCPRLRRKCYH	10	PLGLAGSGGS	hIgG4	
TY25371	7	TDNYDYCPRLRRKCYH	10	PLGLAGSGGS	hIgG1	S267E, L328F
TY23570	7	TDNYDYCPRLRRKCYH	8	SGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG1	
TY23573	7	TDNYDYCPRLRRKCYH	10	PLGLAGSGGS	hIgG1	
TY25372	7	TDNYDYCPRLRRKCYH	11	GGGPLGLAGGS	hIgG1	S267E, L328F
TY25153	1	PTDLACADAPNHCHF	12	GGGPLGLAGGS	hIgG4	
TY25154	1	PTDLACADAPNHCHF	13	SGGGPLGLAGGS	hIgG4	
TY25155	1	PTDLACADAPNHCHF	14	SGRGPLGLAGGS	hIgG4	
TY25366	1	PTDLACADAPNHCHF	15	SGRGPLGLAGGS	hIgG4	S267E, L328F
TY25368	1	PTDLACADAPNHCHF	15	SGRGPLGLAGGS	hIgG1	S267E, L328F
TY25369	1	PTDLACADAPNHCHF	16	SGRGGPLGLAGGS	hIgG1	S267E, L328F

[0194]

[0195] 표 B2: N-말단 유닛, 마스킹 유닛 및 TY22586, TY22594, TY22595, 및 TY22599로부터 유도된 마스킹된 항-CD137 항체를 위한 연결 유닛 서열을 포함하는 마스킹 펩티드

항체	SEQ ID NO →	마스킹 펩티드 서열(N-끝에서 C-끝)	IgG 이소형을	FC 돌연변이
TY23565	24	EVGSYDTDYDFCPILRHRCDSPLGLAGSGGS	hIgG4	
TY23568	25	EVGSYDTDYDFCPILRHRCDSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG1	
TY23571	24	EVGSYDTDYDFCPILRHRCDSPLGLAGSGGS	hIgG1	
TY23566	26	EVGSYNDYNYHCKWRPSRCHNPLGLAGSGGS	hIgG4	
TY23569	27	EVGSYNDYNYHCKWRPSRCHNSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG1	
TY23572	26	EVGSYNDYNYHCKWRPSRCHNPLGLAGSGGS	hIgG1	
TY25370	26	EVGSYNDYNYHCKWRPSRCHNPLGLAGSGGS	hIgG1	S267E, L328F
TY23567	28	EVGSYTDNYDYCPRLRRKCYHPLGLAGSGGS	hIgG4	
TY25371	28	EVGSYTDNYDYCPRLRRKCYHPLGLAGSGGS	hIgG1	S267E, L328F
TY23570	29	EVGSYTDNYDYCPRLRRKCYHSGRSAGGGGTPLGLAGSGGS	hIgG1	
TY23573	28	EVGSYTDNYDYCPRLRRKCYHPLGLAGSGGS	hIgG1	
TY25372	30	EVGSYTDNYDYCPRLRRKCYHGGGPLGLAGGS	hIgG1	S267E, L328F
TY25153	31	EVGSYPTDLACADAPNHCHFSGGGPLGLAGGS	hIgG4	
TY25154	32	EVGSYPTDLACADAPNHCHFSGGGPLGLAGGS	hIgG4	
TY25155	33	EVGSYPTDLACADAPNHCHFSGRGPLGLAGGS	hIgG4	
TY25366	34	EVGSYPTDLACADAPNHCHFSGRGGPLGLAGGS	hIgG4	S267E, L328F
TY25368	34	EVGSYPTDLACADAPNHCHFSGRGGPLGLAGGS	hIgG1	S267E, L328F
TY25369	35	EVGSYPTDLACADAPNHCHFSGRGGGPLGLAGGS	hIgG1	S267E, L328F

[0196]

[0197] *N-말단 단위 서열은 일반 글씨로 표시되었고, 마스킹 서열은 굵은 밑줄 글씨로 표시되었고, 연결 단위는 굵은 글씨로 표시되었습니다.

[0198] 각각의 마스킹된 항-CD137 항체의 VH 및 VL 을 코딩하는 플라스미드 쌍 (즉, 마스킹 서열 및 연결 유닛을 포함하는 펩티드에 융합된 각각의 VL 의 N-말단을 가짐) 을 HEK293F 세포에 일시적으로 트랜스펙션시켰다. 6일 후 상층액을 수확하여 원심분리와 여과를 통해 정제한 다음, 표준 단백질 A 친화 크로마 토그래피(MabSelect SuRe, GE Healthcare)를 통해 항체를 정제했습니다. 마스킹된 항-CD137 항체를 용출시키고, 중화시키고, 완충액을 20 mM 히스티딘, PH 5.5 버퍼로 교환하였다. 단백질 농도는 UV-분광 광도법으로 결정되었고, 항체 순도는 SDS-PAGE 또는 SEC-HPLC를 통해 변성, 환원 및 비환원 조건에서 분석되었습니다. HEK293 세포에서 마스킹된 항-CD137 항체의 발현 수준은 부모 항체와 유사하거나 낮았 으며, 단백질 A 수지에 대한 정제 수율도 부모 항체와 유사했는데, 이는 마스킹 및 절단 펩타 이드의 존재가 포유류 세포에서 항체 발현에 유의미한 부정적 영향을 미치지 않는다는 것을 시사합니다.

[0199] 마스킹 효율 측정

[0200] 효모 세포의 표면 상에 표시되는 인간 CD137 에 대한 마스킹된 항-CD137 항체의 친화성을 또한 평가하였다. 간단히 설명하면, 효모 세포를 전장의 인간 CD137을 발현하는 플라스미드로 형질전환한 다 음, 형질전환된 세포를 식별하는 데 사용되는 C말단 3XMyC 태그를 첨가했습니다. 형질전환된 세포를 1.5 mL 튜브로 옮기고, 1% PBSA 완충액으로 한 번 세척하고, 원심분리 하고, 1 mL 1% PBSA 완충액으로 농도가 0.2 OD₆₀₀/mL이 되도록 재현 탁시키고, 96웰 플레이트의 각 웰에 분주했습니다. 시험 항체의 3 배 연속 희석액을 96 - 웰 플레이트의 세포-함유 웰에 피펫팅하고, 1 시간 동안 얼음 상에서 인큐베이션하고 (광으로부터 보호됨), 1% PBSA 완충액으로 1 회 세척하고, 얼음에서 30 분 동안 0.5 µg/mL PE-공액 마우스 항-인간 IgG Fc 및 2 µg/mL 마우스 항-myc-647 과 함께 인큐베이션하였다. 세포를 유동 세포측정법 (Beckman ® CytoFlex) 에 의한 분석 전에 1 회 세척하였다).

[0201] 일부 마스킹된 항-CD137 항체에 대한 실험은 여러 번 수행되었으며, 각 마스킹된 항체에 대 해 두 개의 계산된 마스크 효율을 얻었습니다. 각 마스킹된 항체의 마스킹 효율은 마스킹된 항체가 hCD137에 결합하는 KD를 부모 항체의 hCD137에 대한 KD로 나누어 계산했습니다. 그림 1A-1D와 아래 표 C에 나타난 바와 같이, 마스킹된 항체 각각은 부모 항체와 비교했을 때 hCD137에 대한 결합이 현저히 감소된 것 으로 나타났습니다. 마스킹된 항체의 계산된 마스크 효율은 21~1131 범위에 있습니다. 마스킹 효율에서의 차이는 측정 및 데이터 피팅의 변동으로부터 초래될 가능성이 있고, 각각의 마스킹된 항체의 마스킹 효율은 계산된 범위 내에 속할 가능성이 있다. 이러한 결과는 CPL에서 확인된 다수의 마스킹 펩타이드가 포유류 세포에서 발현되고 전체 IgG 분자의 일 부로 존재할 때에도 마스킹 효율을 유지한다는 것을 나타냅니다.

[0202] 표 C: 프로테아제 절단 전에 FACS-기반 검정을 통해 마스킹된 항-CD137 항체의 KD 의 측정

	KD			
항체	M	nM	R2	마스킹 효율
데이터 배치 1				
TY21242 (원래의)	2.82E-10	0.282	0.9894	1
TY22591	1.08E-08	10.8	0.9987	38
TY22594	2.36E-08	23.6	0.9916	84
TY22595	1.07E-07	106.8	0.9989	379
TY22596	5.86E-09	5.86	0.9882	21
TY22598	8.61E-09	8.61	0.9843	31
TY22599	9.81E-08	98.1	0.9972	348
데이터 배치 2				

[0203]

TY21242 (원래의)	2.92E-10	0.292	0.9793	1
TY22595	4.12E-08	41.2	0.9809	141
TY22599	7.17E-08	71.7	0.9956	246
TY23565	3.50E-08	35.0	0.9915	120
TY23566	6.43E-08	64.2	0.9803	220
TY23567	2.62E-07	261.9	0.9875	898
TY23568	1.07E-08	10.7	0.9936	37
TY23569	6.16E-08	61.6	0.9906	211
TY23570	7.08E-08	70.8	0.9925	243
TY23571	2.37E-08	23.7	0.9896	81
TY23572	8.49E-08	84.9	0.9941	291
TY23573	2.39E-07	239.1	0.9959	820
데이터 배치 3				
TY21242	3.55E-10	0.355	0.9901	1
TY22586	1.28E-07	128.4	0.9929	361
TY22599	4.40E-08	44.0	0.9898	124
TY23573	9.93E-08	99.3	0.9873	279
TY25153	2.14E-08	21.4	0.9557	60
TY25154	2.22E-08	22.2	0.9841	62
TY25155	4.02E-07	402.0	0.9979	1131
데이터 배치 4				
TY21242	1.99E-10	0.1994	0.9785	1
TY23310	1.76E-10	0.1762	0.9066	1
TY25155	1.83E-07	182.5	0.9867	915
TY25366	6.46E-08	64.56	0.9679	324
TY25368	1.33E-07	133.1	0.9885	755
TY25369	1.78E-07	177.8	0.9907	1009
TY25370	4.22E-08	42.22	0.9898	240
TY25371	6.19E-08	61.91	0.9687	351
TY25372	7.09E-08	70.89	0.9898	402

[0204]

[0205]

[0206]

실시예 2: 마스크 펩타이드 제거 전후의 마스크된 항-CD137 항체의 활동

정제된 마스킹된 항체는 링키지 유닛에서 절단 서열을 인식하는 프로테아제로 처리되었다. 처리 후, 마스킹된 항체는 마스킹 펩타이드의 제거가 그들의 활동을 복원하는지 여부를 결정하기 위해 테스트되었다. 일 예로서, 20 μ g의 TY25366 및 TY25368(0.5mg/mL)을 반응 완충액(50mM Tris, 10mM CaCl_2 , 150mM NaCl, 0.05% Brij35(w/v), pH 7.5)에서 각각 1 μ g의 재조합 인간 MMP-9(자체 생산)로 처리했습니다. 반응은 37°C에서 24시간 동안 수행되었다. 마스킹 펩티드는 ELISA 및 FACS 기반 분석에 의해 경쇄로부터 제거되는 것으로 확인되었다. 도 2A-2B 및 표 D 에 나타난 바와 같이, 마스킹 펩티드의 제거 후, hCD137 에 대한 마스킹된 항-CD137 항체의 결합은 모 항체 (즉, TY21242 및 TY23310) 와 구별할 수 없었다.

