

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2025-0024530
(43) 공개일자 2025년02월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/30 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C07K 16/30 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)

(21) 출원번호 10-2024-7040741
(22) 출원일자(국제) 2023년05월10일
심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2024년12월09일
(86) 국제출원번호 PCT/US2023/066819
(87) 국제공개번호 WO 2023/220626
국제공개일자 2023년11월16일

(30) 우선권주장
63/341,944 2022년05월13일 미국(US)

(71) 출원인
엑셀리시스, 인코포레이티드
미국 94502 캘리포니아주 앨러미다 하버 베이 파크웨이 1851

(72) 발명자
해머 보니
미국 94502 캘리포니아 앨러미다 하버 베이 파크웨이 1851 엑셀리시스 인코포레이티드 내

히가키 제프리 엔
미국 94502 캘리포니아 앨러미다 하버 베이 파크웨이 1851 엑셀리시스 인코포레이티드 내
(뒷면에 계속)

(74) 대리인
김진희, 김태홍

전체 청구항 수 : 총 30 항

(54) 발명의 명칭 5T4 결합제 및 이의 용도

(57) 요약

본 개시내용은 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 다중특이성 항체를 포함하는 항체, 및 항체-약물 접합체) 및 이의 용도를 제공한다.

대표도 - 도1a

VH 도메인									
카바트	1	10	22	31--35	40	50--a-----60---65			
AbM	1	10	22	26-----35	40	50--a-----58	65		
초티아	1	10	22	26---32	40	a-55	65		
컨택트	1	10	22	30---35	40	47-----a-----58	65		
IMGT	1		23	27-----38	41	56-----65	74		
mAbA4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSRYIIH WVRQAPGKGLEWVA FISPGGSYTYADSVKG								
mAbA15	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSRYIIH WVRQAPGKGLEWVA YITSTGSYTEYADSVKG								
mAbA17	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSRYWIH WVRQAPGKGLEWVA AIFPYSGSTLYADSVKG								
카바트	70	80	abc	90	95-----102	110			
AbM	70	80	abc	90	95-----102	110			
초티아	70	80	abc	90	96-----101	110			
컨택트	70	80	abc	90	93-----101	110			
IMGT	75	89			105-----117				
mAbA4	RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR EYYSMGVL----DY WGQGLVTVSS (서열번호 :25)								
mAbA15	RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR YDRSTRYSGL--DY WGQGLVTVSS (서열번호 :44)								
mAbA17	RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR SPSRSILPSGL--DY WGQGLVTVSS (서열번호 :62)								

(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/21 (2013.01)
C07K 2317/33 (2013.01)
C07K 2317/52 (2013.01)
C07K 2317/55 (2013.01)
C07K 2317/567 (2013.01)
C07K 2317/77 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)
C07K 2317/94 (2013.01)

(72) 발명자

칸탁 시마

미국 94502 캘리포니아 앨러미다 하버 베이 파크웨이 1851 엑셀리시스 인코포레이티드 내

카플란 찰스

미국 94502 캘리포니아 앨러미다 하버 베이 파크웨이 1851 엑셀리시스 인코포레이티드 내

명세서

청구범위

청구항 1

5T4에 결합하는 항체 또는 이의 단편으로서, 상기 항체 또는 이의 단편은

- (i) 서열번호:25의 아미노산 서열을 포함하는 VH에 제시된 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 및 서열번호:26의 아미노산 서열을 포함하는 VL에 제시된 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3;
- (ii) 서열번호:44의 아미노산 서열을 포함하는 VH에 제시된 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 및 서열번호:45의 아미노산 서열을 포함하는 VL에 제시된 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3; 또는
- (iii) 서열번호:62의 아미노산 서열을 포함하는 VH에 제시된 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 및 서열번호:63의 아미노산 서열을 포함하는 VL에 제시된 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는, 항체 또는 이의 단편.

청구항 2

5T4에 결합하는 항체 또는 이의 단편으로서, 상기 항체 또는 이의 단편은

(a) 다음을 포함하는 VH 영역:

- (1) 서열번호: 1, 7, 12, 13 및 18로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1;
- (2) 서열번호: 2, 8, 14, 19 및 24로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및
- (3) 서열번호: 3, 9, 15 및 20으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3;

및

(b) 다음을 포함하는 VL 영역:

- (1) 서열번호: 4, 10, 16 및 21로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1;
- (2) 서열번호: 5, 11 및 22로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및
- (3) 서열번호: 6, 17 및 23으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는, 항체 또는 이의 단편.

청구항 3

5T4에 결합하는 항체 또는 이의 단편으로서, 상기 항체 또는 이의 단편은

- (i) 서열번호:1의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:2의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:3의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역;
- (ii) 서열번호:7의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:8의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:9의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역;
- (iii) 서열번호:12의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:2의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:3의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역;
- (iv) 서열번호:13의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:14의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:15의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:16의 아미노산 서열을 포함하

는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:17의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역;

(v) 서열번호:18의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:19의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:20의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:23의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는

(vi) 서열번호:1의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:24의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:3의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함하는, 항체 또는 이의 단편.

청구항 4

5T4에 결합하는 항체 또는 이의 단편으로서, 상기 항체 또는 이의 단편은

(a) 다음을 포함하는 VH 영역:

- (1) 서열번호: 27, 31, 34, 35 및 39로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1;
- (2) 서열번호: 28, 32, 36, 40 및 43으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및
- (3) 서열번호: 29, 33, 37 및 41로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3;

및

(b) 다음을 포함하는 VL 영역:

- (1) 서열번호: 4, 10, 16 및 21로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1;
- (2) 서열번호: 5, 11 및 22로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및
- (3) 서열번호: 30, 38 및 42로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는, 항체 또는 이의 단편.

청구항 5

5T4에 결합하는 항체 또는 이의 단편으로서, 상기 항체 또는 이의 단편은

(i) 서열번호:27의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:28의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:29의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역;

(ii) 서열번호:31의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:32의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:33의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역;

(iii) 서열번호:34의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:28의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:29의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역;

(iv) 서열번호:35의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:36의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:37의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:16의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:38의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역;

(v) 서열번호:39의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:40의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:41의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는

VL CDR1, 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:42의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는

(vi) 서열번호:27의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:43의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:29의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 서열번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함하는, 항체 또는 이의 단편.

청구항 6

5T4에 결합하는 항체 또는 이의 단편으로서, 상기 항체 또는 이의 단편은

(a) 다음을 포함하는 VH 영역:

- (1) 서열번호: 46, 50, 53, 13 및 57로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1;
- (2) 서열번호: 47, 51, 54, 58 및 61로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및
- (3) 서열번호: 48, 52, 55 및 59로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3;

및

(b) 다음을 포함하는 VL 영역:

- (1) 서열번호: 4, 10, 16 및 21로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1;
- (2) 서열번호: 5, 11 및 22로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및
- (3) 서열번호: 49, 56 및 60으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는, 항체 또는 이의 단편.

청구항 7

5T4에 결합하는 항체 또는 이의 단편으로서, 상기 항체 또는 이의 단편은

(i) 서열번호:46의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:47의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:48의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역;

(ii) 서열번호:50의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:51의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:52의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역;

(iii) 서열번호:53의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:47의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:48의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역;

(iv) 서열번호:13의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:54의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:55의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:16의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:56의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역;

(v) 서열번호:57의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:58의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:59의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:60의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역; 또는

(vi) 서열번호:46의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:61의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:48의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역; 및 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하

는 VL CDR1, 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:49의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함하는, 항체 또는 이의 단편.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 25, 26, 44, 45, 62 및 63 중 어느 하나에 제시된 프레임워크 1(FR1), 프레임워크 2(FR2), 프레임워크 3(FR3) 및/또는 프레임워크 4(FR4) 서열을 추가로 포함하는, 항체 또는 이의 단편.

청구항 9

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 단편은 인간 프레임워크 서열을 추가로 포함하는, 항체 또는 이의 단편.

청구항 10

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 단편은:

- (i) 서열번호:25의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:26의 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- (ii) 서열번호:44의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:45의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는
- (iii) 서열번호:62의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:63의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 항체 또는 이의 단편.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 단일클론 항체인, 항체 또는 이의 단편.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 인간화, 인간 또는 키메라 항체인, 항체 또는 이의 단편,

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, (scFv)₂, 단일 사슬 항체 분자, 이중 가변 영역 항체, 단일 가변 영역 항체, 선형 항체, V 영역 또는 항체 단편으로부터 형성된 다중특이성 항체인, 항체 또는 이의 단편.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 진단제, 검출가능한 제제 또는 치료제에 접합되거나 재조합적으로 융합된, 항체 또는 이의 단편.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 치료제는 화학요법제, 세포독소 또는 약물인, 항체 또는 이의 단편.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 하나의 항체 또는 이의 단편과 본질적으로 동일한 에피토프에 결합하는 결합제.

청구항 17

제16항에 있어서, 항체 또는 이의 단편인, 결합제.

청구항 18

제16항에 있어서, 비-항체 단백질 스캐폴드를 포함하는, 결합제.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 비-항체 단백질 스캐폴드가 피브로넥틴 스캐폴드, 안티칼린, 아드넥틴, 아피바디, DARPin, 피노머, 아피틴, 아필린, 아비머, 시스테인-풍부한 노틴 펩타이드 또는 조작된 쿠니츠-유형 억제제를 포함하는, 결합제.

청구항 20

제1항 내지 제15항 중 어느 하나의 항체 또는 이의 단편과 인간 5T4에 대한 결합을 경쟁하는 결합제.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 결합제가 항체 또는 이의 단편인, 결합제.

청구항 22

제1항 내지 제15항 중 어느 하나의 항체 또는 이의 단편 또는 상보적 폴리뉴클레오타이드를 인코딩하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 하나 이상의 벡터.

청구항 23

제1항 내지 제15항 중 어느 하나의 항체 또는 이의 단편 또는 제16항 내지 제21항 중 어느 하나의 결합제, 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 24

제1항 내지 제15항 중 어느 하나의 항체 또는 이의 단편 또는 제23항의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암 또는 종양을 치료하는 방법.

청구항 25

제1항 내지 제15항 중 어느 하나의 항체 또는 이의 단편 또는 제23항의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암 또는 종양과 관련된 하나 이상의 증상을 완화하는 방법.

청구항 26

제1항 내지 제15항 중 어느 하나의 항체 또는 이의 단편 또는 제23항의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 종양이 있는 대상체에서 종양 크기를 감소시키는 방법.

청구항 27

제1항 내지 제15항 중 어느 하나의 항체 또는 이의 단편 또는 제23항의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 종양이 있는 대상체에서 종양 세포 제거를 향상시키는 방법.

청구항 28

제1항 내지 제15항 중 어느 하나의 항체 또는 이의 단편 또는 제23항의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 5T4-관련 질병, 장애 또는 상태를 치료하는 방법.

청구항 29

제24항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 상기 항체 또는 이의 단편 또는 상기 약제학적 조성물과 조합하여 하나 이상의 치료제를 투여받는, 방법.

청구항 30

제24항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 인간 대상체인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

관련 출원에 대한 상호 참조

[0001]

[0002] 본 출원은 2022년 5월 13일에 출원된 미국 가특허 출원 번호 63/341,944의 이익을 주장하며, 이의 개시내용은 본원에 전체적으로 참고로 포함된다.

[0003] 서열 목록

[0004] 본 출원은 본 출원과 함께 XML 파일 형식으로 제출된 컴퓨터 판독가능한 서열 목록을 포함하며, 이의 전체 내용은 본원에 전체적으로 참고로 포함된다. 본 출원과 함께 제출된 서열 목록 XML 파일은 "14529-107-228_SEQ_LISTING.xml"이라는 제목이며, 2023년 5월 8일에 생성되었으며 크기는 102,425바이트이다.

[0005] 기술 분야

[0006] 본 개시내용은 일반적으로 인간 5T4를 포함하여 5T4에 결합하는 항체 또는 그 단편과 같은 결합제 및 이의 사용 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0007] 5T4는 8개의 류신-풍부한 반복을 함유하는 N-글리코실화된 막관통 72 kDa 당단백질이다. Wnt-활성화 억제 인자 1 또는 WIF1로도 알려진 5T4는 태아 영양막(처음 발견된 곳) 또는 영양막 당단백질(TPBG)에서 발견되기 때문에 종종 종양태아 항원이라고 한다. 5T4는 대장직장, 난소 및 위를 포함한 종양에서 발견된다. 그 발현은 예후 보조제로 사용된다. 5T4는 정상 조직에서는 매우 제한적으로 발현되지만 악성 종양에서는 발달 과정 전반에 걸쳐 널리 퍼져 있다. 제한된 발현으로 인해 5T4가 암 치료의 표적이 될 가능성이 있는 것처럼 보이지만 5T4를 표적으로 하는 결합제 및 백신을 사용한 치료적 성공은 아직 달성되지 않았다.

[0008] 따라서, 5T4를 발현하는 종양 세포와 관련된 것을 포함하여 5T4-매개 질병, 장애 또는 상태를 치료, 방지 또는 완화하기 위해 5T4를 표적으로 삼을 수 있는 제제에 대한 필요성이 여전히 기술 분야에 남아 있다.

발명의 내용

[0009] 본 개시내용은 인간 5T4 결합제를 포함한 5T4 결합제를 제공한다. 이러한 제제에는 5T4에 결합하는 항체, 예를 들어 단일특이성 또는 다중특이성(예를 들어, 이중특이성) 항체 및 5T4에 결합하는 항체-약물 접합체(ADC)가 포함된다. 이러한 결합제는, 일부 구현양태에서 본원에 기술된(예를 들어, 표 1-3) CDR을 포함하는 항체와 동일한 인간 5T4의 에피토프에 결합한다. 이러한 결합제는 일부 구현양태에서 본원에 기술된(예를 들어, 표 1-3) 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 동일한 인간 5T4의 에피토프에 결합한다.

[0010] 본 개시내용은 또한 5T4 결합제를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 구현양태에서, 이러한 조성물에는 5T4에 결합하는 항체, 예를 들어 단일특이성 또는 다중특이성(예를 들어, 이중특이성) 항체 및 5T4에 결합하는 ADC가 포함된다. 이러한 조성물은, 일부 구현양태에서, 본원에서 기술된(예를 들어, 표 1-3) CDR을 포함하는 항체와 본질적으로 동일한 인간 5T4의 에피토프에 결합하는 항체 및 ADC를 포함한다. 이러한 조성물은, 일부 구현양태에서, 본원에서 기술된(예를 들어, 표 1-3) 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 본질적으로 동일한 인간 5T4의 에피토프에 결합하는 항체 및 ADC를 포함한다.

[0011] 본 개시내용은 또한 5T4 결합제 또는 이 제제를 포함하는 조성물을 사용하여 5T4-매개 질병, 장애 또는 상태의 하나 이상의 증상을 포함하여 5T4-매개 질병, 장애 또는 상태를 치료, 방지 또는 완화하는 방법을 제공한다. 이러한 조성물은 5T4에 결합하는 항체, 예를 들어 단일특이성 또는 다중특이성(예를 들어, 이중특이성) 항체 및 5T4에 결합하는 ADC를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1a 및 도 1b는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는 mAbA4, mAbA15 및 mAbA17의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 서열 정렬을 나타낸다. CDR의 경계는 카바트(Kabat), AbM, 초티아(Chothia), 콘택트(Contact), IMGT 및 AHon 넘버링으로 표시된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 본 개시내용은 5T4 결합제를 제공한다. 이러한 제제는 인간 5T4에 결합하는 항체 및 ADC를 포함하여, 5T4에 결합하는 항체(예를 들어, 단일특이성 또는 이중특이성을 포함하여 다중특이성) 및 ADC를 포함한다. 이러한 결합제는 질병, 장애 또는 상태의 하나 이상의 증상을 포함하여 5T4-매개 질병, 장애 또는 상태를 치료, 방지 또는 완화하는 조성물 및 방법에 유용하다. 5T4-매개 질병, 장애 및 상태에는 다양한 암이 포함되며, 이에 제한되지

는 않지만 종양 세포가 5T4를 발현하거나 과발현하는 임의의 암이 포함된다. 본원에서 사용되는 용어 "과발현"은 정상(예를 들어, 정상 세포)보다 더 많은 유전적 생성물을 전사하고 번역하는 것을 의미하며, 그 과정은 암 세포의 특성이다. 또한, 본원에서 기술된 5T4 결합제, 예를 들어 5T4 결합 항체(예를 들어, 단일특이성 또는 이중특이성 항체를 포함한 다중특이성 항체) 및 5T4 결합 ADC는 종양 세포의 사멸 및/또는 제거에 유용하다. 본원에서 기술된 5T4 결합제, 예를 들어 5T4 결합 항체(예를 들어, 단일특이성 또는 이중특이성 항체를 포함한 다중특이성 항체) 및 5T4 결합 ADC는 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법에 유용하다.

[0014] 용어 "5T4"는 달리 표시되지 않는 한, 폴리펩타이드("폴리펩타이드" 및 "단백질"은 본원에서 상호 교환적으로 사용됨) 또는 예를 들어, 영양류(예를 들어, 인간, 시노물구스 원숭이(시노)), 개 및 설치류(예를 들어, 마우스 및 래트)와 같은 포유류를 포함한 임의의 척추동물 출처의 임의의 천연 5T4를 지칭한다. 5T4는 "5T4 종양태아 영양막 당단백질" 또는 "Wnt-활성화 억제 인자 1" 또는 "5T4 종양영양막 당단백질" 또는 "5T4 종양태아 항원" 또는 "WAI1" 또는 "M6P1" 또는 "5T4-AG" 또는 "5T4AG" 또는 "TPBG"로도 알려져 있으며, TPBG 유전자에 의해 인코딩된 당단백질이다. 용어 5T4는 "전장" 5T4와 세포에서 처리된 결과인 5T4의 임의의 형태 또는 그 단편을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4는 신호 서열을 포함한다. 일부 구현양태에서, 5T4는 신호 서열을 포함하지 않는다. 일부 구현양태에서, 용어 5T4는 5T4 세포의 도메인을 포함하는 전장 5T4의 단편을 지칭한다. 5T4라는 용어는 또한 SNP 변이체, 스플라이스 변이체 및 대립유전자 변이체와 같은 5T4의 자연적으로 발생하는 변이체를 포함한다.

[0015] 인간 5T4의 전장 아미노산 서열은 아래와 같다(예시적인 신호 서열 = 기울임체 글씨; 예시적인 세포의 도메인 = 밑줄 글씨):

[0016] MPGGCSRGA AGDGRRLRLAR LALVLLGWVS SSSPTSSASS FSSAPFLAS AVSAQPPLPD

[0017] QCPALCECSE AARTVKCVNR NLTEVPTDLP AYVRNLFTG NQLAVLPAGA FARRPPLAEL

[0018] AALNLSGSRL DEVRAGAFEH LPSLRQLDLS HNPLADLSPF AFSGSNASVS APSPLVELIL

[0019] NHIVPPEDER QNRSFEGMVV AALLAGRALQ GLRRLELASN HFLYLPRDVL AQLPSLRHLD

[0020] LSNNSLVSLT YVSFRNLTHL ESLHLEDNAL KVLHNGTLAE LQGLPHIRVF LDNNPWVDCD

[0021] HMADMTWLK ETEVVQKDR LTCAYPEKMR NRVLLELNSA DLDCDPILPP SLQTSYVFLG

[0022] IVLALIGAIF LLVLYLNRKG IKKWMHNIRD ACRDHMEGYH YRYEINADPR LTNLSSNSDV

[0023] (서열번호:64)

[0024] 사이노물구스 원숭이(시노) 5T4의 전장 아미노산 서열은 아래와 같다(예시적인 신호 서열 = 기울임체 글씨, 예시적인 세포의 도메인 = 밑줄 글씨):

[0025] MPGGCSRGA AGDGRRLRLAR LALVLLGWVS SSSSTSSASS SSSAPFLAS AASAQPPLPD

[0026] QCPALCECSE AARTVKCVNR NLTEVPTDLP LYVRNLFTG NQLAVLPAGA FARRPPLAEL

[0027] AALNLSGSRL DEVRGGAFFH LPSLRQLDLS HNPLAYLSPF AFSGSNASIS APSPLVELIL

[0028] NHIVPPDDKR QNRSFEGMVA AALVAGRALQ GLHLELASN HFLYLPRDVL AQLPSLRYLD

[0029] LSNNSLVSLT YVSFRNLTHL ESLHLEDNAL KVLHNGTLAE LQGLPHVRFV LDNNPWVDCD

[0030] HMADMTWLK QTVVQKDR LTCAPPEKMR NRVLLELNSA DLDCDPILPP SLQTSYVFLG

[0031] IVLALIGAIF LLVLYLNRKG IKKWMHNIRD ACRDHMEGYH YRYEINADPR LTNLSSNSDV

[0032] (서열번호:65)

[0033] 마우스 5T4의 전장 아미노산 서열은 아래와 같다(예시적인 신호 서열 = 기울임체 글씨, 예시적인 세포의 도메인 = 밑줄 글씨):

[0034] MPGASRGPS AGDGRRLRLAR LALVLLGWVS ASAPSSSVPS SSTSPAFLA SGSAQPPPAE

[0035] RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFTG NQMTVLPAGA FARQPLADL

[0036] EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRDLDS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL

[0037] NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF LPRDLLAQLP

[0038] SLRYLDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLESLH LEDNALKVLH NSTLAEWHGL AHVKVFLDNN

[0039] PWVCDCYMAD MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC DAVLPQSLQT

[0040] SYVFLGIVLA LIGAIFFLLVL YLNRRGIIKKW MHNIRDACRD HMEGYHYRYE INADPRLTNL

[0041] SSNSDV

[0042] (서열번호:66)

[0043] 본원에서 사용되는 용어 "결합제" 또는 그 문법적 동등어는 항원에 결합하는 하나 이상의 항원 결합 부위를 갖는 분자(예를 들어, 항체)를 지칭한다. 일부 구현양태에서, 본원에서 기술하는 5T4 결합제는 항체, 항체 단편 또는 기타 펩타이드-기반 분자일 뿐만 아니라 인간 5T4와 같은 5T4에 결합하는 항체, 항체 단편 또는 펩타이드-기반 분자(예를 들어, ADC)의 접합체이다.

[0044] 용어 "항체", "면역글로불린" 또는 "Ig"는 본원에서 상호 교환적으로 사용되고, 가장 광범위한 의미로 사용되며, 예를 들어 다클론 항체, 단일클론 항체(작용제, 길항제, 중화 항체, 전장 단일클론 항체 포함), 폴리 에피토프 또는 모노에피토프 특이성을 갖는 항체 조성물, 재조합적으로 생성된 항체, 단일 도메인(예를 들어, VHH) 항체, 단일특이성 항체, 다중특이성 항체(이중특이성 항체 포함), 합성 항체, 키메라 항체, 인간화 항체 또는 전장 중쇄 및/또는 경쇄를 갖는 항체의 인간 버전을 구체적으로 포함한다. 본원에서 사용되는 VHH는 중쇄 만 있는 항체의 가변 영역에서 유래된 도메인 항체를 지칭한다. 예시적 단일 도메인 항체에는 낙타과 종(예를 들어, 라마)의 항체와 같이 경쇄가 자연적으로 없는 항체, 기존 4쇄 항체에서 유래된 단일 도메인 항체, 조작된 항체 및 항체에서 유래된 것 외의 단일 도메인 스캐폴드가 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 단일 도메인 항체는 마우스, 인간, 낙타, 라마, 염소, 토끼 및 소를 포함하지만 이에 제한되지 않는 임의의 종에서 유래될 수 있다. VHH는 또한 경쇄가 자연적으로 없는 중쇄 항체를 생성할 수 있는 낙타과 외의 다른 종에서 유래될 수 있다. 항체에는 또한 5T4 결합 특성을 유지하는 항체 단편(및/또는 항체 단편을 구성하는 폴리펩타이드)이 포함된다. 항체 단편의 비-제한적 예로는 항체의 항원-결합 영역 및/또는 이펙터 영역, 예를 들어 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, (scFv)₂, 단일 사슬 항체 분자, 이중 가변 도메인 항체, 단일 가변 도메인, 선형 항체, V 영역, 항체 단편으로 형성된 다중특이성 항체, F(ab)₂, Fd, Fc, 디아바디, 디-디아바디, 디설파이드-결합 Fv(dsFv), 단일-도메인 항체(예를 들어, 나노바디) 또는 기타 단편(예를 들어, 비-공유 커플링된 중쇄 및 경쇄의 가변 영역으로 구성된 단편)이 있다. 일반적으로, 가변(V) 영역 도메인은 면역글로불린 중쇄(VH) 및/또는 경쇄(VL) 가변 도메인의 임의의 적합한 배열일 수 있다. 예를 들어, 항체는 또한 두 개의 중쇄와 두 개의 경쇄 분자체를 포함하는 사량체 항체, 항체 경쇄 단량체, 및 항체 중쇄 단량체를 포함한다. 따라서 예를 들어, V 영역 도메인은 이량체 일 수 있으며 5T4에 결합하는 VHH-VHH, VH-VH, VH-VL 또는 VL-VL 이량체를 함유할 수 있다. 원하는 경우, VH 및 VL은 직접 또는 링커를 통해 공유적으로 커플링되어 단일 사슬 Fv(scFv)를 형성할 수 있다. 참조의 편의를 위해, scFv 단백질은 본원에서 "항체 단편" 범주에 포함된 것으로 지칭된다. 항체 단편의 다른 형태는 항체의 하나 이상의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 펩타이드이다. CDR(또한 "최소 인식 단위" 또는 "초가변 영역" 이라고 함)은 관심 있는 하나 이상의 CDR을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 구성하여 얻을 수 있다. 이러한 폴리뉴클레오타이드는, 예를 들어 항체-생성 세포의 mRNA를 주형으로 사용하여 가변 영역을 합성하기 위해 중합 효소 연쇄 반응을 사용하여 제조된다(예를 들어, Larrick et al., *Methods: A Companion to Methods in Enzymology*, 2:106 (1991); Courtenay-Luck, "Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies," in *Monoclonal Antibodies Production, Engineering and Clinical Application*, Ritter et al. (eds.), page 166, Cambridge University Press (1995); 및 Ward et al., "Genetic Manipulation and Expression of Antibodies," in *Monoclonal Antibodies: Principles and Applications*, Birch et al., (eds.), page 137, Wiley-Liss, Inc. (1995) 참조). 항체 단편은, 예를 들어 단일 도메인 항체, 맥시바디, 미니바디, 인트라바디, 디아바디, 트리야바디, 테트라바디, 신규 항원 수용체의 가변 도메인(v-NAR) 및 비스-단일 사슬 Fv 영역에 통합 될 수 있다(예를 들어, Hollinger and Hudson, *Nature Biotechnology*, 23(9):1126-1136, 2005 참조). 일부 구현양태에서, VH 및/또는 VL을 포함하는 항체는 경쇄 및/또는 중쇄 불변 영역, 예를 들어 하나 이상의 IgG1, IgG2, IgG3 및/또는 IgG4 불변 영역을 포함하여 하나 이상의 불변 영역을 포함한다. 일부 구현양태에서, 항체는 상기의 임의의 에피토프-결합 단편을 포함할 수 있다. 본원에 기술된 항체는 면역글로불린 분자의 임의의 부류(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD 및 IgA) 또는 임의의 하위부류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2)일 수 있다.

- [0045] 본원에서 사용되는 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)와 관련하여 사용될 때 용어 "단일특이성"은 동일한 항원의 동일한 에피토프에 각각 결합하는 하나 이상의 결합 부위를 갖는 결합제를 나타낸다.
- [0046] 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)와 관련하여 사용될 때 용어 "이중특이성"은 결합제가 적어도 두 개의 별개의 항원 결정인자, 예를 들어 항체 중쇄 가변 도메인(VH)과 항체 경쇄 가변 도메인(VL)의 쌍에 의해 형성된 두 개의 결합 부위 또는 서로 다른 항원 또는 동일한 항원의 서로 다른 에피토프에 결합하는 한 쌍의 VHH 도메인에 의해 형성된 두 개의 결합 부위에 특이적으로 결합할 수 있다는 것을 의미한다. 이러한 이중특이성 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 1+1 형식(첫 번째 항원 또는 에피토프에 대한 하나의 결합 부위와 두 번째 항원 또는 에피토프에 대한 하나의 결합 부위를 포함)을 가질 수 있다. 다른 이중특이성 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC) 형식은 2+1 또는 1+2 형식(첫 번째 항원 또는 에피토프에 대한 두 개의 결합 부위와 두 번째 항원 또는 에피토프에 대한 하나의 결합 부위로 구성됨) 또는 2+2 형식(첫 번째 항원 또는 에피토프에 대한 두 개의 결합 부위와 두 번째 항원 또는 에피토프에 대한 두 개의 결합 부위로 구성됨)일 수 있다. 이중특이성 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)가 두 개의 항원 결합 부위를 포함하는 경우, 각각은 다른 항원 결정인자에 결합할 수 있다. 이러한 이중특이성 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 동일한 항원의 두 개의 다른 에피토프(예를 들어, 5T4의 에피토프)에 결합할 수 있다.
- [0047] 두 개 이상의 핵산 또는 폴리펩타이드의 맥락에서 "동일한" 또는 퍼센트 "동일성"이라는 용어는 최대 대응성을 위해 비교 및 정렬(필요한 경우 갭 도입)할 때 동일하거나 지정된 백분율의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 잔기를 갖는 두 개 이상의 서열 또는 하위 서열을 말하며, 서열 동일성의 일부로서 보수적 아미노산 치환을 고려하지 않는다. 퍼센트 동일성은 서열 비교 소프트웨어 또는 알고리즘을 사용하거나 시각적 검사를 통해 측정할 수 있다. 아미노산 또는 뉴클레오타이드 서열의 정렬을 얻는 데 사용할 수 있는 다양한 알고리즘 및 소프트웨어는 해당 기술 분야에서 잘 알려져 있다. 여기에는 BLAST, ALIGN, Megalign, BestFit, GCG 위스콘신 패키지 및 그 변형이 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 일부 구현양태에서, 두 핵산 또는 폴리펩타이드가 실질적으로 동일하다는 것은 서열 비교 알고리즘을 사용하거나 시각적 검사를 통해 측정할 때 최대 대응성을 위해 비교 및 정렬할 때 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85% 또는 적어도 90%, 일부 구현양태에서 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 잔기 동일성을 갖는다는 것을 의미한다. 일부 구현양태에서 동일성은 길이가 적어도 약 10개, 적어도 약 20개, 적어도 약 40-60개, 적어도 약 60-80개인 아미노산 서열의 영역 또는 그 사이의 정수 값에 존재한다. 일부 구현양태에서 동일성은 길이가 약 60-80개 이상인 영역, 예를 들어 적어도 약 80-100개인 영역에 존재하고, 일부 구현양태에서 서열은 비교되는 서열의 전체 길이, 예를 들어 표적 단백질 또는 항체의 코딩 영역에 걸쳐 실질적으로 동일하다. 일부 구현양태에서 동일성은 길이가 적어도 약 10개 염기, 적어도 약 20개 염기, 적어도 약 40-60개 염기, 적어도 약 60-80개 염기 또는 그 사이의 정수 값인 뉴클레오타이드 서열의 영역에 존재한다. 일부 구현양태에서 동일성은 60-80개 염기보다 긴 영역, 예를 들어 적어도 약 80-1000개 염기 이상에 걸쳐 존재하고, 일부 구현양태에서 서열은, 예를 들어 관심 단백질을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열과 같은 비교되는 서열의 전체 길이에 걸쳐 실질적으로 동일하다.
- [0048] "보존적 아미노산 치환"이란 한 아미노산 잔기가 유사한 화학적 특성을 갖는 측쇄를 갖는 다른 아미노산 잔기로 대체되는 치환을 지칭한다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기 계열은 일반적으로 기술 분야에서 정의되어 있으며, 본원에는 염기성 측쇄(예를 들어, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 무전하 극성 측쇄(예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄(예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프로린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분기 측쇄(예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄(예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)가 포함된다. 예를 들어, 티로신에 대한 페닐알라닌의 치환은 보존적 치환이다. 일반적으로, 본 개시내용의 폴리펩타이드, 가용성 단백질 및/또는 항체의 서열에서의 보존적 치환은 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 가용성 단백질 또는 항체의 표적 결합 부위에 대한 결합을 폐지하지 않는다. 결합을 제거하지 않는 아미노산 보존적 치환을 식별하는 방법은 당해 기술 분야에서 잘 알려져 있다.
- [0049] 용어 "폴리펩타이드"는 임의의 길이의 아미노산 중합체를 지칭한다. 중합체는 선형 또는 분지형일 수 있으며, 변형된 아미노산을 포함할 수 있으며, 비-아미노산을 포함할 수 있다(예를 들어, 비아미노산으로 치환될 수 있음). 이 용어는 또한 자연적으로 또는 개입에 의해, 예를 들어 디설파이드 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화 또는 표지 성분 또는 약물(예를 들어, 독소)과 같은 모이어티에 대한 연결 또는 접합(직접 또는 간접)과 같은 기타 조작 또는 변형에 의해 변형된 아미노산 중합체를 포함한다. 또한 정의에는, 예를 들어 아미노산의 하나 이상의 유사체(예를 들어, 비천연 아미노산 포함)를 함유하는 폴리펩타이드와 당해 기술 분야에 알려진 기타 변형이 포함된다. 본 개시내용의 폴리펩타이드는 항체 또는 면역글로불린 슈퍼계열의 다른 구성원을

기반으로 할 수 있기 때문에, 일부 구현양태에서 폴리펩타이드는 단일 사슬 또는 단일 사슬의 이량체로 발생할 수 있다.

[0050] 본원에서 사용되는 "항원"은 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)가 결합할 수 있는 에피토프를 함유하는 모이어티 또는 분자이다. 따라서 항원은 항체에 의해 결합될 수 있다. 일부 구현양태에서, 본원에서 기술하는 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)가 결합하는 항원은 5T4(예를 들어, 인간 5T4) 또는 그 단편, 예를 들어 5T4의 하나 이상의 도메인을 포함하는 단편이다.

