



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0130093
(43) 공개일자 2024년08월28일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01) A61P 35/00 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C07K 16/2896 (2013.01)
A61K 47/68031 (2023.08)</p> <p>(21) 출원번호 10-2024-7022227</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2022년12월07일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2024년07월03일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2022/052132</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2023/107558
국제공개일자 2023년06월15일</p> <p>(30) 우선권주장
63/286,894 2021년12월07일 미국(US)
63/349,258 2022년06월06일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
더 리전트 오브 더 유니버시티 오브 캘리포니아
미국 94607-5200 캘리포니아주 오클랜드 플랭크린 스트리트 1111 12층</p> <p>(72) 발명자
슬라몬, 데니스
미국 90095-7191 캘리포니아 로스엔젤레스 월서 블러바드 10889 스위트 920
맥더못, 마르티나
미국 90095-7191 캘리포니아 로스엔젤레스 월서 블러바드 10889 스위트 920
오브라이언, 닐, 에이.
미국 90095-7191 캘리포니아 로스엔젤레스 월서 블러바드 10889 스위트 920</p> <p>(74) 대리인
양영준, 김영</p> |
|---|--|

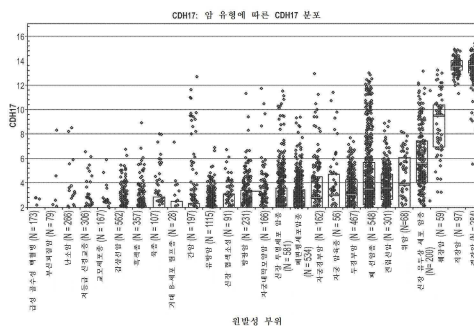
전체 청구항 수 : 총 82 항

(54) 발명의 명칭 CDH17 항체 및 암 치료 방법

(57) 요약

본 개시내용은 CDH17에 결합하는 항원-결합 단백질; CDH17 및 제2 항원에 결합하는 이중특이성 항원-결합 단백질; 및 이들의 접합체를 제공한다. 관련된 폴리펩타이드, 핵산, 벡터, 숙주 세포 및 접합체가 본 명세서에 추가로 제공된다. 이러한 독립체를 포함하는 키트 및 약제학적 조성물이 추가로 제공된다. 또한 항원-결합 단백질의 제조 방법 및 암을 갖는 대상체의 치료 방법이 제공된다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 47/6849 (2017.08)

A61K 47/6851 (2017.08)

A61P 35/00 (2018.01)

C07K 16/2809 (2013.01)

G01N 33/57492 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/31 (2013.01)

C07K 2317/732 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

항원-결합 단백질로서,

a. 아미노산 서열:

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVSGYTFTDHTIHWMRQAPGQGLEWIGYIFPRDDIVVYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPPYY
YSRNFYFDYWGQGTTLTVSS(서열번호 49) 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 또는 적어도 또는 약 85%의
서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역으로부터 유래된 CDR 1 내지 3; 및/또는

b. 아미노산 서열:

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRVSSIISSSKLHWYQQKPGKAPKPLIYGSTLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQWSNYPFTFGQG
TKLEIK(서열번호 50) 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 또는 적어도 또는 약 85%의 서열 동일성을
갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역으로부터 유래된 CDR 1 내지 3

을 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 2

항원-결합 단백질로서,

a. 아미노산 서열:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWIGAIYPNGDTSYAQKFQGRATLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGRGR
YFEYWQGTTLTVSS(서열번호 45) 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 또는 적어도 또는 약 85%의 서열
동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역으로부터 유래된 CDR 1 내지 3; 및/또는

b. 아미노산 서열:

DIQLTQSPSSLSASVGDRTMTCRASSSVSSSYLHWYQQKPGKAPKLLIYSTNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSVQPEDFATYYCQQYDSSPSTFGQG
TKLEIK(서열번호 46) 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 또는 적어도 또는 약 85%의 서열 동일성을
갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역으로부터 유래된 CDR 1 내지 3

을 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 3

항원-결합 단백질로서,

a. 아미노산 서열:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYMNWVRQAPGQGLEWMGVIYPYSGGIGYAQKFQGRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGRGD
YFGLFDFWGQGTITTVSS(서열번호 47) 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 또는 적어도 또는 약 85%의 서
열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역으로부터 유래된 CDR 1 내지 3; 및/또는

b. 아미노산 서열:

DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRATSSLSYIHWYQQKPGKAPKPLIYEISKLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQWNYPFTFGQGTKL
EIK(서열번호 48) 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 또는 적어도 또는 약 85%의 서열 동일성을 갖는
이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역으로부터 유래된 CDR 1 내지 3

을 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 4

항원-결합 단백질로서,

- a. GYTFTDHT(서열번호 13)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR1;
 - b. IFPRDDIV(서열번호 14)의 아미노산 서열 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 단지 1개 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR2;
 - c. ARPPYYYSRNFYFDY(서열번호 15)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR3;
 - d. SIISSSK(서열번호 16)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR1;
 - e. GTS(서열번호 17)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR2;
 - f. QQWSNYPFT(서열번호 18)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR3; 또는
 - g. (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합
- 을 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 5

항원-결합 단백질로서,

- a. GYTFTSYN(서열번호 1)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR1;
 - b. IYPGNGDT(서열번호 2)의 아미노산 서열 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 단지 1개 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR2;
 - c. ARGGRGYFEY(서열번호 3)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR3;
 - d. SSVSSSY(서열번호 4)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR1;
 - e. STS(서열번호 5)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR2;
 - f. QQYDSSPST(서열번호 6)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR3; 또는
 - g. (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합
- 을 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 6

항원-결합 단백질로서,

- a. GYTFTDYY(서열번호 7)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR1;
- b. IYPYSGGI(서열번호 8)의 아미노산 서열 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 단지 1개 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR2;
- c. ARGRGDYFGLFDF(서열번호 9)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR3;
- d. SSLSY(서열번호 10)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR1;

- e. EIS(서열번호 11)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR2;
- f. QQWNPFT(서열번호 12)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR3; 또는
- g. (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합을 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 7

제4항에 있어서,

- a. QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVS(서열번호 37)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR1;
- b. IHWMRQAPGQGLEWIGY(서열번호 38)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR2;
- c. VYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYC(서열번호 39)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR3;
- d. WGQGTTLTVSS(서열번호 40)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR4;
- e. DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRVS(서열번호 41)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR1;
- f. LHWYQQKPGKAPKPLIY(서열번호 42)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR2;
- g. TLASGVPSRFSGSGSDYTLTISSLQPEDFATYYC(서열번호 43)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR3;
- h. FGQGTKLEIK(서열번호 44)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR4; 또는
- i. (a) 내지 (h) 중 임의의 둘 이상의 조합을 추가로 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 8

제5항에 있어서,

- a. QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKAS(서열번호 21)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR1;
- b. MHWVRQAPGQGLEWIGA(서열번호 22)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR2;
- c. SYAQKFQGRATLTVDSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYC(서열번호 23)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR3;
- d. WGQGTTLTVSS(서열번호 24)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR4;
- e. DIQLTQSPSSLSASVGDRVTMTCRAS(서열번호 25)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR1;
- f. LHWYQQKPGKAPKLLIY(서열번호 26)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR2;

g. NLASGVPSRFGSGSGTDYTLTISSVQPEDFATYYC(서열번호 27)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR3;

h. FGQGTKLEIK(서열번호 28)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR4; 또는

i. (a) 내지 (h) 중 임의의 둘 이상의 조합

을 추가로 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 9

제6항에 있어서,

a. QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKAS(서열번호 29)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR1;

b. MNWVRQAPGQGLEWMGV(서열번호 30)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR2;

c. GYAQKFQGRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYC(서열번호 31)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR3;

d. WGQGTITVTVSS(서열번호 32)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR4;

e. DIQLTQSPSSLASVGDRTITCRAT(서열번호 33)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR1;

f. IHWYQQKPGKAPKPLIY(서열번호 34)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR2;

g. KLASGVPSRFGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC(서열번호 35)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR3;

h. FGQGTKLEIK(서열번호 36)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열의 경쇄 FR4; 또는

i. (a) 내지 (h) 중 임의의 둘 이상의 조합

을 추가로 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 10

항원-결합 단백질로서,

a.

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVSGYTFDHTIHWMRQAPGQGLEWIGYIFPRDDIVVYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARPPYYYSRNFYFDYWGQGTITLVSS(서열번호 49)의 아미노산 서열 또는 단지 1 내지 5개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및/또는

b.

DIQMTQSPSSLASVGDRTITCRVSSIISSKLHWYQQKPGKAPKPLIYGTSTLASGVPSRFGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQWSNYPFTFGQGTKLEIK(서열번호 50)의 아미노산 서열 또는 단지 1 내지 5개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 11

항원-결합 단백질로서,

a.

QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWIGAIYPGNGDTSYAQKFQGRATLTVDSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGRGR YFEYWGQGTTLTVSS(서열번호 45)의 아미노산 서열 또는 단지 1 내지 5개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및/또는

b.

DIQLTQSPSSLSASVGDRTMTCRASSSVSSSYLHWYQQKPGKAPKLLIYSTNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSVQPEDFATYYCQYDSSPSTFGQG TKLEIK(서열번호 46)의 아미노산 서열 또는 단지 1 내지 5개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 12

항원-결합 단백질로서,

a.

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYMNWVRQAPGQGLEWMGVIYPYSGGIGYAQKFQGRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGRGD YFGLFDWGGTTTVSS(서열번호 47)의 아미노산 서열 또는 단지 1 내지 5개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및/또는

b.

DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRATSSLSYIHWYQQKPGKAPKPLIYEISKLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQWNPFTFGQGTKL EIK(서열번호 48)의 아미노산 서열 또는 단지 1 내지 5개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역

을 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 13

인간 카데린-17(cadherin-17: CDH17)에 특이적으로 결합하는 항원-결합 단백질로서,

a. GYTFXDXT(서열번호 55)의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(여기서, 5번 위치에서 X는 N, S, R, Q, A 또는 T이고, 7번 위치에서 X는 H, W, Y 또는 F임);

b. IFPRDDIV(서열번호 14)의 아미노산 서열 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 단지 1개 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR2;

c. ARPPYYYSRNFYFDY(서열번호 15)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR3;

d. SIISSSK(서열번호 16)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR1;

e. GTS(서열번호 17)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR2;

f. QQWSNPFT(서열번호 18)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR3; 또는

g. (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합

을 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 14

인간 카데린-17(CDH17)에 특이적으로 결합하는 항원-결합 단백질로서,

a. GYTFXSXN(서열번호 56)의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(여기서, 5번 위치에서 X는 N, S, R, Q, A 또는 T이고, 7번 위치에서 X는 H, W, Y 또는 F임);

b. IYPGNGDT(서열번호 2)의 아미노산 서열 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 단지 1개 또는 2개의

아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR2;

c. ARGGRGYFEY(서열번호 3)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR3;

d. SSVSSSY(서열번호 4)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR1;

e. STS(서열번호 5)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR2;

f. QQYDSSPST(서열번호 6)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR3; 또는

g. (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합

을 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 15

인간 카데린-17(CDH17)에 특이적으로 결합하는 항원-결합 단백질로서,

a. GYTFXDXY(서열번호 57)의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(여기서, 5번 위치에서 X는 N, S, R, Q, A 또는 T이고, 7번 위치에서 X는 H, W, Y 또는 F임);

b. IYPYSGGI(서열번호 8)의 아미노산 서열 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 단지 1개 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR2;

c. ARGGRDYFGLFDF(서열번호 9)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR3;

d. SSLSY(서열번호 10)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR1;

e. EIS(서열번호 11)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR2;

f. QQWNPFT(서열번호 12)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR3; 또는

g. (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합

을 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 변이체 서열은 적어도 약 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는, 항원-결합 단백질.

청구항 17

인간 카데린-17(CDH17)에 특이적으로 결합하는 항원-결합 단백질로서

a.

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVSGYTFTDHTIHWMRQAPGQGLEWIGYIFPRDDIVVYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPPYYYSRNFYFDYWGGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMSRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열번호 94)의 아미노산 서열을 포함하는 항체 중쇄; 및

b.

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRVSSIISSEKLHWYQQKPGKAPKPLIYGSTSLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQWNSNPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS

PVTKSFNRGEC(서열번호 95)의 아미노산 서열을 포함하는 항체 경쇄를 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서,

- a. 상기 항원-결합 단백질은 인간 카데린-17(CDH17) 단백질(서열번호 19)에 결합하거나;
- b. 상기 항원-결합 단백질은 약 10nM, 5nM, 2.5nM, 1nM, 0.5nM 또는 0.25nM 미만의 해리 상수(K_D)로 인간 CDH17의 세포외 도메인에 결합하거나;
- c. 상기 항원-결합 단백질은 마우스 CDH17(서열번호 20)보다 인간 CDH17에 우선적으로 결합하거나;
- d. 상기 항원-결합 단백질은 마우스 CDH17에 결합하지 않거나; 또는
- e. 이들의 조합인, 항원-결합 단백질.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, THNLQVAALDANGIIVEGPVPIT(서열번호 82), THNLQVAALDANGII(서열번호 83), QVAALDANGIIVEGP(서열번호 84), LDANGIIVEGPVPIT(서열번호 85), LDANGII(서열번호 53) 및 DANGI(서열번호 54) 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드 또는 인간 카데린-17(CDH17)에 특이적으로 결합하는, 항원-결합 단백질.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, CDH17에 대한 상기 항원-결합 단백질의 결합이 CDH17 활성을 감소시키거나, 방해하거나, 저해하는, 항원-결합 단백질.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 항원-결합 항체 단편인, 항원-결합 단백질.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 항체는 단클론성 항체인, 항원-결합 단백질.

청구항 23

제21항 또는 제22항에 있어서, 상기 항체는 키메라 항체, 인간 항체 또는 인간화된 항체인, 항원-결합 단백질.

청구항 24

제21항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 IgG인, 항원-결합 단백질.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 IgG는 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로부터 선택된, 항원-결합 단백질.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원-결합 단백질은 이중특이성 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 T 세포 관여자(BiTE)인, 항원-결합 단백질.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 이중특이성 항원-결합 단백질 또는 상기 BiTE는

- a. 서열번호 45 및 서열번호 46;
- b. 서열번호 47 및 서열번호 48; 또는

c. 서열번호 49 및 서열번호 50

에 제시된 아미노산 서열을 포함하되, 선택적으로 상기 이중특이성 항원-결합 단백질은 07-0653-h43Bs, 07-0646-h7Bs 및 07-0663-h7Bs로부터 선택되는, 항원-결합 단백질.

청구항 28

제21항에 있어서, 상기 항원-결합 항체 단편은 scFv, F(ab')₂, Fab, Fab' 및 Fv로부터 선택된, 항원-결합 단백질.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 scFv는 07-0653-h43scfv, 07-0646-h7scfv 또는 07-0663-h7scfv인, 항원-결합 단백질.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 암세포를 주사한 이종이식 마우스에서 종양 성장을 저해하는, 항원-결합 단백질.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 비푸코실화된(afucosylated) 글리칸을 포함하는 Fc 폴리펩타이드를 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항 또는 본 명세서에 기재된 것의 항원-결합 단백질을 포함하는, 접합체.

청구항 33

제32항에 있어서, 검출 가능한 마커, 세포독성제 또는 화학치료제를 포함하는, 접합체.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 화학치료제는 튜블린 중합을 차단함으로써 세포분열을 저해하는 항유사분열제인, 접합체.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 항유사분열제는 아우리스타틴인, 접합체.

청구항 36

제35항에 있어서, 상기 아우리스타틴은 MMAE인, 접합체.

청구항 37

제33항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제제 또는 상기 마커는 절단성 링커 또는 비-절단성 링커를 통해 상기 항원-결합 단백질에 접합된, 접합체.

청구항 38

제37항에 있어서, 상기 절단성 링커는 VC-PAB인, 접합체.

청구항 39

제32항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원-결합 단백질은 항체인, 접합체.

청구항 40

제39항에 있어서, 상기 항체는 단클론성 항체인, 접합체.

청구항 41

제39항 또는 제40항에 있어서, 상기 항체는 인간 항체, 인간화된 항체 또는 키메라 항체인, 접합체.

청구항 42

제39항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 IgG 항체이되, 선택적으로 상기 IgG는 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4인, 접합체.

청구항 43

제32항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 단백질당 접합된 상기 제제 단위의 평균 수는 1 내지 8 범위이되, 바람직하게는 상기 항원-결합 단백질당 접합된 제제 단위의 평균 수는 (a) 3 내지 8의 범위 또는 (b) 4인, 접합체.

청구항 44

제32항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접합체는 이질 접합체인, 접합체.

청구항 45

제32항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접합체는 동질 접합체인, 접합체.

청구항 46

제32항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제제는 상기 항원-결합 단백질의 특정 부위에 접합되는, 접합체.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 특정 부위는 깎지어지지 않은 시스테인 잔기인, 접합체.

청구항 48

제32항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접합체는 VC-PAB-MMAE에 접합된 서열번호 45 및 서열번호 46에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 접합체.

청구항 49

제32항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접합체는 VC-PAB-MMAE에 접합된 서열번호 47 및 서열번호 48에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 접합체.

청구항 50

제32항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접합체는 VC-PAB-MMAE에 접합된 서열번호 49 및 서열번호 50에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 접합체.

청구항 51

제32항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접합체는 VC-PAB-MMAE에 접합된 서열번호 94 및 서열번호 95에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 접합체.

청구항 52

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항의 항원-결합 단백질을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 53

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항의 항원 결합 단백질, 제32항 내지 제51항 중 어느 한 항의 접합체 또는 제52항의 융합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 핵산.

청구항 54

제53항에 있어서, 상기 핵산은 cDNA인, 핵산.

청구항 55

제53항 또는 제54항의 핵산을 포함하는, 벡터(예를 들어, 발현 벡터).

청구항 56

제55항에 있어서, 내부 리보솜 유입 부위(internal ribosome entry site: IRES)를 추가로 포함하는, 벡터.

청구항 57

제53항 또는 제54항의 핵산 또는 제55항 또는 제56항의 벡터를 포함하는, 숙주 세포.

청구항 58

제57항에 있어서, 상기 숙주 세포는 박테리아 세포인, 숙주 세포.

청구항 59

제57항에 있어서, 상기 숙주 세포는 진핵 세포인, 숙주 세포.

청구항 60

제59항에 있어서, 상기 진핵 세포는 포유류 세포인, 숙주 세포.

청구항 61

제60항에 있어서, 포유류 세포는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포인, 숙주 세포.

청구항 62

카데린-17(CDH17) 단백질에 결합하는 항원-결합 단백질의 생산 방법으로서, (i) 세포 배양 배지에서 제57항 내지 제61항 중 어느 한 항의 숙주 세포를 배양시키는 단계, 및 (ii) 항원-결합 단백질을 세포 배양 배지로부터 채취하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 63

카데린-17(CDH17) 단백질에 결합하는 항원-결합 단백질을 포함하는 융합 단백질의 생산 방법으로서, (i) 세포 배양 배지에서 제57항 내지 제61항 중 어느 한 항의 숙주 세포를 배양시키는 단계, 및 (ii) 융합 단백질을 세포 배양 배지로부터 채취하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 64

약제학적 조성물의 생산 방법으로서, (a) 제1항 내지 제31항 중 어느 한 항의 항원-결합 단백질, 제32항 내지 제51항 중 어느 한 항의 접합체, 제52항의 융합 단백질, 제53항 또는 제54항의 핵산, 제55항 또는 제56항의 벡터, 제57항, 제59항 또는 제60항의 숙주 세포, 또는 이들의 임의의 조합; 및 (b) 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 및/또는 부형제를 조합하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 65

약제학적 조성물로서, (a) 제1항 내지 제31항 중 어느 한 항의 항원-결합 단백질, 제32항 내지 제51항 중 어느 한 항의 접합체, 제52항의 융합 단백질, 제53항 또는 제54항의 핵산, 제55항 또는 제56항의 벡터, 제57항, 제59항 또는 제60항의 숙주 세포, 또는 이들의 임의의 조합; 및 (b) 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 및/또는 부형제를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 66

CDH17-발현 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서, 상기 암을 치료하기 위해 제65항의 약제학적 조성물을 상

기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 67

대상체에서의 종양 성장을 저해하는 방법으로서, 종양 성장을 저해하기 위해 제65항의 억제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 68

대상체에서의 종양 크기를 감소시키는 방법으로서, 종양 크기를 감소시키기 위해 제65항의 억제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 69

대상체에서의 암의 재발을 방지하는 방법으로서, 상기 암의 재발을 방지하기 위해 제65항의 억제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 70

CDH17의 과발현자(over-expresser)인 것으로 진단된 대상체에서의 암 치료 방법으로서, 암의 재발을 방지하기 위해 제65항의 억제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 71

제66항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 투여하는 단계는 종양 세포에서 세포자멸사를 유발하는, 방법.

청구항 72

제66항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 투여하는 단계는 CDH17을 발현시키는 세포에서 세포자멸사를 유발하는, 방법.

청구항 73

샘플에서 카테린-17(CDH17)을 검출하는 방법으로서, 상기 샘플을 제1항 내지 제31항 중 어느 한 항의 항원-결합 단백질, 제32항 내지 제51항 중 어느 한 항의 접합체, 또는 제52항의 융합 단백질과 접촉시키는 단계; 및 CDH17에 결합된 상기 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질을 포함하는 면역복합체를 분석하는(assaying) 단계를 포함하는, 방법.

청구항 74

대상체에서 카테린-17(CDH17)-양성암을 진단하는 방법으로서, 상기 대상체로부터 얻은 세포 또는 조직을 포함하는 생물학적 샘플을 제1항 내지 제31항 중 어느 하나의 항원-결합 단백질, 제32항 내지 제51항 중 어느 하나의 접합체, 또는 제52항의 융합 단백질과 접촉시키는 단계; 및 CDH17에 결합된 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질을 포함하는 면역복합체를 분석하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 75

제74항에 있어서, 제1항 내지 제31항 중 어느 하나의 항원-결합 단백질, 제32항 내지 제51항 중 어느 한 항의 접합체 또는 제52항의 융합 단백질을 대상체에게 투여함으로써 CDH17-양성 암을 갖는 것으로 진단된 상기 대상체를 치료하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 76

제1항 내지 제75항 중 어느 한 항의 접합체의 생산 방법으로서,

a. 세포 배양 배지에서 제57항 내지 제61항 중 어느 하나의 숙주 세포를 배양시키는 단계로서, 상기 숙주 세포는 항원 결합 단백질 또는 이의 융합 단백질을 암호화하는 핵산을 포함하는, 상기 숙주 세포를 배양시키는 단계,

- b. 상기 항원-결합 단백질 또는 융합 단백질을 상기 세포 배양 배지로부터 채취하는 단계, 및
- c. 상기 항원 결합 단백질 또는 융합 단백질을 이중성 모이어티(heterologous moiety)에 부착시켜 상기 접합체를 생산하는 단계로서, 선택적으로 상기 이중성 모이어티는 세포독성제 또는 화학치료제인, 상기 접합체를 생산하는 단계
- 를 포함하는, 방법.

청구항 77

T 세포를 활성화시켜 대상체에서 CDH17-발현 종양 또는 암을 표적화하는 방법으로서, CDH17에 결합하는 제1 scFv 및 CD3에 결합하는 제2 scFv를 포함하는 이중특이성 T 세포 관여자(BiTE)를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되, CDH17에 결합하는 상기 제1 scFv는 제1항 내지 제76항 중 어느 한 항의 항원-결합 단백질 또는 본 명세서에 기재된 것의 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는, 방법.

청구항 78

제77항에 있어서, 상기 BiTE는

- a. 서열번호 45 및 서열번호 46;
- b. 서열번호 47 및 서열번호 48; 또는
- c. 서열번호 49 및 서열번호 50

에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 79

제77항 또는 제78항에 있어서, 상기 BiTE는 07-0646-h7Bs, 07-0653-h43Bs 및 07-0663-h7Bs로부터 선택되되, 선택적으로 상기 BiTE는 07-0653-h43Bs인, 방법.

청구항 80

대상체에서 CDH17-발현 종양 또는 암에 대해 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC) 반응을 유도하는 방법으로서, CDH17에 결합하는 항원-결합 단백질을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되, 상기 항원-결합 단백질은 Fc 효과기 기능; 및 제1항 내지 제79항 중 어느 한 항의 항원-결합 단백질 또는 본 명세서에 기재된 것의 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는, 방법.

청구항 81

제80항에 있어서, CDH17에 결합하는 상기 항원-결합 단백질은 07-646-h7 또는 07-663-h7인, 방법.

청구항 82

제1항 내지 제81항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 포유류, 선택적으로 개, 고양이, 마우스 또는 인간인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2021년 12월 7일자로 출원된 미국 특허 가출원 제63/286,894호; 및 2022년 6월 6일자로 출원된 미국 특허 가출원 제63/349,258호의 유익을 주장하며; 상기 출원의 전문은 본 명세서에 이의 전문이 참조에 의해 인용된다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 개시내용은 일반적으로 카데린-17(Cadherin-17: CDH17)에 특이적인 항체 및 암을 치료하기 위한 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 항체는 세포, 박테리아, 바이러스 또는 독소 상에서 별개의 항원을 특이적으로 표적화하는 이들의 능력으로 인해 제한된 부작용을 특징으로 하는 강력한 치료제를 구성한다. CDH17-관련 질환에 관한 환자의 의학적 필요를 처리하기 위해 본 명세서에 기재된 항체와 같은 신규한 항체를 제공하는 임상적 필요가 있다.

발명의 내용

[0006] CDH17에 결합하는 항원-결합 단백질이 본 명세서에 제공된다. 다양한 양상에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 인간 CDH17에 결합하고, 마우스 CDH17에 선택적으로 결합한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 CDH17의 세포외 도메인(extracellular domain: ECD)에 결합한다. 다양한 실시형태에서, 본 개시내용은 CDH17에 대한 항원 결합 단백질을 제공한다.

[0007] 다양한 예에서, 항원 결합 단백질은 CDH17에 결합하고, CDH 패밀리의 임의의 다른 구성원에는 결합하지 않는다. 다양한 양상에서, 항원 결합 단백질은 인간 암 세포, 예를 들어, HPAF-II 췌장 세포에 의해 내인성으로 발현되는 CDH17에 결합한다. 다양한 예에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 항원-결합 단백질에 부착되는 임의의 다른 모이어티 없이 대상체, 예를 들어, 인간에서의 종양 성장을 저해한다. 다양한 예에서, 이종성 모이어티(heterologous moiety)에 비접합된(예를 들어, 임의의 화학치료제, 약물 또는 독성 모이어티에 비접합된) 항원-결합 단백질은 대상체, 예를 들어, 인간에서의 종양 성장을 저해한다.

[0008] 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 인간 암세포에 의해 발현되는 CDH17에 결합한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 인간 CDH17와 기준 항-CDH17 항체 사이의 결합 상호작용을 저해한다. 특정 이론으로 구속되는 일 없이, 본 명세서에 제공된 항원-결합 단백질의 저해 작용은 이러한 독립체가 종양 성장을 감소시키고 종양 또는 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법에서 유용하게 되는 것을 가능하게 한다. 본 명세서에 추가로 논의되는 바와 같이, 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 항체, 이의 항원-결합 항체 단편, 또는 항체 단백질 생성물이다.

[0009] 본 개시내용은 또한 아미노산 서열의 구체화된 그룹 중 적어도 3, 4, 5개 또는 모든 아미노산 서열을 포함하는 항원-결합 단백질을 제공한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 본 명세서에 개시된 CDH17 항체의 적어도 3, 4, 5 또는 6개의 상보성 결정 영역(complementary determining region: CDR) 아미노산 서열을 포함한다.

[0010] 본 개시내용은 본 명세서에 상세히 기술되는 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 항원-결합 단백질을 추가로 제공한다.

[0011] 본 개시내용은 CDH17 및 제2 항원에 결합하는 이중특이성 항원-결합 단백질을 제공한다. 이중특이성 항원-결합 단백질은 본 명세서에 기재된 항원-결합 단백질 중 어느 하나를 포함할 수 있다. 제2 항원은 세포 표면 단백질, 선택적으로, 결합이 면역 반응을 조절하는 단백질일 수 있다. 이중특이성 항원-결합 단백질은 임의의 구조, 예를 들어, 다이어바디, TandAb(탠덤 다이어바디), BiTE(이중특이성 T 세포 관여자) 등을 취할 수 있다.

[0012] 본 개시내용은 또한 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질 및 이종성 모이어티(예를 들어, 세포 독성 약물)를 포함하는 접합체를 제공한다. 접합체는 절단성 링커 또는 비절단성 링커를 포함할 수 있다. 접합체는 본 명세서에 기재된 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질에 접합된 다양한 수의 이종성 모이어티(제제), 바람직하게는 단백질당 1 내지 8개의 제제 또는 단백질당 3 내지 8개의 제제를 가질 수 있다. 접합체는 부위-특이적 접합체일 수 있다. 접합체는 동질 접합체 또는 이질 접합체일 수 있다.

[0013] 관련된 폴리펩타이드, 핵산, 벡터, 숙주 세포 및 접합체가 본 명세서에 추가로 제공된다. 이러한 독립체를 포함하는 키트 및 약제학적 조성물이 추가로 상정된다.

[0014] 또한 항원-결합 단백질의 제조 방법이 제공된다. 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 항원-결합 단백질 또는 폴리펩타이드를 발현시키기 위해 본 명세서에 기재된 바와 같은 항원-결합 단백질 또는 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 배양시키는 단계를 포함한다.

[0015] 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법이 추가로 본 명세서에 제공된다. 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 대상체에서 암을 치료하는 데 유효한 양으로 본 개시내용의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0016] 또한 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 CDH17-발현 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법이 제공된다. 다양한 실시형태에서, CDH17-발현 암은 CDH17을 발현시킨다. 추가로 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 종양 성장을 저해하는 방법이

상정된다.

[0017] 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 종양 크기를 감소시키거나, 대상체에서의 암의 재발을 예방하는 방법.

[0018] 또한 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, CDH17의 과발현자(over-expresser)인 것으로 진단된 대상체에서 암을 치료하는 방법이 본 명세서에 제공된다.

[0019] 다양한 실시형태에서, 투여하는 단계는 종양 세포에서, 예를 들어, CDH17을 발현시키는 세포에서 세포자멸사를 유발하여, 종양 퇴행 또는 더딘 종양 성장을 야기한다. 다양한 실시형태에서, 투여는 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC) 또는 보체-의존적 세포독성(CDC), 종양 괴사 및 세포의 사멸 또는 고갈, 및/또는 종양 세포 접착의 붕괴를 유발하며, 이들 각각은 종양 퇴행 또는 더딘 종양 성장을 초래한다.

도면의 간단한 설명

[0020] 도 1은 인간암에서 CDH17 발현의 그래프를 나타낸다.

도 2A 내지 도 2B는 계막이 원숭이 CDH17(UniProtKB 수탁번호 A0A2K5X8I8), 마우스 CDH17(UniProtKB 수탁번호 Q9R100) 및 래트 CDH17(UniProtKB 수탁번호 P55281)에 대한 인간 CDH17(UniProtKB 수탁번호 Q12864)의 비교를 CDH17 막관통 단백질의 동일성 백분율 및 계통도 및 위상으로서 나타내고(A), 인간 CDH17의 세포외 도메인을 나타내는 황색 강조가 있는 정렬된 서열을 나타낸다(B).

도 3은 10mg/kg으로 대조군 IgG 항체(인간 IgG1) 또는 CDH17 단백질로 향하는 6개의 상이한 키메라 단클론성 항체에 의한 처리 후, 시간(일수)의 함수로서 종양 용적(mm^3)의 그래프(A), 종양의 제32일에 종양 용적(mm^3)의 평균 변화(B) 및 (C) 인간 CDH17-양성 결장직장 종양(SNU-C1; ATCC CRL-5972)을 보유하는 마우스의 체중 변화 백분율을 나타낸다. 키메라 단클론성 항체는 마우스 VH 및 VL 서열, 인간 IgG1 불변 영역 및 인간 IgG1 카파 불변 영역을 포함한다.

도 4는 10mg/kg으로 대조군 인간 IgG1 항체, 2개의 상이한 키메라 단클론성 항-CDH17 항체(CDH17-653-m 또는 CDH17-657-m) 또는 8개의 상이한 인간화된 항-CDH17 항체(CDH17-646-h7, CDH17-653-h42, CDH17-653-h43, CDH17-657-h16, CDH17-663-h7, CDH17-670-h12, CDH17-675-h11 또는 CDH17-683-h6)에 의한 매주 치료 후, 시간(일수)의 함수로서 종양 용적(mm^3)의 그래프(A), 종양의 제28일에 종양 용적(mm^3)의 평균 변화(B) 및 인간 CDH17-양성 결장직장 종양(SNU-C1; ATCC CRL-5972)을 보유하는 마우스의 체중 변화 백분율(C)을 나타내며; "CDH17-"이 동일한 항체를 지칭하는 "07-0"으로 대체될 수 있고(예를 들어, CDH17-646-h7로 표기되는 항체가 07-0646-h7로 표기되는 것과 동일한 항체이고; CDH17-663-h7은 07-0663-h7 및 CDH17 hAb 0663-h7로도 알려져 있다는 것을 유념한다).

도 5는 10mg/kg으로 대조군 인간 IgG1 항체 또는 8개의 상이한 인간화된 항-CDH17 항체(CDH17-646-h7, CDH17-653-h42, CDH17-653-h43, CDH17-657-h16, CDH17-663-h7, CDH17-670-h12, CDH17-675-h11 또는 CDH17-683-h6)에 의한 매주 치료 후 인간 CDH17-양성 췌장 종양 (HPAF-II)을 보유하는 마우스에서 종양의 시간(일수) 함수로서 종양 용적(mm^3)의 그래프(A) 및 제25일에 종양 용적(mm^3)의 평균 변화(B)를 나타낸다.

도 6은 10mg/kg으로 대조군 인간 IgG1 항체 또는 6개의 상이한 인간화된 항-CDH17 항체(CDH17-646-h7, CDH17-653-h42, CDH17-653-h43, CDH17-663-h7, CDH17-670-h12 또는 CDH17-683-h6)로 매주 치료 후 인간 CDH17-음성 흑색종 세포주(M202)를 보유하는 마우스 종양의 시간(일수)의 함수로서 종양 용적(mm^3)의 그래프(A) 및 제24일에 종양 용적(mm^3)의 평균 변화(B)를 나타낸다.

도 7은 인간 CDH17-양성 종양을 보유하는 마우스에서 비접합 항체 또는 대조군 IgG 항체에 대해(A 내지 C) 그리고 인간 CDH17-음성 종양에 대해(D 내지 F), 키메라 단클론성 항-CDH17 항체인 CDH17-653의 항체-약물 접합체(ADC; VC-PAB-MMAE)에 의해 유도되는 선택적 종양 성장 저해를 나타낸다. 인간 결장직장암 세포주인 SNU-C1(A), 인간 췌장암 세포주인 PaTu8988s(B), 인간 결장직장암 세포주인 LS513(C), 인간 소세포 폐암종 세포주인 H524(D) 및 COR-L279(E) 및 인간 흑색종 세포주인 M202(F)로부터 이중이식편을 얻었다. 마우스를 매주 3회 반복 용량 동안 IV 꼬리 정맥 주사에 의해 5mg/kg ADC 또는 10mg/kg 비접합 모 CDH17-653 또는 IgG 대조군으로 치료하였다.

도 8은 3회 반복 용량 동안 5mg/kg ADC에 의한 매주 치료 후 CDH17-양성 인간 결장직장암 이중이식편(SNU-C1)에서 3개의 상이한 인간화된 항-CDH17 항체-약물 접합체(ADCs; VC-PAB-MMAE)에 의해 유도된 시간에 따른 종양 용

적(mm^3)의 종양 성장 저해(A), 제42일에 종양 용적(mm^3)의 평균 변화(B), 및 체중의 백분율 변화(C)를 나타낸다. 항체-약물 접합체: CDH17-ADC-646-h7, CDH17-ADC-653-h43 및 CDH17-ADC-663-h7. IgG는 비표적화 대조군 항체이다.

도 9는 3회의 반복 용량 동안 5mg/kg ADC에 의한 매주 치료 후 CDH17-양성 인간 췌장암 이종이식편(HPAF-II)에서 3개의 상이한 인간화된 항-CDH17 항체-약물 접합체(ADC; VC-PAB-MMAE)에 의해 유도된 시간에 따른 종양 용적(mm^3)의 종양 성장 저해(A) 또는 제27일에 종양 용적(mm^3)의 평균 변화(B)를 나타낸다. 항체-약물 접합체: CDH17-ADC-646-h7, CDH17-ADC-653-h43 및 CDH17-ADC-663-h7. IgG는 비표적화 대조군 항체이다.

도 10은 대조군 IgG 항체 또는 인간화된 항-CDH17 항체-약물 접합체(VC-PAB-MMAE)(CDH17-ADC-646-h7, CDH17-ADC-653-h43 또는 CDH17-ADC-663-h7)에 의한 3회 반복 용량 동안 5mg/kg으로 매주 치료 후 인간 CDH17-음성 흑색종(M202)을 보유하는 마우스 종양의 시간(일수)의 함수로서 종양 용적(mm^3)의 그래프(A) 또는 제31일에 종양 용적(mm^3)의 평균 변화(B)를 나타내고, 이는 ADC에 의한 CDH17-음성 이종이식편의 항-종양 활성 손실을 나타낸다.

도 11은 CDH17-양성 인간 결장직장암 세포주인 LS513에서 인간화된 항-CDH17 항체인 07-0646-h7(상단 패널) 및 07-0663-h7(하단 패널) 내재화의 시간 과정을 나타낸다.

도 12는 CDH17-양성 인간 췌장암 세포주인 HPAF-II에서 인간화된 항-CDH17 항체, 07-0646-h7(상단 패널), 07-0653-h33(중간 패널) 및 07-0663-h7(하단 패널) 내재화의 시간 과정을 나타낸다.

도 13은 CDH17-양성 인간 결장직장암 세포주인 LS513에서 인간화된 항-CDH17 항체-약물 접합체(ADC), 07-0646-h7-VC-PAB-MMAE(상단 패널) 및 07-0653-h43-VC-PAB-MMAE(하단 패널) 내재화의 시간 과정을 나타낸다.

도 14는 CDH17-양성 인간 결장직장암 세포주인 LS513에서 모노클로날 아우리스타틴 E, MMAE(07-0663-h7-VC-PAB-MMAE; 상단 패널), 또는 Alexa Fluor 647, AF647(07-0663-h7-AF647; 하단 패널)에 접합된 인간화된 항-CDH17 항체(07-0663-h7) 내재화의 시간 과정을 나타낸다.

도 15는 mGFP(인간 또는 마우스 CDH17) 또는 moxGFP(원숭이 또는 래트 CDH17) 형광 단백질에 대한 융합 단백질을 인간, 원숭이, 마우스 또는 래트 CDH17을 과발현시키는 HEK293 세포에 대해 3개의 인간화된 항-CDH17 항체의 결합 활성의 유세포분석 평가를 나타낸다. 상단 패널 - 형광 표지된 2차 항체; 하단 패널 - GFP 신호에 의한 항-CDH17 항체의 검출 후 항-CDH17 신호.

도 16은 인간 CDH17-mGFP, 원숭이 CDH17-moxGFP, 마우스 CDH17-mGFP, 또는 래트 CDH17-moxGFP 단백질을 포함하는 융합 단백질을 과발현시키는 HEK293T 세포에 대한 3개의 인간화된 항-CDH17 항체 결합에 대해 결정된 해리 상수인 K_D 를 요약한다.

도 17은 일부 상업적 항체의 특성과 함께 3개의 리드(lead) 인간화 항-CDH17 항체의 생화학, 생물물리학 및 세포 생물학적 특징을 요약한다.

도 18은 -80°C , 4°C , RT 또는 37°C 에서 5주 동안 보관된 3개의 인간화된 항-CDH17 항체의 안정성에 대한 SDS-PAGE 분석(analysis)을 나타내며, 각 궤의 좌측은 환원 조건으로 처리한 보관 항체를 나타내고, 우측은 전기영동법 직전에 비환원 조건으로 처리한 보관 항체를 나타낸다.

도 19는 펩타이드-N-글리코시다제 F(PNGase F)에 의한 치료 전후에 인간화된 항-CDH17 항체인 07-0646-h7의 크기 배제 크로마토그램 및 SDS-PAGE 분석을 나타낸다.

도 20은 CDH17의 ECD에 걸쳐있는 펩타이드에 대한 CDH17 hAb 07-0663-h7 결합에 대한 에피토프 맵핑 결과를 나타낸다. 중복되는 7개의 아미노산 영역인 LDANGII를 갖는 3개의 펩타이드에 결합된 CDH17 hAb 07-0663-h7. 돌연변이를 7개의 아미노산 코어 영역에 도입하여 CDH17 hAb 07-0663-h7 결합 영역을 추가로 개량하였다.

도 21은 5개의 아미노산 서열인 DANGI를 나타내는 CDH17 hAb 07-0663-h7에 대한 에피토프 맵핑 데이터가 CDH17 hAb 07-0663-h7 결합에 대한 중요한 에피토프 코어 영역이라는 것을 나타낸다.

도 22는 (A) LS513, SNUC1 및 M202 세포에서 07-0646-h7 ADCC 효력, 및 (B) LS513 세포에서 여러 CDH17 항체의 ADCC 효력을 나타내는 2개의 그래프를 나타낸다. 유도된 ADCC 반응을 나타내는 NFAT 활성화는 상청액 중 Lucia 루시페라제 활성을 결정함으로써 평가되었다. 데이터는 CDH17 항체, 특히 07-646-h7 및 07-663-h7이 CDH17-양성 세포주에서 ADCC를 유도한다는 것을 나타낸다.

도 23은 CDH17-CD3 이중특이성 항체 및 T-세포 활성화에 대한 이들의 효과를 나타낸다. 07-0653-h43Bs 이중특이성 항체에 의한 CDH17-양성 세포주(HPAF2 및 SNUC1)의 처리는 표적 세포 대조군 없음에 비해 T 세포 활성화를 초래하였다. 대조적으로, 07-0646-h7Bs 및 07-0663-h7Bs 이중특이성 항체에 대한 CDH17-양성 세포와 비-표적 세포 대조군 사이의 T-세포 활성화 수준에는 차이가 없었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0021] 본 개시내용은 CDH17-발현 암을 치료하기 위한 CDH17에 대한, 예를 들어, CDH17에 특이적인 항원 결합 단백질을 기재한다.
- [0022] 항원 결합 단백질
- [0023] CDH17에 결합하는 항원-결합 단백질이 본 명세서에 제공된다. 다양한 실시형태에서, 항원 결합 단백질은 아이소폼 CDH17에 결합한다. 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 당업계에 공지된 항원-결합 단백질의 다수 형태 중 어느 하나를 취할 수 있다. 다양한 실시형태에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 항체, 또는 항원-결합 항체 단편, 또는 항체 단백질 생성물의 형태를 취한다.
- [0024] 본 개시내용의 다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 항체를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나, 이루어진다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "항체"는 통상적인 면역글로불린 형식을 갖고, 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 가변 및 불변 영역을 포함하는 단백질을 지칭한다. 예를 들어, 항체는 폴리펩타이드 쇄의 2개의 동일한 쌍의 "Y-형" 구조인 IgG일 수 있으며, 각 쌍은 1개의 "경"쇄(전형적으로 분자량이 약 25kDa임) 및 1개의 "중"쇄(전형적으로 분자량이 약 50 내지 70kDa임)를 가진다. 항체는 가변 영역 및 불변 영역을 가진다. IgG 형식에서, 가변 영역을 일반적으로 약 100 내지 110개 이상의 아미노산이며, 3개의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하고, 주로 항원 인식을 초래하고, 상이한 항원에 결합하는 항체에서 실질적으로 다르다. 불변 영역은 항체가 면역계의 세포 및 분자를 보충하도록 허용한다. 가변 영역은 각 경쇄 및 중쇄의 N-말단의 영역으로 이루어지는 반면, 불변 영역은 중쇄 및 경쇄 각각의 C-말단의 부분으로 이루어진다. (Janeway et al., "Structure of the Antibody Molecule and the Immunoglobulin Genes", Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 4th ed. Elsevier Science Ltd./Garland Publishing, (1999)).
- [0025] 항체의 CDR의 일반적 구조 및 특성은 당업계에 기재되어 있다. 간략하게 말해서, 항체 스캐폴드에서, CDR은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 내 프레임워크 내에 함입되어 있고, 여기서, 이들은 대체로 항원 결합 및 인식을 초래하는 영역을 구성한다. 가변 영역은 전형적으로 프레임워크 영역 내에서(문헌[Kabat et al., 1991]에 의해 프레임워크 영역 1 내지 4, FR1, FR2, FR3 및 FR4로 표기; 또한 문헌[Chothia and Lesk, 1987] 상기 참조) 적어도 3개의 중쇄 또는 경쇄 CDR(문헌[Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Public Health Service N.I.H., Bethesda, Md.]; 또한 문헌[Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-917; Chothia et al., 1989, Nature 342: 877-883] 참조)을 포함한다. CDR은 Kabat, AbM 또는 IMGT에 따른 방법을 포함하는 다양한 방법으로 주석을 달 수 있다. 따라서, 동일한 항체의 CDR은 CDR 서열의 주석을 달기 위해 사용되는 방법에 따라 상이한 서열을 포함할 수 있다. 이는 본 명세서에 제시된 표에 예시된다.
- [0026] 관련된 실시형태에서, 프레임워크의 잔기는 변경된다. 변경될 수 있는 중쇄 프레임워크 영역은 중쇄 CDR 잔기를 둘러싸는 H-FR1, H-FR2, H-FR3 및 H-FR4로 표기되는 영역 내에 놓여있고, 변경될 수 있는 경쇄 프레임워크 영역의 잔기는 경쇄 CDR 잔기를 둘러싸는 L-FR1, L-FR2, L-FR3 및 L-FR4로 표기되는 영역 내에 놓여있다. 프레임워크 영역 내의 아미노산은, 예를 들어, 인간 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크에서 확인되는 임의의 적합한 아미노산으로 대체될 수 있다.
- [0027] 항체는 당업계에 공지된 임의의 불변 영역을 포함할 수 있다. 인간 경쇄는 카파 및 람다 경쇄로서 분류된다. 중쇄는 뮤, 델타, 감마, 알파 또는 엡실론으로서 분류되고, 항체의 아이소타입을 각각 IgM, IgD, IgG, IgA 및 IgE로서 나타낸다. IgG는 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 몇몇 하위부류를 가진다. IgM은 IgM1 및 IgM2를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 하위부류를 가진다. 본 개시내용의 실시형태는 항체의 모든 이러한 부류 또는 아이소타입을 포함한다. 경쇄 불변 영역은, 예를 들어, 카파- 또는 람다-유형 경쇄 불변 영역, 예를 들어, 인간 카파- 또는 람다-유형 경쇄 불변 영역일 수 있다. 중쇄 불변 영역은, 예를 들어, 알파-, 델타-, 엡실론-, 감마- 또는 뮤-유형 중쇄 불변 영역, 예를 들어, 인간 알파-, 델타-, 엡실론-, 감마- 또는 뮤-유형 중쇄 불변 영역일 수 있다. 따라서, 다양한 실시형태에서, 항체는 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 중 어느 하나를 포함하는 아이소타입 IgA, IgD, IgE, IgG 또는 IgM의 항체이다. 다양한 양상에서, 항체는 반감기/안정성을 개선시키기 위해 또는 발현/제조성에 더 적합한 항체를 제공하기 위해, 천연-유래 상대에 대해 하나 이상의 아

미노산 변형을 포함하는 불변 영역을 포함한다. 다양한 예에서, 항체는 불변 영역을 포함하되, 천연 유래 상대에 존재하는 C-말단의 Lys 잔기는 제거되거나 또는 잘린다.

[0028]

항체는 단클론성 항체일 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체는 포유류, 예를 들어, 마우스, 토끼, 염소, 말, 닭, 햄스터, 인간 등에 의해 생성된 천연 유래 항체와 실질적으로 유사한 서열을 포함한다. 이와 관련하여, 항체는 포유류 항체, 예를 들어, 마우스 항체, 토끼 항체, 염소 항체, 말 항체, 닭 항체, 햄스터 항체, 인간 항체 등으로서 간주될 수 있다. 특정 양상에서, 항원-결합 단백질은 항체, 예컨대, 인간 항체이다. 특정 양상에서, 항원-결합 단백질은 키메라 항체 또는 인간화된 항체이다. 용어 "키메라 항체"는 둘 이상의 상이한 항체로부터의 도메인을 포함하는 항체를 지칭한다. 키메라 항체는, 예를 들어, 하나의 종으로부터의 불변 도메인 및 두 번째 이상의 종으로부터의 가변 도메인을 포함하고, 일반적으로, 적어도 2개의 종으로부터의 아미노산 서열의 신장을 포함할 수 있다. 키메라 항체는 또한 동일 종 내에서 둘 이상의 상이한 항체의 도메인을 포함할 수 있다. 용어 "인간화된"은 항체에 관해 사용될 때, 본래의 공급원 항체보다 진정한 인간 항체와 더 유사한 구조 및 면역학적 기능을 갖도록 조작된 비-인간 공급원으로부터의 적어도 CDR 영역을 갖는 항체를 지칭한다. 예를 들어, 인간화는 비-인간 항체, 예컨대, 마우스 항체로부터의 CDR을 인간 항체에 접합시키는 것을 수반할 수 있다. 인간화는 또한 비-인간 서열을 인간 서열과 더 유사하게 만들기 위해 아미노산 치환을 선택하는 것을 수반할 수 있다. 인간 항체 중쇄 및 경쇄 불변 영역에 대한 서열 정보를 포함하는 정보는 Uniprot 데이터베이스뿐만 아니라 항체 조작 및 생산 분야에서 잘 공지되어 있는 다른 데이터베이스를 통해 공개적으로 입수 가능하다. 예를 들어, IgG1 불변 영역은 본 명세서에 참조에 의해 인용되는 아래에 기재되는 바와 같은 Uniprot 데이터베이스로부터 입수 가능하다. 추가적으로, 다른 예에서, IgG2 불변 영역은 Uniprot 데이터베이스로부터 본 명세서에 참조에 의해 인용되는 Uniprot 번호 P01859로서 입수 가능하다.

[0029]

단지 예로서, 무린 면역글로불린 카파 경쇄 불변 영역 또는 면역글로불린 감마-2A 중쇄 불변 영역에 대한 서열을 다음을 포함한다.

명칭:	서열:
면역글로불린 카파 중쇄, 마우스(IGKC_ 마우스; UniProt ID: P01837)	RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI DGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTMSSTLTITKDEYERHNSY TCEATHKTSTSPIVKSFNRECE
Ig 감마-2A 사슬 C 영역, A 대립유전자, 마우스 (GCAA_마우스; UniProt ID: P01863)	AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWN SGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH PASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIK DVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFVNNVEVHTAQTQ THREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMGKEFKCKVNNKDLPAPI ERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMP EDIYVEWVTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKK NWVERNSYSCSVVHEGLNHHTTKSFSRTPGK

[0030]

[0031]

단지 예로서, 인간 면역글로불린 카파 경쇄 불변 영역, 인간 면역글로불린 람다 불변 2 경쇄 영역, 인간 IgG1 중쇄 불변 영역 및 인간 IgG2 중쇄 불변 영역에 대한 서열은 다음을 포함한다.

명칭:	서열:
면역글로불린 카파 불변, 인간 (IGKC_인간; UniProt ID: 01834)	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSS TLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
면역글로불린 람다 불변 2, 인간 (IGLC2_인간; UniProt ID: P0DOY2)	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAV TVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLT PEQWKSHRYSQCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
면역글로불린 중쇄 불변 감마 1, 인간 (IGHG1_인간; UniProt ID: P01857)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
면역글로불린 중쇄 불변 감마 2, 인간 (IGHG2_인간; UniProt ID: P01859)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPK PSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTFRVSVSLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISK KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQ PENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK

[0032]

[0033]

일부 실시형태에서, Kabat 및 AbM 방법에 의해 경쇄 가변 영역(VL 서열) 및 경쇄 프레임워크 4(LFR4)를 확인함에 있어서, VL 서열 및 LFR4는 이들의 C-말단에서 트라이펩타이드인 RTV로 종결되는 것으로 확인될 수 있다(예를 들어, 07-0646-h7(표 2B 및 표 2C), 07-0653-h43(표 3B 및 표 3C) 및 07-0663-h7(표 4B 및 표 4C)에 대해 제시된 아미노산 서열 참조). VL 서열 및 LFR4가 RTV 트라이펩타이드에 의해 종결되는 경우, 완전한 면역글로불린 카파 경쇄(이의 신호 서열 없음)를 만들기 위해 VL 서열과 연결되는 경쇄 불변 영역은 UniProt ID: P01834에 주어진 바와 같은 서열을 갖지만, 아미노 말단에서 RTV를 결여하는 면역글로불린 카파 경쇄 불변 영역이다. 이는 완전히 재조립된 면역글로불린 카파 경쇄에서 RTV 트라이펩타이드 서열의 중복을 피한다. 일부 실시형태에서, 교번의 인간 면역글로불린 카파 불변 영역 경쇄는 하기의 아미노산 서열을 포함한다:

[0034]

AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC.

