

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0129077

(43) 공개일자 2019년11월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)

A61P 37/06 (2006.01) C07K 14/705 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07K 16/2803 (2013.01)

A61P 37/06 (2018.01)

(21) 출원번호 10-2019-7029759

(22) 출원일자(국제) 2018년03월15일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2019년10월10일

(86) 국제출원번호 PCT/US2018/022675

(87) 국제공개번호 WO 2018/170288

국제공개일자 2018년09월20일

(30) 우선권주장

62/471,509 2017년03월15일 미국(US)

(71) 출원인

팬디온 테라퓨틱스, 인코포레이티드

미국, 메사추세츠 02139, 노스 캠프릿지, 메인 스트리트 700

(72) 발명자

마이니, 조앤 엘.

미국, 메사추세츠 02478, 벨몬트, 커몬 스트리트 30

히긴슨-스콧, 나단

미국, 메사추세츠 02118, 보스턴, 아파트먼트 3, 트레몬트 스트리트 623

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

최덕규

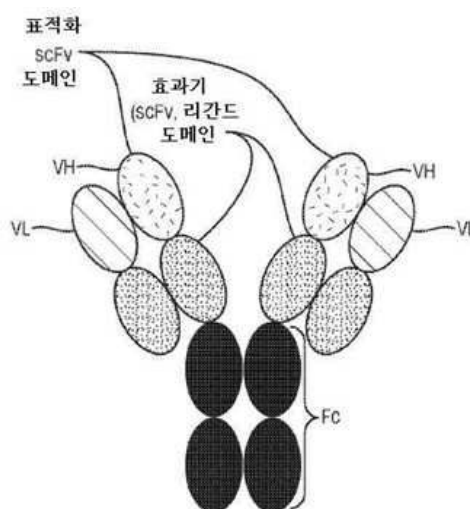
전체 청구항 수 : 총 74 항

(54) 발명의 명칭 표적화된 면역관용

(57) 요약

부위-특이적 또는 국지적 면역 회피를 부여하기 위한 방법 및 화합물.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C07K 14/70521 (2013.01)

C07K 16/2818 (2013.01)

C07K 2317/31 (2013.01)

C07K 2317/52 (2013.01)

C07K 2317/622 (2013.01)

C07K 2317/73 (2013.01)

C07K 2317/75 (2013.01)

C07K 2319/00 (2013.01)

C07K 2319/30 (2013.01)

(72) 발명자

벤슨, 미카

미국, 메사추세츠 02476, 알링턴, 글렌번 로드 27

크레인, 알란

미국, 메사추세츠 02468, 와번, 퀴드닉 로드 25

명세서

청구범위

청구항 1

치료 화합물로서,

i) a) 예를 들어, 공여자 표적에 우선적으로 결합하는 공여자 특이적 표적화 모이어티(donor specific targeting moiety); 또는

b) 예를 들어, 대상체의 표적 조직에 우선적으로 결합하는 조직 특이적 표적화 모이어티;

로부터 선택된 특이적 표적화 모이어티; 및

ii) (a) 면역 세포 저해성 분자 결합/조절 모이어티(ICIM 결합/조절 모이어티);

(b) 면역억제성 면역 세포 결합/조절 모이어티(IIC 결합/조절 모이어티); 또는

(c) 치료 화합물의 부분으로서, 예를 들어, 상기 표적의 근처에 상기 표적의 면역계에 의한 공격을 저해 또는 최소화하는 물질을 제공함으로써, 면역 억제성 국지적 미세환경을 촉진시키는 효과기 결합/조절 모이어티(effector binding/modulating moiety)(SM 결합/조절 모이어티);

로부터 선택된 효과기 결합/조절 모이어티;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 효과기 결합/조절 모이어티는 저해성 수용체에 직접 결합하고, 이를 활성화시키는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 효과기 결합/조절 모이어티는 저해성 면역 관문 분자인 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 효과기 결합/조절 모이어티는 면역 세포에 의해서 발현되는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 면역 세포는 원치 않는 면역 반응에 기여하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 면역 세포는 질환 병리학을 유발하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 효과기 결합/조절 모이어티가 결합하는 분자를 효능작용시키는 상기 치료 분자의 능력은, 상기 치료 화합물이 상기 표적화 모이어티를 통해서 표적에 결합하는 경우, 상기 치료 화합물이 상기 표적화 모이어티를 통해서 표적에 결합하지 않은 경우보다 예를 들어, 2, 5, 10, 100, 500 또는 1,000배 더 큰 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 효과기 결합/조절 모이어티가 결합하는 분자를 효능작용시키는 상기 치료 분자의 능력은, 상기 치료 화합물이 상기 표적화 모이어티를 통해서 표적에 결합하는 경우, 상기 치료 화합물이 상기 표적화 모이어티를 통해서 표적에 결합하지 않은 경우보다 10, 100, 500 또는 1,000배 더 큰 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 치료 화합물의 치료적 유효 용량에서, 상기 효과기 결합/조절 모이어티가 결합하는 분자의 상당한 전신 효능작용이 존재하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 치료 화합물의 치료적 유효 용량에서, 상기 효과기 결합/조절 모이어티가 결합하는 분자의 효능작용은 상기 표적화 모이어티가 결합하는 표적 부위에서만 실질적으로 일어나는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 표적화 모이어티는 항-MAdCAM 항체를 포함하고, 상기 효과기 결합/조절 모이어티는 항-PD-1 항체를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 12

제1항에 있어서, 동족 리간드에 대한 상기 효과기 결합/조절 모이어티의 결합은, 상기 효과기 결합/조절 모이어티의 동족 리간드에 대한 내인성 반대 리간드의 결합을 60, 50, 40, 30, 20, 10 또는 5%만큼 저해하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 13

제1항에 있어서, 동족 리간드에 대한 상기 효과기 결합/조절 모이어티의 결합은, 상기 효과기 결합/조절 분자의 동족 리간드의 길항작용을 실질적으로 초래하지 않는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 14

제1항에 있어서, 상기 효과기 결합/조절 모이어티는 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 효과기 결합/조절 모이어티는 저해성 면역 관문 분자 리간드 분자를 포함하는 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 저해성 면역 분자 반대-리간드 분자는 PD-L1 분자를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 17

제14항에 있어서, 상기 ICIM은 이고, 상기 저해성 면역 분자 반대 리간드 분자는 PD-1, KIR2DL4, LILRB1, LILRB 또는 CTLA-4로부터 선택된 동족 저해성 면역 관문 분자에 결속하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 ICIM은 항체인 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 ICIM은 PD-1, KIR2DL4, LILRB1, LILRB 또는 CTLA-4에 결합하는 항체를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 항체는 PD-1에 결합하는 항체인 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 21

제19항에 있어서, 상기 항체는 PD-1에 결합하는 항체이고, 그리고 PD-1 효능제인 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 22

제19항에 있어서, 상기 항체는 PD-1에 결합하는 항체이고, 그리고 표적 부위에 테더링되는 경우 PD-1 효능제인 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 23

제1항에 있어서, 상기 효과기 결합/조절 모이어티는 세포 표면 저해성 분자에 대한 기능성 항체 분자를 포함하는 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 24

제1항에 있어서, 상기 세포 표면 저해성 분자는 저해성 면역 관문 분자인 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 저해성 면역 관문 분자는 PD-1, KIR2DL4, LILRB1, LILRB2, CTLA-4로부터 선택되거나, 또는 표 1로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 26

제1항에 있어서, 제2 효과기 결합/조절 모이어티를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 제2 효과기 결합/조절 모이어티는 상기 효과기 결합/조절 모이어티와는 상이한 표적에 결합하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 28

제26항 또는 제27항에 있어서, 상기 제2 효과기 결합/조절 모이어티는 IIC 결합/조절 모이어티를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 29

제26항 또는 제27항에 있어서, 상기 제2 효과기 결합/조절 모이어티는 SM 결합/조절 모이어티를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 30

제1항에 있어서, 상기 효과기 결합/조절 모이어티는 IIC 결합/조절 모이어티를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 31

제1항에 있어서, 상기 효과기 결합/조절 모이어티는 상기 표적 부위에서 면역억제성 면역 세포를 증가시키거나, 모집하거나 또는 축적하는 IIC 결합/조절 모이어티를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 32

제1항에 있어서, 상기 효과기 결합/조절 모이어티는 면역억제성 면역 세포 상의 세포 표면 분자에 결합하거나 또는 특이적으로 결합하는 세포 표면 분자 결합기를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 33

제1항에 있어서, 상기 효과기 결합/조절 모이어티는 면역억제성 면역 세포 상의 세포 표면 분자에 결합하거나 또는 특이적으로 결합하는 세포 표면 분자 리간드 분자를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 34

제1항에 있어서, 상기 효과기 결합/조절 모이어티는 면역억제성 면역 세포 상의 세포 표면 분자에 결합하는 항체 분자를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 35

제31항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역억제성 면역 세포는 T 조절 세포, 예컨대, Foxp3+CD25+ T 조절 세포를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 36

제1항에 있어서, 상기 효과기 결합/조절 모이어티는 SM 결합/조절 모이어티를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 37

제36항에 있어서, SM 결합/조절 모이어티는 면역 억제성 국지적 미세환경을 촉진시키는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 38

제36항에 있어서, 상기 SM 결합/조절 모이어티는 CD39 분자를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 39

제36항에 있어서, 상기 SM 결합/조절 모이어티는 CD73 분자를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 40

제36항에 있어서, 상기 SM 결합/조절 모이어티는 항-CD39 분자를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 41

제36항에 있어서, 상기 SM 결합/조절 모이어티는 항-CD73 항체 분자를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 42

제1항에 있어서, 상기 화합물은 N-말단에서부터 C-말단으로 하기 화학식을 갖는 것을 특징으로 하는 치료 화합물:

R1---링커 영역 A-또는 R3-링커 영역 B-

상기 식에서,

R1, R2, R3 및 R4는 각각 독립적으로 효과기 결합/조절 모이어티, 예를 들어, ICIM 결합/조절 모이어티, IIC 결합/조절 모이어티, 또는 SM 결합/조절 모이어티; 특이적 표적화 모이어티를 포함하거나; 또는 이들은 존재하지 않고;

단 효과기 결합/조절 모이어티 및 특이적 표적화 모이어티가 존재함.

청구항 43

제42항에 있어서, 링커 영역 A 및 링커 영역 B의 각각은 Fc 영역을 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 44

제42항에 있어서, R1 및 R2 중 하나는 항-PD-1 항체이고, 그리고 R1 및 R2 중 하나는 항-MAdCAM 항체인 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 45

제42항에 있어서, 하나의 R1은 항-PD-1 항체이고, 그리고 하나의 R2는 항-MAdCAM 항체인 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 46

제42항에 있어서, 하나의 R1은 항-MAdCAM 항체이고, 하나의 R2는 항-PD-1 항체인 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 47

제42항에 있어서, R3 및 R4 중 하나는 항-PD-1 항체이고, 그리고 R3 및 R4 중 하나는 항-MAdCAM 항체인 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 48

제42항에 있어서, 하나의 R3은 항-PD-1 항체이고, 그리고 하나의 R4는 항-MAdCAM 항체인 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 49

제42항에 있어서, 하나의 R3은 항-MAdCAM 항체이고, 하나의 R4는 항-PD-1 항체인 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 50

제44항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커는 존재하지 않는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 51

제44항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커는 Fc 영역인 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 52

제44항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커는 글리신/세린 링커인 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 53

제44항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-1 항체는 PD-1 효능제인 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 54

제44항에 있어서, R1 및 R3은 독립적으로 기능성 항-PD-1 항체 분자(PD-1의 효능제)를 포함하고; 그리고 R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 55

제52항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, R1 및 R3은 독립적으로 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, 항-조직 항원 항체를 포함하고; 그리고 R2 및 R4는 독립적으로 기능성 항-PD-1 항체 분자(PD-1의 효능제)를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 56

제1항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료 화합물은 PD-1 효능제를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 57

제1항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 표적화 모이어티는 MAdCAM에 결합하는 인식 모이어티를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 58

제1항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 표적화 모이어티는 MAdCAM에 결합하거나 또는 특이적으로 결합하는 항체를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 59

제1항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 표적화 모이어티는 MAdCAM에 결합하거나 또는 특이적으로 결합하는 항체를 포함하고, 그리고 상기 효과기 결합/조절 모이어티는 PD-1에 결합하는 항체를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물.

청구항 60

염증성 장 질환을 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 제1항 내지 제59항 중 어느 한 항의 치료 화합물을 상기 대

상체에게 투여하여 상기 염증성 장 질환을 치료하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 방법.

청구항 61

제60항에 있어서, 염증성 장 질환을 갖는 상기 대상체는 크론병(Crohn's disease)을 갖는 것을 특징으로 하는 치료 방법.

청구항 62

제60항에 있어서, 염증성 장 질환을 갖는 상기 대상체는 궤양성 대장염을 갖는 것을 특징으로 하는 치료 방법.

청구항 63

자가-면역 간염을 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 제1항 내지 제59항 중 어느 한 항의 치료 화합물을 상기 대상체에게 투여하여 상기 자가-면역 간염을 치료하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 방법.

청구항 64

원발성 경화 담관염의 치료 방법으로서, 제1항 내지 제59항 중 어느 한 항의 치료 화합물을 상기 대상체에게 투여하여 상기 원발성 경화 담관염을 치료하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 원발성 경화 담관염의 치료 방법.

청구항 65

제1형 당뇨병의 치료 방법으로서, 제1항 내지 제59항 중 어느 한 항의 치료 화합물을 상기 대상체에게 투여하여 상기 제1형 당뇨병을 치료하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 제1형 당뇨병의 치료 방법.

청구항 66

이식 대상체의 치료 방법으로서, 치료적 유효량의 제1항 내지 제59항 중 어느 한 항의 치료 화합물을 상기 대상체에게 투여하여, 이식(수용자) 대상체를 치료하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 이식 대상체의 치료 방법.

청구항 67

이식된 공여자 조직을 갖는 대상체에서 GVHD를 치료하는 방법으로서, 치료적 유효량의 제1항 내지 제59항 중 어느 한 항의 치료 화합물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 GVHD를 치료하는 방법.

청구항 68

자가면역 장애를 갖거나, 이를 가질 위험이 있거나, 이를 가질 위험이 증가된 대상체의 치료 방법으로서, 치료적 유효량의 제1항 내지 제59항 중 어느 한 항의 치료 화합물을 투여하여, 상기 대상체를 치료하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 방법.

청구항 69

제1항 내지 제59항 중 어느 한 항의 치료 화합물을 암호화하는 핵산.

청구항 70

제69항의 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 71

제59항의 핵산 또는 제70항의 벡터를 포함하는 세포.

청구항 72

치료 화합물의 제조 방법으로서, 제71항의 세포를 배양하여 상기 치료 화합물을 제조하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 치료 화합물의 제조 방법.

청구항 73

제1항 내지 제59항 중 어느 한 항의 치료 화합물을 암호화하는 핵산 서열의 제조 방법으로서,

- a) 표적화 모이어티를 암호화하는 서열을 포함하는 벡터를 제공하고, 효과기 결합/조절 모이어티를 암호화하는 벡터 서열에 삽입하여 치료 화합물을 암호화하는 서열을 형성하거나; 또는
- b) 효과기 결합/조절 모이어티를 암호화하는 서열을 포함하는 벡터를 제공하고, 표적화 모이어티를 암호화하는 벡터 서열에 삽입하여 치료 화합물을 암호화하는 서열을 형성하는;

단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 핵산 서열의 제조 방법.

청구항 74

제60항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 자가면역 장애를 갖고, 그리고 상기 치료 화합물은 상기 자가면역 장애의 자가항원성 펩타이드 또는 폴리펩타이드 특징을 포함하지 않고, 예를 들어, 상기 대상체가 자가항체를 갖는 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 포함하지 않는 것을 특징으로 하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 전문이 참고로 포함된 2017년 3월 15일자로 출원된 미국 가출원 제62/471,509호에 대한 우선권을 주장한다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 명세서에 제공된 실시형태는 예를 들어, 국지적 또는 표적화된 면역-회피(targeted immune-privilege)를 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 예를 들어, 이식된 조직의 거부 또는 자가면역 장애에서의 원치 않는 면역 반응의 예는 전세계에 걸쳐서 수 백

만 명의 인간에 대한 주요 건강 문제를 구성한다. 기관 이식에 대한 장기간 결과는 빈번하게는 만성 거부 및 이식된 기관의 궁극적인 실패를 특징으로 한다. 신체의 본질적으로 모든 기관에 영향을 미치는 20종 초과와 자가면역 장애가 공지되어 있고, 북아메리카에서만 5천만명 초과와 인간에게 영향을 미친다. 두 시나리오 모두에서 병원성 면역 반응을 방지하는 데 사용되는 광범위한 활성 면역억제성 의약품은 심각한 부작용을 갖는다.

발명의 내용

- [0006] 본 명세서에는 부위-특이적 면역 회피를 제공하는 방법 및 치료 화합물이 개시된다. 본 명세서에 개시된 실시형태는 이 부분에 참고로 포함된다.
- [0007] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 하기 1) 및 2)를 포함하는 조작된 다중특이적 화합물, 예를 들어, 조작된 이중특이적 분자, 예를 들어, 조작된 이중특이적 항체 분자를 포함한다:
- [0008] 1) a) 예를 들어, 공여자 표적에 우선적으로(수용자 항원에 대한 결합과 비교할 때 우선적으로) 결합하고, 공여자로부터의 이식 조직, 예를 들어, 기관에 부위-특이적 면역 회피를 제공하기에 유용한 공여자 특이적 표적화 모이어티; 또는
- [0009] b) 예를 들어, 대상체 표적 조직에 우선적으로(대상체 비표적 조직과 비교할 때 우선적으로) 결합하고, (예를 들어, 자가면역 장애에서) 원치 않는 면역 공격을 겪는 대상체 조직에 부위-특이적 면역 회피를 제공하기에 유용한 조직 특이적 표적화 모이어티;
- [0010]로부터 선택된 특이적 표적화 모이어티; 및
- [0011] 2) (a) 면역세포 저해성 분자 결합/조절 모이어티(본 명세서에서 ICIM 결합/조절 모이어티라고 지칭함);
- [0012] (b) 면역억제성 면역 세포 결합/조절 모이어티(본 명세서에서 IIC 결합/조절 모이어티라고 지칭함); 또는
- [0013] (c) 치료 화합물의 부분으로서, 예를 들어, 상기 표적의 근처에 상기 표적의 상기 면역계에 의한 공격을 저해 또는 최소화하는 물질을 제공함으로써, 면역 억제성 국지적 미세환경을 촉진시키는 효과기 결합/조절 모이어티(effector binding/modulating moiety)(본 명세서에서 SM 결합/조절 모이어티라고 지칭함);
- [0014]로부터 선택된 효과기 결합/조절 모이어티.
- [0015] 효과기 결합/조절 모이어티는 부류 a, b 및 c 중 하나 초과에 포함될 수 있다. 예를 들어, 하기에 제시된 바와 같이, CTLA4 결합 분자는 카테고리 a 및 b 둘 모두에 포함된다.
- [0016] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, ICIM 결합/조절 분자는 저해성 분자, 예를 들어, 저해성 면역 관문 분자에 결합하고, 이를 효능작용시키거나, 또는 면역 세포, 예를 들어, 세포독성 T 세포, B 세포, NK 세포, 또는 골수 세포, 예를 들어, 호중구 또는 대식세포의 활성도를 달리 저해하거나 감소시킨다.
- [0017] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 하기 1) 및 2)를 포함하는 조작된 다중특이적 화합물, 예를 들어, 조작된 이중특이적 분자, 예를 들어, 조작된 이중특이적 항체 분자를 포함한다:
- [0018] 1) 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, 공여자 특이적 표적화 모이어티(이것은 공여자 표적에 결합하고, 공여자로부터의 이식 조직, 예를 들어, 기관에 부위-특이적 면역 회피를 제공하기에 유용함) 또는 조직 특이적 표적화 모이어티(이것은 대상체 조직 표적에 결합하고, 예를 들어, 자가면역 장애에서) 원치 않는 면역 공격을 겪는 대상체 조직에 부위-특이적 면역 회피를 제공하기에 유용함); 및
- [0019] 2) 면역 세포 상의 효과기 분자, 예를 들어, 저해성 수용체, 예를 들어, PD-1에 결합하는 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함하는 효과기 결합/조절 모이어티(여기서, 표적에 대한 특이적 표적화 모이어티의 결합 및 면역 세포 상의 효과기 분자에 대한 ICIM 결합/조절 모이어티의 결합 시, 면역 세포 활성화도, 예를 들어, 면역 공격을 시작하는 면역 세포의 능력은 예를 들어, 면역 세포 상의 효과기 분자의 클러스터링에 의존적인 저해성 신호를 통해서, 하향 조절됨). 일부 실시형태에서, 조작된 다중특이적 화합물은 그것이 2종 초과, 예컨대, 비제한적으로 3 또는 4종의 특이적 분자에 결합하도록 추가적인 결합 모이어티를 포함한다.
- [0020] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함하고, 하기 특성 중 하나 또는 둘 모두를 갖는다: (a) 면역 세포의 하향 조절의 수준은, 치료 화합물이 이의 표적에 결합하지 않은 경우보다, 치료 화합물이 이의 표적에 결합하는 경우 더 큼; 및 (b) 치료 화합물은, 면역 세포 상의 세포 표면 저해성 수용체, 예를 들어, PD-1과 결합되는 경우, 내인성 리간드에 결합하는 세포 표면 저해성 수용체의 능력을 저해하지 않거나 또

는 실질적으로 저해하지 않음.

- [0021] 일부 실시형태에서, 면역 세포의 하향 조절의 수준은, 치료 화합물이 이의 표적에 결합하지 않은 경우보다, 치료 화합물이 이의 표적에 결합하는 경우 더 크다. 실시형태에서, 표적 결합된 치료 화합물에 의한 하향 조절의 수준은 표적에 결합하지 않은 경우에 인지되는 것과 동일하거나 또는 그보다 1.5배, 2배, 4배, 8배 또는 10배 더 크다. 실시형태에서, 치료 화합물은, 그것이 표적에 결합되지 않은 경우 면역 세포를 하향 조절하지 않거나, 상당히 하향 조절하지 않는다. 따라서, 저해성 수용체, 예를 들어, PD-1의 무분별한 또는 원치 않는 효능작용이 최소화되거나 제거된다. 예를 들어, 치료 화합물이 표적화된 모이어티에 결합하지 않고, 면역 세포에 결합하는 경우, 치료 화합물에 의한 저해성 면역 관문 분자의 결속은 하향 조절을 초래하지 않거나 또는 실질적인 하향 조절을 초래하지 않고, 예를 들어, 치료 화합물이 결합되는 면역 세포 상의 저해성 수용체는 면역 세포의 하향 조절 또는 실질적인 저해를 제공하기에 충분한 저해성 신호를 초래하기에 충분하게 클러스터링되지 않거나 또는 클러스터링되지 않는다.
- [0022] 실시형태에서, 치료 화합물은, 면역 세포 상의 세포 표면 저해성 수용체, 예를 들어, PD-1와 결속되는 경우, 내인성 리간드에 결합하는 세포 표면 저해성 수용체의 능력을 저해하지 않거나 또는 실질적으로 저해하지 않는다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 PD-1 상의 PD-L1/2 결합 부위에 결합할 수 있다. 따라서, 저해성 수용체, 예를 들어, PD-1의 무분별한 또는 원치 않는 길항작용이 최소화되거나 제거된다. 실시형태에서, 면역 세포 상의 저해성 수용체, 예를 들어, PD-1에 대한 치료 화합물의 결합은 자연 리간드, 예를 들어, PD-L1에 결합하는 저해성 수용체의 능력을 방해하지 않거나 또는 실질적으로 방해하지 않는다. 실시형태에서, 면역 상의 저해성 수용체, 예를 들어, PD-1에 대한 치료 화합물의 결합은 치료 화합물의 부재 하에서 인지되는 것의 50, 40, 30, 20, 10 또는 5%보다 더 낮게, 자연 리간드, 예를 들어, PD-L1의 결합을 감소시킨다.
- [0023] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함하고, 대상체에게 치료적 유효 용량으로 투여되는 경우, 모든 면역 세포 유형, 예를 들어 모든 T 세포에서 저해성 수용체의 무분별한 효능작용이 발생하는 경우에 가능할 바와 같은, 전신 면역 억제체의 허용 가능하지 않은 수준을 초래하지 않거나, 치료 화합물이 저해성 수용체와 이의 자연 리간드의 상호작용을 길항작용시키는 경우 가능할 바와 같은, 전신 면역 활성화의 허용 가능하지 않은 수준을 초래하지 않을 것이다.
- [0024] 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, 대상체에게 투여 시, ICIM 결합/조절 모이어티를 포함하는 치료 화합물은 하기 4가지 상태 중 임의의 하나로 존재할 수 있다고 여겨진다: i) 결합되지 않고, 유리 용액으로 존재함; ii) ICIM 결합/조절 모이어티를 통해서 면역 세포, 예를 들어, T 세포의 표면 상에서 발현되는 저해성 수용체에만 결합됨; iii) 표적화 모이어티를 통해서 표적 이식편의 표면 또는 대상체 조직에만 결합됨; 및 iv) 표적화 모이어티를 통해서 표적 이식편의 표면 또는 대상체 조직, 및 ICIM 결합/조절 모이어티를 통해서 면역 세포, 예를 들어, T 세포에 의해서 발현되는 저해성 수용체 둘 모두에 결합됨. 치료 화합물이 표적화 모이어티를 통해서 표적 이식편 또는 대상체 조직에만 결합되는 경우(iii), 그것은 표적 이식편 또는 조직에 효과를 갖지 않거나 또는 실질적으로 갖지 않는다. 치료 화합물이 표적화 모이어티를 통해서 표적 이식편 또는 조직에 결합되고, ICIM 결합/조절 모이어티를 통해서 면역 세포, 예를 들어, T 세포에 의해서 발현되는 저해성 수용체에 결합되는 경우(iv), 그것은 표적 기관 또는 조직에서 면역 회피를 생성한다. 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, 이것은 표적 이식편 또는 공여자 조직에 의해서 예를 들어, 고밀도 및 결합가로 복수의 치료 화합물 분자를 고정시킴으로써, 표면 상에 치료 화합물을 다량체화시킴으로써 달성되는 것으로 여겨진다. 치료 화합물 분자의 다량체화는 치료 화합물의 ICIM 결합/조절 모이어티가 면역 세포, 예를 들어, 병원성 T 세포의 표면 상에서 발현되는 저해성 수용체의 클러스터링, 및 면역 세포를 침묵시키거나 하향 조절하는 기능을 하는 저해성 신호의 전달을 촉진시키는 것을 가능하게 한다. 예를 들어, T 세포의 경우에, PD-L1 분자, 또는 항-PD-1 Ab를 포함하는 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함하는 치료 화합물이 사용될 수 있다. 표적에 대한 복수의 치료 화합물 분자의 결합은 치료 화합물 분자의 다량체화를 초래하는데, 이것은 결국 PD-L1 분자, 또는 기능성 항-PD-1 항체 분자로 인해서, T 세포 상의 PD-1의 클러스터링으로 이어진다. T 세포 상의 T 세포 수용체에 대한, 표적 MHC에 의한 항원 제시와 관련하여 클러스터링이 일어나는 경우, 음성 신호가 생성되고, T 세포가 불활성화될 것이다. 실시형태에서 ICIM 결합/조절 모이어티, 예를 들어, 기능성 항체 분자는 효과기 분자에 결합하지만, 효과기 분자와 이의 네이티브 리간드(들)의 상호작용을 저해하지 않거나 또는 실질적으로 저해하지 않는다.
- [0025] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 면역 억제성 면역 세포, 예를 들어, Treg, 예를 들어, Foxp3+CD25+ Treg에 결합하고, 이를 표적 조직의 근접부로 모집하는 IIC 결합/조절 모이어티를 포함한다.
- [0026] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 물질, 예를 들어, 면역 반응을 조절하는 가용성 분자, 예를 들어, ATP 또는

AMP를 조절하는, 예를 들어, 이에 결합하여 이를 저해하거나, 격리시키거나, 분해시키거나 또는 달리 중화시키는 SM 결합/조절 모이어티를 포함한다.

- [0027] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 면역 세포 상의 표적에 특이적인 표적화 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 표적은 본 명세서에 기술된 바와 같다. 일부 실시형태에서, 표적은 MAdCAM이다. 일부 실시형태에서, 표적화 모이어티는 MAdCAM에 결합하는 항체이다.
- [0028] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 공여자 특이적 표적화 모이어티를 포함하고, 대상체에 이식된 공여자 이식 조직에 부위-특이적 면역 회피를 제공한다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 조직 특이적 표적화 모이어티를 포함하고, 대상체의 조직, 예를 들어, 자가면역 장애에서 원치 않는 면역 반응을 겪는 조직에 부위-특이적 면역 회피를 제공한다.
- [0029] 표적화 모이어티는 면역계로부터 보호될 공여자 이식편 또는 대상체 조직에 특이적이다. 일부 실시형태에서, 효과기 분자 결합 모이어티는 새로 생성된 결합 도메인, 예를 들어, 기능성 항체 분자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 효과기 결합/조절 모이어티는 면역 세포, 예를 들어, T 세포의 표면 상에서 발현되는 저해성 수용체를 인식하는 자연 리간드로부터 유래한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0030] 일부 실시형태에서, 치료 화합물을 보호될 이식편 또는 공여자 조직에 인접한 면역 세포, 예를 들어, T 세포를 침묵시키지만, 표적에 인접하지 않은 면역 세포, 예를 들어, T 세포를 침묵시키지 않는데, 그 이유는 치료 화합물이 기능을 위해서 표적 이식편 또는 공여자 조직의 존재를 요구하기 때문이다. 이는, 치료 화합물이 면역 세포, 예를 들어, T 세포에 의해서 발현되는 저해성 수용체에만 결합하는 경우와 대조적이며, 이 경우 기능성 결과가 존재하지 않는다.
- [0031] 본 명세서에 기술된 방법 및 치료 화합물은 부위-특이적 면역-회피를 제공하는 것을 적어도 부분적으로 기반으로 한다. 본 명세서에 기술된 치료 화합물 및 이의 사용 방법은, 예를 들어, 면역 반응의 반전 및 억제가 바람직한 임상 설정에서, 예컨대, 자가면역 질환 또는 조직, 예를 들어, 기관, 이식편에서 면역-억제 치료제의 부위 특이적 전신 투여의 최소화, 예를 들어, 감소 또는 제거를 가능하게 한다. 비정상적인 면역계에 의해서 유도된 근본적인 병태생리학이 영향을 받는 경우 임상적으로 유의미한 반응이 가능할 수 있지만, 광범위하게 작용하는 면역억제제는 환자의 전신 면역계 기능을 감소시키는 바람직하지 않는 효과를 갖는다. 정상적으로 기능하는 면역계의 역할이 주변 환경에 존재하는 병원성 및 기회 감염성 유기체의 지속적인 공격과 싸우고, 건강한 개체의 암성 세포를 지속적으로 제거하는 것이기 때문에, 만성 면역억제를 겪는 환자는 감염 및 암이 발생할 위험이 증가된다. 본 명세서에 기술된 방법 및 치료 화합물은 다른 곳의 정상 전신 면역계 기능을 최소한으로 저해하면서, 병리학의 부위에서 병원성 면역 반응만을 선택적으로 표적화하고 약화시키거나, 감소시키거나, 제거하는 요법을 제공한다.
- [0032] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 바와 같은 치료 화합물이 제공된다. 일부 실시형태에서, 화합물은, i) 하기: a) 예를 들어, 공여자 표적에 우선적으로 결합하는 공여자 특이적 표적화 모이어티; 또는 b) 예를 들어, 대상체의 표적 조직에 우선적으로 결합하는 조직 특이적 표적화 모이어티로부터 선택된 특이적 표적화 모이어티; 및 ii) 하기: (a) 면역 세포 저해성 분자 결합/조절 모이어티(ICIM 결합/조절 모이어티); (b) 면역억제성 면역 세포 결합/조절 모이어티(IIC 결합/조절 모이어티); 또는 (c) 치료 화합물의 부분으로서, 예를 들어, 상기 표적의 근처에 상기 표적의 상기 면역계에 의한 공격을 저해 또는 최소화하는 물질을 제공함으로써, 면역억제성 국지적 미세환경을 촉진시키는 효과기 결합/조절 모이어티(SM 결합/조절 모이어티)로부터 선택된 효과기 결합/조절 모이어티를 포함한다.
- [0033] 일부 실시형태에서, 효과기 결합/조절 모이어티는 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 효과기 결합/조절 모이어티는 저해성 면역 관문 분자 리간드 분자를 포함하는 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 저해성 면역 분자 반대-리간드 분자는 PD-L1 분자를 포함한다. 일부 실시형태에서, ICIM은 이고, 저해성 면역 분자 반대 리간드 분자는 PD-1, KIR2DL4, LILRB1, LILRB 또는 CTLA-4로부터 선택된 동족 저해성 면역 관문 분자에 결속한다. 일부 실시형태에서, ICIM은 항체이다. 일부 실시형태에서, ICIM은 PD-1, KIR2DL4, LILRB1, LILRB 또는 CTLA-4에 결합하는 항체를 포함한다. 일부 실시형태에서, ICIM 결합/조절 모이어티는 세포 표면 저해성 분자에 대한 기능성 항체 분자를 포함한다.
- [0034] 일부 실시형태에서, 세포 표면 저해성 분자는 저해성 면역 관문 분자이다. 일부 실시형태에서, 저해성 면역 관문 분자는 PD-1, KIR2DL4, LILRB1, LILRB2, CTLA-4로부터 선택되거나, 또는 표 1로부터 선택된다.
- [0035] 일부 실시형태에서, 효과기 결합/조절 모이어티는 IIC 결합/조절 모이어티를 포함한다.

- [0036] 일부 실시형태에서, 화합물은 N-말단에서부터 C-말단으로 하기 화학식을 갖는다:
- [0037] R1---링커 영역 A-또는 R3-링커 영역 B-
- [0038] 식 중, R1, R2, R3 및 R4는 각각 독립적으로 효과기 결합/조절 모이어티, 예를 들어, ICIM 결합/조절 모이어티, IIC 결합/조절 모이어티, 또는 SM 결합/조절 모이어티; 특이적 표적화 모이어티를 포함하거나; 또는 이들은 존재하지 않되; 단 효과기 결합/조절 모이어티 및 특이적 표적화 모이어티는 존재한다.
- [0039] 일부 실시형태에서, 자가-면역 질환 또는 병태의 치료 방법이 본 명세서에 제공되며, 이 방법은 본 명세서에 제공된 치료 화합물 중 1종 이상을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0040] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기술된 질환 또는 병태의 치료 방법이 본 명세서에 제공되며, 이 방법은 본 명세서에 제공된 치료 화합물 중 1종 이상을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0041] 일부 실시형태에서, 염증성 장 질환을 갖는 대상체의 치료 방법이 제공되며, 이 방법은 본 명세서에 제공된 치료 화합물을 대상체에게 투여하여 염증성 장 질환을 치료하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 대상체는 크론병 및/또는 궤양성 대장염을 갖는다.
- [0042] 일부 실시형태에서, 자가-면역 간염을 갖는 대상체의 치료 방법이 제공되며, 이 방법은 본 명세서에 제공된 바와 같은 치료 화합물을 대상체에게 투여하여 자가-면역 간염을 치료하는 단계를 포함한다.
- [0043] 일부 실시형태에서, 원발성 경화 담관염의 치료 방법이 제공되며, 이 방법은 본 명세서에 제공된 바와 같은 치료 화합물을 대상체에게 투여하여 원발성 경화 담관염을 치료하는 단계를 포함한다.
- [0044] 일부 실시형태에서, 제1형 당뇨병의 치료 방법이 제공되며, 이 방법은 본 명세서에 제공된 바와 같은 치료 화합물을 대상체에게 투여하여 제1형 당뇨병을 치료하는 단계를 포함한다.
- [0045] 일부 실시형태에서, 이식 대상체의 치료 방법이 제공되며, 이 방법은 치료적 유효량의 본 명세서에 제공된 바와 같은 치료 화합물을 대상체에게 투여하여, 이식(수용자) 대상체를 치료하는 단계를 포함한다.
- [0046] 일부 실시형태에서, 이식된 공여자 조직을 갖는 대상체에서 GVHD를 치료하는 방법이 제공되며, 이 방법은 치료적 유효량의 본 명세서에 제공된 바와 같은 치료 화합물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0047] 일부 실시형태에서, 자가면역 장애를 갖거나, 이를 가질 위험이 있거나, 이를 가질 위험이 증가된 대상체의 치료 방법이 제공되며, 이 방법은 치료적 유효량의 본 명세서에 제공된 바와 같은 치료 화합물을 투여하여, 대상체를 치료하는 단계를 포함한다.

도면의 간단한 설명

- [0048] 도 1은 표적화 scFv 도메인 및 scFv 또는 내인성 리간드에 상응하는 서열 중 어느 하나로 이루어진 효과기 도메인을 함유하는 탠덤 scFv-Fc 포맷(150kDa)의 이중특이적 치료 화합물의 도면.
- 도 2는 본 명세서에 개시된 치료 화합물에 결합된 T 세포의 도면. 상태 1에서, 이중특이체의 효과기 도메인은 T 세포의 저해성 수용체에 결합하지만, 전신 순환에서, 수용체의 효능작용 또는 길항작용 중 어느 것도 일어나지 않는다. 상태 2에서, 이중특이체의 표적화 도메인은 표적 기관에 결합하여, 표적 기관 표면 상에서의 이중특이체 다량체화로 이어진다. 표적 기관의 T 세포 인식 동안, 다량체화된 효과기 도메인은 T 세포 저해성 분자를 통해서 결합하고, 클러스터링되고, 신호를 전달한다.
- 도 1은 본 명세서에 제공된 치료 화합물의 비제한적인 실시형태를 도시한 도면.
- 도 2는 본 명세서에 제공된 치료 화합물이 기능할 수 있는 방법의 비제한적인 도면.
- 도 3은 본 명세서에 제공된 치료 화합물의 비제한적인 도면.
- 도 3A는 본 명세서에 제공된 치료 화합물의 비제한적인 도면.
- 도 4는 본 명세서에 제공된 치료 화합물의 비제한적인 도면.
- 도 5는 본 명세서에 제공된 치료 화합물의 비제한적인 도면.
- 도 6은 본 명세서에 제공된 치료 화합물의 비제한적인 도면.
- 도 7은 본 명세서에 제공된 치료 화합물의 비제한적인 도면.

도 8은 본 명세서에 제공된 치료 화합물의 비제한적인 도면.
 도 9는 본 명세서에 제공된 치료 화합물의 비제한적인 도면.
 도 10은 본 명세서에 제공된 치료 화합물의 비제한적인 도면.
 도 11은 본 명세서에 제공된 치료 화합물의 비제한적인 도면.
 도 12는 본 명세서에 제공된 치료 화합물의 비제한적인 도면.
 도 13은 본 명세서에 제공된 치료 화합물의 비제한적인 도면.
 도 14는 본 명세서에 제공된 치료 화합물의 비제한적인 도면.
 도 15는 본 명세서에 제공된 치료 화합물의 비제한적인 도면.
 도 16은 본 명세서에 제공된 치료 화합물의 비제한적인 도면.
 도 17은 본 명세서에 제공된 치료 화합물의 비제한적인 도면.
 도 18은 본 명세서에 제공된 치료 화합물의 비제한적인 도면.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0049] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 그리고 달리 제시되지 않는 한, 용어 "약"은 그것이 수식하는 값의 $\pm 5\%$ 를 의미하도록 의도된다. 따라서, 약 100은 95 내지 105를 의미한다.
- [0050] 본 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용되는 바와 같이, 단수 형태는 그 문맥이 달리 명백하게 지칭하지 않는 한 복수의 대상을 포함한다.
- [0051] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "약"은 그 수치 값이 근사치이며, 약간의 변형은 개시된 실시형태의 실시예 유의하게 영향을 주지 않을 것이라는 것을 의미한다. 수치 한계치가 사용되는 경우, 문맥에 의해서 달리 제시되지 않는 한, "약"은 그 수치 값이 $\pm 10\%$ 만큼 달라질 수 있고, 개시된 실시형태의 범주 내에 포함되는 것을 의미한다.
- [0052] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "동물"은 인간 및 비인간 척추동물, 예컨대, 야생 동물, 가축 및 농장 동물을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.
- [0053] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "접촉시키는"은 시험관내 시스템 또는 생체내 시스템에서 2개의 요소를 접촉하게 하는 것을 의미한다. 예를 들어, 치료 화합물을 개체 또는 환자 또는 세포와 "접촉시키는" 것은 개체 또는 환자, 예컨대, 인간에게 화합물을 투여하는 것뿐만 아니라 화합물을, 표적을 함유하는 세포 또는 정제된 제제를 함유하는 샘플에 도입하는 것을 포함한다.
- [0054] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "포함하는"(및 포함하는의 임의의 형태, 예컨대, "포함한다", "포함하다", 및 "포함하였다"), "갖는"(및 갖는의 임의의 형태, 예컨대, "갖는다" 및 "가지다"), "포함하는"(및 포함하는의 임의의 형태, 예컨대, "포함한다" 및 "포함하다"), 또는 "함유하는"(및 함유하는의 임의의 형태, 예컨대, "함유한다" 및 "함유하다")는 포괄적 또는 개방형이고, 추가적인 제시되지 않은 요소 또는 방법 단계를 제외하지 않는다. 용어 "포함하는"을 언급하는 임의의 조성물 또는 방법은 또한 이러한 조성물을 언급된 성분 또는 요소로 구성되거나, 이들로 이루어지거나, 이들로 본질적으로 이루어지는 것으로 기술하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0055] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 상호 교환 가능하게 사용되는 용어 "개체", "대상체", 또는 "환자"는 포유동물, 예컨대, 마우스, 래트, 기타 설치류, 토끼, 개, 고양이, 돼지, 소, 양, 말 또는 영장류, 예컨대, 인간을 비롯한 임의의 동물을 의미한다.
- [0056] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "저해한다"는 결과, 증상 또는 활성도를 저해하는 화합물의 부재 하에서의 활성도 또는 결과와 비교할 때, 결과, 증상 또는 활성도가 감소되는 것을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 결과, 증상, 또는 활성도는 약, 또는, 적어도, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99%만큼 저해된다. 결과, 증상, 또는 활성도는 또한, 그것이 완전히 제거되거나 또는 소멸되는 경우에도 저해될 수 있다.
- [0057] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "이를 필요로 하는"의 표현은 대상체가 특정 방법 또는 치료에 대한 필요성

을 갖는 것으로서 식별되었다는 것을 의미한다. 일부 실시형태에서, 식별은 임의의 수단의 진단에 의해서 이루어질 수 있다. 본 명세서에 기술된 방법 및 치료 중 임의의 것에서, 대상체는 이를 필요로 할 수 있다. 일부 실시형태에서, 대상체는 특정 질환, 장애, 또는 병태가 만연한 환경에 존재하거나 또는 이러한 환경을 여행할 것이다.

[0058] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "X 내지 Y의 정수"는 그 중점을 포함하는 임의의 정수를 의미한다. 예를 들어, "X 내지 Y의 정수"는 1, 2, 3, 4 또는 5를 의미한다.

[0059] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "포유동물"은 설치류(즉, 마우스, 래트, 또는 기니피그), 원숭이, 고양이, 개, 소, 말, 돼지, 또는 인간을 의미한다. 일부 실시형태에서, 포유동물은 인간이다.

[0060] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "안과적으로 허용 가능한"은 치료되는 눈 또는 이의 기능, 또는 치료될 대상체의 일반적인 건강에 지속적인 해로운 효과를 갖지 않는 것을 의미한다. 그러나, 일시적인 효과, 예컨대, 경미한 자극 또는 "찌르는 듯한(stinging)" 감각은 약물의 국소 안과 투여에 일반적이며, 이러한 일시적인 효과의 존재는 본 명세서에 정의된 바와 같은 "안과적으로 허용 가능한" 것에서 조성물, 제형 또는 성분(예를 들어, 부형제)과 부합하는 것이라는 것이 인식될 것이다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 안과적으로 허용 가능하거나 또는 안과적 투여에 적합할 수 있다.

[0061] "특이적 결합" 또는 특정 항원, 표적, 또는 에피토프에 특이적으로 결합한다" 또는 "에 특이적인"은 비특이적 상호작용과 측정 가능하게 상이한 결합을 의미한다. 특이적 결합은 예를 들어, 일반적으로 결합 활성도를 갖지 않는 유사한 구조의 분자인 대조군 분자의 결합과 비교하여, 분자의 결합을 결정함으로써 측정될 수 있다. 예를 들어, 특이적 결합은 표적과 유사한 대조군 분자와의 경쟁에 의해서 결정될 수 있다.

[0062] 특정 항원, 표적, 또는 에피토프에 대한 특이적 결합은, 예를 들어, 적어도 약 10^{-4M} , 적어도 약 10^{-5M} , 적어도 약 10^{-6M} , 적어도 약 10^{-7M} , 적어도 약 10^{-8M} , 적어도 약 10^{-9M} , 대안적으로 적어도 약 10^{-10M} , 적어도 약 10^{-11M} , 적어도 약 10^{-12M} , 또는 그 초과인 항원 또는 에피토프에 대한 K_D 를 갖는 항체에 의해서 나타날 수 있고, 여기서 K_D 는 특정 항체-표적 상호작용의 해리 속도를 지칭한다. 전형적으로, 항원 또는 표적에 특이적으로 결합하는 항체는 항원 또는 에피토프에 대해서 대조군 분자의 경우보다 적어도, 2-, 4-, 5-, 10-, 20-, 50-, 100-, 500-, 1000-, 5,000-, 10,000-배 또는 그 초과인 배수만큼 더 큰 K_D 를 가질 것이다.