[0051] 본원에서 사용되는 "에피토프"는 당해 기술 분야의 용어이며 항체가 결합할 수 있는 항원의 국소 영역을 지칭한다. 에피토프는 선형 에피토프 또는 구조적, 비-선형 또는 불연속적 에피토프일 수 있다. 예를 들어, 폴리펩타이드 항원의 경우, 에피토프는 폴리펩타이드의 연속된 아미노산("선형" 에피토프)일 수 있거나, 에피토프는 폴리펩타이드의 두 개 이상의 비연속적 영역의 아미노산, 예를 들어, 인간 5T4를 포함할 수 있다("구조적", "비-선형" 또는 "불연속적" 에피토프). 당업자라면 일반적으로 선형 에피토프가 2차, 3차 또는 4차 구조에 의존할 수도 있고 그렇지 않을 수도 있다는 것을 알 수 있을 것이다. 예를 들어, 일부 구현양태에서, 항체는 천연 3차원 단백질 구조로 접혀 있는지 여부에 관계없이 아미노산 기에 결합한다. 다른 구현양태에서, 항체는 에피토프를 인식하고 결합하기 위해 에피토프를 구성하는 아미노산 잔기가 특정 구조(예를 들어, 굽힘, 꼬임, 회전 또는 접힘)를 나타내야 한다.

[0052] 항체는 두 항체가 3차원 공간에서 동일하거나 겹치거나 인접한 에피토프를 인식할 때 참조 항체와 "에피토프", "본질적으로 동일한 에피토프" 또는 "동일한 에피토프"에 결합한다. 두 항체가 3차원 공간에서 동일하거나 겹치거나 인접한 에피토프에 결합하는지 여부를 결정하는 데 가장 널리 사용되고 빠른 방법은 경쟁 검정으로, 예를 들어 표지된 항원 또는 표지된 항체를 사용하여 여러 가지 다른 형식으로 구성할 수 있다. 일부 검정에서는 항원을 96웰 플레이트에 고정하거나 세포 표면에 발현시키고 표지되지 않은 항체가 표지된 항체의 결합을 차단하는 능력을 방사성, 형광 또는 효소 표지를 사용하여 측정한다.

[0053] "에피토프 비닝"은 항체가 인식하는 에피토프를 기반으로 항체를 그룹화하는 과정이다. 보다 구체적으로, 에피토프 비닝은 경쟁 검정과 에피토프 인식 특성을 기반으로 항체를 클러스터링하고 고유한 결합 특이성을 갖는 항체를 식별하기 위한 계산 과정을 결합하여 다양한 항체의 에피토프 인식 특성을 구별하는 방법 및 시스템을 포함한다. 에피토프 비닝 및 항체의 에피토프 결합을 결정하는 방법에 대한 추가 세부 사항은 실시예 5에 표시된 바와 같이 본원에 기술되어 있다.

[0054] 본원에 사용된 용어 "특이적으로 결합하다", "특이적으로 인식하다", "면역특이적으로 결합하다", "선택적으로 결합하다", "면역특이적으로 인식하다" 및 "면역특이적"은 항체의 맥락에서 유사한 용어이며, 당업자가 이해하는 바와 같이 항원(예를 들어, 에피토프)에 결합하는 분자를 지칭한다. 일부 구현양태에서, "특이적으로 결합하다"는 것은, 예를 들어 폴리펩타이드 또는 분자가 관련 및 비관련 단백질을 포함한 대체 물질보다 에피토프, 단백질 또는 표적 분자에 대해 더 자주, 더 빠르게, 더 오래 지속되고, 더 큰 친화도로, 또는 상기의 조합으로 상호작용한다는 것을 의미한다. 예를 들어, 항원에 특이적으로 결합하는 분자는 다른 펩타이드 또는 폴리펩타이드에, 일반적으로 면역 검정법, BIACORE™, KinExA 3000 기기(Sapidyne Instruments, Boise, ID), OctetQK384 시스템(ForteBio, Menlo Park, CA) 또는 당해 기술 분야에 알려진 다른 검정법에 의해 결정된 바와 같이 더 낮은 친화도로 결합할 수 있다. 일부 구현양태에서, 항체 또는 항원 결합 도메인은 방사면역검정법(RIA) 및 효소결합 면역흡착검정법(ELISA)과 같은 실험 기법을 사용하여 결정된 바와 같이 교차 반응 항원보다 더 높은 친화도로 항원에 결합할 때 항원에 결합하거나 특이적으로 결합한다. 일반적으로, 특이적 또는 선택적 반응은 배경 신호 또는 노이즈의 적어도 2배가 될 것이고 배경의 10배가 넘을 수 있다. 예를 들어, 결합 특이성에 대한 논의는 Fundamental Immunology 332-36(Paul ed., 2d ed. 1989)을 참조한다. 일부 구현양태에서, 항체 또는 항원 결합 도메인이 "비-표적" 단백질에 결합하는 정도는 항체 또는 항원 결합 도메인이 이의 특정 표적 항원에 결합하는 것의 약 10% 미만이며, 예를 들어 형광 활성화 세포 분류(FACS) 분석 또는 RIA에 의해 결정된다. 일부 구현양태에서, 항원에 특이적으로 결합하는 분자는 분자가 다른 항원에 결합할 때보다 K_a 가 적어도 $2 \log$, $2.5 \log$, $3 \log$, $4 \log$ 이상인 K_a 로 항원에 결합한다. 일부 구현양태에서, 항원에 특이적으로 결합하는 분자는 다른 단백질과 교차 반응하지 않는다. 다른 구체적인 구현양태에서, 항원에 특이적으로 결합하는 분자는 다른 비-5T4 단백질과 교차 반응하지 않는다. 일부 구현양태에서, "특이적으로 결합하다"는, 예를 들어 폴리펩타이드 또는 분자가 약 0.1 nM 이하, 보다 일반적으로 약 $1 \text{ } \mu\text{M}$ 미만의 K_D 로 단백질 또는 표적에 결합한다는 것을 의미한다. 일부 구현양태에서, "특이적으로 결합하다"는 폴리펩타이드 또는 분자가 적어도 약 $0.1 \text{ } \mu\text{M}$, 적어도 약 $0.01 \text{ } \mu\text{M}$ 또는 적어도 약 1 nM 의 K_D 로 표적에 결합한다는 것을 의미한다. 서로 다른 종의 상동 단백질 간의 서열 동일성

때문에, 특이적 결합에는 1종 이상의 단백질 또는 표적을 인식하는 폴리펩타이드 또는 분자가 포함될 수 있다. 마찬가지로, 서로 다른 단백질의 폴리펩타이드 서열의 특정 영역 내의 상동성 때문에, 특이적 결합은 1개 이상의 단백질 또는 표적을 인식하는 폴리펩타이드 또는 분자를 포함할 수 있다. 일부 구현양태에서, 첫 번째 표적에 특이적으로 결합하는 폴리펩타이드 또는 분자는 두 번째 표적에 특이적으로 결합할 수도 있고 그렇지 않을 수도 있다는 것이 이해된다. 따라서 "특이적 결합"은 반드시 배타적 결합, 예를 들어 단일 표적에 대한 결합을 필요로 하지 않는다(포함할 수는 있지만). 따라서 일부 구현양태에서, 폴리펩타이드 또는 분자는 1개 이상의 표적에 특이적으로 결합할 수 있다. 일부 구현양태에서, 여러 표적은 폴리펩타이드 또는 분자의 동일한 항원-결합 부위에 의해 결합될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현양태에서, 항체는 두 개의 동일한 항원-결합 부위를 포함할 수 있으며, 각각은 두 개 이상의 단백질의 동일한 에피토프에 특이적으로 결합한다. 다른 구현양태에서, 항체는 이중특이성일 수 있으며, 특이성이 다른 적어도 두 개의 항원-결합 부위를 포함할 수 있다. 일반적으로, 반드시 그런 것은 아니지만, "결합"에 대한 언급은 "특이적 결합"을 의미한다.

[0055] 용어 "결합 친화도"는 일반적으로 분자(예를 들어, 항체 또는 ADC와 같은 결합제)의 단일 결합 부위와 결합 파트너(예를 들어, 5T4와 같은 항원) 간의 비공유 상호작용의 합계의 강도를 지칭한다. 달리 명시되지 않는 한, 본원에서 사용되는 "결합 친화도"는 결합 쌍(예를 들어, 항체와 항원)의 구성원 간의 1:1 상호작용을 반영하는 내재적 결합 친화도를 지칭한다. 결합 분자 X의 결합 파트너 Y에 대한 친화도는 일반적으로 해리 상수(K_D)로 표현할 수 있다. 친화도는 본원에서 기술하는 방법을 포함하여 해당 기술 분야에 알려진 일반적인 방법으로 측정할 수 있다. 낮은 친화도 항체는 일반적으로 항원에 느리게 결합하고 쉽게 해리되는 경향이 있는 반면, 높은 친화도 항체는 일반적으로 항원에 더 빨리 결합하고 더 오래 결합된 상태를 유지하는 경향이 있다. 결합 친화도를 측정하는 다양한 방법이 해당 기술 분야에 알려져 있으며, 이 중 어떤 것이든 본 개시내용의 목적을 위해 사용될 수 있다. 한 구현양태에서, " K_D " 또는 " K_D 값"은 예를 들어 OctetQK384 시스템(ForteBio, Menlo Park, CA)을 사용하여 생물층 간섭계(BLI)로 측정할 수 있다. 또는, K_D 는 또한 예를 들어 관심 항체의 Fab 버전과 그 항원(Chen, *et al.*, (1999) J. Mol Biol 293:865-881)으로 수행되는 방사성 표지 항원 결합 검정(RIA)에서 측정하거나, 예를 들어, BIACORE™-2000 또는 BIACORE™-3000 BIACORE™, Inc., Piscataway, NJ)을 사용하여 BIACORE™의 표면 플라즈몬 공명(SPR) 검정을 사용하여 측정할 수 있다. "온-레이트(on-rate)" 또는 "결합의 속도(rate of association)" 또는 "결합 속도(association rate)" 또는 " k_{on} " 뿐만 아니라 "오프-레이트(off-rate)" 또는 "해리의 속도(rate of dissociation)" 또는 "해리 속도(dissociation rate)" 또는 " k_{off} "도 본원에 기술된 동일한 SPR 또는 BLI 기술로 결정할 수 있으며, 예를 들어 OctetQK384 시스템(ForteBio, Menlo Park, CA) 또는 BIACORE™-2000 또는 BIACORE™-3000(BIACORE™, Inc., Piscataway, NJ)을 각각 사용한다.

[0056] 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)의 맥락에서 사용될 때 용어 "경쟁하다"는 표적에서 동일한 에피토프 또는 결합 부위에 대해 경쟁하는 결합제를 의미하며, 여기에는 연구 중인 결합제가 참조 분자(예를 들어, 참조 리간드 또는 참조 항원 결합 단백질, 예를 들어, 참조 항체)가 공통 항원(예를 들어, 5T4)에 특이적으로 결합하는 것을 방지하거나 억제하는 검정에 의해 결정되는 이러한 결합제 간의 경쟁이 포함된다. 다양한 유형의 경쟁적 결합 검정을 사용하여 테스트 결합제가 5T4(예를 들어, 인간 5T4)에 결합하기 위해 참조 분자와 경쟁하는지 결정할 수 있다. 사용될 수 있는 검정의 예로는 고체상 직접 또는 간접 방사면역검정법(RIA); 고체상 직접 또는 간접 효소면역검정법(EIA), 샌드위치 경쟁 검정(예를 들어, Stahl et al., (1983) Methods in Enzymology 9:242-253 참조); 고체상 직접 비오틴-아비딘 EIA(예를 들어, Kirkland et al., (1986) J. Immunol. 137:3614-3619 또는 Cheung et al., (1990) Virology 176:546-552 참조); 고체상 직접 표지 검정; 고체상 직접 표지된 샌드위치 검정(예를 들어, Harlow and Lane, (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press 참조); I-125 표지를 사용하는 고체상 직접 표지 RIA(예를 들어, Morel et al., (1988) Molec. Immunol. 25:7-15 참조); 및 직접 표지된 RIA(Moldenhauer et al., (1990) Scand. J. Immunol. 32:77-82)가 있다. 일반적으로, 이러한 검정에는 표지되지 않은 테스트 항원 결합 단백질(예를 들어, 테스트 5T4 항체 또는 ADC) 또는 표지된 참조 항원 결합 단백질(예를 들어, 참조 5T4 항체 또는 ADC)을 보유하는 고체 표면 또는 세포에 결합된 정제된 항원(예를 들어, 인간 5T4와 같은 5T4)의 사용이 포함된다. 경쟁적 억제는 테스트 항원 결합 단백질의 존재 하에 고체 표면 또는 세포에 결합된 표지의 양을 결정하여 측정할 수 있다. 일반적으로 테스트 항원 결합 단백질은 과량으로 존재한다. 경쟁 검정(경쟁 항체)에 의해 식별된 항체에는 참조 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체 및/또는 항체 입체 장애가 발생하도록 참조 항체에 의해 결합된 에피토프에 충분히 근접한 인접 에피토프(예를 들어, 유사한 에피토프 또는 중복 에피토프)에 결합하는 항체가 포함된다. 일반적으로 경쟁 항체가 과량으로 존재하는 경우, 공통 항원에 대한 참조 항체의 특이적 결합을 적어도 20%, 예를 들어 적어도 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% 또는 75%로 억제한다. 일부 구현양태에서 결합은 적어도

80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상으로 억제된다.

- [0057] 본원에서 사용되는 바와 같이 용어 "불변 영역" 및 "불변 도메인"은 잘 알려진 항체 용어이며, 항체 부분, 예를 들어 항체가 항원에 결합하는 데 직접 관여하지 않지만 Fc 수용체와의 상호 작용과 같은 다양한 이펙터 기능을 나타낼 수 있는 경쇄 및/또는 중쇄의 카복실 말단 부분을 지칭한다. 이 용어에는 면역글로불린 가변 도메인에 비해 일반적으로 더 보존된 아미노산 서열을 갖는 면역글로불린 분자 부분이 포함된다.
- [0058] 항체 "이펙터 기능"은 항체의 Fc 영역(예를 들어, 천연 서열 Fc 영역 또는 아미노산 서열 변이체 Fc 영역)에 기인하는 생물학적 활성을 지칭하며 항체 이소타입에 따라 다르다. 항체 이펙터 기능의 예는 다음과 같다: C1q 결합 및 보체 의존적 세포독성; Fc 수용체 결합; 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC); 식세포작용; 세포 표면 수용체(예를 들어, B 세포 수용체)의 하향 조절 및 B 세포 활성화.
- [0059] 본원에서 "Fc 영역"이라는 용어는, 예를 들어 천연 서열 Fc 영역, 재조합 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함하는 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하는 데 사용된다. 면역글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계는 다를 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 종종 위치 Cys226(EU 넘버링 시스템)의 아미노산 잔기 또는 Pro230(EU 넘버링 시스템)에서 카복실 말단까지 뻗어 있는 것으로 정의된다. Fc 영역의 C-말단 라이신(EU 넘버링 시스템의 잔기 447)은, 예를 들어 항체의 생산 또는 정제 중에 또는 항체의 중쇄를 인코딩하는 핵산을 재조합적으로 조작하여 제거할 수 있다. 예시적인 Fc 영역 서열은 아래에 제공된다(CH2 도메인 = 굵은 글씨; CH3 도메인 = 밑줄 글씨):
- [0060] CPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호:67).
- [0061] "작용적 Fc 영역"은 천연 서열 Fc 영역의 "이펙터 기능"을 갖는다. 예시적인 "이펙터 기능"에는 C1q 결합; 보체 의존적 세포독성(CDC); Fc 수용체 결합; 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC); 식세포작용; 세포 표면 수용체(예를 들어, B 세포 수용체; BCR)의 하향조절 등이 포함된다. 이러한 이펙터 기능은 일반적으로 Fc 영역이 결합 영역 또는 결합 도메인(예를 들어, 항체 가변 영역 또는 도메인)과 결합되어야 하며, 개시된 바와 같은 다양한 검정을 사용하여 평가할 수 있다.
- [0062] "천연 서열 Fc 영역"은 자연에서 발견되는 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함하며, 인간에 의해 조작, 변형 및/또는 변경(예를 들어, 분리, 정제, 선택, 포함 또는 가변 영역 서열과 같은 다른 서열과 결합)되지 않는다. 천연 서열 인간 Fc 영역은 천연 서열 인간 IgG1 Fc 영역(비-A 및 A 알로타입); 천연 서열 인간 IgG2 Fc 영역; 천연 서열 인간 IgG3 Fc 영역; 및 천연 서열 인간 IgG4 Fc 영역을 포함하며; 자연적으로 발생하는 이들의 변이체도 포함한다.
- [0063] "변이체 Fc 영역"은 적어도 하나의 아미노산 변형(예를 들어, 치환, 첨가 또는 결실)으로 인해 천연 서열 Fc 영역과 다른 아미노산 서열을 포함하며, 바람직하게는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구현양태에서, 변이체 Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역 또는 모체 폴리펩타이드의 Fc 영역과 비교하여 적어도 하나의 아미노산 치환을 갖는데, 예를 들어, 약 1-약 10개의 아미노산 치환, 바람직하게는 천연 서열 Fc 영역 또는 모체 폴리펩타이드의 Fc 영역에서 약 1-약 5개의 아미노산 치환을 갖는다. 본원에 기술된 변이체 Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역 및/또는 모체 폴리펩타이드의 Fc 영역과 적어도 약 80%의 상동성을 가질 수 있거나, 적어도 약 90%의 상동성, 예를 들어 적어도 약 95%의 상동성을 가질 수 있다. 본원에 기술된 변이체 Fc 영역은 이펙터 기능의 손실(예를 들어, 침묵 Fc)을 가질 수 있다. 예시적인 변이체 Fc 영역("침묵 Fc") 서열은 아래에 제공된다(CH2 도메인 = 아미노산 변화에 밑줄이 그어진 굵은 글씨; CH3 도메인 = 밑줄이 그어진 글씨):
- [0064] CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호:68).
- [0065] 본원에서 사용된 바와 같이, 항체와 관련하여 사용될 때 용어 "중쇄"는 약 50-70 kDa의 폴리펩타이드 사슬을 지칭하며, 여기서 아미노-말단 부분은 약 120-130개 이상의 아미노산으로 구성된 가변 영역을 포함하고, 카복시-말단 부분은 하나 이상의 불변 영역을 포함한다. "중쇄"는 불변 영역의 아미노산 서열을 기반으로 임의의 별개의 유형, 예를 들어 알파(α), 델타(δ), 엡실론(ϵ), 감마(γ) 및 뮤(μ)를 지칭할 수 있으며, 이는 각각 항체의 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM 부류를 생성하며, IgG의 하위 부류, 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4가 포함된다.
- [0066] 본원에서 사용되는 용어 "경쇄"는 항체와 관련하여 사용될 때 약 25 kDa의 폴리펩타이드 사슬을 지칭할 수 있는

며, 여기서 아미노-말단 부분은 약 100-약 110개 이상의 아미노산의 가변 영역을 포함하고, 카복시-말단 부분은 불변 영역을 포함한다. 경쇄의 대략적인 길이는 211-217개 아미노산이다. 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라 두 가지 별개의 유형, 예를 들어 카파(κ) 또는 람다(λ)가 있다. 경쇄 아미노산 서열은 당업계에 잘 알려져 있다.

[0067] 용어 "항원 결합 단편", "항원 결합 도메인", "항원 결합 영역" 및 유사한 용어는 항원과 상호 작용하고 항원에 대한 특이성 및 친화도를 결합 단편, 도메인 또는 영역에 부여하는 아미노산 잔기를 포함하는 항체의 일부를 지칭한다(예를 들어, CDR). 본원에서 사용되는 "항원 결합 단편"에는 항체의 항원 결합 또는 가변 영역과 같은 하나 이상의 CDR을 포함하는 항체의 일부를 포함하는 "항체 단편"이 포함된다.

[0068] 본원에서 기술하는 항체에는 합성 항체, 단일클론 항체, 재조합적으로 생산된 항체, 다중특이성 항체(예를 들어, 이중특이성 항체 포함), 인간 항체, 인간화 항체, 키메라 항체, 인트라바디, 단일 사슬 Fv(scFv)(예를 들어, 단일특이성, 이중특이성 등 포함), 낙타화된 항체, Fab 단편, F(ab') 단편, 디설파이드-연결 Fv(sdFv), 항-이디오타입(항-Id) 항체 및 상기의 임의의 것의 에피토프-결합 단편이 포함되지만 이에 제한되지 않는다.

[0069] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 면역글로불린 분자 및 면역글로불린 분자의 면역학적으로 활성인 부분, 예를 들어 5T4 항원에 결합하는 하나 이상의 항원 결합 부위를 함유하는 분자를 포함한다.

[0070] 항체는 면역글로불린 분자의 임의의 유형(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 또는 IgY), 임의의 부류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 또는 IgA2) 또는 임의의 하위 부류(예를 들어, IgG2a 또는 IgG2b)일 수 있다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 IgG 항체(예를 들어, 인간 IgG) 또는 부류(예를 들어, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4) 또는 그 하위부류이다.

[0071] 일부 구현양태에서, 항체는 두 개의 중쇄(H)/경쇄(L) 쌍을 포함하는 4-사슬 항체 단위로, 여기서 H 사슬의 아미노산 서열은 동일하고 L 사슬의 아미노산 서열은 동일하다. 일부 구현양태에서, 항체는 VHH-VHH 쌍을 포함하는 2-사슬 항체 단위이며, 여기서 VHH의 아미노산 서열은 동일하다. 일부 구현양태에서, H 및/또는 L 사슬은 불변 영역, 예를 들어 인간 불변 영역을 포함한다. 일부 구현양태에서, 이러한 항체의 L 사슬 불변 영역은 카파 또는 람다 경쇄 불변 영역, 예를 들어 인간 카파 또는 람다 경쇄 불변 영역이다. 일부 구현양태에서, 이러한 항체의 H 사슬 불변 영역은 감마 중쇄 불변 영역, 예를 들어 인간 감마 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현양태에서, 이러한 항체는 IgG 불변 영역, 예를 들어 인간 IgG 불변 영역(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3 및/또는 IgG4 불변 영역)을 포함한다.

[0072] 항체 또는 그 단편은 인간 5T4와 같은 5T4에 우선적으로 결합할 수 있는데, 이는 항체 또는 그 단편이 관련 없는 대조 단백질에 결합하는 것보다 더 큰 친화도로 5T4에 결합하고/하거나 관련 없는 대조 단백질에 결합하는 것보다 더 큰 친화도로 인간 5T4에 결합한다는 것을 의미한다. 예를 들어, 항체 또는 그 단편은 5T4 또는 그 일부를 특이적으로 인식하고 결합할 수 있다. "특이적 결합"은 항체 또는 그 단편이 관련 없는 대조 단백질(예를 들어, 암탉 알 흰자 리소자임)에 대한 친화도보다 적어도 5, 10, 15, 20, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 또는 10,000배 더 큰 친화도로 5T4에 결합한다는 것을 의미한다. 일부 구현양태에서, 항체 또는 그 단편은 5T4에 실질적으로 독점적으로 결합할 수 있다(예를 들어, 결합 친화도의 측정 가능한 차이에 의해 5T4를 다른 알려진 폴리펩타이드와 구별할 수 있음). 일부 구현양태에서, 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 인간 5T4 서열 이외의 5T4 서열(예를 들어, 시노몰거스 5T4 서열)과 반응할 수 있다.

[0073] 용어 "가변 영역" 및 "가변 도메인"은 일반적으로 경쇄 또는 중쇄의 아미노-말단에 위치하는 항체의 경쇄 또는 중쇄의 일부를 지칭하며, 중쇄에서 약 120-130개 아미노산, 경쇄에서 약 100-110개 아미노산의 길이를 갖고 각 특정 항체의 특정 항원에 대한 결합 및 특이성에 사용된다. 중쇄의 가변 영역은 본원에서 "VH"로 지칭된다. 경쇄의 가변 영역은 본원에서 "VL"로 지칭된다. 용어 "가변"은 가변 영역의 특정 세그먼트가 항체 간에 서열이 크게 다르다는 사실을 지칭한다. V 영역은 항원 결합을 매개하고 특정 항체의 항원에 대한 특이성을 정의한다. 그러나 가변성은 가변 영역의 110개 아미노산 범위에 걸쳐 고르게 분포되지 않는다. 대신, V 영역은 "초가변 영역" 또는 "상보성 결정 영역"이라고 하는 더 큰 가변성(예를 들어, 극도의 가변성)의 짧은 영역으로 분리된 약 15-30개 아미노산의 프레임워크 영역(FR)이라고 하는 덜 가변적인(예를 들어, 비교적 불변적인) 스트레치로 구성되어 있다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 각각 4개의 프레임워크(FR1, FR2, FR3 및 FR4)로 구성되며, 대체로 β 시트 구성을 채택하고, β 시트 구조를 연결하는 루프를 형성하고, 어떤 경우에는 그 일부를 형성하는 3개의 초가변 영역으로 연결된다. 각 사슬의 초가변 영역은 프레임워크에 의해 근접하여 함께 유지되고, 다른 사슬의 초가변 영역과 함께 항체의 항원-결합 부위 형성에 기여한다(Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD,

(1991) 참조). 불변 영역은 항체를 항원에 결합하는 데 직접적으로 관여하지 않지만, 항체 의존성 세포 세포독성(ADCC) 및 보체 의존성 세포독성(CDC)에 대한 항체의 참여와 같은 다양한 이펙터 기능을 나타낸다. 가변 영역은 서로 다른 항체 간에 서열이 크게 다르다. 서열의 가변성은 CDR에 집중되어 있는 반면, 가변 영역에서 덜 가변적인 부분은 프레임워크 영역(FR)이라고 한다. 경쇄 및 중쇄의 CDR은 주로 항체와 항원의 상호작용을 담당한다. 특정 구형양태에서 가변 영역은 인간 가변 영역이다.

[0074] 본원에서 사용될 때 용어 "초가변 영역", "HVR", "HV", "상보성 결정 영역" 및 "CDR"은 서열에서 초가변적이고/이거나 구조적으로 정의된 루프를 형성하는 항체 가변 영역의 영역을 지칭한다. 일반적으로, 항체는 6개의 초가변 영역을 포함한다: VH에 3개(H1 또는 VH CDR1, H2 또는 VH CDR2 및 H3 또는 VH CDR3) 및 VL에 3개(L1 또는 VL CDR1, L2 또는 VL CDR2 및 L3 또는 VL CDR3). 여러 초가변 영역 구분이 사용되고 있으며 본원에 포함된다. 카바트 CDR은 서열 가변성을 기반으로 하며 가장 많이 사용된다(Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991) 참조). 초티아는 대신 구조적 루프의 위치를 나타낸다(Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917(1987) 참조). 카바트 넘버링 규칙을 사용하여 넘버링할 때 초티아 CDR-H1 루프의 단부는 루프 길이에 따라 H32와 H34 사이에서 변한다(카바트 넘버링 체계는 삽입을 H35A와 H35B에 배치하기 때문이고; 35A도 35B도 없으면 루프는 32에서 끝나고; 35A만 있으면 루프는 33에서 끝나고; 35A와 35B가 모두 있으면 루프는 34에서 끝난다). AbM 초가변 영역은 카바트 CDR과 초티아 구조 루프 사이의 절충안을 나타내며 Oxford Molecular의 AbM 항체 모델링 소프트웨어에서 사용된다(Martin, Antibody Engineering, Vol. 2, Chapter 3, Springer Verlag 참조). "컨택트" 초가변 영역은 사용가능한 컴플렉스 결정 구조의 분석을 기반으로 한다. 이러한 각 초가변 영역 또는 CDR의 잔기는 아래에 나와 있다.

[0075] 범용 넘버링 시스템, ImMunoGeneTics(IMG^T) 정보 시스템(Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol. 27(1):55-77(2003))이 개발되어 널리 채택되었다. IMG^T는 인간과 다른 척추동물의 면역글로불린(IG), T 세포 수용체(TR) 및 주요 조직적합성 복합체(MHC)를 전문으로 하는 통합 정보 시스템이다. 본원에서 CDR은 아미노산 서열과 경쇄 또는 중쇄 내의 위치라는 두 가지 측면에서 언급된다. 면역글로불린 가변 도메인 구조 내의 CDR의 "위치"는 종간에 보존되고 루프라고 불리는 구조에 존재하므로 구조적 특징의 가변 도메인 서열을 정렬하는 넘버링 시스템을 사용하여 CDR 및 프레임워크 잔기를 쉽게 식별할 수 있다. 이 정보는 일반적으로 인간 항체의 수용체 프레임워크에 한 종의 면역글로불린의 CDR 잔기를 접목하고 대체하는 데 사용할 수 있다. 추가 넘버링 시스템(AHon)은 호네거와 플룩툰에 의해 개발되었다(Honegger and Pluckthun, J. Mol. Biol. 309: 657-670(2001)). 예를 들어, 카바트 넘버링과 IMG^T 고유 넘버링 시스템을 포함한 넘버링 시스템 간의 대응 관계는 해당 분야의 숙련자에게 잘 알려져 있으며(Kabat, *supra*; Chothia and Lesk, *supra*; Martin, *supra*; Lefranc et al., *supra* 참조) 아래에도 설명되어 있다. 해당 분야에서 알려져 있거나 본원에 기술된 다양한 시스템은 CDR을 구분하는 다양한 방식을 나타내며, 동일한 항체를 정의하는 데 사용되는 경우, 종종 동등한 것으로 간주된다. 본원에 표시된 예시적인 시스템은 카바트와 초티아를 조합한 것이다.

	예시적	IMG ^T	카바트	AbM	초티아	컨택트
V_H CDR1	26-35	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35
V_H CDR2	50-65	56-65	50-65	50-58	53-55	47-58
V_H CDR3	95-102	105-117	95-102	95-102	96-101	93-101
V_L CDR1	24-34	27-38	24-34	24-34	26-32	30-36
V_L CDR2	50-56	56-65	50-56	50-56	50-52	46-55
V_L CDR3	89-97	105-117	89-97	89-97	91-96	89-96

[0076]

[0077] 초가변 영역은 다음과 같이 "확장된 초가변 영역"을 포함할 수 있다: VL에서 24-36 또는 24-34(L1), 46-56 또는 50-56(L2) 및 89-97 또는 89-96(L3) 및 VH에서 26-35 또는 26-35A(H1), 50-65 또는 49-65(H2) 및 93-102, 94-102 또는 95-102(H3). 본원에서 사용되는 용어 "초가변 영역", "HVR", "HV", "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"은 상호 교환 가능하게 사용된다.

[0078] 용어 "백터"는 핵산 서열을 운반하거나 포함하는 데 사용되는 물질을 지칭하며, 예를 들어 핵산 서열을 숙주 세포에 도입하는 데 사용된다. 사용할 수 있는 백터의 예로는 발현 백터, 플라스미드, 파지 백터, 바이러스 백터,

에피솜 및 인공 염색체가 있으며, 숙주 세포의 염색체에 안정적으로 통합되도록 작동할 수 있는 선택 서열 또는 마커가 포함될 수 있다. 또한, 벡터에는 하나 이상의 선택 가능한 마커 유전자와 적절한 발현 제어 서열이 포함될 수 있다. 예를 들어, 포함될 수 있는 선택 가능한 마커 유전자는 항생제 또는 독소에 대한 내성을 제공하거나, 영양 요구 결핍을 보완하거나, 배양 배지에 없는 중요한 영양소를 공급한다. 발현 제어 서열에는 구성적 및/또는 유도적 프로모터, 전사 인핸서, 전사 종결자 등이 포함될 수 있으며, 이는 당업계에 잘 알려져 있다. 두 개 이상의 핵산 분자를 공동 발현시킬 경우(예를 들어, 항체 중쇄 및 경쇄 또는 항체 VH 및 VL 영역 모두) 두 핵산 분자를, 예를 들어 단일 발현 벡터 또는 별개의 발현 벡터에 삽입할 수 있다. 단일 벡터 발현의 경우, 인코딩 핵산은 하나의 공동 발현 제어 서열에 작동적으로 연결되거나, 하나의 유도성 프로모터 및 하나의 구성적 프로모터와 같은 다른 발현 제어 서열에 연결될 수 있다. 숙주 세포로의 핵산 분자의 도입은 당해 기술 분야에서 잘 알려진 방법을 사용하여 확인할 수 있다. 이러한 방법에는 예를 들어, 노던 블롯 또는 mRNA의 중합효소 연쇄 반응(PCR) 증폭과 같은 핵산 분석, 또는 유전자 생성물의 발현을 위한 면역블로팅 또는 도입된 핵산 서열 또는 그에 상응하는 유전자 생성물의 발현을 테스트하기 위한 다른 적합한 분석 방법이 포함된다. 당해 기술 분야의 숙련자는 핵산 분자가 원하는 생성물(예를 들어, 본원에 기술된 5T4 결합제)을 생산하기에 충분한 양으로 발현된다는 것을 알고 있으며, 또한 당해 기술 분야에서 잘 알려진 방법을 사용하여 발현 수준을 최적화하여 충분한 발현을 얻을 수 있다는 것을 알고 있다.

[0079] 용어 "5T4-매개 질병", "5T4-매개 장애" 및 "5T4-매개 상태"는 상호 교환적으로 사용되며 5T4-발현 세포, 예를 들어 5T4-발현 종양 세포와 관련되거나 특징지어지는 임의의 질병, 장애 또는 상태를 지칭한다. 5T4-매개 질병에는 5T4를 발현하거나 과발현하는 암을 포함하지만 이에 제한되지 않는 암이 포함된다.

[0080] "유효량"은 일반적으로 증상의 심각도 및/또는 빈도를 줄이고, 증상 및/또는 근본 원인을 제거하고, 증상 및/또는 근본 원인의 발생을 방지하고, 및/또는 질병, 장애 또는 상태로 인해 발생하거나 관련된 손상을 개선 또는 치료하기에 충분한 양이다. 일부 구현양태에서, 유효량은 치료적으로 유효한 양 또는 예방적으로 유효한 양이다.

