



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0126641
(43) 공개일자 2021년10월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/12 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01) C07K 16/10 (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/1271 (2013.01)
A61P 31/12 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2021-7028365
(22) 출원일자(국제) 2020년02월12일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2021년09월03일
(86) 국제출원번호 PCT/US2020/017889
(87) 국제공개번호 WO 2020/167919
국제공개일자 2020년08월20일
(30) 우선권주장
62/804,358 2019년02월12일 미국(US)

(71) 출원인
리제너론 파아마슈티컬스, 인크.
미국 뉴욕 10591-6707 테리타운 올드 소오 밀 리
버 로드 777
(72) 발명자
키라트소우스 크리스토스
미국 뉴욕주 10591-6707 테리타운 올드 소오 밀
리버 로드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크.
런 치아-양
미국 뉴욕주 10591-6707 테리타운 올드 소오 밀
리버 로드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크.
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
장훈

전체 청구항 수 : 총 73 항

(54) 발명의 명칭 보체 및 표적 항원에 결합하기 위해 이중 특이적 항체를 사용하는 조성물 및 방법

(57) 요약

특정 구현예에 따르면, 본 개시는 표적 항원에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인; 및 보체 성분에 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 포함하는 이중 특이적 항원 결합 분자를 제공한다. 특정 구현예에서, 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 EC₅₀으로 표적 항원에 결합할 수 있고/있거나 약 10 nM의 EC₅₀으로 표적 항원 상에서 보체 침착을 촉진할 수 있다. 특정 구현예에서, 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자는 감염 원 또는 암세포의 성장의 억제 또는 감소가 요구되는 질환을 치료하는데 유용하고/하거나 치료적으로 유익하다.

(52) CPC특허분류

C07K 16/1018 (2013.01)
C07K 16/1214 (2013.01)
C07K 16/18 (2013.01)
C07K 16/28 (2013.01)
C07K 16/2878 (2013.01)
C07K 16/2887 (2013.01)
C07K 2317/31 (2013.01)
C07K 2317/734 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

머피 앤드류 제이.

미국 뉴욕주 10591-6707 테리타운 올드 소오 밀 리
버 로드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크.

프라사드 브린다

미국 뉴욕주 10591-6707 테리타운 올드 소오 밀 리
버 로드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크.

스탈 닐

미국 뉴욕주 10591-6707 테리타운 올드 소오 밀 리
버 로드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크.

명세서

청구범위

청구항 1

단리된 이중 특이적 항원 결합 분자로서,

- (a) 표적 항원에 결합하는 제1 항원 결합 도메인; 및
- (b) 보체 성분에 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 표적 항원은:

- (a) 세포 또는 유기체의 표면 상에서 발현되거나;
- (b) 가용성 항원인, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 3

단리된 이중 특이적 항원 결합 분자로서,

- (a) 세포 또는 유기체의 표면 상에서 표적 항원에 결합하는 제1 항원 결합 도메인으로서, 상기 표적 항원은 대상체의 질환 상태의 마커인, 제1 항원 결합 도메인; 및
- (b) 보체 성분에 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 표적 항원은 박테리아의 표면, 바이러스의 표면, 바이러스 감염 세포의 표면, 암 세포의 표면, 또는 면역 세포의 표면 상에서 발견되는 항원을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 5

제3항 또는 제4항에 있어서, 상기 대상체의 질환 상태는 박테리아 감염, 바이러스 감염, 암, 또는 면역 기능 장애를 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 표적 항원은:

- (a) *스타필로코커스* 중 표적 항원;
- (b) 인플루엔자 바이러스 표적 항원;
- (c) *슈도모나스* 중 표적 항원;
- (d) 암 세포 항원;
- (e) B-세포 표면 항원; 또는
- (f) T 세포 표면 항원을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 EC_{50} 으로 상기 표적 항원에 결합하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 EC_{50} 으로 상기

표적 항원을 포함하는 유기체 또는 세포 상에서의 인간 C1q 침착을 촉진하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 *스타필로코커스 아우레우스* 표적 항원에 결합하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 *스타필로코커스 아우레우스* IsdB 항원, *스타필로코커스 아우레우스* 단백질 A 항원, *스타필로코커스 아우레우스* IsdA 항원, *스타필로코커스 아우레우스* 폴리-N-아세틸 글루코사민(PNAG) 항원, 또는 *스타필로코커스 아우레우스* 응집 인자 A(ClfA) 항원에 결합하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 11

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 *슈도노막스 아에루기노사* 표적 항원에 결합하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 *슈도노막스 아에루기노사* PsI 항원에 결합하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 13

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 인플루엔자 바이러스 표적 항원에 결합하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 인플루엔자 헤마글루티닌 표적 항원에 결합하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 인플루엔자 헤마글루티닌 표적 단백질은 H1형 헤마글루티닌을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 16

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 글루코코르티코이드-유도 종양 괴사 수용체(GITR)에 결합하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 17

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 B-세포의 표면 상에서 글리코실화된 인단백질 표적 항원에 결합하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 B-림프구 CD20 항원에 결합하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 항원 결합 도메인은 보체 성분 C1q에 결합하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 보체 성분 C1q는 인간 C1q인, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 21

제19항 또는 제20항에 있어서, 상기 제2 항원 결합 도메인은, 표면 플라스몬 공명 분석으로 측정되는 바, 약 25 nM, 약 20 nM 미만, 약 15 nM 미만, 약 10 nM 미만, 약 5 nM 미만, 약 1 nM 미만, 약 500 pM 미만, 약 400 pM 미만, 약 300 pM 미만, 약 200 pM 미만, 약 100 pM 미만, 약 90 pM 미만, 약 80 pM 미만, 약 70 pM 미만, 약 60 pM 미만, 약 50 pM 미만, 약 40 pM 미만, 약 30 pM 미만, 약 20 pM 미만, 약 10 pM 미만, 약 5 pM 미만, 약 4 pM 미만, 약 2 pM 미만, 약 1 pM 미만, 약 0.5 pM 미만, 약 0.2 pM 미만, 약 0.1 pM 미만, 또는 약 0.05 pM 미만의 K_D 로 보체 성분 C1q에 결합하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 22

제1항 내지 제8항, 또는 제19항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 특이적으로 IsdB에 결합하고,

(a) 서열번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR); 및

(b) 서열번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 함유된 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR)을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 HCDR은 서열번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1), 서열번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2), 및 서열번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 24

제22항 또는 제23항에 있어서, 상기 LCDR은 서열번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1), 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2), 및 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 25

제22항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 서열번호: 84/85의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄(HC)/경쇄(LC) 쌍을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 26

제1항 내지 제8항, 또는 제19항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 특이적으로 CD20에 결합하고,

(a) 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR); 및

(b) 서열번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 함유된 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR)을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 HCDR은 서열번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1), 서열번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2), 및 서열번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 28

제26항 또는 제27항에 있어서, 상기 LCDR은 서열번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1), 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2), 및 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 29

제26항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 서열번호: 86/85의 아미노산 서열을 포함하는 HC/LC 쌍을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 30

제1항 내지 제8항, 또는 제19항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 특이적으로 HA에 결합하고,

(a) 서열번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR); 및

(b) 서열번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 함유된 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR)을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 HCDR은 서열번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1), 서열번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2), 및 서열번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 32

제30항 또는 제31항에 있어서, 상기 LCDR은 서열번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1), 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2), 및 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 33

제30항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 서열번호: 87/85의 아미노산 서열을 포함하는 HC/LC 쌍을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 34

제1항 내지 제8항, 또는 제19항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 특이적으로 GITR에 결합하고,

(a) 서열번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR); 및

(b) 서열번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 함유된 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR)을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 HCDR은 서열번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1), 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2), 및 서열번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 36

제34항 또는 제35항에 있어서, 상기 LCDR은 서열번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1), 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2), 및 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄

CDR3(LCDR3)을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 37

제34항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 서열번호: 88/85의 아미노산 서열을 포함하는 HC/LC 쌍을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 38

제1항 내지 제8항, 또는 제19항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 특이적으로 단백질 A에 결합하고,

(a) 서열번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR); 및

(b) 서열번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 함유된 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR)을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 39

제38항에 있어서, 상기 HCDR은 서열번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1), 서열번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2), 및 서열번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 40

제38항 또는 제39항에 있어서, 상기 LCDR은 서열번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1), 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2), 및 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 41

제38항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 서열번호: 90/85의 아미노산 서열을 포함하는 HC/LC 쌍을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 42

제1항 내지 제8항, 또는 제19항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 특이적으로 IsdA에 결합하고,

(a) 서열번호: 66의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR); 및

(b) 서열번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 함유된 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR)을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 43

제42항에 있어서, 상기 HCDR은 서열번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1), 서열번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2), 및 서열번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 44

제42항 또는 제43항에 있어서, 상기 LCDR은 서열번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1), 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2), 및 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 45

제42항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 서열번호: 91/85의 아미노산 서열을

포함하는 HC/LC 쌍을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 46

제1항 내지 제8항, 또는 제19항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 특이적으로 ClfA에 결합하고, 서열번호: 73/74의 아미노산 서열을 포함하는 HC/LC 쌍을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 47

제1항 내지 제8항, 또는 제19항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 특이적으로 PNAG에 결합하고, 서열번호: 76/77의 아미노산 서열을 포함하는 HC/LC 쌍을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 48

제1항 내지 제8항, 또는 제19항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은 특이적으로 Psl에 결합하고, 서열번호: 78/79의 아미노산 서열을 포함하는 HC/LC 쌍을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 49

단리된 이중 특이적 항원 결합 분자로서,

- (a) 표적 항원에 결합하는 제1 항원 결합 도메인; 및
- (b) 인간 C1q에 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 50

제49항에 있어서, 상기 표적 항원은:

- (a) 세포 또는 유기체의 표면 상에서 발현되거나;
- (b) 가용성 항원인, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 51

제49항 또는 제50항에 있어서, 상기 제2 항원 결합 도메인은, 서열번호: 4 및 서열번호: 20으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 6 및 서열번호: 22로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 8 및 서열번호: 24로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 제2 항원 결합 도메인은,

서열번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; 또는

서열번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 53

제51항 또는 제52항에 있어서, 상기 제2 항원 결합 도메인은 서열번호: 2 또는 서열번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 54

제49항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원 결합 도메인은,

서열번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호

호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; 또는

서열번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; 또는

서열번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; 또는

서열번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; 또는

서열번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; 또는

서열번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; 또는

서열번호: 73의 아미노산 26 내지 33을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 73의 아미노산 51 내지 58을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 73의 아미노산 96 내지 106을 포함하는 HCDR3; 또는

서열번호: 76의 아미노산 27 내지 32를 포함하는 HCDR1, 서열번호: 76의 아미노산 51 내지 58을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 76의 아미노산 96 내지 106을 포함하는 HCDR3; 또는

서열번호: 78의 아미노산 31 내지 35를 포함하는 HCDR1, 서열번호: 78의 아미노산 50 내지 65를 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 78의 아미노산 98 내지 109를 포함하는 HCDR3을 포함하는 HCVR을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 55

제49항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서,

서열번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2, 및 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3; 또는

서열번호: 74의 아미노산 27 내지 32를 포함하는 LCDR1, 서열번호: 74의 아미노산 51 내지 55를 포함하는 LCDR2, 및 서열번호: 74의 아미노산 89 내지 98을 포함하는 LCDR3; 또는

서열번호: 77의 아미노산 27 내지 32를 포함하는 LCDR1, 서열번호: 77의 아미노산 50 내지 52를 포함하는 LCDR2, 및 서열번호: 77의 아미노산 98 내지 101을 포함하는 LCDR3; 또는

서열번호: 79의 아미노산 23 내지 33을 포함하는 LCDR1, 서열번호: 79의 아미노산 49 내지 55를 포함하는 LCDR2, 및 서열번호: 79의 아미노산 88 내지 99를 포함하는 LCDR3을 포함하는 LCVR을 추가로 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 56

제55항에 있어서, 상기 LCDR은 서열번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2, 및 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 57

제56항에 있어서, 서열번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는, 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자.

청구항 58

제1항 내지 제57항 중 어느 한 항의 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 59

세포 사멸을 활성화하거나 향상시키는 방법으로서, 상기 방법은 제1항 내지 제57항 중 어느 한 항의 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자 또는 제58항의 약학적 조성물과 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 60

암을 치료하는 방법으로서, 제1항 내지 제8항, 제16항 내지 제21항, 제26항 내지 제29항, 제34항 내지 제37항, 또는 제49항 내지 제57항 중 어느 한 항의 이중 특이적 항원 결합 분자, 또는 제58항의 약학적 조성물을 암을 앓고 있는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 61

제60항에 있어서, 상기 이중 특이적 항원 결합 분자는 CD20 또는 GITR에 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 62

제61항에 있어서, 상기 이중 특이적 항원 결합 분자는 CD20에 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 63

제62항에 있어서, 상기 이중 특이적 항원 결합 분자는 제26항 내지 제29항 중 어느 한 항의 제1 항원 결합 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 64

제61항에 있어서, 상기 이중 특이적 항원 결합 분자는 GITR에 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 65

제64항에 있어서, 상기 이중 특이적 항원 결합 분자는 제34항 내지 제37항 중 어느 한 항의 제1 항원 결합 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 66

박테리아 감염을 치료하는 방법으로서, 제1항 내지 제12항, 제19항 내지 제25항, 또는 제38항 내지 제57항 중 어느 한 항의 이중 특이적 항원 결합 분자, 또는 제58항의 약학적 조성물을 박테리아 감염을 앓고 있는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 67

제66항에 있어서, 상기 이중 특이적 항원 결합 분자는 슈도노마스 아에루기노사에 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 68

제67항에 있어서, 상기 이중 특이적 항원 결합 분자는 슈도노마스 아에루기노사의 Ps1 항원에 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 69

제68항에 있어서, 상기 이중 특이적 항원 결합 분자는 제48항의 제1 항원 결합 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 70

바이러스 감염을 치료하는 방법으로서, 제1항 내지 제8항, 제13항 내지 제15항, 제19항 내지 제21항, 제30항 내지 제33항, 또는 제49항 내지 제57항 중 어느 한 항의 이중 특이적 항원 결합 분자, 또는 제58항의 약학적 조성물을 바이러스 감염을 앓고 있는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 71

제70항에 있어서, 상기 이중 특이적 항원 결합 분자는 인플루엔자 또는 인플루엔자 감염 세포에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 72

제71항에 있어서, 상기 이중 특이적 항원 결합 분자는 인플루엔자의 H1N1 균주의 헤마글루티닌 항원에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 73

제71항에 있어서, 상기 이중 특이적 항원 결합 분자는 제30항 내지 제33항 중 어느 한 항의 제1 항원 결합 도메인을 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 PCT 국제 특허 출원으로서 2020년 2월 12일에 출원되고, 2019년 2월 12일에 출원된 미국 가출원 제 62/804,358호의 우선권의 이익을 주장하며, 각각의 개시 내용은 그 전체가 참조로서 본원에 포함된다.

[0002] 본 개시는 표적 항원 및 보체 성분에 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자, 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 표적 세포를 향해 면역 체계의 강력한 효과기 기능을 유도하는 치료제는 감염성 질환 및 암의 치료적 내성의 설정에서 큰 가능성을 가진다. 보체 시스템은 오래되고 잘 보존된 선천적 면역의 분지로서, 효과기 세포의 직접적인 용해, 옹소닌화 및 모집을 통해 병원균을 인식하고 제거한다. 이러한 활성을 질병과 관련된 유기체 및/또는 세포에 대해 표적화하는 것은 치료 요법에 추가될 신규 기법을 제공할 수 있다.

[0004] 고전적인 보체 활성화는 C1q, C1r, 및 C1s 단백질로 구성된 C1 복합체에 의해 개시된다. C1q는 IgG1 또는 IgG3 Fc 도메인에 대한 결합을 통해 항원-항체 복합체뿐만 아니라 세포 표면 상의 분자 패턴을 인식하는 하나의 줄기 도메인 및 6개의 헤드 도메인으로 이루어진 헥사머 단백질이다. C1q는 낮은 친화도로 개별 Fc 도메인에 결합하지만, Fc 도메인의 항원-유도 다량체화는 C1q 결합의 결합력 유도 강화를 초래한다. 이어지는 세린 프로테아제 캐스케이드는, 세포 생존력의 급속한 손실을 유발하는 용해 막 공격 복합체(MAC, C5b9) 기공의 삽입으로 종결되는 보체 성분의 순차적인 모집 및 절단을 초래한다. 세포 표면 결합 C1q는 또한 식균작용 또는 세포독성을 유발하는 다양한 효과기 세포 상의 C1q 결합 단백질 또는 C1q 수용체에 의해 직접적으로 인식될 수 있다.

[0005] 표적화된 보체 모집은 광범위한 치료적 응용을 위해 효과적으로 활용되지 않았다. 현재까지, 보체에 관여하는 치료 항체는 IgG1 Fc 도메인을 통해 결합하기 때문에, 효능은 표적 항원에 결합하는 항체의 밀도 및 기하학적 구조에 따라 달라진다. 예를 들어, 리툽시맙과 같은 항-CD20 IgG1 mAb는 CD20 밀도와 관련된 효능으로 시험관 내에서 CD20-발현 B 세포의 보체 의존성 세포독성(CDC)[예를 들어, MAC 매개성 용해]을 유도한다. 그러나 생체 내에서, CDC 대 항체 의존성 세포 매개 세포독성(ADCC)과 같은 효과기 세포 매개 사멸의 상대적 기여도는 알려져 있지 않다.

[0006] 따라서, 보체 침착을 향상시키고 박테리아, 포유류 및 바이러스 감염 표적 세포의 세포독성을 매개하기 위한 조성물 및 방법을 개발할 필요가 있다.

발명의 내용

[0007] 제1 양태에 따르면, 본 개시는 표적 항원에 결합하는 제1 항원 결합 도메인(D1); 및 보체 성분에 결합하는 제2 항원 결합 도메인(D2)을 포함하는 이중 특이적 항원 결합 분자를 제공한다. 고전적인 보체 성분은 C1q, C1r, C1s, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, 또는 이의 임의의 단편(보체 캐스케이드에 의해 생성된 단백질 분해 단편을 포함함)을 포함한다. 구현예에서, 보체 성분은 C1q이다. 또 다른 구현예에서, C1q는 인간 C1q이다.

[0008] 일부 구현예에서, 표적 항원은, (a) 세포 또는 유기체의 표면에서 발현되거나; (b) 가용성 항원이다. 일부 구현예에서, 표적 항원은 세포(예를 들어, 진핵 세포, 예를 들어, 인간 세포) 또는 유기체의 표면에서 발현된다. 일

부 구현예에서, 표적 항원은 면역 세포, 혈액 또는 조혈 세포, 조직 또는 기관 세포, 줄기 세포, 또는 전구체 세포와 같은 세포 표면 상에서 발현되지만, 이에 한정되지는 않는다. 일부 구현예에서, 세포는 질환 세포(예를 들어, 암 세포 또는 박테리아 또는 바이러스 감염 세포)이다. 일부 구현예에서, 세포는 비질환 세포이다.

- [0009] 구현예에서, 표적 항원은 세포 또는 유기체의 표면 상에 있고; 표적 항원은 대상체의 질병 상태의 마커이다. 구현예에서, 표적 항원은 박테리아의 표면, 바이러스의 표면, 박테리아 또는 바이러스 감염 세포의 표면, 암 세포의 표면, 또는 면역 세포의 표면에서 발견되는 항원을 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체의 질환 상태는 박테리아 감염, 바이러스 감염, 암 또는 면역 기능장애를 포함한다.
- [0010] 일부 구현예에서, 표적 항원은 세포, 박테리아, 또는 바이러스에 결합되지 않은 가용성 항원, 예를 들어, 가용성 다량체이다.
- [0011] 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 EC_{50} 으로 표적 항원에 결합한다. 추가의 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 EC_{50} 으로 표적 항원 상의 보체 성분의 침착을 촉진한다.
- [0012] 구현예에서, 표적 항원은 *스타필로코커스* 종 표적 항원, *슈도모나스* 종 표적 항원, 인플루엔자 균주 표적 항원, B 세포 항원, 암 세포 항원, 또는 T 세포 항원을 포함한다.
- [0013] 일부 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 박테리아 표적 항원에 결합한다. 구현예에서, 박테리아 표적 항원은 *스타필로코커스* 종 이외의 박테리아 종으로부터 유래한다. 구현예에서, 박테리아 표적 항원은 그람 양성 박테리아 표적 항원이다. 구현예에서, 박테리아 표적 항원은 *스타필로코커스* 종 이외의 박테리아 종으로부터 유래된 그람 양성 박테리아 표적 항원이다. 구현예에서, 박테리아 표적 항원은 그람 음성 박테리아 표적 항원이다.
- [0014] 일부 구현예에서, 표적 항원은 *스타필로코커스* 종 표적 항원을 포함한다. 구현예에서, *스타필로코커스* 종은 *스타필로코커스 아우레우스* 또는 *스타필로코커스 에피더미디스*이다. 구현예에서, *스타필로코커스* 종 표적 항원은 관절낭 다당류 5형, 관절낭 다당류 8형, 단백질 A, IsdB, IsdA, IsdH, 리포테이코산, 벽 테이코산, 리파아제, V8 리파아제, 지방산 변형 효소, 접착제 매트릭스 분자를 인식하는 미생물 표면 성분(예를 들어, 아테신, 피브리노겐 결합 분자, 피브로넥틴 결합 단백질 A, 피브로넥틴 결합 단백질 B), 응집 인자 A(ClfA), 폴리-N-아세틸 글루코사민(PNAG), 또는 이들의 조합을 포함한다. 구현예에서, *스타필로코커스* 종 표적 항원은 철 조절 표면 결정인자 B(IsdB)이다. 구현예에서, *스타필로코커스* 종 표적 항원은 철 조절 표면 결정 인자 A(IsdA)이다. 구현예에서, *스타필로코커스* 종 표적 항원은 단백질 A이다. 구현예에서, *스타필로코커스* 종 표적 항원은 폴리-N-아세틸 글루코사민(PNAG)이다. 구현예에서, *스타필로코커스* 종 표적 항원은 응집 인자 A(ClfA)이다.
- [0015] 소정의 예시적인 구현예에 따르면, 이중 특이적 항원 결합 분자는 *스타필로코커스* 종 표적 항원 철 조절 표면 결정인자 B(IsdB) 및 보체 성분 C1q, 예를 들어, 인간 C1q에 결합하고; 이러한 이중 특이적 항원 결합 분자는 본원에서 “항-IsdB x 항-C1q 이중 특이적 분자”로도 지칭된다. 항-IsdB x 항-C1q 이중 특이적 분자의 항-IsdB 항원 결합 도메인은 IsdB를 발현하는 미생물(예를 들어, *스타필로코커스 아우레우스*)을 표적화하는 데 유용하고, 이중 특이적 분자의 항-C1q 항원 결합 도메인은 *스타필로코커스* 종에서 C1q의 침착을 촉진하는 데 유용하다. 미생물 상에서의 IsdB와 같은 표적 항원과 인간 C1q에 대한 항원 결합 분자의 동시 결합은 표적화된 미생물의 지정 사멸(세포 용해)을 촉진한다. 따라서, 본 개시의 항-IsdB x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자는 미생물과 관련이 있거나 이에 의해 야기되는 질환 및 장애(예를 들어, 감염, 패혈증 등)를 치료하는 데 특히 유용하다. 예시적인 항-IsdB 항체는 미국 공개번호 제16/143,901호 및 PCT/US2018/053064에 기술되어 있다.
- [0016] 소정의 예시적인 구현예에 따르면, 이중 특이적 항원 결합 분자는 *스타필로코커스* 종 표적 항원 단백질 A 및 보체 성분 C1q, 예를 들어, 인간 C1q에 결합하고; 이러한 이중 특이적 항원 결합 분자는 본원에서 “항-단백질 A x 항-C1q 이중 특이적 분자”로도 지칭된다. 항-단백질 A x 항-C1q 이중 특이적 분자의 항-단백질 A 항원 결합 도메인은 단백질 A를 발현하는 미생물(예를 들어, *스타필로코커스 아우레우스*)을 표적화하는 데 유용하고, 이중 특이적 분자의 항-C1q 항원 결합 도메인은 *스타필로코커스* 종에서 C1q의 침착을 촉진하는 데 유용하다. 미생물 상에서의 단백질 A와 같은 표적 항원과 인간 C1q에 대한 항원 결합 분자의 동시 결합은 표적화된 미생물의 지정 사멸(세포 용해)을 촉진한다. 따라서, 본 개시의 항-단백질 A x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자는 미생물과 관련이 있거나 이에 의해 야기되는 질환 및 장애(예를 들어, 감염, 패혈증 등)를 치료하는 데 특히 유용하다.
- [0017] 소정의 예시적인 구현예에 따르면, 이중 특이적 항원 결합 분자는 *스타필로코커스* 종 표적 항원 헵 결합 단백질

IsdA 및 보체 성분 C1q, 예를 들어, 인간 C1q에 결합하고; 이러한 이중 특이적 항원 결합 분자는 본원에서 “항-IsdA x 항-C1q 이중 특이적 분자” 로도 지칭된다. 항-IsdA x 항-C1q 이중 특이적 분자의 항-IsdA 항원 결합 도메인은 IsdA를 발현하는 미생물(예를 들어, *스타필로코커스 아우레우스*)을 표적화하는 데 유용하고, 이중 특이적 분자의 항-C1q 항원 결합 도메인은 *스타필로코커스* 중에서 C1q의 침착을 촉진하는 데 유용하다. 미생물 상에서의 IsdA와 같은 표적 항원과 인간 C1q에 대한 항원 결합 분자의 동시 결합은 표적화된 미생물의 지정 사멸(세포 용해)을 촉진한다. 따라서, 본 개시의 항-단백질 A x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자는 미생물과 관련이 있거나 이에 의해 야기되는 질환 및 장애(예를 들어, 감염, 패혈증 등)를 치료하는 데 특히 유용하다.

[0018] 소정의 예시적인 구현예에 따르면, 이중 특이적 항원 결합 분자는 *스타필로코커스* 중 표적 항원 세포막다당류 폴리-N-아세틸글루코사민(PNAG) 및 보체 성분 C1q, 예를 들어, 인간 C1q에 결합하고; 이러한 이중 특이적 항원 결합 분자는 본원에서 “항-PNAG x 항-C1q 이중 특이적 분자” 로도 지칭된다. 항-PNAG x 항-C1q 이중 특이적 분자의 항-PNAG 항원 결합 도메인은 PNAG를 발현하는 미생물(예를 들어, *스타필로코커스 아우레우스*)을 표적화하는 데 유용하고, 이중 특이적 분자의 항-C1q 항원 결합 도메인은 *스타필로코커스* 중에서 C1q의 침착을 촉진하는 데 유용하다. 미생물 상에서의 PNAG와 같은 표적 항원과 인간 C1q에 대한 항원 결합 분자의 동시 결합은 표적화된 미생물의 지정 사멸(세포 용해)을 촉진한다. 따라서, 본 개시의 항-PNAG x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자는 미생물과 관련이 있거나 이에 의해 야기되는 질환 및 장애(예를 들어, 감염, 패혈증 등)를 치료하는 데 특히 유용하다. 예시적인 항-PNAG 항체는 미국 특허 제7,786,255호에 기술되어 있다.

[0019] 소정의 예시적인 구현예에 따르면, 이중 특이적 항원 결합 분자는 *스타필로코커스* 중 표적 항원 응집 인자 A(C1fA) 및 보체 성분 C1q, 예를 들어, 인간 C1q에 결합하고; 이러한 이중 특이적 항원 결합 분자는 본원에서 “항-C1fA x 항-C1q 이중 특이적 분자” 로도 지칭된다. 항-C1fA x 항-C1q 이중 특이적 분자의 항-C1fA 항원 결합 도메인은 C1fA를 발현하는 미생물(예를 들어, *스타필로코커스 아우레우스*)을 표적화하는 데 유용하고, 이중 특이적 분자의 항-C1q 항원 결합 도메인은 *스타필로코커스* 중에서 C1q의 침착을 촉진하는 데 유용하다. 미생물 상에서의 C1fA와 같은 표적 항원과 인간 C1q에 대한 항원 결합 분자의 동시 결합은 표적화된 미생물의 지정 사멸(세포 용해)을 촉진한다. 따라서, 본 개시의 항-C1fA x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자는 미생물과 관련이 있거나 이에 의해 야기되는 질환 및 장애(예를 들어, 감염, 패혈증 등)를 치료하는 데 특히 유용하다. 예시적인 항체는 미국 공개 제US2003/0099656호에 기술되어 있다.

[0020] 일부 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 그람 음성 박테리아 표적 항원에 결합한다. 구현예에서, 박테리아 표적 항원은 *슈도모나스* 종으로부터 유래한다. 구현예에서, *슈도모나스* 종은 *슈도모나스 아에루기노사* PA0-1이다. 구현예에서, *슈도모나스* 중 표적 항원은 세포막다당류 PsI 항원을 포함한다. 소정의 예시적인 구현예에 따르면, 이중 특이적 항원 결합 분자는 *슈도모나스* 중 표적 항원 PsI 및 보체 성분 C1q, 예를 들어, 인간 C1q에 결합하고; 이러한 이중 특이적 항원 결합 분자는 본원에서 “항-PsI x 항-C1q 이중 특이적 분자” 로도 지칭된다. 항-PsI x 항-C1q 이중 특이적 분자의 항-PsI 항원 결합 도메인은 PsI를 발현하는 미생물(예를 들어, *슈도모나스 아에루기노사*)을 표적화하는 데 유용하고, 이중 특이적 분자의 항-C1q 항원 결합 도메인은 *슈도모나스* 중에서 C1q의 침착을 촉진하는 데 유용하다. 따라서, 본 개시의 항-PsI x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자는 미생물과 관련이 있거나 이에 의해 야기되는 질환 및 장애(예를 들어, 감염, 패혈증 등)를 치료하는 데 특히 유용하다. 예시적인 항-PsI 항체는 W02012/170807에 기술되어 있다.

[0021] 일부 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 바이러스 표적 항원에 결합한다. 구현예에서, 바이러스 표적 항원은 인플루엔자와 같은 외피 바이러스로부터 유래한다. 구현예에서, 인플루엔자 또는 인플루엔자 감염 세포 상의 표적 항원은 헤마글루티닌(HA)이다. 구현예에서, 바이러스 표적 항원은 진행 숙주, 예를 들어, 인간 숙주를 감염시킬 수 있는 바이러스 균주, 예를 들어, 인플루엔자 A 또는 인플루엔자 B로부터 유래한다. A균의 인플루엔자 균주는 HA의 아형 및 뉴라미니다아제(NA)의 아형에 의해 추가로 아형화될 수 있다. 병원성 균주는 H1, H3, H5, H7, 또는 H9 를 갖는 균주를 포함한다. 구현예에서, 바이러스 표적 항원은 병원성 인플루엔자 균주(예를 들어, H1, H3, H5, H7, 또는 H9 를 갖는 균주)로부터 유래한다. 예시적인 항-HA 항체는 미국 공개 제 2016/0176953호에 기술되어 있다.

[0022] 소정의 예시적인 구현예에 따르면, 이중 특이적 항원 결합 분자는 인플루엔자 표적 항원 HA 및 보체 성분 C1q, 예를 들어, 인간 C1q에 결합하고; 이러한 이중 특이적 항원 결합 분자는 본원에서 “항-HA x 항-C1q 이중 특이적 분자” 로도 지칭된다. 항-HA x 항-C1q 이중 특이적 분자의 항-HA 항원 결합 도메인은 HA를 발현하는 바이러스 또는 바이러스 감염 세포(예를 들어, 인플루엔자 바이러스 A/Puerto Rico/08/1934(H1N1))를 표적화하는 데 유용하고, 이중 특이적 분자의 항-C1q 항원 결합 도메인은 인플루엔자 균주 또는 인플루엔자 감염 세포에서 C1q의 침착을 촉진하는 데 유용하다. 따라서, 본 개시의 항-HA x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자는 인플루엔자

와 관련이 있거나 이에 의해 야기되는 질환 및 장애를 치료하는 데 특히 유용하다.

- [0023] 일부 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 진행 숙주 유래의 표적 항원, 예를 들어, 면역 세포 또는 암 세포와 같은 진행 세포의 표면에서 발현되는 표적 항원, 또는 진행 숙주 내의 가용성 표적 항원에 결합한다. 구현예에서, 표적 항원은 암 세포 표면 항원이다. 구현예에서, 표적 항원은 면역 세포 표면 항원, 예를 들어, T 세포 표면 항원, B 세포 표면 항원, 수지상 세포 표면 항원, 림프구 표면 항원, 단핵구 표면 항원, 대식 세포 표면 항원, 또는 다른 유형의 면역 세포 상의 항원이다. 일부 구현예에서, 표적 세포는 항원 수용체-발현 세포 (예를 들어, B 세포 수용체를 갖는 B 세포 또는 T 세포 수용체를 갖는 T 세포)이고, 표적 항원은 그의 수용체와 관련하여 표적 면역 세포의 표면에 발현되는 수용체이다.
- [0024] 소정의 예시적인 구현예에 따르면, 이중 특이적 항원 결합 분자는 암 세포 표면 항원 및 보체 성분 C1q, 예를 들어, 인간 C1q 에 결합한다. 암 세포 표면 항원은 암 세포에 대해 고유하거나 암에서 더 많이 발현되는 암 세포에서 발견되는 항원을 포함한다. 구현예에서, 암 항원은 림프종 및 백혈병과 같은 B 세포 유래 암에서 발현되는 CD20 항원이다. 이러한 이중 특이적 항원 결합 분자는 본원에서 “항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 분자” 로도 지칭된다. 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 분자의 항-CD20 항원 결합 도메인은 CD20을 발현하는 암 세포를 표적화하는 데 유용하고, 이중 특이적 분자의 항-C1q 항원 결합 도메인은 암 세포에서 C1q의 침착을 촉진하는 데 유용하다. 따라서, 본 개시의 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자는 암을 치료하는 데 특히 유용하다. 예시적인 항-CD20 항체는 미국 특허 제9,657,102호, 미국 공개 제2015/0266966호, 및 미국 공개 제2018/0194841호에 기술되어 있다.
- [0025] 소정의 예시적인 구현예에 따르면, 이중 특이적 항원 결합 분자는 T 세포 표면 항원 및 보체 성분 C1q, 예를 들어, 인간 C1q 에 결합한다. T 세포 표면 항원은 조절 T 세포에서 발견되는 항원을 포함한다. 구현예에서, T 세포 항원은 조절 T 세포에서 발견되는 글루코코르티코이드 유도 종양 괴사 인자 수용체(GITR) 항원이다. 이러한 이중 특이적 항원 결합 분자는 본원에서 “항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 분자” 로도 지칭된다. 항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 분자의 항-GITR 항원 결합 도메인은 GITR을 발현하는 T 세포를 표적화하는 데 유용하고, 이중 특이적 분자의 항-C1q 항원 결합 도메인은 T 세포에서 C1q의 침착을 촉진하는 데 유용하다. 따라서, 본 개시의 항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자는 조절 T 세포와 같은 면역 세포를 감소시키거나 결손시키는 데 특히 유용하다. 예시적인 항-GITR 항체는 미국 공개 제2017/0355774호에 기술되어 있다.
- [0026] 본 개시의 본 양태에 따른 이중 특이적 항원 결합 분자는 표적 항원에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인(D1), 및 인간 C1q에 특이적으로 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 포함한다. 본 개시는 항-C1q 이중 특이적 분자(예를 들어, 이중 특이적 항체)를 포함하며, 여기에서 각각의 항원 결합 도메인은 경쇄 가변 영역(LCVR)과 쌍을 이룬 중쇄 가변 영역(HCVR)을 포함한다. 본 개시의 소정의 예시적인 구현예에서, 항-C1q 항원 결합 도메인(D2) 및 항-표적(D1) 항원 결합 도메인은 동일하거나 상이한 LCVR과 쌍을 이룬 상이하며 구별되는 HCVR을 각각 포함한다. 본원에 개시된 예시적인 분자에서, 항-표적 항체 유래의 HCVR과 표 18에 기술된 서열을 갖는 LCVR의 쌍은 표적 항원에 특이적으로 결합하는(그러나 C1q에는 결합하지 않는) 항원 결합 도메인을 생성한다. 본원에 개시된 예시적인 분자에서, 항-C1q 항체 유래의 HCVR과 표 18에 기술된 서열을 갖는 LCVR의 쌍은 C1q에 특이적으로 결합하는(그러나 IsdB에는 결합하지 않는) 항원 결합 도메인을 생성한다.
- [0027] 본 개시의 맥락에서 사용된 항원 결합 분자는, 표면 플라즈몬 공명 분석으로 측정되는 바, 약 25 nM, 약 20 nM 미만, 약 15 nM 미만, 약 10 nM 미만, 약 5 nM 미만, 약 1 nM 미만, 약 500 pM 미만, 약 400 pM 미만, 약 300 pM 미만, 약 200 pM 미만, 약 100 pM 미만, 약 90 pM 미만, 약 80 pM 미만, 약 70 pM 미만, 약 60 pM 미만, 약 50 pM 미만, 약 40 pM 미만, 약 30 pM 미만, 약 20 pM 미만, 약 10 pM 미만, 약 5 pM 미만, 약 4 pM 미만, 약 2 pM 미만, 약 1 pM 미만, 약 0.5 pM 미만, 약 0.2 pM 미만, 약 0.1 pM 미만, 또는 약 0.05 pM 미만의 K_D 로 특정 항원(예를 들어, 표적 분자[T] 또는 그의 일부)에 결합하는 폴리펩티드를 포함한다.
- [0028] 항원 결합 도메인은, 표면 플라즈몬 공명 분석으로 측정되는 바, 약 25 nM, 약 20 nM 미만, 약 15 nM 미만, 약 10 nM 미만, 약 5 nM 미만, 약 1 nM 미만, 약 500 pM 미만, 약 400 pM 미만, 약 300 pM 미만, 약 200 pM 미만, 약 100 pM 미만, 약 90 pM 미만, 약 80 pM 미만, 약 70 pM 미만, 약 60 pM 미만, 약 50 pM 미만, 약 40 pM 미만, 약 30 pM 미만, 약 20 pM 미만, 약 10 pM 미만, 약 5 pM 미만, 약 4 pM 미만, 약 2 pM 미만, 약 1 pM 미만, 약 0.5 pM 미만, 약 0.2 pM 미만, 약 0.1 pM 미만, 또는 약 0.05 pM 미만의 K_D 로 C1q와 같은 보체 성분에 결합하는 폴리펩티드를 포함한다.
- [0029] 구현예에서, C1q에 특이적으로 결합하는 제2 항원 결합 도메인 D2는 서열번호: 2의 아미노산 서열 또는 서열변

호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR 내에 함유된 중쇄 가변 영역(HCVR) CDR; 및 서열번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR 영역 내에 함유된 경쇄 가변 영역(LCVR) CDR을 포함한다. 구현예에서, 제2 항원 결합 도메인 D2는 표 1에 제시된 HCVR/HCDR 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 제2 항원 결합 도메인 D2는 또한 표 1에 제시된 LCVR/LCDR 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함할 수 있다. 특정 구현예에 따르면, 제2 항원 결합 도메인 D2는 서열번호: 2/10 또는 서열번호: 18/10의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍을 포함한다. 본 개시는 또한 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제2 항원 결합 도메인 D2는 표 1에 제시된 중쇄 CDR1-CDR2-CDR3 아미노산 서열 중 어느 하나, 및/또는 표 1에 제시된 경쇄 CDR1-CDR2-CDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다.

[0030] 특정 구현예에 따르면, 본 개시는 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제2 항원 결합 도메인 D2는 서열번호: 2 또는 서열번호: 18의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR)을 포함한다.

[0031] 본 개시는 또한 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제2 항원 결합 도메인 D2는 서열번호: 10의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR)을 포함한다.

[0032] 본 개시는 또한 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자를 제공하며, 여기에서 제2 항원 결합 도메인 D2는 인간 C1q에 특이적으로 결합한다. 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 IC₅₀으로 인간 IgG1-k에 대한 인간 C1q의 결합을 차단한다. 다른 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 50 nM 이하의 IC₅₀으로 인간 IgM에 대한 인간 C1q의 결합을 차단한다. 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 EC₅₀으로 C1q의 침착을 제공한다.

[0033] 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인 D1은 IsdB에 특이적으로 결합한다. 예시적인 제1 항원 결합 도메인은 서열번호: 26의 아미노산 서열 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR 내에 함유된 HCVR CDR을 포함한다.

[0034] 본 개시는 또한 항-IsdB x 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 10의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR 내에 함유된 LCVR CDR을 포함한다.

[0035] 본 개시는 또한 항-IsdB x 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 26/10의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR 및 LCVR(HCVR/LCVR) 쌍을 포함한다.

[0036] 본 개시는 또한 항-IsdB x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은, 서열번호: 28의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1); 서열번호: 30의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2); 및 서열번호: 32의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)를 포함한다. 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인 D1은, 서열번호: 12의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1); 서열번호: 14의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2); 및 서열번호: 16의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)를 포함한다.

[0037] 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인 D1은 단백질 A에 특이적으로 결합한다. 예시적인 제1 항원 결합 도메인은 서열번호: 58의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR 내에 함유된 HCVR CDR을 포함한다.

[0038] 본 개시는 또한 항-단백질 A x 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 10의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR 내에 함유된 LCVR CDR을 포함한다.

[0039] 본 개시는 또한 항-단백질 A x 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열

번호: 58/10의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR 및 LCVR(HCVR/LCVR) 쌍을 포함한다.

- [0040] 본 개시는 또한 항-단백질 A x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은, 서열번호: 60의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1); 서열번호: 62의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2); 및 서열번호: 64의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)를 포함한다. 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인 D1은, 서열번호: 12의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1); 서열번호: 14의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2); 및 서열번호: 16의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)를 포함한다.
- [0041] 구현예에서, 본 개시는 항-IsdA x 항-C1q 이중 특이적 항체를 제공한다. 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 66의 아미노산 서열 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR 내에 함유된 HCVR CDR을 포함한다.
- [0042] 본 개시는 또한 항-IsdA x 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 10의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR 내에 함유된 LCVR CDR을 포함한다.
- [0043] 본 개시는 또한 항-IsdA x 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 66/10의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR 및 LCVR(HCVR/LCVR) 쌍을 포함한다.
- [0044] 본 개시는 또한 항-IsdA x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은, 서열번호: 68의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1); 서열번호: 70의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2); 및 서열번호: 72의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)를 포함한다. 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인 D1은, 서열번호: 12의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1); 서열번호: 14의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2); 및 서열번호: 16의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)를 포함한다.
- [0045] 구현예에서, 본 개시는 항-C1fA x 항-C1q 이중 특이적 항체를 제공한다. 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 73의 아미노산 서열 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄(HC) 내에 함유된 HCVR CDR을 포함한다.
- [0046] 본 개시는 또한 항-C1fA x 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 74의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄(LC) 내에 함유된 LCVR CDR을 포함한다.
- [0047] 본 개시는 또한 항-C1fA x 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 73/74의 HC/LC 아미노산 서열 쌍 내에 함유된 아미노산 서열을 포함하는 HCVR 및 LCVR(HCVR/LCVR) 쌍을 포함한다.
- [0048] 구현예에서, 본 개시는 항-PNAG x 항-C1q 이중 특이적 항체를 제공한다. 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 76의 아미노산 서열 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HC 내에 함유된 HCVR CDR을 포함한다.
- [0049] 본 개시는 또한 항-PNAG x 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 77의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖

는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LC 내에 함유된 LCVR CDR을 포함한다.

- [0050] 본 개시는 또한 항-PNAG x 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 76/77의 HC/LC 아미노산 서열 쌍 내에 함유된 아미노산 서열을 포함하는 HCVR 및 LCVR(HCVR/LCVR) 쌍을 포함한다.
- [0051] 구현예에서, 본 개시는 항-Ps1 x 항-C1q 이중 특이적 항체를 제공한다. 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 78의 아미노산 서열 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HC 내에 함유된 HCVR CDR을 포함한다.
- [0052] 본 개시는 또한 항-Ps1 x 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 79의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LC 내에 함유된 LCVR CDR을 포함한다.
- [0053] 본 개시는 또한 항-Ps1 x 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 78/79의 HC/LC 아미노산 서열 쌍 내에 함유된 아미노산 서열을 포함하는 HCVR 및 LCVR(HCVR/LCVR) 쌍을 포함한다.
- [0054] 구현예에서, 본 개시는 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항체를 제공한다. 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 34의 아미노산 서열 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR 내에 함유된 HCVR CDR을 포함한다.
- [0055] 본 개시는 또한 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 10의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR 내에 함유된 LCVR CDR을 포함한다.
- [0056] 본 개시는 또한 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 34/10의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR 및 LCVR(HCVR/LCVR) 쌍을 포함한다.
- [0057] 본 개시는 또한 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은, 서열번호: 36의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1); 서열번호: 38의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2); 및 서열번호: 40의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)를 포함한다. 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인 D1은, 서열번호: 12의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1); 서열번호: 14의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2); 및 서열번호: 16의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)를 포함한다.
- [0058] 구현예에서, 본 개시는 항-HA x 항-C1q 이중 특이적 항체를 제공한다. 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 42의 아미노산 서열 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR 내에 함유된 HCVR CDR을 포함한다.
- [0059] 본 개시는 또한 항-HA x 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 10의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR 내에 함유된 LCVR CDR을 포함한다.
- [0060] 본 개시는 또한 항-HA x 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 42/10의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR 및 LCVR(HCVR/LCVR) 쌍을 포함한다.
- [0061] 본 개시는 또한 항-HA x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은, 서열번호: 44의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1); 서열번호: 46의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2); 및 서열번호: 48의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도

99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)를 포함한다. 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인 D1은, 서열번호: 12의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1); 서열번호: 14의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2); 및 서열번호: 16의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)를 포함한다.

[0062] 구현예에서, 본 개시는 항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 항체를 제공한다. 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 50의 아미노산 서열 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR 내에 함유된 HCVR CDR을 포함한다.

[0063] 본 개시는 또한 항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 10의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR 내에 함유된 LCVR CDR을 포함한다.

[0064] 본 개시는 또한 항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은 서열번호: 50/10의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR 및 LCVR(HCVR/LCVR) 쌍을 포함한다.

[0065] 본 개시는 또한 항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자를 제공하며, 여기에서 제1 항원 결합 도메인 D1은, 서열번호: 52의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1); 서열번호: 54의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2); 및 서열번호: 56의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)를 포함한다. 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인 D1은, 서열번호: 12의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1); 서열번호: 14의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2); 및 서열번호: 16의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)를 포함한다.

[0066] 다른 양태에서, 본 개시는, (a) 표적 항원에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인(D1), 및 (b) 인간 C1q에 특이적으로 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 포함하는 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자를 제공한다. 일부 구현예에서, 표적 항원은, (a) 세포 또는 유기체의 표면에서 발현되거나; (b) 가용성 항원이다. 일부 구현예에서, 제2 항원 결합 도메인은, 서열번호: 4 및 서열번호: 20으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 6 및 서열번호: 22로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 8 및 서열번호: 24로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 항원 결합 도메인은, 서열번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함하거나; 서열번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 항원 결합 도메인은 서열번호: 2 또는 서열번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.

[0067] 일부 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인은,

[0068] 서열번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; 또는

[0069] 서열번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; 또는

[0070] 서열번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; 또는

[0071] 서열번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호

호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; 또는

- [0072] 서열번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; 또는
- [0073] 서열번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; 또는
- [0074] 서열번호: 73의 아미노산 26 내지 33을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 73의 아미노산 51 내지 58을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 73의 아미노산 96 내지 106을 포함하는 HCDR3; 또는
- [0075] 서열번호: 76의 아미노산 27 내지 32를 포함하는 HCDR1, 서열번호: 76의 아미노산 51 내지 58을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 76의 아미노산 96 내지 106을 포함하는 HCDR3; 또는
- [0076] 서열번호: 78의 아미노산 31 내지 35를 포함하는 HCDR1, 서열번호: 78의 아미노산 50 내지 65를 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 78의 아미노산 98 내지 109를 포함하는 HCDR3을 포함하는 중쇄를 포함한다.
- [0077] 일부 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는,
- [0078] 서열번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2, 및 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3; 또는
- [0079] 서열번호: 74의 아미노산 27 내지 32를 포함하는 LCDR1, 서열번호: 74의 아미노산 51 내지 55를 포함하는 LCDR2, 및 서열번호: 74의 아미노산 89 내지 98을 포함하는 LCDR3; 또는
- [0080] 서열번호: 77의 아미노산 27 내지 32를 포함하는 LCDR1, 서열번호: 77의 아미노산 50 내지 52를 포함하는 LCDR2, 및 서열번호: 77의 아미노산 98 내지 101을 포함하는 LCDR3; 또는
- [0081] 서열번호: 79의 아미노산 23 내지 33을 포함하는 LCDR1, 서열번호: 79의 아미노산 49 내지 55를 포함하는 LCDR2, 및 서열번호: 79의 아미노산 88 내지 99를 포함하는 LCDR3을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0082] 일부 구현예에서, 경쇄는 서열번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2, 및 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 경쇄 가변 영역은 서열번호: 10의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0083] 또 다른 양태에서, 본 개시는 표 18에 제시된 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 분자를 포함하여, 본원에 개시된 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자의 HCVR, LCVR 또는 CDR 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 다른 구현예에서, 분자는 임의의 기능적 조합 또는 배열로, 표 2, 4, 6, 8, 10, 12, 13 및 15에서 제시된 폴리뉴클레오타이드 서열 중 하나 이상을 포함한다. 항체의 생산을 허용하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양하고, 생성된 항체를 회수함으로써 항체를 생산하는 방법과 마찬가지로, 본 개시의 핵산을 운반하는 제조법 발현 벡터, 및 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포 또한 본 개시에 포함된다.
- [0084] 본 개시는 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하며, 여기에서 C1q에 특이적으로 결합하는 전술한 항원 결합 도메인 중 어느 하나는 전술한 표적 항원 결합 도메인 중 어느 하나와 조합되거나, 연결되거나, 또는 달리 연관되어 C1q 및 표적 항원에 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자를 형성한다. 항원 결합 도메인은 본원에 기재된 바와 같이, 단쇄 Fv, VH 또는 VL 도메인 항체, VHH, VNAR 기반 나노바디 및 기타 스캐폴드 단백질, 이중 친화도 재표적화 단백질, 탠덤 디아보디, 노브 및 홀 쌍, 전하 쌍, 교차 Mab, 이중 가변 도메인 Ig, s-Fab, Fv-Fc, 탠덤 Fab(2+2 및 3+3 탠덤 Fab), 2+1 N-Fab, 및 2+1 C-Fab을 포함하는 다양한 상이한 방식으로 조합될 수 있다.
- [0085] 본 개시는 변형된 당질화 패턴을 갖는 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함한다. 일부 응용예에서, 예를 들어, 항체 의존적 세포 독성(ADCC) 기능을 증가시키기 위해 바람직하지 않은 글리코실화 부위를 제거하는 변형이 유용하거나, 올리고당 사슬에 존재하는 푸코오스 모이어티가 결여된 항체가 유용할 수 있다(Shield 등, JBC 277:26733(2002) 참조). 다른 응용예에서, 보체 의존적 세포독성(CDC)을 변형시키기 위해 갈락토실화 변형이 이뤄질 수 있다(예를 들어, 말단 갈락토오스의 첨가는 ADCC를 증가시킴).
- [0086] 또 다른 양태에서, 본 개시는 본원에 개시된 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 관련된 양태에서, 본 개시는 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자 및 제2 치료제의 조합인 조성물을 특징으로 한다. 일 구현예에서, 제2 치료제는 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분

자와 유리하게 조합되는 임의의 제제이다. 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자와 유리하게 조합될 수 있는 예시적인 제제는, 항생제, *스타필로코커스* 항원에 결합하는 항체, *스타필로코커스* 독소에 결합하는 항체, *슈도모나스* 항원에 결합하는 항체, 인플루엔자 항원에 결합하는 항체, 항바이러스제, 인플루엔자 백신, 항종양 세포 항체, 항-T 세포 항체, 인간 또는 시노물구스 C1q에 결합하는 항체, *스타필로코커스* 종에 특이적인 백신, 암 백신, 및 항체 약물 접합체(예를 들어, 항생제와 조합된 이중 특이적 항체)를 포함한다.

[0087] 또 다른 양태에서, 본 개시는 세포를 본원에 개시된 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자 또는 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하는 약학적 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 세포 사멸을 활성화하거나 향상시키는 방법을 제공한다. 구현예에서, 세포는 박테리아 세포이다. 구현예에서, 세포는 진핵 세포, 예를 들어, 인간 세포이다. 구현예에서, 세포는 박테리아에 감염된 진핵 세포(예를 들어, *스타필로코커스* 또는 *슈도모나스*로 감염된 세포)이다. 구현예에서, 세포는 바이러스에 감염된 진핵 세포(예를 들어, 인플루엔자 바이러스로 감염된 세포)이다. 구현예에서, 세포는 암 세포이다. 구현예에서, 세포는 비질환 세포(예를 들어, 면역 세포, 전구 세포, 줄기 세포, 또는 본원에 개시된 다른 유형의 세포)이다. 구현예에서, 세포는 본원에 개시된 하나 이상의 표적 항원을 발현한다. 구현예에서, 접촉 단계는 시험관 내에서 수행된다. 구현예에서, 접촉 단계는 생체 내에서 수행된다. 구현예에서, 접촉 단계는 생체 외에서 수행된다.

[0088] 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에게 본원에 기술된 *스타필로코커스* 표적 항원에 특이적으로 결합하는 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자 또는 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하는 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 박테리아(예를 들어, *스타필로코커스* 종)의 성장을 억제하기 위한 치료 방법을 제공한다. 구현예에서, 방법은 대상체에서 *스타필로코커스* 종에 의한 감염을 치료하는 방법이다. 일부 구현예에서, 방법은 *스타필로코커스* 종에 의해 유발된 병원에서 감염되거나 병원으로부터 얻은 감염증을 갖는 대상체를 치료하기 위한 것이다. 일부 구현예에서, 방법은 *스타필로코커스* 종에 의해 유발된 질환 또는 장애를 갖는 대상체를 치료하기 위한 것으로서, 질환 또는 장애는 피부 감염, 연조직염, 폐렴, 수막염, 요로 감염, 독성 쇼크 증후군, 심내막염, 심낭염, 골수염, 균혈증, 또는 패혈증이다. 일부 구현예에서, 방법은 수술 절차를 받은 적이 있거나 수술 절차를 받을 계획인 대상체를 치료하기 위한 것이며, 여기에서 대상체는 *스타필로코커스* 감염증을 획득할 위험이 있다. 일부 구현예에서, 수술 절차는 팔 또는 다리와 같은 인공 사지, 또는 고관절 교체를 포함하는 인공 삽입물의 이식을 포함한다. 일부 구현예에서, 인공 삽입물은 안구 삽입물, 실리콘 손, 손가락, 발가락, 유방, 또는 안면 임플란트를 포함하는 미용 인공 삽입물이다.

[0089] 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에게 본원에 기술된 *슈도모나스* 표적 항원에 특이적으로 결합하는 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자 또는 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하는 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 박테리아(예를 들어, *슈도모나스* 종)의 성장을 억제하기 위한 치료 방법을 제공한다. 구현예에서, 방법은 대상체에서 *슈도모나스* 종에 의한 감염을 치료하는 방법이다. 일부 구현예에서, 방법은 *슈도모나스* 종에 의해 유발된 질환 또는 장애를 갖는 대상체를 치료하기 위한 것이다. 일부 구현예에서, 방법은 *슈도모나스* 종에 의해 유발된 병원에서 감염되거나 병원으로부터 얻은 감염증을 갖는 대상체를 치료하기 위한 것이다. 일부 구현예에서, 방법은 수술 절차를 받은 적이 있거나 수술 절차를 받을 계획인 대상체를 치료하기 위한 것이며, 여기에서 대상체는 *슈도모나스* 감염증을 획득할 위험이 있다. 일부 구현예에서, 수술 절차는 팔 또는 다리와 같은 인공 사지, 또는 고관절 교체를 포함하는 인공 삽입물의 이식을 포함한다. 일부 구현예에서, 인공 삽입물은 안구 삽입물, 실리콘 손, 손가락, 발가락, 유방, 또는 안면 임플란트를 포함하는 미용 인공 삽입물이다.

[0090] 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에게 본원에 기술된 인플루엔자 표적 항원에 특이적으로 결합하는 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자 또는 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하는 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 인플루엔자 균주의 성장을 억제하기 위한 치료 방법을 제공한다. 구현예에서, 방법은 대상체에서 인플루엔자 균주에 의한 감염을 치료하는 방법이다.

[0091] 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에게 본원에 기술된 암 세포 특이적 표적 항원에 특이적으로 결합하는 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자 또는 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하는 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하기 위한 치료 방법을 제공한다. 구현예에서, 암 세포 특이적 항원은 백혈병 또는 림프종 세포에서 발견되는 B 세포 항원이다. 구현예에서, 암 특이적 표적 항원은 CD20이다.

[0092] 또 다른 양태에서, 본 개시는 대상체에게 본원에 기술된 T 조절 세포 항원에 특이적으로 결합하는 단리된 이중 특이적 항원 결합 분자 또는 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하는 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하기 위한 치료 방법을 제공한다. 구현예에서, T 조절 세포 특이적 항원은 GITR이다.

[0093] 본 개시는 또한 질환 또는 장애의 치료를 위한 의학의 제조에 있어서 본 개시의 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자의 사용을 포함한다.

[0094] 다른 실시예는 다음의 상세한 설명을 검토함으로써 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0095] **도 1.** 정상 인간 혈청(NHS)과 *스타필로코커스 아우레우스* 배양은 세포 표면을 변화시킨다. *스타필로코커스 아우레우스*를 50% NHS(A, 상단) 또는 배지(B, 하단)와 함께 8시간 동안 배양한 다음, 주사 전자 현미경(SEM)으로 시각화하였다.

도 2. 완전한 말단 보체 경로는 *스타필로코커스 아우레우스*의 성장에 있어서 C5b9 형성 및 NHS 매개 감소를 위해 필요하다. 혈청 사멸 분석을 사용하여 *스타필로코커스 아우레우스*의 성장에 대한 인간 혈청의 효과를 측정하였다. *스타필로코커스 아우레우스*를 표시된 혈청 또는 배지의 50%와 함께 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 박테리아를 연속 희석 및 플레이팅으로 열거하였다. 결과는 표준 편차와 함께 평균으로서 도표화되었다. * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$, NHS 샘플과 비교하여 유의성을 나타내는 Dunnett 검정을 사용한 일원 분산분석(one-way ANOVA).