[0207] 표 D: 마스크된 항-CD137 항체의 프로테아제 절단 후 ELISA EC50 및 FACS KD

항체 및 조건	설명	ELISA EC50		FACS KD	
		nM	마스킹 효율	nM	마스킹 효율
TY24118	마스크된 항체 TY25368 의 부모 항체. 마스킹 펩타이드가 없습니다. S267E, L328F 돌연변이 (EU 넘버링) 를 포함하는 IgG1 변이체.	0.275	1	0.115	1
TY25368 + MMP9	TY24118로부터 유도된 마스크된 항체. 마스킹 펩타이드가 함유되어 있습니다 (서열번호 34). S267E, L328F 돌연변이 (EU 넘버링) 를 포함하는 IgG1 변이체. MMP9 로 처리.	0.235	0.8	0.171	1.5
TY24122	마스크된 항체 TY25366 의 부모 항체. 마스킹 펩타이드가 없습니다. S267E, L328F 돌연변이 (EU 넘버링) 를 포함하는 IgG4 변이체.	0.310	1	0.141	1
TY25366 + MMP9	TY24122로부터 유도된 마스크된 항체. 마스킹 펩타이드가 함유되어 있습니다 (서열번호 34). S267E, L328F 돌연변이 (EU 넘버링) 를 포함하는 IgG4 변이체. MMP9 로 처리.	0.132	0.4	0.197	1.4

[0208]

[0209] 실시예 3: 마스크된 항-CD137 항체의 개발 가능성 프로파일

[0210]

제조 목적으로, 마스크된 항-CD137 항체는 우수한 개발 가능성 프로파일을 갖는 것이 중요합니다. 본 예에서 상세히 기재된 바와 같이, 포유동물 세포에서 발현된 정제된 마스크된 항체로 상이한 검정을 수행하였다. 마스크된 항체를 20 mM 히스티딘, pH 5.5 에서 1 mg/mL 로 조정하고, Thermo DAD 검출기 및 XB리지 BEH SEC컬럼 (7.8 mm x 300 mm) (Waters) 을 갖는 Thermo U3000 을 사용하여 분석적 크기 배제 크로마토그래피 (SEC) 를 사용하여 항체 품질 분석을 수행하였다. 각각의 검정을 위해, 40 µg 의 항체를 주입하고, 분별화를 완충액 (pH 6.8 에서 300 mM 염화나트륨 내의 50 mM 포스페이트) 에서 0.7 mL/min 유량으로 수행하였다. 그림 3A-3E에 표시된 대로 5개 의 가속 스트레스 테스트를 수행했습니다. 간략하게, TY25366 및 TY25368 은 (1) 0, 3, 및 6 사이클의 냉동 및 해동에 중속되었다; (2) 40 °C 에서의 저장의 0, 7, 14, 21 및 28 일; (3) 실온에서 0 및 2 시간 동안 산성 완충액 (소듐 아세테이트 용액, pH3.6) 에 저장하는 단계; (4) 40°C에서 0 및 24시간 동안 50 mM 히스티딘, 300 mM NaCl, pH7.0 완충액에 보관했습니다; (5) 실온에서 6 시간 동안 식염수에 보관하고 이어서 4 °C 에서 24 시간 동안 보관하는 단계. 가속된 저장 조건에서 저장 후의 TY25366 및 TY25368 의 SEC 프로파일들은 T=0 에서 (즉, 전술한 조건들 하의 저장 이전에) TY25366 및 TY25368 의 SEC 프로파일들과 유사하다. 마스크된 항체는 아직 광범위한 버퍼 최적화 과정을 거치지 않았으며, 마스크된 항체의 안정성은 최적화된 버퍼 및 부형제로 더욱 개선될 수 있다. 이러한 데이터를 종합해 보면, 가려진 항-CD137 항체는 다양한 스트레스 조건에서도 안정 적으로 유지되었으며, 따라서 개발 가능성 프로파일이 양호함을 알 수 있습니다.

[0211]

실시예 4: FcγR에 대한 항-CD137 항체 TY24118 및 TY24122의 결합

[0212]

항-CD137 항체 TY24118 및 TY24122(즉, 각각 마스크된 항체 TY25368 및 TY25366의 부모 항체)가 Fcγ 수용체에 결합하는 것을 다음과 같이 평가했습니다. His 태그가 붙은 재조합 인간 FcγR 단백질 2 mg/ml을 Fortebio의 항-Penta-His 센서로 포획했습니다. 그 다음, 연속적으로 희석된 테스트된 항체 (즉, TY24118 또는 TY24122) 가 연관을 위해 센서를 통해 유동되고, 이어서 런닝 버퍼 (running buffer) 에서 해리 단계가 뒤따른다. FcγR 단백질에 대한 항체의 친화도는 정상상태 분석을 통해 계산되었습니다. 표시된 대로 표 E에서 TY24118 및 TY24122 는 각각 해당 야생형 대응 항체인 TY23310 및 TY21242와 비교했을 때 인간 FcγRIIa 및 FcγRIIb 단백질에 대한 결합 친화성이 향상되었습니다.

[0213] 표 E: TY24118 및 TY24122의 인간 Fc γ R에 대한 결합 친화도 KD(nM)

항체	설명	hFc γ RIIa	hFc γ RIIb
TY23310	항체 TY24118의 모 (parent). 마스킹 펩타이드가 없습니다. WT IgG1 FC 영역.	970	2300
TY24118	마스킹된 항체 TY25368의 부모. 마스킹 펩타이드가 없습니다. S267E 및 L328F 치환 (EU 넘버링) 을 포함하는 IgG1 FC 변이체.	6	15
TY21242	항체 TY24122의 모 (parent). 마스킹 펩타이드가 없습니다. WT IgG4 FC 영역.	1800	2300
TY24122	마스킹된 항체 TY25368의 부모. 마스킹 펩타이드가 없습니다. S267E 및 L328F 치환 (EU 넘버링) 을 포함하는 IgG4 FC 변이체.	5.85	5.06

[0214]

[0215] 실시예 5: 표적 T 세포에 대한 마스킹된 항-CD137 항체의 결합

[0216]

타겟 T 세포에 대한 마스킹된 항-CD137 항체의 결합을 다음과 같이 평가하였다. 건강한 기증자에게서 채취한 말초혈액에서 인간과 원숭이의 T세포를 분리했습니다. 마우스 및 래트 T 세포를 비장으로부터 분리하였다. 모든 T 세포를 항-CD3/항-CD28 자극의 존재 또는 부재하에 배양하였다. 활성화된 T 세포 또는 자극되지 않은 나이브 T 세포를 상응하는 항-CD4 및 항-CD8 항체와 함께 직렬로 희석된 시험 항체와 함께 게이트 T 세포 하위집단에 인큐베이션하였다. 시험 항체의 결합은 FACS 분석에 의해 형광 표지된 항-인간 IGG FC 2 차 항체로 검출되었다. 도 4A 내지 도 4D 에 도시된 바와 같이, 단지 MMP9 -벽개된 TY25368 만이 활성화된 T 셀들에서의 유도된 CD137 표현과 일치하는, 활성화된 인간 T 셀들, 사이노몰거스 T 셀들, 마우스 T 셀들, 및 RAT T-셀들에 대한 긍정적인 염색을 나타내었다. MMP9 -벽개된 TY25368 은 자극되지 않은 나이브 T 세포에 대해 검출가능한 결합을 나타내지 않았다. 절단되지 않은 TY25368 은 활성화된 또는 나이브 T 셀에 검출 가능한 결합을 나타내지 않았다. 이들 결과는 마스킹된 항체 TY25368 의 마스킹 펩타이드가 표적 T 세포에 대한 그의 결합을 방지하고 프로테아제 절단 복원된 TY25368 의 표적 세포 결합 활성화에 의한 비마스킹을 방지한다는 것을 시사한다.

[0217]

실시예 6: 마스킹된 항-CD137 항체의 리간드 차단 활동

[0218]

항-CD137 마스킹된 항체의 리간드 차단 활동은 다음과 같이 평가되었습니다: 제조한 인간 CD137 단백질 1 mg/ml 을 ELISA 플레이트에 코팅했습니다. 다음으로, 2 mg/ml의 바이오틴화된 제조한 인간 CD137 리간드를 연속 희석된 마스킹된 항체 의 존재 하에 37°C에서 1시간 동안 CD137 사전 코팅된 ELISA 플레이트와 함께 배양했습니다. 세척 후, NeutrAvidin-HRP를 플레이트에 첨가하여 CD137과 리간드 사이의 상호 작용을 감지했습니다. 도 5 에 도시된 바와 같이, MMP9 -벽개된 TY25368 은 4.46 nM 에서 IC50 과 함께 용량-의존적 방식으로 CD137 과 그의 리간드 사이의 상호작용의 강한 억제제를 나타내었다. 절단되지 않은 TY25368은 동종형 대조 항체와 유사하게 검출 가능한 억제 활성을 나타내지 않았습니다. 이러한 결과는 TY25368이 절단 시 CD137 수용체와 리간드 간의 상호 작용을 차단 할 수 있음을 나타냅니다.

[0219]

실시예 7: 마스킹된 항-CD137 항체에 의한 CD137 매개 세포 신호 전달 활성화

[0220]

항-CD137 항체 및 그들의 마스킹된 대응물에 의한 CD137 수용체 신호전달에 대한 자극 활성을 Jurkat-CD137-NFkB-루시페라제 리포터 세포를 사용하여 평가하였다. 간략히 말해서, 리포터 세포는 가교제로서 CHO-K1-hFc γ RIIb 세포의 존재 또는 부재 하 에서 배양되었습니다(E: CL=20: 1, 여기서 "E"는 Jurkat-CD137-NFkB-luciferase 리 포터 세포를 나타내고 "CL"은 CHO-K1-hFc γ RIIb 세포를 나타냄). 연속 희석된 시험 항체를 리포터 세포 시스템에 첨가하여 하위 루시페라제 활동을 자극하는 활성을 평가했습니다.

[0221]

그림 6A-6B 및 표 F에 나타난 바와 같이, 가교제로서 CHO-K1-hFc γ RIIb 세포가 존재하 는 경우 모든 항-CD137 항체는 CD137 신호전달의 활성화를 보였습니다. MMP9 -처리된 마스킹된 항체 TY25368 은 가장 강한 신호를 나타냈다. 절단되지 않은 마스킹된 항체 TY25368 의 활성은 그것의 절단된 형태보다 훨씬 더 약하였다. 다른 임상적 항- CD137 항체도 이 분석에서 비교되었습니다. 항-CD137 항체 AC1121 및 AC1097은 WO 2019/036855 및 US 2020/00369776에 기술되어 있으며, 이들 내용은 본원에 전문이 참 조로 포함되어 있습니다. 특히, CHO-K1-hFc γ RIIb 세포가 가교제로서 존재하지 않는 경우, AC1121 만이 활성을 나타내었다. 모든 다른 항-CD137 항체는 비활성이었고, 이의 CD137 작용제 활성을 시사하는 것은 가교결합 의존적이었다.

[0222]

표 F: CHO-K1-hFc γ RIIb 교차결합 세포의 존재 또는 부재 하에서 항-CD137 항체에 의 한 CD137 매개 신호 전달

자극

항체	설명	가교제로서 CHO-K1-hFcγRIIb 세포가 존재할 때 EC50(nM)	CHO-K1-hFcγRIIb 세포가 없는 경우 EC50(nM)(가교제 없음)
TY25368 + MMP9	TY21242로부터 도출되는 TY24118의 마스킹된 항체. 마스킹 펩타이드가 함유되어 있습니다(서열번호 34).	0.08	NA
TY25368 (MMP9 없음)	S267E 및 L328F 치환(EU 넘버링)을 포함하는 IgG1 FC 변이체.	17.29	NA
TY23310	TY25368의 부모인 TY24118의 부모. 마스킹 시퀀스 및 연결 단위를 갖는 펩타이드를 갖지 않는다. WT IgG1 FC 영역.	0.27	NA
AC1121	WO 2019/036855 및 US 2020/00369776에 기술되어 있다. 마스킹 시퀀스 및 연결 단위를 갖는 펩타이드를 갖지 않는다.	0.59	0.88
AC1097	WO 2019/036855 및 US 2020/00369776에 기술되어 있다. 마스킹 시퀀스 및 연결 단위를 갖는 펩타이드를 갖지 않는다.	1.08	NA

[0223]

[0224]

실시예 8: 마스킹된 항-CD137 항체에 의한 인간 1차 B 세포 교차 결합 의존 활성화

[0225]

항-CD137 항체 및 그들의 마스킹된 대응물에 의한 CD137 수용체 신호전달에 대한 자극 활성을 다음과 같이 평가하였다. 인간 일차 B 세포를 건강한 공여자로부터 얻은 말초 혈액으로부터 분리하였다. Jurkat-CD137-NFκB-루시퍼라제 리포터 세포는 교차결합제로서 1차 B 세포의 존재 또는 부재 하에서 배양되었습니다(E:CL=5:1 또는 20:1). 연속 희석된 시험 항체를 리포터 세포 시스템에 추가하여 하류 루시퍼라제 활동을 자극하는 능력을 평가했습니다. 그림 7에 나타난 바와 같이, 가교제로서 인간의 일차 B 세포가 존재하는 경우, E:CL 비율(5:1 또는 20:1) 모두에서 절단된 TY25368-MMP9가 가장 강한 CD137 활성화 신호를 나타냈습니다. 절단되지 않은 마스킹된 항체 TY25368의 활성은 그것의 절단된 형태보다 훨씬 더 약하였다. 다른 임상적 항-CD137 항체도 이 분석에서 비교되었습니다.