[0081] 본원에서 사용되는 용어 "치료적 유효량"은 제제(예를 들어, 본원에서 기술된 항체 또는 ADC 또는 본원에 기술된 임의의 다른 제제)의 양이 주어진 질병, 장애 또는 상태 및/또는 이와 관련된 증상의 심각성 및/또는 지속 기간을 감소 및/또는 개선하는 데 충분한 양을 지칭한다. 치료제를 포함한 제제의 치료적 유효량은 (i) 주어진 질병, 장애 또는 상태의 발전 또는 진행을 감소 또는 개선하고, (ii) 주어진 질병, 장애 또는 상태의 재발, 전개 또는 발병을 감소 또는 개선하고/하거나, (iii) 다른 요법(예를 들어, 본원에서 기술된 항체 또는 ADC의 투여 이외의 요법)의 예방적 또는 치료적 효과를 개선 또는 향상하는 데 필요한 양일 수 있다. 본 개시내용의 물질/분자/제제(예를 들어, 5T4 항체 또는 ADC)의 "치료적 유효량"은 질병 상태, 개체의 연령, 성별 및 체중과 물질/분자/제제가 개체에게 원하는 반응을 이끌어낼 수 있는 능력과 같은 여러 요인에 따라 달라질 수 있다. 치료적 유효량은 물질/분자/제제의 독성 또는 해로운 효과가 치료적 유익한 효과에 의해 능가되는 양을 포함한다. 일부 구현양태에서, 용어 "치료적 유효량"은 대상체 또는 포유류에서 질병, 장애 또는 상태를 "치료"하는 데 효과적인 항체 또는 기타 제제(예를 들어, ADC 또는 약물)의 양을 지칭한다.

[0082] "예방적 유효량"은 대상체에게 투여될 때 의도된 예방 효과, 예를 들어 질병, 장애 또는 상태의 발병(또는 재발)을 방지 또는 지연하거나 질병, 장애 또는 상태 또는 관련 증상(들)의 발병(또는 재발) 가능성을 줄이는 효과를 갖는 약제학적 조성물의 양이다.

[0083] 완전한 치료적 또는 예방적 효과는 반드시 한 번의 복용량을 투여함으로써 발생하는 것은 아니며, 일련의 복용량을 투여한 후에만 발생할 수 있다. 따라서 치료적 또는 예방적 유효량은 한 번 이상의 투여로 투여될 수 있다.

[0084] 본원에서 사용되는 용어 "약제학적으로 허용되는"은 연방 또는 주 정부의 규제 기관에서 승인되었거나 동물, 특히 인간에게 사용하도록 미국 약전, 유럽 약전 또는 기타 일반적으로 인정된 약전에 나열되어 있음을 의미한다.

[0085] 본원에서 사용되는 "담체"에는 사용된 용량 및 농도에서 노출되는 세포 또는 포유류에 무독성인 담체, 부형제, 안정제 또는 방부제가 포함된다. 종종 담체는 수용성 pH 완충 용액이다. 담체의 예로는 인산염, 시트레이트 및 기타 유기산과 같은 완충액; 아스코르브산과 같은 항산화제; 저분자량(예를 들어, 약 10개 미만의 아미노산 잔기) 폴리펩타이드; 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린과 같은 단백질; 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 중합체; 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 라이신과 같은 아미노산; 글루코스, 만노스 또는 텍스트린과 같은 당당류, 이당류 및 기타 탄수화물; EDTA와 같은 킬레이트제; 만니톨 또는 소르비톨과 같은 당 알코올; 나트륨과 같은 염-형성 반대 이온; 및/또는 TWEEN[™], 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 및 PLURONICS[™]와 같은 비이온성

계면활성제가 포함된다. 용어 "담체"는 또한 치료제가 투여되는 희석제, 보조제(예를 들어, 프로인트 보조제(완전 또는 불완전)), 부형제 또는 비히클을 지칭할 수 있다. 이러한 담체는 땅콩 기름, 대두 기름, 미네랄 오일, 참기름 등과 같은 석유, 동물성, 식물성 또는 합성 기원의 오일을 포함하는 물 및 오일과 같은 멸균 액체일 수 있다. 물은 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)이 정맥 내로 투여될 때 예시적인 담체이다. 식염수 용액 및 수성 텍스트로스와 글리세롤 용액도 액체 담체, 특히 주사 용액으로 사용할 수 있다. 적합한 부형제(예를 들어, 약제학적 부형제)는 전분, 글루코스, 락토오스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 분필, 실리카겔, 나트륨 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 염화나트륨, 탈지분유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등을 포함한다. 조성물은 필요한 경우, 또한 소량의 습윤제 또는 유화제, 또는 pH 완충제를 함유할 수 있다. 조성물은 용액, 현탁액, 에멀전, 정제, 알약, 캡슐, 분말, 지속 방출 제형 등의 형태를 취할 수 있다. 경구 조성물, 예를 들어 제형은 약제학적 등급의 만니톨, 락토오스, 전분, 마그네슘 스테아레이트, 나트륨 사카린, 셀룰로오스, 탄산마그네슘 등과 같은 표준 담체를 포함할 수 있다. 적합한 담체의 예는 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA]에 기술되어 있다. 약제학적 화합물을 포함하여 조성물은 예방적 또는 치료적으로 유효량의 5T4 결합제(예를 들어, 항체, ADC)를 포함할 수 있으며, 예를 들어 분리된 또는 정제된 형태로 적절한 양의 담체를 함께 사용하여 대상체(예를 들어, 환자)에게 적절하게 투여할 수 있는 형태를 제공할 수 있다. 제형은 투여 방식에 적합해야 한다.

[0086] 일부 구현양태에서, 본 개시내용은 치료제로 사용될 수 있는 5T4 결합제를 제공한다. 이러한 제제에는 5T4에 결합하는 항체(예를 들어, 단일특이성 또는 이중특이성을 포함하여 다중특이성) 및 ADC가 포함된다. 예시적인 항체에는 다클론성, 단일클론성, 인간화, 인간, 이중특이성 및 이중점합체 항체, 그리고 증가되거나 감소된 친화도 또는 다른 특성을 갖는 그 변이체가 포함된다.

[0087] 일부 구현양태에서, 5T4 폴리펩타이드, 5T4 폴리펩타이드 단편, 5T4 펩타이드 또는 5T4 에피토프를 포함하여 5T4에 결합하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)가 본원에 기술된다. 일부 구현양태에서, 5T4 결합제는 5T4에 결합하는 인간 또는 인간화된 항체(예를 들어, 인간 불변 영역 포함)로, 5T4 폴리펩타이드, 5T4 폴리펩타이드 단편, 5T4 펩타이드 또는 5T4 에피토프를 포함한다. 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 5T4를 발현하는 종양 세포를 포함하는 포유류(예를 들어, 인간) 세포의 표면에 발현된 5T4에 결합할 수 있다. 일부 구현양태에서, 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 종양 세포(예를 들어, 5T4 에피토프)와 같은 세포에 노출된 5T4 세포의 에피토프에 결합한다. 일부 구현양태에서, 인간 5T4 또는 그 일부와 같은 5T4에 결합하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)가 본원에 기술된다. 일부 구현양태에서, 5T4는 인간 5T4이다. 일부 구현양태에서, 5T4 결합제는 인간 5T4 결합제(예를 들어, 인간 5T4에 결합하는 항체 또는 ADC)이다. 인간 5T4의 예시적인 아미노산 서열이 본원에 기술된다.

[0088] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 인간 5T4와 같은 5T4와의 결합을 위해, 예를 들어 표 1-3에 도시된 VH 영역, VL 영역, VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3의 아미노산 서열과 같은 본원에 기술된 항체 중 하나의 VH 영역, VL 영역, VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)와 경쟁한다. 따라서, 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 인간 5T4와 같은 5T4와의 결합을 위해: 표 1-3에 표시된 바와 같이 (a) mAbA4로 지정된 항체; (b) mAbA15로 지정된 항체; 및 (c) mAbA17로 지정된 항체로부터 1개, 2개 및/또는 3개의 VH CDR 및/또는 1개, 2개 및/또는 3개의 VL CDR을 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)와 경쟁한다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 인간 5T4와 같은 5T4와의 결합을 위해 표 1-3에 나타난 바와 같이: (a) mAbA4로 지정된 항체; (b) mAbA15로 지정된 항체; 및 (c) mAbA17로 지정된 항체로부터 1, 2 및/또는 3개의 VH CDR 및 1, 2 및/또는 3개의 VL CDR을 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)와 경쟁한다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 인간 5T4와 같은 5T4와의 결합을 위해 표 1-3에 나타난 바와 같이: (a) mAbA4로 지정된 항체; (b) mAbA15로 지정된 항체 및 (c) mAbA17로 지정된 항체로부터 VH 영역과 VL 영역을 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)와 경쟁한다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 인간 5T4와 같은 5T4에 대한 결합을 위해: (a) 서열번호:25의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열번호:26의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역; (b) 서열번호:44의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열번호:45의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역; 및 (c) 서열번호:62의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열번호:63의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)와 경쟁한다.

[0089] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 본원에 기술된 항체 중 하나의 VH 영역, VL

영역, VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3, 예를 들어 표 1-3에 도시된 VH 영역, VL 영역, VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3의 아미노산 서열을 포함한다. 따라서 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는: 표 1-3에 표시된 바와 같이 (a) mAbA4로 지정된 항체; (b) mAbA15로 지정된 항체; 및 (c) mAbA17로 지정된 항체로부터 1개, 2개 및/또는 3개의 중쇄 CDR 및/또는 1개, 2개 및/또는 3개의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는: 표 1-3에 표시된 바와 같이 (a) mAbA4로 지정된 항체; (b) mAbA15로 지정된 항체; 및 (c) mAbA17로 지정된 항체로부터 1, 2 및/또는 3개의 중쇄 CDR 및 1, 2 및/또는 3개의 경쇄 CDR을 포함한다.

[0090] 일부 구현양태에서, 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 본원에 기술된 결합제 중 하나의 VH CDR1, VH CDR2 및/또는 VH CDR3을 포함하는 VH 영역 및/또는 VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함하는 VL 영역을 포함한다(예를 들어, 표 1-3 중 하나 참조). 따라서, 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 표 1의 1, 2 및/또는 3개의 중쇄 CDR 및/또는 1, 2 및/또는 3개의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 표 2의 1, 2 및/또는 3개의 중쇄 CDR 및/또는 1, 2 및/또는 3개의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 표 3의 1, 2 및/또는 3개의 중쇄 CDR 및/또는 1, 2 및/또는 3개의 경쇄 CDR을 포함한다.

[0091] mAbA4로 지정된 항체는 서열번호:25인 VH 서열 및 서열번호:26인 VL 서열을 포함한다.

[0092] mAbA15로 지정된 항체는 서열번호:44인 VH 서열과 서열번호:45인 VL 서열을 포함한다.

[0093] mAbA17로 지정된 항체는 서열번호:62인 VH 서열과 서열번호:63인 VL 서열을 포함한다.

[0094] 표 1: 항체 mAbA4

		예시적	IMGT	카바트	초티아	콘택트	AbM
VH CDR 서열	VH CDR1	GFTFSRYYIH (서열번호:1)	GFTFSRYY (서열번호:7)	RYYIH (서열번호:12)	GFTFSRY (서열번호:13)	SRYYIH (서열번호:18)	GFTFSRYYIH (서열번호:1)
	VH CDR2	FISPGGSYTYAD SVKG (서열번호:2)	ISPGGSYT (서열번호:8)	FISPGGSYTYAD SVKG (서열번호:2)	PGGS (서열번호:14)	WVAFISPGGSYT Y (서열번호:19)	FISPGGSYTY (서열번호:24)
	VH CDR3	EYYSMGVLDY (서열번호:3)	AREYYSMGVLD Y (서열번호:9)	EYYSMGVLDY (서열번호:3)	YYSMGVLD (서열번호:15)	AREYYSMGVLD (서열번호:20)	EYYSMGVLDY (서열번호:3)
VL CDR 서열	VL CDR1	RASQSVSSAVA (서열번호:4)	QSVSSA (서열번호:10)	RASQSVSSAVA (서열번호:4)	SQSVSSA (서열번호:16)	SSAVAWY (서열번호:21)	RASQSVSSAVA (서열번호:4)
	VL CDR2	SASSLYS (서열번호:5)	SAS (서열번호:11)	SASSLYS (서열번호:5)	SAS (서열번호:11)	LLIYSASSLY (서열번호:22)	SASSLYS (서열번호:5)
	VL CDR3	QQAYESPYT (서열번호:6)	QQAYESPYT (서열번호:6)	QQAYESPYT (서열번호:6)	AYESPY (서열번호:17)	QQAYESPY (서열번호:23)	QQAYESPYT (서열번호:6)
VH 서열: EVQLVESGGGLVQPGLSLRLSCAASGFTFSRYYIHVWRQAPGKGLEWVAFISPGGSYTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRADTAVYY CAREYYSMGVLDYWGGQGLTVTVSS (서열번호:25)							
VL 서열: DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQQAYESPY TFGQGTKVEIK (서열번호:26)							

[0095]

[0096] 표 2: 항체 mAbA15

		예시적	IMGT®	카바트	초티아	콘택트	AbM
VH CDR 서열	VH CDR1	GFTFSSYYIH (서열번호:27)	GFTFSSYY (서열번호:31)	SSYYIH (서열번호:34)	GFTFSSY (서열번호:35)	SSYYIH (서열번호:39)	GFTFSSYYIH (서열번호:27)
	VH CDR2	YITSTGSTEYADS VKG (서열번호:28)	ITSTGSYT (서열번호:32)	YITSTGSTEYADS VKG (서열번호:28)	STGS (서열번호:36)	WVAYITSTGSYTE (서열번호:40)	YITSTGSTEY (서열번호:43)
	VH CDR3	YDRSTRYSGLDY (서열번호:29)	ARYDRSTRYSGLD Y (서열번호:33)	YDRSTRYSGLDY (서열번호:29)	DRSTRYSGLD (서열번호:37)	ARYDRSTRYSGLD (서열번호:41)	YDRSTRYSGLDY (서열번호:29)
VL CDR 서열	VL CDR1	RASQSVSSAVA (서열번호:4)	QSVSSA (서열번호:10)	RASQSVSSAVA (서열번호:4)	SQSVSSA (서열번호:16)	SSAVAWY (서열번호:21)	RASQSVSSAVA (서열번호:4)
	VL CDR2	SASSLYS (서열번호:5)	SAS (서열번호:11)	SASSLYS (서열번호:5)	SAS (서열번호:11)	LLIYSASSLY (서열번호:22)	SASSLYS (서열번호:5)
	VL CDR3	QQAYATPVT (서열번호:30)	QQAYATPVT (서열번호:30)	QQAYATPVT (서열번호:30)	AYATPV (서열번호:38)	QQAYATPV (서열번호:42)	QQAYATPVT (서열번호:30)
VH 아미노산 서열: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYIHVWRQAPGKGLEWVAYITSTGSTEYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVVYCARYDRS TRYSGLDYWGQGLTLTVSS (서열번호:44)							
VL 아미노산 서열: DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGDTFTLTISLQPEDFATYYCQQAYATPVTFTGGQGTK VEIK (서열번호:45)							

[0097]

[0098] 표 3: 항체 mAbA17

		예시적	IMGT	카바트	초티아	콘택트	AbM
VH CDR 서열	VH CDR1	GFTFSRYWIH (서열번호:46)	GFTFSRYW (서열번호:50)	RYWIH (서열번호:53)	GFTFSRY (서열번호:13)	SRYWIH (서열번호:57)	GFTFSRYWIH (서열번호:46)
	VH CDR2	AIFPYSGSTLYADS VKG (서열번호:47)	IFPYSGST (서열번호:51)	AIFPYSGSTLYAD SVKG (서열번호:47)	PYSG (서열번호:54)	WVAIFPYSGST L (서열번호:58)	AIFPYSGSTL (서열번호:61)
	VH CDR3	SPSRILPSGLDY (서열번호:48)	ARSPSRILPSGL DY (서열번호:52)	SPSRILPSGLDY (서열번호:48)	PSRILPSGLD (서열번호:55)	ARSPSRILPSG LD (서열번호:59)	SPSRILPSGLDY (서열번호:48)
VL CDR 서열	VL CDR1	RASQSVSSAVA (서열번호:4)	QSVSSA (서열번호:10)	RASQSVSSAVA (서열번호:4)	SQSVSSA (서열번호:16)	SSAVAWY (서열번호:21)	RASQSVSSAVA (서열번호:4)
	VL CDR2	SASSLYS (서열번호:5)	SAS (서열번호:11)	SASSLYS (서열번호:5)	SAS (서열번호:11)	LLIYSASSLY (서열번호:22)	SASSLYS (서열번호:5)
	VL CDR3	QQGDGSPYT (서열번호:49)	QQGDGSPYT (서열번호:49)	QQGDGSPYT (서열번호:49)	GDGSPY (서열번호:56)	QQGDGSPY (서열번호:60)	QQGDGSPYT (서열번호:49)
VH 서열: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWIHWRQAPGKGLEWVAIFPYSGSTLYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVVY CARSPSRILPSGLDYWGQGLTLTVSS (서열번호:62)							
VL 서열: DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGDTFTLTISLQPEDFATYYCQQGDGSPY TFGGQGTKVEIK (서열번호:63)							

[0099]

[0100] 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 VH 영역 또는 VH 도메인을 포함한다. 추가적으로 또는 대안적으로, 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 VL 영역 또는 VL 도메인을 포함한다. 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 (i) VH 도메인 또는 VH 영역; 및/또는 (ii) VL 도메인 또는 VL 영역의 조합을 갖는다.

[0101] 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 (i) 표 1-3 중 하나에 기술된 VH; 및 (ii) 하나 이상의 중쇄 불변 도메인(예를 들어, CH1, 힌지, CH2 및 CH3)의 조합을 갖는 중쇄를 포함한다. 예시적인 IgG 중쇄는 본원에 기술된 바와 같은 임의의 VH 서열 및 다음의 CH1, 힌지, CH2 및 CH3 아미노산 서열을 포함한다:

[0102] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHITCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNYHTQKSLSPGK (서열번호:69).

[0103] 또 다른 예시적인 IgG 중쇄는 본원에 기술된 바와 같은 임의의 VH 서열 및 다음의 CH1, 힌지, CH2 및 CH3 아미

노산 서열을 포함한다:

- [0104] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPPCPAPEAAGGSPVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALKAPEIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNYHTQKSLSPGK (서열번호:70).
- [0105] 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 (i) 표 1-3 중 하나에 기술된 VL 도메인; 및 (ii) 경쇄 불변 도메인(CL)의 조합을 갖는 경쇄를 포함한다. 예시적인 경쇄(예를 들어, IgG 중쇄와 쌍을 이루기 위한)는 본원에 기술된 임의의 VL 서열 및 다음 CL 아미노산 서열을 포함한다:
- [0106] RTVAAPSVFIFPPSDSQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호:71).
- [0107] 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 (a) 다음의 조합을 갖는 중쇄 (i) 표 1-3 중 하나에 기술된 VH; 및 (ii) 하나 이상의 중쇄 불변 도메인(예를 들어, CH1, 힌지, CH2 및 CH3); 및 (b) 다음의 조합을 갖는 경쇄 (i) 표 1-3 중 하나에 기술된 VL; 및 (ii) IgG 형식(CL 또는 CL1)의 경쇄 불변 도메인을 포함한다. 예시적인 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 본원에 기술된 바와 같은 임의의 VH 서열 및 서열번호:69 또는 70의 아미노산 서열을 포함하는 IgG 중쇄와 본원에 기술된 바와 같은 임의의 VL 서열 및 서열번호:71의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0108] 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 본원에서 기술된 바와 같이, 표 1에 식별된 6개의 CDR, 예를 들어 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함하는 하나 이상의 CDR을 포함한다. 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 본원에서 기술된 바와 같이, 표 2에 식별된 6개의 CDR, 예를 들어 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함하는 하나 이상의 CDR을 포함한다. 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 본원에 기술된 바와 같이 표 3에 식별된 6개의 CDR, 예를 들어 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함하는 하나 이상의 CDR을 포함한다. 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 표 1, 2 및/또는 3에 식별된 6개의 CDR, 예를 들어 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함하는 하나 이상의 CDR을 포함한다.
- [0109] 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 표 1에 나열된 3개의 VH CDR, 예를 들어 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3을 포함하는 하나 이상의 CDR을 포함한다. 다른 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 본원에서 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 표 1에 나열된 3개의 VL CDR, 예를 들어 VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함하는 하나 이상의 CDR을 포함한다. 다른 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 표 1에 나열된 3개의 VH CDR, 예를 들어 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3을 포함하는 하나 이상의 CDR 및 표 1에 나열된 3개의 VL CDR, 예를 들어 VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함하는 하나 이상의 CDR을 포함한다.
- [0110] 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 표 2에 나열된 3개의 VH CDR, 예를 들어 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3을 포함하는 하나 이상의 CDR을 포함한다. 다른 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 본원에서 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 표 2에 나열된 3개의 VL CDR, 예를 들어 VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함하는 하나 이상의 CDR을 포함한다. 다른 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 표 2에 나열된 3개의 VH CDR, 예를 들어 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3을 포함하는 하나 이상의 CDR 및 표 2에 나열된 3개의 VL CDR, 예를 들어 VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함하는 하나 이상의 CDR을 포함한다.
- [0111] 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 표 3에 나열된 3개의 VH CDR, 예를 들어 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3을 포함하는 하나 이상의 CDR을 포함한다. 다른 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 본원에서 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중

특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 표 3에 나열된 3개의 VL CDR, 예를 들어 VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함하는 하나 이상의 CDR을 포함한다. 다른 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 표 3에 나열된 3개의 VH CDR, 예를 들어 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3을 포함하는 하나 이상의 CDR 및 표 3에 나열된 3개의 VL CDR, 예를 들어 VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함하는 하나 이상의 CDR을 포함한다.

[0112] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체)는 서열번호: 1-24, 27-43 또는 46-61로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 서열번호: 1-24, 27-43 또는 46-61로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 두 개 이상의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 서열번호: 1-24, 27-43 또는 46-61로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 3개 이상의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 서열번호: 1-24, 27-43 또는 46-61로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 4개 이상의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 서열번호: 1-24, 27-43 또는 46-61로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 5개 이상의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 서열번호: 1-24, 27-43 또는 46-61로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 6개 이상의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다.

[0113] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 표 1-3에 나열된 하나 이상(예를 들어, 1, 2 또는 3개)의 VH CDR을 포함한다. 다른 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 표 1-3에 나열된 하나 이상(예를 들어, 1, 2 또는 3개)의 VL CDR을 포함한다. 다른 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 표 1-3에 나열된 하나 이상(예를 들어, 1, 2 또는 3개)의 VH CDR 및 표 1-3에 나열된 하나 이상의 VL CDR을 포함한다. 따라서, 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 서열번호:1, 7, 12, 13, 18, 27, 31, 34, 35, 39, 46, 50, 53 및 57 중 하나의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1을 포함한다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 서열번호:2, 8, 14, 19, 24, 28, 32, 36, 40, 43, 47, 51, 54, 58 및 61 중 하나의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2를 포함한다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 서열번호:3, 9, 15, 20, 29, 33, 37, 41, 48, 52, 55 및 59 중 하나의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3를 포함한다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 표 1-3에 도시된 아미노산 서열 중 하나에 도시된 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3 중에서 독립적으로 선택된 VH CDR1 및/또는 VH CDR2 및/또는 VH CDR3를 포함한다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 서열번호:4, 10, 16 및 21 중 하나의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1을 포함한다. 다른 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 서열번호:5, 11 및 22 중 하나의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2를 포함한다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 서열번호:6, 17, 23, 30, 38, 42, 49, 56 및 60 중 하나의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함한다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 표 1-3에 도시된 아미노산 서열 중 하나에 도시된 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3에서 독립적으로 선택된 VL CDR1 및/또는 VL CDR2 및/또는 VL CDR3을 포함한다.

[0114] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) (i) 서열번호:1, 27 또는 46, (ii) 서열번호:7, 31 또는 50, (iii) 서열번호:12, 34 또는 53, (iv) 서열번호:13 또는 35, 및 (v) 서열번호:18, 39 또는 57로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) (i) 서열번호:2, 28 또는 47, (ii) 서열번호:8, 32 또는 51, (iii) 서열번호:14, 36 또는 54, (iv) 서열번호:19, 40 또는 58, 및 (v) 서열번호:24, 43 또는 61로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) (i) 서열번호:3, 29 또는 48, (ii) 서열번호:9, 33 또는 52, (iii) 서열번호:15, 37 또는 55, 및 (iv) 서열번호:20, 41 또는 59로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및/또는 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) (i) 서열번호:4, (ii) 서열번호:10, (iii) 서열번호:16 및 (iv) 서열번호:21로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) (i) 서열번호:5, (ii) 서열번호:11 및 (iii) 서열번호:22로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) (i) 서열번호

호:6, 30 또는 49, (ii) 서열번호:17, 38 또는 56, 및 (iii) 서열번호:23, 42 또는 60으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함한다.

[0115] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) (i) 서열번호:1, 27 또는 46, (ii) 서열번호:7, 31 또는 50, (iii) 서열번호:12, 34 또는 53, (iv) 서열번호:13 또는 35, 및 (v) 서열번호:18, 39 또는 57로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) (i) 서열번호:2, 28 또는 47, (ii) 서열번호:8, 32 또는 51, (iii) 서열번호:14, 36 또는 54, (iv) 서열번호:19, 40 또는 58, 및 (v) 서열번호:24, 43 또는 61로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) (i) 서열번호:3, 29 또는 48, (ii) 서열번호:9, 33 또는 52, (iii) 서열번호:15, 37 또는 55, 및 (iv) 서열번호:20, 41 또는 59로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함한다.

[0116] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 이중특이성 항체와 같은 항체 또는 ADC)는 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) (i) 서열번호:4, (ii) 서열번호:10, (iii) 서열번호:16 및 (iv) 서열번호:21로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) (i) 서열번호:5, (ii) 서열번호:11 및 (iii) 서열번호:22로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) (i) 서열번호:6, 30 또는 49, (ii) 서열번호:17, 38 또는 56, 및 (iii) 서열번호:23, 42 또는 60으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함한다.

[0117] 일부 구현양태에서, 5T4에 결합하는 항체 또는 이의 단편이 본원에 기술되며, 여기서 항체 또는 이의 단편은 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) (i) 서열번호:1, 27 또는 46, (ii) 서열번호:7, 31 또는 50, (iii) 서열번호:12, 34 또는 53, (iv) 서열번호:13 또는 35, 및 (v) 서열번호:18, 39 또는 57로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) (i) 서열번호:2, 28 또는 47, (ii) 서열번호:8, 32 또는 51, (iii) 서열번호:14, 36 또는 54, (iv) 서열번호:19, 40 또는 58, 및 (v) 서열번호:24, 43 또는 61로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) (i) 서열번호:3, 29 또는 48, (ii) 서열번호:9, 33 또는 52, (iii) 서열번호:15, 37 또는 55, 및 (iv) 서열번호:20, 41 또는 59로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및/또는 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) (i) 서열번호:4, (ii) 서열번호:10, (iii) 서열번호:16 및 (iv) 서열번호:21로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) (i) 서열번호:5, (ii) 서열번호:11 및 (iii) 서열번호:22로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) (i) 서열번호:6, 30 또는 49, (ii) 서열번호:17, 38 또는 56, 및 (iii) 서열번호:23, 42 또는 60으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.

[0118] 일부 구현양태에서, 5T4에 결합하는 항체 또는 이의 단편이 본원에 기술되며, 여기서 항체 또는 이의 단편은: (1) (i) 서열번호:1, 27 또는 46, (ii) 서열번호:7, 31 또는 50, (iii) 서열번호:12, 34 또는 53, (iv) 서열번호:13 또는 35, 및 (v) 서열번호:18, 39 또는 57로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) (i) 서열번호:2, 28 또는 47, (ii) 서열번호:8, 32 또는 51, (iii) 서열번호:14, 36 또는 54, (iv) 서열번호:19, 40 또는 58, 및 (v) 서열번호:24, 43 또는 61로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) (i) 서열번호:3, 29 또는 48, (ii) 서열번호:9, 33 또는 52, (iii) 서열번호:15, 37 또는 55, 및 (iv) 서열번호:20, 41 또는 59로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역을 포함한다.

[0119] 일부 구현양태에서, 5T4에 결합하는 항체 또는 이의 단편이 본원에 기술되는데, 여기서 항체 또는 이의 단편은: (1) (i) 서열번호:4, (ii) 서열번호:10, (iii) 서열번호:16 및 (iv) 서열번호:21로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) (i) 서열번호:5, (ii) 서열번호:11 및 (iii) 서열번호:22로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) (i) 서열번호:6, 30 또는 49, (ii) 서열번호:17, 38 또는 56, 및 (iii) 서열번호:23, 42 또는 60으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다.

[0120] 일부 구현양태에서, 5T4에 결합하는 항체 또는 이의 단편이 본원에 기술되며, 이는 서열번호:25인 VH 서열과 서열번호:26인 VL 서열을 포함하는 mAbA4로 지정된 항체; 서열번호:44인 VH 서열과 서열번호:45인 VL 서열을 포함하는 mAbA15로 지정된 항체; 또는 서열번호:62인 VH 서열과 서열번호:63인 VL 서열을 포함하는 mAbA17로 지정된 항체로부터 모든 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 및/또는 모든 3개의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 구현양태에서, 항체 또는 이의 단편은 mAbA4로 지정된 항체의 모든 3개의 중쇄 CDR 및/또는 모든 3개의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 구현양태에서, 항체 또는 이의 단편은 mAbA15로 지정된 항체의 모든 3개의 중쇄 CDR 및/또는 모든 3개

의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 구현양태에서, 항체 또는 이의 단편은 mAbA17로 지정된 항체의 모든 3개의 중쇄 CDR 및/또는 모든 3개의 경쇄 CDR을 포함한다.

[0121] 일부 구현양태에서, 5T4에 결합하는 항체 또는 이의 단편이 본원에 기술되는데, 여기서 항체는: (a) 표 1-3에 도시된 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역; 및/또는 (b) 표 1-3에 도시된 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다. 일부 구현양태에서, 항체는 표 1-3에 도시된 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역을 포함한다. 일부 구현양태에서, 항체는 표 1-3에 도시된 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역을 포함한다.

[0122] 일부 구현양태에서, 본원에서 기술하는 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:1, 7, 12, 13 및 18로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:2, 8, 14, 19 및 24로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:3, 9, 15 및 20으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:5, 11 및 22로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:6, 17 및 23으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.

[0123] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:1의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:2의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:3의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:6의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.

[0124] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:8의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:9의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:11의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:6의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.

[0125] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:12의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:2의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:3의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:6의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.

[0126] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:13의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:14의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:15의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:16의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:11의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:17의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.

[0127] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:18의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:19의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:20의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:21의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:22의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:23의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.

[0128] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:1의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:24의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:3의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:6의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.

[0129] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:27, 31, 34, 35 및 39로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:28, 32,

36, 40 및 43으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:29, 33, 37 및 41로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:5, 11 및 22로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 (3) 서열번호:30, 38 및 42로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.

[0130] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:27의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:28의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:29의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:30의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.

[0131] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:31의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:32의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:33의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:11의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:30의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.

[0132] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:34의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:28의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:29의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:30의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.

[0133] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:35의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:36의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:37의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:16의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:11의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:38의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.

[0134] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:39의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:40의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:41의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:21의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:22의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:42의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.

[0135] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:27의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:43의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:29의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:30의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.

[0136] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:13, 46, 50, 53 및 57로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:47, 51, 54, 58 및 61로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:48, 52, 55 및 59로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:4, 10, 16 및 21로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:5, 11 및 22로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:49, 56 및 60으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.

[0137] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:46의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:47의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:48의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:49의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.

- [0138] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:50의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:51의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:52의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:11의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:49의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.
- [0139] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:53의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:47의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:48의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:49의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.
- [0140] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:13의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:54의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:55의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:16의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:11의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:56의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.
- [0141] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:57의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:58의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:59의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:21의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:22의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:60의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.
- [0142] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 다음을 포함한다: (a) 다음을 포함하는 중쇄 가변(VH) 영역: (1) 서열번호:46의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; (2) 서열번호:61의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및 (3) 서열번호:48의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및 (b) 다음을 포함하는 경쇄 가변(VL) 영역: (1) 서열번호:4의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; (2) 서열번호:5의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및 (3) 서열번호:49의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.
- [0143] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 본원에 기술된 VH 영역 및/또는 VL 영역을 포함하는 항체이며, 여기서 VH 및/또는 VL은 인간 프레임워크 서열을 포함한다. 일부 구현양태에서, VH 영역 및/또는 VL 영역은 프레임워크 1(FR1), 프레임워크 2(FR2), 프레임워크 3(FR3) 및/또는 프레임워크 4(FR4) 서열, 예를 들어 인간 FR1, 인간 FR2, 인간 FR3 및/또는 인간 FR4를 포함한다.
- [0144] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 단일클론 항체이다. 일부 구현양태에서, 단일클론 항체는 인간화, 인간 또는 키메라 항체이다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체는 항체 단편으로부터 형성된 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, (scFv)₂, 단일 사슬 항체 분자, 이중 가변 영역 항체, 단일 가변 영역 항체, 선형 항체, V 영역 또는 다중특이성 항체이다.
- [0145] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체 중 하나의 항체 또는 그 단편과 본질적으로 동일한 에피토프에 결합하는 결합제가 본원에 기술된다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 항체 또는 그 단편과 인간 5T4에 대한 결합을 경쟁하는 결합제가 본원에 기술된다. 일부 구현양태에서, 결합제는 항체 또는 그 단편 또는 항체 또는 그 단편을 포함하는 ADC이다.
- [0146] 특정 측면에서, 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)의 CDR은 카바트 시스템(Kabat et al. (1971) Ann. NY Acad. Sci. 190:382-391 및, Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242)에 따라 결정될 수 있다.
- [0147] 특정 측면에서, 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)의 CDR은 초티아 시스템에 따라 결정될 수 있으며, 이는 본원에서 "초티아 CDR"로 지칭된다(예를 들어, Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol., 196:901-917; Al-Lazikani et al., 1997, J. Mol. Biol., 273:927-948; Chothia et al., 1992, J. Mol. Biol., 227:799-817; Tramontano A et al., 1990, J. Mol. Biol. 215(1):175-82; 및 미국 특허 번호 7,709,226 참조).