[0035]

다른 실시형태에서, IMGT 방법을 사용하여 면역글로불린 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열(VL 서열) 및 경쇄 프레임워크 4(LFR4)를 규정한 경우, 이러한 서열은 이들의 C-말단에서 RTV 트라이펩타이드 서열로 종결되지 않으며, 오히려 서열인 LEIK로 종결된다(예를 들어, 07-0646-h7(표 2A), 07-0653-h43(표 3A) 및 07-0663-h7(표 4A)에 대해 제시된 아미노산 서열 참조). 일부 이러한 실시형태에서, 완전한 인간 카파 경쇄(신호 서열 없음)에 VL을 연결하는 면역글로불린 카파 경쇄 불변 영역은 UniProt ID: P01834에 의해 전체로 제공되는 바와 같은 아미노산 서열이다.

[0036]

일부 실시형태에서, 완전한 면역글로불린 카파 경쇄(이의 신호 서열 없음)를 암호화하는 핵산 서열은 경쇄 가변 영역(표 2B, 표 2C, 표 3B, 표 3C, 표 4B 및 표 4C에서와 같음) 및 불변 영역(UniProt ID: P01834)의 경계에서

발견되는 RTV 트라이펩타이드 서열의 중복을 피한다.

[0037] 항체는 효소, 예컨대, 파파인 및 펩신에 의해 단편으로 절단될 수 있다. 파파인은 항체를 절단하여 2개의 Fab 단편 및 단일 Fc 단편을 생성한다. 펩신은 항체를 절단하여 $F(ab')_2$ 단편 및 pFc' 단편을 생성한다. 본 개시내용의 다양한 양상에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 항체의 항원-결합 단편(항원-결합 항체 단편, 항원-결합 단편, 항원-결합 부분이라고도 함)이다. 다양한 예에서, 항원-결합 항체 단편은 Fab 단편 또는 $F(ab')_2$ 단편이다.

[0038] 항체의 구조는 적어도 약 12 내지 150kDa의 분자량 범위에 걸쳐 있고, 단량체($n = 1$) 내지 이량체($n = 2$), 내지 삼량체($n = 3$), 내지 사량체($n = 4$), 및 잠재적으로는 더 높은 결합가(n) 범위를 갖는, 증가되는 범위의 대안의 항체 형식을 생성하는데 이용되었고; 이러한 대안의 항체 형식은 본 명세서에서 "항체 단백질 생성물"로서 지칭된다. 항체 단백질 생성물은 전체 항원 구조에 기반하는 것 및 전체 항원-결합 능력을 보유하는 항체 단편을 포함하는 것, 예컨대, scFv, Fab 및 VHH/VH(이하에 논의)를 포함한다. 이의 완전한 항원 결합 부위를 보유하는 가장 작은 항원-결합 단편은 가변(V) 영역으로 완전히 이루어진 Fv 단편이다. 가용성, 가요성 아미노산 펩타이드 링커는 분자의 안정화를 위해 scFv(단일쇄 단편 가변) 단편에 V 영역을 연결하는 데 사용되거나, 또는 불변(C) 도메인은 Fab 단편[단편, 항원-결합]을 생성하기 위해 V 영역에 첨가된다. scFv와 Fab 단편은 둘 다 숙주 세포, 예를 들어, 원핵 숙주 세포에서 용이하게 생성될 수 있다. 다른 항체 단백질 생성물은 이황화결합 안정화된 scFv(ds-scFv), 단일쇄 Fab(scFab)뿐만 아니라 올리고머화 도메인에 연결된 scFv로 이루어진 상이한 형식을 포함하는 다이어바디, 트라이어바디 및 테트라바디 또는 미니바디(미니Ab)와 같은 이량체 및 다량체 항체 형식을 포함한다. 가장 작은 단편은 낙타과 중쇄 Ab뿐만 아니라 단일 도메인 Ab(sdAb)의 VHH/VH이다. 신규한 항체 형식을 생성하기 위해 가장 빈번하게 사용되는 빌딩 블록은 대략 15개의 아미노산 잔기의 펩타이드 링커에 의해 연결된 중쇄 및 경쇄(VH 및 VL 도메인)로부터의 V 도메인을 포함하는 단일쇄 가변(V)-도메인 항체 단편(scFv)이다. 일부 실시형태에서, scFv는 본 명세서에 기재된 임의의 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 포함하는 항-CDH17 scFv일 수 있다. 일부 실시형태에서, scFv는 07-0646-h7, 07-0653-h43 또는 07-0663-h7 항-CDH17 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 포함하는 항-CDH17 scFv일 수 있다. 일부 실시형태에서, scFv는 07-0646-7scFv(서열번호 96), 07-0653-h43scfv(서열번호 97) 또는 07-0663-h7scfv(서열번호 98)의 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 07-0646-7scFv(서열번호 96), 07-0653-h43scfv(서열번호 97) 또는 07-0663-h7scfv(서열번호 98) scFv는 각각 서열번호 102, 103 또는 104의 핵산 서열에 의해 암호화될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 임의의 항원-결합 단백질은 항원-결합 단백질의 검출 및/또는 정제를 촉진시킬 수 있는 검출 가능한 마커를 더 포함할 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, 07-0646-7scFv(서열번호 96), 07-0653-h43scfv(서열번호 97) 또는 07-0663-h7scfv(서열번호 98) scFv는 검출 가능한 마커를 더 포함할 수 있다. 일부 이러한 실시형태에서, 검출 가능한 마커는 에피토프 태그일 수 있다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, 일부 실시형태에서, 에피토프 태그는 C-말단의 (HIS)₆ 에피토프 태그일 수 있다. 펩티바디 또는 펩타이드-Fc 융합은 또 다른 항체 단백질 생성물이다. 펩티바디의 구조는 Fc 도메인 상에 접합된 생물학적으로 활성인 펩타이드로 이루어진다. 펩티바디는 당업계에 잘 기재되어 있다. 예를 들어, 문헌[Shimamoto et al., mAbs 4(5): 586-591 (2012)] 참조.

[0039] 다른 항체 단백질 생성물은 단일쇄 항체(SCA); 다이어바디; 트라이어바디; 테트라바디; 이중특이성 또는 삼중특이성 항체 등을 포함한다. 이중특이성 항체는 5가지 주요 분류로 나눌 수 있다: BsIgG, 현수된 IgG, 이중특이성 항체(BsAb) 단편, 이중특이성 융합 단백질 및 BsAb 접합체. 예를 들어, 문헌[Spieß et al., Molecular Immunology 67(2) Part A: 97-106 (2015)] 참조.

[0040] 다양한 양상에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 이들 항체 단백질 생성물 중 어느 하나를 포함하거나, 이들로 본질적으로 이루어지거나, 이루어진다. 다양한 양상에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 scFv, Fab VHH/VH, Fv 단편, ds-scFv, scFab, 이량체 항체, 다량체 항체(예를 들어, 다이어바디, 트라이어바디, 테트라바디), 미니Ab, 낙타과 중쇄 항체의 펩티바디 VHH/VH, sdAb, 다이어바디; 트라이어바디; 테트라바디; 이중특이성 또는 삼중특이성 항체, BsIgG, 현수된 IgG, BsAb 단편, 이중특이성 융합 단백질 및 BsAb 접합체 중 어느 하나를 포함하거나, 이들로 본질적으로 이루어지거나, 이루어진다.

[0041] 다양한 예에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 단량체 형태 또는 다량체, 올리고머 또는 다량체 형태의 항체 단백질 생성물이다. 항체가 둘 이상의 별개의 항원 결합 영역 단편을 포함하는 특정 실시형태에서, 항체는 항체에 의해 인식되고 결합되는 별개의 에피토프 수에 따라서 이중특이성, 삼중특이성, 또는 다중-특이성, 또는 2가, 3가, 또는 다가로 간주된다.

[0042] 다양한 실시형태에서, 항-CDH17 항체 또는 이의 항체 변이체는 인간 항체, 인간화된 항체, 키메라 항체, 단클론성 항체, 재조합 항체, 항원-결합 항체 단편, 단일쇄 항체, 단량체 항체, 다이어바디, 트라이아바디, 테트라바디, Fab 단편, IgG1 항체, IgG2 항체, IgG3 항체 및 IgG4 항체로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0043] 다양한 양상에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 치료제에 연결된다. 이하에 기재되는 바와 같이, 화학치료제, 사이토카인 및 성장 인자, 세포독성제 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 임의의 치료제가 당업계에 공지될 수 있다. 이하의 "접합체" 참조.

[0044] 다양한 양상에서, 본 개시내용의 임의의 폴리펩타이드, 예를 들어, 항원-결합 단백질은 이중성 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 더 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이중성 펩타이드 또는 폴리펩타이드는 직접적으로(예를 들어, GFP) 또는 간접적으로(예를 들어, 태그에 결합하는 2차 항체를 사용) 검출될 수 있는 검출 가능한 마커 또는 태그일 수 있다. 검출 가능한 마커의 예는 다양한 효소, 보결분자단 및 태그(예를 들어, 히스티딘 태그, myc 태그, 플래그 태그 등)를 포함한다. 적합한 효소의 예는 호스래디쉬 퍼옥시다제, 알칼리성 포스파타제, β -갈락토시다제 또는 아세틸콜린에스터라제를 포함한다. 적합한 보결분자단 복합체의 예는 스트렙타비딘/바이오틴 및 아비딘/바이오틴을 포함한다. 생물 발광 물질의 예는 루시페라제, 루시페린, 형광 단백질(예를 들어, GFP, RFP 등), 및 에쿼린을 포함한다.

[0045] CDH17 및 에피토프

[0046] 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 CDH17에 결합한다. 일부 실시형태에서, CDH17은 하기의 아미노산 서열을 포함하는 인간 CDH17이다:

MILQAHLSLCLLMLYLATGYGQEGKFSGPLKPMTFSIYEGQEPSQIIFQF
KANPPAVTFELTGETDNIFVIEREGLLYYNRALDRETRSTHNLQVAALDA
NGIIVEGVPITIKVKDINDNRPTFLQSKYEGSVRQNSRPGKPFLYVNATD
LDDPATPNGQLYYQIVIQLPMINNVMYFQINNKTGAISLTREGSQELNPA
KNPSYNLVISVKDMGGQSENSFSDTTSDIIVTENIWKAPKPVEMVENST
DPHPIKITQVRWNDPGAQYSLVDKEKLPRFPFSIDQEGDIYVTQPLDREEK
DAYVVFYAVAKDEYGKPLSYPLEIHVKVKDINDNPPTCSPVTVFEVQENE
RLGNSIGTLTAHDRDEENTANSFLNYRIVEQTPKLPMDGLFLIQTYAGML
QLAKQSLKKQDTPQYNLTIEVSDKDFKTLCFVQINVIDINDQIPIFEKSDY
GNLTLAEDTNIGSTILTIQATDADEPFTGSSKILYHIKGDSEGR LGVDTDP
HTNTGYVIKKPLDFETA AVSNIVFKAENPEPLVFGVKYNASSFAKFTLIV
TDVNEAPQFSQHVFQAKVSEDVAIGTKVGNVTAKDPEGLDISYSLRGDT
RGWLKIDHVTGEIFSVAPLDREAGSPYRVQVVATEVGGSSLSVSEFHLIL
MDVNDNPPRLAKDYTG LFFCHPLSAPGSLIFEATDDDQHLFRGPHFTFSL
GSGSLQNDWEVSKINGTHARLSTRHTEFEEREYVVLIRINDGGRPPLEGIV
SLPVTFCSCVEGSCFRPAGHQTGIPTVGMVAVGILLTTLLVIGIILAVVFIRIK
KDKGKDNVESAAQASEVKPLRSI (서열번호 19)

[0047]

[0048] 다양한 양상에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 CDH17의 아미노산 서열 내의 에피토프에 결합한다. 다양한 양상에서, CDH17은 인간 CDH17이고, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 인간 CDH17의 아미노산 서열, 예를 들어, 서열번호 19 내의 에피토프에 결합한다. "에피토프"는 항원-결합 단백질에 의해 결합되는 CDH17의 또는 이것 내의 영역을 의미한다. 일부 실시형태에서, 에피토프는 선형 에피토프이다. "선형 에피토프"는 항원-결합 단백질에 의해 결합된 CDH17의 또는 이것 내의 영역을 지칭하며, 이 영역은 CDH17의 아미노산 서열의 인접한 아미노산으로 구성된다. 선형 에피토프의 아미노산은 CDH17의 1차 구조에서 서로 인접해 있다. 따라서, 선형 에피토프는 항원, 즉, CDH17의 아미노산 서열의 단편 또는 일부이다. 다른 다양한 실시형태에서, 에피토프는 입체구조적 또는 구조적 에피토프이다. "입체구조적 에피토프" 또는 "구조적 에피토프"는 CDH17이 이의 적절하게 폴딩

된 상태일 때에만 서로 근위에 위치되는 아미노산으로 구성된 에피토프를 의미한다. 선형 에피토프와 달리, 입체구조적 또는 구조적 에피토프의 아미노산은 CDH17의 1차 구조(즉, 아미노산 서열)에서 서로 인접해 있지 않다. 입체구조적 또는 구조적 에피토프는 항원(CDH17)의 아미노산 서열의 인접한 아미노산으로 이루어지지 않는다.

- [0049] 다양한 양상에서, 에피토프는 CDH17, 예를 들어, 인간 CDH17의 세포외 도메인(ECD) 내에 위치된다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질에 결합하는 에피토프는 서열번호 51 내에 있다.
- [0050] 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 인간 CDH17 및/또는 비-인간 CDH17에 결합한다. 다양한 예에서, 비-인간 CDH17은 침팬지, 레서스 원숭이, 개, 소, 마우스, 랫트, 제브라피시 또는 개구리의 CDH17이다. 다양한 예에서, 항원-결합 단백질은 인간 CDH17 및/또는 마우스 CDH17에 결합한다.
- [0051] 비푸코실화된(afucosylated) 항체
- [0052] 다수의 분비된 단백질은 번역 후 글리코실화를 겪으며, 이 과정에 의해 당 모이어티(예를 들어, 글리칸, 당류)는 단백질의 특정 아미노산에 공유 부착된다. 진핵 세포에서, 2가지 유형의 글리코실화 반응이 일어난다: (1) N-연결된 글리코실화, 이때 글리칸은 인식 서열 Asn-X-Thr/Ser의 아스파라긴에 부착되며, "X"는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산임, 및 (2) 글리칸이 세린 또는 트레오닌에 부착되는 O-연결된 글리코실화. 글리코실화 유형(N-연결 또는 O-연결)과 상관없이, 각 부위(O 또는 N)와 관련된 글리칸 구조의 큰 범위로 인해 단백질 글리코폼의 미세이질성(microheterogeneity)이 존재한다.
- [0053] 모든 N-글리칸은 통상적인 코어 당 서열: Man α 1-6(Man α 1-3)Man β 1-4GlcNAc β 1-4GlcNAc β 1-Asn-X-Ser/Thr(Man₃GlcNAc₂Asn)을 갖고, 3가지 유형 중 하나로 범주화된다: (A) 2개의 N-아세틸글루코사민(GalNAc) 모이어티 및 다수의(예를 들어, 5, 6, 7, 8 또는 9) 만노스(Man) 잔기로 이루어진, 고만노스(HM) 또는 올리고만노스(OM) 유형, (B) 2개 초과 GlcNAc 모이어티 및 다수의 다른 당 유형을 포함하는, 복합체 유형 또는 (C) 분자의 한쪽 측면 상에 Man 잔기 및 복합체 분자의 염기에서 GlcNAc를 포함하는, 혼성 유형.
- [0054] N-연결된 글리칸은 전형적으로 갈락토스(Gal), N-아세틸갈락토사민 (GalNAc), 갈락토사민(GalN), 글루코스(Glc), N-아세틸글루코사민(GlcNAc), 글루코사민(GlcN), 만노스(Man), N-아세틸만노사민(ManNAc), 만노사민(ManN), 자일로스(Xyl), N-아세틸뉴라민산(Neu5Ac), N-글리코일뉴라민산(Neu5Gc), 2-케토-3-독시노논산(Kdn), 푸코스(Fuc), 글루쿠론산(GlcA), 이두론산(IdoA), 갈락투론산(Gal A), 만누론산(Man A) 중 하나 이상의 단당류를 포함한다.
- [0055] N-연결된 글리코실화는 소포체(ER)에서 시작되며, 여기서, 반응의 복합체 세트는 2개의 GlcNAc 잔기 및 3개의 Man 잔기로 본질적으로 이루어진 코어 글리칸의 부착을 초래한다. ER에서 형성된 글리칸 복합체는 골지체에서의 효소의 작용에 의해 변형된다. 당류가 효소에 상대적으로 접근 가능하지 않다면, 이는 전형적으로 본래의 HM 형태에 머문다. 효소가 당류에 접근할 수 있다면, 다수의 Man 잔기는 절단되고, 당류는 추가로 변형되어, 복합체 유형 N-글리칸 구조를 초래한다. 예를 들어, 시스-골지체에 위치한 만노시다제-1은 HM 글리칸을 절단 또는 가수분해할 수 있는 한편, 중간-골지체에 위치한 푸코실트랜스퍼라제 FUT-8은 글리칸을 푸코실화한다(Hanrue Imai-Nishiya (2007), BMC Biotechnology, 7:84).
- [0056] 따라서, 당 조성 및 글리칸 구조의 구조적 입체배치는 인자들 중에서도, ER 및 골지체에서의 글리코실화 기작, 글리칸 구조에 대한 기작 효소의 접근성, 각 효소의 작용 순서 및 단백질이 글리코실화 기작으로부터 방출되는 단계에 따라 다르다.
- [0057] 본 개시내용의 예시적인 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 Fc 폴리펩타이드를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "Fc 폴리펩타이드"는 항체의 Fc 영역으로부터 유래된 폴리펩타이드의 천연 및 뮤테인 형태를 포함한다. 예시적인 양상에서, 본 명세서에 개시된 항원-결합 단백질의 Fc 폴리펩타이드는 글리칸을 포함한다. 다양한 예에서, 글리칸은 푸코스를 결여하거나, 비푸코실화된다. 예시적인 양상에서, 항원-결합 단백질은 비푸코실화된 글리칸을 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "비푸코실화된 글리칸" 또는 "비푸코 글리칸" 또는 "비푸코실화된 글리코폼" 또는 "Afuc"는 N-글리코실화 부위의 Asn과의 아마이드 결합에 수반된 GlcNAc 잔기 상에 코어 푸코스, 예를 들어, α 1,6-연결된 푸코스가 없는 글리코폼을 지칭한다. 비푸코실화된 글리코폼은 A1G0, A2G0, A2G1a, A2G1b, A2G2 및 A1G1M5를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 추가적인 비푸코실화된 글리칸은, 예를 들어, A1G1a, G0[H3N4], G0[H4N4], G0[H5N4], F0-N[H3N3]을 포함한다. 예를 들어, 문헌[Reusch and Tejada, Glycobiology 25(12): 1325-1334 (2015)] 참조.

- [0058] 본 개시내용은 또한 비푸코실화된 글리칸을 포함하는 Fc 폴리펩타이드를 포함하는 항원 결합 단백질을 포함하는 조성물, 예를 들어, 약제학적 조성물을 제공한다. 예시적인 양상에서, 조성물에 존재하는 항원-결합 단백질의 적어도 또는 약 25%는 비푸코실화된 글리칸을 포함하는 Fc 폴리펩타이드를 포함하는 항원-결합 단백질이다. 예시적인 양상에서, 조성물에 존재하는 항원-결합 단백질의 적어도 또는 약 25%는 비푸코실화된다. 선택적으로, 조성물에 존재하는 항원-결합 단백질의 적어도 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90% 이상은 비푸코실화된다. 특정 글리코프로파일의 항원-결합 단백질을 포함하는 조성물을 생산하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예시적인 실시형태에서, 항원 결합 단백질은 드노보(de novo) 경로 또는 샐비지 경로(salvage pathway)의 효소 활성을 변경시키도록 유전자 변형된 세포에서 생성된 재조합체이다. 푸코스 대사의 이들 두 경로는 도 29B에 나타난다. 예시적인 실시형태에서, 세포는 푸코실-트랜스퍼라제(FUT, 예를 들어, FUT1, FUT2, FUT3, FUT4, FUT5, FUT6, FUT7, FUT8, FUT9), 푸코스 키나제, GDP-푸코스 파이로포스포릴라제, GDP-D-만노스-4,6-탈수효소(GMD), 및 GDP-케토-6-데옥시만노스-3,5-에피머라제, 4-환원효소(FX) 중 어느 하나 이상의 활성을 변경시키도록 유전자 변형된다. 예시적인 실시형태에서, 세포는 유전자 암호화 FX를 녹아웃하도록 유전자 변형된다. 예를 들어, 국제 특허 출원 공개 WO2017/079165 A1; 문헌[Kanda et al., J Biotechnol 130, 2007, 300-310, Yamane-Ohunuki et al., Biotechnol Bioeng 87, 2004, 614-622, Malphettes et al., Biotechnol Bioeng 106, 2010, 774-783] 참조.
- [0059] 이중특이성 형식
- [0060] 예시적인 양상에서, 항원-결합 단백질은 이중특이성이고, 따라서, 2개의 상이하고 별개인 항원에 결합할 수 있다. 예시적인 실시형태에서, 항원 결합 단백질은 이중특이성이고, CDH17 및 제2 항원에 결합한다.
- [0061] 예시적인 예에서, 제2 항원은 T-세포에 의해 발현되는 세포 표면 단백질이다. 예시적인 양상에서, 세포 표면 단백질은 T-세포 수용체(TCR), 예를 들어, CD3의 구성성분이다. 예시적인 예에서, 제2 항원은 T-세포 활성화를 돕는 공자극 분자, 예를 들어, CD40 또는 4-1BB(CD137)이다. 예시적인 양상에서, 제2 항원은 Fc 수용체이다. 다양한 양상에서, Fc 수용체는 Fc 감마 수용체, Fc-알파 수용체, Fc-엡실론 수용체이다. 예시적인 양상에서, Fc 수용체는 CD64(Fc-감마 RI), CD32(Fc-감마 RIIA), CD16A(Fc-감마 RIIB), CD16b(Fc-감마 RIIBb), FcεRI, CD23(Fc-엡실론 RII), CD89(Fc-엡실론 RI), Fcα/μR 또는 FcRn이다. 예시적인 양상에서, Fc 수용체는 CD16A이다. 예시적인 예에서, 제2 항원은 면역 관문 분자, 예를 들어, 면역 관문 경로에 관련된 단백질이다. 면역 관문 경로 및 여기에서 작용하는 분자 또는 단백질은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Pardoll, Nat Rev Genet 12(4): 252-264 (2012)] 참조. 예시적인 예에서, 면역 관문 분자는 A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA4, IDO, KIR, LAG3, NOX2, PD-1, TIM3, VISTA 또는 SIGLEC7이다. 선택적으로, 면역 관문 분자는 PD-1, LAG3, TIM3 또는 CTLA4이다.
- [0062] 이중특이성 항원-결합 단백질의 50가지 이상의 형식이 당업계에 공지되어 있으며, 이 중 일부는 문헌 [Kontermann and Brinkmann, Drug Discovery Today 20(7): 838-847(2015); Zhang et al., Exp Hematol Oncol 6:12 (2017); Spiess et al., Mol Immunol.; 67(2 Pt A):95-106 (2015)]에 기재되어 있다. 예시적인 양상에서, 이중특이성 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 화학적 조작, 유전자 조작 또는 쿼드라마(quadroma) 기술을 통해 생성된다.
- [0063] 예시적인 양상에서, 항체의 불변 도메인의 일부 또는 모두를 갖는 이중특이성 항원-결합 단백질이 작제된다. 예시적인 양상에서, 이중특이성 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 Fc 폴리펩타이드를 포함하고, Fc-매개 효과기 기능을 보유한다. 다양한 예에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은, 예를 들어, 두 단클론성 항체(mab)의 화학적 가교에 의해, 또는 노브 인투 홀 기술에 의해 형성된 이중특이성 단클론성 항체이다. 예시적인 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 H 쇠 이형이량체가 2개의 CH3 도메인에 상이한 돌연변이를 도입함으로써 비대칭 항체를 생성하게 하는 "노브-인투-홀(knobs-into-holes)" 기술을 통해 생성된다. "노브" 돌연변이는 하나의 HC로 만들어지며, "홀" 돌연변이는 다른 HC에서 생성되어 이형이량체를 촉진시킨다. 예시적인 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 목적하는 특이성을 갖는 단클론성 항체를 생성하는 두 상이한 하이브리도마의 체세포 융합에 기반한 쿼드라마 기술에 의해 생성된 이중특이성 항체이다. 문헌[Zhang et al., 2017, 상기 참조]. 예시적인 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 crossMab, 오쏘-Fab IgG, DVD-Ig, 투인원(two in one) IgG, IgG-scFv 및 scFv₂-Fc이다(Kontermann and Brinkmann, 2015, 상기 참조)이다. 다양한 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 Ig-scFv 융합이되, 새로운 항원-결합 모이어티는 전장 IgG에 첨가되어, 두 별개의 항원에 대해 4가인 융합 단백질, 예를 들어, IgG C-말단의 scFv 융합 및 IgG N-말단의 scFv 융합을 초래한다. 예시적인 예에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 이중-가변-도메인-IgG(DVD-IgG)이되, 하나의 항원에 특이적인 IgG의 LC 및 HC

가변 영역은 링커를 통해 제2 항원에 특이적인 IgG의 N-말단의 LC 및 HC 가변 영역에 융합되어 DVD-IgG를 형성한다. 예시적인 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 IgG의 Fab 단편의 이중특이성 다이어바디로의 대체를 수반하는 다이어바디-Fc 융합이다.

[0064] 대안의 예에서, 이중특이성 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 Fc 폴리펩타이드를 포함하지 않는다. 예시적인 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 각 모체 단클론성 항체의 가변 도메인을 포함하고, 링커는 클로닝되고 연결되어 단일쇄 이중특이성 항체를 형성한다. 예시적인 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 탠덤 scFvs, 다이어바디 형식, 단일쇄 다이어바디, 탠덤 다이어바디(TandAb), 이중-친화도 재표적화 분자(DART), 도크-앤-락(dock-and-lock: DNL) 및 나노바디이다(Fan et al., J Hematol Oncol. 2015; 8:130). 다양한 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 이중특이성 F(mab)¹₂, scFv, 이중특이성 다이어바디(BsDb), 단일쇄 이중특이성 다이어바디(scBsDb), 단일쇄 이중특이성 탠덤 가변 도메인(scBsTaFv), 도크-앤-락 3가 Fab(DNL-(Fab)3), 단일-도메인 항체(sdAb) 또는 이중특이성 단일-도메인 항체(BssdAb)이다. 예시적인 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 추가 펩타이드 링커, 예컨대, 글리신-세린 반복부 모티프에 의해 연결되는 2개의 scFv 단편을 포함하는 탠덤 scFv이다. 선택적으로, 탠덤 scFv는 구조: VL_A-링커1-VH_A-링커2-VH_B-링커3-VL_B(VL 및 VH는 단일쇄 항체 단편으로부터 유래되고; A 및 B는 모 단클론성 항체 A 및 B를 나타냄)를 포함한다. 예시적인 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 단일 폴리펩타이드 쇠에 연결된 VL 및 VH 도메인의 2개의 쌍을 포함하는 TandAb이다(Reusch et al., MAbs. 2015; 7(3):584-604). 2개의 폴리펩타이드 생성물은 헤드-투-테일 방식으로 이량체화되어, 발현 시 거대 분자량을 갖는 동형이량체(대략 105kDa)를 형성한다. 예시적인 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 문헌[PNAS 108(27): 11187-92 (2011)]에 기재되어 있는 crossMab 기술을 이용하여 생성되는 것이다. CrossMab은 임의의 화학적 링커 또는 커넥터를 갖지 않으며, 이중특이성 이형이량체 IgG 항체에서 정확한 경쇄 결합을 하게 하는 방법에 의해 생성된다. 예시적인 양상에서, CrossMab은 2가(1+1), 3가(2+1) 및 4가(2+2) 이중특이성 crossMab이거나, 또는 비-Fc 탠덤 항원-결합 단편(Fab)-기반 crossMab이다. 예시적인 예에서, crossMab은 crossMab^{Fab}, crossMab^{VH-VL} 또는 crossMab^{CH1-CL}이다.

[0065] 예시적인 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 단일 단량체 가변 항체 도메인을 포함하는, 단일-도메인 항체, 또는 나노바디를 포함한다. 선택적으로, 가변 도메인은 중쇄 가변 도메인에 기반한다. 대안의 양상에서, 가변 도메인은 경쇄 가변 도메인에 기반한다.

[0066] 예시적인 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 이중특이성 T 세포 관여자 또는 BiTE®이다. BiTE는 가요성 펩타이드 링커에 의해 연결된 scFv 형태로 항체의 가변 영역만을 포함하는 2가 소분자이다. 예시적인 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 본 명세서에 개시된 CDH17 항체의 LC 및 HC 가변 영역 및 제2 항원에 특이적인 제2 항체의 LC 및 HC 가변 영역을 포함하는 scFv를 포함한다. 일부 실시형태에서, BiTE는 CD3에 특이적인 제2 항체의 LC 및 HC 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3은 CD3E이다. 일부 실시형태에서, BiTE는 07-0653-h43Bs, 07-0646-h7Bs 또는 07-0663-h7Bs이다. 일부 실시형태에서, 07-0653-h43Bs, 07-0646-h7Bs 및 07-0663-h7Bs는 각각 서열번호 100, 99 및 101에 제공된 바와 같은 아미노산을 포함한다. 일부 실시형태에서, 07-0653-h43Bs, 07-0646-h7Bs 및 07-0663-h7Bs는 각각 서열번호 106, 105 및 107에 제공된 바와 같은 서열을 포함하는 예시적인 핵산 분자에 의해 암호화될 수 있다. 일부 실시형태에서, BiTE는 BiTE의 검출 및/또는 정제를 촉진시킬 수 있는 검출 가능한 마커를 더 포함할 수 있다. 일부 이러한 실시형태에서, BiTE는 C-말단의 (HIS)₆에 피토프 태그를 추가로 포함한다. 예시적인 예에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 BiTEs®와 달리, DART의 2개의 쇠 사이의 공유 결합이 항원-결합 부위의 자유를 제한하는, 이중 친화도 재표적화(DART)이다. 따라서, DART는 구조적으로 뻗백하고, 표적화 효과기 세포 사이의 안정한 접촉을 형성할 수 있다. DART는 2개의 조작된 Fv 단편을 포함하며, 이는 자체의 VH가 나머지 하나의 VH로 교환된다. 상호 교환된 Fv 도메인은 유리하게는 짧은 연결 펩타이드에 의해 입체구조적 제약으로부터 변이체 단편을 해제한다.

[0067] 예시적인 양상에서, 이중특이성 항원 결합 단백질은 변형된 HSA에 융합된 2개의 scFv를 포함하는 HSABody이다. HSABody는 문헌[McDonagh et al., Mol Cancer Ther. 2012;11(3):582-93]에 기재되어 있다.

[0068] 따라서, 예시적인 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 임의의 본 명세서에 개시된 CDH17 항체의 항원 결합 단편을 포함한다. 예시적인 양상에서, 항원 결합 단편은 Fab이다. 예시적인 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 임의의 본 명세서에 개시된 CDH17 항체의 F(ab)²를 포함한다. 예시적인 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 임의의 본 명세서에 개시된 CDH17 항체의 LC 및 HC 가변 영역을 포함하는 scFv를 포함한다. 다양한 양상에서, 항원 결합 단편은 중쇄 가변 영역에 기반하며, 다른 양상에서, 항원 결합 단편은 경쇄 가변 영역

에 기반한다. 예시적인 양상에서, 항원 결합 단편은 HC 가변 영역과 LC 가변 영역 둘 다의 적어도 일부를 포함한다. 예시적인 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 본 명세서에 개시된 CDH17 항체의 LC 또는 HC 가변 영역 둘 다가 아닌 경우에 적어도 하나 및 제2 항원에 특이적인 제2 항체의 LC와 HC 가변 영역 둘 다가 아닌 경우에 적어도 하나를 포함한다. 예시적인 예에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 본 명세서에 개시된 CDH17 항체의 LC 및 HC 가변 영역 및 제2 항원에 특이적인 제2 항체의 LC 및 HC 가변 영역을 포함하는 scFv를 포함한다.

[0069] 핵산

[0070] 본 개시내용은 본 개시내용의 항원-결합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산을 추가로 제공한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "핵산"은 "폴리뉴클레오타이드", "올리고뉴클레오타이드" 및 "핵산 분자"를 포함하고, 일반적으로 천연 공급원으로부터 합성되거나 얻어지는(예를 들어, 단리 및/또는 정제된) 단일-가닥 또는 이중-가닥일 수 있고, 천연, 비천연 또는 변형된 뉴클레오타이드를 함유할 수 있으며, 비변형 올리고뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드 사이에서 발견되는 포스포다이에스터 대신에 천연, 비천연 또는 변형된 뉴클레오타이드간 결합, 예컨대, 포스포로아미데이트 결합 또는 포스포로티오에이트 결합을 포함할 수 있는, DNA 또는 RNA의 중합체 또는 이의 변형된 형태를 의미한다. 핵산은 본 개시내용의 항원-결합 단백질 중 어느 것을 암호화하는 임의의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다.

[0071] 본 발명은 본 발명의 항원-결합 단백질에 상응하는 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 분자를 추가로 제공한다. 일부 실시형태에서, 핵산 분자는 DNA(예를 들어, cDNA) 또는 이의 혼성체이다. 대안적으로, 분자는 RNA 또는 이의 혼성체이다.

[0072] 일부 양상에서, 본 개시내용의 핵산은 재조합체이다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "재조합체"는 (i) 살아있는 세포에서 복제할 수 있는 핵산 분자에 천연 또는 합성 핵산 세그먼트를 결합시킴으로써 살아있는 세포 밖에서 작제된 분자, 또는 (ii) 상기 (i)에 기재된 것의 복제로부터 초래되는 분자를 지칭한다. 본 명세서의 목적을 위해, 복제는 시험관내 복제 또는 생체내 복제일 수 있다.

[0073] 본 개시내용의 임의의 핵산은 코돈-최적화될 수 있다. 유전자 내의 코돈 사용빈도는 달성 가능한 단백질 발현 수준을 결정하는 데 도움을 준다. 특정 서열은 특정 숙주에 의해 더 용이하게 번역될 수 있고, 따라서, 주어진 숙주에 대한 정확한 코돈을 선택하는 것은 발현을 최대화하는 데 필요할 수 있다. 코돈을 최적화하는 방법은 당 업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, codonstatsdb.unr.edu의 월드 와이드 웹을 포함하는 다수의 온라인 툴이 있다(문헌[Subramanian et al. (2022) Mol Biol Evol 3;39(8):msac157] 참조).

[0074] 일부 양상에서, 핵산은 당업계에 공지된 절차를 이용하여 화학적 합성 및/또는 효소적 결합 반응에 기반하여 작제된다. 예를 들어, 문헌[Sambrook et al., 상기 참조; 및 Ausubel et al., 상기 참조]. 예를 들어, 핵산은 천연 유래 뉴클레오타이드, 또는 분자의 생물학적 안정성을 증가시키도록 또는 혼성화 시 형성된 이중가닥의 물리적 안정성을 증가시키도록 설계된 다양하게 변형된 뉴클레오타이드(예를 들어, 포스포로티오에이트 유도체 및 아크리딘 치환된 뉴클레오타이드)를 이용하여 화학적으로 합성될 수 있다. 핵산을 생성하기 위해 사용될 수 있는 변형된 뉴클레오타이드의 예는 5-플루오로유라실, 5-브로모유라실, 5-클로로유라실, 5-아이오도유라실, 하이포잔틴, 잔틴, 4-아세틸사이토신, 5-(카복시하이드록시메틸) 유라실, 5- 카복시메틸아미노메틸-2-티오유리딘, 5-카복시메틸아미노메틸유라실, 다이하이드로유라실, 베타-D-갈락토실큐에오신, 이노신, N⁶-아이소펜텐일아데닌, 1-메틸구아닌, 1-메틸이노신, 2,2-다이메틸구아닌, 2-메틸아데닌, 2-메틸구아닌, 3-메틸사이토신, 5-메틸사이토신, N⁶-치환된 아데닌, 7-메틸구아닌, 5-메틸아미노메틸유라실, 5-메톡시아미노메틸-2-티오유라실, 베타-D-만노실큐에오신, 5'- 메톡시카복시메틸유라실, 5-메톡시유라실, 2-메틸티오-N⁶-아이소펜텐일아데닌, 유라실- 5-옥시아세트산(v), 위부톡신, 슈도유라틸, 큐에오신, 2-티오사이토신, 5-메틸-2- 티오유라실, 2-티오유라실, 4-티오유라실, 5-메틸유라실, 유라실-5-옥시아세트산 메틸에스터, 3- (3-아미노-3-N-2-카복시프로필) 유라실 및 2,6-다이아미노퓨린을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 대안적으로, 본 개시내용의 핵산 중 하나 이상은 Macromolecular Resources(콜로라도주 포트 콜린스에 소재) 및 Synthesgen(텍사스주 휴스턴에 소재)과 같은 회사로부터 구입할 수 있다.

[0075] 벡터

[0076] 본 개시내용의 핵산은 일부 양상에서 벡터에 혼입된다. 이와 관련하여, 본 개시내용은 임의의 본 명세서에 개시된 핵산을 포함하는 벡터를 제공한다. 다양한 양상에서, 벡터는 재조합 발현 벡터이다. 본 명세서의 목적을 위해, 용어 "재조합 발현 벡터"는 작제물이 mRNA, 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함할 때, 숙주 세포에 의해 mRNA, 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드의 발현을 가능하게 하는

유전자 변형된 올리고뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 작제물을 의미하며, 벡터는 세포 내에서 발현된 mRNA, 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드를 갖기에 충분한 조건하에 세포와 접촉된다. 본 개시내용의 벡터는 전체로서 천연 유래가 아니다. 그러나, 벡터의 부분은 천연 유래일 수 있다. 본 명세서에 개시된 벡터는 합성되거나 천연 공급원으로부터 얻은 단일-가닥 또는 이중 가닥일 수 있고, 천연, 비천연 또는 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있는 DNA 및 RNA를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 임의의 유형의 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 벡터는 천연 유래 또는 비-천연 유래 뉴클레오타이드간 결합, 또는 결합 유형 둘 다를 포함할 수 있다. 일부 양상에서, 변형된 뉴클레오타이드 또는 비-천연 유래 뉴클레오타이드간 결합은 벡터의 전사 또는 복제를 방해하지 않는다.

[0077] 본 개시내용의 벡터는 임의의 적합한 벡터일 수 있고, 임의의 적합한 숙주를 형질도입하거나, 형질전환시키거나 또는 형질감염시키는 데 사용될 수 있다. 적합한 벡터는 증식 및 확장을 위해 또는 발현을 위해 또는 둘 다를 위해 설계된 것, 예컨대, 플라스미드 및 바이러스를 포함한다. 벡터는 플라스미드 기반 발현 벡터일 수 있다. 다양한 양상에서, 벡터는 pUC 계열(Fermentas Life Sciences), pBluescript 계열(Stratagene, 캘리포니아주 라호야에 소재), pET 계열 (Novagen, 위스콘신주 매디슨에 소재), pGEX 계열(Pharmacia Biotech, 스웨덴 옘살라에 소재) 및 pEX 계열(Clontech, 캘리포니아주 팔로알토에 소재)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 박테리오파지 벡터, 예컨대, λ GT10, λ GT11, λ ZapII(Stratagene), λ EMBL4 및 λ NM1 149가 또한 사용될 수 있다. 식물 발현 벡터의 예는 pBI01, pBI101.2, pBI101.3, pBI121 및 pBIN19(Clontech)를 포함한다. 동물 발현 벡터의 예는 pEUK-C1, pMAM 및 pMAMneo(Clontech)를 포함한다. 일부 양상에서, 벡터는 바이러스 벡터, 예를 들어, 레트로바이러스 벡터이다. 다양한 양상에서, 벡터는 아데노바이러스 벡터, 아데노-연관 바이러스(AAV) 벡터, 단순 포진 바이러스(HSV) 벡터, 수포성 구내염 바이러스(VSV) 벡터, 백시니아 바이러스 벡터 또는 렌티바이러스 벡터이다. 예를 들어, 문헌[Howarth et al., Cell Biol. Toxicol. 26(1): 1-20 (2010)] 참조. 다양한 양상에서, 벡터는 절지동물, 예를 들어, 곤충을 감염시키는 바콜로바이러스 벡터이다. 다양한 양상에서, 바콜로바이러스 벡터는 아우토그라파캘리포니아 다핵 바이러스(Autographacalifornica multiple nuclear virus: AcMNPV) 또는 누에나방 핵 다면체(BmNPV)이다. 예를 들어, 문헌[Khan, Adv Pharm Bull 3(2): 257-263 (2013); Miller, Bioessays 11(4): 91-96 (1989); Atkinson et al., Pestic Sci 28: 215-224 (1990)].

[0078] 본 개시내용의 벡터는, 예를 들어, 문헌[Sambrook et al., 상기 참조, 및 Ausubel et al., 상기 참조]에 기재된 표준 재조합 DNA 기법을 이용하여 제조될 수 있다. 원형 또는 선형인 발현 벡터의 작제물은 원핵 또는 진핵 숙주 세포에서 기능성인 복제 시스템을 포함하도록 제조될 수 있다. 복제 시스템은, 예를 들어, CoIE1, 2 μ 플라스미드, λ , SV40, 소 유두종 바이러스 등으로부터 유래될 수 있다.

[0079] 일부 양상에서, 벡터는 적절하다면, 벡터가 DNA-기반인지 또는 RNA-기반인지의 여부를 고려하여 벡터가 도입되는 숙주의 유형(예를 들어, 박테리아, 진균, 식물 또는 동물)에 특이적인 조절 서열, 예컨대, 전사 및 번역 개시 및 종결 코돈을 포함한다.

[0080] 벡터는 형질전환 또는 형질감염된 숙주의 선택을 가능하게 하는 하나 이상의 마커 유전자를 포함할 수 있다. 마커 유전자는 살생물제 내성(예를 들어, 항생제에 대한 내성, 중금속 등), 원형양체 등을 제공하기 위한 영양요구성 숙주에서의 상보성을 포함한다. 본 명세서에 개시된 발현 벡터에 대한 적합한 마커 유전자는, 예를 들어, 네오마이신/G418 내성 유전자, 하이그로마이신 내성 유전자, 히스티딘올 내성 유전자, 테트라사이클린 내성 유전자 및 암피실린 내성 유전자를 포함한다.

[0081] 벡터는 폴리펩타이드를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열(기능성 부분 및 이의 기능성 변이체를 포함)에, 또는 폴리펩타이드를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에 상보성이거나 또는 이에 혼성화하는 뉴클레오타이드 서열에 작동 가능하게 연결된 천연 또는 표준 프로모터를 포함할 수 있다. 프로모터의 선택, 예를 들어, 강, 약, 유도성, 조직-특이적 및 발생-특이적은 당업자의 기술 이내이다. 유사하게, 뉴클레오타이드 서열과 프로모터의 조합은 또한 당업자 내이다. 프로모터는 비-바이러스 프로모터 또는 바이러스 프로모터, 예를 들어, 거대세포바이러스(CMV) 프로모터, SV40 프로모터, RSV 프로모터 및 뮌헨 줄기 세포 바이러스의 긴 말단 반복부에서 발견되는 프로모터일 수 있다.

[0082] 숙주 세포

[0083] 본 명세서에서 본 개시내용의 핵산 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "숙주 세포"는 본 명세서에 개시된 벡터를 포함하고, 핵산(예를 들어, mRNA, 단백질)에 의해 암호화된 발현 생성물을 생성할 수 있는 임의의 유형의 세포를 지칭한다. 일부 양상에서, 숙주 세포는 부착 세포 또는 현탁 세포, 즉, 현탁액 중에서 성장하는 세포이다. 다양한 양상에서 숙주 세포는 배양된 세포, 또는 1차 세포,

즉, 유기체, 예를 들어, 인간으로부터 직접 분리된 세포이다. 숙주 세포는 임의의 세포 유형을 가질 수 있고, 임의의 유형의 조직으로부터 유래될 수 있고, 임의의 발생 단계를 가질 수 있다.

[0084] 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 글리코실화된 단백질이고, 숙주 세포는 글리코실화-적격 세포이다. 다양한 양상에서, 글리코실화-적격 세포는 효모 세포, 섬유성 진균 세포, 원생동물 세포, 조류 세포, 곤충 세포 또는 포유류 세포를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 진핵 세포이다. 이러한 숙주 세포는 당업계에 기재되어 있다. 예를 들어, 문헌[Frenzel, et al., *Front Immunol* 4: 217(2013)] 참조. 다양한 양상에서, 진핵 세포는 포유류 세포이다. 다양한 양상에서, 포유류 세포는 비-인간 포유류 세포이다. 일부 양상에서, 세포는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포 및 이들의 유도체(예를 들어, CHO-K1, CHO pro-3), 마우스 골수종 세포(예를 들어, NS0, GS-NS0, Sp2/0), 다이하이드로엽산환원효소(DHFR) 활성이 결여되도록 조작된 세포(예를 들어, DUKX-X11, DG44), 인간 배아 신장 293(HEK293) 세포 또는 이의 유도체(예를 들어, HEK293T, HEK293-EBNA), 그린 아프리카 원숭이 신장 세포(예를 들어, COS 세포, VERO 세포), 인간 자궁경부암 세포(예를 들어, HeLa), 인간 골육종 상피 세포 U2-OS, 선암종 인간 폐포 기저 상피 세포 A549, 인간 섬유육종 세포 HT1080, 마우스 뇌 종양 세포 CAD, 배아 암종 세포 P19, 마우스 배아 섬유아세포 NIH 3T3, 마우스 섬유아세포 L929, 마우스 신경아세포종 세포 N2a, 인간 유방암 세포 MCF-7, 망막모세포종 세포 Y79, 인간 망막모세포종 세포 SO-Rb50, 인간 간암 세포 Hep G2, 마우스 B 골수종 세포 J558L, 또는 새끼 햄스터 신장(BHK) 세포이다(Gaillet et al. 2007; Khan, *Adv Pharm Bull* 3(2): 257-263 (2013)).

[0085] 벡터를 증식하거나 복제하기 위한 목적을 위해, 일부 양상에서 숙주 세포는 원핵 세포, 예를 들어, 박테리아 세포이다.

[0086] 또한 본 개시내용에 의해 본 명세서에 기재된 적어도 하나의 숙주 세포를 포함하는 세포 집단이 제공된다. 일부 양상에서 세포 집단은 기재된 벡터를 포함하는 숙주 세포를 포함하는 이중성 집단이며, 이는 적어도 하나의 다른 세포에 추가로, 임의의 벡터를 포함하지 않는다. 대안적으로, 일부 양상에서, 세포 집단은 실질적으로 균질한 집단이며, 이때 집단은 벡터를 포함하는(예를 들어, 본질적으로 이루어진) 숙주 세포를 주로 포함한다. 일부 양상에서, 집단은 세포의 클론 집단이며, 이때, 집단의 모든 세포는 벡터를 포함하는 단일 숙주 세포의 클론이고, 집단의 모든 세포는 벡터를 포함한다. 본 개시내용의 다양한 실시형태에서, 세포 집단은 본 명세서에 기재된 벡터를 포함하는 숙주 세포를 포함하는 클론 집단이다.

[0087] 제조 방법

[0088] 또한 CDH17에 결합하는 항원-결합 단백질을 생산하는 방법이 제공된다. 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 세포 배양 배지에서 본 명세서에 기재된 바와 같은 항원-결합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 배양시키는 단계 및 세포 배양 배지로부터 항원-결합 단백질을 채취하는 단계를 포함한다. 숙주 세포는 본 명세서에 기재된 임의의 숙주 세포일 수 있다. 다양한 양상에서, 숙주 세포는 CHO 세포, NS0 세포, COS 세포, VERO 세포 및 BHK 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다. 다양한 양상에서, 숙주 세포를 배양시키는 단계는 숙주 세포의 성장 및 확장을 지원하기 위해 성장 배지에서 숙주 세포를 배양시키는 단계를 포함한다. 다양한 양상에서, 성장 배지는 시간적 방식으로 세포 밀도, 배양 생존도 및 생산성을 증가시킨다. 다양한 양상에서, 성장 배지는 아미노산, 비타민, 무기염, 글루코스, 및 성장 인자의 공급원으로서의 혈청, 호르몬 및 부착 인자를 포함한다. 다양한 양상에서, 성장 배지는 아미노산, 비타민, 미량의 원소, 무기염, 지질 및 인슐린 또는 인슐린-유사 성장 인자로 이루어진 완전히 화학적으로 한정된 배지이다. 영양분에 추가로, 성장 배지는 또한 pH 및 삼투압을 유지하게 한다. 몇몇 성장 배지는 상업적으로 입수 가능하며, 당업계에 기재되어 있다. 예를 들어, 문헌[Arora, "Cell Culture Media: A Review" *MATER METHODS* 3:175 (2013)] 참조.

[0089] 다양한 양상에서, 상기 방법은 공급 배지에서 숙주 세포를 배양시키는 단계를 포함한다. 다양한 양상에서, 상기 방법은 유가 배양(fed-batch) 방식으로 공급 배지에서 배양시키는 단계를 포함한다. 재조합 단백질 생산 방법이 당업계에 공지된다. 예를 들어, 문헌[Li et al., "Cell culture processes for monoclonal antibody production" *MAbs* 2(5): 466-477(2010)] 참조.

[0090] 항원-결합 단백질의 제조 방법은 세포 배양물 또는 이의 상청액으로부터 단백질을 정제하고, 바람직하게는 정제된 단백질을 회수하기 위한 하나 이상의 단계를 포함할 수 있다. 다양한 양상에서, 상기 방법은 하나 이상의 크로마토그래피 단계, 예를 들어, 친화도 크로마토그래피(예를 들어, 단백질 A 친화도 크로마토그래피), 이온 교환 크로마토그래피, 소수성 상호작용 크로마토그래피를 포함한다. 다양한 양상에서, 상기 방법은 단백질 A 친화도 크로마토그래피 수지를 이용하여 단백질을 정제하는 단계를 포함한다.