도 3. NHS를 사용한 *스타필로코커스 아우레우스* 치료는 세포 생존력을 감소시킨다. *스타필로코커스 아우레우스*를 37°C에서 0, 10 및 24시간 동안 50% NHS, 50% C1q-결손 혈청, 또는 50% C5-결손 혈청과 함께 배양하였다. 96-웰 플레이트 판독기 상에서 형광(여기 533 nm, 방출 617 nm)을 측정함으로써 생존 염료 프로피디움 요오드화물(PI)의 흡수를 평가하였다. 결과는 표준 편차와 함께 평균으로서 도표화되었다. * $P < 0.05$, **** $P < 0.001$, NHS와 유의하게 상이한 값을 보여주는 이원 분산분석.

도 4. 완전한 말단 보체 경로는 BacTiter-Glo™ 분석을 사용하여 측정된 바와 같이, *스타필로코커스 아우레우스*의 성장에 있어서 NHS 매개 감소를 위해 필요하다. 혈청 사멸 분석을 사용하여 *스타필로코커스 아우레우스*의 성장에 대한 인간 혈청의 효과를 측정하였다. *스타필로코커스 아우레우스*를 표시된 혈청 또는 배지의 50%와 함께 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, ATP 방출을 통해 배양물 중 생존 세포의 수를 측정하는 발광 검정인 BacTiter-Glo™ 분석을 사용하여 박테리아 농도를 측정하였다. 증가된 발광은 더 높은 농도의 박테리아에 해당한다. 결과는 표준 편차와 함께 평균으로서 도표화되었다. *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$, NHS 샘플과 비교하여 유의성을 나타내는 Dunnett 검정을 사용한 일원 분산분석.

도 5. 플레이트 기반 형식을 사용하여 *스타필로코커스 아우레우스* 상에서의 C1q 침착을 측정하였다. *스타필로코커스 아우레우스* 뉴먼(Newman)을 플레이트 상에 코팅한 다음, 항-IsdB x 항-C1q bsAb, 항-IsdB 2가 항체, 또는 이소형 대조군 항체의 존재 하에서 정상 인간 혈청과 함께 배양하였다. C1q 침착은 C1q 에 특이적인 일차 항체 및 서양고추냉이 과산화효소(HRP)-접합 이차 항체로 측정하였다. 결과는 평균 $\pm$ 표준 편차로서 도표화되었다.

도 6. 전혈 분석은 혈액 단독(맨 왼쪽 적색 컬럼), 항-IsdB 2가 항체를 갖는 혈액(컬럼 2 내지 7; 자주색) 또는 항-IsdB x 항-C1q bsAb를 갖는 혈액(컬럼 8 내지 13; 주황색)과 *스타필로코커스 아우레우스* 뉴먼을 배양함으로써 수행되었다. 항체를 C5 차단 Fab(컬럼 3 및 9), 이소형 대조군 Fab(컬럼 4 및 10), 또는 사이토칼라신 D(컬럼 5 및 11), C5-차단 항체와 사이토칼라신 D 둘 모두(컬럼 6 및 12), 또는 이소형 대조군 Fab과 사이토칼라신 D 둘 모두(컬럼 7 및 13) 중 하나와 조합하였다. 박테리아 성장은 플레이팅으로 열거되었고, 초기 CFU 수와 비교하여 24시간 후에 존재하는 콜로니 형성 단위(CFU)의 백분율 증가로서 표시되었다. 결과는 표준 편차와 함께 평균으로서 도표화되었다. **** $P < 0.0001$, 미치료 샘플과 유의하게 상이한 샘플을 나타내는 Dunnett 검정을 이용한 일원 분산분석.

도 7. IsdB 및 C1q를 표적화하는 이중 특이적 항체는 *스타필로코커스 아우레우스*의 표면 상에서 보체 침착을 증가시켜 세포 사멸을 유도할 수 있다. bsAbs는 각각 C1q 및 *스타필로코커스 아우레우스*의 표면 상의 상이한 단백질(좌측에서 우측으로): 단백질 A, C1fA, PNAG, IsdA 및 IsdB를 각각 인식하는 곳에서 생성되었다. 2가지 농도의 항체를 사용하여 전술한 바와 같이 혈액 분석을 수행하였다. 전장 항체를 10 및 100 mg/ml에서 시험하고, scFv 아암을 갖는 항체를 8.5 및 85 ug/ml(전장 항체의 몰당량)에서 시험하였다. 결과는 표준 편차와 함께 평균으로서 도표화되었다. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$, 상응하는 2가 항체와 유의하게

상이한 bsAb 샘플을 나타내는 일원 분산분석.

도 8. IsdB x Clq 이중 특이적 항체는 인간화된 Clq 헤드를 갖는 마우스에서의 *스타필로코커스 아우레우스*의 제거를 증가시킨다. LC-MS/MS를 통해 키메라 Clq 펩티드의 발현에 대한 정량적 측정을 수행하였다. 혈청을 개별 Clq 인간화 마우스로부터 분리하고, 인간화 마우스 Clq 특이적 펩티드의 농도를 결정하였다. 결과는 중앙값 및 사분위수 범위로서 도표화되었다.

도 9. IsdB x Clq 이중 특이적 항체는 인간화된 Clq 헤드를 갖는 마우스에서의 *스타필로코커스 아우레우스*의 제거를 증가시킨다. Clq 인간화된 마우스를 1.5×10^8 CFU *스타필로코커스 아우레우스* 뉴먼(MSSA 균주)으로 감염시켰다. 감염 후 1일차에, 이들을 표시된 항체로 치료하였다. 중량을 4일 동안 매일 기록하였고, 0일차와 비교한 중량 변화 백분율을 나타냈다(좌측). 마우스의 각 군에 대한 평균 체중 변화를 도표화하였다. 4일차에, 신장을 수확하고, 해리하고, 연속 희석하였다. 장기 부담은 플레이팅으로 결정하였다(우측). 각 마우스의 장기 부담은 각 군에 대한 중앙값과 함께 표시되었다. $** P < 0.01$, $*** P < 0.001$, 미치료 샘플과 유의하게 상이한 값을 나타내는 Dunn 검정을 이용한 비모수 Kruskal-Wallis 분산분석.

도 10. IsdB x Clq 이중 특이적 항체는 인간화된 Clq 헤드를 갖는 마우스에서의 *스타필로코커스 아우레우스*의 제거를 증가시킨다. Clq 인간화된 마우스를 1.3×10^8 CFU *스타필로코커스 아우레우스* MW2(MSSA 균주)로 1일차에 감염시켰다. 감염 후 1일차에, PBS(미치료), 항-IsdB x 항-Clq 항체의 1회 투여량, 110 mg/kg 반코마이신 1일 2회, 50 mg/kg 담토타마이신 1일 1회, 또는 80 mg/kg 리네졸리드 1일 2회로 치료하였다. 4일차에, 신장을 수확하고, 해리하고, 연속 희석하였다. 장기 부담은 플레이팅으로 결정하였다. $** P < 0.01$, $*** P < 0.001$, 미치료 샘플과 유의하게 상이한 값을 나타내는 Dunn 검정을 이용한 비모수 Kruskal-Wallis 분산분석.

도 11. 항-IsdB x 항-Clq bsAb는 Clq 인간화 마우스의 신장에서의 *스타필로코커스 아우레우스*의 박테리아 부담을 감소시킨다. Clq 인간화 마우스를 1.4×10^8 CFU *스타필로코커스 아우레우스* CA-127(MRSA 균주)로 감염시켰다. 감염 후 1일차에, 이들을 표시된 항체로 치료하였다. 중량을 4일 동안 매일 기록하였고, 0일차와 비교한 중량 변화 백분율을 나타냈다. 마우스 각 군의 평균 중량 변화를 도표화하였다. 4일차에, 신장을 수확하고, 해리하고, 연속 희석하였다. 장기 부담은 플레이팅으로 결정하였다(우측).

도 12. 항-IsdB x 항-Clq bsAb는 Clq 인간화 마우스의 심장에서 여러 *스타필로코커스 아우레우스*의 균주의 박테리아 부담을 감소시킨다. Clq 인간화 마우스를 1.5×10^8 CFU *스타필로코커스 아우레우스* 뉴먼(MSSA 균주) 또는 1.4×10^8 CFU *스타필로코커스 아우레우스* CA-127(MRSA 균주)로 0일차에 감염시켰다. 감염 후 1일차에, 이들을 표시된 항체로 복강 내 치료하였다. 4일차에, 심장을 수확하고, 해리하고, 연속 희석하여 박테리아 부하를 계수하였다. 각 마우스의 장기 부담은 각 군에 대한 중앙값과 함께 표시되었다. $* P < 0.05$, $** P < 0.01$, $*** P < 0.001$, $**** P < 0.0001$, Dunn 검정을 이용한 비모수적 Kruskal-Wallis 분산분석.

도 13. 항-IsdB x 항-Clq bsAb는 Clq 인간화 마우스의 간에서 여러 *스타필로코커스 아우레우스*의 균주의 박테리아 부담을 감소시킨다. Clq 인간화 마우스를 1.5×10^8 CFU *스타필로코커스 아우레우스* 뉴먼(MSSA 균주) 또는 1.4×10^8 CFU *스타필로코커스 아우레우스* CA-127(MRSA 균주)로 0일차에 감염시켰다. 감염 후 1일차에, 이들을 표시된 항체로 복강 내 치료하였다. 4일차에, 간을 수확하고, 해리하고, 연속 희석하여 박테리아 부하를 계수하였다. 각 마우스의 장기 부담은 각 군에 대한 중앙값과 함께 표시되었다. $* P < 0.05$, $** P < 0.01$, $*** P < 0.001$, $**** P < 0.0001$, Dunn 검정을 이용한 비모수적 Kruskal-Wallis 분산분석.

도 14. 항-IsdB x 항-Clq bsAb는 Clq 인간화 마우스의 폐에서 여러 *스타필로코커스 아우레우스*의 균주의 박테리아 부담을 감소시킨다. Clq 인간화 마우스를 1.5×10^8 CFU *스타필로코커스 아우레우스* 뉴먼(MSSA 균주) 또는 1.4×10^8 CFU *스타필로코커스 아우레우스* CA-127(MRSA 균주)로 0일차에 감염시켰다. 감염 후 1일차에, 이들을 표시된 항체로 복강 내 치료하였다. 4일차에, 폐를 수확하고, 해리하고, 연속 희석하여 박테리아 부하를 계수하였다. 각 마우스의 장기 부담은 각 군에 대한 중앙값과 함께 표시되었다. $* P < 0.05$, $** P < 0.01$, $*** P < 0.001$, $**** P < 0.0001$, Dunn 검정을 이용한 비모수적 Kruskal-Wallis 분산분석.

도 15. 항-IsdB x 항-C1q bsAb는 C1q 인간화 마우스의 비장에서 여러 *스타필로코커스 아우레우스*의 군주의 박테리아 부담을 감소시킨다. C1q 인간화 마우스를 1.5×10^8 CFU *스타필로코커스 아우레우스* 뉴먼(MSSA 군주) 또는 1.4×10^8 CFU *스타필로코커스 아우레우스* CA-127(MRSA 군주)로 0일차에 감염시켰다. 감염 후 1일차에, 이들을 표시된 항체로 복강 내 치료하였다. 4일차에, 비장을 수확하고, 해리하고, 연속 희석하여 박테리아 부하를 계수하였다. 각 마우스의 장기 부담은 각 군에 대한 중앙값과 함께 표시되었다. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$, Dunn 검정을 이용한 비모수적 Kruskal-Wallis 분산분석.

도 16. A/Puerto Rico/08/1934(H1N1)에 감염된 MDCK 세포를 이용한 ELISA 검정에서 REGN6093(FluA 군 1 x C1q 이중 특이적), 부모 또는 대조군 항체의 투여량 반응 곡선. MDCK 세포를 24시간 동안 바이러스로 감염시키고 4% 파라포름알데히드로 고정시켰다. 항체를 고정 세포 상에 첨가하고, 결합된 항체를 a-인간 IgG(H+L) 특이적 이차 항체로 검출하였다. 모든 값을 상대 형광 단위(RLU)로 나타냈다. REGN6093(항-HA x 항-C1q 이중 특이적, 검은색 사각형), mAb11829(부모 HA 2가 항체, 투명 원), mAb27250(단일 아암 부모 HA 항체; 회색 마름모), mAb20067(FluA 군 1 x FcRIII 이중 특이적; 회색 삼각형)과 대조군 REGN5066(IsdB x C1q 이중 특이적; 투명 사각형), 음성 대조군 #2(투명 역삼각형), REGN5408(IsdB x C1q scFv, 투명 삼각형), 음성 대조군 #3(회색 십자가), 및 REGN1932(IgG1 이소형 대조군, 투명 육각형)를 나타냈다.

도 17. A/Puerto Rico/08/1934(H1N1)에 감염된 MDCK 세포 및 정상 인간 혈청 보체를 이용한 CDC 검정에서 REGN6093(FluA 군 1 x C1q 이중 특이적), 부모 또는 대조군 항체의 투여량 반응 곡선. MDCK 세포를 24시간 동안 바이러스로 감염시켰다. 감염된 세포를 수집하고 항체 및 5% 정상 인간 혈청 보체와 실온에서 2시간 동안 혼합하였다. CytoTox-Glo 키트(Promega)로 보체 의존성 세포 용해를 측정하였다. 특이적 용해 백분율을 최소 및 최대 용해 대조군을 기준으로 하여 나타냈다. REGN6093(항-HA x 항-C1q 이중 특이적, 검은색 사각형), mAb11829(부모 HA 2가 항체, 투명 원), mAb27250(단일 아암 부모 HA 항체; 회색 마름모), mAb20067(FluA 군 1 x FcRIII 이중 특이적; 회색 삼각형)과 대조군 REGN5066(IsdB x C1q 이중 특이적; 투명 사각형), 음성 대조군 #2(투명 역삼각형), REGN5408(IsdB x C1q scFv, 투명 삼각형), 음성 대조군 #3(회색 십자가), 및 REGN1932(IgG1 이소형 대조군, 투명 육각형)를 나타냈다.

도 18. RPMI 1640이 포함된 1% BSA 중의 10,000 세포/웰의 투명한 바닥을 갖는 분석 플레이트에서의 96-웰 상에서 Raji 세포를 시딩하였다. 시험 항체(항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항체 REGN5177[삼각형], 항-CD20 부모 2가 hIgG1 항체 mAb14303[역삼각형], 리투시맙[별표], 및 항-C1q 부모 2가 hIgG1 항체 REGN5201[마름모])를 100 nM에서 0.004 nM까지 1:8로 연속 희석하고, 인간 혈청과 함께 세포에 최종 농도 5%로 첨가하였다. 5% CO₂ 하 37 °C에서 1시간 동안 배양한 후, 25°C에서 30분 동안 배양하고, CytoTox-GloTM 시약(Promega, #G9291)을 첨가한 다음, 세포독성을 측정하였다. CytoTox-GloTM는 세포독성이 증가할 때 증가된 발광을 관찰되도록 세포 사멸을 측정하는 발광 기반 시약(상대 광 단위(RLU)로 측정됨)이다. CytoTox-GloTM 시약을 첨가한 직후, 대조군 웰 중의 미치로 세포를 디기토닌으로 처리하여 용해시켜 최대 세포 사멸을 결정하였다. Spectramax I3를 사용하여 발광에 대해 플레이트를 판독하였다.

도 19. Jurkat/hG1TR/hCD20 세포를 항-G1TR x 항-C1q 이중 특이적 항체 REGN6545(파란색 원), 항-G1TR x 항-C1q 이중 특이적 항체 REGN6546(적색 사각형), 항-G1TR 2가 항체 REGN5372(주황색 다이아몬드), 및 IgG1 이소형 일치 대조군 항체 REGN1932(검은색 별표)의 다양한 농도(1 pM 내지 1 μM)로 배양하였다. 각 항체의 세포 표면 결합을 Alexa647-항-hIgG 2차 항체로 검출하고, 결과적인 Alexa647 염색의 형광 강도를 MFI로 도표화하였다. 3개의 웰로 수행된 분석의 대표적인 데이터를 평균 ±로 나타냈다. x-축은 항체의 몰 농도를 나타낸다. 약어: SD, 표준 편차; MFI, 평균 형광 강도.

도 20. Jurkat/hG1TR/hCD20 세포를 5% NHS 및 항-G1TR x 항-C1q REGN6545(파란색 원), 항-G1TR x 항-C1q 이중 특이적 항체 REGN6546(적색 사각형), 항-G1TR 2가 항체 REGN5372(주황색 다이아몬드), 및 IgG1 이소형 일치 대조군 항체 REGN1932(검은색 별표)의 다양한 농도(0.5 pM 내지 500 nM)로 배양하였다. 세포독성은 발광 판독을 사용하여 일반 세포 집단 내에서의 사멸 세포의 수를 측정하는, 상업적으로 이용 가능한 CytoTox-Glo 분석을 사용하여 결정하였다. 3개의 웰로 수행된 분석으로부터의 데이터를 평균 ±로 도표화하였다.

도 21. 혼합 배경(MAID1615), 수컷 및 암컷의 건강한(미감염) 인간화 C1q(C1q^{Hu/Hu}) 마우스에게 항-IsdB x 항-C1q IgG1 이중 특이적 항체(REGN5066), 항-IsdB x 항-C1q IgGluber 스텔스 이중 특이적 항체(REGN7017), 항-

IsdB x 항-C1q IgG4 이중 특이적 항체(REGN5331) 또는 대조군 항체(REGN1932)를 피하 투여하였다. 항체 치료 후 1시간, 24시간, 48시간 및 72시간차에 혈액을 채취하고, 금이 썩어진 혈청 분리관(BD)을 사용하여 혈청을 제조하였다. 혈청을 1:2000으로 희석하고 ELISA로 분석하여 C1q 레벨을 결정하였다.

도 22. 혼합 배경(MAID1615)의 인간화 C1q(C1q^{Hu/Hu}) 마우스를 *스타필로코커스 아우레우스* 뉴먼(마우스 당 1.5 x 10⁸ 콜로니 형성 단위(CFU))으로 복강 내 감염시켰다. 3개의 *스타필로코커스 아우레우스* 균주를 로그 상, OD₆₀₀ ≤ 1로 37℃의 TSB에서 성장시키고 PBS에서 3회 세척한 후 감염에 대해 목적하는 밀도로 조정하였다. 감염된 마우스에게 항-IsdB x 항-C1q IgG1 이중 특이적 항체(REGN5066), 항-IsdB x 항-C1q IgG1uber 스텔스 이중 특이적 항체(REGN7017), 항-IsdB x 항-C1q IgG4 이중 특이적 항체(REGN5331) 또는 대조군 항체(REGN1932)를 피하 투여하였다. 감염 전 및 항체 치료 후 1시간, 24시간, 48시간 및 72시간차에 혈액을 채취하고, 금이 썩어진 혈청 분리관(BD)을 사용하여 혈청을 제조하였다. 혈청을 1:2000으로 희석하고 ELISA로 분석하여 C1q 레벨을 결정하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0096] 본 개시가 기술되기 전, 본 개시는 기술된 특정 방법 및 실험 조건에 한정되지 않는다는 것을 이해해야 하며, 이는 이러한 방법 및 조건이 다양할 수 있기 때문이다. 또한 본 개시의 범위는 첨부된 청구항에 의해서만 한정되므로 본원에서 사용된 용어는 단지 특정 구현예를 기술하기 위한 목적이며, 한정하는 것으로 의도되지 않음을 이해해야 한다.
- [0097] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 개시가 속하는 당업계의 당업자에 의해 널리 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 본 설명에 사용된 용어 "약"은 인용된 특정 수치와 관련하여 사용될 때, 이러한 값이 인용된 값과 1% 이내에서 다를 수 있음을 의미한다. 예를 들어 본 설명에 사용된 바와 같이, 표현 "약 100"은 99와 101을 포함하고 그 사이의 모든 값(예를 들어, 99.1, 99.2, 99.3, 99.4 등)을 포함한다.
- [0098] 본 개시에 기재된 방법 및 재료와 유사 또는 동등한 어떠한 방법 및 재료도 본 개시의 실시 또는 검사에 사용될 수 있으나, 바람직한 방법 및 재료를 지금부터 설명한다. 본 명세서에 언급된 모든 특허, 출원 및 비 특허 공개 문헌은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.
- [0099] **I. 정의**
- [0100] 다음의 정의를 위한 배경을 제공하기 위해, 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자는 2개의 별도의 항원 결합 도메인(D1 및 D2)을 포함한다. 하나의 항원 결합 도메인(D1)은 표적 항원에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 표적 항원은 세포 또는 유기체의 표면 상의 항원, 예를 들어, 박테리아의 표면 상의 항원 또는 진핵 세포의 표면 상의 항원이다. 세포는, 예를 들어, 임의의 조직 또는 기관, 줄기 세포, 전구 세포, 분화된 세포 등으로부터 임의의 유형의 세포일 수 있다. 일부 구현예에서, 표적 항원은 가용성 표적 항원, 즉 세포에 결합하지 않는다. 다른 항원 결합 도메인(D2)은 보체 경로의 성분("보체 성분" 예를 들어, C1q, C1r, C1s, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, 또는 이의 서브유닛 또는 단편에 특이적으로 결합한다.
- [0101] 일부 구현예에서, 하나의 항원 결합 도메인(D1)은 세포 또는 유기체의 표면 상의 표적 항원에 특이적으로 결합하며(여기에서 표적 항원은 대상체의 질환 상태의 마커임), 제2 항원 결합 도메인(D2)은 보체 성분, 예를 들어 C1q에 결합한다. 예를 들어, 하나의 항원 결합 도메인(D1)은 박테리아의 표면 상, 바이러스의 표면 상, 박테리아 또는 바이러스 감염 세포의 표면 상, 암 세포의 표면 상, 또는 면역 세포의 표면 상의 표적 항원에 특이적으로 결합하고, 제2 항원 결합 도메인(D2)은 보체 성분, 예를 들어, C1q에 결합한다. 예를 들어, 하나의 항원 결합 도메인(D1)은 *스타필로코커스* 종 표적 항원(예를 들어, IsdB, 단백질 A, IsdA, PNAG, C1fA), 인플루엔자 바이러스 표적 항원(예를 들어, 인플루엔자 HA), *슈도모나스* 종 표적 항원(예를 들어, Ps1), 종양 괴사 인자 수용체 항원과 같은 면역 세포 표면 항원(예를 들어, GITR), 또는 암 세포 표면 항원(예를 들어, CD20)에 특이적으로 결합하고, 제2 항원 결합 도메인(D2)은 보체 성분, 예를 들어, C1q에 결합한다.
- [0102] 본원에서 사용되는 "보체 성분에 결합하는 항체" 또는 "항보체 성분 항체"는 보체 성분을 특이적으로 인식하는 항체 및 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 이러한 항체는 보체 성분의 서브유닛, 예를 들어, 단일 C1q 서브유닛(예를 들어, 성분 A, B, 또는 C)을 특이적으로 인식하는 항체 및 이의 항원 결합 단편뿐만 아니라, 2개 이상의 서브유닛, 예를 들어 삼량체 또는 헥사머와 같은 다량체를 특이적으로 인식하는 항체 및 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 본 개시의 항원 결합 분자는 보체 성분 C1q, 또는 C1q의 서브유닛, 또는 C1q

의 다량체 형태에 결합한다. 본원에서 사용되는 “” 는 천연 C1q 단백질뿐만 아니라 재조합 C1q 단백질 또는 이의 변이체를 포함한다. 일부 구현예에서, C1q는 인간 C1q이다. 인간 보체 C1q는 3개의 고유 서브유닛을 포함하는 헥사머이다: A(29 kDa); B(26kDa); 및 C(22 kDa). 서브유닛 A의 예시적인 서열은 수탁 번호 NP_057075의 아미노산 1 내지 245에서 발견된다. 서브유닛 B의 예시적인 서열은 수탁 번호 NP_000482의 아미노산 1 내지 253에서 발견된다. 서브유닛 C의 예시적인 서열은 수탁 번호 NP_758957의 아미노산 1 내지 245에서 발견된다.

[0103] 본원에서 사용되는 “보체 성분에 결합하는 항체” “항-상보성 성분 항체” 또는 “항-C1q 항체” 라는 표현은 단일 특이성을 갖는 1가 항체 및 C1q에 결합하는 아암을 포함하는 이중 특이적 항체 둘 모두를 포함하며, 여기에서 항-C1q 아암은 표 1에 제시된 HCVR/LCVR 또는 CDR 서열 중 어느 하나를 포함한다. 항-C1q 이중 특이적 항체의 예는 본원의 다른 곳에서 기술된다.

[0104] 본원에서 사용되는 “항원 결합 분자” 라는 표현은 특정 항원에 대한 결합 친화도를 갖는 단백질, 폴리펩티드 또는 분자 복합체를 의미한다. 구현예에서, 항원 결합 분자는 하나 이상의 추가 CDR 및/또는 프레임워크 영역(FR)과 함께 또는 단독으로 특정 항원에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하거나 이로 구성된다. 구현예에서, 항원 결합 분자는 하나 이상의 항원 결합 도메인을 포함한다. 구현예에서, 항원 결합 분자는 제1 항원에 대한 결합 친화도를 갖는 제1 항원 결합 도메인 및 제2 항원에 대한 결합 친화도를 갖는 제2 항원 결합 도메인을 갖는 이중 특이적 항원 결합 분자이다. 용어 “항원 결합 분자” 는 항체 및 예를 들어, 이중 특이적 항체를 포함하는 항체의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0105] 본원에서 사용되는 “표적 항원” 은 유기체 또는 세포의 표면 상에서 발견되는 항원을 지칭한다. 일부 구현예에서, 표적 항원은 하나 이상의 세포 유형에 대한 마커이다. 일부 구현예에서, 표적 항원은 대상체에서의 질병 상태의 마커이다. 구현예에서, 표적 항원은 박테리아 병원균, 바이러스 병원균, 박테리아 또는 바이러스 감염 세포, 암 세포, 또는 면역 세포 상에서 발견된다. 예를 들어, 박테리아 및 바이러스 병원균은 *스타필로코커스* 종, 인플루엔자 바이러스, 또는 *슈도모나스* 종을 포함한다. 구현예에서, 표적 항원은 특정 세포 유형에 고유하거나, 특정 세포 유형에 의해 풍부하게 발현되거나, 다른 유형의 세포와 비교하여 특정 세포 유형에 의해 과발현된다. 다른 구현예에서, 표적 항원은 암 세포에 고유하거나, 암이 아닌 세포와 비교하여 암 세포 상에서 더 많이 발현된다. 또 다른 구현예에서, 표적 항원은 T 조절 세포와 같은 면역 세포 상에서 발견된다.

[0106] 본원에 사용된 “*스타필로코커스* 종” 이라는 표현은 미생물 *스타필로코커스*의 종을 지칭한다. 구현예에서, *스타필로코커스* 종은, *스타필로코커스 에피테르미디스*, *스타필로코커스 아우레우스*, *스타필로코커스 루그두넨시스* 및/또는 *스타필로코커스 사프로피티쿠스*를 포함하지만 이에 한정되지 않는, 인간에서의 감염과 연관된 종이다.

[0107] 본원에 사용된 “인플루엔자 바이러스” 라는 표현은 인플루엔자 A, 인플루엔자 B, 인플루엔자 C, 및/또는 인플루엔자 D 바이러스를 지칭한다. 인플루엔자 바이러스는 헤마글루티닌(HA) 및 뉴라미니다아제(NA)에 기초하여 추가로 아형화될 수 있다. 구현예에서, 인플루엔자 바이러스는 인간에서의 감염과 연관된 균주이며, 인플루엔자 A H1, H3, H5, H7 또는 H9 균주를 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0108] 본원에서 사용되는 “*슈도모나스* 종” 이라는 표현은 그람 음성 박테리아 *슈도모나스*의 종을 지칭한다. 구현예에서, *슈도모나스* 종은 *슈도모나스 아에루기노사* PAO-1을 포함하지만 이에 한정되지 않는, 인간에서의 감염과 연관된 종이다.

[0109] 본원에 사용된 “종양 괴사 인자 수용체 항원” 이라는 표현은 종양 괴사 인자 수용체 족을 지칭하며, 글루코코르티코이드-유도 TNFR-관련 단백질(GITR)과 같은 항원을 포함한다.

[0110] “면역 세포 표면 항원” 이라는 표현은, B 세포, 수지상 세포, 과립구, 림프 세포, 단핵구, 대식세포, T 세포, 및 홍선세포와 같은 하나 이상의 유형의 면역 세포의 표면 상에서 발현되는 항원을 지칭하지만, 이에 한정되지는 않는다.

[0111] “세포 표면 항원” 이라는 표현은 B 세포(예를 들어, B 림프구)의 표면 상에서 발현되는 항원을 지칭한다. 일부 구현예에서, B-세포 표면 항원은 B-세포의 표면 상에서 발현되는 CD20과 같은 항원을 포함한다.

[0112] “세포 표면 항원” 이라는 표현은 T 세포(예를 들어, 조절 T 세포)의 표면 상에서 발현되는 항원을 지칭한다. 일부 구현예에서, T 세포 표면 항원은 GITR과 같은 항원을 포함한다.

[0113] “암 세포 표면 항원” 이라는 표현은 암 세포의 표면 상에서 고유하게 발현되거나 더 고도로 발현되는 항원을 지칭한다. 예시적인 항원은 백혈병 및 림프종 세포의 표면 상에서 발현되는 CD20과 같은 항원을 포함한다.

[0114] 본원에서 사용되는 “*스타필로코커스* 종 표적 항원에 결합하는 항체” 또는 “항-*스타필로코커스* 종 표적 항체”

는 *스타필로코커스* 종의 세포 표면 상에서 표적 항원을 특이적으로 인식하는 항체 및 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 본 개시의 항원 결합 분자는 “철 조절 표면 단백질 B” 또는 “” 로 지칭되는 표적 항원에 결합한다. 예시적인 IsdB 단백질은 서열번호: 80의 아미노산 3 내지 575의 아미노산 서열을 가진다. 다른 구현예에서, 본 개시의 항원 결합 분자는 “단백질 A” 로 지칭되는 표적 항원에 결합한다. 또 다른 구현예에서, 본 개시의 항원 결합 분자는 “철 조절 표면 단백질 A” 또는 “” 로 지칭되는 표적 항원에 결합한다. 또 다른 구현예에서, 본 개시의 항원 결합 분자는 “항-폴리-N-아세틸글루코사민” 또는 “” 로 지칭되는 표적 항원에 결합한다. 또 다른 구현예에서, 본 개시의 항원 결합 분자는 “항-응집 인자 A” 또는 “” 로 지칭되는 표적 항원에 결합한다.

[0115] 본원에서 사용되는 “스타필로코커스 종 표적 항원에 결합하는 항체” 또는 “항-스타필로코커스 종 표적 항체”라는 표현은, 단일 특이성을 갖는 1가 항체뿐만 아니라 IsdB, 단백질 A, IsdA, PNAG, 또는 ClfA에 결합하는 제1 아암 및 Clq에 결합하는 제2 아암을 포함하는 이중 특이적 항체 둘 모두를 포함하며, 여기에서 항-IsdB 아암, 항-단백질 A 아암, 항-IsdA 아암, 항-PNAG 아암, 또는 항-ClfA 아암은 표 1, 3, 12, 14, 16, 및 17에 제시된 HCVR/LCVR 또는 CDR 서열 중 어느 하나를 각각 포함한다.

[0116] 본원에서 사용되는 “인플루엔자 바이러스 표적 항원에 결합하는 항체” 또는 “항-인플루엔자 바이러스 표적 항원”은 인플루엔자 감염 세포의 세포 표면 상에서 또는 인플루엔자 균주 내에서 표적 항원을 특이적으로 인식하는 항체 및 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 본 개시의 항원 결합 분자는 “인플루엔자 HA” 로 지칭되는 표적 항원에 결합한다. 예시적인 인플루엔자 HA 단백질은 서열번호: 81의 아미노산 1 내지 519의 아미노산 서열을 가진다.

[0117] 본원에서 사용되는 “인플루엔자 바이러스 표적 항원에 결합하는 항체” “항-인플루엔자 바이러스 표적 항체” 또는 “항-인플루엔자 HA 항체”라는 표현은, 단일 특이성을 갖는 1가 항체뿐만 아니라, 인플루엔자 HA에 결합하는 제1 아암 및 Clq에 결합하는 제2 아암을 포함하는 이중 특이적 항체 둘 다를 포함하지만 이에 한정되지는 않으며, 여기에서 항-인플루엔자 HA 아암은 본원의 표 7에 제시된 HCVR/LCVR 또는 CDR 서열 중 어느 하나를 포함한다. 항-인플루엔자 HA 이중 특이적 항체의 예는 본원의 다른 곳에서 기술된다.

[0118] 본원에서 사용되는 “슈도노막스 종 표적 항원에 결합하는 항체” 또는 “항-슈도노막스 종 표적 항체”는 슈도노막스 종의 세포 표면 상 또는 세포 내에서 표적 항원을 특이적으로 인식하는 항체 및 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 본 개시의 항원 결합 분자는 “” 로 지칭되는 표적 항원에 결합한다. 본원에서 사용되는 “슈도노막스 종 표적 항원에 결합하는 항체” “항-슈도노막스 종 표적 항체” 또는 “항-Ps1 항체”라는 표현은, 단일 특이성을 갖는 1가 항체뿐만 아니라, Ps1에 결합하는 제1 아암 및 Clq에 결합하는 제2 아암을 포함하는 이중 특이적 항체 둘 다를 포함하지만 이에 한정되지는 않으며, 여기에서 항-Ps1 아암은 본원의 표 11에 제시된 HCVR/LCVR 또는 CDR 서열 중 어느 하나를 포함한다. 항-Ps1 이중 특이적 항체의 예는 본원의 다른 곳에서 기술된다.

[0119] 본원에서 사용되는 “글루코코르티코이드 유도 종양 괴사 인자 수용체(GITR) 항원에 결합하는 항체” 또는 “항-GITR”은 글루코코르티코이드 유도 종양 괴사 인자 수용체를 특이적으로 인식하는 항체 및 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 본 개시의 항원 결합 분자는 T 세포 상에서 발견되는 글루코코르티코이드-유도 종양 괴사 인자 수용체 또는 “”에 결합한다. 예시적인 GITR 단백질은 서열번호: 82의 아미노산 1 내지 135의 아미노산 서열을 가진다.

[0120] 본원에서 사용되는 “글루코코르티코이드-유도 종양 괴사 인자 수용체 항원에 결합하는 항체” 또는 “항-GITR 항체”라는 표현은, 단일 특이성을 갖는 1가 항체뿐만 아니라, GITR에 결합하는 제1 아암 및 Clq에 결합하는 제2 아암을 포함하는 이중 특이적 항체 둘 다를 포함하지만 이에 한정되지는 않으며, 여기에서 항-GITR 아암은 본원의 표 9에 제시된 HCVR/LCVR 또는 CDR 서열 중 어느 하나를 포함한다. 항-GITR 이중 특이적 항체의 예는 본원의 다른 곳에서 기술된다.

[0121] 본원에서 사용되는 “암 세포 표면 항원에 결합하는 항체” 또는 “항암 세포 표면 항원”은 암 세포의 세포 표면 상의 표적 항원을 특이적으로 인식하는 항체 및 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 본 개시의 항원 결합 분자는 “”으로 지칭되는 표적 항원에 결합한다.

[0122] 본원에서 사용되는 “암 세포 표면 항원에 결합하는 항체” “항암 세포 표면 항원 항체” 또는 “항-CD20 항체”라는 표현은, 단일 특이성을 갖는 1가 항체뿐만 아니라, CD20에 결합하는 제1 아암 및 Clq에 결합하는 제2 아암을 포함하는 이중 특이적 항체 둘 다를 포함하지만 이에 한정되지는 않으며, 여기에서 항-CD20 아암은 본원의

표 5에 제시된 HCVR/LCVR 또는 CDR 서열 중 어느 하나를 포함한다. 항-CD20 이중 특이적 항체의 예는 본원의 다른 곳에서 기술된다.

[0123] 본원에서 사용되는 용어 "항체"는 특정 항원(예를 들어, C1q)과 특이적으로 결합하거나 상호 작용하는 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 임의의 항원 결합 분자 또는 분자 복합체를 의미한다. 용어 "항체"는 4개의 폴리펩티드 사슬, 즉 이황화 결합에 의해 상호 연결된 2개의 중쇄(H) 및 2개의 경쇄(L)를 포함하는 면역글로불린 분자뿐만 아니라 이의 다량체(예를 들어, IgM)를 포함한다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(본원에서 HCVR 또는 V_H 로 약칭됨)과 중쇄 불변 영역을 포함한다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인 C_H1 , C_H2 및 C_H3 을 포함한다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(본원에서 LCVR 또는 V_L 로 약칭됨)과 경쇄 불변 영역을 포함한다. 경쇄 불변 영역은 하나의 도메인을 포함한다(C_L1). V_H 와 V_L 영역은, 더 보존적인 영역(프레임워크 영역(FR))으로 지칭됨이 중간에 끼어 있는 추가변 영역(상보성 결정 영역(CDR))으로 지칭됨)으로 추가로 세분화될 수 있다. 각각의 V_H 및 V_L 은 아미노 말단에서 카르복시 말단의 방향으로 다음 순서로 배열된 3개의 CDR과 4개의 FR을 포함한다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 본 개시의 다른 구현예에서, 항-C1q 항체(또는 이의 항원 결합 부분)의 FR은 인간 생식선 서열과 동일하거나, 자연적으로 또는 인공적으로 변형될 수 있다. 본 개시의 다른 구현예에서, 항-IsdB 항체(또는 이의 항원 결합 부분)의 FR은 인간 생식선 서열과 동일하거나, 자연적으로 또는 인공적으로 변형될 수 있다. 아미노산 공통 서열은 둘 이상의 CDR의 병렬 분석에 기초하여 정의될 수 있다.

[0124] 본원에서 사용되는 용어 "항체"는 전체 항체 분자의 항원 결합 단편을 또한 포함한다. 본원에서 사용되는 용어 항체의 "항원 결합 부분", 항체의 "항원 결합 도메인", 항체의 "항원 결합 단편" 등은 항원에 특이적으로 결합하여 복합체를 형성하는 임의의 자연적인, 또는 효소에 의해 수득할 수 있는, 또는 합성, 또는 유전자 조작된 폴리펩티드 또는 당단백질을 포함한다. 항체의 항원 결합 단편은 임의의 적합한 표준 기법, 예를 들어, 단백질 가수분해성 소화 또는 항체 가변 도메인 및 임의로 불변 도메인을 암호화하는 DNA의 조작 및 발현을 포함하는 재조합 유전자 조작 기법을 사용하여 전체 항체 분자로부터 유도될 수 있다. 이러한 DNA는 공지되어 있고/있거나, 예를 들어 상업적인 공급원, (예를 들어, 파지-항체 라이브러리 포함하는) DNA 라이브러리로부터 쉽게 이용할 수 있거나, 합성될 수 있다. 이러한 DNA는 서열화될 수 있고, 예를 들면 하나 또는 이상의 가변 및/또는 불변 도메인을 적당한 구성으로 배열하기 위해, 또는 코돈을 도입하고, 시스테인 잔기를 생성하며, 아미노산을 변형, 첨가 또는 결실시키기 위해서 등, 화학적으로 또는 분자 생물학 기법을 사용하여 조작될 수 있다.

[0125] 본원에서 사용되는 "항원 결합 도메인"이라는 표현은 관심 특정 항원(예를 들어, 보체 성분, *스타필로코커스* 종 표적 항원, 인플루엔자 바이러스 표적 항원, *슈도모나스* 종 표적 항원 종양 괴사 인자 수용체 항원, 암-세포 표면 항원)에 특이적으로 결합할 수 있는 임의의 펩티드, 폴리펩티드, 핵산 분자, 스캐폴드형 분자, 펩티드 디스플레이 분자, 또는 폴리펩티드 함유 작제물을 의미한다.

[0126] 본원에서 사용되는 용어 "특이적으로 결합하는" 등은 항원 결합 도메인이 25 pM 이하의 해리 상수(K_D)를 특징으로 하는 특정 항원과 복합체를 형성하는 것을 의미한다. 본 개시의 맥락에 사용될 수 있는 항원 결합 도메인의 예시적인 범주는 항체, 항체의 항원 결합 부분, 특정 항원(예를 들어, 펩티마디)과 특이적으로 상호 작용하는 펩티드, 특정 항원과 특이적으로 상호 작용하는 수용체 분자, 특정 항원에 특이적으로 결합하는 수용체의 리간드 결합 부분을 포함하는 단백질, 항원 결합 스캐폴드(예를 들어, 설계된 안키린 반복 단백질(DARPin), HEAT 반복 단백질, ARM 반복 단백질, 테트라트라이코펩티드 반복 단백질 및 자연 발생적인 반복 단백질을 토대로 한 다른 스캐폴드 등[예를 들어, Boersma 및 Pluckthun, 2011, Curr. Opin. Biotechnol. 22:849-857, 및 본 설명에 인용된 참고문헌 참조]) 및 앵타머 또는 이의 부분들을 포함한다.

[0127] 두 개의 분자가 특이적으로 상호 간에 결합하는지를 결정하는 방법은 당해 분야에 잘 알려져 있으며, 예를 들어, 평형 투석, 표면 플라즈몬 공명 등을 포함한다. 예를 들어, 본 개시의 맥락에서 사용된 항원 결합 분자는, 표면 플라즈몬 공명 분석으로 측정되는 바, 약 25 nM, 약 20 nM 미만, 약 15 nM 미만, 약 10 nM 미만, 약 5 nM 미만, 약 1 nM 미만, 약 500 pM 미만, 약 400 pM 미만, 약 300 pM 미만, 약 200 pM 미만, 약 100 pM 미만, 약 90 pM 미만, 약 80 pM 미만, 약 70 pM 미만, 약 60 pM 미만, 약 50 pM 미만, 약 40 pM 미만, 약 30 pM 미만, 약 20 pM 미만, 약 10 pM 미만, 약 5 pM 미만, 약 4 pM 미만, 약 2 pM 미만, 약 1 pM 미만, 약 0.5 pM 미만, 약 0.2 pM 미만, 약 0.1 pM 미만, 또는 약 0.05 pM 미만의 K_D 로 특정 항원(예를 들어, 표적 분자[T] 또는 그의 일부)에 결합하는 폴리펩티드를 포함한다.

[0128] 항원 결합 단편의 비제한적 예는: (i) Fab 단편; (ii) F(ab')₂ 단편; (iii) Fd 단편; (iv) Fv 단편; (v) 단쇄 Fv(scFv) 분자; (vi) dAb 단편; 및 (vii) 항원 결합 도메인, 및 (viii) 항체의 추가변 영역(예를 들어, CDR3

펩티드와 같은 단리된 상보성 결정 영역(CDR))을 모방하는 아미노산 잔기, 또는 제한된 FR3-CDR3-FR4 펩티드로 이루어진 최소 인지 단위를 포함한다. 다른 조작된 분자, 예를 들어, 도메인 특이적 항체, 단일 도메인 항체, 도메인-결실 항체, 키메라 항체, CDR-이식 항체, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, 미니바디, 나노바디(예를 들어, 1가 나노바디, 2가 나노바디 등), 작은 모듈형 면역치료제(SMIP), 및 상어 가변 IgNAR 도메인 등 또한 본원에서 사용되는 “항원 결합 단편”이란 표현에 포함된다.

[0129] 항체의 항원 결합 단편은 일반적으로 적어도 하나의 가변 도메인을 포함하게 된다. 이러한 가변 도메인은 임의의 크기 또는 아미노산 조성일 수 있고, 일반적으로 하나 이상의 프레임워크 서열에 인접하거나 그것과 한 프레임에 있는 적어도 하나의 CDR을 포함할 것이다. V_L 도메인과 결합된 V_H 도메인을 갖는 항원 결합 단편에서, V_H 및 V_L 도메인은 임의의 적절한 배열로 서로에 대해 위치할 수 있다. 예를 들어, 가변 영역은 이량체로서, V_H - V_H , V_H V_L 또는 V_L - V_L 이량체를 포함할 수 있다. 대안적으로, 항체의 항원 결합 단편은 단량체 V_H 또는 V_L 도메인을 포함할 수 있다.

[0130] 특정 구현예에서, 항체의 항원 결합 단편은 적어도 하나의 불변 도메인에 공유 결합된 적어도 하나의 가변 도메인을 포함할 수 있다. 본 개시의 항체의 항원 결합 단편 내에서 발견될 수 있는 가변 및 불변 도메인의 비제한적인 예시적 구성은 다음을 포함한다: (i) V_H - C_H1 ; (ii) V_H - C_H2 ; (iii) V_H - C_H3 ; (iv) V_H - C_H1 - C_H2 ; (v) V_H - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (vi) V_H - C_H2 - C_H3 ; (vii) V_H - C_L ; (viii) V_L - C_H1 ; (ix) V_L - C_H2 ; (x) V_L - C_H3 ; (xi) V_L - C_H1 - C_H2 ; (xii) V_L - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (xiii) V_L - C_H2 - C_H3 ; 및 (xiv) V_L - C_L . 위에서 열거된 임의의 예시적인 구성을 포함하는 가변 및 불변 도메인의 임의의 구성에서, 이러한 가변 및 불변 도메인은 직접적으로 상호간에 연결되거나 또는 전체 또는 부분적인 힌지 또는 링커 영역에 의해 연결될 수 있다. 힌지 영역은 단일 폴리펩티드 분자의 인접한 가변 및/또는 불변 도메인 사이에 가요성 또는 반 가요성 연결을 유발하는 적어도 2개(예를 들어, 5, 10, 15, 20, 40, 60개 이상)의 아미노산을 포함하거나 이로 이루어질 수 있다. 또한, 본 개시의 항체의 항원 결합 단편은 위에서 열거된 가변 및 불변 도메인 구성 중 어느 하나의 동중-이량체 또는 이중-이량체(또는 다른 다량체)를 (예를 들어, 이황화 결합(들)에 의해) 서로 및/또는 하나 이상의 단량체 V_H 또는 V_L 도메인과 비공유 결합으로 포함할 수 있다.

[0131] 완전 항체 분자와 마찬가지로, 항원 결합 단편은 단일 특이적이거나 다중 특이적(예를 들어, 이중 특이적)일 수 있다. 항체의 다중 특이적 항원 결합 단편은 일반적으로 적어도 2개의 상이한 가변 도메인을 포함하게 되며, 여기에서 각각의 가변 도메인은 별도의 항원에 특이적으로 결합할 수 있거나 동일한 항원 상의 상이한 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있다. 본원에 개시된 예시적인 이중 특이적 항체 포맷을 포함하여, 임의의 다중 특이적 항체 포맷은 당업계에서 이용할 수 있는 일상적인 기술을 사용하여 본 개시의 항체의 항원 결합 단편의 맥락에서 사용하기에 적합할 수 있다.

[0132] 본 개시의 항체는 보체 의존성 세포독성(CDC) 또는 항체 의존성 세포 매개 세포독성(ADCC)을 통해 기능할 수 있다. “보체-의존성 세포독성”은 보체의 존재 하에 본 개시의 항체에 의한 항원-발현 세포의 용해를 지칭한다. “항체-의존성 세포-매개 세포독성”은 Fc 수용체(FcRs)를 발현하는 비특이적 세포독성 세포(예를 들어, 자연 살해(NK) 세포, 호중구, 및 대식세포)가 표적 세포 상에서 결합된 항체를 인식하여 표적 세포의 용해를 유도하는 세포-매개 반응을 지칭한다. CDC 및 ADCC는 당업계에 공지되어 있고 이용 가능한 분석법을 사용하여 측정될 수 있다. (예를 들어, 미국 특허 제5,500,362호 및 제5,821,337호, 및 Clynes 외, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 95:652-656(1998) 참조)

[0133] 본 개시의 특정 구현예에서, 본 개시의 항-C1q, 항-IsdB, 항-Ps1, 항-인플루엔자 HA, 항-CD20, 항-단백질 A, 항-IsdA, 항-PNAG, 항-C1fA, 및/또는 항-GITR 항체(단일 특이적 또는 이중 특이적)는 인간 항체이다. 본원에서 사용되는 용어 “인간 항체”는 인간 생식선 면역글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 불변 영역을 갖는 항체를 포함하도록 의도된다. 본 개시의 인간 항체는 인간 생식선 면역글로불린 서열에 의해 암호화되지 않은 아미노산 잔기(예를 들어, 시험관 내 무작위 또는 부위 특이적 돌연변이 유발에 의해 또는 생체 내 체세포성 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를, 예를 들어 CDR에 포함할 수 있고, 특히 CDR3에 포함할 수 있다. 그러나 본원에서 사용되는 용어 “인간 항체”는 또 다른 포유류 중, 예를 들면 마우스의 생식선으로부터 유도된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열 위로 그래프트되어 있는 항체를 포함하도록 의도되지는 않는다. 전술한 용어는 비인간 포유동물 또는 비인간 포유동물의 세포에서 재조합적으로 생성되는 항체를 포함한다. 전술한 용어는 인간 대상체로부터 단리되었거나 인간 대상체에서 생성된 항체를 포함하도록 의도되지는 않는다.

[0134] 본 개시의 항체는 일부 구현예에서, 재조합 인간 항체일 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 “재조합 인간 항체

”는 재조합 수단에 의해 제조되거나, 발현되거나, 생성되거나 또는 분리된 모든 인간 항체, 예를 들어 숙주 세포 안에 형질전환된 재조합 발현 벡터를 사용하여 발현된 항체(아래에서 상세하게 설명됨), 재조합된 조합 인간 항체 라이브러리로부터 분리된 항체(아래에서 상세하게 설명됨), 인간 면역글로불린 유전자에 대해 유전자가 도입된 동물(예를 들어, 마우스)로부터 분리된 항체(예를 들어, Taylor 외, Nucl. Acids Res. 20:6287-6295(1992) 참조) 또는 다른 DNA 서열에 대해 인간 면역글로불린 유전자 서열의 스플라이싱을 포함하는 임의의 다른 수단에 의해 제조되거나, 발현되거나, 생성되거나 또는 분리된 항체를 포함하고자 한 것이다. 이러한 재조합 인간 항체는 인간 생식선 면역글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 불변 영역을 갖는다. 그러나 일부 구현예에서, 이러한 재조합 인간 항체는 시험관 내 돌연변이 유발(또는 인간 Ig 서열에 대해 유전자 도입된 동물이 사용되는 경우에서의, 생체 내 체세포성 돌연변이 유발)을 거치므로, 재조합 항체의 V_H 및 V_L 영역의 아미노산 서열은 인간 생식선 V_H 및 V_L 서열로부터 유래되고 이들과 관련되지만, 생체 내에서 인간 항체 생식선 레퍼토리 내에 자연적으로 존재하지 않을 수 있다.

[0135] 인간 항체는 힌지 비균질성과 연관된 2가지 형태로 존재할 수 있다. 제1 형태로, 면역글로불린 분자는 대략 150 내지 160 kDa의 안정적인 4쇄 작제물을 포함하며, 여기에서 이량체는 사슬 간 중쇄 이황화 결합에 의해 함께 유지된다. 제2 형태에서, 이량체는 사슬 간 이황화 결합을 통해 연결되지 않으며, 공유 결합된 경쇄 및 중쇄(반수 항체)로 구성된 약 75 내지 80 kDa의 분자가 형성된다. 이러한 형태는 친화성 정제 후에도 분리하기가 매우 어렵다.

[0136] 다양한 온전한 IgG 이소형에서 제2 형태의 출현 빈도는 항체의 힌지 영역 이소형과 관련된 구조적 차이로 인한 것이지만, 이에 한정되지는 않는다. 인간 IgG4 힌지의 힌지 영역에서의 단일 아미노산 치환은 인간 IgG1 힌지를 사용하여 전형적으로 관찰되는 수준으로 제2 형태의 외관을 상당히 감소시킬 수 있다(Angal 외, Molecular Immunology 30:105(1993)). 본 개시는 힌지, C_H2 또는 C_H3 영역에서 하나 이상의 돌연변이를 갖는 항체를 포함하며, 이는 예를 들어 생산에서 원하는 항체 형태의 수율을 개선하는 데 바람직할 수 있다.

[0137] 본 개시의 항체는 단리된 항체일 수 있다. 본원에서 사용되는 “단리된 항체”는 이의 자연 환경의 적어도 하나의 성분으로부터 식별되어 분리되었고/되었거나 회수된 항체를 의미한다. 예를 들어, 유기체의 적어도 하나의 성분으로부터 분리 또는 제거된 항체, 또는 항체가 자연적으로 존재하거나 자연적으로 생산되는 조직이나 세포로부터 분리 또는 제거된 항체가 본 개시의 목적에 맞는 “단리된 항체”이다. 단리된 항체는 재조합 세포 내의 인 시튜(in situ) 항체 또한 포함한다. 단리된 항체는 적어도 하나의 정제 또는 단리 단계를 거친 항체이다. 특정 구현예에 따르면, 단리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 화학 물질을 실질적으로 갖지 않을 수 있다.

[0138] 본원에 개시된 항-Clq, 항-표적 항원, 또는 이중 특이적 항원 결합 분자는 항체가 유래된 상응하는 생식선 서열과 비교했을 때 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 프레임워크 및/또는 CDR 영역에서 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있다. 이러한 돌연변이는 본원에 개시된 아미노산 서열을, 예를 들어, 공개된 항체 서열 데이터베이스로부터 이용할 수 있는 생식선 서열과 비교함으로써 쉽게 확인할 수 있다. 본 개시는 본원에 개시된 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 유래된 항원 결합 분자, 항체 및 이의 항원 결합 단편을 포함하되, 하나 이상의 프레임워크 영역 및/또는 CDR 영역 내의 하나 이상의 아미노산은 항체가 유래된 생식선 서열의 상응하는 잔기(들)로 돌연변이되거나, 또 다른 인간 생식선 서열의 상응하는 잔기(들)로 돌연변이되거나, 상응하는 생식선 잔기(들)의 보존적 아미노산 치환으로 돌연변이될 수 있다(이러한 서열 변화는 본원에서 “생식선 돌연변이”로서 통칭한다). 당업자는, 본원에 개시된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열에서 출발하여, 하나 이상의 개별 생식선 돌연변이 또는 이들의 조합을 포함하는 다수의 항원 결합 분자, 항체 및 항원 결합 단편을 쉽게 생산할 수 있다. 특정 구현예에서, V_H 및/또는 V_L 도메인 내의 프레임워크 및/또는 CDR 잔기의 전부는, 항체가 유래된 원래의 생식선 서열에서 발견되는 잔기로 다시 돌연변이된다. 다른 구현예에서, 특정한 잔기만이, 예를 들어, FR1의 처음 8개의 아미노산 또는 FR4의 마지막 8개의 아미노산 내에서 발견되는 돌연변이된 잔기, 또는 CDR1, CDR2 또는 CDR3에서 발견되는 돌연변이된 잔기만이 원래의 생식선 서열로 다시 돌연변이된다. 다른 구현예에서, 프레임워크 및/또는 CDR 잔기(들) 중 하나 이상은 상이한 생식선 서열(예를 들어, 항체가 유래된 원래의 생식선 서열과 상이한 생식선 서열)의 상응하는 잔기(들)로 돌연변이된다. 또한, 본 개시의 항원 결합 분자, 항체, 및 항원 결합 단편은 프레임워크 및/또는 CDR 영역 내의 2개 이상의 생식선 돌연변이의 임의의 조합을 함유할 수 있는데, 예를 들어, 특정 개별 잔기는 특정 생식선 서열의 상응하는 잔기로 돌연변이되는 반면, 원래의 생식선 서열과 상이한 특정한 다른 잔기는 유지되거나, 상이한 생식선 서열의 상응하는 잔기로 돌연변이된다. 일단 획득되면, 하나 이상의 생식선 돌연변이를 포함하는 항원 결합 분자, 항체 및 항원 결합 단편은, 개선된 결합 특이성, 증가된 결합 친화도, (경우에 따라) 개선되거나 강화된 길항성 또는 작동성

생물학적 특성, 감소된 면역원성 등과 같은 하나 이상의 원하는 특성에 대해 쉽게 시험될 수 있다. 이러한 일반적인 방식으로 수득된 항원 결합 분자, 항체 및 항원 결합 단편은 본 개시에 포함된다.

[0139] 본 개시는 또한 C1q, IsdB, PsI, 인플루엔자 HA, CD20, 단백질 A, IsdA, PNAG, C1fA, 또는 G1TR에 결합하는 단일 아암 항체를 포함한다. 본원에서 사용되는 “단일 아암 항체”는 단일 항체 중쇄 및 단일 항체 경쇄를 포함하는 항원 결합 분자를 의미한다. 본 개시의 단일 아암 항체는 본원의 표 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12, 14, 16, 17 및 18에 제시된 HCVR/LCVR 또는 CDR 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함할 수 있다.

[0140] 용어 “에피토프”는 파라토프로 알려진 항체 분자의 가변 영역에서 특이적 항원 결합 부위와 상호 작용하는 항원 결정자를 지칭한다. 단일 항원은 하나 이상의 에피토프를 가질 수 있다. 따라서, 상이한 항체는 항원 상의 상이한 영역에 결합할 수 있고 상이한 생물학적 효능을 가질 수 있다. 에피토프는 입체적이거나 선형일 수 있다. 입체적 에피토프는 선형 폴리펩티드 사슬의 상이한 분절에서 유래된 공간적으로 병치된 아미노산에 의해 생산된다. 선형 에피토프는 폴리펩티드 사슬 내 인접한 아미노산 잔기에 의해 생성된 것이다. 특정 상황에서, 에피토프는 항원 상에 당류, 포스포릴기, 또는 술폰닐기의 모이어티를 포함할 수 있다.

[0141] 핵산 또는 이의 단편을 지칭할 때의 용어 “실질적 동일성” 또는 “실질적으로 동일한”은, 적절한 뉴클레오타이드 삽입 또는 결실로 또 다른 핵산(또는 이의 상보성 가닥)과 최적으로 정렬되는 경우, 후속한 바와 같은 FASTA, BLAST 또는 Gap와 같은 임의의 잘 알려진 서열 동일성 알고리즘에 의해 측정했을 경우, 뉴클레오타이드 염기의 적어도 90%, 예를 들어, 적어도 95%, 보다 바람직하게는 적어도 96%, 97%, 98% 또는 99%에서 뉴클레오타이드 서열 동일성이 있음을 나타낸다. 기준 핵산 분자에 대한 실질적 동일성을 갖는 핵산 분자는, 특정 경우, 기준 핵산 분자에 의해 암호화된 폴리펩티드와 동일하거나 실질적으로 유사한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 암호화할 수 있다.