- [0148] 특정 측면에서, 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)의 CDR은 ImMunoGeneTics(IMG^T) 시스템에 따라 결정될 수 있으며, 예를 들어, 문헌[Lefranc, M.-P., 1999, The Immunologist, 7:132-136 and Lefranc, M.-P. et al., 1999, Nucleic Acids Res., 27:209-212 ("IMG^T CDRs")]에 기재된 바와 같다.
- [0149] 특정 측면에서, 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)의 CDR은 AbM 시스템에 따라 결정될 수 있으며, 이는 본원에서 "AbM CDR"로 지칭되며, 예를 들어, 문헌[MacCallum et al., 1996, J. Mol. Biol., 262:732-745]에 기재된 바와 같다. 또한 예를 들어, 문헌[Martin, A., "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains," in Antibody Engineering, Kontermann and Dubel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001)]을 참조한다.
- [0150] 특정 측면에서, 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)의 CDR은 콘택트 시스템에 따라 결정될 수 있으며, 이는 본원에서 "콘택트 CDR"로 지칭된다(예를 들어, MacCallum RM et al., 1996, J Mol Biol 5: 732-745 참조). 콘택트 CDR은 이용 가능한 컴플렉스 결정 구조의 분석을 기반으로 한다.
- [0151] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)의 VH(예를 들어, CDR1, CDR2 또는 CDR3) 및/또는 VL(예를 들어, CDR1, CDR2 또는 CDR3) 영역을 따라 있는 하나 이상의 CDR의 위치는 5T4(예를 들어, 인간 5T4)에 대한 결합이 유지되는 한(예를 들어, 실질적으로 유지되는, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 유지), 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 위치만큼 달라질 수 있다. 예를 들어, 일부 구현양태에서, 표 1, 2 또는 3의 CDR을 정의하는 위치는 5T4(예를 들어, 인간 5T4)에 대한 결합이 유지되는 한(예를 들어, 실질적으로 유지되는, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 유지), 현재 CDR 위치에 비해 CDR의 N-말단 및/또는 C-말단 경계를 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개 아미노산만큼 이동시켜 달라질 수 있다. 다른 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 본원에서 기술하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)의 VH(예를 들어, CDR1, CDR2 또는 CDR3) 및/또는 VL(예를 들어, CDR1, CDR2 또는 CDR3) 영역을 따라 있는 하나 이상의 CDR의 길이는 5T4(예를 들어, 인간 5T4)에 대한 결합이 유지되는 한(예를 들어, 실질적으로 유지되는, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 유지), 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상의 아미노산만큼 달라질 수 있다. 예를 들어, 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 VH 및/또는 VL CDR1, CDR2 및/또는 CDR3은 5T4(예를 들어, 인간 5T4)에 대한 결합이 유지되는 한(예를 들어, 실질적으로 유지되는, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 유지), 서열번호: 1-24, 27-43 또는 46-61에 의해 기술된 하나 이상의 CDR보다 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상의 아미노산이 더 짧을 수 있다. 다른 구현양태에서, 본원에서 기술된 VH 및/또는 VL CDR1, CDR2 및/또는 CDR3은 5T4(예를 들어, 인간 5T4)에 대한 결합이 유지되는 한(예를 들어, 실질적으로 유지되는, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 유지), 서열번호: 1-24, 27-43 또는 46-61에 의해 기술된 하나 이상의 CDR과 비교하여 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상의 아미노산만큼 단축되거나 연장될 수 있다. 추가로 또는 대안적으로, 일부 구현양태에서, 본원에서 기술된 VH 및/또는 VL CDR1, CDR2 및/또는 CDR3의 카복시 말단은 5T4(예를 들어, 인간 5T4)에 대한 결합이 유지되는 한(예를 들어, 실질적으로 유지되는, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 유지), 서열번호: 1-24, 27-43 또는 46-61에 의해 기술된 하나 이상의 CDR과 비교하여 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상의 아미노산만큼 단축되거나 연장될 수 있다. 당업계에 알려진 임의의 방법을 사용하여 5T4(예를 들어, 인간 5T4)에 대한 결합이 유지되는지 확인할 수 있으며 예를 들어, 본원에 기술된 "실시예" 섹션에 기술된 결합 검정 및 조건이 있다. 예를 들어, 본원에 기술된 실시예 2는 5T4(예를 들어, 인간 5T4)에 대한 결합을 측정하기 위한 검정을 기술한다.
- [0152] 다른 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 5T4에 결합하는 본원에 제시된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 추가로 보존적 서열 변형을 포함한다. 인간 5T4 결합제와 같은 5T4 결합제(예를 들어, 항체)인 폴리펩타이드와 관련하여, 보존적 서열 변형에는 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체되는 것을 포함하는 보존적 아미노산 치환이 포함된다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기 계열은 당해 기술 분야에서 정의되어 있다. 따라서, 일부 구현양태에서, 5T4에서 예측된 비필수 아미노산 잔기는 동일한 측쇄 계열의 다른 아미노산 잔기로 대체된다. 항원 결합 및 이를 인코딩하는 뉴클레오타이드를 제거하지 않는 아미노산 보존적 치

환을 식별하는 방법은 당해 기술 분야에서 잘 알려져 있다(예를 들어, Brummell et al., Biochem. 32:1180-1187(1993); Kobayashi et al. Protein Eng. 12(10):879-884(1999); 및 Burks et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:412-417(1997) 참조). 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 보존적 서열 변형은 인간 5T4 결합제를 포함하여 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)의 아미노산 서열을 50%, 또는 55%, 또는 60%, 또는 65%, 또는 70%, 또는 75%, 또는 80%, 또는 85%, 또는 90%, 또는 95%, 또는 98%, 또는 99%만큼 변형시킨다. 일부 구현양태에서, 아미노산 서열 변형은 표 1-3 중 하나에 기술된 것과 같은 CDR에 대한 최대 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 치환을 지칭한다. 따라서, 예를 들어, 이러한 각 CDR은 최대 5개의 보존적 아미노산 치환, 예를 들어 최대(이하) 4개의 보존적 아미노산 치환, 예를 들어 최대(이하) 3개의 보존적 아미노산 치환, 예를 들어 최대(이하) 2개의 보존적 아미노산 치환, 또는 1개 이하의 보존적 아미노산 치환을 포함할 수 있다. 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 mAbA4, mAbA15 또는 mAbA17의 CDR(예를 들어, 표 1, 2 또는 3 참조)과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 6개 포함하여 하나 이상의 CDR을 함유한다. 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 mAbA4, mAbA15 또는 mAbA17의 CDR(예를 들어, 표 1, 2 또는 3 참조)과 동일한 CDR을 포함하는 VH 및 VL을 함유한다. 일부 구현양태에서, 아미노산 서열 변형은 SDR 내의 어떠한 변형도 포함하지 않는다. 일부 구현양태에서, 아미노산 서열 변형은 CDR(예를 들어, CDR1, CDR2, CDR3 또는 이들의 조합) 내의 어떠한 변형도 포함하지 않는다. 추가 구현양태에서, 아미노산 서열 변형은 프레임워크 또는 불변 영역에 있다.

[0153] 일부 구현양태에서, 본원에는 서열번호:25와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와 서열번호:26과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항체 또는 그 단편이 제공되며, 항체 또는 그 단편의 5T4(예를 들어, 인간 5T4)에 대한 결합은 유지된다(예를 들어, 실질적으로 유지되고, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 유지).

[0154] 일부 구현양태에서, 본원에는 서열번호:44와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와 서열번호:45와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항체 또는 그 단편이 제공되며, 항체 또는 그 단편의 5T4(예를 들어, 인간 5T4)에 대한 결합은 유지된다(예를 들어, 실질적으로 유지되고, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 유지).

[0155] 일부 구현양태에서, 본원에는 서열번호:62와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와 서열번호:63과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항체 또는 그 단편이 제공되며, 항체 또는 그 단편의 5T4(예를 들어, 인간 5T4)에 대한 결합은 유지된다(예를 들어, 실질적으로 유지되고, 예를 들어 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 유지).

[0156] 본 개시내용은 마스킹 모이어티 및/또는 절단가능한 모이어티를 갖는 5T4 결합제(예를 들어, 항체)를 제공하며, 여기서 5T4 결합제(예를 들어, 항체)의 5T4 결합 도메인 중 하나 이상이 마스킹(예를 들어, 마스킹 모이어티를 통해)되고/되거나 활성화(예를 들어, 절단가능한 모이어티를 통해)된다. 5T4 결합제(예를 들어, 항체)를 마스킹하기 위한 기술은 SAFEbody 마스킹 기술(예를 들어, 미국 특허 출원 공개 번호 2019/0241886 참조) 및 Proboddy 마스킹 기술(예를 들어, 미국 특허 출원 공개 번호 2015/0079088 참조)을 포함하여 당해 기술 분야에서 잘 알려져 있다. 이러한 기술은 마스킹되고/되거나 활성화 가능한 5T4 결합제(예를 들어, 항체)를 생성하는 데 사용될 수 있다. 이러한 마스킹되고/되거나 활성화 가능한 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 면역접합체, ADC, 마스킹된 ADC 및 활성화 가능한 항체-약물 접합체(AADC)를 포함한 접합체의 제조에 유용하며, 여기에는 인간 5T4 결합제와 같은 본 개시내용의 5T4 결합제(예를 들어, 항체) 중 하나가 포함되며, 약물과 같은 다른 제제에 직접 또는 간접적으로 연결된 것도 포함된다. 예를 들어, 인간 5T4 결합제와 같은 본 개시내용의 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 합성 링커에 의해 약물과 같은 하나 이상의 제제에 공유 결합될 수 있다.

[0157] 원하는 경우, 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 세포독성 활성화(예를 들어, 화학요법적 모이어티 또는 방사성 동위원소) 또는 면역 모집 활성화와 같은 이펙터 기능이 있는 모이어티에 연결되거나 접합된다(직접 또는 간접적으로). 연결되거나 접합된(직접 또는 간접적으로) 모이어티에는 세포독성(예를 들어, 아우로스타틴과 같은 독소) 또는 비-세포독성(예를 들어, 키나제와 같은 신호 변환 조절제) 또는 5T4 결합제(예를 들어, 항체)의 하나 이상의 결합 도메인을 마스킹하는 마스킹 모이어티, 또는 마스킹된 접합체 형태로 종양 미세환경에서 5T4 결합제(예를 들어, 항체)의 하나 이상의 결합 도메인을 언마스킹하는 절단가능한 모이어티의 절단에 의해 5T4 결합제를 활성화할 수 있는 절단가능한 모이어티를 포함하는 약물이 포함된다. 면역 모집을 촉

진하는 모이어티에는 선천 및/또는 적응 면역 체계의 세포에 선택적으로 결합하는 바이러스 단백질과 같은 다른 항원-결합체가 포함될 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 임의로 혼합물로부터 분리를 용이하게 하는 모이어티(예를 들어, 태그) 또는 리포터 활성을 갖는 모이어티(예를 들어, 검출 라벨 또는 리포터 단백질)에 작동가능하게 연결 또는 접합(직접 또는 간접)된다. 본원에서 기술하는 인간 5T4 결합제를 포함한 5T4 결합제(예를 들어, 항체)의 특징은 5T4 결합제 단편을 포함하는 폴리펩타이드에도 확장된다는 것을 알 수 있을 것이다.

[0158] 일부 구현양태에서, 인간 5T4에 결합하는 5T4 결합제를 포함하는 본원에서 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 폴리펩타이드에 연결 또는 접합(직접 또는 간접)될 수 있으며, 이는 활성화 가능한 항체의 생성을 초래할 수 있다. 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함한 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 추가 제제에 연결 또는 접합(직접 또는 간접)된다. 일부 구현양태에서, 추가 제제는 약물이며, ADC의 항체가 마스킹 모이어티 및 절단 가능한 모이어티를 포함하는 경우 ADC 또는 AADC를 초래한다.

[0159] 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하는 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 치료제(예를 들어, 세포독성제) 또는 진단 또는 검출가능한 제제에 접합되거나 재조합적으로 연결된다(직접 또는 간접적으로). 마스킹되거나 활성화 가능한 접합체를 포함하는 접합되거나 재조합적으로 연결된 항체는, 예를 들어 5T4-매개 질병, 장애 또는 상태와 같은 질병, 장애 또는 상태를 치료하거나 방지하는 데 유용할 수 있다. 마스킹되거나 활성화되는 접합체를 포함한 접합되거나 재조합적으로 연결된 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는, 예를 들어 5T4-매개 질병, 장애 또는 상태의 발병, 전개, 진행 및/또는 중증도를 모니터링하거나 예측하는 데 유용할 수 있다.

[0160] 이러한 진단 및 검출은, 예를 들어 5T4 결합제(예를 들어, 항체)를, 예를 들어 호스라디시 퍼옥시다제, 알칼리성 포스파타제, 베타-갈락토시다제 또는 아세틸콜린에스테라제가 포함되지만 이에 제한되지 않는 효소; 스트렙타비딘/비오틴 또는 아비딘/비오틴이 포함되지만 이에 제한되지 않는 프로스테틱 기(prosthetic groups); 엄벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 디클로로트리아지닐아민 플루오레세인, 단일 클로라이드 또는 피코에리트린이 포함되지만 이에 제한되지 않는 형광 물질; 루미놀이 포함되지만 이에 제한되지 않는 발광 물질; 루시페라제, 루시페린 또는 에퀴린이 포함되지만 이에 제한되지 않는 생물발광 물질; 아크리딘 기반 화합물이나 HALOTAG를 포함하지만 이에 제한되지 않는 화학 발광물질; 요오드(¹³¹I, ¹²⁵I, ¹²³I, 및 ¹²¹I), 탄소(¹⁴C), 황(³⁵S), 삼중수소(³H), 인듐(¹¹⁵In, ¹¹³In, ¹¹²In, 및 ¹¹¹In), 테크네튬(⁹⁹Tc), 티타늄(²⁰¹Ti), 갈륨(⁶⁸Ga 및 ⁶⁷Ga), 팔라듐(¹⁰³Pd), 몰리브덴(⁹⁹Mo), 크세논(¹³³Xe), 불소(¹⁸F), ¹⁵³Sm, ¹⁷⁷Lu, ¹⁵⁹Gd, ¹⁴⁹Pm, ¹⁴⁰La, ¹⁷⁵Yb, ¹⁶⁶Ho, ⁹⁰Y, ⁴⁷Sc, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ¹⁴²Pr, ¹⁰⁵Rh, ⁹⁷Ru, ⁶⁸Ge, ⁵⁷Co, ⁶⁵Zn, ⁸⁵Sr, ³²P, ¹⁵³Gd, ¹⁶⁹Yb, ⁵¹Cr, ⁵⁴Mn, ⁷⁵Se, ¹¹³Sn, 또는 ¹¹⁷Sn이 포함되지만 이에 제한되지 않는 방사성 물질; 다양한 양전자 방출 단층촬영법을 사용한 양전자 방출 금속; 및 비-방사성 상자성 금속 이온을 포함하는 검출가능한 물질에 커플링시켜 달성될 수 있다.

[0161] 또한 본원에서는 이중 단백질 또는 폴리펩타이드(또는 이의 단편, 예를 들어 폴리펩타이드(예를 들어, 약 10, 약 20, 약 30, 약 40, 약 50, 약 60, 약 70, 약 80, 약 90 또는 약 100개 아미노산)에 재조합적으로 연결되거나 접합(공유 또는 비공유 접합, 직접 또는 간접)되어 융합 단백질을 생성하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체) 및 이의 용도에 대해 기술한다. 특히, 본원에 기술된(예를 들어, VH 및/또는 VL의 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 포함) 인간 5T4 결합제를 포함한 5T4 결합제(예를 들어, 항체)의 항원-결합 단편 및 이중 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드를 포함하는 융합 단백질에 대해 기술한다. 일부 구현양태에서, 5T4 결합제(예를 들어, 항체)가 연결된 이중 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드는 5T4 결합제를 특정 세포(예를 들어, 종양 세포를 포함한 5T4-발현 세포)로 표적화하는 데 유용하다. 5T4 결합제(예를 들어, 항체)가 연결된 다른 비-제한적인 이중 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드는 내재화 신호 또는 면역 세포 참여자로 유용할 수 있다.

[0162] 또한, 본원에 기술된 인간 5T4 결합제를 포함한 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 정제를 용이하게 하기 위해 마커 또는 펩타이드와 같은 "태그" 서열에 (직접 또는 간접적으로) 연결될 수 있다. 일부 구현양태에서, 마커 또는 태그 아미노산 서열은 헥사-히스티딘 펩타이드, 예를 들어 pQE 벡터(예를 들어, QIAGEN, Inc. 참조)에서 제공되는 태그이며, 이 중 다수는 상업적으로 이용가능하다. 예를 들어, 문헌[Gentz *et al.*, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-24]에 기술된 바와 같이, 헥사-히스티딘은 융합 단백질의 편리한 정제를 제공한다. 정제에 유용한 다른 펩타이드 태그에는 인플루엔자 헤마글루티닌 단백질(Wilson *et al.*, 1984, Cell 37:767-78)에서 유래된 에피토프에 해당하는 헤마글루티닌("HA") 태그와 "FLAG" 태그가 포함되지만 이에 제한되지 않는다.

[0163] 항체에 모이어티(폴리펩타이드 포함)를 연결 또는 접합(직접 또는 간접적으로)하는 방법은 해당 기술 분야에서

잘 알려져 있으며, 이 중 하나를 사용하여 본원에 기술된 항체-약물 접합체 또는 융합 단백질을 만들 수 있다.

- [0164] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합체(예를 들어, 항체)는 융합 단백질이다. 본원에서 사용되는 용어 "융합 단백질"은 결합체(예를 들어, 항체)의 아미노산 서열과 이중 폴리펩타이드 또는 단백질(예를 들어, 일반적으로 항체의 일부가 아닌 폴리펩타이드 또는 단백질)의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 지칭한다. 특정 구현양태에서, 융합 단백질은 5T4 결합체의 생물학적 활성을 유지한다. 특정 구현양태에서, 융합 단백질은 5T4 항체 VH 영역, VL 영역, VH CDR(1, 2 또는 3개의 VH CDR) 및/또는 VL CDR(1, 2 또는 3개의 VL CDR)을 포함하는데, 여기서 융합 단백질은 5T4 에피토프, 5T4 단편 및/또는 5T4 폴리펩타이드에 결합한다.
- [0165] 예를 들어, 융합 단백질은 유전자-서플링, 모티프-서플링, 엑손-서플링 및/또는 코돈-서플링(집합적으로 "DNA 서플링"이라고 함) 기술을 통해 생성될 수 있다. DNA 서플링은 본원에서 기술된 바와 같이, 예를 들어 더 높은 친화도와 더 낮은 해리 속도를 갖는 5T4 결합체를 포함하여, 인간 5T4 결합체를 포함하는 5T4 결합체(예를 들어, 항체)의 활성을 변경하는 데 사용될 수 있다(예를 들어, 미국 특허 번호 5,605,793; 5,811,238; 5,830,721; 5,834,252; 및 5,837,458; Patten *et al.*, 1997, Curr. Opinion Biotechnol. 8:724-33; Harayama, 1998, Trends Biotechnol. 16(2):76-82; Hansson *et al.*, 1999, J. Mol. Biol. 287:265-76; 및 Lorenzo and Blasco, 1998, Biotechniques 24(2):308-13 참조). 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합체를 포함하는 5T4 결합체는 재조합 전에 오류 발생 가능성이 높은 PCR, 무작위 뉴클레오타이드 삽입 또는 기타 방법에 의한 무작위 돌연변이를 거쳐 변경될 수 있다. 본원에서 기술하는 5T4 결합체를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 하나 이상의 이중 분자의 하나 이상의 구성요소, 모티프, 섹션, 부분, 도메인, 단편 등과 재조합될 수 있다.
- [0166] 본원에서 기술하는 인간 5T4 결합체를 포함하는 5T4 결합체(예를 들어, 항체)는 또한 고체 지지체에 부착될 수 있으며, 이는 면역 검정 또는 표적 항원의 정제에 유용하다. 이러한 고체 지지체에는 유리, 셀룰로스, 폴리아크릴아미드, 나일론, 폴리스티렌, 폴리비닐 클로라이드 또는 폴리프로필렌이 포함되지만 이에 제한되지 않는다.
- [0167] 인간 5T4 결합체를 포함하여 본원에 기술된 5T4 결합체(예를 들어, 항체)는 또한 항체 이중접합체를 형성하기 위해 2차 항체에 연결 또는 접합(직접 또는 간접)될 수 있다.
- [0168] 링커는 세포에서 연결 또는 접합된 제제의 방출을 용이하게 하는 "절단가능한 모이어티"일 수 있지만, 비-절단가능한 링커도 본원에서 고려된다. 본 개시내용의 접합체(예를 들어, ADC 또는 AADC)에 사용하기 위한 링커에는 제한 없이, 산 불안정 링커(예를 들어, 하이드라존 링커), 디설파이드-함유 링커, 펩티다아제-민감성 링커(예를 들어, 아미노산, 예를 들어 발린 및/또는 시트룰린을 포함하는 펩타이드 링커, 예를 들어 시트룰린-발린 또는 페닐알라닌-리신), 광불안정 링커, 디메틸 링커, 티오에테르 링커 또는 다중 약물 수송체-매개 내성을 회피하도록 설계된 친수성 링커가 포함된다.
- [0169] 항체 및 ADC 또는 AADC를 제조하기 위한 약물인 제제의 접합체는 N-(β-말레이미도프로필옥시)숙신이미드 에스테르(BMPS); N-ε-말레이미도카프로일-옥시숙신이미드 에스테르(ECMS); N-γ-말레이미도카프로일-옥시숙신이미드 에스테르(GMBS); 1,6-헥산-비스-비닐설폰(HBVS); 숙신이미드 4-(N-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카복시-(6-아미도카프로에이트)(LC-SMCC); m-말레이미도벤조일-N-하이드록시숙신이미드 에스테르(MBS); 4-(4-N-말레이미도페닐)부티르산 하이드라지드(MPBH); 석신이미드 3-(브로모아세트아미도) 프로피오네이트(SBAP); 석신이미드 요오도아세트산(SIA); 석신이미드 4-요오도아세틸아미노벤조에이트(SIAB); 석신이미드 4-(N-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카복실레이트(SMCC); 석신이미드 4-(p-말레이미도-페닐)부티레이트(SMPB); 석신이미드 6-(β-말레이미도프로피온아미도)헥사노에이트(SMPH); N-(ε-말레이미도카프로일옥시)설포석신이미드 에스테르(설포-ECMS); N-(γ-말레이미도부틸옥시)설포석신이미드 에스테르(설포-GMBS); N-(κ-말레이미도운데카노일옥시)설포석신이미드 에스테르(설포-KMUS); m-말레이미도벤조일-N-하이드록시설포숙신이미드 에스테르(설포-MBS); 설포숙신이미드 4-요오도-아세틸아미노벤조에이트(설포-SIAB); 설포숙신이미드 4-(N-말레이미도-메틸)사이클로헥산-1-카복실레이트(설포-SMCC); 설포숙신이미드 4-(p-말레이미도페닐)부티레이트(설포-SMPB); 및 석신이미드-(4-비닐설폰)벤조에이트)(SVSB)와 같은 다양한 이중작용성 단백질 커플링제를 사용하여 제조될 수 있다.
- [0170] 본 개시내용은 제제가 ADC 또는 AADC를 제조하기 위한 약물인 경우를 포함하여, 항체와 제제의 접합체는 당업계에 개시된 바와 같은 임의의 적합한 방법을 사용하여 제조될 수 있음을 추가로 고려한다(예를 들어, Bioconjugate Techniques(Hermanson ed., 2d ed. 2008) 참조).
- [0171] 제제가 ADC 또는 AADC를 제조하기 위한 약물인 경우를 포함하여, 항체 및 제제에 대한 통상적인 접합 전략은 Lys 잔기의 ε-아미노기 또는 Cys 잔기의 티올기를 포함하는 무작위 접합 화학에 기반을 두었으며, 이는 이질 접합체를 생성한다. 최근 개발된 기술은 항체에 대한 부위-특이적 접합을 허용하여 균일한 로딩을 생성하고 항

원-결합 또는 약동학이 변경된 접합체 하위 집단을 피할 수 있다. 여기에는 중쇄 및 경쇄의 위치에 시스테인 치환을 포함하는 "티오맵" 조각이 포함되며, 이는 반응성 티올 기를 제공하고 면역글로불린 접합 및 조립을 방해하지 않으며 항원 결합을 변경하지 않는다(예를 들어, Junutula et al., 2008, J. Immunol. Meth. 332: 41-52; 및 Junutula et al., 2008, Nature Biotechnol. 26:925-32 참조). 또 다른 방법에서, 셀레노시스테인은 종결 코돈 UGA를 종결에서 셀레노시스테인 삽입으로 재코딩하여 항체 서열에 공변역적으로 삽입되어, 다른 천연 아미노산의 존재 하에 셀레노시스테인의 친핵성 셀레놀 기에서 부위 특이적 공유 접합을 허용한다(예를 들어, Hofer et al., 2008, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105:12451-56; 및 Hofer et al., 2009, Biochemistry 48(50):12047-57 참조).

[0172] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 세포독성제에 접합된다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 ADC 또는 AADC를 생성하기 위해 본원에 개시되거나 해당 기술 분야에 알려진 하나 이상의 세포독성제와 임의로 접합될 수 있다. 일부 구현양태에서, 세포독성제는 메토티렉세이트, 아드리아마이신, 독소루비신, 펠팔란, 미토마이신 C, 클로람부실, 다우노루비신 또는 기타 삽입제를 포함하지만 이에 제한되지 않는 화학요법제이다. 일부 구현양태에서, 세포독성제는 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소적으로 활성인 독소 또는 그 단편으로, 디프테리아 A 사슬, 디프테리아 독소의 비결합 활성 단편, 외독소 A 사슬, 리신 A 사슬, 아브린 A 사슬, 모데신 A 사슬, 알파-사르신, 알류리테스 포르디 단백질, 디안틴 단백질, 피톨라카 아메리카나 단백질(PAPI, PAPII 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스 억제제, 젤로닌, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신 및 트리코테센을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 구현양태에서, 세포독성제는 방사성접합체 또는 방사성접합된 제제를 생성하는 방사성 동위원소이다. 다양한 방사성핵종이 방사성접합된 제제 생산에 사용가능하며, 여기에는 ^{90}Y , ^{125}I , ^{131}I , ^{123}I , ^{111}In , ^{131}In , ^{105}Rh , ^{153}Sm , ^{67}Cu , ^{67}Ga , ^{166}Ho , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re , 및 ^{212}Bi 가 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 폴리캡타이드 또는 분자와 칼리케아미신, 메이탄시노이드, 트리코텐, CC1065와 같은 하나 이상의 소분자 독소의 접합체 및 독소 활성을 갖는 이러한 독소의 유도체도 사용할 수 있다. 폴리캡타이드 또는 분자와 세포독성제의 접합체는 N-숙신이미딜-3-(2-피리디디티올) 프로피오네이트(SPDP), 이미노타올란(IT), 이미도에스테르의 이중작용성 유도체(예를 들어, 디메틸 아디피미데이트 HCL), 활성 에스테르(예를 들어, 디숙신이미딜 수베레이트), 알데히드(예를 들어, 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물(예를 들어, 비스(p-아지도벤조일) 헥산디아민), 비스-디아조늄 유도체(예를 들어, 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트(예를 들어, 톨루엔 2,6-디이소시아네이트), 및 비스-활성 플루오린 화합물(예를 들어, 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠)과 같은 다양한 이중작용성 단백질-커플링제를 사용하여 제조된다.

[0173] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 신호 변환 조절제, 프로-아포토시스제, 체세포 분열 억제제, 항종양 항생제, 면역 조절제, 유전자 치료용 핵산, 알킬화제, 항혈관신생제, 항대사물질, 붕소-함유제, 화학보호제, 호르몬제, 항호르몬제, 코르티코스테로이드, 광활성 치료제, 올리고뉴클레오타이드, 방사성핵종제, 방사선감각제, 토포이소머라제 억제제 및 티로신 키나제 억제제와 같은 약물에 접합된다. 일부 구현양태에서, 유사 분열 억제제는 돌라스타틴, 아우리스타틴, 메이탄시노이드 및 식물 알칼로이드이다. 일부 구현양태에서, 약물은 돌라스타틴, 아우리스타틴, 메이탄시노이드 및 식물 알칼로이드이다. 아우리스타틴의 예는 모노메틸아우리스타틴 F(MMAF) 또는 모노메틸아우리스타틴 E(MMAE)이다. 메이탄시노이드의 예는 DM1, DM2, DM3 및 DM4를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 구현양태에서, 항종양 항생제는 액티노마이신, 안트라사이클린, 칼리케아미신 및 듀오카마이신으로 구성된 군에서 선택된다. 액티노마이신의 예는 피롤로벤조디아제핀(PBD)이다. 안트라사이클린의 예는 PNU-안트라사이클린, 예를 들어 PNU-159682 또는 유도체이다.

[0174] 본원에 기술된 인간 5T4 결합제를 포함하여 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 단일특이성, 이중특이성, 삼중특이성 또는 더 큰 다중특이성일 수 있다. 이러한 제제에는 단일특이성 또는 다중특이성 항체 또는 ADC가 포함될 수 있다. 이중특이성 항체와 같은 다중특이성 항체는 적어도 두 개의 다른 표적(예를 들어, 항원) 또는 동일한 표적의 두 개의 다른 에피토프(예를 들어, 5T4의 첫 번째 에피토프에 대한 첫 번째 결합 도메인과 5T4의 두 번째 에피토프에 대한 두 번째 결합 도메인을 갖는 5T4에 대한 이중특이성 항체)에 대한 결합 특이성을 갖는 단일클론 항체이다. 일부 구현양태에서, 단일특이성 및 다중특이성(예를 들어, 이중특이성) 항체 또는 ADC는 본원에 기술된 항체의 서열, 예를 들어 표 1-3에 나열된 CDR 서열을 기반으로 구성될 수 있다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 다중특이성 항체는 이중특이성 항체이다. 일부 구현양태에서, 이중특이성 항체는 마우스, 키메라, 인간 또는 인간화 항체이다. 일부 구현양태에서, 다중특이성 항체의 결합 특이성 중 하나는 5T4에 대한 것이고

다른 하나는 다른 표적(예를 들어, 항원)에 대한 것이다. 일부 구현양태에서, 다중특이성(예를 들어, 이중특이성) 항체는 하나 이상의 표적(예를 들어, 항원) 결합 도메인을 포함할 수 있으며, 여기서 다른 결합 도메인은 다른 표적에 대해 특이적이다(예를 들어, 5T4에 결합하는 첫 번째 결합 도메인과 다른 표적(예를 들어, 항원), 예를 들어 면역 체크포인트 조절자(예를 들어, 음성 체크포인트 조절자)에 결합하는 두 번째 결합 도메인)). 일부 구현양태에서, 다중특이성(예를 들어, 이중특이성) 항체 분자는 동일한 표적(예를 들어, 항원)에서 하나(예를 들어, 두 개 이상) 이상의 에피토프에 결합할 수 있다. 일부 구현양태에서, 결합 특이성 중 하나는 5T4이고 다른 하나는 세포독성 T-림프구 항원-4(CTLA-4), CD80, CD86, 프로그램된 세포사멸 1(PD-1), 프로그램된 세포사멸 리간드 2(PD-L2), 림프구 활성화 유전자-3(LAG-3, CD223이라고도 함), 갈렉틴-3, B 및 T 림프구 감쇠제(BTLA), T 세포막 단백질 3(TIM3), 갈렉틴-9(GAL9), B7-H1, B7-H3, B7-H4, Ig 및 ITIM 도메인을 갖는 T 세포 면역 수용체(TIGIT/Vstm3/WUCAM/VSIG9), T 세포 활성화의 V-도메인 Ig 억제제(VISTA), 글루코코르티코이드-유도된 중앙괴사인자 수용체-관련(GITR) 단백질, 헤르페스 바이러스 진입 매개체(HVEM), OX40, CD27, CD28, CD137, CGEN-15001T, CGEN-15022, CGEN-15027, CGEN-15049, CGEN-15052, 및 CGEN-15092 중 하나 이상에 대한 것이다.

[0175] 다중특이성 항체를 만드는 방법은, 예를 들어 두 개의 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 공동-발현에 의한 것과 같이 당업계에 알려져 있으며, 두 개의 중쇄는 서로 다른 특이성을 갖는다(예를 들어, Milstein and Cuello, 1983, Nature 305:537-40 참조). 다중특이성 항체(예를 들어, 이중특이성 항체)를 생성하는 것에 대한 자세한 내용은 예를 들어, Bispecific Antibodies (Kontermann ed., 2011)를 참조한다.

[0176] 다중특이성 항체의 예시적 구조는 당해 기술 분야에 알려져 있으며, 문헌[Weidle *et al.*, 2013, Cancer Genomics& Proteomics 10: 1-18; Brinkman *et al.*, 2017, MABS, 9:2, 182-212; Godar *et al.*, 2018, Expert Opinion on Therapeutic Patents, 28:3, 251-276; 및 Spiess *et al.*, 2015, Mol. Immunol. 67 95-106]에 추가로 설명되어 있다.

[0177] 예를 들어, 이중특이성 항체 분자는 서로 다른 구조적 군으로 분류될 수 있다: (i) 이중특이성 면역글로불린 G(BsIgG); (ii) 추가 항원-결합 모이어티가 첨부된 IgG; (iii) 이중특이성 항체 단편; (iv) 이중특이성 융합 단백질; 및 (v) 이중특이성 항체 접합체. 비-제한적인 예로, BsIgG 형식에는 crossMab, DAF(2-in-1), DAF(4-in-1), DutaMab, DT-IgG, 노브-인-홀 공통 LC, 노브-인-홀 조립, 전하 쌍, Fab-암 교환, SEEDbody, 트리옴, LUZ-Y, Fcab, $\kappa\lambda$ -바디 및/또는 직교 Fab가 포함될 수 있다.

[0178] 일부 구현양태에서, BsIgG는 이중이량체화를 위해 조작된 중쇄를 포함한다. 예를 들어, 중쇄는 "노브-인투-홀" 전략, SEED 플랫폼, 공통 중쇄(예를 들어, $\kappa\lambda$ -바디) 및 이중이량체 Fc 영역의 사용을 사용하여 이중이량체화를 위해 조작될 수 있다. BsIgG에서 동중이량체의 중쇄 쌍을 이루는 것을 피하기 위한 전략은 노브-인투-홀, 듀오바디, 아지메트릭, 전하 쌍, HA-TF, SEEDbody 및 차등 단백질 A 친화도를 포함하여 해당 기술 분야에 알려져 있다.