[0063] 일부 실시형태에서, 특정 항원, 표적, 또는 에피토프에 대한 특이적 결합은, 예를 들어, 대조군에 비해서 표적, 항원 또는 에피토프에 대해서 적어도 2-, 4-, 5-, 20-, 50-, 100-, 500-, 1000-, 5,000-, 10,000-배 또는 그 초과인 배수만큼 더 큰 K_A 또는 K_a 를 갖는 항체에 의해서 나타날 수 있고, 여기서 K_A 또는 K_a 는 특정 항체-항원 상호작용의 회합 속도를 지칭한다.

[0064] 본 명세서에 제공된 바와 같이, 치료 화합물 및 조성물은 본 명세서에 제공된 바와 같은 치료 방법에서 사용될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치료한다", "치료된", 또는 "치료하는"은 치료적 치료 및 예방적 조치 둘 모두를 의미하며, 여기서 목적은 바람직하지 않은 생리학적 병태, 장애 또는 질환을 둔화(경감)시키거나 또는 이롭거나 바람직한 임상 결과를 얻는 것이다. 이러한 실시형태의 목적을 위해서, 이롭거나 바람직한 임상 결과는, 증상의 완화; 병태, 장애 또는 질환의 정도의 감소; 병태, 장애 또는 질환의 안정화된(즉, 악화되지 않은) 상태; 병태, 장애 또는 질환 진행의 발병의 지연 또는 둔화; 검출 가능하든 검출 가능하지 않은 병태, 장애 또는 질환 상태 또는 차도의 개선(부분적이든, 전체적이든); 환자에 의해서 반드시 인지되는 것은 아닌 적어도 하나의 측정 가능한 물리적 파라미터의 개선; 또는 병태, 장애 또는 질환의 향상 또는 개선을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 치료는 과도한 수준의 부작용 없이 임상적으로 유의한 반응을 도출하는 것을 포함한다. 치료는 또한 치료가 제공되지 않은 경우 예상되는 생존과 비교할 때 연장된 생존을 포함한다. 따라서, "통증의 치료" 또는 "통증을 치료하는"은 1차 현상 또는 본 명세서에 기술된 통증 또는 다른 병태와 연관된 2차 증상 중 임의의 것을 완화시키거나 개선시키는 활성을 의미한다.

[0065] 본 명세서에는 전형적으로 개별 도메인으로서, 표적화 모이어티 및 효과기 결합/조절 모이어티를 포함하는 치료 화합물, 예를 들어, 치료 단백질 분자, 예를 들어, 융합 단백질이 제공된다. 또한 치료 화합물의 사용 방법 및 제조 방법이 제공된다. 표적화 모이어티는 치료 화합물, 따라서 효과기 결합/조절 모이어티를, 면역-회피가 바람직한 부위에 국지화시키는 기능을 한다. 효과기 결합/조절 모이어티는 하기 중 하나 이상을 포함한다: (a) 면역 세포 저해성 분자 결합/조절 모이어티(ICIM 결합/조절 모이어티); (b) 면역억제성 면역 세포 결합/조절 모이어티(IIC 결합/조절 모이어티); 또는 (c) 가용성 분자 결합/조절 모이어티(SM 결합/조절 모이어티). 일부 실시

형태에서, 치료 화합물은 하기를 포함한다: (a)와 (b); (a)와 (c); (b)와 (c); 또는 (a), (b) 및 (c).

[0066] 본 개시내용은 예를 들어, PD-1 효능제로서 작용할 수 있는 분자를 제공한다. 임의의 특정 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, PD-1의 효능작용은 T 세포 활성화/신호전달을 저해하고, 상이한 기전에 의해서 달성될 수 있다. 예를 들어 가교는 효능작용으로 이어질 수 있고, 비드-결합된 기능성 PD-1 효능제는 기술되어 있다((Akkaya, Ph.D. Thesis: Modulation of the PD-1 pathway by inhibitory antibody superagonists. Christ Church College, Oxford, UK, 2012), 본 명세서에 참고로 포함됨). PD-1과, 비-중첩 에피토프에 결합하는 2개의 mAb의 가교는, PD-1 신호전달을 유도한다((Davis, US 2011/0171220), 본 명세서에 참고로 포함됨). 또 다른 예는 염소 항-PD-1 항혈청(예를 들어, AF1086, 알앤디 시스템즈사(R&D Systems), 본 명세서에 참고로 포함됨)의 사용을 통해서 설명되고, 이것은 가용화되는 경우 효능제로서 작용한다((Said et al., 2010, Nat Med), 본 명세서에 참고로 포함됨). 본 실시형태에서 사용될 수 있는 PD-1 효능제의 비제한적인 예는 UCB 클론 19 또는 클론 10, PD1AB-1, PD1AB-2, PD1AB-3, PD1AB-4 및 PD1AB-5, PD1AB-6(아납티스사/셀젠사(Celgene)), PD1-17, PD1-28, PD1-33 및 PD1-35를 포함하지만 이들로 제한되지 않거나((Collins et al, US 2008/0311117 A1 Antibodies against PD-1 and uses therefor), 본 명세서에 참고로 포함됨), 또는 이중특이적, 1가 항-PD-1/항-CD3(오노(Ono)) 등일 수 있다. 일부 실시형태에서, PD-1 효능제 항체는 PD-1에 대한 PD-L1의 결합을 차단하는 항체일 수 있다. 일부 실시형태에서, PD-1 효능제 항체는 PD-1에 대한 PD-L1의 결합을 차단하지 않는 항체일 수 있다.

[0067] PD-1 효능작용은 임의의 방법, 예컨대, 실시예에 기술된 방법에 의해서 측정될 수 있다. 예를 들어, b-갈락토시다제 "효소 공여자"에 융합된 인간 PD-1 폴리펩타이드 및 2) b-갈락토시다제 "효소 역셉터"에 융합된 SHP-2 폴리펩타이드를 포함하는 작제물을 안정적으로 발현하는 것을 비롯하여 발현하는 세포가 작제될 수 있다. 임의의 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, PD-1이 결속되는 경우, SHP-2는 PD-1에 모집된다. 효소 역셉터 및 효소 공여자는 검정될 수 있는 완전 활성 b-갈락토시다제 효소를 형성한다. 검정은 PD-1 효능작용을 직접 나타내지 않지만, PD-1 신호전달의 활성화를 나타낸다. PD-1 효능작용은 또한 T 세포 활성화의 저해를 측정함으로써 측정될 수 있는데, 그 이유는 임의의 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, PD-1 효능작용이 항-CD3-유도된 T 세포 활성화를 저해하기 때문이다. 예를 들어, PD-1 효능작용은, T 세포를 PHA(인간 T 세포의 경우) 또는 ConA(마우스 T 세포의 경우)로 사전활성화시켜 그것이 PD-1를 발현하도록 함으로써 측정될 수 있다. 이어서 세포는 PD-1 효능작용 검정의 경우 항-PD-1(또는 PD-L1)의 존재 하에서 항-CD3으로 재활성화될 수 있다. 항-CD3의 존재 하에서 PD-1 효능제 신호를 수용하는 T 세포는 항-CD3 자극 단독에 비해서, 감소된 활성화를 나타낼 것이다. 활성화는 증식 또는 사이토카인 생산(IL-2, IFN γ , IL-17) 또는 기타 마커, 예컨대, CD69 활성화 마커에 의해서 판독될 수 있다. 따라서, PD-1 효능작용은 사이토카인 생산 또는 세포 증식 중 어느 하나에 의해서 측정될 수 있다. 다른 방법을 또한 사용하여 PD-1 효능작용을 측정할 수 있다.

[0068] PD-1은 활성화된 T 세포 및 다른 면역 세포 상에서 발현되는 Ig 슈퍼패밀리 구성원이다. PD-1에 대한 자연 리간드는 PD-L1 및 PD-L2일 것이다. 임의의 특정 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, PD-L1 또는 PD-L2이 활성화된 T 세포 상의 PD-1에 결합하는 경우, 저해성 신호전달 캐스케이드가 개시되어, 활성화된 T 효과기 세포 기능이 감소된다. 따라서, PD-1 길항제를 사용하여 T 세포 상의 PD-1과 또 다른 세포(예를 들어, 종양 세포) 상의 PD-L1/2 간의 상호작용을 차단하는 것은 판문 저해라고 공지되어 있고, 저해로부터 T 세포를 해방시킨다. 이에 반해서, PD-1 효능제 항체는 PD-1에 결합하고, 저해성 신호를 보내서 T 세포의 기능을 약화시킬 수 있다. 따라서, PD-1 효능제 항체는 효과기 분자 결합/조절 모이어티로서 본 명세서에 기술된 다양한 실시형태에 혼입될 수 있고, 이것은 표적화 모이어티와 짝지어지는 경우 국지적인 조직-특이적 면역조절을 달성할 수 있다.

[0069] 효과기 분자 결합/조절 모이어티는 다양한 방식으로 면역억제성 신호 또는 환경을 제공할 수 있다. 일부 실시형태에서, 효과기 결합/조절 모이어티는 질환 병리학을 유도하는 책임이 있는 면역 세포에 의해서 발현되는 저해성 수용체에 직접 결합하고, (본 명세서에 기술된 바와 같은 적절한 조건 하에서) 이를 활성화시키는 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함한다. 또 다른 실시형태에서 효과기 결합/조절 모이어티는 IIC 결합/조절 모이어티를 포함하고, 면역억제성 면역 세포에 결합하고, 이를 촉진시킨다. 일부 실시형태에서, 촉진된 면역 억제성 세포는 면역 회피를 촉진시킨다. 또 다른 실시형태에서 효과기 결합/조절 모이어티는 SM 결합/조절 모이어티를 포함하는데, 이것은 주변 미세환경이 면역 세포, 예를 들어, 질환 병리학을 유도하는 면역 세포의 기능을 덜 허용하도록 주변 미세 환경을 조작한다. 일부 실시형태에서, SM 결합/조절 모이어티는 면역 공격 또는 활성화를 촉진시키는 엔티티를 고갈시킨다.

[0070] 표적화 모이어티 및 효과기 결합/조절 모이어티는 예를 들어, 치료 단백질 분자 내의 동일한 단백질 분자의 구성원으로서, 또 다른 것에, 공유적으로 또는 비공유적으로, 직접 또는 링커 엔티티를 통해서 물리적으로 테더링된다. 일부 실시형태에서, 표적화 및 효과기 모이어티가 치료 단백질 분자, 예를 들어, 융합 단백질 내에, 전형

적으로 별개의 도메인으로서 제공된다. 일부 실시형태에서, 표적화 모이어티, 효과기 결합/조절 모이어티, 또는 이들 모두는 각각 단일 도메인 항체 분자, 예를 들어, 낙타 항체 VHH 분자 또는 인간 가용성 VH 도메인을 포함한다. 그것은 또한 단일-쇄 단편 가변(scFv) 또는 Fab 도메인을 함유할 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료 단백질 분자, 또는 치료 단백질 분자를 암호화하는 핵산, 예를 들어, mRNA 또는 DNA가 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적화 및 효과기 분자 결합/조절 모이어티는 제3 엔티티, 예를 들어, 담체, 예를 들어, 중합체 담체, 덴드리머, 또는 입자, 예를 들어, 나노입자에 연결된다. 치료 화합물은 전신에 면역억제성 기능을 갖지 않거나 실질적으로 적게 가지면서, 선택된 표적 또는 부위에서 조직에서 또는 그 내에서 면역 반응을 하향 조절하는 데 사용될 수 있다. 표적 또는 부위는 공여자 조직 또는 자가 유래 조직을 포함할 수 있다.

[0071] 본 명세서에는 본 명세서에 개시된 치료 화합물을 사용하여 이식된 공여자 조직, 예를 들어, 동종이식편 조직, 예를 들어, 본 명세서에 기술된 조직, 예를 들어, 동종이식편 간, 동종이식편 신장, 동종이식편 심장, 동종이식편 췌장, 동종이식편 흉선 또는 흉선 조직, 동종이식편 피부, 또는 동종이식편 폐에 부위-특이적 면역 회피를 제공하는 방법이 제공된다. 실시형태에서 치료는 공여자 이식 조직의 거부를 최소화하거나, 이에 대한 면역 효과기 세포 매개된 손상을 최소화하거나, 이의 허용을 연장시키거나, 이의 기능성 수명을 연장시킨다.

[0072] 또한 본 명세서에는 본 명세서에 개시된 치료 화합물을 사용하여, 수용자 조직의 면역 공격을 매개하는 공여자 면역 세포, 예를 들어, 공여자 T 세포의 능력을 최소화함으로써 이식편대숙주병(GVHD)을 저해하는 방법이 제공된다.

[0073] 또한 본 명세서에는 본 명세서에 개시된 치료 화합물을 투여하여, 예를 들어, 면역계의 부위 또는 조직 특이적 조절을 제공함으로써 대상체에서 자가-면역 장애 또는 반응을 치료하는, 예를 들어, 치료적으로 치료하거나 예방적으로 치료하는(또는 예방하는) 방법이 제공된다. 일부 실시형태에서, 방법은 대상체 조직에 대한 관용(tolerance), 이의 거부의 최소화, 이에 대한 면역 효과기 세포 매개된 손상의 최소화 또는 이의 기능의 연장을 제공한다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 자가면역 공격 하에 있거나, 자가면역 공격에 대한 위험이 있는 조직을 표적으로 하고, 예를 들어, 특이적으로 표적으로 하는 표적화 모이어티를 포함한다. 비제한적인 예시적인 조직은 췌장, 미엘린, 침샘, 활막세포, 및 근세포를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.

[0074] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치료한다", "치료된", 또는 "치료하는"은 치료적 치료와 관련되며, 여기서 목적은 바람직하지 않은 생리학적 병태, 장애 또는 질환을 둔화(경감)시키거나 또는 이롭거나 바람직한 임상 결과를 얻는 것이다. 예를 들어, 이롭거나 바람직한 임상 결과는, 증상의 완화; 병태, 장애 또는 질환의 정도의 감소; 병태, 장애 또는 질환의 안정화된(즉, 악화되지 않은) 상태; 병태, 장애 또는 질환 진행의 발병의 지연 또는 둔화; 검출 가능하든 검출 가능하지 않든 병태, 장애 또는 질환 상태 또는 차도의 개선(부분적이든, 전체적이든); 환자에 의해서 반드시 인지되는 것은 아닌 적어도 하나의 측정 가능한 물리적 파라미터의 개선; 또는 병태, 장애 또는 질환의 향상 또는 개선을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 치료는 과도한 수준의 부작용 없이 임상적으로 유의한 반응을 도출하는 것을 포함한다. 치료는 또한 치료가 제공되지 않은 경우 예상되는 생존과 비교할 때 연장된 생존을 포함한다. 따라서, "자가-면역 질환/장애의 치료"는 1차 현상 또는 본 명세서에 기술된 자가-면역 질환/장애 또는 다른 병태와 연관된 2차 증상 중 임의의 것을 완화시키거나 개선시키는 활성을 의미한다. 다양한 질환 또는 병태가 본 명세서에 제공된다. 치료적 치료제는 또한 발병 전에 질환 또는 병태를 예방 또는 감소시키기 위해서 예방적으로 투여될 수 있다.

[0075] 일부 실시형태에서, 치료 화합물의 투여는 장애가 자명한 이후에 시작된다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물의 투여는 장애의 발병 또는 완전 발병 이전에 시작된다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물의 투여는 예를 들어, 장애를 갖는 대상체, 고위험 대상체, 장애의 위험 또는 존재에 대한 생물마커를 갖는 대상체, 장애의 가족력, 또는 장애의 위험의 다른 지표, 또는 장애의 무증상 존재를 갖는 대상체에서, 장애의 발병 또는 완전 발병 이전에 시작된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 당뇨병은 아직 아니지만 도세포(islet cell) 손상을 갖는 대상체가 치료된다.

[0076] 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, 표적화 모이어티는 면역 회피가 바람직한 해부학적 부위에서 선택적으로 발현되는 표적에 결합하여, 치료제를 축적시키는 기능을 한다. 일부 실시형태에서, 예를 들어, 공여자 조직 이식과 관련하여, 표적 모이어티는 수용자가 아닌 공여자 조직에 존재하는 표적, 예를 들어, 대립유전자 산물에 결합한다. 자가면역 장애의 치료를 위해서, 표적화 모이어티는 면역 회피가 바람직한 해부학적 부위, 예를 들어, 췌장에서 우선적으로 발현되는 표적에 결합한다. GVHD의 치료를 위해서, 표적화 모이어티는 숙주 조직을 표적으로 하고, 이식된 조직으로부터 유래된 이식된 면역 효과기 세포로부터의 공격에 대해서 숙주를 보호한다.

[0077] 다시, 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, 효과기 결합/조절 모이어티는 면역억제성 신호를 전달하거나 또는 면

역 회피된 환경을 달리 생성시키기 위해서 제공된다.

[0078] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에 사용되는 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 실시형태가 속한 기술 분야의 당업자에 의해서 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서에 기술된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 물질이 본 실시형태의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 적합한 방법 및 물질은 하기에 기술되어 있다. 본 명세서에 언급된 모든 간행물, 특허 출원, 특허 및 다른 참고 문헌은 이들의 전문이 참고로 포함된다. 또한, 물질, 방법, 및 예는 단지 설명이며, 제한인 것으로 의도되지 않는다. 제목, 소제목 또는 번호가 매겨지거나 문자로 표시된 요소, 예를 들어, (a), (b), (i) 등은 단지 판독의 용이성을 위해서 제공된다. 본 문헌에서 제목 또는 번호가 매겨지거나 문자로 표시된 요소의 사용은, 그 단계 또는 요소가 알파벳 순서로 수행될 필요가 없거나 그 단계 또는 요소가 또 다른 것과 필수적으로 분리될 필요는 없다. 실시형태의 다른 특징부, 목적 및 이점이 설명 및 도면 및 청구범위로부터 자명할 것이다.

[0079] 추가 정의

[0080] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에 사용되는 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 실시형태가 속한 기술 분야의 당업자에 의해서 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 실시형태의 기술 및 청구에서, 하기 용어 및 본 출원 전체에서 달리 언급되는 용어는 정의가 제공되는 경우 그것이 정의되는 방법에 따라서 사용될 수 있다.

[0081] 또한 본 명세서에서 사용된 용어는 단지 특정 실시형태를 기술하는 목적을 위한 것이며, 제한을 의도하지 않는다는 것을 이해해야 한다.

[0082] 항체 분자는 그 용어가 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 적어도 하나의 기능성 면역글로불린 가변 도메인 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 예를 들어, 면역글로불린 쇠 또는 이의 단편을 지칭한다. 항체 분자는 항체(예를 들어, 전장 항체) 및 항체 단편을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체 분자는 전장 항체의 항원 결합 또는 기능성 단편, 또는 전장 면역글로불린 쇠를 포함한다. 예를 들어, 전장 항체는 자연 발생되거나 또는 정상 면역글로불린 유전자 단편 재조합 공정에 의해서 형성된 면역글로불린(Ig) 분자(예를 들어, IgG 항체)이다. 실시형태에서, 항체 분자는 면역글로불린 분자의 면역학적으로 활성인, 항원-결합 부분, 예컨대, 항체 단편을 지칭한다. 항체 단편, 예를 들어, 기능성 단편은 항체의 일부, 예를 들어, Fab, Fab', F(ab')₂, F(ab)₂, 가변 단편(Fv), 도메인 항체(dAb), 또는 단일 쇠 가변 단편(scFv)을 포함한다. 기능성 항체 단편은 무순상(예를 들어, 전장) 항체에 의해서 인식되는 것과 동일한 항원에 결합한다. 용어 "항체 단편" 또는 "기능성 단편"은 또한 가변 영역으로 이루어진 단리된 단편, 예컨대, 중쇄 및 경쇄의 가변 영역으로 이루어진 "Fv" 단편 또는 경쇄 및 중쇄 가변 영역이 펩타이드 링커에 의해서 연결된 재조합 단일 쇠 폴리펩타이드 분자("scFv 단백질")를 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체 단편은 항원 결합 활성도가 없는 항체의 부분, 예컨대, Fc 단편 또는 단일 아미노산 잔기를 포함하지 않는다. 예시적인 항체 분자는 전장 항체 및 항체 단편, 예를 들어, dAb (도메인 항체), 단일 쇠, Fab, Fab' 및 F(ab')₂ 단편, 및 단일 쇠 가변 단편(scFv)을 포함한다.

[0083] 용어 "항체 분자"는 또한 "sdAb" 또는 "VHH"라고도 지칭될 수 있는 도메인, 또는 단일 도메인, 항체의 전체 또는 항원 결합 단편을 포함한다. 도메인 항체는 독립형 항체 단편으로서 작용할 수 있는 V_H 또는 V_L 중 어느 하나를 포함한다. 추가로, 도메인 항체는 중쇄-단독 항체(heavy-chain-only antibody: HCAb)를 포함한다. 도메인 항체는 또한 CDR 루프가 그래프팅되는 베이스 스캐폴드로서 IgG의 CH2 도메인을 포함한다. 그것은 또한 일반적으로 3개의 상보성 결정 영역에 의해서 중단된 4개의 프레임워크 영역으로 구성된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드 또는 단백질이라고 정의될 수 있다. 이것은 FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4라고 표현된다. sdAb는 낙타, 예컨대, 라마에서 생산될 수 있지만, 또한 관련 기술 분야에 널리 공지된 기술을 사용하여 합성에 의해서 생성될 수 있다. sdAb 또는 폴리펩타이드의 아미노산 잔기의 넘버링은 카바트(Kabat) 등("Sequence of proteins of immunological interest," US Public Health Services, NIH Bethesda, MD, Publication No. 91), 본 명세서에 참고로 포함됨)에 의해서 제공된 VH 도메인에 대한 일반적인 넘버링에 따른다. 이러한 넘버링에 따라서, sdAb의 FR1은 1 내지 30번 위치에서 아미노산 잔기를 포함하고, sdAb의 CDR1은 31 내지 36번 위치에서 아미노산 잔기를 포함하고, sdAb의 FR2는 36 내지 49번 위치에서 아미노산을 포함하고, sdAb의 CDR2는 50 내지 65번 위치에서 아미노산 잔기를 포함하고, sdAb의 FR3은 66 내지 94번 위치에서 아미노산 잔기를 포함하고, sdAb의 CDR3은 95 내지 102번 위치에서 아미노산 잔기를 포함하고, sdAb의 FR4는 103 내지 113번 위치에서 아미노산 잔기를 포함한다. 도메인 항체는 또한 각각 참고로 포함된 국제 특허 제W02004041862호 및 제W02016065323호에 기술되어 있다. 도메인 항체는 본 명세서에 기술된 바와 같은 표적화 모이어티일 수 있다.

[0084] 항체 분자는 단일특이적(예를 들어, 1가 또는 2가), 이중특이적(예를 들어, 2가, 3가, 4가, 5가 또는 6가), 삼

중특이적(예를 들어, 3가, 4가, 5가, 6가)일 수 있거나 또는 더 높은 특이성 정도(예를, 사중특이적) 및/또는 6가를 초과하는 더 높은 정도의 결합가를 가질 수 있다. 항체 분자는 경쇄 가변 영역의 기능성 단편 및 중쇄 가변 영역의 기능성 단편을 포함할 수 있거나 또는 중쇄 및 경쇄는 단일 폴리펩타이드로 함께 융합될 수 있다.

[0085] 다중특이적 치료 화합물, 예를 들어, 이중특이적 항체 분자에 대한 포맷의 예는 하기 비제한적인 예에 나타나 있다. 항체 분자로 설명되어 있지만, 이것은 특이적 결합 또는 효과기 모이어티로서 다른 비-항체 모이어티를 포함하는 치료 분자에 대한 플랫폼으로서 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 비제한적인 예는 대칭 또는 비대칭 Fc 포맷 중 어느 하나를 기반으로 한다.

[0086] 예를 들어, 도면은 비제한적이고, 다양한 대칭 동종이량체 접근법을 도시한다. 일부 실시형태에서, 이량체화 계면은 인간 IgG1 CH2-CH3 도메인 주변을 중심으로 하는데, 이것은 CH2/CH2 및 CH3/CH3 둘 모두에 걸친 접촉 계면을 통해서 이량체화한다. 나타난 생성된 이중특이적 항체는 이량체의 각각의 단부 상의 N-말단에서의 2개의 동일한 결합 단위 및 이량체의 각각의 단부 상의 C-말단에서의 2개의 동일한 단위를 갖는 4개의 결합 단위로 구성된 전체 결합가를 갖는다. 각각의 경우에 동종-이량체의 N-말단에서의 결합 단위는 동종-이량체의 C-말단에서의 것과 상이하다. 분자의 양 말단에서의 저해성 T 세포 수용체 둘 모두에 대해서 2가 및 조직 테더링 항원에 대해서 2가인 이러한 유형을 사용하는 것은 분자의 양 단부에서 달성될 수 있다.

[0087] 예를 들어, 도 3에, 비제한적인 실시형태를 도시한다. 동종이량체의 N-말단은 2개의 동일한 경쇄로 구성된 2개의 동일한 Fab 도메인을 함유하는데, 이것은 VH/VL 상호작용 및 CH1과 C카파 또는 C람다 상호작용을 통해서 각각의 중쇄의 n-말단 VH-CH1 도메인과 접촉된, 분리된 폴리펩타이드이다. C카파 또는 C람다와 CH1 간의 네이티브 다이설파이드 결합이 존재하여 중쇄와 경쇄 사이에 공유 앵커를 제공한다. 이러한 설계의 c-말단에 2개의 동일한 scFv 단위가 존재하는데, 여기서 (이러한 예에서) Fc의 CH3 도메인의 c-말단에 의해서, 전형적으로 세린, 글리신, 알라닌 및/또는 트레오닌 잔기(이들로 제한되지 않음)로 구성된 가요성의 친수성 링커가 이어지고, 각각의 scFv 단위의 VH 도메인이 이어지고, 글리신/세린 풍부 링커가 이어지고, VL 도메인이 이어진다. 이러한 탠덤 VH 및 VL 도메인은 회합하여 Fc의 c-말단에 부가된 가변적인 단일 쇠 가변 단편(scFv)을 형성한다. 이러한 2개의 단위는 Fc를 중심으로 하는 동종이량체 본성으로 인해서 이러한 분자의 c-말단에 존재한다. scFv의 도메인 순서는 N에서부터 C 말단으로 VH-링커-VL 또는 VL-링커-VH이도록 구성될 수 있다.

[0088] 상이한 단부 상에 상이한 결합 영역을 갖는 분자의 비제한적인 예가 존재하는데, 여기서 하나의 단부는 PD-1 효능제이고, 표적 특이성을 제공하는 항체는 항-MAdCAM-1 항체이다. 이것은 예를 들어, 도 3A에 나타난 바와 같이 도시될 수 있는데, 이것은 상이한 배향의 분자를 도시한다.

[0089] 일부 실시형태에서, MAdCAM 항체는 본 명세서 다른 곳에 기술된 바와 같이 차단 또는 비차단 항체이다. 임의의 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, MAdCAM은 2개의 Ig 슈퍼패밀리 I-세트 도메인 내의 다수의 잔기를 통해서 림프구 상에서 발현되는 인테그린 $\alpha 4\beta$ 의 헤드피스와 상호작용하는 것으로 밝혀져 있고, 그 상호작용에 대한 원자 수준 구조 근거가 기술되어 있다(Viney JL et al. (1996). *J Immunol.* 157, 2488-2497; Yu Y et al (2013). *J Biol Chem.* 288, 6284-6294; Yu Y et al (2012). *J Cell Biol.* 196, 131-146, 이들 각각은 전문이 참고로 포함됨). 인간(Chen J et al (2003). *Nat Struct Biol.* 10, 995-1001; de Chateau M et al (2001). *Biochemistry.* 40, 13972-13979) 및 마우스(Day ES et al (2002). *Cell Commun Adhes.* 9, 205-219; Hoshino H et al (2011). *J Histochem Cytochem.* 59, 572-583) 분자 시스템 둘 모두에서의 광범위한 구조적, 기전적 및 기능적 상세사항에서 MAdCAM과 $\alpha 4\beta$ 의 임의의 상호작용은 인테그린 베타 7 소단위 I-유사 도메인에 존재하는 3개의 이양이온(dication) 결합 부위에 좌우되고, 이러한 금속 결합 부위는 Ca^{2+} , Mn^{2+} 및 Mg^{2+} 와 배위할 수 있다는 것이 밝혀져 있다. Mg^{2+} 또는 Mn^{2+} 와 함께 또는 이것 없이 높은 수준의 Ca^{2+} 의 존재 하에서의 세포 접착 검정, 유세포 분석법, 및/또는 유동 챔버 검정을 사용하여, MAdCAM/ $\alpha 4\beta$ 상호작용이 더 낮은 기능성 친화도를 갖는 것으로 밝혀져 있고, 림프구의 롤링 접착을 허용하며, 반면에 낮은 Ca^{2+} 및 더 높은 Mg^{2+} 또는 Mn^{2+} (이것은 인테그린을 활성화시킴)에서, MAdCAM/ $\alpha 4\beta$ 상호작용은 더 높은 기능성 친화도를 갖고, 단단한 림프구 접착을 갖는다(Chen J et al (2003). *Nat Struct Biol.* 10, 995-1001). 다수의 그룹이 다양한 세포:세포, 세포:막 프랩, 및/또는 세포:단백질 기반 접착/상호작용 검정을 FACS, 세포 유동 챔버 기반 계수치, 또는 IHC 기반 판독을 사용하여 MAdCAM과 $\alpha 4\beta$ 의 상호작용 시 항-MAdCAM 또는 항- $\alpha 4\beta$ 항체의 영향을 모니터링할 수 있다는 것을 밝혀냈고, 이것은 차단 또는 비차단 항체를 식별하는 것을 가능하게 한다(Nakache, M et al (1989). *Nature.* 337, 179-181; Streeter, PR et al (1988). *Nature.* 331, 41-46; Yang Y et al (1995). *Scand J Immunol.* 42, 235-247; Leung E et al (2004). *Immunol Cell Biol.* 82, 400-409; Pullen N et al (2009). *B J Pharmacol.* 157, 281-293; Soler D et al (2009). *J Pharmacol Exp Ther.* 330, 864-875; Qi J et al (2012). *J Biol*

Chem. **287**. 15749-15759).

[0090] 이것은 항-마우스 MAdCAM 항체, 예컨대, MECA-89(비차단) 및 MECA-367(차단)의 식별로 마우스 시스템 설정에서 예시되었다(Nakache, M et al (1989). *Nature*. **337**, 179-181; Streeter, PR et al (1988). *Nature*. **331**. 41-46; Yang Y et al (1995). *Scand J Immunol*. **42**. 235-247). 인간 시스템에서, 인간 MAdCAM과 인간 $\alpha 4\beta$ 의 상호작용을 차단하는 항체, 예컨대, 항-인간 MAdCAM PF-00547659(Pullen N et al (2009). *B J Pharmacol*. **157**. 281-293) 및 항-인간 $\alpha 4\beta$ 베돌리주맙(vedolizumab)(Soler D et al (2009). *J Pharmacol Exp Ther*. **330**. 864-875), 뿐만 아니라 이러한 상호작용을 차단하지 않는 항체, 예컨대, 항-인간 MAdCAM 클론 17F5(Soler D et al (2009). *J Pharmacol Exp Ther*. **330**. 864-875), 및 항-인간 $\alpha 4\beta$ 클론 J19(Qi J et al (2012). *J Biol Chem*. **287**. 15749-15759)이 식별되어 있다. 따라서, 항체는 목적하는 효과를 기반으로 차단 또는 비차단될 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체는 비차단 MAdCAM 항체이다. 일부 실시형태에서, 항체는 차단 MAdCAM 항체이다. 항체가 차단성인지 비차단성인지를 입증하는 비제한적인 일례를 실시예 6에서 찾아볼 수 있지만, 임의의 방법이 사용될 수 있다. 본 명세서에 기술된 참고 문헌 각각은 전문이 참고로 포함된다.

[0091] 또 다른 예에서, 그리고 도 4에 도시된 바와 같이, 동종이량체의 N-말단은 2개의 동일한 경쇄로 구성된 2개의 동일한 Fab 도메인을 함유하는데, 이것은 VH/VL 상호작용 및 CH1와 C카파 또는 C람다 상호작용을 통해서 각각의 중쇄의 n-말단 VH-CH1 도메인과 접속된, 분리된 폴리펩타이드이다. C카파 또는 C람다와 CH1 간의 네이티브 다이설파이드 결합이 존재하여 중쇄와 경쇄 사이에 공유 앵커를 제공한다. 이러한 설계의 c-말단에 2개의 동일한 VH 단위가 존재하는데(그렇지만 비-항체 모이어티가 또한 여기에서 또는 4개의 말단 부착/융합 지점 중 임의의 것에서 치환될 수 있음), 여기서 (이러한 예에서) Fc의 CH3 도메인의 c-말단에 의해서, 전형적으로 세린, 글리신, 알라닌 및/또는 트레오닌 잔기(이들로 제한되지 않음)로 구성된 가요성의 친수성 링커가 이어지고, 각각의 VH 도메인을 기반으로 하는 가용성의 독립적인 VH3 생식계열 패밀리가 이어진다. 이러한 2개의 단위는 Fc를 중심으로 하는 동종이량체 본성으로 인해서 이러한 분자의 c-말단에 존재한다.

[0092] 또 다른 비제한적인 예에서, 도 5에 도시된 바와 같이, 동종이량체의 N-말단은 2개의 동일한 경쇄로 구성된 2개의 동일한 Fab 도메인을 함유하는데, 이것은 도 3 및 도 4와 달리, C카파 또는 C람다의 c-말단과 VH의 N-말단 사이에 링커를 통해서 N-말단에서 중쇄와 물리적으로 결합된다. 이 링커는 36 내지 80개의 아미노산 길이일 수 있고, 세린, 글리신, 알라닌 및 트레오닌 잔기로 구성된다. 물리적으로 결합된 n-말단 경쇄는 VH/VL 상호작용 및 CH1와 C카파 또는 C람다 상호작용을 통해서 각각의 중쇄의 n-말단 VH-CH1 도메인과 접속된다. C카파 또는 C람다와 CH1 간의 네이티브 다이설파이드 결합이 존재하여 중쇄와 경쇄 사이에 추가적인 안정성을 제공한다. 이러한 설계의 c-말단에 2개의 동일한 Fab 단위가 존재하는데, 여기서 (이러한 예에서) Fc의 CH3 도메인의 c-말단에 의해서, 전형적으로 세린, 글리신, 알라닌 및/또는 트레오닌 잔기(이들로 제한되지 않음)로 구성된 가요성의 친수성 링커가 이어지고, C-말단에서 CH1 도메인, 그 다음 VH 도메인이 이어진다. c-말단 CH1/VH 도메인과 쌍을 이루도록 설계된 경쇄는 본 명세서에 기술된 바와 같은 n-말단 VH/CH1 도메인에 결합된 N-말단 경쇄와 달리, 분리된 폴리펩타이드라고 표현된다. C-말단 경쇄는 VH/VL와 C카파 또는 C람다 사이에서 CH1과 계면을 형성한다. 네이티브 다이설파이드는 이러한 경쇄를 중쇄에 고정시킨다. 다시, 4개의 부착/융합 지점 중 임의의 것에서 항체 모이어티 중 임의의 것은 비-항체 모이어티, 예를 들어, 항체 분자를 포함하지 않는 효과기 결합/조절 모이어티로 치환될 수 있다.

[0093] 이중특이적 항체는 또한 하기 비제한적인 예에서 제시된 바와 같이 비대칭일 수 있다. 비제한적인 예는 도 6, 도 7 및 도 8에 또한 도시되어 있는데, 이것은 비대칭/이종이량체 접근법을 도시한다. 다시, 이들 포맷 중 임의의 것에서, 4개의 부착/융합 지점 중 임의의 것에서 항체 모이어티 중 임의의 것은 비-항체 모이어티, 예를 들어, 항체 분자를 포함하지 않는 효과기 결합/조절 모이어티로 치환될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이량체화 계면은 인간 IgG1 CH2-CH3 도메인 주변을 중심으로 하는데, 이것은 CH2/CH2 및 CH3/CH3 둘 모두에 걸친 접촉 계면을 통해서 이량체화한다. 그러나, 각각의 중쇄의 동종이량체화 대신에 이종이량체화를 달성하기 위해서, 돌연변이가 각각의 CH3 도메인 내에 도입된다. 이종이량체화 돌연변이는 하나의 CH3 도메인 내에 T366W 돌연변이(카바트) 및 나머지 CH3 도메인 내에 T366S, L368A 및 Y407V(카바트) 돌연변이를 포함한다. 이종이량체화 계면은 CH3/CH3 계면의 반대 면 상에서 네이티브 잔기의 시스테인 잔기로의 돌연변이, 예컨대, S354 및 Y349를 통해서 신생 다이설파이드 결합으로 추가로 안정화될 수 있다. 나타낸 생성된 이중특이적 항체는 4개의 결합 단위로 구성된 전체 결합가를 갖는다. 이러한 접근법에서, 전체 분자는 단지 하나의 말단에서 이중특이성을 갖고, 다른 말단에서 단일 특이성(총 삼중특이성)을 갖거나, 또는 양 말단에서 이중특이성(전체 분자 특이성은 2 또는 4임)을 갖도록 설계될 수 있다. 하기 예시적인 예에서, C-말단은 예를 들어, 조직 테더링 표적에 대해서 2가의 단일 특이성을 제공할 수 있는 2개의 동일한 결합 도메인을 포함한다. 예시적인 예의 3개 모두의 N-말단에서,

두 결합 도메인 모두는 상이한 인식 요소/파라토프를 포함하고, 이것은 동일한 효과기 모이어티 표적 상에서 2개의 상이한 에피토프의 인식을 달성할 수 있거나 또는 예를 들어, T 세포 저해성 수용체 및 CD3을 인식할 수 있다. 일부 실시형태에서, N-말단 결합 모이어티는 예를 들어, 다른 단일 폴리펩타이드 포맷, 예컨대, scFv, 단일쇄 Fab, 탠덤 scFv, VH 또는 VHH 도메인 항체 구성과 교환될 수 있다. 다른 유형의 인식 요소, 예컨대, 선형 또는 환식 펩타이드가 또한 사용될 수 있다.

[0094] 비대칭 분자의 예를 도 6에 도시한다. 도 6을 참고하면, 분자의 N-말단은 VH/VL 및 C카파 또는 C람다/CH1 상호작용 및 네이티브 중쇄/경쇄 다이설파이드 결합으로 구성된 공유 테더를 통해서 제1 중쇄와 짝지어진 제1 경쇄로 구성된다. N-말단에서 이러한 이중이량체 분자의 반대 면 상에는 제2 경쇄 및 제2 중쇄가 존재하는데, 이것은 링커 C카파 또는 C람다의 c-말단과 VH의 N-말단 사이에서 링커를 통해서 물리적으로 결합된다. 이 링커는 36 내지 80개의 아미노산 길이일 수 있고, 세린, 글리신, 알라닌 및 트레오닌 잔기로 구성된다. 물리적으로 결합된 n-말단 경쇄는 VH/VL 상호작용 및 CH1와 C카파 또는 C람다 상호작용을 통해서 각각의 중쇄의 n-말단 VH-CH1 도메인과 접촉된다. C카파 또는 C람다와 CH1 간의 네이티브 다이설파이드 결합이 존재하여 중쇄와 경쇄 사이에 추가적인 안정성을 제공한다. 분자의 c-말단에는 N-말단 글리신/세린/알라닌/트레오닌 기반 링커를 통해서 중쇄 1 및 중쇄 2 둘 모두의 CH3 도메인의 c-말단에 결합된 2개의 동일한 가용성 VH3 생식계열 패밀리의 VH 도메인이 존재한다.

[0095] 일부 실시형태에서, 비대칭 분자는 도 7에 도시된 바와 같이 예시될 수 있다. 예를 들어, 분자의 N-말단은 글리신/세린/알라닌/트레오닌 기반 링커를 통해서 인간 IgG1 힌지 영역에 연결된 2개의 상이한 VH3 생식계열 기반 가용성 VH 도메인으로 구성된다. 제1 중쇄에 연결된 VH 도메인은 제2 중쇄에 연결된 VH 도메인과 상이하다. 각각의 중쇄의 c-말단에는 2개의 중쇄 각각과 동일한 추가적인 가용성 VH3 생식계열 기반 VH 도메인이 존재한다. 중쇄는 Fc 모듈의 CH3 계면에 존재하는 이미 기술된 노브스 인투 홀즈(knobs into holes) 돌연변이를 통해서 이중이량체화된다.

[0096] 일부 실시형태에서, 비대칭 분자는 도 8에 도시된 바와 같을 수 있다. 이 예는, N-말단 Fab 단위 둘 모두가 경쇄 1 및 경쇄 2가 C카파 또는 C람다의 c-말단과 각각의 VH의 N-말단 간의 링커를 통해서 중쇄 1 및 중쇄 2와 물리적으로 결합된 방식으로 구성된 것을 제외하고는, 도 7에 도시된 분자와 유사하다. 각각의 경우 이 링커는 36 내지 80개의 아미노산 길이일 수 있고, 세린, 글리신, 알라닌 및 트레오닌 잔기로 구성된다. 물리적으로 결합된 n-말단 경쇄는 VH/VL 상호작용 및 CH1와 C카파 또는 C람다 상호작용을 통해서 각각의 중쇄의 n-말단 VH-CH1 도메인과 접촉된다. C카파 또는 C람다와 CH1 간의 네이티브 다이설파이드 결합이 존재하여 중쇄와 경쇄 사이에 추가적인 안정성을 제공한다.

[0097] 이중특이적 분자는 또한 혼합된 포맷을 가질 수 있다. 이것을 예를 들어, 도 9, 도 10 및 도 11에 도시한다.

[0098] 예를 들어, 도 9에 도시된 바와 같이, 도 7의 모이어티 포맷 선택과 조합된 동중이량체 Fc 기반 접근법(도 3, 4 및 5 참조)을 도시하며, 여기서 총 분자 결합가는 4이지만, 특이성은 2 특이성으로 제한된다. N-말단은 2개의 동일한 가용성 VH3 생식계열 기반 VH 도메인으로 구성되고, c-말단은 N-말단 도메인에 대해서 상이한 특이성의 2개의 동일한 가용성 VH3 생식계열 기반 VH 도메인으로 구성된다. 따라서, 각각의 특이성은 2의 결합가를 갖는다. 다시, 이러한 포맷에서, 4개의 부착/융합 지점 중 임의의 것에서 항체 모이어티 중 임의의 것은 비-항체 모이어티, 예를 들어, 항체 분자를 포함하지 않는 효과기 결합/조절 모이어티로 치환될 수 있다.

[0099] 도 10은 또 다른 예를 도시한다. 이 예에서, 분자는 4개의 VH3 생식계열 기반 가용성 VH 도메인으로 구성된다. 제1의 2개의 도메인은 동일한 특이성(예를 들어, 저해성 수용체)을 갖고, N-말단으로부터의 제3 도메인은 조직 항원에 대해서 특이성을 가질 수 있고, N-말단으로부터의 제4 도메인은 인간 혈청 알부민(HSA)에 대해서 특이성을 가져서, Ig Fc 도메인의 부재 하에서 분자에 연장된 반감기를 부여할 수 있다. 3개의 글리신, 세린, 알라닌 및/또는 트레오닌 풍부 링커가 도메인 1과 2, 도메인 2와 3, 및 도메인 3과 4 사이에 존재한다. 이러한 포맷은 최대 사중특이성, 그러나 각각의 경우에 1가로 구성될 수 있거나 또는 각각의 경우에 2가를 갖는 이중특이성을 갖는다. 도메인의 순서는 변화될 수 있다. 다시, 이러한 포맷에서, 항체 모이어티 중 임의의 것은 비-항체 모이어티, 예를 들어, 항체 분자를 포함하지 않는 효과기 결합/조절 모이어티로 치환될 수 있다.

[0100] 도 11은 추가의 또 다른 접근법을 도시한다. 이 예는, 그것이 분자의 N-말단에서 2개의 동일한 Fab 단위를 갖는 것을 기반으로 하는 Fc 동중이량체(2가 단일특이성)라는 점에서, 도 3 및 도 4와 유사하다. 이 예는, 각각의 중쇄의 C-말단에 탠덤-scFv가 첨부된다는 점에서 상이하다. 따라서, 각각의 경우에 Fc의 CH3 도메인의 c-말단은 글리신/세린/알라닌/트레오닌 기반 링커를 통해서 제1 VH 도메인의 N-말단에 연결되고, 이것은 C-말단을 통해서 12 내지 15 아미노산 글리신/세린 풍부 링커에 의해서 제1 VL 도메인의 N-말단에 연결되고, 이것은 c-말단에서

25 내지 35 아미노산 글리신/세린/알라닌/트레오닌 기반 링커를 통해서 제2 VH 도메인의 N-말단에 연결되고, 이것은 c-말단을 통해서 12 내지 15 아미노산 글리신/세린 기반 링커로 제2 VL 도메인의 N-말단에 연결된다. 따라서, 이러한 Fc 동종이량체 기반 분자에서, 분자의 c-말단에서 2개의 동일한 탠덤 scFv가 존재하여, 단일 조직 항원의 경우 4가 또는 2개의 상이한 분자에 대해서 2가를 제공한다. 이러한 포맷은, 또한 도 5, 도 6 및 도 7에서와 같은 단일쇄 Fab 구성의 사용을 통해서 N-말단에서 2가 단일특이성 또는 N-말단에서 1가 이중특이성을 유지하면서, 이중이량체 Fc 코어로 개작되어, Fc의 c-말단에서 2개의 상이한 탠덤-scFv를 허용하고, c-말단에서 1가 사중특이성을 허용할 수 있다. 따라서 이러한 분자는 2, 3, 4, 5 또는 6 특이성을 갖도록 구성될 수 있다. 탠덤-scFv 단위 내의 scFv의 도메인 순서는 N에서부터 C 말단으로 VH-링커-VL 또는 VL-링커-VH이도록 구성될 수 있다. 다시, 이러한 포맷에서, 4개의 부착/융합 지점 중 임의의 것에서 항체 모이어티 중 임의의 것은 비-항체 모이어티, 예를 들어, 항체 분자를 포함하지 않는 효과기 결합/조절 모이어티로 치환될 수 있다.