- [0091] 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 정제된 단백질 등을 제형화하여, 정제된 단백질을 포함하는 제형을 얻는 단계를 추가로 포함한다. 이러한 단계는 문헌[Formulation and Process Development Strategies for Manufacturing, eds. Jameel and Hershenson, John Wiley & Sons, Inc. (Hoboken, NJ), 2010]에 기재되어 있다.
- [0092] 다양한 양상에서, 폴리펩타이드 및 항원-결합 단백질에 연결된 항원-결합 단백질은 융합 단백질의 부분이다. 따라서, 본 개시내용은 CDH17에 결합하는 항원-결합 단백질을 포함하는 융합 단백질을 생산하는 방법을 추가로 제공한다. 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 세포 배양 배지에서 본 명세서에 기재된 바와 같은 융합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 배양시키는 단계 및 세포 배양 배지로부터 융합 단백질을 채취하는 단계를 포함한다.
- [0093] **접합체**
- [0094] 본 개시내용은 또한 제2 모이어티(예를 들어, 이중성 모이어티, 접합체 모이어티)에 부착되거나, 연결되거나, 접합된 항원-결합 단백질을 제공한다. 따라서, 본 개시내용은 항원-결합 단백질 및 이중성 모이어티를 포함하는 접합체를 제공한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "이중성 모이어티"는 "접합체 모이어티"와 동의어이며, 본 개시내용의 항원-결합 단백질과 상이한 임의의 분자(화학적 또는 생물학적, 천연 유래 또는 비암호화)를 지칭한다. 다양한 이중성 모이어티는 중합체, 탄수화물, 지질, 핵산, 올리고뉴클레오타이드, DNA 또는 RNA, 아미노산, 펩타이드, 폴리펩타이드, 단백질, 치료제, (예를 들어, 세포독성제, 사이토카인), 또는 진단제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0095] 일부 실시형태에서, 이중성 모이어티는 검출 가능한 마커이다. 검출 가능한 마커의 예는 다양한 효소, 보결분자단, 형광 물질, 발광 물질, 생물 발광 물질 및 방사성 물질을 포함한다. 적합한 효소의 예는 호스래디쉬 퍼옥시다제, 알칼리성 포스포타제, β -갈락토시다제 또는 아세틸콜린에스테라제를 포함하고; 적합한 보결분자단 복합체의 예는 스트렙타비딘/바이오틴 및 아비딘/바이오틴을 포함하며; 적합한 형광 물질의 예는 움벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 아이소싸이오사이아네이트(FITC), 로다민, 다이클로로트라이아진일아민 플루오레세인, 염화단실 또는 피코에리트린(PE)을 포함하고; 발광 물질의 예는 루미놀을 포함하며; 생물 발광 물질의 예는 루시페라제, 루시페린 및 에퀴린을 포함하고, 적합한 방사성 물질의 예는 ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S 또는 ^3H 를 포함한다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, 항체에 관해 "표지된"이라는 용어는 검출 가능한 물질, 예컨대, 방사성 제제 또는 형광단(예를 들어, 플루오레세인 아이소싸이오사이아네이트(FITC) 또는 피코에리트린(PE) 또는 인도사이아닌(Cy5))을 항체에 커플링(즉, 물리적으로 연결)에 의한 항체의 직접적 표지뿐만 아니라 검출 가능한 물질과의 반응성에 의해 항체의 간접적 표지를 포괄하도록 의도된다. 예를 들어, 항체는, 그 다음에, 발현이 검출 및 측정될 수 있도록, 증폭 및 검출될 수 있는 핵산 서열, 또는 특정 유전자의 발현을 감소시키기 위한 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 표지될 수 있다.
- [0096] 일부 실시형태에서, 이중성 모이어티는 중합체이다. 중합체는 분지 또는 비분지될 수 있다. 중합체는 임의의 분자량을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서 중합체는 약 2kDa 내지 약 100kDa의 평균 분자량을 갖는다(용어 "약" 수용성 중합체의 제조에서, 일부 분자는 언급된 분자량보다 더 많이, 일부는 더 적게 무게가 나간다는 것을 나타냄). 일부 양상에서, 중합체의 평균 분자량은 약 5kDa 내지 약 50kDa, 약 12kDa 내지 약 40kDa 또는 약 20kDa 내지 약 35kDa이다.
- [0097] 일부 실시형태에서, 중합체는 단일 반응기, 예컨대, 아실화를 위한 활성 에스터 또는 알킬화를 위한 알데하이드를 갖도록 변형되며, 따라서, 중합도는 제어될 수 있다. 일부 실시형태에서, 중합체는 수용성이며, 따라서, 이것이 부착되는 단백질은 수성 환경, 예컨대, 생리적 환경에서 침전하지 않는다. 일부 실시형태에서, 예를 들어, 조성물이 치료용으로 사용될 때, 중합체는 약제학적으로 허용 가능하다. 추가적으로, 일부 양상에서, 중합체는 중합체, 예를 들어, 공중합체, 블록 공중합체의 혼합물이다.
- [0098] 일부 실시형태에서, 중합체는 폴리아마이드, 폴리카보네이트, 폴리알킬렌 및 이의 유도체, 예를 들어, 폴리알킬렌 글리콜, 폴리알킬렌 옥사이드, 폴리알킬렌 테레프탈레이트, 아크릴과 메타크릴 에스터의 중합체, 예를 들어, 폴리(메틸 메타크릴레이트), 폴리(에틸 메타크릴레이트), 폴리(부틸메타크릴레이트), 폴리(아이소부틸 메타크릴레이트), 폴리(헥실메타크릴레이트), 폴리(아이소데실 메타크릴레이트), 폴리(라우릴 메타크릴레이트), 폴리(페닐 메타크릴레이트), 폴리(메틸 아크릴레이트), 폴리(아이소프로필 아크릴레이트), 폴리(아이소부틸 아크릴레이트), 및 폴리(옥타데실 아크릴레이트), 폴리비닐 중합체, 예를 들어, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 에터, 폴리비닐 에스터, 폴리비닐 할로젠화물, 폴리(비닐 아세테이트), 및 폴리비닐피롤리돈, 폴리글리콜라이드,

폴리실록산, 폴리우레탄 및 이들의 공중합체, 셀룰로스, 예를 들어, 알킬 셀룰로스, 하이드록시알킬 셀룰로스, 셀룰로스 에터, 셀룰로스 에스터, 나이트로 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스, 하이드록시프로필 셀룰로스, 하이드록시-프로필 메틸 셀룰로스, 하이드록시부틸 메틸 셀룰로스, 셀룰로스 아세테이트, 셀룰로스 프로피오네이트, 셀룰로스 아세테이트 부티레이트, 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 카복실에틸 셀룰로스, 셀룰로스 트리아아세테이트, 및 셀룰로스 설페이트 나트륨염, 폴리프로필렌, 폴리에틸렌, 예를 들어, 폴리(에틸렌 글리콜), 폴리(에틸렌 옥사이드) 및 폴리(에틸렌 테레프탈레이트), 및 폴리스타이렌으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0099] 본 명세서에서 사용하기 위한 특히 바람직한 수용성 중합체는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)이다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 폴리에틸렌 글리콜은 다른 단백질, 예컨대, 모노-(C1-C10) 알콕시- 또는 아릴옥시-폴리에틸렌 글리콜을 유도체화하기 위해 사용될 수 있는 PEG의 임의의 형태를 포함하는 것을 의미한다. PEG는 넓은 범위의 분자량에서 이용 가능한 선형 또는 분지형 중성 폴리에테리고, 물 및 대부분의 유기 용매에서 가용성이다.

[0100] 일부 실시형태에서, 이종성 모이어티는 탄수화물이다. 일부 실시형태에서, 탄수화물은 단당류(예를 들어, 글루코스, 갈락토스, 프럭토스), 이당류(예를 들어, 수크로스, 락토스, 말토스), 올리고당(예를 들어, 라피노스, 스타키오스), 다당류(전분, 아밀라제, 아밀로펙틴, 셀룰로스, 키틴, 칼로스, 라미나린, 자일란, 만난, 푸코이단, 갈락토만난)이다.

[0101] 일부 실시형태에서, 이종성 모이어티는 지질이다. 일부 실시형태에서, 지질은 지방산, 에이코사노이드, 프로스타글란딘, 류코트리엔, 트롬복산, N-아실 에탄올아민), 글리세로지질(예를 들어, 일-, 이-, 삼-치환된 글리세롤), 글리세로인지질(예를 들어, 포스파티딜콜린, 포스파티딜이노시톨, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜세린), 스펡고지질(예를 들어, 스펡고신, 세라마이드), 스테롤 지질(예를 들어, 스테로이드, 콜레스테롤), 프레놀 지질, 사카로지질, 또는 폴리케타이드, 오일, 왁스, 콜레스테롤, 스테롤, 지용성 비타민, 모노글리세라이드, 다이글리세라이드, 트라이글리세라이드, 인지질이다.

[0102] 일부 실시형태에서, 이종성 모이어티는 치료제이다. 치료제는 당업계에 공지된 임의의 것일 수 있다. 본 명세서에 상정된 치료제의 예는 천연 효소, 천연 공급원으로부터 유래된 단백질, 재조합 단백질, 천연 펩타이드, 합성 펩타이드, 환식 펩타이드, 항체, 수용체 작용제, 세포독성제, 면역글로불린, 베타-아드레날린 차단제, 칼슘 통로 차단제, 관상혈관확장제, 강심배당체, 항부정맥제, 교감 신경성 약물, 안지오텐신 전환효소(ACE) 저해제, 이뇨제, 강심제, 콜레스테롤 및 트라이글리세라이드 환원제, 담즙산 금속이온봉쇄제, 피브레이트, 3-하이드록시-3-메틸글루테릴(HMG)-CoA 환원효소 저해제, 나이아신 유도제, 항아드레날린제, 알파-아드레날린 차단제, 중추 작용 항아드레날린제, 혈관확장제, 칼륨 보존성 이뇨제, 티아자이드 및 관련 제제, 안지오텐신 II 수용체 길항제, 말초 혈관확장제, 항안드로겐, 에스트로겐, 항생제, 레티노이드, 인슐린 및 유사체, 알파-글루코시다제 저해제, 바이구아나이드, 메글리티나이드, 설폰일유레아, 티아졸리딘다이온, 안드로겐, 프로세스토젠, 뼈 대사 조절제, 뇌하수체 전엽 호르몬, 시상하부 호르몬, 뇌하수체 후엽 호르몬, 성선자극호르몬, 성선자극호르몬-방출 호르몬 길항제, 배란촉진제, 선택적 에스트로겐 수용체 조절제, 항갑상선제, 갑상선 호르몬, 부피형성제, 완하제, 항염증제, 균총(f flora) 변형제, 장 흡착제, 장 항-감염제, 항식욕부진, 약액질 방지제, 폭식방지제, 식욕 억제제, 비만증 치료제, 제산제, 상부 위장관 제제, 항콜린제, 아미노살리실산 유도제, 생물학적 반응 변형제, 코르티코스테로이드, 진경제, 5-HT₄ 부분적 작용제, 항히스타민, 칸나비노이드, 도파민 길항제, 세로토닌 길항제, 세포보호제, 히스타민 H₂-수용체 길항제, 점막 보호제, 양성자 펌프 저해제, 헬리코박터 파일로리 박멸 요법, 적혈구형성 자극제, 조혈형성제, 빈혈제, 해파린, 항섬유소용해제, 지혈제, 혈액응고인자, 아데노신 2인산 저해제, 당단백질 수용체 저해제, 피브리노겐-혈소판 결합 저해제, 트롬복산-A₂ 저해제, 플라즈미노겐 활성제, 항혈전제, 글루코코르티코이드, 무기질 코르티코이드, 코르티코스테로이드, 선택적 면역억제제, 항진균제, 예방적 요법에 수반된 약물, AIDS-연관 감염, 거대세포바이러스, 비-뉴클레오사이드 역전사효소 저해제, 뉴클레오사이드 유사체 역전사효소 저해제, 프로테아제 저해제, 빈혈, 카포시 육종, 아미노글리코사이드, 카바페넴, 세팔로스포린, 글리코펩타이드계항균제, 린코사마이드, 마크롤라이드, 옥사졸리딘온, 페니실린, 스트렙토그라민, 설폰아마이드, 트라이메토프림 및 유도제, 테트라사이클린, 구충제, 아메바박멸제, 바이구아나이드, 신코나 알칼로이드, 염산 길항제, 퀴놀린 유도제, 주폐포자충 요법, 하이드라자이드, 이미다졸, 트라이아졸, 나이트로이미다졸, 환식 아민, 뉴라미니다제 저해제, 뉴클레오사이드, 인산염 결합제, 콜린에스터라제 저해제, 보조 요법, 바르비투르산염 및 유도제, 벤조다이아제핀, 감마 아미노뷰티르산 유도제, 하이드안토인 유도제, 이미노스틸벤 유도제, 석신이미드 유도제, 항경련제, 맥각 알칼로이드, 편두통 제제, 생물학적 반응 변형제, 카바산 에스터, 삼환식 유도제, 탈분극제, 비탈분극제, 신경근 마비제, CNS 자극제, 도파민 시약, 모노아민 옥시다제 저해제, COMT 저해제, 알킬 설포네이트, 에틸렌이민, 이미다조테트라진, 질소 머스타드 유사체,

나이트로소유레아, 백금-함유 화합물, 항대사물질, 퓨린 유사체, 피리미딘 유사체, 유레아 유도체, 안트라사이클린, 악티노마이신, 캄프토테신 유도체, 에피도포도필로톡신, 타산, 빈카 알칼로이드 및 유사체, 항안드로겐, 항에스트로겐, 비스테로이드성 방향화효소 저해제, 단백질 키나제 저해제 항종양성, 아자스피로데칸다이온 유도체, 항불안제, 자극제, 모노아민 재흡수 저해제, 선택적 세로토닌 재흡수 저해제, 항우울제, 벤즈아이스옥사졸 유도체, 뷰티로페논 유도체, 다이벤조다이아제핀 유도체, 다이벤조티아제핀 유도체, 다이페닐뷰틸피페리딘 유도체, 페노티아진, 티에노벤조다이아제핀 유도체, 티옥산텐 유도체, 알러젠성 추출물, 비스테로이드성 제제, 류코트라이엔 수용체 길항제, 잔틴, 엔도텔린 수용체 길항제, 프로스타글란딘, 폐 계면활성제, 점액분해제, 세포분열저지제, 항통풍제, 잔틴 옥시다제 저해제, 포스포다이에스터라제 저해제, 메타민 염, 나이트로퓨란 유도체, 퀴놀론, 평활근이완제, 부교감 신경 흥분제, 할로겐화 탄화수소, 아미노 벤조산의 에스터, 아마이드(예를 들어, 리도카인, 아티카인 염산염, 부피바카인 염산염), 해열제, 수면제 및 진정제, 사이클로피롤론, 피라졸로피리미딘, 비스테로이드성 항-염증 약물, 오피오이드, 파라-아미노페놀 유도체, 알코올 탈수소효소 저해제, 헤파린 길항제, 흡착제, 최토제, 오피오이드 길항제, 콜린에스터라제 재활성제, 니코틴 대체 요법, 비타민 A 유사체 및 길항제, 비타민 B 유사체 및 길항제, 비타민 C 유사체 및 길항제, 비타민 D 유사체 및 길항제, 비타민 E 유사체 및 길항제, 비타민 K 유사체 및 길항제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0103] 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 종양 전이를 저해하는 데 효과적인 1종 이상의 사이토카인 및 성장 인자에 접합될 수 있고, 사이토카인 또는 성장 인자는 적어도 하나의 세포 집단에 대해 항증식 효과를 갖는 것으로 나타났다. 이러한 사이토카인, 림포카인, 성장 인자 또는 다른 조혈인자는 하기를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다: M-CSF, GM-CSF, TNF, IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IFN, TNF α , TNF1, TNF2, G-CSF, Meg-CSF, GM-CSF, 트롬보포이에틴, 줄기 세포 인자 및 에리스로포이에틴. 본 명세서에서 사용하기 위한 추가적인 성장 인자는 안지오텐신, 골형성 단백질-1, 골 형성 단백질-2, 골 형성 단백질-3, 골 형성 단백질-4, 골 형성 단백질-5, 골 형성 단백질-6, 골 형성 단백질-7, 골 형성 단백질-8, 골 형성 단백질-9, 골 형성 단백질-10, 골 형성 단백질-11, 골 형성 단백질-12, 골 형성 단백질-13, 골 형성 단백질-14, 골 형성 단백질-15, 골 형성 단백질 수용체 IA, 골 형성 단백질 수용체 IB, 뇌 유래 신경영양인자, 섬모 신경영양 인자, 섬모 신경영양 인자 수용체 α , 사이토카인-유발 호중구 화학주성 인자 1, 사이토카인-유발 호중구 화학주성 인자 2 α , 사이토카인-유발 호중구 화학주성 인자 2 β , β 내피세포 성장 인자, 엔도텔린 1, 상피-유래 호중구 유인제, 교세포 세포주-유래 호중구 인자 수용체 α 1, 교세포 세포주-유래 호중구 인자 수용체 α 2, 성장 관련 단백질, 성장 관련 단백질 α , 성장 관련 단백질 β , 성장 관련 단백질 γ , 헤파린 결합 표피 성장 인자, 간세포 성장 인자, 간세포 성장 인자 수용체, 인슐린-유사 성장 인자 I, 인슐린-유사 성장 인자 수용체, 인슐린-유사 성장 인자 II, 인슐린-유사 성장 인자 결합 단백질, 각질형성세포 성장 인자, 백혈병 저해 인자, 백혈병 저해 인자 수용체 α , 신경 성장 인자 신경 성장 인자 수용체, 신경영양-3, 신경영양-4, 프레-B 세포 성장 자극 인자, 줄기 세포 인자, 줄기 세포 인자 수용체, 형질전환 성장 인자 α , 형질전환 성장 인자 β , 형질전환 성장 인자 β 1, 형질전환 성장 인자 β 1.2, 형질전환 성장 인자 β 2, 형질전환 성장 인자 β 3, 형질전환 성장 인자 β 5, 잠복성 형질전환 성장 인자 β 1, 형질전환 성장 인자 β 결합 단백질 I, 형질전환 성장 인자 β 결합 단백질 II, 형질전환 성장 인자 β 결합 단백질 III, 종양 괴사 인자 수용체 I형, 종양 괴사 인자 수용체 II형, 유로키나제-형 플라즈미노겐 활성화제 수용체, 및 키메라 단백질 및 생물학적으로 또는 면역학적으로 활성인 이들의 단편을 포함한다.

[0104] 일부 실시형태에서, 접합체는 본 명세서에 기재된 바와 같은 항원-결합 단백질 및 세포독성제를 포함한다. 세포독성제는 세포에 독성인 임의의 분자(화학적 및 생물학적)이다. 일부 양상에서, 세포독성제가 본 개시내용의 항원-결합 단백질에 접합될 때, 얻어진 결과는 상승작용이다. 다시 말해서, 항원-결합 단백질과 세포독성제의 병용요법의 유효성은 상승작용이며, 즉, 유효성은 각각의 상가적 개개 효과로부터 예상되는 유효성보다 크다. 따라서, 세포독성제의 투약량은 감소될 수 있고, 따라서, 독성 문제의 위험 및 다른 부작용은 동시에 감소된다. 일부 실시형태에서, 세포독성제는 화학치료제이다. 화학치료제는 당업계에 공지되어 있으며, 미국 특허 제 6,630,124호에 기재된 바와 같은 백금 배위 화합물, 토포아이스머라제 저해제, 항생제, 항유사분열 알칼로이드 및 다이플루오로뉴클레오사이드를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0105] 일부 실시형태에서, 화학치료제는 백금 배위 화합물이다. 용어 "백금 배위 화합물"은 철 형태로 백금을 제공하는 백금 배위 화합물을 저해하는 임의의 종양 세포 성장을 지칭한다.

[0106] 일부 실시형태에서, 백금 배위 화합물은 시스-다이아민다이아쿠오백금(II)-이온; 클로로(다이에틸렌트라이아민)-백금(II)클로라이드; 다이클로로(에틸렌다이아민)-백금(II), 다이아민(1,1-사이클로부탄다이카복실레이트) 백금(II) (카보플라틴); 스피로플라틴; 이프로플라틴; 다이아민(2-에틸말로네이트)-백금(II); 에틸렌다이아민말

로네이토백금(II); 아쿠아(1,2-다이아미노사이클로헥산)-설페이토백금(II); (1,2-다이아미노사이클로헥산)말로네이토백금(II); (4-카복시프탈레이토)(1,2-다이아미노사이클로헥산)백금(II); (1,2-다이아미노사이클로헥산)-(아이소시트레이토)백금(II); (1,2-다이아미노사이클로헥산)시스(파이루베이트)백금(II); (1,2-다이아미노사이클로헥산)옥살레이토백금(II); 오르마플라틴; 및 테트라플라틴이다.

[0107] 일부 실시형태에서, 시스플라틴은 본 발명의 조성물 및 방법에서 사용되는 백금 배위 화합물이다. 시스플라틴은 Bristol Myers-Squibb Corporation으로부터의 명칭 PLATINOL™ 하에 상업적으로 입수 가능하며, 물, 멸균 식염수 또는 다른 적합한 비히클을 이용하는 구성을 위해 분말로서 이용 가능하다. 본 발명에서 사용하기에 적합한 다른 백금 배위 화합물은 공지되어 있으며, 상업적으로 입수 가능하고/하거나 통상적인 기법에 의해 제조될 수 있다. 시스플라틴 또는 시스-다이클로로다이아민백금 II는 다양한 인간 고형 악성 종양의 치료에서 화학치료제로서 다년 동안 성공적으로 사용되어 왔다. 더 최근에는, 다른 다이아미노-백금 복합체가 다양한 인간 고형 악성 종양의 치료에서 화학치료제로서 효능을 나타내었다. 이러한 다이아미노-백금 복합체는 스피로백금 및 카보플라티늄을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 시스플라틴 및 다른 다이아미노-백금 복합체는 인간에서 화학치료제로서 널리 사용되어 왔지만, 이들은 신장 손상과 같은 독성 문제를 야기할 수 있는 높은 투약 수준으로 전달되어야 한다.

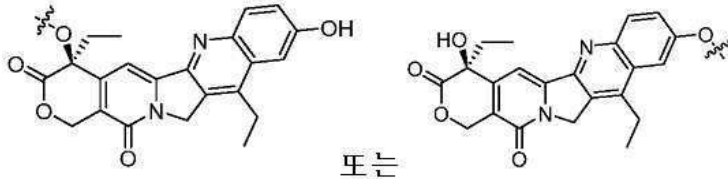
[0108] 일부 실시형태에서, 화학치료제는 토포아이스머라제 저해제이다. 토포아이스머라제는 진핵 세포에서 DNA 위상(topology)을 변경시킬 수 있는 효소이다. 이들은 세포 기능 및 세포 증식에 중요하다. 일반적으로, 진핵 세포에 토포아이스머라제의 2가지 부류, 즉, I형 및 II형이 있다. 토포아이스머라제 I은 대략 100,000의 분자량의 단량체 효소이다. 효소는 DNA에 결합하고, 일시적 단일-가닥 파손을 도입하며, 이중나선을 풀고(또는 이것이 풀리게 함), 후속적으로 DNA 가닥이 분리되기 전에 파손을 다시 봉합한다. 다양한 토포아이스머라제 저해제는 난소암, 식도암 또는 비소세포 폐암종으로 고통받는 인간의 치료에서의 임상 효능이 최근에 나타났다.

[0109] 일부 양상에서, 토포아이스머라제 저해제는 캄토테신 또는 캄토테신 유사체이다. 캄프토테신은 중국에 자생하는 위캄프토테카 아쿠미나타(*Camptotheca accuminata*) 나무 및 인도에 자생하는 노타포디트 포에티다(*Nothapodytes foetida*) 나무에 의해 생성된 수불용성, 세포독성 알칼로이드이다. 캄프토테신은 다수의 종양 세포에 대해 활성을 저해하는 종양 세포 성장을 나타낸다. 캄토테신 유사체 부류의 화합물은 전형적으로 DNA 토포아이스머라제 I의 특이적 저해제이다. 토포아이스머라제의 저해제"라는 용어는 캄토테신과 구조적으로 관련된 화합물을 저해하는 임의의 종양 세포 성장을 의미한다. 캄토테신 유사체 부류의 화합물은 토포테칸, 이리노테칸 및 9-아미노-캄토테신을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0110] 추가적인 실시형태에서, 세포독성제는 캄토테신 유사체는 1991년 4월 2일자로 발행된 미국 특허 제5,004,758호 및 20' 공개 번호 EP 0 321 122로서 1989년 6월 21자로 공개된 유럽 특허 출원 제88311366.4호; 1986년 8월 5일자로 발행된 미국 특허 제4,604,463호 및 1985년 4월 17일자로 공개된 유럽 특허 출원 공개 EP 0 137 145호; 1984년 9월 25일자로 공개된 미국 특허 제4,473,692호 및 1983년 3월 16일자로 유럽 특허 출원 공개 번호 EP 0 074 256; 1985년 10월 8일자로 발행된 미국 특허 제4,545,880호 및 1983년 3월 16일자로 공개된 유럽 특허 출원 공개 EP 0 074 256호; 1983년 9월 14일자로 공개된 유럽 특허 출원 공개 EP 0 088 642호; Wani et al., J. Med. Chem., 29, 2358-2363 (1986); 문헌[Nitta et al., Proc. 14th International Congr. Chemotherapy, Kyoto, 1985, Tokyo Press, Anticancer Section 1, p. 28-30]에 특허청구되거나 기재된 임의의 종양 세포 성장 저해 캄토테신 유사체, 특히 CPT-11로 불리는 화합물이다. CPT-11은 10-하이드록시-7-에틸 캄토테신의 C-10에서 카바메이트 결합을 통해 결합된 4-(피페리디노)-피페리딘 측쇄를 갖는 캄토테신 유사체이다. CPT-11은 현재 진행 중인 인간 임상 시험이고, 또한 이리노테칸으로서 지칭된다; 문헌[Wani et al., J. Med. Chem., 23, 554 (1980); Wani et. al., J. Med. Chem., 30, 1774 (1987)]; 1982년 8월 3일자로 발행된 미국 특허 제4,342,776호; 1990년 9월 13일자로 출원된 미국 특허 출원 제581,916호 및 1991년 3월 20일자로 공개된 유럽 특허 출원 공개 EP 418 099호; 1985년 4월 23일자로 발행된 미국 특허 출원 제4,513,138호 및 1983년 3월 23일자로 공개된 유럽 특허 출원 공개 EP 0 074 770호; 1983년 8월 16일자로 공개된 미국 특허 제4,399,276호 및 1982년 7월 28일자로 공개된 유럽 특허 출원 공개 0 056 692호; 이들의 전체 개시내용은 본 명세서에 참조에 의해 인용된다. 캄토테신 유사체 부류의 상기 열거한 화합물은 모두 상업적으로 입수 가능하고/하거나 상기 열거한 참고문헌에 기재된 것을 포함하는 통상적인 기법에 의해 제조될 수 있다. 토포아이스머라제 저해제는 토포테칸, 이리노테칸 및 9-아미노캄토테신으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0111] 일부 실시형태에서, 캄토테신 유사체는 이리노테칸(CPT-11)의 활성 대사물질이다. 일부 이러한 실시형태에서, 캄토테신 유사체는 7-에틸-10-하이드록시캄토테신(SN-38)이다. 대사물질로서, SN-38은 카복실에스터라제에 의한

이리노테칸의 가수분해에 의해 형성된다. 일부 실시형태에서, SN-38은 다음의 구조 중 하나를 가진다:



[0112]

[0113]

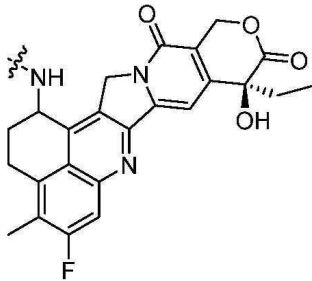
SN-38은 미국 특허 출원 제7,999,083호; 미국 특허 출원 제8,080,250호; 미국 특허 출원 제8,759,496호; 미국 특허 출원 제8,999,344호; 미국 특허 출원 제10,195,288호; 및 미국 특허 출원 제9,808,537호에 기재되어 있다.

[0114]

일부 실시형태에서, 캄토테신 유사체는 엑사테칸 메탄설포네이트이다. 엑사테칸 메탄설포네이트는 다른 CPT 유사체보다 더 강한 토포아이소머라제 I 저해 활성 및 항종양 활성을 나타내는 수용성 캄토테신(CPT)이다. 또한, 엑사테칸은 p-당단백질(P-gp)-매개 다제내성 세포에 효과적이다.

[0115]

일부 실시형태에서, 캄토테신 유사체는 SN-38보다 10-배 더 높은 토포아이소머라제 I 저해 효능을 갖는 엑사테칸의 강한 유도체인 데룩스테칸(Dxd)이다. 일부 실시형태에서, Dxd는 다음의 구조를 가진다:



[0116]

[0117]

Dxd는 미국 특허 출원 제6,407,115호; 미국 특허 출원 제10,195,288호; 미국 특허 출원 제9,808,537호; 및 미국 특허 출원 제6,407,115호에 기재되어 있다.

[0118]

캄토테신 유사체 부류의 수많은 화합물의 제제(이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 수화물 및 용매화물)뿐만 아니라 캄토테신 유사체 부류의 이러한 화합물 및 비활성, 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 경구 및 비경구 약제학적 조성물의 제제는 1991년 4월 2일자로 발행된 미국 특허 제5,004,758호 및 공개 번호 EP 0 321 122로서 1989년 6월 21일자로 공개된 유럽 특허 출원 제88311366.4호에 광범위하게 기재되어 있으며, 이들의 교시는 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0119]

본 발명의 또 다른 실시형태에서, 화학치료제는 항생제 화합물이다. 적합한 항생제는 독소루비신, 미토마이신, 블레오마이신, 다우노루비신 및 스트렙토조신을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

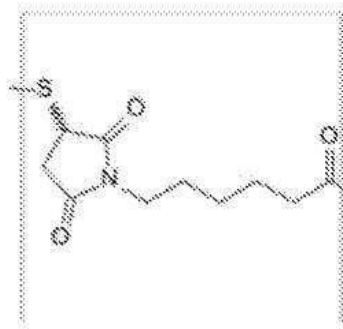
[0120]

일부 실시형태에서, 화학지료제는 항유사분열 알칼로이드이다. 일반적으로, 항유사분열 알칼로이드 일일초 (*Cantharanthus roseus*)로부터 추출될 수 있고, 항암 화학요법제로서 효능있는 것으로 나타났다. 매우 다수의 반합성 유도체는 화학적으로 그리고 약학적으로 연구되었다(문헌[0. Van Tellinghen et al, *Anticancer Research*, 12, 1699-1716 (1992)] 참조). 본 발명의 항유사분열 알칼로이드는 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 탁솔 및 비노렐빈을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 후자의 두 항유사분열 알칼로이드는 Eli Lilly사 및 Pierre Fabre Laboratories로부터 각각 상업적으로 입수 가능하다(미국 특허 제5,620,985호 참조). 일부 실시 형태에서, 항유사분열 알칼로이드는 비노렐빈이다.

[0121]

본 발명의 다른 실시형태에서, 화학치료제는 다이플루오로뉴클레오사이드이다. 2'-데옥시-2',2'-다이플루오로뉴클레오사이드는 항바이러스 활성을 갖는 것으로 당업계에 공지되어 있다. 이러한 화합물은 개시되어 있으며, 미국 특허 제4,526,988호 및 제4,808,614호에 교시되어 있다. 유럽 특허 출원 공개 제184,365호는 이들 동일한 다이플루오로뉴클레오사이드가 중앙세포봉괴성 활성을 가진다. 특정 양상에서, 본 발명의 조성물 및 방법에서 사용되는 2'-데옥시-2',2'-다이플루오로뉴클레오사이드는 겐시타빈 하이드로클로라이드로도 알려진 2'-데옥시-2',2'-다이플루오로사이티딘 하이드로클로라이드이다. 겐시타빈은 상업적으로 입수 가능하거나, 미국 특허 제4,526,988호, 제4,808,614호 및 제5,223,608호에 개시되고 교시된 다단계 공정에서 합성될 수 있으며, 이들의 교시는 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

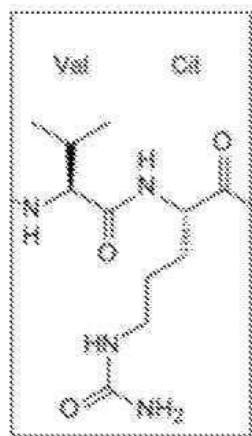
[0122] 다양한 양상에서, 화학치료제는 튜블린 중합 차단, 미세소관 탈안정화, 또는 미세소관 동역학 변경에 의해 세포 분열을 저해하는 항유사분열제, 예를 들어, 메이탄시노이드 또는 이의 유도체(예를 들어, DM1 또는 DM4), 아우리스타틴 또는 이의 유도체이다. 다양한 양상에서, 화학치료제는 아우리스타틴이다. 예를 들어, 일부 양상에서, 아우리스타틴은 돌라스타틴, 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE), 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE) 또는 PF-06380101 이다. 아우리스타틴은 당업계에 기재되어 있다. 예를 들어, 문헌[Maderna, A.; *et al.*, Mol Pharmaceutics 12(6): 1798-1812 (2015)] 참조. 다양한 양상에서, 접합체는 MMAE와 병용하여 본 개시내용의 항체를 포함한다. 선택적으로, 접합체는 링커를 포함한다. 일부 양상에서, 링커는 절단성 연결 모이어티를 포함한다. 다양한 양상에서, 접합체는 카텝신-절단성 링커에 연결된 부착기에 연결되고, 결국 MMAE에 연결되는 스페이서에 연결되는 본 개시내용의 항체를 포함한다. 양상에서, 부착 기는 항체의 Fc 영역의 Cys 잔기를 통해 항체에 부착된다. 예시적인 양상에서, 부착 기는 하기 화학식 I의 구조를 포함한다:



[화학식 I]

[0123]

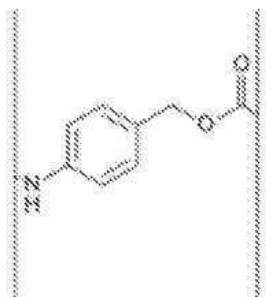
[0124] 예시적인 양상에서, 카텝신 절단성 링커는 하기 화학식 II의 구조식을 포함한다:



[화학식 II]

[0125]

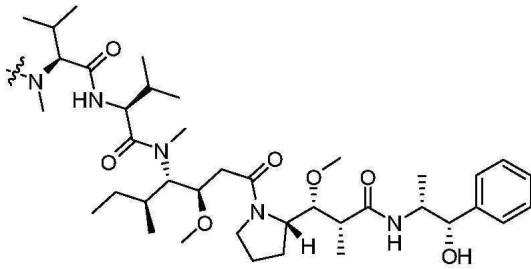
[0126] 예시적인 양상에서, 스페이서는 하기 화학식 III의 구조를 포함한다:



[화학식 III]

[0127]

[0128] 일부 실시형태에서, MMAE는 다음의 구조를 가진다:



[0129]

[0130] 본 개시내용은 또한 접합체가 융합 단백질이 되도록 폴리펩타이드에 연결된 본 개시내용의 항원-결합 단백질을 포함하는 접합체를 제공한다. 따라서, 본 개시내용은 폴리펩타이드에 연결된 본 개시내용의 항원-결합 단백질을 포함하는 융합 단백질을 제공한다. 다양한 실시형태에서, 폴리펩타이드는 진단 표지, 예를 들어, 형광 단백질, 예컨대, 녹색 형광 단백질, 또는 기타 태그, 예를 들어, Myc 태그이다. 다양한 양상에서, 폴리펩타이드는 사이토카인, 림포카인, 성장 인자 또는 상기 열거한 다른 조혈인자 중 하나이다.

[0131] 링커

[0132] 일부 실시형태에서, 접합체는 이중성 모이어티에 직접 연결된다. 대안의 실시형태에서, 접합체는 본 개시내용의 화합물을 이중성 모이어티에 결합시키는 링커를 포함한다. 일부 양상에서, 링커는 1 내지 약 60, 또는 1 내지 30개 이상의 원자, 2 내지 5개의 원자, 2 내지 10개의 원자, 5 내지 10개의 원자, 또는 10 내지 20개 이상의 원자의쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서,쇄 원자는 모두 탄소 원자이다. 일부 실시형태에서, 링커 골격에서쇄 원자는 C, O, N 및 S로 이루어진 군으로부터 선택된다.쇄 원자 및 링커는 더 가용성인 접합체를 제공하기 위해 이들의 예상된 용해도(친수성)에 따라 선택될 수 있다. 일부 실시형태에서, 링커는 표적 조직 또는 기관 또는 세포에서 발견되는 효소 또는 다른 촉매 또는 가수분해 조건에 의해 절단 처리되는 작용기를 제공한다. 일부 실시형태에서, 링커의 길이는 입체 장애에 대한 가능성을 감소시킬만큼 충분히 길다. 일부 실시형태에서, 링커는 아미노산 또는 펩타이드 링커이다. 이러한 펩타이드 링커는 임의의 길이일 수 있다. 다양한 링커는 약 1 내지 50개의 아미노산 길이, 5 내지 50, 3 내지 5, 5 내지 10, 5 내지 15, 또는 10 내지 30개의 아미노산 길이이다.

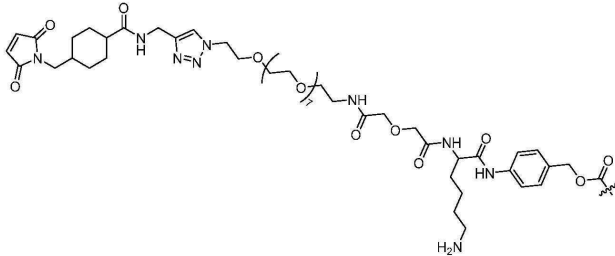
[0133] 다양한 적합한 링커는 당업계에서 공지되어 있다. 링커의 절단이 세포내 환경에서 약물을 방출하도록, 링커는, 예를 들어, 생리적 조건하에, 예를 들어, 세포내 조건하에서 절단성(절단성 링커)일 수 있다. 대안적으로, 링커의 절단이 종양 세포 내에 우선적으로 침투하는 약물을 방출하도록, 링커는 세포외 조건하에, 예를 들어, 종양 세포 밖에서 또는 종양 덩어리 근처에서 절단성일 수 있다. 다른 실시형태에서, 링커는 절단성이 아니며(비-절단성 링커), 약물은, 예를 들어, 항체 분해에 의해 방출된다.

[0134] 링커는 항체 모이어티 상에서 화학적 반응성 기에, 예를 들어, 유리 아미노, 이미노, 하이드록실, 티올 또는 카복실기에(예를 들어, N- 또는 C-말단에, 하나 이상의 라이신 잔기의 엡실론 아미노기에, 하나 이상의 글루탐산 또는 아스파르트산 잔기의 유리 카복실기에, 하나 이상의 시스테인일 잔기의 설프하이드릴기에, 또는 하나 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기의 하이드록실기에) 결합될 수 있다. 링커가 결합되는 부위는 항체 모이어티의 아미노산 서열의 천연 잔기일 수 있거나, 또는 예를 들어, DNA 재조합 기술에 의해(예를 들어, 아미노산 서열에서 시스테인 또는 프로테아제 절단 부위를 도입함으로써) 또는 단백질 생화학(예를 들어, 환원, pH 조절 또는 단백질 분해)에 의해, 항체 모이어티에 도입될 수 있다. 링커가 결합되는 부위는 또한 비천연 아미노산일 수 있다. 링커가 결합되는 부위는 또한 항체 상의 글리칸일 수 있다.

[0135] 전형적으로, 링커가 연결하는 2개의 기가 연결되는 조건하에서 링커는 실질적으로 비활성이다. 용어 "2작용성 가교제", "2작용성 링커" 또는 "가교제"는 링커의 각 말단에 2개의 반응성기를 갖는 변형체를 지칭하며, 하나의 반응성 기는 세포독성 화합물과 처음 반응되어 링커 모이어티를 보유하는 화합물을 제공할 수 있고, 이어서, 제 2 반응성기는 항체와 반응될 수 있다. 대안적으로, 2작용성 가교제의 하나의 말단은 항체와 처음 반응되어 링커 모이어티를 보유하는 항체를 제공할 수 있고, 이어서, 제 2 반응성기는 세포독성 화합물과 반응될 수 있다. 연결 모이어티는 특정 부위에서 세포독성 모이어티의 방출을 가능하게 하는 화학적 결합을 포함할 수 있다. 적합한 화학적 결합은 당업계에 잘 공지되어 있으며, 이황화결합, 티오에터 결합, 산 불안정 결합, 광불안정 결합, 프로테아제/펩티다제 불안정 결합, 및 에스테라제 불안정 결합을 포함한다. 예를 들어, 미국 특허 제5,208,020호; 제5,475,092호; 제6,441,163호; 제6,716,821호; 제6,913,748호; 제7,276,497호; 제7,276,499호; 제7,368,565호; 제7,388,026호 및 제7,414,073호를 참조하며, 이들 각각은 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

일부 실시형태에서, 결합은 이황화결합, 티오에터 및/또는 프로테아제/펩티다제 불안정 결합이다. 본 발명에서 사용될 수 있는 다른 링커는 비-절단성 링커, 예컨대, 미국 특허 제20050169933호에 상세하게 기재된 것, 하전된 링커 또는 친수성 링커, 예컨대, 미국 특허 공개 제2009/0274713호, 미국 특허 공개 제2010/0129314호 및 WO 2009/134976을 포함하며, 이들 각각은 본 명세서에 참조에 의해 분명하게 인용된다.

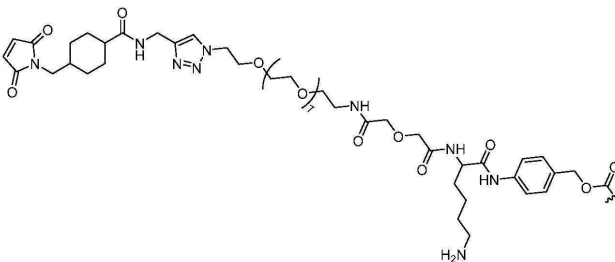
[0136] 일부 실시형태에서, 링커는 접합체에 소수성을 부여하는 친수성 링커이다. 일부 실시형태에서, 친수성 링커는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 친수성 링커는 CLA2이다. 일부 실시형태에서, CLA2 링커는 다음의 구조를 갖는다:



[0137]

[0138] CLA2는 미국 특허 제8,080,250호; 제8,759,496호; 및 제10,195,288호에 기재되어 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0139] 일부 실시형태에서, 친수성 링커는 CL2E이다. 일부 실시형태에서, CL2E 링커는 다음의 구조를 갖는다:

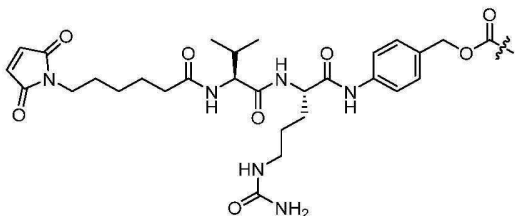


[0140]

[0141] CL2E는 미국 특허 제8,080,250호; 제8,759,496호; 및 제10,195,288호에 기재되어 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0142] 일부 실시형태에서, 링커는 세포내 환경에(예를 들어, 라이소솜 또는 엔도솜 또는 카베올라 내에) 존재하는 절단제에 의해 절단 가능하다. 링커는, 예를 들어, 라이소솜 또는 엔도솜 프로테아제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 세포내 또는 세포외 펩티다제 또는 프로테아제 효소에 의해 절단되는 펩타이드 링커일 수 있다. 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 적어도 5개의 아미노산 길이를 포함한다.

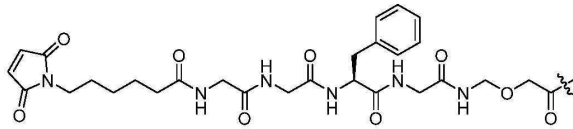
[0143] 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 발린 및 시트룰린 잔기를 포함하는 VC-PAB이다. 일부 이러한 실시형태에서, 펩타이드 링커는 MC-VC-PAB이다. 일부 실시형태에서, MC-VC-PAB 링커는 다음의 구조를 갖는다:



[0144]

[0145] MC-VC-PAB는 미국 특허 제7,659,241호; 제7,829,531호; 제6,884,869호; 제6,214,345호; 및 제6,214,345호에 기재되어 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0146] 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 글리신-글리신-페닐알라닌-글리신(GGFG)이다. 일부 이러한 실시형태에서, 펩타이드 링커는 말레이미도카프로일 글리신-글리신-페닐알라닌-글리신(MC-GGFG)이다. 일부 실시형태에서, MC-GGFG 링커는 다음의 구조를 갖는다:



[0147]

[0148]

MC-GGFG는 미국 특허 제9,808,537호; 및 제10,195,288호에 기재되어 있다, 이들 각각은 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0149]

다른 실시형태에서, 절단성 링커는 pH-민감성, 즉, 특정 pH에서 가수분해에 민감성이다. 일부 실시형태에서, pH-민감성 링커는 산성 조건하에 가수분해 가능하다. 예를 들어, 라이소솜에서 가수분해 가능한 산-불안정 링커(예를 들어, 하이드라존, 세미카바존, 티오세미카바존, 시스-아코니트산 아마이드, 오쏘에스터, 아세탈, 케탈 등)가 사용될 수 있다(예를 들어, 각각 본 명세서에 참조에 의해 인용된 미국 특허 제5,122,368호; 제5,824,805호; 제5,622,929호; 문헌[Dubowchik and Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83:67-123; Neville et al, 1989, Biol. Chem. 264: 14653-14661] 참조). 이러한 링커는 중성 pH 조건, 예컨대, 혈액 중에서 상대적으로 안정하지만, pH 5.5 또는 5.0 미만, 라이소솜의 대략의 pH에서 불안정하다. 특정 실시형태에서, 가수분해 가능한 링커는 티오에터 링커(예를 들어, 아실하이드라존 결합을 통해 치료제에 부착되는 티오에터이다(예를 들어, 본 명세서에 참조에 의해 인용된 미국 특허 제5,622,929호 참조)).

[0150]

다른 실시형태에서, 링커는 환원 조건하에 절단성이다(예를 들어, 이황화 링커). 이황화결합을 통해 세포독성 화합물과의 항체 결합을 가능하게 하는 2작용성 가교제는 N-석신이미딜-4-(4-나이트로피리딜-2-다이티오)부타노에이트, N-석신이미딜-3-(2-피리딜다이티오)프로피오네이트(SPDP), N-석신이미딜-4-(2-피리딜다이티오)펜타노에이트(SPP), N-석신이미딜-4-(2-피리딜다이티오)부타노에이트(SPDB), N-석신이미딜-4-(2-피리딜다이티오)-2-설포부타노에이트(설포-SPDB)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 설포-SPDB는, 예를 들어, 본 명세서에 참조에 의해 인용되는 미국 특허 제8,236,319호에 기재되어 있다. 대안적으로, 티올기를 도입하기 위한 가교제, 예컨대, 2-이미노티올란, 호모시스테인 티올락톤 또는 S-아세틸석신산 무수물이 사용될 수 있다. 다른 실시형태에서, 링커는 앞서 기재한 펩타이드, pH-민감성, 또는 이황화물 링커 중 하나 이상의 조합을 포함할 수 있다.

[0151]

"이종2작용성 가교제"는 2개의 상이한 반응기를 갖는 2작용성 가교제이다. 세포독성 화합물을 항체와 연결하기 위해 아민-반응성 N-하이드록시석신이미드기(NHS 기)와 카보닐-반응성 하이드라진기를 둘 다 포함하는 이종2작용성 가교제가 또한 사용될 수 있다. 이러한 상업적으로 입수 가능한 이종2작용성 가교제의 예는 석신이미딜 6-하이드라지노니코틴아마이드 아세톤 하이드라존(SANH), 석신이미딜 4-하이드라지도테레프탈레이트 하이드로클로라이드(SHTH) 및 석신이미딜 하이드라지늄 니코티네이트 하이드로클로라이드(SHNH)를 포함한다. 본 발명의 하이드라진-보유 벤조다이아제핀 유도체를 이용하여 산 불안정 결합을 유지하는 접합체가 또한 제조될 수 있다. 사용될 수 있는 2작용성 가교제의 예는 석신이미딜-p-폼일 벤조에이트(SFB) 및 석신이미딜-p-폼일페녹시아세테이트(SFPA)를 포함한다.

[0152]

본 명세서에 기재된 링커는 본 명세서에 기재된 이종성 모이어티와의 임의의 조합으로 사용될 수 있다. 또한, 본 명세서에 기재된 링커는 본 개시내용의 항원-결합 단백질의 임의의 부분(예를 들어, 아미노산, 이황화결합, 탄수화물(예를 들어, 번역후 변형으로부터 유래된 것))과 반응할 수 있는 임의의 화학적 반응 모이어티(예를 들어, 말레이미드, 시스테인 등)를 가질 수 있다. 종종, 항체 또는 항원-결합 단백질 상의 라이신 또는 시스테인(예를 들어, 환원된 이황화결합으로부터의(예를 들어, 항체 또는 항원-결합 단백질의 쇠간 또는 쇠내 이황화결합으로부터의) 시스테인 또는 조작된 짝지어지지 않은 시스테인)은 접합 부위로서 사용되었다. 상기 열거한 링커와 본 명세서에 기재된 이종성 모이어티는 모두 상업적으로 입수 가능하고/하거나 상기 열거한 참고문헌에 기재한 것을 포함하는 통상적인 기법에 의해 제조될 수 있다.

[0153]

접합

[0154]

이종성 모이어티-대-항원-결합 단백질 비(HAR)는 항원-결합 분자마다 연결된 이종성 모이어티의 수를 나타낸다. 일부 실시형태에서, HAR은 1 대 15, 1 대 10, 1 대 9, 1 대 8, 1 대 7, 1 대 6, 1 대 5, 1 대 4, 1 대 3, 또는 1 대 2의 범위이다. 일부 실시형태에서, HAR은 2 대 10, 2 대 9, 2 대 8, 2 대 7, 2 대 6, 2 대 5, 2 대 4 또는 2 대 3의 범위이다. 다른 실시형태에서, HAR은 약 2, 약 2.5, 약 3, 약 4, 약 5, 또는 약 6이다. 일부 실시형태에서, HAR은 약 2 내지 약 4의 범위이다. HAR은 통상적인 수단, 예컨대, 질량분석법, UV/Vis 분광학, ELISA 분석체(assay) 및/또는 HPLC에 의해 특성규명될 수 있다.

[0155]

일부 실시형태에서, 접합체는 이질 접합체("통상적"으로도 지칭됨)이되, 항원-결합 단백질은 상이한 수의 이종

성 모이어티에 접합된다. 일부 실시형태에서, 이질 접합체는 접합체의 가우시안(Gaussian) 분포 또는 준-가우시안 분포에 따르되, 분포는 평균 이중성 모이어티 부하 값으로 집중되며 일부 항원-결합 단백질은 평균보다 높게 접합되고, 일부 항원-결합 단백질은 평균보다 낮게 접합된다.

[0156]

일부 실시형태에서, 접합체는 동질 접합체이되, 항원-결합 단백질의 실질적인 백분율은 정해진 수의 모이어티에 접합된다. 일부 실시형태에서, 동질 접합체는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10의 HAR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 동질 접합체는 2, 4, 6 또는 8의 HAR을 포함한다. 바람직한 실시형태에서, 동질 접합체는 4의 HAR을 포함한다. 다른 바람직한 실시형태에서, 동질 접합체는 2의 HAR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 동질 접합체는 정해진 HAR과의 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 이상 또는 100%의 접합체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 동질 접합체는 정해진 HAR과의 약 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100%의 접합체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 동질 접합체는 정해진 HAR과의 적어도 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100%의 접합체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 동질 접합체는 가우시안 또는 준-가우시안 분포가 아닌 HAR 분포를 포함한다. 일부 실시형태에서, 동질 접합체의 동질성은 크로마토그램, 예를 들어, HPLC 또는 임의의 적합한 크로마토그래피에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 크로마토그램은 HIC 크로마토그램이다. 동질 접합체는 부위-특이적 접합에 의해 생성될 수 있다.

[0157]

일부 실시형태에서, 이중성 모이어티는 부위-특이적 방식으로 항원-결합 단백질(예를 들어, 항체)에 접합된다. 다양한 부위-특이적 접합 방법, 예를 들어, 짝지어지지 않은 시스템인 잔기에서의 티오맵(thiomab) 또는 TDC 또는 접합(Junutula *et al.* (2008) *Nat. Biotechnol.* 26:925-932; Dimasi *et al.* (2017) *Mol. Pharm.* 14:1501-1516; Shen *et al.* (2012) *Nat. Biotechnol.* 30:184-9); 티올 브리지 링커(Behrens *et al.* (2015) *Mol. Pharm.* 12:3986-98); 트랜스글루타미나제를 이용하는 글루타민에서의 접합(Dennler *et al.* (2013) *Methods Mol. Bio.* 1045:205-15; Dennler *et al.* (2014) *Bioconjug Chem.* 25:569-78); 조작된 비천연 아미노산 잔기에서의 접합(Axup *et al.* (2012) *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 104-16101-6; Tian *et al.* (2014) *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 111:1766-71; VanBrunt *et al.* (2015) *Bioconjug Chem* 26:2249-60; Zimmerman *et al.* (2014) *Bioconjug Chem* 25:351-61); 셀레노시스테인 접합(Li *et al.* (2017) *Cell Chem Biol* 24:433-442); 글리칸-매개 접합(Okeley *et al.* (2013) *Bioconjug Chem* 24:1650-5); 갈락토스 또는 GalNAc 유사체에서의 접합(Ramakrishnan and Qasba (2002) *J Biol Chem* 277:20833-9; van Geel *et al.* (2015) *Bioconjug Chem* 26:2233-42); 글리칸 조작을 통해(Zhou *et al.* (2014) *Bioconjug Chem* 25:510-20; Tang *et al.* (2017) *Nat Protoc* 12:1702-1721); 짧은 펩타이드 태그, 예컨대, 글루타민 태그 또는 솔타제 A-매개 펩타이드전달의 조작을 통해(Strop *et al.* (2013) *Chem Biol* 20:161-7; Beerli *et al.* (2015) *PLoS One* 10:e0131177); 그리고 알데하이드 태그를 통해(Wu *et al.* (2009) *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 106:3000-5) 당업계에 공지되어 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0158]

접합체(예를 들어, ADC)의 예측 불가능성

[0159]

사전에, 단순히 항체 프로파일, 또는 약물 페이로드 프로파일에 기반하여 예측할 수 없으며, 이의 항체-약물 접합체는 임상 용도에 충분히 안전하고 효과적인 것이다. 예를 들어, 특정 약물 페이로드는 하나의 표적으로 향하는 항체에 접합될 때 완벽하게 잘 기능할 수 있지만, 상이한 표적으로 향하는 항체에, 또는 심지어 동일한 표적으로 향하는 상이한 항체에 접합될 때에도 거의 작용하지 않을 수도 있다. 상이한 항체-약물 접합체가 생체내 상이한 항-종양 활성을 나타내는 이유는 새로운 항체-약물 접합체의 설계에서 정확한 예측을 가능하게 하도록 충분히 잘 이해되고 있지 않다. 다수 인자의 예측 불가능한 상호 작용은 어떤 역할을 한다는 것이 추측된다. 이들 인자는, 예를 들어, 표적 항원에 대한 항체-약물 접합체의 결합 친화도, 고형 종양에 침투하는 접합체의 능력뿐만 아니라 독성을 야기하는 일 없이 종양에 적절한 노출을 위한 순환에서의 반감기를 포함할 수 있다.