[0142] 폴리펩티드에 적용되는 바와 같이, 용어 “실질적인 유사성” 또는 “실질적으로 유사한”은, 예를 들어, 디폴트 갭 가중치를 사용하는 GAP 또는 BESTFIT 프로그램에 의해 최적으로 정렬되었을 경우, 2개의 펩티드 서열이 적어도 90%의 서열 동일성, 예를 들어, 적어도 95%의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 공유함을 의미한다. 바람직하게는, 동일하지 않은 잔기 위치는 보존적 아미노산 치환만큼 상이하다. 2개 이상의 아미노산 서열이 보존적 치환만큼 서로 상이한 경우, 서열 동일성 백분율 또는 유사성의 정도는 상향으로 조정되어 치환의 보존적 성질을 보정할 수 있다. 이러한 조정을 만드는 수단은 당업자에게 잘 알려져 있다. (예를 들어, Pearson, Methods Mol. Biol. 24: 307-331(1994) 참조, 동 문헌은 참조로서 본원에 통합됨) 서열 동일성으로도 지칭되는, 폴리펩티드에 대한 서열 유사성은 일반적으로 서열 분석 소프트웨어를 사용해 측정된다. 단백질 분석 소프트웨어는 보존적 아미노산 치환을 포함하는 다양한 치환, 결실 및 기타 변형에 배정된 유사성 측정치를 사용하여 유사한 서열들을 대조한다. 예를 들어, GCG 소프트웨어는, 상이한 종의 유기체 유래의 상동성 폴리펩티드와 같은 밀접하게 연관된 폴리펩티드 간의 서열 상동성이나 서열 동일성, 또는 야생형 단백질과 이의 돌연변이 사이의 서열 상동성이나 서열 동일성을 결정하기 위한 디폴트 파라미터와 함께 사용될 수 있는 Gap 및 Bestfit과 같은 프로그램을 포함한다. (예를 들어, GCG 버전 6.1 참조) 폴리펩티드 서열은 GCG 버전 6.1의 프로그램인 FASTA를 사용해, 디폴트 파라미터 또는 권장 파라미터를 사용해 비교할 수도 있다. FASTA(예를 들어, FASTA2 및 FASTA3)는 쿼리 및 검색 서열 사이의 가장 중첩된 영역의 정렬 및 서열 동일성 백분율을 제공한다(전술한 Pearson(2000) 참조). 상이한 유기체 유래의 다수의 서열이 포함된 데이터베이스와 본 개시의 서열을 비교할 때 바람직한 또 다른 알고리즘은 디폴트 파라미터를 사용하는 컴퓨터 프로그램인 BLAST, 특히 BLASTP 또는 TBLASTN이다. 예를 들어, Altschul 외, J. Mol. Biol. 215:403-410(1990) 및 Altschul 외, Nucleic Acids Res. 25:3389-402(1997)을 참조하고, 이들 각각은 참조로서 본원에 통합된다.

[0143] II. 보체 성분 결합 분자

[0144] 본 개시의 일 양태에 따라, 항-보체 성분 결합 분자, 예를 들어, 항체 및 이의 항원 결합 단편이 제공된다. 보체 성분은 C1q, C1r, C1s, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, 또는 이의 임의의 단편(보체 캐스케이드에 의해 생성된 단백질분해 단편을 포함함)을 포함한다. 구현예에서, C1q에 결합하는 항체(예를 들어, 단일 특이적 항-C1q 항체)가 제공된다. 구현예에서, C1q는 인간 C1q이다. 인간 보체 C1q는 3개의 고유 서브유닛을 포함하는 헥사머이다: A(29 kDa); B(26kDa); 및 C(22 kDa). 서브유닛 A의 예시적인 서열은 수탁 번호 NP_057075의 아미노산 1 내지 245에서 발견된다. 서브유닛 B의 예시적인 서열은 수탁 번호 NP_000482의 아미노산 1 내지 253에서 발견된다. 서브유닛 C의 예시적인 서열은 수탁 번호 NP_758957의 아미노산 1 내지 245에서 발견된다. 본 개시의 본 양태에 따른 항체는 특히 C1q를 표적화하고 특정 표적에 대한 보체 활성화를 위해 유용하다.

[0145] 예시적인 항-C1q 항체는 본원에 참조로서 통합된 USSN16/143,901 및 PCT/US2018/053064에 기술되어 있다. 본

개시의 항-C1q 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 C1q-매개 보체 활성화를 특이적 표적 항원으로 유도하는 이중 특이적 항원 결합 분자에 포함될 수 있다.

- [0146] 구현예에서, 면역글로불린 분자에 대한 C1q 결합을 억제하고, 용혈 및/또는 보체 의존성 세포독성을 억제하는 항-C1q 항체가 선택된다. 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 IC₅₀으로 인간 IgG1-k에 대한 인간 C1q의 결합을 차단한다. 다른 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 50 nM 이하의 IC₅₀으로 인간 IgM에 대한 인간 C1q의 결합을 차단한다. 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 100 nM 이하의 IC₅₀으로 보체 의존성 세포독성을 억제한다. 또 다른 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 EC₅₀으로 인간 C1q의 침착을 제공한다. 특정 구현예에서, 본 개시의 항원 결합 분자는 본원에 기술된 바와 같은 다음의 IgG 결합, 또는 용혈, 또는 보체 의존성 세포독성의 차단 또는 억제 중 하나 이상을 나타내지 않을 수 있지만, 여전히 대상체에서 *스타필로코커스* 감염을 예방하거나 기존 감염을 치료하는 데 효과적일 수 있다.
- [0147] 특정 구현예에서, 항-C1q의 예시적인 서열은 본원의 표 1 및 표 2에 열거되어 있다. 표 1은 예시적인 항-C1q 항체의 중쇄 가변 영역(HCVR) 및 경쇄 가변 영역(LCVR)뿐만 아니라, 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3) 및 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)의 아미노산 서열 식별자를 제시한다. 표 2는 예시적인 항-C1q 항체의 HCVR, LCVR, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 암호화하는 핵산 분자의 서열 식별자를 제시한다.
- [0148] 본 개시는 C1q에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 표 1에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR 내에 함유된 중쇄 가변 영역 CDR을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0149] 본 개시는 또한 항-C1q 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 표 1에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR 내에 함유된 경쇄 가변 영역 CDR을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0150] 본 개시는 또한 표 1에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나와 쌍을 이루는 표 1에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 HCVR 및 LCVR 쌍(HCVR/LCVR)을 포함하는, 항-C1q 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, 항-C1q 항체는 HCVR/LCVR 쌍을 포함하고, HCVR/LCVR 쌍은 서열번호: 2/10(예를 들어, mAb17736); 서열번호: 18/10(예를 들어, mAb18395)의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0151] 본 개시는 또한 표 1에 열거된 HCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1)을 포함하는 인간 C1q 항체에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0152] 본 개시는 또한 표 1에 열거된 HCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2)를 포함하는 인간 C1q 항체에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0153] 본 개시는 또한 표 1에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는 인간 C1q 항체에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0154] 본 개시는 또한 표 1에 열거된 LCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR1(LCDR1)을 포함하는 인간 C1q 항체에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0155] 본 개시는 또한 표 1에 열거된 LCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR2(LCDR2)를 포함하는 인간 C1q 항체에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0156] 본 개시는 또한 표 1에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해

적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함하는 인간 C1q 항체에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0157] 본 개시는 또한 표 1에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나와 쌍을 이룬 표 1에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 HCDR3 및 LCDR3 쌍(HCDR3/LCDR3)을 포함하는 인간 C1q에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에 따르면, 본 개시는 표 1에 열거된 예시적인 항-C1q 항체 중 어느 하나에 함유된 HCDR3/LCDR3 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, HCDR3/LCDR3 쌍은 서열번호: 8/16(예를 들어, mAb17736) 또는 서열번호: 24/16(예를 들어, mAb18395)의 아미노산 서열을 포함한다.

[0158] 본 개시는 또한, 표 1에 열거된 예시적인 항-C1q 항체 중 어느 하나에 함유된 6개의 CDR 세트(즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)를 포함하는 인간 C1q에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 세트는 서열번호: 4, 6, 8, 12, 14 및 16(예를 들어, mAb17736)의 아미노산 서열; 20, 22, 24, 12, 14 및 16(예를 들어, mAb18395)의 아미노산 서열을 포함한다.

[0159] 관련 구현예에서, 본 개시는 표 1에 열거된 예시적인 항-C1q 항체 중 어느 하나에 의해 정의된 HCVR/LCVR 쌍 내에 함유된 6개의 CDR 세트(즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)를 포함하는 인간 C1q에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 예를 들어, 본 개시는 서열번호: 2/10(예를 들어, mAb17736); 또는 서열번호: 18/10(예를 들어, mAb18395)의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍 내에 함유된 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 세트를 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0160] HCVR 및 LCVR 아미노산 서열 내의 CDR을 식별하기 위한 방법 및 기술은 당업계에 잘 알려져 있고, 본원에 개시된 특정 HCVR 및/또는 LCVR 아미노산 서열 내에서 CDR을 확인하는 데 사용될 수 있다. CDR의 경계를 식별하는 데 사용될 수 있는 예시적인 규정은, 예를 들어, Kabat 정의, Chothia 정의, 및 AbM 정의를 포함한다. 일반적인 조건에서, Kabat 정의는 서열 변동성에 기초하고, Chothia 정의는 구조적 루프 영역의 위치에 기초하며, AbM 정의는 Kabat 및 Chothia 접근법을 절충한 것이다. 예를 들어, Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest," National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani 외, J. Mol. Biol. 273:927-948(1997); 및 Martin 외, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:9268-9272(1989)를 참조한다. 공공 데이터베이스도 항체 내에서 CDR 서열을 확인하는 데 이용할 수 있다.

[0161] 본 개시는 또한 항-C1q 항체 또는 이의 일부를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들어, 본 개시는 표 1에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 HCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0162] 본 개시는 또한 표 1에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 LCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0163] 본 개시는 또한, 표 1에 열거된 HCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 HCDR1 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0164] 본 개시는 또한, 표 1에 열거된 HCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 HCDR2 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0165] 본 개시는 또한, 표 1에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 HCDR3 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0166] 본 개시는 또한, 표 1에 열거된 LCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정

구현예에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 LCDR1 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0167] 본 개시는 또한, 표 1에 열거된 LCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 LCDR2 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0168] 본 개시는 또한, 표 1에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 LCDR3 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0169] 본 개시는 또한, HCVR을 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 HCVR은 3개의 CDR 세트(즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3)를 포함하되, HCDR1-HCDR2-HCDR3 세트는 표 1에 열거된 예시적인 항-C1q 항체 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같다.

[0170] 본 개시는 또한, LCVR을 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 LCVR은 3개의 CDR 세트(즉, LCDR1-LCDR2-LCDR3)를 포함하고, LCDR1-LCDR2-LCDR3 세트는 표 1에 열거된 예시적인 항-C1q 항체 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같다.

[0171] 본 개시는 또한 HCVR 및 LCVR 둘 모두를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 HCVR은 표 1에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고, LCVR은 표 1에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 HCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열, 및 표 2에 열거된 LCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함한다. 본 개시의 이러한 양태에 따른 특정 구현예에서, 핵산 분자는 HCVR 및 LCVR을 암호화하되, HCVR 및 LCVR 둘 모두는 표 1에 열거된 동일한 항-C1q 항체로부터 유래된다.

[0172] 본 개시는 또한, 항-C1q 항체의 중쇄 또는 경쇄 가변 영역을 포함하는 폴리펩티드를 발현할 수 있는 재조합 발현 벡터를 제공한다. 예를 들어, 본 개시는 전술한 핵산 분자 중 어느 하나, 즉 표 1에 제시된 바와 같은 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 재조합 발현 벡터를 포함한다. 본 개시의 범주에는, 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포뿐만 아니라, 항체 또는 항체 단편의 생산을 가능하게 하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양하고 그렇게 생산된 항체 및 항체 단편을 회수함으로써 항체 또는 이의 일부분을 생산하는 방법도 포함된다.

[0173] 본 개시는 변형된 글리코실화 패턴을 갖는 항-C1q 항체를 포함한다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 항체 의존적 세포 독성(ADCC) 기능을 증가시키기 위해 바람직하지 않은 글리코실화 부위를 제거하는 변형이 유용하거나, 올리고당 사슬에 존재하는 푸코오스 모이어티가 결여된 항체가 유용할 수 있다(Shield 외, JBC 277:26733(2002) 참조). 다른 응용예에서, 보체 의존적 세포독성(CDC)을 변형시키기 위해 갈락토실화 변형이 이루어질 수 있다.

[0174] III. 표적 항원 결합 분자

[0175] 또 다른 양태에서, 본 개시는 본원에 개시된 표적 항원에 결합하는 결합 분자, 예를 들어, 항체 및 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 일부 구현예에서, 표적 항원, 예를 들어, 예를 들어, 바이러스 또는 박테리아에 감염된 세포, 면역 세포, 또는 암 세포와 같은(이에 한정되지 않음) 제거를 위해 표적화되어야 할, 박테리아의 표면 상에서 발견되는 표적 항원, 또는 세포(예를 들어, 진핵 세포)의 표면 상에서 발현되는 표적 항원은 세포 또는 유기체의 표면 상에서 발현되거나 결합한다. 일부 구현예에서, 표적 항원은 가용성이다. 즉, 세포 또는 유기체 표면에 결합하지 않는다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 표적 항원은 B 세포 상의 보체 수용체 CR2/CD21에 대한 결합을 통해 면역원성 또는 대식세포를 통한 제거를 위해 보체 성분(예를 들어, C1q)을 옵소닌화하는 가용성 다량체이다.

[0176] A. 스타펠로코커스 표적 항원

- [0177] 다른 양태에서, 본 개시는 *스타필로코커스* 종 표적 항원에 결합하는 결합 분자, 예를 들어, 항체 및 이의 항원 결합 단편(예를 들어, *스타필로코커스* 종 표적 항원에 대한 단일 특이적 항체)을 제공한다. 구현예에서, *스타필로코커스* 종은 인간에서 감염을 유발하는 종이다. 구현예에서, *스타필로코커스* 종은, *스타필로코커스 에피테르미디스*, *스타필로코커스 아우레우스*, *스타필로코커스 루그두넨시스* 및/또는 *스타필로코커스 사프로피티쿠스*를 포함한다. 구현예에서, *스타필로코커스* 종 표적 항원은 관절낭 다당류 5형, 관절낭 다당류 8형, 단백질 A, IsdB, IsdA, IsdH, 리포테이코산, 벽 테이코산, 응집 인자 A(ClfA), 폴리-N-아세틸 글루코사민(PNAG), 리파아제, V8 리파아제, 지방산 변형 효소, 접착제 매트릭스 분자를 인식하는 미생물 표면 성분(예를 들어, 아데신, 피브리노겐 결합 분자, 피브로넥틴 결합 단백질 A, 피브로넥틴 결합 단백질 B), 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0178] 일 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IsdB에 특이적으로 결합한다. 예시적인 항-IsdB 항체는 본원에 참조로서 통합된 USSN16/143,901 및 PCT/US2018/053064에 개시되어 있다. 일 구현예에서, IsdB에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호: 80의 아미노산 3 내지 575의 아미노산 서열을 포함하는 IsdB에 결합한다. 본 개시의 항-IsdB 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 감염원과 같은 특정 표적 세포 유형에 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자에 포함될 수 있다. 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 IC50으로 *스타필로코커스* 종에 결합한다.
- [0179] 본 개시의 예시적인 항-IsdB 항체는 표 3 및 표 4에 열거되어 있다. 표 3은 예시적인 항-IsdB 항체의 중쇄 가변 영역(HCVR) 및 경쇄 가변 영역(LCVR)뿐만 아니라, 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3) 및 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)의 아미노산 서열 식별자를 제시한다. 표 4는 예시적인 항-IsdB 항체의 HCVR, LCVR, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 암호화하는 핵산 분자의 서열 식별자를 제시한다.
- [0180] 본 개시는 서열번호: 26의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR 내에 함유된 중쇄 가변 영역(HCVR) CDR; 및 서열번호: 10의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR 내에 함유된 경쇄 가변 영역(LCVR) CDR을 포함하는, IsdB에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0181] 본 개시는 또한 표 3에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나와 쌍을 이루는 표 3에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 HCVR 및 LCVR 쌍(HCVR/LCVR)을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에 따르면, 본 개시는 표 3에 열거된 예시적인 항-IsdB 항체 중 어느 하나에 함유된 HCDR/LCDR 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, HCVR/LCVR 쌍은 서열번호: 26/10의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0182] 본 개시는 또한 표 3에 열거된 HCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1)을 포함하는 IsdB에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0183] 본 개시는 또한 표 3에 열거된 HCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2)를 포함하는 인간 IsdB에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0184] 본 개시는 또한 표 3에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는 IsdB에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0185] 본 개시는 또한 표 3에 열거된 LCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR1(LCDR1)을 포함하는 IsdB에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0186] 본 개시는 또한 표 3에 열거된 LCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR2(LCDR2)를 포함하는 IsdB에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0187] 본 개시는 또한 표 3에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해

적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함하는 IsdB에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0188] 본 개시는 또한 표 3에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나와 쌍을 이룬 표 3에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 HCDR3 및 LCDR3 쌍(HCDR3/LCDR3)을 포함하는 IsdB에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에 따르면, 본 개시는 표 3에 열거된 예시적인 항-IsdB 항체 중 어느 하나에 함유된 HCDR3/LCDR3 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, IsdB에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인은 서열번호: 32/16의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3/LCDR3 쌍을 포함한다.

[0189] 본 개시는 또한 서열번호: 28의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1); 서열번호: 30의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2); 및 서열번호: 32의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는 IsdB에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 구현예에서, IsdB에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인 D1은, 서열번호: 12의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1); 서열번호: 14의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2); 및 서열번호: 16의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)를 포함한다.

[0190] IsdB에 결합하는 특징적인 비제한적이고 예시적인 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 각각 6개의 CDR, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3의 세트를 포함하며, 이 세트는 서열번호: 28, 30, 32, 12, 14, 16의 아미노산 서열을 포함한다.

[0191] 또 다른 양태에서, 본 개시는, 본원의 표 4에 제시된 바와 같은 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자 및 표 2 및 표 4에 제시된 바와 같은 폴리뉴클레오타이드 서열의 2개 이상을 포함하는 핵산 분자를 포함하는 IsdB에 결합하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 HCVR, LCVR 또는 CDR 서열 중 어느 하나를 이들의 임의의 기능적 조합 또는 배열로 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 항체의 생산을 허용하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양하고, 생성된 항체를 회수함으로써 항체를 생산하는 방법과 마찬가지로, 본 개시의 핵산을 운반하는 재조합 발현 벡터, 및 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포 또한 본 개시에 포함된다.

[0192] 본 개시는 또한 항-IsdB 항체 또는 이의 일부를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들어, 본 개시는 표 3에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 4에 열거된 HCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0193] 본 개시는 또한, 표 3에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 4에 열거된 LCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0194] 본 개시는 또한, 표 3에 열거된 HCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 4에 열거된 HCDR1 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0195] 본 개시는 또한, 표 3에 열거된 HCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 4에 열거된 HCDR2 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0196] 본 개시는 또한, 표 3에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 4에 열거된 HCDR3 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열,

또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0197] 본 개시는 또한, 표 3에 열거된 LCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 4에 열거된 LCDR1 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0198] 본 개시는 또한, 표 3에 열거된 LCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 4에 열거된 LCDR2 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0199] 본 개시는 또한, 표 3에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 4에 열거된 LCDR3 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0200] 본 개시는 또한, HCVR을 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 HCVR은 3개의 CDR 세트(즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3)를 포함하되, HCDR1-HCDR2-HCDR3 세트는 표 3에 열거된 예시적인 항-IsdB 항체 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같다.

[0201] 본 개시는 또한, LCVR을 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 LCVR은 3개의 CDR 세트(즉, LCDR1-LCDR2-LCDR3)를 포함하고, LCDR1-LCDR2-LCDR3 세트는 표 3에 열거된 예시적인 항-IsdB 항체 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같다.

[0202] 본 개시는 또한 HCVR 및 LCVR 둘 모두를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 HCVR은 표 3에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고, LCVR은 표 3에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 4에 열거된 HCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열, 및 표 4에 열거된 LCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함한다. 본 개시의 이러한 양태에 따른 특정 구현예에서, 핵산 분자는 HCVR 및 LCVR을 암호화하되, HCVR 및 LCVR 둘 모두는 표 3에 열거된 동일한 항-IsdB 항체로부터 유래된다.

[0203] 일 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IsdA에 특이적으로 결합한다. 항원의 구현예는 Genbank 수탁 번호 제AFH 69349호에 나타난 바와 같은 아미노산을 포함한다. 본 개시의 항-IsdA 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 감염원과 같은 특정 표적 세포 유형에 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자에 포함될 수 있다. 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 IC50으로 *스타필로코커스* 종에 결합한다.

[0204] 본 개시의 예시적인 항-IsdA 항체는 표 14 및 표 15에 열거되어 있다. 표 14는 예시적인 항-IsdA 항체의 중쇄 가변 영역(HCVR) 및 경쇄 가변 영역(LCVR)뿐만 아니라, 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3) 및 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)의 아미노산 서열 식별자를 제시한다. 표 15는 예시적인 항-IsdA 항체의 HCVR, LCVR, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 암호화하는 핵산 분자의 서열 식별자를 제시한다.

[0205] 본 개시는 서열번호: 66의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR 내에 함유된 중쇄 가변 영역(HCVR) CDR; 및 서열번호: 10의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR 내에 함유된 경쇄 가변 영역(LCVR) CDR을 포함하는, IsdA에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0206] 본 개시는 또한 표 14에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나와 쌍을 이루는 표 14에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 HCVR 및 LCVR 쌍(HCVR/LCVR)을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

한다. 특정 구현예에 따르면, 본 개시는 표 14에 열거된 예시적인 항-IsdA 항체 중 어느 하나에 함유된 HCDR/LCDR 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, HCVR/LCVR 쌍은 서열번호: 66/10의 아미노산 서열을 포함한다.

- [0207] 본 개시는 또한 표 14에 열거된 HCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1)을 포함하는 IsdA에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0208] 본 개시는 또한 표 14에 열거된 HCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2)를 포함하는 인간 IsdA에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0209] 본 개시는 또한 표 14에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는 IsdA에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0210] 본 개시는 또한 표 14에 열거된 LCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR1(LCDR1)을 포함하는 IsdA에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0211] 본 개시는 또한 표 14에 열거된 LCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR2(LCDR2)를 포함하는 IsdA에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0212] 본 개시는 또한 표 14에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함하는 IsdA에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0213] 본 개시는 또한 표 14에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나와 쌍을 이룬 표 14에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 HCDR3 및 LCDR3 쌍(HCDR3/LCDR3)을 포함하는 IsdA에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에 따르면, 본 개시는 표 14에 열거된 예시적인 항-IsdA 항체 중 어느 하나에 함유된 HCDR3/LCDR3 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, IsdA에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인은 서열번호: 72/16의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3/LCDR3 쌍을 포함한다.
- [0214] 본 개시는 또한 서열번호: 68의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1); 서열번호: 70의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2); 및 서열번호: 72의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는 IsdA에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 구현예에서, IsdA에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인 D1은, 서열번호: 12의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1); 서열번호: 14의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2); 및 서열번호: 16의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)를 포함한다.
- [0215] IsdA에 결합하는 특징적인 비제한적이고 예시적인 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 각각 6개의 CDR, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3의 세트를 포함하며, 이 세트는 서열번호: 68, 70, 72, 12, 14, 16의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0216] 또 다른 양태에서, 본 개시는, 본원의 표 15에 제시된 바와 같은 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자 및 표 2 및 표 15에 제시된 바와 같은 폴리뉴클레오타이드 서열의 2개 이상을 포함하는 핵산 분자를 포함하는 IsdA에 결합하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 HCVR, LCVR 또는 CDR 서열 중 어느 하나를 이들의 임의의 기능적 조합 또는 배열로 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 항체의 생산을 허용하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양하고, 생성된 항체를 회수함으로써 항체를 생산하는 방법과 마찬가지로, 본 개시의 핵산을 운반하는 재조합

발현 벡터, 및 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포 또한 본 개시에 포함된다.

- [0217] 본 개시는 또한 항-IsdA 항체 또는 이의 일부를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들어, 본 개시는 표 14에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 15에 열거된 HCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0218] 본 개시는 또한, 표 14에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 15에 열거된 LCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0219] 본 개시는 또한, 표 14에 열거된 HCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 15에 열거된 HCDR1 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0220] 본 개시는 또한, 표 14에 열거된 HCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 15에 열거된 HCDR2 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0221] 본 개시는 또한, 표 14에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 15에 열거된 HCDR3 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0222] 본 개시는 또한, 표 14에 열거된 LCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 15에 열거된 LCDR1 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0223] 본 개시는 또한, 표 14에 열거된 LCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 15에 열거된 LCDR2 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0224] 본 개시는 또한, 표 14에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 15에 열거된 LCDR3 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0225] 본 개시는 또한, HCVR을 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 HCVR은 3개의 CDR 세트(즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3)를 포함하되, HCDR1-HCDR2-HCDR3 세트는 표 14에 열거된 예시적인 항-IsdA 항체 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같다.
- [0226] 본 개시는 또한, LCVR을 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 LCVR은 3개의 CDR 세트(즉, LCDR1-LCDR2-LCDR3)를 포함하고, LCDR1-LCDR2-LCDR3 세트는 표 14에 열거된 예시적인 항-IsdA 항체 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같다.
- [0227] 본 개시는 또한 HCVR 및 LCVR 둘 모두를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 HCVR은 표 14에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고, LCVR은 표 14에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 15에 열거된 HCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열, 및 표 15에 열거된 LCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함한다. 본 개시의 이러한 양태에 따른 특정 구현예에서,

핵산 분자는 HCVR 및 LCVR을 암호화하되, HCVR 및 LCVR 둘 모두는 표 14에 열거된 동일한 항-IsdA 항체로부터 유래된다.

- [0228] 일 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 단백질 A에 특이적으로 결합한다. 일 구현예에서, 단백질 A는 Genbank 수탁 번호 제AGE10362호에 나타난 바와 같은 아미노산을 포함한다. 본 개시의 항-단백질 A 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 감염원과 같은 특정 표적 세포 유형에 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자에 포함될 수 있다. 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 IC50으로 *스타필로코커스* 종에 결합한다.
- [0229] 본 개시의 예시적인 항-단백질 A 항체는 표 12 및 표 13에 열거되어 있다. 표 12는 예시적인 항-단백질 A 항체의 중쇄 가변 영역(HCVR) 및 경쇄 가변 영역(LCVR)뿐만 아니라, 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3) 및 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)의 아미노산 서열 식별자를 제시한다. 표 13은 예시적인 항-단백질 A 항체의 HCVR, LCVR, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 암호화하는 핵산 분자의 서열 식별자를 제시한다.
- [0230] 본 개시는 서열번호: 58의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR 내에 함유된 중쇄 가변 영역(HCVR) CDR; 및 서열번호: 10의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR 내에 함유된 경쇄 가변 영역(LCVR) CDR을 포함하는 단백질 A에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0231] 본 개시는 또한 표 12에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나와 쌍을 이루는 표 12에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 HCVR 및 LCVR 쌍(HCVR/LCVR)을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에 따르면, 본 개시는 표 12에 열거된 예시적인 항-단백질 A 항체 중 어느 하나에 함유된 HCDR/LCDR 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, HCVR/LCVR 쌍은 서열번호: 58/10의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0232] 본 개시는 또한 표 12에 열거된 HCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1)을 포함하는 단백질 A에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0233] 본 개시는 또한 표 12에 열거된 HCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2)을 포함하는 인간 단백질 A에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0234] 본 개시는 또한 표 12에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는 단백질 A에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0235] 본 개시는 또한 표 12에 열거된 LCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR1(LCDR1)을 포함하는 단백질 A에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0236] 본 개시는 또한 표 12에 열거된 LCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR2(LCDR2)를 포함하는 단백질 A에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0237] 본 개시는 또한 표 12에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함하는 단백질 A에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0238] 본 개시는 또한 표 12에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나와 쌍을 이루는 표 12에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 HCDR3 및 LCDR3 쌍(HCDR3/LCDR3)을 포함하는 단백질 A에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에 따르면, 본 개시는 표 12에 열거된 예시적인 항-단백질 A 항체 중 어느 하나에 함유된 HCDR3/LCDR3 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, 단백질 A에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인은 서열번호: 64/16의 아미노산 서열을 포함하는

HCDR3/LCDR3 쌍을 포함한다.

- [0239] 본 개시는 또한 서열번호: 60의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1); 서열번호: 62의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2); 및 서열번호: 64의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는 단백질 A에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 구현예에서, 단백질 A에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인 D1은, 서열번호: 12의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1); 서열번호: 14의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2); 및 서열번호: 16의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)를 포함한다.
- [0240] 단백질 A에 결합하는 특정적인 비제한적이고 예시적인 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 각각 6개의 CDR, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3의 세트를 포함하며, 이 세트는 서열번호: 60, 62, 64, 12, 14, 16의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0241] 또 다른 양태에서, 본 개시는, 본원의 표 13에 제시된 바와 같은 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자 및 표 2 및 표 13에 제시된 바와 같은 폴리뉴클레오티드 서열의 2개 이상을 포함하는 핵산 분자를 포함하는 단백질 A에 결합하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 HCVR, LCVR 또는 CDR 서열 중 어느 하나를 이들의 임의의 기능적 조합 또는 배열로 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 항체의 생산을 허용하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양하고, 생성된 항체를 회수함으로써 항체를 생산하는 방법과 마찬가지로, 본 개시의 핵산을 운반하는 재조합 발현 벡터, 및 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포 또한 본 개시에 포함된다.
- [0242] 본 개시는 또한 항-단백질 A 항체 또는 이의 일부를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들어, 본 개시는 표 12에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 13에 열거된 HCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0243] 본 개시는 또한, 표 12에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 13에 열거된 LCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0244] 본 개시는 또한, 표 12에 열거된 HCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 13에 열거된 HCDR1 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0245] 본 개시는 또한, 표 12에 열거된 HCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 13에 열거된 HCDR2 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0246] 본 개시는 또한, 표 12에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 13에 열거된 HCDR3 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0247] 본 개시는 또한, 표 12에 열거된 LCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 13에 열거된 LCDR1 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

- [0248] 본 개시는 또한, 표 12에 열거된 LCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 13에 열거된 LCDR2 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0249] 본 개시는 또한, 표 12에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 13에 열거된 LCDR3 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0250] 본 개시는 또한, HCVR을 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 HCVR은 3개의 CDR 세트(즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3)를 포함하되, HCDR1-HCDR2-HCDR3 세트는 표 12에 열거된 예시적인 항-단백질 A 항체 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같다.
- [0251] 본 개시는 또한, LCVR을 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 LCVR은 3개의 CDR 세트(즉, LCDR1-LCDR2-LCDR3)를 포함하고, LCDR1-LCDR2-LCDR3 세트는 표 12에 열거된 예시적인 항-단백질 A 항체 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같다.
- [0252] 본 개시는 또한 HCVR 및 LCVR 둘 모두를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 HCVR은 표 12에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고, LCVR은 표 12에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 13에 열거된 HCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열, 및 표 13에 열거된 LCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함한다. 본 개시의 이러한 양태에 따른 특정 구현예에서, 핵산 분자는 HCVR 및 LCVR을 암호화하되, HCVR 및 LCVR 둘 모두는 표 13에 열거된 동일한 항-단백질 A 항체로부터 유래된다.
- [0253] 일 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 PNAG에 특이적으로 결합한다. 일 구현예에서, PNAG 항원은 Cramton 외, Infect. Immun. 2001.69:4079에서 기술된 바와 같은 수득된 캡슐 추출물을 포함한다. 본 개시의 항-PNAG 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 감염원과 같은 특정 표적 세포 유형에 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자에 포함될 수 있다. 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 IC50으로 *스타필로코커스* 중에 결합한다.
- [0254] 본 개시의 예시적인 항-PNAG 항체는 US 제7,786,255호에 기술되어 있다. 예시적인 항체는 또한 표 16에 열거되어 있다. 표 16은 예시적인 항-PNAG 항체의 중쇄(HC) 및 경쇄(LC)의 아미노산 서열 식별자를 제시한다.
- [0255] 본 개시는 서열번호: 76의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HC 내에 함유된 중쇄 가변 영역(HCVR) CDR; 및 서열번호: 77의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LC 내에 함유된 경쇄 가변 영역(LCVR) CDR을 포함하는 PNAG에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호: 76의 아미노산 1 내지 118의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR 내에 함유된 HCVR CDR; 및 서열번호: 77의 아미노산 1 내지 108의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR 내에 함유된 LCVR CDR을 포함한다.
- [0256] 본 개시는 또한 표 16에 열거된 LC 서열 내에 함유된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나와 쌍을 이룬 표 16에 열거된 HC 서열 내에 함유된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 HCVR 및 LCVR 쌍(HCVR/LCVR)을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에 따르면, 본 개시는 표 16에 열거된 예시적인 항-PNAG 항체 중 어느 하나에 함유된 HCDR/LCDR 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, HCVR/LCVR 쌍은 서열번호: 76/77의 HC/LC 내에 함유된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0257] 또 다른 양태에서, 본 개시는 PNAG에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 HCVR 또는 LCVR 서열 중 어느

하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 항체의 생산을 허용하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양하고, 생성된 항체를 회수함으로써 항체를 생산하는 방법과 마찬가지로, 본 개시의 핵산을 운반하는 제조합 발현 벡터, 및 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포 또한 본 개시에 포함된다.

[0258] 본 개시는 또한 항-PNAG 항체 또는 이의 일부를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들어, 본 개시는 또한 HCVR 및 LCVR 둘 모두를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 HCVR은 표 16에 열거된 HC 아미노산 서열 내에 함유된 아미노산 서열을 포함하고, LCVR은 표 16에 열거된 LC 아미노산 서열 내에 함유된 아미노산 서열을 포함한다. 본 개시의 이러한 양태에 따른 특정 구현예에서, 핵산 분자는 HCVR 및 LCVR을 암호화하되, HCVR 및 LCVR 둘 모두는 표 16에 열거된 동일한 항-PNAG 항체로부터 유래된다.

[0259] 일 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 C1fA에 특이적으로 결합한다. 항원의 구현예는 Genbank 수탁 번호 제RUQ 57133호에 나타난 바와 같은 아미노산을 포함한다. 본 개시의 항-C1fA 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 감염원과 같은 특정 표적 세포 유형에 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자에 포함될 수 있다. 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 IC50으로 *스타필로코커스* 중에 결합한다.

[0260] 예시적인 항체는 미국 공개 제US2003/0099656호에 기술되어 있다. 본 개시의 예시적인 항-C1fA 항체는 표 17에 열거되어 있다. 표 17은 예시적인 항-C1fA 항체의 중쇄(HC) 및 경쇄(LC)의 아미노산 서열 식별자를 제시한다.

[0261] 본 개시는 서열번호: 73의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열의 HC 아미노산 서열 내에 함유된 중쇄 가변 영역(HCVR) CDR; 및 서열번호: 74의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열의 LC 아미노산 서열 내에 함유된 경쇄 가변 영역(LCVR) CDR을 포함하는 C1fA에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호: 73의 아미노산 1 내지 118의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR 내에 함유된 HCVR CDR; 및 서열번호: 74의 아미노산 1 내지 108의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR 내에 함유된 LCVR CDR을 포함한다.

[0262] 본 개시는 또한 표 17에 열거된 LC 내에 함유된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나와 쌍을 이룬 표 17에 열거된 HC 내에 함유된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 HCVR 및 LCVR 쌍(HCVR/LCVR)을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에 따르면, 본 개시는 표 17에 열거된 예시적인 항-C1fA 항체 중 어느 하나에 함유된 HCDR/LCDR 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, HCVR/LCVR 쌍은 서열번호: 73/74의 HC/LC 내에 함유된 아미노산 서열을 포함한다.

[0263] 또 다른 양태에서, 본 개시는 C1fA에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 HCVR 또는 LCVR 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 항체의 생산을 허용하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양하고, 생성된 항체를 회수함으로써 항체를 생산하는 방법과 마찬가지로, 본 개시의 핵산을 운반하는 제조합 발현 벡터, 및 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포 또한 본 개시에 포함된다.

[0264] 본 개시는 또한 항-C1fA 항체 또는 이의 일부를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들어, 본 개시는 또한 HCVR 및 LCVR 둘 모두를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 HCVR은 표 17에 열거된 HC의 아미노산 서열 내에 함유된 아미노산 서열을 포함하고, LCVR은 표 17에 열거된 LC 아미노산 서열 내에 함유된 아미노산 서열을 포함한다. 본 개시의 이러한 양태에 따른 특정 구현예에서, 핵산 분자는 HCVR 및 LCVR을 암호화하되, HCVR 및 LCVR 둘 모두는 표 17에 열거된 동일한 항-C1fA 항체로부터 유래된다.

[0265] 본 개시는 또한, 본원에서 기술된 항체 중 어느 하나의 중쇄 또는 경쇄 가변 영역을 포함하는 폴리펩티드를 발현할 수 있는 제조합 발현 벡터를 제공한다. 예를 들어, 본 개시는 진술한 핵산 분자 중 어느 하나, 즉, 표 3, 12, 14, 16, 또는 17에 제시된 바와 같은 HCVR 또는 LCVR 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 제조합 발현 벡터를 포함한다. 본 개시의 범주에는, 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포뿐만 아니라, 항체 또는 항체 단편의 생산을 가능하게 하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양하고 그렇게 생산된 항체 및 항체 단편을 회수함으로써 항체 또는 이의 일부분을 생산하는 방법도 포함된다.

[0266] 본 개시는 변형된 글리코실화 패턴을 갖는 본원에서 기술된 바와 같은 항체를 포함한다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 항체 의존적 세포 독성(ADCC) 기능을 증가시키기 위해 바람직하지 않은 글리코실화 부위를 제거하는 변형

이 유용하거나, 올리고당 사슬에 존재하는 푸코오스 모이어티가 결여된 항체가 유용할 수 있다(Shield 외, JBC 277:26733(2002) 참조). 다른 응용예에서, 보체 의존적 세포독성(CDC)을 변형시키기 위해 갈락토실화 변형이 이루어질 수 있다.

[0267] **B. 슈도모나스 표적 항원**

[0268] 다른 양태에서, 본 개시는 슈도노마스 중 표적 항원에 결합하는 결합 분자, 예를 들어, 항체 및 이의 항원 결합 단편(예를 들어, 슈도노마스 중 표적 항원에 대한 단일 특이적 항체)을 제공한다. 구현예에서, 슈도모나스 종은 슈도모나스 아에루기노사 PAO-1과 같지만 이에 한정되지 않는, 인간에서의 감염을 유발하는 종이다. 구현예에서, 슈도모나스 중 표적 항원은 Ps1과 같은 세포의 다당류를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 구현예에서, 슈도모나스 중 표적 항원은 Ps1, 다른 슈도모나스 표적 항원, 또는 이들의 조합을 포함한다. Ps1 항원의 구현예는 Byrd 외, Mol. Microb. 2009. 73:622에서 기술된 바와 같은 다당류를 포함한다. 일 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Ps1에 특이적으로 결합한다.

[0269] 예시적인 항-Ps1 항체는 본원에 참조로서 통합된 W02012/170807에 기술되어 있다. 본 개시의 항-Ps1 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 감염원과 같은 특정 표적 세포 유형에 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자에 포함될 수 있다. 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 IC50으로 슈도노마스 종에 결합한다.

[0270] 본 개시의 예시적인 항-Ps1 항체는 표 11에 열거되어 있다. 표 11은 예시적인 항-Ps1 항체의 중쇄(HC) 및 경쇄(LC)의 아미노산 서열 식별자를 제시한다. 본 개시는 서열번호: 78의 아미노산 1 내지 118의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR 내에 함유된 중쇄가변 영역(HCVR) CDR; 및 서열번호: 79의 아미노산 1 내지 108의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR 내에 함유된 경쇄가변 영역(LCVR) CDR을 포함하는, Ps1에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0271] 본 개시는 또한 표 11에 열거된 LC 내에 함유된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나와 쌍을 이룬 표 11에 열거된 HC 내에 함유된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 HCVR 및 LCVR 쌍(HCVR/LCVR)을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에 따르면, 본 개시는 표 11에 열거된 예시적인 항-Ps1 항체의 HC/LC 내에 함유된 HCDR/LCDR 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, HCVR/LCVR 쌍은 서열번호: 78(아미노산 1 내지 118)/79(아미노산 1 내지 108)의 HC/LC 내에 함유된 아미노산 서열을 포함한다.

[0272] 본 개시는 또한 표 11에 열거된 HCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1)을 포함하는 Ps1에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0273] 본 개시는 또한 표 11에 열거된 HCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2)를 포함하는 인간 Ps1에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0274] 본 개시는 또한 표 11에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는 Ps1에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0275] 본 개시는 또한 표 11에 열거된 LCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR1(LCDR1)을 포함하는 Ps1에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0276] 본 개시는 또한 표 11에 열거된 LCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR2(LCDR2)를 포함하는 Ps1에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0277] 본 개시는 또한 표 11에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함하는 Ps1에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

- [0278] 본 개시는 또한 표 11에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나와 쌍을 이룬 표 11에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 HCDR3 및 LCDR3 쌍(HCDR3/LCDR3)을 포함하는 Ps1에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에 따르면, 본 개시는 표 11에 열거된 예시적인 항-Ps1 항체 중 어느 하나에 함유된 HCDR3/LCDR3 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, Ps1에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인은 서열번호: 78(아미노산 98 내지 109)/79(아미노산 88 내지 99)의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3/LCDR3 쌍을 포함한다.
- [0279] 본 개시는 또한 서열번호: 78의 아미노산 31 내지 35의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1); 서열번호: 78의 아미노산 50 내지 65의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2); 및 서열번호: 78의 아미노산 98 내지 109의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는 Ps1에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 구현예에서, Ps1에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인 D1은, 서열번호: 79의 아미노산 23 내지 33의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1); 서열번호: 79의 아미노산 49 내지 55의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2); 및 서열번호: 79의 아미노산 88 내지 99의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)를 포함한다.
- [0280] Ps1에 결합하는 특징적인 비제한적이고 예시적인 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 각각 6개의 CDR, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3의 세트를 포함하며, 이 세트는 서열번호: 78(아미노산 31 내지 35)/78(아미노산 50 내지 65)/78(아미노산 98 내지 109)/79(아미노산 23 내지 33)/79(아미노산 49 내지 55)/79(아미노산 88 내지 99)의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0281] 또 다른 양태에서, 본 개시는 Ps1에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 HCVR, LCVR 또는 CDR 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 항체의 생산을 허용하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양하고, 생성된 항체를 회수함으로써 항체를 생산하는 방법과 마찬가지로, 본 개시의 핵산을 운반하는 재조합 발현 벡터, 및 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포 또한 본 개시에 포함된다.
- [0282] 본 개시는 또한 항-Ps1 항체 또는 이의 일부를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들어, 본 개시는 표 11에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다.
- [0283] 본 개시는 또한 HCVR 및 LCVR 둘 모두를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 HCVR은 표 11에 열거된 HC 아미노산 서열 내에 함유된 아미노산 서열을 포함하고, LCVR은 표 11에 열거된 LC 아미노산 서열 내에 함유된 아미노산 서열을 포함한다. 본 개시의 이러한 양태에 따른 특정 구현예에서, 핵산 분자는 HCVR 및 LCVR을 암호화하되, HCVR 및 LCVR 둘 모두는 표 11에 열거된 동일한 항-Ps1 항체로부터 유래된다.
- [0284] 본 개시는 또한, 항-Ps1 항체의 중쇄 또는 경쇄 가변 영역을 포함하는 폴리펩티드를 발현할 수 있는 재조합 발현 벡터를 제공한다. 예를 들어, 본 개시는 전술한 핵산 분자 중 어느 하나, 즉 표 11에 제시된 바와 같은 HC 및 LC 내에 함유된 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 재조합 발현 벡터를 포함한다. 본 개시의 범주에는, 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포뿐만 아니라, 항체 또는 항체 단편의 생산을 가능하게 하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양하고 그렇게 생산된 항체 및 항체 단편을 회수함으로써 항체 또는 이의 일부분을 생산하는 방법도 포함된다.
- [0285] 본 개시는 변형된 글리코실화 패턴을 갖는 항-Ps1 항체를 포함한다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 항체 의존적 세포 독성(ADCC) 기능을 증가시키기 위해 바람직하지 않은 글리코실화 부위를 제거하는 변형이 유용하거나, 올리고당 사슬에 존재하는 푸코오스 모이어티가 결여된 항체가 유용할 수 있다(Shield 외, JBC 277:26733(2002) 참조). 다른 응용예에서, 보체 의존적 세포독성(CDC)을 변형시키기 위해 갈락토실화 변형이 이루어질 수 있다.
- [0286] **C. 바이러스 표적 항원**
- [0287] 또 다른 양태에서, 본 개시는 바이러스 표적 항원에 결합하는 결합 분자, 예를 들어, 항체 및 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 표적화될 수 있는 예시적인 바이러스는, 인플루엔자 바이러스, 천연두 바이러스, 간염 바이러스(예를 들어, A형 간염, B형 간염, 또는 C형 간염 바이러스), 인간 유두종 바이러스, 인간 면역결핍 바이러스

(HIV), 호흡기 세포융합 바이러스(RSV), 헤르페스 바이러스, 코로나 바이러스, 수두 바이러스, 콕사키 바이러스, 에볼라 바이러스, 엠스타인-바 바이러스, 홍역 바이러스, 유행성 이하선염 바이러스, 풍진 바이러스, 로타 바이러스, 광견병 바이러스, 황열병 바이러스, 수막염, 소아마비 바이러스, 로타 바이러스, 수두 대상포진 바이러스, 바리올라 바이러스, 및 지카 바이러스를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 표적 항원은 바이러스 당단백질이다.

[0288] 일부 구현예에서, 본 개시는 인플루엔자 바이러스 표적 항원에 결합하는 항체 및 이의 항원 결합 단편(예를 들어, 인플루엔자 바이러스 표적 항원에 대한 단일 특이적 항체)을 제공한다. 구현예에서, 인플루엔자 바이러스 항원은 인플루엔자 A, 인플루엔자 B, 인플루엔자 C, 및 인플루엔자 D를 포함하지만 이에 한정되지 않는 인간에서 감염을 유발하는 종이다. 구현예에서, 인플루엔자 바이러스 표적 항원은 인플루엔자 HA, 다른 인플루엔자 바이러스 표적 항원, 또는 이들의 조합을 포함한다. 항원의 구현예는 Genbank 수탁 번호 제AAP34324호에 나타난 바와 같은 아미노산을 포함한다. H1N1 Ecto foldon-foldon-Bir-His6으로 식별된 인플루엔자 HA 항원의 아미노산 서열의 예는 서열번호: 81의 아미노산 서열을 갖는 Tyr(Y)에 대한 Phe(F)의 위치 108에서 아미노산 치환을 갖는 Genbank 제AAP34324호의 아미노산 1 내지 519이다. 예시적인 항-HA 항체는 공개번호 제2016/0176953호를 갖는 미국 특허 제14/974361호에 기술되어 있다.

[0289] 본 개시의 항-인플루엔자 HA 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 감염원과 같은 특정 표적 세포 유형에 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자에 포함될 수 있다. 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 IC50으로 인플루엔자 HA에 결합한다.

[0290] 본 개시의 예시적인 항-인플루엔자 HA 항체는 표 7 및 표 8에 열거되어 있다. 표 7은 예시적인 항-인플루엔자 HA 항체의 중쇄 가변 영역(HCVR) 및 경쇄 가변 영역(LCVR)뿐만 아니라, 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3) 및 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)의 아미노산 서열 식별자를 제시한다. 표 8은 예시적인 항-인플루엔자 HA 항체의 HCVR, LCVR, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 암호화하는 핵산 분자의 서열 식별자를 제시한다.

[0291] 본 개시는 서열번호: 42의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR 내에 함유된 중쇄 가변 영역(HCVR) CDR; 및 서열번호: 10의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR 내에 함유된 경쇄 가변 영역(LCVR) CDR을 포함하는, 인플루엔자 HA에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0292] 본 개시는 또한 표 7에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나와 쌍을 이루는 표 7에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 HCVR 및 LCVR 쌍(HCVR/LCVR)을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에 따르면, 본 개시는 표 7에 열거된 예시적인 항-인플루엔자 HA 항체 중 어느 하나에 함유된 HCDR/LCDR 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, HCVR/LCVR 쌍은 서열번호: 42/10의 아미노산 서열을 포함한다.

[0293] 본 개시는 또한 표 7에 열거된 HCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1)을 포함하는 인플루엔자 HA에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0294] 본 개시는 또한 표 7에 열거된 HCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2)를 포함하는 인간 인플루엔자 HA에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0295] 본 개시는 또한 표 7에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는 인플루엔자 HA에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0296] 본 개시는 또한 표 7에 열거된 LCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR1(LCDR1)을 포함하는 인플루엔자 HA에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0297] 본 개시는 또한 표 7에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해

적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함하는 인플루엔자 HA에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0298] 본 개시는 또한 표 7에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나와 쌍을 이룬 표 7에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 HCDR3 및 LCDR3 쌍(HCDR3/LCDR3)을 포함하는 인플루엔자 HA에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에 따르면, 본 개시는 표 7에 열거된 예시적인 항-인플루엔자 HA 항체 중 어느 하나에 함유된 HCDR3/LCDR3 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, 인플루엔자 HA에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인은 서열번호: 48/16의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3/LCDR3 쌍을 포함한다.

[0299] 본 개시는 또한 서열번호: 44의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1); 서열번호: 46의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2); 및 서열번호: 48의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는 인플루엔자 HA에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 구현예에서, 인플루엔자 HA에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인 D1은, 서열번호: 12의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1); 서열번호: 14의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2); 및 서열번호: 16의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)를 포함한다.

[0300] 인플루엔자 HA에 결합하는 특징적인 비제한적이고 예시적인 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 각각 6개의 CDR, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3의 세트를 포함하며, 이 세트는 서열번호: 44/46/48/12/14/16의 아미노산 서열을 포함한다.

[0301] 또 다른 양태에서, 본 개시는, 본원의 표 8에 제시된 바와 같은 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자 및 표 2 및 표 8에 제시된 바와 같은 폴리뉴클레오티드 서열의 2개 이상을 포함하는 핵산 분자를 포함하는 인플루엔자 HA에 결합하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 HCVR, LCVR 또는 CDR 서열 중 어느 하나를 이들의 임의의 기능적 조합 또는 배열로 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 항체의 생산을 허용하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양하고, 생성된 항체를 회수함으로써 항체를 생산하는 방법과 마찬가지로, 본 개시의 핵산을 운반하는 재조합 발현 벡터, 및 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포 또한 본 개시에 포함된다.

[0302] 본 개시는 또한 항-인플루엔자 HA 항체 또는 이의 일부를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들어, 본 개시는 표 7에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 8에 열거된 HCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0303] 본 개시는 또한, 표 7에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 8에 열거된 LCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0304] 본 개시는 또한, 표 7에 열거된 HCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 8에 열거된 HCDR1 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0305] 본 개시는 또한, 표 7에 열거된 HCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 8에 열거된 HCDR2 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0306] 본 개시는 또한, 표 7에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정

구현예에서, 핵산 분자는 표 8에 열거된 HCDR3 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0307] 본 개시는 또한, 표 7에 열거된 LCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 8에 열거된 LCDR1 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0308] 본 개시는 또한, 표 7에 열거된 LCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 8에 열거된 LCDR2 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0309] 본 개시는 또한, 표 7에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 8에 열거된 LCDR3 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0310] 본 개시는 또한, HCVR을 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 HCVR은 3개의 CDR 세트(즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3)를 포함하되, HCDR1-HCDR2-HCDR3 세트는 표 7에 열거된 예시적인 항-인플루엔자 HA 항체 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같다.

[0311] 본 개시는 또한, LCVR을 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 LCVR은 3개의 CDR 세트(즉, LCDR1-LCDR2-LCDR3)를 포함하고, LCDR1-LCDR2-LCDR3 세트는 표 7에 열거된 예시적인 항-인플루엔자 HA 항체 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같다.

[0312] 본 개시는 또한 HCVR 및 LCVR 둘 모두를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 HCVR은 표 7에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고, LCVR은 표 7에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 8에 열거된 HCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열, 및 표 8에 열거된 LCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함한다. 본 개시의 이러한 양태에 따른 특정 구현예에서, 핵산 분자는 HCVR 및 LCVR을 암호화하되, HCVR 및 LCVR 둘 모두는 표 7에 열거된 동일한 항-인플루엔자 HA 항체로부터 유래된다.

[0313] 본 개시는 또한, 항-인플루엔자 HA 항체의 중쇄 또는 경쇄 가변 영역을 포함하는 폴리펩티드를 발현할 수 있는 재조합 발현 벡터를 제공한다. 예를 들어, 본 개시는 전술한 핵산 분자 중 어느 하나, 즉 표 7에 제시된 바와 같은 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 재조합 발현 벡터를 포함한다. 본 개시의 범주에는, 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포뿐만 아니라, 항체 또는 항체 단편의 생산을 가능하게 하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양하고 그렇게 생산된 항체 및 항체 단편을 회수함으로써 항체 또는 이의 일부분을 생산하는 방법도 포함된다.

[0314] 본 개시는 변형된 글리코실화 패턴을 갖는 항-인플루엔자 HA 항체를 포함한다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 항체 의존적 세포 독성(ADCC) 기능을 증가시키기 위해 바람직하지 않은 글리코실화 부위를 제거하는 변형이 유용하거나, 올리고당 사슬에 존재하는 푸코오스 모이어티가 결여된 항체가 유용할 수 있다(Shield 외, JBC 277:26733(2002) 참조). 다른 응용예에서, 보체 의존적 세포독성(CDC)을 변형시키기 위해 갈락토실화 변형이 이루어질 수 있다.

[0315] D. 암 세포 표적 항원

[0316] 다른 양태에서, 본 개시는 암 세포 표면 항원에 결합하는 결합 분자, 예를 들어, 항체 및 이의 항원 결합 단편(예를 들어, 암 세포 표면 표적 항원에 대한 단일 특이적 항체)을 제공한다. 구현예에서, 암 세포 표면 표적 항원은 CD20, 종양-특이적 항원과 같은 다른 암 세포 표면 표적 항원, 또는 이들의 조합을 포함한다. 항원의 구현예는 Genbank 제NP_690605호에 나타난 바와 같은 아미노산을 포함한다.

- [0317] 예시적인 항-CD20 항체는 미국 특허 제9,657,102호, 미국 공개 제2015/0266966호, 및 미국 공개 제2018/0194841호에 기술되어 있으며, 이는 본원에 참조로서 포함된다. 일 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 CD20에 특이적으로 결합한다. 본 개시의 항-CD20 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 감염원과 같은 특정 표적 세포 유형에 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자에 포함될 수 있다. 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 IC₅₀으로 CD20에 결합한다.
- [0318] 본 개시의 예시적인 항-CD20 항체는 표 5 및 표 6에 열거되어 있다. 표 5는 예시적인 항-CD20 항체의 중쇄 가변 영역(HCVR) 및 경쇄 가변 영역(LCVR)뿐만 아니라, 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3) 및 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)의 아미노산 서열 식별자를 제시한다. 표 6는 예시적인 항-CD20 항체의 HCVR, LCVR, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 암호화하는 핵산 분자의 서열 식별자를 제시한다.
- [0319] 본 개시는 서열번호: 34의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR 내에 함유된 중쇄 가변 영역(HCVR) CDR; 및 서열번호: 10의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR 내에 함유된 경쇄 가변 영역(LCVR) CDR을 포함하는, CD20에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0320] 본 개시는 또한 표 5에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나와 쌍을 이루는 표 5에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 HCVR 및 LCVR 쌍(HCVR/LCVR)을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에 따르면, 본 개시는 표 5에 열거된 예시적인 항-CD20 항체 중 어느 하나에 함유된 HCDR/LCDR 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, HCVR/LCVR 쌍은 서열번호: 34/10의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0321] 본 개시는 또한 표 5에 열거된 HCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1)을 포함하는 CD20에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0322] 본 개시는 또한 표 5에 열거된 HCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2)를 포함하는 인간 CD20에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0323] 본 개시는 또한 표 5에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는 CD20에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0324] 본 개시는 또한 표 5에 열거된 LCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR1(LCDR1)을 포함하는 CD20에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0325] 본 개시는 또한 표 5에 열거된 LCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR2(LCDR2)를 포함하는 CD20에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0326] 본 개시는 또한 표 5에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함하는 CD20에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0327] 본 개시는 또한 표 5에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나와 쌍을 이루는 표 5에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 HCDR3 및 LCDR3 쌍(HCDR3/LCDR3)을 포함하는 CD20에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에 따르면, 본 개시는 표 5에 열거된 예시적인 항-CD20 항체 중 어느 하나에 함유된 HCDR3/LCDR3 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, CD20에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인은 서열번호: 40/16의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3/LCDR3 쌍을 포함한다.
- [0328] 본 개시는 또한 서열번호: 36의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적

어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1); 서열번호: 38의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2); 및 서열번호: 40의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는 CD20에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 구현예에서, CD20에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인 D1은, 서열번호: 12의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1); 서열번호: 14의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2); 및 서열번호: 16의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)를 포함한다.

- [0329] CD20에 결합하는 특징적인 비제한적이고 예시적인 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 각각 6개의 CDR, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3의 세트를 포함하며, 이 세트는 서열번호: 36/38/40/12/14/16의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0330] 또 다른 양태에서, 본 개시는, 본원의 표 6에 제시된 바와 같은 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자 및 표 2 및 표 6에 제시된 바와 같은 폴리뉴클레오티드 서열의 2개 이상을 포함하는 핵산 분자를 포함하는 CD20에 결합하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 HCVR, LCVR 또는 CDR 서열 중 어느 하나를 이들의 임의의 기능적 조합 또는 배열로 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 항체의 생산을 허용하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양하고, 생성된 항체를 회수함으로써 항체를 생산하는 방법과 마찬가지로, 본 개시의 핵산을 운반하는 재조합 발현 벡터, 및 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포 또한 본 개시에 포함된다.
- [0331] 본 개시는 또한 항-CD20 항체 또는 이의 일부를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들어, 본 개시는 표 5에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 6에 열거된 HCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0332] 본 개시는 또한, 표 5에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 6에 열거된 LCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0333] 본 개시는 또한, 표 5에 열거된 HCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 6에 열거된 HCDR1 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0334] 본 개시는 또한, 표 5에 열거된 HCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 6에 열거된 HCDR2 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0335] 본 개시는 또한, 표 5에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 6에 열거된 HCDR3 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0336] 본 개시는 또한, 표 5에 열거된 LCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 6에 열거된 LCDR1 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0337] 본 개시는 또한, 표 5에 열거된 LCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 6에 열거된 LCDR2 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

한 서열을 포함한다.