[0101] 이중특이적 항체는 또한 증가된 조직 침투를 가지면서, 예를 들어, 더 짧은 전신 PK를 갖도록 작체될 수 있다. 이러한 유형의 항체는 예를 들어, 인간 VH3 기반 도메인 항체 포맷을 기반으로 할 수 있다. 이것은 예를 들어, 도 12, 도 13 및 도 14에 도시되어 있다. 도 12, 도 13 및 도 14는 각각 가용성 VH3 생식계열 패밀리 기반 VH 도메인 모듈을 포함하였다. 각각의 도메인은 작은 전체 MW를 허용하는 대략 12.5 kDa이고, 이것은 임의의 특정 이론에 얽매이지 않음은 아니지만, 향상된 조직 침투에 유리할 수 있다. 이러한 예에서, VH 도메인 중 어느 것도 임의의 반감기 연장된 표적, 예컨대, FcRn 또는 HSA를 인식하지 않는다. 도 12에 도시된 바와 같이, 이 분자는 제1 도메인의 C-말단과 제2 도메인의 N-말단 사이에서 가요성의 친수성 글리신/세린 기반 링커와 결합된 2개의 VH 도메인으로 구성된다. 이러한 예에서, 하나의 도메인이 T 세포 공자극성 수용체를 인식할 수 있고, 제2 도메인이 조직 테더링 항원을 인식할 수 있다. 도 13에 도시된 바와 같이, 이 분자는 친수성 글리신/세린 기반 링커의 N-C 말단 링커지를 갖는 3개의 VH 도메인으로 구성된다. 분자는 삼중특이적이지만 각각의 표적에 대해서 1가이도록 구성될 수 있다. 그것은 하나의 표적에 대해서 2가를 갖고, 또 다른 것에 대해서 2가를 갖는 이중특이적일 수 있다. 도 14에 도시된 바와 같이, 분자는 각각의 도메인 사이에 N-C 말단 글리신/세린 풍부 링커를 갖는 4개의 VH 도메인으로 구성된다. 이 분자는 각각의 경우에 다양한 항원 결합가를 갖는 사중특이적, 삼중특이적, 또는 이중특이적이도록 구성될 수 있다. 다시, 이러한 포맷에서, 항체 모이어티 중 임의의 것은 비-항체 모이어티, 예를 들어, 항체 분자를 포함하지 않는 효과기 결합/조절 모이어티로 치환될 수 있다.

[0102] 이중특이적 항체의 다른 실시형태를 도 15 및 도 16에 도시한다. 도 15 및 16은 상호작용을 공유적으로 부착하는 c-말단 중쇄/경쇄 다이설파이드 결합을 포함하는, 인간 IgG CH1/C카파 계면의 자연적 이중이량체화 코어로 구성된다. 이러한 포맷은 Fc 또는 반감기 연장을 위한 임의의 모이어티를 함유하지 않는다. 도 15에 도시된 바와 같이, 불변 카파 도메인의 N-말단에서, 분자는 C-말단에 의해서 네이티브 VL-C카파 엘보(elbow) 서열을 통해서 불변 카파 도메인의 N-말단에 연결된, 12 내지 15 아미노산 gly/ser 기반 링커를 통해서 VL 도메인의 N-말단에 C-말단에서 연결된, N-말단 VH 도메인으로 이루어진 scFv 단편이 첨부된다. CH1 도메인은 N-말단에서, c-말단에서 자연 VH-CH1 엘보 서열을 통해서 CH1 도메인의 N-말단에 연결된, VH 도메인의 N-말단에 12 내지 15 아미노산 gly/ser 링커를 통해서 c-말단에서 연결된 N-말단 VL 도메인으로 이루어진 scFv 단편이 첨부된다. 도 16에 도시된 바와 같이, 분자는 실시예 13과 동일한 N-말단 구성을 갖는다. 그러나 불변 카파 및 CH1 도메인의 C-말단은 VH-VL 또는 VL-VH 구성으로 존재할 수 있고, 동일한 항원에 대해서 특이적이거나 또는 2개의 상이한 항원에 대해서 특이적일 수 있는 scFv 모듈이 첨부된다. VH/VL 도메인 간 링커는 12 내지 15개 아미노산 길이일 수 있고, gly/ser 잔기로 이루어진다. scFv 결합 소단위는 가용성 VH 도메인, 또는 펩타이드 인식 요소, 또는 심지어는 탠덤-scFv 요소로 대체될 수 있다. 이러한 접근법은 또한 가변 램다 및/또는 불변 램다 도메인을 사용하도록 구성될 수 있다. 다시, 이러한 포맷에서 부착/융합 지점 중 임의의 것에서 항체 모이어티 중 임의의 것은 비-항체 모이어티, 예를 들어, 항체 분자를 포함하지 않는 효과기 결합/조절 모이어티로 치환될 수 있다.

[0103] 도 17은 또 다른 실시형태를 도시한다. 도 17은 12 내지 15 아미노산 gly/ser 풍부 링커로 C-말단에서 제1 VH 도메인의 N-말단에 연결된 제1 N-말단 VL 도메인으로 이루어진 탠덤 scFv 포맷을 나타내는데, 그 다음 제1 VH c-말단에서 제2 VL 도메인의 N-말단에 25 내지 30 아미노산 gly/ser/ala/thr 기반 링커가 이어진다. 제2 VL 도메인은 C-말단에서, 12 내지 15 아미노산 gly/ser 링커에 의해서 제2 VH 도메인의 N-말단에 연결된다. 각각의 scFv는 상이한 표적 항원, 예컨대, 공자극성 T 세포 분자 및 조직 테더링 표적을 인식한다. 다시, 이러한 포맷에서, 항체 모이어티 중 임의의 것은 비-항체 모이어티, 예를 들어, 항체 분자를 포함하지 않는 효과기 결합/조절 모이어티로 치환될 수 있다.

[0104] 도 18은 또 다른 실시형태를 도시한다. 도 18은 F(ab')₂ scFv 융합체이다. 이것은 인간 IgG CH1 도메인의 네이티브 인간 IgG1 힌지 영역 c-말단에서 2개의 다이설파이드 결합을 통해서 연결된 2개의 동일한 Fab 성분으로 이

루어진다. 인간 IgG1 CH2 및 CH3 도메인은 존재하지 않는다. 중쇄 1 및 2의 c-말단에 gly/ser/ala/thr 풍부 링커를 통해서 huIgG1 힌지 영역의 c-말단에 연결된 2개의 동일한 scFv 단편이 존재한다. 도시된 구성에서, VH는 각각의 scFv 단위에서 N-말단이고, 12 내지 15 아미노산 gly/ser 풍부 링커를 통해서 VL 도메인의 N-말단에 연결된다. 대안적인 구성은 N-term- VL-링커-VH-C-term이다. 이러한 설계에서, 작제물은 도달 표적에 대해서 2가를 갖는 이중특이적이다. 다시, 이러한 포맷에서, 4개의 부착/융합 지점 중 임의의 것에서 항체 모이어티 중 임의의 것은 비-항체 모이어티, 예를 들어, 항체 분자를 포함하지 않는 효과기 결합/조절 모이어티로 치환될 수 있다.

[0105] CD39 분자는, 이 용어가 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 치료 화합물의 부분으로서, 그것이 ATP를 AMP로 인가수분해(phosphohydrolyzing)시키는 충분한 CD39 서열을 갖는 폴리펩타이드를 지칭한다. 일부 실시형태에서, CD39 분자는 자연 발생 CD39, 예를 들어, CD39 분자가 유래된 CD39의 속도와 동일하거나 또는 이 속도의 적어도, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 95%로 ATP를 AMP로 인가수분해시킨다. 일부 실시형태에서, CD39 분자는 자연 발생 CD39와 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 99, 또는 100% 서열 동일성 또는 상당한 서열 동일성을 갖는다.

[0106] 임의의 기능성 아이소폼이 사용될 수 있다(본 명세서에 논의된 CD39 또는 다른 단백질 가짐). 예시적인 CD39 서열은 젠뱅크 수탁(Genbank accession) # NP_001767.3 또는 하기 서열로부터의 성숙 형태를 포함한다:

[0107] MEDTKESNVKTFCKNILAILGFSSIIAVIALAVGLTQNKALPENVKYGVLDAGSSHTSLYIKWPAEKENDTGVVHVVEECRVKGPGISKFVQKVNEIGIYLTDCMERAREVIPSQHQETPVYLGATAGMRLLRMESEELADRVLDVVERSLSNYPFDQFQARIITGQEEGAYGWITINYLLGKFSQKTRWFSIVPYETNNQETFGALDLGGASTQVTFVPQNQTIESPDNALQFRLYGKDYNVYTHSFLCYGKDQALWQKLAKDIQVASNEILRDPCHFHPGYKKVVNVSDLYKTPCTKRFEITLPPFQQFEIQGIGNYQQCHQSILELNTSYCPYSQCAFNGIFLPLQGDGFAFSAFYFVMKFLNLTSEKVSQEKVTEMMKKFCAQPWEEKTSYAGVKEKYLSEYCFSGTYILSLLLQGYHFTADSWEHIFIGKIQGSDAGWTLGYMLNLTNMIPEQPLSTPLSHSTYVFLMVLVFLSLVLTVAIIGLLIFHKPSYFWKDMV(서열번호 1).

[0108] 일부 실시형태에서, CD39 분자는 인간 또는 무린 혈청에서 순환하는 것으로 발견된 CD39의 가용성 촉매적 활성 형태를 포함한다(예를 들어, 문헌[Metabolism of circulating ADP in the bloodstream is mediated via integrated actions of soluble adenylate kinase-1 and NTPDase1/CD39 activities, Yegutkin et al. FASEB J. 2012 Sep; 26(9):3875-83] 참고). 가용성 재조합 CD39 단편은 또한 문헌[Inhibition of platelet function by recombinant soluble ecto-ADPase/CD39, Gayle, et al., J Clin Invest. 1998 May 1; 101(9): 1851-1859]에 기술되어 있다.

[0109] CD73 분자는, 그 용어가 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 치료 화합물의 부분으로서, 그것이 세포의 AMP를 아데노신으로 탈인산화시키는 충분한 CD73 서열을 갖는 폴리펩타이드를 지칭한다. 일부 실시형태에서, CD73 분자는 자연 발생 CD73, 예를 들어, CD73 분자가 유래된 CD73의 속도와 동일하거나 또는 이 속도의 적어도, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 95%로 세포의 AMP를 아데노신으로 탈인산화시킨다. 일부 실시형태에서, CD73 분자는 자연 발생 CD73과 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 99, 또는 100% 서열 동일성 또는 상당한 서열 동일성을 갖는다. 예시적인 CD73 서열은 젠뱅크 AAH65937.1 5'-뉴클레오타이드제, 엑토(CD73)[호모 사피엔스] 또는 하기 서열로부터의 성숙 형태를 포함한다:

MCPRAARAPATLLALGAVLWPAAGAWELTILHTNDVHSRLQTSSESSKCVNASRCMGGVARLFTKVQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGTIWFVYKGAEVAHFMNALRYDAMALGNHEFDNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGPLASQISGLYPYKVLPGDEVVGIVGYTSKETPFLSNPGTNLVEFEITALQPEVDKLTNLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVRGVDDVVGGHSNTFLYTGNPPSKEVPAGKYPFIVTSDDGKRVPPVQYAFGKYLGLYKIEFDERGNVSSHGNPILLNSSIPEDPSIKADINKWRIKLDNYSTQELGKTIYVLDGSSQSCRFCNMGNLICDAMINNNLRHADETFWNHVSMLILNGGGIRSPIDERNGTITWENLA AVL PFGGTFDLVQLKGSTLKKAFEHSHVRYGQSTGEFLQVGGIHVVYDL SRKPGDRVVKLDVLCTKCRVPSYDPLKMDVYKVLNPNFLANGGDGFGQMIKDELLRHDSGDQDINVSTYISKMKVIYPAVEGRIFKSTGSHCHGSFSLIFLSLWAVIFVLYQ(서열번호 2).

[0110] 일부 실시형태에서, CD73 분자는 전단 스트레스에 의한 GPI 앵커의 단백질 분해 절단 또는 가수분해에 의해서 내피 세포의 막으로부터 제거될 수 있는 CD73의 가용성 형태를 포함한다(예를 들어, 문헌[Yegutkin G, Bodin P, Burnstock G. Effect of shear stress on the release of soluble ecto-enzymes ATPase and 5'-nucleotidase along with endogenous ATP from vascular endothelial cells. Br J Pharmacol 2000; 129: 921-6] 참고). CD73 기능에 대해서는 문헌[Colgan et al., Physiological roles for ecto-5'-nucleotidase (CD73), Purinergic Signalling, June 2006, 2:351]을 참고하기 바란다.

[0111] 세포 표면 분자 결합기는, 그 용어가 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 세포, 예를 들어, 면역억제성 면역 세포, 예를 들어, Treg 상의 세포 표면 분자에 예를 들어, 특이적으로 결합하는 분자, 전형적으로 폴리펩타이드

를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 세포 표면 결합기는, 그것이 세포 표면 분자(세포 표면 분자 리간드)에 특이적으로 결합할 수 있기에 충분한, 세포 표면 분자의 자연 발생 리간드로부터의 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 세포 표면 결합은 세포 표면 분자에 결합하는, 예를 들어, 특이적으로 결합하는 항체 분자이다.

[0112] 공여자 특이적 표적화 모이어티는, 그 용어가 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 치료 화합물의 성분으로서, 수용자의 조직과 대조적인 바와 같이, 이식된 공여자 조직에 치료 화합물을 우선적으로 국지화시키는 모이어티, 예를 들어, 항체 분자를 지칭한다. 치료 화합물의 성분으로서, 공여자 특이적 표적화 모이어티는 공여자로부터의 이식 조직, 예를 들어, 기관에 부위-특이적 면역 회피를 제공한다.

[0113] 일부 실시형태에서, 공여자 특이적 표적화 모이어티는 대립유전자가 (수용자) 대상체의 유전자좌에 존재하지 않는, 유전자좌에 존재하는 대립유전자의 산물, 예를 들어, 폴리펩타이드 산물에 결합한다. 일부 실시형태에서, 공여자 특이적 표적화 모이어티는 에피토프가 (수용자) 대상체에 존재하지 않는, 산물 상의 에피토프에 결합한다.

[0114] 일부 실시형태에서, 치료 화합물의 성분으로서, 공여자 특이적 표적화 모이어티는 공여자 표적 또는 항원에 우선적으로 결합하고, 예를 들어, 대상체 항원 또는 조직에 대한 이의 친화도보다 공여자 항원 또는 조직에 대해서 더 높은, 예를 들어, 적어도 2, 4, 5, 10, 50, 100, 500, 1,000, 5,000 또는 10,000배 더 높은 공여자 표적에 대한 결합 친화도를 갖는다. 일부 실시형태에서, 공여자 특이적 표적화 모이어티는, 대상체에 존재하는 유전자좌의 대립유전자의 산물(대립유전자는 공여자 조직에 존재하지 않음)에 대한 친화도보다, 적어도 2, 4, 5, 10, 50, 100, 500, 1,000, 5,000 또는 10,000배 더 높은 공여자 조직에 존재하는 유전자좌의 대립유전자의 산물(그러나 대상체에 존재하지 않음)에 대한 결합 친화도를 갖는다. 공여자 특이적 모이어티(donor specific targeting moiety)가 성분인 치료 화합물의 친화도는 세포 현탁물 중에서 측정될 수 있고, 예를 들어, 대립유전자를 갖는 현탁된 세포에 대한 친화도를 대립유전자를 갖지 않는 현탁된 세포에 대한 친화도와 비교한다. 일부 실시형태에서, 공여자 대립유전자 세포에 대한 결합 친화도는 10nM 미만이다. 일부 실시형태에서, 공여자 대립유전자 세포에 대한 결합 친화도는 100pM, 50pM, 또는 10pM 미만이다.

[0115] 일부 실시형태에서, 공여자 대립유전자의 산물에 대한 특이성은, 공여자 특이적 표적화 모이어티가 면역-하향 조절 효과기에 커플링되는 경우, i) 임상 설정에서, 예를 들어, 조직학적 염증성 반응, 침윤성 T 효과기 세포, 또는 기관 기능에 의해서 측정되는 경우, 이식된 조직의 면역 공격 - 예를 들어, 신장의 경우 크레아티닌이, 공여자 특이적 표적화 모이어티가 면역-하향 조절 효과기에 커플링되는 것이 결핍된 것을 제외하고는 달리 유사한 이식에서 인지되는 것과 비교할 때 실질적으로 낮아지고; 그리고/또는 ii) 이식된 조직의 외부 또는 멀리에서 수용자에서의 면역 기능은 실질적으로 유지되기에 충분하다. 일부 실시형태에서, 하기 중 하나 이상이 인지된다: 치료 화합물의 치료 수준에서, 말초 혈액 림프구 수치는 실질적으로 영향을 받지 않고, 예를 들어, T 세포의 수준은 정상치의 25, 50, 75, 85, 90 또는 95% 이내이고/이거나, B 세포의 수준은 정상치의 25, 50, 75, 85, 90 또는 95% 이내이고/이거나 과립구(PMN) 세포의 수준은 정상치의 25, 50, 75, 85, 90 또는 95% 이내 이거나, 또는 단핵구의 수준은 정상치의 25, 50, 75, 85, 90 또는 95% 이내이고; 치료 화합물의 치료 수준에서, 비-질환 관련 항원에 대한 PBMC(말초 혈액 단핵 세포)의 생체외 증식 기능은 실질적으로 정상이거나 또는 정상치의 70, 80 또는 90% 이내이고; 치료 화합물의 치료 수준에서, 면역억제와 연관된 암 및 기회 감염성 감염의 발생률 또는 위험이 정상치보다 실질적으로 증가되지 않거나; 치료 화합물의 치료 수준에서, 면역억제와 연관된 암 및 기회 감염성 감염의 발생률 또는 위험이 표준 치료, 또는 비-표적화된 면역억제에서 인지되는 것보다 실질적으로 더 낮다. 일부 실시형태에서, 공여자 특이적 표적화 모이어티는 항체 분자, 표적 특이적 결합 폴리펩타이드, 또는 표적 리간드 결합 분자를 포함한다.

[0116] 효과기는, 그 용어가 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 면역 반응을 매개하는 엔티티, 예를 들어, 세포 또는 분자, 예를 들어, 가용성 또는 세포 표면 분자를 지칭한다.

[0117] 효과기 리간드 결합 분자는, 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 그것이 효과기 결합/조절 분자로서 작용할 수 있는 충분한 특이성으로 효과기에 결합할 수 있는, 효과기의 자연 발생 반대-리간드로부터의 충분한 서열을 갖는 폴리펩타이드를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 그것은 자연 발생 반대-리간드의 친화도의 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 95%로 효과기에 결합한다. 일부 실시형태에서, 그것은 효과기에 대한 자연 발생 반대-리간드와 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 99, 또는 100% 서열 동일성 또는 상당한 서열 동일성을 갖는다.

[0118] 효과기 특이적 결합 폴리펩타이드는, 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 그것이 효과기 결합/조절 모이어티로서 작용할 수 있는 충분한 특이성으로 결합할 수 있는 폴리펩타이드를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 특이적 결합 폴리펩타이드는 효과기 리간드 결합 분자를 포함한다.

- [0119] 증가된 위험은, 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 대상체에서의 장애의 위험을 지칭하며, 여기서 대상체는 장애 또는 장애의 증상의 의학적 이력, 장애 또는 장애의 증상과 연관된 바이오마커 또는 장애 또는 장애의 증상의 가족력 중 하나 이상을 갖는다.
- [0120] 효과기 또는 저해성 면역 관문 분자에 대한 기능성 항체 분자는, 그 용어가 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 다량체화된 치료 화합물의 ICIM 결합/조절 모이어티로서 존재하는 경우 효과기 또는 저해성 면역 관문 분자에 결합하여, 이를 효능작용시킬 수 있는 항체 분자를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 항-효과기 또는 저해성 면역 관문 분자 항체 분자는, 효과기 또는 저해성 면역 관문 분자에 단량체로서 결합되는 경우(또는 치료 화합물이 다량체화되지 않은 경우의 결합) 저해성 면역 관문 분자에 대한 저해성 면역 관문 분자 분자의 내인성 반대 리간드의 결합을 길항작용하지 않거나, 실질적으로 길항작용하지 않거나, 이의 결합을 예방하지 않거나 또는 이의 결합을 실질적으로 예방하지 않는다. 일부 실시형태에서, 항-효과기 또는 저해성 면역 관문 분자 항체 분자는, 저해성 면역 관문 분자에 단량체로서 결합되는 경우(또는 치료 화합물이 다량체화되지 않은 경우의 결합) 효과기 또는 저해성 분자를 길항작용하지 않거나 또는 실질적으로 길항작용하지 않는다.
- [0121] ICIM 결합/조절 모이어티는, 그 용어가 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 치료 화합물의 일부로서, 세포 표면 저해성 분자, 예를 들어, 저해성 면역 관문 분자, 예를 들어, PD-1에 결합하여 이를 효능작용시키거나, 또는 세포 신호전달에 결합하거나 이를 조절하고, 예를 들어, FCRL, 예를 들어, FCRL1-6에 결합하거나, 또는 면역 기능을 촉진시키는 분자에 결합하여 이를 길항작용시키는 효과기 결합/조절 모이어티를 지칭한다.
- [0122] IIC 결합/조절 모이어티는, 그 용어가 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 치료 화합물의 일부로서, 면역억제성 면역 세포에 결합하는 효과기 결합/조절 모이어티를 지칭한다. 일부 실시형태에서, IIC 결합/조절 모이어티는 결합 부위에서 면역억제성 면역 세포의 수 및 농도를 증가시킨다.
- [0123] "저해성 면역 관문 분자 리간드 분자"는, 그 용어가 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 다량체화된 치료 화합물의 ICIM 결합/조절 모이어티로서 존재하는 경우, 이의 동족 저해성 면역 관문 분자, 예를 들어, 다시 PD-L1 분자의 경우에는, PD-1에 결합하여, 이를 효능작용시킬 수 있는 충분한 저해성 면역 관문 분자 리간드 서열, 예를 들어, PD-L1 분자의 경우에는 충분한 PD-L1 서열을 갖는 폴리펩타이드를 지칭한다.
- [0124] 일부 실시형태에서, 저해성 면역 관문 분자 리간드 분자, 예를 들어, PD-L1 분자는, 이의 동족 리간드, 예를 들어, PD-1에 단량체로서 결합되는 경우(또는 치료 화합물이 다량체화되지 않은 경우의 결합) 저해성 면역 관문 분자에 대한 내인성 저해성 면역 관문 분자 리간드를 길항작용시키지 않거나, 실질적으로 길항작용시키지 않거나, 이의 결합을 예방하지 않거나 또는 이의 결합을 실질적으로 예방하지 않는다. 예를 들어, PD-L1 분자의 경우, PD-L1 분자는 PD-1에 대한 내인성 PD-L1의 결합을 길항작용하지 않는다.
- [0125] 일부 실시형태에서, 저해성 면역 관문 분자 리간드는 이의 동족 저해성 면역 관문 분자에 단량체로서 결합하는 경우 저해성 면역 관문 분자를 효능작용시키지 않거나 또는 실질적으로 효능작용시키지 않는다. 예의 방식에 의해서, 예를 들어, PD-L1 분자는 PD-1에 결합하는 경우 PD-1을 효능작용시키지 않거나 또는 실질적으로 효능작용시키지 않는다.
- [0126] 일부 실시형태에서, 저해성 면역 관문 분자 리간드 분자는 자연 발생 저해성 면역 관문 분자 리간드와, 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 99 또는 100% 서열 동일성 또는 상당한 서열 동일성을 갖는다.
- [0127] 예시적인 저해성 면역 관문 분자 리간드 분자는 저해성 면역 관문 분자 PD-1에 결합하고, 실시형태에서, PD-L1, 예를 들어, 하기 서열을 포함하는 PD-L1 분자와 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 99 또는 100% 서열 동일성 또는 상당한 서열 동일성을 갖는 PD-L1 분자:
- MRIFAVFIFMTYWHLLNAFTVTPKDLVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIVYWEMEDKNI IQFVHGEEDLKQVHSSYRQRRLLKDKLSLGNALQIT DVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRILVDPVPTSEHLCQAEQYKAEVITWSSDHQVLSGKTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTN EIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPELPLAHPNERTHLVILGAILLCLGVALTFIFRLRKGRMMDVKKCGIQDTNSKKQSDTHLEET(서열번호 3) 또는 이의 활성 단편(일부 실시형태에서, 활성 단편은 PD-L1 서열의 잔기 19 내지 290을 포함함); 저해성 면역 관문 분자 KIR2DL4, LILRB1 및 LILRB2 중 임의의 것에 결합하고, 실시형태에서 자연 발생 HLA-G와 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 99 또는 100% 서열 동일성 또는 실질적인 서열 동일성을 갖는 HLA-G 분자를 포함한다. 예시적인 HLA-G 서열은 예를 들어, 젠뱅크 P17693.1 RecName: Full=HLA 클래스 I 조직적합성 항원, 알파 체 G; AltName: Full=HLA G 항원; AltName: Full=MHC 클래스 I 항원 G; Flags: 전구체에서의 서열, 또는 하기 서열에서 발견되는 성숙 형태를 포함한다:
- MVVMAPRTLFLLLSGALTLTETWAGSHSMRYFSAVSRPGRGEPRIAMGYVDDTQFVRFDSDSACPRMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKAHAQTDRMNL

QTLRGYYNQSEASSHTLQWMI GCDLGSDGRLLRGYEQYAYDGKDYALNEDLRSWTAADTAAQISKRKCEANVAEQRRAYLEGTCVWLHRYLENGKEMLQ
RADPPKTHVTHHPVFDYEATLRCWALGFYPAEIILTWQRDGEDQTQDVELVETRPAGDGTQKWA AVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLMLRWKQSSLPTI
PIMGIVA(서열번호 4).

- [0128] 저해성 분자 반대 리간드 분자는, 그 용어가 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 다량체화된 치료 화합물의 ICIM 결합/조절 모이어티로서 존재하는 경우 동족 저해성 분자에 결합하여 이를 효능작용시킬 수 있도록 충분한 저해성 분자 반대 리간드 서열을 갖는 폴리펩타이드를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 저해성 분자 반대 리간드 분자는, 저해성 분자에 단량체로서 결합되는 경우(또는 치료 화합물이 다량체화되지 않은 경우의 결합) 저해성 분자에 대한 저해성 분자의 내인성 반대 리간드의 결합을 길항작용하지 않거나, 실질적으로 길항작용하지 않거나, 이의 결합을 예방하지 않거나 또는 이의 결합을 실질적으로 예방하지 않는다. 일부 실시형태에서, 저해성 분자 반대 리간드 분자는, 저해성 분자에 단량체로서 결합되는 경우(또는 치료 화합물이 다량체화되지 않은 경우의 결합) 저해성 분자를 길항작용시키지 않거나 또는 실질적으로 길항작용시키지 않는다.
- [0129] 서열 동일성, 백분율 동일성 및 관련 용어는, 그 용어가 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 두 서열, 예를 들어, 두 핵산 서열 또는 두 아미노산 또는 폴리펩타이드 서열의 관련성을 지칭한다. 아미노산 서열과 관련하여, 용어 "실질적으로 동일한"은 제1 아미노산 서열 및 제2 아미노산 서열이 공통적인 구조 도메인 및/또는 공통적인 기능성 활성도를 가질 수 있도록 제2 아미노산 서열 내에 정렬된 아미노산 서열과 i) 동일하거나 또는 ii) 이의 보존적 치환인 아미노산 잔기의 충분한 수 또는 최소한의 수를 함유하는 제1 아미노산을 지칭하도록 본 명세서에서 사용된다. 예를 들어, 아미노산 서열은 참조 서열, 예를 들어, 본 명세서에 제공된 서열과 적어도 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 공통 구조 도메인을 함유한다.
- [0130] 뉴클레오타이드 서열과 관련하여, 용어 "실질적으로 동일한"은 제1 뉴클레오타이드 서열 및 제2 뉴클레오타이드 서열이 공통 기능성 활성도를 갖는 폴리펩타이드를 암호화하거나, 또는 공통 구조적 폴리펩타이드 도메인 또는 공통 기능성 폴리펩타이드 활성도를 암호화하도록 제2 핵산 서열 내의 정렬된 뉴클레오타이드와 동일한 뉴클레오타이드의 충분한 수 또는 최소한의 수를 함유하는 제1 핵산 서열을 지칭하도록 본 명세서에서 사용된다. 예를 들어, 뉴클레오타이드 서열은 참조 서열, 예를 들어, 본 명세서에 제공된 서열과 적어도 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는다.
- [0131] 용어 "기능성 변이체"는 자연 발생 서열과 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 갖거나, 또는 실질적으로 동일한 뉴클레오타이드 서열에 의해서 암호화되고, 자연 발생 서열의 하나 이상의 활성도를 가질 수 있는 폴리펩타이드를 지칭한다.
- [0132] 서열 간의 상동성 또는 서열 동일성(이러한 용어는 본 명세서에서 상호 교환 가능하게 사용됨)의 계산은 하기와 같이 수행된다.
- [0133] 두 아미노산 서열, 또는 두 핵산 서열의 백분율 동일성을 결정하기 위해서, 서열을 최적의 비교 목적을 위해서 정렬한다(예를 들어, 최적의 정렬을 위해서 제1 및 제2 아미노산 또는 핵산 서열 중 하나 또는 둘 모두에 갭이 도입될 수 있고, 비상동성 서열은 비교 목적을 위해서 무시될 수 있음). 바람직한 실시형태에서, 비교 목적을 위해서 정렬된 참조 서열의 길이는 참조 서열의 길이의 적어도 30%, 바람직하게는 적어도 40%, 보다 바람직하게는 적어도 50%, 60%, 보다 더 바람직하게는 적어도 70%, 80%, 90%, 100%이다. 이어서 상응하는 아미노산 위치 또는 뉴클레오타이드 위치에서 아미노산 잔기 또는 뉴클레오타이드를 비교한다. 제1 서열 내의 위치가 제2 서열 내의 상응하는 위치와 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오타이드에 의해서 점유되는 경우, 그 분자는 그 위치에서 동일하다(본 명세서에서 사용되는 바와 같이 아미노산 또는 핵산 "동일성"은 아미노산 또는 핵산 "상동성"과 동일하다).
- [0134] 두 서열 간의 백분율 동일성은 두 서열의 최적의 정렬을 위해서 도입될 필요가 있는 갭의 수 및 각각의 갭의 길이를 고려하여, 서열에 의해서 공유된 동일한 위치의 수의 함수이다.
- [0135] 두 서열 간의 서열의 비교 및 백분율 동일성의 결정은 수학 알고리즘을 사용하여 달성될 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 두 아미노산 서열 간의 백분율 동일성은 블라섬(Blossum) 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스, 16, 14, 12, 10, 8, 6 또는 4의 갭 가중 및 1, 2, 3, 4, 5 또는 6의 길이 가중을 사용하여, GCG 소프트웨어 패키지(<http://www.gcg.com>에서 입수 가능함)의 GAP 프로그램에 포함되어 있는 니들만 및 번쉬(Needleman and Wunsch)((1970) J. Mol. Biol. 48:444-453) 알고리즘을 사용하여 결정된다. 추가의 또 다른 바람직한 실시형태에서, 두 뉴클레오타이드 서열 간의 백분율 동일성은 NWSgapdna.CMP 매트릭스 및 40, 50, 60, 70 또는 80의 갭 가중 및 1, 2, 3, 4, 5 또는 6의 길이 가중을 사용하여, GCG 소프트웨어 패키지(<http://www.gcg.com>에서 입수

가능함)의 GAP 프로그램을 사용하여 결정된다. 파라미터의 특히 바람직한 세트(및 달리 명시되지 않는 한 사용되어야 하는 것)는 12의 갭 패널티, 4의 갭 연장된 패널티 및 5의 프레임시프트 갭 패널티를 갖는 블라섬 62 스코어링 매트릭스이다.

[0136] 두 아미노산 또는 뉴클레오타이드 서열 간의 백분을 동일성은 PAM120 가중 잔기 표, 12의 갭 길이 패널티 및 4의 갭 패널티를 사용하여 ALIGN 프로그램(버전 2.0)에 포함된 이. 마이어스(E. Meyers) 및 더블유. 밀러의 알고리즘(W. Miller)((1989) CABIOS, 4:11-17)을 사용하여 결정될 수 있다.

[0137] 본 명세서에 기술된 핵산 및 단백질 서열은 "의문 서열"로서 사용되어 탐색 공공 데이터베이스에 대한 탐색을 수행하여 예를 들어, 다른 패밀리 구성원 또는 관련된 서열을 식별할 수 있다. 이러한 연구는 문헌[Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10]의 NBLAST 및 XBLAST 프로그램(버전 2.0)을 사용하여 수행될 수 있다. BLAST 뉴클레오타이드 연구는 NBLAST 프로그램(점수 = 100, 워드길이 = 12)을 사용하여 수행되어 예를 들어, 본 명세서에 제공된 임의의 핵산 서열에 상동성인 뉴클레오타이드 서열을 수득할 수 있다. BLAST 단백질 연구는 XBLAST 프로그램(점수 = 50, 워드길이 = 3)을 사용하여 수행되어 본 명세서에 제공된 단백질 분자에 상동성인 아미노산 서열을 수득할 수 있다. 비교 목적을 위한 갭이 있는 정렬을 수득하기 위해서, 갭트(Gapped) BLAST를 문헌[Altschul et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402]에 기술된 바와 같이 사용할 수 있다. BLAST 및 갭트 BLAST 프로그램을 이용할 때, 각기 프로그램(예를 들어, XBLAST 및 NBLAST)의 디폴트 파라미터가 사용되었다(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov> 참고).

[0138] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "낮은 엄격성, 중간 엄격성, 높은 엄격성 또는 매우 높은 엄격성 조건 하에서 혼성화한다"는 혼성화 및 세척에 대한 조건을 기술한다. 혼성화 반응을 수행하는 것에 대한 지침은 참고로 포함된 문헌[Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6]에서 찾아볼 수 있다. 문헌에는 수성 방법 및 비수성 방법이 기술되어 있고, 둘 중 하나가 사용될 수 있다. 본 명세서에서 참고된 구체적인 혼성화 조건은 다음과 같다: 1) 약 45°C에서 6X 염화나트륨/시트르산나트륨(SSC) 중에서의 저 엄격성 혼성화 조건, 그 다음 적어도 50°C에서 0.2X SSC, 0.1% SDS 중에서의 2회 세척(세척 온도는 낮은 엄격성 조건의 경우 55°C로 증가될 수 있음); 2) 약 45°C에서 6X SSC 중에서의 중간 엄격성 혼성화 조건, 그 다음 60°C에서 0.2X SSC, 0.1% SDS 중에서 1회 이상의 세척; 3) 약 45°C에서 6X SSC 중에서의 높은 엄격성 혼성화 조건, 그 다음 65°C에서 0.2X SSC, 0.1% SDS 중에서 1회 이상의 세척; 및 바람직하게는 4) 매우 높은 엄격성 혼성화 조건은 65°C에서 0.5M 인산나트륨, 7% SDS, 그 다음 65°C에서 0.2X SSC, 1% SDS에서 1회 이상의 세척임. 매우 높은 엄격성 조건 (4)이 바람직한 조건이고, 달리 명시되지 않는 한 사용되어야 하는 것이다.

[0139] 본 실시형태의 분자 및 화합물은 이의 기능에 상당한 효과를 갖지 않는 추가적인 보존적 또는 비필수적인 아미노산 치환을 가질 수 있다.

[0140] 용어 "아미노산"은 자연적이든 합성적이든 모든 분자를 포함하도록 의도되며, 이것은 아미노 작용기 및 산 작용기 둘 모두를 포함하고, 자연 발생 아미노산의 중합체에 포함될 수 있다. 예시적인 아미노산은 자연 발생 아미노산; 이의 유사체, 유도체 및 유사물; 가변 측쇄를 갖는 아미노산 유사체; 및 하기 중 임의의 것의 모든 입체 이성질체를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "아미노산"은 D- 또는 L- 광학 이성질체 및 펩티도미메틱을 포함한다.

[0141] "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 치환된 것이다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리는 관련 기술 분야에 정의되어 있다. 이러한 패밀리는 염기성 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 라이신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전된 극성 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 타이로신, 시스테인), 비극성 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 아이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지형 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 트레오닌, 발린, 아이소류신) 및 방향족 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 타이로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)을 포함한다. CD39 분자, CD73 분자, 세포 표면 분자 결합기, 공여자 특이적 표적화 모이어티 효과기 리간드 결합 분자, ICIM 결합/조절 모이어티 IIC 결합/조절 모이어티, 저해성 면역 관문 분자 리간드 분자, 저해성 분자 반대 리간드 분자, SM 결합/조절 모이어티, SM 결합/조절 모이어티는, 그 용어가 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 치료 화합물의 부분으로서, 예를 들어, 상기 표적의 근처에 상기 표적의 상기 면역계에 의한 공격을 저해 또는 최소화하는 물질을 제공함으로써, 면역 억제성 국지적 미세환경을 촉진시키는 효과기 결합/조절 모이어티를 지칭한다. 일부 실시형태에서, SM 결합/조절 모이어티는 표적에 의해서 면역계에 의한 공격을 저해하거나 최소화하는 분자를 포함하거나, 이에 결합한다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 면역억제성 기능을 갖는, 가용성 물질, 예를 들어, 내인성 또는 외

인성 물질에 결합하고, 이를 축적하는 SM 결합/조절 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 면역 공격을 촉진시키는 물질, 예를 들어, 가용성 물질, 전형적으로 내인성 가용성 물질에 결합하고, 이를 저해하거나, 격리시키거나, 분해시키거나 또는 달리 중화시키는 SM 결합/조절 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 면역-억제성 물질, 예를 들어, 면역억제성인 것으로 공지된 단백질의 단편을 포함하는 SM 결합/조절 모이어티를 포함한다. 예의 방식에 의해서, 효과기 분자 결합 모이어티는 면역 효과기 세포 기능을 촉진시키는 성분, 예를 들어, ATP 또는 AMP를 고갈시키는 물질, 예를 들어, CD39 분자 또는 CD73 분자에 결합하거나, 이를 포함한다.

[0142] 특이적 표적화 모이어티는, 그 용어가 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 공여자 특이적 표적화 모이어티 또는 조직 특이적 표적화 모이어티를 지칭한다.

[0143] 대상체는, 그 용어가 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 포유동물 대상체, 예를 들어, 인간 대상체를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 대상체는 비-인간 포유동물, 예를 들어, 말, 개, 고양이, 소, 염소 또는 돼지이다.

[0144] 표적 리간드 결합 분자는, 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 그것이 특이적 표적화 모이어티로서 작용할 수 있는 충분한 특이성으로 표적 조직(예를 들어, 공여자 조직 또는 대상체 표적 조직) 상의 표적 리간드에 결합할 수 있는 표적 리간드의 자연 발생 반대-리간드로부터의 충분한 서열을 갖는 폴리펩타이드를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 그것은 자연 발생 반대-리간드의 친화도의 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 95%로 표적 조직 또는 세포에 결합한다. 일부 실시형태에서, 그것은 표적 리간드에 대한 자연 발생 반대-리간드와 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 99, 또는 100% 서열 동일성 또는 상당한 서열 동일성을 갖는다.

[0145] 표적 부위는, 그 용어가 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 표적화 모이어티에 의해서 결합되는 엔티티, 예를 들어, 에피토프를 함유하는 부위를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 표적 부위는 면역 회피가 확립되는 부위이다.

[0146] 조직 특이적 표적화 모이어티는, 그 용어가 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 치료 분자의 성분으로서, 대상체의 다른 조직과 대조적인 바와 같이, 표적 분자에 우선적으로 치료 분자를 국지화시키는 모이어티, 예를 들어, 항체 분자를 지칭한다. 치료 화합물의 성분으로서, 조직 특이적 표적화 모이어티는 표적 조직, 예를 들어, 자가 면역 공격을 겪고 있거나 이의 위험이 있는 기관 또는 조직에 부위-특이적 면역 회피를 제공한다. 일부 실시형태에서, 조직 특이적 표적화 모이어티는 표적 조직 외부에 존재하지 않거나, 또는 치료 분자의 치료 농도에서, 면역 억제의 허용 가능하지 않은 수준이 존재하지 않거나 또는 실질적으로 존재하지 않는 충분히 낮은 수준으로 존재하는 산물, 예를 들어, 폴리펩타이드 산물에 결합한다. 일부 실시형태에서, 조직 특이적 표적화 모이어티는 에피토프에 결합하는데, 여기서 에피토프는 표적 부위 외부에 존재하지 않거나 표적 부위 외부에 실질적으로 존재하지 않는다.

[0147] 일부 실시형태에서, 치료 화합물의 성분으로서, 조직 특이적 표적화 모이어티는 표적 조직 또는 표적 조직 항원에 우선적으로 결합하고, 예를 들어, 비표적 조직 또는 표적 조직 외부에 존재하는 항원에 대한 이의 친화도보다 표적 항원 또는 조직에 대해서 더 높은, 예를 들어, 적어도 2, 4, 5, 10, 50, 100, 500, 1,000, 5,000 또는 10,000배 더 높은 표적 조직 또는 항원에 대한 결합 친화도를 갖는다. 조직 특이적 모이어티가 성분인 치료 화합물의 친화도는 세포 현탁물 중에서 측정될 수 있고, 예를 들어, 표적 항원을 갖는 현탁된 세포에 대한 친화도를 표적 항원을 갖지 않는 현탁된 세포에 대한 친화도와 비교한다. 일부 실시형태에서, 표적 항원 보유 세포에 대한 결합 친화도는 10nM 미만이다.

[0148] 일부 실시형태에서, 표적 항원 보유 세포에 대한 결합 친화도는 100pM, 50pM, 또는 10pM 미만이다. 일부 실시형태에서, 표적 항원에 대한 특이성은, 조직 특이적 표적화 모이어티가 면역-하향 조절 효과기에 커플링되는 경우, i) 임상 설정에서, 예를 들어, 조직학적 염증성 반응, 침윤성 T 효과기 세포, 또는 기관 기능에 의해서 측정되는 경우, 표적 조직의 면역 공격 - 예를 들어, 신장의 경우 크레아티닌이, 조직 특이적 표적화 모이어티가 면역-하향 조절 효과기에 커플링되는 것이 결핍된 것을 제외하고는 달리 유사한 이식에서 인지되는 것과 비교할 때 실질적으로 낮아지고; 그리고/또는 ii) 표적 조직의 외부 또는 멀리서 수용자에서의 면역 기능은 실질적으로 유지되기에 충분하다.

[0149] 일부 실시형태에서, 하기 중 하나 이상의 인지된다: 치료 화합물의 치료 수준에서, 말초 혈액 림프구 수치는 실질적으로 영향을 받지 않고, 예를 들어, T 세포의 수준은 정상치의 25, 50, 75, 85, 90 또는 95% 이내이고/이거나, B 세포의 수준은 정상치의 25, 50, 75, 85, 90 또는 95% 이내이고/이거나 과립구(PMN) 세포의 수준은 정상치의 25, 50, 75, 85, 90 또는 95% 이내이거나, 또는 단핵구의 수준은 정상치의 25, 50, 75, 85, 90 또는 95% 이내이고; 치료 화합물의 치료 수준에서, 비-질환 관련 항원에 대한 PBMC(말초 혈액 단핵 세포)의 생체외 증식

기능은 실질적으로 정상이거나 또는 정상치의 70, 80 또는 90% 이내이고; 치료 화합물의 치료 수준에서, 면역억제제와 연관된 암 및 기회 감염성 감염의 발생률 또는 위험이 정상치보다 실질적으로 증가되지 않거나; 치료 화합물의 치료 수준에서, 면역억제제와 연관된 암 및 기회 감염성 감염의 발생률 또는 위험이 표준 치료, 또는 비-표적화된 면역억제제에서 인지되는 것보다 실질적으로 더 낮다. 일부 실시형태에서, 조직 특이적 표적화 모이어티는 항체 분자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 공여자 특이적 표적화 모이어티는 항체 분자, 표적 특이적 결합 폴리펩타이드, 또는 표적 리간드 결합 분자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 조직 특이적 표적화 모이어티는 표적 조직 상에 존재하거나 또는 독점적으로 또는 실질적으로 독점적으로 발현되는 산물, 또는 산물 상의 부위에 결합한다.