[0179] 다른 이중특이성 항체 형식은 추가 항원-결합 모이어티가 첨부된 IgG이다. 예를 들어, 단일특이성 IgG는, 예를 들어 중쇄 또는 경쇄의 N- 또는 C- 말단에서 단일특이성 IgG에 추가 항원-결합 단위를 첨부하여 이중특이성을 갖도록 조작될 수 있다. 예시적 추가 항원-결합 단위에는 단일 도메인 항체(예를 들어, 가변 중쇄 또는 가변 경쇄), 조작된 단백질 스캐폴드 및 쌍을 이룬 항체 가변 도메인(예를 들어, 단일 사슬 가변 단편 또는 가변 단편)이 포함된다. 첨부된 IgG 형식의 비-제한적 예로는 이중 가변 도메인 IgG (DVD-Ig), IgG(H)-scFv, scFv-(H)IgG, IgG(L)-scFv, scFv-(L)IgG, IgG(L,H)-Fv, IgG(H)-V, V(H)-IgG, IgG(L)-V, V(L)-IgG, KIH IgG-scFab, 2scFv-IgG, IgG-2scFv, scFv4-Ig, zyboby, 및 DVI-IgG(4-in-1)가 있다. Spiess *et al.* Mol. Immunol. 67(2015):95-106 참조. 일부 구현양태에서, 예시적인 항체 형식은, 예를 들어 국제 특허 출원 공개 번호 WO 2018/075692 및 미국 특허 출원 공개 번호 2018/0118811에 기술된 바와 같은 단일특이성 또는 다중특이성(예를 들어, 이중특이성 항체)에 대한 B-바디 형식이다.

[0180] 이중특이성 항체 단편(BsAb)은 항체 불변 도메인 중 일부 또는 전부가 없는 이중특이성 항체 분자의 형식이다. 예를 들어, 일부 BsAb는 Fc 영역이 없다. 구현양태에서, 이중특이성 항체 단편은 단일 숙주 세포에서 BsAb의 효율적인 발현을 허용하는 펩타이드 링커에 의해 연결된 중쇄 및 경쇄 영역을 포함한다. 이중특이성 항체 단편의 비-제한적 예로는 나노바디, 나노바디-HAS, BiTE, 디아바디, DART, TandAb, sc디아바디, sc디아바디-CH3, 디아바디-CH3, 트리플 바디, 미니항체, 미니바디, TriBi 미니바디, scFv-CH3 KIH, Fab-scFv, scFv-CH-CL-scFv, F(ab')₂, F(ab')₂-scFv₂, scFv-KIH, Fab-scFv-Fc, 4가 HCAB, sc디아바디-Fc, 디아바디-Fc, 탠덤 scFv-Fc 및 인트라바디가 포함되지만 이에 제한되지 않는다.

- [0181] 이중특이성 융합 단백질에는 다른 단백질에 연결된 항체 단편이 포함된다. 예를 들어, 이중특이성 융합 단백질은 다른 단백질에 연결되어 추가적인 특이성 및/또는 작용성을 첨가할 수 있다. 일부 구현양태에서, 도크-앤-락(dock-and-lock, DNL) 방법은 더 높은 결합가를 갖는 이중특이성 항체 분자를 생성하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 알부민 결합 단백질 또는 인간 혈청 알부민에 대한 이중특이성 항체 융합은 항체 단편의 혈청 반감기를 연장할 수 있다. 구현양태에서, 화학적 접합, 예를 들어, 항체 및/또는 항체 단편의 화학적 접합은 BsAb 분자를 생성하는 데 사용될 수 있다. 예시적인 이중특이성 항체 접합체에는 CovX-바디 형식이 포함되는데, 여기서 저분자량 약물은 각 Fab 암에서 단일 반응성 라이신 또는 항체 또는 그 단편에 부위 특이적으로 접합된다. 일부 구현양태에서, 접합은 혈청 반감기를 개선한다.
- [0182] 이중특이성 항체를 포함한 다중특이성 항체의 생산 방법은 당해 기술 분야에 알려져 있다. 예를 들어, 이중특이성 항체를 포함한 다중특이성 항체는 다른 숙주 세포에서 구성요소 항체를 별도로 발현시킨 후 정제/조립하거나 단일 숙주 세포에서 구성요소 항체를 발현시켜 생산할 수 있다. 다중특이성(예를 들어, 이중특이성) 항체 분자의 정제는 친화도 크로마토그래피를 포함한 당해 기술 분야에 알려진 다양한 방법으로 수행할 수 있다.
- [0183] 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 본원에 개시된 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 본원에 개시되거나 당해 기술 분야에 알려진 모든 항체 형식으로 제공될 수 있다. 비-제한적 예로서, 일부 구현양태에서, 인간 5T4 결합제를 포함하여 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 Fabs-인-탠덤-Ig(FIT-Ig); DVD-Ig; 하이브리드 하이브리도마(퀴드로마 또는 테트라도마); 안티칼린 플랫폼(Pieris); 디아바디; 단일 사슬 디아바디; 탠덤 단일 사슬 Fv 단편; TandAbs, 삼중특이성 항체(Affimed); Darts 이중 친화도 재표적화(MacroGenics); 이중특이성 Xmabs(Xencor); 이중특이성 T 세포 참여자(Bites; Amgen; 55kDa); 트리플바디; 트리바디 = Fab-scFv 융합 단백질 다작용성 재조합 항체 유도체(Creative Biolabs); 듀오바디 플랫폼(Genmab); 도크 앤 락 플랫폼; 노브-인트루-홀(Knob-into-holes, KIH) 플랫폼; 인간화된 이중특이성 IgG 항체(REGN1979)(Regeneron); Mab2 이중특이성 항체(F-Star); DVD-Ig = 이중 가변 도메인 면역글로불린(Abbott); 카파-람다 바디; TBTI = 4가 이중특이성 탠덤 Ig; 및 CrossMab(Roche)에서 선택될 수 있다.
- [0184] 일부 구현양태에서, 본원에 개시된 다중특이성(예를 들어, 이중특이성) 항체는 5T4 결합 도메인과 5T4가 아닌 하나 이상의 표적에 결합하는 하나 이상의 추가 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현양태에서, 본원에 개시된 다중특이성(예를 들어, 이중특이성) 항체는 예를 들어 표 1, 표 2 또는 표 3과 같이 본원에 개시된 바와 같은 VH 및/또는 VL 아미노산 서열을 포함하는 5T4 결합 도메인을 포함한다.
- [0185] 일부 구현양태에서, 예를 들어 표 1, 표 2 또는 표 3에 제시된 서열을 포함하는 본원에 개시된 VH 및 VL CDR을 포함하는 5T4에 결합하는 결합 도메인을 포함하는 다중특이성(예를 들어, 이중특이성) 항체가 본원에 기술된다.
- [0186] 5T4에 결합하는 항체는 5T4를 포함하는 전체 종양 세포로 면역화하고 항체를 수집하거나, 재조합 기술을 사용하거나, 5T4 세포의 도메인 에피토프를 사용하여 항체 또는 항체 단편의 라이브러리를 스크리닝하는 것과 같은(이에 제한되지 않음) 임의의 적합한 방법을 통해 얻을 수 있다. 단일클론 항체는 다양한 알려진 기술을 사용하여 생성될 수 있다(예를 들어, Coligan et al. (eds.), *Current Protocols in Immunology*, 1:2.5.12.6.7 (John Wiley & Sons 1991); *Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses*, Plenum Press, Kennett, McKearn, and Bechtol (eds.) (1980); *Antibodies: A Laboratory Manual*, Harlow and Lane (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press (1988); 및 Picklesley et al., "Production of monoclonal antibodies against proteins expressed in *E. coli*," in *DNA Cloning 2: Expression Systems*, 2nd Edition, Glover et al. (eds.), page 93 (Oxford University Press 1995) 참조). 단일클론 항체를 생성하는 한 가지 예시적인 기술은 동물을 인간 5T4 항원으로 면역화하고 동물에서 채취한 비장 세포에서 하이브리도마를 생성하는 것을 포함한다. 하이브리도마는 5T4에 결합하는 단일클론 항체 또는 항체 단편을 생성할 수 있다.
- [0187] 추가 구현양태에서, 단일클론 항체 또는 항체 단편은 예를 들어, 문헌[*Antibody Phage Display: Methods and Protocols*, P.M. O'Brien and R. Aitken, eds, Humana Press, Totawa N.J., 2002]에 기술된 기술을 사용하여 생성된 항체 파지 라이브러리에서 분리될 수 있다. 원칙적으로, 합성 항체 클론은 파지 코트 단백질에 융합된 항체 가변 영역(Fv)의 다양한 단편을 표시하는 파지를 함유하는 파지 라이브러리를 스크리닝하여 선택된다. 이러한 파지 라이브러리는 원하는 항원에 대해 스크리닝된다. 원하는 항원에 결합할 수 있는 Fv 단편을 발현하는 클론은 항원에 흡착되어 라이브러리에서 비-결합 클론과 분리된다. 그런 다음 결합 클론은 항원에서 용출되고 항원 흡착/용출의 추가 사이클에 의해 더욱 농축될 수 있다.
- [0188] 가변 도메인은 파지에서 작용적으로 표시될 수 있는데, VH와 VL이 짧고 유연한 펩타이드를 통해 공유적으로 연결된 단일 사슬 Fv(scFv) 단편이거나, 각각 불변 도메인에 융합되어 비공유 결합적으로 상호 작용하는 Fab 단편

으로 표시될 수 있으며, 예를 들어, 문헌[Winter *et al.*, *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994)]에 기술되어 있다.

[0189] VH 및 VL 유전자의 레퍼토리는 중합효소 연쇄 반응(PCR)에 의해 별도로 클로닝되고 파지 라이브러리에서 무작위로 재조합될 수 있으며, 이후 문헌[Winter *et al.*, *supra*]에 기술되어 있는 바와 같이 항원-결합 클론을 검색할 수 있다. 면역화된 출처의 라이브러리는 하이브리도마를 구축할 필요 없이 면역원에 대한 고-친화도 항체를 제공한다. 또는 나이브 레퍼토리는 문헌[Griffiths *et al.*, *EMBO J*, 12: 725-734 (1993)]에 기술된 바와 같이 면역화 없이 광범위한 비-자가 및 자가 항원에 대한 인간 항체의 단일 출처를 제공하도록 클로닝될 수 있다. 마지막으로 나이브 라이브러리는 줄기 세포에서 재배열되지 않은 V-유전자 세그먼트를 클로닝하고, 매우 가변적인 CDR3 영역을 인코딩하고 예를 들어, 문헌[Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992)]에 기술된 바와 같이 시험관내에서 재배열을 달성하기 위해 무작위 서열을 함유하는 PCR 프라이머를 사용하여 합성적으로 제조할 수도 있다.

[0190] 라이브러리의 스크리닝은 당해 기술 분야에 알려진 다양한 기술에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어, 5T4(예를 들어, 5T4 폴리펩타이드, 단편 또는 에피토프)는 흡착 플레이트의 웰을 코팅하는 데 사용하거나, 흡착 플레이트에 부착된 숙주 세포에서 발현시키거나, 세포 분류에 사용하거나, 스트랩타비딘-코팅 비드로 포획하기 위해 비오틴에 접합시키거나, 디스플레이 라이브러리를 패닝하는 다른 방법에 사용할 수 있다. 느린 해리 동역학(예를 들어, 우수한 결합 친화도)을 갖는 항체의 선택은 문헌[Bass *et al.*, *Proteins*, 8: 309-314(1990)] 및 WO 92/09690에 기술된 바와 같이 긴 세척 및 1가 파지 디스플레이를 사용하고, 문헌[Marks *et al.*, *Biotechnol.*, 10: 779-783(1992)]에 기술된 바와 같이 항원의 낮은 코팅 밀도를 사용하여 촉진할 수 있다.

[0191] 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 관심 파지 클론을 선택하기 위한 적절한 항원 스크리닝 절차를 설계한 다음, 관심 파지 클론의 VH 및/또는 VL 서열(예를 들어, Fv 서열) 또는 VH 및 VL 서열의 다양한 CDR 서열과 문헌[Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3]에 기술된 적절한 불변 영역(예를 들어, Fc) 서열을 사용하여 전체 길이의 5T4 결합제(예를 들어, 항체) 클론을 구성함으로써 수득할 수 있다.

[0192] 마찬가지로, 5T4에 결합하는 인간 항체는 인간 말초 혈액 세포(예를 들어, B 림프구 포함)의 에프스타인 바 바이러스(Epstein Barr Virus, EBV) 형질전환, 인간 B 세포의 시험관내 면역화, 삽입된 인간 면역글로불린 유전자를 보유하는 면역화된 형질전환 마우스의 비장 세포의 융합, 인간 면역글로불린 V 영역 파지 라이브러리로부터의 분리 또는 본 기술 분야에 공지되어 있고 본원에 기초한 기타 절차를 포함하지만 이에 제한되지 않는 여러 기술 중 하나에 의해 생성될 수 있다. 형질전환 동물로부터 인간 항체를 얻는 방법은 예를 들어, 문헌[Bruggemann *et al.*, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 8: 455-58, 1997; Jakobovits *et al.*, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 764: 525-35, 1995; Green *et al.*, *Nature Genet.*, 7: 13-21, 1994; Lonberg *et al.*, *Nature*, 368: 856-859, 1994; Taylor *et al.*, *Int. Immun.* 6: 579-591, 1994]; 및 미국 특허 번호 5,877,397에 추가로 기술되어 있다.

[0193] 예를 들어, 5T4에 결합하는 인간 항체는 항원적 도전에 반응하여 특정 인간 항체를 생성하도록 조작된 형질전환 동물로부터 얻을 수 있다. 예를 들어, 국제 특허 공개 번호 WO 98/24893은 인간 Ig 유전자좌를 갖는 형질전환 동물을 개시하는데, 이 동물은 내인성 중쇄 및 경쇄 유전자좌의 불활성화로 인해 작용적 내인성 면역글로불린을 생성하지 않는다. 항체는 영장류 불변 및/또는 가변 영역을 갖고, 내인성 면역글로불린 인코딩 유전자좌가 치환되거나 불활성화된 면역원에 대한 면역 반응을 일으킬 수 있는 형질전환 비-영장류 포유류 숙주가 또한 기술되어 있다. 국제 특허 공개 번호 WO 96/30498은, 예를 들어 불변 또는 가변 영역의 전체 또는 일부를 대체하여 변형된 항체 분자를 형성하는 것과 같은 포유류에서 면역글로불린 유전자좌를 변형하기 위해 Cre/Lox 시스템을 사용하는 것을 개시한다. 국제 특허 공개 번호 WO 94/02602는 불활성화된 내인성 Ig 유전자좌와 작용성 인간 Ig 유전자좌를 갖는 비-인간 포유류 숙주를 개시한다. 미국 특허 번호 5,939,598은 내인성 중쇄가 없고 하나 이상의 이종 불변 영역을 포함하는 외인성 면역글로불린 유전자좌를 발현하는 형질전환 마우스를 만드는 방법을 개시한다. 본원에 기술된 형질전환 동물과 같은 형질전환 동물을 사용하여, 선택된 항원 분자에 대한 면역 반응을 생성할 수 있고, 항체를 생성하는 세포를 동물로부터 제거하여 인간-유래의 단일클론 항체를 분리하는 하이브리도마를 생성하는 데 사용할 수 있다. 면역화 프로토콜, 보조제 등은 당해 기술 분야에 알려져 있으며, 예를 들어 국제 특허 공개 번호 WO 96/33735에 기술된 바와 같이 형질전환 마우스의 면역화에 사용된다. 단일클론 항체는 해당 단백질의 생물학적 활성 또는 생리적 효과를 억제하거나 중화하는 능력에 대해 테스트할 수 있다.

[0194] 본 개시내용은 인간 5T4를 포함하여 5T4에 결합하는 인간화 항체를 제공한다. 본 개시내용의 인간화 항체는 표

1-3에 제시된 것과 같이, 본원에 개시된 VH 및/또는 VL에서 하나 이상의 CDR을 포함할 수 있다. 비-인간 항체를 인간화하는 다양한 방법이 당해 기술 분야에 알려져 있다. 예를 들어, 인간화 항체는 비-인간인 출처로부터 도입된 하나 이상의 아미노산 잔기를 가질 수 있다. 이러한 비-인간 아미노산 잔기는 종종 "수입" 잔기라고 하며, 일반적으로 "수입" 가변 도메인에서 가져온다. 5T4에 결합하는 인간화 항체는 해당 분야의 숙련자에게 알려진 기술을 사용하여 생산될 수 있다(Zhang et al., *Molecular Immunology*, 42(12): 1445-1451, 2005; Hwang et al., *Methods*, 36(1): 35-42, 2005; Dall'Acqua et al., *Methods*, 36(1): 43-60, 2005; Clark, *Immunology Today*, 21(8): 397-402, 2000; 및 미국 특허 번호 6,180,370; 6,054,927; 5,869,619; 5,861,155; 5,712,120; 및 4,816,567).

[0195] 일부 경우에, 인간화된 항체는 CDR 접목에 의해 구성되는데, 여기서 모체 비-인간 항체(예를 들어, 설치류)의 VH와 VL의 6개 CDR의 아미노산 서열이 인간 항체 프레임워크에 접목된다. 예를 들어, Padlan et al. (*FASEB J.* 9:133-139, 1995)은 CDR의 잔기 중 약 1/3만이 실제로 항원과 접촉한다는 것을 확인했고, 이를 "특이성 결정 잔기" 또는 SDR이라고 명명했다. SDR 접목 기술에서는 SDR 잔기만이 인간 항체 프레임워크에 접목된다(예를 들어, Kashmiri et al., *Methods* 36: 25-34, 2005 참조).

[0196] 인간화된 항체를 만드는 데 사용할 경쇄 및 중쇄 인간 가변 도메인을 선택하는 것은 항원성을 줄이는 데 중요할 수 있다. 예를 들어, 소위 "최적 적합" 방법에 따르면, 비-인간(예를 들어, 설치류) 항체의 가변 도메인 서열은 알려진 인간 가변-도메인 서열의 전체 라이브러리에 대해 스크리닝된다. 설치류의 서열에 가장 가까운 인간 서열은 인간화 항체의 인간 프레임워크로 선택될 수 있다(Sims et al. (1993) *J. Immunol.* 151:2296; Chothia et al. (1987) *J. Mol. Biol.* 196:901). 다른 방법은 경쇄 또는 중쇄의 특정 하위군의 모든 인간 항체의 합의 서열에서 유래된 특정 프레임워크를 사용한다. 동일한 프레임워크가 여러 다른 인간화 항체에 사용될 수 있다(Carter et al. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285; Presta et al. (1993) *J. Immunol.*, 151:2623). 일부 경우에는 프레임워크가 가장 풍부한 인간 하위부류인 VL6 하위군 I(VL6I) 및 VH 하위군 III(VHIII)의 합의 서열에서 유래된다. 다른 방법에서는 인간 생식세포 유전자가 프레임워크 영역의 출처에서 사용된다.

[0197] CDR 비교를 기반으로 하는 대체 패러다임인 초인간화(Superhumanization)에서 프레임워크 상동성은 무관하다. 이 방법은 비-인간 서열을 작용성 인간 생식세포 유전자 레퍼토리와 비교하는 것으로 구성된다. 그런 다음 무린 서열과 동일하거나 밀접하게 관련된 표준 구조를 인코딩하는 이들 유전자가 선택된다. 다음으로, 비-인간 항체와 표준 구조를 공유하는 유전자 내에서 CDR 내에서 가장 높은 상동성을 갖는 유전자가 프레임워크 공여체로 선택된다. 마지막으로, 비-인간 CDR이 이러한 프레임워크에 접목된다(예를 들어, Tan et al., *J. Immunol.* 169: 1119-1125, 2002 참조).

[0198] 항체는 항원에 대한 친화도와 다른 유리한 생물학적 특성을 유지하면서 인간화되는 것이 일반적으로 바람직하다. 이 목표를 달성하기 위해, 한 가지 방법에 따르면, 인간화 항체는 모체 서열과 인간화 서열의 3차원 모델을 사용하여 모체 서열과 다양한 개념적 인간화 생물물을 분석하는 과정에 의해 제조된다. 3차원 번역글로불린 모델은 일반적으로 이용 가능하며 해당 분야의 숙련자에게 익숙하다. 선택된 후보 번역글로불린 서열의 가능한 3차원 입체 구조를 설명하고 표시하는 컴퓨터 프로그램을 이용할 수 있다. 여기에는, 예를 들어, WAM(Whitelegg and Rees, *Protein Eng.* 13: 819-824, 2000), Modeller(Sali and Blundell, *J. Mol. Biol.* 234: 779-815, 1993), 및 Swiss PDB Viewer(Guex and Peitsch, *Electrophoresis* 18: 2714-2713, 1997)가 포함된다. 이러한 디스플레이를 검사하면 후보 번역글로불린 서열의 작용에서 잔기의 가능한 역할, 예를 들어 후보 번역글로불린이 항원에 결합하는 능력에 영향을 미치는 잔기의 분석할 수 있다. 이런 식으로, 수용체 및 수입 서열에서 프레임워크 잔기를 선택하고 조합하여 표적 항원에 대한 친화도 증가와 같은 원하는 항체 특성을 달성할 수 있다. 일반적으로, 초가변 영역 잔기는 항원 결합에 직접적으로 그리고 가장 실질적으로 영향을 미친다.

[0199] 항체 인간화를 위한 다른 방법은 인간 스트링 함량(Humam String Content, HSC)이라는 항체 인간성의 척도에 기반한다. 이 방법은 마우스 서열을 인간 생식세포 유전자의 레퍼토리와 비교하고 그 차이를 HSC로 평가한다. 그런 다음 표적 서열은 여러 다양한 인간화 변이체를 생성하기 위해 전역적 동일성 측정을 사용하는 대신 HSC를 최대화하여 인간화된다. (Lazar et al., *Mol. Immunol.* 44: 1986-1998, 2007).

[0200] 위에서 기술한 방법 외에도, 경험적 방법을 사용하여 인간화 항체를 생성하고 선택할 수 있다. 이러한 방법에는 인간화 변이체의 대규모 라이브러리를 생성하고 농축 기술 또는 고처리량 스크리닝 기술을 사용하여 최상의 클론을 선택하는 방법이 포함된다. 항체 변이체는 파지, 리보솜 및 효모 디스플레이 라이브러리에서 분리될 수 있으며, 박테리아 집락 스크리닝을 통해서도 분리될 수 있다(예를 들어, Hoogenboom, *Nat. Biotechnol.* 23:

1105-1116, 2005; Dufner *et al.*, *Trends Biotechnol.* 24: 523-529, 2006; Feldhaus *et al.*, *Nat. Biotechnol.* 21: 163-70, 2003; Schlapschy *et al.*, *Protein Eng. Des. Sel.* 17: 847-60, 2004 참조).

[0201] 프레임워크 라이브러리 접근법에서, 잔기 변이체 컬렉션은 프레임워크의 특정 위치에 도입된 다음, 라이브러리를 선택하여 접목된 CDR을 가장 잘 지원하는 프레임워크를 선택한다. 치환될 잔기는 CDR 구조에 잠재적으로 기여하는 것으로 확인되거나(예를 들어, Foote and Winter, *J. Mol. Biol.* 224: 487-499, 1992 참조) 또는 문헌[Baca *et al.*, (*J. Biol. Chem.* 272: 10678-10684, 1997)]에서 확인된 보다 제한된 표적 잔기 세트로부터의 "Vernier" 잔기 중 일부 또는 전부를 포함할 수 있다.

[0202] 프레임워크 서플링에서 전체 프레임워크는 선택된 잔기 변이체의 조합 라이브러리를 생성하는 대신 비-인간 CDR과 조합된다(예를 들어, Dall'Acqua *et al.*, *Methods* 36: 43-60, 2005 참조). 라이브러리는, 먼저 VL을 인간화한 다음 VH를 인간화하는 2단계 선택 과정에서 결합을 위해 스크리닝될 수 있다. 또는 1단계 프레임워크 서플링 과정을 사용할 수 있다. 이러한 과정은 생성된 항체가 향상된 발현, 증가된 친화도 및 열 안정성을 포함한 향상된 생화학적 및 물리화학적 특성을 나타내었기 때문에 2단계 스크리닝보다 더 효율적인 것으로 나타났다(예를 들어, Damschroder *et al.*, *Mol. Immunol.* 44: 3049-60, 2007 참조).

[0203] "휴머니어링(Humaneering)" 방법은 필수적인 최소 특이성 결정인자(MSD)의 실험적 식별에 기반하며 비-인간 단편을 인간 프레임워크 라이브러리로 순차적으로 대체하고 결합을 평가하는 데 기반한다. 비-인간 VH 및 VL 사슬의 CDR3 영역에서 시작하여 VH 및 VL 모두의 CDR1 및 CDR2를 포함하여 비-인간 항체의 다른 영역을 점진적으로 인간 프레임워크로 대체한다. 이 방법론은 일반적으로 에피토프 유지 및 별개의 인간 V-세그먼트 CDR이 있는 여러 하위 부류의 항체 식별로 이어진다. 휴머니어링은 인간 생식세포 유전자 항체와 91-96% 동일한 항체의 분리를 허용한다. (예를 들어, Alfenito, Cambridge Healthtech Institute's Third Annual PEGS, The Protein Engineering Summit, 2007 참조).

[0204] "인간 조작(human engineering)" 방법은 항체의 아미노산 서열에 특이적 변경을 가하여 인간에서 면역원성이 감소된 변형된 항체를 생산하지만 그럼에도 불구하고 원래 비-인간 항체의 바람직한 결합 특성을 유지함으로써 마우스 또는 키메라 항체 또는 항체 단편과 같은 비-인간 항체 또는 항체 단편을 변경하는 것을 포함한다. 일반적으로 이 기술은 비-인간(예를 들어, 마우스) 항체의 아미노산 잔기를 "저위험", "중간위험" 또는 "고위험" 잔기로 분류하는 것을 포함한다. 분류는 특정 치환(예를 들어, 인간에서의 면역원성)을 만드는 예측된 이점과 치환의 결과 항체의 접합에 영향을 미치고/미치거나 인간 잔기로 치환될 위험을 평가하는 글로벌 위험/보상 계산을 사용하여 수행된다. 비-인간(예를 들어, 마우스) 항체 서열의 주어진 위치(예를 들어, 낮거나 중간 위험)에서 치환될 특정 인간 아미노산 잔기는 비-인간 항체의 가변 영역의 아미노산 서열을 특정 또는 합의 인간 항체 서열의 해당 영역과 정렬하여 선택할 수 있다. 비-인간 서열의 낮거나 중간 위험 위치에 있는 아미노산 잔기는 정렬에 따라 인간 항체 서열의 해당 잔기로 치환될 수 있다. 인간 조작된 단백질을 만드는 기술은 문헌[Studnicka *et al.*, *Protein Engineering*, 7: 805-814 (1994)]; 미국 특허 번호 5,766,886, 5,770,196, 5,821,123, 및 5,869,619; 및 PCT 출원 공개 WO 93/11794에 더 자세히 기술되어 있다.

[0205] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합체는 비-항체 단백질 스캐폴드를 포함한다. 이러한 비-항체 단백질 스캐폴드의 비-제한적인 예로는 피브로넥틴 스캐폴드, 안티칼린, 아드넥틴, 아피바디, DARPIn, 피노머, 아피틴, 아펠린, 아비머, 시스테인-풍부한 노틴 펩타이드 또는 조작된 쿠니츠-유형 억제체가 있다. 이러한 비-항체 단백질 스캐폴드를 생성하는 방법은 당해 기술 분야에서 잘 알려져 있으며, 이 중 하나를 사용하여 비-항체 단백질 스캐폴드를 포함하는 5T4 결합체를 생성할 수 있다(예를 들어, Simeon and Chen, *Protein Cell*, 9(1):3-14 (2018); Yang *et al.*, *Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif)*. 10(1):293-320 (2017) 참조).

[0206] 또한, 본원에 개시된 바와 같은 5T4 결합체(예를 들어, 항체 또는 항체 단편) 또는 융합 폴리펩타이드를 인코딩하는 핵산, 이에 상보적인 핵산, 본원에 개시된 바와 같은 핵산을 포함하는 벡터, 본원에 개시된 바와 같은 핵산 또는 벡터를 포함하는 세포가 제공된다. 일부 구현양태에서, 세포는 5T4 결합체를 발현한다. 일부 구현양태에서, 세포는 핵산 또는 벡터를 복제한다. 일부 구현양태에서, 5T4 결합체, 예를 들어, 인간 5T4 결합체 및 이의 단편을 생성하기 위한 재료가 제공된다. 예를 들어, 분리된 세포는 5T4 결합체(예를 들어, 항체 또는 항체 단편)를 생산할 수 있다. 이와 관련하여, 세포(예를 들어, 분리된 세포)는 본원에 개시된 바와 같은 VH 및 VL을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 생산할 수 있다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 폴리뉴클레오타이드는 5T4 결합체(예를 들어, 항체 또는 항체 단편)를 인코딩하는 하나 이상의 핵산 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현양태에서, 폴리뉴클레오타이드는 분리된 및/또는 재조합 폴리뉴클레오타이드이다. 다양한 측면에서, 분리된 폴리뉴클레오타이드는 VH 및/또는 VL을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 여기서 VH 및 VL은 본원에 개

시된 CDR과 동일한 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다.

- [0207] 일부 구현양태에서, 하나 이상의 벡터(예를 들어, 발현 벡터)는 적합한 숙주 세포에서 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 발현하기 위한 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 이러한 벡터는, 예를 들어 숙주 세포에서 폴리뉴클레오타이드를 증폭하여 유용한 양을 생성하고, 재조합 기술을 사용하여 항체 또는 항체 단편과 같은 결합제를 발현하는 데 유용하다.
- [0208] 일부 구현양태에서, 하나 이상의 벡터는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드가 발현 제어 서열을 포함하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드에 작동적으로 연결된 발현 벡터이다. 5T4에 결합하는 항체 서열을 인코딩하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 통합하는 플라스미드 및 바이러스 DNA 벡터와 같은 자율적으로 복제되는 재조합 발현 구성물이 구체적으로 고려된다. 발현 제어 DNA 서열에는 프로모터, 인핸서 및 오퍼레이터가 포함되며, 일반적으로 발현 구성물이 활용될 발현 시스템을 기반으로 선택된다. 프로모터 및 인핸서 서열은 일반적으로 유전자 발현을 증가시키는 능력에 대해 선택되는 반면, 오퍼레이터 서열은 일반적으로 유전자 발현을 조절하는 능력에 대해 선택된다. 발현 구성물은 또한 구성물을 보유하는 숙주 세포의 식별을 허용하는 하나 이상의 선택 가능한 마커를 인코딩하는 서열을 포함할 수 있다. 발현 구성물은 또한 숙주 세포에서 상동 재조합을 용이하게 하고, 바람직하게는 촉진하는 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현양태에서, 발현 구성물은 또한 숙주 세포에서 복제에 필요한 서열을 포함할 수 있다.
- [0209] 예시적인 발현 제어 서열은 프로모터/인핸서 서열, 예를 들어, 포유류 세포에서 발현을 위해 거대세포바이러스 프로모터/인핸서(Lehner et al., *J. Clin. Microbiol.*, 29: 2494-2502, 1991; Boshart et al., *Cell*, 41: 521-530, 1985); Rous 육종 바이러스 프로모터(Davis et al., *Hum. Gene Ther.*, 4: 151, 1993); Tie 프로모터(Korhonen et al., *Blood*, 86(5): 1828-1835, 1995); 유인원 바이러스 40 프로모터; DRA(선종에서 하향조절됨; Alrefai et al., *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 293: G923-G934, 2007); MCT1(모노카복실레이트 수송체 1; Cuff et al., *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, G977-G979, 2005); 및 Math1(마우스 무조성 동족체 1; Shroyer et al., *Gastroenterology*, 132: 2477-2478, 2007)을 포함하며, 프로모터는 폴리펩타이드 코딩 서열의 업스트림(예를 들어, 5')에 작동적으로 연결된다. 다른 변형에서, 프로모터는 상피-특이적 프로모터 또는 내피-특이적 프로모터이다. 폴리뉴클레오타이드는 또한 임의로 폴리펩타이드 코딩 서열의 다운스트림(예를 들어, 3')에 작동가능하게 연결된 적합한 폴리아데닐화 서열(예를 들어, SV40 또는 인간 성장 호르몬 유전자 폴리아데닐화 서열)을 포함할 수 있다.
- [0210] 원하는 경우, 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드는 또한 임의로 폴리펩타이드 서열과 프레임 내에서 융합된 분비 신호 펩타이드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 분비 신호 펩타이드는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 발현하는 세포에 의한 항체 폴리펩타이드의 분비를 지시하고, 분비된 폴리펩타이드로부터 세포에 의해 절단된다. 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드는 또한 임의로 벡터의 대량 생산을 용이하게 하는 것이 유일한 의도된 작용인 서열을 포함할 수 있다. 다양한 트랜스진에 대해 문헌에 기술된 절차를 사용하여 유전자 치료를 위한 폴리뉴클레오타이드를 제조하고 투여할 수 있다. 예를 들어, Isner et al., *Circulation*, 91: 2687-2692, 1995; 및 Isner et al., *Human Gene Therapy*, 7: 989-1011, 1996 참조.
- [0211] 일부 구현양태에서, 폴리뉴클레오타이드는 숙주 세포에 의한 흡수 및 항체 또는 그 단편(및/또는 다른 펩타이드)의 발현을 용이하게 하기 위한 추가 서열을 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현양태에서, 본원에서 기술하는 항체 또는 그 단편을 인코딩하는 "네이키드" 트랜스진(예를 들어, 형질감염을 용이하게 하기 위한 바이러스, 리포좀 또는 다른 벡터가 없는 트랜스진)이 사용된다.
- [0212] 항체 또는 그 단편을 인코딩하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 숙주로 도입하기 위해 적합한 벡터를 사용할 수 있다. 기술된 예시적 벡터에는 복제 결핍 레트로바이러스 벡터가 포함되며, 여기에는 렌티바이러스 벡터(Kim et al., *J. Virol.*, 72(1): 811-816, 1998; Kingsman & Johnson, *Scrip Magazine*, October, 1998, pp. 43-46); 파코바이러스 벡터, 예를 들어 아데노-관련 바이러스(AAV) 벡터(미국 특허 번호 5,474,935; 5,139,941; 5,622,856; 5,658,776; 5,773,289; 5,789,390; 5,834,441; 5,863,541; 5,851,521; 5,252,479; Gnatenko et al., *J. Invest. Med.*, 45: 87-98, 1997); 아데노바이러스(AV) 벡터(미국 특허 번호 5,792,453; 5,824,544; 5,707,618; 5,693,509; 5,670,488; 5,585,362; Quantin et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89: 2581-2584, 1992; Stratford Perricaudet et al., *J. Clin. Invest.*, 90: 626-630, 1992; 및 Rosenfeld et al., *Cell*, 68: 143-155, 1992); 아데노바이러스 아데노-관련 바이러스 키메라(미국 특허 번호 5,856,152) 또는 백시니아 바이러스 또는 헤르페스 바이러스 벡터(미국 특허 번호 5,879,934; 5,849,571; 5,830,727; 5,661,033; 5,328,688); 리포펙틴 매개 유전자 전이(BRL); 리포좀 벡터(미국 특허 번호 5,631,237); 및 이들의

조합이 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 임의의 이러한 발현 벡터는 예를 들어, 문헌[Sambrook et al., *Molecular Cloning, a Laboratory Manual*, 2d edition, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989); Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates and John Wiley & Sons, New York, N.Y. (1994)]에 기술된 표준 재조합 DNA 기술을 사용하여 제조할 수 있다. 임의로, 바이러스 벡터는, 예를 들어 바이러스 복제에 필요한 특정 유전자를 결실시키거나 파괴하여 복제 결핍 상태로 만든다.