- [0338] 본 개시는 또한, 표 5에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 6에 열거된 LCDR3 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.
- [0339] 본 개시는 또한, HCVR을 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 HCVR은 3개의 CDR 세트(즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3)를 포함하되, HCDR1-HCDR2-HCDR3 세트는 표 5에 열거된 예시적인 항-CD20 항체 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같다.
- [0340] 본 개시는 또한, LCVR을 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 LCVR은 3개의 CDR 세트(즉, LCDR1-LCDR2-LCDR3)를 포함하고, LCDR1-LCDR2-LCDR3 세트는 표 5에 열거된 예시적인 항-CD20 항체 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같다.
- [0341] 본 개시는 또한 HCVR 및 LCVR 둘 모두를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 HCVR은 표 5에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고, LCVR은 표 5에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 6에 열거된 HCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열, 및 표 6에 열거된 LCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함한다. 본 개시의 이러한 양태에 따른 특정 구현예에서, 핵산 분자는 HCVR 및 LCVR을 암호화하되, HCVR 및 LCVR 둘 모두는 표 5에 열거된 동일한 항-CD20 항체로부터 유래된다.
- [0342] 본 개시는 또한, 항-CD20 항체의 중쇄 또는 경쇄 가변 영역을 포함하는 폴리펩티드를 발현할 수 있는 재조합 발현 벡터를 제공한다. 예를 들어, 본 개시는 전술한 핵산 분자 중 어느 하나, 즉 표 5에 제시된 바와 같은 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 재조합 발현 벡터를 포함한다. 본 개시의 범주에는, 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포뿐만 아니라, 항체 또는 항체 단편의 생산을 가능하게 하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양하고 그렇게 생산된 항체 및 항체 단편을 회수함으로써 항체 또는 이의 일부분을 생산하는 방법도 포함된다.
- [0343] 본 개시는 변형된 글리코실화 패턴을 갖는 항-CD20 항체를 포함한다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 항체 의존적 세포 독성(ADCC) 기능을 증가시키기 위해 바람직하지 않은 글리코실화 부위를 제거하는 변형이 유용하거나, 울리고당 사슬에 존재하는 푸코오스 모이어티가 결여된 항체가 유용할 수 있다(Shield 외, JBC 277:26733(2002) 참조). 다른 응용예에서, 보체 의존적 세포독성(CDC)을 변형시키기 위해 갈락토실화 변형이 이루어질 수 있다.
- [0344] **E. 면역 세포 표적 항원**
- [0345] 또 다른 양태에서, 본 개시는 면역 세포 상에서 발현되는 항원(예를 들어, B 세포, 수지상 세포, 과립구, 림프 세포, 단핵구, 대식세포, T 세포, 또는 홍선 세포 상에서 발현된 표적 항원)을 표적으로 하는 결합 분자, 예를 들어, 항체 및 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 결합 분자, 예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 T 세포 또는 글루코코르티코이드 유도 종양 괴사 인자 수용체(GITR)와 같은 T 세포의 하위 집합의 표면 상에서 발현되는 표적 항원에 결합한다.
- [0346] 구현예에서, 본 개시는 글루코코르티코이드 유도 종양 괴사 인자 수용체에 결합하는 항체 및 이의 항원 결합 단편(예를 들어, 종양 괴사 인자 수용체 항원에 대한 단일 특이적 항체)을 제공한다. 항원의 구현예는 Genbank 제 NP_683700호에 나타난 바와 같은 아미노산을 포함한다. hGITR.mmm으로서 식별된 GITR의 또 다른 구현예는 서열 번호: 82에 나타난 수탁 번호 제NP_683700호의 서열의 위치 162에서 Pro(P)에 대한 위치 26에서의 아미노산 Gln(Q) 및 서열번호: 82의 아미노산 136 내지 165의 mmh 도메인을 갖는다. 구현예에서, 종양 괴사 인자 수용체 항원은 글루코코르티코이드 유도 TNFR-관련 유전자(“ 다른 종양 괴사 인자 수용체 표적 항원 또는 T 세포의 표면 상의 항원, 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0347] 예시적인 항-GITR 항체는 US2017/0355774호를 갖는 미국 특허 제15/619068호에 기술되어 있으며, 이는 본원에 참조로서 통합된다. 본 개시의 항-GITR 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 감염원과 같은 특정 표적 세포 유형에 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자에 포함될 수 있다. 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM

이하의 IC₅₀으로 GITR에 결합한다.

- [0348] 본 개시의 예시적인 항-GITR 항체는 표 9 및 표 10에 열거되어 있다. 표 9는 예시적인 항-GITR 항체의 중쇄 가변 영역(HCVR) 및 경쇄 가변 영역(LCVR)뿐만 아니라, 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3) 및 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)의 아미노산 서열 식별자를 제시한다. 표 10은 예시적인 항-GITR 항체의 HCVR, LCVR, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 암호화하는 핵산 분자의 서열 식별자를 제시한다.
- [0349] 본 개시는 서열번호: 50의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR 내에 함유된 중쇄 가변 영역(HCVR) CDR; 및 서열번호: 10의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR 내에 함유된 경쇄 가변 영역(LCVR) CDR을 포함하는, GITR에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0350] 본 개시는 또한 표 9에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나와 쌍을 이루는 표 9에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 HCVR 및 LCVR 쌍(HCVR/LCVR)을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에 따르면, 본 개시는 표 9에 열거된 예시적인 항-GITR 항체 중 어느 하나에 함유된 HCDR/LCDR 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, HCVR/LCVR 쌍은 서열번호: 50/10의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0351] 본 개시는 또한 표 9에 열거된 HCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1)을 포함하는 GITR에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0352] 본 개시는 또한 표 9에 열거된 HCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2)를 포함하는 인간 GITR에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0353] 본 개시는 또한 표 9에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는 GITR에 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0354] 본 개시는 또한 표 9에 열거된 LCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR1(LCDR1)을 포함하는 GITR에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0355] 본 개시는 또한 표 9에 열거된 LCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR2(LCDR2)를 포함하는 GITR에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0356] 본 개시는 또한 표 9에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는, 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함하는 GITR에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0357] 본 개시는 또한 표 9에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나와 쌍을 이루는 표 9에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 HCDR3 및 LCDR3 쌍(HCDR3/LCDR3)을 포함하는 GITR에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에 따르면, 본 개시는 표 9에 열거된 예시적인 항-GITR 항체 중 어느 하나에 함유된 HCDR3/LCDR3 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, GITR에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인은 서열번호: 56/16의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3/LCDR3 쌍을 포함한다.
- [0358] 본 개시는 또한 서열번호: 52의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1); 서열번호: 54의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2); 및 서열번호: 56의 아미노산 서열, 또는 이에 대해

적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는 GITR에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 구현예에서, GITR에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인 D1은, 서열번호: 12의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1); 서열번호: 14의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2); 및 서열번호: 16의 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)를 포함한다.

[0359] GITR에 결합하는 특징적인 비제한적이고 예시적인 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 각각 6개의 CDR, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3의 세트를 포함하며, 이 세트는 서열번호: 52/54/56/12/14/16의 아미노산 서열을 포함한다.

[0360] 또 다른 양태에서, 본 개시는, 본원의 표 10에 제시된 바와 같은 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자 및 표 2 및 표 10에 제시된 바와 같은 폴리뉴클레오티드 서열의 2개 이상을 포함하는 핵산 분자를 포함하는 GITR에 결합하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 HCVR, LCVR 또는 CDR 서열 중 어느 하나를 이들의 임의의 기능적 조합 또는 배열로 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 항체의 생산을 허용하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양하고, 생성된 항체를 회수함으로써 항체를 생산하는 방법과 마찬가지로, 본 개시의 핵산을 운반하는 재조합 발현 벡터, 및 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포 또한 본 개시에 포함된다.

[0361] 본 개시는 또한 항-GITR 항체 또는 이의 일부를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들어, 본 개시는 표 9에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 10에 열거된 HCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0362] 본 개시는 또한, 표 9에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 10에 열거된 LCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0363] 본 개시는 또한, 표 9에 열거된 HCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 10에 열거된 HCDR1 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0364] 본 개시는 또한, 표 9에 열거된 HCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 10에 열거된 HCDR2 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0365] 본 개시는 또한, 표 9에 열거된 HCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 10에 열거된 HCDR3 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0366] 본 개시는 또한, 표 9에 열거된 LCDR1 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 10에 열거된 LCDR1 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0367] 본 개시는 또한, 표 9에 열거된 LCDR2 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 10에 열거된 LCDR2 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0368] 본 개시는 또한, 표 9에 열거된 LCDR3 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 10에 열거된 LCDR3 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열,

또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0369] 본 개시는 또한, HCVR을 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 HCVR은 3개의 CDR 세트(즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3)를 포함하되, HCDR1-HCDR2-HCDR3 세트는 표 9에 열거된 예시적인 항-GITR 항체 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같다.

[0370] 본 개시는 또한, LCVR을 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 LCVR은 3개의 CDR 세트(즉, LCDR1-LCDR2-LCDR3)를 포함하고, LCDR1-LCDR2-LCDR3 세트는 표 9에 열거된 예시적인 항-GITR 항체 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같다.

[0371] 본 개시는 또한 HCVR 및 LCVR 둘 모두를 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 여기에서 HCVR은 표 9에 열거된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고, LCVR은 표 9에 열거된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 10에 열거된 HCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열, 및 표 10에 열거된 LCVR 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함한다. 본 개시의 이러한 양태에 따른 특정 구현예에서, 핵산 분자는 HCVR 및 LCVR을 암호화하되, HCVR 및 LCVR 둘 모두는 표 9에 열거된 동일한 항-GITR 항체로부터 유래된다.

[0372] 본 개시는 또한, 항-GITR 항체의 중쇄 또는 경쇄 가변 영역을 포함하는 폴리펩티드를 발현할 수 있는 재조합 발현 벡터를 제공한다. 예를 들어, 본 개시는 전술한 핵산 분자 중 어느 하나, 즉 표 9에 제시된 바와 같은 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 재조합 발현 벡터를 포함한다. 본 개시의 범주에는, 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포뿐만 아니라, 항체 또는 항체 단편의 생산을 가능하게 하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양하고 그렇게 생산된 항체 및 항체 단편을 회수함으로써 항체 또는 이의 일부분을 생산하는 방법도 포함된다.

[0373] 본 개시는 변형된 글리코실화 패턴을 갖는 항-GITR 항체를 포함한다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 항체 의존적 세포 독성(ADCC) 기능을 증가시키기 위해 바람직하지 않은 글리코실화 부위를 제거하는 변형이 유용하거나, 올리고당 사슬에 존재하는 푸코오스 모이어티가 결여된 항체가 유용할 수 있다(Shield 외, JBC 277:26733(2002) 참조). 다른 응용예에서, 보체 의존적 세포독성(CDC)을 변형시키기 위해 갈락토실화 변형이 이루어질 수 있다.

[0374] 또 다른 양태에서, 본 개시는 항원 수용체-발현 세포, 예를 들어, B 세포 또는 T 세포에 결합하는 결합 분자를 제공한다. 일부 구현예에서, 표적 항원은 B-세포 상의 B-세포 수용체(BCR)이고, 항원 결합 도메인은 BCR에 의해 인식되거나 BCR에 대해 친화도를 갖는 결합 분자(예를 들어, B-세포 수용체에 결합하는 리간드 또는 B-세포 수용체에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편)를 포함한다. 구현예에서, 표적 항원은 T 세포 상의 T 세포 수용체이고, 항원 결합 도메인은 TCR에 의해 인식되거나 TCR에 대해 친화도를 갖는 결합 분자(예를 들어, 단쇄 펩티드-β2M-MHC-I 삼량체; fos:jun 류신 지퍼를 포함하지만 이에 한정되지 않는 도메인에 의해 이중이량체화된 단쇄 펩티드-MHC-II α/MHC-II β 다량체; 또는 fos:jun 류신 지퍼를 포함하지만 이에 한정되지 않는 도메인에 의해 이중이량체화된 단쇄 펩티드-MHC-II β/MHC-II α 다량체와 같지만 이에 한정되지 않음)를 포함한다. 단쇄 펩티드-MHC 분자 및 이를 생성하는 방법은, 예를 들어, Kotsiou 외, Antiox Redox Signal. 15(3):645-66(2011), 및 Wen 외, Methods Mol Biol. 1061:245-264(2013)에 기술되어 있다.

[0375] IV. 이중 특이적 항원 결합 분자

[0376] 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자는 2개의 별도 항원 결합 도메인(D1 및 D2)을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인(D1)은 표적 항원, 예를 들어, 세포 또는 유기체 또는 표적 항원 또는 가용성 표적 항원의 표면 상에서 발현되거나 이에 결합하는 표적 항원에 특이적으로 결합하고, 제2 항원 결합 도메인(D2)은 보체 성분, 예를 들어, C1q에 결합한다. 일부 구현예에서, 표적 항원은 제거를 위해 표적화될 세포의 표면 상에서 발현된다. 일부 구현예에서, 표적 항원은 제거를 위해 표적화될 가용성 항원이다.

[0377] 일부 구현예에서, 하나의 항원 결합 도메인(D1)은 세포 또는 유기체의 표면 상의 표적 항원에 특이적으로 결합하며(여기에서 표적 항원은 대상체의 질환 상태의 마커임), 제2 항원 결합 도메인(D2)은 보체 성분, 예를 들어 C1q에 결합한다. 예를 들어, 하나의 항원 결합 도메인(D1)은 박테리아의 표면 상, 바이러스의 표면 상, 바이러스 감염 세포의 표면 상, 암 세포의 표면 상, 또는 면역 세포의 표면 상의 표적 항원에 특이적으로 결합하고,

제2 항원 결합 도메인(D2)은 보체 성분, 예를 들어, C1q에 결합한다. 예를 들어, 하나의 항원 결합 도메인(D1)은 *스타필로코커스* 종 표적 항원(예를 들어, IsdB, IsdA, 단백질 A, PNAG, ClfA), 인플루엔자 바이러스 표적 항원(예를 들어, 인플루엔자 HA), *슈도모나스* 종 표적 항원(예를 들어, PsI), 종양 괴사 인자 수용체 항원(예를 들어, GTR), 또는 암 세포 표면 항원(예를 들어, CD20)에 특이적으로 결합하고, 제2 항원 결합 도메인(D2)은 보체 성분, 예를 들어, C1q에 결합한다. 일부 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 전술한 섹션 III에 개시된 바와 같은 표적 항원 결합 항체 및 전술한 섹션 II에 개시된 바와 같은 항-보체 항체를 포함한다.

[0378] 일부 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인은 박테리아 표적 항원에 특이적으로 결합한다. 구현예에서, 박테리아 표적 항원은 *스타필로코커스* 종으로부터 유래한다. 구현예에서, 박테리아 표적 항원은 *스타필로코커스* 종 이외의 박테리아 종으로부터 유래한다. 구현예에서, 박테리아 표적 항원은 그람 양성 박테리아 표적 항원이다. 구현예에서, 박테리아 표적 항원은 *스타필로코커스* 종 이외의 박테리아 종으로부터 유래된 그람 양성 박테리아 표적 항원이다. 구현예에서, 박테리아 표적 항원은 그람 음성 박테리아 표적 항원이다.

[0379] 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인은 *스타필로코커스* 종 표적 항원에 결합한다(예를 들어, 제1 항원 결합 도메인은 *스타필로코커스* 종 표적 항원에 결합하는 단일 특이적 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다). 구현예에서, *스타필로코커스* 종은 인간에서 감염을 유발하는 종이다. 구현예에서, *스타필로코커스* 종은, *스타필로코커스 에피테르미디스*, *스타필로코커스 아우레우스*, *스타필로코커스 루그두넨시스* 및/또는 *스타필로코커스 사프로피티쿠스*를 포함한다. 구현예에서, *스타필로코커스* 종 표적 항원은 관절낭 다당류 5형, 관절낭 다당류 8형, IsdB, IsdA, IsdH, 리포테이코산, 벽 테이코산, 응집 인자 A(ClfA), 폴리-N-아세틸 글루코사민(PNAG), 리파아제, V8 리파아제, 지방산 변형 효소, 접착제 매트릭스 분자를 인식하는 미생물 표면 성분(예를 들어, 아데신, 피브리노겐 결합 분자, 피브로넥틴 결합 단백질 A, 피브로넥틴 결합 단백질 B), 단백질 A, 또는 이들의 조합을 포함한다. 특정 구현예에서, *스타필로코커스* 종 표적 항원은 IsdB, IsdA, 단백질 A, PNAG, 또는 ClfA이다.

[0380] 일부 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인은 *스타필로코커스* 이외의 박테리아의 표적 항원에 결합한다. 구현예에서, 표적 항원은 관절낭 다당류 5형, 관절낭 다당류 8형, IsdB, IsdA, IsdH, 리포테이코산, 벽 테이코산, 응집 인자 A(ClfA), 폴리-N-아세틸 글루코사민(PNAG), 리파아제, V8 리파아제, 지방산 변형 효소, 접착제 매트릭스 분자를 인식하는 미생물 표면 성분(예를 들어, 아데신, 피브리노겐 결합 분자, 피브로넥틴 결합 단백질 A, 피브로넥틴 결합 단백질 B), 단백질 A, 또는 이들의 조합을 포함하되, 표적 항원은 *스타필로코커스* 종으로부터 유래하지 않는다.

[0381] 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인은 그람 음성 박테리아 종으로부터의 표적 항원에 결합한다. 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인은 *슈도모나스* 종 표적 항원에 결합한다(예를 들어, 제1 항원 결합 도메인은 *슈도모나스* 종 표적 항원에 결합하는 단일 특이적 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다). 구현예에서, *스타필로코커스* 종은 인간에서 감염을 유발하는 종이다. 특정 구현예에서, *슈도모나스* 종 표적 항원은 PsI이다.

[0382] 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인은 바이러스 표적 항원, 예를 들어, 바이러스 당단백질에 결합한다. 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인은, 인플루엔자 바이러스, 천연두 바이러스, 간염 바이러스(예를 들어, A형 간염, B형 간염, 또는 C형 간염 바이러스), 인간 유두종 바이러스, 인간 면역결핍 바이러스(HIV), 호흡기 세포융합 바이러스(RSV), 헤르페스 바이러스, 코로나 바이러스, 수두 바이러스, 콕사키 바이러스, 에볼라 바이러스, 엡스타인-바 바이러스, 홍역 바이러스, 유행성 이하선염 바이러스, 풍진 바이러스, 로타 바이러스, 광견병 바이러스, 황열병 바이러스, 수막염, 소아마비 바이러스, 로타 바이러스, 수두 대상포진 바이러스, 마리올라 바이러스, 및 지카 바이러스로 이루어진 군으로부터 선택되는 바이러스로부터의 바이러스 표적 항원에 결합한다.

[0383] 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인은 인플루엔자 바이러스 표적 항원에 결합한다(예를 들어, 제1 항원 결합 도메인은 인플루엔자 바이러스 표적 항원에 결합하는 단일 특이적 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다). 구현예에서, 인플루엔자 바이러스는 인간에서 감염을 유발하는 바이러스이다. 특정 구현예에서, 인플루엔자 바이러스 표적 항원은 인플루엔자 HA이다.

[0384] 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인은 진핵 세포 또는 유기체 상에 존재하는 표적 항원, 예를 들어 진핵 세포 또는 가용성 표적 항원의 표면 상의 표적 항원에 결합한다. 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인은 제거를 위해 표적화된 면역 세포 상의 표적 항원, 예를 들어, B 세포, 수지상 세포, 과립구, 림프 세포, 단핵구, 대식세포, T 세포, 또는 흉선 세포에 결합한다. 구현예에서, 표적 항원은 B-세포 상의 B-세포 수용체이고, 제1 항원 결합 도메인은 B-세포 수용체(예를 들어, B-세포 수용체에 결합하는 리간드 또는 B-세포 수용체에 결합하는 항체)에 결합한다. 구현예에서, 표적 항원은 T 세포 상의 T 세포 수용체이고, 제1 항원 결합 도메인은 T-세포 수용체(예를 들어, 단백질 펩티드-β2M-MHC-I 삼량체; fos:jun 류신 지퍼를 포함하지만 이에 한정되지 않는 도메인에 의해 이

중이량체화된 펩티드-MHC-II α /MHC-II β ; 또는 fos:jun 류신 지퍼를 포함하지만 이에 한정되지 않는 도메인에 의해 이중이량체화된 펩티드-MHC-II β /MHC-II α 와 같은 T-세포 수용체에 결합하는 펩티드-MHC 융합 단백질 또는 복합체)에 결합한다.

[0385] 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인은 글루코코르티코이드 유도 종양 괴사 인자 수용체 표적 항원에 결합한다(예를 들어, 제1 항원 결합 도메인은 종양 괴사 인자 수용체 표적 항원에 결합하는 단일 특이적 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다). 특정 구현예에서, 종양 괴사 인자 수용체 표적 항원은 GITR이다.

[0386] 구현예에서, 제1 항원 결합 도메인은 암 세포 표면 표적 항원에 결합한다(예를 들어, 제1 항원 결합 도메인은 B-세포 표면 표적 항원에 결합하는 단일 특이적 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다). 특정 구현예에서, B-세포 표면 표적 항원은 CD20이다.

[0387] 구현예에서, 제2 항원 결합 도메인(D2)은 보체 성분 중 어느 하나에 결합한다. 보체 성분은 C1q, C1r, C1s, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, 또는 이의 임의의 단편(보체 캐스케이드에 의해 생성된 단백질분해 단편을 포함함)을 포함한다. 특정 구현예에서, 보체 성분은 C1q, 예를 들어, 인간 C1q이다. 보체는 일련의 단백질 분해 단계를 통해 활성화되며, 이는 3가지의 주요 경로: 면역 복합체에 의해 대체적으로 활성화되는 고전적 경로(CP), 보호되지 않은 세포 표면에 의해 유도될 수 있는 대체 경로(AP), 및 만노오스 결합 력틴(MBL) 경로에 의해 활성화된다. 고전적 경로는 IgM 및 IgG의 Fc 영역에 대한 C1q/r₂/s₂ 결합 또는 병원균 표면에 대한 직접 결합에 의해 개시되어, 세린 프로테아제 C1s를 활성화시키는 세린 프로테아제 C1r의 자가활성화를 유도하고, 이는 차례로 C2 및 C4를 절단/활성화시키고, 이어서 C3 및 C5의 절단으로 이어지며, C5b는 C6, C7, C8, 및 C9과 결합하여 막 공격 복합체(MAC)를 형성하고, 이는 세포 용해를 초래한다.

[0388] 항원 결합 도메인은, 스타필로코커스 종 표적 항원(예를 들어, IsdB, IsdA, 단백질 A, PNAG, ClfA), 인플루엔자 바이러스 표적 항원(예를 들어, 인플루엔자 HA), 슈도노마스 종 표적 항원(예를 들어, Psl), 종양 괴사 인자 수용체 항원(예를 들어, GITR), 또는 B-세포 표면 항원(예를 들어, CD20)(예를 들어, 표적 분자 [T] 또는 이의 일부)과, 표면 플라스몬 공명 분석으로 측정되는 바, 약 25 nM, 약 20 nM 미만, 약 15 nM 미만, 약 10 nM 미만, 약 5 nM 미만, 약 1 nM 미만, 약 500 pM 미만, 약 400 pM 미만, 약 300 pM 미만, 약 200 pM 미만, 약 100 pM 미만, 약 90 pM 미만, 약 80 pM 미만, 약 70 pM 미만, 약 60 pM 미만, 약 50 pM 미만, 약 40 pM 미만, 약 30 pM 미만, 약 20 pM 미만, 약 10 pM 미만, 약 5 pM 미만, 약 4 pM 미만, 약 2 pM 미만, 약 1 pM 미만, 약 0.5 pM 미만, 약 0.2 pM 미만, 약 0.1 pM 미만, 또는 약 0.05 pM 미만의 K_D로 결합하는 폴리펩티드를 포함한다. 구현예에서, 항원 결합 도메인은, 표면 플라스몬 공명 분석으로 측정되는 바, 약 5 nM 미만, 약 1 nM 미만, 약 500 pM 미만, 약 400 pM 미만, 약 300 pM 미만, 약 200 pM 미만, 약 100 pM 미만, 약 90 pM 미만, 약 80 pM 미만, 약 70 pM 미만, 약 60 pM 미만, 약 50 pM 미만, 약 40 pM 미만, 약 30 pM 미만, 약 20 pM 미만, 약 10 pM 미만, 약 5 pM 미만, 약 4 pM 미만, 약 2 pM 미만, 약 1 pM 미만, 약 0.5 pM 미만, 약 0.2 pM 미만, 약 0.1 pM 미만, 또는 약 0.05 pM 미만의 K_D로 IsdB와 결합하는 폴리펩티드를 포함한다.

[0389] 항원 결합 도메인은, 표면 플라스몬 공명 분석으로 측정되는 바, 약 25 nM, 약 20 nM 미만, 약 15 nM 미만, 약 10 nM 미만, 약 5 nM 미만, 약 1 nM 미만, 약 500 pM 미만, 약 400 pM 미만, 약 300 pM 미만, 약 200 pM 미만, 약 100 pM 미만, 약 90 pM 미만, 약 80 pM 미만, 약 70 pM 미만, 약 60 pM 미만, 약 50 pM 미만, 약 40 pM 미만, 약 30 pM 미만, 약 20 pM 미만, 약 10 pM 미만, 약 5 pM 미만, 약 4 pM 미만, 약 2 pM 미만, 약 1 pM 미만, 약 0.5 pM 미만, 약 0.2 pM 미만, 약 0.1 pM 미만, 또는 약 0.05 pM 미만의 K_D로 C1q와 같은 보체 성분에 결합하는 폴리펩티드를 포함한다. 구현예에서, 항원 결합 도메인은, 표면 플라스몬 공명 분석으로 측정되는 바, 약 1 nM 미만, 약 500 pM 미만, 약 400 pM 미만, 약 300 pM 미만, 약 200 pM 미만, 약 100 pM 미만, 약 90 pM 미만, 약 80 pM 미만, 약 70 pM 미만, 약 60 pM 미만, 약 50 pM 미만, 약 40 pM 미만, 약 30 pM 미만, 약 20 pM 미만, 약 10 pM 미만, 약 5 pM 미만, 약 4 pM 미만, 약 2 pM 미만, 약 1 pM 미만, 약 0.5 pM 미만, 약 0.2 pM 미만, 약 0.1 pM 미만, 또는 약 0.05 pM 미만의 K_D로 C1q와 결합하는 폴리펩티드를 포함한다.

[0390] 본 개시는, 스타필로코커스 종 표적 항원, 인플루엔자 바이러스 표적 항원, 슈도노마스 종 표적 항원, 종양 괴사 인자 수용체 항원, 또는 B-세포 표면 항원과 결합하는 면역글로불린의 한 아암(예를 들어, 제1 항원 결합 도메인, D1), 및 C1q와 같은 보체 성분에 특이적인 면역글로불린의 다른 아암(예를 들어, 제2 항원 결합 도메인, D2)을 갖는 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하되, 표적 항원은 세포 또는 유기체의 표면 상에서 발현되는 임의의 항원, 예를 들어, 박테리아 표면 상의 항원, 바이러스 표면 상의 항원, 바이러스 감염 세포의 표면 상의 항원, 진핵 세포의 표면 상의 항원, 인간 세포의 표면 상의 항원, 암 세포의 표면 상의 항원, 또는 표적화된 면

역 반응이 요구되는 면역 세포의 표면 상의 항원일 수 있다. 구현예에서, 보체 성분은 C1q, C1r, C1s, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, 또는 이의 임의의 단편(보체 캐스케이드에 의해 생성된 단백질분해 단편을 포함함)을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 보체 성분은 C1q이다. 일부 구현예에서, 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자의 D1 및/또는 D2 성분은 전체 항체 분자의 항원 결합 단편을 포함하거나 이로 이루어질 수 있다.

[0391] 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자의 맥락에서, 항체의 하나의 아암은 C1q에 결합하고 다른 아암은 *스타필로코커스* 종 표적 항원에 결합하며, 표적 항원은 세포 표면 항원일 수 있다. 특이적 표적 항원의 비제한적인 예는, 관절낭 다당류 5형, 관절낭 다당류 8형, IsdB, IsdA, IsdH, 리포테이코산, 벽 테이코산, 응집 인자 A(C1fA), 폴리-N-아세틸 글루코사민(PNAG), 리파아제, V8 리파아제, 지방산 변형 효소, 접착제 매트릭스 분자를 인식하는 미생물 표면 성분(예를 들어, 아데신, 피브리노겐 결합 분자, 피브로넥틴 결합 단백질 A, 피브로넥틴 결합 단백질 B), 단백질 A, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0392] 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자의 맥락에서, 항체의 하나의 아암은 C1q에 결합하고 다른 아암은 *스타필로코커스* 종 표적 항원에 결합하며, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 EC₅₀으로 *스타필로코커스* 종 표적 항원에 결합한다. 구현예에서, *스타필로코커스* 종은, *스타필로코커스 에피테르미디스*, *스타필로코커스 아우레우스*, *스타필로코커스 루그두넨시스* 또는 *스타필로코커스 사프로피티쿠스*를 포함한다. 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자의 맥락에서, 항체의 하나의 아암은 C1q에 결합하고 다른 아암은 *스타필로코커스* 종 표적 항원에 결합하며, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 EC₅₀으로 *스타필로코커스* 종 상에서의 인간 C1q 침착을 촉진시킨다.

[0393] 특정 예시적인 구현예에 따르면, 본 개시는 C1q 및 IsdB에 특이적으로 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함한다. 특정 예시적인 구현예에 따르면, 본 개시는 C1q 및 IsdA에 특이적으로 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함한다. 특정 예시적인 구현예에 따르면, 본 개시는 C1q 및 단백질 A에 특이적으로 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함한다. 특정 예시적인 구현예에 따르면, 본 개시는 C1q 및 PNAG에 특이적으로 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함한다. 특정 예시적인 구현예에 따르면, 본 개시는 C1q 및 C1fA에 특이적으로 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함한다.

[0394] 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자의 맥락에서, 항체의 하나의 아암은 C1q에 결합하고 다른 아암은 *슈도노마스* 종 표적 항원에 결합하며, 표적 항원은 세포 표면 항원일 수 있다. 특이적 표적 항원의 비제한적인 예는 PsI을 포함하는 *슈도모나스* 종과 관련된 임의의 세포 표면 항원, 또는 이들의 조합을 포함한다. 특정 예시적인 구현예에 따르면, 본 개시는 C1q 및 PsI에 특이적으로 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함한다.

[0395] 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자의 맥락에서, 항체의 하나의 아암은 C1q에 결합하고 다른 아암은 *슈도노마스* 종 표적 항원에 결합하며, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 EC₅₀으로 *슈도노마스* 종 표적 항원에 결합한다. 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자의 맥락에서, 항체의 하나의 아암은 C1q에 결합하고 다른 아암은 *슈도노마스* 종 표적 항원에 결합하며, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 EC₅₀으로 *슈도노마스* 종 상에서의 인간 C1q 침착을 촉진시킨다.

[0396] 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자의 맥락에서, 항체의 하나의 아암은 C1q에 결합하고 다른 아암은 인플루엔자 바이러스 표적 항원에 결합하며, 표적 항원은 세포 표면 항원일 수 있다. 특이적 표적 항원의 비제한적인 예는 인플루엔자 HA를 포함하는 인플루엔자 바이러스와 관련된 임의의 세포 표면 항원, 또는 이들의 조합을 포함한다. 특정 예시적인 구현예에 따르면, 본 개시는 C1q 및 인플루엔자 HA에 특이적으로 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함한다.

[0397] 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자의 맥락에서, 항체의 하나의 아암은 C1q에 결합하고 다른 아암은 인플루엔자 바이러스 표적 항원에 결합하며, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 EC₅₀으로 인플루엔자 바이러스 표적 항원에 결합한다. 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자의 맥락에서, 항체의 하나의 아암은 C1q에 결합하고 다른 아암은 인플루엔자 바이러스 표적 항원에 결합하며, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 EC₅₀으로 인플루엔자 균주 또는 인플루엔자 감염 세포 상에서의 인간 C1q 침착을 촉진시킨다.

[0398] 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자의 맥락에서, 항체의 하나의 아암은 C1q에 결합하고 다른 아암은 글루코코르티코이드 유도 종양 괴사 인자 수용체 표적 항원에 결합하며, 표적 항원은 세포 표면 항원일 수 있다. 특이적 표적 항원의 비제한적인 예는 G1TR을 포함하는 종양 괴사 인자 수용체와 관련된 임의의 세포 표면 항원, 또는 이들의 조합을 포함한다. 특정 예시적인 구현예에 따르면, 본 개시는 C1q 및 G1TR에 특이적으로 결합하는 이

중 특이적 항원 결합 분자를 포함한다.

- [0399] 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자의 맥락에서, 항체의 하나의 아암은 C1q에 결합하고 다른 아암은 글루코 코르티코이드 유도 중앙 피사 인자 수용체 표적 항원에 결합하며, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 EC₅₀으로 글루코코르티코이드 유도 중앙 피사 인자 수용체 표적 항원에 결합한다.
- [0400] 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자의 맥락에서, 항체의 하나의 아암은 C1q에 결합하고 다른 아암은 글루코 코르티코이드 유도 중앙 피사 인자 수용체 표적 항원에 결합하며, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 EC₅₀으로 T 세포 상에서의 인간 C1q 침착을 촉진시킨다.
- [0401] 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자의 맥락에서, 항체의 하나의 아암은 C1q에 결합하고 다른 아암은 암 세포 표면 표적 항원에 결합하며, 표적 항원은 세포 표면 항원일 수 있다. 특이적 표적 항원의 비제한적인 예는 CD20 을 포함하는 암 세포와 관련된 임의의 세포 표면 항원, 또는 이들의 조합을 포함한다. 특정 예시적인 구현예에 따르면, 본 개시는 C1q 및 CD20에 특이적으로 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함한다.
- [0402] 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자의 맥락에서, 항체의 하나의 아암은 C1q에 결합하고 다른 아암은 암 세포 표면 표적 항원에 결합하며, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 EC₅₀으로 B-세포 표면 표적 항원에 결합한다. 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자의 맥락에서, 항체의 하나의 아암은 C1q에 결합하고 다른 아암 은 암 세포 표면 표적 항원에 결합하며, 이중 특이적 항원 결합 분자는 약 10 nM 이하의 EC₅₀으로 암 세포를 가 진 CD20 상에서의 인간 C1q 침착을 촉진시킨다.
- [0403] 일부 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 본원에 개시된 바와 같은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 제 1 항원 결합 도메인을 포함하고, 인간 C1q에 특이적으로 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현 예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는, 본원에 개시된 표적 항원에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인 을 포함하고, 서열번호: 4 및 서열번호: 20으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 6 및 서열번호: 22로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 서열번호: 8 및 서열번호: 24로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3, 서열번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2, 및 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하 는 LCDR3을 포함하는 제1 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는, 본원 에 개시된 표적 항원에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하고, 서열번호: 2 또는 서열번호: 18 의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR 및 서열번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는 제2 항원 결 합 도메인을 포함한다.
- [0404] 일부 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는:
- [0405] (a) 표적 항원에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하되, 제1 항원 결합 도메인은,
- [0406] (1) 서열번호: 28을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 30을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 32를 포함하는 HCDR3; 또는
- [0407] (2) 서열번호: 36을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 38을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 40을 포함하는 HCDR3; 또는
- [0408] (3) 서열번호: 44를 포함하는 HCDR1, 서열번호: 46을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 48을 포함하는 HCDR3; 또는
- [0409] (4) 서열번호: 52를 포함하는 HCDR1, 서열번호: 54를 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 56을 포함하는 HCDR3; 또는
- [0410] (5) 서열번호: 60을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 62를 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 64를 포함하는 HCDR3; 또는
- [0411] (6) 서열번호: 68을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 70을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 72를 포함하는 HCDR3; 또는
- [0412] (7) 서열번호: 73의 아미노산 26 내지 33을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 73의 아미노산 51 내지 58을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 73의 아미노산 96 내지 106을 포함하는 HCDR3; 또는
- [0413] (8) 서열번호: 76의 아미노산 27 내지 32를 포함하는 HCDR1, 서열번호: 76의 아미노산 51 내지 58을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 76의 아미노산 96 내지 106을 포함하는 HCDR3; 또는
- [0414] (9) 서열번호: 78의 아미노산 31 내지 35를 포함하는 HCDR1, 서열번호: 78의 아미노산 50 내지 65를 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 78의 아미노산 98 내지 109를 포함하는 HCDR3을 포함하는 중쇄를 포함하고;
- [0415] (b) 인간 C1q에 특이적으로 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 포함하되, 제2 항원 결합 도메인은,

- [0416] (1) 서열번호: 4를 포함하는 HCDR1, 서열번호: 6을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 8을 포함하는 HCDR3; 또는
- [0417] (2) 서열번호: 20을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 22를 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 24를 포함하는 HCDR3를 포함하는 중쇄를 포함하고;
- [0418] (c) 경쇄로서,
- [0419] (1) 서열번호: 12를 포함하는 LCDR1, 서열번호: 14를 포함하는 LCDR2, 및 서열번호: 16을 포함하는 LCDR3; 또는
- [0420] (2) 서열번호: 74의 아미노산 27 내지 32를 포함하는 LCDR1, 서열번호: 74의 아미노산 51 내지 55를 포함하는 LCDR2, 및 서열번호: 74의 아미노산 89 내지 98을 포함하는 LCDR3; 또는
- [0421] (3) 서열번호: 77의 아미노산 27 내지 32를 포함하는 LCDR1, 서열번호: 77의 아미노산 50 내지 52를 포함하는 LCDR2, 및 서열번호: 77의 아미노산 98 내지 101을 포함하는 LCDR3; 또는
- [0422] (4) 서열번호: 79의 아미노산 23 내지 33을 포함하는 LCDR1, 서열번호: 79의 아미노산 49 내지 55를 포함하는 LCDR2, 및 서열번호: 79의 아미노산 88 내지 99를 포함하는 LCDR3을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0423] 일부 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는:
- [0424] (a) 표적 항원에 특이적으로 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하되, 제1 항원 결합 도메인은 서열번호: 26, 서열번호: 34, 서열번호: 42, 서열번호: 50, 서열번호: 58, 서열번호: 66, 서열번호: 73의 아미노산 1 내지 118, 서열번호: 76의 아미노산 1 내지 118, 및 서열번호: 78의 아미노산 1 내지 118로 이루어진 군으로부터 선택된 HCVR을 포함하는 중쇄를 포함하고;
- [0425] (b) 인간 C1q 에 특이적으로 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 포함하되, 제2 항원 결합 도메인은 서열번호: 2, 서열번호: 18 및 서열번호: 75로 이루어진 군으로부터 선택된 HCVR을 포함하는 중쇄를 포함하고;
- [0426] (c) 서열번호: 10, 서열번호: 74의 아미노산 1 내지 108, 서열번호: 77의 아미노산 1 내지 108, 및 서열번호: 79의 아미노산 1 내지 108로 이루어진 군으로부터 선택된 LCVR을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0427] 일부 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 도메인은 서열번호: 4를 포함하는 HCDR1, 서열번호: 6을 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 8을 포함하는 HCDR3을 포함하는 중쇄, 및 서열번호: 12를 포함하는 LCDR1, 서열번호: 14를 포함하는 LCDR2, 및 서열번호: 16을 포함하는 LCDR3을 포함하는 경쇄를 포함하는 제2 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 도메인은 서열번호: 2를 포함하는 HCVR를 포함하는 중쇄 및 서열번호: 10을 포함하는 LCVR을 포함하는 제2 항원 결합 도메인을 포함한다.
- [0428] 일부 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 도메인은 서열번호: 20을 포함하는 HCDR1, 서열번호: 22를 포함하는 HCDR2, 및 서열번호: 24를 포함하는 HCDR3을 포함하는 중쇄, 및 서열번호: 12를 포함하는 LCDR1, 서열번호: 14를 포함하는 LCDR2, 및 서열번호: 16을 포함하는 LCDR3을 포함하는 경쇄를 포함하는 제2 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 도메인은 서열번호: 18을 포함하는 HCVR를 포함하는 중쇄 및 서열번호: 10을 포함하는 LCVR을 포함하는 제2 항원 결합 도메인을 포함한다.
- [0429] 본 개시의 특정 예시적인 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 제1 항원 결합 도메인(D1) 및 제2 항원 결합 도메인(D2)을 포함한다. 제1 항원 결합 도메인 및 제2 항원 결합 도메인은 직접적으로 또는 간접적으로 서로 연결되어 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자를 형성할 수 있다. 대안적으로, 제1 항원 결합 도메인과 제2 항원 결합 도메인은 각각 별도의 다량체화 도메인에 연결될 수 있다. 하나의 다량체화 도메인과 또 다른 다량체화 도메인을 결합시키면 2개의 항원 결합 도메인 간의 결합이 용이해져, 이중 특이적 항원 결합 분자가 형성된다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "다량체화 도메인"은 동일하거나 유사한 구조 또는 구성의 제2 다량체화 도메인과 결합하는 능력이 있는 임의의 거대분자, 단백질, 폴리펩티드, 펩티드 또는 아미노산이다. 예를 들어, 다량체화 도메인은 면역글로불린 C_H3 도메인을 포함하는 폴리펩티드일 수 있다. 다량체화 도메인의 비제한적인 예는 (C_H2-C_H3 도메인을 포함하는) 면역글로불린의 Fc 부분, 예를 들어, 이소형 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4뿐만 아니라 각 이소형 군 내의 임의의 알로타입(allo type)으로부터 선택된 IgG의 Fc 도메인이다.
- [0430] 일부 구현예에서, 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자는 일반적으로 2개의 다량체화 도메인, 예를 들어, 각각이 별개 항체 중쇄의 개별적으로 일부분인 2개의 Fc 도메인을 포함하게 된다. 제1 및 제2 다량체화 도메인은, 예를 들어, IgG1/IgG1, IgG2/IgG2, IgG4/IgG4와 같은 동일한 IgG 이소형일 수 있다. 대안적으로, 제1 및 제2 다량체화 도메인은 예를 들어, IgG1/IgG2, IgG1/IgG4, IgG2/IgG4 등과 같은 상이한 IgG 이소형일 수 있다.

- [0431] 특정 구현예에서, 다량체화 도메인은 Fc 단편 또는 적어도 하나의 시스테인 잔기를 함유하는 1개 내지 약 200개 아미노산 길이의 아미노산 서열이다. 다른 구현예에서, 다량체화 도메인은 시스테인 잔기, 또는 짧은 시스테인을 함유하는 펩티드이다. 다른 다량체화 도메인은 류신 지퍼, 나선-루프 모티프 또는 이중 코일 모티프를 포함하거나 이들로 구성된 펩티드 또는 폴리펩티드를 포함한다. 구현예에서, 다량체화 도메인은 하나의 다량체화 도메인 상에 노브를 형성하게 하는 CH3 영역에서의 아미노산 변경 및 다량체화 도메인의 쌍을 제공하는 또 다른 다량체화 도메인 상에서의 상응하는 구멍을 유발하는 CH3 영역에서의 아미노산 변경을 포함할 수 있다. 구현예에서, 아미노산 변경은 2개의 다량체화 도메인의 전하 쌍을 제공할 수 있다.
- [0432] 일부 구현예에서, 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자는 힌지 영역에서 하나 이상의 아미노산 변경을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 힌지 영역에서의 아미노산 변경(들)은 Fc γ 수용체에 대한 결합을 감소시킨다. 예시적인 변형은 본원에 참조로서 통합되는 US 제2018/0282411호에 개시되어 있다. 일부 구현예에서, 이중 특이적 항원 결합 분자는 자연 발생 잔기를 글리신(들) 및/또는 결실(들)으로 대체함으로써 EU 넘버링에 의한 위치 233 내지 236 내의 변형을 포함한다. 일부 구현예에서, EU 넘버링에 의한 위치 233 내지 236의 각각은 G에 의해 점유되거나 비점유 상태, 예를 들어, GGG-(233-236), GG--(233-236), G---(233-236), 또는 --- (233-236)이다(“-”는 비점유 상태를 나타냄). 일부 구현예에서, 변형(들)을 포함하는 중쇄 불변 영역은 인간 IgG1 이소형이다. 일부 구현예에서, 변형(들)을 포함하는 중쇄 불변 영역은 인간 IgG4 이소형이다. 일부 구현예에서, 변형(들)을 포함하는 중쇄 불변 영역은 도메인이 상이한 이소형의 하이브리드, 예를 들어, 하나 이상의 도메인(예를 들어, CH1, CH2, 또는 CH3 도메인) 및/또는 힌지 영역이 하나의 이소형인 반면 나머지 도메인은 상이한 이소형인 IgG1 및 IgG4 이소형의 하이브리드이다.
- [0433] 임의의 이중 특이적 항원 결합 분자 포맷 또는 기술을 사용하여 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자를 제조할 수 있다. 예를 들어, 항체 또는 이의 단편은 (예를 들어, 화학적 결합, 유전자 융합, 비공유 결합 또는 다른 것에 의해) 하나 이상의 다른 분자 엔티티, 예컨대, 제2 항원 결합 특이성을 갖는 또 다른 항체 또는 항체 단편에 기능적으로 연결되어 이중 특이적 항원 결합 분자를 생산할 수 있다. 본 개시의 맥락에서 사용될 수 있는 특정 예시적인 이중 특이적 포맷은, 제한 없이, 예를 들어, scFv 기반 또는 다이아바디 이중 특이적 포맷, VH 또는 VL 도메인 항체, VHH, IgG-scFv 융합, 탠덤 Fab(예를 들어, 2+2 및 3+3 탠덤 Fabs), 3가 또는 4가 포맷(예를 들어, 2+1 N-Fab 또는 2+1 C-Fab), 이중 가변 도메인(DVD)-Ig, 쿼드로마, 노브-인트루-홀, 공통 경쇄(예를 들어, 노브-인트루-홀을 갖는 공통 경쇄, 등), CrossMab, CrossFab, (SEED) 본체, 류신 지퍼, Duobody, IgG1/IgG2, 이중 작용 Fab(DAF)-IgG, VNAR 기반 나노바디, 및 Mab² 이중 특이적 포맷(예를 들어, 전술한 포맷의 검토를 위해서는, 클라인 외, MAbs 4(6): 1-11(2012); 클라인 외, MAbs 8(96): 1010-20(2016); Brinkmann 외, MAbs 9(2): 182-212(2017); 및 해당 문헌에서 인용된 참고 문헌 참조)를 포함한다.
- [0434] 명료성을 위해, 본 개시의 예시적인 이중 특이적 항체는 표 18에 요약되어 있으며, 이는 제1 항원 결합 도메인(D1, 항-IsdB)에 할당된 HCVR 및 HCDR에 대한 특정 아미노산 서열 식별자, 제2 항원 결합 도메인(D2, 항-C1q)에 할당된 HCVR 및 HCDR에 대한 아미노산 서열 식별자, 및 LCVR 및 LCDR에 할당된 아미노산 서열 식별자를 나타낸다. 각각의 항-IsdB x 항-C1q 이중 특이적 항체에 왼쪽의 첫 번째 열에 표시된 새로운 항체 식별 번호(PID)를 할당하였다.
- [0435] 예시를 위한 비제한적인 예로서, 본 개시는 D1 항원 결합 도메인 및 D2 항원 결합 도메인을 포함하는 항-IsdB x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하되, 여기에서 D1 항원 결합 도메인은 서열번호: 26/10의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍 또는 서열번호: 28-30-32-12-14-16의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 CDR(HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)의 세트를 포함하고, D2 항원 결합 도메인은 서열번호: 2/10의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍 또는 서열번호: 4-6-8-12-14-16의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 CDR(HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)의 세트를 포함한다. 이러한 서열 특성들을 갖는 예시적인 항-IsdB x 항-C1q 이중 특이적 항체는 mAb20295로부터 유래된 D1 및 mAb17736으로부터 유래된 D2를 포함하는, REGN5066으로 지정된 이중 특이적 항체이다. 이러한 서열 특성들을 갖는 다른 예시적인 항-IsdB x 항-C1q 이중 특이적 항체는 mAb20295로부터 유래된 D1 및 mAb18395로부터 유래된 D2를 포함하는, REGN5067로 지정된 이중 특이적 항체이다(본원의 표 18 참조).
- [0436] 예시를 위한 비제한적인 예로서, 본 개시는 D1 항원 결합 도메인 및 D2 항원 결합 도메인을 포함하는 항-IsdA x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하되, 여기에서 D1 항원 결합 도메인은 서열번호: 66/10의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍 또는 서열번호: 68-70-72-12-14-16의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 CDR(HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)의 세트를 포함하고, D2 항원 결합 도메인은 서열번호: 2/10의 아미

노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍 또는 서열번호: 4-6-8-12-14-16의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 CDR(HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)의 세트를 포함한다. 이러한 서열 특성들을 갖는 예시적인 항-IsdA x 항-C1q 이중 특이적 항체는 mAb20334로부터 유래된 D1 및 mAb17736으로부터 유래된 D2를 포함하는, REGN5553으로 지정된 이중 특이적 항체이다(본원의 표 18 참조).

[0437] 예시를 위한 비제한적인 예로서, 본 개시는 D1 항원 결합 도메인 및 D2 항원 결합 도메인을 포함하는 항-단백질 A x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하되, 여기에서 D1 항원 결합 도메인은 서열번호: 58/10의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍 또는 서열번호: 60-62-64-12-14-16의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 CDR(HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)의 세트를 포함하고, D2 항원 결합 도메인은 서열번호: 2/10의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍 또는 서열번호: 4-6-8-12-14-16의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 CDR(HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)의 세트를 포함한다. 이러한 서열 특성들을 갖는 예시적인 항-단백질 A x 항-C1q 이중 특이적 항체는 mAb15144로부터 유래된 D1 및 mAb17736으로부터 유래된 D2를 포함하는, REGN5551로 지정된 이중 특이적 항체이다(본원의 표 18 참조).

[0438] 예시를 위한 비제한적인 예로서, 본 개시는 D1 항원 결합 도메인 및 D2 항원 결합 도메인을 포함하는 항-PNAG x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하되, 여기에서 D1 항원 결합 도메인은 서열번호: 76/77의 HC/LC 쌍 내에 함유된 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍을 포함하고, D2 항원 결합 도메인은 서열번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 scFv를 포함한다. 이러한 서열 특성들을 갖는 예시적인 항-PNAG x 항-C1q 이중 특이적 항체는 REGN1335로부터 유래된 D1 및 mAb17736으로부터 유래된 D2를 포함하는, REGN5536으로 지정된 이중 특이적 항체이다(본원의 표 18 참조).

[0439] 예시를 위한 비제한적인 예로서, 본 개시는 D1 항원 결합 도메인 및 D2 항원 결합 도메인을 포함하는 항-C1fA x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하되, 여기에서 D1 항원 결합 도메인은 서열번호: 73/74의 HC/LC 쌍 내에 함유된 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍을 포함하고, D2 항원 결합 도메인은 서열번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 scFv를 포함한다. 이러한 서열 특성들을 갖는 예시적인 항-C1fA x 항-C1q 이중 특이적 항체는 서열번호: 73/74의 HC/LC 내에 함유된 HCVR/LCVR 쌍 및 mAb17736으로부터 유래된 D2를 갖는, REGN5738로 지정된 이중 특이적 항체이다(본원의 표 18 참조).

[0440] 예시를 위한 비제한적인 예로서, 본 개시는 D1 항원 결합 도메인 및 D2 항원 결합 도메인을 포함하는 항-Ps1 x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하되, 여기에서 D1 항원 결합 도메인은 서열번호: 78/79의 HC/LC 쌍 내에 함유된 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍을 포함하고, D2 항원 결합 도메인은 서열번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 scFv를 포함한다. 이러한 서열 특성들을 갖는 예시적인 항-Ps1 x 항-C1q 이중 특이적 항체는 서열번호: 78/79의 HC/LC 내에 함유된 HCVR/LCVR을 갖는 D1 및 mAb17736으로부터 유래된 D2를 갖는, REGN5409로 지정된 이중 특이적 항체이다(본원의 표 18 참조).

[0441] 예시를 위한 비제한적인 예로서, 본 개시는 D1 항원 결합 도메인 및 D2 항원 결합 도메인을 포함하는 항-인플루엔자 HA x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하되, 여기에서 D1 항원 결합 도메인은 서열번호: 42/10의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍, 또는 서열번호: 44-46-48-12-14-16의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 CDR(HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)의 세트를 포함한다. D2 항원 결합 도메인은 서열번호: 2/10의 아미노산 서열, 또는 서열번호: 4-6-8-12-14-16의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 CDR(HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)의 세트를 포함한다. 이러한 서열 특성들을 갖는 예시적인 항-인플루엔자 HA x 항-C1q 이중 특이적 항체는 mAb111829로부터 유래된 D1 및 mAb17736으로부터 유래된 D2를 포함하는, REGN6093으로 지정된 이중 특이적 항체이다(본원의 표 18 참조).

[0442] 예시를 위한 비제한적인 예로서, 본 개시는 D1 항원 결합 도메인 및 D2 항원 결합 도메인을 포함하는 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하되, 여기에서 D1 항원 결합 도메인은 서열번호: 34/10의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍 또는 서열번호: 36-38-40-12-14-16의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 CDR(HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)의 세트를 포함하고, D2 항원 결합 도메인은 서열번호: 2/10의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍 또는 서열번호: 4-6-8-12-14-16의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 CDR(HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)의 세트를 포함한다. 이러한 서열 특성들을 갖는 예시적인 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항체는 mAb14303으로부터 유래된 D1 및 mAb17736으로부터 유래된 D2를 포함하는, REGN5177로 지정된 이중 특이적 항체이다(본원의 표 18 참조).

[0443] 예시를 위한 비제한적인 예로서, 본 개시는 D1 항원 결합 도메인 및 D2 항원 결합 도메인을 포함하는 항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하되, 여기에서 D1 항원 결합 도메인은 서열번호: 50/10의 아미노산

서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍 또는 서열번호: 52-54-56-12-14-16의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 CDR(HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)의 세트를 포함하고, D2 항원 결합 도메인은 서열번호: 2/10의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍 또는 서열번호: 4-6-8-12-14-16의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 CDR(HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)의 세트를 포함한다. 이러한 서열 특성들을 갖는 예시적인 항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 항체는 mAb14536으로부터 유래된 D1 및 mAb17736으로부터 유래된 D2를 포함하는, REGN6545로 지정된 이중 특이적 항체이다(본원의 표 18 참조). 이러한 서열 특성들을 갖는 다른 예시적인 항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 항체는 mAb14536으로부터 유래된 D1 및 mAb18395로부터 유래된 D2를 포함하는, REGN6546으로 지정된 이중 특이적 항체이다(본원의 표 18 참조).

[0444] 서열 변이체

본 개시의 항체 및 이중 특이적 항원 결합 분자는 본원에서 기술된 바와 같은 개별 항원 결합 도메인이 유래된 상응하는 생식선 서열과 비교했을 때 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 프레임워크 및/또는 CDR 영역에서 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있다. 본 개시는 또한 항원 결합 분자를 포함하며, 여기에서 하나 또는 둘 모두의 항원 결합 도메인은 본원에 개시된, 하나 이상의 보존적 치환을 갖는 HCVR, LCVR 및/또는 CDR 아미노산 서열 중 어느 하나의 변이체를 포함한다. 예를 들어, 본 개시는 본원에 개시된 HCVR, LCVR 및/또는 CDR 아미노산 서열 중 어느 하나에 비해, 예를 들어, 10개 이하, 8개 이하, 6개 이하, 4개 이하 등의 보존적 아미노산 치환을 갖는 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 아미노산 서열을 갖는 항원 결합 도메인을 포함하는 항원 결합 분자를 포함한다. 보존적 아미노산 치환은 본원의 다른 곳에서 기술된다.

본 개시는 또한 본원에 개시된 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 아미노산 서열 중 어느 하나와 실질적으로 동일한 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 아미노산 서열을 갖는 항원 결합 도메인을 포함하는 항원 결합 분자를 포함한다.

[0447] 생물학적 등가물

본 개시는 본원에 개시된 예시적인 분자와는 다르지만 보체 성분(예를 들어, C1q) 및/또는 표적 항원(예를 들어, IsdB, IsdA, 단백질 A, PNAG, Cf1A, Ps1, 인플루엔자 HA, CD20, 또는 GITR)에 결합하는 능력을 보유하는 아미노산 서열을 갖는 항원 결합 분자를 포함한다. 이러한 변이체 분자는 부모 서열과 비교했을 때 아미노산의 하나 이상의 추가, 결실 또는 치환을 포함하지만, 기술된 이중 특이적 항원 결합 분자와 본질적으로 동등한 생물학적 활성을 나타낸다.

본 개시는 본원에서 제시된 예시적인 항원 결합 분자 중 어느 하나와 생물학적으로 동등한 항원 결합 분자를 포함한다. 2개의 항원 결합 단백질 또는 항체가, 예를 들어, 유사한 실험 조건 하에 동일한 몰 투여량(1회 투여량 또는 다회 투여량)으로 투여되었을 때, 흡수 속도 및 정도에 있어서 유의한 차이를 보이지 않는 약학적 등가물 또는 약학적 대안인 경우, 이들은 생물학적으로 동등한 것으로 간주된다. 일부 항원 결합 단백질이 흡수 정도에 있어서는 동등하지만 흡수 속도가 다른 경우, 이들은 등가물 또는 약학적 대안으로서 간주될 것이고, 여전히 생물학적으로 동등한 것으로 간주될 수 있는데, 그 이유는, 흡수 속도에 있어서의 이러한 차이는 의도적이고 표지에 반영되어 있으며, 예를 들어, 만성적으로 사용될 때 효과적인 신체 약물 농도를 달성하는 데 반드시 필요하지 않으며, 특정한 연구 의약품에 대해 의학적으로 유의하지 않은 것으로 간주되기 때문이다.

일 구현예에서, 2개의 항원 결합 단백질이 안전성, 순도 및 효능에 있어서 임상적으로 의미 있는 차이가 없는 경우, 이들은 생물학적으로 동등하다.

일 구현예에서, 환자가 기준 생성물을 사용하는 치료와 생물학적 생성물을 사용하는 치료 사이에서 1회 이상 전환할 수 있고, 이러한 전환이 없는 연속 요법과 비교했을 때 면역원성에 있어서의 임상적으로 유의한 변화를 포함하여 예상되는 이상 반응의 위험 증가 또는 효과의 감소가 없는 경우, 2개의 항원 결합 단백질은 생물학적으로 동등하다.

일 구현예에서, 2개의 항원 결합 단백질 둘 모두가 사용 조건(들)에 대한 공통의 메커니즘 또는 공통의 작용 메커니즘(들)에 의해 이러한 메커니즘이 알려진 정도까지 작용하는 경우, 이들은 생물학적으로 동등하다.

생물학적 동등성은 생체 내 방법 및 시험관 내 방법에 의해 입증될 수 있다. 생물학적 동등성 측정에는, 예를 들어: (a) 항체의 농도 또는 이의 대사가 혈액, 혈장, 혈청, 또는 기타 생물학적 유체에서 시간의 함수로서 측정되는, 인간 또는 다른 포유동물의 생체 내 시험; (b) 인간의 생체 내 생체이용률 데이터와 연관되었거나 이를 합리적으로 예측할 수 있게 하는 시험관 내 시험; (c) 항체(또는 이의 표적)의 적절한 급성 약리학 효과의 시간의 함수로서 측정되는, 인간 또는 다른 포유동물의 생체 내 시험; 및 (d) 항원 결합 단백질의 안전성, 효능,

또는 생체이용률이나 생물학적 동등성을 확립하는 잘 조절된 임상 시험이 있다.