[0150] **ICIM 결합/조절 모이어티: 저해성 수용체에 결합하는 효과기 결합/조절 모이어티**

[0151] 본 명세서에 기술된 방법 및 화합물은 면역 세포의 표면 상의 저해성 수용체에 직접 결합하여 이를 활성화시켜, 예를 들어, 면역 공격을 매개하는 면역 세포의 능력을 감소시키거나 제거하거나 또는 실질적으로 제거하는 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함하는 효과기 결합/조절 모이어티를 갖는 치료 화합물을 제공한다. 표적화 엔티티에 대한 ICIM 결합/조절 모이어티의 커플링은 예를 들어, 표적화 모이어티에 대한 결합 부위를 갖는 위치에 실질적으로 제한된, 면역 세포 반응의 부위-특이적 또는 국지적 하향 조절을 촉진시킨다. 따라서, 정상 전신 면역 기능은 실질적으로 유지된다. 일부 실시형태에서, ICIM 결합/조절 모이어티는 저해성 면역 관문 분자 반대 리간드 분자, 예를 들어, 저해성 면역 관문 분자의 자연 리간드, 또는 자연 리간드의 단편(예를 들어, PD-L1 또는 HLA-G)을 포함한다. 일부 실시형태에서, ICIM 결합/조절 모이어티는 저해성 면역 관문 분자를 결속하는 기능성 항체 분자, 예를 들어, scFv 결합 도메인을 포함하는 기능성 항체 분자를 포함한다.

[0152] 일부 실시형태에서, 예를 들어, 기능성 항체 분자, 또는 저해성 면역 관문 분자 리간드 분자를 포함하는 ICIM 결합/조절 모이어티는 저해성 수용체에 결합하지만, 저해성 수용체에 대한 저해성 수용체의 리간드의 결합을 예방하지 않는다. 실시형태에서 표적화 모이어티가 예를 들어, scFv 도메인을 포함하는, ICIM 결합/조절 모이어티에 커플링되고, 예를 들어, 융합되고, 저해성 수용체의 결합 시에, 용액 중에(예를 들어, 혈액 또는 림프 중에)(그리고 아마도 단량체 포맷으로) 존재하면서, 치료 분자는 i) 면역 세포 상의 저해성 수용체를 효능작용시키는 데 실패하거나, 또는 실질적으로 효능작용시키는데 실패하고(예를 들어, 완전 효능작용 분자에서 인지되는 수준의 30, 20, 15, 10 또는 5% 미만으로 효능작용시킴); 그리고/또는 ii) 면역 세포 상의 저해성 수용체를 길항작용시키는 데 실패하거나 또는 실질적으로 길항작용시키는 데 실패(예를 들어, 완전 길항작용 분자에서 인지되는 수준의 30, 20, 15, 10 또는 5% 미만으로 길항작용함)하도록 구성된 포맷이 사용된다. 후보물질 분자는 예를 들어, MLR-기반 검정(혼합 림프구 반응)을 사용하여, 시험관내 세포 기반 검정(여기서 표적은 발현되지 않음)에서, 면역 반응을 증가시키거나 감소시키는 능력에 의해서 효능작용시키거나 효능작용시키지 않는 능력에 대해서 평가될 수 있다.

[0153] 일부 실시형태에서, 후보물질 ICIM 결합/조절 모이어티는 전신 면역억제 및 전신 면역 활성화를 감소시키거나, 완전히 또는 실질적으로 제거할 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물의 표적화 도메인은, 표적에 결합되는 경우, 면역 보호가 바람직한 조직의 표면 상에서 치료 화합물을 클러스터링시키거나 다량체화하는 기능을 할 것이다. 일부 실시형태에서, ICIM 결합/조절 모이어티, 예를 들어, scFv 도메인을 포함하는 ICIM 결합/조절 모이어티는 효능작용성 및 면역억제성 신호, 또는 이러한 신호의 상당한 수준을 국지적 면역 세포에 전달할 수 있기 위해서 클러스터링 또는 다량체 상태가 필요하다. 이러한 유형의 치료는 예를 들어, 전신 면역계를 동요시키지 않거나 실질적으로 동요시키지 않게 하면서 국지적 면역 억제를 제공할 수 있다. 즉, 면역 억제는, 전신성 및 특정 면역 또는 조직 유형에 국지화되지 않는 것과 상반되게 억제에 필요한 곳에 국지화된다.

[0154] 일부 실시형태에서, 표적, 예를 들어, 표적 기관, 조직 또는 세포 유형에 대한 결합 시에, 치료 화합물은 표적, 예를 들어, 표적 기관, 조직 또는 세포 유형을 파괴한다. 순환 림프구가 표적에 결속하고, 이를 파괴하려고 시도하는 경우, 이러한 치료는 치료 화합물이 축적된 부위에서만 또는 그 부위에서 더 높은 정도로 '오프' 신호를 제공할 것이다.

[0155] 후보물질 치료 화합물은 예를 들어, ELISA, 세포 기반 검정, 표면 플라즈몬 공명에 의해서, 표적에 결합하는, 예를 들어, 특이적으로 결합하는 능력에 대해서 평가될 수 있다. 이러한 특성은 일반적으로 최대화되어야 하는데, 그 이유는 그것이 면역 회피의 부위 특이성 및 국지적 본성을 매개하기 때문이다. 후보물질 치료 화합물은 예를 들어, 세포 기반 활성도 검정에 의해서 표적에 결합되는 경우 면역 세포를 하향 조절하는 능력에 대해서 평가될 수 있다. 이러한 특성은 일반적으로 최대화되어야 하는데, 그 이유는 그것이 면역 회피의 부위 특이성 및 국지적 본성을 매개하기 때문이다. 단량체(또는 비결합된) 형태에서 후보물질 치료 화합물에 의해서 영향을

받은 하향 조절의 수준은 예를 들어, 세포 기반 활성화도 검정에 의해서 평가될 수 있다. 이러한 특성은 일반적으로 최소화되어야 하는데, 그 이유는 면역계의 전신 하향 조절을 매개할 수 있기 때문이다. 단량체(또는 비결합된) 형태에서 후보물질 치료 화합물에 의해서 영향을 받은, 세포 표면 저해성 분자, 예를 들어, 저해성 면역 관문 분자의 길항작용의 수준은 예를 들어, 세포 기반 활성화도 검정에 의해서 평가될 수 있다. 이러한 특성은 일반적으로 최소화되어야 하는데, 그 이유는 면역계의 원치 않은 전신 활성화를 매개할 수 있기 때문이다. 일반적으로, 이러한 특성은 저해성 면역 관문 분자의 비-부위 특이적 효능작용 또는 길항작용의 허용 가능하지 않은 수준 없이 충분히 강력한 부위 특이적 면역 회피를 생성하도록 선택되고 균형을 이루어야 한다.

[0156] **예시적인 저해성 면역 관문 분자**

[0157] 예시적인 저해성 분자(예를 들어, 저해성 면역 관문 분자)(이의 반대 리간드와 함께)를 표 1에서 찾아볼 수 있다. 이 표는 예시적인 ICIM 결합 모이어티가 결합할 수 있는 분자를 열거한다.

표 1

[0158]

세포 표면 저해성 분자, 예를 들어, 저해성 면역 관문 분자(칼럼 A), 반대 리간드(칼럼 B) 및 영향을 받는 세포 유형(칼럼 C).		
A	B	C
PD-1	PD-1, PD-2	T 세포, B 세포
알칼리성 포스파타제		
B7-H3	미지	T 세포
B7-H4	뉴로필린 1, 뉴로필린 2, 플렉신 4A	T 세포
BTLA	HVEM	T 세포, B 세포
CTLA-4	CD80, CD86	T 세포
IDO1	트립토판	림프구
TDO2	트립토판	림프구
KIR2DL1, KIR2DL2/3, KIR3DL1, KIR3DL2	HLA MHC 클래스 I	NK 세포
LAG3	HLA MHC 클래스 II	T 세포
TIM-3	갈렉틴-9	T 세포
VISTA	미지	T 세포, 골수 세포
TIGIT	CD155	T 세포
KIR2DL4	HLA-G	NK 세포
LILRB1	HLA-G	T 세포, NK 세포, B 세포, 단핵구, 수지상 세포
LILRB2	HLA-G	단핵구, 수지상 세포, 호중구, 일부 종양 세포
NKG2A	비고전적인 MHC 당단백질 클래스 I	T 세포, NK 세포
FCRL1-6	FCRL1 - 2 미지 FCRL4 = IgA FCRL5 = IgG FCRL6 = MHC 클래스 II	B 세포
	부티로필린, 예를 들어 BTN1A1, BTN2A2, BTNL2, BTNLI, BTNL8	면역 세포의 조절

[0159] **PD-L1/PD-1 경로**

[0160] 세포 예정사 단백질 1(종종 PD-1라고 지칭됨)은 면역글로불린 슈퍼패밀리에 속하는 세포 표면 수용체이다. PD-1은 T 세포 및 B 세포, 골수 세포, 수지상 세포, 단핵구, T 조절 세포, iNK T 세포를 포함하지만 이들로 제한되지 않는 기타 세포 상에서 발현된다. PD-1은 2개의 리간드, PD-L1 및 PD-L2에 결합하고, 저해성 면역 관문 분자이다. 항원 적재된 MCH와 T 세포 상의 T 세포 수용체의 결속과 관련하여 동족 리간드, PD-L1 또는 PD-L2와의 결속은 T 세포의 활성화 및 기능을 최소화하거나 예방한다. PD-1의 저해성 효과는 림프절에서 항원 특이적 T-세포에서 아포토시스(apoptosis)(세포 예정사)를 촉진시키고, 조절 T 세포(억제자 T 세포)에서 아포토시스를 감소시

키는 것을 포함할 수 있다.

- [0161] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 PD-1 저해를 효능작용시키는 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함한다. ICIM 결합/조절 모이어티는 예를 들어, PD-1의 리간드의 단편(예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2의 단편)을 포함하는 저해성 분자 반대 리간드 분자 또는 예를 들어, PD-1에 결합하는 scFv 도메인을 포함하는 또 다른 모이어티, 예를 들어, 기능성 항체 분자를 포함할 수 있다.
- [0162] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 대상체에 존재하지 않거나 실질적으로 낮은 수준으로 존재하는 공여자 항원, 예를 들어, 표 2로부터의 공여자 항원에 우선적으로 결합하고, 대상체에서 공여자 이식 조직에 국지화되는 표적화 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 그것은 다른 조직에 결합하지 않거나 실질적으로 결합하지 않는다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 HLA-A2에 특이적이고, 공여자 동종이식편 조직에 특이적으로 결합하지만 숙주 조직에 결합하지 않거나 실질적으로 결합하지 않는 표적화 모이어티를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 ICIM 결합/조절 모이어티, 예를 들어, PD-1의 리간드의 단편(예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2의 단편)을 포함하는 저해성 분자 반대 리간드 분자 또는 예를 들어, 표적에 결합하는 경우, 치료 화합물이 PD-1을 활성화시키도록 예를 들어, PD-1에 결합하는 scFv 도메인을 포함하는 또 다른 모이어티, 예를 들어, 기능성 항체 분자를 포함한다. 치료 화합물은 동종이식편을 표적으로 하고, 동종이식편에 국지적 면역 회피를 제공한다.
- [0163] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 표 3의 항원에 우선적으로 결합하고, 대상체, 예를 들어, 자가면역 장애, 예를 들어, 표 3의 자가면역 장애를 갖는 대상체에서 표적에 국지화되는 표적화 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 그것은 다른 조직에 결합하지 않거나 실질적으로 결합하지 않는다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 ICIM 결합/조절 모이어티, 예를 들어, PD-1의 리간드의 단편(예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2의 단편)을 포함하는 저해성 분자 반대 리간드 분자 또는 예를 들어, 표적에 결합하는 경우, 치료 화합물이 PD-1을 활성화시키도록 예를 들어, PD-1에 결합하는 scFv 도메인을 포함하는 또 다른 모이어티, 예를 들어, 기능성 항체 분자를 포함한다. 치료 화합물은 자가면역 공격에 대한 대상인 조직을 표적으로 하고, 그 조직에 국지적 면역 회피를 제공한다.
- [0164] PD-L1 및 PDL2, 또는 이로부터 유래된 폴리펩타이드는 후보물질 ICIM 결합 모이어티를 제공할 수 있다. 그러나, 단량체 형태로, 예를 들어, 치료 화합물이 혈액 또는 림프에서 순환하는 경우, 이 분자는 PD-L1/PD-1 경로를 길항작용시키는 바람직하지 않은 효과를 가질 수 있고, 표적, 예를 들어, 표적 기관의 표면 상에 클러스터링 또는 다량체화되는 경우 PD-1 경로를 단지 효능작용시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 가용성 형태에서 PD-1 경로에 불활성이거나 실질적으로 불활성이지만, 조직의 표면 상에 (표적화 모이어티에 의해서) 다량체화되는 경우 효능작용하여 저해성 신호를 지시하는 기능성 항체 분자, 예를 들어, scFv 도메인을 포함하는 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함한다.
- [0165] **HLA-G: KIR2DL4 / LILRB1 / LILRB2 경로**
- [0166] KIR2DL4, LILRB1 및 LILRB2는 T 세포, NK 세포 및 골수 세포 상에서 발견되는 저해성 분자이다. HLA-G는 각각에 대한 반대 리간드이다.
- [0167] KIR2DL4는 CD158D, G9P, KIR-103AS, KIR103, KIR103AS, KIR, KIR-2DL4, 살해 세포 면역글로불린 유사 수용체, 및 2개의 Ig 도메인 및 긴 세포질 꼬리 4라고도 공지되어 있다. LILRB1는 LILRB1, CD85J, ILT-2, ILT2, LIR-1, LIR1, MIR-7, MIR7, PIR-B, PIRB, 백혈구 면역글로불린 유사 수용체 B1이라고도 공지되어 있다. LILRB2는 또한 CD85D, ILT-4, LIR-2, LIR2, MIR-10, MIR10 및 ILT4라고도 공지되어 있다.
- [0168] HLA-G 분자를 포함하는 치료 화합물을 사용하여 KIR2DL4, LILRB1 및 LILRB2 중 임의의 것을 포함하는 면역 세포에 저해성 신호를 제공할 수 있고, 예를 들어, HLA-G 분자를 포함하는 다량체화된 치료 화합물 분자를 사용하여 따라서 부위-특이적 면역 회피를 제공한다.
- [0169] 효능작용 항-KIR2DL4, 항-LILRB1, 또는 항-LILRB2 항체 분자를 포함하는 치료 화합물을 사용하여 KIR2DL4, LILRB1 및 LILRB2 중 임의의 것을 포함하는 면역 세포에 저해성 신호를 제공할 수 있다.
- [0170] 다량체화되는 경우, 예를 들어, 세포의 표면 상에서 발현되는 경우 또는 비드의 표면에 접합되는 경우 HLA-G 만 저해성 신호를 전달한다. 실시형태에서, 치료 화합물이 용액 중에서 다량체화되지 않는(또는 저해성 분자 효능작용의 상당한 수준을 유발하기에 충분하게 다량체화되지 않는) HLA-G 분자를 포함하는 치료 화합물이 제공된다. 용액 중에서 다량체화를 최소화하는 HLA-G 분자의 사용은 면역 세포의 전신 효능작용 및 원치 않는

면역 억제를 최소화할 것이다.

- [0171] 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, HLA-G는 다량체화되지 않는 한 하향 조절에 효과적이지 않고, 표적화 모이어티를 통한 표적에 대한 치료 화합물의 결합이 ICIM 결합 엔티티를 다량체화하고, 다량체화된 ICIM 결합 엔티티가 면역 세포의 표면 상의 저해성 분자에 결합하고, 이를 클러스터링하여, 면역 세포를 하향 조절하는 음성 신호를 매개한다고 여겨진다. 따라서, 항원 제시 세포 및 기타 골수 세포, NK 세포 및 T 세포를 비롯한 표적 조직을 손상시키려고 시도하는 침윤성 면역 세포가 하향 조절된다.
- [0172] 단량체 형태인 경우 HLA-G 분자가 길항작용을 최소화하는 것이 바람직하지만, LILRB1 및 LILRB2의 중복성은 일부 단량체 길항작용에서도 전신에 대한 영향을 최소화할 것이다.
- [0173] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 HLA-G 분자, 예를 들어, B2M-무함유 아이소폼(예를 들어, HLA-G5)을 포함하는 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함한다(문헌[Carosella et al., *Advances in Immunology*, 2015, 127:33]참고). B2M-무함유 포맷에서, HLA-G는 LILRB2에 우선적으로 결합한다.
- [0174] HLA-G 분자의 작제에 적합한 서열은 젠뱅크 P17693.1 RecName: Full=HLA 클래스 I 조직적합성 항원, 알파쇄 G; AltName: Full=HLA G 항원; AltName: Full=MHC 클래스 I 항원 G; Flags: 전구체, 또는 하기 서열을 포함한다:
MVMAPRTLFLLLSGALTLTETWAGSHSMRYFSAAVSRPGRGEPRIAMGYVDDTQFVRFDSDSACPRMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKAHAQTDRMNLQTLRGYYNQSEASSHTLQWMIGCDLGSGRLLRGYEQYAYDGKDYALNEDLRSWTAADTAAQISKRKCEANVAEQRRAYLEGTCVEWLHRYLENGKEMLRADPPKTHVTHHPVFDYEATLRCWALGFYPAEIILTWQRDGEDQTDVELVETRPAGDGTQKWAADVVPSPGEEQRYTCHVQHEGLPEPLMLRWKQSSSLPTIPIMGIVAGLVVLAAVVTGAAVAVALWRKKSSD(서열번호 5). 후보물질 HLA-G 분자는 예를 들어, 문헌["Synthetic HLA-G proteins for therapeutic use in transplantation," LeMaout et al., 2013 *The FASEB Journal* 27:3643]에 기술된 것과 유사한 방법에 의해서, 방법 및 화합물에서 사용하기 위한 적합성에 대해서 시험될 수 있다.
- [0175] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 대상체에 존재하지 않거나 실질적으로 낮은 수준으로 존재하는 공여자 항원, 예를 들어, 표 2로부터의 공여자 항원에 우선적으로 결합하고, 대상체에서 공여자 이식 조직에 국지화되는 표적화 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 그것은 다른 조직에 결합하지 않거나 실질적으로 결합하지 않는다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 HLA-A2에 특이적이고, 공여자 동종이식편에 특이적으로 결합하지만 숙주 조직에 결합하지 않는 표적화 모이어티를 포함할 수 있고, 예를 들어, 표적에 결합되는 경우, 치료 화합물이 KIR2DL4, LILRB1 또는 LILRB2를 활성화시키도록 KIR2DL4, LILRB1 또는 LILRB2에 결합하는 HLA-G 분자를 포함하는 ICIM 결합/조절 모이어티와 조합된다. 치료 화합물은 동종이식편을 표적으로 하고, 동종이식편에 국지적 면역 회피를 제공한다.
- [0176] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 조직 특이적 항원, 예를 들어, 표 3으로부터의 항원에 우선적으로 결합하고, 대상체, 예를 들어, 자가면역 장애, 예를 들어, 표 3으로부터의 자가면역 장애를 갖는 대상체에서 표적 부위에 국지화되는 표적화 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 그것은 다른 조직에 결합하지 않거나 실질적으로 결합하지 않는다. 실시형태에서, 치료 화합물은 예를 들어, 표적에 결합되는 경우, 치료 화합물이 KIR2DL4, LILRB1 또는 LILRB2를 활성화시키도록 KIR2DL4, LILRB1 또는 LILRB2에 결합하는 HLA-G 분자를 포함하는 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함한다. 치료 화합물은 자가면역 공격에 대한 대상인 조직을 표적으로 하고, 그 조직에 국지적 면역 회피를 제공한다.
- [0177] LILRB1에 또한 결합할 수 있는 안정적이고, 가용성인 HLA-G-B2M 융합 단백질을 조작하는 것이 마찬가지로 가능하다. 예를 들어, HLA-G의 결정 구조는 HLA-G/B2M 단량체를 사용하여 결정되었다(Clements et al. 2005 *PNAS* 102:3360).
- [0178] **FCRL 패밀리**
- [0179] FCRL1-6은 일반적으로 B 세포 활성화 또는 기능을 저해한다. 이러한 타입 1 막관통 당단백질은 5개 유형의 면역 글로불린-유사 도메인의 상이한 조합물로 구성되는데, 각각의 단백질은 3 내지 9개의 도메인으로 이루어지고, 개별 도메인 유형 중 어느 것도 FCRL 단백질 모두 전체에서 보존되지 않는다. 일반적으로, FCRL 발현은 림프구에 제한되고, B-림프구에서 주로 발현된다. 일반적으로, FCRL은 B-세포 활성화를 억제하는 기능을 한다.
- [0180] ICIM 결합/조절 모이어티는 효능작용 항-BCMA 항체 분자를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료화합물은 항-FCRL 항체 분자 및 항-B 세포 수용체(BCR) 항체 분자를 포함한다. 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, 두 특이성 모두의 항체 분자를 포함하는 치료 화합물은 FCRL을 BCR와 가까운 근접부로 보내서, BCR 신호전달을 저해

한다.

[0181] 부티로필린 및 부티로필린-유사 분자

[0182] 효과기 결합/조절 모이어티는 부티로필린의 효능제 또는 길항제를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 효과기 결합/조절 모이어티는 효능작용성 또는 기능성 BTN1A1 분자, BTN2A2 분자, BTNL2 분자 또는 BTNL1 분자를 포함한다.

[0183] 기능성 BTNXi 분자(여기서 Xi=1A1, 2A2, L2 또는 L1)는, 그 용어가 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 치료 화합물의 부분으로서, 그것이 T 세포를 저해하는 충분한 BTNXi 서열을 갖는 폴리펩타이드를 지칭한다. 일부 실시형태에서, BTNXi 분자는 자연 발생 부티로필린 또는 부티로필린-유사 분자와 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 99, 또는 100% 서열 동일성 또는 실질적인 서열 동일성을 갖는다.

[0184] 일부 실시형태에서, 효과기 결합/조절 모이어티는 길항작용성 BTNL8 분자를 포함한다.

[0185] 길항작용성 BTNL8 분자는, 그 용어가 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 치료 화합물의 부분으로서, 그것이 휴지기 T 세포에 의한 활성화, 증식, 또는 사이토카인의 분비를 저해하는 충분한 BTNL8 서열을 갖는 폴리펩타이드를 지칭한다. 일부 실시형태에서, BTNL8 분자는 자연 발생 부티로필린과 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 99, 또는 100% 서열 동일성 또는 실질적인 서열 동일성을 갖는다.

[0186] IIC 결합/조절 모이어티: 면역억제성 T 세포를 모집하는 효과기 결합/조절 모이어티

[0187] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 표적화 모이어티에 의해서 매개되는 부위에서, 면역억제성 세포, 예를 들어, 면역억제성 T 세포에 결합하거나, 이를 활성화시키거나 또는 이를 보유하는 효과기 결합/조절 모이어티, 예를 들어, IIC 결합/조절 모이어티를 포함하여, 부위-특이적 면역 회피를 제공한다. IIC 결합/조절 모이어티, 예를 들어, scFv 결합 도메인을 포함하는, 예를 들어, 항체 분자를 포함하는 IIC 결합/조절 모이어티는 면역억제성 세포 유형, 예를 들어, Treg, 예를 들어, Foxp3+CD25+ Treg에 결합한다. 기관, 조직 또는 특이적 세포 유형 반응은 표적 기관의 근위에서 Treg의 상당한 증가 및 표적 기관 침윤과 연관되고; 실시형태에서, 본 명세서에 기술된 방법 및 화합물은 이러한 생리학적 상태를 합성적으로 재생성하고, 모방한다. Treg의 축적 시, 면역계로부터 관심대상 기관을 보호하는 작용을 하는 면역억제성 미세환경이 생성된다.

[0188] Treg 및 TGFB 표적화 분자로서의 GARP-결합기

[0189] GARP는 활성화된 Treg의 표면 상에서 발현되는 잠복 TGF-베타에 대한 막 단백질 수용체이다(Tran et al. 2009 PNAS 106:13445 및 Wang et al. 2009 PNAS 106:13439). 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 가용성 GARP 및 GARP-발현 세포 중 하나 또는 둘 모두, 예컨대, 활성화된 인간 Treg에 결합하는 IIC 결합 엔티티, 및 치료 화합물을 관심대상 표적 조직에 표적화하는 표적화 모이어티를 포함한다. GARP-결합기를 포함하는 IIC 결합/조절 모이어티는 예를 들어, 항-GARP 항체 분자, 예를 들어, 항-GARP scFv 도메인을 포함하는 IIC 결합/조절 모이어티를 포함한다. 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, GARP 결합기를 포함하는 치료 화합물은 치료 화합물의 표적화 모이어티에 의해서 표적화되는 부위, 예를 들어, 이식편 또는 기관 손상 부위에서 GARP-발현 Treg의 축적을 달성한다고 여겨진다. 다시, 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, GARP 결합기 효과를 포함하는 치료 화합물은 또한 기관 손상 부위에서 가용성 GARP의 축적을 달성할 수 있고, 이것은 국지적 방식으로, 면역 억제성 사이토카인인 TGFB1에 결합하고, 이를 활성화시키는 기능을 할 것이라고 여겨진다(Fridrich et al. 2016 PLoS One 11:e0153290; doi: 10.1371/journal.pone.0153290 및 Hahn et al. 2013 Blood 15:1182). 따라서, GARP 결합기를 포함하는 효과기 결합/조절 모이어티는 IIC 결합/조절 모이어티로서 또는 SM 결합/조절 모이어티로서 작용할 수 있다.

[0190] Treg 표적화 및 T 효과기 세포 침묵 분자로서의 CTLA4

[0191] 일부 실시형태에서, 효과기 결합/조절 모이어티는 예를 들어, Treg의 표면 상에서 발현되는 CTLA4에 결합하는 항체 분자, 예를 들어, scFv 도메인을 포함한다. 치료 분자는 표적 부위에서 CTLA4+ Treg를 축적하거나 보유하고, 그 결과 국지적 면역억제가 발생한다.

[0192] Treg 상에서 보다 높게 발현되지만, CTLA4는 활성화된 T 세포 상에서도 발현된다. 효과기 결합/조절 모이어티, 예를 들어, 항-CTLA4 항체, 또는 기능성 항-CTLA4 항체를 포함하는 치료 화합물은 CTLA4 발현 T 세포를 하향 조절할 수 있다. 따라서, CTLA4에 결합하는 효과기 결합/조절 모이어티를 포함하는 치료 화합물에서, 효과기 모이어티는 ICIM 결합/조절 모이어티로서도 작용할 수 있다.

- [0193] 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 결합기는 단량체 포맷으로 존재하는 경우에는 길항작용되거나 효능작용되지 않고, 표적에 결합할 때 클러스터링되거나 다량체화되는 경우에만 효능작용된다.
- [0194] 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, 표적화 모이어티를 통한, 표적에 대한 치료 화합물의 결합은 치료 화합물의 다량체화를 달성한다고 여겨진다. 기억 또는 활성화된 T 세포의 경우, 치료 화합물의 효과기 결합/조절 모이어티에 의해서 결합된 CTLA4는 클러스터링되고, 기억 및 활성화된 T 세포에 의해서 발현되는 CTLA4의 결속에 의해서 저해성 신호를 전달한다.
- [0195] 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 결합기는 단량체 포맷으로 존재하는 경우에는 길항작용되거나 효능작용되지 않고, 표적에 결합할 때 클러스터링되거나 다량체화되는 경우에만 효능작용된다.
- [0196] **GITR-결합기**
- [0197] GITR(CD357)은 Treg 상에 존재하는 세포 표면 마커이다. GITR-GITRL 상호작용의 차단은 Treg 기능을 유지시킨다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 GITR-발현 Treg 세포에 결합하는 IIC 결합 엔티티, 및 치료 화합물을 관심대상 표적 조직에 표적화하는 표적화 모이어티를 포함한다.
- [0198] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 항-GITR 항체 분자, 예를 들어, GITRL에 대한 GITR의 결합을 저해하는 항-GITR 항체 분자를 포함한다.
- [0199] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 항-GITR 항체 분자, GITRL에 대한 GITR의 결합을 저해하는 항-GITR 항체 분자 및 PD-1 효능제 또는 본 명세서에 기술된 다른 효과기를 포함한다.
- [0200] 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, GITR 결합기를 포함하는 치료 화합물은 치료 화합물의 표적화 모이어티에 의해서 표적화되는 부위, 예를 들어, 이식편 또는 기관 손상 부위에서 GITR-발현 Treg의 축적을 달성한다고 여겨진다.
- [0201] **부티로필린/부티로필린-유사 분자**
- [0202] 효과기 결합/조절 모이어티는 효능작용성 BTNL2 분자를 포함할 수 있다. 이론에 얽매이고자 함은 아니지만 효능작용성 BNL2 분자는 Treg 세포를 유도한다고 여겨진다.
- [0203] 효능작용성 BTNL2 분자는, 이 용어가 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 치료 화합물의 부분으로서, 그것이 Treg 세포를 유도하는 충분한 BTNL2 서열을 갖는 폴리펩타이드를 지칭한다. 일부 실시형태에서, BTNL2 분자는 자연 발생부티로필린과 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 99, 또는 100% 서열 동일성 또는 실질적인 서열 동일성을 갖는다.
- [0204] 일부 실시형태에서, 효과기 결합/조절 모이어티는 길항작용성 BTNL8 분자를 포함한다.
- [0205] **SM 결합/조절 모이어티를 포함하는 치료 화합물: 국지적 미세환경의 조작**
- [0206] 치료 화합물은 예를 들어, 표적의 근처에 표적의 면역계에 의한 공격을 저해 또는 최소화하는 물질을 제공함으로써, 면역 억제성 국지적 미세환경을 촉진시키는, 본 명세서에서 SM 결합/조절 모이어티라고 지칭되는 효과기 결합/조절 모이어티를 포함할 수 있다.
- [0207] 일부 실시형태에서, SM 결합/조절 모이어티는 표적에 의해서 면역계에 의한 공격을 저해하거나 최소화하는 분자를 포함한다(본 명세서에서 SM 결합/조절 모이어티라고 지칭됨). 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 면역억제성 기능을 갖는, 가용성 물질, 예를 들어, 내인성 또는 외인성 물질에 결합하고, 이를 축적하는 SM 결합/조절 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 면역 공격을 촉진시키는 가용성 물질, 전형적으로 내인성 가용성 물질, 예를 들어, CD39 분자의 경우 ATP 또는 CD73 분자의 경우 알칼리성 포스파타제 분자 또는 AMP에 결합하거나, 이를 저해하거나, 격리시키거나, 분해시키거나 또는 달리 중화시키는 SM 결합/조절 모이어티, 예를 들어, CD39 분자 또는 CD73 분자 또는 알칼리성 포스파타제 분자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 면역-억제성 물질, 예를 들어, 면역억제성인 단백질의 단편을 포함하는 SM 결합/조절 모이어티를 포함한다.
- [0208] **공여자 조직**
- [0209] 본 명세서에 기술된 치료 화합물 및 방법은 대상체 내의 공여자 조직의 이식과 관련하여 사용될 수 있고, 공여자 이식 조직의 거부를 최소화하거나, 이에 대한 면역 효과기 세포 매개된 손상을 최소화하거나, 이의 허용을 연장시키거나, 이의 기능성 수명을 연장시킬 수 있다. 조직은 이종이식편 또는 동종이식편 조직일 수 있다. 이식된 조직은 기관, 예를 들어, 간, 신장, 심장, 췌장, 흉선, 피부 또는 폐의 전부 또는 부분을 포함할 수 있다.

[0210] 실시형태에서, 본 명세서에 기술된 치료 화합물은 전신 면역 억제에 대한 필요성을 감소시키거나 제거한다. 본 명세서에 기술된 치료 화합물 및 방법은 또한 GVHD를 치료하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 효과기 결합/조절 모이어티로서, PD-L1 분자를 포함하는 치료 화합물로 피복된다.

[0211] 표 2는 이식 적응증에 대한 표적 분자를 제공한다. 표적 분자는 표적화 모이어티가 결합하는 표적이다. 본 명세서에 다른 곳에 논의된 바와 같이, 일부 실시형태에서, 공여자 조직 상에 존재하고, 대상체(수용자)에 의해서 발현되지 않거나 (예를 들어, 감소되거나 또는 실질적으로 감소된) 상이한 수준으로 발현되는 대립유전자의 산물에 결합하는 표적화 모이어티가 선택된다.

표 2

이식 적응증에 대한 표적 분자		
적응증	기관 / 세포 유형	
동종이식편 이식 조직, 예를 들어, 동종이식편 실질 기관 이식, GvHD	모두	HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DP, HLA-DQ 또는 HLA-DR
이식	신장	신장(여기서 면역세포는 예를 들어, 세뇨관 사이질 영역(tubular interstitial region)을 포함하지만 이에 제한되지 않는 것을 침윤함)에서 발현되는 항원, 예를 들어, 우로모듈린(Uromodulin), SLC22A2, SLC22A6, FXYD4, SLCSA10, SLC6A13, AQP6, SLC13A3, TMEM72, BSND, NPR3, 및 근부 및 원부 세뇨관 상피, 예컨대, OAT1, OCT2

[0213] 자가-면역 장애

[0214] 본 명세서에 기술된 치료 화합물 및 방법은 원치 않는 자가면역 반응, 예를 들어, 제1형 당뇨병, 다발성 경화증, 심근염, 백반증, 탈모, 염증성 장 질환(IBD, 예를 들어, 크론병 또는 궤양성 대장염), 쇼그렌 증후군(Sjogren's syndrome), 국소 사구체 경화증(FSGS), 피부경화증/전신 경화증(SS) 또는 류마티스 관절염에서 자가면역 반응을 갖거나 또는 이를 가질 위험이 있는 대상체를 치료하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료는 자가면역 공격을 겪고 있는 조직 또는 이의 위험이 있는 대상체 조직의 거부를 최소화하거나, 이에 대한 면역 효과기 세포 매개된 손상을 최소화하거나, 이의 생존을 연장시킨다. 표 3은 몇몇 자가면역 적응증 및 기관/세포 유형에 대한 표적 분자를 제공한다. 표적 분자는 표적화 모이어티가 결합하는 표적이다.

표 3

자가면역 적응증에 대한 표적 분자		
적응증	기관 / 세포 유형	표적 분자
제1형 당뇨병 및 이식	췌장/췌장 섬, 베타 세포	SEZ6L2, LRPI 1, DISP2, SLC30A8, FXYD2 TSPAN7 TMEM27 (문헌 [Hald et al. 2012 Diabetologia 55: 154]); FXYD2; GPR119; HEPACAM2
다발성 경화증	CNS / 희돌기교세포의 미엘린초	MOG, PLP, MBP
심근염, 류마티스 관절염	심근세포, 단핵구, 대식세포, 골수 세포	SIRPA(CD1 72a)
염증성 장 질환(궤양성 대장염, 크론병) 또는 GVHD; 셀리악병	장	MAdCAM
자가면역 간염(AIH); 원발성 경화 담관염(PSC); 원발성 쓸개관 경화증; (PBC); 이식	간	MAdCAM

국소 사구체 경화증(Focal Segmented Glomerular Sclerosis: FSGS) 및 신장에 영향을 미칠 수 있는 기타 질환, 예를 들어, 루푸스 신장염, 전신 피부경화증, 막성 사구체 신증(membranous glomerular nephropathy: MGN); 막성 신증(Membranous nephropathy: MN); 미세변화병(Minimal Change Disease: MCD); IgA 신증; ANCA-연관 혈관염(AAV)	신장, 다리세포, 세관, 상피 세포	COL1A1, 카드헤린 2, VCAM-1, Thyl, 포도신, KIMI(Hodgin et al, Am J Pathol 177: 1675 2010); PLA2R; OAT1; OCT2; K-카드헤린 6
쇼그렌 증후군	침샘, 상피 세포, 신장	FCGR3B, HLAB, KIMI(Hu et al Arth and Rheum 56:3588 2007)
피부경화증, 전신경화증(SSc)	피부, 신장, 폐, 섬유아세포, 결합 조직	콜라겐 I, III, VI, VII, 피브로넥틴(Wang et al Arth and Rheum 54:2271 2006)
백반증	피부, 표피, 랑게르한스 세포, 케라티노사이트, 멜라닌세포	COL17A1, CD1A, CD207, 데스모글레인 1-4, 케라틴 1
원형 탈모증	피부, 모공/모구, 진피	CD133(Yang and Cotsarelis, J Dermatol Sci 57:2 2010)

[0216]

본 명세서에 기술된 화합물로 치료될 수 있는 자가면역 장애 및 질환의 다른 예는 심근염, 심근경색후 증후군, 심막절개술후 증후군(Postpericardiotomy syndrome), 아급성 세균성 심내막염, 항-사구체 기저막 신장염, 간질성 방광염, 루푸스 신장염, 막성 사구체 신증, 만성 신장 질환("CKD"), 자가면역 간염, 원발성 담즙성 경변증, 원발성 경화 담관염, 항합성효소 증후군, 원형 탈모증, 자가면역 혈관부종, 자가면역 프로게스테론 피부염, 자가면역 두드러기, 수포성 유사천포창, 홍터유사천포창, 포진형 피부염, 원판상 홍반성 낭창, 후천성표피수포증, 결절성홍반, 임신유천포창, 화농성한선염, 편평태선, 경화성태선, 선상 iga 병(lad), 국소피부경화증, 심상성천포창, 급성태선상두진상비강진, 무카-하버만병(mucha-habermann disease), 건선, 전신 피부경화증, 백반증, 애디슨병, 1형 자가면역 다선 증후군(APS), 2형 자가면역 다선 증후군(APS), 3형 자가면역 다선 증후군(APS), 자가면역 췌장염(AIP), 1형 진성 당뇨병, 자가면역 갑상선염, 오드(Ord's) 갑상선염, 그레이브스병, 자가면역 난소염, 자궁내막증, 자가면역 고환염, 쇼그렌 증후군, 자가면역 장질환, 셀리악병, 크론병, 미세 장염, 궤양성 대장염, 혈소판 감소증, 지방증, 고통(dolorosa), 성인형 스틸병(Adult-onset Still's disease), 강직성 척추염, CREST 증후군, 약물 유도 루푸스, 부착부염 관련 관절염(Enthesitis-related arthritis), 호산성 근막염, 펠티 증후군(Felty syndrome), IgG4-관련 질환, 아동 관절염, 라임병(만성), 혼합 결합 조직병(MCTD), 회귀성류머티스, 패리 롬버그 증후군(Parry Romberg syndrome), 파소나지-터너 증후군(Parsonage-Turner syndrome), 건선성 관절염, 반응성 관절염, 재발성 다발 연골염, 후복막염유증, 류마티스열, 류마티스 관절염, 사르코이드증, 쉬니츨러 증후군(Schnitzler syndrome), 전신 홍반성 루푸스(SLE), 미분화된 결합 조직 질환(UCTD), 피부근염, 섬유근육통, 봉입체 근염, 근염, 중증 근무력증, 신경근육긴장증, 부신생물 소뇌 변성(Paraneoplastic cerebellar degeneration), 다발성근염, 급성 파종성 뇌척수염(Acute disseminated encephalomyelitis: ADEM), 급성 운동 축색 돌기 신경병증, 항-N-메틸-D-아스파테이트(항-NMDA) 수용체 뇌염, 발로 동심성 경화증, 비커스태프(Bickerstaff) 뇌염, 만성 염증성 탈수초성 다발성신경병증, 길랭-바레 증후군(Guillain-Barre syndrome), 하시모토 뇌병증(Hashimoto's encephalopathy), 급성 염증성 탈수초성 질환, 람버트-이튼 근무력 증후군(Lambert-Eaton myasthenic syndrome), 다발성 경화증, 오스토란 증후군(Oshtoran syndrome), 스트렙토코쿠스와 연관된 소아 자가면역 신경정신 장애(Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorder Associated with Streptococcus: PANDAS), 진행성 염증성 신경장애, 하지 불안 증후군(Restless leg syndrome), 강직 인간 증후군(Stiff person syndrome), 시덴담무도병(Sydenham chorea), 횡단성 척수염(Transverse myelitis), 자가면역 망막증, 자가면역 포도막염, 코간 증후군(Cogan syndrome), 그레이브스 안구병증(Graves ophthalmopathy), 중간 포도막염(Intermediate uveitis), 목질 결막염, 무렌 궤양(Mooren's ulcer), 지속 척수염, 안구간대경련-근간대경련 증후군(Opsoclonus myoclonus syndrome), 시신경염, 공막염, 스삭 증후군(Susac's syndrome), 교감성 안염, 톨로사-헌트 증후군(Tolosa-Hunt syndrome), 자가면역 내이 질환(AIED), 메니에르(Ménière's disease), 바체트병, 다발성 혈관염이 동반된 호산구 육아종증(Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis: EGPA), 거대 세포 동맥염, 다발성 혈관염이 동반된 육아종증(Granulomatosis with polyangiitis: GPA), IgA 혈관염(IgAV), 가와사키병, 백혈구과괴성 혈관염, 루푸스 혈관염, 류마티스성 혈관염, 현미경적 다발혈관염(MPA), 결

절성 다발동맥염(PAN), 다발성 근육통 류마티스, 혈관염, 일차 면역 결핍 등을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.

[0217] 위염, 간질성 폐질환, POEMS 증후군, 레이노 증후군, 원발성 면역결핍, 괴저성 농피증, 무감마글로불린혈증, 아밀로이드증, 근위축성 측삭경화증, 항-세뇨관 기저막 신장염, 아토피 알레르기, 아토피 피부염, 자가면역 말초신경병증, 블라우 증후군(Blau syndrome), 캐슬만병(Castleman's disease), 샤가스병(Chagas disease), 만성 폐쇄성 폐질환, 만성 재발성 다병소성 골수염, 보체 성분 2 결핍, 접촉성 피부염, 쿠싱 증후군(Cushing's syndrome), 피부백혈구파괴혈관염(Cutaneous leukocytoclastic angiitis), 데고병(Dego's disease), 습진, 호산구증다성위장염, 호산구성폐렴, 태아적아구증, 진행성 골화성 섬유형성이상, 위장 천포창(Gastrointestinal pemphigoid), 저감마글로불린혈증, 특발성 거대-세포 심근염, 특발성 폐섬유증, IgA 신증, 면역조절 당단백질, IPEX 증후군, 목질 결막염, 마지드 증후군(Majeed syndrome), 기면증, 라스무스 뇌염(Rasmussen's encephalitis), 조현병, 혈청병, 척추관절염, 스위트 증후군(Sweet's syndrome), 타카야수동맥염(Takayasu's arteritis) 등을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.

[0218] 일부 실시형태에서, 자가면역 장애는 심상성 천포창, 천포창을 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, 자가면역 장애는 낙엽상 천포창을 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, 자가면역 장애는 수포성 유사천포창을 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, 자가면역 장애는 구각충충병을 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, 자가면역 장애는 건선을 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, 자가면역 장애는 피부 장애를 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, 장애는 신생물 장애, 예를 들어, 암을 포함하지 않는다.

[0219] 치료 화합물

[0220] 치료 화합물은 효과기 결합/조절 모이어티에 기능적으로 연관된 특이적 표적화 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 특이적 표적화 모이어티 및 효과기 결합/조절 모이어티는 공유 또는 비공유 결합에 의해서, 예를 들어, 하나를 나머지 것에 직접 연결하는 공유 또는 비공유 결합에 의해서 서로에 연결된다. 다른 실시형태에서, 특이적 표적화 모이어티 및 효과기 결합/조절 모이어티는 링커 모이어티를 통해서, 예를 들어, 공유 또는 비공유적으로 연결된다. 예를 들어, 융합 폴리펩타이드의 경우, 특이적 표적화 모이어티 및 폴리펩타이드 서열을 포함하는 폴리펩타이드 서열은 서로에 직접 연결될 수 있거나 또는 하나 이상의 링커 서열을 통해서 연결될 수 있다. 일부 실시형태에서, 링커 모이어티는 폴리펩타이드를 포함한다. 그러나, 링커는 폴리펩타이드에 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 링커 모이어티는 다른 골격, 예를 들어, 비-펩타이드 중합체, 예를 들어, PEG 중합체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 링커 모이어티는 입자, 예를 들어, 나노입자, 예를 들어, 중합체 나노입자를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 링커 모이어티는 분지형 분자, 또는 덴드리머를 포함할 수 있다. 그러나, 효과기 결합/조절 모이어티가 ICIM 결합/조절 모이어티(이것은 효과기 유사 PD-1에 결합함)를 포함하는 실시형태에서 표적 결합의 부재 하에서 클러스터링을 초래하는 구조는 회피되어야 하는데, 그 이유는 그것이 표적 결합의 부재 하에서의 클러스터링을 유발할 수 있기 때문이다. 따라서, 치료 화합물은, 표적 결합의 부재 하에서 클러스터링이 최소화되거나 또는 실질적으로 제거되거나, 또는 충분히 최소화되어 과도한 전신 면역 억제가 일어나지 않도록 충분히 제한되도록, 예를 들어, ICIM의 카피가 충분히 제한되는 구조를 갖는다.

[0221] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 효과기 결합/조절 모이어티에 공유적으로 또는 비공유적으로 접합된 특이적 표적화 모이어티를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 치료 분자는 예를 들어, 직접 또는 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함하는 연결 모이어티를 통해서, 효과기 결합/조절 모이어티에 융합된 특이적 표적화 모이어티를 포함하는 융합 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 치료 분자는 비공유 결합 또는 공유 결합, 예를 들어, 펩타이드 결합이 아닌 공유 결합, 예를 들어, 설프하이드릴 결합에 의해서, 효과기 결합/조절 모이어티에 연결된 특이적 표적화 모이어티를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다.