[0226]

실시예 9: 마스킹된 항-CD137 항체에 의한 말초 혈액 단핵 세포의 스태필로코커스 엔테로톡신 A (SEA) - 유도된 활성화

[0227]

항-CD137 항체는 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)의 맥락에서 스태필로코커스 엔테로톡신 A (SEA) 펩티드 자극된 인간 T-세포 활성화를 향상시킬 수 있는지 여부를 결정하기 위해 다음과 같이 평가되었다. SEA, 슈퍼-항원(super-antigen)은 T 세포의 표면에 발현된 항원 제시 세포 및 T 세포 수용체(TCR)의 표면 상에 발현된 MHC II에 결합하여 인간 T 세포의 큰 분획을 활성화시키는 것으로 알려져 있으며, 따라서 이 연구에서 프라임 T 세포 활성화를 선택하였다. 인간 PBMC ($2.0 \times 10^5/96$ - 웰 플레이트의 웰)를 2개의 건강한 공여자(공여자 # 102 및 공여자 # 142)로부터 분리하고, 해저 펩티드(50 ng/mL)의 최적 농도로 자극하였다. 다음으로, 연속 희석된 농도의 항-CD137 항체와 동종형 대조 항체를 각 웰에 분주했습니다. 향상된 T 세포 활성화를 위한 엔드포인트로서 ELISA를 이용하여 IL-2의 측정을 위해 4일 후에 복제 세포 상청액을 수집하였다.

[0228]

도 8 및 표 G에 나타난 바와 같이, 양 공여자로부터의 PBMC는 절단된 TY25368(즉, MMP9로 처리된 TY25368)의 존재하에 가장 높은 수준의 IL-2 사이토카인 분비를 나타냈다. 양 공여자로부터의 PBMC에 의한 IL-2 사이토카인 분비의 수준은 절단되지 않은 TY25368의 존재하에 훨씬 더 약하였다. 이 분석에서는 다른 임상적 항-CD137 항체(즉, AC1121 및 AC1097)도 테스트되었습니다.

[0229] 표 G: 항-CD137 항체에 의한 PBMC 의 SEA-유도 활성화 향상

항체	설명	도너 # 102 로부터의 EC50 (nM) PBMC	도너 # 102 로부터의 EC50 (nM) PBMC
AC1121	WO 2019/036855 및 US 2020/00369776 에 기술되어 있다. 마스킹 시퀀스 및 연결 단위 을 갖는 캡타이드를 갖지 않는다.	0.767	0.404
AC1097	WO 2019/036855 및 US 2020/00369776 에 기술되어 있다. 마스킹 시퀀스 및 연결 단위 을 갖는 캡타이드를 갖지 않는다.	0.926	0.385
TY23310	TY25368 의 부모인 TY24118 의 부모. 마스킹 캡타이드가 없습니다. WT IgG1 FC 영역.	0.047	0.068
TY25368 + MMP9	TY21242 로부터 도출되는 TY24118 의 마스킹된 항체. 마스킹 캡타이드가 함유되어 있습니다(서열번호 34).	0.209	0.199
TY25368 (MMP9 없음)	S267E 및 L328F 치환 (EU 넘버링) 을 포함하는 IgG1 FC 변이체.	65.290	77.07

[0230]

[0231] 실시예 10: 항체 의존성 세포 매개 세포 독성(ADCC) 및 보체 의존성 세포 독성(CDC)에 대한 항-CD137 항체 스크리닝

[0232] 항-CD137 항체 및 마스크 처리된 항-CD137 항체는 다음과 같이 항체 의존성 세포 매개 세포 독성(ADCC) 활성화에 대해 선별되었습니다. Jurkat-CD16-NFAT-루시퍼라제 세포를 293-CD137 세포(즉, hCD137을 과발현하도록 설계된 293F 세포)와 표적 세포로 공동 배양했습니다. 연속 희석된 시험 항체를 ADCC 리포터 세포 시스템에 추가하여 하루 루시퍼라제 활동을 자극하는 능력을 평가했습니다. 도 9 에 나타난 바와 같이, ADCC 리포터 활성화는 MMP9-처리된 TY25368, 미처리된 TY25369, 또는 IgG1 아이소타입 제어 항체의 존재 하에 293F-CD137 세포 상에서 검출되지 않았다. 대조적으로, AC1121-IgG1 은 용량-의존적 방식으로 293F-CD137 세포 상에서 강한 ADCC 리포터 활성을 나타내었다.

[0233] 마스크된 항-CD137 항체 TY25368은 다음과 같이 보체 의존성 세포독성(ADCC)에 대해 스크리닝되었습니다. 건강한 기증자에게서 분리된 인간 T 세포를 항-CD3/항-CD28로 활성화하여 높은 수준의 CD137과 HLA-A/B/C 발현을 유도했습니다. 활성화된 T 세포는 정상 인간 혈청 보체 (NHSC)의 존재 하에 배양되었습니다. 다음으로, 연속 희석된 시험 항체를 분석 시스템에 첨가했습니다. 도 10 에 나타난 바와 같이, CDC 활성화는 MMP9-처리된 TY25368, 미처리된 TY25368, 또는 IgG1 이소타입 제어 항체의 존재 하에 검출되지 않았다. 대조적으로, 양성 대조군 항체(즉, 마우스 항-인간 HLA-A/B/C) 는 용량-의존적 방식으로 활성화된 T 세포 상에서 강한 CDC 활성을 나타내었다.

[0234] 실시예 11: CT26 류린 결장 종양 모델에서 항종양 효능

[0235] BALB/c 마우스(암컷, 8~9주령)에게 CT26 쥐 대장암 세포를 피하 주사로 접종했습니다. 종양이 3mm^3 의 부피에 도달했을 때, 생쥐를 무작위로 4개 그룹(그룹당 $n = 8$)으로 나누고 (a) 운반체 대조군, (b) 1 mg/kg 마스크된 항체 TY25368, (c) 5 mg/kg 항-PD-1 항체 FG1225, 또는 (d) 1 mg/kg 마스크된 항체 TY25368과 5 mg/kg 항-PD-1 항체 FG1225를 처리했습니다. 치료는 복강 주사를 통해 일주일에 두 번 시행되었습니다. 종양 성장은 일주일에 두 번 모니터링되었고 시간에 따른 평균 종양 부피 $\pm$ 표준 또는 오차 측정(SEM)으로 보고되었습니다. 그림 11 에 나타난 바와 같이, TY25368과 FG1225는 각각 단일제제로서 부분적인 효능을 보였다. 치료 시작 후 22일째에, TY25368로 치료한 쥐에서는 종양 성장이 48%, FG1225로 치료한 쥐에서는 42% 억제되었습니다. 대조적으로, 종양 성장은 FG1225 와 조합하여 TY25368 로 처리된 마우스에서 85% 만큼 억제되었다.

[0236] 실시예 12: MC38 류린 결장 종양 모델에서 항종양 효능

[0237] C57BL/6 마우스 (여성, 8 - 9 주령) 를 MC28 류린 결장암 세포로 피하 접종하였다. 종양이 $\sim 80\text{mm}^3$ 의 부피에 도달했을 때, 생쥐를 무작위로 8개 그룹(그룹당 $n = 8$)으로 나누고 (a) 운반체, (b) 5 mg/kg 마스크된 항체 TY25368, (c) 0.1 mg/kg 항-CTLA4 항체 TY21580, (d) 0.4 mg/kg 마스크 항-CTLA4 항체 TY22404, (e) 5 mg/kg TY25368과 0.1 mg/kg TY21580, 또는 (f) 5 mg/kg TY25368과 0.4 mg/kg TY22404로 치료했습니다. 치료는 복강내 주사 (intraperitoneal injection) 를 통해 1 주일에 2 회 투여되었다. 종양 성장은 일주일에 두 번 모니터링되었고 시간에 따른 평균 종양 부피 $\pm$ SEM으로 보고되었습니다. 도 12에 도시된 바와 같이, TY21580 및 TY22404 는 각각 단일제제로서 부분적인 효능을 보였다. 8개 중 3개 TY21580 단일제제로 치료한 쥐는 종양이 자유롭다.

종양 성장은 단일 에이전트 TY222404 로 처리된 8 마리 마우스 중 1 에서 억제되었다. TY25368 및 TY21580 과의 조합 처리, 또는 TY25368 및 TY22404 는 상당히 향상된 항종양 효능을 야기하였다. 그림 12를 보면, TY25368과 TY21580으로 치료한 8마리의 쥐 중 5마리는 종양이 자유롭다. TY25368 및 TY222404 로 치료된 모든 8 마리 마우스는 종양이 자유롭다.

[0238] 실시예 13: 시노물구스 원숭이 에서의 TY25368 의 약동학 (PK) 및 약역학 (PD) 연구

[0239] 2 주 동안 주당 1 회 정맥내 투여를 통해 30 mg/kg TY25368 또는 100 mg/kg TY25368 중 어느 하나가 주어지면 시노물구스 원숭이 몬키. ELISA 분석법을 사용하여 항체 TY25368의 혈장 농도(온전한 항체(즉, 절단되지 않은 마스킹된 항체) 및 전체 항체(즉, 절단되지 않은 형태와 절단된 형태 모두))를 각기 다른 시간대에 측정했습니다. 그 결과는 아래 표 H와 같습니다. 말초 T 림프구도 FACS 분석을 통해 프로파일링되었으며, 유의미한 변화는 관찰되지 않았습니다(데이터 미제시). 원숭이들은 항체 투여를 잘 견뎠 으며 연구 기간 동안 임상적 징후는 발견되지 않았습니다.

[0240] 표 H: 시노물구스 원숭이 에서의 TY25368 의 PK 파라미터들

	용량(mg/kg)	연구 일	성별	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	AUC _{0-168.317h} (h*ng/mL)	T _{1/2} (h)	V _d (mL/kg)	Cl (mL/h/kg)
TY25368 (절절)	30	1	마리 수컷	504000	0.5	39800000	136.3	85.2	0.447
		8	마리 수컷	639000	0.5	42800000	32.6	43.0	0.664
TY25368 (무손상)	30	1	마리 수컷	526000	0.5	41800000	273.0	101	0.265
		8	마리 수컷	773000	0.5	48200000	31.0	37.4	0.594

[0241] C_{max} = 최대(피크) 혈청 농도; T_{max} = C_{max}에 도달하는 시간; AUC = 시간의 함수로서 혈장 내의 약물 농도의 변화를 기술하는 곡선 아래 면적; T_{1/2} = 반감기; V_d = 전체 신체/약물 플라즈마 농도에서의 약물의 총량; Cl = 클리어런스.