[0454] 본원에서 제시된 예시적인 이중 특이적 항원 결합 분자의 생물학적으로 동등한 변이체는, 예를 들어, 잔기 또는 서열의 다양한 치환을 만들거나 생물학적 활성에 필요하지 않은 말단 또는 내부 잔기 또는 서열을 결실함으로써 작제할 수 있다. 예를 들어, 생물학적 활성에 필수적인 시스테인 잔기를 결실시키거나 다른 아미노산과 치환하여, 변성 시에 불필요하거나 부정확한 분자내 이황화 브리지가 형성되는 것을 방지할 수 있다. 다른 맥락에서, 생물학적으로 동등한 항원 결합 단백질은 분자의 글리코실화 특징을 변형시키는, 예를 들어, 글리코실화를 제거하거나 없애는 돌연변이를 일으키는 아미노산 변화를 포함하는, 본원에서 제시된 예시적인 이중 특이적 항원 결합 분자의 변이체를 포함할 수 있다.

[0455] V. 치료 제형 및 투여

[0456] 본 개시는 본 개시의 항원 결합 분자를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 본 개시의 약학적 조성물은 적절한 담체, 부형제 및 수송, 전달, 내성 등을 개선하는 기타 제제와 함께 제형화된다. 다수의 적절한 제형은 모든 약사들에게 예전에 공지된 다음의 문헌에서 확인할 수 있다: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. 이러한 제형은, 예를 들어, 분말, 고약, 연고, 젤리, 왁스, 오일, 지질, 지질(양이온성 또는 음이온성) 함유 소포체(예를 들어, LIPOFECTIN™, Life Technologies, Carlsbad, CA), DNA 접합체, 무수 흡수 연고제, 수중유 및 유중수 유화제, 카보왁스 유화제(다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜), 반고형성 겔, 및 카보왁스를 함유하는 반고형성 혼합물을 포함한다. Powell 외, "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311 참조.

[0457] 환자에게 투여되는 항원 결합 분자의 투여량은 환자의 연령 및 크기, 표적 질환, 병태, 투여 경로 등에 따라 달라질 수 있다. 바람직한 투여량은 일반적으로 체중 또는 신체 표면적에 따라 계산된다. 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자가 성인 환자에서 치료 목적으로 사용될 경우, 일반적으로 체중 1 kg당 약 0.01 내지 약 20 mg, 보다 바람직하게는 체중 1 kg당 약 0.02 내지 약 7 mg, 약 0.03 내지 약 5 mg, 또는 약 0.05 내지 약 3 mg의 단일 투여량으로 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자를 투여하는 것(예를 들어, 정맥 내 투여 또는 피하 투여)이 유리할 수 있다. 병태의 중증도에 따라, 치료의 빈도와 기간을 조정할 수 있다. 이중 특이적 항원 결합 분자를 투여하기 위한 효과적인 투여량과 일정은 경험적으로 결정될 수 있으며; 예를 들어, 환자의 진행 상황에 대한 주기적 평가에 의해 모니터링하고 이에 따라 투여량을 조정할 수 있다. 또한, 투여량의 중간 스케일링은 당업계에 잘 알려진 방법을 사용하여 수행될 수 있다(예를 들어, Mordenti 외, Pharmaceut. Res. 8:1351(1991) 참조).

[0458] 다양한 전달 시스템이 공지되어 있고, 본 개시의 약학적 조성물, 예를 들어, 캡슐화된 리포솜, 극미립자, 마이크로캡슐, 돌연변이체 바이러스를 발현할 수 있는 재조합 세포, 수용체 매개 엔도시토시스를 투여하는 데 사용될 수 있다(예를 들어, Wu 외, J. Biol. Chem. 262:4429-4432(1987) 참조). 투여 방법은 피내, 근육 내, 복강 내, 정맥 내, 피하, 비강 내, 경막 외 및 구강 경로를 포함하되 이들로 제한되지는 않는다. 조성물은 임의의 편리한 경로에 의해, 예를 들면 주입 또는 볼루스 주사에 의해, 상피 또는 점막피부의 내벽(예를 들어, 구강 점막, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고, 기타 생물학적 활성제와 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신성이거나 국소적일 수 있다.

[0459] 일부 구현예에서, 본 개시의 항원 결합 분자를 포함하는 약학적 조성물은 주사기, 펜 전달 장치, 자가주사기, 유리 바이알, 또는 마이크로인퓨저를 포함하지만 이에 한정되지 않는 용기에 함유된다. 일부 구현예에서, 본 개시의 약학적 조성물은 표준 바늘 및 주사기를 사용하여 피하 전달되거나 정맥 내 전달될 수 있다. 또한, 피하 전달의 경우, 본 개시의 약학적 조성물을 전달하는 데 펜 전달 장치가 용이하게 적용된다. 이러한 펜 전달 장치는 재사용식이거나 일회용일 수 있다. 재사용식 펜 전달 장치에는 일반적으로 약학적 조성물이 담긴 교체식 카트리지가 사용된다. 일단 카트리지 내의 모든 약학적 조성물이 투여되어 카트리지가 비면, 빈 카트리지를 쉽게 폐기하고 약학적 조성물이 담긴 새로운 카트리지로 교체할 수 있다. 그러면, 펜 전달 장치를 재사용할 수 있다. 일회용 펜 전달 장치에는 교체식 카트리지가 없다. 오히려, 일회용 펜 전달 장치는 약학적 조성물이 장치 내의 저장조에 미리 담긴 상태로 제공된다. 일단 저장조의 약학적 조성물이 소진되면, 전체 장치가 폐기된다.

[0460] 특정 상황에서는, 약학적 조성물이 방출 조절 시스템으로 전달될 수 있다. 일 구현예에서, 펌프가 사용될 수 있다(Langer의 전술한 문헌; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201(1987) 참조). 또 다른 구현예에서, 중합체 물질이 사용될 수 있다(Medical Applications of Controlled Release, Langer 및 Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Florida(1974) 참조). 또 다른 구현예에서, 방출 조절 시스템은 조성물의 표적에 근접하여 배치될 수 있으며, 따라서 전신 투여량의 단지 일부분만을 필요로 한다(예를 들어, 전술한 Goodson, Medical

Applications of Controlled Release, vol. 2, 115-138(1984) 참조). 다른 조절 방출 시스템은 Lange, Science 249:1527-1533(1990)에서 검토된 내용에 논의되어 있다.

[0461] 주사식 제제는 정맥 내, 피하, 피 내 및 근육 내 주사, 적가 주입 등을 위한 투여량 형태를 포함할 수 있다. 이들 주사식 제제는 공지의 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 주사식 제제는, 예를 들어, 주사용으로 종래에 사용되는 멸균 수성 매질 또는 유성 매질에 전술한 항체 또는 이의 염을 용해, 현탁 또는 유화시킴으로써 제조될 수 있다. 주사용 수성 매질로서는, 예를 들어, 생리 식염수, 알코올(예를 들어, 에탄올)과 같은 적절한 가용화제와 조합하여 사용할 수 있고 글루코오스 및 기타 보조제 등을 함유하는 등장성 용액, 다가알코올(예를 들어, 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜), 비이온성 계면활성제[예를 들어, 폴리소르베이트 80, HCO-50(수소 첨가 피마자유의 폴리옥시에틸렌 (50 몰) 부가물)] 등이 있다. 유성 매질로서는, 예를 들어, 벤질 벤조에이트, 벤질 알코올 등과 같은 가용화제와 조합하여 사용할 수 있는 참기름, 대두유 등이 사용된다. 따라서, 제조된 주사제는 바람직하게는 적절한 앰플에 채워진다.

[0462] 유리하게는, 전술한 경구 또는 비경구적으로 사용하기 위한 약학적 조성물은 활성 성분의 투여량에 적절히 맞춰진 단위 투여량의 투약 형태로 제조된다. 이러한 투여량 형태는, 예를 들어, 정제, 알약, 캡슐, 주사제(앰플), 좌제 등을 포함한다. 전술한 항체의 함유량은 일반적으로 단위 투여량의 투여 형태 당 약 5 내지 약 500 mg이고; 특히 주사제 형태로는, 전술한 항체가 약 5 내지 약 100 mg으로 함유되고, 다른 투여 형태에 대해서는 약 10 내지 약 250 mg으로 함유되는 것이 바람직하다.

[0463] VI. 항원 결합 분자의 치료적 용도

[0464] 또 다른 양태에서, 본 개시는 본원에 개시된 이중 특이적 항원 결합 분자를 사용하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 보체 성분(예를 들어, C1q) 및 본원에 개시된 바와 같은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자와 세포를 접촉시킴으로써 세포 사멸을 활성화시키거나 향상시키는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 세포는 박테리아 세포이다. 일부 구현예에서, 세포는 진핵 세포이다. 일부 구현예에서, 세포는 바이러스 감염 세포, 면역 세포, 또는 암 세포이다. 일부 구현예에서, 세포는 비질환 세포이다. 일부 구현예에서, 방법은 시험관 내에서 수행된다. 일부 구현예에서, 방법은 생체 내에서 수행된다. 일부 구현예에서, 방법은 생체 외에서 수행된다.

[0465] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 이중 특이적 항원 결합 분자는 관심 대상의 표적 항원을 발현하는 세포의 집단을 감소시키거나 결손시키기 위해 사용될 수 있다. 감소 또는 결손을 위해 표적화된 세포 집단은 병든 세포를 포함할 수 있거나, 세포 집단은 그럼에도 불구하고 감소 또는 결손을 위해 표적화하는 데 바람직한 병들지 않은 세포를 포함할 수 있다.

[0466] 본 개시는 대상체에서 박테리아(예를 들어, *스타필로코커스* 종)의 성장을 억제하는 방법을 포함하며, 방법은 보체 성분(예를 들어, C1q) 및 *스타필로코커스* 종 표적 항원(예를 들어, IsdB)에 특이적으로 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하는 치료 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 치료 조성물은 본원에 개시된 바와 같은 항체 또는 이의 단편, 또는 이중 특이적 항원 결합 분자 중 어느 하나 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함할 수 있다.

[0467] 본 개시는 대상체에서 박테리아(예를 들어, *슈도모나스* 종)의 성장을 억제하는 방법을 포함하며, 방법은 보체 성분(예를 들어, C1q) 및 *슈도모나스* 종 표적 항원(예를 들어, Ps1)에 특이적으로 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하는 치료 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 치료 조성물은 본원에 개시된 바와 같은 항체 또는 이의 단편, 또는 이중 특이적 항원 결합 분자 중 어느 하나 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함할 수 있다.

[0468] 본 개시의 항원 결합 분자는, 피부 감염, 연조직염, 폐렴, 수막염, 요로 감염, 독성 쇼크 증후군, 심장 내막염, 심낭염, 골수염, 균혈증, 또는 패혈증을 포함하는, 박테리아 종, 특히 항생제 내성 종과 관련된 질환 또는 장애를 치료하는 데 사용될 수 있다. 본 개시의 항원 결합 분자는 또한 장기 입원의 결과로서 발생할 수 있는 박테리아 종에 의한 감염(즉, 병원 내 감염 또는 병원 획득 감염)을 예방하는 데 사용될 수 있다. 본 개시의 항원 결합 분자는 또한 인공 삽입물의 이식을 수반하는 수술과 같은 수술 절차 동안 또는 이후에 발생할 수 있는 박테리아 종에 의한 감염을 예방하는 데 사용될 수 있다. 특정 구현예에서, 인공 삽입물은 팔 또는 다리나 같은 인공 사지일 수 있다. 특정 구현예에서, 인공 삽입물은 고관절 치환물일 수 있다. 특정 구현예에서, 인공 삽입물은 안구 삽입물, 실리콘 손, 손가락, 유방, 발, 발가락, 또는 안면 임플란트와 같지만 이에 한정되지 않는 미용 인공 삽입물이다.

- [0469] 본 개시의 항원 결합 분자는 바이러스, 예를 들어, 인플루엔자 바이러스, 천연두 바이러스, 간염 바이러스(예를 들어, A형 간염, B형 간염, 또는 C형 간염 바이러스), 인간 유두종 바이러스, 인간 면역결핍 바이러스(HIV), 호흡기 세포융합 바이러스(RSV), 헤르페스 바이러스, 코로나 바이러스, 수두 바이러스, 콕사키 바이러스, 에볼라 바이러스, 엡스타인-바 바이러스, 홍역 바이러스, 유행성 이하선염 바이러스, 풍진 바이러스, 로타 바이러스, 광견병 바이러스, 황열병 바이러스, 수막염, 소아마비 바이러스, 로타 바이러스, 수두 대상포진 바이러스, 바리올라 바이러스, 또는 지카 바이러스에 의한 감염과 관련된 질환 또는 장애를 치료하는 데 사용될 수 있다. 본 개시는 대상체에서 바이러스(예를 들어, 인플루엔자 바이러스)의 성장을 억제하는 방법을 포함하며, 방법은 보체 성분(예를 들어, C1q) 및 바이러스 표적 항원(예를 들어, 인플루엔자 HA)에 특이적으로 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하는 치료 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 치료 조성물은 본원에 개시된 바와 같은 항체 또는 이의 단편, 또는 이중 특이적 항원 결합 분자 중 어느 하나 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함할 수 있다.
- [0470] 본 개시는 보체 성분(예를 들어, C1q) 및 세포 표면 상에 발현된 표적 항원(예를 들어, 질환 세포에 의해 발현된 표적 항원)에 특이적으로 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자를 투여함으로써 대상체에서 세포, 예를 들어 질환 세포의 성장을 사멸시키거나 억제하는 방법을 포함한다.
- [0471] 구현예에서, 본 개시의 항원 결합 분자는 암, 예를 들어, CD20-발현 또는 CD20-과발현 암과 관련된 질환 또는 장애를 치료하는 데 사용될 수 있다. 본 개시는 대상체에서 암의 성장을 억제하는 방법을 포함하며, 방법은 보체 성분(예를 들어, C1q) 및 암 세포 표적 항원(예를 들어, CD20)에 특이적으로 결합하는 이중 특이적 항원 결합 분자를 포함하는 치료 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 치료 조성물은 본원에 개시된 바와 같은 항체 또는 이의 단편, 또는 이중 특이적 항원 결합 분자 중 어느 하나 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함할 수 있다.
- [0472] 본 개시의 항원 결합 분자는 면역 세포, 예를 들어, 글루코코르티코이드 유도 종양 괴사 인자 수용체(GITR) 항원 발현 세포와 관련된 질환 또는 장애를 치료하는 데 사용될 수 있다. 본 개시의 항원 결합 분자는 또한 조절 T 세포와 관련된 질환 상태를 치료하는 데 사용될 수 있다. 구현예에서, 조절 T 세포의 억제는 암의 치료에 유용할 수 있다.
- [0473] 비용 요법
- [0474] 본 개시는 본원에 기술된 예시적인 항체 및 이중 특이적 항원 결합 분자 중 어느 하나를 포함하는 약학적 조성물을 하나 이상의 추가 치료제와 조합하여 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자와 조합되거나 조합되어 투여될 수 있는 예시적인 추가 치료제는, 항생제, *스타필로코커스* 항원에 결합하는 항체, 인플루엔자 바이러스 항원에 결합하는 항체, 항바이러스제, *슈도모나스* 항원에 결합하는 항체, 암 표적 세포 항원에 결합하는 항체, 글루코코르티코이드 유도 종양 괴사 인자 수용체 항원에 결합하는 항체, 인간 또는 시노물구스 C1q에 결합하는 항체, 박테리아 감염에 특이적인 백신, 바이러스 감염에 대한 백신, 암 백신, *스타필로코커스* 중, 인플루엔자 바이러스, *슈도모나스* 중, B-세포, 또는 종양 괴사 인자 수용체, 항체 약물 접합체(예를 들어, 항생제에 접합된 이중 특이적 항체), 또는 이들의 조합을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0475] 다양한 구현예에서, 본 개시의 이중 특이적 항원 결합 분자는, PD-L1에 대한 항체, PD-1에 대한 항체(예를 들어, 니볼루맵), LAG-3 억제제, CTLA-4 억제제(예를 들어, 이필리무맵), TIM3 억제제, BTLA 억제제, MET 억제제, TIGIT 억제제, CD47 억제제, T 세포 공동-억제제 또는 리간드의 길항제(예를 들어, CD-28, 2B4, LY108, LAIR1, ICOS, CD160 또는 VISTA에 대한 항체), 인돌아민-2,3-디옥시게나아제(IDO) 억제제, VEGF 길항제[예를 들어, 애플리버셉트(aflibercept) 또는 미국 특허 제7,087,411호에서 제시된 다른 VEGF 억제 용합 단백질과 같은 "VEGF-트랩", 또는 항-VEGF 항원 또는 이의 항원 결합 단편(예를 들어, 베바시주맵, 또는 라니비주맵), 또는 VEGF 수용체의 소분자 키나아제 억제제(예를 들어, 수니티닙, 소라페닙, 또는 파조파닙)], Ang2 억제제(예를 들어, 네스바쿠맵), TGFβ 억제제, EGFR 억제제(예를 들어, 엘로티닙 또는 세툽시맵), 공동 자극 수용체에 대한 작용제(예를 들어, 글루코코르티코이드-유도 TNFR-관련 단백질에 대한 작용제), 종양-특이적 항원에 대한 항체(예를 들어, CA9, CA125, MAGEA3, 암배아 항원(CEA), 비멘틴, 종양-M2-PK, 전립선-특이적 항원(PSA), 뮤신-1, MART-1, 또는 CA19-9), 백신(예를 들어, 바실리루스 칼메트-게랭, 인플루엔자 바이러스, 천연두, 간염 바이러스(예를 들어, A형 간염, B형 간염, 또는 C형 간염 바이러스), 인간 유두종 바이러스, 인간 면역결핍 바이러스(HIV), 호흡기 세포융합 바이러스(RSV), 대상포진, 수두, 헤르페스 바이러스, 코로나 바이러스, 에볼라 바이러스, 홍역, 유행성 이하선염, 풍진, 광견병, 황열병, 수막염, 소아마비 바이러스, 로타 바이러스, 수두

바이러스, 백일해, 디프테리아, 파상풍, 결핵, 장티푸스, 콜레라, 말라리아, 탄저병, 라임병, 및/또는 암 백신), 항 바이러스제(예를 들어, 항 바이러스 항체, 뉴라미니다아제 억제제, 뉴클레오시드 유사체, 인터페론, 항 레트로 바이러스제, 리만타딘, 오셀타미비르(예를 들어, 타미플루®), 자나미비르(RELENZA®), 페라미비르(RAPIVAB®), 또는 발록사비르 마르복실(XOFLUZA®)), 항원 제시를 증가시키기 위한 보조제(예를 들어, 과립구-대식세포 콜로니-자극 인자), 이중 특이적 항체(예를 들어, CD3 x CD20, PSMA x CD3, MUC16 x CD3, BCMA x CD3, CD3 x CD28, 이중 특이적 항체), 세포독소, 화학요법제(예를 들어, 다카바진, 테모졸로마이드, 사이클로포스파미드, 도세탁셀, 독소루비신, 다우노루비신, 시스플라틴, 카보플라틴, 젬시타빈, 메토트렉세이트, 미토산트론, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 또는 빈크리스틴), 시클로포스파미드, 방사선요법, IL-6R 억제제(예를 들어, 사릴루맙), IL-4R 억제제(예를 들어, 두필루맙), IL-10 억제제, IL-33 억제제, IL-2, IL-7, IL-21, 및 IL-15와 같은 사이토카인, 항체-약물 접합체(ADC), 항생제(예를 들어, 아목시실린, 세파졸린, 세푸록심, 세팔렉신, 시프로플로악시신, 클린다마이신, 답토마이신, 디클록사실린, 독시사이클린, 포스포마이신, 플루클록사실린, 린코마이신, 리네졸리드, 메티실린, 나프실린, 옥사실린, 페니실린, 리팜핀, 텔라반신, 반코마이신, 아미노글리시드, 카르바페넴, 세팔로스포린, 플루오로퀴놀론, 모노박탐, 또는 폴리믹신), 항염증제(예를 들어, 코르티코스테로이드 또는 비스테로이드성 항염증제), 항산화제와 같은 식이 보충제, 또는 완화 치료와 조합되어 사용될 수 있다.

[0476] 일부 구현예에서, 추가 치료제는 항암제이다. 항암제는 본 개시의 항원 결합 분자와 동일하거나 상이한 항원을 표적화할 수 있다. 비제한적인 예로서, CD20에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자는 CD20을 또한 표적으로 하는 제2 치료제(예를 들어, 항암제)와 조합하여 투여되거나, CD3, PD-1, PD-L1, 또는 다른 항원과 같은 상이한 항원을 표적으로 하는 치료제(예를 들어, 항암제)와 조합하여 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 추가 치료제는 항체(예를 들어, 단일 특이적, 이중 특이적 또는 다중 특이적 항체)이다. 일부 구현예에서, 추가 치료제는 하나의 아암이 본 개시의 항원 결합 분자와 동일한 항원을 표적화하는 이중 특이적 또는 다중 특이적 항체이다. 예를 들어, CD20에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자는 항-CD20 아암(예를 들어, 항-CD3 x 항-CD20 아암)을 갖는 이중 특이적 항체와 조합하여 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 추가 치료제는 본 개시의 항원 결합 분자와 동일한 항원을 표적화하지 않는 이중 특이적 또는 다중 특이적 항체이다.

[0477] 부가적인 치료적 활성제(들)/성분(들)이 본 개시의 항원 결합 분자의 투여 이전에, 투여와 동시에, 또는 투여 직후에 투여될 수 있다. 본 개시의 목적을 위해, 이러한 투여 처방은 추가의 치료 활성 성분과 “조합된” 항원 결합 분자의 투여로 간주된다.

[0478] 본 개시는, 본 개시의 항원 결합 분자가 본 개시의 다른 곳에 기술된 바와 같은 하나 이상의 추가적인 치료적 활성 성분(들)과 공동으로 제형화되는 약학적 조성물을 포함한다.

[0479] 실시예

[0480] 다음 예들은 당업자에게 본 개시의 방법 및 조성물을 제조하고 사용하는 방법의 완전한 개시 및 설명을 제공하기 위해 제시된 것으로, 본 발명자들이 개시로 간주하는 것의 범위를 제한하고자 하는 것이 아니다. 사용된 숫자(예를 들어, 양, 온도 등)와 관련하여 정확성을 보장하기 위한 노력을 기울였으나 약간의 실험 오차와 편차에 대해서는 설명되어야 한다. 달리 표시되지 않는 한, 부(parts)는 중량 부(parts by weight)이고, 분자량은 평균 분자량이며, 온도는 섭씨 온도이고, 압력은 대기압이거나 거의 대기압이다.

[0481] 실시예 1. 항-C1q 항체의 제조

[0482] 항 C1q 항체는 VELOCIMMUNE® 마우스(즉, 인간 면역글로불린 중쇄 및 카파 경쇄 영역을 암호화하는 DNA를 포함하는 조작된 마우스: US6,596,541 참조)를 인간 보체 성분 1q(C1q)로 면역화하여 수득하였다. 예시적인 항-C1q 항체는 미국 공개번호 제16/143,901호 및 PCT/US2018/053064에 기술되어 있다.

[0483] 인간 보체 C1q는 3개의 고유 서브유닛을 포함하는 헥사머이다: A(29 kDa); B(26kDa); 및 C(22 kDa). 서브유닛 A의 예시적인 서열은 수탁 번호 NP_057075의 아미노산 1 내지 245에서 발견된다. 서브유닛 B의 예시적인 서열은 수탁 번호 NP_000482의 아미노산 1 내지 253에서 발견된다. 서브유닛 C의 예시적인 서열은 수탁 번호 NP_758957의 아미노산 1 내지 245에서 발견된다. 인간 C1q는 또한 Quidel과 같은 공급원으로부터 상업적으로 이용 가능하다. 구현예에서, Quidel로부터의 상업적으로 이용 가능한 인간 C1q를 면역원으로서 사용하였다. 항체 면역 반응은 C1q-특이적 면역 분석으로 모니터링하였다.

[0484] US 제7,582,298호에 기술된 바와 같이, 골수종 세포에 대한 융합 없이 VELOCIMMUNE® 마우스의 항원-양성 B 세포로부터 몇몇 완전한 인간 항-C1q 항체를 직접적으로 단리하였으며, 이는 본원에 참조로서 통합된다. 당업자가

이해할 수 있듯이, 특정 Fc 이소형을 갖는 항체는 다른 Fc 이소형을 갖는 항체로 변환될 수 있지만(예를 들어, 마우스 IgG1 Fc를 갖는 항체는 인간 IgG4 등을 갖는 항체로 변환될 수 있지만), 어떤 경우에도, 표 1에 나타난 수치 식별자에 의해 표시되는 가변 도메인(CDR 포함)은 동일하게 유지될 것이고, 결합 특성은 Fc 도메인의 성질에 상관 없이 동일하거나 실질적으로 유사할 것으로 예상된다.

[0485]

일단 항체가 단리되면, 핵산 및 아미노산 서열을 획득하였다. 중쇄 가변 영역(HCVR), 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HCDR2), 중쇄 상보성 결정 영역 3(HCDR3), 경쇄 가변 영역(LCVR), 경쇄 상보성 결정 영역 1(LCDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(LCDR2), 경쇄 상보성 결정 영역 3(LCDR3), 중쇄(HC), 및 경쇄(LC)를 포함하는 예시적인 항-C1q 항체 mAb17736 및 mAb18395의 아미노산 서열 식별자를 아래의 표 1에 나타냈다. 핵산 서열 식별자는 표 2에 제시되어 있다.

표 1 항-hC1q 항체에 대한 아미노산 서열 식별자

서열번호										
항체 명칭	HCVR	HCDR 1	HCDR 2	HCDR 3	LCVR	LCDR 1	LCDR 2	LCDR 3	HC	LC
mAb17736	2	4	6	8	10	12	14	16	83	85
mAb18395	18	20	22	24	10	12	14	16	89	85

표 2 항-hC1q 항체에 대한 핵산 서열 식별자

서열번호								
항체 명칭	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb17736	1	3	5	7	9	11	13	15
mAb18395	17	19	21	23	9	11	13	15

[0486]

실시예 2. 항-IsdB 항체의 제조

[0487]

항-IsdB 항체는 VELOCIMMUNE[®] 마우스(즉, 인간 면역글로불린 중쇄 및 카파 경쇄 영역을 암호화하는 DNA를 포함하는 조작된 마우스: US6,596,541 참조)를 스타필로코커스 아우레우스(IsdB)로부터 유래된 헵 흡수 단백질인 IsdB로부터 유래된 항원으로 면역화하여 획득하였다. 예시적인 항-IsdB 항체는 미국 공개번호 제16/143,901호 및 PCT/US2018/053064에 기술되어 있다.

[0489]

항원의 구현에는 수탁 번호 WP_099560907의 아미노산 알라닌 41 내지 트레오닌 613을 포함한다. IsdB.6x (His)로서 식별된 항원의 다른 구현예가 분석에 사용된다. IsdB.6x (His)는 링커 및 6개의 히스티딘을 포함하고 서열 번호: 80의 서열을 갖는다. 항체 면역 반응은 IsdB 특이적 면역 분석으로 모니터링하였다.

[0490]

US 제7,582,298호에 기술된 바와 같이, 골수종 세포에 대한 융합 없이 VELOCIMMUNE[®] 마우스의 항원-양성 B 세포로부터 몇몇 완전한 인간 항-IsdB 항체를 직접적으로 단리하였다. 일단 항체가 단리되면, 핵산 및 아미노산 서열을 획득하였다. 중쇄 가변 영역(HCVR), 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HCDR2), 중쇄 상보성 결정 영역 3(HCDR3), 경쇄 가변 영역(LCVR), 경쇄 상보성 결정 영역 1(LCDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(LCDR2), 경쇄 상보성 결정 영역 3(LCDR3), 중쇄(HC), 및 경쇄(LC)를 포함하는 항-C1q 항체, 예시적인 항 IsdB 항체 mAb20295의 아미노산 서열 식별자를 아래의 표 3에 나타냈다. 핵산 서열 식별자는 표 4에 제시되어 있다.

표 3 항-IsdB 항체에 대한 아미노산 서열 식별자

서열번호										
항체 명칭	HCVR	HCDR 1	HCDR 2	HCDR 3	LCVR	LCDR 1	LCDR 2	LCDR 3	HC	LC
mAb20295	26	28	30	32	10	12	14	16	84	85

표 4 항-IsdB 항체에 대한 핵산 서열 식별자

서열번호								
항체 명칭	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb20295	25	27	29	31	9	11	13	15

실시예 3. 항-CD20 항체의 제조

항-CD20 항체는 VELOCIMMUNE[®] 마우스(즉, 인간 면역글로불린 중쇄 및 카파 경쇄 영역을 암호화하는 DNA를 포함하는 조작된 마우스: US6,596,541 참조)를 성숙한 B 세포에서 발견되는 인간 B 림프구 제한 항원으로부터 유래된 항원으로 면역화하여 수득하였다. 예시적인 항-CD20 항체는 미국 특허 제9,657,102호, 미국 공개 제2015/0266966호, 및 미국 공개 제2018/0194841호에 기술되어 있다.

항원의 구현에는 Genbank 제NP_690605호에 나타난 바와 같은 아미노산을 포함한다. 마우스는 또한 Raji 세포를 발현하는 CD20으로 면역화될 수 있다. 항체 면역 반응은 CD20 특이적 면역 분석으로 모니터링하였다.

US 제7,582,298호에 기술된 바와 같이, 골수종 세포에 대한 융합 없이 VELOCIMMUNE[®] 마우스의 항원-양성 B 세포로부터 몇몇 완전한 인간 항-CD20 항체를 직접적으로 단리하였다. 일단 항체가 단리되면, 핵산 및 아미노산 서열을 수득하였다. 중쇄 가변 영역(HCVR), 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HCDR2), 중쇄 상보성 결정 영역 3(HCDR3), 경쇄 가변 영역(LCVR), 경쇄 상보성 결정 영역 1(LCDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(LCDR2), 경쇄 상보성 결정 영역 3(LCDR3), 중쇄(HC), 및 경쇄(LC)를 포함하는 예시적인 항-CD20 항체 mAb14303의 아미노산 서열 식별자를 아래의 표 5에 나타냈다. 핵산 서열 식별자는 표 6에 제시되어 있다.

표 5 항-CD20 항체에 대한 아미노산 서열 식별자

서열번호										
항체 명칭	HCVR	HCDR 1	HCDR 2	HCDR 3	LCVR	LCDR 1	LCDR 2	LCDR 3	HC	LC
mAb14303	34	36	38	40	10	12	14	16	86	85

표 6 항-CD20 항체에 대한 핵산 서열 식별자

서열번호								
항체 명칭	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb14303	33	35	37	39	9	11	13	15

실시예 4. 항-인플루엔자 HA 항체의 제조

항-인플루엔자 HA 항체는 VELOCIMMUNE[®] 마우스(즉, 인간 면역글로불린 중쇄 및 카파 경쇄 영역을 암호화하는 DNA를 포함하는 조작된 마우스: US6,596,541 참조)를 인플루엔자의 H1N1 균주로부터 유래된 항원으로 면역화하여 수득하였다. 예시적인 항-HA 항체는 공개번호 제2016/0176953호를 갖는 미국 특허 제14/974361호에 기술되어 있다.

항원의 구현에는 Genbank 수탁 번호 제AAP34324호에 나타난 바와 같은 아미노산을 포함한다. H1N1 Ecto foldon-foldon-Bir-His6으로 식별된 인플루엔자 HA 항원의 아미노산 서열의 예는 서열번호: 81의 아미노산 서열을 갖는 Tyr(Y)에 대한 Phe(F)의 위치 108에서 아미노산 치환을 갖는 Genbank 제AAP34324호의 아미노산 1 내지 519이다. 폴돈(foldon) 도메인은 HA의 H1N1 엑토도메인의 삼량체화를 제공한다. 항체 면역 반응은 인플루엔자

HA 특이적 면역 분석으로 모니터링하였다.

[0500]

US 제7,582,298호에 기술된 바와 같이, 골수종 세포에 대한 융합 없이 VELOCIMMUNE[®] 마우스의 항원-양성 B 세포로부터 몇몇 완전한 인간 항-인플루엔자 HA 항체를 직접적으로 단리하였다. 일단 항체가 단리되면, 핵산 및 아미노산 서열을 수득하였다. 중쇄 가변 영역(HCVR), 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HCDR2), 중쇄 상보성 결정 영역 3(HCDR3), 경쇄 가변 영역(LCVR), 경쇄 상보성 결정 영역 1(LCDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(LCDR2), 경쇄 상보성 결정 영역 3(LCDR3), 중쇄(HC), 및 경쇄(LC)를 포함하는 예시적인 항-인플루엔자 HA 항체 mAb11829의 아미노산 서열 식별자를 아래의 표 7에 나타냈다. 핵산 서열 식별자는 표 8에 제시되어 있다.

표 7 항-인플루엔자 HA 항체에 대한 아미노산 서열 식별자

서열번호										
항체 명칭	HCVR	HCDR 1	HCDR 2	HCDR 3	LCVR	LCDR 1	LCDR 2	LCDR 3	HC	LC
mAb11829	42	44	46	48	10	12	14	16	87	85

표 8 항-인플루엔자 HA 항체에 대한 핵산 서열 식별자

서열번호								
항체 명칭	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb11829	41	43	45	47	9	11	13	15

[0501]

실시예 5. 항-GITR 항체의 제조

[0502]

항-GITR 항체는 VELOCIMMUNE[®] 마우스(즉, 인간 면역글로불린 중쇄 및 카파 경쇄 영역을 암호화하는 DNA를 포함하는 조작된 마우스: US6,596,541 참조)를 인간 종양 괴사 인자 수용체 수퍼패밀리 구성원 18로부터 유래된 항원으로 면역화하여 수득하였다. 예시적인 항-GITR 항체는 공개 번호 US2017/0355774을 갖는 미국 특허 제 15/619068호에 기술되어 있다.

[0504]

항원의 구현에는 Genbank 제NP_683700호에 나타난 바와 같은 아미노산을 포함한다. hGITR.mmm으로서 식별된 GITR의 또 다른 구현에는 수탁 번호 제NP_683700호의 서열의 위치 162에서 Pro(P)에 대한 위치 26에서의 아미노산 Gln(Q) 및 서열번호: 82의 아미노산 136 내지 165의 mmh 도메인을 갖는다. 마우스는 GITR을 발현하는 HEK293 세포 또는 GITR을 발현하는 CHO-K1 세포로 면역화될 수 있다. 항체 면역 반응은 GITR 특이적 면역 분석으로 모니터링하였다.

[0505]

US 제7,582,298호에 기술된 바와 같이, 골수종 세포에 대한 융합 없이 VELOCIMMUNE[®] 마우스의 항원-양성 B 세포로부터 몇몇 완전한 인간 항-GITR 항체를 직접적으로 단리하였다. 일단 항체가 단리되면, 핵산 및 아미노산 서열을 수득하였다. 중쇄 가변 영역(HCVR), 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HCDR2), 중쇄 상보성 결정 영역 3(HCDR3), 경쇄 가변 영역(LCVR), 경쇄 상보성 결정 영역 1(LCDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(LCDR2), 경쇄 상보성 결정 영역 3(LCDR3), 중쇄(HC), 및 경쇄(LC)를 포함하는 예시적인 항-GITR 항체 mAb14536의 아미노산 서열 식별자를 아래의 표 9에 나타냈다. 핵산 서열 식별자는 표 10에 제시되어 있다.

표 9 항-GITR 항체에 대한 아미노산 서열 식별자

서열번호										
항체 명칭	HCVR	HCDR 1	HCDR 2	HCDR 3	LCVR	LCDR 1	LCDR 2	LCDR 3	HC	LC
mAb14536	50	52	54	56	10	12	14	16	88	85

[0506]

표 10 항-G1TR 항체에 대한 핵산 서열 식별자

서열번호								
항체 명칭	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb14536	49	51	53	55	9	11	13	15

실시예 6. 항-Ps1 항체의 제조

제조합 C1q 이중 특이적 REGN5409는 2개의 발현 플라스미드로 형질감염한 이후의 CHO 세포에서 생산되었다. 발현 플라스미드 중 하나는 Ps1에 결합하는 항체의 중쇄(hIgG1) 및 경쇄를 암호화하고, 다른 발현 플라스미드는 C1q 결합 scFv-Fc(hIgG1)(Fc는 “” 돌연변이를 함유함)를 암호화한다. 구체적으로, C1q 결합 scFv-Fc*를 다음과 같이 구성하였다: (1-39 ULC VK (G4S) 3 링커_17736PVH.hIgG1(아미노산 D104-K330; H318R,Y319F(UniProtKB/Swiss-Prot: P01857.1). 이중 특이적 분자를 함유하는 scFv를 전술한 바와 같이 정제하였다(Sci Rep. 2015 Dec 11;5:17943).

중쇄 가변 영역(HCVR), 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HCDR2), 중쇄 상보성 결정 영역 3(HCDR3), 경쇄 가변 영역(LCVR), 경쇄 상보성 결정 영역 1(LCDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(LCDR2), 경쇄 상보성 결정 영역 3(LCDR3), 중쇄(HC), 및 경쇄(LC)를 포함하는 예시적인 항-Ps1 항체의 아미노산 서열 식별자를 아래의 표 11에 나타냈다.

표 11 예시적인 항-Ps1 항체에 대한 아미노산 서열 식별자

항체 명칭	HC	HCVR	HCDR 1	HCDR 2	HCDR 3	LC	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
REGN 5409	78	서열번호: 78의 잔기 1-118	서열번호: 78의 31-35	서열번호: 78의 50-65	서열번호: 78의 98-109	79	서열번호: 79의 잔기 1-108	서열번호: 79의 23-33	서열번호: 79의 49-55	서열번호: 79의 88-99

실시예 7. 항-단백질 A 항체의 제조

항-단백질 A 항체는 VELOCIMMUNE[®] 마우스(즉, 인간 면역글로불린 중쇄 및 카파 경쇄 영역을 암호화하는 DNA를 포함하는 조작된 마우스: US6,596,541 참조)를 스타필로코커스 아우레우스의 단백질 A로부터 유래된 항원으로 면역화하여 수득하였다. 단백질 A 항원의 구현에는 Genbank 수탁 번호 제AGE10362호에 나타난 바와 같은 아미노산을 포함한다. 항체 면역 반응은 단백질 A 특이적 면역 분석으로 모니터링하였다.

US 제7,582,298호에 기술된 바와 같이, 골수종 세포에 대한 융합 없이 VELOCIMMUNE[®] 마우스의 항원-양성 B 세포로부터 몇몇 완전한 인간 항-단백질 A 항체를 직접적으로 단리하였다. 일단 항체가 단리되면, 핵산 및 아미노산 서열을 수득하였다. 중쇄 가변 영역(HCVR), 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HCDR2), 중쇄 상보성 결정 영역 3(HCDR3), 경쇄 가변 영역(LCVR), 경쇄 상보성 결정 영역 1(LCDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(LCDR2), 경쇄 상보성 결정 영역 3(LCDR3), 중쇄(HC), 및 경쇄(LC)를 포함하는 예시적인 항-단백질 A 항체 mAb15144의 아미노산 서열 식별자를 아래의 표 12에 나타냈다. 핵산 서열 식별자는 표 13에 제시되어 있다.

표 12 항-단백질 A 항체에 대한 아미노산 서열 식별자

서열번호										
항체 명칭	HCVR	HCDR 1	HCDR 2	HCDR 3	LCVR	LCDR 1	LCDR 2	LCDR 3	HC	LC
mAb15144	58	60	62	64	10	12	14	16	90	85

표 13 항-단백질 A 항체에 대한 핵산 서열 식별자

서열번호								
항체 명칭	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb15144	57	59	61	63	9	11	13	15

실시예 8. 항-IsdA 항체의 제조

항-IsdA 항체는 VELOCIMMUNE[®] 마우스(즉, 인간 면역글로불린 중쇄 및 카파 경쇄 영역을 암호화하는 DNA를 포함하는 조작된 마우스: US6,596,541 참조)를 *스타필로코커스 아우레우스*(IsdA)로부터 유래된 핵산 흡수 단백질인 IsdA로부터 유래된 항원으로 면역화하여 수득하였다. 항원의 구현에는 Genbank 수탁 번호 제AFH 69349호에 나타난 바와 같은 아미노산을 포함한다. 항체 면역 반응은 IsdA 특이적 면역 분석으로 모니터링하였다.

US 제7,582,298호에 기술된 바와 같이, 골수종 세포에 대한 융합 없이 VELOCIMMUNE[®] 마우스의 항원-양성 B 세포로부터 몇몇 완전한 인간 항-IsdA 항체를 직접적으로 단리하였다. 일단 항체가 단리되면, 핵산 및 아미노산 서열을 수득하였다. 중쇄 가변 영역(HCVR), 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HCDR2), 중쇄 상보성 결정 영역 3(HCDR3), 경쇄 가변 영역(LCVR), 경쇄 상보성 결정 영역 1(LCDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(LCDR2), 경쇄 상보성 결정 영역 3(LCDR3), 중쇄(HC), 및 경쇄(LC)를 포함하는 예시적인 항-IsdA 항체 mAb20334의 아미노산 서열 식별자를 아래의 표 14에 나타냈다. 핵산 서열 식별자는 표 15에 제시되어 있다.

표 14 항-IsdA 항체에 대한 아미노산 서열 식별자

서열번호										
항체 명칭	HCVR	HCDR 1	HCDR 2	HCDR 3	LCVR	LCDR 1	LCDR 2	LCDR 3	HC	LC
mAb20334	66	68	70	72	10	12	14	16	91	85

표 15 항 IsdA 항체에 대한 핵산 서열 식별자

서열번호								
항체 명칭	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb20334	65	67	69	71	9	11	13	15

실시예 9. 항-폴리-N-아세틸글루코사민(PNAG)의 제조

제조합 C1q 이중 특이적 항체 REGN5536은 2개의 발현 플라스미드로 형질감염한 이후의 CHO 세포에서 생산되었다. 발현 플라스미드 중 하나는 PNAG에 결합하는 항체의 중쇄(hIgG1) 및 경쇄를 암호화하고, 다른 발현 플라스미드는 C1q 결합 scFv-Fc(hIgG1)(Fc는 “” 돌연변이를 함유함)를 암호화한다. 구체적으로, C1q 결합 scFv-Fc*를 다음과 같이 구성하였다: (1-39 ULC VK_L (G4S) 3 링커_{17736PVH}.hIgG1(아미노산 D104-K330; H318R,Y319F(UniProtKB/Swiss-Prot: P01857.1)). 이중 특이적 분자를 함유하는 scFv를 전술한 바와 같이 정제하였다(Sci Rep. 2015 Dec 11;5:17943).

중쇄 가변 영역(HCVR), 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HCDR2), 중쇄 상보성 결정 영역 3(HCDR3), 경쇄 가변 영역(LCVR), 경쇄 상보성 결정 영역 1(LCDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(LCDR2), 경쇄 상보성 결정 영역 3(LCDR3), 중쇄(HC), 및 경쇄(LC)를 포함하는 예시적인 항-PNAG 항체의 아미노산 서열 식별자를 아래의 표 16에 나타냈다.

표 16 예시적인 항-PNAG 항체에 대한 아미노산 서열 식별자

항체 명칭	HC	HCVR	HCDR 1	HCDR 2	HCDR 3	LC	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
REGN 5536	76	서열번호: 76 의 잔기 1-118	서열번호 : 76 의 26-33	서열번호: 76 의 51-58	서열번호: 76 의 96-106	77	서열번호: 77 의 잔기 1-108	서열번호: 77 의 27-32	서열번호: 77 의 50-52	서열번호: 77 의 93-101

[0523]

[0524]

실시예 10. 항-응집 인자 A(C1fA)의 제조

[0525]

제조합 C1q 이중 특이적 항체 REGN5738은 2개의 발현 플라스미드로 형질감염한 이후의 CHO 세포에서 생산되었다. 발현 플라스미드 중 하나는 C1fA에 결합하는 항체의 중쇄(hIgG1) 및 경쇄를 암호화하고, 다른 발현 플라스미드는 C1q 결합 scFv-Fc(hIgG1)(Fc는 “” 돌연변이를 함유함)를 암호화한다. 구체적으로, C1q 결합 scFv-Fc*를 다음과 같이 구성하였다: (1-39 ULC VK_L (G4S) 3 링커₁17736PVH.hIgG1(아미노산 D104-K330; H318R,Y319F(UniProtKB/Swiss-Prot: P01857.1)). 이중 특이적 분자를 함유하는 scFv를 전술한 바와 같이 정제하였다(Sci Rep. 2015 Dec 11;5:17943).

[0526]

일단 항체가 단리되면, 핵산 및 아미노산 서열을 획득하였다. 중쇄 가변 영역(HCVR), 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HCDR2), 중쇄 상보성 결정 영역 3(HCDR3), 경쇄 가변 영역(LCVR), 경쇄 상보성 결정 영역 1(LCDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(LCDR2), 경쇄 상보성 결정 영역 3(LCDR3), 중쇄(HC), 및 경쇄(LC)를 포함하는 예시적인 항-C1fA 항체의 아미노산 서열 식별자를 아래의 표 17에 나타냈다.

표 17 예시적인 항-C1fA 항체에 대한 아미노산 서열 식별자

항체 명칭	HC	HCVR	HCDR 1	HCDR 2	HCDR 3	LC	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
REGN 5738	73	서열번호: 73 의 잔기 1-118	서열번호 : 73 의 26-33	서열번호: 73 의 51-58	서열번호: 73 의 96-106	74	서열번호: 74 의 잔기 1-108	서열번호: 74 의 27-32	서열번호: 74 의 51-55	서열번호: 74 의 89-98

[0527]

[0528]

실시예 11. 이중 특이적 항-C1q 이중 특이적 항체의 제조

[0529]

항-C1q 특이적 결합 도메인 및 표적 항원 특이적 결합 도메인을 포함하는 이중 특이적 항체를 표준 방법론을 사용하여 작제하였고, 여기에서, 항-C1q 항체로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인은 항-IsdB 항체로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인; 항-CD20 항체로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인; 항-GITR 항체로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인; 항-Ps1 항체로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인; 항-단백질 A 항체로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인; 항-IsdA 항체로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인; 항-PNAG 항체로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인; 또는 항-C1fA 항체로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 포함하는 표적 항원 특이적 항원 결합 도메인과 조합되었다. 본 실시예의 이중 특이적 항체(bsAb)를 작제하는 데 사용된 항체를 실시예 1 내지 10에 기술된 바와 같이 획득하였다. 본원에 기술된 이중 특이적 항체의 서열 식별 번호는 표 18에 제시되어 있다.

표 18 이중 특이적 항체의 아미노산 서열

bsAb	서열번호											
	항-IsdB				항-C1q				ULC1-39			
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
REGN5066	26	28	30	32	2	4	6	8	10	12	14	16
REGN5067	26	28	30	32	18	20	22	24	10	12	14	16
	항-CD20				항-C1q				ULC1-39			
REGN5177	34	36	38	40	2	4	6	8	10	12	14	16

실시예 12. 인간 혈청 보체 의존성 스태필로코커스 아우레우스의 사멸

	항-인플루엔자 HA				항-C1q				ULC1-39			
REGN6093	42	44	46	48	2	4	6	8	10	12	14	16
	항-GITR				항-C1q				ULC1-39			
REGN6545	50	52	54	56	2	4	6	8	10	12	14	16
REGN6546	50	52	54	56	18	20	22	24	10	12	14	16
	항-단백질 A				항-C1q				ULC1-39			
REGN5551	58	60	62	64	2	4	6	8	10	12	14	16
	항-IsdA				항-C1q				UCL-39			
REGN5553	66	68	70	72	2	4	6	8	10	12	14	16
	항-Psl				항-C1q				항-Psl LC			
REGN5409	서열번호: 78의 Aa 1-118	서열번호: 78의 Aa 31-35	서열번호: 78의 Aa 50-65	서열번호: 78의 Aa 98-109	75	4	6	8	서열번호: 79의 Aa 1-108	서열번호: 79의 Aa 23-33	서열번호: 79의 Aa 49-55	서열번호: 79의 Aa 88-99
	항-PNAG				항-C1q				항-PNAG LC			
REGN5536	서열번호: 76의 Aa 1-118	서열번호: 76의 Aa 27-32	서열번호: 76의 Aa 51-58	서열번호: 76의 Aa 96-106	75	4	6	8	서열번호: 77의 Aa 1-108	서열번호: 77의 Aa 27-32	서열번호: 77의 Aa 50-52	서열번호: 77의 Aa 93-101
	항-CflA				항-C1q				항-CflA LC			
REGN5738	서열번호: 73의 Aa 1-118	서열번호: 73의 Aa 26-33	서열번호: 73의 Aa 51-58	서열번호: 73의 Aa 96-106	75	4	6	8	서열번호: 74의 Aa 1-108	서열번호: 74의 Aa 27-32	서열번호: 74의 Aa 51-55	서열번호: 74의 Aa 89-98

물질 및 방법

박테리아 균주 및 성장 조건.

스타필로코커스 아우레우스 뉴먼 야생형(wt) 및 스태필로코커스 아우레우스 뉴먼 Δ스파를 달리 언급하지 않는 한 37℃에서 페놀 미함유 RPMI(Gibco)에서 성장시켰다.

스타필로코커스 아우레우스의 주사 전자 현미경(SEM) 시각화.

스타필로코커스 아우레우스 뉴먼 Δ스파를 37℃에서 페놀 미함유 RPMI 배지(Gibco)에서 밤새 성장시켰다. 박테리아를 PBS로 2회 세척하고, 페놀 무함유 RPMI, 0.05% BSA에서 약 1의 OD₆₀₀까지 재현탁하였다. 500 μl의 박테리아를 500 μl의 NHS(Bioreclamation) 또는 500 μl의 페놀 무함유 RPMI, 0.05% BSA와 혼합하였다. 샘플을 37℃에서 8시간 동안 흔들면서 배양하였다. 이어서, 박테리아를 PBS로 3회 세척하였다. EM 분석을 위해, 샘플을 0.2M 카코딜산나트륨 완충액 중 5% 글루타르알데히드, 4% 파라포름알데히드의 2배 고정액으로 1:1로 고정시키고, 등급화된 에탄올을 통해 탈수시켰다. 샘플을 Tousimis Samdri 795 Critical Point Drier(Rockville MD)에서 액체 이산화탄소를 사용하여 임계점 건조시키고, Quorum EMS 150T ES(Quorum Technologies Ltd, 영국)에서 탄소로 코팅하고, 8 KV의 가속 전압을 사용하는 Zeiss Supra Field Emission 주사 전자 현미경(Carl Zeis Microscopy, LLC 북미)에서 검사하였다.

형광 현미경에 의한 보체 침착의 결정.

스타필로코커스 아우레우스 뉴먼 Δ스파를 37℃에서 페놀 미함유 RPMI 배지(Gibco)에서 밤새 성장시켰다. 박테

리아를 PBS로 1회 세척하고, PBS 중 3% 소 혈청 알부민(BSA)에 재현탁하였다. 이들을 실온에서 30분 동안 차단한 다음, PBS로 2회 세척하고, 페놀 미함유 RPMI, 0.05% BSA에서 약 1의 OD₆₀₀까지 재현탁하였다. 500 μ l의 박테리아를 500 μ l의 20% 정상 인간 혈청(NHS, Bioreclamation), 500 μ l의 20% C6-결손 혈청(Quidel), 또는 500 μ l의 페놀 미함유 RPMI, 0.05% BSA와 혼합하였다. 샘플을 37°C에서 1시간 동안 흔들면서 배양하였다. 1시간 후, 박테리아를 PBS로 3회 세척하고, PBS 중 1 ml의 1% BSA에서 재현탁하였다. 샘플을 분취한 다음 염소 항-인간 C1q(Genway), 마우스 항-인간 C3(Biolegend), 및 마우스 항-인간 C5b9(Abcam)로 1 μ g/ml의 최종 농도로 프로브하였다. 대조군으로서 비특이적 마우스 IgG1 및 마우스 IgG2a 항체를 사용하였다. 샘플을 실온에서 1시간 동안 1차 항체와 함께 배양한 다음 PBS로 3회 세척하였다. 이들을 PBS 중 100 μ l의 1% BSA에서 재현탁한 다음, Alexa Fluor 488(1:4000, ThermoFisher)에 접합된 당나귀 항-염소 IgG 또는 Alexa Fluor 488(1:4000, ThermoFisher) 이차 항체에 접합된 염소 항-마우스 IgG로 프로브하였다. DAPI(4',6-디아미디노-2-페닐인돌, 디하이드로클로라이드, 바이오레겐드)를 5 μ g/ml로 샘플에 첨가하고, 실온에서 45분 동안 배양하였다. 이어서, 샘플을 Zeiss LSM780 공초점 현미경 상에서 시각화하였다.

[0540] **혈청 사멸 분석.**

[0541] *스타필로코커스 아우레우스* 뉴먼을 37°C에서 페놀 미함유 RPMI 배지(Gibco)에서 밤새 성장시켰다. 박테리아를 PBS로 1회 세척하고, RPMI, 0.05% 소 혈청 알부민에서 약 0.5의 OD₆₀₀까지 재현탁하였다. 이어서, 이들을 약 1.0×10^5 cfu/ml의 최종 농도로 희석하였다(1,000배 희석). 이어서, 박테리아를 동일한 부피의 정상 인간 혈청(Quidel) 또는 말단 보체 단백질(Quidel)이 결손된 인간 혈청과 혼합하여 혈청의 최종 농도가 50%가 되도록 하였다. 샘플을 37°C에서 24시간 동안 흔들면서 배양하였다. 박테리아 생존은 제조사의 지침에 따라 BacTiter-Glo™(Promega)를 사용하여 측정하였다. 간략하게, BacTiter-Glo™ 완충액을 BacTiter-Glo™ 기질에 첨가한 다음, 100 μ l의 이 시약을 100 μ l의 박테리아 샘플에 96-웰 플레이트에서 첨가하였다. 플레이트를 퀼드 플레이트 웨이커(Eppendorf) 상에서 30초 동안 혼합한 다음, 실온에서 5분 동안 배양하였다. 이어서, SpectraMax i3x 플레이트 판독기 상에서 발광을 측정하였다.

[0542] **생존성 염료 흡수에 의한 MAC 매개 사멸의 시각화.**

[0543] *스타필로코커스 아우레우스* 뉴먼 Δ 스파를 페놀 미함유 RPMI 배지(Gibco)에서 약 1.0의 OD₆₀₀에 도달할 때까지 성장시켰다. 박테리아를 PBS로 1회 세척하고, PBS 중 3% 소 혈청 알부민(BSA)에 재현탁하였다. 이들을 실온에서 30분 동안 차단한 다음, PBS로 2회 세척하고, 페놀 미함유 RPMI, 0.05% BSA에서 약 1의 OD₆₀₀까지 재현탁하였다. 200 μ l의 박테리아를 200 μ l의 NHS(Quidel) 또는 200 μ l의 C1-결손 혈청(Quidel)과 혼합하였다. 별도의 샘플을 0, 10시간 및 24시간 분석을 위해 3개 준비하였다. 샘플을 표시된 시간 동안 37°C에서 흔들면서 배양하였다. 배양 후, 프로피디움 요오드화물(PI)을 각 샘플에 1 μ g/ml의 최종 농도로 첨가하고, 실온에서 5분 동안 배양하였다. SpectraMax i3x 플레이트 판독기(여기 533 nm, 방출 617 nm) 상에서 형광을 측정하였다. 샘플의 개별 분취량을 전술한 바와 같이 BacTiter-Glo™ 키트를 사용하여 분석하였다.

[0544] **결과 및 결론**

[0545] 이전의 연구는 C5b9 복합체를 포함하는 보체 단백질이 10% 정상 인간 혈청(NHS)에서의 짧은 배양(1 내지 2시간) 후, 그람 양성 유기체의 표면 상에 침착하는 것으로 나타났지만, 침착의 기능적 결과는 관찰되지 않았다. 보체가 그람 양성 유기체에 어떻게 영향을 미치는지 더 잘 이해하기 위해, 이전에 시험한 것보다 생리학적 레벨에 더 가까운 50% NHS(도 1a), 또는 배지(도 1b)와 함께 배양된 *스타필로코커스 아우레우스*를 시각화하였다. 주사 전자 현미경(SEM)은 NHS로 8시간 배양 후 *스타필로코커스 아우레우스*의 표면에 대한 현저한 차이를 나타냈다(도 1a). NHS의 존재 하에 *스타필로코커스 아우레우스*에서의 대한 보체 침착이 확인되었지만, 배지에서는 확인되지 않았다(데이터 미도시).

[0546] 박테리아를 50% NHS, 50% C5-결손 혈청, 또는 배지와 함께 37°C에서 1시간 동안 배양하였다. C1q, C3에 특이적인 일차 항체, 또는 C5b9 복합체 형성 시 형성되는 네오-에피토프를 사용하여 보체 침착을 시각화하였다. 50% NHS의 존재 하에, 표면 결합 C1q, C3, 및 C5b9 단백질이 유사한 분포로 관찰되었다(데이터 미도시). C5의 결손은 C1q 및 C3 침착을 초래하였지만, C5b9는 그렇지 않았으며, 이는 C5b9 형성을 위한 완전한 말단 경로에 대한 필요성을 나타낸다.

[0547] NHS와의 배양은 *스타필로코커스 아우레우스*의 사멸을 초래하였고, 이는 온전한 말단 보체 경로에 의존한다(도

2). 이 실험을 위해, 박테리아를 보다 생리학적인 농도의 혈청, 50% NHS, 또는 개별 말단 보체 성분(C1q, C5, C6, C7, C8, 또는 C9)이 결손된 50% NHS와 함께 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 연속 희석 및 플레이팅에 의해 측정했을 경우, 50% NHS에서의 생존 박테리아는 배지 단독에 비해 100배 감소하였다(도 2). ATP 방출을 사용하여 생존 박테리아를 정량화했을 경우에도 유사한 결과가 관찰되었다(도 4). 혈청에서 C1q 또는 임의의 말단 보체 성분(C5, C6, C7, C8, C9; 도 2)이 결손되었을 경우, 배지에서 관찰된 레벨과 유사하게 성장이 회복되어, *스타필로코커스 아우레우스* 사멸이 MAC의 형성에 의존적임을 확인하였다. 또한, C1q 또는 C5가 결손되지 않은 혈청인 NHS와의 *스타필로코커스 아우레우스*의 배양은 생존성 염료인 프로피디움 요오드화물(PI)의 흡수를 초래하였다(도 3). *스타필로코커스 아우레우스*를 50% NHS, 50% C1q-결손 혈청, 또는 50% C5-결손 혈청과 함께 0, 10 또는 24시간 동안 배양한 다음 PI를 첨가하였다. PI 염색의 레벨은 0시간에서는 유사하였지만, 24시간에서는 NHS로 처리된 샘플에서 흡수된 PI의 양이 상당히 증가하였으며, 이는 보체 결손 혈청에서는 관찰되지 않은 생존성의 손실을 나타낸다(도 3). 이는 보체 활성화가 *스타필로코커스 아우레우스*의 생존력을 직접적으로 감소시킬 수 있음을 나타낸다.