[0222] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 하기를 포함하는 폴리펩타이드, 예를 들어, 융합 폴리펩타이드를 포함한다:

[0223] 1.a) 표적 특이적 결합 폴리펩타이드를 포함하는 특이적 표적화 모이어티;

[0224] 1.b) 표적 리간드 결합 분자를 포함하는 특이적 표적화 모이어티;

[0225] 1.c) 항체 분자를 포함하는 특이적 표적화 모이어티;

[0226] 1.d) 단일쇄 항체 분자, 예를 들어, scFv 도메인을 포함하는 특이적 표적화 모이어티; 또는

[0227] 1.e) 항체 분자의 제1 경쇄 또는 중쇄 가변 영역을 포함하는 특이적 표적화 모이어티(여기서 나머지 가변 영역은 제1 영역과 공유적으로 또는 비공유적으로 회합됨);

- [0228] 및
- [0229] 2.a) 효과기 특이적 결합 폴리펩타이드를 포함하는 효과기 결합/조절 모이어티;
- [0230] 2.b) 효과기 리간드 결합 분자를 포함하는 효과기 결합/조절 모이어티;
- [0231] 2.c) 항체 분자를 포함하는 효과기 결합/조절 모이어티;
- [0232] 2.d) 단일쇄 항체 분자, 예를 들어, scFv 도메인을 포함하는 효과기 결합/조절 모이어티; 또는
- [0233] 2.e) 항체 분자의 제1 경쇄 또는 중쇄 가변 영역을 포함하는 효과기 결합/조절 모이어티(여기서 나머지 가변 영역은 제1 영역과 공유적으로 또는 비공유적으로 회합됨).
- [0234] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.a 및 2.a를 포함한다.
- [0235] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.a 및 2.b를 포함한다.
- [0236] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.a 및 2.c를 포함한다.
- [0237] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.a 및 2.d를 포함한다.
- [0238] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.a 및 2.e를 포함한다.
- [0239] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.b 및 2.a를 포함한다.
- [0240] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.b 및 2.b를 포함한다.
- [0241] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.b 및 2.c를 포함한다.
- [0242] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.b 및 2.d를 포함한다.
- [0243] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.b 및 2.e를 포함한다.
- [0244] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.c 및 2.a를 포함한다.
- [0245] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.c 및 2.b를 포함한다.
- [0246] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.c 및 2.c를 포함한다.
- [0247] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.c 및 2.d를 포함한다.
- [0248] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.c 및 2.e를 포함한다.
- [0249] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.d 및 2.a를 포함한다.
- [0250] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.d 및 2.b를 포함한다.
- [0251] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.d 및 2.c를 포함한다.
- [0252] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.d 및 2.d를 포함한다.
- [0253] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.d 및 2.e를 포함한다.
- [0254] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.e 및 2.a를 포함한다.
- [0255] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.e 및 2.b를 포함한다.
- [0256] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.e 및 2.c를 포함한다.
- [0257] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.e 및 2.d를 포함한다.
- [0258] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 1.e 및 2.e를 포함한다.
- [0259] 본 명세서에 개시된 치료 화합물은 예를 들어, 복수의 효과기 결합/조절 및 특이적 표적화 모이어티를 포함할 수 있다. 임의의 적합한 링커 또는 플랫폼을 사용하여 복수의 모이어티를 제공할 수 있다. 링커는 전형적으로 하나 이상의 효과기 결합/조절 및 표적화 모이어티에 커플링되거나 융합된다.
- [0260] 일부 실시형태에서, 2개(또는 그 초과)의 링커는 공유적으로 또는 비공유적으로 회합되어, 예를 들어, 이중 또는 동중-이량체 치료 화합물을 형성한다. 예를 들어, 링커는 Fc 영역을 포함할 수 있고, 2개의 Fc 영역은 서로

회합된다. 2개의 링커 영역을 포함하는 치료 화합물의 일부 실시형태에서, 링커 영역은 예를 들어, 2개의 동일한 Fc 영역으로서 자가 회합될 수 있다. 2개의 링커 영역을 포함하는 치료 화합물의 일부 실시형태에서, 링커 영역은 자가 회합할 수 있거나 또는 실질적으로 자가 회합할 수 있고, 예를 들어, 2개의 Fc 영역은 낚 및 홀의 구성원일 수 있다.

- [0261] 치료 화합물의 비제한적인 예시적인 구성은 하기를 포함한다(예를 들어, N에서 C 말단 순서):
- [0262] R1---링커 영역 A—
- [0263] R3---링커 영역 B---R4,
- [0264] 식 중,
- [0265] R1, R2, R3 및 R4는 각각 독립적으로 효과기 결합/조절 모이어티, 예를 들어, ICIM 결합/조절 모이어티, IIC 결합/조절 모이어티, 또는 SM 결합/조절 모이어티; 특이적 표적화 모이어티를 포함하거나; 또는 이들은 존재하지 않고;
- [0266] 링커 영역 A 및 링커 B는 서로 회합할 수 있는 모이어티를 포함하고, 예를 들어, 링커 A 및 링커 B는 각각 Fc 모이어티를 포함하되, 효과기 결합/조절 모이어티 및 특이적 표적화 모이어티는 존재한다.
- [0267] 일부 실시형태에서:
- [0268] R1은 효과기 결합/조절 모이어티, 예를 들어, ICIM 결합/조절 모이어티, IIC 결합/조절 모이어티, 또는 SM 결합/조절 모이어티를 포함하거나; 또는 이들은 존재하지 않고;
- [0269] R2는 특이적 표적화 모이어티를 포함하거나, 또는 존재하지 않고;
- [0270] R3은 효과기 결합/조절 모이어티, 예를 들어, ICIM 결합/조절 모이어티, IIC 결합/조절 모이어티, 또는 SM 결합/조절 모이어티를 포함하거나; 또는 이들은 존재하지 않고;
- [0271] R4는 특이적 표적화 모이어티를 포함하거나, 또는 존재하지 않고;
- [0272] 링커 영역 A 및 링커 B는 서로 회합할 수 있는 모이어티를 포함하고, 예를 들어, 링커 A 및 링커 B는 각각 Fc 모이어티를 포함하되, R1 또는 R3 중 하나가 존재하고, R2 또는 R4 중 하나가 존재한다.
- [0273] 일부 실시형태에서:
- [0274] R1은 특이적 표적화 모이어티를 포함하거나, 또는 존재하지 않고;
- [0275] R2는 효과기 결합/조절 모이어티, 예를 들어, ICIM 결합/조절 모이어티, IIC 결합/조절 모이어티, 또는 SM 결합/조절 모이어티를 포함하거나; 또는 이들은 존재하지 않고;
- [0276] R3은 특이적 표적화 모이어티를 포함하거나, 또는 존재하지 않고;
- [0277] R4는 효과기 결합/조절 모이어티, 예를 들어, ICIM 결합/조절 모이어티, IIC 결합/조절 모이어티, 또는 SM 결합/조절 모이어티를 포함하거나; 또는 이들은 존재하지 않고;
- [0278] 링커 영역 A 및 링커 B는 서로 회합할 수 있는 모이어티를 포함하고, 예를 들어, 링커 A 및 링커 B는 각각 Fc 모이어티를 포함하되, R1 또는 R3 중 하나가 존재하고, R2 또는 R4 중 하나가 존재한다.

[0279] 비제한적인 예는 하기를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다:

R1	링커 영역 A	R2	R3	링커 영역 B	R4	나머지
HCVR 및 LCVR	Fc 영역	fcFv	HCVR 및 LCVR	Fc 영역	scFv	자가 짝지움 링커 영역
HCVR 및 LCVR	Fc 영역	fcFv	HCVR 및 LCVR	Fc 영역	scFv	비-자가 짝지움 링커 영역
HCVR 및 LCVR(또는 존재하지 않음)	Fc 영역	fcFv	HCVR 및 LCVR(또는 존재하지 않음)	Fc 영역	scFv	자가 짝지움 링커 영역 R1 또는 R3 중 하나는 존재하지 않음.
HCVR 및 LCVR(또는 존재하지 않음)	Fc 영역	fcFv	HCVR 및 LCVR(또는 존재하지 않음)	Fc 영역	scFv	비-자가 짝지움 링커 영역 R1 또는 R3 중 하나는 존재하지 않음.
HCVR 및	Fc 영역	fcFv(또는	HCVR 및	Fc 영역	scFv(또는	자가 짝지움

[0280]

LCVR		존재하지 않음)	LCVR		존재하지 않음)	링커 영역 R2 또는 R4 중 하나는 존재하지 않음.
HCVR 및 LCVR	Fc 영역	fcFv(또는 존재하지 않음)	HCVR 및 LCVR	Fc 영역	scFv(또는 존재하지 않음)	비-자가 짜지움 링커 영역 R2 또는 R4 중 하나는 존재하지 않음.
HCVR 및 LCVR	Fc 영역	fcFv	HCVR 및 LCVR	Fc 영역	scFv	자가 짜지움 링커 영역 R1 및 R3은 동일함
HCVR 및 LCVR	Fc 영역	fcFv	HCVR 및 LCVR	Fc 영역	scFv	비-자가 짜지움 링커 영역 R1 및 R3은 상이함
HCVR 및 LCVR	Fc 영역	fcFv	HCVR 및 LCVR	Fc 영역	scFv	자가 짜지움 링커 영역 R2 및 R4는

[0281]

						동일함
HCVR 및 LCVR	Fc 영역	fcFv	HCVR 및 LCVR	Fc 영역	scFv	비-자가 짜지움 링커 영역 R2 및 R4는 상이함
<p>HCVR 및 LCVR: 전형적으로 링커 영역에 융합된 중쇄와 함께, 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 항원 결합 부분을 포함하는 모이어티를 지칭함.</p> <p>자가 짜지움: 여기서 링커 영역은 그 자체, 예를 들어, 그 자체의 카피와 짜지어질 수 있는 Fc 영역과 짜지어질 수 있음.</p> <p>비-자가 짜지움: 여기서 링커 영역은 그 자체와 짜지어지지 않거나, 그 자체와 실질적으로 짜지어지지 않고, 예를 들어, Fc 영역은 그 자체와 짜지어지지 않거나 상당히 짜지어지지 않고, 예를 들어, 여기서 링커 영역 A 및 링커 영역 B는 눈 및 홀의 구성원이다.</p>						

[0282]

[0283]

일부 실시형태에서,

[0284]

R1, R2, R3 및 R4는 각각 독립적으로 변역 세포, 예를 들어, T 세포 또는 B 세포 상의 저해성 수용체를 활성화

시키는 효과기 결합 조절 모이어티, 예를 들어, PD-L1 분자 또는 기능성 항-PD-1 항체 분자(PD-1의 효능제); 특이적 표적화 모이어티를 포함하거나; 또는 존재하지 않되;

- [0285] 단 효과기 결합 모이어티 및 특이적 표적화 모이어티는 존재한다.
- [0286] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0287] 일부 실시형태에서,
- [0288] R1 및 R3은 각각 독립적으로 면역 세포, 예를 들어, T 세포 또는 B 세포 상의 저해성 수용체를 활성화시키는 효과기 결합 조절 모이어티, 예를 들어, PD-L1 분자 또는 기능성 항-PD-1 항체 분자(PD-1의 효능제)를 포함하고;
- [0289] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함한다.
- [0290] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0291] 일부 실시형태에서,
- [0292] R1 및 R3은 독립적으로 기능성 항-PD-1 항체 분자(PD-1의 효능제)를 포함하고;
- [0293] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함한다.
- [0294] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0295] 일부 실시형태에서,
- [0296] R1 및 R3은 독립적으로 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, 항-조직 항원 항체를 포함하고;
- [0297] R2 및 R4는 독립적으로 기능성 항-PD-1 항체 분자(PD-1의 효능제), 예를 들어, scFv를 포함한다.
- [0298] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0299] 일부 실시형태에서,
- [0300] R1 및 R3 독립적으로 PD-L1 분자(PD-1의 효능제)를 포함하고;
- [0301] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함한다.
- [0302] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0303] 일부 실시형태에서,
- [0304] R1 및 R3은 독립적으로 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, 항- 조직 항원 항체를 포함하고;
- [0305] R2 및 R4는 독립적으로 PD-L1 분자(PD-1의 효능제)를 포함한다.
- [0306] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0307] 일부 실시형태에서,
- [0308] R1, R2, R3 및 R4는 각각 독립적으로 물질, 예를 들어, 면역 반응을 조절하는 가용성 분자, 예를 들어, ATP 또는 AMP를 조절하는, 예를 들어, 이에 결합하여 이를 저해하거나, 격리시키거나, 분해시키거나 또는 달리 중화시키는 SM 결합/조절 모이어티, 예를 들어, CD39 분자 또는 CD73 분자; 특이적 표적화 모이어티를 포함하거나; 또는 존재하지 않되;
- [0309] 단 SM 결합/조절 모이어티 및 특이적 표적화 모이어티는 존재한다.
- [0310] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0311] 일부 실시형태에서,
- [0312] R1 및 R3은 독립적으로 물질, 예를 들어, 면역 반응을 조절하는 가용성 분자, 예를 들어, ATP 또는 AMP를 조절하는, 예를 들어, 이에 결합하여 이를 저해하거나, 격리시키거나, 분해시키거나 또는 달리 중화시키는 SM 결합/조절 모이어티, 예를 들어, CD39 분자 또는 CD73 분자를 포함하고;
- [0313] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함한다.

- [0314] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0315] 일부 실시형태에서,
- [0316] R1 및 R3은 독립적으로 CD39 분자 또는 CD73 분자를 포함하고;
- [0317] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함한다.
- [0318] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0319] 일부 실시형태에서,
- [0320] R1 및 R3은 각각 CD39 분자를 포함하고;
- [0321] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함하고;
- [0322] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0323] 일부 실시형태에서,
- [0324] R1 및 R3은 각각 CD73 분자를 포함하고;
- [0325] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함한다.
- [0326] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0327] 일부 실시형태에서,
- [0328] R1 및 R3 중 하나는 CD39 분자를 포함하고, 나머지는 CD73 분자를 포함하고;
- [0329] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함한다.
- [0330] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0331] 일부 실시형태에서,
- [0332] R1, R2, R3 및 R4는 각각 독립적으로 HLA-G 분자; 특이적 표적화 모이어티를 포함하거나; 또는 존재하지 않되;
- [0333] 단 HLA-G 분자 및 특이적 표적화 모이어티는 존재한다.
- [0334] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0335] 일부 실시형태에서,
- [0336] R1 및 R3은 각각 HLG-A 분자를 포함하고;
- [0337] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함한다.
- [0338] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0339] 일부 실시형태에서,
- [0340] R1 및 R3은 각각 효능작용성 항-LILRB1 항체 분자를 포함하고;
- [0341] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함한다.
- [0342] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0343] 일부 실시형태에서,

- [0344] R1 및 R3은 각각 효능작용성 항-KIR2DL4 항체 분자를 포함하고;
- [0345] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함한다.
- [0346] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0347] 일부 실시형태에서,
- [0348] R1 및 R3은 각각 효능작용성 항-LILRB2 항체 분자를 포함하고;
- [0349] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함한다.
- [0350] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0351] 일부 실시형태에서,
- [0352] R1 및 R3은 각각 효능작용성 항-NKG2A 항체 분자를 포함하고;
- [0353] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함한다.
- [0354] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0355] 일부 실시형태에서,
- [0356] R1 및 R3 중 하나는 길항작용성 항-LILRB1 항체 분자, 효능작용성 항-KR2DL4 항체 분자, 및 효능작용성 항-NKG2A 항체 분자로부터 선택된 제1 모이어티를 포함하고, 나머지는 상기로부터 선택된 상이한 모이어티를 포함하고;
- [0357] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함한다.
- [0358] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0359] 일부 실시형태에서,
- [0360] R1 및 R3 중 하나는 길항작용성 항-LILRB1 항체 분자를 포함하고, 나머지는 효능작용성 항-KR2DL4 항체 분자를 포함하고;
- [0361] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함한다.
- [0362] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0363] 일부 실시형태에서,
- [0364] R1 및 R3 중 하나는 길항작용성 항-LILRB1 항체 분자를 포함하고, 나머지는 효능작용성 항-NKG2A 항체 분자를 포함하고;
- [0365] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함한다.
- [0366] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0367] 일부 실시형태에서,
- [0368] R1, R2, R3 및 R4는 각각 독립적으로 B 세포 상의 저해성 수용체를 활성화시키는 효과기 결합 조절 모이어티, 예를 들어, 항-FCRL 항체 분자, 예를 들어, 효능작용성 항-FCRL 항체 분자; 특이적 표적화 모이어티를 포함하거나; 또한 존재하지 않되;
- [0369] 단 효과기 결합 모이어티 및 특이적 표적화 모이어티는 존재한다.
- [0370] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지

지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.

- [0371] 실시형태에서 항-FCRL 분자는 하기를 포함한다: FCRL1, FCRL2, FCRL3, FCRL4, FCRL5 또는 FCRL6에 지향되는 항-FCRL 항체 분자, 예를 들어, 효능작용성 항-FCRL 항체 분자.
- [0372] 일부 실시형태에서,
- [0373] R1 및 R3은 각각 효능작용성 항-FCRL 항체 분자를 포함하고;
- [0374] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함한다.
- [0375] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0376] 실시형태에서 항-FCRL 분자는 하기를 포함한다: FCRL1, FCRL2, FCRL3, FCRL4, FCRL5 또는 FCRL6에 지향되는 항-FCRL 항체 분자, 예를 들어, 효능작용성 항-FCRL 항체 분자.
- [0377] 일부 실시형태에서,
- [0378] R1 및 R3은 독립적으로 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, 조직 항원에 대한 항체 분자를 포함하고;
- [0379] R2 및 R4는 각각 항-FCRL 항체 분자, 예를 들어, 효능작용성 항-FCRL 항체 분자, 예를 들어, scFv 분자를 포함한다.
- [0380] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0381] 실시형태에서 항-FCRL 분자는 하기를 포함한다: FCRL1, FCRL2, FCRL3, FCRL4, FCRL5 또는 FCRL6에 지향되는 항-FCRL 항체 분자, 예를 들어, 효능작용성 항-FCRL 항체 분자.
- [0382] 일부 실시형태에서,
- [0383] R1, R2, R3 및 R4 중 하나는 항-BCR 항체 분자, 예를 들어, 길항작용성 항- BCR 항체 분자를 포함하고, 하나는 항 FCRL 항체 분자를 포함하고, 하나는 특이적 표적화 모이어티를 포함한다.
- [0384] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0385] 일부 실시형태에서 항-FCRL 분자는 하기를 포함한다: FCRL1, FCRL2, FCRL3, FCRL4, FCRL5 또는 FCRL6에 지향되는 항-FCRL 항체 분자, 예를 들어, 효능작용성 항-FCRL 항체 분자.
- [0386] 일부 실시형태에서,
- [0387] R1, R2, R3 및 R4 중 하나는 항-BCR 항체 분자, 예를 들어, 길항작용성 항- BCR 항체 분자 및 항 FCRL 항체 분자를 포함하는 이중특이적 항체 분자를 포함하고, 하나는 특이적 표적화 모이어티를 포함한다.
- [0388] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0389] 실시형태에서 항-FCRL 분자는 하기를 포함한다: FCRL1, FCRL2, FCRL3, FCRL4, FCRL5 또는 FCRL6에 지향되는 항-FCRL 항체 분자, 예를 들어, 효능작용성 항-FCRL 항체 분자.
- [0390] 일부 실시형태에서,
- [0391] R1, R2, R3 및 R4는 각각 독립적으로
- [0392] i) T 세포 활성화, 확장 또는 기능을 최소화하거나 저해하는, 효과기 결합/조절 모이어티, 예를 들어, ICIM 결합/조절 모이어티, IIC 결합/조절 모이어티, ICSM 결합/조절 모이어티, 또는 SM 결합/조절 모이어티(T 세포 효과기 결합/조절 모이어티);
- [0393] ii) B 세포 활성화, 확장 또는 기능을 최소화하거나 저해하는, 효과기 결합/조절 모이어티, 예를 들어, ICIM 결합/조절 모이어티, IIC 결합/조절 모이어티, ICSM 결합/조절 모이어티, 또는 SM 결합/조절 모이어티(B 세포 효과기 결합/조절 모이어티);

- [0394] iii) 특이적 표적화 모이어티를 포함하거나; 또는
- [0395] iv) 존재하지 않되;
- [0396] 단, T 세포 효과기 결합/조절 모이어티, B 세포 효과기 결합/조절 모이어티, 및 특이적 표적화 모이어티는 존재한다.
- [0397] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0398] 일부 실시형태에서, R1, R2, R3 및 R4 중 하나는 효능작용성 항-PD-1 항체를 포함하고, 하나는 HLA-G 분자를 포함한다.
- [0399] 일부 실시형태에서, R1, R2, R3 및 R4 중 하나는 SM 결합/조절 모이어티, 예를 들어, CD39 분자 또는 CD73 분자를 포함한다. 일부 실시형태에서, R1, R2, R3 및 R4 중 하나는 조절성 면역 세포, 예를 들어, Treg 세포 또는 Breg 세포에 결합하거나, 이를 활성화시키거나 또는 이를 유지시키는 엔티티를 포함한다.
- [0400] 일부 실시형태에서, R1, R2, R3 및 R4 중 하나는 효능작용성 항-PD-1 항체를 포함하거나, 하나는 HLA-G 분자를 포함한다. 일부 실시형태에서, R1, R2, R3 및 R4 중 하나는 효능작용성 항-PD-1 항체를 포함하고, 하나는 HLA-G 분자를 포함하고, 하나는 CD39 분자 또는 CD73 분자를 포함한다.
- [0401] 링커 영역
- [0402] 본 명세서 다른 곳에 논의된 바와 같이 특이적 표적화 및 효과기 결합/조절 모이어티는 링커 영역에 의해서 연결될 수 있다. 본 명세서에 기술된 임의의 링커 영역이 링커로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 링커 영역 A 및 B는 Fc 영역을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 자가 회합될 수 있는 링커 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 자가 회합을 최소화하는 모이어티를 갖는 링커 영역을 포함하고, 전형적으로 링커 영역 A 및 링커 영역 B는 이중이량체이다. 링커는 또한 글리신/세린 링커를 포함한다. 일부 실시형태에서, 링커는 GGGGS(서열번호 6)의 하나 이상의 반복부를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 링커는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 반복부를 포함한다. 일부 실시형태에서, 링커는 GGGSGGGGS(서열번호 7)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 링커는 GGGSGGGSGGGGS(서열번호 8)를 포함한다. 이러한 링커는 본 명세서에 제공된 치료 화합물 또는 조성물 중 임의의 것에서 사용될 수 있다.
- [0403] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 포함하고, 여기서 치료 화합물은 폴리펩타이드이다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 N-말단에서, IgG Fc 골격의 C-말단 상의 scFv와 융합된 IgG1 Fc 골격 상의 F(ab')₂로 구성된 항체를 포함한다. 일부 실시형태에서, IgG Fc 골격은 IgG1 Fc 골격이다. 일부 실시형태에서, IgG1 골격은 IgG4 골격, IgG2 골격, 또는 다른 유사한 IgG 골격으로 대체된다. 본 단락에 기술된 IgG 골격은 본 출원 전체에서 사용될 수 있고, 여기서 Fc 영역은 치료 화합물의 부분이라고 지칭된다. 따라서, 일부 실시형태에서, IgG1 Fc 골격 상의 F(ab')₂로 구성된 항체는 IgG1 Fc 상의 항-MAdCAM 항체 또는 항-PD-1 항체 또는 본 명세서에 제공된 임의의 다른 표적화 모이어티 또는 효과기 결합/조절 모이어티일 수 있다. 일부 실시형태에서, C-말단에 융합된 scFv 분절은, N-말단 영역이 항-MAdCAM 항체인 경우에는 항-PD-1 항체일 수 있거나, 또는 N-말단 영역이 항-PD-1 항체인 경우에는 항-MAdCAM 항체일 수 있다. 이러한 비제한적인 예에서, N-말단은 표적화 모이어티, 예컨대, 본 명세서에 제공된 것 중 임의의 하나일 수 있고, C-말단은 효과기 결합/조절 모이어티, 예컨대, 본 명세서에 제공된 것 중 임의의 것일 수 있다. 대안적으로, 일부 실시형태에서, N-말단은 효과기 결합/조절 모이어티, 예컨대, 본 명세서에 제공된 것 중 임의의 하나일 수 있고, C-말단은 표적화 모이어티, 예컨대, 본 명세서에 제공된 것 중 임의의 것일 수 있다.
- [0404] 일부 실시형태에서, N-말단은 표적화 모이어티, 예컨대, 본 명세서에 제공된 것 중 임의의 하나일 수 있고, C-말단은 효과기 결합/조절 모이어티, 예컨대, 본 명세서에 제공된 것 중 임의의 것일 수 있다.
- [0405] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 동종이량체화된 2개의 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드의 N-말단은 인간 IgG1 Fc 도메인(예를 들어, CH2 및/또는 CH3 도메인)에 융합된 효과기 결합/조절 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, Fc 도메인의 C-말단은 표적화 모이어티에 융합된 또 다른 링커이다. 따라서, 일부 실시형태에서, 분자는 화학식 R1-링커 A-Fc 영역-링커 B-R2를 사용하여 표현될 수 있고, 여기서 R1은 효과기 결합/조절 모이어티일 수 있고, R2는 표적화 모이어티이고, 링커 A 및 링커 B는 독립적으로 본 명세서에 제공된 바와 같은 링커이다. 일부 실시형태에서, 링커 1 및 링커 2는 상이하다.
- [0406] 일부 실시형태에서, 분자는 화학식 R1-링커 A-Fc 영역-링커 B-R2를 사용하여 표현될 수 있고, 여기서 R1은 표적화 모이어티일 수 있고, R2는 효과기 결합/조절 모이어티이고, 링커 A 및 링커 B는 독립적으로 본 명세서에 제

공된 바와 같은 링커이다. 일부 실시형태에서, 링커 A와 링커 B는 상이하다. 링커는 본 명세서에 제공된 비제한적인 예로부터 선택될 수 있다. 일부 실시형태에서, R1 및 R2는 F(ab')₂ 및 scFV 항체 도메인으로부터 독립적으로 선택된다. 일부 실시형태에서, R1과 R2는 상이한 항체 도메인이다. 일부 실시형태에서, scFV는 VL-VH 도메인 배향으로 존재한다.

- [0407] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 이중특이적 항체이다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 항체는 하기를 포함하는 4개의 폴리펩타이드 쇄로 구성된다:
- [0408] 쇄 1: nt-VH1-CH1-CH2-CH3-링커 A-scFv[VL2-링커 B-VH2]-ct
- [0409] 쇄 2: nt-VH1-CH1-CH2-CH3-링커 A-scFv[VL2-링커 B-VH2]-ct
- [0410] 쇄 3: nt-VL1-CL-ct
- [0411] 쇄 4: nt-VL1-CL-ct,
- [0412] 식 중, 쇄 1과 2는 서로 동일하고, 쇄 3과 4는 서로 동일하고,
- [0413] 식 중, 쇄 1은 쇄 2와 동종이량체를 형성하고; 쇄 3 및 4는 쇄 1 및 쇄 2와 회합된다. 즉, 각각의 경쇄가 각각의 중쇄와 회합되는 경우, VL1은 VH1과 회합되고, CL은 CH1과 회합되어 2개의 기능성 Fab 단위를 형성한다. 임의의 특정 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, 각각의 scFv 단위는 본질적으로 기능성인데, 그 이유는 VL2 및 VH2가 본 명세서에 제공된 바와 같은 링커(예를 들어, GGGSG(서열번호 6), GGGSGGGSGGGSGGGGS(서열번호 9), GGGSGGGSGGGGS(서열번호 8) 또는 GGGSGGGGS(서열번호 7)와 나란히 공유 연결되기 때문이다. 서로 독립적인 링커 A 및 링커 B의 서열은 동일하거나 상이할 수 있고, 본 출원 전체에 걸쳐서 달리 기술된 바와 같다. 따라서, 일부 실시형태에서, 링커 A는 GGGGS(서열번호 6) GGGSGGGGS(서열번호 7), GGGSGGGSGGGGS(서열번호 8), 또는 GGGSGGGSGGGSGGGGS(서열번호 9)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 링커 B는 GGGGS(서열번호 6) GGGSGGGGS(서열번호 7), GGGSGGGSGGGGS(서열번호 8), 또는 GGGSGGGSGGGSGGGGS(서열번호 9)를 포함한다. scFv는 NT-VH2-VL2-CT 또는 NT-VL2-VH2-CT 배향으로 배열될 수 있다. NT 또는 nt는 N-말단을 나타내고, CT 또는 ct는 단백질의 C-말단을 나타낸다. CH1, CH2 및 CH3은 IgG Fc 영역으로부터의 도메인이고, CL은 카파 또는 람다 패밀리를 형성할 수 있는 불변 경쇄를 나타낸다. 나머지 정의는 그것이 관련 기술 분야에서 일반적으로 사용되는 방식을 나타낸다.
- [0414] 일부 실시형태에서, VH1 및 VL1 도메인은 효과기 분자로부터 유래되고, VH2 및 VL2 도메인은 표적화 모이어티로부터 유래된다. 일부 실시형태에서 VH1 및 VL1 도메인은 표적화 모이어티로부터 유래되고, VH2 및 VL2 도메인은 효과기 결합/조절 모이어티로부터 유래된다.
- [0415] 일부 실시형태에서, VH1 및 VL1 도메인은 항-PD-1 항체로부터 유래되고, VH2 및 VL2 도메인은 항-MAdCAM 항체로부터 유래된다. 일부 실시형태에서 VH1 및 VL1 도메인은 항-MAdCAM 항체로부터 유래되고, VH2 및 VL2 도메인은 항-PD-1 항체로부터 유래된다.
- [0416] 일부 실시형태에서, 링커 A는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 GGGGS(서열번호 6) 반복부를 포함한다. 일부 실시형태에서, 링커 B는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 GGGGS 반복부를 포함한다. 의심을 피하기 위해서, 본 출원 전체에서 사용되는 링커 A 및 링커 B의 서열은 서로 독립적이다. 따라서 일부 실시형태에서, 링커 A와 링커 B는 동일하거나 상이할 수 있다. 일부 실시형태에서, 링커 A는 GGGGS(서열번호 6) GGGSGGGGS(서열번호 7), GGGSGGGSGGGGS(서열번호 8), 또는 GGGSGGGSGGGSGGGGS(서열번호 9)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 링커 B는 GGGGS(서열번호 6) GGGSGGGGS(서열번호 7), GGGSGGGSGGGGS(서열번호 8), 또는 GGGSGGGSGGGSGGGGS(서열번호 9)를 포함한다.
- [0417] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 경쇄 및 중쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서, 경쇄 및 중쇄는 N-말단에서 시작하고, 표적화 모이어티의 VH 도메인 그 다음 인간 IgG1의 Fc 영역(예를 들어, CH2-CH3)에 융합된, 인간 IgG1의 CH1 도메인이 이어진다. 일부 실시형태에서, Fc 영역의 c-말단은 본 명세서에 제공된 바와 같은 링커, 예컨대, GGGGS(서열번호 6), GGGSGGGGS(서열번호 7) 또는 GGGSGGGSGGGGS(서열번호 8)(이들로 제한되지 않음)에 융합된다. 이어서 링커는 효과기 결합/조절 모이어티, 예컨대, 본 명세서에 제공된 효과기 모이어티 중 임의의 하나에 융합될 수 있다. 폴리펩타이드는 동종이량체화될 수 있는데, 그 이유는 중쇄 동종이량체화를 통해서, 이것은 2개의 효과기 모이어티, 예컨대, 2개의 항-PD-1 항체를 갖는 치료 화합물을 생성하기 때문이다. 이러한 배향에서, 표적화 모이어티는 IgG 포맷이고, 표적화 모이어티의 결합 파트너를 각각 인식하는 2개의 Fab 아암이 존재하고, 예를 들어, MAdCAM은 항-MAdCAM 표적화 모이어티에 의해서 결합된다.

- [0418] 일부 실시형태에서, 치료 화합물이 Fc 부분을 포함하는 경우, Fc 도메인(부분)은 Fc 영역을 FcR에 결합할 수 없는 "효과적이지 않게" 하기 위한 돌연변이를 보유한다. Fc 영역을 효과적이지 않게 하는 돌연변이는 공지되어 있다. 일부 실시형태에서, 공지된 넘버링 시스템에 따른 Fc 영역 내의 돌연변이는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다: K322A, L235A, L236A, G237A, L235F, L236E, N297, P331S 또는 이들의 임의의 조합물. 일부 실시형태에서, Fc 돌연변이는 L235 및/또는 L236 및/또는 G237에서의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, Fc 돌연변이는 L235A 및/또는 L236A 돌연변이를 포함하며, 이것은 지칭될 수 있다. 일부 실시형태에서, Fc 돌연변이는 L235A, L236A, 및 G237A 돌연변이를 포함한다.
- [0419] 본 명세서에는 링커 영역 폴리펩타이드, 치료 펩타이드, 및 폴리펩타이드(예를 들어, 치료 화합물)를 암호화하는 핵산, 핵산 서열을 포함하는 벡터, 및 핵산 또는 벡터를 포함하는 세포가 개시된다.
- [0420] 치료 화합물은 복수의 특이적 표적화 모이어티를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 복수의 특이적 표적화 모이어티, 공여자 특이적 표적화 모이어티의 복수의 카피 또는 복수의 조직 특이적 표적화 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 제1 및 제2 공여자 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, 제1 공여자 표적에 대해서 특이적인 제1 공여자 특이적 표적화 모이어티 및 제2 공여자 표적에 대해서 특이적인 제2 공여자 특이적 표적화 모이어티를 포함하고, 예를 들어, 여기서 제1 표적 및 제2 표적은 동일한 공여자 조직 상에서 발견된다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 예를 들어, 조직 특이적 표적에 대한 제1 특이적 표적화 모이어티 및 제2 표적에 대한 제2 특이적 표적화 모이어티를 포함하고, 예를 들어, 여기서 제1 표적 및 제2 표적은 동일하거나 또는 상이한 표적 조직 상에서 발견된다.
- [0421] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 복수의 효과기 결합/조절 모이어티를 포함하는데, 이들 각각은 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함하고, ICIM 결합/조절 모이어티의 수는, 면역 세포 상에서의 ICIM 결합/조절 모이어티의 리간드의 클러스터링(표적 결합의 부재 하에서)이 최소화되어, 예를 들어, 표적에 대한 치료 화합물의 결합의 부재 하에서 면역 세포의 전신 효능작용을 회피하기에 충분히 낮다.
- [0422] **표준품, 예를 들어, 인간 폴리펩타이드로부터 유래된 폴리펩타이드**
- [0423] 일부 실시형태에서, 치료 분자의 성분은 예를 들어, 인간에서 사용하기 위한 치료 분자의 경우, 자연 발생 인간 폴리펩타이드로부터의 표준 분자로부터 유래되거나 이를 기반으로 한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, CD39 분자, CD73 분자, 세포 표면 분자 결합기, 공여자 특이적 표적화 모이어티, 효과기 리간드 결합 분자, ICIM 결합/조절 모이어티, IIC 결합/조절 모이어티, 저해성 면역 관문 분자 리간드 분자, 저해성 분자 반대 리간드 분자, SM 결합/조절 모이어티, 특이적 표적화 모이어티, 표적 리간드 결합 분자, 또는 조직 특이적 표적화 모이어티의 전부 또는 부분은 자연 발생 인간 폴리펩타이드를 기반으로 하거나 이로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, PD-L1 분자는 인간 PD-L1 서열을 기반으로 하거나 이로부터 유래될 수 있다.
- [0424] 일부 실시형태에서, 치료 화합물 성분, 예를 들어, PD-L1 분자는,
- [0425] a) 예를 들어, 인간 폴리펩타이드의 자연 발생 형태의 활성 부분의 전부 또는 일부를 포함하거나;
- [0426] b) 예를 들어, 데이터베이스, 예를 들어, 2017년 1월 11일자의 켄뱅크 데이터베이스에 존재하는 서열을 갖는 인간 폴리펩타이드, 질량 상태와 연관되지 않은 인간 폴리펩타이드의 자연 발생 형태의 활성 부분의 전부 또는 일부를 포함하거나;
- [0427] c) a) 또는 b)의 서열과 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20 또는 30개 이하의 아미노산 잔기가 상이한 서열을 갖는 인간 폴리펩타이드를 포함하거나;
- [0428] d) a) 또는 b)의 서열과 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20 또는 30% 이하의 아미노산 잔기가 상이한 서열을 갖는 인간 폴리펩타이드를 포함하거나;
- [0429] e) a) 또는 b)의 서열과 실질적으로 상이하지 않은 서열을 갖는 인간 폴리펩타이드를 포함하거나; 또는
- [0430] f) 생물학적 활성도, 예를 들어, 면역 반응을 향상시키거나 저해하는 능력이 a) 또는 b)의 서열을 갖는 인간 폴리펩타이드와 실질적으로 상이하지 않은 c), d) 또는 e)의 서열을 갖는 인간 폴리펩타이드를 포함한다.
- [0431] 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 복수의 효과기 결합/조절 모이어티를 포함할 수 있다. 예를 들어, 치료 화합물은 하기:
- [0432] (a) ICIM 결합/조절 모이어티; (b) IIC 결합/조절 모이어티; 또는 (c) SM 결합/조절 모이어티로부터 선택된 것 중 2개 이상을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 예를 들어, 치료 화합물은 복수의, 예를 들어, 2개의 ICIM

결합/조절 모이어티(여기서 이들은 동일하거나 상이함); 예의 방식에 의해서, PD-1를 활성화시키거나 효능작용시키는 2개; 복수의, 예를 들어, 2개의 IIC 결합/조절 모이어티(여기서 이들은 동일하거나 상이함); 또는 복수의, 예를 들어, 2개의 SM 결합/조절 모이어티(여기서 이들은 동일하거나 상이함)를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 ICIM 결합/조절 모이어티 및 IIC 결합/조절 모이어티; ICIM 결합/조절 모이어티 및 SM 결합/조절 모이어티; IIC 결합/조절 모이어티 및 SM 결합/조절 모이어티를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 복수의 표적화 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 표적화 모이어티는 동일하거나 상이할 수 있다.

[0433] **약제학적 조성물 및 키트**

[0434] 또 다른 양상에서, 본 실시형태는 본 명세서에 기술된 치료 화합물을 포함하고, 약제학적으로 허용 가능한 담체와 함께 제형화된 조성물, 예를 들어, 약제학적으로 허용 가능한 조성물을 제공한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "약제학적으로 허용 가능한 담체"는 생리학적으로 상용성인 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 등장 및 흡수 지연제 등을 포함한다.

[0435] 담체는 정맥내, 근육내, 피하, 비경구, 직장, 국지, 안과적, 국소, 척추 또는 표피 투여(예를 들어, 주사 또는 주입에 의함)에 적합할 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "담체"는 화합물과 함께 투여되는 희석제, 아주반트 또는 부형제를 의미한다. 일부 실시형태에서, 약제학적 담체는 또한 액체, 예컨대, 물 및 오일일 수 있고, 이것은 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 것, 예컨대, 땅콩유, 대두유, 팜유, 참기름 등을 포함한다. 약제학적 담체는 또한 염수, 아가시아검, 젤라틴, 전분 페이스트, 탈크, 케라틴, 콜로이드 실리카, 우레아 등일 수 있다. 또한, 보조제, 안정화제, 증점제, 윤활제 및 착색제가 사용될 수 있다. 담체는 본 명세서에 제공된 치료 화합물을 포함하는 약제학적 조성물에서 사용될 수 있다.

[0436] 본 명세서에 제공된 실시형태의 조성물 및 화합물은 다양한 형태일 수 있다. 이것은 예를 들어, 액체, 반고체 및 고체 투여형, 예컨대, 액체 용액(예를 들어, 주사 및 주입 용액), 분산액 또는 현탁액, 리포솜 및 좌제를 포함한다. 바람직한 형태는 의도된 투여 모드 및 치료 응용에 좌우된다. 전형적인 조성물은 주사 또는 주입 용액의 형태이다. 일부 실시형태에서, 투여 모드는 비경구(예를 들어, 정맥내, 피하, 복강내, 근육내)이다. 일부 실시형태에서, 치료 분자는 정맥내 주입 또는 주사에 의해서 투여된다. 또 다른 실시형태에서, 치료 분자는 근육내 또는 피하 주사에 의해서 투여된다. 또 다른 실시형태에서, 치료 분자는 국지적으로, 예를 들어, 주사 또는 국소 도포에 의해서 표적 부위에 투여된다.

[0437] 구 "비경구 투여" 및 "비경구로 투여되는"은 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 통상적으로 주사에 의한, 장관(enteral) 및 국소 투여가 아닌 투여 모드를 의미하고, 비제한적으로, 정맥내, 근육내, 동맥내, 척추강내, 낭내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 기관경유, 피하, 피하, 관절내, 피막내, 지주막하, 척추내, 경막의 및 흉골내 주사 및 주입을 포함한다.

[0438] 치료 조성물은 전형적으로 멸균되어야 하고, 제조 및 저장 조건 하에서 안정적이어야 한다. 조성물은 용액, 마이크로에멀션, 분산액, 리포솜 또는 높은 치료 분자 농도에 적합한 다른 정렬된 구조로서 제형화될 수 있다. 멸균 주사 용액은 활성 화합물(즉, 치료 분자)을 필요한 양의 적절한 용매 중에 상기에 열거된 성분 중 하나 또는 이의 조합물과 함께 혼입하고, 필요한 경우 그 다음 멸균 여과함으로써 제조될 수 있다. 일반적으로, 분산액은 활성 화합물을 염기성 분산 매질 및 상기로부터 열거된 것으로부터의 필요한 기타 성분을 함유하는 멸균 비히클 중에 혼입함으로써 제조된다. 멸균 주사 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우, 바람직한 제조 방법은 활성 성분의 분말 및 사전 멸균 여과된 용액으로부터의 임의의 추가적인 바람직한 성분의 분말을 산출하는 진공 건조 및 동결 건조이다. 용액의 적절한 유동성은, 예를 들어, 코팅제, 예컨대, 레시틴의 사용에 의해서, 분산액의 경우에는 필요한 입자 크기의 유지에 의해서, 그리고 계면활성제의 사용에 의해서 유지될 수 있다. 주사 조성물의 연장된 흡수는 조성물 중에 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어, 모노스테아레이트 염 및 젤라틴을 포함시킴으로써 제공될 수 있다.

[0439] 당업자에게 인식될 바와 같이, 투여 경로 및/또는 모드는 목적하는 결과에 따라 달라질 것이다. 특정 실시형태에서, 활성 화합물은 화합물을 신속한 방출에 대해서 보호할 담체, 예컨대, 제어 방출 제형, 예컨대, 이식편, 경피 패치 및 마이크로캡슐화된 전달 시스템과 함께 제조될 수 있다. 생분해성의 생체적합성 중합체, 예컨대, 에틸렌 바이닐 아세테이트, 폴리엔하이드라이드, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리옥소에스터 및 폴리락트산이 사용될 수 있다. 이러한 제형의 제조를 위한 다수의 방법은 고안되어 있거나, 일반적으로 당업자에게 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978] 참고).