	용량(mg/kg)	연구 일	성별	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	AUC _{0-169h} (h*ng/mL)	T _{1/2} (h)	V _d (mL/kg)	Cl (mL/h/kg)
TY25368 (절절)	100	1	마리 수컷	1570000	2.0	130000000	190.4	95.9	0.348
		8	마리 수컷	1890000	2.0	197000000	158.1	60.5	0.267
TY25368 (무손상)	100	1	마리 수컷	18C40000	1.2	141000000	201.2	89.3	0.304
		8	마리 수컷	2380000	1.2	223000000	144.7	51.7	0.244

[0242] 도 13 및 표 H 에 도시된 바와 같이, TY25368 은 총 및 온전한 형태 둘 다에 대해 30 mg/kg 내지 100 mg/kg 의 용량 범위에서 첫 번째 투여 후 선형적인 PK 프로파일을 선형화하였다. 제 2 30 mg/kg 도우즈에 이어서, TY25368은 빠른 클리어런스와 짧은 T_{1/2}를 나타냈습니다. 이 론에 얽매이지 않고, 이러한 효과는 치료에 의해 유도된 항약물 항체(ADA)로 인한 것일 수 있습니다. 투여 후 총 형태 및 온전한 형태를 비교하면, 매우 유사한 약물 농도 및 약물 노출이 관찰되었으며, 이는 마스킹된 항체 TY25368 이 원숭이의 말초 혈액 내 말초 혈액에서 안정되었음을 나타낸다. 따라서, 전임상 독성학 연구는 TY25366과 TY25368이 정상적인 약동학적 행동과 순환계 활성화가 최소화된 원숭이에서 잘 견디는 것을 보여줍니다.

[0243] 실시예 14: 마우스에서의 TY21242, TY24118 및 TY25366의 약동학(PK) 연구

[0244] CT26 종양을 가진 BALB/c 암컷 마우스를 대상으로 약동학 연구를 실시했습니다. 마우스를 무작위로 4개 그룹(그룹당 n= 4)으로 나누고 TY25368, TY25366, TY21242, TY24118 또는 TY24122를 5 mg/kg 복강내 주사했습니다. 혈액 샘플(샘플당 ~ 50 μ l)은 투여 후 3, 6, 24, 48, 96, 168 및 336시간에 수집되었습니다. TY25368, TY25366, TY21242, TY24118 및 TY24122의 혈중 농도는 포획제로 항인간 IgG Fc 항체를 사용하고 검출제로 HRP 표지된 항인간 IgG(Fab 특이적) 항체를 사용하여 ELISA를 통해 결정했습니다. 특정 항-이디오타입 항체를 포획제로 사용하고 HRP 표지 항-인간 IgG(Fab 특정) 항체를 검출제로 사용하는 두 번째 ELISA 분석 세트는 TY25368 및 TY25366의 활성(즉, 가려지지 않은) 형태를 검출하기 위해 수행되었습니다. 각각의 항체의 설명들은 표 I 에 제

공된다.

표 I. 항체 설명

항체	설명
TY23310	마스킹된 항체 TY25368 의 부모인 TY24118 의 부모. 마스킹 캡타이드가 없습니다. WT IgG1 FC 영역.
TY24118	마스킹된 항체 TY25368 의 부모. 마스킹 캡타이드가 없습니다. S267E 및 L328F 치환 (EU 넘버링) 을 포함하는 IgG1 FC 변이체.
TY25368	TY24118에서 유래된 마스크된 항-CD137 항체. 마스킹 캡타이드가 함유되어 있습니다(서열번호 34). S267E 및 L328F 치환 (EU 넘버링) 을 포함하는 IgG1 FC 변이체.
TY21242	마스킹된 항체 TY25366 의 부모인 TY24122 의 부모. 마스킹 캡타이드가 없습니다. WT IgG4 FC 영역.
TY24122	마스킹된 항체 TY25366 의 부모. 마스킹 캡타이드가 없습니다. S267E 및 L328F 치환 (EU 넘버링) 을 포함하는 IgG4 FC 변이체.
TY25366	TY24122에서 유래된 마스크된 항-CD137 항체. 마스킹 캡타이드가 함유되어 있습니다(서열번호 34). S267E 및 L328F 치환 (EU 넘버링) 을 포함하는 IgG4 FC 변이체.

TY25368 은 98 시간의 반감기를 가졌고, 336 시간에서의 약물 농도는 약 6.48 $\mu\text{g/ml}$ 이었다. TY25366 은 28 시간의 반감기를 가지며, 336 시간에 약물 농도는 약 0.13 $\mu\text{g/ml}$ 이었다. 비교하여, 패러티달 항체 TY21242 는 74 시간의 반감기를 갖고, 336 시간에 약물 농도는 약 3.09 $\mu\text{g/ml}$ 이고; TY24118 은 77 시간의 반감기를 가졌고; 336 시간에서의 약물 농도는 약 2.50 $\mu\text{g/ml}$ 이었고; TY24122 는 79 시간의 반감기를 가지며, 336 시간에서 약물 농도는 약 3.74 $\mu\text{g/ml}$ 였다. TY25368은 부모 항체보다 제거 시간이 느리고 반감기가 긴 반면, TY25366은 부모 항체보다 제거 시간이 훨씬 빠르고 반감기가 짧았습니다. TY25366 또는 TY25368의 활성 형태는 감지되지 않았습니다(데이터 미표시). 이는 가려진 항체가 마우스 말초혈액에서 안정적임을 나타냅니다.

따라서, 전임상 독성학 연구는 TY25366 및 TY25368 이 정상 약동학적 거동들 및 순환에서 최소 활성화를 갖는 마우스에서 잘 용인되는 것을 입증한다.

실시예 15: Fc 돌연변이를 포함하는 항-CD137 항체에 의한 CD137 매개 세포 신호 전달 활성화

표 J의 Fc 돌연변이는 가교에 영향을 줄 수 있으며, TY23310 또는 TY21242에 도입하여 TY24117, TY24118, TY24119, TY24120, TY24121 및 TY24122를 생성했습니다.

표 J. Fc 돌연변이를 포함하는 항-CD137 항체

IgG	돌연변이	아이소형	부모 IgG
TY24117	^a S267E	hIgG1	TY23310
TY24118	^a S267E/L328F	hIgG1	TY23310
TY24119	^b G237D/P238D/P271G/A330R	hIgG1	TY23310
TY24120	^b G237D/P238D/H268D/P271G/A330R	hIgG1	TY23310
TY24121	^a S267E	hIgG4	TY21242
TY24122	^a S267E/L328F	hIgG4	TY21242

^a문헌Chu et al. (2008) Mol Immunol. 45 (15) : 3926-33.

^b문헌Mimoto et al. (2013) Protein Eng Des Sel. 26 (10) : 589-98

항-CD137 항체는 HEK293F 세포에서 일시적으로 발현되었고 표준 단백질 A 친화 크로마 토그래피(MabSelect SuRe, GE Healthcare)로 정제되었습니다. Jurkat/NFkB 리포터 유전자 분석법을 통해 항-CD137 항체의 작용 활

성을 비교했습니다. 간략히 말하면, 인간 배아 신장 293T 세포에 인간 CD137 수용체를 발현하는 플라스미드와 NF κ B 반딧불이 루시퍼라제 리포터 및 대조 레닐라 루시퍼라제 리포터 구조물을 일시적으로 형질 전환시켰습니다. 세포는 (a) 인간 CHO-K1-hFc γ RIIb(CHO-K1-Fc γ RIIb라고도 함) 또는 (b) 마우스 CHO-K1-mFc γ RIIb의 존재 또는 부재 하에 테스트 항체와 함께 배양되었습니다. 그런 다음, 레닐라 루시퍼라제 활성으로 정규화 후 Firefly 루시퍼라제 활성에 의해 CD137 시그널링 활성화의 상대적 수준이 측정되었다. 도 14A-14C에 나타난 바와 같이, CHO-K1-Fc γ RIIb가 존재할 경우, 두 테스트 항체 모두 야생형 IgG1을 함유한 TY23310 또는 야생형 IgG4를 함유한 TY21242보다 더 높은 CD137 작용 활성을 보였다. 가교제로서 CHO-K1-mFc γ RIIb의 경우, 활성 향상은 관찰되지 않았거나 인간 시스템에서 관찰되는 활성 향상보다 적은 것으로 관찰되었습니다. 교차결합제가 없는 경우, 어떤 항체도 CD137을 매개로 한 세포 신호전달을 나타내지 않았습니다.

[0258] 실시예 16: 항-CD137 항체에 의한 말초 혈액 단핵 세포의 스타필로코커스 엔테로톡신 A (SEA)-유도 활성화

[0259] 실시예 15에서 생성된 항-CD137 항체를 다음과 같이 평가하여, 인간 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)의 맥락에서 스타필로코커스 엔테로톡신 A (SEA) 펩티드 자극된 인간 T-세포 활성화를 향상시킬 수 있는지 여부를 결정하였다. 신선한 인간 PBMC를 50 ng/mL SEA로 인큐베이션하고, (가용성 형태로 또는 고체 지지체 상에 고정화된) 항-CD137 항체의 농도를 96h로 연속적으로 희석한 다음, 세포 배양 상청액을 수집하여 IL-2 수준을 측정하였다. 도 15에 도시된 바와 같이, 항-CD137 항체 TY24118 및 TY24122는 TY24117, TY24118, TY24119, TY24120, TY24121 및 TY24122보다 더 나은 작용 활성을 나타냈다.

[0260] 실시예 17: 인간 CD137, 시노몰거스 CD137, 마우스 CD137 및 쥐 CD137에 대한 TY25368 및 TY25368-MMP9의 친화도.

[0261] TY25368과 그 활성화된 형태(TY25368-MMP9라 함)의 다양한 종의 재조합 CD137에 대한 결합 친화력은 표면 플라즈몬 공명(SPR)을 통해 평가되었습니다. 간단히 말해서 항-인간 IgG(Fc) 항체(Cytiva, 카탈로그 번호 BR-1008-39)는 아민 커플링 키트(Cytiva, 카탈로그 번호 BR-1000-50)의 지시에 따라 아미드 커플링을 통해 CM5 칩에 고정화되었습니다. 고정화 수준의 최종 반응은 약 5000 RU(상대 단위)였습니다. TY25368 및 TY25368-MMP9는 각각 1X HBS-EP 완충액(10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA $\cdot$ 2Na, 0.005% (v/v) 계면활성제 P20, pH 7.4)으로 3 μ g/mL로 희석한 다음 고정화를 위해 30초 동안 10 μ L/분의 유속으로 시스템에 주입했습니다. CD137 항원은 1X HBS-EP 완충액으로 연속 희석한 후, 30 μ L/min의 유속으로 300초 동안 시험 항체 고정화 CM5 칩에 흘렸습니다. 연관 후, 1X HBS-EP 완충액을 30 μ L/min의 유속으로 표면에 주입하여 항원 해리 속도를 테스트하기 위해 300초 더 주입했습니다. CM5 센서 칩 재생을 위해 잔류 항체/항원을 제거하기 위해 3M 염화마그네슘 용액을 사용했습니다. 표 K에 표시된 바와 같이, TY25368은 인간 CD137, 시노몰거스 CD137, 마우스 CD137 및 쥐 CD137에 대한 결합 친화도가 낮습니다(KD > 1000 nM). 대조적으로, 활성화된 TY25368-MMP9는 인간 CD137 및 사이노몰거스 CD137에 높은 친화도(각각 3.19 및 4.23 nM의 KD를 가짐)를 결합하는 것으로 밝혀졌다. 활성화된 TY25368-MMP9는 또한 마우스 CD137 및 래트 CD137을 더 낮은 친화도로 결합하는 것으로 밝혀졌다(각각 27.54 및 42.37 nM의 KD를 가짐).

[0262] 표 K. SPR 에 의해 측정된 바와 같이, 상이한 종으로부터 CD137 에 대한 TY25368 및 TY25368 -MMP9 의 친화도

항원	시험 항체	KD (nM)
인간 CD137	TY25368	> 1000
	활성화된 TY25368 (TY25368-MMP9)	3.19
시노몰구스 원숭이 CD137	TY25368	> 1000
	활성화된 TY25368 (TY25368-MMP9)	4.23
마우스 CD137	TY25368	> 1000
	활성화된 TY25368 (TY25368-MMP9)	27.54
랫트 CD137	TY25368	> 1000
	활성화된 TY25368 (TY25368-MMP9)	42.37

[0263]

[0264] 실시예 17: 무린 EMT6 유방암 모델에서 TY25368 의 항종양 효능

[0265] BALB/c 마우스(4개 그룹, 그룹당 n=8, 암컷, 생후 8~9주)에게 EMT6(ATCC) 쥐 유방암 세포를 피하 주사로 접종했습니다. 종양이 확립되었을 때 (즉, 종양 부피가 $\sim 120 \text{ mm}^3$ 에 도달했을 때), 마우스를 (a) 운반체, (b) 3 mg/kg 마스크 항-CD137 항체 TY25368, (c) 1mg/kg TY25368, 또는 (d) 0.3 mg/kg TY25368로 처리되었습니다. 치료는 일주일에 두 번 복강내 주사로 시행되었습니다. 종양 성장은 일주일에 2 회 모니터링되고 시간에 따라 평균 종양 부피 $\pm$ s.e.m. 으로 보고되었다. 도 16 에 나타난 바와 같이, TY25368 은 EMT6 무린 동종이식된 종양 모델에서 용량 의존적 항종양 효과를 나타내었다. 1 mg/kg TY25368 및 3 mg/kg TY25368 로 처리된 모든 마우스에서 종양 회귀 (tumor regression) 를 관찰하였다.