[0160]

복잡성 및 예측 불가능성은 항체 친화도 단독에 의해 잘 입증된다. 고친화도를 갖는 항체 또는 항체-약물 접합체는 더 양호한 세포 흡수를 추적하며, 이는 세포 내에서 방출된 보다 고수준의 세포독성 페이로드를 야기한다. 보다 고친화도는 또한 항체-의존적 세포의 세포독성(ADCC)을 향상시키는 것으로 알려져 있다. 이들 속성은 모두 항체-약물 접합체의 세포 사멸 성향을 유리하게 한다. 그러나, 또한 항체 또는 항체-약물 접합체의 고친화도는 "항원 장벽 효과"를 통한 효율적인 종양 침투를 방지할 수 있는 것으로 알려져 있으며, 이는 생체내 강한 항-종양 활성을 달성하기 위해, 항체-약물 접합체의 친화도는 너무 높거나 너무 낮지 않고 적당하여야 한다는 것을 시사한다. 지금까지, 항체-약물 접합체에 대한 친화도의 가장 효율적이거나 효과적인 수준이 되는 것을 예측하

는 방법은 알려져 있지 않다.

[0161] 또한, 생체내 항-종양 활성은 링커 및 페이로드 단독의 메커니즘에 의해 예측될 수 없다. 예를 들어, 본 명세서에 참조에 의해 인용된 문헌[0. Ab et al, *Mol. Cancer Ther.* 14(&):1605-1613 (2015)]은 전임상 암 모델에서 시험할 때, 상이한 링커를 통해 동일한 항-튜블린 독소에 접합된 동일한 항체는 극적으로 상이한 항-종양 활성을 나타낸다는 것을 입증하였다. 본 실시예는 두 링커의 화학적 구조가 매우 유사하기 때문에 특히 놀랍다. 또한, 우수한 접합체에 존재하는 링커는 친수성 모이어티를 포함하였다. 친수성 대물질은 일반적으로 막 침투성이 더 적으며, 라이소좀(접합체 분해 부위)으로부터의 유출물에서 더 느린 것으로 생각되고, 방출된 페이로드의 항-튜블린 활성에서 지연을 야기한다. 이 발견은 페이로드 전달의 "이상적인"동력학을 주장하지만, 지금까지, 이러한 동력학을 구성하는 것에 대한 통찰은 없다. 이 복잡성에 추가되는 것은 특정 세포 유형에 대해 정해진 경우에도 페이로드 전달의 이상적인 동력학이 모든 세포 유형에 적용되는지의 여부에 대한 제약이 없는 질문이다. 따라서, 링커 또는 페이로드의 화학적 조성으로부터 단지 더 효과적인생체내 항-종양 활성을 예측하는 것은 가능하지 않다.

[0162] 조성물, 약제학적 조성물 및 제형

[0163] 본 명세서에 개시된 바와 같은 항원-결합 단백질, 핵산, 벡터, 숙주 세포 또는 접합체를 포함하는 조성물이 본 명세서에 제공된다. 일부 양상에서 조성물은 단일 및/또는 정제된 형태로 항원-결합 단백질을 포함한다. 일부 양상에서, 조성물은 본 개시내용의 항원-결합 단백질의 단일 유형(예를 들어, 구조)을 포함하거나, 본 개시내용의 둘 이상의 항원-결합 단백질의 조합물을 포함하되, 조성물은 상이한 유형(예를 들어, 구조)의 둘 이상의 항원-결합 단백질을 포함한다.

[0164] 일부 양상에서, 조성물은 특정 온도, 예를 들어, 실온에서, 예를 들어, 항원-결합 단백질의 안정화를 통해 항원-결합 단백질의 화학-물리적 특성을 향상시켜, 보관수명을 증가시키고, 분해, 예를 들어, 산화 프로테아제 매개 분해를 감소시키며, 항원-결합 단백질의 반감기를 증가시키며, 기타 등등인 제제를 포함한다. 일부 양상에서, 조성물은 선택적으로 본 개시내용의 항원-결합 단백질에 혼합되거나 또는 항원-결합 단백질에 접합된 이중성 모이어티 또는 접합체 모이어티로서 본 명세서에 개시된 임의의 제제를 포함한다.

[0165] 본 개시내용의 다양한 양상에서, 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 항원-결합 단백질, 핵산, 벡터, 숙주 세포 또는 접합체(본 명세서에서 이후에 "활성제"로서 지칭됨)는 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제와 함께 활성제를 포함하는 약제학적 조성물로 제형화된다. 이와 관련하여, 본 개시내용은 대상체, 예를 들어, 포유류에 대한 투여용으로 의도되는 활성제를 포함하는 약제학적 조성물을 추가로 제공한다.

[0166] 일부 실시형태에서, 활성제는 환자에 투여하기에 적합한 순도 수준에서 약제학적 조성물에 존재한다. 일부 실시형태에서, 활성제는 적어도 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98% 또는 약 99%의 순도 수준, 및 약제학적으로 허용 가능 희석제, 담체 또는 부형제를 가진다. 일부 실시형태에서, 조성물은 약 0.001 내지 약 30.0mg/mL의 농도로 활성제를 함유한다.

[0167] 다양한 양상에서, 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "약제학적으로 허용 가능한 담체"는 임의의 표준 약제학적 담체, 예컨대, 인산염 완충 식염수 용액, 물, 에멀션, 예컨대, 오일/물 또는 물/오일 에멀션, 및 다양한 유형의 습윤제를 포함한다. 상기 용어는 또한 인간을 포함하는 동물에서 사용하기 위한 미연방정부의 규제 기관에 의해 승인되거나 미국 약전에서 열거되는 임의의 제제를 포함한다.

[0168] 약제학적 조성물은, 예를 들어, 산성화제, 첨가제, 흡착제, 에어로졸 추진제, 공기 이동제, 알칼리제, 고결방지제, 항응고제, 항균 보존제, 항산화제, 방부제, 염기, 결합제, 완충제, 킬레이트제, 코팅제, 착색제, 건조제, 세정제, 희석제, 소독약, 붕괴제, 분산제, 용해 향상제, 염료, 완화제, 유화제, 에멀션 안정제, 충전제, 필름 형성제, 향미 증진제, 향미제, 유동 향상제, 겔화제, 과립화제, 습윤화제, 윤활제, 점막접착제, 연고기제, 연고, 유성 비히클, 유기 염기, 파스틸 베이스, 색소, 가소제, 연마제, 보존제, 금속이온 봉쇄제, 피부 침투제, 가용화제, 용매, 안정제, 좌약 베이스, 표면 활성제, 계면활성제, 현탁제, 감미제, 치료제, 증점제, 등장제, 독성제, 점도-증가제, 물-흡수제, 물-혼화성 공용매, 연수제 또는 습윤제를 포함하는, 임의의 약제학적으로 허용 가능한 성분을 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 전문이 참조에 의해 인용된 문헌[the *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Third Edition, A. H. Kibbe (Pharmaceutical Press, London, UK, 2000)]. 본 명세서에 전문이 참조에 의해 인용된 문헌[*Remington's Pharmaceutical Sciences*, Sixteenth Edition, E. W.

Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980)].

- [0169] 다양한 양상에서, 약제학적 조성물은 사용되는 투약량 및 농도에서 수용자에 대해 비독성인 제형 물질을 포함한다. 구체적 실시형태에서, 약제학적 조성물은 활성제 및 하나 이상의 약제학적으로 허용 가능한 염; 폴리올; 계면활성제; 삼투 균형제; 등장제; 항산화제; 항생제; 항진균제; 증량제; 동결건조보호제; 소포제; 킬레이트제; 보존제; 착색제; 진통제; 또는 추가적인 약제학적 제제를 포함한다. 다양한 양상에서, 약제학적 조성물은 선택적으로, 약제학적으로 허용 가능한 염; 삼투 균형제(등장제); 항산화제; 항생제; 항진균제; 증량제; 동결건조보호제; 소포제; 킬레이트제; 보존제; 착색제; 및 진통제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 1종 이상의 부형제에 추가로, 하나 이상의 폴리올 및/또는 하나 이상의 계면활성제를 포함한다.
- [0170] 특정 실시형태에서, 약제학적 조성물은, 예를 들어, 조성물의 pH, 삼투압 농도, 점성도, 투명도, 색, 등장성, 냄새, 멸균, 안정성, 용해 또는 방출 속도, 흡착 또는 침투를 변형, 유지 또는 보존하기 위한 제형 물질을 함유할 수 있다. 이러한 실시형태에서, 적합한 제형 물질은 아미노산(예컨대, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 라이신); 항균제; 항산화제(예컨대, 아스코르브산, 황산나트륨 또는 아황산수소나트륨); 완충제(예컨대, 붕산염, 중탄산염, Tris-HCl, 시트르산염, 인산염 또는 기타 유기산); 증량제(예컨대, 만니톨 또는 글리신); 킬레이트제(예컨대, 에틸렌다이아민 테트라아세트산(EDTA)); 착화제(예컨대, 카페인, 폴리비닐피롤리돈, 베타-사이클로덱스트린 또는 하이드록시프로필-베타-사이클로덱스트린); 충전제; 단당류; 이당류; 및 기타 탄수화물(예컨대, 글루코스, 만노스 또는 텍스트린); 단백질(예컨대, 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린); 착색제, 향미제 및 희석제; 유화제; 친수성 중합체(예컨대, 폴리비닐피롤리돈); 저분자량 폴리펩타이드; 염-형성 반대이온(예컨대, 나트륨); 보존제(예컨대, 염화벤즈알코늄, 벤조산, 살리실산, 티메로살, 페네틸 알코올, 메틸 파라벤, 프로필파라벤, 클로르헥시딘, 술폰산 또는 과산화수소); 용매(예컨대, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜); 당 알코올(예컨대, 만니톨 또는 솔비톨); 현탁제; 계면활성제 또는 습윤제(예컨대, 플루로닉, PEG, 솔비탄 에스터, 폴리솔베이트, 예컨대, 폴리솔베이트 20, 폴리솔베이트, 트리톤, 트로메타민, 레시틴, 콜레스테롤, 킬로사팔); 안정성 향상제(예컨대, 수크로스 또는 솔비톨); 등장성 향상제(예컨대, 알칼리금속 할로젠화물, 바람직하게는, 염화나트륨 또는 염화칼륨, 만니톨 솔비톨); 전달 비히클; 희석제; 부형제 및/또는 약제학적 아유반트를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 명세서에 참조에 의해 인용된 문헌[REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18th Edition, (A. R. Genrmo, ed.), 1990, Mack Publishing Company] 참조.
- [0171] 약제학적 조성물은 생리적으로 적합한 pH를 달성하도록 제형화될 수 있다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물의 pH는, 예를 들어, 약 4 또는 약 5 및 약 8.0 또는 약 4.5 및 약 7.5 또는 약 5.0 내지 약 7.5일 수 있다. 다양한 실시형태에서, 약제학적 조성물의 pH는 5.5 내지 7.5이다.
- [0172] 본 개시내용은 약제학적 조성물을 생산하는 방법을 제공한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질, 접합체, 융합 단백질, 핵산, 벡터, 숙주 세포 또는 이들의 조합물을 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제와 조합하는 단계를 포함한다.
- [0173] 투여 경로
- [0174] 본 개시내용과 관련하여, 활성제 또는 이를 포함하는 약제학적 조성물은 임의의 적합한 투여 경로를 통해 대상체에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 활성제는 비경구, 비강, 경구, 폐, 국소, 질 또는 직장 투여를 통해 대상체에게 투여될 수 있다. 투여 경로에 대한 다음의 논의는 단지 다양한 실시형태를 예시하기 위해 제공되며, 범주를 임의의 방법으로 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.
- [0175] 비경구 투여에 적합한 제형은 항산화제, 완충제, 정균제 및 의도된 수용자의 혈액과 등장성인 제형을 제공하는 용질, 및 현탁제, 가용화제, 증점제, 안정제 및 보존제를 포함할 수 있는 수성 및 비-수성 멸균 현탁액을 함유할 수 있는, 수성 및 비-수성, 등장 멸균 주사 용액을 포함한다. 용어 "비경구"는 소화관을 통하지는 않지만 임의의 다른 경로, 예컨대, 피하, 근육내, 척수내 또는 정맥내와 같은 일부 다른 경로에 의함을 의미한다. 본 개시내용의 활성제는 약제학적으로 허용 가능한 계면활성제, 예컨대, 비누 또는 세정제, 현탁제, 예컨대, 펙틴, 카보머, 메틸셀룰로스, 하이드록시프로필메틸셀룰로스, 또는 카복시메틸셀룰로스, 또는 유화제 및 기타 약제학적 아유반트의 첨가와 함께 또는 첨가 없이 물, 식염수, 수성 텍스트로스 및 관련된 당 용액, 알코올, 예컨대, 에탄올 또는 헥사데실 알코올, 글리콜, 예컨대, 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜, 다이메틸설폭사이드, 글리세롤, 케탈, 예컨대, 2,2-다이메틸-153-다이옥솔란-4-메탄올, 에터, 폴리(에틸렌글리콜) 400, 오일, 지방산, 지방산 에스터 또는 글리세라이드 또는 아세틸화된 지방산 글리세라이드를 포함하는, 약제학적 담체, 예컨대, 멸균 액체 또는 액체의 혼합물 중의 생리학적으로 허용 가능한 희석제와 함께 투여될 수 있다.

- [0176] 비경구 제형에서 사용될 수 있는 오일은 석유, 동물, 식물성 또는 합성 오일을 포함한다. 오일의 구체적인 예는 땅콩유, 대두유, 참깨유, 면실유, 옥수수유, 올리브유, 석유 및 광유를 포함한다. 비경구 제형에서 사용하기 위한 적합한 지방산은 올레산, 스테아르산 및 아이소스테아르산을 포함한다. 에틸 올리에이트 및 아이소프로필 미리스테이트는 적합한 지방산 에스터의 예이다.
- [0177] 비경구 제형에서 사용하기 위한 적합한 비누는 지방 알칼리 금속, 암모늄 및 트라이에탄올아민 염을 포함하고, 적합한 세정제는 (a) 양이온성 세정제, 예를 들어, 다이메틸 다이알킬 암모늄 할로겐화물 및 알킬 피리디늄 할로겐화물, (b) 음이온성 세정제, 예를 들어, 알킬, 아릴 및 올레핀 설포네이트, 알킬, 올레핀, 에터 및 모노글리세라이드 설페이트, 및 설포석시네이트, (c) 비이온성 세정제, 예컨대, 지방 아민 옥사이드, 지방산 알칸올아마이드 및 폴리옥시에틸렌폴리프로필렌 공중합체, (d) 양쪽성 세정제, 예를 들어, 알킬-β-아미노프로피오네이트 및 2-알킬-이미다졸린 4차 암모늄염, 및 (e) 이들의 혼합물을 포함한다.
- [0178] 일부 실시형태에서, 비경구 제형은 용액 중 약 0.5중량% 내지 약 25중량%의 본 개시내용의 활성제를 함유한다. 보존제 및 완충제가 사용될 수 있다. 주사 부위에서 자극을 최소화 또는 제거하기 위해, 이러한 조성물은 친수성-친유성 밸런스(HLB)가 약 12 내지 약 17인 1종 이상의 비이온성 계면활성제를 함유할 수 있다. 이러한 제형 중의 계면활성제의 양은 전형적으로 약 5중량% 내지 약 15중량%의 범위일 것이다. 적합한 계면활성제는 폴리에틸렌 글리콜 솔비탄 지방산 에스터, 예컨대, 솔비탄 모노올리에에트, 및 프로필렌 옥사이드와 프로필렌 글리콜의 축합에 의해 형성된 소수성 염기와 에틸렌 옥사이드의 고분자량 부가물을 포함한다. 일부 양상에서 비경구 제형은 단일-용량 또는 다회 용량의 밀봉 용기, 예컨대, 앰플 및 바이알로 제공되며, 사용 직전에 주사를 위해 멸균 액체 부형제, 예를 들어, 물의 첨가만을 필요로 하는 냉동-건조(동결건조) 조건에 저장될 수 있다. 일부 양상에서 즉석 주사 용액 및 현탁액은 앞서 기재한 종류의 멸균 분말, 과립 및 정제로부터 제조된다.
- [0179] 주사용 제형은 본 개시내용에 따른다. 주사용 조성물에 효과적인 약제학적 담체에 대한 필요는 당업자에게 잘 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Pharmaceutics and Pharmacy Practice, J. B. Lippincott Company, Philadelphia, PA, Banker and Chalmers, eds., 페이지 238-250 (1982), 및 ASHP Handbook on Injectable Drugs, Toissel, 4th ed., 페이지 622-630 (1986)] 참조), 이들 각각은 본 명세서에 참조에 의해 인용된다).
- [0180] 투약량
- [0181] 본 개시내용의 활성제는 종양 성장을 저해하는 방법뿐만 아니라 암을 치료 또는 예방하는 방법을 포함하는 본 명세서에 추가로 기재하는 바와 같은 다른 방법에서 유용한 것으로 여겨진다. 본 개시내용의 목적을 위해, 투여되는 활성제의 양 또는 용량은 합리적인 시간들에 걸쳐 대상체 또는 동물에서, 예를 들어, 치료적 또는 예방적 반응을 달성하는 데 충분하여야 한다. 예를 들어, 본 개시내용의 활성제의 용량은 투여 시간으로부터 약 1 내지 4분, 1 내지 4시간 또는 1 내지 4주 이상, 예를 들어, 5 내지 20주 이상의 기간에 본 명세서에 기재된 바와 같은 암을 치료하는 데 충분하여야 한다. 특정 실시형태에서, 시간 기간은 훨씬 더 길 수 있다. 용량은 특정 활성제의 효능 및 동물(예를 들어, 인간)의 병태뿐만 아니라 치료될 동물(예를 들어, 인간)의 체중에 의해 결정될 것이다.
- [0182] 투여되는 용량을 결정하기 위한 다수의 분석은 당업계에 공지되어 있다. 본 명세서의 목적을 위해, 주어진 용량의 본 개시내용의 활성제의 포유류 세트(세트 각각에 상이한 용량의 활성제가 제공됨) 중 포유류에 대한 투여 시 암이 치료되는 정도를 비교하는 분석은 포유류에게 투여될 개시 용량을 결정하는 데 사용될 수 있었다. 특정 용량의 투여 시 암이 치료되는 정도는, 예를 들어, 마우스 이종이식 모델에서 활성제에 의해 달성되는 종양 퇴행 정도로 나타낼 수 있다. 종양 퇴행을 분석하는 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 본 명세서에 기재되어 있다.
- [0183] 본 개시내용의 활성제의 용량은 또한 본 개시내용의 특정 활성제의 투여를 수반할 수 있는 존재, 특성 및 임의의 부작용의 정도에 의해 결정될 것이다. 전형적으로, 담당의사는 각각의 개개 환자를 치료하기 위해, 다양한 인자, 예컨대, 연령, 체중, 일반적 건강상태, 식이요법, 성별, 투여될 본 개시내용의 활성제, 투여 경로, 및 치료 중인 병태의 중증도를 고려하여 본 개시내용의 활성제의 투약량을 결정할 것이다. 본 개시내용을 제한하려는 의도가 아니고 예로서, 본 개시내용의 활성제의 용량은 약 0.0001 내지 약 1g/kg 치료 중인 대상체의 체중/일, 약 0.0001 내지 약 0.001g/kg 체중/일, 또는 약 0.01 mg 내지 약 1g/kg 체중/일일 수 있다.
- [0184] 제어 방출 제형
- [0185] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 활성제가 투여되는 신체로 이것이 방출되는 방식이 시간 및 신체 내의 위치와 관련하여 제어되도록 본 명세서에 기재된 활성제는 데포 형태로 변형될 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제

4,450,150호 참조). 본 개시내용의 활성제의 데포 형태는, 예를 들어, 활성제 및 다공성 및 비다공성 물질, 예컨대, 중합체를 포함하는 이식 가능한 조성물일 수 있되, 활성제는 물질 및/또는 비다공성 물질의 분해에 의해 캡슐화되거나 전체적으로 확산된다. 이어서, 데포는 대상체 신체 내의 목적하는 위치에 이식되고, 활성제는 사전결정된 속도로 이식물로부터 방출된다.

[0186] 특정 양상에서 활성제를 포함하는 약제학적 조성물은 생체내 방출 프로파일의 임의의 유형을 갖도록 변형된다. 일부 양상에서, 약제학적 조성물은 즉시 방출, 제어 방출, 지속 방출, 연장 방출, 지연 방출 또는 2상 방출 제형이다. 제어 방출을 위한 펩타이드를 제형화하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Qian et al., *J Pharm* 374: 46-52 (2009)] 및 국제 특허 출원 공개 WO 2008/130158, WO2004/033036; WO2000/032218; 및 WO 1999/040942를 참조하며, 이들 각각은 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0187] 본 조성물은, 예를 들어, 마이셀 또는 리포솜, 또는 일부 다른 캡슐화된 형태를 추가로 포함할 수 있거나, 또는 장기간의 저장 및/또는 전달 효과를 제공하기 위해 연장된 방출 형태로 투여될 수 있다.

[0188] 용도

[0189] 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 종양 성장을 저해하는 데 유용하다. 특정 이론으로 구속되는 일 없이, 본 명세서에 제공된 항원-결합 단백질의 저해 작용은 이러한 독립체가 암을 치료하는 방법에서 유용하게 되는 것을 가능하게 한다.

[0190] 따라서, 대상체에서 종양 성장을 저해하는 방법 및 대상체에서 종양 크기를 감소시키는 방법이 본 명세서에 제공된다. 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 종양 성장을 저해하거나 또는 대상체에서 종양 크기를 감소시키는 데 유효한 양으로 본 개시내용의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 다양한 양상에서, 난소 종양, 흑색종 종양, 방광 종양 또는 자궁내막 종양의 성장은 저해된다. 다양한 양상에서, 난소 종양, 흑색종 종양, 방광 종양 또는 자궁내막 종양의 크기는 감소된다.

[0191] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "저해하다" 또는 "감소시키다" 및 이로부터 파생된 단어는 100% 또는 완전한 저해 또는 감소가 아닐 수도 있다. 오히려, 당업자가 잠재적 이점 또는 치료 효과를 갖는 것으로 인식하는 다양한 정도의 저해 또는 감소가 있다. 이와 관련하여, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 종양 성장을 저해하거나 또는 종양 크기를 임의의 양 또는 수준까지 감소시킬 수 있다. 다양한 실시형태에서, 본 개시내용의 방법에 의해 제공되는 저해는 적어도 또는 약 10% 저해(예를 들어, 적어도 또는 약 20% 저해, 적어도 또는 약 30% 저해, 적어도 또는 약 40% 저해, 적어도 또는 약 50% 저해, 적어도 또는 약 60% 저해, 적어도 또는 약 70% 저해, 적어도 또는 약 80% 저해, 적어도 또는 약 90% 저해, 적어도 또는 약 95% 저해, 적어도 또는 약 98% 저해)이다. 다양한 실시형태에서, 본 개시내용의 방법에 의해 제공되는 감소는 적어도 또는 약 10% 감소(예를 들어, 적어도 또는 약 20% 감소, 적어도 또는 약 30% 감소, 적어도 또는 약 40% 감소, 적어도 또는 약 50% 감소, 적어도 또는 약 60% 감소, 적어도 또는 약 70% 감소, 적어도 또는 약 80% 감소, 적어도 또는 약 90% 감소, 적어도 또는 약 95% 감소, 적어도 또는 약 98% 감소)이다.

[0192] 암, 예를 들어, CDH17-발현 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법이 본 명세서에서 추가로 제공된다. 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 대상체에서 암을 치료하는 데 유효한 양으로 본 개시내용의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0193] 본 명세서의 목적을 위해, 본 명세서에 개시된 방법의 암은 림프계 또는 혈류를 통해 신체의 다른 부분으로 확산될 수 있는 임의의 암, 예를 들어, 비정상적 및 제어되지 않는 세포분열에 의해 야기되는 임의의 악성 성장 또는 종양일 수 있다. 일부 양상에서 암은 급성 림프구성 암, 급성 골수성 백혈병, 포상형문근육종, 골암, 뇌암, 유방암, 항문, 항문관, 또는 항문의 암, 눈의 암, 간내담관의 암, 관절암, 목의 암, 담낭, 또는 흉막, 코, 비강 또는 중이의 암, 구강암, 음문암, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수 암, 결장암, 식도암, 자궁경부암, 위장 유암 종양, 호지킨 림프종, 하인두암, 신장암, 후두암, 간암, 폐암, 악성 중피종, 흑색종, 다발성 골수종, 비인두암, 비호지킨 림프종, 난소암, 췌장암, 복막, 장막, 및 장간막암, 인두암, 전립선암, 직장암, 신암(예를 들어, 신세포 암종(RCC)), 소장암, 연조직암, 위암, 고환암, 갑상선암, 자궁암 및 비뇨기 방광암으로 이루어진 군으로부터 선택된 것이다. 특정 양상에서, 암은 두경부, 난소, 자궁경부, 방광 및 식도암, 췌장, 위장암, 위, 유방, 자궁내막 및 결장직장암, 간세포암종, 교모세포종, 방광, 폐암, 예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC), 기관지 폐포암으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 다양한 양상에서, 암은 췌장암, 위장암, 방광암, 결장암, 폐암, 간암, 자궁내막암이다. 다양한 양상에서, 암은 CDH17의 중간 내지 고발현을 특징으로 하는 임의의 암이다. 예를 들어, 도 1 참조. 다양한 양상에서, 암은 급성 골수성 백혈병, 거대 B-세포 림프종, 위암, 전립선암, 흑색종,

결장암, 직장암, 방광암, 자궁경부암, 간암, 유방암, 신장 투명세포 암종, 두경부암, 육종, 신장 혈색소성암, 저등급 신경교종, 부신피질암, 교모세포종, 신장 유두상 세포 암종, 폐편평세포 암종, 갑상선암, 폐 선암종, 췌장암, 자궁내막암, 자궁 암육종 또는 난소암이다. 다양한 양상에서, 암은 췌장암, 위장암, 방광암, 결장암, 폐암, 간암, 난소암, 자궁내막모양암, 자궁암, 폐암, 위암, 유방암 두경부 편평세포암종(HNSCC) 암 및 자궁경부암 으로부터 선택된다.

[0194] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "치료하다"뿐만 아니라 이와 관련된 단어가 반드시 100% 또는 완전한 치료를 나타내지는 않는다. 오히려, 당업자가 잠재적 이점 또는 치료 효과를 갖는 것으로 인식하는 다양한 정도의 치료가 있다. 이와 관련하여, 본 개시내용의 암 치료 방법은 임의의 양 또는 임의의 수준의 치료를 제공할 수 있다. 더 나아가, 본 개시내용의 방법에 의해 제공되는 치료는 치료 중인 암의 한 가지 이상의 병태 또는 증상 또는 징후의 치료를 포함할 수 있다. 또한, 본 개시내용의 방법에 의해 제공되는 치료는 암 진행을 늦추는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 방법은 T 세포 활성화 또는 암에 대한 면역 반응 향상, 종양 또는 암 성장의 감소, 종양 세포 전이의 감소, 종양 또는 암 세포의 세포 사멸 증가 등에 의해 암을 치료할 수 있다. 다양한 양상에서, 상기 방법은 적어도 1일, 2일, 4일, 6일, 8일, 10일, 15일, 30일, 2개월, 3개월, 4개월, 6개월, 1년, 2년, 3년, 4년 이상만큼 암의 발병 또는 재발을 지연시킴으로써 치료한다. 다양한 양상에서, 상기 방법은 대상체의 생존을 증가시킴으로써 치료한다.

[0195] 본 개시내용의 항원 결합 단백질은 또한 샘플에서 CDH17을 검출하거나, CDH17-양성암을 진단하는 데 사용될 수 있다. 따라서, 본 개시내용은 샘플에서 CDH17을 검출하는 방법을 제공한다. 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 샘플을 본 명세서에 기재된 바와 같은 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질과 접촉시키는 단계 및 CDH17에 결합된 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질을 포함하는 면역복합체를 분석하는 단계를 포함한다. 본 개시내용은 또한 대상체에서 CDH17-양성 암을 진단하는 방법을 제공한다. 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 대상체로부터 얻은 세포 또는 조직을 포함하는 생물학적 샘플을 본 명세서에 기재된 바와 같은 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질과 접촉시키는 단계 및 CDH17에 결합된 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질을 포함하는 면역복합체를 분석하는 단계를 포함한다.

[0196] *대상체*

[0197] 본 개시내용의 일부 실시형태에서, 대상체는 쥐설치류보목의 포유류, 예컨대, 마우스 및 햄스터, 및 토끼목의 포유류, 예컨대, 토끼, 식육목으로부터의 포유류, 예를 들어, 고양이과(고양이) 및 개과(개), 우제목으로부터의 포유류, 예를 들어, 소(젓소) 및 돼지(피그) 또는 기체류목, 예를 들어, 말과(말)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 포유류이다. 일부 양상에서, 포유류는 영장류목, 꼬리감는원숭이과 또는 시미안(원숭이) 또는 원숭이하목(인간 및 유인원)을 가진다. 일부 양상에서, 포유류는 인간이다.

[0198] *키트*

[0199] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 키트로 제공된다. 다양한 양상에서, 키트는 항원-결합 단백질(들)을 단위 용량으로서 포함한다. 본 명세서의 목적을 위해 "단위 용량"은 적합한 담체에서 분산된 별개의 양을 지칭한다. 다양한 양상에서, 단위 용량은 목적하는 효과, 예를 들어, 종양 성장의 저해, 종양 크기의 감소, 암 치료를 대상체에게 제공하기에 충분한 양이다. 따라서, 선택적으로 단위 용량으로 제공되는 본 개시내용의 항원-결합 단백질을 포함하는 키트가 본 명세서에 제공된다. 다양한 양상에서, 키트는 몇몇 단위 용량, 예를 들어 단위 용량의 1주 또는 1개월의 공급을 포함하고, 선택적으로, 이들 각각은 개개로 패키징되거나 또 다르게는 다른 단위 용량으로부터 분리된다. 일부 실시형태에서, 키트/단위 용량의 성분은 환자에 대한 투여를 위한 지침과 함께 패키징된다. 일부 실시형태에서, 키트는 환자에 투여를 위해 하나 이상의 장치, 예를 들어, 바늘 및 주사기 등을 포함한다. 일부 양상에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질, 이의 약제학적으로 허용 가능한 형태, 항원-결합 단백질을 포함하는 접합체, 또는 항원-결합 단백질을 포함하는 다량체 또는 이량체는 바로 사용 가능한 형태, 예를 들어, 주사기, 정맥주사 백 등으로 사전 패키징된다. 일부 양상에서, 키트는 본 명세서에 기재된 임의의 것을 포함하는 다른 치료제 또는 진단제 또는 약제학적으로 허용 가능한 담체(예를 들어, 용매, 완충제, 희석제 등)를 추가로 포함한다. 특정 양상에서, 키트는 화학치료 또는 방사선치료에서 사용되는 제제, 예를 들어, 치료제와 함께 본 개시내용의 항원-결합 단백질을 포함한다.

[0200] *다양한 실시형태*

[0201] 본 개시내용의 다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 인간 CDH17 단백질에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 CDH17의 ECD에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 CDH17의

ECD로부터 유래된 하나 이상의 펩타이드(들) 또는 폴리펩타이드(들)에 결합한다. 일부 실시형태에서, CDH17에 대한 항원-결합 단백질의 결합은 펩타이드 또는 폴리펩타이드의 아미노산 서열에 따른다. 본 발명의 일부 양상에서, CDH17에 대한 항원-결합 단백질은 CDH17 또는 CDH17의 ECD로부터 유래된 펩타이드 또는 폴리펩타이드의 3차원 입체구조(즉, 3차 구조)에 결합한다. 다른 실시형태에서, CDH17에 대한 항원-결합 단백질은 CDH17 또는 CDH17의 ECD로부터 유래된 펩타이드 또는 폴리펩타이드의 1차 구조 또는 입체구조(즉, 선형 입체구조)에 결합한다. 바람직한 실시형태에서, CDH17에 대한 항원-결합 단백질은 CDH17의 ECD로부터 유래된 LDANGII에 결합한다. 또 다른 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 CDH17의 ECD로부터 유래된 DANGI에 결합한다. CDH17 단백질에 결합하는 항원-결합 단백질의 구체적인 예는 표 1 내지 표 5 및 표 9에 나타난 것을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0202] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 Fc 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 비푸코실화된 글리칸을 포함하는 Fc 폴리펩타이드를 포함한다.

[0203] 다양한 양상에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 항체, 예를 들어, 단클론성 항체이다. 다양한 예에서, 항원-결합 단백질은 IgG이다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 연한천 3D 증식 분석에서 적어도 약 50%의 콜로니 성장을 저해하거나 인간 암세포가 주사된 이종이식 마우스에서 종양 성장을 저해한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 난소암 세포, 흑색종암 세포, 방광 암세포 또는 자궁내막암 세포가 주사된 이종이식 마우스의 종양 성장을 저해한다. 다양한 예에서, 항원-결합 단백질은 난소암 세포, 방광암 세포 또는 자궁내막암 세포가 주사된 이종이식 마우스에서 적어도 50%의 종양 성장을 저해한다.

[0204] 특정 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 (a) GYTFXDXT(서열번호 55)의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(여기서, 5번 위치에서 X는 N, S, R, Q, A 또는 T이고, 7번 위치에서 X는 H, W, Y 또는 F임); (b) IFPRDDIV(서열번호 14)의 아미노산 서열 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 단지 1개 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR2; (c) ARPPYYYSRNFYFDY(서열번호 15)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR3; (d) SIISSSK(서열번호 16)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR1; (e) GTS(서열번호 17)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR2; (f) QQWSNYPFT(서열번호 18)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR3; 또는 (g) (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 THNLQVAALDANGIIVEGVPIT(서열번호 82), THNLQVAALDANGII(서열번호 83), QVAALDANGIIVEGP(서열번호 84), LDANGIIVEGVPIT(서열번호 85), LDANGII(서열번호 53) 또는 DANGI(서열번호 54) 중 어느 것의 아미노산 서열을 포함하는 에피토프에 추가로 결합한다.

[0205] 특정 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 (a) GYTFXSXN(서열번호 56)의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(여기서, 5번 위치에서 X는 N, S, R, Q, A 또는 T이고, 7번 위치에서 X는 H, W, Y 또는 F임); (b) IYPNGGDT(서열번호 2)의 아미노산 서열 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 단지 1개 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR2; (c) ARGRGRYFEY(서열번호 3)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR3; (d) SSVSSSY(서열번호 4)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR1; (e) STS(서열번호 5)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR2; (f) QQYDSSPST(서열번호 6)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR3; 또는 (g) (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 THNLQVAALDANGIIVEGVPIT(서열번호 82), THNLQVAALDANGII(서열번호 83), QVAALDANGIIVEGP(서열번호 84), LDANGIIVEGVPIT(서열번호 85), LDANGII(서열번호 53) 또는 DANGI(서열번호 54) 중 어느 것의 아미노산 서열을 포함하는 에피토프에 추가로 결합한다.

[0206] 특정 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 (a) GYTFXDXY(서열번호 57)의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(여기서, 5번 위치에서 X는 N, S, R, Q, A 또는 T이고, 7번 위치에서 X는 H, W, Y 또는 F임); (b) IYPYSGGI(서열번호 8)의 아미노산 서열 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 단지 1개 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR2; (c) ARGRGDYFGLFDF(서열번호 9)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR3; (d) SSLSY(서열번호 10)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의

서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR1; (e) EIS(서열번호 11)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR2; (f) QQWNPFT(서열번호 12)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR3; 또는 (g) (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 THNLQVAALDANGIIVEGPVPIT(서열번호 82), THNLQVAALDANGII(서열번호 83), QVAALDANGIIVEGP(서열번호 84), LDANGIIVEGPVPIT(서열번호 85), LDANGII(서열번호 53) 또는 DANGI(서열번호 54) 중 어느 것의 아미노산 서열을 포함하는 에피토프에 추가로 결합한다.

[0207]

특정 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 (a) GYTFXXXX(서열번호 81)의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(여기서, 5번 위치에서 X는 N, S, R, Q, A 또는 T이고, 6번 위치에서 X는 D 또는 S이며, 7번 위치에서 X는 H, W, Y 또는 F이고, 8번 위치에서 X는 Y, T 또는 N임); (b) IFPRDDIV(서열번호 14)의 아미노산 서열 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 단지 1개 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR2; (c) ARPPYYYSRNFYFDY(서열번호 15)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR3; (d) SIISSSK(서열번호 16)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR1; (e) GTS(서열번호 17)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR2; (f) QQWSNPFT(서열번호 18)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR3; 또는 (g) (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 THNLQVAALDANGIIVEGPVPIT(서열번호 82), THNLQVAALDANGII(서열번호 83), QVAALDANGIIVEGP(서열번호 84), LDANGIIVEGPVPIT(서열번호 85), LDANGII(서열번호 53) 또는 DANGI(서열번호 54) 중 어느 것의 아미노산 서열을 포함하는 에피토프에 추가로 결합한다.

[0208]

특정 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 (a) GYTFXXXX(서열번호 81)의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(여기서, 5번 위치에서 X는 N, S, R, Q, A 또는 T이고, 6번 위치에서 X는 D 또는 S이며, 7번 위치에서 X는 H, W, Y 또는 F이고, 8번 위치에서 X는 Y, T 또는 N임); (b) IYPGNGDT(서열번호 2)의 아미노산 서열 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 단지 1개 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR2; (c) ARGRGRYFEY(서열번호 3)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR3; (d) SSVSSSY(서열번호 4)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR1; (e) STS(서열번호 5)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR2; (f) QQYDSSPST(서열번호 6)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR3; 또는 (g) (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 THNLQVAALDANGIIVEGPVPIT(서열번호 82), THNLQVAALDANGII(서열번호 83), QVAALDANGIIVEGP(서열번호 84), LDANGIIVEGPVPIT(서열번호 85), LDANGII(서열번호 53) 또는 DANGI(서열번호 54) 중 어느 것의 아미노산 서열을 포함하는 에피토프에 추가로 결합한다.

[0209]

특정 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 (a) GYTFXXXX(서열번호 81)의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(여기서, 5번 위치에서 X는 N, S, R, Q, A 또는 T이고, 6번 위치에서 X는 D 또는 S이며, 7번 위치에서 X는 H, W, Y 또는 F이고, 8번 위치에서 X는 Y, T 또는 N임); (b) IYPYSGGI(서열번호 8)의 아미노산 서열 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 단지 1개 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR2; (c) ARGRGDYFGLFDF(서열번호 9)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR3; (d) SSLSY(서열번호 10)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR1; (e) EIS(서열번호 11)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR2; (f) QQWNPFT(서열번호 12)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR3; 또는 (g) (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 THNLQVAALDANGIIVEGPVPIT(서열번호 82), THNLQVAALDANGII(서열번호 83), QVAALDANGIIVEGP(서열번호 84), LDANGIIVEGPVPIT(서열번호 85), LDANGII(서열번호 53) 또는 DANGI(서열번호 54) 중 어느 것의 아미노산 서열을 포함하는 에피토프에 추가로 결합한다.

- [0210] 특정 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 THNLQVAALDANGIIIEGVPVIT(서열번호 82), THNLQVAALDANGII(서열번호 83), QVAALDANGIIIEGP(서열번호 84), LDANGIIIEGVPVIT(서열번호 85), LDANGII(서열번호 53) 또는 DANGI(서열번호 54) 중 어느 것의 아미노산 서열을 포함하는 에피토프에서 인간 카데린-17(CDH17)에 특이적으로 결합한다.
- [0211] 특정 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 THNLQVAALDANGIIIEGVPVIT(서열번호 82), THNLQVAALDANGII(서열번호 83), QVAALDANGIIIEGP(서열번호 84), LDANGIIIEGVPVIT(서열번호 85), LDANGII(서열번호 53) 또는 DANGI(서열번호 54) 중 어느 것의 아미노산 서열을 포함하는 에피토프에서 인간 카데린-17(CDH17)에 특이적으로 결합하되, CDH17 에피토프에 대한 항원-결합 단백질의 결합은 CDH17 활성을 감소시키거나 저해한다.
- [0212] 특정 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 THNLQVAALDANGIIIEGVPVIT(서열번호 82), THNLQVAALDANGII(서열번호 83), QVAALDANGIIIEGP(서열번호 84), LDANGIIIEGVPVIT(서열번호 85), LDANGII(서열번호 53) 또는 DANGI(서열번호 54) 중 어느 것의 아미노산 서열을 포함하는 에피토프에서 인간 카데린-17(CDH17)에 특이적으로 결합하여, CDH17의 과발현자인 것으로 진단된 대상체의 종양 성장을 저해하고/하거나 종양 크기를 감소시키고/시키거나, 암 재발을 방지하고/하거나 암을 치료한다.
- [0213] 본 개시내용은 CDH17 및 제2 항원에 결합하는 이중특이성 항원-결합 단백질을 제공하되, CDH17에 결합하는 항원-결합 단백질은 본 명세서에 기재된 항원-결합 단백질 중 어느 하나이다. 일부 실시형태에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은: (a) 표 1 내지 표 4에 제시된 중쇄 가변 영역 아미노산 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (b) 표 1 내지 표 4에 제시된 경쇄 가변 영역 아미노산 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는 (c) (a)와 (b) 둘 다를 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 서열은 적어도 약 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는다. 일부 실시형태에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 Fc 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 비푸코실화된 글리칸을 포함하는 Fc 폴리펩타이드를 포함한다.
- [0214] 다양한 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 CDH17 및 제2 항원에 결합한다. 일부 실시형태에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 제2 항원에 특이적인 항체의 항원-결합 단편을 포함한다. 다양한 실시형태에서, 제2 항원은 T 세포에 의해 발현되는 세포 표면 단백질, 선택적으로 T-세포 수용체(TCR)의 성분, 예를 들어 CD3이다. 일부 실시형태에서, 제2 항원은 CD3이다. 일부 실시형태에서, 제2 항원은 CD3E이다. 일부 실시형태에서, CDH17-CD3 이중특이성 항체는 07-0653-h43Bs, 07-0646-h7Bs 또는 07-0663-h7Bs이다.
- [0215] 다양한 실시형태에서, 제2 항원은 T-세포 활성화를 돕는 공자극 분자, 예를 들어, CD40 또는 4-1BB(CD137)이다. 다양한 실시형태에서, 제2 항원은 Fc 수용체, 선택적으로, Fc 감마 수용체, Fc-알파 수용체 또는 Fc-엡실론 수용체이다. 일부 실시형태에서, Fc 수용체는 CD64(Fc-감마 RI), CD32(Fc-감마 RIIA), CD16A(Fc-감마 RIIB), CD16b(Fc-감마 RIIB), Fc ϵ RI, CD23(Fc-엡실론 RII), CD89(Fc-엡실론 RI), Fc α/μ R 또는 FcRn이다. 일부 실시형태에서, Fc 수용체는 CD16A이다.
- [0216] 다양한 실시형태에서, 제2 항원은 면역 관문 분자, 예를 들어, 면역 관문 경로에 관련된 단백질, 선택적으로, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA4, IDO, KIR, LAG3, NOX2, PD-1, TIM3, VISTA 또는 SIGLEC7이다. 일부 실시형태에서, 면역 관문 분자는 PD-1, LAG3, TIM3 또는 CTLA4이다. 다양한 실시형태에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 본 발명에 개시된 CDH17 항체 중 어느 것의 scFv, Fab 또는 F(ab)2'를 포함한다.
- [0217] 다양한 실시형태에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 표 1 내지 표 4, 또는 1 내지 5개의 아미노산이 다르고 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열을 포함하는 항원-결합 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 서열은 적어도 또는 약 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는다. 다양한 실시형태에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 나노바디, 다이어바디, BiTE®, DART, TandAb, CrossMab 또는 HSAbody의 구조를 포함한다.
- [0218] 본 개시내용은 본 명세서에 기재된 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질 및 이중성 모이어티를 포함하는 접합체를 제공한다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 표 1 내지 표 4에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 접합체는 세포독성제 또는 화학치료제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 화학치료제는 튜블린 중합을 차단함으로써 세포분열을 저해하는 항유사분열제이다. 일부 실시형태에서, 항유사분열제는 아우리스타틴이다. 일부 실시형태에서, 아우리스타틴은 MMAE이다.

- [0219] 다양한 실시형태에서, 본 개시내용의 접합체는 절단성 링커를 통해 항원-결합 단백질에 접합된다. 일부 실시형태에서, 절단성 링커는 VC-PAB(예를 들어, MC-VC-PAB)이다.
- [0220] 일부 실시형태에서, 접합체는 항체가 단클론성 항체인 항원-결합 단백질을 포함하되, 선택적으로 단클론성 항체는 IgG 항체이다. 일부 실시형태에서, 항체는 인간 항체, 인간화된 항체 또는 키메라 항체이다.
- [0221] 다양한 실시형태에서, 본 개시내용의 접합체는 항원-결합 단백질당 접합된 제제 단위의 평균 수가 1 내지 8 범위이되, 바람직하게는 항원-결합 단백질당 접합된 제제 단위의 평균 수는 3 내지 8의 범위이다. 일부 실시형태에서, 접합체는 이질 접합체이다. 다른 실시형태에서, 접합체는 동질 접합체이다. 일부 실시형태에서, 접합체는 이중성 모이어티 또는 제제를 포함하되, 제제는 항원-결합 단백질의 특정 부위에 접합된다. 일부 실시형태에서, 특정 부위는 짝지어지지 않은 시스테인 잔기이다.
- [0222] 본 개시내용은 또한 본 명세서에 기재된 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질을 포함하는 융합 단백질을 제공한다. 본 개시내용은 본 개시내용의 항원-결합 단백질, 이중특이성 항원-결합 단백질, 접합체, 또는 융합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산을 추가로 제공한다. 본 개시내용은 본 개시내용의 항원 결합 단백질, 접합체, 또는 융합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산을 포함하는 벡터를 제공한다. 본 개시내용은 본 개시내용의 핵산 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 추가로 제공한다.
- [0223] 본 개시내용은 (i) 세포 배양 배지에서 본 개시내용의 숙주 세포를 배양시키는 단계로서, 숙주 세포는 본 명세서에 기재된 항원 결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산을 포함하는, 상기 숙주 세포를 배양시키는 단계, 및 (ii) 세포 배양 배지로부터 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질을 채취하는 단계를 포함하는, CDH17 단백질에 결합하는 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질을 생산하는 방법을 제공한다. 또한, (i) 세포 배양 배지에서 본 개시내용의 숙주 세포를 배양시키는 단계로서, 숙주 세포는 본 개시내용의 융합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산을 포함하는, 상기 숙주 세포를 배양시키는 단계, 및 (ii) 세포 배양 배지로부터 융합 단백질을 채취하는 단계를 포함하는, CDH17 단백질에 결합하는 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질을 포함하는 융합 단백질을 생산하는 방법이 제공된다.
- [0224] 본 개시내용은 더 나아가 본 개시내용의 항원-결합 단백질, 이중특이성 항원-결합 단백질, 접합체, 융합 단백질, 핵산, 벡터, 숙주 세포, 또는 이들의 조합물, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 조합하는 단계를 포함하는 약제학적 조성물의 생산 방법을 제공한다. 또한 본 개시내용의 항원-결합 단백질, 이중특이성 항원-결합 단백질, 접합체, 융합 단백질, 핵산, 벡터, 숙주 세포 또는 이들의 조합물, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.
- [0225] 암을 치료하기 위한 유효량으로 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 CDH17-발현 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법이 본 명세서에 제공된다. 또한 종양 성장을 저해하기 위한 유효량으로 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 종양 성장을 저해하는 방법이 제공된다. 본 개시내용은 종양 크기를 감소시키기 위한 유효량으로 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 종양 크기를 감소시키는 방법을 제공한다. 추가로 암의 재발을 방지하기 위한 유효량으로 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암의 재발을 방지하는 방법이 제공된다.
- [0226] 본 개시내용은 샘플을 본 개시내용의 항원-결합 단백질, 이중특이성 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질과 접촉시키는 단계, 및 CDH17에 결합된 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질을 포함하는 면역복합체를 분석하는 단계를 포함하는, 샘플에서 CDH17을 검출하는 방법을 제공한다. 또한 대상체로부터 얻은 세포 또는 조직을 포함하는 생물학적 샘플을 본 개시내용의 항원-결합 단백질, 이중특이성 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질과 접촉시키는 단계, 및 CDH17에 결합된 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질을 포함하는 면역복합체를 분석하는 단계를 포함하는, 대상체에서 CDH17-양성암을 진단하는 방법이 본 명세서에 제공된다.
- [0227] 본 개시내용은 또한 CDH17의 낮은 과발현자인 것으로 진단된 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 암의 재발을 방지하기 위한 유효량으로 본 명세서에 개시된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 양상에서, 투여하는 단계는 종양 세포에서의 세포자멸사를 유발하고, 선택적으로, 투여하는 단계는 CDH17을 발현시키는 세포에서 세포자멸사를 유발한다. 다양한 양상에서, 상기 대상체는 종양을 갖고, 종양은 4가지 그룹: 고발현자, 중간 발현자, 저발현자 및 비-발현자 중 하나로 준-정량

적으로 범주화된다.

- [0228] 본 개시내용은 또한 접합체를 생산하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 항원-결합 단백질 또는 이의 융합 단백질의 임의의 부분과 반응할 수 있는 화학적 반응기를 포함하는 제제와 항원-결합 단백질 또는 이의 융합 단백질을 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 링커 및 항원-결합 단백질 또는 이의 융합 단백질을 가교할 수 있는 제제 및 이작용성 링커와 항원-결합 단백질 또는 이의 융합 단백질을 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제제는 세포독성제 및/또는 화학치료제이다.
- [0229] 일부 실시형태에서, 접합체를 생산하는 방법은 (a) 세포 배양 배지에서 숙주 세포를 배양시키는 단계로서, 숙주 세포는 항원 결합 단백질 또는 이의 융합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 상기 숙주 세포를 배양시키는 단계, (b) 세포 배양 배지로부터 항원-결합 단백질 또는 융합 단백질을 채취하는 단계, 및 (c) 항원 결합 단백질 또는 융합 단백질을 제2 모이어티에 부착시켜 접합체를 생성하는 단계로서, 제2 모이어티는 세포독성제 또는 화학치료제인, 상기 생성하는 단계를 포함한다.
- [0230] 예시적인 실시형태
- [0231] 1. 항원-결합 단백질로서,
- [0232] a. 아미노산 서열:
- [0233] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVSGYTFTDHTIHWMRQAPQGLEWIGYIFPRDDIVVYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPPYYYSRNFYFDYWGGTTLTVSS(서열번호 49) 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 또는 적어도 또는 약 85%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역으로부터 유래된 CDR 1 내지 3; 및/또는
- [0234] b. 아미노산 서열:
- [0235] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRVSSIISSSKLHWYQQKPGKAPKPLIYGSTLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQWSNYPFTFGQGTKLEIK(서열번호 50) 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 또는 적어도 또는 약 85%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역으로부터 유래된 CDR 1 내지 3
- [0236] 을 포함하는, 항원-결합 단백질.
- [0237] 2. 항원-결합 단백질로서,
- [0238] a. 아미노산 서열:
- [0239] QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPQGLEWIGAIYPGNGDTSYAQKFQGRATLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGRGRYFEYWGGTTLTVSS(서열번호 45) 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 또는 적어도 또는 약 85%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역으로부터 유래된 CDR 1 내지 3; 및/또는
- [0240] b. 아미노산 서열:
- [0241] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTMTCRASSVSSSYLHWYQQKPGKAPKLLIYSTNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSVQPEDFATYYCQQYDSSPSTFGQGTKLEIK(서열번호 46) 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 또는 적어도 또는 약 85%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역으로부터 유래된 CDR 1 내지 3
- [0242] 을 포함하는, 항원-결합 단백질.
- [0243] 3. 항원-결합 단백질로서,
- [0244] a. 아미노산 서열:
- [0245] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYIMNHWVRQAPQGLEWMGVIYPYSGGIGYAQKFQGRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGRGDYFGLDFDWGGTITTVSS(서열번호 47) 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 또는 적어도 또는 약 85%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역으로부터 유래된 CDR 1 내지 3; 및/또는
- [0246] b. 아미노산 서열:
- [0247] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRATSSLSYIHWYQQKPGKAPKPLIYEISKLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQWNPFTFGQGTKLEIK(서열번호 48) 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 또는 적어도 또는 약 85%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역으로부터 유래된 CDR 1 내지 3
- [0248] 을 포함하는, 항원-결합 단백질.