- [0440] 특정 실시형태에서, 치료 화합물은 예를 들어, 불활성 희석제 또는 동화 가능한 식용 담체와 함께 경구로 투여될 수 있다. 화합물(및 바람직한 경우 다른 성분)은 또한 경질 또는 연질 겔질 젤라틴 캡슐 내에 포함되거나, 정제로 압착되거나 대상체에게 직접 혼입될 수 있다. 경구 치료제 투여의 경우, 화합물은 부형제와 함께 혼입될 수 있거나, 소화 가능한 정제, 캡슐, 트로치, 캡슐, 엘릭시르, 현탁액, 시럽, 웨이퍼 등의 형태로 사용될 수 있다. 비경구 투여 이외의 것에 의해서 화합물을 투여하기 위해서, 화합물을 이의 불활성화를 예방하는 물질로 코팅하거나, 화합물을 이러한 물질과 함께 공동투여하는 것이 필요할 수 있다. 치료 조성물은 또한 관련 기술 분야에 공지된 의료 기기를 사용하여 투여될 수 있다.
- [0441] 투여 요법은 최적의 목적하는 반응(예를 들어, 치료 반응)을 제공하도록 조정된다. 예를 들어, 단일 볼러스(single bolus)가 투여될 수 있거나, 몇몇 분할된 용량이 시간에 따라서 투여될 수 있거나, 용량은 치료 상황의 긴급성에 의해서 지시된 바와 같이 비례하게 감소되거나 증가될 수 있다. 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해서 비경구 조성물을 투여 단위 형태로 제형화하는 것이 특히 유리하다. 투여 단위 형태는 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 치료될 대상체를 위한 단일 투여량으로서 적절한 물리적으로 분리된 단위를 지칭하고; 각각의 단위는 필요한 약제학적 담체와 혼합하여 목적하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 미리 결정된 양의 활성 화합물을 함유한다. 투여 단위 형태의 규격은 (a) 활성 화합물 및 달성하고자 하는 특정 치료 효과의 고유한 특징, 및 (b) 개체에서 민감성의 치료를 위해서 그러한 활성 화합물을 검과운딩하는 기술에서 고유한 제한에 의해서 지시되고, 이에 직접 좌우된다.
- [0442] 치료 화합물의 치료적 또는 예방적 유효량에 대한 예시적인 비제한적인 범위는 0.1 내지 30mg/kg, 보다 바람직하게는 1 내지 25mg/kg이다. 치료 화합물의 투여량 및 치료 요법은 당업자에 의해서 결정될 수 있다. 특정 실시형태에서, 치료 화합물은 주사에 의해서(예를 들어, 피하 또는 정맥내로) 약 1 내지 40mg/kg, 예를 들어, 1 내지 30mg/kg, 예를 들어, 약 5 내지 25mg/kg, 약 10 내지 20mg/kg, 약 1 내지 5mg/kg, 1 내지 10mg/kg, 5 내지 15mg/kg, 10 내지 20mg/kg, 15 내지 25mg/kg 또는 약 3mg/kg의 용량으로 투여된다. 투여 스케줄은 예를 들어, 1 주 1회 내지 2, 3 또는 4주마다 1회로 달라질 수 있다. 일 실시형태에서, 치료 화합물은 격주로 약 10 내지 20 mg/kg의 용량으로 투여된다. 치료 화합물은 약 35 내지 440mg/m², 전형적으로 약 70 내지 310mg/m², 및 보다 전형적으로, 약 110 내지 130 mg/m²의 용량에 도달하도록 20mg/분, 예를 들어, 20 내지 40mg/분 초과, 및 전형적으로 40mg/분 이상의 속도로 정맥내 주입에 의해서 투여될 수 있다. 실시형태에서, 약 110 내지 130mg/m²의 주입 속도는 약 3mg/kg의 수준을 달성한다. 다른 실시형태에서, 치료 화합물은 약 1 내지 100mg/m², 예를 들어, 약 5 내지 50mg/m², 약 7 내지 25mg/m², 또는 약 10mg/m²의 용량에 도달하도록 10mg/분 미만, 예를 들어, 5mg/분 이하의 속도로 정맥내 주입에 의해서 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료 화합물은 약 30분의 기간에 걸쳐서 주입된다. 완하시키고자 하는 병태의 유형 및 중증도에 따라서 투여량 값이 달라질 수 있다는 것을 주목해야 한다. 임의의 특정 대상체의 경우, 특정 투여 요법은 조성물을 투여하거나 조성물의 투여를 감독하는 전문가의 판단 및 개인 요구에 따라서 시간에 따라서 조정되어야 하고, 본 명세서에 언급된 투여량 범위는 단지 예시적이며, 청구된 조성물의 범주 또는 실시를 제한하도록 의도되지 않음을 추가로 이해해야 한다.
- [0443] 약제학적 조성물은 "치료적 유효량" 또는 "예방적 유효량"의 치료 분자를 포함할 수 있다. "치료적 유효량"은 목적하는 치료 결과를 달성하는 데 필요한 시간의 기간 동안 그리고 투여량에서 유효한 양을 지칭한다. 치료 분자의 치료적 유효량은 인자, 예컨대, 개체의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중, 및 개체에서 목적하는 반응을 도출하는 치료 화합물의 능력에 따라서 달라질 수 있다. 치료적 유효량은 또한 치료 분자의 임의의 독성 또는 해로운 효과가 치료적으로 이로운 효과보다 작은 것일 수 있다. "치료적 유효 투여량"은 바람직하게는 측정 가능한 파라미터, 예를 들어, 면역 공격을 미치료 대상체에 비해서 적어도 약 20%, 보다 바람직하게는 적어도 약 40%, 보다 더 바람직하게는 적어도 약 60%, 보다 더 바람직하게는 적어도 약 80%만큼 저해한다. 측정 가능한 파라미터, 예를 들어, 면역 공격을 저해하는 화합물의 능력은, 이식 거부 또는 자가면역 장애에서 효능이 예측되는 동물 모델 시스템에서 평가될 수 있다. 대안적으로, 조성물의 이러한 능력은 당업자에게 공지된 검정에 의해서 시험관내에서 이러한 저해를 저해하는 화합물의 능력을 조사함으로써 평가될 수 있다.
- [0444] "예방적 유효량"은 목적하는 예방적 결과를 달성하는 데 필요한 시간의 기간 동안 그리고 투여량에서 유효한 양을 지칭한다. 전형적으로, 예방적 용량은 질환 이전에 또는 초기 단계에 대상체에서 사용되기 때문에, 예방적 유효량은 치료적 유효량보다 적을 것이다.
- [0445] 또한 실시형태의 범주 내에는 본 명세서에 기술된 치료 화합물을 포함하는 키트가 포함된다. 키트는 사용 지시서; 다른 시약, 예를 들어, 표지, 치료제 또는 치료 분자를 표지 또는 다른 치료제에 키레이팅 또는 달리 커플링하기에 유용한 작용제, 또는 방사선 보호성 조성물; 투여용 치료 분자를 제조하기 위한 장치 또는 다른 물질; 약제학적으로 허용 가능한 담체; 및 대상체에 대한 투여를 위한 장치 및 다른 물질을 비롯한 하나 이상의 다른

요소를 포함할 수 있다.

- [0446] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 실시형태는 또한 하기를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다:
- [0447] 1. 치료 화합물로서,
- [0448] i) a) 예를 들어, 공여자 표적에 우선적으로 결합하는 공여자 특이적 표적화 모이어티; 또는
- [0449] b) 예를 들어, 대상체의 표적 조직에 우선적으로 결합하는 조직 특이적 표적화 모이어티;
- [0450] 로부터 선택된 특이적 표적화 모이어티; 및
- [0451] ii) (a) 면역 세포 저해성 분자 결합/조절 모이어티(ICIM 결합/조절 모이어티);
- [0452] (b) 면역억제성 면역 세포 결합/조절 모이어티(IIC 결합/조절 모이어티); 또는
- [0453] (c) 치료 화합물의 부분으로서, 예를 들어, 표적의 근처에 표적의 면역계에 의한 공격을 저해 또는 최소화하는 물질을 제공함으로써, 면역 억제성 국지적 미세환경을 촉진시키는 효과기 결합/조절 모이어티(SM 결합/조절 모이어티);
- [0454] 로부터 선택된 효과기 결합/조절 모이어티를 포함하는, 치료 화합물.
- [0455] 2. 실시형태 1에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 저해성 수용체에 직접 결합하고, 이를 활성화시키는, 치료 화합물.
- [0456] 3. 실시형태 2에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 저해성 면역 관문 분자인, 치료 화합물.
- [0457] 4. 실시형태 1 내지 3 중 어느 것에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 면역 세포에 의해서 발현되는, 치료 화합물.
- [0458] 5. 실시형태 4에 있어서, 면역 세포는 원치 않는 면역 반응에 기여하는, 치료 화합물.
- [0459] 6. 실시형태 4 또는 5에 있어서, 면역 세포는 질환 병리학을 유발하는, 치료 화합물.
- [0460] 7. 실시형태 1에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티가 결합하는 분자를 효능작용시키는 치료 분자의 능력은, 치료 화합물이 상기 표적화 모이어티를 통해서 표적에 결합하는 경우, 치료 화합물이 표적화 모이어티를 통해서 표적에 결합하지 않은 경우보다 예를 들어, 2, 5, 10, 100, 500 또는 1,000배 더 큰, 치료 화합물.
- [0461] 8. 실시형태 1 내지 7에 있어서, 동족 리간드, 예를 들어, 저해성 면역 관문 분자에 단량체로서 결합되는 경우 (또는 치료 화합물이 다량체화되지 않은 경우의 결합) 동족 리간드를 길항작용시키지 않거나 또는 실질적으로 길항작용시키지 않는, 치료 화합물.
- [0462] 9. 실시형태 1 내지 8에 있어서, 치료 화합물의 치료적 유효 용량에서, 효과기 결합/조절 모이어티가 결합하는 분자의 상당한 전신 효능작용이 존재하는, 치료 화합물.
- [0463] 10. 실시형태 1 내지 9에 있어서, 치료 화합물의 치료적 유효 용량에서, 효과기 결합/조절 모이어티가 결합하는 분자의 효능작용은 표적화 모이어티가 결합하는 표적 부위에서만 실질적으로 일어나는, 치료 화합물.
- [0464] 11. 실시형태 1 내지 9에 있어서, 동족 리간드, 예를 들어, 저해성 면역 관문 분자에 대한 치료 화합물의 결합은 동족 리간드, 예를 들어, 저해성 면역 관문 분자에 대한 내인성 반대 리간드의 결합을 저해하지 않거나, 실질적으로 저해하지 않는, 치료 화합물.
- [0465] 12. 실시형태 1 내지 11에 있어서, 동족 리간드에 대한 효과기 결합/조절 모이어티의 결합은, 효과기 결합/조절 모이어티의 동족 리간드에 대한 내인성 반대 리간드의 결합을 60, 50, 40, 30, 20, 10 또는 5%만큼 저해하는, 치료 화합물.
- [0466] 14. 실시형태 1 내지 11에 있어서, 동족 리간드에 대한 효과기 결합/조절 모이어티의 결합은, 효과기 결합/조절 분자의 동족 리간드의 길항작용을 실질적으로 초래하지 않는, 치료 화합물.
- [0467] 15. 실시형태 1에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함하는, 치료 화합물.
- [0468] 16. 실시형태 15에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함하는 저해성 면역 관문 분자 리간드 분자를 포함하는, 치료 화합물.

- [0469] 17. 실시형태 16에 있어서, 저해성 면역 분자 반대-리간드 분자는 PD-L1 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0470] 18. 실시형태 15에 있어서, ICIM은 이고, 저해성 면역 분자 반대 리간드 분자는 PD-1, KIR2DL4, LILRB1, LILRB 또는 CTLA-4로부터 선택된 동족 저해성 면역 관문 분자에 결속하는, 치료 화합물.
- [0471] 19. 실시형태 18에 있어서, ICIM은 항체인, 치료 화합물.
- [0472] 20. 실시형태 18항에 있어서, ICIM은 PD-1, KIR2DL4, LILRB1, LILRB 또는 CTLA-4에 결합하는 항체를 포함하는, 치료 화합물.
- [0473] 21. 실시형태 20에 있어서, 항체는 PD-1에 결합하는 항체인, 치료 화합물.
- [0474] 22. 실시형태 20에 있어서, 항체는 PD-1에 결합하는 항체이고, 그리고 PD-1 효능제인, 치료 화합물.
- [0475] 23. 실시형태 20에 있어서, 항체는 PD-1에 결합하는 항체이고, 그리고 표적 부위에 테더링되는 경우 PD-1 효능제인, 치료 화합물.
- [0476] 24. 실시형태 16에 있어서, 저해성 면역 분자 반대-리간드 분자는 HLA-G 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0477] 25. 실시형태 15에 있어서, ICIM은 이고, 저해성 면역 분자 반대 리간드 분자는 PD-1, KIR2DL4, LILRB1, LILRB 또는 CTLA-4로부터 선택된 동족 저해성 면역 관문 분자에 결속하는, 치료 화합물.
- [0478] 26. 실시형태 15에 있어서, 저해성 면역 분자 반대 리간드 분자는 표 1로부터 선택된 동족 저해성 면역 관문 분자에 결속하는, 치료 화합물.
- [0479] 27. 실시형태 15에 있어서, 동족 저해성 면역 관문 분자에 단량체로서 결합하는 경우 저해성 면역 관문 분자를 효능작용시키지 않거나 또는 실질적으로 효능작용시키지 않는, 치료 화합물.
- [0480] 28. 실시형태 15에 있어서, 저해성 면역 분자 반대 리간드는 자연 발생 저해성 면역 관문 분자 리간드와, 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 99 또는 100% 상동성을 갖는, 치료 화합물.
- [0481] 29. 실시형태 1에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 세포 표면 저해성 분자에 대한 기능성 항체 분자를 포함하는 ICIM 결합/조절 모이어티를 포함하는, 치료 화합물.
- [0482] 30. 실시형태 1에 있어서, 세포 표면 저해성 분자는 저해성 면역 관문 분자인, 치료 화합물.
- [0483] 31. 실시형태 30에 있어서, 저해성 면역 관문 분자는 PD-1, KIR2DL4, LILRB1, LILRB2, CTLA-4로부터 선택되거나, 또는 표 1로부터 선택되는, 치료 화합물.
- [0484] 32. 실시형태 1 내지 31 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물의 치료적 유효량에서 전신 면역 억제제의 수준은 전신 면역 억제제(관련된 경우)로의 표준 치료에 의해서 제공된 것보다 낮거나, 또는 효과기 결합/조절 분자가 없는(치료 화합물의 성분으로서가 아님) 동일 물량에 의해서 제공되는 것보다 낮은, 치료 화합물.
- [0485] 33. 실시형태 1 내지 32 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물의 치료적 유효량에서 전신 면역 활성화의 수준은 효과기 결합/조절 분자가 없는(치료 화합물의 성분으로서가 아님) 동일 물량에 의해서 제공되는 것보다 낮은, 치료 화합물.
- [0486] 34. 실시형태 1 내지 33 중 어느 것에 있어서, 제2 효과기 결합/조절 모이어티를 더 포함하는, 치료 화합물.
- [0487] 35. 실시형태 34에 있어서, 제2 효과기 결합/조절 모이어티는 효과기 결합/조절 모이어티와는 상이한 표적에 결합하는, 치료 화합물.
- [0488] 36. 실시형태 34 또는 35에 있어서, 제2 효과기 결합/조절 모이어티는 IIC 결합/조절 모이어티를 포함하는, 치료 화합물.
- [0489] 실시형태 34 또는 35에 있어서, 제2 효과기 결합/조절 모이어티는 SM 결합/조절 모이어티를 포함하는, 치료 화합물.
- [0490] 37. 실시형태 1에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 IIC 결합/조절 모이어티를 포함하는, 치료 화합물.
- [0491] 38. 실시형태 1에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 표적 부위에서 면역억제성 면역 세포를 증가시키거나, 모집하거나 또는 축적하는 IIC 결합/조절 모이어티를 포함하는, 치료 화합물.
- [0492] 39. 실시형태 1에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 면역억제성 면역 세포 상의 세포 표면 분자에 결합하거

나 또는 특이적으로 결합하는 세포 표면 분자 결합기를 포함하는, 치료 화합물.

- [0493] 40. 실시형태 1에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 면역억제성 면역 세포 상의 세포 표면 분자에 결합하거나 또는 특이적으로 결합하는 세포 표면 분자 리간드 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0494] 41. 실시형태 1에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 면역억제성 면역 세포 상의 세포 표면 분자에 결합하는 항체 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0495] 42. 실시형태 38 내지 41 중 어느 것에 있어서, 면역억제성 면역 세포는 T 조절 세포, 예컨대, Foxp3+CD25+ T 조절 세포를 포함하는, 치료 화합물.
- [0496] 43. 실시형태 1 내지 42 중 어느 것에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 GARP에 결합하고, 예를 들어, GARP 발현 면역억제성 세포, 예를 들어, Treg 상의 GARP에 결합하는 항체 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0497] 44. 실시형태 1에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 SM 결합/조절 모이어티를 포함하는, 치료 화합물.
- [0498] 45. 실시형태 44에 있어서, SM 결합/조절 모이어티는 면역 억제성 국지적 미세환경을 촉진시키는, 치료 화합물.
- [0499] 46. 실시형태 44 및 45에 있어서, 효과기 분자 결합 모이어티는, 예를 들어, 면역 세포 기능을 저해하는 물질, 예를 들어, 면역 세포의 활성화 또는 활성화된 면역 세포의 기능을 저해하는 물질의 국지적 농도 또는 양을 증가시킴으로써, 유효성을 증가시키는, 치료 화합물.
- [0500] 47. 실시형태 44 내지 46 중 어느 것에 있어서, 효과기 분자 결합 모이어티는 면역억제성 기능을 갖는, 가용성 물질, 예를 들어, 내인성 또는 외인성 물질에 결합하고, 이를 축적하는, 치료 화합물.
- [0501] 48. 실시형태 44 내지 47 중 어느 것에 있어서, 효과기 분자 결합 모이어티는, 예를 들어, 면역 세포 기능을 촉진시키는 물질, 예를 들어, 면역 세포의 활성화 또는 활성화된 면역 세포의 기능을 촉진시키는 물질의 국지적 농도 또는 양을 감소시키거나 또는 이를 격리시킴으로써, 유효성을 감소시키는, 치료 화합물.
- [0502] 49. 실시형태 44 내지 48 중 어느 것에 있어서, SM 결합/조절 모이어티는 표적의 근처에 표적의 면역계에 의한 공격을 저해 또는 최소화하는 물질을 제공함으로써, 면역 억제성 국지적 미세환경을 촉진시키는, 치료 화합물.
- [0503] 50. 실시형태 44 내지 49 중 어느 것에 있어서, SM 결합/조절 모이어티는 표적에 의해서 면역계에 의한 공격을 저해하거나 최소화하는 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0504] 51. 실시형태 44 내지 50 중 어느 것에 있어서, SM 결합/조절 모이어티는 면역억제성 기능을 갖는, 가용성 물질, 예를 들어, 내인성 또는 외인성 물질에 결합하고/하거나 이를 축적하는, 치료 화합물.
- [0505] 52. 실시형태 44 내지 51 중 어느 것에 있어서, SM 결합/조절 모이어티는 면역 공격을 촉진시키는 물질, 예를 들어, 가용성 물질, 전형적으로 내인성 가용성 물질에 결합하고/하거나 이를 저해하거나, 격리시키거나, 분해시키거나 또는 달리 중화시키는, 치료 화합물.
- [0506] 53. 실시형태 44 내지 52 중 어느 것에 있어서, 효과기 분자 결합 모이어티는 ATP 또는 AMP의 유효성을 감소시키는, 치료 화합물.
- [0507] 54. 실시형태 44 내지 53 중 어느 것에 있어서, SM 결합/조절 모이어티는 면역 효과기 세포 기능을 촉진시키는 성분, 예를 들어, ATP 또는 AMP를 고갈시키는 물질, 예를 들어, CD39 또는 CD73에 결합하거나, 이를 포함하는, 치료 화합물.
- [0508] 55. 실시형태 44 내지 54 중 어느 것에 있어서, SM 결합/조절 모이어티는 CD39 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0509] 56. 실시형태 44 내지 54 중 어느 것에 있어서, SM 결합/조절 모이어티는 CD73 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0510] 57. 실시형태 44 내지 54 중 어느 것에 있어서, SM 결합/조절 모이어티는 항-CD39 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0511] 58. 실시형태 44 내지 54 중 어느 것에 있어서, SM 결합/조절 모이어티는 항-CD73 항체 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0512] 59. 실시형태 44 내지 54 중 어느 것에 있어서, 효과기 분자 결합 모이어티는 면역-억제성 물질, 예를 들어, 면역억제성 단백질의 단편을 포함하는, 치료 화합물.
- [0513] 60. 실시형태 44 내지 54 중 어느 것에 있어서, SM 결합/조절 모이어티는 알칼리성 포스파타제 분자를

포함하는, 치료 화합물.

- [0514] 61. 실시형태 1에 있어서, 상기 화합물은 N-말단에서부터 C-말단으로 하기 화학식을 갖는, 치료 화합물:
- [0515] R1---링커 영역 A-또는 R3-링커 영역 B-
- [0516] 식 중,
- [0517] R1, R2, R3 및 R4는 각각 독립적으로 효과기 결합/조절 모이어티, 예를 들어, ICIM 결합/조절 모이어티, IIC 결합/조절 모이어티, 또는 SM 결합/조절 모이어티; 특이적 표적화 모이어티를 포함하거나; 또는 이들은 존재하지 않되; 단 효과기 결합/조절 모이어티 및 특이적 표적화 모이어티가 존재한다.
- [0518] 62. 실시형태 61에 있어서, 링커 영역 A 및 링커 영역 B의 각각은 Fc 영역을 포함하는, 치료 화합물.
- [0519] 63. 실시형태 61에 있어서, R1 및 R2 중 하나는 항-PD-1 항체이고, 그리고 R1 및 R2 중 하나는 항-MAdCAM 항체인, 치료 화합물.
- [0520] 64. 실시형태 61에 있어서, 하나의 R1은 항-PD-1 항체이고, 그리고 하나의 R2는 항-MAdCAM 항체인, 치료 화합물.
- [0521] 65. 실시형태 61에 있어서, 하나의 R1은 항-MAdCAM 항체이고, 하나의 R2는 항-PD-1 항체인, 치료 화합물.
- [0522] 66. 실시형태 61에 있어서, R3 및 R4 중 하나는 항-PD-1 항체이고, 그리고 R3 및 R4 중 하나는 항-MAdCAM 항체인, 치료 화합물.
- [0523] 67. 실시형태 61에 있어서, 하나의 R3은 항-PD-1 항체이고, 그리고 하나의 R4는 항-MAdCAM 항체인, 치료 화합물.
- [0524] 68. 실시형태 61에 있어서, 하나의 R3은 항-MAdCAM 항체이고, 하나의 R4는 항-PD-1 항체인, 치료 화합물.
- [0525] 69. 실시형태 61 내지 68 중 어느 것에 있어서, 링커는 존재하지 않는, 치료 화합물.
- [0526] 70. 실시형태 61 내지 68 중 어느 것에 있어서, 링커는 Fc 영역인, 치료 화합물.
- [0527] 71. 실시형태 61 내지 68 중 어느 것에 있어서, 링커는 글리신/세린 링커, 예컨대, GGGGS(서열번호 6)의 1, 2, 3, 4 또는 5개의 반복부인, 치료 화합물.
- [0528] 72. 실시형태 61 내지 68 중 어느 것에 있어서, 링커는 Fc 영역 및 글리신/세린 링커, 예컨대, GGGGS(서열번호 6)의 1, 2, 3, 4 또는 5개의 반복부를 포함하는, 치료 화합물.
- [0529] 73. 실시형태 61 내지 72 중 어느 것에 있어서, PD-1 항체는 PD-1 효능제인, 치료 화합물.
- [0530] 74. 실시형태 61에 있어서, R1 및 R3은 독립적으로 기능성 항-PD-1 항체 분자(PD-1의 효능제)를 포함하고; 그리고 R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0531] 75. 실시형태 73 및 74 중 어느 것에 있어서,
- [0532] R1 및 R3은 독립적으로 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, 항-조직 항원 항체를 포함하고; 그리고 R2 및 R4는 독립적으로 기능성 항-PD-1 항체 분자(PD-1의 효능제)를 포함하는, 치료 화합물.
- [0533] 76. 실시형태 73 및 74 중 어느 것에 있어서, R1, R2, R3 및 R4는 각각 독립적으로 물질, 예를 들어, 면역 반응을 조절하는 가용성 분자, 예를 들어, ATP 또는 AMP를 조절하는, 예를 들어, 이에 결합하여 이를 저해하거나, 격리시키거나, 분해시키거나 또는 달리 중화시키는 SM 결합/조절 모이어티, 예를 들어, CD39 분자 또는 CD73 분자; 특이적 표적화 모이어티를 포함하거나; 또는 존재하지 않되;
- [0534] 단 SM 결합/조절 모이어티 및 특이적 표적화 모이어티는 존재하는, 치료 화합물.
- [0535] 77. 실시형태 61에 있어서, R1 및 R3은 독립적으로 CD39 분자 또는 CD73 분자를 포함하고;
- [0536] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0537] 78. 실시형태 77에 있어서,

- [0538] R1 및 R3은 각각 CD39 분자를 포함하고;
- [0539] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0540] 79. 실시형태 61 또는 77에 있어서,
- [0541] R1 및 R3은 각각 CD73 분자를 포함하고;
- [0542] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0543] 80. 실시형태 61에 있어서,
- [0544] R1 및 R3 중 하나는 CD39 분자를 포함하고, 나머지는 CD73 분자를 포함하고; 그리고
- [0545] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0546] 81. 실시형태 61에 있어서,
- [0547] R1, R2, R3 및 R4는 각각 독립적으로 HLA-G 분자; 특이적 표적화 모이어티를 포함하거나; 또는 존재하지 않되;
- [0548] 단 HLA-G 분자 및 특이적 표적화 모이어티는 존재하는, 치료 화합물.
- [0549] 82. 실시형태 61 또는 81에 있어서,
- [0550] R1 및 R3은 각각 HLG-A 분자를 포함하고;
- [0551] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0552] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0553] 83. 실시형태 81 및 82 중 어느 것에 있어서,
- [0554] R1 및 R3은 각각 효능작용성 항-LILRB1 항체 분자를 포함하고;
- [0555] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0556] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0557] 84. 실시형태 81 및 82 중 어느 것에 있어서,
- [0558] R1 및 R3은 각각 효능작용성 항-KIR2DL4 항체 분자를 포함하고;
- [0559] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0560] 일부 실시형태에서, 링커 A 및 링커 B는 Fc 모이어티(예를 들어, 자가 짝지움 Fc 모이어티 또는 자가 짝지어지지 않거나 또는 실질적으로 자가 짝지어지지 않는 Fc 모이어티)를 포함한다.
- [0561] 85. 실시형태 81 내지 84 중 어느 것에 있어서,
- [0562] R1 및 R3은 각각 효능작용성 항-LILRB2 항체 분자를 포함하고;
- [0563] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0564] 86. 실시형태 81 내지 84 중 어느 것에 있어서,
- [0565] R1 및 R3은 각각 효능작용성 항-NKG2A 항체 분자를 포함하고;
- [0566] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함하는, 치료 화

합물.

- [0567] 87. 실시형태 81 내지 84 중 어느 것에 있어서,
- [0568] R1 및 R3 중 하나는 길항작용성 항-LILRB1 항체 분자, 효능작용성 항-KR2DL4 항체 분자, 및 효능작용성 항-NKG2A 항체 분자로부터 선택된 제1 모이어티를 포함하고, 나머지는 상기로부터 선택된 상이한 모이어티를 포함하고;
- [0569] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0570] 88. 실시형태 81 내지 84 중 어느 것에 있어서,
- [0571] R1 및 R3 중 하나는 길항작용성 항-LILRB1 항체 분자를 포함하고, 나머지는 효능작용성 항-KR2DL4 항체 분자를 포함하고;
- [0572] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0573] 89. 실시형태 81 내지 84 중 어느 것에 있어서,
- [0574] R1 및 R3 중 하나는 길항작용성 항-LILRB1 항체 분자를 포함하고, 나머지는 효능작용성 항-NKG2A 항체 분자를 포함하고;
- [0575] R2 및 R4는 독립적으로 조직 항원에 대한 특이적 표적화 모이어티, 예를 들어, scFv 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0576] 90. 실시형태 81 내지 84 중 어느 것에 있어서,
- [0577] R1, R2, R3 및 R4 중 하나는 항-BCR 항체 분자, 예를 들어, 길항작용성 항- BCR 항체 분자를 포함하고, 하나는 항 FCRL 항체 분자를 포함하고, 하나는 특이적 표적화 모이어티를 포함하는, 치료 화합물.
- [0578] 91. 실시형태 90에 있어서,
- [0579] 항-FCRL 분자는 FCRL1, FCRL2, FCRL3, FCRL4, FCRL5 또는 FCRL6에 지향되는 항-FCRL 항체 분자, 예를 들어, 효능작용성 항-FCRL 항체 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0580] 92. 실시형태 81 내지 84 중 어느 것에 있어서,
- [0581] R1, R2, R3 및 R4는 각각 독립적으로
- [0582] i) T 세포 활성화, 확장 또는 기능을 최소화하거나 저해하는, 효과기 결합/조절 모이어티, 예를 들어, ICIM 결합/조절 모이어티, IIC 결합/조절 모이어티, 또는 SM 결합/조절 모이어티(T 세포 효과기 결합/조절 모이어티);
- [0583] ii) B 세포 활성화, 확장 또는 기능을 최소화하거나 저해하는, 효과기 결합/조절 모이어티, 예를 들어, ICIM 결합/조절 모이어티, IIC 결합/조절 모이어티, 또는 SM 결합/조절 모이어티(B 세포 효과기 결합/조절 모이어티);
- [0584] iii) 특이적 표적화 모이어티를 포함하거나; 또는
- [0585] iv) 존재하지 않되; 단 T 세포 효과기 결합/조절 모이어티, B 세포 효과기 결합/조절 모이어티, 및 특이적 표적화 모이어티는 존재하는, 치료 화합물.
- [0586] 93. 실시형태 92에 있어서,
- [0587] R1, R2, R3 및 R4 중 하나는 효능작용성 항-PD-1 항체를 포함하고, 하나는 HLA-G 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0588] 94. 실시형태 92 내지 93에 있어서,
- [0589] R1, R2, R3 및 R4 중 하나는 SM 결합/조절 모이어티, 예를 들어, CD39 분자 또는 CD73 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0590] 95. 실시형태 92 내지 94 중 어느 것에 있어서,
- [0591] R1, R2, R3 및 R4 중 하나는 조절성 면역 세포, 예를 들어, Treg 세포 또는 Breg 세포에 결합하거나, 이를 활성화

화시키거나 또는 이를 유지시키는 엔티티를 포함하는, 치료 화합물.

- [0592] 96. 실시형태 92 내지 95 중 어느 것에 있어서,
- [0593] R1, R2, R3 및 R4 중 하나는 효능작용성 항-PD-1 항체를 포함하거나, 하나는 HLA-G 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0594] 97. 실시형태 96에 있어서,
- [0595] R1, R2, R3 및 R4 중 하나는 효능작용성 항-PD-1 항체를 포함하고, 하나는 HLA-G 분자를 포함하고, 하나는 CD39 분자 또는 CD73 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0596] 98. 실시형태 1 내지 97 중 어느 것에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 폴리펩타이드를 포함하는, 치료 화합물.
- [0597] 99. 실시형태 1 내지 98 중 어느 것에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 150, 200 또는 250개의 아미노산 잔기를 갖는 폴리펩타이드를 포함하는, 치료 화합물.
- [0598] 100. 실시형태 1 내지 99 중 어느 것에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 5, 10, 15, 20 또는 40 Kd의 분자량을 갖는, 치료 화합물.
- [0599] 101. 실시형태 1 내지 100 중 어느 것에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 아포지질단백질 CIII, 단백질 카이나제 A, Src 카이나제, 또는 베타1 인테그린의 발현의 저해제를 포함하지 않는, 치료 화합물.
- [0600] 102. 실시형태 1 내지 100 중 어느 것에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 아포지질단백질 CIII, 단백질 카이나제 A, Src 카이나제, 또는 베타1 인테그린의 활성도의 저해제를 포함하지 않는, 치료 화합물.
- [0601] 103. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 폐, 피부, 췌장, 망막, 전립선, 난소, 림프절, 부신, 간 또는 내장 조직으로부터 선택된 조직을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0602] 104. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 세뇨관 세포, 예를 들어, 근위 세뇨관 상피 세포를 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0603] 105. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 TIE-2, APN, TEM4, TEM6, ICAM-1, 뉴클레오린 P2Z 수용체, Trk-A, FLJ10849, HSPA12B, APP, 또는 OX-45를 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0604] 106. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 내강에서 발현되는 단백질을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0605] 107. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 공여자 표적은 심장 특이적 표적을 포함하지 않는, 치료 화합물.
- [0606] 108. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 폐 조직을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0607] 109. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 신장 조직을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0608] 110. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 췌장 폐 조직을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0609] 111. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 내장 조직을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0610] 112. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 전립선 조직을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0611] 113. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 뇌 조직을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0612] 114. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 CD71을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0613] 115. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 CD90을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료

화합물.

- [0614] 116. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 MAdCAM을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0615] 117. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 알부민을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0616] 118. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 탄산 탈수효소(carbonic anhydrase) IV를 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0617] 119. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 ZG16-p를 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0618] 120. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 다이펩티딜 펩티다제 IV를 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0619] 121. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 맥관 내피 세포막의 내강 표면을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0620] 121. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 심장 조직을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0621] 122. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 종양, 고형 종양, 또는 고형 종양의 맥관을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0622] 123. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 피부 조직을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0623] 124. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 표피 조직을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0624] 125. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 기저막을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0625] 126. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 Dsg 폴리펩타이드를 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0626] 127. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 Dsg1을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0627] 128. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 Dsg3을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0628] 129. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 BP180을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0629] 130. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 데스모글레인을 특이적으로 표적으로 하지 않는, 치료 화합물.
- [0630] 131. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 보체 조절제, 예를 들어, 보체 저해제, 예컨대, 비제한적으로, 전문이 참고로 포함된 미국 특허 제8,454,963호에 기술된 것을 포함하지 않는, 치료 화합물.
- [0631] 133. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 영상화제(imaging agent)를 포함하지 않는, 치료 화합물.
- [0632] 134. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 방사능제, 방사성 동위원소, 방사성 약물, 조영제, 나노입자; 효소, 보결 분자단, 형광 물질, 발광 물질 및 생물발광 물질, 예컨대, 비제한적으로 전문이 참고로 포함된 미국 특허 제8,815,235호에 기술된 것의 군으로부터 선택된 영상화제를 포함하지 않는, 치료 화합물.
- [0633] 135. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 방사성핵종, 예컨대, 비제한적으로, 전문이 참고로 포함된 미국 특허 제 6,232,287호에 기술된 것을 포함하지 않는, 치료 화합물.

- [0634] 136. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 결합하는 공여자 세포에 의해서 내재화되지 않는, 치료 화합물.
- [0635] 137. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 특이적 표적화 모이어티에 의해서 표적화된 세포에 유입되지 않는, 치료 화합물.
- [0636] 138. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 특이적 표적화 모이어티에 의해서 표적화된 세포를 사멸시키지 않는, 치료 화합물.
- [0637] 139. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 효과기 결합/조절 모이어티가 결합한 세포에 유입되지 않는, 치료 화합물.
- [0638] 140. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 효과기 결합/조절 모이어티가 결합한 세포를 사멸시키지 않는, 치료 화합물.
- [0639] 141. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 자가항원성 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 포함하지 않는, 치료 화합물.
- [0640] 142. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 자가항원성 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 포함하지 않고, 예를 들어, 대상체가 자가항체를 갖는 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 포함하지 않는, 치료 화합물.
- [0641] 143. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 자가면역 장애를 갖는 포유동물, 예를 들어, 인간으로부터 유래된 항체 분자를 포함하지 않는, 치료 화합물.
- [0642] 144. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 급성 점막피부(acute mucocutaneous) PV를 갖는 포유동물, 예를 들어, 인간으로부터 유래된 항체 분자를 포함하지 않는, 치료 화합물.
- [0643] 145. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 굿파스처병을 갖는 포유동물, 예를 들어, 인간으로부터 유래된 항체 분자를 포함하지 않는, 치료 화합물.
- [0644] 146. 실시형태 1 내지 101 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 심상성 천포창을 갖는 포유동물, 예를 들어, 인간으로부터 유래된 항체 분자를 포함하지 않는, 치료 화합물.
- [0645] 141. 실시형태 1 내지 146 중 어느 것에 있어서, 공여자 특이적 표적화 모이어티를 포함하는, 치료 화합물.
- [0646] 142. 실시형태 141에 있어서, 수용자의 조직과 대조적인 바와 같이, 이식된 공여자 조직에 우선적으로 국지화되는, 치료 화합물.
- [0647] 143. 실시형태 141 또는 142에 있어서, 공여자 특이적 표적화 모이어티는 공여자로부터의 이식 조직, 예를 들어, 기관에 부위-특이적 면역 회피를 제공하는, 치료 화합물.
- [0648] 144. 실시형태 141 내지 143에 있어서, 공여자 특이적 표적화 모이어티는 대립유전자가 수용자의 유전자좌에 존재하지 않는, 공여자에서의 유전자좌에 존재하는 대립유전자의 산물, 예를 들어, 폴리펩타이드에 결합하는, 치료 화합물.
- [0649] 145. 실시형태 141 내지 144 중 어느 것에 있어서, 공여자 특이적 표적화 모이어티는 대상체 조직 상에서 발현되는 유전자의 대립유전자와 비교할 때, 공여자 조직, 예를 들어, 이식 조직, 예를 들어, 기관 상에서 발현되는 유전자의 대립유전자에 우선적으로 결합하는, 치료 화합물.
- [0650] 146. 실시형태 141 내지 145에 있어서, 공여자 특이적 표적화 모이어티는 대상체 조직 상에서 발현되는 유전자의 대립유전자에 대한 친화도보다 적어도 2, 4, 5, 10, 50, 100, 500, 1,000, 5,000 또는 10,000배 더 높은, 공여자 조직, 예를 들어, 이식 조직, 예를 들어, 기관 상에서 발현되는 유전자의 대립유전자에 대한 결합 친화도를 갖는, 치료 화합물.
- [0651] 147. 실시형태 141 내지 146 중 어느 것에 있어서, 공여자 특이적 표적화 모이어티는 대립유전자가 수용자의 유전자좌에 존재하지 않는, 공여자에서의 유전자좌에 존재하는 대립유전자의 산물, 예를 들어, 폴리펩타이드에 결합하는, 치료 화합물.
- [0652] 148. 실시형태 141 내지 147 중 어느 하나에 있어서, 결합은 예를 들어, 치료 화합물의 임상적 유효 용량에서, 원치 않거나, 실질적이거나 또는 임상적으로 허용 가능하지 않은 전신 면역 억제가 일어나기에 충분히 특이적인, 치료 화합물.

- [0653] 149. 실시형태 141 내지 148 중 어느 하나에 있어서, 치료 화합물은 표적 부위에 축적되어, 예를 들어, 공여자 특이적 표적화 모이어티의 결합은 표적 부위에서 치료 화합물의 축적을 초래하는, 치료 화합물.
- [0654] 150. 실시형태 141 내지 149 중 어느 하나에 있어서, 공여자 특이적 표적화 모이어티는 표 2로부터 선택된 유전자좌, 예를 들어, HLA 유전자좌, 예를 들어, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DP, HLA-DQ 또는 HLA-DR 유전자좌의 대립유전자의 산물에 결합하고, 대립유전자는 수용자 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DP, HLA-DQ 또는 HLA-DR 유전자좌가 아닌 공여자에 존재하는, 치료 화합물.
- [0655] 151. 실시형태 141 내지 150 중 어느 하나에 있어서, 공여자 특이적 표적화 모이어티는 HLA A의 대립유전자, HLA-B의 대립유전자, HLA-C의 대립유전자, HLA-DP의 대립유전자, HLA-의 대립유전자, 또는 HLA-의 대립유전자에 결합하는, 치료 화합물.
- [0656] 152. 실시형태 141 내지 151 중 어느 하나에 있어서, 치료 화합물은 이식편을 갖거나, 가질 것이거나 또는 이를 필요로 하는 대상체의 치료에 적합한, 치료 화합물.
- [0657] 153. 실시형태 152에 있어서, 이식편은 기관, 예를 들어, 간, 신장, 심장, 췌장, 흉선, 피부 또는 폐의 전부 또는 부분을 포함하는, 치료 화합물.
- [0658] 154. 실시형태 141 내지 153 중 어느 하나에 있어서, 공여자 특이적 표적화 모이어티는 항체 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0659] 155. 실시형태 141 내지 153 중 어느 하나에 있어서, 공여자 특이적 표적화 모이어티는 표적 특이적 결합 폴리펩타이드, 또는 표적 리간드 결합 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0660] 156. 실시형태 1 내지 155 중 어느 하나에 있어서, 조직 특이적 표적화 모이어티를 포함하는, 치료 화합물.
- [0661] 157. 실시형태 156에 있어서, 조직 특이적 표적화 모이어티는 MAdCAM에 특이적으로 결합하는 분자인, 치료 화합물.
- [0662] 158. 실시형태 156에 있어서, 조직 특이적 표적화 모이어티는 MAdCAM에 특이적으로 결합하는 항체인, 치료 화합물.
- [0663] 159. 실시형태 156 내지 158 중 어느 하나에 있어서, 치료 화합물은 자가면역 장애, 예를 들어, 본 명세서에 기술된 자가면역 장애를 갖거나, 자가면역 장애를 가질 위험이 있거나, 자가면역 장애를 가질 위험이 증가된 대상체의 치료에 적합한, 치료 화합물.
- [0664] 160. 실시형태 156 내지 159 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 표적 부위에 축적되어, 예를 들어, 조직 특이적 표적화 모이어티의 결합은 표적 부위에서 치료 화합물의 축적을 초래하는, 치료 화합물.
- [0665] 161. 실시형태 156 내지 160 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 대상체의 다른 조직과 대조적인 바와 같이, 표적 조직에 우선적으로 국지화되는, 치료 화합물.
- [0666] 162. 실시형태 156 내지 161 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 예를 들어, 자가면역 장애에서 원치 않는 면역 공격을 겪거나, 이의 위험이 있거나, 이의 위험이 증가된 대상체 표적 조직, 예를 들어, 표적 조직에 부위-특이적 면역 회피를 제공하는, 치료 화합물.
- [0667] 163. 실시형태 156 내지 161 중 어느 것에 있어서, 조직 특이적 표적화 모이어티는, 치료 화합물의 성분으로서, 예를 들어, 자가면역 장애에서 원치 않는 면역 공격을 겪는 대상체 표적 조직에 우선적으로 결합하는, 치료 화합물.
- [0668] 164. 실시형태 156 내지 163 중 어느 것에 있어서, 조직 특이적 표적화 모이어티는 표적 조직 외부에 존재하지 않거나, 또는 치료 분자의 치료 농도에서, 면역 억제의 허용 가능하지 않은 수준이 존재하지 않거나 또는 실질적으로 존재하지 않는 충분히 낮은 수준으로 존재하는 산물, 예를 들어, 폴리펩타이드에 결합하는, 치료 화합물.
- [0669] 165. 실시형태 156 내지 164 중 어느 것에 있어서, 조직 특이적 표적화 모이어티는 비표적 조직보다 표적 조직에 더 풍부한, 산물 또는 산물 상의 부위에 결합하는, 치료 화합물.
- [0670] 166. 실시형태 156 내지 165 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 표적 조직 상에 존재하거나 또는 실질적으로 독점적으로 발현되는 산물, 또는 산물 상의 부위에 결합하는, 치료 화합물.

- [0671] 167. 실시형태 156 내지 166 중 어느 것에 있어서, 특이적 표적화 모이어티가 결합하는 산물 또는 산물 상의 부위는 표적 조직에 충분히 제한되어, 치료 화합물의 치료적으로 유효한 수준에서, 대상체가 전신 면역 억제의 허용 가능하지 않은 수준, 예를 들어, 임상적으로 유의한 수준을 겪지 않는, 치료 화합물.
- [0672] 168. 실시형태 156 내지 167 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 표적 조직 또는 표적 조직 항원에 우선적으로 결합하고, 예를 들어, 비표적 조직 또는 표적 조직 외부에 존재하는 항원에 대한 이의 친화도보다 표적 항원 또는 조직에 대해서 더 높은, 예를 들어, 적어도 2, 4, 5, 10, 50, 100, 500, 1,000, 5,000 또는 10,000배 더 높은 표적 조직 또는 항원에 대한 결합 친화도를 갖는, 치료 화합물.
- [0673] 169. 실시형태 156 내지 168 중 어느 것에 있어서, 조직 특이적 표적화 모이어티는 미리 선택된 부위, 예를 들어, 자가면역 장애에서 원치 않는 면역 반응의 부위에 존재하는 산물, 예를 들어, 폴리펩타이드 산물, 또는 산물 상의 부위에 결합하는, 치료 화합물.
- [0674] 170. 실시형태 156 내지 169 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 제1형 당뇨병을 갖거나, 이를 가질 위험이 있거나, 이를 가질 위험이 증가된 대상체의 치료에 적합한, 치료 화합물.
- [0675] 171. 실시형태 156 내지 170 중 어느 것에 있어서, 표적 조직은 췌장 조직, 예를 들어, 췌장섬 또는 췌장 베타 세포, 내장 조직(예를 들어, 내장 내피 세포), 신장 조직(예를 들어, 신장 상피 세포), 또는 간 조직(예를 들어, 간 상피 세포)를 포함하는, 치료 화합물.
- [0676] 172. 실시형태 156 내지 171 중 어느 것에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티 또는 표적화 모이어티는 본 명세서에 기술된 것, 예컨대, 표 3에 열거된 것, 예를 들어, SEZ6L2, LRP11, DISP2, SLC30A8, FXSD2, TSPAN7 또는 TMEM27로부터 선택된 폴리펩타이드에 결합하는, 치료 화합물.
- [0677] 173. 실시형태 156 내지 168 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 다발성 경화증을 갖거나, 이를 가질 위험이 있거나, 이를 가질 위험이 증가된 대상체의 치료에 적합한, 치료 화합물.
- [0678] 174. 실시형태 173에 있어서, 표적 조직은 CNS 조직, 미엘린초 또는 희돌기교세포의 미엘린초를 포함하는, 치료 화합물.
- [0679] 175. 실시형태 173 또는 174에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티 또는 표적화 모이어티는 본 명세서에 기술된 것, 예컨대, 비제한적으로 표 3에 열거된 것, 예를 들어, MOG, PLP 또는 MBP로부터 선택된 폴리펩타이드에 결합하는, 치료 화합물.
- [0680] 176. 실시형태 156 내지 168 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 심근염을 갖거나, 이를 가질 위험이 있거나, 이를 가질 위험이 증가된 대상체의 치료에 적합한, 치료 화합물.
- [0681] 177. 실시형태 176에 있어서, 표적 조직은 심근세포, 단핵구, 대식세포 또는 골수 세포를 포함하는, 치료 화합물.
- [0682] 178. 실시형태 176 또는 177에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티 또는 표적화 모이어티는 본 명세서에 기술된 폴리펩타이드, 예컨대, 비제한적으로 표 3으로부터 선택된 것, 예를 들어, SIRPA(CD172a)에 결합하는, 치료 화합물.
- [0683] 179. 실시형태 156 내지 168 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 염증성 장 질환, 자가면역 간염(AIH); 원발성 경화 담관염(PSC); 원발성 쓸개관 경화증(PBC); 또는 이식편을 갖거나, 이를 가질 위험이 있거나, 이를 가질 위험이 증가된 대상체의 치료에 적합한, 치료 화합물.
- [0684] 180. 실시형태 156 내지 168 중 어느 것에 있어서, 대상체는 크론병 또는 궤양성 대장염을 갖거나, 이를 가질 위험이 있거나, 이를 가질 위험이 증가된, 치료 화합물.
- [0685] 181. 실시형태 179 내지 180 중 어느 것에 있어서, 표적 조직은 내장 세포, 예컨대, 내장 상피 세포 또는 간 세포, 예컨대, 간 상피 세포를 포함하는, 치료 화합물.
- [0686] 182. 실시형태 179 또는 181에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 본 명세서에 기술된 폴리펩타이드, 예컨대, 비제한적으로 표 3으로부터 선택된 것, 예를 들어, PD-1에 결합하는, 치료 화합물.
- [0687] 182. 실시형태 179 내지 181 중 어느 것에 있어서, 표적화 모이어티는 본 명세서에 기술된 바와 같은 폴리펩타이드, 예컨대, 비제한적으로, MAdCAM에 결합하는, 치료 화합물.