[0266] 실시예 18: H22 무린 간 암 모델에서의 항종양 효능 TY24118, TY24122, TY25366 및 TY25368

[0267] BALB/c 마우스(5개 그룹, 그룹당 n=8, 암컷, 생후 8~9주)에게 H22(CCTCC) 무린 간 암 세포를 피하 주사로 접종했습니다. 종양이 확립되었을 때 (즉, 종양 부피가 $\sim 90 \text{ mm}^3$ 에 도달했을 때), 마우스를 (a) 운반체, (b) 5 mg/kg TY24118, (c) 5 mg/kg TY24122, (d) 5 mg/kg TY25366 또는 (e) 5 mg/kg TY25368로 처리했습니다. (항체에 대한 설명은 위의 표 I에 제공되어 있습니다.) 종양 성장은 일주일에 2 회 모니터링되고 시간에 따라 평균 종양 부피 $\pm$ s.e.m. 으로 보고되었다. 도 17 에 나타난 바와 같이, 마스크되지 않은 부모 항-CD137 항체 TY24118 및 TY24122, 및 마스크된 항-CD137 항체 TY25366 및 TY25368 은 모두 5 mg/kg 에서 유사한 효능을 보였다.

[0268] 실시예 19: 무린 CT26 대장암 모델에서의 TY24118, TY24122, TY25366 및 TY25368의 항종양 효능

[0269] BALB/c 마우스(5개 그룹, 그룹당 n=8, 암컷, 생후 9~10주)에게 CT26(SIBS) 무린 대장암 세포를 피하 주사로 접종했습니다. 종양이 확립되었을 때 (즉, 종양 부피가 $\sim 60 \text{ mm}^3$ 에 도달했을 때), 마우스를 (a) 운반체, (b) TY24118, (c) TY24122, (d) TY25366 또는 (e) TY25368로 처리했습니다. (항체에 대한 설명은 위의 표 I에 제공되어 있습니다.) 항체는 5mg/kg 또는 1mg/kg으로 주 2회 복강주사로 투여하였다. 종양 성장은 일주일에 2 회 모니터링되고 시간에 따라 평균 종양 부피 $\pm$ s.e.m. 으로 보고되었다. 그림 18A 및 18B에 나타난 바와 같이, 마스크되지 않은 부모 항-CD137 항체 TY24118 및 TY24122는 고용량(5mg/kg) 및 저용량 (1mg/kg) 모두에서 유사한 효능을 보였습니다. 마스크 처리된 항-CD137 항체 TY25368은 고용량(5mg/kg) 및 저용량(1mg/kg)에서 TY24118 및 TY24122와 유사한 효능을 보였습니다. 가려진 항-CD137 항체 TY25366은 고용량(5mg/kg) 및 저용량 (1mg/kg) 모두에서 TY24118 및 TY24122보다 효능이 떨어졌습니다.

[0270] **모범적인 결론**

[0271] TY25368은 광범위한 종 교차 반응성을 지닌 Fc 강화형 마스크 항-CD137입니다. TY25368은 높은 마스크 효율을 보였으며, 활성화된 T 세포의 CD137 공동 자극 수용체에 강력하게 결합하도록 조건부 활성화되었습니다.

TY25368 은 우렐루맵 보다 강력한 CD137 시그널링의 Fc γ R-의존적 자극을 나타내었다. TY25368은 1차 자극 신호가 존재할 때 T 세포 활성화에 대해 우렐루맵보다 더 강한 항-CD137 작용제 활동을 보인 반면, 마스크된 TY25368은 활동성이 훨씬 낮았습니다. TY25368 은 향상된 항종양 효능을 증대하기 위해 항-PD-1 또는 항-CTLA-4를 포함하는 다른 면역 체크포인트 억제제와 협력하여 단일 제제로서 강력한 항종양 활성을 입증하였다. TY25368은 비임상 독성학 연구에서 쥐와 원숭이에게 잘 견디며, 정상적인 약동학적 행동 및 순환에서 최소 활성화를 갖는다.

[0272] 실시예 20: 무린 MC38-HER2-B7H3 결장선암 모델에서 TY27151과 병용한 TY25368의 항종양 효능

[0273] C57BL/6-hCD3e 마우스(군당 n=6, 암컷, 생후 9주)에게 MC38-HER2-B7H3 무린 결장선 암 세포를 피하 주사로 접종했습니다. C57BL/6에서 유래된 C57BL/6-hCD3e 마우스에는 인간의 CD3E 유전자가 삽입되어 있습니다. 이러한 쥐는 T 세포에 hCD3 ϵ 를 발현합니다. MC38-HER2-B7H3 세포주는 MC38 세포 주에서 유래되었으며 인간 HER2("hHER2") 및 인간 B7H3("hB7H3")를 과발현하도록 설계되었습니다. 종양이 확립되었을 때 (즉, 종양 부피가 $\sim 90 \text{ mm}^3$ 에 도달했을 때), 마우스를 (a) 운반체, (b) TY25368, (c) TY27151, 또는 (d) TY25368과 TY27151을 처리했습니다. 항체를 1 주일에 2 회 복강내 주사함으로써 각각 5 mg/kg 으로 투여하였다. TY25368의 설명은 상기 표 I에 제공된다. TY27151은 HER2 및 CD3을 결합하는 이중특이성 T-세포 결합기(TCE) 구성이다. TY27151은 세 개의 폴리펩타이드 사슬로 구성되어 있습니다. TY27151의 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열은 아래 표 L에 나타나 있습니다. TY27151의 마스크 펩티드는 볼드체 형태이다. 마스크 시퀀스들은 밑줄로(underlined) 있고, 링크 유닛들은 이탤릭체(*italic*) 타입이다. TY27151은 3개의 폴리펩타이드 사슬: 항-HER2 항체 중쇄, 항-HER2 항체 경쇄, 및 ScFv-Fc 융합 폴리펩타이드를 포함하며, ScFv의 C-말단은 Fc 도메인의 N-말단에 융합된다. 항-HER2 항체 중쇄와 항-HER2 항체 경쇄는 결합하여 항-HER2 결합 팔을 형성합니다. ScFv-Fc 융합 폴리펩타이드는 CD3에 결합한다. 항-HER2 결합 암의 Fc 도메인 및 항-CD3 ScFv-Fc 융합 폴리펩타이드의 Fc는 이량체화되어 TCE를 형성한다. 예를 들어, 문헌, TY27151의 개략적 표현을 위한 도 20을 참조한다. TY27151에 대한 추가 세부 사항은 WO 2022/170740에 제공되어 있으며, 그 내용은 본원에 전체적으로 참조로 포함됩니다.

[0274] 표 L: TY27151의 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열

항-HER2 경쇄	ESDACDADPFDCQA <u>GGGPLGLAGSGGS</u> DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICR ASQDV NTAVAWYQQKPKGAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPE DFAT YYCQQHYTTPPTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVT HQLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 124)
항-HER2 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARI YPTNG YTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYA MDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCD KTHHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKKLTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSP G (서열번호 125)
항-CD3 ScFv-Fc	EVGSYPYDDPDCPSHESDCDQ <u>GGGPLGLAGSGGS</u> QAVVTQEPSTLTVSPGGT VTLTC GSSTGAVTTSNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGKGK AALTLS GAQPEDEAEYYCALWYNSLWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSEVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAINWVRQAPGKGLEWVGRIRSKY NNYATY YAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQINSLRAEDTAVYYCVRHGNFGTSYVSWF AYWGQ GTLVTVSSEPKSSDKTHHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNKEY KCKVSNKALPAPIEKTKISKAKGQPREPQVYTDPPSRDELTKNQVSLTCLVD GFYPS DIAVEWESNGQPENCYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEA LHNHYTQDSLSPG (서열번호 126)

[0275]

[0276] *마스킹 시퀀스들은 볼드체 밑줄 타입 (**bold underlined type**) 으로 있고; 링크 유닛들은 볼드체 이탤릭체 (***bold italic***) 타입이다

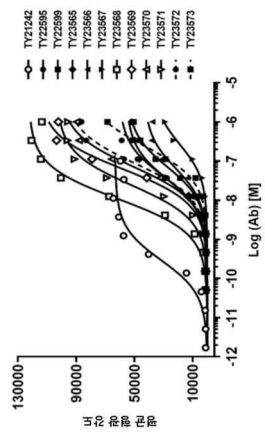
[0277] 종양이 확립되면, 치료는 비히클, TY25368 (5 mg/kg), HER2xCD3 이중-마스킹된 이중특이성 항체 TY27151 (5 mg/kg), 또는 복강내 주사에 의해 1 주일에 2 회 조합하여 시작하였다. 종양 성장은 일주일에 2 회 모니터링되 고 시간에 따라 평균 종양 부피 $\pm$ s.e.m. 으로 보고되었다. 그림 19A에 나타난 바와 같이, TY25368은 단일제제 로서 매우 약한 효능을 보였으며 22일차에 TGI는 19%였다. TY27151 은 54% 에서의 TGI 및 22 일째에 2/8 종양 유리 마우스를 갖는 단일 제제로서 적당한 효능을 입증하였다. TY25368 및 TY27151 과의 조합 처리는 22 일째에 85% 및 3/8 종양 유리 마우스에서 TGI 와 함께 상당히 향상된 항종양 효능을 초래하였다. 각 치료군 (a), (b), (c) 및 (d)의 개별 마우스의 종양 성장 곡선은 그림 19B에 표시됩니다.

[0278] 본 발명은 본 발명자가 발견하거나 제안한 특정 실시예에 따라 설명되었으며, 이는 본 발명의 실시를 위한 바람 직한 방식을 포함한다. 본 개시내용에 비추어 볼 때, 본 발명의 의도된 범위를 벗어나지 않고 예시된 특정 실시 예에 수많은 수정 및 변경이 가능하다는 것을 해당 기술 분야의 숙련자라면 이해할 수 있을 것이 다. 예를 들어, 코돈 중복성으로 인해, 단백질 서열에 영향을 미치지 않고 기본 DNA 서열에서 변화가 이루어질 수 있다. 게다가, 생물학적 기능적 동등성 고려사항들에 기인하여, 종류 또는 양으로 생물학적 작용에 영향을 미치지 않 으면서 단백질 구조에서 변화가 이루어질 수 있다. 이러한 모든 수정 사항은 첨부된 청구항의 범위 내에 포함되 는 것으로 의도됩니다.