[0548] 실시예 13. 이중 특이적 항체 항-IsdB x 항-C1q, 항-단백질 A x 항-C1q, 항-IsdA x 항-C1q, 항-PNAG x 항-C1q, 및 항-C1f A x 항-C1q는 *스타필로코커스 아우레우스*에 결합하여 보체 결손 및 *스타필로코커스 아우레우스*의 사멸을 촉진시킨다.

[0549] 본 실시예는 C1q를 *스타필로코커스 아우레우스*로 유도하는 이중 특이적 항체가 보체 침착을 향상시키고 세포독성을 초래함을 나타낸다.

[0550] 물질 및 방법

[0551] 이중 특이적 항체

[0552] C1q 및 *스타필로코커스 아우레우스* 표적 항원 IsdB, IsdA, 단백질 A, PNAG 또는 C1fA에 결합하는 이중 특이적 항체(bsAb)를 실시예 11에 기술된 바와 같이 제조하였다.

[0553] 표면 플라즈몬 공명 - Biacore

[0554] 표적 항원에 대한 이중 특이적 항체의 결합을 위한 평형 해리 상수(K_D 값)를 다양한 구성으로 결정하였다. 모든 Biacore 결합 연구는 0.01 M HEPES pH 7.4, 0.15 M NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% v/v Surfactant P20으로 구성된 완충액(실험 완충액) 중 수행되었다. 결합 파라미터를 표 19에 나타냈다.

[0555] 일 구성에서, 항-C1q 이중 특이성 항체(bsC1q x IsdB) 또는 2가 항-IsdB 항체의 항-hC1q, 및 항-IsdB-6xHis 아암 각각에 대한 인간 C1q(Quidel) 및 IsdB.6x(His)의 결합은 실시간 표면 플라즈몬 공명 바이오센서(Biacore T200)를 사용하여 측정되었다. CM5 Biacore 센서 표면을 항-인간 IgG F(ab')₂ 단편 특이적 항체(Jackson, Cat nr. 109-005-006, Lot nr. 98960) 또는 항-Fc 수용체 항체의 아민 결합으로 유도체화하여 정제된 항-IsdB x 항-C1q 이중 특이적 항체 및 2가 항-IsdB을 포획하였다. IsdB.6x(His)를 항-C1q x 항-IsdB 표면에 걸쳐 주입하였다.

[0556] 또 다른 구성에서, 표면 포획된 IsdB.6x(His) 또는 비오틴화 인간 C1q(Bt hC1q)에 대한 항-C1q x 항-IsdB의 결합을 측정하였다.

[0557] 또 다른 구성에서, 표면 포획된 IsdA-6xHis에 대한 항-IsdA x 항-C1q(bsC1q x IsdA)의 결합을 측정하였다.

[0558] 또 다른 구성에서, 실시간 표면 플라즈몬 공명 바이오센서(Biacore T200)를 사용하여 표면 포획된 IsdB.6x(His)에 대한 인간 C1q(Quidel) 및 항-C1q x 항-IsdB의 결합을 측정하였다.

[0559] *스타필로코커스 아우레우스* 상에서의 항체 의존성 C1q 보체 침착.

[0560] ELISA 기반 분석 포맷으로 *스타필로코커스 아우레우스* 상에서의 보체 침착에 대해 항체를 시험하였다. 간략하게, *스타필로코커스 아우레우스*를 RPMI에서 밤새 성장시키고, PBS에서 세척하고, 0.25의 OD₆₀₀으로 조정하였다. MaxiSorp 96 웰 마이크로역가 플레이트(ThermoFisher)를 웰 당 100 μ l의 *스타필로코커스 아우레우스*로 밤새 코팅하였다. 플레이트를 2% 파라포름알데히드로 고정시키고, 3% BSA로 차단한 다음, 25°C에서 1시간 동안 1:3 희석된 항체로 0.14 nM 내지 33.3 nM 범위의 항체를 1:3 적정하였다. 세척 후, 5% 단백질 A/G 흡착 NHS(Bioreclamation)를 37°C에서 1.5시간 동안 첨가하였다. 염소 항-C1q 항체(Genway Biotech, Inc.)를 첨가하여 C1q 침착을 검출한 다음, 당나귀 항-염소 HRP 이차 항체(Jackson ImmunoResearch)를 검출하였다. 각 단계 사이에 플레이트 세척기로 플레이트를 세척하였다. 이어서, SuperSignal Pico 발광 시약(ThermoFisher)을 웰에

첨가하고, 플레이트 판독기(SpectraMax i3)에서 신호를 검출하였다. 발광 값을 7-점 반응 곡선(GraphPad Prism)에 대한 4-파라미터 로지스틱 방정식으로 분석하여 항체의 결합 EC50을 계산하였다.

[0561] **스타필로코커스 아우레우스 전혈 생존 분석.**

[0562] 전혈 생존 검정에서 *스타필로코커스 아우레우스* 뉴먼에 대한 살균 활성에 대해 항체를 평가하였다. 간략하게, *스타필로코커스 아우레우스* 뉴먼을 페놀 미함유 RPMI에서 밤새 성장시키고, PBS에서 세척하고, 1.25×10^8 콜로니 형성 단위(CFU)/mL의 농도로 PBS에서 재현탁하였다. 3회 반복으로, 10 μ L의 *스타필로코커스 아우레우스* 현탁액을 68 nM 또는 680 nM 시험군 및 대조군 항체와 함께 (응고 형성을 방지하기 위해 500 nM의 다비가트란이 추가로 포함된 항응혈제로서의 구연산나트륨 내) 100 μ L의 인간 전혈과 혼합하였다. 표시된 경우에 대해, 혈액을 실온에서 10분 동안 C5-차단 Fab 및 사이토카슬라신 D로 사전 배양하였다. 샘플을 37°C의 96 웰 플레이트에서 흔들면서(100 rpm) 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 100 μ L의 응집 용해 완충액(PBS ml당 200U 스트렙토키나아제, 2 μ g/ml RNase, 10 μ g/ml DNase, 0.5% 사포닌, 100 μ g 트립신으로 보충된 PBS)을 샘플에 첨가하고, 펠렛이 용해될 때까지 이들을 격렬하게 와류시켰다. 각 샘플로부터 50 μ L를 PBS에 연속적으로 희석시키고 CFU의 계수를 위해 LB 한천 플레이트에 플레이트팅하였다.

[0563] **스타필로코커스 아우레우스 표면 항원의 복제수 결정.**

[0564] 양자 MESF(동등한 가용성 형광색소 분자) 비드(Bangs Laboratories, Inc.)에 대한 표준 곡선을 제조업체의 절차에 따라 생성하였다. 간략하게, PBS 중 400 μ L FACS 완충액, 2% FBS(Gibco)에 기준 미소구체의 한 방울을 첨가하였다. FACSCantoII 유세포 분석기 상에서 미소구체를 분석하고, 값을 사용하여 Bangs Laboratories, Inc. 정량적 분석 템플릿인 QuickCal을 사용해 표준 곡선을 생성하였다. 이 분석에 사용된 유세포 분석기 설정을 전체 실험에 사용하였다. 다음으로, QuantumTM Simply Cellular 항-IgG 키트(Bangs Laboratories, Inc.)를 사용하여 항체 결합-비드 표준 곡선을 생성하였다. 100 μ L의 완충액에 미소구체의 1 방울을 첨가하였다. 각 표면 항원에 특이적인 형광색소-접합 항체를 450 nM의 농도로 시작하여 완충액 중에서 연속 희석하였다. 50 μ L의 비드를 50 μ L의 각 항체 희석물과 혼합하고, 얼음 상에서 30분 동안 배양하였다. 이어서, 1 μ L의 얼음 냉각 완충액을 샘플에 첨가하고, 완충액으로 2회 세척하였다. 이들을 400 μ L의 신선한 완충액에 재현탁하고, 이전의 표준 곡선에 사용된 것과 동일한 설정을 사용하여 FACSCantoII 상에서 분석하였다. 각각의 표면 항원의 복제 수를 결정하기 위해, *스타필로코커스 아우레우스* 뉴만 Δ 스파를 페놀 미함유 RPMI 배지(Gibco)에서 밤새 성장시켰다.

[0565] 박테리아를 PBS로 2회 세척하고, PBS 중 2% FBS(Gibco)에서 재현탁하였다. PI를 각 샘플에 2.5 μ g/ml의 최종 농도로 첨가하고, 박테리아와 함께 실온에서 2분 동안 배양하였다. 이어서, 유세포 계측법으로 박테리아 생존력을 측정하였다. 50 μ L의 박테리아를 이전에 제조한 50 μ L의 연속 희석된 항체와 혼합하였다. 샘플을 얼음 상에서 30분 동안 배양한 다음, 1 ml의 얼음 냉각 완충액을 첨가하였다. 샘플을 2회 세척하고 200 μ L의 완충액에 재현탁하였다. 이전에 사용한 것과 동일한 설정을 사용하여 FACSCantoII 상에서 이를 분석하였다. 항체의 포화 투여량에 대한 MESF 값은 위에서 생성된 비드 표준 곡선을 사용하여 MFI 값으로부터 계산하였다. 항체-비드 표준 곡선을 사용하여 비드의 알려진 항체 결합 용량으로 MESF를 나눔으로써 F/P 비율(형광색소/단백질)을 결정하였다. 이어서, 다음 식을 사용하여 복제 수를 계산하였다: MESF/FP 비 = 복제 수.

[0566] **결과 및 결론**

[0567] 보체가 *스타필로코커스 아우레우스*를 사멸시킬 수 있음을 입증한 후, 보체 침착과 박테리아 사멸 모두를 증가시키는 전략이 개발되었다. C1q-표적화 bsAb를 시험하여 항원 밀도 및 항체 결합의 기하 구조와 무관하게 C1q를 모집하고, 보체 침착을 향상시키고, 보체를 활성화시킬 수 있는지의 여부를 결정하였다. 보체 활성화 및 MAC 침착을 위해서는 표적 항원에 대한 다수의 C1q 구형 헤드의 결합이 요구된다. 또한, 표적 세포를 효율적으로 사멸시키기 위해서는 다수의 MAC 기공이 요구된다. 이를 피하기 위해, 완전한 인간 IgG1 bsAb는 *스타필로코커스 아우레우스* 표면에 직접적으로 C1q를 모집하도록 설계되었다. 잘 특성화되고, 고도로 보존되고, 풍부한 박테리아 표면 단백질 철-조절 표면 결정인자 단백질 B(IsdB)를 표적으로 선택하였다. VelocImmuneTM 마우스를 실시예 11에서 기술된 바와 같이 정제된 인간 C1q 및 재조합 *스타필로코커스 아우레우스* IsdB로 면역화하여 이들 2개의 항원에 대한 완전한 인간 항체를 생성하였다. IsdB 결합 아암이 다수의 C1q 효과기 아암과 쌍을 이루고, 혈청 사멸 분석에서 최대 *스타필로코커스 아우레우스* 사멸 활성을 갖는 bsAb를 선택하였다.

[0568] 항-IsdB x 항-C1q bsAb의 고유한 결합 특성은 표 19에 나타난 바와 같이 표면 플라스몬 공명(SPR)-Biacore으로 특징지어졌다.

표 19 이중 특이적 항체에 대한 결합 파라미터

37°C 에서 IsdB, IsdA 및 C1q 에 결합하는 항-C1q 이중 특이적 항체에 대한
Biacore 동역학 파라미터

포획 표면	시험 리간드	$K_a(M^{-1}s^{-1})$	$k_d(s^{-1})$	$K_D(M)$	$T_{1/2}(분)$
bsC1q x IsdB	IsdB 6xHis	1.63×10^5	5.57×10^{-4}	3.43×10^{-9}	21
항-IsdB 바이벌	IsdB 6xHis	3.65×10^5	6.4×10^{-4}	1.75×10^{-9}	18
Bt hC1q	bsC1q x IsdB	2.62×10^4	9.64×10^{-2}	3.67×10^{-4}	.12
IsdB.6x(His)	hC1q+bsC1q x IsdB	1.03×10^6	3.34×10^{-3}	3.23×10^{-9}	3.5
IsdB.6x(His)	bsC1q x IsdB	8.74×10^5	6.57×10^{-3}	7.52×10^{-9}	1.8
IsdA.6x(His)	bsC1q x IsdA	2.7×10^5	9.77×10^{-4}	3.62×10^{-9}	11.8

[0569]

[0570]

bsC1q x IsdB 및 부모 2가 항-IsdB 항체를 센서 칩 표면 상에 포획하고, IsdB.6x(His)를 37°C에서 표면 위로 주입하였다. bsC1q x IsdB 및 2가 항체 둘 모두는 IsdB에 대한 나노몰 친화도를 가졌다. IsdB.6x(His) 또는 IsdA.6x(His)를 칩 표면 상에 포획하고 bsC1q x IsdB 및 bsC1q x IsdA를 칩 표면 위로 주입했을 경우, 이중 특이적 항체 둘 모두는 각각의 항원에 대해 나노몰 친화도를 가졌다. 인간 C1q를 비오틴화하고 저밀도로 칩 상에 포획하고, bsC1q x IsdB를 주입하여, 용액에서의 상호작용을 반영하는 3.67 mM의 Kd를 생성하였다. *스타필로코커스 아우레우스*의 표면을 모방하기 위해, IsdB.6x(His)를 칩 표면 상에 먼저 포획한 다음, bsC1q x IsdB를 주입하고, 마지막으로 C1q를 주입하고, C1q의 해리를 측정하였다. 이러한 포맷에서, C1q에 대한 친화도는 3.23 nM 까지 증가하였다. 1000배 더 단단한 결합은 항-C1q 아암과 다수의 C1q 헤드 사이의 결합-유도 상호작용에 기인한다.

[0571]

항-IsdB x 항-C1q는 또한 *스타필로코커스 아우레우스*에 대한 C1q의 모집을 극적으로 증가시켰다. 항-IsdB x 항-C1q bsAb, 2가 IsdB 항체, 또는 이소형 대조군 항체의 결합으로 인한 *스타필로코커스 아우레우스* 뉴먼 Δ스파 (메티실린-민감성 균주, MSSA)의 표면 상에서 C1q 침착을 측정하였다. 2가 또는 이소형 대조군 항체로 최소 C1q 침착이 관찰되었지만, 항-IsdB x 항-C1q bsAb과의 배양은 *스타필로코커스 아우레우스* 상에 침착된 C1q의 강력한, 용량 의존적인 증가를 초래하였다($EC_{50} = 127 \text{ pM}$; 도 5).

[0572]

표 20에 나타낸 바와 같이, ELISA를 사용하여 다수의 항-C1q 이중 특이적 항체를 *스타필로코커스 아우레우스*에 결합시켰다. *스타필로코커스 아우레우스* 뉴먼 Δ스파를 ELISA 플레이트 상에 코팅하고; 항-IsdB x 항-C1q bsAb, 2가 IsdB 항체, 항-IsdA x 항-C1q bsAb, 항-PNAG x 항-C1q bsAb, 항-C1fA x 항-C1q bsAb, 또는 이소형 대조군 항체의 적정과 함께 배양한 다음; 세척하고; 이어서, 발광으로 결합 측정을 수행하였다(표 20).

표 20		
스타필로코커스 아우레우스 Δ스파에 대한 ELISA 결합		
시험 리간드	최대 RLU	$EC_{50}(M)$
bsC1q x IsdB	7.93×10^5	1.9×10^{-10}
bsC1q x IsdA	1.33×10^6	8.36×10^{-10}
bsC1q x PNAG	1.62×10^5	2.01×10^{-9}
bsC1q x C1fA	3.04×10^5	5.69×10^{-10}
bsC1q x 단백질 A	1.91×10^5	1.48×10^{-10}

[0573]

[0574]

MAC 침착의 bsAb 매개 향상의 기능적 결과는 전혈 분석을 사용하여 나타났으며, 여기에서 항-IsdB x 항-C1q는 *스타필로코커스 아우레우스*의 성장을 상당히 억제하였다(도 6). 24시간 동안 인간 혈액에서 *스타필로코커스 아우레우스* 뉴먼과 함께 배양한 2가 IsdB 항체는 박테리아 성장에 영향을 미치지 않았지만, 항-IsdB x 항-C1q bsAb와의 배양은 박테리아 성장을 거의 10배로 감소시켰다(도 6). 이러한 활성은 보체 활성화에 의존적이었다: 시토크라신 D로 식균작용을 차단하는 것은 항-IsdB x 항-C1q 활성화에 영향을 미치지 않은 반면, C5 차단은 bsAb 세

포독성을 완전히 제거하였다(도 6).

[0575] C1q-모집 bsAb 활성화에 대한 항원 밀도의 역할을 평가하기 위해, 동일한 C1q-표적화 아암을 단백질 A, 응집 인자 A(C1fA), 폴리-N-아세틸글루코사민(PNAG), 및 IsdA를 표적화하는 항체 아암과 쌍을 이루었다. 이들 *스타필로코커스 아우레우스* 표적 항원은 유세포 계측법을 사용하여 측정했을 경우, *스타필로코커스 아우레우스* 뉴먼 Δ스파의 표면에 상이한 밀도로 존재한다(표 21).

표 21	
<i>스타필로코커스 아우레우스</i> 표면 항원의 상대적 레벨	
표면 항원	이소형 대조군과 관련된 복제 번호
IsdB	7.26
C1fA	0.90
PNAG	0.71
IsdA	13.10

[0576]

[0577] 시험된 C1q-표적화 이중 특이적 항체 각각은 높은 친화도로 C1q 및 *스타필로코커스 아우레우스*에 결합하였고(표 22), 상응하는 2가 항체와 비교하여 *스타필로코커스 아우레우스* 사멸을 증가시켰다(도 7 및 표 23).

표 22 항체 포획 칩 표면에 대한 시험 리간드로서의 5 nM C1q 결합에 대한 결합 파라미터

37°C에서의 결합에 대한 Biacore 동역학 파라미터				
포획 표면	$K_a(M^{-1}s^{-1})$	$k_d(s^{-1})$	$K_D(M)$	$T_{1/2}(분)$
bs hC1q x IsdB	3.22×10^8	5.02×10^{-3}	1.56×10^{-9}	2.3
bs hC1q x IsdB scFv	1.23×10^7	9.2×10^{-3}	7.48×10^{-10}	1.3
bs hC1q x IsdA	3.62×10^8	4.69×10^{-3}	1.3×10^{-9}	2.5
bs hC1q x PNAG	1.61×10^7	1.02×10^{-2}	6.32×10^{-10}	1.1
bs hC1q x C1fA	4.35×10^8	9.2×10^{-3}	7.48×10^{-10}	1.3
bs hC1q x 단백질 A	3.06×10^8	4.88×10^{-3}	1.36×10^{-9}	2.3

[0578]

[0579] 표 23에 나타낸 바와 같이, 시험 항체가 없는 상태에서 인간 전혈의 전체 성장은 100%로 정규화된다. 68 nM 및 680 nM 음성 이소형 대조군 항체 둘 모두에서의 *스타필로코커스 아우레우스*의 생존율은 114 내지 146% 범위였다. 68 nM의 항-*스타필로코커스 아우레우스* x 항-C1q 이중 특이적 항체로 치료했을 경우, 동등한 2가 항-*스타필로코커스 아우레우스* 항체와 비교시, *스타필로코커스 아우레우스*의 생존율은 적어도 50% 감소하였다. 680 nM의 항-*스타필로코커스 아우레우스* x 항-C1q 이중 특이적 항체로 치료했을 경우, 생존율은 4 내지 14% 범위였으며, 이는 또한 IsdA의 경우를 제외하고, 그의 동등한 2가 항-*스타필로코커스 아우레우스* 항체보다 적어도 50% 더 낮았다. IsdA의 경우, 2개의 실험 중 하나에서, 항-IsdA x 항-C1q 항체 활성화는 항-IsdA 2가 항체보다 약 40% 더 높았다. 따라서, 각각의 항-*스타필로코커스 아우레우스* x 항-C1q 항체 농도가 증가함에 따라, 항-*스타필로코커스* 활성이 증가하였다.

[0580] *스타필로코커스 아우레우스* 표적 항원의 표면 밀도의 가변성(표 21)에도 불구하고, 이들 bsAb의 유사한 효능은 세포 표면 상의 C1q의 국소 농도를 향상시키는 것이 보체 매개 세포독성의 낮은 효율을 극복함을 나타낸다. 이러한 결과는 항-*스타필로코커스 아우레우스* x 항-C1q 항체가 *스타필로코커스 아우레우스*의 사멸을 향상시키고, 보체 활성을 증가시키기 위한 C1q-모집 bsAb 접근법을 지지한다는 것을 입증한다.

표 23 항-스타필로코커스 아우레우스 x 항-C1q 이중 특이적 항체로 치료한 후
인간 전혈에서의 스타필로코커스 아우레우스 뉴먼 생존율

항체	전혈 표준 편차 $\pm$ 대비 스타필로코커스 아우레우스의 생존율(%) (미치료, 100%로 정규화됨)			
	Expt 1 68nM	Expt 2 68nM	Expt 1 680nM	Expt 2 680nM
혈액 + 스타필로코커스 아우레우스(미치료)	100	100	100	100
항-단백질 A x 항-C1q	25 $\pm$ 1	42 $\pm$ 2	7 $\pm$ 0.4	5 $\pm$ 0.2
항-C1fA x 항-C1q	30 $\pm$ 1	39 $\pm$ 3	14 $\pm$ 1	4 $\pm$ 0.4
항-PNAG x 항-C1q	26 $\pm$ 1	82 $\pm$ 3	13 $\pm$ 1	4 $\pm$ 1
항-IsdA x 항-C1q	10 $\pm$ 1	48 $\pm$ 4	7 $\pm$ 1	5 $\pm$ 0.5
항-IsdB x 항-C1q	26 $\pm$ 1	19 $\pm$ 2	11 $\pm$ 1	5 $\pm$ 0.2
항-IsdB x 항-C1q-scFv	68 $\pm$ 6	71 $\pm$ 2	23 $\pm$ 1	12 $\pm$ 0.4
항-단백질 A	106 $\pm$ 9	89 $\pm$ 5	15 $\pm$ 2	18 $\pm$ 2
항-C1fA	105 $\pm$ 6	113 $\pm$ 9	119 $\pm$ 7	106 $\pm$ 11
항-PNAG	127 $\pm$ 14	117 $\pm$ 4	198 $\pm$ 11	137 $\pm$ 6
항-IsdA	47 $\pm$ 8	97 $\pm$ 6	29 $\pm$ 1	8 $\pm$ 0.2
항-IsdB	121 $\pm$ 14	107 $\pm$ 6	135 $\pm$ 12	132 $\pm$ 6
이소형 대조군(REGN1932)	138 $\pm$ 11	114 $\pm$ 16	146 $\pm$ 26	130 $\pm$ 8

실시예 14 항-IsdB x 항-C1q는 C1q-인간화 마우스에서 스타필로코커스 아우레우스의 제거를 개선시킴

물질 및 방법

LC-MS/MS를 사용한 마우스 혈청 내 C1q 농도의 정량화.

인간화 마우스 혈청 샘플 유래의 단백질을 변성시키고, 환원시키고, 이어서 알킬화시키고 트립신으로 소화시켰다. 이어서, 소화된 펩티드 혼합물을 ACQUITY UPLC BEH130 C18 컬럼(2.1 x 50 mm, 1.7 μ m; Waters)을 갖는 Agilent 1290 Infinity II LC 시스템을 사용하여 역상 액체 크로마토그래피로 분리하였다. 물 중 0.1% 포름산 및 아세트오트릴 중 0.1% 포름산을 각각 이동상 A 및 이동상 B로서 사용하였다. 인간 C1q 단백질 서열에 고유한 시그니처 펩티드를 C1q 정량화를 위한 대리 펩티드로서, 각각의 개별 C1q 서브유닛(A, B, 및 C)으로부터 선택하였다. 각각의 C1q 서브유닛으로부터 대리 펩티드에 대한 검량 곡선은 일련의 C1q 단백질 표준(Quidel) 농도를 사용하여 생성하였으며, 이는 각각의 대리 펩티드의 분석 반응에 기초하여 3개의 서브유닛 중 어느 하나에 의한 총 C1q의 정량화를 가능하게 한다. 선택된 반응 모니터링(SRM) 모드 하에서 LC-MS/MS에 의한 데이터 획득은 Agilent 제트 스트림 전기분무 이온화 소스를 갖는 Agilent 6495 TripleQuad 질량 분광계를 사용하여 수행하였다. 사전에 선택된 질량 대 전하 비율(m/z)의 전구체 및 각각의 대리 펩티드의 생성물 이온 쌍은 최적화된 충돌 에너지로 단편화되어 질량 분광계에서 검출되었다. 6400 시리즈 Triple Quadrupole용 Agilent LC/MS Data Acquisition 버전 B.08.00을 사용하여 LC/MS 시스템을 작동시켰다. Agilent MassHunter Quantitative Analysis, 버전 B.06.00을 데이터 분석에 사용하였다. 이 분석에서, 모든 표준, 대조군 및 시험 샘플을 병렬로 제조하였다.

파종성 스타필로코커스 아우레우스 감염 모델

혼합 배경의 인간화 C1q(C1q^{Hu/Hu}) 마우스(MAID1615)를 0일차에 체중으로 무작위화한 다음, 200 μ l 부피의 스타필로코커스 아우레우스 뉴먼(1.5×10^8 CFU/마우스), 스타필로코커스 아우레우스 CA-127(1.5×10^8 CFU/ml), 또는 스타필로코커스 아우레우스 MW2(1.3×10^8 CFU/마우스)로 복강내 감염시켰다. 스타필로코커스 아우레우스 균

주를 TSB에서 밤새 성장시켰다. 이어서, 배양물을 신선한 TSB에서 1:100으로 희석하고, 37℃의 TSB에서 로그 상 (OD₆₀₀ 약 1)으로 성장시키고, PBS에서 3회 세척하고, 감염에 대해 목적하는 밀도로 조정하였다. 명시된 항생제는 감염 후 18시간부터 투여하였다. 마우스는 반코마이신 110 mg/kg 1일 2회 피하 투여, 답토마이신 50 mg/kg 1일 1회 피하 투여, 또는 리네졸리드 80 mg/kg 1일 2회 경구 투여(100 µl 부피)로, 1일차, 2일차, 및 3일차에 치료되었다. 감염 후 24시간 시점에, 마우스에 100 µl 부피의 표시된 항체 또는 PBS의 단일 용량을 복강 내 투여하였다. 감염 후 4일차까지 마우스를 매일 칭량하고, 체중 변화를 기록하였다. 4일차에 마우스를 안락사시키고 신장, 심장, 간, 폐 및 비장을 채취하여 장기 부담을 측정하였다. 요약하자면, 장기는 gentleMACS Octo Dissociator(Miltenyi Biotec)에서 프로그램 “”를 사용하여 5 mL의 PBS 중에서 균질화되었다. 균질물을 PBS에서 희석하고, 10배의 연속 희석물을 LB 한천 플레이트 상에 도말하였다. 플레이트를 37℃에서 밤새 배양하였다. 생성된 콜로니를 계수하고, 결과를 CFU/그램 조직으로서 기록하였다.

[0588] 결과 및 결론

[0589] 항-IsdB x 항-C1q bsAb의 시험관 내 효능을 나타낸 후, 강화된 세포독성이 생체 내에서 관찰될 수 있는지의 여부를 평가하였다. bsAb의 항-C1q 아암은 인간 C1q 헤드에 특이적이고 마우스 C1q에 결합하지 않기 때문에, 생체 내 효능 모델을 가능하게 하기 위해 C1q의 구형 헤드의 인간 서열을 암호화하는 마우스를 생성하였다. 마우스 C1qA, C1qB, 및 C1qC 유전자를 키메라 버전으로 치환하였으며, 여기에서 콜라겐-유사 꼬리를 암호화하는 유전자의 N-말단은 마우스 서열이었고, 구형 헤드를 암호화하는 유전자의 C-말단은 인간 서열이었다. 그 결과 마우스 보체 경로의 나머지 및 여전히 상호작용하면서 bsAb에 결합할 수 있는 C1q 단백질이 생성되었다. 유전자는 천연 마우스 C1q 프로모터의 조절 하에 유지되었고, 혈청 내 키메라 단백질의 발현은 질량 분광분석에 의해 확인되었다. 평균적으로, 마우스는 28 µg/mL의 키메라 C1q를 21 내지 37 µg/mL 범위의 값으로 발현하였다(도 8).

[0590] C1q 인간화 마우스를 사용하여, 항-IsdB x 항-C1q bsAb의 1회 투여량이 생체 내에서 *스타필로코커스 아우레우스*의 제거를 상당히 개선하였음을 입증하였다. 감염 전에, 마우스는 유사한 평균 균 체중을 갖도록 무작위 배정된 다음, 1일 후 *스타필로코커스 아우레우스* 뉴먼으로 복강내 감염시켰다. 감염 다음 날, 마우스에게 PBS, 2가 항-IsdB 항체(25 mg/kg), 또는 다양한 농도의 항-IsdB x 항-C1q(0.5 내지 25 mg/kg)를 복강내 투여하였다. 마우스를 매일 칭량하고, 4일차에 기관을 수집하고 박테리아 부담을 측정하였다. 감염 후 1일차에, 각 군의 마우스는 체중의 10 내지 15%를 감량하였다. PBS로 치료한 동물에서, 체중 감소는 1일차 후에 계속된 반면(도 9, 좌측 패널, 적색 사각형), 25 mg/kg의 항-IsdB로 치료한 마우스의 체중은 1일차 후에 안정적이었다(도 9, 좌측 패널, 자두색 삼각형). 놀랍게도, 1 mg/kg의 적은 양의 항-IsdB x 항-C1q로 치료한 경우, 1일 후 체중이 안정화되었고, 5 및 25 mg/kg의 투여량은 박테리아 부담의 신속한 감소를 시사하는 체중 증가를 초래하였다(도 9, 좌측 패널, 오렌지 다이아몬드, 원 및 사각형).

[0591] 4일차에, 기관 내 박테리아 부담을 정량화하였다: PBS 및 25 mg/kg의 항-IsdB 2가 항체로 치료한 마우스는 신장에서 그램 당 10⁸개의 박테리아를 가졌다(도 9, 우측 패널). 역으로, 1 mg/kg의 적은 양의 항-IsdB x 항-C1q의 치료는 신장 박테리아 부담을 적어도 1-로그만큼 감소시켰고, 5 mg/kg 용량에서는 4-로그만큼의 감소가 관찰되었다(도 9, 우측 패널). 또한, 체중 및 박테리아 장기 부담의 유사한 경향이 메티실린 내성(MRSA) 균주인 *스타필로코커스 아우레우스* CA127에서도 관찰되었다(도 11). 심장, 간, 폐 및 비장에서 박테리아 부담의 유사한 감소가 관찰되었다(각각 도 12 내지 도 15). 이러한 결과는 2가 항-IsdB IgG1 항체가 생체 내에서 *스타필로코커스 아우레우스*를 제거하는 데 충분하지 않은 반면, 항-IsdB x 항-C1q bsAb는 C1q-의존성 보체 모집 및 사멸을 향상시킴을 입증한다.

[0592] 항-IsdB x 항-C1q의 단일 투여량은 표준 치료 항생제인 반코마이신, 리네졸리드 및 답토마이신의 일일 투여량만큼 *스타필로코커스 아우레우스* 부담을 감소시키는 데 효과적이다. 마우스를 MRSA 균주인 *스타필로코커스 아우레우스* MW2로 복강내 감염시켰다. 감염 후 1일차에, PBS 또는 5 mg/kg 항-IsdB x 항-C1q bsAb를 복강내 투여하거나, 표준 치료 항생제를 다음과 같이 투여하였다: 110 mg/kg 반코마이신 1일 2회(b.i.d.) 피하 투여, 50 mg/kg 답토마이신 1일 1회(q.d.) 피하 투여, 또는 80 mg/kg 리네졸리드 1일 2회(b.i.d.) 경구 투여. 마우스를 매일 칭량하고, 4일차에 신장을 채취하고 박테리아 부담을 측정하였다. 모든 항생제는 미치료 마우스와 비교하여 박테리아 부담을 낮추었지만(답토마이신 약 330배 감소; 리네졸리드 약 100배 감소), 항-IsdB x 항-C1q bsAb 또는 반코마이신으로 치료한 마우스는 신장에서의 *스타필로코커스 아우레우스*의 부담을 500배 초과로 상당히 감소시켰다(도 10). bsAb의 단일 투여량은 시험된 항생제의 일일 투여량만큼 박테리아를 제거하는 데 효과적이었다.

[0593] 치료 가능성을 위한 보체 시스템의 강력한 사멸 활성을 이용하기 위해, 병원성 세포를 용해시키기 위해 C1q를

모집하는 이중 특이적 항체 플랫폼을 개발하였다. 이 플랫폼의 유용성을 입증하기 위해 초기에 MAC의 세포독성 효과에 내성이 있는 것으로 여겨지는 유기체인 *스타필로코커스 아우레우스*를 선택하였다. C1q-지정 이중 특이적 접근법을 사용하여, 생체 내 및 시험관 내 보체 침착 및 사멸을 향상시켰다. 말단 보체 성분인 C5의 결손은 효과를 무효화하여 MAC-매개 용해에 대한 의존성을 입증하였다. 또한, 이러한 접근법이 상이한 밀도를 갖는 다른 *스타필로코커스 아우레우스* 표적을 사용하여 작용한다는 것을 보여주었다.

[0594] 그람 양성 박테리아는 직접적인 보체 매개 용해에 민감하다. 직접적인 사멸이 관찰되지 않았고, 말단 보체 결핍과 에컬리주맵을 이용한 C5 차단 둘 모두 그람 음성 박테리아인 *나이세리아*에 대한 감수성 증가만을 초래하기 때문에, MAC은 그람 양성 감염의 조절에 역할을 하는 것으로 여겨지지 않았다. 그러나, *스타필로코커스 아우레우스*는 MAC 활성을 차단하는 역할을 나타내는 SSL7과 같은 말단 보체 억제제를 가지고 있으며, 초기 보체 성분(예를 들어, C1q, C2, C3, C4)에 결핍이 있는 인간은 *스타필로코커스 아우레우스*를 포함하는 다수의 박테리아 감염에 취약하다. 따라서, 본 개시의 bsAb의 효능은 국소 보체의 증가가 MAC의 활성을 통해 그람 양성 박테리아의 사멸에 이용될 수 있음을 시사한다.

[0595] 실시예 15. 25°C 및 37°C에서의 항-IsdB x 항-C1q, 항-인플루엔자 HA x 항-C1q, 항-GITR x 항-C1q, 항-Ps1 x 항-C1q scFv 및 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 mAb에 대한 인간 C1q, IsdB-6xHis, 인플루엔자 HA Foldon-6xHis 및 hGITR.mmh 결합 동역학

[0596] *스타필로코커스 아우레우스*에 대한 C1q-모집 bsAb의 효능을 입증한 후, C1q-매개 활성이 매우 상이한 세포 표면을 갖는 그람 음성 박테리아 및 악성 포유류 세포를 효과적으로 용해시키는 데 사용될 수 있는지의 여부를 조사하였다. C1q-모집 효과가 아암을 다양한 세포 유형 상의 표면 항원 표적화 아암과 쌍을 이루었다: 그람 음성 *슈도모나스 아에루기노사*에 대한 Ps1, B-세포에 대한 CD20, T-세포에 대한 글루코코르티코이드-유도 TNFR-관련 단백질(GITR), 및 인플루엔자 감염 세포에 대한 헤마글루티닌(HA). 실시예 11에 기술된 바와 같이 bsAb를 제조하고 결합 동역학에 대해 시험하였다.

[0597] 물질 및 방법

[0598] 항-C1q 이중 특이적 항체의 항-hC1q, 항-IsdB-6xHis, 항-HA Foldon-6xHis 및 항-GITR.mmh에 각각 결합하는 인간 C1q(Quidel), IsdB-6xHis(서열번호: 80), HA Foldon-6xHis(서열번호: 81) 및 hGITR.mmh(서열번호: 82)에 대한 평형 해리 상수(K_D 값)를 실시간 표면 플라즈몬 공명 바이오센서(Biacore T200)을 사용하여 측정하였다. CM5 Biacore 센서 표면을 항-인간 IgG F(ab')₂ 단편 특이적 항체(Jackson, Cat nr. 109-005-006, Lot nr. 98960)의 아민 결합으로 유도체화하여 정제된 항-IsdB x 항-C1q, 항-인플루엔자 HA x 항-C1q, 항-GITR x 항-C1q, 항-Ps1 x 항-C1q scFv 및 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항체를 포획하였다. 모든 Biacore 결합 연구는 0.01 M HEPES pH 7.4, 0.15 M NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% v/v Surfactant P20으로 구성된 완충액(실행 완충액) 중 수행되었다.

[0599] 0.625 nM 내지 5 nM 농도 범위의 인간 C1q, 1.11 nM 내지 90 nM 농도 범위의 헥사히스티딘 태그(IsdB-6xHis; 서열번호: 80)로 발현된 재조합 박테리아 IsdB 및 myc-myc-His 태그(hGITR-mmh; 서열번호: 82)로 발현된 hGITR, 및 50 nM 내지 0.78 nM 농도 범위의 헥사히스티딘 태그(HA-6xHis; 서열번호: 81)로 발현된 인플루엔자 A I군 HA foldon을 관련 항-항원(Ag) x C1q 이중 특이적 항체 포획 표면에 50 µL/분의 유속으로 주입되었다. 항체-시약 연관성을 2분 동안 모니터링하는 한편, 해리를 5분 동안 모니터링하였다. 모든 동역학적 결합 실험은 25°C 또는 37°C에서 수행하였다. 동적 결합(k_a) 및 해리(k_d) 속도 상수를 Scrubber 2.0c 곡선 피팅 소프트웨어를 사용해 1:1 결합 모델에 실시간 센서그램을 피팅함으로써 결정하였다. 결합 해리 평형 상수(K_D) 및 해리 반감기($t_{1/2}$)를 동적 속도 상수로부터 다음과 같이 계산하였다:

$$K_D(M) = \frac{k_d}{k_a}, \text{ 및 } t_{1/2}(\text{분}) = \frac{\ln(2)}{60 * k_d}$$

[0600]

[0601] 결과 및 결론

[0602] 표 24에 나타낸 바와 같이, 25°C에서, 본 개시의 7개의 항-C1q 항체 모두는 451 pM 내지 842 pM 범위의 K_D 값으로 인간 C1q(Quidel)에 결합하였다. 표 25에 나타낸 바와 같이, 37°C에서, 본 개시의 7개의 항-C1q 이중 특이적 항체 모두는 481 pM 내지 4.63 nM 범위의 K_D 값으로 hC1q에 결합하였다.

[0603] 표 26에 나타난 바와 같이, 25°C에서, 본 개시의 2개의 항-IsdB x 항-C1q 항체(REGN5066 및 REGN5067)는 각각 2.36 nM 및 1.7 nM의 K_D 값으로 IsdB.6xHis에 결합하였다. 37°C에서, 본 개시의 2개의 항-IsdBxClq 항체는 3.43 nM 및 3.33 nM의 K_D 값으로 IsdB-6xHis에 결합하였다.

[0604] 표 27에 나타난 바와 같이, 25°C에서, 본 개시의 2개의 항-GITR x 항-C1q 항체(REGN6545 및 REGN6546)는 각각 9.86 nM 및 7.52 nM의 K_D 값으로 hGITR.6xHis에 결합하였다. 37°C에서, 본 개시의 2개의 항-GITR x 항-C1q 항체는 49.2 nM 및 20.9 nM의 K_D 값으로 hGITR.6xHis에 결합하였다.

[0605] 표 28에 나타난 바와 같이, 25°C에서, 본 개시의 항-HA x 항-C1q 항체(REGN6093)의 인플루엔자 HA Foldon.6xHis에 대한 결합은 결정적이지 않았다. 37°C에서, 본 개시의 항-HA x 항-C1q 항체의 인플루엔자 A 1군 HA Foldon.6xHis에 대한 결합은 시험된 조건 하에서 관찰되지 않았다.

[0606] 인간 C1q, IsdB-6xHis, HA.6xHis 및 hGITR.mmh의 이소형 대조군 항체(REGN1932)에 대한 결합은 전술한 임의의 실험 조건 하에서 관찰되지 않았다.

표 24 25°C에서의 항-HA x 항-C1q(REGN6093), 항-GITR x 항-C1q(REGN6545, REGN6546), 항-IsdB x 항-C1q(REGN5066, REGN5067), 항-Psl x 항-C1q scFv(REGN5409) 및 항-CD20 x 항-C1q(REGN5177) 이중 특이적 mAb에 대한 hC1q 결합의 Biacore 동역학

25°C에서의 hC1q 결합					k_a	k_d	K_D	$t_{1/2}$
REGN #/Ab PID	C1q 클론	클론 쌍	항체 유형	항원 쌍	(l/몰*s)	(1/s)	(mol/l)	(분)
REGN 6093	mAb17736	mAb11829-	인플루엔자 HA x C1q	인플루엔자 HA	4.80E+ 06	2.16E- 03	4.51E- 10	5.3
REGN 6545	mAb17736P	mAb14536	항-GITR x C1q	GITR	3.07E+ 06	1.62E- 03	5.28E- 10	7.1
REGN 5177	mAb17736	mAb14303	항-CD20 x 항-C1q mAb	CD20	3.26E+ 06	2.24E- 03	6.88E- 10	5.2
REGN 5409	17736 ScFv (VK-VH)	COMP2882 (항-Psl)	항-PslxC1q ScFv	Psl	3.51E+ 06	2.62E- 03	7.47E- 10	4.4
REGN 6546	mAb18395	mAb14536	항-GITR x C1q	GITR	5.43E+ 06	4.09E- 03	7.53E- 10	2.8
REGN 5066	mAb17736	mAb20295	IsdB x C1q	IsdB	2.51E+ 06	2.11E- 03	8.42E- 10	5.5
REGN 5067	mAb18395	mAb20295	IsdB x C1q	IsdB	5.78E+ 06	4.35E- 03	7.54E- 10	2.7
REGN 1932			항-FcID1	이소형 대조군	NB	NB	NB	NB

[0607]

표 25 37°C에서의 항-HA x 항-C1q(REGN6093), 항-GITR x 항-C1q(REGN6545, REGN6546),
항-IsdB x 항-C1q(REGN5066, REGN5067), 항-Psl x 항-C1q scFv(REGN5409) 및
항-CD20 x 항-C1q(REGN5177) 이중 특이적 mAb에 대한 hC1q 결합의 Biacore 동역학

37°C에서의 hC1q 결합					k_a	k_d	K_D	$t_{1/2}$
REGN #/Ab PID	C1q 클론	클론 쌍	항체 유형	항원 쌍	(l/몰*s)	(1/s)	(mol/l)	(분)
REGN 6093	mAb17736	mAb11829	인플루엔자 HA x C1q	인플루엔자 HA	3.61E+06	4.01E-03	1.11E-09	2.9
REGN 5066	mAb17736	mAb20295	IsdB x C1q	IsdB	3.22E+06	5.02E-03	1.56E-09	2.3
REGN 6545	mAb17736	mAb14536	항-GITR x C1q	GITR	3.34E+06	5.82E-03	1.74E-09	2
REGN 5067	mAb18395	mAb20295	IsdB x C1q	IsdB	6.52E+06	1.34E-02	2.05E-09	0.9
REGN 5409	17736 ScFv (VK-VH)	COMP2882 (항-Psl)	항-PslxC1q ScFv	Psl	4.80E+06	1.16E-02	2.41E-09	1
REGN 5177	mAb17736	mAb14303	항-CD20 x 항-C1q mAb	CD20	1.04E+07	4.99E-03	4.81E-10	2.3
REGN 6546	mAb18395	mAb14536	항-GITR x C1q	GITR	4.90E+06	2.27E-02	4.63E-09	0.5
REGN 1932			항-FcID1	이소형 대조군	NB	NB	NB	NB

표 26 항-IsdBxC1q 이중 특이적 항체의 IsdB 아암에 대한 IsdB-6xHis
결합의 Biacore 동역학

항체 ID	항원 쌍	온도 °C	$k_a(Ms^{-1})$	$k_d(s^{-1})$	$K_D(몰)$	$t_{1/2}(분)$
REGN5066	IsdB	25	1.15E+05	2.70E-04	2.36E-09	42.8
REGN5067	IsdB	25	1.20E+05	2.04E-04	1.70E-09	56.6
REGN1932	FcID1	25	NB	NB	NB	NB
REGN5066	IsdB	37	1.63E+05	5.57E-04	3.43E-09	20.7
REGN5067	IsdB	37	1.56E+05	5.20E-04	3.33E-09	22.2
REGN1932	FcID1	37	NB	NB	NB	NB

NB - 전술한 시험 조건 하에서 결합이 관찰되지 않음

표 27 항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 항체의 GITR 아암에 대한 hGITR
결합의 Biacore 동역학

항체 ID	항원 쌍	온도 °C	$k_a(Ms^{-1})$	$k_d(s^{-1})$	$K_D(몰)$	$t_{1/2}(분)$
REGN6545	GITR	25	3.30E+05	3.26E-03	9.86E-09	3.5
REGN6546	GITR	25	4.53E+05	3.40E-03	7.52E-09	3.4
REGN1932	FcID1	25	NB	NB	NB	NB
REGN6545	GITR	37	2.74E+05	1.35E-02	4.92E-08	0.9
REGN6546	GITR	37	5.43E+05	1.14E-02	2.09E-08	1
REGN1932	FcID1	37	NB	NB	NB	NB

표 28 항-HA x 항-C1q 이중 특이적 항체의 HA 아암에 대한
인플루엔자 A 1 군 HA Foldon-6xHis 결합의 Biacore 동역학

항체 ID	항원 쌍	온도 °C	$k_a(Ms^{-1})$	$k_d(s^{-1})$	$K_D(몰)$	$t_{1/2}(분)$
REGN6093	HA	25	IC	IC	IC	IC
REGN1932	FelD1	25	NB	NB	NB	NB
REGN6093	HA	37	NB	NB	NB	NB
REGN1932	FelD1	25	NB	NB	NB	NB

NB - 전술한 시험 조건 하에서 결합이 관찰되지 않음,

IC - 결합이 결정적이지 않음.

[0611]

[0612]

실시예 16. 25°C 및 37°C에서의 항-IsdB x 항-C1q, 항-인플루엔자 HA x 항-C1q(1), 항-GITR x 항-C1q(2), 항-CD20 x 항-C1q 및 항-Ps1 x 항-C1q 이중 특이적 mAb에 대한 인간 C1q(Quidel) 및 쌍을 이룬 Ag-6xHis 또는 mmh 결합의 동역학

[0613]

뉴트라비딘 포획 비오틴화(bt) 인간 C1q(Quidel에서 구매, 자체적으로 비오틴화)에 대해 결합하는 정제된 항-IsdB x 항-C1q(2), 항-인플루엔자 HA x 항-C1q(1), 항-GITR x 항-C1q(2), 항-CD20 x 항-C1q(1), 및 항-Ps1 x 항-C1q(1) 이중 특이적 항체의 C1q 아암에 대한 평형 해리 상수(K_D 값)를 실시간 표면 플라즈몬 공명 바이오센서(Biacore 8k)를 사용하여 측정하였다. K_D 값은 또한, 항-His 항체(GE Healthcare, Lot 10266715) 포획 IsdB-6xHis, 인플루엔자 A군 HA Foldon-6xHis 및 hGITR-mmh에 대해 결합하는 정제된 항-IsdB x 항-C1q, 항-인플루엔자 HA x 항-C1q 및 항-GITR x 항-C1q 이중특이적 항체의 각각의 쌍을 이룬 아암에 대해 실시간 표면 플라즈몬 공명 바이오센서(Biacore 8k)를 사용하여 측정되었다.

[0614]

CM5 Biacore 센서 표면은 뉴트라비딘(Thermo Fisher 카탈로그 번호 31000)과의 아민 결합에 의해 유도체화되어 비오틴화된 hC1q(bt-hC1q)에 결합되었다. 모든 Biacore 결합 연구는 0.01 M HEPES pH 7.4, 0.15 M NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% v/v Surfactant P20으로 구성된 완충액(실행 완충액) 중 수행되었다. bt-hC1q 결합에 대해 7.8 nM 내지 500 nM의 농도 범위 및 His 포획 쌍을 이룬 항원 결합에 대해 12.5 nM 및 50 nM의 농도 범위로 이중 특이적 mAb를 제조하였다. 이중 특이적 항체 포획 표면 위로 용액을 30 μ L/분의 유속으로 주입하였다. 항체-시약 연관성을 2.5분 동안 모니터링하는 한편, 해리를 8 내지 10분 동안 모니터링하였다. 모든 결합 동역학적 실험은 25°C 또는 37°C에서 수행하였다. 동적 결합(k_a) 및 해리(k_d) 속도 상수를 GE Healthcare Insight 곡선 피팅 소프트웨어를 사용해 1:1 결합 모델에 실시간 센서그램을 피팅함으로써 결정하였다. 결합 해리 평형 상수(K_D) 및 해리 반감기($t_{1/2}$)를 동적 속도 상수로부터 다음과 같이 계산하였다:

[0615]

$$K_D(M) = \frac{k_d}{k_a}, \text{ 및 } t_{1/2}(분) = \frac{\ln(2)}{60 * k_d}$$

[0616]

결과 및 결론

[0617]

표 29에 나타난 바와 같이, 25°C에서, 본 개시의 7개의 항-C1q 이중 특이적 항체 모두는 327 nM 내지 2.18 μ M 범위의 K_D 값으로 뉴트라비딘 포획된 비오틴화 인간 C1q(Quidel)에 결합하였다. 표 30에 나타난 바와 같이, 37°C에서, 본 개시의 6개의 항-C1q 항체는 343 nM 내지 8.54 μ M 범위의 K_D 값으로 인간 bt-C1q에 결합하였다. 표 31에 나타난 바와 같이, 25°C에서, 본 개시의 2개의 항-IsdB x 항-C1q 이중 특이적 항체의 IsdB 아암은 2.3 nM 및 3.01 nM의 K_D 값으로 IsdB-6xHis에 결합하였고, 본 개시의 1개의 항-HA x 항-C1q 이중 특이적 항체의 HA 아암은 1.11nM 의 K_D 값으로 HA Foldon-6xHis에 결합하였으며, 본 개시의 2개의 항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 항체의 hGITR 아암은 3.3 nM 및 4.61 nM의 K_D 값으로 hGITR-mmh에 결합하였다. 표 32에 나타난 바와 같이, 37°C에서, 본 개시의 항-IsdB x 항-C1q 이중 특이적 항체의 IsdB 아암은 7.52 nM의 K_D 값으로 IsdB-6xHis에 결합하였고, 본 개시의 1개의 항-HA x 항-C1q 이중 특이적 항체의 HA 아암은 519 pM의 K_D 값으로 HA Foldon-6xHis에 결

합하였으며, 본 개시의 2개의 항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 항체의 hGITR 아암은 7.38 nM 및 16 nM의 K_D 값을 가졌다. 인간 bt-C1q, IsdB-6xHis, HA Foldon.6xHis 및 hGITR.mmh에 대한 이소형 대조군 항체(REGN1932)의 결합은 전술한 실험 조건 하에서 관찰되지 않았다.

표 29 25℃에서의 비오틴화 hC1q에 결합하는 이중 특이적 항체

REGN nr/Ab PID	C1q 클론	클론 쌍	항체 유형	항원 쌍	k_a (l/mol*s)	k_d (1/s)	K_D (mol/l)	$t_{1/2}$ (분)
REGN5066	mAb17736	mAb20295	IsdB x C1q	IsdB	9.11E+ 04	3.66E- 02	4.02E- 07	0.32
REGN5067	mAb18395	mAb20295	IsdB x C1q	IsdB	1.68E+ 05	3.65E- 01	2.18E- 06	0.03
REGN6093	mAb17736	MAb11829	인플루엔자 HA x C1q	인플루엔자 HA	9.46E+ 04	3.09E- 02	3.27E- 07	0.37
REGN6545	mAb17736	mAb14536P	항-GITR x C1q	GITR	2.41E+ 05	4.49E- 01	1.86E- 06	0.03
REGN6546	H1xH18395P	H1H14536P2	항-GITR x C1q	GITR	2.20E+ 05	4.13E- 01	1.88E- 06	0.03
REGN5409	17736P ScFv (VK-VH)	COMP2882 (항-Psl)	항-PslxC1q ScFv	Psl	6.40E+ 04	2.76E- 02	4.31E- 07	0.42
REGN5177	mAb17736	mAb28698	항-CD20 x 항-C1q	CD20	1.01E+ 05	4.42E- 02	4.36E- 07	0.3
REGN1932			이소형 대조군	Feld1	NB	NB	NB	NB

표 30 bt-hC1q에 결합하는 항-IsdB x 항-C1q(REGN5066 및 REGN5067), 항-인플루엔자 HA x 항-C1q(REGN6093), 항-GITR x 항-C1q(REGN6545/REGN6546) 및 항- x 항-C1q(REGN5409) 이중 특이적 mAb에 대한 Biacore 동역학

REGN nr/Ab PID	C1q 클론	클론 쌍	항체 유형	항원 쌍	k_a (l/mol*s)	k_d (1/s)	K_D (mol/l)	$t_{1/2}$ (분)
REGN5066	mAb17736	mAb20295	IsdB x C1q	IsdB	1.17E+ 05	7.82E- 02	6.66E- 07	0.15
REGN5067	mAb18395	mAb20295	IsdB x C1q	IsdB	2.24E+ 05	8.44E- 01	3.77E- 06	0.01
REGN6093	mAb17736	mAb11829	인플루엔자 HA x C1q	인플루엔자 HA	1.82E+ 05	9.37E- 02	5.16E- 07	0.12
REGN6545	mAb17736	mAb14536	항-GITR x C1q	GITR	1.98E+ 05	6.58E- 01	3.33E- 06	0.02
REGN6546	mAb18395	mAb14536	항-GITR x C1q	GITR	8.05E+ 04	6.87E- 01	8.54E- 06	0.02
REGN5409	mAb17736 ScFv (VK-VH)	COMP2882 (항-Psl)	항-PslxC1q ScFv	Psl	4.35E+ 04	1.49E- 02	3.43E- 07	0.78
REGN1932			이소형 대조군	Feld1	NB	NB	NB	NB

표 31 25℃에서 IsdB.6xHis, HA foldon.6xHis 및 hGITR.mmh에 결합하는

[0623] 이중 특이적 mAb

REGN nr/Ab PID	C1q 클론	클론 쌍	항체 유형	항원 쌍	k_a (1/몰*s)	k_d (1/s)	K_D (mol/l)	$t_{1/2}$ (분)
REGN5066	mAb17736	mAb20295	IsdB x C1q	IsdB	4.57E+ 05	1.05E- 03	2.30E- 09	11.0
REGN5067	mAb118395	mAb20295	IsdB x C1q	IsdB	3.28E+ 05	9.89E- 04	3.01E- 09	11.7
REGN6093	mAb17736	mAb11829	인플루엔자 HA x C1q	인플루엔자 HA	1.58E+ 05	1.75E- 04	1.11E- 09	66.0
REGN6545	mAb17736	mAb14536	항-GITR x C1q	GITR	6.93E+ 05	2.29E- 03	3.30E- 09	5.04
REGN6546	mAb18395	mAb14536	항-GITR x C1q	GITR	6.73E+ 05	3.10E- 03	4.61E- 09	3.73
REGN1932			MAB 이소형 대조군	Feld1	NB	NB	NB	NB

[0624]

[0625] 표 32 37℃에서 IsdB.6xHis, HA foldon.6xHis 및 hGITR.mmh에 결합하는 이중 특이적 mAb

REGN nr/Ab PID	C1q 클론	클론 쌍	항체 유형	항원 쌍	K_a (l/몰*s)	K_d (1/s)	K_D (몰/l)	$t_{1/2}$ (분)
REGN5066	mAb17736	mAb20295	IsdB x C1q	IsdB	8.74E+ 05	6.57E- 03	7.52E- 09	1.8
REGN6093	mAb17736	mAb11829	인플루엔자 HA x C1q	인플루엔자 HA	9.94E+ 04	5.15E- 05	5.19E- 10	224.3
REGN6545	mAb17736	mAb14536	항-GITR x C1q	GITR	1.08E+ 06	7.95E- 03	7.38E- 09	1.5
REGN6546	mAb18395	mAb14536	항-GITR x C1q	GITR	1.19E+ 06	1.90E- 02	1.60E- 08	0.6
REGN1932			이소형 대조군	Feld1	NB	NB	NB	NB

[0626]

[0627] 실시예 17. 유세포 계측법에 의한 막 보체 억제제 레벨의 측정

[0628] 유세포 계측 분석을 사용하여 Jurkat T 세포 및 Raji B 세포에서의 CD55 및 CD59 발현 레벨을 특성화하였다. 간략하게, 제조업체의 지침에 따라 BD APC 항-CD55, BD FITC 항-CD59, 또는 이소형 일치 대조군 항체와 함께 4℃에서 60분 동안 세포를 배양하였다. 배양 후, 세포를 2% FBS를 함유하는 차가운 PBS로 세척하고, PBS에 재현탁시키고, Accuri C6 유세포 계측기 상에서 유세포 계측법으로 분석하였다. 염색되지 않은 대조군을 또한 두 세포주에 대해 시험하였다. FlowJo(TreeStar Inc.) 소프트웨어 및 생존 세포에 대한 기하학적 평균 형광을 사용해 결과를 분석하였다. 표 33에 나타낸 바와 같이, Raji 및 Jurkat 세포는 상이한 레벨의 보체 억제제 CD55 및 CD59를 발현한다.

표 33 시험된 세포 유형에서의 보체 억제제의 상대적 레벨

세포 유형	CD55 배수 변화	CD59 배수 변화
Raji	7.7	6.2
Jurkat	23.4	53.1

[0629]

[0630] 실시예 18. ELISA를 통한 슈도노마스 아에루기노사에 결합하는 항-Ps1 x 항-C1q 이중 특이성 항체의 능력 입증

[0631] 슈도노마스 아에루기노사, 기회감염 인간 병원체는 그 표면 엑소다당류에 의해 매개되는 항생제 내성 및 생물막 형성으로 인해 병원 및 면역손상된 개체에서 질병의 유의한 공급원이다. C1q-모집 bsAb 플랫폼이 이 병원균에 대해 효과적인지의 여부를 조사하였다. 슈도노마스 아에루기노사의 표면 상에서 발현된 Ps1에 대한 본 개시의 항-Ps1 x 항-C1q 이중 특이적 항체의 결합을 ELISA 기반 포맷으로 결정하였다. 대부분의 슈도노마스 아에루기노사 임상 분리주(약 85%)는 엑소다당류 Ps1 단백질을 발현하고, 이러한 엑소다당류에 대한 2가 단클론 항체(mAb)는 마우스 감염 모델에서 효능을 나타냈다(DiGiandomenico A. 외, J. Exp. Med. 209, 1273-1287(2012)). 엑소다당류는 박테리아의 표면을 코팅하기 때문에, 이중 특이적 항체에 대한 표적화 야망으로서 사용될 수 있다. 항-Ps1을 하나의 야망으로서 사용하고 항-C1q를 항체의 제2 야망으로서 사용하는 이중 특이적 항체가 생성되었

다. 슈도노마스 아에루기노사에 대한 2가 부모 항-Ps1 mAb 대 항-Ps1xC1q 이중 특이적 항체의 결합을 비교하였다.