- [0688] 183. 실시형태 156 내지 168 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 류마티스 관절염을 갖거나, 이를 가질 위험이 있거나, 이를 가질 위험이 증가된 대상체의 치료에 적합한, 치료 화합물.
- [0689] 184. 실시형태 183에 있어서, 표적 조직은 심근세포, 단핵구, 대식세포 또는 골수 세포를 포함하는, 치료 화합물.
- [0690] 185. 실시형태 183 또는 184에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티 또는 표적화 모이어티는 표 3으로부터 선택된 폴리펩타이드, 예를 들어, SIRPA(CD172a)에 결합하는, 치료 화합물.
- [0691] 186. 실시형태 156 내지 185 중 어느 것에 있어서, 조직 특이적 표적화 모이어티는 항체 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0692] 187. 실시형태 156 내지 185 중 어느 하나에 있어서, 조직 특이적 표적화 모이어티는 표적 특이적 결합 폴리펩타이드, 또는 표적 리간드 결합 분자를 포함하는, 치료 화합물.
- [0693] 188. 실시형태 156 내지 185 중 어느 하나에 있어서, 조직 특이적 표적화 모이어티는 MAdCAM에 결합하는 표적 특이적 결합 폴리펩타이드를 포함하는, 치료 화합물.
- [0694] 189. 실시형태 1 내지 188 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 면역 효과기 세포, 예를 들어, T 세포, B 세포, NK 세포, 또는 기타 면역 세포의 세포 표면 분자에 결합하고, 세포는 전면역 반응(pro-immune response)을 전파시키는, 치료 화합물.
- [0695] 190. 실시형태 1 내지 189 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 전면역 반응을 전파시키는, 면역 효과기 세포, 예를 들어, T 세포, B 세포, NK 세포, 또는 기타 면역 세포의 능력을 감소시키는, 치료 화합물.
- [0696] 191. 실시형태 1 내지 190 중 어느 것에 있어서, 특이적 표적화 모이어티는 포유동물 표적, 예를 들어, 포유동물 폴리펩타이드를 표적으로 하고, 효과기 결합/조절 모이어티는 포유동물 면역 성분, 예를 들어, 인간 면역 세포, 예를 들어, 포유동물 B 세포, T 세포 또는 대식세포에 결합하고/이를 조절하는, 치료 화합물.
- [0697] 192. 실시형태 1 내지 192 중 어느 것에 있어서, 특이적 표적화 모이어티는 인간 표적, 예를 들어, 인간 폴리펩타이드를 표적으로 하고, 효과기 결합/조절 모이어티는 인간 면역 성분, 예를 들어, 인간 면역 세포, 예를 들어, 인간 B 세포, T 세포 또는 대식세포에 결합하고/이를 조절하는, 치료 화합물.
- [0698] 193. 실시형태 1 내지 193 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 인간에서의 사용을 위해서 구성된, 치료 화합물.
- [0699] 194. 실시형태 1 내지 191 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 비-인간 포유동물에서의 사용을 위해서 구성된, 치료 화합물.
- [0700] 195. 실시형태 1 내지 194 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물, 예를 들어, 효과기 결합/조절 모이어티는 PD-1 효능제를 포함하는, 치료 화합물.
- [0701] 196. 염증성 장 질환을 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 실시형태 1 내지 195 중 어느 것의 치료 화합물을 상기 대상체에게 투여하여 상기 염증성 장 질환을 치료하는 단계를 포함하는, 치료 방법.
- [0702] 197. 실시형태 196에 있어서, 염증성 장 질환을 갖는 대상체는 크론병을 갖는, 방법.
- [0703] 198. 실시형태 196에 있어서, 염증성 장 질환을 갖는 대상체는 궤양성 대장염을 갖는, 방법.
- [0704] 199. 자가-면역 간염을 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 실시형태 1 내지 195 중 임의의 것의 치료 화합물을 대상체에게 투여하여 자가-면역 간염을 치료하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0705] 200. 원발성 경화 담관염의 치료 방법으로서, 실시형태 1 내지 195 중 어느 것의 치료 화합물을 대상체에게 투여하여 원발성 경화 담관염을 치료하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0706] 201. 제1형 당뇨병의 치료 방법으로서, 실시형태 1 내지 195 중 어느 것의 치료 화합물을 대상체에게 투여하여 제1형 당뇨병을 치료하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0707] 202. 이식 대상체의 치료 방법으로서, 치료적 유효량의 실시형태 1 내지 195 중 어느 것의 치료 화합물을 대상체에게 투여하여,
- [0708] 이식(수용자) 대상체를 치료하는 단계를 포함하는, 방법.

- [0709] 203. 이식된 공여자 조직을 갖는 대상체에서 GVHD를 치료하는 방법으로서, 치료적 유효량의 실시형태 1 내지 195 중 어느 것의 치료 화합물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0710] 204. 실시형태 203에 있어서, 치료 화합물은, 이식편을 제공하기 이전에; GVHD의 증상이 발생하기 이전에; 이식편의 제공 이후에 또는 이식편의 제공과 동시에; 또는 GVHD의 증상의 발생 이후에 또는 증상의 발생과 동시에 대상체에게 투여되는, 방법.
- [0711] 205. 자가면역 장애를 갖거나, 이를 가질 위험이 있거나, 이를 가질 위험이 증가된 대상체의 치료 방법으로서, 치료적 유효량의 실시형태 1 내지 195 중 어느 것의 치료 화합물을 투여하여, 대상체를 치료하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0712] 206. 실시형태 205에 있어서, 대상체는 동종이식편 공여자 조직이 제공되었거나, 이것이 제공될 것이거나, 이것이 필요한, 방법.
- [0713] 207. 실시형태 205 또는 206에 있어서, 공여자 조직은 실질 기관, 예를 들어, 간, 신장, 심장, 췌장, 흉선 또는 폐를 포함하는, 방법.
- [0714] 208. 실시형태 205 또는 206에 있어서, 공여자 조직은 실질 기관, 예를 들어, 간, 신장, 심장, 췌장, 흉선 또는 폐의 전부 또는 부분을 포함하는, 방법.
- [0715] 209. 실시형태 205 또는 206에 있어서, 공여자 조직은 피부를 포함하는, 방법.
- [0716] 210. 실시형태 205 또는 206에 있어서, 공여자 조직은 피부를 포함하지 않는, 방법.
- [0717] 211. 실시형태 205 내지 210 중 어느 것에 있어서, 공여자 조직은 유전자좌의 대립유전자의 산물을 제공하거나 발현하고, 대립유전자는 대상체에 존재하지 않거나 발현되지 않는, 방법.
- [0718] 212. 실시형태 205 내지 210 중 어느 것에 있어서, 공여자 조직은 표 2로부터 선택된 유전자좌, 예를 들어, HLA 유전자좌, 예를 들어, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DP, HLA-DQ 또는 HLA-DR 유전자좌의 대립유전자의 산물을 제공하거나 발현하고, 대립유전자는 대상체에 존재하지 않거나 발현되지 않는, 방법.
- [0719] 213. 실시형태 205 내지 212 중 어느 것에 있어서, 이식 조직을 대상체에 도입하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0720] 214. 실시형태 196 내지 213 중 어느 것에 있어서, 표적 부위로부터 먼 부위에서, 예를 들어, 말초 순환 또는 림프계에서 (예를 들어, 면역 저해성 관문 분자의 원치 않는 효능작용을 모니터링하기 위해서) 면역세포 불활성화에 대해서 대상체를 모니터링하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0721] 215. 실시형태 196 내지 214 중 어느 것에 있어서, 표적 부위로부터 먼 부위에서, 예를 들어, 말초 순환 또는 림프계에서 (예를 들어, 면역 저해성 관문 분자의 원치 않는 길항작용을 모니터링하기 위해서) 면역세포 불활성화에 대해서 대상체를 모니터링하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0722] 216. 실시형태 196 내지 215 중 어느 것에 있어서, 모니터링의 결과에 따라서 대상체에 대한 치료의 과정을 선택하고, 예를 들어, 치료 화합물의 용량을 증가시키거나, 치료 화합물의 용량을 감소시키거나, 용량의 변화 없이 치료 화합물로의 치료를 계속하는, 방법.
- [0723] 217. 실시형태 196 내지 216 중 어느 것에 있어서, 실시형태 1 내지 195의 화합물을 수용자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0724] 218. 실시형태 196 내지 216 중 어느 것에 있어서, 투여는 예를 들어, 말초 순환계에 대한 전신 투여를 포함하는, 방법.
- [0725] 219. 실시형태 196 내지 216 중 어느 것에 있어서, 투여는 예를 들어, 표적 조직, 공여자 조직 또는 표적 조직 또는 공여자 조직이 존재하는 부위 또는 이것이 위치될 부위에 대한 국지적 투여를 포함하는, 방법.
- [0726] 220. 실시형태 219에 있어서, 공여자 조직을 수용자에 도입하기 전에 치료 화합물을 수용자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0727] 221. 실시형태 219에 있어서, 공여자 조직을 수용자에 도입한 이후에 치료 화합물을 수용자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0728] 222. 실시형태 213에 있어서, 공여자 조직을 수용자에 도입한 동시에 치료 화합물을 수용자에게 투여하는 단계

를 포함하는, 방법.

- [0729] 223. 실시형태 213에 있어서, 공여자 조직을 수용자에 도입하기 전에 치료 화합물을 공여자 조직과 접촉시키는 단계를 포함하는, 방법.
- [0730] 224. 실시형태 213에 있어서, 치료 화합물을 대상체에게 제공하는 단계를 포함하고, 이식 조직은 대상체에 도입 이전에 치료 화합물과 접촉된, 방법.
- [0731] 225. 실시형태 213에 있어서, 예를 들어, 공여자 조직에 대한 국지적 투여에 의해서, 공여자 조직을 수용자에 도입한 이후에 치료 화합물을 공여자 조직과 접촉시키는 단계를 포함하는, 방법.
- [0732] 226. 실시형태 196 내지 226 중 어느 것에 있어서, 치료 수준이 적어도 1, 5, 10, 14 또는 28일 동안, 예를 들어, 연속적이거나 또는 비연속적인 날 동안 존재하도록 본 명세서에 제공된 바와 같은 치료 화합물을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0733] 227. 실시형태 196 내지 226 중 어느 것에 있어서, 대상체는 비-표적화된 면역 억제제가 제공되지 않는, 방법.
- [0734] 228. 실시형태 196 내지 226 중 어느 것에 있어서, 대상체는 치료 화합물이 처음 투여되기 이전에 적어도 1, 15, 30, 60 또는 90일 동안 비-표적화된 면역 억제제가 제공되지 않은, 방법.
- [0735] 229. 실시형태 213에 있어서, 대상체는 이식 조직이 도입되기 이전에 적어도 1, 15, 30, 60 또는 90일 동안 비-표적화된 면역 억제제가 제공되지 않은, 방법.
- [0736] 230. 실시형태 196 내지 229 중 어느 것에 있어서, 대상체는 치료 화합물이 처음 투여된 이후에 적어도 1, 15, 30, 60, 90, 또는 180일 동안 비-표적화된 면역 억제제가 제공되지 않는, 방법.
- [0737] 231. 실시형태 196 내지 229 중 어느 것에 있어서, 대상체는 이식 조직의 도입 이후에 적어도 1, 15, 30, 60, 90, 또는 180일 동안 비-표적화된 면역 억제제가 제공되지 않는, 방법.
- [0738] 232. 실시형태 196 내지 231 중 어느 것에 있어서, 비-표적화된 면역 억제제를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0739] 233. 실시형태 196 내지 232 중 어느 것에 있어서, 대상체는 치료 화합물이 처음 투여되기 이전에 적어도 1, 15, 30, 60 또는 90일 동안 비-표적화된 면역 억제제가 제공되는, 방법.
- [0740] 234. 실시형태 213에 있어서, 대상체는 이식 조직이 도입되기 이전에 적어도 1, 15, 30, 60 또는 90일 동안 비-표적화된 면역 억제제가 제공되는, 방법.
- [0741] 235. 실시형태 234에 있어서, 대상체는 치료 화합물이 처음 투여된 이후에 적어도 1, 15, 30, 60, 90, 또는 180일 동안 비-표적화된 면역 억제제가 제공되는, 방법.
- [0742] 236. 실시형태 196 내지 235 중 어느 것에 있어서, 대상체는 이식 조직의 도입 이후에 적어도 1, 15, 30, 60, 90, 또는 180일 동안 비-표적화된 면역 억제제가 제공되는, 방법.
- [0743] 237. 실시형태 196 내지 235 중 어느 것에 있어서, 대상체는 치료 화합물이 처음 투여되기 이전에 그러나 1, 15, 30, 60, 90 또는 180일 이하 동안 비-표적화된 면역 억제제가 제공되는, 방법.
- [0744] 238. 실시형태 213에 있어서, 대상체는 이식 조직이 도입되기 이전에 그러나 1, 15, 30, 60, 90 또는 180일 이하 동안 비-표적화된 면역 억제제가 제공되는, 방법.
- [0745] 239. 실시형태 196 내지 238 중 어느 것에 있어서, 대상체는 치료 화합물이 처음 투여된 후에 그러나 1, 15, 30, 60, 90 또는 180일 이하 동안 비-표적화된 면역 억제제가 제공되는, 방법.
- [0746] 240. 실시형태 213에 있어서, 대상체는 이식 조직이 도입된 이후에 그러나 1, 15, 30, 60, 90 또는 180일 이하 동안 비-표적화된 면역 억제제가 제공되는, 방법.
- [0747] 241. 실시형태 213에 있어서, 대상체는 이식 조직의 거부에 대해서 모니터링되는, 방법.
- [0748] 242. 실시형태 196 내지 242 중 어느 것에 있어서, 비-표적화된 면역 억제제의 투여량이 선택되거나, 또는 모니터링에 따라서, 비-표적화된 면역 억제제의 투여량이 선택되는, 방법.
- [0749] 243. 실시형태 242에 있어서, 투여량이 투여되는, 방법.

- [0750] 244. 실시형태 243에 있어서, 선택된 투여량은 0이고, 즉, 비-표적화된 면역 억제제는 투여되지 않는, 방법.
- [0751] 245. 실시형태 243에 있어서, 선택된 투여량은 0이 아니고, 즉, 비-표적화된 면역 억제제는 투여되는, 방법.
- [0752] 246. 실시형태 243에 있어서, 투여량은 치료 화합물의 투여 부재 하에서 투여될 투여량보다 더 적은, 방법.
- [0753] 247. 실시형태 196 내지 246 중 어느 것에 있어서, 대상체는 포유동물, 예를 들어, 비-인간 포유동물인, 방법.
- [0754] 248. 실시형태 196 내지 246 중 어느 것에 있어서, 대상체는 인간인, 방법.
- [0755] 249. 실시형태 213에 있어서, 공여자 및 대상체는 HLA 유전자좌, 예를 들어, 주 유전자좌 또는 부 유전자좌에서 미스매칭되는, 방법.
- [0756] 250. 실시형태 249에 있어서, 대상체는 포유동물, 예를 들어, 비-인간 포유동물인, 방법.
- [0757] 251. 실시형태 249에 있어서, 대상체는 인간인, 방법.
- [0758] 252. 자가면역 장애를 갖거나, 이를 가질 위험이 있거나, 이를 가질 위험이 증가된 대상체의 치료 방법으로서, 치료적 유효량의 실시형태 1 내지 195 중 어느 것의 치료 화합물을 투여하여, 대상체를 치료하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0759] 253. 실시형태 252에 있어서, 치료 화합물의 제공은 자가면역 장애의 증상의 발병 이전에 또는 이의 발병의 식별 이전에 개시되는, 방법.
- [0760] 254. 실시형태 252 내지 253 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물의 제공은 자가면역 장애의 증상의 발병 이후에 또는 이의 발병의 식별 이후에 개시되는, 방법.
- [0761] 255. 실시형태 252 내지 254 중 어느 것에 있어서, 자가면역 장애는 제1형 당뇨병을 포함하는, 방법.
- [0762] 256. 실시형태 252 내지 255 중 어느 것에 있어서, 표적 조직은 췌장섬 또는 췌장 베타 세포, 내장 조직(예를 들어, 내장 내피 세포), 신장 조직(예를 들어, 신장 상피 세포), 또는 간 조직(예를 들어, 간 상피 세포)를 포함하는, 치료 화합물.
- [0763] 257. 실시형태 252 내지 256 중 어느 것에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티 또는 표적화 모이어티는 표 3, 예를 들어, MAdCAM, SEZ6L2, LRP11, DISP2, SLC30A8, FXYD2, TSPAN7 또는 TMEM27 폴리펩타이드로부터 선택된 폴리펩타이드에 결합하는, 치료 화합물.
- [0764] 258. 실시형태 252 내지 257 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물의 제공은 제1형 당뇨병의 증상의 발병 이전에 또는 이의 발병의 식별 이전에 개시되는, 방법.
- [0765] 259. 실시형태 252 내지 258 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물의 제공은 미리 선택된 특징 또는 증상을 갖는 대상체의 식별 이전에 개시되는, 방법.
- [0766] 260. 실시형태 252 내지 259 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물의 제공은 제1형 당뇨병의 증상의 발병 이후에 또는 이의 발병의 식별 이후에 개시되는, 방법.
- [0767] 261. 실시형태 252 내지 260 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물의 제공은 미리 선택된 특징 또는 증상을 갖는 대상체의 식별 이후에 개시되는, 방법.
- [0768] 262. 실시형태 252 내지 261 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 실시형태 1 내지 195 중 임의의 것의 치료 화합물인, 방법.
- [0769] 263. 실시형태 252 내지 257 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 다발성 경화증을 갖거나, 이를 가질 위험이 있거나, 이를 가질 위험이 증가된 대상체의 치료에 적합한, 방법.
- [0770] 264. 실시형태 263에 있어서, 표적 조직은 CNS 조직, 미엘린초 또는 희돌기교세포의 미엘린초를 포함하는, 방법.
- [0771] 265. 실시형태 263 또는 264에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티 또는 표적화 모이어티는 표 3으로부터 선택된 폴리펩타이드, 예를 들어, MOG, PLP 또는 MBP 폴리펩타이드에 결합하는, 방법.
- [0772] 266. 실시형태 263 내지 265 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물의 제공은 다발성 경화증의 증상의 발병 이전에 또는 이의 발병의 식별 이전에 개시되는, 방법.

- [0773] 267. 실시형태 263 내지 265 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물의 제공은 미리 선택된 특징 또는 증상을 갖는 대상체의 식별 이전에 개시되는, 방법.
- [0774] 268. 실시형태 263 내지 265 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물의 제공은 다발성 경화증의 증상의 발병 이후에 또는 이의 발병의 식별 이후에 개시되는, 방법.
- [0775] 269. 실시형태 263 내지 265 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물의 제공은 미리 선택된 특징 또는 증상을 갖는 대상체의 식별 이후에 개시되는, 방법.
- [0776] 270. 실시형태 263 내지 269 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 실시형태 1 내지 195 중 임의의 것의 치료 화합물인, 방법.
- [0777] 271. 실시형태 252 내지 257 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 심근염을 갖거나, 이를 가질 위험이 있거나, 이를 가질 위험이 증가된 대상체의 치료에 적합한, 방법.
- [0778] 272. 실시형태 271에 있어서, 표적 조직은 심근세포, 단핵구, 대식세포 또는 골수 세포를 포함하는, 방법.
- [0779] 273. 실시형태 271 또는 272에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티 또는 표적화 모이어티는 표 3으로부터 선택된 폴리펩타이드, 예를 들어, SIRPA(CD172a) 폴리펩타이드에 결합하는, 방법.
- [0780] 274. 실시형태 271 내지 273 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물의 제공은 심근염의 증상의 발병 이전에 또는 이의 발병의 식별 이전에 개시되는, 방법.
- [0781] 275. 실시형태 271 내지 273 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물의 제공은 미리 선택된 특징 또는 증상을 갖는 대상체의 식별 이전에 개시되는, 방법.
- [0782] 276. 실시형태 271 내지 273 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물의 제공은 심근염의 증상의 발병 이후에 또는 이의 발병의 식별 이후에 개시되는, 방법.
- [0783] 277. 실시형태 271 내지 273 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물의 제공은 미리 선택된 특징 또는 증상을 갖는 대상체의 식별 이후에 개시되는, 방법.
- [0784] 278. 실시형태 271 내지 277 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 실시형태 1 내지 195 중 임의의 것의 치료 화합물인, 방법.
- [0785] 279. 실시형태 252 내지 257 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 류마티스 관절염을 갖거나, 이를 가질 위험이 있거나, 이를 가질 위험이 증가된 대상체의 치료에 적합한, 방법.
- [0786] 280. 실시형태 279에 있어서, 표적 조직은 심근세포, 단핵구, 대식세포 또는 골수 세포를 포함하는, 방법.
- [0787] 281. 실시형태 279 또는 280에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티 또는 표적화 모이어티는 표 3으로부터 선택된 폴리펩타이드, 예를 들어, SIRPA(CD172a) 폴리펩타이드에 결합하는, 방법.
- [0788] 282. 실시형태 279 내지 281 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물의 제공은 류마티스 관절염의 증상의 발병 이전에 또는 이의 발병의 식별 이전에 개시되는, 방법.
- [0789] 283. 실시형태 279 내지 281 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물의 제공은 미리 선택된 특징 또는 증상을 갖는 대상체의 식별 이전에 개시되는, 방법.
- [0790] 284. 실시형태 279 내지 281 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물의 제공은 류마티스 관절염의 증상의 발병 이후에 또는 이의 발병의 식별 이후에 개시되는, 방법.
- [0791] 285. 실시형태 279 내지 281 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물의 제공은 미리 선택된 특징 또는 증상을 갖는 대상체의 식별 이후에 개시되는, 방법.
- [0792] 286. 실시형태 279 내지 285 중 어느 것에 있어서, 치료 화합물은 실시형태 1 내지 195 중 임의의 것의 치료 화합물인, 방법.
- [0793] 287. 실시형태 196 내지 286 중 어느 것에 있어서, 표적 부위로부터 먼 부위에서, 예를 들어, 말초 순환 또는 림프계에서 (예를 들어, 면역 저해성 관문 분자의 원치 않는 효능작용을 모니터링하기 위해서) 면역세포 불활성화에 대해서 대상체를 모니터링하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0794] 288. 실시형태 196 내지 287 중 어느 것에 있어서, 표적 부위로부터 먼 부위에서, 예를 들어, 말초 순환 또는

림프계에서 (예를 들어, 면역 저해성 관문 분자의 원치 않는 길항작용을 모니터링하기 위해서) 면역세포 불활성화에 대해서 대상체를 모니터링하는 단계를 포함하는, 방법.

- [0795] 289. 실시형태 196 내지 288 중 어느 것에 있어서, 모니터링의 결과에 따라서 대상체에 대한 치료의 과정을 선택하고, 예를 들어, 치료 화합물의 용량을 증가시키거나, 치료 화합물의 용량을 감소시키거나, 용량의 변화 없이 치료 화합물로의 치료를 계속하는, 방법.
- [0796] 290. 실시형태 196 내지 289 중 어느 것에 있어서, 대상체는 표적 조직에 대한 자가면역 공격에 대해서 모니터링되는, 방법.
- [0797] 291. 실시형태 290에 있어서, 모니터링에 따라서, 치료 화합물의 투여량이 선택되는, 방법.
- [0798] 292. 실시형태 291에 있어서, 투여량이 투여되는, 방법.
- [0799] 293. 실시형태 290에 있어서, 선택된 투여량은 0이고, 즉 치료 화합물의 투여는 중단되는, 방법.
- [0800] 294. 실시형태 290에 있어서, 선택된 투여량은 0이 아닌, 방법.
- [0801] 295. 실시형태 290에 있어서, 선택된 투여량은 증가되는 투여량인, 방법.
- [0802] 296. 실시형태 290에 있어서, 선택된 투여량은 감소되는 투여량인, 방법.
- [0803] 297. 실시형태 196 내지 296 중 어느 것에 있어서, 투여는 예를 들어, 말초 순환계에 대한 전신 투여를 포함하는, 방법.
- [0804] 298. 실시형태 196 내지 297 중 어느 것에 있어서, 투여는 예를 들어, 표적 조직에 대한 국지적 투여를 포함하는, 방법.
- [0805] 299. 실시형태 196 내지 298 중 어느 것에 있어서, 치료 수준이 적어도 1, 5, 10, 14 또는 28일 동안, 예를 들어, 연속적이거나 또는 비연속적인 날 동안 존재하도록 본 명세서에 제공된 치료 화합물을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0806] 300. 실시형태 196 내지 299 중 어느 것에 있어서, 대상체는 포유동물, 예를 들어, 비-인간 포유동물인, 방법.
- [0807] 301. 실시형태 196 내지 299 중 어느 것에 있어서, 대상체는 인간인, 방법.
- [0808] 302. 실시형태 1 내지 195 중 어느 것의 치료 화합물을 암호화하는 핵산 분자 또는 복수의 핵산 분자.
- [0809] 303. 실시형태 302의 핵산 분자를 포함하는 벡터 또는 복수의 벡터.
- [0810] 304. 실시형태 302의 핵산 분자 또는 실시형태 303의 벡터를 포함하는 세포.
- [0811] 305. 치료 화합물의 제조 방법으로서, 실시형태 304의 세포를 배양하여 치료 화합물을 제조하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0812] 306. 핵산 서열의 제조 방법으로서, 핵산 서열은 실시형태 1 내지 195 중 어느 것의 치료 화합물을 암호화하고,
- [0813] a) 표적화 모이어티를 암호화하는 서열을 포함하는 벡터를 제공하고, 효과기 결합/조절 모이어티를 암호화하는 벡터 서열에 삽입하여 치료 화합물을 암호화하는 서열을 형성하거나; 또는
- [0814] b) 효과기 결합/조절 모이어티를 암호화하는 서열을 포함하는 벡터를 제공하고, 표적화 모이어티를 암호화하는 벡터 서열에 삽입하여 치료 화합물을 암호화하는 서열을 형성하여,
- [0815] 치료 화합물을 암호화하는 서열을 제조하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0816] 307. 실시형태 306에 있어서, 표적화 모이어티는 대상체의 필요에 대해서 반응하여 선택되는, 방법.
- [0817] 308. 실시형태 306 또는 307에 있어서, 효과기 결합/조절 모이어티는 대상체의 필요에 대해서 반응하여 선택되는, 방법.
- [0818] 309. 실시형태 306 또는 307에 있어서, 치료 화합물을 생성하기 위해서 치료 화합물을 암호화하는 서열을 발현하는 단계를 더 포함하는, 방법.
- [0819] 310. 실시형태 306 내지 309 중 어느 것에 있어서, 서열 또는 서열로부터 제조된 폴리펩타이드를, 또 다른 엔티티, 예를 들어, 대상체에게 치료 화합물을 투여할 헬스 케어 제공자에게 전달하는 단계를 더 포함하는, 방법.

- [0820] 311. 대상체의 치료 방법으로서,
- [0821] 또 다른 엔티티로부터 본 명세서에 제공된 것 중 임의의 방법에 의해서 제조되지만, 실시형태 306 내지 310에 제한되지 않는 치료 화합물, 또는 치료 화합물을 암호화하는 핵산을 획득하는 단계, 예를 들어, 제공받는 단계;
- [0822] 치료 화합물, 또는 치료 화합물을 암호화하는 핵산을 대상체에게 투여하여,
- [0823] 대상체를 치료하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0824] 312. 실시형태 311에 있어서, 치료 화합물 또는 치료 화합물을 암호화하는 핵산을 또 다른 엔티티, 예를 들어, 치료 화합물 또는 치료 화합물을 암호화하는 핵산을 제조할 엔티티에게 식별하게 하는 단계를 더 포함하는, 방법.
- [0825] 313. 실시형태 311 또는 312에 있어서, 치료 화합물 또는 치료 화합물을 암호화하는 핵산을 또 다른 엔티티, 예를 들어, 치료 화합물 또는 치료 화합물을 암호화하는 핵산을 제조한 엔티티로부터 요청하는 단계를 더 포함하는, 방법.
- [0826] 314. 실시형태 311 내지 333 중 어느 것에 있어서, 대상체는 자가면역 장애를 갖고, 치료 화합물은 자가면역 장애의 자가항원성 펩타이드 또는 폴리펩타이드 특징을 포함하지 않고, 예를 들어, 대상체가 자가항체를 갖는 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 포함하지 않는, 방법.
- [0827] 하기 실시예는 본 명세서에 기술된 화합물, 조성물 및 방법의 제한이 아닌 예시이다. 당업자에게 공지된 다른 적합한 변형 및 개작은 하기 실시형태의 범주에 포함된다.
- [0828] **실시예**
- [0829] **실시예 1: HLA-표적화된 PD-1 효능작용 치료 화합물.**
- [0830] HLA-표적화된 PD-1-효능작용 치료제의 조작
- [0831] BB7.2 하이브리도마(ATCC)로부터의 Ig 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 클로닝하고, 단일-쇄 Ab(scFv)로 전환시킴으로써 HLA-A2에 특이적인 결합 도메인을 수득한다. HLA-A2 발현 세포에 대한 BB7.2의 결합을, 다른 HLA-A 대립유전자를 발현하는 세포와 비교하여 평가함으로써 scFv의 활성도 및 특이성을 확인할 수 있다. 아미노산 68 내지 114에 대응하는 PD-L1 IgV 도메인의 아미노산 3' 및 5'의 요건을 체계적으로 평가함으로써 PD-1 결합 활성도를 위해서 요구되는 최소 PD-L1 잔기를 식별한다. 발현 작제물을 설계하고, 단백질을 합성하고, 정제하고, PD-1 결합 활성도를 Biacore에 의해서 시험한다. PD-L1 IgV 도메인에 의한 PD-1 결합을 위해서 요구되는 최소 필수 아미노산을 PD-L1-IgV라 지칭한다. BB7.2 scFv 및 PD-L1-IgV 이중특이적 분자를 생성하기 위해서, 도메인 배열 VL_{BB7.2}-VH_{BB7.2}-PD-L1-IgV-IgG4 Fc로 이중특이적 단일-쇄 항체 BB7.2 × PD-L1-IgV를 암호화하는 DNA 단편을 합성하고, DHFR 선택 카세트를 함유하는 발현 벡터 내에서 클로닝한다.
- [0832] 발현 벡터 플라스미드 DNA를 293T 세포 내에 일시적으로 형질주입하고, BB7.2 × PD-L1-IgV 이중특이적 항체를 단백질 A/G 칼럼을 사용하여 상청액으로부터 정제한다. BB7.2 × PD-L1-IgV 이중특이적 항체 온전성을 폴리아크릴아마이드 겔에 의해서 평가한다. HLA-A2에 대한 BB7.2 scFv 도메인의 결합 및 PD-1에 대한 PD-L1-IgV 도메인의 결합을 ELISA 및 세포-기반 FACS 검정에 의해서 평가한다.
- [0833] BB7.2 × PD-L1-IgV 이중특이적 항체의 시험관내 기능을 혼합 림프구 반응(MLR) 검정을 사용하여 평가한다. 96-웰 플레이트 포맷에서, HLA-A2⁺ 공여자로부터의 100,000개의 방사선처리된 인간 PBMC를 웰당 분취하고, 활성화제로서 사용한다. 이어서 HLA-A1⁻ 응답자 T 세포를 증가하는 양의 BB7.2 × PD-L1-IgV 이중특이적 항체와 함께 첨가한다. 72시간의 기간에 걸쳐서 증식하는 응답자 T 세포의 능력을 BrdU 혼입에 의해서 평가하고, ELISA에 의해서 평가되는 바와 같이 IFN γ 및 IL2 사이토카인 생산을 공배양 상청액에서 추가로 평가한다. BB7.2 × PD-L1-IgV 이중특이적 항체는, HLA-A2⁻ 응답자 T 세포 증식 및 사이토카인 생산을 저해함으로써 입증되는 바와 같이 MLR 반응을 억제하는 것으로 밝혀졌다.
- [0834] 피부 동종이식편 관용의 무린 마우스 모델을 사용하여 BB7.2 × PD-L1-IgV 이중특이적 항체의 생체내 기능을 평가한다. 마우스의 C57BL/6-Tg(HLA-A2.1)1Enge/J(썩은 래보러토리즈사(Jackson Laboratories), 미국 바 하버 마인 소재) 균주를 Balb/cJ로 교체하고, F1 자손은 HLA-A2.1 트랜스젠을 발현하고, 동종이식편 공여자 역할을 한다. C57BL/6J 마우스를 먼도하고, 안락사시킨 C57BL/6-Tg(HLA-A2.1)1Enge/J × Balb/cJ F1 마우스로부터 제거

된 피부를 수술로 이식한다. 동시에, 숙주 마우스에게 무린 IgG1 Fc 또는 BB7.2 단독 또는 PD-L1-IgV 단독 대조군을 함유하도록 조작된 BB7.2 × PD-L1-IgV 이중특이적 항체의 복강내 주사를 제공하기 시작한다. 피부 동종이식편 거부 또는 허용을 30일의 기간에 걸쳐서 모니터링하고, 여기서 숙주를 안락사시키고, 림프절 및 동종이식편-보유 림프구 집단을 정량한다.

[0835] **실시예 2: 관심대상 세포 유형 또는 조직 주변에서 퓨린성 후광(purinergic halo)을 생성하는 효과기 도메인으로서의 CD39 및/또는 CD73**

[0836] CD39 및/또는 CD73의 촉매적 활성 단편을 표적화 도메인에 융합시킨다. 표적 부위에서의 결합 및 축적 시, CD39은 ATP를 AMP로 인가수분해시킨다. 표적 부위에서의 결합 및 축적 시, CD73은 세포의 AMP를 아데노신으로 탈인산화시킨다. 본 명세서에서 사용하기에 적합한 CD39의 가용성의 촉매적 활성 형태는 인간 및 무린 혈액에서 순환하는 것으로 밝혀져 있다(문헌[Yegutkin et al. FASEB J. 2012 Sep; 26(9):3875-83] 참고). 가용성 재조합 CD39 단편은 또한 문헌[Inhibition of platelet function by recombinant soluble ecto-ADPase/CD39, Gayle, et al., J Clin Invest. 1998 May 1; 101(9): 1851-1859]에 기술되어 있다. 적합한 CD73 분자는 전단 스트레스에 의한 GPI 앵커의 단백질 분해 절단 또는 가수분해에 의해서 내피 세포의 막으로부터 제거될 수 있는 CD73의 가용성 형태를 포함한다(예를 들어, 문헌[Yegutkin G, Bodin P, Burnstock G. Effect of shear stress on the release of soluble ecto-enzymes ATPase and 5'-nucleotidase along with endogenous ATP from vascular endothelial cells. Br J Pharmacol 2000; 129: 921-6] 참고).

[0837] ATP의 AMP로의 또는 AMP의 아데노신으로의 국지적 촉매작용은 급격히 진행되는 T 효과기 세포 기능을 위해서 필요한 국지적 에너지 저장을 고갈시킬 것이다. Treg 기능은 에너지 요구에 대해서 산화성 인산화(이것은 더 적은 ATP를 요구함)에 의존하기 때문에 ATP 고갈에 의해서 영향을 받지 않아야 하고, 여기서 T 기억 및 다른 효과기 세포는 급격히 발생하는 기능을 위해서 해당작용(높은 ATP 사용에 필요함)에 의존하기 때문에 영향을 받아야 한다.

[0838] **실시예 3: 항체-유도된 PD-1 신호전달의 측정.**

[0839] 주카트 세포는 2종의 작제물, 1) "효소 공여자"라고 지칭될 수 있는, b-갈락토시다제에 융합된 인간 PD-1 폴리펩타이드 및 2) "효소 억셉터"라고 지칭될 수 있는 b-갈락토시다제에 융합된 SHP-2 폴리펩타이드를 안정적으로 발현한다. PD-1 항체는 세포와 접촉되고, PD-1이 결속되는 경우, SHP-2는 PD-1에 모집된다. 효소 억셉터 및 효소 공여자는 검정될 수 있는 완전 활성 b-갈락토시다제 효소를 형성한다. PD-1 신호전달의 활성화를 보여주기 위해서 이러한 검정을 사용 사용할 수 있다.

[0840] **실시예 4: PD-1 효능작용의 측정. PD-1 효능제는 T 세포 활성화를 저해한다.**

[0841] 임의의 특정 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, PD-1 효능작용은 항-CD3-유도된 T 세포 활성화를 저해한다. 인간 또는 마우스 세포를 PHA(인간 T 세포의 경우) 또는 ConA(마우스 T 세포의 경우)로 사전활성화시켜 그것이 PD-1를 발현하도록 한다. 이어서 T 세포는 PD-1 효능작용 검정의 경우 항-PD-1(또는 PD-L1)의 존재 하에서 항-CD3으로 "재활성화"된다. 항-CD3의 존재 하에서 PD-1 효능제 신호를 수용하는 T 세포는 항-CD3 자극 단독에 비해서, 감소된 활성화를 나타낼 것이다. 활성화는 증식 또는 사이토카인 생산(IL-2, IFN γ , IL-17) 및 가능하게는 기타 마커, 예컨대, CD69 활성화 마커에 의해서 판독될 수 있다.

[0842] **실시예 5. 항-MAdCAM / 마우스 PD-L1 융합 단백질의 발현 및 기능은 분자 구성에 의해서 영향을 받지 않는다.**

[0843] 항-마우스MAdCAM Ab/마우스 PD-L1 분자를 포함하는 이중특이적 융합 분자를 2개의 배향으로 발현시켰다. 제1 배향은 중쇄의 c-말단에서 융합된 마우스 PD-L1을 갖는 항-마우스 MAdCAM IgG로 이루어졌다. 제2 배향은 c-말단 융합된 항-마우스 MAdCAM scFv를 갖는, Ig Fc 도메인의 N-말단에서 융합된 마우스 PD-L1로 이루어졌다. 두 분자 모두는 포유동물 발현 시스템에서 양호하게 발현되는 것을 발견하였다. 또한 이 분자는 두 배향 모두에서 이의 각각의 결합 파트너인 MAdCAM 또는 PD-1에 동시에 결합할 수 있다는 것을 발견하였다. 이러한 결과는, PD-L1에 융합된 항-MAdCAM 항체로 이루어진 분자가 PD-L1이 Fc에 N 또는 C-말단 융합되고, 적절한 기능성 결합 활성도를 보유하는 구성으로 발현될 수 있다는 것을 입증한다.

[0844] 간략하면, 인간 IgG1 Fc 도메인의 N-말단에 융합된 마우스 PD-L1 및 c-말단 융합된 항-MAdCAM scFv MECA-89를 갖는 단일 폴리펩타이드를 암호화하는 단일 유전자를 함유하는 pTT5 벡터를 HEK293 Expi 세포 내에 형질주입하였다. 대안적으로, 2종의 플라스미드를 동일몰비로 공동 형질주입하였다. 제1 플라스미드는 MECA-89의 경쇄를 암호화하였고, 제2 플라스미드는 c-말단 융합된 마우스 PD-L1을 갖는 MECA-89의 전장 IgG1 중쇄를 암호화하였다. 5 내지 7일 후, 이 분자를 발현하는 세포 배양 상청액을 수거하고, 원심분리 및 0.22 μ m 여과 장

치를 통한 여과에 의해서 정화하였다. 이중특이적 분자를 proA 수지 상에 포획하였다. 수지를 PBS pH 7.4로 세척하고, 포획된 분자를 100mM 글리신 pH 2.5를 사용하여 용리시키고, 10 부피의 1M Tris pH 8.5를 사용하여 중화시켰다. 단백질을 PBS pH 7.4 중에서 단백질 교환시키고, Superdex 200 3.2/300 상에서의 크기 배제 크로마토그래피에 의해서 분석하였다. Bis-Tris 4 내지 12% 젤 상에서의 환원 및 비환원 SDS-PAGE에 의해서 1 μ g의 정제된 물질의 분석을 수행하였다.

[0845] 두 단백질 모두는 배향에 관계 없이 10mg/L 초과로 발현되었고, 크기 배제 크로마토그래피 및 환원/비환원 SDS-PAGE에 의해서 나타나는 바와 같이 정제 이후에 95%를 초과하게 단분산성이었다. 따라서, 이는, Fc 도메인의 N 및 C 말단에서 상이한 면역조절제 및 조직 표적화 모이어티를 갖는 이중 기능 이중특이적 분자의 생산 및 활성도를 입증한다. 이는, PD-1 효능제 및 결합 파트너가 Ig Fc 도메인의 N 또는 C 말단에서 발현될 수 있음을 구체적으로 보여준다.

[0846] **실시예 6. MadCAM에 테더링된 PD-1 효능제 원형을 포함하는 이중특이적 분자는 MadCAM 및 PD-1에 동시에 결합할 수 있다.**

[0847] 간략하면, 면역흡착성 플레이트를 75 μ l/웰 내에서 PBS pH 7.4 중의 1 μ g/ml의 농도로 마우스 PD-1로 코팅하고, 밤새 4°C에서 인큐베이션시켰다. 웰을 0.05% Tween-20을 함유하는 PBS pH 7.4(세척 완충액)로 3회 세척하고, 이어서 실온에서 2시간 동안 PBS pH 7.4 중의 200 μ l/웰 1% BSA(차단 완충액)로 차단하였다. 세척 완충액으로 3회 세척한 후, N-말단 또는 C-말단에 PD-1 효능제 원형을 포함하는 2개의 이중특이적 분자를 1% BSA 및 0.05% Tween-20을 함유하는 PBS(검정 완충액) 중에 1nM, 10nM 및 100nM로 희석시켰다. 희석된 물질을 마우스 PD-1 코팅된 플레이트에 75 μ l/웰로 1시간 동안 실온에서 첨가하였다. 세척 완충액으로 3회 세척한 후, 마우스 MadCAM을 검정 완충액 중의 10nM의 농도로 1시간 동안 실온에서 75 μ l/웰로 플레이트에 첨가하였다. 세척 완충액으로 3회 세척한 후, 검정 중에 0.5 μ g/ml로 희석된 염소 바이오틴일화된 항-마우스 MadCAM 다클론성 항체를 플레이트에 75 μ l/웰로 1시간 동안 실온에서 첨가하였다. 세척 완충액으로 3회 세척한 후, 1:5000으로 검정 완충액 중에 희석된 고감도 스트렙타비딘 HRP를 플레이트에 75 μ l/웰로 15분 동안 실온에서 첨가하였다. 세척 완충액으로 3회 세척하고, 세척 완충액(tween-20 없음)으로 1회 세척한 후, 검정을 TMB로 현상시키고, 1N HCL로 중단시켰다. OD 450nm를 측정하였다. 실험은 마우스 PD-1의 부재 하에서 플레이트/블록에 대한 비특이적 결합에 대한 적절한 대조군, 뿐만 아니라 MadCAM이 없는 대조군 및 마우스 PD-1과 마우스 MadCAM 사이에 브리지를 형성할 수 없는 단일특이적 대조군을 포함하였다.

[0848] 결과는, 1nM, 10nM 및 100nM의 농도에서, 두 이중특이적 분자 모두는 마우스 MadCAM 및 마우스 PD-L1과 동시에 상호작용할 수 있지만, 단일특이적 대조군은 브리징 신호를 생성하지 않았다는 것을 입증하였다. 추가로, 마우스 PD-1이 플레이트 표면 상에 존재하지 않는 경우, 시험된 어떠한 농도에서도 MadCAM에 대한 어떠한 화합물의 결합도 존재하지 않았는데, 이는 시험 화합물 중 어느 것도 플레이트 표면과 비특이적으로 상호작용하지 않았다는 것을 나타낸다. 따라서, 이러한 결과는, MadCAM 및 PD-1 둘 모두에 대한 결합을 표적화하는 이중특이적 분자가 두 분자 모두에 성공적으로 결합할 수 있음을 입증한다. 실험을 PD-1 항체에 대한 치환물로서 PD-L1을 사용하여 수행하였지만, PD-1 항체가 유사한 방식으로 기능할 것이라고 예측된다.

[0849] **실시예 7. 이중특이적 PD-L1 원형 분자는 PD-1 효능제 검정에서 T 세포를 저해한다.**

[0850] PD-1 효능작용이 T 세포를 저해할 수 있는지를 입증하기 위해서 PD-1 효능제 항체를 모방하는 이중특이적 분자를 시험하였다. 간략하면, 7주령의 암컷 C57LB/6 마우스를 희생시키고, 이의 비장세포를 단리하였다. 비장세포를 ConA에 3일 동안 노출시키고, 이어서 본 실시예에서 항-인간 IgG를 사용하여 플레이트에 테더링된 PD-L1 이중특이적 분자인 PD-1 유형 분자의 존재 또는 부재 하에서 항-CD3에 노출시켰다. 이어서, T 세포를 PD-L1 이중특이적 분자에 도입하였다. PD-1 항체를 모방하는 PD-L1은 T 세포 효능제이고, T 세포 활성화를 저해하는 것을 발견하였다. MadCAM 코팅된 플레이트와의 상호작용에 의해서 플레이트에 테더링된, 항-MadCAM 항체와 융합된 PD-L1 이중특이적 분자를 사용하여 동일한 실험을 반복하였다. PD-1 효능제 모방체, PD-L1/항-MadCAM 항체는 T 세포 활성도의 효과적인 효능제임을 발견하였다. 이 결과는, PD-1 항체/MadCAMAb 융합 단백질을 모방하는 이중특이적 분자는, 이 분자가 분자의 단부에서 MadCAM 항체 성분을 통해서 포획되는 경우 일차 마우스 T 세포 블라스트에 기능성 저해성 신호전달을 발현할 수 있음을 입증한다.