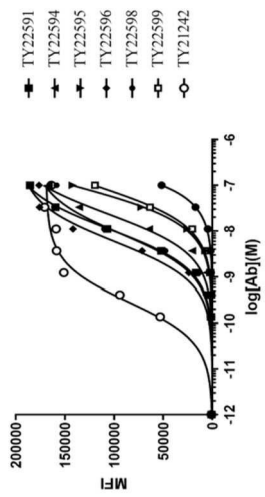
도면

도면1i

B

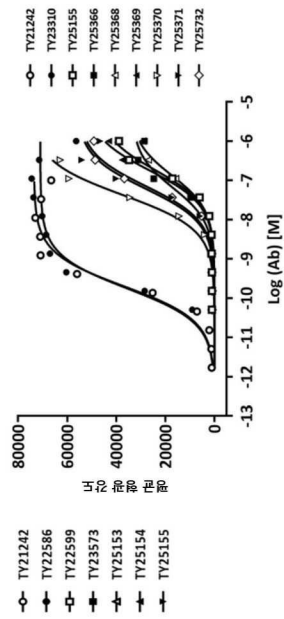


A

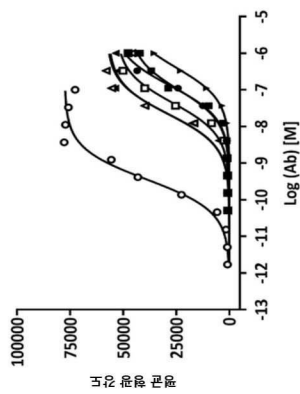


도면1ii

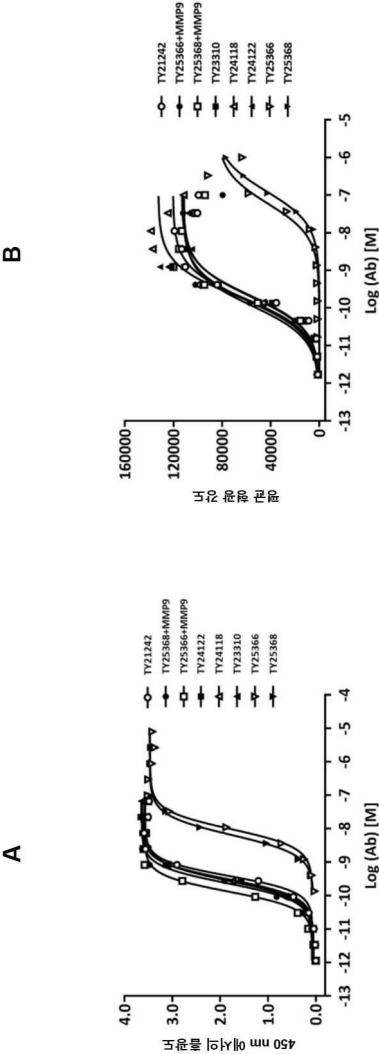
D



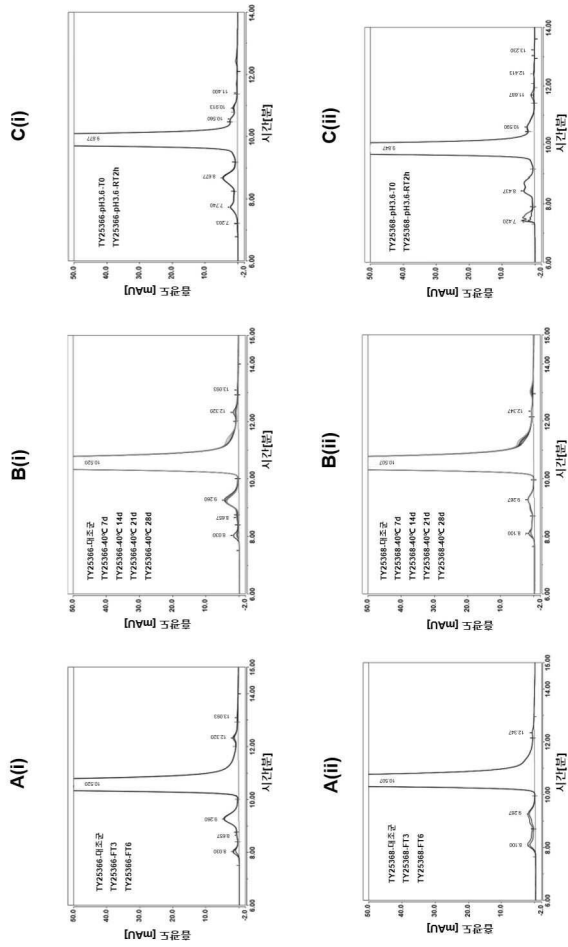
C



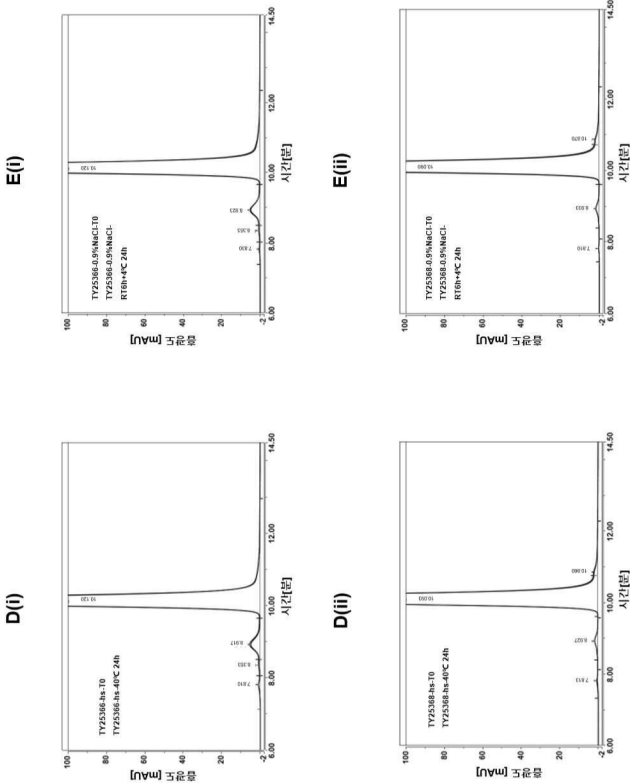
도면2



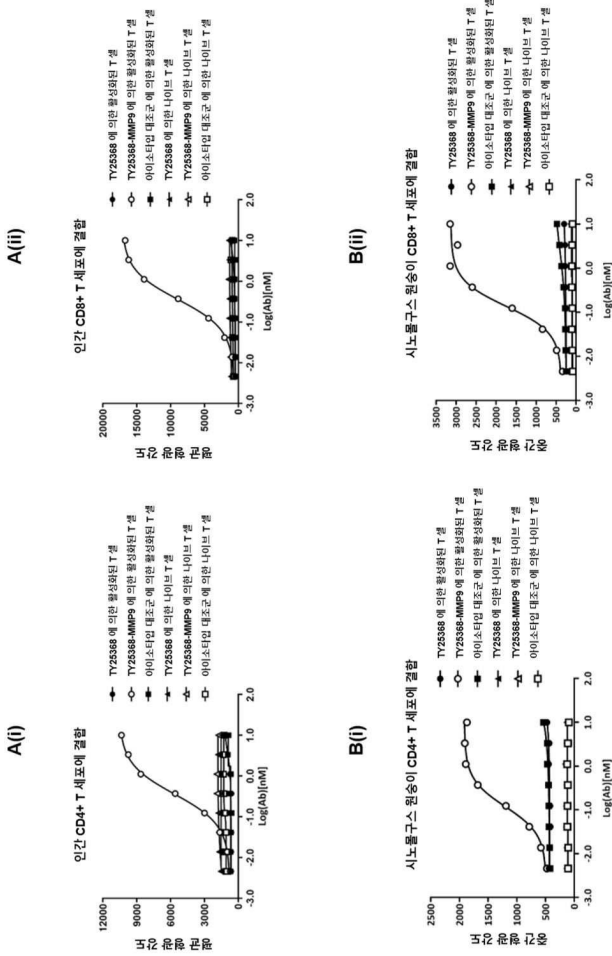
도면3i



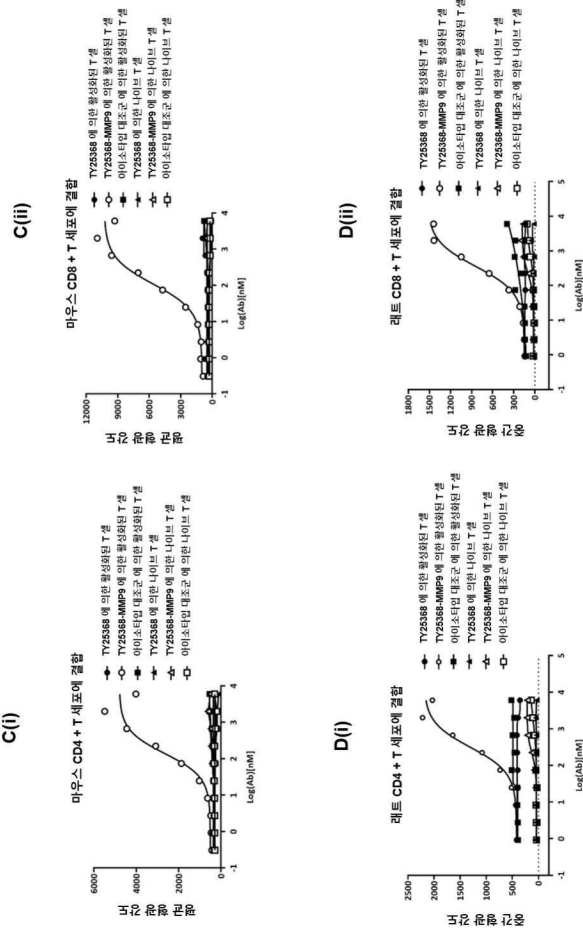
도면3ii



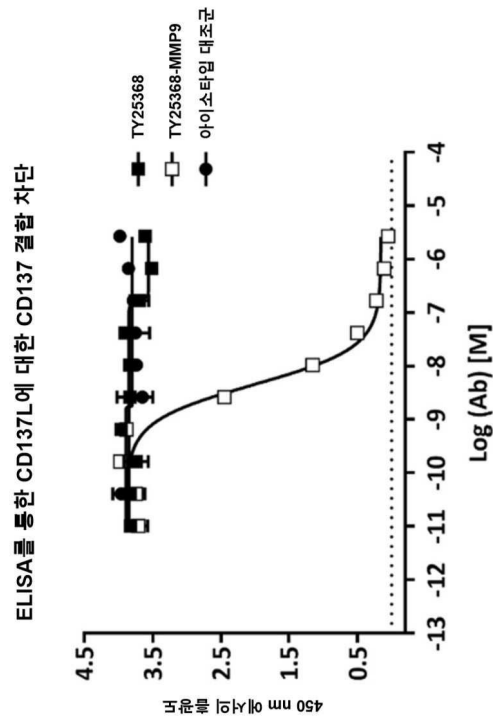
도면4i



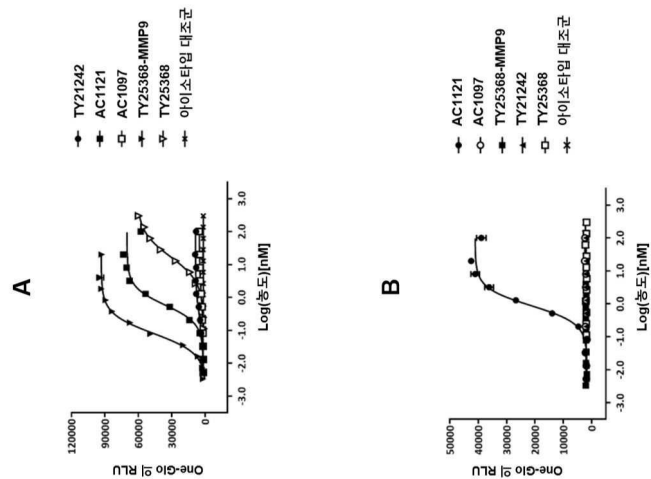