[0213] 고려된 다른 비-바이러스 전달 메커니즘에는 인산칼슘 침전(Graham and Van Der Eb, *Virology*, 52: 456-467, 1973; Chen and Okayama, *Mol. Cell Biol.*, 7: 2745-2752, 1987; Rippe et al., *Mol. Cell Biol.*, 10: 689-695, 1990), DEAE-텍스트란(Gopal, *Mol. Cell Biol.*, 5: 1188-1190, 1985), 전기천공(Tur-Kaspa et al., *Mol. Cell Biol.*, 6: 716-718, 1986; Potter et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81: 7161-7165, 1984), 직접 미세주입(Harland and Weintraub, *J. Cell Biol.*, 101: 1094-1099, 1985), DNA-로딩된 리포솜(Nicolau and Sene, *Biochim. Biophys. Acta*, 721: 185-190, 1982; Fraley et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76: 3348-3352, 1979; Felgner, *Sci Am.*, 276(6): 102-6, 1997; Felgner, *Hum Gene Ther.*, 7(15): 1791-3, 1996), 세포 초음파처리(Fechheimer et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84: 8463-8467, 1987), 고속 미세투사체를 사용한 유전자 폭격(Yang et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87: 9568-9572, 1990), 및 수용체-매개 형질감염(Wu and Wu, *J. Biol. Chem.*, 262: 4429-4432, 1987; Wu and Wu, *Biochemistry*, 27: 887-892, 1988; Wu and Wu, *Adv. Drug Delivery Rev.*, 12: 159-167, 1993)이 포함된다.

[0214] 벡터(또는 본원에서 논의된 바와 같은 항체 또는 그 단편 또는 핵산)는 리포솜에 갇힐 수 있다. 예를 들어, Ghosh and Bachhawat, In: *Liver diseases, targeted diagnosis and therapy using specific receptors and ligands*, Wu G, Wu C ed., New York: Marcel Dekker, pp. 87-104 (1991); Radler et al., *Science*, 275(5301): 810-814, 1997 참조. 또한 "리포펙션" 기술을 포함하는 다양한 상업적 접근 방식도 고려된다. 일부 구현양태에서, 리포솜은 적혈구용집 바이러스(HVJ)와 복합체를 이룰 수 있다. 이는 세포막과의 융합을 용이하게 하고 리포솜-캡슐화된 DNA의 세포 진입을 촉진하는 것으로 나타났다(Kaneda et al., *Science*, 243: 375-378, 1989). 일부 구현양태에서, 리포솜은 핵 비히스톤 염색체 단백질(HMG-1)과 복합체화되거나 함께 사용된다(Kato et al., *J. Biol. Chem.*, 266: 3361-3364, 1991). 일부 구현양태에서, 리포솜은 HVJ와 HMG-1 모두와 복합체화되거나 함께 사용된다. 이러한 발현 구성물은 시험관내 및 생체내 핵산의 전달 및 발현에 성공적으로 사용되었다. 일부 구현양태에서, 표면에 5T4를 발현하는 세포(예를 들어, 종양 세포)에 리포솜을 표적화하기 위해 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체)가 리포솜에 포함된다.

[0215] 세포는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 하나 이상의 벡터를 포함할 수 있으며, 예를 들어 세포는 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체)를 인코딩하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 하나 이상의 벡터로 형질전환되거나 형질감염된다. 일부 구현양태에서, 세포는 mAbA4, mAbA15 또는 mAbA17의 CDR(예를 들어, 표 1, 2 및/또는 3 참조)과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 6개의 CDR을 포함하는 하나 이상의 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체)를 발현한다. 일부 구현양태에서, 세포는 mAbA4, mAbA15 및/또는 mAbA17의 것(예를 들어, 표 1, 2 및/또는 3 참조)과 동일한 CDR을 포함하는 VH 및 VL을 함유하는 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체)를 발현한다. 세포는 대장균(예를 들어, Pluckthun et al., *Methods Enzymol.*, 178: 497-515, 1989 참조)과 같은 원핵 세포 또는 동물 세포(예를 들어, 골수종 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포 또는 하이브리도마 세포), 효모(예를 들어, *사카로미세스 세레비시아에*) 또는 식물 세포(예를 들어, 담배, 옥수수, 대두 또는 벼 세포)와 같은 진핵 세포일 수 있다. 포유류 숙주 세포를 사용하면 재조합 발현 생성물에 최적의 생물학적 활성을 부여하는 데 바람직할 수 있는 번역 변형(예를 들어, 글리코실화, 절단, 지질화 및 인산화)이 제공될 수 있다. 마찬가지로, 폴리펩타이드(예를 들어, 인간 5T4 결합제 포함하여 5T4 결합제(예를 들어, 항체))는 글리코실화되거나 글리코실화되지 않을 수 있으며/있거나 폴리에틸렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌 글리콜 또는 폴리프로필렌 글리콜과 같은 하나 이상의 수용성 중합체 부착물을 포함하도록 공유적으로 변형될 수 있다.

[0216] DNA 또는 RNA를 숙주 세포에 도입하는 방법은 잘 알려져 있으며, 형질전환, 형질감염, 전기천공, 핵 주입 또는 리포솜, 미셀, 고스트 세포 및 원형질체와 같은 담체와의 융합을 포함한다. 이러한 숙주 세포는 폴리뉴클레오타이드를 증폭하고 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩된 폴리펩타이드를 발현하는 데 유용하다. 이와 관련하여, 5T4 결합제(예를 들어, 항체)를 생산하는 과정은 숙주 세포를 배양하고 5T4 결합제를 분리하는 것을 포함할 수 있다. 네이키드 DNA 발현 구성물을 세포로 옮기는 것은 입자 폭격을 사용하여 달성할 수 있는데, 이는 DNA 코팅된 미세투사체를 고속으로 가속하여 세포막을 뚫고 세포를 죽이지 않고 세포에 들어갈 수 있는 능력에 달려 있

다(Klein et al., *Nature*, 327: 70-73, 1987). 작은 입자를 가속하기 위한 여러 장치가 개발되었다. 그러한 장치 중 하나는 고전압 방전을 사용하여 전류를 생성하고, 이는 다시 구동력을 제공한다(Yang et al., *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 87: 9568-9572, 1990). 사용된 미세투사체는 텅스텐 또는 금 비드와 같은 생물학적으로 불활성인 물질로 구성되었다. 숙주 세포는 분리 및/또는 정제될 수 있다. 숙주 세포는 또한 생체내에서 폴리펩타이드의 일시적 또는 영구적 발현을 유발하기 위해 생체내에서 형질전환된 세포일 수 있다. 또한, 숙주 세포는, 예를 들어 치료 목적으로 생체내에서 폴리펩타이드를 생산하도록 생체외에서 형질전환되고 형질전환 후 도입된 분리된 세포일 수 있다. 숙주 세포의 정의는 형질전환된 인간을 명시적으로 배제한다.

[0217] 폴리뉴클레오타이드로부터 항체를 생산하는 다양한 방법은 일반적으로 잘 알려져 있다. 예를 들어, 기본적인 분자생물학 절차는 문헌[Maniatis et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1989]에 기술되어 있다(또한 Maniatis et al., 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 2001 참조). 또한, 수많은 출판물에서 DNA 조작, 발현 벡터 생성, 적절한 세포의 형질 전환 및 배양을 통한 항체 제조에 적합한 기술을 기술하고 있다(예를 들어, Mountain and Adair, Chapter 1 in *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, Tombs ed., Intercept, Andover, UK, 1992); 및 *Current Protocols in Molecular Biology*, Ausubel ed., Wiley Interscience, New York, 1999 참조).

[0218] 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 상기 설명한 바와 같이 면역화된 동물로부터 분리하거나, 재조합 또는 합성적으로 생성하거나, 유전자 조작하는 것과 같은 적절한 방법을 사용하여 생성된다. 항체로부터 유래된 항체 단편은, 예를 들어 항체의 단백질을 가수분해에 의해 얻어진다. 예를 들어, 전체 항체의 파파인 또는 펩신 소화는 각각 $F(ab')_2$ 또는 두 개의 1가 Fab 단편과 Fc 단편이라 불리는 5S 단편을 생성한다. $F(ab)_2$ 는 티올 환원제를 사용하여 추가로 절단되어 3.5S Fab 1가 단편을 생성할 수 있다. 항체 단편을 생성하는 방법은 예를 들어, 문헌[Edelman et al., *Methods in Enzymology*, 1: 422 Academic Press (1967); Nisonoff et al., *Arch. Biochem. Biophys.*, 89: 230-244, 1960; Porter, *Biochem. J.*, 73: 119-127, 1959; U.S. Patent No. 4,331,647; and by Andrews, S.M. and Titus, J.A. in *Current Protocols in Immunology* (Coligan et al., eds), John Wiley & Sons, New York (2003), pages 2.8.1 2.8.10 and 2.10A.1 2.10A.5]에 기술되어 있다.

[0219] 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 유전자 조작될 수 있다. 예를 들어, 인간 5T4 결합제를 포함하는 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 예를 들어 재조합 DNA 조작 기술에 의해 생성된 가변 영역 도메인을 포함한다. 이와 관련하여, 가변 영역은 임의로 항체의 아미노산 서열의 삽입, 결실 또는 변화에 의해 변형되어, 상기 설명한 바와 같이 관심 항체를 생성할 수 있다. 관심 있는 CDR을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 예를 들어, 항체를 생성하는 세포의 mRNA를 주형으로 사용하여 가변 영역을 합성하기 위해 중합효소 연쇄 반응을 사용하여 제조된다(예를 들어, Courtenay Luck, "Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies," in *Monoclonal Antibodies: Production, Engineering and Clinical Application*, Ritter et al. (eds.), page 166 (Cambridge University Press 1995); Ward et al., "Genetic Manipulation and Expression of Antibodies," in *Monoclonal Antibodies: Principles and Applications*, Birch et al., (eds.), page 137 (Wiley Liss, Inc. 1995); 및 Larrick et al., *Methods: A Companion to Methods in Enzymology*, 2: 106-110, 1991 참조). 현재 항체 조작 기술은 적어도 하나의 CDR과 임의로 1차 항체의 하나 이상의 프레임워크 아미노산과 2차 항체의 나머지 가변 영역 도메인을 포함하는 조작된 가변 영역 도메인의 구축을 허용한다. 이러한 기술은, 예를 들어 항체를 인간화하거나 결합 표적에 대한 친화도를 개선하는 데 사용된다.

[0220] "인간화 항체"는 비-인간 면역글로불린의 중쇄 및 경쇄 가변 사슬의 CDR이 인간 가변 도메인으로 전이된 항체이다. 불변 영역은 반드시 존재할 필요는 없지만, 존재하는 경우 임의로 인간 면역글로불린 불변 영역과 실질적으로 동일하고, 예를 들어, 일부 구현양태에서는 적어도 약 85-90%, 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일하다. 따라서 일부 경우에는 CDR을 제외한 인간화 면역글로불린의 모든 부분이 천연 인간 면역글로불린 서열의 해당 부분과 실질적으로 동일하다. 예를 들어, 인간화 항체는 인간 면역글로불린(예를 들어, 숙주 항체)으로, 숙주 항체의 추가 변 영역 잔기가 원하는 특이성, 친화도 및 용량을 갖는 마우스, 래트, 토끼 또는 비-인간 영장류와 같은 비-인간 종(공여 항체)의 추가 변 영역 잔기로 대체된다.

[0221] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 질병, 장애 또는 상태의 하나 이상의 증상을 포함하여 5T4-매개 질병, 장애 또는 상태를 치료, 방지 또는 완화하는 조성물 및 방법에 유용하다. 5T4-매개 질병, 장애 및 상태에는 암이 포함되며, 여기에는 종양 세포가 5T4를 과발현하는 임의의 암이 포함되지만 이에 제한되지 않는다.

- [0222] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 방법은 대상체에게 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC) 또는 이의 단편 또는 본원에 기술된 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함하는 대상체에서 종양 면역을 치료하는 방법이다. 일부 구현양태에서, 본원에서는 대상체의 종양 면역을 치료하는 데 사용하기 위한 본원에서 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC) 또는 이의 단편 또는 본원에서 설명된 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 일부 구현양태에서, 본원에서는 대상체의 종양 면역을 치료하기 위한 약물을 제조하는 데 본원에서 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC) 또는 이의 단편 또는 본원에서 기술된 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 포함하는 약제학적 조성물의 용도가 제공된다.
- [0223] 일부 구현양태에서, 본원에서는 대상체의 암 또는 종양을 치료하는 방법을 제공하며, 이는 대상체에게 본원에서 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC) 또는 이의 단편 또는 본원에서 기술된 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 본원에서는 대상체의 암 또는 종양을 치료하는 데 사용하기 위한 본원에서 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC) 또는 이의 단편 또는 본원에서 기술된 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 일부 구현양태에서, 본원에서는 대상체의 암 또는 종양을 치료하기 위한 약제의 제조에 본원에서 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC) 또는 이의 단편 또는 본원에서 기술된 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 포함하는 약제학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0224] 일부 구현양태에서, 대상체에게 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC) 또는 이의 단편 또는 본원에 기술된 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함하여, 대상체의 암 또는 종양과 관련된 하나 이상의 증상을 완화하는 방법이 본원에 기술된다. 일부 구현양태에서, 대상체의 암 또는 종양과 관련된 하나 이상의 증상을 완화하는 데 사용하기 위한 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC) 또는 이의 단편 또는 본원에 기술된 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 포함하는 약제학적 조성물이 본원에 기술된다. 일부 구현양태에서, 대상체의 암 또는 종양과 관련된 하나 이상의 증상을 완화하기 위한 약제의 제조에서 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC) 또는 이의 단편 또는 본원에 기술된 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 포함하는 약제학적 조성물의 용도가 본원에 기술된다.
- [0225] 일부 구현양태에서, 대상체에게 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC) 또는 이의 단편 또는 본원에 기술된 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함하여, 종양이 있는 대상체에서 종양 크기를 감소시키는 방법이 본원에 기술된다. 일부 구현양태에서, 종양이 있는 대상체에서 종양 크기를 감소시키는 데 사용하기 위한 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC) 또는 이의 단편 또는 본원에 기술된 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 포함하는 약제학적 조성물이 본원에 기술된다. 일부 구현양태에서, 종양이 있는 대상체에서 종양 크기를 감소시키는 약물의 제조에서 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC) 또는 이의 단편 또는 본원에 기술된 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 포함하는 약제학적 조성물의 용도가 본원에 기술된다.
- [0226] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC) 또는 이의 단편 또는 본원에 기술된 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 포함하는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하여, 대상체에서 종양 세포 제거를 향상시키는 방법이 본원에 기술된다. 일부 구현양태에서, 종양이 있는 대상체에서 종양 세포 제거를 향상시키는 데 사용하기 위한 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC) 또는 이의 단편 또는 본원에 기술된 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 포함하는 약제학적 조성물이 본원에 기술된다. 일부 구현양태에서, 종양이 있는 대상체에서 종양 세포 제거를 향상시키는 약물의 제조에서 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC) 또는 이의 단편 또는 본원에 기술된 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 포함하는 약제학적 조성물의 용도가 본원에 기술된다.
- [0227] 본원에 기술된 방법의 주제는 본원에 기술된 하나 이상의 치료제를 본원에 기술된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC) 또는 이의 단편 또는 본원에 기술된 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 포함하는 약제학적 조성물과 조합하여 투여될 수 있다.
- [0228] 일부 구현양태에서, 항체는 인간 항체이며, 프레임워크와 CDR 영역 모두가 예를 들어, 문헌[Kabat et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242]에 기술된 바와 같이 인간 생식세포 면역글로불린 서열에서 유래된 가변 영역을 갖는 항체를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 항체가 불변 영역을 함유하는 경우, 불변 영역은 또한 바람직하게는 인간 생식세포 면역글로불린 서열에서 유래된다. 인간 항체는, 예를 들어 항체의 활성

을 향상시키기 위해 인간 생식세포 면역글로불린 서열에 의해 인코딩되지 않은 아미노산 잔기를 포함할 수 있지만, 다른 종에서 유래된 CDR(예를 들어, 인간 가변 프레임워크 영역 내에 배치된 마우스 CDR)은 포함하지 않는다.

[0229] 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 방법의 암 또는 종양의 세포는, 예를 들어 세포 표면 상에 5T4를 발현한다. 추가 구현양태에서, 암 또는 종양의 세포는 5T4를 과발현한다. 일부 구현양태에서, 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 세포 배양에서 종양 세포에 대해 세포독성이다. 이러한 세포 배양에는 5T4를 발현하거나 과발현하는 종양 세포가 포함될 수 있다. 종양 세포에는 유방암 세포, 방광암 세포, 흑색종 세포, 전립선암 세포, 중피종 세포, 폐암 세포, 고환암 세포, 갑상선암 세포, 편평세포 암종 세포, 신경교종 세포, 신경모세포종 세포, 자궁암 세포, 대장직장암 세포 및 췌장암 세포가 포함되지만 이에 제한되지 않는다.

[0230] 일부 구현양태에서, 본원에는 대상체에서 종양 세포의 제거를 향상시키는 방법이 기술된다. 예를 들어, 이 방법은 본원에 기술된 인간 5T4 결합제와 같은 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)의 양을 투여하여 종양 세포의 제거를 향상시키는 것을 포함한다. 일부 구현양태에서, 본 방법은 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 투여하는 단계를 포함하며, 여기에는 (i) mAbA4, mAbA15 및/또는 mAbA17과 결합을 위해 경쟁하고(예를 들어, 표 1, 2 및/또는 의 CDR 및 VH/VL 참조), (ii) 인간 5T4에 결합하고 및/또는 (iii) mAbA4, mAbA15 및/또는 mAbA17(예를 들어, 표 1, 2 및/또는 3의 CDR 및 VH/VL 참조)에 의해 인식되는 5T4의 영역에 결합하는 5T4 결합제가 포함되며, 그 결과 종양 세포 제거가 향상된다. 일부 구현양태에서, 상기 기술한 바와 같은 하나 이상의 결합제(예를 들어, 항체), 폴리뉴클레오타이드, 벡터 및/또는 세포는 생체내 종양 세포 제거를 향상시키는 방법(예를 들어, 대상체의 암을 치료하는 방법)에서 사용될 수 있다.

[0231] 대상체의 종양 성장을 조절(예를 들어, 억제, 감소, 방지)하는 방법도 제공된다. 예를 들어, 이 방법은 대상체에게 대상체의 종양 성장을 조절하는 데 효과적인 양의 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함한다.

[0232] 본원에서 사용되는 "종양"은 악성 또는 양성 여부에 관계없이 임의의 신생물성 세포 성장 또는 증식과 모든 전-암성 및 암성 세포 및 조직을 지칭한다. 용어 "암" 및 "암성"은 일반적으로 조절되지 않는 세포 성장을 특징으로 하는 포유류의 생리적 상태를 지칭하거나 기술한다. 암의 예는 다음을 포함하지만 이에 제한되지 않는다: 유방암, 대장암, 신장암, 폐암, 편평세포 골수성 백혈병, 혈관종, 흑색종, 성상세포종 및 신경교종과 다음을 포함하지만 이에 제한되지 않는 기타 세포 증식성 질병 상태: 심장: 육종(혈관육종, 섬유육종, 횡문근육종, 지방육종), 점액종, 횡문근종, 섬유종, 지방종 및 기형종; 폐: 기관지발생 암종(편평세포암, 미분화 소세포암, 미분화 대세포암, 선암종), 폐포암(세기관지암), 기관지 선종, 육종, 림프종, 연골종성 한라종, 중피종; 위장관: 식도(편평세포암, 선암종, 평활근육종, 림프종), 위(암종, 림프종, 평활근육종), 췌장(관형 선암종, 인슐린선암, 글루카곤종, 가스트리노마, 카르시노이드 종양, 비로마), 소장(선암종, 림프종, 카르시노이드 종양, 카르포시 육종, 평활근종, 혈관종, 지방종, 신경섬유종, 섬유종), 대장(선암종, 관형 선종, 용모 선종, 과오종, 평활근종); 비노생식기: 신장(선암종, 율름 종양(신모세포종), 림프종, 백혈병, 신세포암), 방광 및 요도(편평세포암, 이행세포암종, 선암종), 전립선(선암종, 육종, 전립선 소세포암종), 고환(정액종, 기형종, 배아암, 기형암, 용모암종, 육종, 간질세포암종, 섬유종, 섬유선종, 선종양 종양, 지방종); 간: 간세포암(간세포암종), 담관암종, 간모세포종, 혈관육종, 간세포선종, 혈관종; 뼈: 골형성 육종(골육종), 섬유육종, 악성 섬유조직구종, 연골육종, 유잉 육종, 악성 림프종(망상 세포 육종), 악성 거대 세포 종양 척수종, 골연골종(골연골 외골종), 양성 연골종, 연골모세포종, 연골점액섬유종, 골형성 골종 및 거대 세포 종양; 신경계: 두개골(골종, 혈관종, 육아종, 황색종, 탈형성 골염), 수막(수막종, 수막육종, 신경교종), 뇌(성상세포종, 수모세포종, 신경교종, 뇌실막세포종, 배아종(송과체종), 다형성 신경교종, 과소교종, 슈만종, 망막모세포종, 선천적 종양), 척수 신경섬유종, 수막종, 신경교종, 육종); 부인과: 자궁(자궁내막암), 자궁경부(자궁경부암, 전-종양 자궁경부 이행성증), 난소(난소암) 점액성 낭선암종, 점액성 낭선암종, 미분류 암종, 과립막세포종, 세르톨리-라이디히 세포종양, 디스세르민종, 악성 기형종), 외음부(편평세포암종, 상피내암, 선암종, 섬유육종, 흑색종), 질(투명세포암, 편평세포암종, 포도상육종(배아성 횡문근육종), 나팔관(암종); 혈액: 혈액(골수성 백혈병(급성 및 만성), 급성 림프모구 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 골수증식성 질병, 다발성 골수종, 골수이형성증후군), 호지킨병, 비-호지킨 림프종(악성 림프종); 피부: 악성 흑색종, 기저세포암종, 편평세포암종, 카르포시 육종, 점 이형성 모반, 지방종, 혈관종, 피부섬유종, 켈로이드, 건선; 및 부신: 신경모세포종; 및 수질성 갑상선암을 포함한 갑상선암. 일부 구현양태에서, 종양 또는 암은 재발성 종양 또는 암이다. 일부 구현양태에서, 종양 또는 암은 전이성 종양 또는 암이다. 일부 구현양태에서, 종양 또는 암은 원발성 종양 또는 암이다. 추가적으로 또는 대안적으로, 종양 또는 암은 화학요법 또는 기타 비-5T4-표적 항암 요법에 내성이 있다.

- [0233] 또한, 인간 5T4 결함제와 같은 5T4 결함제(예를 들어, 항체)를 단독으로 또는 다른 제제와 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하여 암을 치료하는 방법이 제공된다.
- [0234] 종양 세포 제거를 "향상"하는 데는 제거를 100% 향상시킬 필요가 없다. 제거 속도의 향상은 고려된다. 마찬가지로, 종양 성장을 "조절"하는 것은 종양의 크기를 줄이거나, 종양 성장을 늦추거나, 기존 종양의 크기 증가를 억제하는 것을 지칭한다. 종양을 완전히 폐지할 필요는 없다; 종양 크기의 감소나 종양 성장의 둔화는 대상체에게 유의한 생물학적 효과를 구성한다. 이와 관련하여, 종양 세포 제거는 예를 들어, 방법의 부재 시 관찰된 제거 수준(예를 들어, 본 방법의 제제에 노출되지 않은 생물학적으로-일치하는 대조군 대상체 또는 표본)과 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10% 또는 적어도 약 20% 향상될 수 있다. 효과는, 예를 들어 종양 크기의 감소, 종양 마커 수준의 감소 또는 유지, 또는 종양 세포 집단의 감소 또는 유지에 의해 감지된다. 일부 구현양태에서, 종양 세포의 제거는, 예를 들어 본 방법의 5T4 결함제(예를 들어, 항체)가 부재하는 경우의 종양 세포 제거와 비교하여 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90% 또는 그 이상(약 100%) 향상된다.
- [0235] 또한, 5T4 결함제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는, 예를 들어 뼈 악화, 척추 붕괴 및 마비와 같은 암과 관련된 부작용을 완화하거나 감소시키는 데 사용될 수 있다. 한 측면에서, 대상체는 뼈 전이를 앓거나 앓을 위험이 있으며, 5T4 결함제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 주변 뼈의 악화를 감소시키는 양으로 투여된다. 따라서, 일부 측면에서, 5T4 결함제는 뼈 전이로 인한 뼈 악화를 방지하는데, 여기서 종양 세포 증식은 감소되거나 감소되지 않는다. 일부 측면에서, 5T4 결함제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 뼈 전이로 인한 뼈 악화를 방지하고 종양 세포 증식을 감소시킨다. 일반적으로, 종양 세포 증식에 대한 효과(예를 들어, 증식 억제 또는 증식에 대한 효과 없음)는 특정 전이의 미세환경에 따라 달라진다. 예를 들어, 1형 콜라겐이 상당량 존재하는 미세환경에 위치한 전이의 증식은 억제될 수 있다. 반면, 1형 콜라겐이 상당량 존재하지 않는 미세환경에 위치한 전이의 증식은 억제되지 않을 수 있지만, 전이 주변의 뼈 악화는 감소되거나 방지된다.
- [0236] 특정 대상체에 대한 5T4 결함제(예를 들어, 항체 또는 ADC)의 특정 투여 요법은 부분적으로 사용된 제제, 투여된 제제의 양, 투여 경로, 부작용의 원인 및 정도에 따라 달라진다. 대상체(예를 들어, 인간과 같은 포유류)에게 투여된 제제(예를 들어, 항체 또는 ADC)의 양은 합리적인 시간 프레임에서 원하는 반응을 나타내기에 충분해야 한다. 따라서 일부 구현양태에서, 대상체에게 투여된 5T4 결함제(예를 들어, 항체 또는 ADC) 또는 본원에서 기술된 약제학적 조성물의 양은 유효량이다.
- [0237] 인간 5T4 결함제(예를 들어, 항체 또는 ADC)와 같은 5T4 결함제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 포함하는 조성물을 투여하는 적합한 경로는 당해 기술 분야에 잘 알려져 있다. 제제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 투여하는 데 두 개 이상의 경로를 사용할 수 있지만, 특정 경로는 다른 경로보다 더 즉각적이고 더 효과적인 반응을 제공할 수 있다.
- [0238] 본 개시내용은 인간 5T4 결함제와 같은 5T4 결함제(예를 들어, 항체 또는 ADC) 및 담체(예를 들어, 약제학적으로 허용되는 담체)를 포함하는 약제학적 조성물과 같은 조성물을 제공한다. 사용되는 특정 담체는 용해도 및 결함제 또는 공동 요법과의 반응성 부족과 같은 화학적-물리적 고려 사항 및 투여 경로에 따라 달라질 수 있다. 약제학적으로 허용되는 담체는 당해 기술 분야에서 잘 알려져 있으며, 그 예는 본원에서 기술된다. 주사용으로 적합한 예시적인 약제학적 형태에는 멸균 수용액 또는 분산액 및 멸균 주사용 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 분말이 포함된다. 주사용 제형은 예를 들어, 문헌[*Pharmaceutics and Pharmacy Practice*, J. B. Lippincott Co., Philadelphia, Pa., Banker and Chalmers. eds., pages 238-250 (1982), 및 *ASHP Handbook on Injectable Drugs*, Toissel, 4th ed., pages 622-630 (1986)]에서 추가로 기술한다. 본원에 제공된 약제학적 조성물의 제조 및 다양한 투여 경로는 당해 기술 분야에서 잘 알려진 방법에 따라 수행될 수 있다. 본 발명의 맥락에서 유용한 전달 시스템에는 시간-방출, 지연 방출 및 지속 방출 전달 시스템이 포함되며, 조성물의 전달은 치료될 부위의 감작을 유발하기 전에 및 충분한 시간 내에 발생하도록 한다. 많은 유형의 방출 전달 시스템이 이용 가능하며 당해 기술 분야의 통상의 기술자에게 알려져 있다. 적합한 방출 전달 시스템에는 폴리(락티드-글리콜리드), 코폴리옥살레이트, 폴리카프로락톤, 폴리에스테르아미드, 폴리오르토에스테르, 폴리하이드록시부티르산 및 폴리안하이드라이드와 같은 중합체 기반 시스템이 포함된다. 약물을 함유하는 상기 중합체의 마이크로캡슐은, 예를 들어 미국 특허 5,075,109에 기재되어 있다. 전달 시스템은 또한 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르와 같은 스테롤과 같은 지질, 및 지방산 또는 모노-디- 및 트리글리세리드와 같은 중성 지방인 비-중합체 시스템; 하이드로겔 방출 시스템; 실라스틱 시스템; 펩타이드-기반 시스템; 왁스 코팅; 통상적인 결함제 및 부형제를 사용한 압축 정제; 부분적으로 융합된 임플란트 등을 포함한다. 구체적인 예로는 다음이 포함되지만 이에 제한되지는 않는다: (a) 활성 조성물이 미국 특허 4,452,775, 4,667,014, 4,748,034 및 5,239,660에 기술된

것과 같은 매트릭스 내의 형태로 함유된 침식 시스템 및 (b) 활성 성분이 미국 특허 3,832,253 및 3,854,480에 기술된 것과 같은 중합체로부터 제어된 속도로 침투하는 확산 시스템. 또한, 일부는 접목에 적합하도록 조정된 펌프-기반 하드웨어 전달 시스템을 사용할 수 있다. 인간 5T4 결합제와 같은 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)를 포함하는 약제학적 조성물은 한 측면에서 이러한 약제학적 조성물의 사용에 대한 지침을 제공하는 포장재와 함께 용기 내에 배치된다. 일반적으로 이러한 지침에는 시약 농도를 기술하는 구체적인 표현이 포함될 뿐만 아니라, 일부 구현양태에서는 약제학적 조성물을 재구성하는 데 필요할 수 있는 부형제 성분이나 희석제(예를 들어, 물, 식염수 또는 PBS)의 상대적인 양도 포함된다.

[0239] 일부 측면에서, 본원에 기술된 방법은 조성물에 존재할 수 있거나 인간 5T4 결합제와 같은 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)와 함께 투여될 수 있거나 동일하거나 다른 투여 경로를 사용하여 별개의 조성물로 제공될 수 있는 치료제를 포함한 하나 이상의 추가 제제를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 치료제를 포함한 하나 이상의 추가 제제는 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)와 함께 또는 별도로(예를 들어, 동시에, 교대로, 순차적으로) 투여될 수 있다(예를 들어, 조합 요법의 경우). 이러한 추가 치료제에는 치료 항체, 면역 요법 및 면역 요법제, 세포독성제, 화학 요법제 및 억제제가 포함되지만 이에 제한되지 않는다.

[0240] 본원에서 기술한 바와 같이(예를 들어, 조합 요법을 위해) 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)와 함께 사용될 수 있는 치료 항체에는 트라스투주맙; 아비식시맙; 다클리주맙; BEC2; IMC-C22; 비탁신; 캠페스 1H/LDP-03; 스마트 M195; 에프라투주맙; 베크투모맙; 비실리주맙; 인간화된 항-ICAM3 항체인 CM3; IDEC-1 14; 이브리투모맙 티옥세탄; IDEC-131; IDEC-151; IDEC-152; SMART 항-CD3; 에쿨리주맙; 아달리무맙; 세르톨리주맙; IDEC-1 51; MDX-CD4; CD20-스랩다비딘; CDP571; LDP-02; 오르토클론 OKT4A; 루폴리주맙; 나탈리주맙; 및 레르텔리무맙; 또는 이들의 바이오시밀러를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0241] 본원에서 기술한 바와 같이 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)와 함께 사용될 수 있는 면역 요법 및 면역 치료제(예를 들어, 조합 요법용)에는 사이토카인, 예를 들어 과립구-대식세포 집락-자극 인자(GM-CSF), 과립구-집락 자극 인자(G-CSF), 대식세포 염증성 단백질(MIP)-1-알파, 인터루킨(IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, IL-15, IL-18, IL-21 및 IL-27 포함), 종양 괴사 인자(TNF-알파 포함) 및 인터페론(IFN-알파, IFN-베타 및 IFN-감마 포함); 수산화 알루미늄(명반); 칼메트-게랭 간균(Bacille Calmette-Guerin, BCG); 키흐 림펫 헤모시아닌(KLH); 불완전 프로인트 보조제(IF A); QS-21; DETOX; 레바미솔; 및 디니트로페닐(DNP) 및 이들의 조합, 예를 들어 인터루킨, 예를 들어 IL-2와 IFN-알파와 같은 다른 사이토카인의 조합이 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 일부 구현양태에서, 면역 요법은 면역 반응을 조절하는 면역 치료제, 예를 들어 체크포인트 억제제 또는 체크포인트 작용제를 포함한다. 일부 구현양태에서, 면역 치료제는 당해 기술 분야에서 알려진 PD-1, 5T4, PD-L2, CEACAM(예를 들어, CEACAM-1, -3 및/또는 -5), CTLA-4, TIM-3, LAG-3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, TGF 베타, OX40, 41BB, LIGHT, CD40, GITR, TGF-베타, TIM-3, SIRP-알파, VSIG8, BTLA, SIGLEC7, SIGLEC9, ICOS, B7H3, B7H4, FAS 및/또는 BTNL2 등을 표적으로 하는 항체 조절제이다. 일부 구현양태에서, 면역 치료제는 자연 살해(NK) 세포 활성을 증가시키는 제제이다. 일부 구현양태에서, 면역 치료제는 면역 반응의 억제를 억제하는 제제이다. 일부 구현양태에서, 면역 치료제는 억제 세포 또는 억제 세포 활동을 억제하는 제제이다. 일부 구현양태에서, 면역 치료제는 Treg 활동을 억제하는 제제 또는 요법이다. 일부 구현양태에서, 면역 치료제는 억제 면역 체크포인트 수용체의 활성을 억제하는 제제이다.