[0632] 실험 절차

[0633] 본 개시의 항-Ps1 x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN 5409)를 야생형 슈도노마스 아에루기노사 균주 PA01(American Type Culture Collection)에 대한 결합에 대해 항-Ps1 2가 부모 단클론 항체(mAb)(REGN2882)와 비교하여 평가하였다. 슈도노마스 아에루기노사 배양물을 LB(Teknova)에서 밤새 성장시키고, 신선한 LB에서 1:50으로 희석하고, 37℃에서 흔들면서 OD600 = 약 1로 성장시켰다. 배양물을 PBS(Gibco)로 1회 세척하고 OD600 = 0.25로 희석하였다. MicroSorp 96-웰 플레이트(ThermoFisher)를 슈도노마스 아에루기노사 현탁액의 웰 당 100 μ l로 코팅하고 4℃에서 밤새 배양하였다. 다음 날 아침, 플레이트를 세척 완충액(Tween-20을 첨가한 이미다졸 완충 식염수)으로 1회 세척하고, 200 μ l의 차단 완충액(PBS 중 3% BSA)으로 25℃에서 2시간 동안 차단하였다. 차단 후, 플레이트를 1회 세척하고, 이중 특이적, 2가 및 이소형 일차 대조군 항체(333 nM 내지 5.64 μ M의 범위이며 0.5% BSA/0.05% Tween-20/PBS에서 1:3의 연속 희석됨)의 적정액을 박테리아 함유 웰에 첨가하고 25℃에서 1시간 동안 배양하였다. 웰을 3회 세척한 다음, 100 ng/ml 항-인간 HRP 이차 항체(Jackson ImmunoResearch의 당나귀 항-인간 IgG HRP)와 함께 25℃에서 웰 당 1시간 동안 배양하였다. 이어서, 100 μ l의 SuperSignal ELISA Pico 화학발광 기질을 각각의 웰에 첨가하고, SpectraMax i3x 플레이트 판독기(Molecular Devices)를 사용하여 신호를 검출하였다. 발광 값을 11-점 반응 곡선(GraphPad Prism)에 대한 4-파라미터 로지스틱 방정식으로 분석하였다.

[0634] 항-Ps1을 항체의 하나의 아암으로서 사용하고 항-C1q를 항체의 제2 아암으로서 사용하는 이중 특이적 항체를 전술한 실시예 11에 기술된 바와 같이 생성하고, 이의 항-Ps1 2가 부모 단클론 항체(mAb)와 비교하여 야생형 슈도노마스 아에루기노사 균주 PA01(American Type Culture Collection)의 표면 상에서의 보체 성분 C1q를 침착시키는 능력에 대해 평가하였다(REGN2882 참조).

[0635] 슈도노마스 아에루기노사 배양물을 TSB(Teknova의 Tryptic soy broth)에서 밤새 성장시키고, 신선한 TSB에서 1:50으로 희석하고, 37℃에서 흔들면서 OD600 = 약 1로 성장시켰다. 배양물을 PBS로 1회 세척하고 OD600 = 0.25로 희석하였다. MicroSorp 96-웰 플레이트(ThermoFisher)를 슈도노마스 아에루기노사 현탁액의 웰 당 100 μ l로 코팅하고 4℃에서 밤새 배양하였다. 다음 날 아침, 플레이트를 세척 완충액(Tween-20을 첨가한 이미다졸 완충 식염수)으로 3회 세척하고, 200 μ l의 차단 완충액(PBS 중 3% BSA)으로 25℃에서 2시간 동안 차단하였다. 차단 후, 플레이트를 6회 세척하고, 이중 특이적(REGN5409), 2가(REGN2882), 및 이소형 일차 대조군 항체(333 nM 내지 5.64 μ M의 범위이며 0.5% BSA/10 mM HEPES/RPMI에서 1:3의 연속 희석됨)를 박테리아 함유 웰에 첨가하고 25℃에서 1시간 동안 배양하였다. 웰을 6회 세척한 다음, 5% 보체 보존 인간 혈청(0.5% BSA/10 mM HEPES/RPMI에서 희석됨)과 함께 37℃에서 1.5시간 동안 배양하고, 단백질 A/G 아가로스 흡착시켜 혈청에 존재하는 임의의 항-슈도노마스 아에루기노사 항체를 제거하였다. 웰을 6회 세척하고, 1 μ g/ml 염소 항-인간 C1q 항체(Genway)에 이어서 100 ng/ml 항-염소 HRP 이차 항체(Jackson ImmunoResearch)(0.5% BSA/0.05% Tween-20/PBS 중)를 25℃에서 웰 당 1시간 동안 첨가하여 C1q 침착을 검출하였다. 이어서, 100 μ l의 SuperSignal ELISA Pico 화학발광 기질을 각각의 웰에 첨가하고, SpectraMax i3x 플레이트 판독기(Molecular Devices)를 사용하여 신호를 검출하였다. 발광 값을 10-점 반응 곡선(GraphPad Prism)에 대한 4-파라미터 로지스틱 방정식으로 분석하였다.

[0636] 항-Ps1 x 항-C1q 이중 특이적(REGN5409) 및 항-Ps1 2가(REGN2882) hIgG1 항체를 슈도노마스 아에루기노사 H103에 대한 살균 활성에 대해 전혈 생존 분석에서 평가하였다. 슈도노마스 아우레우스의 배양물을 TSB에서 밤새 성장시키고, PBS에서 세척하고, 1×10^5 콜로니 형성 단위(CFU)/mL의 농도로 PBS에 재현탁하였다. 복제물에서, 10 μ l 중의 10^3 CFU 슈도노마스 아에루기노사 현탁액을 10 μ l 부피의 80, 800 및 4000 μ M 항체와 혼합하고, (응고 형성을 감소시키기 위해 500 nM의 다비가트란을 추가로 첨가한 항응혈제인 구연산나트륨에서) 100 μ l의 인간 전혈에 첨가하였다. 샘플을 37℃의 96 웰 플레이트에서 흔들면서(100 rpm) 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 100 μ l의 응집 용해 완충액(PBS 1 ml 당 200U 스트렙토키나제, 2 μ g/mL RNase, 10 μ g/mL DNase, 0.5% 사포닌, 100 μ g 트립신으로 보충된 PBS)을 샘플에 첨가하고 펠렛이 사라질 때까지 격렬하게 교반하였다. 각 샘플로부터의 총 50 μ l를 PBS에서 연속 희석하고, LB 한천 플레이트 상에 도말하여 CFU를 계수하였다.

[0637] 결과 및 결론

[0638] 표 34에 나타낸 바와 같이, 2가 항-Ps1 mAb(REGN2882)는 단 하나의 Ps1-결합 아암을 함유하는 항-Ps1 x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN5409)(4.326E-09의 EC₅₀ 결합)보다 슈도노마스 아에루기노사 PA01에 대해 더 높은 결합

(2.699E-10의 EC₅₀ 결합)을 나타냈다. 그러나, 특히 항-Psl x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN5409)는 슈도노마스 아에루기노사에 결합하는 능력을 입증하였다. 이소형 일치 대조군 항체는 박테리아에 결합하지 않았다. 표 35는 2가 항-Psl mAb(REGN2882) 및 항-Psl x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN5409)에 대한 EC₅₀ 결합 농도를 2개의 동위원소 일치 대조군 항체와 함께 나타낸다.

표 34 슈도노마스 아에루기노사 PAO1에 대한 항체 결합

항체	최대 결합 RLU	EC ₅₀ 결합(M)
Bs 항-Psl x 항-C1q	3.9×10^5	4.326E-09
2가 항-Psl	4.77×10^5	3.45E-10
대조군 I		비결합
대조군 II		비결합

표 35에 나타난 바와 같이, 2가 항-Psl mAb(REGN2882)와 비교하여, 항-Psl x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN5409)의 존재 하에 슈도노마스 아에루기노사 PAO1의 표면 상에서 증가된 레벨의 C1q 침착이 검출되었다. 이소형 일치 대조군 항체는 박테리아에 결합하지 않았다. 표 36은 항-Psl x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN5409)가 2가 항-Psl mAb(REGN2882; EC₅₀ 결합 = 2.529E-08)와 비교하여, 슈도노마스 아에루기노사 PAO1의 표면 상에서 성분 C1q 침착(EC₅₀ 결합 = 3.167E-09)을 증가시키는 능력을 나타낸다.

표 35 항-Psl 및 항-Psl x 항-C1q 항체를 사용한 살아있는 슈도노마스 아에루기노사 PAO1의 표면 상에서의 보체 성분 C1q 침착

항체	EC ₅₀ 결합(M)
REGN5409	3.167E-09
REGN2882	2.529E-08
대조군 I	비결합
대조군 II	비결합

인간 전혈 중 슈도노마스 아에루기노사의 생존율은, 스타필로코커스 아우레우스의 경우에 대해 전술한 내용과 유사한 박테리아 성장을 조절하는 보체 및 면역 효과기 세포의 역할을 조사하는 생체 외 분석에서 평가할 수 있다(J Exp Med. 2009 Oct 26; 206(11):2417-27). 슈도노마스 아에루기노사 생존을 조절하는 데 있어서의 항-Psl x 항-C1q 이중 특이적 항체의 활성은, 이중 특이적 항체 또는 2가 부모 항체가 전혈에 첨가되고 24시간 후에 생존이 평가되는 이 분석에서 측정된다.

표 36에 요약된 바와 같이, 결과는 항-Psl x 항-C1q 이중 특이적(REGN5409) 또는 항-Psl 2가(REGN2882) hIgG1 항체로 치료한 후 슈도노마스 아에루기노사의 생존 백분율로서 제시된다. 시험 항체가 없는 상태에서 인간 전혈의 전체 성장은 100%로 정규화된다.

표 36은 미치료 및 항-Psl 2가 항체(REGN2882)를 이용한 치료와 비교하여 3가지 농도(80 uM, 800 uM, 및 4000 uM)에서 인간 전혈에서의 슈도노마스 아에루기노사 생존을 효과적으로 예방하는 항-Psl x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN5409)의 능력을 나타낸다. 항-Psl 2가 항체로 치료했을 경우 슈도노마스 아에루기노사의 생존율은 80 uM의 낮은 항체 농도에 영향을 받지 않았다. 800 및 4000 uM의 더 높은 항-Psl 2가 항체 농도에서, 116 내지 1560% 범위의 슈도노마스 아에루기노사의 성장 증가가 관찰되었다. 대조적으로, 항-Psl x 항-C1q 이중 특이적 항체로 치료했을 경우, 성장이 96 내지 99%만큼 감소하였다. 인간 혈액 중 슈도노마스 아에루기노사에 항-Psl x 항-C1q bsAb를 첨가한 결과, 대조군 또는 항-Psl 2가 항체와 비교하여 24시간 후 박테리아가 1-로그 이상 감소하였다. 이 결과는 C1q-모집 bsAb 플랫폼이 그람 양성 및 그람 음성 박테리아 둘 모두에 대해 효과적임을 입증하였고, 또한 고유한 CDC 활성이 결여된 항체에 C1q-모집 아암을 추가하는 것은 상당한 보체 활성화를 유도하는 분자가 생성될 수 있음을 나타낸다.

**표 36 항-Ps1 x 항-C1q 이중 특이적 항체로 치료한 후 인간 전혈에서의
슈도노마스 아에루기노사 H103 생존**

항체	80 μ M	800 μ M	4000 μ M
	전혈 대비 슈도노마스 아에루기노사의 생존율(%) (미치료, 100%로 정규화됨)		
혈액 + 슈도노마스 아에루기노사(미치료)	100	100	100
REGN2882(항-Ps1 2 가)	99	116	1560
REGN5409 (항-Ps1 x 항-C1q)	4.1	3.24	1.1

[0645]

[0646]

실시예 19. ELISA를 통해 인플루엔자 HA에 결합하고 MDCK 감염 세포의 CDC를 매개하는 항-인플루엔자 HA x 항-C1q 이중 특이성 항체의 능력 입증

[0647]

인플루엔자 감염은 숙주 세포의 표면에 있는 시알산 잔기에 대한 결합 및 바이러스 및 엔도솜 막의 융합을 통해 표면 당단백질 헤마글루티닌(HA)에 의해 시작된다. 현재의 백신 전략은 바이러스 감염으로부터 보호하기 위한 인플루엔자 HA 특이적 항체의 생산에 의존한다(YQ Chen 외, *Cell*. 173, 417-429(2018)). 그러나, 인플루엔자 감염은 또한 감염된 세포에 결합하고 보체의 활성화를 통해 감염된 세포의 용해를 유도하는 항체의 생산을 유도할 수 있다(M. Terajima 외, *Journal of Virology*. 85, 13463-13467(2011); JP. Jayasekera 외, *Journal of Virology*. 81, 3487-3494(2007); JPM. Melis 외, *Molecular Immunology*. 67, 117-130(2015)).

[0648]

이중 특이적 항체는 표적화 방식으로 감염원으로 감염된 세포에 대해 보체 시스템을 유도하는 새로운 전략을 제시한다. IgG 항체는 C1q에 대한 결합을 통해 보체 시스템의 고전 경로를 그의 Fc 영역을 통해 활성화시키는 것으로 나타났다(M. Terajima 외, *Journal of Virology*. 85, 13463-13467(2011); JP. Jayasekera 외, *Journal of Virology*. 81, 3487-3494(2007); JPM. Melis 외, *Molecular Immunology*. 67, 117-130(2015)). 인플루엔자 감염 세포 및 심지어 비리온의 표면 상에 있는 HA 단백질과 함께 보체의 C1q 성분을 표적화하는 것은 HA에 특이적인 항체의 보호 효과를 더욱 향상시킬 수 있다.

[0649]

본 실시예에서, 인플루엔자 A(1군) 감염 세포에 대한 이들의 결합에 대해 광범위하게 중화하는 항-HA x 항-C1q 이중 특이적 항체를 시험하였다.

[0650]

실험 절차

[0651]

Madin-Darby Canine 신장(MDCK) 세포를 24시간 동안 0.05의 감염 다중도(MOI)로 인플루엔자 A 바이러스 A/Puerto Rico/08/1934(H1N1)로 감염시켰다. 감염된 세포를 세척하고 4% 파라포름알데히드로 고정시켰다. 이어서, 3% 소 혈청 알부민(BSA) 용액으로 고정 세포를 차단한 다음, 광범위하게 중화하는 항-인플루엔자 A 1군 HA x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN6093), 부모 항-HA 특이적 2가 항체(mAb11829), 단일 아암만을 갖는 부모 항-HA 특이적 항체(mAb27250), 및 항-인플루엔자 A 1군 HA x 항-Fc γ RIII 이중 특이적 항체(mAb20067), 또는 항-IsdB x 항-C1q 이중 특이성 항체(REGN5066), 음성 대조군 #2(항-C1q 아암 및 HA 이외의 표적 항원을 표적화하는 아암을 포함하는 이중 특이성 항체), 항-IsdB x 항 C1q ScFv 이중 특이성 항체(REGN5408), 음성 대조군 #3(항-C1q 아암 및 HA 이외의 표적 항원을 표적화하는 아암을 포함하는 이중 특이성 항체), 및 항-IgG1 동위원소 대조군(REGN1932)으로 구성된 대조군 항체를 첨가하였다. 모든 항체를 166.67 nM의 시작 농도 및 각 항체에 대한 1/4의 연속 희석으로 첨가하였다. α -인간 IgG(H+L) HRP 접합 항체(Jackson ImmunoResearch, 1/5000) 및 화학 발광 기질(Life Technologies)로 고정된 세포에 대해 결합된 항체를 검출하였다. 상대적 형광 단위(RLU)를 Spectramax i3 플레이트 판독기(Molecular Devices)로 측정하였다.

[0652]

MDCK 세포를 MOI 5에서 인플루엔자 A 바이러스 A/Puerto Rico/08/1934(H1N1)로 24시간 동안 감염시켰다. 감염된 세포를 수확하고 항체(각 항체에 대해 0.89mM 시작 농도 및 1/2 연속 희석) 및 정상 인간 혈청 보체(5% 최종 농도)와 조합하였다. 2시간의 배양 후, CytoTox-Glo 시약(Promega)으로 보체 의존성 세포 용해를 평가하였다. 상대적 형광 단위(RLU)를 Spectramax i3 플레이트 판독기(Molecular Devices)로 측정하였다. 특이적 용해 백분율을 최소 및 최대 용해 대조군을 기준으로 하여 나타냈다.

[0653]

결과 및 결론

[0654] 표 37 및 도 16에 나타난 바와 같이, 광범위 중화 항-인플루엔자 A 1군 HA x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN6093)는 부모 항-HA 특이적 2가 항체(mAb11829) 및 단일 아암을 갖는 부모 항-HA 특이적 항체와 유사한 EC50(각각, mAb27250; 1.85E-09 M 및 1.46E-09)으로 HA에 결합하였다. 모든 이중 특이적 및 2가 대조군 항체는 유의한 결합을 나타내지 않았다.

[0655] 표 37에 나타난 바와 같이, 광범위 중화 항-인플루엔자 A 1군 HA x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN6093) 및 부모 대조군 항체(mAb11829; mAb27250)는 유사한 EC50 및 최대 결합을 나타내는 반면, 대조군 항체는 A/Puerto Rico/08/1934(H1N1) 감염 세포에 대해 유의한 결합을 나타내지 않는다.

표 37

	AbPID 또는 REGN 번호 (공동 명칭)	최대 결합(RLU)	EC ₅₀ (M)
인플루엔자 HA	mAb11829 (플루 A, 1 군 HA)	7.88 × 10 ⁵	1.46E-09
	mAb27250 (플루 A, 1 군, 1 개 아암)	7.19 × 10 ⁵	6.48E-10
인플루엔자 HA x C1q	REGN6093(플루 A, 1 군 HA x C1q)	8.49 × 10 ⁵	1.84E-09
HA x FcRIIIa	mAb20067 (플루 A, 1 군 HA x FcRIII)	8.84 × 10 ⁵	1.62E-09
이중 특이적 대조군 mAb	REGN5066(IsdB x C1q)	2505	1.67E-07
	음성 대조군 #2	3.67 × 10 ⁴	1.67E-07
	REGN5408 (IsdB x C1q scFv)	2849	1.67E-07
	음성 대조군 #3	205	1.67E-07
이소형 대조군 mAb	REGN1932(hIgG1 대조군)	2586	1.67E-07

[0656]

[0657] 광범위하게 중화하는 항-인플루엔자 A 1군 HA x 항-C1q 이중 특이성 항체를 H1N1-감염 세포의 보체-의존성 용해를 유도하는 능력에 대해 시험하였다. 인플루엔자 및 보체 시스템을 표적으로 하는 이중 특이적 항체는 표적화된 방식으로 인플루엔자 감염 세포에 보체 시스템을 유도할 수 있다. 표 38에 나타난 바와 같이, 광범위하게 중화되는 항-인플루엔자 A 1군 HA x 항-C1q 이중특이적 항체(REGN6093)는 부모 단일 특이적 항체(mAb11829)와 비교하여 5% 정상 인간 혈청 보체를 갖는 A/Puerto Rico/08/134(H1N1) 감염 MDCK 세포의 특이적 용해를 증가시키는 것을 나타냈다(각각 1.05E-08 M 및 2.08E-08 M). 그러나, 표 38 및 도 17에 나타난 바와 같이, 항-인플루엔자 A 1군 HA x C1q 이중 특이적 항체는 부모 대조군(mAb11829)(35.8%)에 비해 약간 더 낮은 최대 용해 백분율(30.0%)을 가졌다.

[0658] 표 38에 나타난 바와 같이, 항-인플루엔자 A 1군 HA x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN6093)는 부모 대조군 항체와 비교하여 A/Puerto Rico/08/1934(H1N1) 감염 세포의 특이적 용해의 증가 및 약간 더 낮은 최대 특이적 용해를 나타냈다.

표 38

	AbPID 또는 REGN 번호 (공동 명칭)	최대 특이적 용해 백분율	EC ₅₀ (nM)
인플루엔자 HA	mAb11829(플루 A, 1 군 HA)	35.82	2.08E-08
	mAb27250 (플루 A, 1 군, 1 개 아암)	38.97	2.07E-08
인플루엔자 HA x C1q	REGN6093 (플루 A, 1 군 HA x C1q)	29.99	1.05E-08
인플루엔자 HA x FcRIIIa	mAb20067 (플루 A, 1 군 HA x FcRIII)	45.29	6.02E-08
이중 특이적 대조군 mAb	REGN5066(IsdB x C1q)	-6.15	> 8.89E-07
	음성 대조군 #2	-10.10	> 8.89E-07
	REGN5408(IsdB x C1q scFv)	-21.85	> 8.89E-07
	음성 대조군 #3	-9.08	> 8.89E-07
이소형 대조군 mAb	REGN1932(hIgG1 대조군)	-10.96	> 8.89E-07

[0659]

[0660]

[0661]

실시예 20. 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항체는 CD20을 발현하는 Raji 세포에 결합함

항-CD20 항체(예를 들어, 리툽시맙, 오파투무맙)는 보체를 활성화시키고 림프종 세포의 보체 의존성 용해를 유도하는 것으로 알려져 있다. 본 실시예에서, 그 자체적으로 고유한 CDC 활성을 갖지 않는 CD20 항체(mAb14303)를 선택하였다. 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN5177) 내의 mAb14303 CD20 표적화 아암을 사용하여 이중 특이적 형식으로 C1q를 직접 모집할 경우 강력한 C1q 침착 및 Raji 세포의 보체 매개 용해가 유도될 수 있는지의 여부를 시험하였다.

[0662]

실험 절차

[0663]

Raji 세포 상에서 발현된 CD20에 대한 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN5177)의 결합을 측정하기 위해, 세포를 1×10^7 /mL의 밀도에서 2% PFA에 고정시켰다. 고정된 세포를 실온에서 1시간 동안 3% BSA로 차단하였다. 세척 완충액으로 세포를 세척한 후, 100 μ L의 세포를 NUNC 미치로 플레이트로 분취하였다. 제1 항-CD20 2가 항체(mAb14303N2), 제2 항-CD20 2가 항체(리툽시맙), 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN5177), 및 부모 항-C1q 2가 항체(REGN5201)를 250 nM에서 시작하여 0.015 nM까지 분석 희석 완충액(1X PBS 중 ADB: 0.5% BSA, 0.05% Tween-20) 중에서 1:2로 연속 희석하고, 100 μ L 부피로 Raji 세포에 첨가한 후 실온에서 1시간 동안 배양하였다. 세포를 3회 세척한 후, ADB 중 100 μ L의 1:4000 희석된 항-인간 IgG HRP 접합 검출 항체를 세포에 첨가하고 실온에서 1시간 동안 배양하였다. 세포를 3회 세척하고, NUNC maxisorp black 플레이트에 옮긴 후, Spectramax I3 플레이트 판독기(Molecular Devices)를 사용하여 플레이트를 판독하기 전에 화학발광 기질과 함께 추가로 10 내지 15분 동안 배양하였다.

[0664]

보체 침착을 위해, Raji 세포를 1×10^7 세포/mL의 밀도로 PBS에 재현탁하고, 2% PFA로 실온에서 30분 동안 고정시켰다. 세포를 1 x 세척 완충액으로 3회 세척하고, 이 단계와 하기 후속 단계 사이에서 원심분리하였다. 고정된 세포를 실온에서 2시간 동안 3% BSA로 차단한 다음, RPMI 중 0.5% BSA, 10 mM HEPES에서 실시예 21의 항체와 함께 실온에서 1시간 동안 배양하였다. 실시예 21로부터의 동일한 항체를 사용하였고, REGN5177(항-CD20 x 항-C1q hIgG1 항체), 리툽시맙(시판 중인 항-CD20 hIgG1 항체), mAb14303(부모 2가 항-CD20 hIgG1 항체), 및 REGN5201(부모 2가 항-C1q hIgG1 항체)을 포함하였다. 각각의 항체를 100 nM 내지 0.004 nM로 1:8로 연속 희석하였다. 항체 결합 후, 5% 단백질 A/G 결손 폴링된 정상 인간 혈청을 실온에서 1.5시간 동안 첨가하였다. 세포를 세척 완충액으로 6회 세척하고 1 μ g/mL 항-C1q 항체와 함께 실온에서 1시간 동안 배양하였다. 세척 후, 항-염소 HRP 검출 항체의 1:4000 희석액을 세포에 첨가하고 실온에서 1시간 동안 추가로 배양하였다. 마지막으로, 세척 후, 화학발광 기질을 첨가하여 세포와 연관된 HRP 접합 이차 항체를 정량화하였다. 화학발광 기질을 첨가하고 10분 후, Victor X 기기(Perkin Elmer)로 발광에 대해 Nunc black maxisorp 플레이트를 판독하였다.

[0665] CDC 생물검정을 위해, RPMI 1640이 포함된 1% BSA 중의 바닥이 투명한 96-웰 분석 플레이트 상에 10,000 세포/웰로 라지 세포를 시딩하였다. 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항체, 항-CD20 부모 2가 hIgG1 항체, 리투시맵, 및 항-C1q 부모 2가 hIgG1 항체를 100 nM에서 0.004 nM까지 1:8로 연속 희석하고, 인간 혈청과 함께 세포에 최종 농도 5%로 첨가하였다. 5% CO₂ 하 37℃에서 1시간 동안 배양한 후, 25℃에서 30분 동안 배양하고, CytoTox-Glo™ 시약(Promega, #G9291)을 첨가한 다음, 세포독성을 측정하였다. CytoTox-Glo™는 세포독성이 증가할 때 증가된 발광을 관찰되도록 세포 사멸을 측정하는 발광 기반 시약(상대 광 단위(RLU)로 측정됨)이다. CytoTox-Glo™ 시약을 첨가한 직후, 대조군 웰 중의 미치료 세포를 디기토닌으로 처리하여 용해시켜 최대 세포 사멸을 결정하였다. CytoTox-Glo™를 첨가한 후 10 내지 15분 후, Spectramax I3(Molecular Devices)을 사용하여 플레이트를 발광에 대해 판독하였다. 계산 값이 표시된 경우, 세포독성의 백분율은 다음의 식을 사용하여 RLU 값으로 계산한 것이다:

$$\% \text{세포독성} = 100 \times \frac{(\text{실험적 세포 용해} - \text{배경 세포 용해})}{(\text{최대 세포 용해} - \text{배경 세포 용해})}$$

[0666] 본 식에서, "백그라운드 세포 용해"는 임의의 항-CD20 항체 없이 배지와 혈청만으로 처리한 세포로부터의 발광이며, "최대 세포 용해"는 디기토닌으로 처리한 세포로부터의 발광이다. 세포독성(%) 또는 RLU로 표현된 결과는 Prism 7 소프트웨어(GraphPad)를 이용해 비선형 회귀(4-파라미터 로지스틱스)를 사용하여 분석하였다.

[0668] 결과 요약 및 결론

[0669] 결과를 x축 상의 log(M) 항체 농도 대 y축 상의 결합 RLU로서 도표화하였고, Prism 7 소프트웨어(GraphPad)로 비선형 회귀(4-파라미터 로지스틱스)를 사용해 분석하여 항체 결합의 EC₅₀ 값을 결정하였다. 2개의 독립적인 실험에서, 제1 항-CD20 2가 항체(mAb14303), 제2 항-CD20 2가 항체(리투시맵) 및 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN5177)는 Raji 세포에 결합된 반면, 부모 항-C1q 2가 항체(REGN5201)에서는 결합이 관찰되지 않았다. 리투시맵과 mAb14303은 각각 3.14×10^{-9} 및 6.031×10^{-9} M의 유사한 EC₅₀ 값으로 결합하였다. Raji 세포에 결합하는 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항체의 EC₅₀은 3.566×10^{-8} M로 약간 더 낮았다(표 39 참조). 요약하면, 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN5177)는 제1 항-CD20 2가 항체(mAb14303) 및 제2 항-CD20 2가 항체(리투시맵) 둘 모두와 유사한 EC₅₀ 값으로 Raji 세포에 결합하였다.

표 39

AbPID 또는 REGN 번호 (공동 명칭)	EC ₅₀ (M)
mAb14303(항-CD20 2가)	6.03×10^{-9} M
리투시맵(항-CD20 2가)	3.14×10^{-9}
REGN5177(항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항체)	3.56×10^{-8} M
REGN5201(부모 항-C1q 2가; 대조군)	비결합

[0670] 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항체를 사용하여 표적 세포 표면 상에서의 C1q의 침착을 시험하기 위한 생물학적 분석을 개발하였다. Raji 세포, CD20을 발현하는 인간 B 세포주, 보체 보존 혈청, 및 시험군 또는 대조군 항체를 사용하여 C1q가 세포에 얼마나 많이 침착되는지를 평가하였다.

[0672] x축 상의 log(M) 항체 농도 대 y축 상의 결합 RLU로서 도표화된 결과를 Prism 7 소프트웨어(GraphPad)로 비선형 회귀(4-파라미터 로지스틱스)를 사용해 분석하여 C1q 침착의 EC₅₀ 값을 결정하였다. 2개의 독립적인 실험에서의 시험된 농도에서, C1q 침착은 리투시맵 및 항-CD20 hIgG1 부모 항체 둘 모두에서 이 방법을 사용해 검출할 수 없었다. 항-CD20 x 항-C1q 항체가 Raji 세포에 결합된 경우, 강력한 C1q 침착이 관찰되었고, 평균 EC₅₀ 값은 2.605×10^{-8} M이었다(표 40 참조).

표 40

AbPID 또는 REGN 번호 (공통 명칭)	C1q 침착(EC ₅₀ (M))
mAb14303(항-CD20 2 가)	침착 없음
리툽시맙(항-CD20 2 가)	침착 없음
REGN5177(항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항체)	2.605 x 10 ⁻¹⁰ M

[0673]

[0674]

표적 세포의 보체 매개 사멸을 유도하는 데 있어서의 항-CD20 x 항-C1q 항체의 효능을 시험하기 위한 보체 의존성 세포독성 생물학적 분석을 사용하였다. 표 41은 결합의 EC₅₀ 값, Raji 세포에 대한 CDC의 C1q 침착, Raji 세포에 대한 CDC의 EC₅₀ 값, 및 시험된 각 항체에 대한 최대 보체 의존성 용해 %를 포함하는 종합된 결과를 나타낸다. 결합 및 침착 값은 2개의 독립적인 실험의 평균이며, CDC 데이터는 3개의 독립적인 실험의 평균이다.

[0675]

표 41 및 도 18에 나타난 바와 같이, 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN5177)에 대해 100 nM로 측정된 Raji 세포의 최대 용해는 리툽시맙의 62%에 비교하여 71%였다. 항-CD20(mAb14303) 또는 항-C1q(REGN5201) 부모 항체에서는 보체 매개 용해가 관찰되지 않았다. Raji 세포에서 리툽시맙에 의해 유도된 CDC의 EC₅₀ 값인 7.885 x 10⁻¹⁰ M은 항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 항체에 의해 유도된 CDC의 EC₅₀ 값, 2.378 x 10⁻⁹ 보다 더 높았다. 이중 특이적 아암으로 C1q를 모집함으로써, mAb14303 표적화 아암은 더 낮은 EC₅₀으로 리툽시맙과 유사한 최대 용해를 유도할 수 있었다.

표 41

항체 ID	설명	Raji 세포에 대한 결합 EC ₅₀ (M)	Raji 세포에 대한 C1q 침착 EC ₅₀ (M)	Raji 세포에 대한 CDC EC ₅₀ (M)	최대 보체 의존성 용해 백분율(%)
REGN5177	항-CD20 x 항-C1q 이중 특이적 hIgG1	3.566 x 10 ⁻⁰⁸	2.605 x 10 ⁻⁸	2.378 x 10 ⁻⁹	71
mAb14303	항-CD20 2 가 hIgG1	6.031 x 10 ⁻⁰⁹	침착 없음	CDC 없음	CDC 없음
리툽시맙	항-CD20 2 가 hIgG1	3.14 x 10 ⁻⁰⁹	침착 없음	7.885 x 10 ⁻¹⁰	62
REGN5201	항-C1q 2 가 hIgG1	비결합	침착 없음	CDC 없음	CDC 없음

[0676]

[0677]

실시예 21. 항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 항체는 인간 GITR을 발현하는 세포를 표적화함

[0678]

유세포 계측 분석을 사용하여 인간 GITR을 발현하는 표적 세포에 대한 항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 항체 (REGN6545; REGN6546) 및 항-GITR 2가 항체(REGN5372)의 결합을 조사하였다. 조작된 세포주인 Jurkat/GITR/CD20을 사용하여 결합을 조사하였다.

[0679]

실험 절차

[0680]

생존 세포와 사멸 세포를 구별하기 위해 제조사의 지침에 따른 생존/사멸 고정성 녹색 사멸 세포 염색을 사용하여 4°C에서 30분 동안 세포(300,000 세포/웰)를 배양하였다. 이어서, 세포를 2% FBS를 함유하는 차가운 PBS로 2회 세척하고, 제1 및 제2 항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN6545, REGN6546), 항-GITR 2가 항체(REGN5372), 또는 항-IgG1 이소형 대조군 항체(REGN1932)의 연속 희석물(1 pM 내지 1 μM)과 함께 4°C에서 30분 동안 배양하였다. 배양 후, 세포를 2% FBS를 함유하는 차가운 PBS로 2회 세척하고, 제조사의 지침에 따라 BD Cytotfix 완충액에 고정시키고, 세척하고, PBS에 재현탁시키고, iQue Screener 유세포 계측기 상에서 유세포 계측법으로 분석하였다. 염색되지 않은 대조군 및 2차 항체 단독 대조군 또한 둘 모두의 세포주에 대해 시험하였다. FlowJo(TreeStar Inc.) 소프트웨어 및 생존 세포에 대한 기하학적 평균 형광을 사용해 결과를 분석하였다. 비선형 회귀(4-파라미터 로지스틱스)를 사용해 Prism 5 소프트웨어(GraphPad)로 결과를 분석하여 세포에 대한

결합의 EC₅₀ 값을 획득하였다.

NHS를 5%의 최종 혈청 농도로 96-웰 플레이트의 3중 행에서 5×10^3 세포/웰로 시딩된 표적 세포에 첨가하였다. 이어서, 항-GITR x 항-C1q 항체(REGN6545; REGN6546), 항-GITR 2가 항체(REGN5372), 및 대조군 항체(REGN1932)의 연속 희석물을 표적 세포에 첨가하였다. 분석에서, 각 항체의 최종 농도는 0.5 pM 내지 500 nM 범위였다. 자발적으로 생성된 신호(배경)를 평가하기 위해, 항체를 제외한 모든 분석 성분을 함유하는 완충액 대조군 샘플을 평가하였다. 세포를 5% CO₂ 하 37℃에서 3.5시간 동안 배양하였다. 이어서, 플레이트를 30분 동안 실온으로 평형화시키고, CytoTox-Glo 시약을 웰에 첨가하였다. 최대 표적 세포 용해 신호를 측정하기 위해, CytoTox-Glo 시약을 첨가하기 전 미치로 표적 세포만을 디기토닌으로 용해시켰다. 플레이트를 실온에서 잠시 배양하고, 각 웰로부터 발광을 측정하였다. 세포독성 반응은 다음과 같이 계산하였다:

$$\text{세포독성 (\%)} = \frac{\text{실험적 신호} - \text{자발적 배경 신호}_{(\text{표적 세포} + \text{효과기 세포})}}{\text{최대 신호}_{(\text{디기토닌을 갖는 표적 세포})} - \text{자발적 배경 신호}_{(\text{표적 세포})}} \times 100$$

데이터는 11-점 투여량-반응 곡선(GraphPad Prism Version 7.0)에 대해 4-파라미터 로지스틱 방정식을 사용하여 분석하였다. 곡선이 피팅될 수 없는 시험 물품의 경우, 시험 물품의 임의의 농도에서 관찰된 최대 세포독성을 기록하였다.

결과 및 결론

Jurkat/hGITR/hCD20 세포에 결합된 항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 항체 및 항-GITR 2가 항체의 유세포 측정법 분석 결과를 표 42 및 도 19에 나타냈다. 표 42에 나타낸 바와 같이, 제1 항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN6545), 제2 항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 항체(REGN6546), 및 항-GITR 2가 항체(REGN5372)는 각각 31, 24 및 3.1 nM의 EC₅₀ 값으로 Jurkat/hGITR/hCD20 세포에 투여량 의존적인 방식으로 결합하였다. 대조적으로, 항-IgG1 이소형 대조군 항체(REGN1932)는 Jurkat/hGITR/hCD20 세포에 결합하지 않았다.

표 42

항체 ID	설명	Jurkat/hGITR/hCD20	
		최대 MFI	EC ₅₀ (M)
REGN6545	항-GITR x 항-C1q, hIgG1	7.67×10^5	3.10E-08
REGN6546	항-GITR x 항-C1q, hIgG1	7.75×10^5	2.35E-08
REGN5372	항-GITR 2 가, hIgG1	8.97×10^5	3.07E-09
REGN1932	hIgG1 이소형(대조군)	3.99×10^4	ND

조작된 Jurkat/hGITR/hCD20 표적 세포에서 NHS의 존재 하에 CDC를 매개하는 항-GITR x 항-C1q 항체(REGN6545; REGN6546)의 능력을 평가하였다.

표 43 및 도 20에 나타낸 바와 같이, 항-GITR x 항-C1q 항체인 REGN6545 및 REGN6546 둘 모두의 CDC 활성을 정상 인간 혈청(NHS)의 존재 하의 Jurkat/GITR/CD20 표적 세포를 사용하여 부모 2가 GITR 항체인 REGN5372와 비교하여 평가하였다. 약한 CDC 활성을 유도한 REGN5372(Jurkat/GITR/CD20 세포에 대해 28%의 최대 세포독성)와 대조적으로, 그리고 Raji 세포와 비교하여 Jurkat 세포 표면 상에서의 보체 억제제의 발현 레벨이 증가했음에도 불구하고(표 33 참조), 항-GITR x 항-C1q 항체(REGN6545 및 REGN6546) 둘 모두는 각각 93% 및 73%의 최대 세포독성을 유도하였으며, EC₅₀ 값은 각각 19.7 nM, 17.4 nM이었다. 정상 인간 혈청이 없는 상태에서는 항체 중 어느 것에 대해서도 활성이 관찰되지 않았다.

요약하면, 항-GITR x 항-C1q 이중 특이적 항체는 보체 의존성 용해를 유도하였으며, REGN6545는 93%의 최대 세포독성 및 $1.97\text{E}-08$ M의 EC₅₀ 값을 갖고, REGN6546은 73%의 최대 세포독성 및 $1.74\text{E}-08$ M의 EC₅₀ 값을 갖는 것으로 나타났다. 이러한 결과 및 본원의 다른 곳에서 나타난 결과는, C1q-모집 플랫폼이 신규 CDC 활성을 부여하

나 주어진 항체의 기존의 CDC 활성을 향상시킴으로써 다양한 세포 유형의 강력하고 표적화된 사멸을 초래할 수 있음을 입증한다.

표 43

항체 ID	설명	Jurkat/hGTR/hCD20	
		최대 세포독성	EC ₅₀ (M)
REGN6545	항-GITR x 항-C1q 이중 특이적, hIgG1	93%	1.97E-08
REGN6546	항-GITR x 항-C1q 이중 특이적, hIgG1	73%	1.74E-08
REGN5372	항-GITR 2 가, hIgG1	28%	ND
REGN1932	hIgG1 이소형(대조군)	3%	ND

요약

C1q-이중 특이적 플랫폼 접근법의 광범위한 적용 가능성은 박테리아 및 포유류 세포 모두의 표적화된 사멸을 입증함으로써 나타났다. 또한, 이러한 접근법은 다수의 C1q 헤드를 결합시키기 위해 항원에 결합하는 항체의 방향 및 항원 밀도에 대한 의존성을 극복한다. C1q-모집 bsAb는 다수의 *스타필로코커스 아우레우스* 항원뿐만 아니라 *슈도모나스 아에루기노사*, 인플루엔자 감염 포유류 세포, B 세포, 및 T 세포를 포함하는 다수의 상이한 항원에 표적화될 경우 보체를 활성화시킬 수 있다. 플랫폼은 또한 상이한 연령, 성별 및 면역 상태의 환자에게 광범위하게 적용 가능해야 한다: 고전적인 보체 경로 및 그 단백질 성분은 순환에 풍부하고 안정적으로 발현되는 반면, 호중구, 대식세포 및 T 세포와 같은 선천적 면역 효과기 세포는 나이가 들면서 기능이 손상된다. 따라서, C1q-기반 치료제는 면역억제 요법을 받는 환자를 포함하여 면역 손상 환자에게 사용될 수 있는 가능성이 있다. 또한, 플랫폼은 항생제 및 중앙 표적화 제제와 같은 기존 치료제의 효능을 향상시킬 가능성이 있을 수 있다.

bsAb를 포함하는 면역조절 치료제는 현재 다양한 병원성 세포 유형을 제거하는 강력한 방법으로서 연구되고 있다. 본원에 개시된 C1q-표적화 플랫폼은 면역계의 세포독성 효과기 기능을 활용하기 위한 새로운 접근법을 제시한다. 본원에 기술된 bsAb는 다양한 특성을 갖는 항원에 표적화될 경우 박테리아 및 포유류 세포의 보체 매개 사멸을 증가시켰다. 이러한 C1q표적화 플랫폼의 신규 메커니즘은 기존의 치료 방식을 혼란스럽게 할 수 있는 내성 메커니즘에도 불구하고 효과적인 가능성이 있다.

실시예 22. IgG4 또는 IgG1 uber 스텔스 Fc를 갖는 이중 특이적 항체로 감소된 C1q 결손

본 실시예에서, 순환 중인 C1q의 레벨에 대한 Fc 영역의 효과를 이들의 Fc 영역에서 상이한 항-IsdB x 항-C1q 이중 특이적 항체를 사용하여 시험하였다. REGN5066은 IgG1 Fc 영역을 갖는 항-IsdB x 항-C1q 이중 특이적 항체이며, 전술한 실시예 11에 기술되어 있다. REGN5331은 REGN5066과 동일한 VH 및 VL 서열(즉, 서열번호: 26의 항-IsdB 중쇄 가변 영역, 서열번호: 2의 항-C1q 중쇄 가변 영역, 및 서열번호: 10의 일반적인 경쇄 가변 영역)을 갖고, IgG4 Fc 영역을 갖는 항-IsdB x 항-C1q 이중 특이성 항체이다. REGN7017은 REGN5066과 동일한 VH 및 VL 서열(즉, 서열번호: 26의 항-IsdB 중쇄 가변 영역, 서열번호: 2의 항-C1q 중쇄 가변 영역, 및 서열번호: 10의 일반적인 경쇄 가변 영역)을 갖고, 힌지 영역에서의 위치 233 내지 236(EU 넘버링)에 돌연변이 GGG-를 포함하는 IgG1 “스텔스” Fc 영역을 갖는 항-IsdB x 항-C1q 이중 특이성 항체이다.

실험 절차

혼합 배경(MAID1615)의 인간화 C1q(C1q^{Hu/Hu}) 마우스를 200 μ l 부피의 *스타필로코커스 아우레우스* 뉴먼(마우스 당 1.5×10^8 콜로니 형성 단위(CFU))으로 복강 내 감염시켰다. 3개의 *스타필로코커스 아우레우스* 균주를 로그 상, OD₆₀₀ $\leq$ 1로 37°C의 TSB에서 성장시키고 PBS에서 3회 세척한 후 감염에 대해 목적하는 밀도로 조정하였다. 감염된 마우스 및 감염되지 않은 마우스 둘 모두에게 100 μ l 부피 중 100 μ g의 항-IsdB x 항-C1q IgG1 이중 특이적 항체(REGN5066), 항-IsdB x 항-C1q IgG1uber 스텔스 이중 특이적 항체(REGN7017), 항-IsdB x 항-C1q IgG4 이중 특이적 항체(REGN5331) 또는 대조군 항체(REGN1932)를 피하 투여하였다. 감염 전 및 항체 치료 후 1 시간, 24시간, 48시간 및 72시간차(또는 감염 후 25시간, 48시간, 72시간, 및 96시간)에 혈액을 채취하고, 금이 썩어진 혈청 분리관(BD)을 사용하여 혈청을 제조하였다. 혈청을 1:2000으로 희석하고 ELISA로 분석하여 C1q 레벨을 결정하였다.

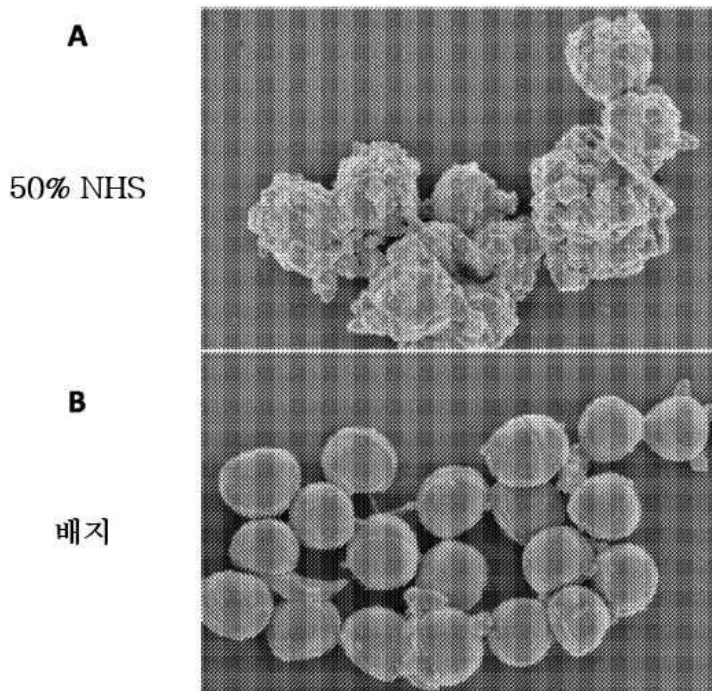
[0698] **결과 요약 및 결론**

[0699] 수컷 및 암컷 MAID1615 마우스를 사용하여, 이중 특이적 항-IsdB x 항-C1q 항체인 REGN5066을 IgG4 및 IgG1 uber 스텔스 버전 및 대조군 항체와 함께 시험하여 순환하는 C1q의 레벨에 대한 이들의 효과를 측정하였다(도 21 및 도 22). 감염되지 않은 동물에서, 암컷 또는 수컷 동물에게 이중 특이적 항-IsdB x 항-C1q IgG1 항체를 각각 투여했을 경우, (도 21의 화살표로 나타낸 바와 같이) 순환 C1q 농도가 4배 또는 10배 감소하는 것이 관찰되었다. 대조적으로, C1q 레벨은 FcγR 상호작용이 감소되거나 없는 IgG4 Fc 또는 IgG1 “스텔스” Fc인 Fc를 포함하는 항-IsdB x 항-C1q 이중 특이적 항체를 투여한 감염되지 않은 마우스에 대해 4일의 과정 내내 안정적이었다(도 21). IsdB 표적이 존재하는 감염된 동물에서, 이중 특이적 항-IsdB x 항-C1q IgG1 항체인 REGN5066이 투여된 마우스에서의 순환 C1q 농도는 10 내지 35% 감소하였다(도 22). 감염되지 않은 동물과 유사하게, IgG4 또는 IgG1 uber 스텔스 버전의 항-IsdB x 항-C1q 이중 특이적 항체(각각, REGN5331 또는 REGN7017)를 투여한 암컷 및 수컷 MAID1615 마우스의 경우, C1q 레벨은 4일 동안의 감염 과정 전반에 걸쳐 안정적이었다(도 22). 이들 실험은 IgG4 Fc 및 IgG1 uber 스텔스 Fc가 *스타필로코커스 아우레우스* 표적의 부재시 및 존재시 둘 모두에서 항-IsdB x 항-C1q IgG1 이중특이적 항체로 관찰된 C1q 결손을 감소시켰음을 나타낸다.

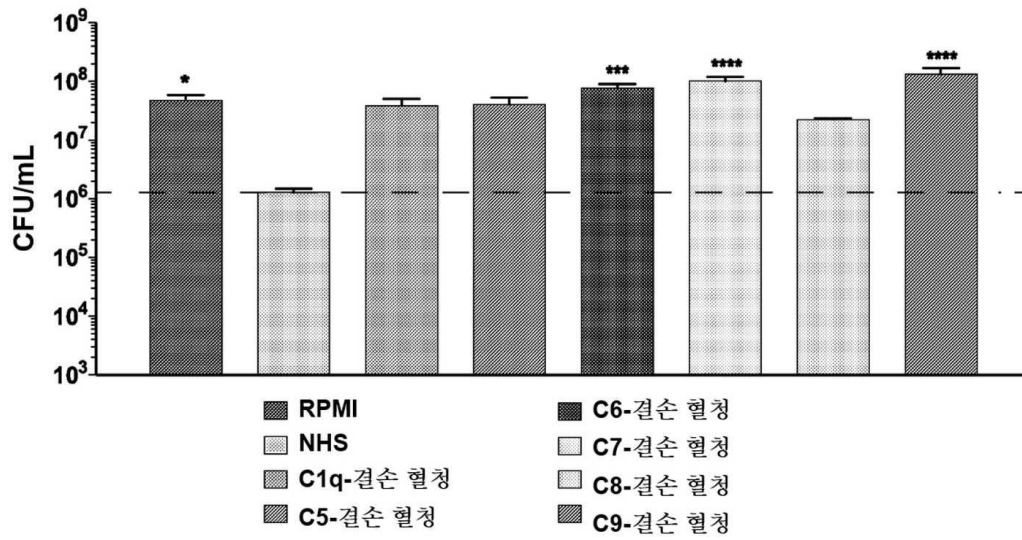
[0700] 본 개시는 본원에 기술된 특정 실시예에 의해 그 범위가 제한되지 않는다. 실제로, 본원에 기술된 것들 외에, 본 개시의 다양한 변형은 전술된 설명으로부터 당업자에게 명백해질 것이다. 이러한 변형은 첨부된 청구범위의 범위 이내에 포함되는 것으로 의도된다. 본원에서 언급된 모든 간행물, 특허 및 특허 출원은 본원에 참조로서 통합된다.