- [0249] 4. 항원-결합 단백질로서,
- [0250] a. GYTFTDHT(서열번호 13)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR1;
- [0251] b. IFPRDDIV(서열번호 14)의 아미노산 서열 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 단지 1개 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR2;
- [0252] c. ARPPYYYSRNFYFDY(서열번호 15)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR3;
- [0253] d. SIISSSK(서열번호 16)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR1;
- [0254] e. GTS(서열번호 17)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR2;
- [0255] f. QQWSNYPFT(서열번호 18)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR3; 또는
- [0256] g. (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합
- [0257] 을 포함하는, 항원-결합 단백질.
- [0258] 5. 항원-결합 단백질로서,
- [0259] a. GYTFTSYN(서열번호 1)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR1;
- [0260] b. IYPGNGDT(서열번호 2)의 아미노산 서열 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 단지 1개 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR2;
- [0261] c. ARGGRGYFEY(서열번호 3)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR3;
- [0262] d. SSVSSSY(서열번호 4)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR1;
- [0263] e. STS(서열번호 5)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR2;
- [0264] f. QQYDSSPST(서열번호 6)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR3; 또는
- [0265] g. (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합
- [0266] 을 포함하는, 항원-결합 단백질.
- [0267] 6. 항원-결합 단백질로서,
- [0268] a. GYTFTDYY(서열번호 7)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR1;
- [0269] b. IYPYSGGI(서열번호 8)의 아미노산 서열 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 단지 1개 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR2;
- [0270] c. ARGGRDYFGLFDF(서열번호 9)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR3;
- [0271] d. SSLSY(서열번호 10)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR1;
- [0272] e. EIS(서열번호 11)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR2;

- [0273] f. QQWNPFT(서열번호 12)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR3; 또는
- [0274] g. (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합
- [0275] 을 포함하는, 항원-결합 단백질.
- [0276] 7. 4에 있어서,
- [0277] a. QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVS(서열번호 37)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR1;
- [0278] b. IHWMRQAPGQGLEWIGY(서열번호 38)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR2;
- [0279] c. VYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYC(서열번호 39)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR3;
- [0280] d. WGQGTTLTVSS(서열번호 40)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR4;
- [0281] e. DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRVS(서열번호 41)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR1;
- [0282] f. LHWYQQKPGKAPKPLIY(서열번호 42)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR2;
- [0283] g. TLASGVPSRFGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC(서열번호 43)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR3;
- [0284] h. FGQGTKLEIK(서열번호 44)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR4; 또는
- [0285] i. (a) 내지 (h) 중 임의의 둘 이상의 조합
- [0286] 을 추가로 포함하는, 항원-결합 단백질.
- [0287] 8. 5에 있어서,
- [0288] a. QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKAS(서열번호 21)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR1;
- [0289] b. MHWVRQAPGQGLEWIGA(서열번호 22)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR2;
- [0290] c. SYAQKFQGRATLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYC(서열번호 23)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR3;
- [0291] d. WGQGTTLTVSS(서열번호 24)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR4;
- [0292] e. DIQLTQSPSSLSASVGDRVTMTCRAS(서열번호 25)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR1;
- [0293] f. LHWYQQKPGKAPKLLIY(서열번호 26)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR2;
- [0294] g. NLASGVPSRFGSGSGTDYTLTISSVQPEDFATYYC(서열번호 27)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR3;
- [0295] h. FGQGTKLEIK(서열번호 28)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR4; 또는
- [0296] i. (a) 내지 (h) 중 임의의 둘 이상의 조합

- [0297] 을 추가로 포함하는, 항원-결합 단백질.
- [0298] 9. 6에 있어서,
- [0299] a. QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKAS(서열번호 29)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR1;
- [0300] b. MNWVRQAPGQGLEWMGV(서열번호 30)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR2;
- [0301] c. GYAQKFQGRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYC(서열번호 31)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR3;
- [0302] d. WGQGTITVTVSS(서열번호 32)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 FR4;
- [0303] e. DIQLTQSPSSLSASVGRVTITCRAT(서열번호 33)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR1;
- [0304] f. IHWYQQKPGKAPKPLIY(서열번호 34)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR2;
- [0305] g. KLASGVPSRFGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC(서열번호 35)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 FR3;
- [0306] h. FGQGTKLEIK(서열번호 36)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열의 경쇄 FR4; 또는
- [0307] i. (a) 내지 (h) 중 임의의 둘 이상의 조합
- [0308] 을 추가로 포함하는, 항원-결합 단백질.
- [0309] 10. 항원-결합 단백질로서,
- [0310] a.
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVSGYTFTDHTIHWMRQAPGQGLEWIGYIFPRDDIVVYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARPPYYYSRNFYFDYWGGTTLTVSS(서열번호 49)의 아미노산 서열 또는 단지 1 내지 5개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및/또는
- [0311] b.
DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRVSSIISSEKLHWYQQKPGKAPKPLIYGSTSLASGVPSRFGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQWSNYPFTFGQGTKLEIK(서열번호 50)의 아미노산 서열 또는 단지 1 내지 5개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역
- [0312] 을 포함하는, 항원-결합 단백질.
- [0313] 11. 항원-결합 단백질로서,
- [0314] a.
QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWIGAIYPGNGDTSYAQKFQGRATLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGRGRYFEYWGGTTLTVSS(서열번호 45)의 아미노산 서열 또는 단지 1 내지 5개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및/또는
- [0315] b.
DIQLTQSPSSLSASVGRVTMTCRASSVSSSYLHWYQQKPGKAPKLLIYSTNLASGVPSRFGSGSGTDYTLTISSVQPEDFATYYCQQYDSSPSTFGQGTKLEIK(서열번호 46)의 아미노산 서열 또는 단지 1 내지 5개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역
- [0316] 을 포함하는, 항원-결합 단백질.
- [0317] 12. 항원-결합 단백질로서,

- [0318] a.
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDYYMNWVRQAPGQGLEWMGVIYPYSGGIGYAQKFQGRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVVYVCARGRGD
YFGLFDWVGQGTITVSS(서열번호 47)의 아미노산 서열 또는 단지 1 내지 5개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는
약 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및/또는
- [0319] b.
DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRATSSLSYIHVYQKPGKAPKPLIYEISKLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQWNYPFTFGQGTKL
EIK(서열번호 48)의 아미노산 서열 또는 단지 1 내지 5개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 85%, 90%,
95%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역
- [0320] 을 추가로 포함하는, 항원-결합 단백질.
- [0321] 13. 인간 카데린-17(CDH17)에 특이적으로 결합하는 항원-결합 단백질로서,
- [0322] a. GYTFXDXT(서열번호 55)의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(여기서, 5번 위치에서 X는 N, S, R, Q, A 또
는 T이고, 7번 위치에서 X는 H, W, Y 또는 F임);
- [0323] b. IFPRDDIV(서열번호 14)의 아미노산 서열 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 단지 1개 또는 2개
의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR2;
- [0324] c. ARPPYYYSRNFYFDY(서열번호 15)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는
약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR3;
- [0325] d. SIISSSK(서열번호 16)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%
의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR1;
- [0326] e. GTS(서열번호 17)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는
경쇄 CDR2;
- [0327] f. QQWSNYPFT(서열번호 18)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 약 70%의 서
열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR3; 또는
- [0328] g. (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합
- [0329] 을 포함하는, 항원-결합 단백질.
- [0330] 14. 인간 카데린-17(CDH17)에 특이적으로 결합하는 항원-결합 단백질로서,
- [0331] a. GYTFXSXN(서열번호 56)의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(여기서, 5번 위치에서 X는 N, S, R, Q, A 또
는 T이고, 7번 위치에서 X는 H, W, Y 또는 F임);
- [0332] b. IYPGNGDT(서열번호 2)의 아미노산 서열 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 단지 1개 또는 2개의
아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR2;
- [0333] c. ARGRGRYFEY(서열번호 3)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약
70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR3;
- [0334] d. SSVSSSY(서열번호 4)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의
서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR1;
- [0335] e. STS(서열번호 5)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 경
쇄 CDR2;
- [0336] f. QQYDSSPST(서열번호 6)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 약 70%의 서
열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR3; 또는
- [0337] g. (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합
- [0338] 을 포함하는, 항원-결합 단백질.
- [0339] 15. 인간 카데린-17(CDH17)에 특이적으로 결합하는 항원-결합 단백질로서,
- [0340] a. GYTFXDXY(서열번호 57)의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(여기서, 5번 위치에서 X는 N, S, R, Q, A 또

는 T이고, 7번 위치에서 X는 H, W, Y 또는 F임);

- [0341] b. IYPYSGGI(서열번호 8)의 아미노산 서열 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 단지 1개 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR2;
- [0342] c. ARGGRGDYFGLFDF(서열번호 9)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 중쇄 CDR3;
- [0343] d. SLSY(서열번호 10)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR1;
- [0344] e. EIS(서열번호 11)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다른 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR2;
- [0345] f. QQWNPFT(서열번호 12)의 아미노산 서열 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산이 다르거나 적어도 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체 서열을 포함하는 경쇄 CDR3; 또는
- [0346] g. (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합
- [0347] 을 포함하는, 항원-결합 단백질.
- [0348] 16. 위의 실시형태 중 어느 하나 또는 본 명세서에 기재된 것에 있어서, 상기 변이체 서열은 적어도 약 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는, 항원-결합 단백질.
- [0349] 17. 인간 카데린-17(CDH17)에 특이적으로 결합하는 항원-결합 단백질로서,
- [0350] a.
 QQVLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVSGYTFTDHTIHWMRQAPGGLEWIGYIFPRDDIVVYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPPYY
 YSRNFYFDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI
 CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
 VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS
 FFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열번호 94)의 아미노산 서열을 포함하는 항체 중쇄; 및
- [0351] b.
 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRVSSIISSSKLHWYQQKPGKAPKPLIYGTSITLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQWSNYPFTFGQG
 TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSITLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
 PVTCSFNRGEC(서열번호 95)의 아미노산 서열을 포함하는 항체 경쇄
- [0352] 를 포함하는, 항원-결합 단백질.
- [0353] 18. 위의 실시형태 중 어느 하나 또는 본 명세서에 기재된 것에 있어서,
- [0354] a. 상기 항원-결합 단백질은 인간 카데린-17(CDH17) 단백질(서열번호 19)에 결합하거나;
- [0355] b. 상기 항원-결합 단백질은 약 10nM, 5nM, 2.5nM, 1nM, 0.5nM 또는 0.25nM 미만의 해리 상수(K_D)로 인간 CDH17
 의 세포외 도메인에 결합하거나;
- [0356] c. 상기 항원-결합 단백질은 마우스 CDH17(서열번호 20)보다 인간 CDH17에 우선적으로 결합하거나;
- [0357] d. 상기 항원-결합 단백질은 마우스 CDH17에 결합하지 않거나; 또는
- [0358] e. 이들의 조합인, 항원-결합 단백질.
- [0359] 19. 위의 실시형태 중 어느 하나 또는 본 명세서에 기재된 것에 있어서, THNLQVAALDANGIIVEGPVPIT(서열번호 82), THNLQVAALDANGII(서열번호 83), QVAALDANGIIVEGP(서열번호 84), LDANGIIVEGPVPIT(서열번호 85), LDANGII(서열번호 53) 및 DANGI(서열번호 54) 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드 또는 인간 카데린-17(CDH17)에 특이적으로 결합하는, 항원-결합 단백질.
- [0360] 20. 위의 실시형태 중 어느 하나 또는 본 명세서에 기재된 것에 있어서, CDH17에 대한 항원-결합 단백질의 결합이 CDH17 활성을 감소시키거나, 방해하거나, 저해하는, 항원-결합 단백질.
- [0361] 21. 위의 실시형태 중 어느 하나 또는 본 명세서에 기재된 것에 있어서, 항체 또는 항원-결합 항체 단편인, 항

원-결합 단백질.

- [0362] 22. 21에 있어서, 상기 항체는 단클론성 항체인, 항원-결합 단백질.
- [0363] 23. 21 또는 22에 있어서, 상기 항체는 키메라 항체, 인간 항체 또는 인간화된 항체인, 항원-결합 단백질.
- [0364] 24. 21 내지 23 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 IgG인, 항원-결합 단백질.
- [0365] 25. 24에 있어서, 상기 IgG는 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로부터 선택된, 항원-결합 단백질.
- [0366] 26. 위의 실시형태 중 어느 하나 또는 본 명세서에 기재된 것에 있어서, 상기 항원-결합 단백질은 이중특이성 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 T 세포 관여자(BiTE)인, 항원-결합 단백질.
- [0367] 27. 26에 있어서, 상기 이중특이성 항원-결합 단백질 또는 상기 BiTE는
- [0368] a. 서열번호 45 및 서열번호 46;
- [0369] b. 서열번호 47 및 서열번호 48; 또는
- [0370] c. 서열번호 49 및 서열번호 50
- [0371] 에 제시된 아미노산 서열을 포함하되,
- [0372] 선택적으로 상기 이중특이성 항원-결합 단백질은 07-0653-h43Bs, 07-0646-h7Bs 및 07-0663-h7Bs로부터 선택된, 항원-결합 단백질.
- [0373] 28. 21에 있어서, 상기 항원-결합 항체 단편은 scFv, F(ab')₂, Fab, Fab' 및 Fv로부터 선택된, 항원-결합 단백질.
- [0374] 29. 28에 있어서, 상기 scFv는 07-0653-h43scfv, 07-0646-h7scfv 또는 07-0663-h7scfv인, 항원-결합 단백질.
- [0375] 30. 위의 실시형태 중 어느 하나 또는 본 명세서에 기재된 것에 있어서, 인간 암세포를 주사한 이종이식 마우스에서 종양 성장을 저해하는, 항원-결합 단백질.
- [0376] 31. 위의 실시형태 중 어느 하나 또는 본 명세서에 기재된 것에 있어서, 비푸코실화된 글리칸을 포함하는 Fc 폴리펩타이드를 포함하는, 항원-결합 단백질.
- [0377] 32. 위의 실시형태 중 어느 하나 또는 본 명세서에 기재된 것의 항원-결합 단백질을 포함하는 접합체.
- [0378] 33. 32에 있어서, 검출 가능한 마커, 세포독성제 또는 화학치료제를 포함하는, 접합체.
- [0379] 34. 33에 있어서, 상기 화학치료제는 튜불린 중합을 차단함으로써 세포분열을 저해하는 항유사분열제인, 접합체.
- [0380] 35. 34에 있어서, 상기 항유사분열제는 아우리스타틴인, 접합체.
- [0381] 36. 35에 있어서, 상기 아우리스타틴은 MMAE인, 접합체.
- [0382] 37. 33 내지 36 중 어느 하나에 있어서, 상기 제제 또는 마커는 절단성 링커 또는 비-절단성 링커를 통해 항원-결합 단백질에 접합된, 접합체.
- [0383] 38. 37에 있어서, 상기 절단성 링커는 VC-PAB인, 접합체.
- [0384] 39. 32 내지 38 중 어느 하나에 있어서, 상기 항원-결합 단백질은 항체인, 접합체.
- [0385] 40. 39에 있어서, 상기 항체는 단클론성 항체인, 접합체.
- [0386] 41. 39 또는 40에 있어서, 상기 항체는 인간 항체, 인간화된 항체 또는 키메라 항체인, 접합체.
- [0387] 42. 39 내지 41 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체는 IgG 항체이되, 선택적으로 상기 IgG는 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4인, 접합체.
- [0388] 43. 32 내지 42 중 어느 하나에 있어서, 항원-결합 단백질당 접합된 제제 단위의 평균 수는 1 내지 8 범위이되, 바람직하게는 상기 항원-결합 단백질당 접합된 제제 단위의 평균 수는 (a) 3 내지 8의 범위 또는 (b) 4인, 접합체.

- [0389] 44. 32 내지 43 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체는 이질 접합체인, 접합체.
- [0390] 45. 32 내지 43 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체는 동질 접합체인, 접합체.
- [0391] 46. 32 내지 45 중 어느 하나에 있어서, 상기 제제는 상기 항원-결합 단백질의 특정 부위에 접합되는, 접합체.
- [0392] 47. 46에 있어서, 상기 특정 부위는 짝지어지지 않은 시스테인 잔기인, 접합체.
- [0393] 48. 32 내지 47 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체는 VC-PAB-MMAE에 접합된 서열번호 45 및 서열번호 46에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 접합체.
- [0394] 49. 32 내지 47 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체는 VC-PAB-MMAE에 접합된 서열번호 47 및 서열번호 48에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 접합체.
- [0395] 50. 32 내지 47 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체는 VC-PAB-MMAE에 접합된 서열번호 49 및 서열번호 50에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 접합체.
- [0396] 51. 32 내지 47 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체는 VC-PAB-MMAE에 접합된 서열번호 94 및 서열번호 95에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 접합체.
- [0397] 52. 위의 실시형태 중 어느 하나 또는 본 명세서에 기재된 것의 항원-결합 단백질을 포함하는, 융합 단백질.
- [0398] 53. 1 내지 31 중 어느 하나의 항원 결합 단백질, 32 내지 51의 접합체 또는 52의 융합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 핵산.
- [0399] 54. 53에 있어서, 상기 핵산은 cDNA인, 핵산.
- [0400] 55. 53 또는 54의 핵산을 포함하는, 벡터(예를 들어, 발현 벡터).
- [0401] 56. 55에 있어서, 내부 리보솜 유입 부위(internal ribosome entry site: IRES)를 추가로 포함하는, 벡터.
- [0402] 57. 53 또는 54의 핵산, 또는 55 또는 56의 벡터를 포함하는, 숙주 세포.
- [0403] 58. 57에 있어서, 상기 숙주 세포는 박테리아 세포인, 숙주 세포.
- [0404] 59. 57에 있어서, 상기 숙주 세포는 진핵 세포인, 숙주 세포.
- [0405] 60. 59에 있어서, 상기 진핵 세포는 포유류 세포인, 숙주 세포.
- [0406] 61. 60에 있어서, 포유류 세포는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포인, 숙주 세포.
- [0407] 62. 카데린-17(CDH17) 단백질에 결합하는 항원-결합 단백질의 생산 방법으로서, (i) 세포 배양 배지에서 57 내지 61 중 어느 하나의 숙주 세포를 배양시키는 단계, 및 (ii) 항원-결합 단백질을 세포 배양 배지로부터 채취하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0408] 63. 카데린-17(CDH17) 단백질에 결합하는 항원-결합 단백질을 포함하는 융합 단백질의 생산 방법으로서, (i) 세포 배양 배지에서 57 내지 61 중 어느 하나의 숙주 세포를 배양시키는 단계, 및 (ii) 융합 단백질을 세포 배양 배지로부터 채취하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0409] 64. 약제학적 조성물의 생산 방법으로서, (a) 1 내지 31 중 어느 하나의 항원-결합 단백질, 32 내지 51 중 어느 하나의 접합체, 52의 융합 단백질, 53 또는 54의 핵산, 55 또는 56의 벡터, 57, 59 또는 60의 숙주 세포, 또는 이들의 임의의 조합; 및 (b) 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 및/또는 부형제를 조합하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0410] 65. 약제학적 조성물로서, (a) 1 내지 31 중 어느 하나의 항원-결합 단백질, 32 내지 51 중 어느 하나의 접합체, 52의 융합 단백질, 53 또는 54의 핵산, 55 또는 56의 벡터, 57, 59 또는 60의 숙주 세포, 또는 이들의 임의의 조합; 및 (b) 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 및/또는 부형제를 포함하는, 약제학적 조성물.
- [0411] 66. 암을 치료하기 위해 65의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 CDH17-발현 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법.
- [0412] 67. 대상체에서의 종양 성장을 저해하는 방법으로서, 종양 성장을 저해하기 위해 65의 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0413] 68. 대상체에서의 종양 크기를 감소시키는 방법으로서, 종양 크기를 감소시키기 위해 65의 약제학적 조성물을

상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

- [0414] 69. 대상체에서의 암의 재발을 방지하는 방법으로서, 암의 재발을 방지하기 위해 65의 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0415] 70. CDH17의 과발현자인 것으로 진단된 대상체에서의 암 치료 방법으로서, 암의 재발을 방지하기 위해 65의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0416] 71. 66 내지 70 중 어느 한 항에 있어서, 상기 투여하는 단계는 종양 세포에서 세포자멸사를 유발하는, 방법.
- [0417] 72. 66 내지 70 중 어느 한 항에 있어서, 상기 투여하는 단계는 CDH17을 발현시키는 세포에서 세포자멸사를 유발하는, 방법.
- [0418] 73. 샘플에서 카데린-17(CDH17)을 검출하는 방법으로서, 샘플을 1 내지 31 중 어느 하나의 항원-결합 단백질, 32 내지 51 중 어느 하나의 접합체 또는 52의 융합 단백질과 접촉시키는 단계; 및 CDH17에 결합된 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질을 포함하는 면역복합체를 분석하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0419] 74. 대상체에서 카데린-17(CDH17)-양성암을 진단하는 방법으로서, 대상체로부터 얻은 세포 또는 조직을 포함하는 생물학적 샘플을 1 내지 31 중 어느 하나의 항원-결합 단백질, 32 내지 51 중 어느 하나의 접합체 또는 52의 융합 단백질과 접촉시키는 단계; 및 CDH17에 결합된 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질을 포함하는 면역복합체를 분석하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0420] 75. 74에 있어서, 1 내지 31 중 어느 하나의 항원-결합 단백질, 32 내지 51 중 어느 하나의 접합체 또는 52의 융합 단백질을 대상체에게 투여함으로써 CDH17-양성 암을 갖는 것으로 진단된 대상체를 치료하는 단계를 더 포함하는, 방법.
- [0421] 76. 위의 실시형태 중 어느 하나 또는 본 명세서에 기재된 것의 접합체의 생산 방법으로서,
- [0422] a. 세포 배양 배지에서 57 내지 61 중 어느 하나의 숙주 세포를 배양시키는 단계로서, 숙주 세포는 항원 결합 단백질 또는 이의 융합 단백질을 암호화하는 핵산을 포함하는, 상기 숙주 세포를 배양시키는 단계,
- [0423] b. 항원-결합 단백질 또는 융합 단백질을 세포 배양 배지로부터 채취하는 단계, 및
- [0424] c. 항원 결합 단백질 또는 융합 단백질을 이중성 모이어티에 부착시켜 접합체를 생산하는 단계로서, 선택적으로 이중성 모이어티는 세포독성제 또는 화학치료제인, 상기 접합체를 생산하는 단계
- [0425] 를 포함하는, 방법.
- [0426] 77. T 세포를 활성화시켜 대상체에서 CDH17-발현 종양 또는 암을 표적화하는 방법으로서, CDH17에 결합하는 제1 scFv 및 CD3에 결합하는 제2 scFv를 포함하는 이중특이성 T 세포 관여자(BiTE)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되, CDH17에 결합하는 제1 scFv는 위의 실시형태 중 어느 하나 또는 본 명세서에 기재된 것의 항원-결합 단백질의 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는, 방법.
- [0427] 78. 77에 있어서, 상기 BiTE는
- [0428] a. 서열번호 45 및 서열번호 46;
- [0429] b. 서열번호 47 및 서열번호 48; 또는
- [0430] c. 서열번호 49 및 서열번호 50
- [0431] 에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 방법.
- [0432] 79. 77 또는 78에 있어서, 상기 BiTE는 07-0646-h7Bs, 07-0653-h43Bs 및 07-0663-h7Bs로부터 선택되되, 선택적으로 BiTE는 07-0653-h43Bs인, 방법.
- [0433] 80. 대상체에서 CDH17-발현 종양 또는 암에 대해 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC) 반응을 유도하는 방법으로서, 상기 방법은 CDH17에 결합하는 항원-결합 단백질을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되, 상기 항원-결합 단백질은 Fc 효과기 기능; 및 위의 실시형태 중 어느 하나 또는 본 명세서에 기재된 것의 항원-결합 단백질의 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는, 방법.
- [0434] 81. 80에 있어서, CDH17에 결합하는 항원-결합 단백질은 07-646-h7 또는 07-663-h7인, 방법.
- [0435] 82. 위의 실시형태 중 어느 하나 또는 본 명세서에 기재된 방법으로서, 상기 대상체는 포유류, 선택적으로 개,

고양이, 마우스 또는 인간인, 방법.

[0436] 다음의 실시예에는 단지 본 개시내용을 예시하기 위해 제공하며, 이의 범주를 임의의 방법으로 제한하지 않는다.

[0437] **실시예**

[0438] **실시예 1**

[0439] 본 실시예는 CDH17 특이적 항체의 생산을 기재한다.

[0440] 마우스를 인간 CDH17 융합 단백질을 암호화하는 포유류 발현 벡터를 사용하여 전장, 에피토프-태그된 인간 CDH17 단백질을 과발현시키는 3T3 세포로 면역화시켰다.

[0441] 비장세포를 면역화된 마우스로부터 채취하였고, BTX 전기융합(BTX, 매사추세츠주 홀리스턴에 소재)에 의해 골수 종 계통과 융합시켜 하이브리도마를 생성하였다. 7000개의 1차 하이브리도마 배양물을 생성하였고, 384-웰 플레이트에서 배양시켰다. 항체가 CDH17을 발현시킨 펩타이드 및/또는 인간암 세포에 결합하는 능력을 ELISA 분석 및/또는 유세포분석에 의해 평가하였다. 내인성 및 인공 세포주 모델에 대한 유세포분석에 의해 추가로 선별한 96 웰 플레이트에 대략 2000개의 잠재적 양성 항체를 재배열시켰다.

[0442] 인간 CDH17 단백질에 결합하는 항체를 생산하는 데 양성인 하이브리도마를 확인하였고, 인간 CDH17 단백질로 향하는 면역글로불린 경쇄 및 중쇄를 암호화하는 핵산 서열을 단리시켰다. ExpiCHO™ 발현을 사용하여 인간 전장 IgG 항체(예를 들어, IgG1)로서 형식화된 CDH17 항체를 생산하기 위해 이러한 핵산 서열을 사용하였다. 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 pcDNA™3.4-TOPO® 벡터(카탈로그 번호: A14697, ThermoFisher Scientific, 미국 소재)에 기반하여 실험실에서 조작된 항체 발현 벡터에 클로닝하였다. 키트(ExpiCHO™ 발현 시스템, 카탈로그 번호: A29133, ThermoFisher Scientific, 미국 소재)에 제공된 프로토콜에 따라 CHO 세포에 항체 발현 벡터의 형질감염은 IRES가 제2 면역글로불린 쇄의 발현을 유도하는 바이스스트론 mRNA의 생산을 초래하였다. 특히, 인간화된 CDH17 항체가 아닌 키메라 CDH17 항체의 인간 IgG1 불변 영역의 C-말단 라이신을 제거하였다. 키메라 항체와 인간화된 항체는 둘 다 인간 IgG1 불변 영역 및 카파 불변 영역을 포함하였다. 생산된 항체를 단백질 A/G 수지를 사용하여 정제하였다. CDH17에 대한 항체의 세포 표면 결합을 FACS에 의해 결정하였고, 이때 CDH17 항체를 제조업자의 프로토콜에 따라 Alexa Fluor® 647 NHS 에스터(석신이미딜 에스터), 카탈로그 번호 A20106(ThermoFisher Scientific)와 직접 접합시켰다. CDH17에 대한 항체 결합을 또한 결정하였고, 6x His 태그(서열번호 52)와 함께 재조합 CDH17 세포의 도메인(ECD)을 사용하여 이의 EC50을 측정하였다.

[0443] CDH17-발현 세포를 FACS 분석에서 사용하여 세포 표면 상에서 CDH17에 결합하고 다른 CDH17 패밀리 구성원과 교차반응하는 CDH17 항체의 능력을 결정하였다. 형광 단백질(mGFP 또는 moxGFP)에 융합된 인간, 원숭이, 마우스 또는 래트 CDH17을 발현시키도록 조작된 HEK293 T 세포를 CDH17 발현의 인공 모델로서 사용하였다. SNU-C1(인간 결장직장암 세포주), PaTu8988s(인간 췌장암 세포주), HPAF-II(인간 췌장암 세포주) 및 LS513(인간 결장직장암 세포주)을 CDH17 발현의 내인성 모델로서 사용하는 한편, H524(인간 소세포 폐 암종 세포주), COR-L279(인간 소세포 폐 암종 세포주) 및 M202(인간 흑색종 세포주)를 CDH17 발현이 없는 내인성 모델로서 사용하였다.

[0444] 시험한 세포의 각 유형에 대해 그리고 각 mAb에 대해, 세포 표면 단백질을 보호하기 위해 베르센(versene)(트립신 대신)에 의해 배양 플라스크의 표면으로부터 세포를 분리시켰다. 이어서, 분리된 세포를 사전 결정된 농도에 서 암실 내 얼음 상에서 30분 동안 Alexa Fluor®-표지된 CDH17 mAb와 함께 인큐베이션시켰다. CDH17 mAb를 Alexa Fluor® 647 NHS 에스터(석신이미딜 에스터)로 직접 표지하였다. 대안적으로, 형광 표지된 2차 항체를 사용하여 비표지 CDH17 항체를 검출할 수 있다. 세척 후에, 채널 FL4H에서 항체-항원 단백질 결합을 검출하기 위해 BD Accuri™ 유세포분석기 C6에 의해 세포를 판독하였다. 각 항체를 다양한 농도에서 시험하여 용량-형광 곡선을 확립하였다.

[0445] **실시예 2**

[0446] 본 실시예는 본 개시내용 항체의 인간화를 입증한다.

[0447] 인간화 분석을 위해 항체를 선택하였다. 마우스 단클론성 항-CDH17 항체의 중쇄 가변(VH) 및 경쇄 가변(VL) 서열을 인간 VH 유전자 및 인간 VL카파 유전자로부터의 공지된 인간 생식계열 서열의 라이브러리와 비교하였고 (IMGT® the international ImMunoGeneTics information system® www.imgt.org; founder and director: Marie-Paule Lefranc, Montpellier, France).; 사용한 데이터베이스는 IMGT 인간 VH 유전자(F+ORF, 273개의 생식계열 서열) 및 IMGT 인간 VL카파 유전자(F+ORF, 74개의 생식계열 서열)였다. 모 항체에 대한 서열에 가장 가

까운 것으로부터 역선택 인간 생식계열을 선택하였다.

- [0448] 대응하는 모 뮤린 서열에 대한 인간 생식계열 프레임워크(즉, VH 및 VL에서의 비-CDR 잔기; FR로 약칭됨) 위치의 변경은 인간화된 항체의 결합을 최적화하는 데 필요할 수 있다. 인간화된 항체 형태에 대한 서열을 도면에 제공한다.
- [0449] 인간화된 항체, CDH17-646-h7, CDH17-653-h42, CDH17-653-h43, CDH17-657-h16, CDH17-663-h7, CDH17-670-h12, CDH17-675-h11 및 CDH17-683-h6을 작제하고, 실시예 1에 본질적으로 기재한 바와 같이 발현시켰다. HEK293T 세포주에서 과발현된 CDH17에 대한 결합을 위한 인간화된 항체(1 μ g)의 상대 항원 결합 강도를 결정하기 위해 FACS 분석을 수행하였다. 대응하는 모 항체(인간화 전 항체)를 대조군으로서 사용하여 "chim"으로 표기하였다.
- [0450] 시험관내 항원 결합 데이터에 기반하여, 추가 시험 및 발생을 위해 3개의 인간화된 항체(07-0646-h7(CDH17-646-h7로도 표기됨), 07-0653-h43(CDH17-653-h43으로도 표기됨) 및 07-0663-h7(CDH17-663-h7로도 표기됨))를 선택하였다. 항체는 CDH17-646(CDH17-646-m으로도 표기됨), CDH17-653(CDH17-653-m으로도 표기됨), 및 CDH17-663으로부터 유래되었다.
- [0451] 키메라 단클론성 항-CDH17 항체, CDH 17-646, CDH 17-653, CDH 17-657, CDH 17-663, CDH 17-670, CDH 17-675 및 CDH 17-683의 인간화된 형태뿐만 아니라 키메라 단클론성 항-CDH17 항체 및 항체-약물 접합체(ADC; 항체-MMAE 접합체)의 생체내 결합 연구를 CDH17-양성 인간 결장직장암 세포주 SNU-C1 및 LS513, CDH17-양성 인간 췌장암 세포주 HPAF-II 및 PaTu8998s, CDH17-음성 소세포 폐 암종 세포주 H524 및 CORL279, 및 CDH17-음성 인간 흑색종 세포주 M202를 주사한 이종이식편 마우스에서 수행하였다. 키메라 단클론성 CDH17 항체는 인간 IgG1 불변 영역 및 인간 카파 경쇄 불변 영역에 각각 융합된 마우스 항-CDH17 항체 VH 및 VL 영역을 포함하되, 상이한 수치적 표기는 상이한 마우스 항-CDH17 항체 단리물을 반영한다. 간략히 말해서, 6주령 CD-1 무흉선 누드 마우스(Charles River Laboratories)에서 상이한 인간 암세포주의 이종이식 모델을 확립하였다. 종양이 평균 크기 150 내지 300 mm³에 도달된 후에, 마우스를 처리군에 무작위화하였다. 인간화된 항체를 정맥내 꼬리 정맥(IV) 주사에 대해 1mg/ml의 작업 농도까지 멸균 식염수 중에서 희석시켰다. 종양 이종이식편을 주당 3회 캘리포로 측정하였고, 종양 용적(mm³)을 높이 $\times$ 폭 $\times$ 길이를 곱함으로써 결정하였다. 마우스를 2 내지 7주 동안 처리하였다. 연구의 종료 시, 동물을 안락사시키고, 종양 조직을 절개하고, 바이오마커 분석을 위해 순간 냉동 또는 포말린 고정 파라핀 포매(FFPE) 조직으로서 저장하도록 나누었다.
- [0452] 이종이식 분석 결과를 도 3 내지 도 10에 나타낸다.
- [0453] 도 3은 CDH17로 향하는 모 마우스 단클론성 항체에 대한 이종이식편 분석 결과를 나타내며, 상이한 항-CDH17 항체는 CDH17-양성 결장직장 종양 세포인 SNU-C1 성장을 저해함에 있어서 상이한 효능을 갖고, 치료 마우스의 체중에 대해서는 효과가 거의 없다. 간략히 말해서, 도 3A는 비표적화 IgG 대조군 항체 또는 CDH17로 향하는 6개의 상이한 mAb로 처리한 SNU-C1(CDH17+) 세포주 이종이식편을 나타낸다. 아암당 6마리 마우스에 6회의 반복 용량 동안 1주당 1회 10mg 항체/kg의 IV 꼬리 정맥 주사로 모든 항체를 처리하였다. 선은 평균 종양 용적 $\pm$ SEM을 나타낸다. 도 3B는 치료 제32일에 대해 각 치료군에서 종양 용적(+ SEM)의 평균 변화를 나타내는 막대 차트이고, 도 3C는 치료 창 동안에 마우스 체중의 평균% 변화를 나타낸다.
- [0454] 도 4는 CDH17-양성 SNUC1 인간 CRC 세포주 이종이식편에서 인간화된 CDH17 mAb의 패널의 효능을 나타낸다. 도 4A는 비표적화 IgG 대조군 항체 또는 CDH17로 향하는 10개의 상이한 항체, 8개의 인간화된 항-CDH17 항체(CDH17-646-h7, CDH17-653-h42, CDH17-653-h43, CDH17-657-h16, CDH17-663-h7, CDH17-670-h12, CDH17-675-h11 또는 CDH17-683-h6) 및 2개의 모 키메라 단클론성 항-CDH17 항체(CDH17-653-m 및 CDH17-657-m)로 처리한 SNUC1(CDH17+) 세포주 이종이식편의 종양 용적(mm³)을 나타낸다. 5회의 반복 용량 동안 1주당 1회 10mg 항체/kg의 각 항체의 IV 꼬리 정맥 주사로 마우스를 처리하였다. 아암당 8마리 마우스. 선은 평균 종양 용적 $\pm$ SEM을 나타낸다. 도 4B는 치료 제28일에 걸쳐 각 치료군에서 종양 용적(+ SEM)의 평균 변화를 나타내는 막대 차트이다. 도 4C는 대조군 항체 또는 CDH17로 향하는 10개의 상이한 항체, 8개의 인간화된 항-CDH17 항체(CDH17-646-h7, CDH17-653-h42, CDH17-653-h43, CDH17-657-h16, CDH17-663-h7, CDH17-670-h12, CDH17-675-h11 또는 CDH17-683-h6) 및 2개의 모 키메라 단클론성 항-CDH17 항체(CDH17-653-m 및 CDH17-657-m)의 투여 후 시간에 따른 체중 변화 백분율을 나타낸다.
- [0455] 도 5는 CDH17-양성 HPAF-2 인간 췌장 세포주 이종이식편에서 인간화된 CDH17 mAb의 패널의 효능을 나타낸다. 도 5A는 비표적화 IgG 대조군 항체 또는 CDH17로 향하는 8개의 상이한 인간화된 항체로 처리된 HPAF-2(CDH17+) 세포주 이종이식편을 나타낸다. 5회의 반복 용량 동안 1주당 1회 10mg 항체/kg의 각 항체의 IV 꼬리 정맥 주사로

모든 마우스를 처리하였다. 아암당 8마리 마우스. 선은 평균 종양 용적 $\pm$ SEM을 나타낸다. 도 5B는 치료 제25일에 걸쳐 각 치료군에서 종양 용적(+ SEM)의 평균 변화를 나타내는 막대 차트이다.

[0456] 도 6은 인간화된 CDH17 mAb가 CDH17-음성 M202 인간 흑색종 세포주 이종이식편에서 항-종양 활성을 갖지 않는다는 것을 나타낸다. 도 6A는 비표적화 IgG 대조군 항체 또는 CDH17로 향하는 5개의 상이한 인간화된 항체로 처리된 M202(CDH17-) 세포주 이종이식편을 나타낸다. 4회의 반복 용량 동안 1주당 1회 10mg/kg의 각 항체의 IV 꼬리 정맥 주사로 모든 마우스를 처리하였다. 아암당 8마리 마우스. 선은 평균 종양 용적 $\pm$ SEM을 나타낸다. 도 6B는 치료 제24일에 걸쳐 각 치료군에서 종양 용적(+ SEM)의 평균 변화를 나타내는 막대 차트이다.

[0457] 도 7은 CDH17-음성 인간 암 세포주 이종이식편에 대해 크게 감소된 효력을 갖는 다수의 상이한 CDH17-양성 인간 암 세포주 이종이식편을 선택적으로 저해하고 사멸시킴에 있어서, CDH17 단백질로 향하는 키메라 단클론성 항체인 CDH17-ADC의 세포독성 약물 접합체의 효력을 나타낸다. 도 7A 내지 도 7C는 비표적화 IgG 대조군 항체, CDH17-653-키메라-mAb로부터 생성된 CDH17-653(키메라-mAb) 또는 CDH17-ADC로 처리된 SNU-C1, PaTu8998s 및 LS514(모든 CDH17+) 세포주 이종이식편에 대한 결과를 나타낸다. 마우스를 매주 3회 반복 용량 동안 IV 꼬리 정맥 주사에 의해 10mg/kg의 대조군 IgG 항체 및 mAb 및 5mg/kg의 ADC로 치료하였다. 도 7D 내지 도 7F는 위에 기재한 바와 같이 대조군 또는 CDH17-ADC로 처리한 H524, CORL279 및 M202(모든 CDH17-) 세포주 이종이식편을 나타낸다. 아암당 6 내지 8마리 마우스. 선은 평균 종양 용적 $\pm$ SEM을 나타낸다.

[0458] 도 8은 CDH17-양성 SNUC1 인간 CRC 세포주 이종이식편에서 인간화된 CDH17-ADC의 효능을 나타낸다. 도 8A는 비표적화 IgG 대조군 항체 또는 인간화된 CDH17-mAb로부터 생성된 3개의 상이한 CDH17-ADC(CDH17-ADC-646-h7, CDH17-ADC-653-h43 및 CDH17-ADC-663-h7)로 처리한 SNUC1(CDH17+) 세포주 이종이식편을 나타낸다. 마우스에 3회 반복 용량 동안 1주당 1회 5mg/kg의 IV 꼬리 정맥에 의해 대조군 항체 및 ADC를 투여하였다. 아암당 8마리 마우스. 선은 평균 종양 용적 $\pm$ SEM을 나타낸다. 도 8B는 연구 42일(대조군 아암의 마지막 일자)에 걸쳐 각 치료군에서 종양 용적(+ SEM)의 평균 변화를 나타내는 막대 차트이며, 이는 생체내 CDH17-양성 인간 결장직장 종양의 종양 퇴행을 촉진시킴에 있어서 ADC의 유효성을 나타낸다. 도 8C는 대조군 항체 또는 인간화된 CDH17-mAb로부터 생성된 3개의 상이한 CDH17-ADC(CDH17-ADC-646-h7, CDH17-ADC-653-h43 및 CDH17-ADC-663-h7)의 투여 후 시간에 따른 체중 변화 백분율을 나타낸다.

[0459] 도 9는 CDH17-양성 HPAF-II 인간 췌장암 세포주 이종이식편에서 인간화된 CDH17-ADC의 효능을 나타낸다. 도 9A는 비표적화 IgG 대조군 항체 또는 인간화된 CDH17-mAb로부터 생성된 3개의 상이한 CDH17-ADC(CDH17-ADC-646-h7, CDH17-ADC-653-h43 및 CDH17-ADC-663-h7)로 처리한 HPAF-II(CDH17+) 세포주 이종이식편을 나타낸다. 마우스에 3회 반복 용량 동안 1주당 1회 5mg/kg의 IV 꼬리 정맥에 의해 대조군 항체 및 ADC로 처리하였다. 아암당 8마리 마우스. 선은 평균 종양 용적 $\pm$ SEM을 나타낸다. 도 9B는 연구 27일(대조군 아암의 마지막 일자)에 걸쳐 각 치료군에서 종양 용적(+ SEM)의 평균 변화를 나타내는 막대 차트이다.

[0460] 도 10은 인간화된 CDH17-ADC가 CDH17-음성 M202 인간 흑색종 세포주 이종이식편에서 항-종양 활성을 갖지 않는다는 것을 나타낸다. 도 10A는 비표적화 IgG 대조군 항체 또는 인간화된 CDH17-mAb로부터 생성된 3개의 상이한 CDH17-ADC(CDH17-ADC-646-h7, CDH17-ADC-653-h43 및 CDH17-ADC-663-h7)로 처리한 M202(CDH17-) 세포주 이종이식편을 나타낸다. 마우스에 3회 반복 용량 동안 1주당 1회 5mg/kg의 IV 꼬리 정맥에 의해 대조군 항체 및 ADC로 처리하였다. 아암당 8마리 마우스. 선은 평균 종양 용적 $\pm$ SEM을 나타낸다. 도 10B는 연구 31일(대조군 아암의 마지막 일자)에 걸쳐 각 치료군에서 종양 용적(+ SEM)의 평균 변화를 나타내는 막대 차트이다.

[0461] 본 명세서에 제시된 CDH17 항체 약물 접합체(ADC)는 절단성 링커 VC-PAB를 통해 세포독성제 MMAE에 접합되었다(따라서 VC-PAB-MMAE를 포함함). 항체당 MMAE의 평균수는 HIC 및/또는 MS로 측정했을 때 4이다. ADC는 MMAE의 대략 90%의 MMAE가 IgG의 중쇄와 경쇄 사이에서 쇠간 이황화물에 접합된 이종성 접합체이다(환원된 쇠간 이황화물로부터의 시스템인의 티올과 반응함). ADC는 Wuxi Bio에서 이들의 DAR4 기술로 제조되었다.

[0462] CDH17-양성 인간암 세포주, HPAF-II 인간 췌장암 세포주 및 LS513 인간 결장직장암 세포주에서 인간화된 항-CDH17 항체(07-0646-h7, 07-0653-h33 및/또는 07-0663-h7) 내재화의 시간 과정을 도 11 및 도 12에서 "네이키드(naked)" 비접합 항체에 대해 나타내고, LS513 인간 결장직장암 세포주에서 MMAE-접합 항체(07-0646-h7-MMAE, 07-0653-h43-MMAE 및 07-0663-h7-MMAE)에 대해 도 13 내지 도 14에서 나타낸다. 추가로, 도 14는 Alexa Fluor 647, AF647, 접합된 07-0663-h7 항체(07-0663-h7-AF647), 시험관내 LS513 세포주에서의 내재화의 시간 과정을 나타낸다.

[0463] 모두 3개의 네이키드 항체 및 이들의 ADC를 내재화할 수 있었다. 내재화는 2시간 후에 항체 결합을 영상화함으

로써 포착될 수 있고, 24시간 이내에 종결된다.

[0464] 인간화된 항체의 상대 항원 결합 강도를 결정하기 위해, FACS 분석을 실시예 1에 본질적으로 기재된 바와 같이 수행하였다. 간략히 말해서, CDH17-과발현 세포(자연적 형광 단백질(mGFP 또는 mox GFP)에 융합된 인간, 원숭이, 마우스 또는 래트 CDH17에 대한 발현 플라스미드로 형질감염된 HEK293T 세포) 또는 비형질감염 HEK293T 대조군 세포를 얼음 상에서 30분 동안 50 μ l 2% FBS/PBS 중 대략 150,000개 세포로 1 μ g의 인간화된 항-CDH17 항체(07-0646-h7, 07-0653-h43 및 07-0663-h7) 또는 BioLegend(409320)로부터의 Alexa Fluor® 647 접합된 항-인간 IgG Fc 2차 항체와 함께 인큐베이션시켰고, 2% FBS/PBS로 세척한 후에, 얼음 상에서 30분 동안 Alexa Fluor® 647 항-IgG Fc 2차 항체와 함께 인큐베이션시켰다. BD Biosciences Accuri™ C6 유세포분석기(캘리포니아주 새너제이 소재)를 사용하여, Alexa Fluor® 647 형광에 기반한 항체 결합을 FL4-H 통로에서 측정하였고, GFP 형광에 기반한 융합 단백질 과발현을 FL1-H 통로에서 측정하였다. 도 15는 원숭이(마카크) CDH17 단백질에 대한 결합이 적고 인간 CDH17 단백질에 대한 모두 3개의 인간화된 항체의 우선적인 결합을 나타낸다. 2개의 인간화된 항-CDH17 항체인 07-0646-h7 및 07-0663-h7의 경우, 마우스 또는 래트 CDH17 단백질에 대한 결합이 거의 또는 전혀 나타나지 않은 반면; 인간화된 항-CDH17 항체인 07-0653-h3은 래트 CDH17에 대해 상당한 결합(교차 반응성)으로 마우스 CDH17 단백질에 대해 검출 가능한 친화성을 가져서 인간 CDH17 단백질에 대한 결합과 유사한 수준에 도달한다. 4개의 상이한 종으로부터의 CDH17 단백질의 아미노산 서열의 유사성을 도 2에 나타낸다.

[0465] 도 16은 인간화된 항-CDH17 항체-CDH17 단백질의 해리 상수(K_D) 측정을 나타내며, 후자는 4개의 상이한 종으로부터 유래된다. 항-CDH17 항체의 세포-기반 항체 친화도 K_D 를 KinExA 4000에 의해 측정하였다(Sapidyne Instrument, 아이다호주 보이시 소재). 간략히 말해서, HEK293T 과발현 CDH17-형광 단백질 융합체(즉, 인간 CDH17-mGFP, 원숭이 CDH17-mGFP, 마우스 CDH17-mGFP 또는 래트 CDH17-mGFP)를 Versene으로 탈착시키고, 2% FBS/DMEM 중 4°C에서 밤새 50pM, 200pM, 20nM 또는 50nM 항체 중 하나로 평형화시켰다. 세포 농도는 5 $\times$ 10⁶개 세포/ml 또는 1 $\times$ 10⁷개 세포/ml에서 시작하였고, 최대 10점으로 2배 연속 희석을 수행하였다. 다음 날, 세포를 1500rpm에서 10분 동안 원심분리시키고, 상청액을 보존하였다. PMMA 비드(Sapidyne Instrument, 카탈로그 번호 440176)를 30 μ g/ml의 염소-항-인간 IgG(Jackson ImmunoResearch Labs(카탈로그 번호 109-005-003)로 사전 코팅하였다. 형광 2차 항체 Alexa Fluor® 647 AffiniPure 염소 항-인간 IgG(Jackson ImmunoResearch Labs, 카탈로그 번호 109-605-088)를 1% BSA/PBS 중에 0.5 μ g/ml로 희석시켰다. 항체 용액 단독(Signal 100%) 및 비특이적 결합(NSB, 완충제 단독) 대조군을 또한 측정에 포함시켰다. n-곡선 분석에 의해 분석한 2가지의 항체 곡선을 이용하여 K_D 를 계산하였다. 도 16에서 알 수 있는 바와 같이, 인간화된 항-CDH17 항체, 07-0646-h7 및 07-0663-h7은 마우스 또는 래트 CDH17 단백질에 대한 측정 가능한 결합 없이 인간 및 원숭이 CDH17 단백질에 대해 약 1nM 미만의 K_D 를 갖는다. 대조적으로, 인간화된 항-CDH17 항체인 07-0653-h43은 마우스 CDH17 단백질에 결합하지 않지만, 이는 인간 및 원숭이 CDH17 단백질과 동일하게 래트 CDH17 단백질에 결합하여, 이의 K_D 가 인간, 원숭이 및 래트 CDH17 단백질에 대해 약 1nM 미만이 되고, 95% 신뢰 구간 값과 중첩된다.

[0466] 도 17는 동일한 조건하에 측정된 일부 상업적 항체의 특성과 함께 3개의 리드 인간화 항-CDH17 항체의 생화학, 생물물리학 및 세포 생물학 특징을 요약하는 한편, 도 18은 전기영동법 직전에 환원 또는 비환원 조건으로 처리한 보관 샘플의 비환원성 SDS-PAGE로 분석한 바와 같이 5주의 연장된 기간에 대해 -80°C에서 37°C의 광범위한 온도에 걸친 3개의 리드 항-CDH17 항체(07-0646-h7, 07-0653-h43 및 07-0663-h7)의 일반적 안정성을 나타낸다.

[0467] 비처리 또는 펩타이드-N-글리코시다제 F(PNGase F)-처리 인간화된 항-CDH17 항체인 07-0646-h7의 크기 배제 크로마토그래피 및 SDS-PAGE 분석 결과를 도 19에 나타낸다. 항체 제제는 상당히 균질하며 약 95%가 단량체이고 적은 백분율이 응집체라는 것을 유념하며, 이를 또한 도 17에 요약한다.

[0468] 본 발명의 인간화된 항-CDH17 항체는 나노몰 친화도로 인간 CDH17 단백질을 표적화하고, CDH17-양성 인간 종양의 성장을 저해할 수 있다. 항체는 CDH17-양성 세포를 염색하고, 종양 세포주에 따라서 약 2 내지 24시간에 걸쳐 다양한 시간 내에 내재화를 겪는다. 상이한 인간 종양은 항-CDH17 항체의 유효성에 영향을 미칠 수 있는 이들의 CDH17 발현 수준이 다양하다(도 1). 항-CDH17 항체-약물 접합체로서, ADC는 CDH17-양성 종양 성장을 저해할 뿐만 아니라 종양 퇴행 - CDH17-음성 종양에서 보이지 않는 효과를 야기할 수 있다는 것이 나타난다.

[0469] **실시예 3**

[0470] 본 실시예는 CDH17 hAb 0663-h7에 대한 항체 결합 에피토프의 맵핑을 기재한다.

[0471] CDH17의 ECD에 걸쳐있는 15개 아미노산의 펩타이드를 설계하였다(서열번호 51). 펩타이드는 4개 아미노산에 의

해 상쇄되었고, 즉, 각 펩타이드는 11개의 아미노산이 앞 및/또는 뒤의 다른 펩타이드와 중복되었다. 총 189개의 펩타이드를 설계하였고, JPT Peptide Technologies에 의한 바이오틴 표지로 제조하였다. 바이오틴일화된 펩타이드를 96 웰 플레이트의 웰에 두었고, 대략 $0.45\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 의 농도로 DMSO 중에 용해시켰다(각 펩타이드는 대략 25nmol/웰을 가졌지만, 각 펩타이드는 상이한 분자량을 갖기 때문에, 농도는 다양할 것이다).

[0472] ELISA의 경우, $1\mu\text{l}$ 의 각 바이오틴일화된 펩타이드에 $99\mu\text{l}$ 의 펩타이드 코팅 완충제(PBS 중 40% DMSO 및 0.05% Tween20)를 더한 것을 스트렙타비딘-코팅 미량정량관 웰에 첨가하였다. 플레이트를 밤새 4°C 에서 진탕 없이 인큐베이션시켰다. 이어서, 플레이트를 $300\mu\text{l}$ 의 세척 완충제(PBS와 0.05% Tween20)로 4회 세척하였다. $200\mu\text{l}$ 의 차단 완충제(PBS와 $400\mu\text{M}$ 바이오틴 및 20% 수크로스)를 각 웰에 첨가하였고, 플레이트를 30분 동안 실온에서 진탕 없이 인큐베이션시켰다. 세척 완충제로 3회 세척한 후에, $300\mu\text{l}$ 의 SuperBlock T20(TBS) 차단 완충제(Thermo Scientific, #37536)를 웰마다 적용하였고, 실온에서 1시간 동안 인큐베이션시켰다. 이어서 3회 세척하고, 펩타이드당 $200\text{ng}/\text{ml}$ 로 CDH17 hAb의 1 용량을 웰에 첨가하였다. 양성 신호를 나타내는 펩타이드를 CDH17 hAb를 사용하여 $500\text{ng}/\text{ml}$ 로 시작해서, 11점(각각 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625, 7.8125, 3.906, 1.953, 0.977, $0.488\text{ng}/\text{ml}$)에 대해 1 대 2 희석으로 적정(titration) ELISA을 위해 반복하였다.