[0242] 일부 구현양태에서, 면역 치료제는 보조 자극 분자의 작용제 또는 활성제로부터 선택된 T 또는 NK 또는 NKT 세포 조절제를 포함한다. 한 구현양태에서, 보조 자극 분자의 작용제는 GITR, OX40, ICOS, SLAM(예를 들어, SLAMF7), HVEM, LIGHT, CD2, CD27, CD28, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD1 1a/CD18), ICOS(CD278), 4-1BB(CD137), CD30, CD40, BAFFR, CD7, NKG2C, Nkp80, CD160, B7-H3 또는 CD83 리간드의 작용제(예를 들어, 작용 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 가용성 용합물)로부터 선택된다. 다른 구현양태에서, 이펙터 세포 조합은 이중특이성 T 세포 참여자(예를 들어, CD3 및 종양 항원(예를 들어, EGFR, PSCA, PSMA, EpCAM, HER2 등)에 결합하는 이중특이성 항체 분자) 또는 이중특이성 NK 세포 참여자를 포함한다.

[0243] 본원에 기술된 바와 같이(예를 들어, 조합 요법의 경우) 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)와 함께 사용될 수 있는 세포독성제는 세포 작용을 억제하거나 방지하고 및/또는 세포 사멸 또는 파괴를 유발하는 물질을 포함한다. 예시적인 세포독성제는 방사성 동위 원소(예를 들어, At211, I131, I125, Y90, Re186, Re188, Sm153, Bi212, P32, Pb212 및 Lu의 방사성 동위 원소); 성장 억제제; 예를 들어 핵산 분해 효소와 같은 효소 및 그 단편; 및 단편 및 변이체를 포함하여 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 유래의 소분자 독소 또는 효소 활성 독소와 같은 독소를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 다른 대표적인 세포독성제는 항미세관제, 백금 배위 복합체, 알킬화제, 항생제, 토포이소머라제 II 억제제, 항대사제, 토포이소머라제 I 억제제, 호르몬 및 호르몬 유사체, 신

호 변환 경로 억제제, 비-수용체 티로신 키나제 신생혈관생성 억제제, 면역 치료제, 프로아포토시스제, LDH-A 억제제; 지방산 생합성 억제제; 세포 주기 신호 전달 억제제; HDAC 억제제, 프로테아좀 억제제; 및 암 대사 억제제에서 선택될 수 있다.

[0244]

본원에서 기술한 바와 같이 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)와 함께 사용될 수 있는 화학 요법제(예를 들어, 조합 요법용)에는 암 치료에 유용한 화학 화합물이 포함된다. 화학 요법제의 예로는 에를로티닙, 보르테조미프, 디술피람, 에피갈로카테킨 갈레이트, 살리노스포라미드 A, 카르필조미프, 17-AAG(겔다나마이신), 라디시콜, 락테이트 탈수소효소 A(LDH-A), 폴베스트란트, 수니티브, 레트로졸, 이마티닙 메실레이트, 에프마수네이트, 옥살리플라틴, 5-FET(5-플루오로우라실), 류코보린, 라파마이신, 라파티닙, 로나파미프(SCH 66336), 소라페닙, Bayer Labs), 게피티닙, AG1478; 티오테파 및 CYTOXAN®과 같은 알킬화제; 사이클로스포스파미드; 부술판, 임프로술판 및 피포술판과 같은 알킬 설포네이트; 벤조도파, 카르보쿠온, 메투레도파 및 우레도파와 같은 아지리딘; 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포라미드, 트리에틸렌티오포스포라미드 및 트리에틸로멜라민을 포함하는 에틸렌이민 및 메틸아멜라민; 아세토게닌(특히 볼라타신 및 볼라타시논); 캄프토테신(토포테칸 및 이리노테칸 포함); 브리오스타틴; 캘리 스타틴; CC-1065(아도젤레신, 카르젤레신 및 비젤레신 합성 유사체 포함); 크립토피신(특히 크립토피신 1 및 크립토피신 8); 아드레노코르티코스테로이드(프레드니손 및 프레드니솔론 포함); 시프로테론 아세테이트; 피나스테라이드 및 두타스테라이드를 포함한 5 알파-환원효소); 보리노스타트, 로미테핀, 파노비노스타트, 발프로산, 모세티노스타트 돌라스타틴; 알데스루킨, 활석 듀오카마이신(합성 유사체인 KW-2189 및 CBI-TM1 포함); 엘루테로빈; 판크라티 스타틴; 사르코딕티인; 스폰지스타틴; 질소 머스타드, 예를 들어 클로람부실, 클로마파진, 클로로포스파마이드, 에스트라무스틴, 이포스파마이드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥사이드 하이드로클로라이드, 멜팔란, 노벤펜, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파마이드, 우라실 머스타드; 니트로소우레아, 예를 들어 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴 및 라님누스틴; 에네다이인 항생제(예를 들어, 칼리케아미신, 특히 칼리케아미신 감마 II 및 칼리케아미신 오메가 I(Angew Chem. Inti. Ed. Engl. 1994 33: 183-186))와 같은 항생제; 다이네마이신 A를 포함한 다이네마이신; 클로드로네이트와 같은 비스포스포네이트; 에스페라마이신; 네오카르지노스타틴 발색단백질 및 관련 발색단백질 에네다이인 항생제 발색단백질), 아클라시노마이신, 액티노마이신, 오프라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 카르티노마이신, 카라비신, 카미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신, 모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신 및 데옥시독소루비신), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신 C와 같은 미토마이신, 미코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포르피로마이신, 퓨로마이신, 켈라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 튜베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 조루비신; 메토크세이트 및 5-플루오로우라실(5-FU)과 같은 항대사제; 데노프테린, 메토크세이트, 프테로프테린, 트리메토크세이트와 같은 엽산 유사체; 플루다라빈, 6-머캅토피린, 티아미프린, 티오구아닌과 같은 퓨린 유사체; 안시타빈, 아자시티딘, 아자우리딘, 카르모푸르, 시타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록스우리딘과 같은 피리미딘 유사체; 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 테스토라톤과 같은 안드로겐; 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄과 같은 항부신제; 프로린산과 같은 엽산 보충제; 아세글라톤; 알도포스파마이드 글리코사이드; 아미노레볼린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트렉세이트; 데오파민; 데메콜린; 디아지쿠온; 엘포미딘; 엘립티늄 아세테이트; 에포틸론; 에토글루시드; 질산갈륨; 하이드록시우레아; 렌티난; 로니다이인; 메이탄신 및 안사미토신과 같은 메이탄시노이드; 미토구아존; 미톡산트론; 모피담놀; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로소잔트론; 포도필린산; 2-에틸히드라지드; 프로카바진; PSK® 폴리사카라이드 복합체(JHS Natural Products, Eugene, Ore.); 라조산; 리조신; 시조푸란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리메틸아민; 트리코테센, 특히 T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 앙귀딘); 우레탄; 빈테신; 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미톨락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노사이드 "Ara-C"); 사이클로포스파마이드; 티오테파; 탁소이드, 예를 들어, 파클리탁셀, ABRAXANE®(크레모포르-무함유), 파클리탁셀의 알부민-조작된 나노입자 제형(American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.), 도세탁셀/독세탁셀; 클로람부실; 잼시타빈; 6-티오구아닌; 머캅토피린; 메토크세이트; 시스플라틴 및 카보플라틴과 같은 백금 유사체; 빈블라스틴; 에토포사이드 (VP-16); 이포스파미드; 미톡산트론; 빈크리스틴; 비노렐빈; 노반트론; 테니포시드; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 카페시타빈; 이반드로네이트; CPT-11; 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸 오르니틴(DMFO); 레티노산과 같은 레티노이드; 및 상기 중 어느 것의 약제학적으로 허용되는 염, 산 및 유도체를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 화학 요법제에는 또한 (i) 항에스트로겐 및 선택적 에스트로겐 수용체 조절제(SERM)와 같이 종양에 대한 호르몬 작용을 조절 또는 억제하는 항호르몬제, 예를 들어 타목시펜(타목시펜 시트

레이트 포함), 탈록시펜, 드롤록시펜, 요오독시펜, 4-하이드록시타목시펜, 트리옥시펜, 케옥시펜, LY117018, 오나프리스톤 및 토레미핀 시트레이트; (ii) 부신에서 에스트로겐 생성을 조절하는 효소 아로마타제를 억제하는 아로마타제 억제제, 예를 들어 4(5)-이미다졸, 아미노글루테티미드, 메게스트롤 아세테이트, 엑세메스탄, 포르메스타니, 파드로졸, 보로졸, 레트로졸 및 아나스트로졸; (iii) 항-안드로겐, 예를 들어 플루타미드, 닐루타미드, 비칼루타미드, 류프롤리드 및 고세렐린; 부세렐린, 트립테렐린, 메드록시프로게스테론 아세테이트, 디에틸 스틸베스트롤, 프레마린, 플루옥시메스테론, 모든 트랜스테티온산, 펜테티나이드 및 트록사시타빈(1,3-디옥솔란 뉴클레오시드 시토신 유사체); (iv) 단백질 키나제 억제제; (v) 지질 키나제 억제제; (vi) 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 특히 PKC-알파, Ralf 및 H-Ras와 같이 비정상적인 세포 증식에 연루된 신호 전달 경로에서 유전자의 발현을 억제하는 것; (vii) VEGF 발현 억제제(예를 들어, ANGIOZYME®) 및 HER2 발현 억제제와 같은 리보자임; (viii) 유전자 치료 백신과 같은 백신, 예를 들어, ALLOVECTIN®, LEUVECTIN® 및 VAXID®; PROLEUKIN®, rIL-2; 토포이소머라제 1 억제제, 예를 들어 LEIRTOTECAN®; ABARELIX®); 및 (ix) 상기의 것들 중 어느 것의 약제학적으로 허용되는 염, 산 및 유도체가 포함된다.

[0245] 화학요법제에는 또한 상기 설명한 바와 같이 알렘투주맙, 베바시주맙; 세톡시맙; 파니투무맙, 리톡시맙, 페르투주맙, 토시투모맙을 포함한 항체 및 항체 약물 접합체인 켄투주맙 오조가미신이 포함된다. 본원에 기술된 바와 같은 5T4 결합제(예를 들어, 항체)와 조합된 제제로서 치료 가능성이 있는 추가적인 인간화 단일클론 항체에는 다음이 포함된다: 아폴리주맙, 아셀리주맙, 아틀리주맙, 바피누주맙, 비바투주맙 메르탄신, 칸투주맙 메르탄신, 세렐리주맙, 세르톨리주맙 페골, 시드푸시투주맙, 시드투주맙, 다클리주맙, 에쿨리주맙, 에팔리주맙, 에프라투주맙, 에를리주맙, 펠비주맙, 폰톨리주맙, 켄투주맙 오조가미신, 이노투주맙 오조가미신, 이필리무맙, 라베투주맙, 린투주맙, 마투주맙, 메폴리주맙, 모타비주맙, 모토비주맙, 나탈리주맙, 니모투주맙, 니블루맙, 놀로비주맙, 누마비주맙, 오크렐리주맙, 오말리주맙, 팔리비주맙, 파스폴리주맙, 펙푸시투주맙, 펙투주맙, 펙셀리주맙, 팔리비주맙, 라니비주맙, 레슬리비주맙, 레슬리주맙, 레시비주맙, 로벨리주맙, 루폴리주맙, 시브로투주맙, 시폴리주맙, 손투주맙, 타카투주맙 테트라크세탄, 타도시주맙, 탈리주맙, 테피바주맙, 토실리주맙, 토탈리주맙, 투코투주맙 셀물류킨, 투쿠시투주맙, 우마비주맙, 우르독사주맙, 우스테키누맙, 비실리주맙 및 인터루킨-12 p40 단백질을 인식하도록 유전적으로 변형된, 재조합 독점적 인간 서열, 전장 IgG1 λ 항체인 항인터루킨-12 (ABT-8744695, Wyeth Research and Abbott Laboratories). 화학 요법제에는 텍사메타손, 인터페론, 콜히친, 메토프린, 사이클로스포린, 암포테리신, 메트로니다졸, 알렘투주맙, 알리트레티노인, 알로퓨리놀, 아미포스틴, 삼산화비소, 아스파라기나아제, BCG 생약, 베바쿠지맙, 백사로텐, 클라드리빈, 클로파라빈, 다르베포에틴 알파, 데닐루킨, 텍사라조산, 에포에틴 알파, 엘로티닙, 필그라스티م, 히스트렐린 아세테이트, 이브리투모맙, 인터페론 알파-2a, 인터페론 알파-2b, 레날리도마이드, 레바미솔, 메스나, 메톡살렌, 난드롤론, 넬라라빈, 노페투모맙, 오프렐베킨, 팔리페르민, 파미드로네이트, 페가데마제, 페가스파르가제, 페그필그라스티م, 페메트렉세드 이나트륨, 플리카마이신, 포르피머 나트륨, 키나크린, 라스부리카제, 사르그라마스티, 테모졸로마이드, VM-26, 6-TG, 토레미펜, 트레티노인, ATRA, 발루비신, 졸레드로네이트 및 졸레드론산, 및 이들의 약제학적으로 허용되는 염.

[0246] 화학요법제에는 또한 히드로코르티손, 히드로코르티손 아세테이트, 코르티손 아세테이트, 텍소코르톨 피발레이트, 트리암시놀론 아세토나이드, 트리암시놀론 알코올, 모메타손, 암시노나이드, 부테소나이드, 테소나이드, 플루오시노나이드, 플루오시놀론 아세토나이드, 베타메타손, 베타메타손 인산나트륨, 텍사메타손, 텍사메타손 인산나트륨, 플루오코르톨론, 히드로코르티손-I7-부티레이트, 히드로코르티손-17-발레레이트, 아클로메타손 디프로피오네이트, 베타메타손 발레레이트, 베타메타손 디프로피오네이트, 프레드니카르베이트, 클로메타손-I7-부티레이트, 클로메타손-I7-프로피오네이트, 플루오코르톨론 카프로에이트, 플루오코르톨론 피발레이트 및 플루프레드니텐 아세테이트; 페닐알라닌-글루타민-글리신(FEG) 및 그 D-이성체 형태(feG)(IMULAN BioTherapeutics, LLC)와 같은 면역 선택적 항-염증성 펩타이드(ImSAIDs); 아자티오프린, 시클로스포린(사이클로스포린 A), D-페니실라민, 금염, 하이드록시클로로퀸, 레플루노미데미노사이클린, 설파살라진과 같은 항류마티스 약물, 에타네르셉트, 인플릭시맙, 아달리무맙, 세르톨리주맙 페골, 골리무맙(Simponi)과 같은 종양괴사인자 알파(TNF 알파) 차단제, 아나킨라와 같은 인터루킨 1(IL-1) 차단제, 아바타셉트와 같은 T세포 보조 자극 차단제, 토실리주맙과 같은 인터루킨 6(IL-6) 차단제; 레브리키주맙과 같은 인터루킨 13(IL-13) 차단제; 론탈리주맙과 같은 인터페론 알파(IFN) 차단제; rhuMAb Beta7과 같은 베타 7 인테그린 차단제; 항-M1 프라임과 같은 IgE 경로 차단제; 항-립프독소 알파(LTa)와 같은 분비된 동종삼량체 LTa3 및 막 결합 이종삼량체 LTa1/132 차단제; 티오플라틴, PS-341, 페닐부티레이트, ET-I8-OCH3 또는 파네실 전이효소 억제제(L-739749, L-744832)와 같은 기타 조사용제; 케르세틴, 레스베라트롤, 피세아탄올, 에피갈로카테킨 갈레이트, 테아플라빈, 플라바놀, 프로시아니딘, 베틀린산 및 그 유도체와 같은 폴리페놀; 클로로퀸과 같은 자가포식 억제제; 델타-9-테트라히드로카나비놀(드로나비놀); 베타-라파론; 라파콜; 콜히신; 베틀린산; 아세틸캄프로테신, 스코폴렉틴 및 9-아미노캄프로테신); 포

도필로톡신; 테가푸르; 백사로텐; 클로드로네이트, 에티드로네이트, NE-58095, 졸레드론산/졸레드로네이트, 알렌드로네이트, 파미드로네이트, 틸루드로네이트 또는 리세드로네이트와 같은 비스포스포네이트; 및 상피 성장인자 수용체(EGF-R); THERATOPE® 백신과 같은 백신; 페리포신, COX-2 억제제(예를 들어, 셀레콕시브 또는 에토리콕시브), 프로테오솜 억제제(예를 들어, PS341); CCI-779; 티피파딤(R11577); 오라페넵, ABT510; 오블리머센 나트륨 픽산트론과 같은 Bcl-2 억제제; 로나파딤(SCH 6636)와 같은 파르네실 트랜스퍼라제 억제제; 및 상기 중 어느 것의 약제학적으로 허용되는 염, 산 또는 유도체; 및 상기 중 두 가지 이상의 조합, 예를 들어 사이클로포스파마이드, 독소루비신, 빈크리스틴, 및 프레드니솔론의 조합 요법의 약자인 CHOP; 및 5-FU 및 류코보린과 조합된 옥살리플라틴을 사용한 치료 요법의 약자인 FOLFOX을 포함한다. 화학 요법제에는 또한 올라파립, 루카프립, 니라파립, 탈조파립과 같은 폴리 ADP 리보스 중합 효소(PARP) 억제제도 포함된다.

[0247] 본원에서 기술한 바와 같이 5T4 결합제(예를 들어, 항체)와 함께 사용될 수 있는 억제제(예를 들어, 조합 요법용)에는 키나제 억제제, 예를 들어 이마티닙, 바리시티닙, 게피티닙, 에를로티닙, 소라페넵, 다사티닙, 수니티닙, 라파티닙, 닐로티닙, 피르페니돈, 파조파넵, 크리조티닙, 베무라페넵, 반데타닙, 록솔리티닙, 악시티닙, 보수티닙, 레고라페넵, 토파시티닙, 카보잔티닙, 포나티닙, 트라메티닙, 다브라페넵, 아파티닙, 이브루티닙, 세리티닙, 이델라리십, 닌테다닙, 팔보시클리브, 렌바티닙, 코비메티닙, 아베마시클리브, 아갈라브루티닙, 알렉티닙, 비니메티닙, 브리가티닙, 엔코라페넵, 에르다피티닙, 에베로리무스, 포스타마티닙, 길터, 라로트렉티닙, 로라티닙, 네타르수틸, 오시머티닙, 페미가티닙, 펙시다르티닙, 리보시클립, 템시롤리무스, XL-092, XL-147, XL-765, XL-499 및 XL-880이 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 일부 구현양태에서, 본원에 기술된 화합물은 HSP90 억제제(예를 들어, XL888), 간 X 수용체(LXR) 조절제, 레티노이드-관련 고아 수용체 감마(RORγ) 조절제, CK1 억제제 또는 aCK1α 억제제와 같은 체크포인트 억제제, Wnt 경로 억제제(예를 들어, SST-215), 또는 미네랄코르티코이드 수용체 억제제(예를 들어, 에삭세론) 또는 XL-888과 조합되어, 암과 같은 본원에 개시된 질병을 치료하는데 사용할 수 있다. 일부 구현양태에서, 본원 개시된 5T4 결합제(예를 들어, 항체)는 암 치료를 위해 다음 키나제의 하나 이상의 억제제와 결합될 수 있다: Akt1, Akt2, Akt3, TGF-βR, PKA, PKG, PKC, CaM-키나제, 인산화효소 키나제, MEKK, ERK, MAPK, mTOR, EGFR, HER2, HER3, HER4, 1NS-R, IGF-1R, IR-R, PDGF αR, PDGF β/R, CSFIR, KIT, FLK-II, KDR/FLK-1, FLK-4, flt-1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, Ron, Sea, TRKA, TRKB, TRKC, FLT3, VEGFR/Flt2, Flt4, EphA1, EphA2, EphA3, EphB2, EphB4, Tie2, Src, Fyn, Lck, Fgr, Btk, Fak, SYR, FRK, JAK (JAK1 및/또는 JAK2), ABL, ALK, CDK7, CDK12, KRAS, 및 B-Raf.

[0248] 예를 들어, 암 치료(예를 들어, 조합 요법)를 위해 본원에서 기술된 바와 같이 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)와 함께 사용될 수 있는 억제제의 추가 비-제한적 예에는 FGFR 억제제(FGFR1, FGFR2, FGFR3 또는 FGFR4, 예를 들어, 페미가티닙), EGFR 억제제(ErbB-1 또는 HER-1로도 알려짐, 예를 들어, 에를로티닙, 게피티닙, 반데타닙, 오르시머티닙, 세툽시맙, 네시투무맙, 또는 파니투무맙), VEGFR 억제제 또는 경로 차단제(예를 들어, 베바시주맙, 파조파넵, 수니티닙, 소라페넵, 악시티닙, 레고라페넵, 포나티닙, 반데타닙, 라무시루맙, 렌바티닙, 지브-아플리버셉트), PARP 억제제(예를 들어, 올라파립, 루카파립, 벨리파립 또는 니라파립), JAK 억제제(예를 들어, 록솔리티닙, 바리시티닙, 이타시티닙), IDO 억제제(예를 들어, 에파카도스타트, NLG919 또는 BMS-986205, MK7162), LSD1 억제제, TDO 억제제, PI3K-델타 억제제(예를 들어, 파사클리시브), PI3K-감마 억제제, 예를 들어, PI3K-감마 선택적 억제제, Pim 억제제, CSF1R 억제제, TAM 수용체 티로신 키나제(Tyro-3, AxI 및 Mer), 아데노신 수용체 길항제(예를 들어, A2a/A2b 수용체 길항제), HPK1 억제제, 케모카인 수용체 억제제(예를 들어, CCR2 또는 CCR5 억제제), SHP1/2 포스포타제 억제제, 히스톤 데아세틸라제 억제제(HDAC), 예를 들어 HDAC8 억제제, 혈관신생 억제제, 인터루킨 수용체 억제제, 브로모 및 추가 말단 계열 구성원 억제제(예를 들어, 브로모도메인 억제제 또는 BET 억제제, 또는 이들의 조합)을 포함한다.

[0249] 일부 구현양태에서, 본원에 개시된 5T4 결합제(예를 들어, 항체 또는 ADC)는 PD-1 억제제 또는 5T4 억제제, 예를 들어, 항-PD-1 단일클론 항체 또는 항-5T4 단일클론 항체, 예를 들어 니볼루맙(Opdivo), 캄브롤리주맙(Keytruda, MK-3475), 아테졸리주맙, 아벨루맙, 세미폴리맙, 스파탈리주맙, 캄렐리주맙, 세트렐리맙, 토리팔리맙, 신틸리맙, AB122, JTX-4014, BGB-108, BCD-100, BAT1306, LZM009, AK105, HLX10 및 TSR-042, AMP-224, AMP-514, PDR001, 두르발루맙, 피달리주맙(Imfinzi®, CT-011), CK-301, BMS 936559, MPDL3280A, 티슬렐리주맙, BMS-935559, MEDI4736, FAZ053, KN035, CS1001, CBT-502, A167, STI-A101, BGB-A333, MSB-2311, HLX20, AUNP12, CA-170, BMS-986189, LY3300054, 및 MSB0010718C와 조합하여 사용될 수 있다.

[0250] 일부 구현양태에서, 본원에 개시된 바와 같은 다중특이성 결합제는 CTLA-4 억제제, 예를 들어 이필리무맙(Yervoy), 트레렐리무맙 및 AGEN1884와 같은 항-CTLA-4 항체와, 또는 포스포티딜세린 억제제, 예를 들어 바비톡시맙(PGN401)과, 또는 사이토카인(IL-10, TGF-β 등)에 대한 항체와, 또는 5T4 및 CTLA-4(예, AK104) 또는 PD-1

및 CTLA-4에 결합하는 이중특이성 항체와, 또는 세밀피막과 같은 다른 항암제와 조합하여 사용할 수 있다.

[0251] 추가 제제는 상기 기술된 이러한 치료제 또는 다른 제제의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 아마이드, 수화물 및/또는 전구약물일 수 있다.

[0252] 본원에 기술된 다양한 구현양태의 활성화에 실질적으로 영향을 미치지 않는 변형도 본원에 기술된 주제의 정의 내에서 제공되는 것으로 이해된다. 따라서, 다음 실시예는 본 개시내용을 예시하기 위한 것이지 제한하기 위한 것이 아니다.

[0253] **실시예**

[0254] **실시예 1. 항체 생성**

[0255] 인간 5T4에 대한 결합제를 얻기 위해, 항체 발견은 파지 디스플레이에 의해 수행되었다.

[0256] **A. 파지 디스플레이**

[0257] 인간 5T4에 대한 결합제를 얻기 위해, 항체 발견은 인간 Fab 라이브러리의 파지 디스플레이에 의해 수행되었으며 표준 프로토콜을 사용하여 수행되었다. 인간 5T4의 세포외 도메인은 Acro Biosystems(비오티화된 인간 5T4 His-AVitag Acro Cat No. TPG-H83Eb)에서 구입하거나 생산했다. 생산된 항원은 인간 5T4, 시노물구스 5T4 및 마우스 5T4로 구성되었으며, 모두 C-말단 6-his-Avi 태그를 함유하는 벡터에 클로닝되었고 가능한 경우 표준 절차를 사용하여 공동-발현 비오티인 리가제 효소를 사용하여 시험관내에서 비오티화되었다.

[0258] 파지 클론은 비오티화된 인간 5T4에 결합하는 능력에 대해 스크리닝되었다. 간단히 말해서, Fab-형식화된 파지 라이브러리는 파지에서 복제 및 발현이 가능한 발현 벡터(파지미드라고도 함)를 사용하여 구성되었다. 중쇄 및 경쇄는 모두 동일한 발현 벡터에 인코딩되었으며, 여기서 중쇄는 파지 코트 단백질 pIII의 절단된 변이체에 융합되었다. 경쇄 및 중쇄-pIII 융합체는 별개의 폴리펩타이드로 발현되었고, 산화환원 전위가 디설파이드 결합 형성을 가능하게 하는 박테리아 주변질에서 조립되어 후보 항체의 항원 결합 도메인(Fab)을 형성했다.

[0259] 라이브러리는 특정 인간 중쇄 가변 도메인 및 특정 인간 경쇄 가변 도메인에서 유래된 서열을 사용하여 생성되었다. 스크리닝된 라이브러리 내의 경쇄 가변 도메인은 다양성이 VL CDR3(L3)에 도입되어 생성되었고, 경쇄 VL CDR1(L1) 및 CDR2(L2)는 인간 생식 세포 서열로 유지되었다. 스크리닝된 라이브러리의 경우, VH 영역의 세 개의 모든 CDR은 인간 항체 레퍼토리에서 발견되는 CDR 길이에 따른 위치 아미노산 빈도와 일치하도록 다양화되었다. 라이브러리에서 사용된 파지 디스플레이 중쇄(서열번호:72) 및 경쇄(서열번호:73) 스캐폴드는 아래와 같으며, 여기서 "x"는 라이브러리를 생성하기 위해 변화된 CDR 아미노산을 나타내고 굵은 기울임체는 불변 CDR 서열을 나타낸다.

[0260] 서열번호:72에 대한 서열은 다음과 같다:

[0261] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSXXXXXWVRQAPGKGLEWVAXXXXXXXXXXXXXXXXXXRFITISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARXXXXX
XXXXXXXXXXWGQGLTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTY
ICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSC.

[0262] 서열번호:73에 대한 서열은 다음과 같다:

[0263] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSSASLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCXXXXXXXXXFGQGT
KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDSQLKSGTASVCLNNFYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP
VTKSFNRGEC.

[0264] 다양성은 변성 DNA 올리고뉴클레오타이드 프라이머를 사용하여 돌연변이생성을 통해 생성되어 VL CDR3(L3) 및 VH CDR1(H1), CDR2(H2) 및 CDR3(H3)에 다양성을 도입하여 자연 항체 레퍼토리에서 발견되는 다양성을 모방했으며, 이는 Kunkel, TA(PNAS January 1, 1985. 82 (2) 488-492)에 자세히 기술되어 있으며, 이는 본원에 전체적으로 참조로 포함되어 있다. 간단히 말해서, 우라실-통합된 단일-가닥 원형 DNA는 표준 절차를 사용하여 분리된 파지에서 제조되었고, Kunkel 돌연변이생성은 4개의 CDR에 다양성을 도입하기 위해 수행되었다. 화학적으로-합성된 DNA는 TG1 세포에 전기천공된 후 회수되었다. 회수된 세포는 계대 배양되고 M13K07 헬퍼 파지로 감염되어 파지 라이브러리를 생산했다.

[0265] 파지 패닝은 표준 절차를 사용하여 수행했다. 간단히 말해서, 첫 번째 라운드의 파지 패닝은 스트렙타비딘 자기 비드 상에 고정된 표적을 사용하여 수행했으며, 이 비드에 제조된 라이브러리에서 약 1×10^{12} 개의 파지를 PBST-2%

BSA의 1mL 용량으로 처리했다. 1시간 인큐베이션 후, 비드-결합 파지를 자기 스탠드를 사용하여 상층액에서 분리했다. 비드를 세 번 세척하여 비-특이적으로 결합된 파지를 제거한 다음, OD₆₀₀이 약 0.6일 때 ER2738 세포(5 mL)에 첨가했다. 실온에서 20분 인큐베이션 후, 감염된 세포를 25 mL 2xYT + 암피실린 및 M13K07 헬퍼 파지(최종 농도 약 1×10^{10} pfu/mL)에 계대 배양하고 격렬하게 진탕하면서 37°C에서 밤새도록 성장시켰다. 다음 날, 파지는 PEG 침전을 통해 표준 절차를 사용하여 제조되었다. 패닝 전에 SAV-코팅된 비드에 특이적인 파지의 사전 클리어런스를 수행했다. 두 번째 패닝 라운드는 표준 절차(라운드 3의 경우 100 nM 5T4, 라운드 4의 경우 50 nM 5T4)를 사용하여 50 또는 100 nM 비드-고정화된 5T4 항원이 있는 KingFisher 자기 비드 핸들러를 사용하여 수행했다. 총 3-4라운드의 파지 패닝을 수행하여 5T4 항원에 특이적인 Fab를 표시하는 파지를 농축했다. 5T4-특이적 농축은 다클론 ELISA를 사용하여 확인했고 개별 클론을 분리하여 단일클론 파지 ELISA를 수행하여 추가로 검증했다. DNA 시퀀싱을 사용하여 후보 항체를 함유하는 분리된 Fab 클론의 CDR 서열을 결정했다.

[0266] 후보 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 인코딩하는 유전자는 포유류 세포에서 전장 IgG로 발현하기 위해 포유류 발현 벡터에 별도로 클로닝되었다.

[0267] 전장 IgG의 경우, 중쇄 불변 영역(예를 들어, CH1 = 일반 글씨; 힌지 = 기울임체 글씨; CH2 = 굵은 글씨; 및 CH3 = 밑줄 글씨)에는 다음 아미노산 서열이 포함되었다:

[0268] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호:74).

[0269] 전장의 IgG의 경우, 경쇄 불변 영역(예를 들어, CL)에는 다음 아미노산 서열이 포함되었다:

[0270] RTVAAPSVFIFPPSDSQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호:75).

[0271] IgG 항체는 단백질 A 수지를 사용하여 배양 상층액에서 정제되었다.

[0272] 실시예 2. 스크리닝 검증

[0273] 2가 결합 검증은 실시예 1에서 파지 디스플레이를 통해 얻은 VH/VL를 갖는 항체가 인간, 시노물구스 원숭이(시노), 및 마우스의 세 가지 임상적으로 관련된 종에서 모두 고정된 5T4에 결합했는지에 대한 데이터를 제공하는 데 사용되었다. 2가 결합 및 교차-반응성 검증의 경우, 5T4 인간, 시노, 및 마우스 항원은 단백질 데이터베이스의 서열을 사용하여 합성되었고 his-avi 태그와 공동-발현된 BirA 효소를 사용한 생체내 비오틴화를 사용하여 비오틴화된 단백질로 발현되었다.

[0274] 표준 옥텟-기반 검증은 각 항체가 각 항원에 결합했는지 정성적으로 결정하는 데 사용되었다. 이러한 검증의 경우, 200 nM 비오틴화된 항원을 1X 운동 완충액(ForteBio)의 스트랩타비딘 바이오센서에 고정시켰다. 그런 다음, 로딩된 센서를 500 nM의 관심 항체를 함유하는 웰에 담고 연관 결합 신호를 모니터링했다. 연관 단계 동안 음성 대조군보다 신호가 증가하면 항원에 결합한 것으로 간주했다.

[0275] 옥텟을 사용한 정성적 결합 친화도의 경우, 테스트된 27개 항체 모두 인간 5T4에 결합하는 것으로 나타났고, 13개 항체는 또한 시노 5T4에 결합하는 것으로 나타났으며, 13개 항체는 또한 마우스 5T4에 결합하는 것으로 나타났다. 예시적 항체에 대한 데이터는 아래 표 4에 나와 있다.