도면4ii



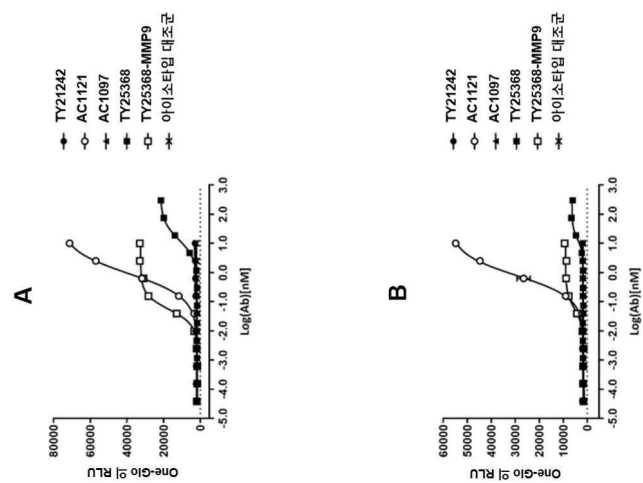
도면5



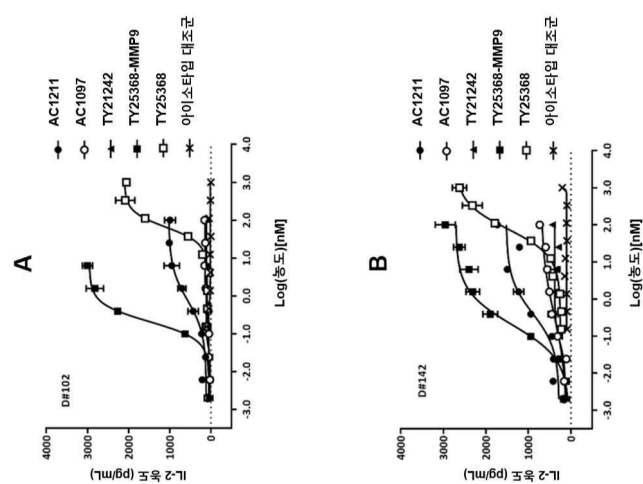
도면6



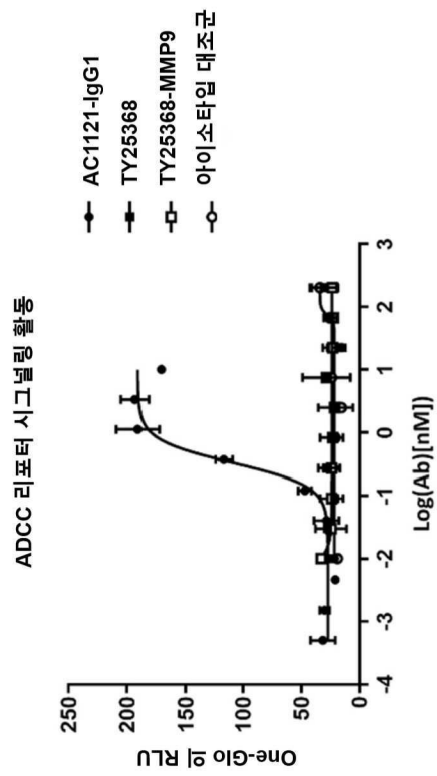
도면7



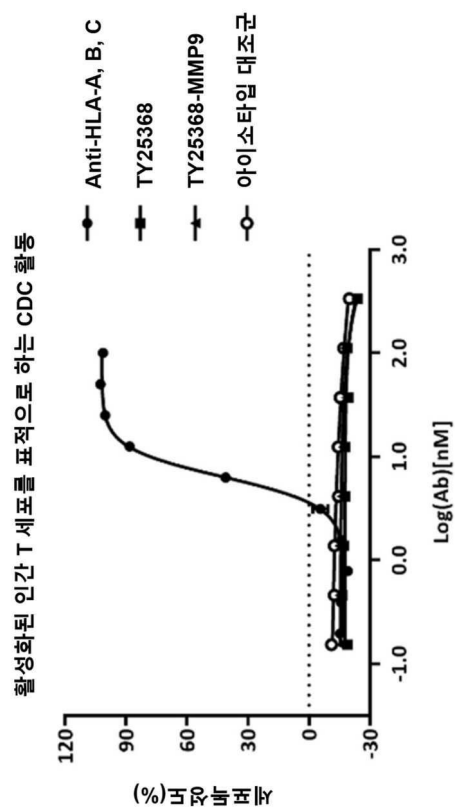
도면8



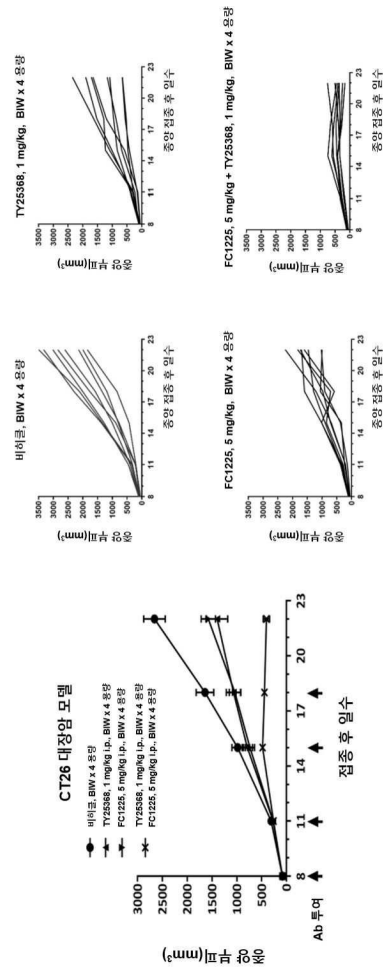
도면9



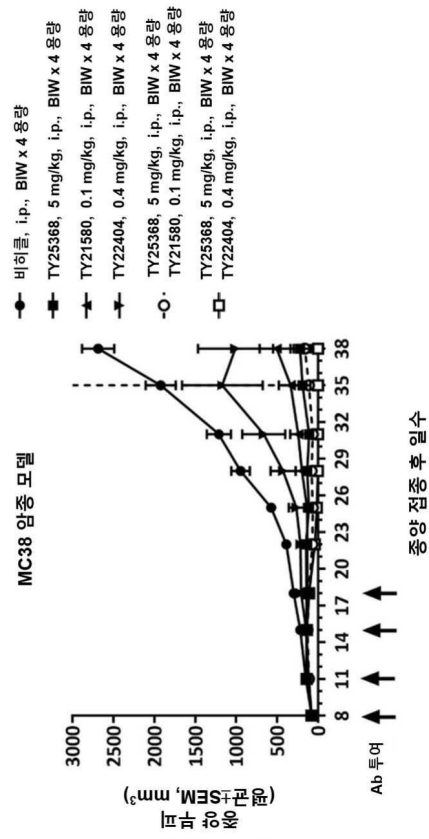
도면10



도면11

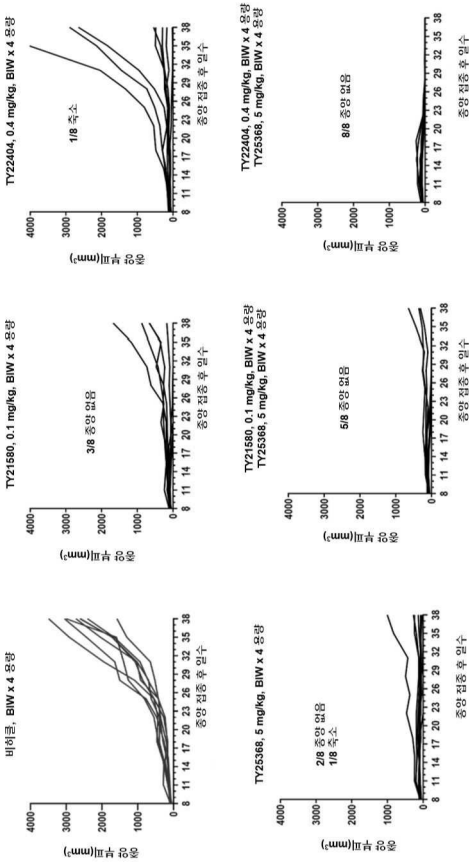


도면12i

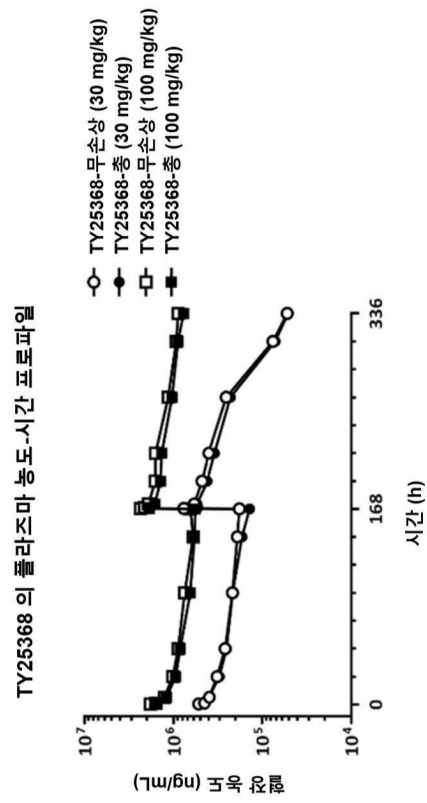


도면12ii

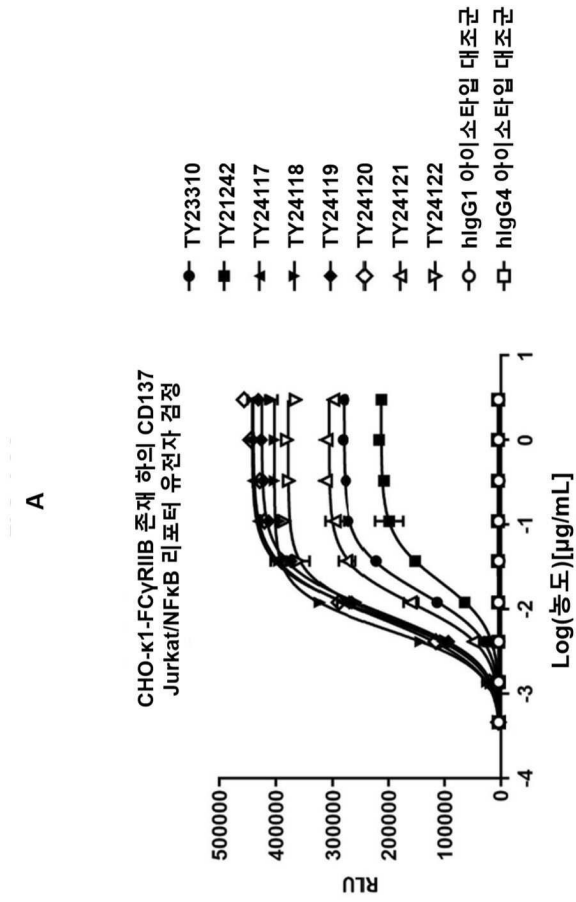
(계속되는)