[0473] 적정 ELISA는 CDH17 hAb 07-0663-h7 결합에 대해 7개의 아미노산(LDANGII, 서열번호 53) 코어 영역을 갖는 중복 펩타이드 18 내지 20을 확인하였다(도 20).

[0474] 결합에 중요한 아미노산에 대해 CDH17 hAb 07-0663-h7 결합에 대한 7개의 아미노산 에피토프 코어를 추가로 분석하였다. 도 20에 나타난 바와 같이 7-량체 아미노산 에피토프에서 단일 점 돌연변이를 설계하였다. 바이오틴일화된 펩타이드를 제조하였고, 위에 기재한 바와 같이 ELISA로 분석하였다. 5개 아미노산의 돌연변이(DANGI, 서열번호 54)는 CDH17 hAb 07-0663-h7에 대한 결합 활성을 감소 또는 제거하였다. 이런 이유로, 항체 결합에 대한 중요한 최소 에피토프 영역은 5개 아미노산 영역 DANGI (도 21)이다.

[0475] 실시예 4

[0476] 선택된 CDH17 항체인 07-646-h7 및 07-663-h7을 CDH17 양성 세포주에서 항체-의존적 세포의 세포독성(ADCC)을 유발하는 이들의 능력에 대해 평가하였다.

[0477] CDH17 양성 세포주(LS513 및 SNUC1) 및 CDH17 음성 세포주(M202)를 16시간 동안 약 0.1pM 에서 $10\mu\text{M}$ 로 다양한 농도의 CDH17 항체 또는 대조군 hIgG1과 함께 인큐베이션시켰다. 이어서, Jurkat-Lucia™ NFAT-CD16 효과기 세포(InvivoGen, 미국 샌디에이고 소재)를 6시간 동안 표적 세포와 함께 공동 인큐베이션시켰다.

[0478] 도 22에 나타난 바와 같이, 유도된 ADCC 반응을 나타내는 NFAT 활성화는 상청액 중 Lucia 루시퍼라제 활성을 결정함으로써 평가되었다. CDH17 항체, 특히 07-646-h7 및 07-663-h7은 CDH17 양성 세포주에서 ADCC를 유도하였다.

[0479] 실시예 5

[0480] NFAT-RE 리포터와 함께 Jurkat 세포를 사용하는 T-세포 활성화 분석에 의해 CDH17-CD3 이중특이성 항체의 활성을 평가하였다.

[0481] Promega의 T 세포 활성화 생물검정 키트(NFAT-RE J1621)를 사용하여 T-세포 활성화를 측정하였다. 2개의 CDH17 양성 세포주(HPAF2 및 SNUC1)를 백색 96 웰 플레이트에서 20,000 내지 40,000개 세포/웰의 밀도로 파종하였고, 37°C 에서 밤새 인큐베이션시켰고, 이후에, 분석 키트에 포함된 해동-및-사용 Jurkat T 세포를 파종 세포에 첨가하였고(1:1세포비), CDH17-CD3 이중특이성 항체(07-0653-h43Bs, 07-0646-h7Bs 및 07-0663-h7Bs, 이들 각각은 C-말단의 (HIS)₆ 태그를 포함함)로 처리하였다. 비교를 위해 표적 양성 세포를 함유하지 않는 대조군을 포함시켰다. 처리한 플레이트를 37°C 에서 6시간 동안 인큐베이션시켰고, 이후에 Bio-Glo 시약(키트에 포함됨)을 첨가하고, 즉시 Varioskan LUX 플레이트 판독기에서 판독하였다. 단위는 RLU였다.

[0482] 도 23에 나타난 바와 같이, 07-0653-h43Bs 이중특이성 항체에 의한 CDH17 양성 세포주(HPAF2 및 SNUC1)의 처리는 표적 세포 대조군 없음에 비해 T 세포 활성화를 초래하였다. 대조적으로, 07-0646-h7Bs 및 07-0663-h7Bs 이중특이성 항체에 대한 CDH17 양성 세포와 비-표적 세포 대조군 사이의 T-세포 활성화 수준에는 차이가 없었다. 본 명세서에 사용된 이중특이성 항체는 C-말단의(HIS)₆ 태그를 더 포함한다.

[0483] 실시예 6

[0484] 간접 유세포측정 분석 iQue®(Sartorius, 독일 괴팅겐 소재)에 의해 CDH17 양성 세포에 대한 이들의 결합 효과

에 대해 이중특이성 항체 및 scFv 단편을 평가하였다. iQue® 소프트웨어에 의해 획득된 FL4-H 값이 보고된 iQue®을 사용하여 1차 항체 및 형광색소-표지된 항-His 2차 항체를 사용하여 CDH17 양성 LS513 세포 또는 CDH17 음성 M202 세포로 분석을 수행하였다.

[0485] 표 8B는 CDH17 양성 LS513 세포에 선택적으로 결합하지만 CDH17 음성 M202 세포에 선택적으로 결합하지 않는다는 것이 입증된 CDH17 scFv 및 BiTE를 나타낸다.

표 1

서열 번호	서열
01	GYTFTSYN
02	IYPGNGDT
03	ARGRGRYFEY
04	SSVSSSY
05	STS
06	QQYDSSPST
07	GYTFTDYY
08	IYPYSGGI
09	ARGRGDYFGLFDF
10	SSLSY
11	EIS
12	QQWNYPFT
13	GYTFTDHT
14	IFPRDDIV
15	ARPPYYYSRNFYFDY
16	SISSSK
17	GTS
18	QQWSNYPFT
19	인간 카데린-17; UniProt 수탁번호 Q12864 MILQAHLHSLCLLMLYLATGYGQEGKFSGPLKPMTFISIYEGQEPSQIIFQFKA NPPAVTFELTGETDNIFVIEREGLLYNRLDRETRSTHNLQVAALDANGIIV EGPVPITIKVKDINDNRPTFLQSKYEGSVRQNSRPGKPFLYVNATDLDDPATP NGQLYYQIVIQPLMINNVMYFQINNKTGAISLTREGSQELNPAKNPSYNLVIS VKDMGGQSENSFSDTTSVDIIVTENIWKAPKPVEMVENSTDPHPKITQVRW NDPGAQYSLVDKEKLPRFPFSIDQEGDIYVTQPLDREEKDAYVFYAVAKDEY GKPLSYPLEIHVKVKDINDNPPTCPSPVTVFEVQENERLGNSIGILTAHDRDE ENTANSFLNYRIVEQTPKLPMDGLFLIQTYAGMLQLAKQSLKKQDTPQYNL TIEVSDKDFKTLCFVQINVIDINDQIPIFEKSDYGNLTLAEDTNIGSTILTIQATD ADEPFTGSSKILYHIKGDSEGRLGVDTPHTNTGYVHIKKPLDFETAASNVIV FKAENPEPLVFGVKYNASSFAKFTLIVTDVNEAPQFSQHVFQAKVSEDVAIG TKVGNVTAKDPEGLDISYSLRGDTRGWLKIDHVTGEIFSVAPLDREAGSPYR VQVVATEVGGSSLSVSEFHLILMDVNDNPPRLAKDYTGGLFFCHPLSAPGSLI FEATDDDDQHLFRGPHFTFSLGSGSLQNDWEVSKINGTHARLSTRHTEFEERE YVVLIRINDGGRPPLEGIVSLPVTFCSCVEGSCFRPAGHQTGIPTVGMAVGILL TTLLVIGIILAVVFIRIKKDKGKDNVESAQASEVKPLRS

[0486]

20	마우스(무스 무스쿨루스(<i>Mus musculus</i>)) 카데린 -17; UniProt 수탁번호 Q9R100) MVSAQLHFLCLLTLYLTCGYGEEGKFSGPLKPMTFISIFEGQEPSQVIFQFKTN PPAVTFELTGETDGIFKIEKDGLLYHTRALDRETRA VHHLQLAALDSHGAI DGPVPITIEVKDINDNRPTFLQSKYEGSVRQNSRPGKPFMYVNATDLDDPAT PNGQLFYQIVQLPQINDVMYFQIDSKTGAI SLTPEGSQELDPVKNPSYNLVV SVKDMGGQSENSFSDDTTYVDISIRENIWKAPEPVEIRENSTDPHPKITQVQW NDPGAQYSLVNKEKLSPPF SIDQEGNIYVTQALDREEKN SHVFFATAKDEN GKPLAYPLEIYVKVIDINDNPPTCLSPVTVFEVQENEPLGNSIGIFEAHDMDEA NNINSILKYKLVDQTPKVP SDGLFLIGEYEGKVQLSKQSLKKQDSPQYNLS IEVSDVDFKTL CYIQVNVIDINDQIPIFETSNYGSKT LSEDTAIGSTILIQATDA DEPFTGSSKILYKIVQGDTEGRLEVVDPTTNAGYVKIKKPLDFETQPVSSIVF QAENPEPLVKGIEYNASSFASFELIVTDVNEVPVFPQRIFQANVSEDAAVGSR VGNVTARDPEGLTVSYSLKGNMRGWLKIDSVTGEIFSAAPLDRETESVYRV QVVATEVGGSSLSSTAD FHLVLTDVNDNPRLAKDYTG LFFCHPLSAPGSLIF EVTDDDQQSLRRPKFTFALGREGLQSDWEVSKINGTHARLSTRHTRFEEQVY NIPIRINDGGQPPMEGTVFLPVTFCQCVEGSCFRPAGRQDGIPTVGMVAVGILL TTFLVIGILAVVFIRMRKDKVENPQSPENKPLRS
21	QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKAS
22	MHWVRQAPGQGLEWIGA
23	SYAQKFQGRATLTVDITSTAYMELSSLRSEDTAVYYC
24	WGQGTTTLTVSS
25	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTMTCRAS
26	LHWYQQKPGKAPKLLIY
27	NLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSVQPEDFATYYC
28	FGQGTKLEIK
29	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS
30	MNWVRQAPGQGLEWMGV
31	GYAQKFQGRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC
32	WGQGTTTVTVSS
33	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRAT
34	IHWYQQKPGKAPKPLIY
35	KLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC
36	FGQGTKLEIK
37	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVS
38	IHWMRQAPGQGLEWIGY
39	VYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC
40	WGQGTTTLTVSS
41	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRVS
42	LHWYQQKPGKAPKPLIY
43	TLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC
44	FGQGTKLEIK
45	QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWIG AIYPGNGDTSYAQKFQGRATLTVDITSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGR GRYFEYWGQGTTTLTVSS
46	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTMTCRASSSVSSYLHWYQQKPGKAPKLLIYSTS NLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSVQPEDFATYYCQQYDSSPSTFGQGTKLE IK
47	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWM GVITYPSGGIGY AQKFQGRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARG RGDYFGLDFWQGTTTVTVSS

[0487]

48	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTTITCRATSSLSYIHWYQQKPGKAPKPLIYEISKLA SGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQWNPFTFGQGTKLEIK
49	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVSGYFTDHTIHWMRQAPGQGLEWIGYI FPRDDIVVYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDATAVYYCARPPYY YSRNFYFDYWGGGTTLTVSS
50	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTICRVSSIISSSKLHWYQQKPGKAPKPLIYGTST LASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQWSNPFTFGQGTKLEI K
51	QEGKFSGLPKPMTFSIYEGQEPSQIIFQKANPPAVTFELTGETDNIFVIEREGL LYYNRALDRETRSTHNLQVAALDANGIIVEGPVITIKVKDINDNRPTFLQSK YEGSVRQNSRPGKPFLYVNATDLDDPATPNGQLYYQIVQLPMINNVMYFQI NNKTGAISLTREGSQELNPAKNPSYNLVISVKDMGGQSENSFSDTTSVDIIVT ENIWKAPKPVEMVENSTDHPPIKITQVRWNDPGAQYSLVDKEKLPRFPFSID QEGDIYVTQPLDREEKDAYVFYAVAKDEYGKPLSYPLEIHVKVKDINDNPPT CPSPVTVEFQENERLGNSIGTLTAHDRDEENTANSFLNYRIVEQTPKLPMD GLFLIQTYAGMLQLAKQSLKKQDTPQYNLTIEVSDKDFKTLCFVQINVIDIND QIPIFEKSDYGNLTLAEDTNIGSTILTIQATDADEPFTGSSKILYHIKGDSEGR LGVDTDPHTNTGYVIAKKPLDFETAAVSNIVFKAENPEPLVFGVKYNASSFAKF TLIVTDVNEAPQFSQHVFQAKVSEDVAIGTKVGNVTAKDPEGLDISYSLRGD TRGWLKIDHVTGEIFSVAPLDREAGSPYRVQVVATEVGGSSLSVSEFHLILM DVNDNPPRLAKDYTGFFCHPLSAPGSLIFEATDDDQHLFRGPHFTFSLGSGS LQNDWEVSKINGTHARLSTRHTEFEEREYVVLIRINDGGRPPLEGIVSLPVT CSCVEGSCFRPAGHQTGIPTVGM
52	QEGKFSGLPKPMTFSIYEGQEPSQIIFQKANPPAVTFELTGETDNIFVIEREGL LYYNRALDRETRSTHNLQVAALDANGIIVEGPVITIKVKDINDNRPTFLQSK YEGSVRQNSRPGKPFLYVNATDLDDPATPNGQLYYQIVQLPMINNVMYFQI NNKTGAISLTREGSQELNPAKNPSYNLVISVKDMGGQSENSFSDTTSVDIIVT ENIWKAPKPVEMVENSTDHPPIKITQVRWNDPGAQYSLVDKEKLPRFPFSID QEGDIYVTQPLDREEKDAYVFYAVAKDEYGKPLSYPLEIHVKVKDINDNPPT CPSPVTVEFQENERLGNSIGTLTAHDRDEENTANSFLNYRIVEQTPKLPMD GLFLIQTYAGMLQLAKQSLKKQDTPQYNLTIEVSDKDFKTLCFVQINVIDIND QIPIFEKSDYGNLTLAEDTNIGSTILTIQATDADEPFTGSSKILYHIKGDSEGR LGVDTDPHTNTGYVIAKKPLDFETAAVSNIVFKAENPEPLVFGVKYNASSFAKF TLIVTDVNEAPQFSQHVFQAKVSEDVAIGTKVGNVTAKDPEGLDISYSLRGD TRGWLKIDHVTGEIFSVAPLDREAGSPYRVQVVATEVGGSSLSVSEFHLILM DVNDNPPRLAKDYTGFFCHPLSAPGSLIFEATDDDQHLFRGPHFTFSLGSGS LQNDWEVSKINGTHARLSTRHTEFEEREYVVLIRINDGGRPPLEGIVSLPVT CSCVEGSCFRPAGHQTGIPTVGMGPEQKLISEEDLNSAVDHHHHHH
53	LDANGII
54	DANGI
55	GYTFXDXT
56	GYTFXSXN
57	GYTFXDXY
58	GYTFNDHT
59	GYTFNDWT
60	GYTFNDYT
61	GYTFNDFT
62	GYTFSDHT
63	GYTFSDWT
64	GYTFSDYT
65	GYTFSDFT
66	GYTFRDHT
67	GYTFRDWT

[0488]

68	GYTFRDYT
69	GYTFRDFT
70	GYTFQDHT
71	GYTFQDWT
72	GYTFQDYT
73	GYTFQDFT
74	GYTFADHT
75	GYTFADWT
76	GYTFADYT
77	GYTFADFT
78	GYTFIDWT
79	GYTFIDYT
80	GYTFIDFT
81	GYTFXXXX
82	THNLQVAALDANGIIVEGPVPIT
83	THNLQVAALDANGII
84	QVAALDANGIIVEGP
85	LDANGIIVEGPVPIT
86	신호 펩타이드 서열이 있는 항체 07-0663-h7_중쇄(HC) 아미노산 서열(서열번호 88에 의해 암호화됨) MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVSGYTFTDHT IHWMRQAPGQGLEWIGYIFPRDDIVVYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCARPPYYYSRNFYFDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
87	신호 펩타이드 서열이 있는 항체 07-0663-h7_경쇄(LC) 아미노산 서열(서열번호 89에 의해 암호화됨) METDTLLLWVLLWVPGSTGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRVSSISSSK LHWYQQKPKGKAPKPLIYGTSITLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAT YYCQQWSNYPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0489]

88	신호 펩타이드 서열이 있는 항체 07-0663-h7_중쇄(HC)를 암호화하는 핵산 ATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTGGTAGCAACTGCAACTGGAGT ACATAGCCAGGTTTCAGCTAGTTCAATCCGGGGCCGAGGTTAAAAAGCCA GGTTCAAGCGTCAAAAATCTCCTGCAAAGTCTCCGATACACATTACCCGA TCATACCATCCACTGGATGCGACAGGCTCCTGGACAAGGCCTGGAGTGG ATTGGCTACATTTTTCCACGGGACGACATTGTCGTTTACGCACAAAAATT CCAGGGCCCGGGCCACACTTACCGCCGACAAAAGCACTTCAACCGCATAC ATGGAATCTCTTCTCTGCGTTCCGAGGACACTGCGCTCTACTACTGTGC ACGGCCTCCTTATTATTACTCTCGGAATTTCTACTTCTGACTACTGGGGCCA AGGCACAACCCTGACGGTGTCTCCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCT TCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTG GGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCCGTCTACAG TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGAAGGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACA CATGCCCCACCGTGCCACGACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTC CTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA GGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC CGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCAC CGTCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC TCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCA AAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGA CGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGGA ACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTC CTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAG AAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGCAAA
89	신호 펩타이드 서열이 있는 항체 07-0663-h7_경쇄(LC)를 암호화하는 핵산 ATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGCTGCTCTGGGTTCCAGG CTCCACCGGCGATATTCAGATGACCCAGAGCCCCTCTAGCCTCTCCGCCT CTGTTGGGGACAGAGTGACCATTACATGCCGAGTATCTAGCATCATCTCT TCCTCCAAACTGCACTGGTACCAGCAAAAGCCTGGCAAAGCCCCTAAGC CTCTGATTTATGGGACTTCTACTTTAGCCTCCGGCGTCCCAAGTCGGTTCT CTGGAAGTGGCTCCGGCACCGACTACACTCTGACTATCTCCAGTCTGCAG CCCGAGGACTTCGCTACATACTACTGCCAACAATGGTCCAACCTATCCTTT TACATTCCGACAAGGCACTAAGCTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCA CCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAC TGCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAG TACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAG TGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACC CTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCG AAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAG GGGAGAGTGT

[0490]

90	신호 펩타이드 서열이 있는 항체 07-0663-h7_중쇄(HC) 아미노산 서열(서열번호 92에 의해 암호화됨) MEFGLSWVFLVALFRGVQCQVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVSGYTFDHTIHWMRQAPGQGLEWIGYIFPRDDIVVYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPPYYYSRNFYFDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKLTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
91	신호 펩타이드 서열이 있는 항체 07-0663-h7_경쇄(LC) 아미노산 서열(서열번호 93에 의해 암호화됨) MDMRVPAQLLGLLLLWLSGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRVSSIISGSLHWYQQKPGKAPKPLIYGSTLASGVPSRFSFGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQWSNYPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
92	신호 펩타이드 서열이 있는 항체 07-0663-h7_중쇄(HC)를 암호화하는 핵산(p07-0663-h7, ATCC 수탁번호: 결정될 것임) ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTCGTTGCTCTTTTATAGAGGTGTCAGTGTCAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCCGAGGTGAAAAAGCCAGGCAGCTCTGTGAAGATCAGCTGCAAGGTGCTGGCTACACCTTCACCGACACACCATCCACTGGATGCGGCAGGCCCTGGCCAGGGCCTGGAATGGA TCGGCTACATCTTTCCTAGAGATGACATCGTGGTCTACGCCCAGAAGTTC CAGGGCAGAGCCACACTGACCGCTGATAAGTCTACAAGCACAGCTTACA TGGAAGTCTGAGCTCCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCC AGACCTCCCTACTACTACAGCAGAACTTCTACTTCGACTACTGGGGCCA GGGAACCACCCTGACAGTGTCCAGCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCT GGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGG AACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCCGGCTGTCTCTACA GTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCA GCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAA CACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCAC ACATGCCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGACCGTCAGTCTT CCTCTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTG AGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAA GTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAAG CCGCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCTCA CCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGT GTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGG ATGAGCTGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTT CTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG AACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT CCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCA GAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

[0491]

93	신호 펩타이드 서열이 있는 항체 07-0663-h7_경쇄(LC)를 암호화하는 핵산(p07-0663-h7, ATCC 수탁번호: 결정될 것임) ATGGACATGAGGGTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCTCTCAGGTGCCAGATGTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGAGATAGAGTCACAATCACCTGTAGAGTGTCTCTCA TCATCAGCTCTTTCTAAGCTGCACTGGTATCAGCAGAAACCAGGCAAGGCC CTAAGCCTCTGATCTACGGCACAAGCACCCCTGGCTTCTGGCGTGCCCCAG CCGGTTTCAGCGGCAGCGGATCTGGCACCGACTACACCCTGACCATTAGC AGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACATACTACTGCCAGCAATGGTCCAA CTACCCCTTTACATTTCGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAGCGTACG GTGGCGGCGCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAA ATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAG AGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTC CCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTC AGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCT ACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAG CTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
94	항체 07-0663-h7_중쇄 (HC) 아미노산 서열(리더 서열 없음) QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVSGYFTDHTIHWMRQAPGQGLEWIGYI FPRDDIVVYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPPYY YSRNFYFDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
95	항체 07-0663-h7_경쇄 (LC) 아미노산 서열(리더 서열 없음) DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRVSSIISSSKLHWYQQKPGKAPKPLIYGTST LASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQWSNYPFTFGQGTKLEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSF NRGEC
96	07-0646-h7scfv 항-CDH17 scFv 항체의 아미노산 서열 DIQLTQSPSSLSASVGDRTTMTCRASSSVSSSYLHWYQQKPGKAPKLLIYSTS NLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSVQPEDFATYYCQQYDSSPSTFGQGTKLE IKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYFTSYN MHWVRQAPGQGLEWIGAIYPGNGDTSYAQKFQGRATLTVDSTSTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARGRGYFEYWGQGTTLTVSS scFv는 선택적으로 이의 C-말단에 (His)₆-에피토프 태그를 추가로 포함할 수 있다.
97	07-0653-h43scfv 항-CDH17 scFv 항체의 아미노산 서열 DIQLTQSPSSLSASVGDRTTITCRATSSLSYIHWYQQKPGKAPKPLIYEISKLA SGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQWNYPFTFGQGTKLEIKGG GSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFDYYMNW VRQAPGQGLEWMGVITYPSGGIGYAQKFQGRVTMTVDKSTSTAYMELSSL RSEDTAVYYCARGRGDYFGLDFWQGQGTTVTVSS scFv는 선택적으로 이의 C-말단에 (His)₆-에피토프 태그를 추가로 포함할 수 있다.

[0492]

98	07-0663-h7scfv 항-CDH17 scFv 항체의 아미노산 서열 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRVSSISSSKLHWYQQKPGKAPKPLIYGTST LASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQWSNYPFTFGQGTKLEI KGGGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVSGYTFDHTIH WMRQAPGQGLEWIGYIFPRDDIVVYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSL RSEDTAVYYCARPPYYYSRNFYFDYWGQGTTLTVSS scFv는 선택적으로 이의 C-말단에 (His)₆-에피토프 태그를 추가로 포함할 수 있다.
99	또한 이종특이성 T-세포 관여자(BiTE)인 07-0646-h7Bs CDH17-CD3 이종특이성 항체의 아미노산 서열 DIQLTQSPSSLSASVGDRVTMTCRASSSVSSSYLHWYQQKPGKAPKLLIYSTS NLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSVQPEDFATYYCQQYDSSPSTFGQGTKLEI KGGGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYN MHWVRQAPGQGLEWIGAIYPGNGDTSYAQKFQGRATLTVDSTSTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARGRGRYFEYWGQGTTLTVSSGGGGSDIKLQQSGAELA RPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQ KFKDKATLTDDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQG TTLTVSSVEGGSGGSGGGSGGVDDIQLTQSPAIMSASPGEKVTMTCRASS SVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEA EDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELK 이종특이성 항체는 선택적으로 이의 C-말단에 (His)₆-에피토프 태그를 추가로 포함할 수 있다.
100	또한 이종특이성 T-세포 관여자(BiTE)인 07-0653-h43Bs CDH17-CD3 이종특이성 항체의 아미노산 서열 DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRATSSLSYIHWYQQKPGKAPKPLIYEISKLA SGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQWNYNYPFTFGQGTKLEIKGG GGSGGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYMNW VRQAPGQGLEWMGVIPYSGGIGYAQKFQGRVTMTVDKSTSTAYMELSSL RSEDTAVYYCARGRGDYFLDFWGGQTTVTVSSGGGGSDIKLQQSGAELA RPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQ KFKDKATLTDDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQG TTLTVSSVEGGSGGSGGGSGGVDDIQLTQSPAIMSASPGEKVTMTCRASS SVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEA EDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELK 이종특이성 항체는 선택적으로 이의 C-말단에 (His)₆-에피토프 태그를 추가로 포함할 수 있다.
101	또한 이종특이성 T-세포 관여자(BiTE)인 07-0663-h7Bs CDH17-CD3 이종특이성 항체의 아미노산 서열 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRVSSISSSKLHWYQQKPGKAPKPLIYGTST LASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQWSNYPFTFGQGTKLEI KGGGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVSGYTFDHTIH WMRQAPGQGLEWIGYIFPRDDIVVYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSL RSEDTAVYYCARPPYYYSRNFYFDYWGQGTTLTVSSGGGGSDIKLQQSGAE LARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQ KFKDKATLTDDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWG QGTTLTVSSVEGGSGGSGGGSGGVDDIQLTQSPAIMSASPGEKVTMTCRA SSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVVPYRFSGSGSGTSYSLTISSM EAEDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELK 이종특이성 항체는 선택적으로 이의 C-말단에 (His)₆-에피토프 태그를 추가로 포함할 수 있다.

[0493]

102	07-0646-h7scfv 항-CDH17 scFv 를 암호화하는 핵산 GATATCCAGCTGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCG ACCGGGTGACCATGACCTGTAGAGCCTCTAGCAGCGTGTCTCCAGCTAC CTGCACTGGTATCAGCAAAAAGCCCGCAAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTA CAGCACCAGCAACCTGGCTTCTGGAGTGCCAGCAGATTACAGCGGATCT GGCAGCGGCACAGATTACACCCTGACCATCAGCTCTGTCCAGCCTGAGG ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACGACAGCTCCCCATCTACATTT GGCCAGGGCACCAGCTGGAAATCAAGGGTGGTGGTGGTTCTGGAGGAG GAGGATCTGGAGGGGGGGGGTCCCAAGTGCAGCTGGTCCAGAGCGGCGC CGAGGTGAAAAAGCCTGGAGCTTCTGTGAAGATGAGCTGCAAGGCCTCT GGCTACACCTTCACCAGCTACAACATGCACTGGGTGCGGCAGGCCCTG GCCAGGGCCTGGAATGGATCGGCGCTATCTACCCCGGCAACGGCGATAC ATCTTATGCCCAGAAGTTTCAGGGAAGAGCCACACTGACCGTGGACACC AGCACCTCCACCGCTTACATGGAAGTGCAGCAGCTGAGAAGCGAGGACA CAGCCGTGTACTACTGTGCCAGAGGAAGAGGCCGGTACTTCGAGTACTG GGGCCAGGGCACCACCCTGACAGTGTCCAGC
103	07-0653-h43scfv 항-CDH17 scFv 를 암호화하는 핵산 GATATCCAGCTGACACAGAGCCCTAGCAGCCTCTCCGCCAGCGTGGGCG ACCGGGTGACCATCACCTGTAGAGCCACCAGCAGCCTGAGCTACATCCA CTGGTATCAGCAGAAACCCGGCAAGGCCCTAAGCCTCTGATCTACGAG ATTAGCAAGCTGGCTTCTGGAGTGCCATCTAGATTACAGCGGCAGCGGATC TGGCACCAGCTACACCCTGACCATCTCCTCCCTGCAGCCTGAGGACTTCG CCACATACTACTGCCAGCAATGGAAGTACCCCTTCACCTTTGCCAGGGC ACAAAGCTGGAATCAAGGGTGGTGGTGGTTCTGGAGGAGGAGGATCTG GAGGGGGGGGGTCCCAAGTCCAACCTCGTCCAATCCGGTGCTGAAGTCAA GAAACCTGGTGCATCCGTCAAAGTCTCCTGTAAAGCAAGTGGTTATACAT TTACTGATTATTATATGAATTGGGTCCGCCAAGCACCTGGGCAAGGGCTC GAATGGATGGGTGTAATTTATCCATATTCTGGCGGAATAGGATATGCTCA AAAGTTTCAAGGGCGAGTAACAATGACAGTTGATAAATCCACATCAACT GCTTACATGGAATTGTCTCACTCCGAAGTGAAGATACGGCTGTTTATTA TTGTGCAAGAGGGCGTGGGGATTATTTTGGACTCTTTGATTCTGGGGAC AAGGAACGACTGTAACAGTCTCTTCC
104	07-0663-h7scfv 항-CDH17 scFv 를 암호화하는 핵산 GACATCCAGATGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGAG ATAGAGTCACAATCACCTGTAGAGTGTCTCCATCATCAGCTCTTCTAAG CTGCACTGGTATCAGCAGAAACCAGGCAAGGCCCTAAGCCTCTGATCT ACGGCACAAGCACCCTGGCTTCTGGCGTGCCAGCCGGTTCAGCGGCAG CGGATCTGGCACCAGCTACACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCTGAG GACTTCGCCACATACTACTGCCAGCAATGGTCCAACCTACCCCTTACATT CGGCCAGGGCACCAGCTGGAAATCAAGGGTGGTGGTGGTTCTGGAGGA GGAGGATCTGGAGGGGGGGGGTCCCAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGA GCCGAGGTGAAAAAGCCAGGCAGCTCTGTGAAGATCAGCTGCAAGGTGT CTGGCTACACCTTCACCGACCACACCATCCACTGGATGCGGCAGGCCCT GGCCAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTTTCTAGAGATGACATCGT GGTCTACGCCCAGAAAGTTCCAGGGCAGAGCCACACTGACCGCTGATAAG TCTACAAGCACAGCTTACATGGAAGTGCAGCTCCCTGCGGAGCGAGGACA CCGCCGTGTACTATTGTGCCAGACCTCCCTACTACTACAGCAGAACTTC TACTTCGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGACAGTGTCCAGC

[0494]

105	또한 이종특이성 T-세포 관여자(BiTE)인 07-0646-h7Bs CDH17-CD3 이종특이성 항체를 암호화하는 핵산 서열 GATATCCAGCTGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCG ACCGGGTGACCATGACCTGTAGAGCCTCTAGCAGCGTGTCTCCAGCTAC CTGCACTGGTATCAGCAAAAAGCCCGGCAAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTA CAGCACCAGCAACCTGGCTTCTGGAGTGCCAGCAGATTGAGCGGATCT GGCAGCGGCACAGATTACACCTGACCATCAGCTCTGTCCAGCCTGAGG ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACGACAGCTCCCCATCTACATTT GGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAGGGTGGTGGTGGTTCTGGAGGAG GAGGATCTGGAGGGGGGGGGTCCCAAGTGCAGCTGGTCCAGAGCGGCGC CGAGGTGAAAAAGCCTGGAGCTTCTGTGAAGATGAGCTGCAAGGCCTCT GGCTACACCTTCACCAGCTACAACATGCACTGGGTGCGGCAGGCCCCCTG GCCAGGGCCTGGAATGGATCGGCGCTATCTACCCCGGCAACGGCGATAC ATCTTATGCCCAGAAGTTTCAGGGAAGAGCCACACTGACCGTGAGACACC AGCACCTCCACCGCTACATGGAAGTGAAGCTGAGCAGCCTGAGAAGCGAGGACA CAGCCGTGTACTACTGTGCCAGAGGAAGAGGCCGCTACTTCGAGTACTG GGGCCAGGGCACACCTGACAGTGTCCAGCGCGGCGGCGGCAGCGAC ATCAAGCTGCAGCAGAGCGGCGCCGAGCTGGCCAGGCCCCGGCGCCAGCG TGAAGATGAGCTGCAAGACCAGCGGCTACACCTTCACCAGGTACACCAT GCACTGGGTGAAGCAGAGGGCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCTAC ATCAACCCAGCAGAGGGGCTACACCAACTACAACCAGAAAGTTCAAGGACA AGGCCACCCTGACCACCGACAAGAGCAGCAGCACCAGCCTACATGCAGCT GAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTAC TACGACGACCACTACTGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACACCCCTGA CCGTGAGCAGCGTGGAGGGCGGCAGCGGCGGCAGCGGCGGCAGCGGCG GCAGCGGCGGCGTGGACGACATCCAGCTGACCCAGAGCCCCGCCATCAT GAGCGCCAGCCCCGGCGAGAAGGTGACCATGACCTGCAGGGCCAGCAGC AGCGTGAGCTACATGAACTGGTACCAGCAGAAGAGCGGCACCAGCCCCA AGAGGTGGATCTACGACACCAGCAAGGTGGCCAGCGGCGTGCCTACAG GTTACAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCAGCTACAGCCTGACCATCAGCAGC ATGAGGCGGAGGACGCCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTGAGCAGCA ACCCCTGACCTTCGGCGCCCGCACCAAGCTGGAGCTGAAG
106	또한 이종특이성 T-세포 관여자(BiTE)인 07-0653-h43Bs CDH17-CD3 이종특이성 항체를 암호화하는 핵산 서열 GATATCCAGCTGACACAGAGCCCTAGCAGCCTCTCCGCCAGCGTGGGCG ACCGGGTGACCATCACCTGTAGAGCCACCAGCAGCCTGAGCTACATCCA CTGGTATCAGCAGAAACCCGGCAAGGCCCTAAGCCTCTGATCTACGAG ATTAGCAAGCTGGCTTCTGGAGTGCCATCTAGATTAGCGGCAGCGGATC TGGCACCGACTACACCCTGACCATCTCCTCCCTGCAGCCTGAGGACTTCG CCACATACTACTGCCAGCAATGGAAGTACCCCTTCACCTTTGGCCAGGGC ACAAAGCTGGAAATCAAGGGTGGTGGTGGTTCTGGAGGAGGAGGATCTG GAGGGGGGGGGTCCCAAGTCCAAGTCCGTCATCCGGTGCTGAAGTCAA GAAACCTGGTGATCCGTCAAAGTCTCCTGTAAAGCAAGTGGTTATACAT TTACTGATTATTATGAATTGGGTCCGCCAAGCACCTGGGCAAGGGCTC GAATGGATGGGTGAATTTATCCATATTCTGGCGGAATAGGATATGCTCA AAAGTTTCAAGGGCGAGTAACAATGACAGTTGATAAATCCACATCAACT GCTTACATGGAATTGTCCTCACTCCGAAGTGAAGATACGGCTGTTTATTA TTGTGCAAGAGGGCGTGGGGATTATTTGGACTCTTTGATTCTGGGGAC AAGGAACGACTGTAACAGTCTCTTCCGGCGGCGGCGGCAGCGACATCAA GCTGCAGCAGAGCGGCGCCGAGCTGGCCAGGCCCCGGCGCCAGCGTGAAG ATGAGCTGCAAGACCAGCGGCTACACCTTCACCAGGTACACCATGCACT GGGTGAAGCAGAGGGCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCTACATCAA CCCCAGCAGGGGCTACACCAACTACAACCAGAAGTTCAAGGACAAGGCC

[0495]

	ACCCTGACCACCGACAAGAGCAGCAGCACCCTACATGCAGCTGAGCA GCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTACTACGA CGACCACTACTGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCTGACCGTG AGCAGCGTGGAGGGCGGCAGCGGCGGCAGCGGCGGCAGCGGCGGCAGC GGCGGCGTGGACGACATCCAGCTGACCCAGAGCCCCGCCATCATGAGCG CCAGCCCCGGCGAGAAGGTGACCATGACCTGCAGGGCCAGCAGCAGCGT GAGCTACATGAAGTGGTACCAGCAGAAGAGCGGCACCAGCCCCAAGAGG TGGATCTACGACACCAGCAAGGTGGCCAGCGGCGTGCCCTACAGGTTCA GCGGCAGCGGCAGCGGCACCAGCTACAGCCTGACCATCAGCAGCATGGA GGCCGAGGACGCGGCCACCTACTACTGCCAGCAGTGGAGCAGCAACCCC CTGACCTTCGGCGCGCCGGCACCAGCTGGAGCTGAAG
107	또한 이종특이성 T-세포 관여자(BiTE)인 07-0663-h7Bs CDH17-CD3 이종특이성 항체를 암호화하는 핵산 서열 GACATCCAGATGACCCAGAGCCCTAGCAGCCCTGAGCGCCAGCGTGGGAG ATAGAGTCACAATCACCTGTAGAGTGTCTCCATCATCAGCTCTTCTAAG CTGCACTGGTATCAGCAGAAACCAGGCAAGGCCCCCTAAGCCTCTGATCT ACGGCACAAGCACCCTGGCTTCTGGCGTGCCAGCCGGTTCAGCGGCAG CGGATCTGGCACCGACTACACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCTGAG GACTTCGCCACATACTACTGCCAGCAATGGTCCAACTACCCCTTTACATT CGGCCAGGGCACCAAGCTGGAATCAAGGGTGGTGGTGGTCTGGAGGA GGAGGATCTGGAGGGGGGGGGTCCCAAGTGCACTGGTGCAGAGCGGA GCCGAGGTGAAAAAGCCAGGCAGCTCTGTGAAGATCAGCTGCAAGGTGT CTGGCTACACCTTACCGACCACCATCCACTGGATGCGGCAGGCCCCCT GGCCAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTTTCCTAGAGATGACATCGT GGTCTACGCCCAGAAGTTCAGGGCAGAGCCACACTGACCGCTGATAAG TCTACAAGCACAGCTTACATGGAAGTGGTCTCCCTGCGGAGCGAGGACA CCGCCGTGTACTATTGTGCCAGACCTCCCTACTACTACAGCAGAACTTC TACTTCGACTACTGGGGCCAGGGAACCACCCTGACAGTGTCCAGCGGCG GCGGCGGCAGCGACATCAAGCTGCAGCAGAGCGGCGCCGAGCTGGCCAG GCCCCGGCGCCAGCGTGAAGATGAGCTGCAAGACCAGCGGCTACACCTTC ACCAGGTACACCATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCCGGCCAGGGCCTGG AGTGGATCGGCTACATCAACCCAGCAGGGGCTACACCAACTACAACCA GAAGTTCAAGGACAAGGCCACCCTGACCACCGACAAGAGCAGCAGCACC GCCTACATGCAGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACT ACTGCGCCAGGTACTACGACGACCACTACTGCCTGGACTACTGGGGCCA GGGCACCACCCTGACCGTGAGCAGCGTGGAGGGCGGCAGCGGCGGCAGC GGCGGCAGCGGCGGCAGCGGCGGCGTGGACGACATCCAGCTGACCCAGA GCCCGGCCATCATGAGCGCCAGCCCCGGCGAGAAGGTGACCATGACCTG CAGGGCCAGCAGCAGCGTGAGCTACATGAAGTGGTACCAGCAGAAGAGC GGCACCAGCCCCAAGAGGTGGATCTACGACACCAGCAAGGTGGCCAGCG GCGTGCCCTACAGGTTACGCGCAGCGGCAGCGGCACCAGCTACAGCCT GACCATCAGCAGCATGGAGGCCGAGGACGCGGCCACCTACTACTGCCAG CAGTGGAGCAGCAACCCCTGACCTTCGGCGCCGGCACCAGCTGGAGC TGAAG

[0496]

[0497]

* 서열번호 07-0663-h7의 HC 및 LC를 발현시키기 위해 86 내지 89(세트 1) 및 서열번호 90 내지 93(세트 2)을 모두 사용하였다. 세트 1 및 세트 2의 서열은 상이한 신호 펩타이드(성숙 단백질로부터 절단됨)의 사용 및 번역된 단백질의 아미노산 서열을 변경하지 않는 상이한 침묵 핵산 돌연변이의 존재가 상이하며; 서열번호 86 내지 89는 코돈 최적화되었다.

[0498]

* 본 명세서에 사용된 scFv 및 이종특이성 항체(예를 들어, BiTE)는 C-말단의 (His)₆ 에피토프 태그를 더 포함하고, 이는 정제 및 검출을 촉진시킨다.

[0499]

* 분비 경로로 향하는 새로 합성된 폴리펩타이드(예를 들어, 분비되거나 막에 삽입된 단백질)가 신호 펩타이드를 포함한다는 것은 당업계에서 잘 이해된다. 따라서, 본 명세서에 제시된 폴리펩타이드 중 어느 하나는 신호 펩타이드를 더 포함할 수 있으며, 이의 아미노산 서열의 변형은 당업계에 잘 알려져 있다.

[0500] [표 2A]

인간화된 CDH17 항체 07-0646-h7 의 아미노산 서열(IMG T 넘버링)

항체의 명칭	07-0646-h7	
발현 벡터의 명칭	p07-0646-h7	
VH 또는 VL 의 명칭	07-0646-h7_VH	07-0646-h7_VL
FR1-IMG T	QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKAS	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTMTCRAS
CDR1-IMG T	GYTFTSYN	SSVSSSY
FR2-IMG T	MHWVRQAPGQGLEWIGA	LHWYQQKPGKAPKLLIY
CDR2-IMG T	IYPGNGDT	STS
FR3-IMG T	SYAQKFQGRATLTVDSTSTAYMELSSLRSED TAVYYC	NLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTIS SVQPEDFATYYC
CDR3-IMG T	ARGRGRYFEY	QQYDSSPST
FR4-IMG T	WGQGTTTLTVSS	FGQGTKLEIK
VH 또는 VL 서열	QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWIGAIYPGNGDTSY AQKFQGRATLTVDSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGRGRYFEYWGQGTTTLTVSS	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTMTCRASSSVSSSYLHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSVQPEDFATYYCQQYDSSPSTFGQGTKLEIK
VH 또는 VL 의 명칭	07-0646-h7_VH	07-0646-h7_VL
항체의 프로젝트	CDH17	CDH17

[0501]

[0502] [표 2B]

인간화된 CDH17 항체 07-0646-h7 의 아미노산 서열(Kabat 넘버링)

VH 의 명칭	07-0646-h7_VH	07-0646-h7_VH	07-0646-h7_VH
방법	Kabat	Kabat	Kabat
영역	서열 단편	잔기	길이
HFR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFT	1 - 30	30
CDR-H1	SYNMH	31 - 35	5
HFR2	WVRQAPGQGLEWIG	36 - 49	14
CDR-H2	AIYPGNGDTSYAQKFQG	50 - 66	17
HFR3	RATLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAR	67 - 98	32
CDR-H3	GRGRYFEY	99 - 106	8
HFR4	WGQGTTLTVSS	107 - 117	11
VH 서열	QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMH WVRQAPGQGLEWIGAIYPGNGDTSYAQKFQGRATL TVDTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGRGRYFEYW GQGTTLTVSS		
VH 의 명칭	07-0646-h7_VH	07-0646-h7_VH	07-0646-h7_VH

VL 의 명칭	07-0646-h7_VL	07-0646-h7_VL	07-0646-h7_VL
방법	Kabat	Kabat	Kabat
영역	서열 단편	잔기	길이
LFR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRTVMTC	1 - 23	23
CDR-L1	RASSSVSSSYLH	24 - 35	12
LFR2	WYQQKPGKAPKLLIY	36 - 50	15
CDR-L2	STSNLAS	51 - 57	7
LFR3	GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSVQPEDFATYYC	58 - 89	32
CDR-L3	QQYDSSPST	90 - 98	9
LFR4	FGQGTKLEIKRTV	99 - 111	13
VL 서열	DIQLTQSPSSLSASVGDRTVMTCRASSSVSSSYLHWY QQKPGKAPKLLIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLT ISSVQPEDFATYYCQQYDSSPSTFGQGTKLEIKRTV		
VL 의 명칭	07-0646-h7_VL	07-0646-h7_VL	07-0646-h7_VL

[0503]

[0504]

[표 2C]

인간화된 CDH17 항체 07-0646-h7의 아미노산 서열(AbM 넘버링)

VH의 명칭	07-0646-h7_VH	07-0646-h7_VH	07-0646-h7_VH
방법	AbM	AbM	AbM
영역	서열 단편	잔기	길이
HFR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKAS	1 - 25	25
CDR-H1	GYTFTSYNMH	26 - 35	10
HFR2	WVRQAPGQGLEWIG	36 - 49	14
CDR-H2	AIYPGNGDTS	50 - 59	10
HFR3	YAQKFQGRATLTVDSTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCAR	60 - 98	39
CDR-H3	GRGRYFEY	99 - 106	8
HFR4	WGQGTTLTVSS	107 - 117	11
VH 서열	QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWIGAIYPGNGDTSYAQKFQGRATLTVDSTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGRGRYFEYWGGQGTTLTVSS		
VH의 명칭	07-0646-h7_VH	07-0646-h7_VH	07-0646-h7_VH

VL의 명칭	07-0646-h7_VL	07-0646-h7_VL	07-0646-h7_VL
방법	AbM	AbM	AbM
영역	서열 단편	잔기	길이
LFR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTMTC	1 - 23	23
CDR-L1	RASSSVSSSYLH	24 - 35	12
LFR2	WYQQKPGKAPKLLIY	36 - 50	15
CDR-L2	STSNLAS	51 - 57	7
LFR3	GVPSRFSGSGSDYTLTISSVQPEDFATYYC	58 - 89	32
CDR-L3	QQYDSSPST	90 - 98	9
LFR4	FGQGTKLEIKRTV	99 - 111	13
VL 서열	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTMTCRASSSVSSSYLHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLASGVPSRFSGSGSDYTLTISSVQPEDFATYYCQQYDSSPSTFGQGTKLEIKRTV		
VL의 명칭	07-0646-h7_VL	07-0646-h7_VL	07-0646-h7_VL

[0505]

[0506] [표 3A]

인간화된 CDH17 항체 07-0653-h43 의 아미노산 서열(IMG T 넘버링)

항체의 명칭	07-0653-h43	
발현 벡터의 명칭	p07-0653-h43	
VH 또는 VL 의 명칭	07-0653-h43_VH	07-0653-h43_VL
FR1-IMG T	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKAS	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRA T
CDR1-IMG T	GYTFTDYY	SSLSY
FR2-IMG T	MNWVRQAPGQGLEWMGV	IHWYQQKPGKAPKPLIY
CDR2-IMG T	IYPYSGGI	EIS
FR3-IMG T	GYAQKFQGRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC	KLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC
CDR3-IMG T	ARGRGDYFGLFDF	QQWNPFT
FR4-IMG T	WGQGTTTVTVSS	FGQGTKLEIK
VH 또는 VL 서열	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTDYMNWVRQAPGQGLEWMGV IYPYSGGIGY AQKFQGRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGRGDYFGLDFW GQGTTTVTVSS	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRA TSSLSYIHWYQQKPGKAPKPLIYEISKLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQWNPFTFGQGTKLEIK
VH 또는 VL 의 명칭	07-0653-h43_VH	07-0653-h43_VL
항체의 프로젝트	CDH17	CDH17

[0507]

[0508]

[표 3B]

인간화된 CDH17 항체 07-0653-h43의 아미노산 서열(Kabat 넘버링)

VH의 명칭	07-0653-h43_VH	07-0653-h43_VH	07-0653-h43_VH
방법	Kabat	Kabat	Kabat
영역	서열 단편	잔기	길이
HFR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	1- 30	30
CDR-H1	DYYMN	31 - 35	5
HFR2	WVRQAPGQGLEWMG	36 - 49	14
CDR-H2	VIYPYSGGIGYAQKFQG	50 - 66	17
HFR3	RVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAR	67 - 98	32
CDR-H3	GRGDYFGLDF	99 - 109	11
HFR4	WGQGTITVTVSS	110 - 120	11
VH 서열	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMN WVRQAPGQGLEWMGVIIYPYSGGIGYAQKFQGRVT MTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGRDYFG LDFWGGQGTITVTVSS		
VH의 명칭	07-0653-h43_VH	07-0653-h43_VH	07-0653-h43_VH

VL의 명칭	07-0653-h43_VL	07-0653-h43_VL	07-0653-h43_VL
방법	Kabat	Kabat	Kabat
영역	서열 단편	잔기	길이
LFR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC	1 - 23	23
CDR-L1	RATSSLSYIH	24 - 33	10
LFR2	WYQQKPGKAPKPLIY	34 - 48	15
CDR-L2	EISKLAS	49 - 55	7
LFR3	GVPSRFSGSGSDYTLTISSLQPEDFATYYC	56 - 87	32
CDR-L3	QQWNPFT	88 - 95	8
LFR4	FGQGTKLEIKRTV	96 - 108	13
VL 서열	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRATSSLSYIHWYQQK PGKAPKPLIYEISKLASGVPSRFSGSGSDYTLTISSLQ PEDFATYYCQQWNPFTFGQGTKLEIKRTV		
VL의 명칭	07-0653-h43_VL	07-0653-h43_VL	07-0653-h43_VL

[0509]

[0510] [표 3C]

인간화된 CDH17 항체 07-0653-h43 의 아미노산 서열(AbM 넘버링)

VH 의 명칭	07-0653-h43_VH	07-0653-h43_VH	07-0653-h43_VH
방법	AbM	AbM	AbM
영역	서열 단편	잔기	길이
HFR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKAS	1 - 25	25
CDR-H1	GYFTDYIMN	26 - 35	10
HFR2	WVRQAPGQGLEWMG	36 - 49	14
CDR-H2	VIYPYSGGIG	50 - 59	10
HFR3	YAQKFQGRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDATVYYCAR	60 - 98	39
CDR-H3	GRGDYFGLDF	99 - 109	11
HFR4	WGQGTTVTVSS	110 - 120	11
VH 서열	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYFTDYIMN WVRQAPGQGLEWMGVIYPYSGGIGYAQKFQGRVT MTVDKSTSTAYMELSSLRSEDATVYYCARGRDYFG LDFWQGTTVTVSS		
VH 의 명칭	07-0653-h43_VH	07-0653-h43_VH	07-0653-h43_VH

VL 의 명칭	07-0653-h43_VL	07-0653-h43_VL	07-0653-h43_VL
방법	AbM	AbM	AbM
영역	서열 단편	잔기	길이
LFR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC	1 - 23	23
CDR-L1	RATSSLSYIH	24 - 33	10
LFR2	WYQQKPGKAPKPLIY	34 - 48	15
CDR-L2	EISKLAS	49 - 55	7
LFR3	GVPSRFSGSGSDYTLTISSLQPEDFATYYC	56 - 87	32
CDR-L3	QQWNPFT	88 - 95	8
LFR4	FGQGTKLEIKRTV	96 - 108	13
VL 서열	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRATSSLSYIHWYQQK PGKAPKPLIYEISKLASGVPSRFSGSGSDYTLTISSLQ PEDFATYYCQQWNPFTFGQGTKLEIKRTV		
VL 의 명칭	07-0653-h43_VL	07-0653-h43_VL	07-0653-h43_VL

[0511]

[0512] [표 4A]

인간화된 CDH17 항체 07-0663-h7 의 아미노산 서열(IGMT 넘버링)

항체의 명칭	07-0663-h7	
발현 벡터의 명칭	p07-0663-h7 (p07-0663-h7 는 ATCC 에 기탁되었다. ATCC 수탁번호: 결정될 것임)	
VH 또는 VL 의 명칭	07-0663-h7_VH	07-0663-h7_VL
FR1-IGMT	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRVS
CDR1-IGMT	GYTFTDHT	SISSSK
FR2-IGMT	IHWMRQAPGQGLEWIGY	LHWYQQKPGKAPKPLIY
CDR2-IGMT	IFPRDDIV	GTS
FR3-IGMT	VYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDATVYYC	TLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC
CDR3-IGMT	ARPPYYYSRNFYFDY	QQWSNYPFT
FR4-IGMT	WGQGTTTLTVSS	FGQGTKLEIK
VH 또는 VL 서열	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVS GYTFTDHTIHWMRQAPGQGLEWIGYIFPRDDIVVYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDATVYYCARPPYYYSRNFYFDYWGQGTTTLTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRVSSISSSKLHWYQQKPGKAPKPLIYGTSTLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQWSNYPFTFGQGTKLEIK
VH 또는 VL 의 명칭	07-0663-h7_VH	07-0663-h7_VL
항체의 프로젝트	CDH17	CDH17

[0513]

[0514] [표 4B]

인간화된 CDH17 항체 07-0663-h7 의 아미노산 서열(Kabat 넘버링)