[0276] 표 4. 옥텟에 의한 정성적 2가 결합 친화도

항체	인간 5T4 옥텟 (2 가)	시노 5T4 옥텟 (2 가)	마우스 5T4 옥텟 (2 가)
mAbA4	+	+	-
mAbA15	+	+	+
mAbA17	+	+	+

[0277]

[0278] 1가 결합 검증을 사용하여 실시예 1의 파지 디스플레이에서 얻은 각 5T4 결합체의 인간 5T4에 대한 상대적 친화도를 결정했다. 인간 5T4는 Acro Biosystems(Acro Catalog No. TPGH52E)에서 구입했으며 별도로 생산했다. 인

간 5T4에 대한 결합체의 1가 상호작용은 옥텟(Pall ForteBio) 기기를 사용하여 모니터링했다. 이러한 검정의 경우, 36 nM 항체를 1X 운동 완충액(ForteBio)에서 항-인간 Fc(AHC) 센서에 고정했다. 그런 다음 센서를 1 μ M에서 1.37 nM 범위의 인간 5T4의 3X 연속 희석액을 함유하는 웰에 담갔다. 결합이 평형에 도달하도록 두었다. 그런 다음 센서를 1X 운동 완충액만 함유하는 웰로 옮겨 평형까지 해리되도록 두었다. 결합 및 해리 속도가 측정되었고, 이를 통해 온보드 분석 소프트웨어(ForteBio)를 사용하여 1가 K_D 를 계산했다.

[0279] 테스트된 27개의 항체 중 대부분은 1가 결합 친화도 - 내부(Lot 20-019-62) 검정에서 약한 결합을 보였다. mAbA4, mAbA15 및 mAbA17은 세 로트 모두에서 강하거나 보통의 결합을 보이는 항체이다. 데이터는 아래 표 5에 나와 있다.

[0280] 표 5. 옥텟에 의한 정성적 1가 결합 친화도

항체	1 가 결합 친화도- Acro TPGH52E5 (Lot B465-87AF1-K 2)	1 가 결합 친화도- 내부 (Lot 20-019-62)	1 가 결합 친화도- Acro TPGH52E5 (Lot B465-87AF1-JP)
	옥텟	옥텟	옥텟
	K_D [nM]	K_D [nM]	K_D [nM]
mAbA4	0.01	83	30.2
mAbA15	3.62	10.4	11.2
mAbA17	2.81	9.34	21.1

[0282] 실시예 3: 추가 스크리닝 및 선택

[0283] 예를 들어, 실시예 2에 기술된 것과 같은 5T4에 결합하도록 선택된 항체는 5T4를 발현하는 세포에 대한 결합에 대해 평가되었다.

[0284] 세포는 검정 당일 70-90% 합류에서 수확했다. v-바닥 96웰 플레이트(Costar 3897)에서 웰당 100,000개의 세포를 웰당 50 μ L의 8- 또는 12-포인트 항체 희석 시리즈와 함께 +4°C에서 30분 동안 인큐베이션했다. 인큐베이션 후, 세포를 200 x g에서 5분 동안 원심분리하여 PBS로 한 번 세척했다. 그런 다음 세포를 웰당 50 μ L의 Alexa Fluor 488 염소 항-인간 IgG Fab(Jackson Immuno Research 109-547-003)와 1:100 희석하여 +4°C에서 30분 동안 인큐베이션했다. 세포를 200 x g에서 5분 동안 원심분리하여 PBS로 두 번 세척한 다음 iQue Screener Plus(Sartorius)에서 수집했다. BL1(Alexa-Fluor-488) 채널의 평균 형광 강도를 항체 농도에 대해 플로팅하여 용량 반응 곡선과 EC50 값을 생성했다.

[0285] 테스트한 27개 항체 중 26개 항체가 HEK-5T4 세포에 결합 친화도를 보였고, 16개 항체가 MCF-7 세포에 결합 친화도를 보였고, 26개 항체가 HEK-시노-5T4 세포에 결합 친화도를 보였다.

[0286] 세 가지 HEK-5T4, MCF-7 및 HEK-시노-5T4 세포주(mAbA4, mAbA15 및 mAbA17 포함) 모두에 결합하도록 선택된 항체는 HEK-5T4 및 MCF-7 세포를 사용한 내재화 검정에서 추가로 평가되었다.

[0287] 부착 세포는 70-90%의 합류에서 수확하여 50 μ L 배양 배지에서 웰당 20,000개 세포로 96웰 검은색 투명/평평한 바닥 반-면적 플레이트(Corning 3882)에 37°C에서 하룻밤 플레이팅했다. 현탁 세포주의 경우, 96웰 플레이트를 폴리-L-오르니틴 용액(Millipore-Sigma)으로 37°C에서 1시간 동안 코팅하고 검정 전 약 1-2시간 동안 세포를 50 μ L 배양 배지에서 웰당 40,000개 세포 밀도로 시딩했다. 항체는 세포 배양 배지에 희석하고, 3X 물 농도의 Incucyte 인간 FabFluor-pH 적색 항체 표지 시약과 혼합한 후 실온에서 15분간 인큐베이션했다. 항체/FabFluor 혼합물의 모든 희석액의 최종 농도의 2X를 제조했다. 그런 다음 2X 항체/Fab-Fluor 혼합물 50 μ L를 미리 시딩한 세포가 있는 모든 웰에 2회 직접 첨가하고 플레이트를 빠르게 Incucyte로 옮겼다. 그런 다음 플레이트를 최대 24시간 동안 30분마다 스캔했다. 항체/FabFluor 혼합물을 세포에 첨가한 후 2-3분 이내에 첫 번째 스캔(0시간)을 시작하도록 주의했다. 플레이트는 시간이 지남에 따라 생성된 적색 신호를 읽고 해당 웰의 세포 합류율(%)로 정규화하여 분석했다. 표적 세포주에서 다른 농도로 몇 개의 항체를 테스트했으며, 신호:잡음 비율이 좋은 것을 기준으로 최상의 농도를 선택했다.

[0288] 내재화 검정에서 6개의 항체(mAbA4 및 mAbA15 포함)가 HEK-5T4 세포에서 강력한 내재화를 보였고, 1개의 항체가 HEK-5T4 세포에서 중간 정도의 내재화를 보였고, 7개의 항체가 HEK-5T4 세포에서 내재화를 보이지 않았거나 비-특이적인 내재화를 보였다. 추가 검정에서 2개의 항체가 MCF-7 세포에서 강력한 내재화를 보였고, 4개의 항체가

HEK-5T4 세포에서 중간 정도의 내재화를 보였고, 8개의 항체가 MCF-7 세포에서 내재화를 보이지 않았거나 비-특이적인 내재화를 보였다.

[0289] **실시예 4: 개발가능성 검증**

[0290] 실시예 2 및 3에 기술된 것과 같은 5T4에 결합하도록 선택된 항체는 다양한 개발 가능성 방법에서 테스트되었다. 예를 들어, 크기 배제 크로마토그래피(SEC), 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC), 스탠드업 단층 흡착 크로마토그래피(SMAC)를 포함한 다양한 크로마토그래피 방법을 사용하여 단량체 비율, 용해도, 항체 응집 또는 침전과 같은 개발 가능성 요소를 평가했다.

[0291] 크기 배제 크로마토그래피(SEC) 분석은 Agilent 1100 HPLC에서 6 mm x 4 cm 가드 컬럼(PN 08543)이 있는 7.8 mm ID x 30 cm TSKgel G3000SWXL 컬럼(Tosoh Bioscience LLC, PN 08541)을 사용하여 수행했다. 항체는 돌베코의(Dulbecco's) PBS(pH 7.4, $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 없음)에서 1 mg/mL 농도로 정규화되었으며, 가용성 응집물을 유지하면서 입자를 펠릿화하기 위해 원심분리로 정제되었다. 이동상 완충액은 2X 농도(10X 스톱 농도에서 희석)의 돌베코의 PBS(pH 7.4, $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 없음)였다. 각 샘플에 대해 10 μL 를 로딩하고 주변 온도에서 20분 동안 1.0 mL/분으로 등용매 용출했다. 흡광도는 280 nm에서 모니터링했다. 크로마토그래피 피크를 통합하여 균질성 백분율과 보유 시간을 결정했다. 이동상 선택과 함께 컬럼 고정상은 분자 크기(SMAC에 비해 훨씬 약한 2차 상호 작용) 이외에도 소수성 및 정전기적 상호 작용을 지원한다. 데이터 분석은 Agilent ChemStation B.04.03 SP1을 사용하여 수행했다.

[0292] 결과는 SEC 분석을 기반으로 mAbA4, mAbA15 및 mAbA17(다른 테스트된 항체 중에서)이 강력한 개발가능성을 가지고 있음을 보여주었다.

[0293] 소수성 상호 작용 크로마토그래피 (HIC) 분석은 Agilent 1100 HPLC에서 4.6 mm ID x 3.5 cm TSKgel 부틸-NPR 컬럼(Tosoh Bioscience LLC, PN 14947)을 사용하여 수행했다. 항체는 돌베코의 PBS(pH 7.4, $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 없음)에서 1 mg/mL 농도로 정규화했다. 컬럼은 주변 온도에서 1 mL/분의 유량으로 100% 이동상 완충액 A(2 M 황산암모늄/20 mM 인산나트륨, pH 7.0)로 평형화했다. 각 샘플에 대해 10 μL 를 로딩하고 15분 동안 1.0 mL/분의 속도로 100% 이동상 완충액 A에서 100% 이동상 완충액 B(20 mM 인산나트륨, pH 7.0)로 구배를 사용하여 용출한 다음, 컬럼을 세척하기 위해 3분 동안 100% B에서 유지한 다음 평형을 위해 2분 동안 100% A로 되돌렸다. 흡광도는 280 nm에서 모니터링했다. 샘플 보유 시간을 계산하여 표준 대조군 세트와 비교하여 보유 시간이 증가한(소수성 증가) 항체와 여러 종이 존재하는 항체를 식별했다. 데이터 분석은 Agilent ChemStation B.04.03 SP1을 사용하여 수행했다.

[0294] 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC) 분석 결과에 따르면 특정 항체는 강력한 개발성을 가지고 다른 항체는 중간 수준의 개발성을 가지고 있었다. mAbA4, mAbA15 및 mAbA17은 HIC 분석을 기반으로 강력한 개발성을 가진 항체 중 일부이다. 항체 소수성은 항체 응집, 용해도 및 점도에 영향을 미칠 수 있다. 결과는 이러한 항체의 응집 및 침전에 대한 낮은 경향을 나타낸다.

[0295] 스탠드업 단층 흡착 크로마토그래피(SMAC) 분석은 Agilent 1100 HPLC에서 4.6 mm x 50 mm 가드 컬럼(PN 213300P-4605)을 갖는 4.6 mm ID x 300 mm Zenix SEC 300 컬럼(Sepax Technologies, PN 213300P-4630)을 사용하여 수행되었다. 항체는 돌베코의 PBS(pH 7.4, $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 없음)에서 1 mg/mL 농도로 정규화하고 원심분리를 통해 입자를 펠릿화하면서 가용성 응집체를 유지했다. 이동상 완충액은 2X 농도(10X 스톱 농도에서 희석)에서 돌베코의 PBS(pH 7.4, $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 없음)였다. 각 샘플에 대해 10 μL 를 로딩하고 주변 온도에서 32분 동안 0.4 mL/분으로 등용매 용출했다. 흡광도는 280 nm에서 모니터링했다. 샘플 보유 시간을 계산하여 표준 대조군 세트와 비교하여 보유 시간이 증가한 항체(응집체를 형성하는 경향 증가 및/또는 소수성/정전기적 상호 작용 증가)를 식별했는데, 이는 컬럼 고정상과 이동상 선택이 분자 크기 조정 이외에도 2차 상호 작용을 촉진하기 때문이다. 데이터 분석은 Agilent ChemStation B.04.03 SP1을 사용하여 수행했다.

[0296] 스탠드업 단층 흡착 크로마토그래피(SMAC) 분석 결과는 특정 항체가 강력한 개발성을 가지고 있고 다른 항체는 중간 수준의 개발성을 가지고 있음을 보여주었다. mAbA4, mAbA15 및 mAbA17은 SMAC 분석에 근거하여 강력한 개발성을 가진 항체 중 일부이다. 이 결정은 콜로이드 안정성과 낮은 응집 경향을 나타내는 양호한 보유 시간을 기반으로 했다.

[0297] **실시예 5: 에피토프 비닝 검증**

[0298] 에피토프 비닝 검증은 실시예 1에서 파지 디스플레이를 통해 얻은 각 항체가 결합한 5T4의 에피토프를 결정하는

데 사용되었다.

[0299]

에피토프 결합 결정을 여전히 가능하게 하면서 5T4 단백질의 전체 구조를 유지하기 위해, 마우스-인간 키메라는 인간 5T4의 7개 연속 서열(에피토프 1-7)을 클로닝하여 각각의 해당 마우스 서열을 대체하여 생성되었다. 키메라 생성을 위해, 전장의 인간 및 마우스 5T4 유전자는 GenScript에 의해 합성되었고 6-His-Avi 태그가 있는 포유류 벡터에 클로닝되었다. 본원에 기술된 7개의 서열(에피토프 1-7) 각각은 인간 유전자에서 제거된 후 적절한 프라이머를 사용하여 마우스 유전자에 별도로 클로닝되었다. 인간 5T4의 에피토프 1(H1)은 SSPTSSASSFSSSAPFLASAVSAQPPLPDQCPALCECSEAART(서열번호:76)에 해당하고; 인간 5T4의 에피토프 2(H2)는 VKCVNRNLTEVPTDLPAYVRNLFLTGNQLAVLPAGAFARRPPLAELAAALNLSGSRLDEV(서열번호:77)에 해당하고; 인간 5T4의 에피토프 3(H3)은 AGAFEHLPSLRQLDL SHNPLADLSPFAFSG(서열번호:78)에 해당하고; 인간 5T4의 에피토프 4(H4)는 SNASVSAPSPLVELILNHIVPPEDERQNRSEFGMVVAALLAGRALQGLRRLE(서열번호:79)에 해당하고; 인간 5T4의 에피토프 5(H5)는 LASNHFLYLPRDVLALPSLRHLDSLNNSLVSLTYVSFRNLTHLESL(서열번호:80)에 해당하고; 인간 5T4의 에피토프 6(H6)은 HLEDNALKVLHNGTLAELQGLPHIRVFL(서열번호:81)에 해당하고; 인간 5T4의 에피토프 7(H7)은 DNNPWVCDCHMADMVTWLKETEVVQGDRLTCAYPEKMRNRVLELNSADLDCDPIPPSLQTS(서열번호:82)에 해당한다. 항원은 Expi293 단백질 발현 시스템(Thermo Fisher)을 사용하여 일시적으로 발현시키고, 공동-발현된 BirA 비오틴 리가제를 사용하여 시험관내에서 비오틴화하고 Ni-NTA 친화도 크로마토그래피를 사용하여 정제하였다. 표 6에 나타낸 바와 같이, 생성된 인간(H) 및 마우스(M) 서열의 7개 키메라 구성물은 다음과 같다: (1) H1 M2 M3 M4 M5 M6 M7(서열번호:83); (2) M1 H2 M3 M4 M5 M6 M7(서열번호:84); (3) M1 M2 H3 M4 M5 M6 M7(서열번호:85); (4) M1 M2 M3 H4 M5 M6 M7(서열번호:86); (5) M1 M2 M3 M4 H5 M6 M7(서열번호:87); (6) M1 M2 M3 M4 M5 H6 M7(서열번호:88); 및 (7) M1 M2 M3 M4 M5 M6 H7(서열번호:89). 각 항체는 각각의 키메라 구성물 및 전장의 인간 단백질에 대한 결합을 테스트했다. 키메라에 대한 임의의 중요한 결합 신호는 항체가 특이적으로 결합하는 영역을 나타낸다.

[0300]

표 6. 5T4 카메라 구성물

인간 5T4 에피토프 1	<u>H1</u> M2 M3 M4 M5 M6 M7 (서열번호:83)	<u>SSPTSSASS FSSSAPFLAS AVSAQPPLPD QCPALCECSE</u> <u>AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA</u> <u>FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRDLDS</u> <u>HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR</u> <u>QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF</u> <u>LPRDLLAQLP SLRYDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLESLH</u> <u>LEDNALKVLH NSTLAEWHL AHVKVFLDNN PWVDCYMAC</u> <u>MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC</u> DAVLPQSLQT S
인간 5T4 에피토프 2	M1 <u>H2</u> M3 M4 M5 M6 M7 (서열번호:84)	SAPSSSVPS SSTSAAFLA SGSAQPPPAE RCPAAECSE <u>AARTVKCVNR NLTEVPTDLP AYVRNLFLTG NQLAVLPAGA</u> <u>FARRPPLAEL AALNLSGSRL DEVRAGAFEH LPGLRRDLDS</u> <u>HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR</u> <u>QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF</u> <u>LPRDLLAQLP SLRYDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLESLH</u> <u>LEDNALKVLH NSTLAEWHL AHVKVFLDNN PWVDCYMAC</u> <u>MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC</u> DAVLPQSLQT S
인간 5T4 에피토프 3	M1 M2 <u>H3</u> M4 M5 M6 M7 (서열번호:85)	SAPSSSVPS SSTSAAFLA SGSAQPPPAE RCPAAECSE <u>AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA</u> <u>FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH</u> <u>LPRLRLDLDS HNPLADLSPF AFSGSNASVS APSPLEELIL</u> <u>NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR</u> <u>LELASNHFLF LPRDLLAQLP SLRYDLRNN SLVSLTYASF</u> <u>RNLTHLESLH LEDNALKVLH NSTLAEWHL AHVKVFLDNN</u> <u>PWVDCYMAC MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL</u> <u>LDLNSSDLDC DAVLPQSLQT</u> S
인간 5T4 에피토프 4	M1 M2 M3 <u>H4</u> M5 M6 M7 (서열번호:86)	SAPSSSVPS SSTSAAFLA SGSAQPPPAE RCPAAECSE <u>AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA</u> <u>FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRDLDS</u> <u>HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLVELIL NHIVPPEDER</u> <u>QNRSFEGMVV AALLAGRALQ GLRRLELASN HFLFLPRDLL</u> <u>AQLPSLRYLD LRNNSLVSLT YASFRNLTHL ESLHLEDNAL</u> <u>KVLHNSTLAE WHGLAHVKVF LDNNPWVDCD YMADMVAWLK</u> <u>ETEVVPDKAR LTCAFPEKMR NRGLLDLNSS DLDCDAVLPQ</u> SLQTS

[0301]

인간 5T4 에피토프 5	M1 M2 M3 M4 <u>H5</u> M6 M7 (서열번호:87)	SAPSSSVPS SSTSPAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRDLDS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR <u>LELASNHFLY</u> <u>LPRDVLQQLP SLRHLDLSNN SLVSLTYVSF RNLTHLES</u> <u>LEDNALKVLH NSTLAWEHGL AHVKVFLDNN PWVDCYMA</u> <u>DVAVLQSLQT S</u>
인간 5T4 에피토프 6	M1 M2 M3 M4 M5 <u>H6</u> M7 (서열번호:88)	SAPSSSVPS SSTSPAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRDLDS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR <u>LELASNHFLF</u> <u>LPRDLLAQLP SLRYLDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLES</u> <u>LEDNALKVLH NGTLAELQGL PHIRVFLDNN PWVDCYMA</u> <u>DVAVLQSLQT S</u>
인간 5T4 에피토프 7	M1 M2 M3 M4 M5 M6 <u>H7</u> (서열번호:89)	SAPSSSVPS SSTSPAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRDLDS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR <u>LELASNHFLF</u> <u>LPRDLLAQLP SLRYLDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLES</u> <u>LEDNALKVLH NSTLAWEHGL AHVKVFLDNN PWVDC</u> <u>DMVTWLKETEV VQKDRLTCA YPEKMRNRVL LELNSADLDC</u> <u>DPILPPSLQT S</u>

표준 옥텟-기반 검정은 각 항체에 대한 에피토프 빈을 확립하기 위해 에피토프 비닝 검정에 사용되었다. 이러한 검정의 경우, 50 nM 비오틴화된 항원을 1X 운동 완충액(ForteBio)의 스트랩타비딘 센서에 고정했다. 그런 다음 센서를 100 nM로 해당 항체를 함유하는 웰에 담그고 연관 신호를 모니터링했다. 항체의 결합을 효과적으로 녹아 웃한 키메라는 항체가 결합하는 특이적 에피토프에 해당한다. 전장의 인간 5T4가 참조용으로 검정에 포함되었다.

결과는 9개의 항체가 5T4의 에피토프 4에 특이적으로 결합하고, 3개의 항체가 5T4의 에피토프 7에 특이적으로 결합하고, 3개의 항체가 5T4의 에피토프 2에 특이적으로 결합하고, 1개의 항체가 5T4의 에피토프 4 및 에피토프 6에 특이적으로 결합하고, 11개의 항체가 전장의 5T4(FL)에 결합한다는 것을 보여준다. 예시적 에피토프 비닝 결과(mAbA4, mAbA15 및 mAbA17에 대한)는 표 7에 요약되어 있다.

표 7. 에피토프 비닝 검정

항체	에피토프 Bin
mAbA4	4
mAbA15	2
mAbA17	7

실시예 6: 항체 선택

본원에 기술된 바와 같이, 실시예 1에 기술된 바와 같이 파지 라이브러리에서 스크리닝된 모든 항체 중에서, IgG로 형식화한 후에도 5T4에 결합할 수 있는 27개의 항체를 실시예 2-5에 기술된 바와 같이 추가로 테스트했다. mAbA4, mAbA15 및 mAbA17로 지정된 3개의 항체는 인간 5T4 결합에 대한 특이성, 시노 5T4에 대한 결합, 세포 표면 결합 신호 및 SEC, HIC 및 SMAC와 같은 다양한 방법으로 평가한 강력한 개발 가능성을 포함한 다양한 활성을 기반으로 선택되었다. 이러한 항체의 VH, VL 및 CDR 서열은 본원에, 예를 들어 표 1-3에 기술되어 있다.

[0309] 실시예 7: 인간 5T4에 대한 항체의 결합(ELISA)

[0310] A. 정상 결합

[0311] 선택된 항체는 ELISA를 사용하여 hu5T4에 결합하는 능력에 대해 테스트되었다. 1일차에, c-말단 폴리히스티딘 및 Avi(AVITAG™) 태그(AcroBiosystems(Newark, DE, USA), Cat. No. TPG-H52E5)가 있는 비접합 인간 TPBG/5T4 단백질을 PBS 중에 2 µg/mL로 희석하고, 완전히 혼합한 후, 96웰 플레이트(Nunc MAXISORP®)에 웰당 100 µL씩 플레이팅하고 4°C에서 밤새 인큐베이션했다.

[0312] 2일차에, 플레이트를 PBS 중에 0.1% Tween®-20("PBS-T")으로 4번 세척했다. 웰은 PBS 중 200 µL의 카제인 (BLOCKER™ Casein, ThermoFisher Scientific에서 제공)으로 차단하고 진탕하면서 실온에서 2시간 동안 인큐베이션했다.

[0313] IgG-ADC의 1:3 희석 시리즈를 PBS에서 제조하고 96웰 플레이트에 웰당 100 µL의 용량으로 첨가했다. 플레이트는 진탕하면서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션했다.

[0314] 염소 항-인간 IgG FC 감마 특이적 HRP 접합체(Jackson ImmunoResearch, cat# 109-035-098)를 PBS에서 1:15000의 인자로 희석했다. ELISA 플레이트를 플레이트 세척기(BioTek ELx405)를 사용하여 PBS-T로 6번 세척한 후 염소 항-인간 IgG FC 감마 특이적 HRP 접합체 100 µL를 각 웰에 첨가했다. 플레이트는 그런 다음 진탕하면서 실온에서 30분 동안 인큐베이션했다.

[0315] ELISA 플레이트는 플레이트 세척기(BioTek ELx405)를 사용하여 PBS-T로 6번 세척한 다음, 각 웰에 100 µL의 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB)을 첨가했다. 플레이트는 진한 파란색이 보일 때까지 현상되도록 두었다. 그런 다음 H₂SO₄(2 N, 100 µL)를 첨가하여 반응을 켜고 각 웰의 흡광도를 플레이트 판독기(Molecular Devices에서 제공하는 SoftMax Pro 소프트웨어가 장착된 SpectraMax M5)에서 판독하였다.

[0316] B. 스트레스 테스트

[0317] 1. 높은 pH 스트레스 테스트. 항체는 염기성(높은 pH) 조건에서 ELISA를 사용하여 5T4에 결합하는 능력을 테스트했다. 0.1% w/w H₂O₂/1x PBS 중에 1 mg/mL의 항체를 24-48시간 동안 어두운 곳에서 실온에서 보관한 후 50 mM 메티오닌을 첨가했다. 분석 전에 샘플을 동결하여 보관했으며, 분석은 A 부분에서 기술한 대로 ELISA를 통해 수행했다. 아래 표 8는 테스트한 각 항체에 대해 계산된 EC₅₀을 보고한다.

[0318] 표 8. 높은 pH에서 hu5T4에 대한 항체의 결합

mAb	조건	EC ₅₀ (nM)
mAbA4	pH 8.5, 0 일	0.120
mAbA4	pH 8.5, 1 일	0.127
mAbA4	pH 8.5, 4 일	0.114
mAbA4	pH 8.5, 7 일	0.128
mAbA4	pH 8.5, 14 일	0.136
mAbA15	pH 8.5, 0 일	0.134
mAbA15	pH 8.5, 1 일	0.128
mAbA15	pH 8.5, 4 일	0.133
mAbA15	pH 8.5, 7 일	0.143
mAbA15	pH 8.5, 14 일	0.131
mAbA17	pH 8.5, 0 일	0.153
mAbA17	pH 8.5, 1 일	0.174
mAbA17	pH 8.5, 4 일	0.150
mAbA17	pH 8.5, 7 일	0.158
mAbA17	pH 8.5, 14 일	0.167

[0319]

[0320] 2. 낮은 pH 스트레스 테스트. 항체를 산성(낮은 pH) 조건에서 ELISA를 사용하여 5T4에 결합하는 능력에 대해 테스트했다. pH 8.5의 20 mM Tris/10 mM EDTA 중에 1 mg/mL 내지 10 mg/mL 항체 용액을 제조하여 37℃에서 1 내지 2주 동안 보관했다. 샘플은 분석 전에 동결 보관했으며, 분석은 A 부분에서 설명한 대로 ELISA를 통해 수행했다. 아래 표 9은 테스트된 각 항체에 대해 계산된 EC₅₀을 보고한다.

[0321] 표 9. 낮은 pH에서 hu5T4에 대한 항체의 결합

mAb	조건	EC ₅₀ (nM)
mAbA4	pH 5.5, 0 일	0.133
mAbA4	pH 5.5, 1 일	0.132
mAbA4	pH 5.5, 4 일	0.125
mAbA4	pH 5.5, 7 일	0.124
mAbA4	pH 5.5, 14 일	0.122
mAbA15	pH 5.5, 0 일	0.124
mAbA15	pH 5.5, 1 일	0.134
mAbA15	pH 5.5, 4 일	0.123
mAbA15	pH 5.5, 7 일	0.132
mAbA15	pH 5.5, 14 일	0.138
mAbA17	pH 5.5, 0 일	0.164
mAbA17	pH 5.5, 1 일	0.159
mAbA17	pH 5.5, 4 일	0.157
mAbA17	pH 5.5, 7 일	0.190
mAbA17	pH 5.5, 14 일	0.153

[0322]

[0323] 3. 산화 스트레스. 항체를 산화 환경에서 ELISA를 사용하여 5T4에 결합하는 능력에 대해 테스트했다. pH 5.5의 20 mM 시트레이트/50 mM NaCl 중에 1 mg/mL 내지 10 mg/mL 항체 용액을 제조하여 37℃에서 1 내지 2주 동안 보관했다. 분석 전에 샘플을 동결하여 보관했으며, 분석은 A 부분에서 설명한 대로 ELISA를 통해 수행했다. 아래 표 10은 테스트한 각 항체에 대해 계산된 EC₅₀을 보고한다.

[0324] 표 10. 산화 스트레스에서 hu5T4에 대한 항체의 결합

mAb	조건	EC ₅₀ (nM)
mAbA4	PBS 시간 0	0.182
mAbA4	PBS 시간 24 hr.	0.200
mAbA4	PBS 시간 48 hr.	0.189
mAbA4	PBS+H ₂ O ₂ 시간 0	0.225
mAbA4	PBS+H ₂ O ₂ 시간 24 hr.	0.393
mAbA4	PBS+H ₂ O ₂ 시간 48 hr.	0.386
mAbA15	PBS 시간 0	0.229
mAbA15	PBS 시간 24 hr.	0.212
mAbA15	PBS 시간 48 hr.	0.203
mAbA15	PBS+H ₂ O ₂ 시간 0	0.191
mAbA15	PBS+H ₂ O ₂ 시간 24 hr.	0.190
mAbA15	PBS+H ₂ O ₂ 시간 48 hr.	0.189
mAbA17	PBS 시간 0	0.198
mAbA17	PBS 시간 24 hr.	0.186
mAbA17	PBS 시간 48 hr.	0.185
mAbA17	PBS+H ₂ O ₂ 시간 0	0.188
mAbA17	PBS+H ₂ O ₂ 시간 24 hr.	0.183
mAbA17	PBS+H ₂ O ₂ 시간 48 hr.	0.207

[0325]

[0326] 실시예 8. 시노, 래트 및 마우스 5T4에 대한 항체의 교차반응성(ELISA 및 OCTET)

[0327] 선택된 항체는 ELISA 및 옥텟을 사용하여 비인간 5T4-T에 결합하는 능력에 대해 테스트되었다. 실시예 7에 기술된 ELISA 프로토콜을 사용하여 인간 5T4 항원을 재조합 시노 5T4-Fc(R&D Systems(Minneapolis, MN, USA), Cat. No. 2280-TG-100 또는 LSBio(Seattle, WA, USA), Cat. No. LS-G137131에서 공급), 재조합 마우스 5T4-Fc(R&D Systems, Cat. No. 5049-TG-100), 6His-SUMO, N-말단 태그가 있는 재조합 래트 TPBG/5T4(LSBio Cat. No. G56592), His, N-말단 태그가 있는 재조합 마우스 TPBG/5T4(LSBio, Cat. No. G12168) 항원으로 대체했다. 옥텟 분석의 경우, 단백질 A 바이오칩을 항체로 코팅하고 PBS로 세척한 다음 위에서 식별한 대로 항원과 반응시켰다. 테스트한 모든 항체는 인간, 시노 및 래트 5T4에 결합했다. 마우스 5T4에 대한 유의한 결합 교차반응성은 관찰되지 않았다.

[0328] 실시예 9. 5T4-형질감염된 CHO 및 HEK293 세포에 대한 항체의 세포 결합

[0329] 선택된 항체는 인간, 시노, 래트 또는 마우스 5T4를 발현하도록 형질감염된 HEK293 및 CHO 세포에 결합하는 능력에 대해 테스트했다. 비-형질감염된 세포는 비-특이적 결합을 관찰하기 위한 대조군으로 활용되었다. mAbA4, mAbA15 및 mAbA17은 인간 및 시노 5T4를 발현하도록 형질감염된 HEK293 및 CHO 세포에는 반응했지만 래트 또는 마우스 5T4를 발현하도록 형질감염된 세포에는 반응하지 않았다.

[0330]

* * * * *

[0331]

본 출원 전반에 걸쳐, 다양한 간행물, 특허, 특허 출원 및 기타 문서가 참조되었다. 이러한 간행물, 특허, 특허 출원 및 기타 문서의 개시내용은 본 출원에서 개시된 주제가 관련된 기술 상태를 보다 완전하게 설명하기 위한 것을 포함하여 모든 목적을 위해 본 출원에 참조로 통합되어 있다. 개시된 주제는 위에 제공된 실시예를 참조하여 설명되었지만, 개시된 주제의 정신에서 벗어나지 않고 다양한 변형이 이루어질 수 있다는 것을 이해해야 한다. 이 명세서를 검토하면 많은 수정이 해당 분야의 숙련자에게 분명해질 것이다.

도면

도면1a

VH 도메인

카바트	1	10	22	31--35	40	50--a-----60---65
AbM	1	10	22	26-----35	40	50--a-----58 65
초티아	1	10	22	26---32	40	a-55 65
컨택트	1	10	22	30---35	40	47-----a-----58 65
IMGT	1		23	27-----38 41		56-----65 74
mAbA4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSRYIIH WVRQAPGKGLEWVA FISPGGSYTYADSVKG					
mAbA15	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSRYIIH WVRQAPGKGLEWVA YITSTGSYTEYADSVKG					
mAbA17	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSRYIIH WVRQAPGKGLEWVA AIFPYSGSTLYADSVKG					

카바트	70	80	abc	90	95-----102	110
AbM	70	80	abc	90	95-----102	110
초티아	70	80	abc	90	96-----101	110
컨택트	70	80	abc	90	93-----101	110
IMGT	75	89			105-----117	
mAbA4	RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR EYYSMGVL----DY WGQGTIVTVSS (서열번호:25)					
mAbA15	RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR YDRSTRYSGL--DY WGQGTIVTVSS (서열번호:44)					
mAbA17	RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR SPSRSILPSGL--DY WGQGTIVTVSS (서열번호:62)					

도면1b

VL 도메인

카바트	1	10	20	24-27-----34	40	50----56
AbM	1	10	20	24----30--34	40	50----56
초티아	1	10	20	26---32	40	50--
컨택트	1	10	20	30-----36	40	46-----55
IMGT	1		23	27---38 41		56-65 69
mAbA4	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC RASQSVSSAVA WYQKPGKAPKLLIY SASSLYS					
mAbA15	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC RASQSVSSAVA WYQKPGKAPKLLIY SASSLYS					
mAbA17	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC RASQSVSSAVA WYQKPGKAPKLLIY SASSLYS					

카바트	60	70	80	89-----97
AbM	60	70	80	89-----97
초티아	60	70	80	91---96
컨택트	60	70	80	89-----96
IMGT	70	89		105-----117
mAbA4	GVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYC QQAYESPYT FGQGTKVEIK (서열번호:26)			
mAbA15	GVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYC QQAYATPVT FGQGTKVEIK (서열번호:45)			
mAbA17	GVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYC QQGDGSPYT FGQGTKVEIK (서열번호:63)			

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

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