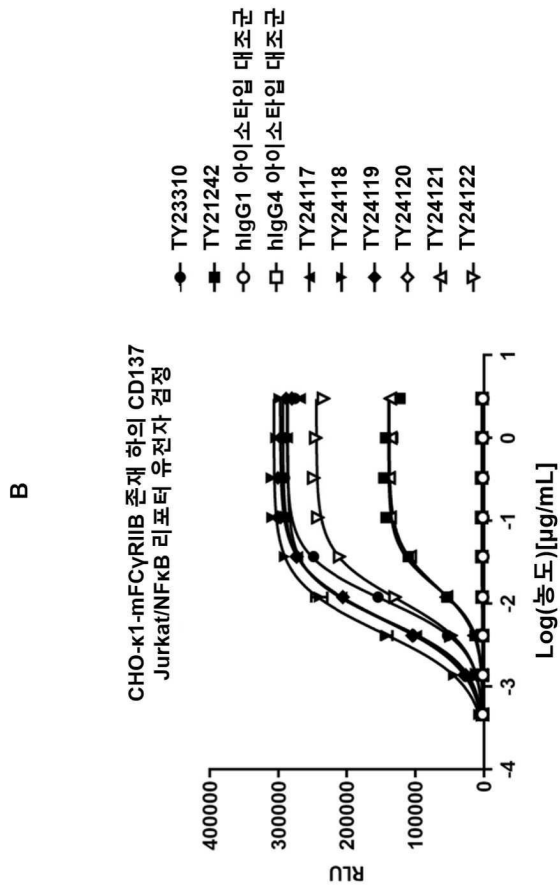
도면13



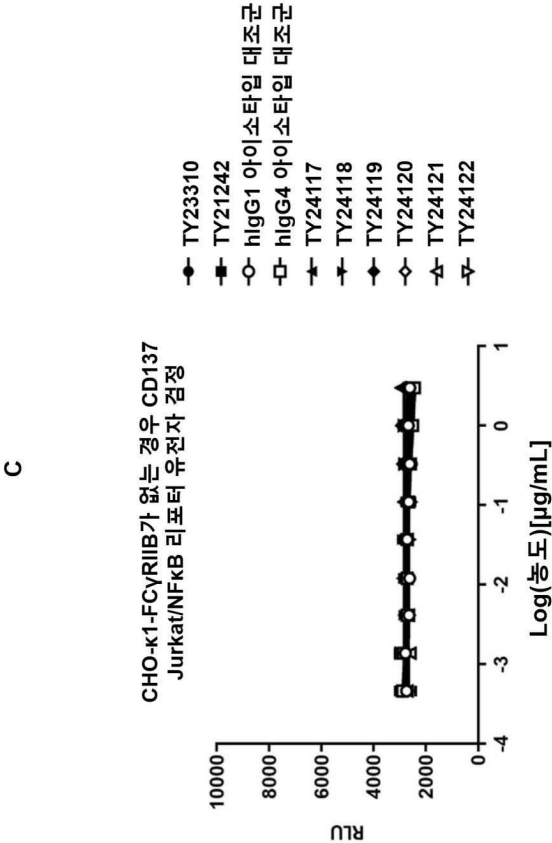
도면14i



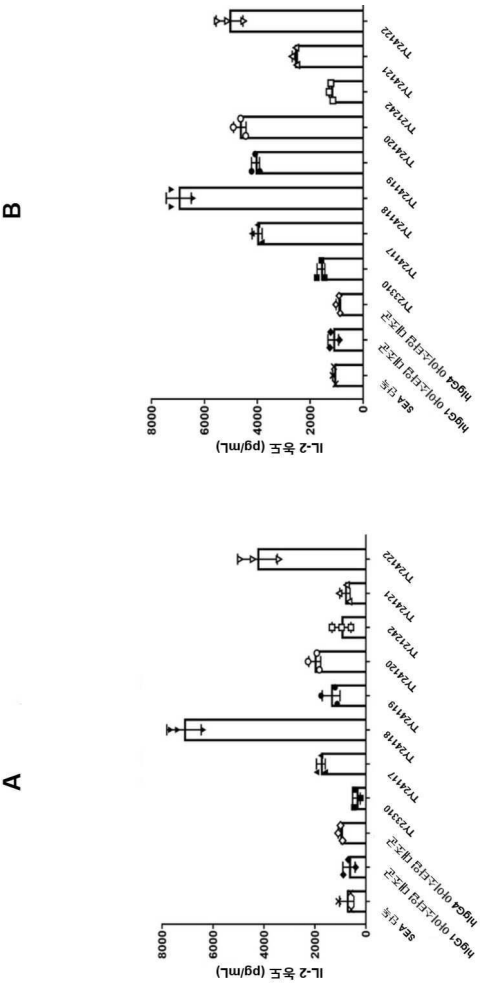
도면14ii



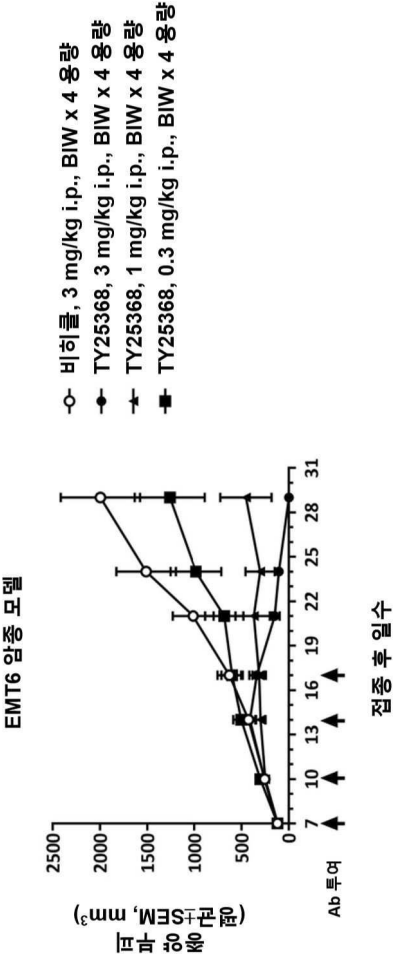
도면14iii



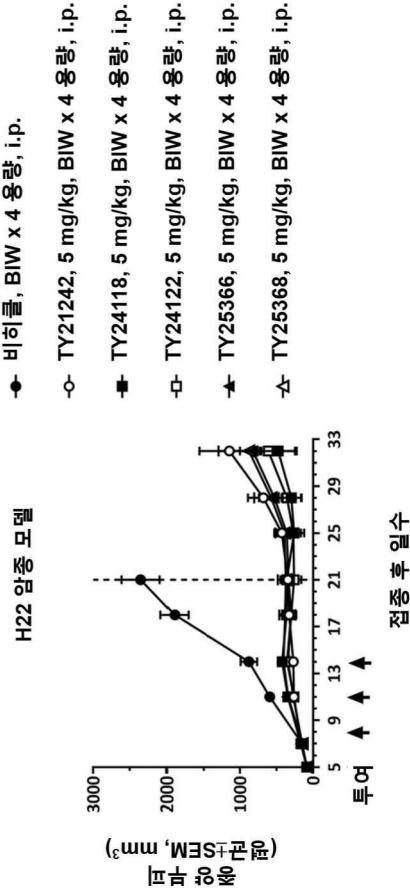
도면15



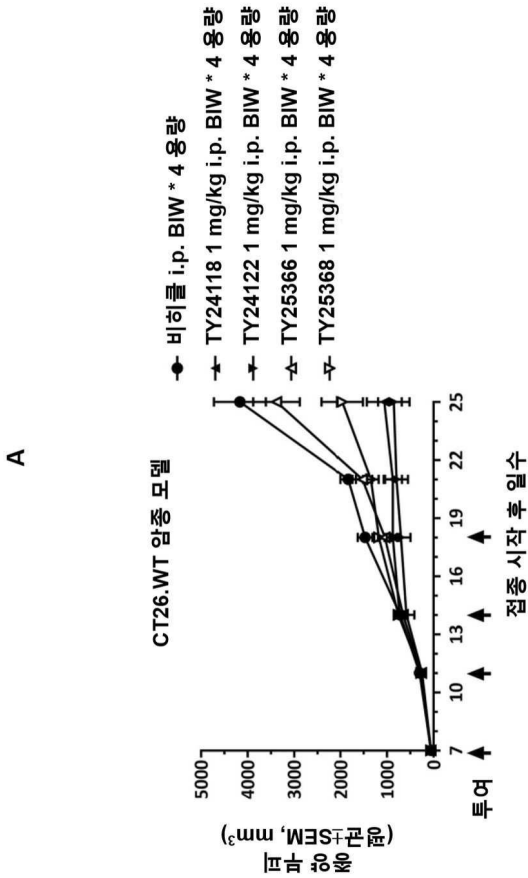
도면16



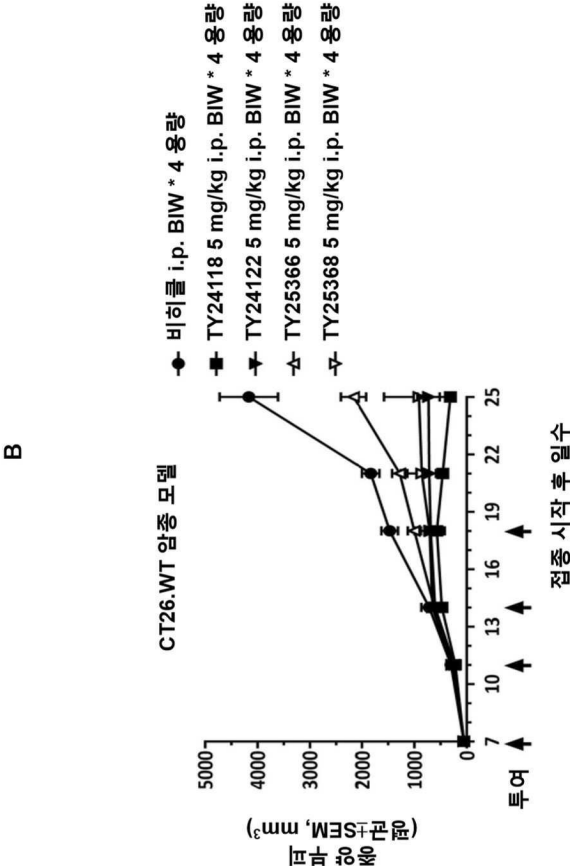
도면17



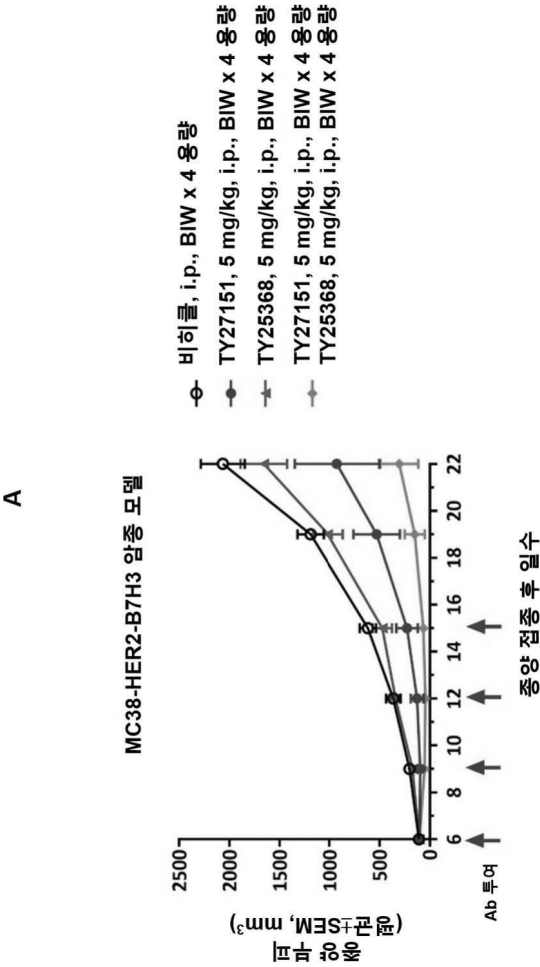
도면18i



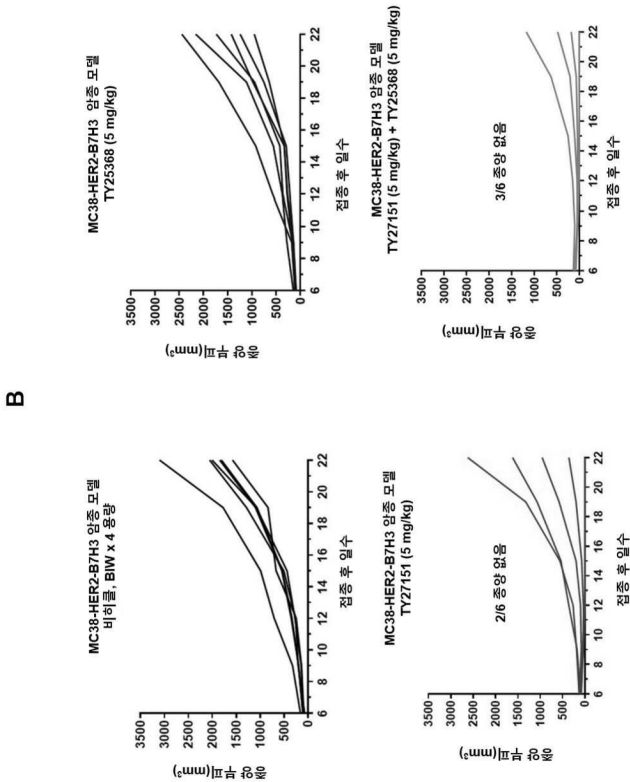
도면18ii



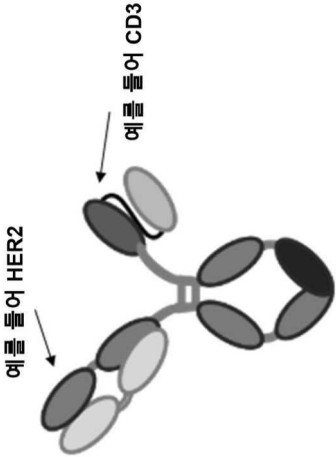
도면19i



도면19i



도면20



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

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