[0851] **실시예 8: 상이한 조직 테더를 갖는 이중특이적 PD-1 원형 분자는 PD-1 효능제 검정에서 T 세포를 저해할 수 있다.** PD-L1의 융합 분자를 PD-1 항체에 대한 치환물로서 사용하였고, 클래스 I H-2Kk 항체에 연결하였다. MHC 클래스 I H-2Kk 테더링된 PD-L1 분자는 실시예 6 및 실시예 7에 기술된 데이터와 유사한 기능성 결합을 가졌다. 간략하면, C57B1/6 마우스로부터의 비장세포를 콘칸발린 A(ConA) 및 IL-2로 3일 동안 자극시켰다. 플레이트를

항-CD3(2C11)으로 밤새 4℃에서 코팅하고, 세척하였다. 플레이트를 항-인간 IgG로 3시간 동안 37℃에서 코팅하고, 세척하였다. 단일특이적 항-H-2Kk(16-3-22) 또는 이중특이적 항-H-2Kk:mPD-L1을 첨가하고, 3시간 동안 37℃에서 인큐베이션시키고, 세척하였다. 모든 시험 물품은 인간 IgG1-Fc 부분을 함유하였다. PBS(Tx 없음)를 첨가하여 검정 배경을 결정하였다. ConA 블라스트를 2회 세척하고, 플레이트에 첨가하고, 37℃에서 인큐베이션시켰다. 상청액을 24시간 후에 제거하였다. IFNg 수준을 MSD에 의해서 결정하였다. 48시간 후, 세포 생존력/대사를 Cell Titer-glo에 의해서 분석하였다. IgG Fc 도메인을 통해서 포획된 경우, MHC 클래스 I 테더링된 PD-L1 이중특이체는 마우스 PD-1 효능작용 검정에서 T 세포 활성화를 약화시켰다. 따라서, 본 실시예는, 상이한 이중특이적 원형 분자는, 이 분자가 상이한 조직 테더를 통해서 - 마우스 항체의 경우에는 MHC 클래스 I H-2Kk에 포획되는 경우 일차 마우스 T 세포 블라스트에 기능성 저해성 신호전달을 발휘할 수 있음을 입증한다. 따라서, 이 테이더는, 테더링이 MAdCAM에 특이적이지 않고, 본 명세서에 제공된 바와 같은 표적화 모이어티로서 작용할 수 있는 다른 분자를 사용하여 가능함을 입증한다.

[0852] **실시예 9. PD-1 효능제는 주카트 세포에서 신호전달을 유도할 수 있다.**

[0853] 베타-갈락토시다제 효소 공여자에 융합된 인간 PD-1 및 베타-갈락토시다제 효소 억셉터에 융합된 SHP-2 둘 모두를 발현하는 주카트 세포를 플레이트 내에서 시험 조건에 첨가하고, 2시간 동안 인큐베이션시킨다. 효능제 PD-1 항체는 신호전달 및 SHP-2 모집, 효소 보충 및 활성 베타-갈락토시다제 효소의 형성을 유도한다. 베타-갈락토시다제 기질을 첨가하고, 화학발광을 표준 발광 플레이트 판독기 상에서 측정할 수 있다. 효능작용을 화학발광에 의해서 측정하는데, 여기서 측정된 더 높은 화학발광은 더 큰 효능작용을 나타낸다.

[0854] PD-1/MAdCAM 이중특이적 분자의 효능작용을 이러한 검정으로 측정하였다. C110(UCB) 및 CC-90006(셀젠사/아납티스사)을 PD-1 효능제 항체로 사용하였다. 둘 모두는 활성이며, Ig-포획 검정 포맷의 기능성 검정에서 PD-1 효능작용을 나타낸다. 간략하면, 플레이트를 항-인간 IgG로 밤새 4℃에서 코팅하고, 세척하였다. 항-파상풍 독소(TT) 또는 벤치마크 효능제 항-PD-1 단클론성 항체, C1.10 또는 CC-90006을 첨가하고, 1시간 동안 37℃에서 인큐베이션시키고, 세척하였다. 모든 시험 물품은 인간 IgG1-Fc를 함유하였다. 배지(Tx 없음)를 첨가하여 검정 배경을 결정하였다. 플레이트를 3회 세척하였다. B-갈락토시다제 효소 공여자에 융합된 인간 PD-1 및 b-갈락토시다제 효소 억셉터에 융합된 SHP-2 둘 모두를 발현하는 주카트 세포를 첨가하고, 2시간 동안 인큐베이션시켰다. 효능제 PD-1 항체는 신호전달 및 SHP-2 모집, 효소 보충 및 활성 b-갈락토시다제 효소의 형성을 유도한다. B-갈락토시다제 기질을 첨가하고, 화학발광을 표준 발광 플레이트 판독기 상에서 측정하였다. 2개의 인간 PD-1 효능제 항체(C110 및 CC-90006)는 변형된 주카트 리포터 검정에서 결합하고, 신호전달을 유도한다(효능작용을 위한 대용물). 따라서, 이 검정은 기능성 PD-1 효능작용 검정이다. C110:MECA89(MECA89는 공지된 MAdCAM 항체임)는 C110의 중쇄의 C-말단에 MAdCAM 항체, MECA89[scFv]를 융합시킴으로써 생성된 신규 이중특이적 분자이다. 이러한 융합 단백질은 활성이고, C110 단독 단백질과 같이 IgG Fc 도메인을 통해서 포획되는 경우 기능성 검정에서 PD-1 효능작용을 나타낸다는 것을 발견하였다. 그러나, C110:MECA89 만 캡처로서 MAdCAM 단백질을 사용한 기능성 검정 포맷에서 활성이다(단일특이적 성분은 신호를 전달하지 않음).

[0855] 간략하면, 플레이트를 항-인간 IgG 또는 재조합 mMAdCAM-1로 밤새 4℃에서 코팅하고, 세척하였다. 단일특이적 항-파상풍 독소(TT), 항-MAdCAM-1(MECA39) 또는 효능제 항-PD-1(C110) 또는 이중특이적 C110:MECA89를 첨가하고, 1시간 동안 37℃에서 인큐베이션시키고, 세척하였다. 모든 시험 물품은 인간 IgG1-Fc 부분을 함유하였다. PBS(Tx 없음)를 첨가하여 검정 배경을 결정하였다. 플레이트를 2회 세척하였다. b-갈락토시다제 효소 공여자에 융합된 인간 PD-1 및 b-갈락토시다제 효소 억셉터에 융합된 SHP-2 둘 모두를 발현하는 주카트 세포를 첨가하고, 2시간 동안 인큐베이션시켰다. 효능제 PD-1 항체는 신호전달 및 SHP-2 모집, 효소 보충 및 활성 b-갈락토시다제 효소의 형성을 유도한다. B-갈락토시다제 기질을 첨가하고, 화학발광을 표준 발광 플레이트 판독기 상에서 측정하였다. 결과: C110 및 MAdCAM-테더링된 C110 이중특이적 분자 둘 모두는, 플레이트가 항-IgG Fc 캡처로 코팅되는 경우 주카트 리포터 검정에서 PD-1 신호전달을 유도할 수 있지만, 플레이트가 재조합 MAdCAM 단백질로 코팅되는 경우 리포터 검정에서 MAdCAM-테더링된 이중특이체만 PD-1 신호전달을 유도할 수 있다. 이러한 결과는, MAdCAM으로 테더링되고, PD-1 효능제 항체를 함유하는 분자는 기능성이며, 이는 PD-1 효능제 대용물로서 PD-L1이 나타난 결과와 유사하다는 것을 입증한다.

[0856] **실시예 10: PD-1 효능제 항체의 생성**

[0857] PD-1 결핍 마우스를 PD-1에 대한 면역 반응을 생성시키는 조건 하에서 마우스 PD-1로 면역화시켰다. 마우스 PD-1에 결합하는 54개의 하이브리도마가 생성 및 식별되었다. 상이한 하이브리도마에 의해서 생산된 항체를 실시예 4 및 실시예 6에 기술된 방법에 따라서 T 세포 효능작용에 대해서 분석하였다. 54개의 하이브리도마 중에서 적

어도 6개가 PD-1 효능제로서 식별되었다. 항체를 또한 PD-1에 대한 결합에 대해서 시험하였고, PD-L1 결합 부위와 동일한 부위에서 결합하는 것을 발견하였다.

[0858] 간략하면, PD-L1 결합 부위에 대한 결합을 하기 검정을 사용하여 결정하였다. 면역흡착성 플레이트를 밤새 1× PBS, pH 7.4 중의 재조합 마우스 PD-L1-Fc(2μg/ml) 75μl로 코팅하였다. 이어서 플레이트를 1× PBS로 3회 세척하고, 2시간 동안 실온에서 1% BSA가 보충된 1× PBS로 차단시켰다. 재조합 마우스 PD-1-Fc(1nM)를 1% BSA 및 0.05% Tween20(검정 완충액)이 보충된 1× PBS 중에서 제시된 항-마우스 PD-1 항체 100nM과 함께 1시간 동안 실온에서 진탕하면서 인큐베이션시켰다. 차단 후, 플레이트를 0.05% Tween20 PBST가 보충된 1× PBS로 3회 세척하고, 항체-PD-1 접합체를 플레이트-결합된 마우스 PD-L1과 함께 인큐베이션시켰다. 비결합 PD-1을 PBST로 세척한 후, 플레이트를 검정 완충액 중의 바이오틴일화된 다클론성 항-PD-1 항체(0.5μg/ml) 75μl와 함께 인큐베이션시키고, 그 다음 검정 완충액 중에 또한 희석된 1:5000 스트렙타비딘 HRP로 증폭시켰다. 플레이트를 PBST로 3회 세척하고, 그 다음 1× PBS로 3회 세척하고, 그 후 100μl의 TMB, 그 다음 100μl의 1M HCl을 첨가하여 발달을 중단시켰다. 450nm에서 흡광도를 판독하고, 항체의 부재 하에서 PD-L1에 대한 PD-1의 결합에 대해서 정규화한다. 결과는, 활성 항체가 PD-L1 결합 부위에 결합함을 나타내었다. 비활성 항체는 PD-L1 결합 부위에 결합하지 않았다. 따라서, 본 실시예는 본 명세서에 기술된 이미 식별된 PD-1 효능제 항체에 더하여, 효능제인 항-PD-1 항체를 생산하는 능력을 입증한다.

[0859] 실시예 11: 테더링된 항-PD-1 항체는 PD-1 효능제로서 작용한다.

[0860] 인간 항체 scFv 파지 라이브러리를 반복적 선택 라운드를 통해 재조합 인간, 마우스, 및 시노 PD-1 단백질에 대해서 패닝시켜 PD-1의 모든 3종의 상기에 언급된 종 오쏘로그를 인식하는 항체 클론을 풍부하게 하였다. scFv 클론을 nt-VH-링커-VL-ct 포맷으로 구성하고, pIII 코트 단백질을 통해서 M13 파지 표면에 융합시켰다. 선택 후, 클론성 scFv를 CHO 세포의 세포 표면 상에서 발현되는 인간, 마우스 및 시노 PD-1에 대한 결합에 대해서 스크리닝하였다. 모든 3종의 세포 표면 발현된 PD-1 종 오쏘로그에 교차 반응성인 것으로 발견된 클론을 표준 분자 생물학 기술을 사용하여, 각각의 분자가 총 4개의 폴리펩타이드 쇠(2개의 중쇄 및 2개의 경쇄)로 구성된 인간 IgG1 포맷으로 전환시켰다. 2개의 경쇄는 서로 동일하였고, 2개의 중쇄는 제공된 바와 같이 서로 동일하였다.

[0861] 2개의 동일한 중쇄는 동종이량체화되고, 2개의 동일한 경쇄는 각각의 중쇄와 짝을 지어 무순상 인간 IgG1을 형성한다. Fc 도메인은 FcγR 상호작용을 제거하기 위해서 L235A, L236A 및 G237A 돌연변이를 함유한다. 전환된 인간 IgG1 항-PD-1 항체를 형질주입하고, HEK293 Expi 세포에서 발현시키고, 단백질 A 크로마토그래피에 의해서 정제하였다. 단백질 농도를 항체 특이적 흡광 계수와 함께 나노드롭 분광광도계를 사용하여 결정하였다. 항체를 PBS pH 7.4 중에서 제형화하였다.

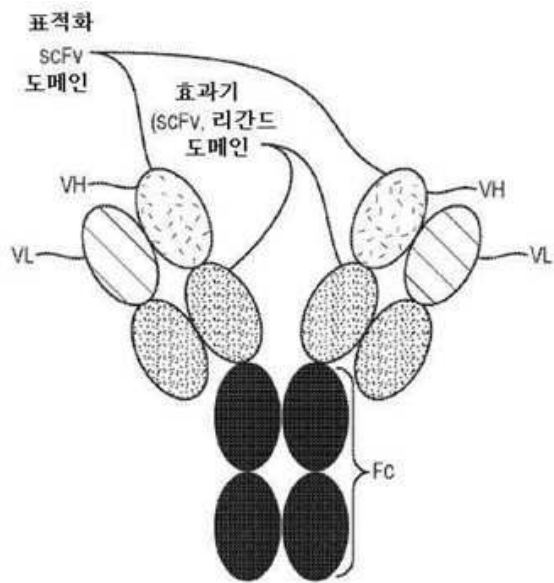
[0862] 그 다음 항-PD-1 항체를 효능제 활성도에 대해서 본 명세서에 기술된 주카트 검정으로 시험하였다. 간략하면, 조직 배양 플레이트를 항-IgG로 코팅하거나 코팅하지 않았다. 포획된 포맷의 경우, 시험 물품 또는 대조군을 항-IgG 코팅된 웰에 100nM, 25nM 또는 12.5nM로 첨가하고, 3시간 동안 37℃에서 인큐베이션시켰다. 플레이트를 세척하고, 주카트 PD-1 세포를 첨가하였다. 가용성 포맷의 경우, 가용성 시험 물품 또는 대조군을 주카트 PD1 세포를 이미 함유하는 웰에 100nM, 25nM 또는 12.5nM로 첨가하였다. 발광을 플레이트 판독기에서 측정하였다. 결과는, 항-PD-1 항체가 가용성 포맷으로 존재하지 않고, 항-IgG를 통해서 포획되는 경우, 12개의 인간/마우스 교차 반응성 PD-1 항체 중 9개가 주카트 검정에서 용량 의존적인 활성도를 나타내었다는 것을 입증하였다. 이러한 데이터는, 항-PD-1 항체가 표적 모이어티에 의해서 이의 표적에 테더링되는 경우 효능제로서 작용할 수 있음을 입증한다.

[0863] 결론적으로, 임의의 특정 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, 본 명세서에 나타난 데이터는 PD-1 효능제/MAdCAM 이중특이적 분자가 MAdCAM 및 PD-1 둘 모두에 결합하고, 또는 T 세포 활성도를 효능작용시킬 수 있음을 입증한다. 따라서, 이 분자는 본 명세서에 제공된 다양한 병태를 치료하고, T-세포 반응의 국지적인 및/또는 조직 특이적인 면역조절 및 하향 조절을 제공하는 데 사용될 수 있다.

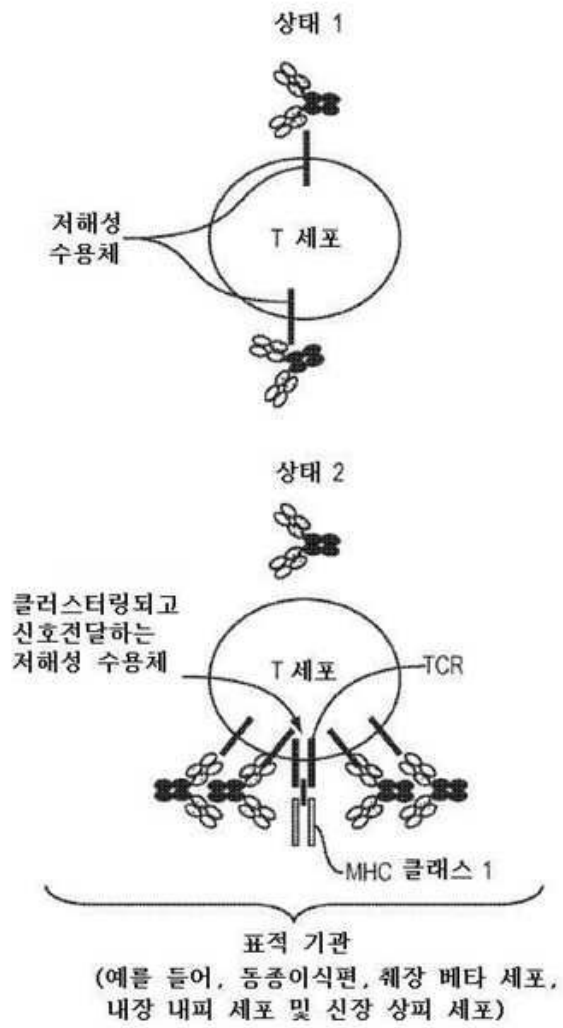
[0864] 본 명세서에 인용된 각각의 그리고 모든 특허, 특허 출원 및 간행물은 전문이 참고로 본 명세서에 포함된다. 다양한 실시형태가 특이적 양상을 참고로 개시되어 있지만, 이러한 실시형태의 다른 양상 및 변화는 실시형태의 진정한 사상 및 범주를 벗어나지 않으면서 당업자에 의해서 고안될 수 있음이 자명하다. 첨부된 청구범위는 모든 이러한 양상 및 동등한 변화를 포함하는 것으로 이해되도록 의도된다.

도면

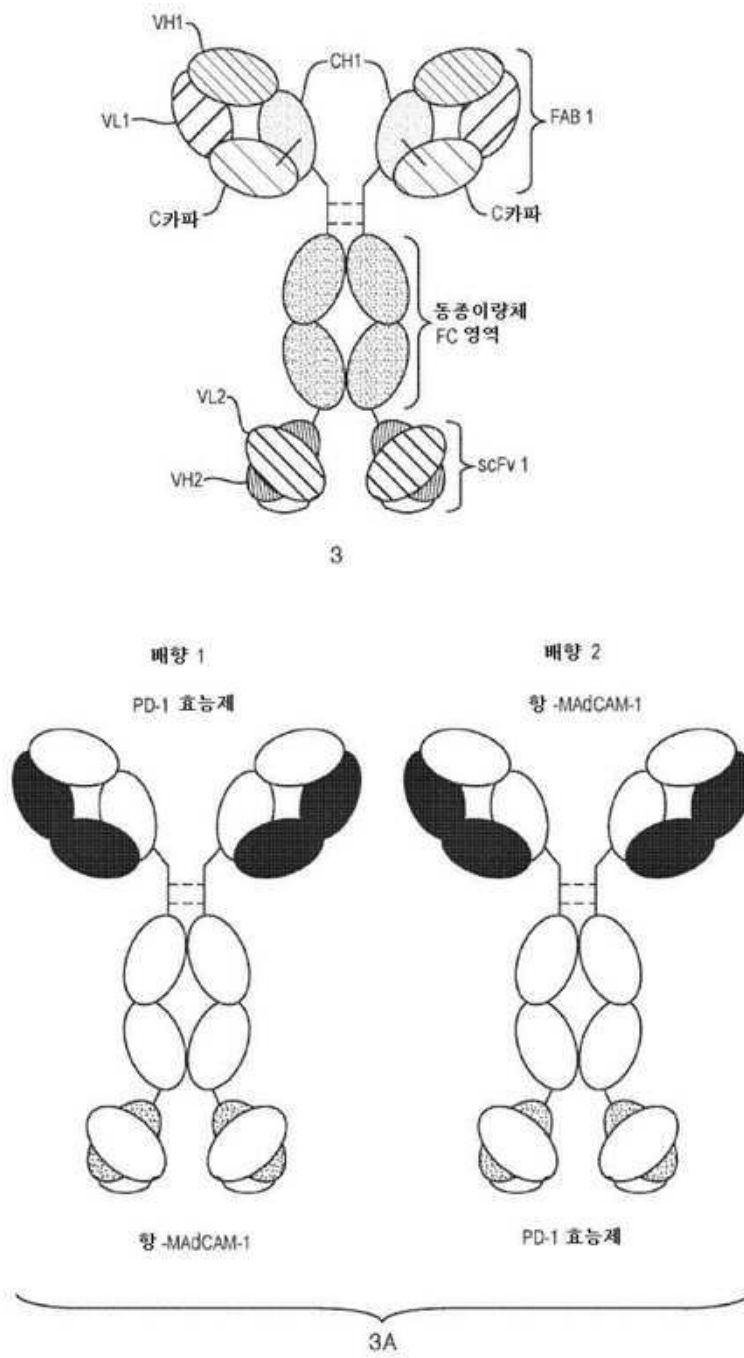
도면1



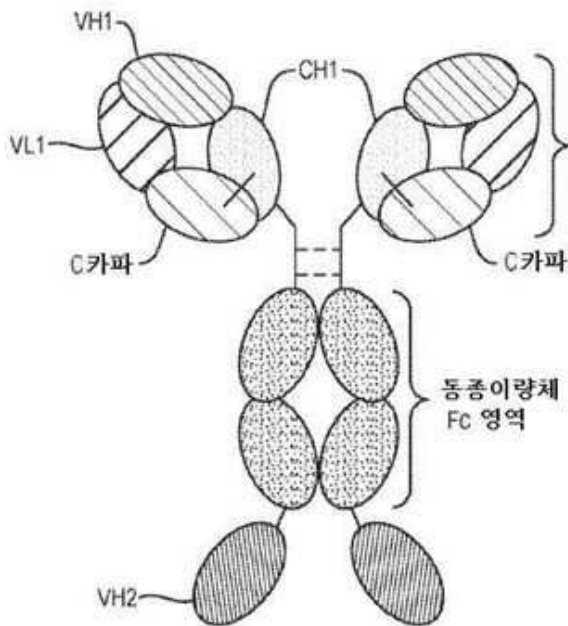
도면2



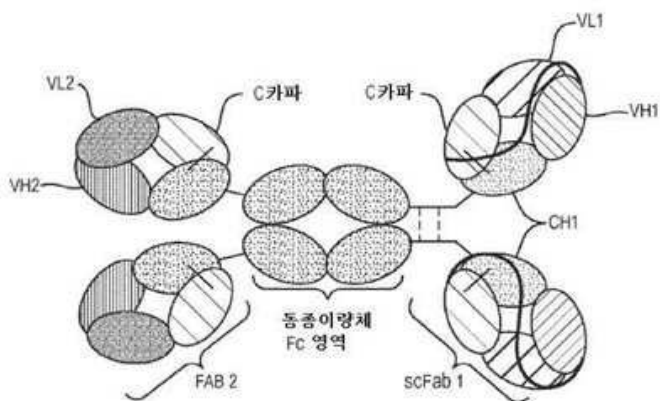
도면3



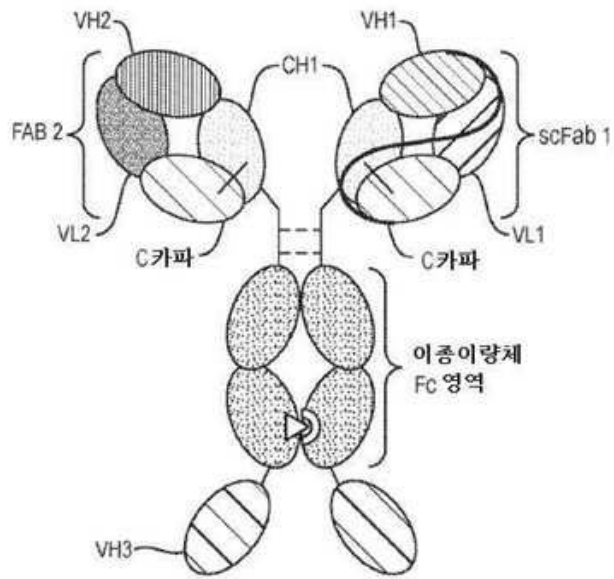
도면4



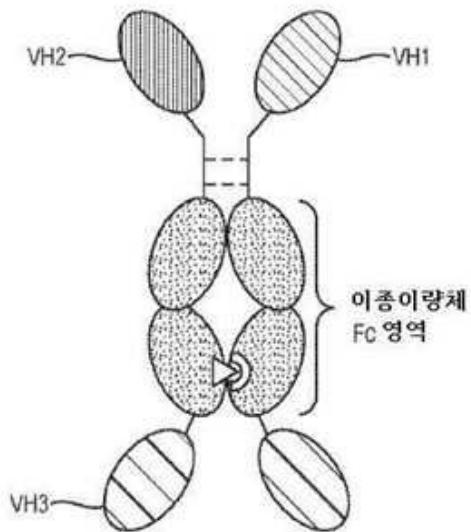
도면5



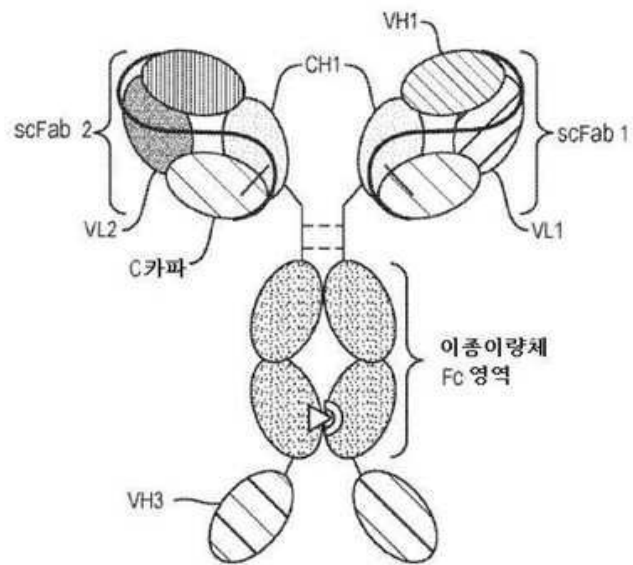
도면6



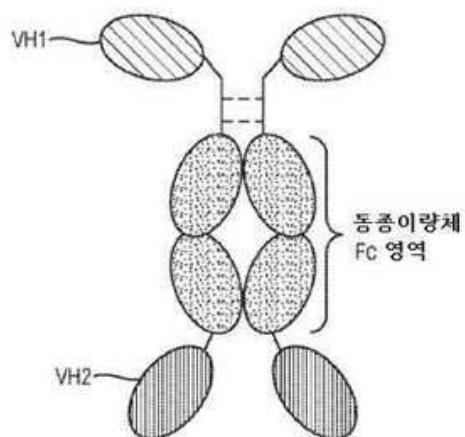
도면7



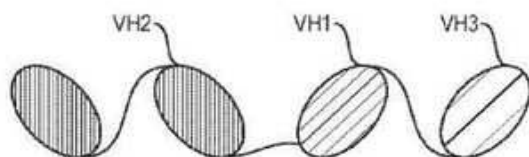
도면8



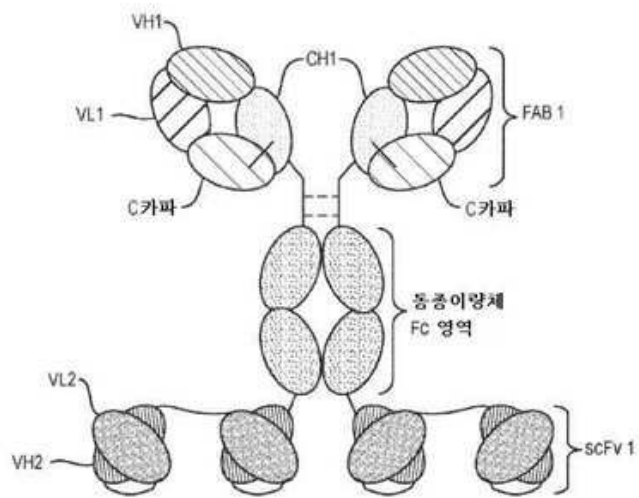
도면9



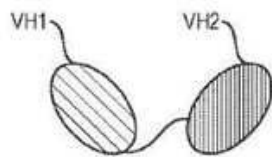
도면10



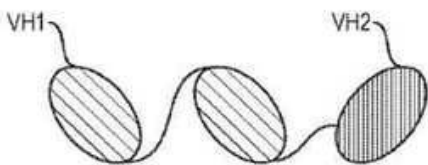
도면11



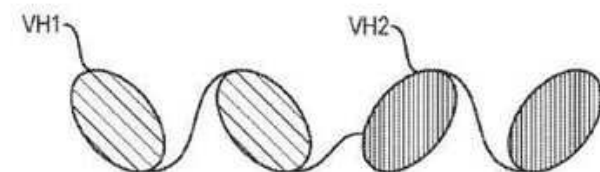
도면12



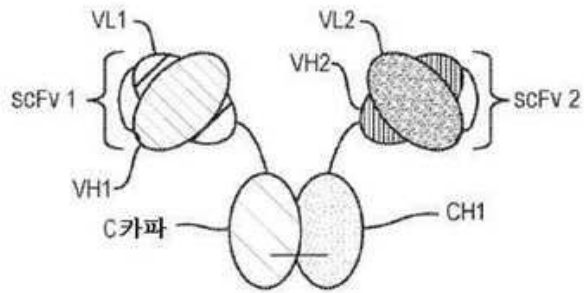
도면13



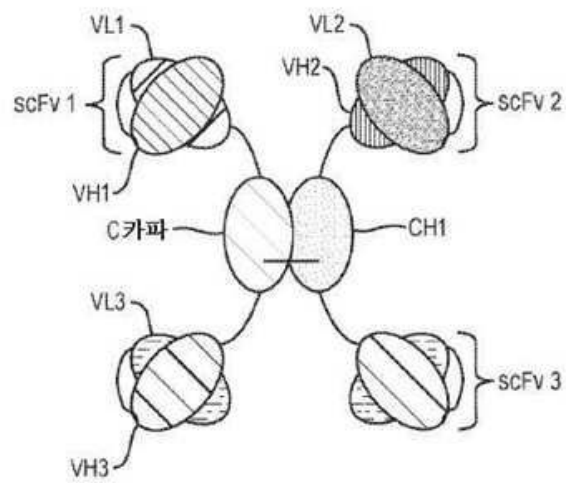
도면14



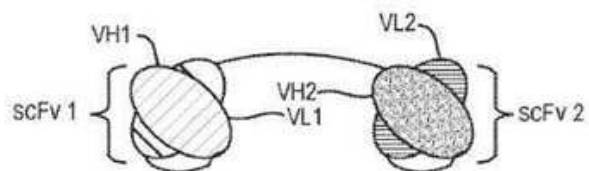
도면15



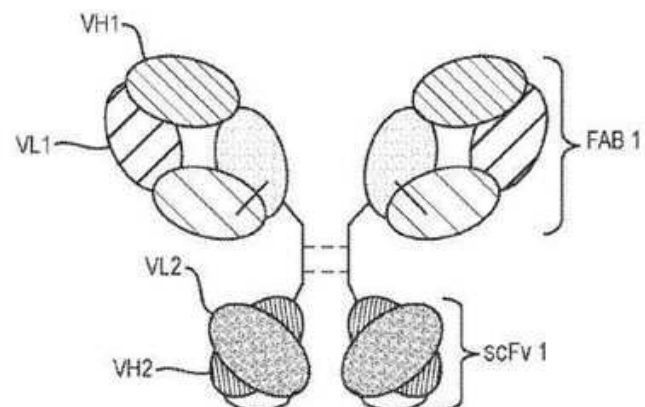
도면16



도면17



도면18



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Pandion Therapeutics Inc.

<120> TARGETED IMMUNOTOLERANCE

<130> WO/2018/170288

<140> PCT/US2018/022675

<141> 2018-03-15

<150> US 62/471,509

<151> 2017-03-15

<160> 9

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 510

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Glu Asp Thr Lys Glu Ser Asn Val Lys Thr Phe Cys Ser Lys Asn

1 5 10 15

Ile Leu Ala Ile Leu Gly Phe Ser Ser Ile Ile Ala Val Ile Ala Leu

20 25 30

Leu Ala Val Gly Leu Thr Gln Asn Lys Ala Leu Pro Glu Asn Val Lys

35 40 45

Tyr Gly Ile Val Leu Asp Ala Gly Ser Ser His Thr Ser Leu Tyr Ile

50 55 60

Tyr Lys Trp Pro Ala Glu Lys Glu Asn Asp Thr Gly Val Val His Gln

65 70 75 80

Val Glu Glu Cys Arg Val Lys Gly Pro Gly Ile Ser Lys Phe Val Gln

85 90 95

Lys Val Asn Glu Ile Gly Ile Tyr Leu Thr Asp Cys Met Glu Arg Ala

100 105 110

Arg Glu Val Ile Pro Arg Ser Gln His Gln Glu Thr Pro Val Tyr Leu

115 120 125

Gly Ala Thr Ala Gly Met Arg Leu Leu Arg Met Glu Ser Glu Glu Leu
130 135 140
Ala Asp Arg Val Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Leu Ser Asn Tyr Pro
145 150 155 160
Phe Asp Phe Gln Gly Ala Arg Ile Ile Thr Gly Gln Glu Glu Gly Ala
165 170 175
Tyr Gly Trp Ile Thr Ile Asn Tyr Leu Leu Gly Lys Phe Ser Gln Lys
180 185 190
Thr Arg Trp Phe Ser Ile Val Pro Tyr Glu Thr Asn Asn Gln Glu Thr
195 200 205
Phe Gly Ala Leu Asp Leu Gly Gly Ala Ser Thr Gln Val Thr Phe Val
210 215 220
Pro Gln Asn Gln Thr Ile Glu Ser Pro Asp Asn Ala Leu Gln Phe Arg
225 230 235 240
Leu Tyr Gly Lys Asp Tyr Asn Val Tyr Thr His Ser Phe Leu Cys Tyr
245 250 255
Gly Lys Asp Gln Ala Leu Trp Gln Lys Leu Ala Lys Asp Ile Gln Val
260 265 270
Ala Ser Asn Glu Ile Leu Arg Asp Pro Cys Phe His Pro Gly Tyr Lys
275 280 285
Lys Val Val Asn Val Ser Asp Leu Tyr Lys Thr Pro Cys Thr Lys Arg
290 295 300
Phe Glu Met Thr Leu Pro Phe Gln Gln Phe Glu Ile Gln Gly Ile Gly
305 310 315 320
Asn Tyr Gln Gln Cys His Gln Ser Ile Leu Glu Leu Phe Asn Thr Ser
325 330 335
Tyr Cys Pro Tyr Ser Gln Cys Ala Phe Asn Gly Ile Phe Leu Pro Pro
340 345 350
Leu Gln Gly Asp Phe Gly Ala Phe Ser Ala Phe Tyr Phe Val Met Lys
355 360 365
Phe Leu Asn Leu Thr Ser Glu Lys Val Ser Gln Glu Lys Val Thr Glu

370 375 380
 Met Met Lys Lys Phe Cys Ala Gln Pro Trp Glu Glu Ile Lys Thr Ser
 385 390 395 400
 Tyr Ala Gly Val Lys Glu Lys Tyr Leu Ser Glu Tyr Cys Phe Ser Gly

 405 410 415
 Thr Tyr Ile Leu Ser Leu Leu Leu Gln Gly Tyr His Phe Thr Ala Asp
 420 425 430
 Ser Trp Glu His Ile His Phe Ile Gly Lys Ile Gln Gly Ser Asp Ala
 435 440 445
 Gly Trp Thr Leu Gly Tyr Met Leu Asn Leu Thr Asn Met Ile Pro Ala
 450 455 460
 Glu Gln Pro Leu Ser Thr Pro Leu Ser His Ser Thr Tyr Val Phe Leu

 465 470 475 480
 Met Val Leu Phe Ser Leu Val Leu Phe Thr Val Ala Ile Ile Gly Leu
 485 490 495
 Leu Ile Phe His Lys Pro Ser Tyr Phe Trp Lys Asp Met Val
 500 505 510

 <210> 2
 <211> 574
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 2
 Met Cys Pro Arg Ala Ala Arg Ala Pro Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu
 1 5 10 15

 Gly Ala Val Leu Trp Pro Ala Ala Gly Ala Trp Glu Leu Thr Ile Leu
 20 25 30
 His Thr Asn Asp Val His Ser Arg Leu Glu Gln Thr Ser Glu Asp Ser
 35 40 45
 Ser Lys Cys Val Asn Ala Ser Arg Cys Met Gly Gly Val Ala Arg Leu
 50 55 60
 Phe Thr Lys Val Gln Gln Ile Arg Arg Ala Glu Pro Asn Val Leu Leu

65					70					75					80
Leu	Asp	Ala	Gly	Asp	Gln	Tyr	Gln	Gly	Thr	Ile	Trp	Phe	Thr	Val	Tyr
				85				90				95			
Lys	Gly	Ala	Glu	Val	Ala	His	Phe	Met	Asn	Ala	Leu	Arg	Tyr	Asp	Ala
				100				105				110			
Met	Ala	Leu	Gly	Asn	His	Glu	Phe	Asp	Asn	Gly	Val	Glu	Gly	Leu	Ile
				115				120				125			
Glu	Pro	Leu	Leu	Lys	Glu	Ala	Lys	Phe	Pro	Ile	Leu	Ser	Ala	Asn	Ile
130				135				140							
Lys	Ala	Lys	Gly	Pro	Leu	Ala	Ser	Gln	Ile	Ser	Gly	Leu	Tyr	Leu	Pro
145				150				155				160			
Tyr	Lys	Val	Leu	Pro	Val	Gly	Asp	Glu	Val	Val	Gly	Ile	Val	Gly	Tyr
				165				170				175			
Thr	Ser	Lys	Glu	Thr	Pro	Phe	Leu	Ser	Asn	Pro	Gly	Thr	Asn	Leu	Val
				180				185				190			
Phe	Glu	Asp	Glu	Ile	Thr	Ala	Leu	Gln	Pro	Glu	Val	Asp	Lys	Leu	Lys
195				200				205							
Thr	Leu	Asn	Val	Asn	Lys	Ile	Ile	Ala	Leu	Gly	His	Ser	Gly	Phe	Glu
210				215				220							
Met	Asp	Lys	Leu	Ile	Ala	Gln	Lys	Val	Arg	Gly	Val	Asp	Val	Val	Val
225				230				235				240			
Gly	Gly	His	Ser	Asn	Thr	Phe	Leu	Tyr	Thr	Gly	Asn	Pro	Pro	Ser	Lys
				245				250				255			
Glu	Val	Pro	Ala	Gly	Lys	Tyr	Pro	Phe	Ile	Val	Thr	Ser	Asp	Asp	Gly
260				265				270							
Arg	Lys	Val	Pro	Val	Val	Gln	Ala	Tyr	Ala	Phe	Gly	Lys	Tyr	Leu	Gly
275				280				285							
Tyr	Leu	Lys	Ile	Glu	Phe	Asp	Glu	Arg	Gly	Asn	Val	Ile	Ser	Ser	His
290				295				300							
Gly	Asn	Pro	Ile	Leu	Leu	Asn	Ser	Ser	Ile	Pro	Glu	Asp	Pro	Ser	Ile
305				310				315				320			

Lys Ala Asp Ile Asn Lys Trp Arg Ile Lys Leu Asp Asn Tyr Ser Thr
325 330 335

Gln Glu Leu Gly Lys Thr Ile Val Tyr Leu Asp Gly Ser Ser Gln Ser
340 345 350

Cys Arg Phe Arg Glu Cys Asn Met Gly Asn Leu Ile Cys Asp Ala Met
355 360 365

Ile Asn Asn Asn Leu Arg His Ala Asp Glu Thr Phe Trp Asn His Val
370 375 380

Ser Met Cys Ile Leu Asn Gly Gly Gly Ile Arg Ser Pro Ile Asp Glu
385 390 395 400

Arg Asn Asn Gly Thr Ile Thr Trp Glu Asn Leu Ala Ala Val Leu Pro
405 410 415

Phe Gly Gly Thr Phe Asp Leu Val Gln Leu Lys Gly Ser Thr Leu Lys
420 425 430

Lys Ala Phe Glu His Ser Val His Arg Tyr Gly Gln Ser Thr Gly Glu
435 440 445

Phe Leu Gln Val Gly Gly Ile His Val Val Tyr Asp Leu Ser Arg Lys
450 455 460

Pro Gly Asp Arg Val Val Lys Leu Asp Val Leu Cys Thr Lys Cys Arg
465 470 475 480

Val Pro Ser Tyr Asp Pro Leu Lys Met Asp Glu Val Tyr Lys Val Ile
485 490 495

Leu Pro Asn Phe Leu Ala Asn Gly Gly Asp Gly Phe Gln Met Ile Lys
500 505 510

Asp Glu Leu Leu Arg His Asp Ser Gly Asp Gln Asp Ile Asn Val Val
515 520 525

Ser Thr Tyr Ile Ser Lys Met Lys Val Ile Tyr Pro Ala Val Glu Gly
530 535 540

Arg Ile Lys Phe Ser Thr Gly Ser His Cys His Gly Ser Phe Ser Leu
545 550 555 560

Ile Phe Leu Ser Leu Trp Ala Val Ile Phe Val Leu Tyr Gln

565 570

<210> 3

<211> 290

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu

1 5 10 15

Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr

20 25 30

Gly Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu

35 40 45

Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile

50 55 60

Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser

65 70 75 80

Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn

85 90 95

Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr

100 105 110

Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val

115 120 125

Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val

130 135 140

Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr

145 150 155 160

Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser

165 170 175

Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn

180 185 190

Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr

195 200 205
 Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu
 210 215 220
 Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His
 225 230 235 240
 Leu Val Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr
 245 250 255
 Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys

260 265 270
 Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu
 275 280 285

Glu Thr

290

<210> 4

<211> 313

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Val Val Met Ala Pro Arg Thr Leu Phe Leu Leu Leu Ser Gly Ala
 1 5 10 15
 Leu Thr Leu Thr Glu Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe
 20 25 30

Ser Ala Ala Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala
 35 40 45

Met Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ser
 50 55 60

Ala Cys Pro Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Val Glu Gln Glu Gly
 65 70 75 80

Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Glu Thr Arg Asn Thr Lys Ala His Ala Gln
 85 90 95

Thr Asp Arg Met Asn Leu Gln Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser
 100 105 110

Glu Ala Ser Ser His Thr Leu Gln Trp Met Ile Gly Cys Asp Leu Gly
 115 120 125
 Ser Asp Gly Arg Leu Leu Arg Gly Tyr Glu Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly
 130 135 140
 Lys Asp Tyr Leu Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala
 145 150 155 160

Asp Thr Ala Ala Gln Ile Ser Lys Arg Lys Cys Glu Ala Ala Asn Val
 165 170 175
 Ala Glu Gln Arg Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu
 180 185 190
 His Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Met Leu Gln Arg Ala Asp Pro
 195 200 205
 Pro Lys Thr His Val Thr His His Pro Val Phe Asp Tyr Glu Ala Thr
 210 215 220

Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Ile Leu Thr
 225 230 235 240
 Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Val Glu Leu Val Glu
 245 250 255
 Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val
 260 265 270
 Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu
 275 280 285

Gly Leu Pro Glu Pro Leu Met Leu Arg Trp Lys Gln Ser Ser Leu Pro
 290 295 300
 Thr Ile Pro Ile Met Gly Ile Val Ala
 305 310

<210> 5

<211> 338

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Val Val Met Ala Pro Arg Thr Leu Phe Leu Leu Leu Ser Gly Ala

1 5 10 15
 Leu Thr Leu Thr Glu Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe
 20 25 30

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

 Thr Asp Arg Met Asn Leu Gln Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser
 100 105 110
 Glu Ala Ser Ser His Thr Leu Gln Trp Met Ile Gly Cys Asp Leu Gly
 115 120 125
 Ser Asp Gly Arg Leu Leu Arg Gly Tyr Glu Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly
 130 135 140
 Lys Asp Tyr Leu Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala
 145 150 155 160

 Asp Thr Ala Ala Gln Ile Ser Lys Arg Lys Cys Glu Ala Ala Asn Val
 165 170 175
 Ala Glu Gln Arg Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu
 180 185 190
 His Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Met Leu Gln Arg Ala Asp Pro
 195 200 205
 Pro Lys Thr His Val Thr His His Pro Val Phe Asp Tyr Glu Ala Thr
 210 215 220

 Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Ile Leu Thr
 225 230 235 240
 Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Val Glu Leu Val Glu
 245 250 255

Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val
 260 265 270
 Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu
 275 280 285

Gly Leu Pro Glu Pro Leu Met Leu Arg Trp Lys Gln Ser Ser Leu Pro
 290 295 300
 Thr Ile Pro Ile Met Gly Ile Val Ala Gly Leu Val Val Leu Ala Ala
 305 310 315 320
 Val Val Thr Gly Ala Ala Val Ala Ala Val Leu Trp Arg Lys Lys Ser
 325 330 335
 Ser Asp

<210> 6
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic sequence

<400> 6
 Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5
 <210> 7
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic sequence

<400> 7
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10
 <210> 8
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic sequence

<400> 8

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 9

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 9

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20