VH 의 명칭	07-0663-h7_VH	07-0663-h7_VH	07-0663-h7_VH
방법	Kabat	Kabat	Kabat
영역	서열 단편	잔기	길이
HFR1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVSGYTFT	1- 30	30
CDR-H1	DHTIH	31 - 35	5
HFR2	WMRQAPGQGLEWIG	36 - 49	14
CDR-H2	YIFPRDDIVVYAQKFQG	50 - 66	17
HFR3	RATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR	67 - 98	32
CDR-H3	PPYYSRNFYFDY	99 - 111	13
HFR4	WGQGTTLTVSS	112 - 122	11
VH 서열	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVSGYTFTDHTIHW MRQAPGQGLEWIGYIFPRDDIVVYAQKFQGRATLTA DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPPYYSRNFYFD YWQGTTLTVSS		
VH 의 명칭	07-0663-h7_VH	07-0663-h7_VH	07-0663-h7_VH

VL 의 명칭	07-0663-h7_VL	07-0663-h7_VL	07-0663-h7_VL
방법	Kabat	Kabat	Kabat
영역	서열 단편	잔기	길이
LFR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	1 - 23	23
CDR-L1	RVSSISSSKLH	24 - 35	12
LFR2	WYQQKPGKAPKPLIY	36 - 50	15
CDR-L2	GTSTLAS	51 - 57	7
LFR3	GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC	58 - 89	32
CDR-L3	QQWSNYPFT	90 - 98	9
LFR4	FGQGTKLEIKRTV	99 - 111	13
VL 서열	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRVSSISSSKLHWYQ QKPGKAPKPLIYGTSTLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTIS SLQPEDFATYYCQQWSNYPFTFGQGTKLEIKRTV		
VL 의 명칭	07-0663-h7_VL	07-0663-h7_VL	07-0663-h7_VL

[0515]

[0516] [표 4C]

인간화된 CDH17 항체 07-0663-h7의 아미노산 서열(AbM 넘버링)

VH의 명칭	07-0663-h7_VH	07-0663-h7_VH	07-0663-h7_VH
방법	AbM	AbM	AbM
영역	서열 단편	잔기	길이
HFR1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVS	1 - 25	25
CDR-H1	GYTFTDHTIH	26 - 35	10
HFR2	WMRQAPGQGLEWIG	36 - 49	14
CDR-H2	YIFPRDDIVV	50 - 59	10
HFR3	YAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAR	60 - 98	39
CDR-H3	PPYYYSRNIFYDY	99 - 111	13
HFR4	WGQGTTTLTVSS	112 - 122	11
VH 서열	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKVSGYTFTDHTIHW MRQAPGQGLEWIGYIFPRDDIVVYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARPPYYYSRNIFYDYWGQGTTTLTVSS		
VH의 명칭	07-0663-h7_VH	07-0663-h7_VH	07-0663-h7_VH
VL의 명칭	07-0663-h7_VL	07-0663-h7_VL	07-0663-h7_VL
방법	AbM	AbM	AbM
영역	서열 단편	잔기	길이
LFR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	1 - 23	23
CDR-L1	RVSSISSSKLH	24 - 35	12
LFR2	WYQQKPGKAPKPLIY	36 - 50	15
CDR-L2	GTSTLAS	51 - 57	7
LFR3	GVPSRFSGSGSDYTLTISSLQPEDFATYYC	58 - 89	32
CDR-L3	QQWSNYPFT	90 - 98	9
LFR4	FGQGTKLEIKRTV	99 - 111	13
VL 서열	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRVSSISSSKLHWYQ QKPGKAPKPLIYGTSTLASGVPSRFSGSGSDYTLTISLQPEDFATYYCQQWSNYPFTFGQGTKLEIKRTV		
VL의 명칭	07-0663-h7_VL	07-0663-h7_VL	07-0663-h7_VL

[0517]

표 5

인간화된 CDH17 항체의 핵산 서열

명칭	설명	서열
07-0663-h7_VL	CDH17 리드 항체: 경쇄	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGG AGATAGAGTCACAATCACCTGTAGAGTGCTCCATCATCAGCTCTTCT AAGCTGCACTGGTATCAGCAGAAACCAGGCAAGGCCCTAAGCCTCTG ATCTACGGCACAAGCACCTGGCTTCTGGCGTGCCAGCCGTTTCAGC GGCAGCGGATCTGGCACCAGCTACACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAG CCTGAGGACTTCGCCACATACTACTGCCAGCAATGGTCCAATACCCCT TTACATTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAG
07-0663-h7_VH	CDH17 리드 항체: 중쇄	CAAGTGCACTGGTGCAAGCGAGCCGAGGTGAAAAAGCCAGGCA GCTCTGTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCTGGCTACACCTTCACCGACC ACACCATCCACTGGATGCGGCAGGCCCCCTGGCCAGGGCCTGGAATGG ATCGGCTACATCTTCTAGAGATGACATCGTGGTCTACGCCAGAAG TTCCAGGGCAGAGCCACACTGACCGCTGATAAGTCTACAAGCACAGCT TACATGGAAGTGAAGTCCCTGCGGAGCGAGGACACCGCGTGTACTAT TGTGCCAGACCTCCCTACTACTACAGCAGAACTTCTACTTCGACTACT GGGGCCAGGGAACCACTGACAGTGTCCAGC
07-0653-h43_VL	CDH17 리드 항체: 경쇄	GATATCCAGCTGACACAGAGCCCTAGCAGCCTCTCCGCCAGCGTGGGC GACCGGGTGACCATCACCTGTAGAGCCACCAGCAGCCTGAGCTACATC CACTGGTATCAGCAGAAACCCGGCAAGGCCCTAAGCCTCTGATCTAC GAGATTAGCAAGCTGGCTTCTGGAGTGCCATCTAGATTACGCGGCAGC GGATCTGGCACCAGCTACACCCTGACCATCTCCTCCCTGCAGCCTGAG GACTTCGCCACATACTACTGCCAGCAATGGAAGTACCCCTTACCTTTG GCCAGGGCACAAGCTGGAAATCAAG
07-0653-h43_VH	CDH17 리드 항체: 중쇄	CAAGTCCAAGTCTGCAATCCGGTGCTGAAGTCAAGAACTCTGGTCA TCCGTCAAAGTCTCCTGTAAAGCAAGTGGTTATACATTACTGATTATT ATATGAATTGGGTCCGCCAAGCACCTGGGCAAGGGCTCGAATGGATG GGTGAATTTATCCATATTCTGGCGGAATAGGATATGCTCAAAAGTTTC AAGGGCGAGTAACAATGACAGTTGATAAATCCACATCAACTGCTTACA TGGAATTGTCCTCACTCCGAAGTGAAGATACGGCTGTTTATTATTGTG AAGAGGGCGTGGGGATTATTTTGACTCTTTGATTCTGGGGACAAG GAACGACTGTAACAGTCTCTTCC
07-0646-h7_VL	CDH17 리드 항체: 경쇄	GATATCCAGCTGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGG CGACCGGGTGACCATGACCTGTAGAGCCTTAGCAGCGTGTCTCCAG CTACCTGCACTGGTATCAGCAAAAGCCCGCAAAGCCCTAAGCTCCT GATCTACAGCACCAGCAACCTGGCTTCTGGAGTGCCAGCAGATTAGC CGGATCTGGCAGCGGCACAGATTACACCCTGACCATCAGCTCTGTCCA GCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACGACAGCTCCCC ATCTACATTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAG
07-0646-h7_VH	CDH17 리드 항체: 중쇄	CAAGTGCACTGGTGCAAGCGGCGCCGAGGTGAAAAAGCCTGGAG CTTCTGTGAAGATGAGCTGCAAGGCCTCTGGCTACACCTTCACAGCT ACAACATGCACTGGGTGCGGCAGGCCCCCTGGCCAGGGCCTGGAATGG ATCGGCGCTATCTACCCCGGCAACGGCGATACATCTTATGCCAGAAAG TTTCAGGGAAGAGCCACACTGACCGTGGACACCAGCACCTCCACCGCC TACATGGAAGTGAAGCAGCCTGAGAAGCGAGGACACAGCCGTGTACTA CTGTGCCAGAGGAAGAGGCCGGTACTTCGAGTACTGGGGCCAGGGCA CCACCCTGACAGTGTCCAGC

[0518]

표 6

항체 및 ADC의 결합 활성

인간화된 CDH17 Ab		07-0646-h7	07-0653-h43	07-0663-h7
유세포분석에 의한 항체 결합 활성 (20µg/ml)	LS513 (결장, CDH17+)	47,189	24,295	74,670.0
	M202 (흑색종, CDh17-)	4,477	4,697	4,481.0
유세포분석에 의한 ADC 결합 활성 (20µg/ml)	LS513 (결장, CDh17+)	73,516	35,083	67,397.0
	M202 (흑색종, CDH17-)	4,555	4,206	4,485.5
항체 결합 친화도 - KinExA에 의한 KD(nM)	HEK293T CDH17mGFP 클론 G11	0.817	0.736	0.152
	SNUC1	0.532	0.206	0.157
ELISA에 의한 EC50(nM)	재조합 CDH17 ECD-6xhis 태그	0.73	1.13	1.22
유세포 분석에 의한 3개의 Tox 모델에 대한 교차 반응성 (20µg/ml)	HEK293T 인간 CDH17mGFP G11	50,487.50	51,778.00	57,633.50
	HEK293T 원숭이 CDH17mGFP mass	16,895.00	29,796.00	41,303.00
	HEK293T 마우스 CDH17mGFP mass	2,510.50	2,455.50	2,423.50
	HEK293T 래트 CDH17mGFP mass pop	2,201.00	71,824.00	2,165.00
KinExA에 의한 3개의 Tox 모델에 대한 교차 반응성-KD(nM)	HEK293T 인간 CDH17mGFP G11	0.817	0.736	0.152
	HEK293T 원숭이 CDH17mGFP mass	0.657	0.946	0.336
	HEK293T 마우스 CDH17mGFP mass	정해지지 않음	정해지지 않음	정해지지 않음
	HEK293T 래트 CDH17mGFP mass pop	정해지지 않음	0.535	정해지지 않음

[0519]

표 7

항체의 특징

인간화된 CDH17 Ab		07-0646-h7	07-0653-h43	07-0663-h7
AKTA Pure 25 를 사용하여 SEC 에 의한 항체 응집(면적%)	응집 물	4.39	2.13	1.04
	단량체	95.62	97.87	98.39
	단편	0.00	0.00	0.57
Ab 소수성-HIC 체류 시간(분)		30.11	36.74	31.89
PBS 중 항체 Tm(°C)		70.14	69.22	69.82
PBS 중 항체 Tagg(°C)		90.33	87.58	80.09
ExpiCHO-S 중 항체 발현 수율(대략 mg 정제된 Ab/ml 배질)		0.261	0.339	0.355
천연 세포 양성 세포주 LS513 에 의한 내재화 비율(몇 시간 안에 100% 완료)		~3 -5		
천연 양성 세포주 HPAF2 에 의한 내재화 비율(몇 시간 안에 100% 완료)		~24 - 48		

[0520]

[0521]

[표 8A]

유세포 분석에 의한 항체의 결합 활성

대표적인 3 개의 CDH17 hAb			07-0663-h7	07-0646-h7	07-0653-h43	제 2 Ab 단독
Flow iQue®에 의한 항체 결합 활성 (인공 세포주 대 이의 모체)	HEK293T 모체	1μg Ab	1,686.0	1,383.0	2,375.0	1,634.0
		0.2μg Ab	1,720.0	1,228.0	1,723.0	
	HEK293T CDH17 mGFP 클론 G11(인간)	1μg Ab	171,593.5	180,683.0	191,092.0	1,958.5
		0.2μg Ab	57,633.5	50,487.5	51,778.0	
Flow iQue®에 의한 항체 결합 활성 (천연 양성/음성 세포주)	LS513 (결장 양성 세포주)*	1μg Ab	2,298,719.0	2,660,407.0	1,828,584.5	4,902.0
		0.2μg Ab	2,239,829.0	2,857,996.0	1,790,850.5	
	PATU8988S(췌장 양성 세포주)	1μg Ab	101,178.0	95,584.5	52,178.0	5,926.0
		0.2μg Ab	101,809.0	21,403.0	48,106.5	
	SNUC1 (결장 양성 세포주)	1μg Ab	76,052.0	74,902.0	61,407.0	3,899.5
		0.2μg Ab	163,433.0	120,394.0	77,220.0	
	M202 (음성 세포주)	1μg Ab	2,580.0	3,002.5	2,992.0	2,338.0
		0.2μg Ab	2,319.0	2,390.0	2,691.0	

[0522]

[0523] [표 8B]

CDH17 sc-fv 및 BiTE 는 CDH17 양성 세포에 선택적으로 결합함

항체		LS513 (CDH17+)	M202 (CDH17-)
CDH17 scFv	07-0646-h7scFv	863,541.50	8,584.00
	07-0653-h43scFv	2,205,108.50	104,299.00
	07-0663-h7scFv	2,050,063.00	20,383.00
CDH17 BiTE	07-0646-h7Bs	3,296,926.00	40,014.00
	07-0653-h43Bs	1,599,671.00	57,589.00
	07-0663-h7Bs	2,271,484.50	17,007.00

대조군		LS513 (CDH17+)	M202 (CDH17-)
AF647- 항 -his 태그 2° Ab		33,158.50	16,139.00
ab 없음 (세포 단독)		3,576.50	2,612.00

[0524]

표 9

CDH17 항체의 생산을 위한 대안의 CDH17 항체 명칭 및 발현 벡터

항체	항체 명칭 (m: 마우스 VHVL)	항체 발현 벡터 명칭
키메라 항- CDH17 항체*	CDH17-641 (07- 0641m 또는 07- 0641-m 으로서 칭함)	p07-0641m (p07-0641-m 으로서 칭함)
키메라 항- CDH17 항체*	CDH17-644 (07- 0644m 또는 07- 0644-m 으로서 칭함)	p07-0644m (p07-0644-m 으로서 칭함)
키메라 항- CDH17 항체*	CDH17-646 (07- 0646m 또는 07- 0646-m 으로서 칭함)	p07-646m (p07-0646-m 으로서 칭함)
키메라 항- CDH17 항체*	CDH17-653 (04- 0653m 또는 04- 0653-m 으로서 칭함)	p07-0653m (p07-0653-m 으로서 칭함)
키메라 항- CDH17 항체*	CDH17-655 (07- 0655m 또는 07- 0655-m 으로서 칭함)	p07-0655m (p07-0655-m 으로서 칭함)
키메라 항- CDH17 항체*	CDH17-657 (07- 0657m 또는 07- 0657-m 으로서 칭함)	p07-0657m (p07-0657-m 으로서 칭함)
인간화된 항- CDH17 항체 (IgG1)	CDH17-646-h7 (07-0646- h7 으로서 칭함)	p07-0646-h7
인간화된 항- CDH17 항체 (IgG1)	CDH17-653-h33 (07-0653- h33 으로서 칭함)	p07-0653-h33
인간화된 항- CDH17 항체 (IgG1)	CDH17-653-h42 (07-0653- h42 으로서 칭함)	p07-0653-h42
인간화된 항- CDH17 항체 (IgG1)	CDH17-653-h43 (07-0653- h43 으로서 칭함)	p07-0653-h43

[0525]

인간화된 항- CDH17 항체 (IgG1)	CDH17-657-h16 (07-0657- h16 으로도 칭함)	p07-0657-h16
인간화된 항- CDH17 항체 (IgG1)	CDH17-663-h7 (07-0663-h7 로도 칭함)	p07-0663-h7 (ATCC 에 기탁됨. ATCC 수탁번호: 결정될 것임)
인간화된 항- CDH17 항체 (IgG1)	CDH17-670-h12 (07-0670- h12 으로도 칭함)	p07-0670-h12
인간화된 항- CDH17 항체 (IgG1)	CDH17-675-h11 (07-0675-h11 로도 칭함)	p07-0675-h11
인간화된 항- CDH17 항체 (IgG1)	CDH17-683-h6 (07-0683- h6 으로도 칭함)	p07-0683-h6
비표적화 인간 IgG1 음성 대조군 항체	IgG (Hu- IgG1 로도 칭함)	pIgG (pHu-IgG1 로도 칭함)
07-0646-h7 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 포함하는 scFv	07-0646-h7scFv (CDH17-646- h7scfv 로도 칭함)	p07-0646-h7scfv (pCDH17-646-h7scfv 로도 칭함)
04-0561-F1 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 포함하는 scFv	07-0653-h43scFv (CDH17-653- h43scfv 로도 칭함)	p07-0653-h43scfv (p CDH17-653- h43scfv 로도 칭함)
04-0562-h10 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 포함하는 scFv	07-0663-h7scFv (CDH17-663- h7scfv 로도 칭함)	p07-0663-h7scfv (pCDH17-663-h7scfv 로도 칭함)
07-0646-h7scFv 항원-결합 부분 및 T 세포 표면 상의 CD3 에 결합하는 scFv 을 포함하는 이중특이성 T- 세포 관여자 (BiTE) Fv	07-0646-h7Bs (CDH17-646- h7Bs 로도 칭함)	p07-0646-h7Bs (pCDH17-646-h7Bs 로도 칭함)

[0526]

07-0653-h43scFv 항원-결합 부분 및 T 세포 표면 상의 CD3 에 결합하는 scFv 을 포함하는 이중특이성 T- 세포 관여자 (BiTE) Fv	07-0653-h43Bs (CDH17-653- h43Bs 로도 칭함)	p07-0653-h43Bs (pCDH17-653-h43Bs 로도 칭함)
07-0663-h7scFv 항원-결합 부분 및 T 세포 표면 상의 CD3 에 결합하는 scFv 을 포함하는 이중특이성 T- 세포 관여자 (BiTE) Fv	07-0663-h7Bs (CDH17-663- h7Bs 로도 칭함)	p07-0663-h7Bs (pCDH17-663-h7Bs 로도 칭함)

* 키메라 항-CDH17 항체는 마우스 경쇄 및 중쇄 가변 영역 및 인간 IgG1 불변 영역을 포함하며, 여기서, 인간 IgG1 경쇄 및 중쇄 가변 영역은 마우스 항-CDH17 항체의 가변 영역으로 대체되었다.

* 인간화된 항-CDH17 항체인 p07-0663-h7 을 암호화하는 DNA 를 포함하는 플라스미드를 2022 년 12 월 7 일자로 버지니아주 20110-2209 매너서스 10801 University Boulevard 소재의 미국 미생물 보존센터(American Type Culture Collection: ATCC)에 기탁하였고, 수탁번호 _____이 부여되었다. 이 기탁을 특허 절차상 미생물 기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트 조약(Budapest Treaty on the International Recognition of the Deposit of Microorganisms for the Purposes of Patent Procedure)의 조건하에 유지할 것이다.

[0527]

표 10

CDH17 항체 접합체

항체 접합체®	설명
07-0646-h7-VC-PAB-MMAE (CDH17-ADC-646-h7 로 불림)	MMAE 에 접합된 07-0646-h7 항체
07-0653-h43-VC-PAB-MMAE (CDH17-ADC-653-h43 으로 불림)	MMAE 에 접합된 07-0653-h43 항체
07-0663-h7-VC-PAB-MMAE (CDH17-ADC-663-h7 로 불림)	MMAE 에 접합된 07-0663-h7 항체
07-0663-h7-AF647	Alexa Fluor® 647 에 접합된 07-0663-h7

®MC-VC-PAB-MMAE 를 사용하여 시스테인 잔기의 유리 싸이올기에서 MMAE 접합을 수행함.

[0528]

[0529]

본 명세서에 인용된 간행물, 특허 출원 및 특허를 포함하는 모든 참고문헌은 각각의 참고문헌이 참조에 의해 인용되는 것으로 개별적이고 구체적으로 표시되며 이의 전문이 본 명세서에 제시되는 것과 동일한 정도로 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0530]

본 개시내용의 설명과 관련하여(특히 다음의 청구범위와 관련하여) 단수 용어의 사용 및 유사한 대상은 본 명세

서에서 달리 표시되거나 문맥에 의해 분명하게 모순되지 않는 한, 단수와 복수를 둘 다 아우르는 것으로 해석되어야 한다. 용어 "포함하는(comprising)", "갖는", "포함하는(including)" 및 "함유하는"는 달리 언급되지 않는 한, 제약을 두지 않은 용어로서(즉, "포함하지만, 이들로 제한되지 않음"을 의미) 해석되어야 한다.

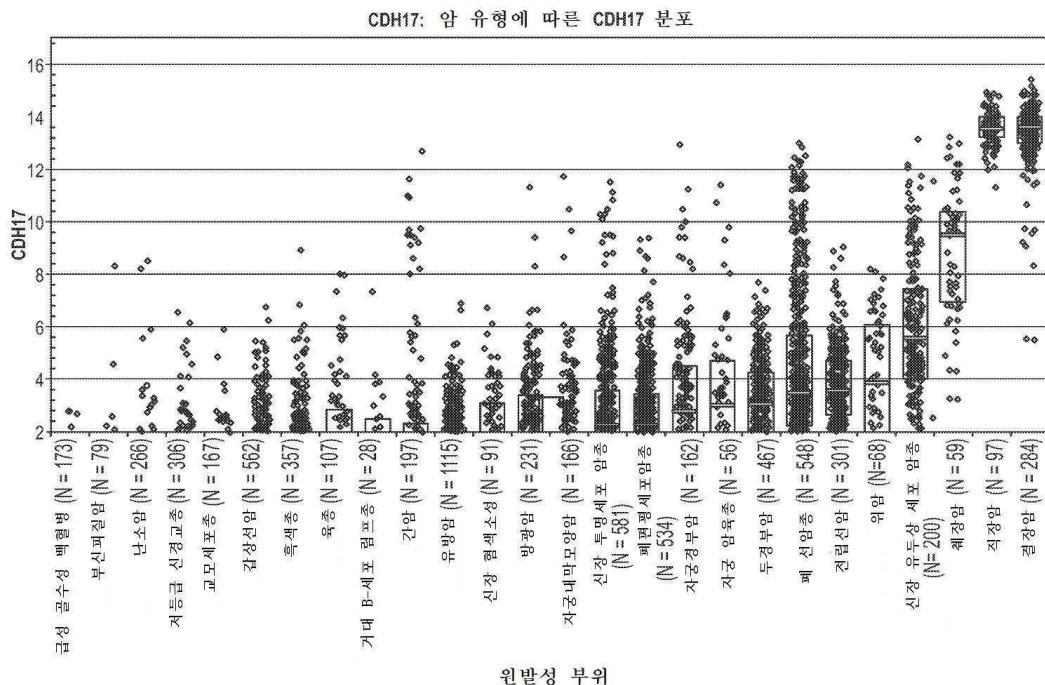
[0531] 본 명세서의 값의 범위의 열거는 단지 본 명세서에서 달리 표시되지 않는 한, 범위 및 각 종점 내에 속하는 각 개별적 값에 대해 개개로 언급하는 약칭 방법으로서 작용하는 것으로 의도되며, 각 개별적 값 및 종점은 본 명세서에서 개개로 열거되는 바와 같이 본 명세서에 포함된다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "약"은 수치적 표기, 예를 들어, 온도, 시간, 양, 농도 및 범위를 포함하는 다른 것 앞에 사용될 때, (+) 또는 (-) 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% 또는 1%로 다를 수 있는 근사값을 나타낸다.

[0532] 본 명세서에 기재된 모든 방법은 본 명세서에 달리 표시되지 않는 한 또는 문맥에 의해 달리 분명하게 모순되지 않는 한 임의의 적합한 순서로 수행될 수 있다. 본 명세서에 제공된 임의의 및 모든 실시예, 또는 다양한 언어(예를 들어, "예컨대")의 사용은 본 개시내용을 단지 더 양호하게 예시하기 위한 의도이며, 달리 청구되지 않는 한 본 개시내용의 범주에 대한 제한을 제기하지는 않는다. 본 명세서의 어떤 언어도 본 개시내용의 실행에 필수적인 것으로 임의의 청구되지 않은 구성요소를 나타내는 것으로서 해석되어서는 안 된다.

[0533] 본 개시내용을 수행하기 위해 본 발명자에게 가장 잘 공지된 방식을 포함하여, 본 개시내용의 바람직한 실시형태가 본 명세서에 기재된다. 해당 바람직한 실시형태의 변형은 앞서 언급한 설명을 읽을 때 당업자에게 분명하게 될 것이다. 본 발명자들은 적절한 경우 당업자가 이러한 변형을 사용하는 것을 예상하며, 본 발명자들은 본 개시내용이 본 명세서에 구체적으로 기재된 것과 다르게 실행할 것으로 의도한다. 따라서, 본 개시내용은 준거법에 의해 허용된다면 본 명세서에 첨부된 청구범위에 열거된 대상의 모든 변형 및 균등물을 포함한다. 게다가, 본 명세서에 달리 표시되지 않는 한 또는 문맥에 의해 달리 분명하게 모순되지 않는 한, 모든 가능한 변형에서 상기 설명한 구성요소의 임의의 조합이 본 개시내용에 의해 포함된다.

도면

도면1



도면2a

A

4개 종(인간, 원숭이, 마우스 및 래트)에서의 CDH17 서열 정렬

CDH17	Uniprot	길이 (aa)	동일성
호모 사피엔스	Q12864	832	100%
게막이 원숭이	A0A2K5X8I8	832	95.20%
무스 무스쿨루스	Q9R100	827	79.10%
라투스 노르베기쿠스	P55281	827	78.70%

계통도

분지 길이: ● 분지도 ○ 실제



위상 CDH17 (인간, Q12864)

특징 기호설명	위치 (들)	설명
위상 도메인	23 - 787	세포외 서열 분석
막관통	788 - 808	나선형 서열 분석
위상 도메인	809 - 832	세포질 서열 분석

도면2ba

B

sp Q12864 CAD17_인간	MILQAHLSLCLLMYLATGYGQEGKFSGLPKPMTFSIYEGQEPSQIIFQFKANPPAVTF	60
tr A0A2k5x8I8 A0A2k5X8I8_게막이 원숭이	MILQAHLSLCLLMYLATGYGQEGKFSGLPKPMTFSIYEGQEPSQIIFQFKANPPAVTF	60
sp Q9R100 CAD17_마우스	-MVSAQLHFLCLLTLYLTGAYGQEGKFSGLPKPMTFSIFEGQEPSQIIFQFKTNPPAVTF	59
sp P55281 CAD17_래트	-MVSAQLHFLCLLTLYLTGAYGQEGKFSGLPKPMTFSIFEGQEPSQIIFQFKTNPPAVTF	59
sp Q12864 CAD17_인간	ELTGETDNI FVIEREGLLYNRLDRETRSTHNLQVAALDANGIIVEGVPVITIKVKDIN	120
tr A0A2k5x8I8 A0A2k5X8I8_게막이 원숭이	ELTGETDNI FKIIEGLLYYTKALDRETRSTHNLQVAALDANGAIVEGVPVITIEVKDIN	120
sp Q9R100 CAD17_마우스	ELTGETDGIFVIEKDGLLYHTRALDRETRAVHNLQLAALDSHGIIVDGPVPITIEVKDIN	119
sp P55281 CAD17_래트	ELTGETDGIFVIEKDGLLYHTRVLDRETRAVHNLQLAALDSQGIIVDGPVPITIEVKDIN	119
sp Q12864 CAD17_인간	DNRPTFLQSKYEGSVRQNSRPGKPFYVNVATDLDDPATPNGQLYQIIVQLPMMNNVMYF	180
tr A0A2k5x8I8 A0A2k5X8I8_게막이 원숭이	DNRPTFLQSKYEGSVRQNSRPGKPFYVNVATDLDDPATPNGQLSYQIIVQLPMMNNVMYF	180
sp Q9R100 CAD17_마우스	DNRPTFLQSKYEGSVRQNSRPGKPFYVNVATDLDDPATPNGQLFYQIIVQLPQINDVMYF	179
sp P55281 CAD17_래트	DNRPTFLQTKYEGSVRQNSRPGKPFYVNVATDLDDPATPNGQLFYQIIVQLPKINNVMYF	179
sp Q12864 CAD17_인간	QINNKTGAISLTREGSQELNPAKNPSYNLVSVKDMGGQSENSFSDTTSVDIIVTENIWK	240
tr A0A2k5x8I8 A0A2k5X8I8_게막이 원숭이	QINNKTGGISLTREGSQELNPAKNPSYNLVSVKDMGGQSENSFSDTTSVDIIVTENIWK	240
sp Q9R100 CAD17_마우스	QIDSKTGAISLTPEGSQELDPVKNPSYNLVSVKDMGGQSENSFSDTTSYVDISIRENIWK	239
sp P55281 CAD17_래트	QIDNKTGAISLTPEGSQVLDPIKNPYNVLVSVKDMGGQSENSFSDTTSVDITVRENIWK	239
sp Q12864 CAD17_인간	APKPVEMVENSTDHPHPIKITQVRWNPFGAQYSLVDKEKLPRFPFSIDQEGDIYVTOPLDR	300
tr A0A2k5x8I8 A0A2k5X8I8_게막이 원숭이	APEPVEMVENSTDHPHPIKITQVRWNPFGAQYSLVDKEKLPRFPFSIDQEGDIYVTOPLDR	300
sp Q9R100 CAD17_마우스	APEPVEIRENSTDPHPIKITQVQWNPFGAQYSLVNKEKLSFPFFSIDQEGNIYVTOALDR	299
sp P55281 CAD17_래트	APEPVEIRENSTDPHPIKITQVQWNPFGAHYSLINKEKLPQFPFSIDQEGNIYVTOPLDR	299
sp Q12864 CAD17_인간	EKDAYVVFYAVAKDEYGKPLSYPLEIHVKVQDINDNPPTCPSPVTVFEVQENERLGNISIG	360
tr A0A2k5x8I8 A0A2k5X8I8_게막이 원숭이	EKDAYVVFYAVAKDEYGKPLSYPLEIHVKVQDINDNPPTCPSPVTVFEVQENERLGNISIG	360
sp Q9R100 CAD17_마우스	EKNSHVFFATAKDENGKPLAYPLEIRVKVIDINDNPPTCLSPVTVFEVQENEPGLNSIG	359
sp P55281 CAD17_래트	EKDSHVFFATAKDENGKPLAYPLEIRVKVIDINDNPPTCLSQVTVFEVQENEPVGLNSIG	359

도면2bb

B (계속)		
sp Q12864 CAD17 인간		TLTAHDRDEENTANSFLNRYRIVEQTPKLPMDGLFLIQT YAGMLQ LAKOSLKKQDTPQYNL 420
tr A0A2k5x8I8 A0A2k5X8I8	계막이 원충이	TLTAHDSDEENTANSLNRYRIVEQTPKLPMDGLFLIQT YAGMLQ LAKOSLKKQDTPQYNL 420
sp Q9R100 CAD17 마우스		IFEAHDMDEANNINSILKYRLVDQTPKVPSDGLFLIGEYEGKVQLSKQSLKKQDSPQYNL 419
SP p55281 CAD17 래트		IFAAHDMDEANNINSILKYRLVDQTPKVPSDELFLIDEYGGKVQLGKRSLKKQDSPQYNL 419
: * * * * * , * : * : * : * , * * * * * * * : * : * : * , * * * * * , * * * * *		
sp Q12864 CAD17 인간		TIEVSDKDFKTL SFVQINVIDINDQIPIFEKSDYGNLT LAEDTNIGSTILTIQATDADEP 480
tr A0A2k5x8I8 A0A2k5X8I8	계막이 원충이	TIEVSDKDFKTL SFVQINVIDINDQIPIFEKSDYGNLT LAEDTNIGSTILTIQATDADEP 480
sp Q9R100 CAD17 마우스		SIEVSDVDFKTL SYIQNVVIDINDQIPIFETSNYGSKT LSEDTAIGSTILIIQATDADEP 479
SP p55281 CAD17 래트		TVEVSDIDFKTLSSLQNVVIDINDQIPIFERSDYGSKT LSEDTAIGSTILIIQATDDDEP 479
: * * * * * , * : * * * * * , * : * * * * * , * : * * * * * , * : * * * * *		
sp Q12864 CAD17 인간		FTGSSKILYHIKGDSEGR LGVDTDPHTNTGYV I IKKPLDSETAAVSNIVFKAENPEPLV 540
tr A0A2k5x8I8 A0A2k5X8I8	계막이 원충이	FTGSSKILYHVIKGDSEGR LGVDTDPHTNTGYV I IKKPLDSETAAISNIVFKAENPEPLV 540
sp Q9R100 CAD17 마우스		FTGSSKILYKIVQGDTEGRLEVVDPTNAGYVKIKKPLDSETQPVSSIVFQAENPEPLV 539
SP p55281 CAD17 래트		FTGSSKILYKIVQGDTEGRLEVVDPMNTNTGYV KIRKPLDSETEPVT SIVFKAENPEPLV 539
* * * * * : * : * * * * * * * * * * * * * * * * * : * : * * * * * , * : * * * * *		
sp Q12864 CAD17 인간		FGVKNASSFAKFTLIVTDVNEAPQFSQHVFQAKVSEDVAIGTKVGNVTAKDPEGLDISY 600
tr A0A2k5x8I8 A0A2k5X8I8	계막이 원충이	FGVTYNASSFAKFTLIVTDVNEAPEFSQYVFQAKVSEDVAIGTKVGNVTAKDPEGLDISY 600
sp Q9R100 CAD17 마우스		KGIEYNASSFASFELIVTDVNEVPVFPQRI FQANVSEDAAVGSRVGNVTARDPEGLTVSY 599
SP p55281 CAD17 래트		NGIEYNASSFASFELITVDVNEVPVFPQRI FQANVSEDTAIGTKVGTVTARDPEGLTVSY 599
* : * * * * * , * * * * * , * * * * * , * : * * * * * , * : * * * * * , * : *		
sp Q12864 CAD17 인간		SLRGDTRTWLKIDHVTGEIFSVAPLDREAGSPYRVQEVATEVGGSSLSSVSEFHLILMDV 660
tr A0A2k5x8I8 A0A2k5X8I8	계막이 원충이	SLRGDTRTWLKIDHVTGEIFSVAPLDREAGSPYRVQEVATEVGGSSLSSVSQFHLILTDV 660
sp Q9R100 CAD17 마우스		SLKGNMRTWLKIDSVTGEIFSAAPLDRETESVYRVQEVATEVGGSSLSTADFHLVLTVDV 659
SP p55281 CAD17 래트		SLKDNKRTWLKIDSVTGDIFSTAPLDRETESVYRVQEVATEVGGSSLSTAYFHLVLMVDV 659
* : * : * * * * * , * : * * * * * , * : * * * * * , * : * * * * * , * : * * * * *		
sp Q12864 CAD17 인간		NDNPPRLAKDYTG LFFCHPLSAPGSLIFEATDD DQHLFRGPHFTFSLGSGSLQNDWEVSK 720
tr A0A2k5x8I8 A0A2k5X8I8	계막이 원충이	NDNPPRLAKDYMDLYFCHPLSAPGSLIFEATDD DQHLFRGPHFTFSLGSGSLQNDWQVSK 720
sp Q9R100 CAD17 마우스		NDNPPRLAKDYTG LFFCHPLSAPGSLIFEVTD DQSLRRPKFTFALGREGLQSDWEVSK 719
SP p55281 CAD17 래트		NDNPPRLAKDYTG LFFCHPLSAPGSLIFEATDD DQSVRRPKFTFALGRESLQSDWEVSK 719
* * * * * , * : * * * * * , * * * * * , * : * * * * * , * : * * * * *		

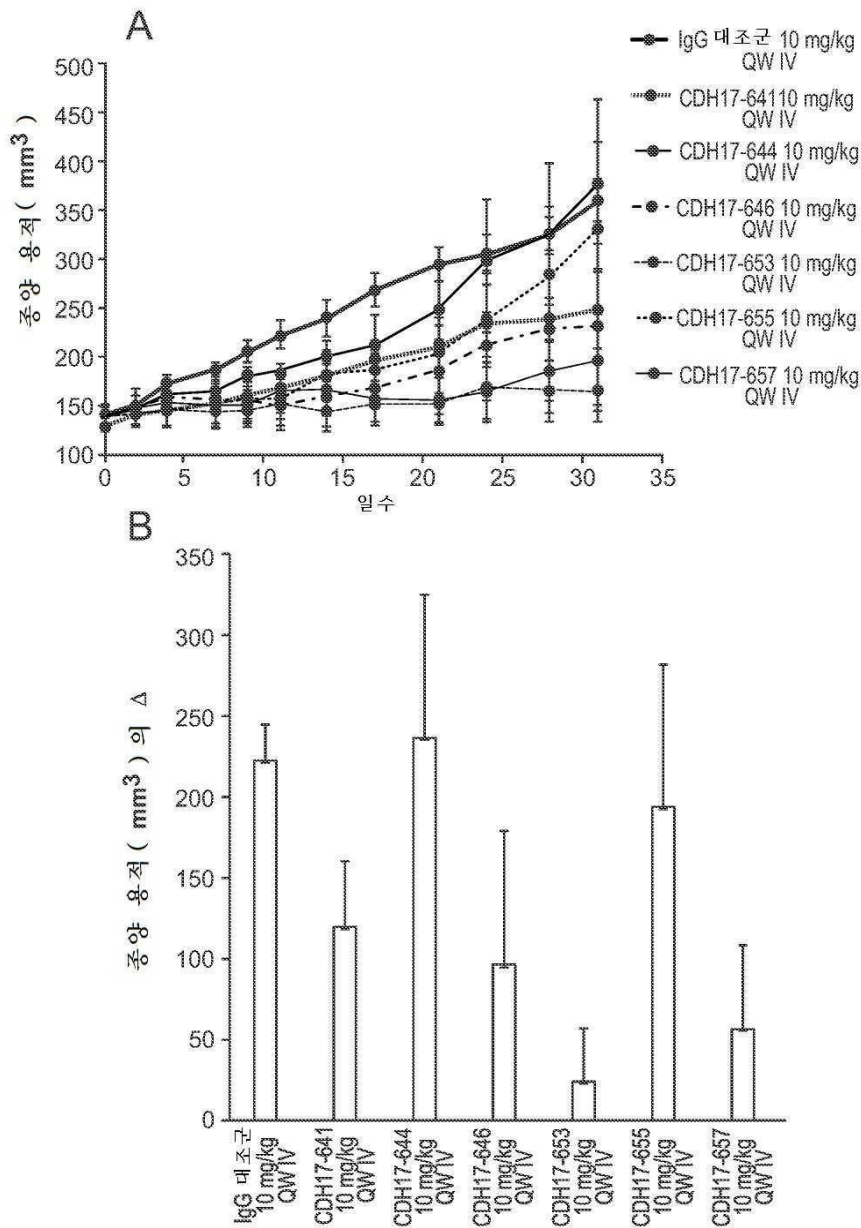
도면2bc

B (계속)		
sp Q12864 CAD17 인간		INGTHARLSTRHTEFEEREYEV LIRINDGGRPPLEGIVSLPVTFCSCVEGSCFRPAGHQT 780
tr A0A2k5x8I8 A0A2k5X8I8	계막이 원충이	INGTHARLSTRHTDFEEKEYEVSIRINDGGRPPLESTVSLTVTFCSCGEDGCFRPAQHQP 780
sp Q9R100 CAD17 마우스		INGTHARLSTRHTRFEEQVYVNP I RINDGGQPPMEGT VFLPVTFCQCVEGSCFRPAGRQD 779
SP p55281 CAD17 래트		INGTHARLSTKHTRFEEQVYVDP I LINDGGQPPMEGIVSLSVTFCQCVDGSCFRPAGNQV 779
* * * * * , * : * * * * * , * : * * * * * , * : * * * * * , * : * * * * *		
sp Q12864 CAD17 인간		GIP TVGMAVGILLTTLLVIGIILAVVFIRIKKDKGDNVESAQASEVKPLRS 832
tr A0A2k5x8I8 A0A2k5X8I8	계막이 원충이	GIP TVGMAVGILLTTLLVIGIILAVVFIRMKTDKGKDNVESAQASEVKPLRS 832
sp Q9R100 CAD17 마우스		GIP TVGMAVGILLTTFLVIGIILAVVFIRMRKDKV ---ENPQSPENKPLRS 827
SP p55281 CAD17 래트		GIP TVGMAVGILLTTFLVIGIILAVVFIRMRKDKV ---EDPQSPENKPLRS 827
* * * * * , * : * * * * * , * : * * * * * , * : * * * * *		

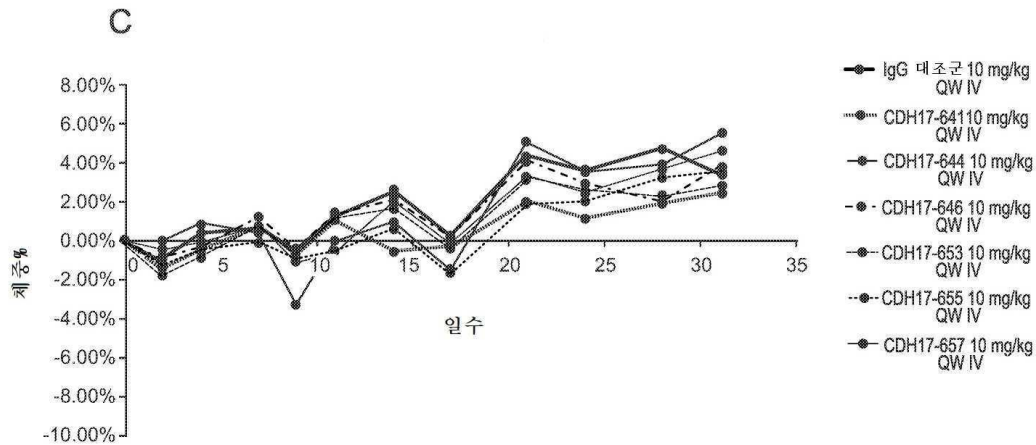
인간 ECD

도면3ab

CDH17+SNUC1 인간 CRC 세포주 이중이식편에서의
항-CDH17 키메라 mAb의 패널 효능

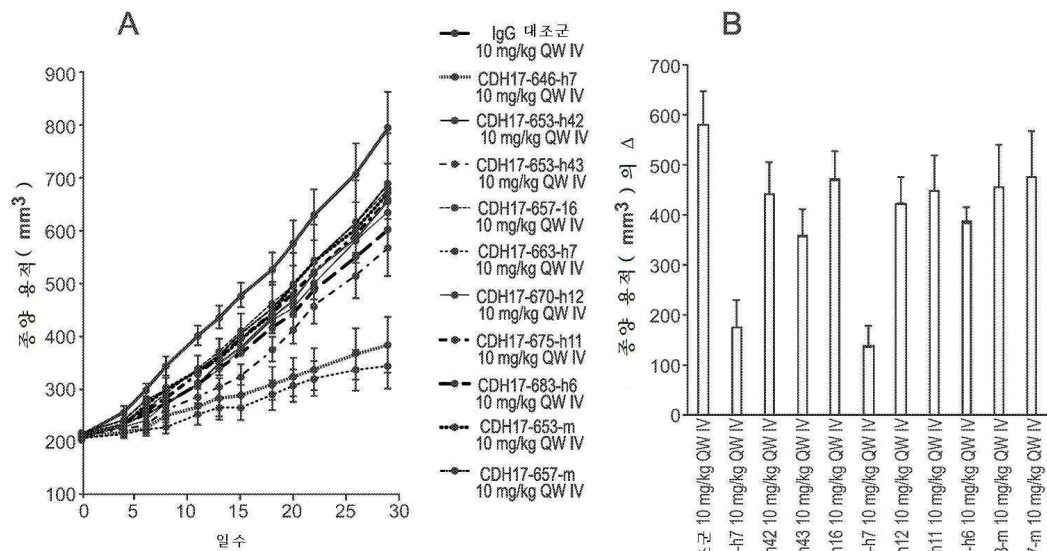


도면3c

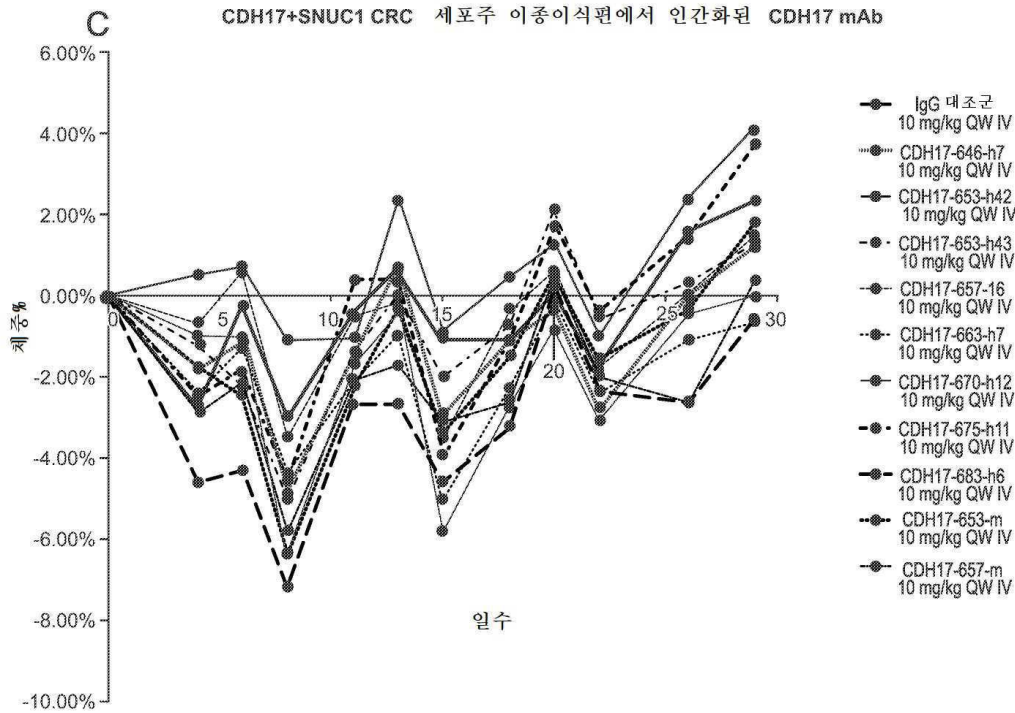


도면4ab

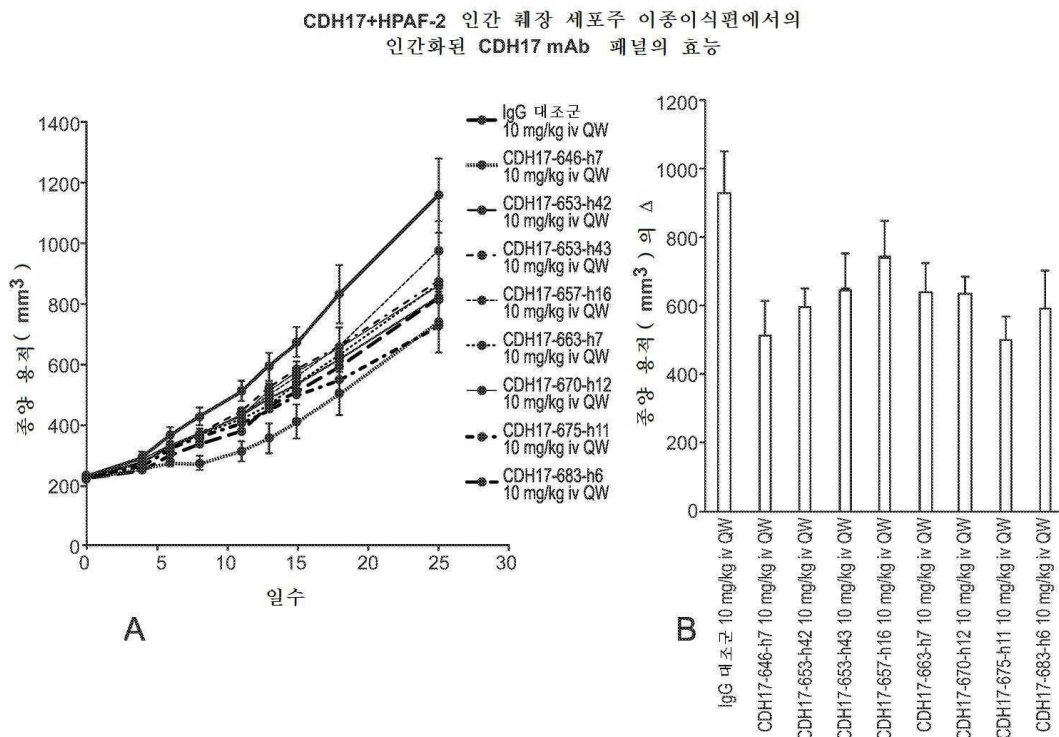
CDH17+SNUC1 인간 CRC 세포주 이종이식편에서의
인간화된 CDH17 mAb 패널의 효능



도면4c

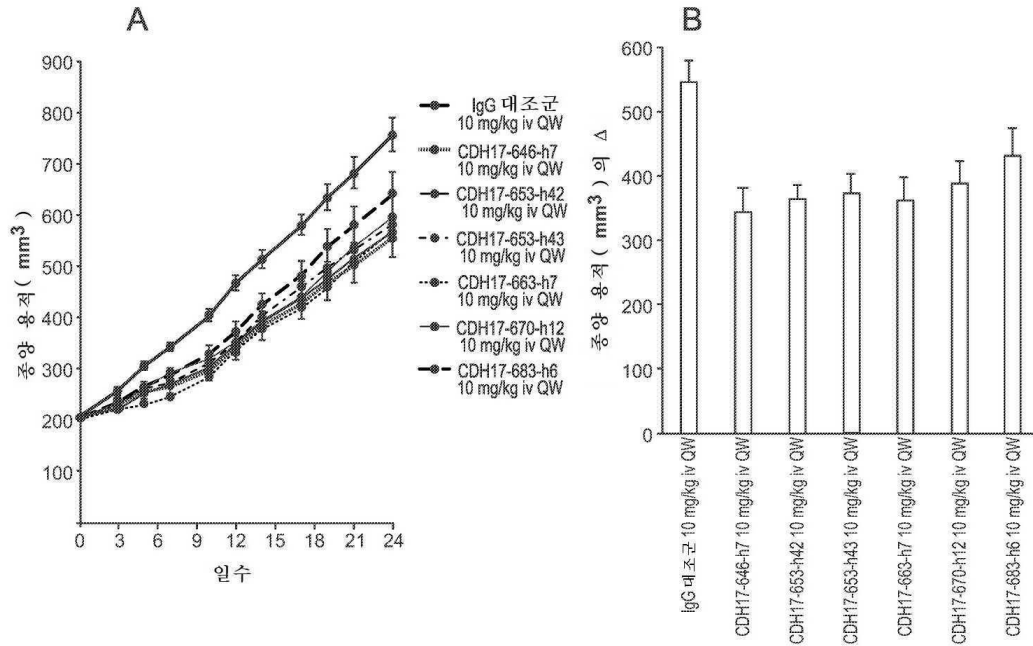


도면5ab



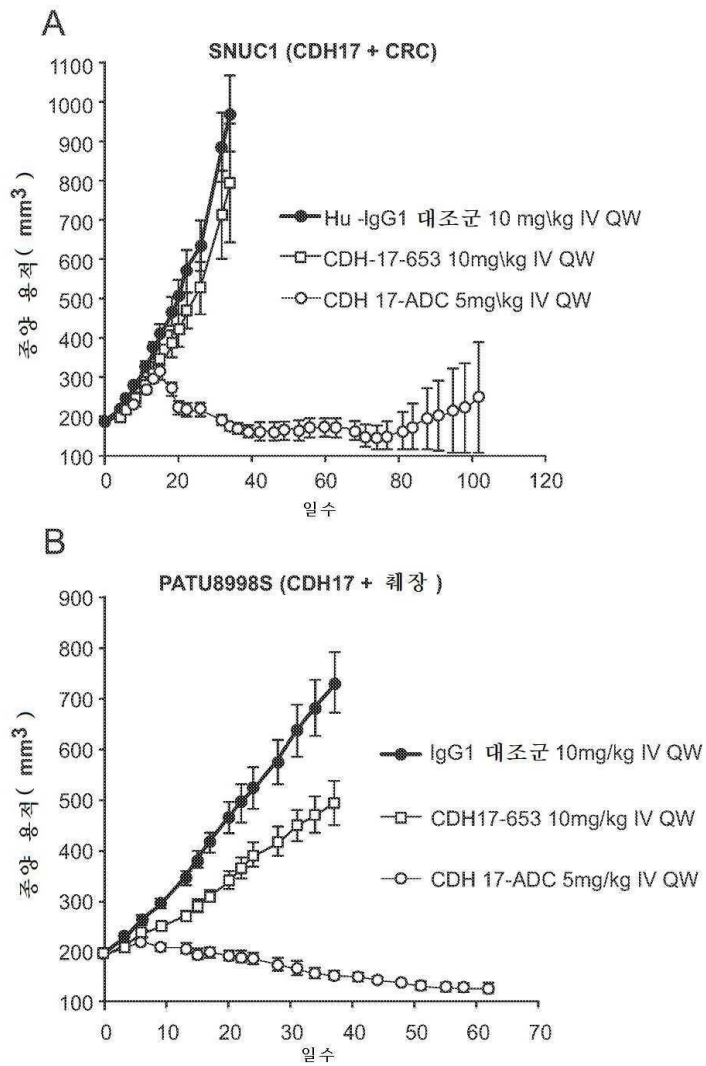
도면6ab

인간화된 CDH17 mAb는 CDH17-M202 인간 흑색종 세포주 이종이식편에서 항종양 활성을 갖지 않는다

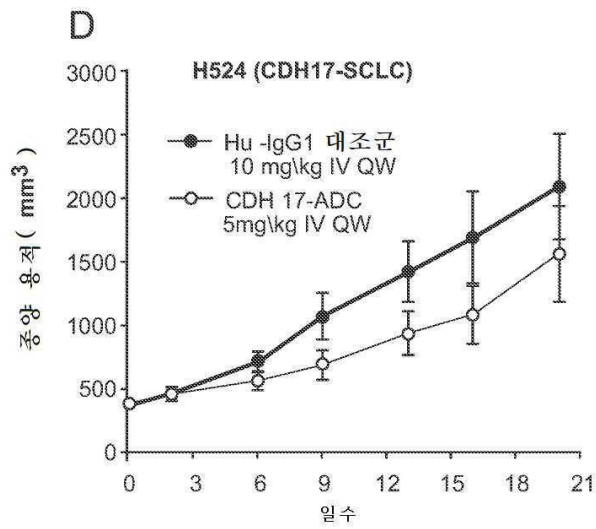
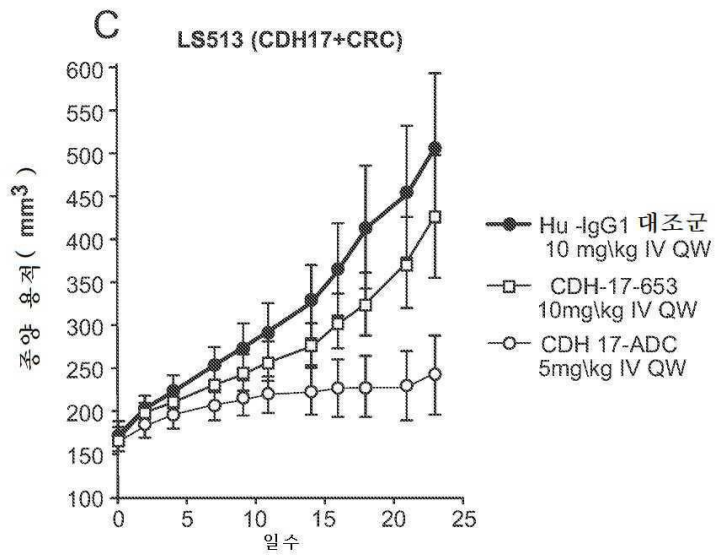