도면

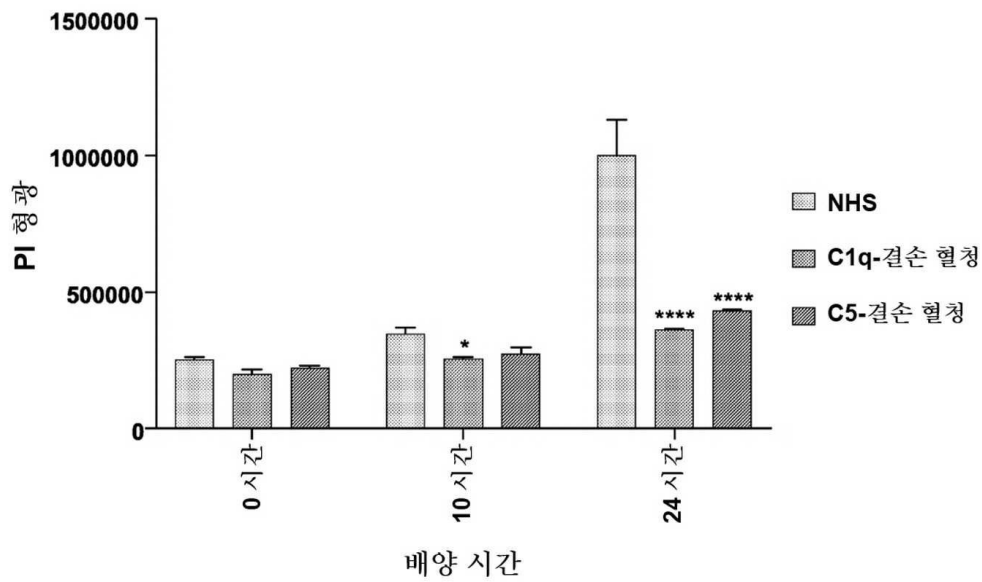
도면1



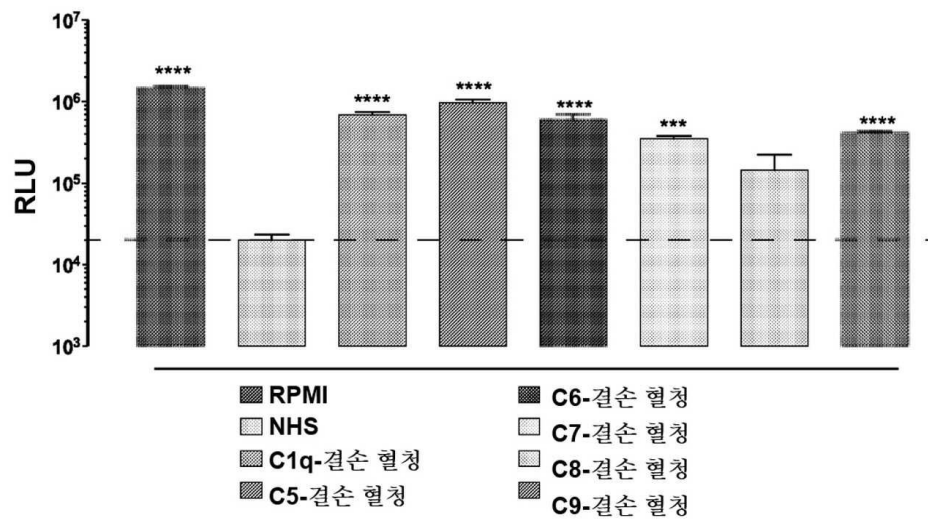
도면2



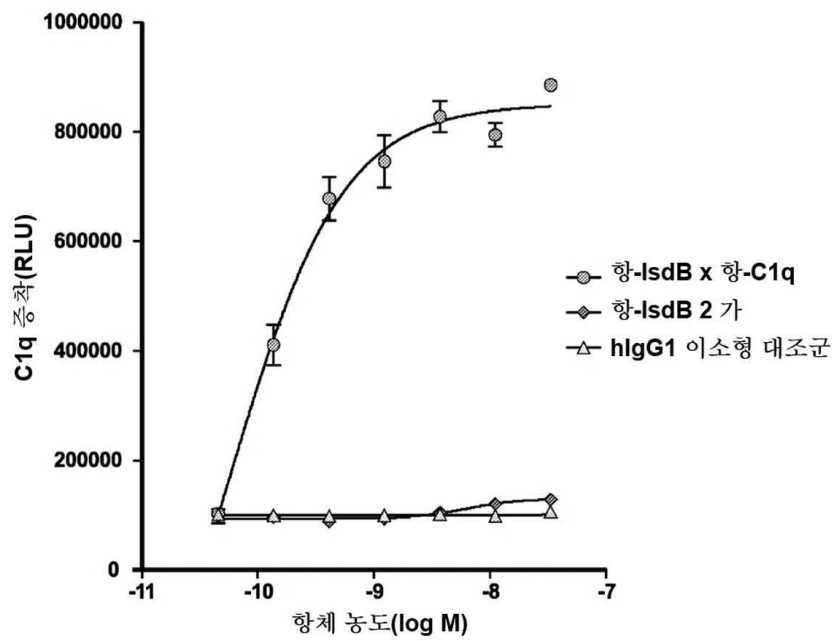
도면3



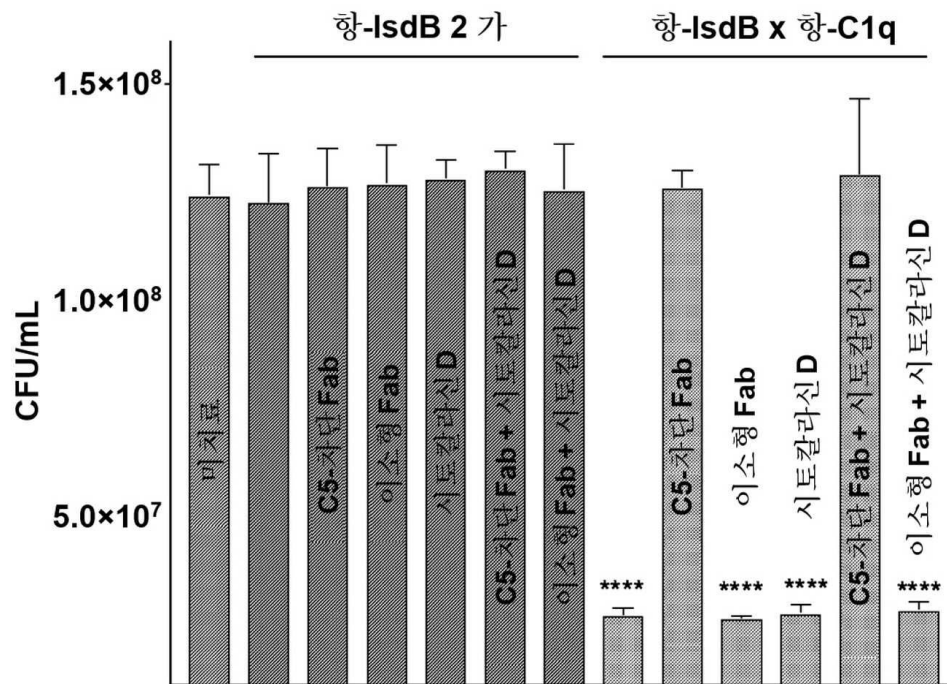
도면4



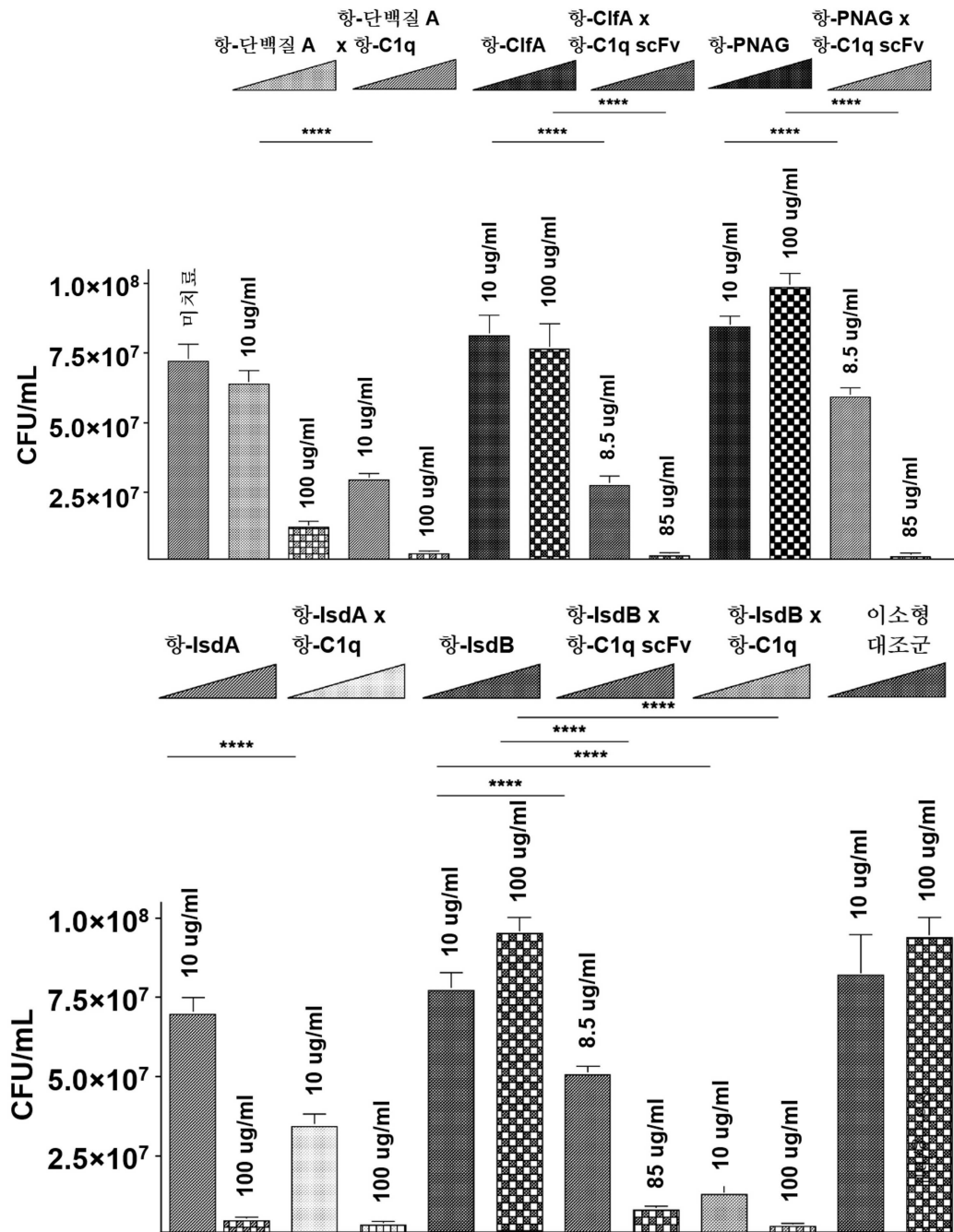
도면5



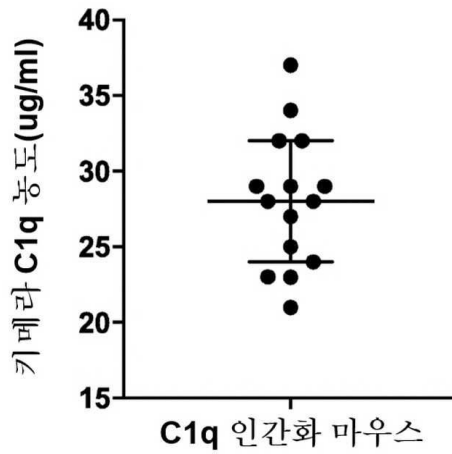
도면6



도면7

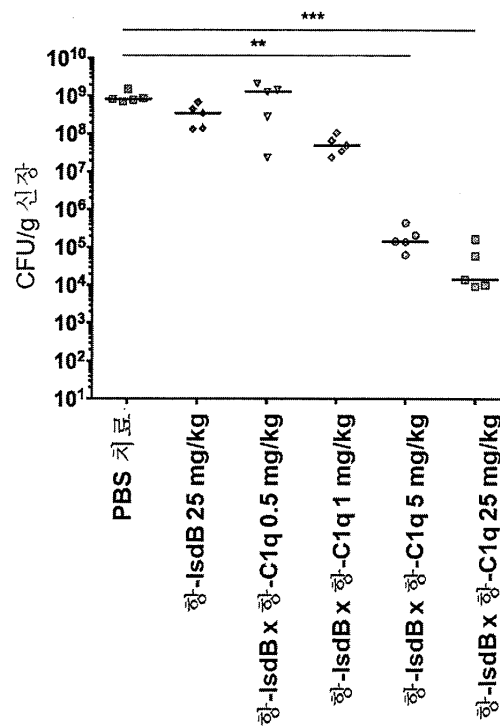
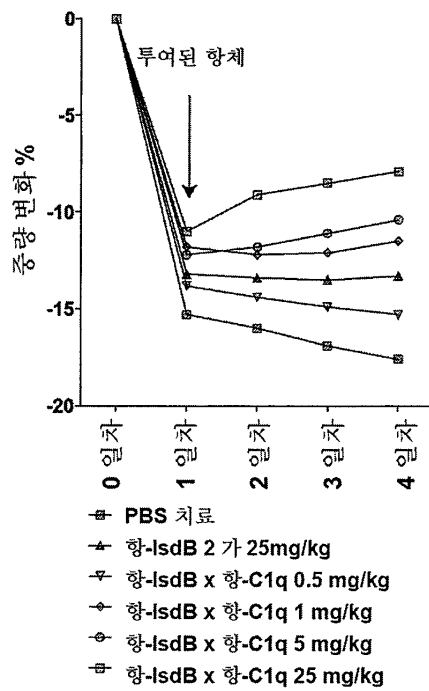


도면8

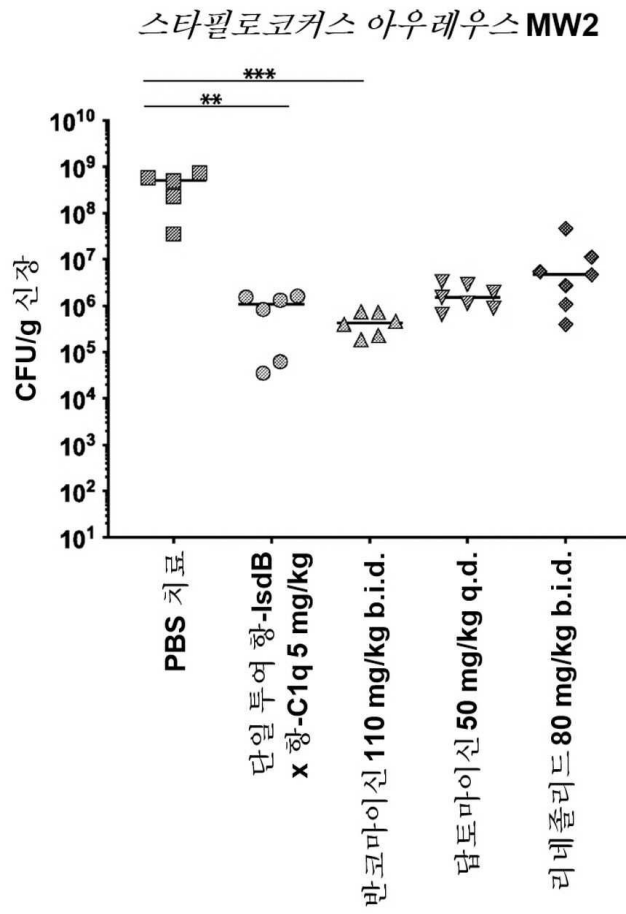


도면9

스타필로코커스 아우레우스 뉴먼

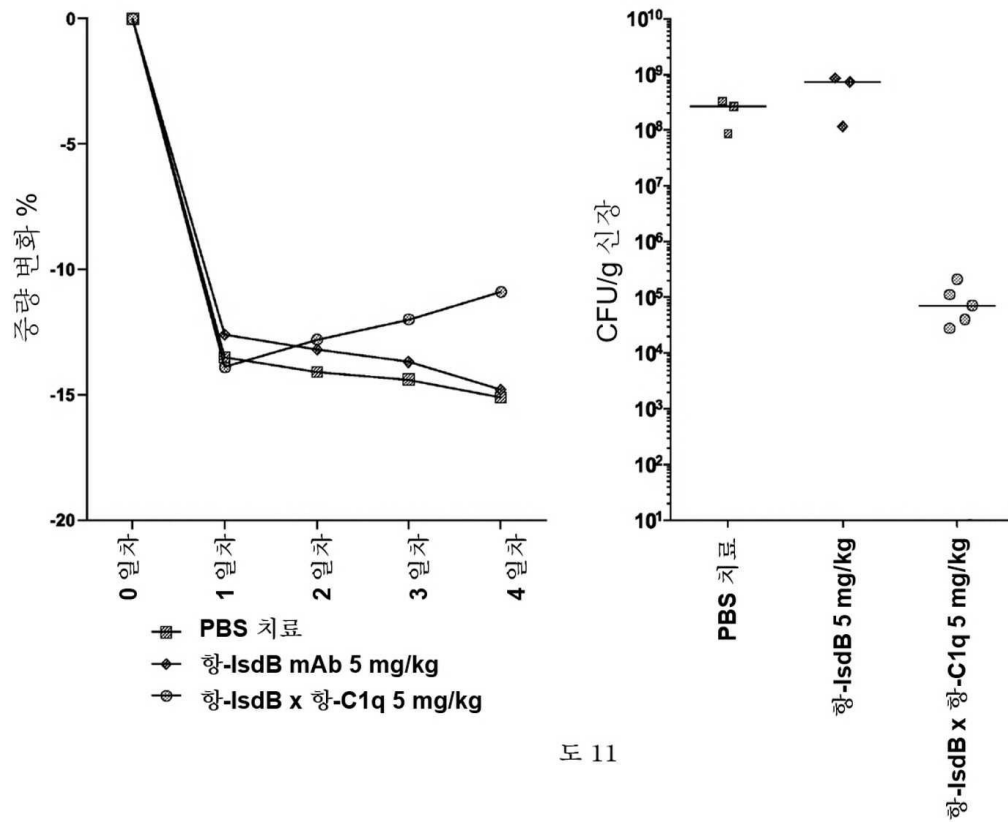


도면10



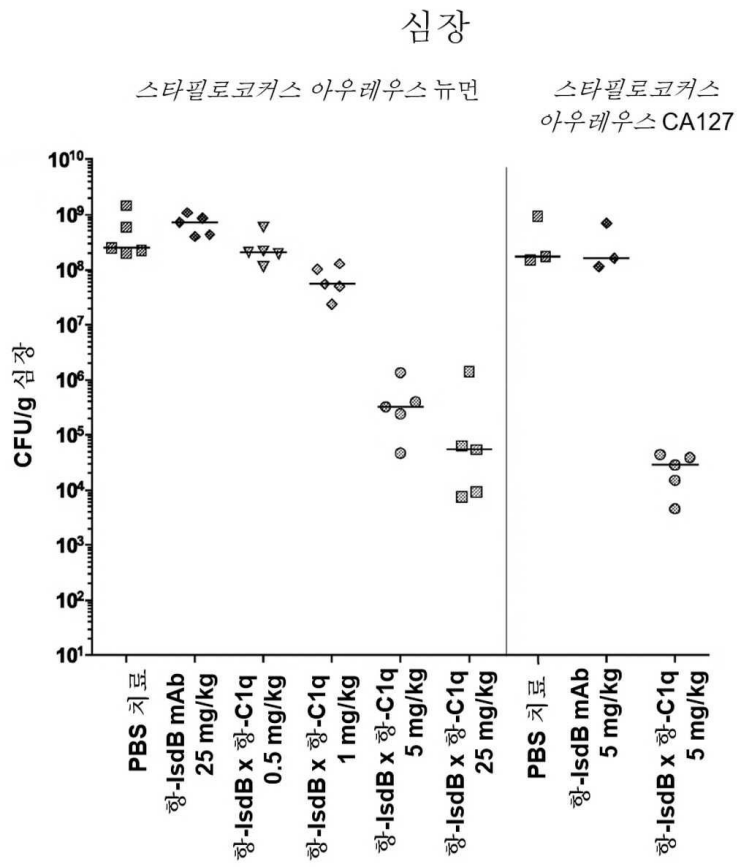
도면11

스타필로코커스 아우레우스 CA127

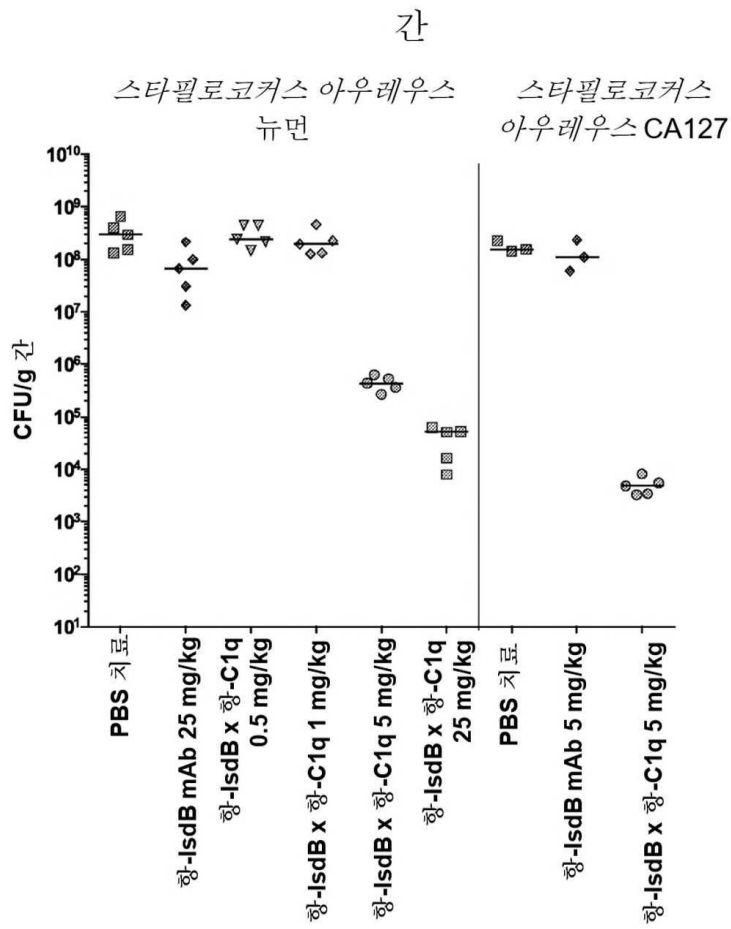


도 11

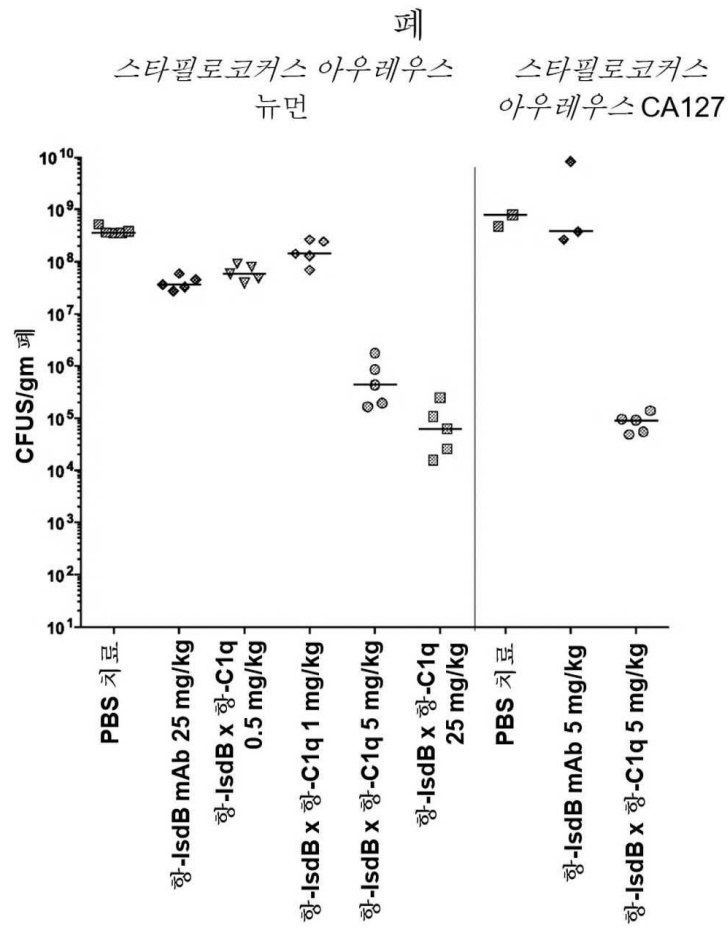
도면12



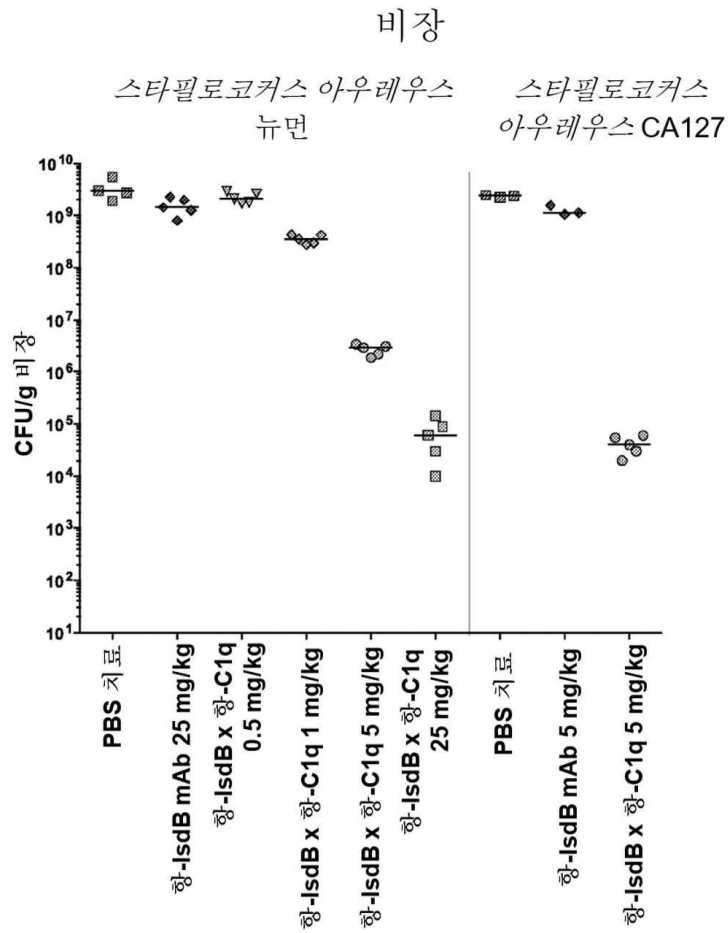
도면13



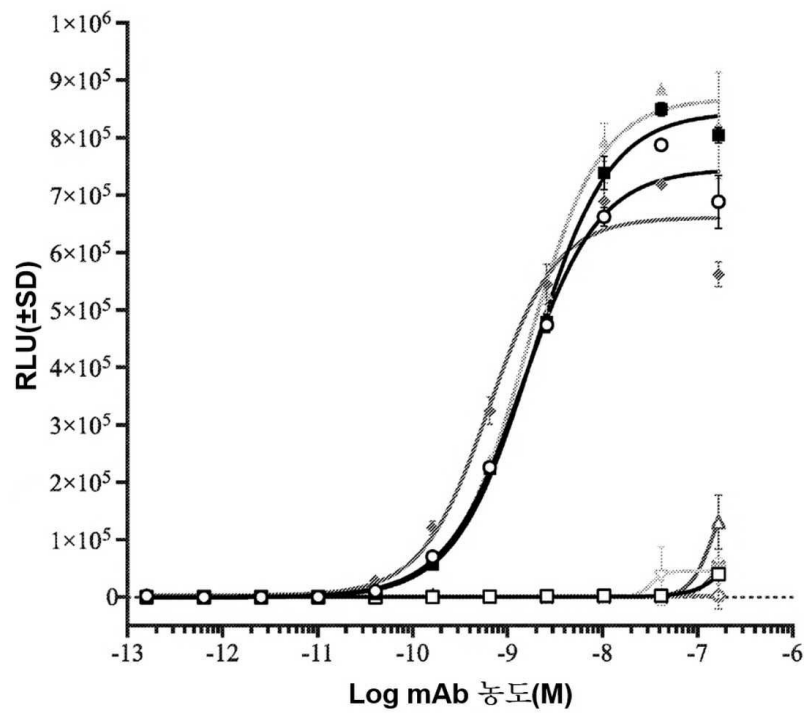
도면14



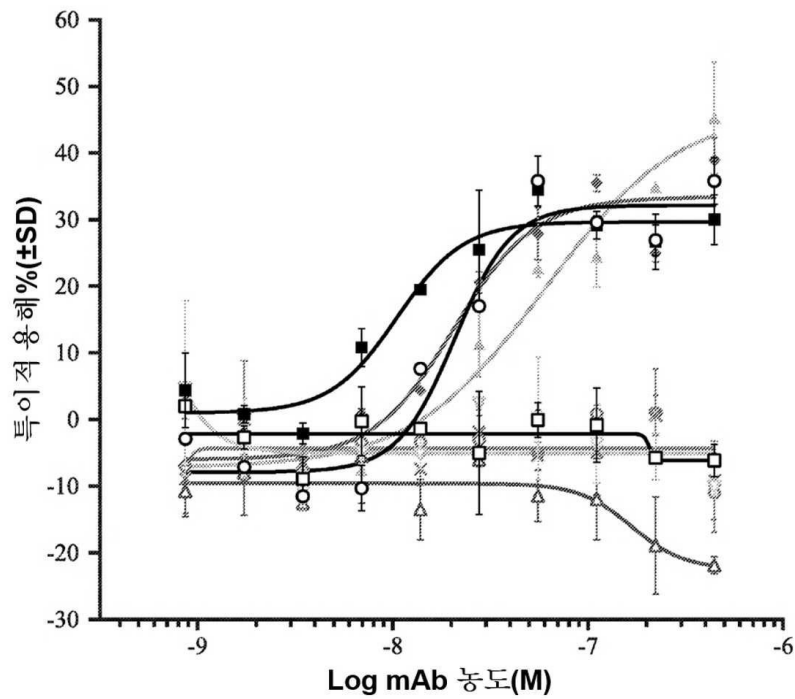
도면15



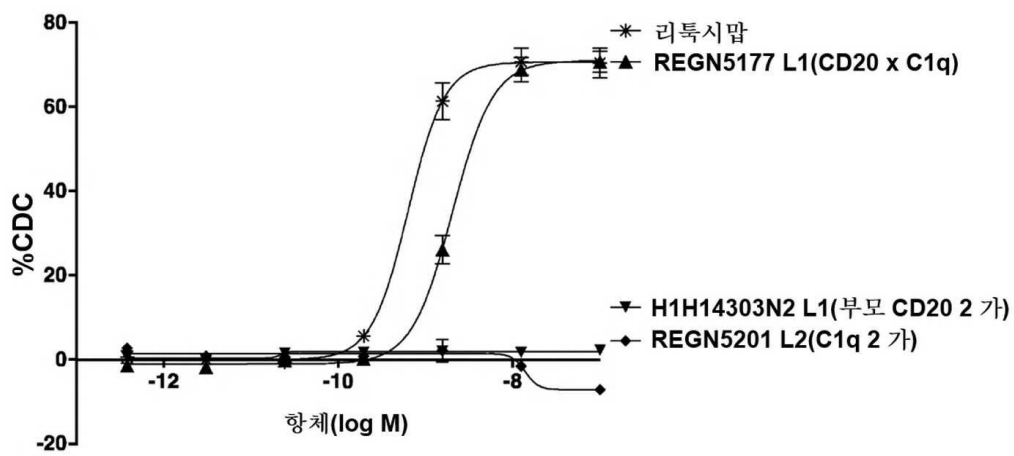
도면16



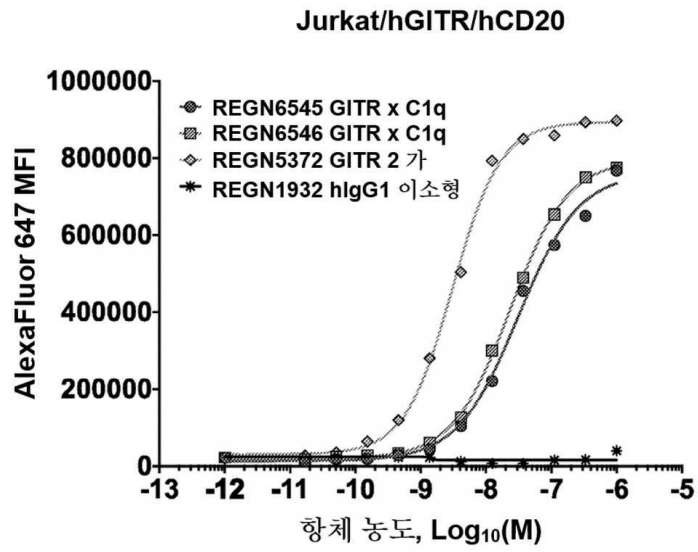
도면17



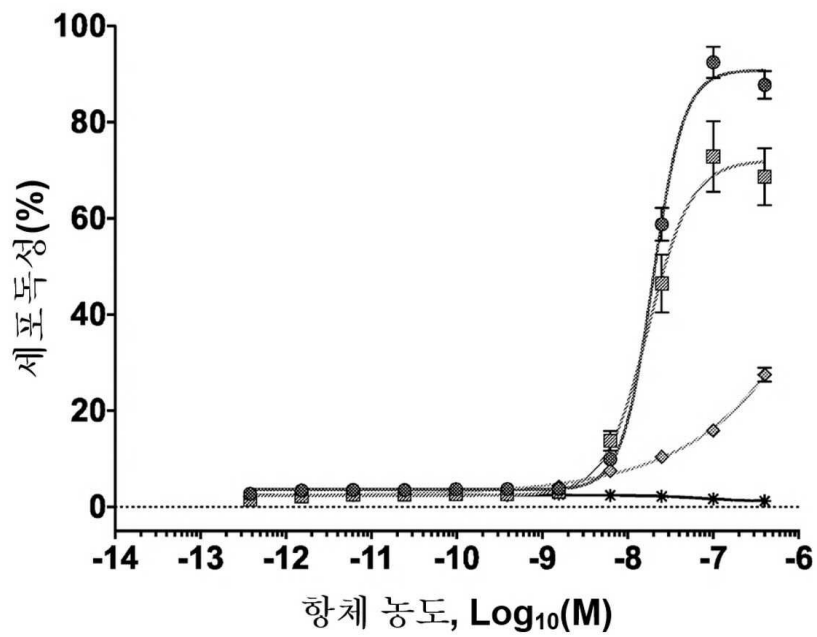
도면18



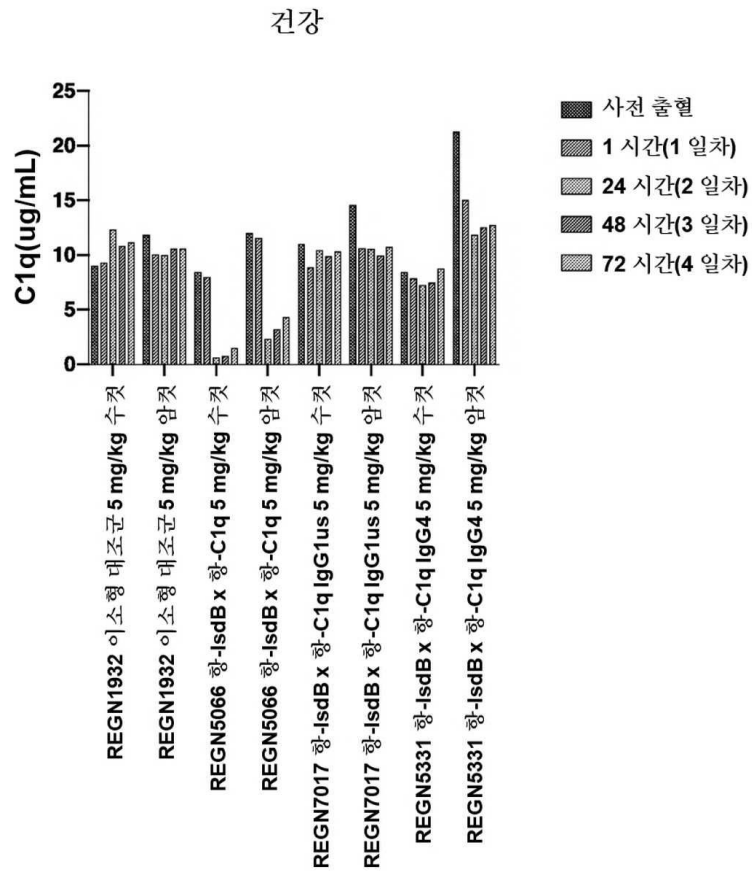
도면19



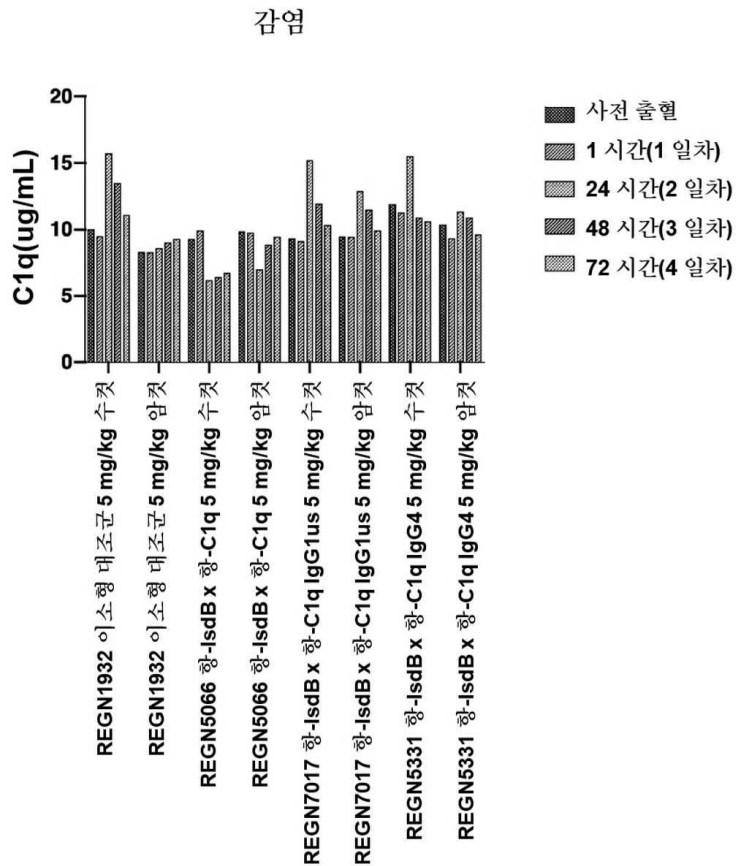
도면20



도면21



도면22



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.

<120> COMPOSITIONS AND METHODS FOR USING

BISPECIFIC ANTIBODIES TO BIND COMPLEMENT AND A TARGET

ANTIGEN

<130> 10542P1-US

<160> 91

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 1

gaagtgacgc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cagccttgat gattatgcca tgcactgggt cegtcaaact 120
ccaggaagg gtctggagtg ggtctctctt attagtgggg atggtagtcg cacatcctat 180

gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acagcaaaaa ctccctgtat 240
ctgaaatga acagtctgag aactgaggac accgccttgt attactgtac aaaagatccc 300
cataactcca actggttcga cccctggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctca 357

<210> 2

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 2

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Asp Asp Tyr

20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Lys Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Lys Asp Pro His Asn Ser Asn Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 3

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>
 <223> synthetic
 <400> 3
 ggattcagcc ttgatgatta tgcc 24
 <210> 4
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 4
 Gly Phe Ser Leu Asp Asp Tyr Ala
 1 5
 <210> 5
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 5
 attagtgggg atggtagtcg caca 24
 <210> 6
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 6
 Ile Ser Gly Asp Gly Ser Arg Thr
 1 5
 <210> 7
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 7

acaaaagatc cccataactc caactgggtc gacccc

36

<210> 8

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 8

Thr Lys Asp Pro His Asn Ser Asn Trp Phe Asp Pro

1

5

10

<210> 9

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 9

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtc gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgta 180

aggttcagt gtagtgatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 10

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 10

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro

85 90 95
 Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 11

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 11

cagagcatta gcagctat

18

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 12

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 13

<211> 9

<

212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 13

gctgcatcc

9

<210> 14

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 14

Ala Ala Ser

1

<210> 15

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 15

caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 16

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 16

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1

5

10

<210> 17

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 17

gaggtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc 60
 ttctgtaagg gtcttgata cagctttatc aacgactgga tcggctgggt gcgccagatg 120
 cccgggaaag gcctggaatg gatgggtctg atctttcctg gtgactctga taccagatat 180
 agtccggttt tccaaggcca cgtcaccatc tcagccgacc agtccatcga caccgcctat 240
 ctgcagtgga acagcctgaa ggcctcggac accgccatat attactgtgc ggtgttacga 300

tactggcact tcgtatctg gggccgtggc accctggcca ccgtctcctc a 351

<210> 18

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 18

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Phe Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Ile Asn Asp

20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Leu Ile Phe Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Val Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100	105	110
Val Thr Val Ser Ser		
115		
<210> 19		
<211> 24		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> synthetic		
<400> 19		
ggatacagct ttatcaacga ctgg		24
<210> 20		
<211> 8		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> synthetic		
<400> 20		
Gly Tyr Ser Phe Ile Asn Asp Trp		
1 5		
<210> 21		
<211> 24		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> synthetic		
<400> 21		
atctttctctg gtgactctga tacc		24
<210> 22		
<211> 8		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		

<223> synthetic

<400> 22

Ile Phe Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 23

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 23

gcggtgttac gatactggca cttcgctatc 30

<210> 24

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 24

Ala Val Leu Arg Tyr Trp His Phe Ala Ile

1 5 10

<210> 25

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 25

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggt ctggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtacaa cctctggatt cacctttgat gattatgccca tgcactgggt cgggcaagtt 120
ccagggcagg gcctggagtg ggtcgcaggc cttagctgga acagtgtatc cataggttat 180
gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ttccctgtat 240
ctgcaaatga aaagtctgaa agctgaggac acggccttat attactgtac aaaagatttc 300

taccatagtt tgaataattg gaactactac tactttgact actggggcca gggaaccctg 360

gtcaccgtct cctca 375

<210> 26

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 26

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Thr Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr

20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Gly Leu Ser Trp Asn Ser Asp Thr Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Lys Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Lys Asp Phe Tyr His Ser Leu Asn Asn Trp Asn Tyr Tyr Tyr Phe

100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 27

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 27

ggattcacct ttgatgatta tgcc

24

<210> 28

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 28

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala

1 5

<210> 29

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

>

<223> synthetic

<400> 29

cttagctgga acagtgatac cata

24

<210> 30

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 30

Leu Ser Trp Asn Ser Asp Thr Ile

1 5

<210> 31

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 31

acaaaagatt tctacatag tttgaataat tggaactact actactttga ctac 54

<210> 32

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 32

Thr Lys Asp Phe Tyr His Ser Leu Asn Asn Trp Asn Tyr Tyr Tyr Phe

1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 33

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 33

caggtgcacc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgttcag tccttgact caccitcaat agctatggca tgcactgggt cgcgcaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtgacaatg atttcatatg atggaagtga taaatattat 180

ctagactccg tgaaggccg atttaccatc tccagagaca attccaagaa catcctgtat 240

ctgcaaatta acagcctgag acctgaggac acggctgtat attactgtgt gaactgggat 300

aattggaggg gaaactttga ctattggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctca 357

<210> 34

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 34

Gln Val His Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Val Ser Gly Leu Thr Phe Asn Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Thr Met Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Leu Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ile Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Asn Trp Asp Asn Trp Arg Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 35

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 35

ggactcacct tcaatagcta tggc

24

<210> 36

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 36

Gly Leu Thr Phe Asn Ser Tyr Gly

1 5

<210> 37

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 37

atttcatatg atggaagtga taaa

24

<210> 38

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 38

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asp Lys

1 5

<210> 39

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 39

gtgaactggg ataattggag gggaaacttt gactat

36

<210> 40

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

>

<223> synthetic

<400> 40

Val Asn Trp Asp Asn Trp Arg Gly Asn Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 41

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 41

caggtccacc tggatgcagtc tgggccagag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggagt caccttcac agtcacgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgaatg ggtgggagga atcatcgcta tctttggtac aacaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcacggtt acaacggaca aatccacgaa cacagtctac 240

atggaattga gcagactgag atctgaggac acggccatctt attactgtgc gcgaggtgag 300
acctactacg agggaaactt tgacttctgg ggccaggga ccctgggtcac cgtctcctca 360

<210> 42

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 42

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Val Thr Phe Ile Ser His

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Val Thr Thr Asp Lys Ser Thr Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Glu Thr Tyr Tyr Glu Gly Asn Phe Asp Phe Trp Gly Gln

100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 43

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 43

ggagtcacct tcatcagtca tgct 24

<210> 44

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 44

Gly Val Thr Phe Ile Ser His Ala

1 5

<210> 45

<211> 24

<212> DNA

<213>

Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 45

atcatcgcta tcttttgtac aaca 24

<210> 46

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 46

Ile Ile Ala Ile Phe Gly Thr Thr

1 5

<210> 47

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 47

gcgcgaggtg agacctacta cgagggaac ttgacttc 39

<210> 48

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 48

Ala Arg Gly Glu Thr Tyr Tyr Glu Gly Asn Phe Asp Phe

1 5 10

<210> 49

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 49

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcgagac cctgtccctc 60

acctgcattg tctctggtgg ctccatcagt ggttacttct ggaactggat ccggcagccc 120

ccaggaagg gacttgaatg gattggttat atctattaca gtgggaccac catctacaac 180

ccctccctca agagtcgatt caccatatca ctagacacgt ccaagaacca gttctcccta 240

aagctgacct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtatat actgtgagag agagtcgtat 300
aatccctcgc cgcgatat ttgaccactgg ggccagggaa ccctgggtcac cgtctcctca 360

<210> 50

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 50

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ile Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Gly Tyr

20 25 30

Phe Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Ile Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Ser Tyr Asn Pro Ser Pro Arg Tyr Phe Asp His Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 51

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 51

ggtggctcca tcagtgtta ctic

24

<210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 52

Gly Gly Ser Ile Ser Gly Tyr Phe

1 5

<210> 53

<211> 21

<212> DNA

<213>

Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 53

atctattaca gtgggaccac c

21

<210> 54

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 54

Ile Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr

1 5

<210> 55

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 55

gcgagagagt cgtataatcc ctgccgcga tatittgacc ac

42

<210> 56

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 56

Ala Arg Glu Ser Tyr Asn Pro Ser Pro Arg Tyr Phe Asp His

1 5 10

<210> 57

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 57

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcact agctacgaca tgcactgggt cgcgaagct 120
acaggaaaag gtctggagtg ggtctcaaat attgatcccg ctggtaacac attctatcca 180
ggctccgtga agggccgatt caccatctcc agagaaaatg ccaagaagtc ctgtatctt 240

caaatgaaca gccttagagc cggggacacg gctgtatatt actgtgcaag aaacctaggt 300
aactggggat atgaccactg gggccaggga accctggtea ccgtctctc a 351

<210> 58

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 58

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Asn Ile Asp Pro Ala Gly Asn Thr Phe Tyr Pro Gly Ser Val Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Lys Ser Leu Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Asn Leu Gly Asn Trp Gly Tyr Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 59

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 59

ggattcacct tcactagcta cgac

24

<210> 60

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 60

Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr Asp

1 5

<210> 61

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 61

attgatcccg ctggtaacac a 21

<210> 62

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 62

Ile Asp Pro Ala Gly Asn Thr

1 5

<210> 63

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 63

gcaagaaacc taggtaactg gggatatgac cac 33

<210> 64

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

> synthetic

<400> 64

Ala Arg Asn Leu Gly Asn Trp Gly Tyr Asp His

1 5 10

<210> 65

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 65

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagagtc 60
tcttgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgccca tgcactgggt cgggcaaatt 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagatgga atagtacac tataggctat 180
gctgactctg tgaagggccg attcaccatt tccagagaca acgccaagaa ttttctatat 240
ctacaaatga acagtctgag aactgaagac acggccttat attactgtgt caaagatatg 300

agggttcggg gaattataat gtacggtatg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc 360
gtctcctca 369

<210> 66

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 66

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Val Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ile Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Arg Trp Asn Ser Asp Thr Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Phe Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Lys Asp Met Arg Val Arg Gly Ile Ile Met Tyr Gly Met Asp Val

100	105	110	
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser			
115	120		
<210> 67			
<211> 24			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> synthetic			
<400> 67			
ggattcacct ttgatgatta tgcc			24
<210> 68			
<211> 8			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> synthetic			
<400> 68			
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala			
1	5		
<210> 69			
<211>			
> 24			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> synthetic			
<400> 69			
attagatgga atagtgacac tata			24
<210> 70			
<211> 8			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> synthetic			

<400> 70

Ile Arg Trp Asn Ser Asp Thr Ile

1 5

<210> 71

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 71

gtcaaagata tgagggttcg gggaattata atgtacgta tggacgtc 48

<210> 72

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 72

Val Lys Asp Met Arg Val Arg Gly Ile Ile Met Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10 15

<210> 73

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> REGN5738 ClfA Heavy Chain

<400> 73

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Ile Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr

20 25 30

Ser Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Met Ile Trp Gly Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
 50 55 60
 Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Phe Leu
 65 70 75 80
 Lys Met Asn Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Lys Gly Glu Phe Tyr Tyr Gly Tyr Asp Gly Phe Val Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235 240
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

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

340 345 350
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

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

450

<210> 74

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> REGN5738 ClfA Light Chain

<400> 74

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15
 Glu Arg Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
 20 25 30

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln
85 90 95

Tyr Leu Ser Ser Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 75

<211> 469

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> REGN5738 Heavy Chain H1xH17736P ScFv

<400> 75

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1	5	10	15
Asp Arg Val Thr	Ile Thr Cys Arg Ala Ser	Gln Ser Ile Ser	Ser Tyr
20	25	30	
Leu Asn Trp Tyr	Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro	Lys Leu Leu Ile	
35	40	45	
Tyr Ala Ala Ser	Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser	Arg Phe Ser Gly	
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly	Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser	Ser Leu Gln Pro	
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala	Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr	Ser Thr Pro Pro	
85	90	95	
Ile Thr Phe Gly	Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Gly	Gly Gly Gly Gly	
100	105	110	
Ser Gly Gly Gly	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val	Gln Leu Val	
115	120	125	
Glu Ser Gly Gly	Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu	Arg Leu Ser	
130	135	140	
Cys Ala Ala Ser	Gly Phe Ser Leu Asp Asp Tyr Ala Met	His Trp Val	
145	150	155	160
Arg Gln Thr Pro	Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Leu	Ile Ser Gly	
165	170	175	
Asp Gly Ser Arg	Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly	Arg Phe Thr	
180	185	190	
Ile Ser Arg Asp	Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Lys	Met Asn Ser	
195	200	205	
Leu Arg Thr Glu	Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr	Lys Asp Pro His	
210	215	220	
Asn Ser Asn Trp	Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu	Val Thr Val	
225	230	235	240
Ser Ser Asp Lys	Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro	Ala Pro Glu Leu	
245	250	255	

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr

260 265 270

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val

275 280 285

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val

290 295 300

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser

305 310 315 320

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

325 330 335

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala

340 345 350

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro

355 360 365

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln

370 375 380

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala

385 390 395 400

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr

405 410 415

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu

420 425 430

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

435 440 445

Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser

450 455 460

Leu Ser Pro Gly Lys

465

<210> 76

<211> 454

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> REGN5536 PNAG Heavy Chain

<400> 76

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Gly Tyr

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile His Tyr Ser Arg Ser Thr Asn Ser Asn Pro Ala Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Thr Ser Lys Asn Gln Leu Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Asp Thr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Gly Asp Tyr Glu Asp Ala Phe Asp

100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys

115 120 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly

130 135 140

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro

145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr

165 170 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val

180 185 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn

195 200 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro

210 215 220

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 225 230 235 240
 Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 245 250 255

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 260 265 270

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 275 280 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 290 295 300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 305 310 315 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 325 330 335

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 340 345 350

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
 355 360 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 370 375 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 385 390 395 400

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450

<210> 77

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> REGN5536 PNAG Light Chain

<400> 77

Gln Leu Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ala Ser Ala Ser Leu Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Thr Cys Thr Leu Ser Ser Gly His Ser Asn Tyr Ala

20 25 30

Ile Ala Trp His Gln Gln Gln Pro Gly Lys Gly Pro Arg Tyr Leu Met

35 40 45

Lys Val Asn Arg Asp Gly Ser His Ile Arg Gly Asp Gly Ile Pro Asp

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Ala Glu Arg Tyr Leu Thr Ile Ser

65 70 75 80

Ser Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Trp Gly

85 90 95

Ala Gly Ile Arg Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu

115 120 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe

130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val

145 150 155 160

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

165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser

180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu

195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210

215

<210> 78

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> REGN5409 Psl Heavy Chain

<400> 78

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Thr Ser Pro Tyr

20

25

30

Phe Trp Ser Trp Leu Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35

40

45

Gly Tyr Ile His Ser Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50

55

60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Gly Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65

70

75

80

Asn Leu Ser Phe Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala

85

90

95

Arg Thr Asp Tyr Asp Val Tyr Gly Pro Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115

120

125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130

135

140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145

150

155

160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165

170

175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly

225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

Gly Lys

450

<210> 79

<211> 214

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> REGN5409 Psl Light Chain

<400> 79

Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln

1 5 10 15

Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala

20 25 30

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr

35 40 45

Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His

85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys

100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln

115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly

130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly

145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala

165 170 175
Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser

180 185 190
Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val

195 200 205
Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210

<210> 80

<211> 583

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> REGN2655 IsdB-6xhis Amino acids 1-583 (amino acids

A41-T613 of accession number WP099560907);

Linker: AS (1-2); IsdB: 3-575; Linker: LE

(576-577); 6xHis: 578-583

<400> 80

Ala Ser Ala Ala Glu Glu Thr Gly Gly Thr Asn Thr Glu Ala Gln Pro

1 5 10 15

Lys Thr Glu Ala Val Ala Ser Pro Thr Thr Thr Ser Glu Lys Ala Pro

20 25 30

Glu Thr Lys Pro Val Ala Asn Ala Val Ser Val Ser Asn Lys Glu Val

35 40 45

Glu Ala Pro Thr Ser Glu Thr Lys Glu Ala Lys Glu Val Lys Glu Val

50 55 60

Lys Ala Pro Lys Glu Thr Lys Glu Val Lys Pro Ala Ala Lys Ala Thr

65 70 75 80

Asn Asn Thr Tyr Pro Ile Leu Asn Gln Glu Leu Arg Glu Ala Ile Lys

85 90 95

Asn Pro Ala Ile Lys Asp Lys Asp His Ser Ala Pro Asn Ser Arg Pro

100 105 110

Ile Asp Phe Glu Met Lys Lys Lys Asp Gly Thr Gln Gln Phe Tyr His

115	120	125	
Tyr Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Arg Val Ile Phe Thr Asp Ser Lys			
130	135	140	
Pro Glu Ile Glu Leu Gly Leu Gln Ser Gly Gln Phe Trp Arg Lys Phe			
145	150	155	160
Glu Val Tyr Glu Gly Asp Lys Lys Leu Pro Ile Lys Leu Val Ser Tyr			
165	170	175	
Asp Thr Val Lys Asp Tyr Ala Tyr Ile Arg Phe Ser Val Ser Asn Gly			
180	185	190	
Thr Lys Ala Val Lys Ile Val Ser Ser Thr His Phe Asn Asn Lys Glu			
195	200	205	
Glu Lys Tyr Asp Tyr Thr Leu Met Glu Phe Ala Gln Pro Ile Tyr Asn			
210	215	220	
Ser Ala Asp Lys Phe Lys Thr Glu Glu Asp Tyr Lys Ala Glu Lys Leu			
225	230	235	240
Leu Ala Pro Tyr Lys Lys Ala Lys Thr Leu Glu Arg Gln Val Tyr Glu			
245	250	255	
Leu Asn Lys Ile Gln Asp Lys Leu Pro Glu Lys Leu Lys Ala Glu Tyr			
260	265	270	
Lys Lys Lys Leu Glu Asp Thr Lys Lys Ala Leu Asp Glu Gln Val Lys			
275	280	285	
Ser Ala Ile Thr Glu Phe Gln Asn Val Gln Pro Thr Asn Glu Lys Met			
290	295	300	
Thr Asp Leu Gln Asp Thr Lys Tyr Val Val Tyr Glu Ser Val Glu Asn			
305	310	315	320
Asn Glu Ser Met Met Asp Thr Phe Val Lys His Pro Ile Lys Thr Gly			
325	330	335	
Met Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Met Val Met Glu Thr Thr Asn Asp Asp			
340	345	350	
Tyr Trp Lys Asp Phe Met Val Glu Gly Gln Arg Val Arg Thr Ile Ser			
355	360	365	

Lys Asp Ala Lys Asn Asn Thr Arg Thr Ile Ile Phe Pro Tyr Val Glu
370 375 380

Gly Lys Thr Leu Tyr Asp Ala Ile Val Lys Val His Val Lys Thr Ile
385 390 395 400

Asp Tyr Asp Gly Gln Tyr His Val Arg Ile Val Asp Lys Glu Ala Phe
405 410 415

Thr Lys Ala Asn Thr Asp Lys Ser Asn Lys Lys Glu Gln Gln Asp Asn
420 425 430

Ser Ala Lys Lys Glu Ala Thr Pro Ala Thr Pro Ser Lys Pro Thr Pro
435 440 445

Ser Pro Val Glu Lys Glu Ser Gln Lys Gln Asp Ser Gln Lys Asp Asp
450 455 460

Asn Lys Gln Leu Pro Ser Val Glu Lys Glu Asn Asp Ala Ser Ser Glu
465 470 475 480

Ser Gly Lys Asp Lys Thr Pro Ala Thr Lys Pro Thr Lys Gly Glu Val
485 490 495

Glu Ser Ser Ser Thr Thr Pro Thr Lys Val Val Ser Thr Thr Gln Asn
500 505 510

Val Ala Lys Pro Thr Thr Ala Ser Ser Lys Thr Thr Lys Asp Val Val
515 520 525

Gln Thr Ser Ala Gly Ser Ser Glu Ala Lys Asp Ser Ala Pro Leu Gln
530 535 540

Lys Ala Asn Ile Lys Asn Thr Asn Asp Gly His Thr Gln Ser Gln Asn
545 550 555 560

Asn Lys Asn Thr Gln Glu Asn Lys Ala Lys Ser Leu Pro Gln Thr Leu
565 570 575

Glu His His His His His His
580

<210> 81

<211> 570

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Influenza H1N1 New Caledonia ecto (1-519;

Y98F:18-519)-foldon-BirA- His6: REGN3919: Amino

acids 1-570 (amino acids 1-519; Y108F of

accession number AAP34324); Signal sequence: 1-17

<400> 81

Met Lys Ala Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr

1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr

20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn

35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Leu Leu Lys Gly Ile

50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Ser Val Ala Gly Trp Ile Leu Gly

65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Leu Leu Ile Ser Lys Glu Ser Trp Ser Tyr Ile

85 90 95

Val Glu Thr Pro Asn Pro Glu Asn Gly Thr Cys Phe Pro Gly Tyr Phe

100 105 110

Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe

115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Thr

130 135 140

Val Thr Gly Val Ser Ala Ser Cys Ser His Asn Gly Lys Ser Ser Phe

145 150 155 160

Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Gly Lys Asn Gly Leu Tyr Pro Asn

165 170 175

Leu Ser Lys Ser Tyr Val Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val Leu

180 185 190

Trp Gly Val His His Pro Pro Asn Ile Gly Asn Gln Arg Ala Leu Tyr

195 200 205
His Thr Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Ser Arg

210 215 220
Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln Glu
225 230 235 240

Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr Ile
245 250 255

Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe Ala
260 265 270

Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Pro Met

275 280 285
Asp Glu Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn Ser

290 295 300
Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro

305 310 315 320
Lys Tyr Val Arg Ser Ala Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn

325 330 335
Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe

340 345 350
Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His

355 360 365
His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr

370 375 380
Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu

385 390 395 400
Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu

405 410 415
Glu Arg Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Leu

420 425 430
Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu

435 440 445

Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys
450 455 460
Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys
465 470 475 480
Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Lys
485 490 495
Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn
500 505 510
Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp
515 520 525
Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr
530 535 540
Phe Leu Gly Gly Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile
545 550 555 560
Glu Trp His Glu His His His His His His
565 570
<210> 82
<211> 165
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> hGITR.mmh (REGN2135): Amino acids 1-165 (amino
acids Q26-P162 of accession number NP_683700.1);
hGITR(ecto): 1-135; mmh - 136-165
<400>
> 82
Gln Arg Pro Thr Gly Gly Pro Gly Cys Gly Pro Gly Arg Leu Leu Leu
1 5 10 15
Gly Thr Gly Thr Asp Ala Arg Cys Cys Arg Val His Thr Thr Arg Cys
20 25 30
Cys Arg Asp Tyr Pro Gly Glu Glu Cys Cys Ser Glu Trp Asp Cys Met
35 40 45
Cys Val Gln Pro Glu Phe His Cys Gly Asp Pro Cys Cys Thr Thr Cys

50						55						60					
Arg	His	His	Pro	Cys	Pro	Pro	Gly	Gln	Gly	Val	Gln	Ser	Gln	Gly	Lys		
65					70					75					80		
Phe	Ser	Phe	Gly	Phe	Gln	Cys	Ile	Asp	Cys	Ala	Ser	Gly	Thr	Phe	Ser		
				85					90					95			
Gly	Gly	His	Glu	Gly	His	Cys	Lys	Pro	Trp	Thr	Asp	Cys	Thr	Gln	Phe		
			100					105					110				
Gly	Phe	Leu	Thr	Val	Phe	Pro	Gly	Asn	Lys	Thr	His	Asn	Ala	Val	Cys		
		115					120					125					

Val Pro Gly Ser Pro Pro Ala Glu Pro Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu
130 135 140
Glu Asp Leu Gly Gly Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu His
145 150 155 160
His His His His His
165

<210> 83

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> mAb20631-C1q Full Length Heavy Chain with hIgG1*

constant

<400> 83

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly

1					5					10					15				
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Asp	Asp	Tyr				
				20					25					30					
Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Thr	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val				
				35					40					45					
Ser	Leu	Ile	Ser	Gly	Asp	Gly	Ser	Arg	Thr	Ser	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val				
				50					55					60					

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Lys Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Lys Asp Pro His Asn Ser Asn Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385				390				395				400			
Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys
				405				410				415			
Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu
				420				425				430			
Ala	Leu	His	Asn	Arg	Phe	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
				435				440				445			
Lys															

<210> 84

<211> 455

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> mAb20295:-IsdB Full Length Heavy Chain with IgG

constant

<400> 84

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

35 40 45
 Ala Gly Leu Ser Trp Asn Ser Asp Thr Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Lys Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Lys Asp Phe Tyr His Ser Leu Asn Asn Trp Asn Tyr Tyr Tyr Phe
 100 105 110

 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 115 120 125
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
 130 135 140
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 145 150 155 160
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 165 170 175

 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 180 185 190
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
 195 200 205
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 210 215 220
 Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 225 230 235 240

 Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 245 250 255
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 260 265 270
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 275 280 285

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

290

295

300

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

305

310

315

320

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

325

330

335

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

340

345

350

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys

355

360

365

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

370

375

380

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

385

390

395

400

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

405

410

415

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

420

425

430

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

435

440

445

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

450

455

<210> 85

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Full length Light Chain ULC 1-39

<400> 85

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro

85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala

100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val

180 185 190

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

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 86

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> mAb14303: CD20 Full length Heavy Chain

<400> 86

Gln Val His Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Val Ser Gly Leu Thr Phe Asn Ser Tyr

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Thr Met Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Leu Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ile Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Asn Trp Asp Asn Trp Arg Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225					230				235				240			
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	
				245				250				255				
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	
				260				265				270				
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	
				275				280				285				
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	
				290				295				300				
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	
305				310				315				320				
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	
				325				330				335				
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	
				340				345				350				
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	
				355				360				365				
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	
370				375				380								
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	
385				390				395				400				
Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	
				405				410				415				
Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	
				420				425				430				
Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	
435				440				445								
Lys																

<210> 87

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> mAb11829: Influenza HA Full length Heavy Chain

<400> 87

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Val Thr Phe Ile Ser His

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Val Thr Thr Asp Lys Ser Thr Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Glu Thr Tyr Tyr Glu Gly Asn Phe Asp Phe Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210	215	220	
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly			
225	230	235	240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile			
	245	250	255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu			
	260	265	270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His			
275	280	285	
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg			
290	295	300	
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys			
305	310	315	320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu			
	325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr			
340	345	350	
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu			
355	360	365	
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp			
370	375	380	
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val			
385	390	395	400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp			
	405	410	415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His			
420	425	430	
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro			
435	440	445	
Gly Lys			
450			

<210> 88

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> mAb14536: GITR Full length Heavy Chain

<400> 88

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ile Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Gly Tyr

20 25 30

Phe Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Ile Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Ser Tyr Asn Pro Ser Pro Arg Tyr Phe Asp His Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270

 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335

 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400

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

Gly Lys

450

<210> 89

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> mAb18395: Clq: Full length Heavy Chain

<400> 89

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Phe Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Ile Asn Asp

20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Leu Ile Phe Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Val Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu

115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430

His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 90

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> mAb15144: Protein A: Full Length Heavy Chain

<400> 90

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300

 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420					425					430				
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys
435					440					445				
<210> 91														
<211> 453														
<212> PRT														
<213> Artificial Sequence														
<220>														
<223> mAb20334:IsdA: Full Length Heavy Chain														
<400> 91														
Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly
1				5				10				15		
Ser	Leu	Arg	Val	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asp	Asp
			20				25				30			
Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ile	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp
			35				40				45			
Ser	Gly	Ile	Arg	Trp	Asn	Ser	Asp	Thr	Ile	Gly	Tyr	Ala	Asp	Ser
			50				55				60			
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Phe	Leu
			65				70				75			
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Leu	Tyr	Tyr
			85				90				95			
Val	Lys	Asp	Met	Arg	Val	Arg	Gly	Ile	Ile	Met	Tyr	Gly	Met	Asp
			100				105				110			
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys
			115				120				125			
Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly
			130				135				140			
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro
			145				150				155			
Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr

165	170	175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val		
180	185	190
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val		
195	200	205
Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys		
210	215	220
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu		
225	230	235
240		
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr		
245	250	255
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val		
260	265	270
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val		
275	280	285
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser		
290	295	300
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu		
305	310	315
320		
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala		
325	330	335
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro		
340	345	350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln		
355	360	365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala		
370	375	380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr		
385	390	395
400		
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu		
405	410	415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 420 425 430
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 435 440 445
 Leu Ser Pro Gly Lys
 450