도면7ab

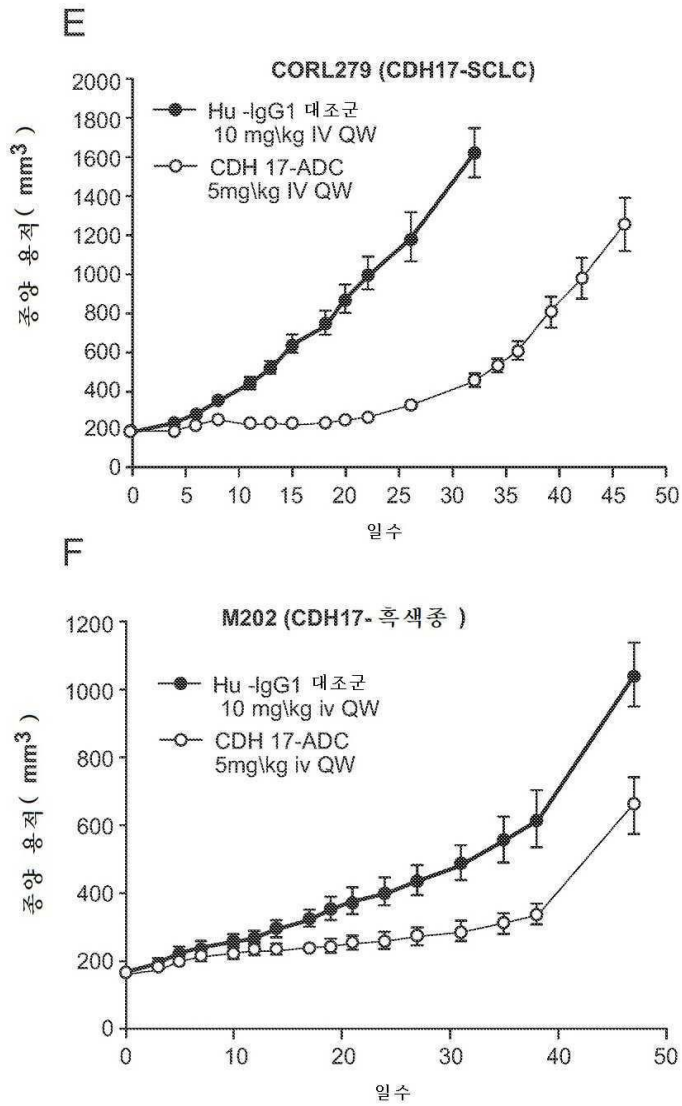
인간 암세포 이종이식편에서의 CDH17-ADC (키메라 CDH17-653 ADC) 의 선택적 효능



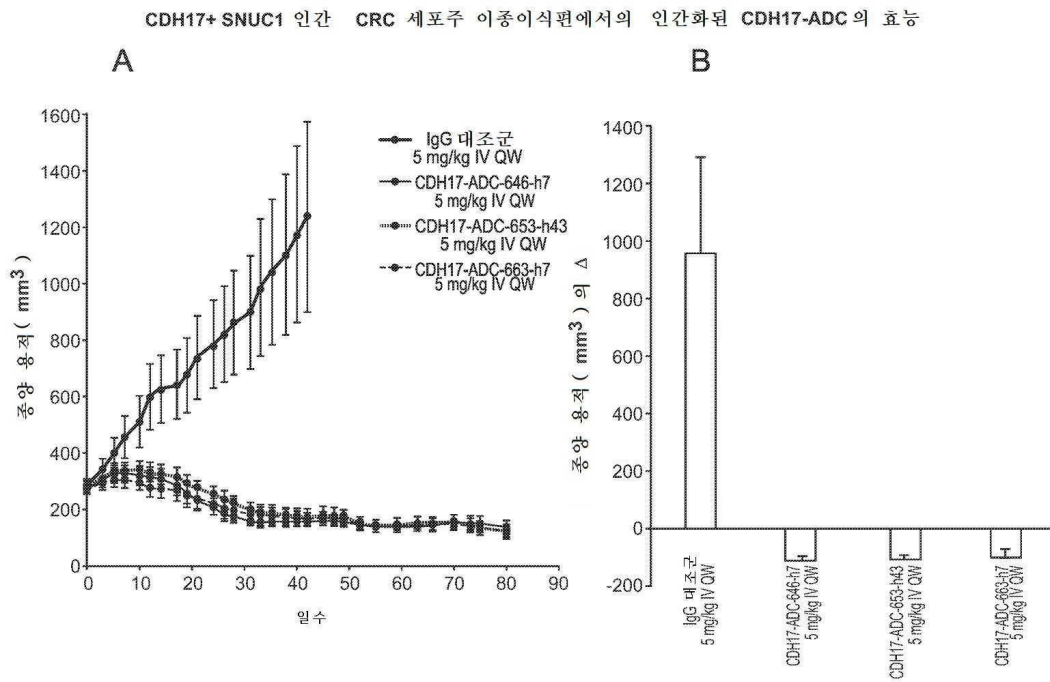
도면7cd



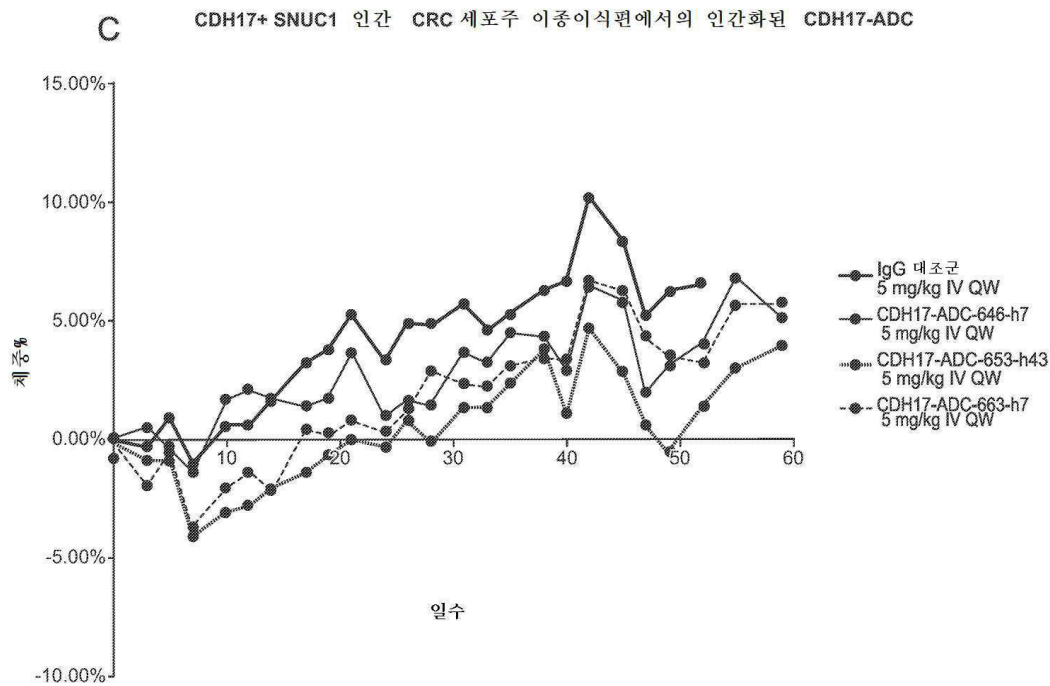
도면7ef



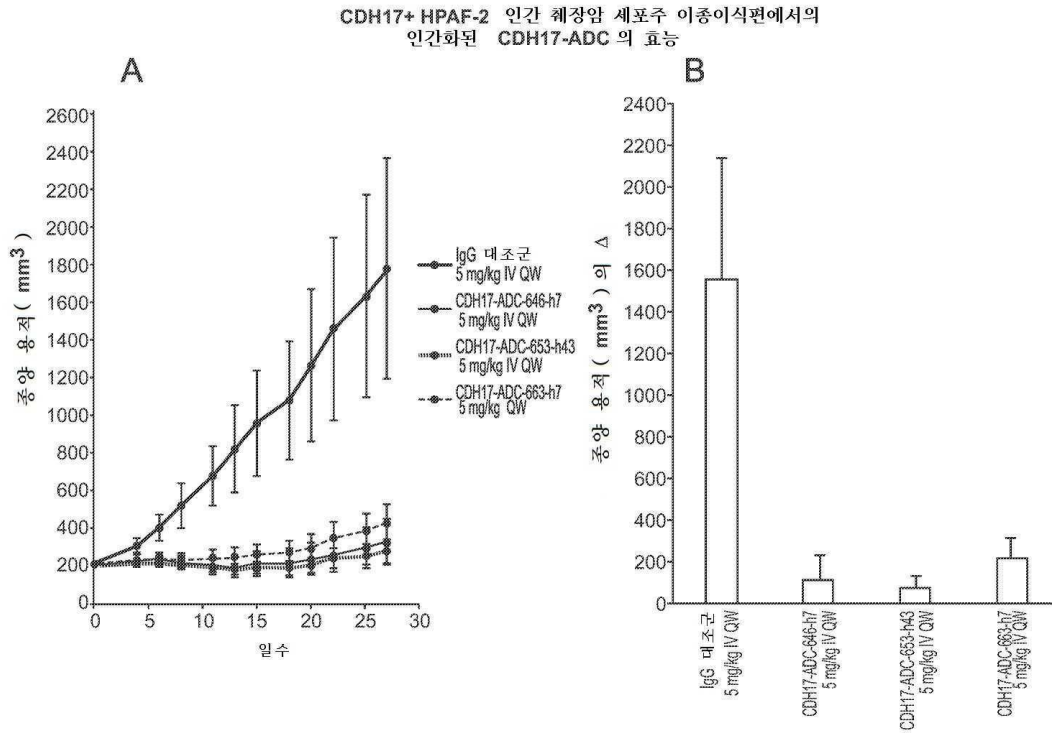
도면8ab



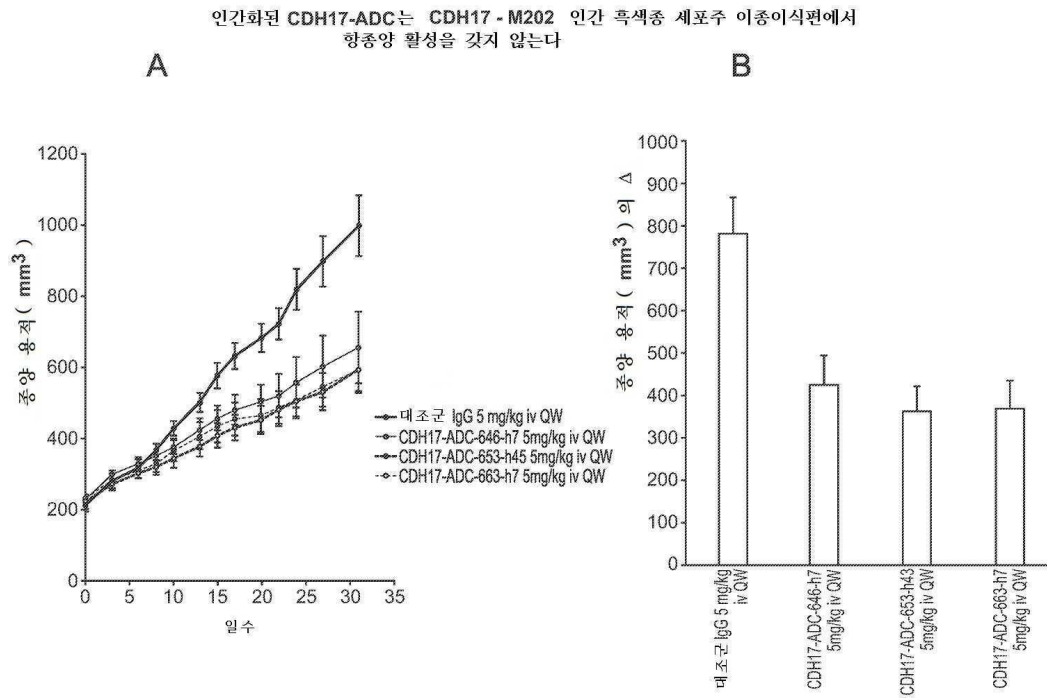
도면8c



도면9ab

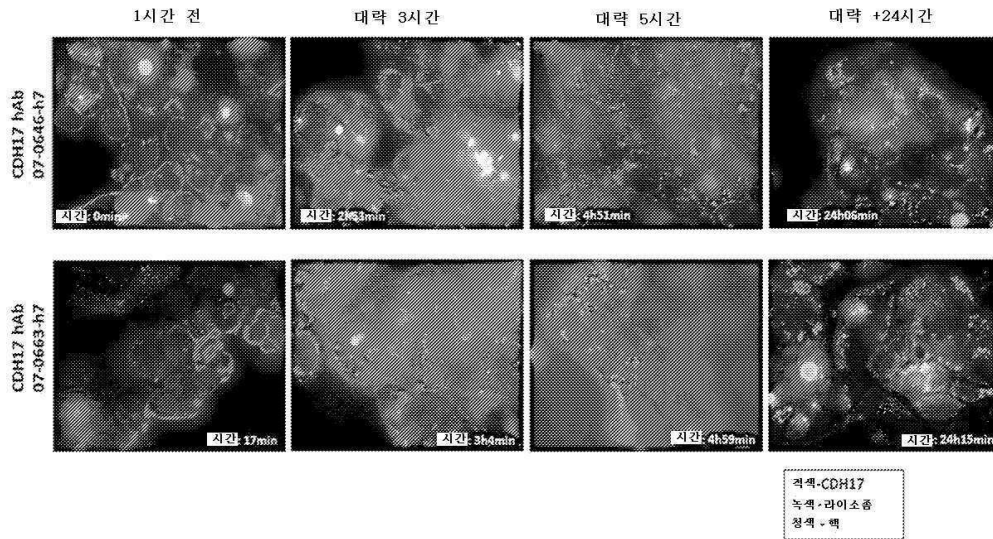


도면10



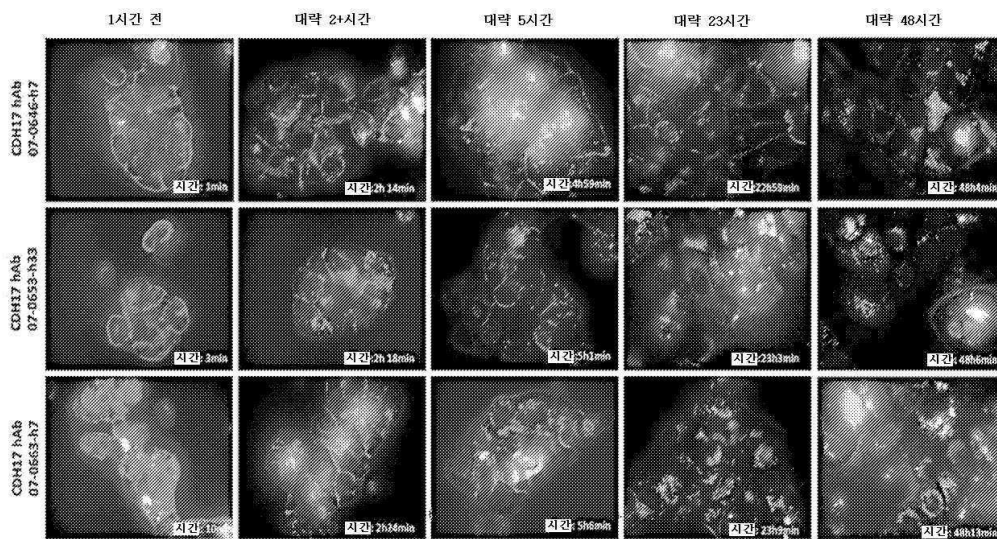
도면11

LS513 세포에서의 CDH17 hAb의 내재화

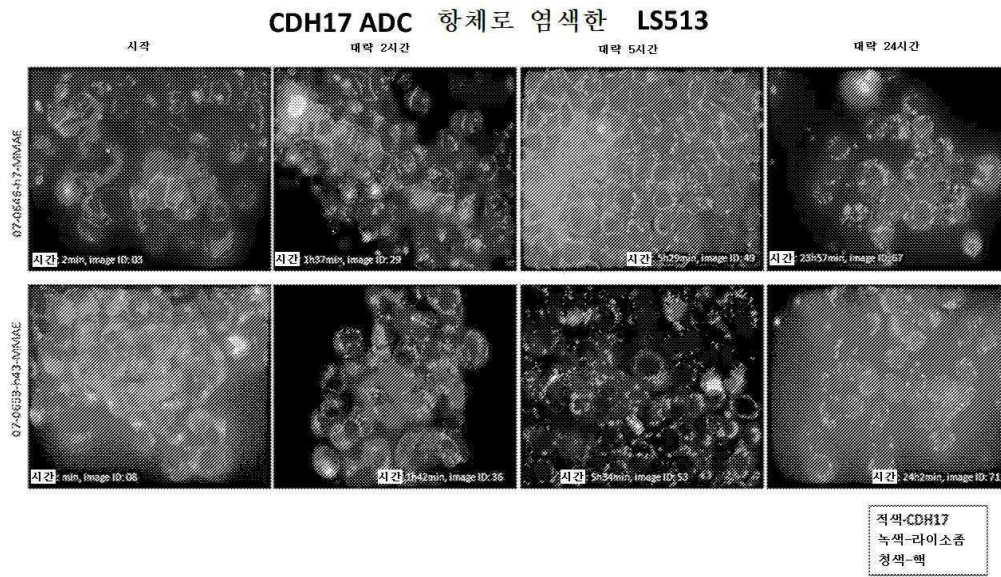


도면12

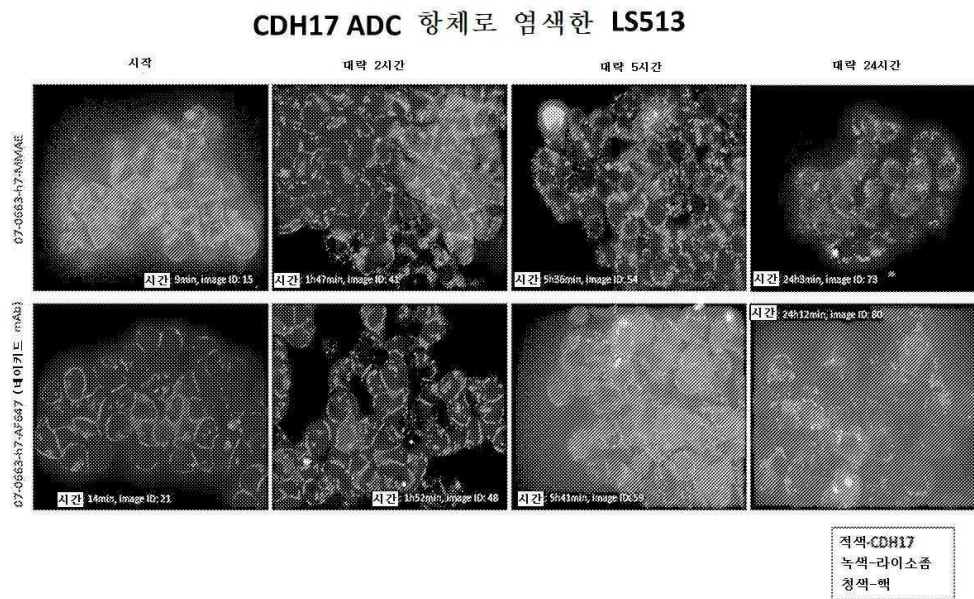
HPAF2 세포에서의 CDH17 hAb의 내재화



도면13



도면14



도면15

3개의 주요 CDH17 네이키드 항체(FL4-H)를 이용한(BD C6에 의함)
4개 종(인간, 원숭이, 마우스 및 래트)에서의 흐름에 의한 항체 결합 활성

CDH17 hAb 신호	HEK293T	HEK293T CDH17	HEK293T 마카크	HEK293T 마우스	HEK293T 래트 CDH17
FL4-H	모체 1µg	mGFP G11 1µg	CDH17 mGFP 1µg	CDH17 mGFP 1µg	moxGFP 1µg
07-0646-h7	593.57	318,588.40	145,250.40	851.5	1,250.23
07-0653-h43	817.99	255,639.75	182,462.47	1,811.85	259,672.43
07-0663-h7	600.46	250,812.58	159,205.68	888.44	1,033.09
제2 Ab 단독	507.66	726.81	720.09	740.33	633.49

mGFP 신호 - FL1-H	HEK293T	HEK293T CDH17	HEK293T 마카크	HEK293T 마우스	HEK293T 래트 CDH17
모체 1µg	mGFP G11 1µg	CDH17 mGFP 1µg	CDH17 mGFP 1µg	CDH17 mGFP 1µg	moxGFP 1µg
07-0646-h7	2,896.07	287,839.45	273,797.79	306,460.92	212,561.05
07-0653-h43	2,842.79	299,405.40	292,356.80	292,283.21	261,717.77
07-0663-h7	2,608.96	267,295.72	291,942.07	294,309.73	214,474.18

도면16

3개의 주요 CDH17 hAb 에 대해
4개 종(인간, 원숭이, 래트 및 마우스)에서의 KD 측정

세포 모델		CDH17 hAb	KD			발현 수준	
			KD (nM)	오류%	95% 신뢰 구간 (CI)	발현 수준	95% 신뢰 구간 (CI)
인간	HEK293T CDH17mGFP 인간 클론 G11	07-0646-h7	0.817	3.31	0.567nM - 1.20nM	3.432E+06	2.604E+06 - 4.674E+06
		07-0653-h43	0.736	2.92	0.464nM - 1.13nM	1.860E+06	1.432E+06 - 2.365E+06
		07-0663-h7	0.152	2.74	0.068nM - 0.272nM	2.489E+06	2.078E+06 - 2.975E+06
원숭이	HEK293T CDH17mGFP 원숭이 mass pop	07-0646-h7	0.657	3.63	0.389nM - 1.08nM	3.767E+06	2.867E+06 - 5.223E+06
		07-0653-h43	0.946	4.21	0.488nM - 1.74nM	1.986E+06	1.382E+06 - 2.784E+06
		07-0663-h7	0.336	3.37	0.185nM - 0.568nM	3.735E+06	2.899E+06 - 5.087E+06
마우스	HEK293T CDH17mGFP 마우스 mass pop	07-0646-h7	경해되지 않음				
		07-0653-h43	경해되지 않음				
		07-0663-h7	경해되지 않음				
래트	HEK293T CDH17mGFP 래트 mass pop	07-0646-h7	경해되지 않음				
		07-0653-h43	0.535	2.46	0.378nM - 0.738nM	2.346E+06	1.929E+06 - 2.848E+06
		07-0663-h7	경해되지 않음				

도면17a

상위 3개의 인간화된 CDH17 항체

인간화된 CDH17 Ab		07-0646-h7	07-0653-h43	07-0653-h7
유세포 분석에 의한 항체 결합 활성 (20µg/ml)	LS513 (결장, CDH17+)	47,189	24,295	74,670.0
	M202 (흑색종, CDH17-)	4,477	4,697	4,481.0
유세포 분석에 의한 ADC 항체 결합 활성 (20µg/ml)	LS513 (결장, CDH17+)	73,516	35,083	67,397.0
	M202 (흑색종, CDH17-)	4,555	4,206	4,485.5
KinExA에 의한 항체 결합 친화도 - KD (nM)	HEK293T CDH17mGFP 클론 G11	0.817	0.736	0.152
	SNUC1	0.532	0.206	0.157
ELISA 에 의한 EC50 (nM)	제조항 CDH17 ECD-6xhis 태그	0.73	1.13	1.22
유세포 분석에 의한 3개 Tox 모델에 대한 교차 반응성 (20µg/ml)	HEK293T 인간 CDH17 mGFP G11	50,487.50	51,778.00	57,633.50
	HEK293T 원숭이 CDH17 mGFP mass	16,895.00	29,796.00	41,303.00
	HEK293T 마우스 CDH17 mGFP mass	2,510.50	2,455.50	2,423.50
	HEK293T 래트CDH17 mGFP mass pop	2,201.00	71,824.00	2,165.00
KinExA에 의한 3개의 Tox 모델에 대한 교차 반응성-KD(nM)	HEK293T 인간 CDH17 mGFP G11	0.817	0.736	0.152
	HEK293T 원숭이 CDH17 mGFP mass	0.657	0.946	0.336
	HEK293T 마우스 CDH17 mGFP mass	정해지지 않음	정해지지 않음	정해지지 않음
	HEK293T 래트CDH17 mGFP mass pop	정해지지 않음	0.535	정해지지 않음

도면17b

상위 3개의 인간화된 CDH17 항체의 특성규명

인간화된 CDH17 Ab		07-0646-h7	07-0653-h43	07-0653-h7
AKTA Pure 25를 사용하여 SEC에 의한 항체 응집(면적%)	응집물	4.39	2.13	1.04
	단량체	95.62	97.87	98.39
	단편	0.00	0.00	0.57
Ab 소수성-HIC 체류 시간(분)		30.11	36.74	31.89
PBS 중 항체 T _m (°C)		70.14	69.22	69.82
PBS 중 항체 Tagg (°C)		90.33	87.58	80.09
ExpiCHO-S 중 항체 발현 수율 (대략 mg 정제된 Ab/ml 매질)		0.261	0.339	0.355
천연 세포 양성 세포주 LS513에 의한 내재화 비율(몇 시간 안에 100% 완료)		~3 -5		
천연 양성 세포주 HPAF2에 의한 내재화 비율(몇 시간 안에 100% 완료)		~24 -48		

도면17c

상위 3개의 인간화된 CDH17 항체의 특성규명

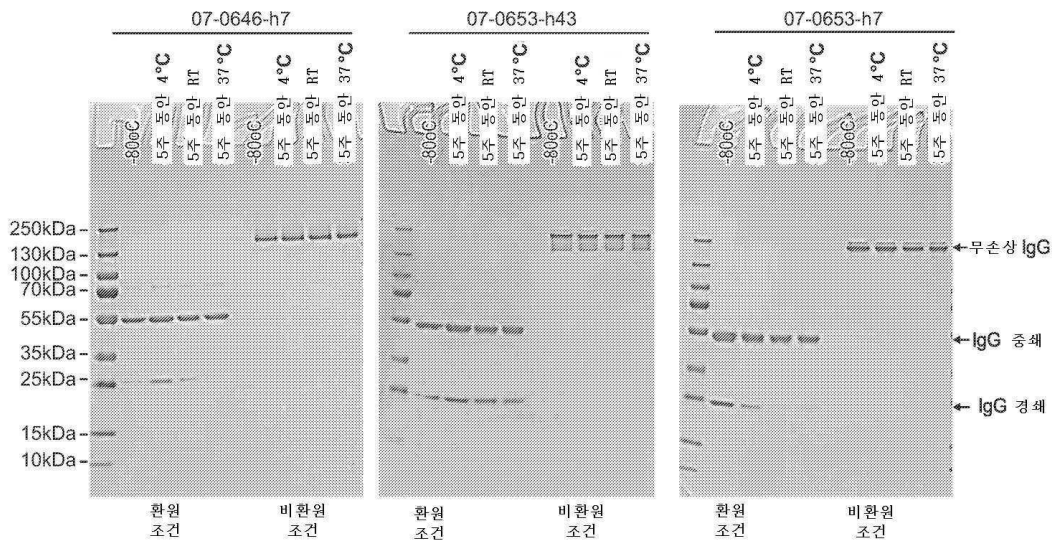
CDH17	Uniprot	길이 (aa)	동일성
호모 사피엔스	Q12864	832	100%
게막이 원숭이	A0A2K5X8I8	832	95.20%
무스 무스쿨루스	Q9R100	827	79.10%
라투스 노르베기쿠스	P55281	827	78.70%

HIC 표준		주요 피크에 대한 HIC 체류 시간 (분)
HIC 높음	이벌리무말 (Yervoy)	37.52
HIC 중간	베톨리주말 (Entyvio)	35.32
HIC 중간	에콜리주말 (Soliris)	34.23
HIC 낮음	우스테키누말 (Stelara)	29.37
	트라스투주말 (Herceptin)	31.36

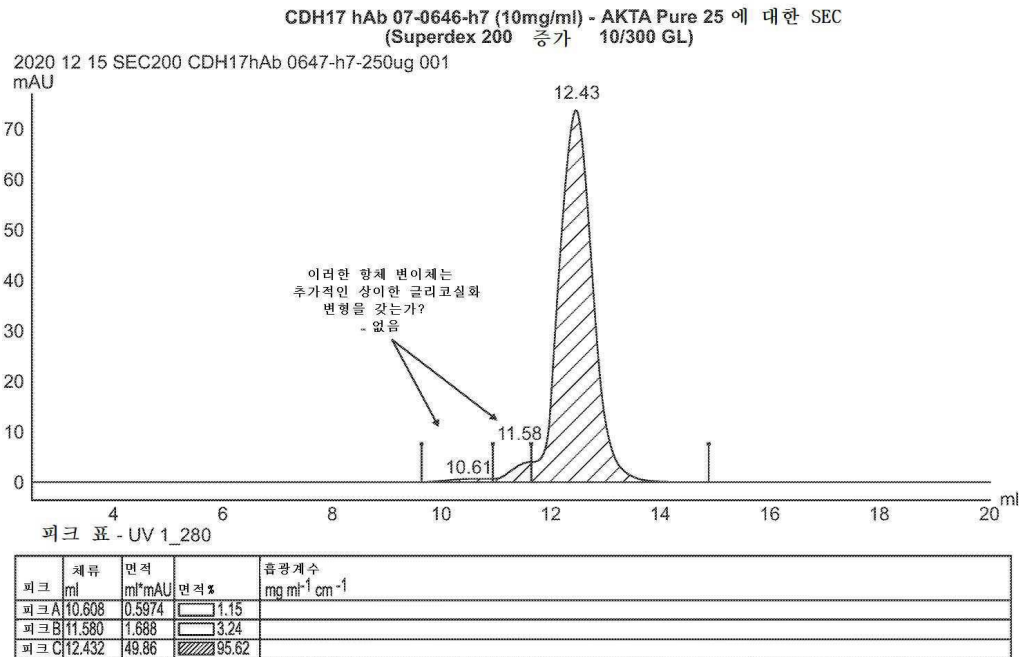
	BT474 세포들 이용한 KinExA 에 의한 Ab KD (nM)	SEC에 의한 Ab 응집(AKTA Pure 25) (면적%)			Ab 소수성-HIC 체류시간 (분)	히스티딘 완충제 중 Ab Tm, pH6.0 (°C)	히스티딘 완충제 중 Ab Tagg, pH6.0 (°C)	Ab 내재화 속도 (BT474, ARK2)		
		응집물	단량체	단편				시작 시간	~50% 시간	종료 시간
Herceptin	0.769	1.29	97.61	1.11	31.36	69.11	85.86	30 분	4 시간	30 시간

도면18

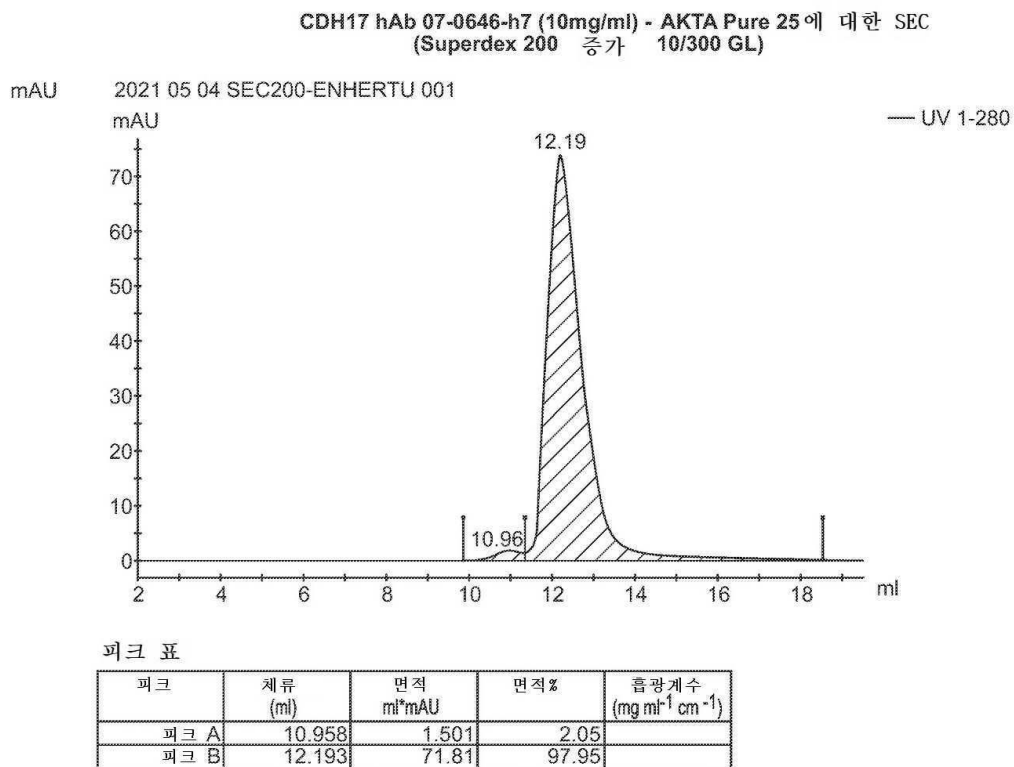
비환원 SDS PAGE에 의해 평가한 CDH17 hAb(10mg/ml)의 안정성에 대한 온도 및 장기간 보관의 효과 (5주 동안 -80 °C 대 4°C, RT 및 37°C)



도면19a

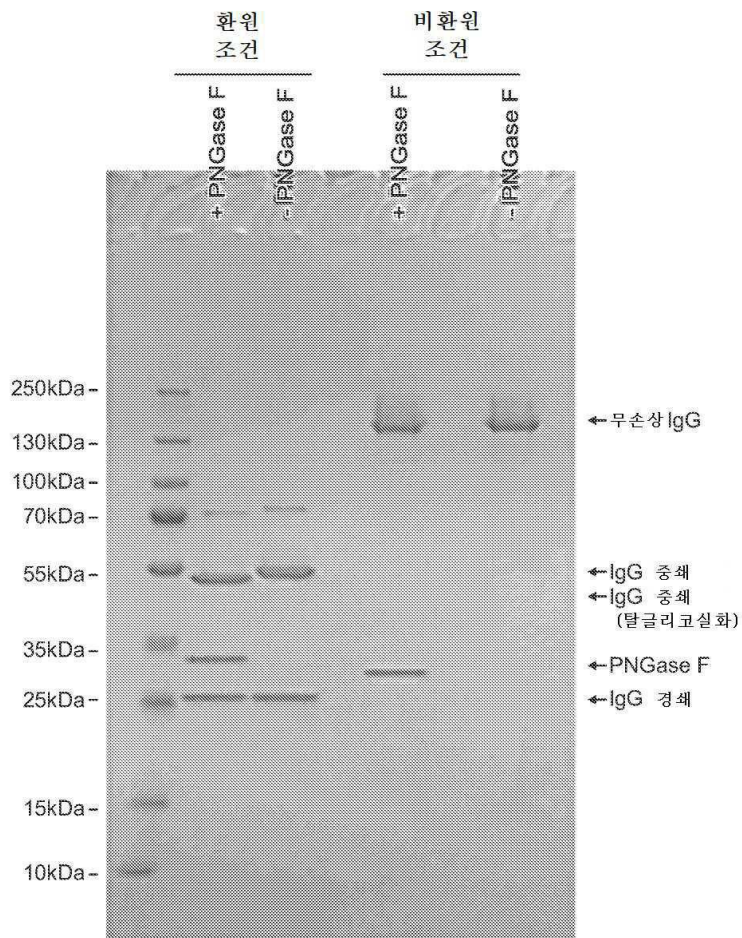


도면19b

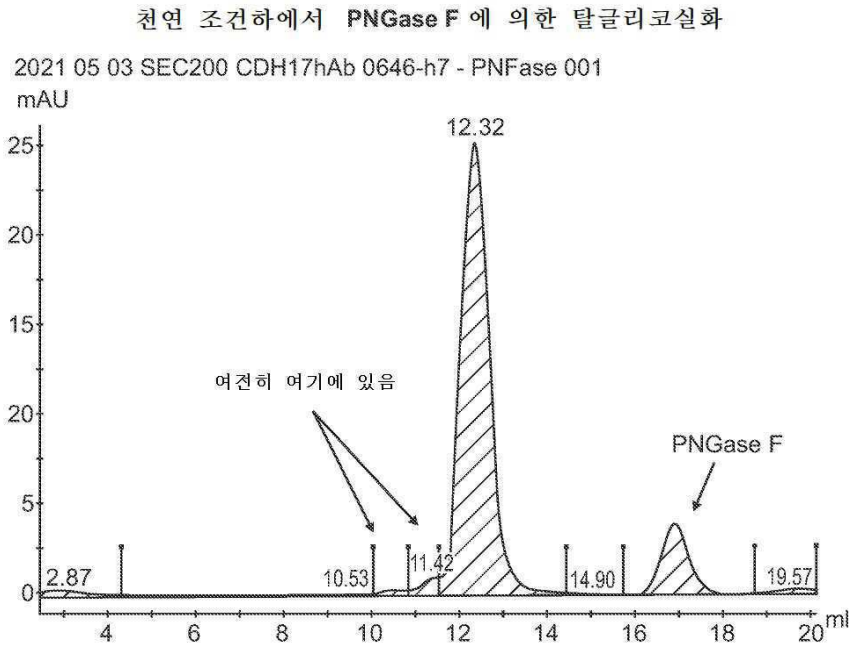


도면19c

천연 조건하에서 PNGase F 에 의한 탈글리코실화



도면19d



피크 표

피크	체류 (ml)	면적 ml*mAU	면적%	흡광계수 (mg ml ⁻¹ cm ⁻¹)
피크 A	2.873	0.4214	2.16	
피크 B	10.532	0.2005	1.03	
피크 C	11.420	0.4324	2.21	
피크 D	12.317	17.98	92.10	
피크 E	14.899	0.1828	0.94	
피크 F	19.573	0.3057	1.57	

도면20

CDH17 hAb 07-0663-h7 결합에 대한 중요한 에피토프 코어 영역

펩타이드 18-20:	THNLQVAALDANGII	VEGVPVIT	- 23 aa
펩타이드 18:	THNLQVAALDANGII		
펩타이드 19:	QVAALDANGII	VEGVP	- 7 aa
펩타이드 20:	LDANGII	VEGVPVIT	



도면21

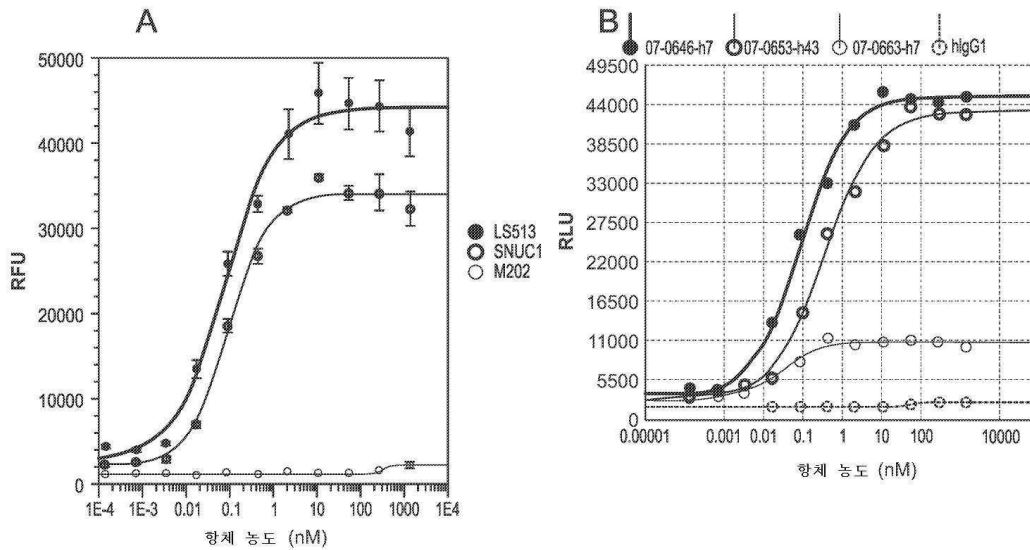
CDH17 hAb 0663-h7 결합에 대한 중요한 최소 에피토프 영역은 5-aa 펩타이드: DANGI 이다

항체 (ng/ml)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	EC50 (nM)	
CDH17 hAb 0663-h7 (ng/ml)	1500	600	240	96	38.4	15.36	6.144	2.458	0.983	0.393	0.157	0		
펩타이드 1	3.0971	2.9772	2.8674	2.5627	1.6035	1.2281	0.6706	0.3355	0.1601	0.0880	0.0557	0.0385	0.160	L D A N G I I 본래의 결합 활성
펩타이드 2	2.7638	3.0212	2.6316	2.3385	1.8394	1.1636	0.6981	0.3169	0.1582	0.0860	0.0544	0.0369	0.126	A D A N G I I 유사한 결합 활성
펩타이드 3	2.6549	2.9090	2.6495	2.3659	1.7826	1.3276	0.6792	0.3269	0.1602	0.0920	0.0568	0.0375		L A A N G I I 제거된 결합 활성
펩타이드 4	2.7062	2.6247	2.6486	2.5144	1.8471	1.2631	0.7186	0.3506	0.1599	0.0867	0.0576	0.0380		L D A N G I I 감소된 결합 활성
펩타이드 5	0.0377	0.0363	0.0369	0.0386	0.0366	0.0398	0.0376	0.0374	0.0365	0.0381	0.0397	0.0416		L D A A G I I 제거된 결합 활성
펩타이드 6	0.0369	0.0370	0.0356	0.0383	0.0375	0.0374	0.0369	0.0410	0.0365	0.0391	0.0376	0.0524		L D A N G I I 유사한 결합 활성
펩타이드 7	2.1034	1.1605	1.0101	0.4579	0.1806	0.0909	0.0545	0.0411	0.0412	0.0416	0.0376	0.0404	2.985	L D A N G I I 감소된 결합 활성
펩타이드 8	2.1388	1.4088	0.9490	0.4174	0.1588	0.0779	0.0482	0.0388	0.0418	0.0394	0.0393	0.0381		L D A A G I I 제거된 결합 활성
펩타이드 9	0.0379	0.0364	0.0377	0.0403	0.0361	0.0366	0.0366	0.0368	0.0392	0.0382	0.0375	0.0380		L D A N G I I 유사한 결합 활성
펩타이드 10	0.0380	0.0382	0.0357	0.0365	0.0367	0.0403	0.0389	0.0414	0.0382	0.0366	0.0422	0.0367		L D A N A I I 제거된 결합 활성
펩타이드 11	0.0394	0.0406	0.0397	0.0393	0.0408	0.0370	0.0380	0.0377	0.0355	0.0394	0.0394	0.0404		L D A N G A I 제거된 결합 활성
펩타이드 12	0.0383	0.0373	0.0370	0.0394	0.0397	0.0392	0.0384	0.0390	0.0353	0.0356	0.0352	0.0363		L D A N G A I 유사한 결합 활성
펩타이드 13	0.0371	0.0375	0.0376	0.0368	0.0391	0.0391	0.0380	0.0367	0.0390	0.0365	0.0382	0.0383		L D A N G A I 유사한 결합 활성
펩타이드 14	0.0357	0.0360	0.0380	0.0376	0.0392	0.0397	0.0396	0.0381	0.0374	0.0370	0.0380	0.0392		L D A N G A I 유사한 결합 활성
펩타이드 15	2.8015	2.7451	2.6141	2.3709	1.8170	1.3842	0.7755	0.3763	0.1697	0.0933	0.0573	0.0397	0.117	L D A N G I A 유사한 결합 활성
펩타이드 16	2.7433	2.8318	2.5852	2.4788	1.8270	1.4305	0.6953	0.3765	0.1696	0.0904	0.0560	0.0407		

	THNLQVAALDANGIIVEGPVPIT	23 aa
펩타이드 18:	THNLQVAALDANGII	
펩타이드 19:	QVAALDANGIIVEGP	
펩타이드 20:	LDANGIIVEGPVPIT	
	LDANGII	7 aa
	DANGI	5 aa

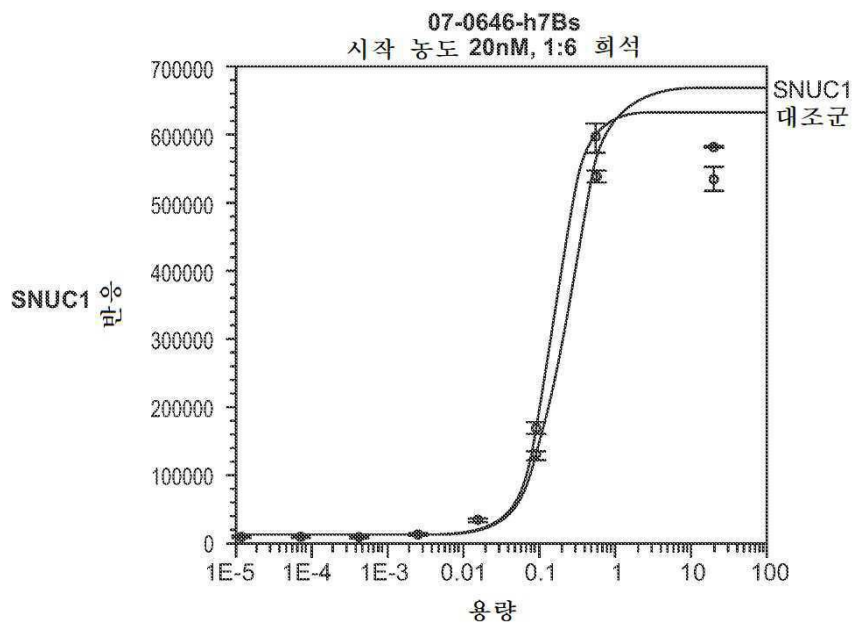
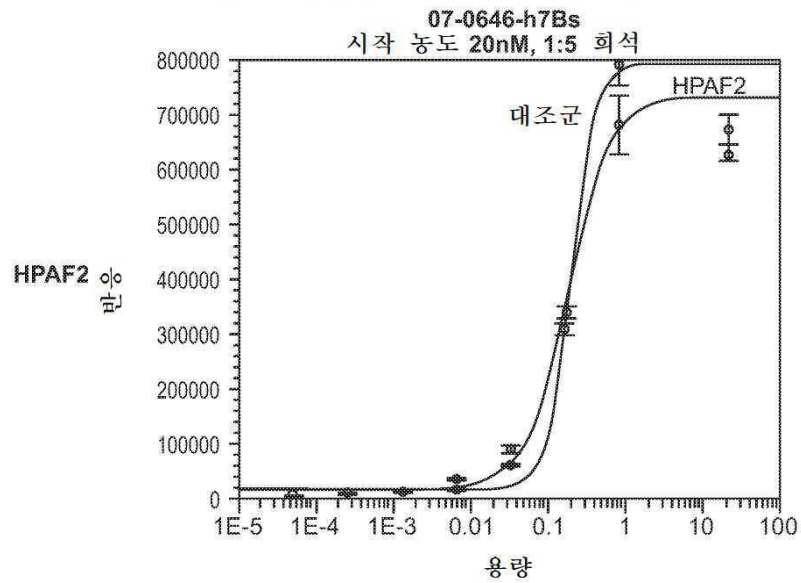
도면22

CDH17 항체 07-646-h7 및 07-663-h7 은 ADCC
CDH17-양성 세포주에서 ADCC를 유도한다



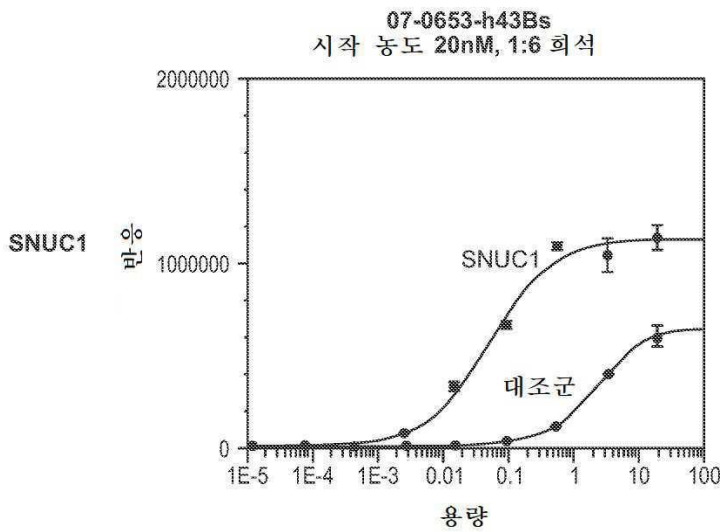
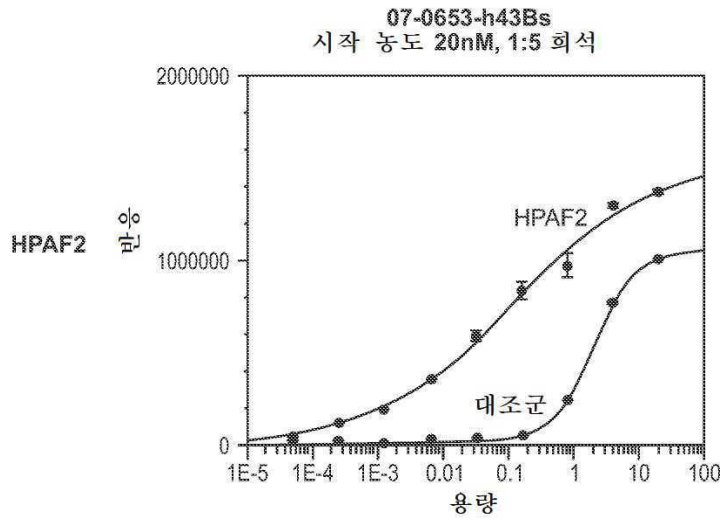
도면23a

NFAT-RE 리포터 및 CDH17-CD3 이중특이성 항체와 함께
Jurkat 세포를 사용하는 T-세포 활성화 분석



도면23b

NFAT-RE 리포터 및 CDH17-CD3 이중특이성 항체와 함께
Jurkat 세포를 사용하는 T-세포 활성화 분석



도면23c

NFAT-RE 리포터 및 CDH17-CD3 이중특이성 항체와 함께
Jurkat 세포를 사용하는 T-세포 활성화 분석

